

Japanese Journal of Fertility and Sterility

October 1975

日本不妊学会雑誌

第 20 卷

第 4 号

昭和 50 年 10 月 1 日

— 目 次 —

原 著

外傷性子宮腔癒着症と癒着胎盤……………百瀬和夫・他・1
 精子の運動エネルギーに関する 2, 3 の知見……………今村一男・6
 片側卵巣摘出マウスにおける卵子の着床と妊娠に関する研究—III
 —産次回数と生殖機能—……………遠藤克・他・14
 当科不妊外来における妊娠例の検討……………高野昇・他・23
 第3回国際 IUD 学会に出席して……………村山茂・31
 ヒト卵巣の収縮性……………岡村均・他・38
 THE FERTILIZATION OF PIG FOLLICULAR OOCYTES
 IN VITRO WITH CAPACITATED SPERMATOZOA……………A. Iritani 他・44
 CLINICAL OBSERVATION ON NOCTURNAL
 BODY TEMPERATURE
 Report I. —A Comparison of Nocturnal and Early
 Morning Body Temperatures in 17 Women Who
 Recently Gave Birth to a Full-Term Infant—……………Y. Suzuki・50
 Clomiphene citrate による妊娠（とくに黄体期の高単位
 HCG 療法について）……………東山秀聲・他・53
 ラットにおける実験的同種免疫性無排卵症
 I. 同種卵巣免疫の性周期に及ぼす影響……………森崇英・60
 外傷性子宮腔内癒着症の検討……………田中昭一・他・65
 免疫学的観点よりみた流産の成因に関する研究……………高橋威・他・72
 第13回日本不妊学会中四国支部総会……………81
 第69回日本不妊学会関西支部集談会……………86
 第15回日本不妊学会東北支部総会……………89

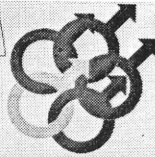
CONTENTS

Traumatic Intrauterine Adhesion and Placenta Accreta.....	
..... <i>K. Momose, H. Takada & T. Jo</i>	1
Studies on the Energy for sperm Motility	<i>K. Imamura</i>
.....	6
Studies on the Implantation of Ova and the Pregnancy in the Unilaterally Ova- riectomized Mice—III. —Reproductive Life Span—.....	
..... <i>T. Endo, M. Tochigi, S. Nishikawa & Y. Sakuma</i>	14
Successful Case studies of Pregnancy in Our Clinic of Infertility	
..... <i>N. Takano, S. Simizu & H. Takamizawa</i>	23
The IIIrd International Conference On Intrauterine Coentraception	<i>S. Murayama</i>
.....	31
In vitro studies on human ovarian contractility.....	
..... <i>H. Okamura, T. Okazaki & A. Nakajima</i>	38
The Fertilization of pig follicular Oocytes <i>in vitro</i> with capacitated spermatozoa	
..... <i>A. Iritani, E. Sato & Y. Nishikawa</i>	44
Clinical observation on nocturnal body Temperature Report I. —A Comparison of Nocturnal and Early Morning Body Temperatures in 17 Women Who Recently Gave Birth to a Full-Term Infant—	<i>Y. Suzuki</i>
.....	50
Pregnancy following HCG therapy after clomiphene-induced ovulation.....	
..... <i>S. Higashiyama, T. Iwasaki, S. Kizu, A. Murakami & H. Okada</i>	53
Experimental Alloimmune Ovulatory Disorder In The Rat. Effect Of Alloimmuniza- tion With Ovarian Tissues On The Cyclic Function Of The Ovary.....	<i>T. Mori</i>
.....	60
Studies on Traumatic Intrauterine Adhesions a report of 14 cases.....	
..... <i>S. Tanaka, A. Nishizima, Y. Okabe, M. Fukushima,</i> <i>K. Mitsube & S. Mizumoto</i>	65
Immunological studies on the cause of spontaneous abortion	
..... <i>T. Takahashi K. Kanazawa, M. Higuchi T. Nishiyama,</i> <i>A. Tokunaga, T. Hando & S. Takeuchi</i>	72

I CONGRESO INTERNACIONAL DE ANDROLOGIA
I INTERNATIONAL CONGRESS OF ANDROLOGY

barcelona (spain)

12. 13. 14. 15 julio / july 1976



organizado por el
organized by the

comité internacional de andrología (cida)

SECRETARIA DEL / SECRETARIAT OF THE
I CONGRESO INTERNACIONAL DE ANDROLOGIA

APARTADO 24.005

BARCELONA

ESPAÑA

外傷性子宮腔癒着症と癒着胎盤

Traumatic Intrauterine Adhesion and Placenta Accreta

東邦大学医学部産婦人科学教室（主任：林基之教授）

百瀬 和夫 高田 久 徐 常 艶
Kazuo MOMOSE Hisashi TAKADA Tsuneyoshi JO

Dep. Obst. Gynec., Toho Univ., School of Med.

(Director: Prof. M. Hayashi)

外傷性子宮腔癒着症の頻度、成因、診断、治療に関する研究は比較的多くみられるが、本症がその後の妊娠分娩に及ぼす影響について報告は少ない。一般的には、流産、胎位異常、前置胎盤、癒着胎盤などの異常が多いとされている。最近、稽留流産内容除去や人工妊娠中絶などに続発したと思われる外傷性子宮腔癒着症例で、確診後に妊娠し、癒着胎盤を合併した3例を経験した。

近年このような妊娠に対する子宮内操作はかなりの頻度に行なわれ、これによる外傷性癒着の成立も多いと予想される。これらが放置されたまま、あるいは癒着剝離後に妊娠したとき、その経過には嚴重な注意が必要である。

はじめに

1894年 Fritsch が掻爬後の子宮腔完全閉塞を報告し、さらに Asherman が Amenorrhoea traumatica として発表した外傷性子宮腔癒着症については、その頻度、成因、診断、治療法など多数の報告がみられ、一般にも認識されるようになった。しかし、その後の妊娠、分娩に対する影響に関する報告は意外に少ない。最近、不妊を主訴として来院し、子宮卵管造影法で外傷性子宮腔癒着と診断され、その後妊娠したが、分娩時に癒着胎盤を合併した3例を経験したので、文献的考察を加えて報告する。

自 験 例

症例 1. 36才、初産婦

虫垂切除、45年卵巣出血で開腹。妊娠16週6日で性器出血のため来院、児心音聴取できず、免疫妊娠反応陰性。子宮内胎児死亡の診断でラミナリア挿入後、子宮内容除去。の子宮造影では、右側壁に外傷性癒着像を認めた（写真1、2）。

再来院、今回終経はで、妊娠2カ月切迫流産としてそのまま約1カ月入院。胎動初

覚は。ついで4月21日（妊娠28週6日）、下腹痛と性器出血で来院、児は第1骨盤位で、子宮口2指開大、午後3時30分自然破水、10時57分臍帯脱出のため、Kristeller 法と牽出術により1450gr の女児を娩出させた。直後の Apgar Score は5、6点。その後、胎盤が自然剝離せず、出血も多くなつたため、午後11時40分用手剝離術を試みたところ、子宮壁前面に胎盤のほぼ全面が癒着し、極めて剝離困難な状態にあった。さらに頸管裂傷、子宮収縮不良もあつて出血は1000ml をこえた。

臍帯長47cm。胎盤は卵円形、6×15.5×1.5cm で、

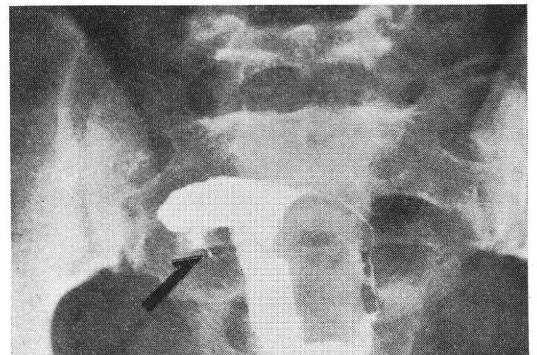


写真 1 症例 1 の子宮 X 線像

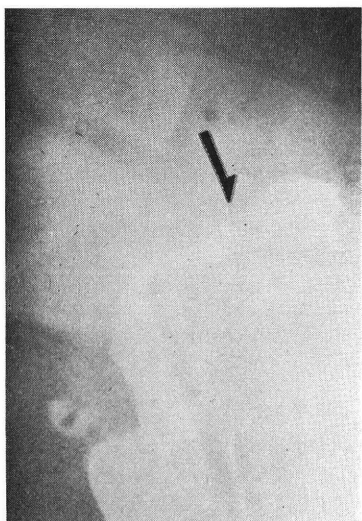


写真 2 症例 1 の側面像

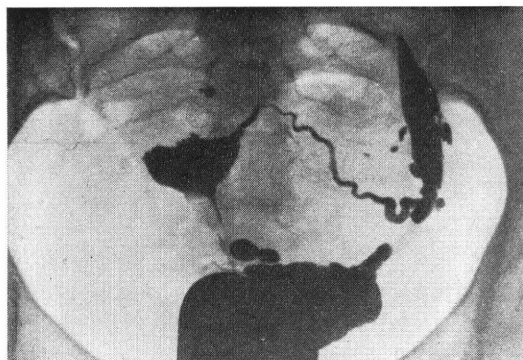


写真 3 症例 2 の子宮 X 線像

母体面には凹凸不平が著明であつた。産褥経過は順調で 8 日目に、児は 71 日目に体重 2440gr で退院した。

症例 2. 43 才, 1 回経産婦。初婚の夫は 26 才で Malignant seminoma にて死亡。

妊娠 3 カ月人工中絶, 2700g 男児を正常分娩。夫の死去により妊娠 6 カ月で、またにも 2 カ月で人工中絶をうけた。

初経 14 才, 28 日型, 持続 3 日間, 中等量。8 カ月間の無月経と周期的下腹痛で来院し, BBT 曲線と子宮造影法(写真 3) から外傷性癒着と診断され, 頸管拡張と全面搔爬をうけた。

再来院, 妊娠 10 カ月 + 子宮筋腫と診断され, 入院, 帝切の予定でいたところ, (妊娠 40 週 1 日), 午前 5 時陣発, 午後 6 時 15 分, 第 1 前方後頂位で 2700g 男児娩出, Apgar Score 9 であつた。会陰裂傷があり, 15 分待つても胎盤剝離徴候なく, 手手的に 520g の胎盤を娩出させた。出血量 330ml, 臍

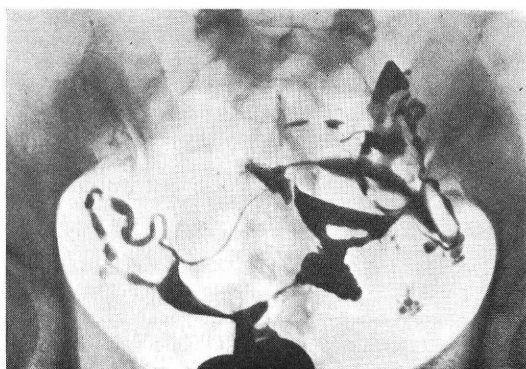


写真 4 症例 3 の子宮 X 線像

帯 76cm, 太さ 1.5×1.5cm, 左捻転, 側方付着。胎盤は楕円形, 21×16×2cm で, 著変を認めなかったが, 産褥 3 日目より出血多く, 内容清掃をしたところ, 胎盤遺残があり, 癒着は部分的に強固で, Placenta accreta が疑がわれた。このさいの出血量は約 300ml。以後の経過は順調で, 産褥 7 日目に退院した。

症例 3. 生れ。初経 20 才, ほぼ順調 30 日型, 経血量は少ない。結婚, 妊娠 3 カ月人工中絶, 5 カ月自然流産。

続発不妊および過少月経にて来院。子宮前傾屈ほぼ正常大, 子宮卵管造影法にて子宮腔はほぼ中央に陰影欠損を認めた(写真 4)。第 11 週日に子宮内全面搔爬を行ない, ゾンデがつかえて入りにくい感じてあつたが, 慎重に 8cm 挿入, ついで Hegar 8 号まで拡張, 搔爬内膜量は乏しく, その組織像は増殖期であつた。

術後 Estrogen depot 注を行ない, に月経をみたので妊娠, 免疫妊娠反応陽性。(16 週 4 日), 少量の出血と下腹痛で来院, 子宮小児頭大で子宮口は閉じていたが, 大事をとつて約 1 カ月入院。

(34 週 1 日) 破水感あり, 先進部を触知できず, 横位と診断され, 1 週後の X 線写真では第 2 骨盤位で前置胎盤が疑がわれたので, (38 週 1 日) 腹式帝切により 2760g の男児をえた。創口からみると, 胎盤は子宮前壁に付着し, 鶯卵大の広さで筋層に固着, 用手剝離で崩れるため腸線にて結紮, 切断した。胎盤は 19×19×2cm, やや変形しているが, 欠損を認めなかった。

考 按

外傷性子宮腔癒着症の発生頻度について, Bass は人工妊娠中絶後の 1500 例中 20 例, Halbrecht は 95 例の習慣性流産の子宮造影で 26 例 27% とし, Siegler は 468 例中 5 例 1.1%, Pinto は 5000 例中 108 例 2.16%, Musset &

表 1 癒着症治療群と未治療群における妊娠分娩の予後

報告者	年代	治療法	治療後 H.S.G.	治療	分娩経過	備考
Forssman	1965	頸管拡張 癒着剝離	(+)	(+)	正常分娩	
"	1965	(-)	(-)	(-)	骨盤位, 2,540g の児死産 胎盤用手剝離術	児剖検で小脳天 膜の破裂
Dmowski	1969	頸管拡張 癒着剝離	(+)	ある程度 回復	癒着胎盤 (pl. increta)	子宮摘出術
Strassmann	1956	卵管の子宮腔への 移植	(-)	Sonde に て確認	6 例中 1 例妊娠し正常分娩	
山口, 他	1974	2 回のヘガールに よる剝離 エストロゲン投与	(+)	(+)	40 週で吸引分娩 2,360g 生産	
"	1974	"	最終確認の HSG(-)	?	27 週で臍帯脱出, 鉗子分娩 胎盤用手剝離	1,100g 生後 5 日で死亡
百瀬, 他	1975	(-)	(-)	(-)	28 週 6 日で, 骨盤位, 臍帯脱出 胎盤用手剝離術, 癒着胎盤 弛緩出血	1,450g 生存
"	1975	全面搔爬による癒 着剝離	(-)	?	40 週 1 日, 胎盤用手剝離 癒着胎盤	2,700g 生存
"	1975	"	(-)	?	骨盤位, 前置胎盤で 38 週 1 日 帝切, 癒着胎盤	2,760g 生存

Netter は搔爬後の子宮造影で 38 例を みつけ、山本らは 746 例の子宮 X 線像中 98 例 13.1% に癒着症を、田中らは同じく 1340 例中 22 例 1.6%、小島らは 819 例中 28 例 3.4%、仲村も妊娠既往のある 1254 例中 67 例 5.3% と報告している。このように発表年度や検査対象によつて頻度は異なり、また、対象例数も年間実施される子宮内操作数に比べればごく一部にすぎないので、本症の正確な発生率は不明といわざるをえない。

外傷性癒着の原因としては、Asherman の指摘したように、産褥出血、稽留流産、自然流産、人工妊娠中絶後の反復された搔爬術、胞状奇胎に対する内容清掃術、胎盤用手剝離術、子宮腔内へのタンポン装填、子宮筋腫核出術、などの子宮内操作があげられる。本症ではこのような妊娠に関連した子宮内操作に続発した無月経、過少月経、予定月経ごろに相当して起こる下腹部不快感、月経モリミナ、不妊、習慣流産が特異的であり、BBT 曲線が 2 相性であること、子宮造影における奇妙な陰影欠損像により確診がつく。

本症の治療法については後に列挙するように多くの方法があり、単なる性周期の回復でなく、完全な fertility の遂行が最終目標となる。しかしその影響については流早産、胎位異常、前置胎盤、癒着胎盤などが多くと予想されるにもかかわらず、その報告は内外とも意外に少ない。1948 年から 1965 年までの Forssmann の集計によれば、妊娠 165 例で、流産 67、早産 21、満期産 67 例となり、

また癒着胎盤が 14 例、前置胎盤 2 例であった。その後 Dmowski らは本症治療後、生児をえたが、癒着胎盤で子宮を摘出した症例を報告し、山口らは合併症なく生児を獲得した 1 例と、癒着胎盤を伴った流産例の計 2 例を発表した。Strassmann は子宮腔を欠損せる癒着症例で子宮切開、癒着剝離による子宮腔形成、卵管間膜をつけたままの卵管の子宮内移植後、妊娠分娩に成功した例をあげている。

一方、癒着胎盤の確定診断は難かしく、その程度により Placenta accreta, incerta, percreta の 3 型に分類されているが、摘出子宮について組織学的に検索されないかぎり、このような区別は不可能であり、また、床脱落膜の欠損を伴わない附着胎盤 Placenta adherens との鑑別も困難であろう。一般に常用される胎盤圧出法では娩出困難で、用手剝離を必要とするものを臨床的には広義の癒着胎盤としている。また、Thierstein の分類によれば、1) 軽い癒着で手動的に容易に剝離でき、胎盤癒着部位が粗で、乳頭状突起のみられるもの、2) 用手剝離に多少の困難を伴ない、胎盤実質の残留が疑がわれ、癒着部に線維性の索状物を認めるもの、3) Placenta accreta 以上の病変があり、用手剝離が不能か、胎盤片が完全に残るか、多量の出血があり、子宮摘除を要するものがあり、その頻度はおのおの 2%、0.6%、0.05% 以下としている。Irving らは文献的に 86 例の癒着胎盤のうち 37 例について、その原因と思われる事項に

より分類し、胎盤用手剝離19例、掻爬10例と多く、その他子宮内膜炎4、帝切1などをあげた。また子宮發育不全、子宮奇形、粘膜下筋腫、人為的子宫壁損傷、妊卵着床位置異常も誘因と考えられている。

このように、外傷性子宮腔癒着症と癒着胎盤の成因には共通性があり、内腔の部分的荒廃により床脱落膜の欠損や形成不全を起こし、絨毛が子宮筋層内へ直接侵入し、種々の程度の癒着胎盤となる可能性が考えられる。表1に外傷性癒着症の治療例と未治療例の妊娠分娩に及ぼす影響について諸家の報告をまとめた。例えば Forssman の第1例は治療後の造影で癒着が治つたことを確認したあと、正常分娩し、第2例は無治療のまま妊娠したが、骨盤位で2540gの奇形児を死産し、胎盤用手剝離をうけ、我々の第1例とよく似た経過である。さらに彼は治療群6例はいずれも生児を得たのに、未治療3例は失産に終わったと報告している。我々の2、3例は頸管拡張にひきつづいて内腔剝離を試み、Estrogen 注により内腔再生促進をはかったが、治癒の確認をしないうちに妊娠した。従つて妊娠直前の子宮腔の状態については明らかではない。たとえX線像で欠損が消失していても正常な子宮内膜が完全に再生しているとは限らず、これが確認には子宮鏡による直視下観察を要する。

今後、膨大な数の子宮内操作に続発して、外傷性癒着症も増加すると思われる。これに基づく異常妊娠分娩を予防するためには、反復子宮内操作後には子宮造影や子宮鏡検査を実施し、臨床的にはほとんど無症状の癒着巣を含めて、その発見と治療に努め、治癒を確認してから次の妊娠を計画するよう助言すべきであろう。さらに妊孕期にある比較的若年の婦人は転居率が高く、同一施設に長期通院が不可能なことが多い。従つて、本症の診断をしたときは、その治療内容を患者に説明し、メモを作製して、以後の妊娠分娩時に参考にすることができるよう配慮すべきである。また産婦人科医としては、子宮内操作手技の習熟に努め、不用かつ粗暴な処置はできるだけ避けるよう慎重な態度が必要である。

まとめ

子宮造影で外傷性癒着症と診断された3例のうち、1例は無治療のまま妊娠し、切迫流産の状態が続いたあと8カ月で陣痛発来し、骨盤位で臍帯脱出し、1450gの女児を生産したあと、癒着胎盤のため用手剝離を施行した。他の2例は頸管拡張、内腔剝離および Estrogen depot 注による治療をうけたあと妊娠し、10カ月で生児をえたが、いずれも癒着胎盤で用手剝離をうけた。

妊娠に関連した子宮内操作がふえるにつれて、本症の発生も増加すると思われ、その後の妊娠、分娩に及ぼす

影響が大きいことは注目されなければならない。

(林教授のご指導に謝意を表する。本稿要旨は昭和49年10月、第19回日本不妊学会総会—金沢で発表した)

文 献

- 1) 吉住寅彦, 他: 産婦の実際, 8, 512, 1959.
- 2) 竹内久弥: 臨婦産, 15, 679, 1961.
- 3) 杉本毅, 他: 産と婦, 28, 379, 1961.
- 4) 松本清一: 産婦の実際, 11, 92, 1962.
- 5) 館野進, 他: 産婦の世界, 14, 1305, 1962.
- 6) 田村治雄: 産と婦, 31, 92, 1964.
- 7) 山本文男, 他: 産婦治療, 8, 116, 1964.
- 8) 百瀬和夫, 他: 産婦の世界, 17, 761, 1965.
- 9) 井上一正, 他: メデイカルモチダ, 54, 9, 1965.
- 10) 井上一正, 他: 産婦の世界, 18, 533, 1966.
- 11) 百瀬和夫, 他: 産婦の実際, 16, 731, 1967.
- 12) 林耀東: 産婦の世界, 21, 1241, 1969.
- 13) 野々村邦雄, 他: 産婦の世界, 21, 856, 1969.
- 14) 小島秋, 他: 産婦の進歩, 21, 451, 1969.
- 15) 山口龍二, 他: 臨婦産, 24, 677, 1970.
- 16) 飯塚理八, 他: 産と婦, 37, 145, 1970.
- 17) 仲村健一: 日不妊誌, 16, 346, 1971.
- 18) 杉本修: 産と婦, 24, 457, 1972.
- 19) 山口龍二, 他: 臨婦産, 28, 389, 1974.
- 20) Irving, F. C., et al.: Surg. Gynec. Obstet, 64, 178, 1937.
- 21) Asherman, J. G.: J. Obst. Gynec. Brit. Emp, 55, 23, 1948.
- 22) Strassman, E. O.: Internat. J. Fertility, 1, 267, 1956.
- 23) Asherman, J. G.: Internat. J. Fertility, 2, 49, 1957.
- 24) Millar, W. G.: J. Obst. Gynec. Brit. Cwlth 66, 353, 1959.
- 25) Topkins, P. T.: Am. J. Obst. Gynec, 83, 1599, 1962.
- 26) Siegler, A. M.: Am. J. Obst. Gynec, 83, 1595, 1962.
- 27) Forssman, L.: Obst. & Gynec, 26, 710, 1965.
- 28) Rozada, I. B., et al.: Obst. & Gynec, 32, 387, 1968.
- 29) Polishuk, W. Z., et al.: Fertil. Steril., 20, 241, 1969.
- 30) Dmowski, W. P., et al.: Obst. & Gynec, 34, 288, 1969.

Traumatic intrauterine adhesion and placenta accreta

**Kazuo Momose, Hisashi Takada
and Tsuneyoshi Jo**

Dep. Obst. Gynec., Toho Univ.,
School of Med.

(Director: Prof. M. Hayashi)

Relatively many studies on frequency, etiology, diagnosis, therapy of the traumatic intrauterine adhesion were seen recently, however, the systematic reports regarding its influences to subsequent pregnancy and delivery were very few. It is generally believed that the traumatic intrauterine adhesion is frequently accompanied with many complications such as premature delivery, abnormal presentation, placenta previa, placenta accreta, etc.

During short period authors experienced 3 cases in whom intrauterine manipulations for the

missed abortion and artificial abortion caused traumatic adhesions, and then they conceived, delivered, and complicated with placenta accreta.

In the first case, D & C was performed for missed abortion, and the traumatic intrauterine adhesion was discovered by hysterosalpingography. She conceived without special therapy, and was complicated with breech presentation, umbilical cord prolapse, placenta accreta.

In the other 2 cases, they were complained of menstrual disorders after two artificial abortions. Diagnosis of the intrauterine adhesion were done with typical biphasic BBT, and hysterosalpingography. They conceived after D & C, but complicated with placenta accreta at the delivery. In future, traumatic intrauterine adhesion may increase by the more careful attention of gynecologist, and its effects on subsequent pregnancies, and deliveries must be more widely investigated.

精子の運動エネルギーに関する 2, 3 の知見

Studies on the Energy for sperm Motility

昭和大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 赤坂裕教授)

今 村 一 男

Kazuo IMAMURA

Department of Urology, Showa University School of Medicine

(Director: Prof. H. Akasaka)

精子の運動エネルギーについて、ATP・ATP 分解酵素および呼吸の3点について検討し、次のような結果を得た。

1. 精子の運動率の低下と ATP の残留率の低下に高い相関関係があるので、精子は ATP をエネルギー源としているものと思われる。

2. ヒトの精子の ATP 分解酵素は、イオンを加えない場合、Na イオンとKイオンを同時に加えた場合および Mg イオンを加えた場合の至適 pH は7.0で、Ca イオンを加えた場合の至適 pH は7.5であつた。

3. 精子濃度と精子の 10^7 個当りの ATP 量とは負の相関関係を示し、一方精子濃度と ZO_2 (今回は、1 ml 中に含まれる精子の O_2 消費量を 10^8 個当りの O_2 消費量 (ZO_2) に計算しなおした) も負の相関関係を示すことから、精子の運動エネルギー源である ATP は、呼吸によつてその多くの部分を補給されるものと思われる。

〔I〕はじめに

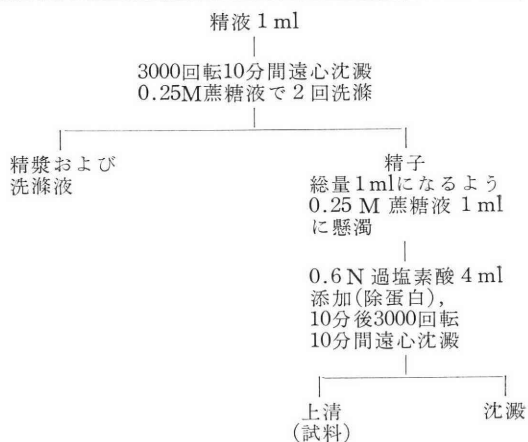
受胎せしめるためには、精液 1 ml 中に含まれる精子数がある一定数以上なければ困難になるということは統計的に示されている。そしてこの精子数の少ない精液の精子は、運動率 (全体の精子数に対して運動している精子の割合を百分率で示したもの)・活性率 (全体の精子数に対して生きている精子の割合を百分率で示したもの) および奇形率 (全体の精子数に対して奇形を有する精子の割合を百分率で示したもの) をしらべた場合、運動率および活性率が低く、奇形率は逆に高いということも知られている。

しかし、受胎せしめるためになぜ多くの正常な精子が必要であるかについては、未だ全くと言ってよい程判っていない。このことを追究するために、精子の運動という面から 2, 3 の点について検討し、いささかの知見を得たので報告する。

〔II〕 Adenosinetriphosphate (以下 ATP と略す) について

I. 精子中の ATP

表 1 ATP 測定のための試料調整法



1. 測定方法¹⁾

表 1 に試料の調整方法、表 2 に測定方法を示した。0.25M 蔗糖液を用いたのは、精漿と0.25M 蔗糖液が等張だからである。

2. 精子中の ATP 量

表 2 ATP 測定法

I 測定原理

ATP+グリセリン-3-リン酸+2 NADH⇌
ADP+グリセリン-1-リン酸+2 NAD+Pi
NADHの減少を、波長340mμにおける吸光度の減少から測定しATP量を求める。

II 反応酵素系

- 1 グリセリン-3-リン酸活性化酵素
- 2 グリセリンアルデヒド3リン酸脱水素酵素
- 3 3炭糖リン酸異性化酵素
- 4 グリセリン-1-リン酸脱水素酵素

III 測定法

- 1 0.5 M トリエタノールアミン緩衝液
- 2 グリセリン-3-リン酸 6 mM
- 3 NADH 2.5 mM
- 4 除蛋白質液 0.2 ml
- 総量 2.4 ml

混和後、吸光度(E₁)測定

- 5 反応酵素液 0.02 ml

混和後、10分間放置、吸光度(E₂)測定

IV 計算

$$E_1 - E_2 = \Delta E$$

$$\text{ATP } \mu\text{g/ml} = \Delta E \times 2390$$

表 3 ATP 測定値

サンプル番号	精子濃度 (×10 ⁷ 個/ml)	精子中 ATP		精漿中 ATP (μg/ml)
		(μg/ml)	(μg/10 ⁷ 個)	
34	9.5	19.0	2.0	43.0
18	8.3	21.5	2.6	
29	8.3	59.5	7.2	
17	7.3	24.0	3.3	
28	7.1	48.0	6.8	
25	7.0	72.0	10.3	59.5
24	6.3	50.5	8.0	48.0
22	6.2	31.0	5.0	48.0
19	6.2	14.0	2.3	
103	5.8	59.5	10.3	48.0
27	4.8	64.5	12.9	
16	4.4	48.0	11.0	
20	4.1	43.0	10.4	
33	4.0	43.0	10.8	72.0
30	3.6	35.5	9.9	
35	3.0	45.5	15.2	
26	3.0	48.0	16.0	59.5
21	2.3	45.5	20.2	88.5
36	2.0	31.0	15.5	
102	2.0	29.0	14.5	24.0

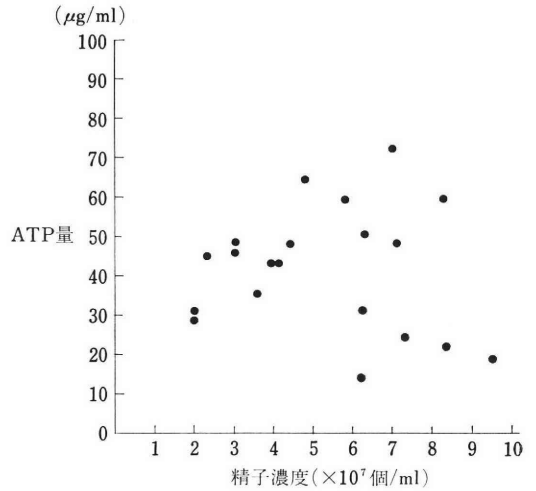


図 1 精子濃度と精子中 ATP (μg/ml) 量との関係(その 1)

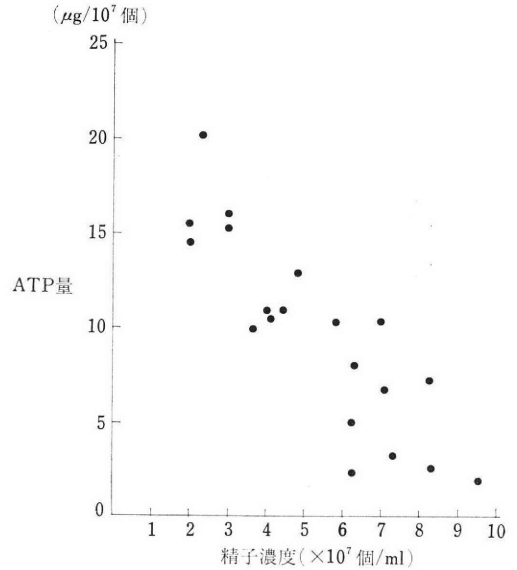


図 2 精子濃度と精子中 ATP (μg/10⁶個) 量との関係(その 2)

測定値を表3に示した。図1は、横軸に精子濃度、縦軸に/ml中の精子に含まれるATP量をμg単位で現わしてプロットしたもので、図2は、横軸に精子濃度、縦軸に10⁷個の精子に含まれるATP量をμg単位で現わしてプロットしたものである。図1でみると、正常精子濃度のものではややバラツキがあるが、10例の算術平均は39.9μg/ml、精子濃度の低い(5×10⁷個/ml以下)10例では44.3μg/mlで、ほぼ同じような平均値を示した。図2でみると、精子濃度の低いものではATP量が多く、精子濃度の高いものではATP量が少なかった。

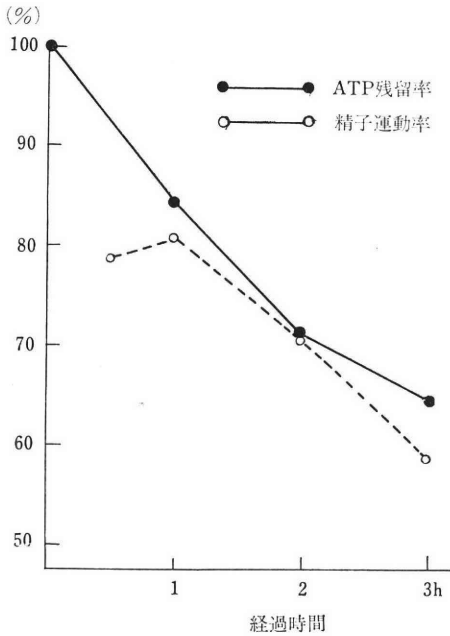


図3 健康者における精子中の ATP 残留率とその精子の運動率の経時的変化

および精子運動率をとり、横軸に経過時間をとりグラフとして示したものである。図3でみると、ATP 残留率と精子運動率の経時的变化は極めて高い相関関係を示した。

II. 精漿中の ATP

1. 測定方法

精液 1ml をとり、遠心沈澱により精子を除いて精漿を取り出した。これを精子中の ATP 測定法に準じて測定した。

2. 精漿中の ATP 量

表3に測定値を示した。これを、精子濃度を横軸とし ATP $\mu\text{g/ml}$ を縦軸としてプロットしたものが図4である。測定し得た症例は9例で少いので確定的なことは言えないが、これで見るとサンプル番号102の1例を除き精子濃度の高いものでは、ATP 量が少く、精子濃度の低いものでは ATP 量が多かった。

〔III〕 ATP 分解酵素について

I. 測定方法³⁾

表4に ATP 分解酵素測定のための試料の調整法を示し、表5に測定の方法を示した。Na イオン、K イオン、Mg イオン、Ca イオンを加えた場合の量を括弧の内に示した。

II. ATP 分解酵素活性

表4 ATP 分解酵素測定のための試料調整法

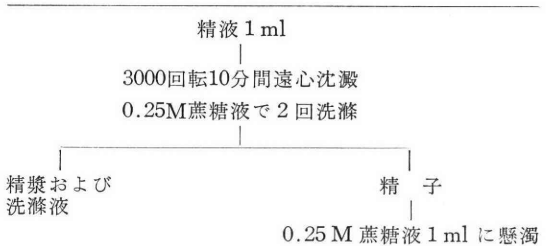


表5 ATP 分解酵素測定法

1. トリス塩酸緩衝液	35 mM
(塩化ナトリウム)	125 mM)
(塩化カリウム)	15 mM)
(塩化マグネシウム)	3 mM)
(塩化カルシウム)	2.5 mM)
Na-ATP	6 mM
試料	1 ml
総量	2 ml
2. 反応温度	37°C
反応終了後、Fiske and Subbarow 法により生成した無機リン (Pi) 量を測定	
3. 計算	
ATP 分解酵素活性 = Pi ($\mu\text{g/ml/hr}$)	

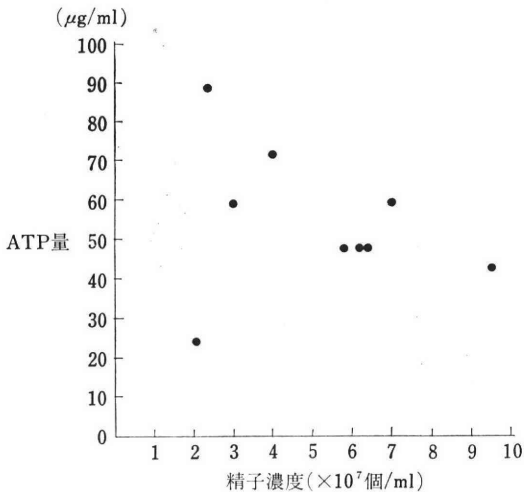


図4 精子濃度と精漿中 ATP ($\mu\text{g/ml}$) 量との関係

すなわち負の相関関係を示した。

3. 精子中の ATP 量と精子運動率の経時的变化との関連性

精子の運動と ATP 量との関連性をみるため、健康者の精子中の ATP 量と精子運動率がどのような経時的変動を示すかをしらべてその結果を図3に示した。ATP は検討開始時を100%とし、以後 ATP が開始時の幾%残っているか(残留率)をみた。縦軸に ATP 残留率

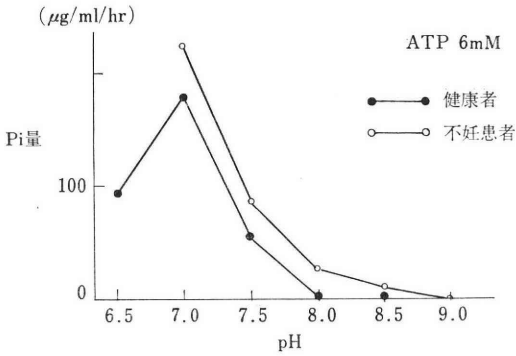


図 5 ATP 分解酵素の pH 活性曲線 (イオンを加えず)

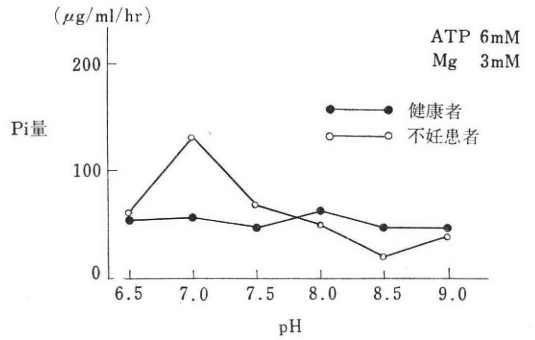


図 7 ATP 分解酵素の pH 活性曲線に対するイオンの影響(その 2) (Mg イオン)

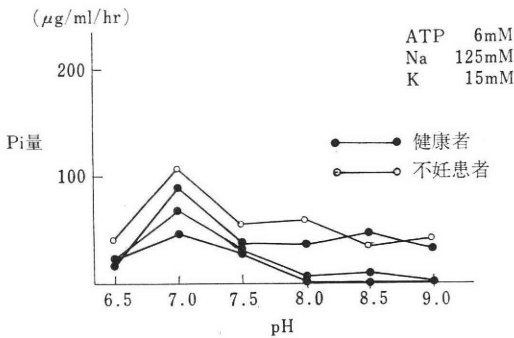


図 6 ATP 分解酵素の pH 活性曲線に対するイオンの影響(その 1) (Na イオン+Kイオン)

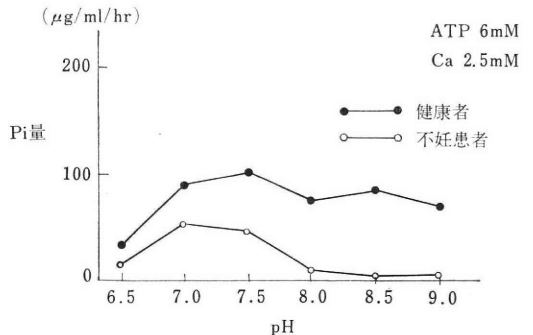


図 8 ATP 分解酵素の pH 活性曲線に対するイオンの影響(その 3) (Ca イオン)

1. イオンを加えなかつた場合

図5は、横軸に pH をとり、縦軸に精子 1ml 中の精子が1時間に生成する無機リンの量を μg で現わしてとり、イオンを加えなかつた場合の ATP 分解酵素の各 pH における活性を示した。これで見ると pH 7.0の時に最も高かつた。

2. Na イオンおよびKイオンを加えた場合.

図6に Na イオンおよびKイオンを加えた場合の ATP 分解酵素の各 pH における活性を示した。これで見ると pH 7.0の時に最も高かつたが、pH 8.0 (不妊患者の精子) および8.5 (健康者の精子) にも小さなピークを示した。

3. Mg イオンを加えた場合

図7に Mg イオンを加えた場合の ATP 分解酵素の各 pH における活性を示した。不妊患者のものでは健康者のものより活性が高く、かつ不妊患者のものでは pH 7.0の時に最高の活性を示したが、健康者ではむしろ pH 7.0ないし7.5の時に活性が抑えられるような結果を得た。

4. Ca イオンを加えた場合

図8に Ca イオンを加えた場合の ATP 分解酵素の各 pH における活性を示した。健康者のものでは pH 7.5で最も高い活性を示したが、pH 8.5でも小さなピークを示した。不妊患者のものでは pH 7.0で最も高い活性を示した。

〔IV〕 精子の酸素消費

I. 測定方法³⁾

精液 1ml をとり、これを試料として調整する方法は ATP 分解酵素を測定する場合と同様であるが、最終的に精子を 2ml の 0.25M 蔗糖液に懸濁した。測定の方法は表6に示した。

II. 精子の酸素消費量

表7に測定値を示した。これを、横軸に精子濃度をと、縦軸に精液 1ml 中の精子が1時間に消費する量とプロットしたものが図9であり同じく 10⁸個の精子が1時間に消費する量 (Z₀₂ として現わすことになっている) を計算してプロットしたものが図10である。このうちサンプル番号40および109の2例は図10中より除外した。図9で見ると正常精子濃度の方にややバラツキがある

表 6 酸素消費量測定法 (ワールブルグ検圧法)

反応系	
主室	精子, 0.25M 蔗糖液 2ml に懸濁
側室	
塩化カリ	50 μ M
トリス緩衝液 (PH 7.5)	25 μ M
塩化マグネシウム	8 μ M
牛血清アルブミン	2 μ M
リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.5)	50 μ M
ATP	2 μ M
ブドウ糖	3 μ M
ヘキソキナーゼ (酵母, type III)	1 mg
ピルビン酸ソーダ	20 mM
側室総量	1 ml
副室	
苛性カリ (10%)	0.5 ml
反応温度	30°C
気相	大気

表 7 精子の酸素消費量

サンプル番号	精子濃度 ($\times 10^7$ 個/ml)	精子の酸素消費量	
		(μ l/ml/hr)	(μ l/ 10^8 個/hr)
34	9.5	18.6	19.6
48	8.0	9.1	11.4
119	8.0	22.0	27.5
43	6.8	34.3	50.4
41	6.2	18.4	29.7
114	6.2	10.3	16.6
44	5.7	10.1	17.7
42	4.5	18.0	40.0
33	4.0	21.2	53.0
115	3.7	23.2	62.7
30	3.6	17.5	48.6
37	3.5	19.3	55.1
35	3.0	19.4	64.7
46	2.4	14.3	59.6
60	1.2	15.6	(130.0)
109	1.0	24.3	(243.0)

註: (μ l/ 10^8 個/hr) で現わしたものを Z_{O_2} という

が, 7 例の算術平均は 17.5μ l/ml/hr, 精子濃度の低い 9 例においては 19.2μ l/ml/hr でほぼ同じような平均値を示した. 図 10 においては精子濃度の高いものは 10^8 個当りの酸素消費量は低く, 精子濃度の低いものは高く, しかもこれは負の相関関係を示した.

[V] 考 按

I. 文献的考察

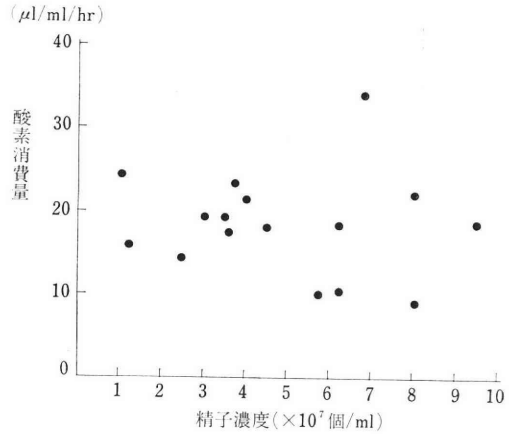


図 9 精液 1 ml 中の精子の酸素消費量 (μ l/ml/hr) と精子濃度との関係

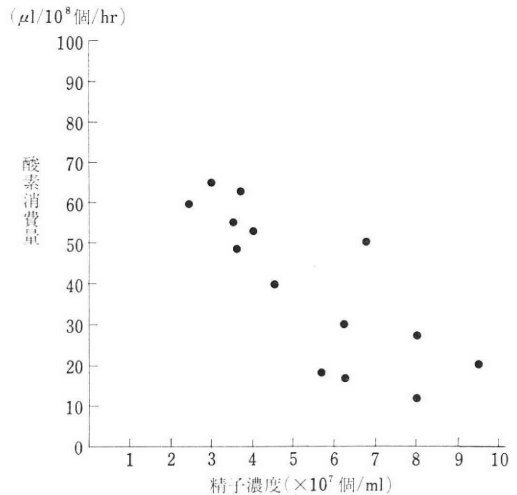


図 10 10^8 個当りの精子の酸素消費量 (μ l/ 10^8 個/hr) と精子濃度との関係

精子の運動は生体の示す運動の 1 つであるから, 筋肉と同じようなしくみによつて運動が行われるのではないかと考えられるのは当然のことで, 今回はエネルギー源として ATP, この ATP を分解して Pi を遊離せしめエネルギーを出さしめる役を果す ATP 分解酵素, および ATP を補給するための呼吸の 3 つに焦点をあわせて検討した.

1945年 Lardy et al.⁴⁾は精子中に ATP が存在することを指摘した. Mann⁵⁾⁶⁾⁷⁾は精子の運動の衰えと ATP の減少が同時に起こることから, 精子の運動に ATP の必要なことを推察したが, より直接的な検討は, Hoffmann-Berling⁸⁾⁹⁾のバッタの精子のグリセリン・モデルを用いての研究であり, その後それに関する幾つかの報告がなされている.

筋肉収縮の主役をなすのにミオシンとアクチンが知られているが、Mann⁶⁾がめん羊の精子で ATP 分解酵素の存在を初めて認め、Engelhardt¹⁰⁾ (1946) が精子の鞭毛よりミオシン様の働きを示す ATP を分解する酵素を抽出し、Gibbons¹¹⁾¹²⁾ (1963, 1965) は Tetrahymena (繊毛虫の 1 種) の繊毛から ATP 分解酵素をとり出してダイニンと命名し、さらにまた Gibbons et al.¹³⁾ (1965) はダイニンが繊毛中の A 小管 (A 小管とは繊毛中にある 9 対の小管のうち腕の直接ついている小管のことを称している) についている腕そのものであることも確めた。越野¹⁴⁾は電子顕微鏡により、主として精子中の ATP 分解酵素の検討を行つているが、ATP 分解酵素は中片部と尾部主部に多く存在したと述べている。

精子の行う代表的な代謝としては、呼吸と解糖をあげることができる。呼吸については広くどの動物の精子においても行なわれることが認められており、一般の動物組織におけると同様、TCA サイクルを通り、またこれと共役する酸化的リン酸化系があることは確実と思われる。TCA サイクルの存在については、牛・めん羊精子で Lardy et al.¹⁵⁾ (1945)、Mann⁵⁾⁶⁾⁷⁾ (1945) などの幾つかの研究があり、酸化的リン酸化に重要な役割を果たすチトクロームについては、人・牛・めん羊・犬精子で Mann⁵⁾⁶⁾¹⁶⁾ (1945, 1951)、Gonse¹⁷⁾¹⁸⁾ (1959, 1962) らの研究がある。

運動に影響を及ぼす諸要因について、温度・光・放射線などの物理的なもの、酸素・炭酸ガス・pH・イオン・浸透圧・粘度などの化学的なものが考えられるが、これらは、代謝に影響を与える場合と、ATP 分解酵素に影響を与える場合などがあるわけで、今回は ATP 分解酵素と pH およびイオンとの関係を観察したので、pH とイオンの文献についてのみ触れたい。Mohri¹⁹⁾ (1958) がウニの精子で検討したところでは、Ca イオンより Mg イオンの存在下で ATP 分解酵素の活性が高く至適 pH は 8.8 であった。Tibbs²⁰⁾ はスズキの精子で検討した (1959) が、Mg イオンの存在の時の方が Ca イオンの存在するときよりも酵素活性が高く、Mg イオンの存在下での至適 pH は 8.2、Ca イオンの場合は 7.4 であったという。また Uesugi et al.²¹⁾ は豚の副睾丸より分離した精子で検討したところ、Mg・Na・K の 3 イオンを入れた時酵素活性が最も高く至適 pH は 7.4 であったと発表している。

II. 測定成績について

1. 精子の運動エネルギー源としての ATP および酸素消費について

エネルギー源として ATP が必要であることをさきに文献でみてきたが、著者も図 3 に示すような運動率の

低下と ATP の残留率の低下とが高い相関関係を示すことを観察した。

さて精子中に含まれる ATP の量であるが、測定のために精液 1 ml をとり、そのなかに含まれる精子の保有する ATP 量を測定して示したものが図 1 で、精子濃度の高低に拘らずほぼ一定の値を示していることはみた通りである。しかし図 2 ではこれを計算により 10^7 個の精子中に含まれる ATP 量として示したものをプロットしてあり、同数の精子中に含まれる ATP 量を比較したが、これは負の相関関係を示している。

一方精子の酸素消費の側から観察してみると、1 ml 中に含まれる精子が 1 時間で消費する酸素の量の精子濃度の高低に拘らず同一容積中の精子はほぼ同量の酸素消費量 (図 9) を示し、さらにこれを 10^8 個当りの酸素消費量に計算しなおしてみたものが図 10 で、負の相関関係を示した。

著者が ATP 量・ATP 分解酵素活性・酸素消費量を見る場合、射精後 20 分ないし 30 分室温に放置して精子数・運動率その他を測定した後以上のことを測定し始めるので、運動による ATP 消費と、代謝による ATP の補給がバランスのとれた状態になっている筈であり、以上みてきたように精液 1 ml 中の精子でみた場合、精子濃度の高低に拘らず酸素消費量もほぼ等しく、ATP 量もまたほぼ等しいという同一の傾向を示すことは、ATP 量と呼吸とが密接な関係を有しており、ATP の補給の多くの部分が呼吸によつて行われていることを示していると考えられることもできよう。

また精漿中の ATP 量を測定 (表 3、図 4) したが、精子濃度の高くなるにつれて精漿中の ATP 量が少なくなつてゆくところから、精子が運動を行う場合、精子の体外の ATP も利用するものと思われる。

2. ATP 分解酵素について

ATP 分解酵素の pH 活性曲線に対するイオンの影響を図 5・図 6・図 7・図 8 で示したが、イオンを加えない場合、Na イオンと K イオンの 2 つを加えた場合および Mg イオンを加えた場合は、pH 7.0 の時に最も活性が高く、Ca イオンの存在する時の至適 pH は 7.5 であった。さきあげた先人の結果と比較すると、Mohri¹⁹⁾ のウニの精子の至適 pH 8.8 より低く、Tibbs¹⁹⁾ のスズキの精子での検討での至適 pH 7.4、Uesugi et al.²⁰⁾ の豚の副睾丸よりとり出した精子での検討での至適 pH 7.4 などに近い値を得た。また Mg イオンの影響と Ca イオンの影響とを比較検討してみると、Mohri¹⁹⁾ のウニの精子の検討では Mg イオンの存在下の方が Ca イオンの存在の時よりも活性が高かつたと述べているが、著者のヒトでの検討では、Mg イオンの存在する場合は健

康者から得られた精子の ATP 分解酵素活性は pH 7.0 ないし 7.5 で抑制されるような結果を得、pH 7.0 付近で不妊患者からの精子の ATP 分解酵素活性が健康者からの精子の酵素活性より高く、Ca イオンの存在下では、pH 7.0 ないし 7.5 において健康者からの精子の ATP 分解酵素活性が不妊患者からの精子の酵素活性より高かった。これらのことについては、さらに詳細な検討を行う予定である。

[VI] 結 語

1. 精子の運動率の低下と ATP の残留率の低下が極めて高い相関関係を示しており、精子は運動のエネルギー源として ATP を消費しているものと思われる。

2. 精子の運動のエネルギー源としての ATP は、呼吸によってその多くの部分を補給されるものと思われる。

3. ヒト精子の ATP 分解酵素は、イオンを加えない場合、Na イオンと K イオンの 2 つのイオンを加えた場合、Mg イオンを加えた場合の至適 pH は 7.0 で、Ca イオンを加えた場合の至適 pH は 7.5 であった。

4. ヒト精子の ATP 分解酵素は、Mg イオンを加えた場合は不妊患者よりの精子の酵素活性が高く、Ca イオンの存在する場合は健康者よりの精子の酵素活性が高かった。

(摺筆するにあたり、終始懇篤な御指導ならびに御校閲を賜った恩師赤坂裕教授に心から感謝致します。また絶大な御協力を戴きました昭和大学中央化学研究所の佐藤永雄教授ならびに泌尿器科学教室の皆様にも深く感謝の意を表します。本論文の要旨は第 62 回日本泌尿器科学会総会および第 66 回日本不妊学会関東地方部会において発表しました。)

文 献

- 1) Jaworek, D., Gruber, W. and Bergmeyer, H. U.: Adenosine-5'-triphosphate: determination with 3-phosphoglycerate kinase in *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. 4: p. 2097, New York and London, Academic Press, 1974.
- 2) Fiske, C. H. and Subbarow, Y.: The colorimetric determination of phosphorus, *J. Biol. Chem.* 66(2): 375, 1925.
- 3) Sanadi, D. R. and Jacobs, E. E.: Assay of oxidative phosphorylation at the cytochrome oxidase region (Site III) in *Methods of Enzymology*, Vol. 10: p. 38, New York, Academic Press, 1967.
- 4) Lardy, H. A., Hansen, R. G. and Phillips, P. H.: The metabolism of bovine epididymal spermatozoa, *Arch. Biochem.* 6: 41, 1945.
- 5) Mann, T.: Anaerobic metabolism of spermatozoa, *Nature* 156: 80, 1945.
- 6) Mann, T.: Studies on the metabolism of semen: 1. general aspects. occurrence and distribution of cytochrome, certain enzymes and coenzymes, *Biochem. J.* 39: 451, 1945.
- 7) Mann, T.: Studies on the metabolism of semen: 2. glycolysis in spermatozoa, *Biochem. J.* 39: 458, 1945.
- 8) Hoffmann-Berling, H.: Adenosintri-phosphat als Betriebsstoff von Zellbewegungen, *Biochim. Biophys. Acta* 14: 182, 1954.
- 9) Hoffmann-Berling, H.: Geisselmodelle und Adenosintri-phosphat (ATP), *Biochim. Biophys. Acta* 16: 146, 1955.
- 10) Engelhardt, V. A.: Adenosintri-phosphatase properties of myosin, *Advances in Enzymol.* 6: 147, 1946.
- 11) Gibbons, I. R.: Studies on the protein components of cilia from tetrahymena pyriformis, *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.* 50: 1002, 1963.
- 12) Gibbons, I. R.: Chemical dissection of cilia, *Arch. Biol. (Liège)* 76: 317, 1965.
- 13) Gibbons, I. R. and Rowe, A. J.: Dynein: a protein with adenosine triphosphatase activity from cilia, *Science* 149: 424, 1965.
- 14) 越野 豊: 正常人および不妊症患者の精子の ATPase の電顕的局在, *日不妊会誌*, 20: 182, 1975.
- 15) Lardy, H. A. and Phillips, P. H.: Studies of fat and carbohydrate oxidation in mammalian spermatozoa, *Arch. Biochem.* 6: 53, 1945.
- 16) Mann, T.: Studies on the metabolism of semen: 7. cytochrome in human spermatozoa, *Biochem. J.* 48: 386, 1951.
- 17) Gonse, P. H.: Les cytochromes des spermatozoïdes de taureau, *C. R. Acad. Sci.* 248: 3759, 1959.
- 18) Gonse, P. H.: Respiration and Oxidative Phosphorylation in Relation to sperm motility in *Spermatozoan Motility* 72: p. 99, Washington, Amer. Assoc. Adv. Sci., 1962.
- 19) Mohri, H.: Adenosintri-phosphatases of sea-urchin spermatozoa, *J. Fac. Sci., Univ. Tokyo* 4(8): 307, 1958.
- 20) Tibbs, J.: The adenosine triphosphatase activity of perch sperm flagella, *Biochim. Biophys. Acta* 33: 220, 1959.
- 21) Uesugi, S. and Yamazoe, S.: Presence of sodium-potassium-stimulated ATPase in boar epididymal spermatozoan, *Nature* 5021: 403, 1966.

Studies on the Energy for Sperm Motility

Kazuo Imamura

Department of Urology, Showa University
School of Medicine

(Director: Prof. H. Akasaka)

The energy for sperm motility was studied. The study was focused upon the following three items:

(1) measurement of ATP level in the spermatozoa, (2) ATPase activity in the spermatozoa and (3) the O_2 consumption of the spermatozoa which may supply the ATP.

The results are as follows.

1. The decline of sperm motility (percent of

initial rate) shows a high correlation to the fall of the remaining ATP level (percent of initial level). So it is concluded that the sperm cells consume the ATP as the energy for motility.

2. The ATP as the source of energy for sperm motility, at least a major part of it, may be supplied by the respiration.

3. The optimal pH of the ATPase of human sperm is 7.0, provided that the assay condition contains no added monovalent or divalent cation, or it contains Na^+ and K^+ or Mg^{2+} respectively. When Ca^{2+} ion is added in the assay system, the optimal pH alters to 7.5.

4. The ATPase activity of sperm cells derived from sterile men was higher than that of normal sperm cells when Mg^{2+} was contained in the assay, but the former was lower than the latter when Ca^{2+} was added.

片側卵巣摘出マウスにおける卵子の 着床と妊娠に関する研究—III

—産次回数と生殖機能—

Studies on the Implantation of Ova and the Pregnancy
in the Unilaterally Ovariectomized Mice—III.
—Reproductive Life Span—

日本大学医学部公衆衛生学教室

遠藤 克 栃木 明人 西川 湊八
Tuyoshi ENDO, Meijin TOCHIGI Shinhachi NISHIKAWA
(Dept. of Public Health, School of Medicine, Nihon University)

日本大学農獣医学部家畜生理学教室

佐久間 勇次
Yuzi SAKUMA

(Lab. of Animal Physiology, College of Agriculture and Veterinary
Medicine, Nihon University)

片側の卵巣を摘出したマウスの性現象に関する一連の研究として、片側卵巣摘出マウスは産次回数を経過しても正常マウスと同様な排卵、妊娠、分娩などの現象が認められるか否かを検討する目的で、片側の卵巣を摘出したマウスについて、哺乳または非哺乳の条件のもとで、5産次までの出産経過例数、産子数、食殺例数、と殺時の解剖所見および実験終了時における排卵数、卵巣重量、子宮重量等について検索し、片側卵巣摘出マウスにおける生殖機能を正常マウスと比較検討した。

その結果、5産次までの出産経過例数は、いずれの群においても産次回数を経過するごとに出産例数が減少し、とくに哺乳群の片側卵巣摘出マウスでは5産まで分娩したものが5.6%にすぎなかった。

産子数および生存産子数は、片側卵巣摘出マウスで正常マウスに比べて、2産次以降明らかに減少してゆることが認められた。

食殺例数は、いずれの群においても産次回数の経過と共に増加し、とくに、片側卵巣摘出マウスの5産次では67%の食殺が認められた。

実験終了時および不妊マウスにおける排卵数、卵巣重量は、いずれの群においても正常マウスの右側卵巣と比較すると有意に高く、また、左右合計と比較すると有意に低かった。また、片側卵巣摘出マウスの卵巣摘出側である左側子宮の重量は有意に低い値を示した。なお、片側卵巣摘出マウスは、と殺解剖時に生殖器の異常を認めたものが多く、その主なものは卵管閉鎖、卵巣のう腫、胎児および胎盤残留などであった。

以上のことから、片側卵巣摘出マウスは、排卵、受精、妊娠、分娩などの性現象を、正常マウスと同様に維持継続することはできないものと考えられる。

緒言

片側の卵巣を摘出したマウスの生殖能力に関する一連

の研究として、これまでに、代償作用が発現すること、また、その代償作用の程度は、マウスの系統によつて差があること²⁰⁾、さらに、片側卵巣摘出マウスの外因性ホ

ルモンに対する感受性は、過排卵誘起によつて比較すると正常マウスと異なること、また、1個の卵巣から誘起排卵される卵子数はほぼ同等であることなどを報告²¹⁾した。

今回は、これらのマウスが、妊娠および分娩を繰り返すことによつて、片側卵巣摘出が、マウスの妊娠、分娩および産子数などにどのような影響をおよぼすか、また、産次回数を経過しても正常マウスと同様な繁殖成績が得られるかについて検討する目的で、片側の卵巣を摘出したマウスおよび対照とした正常マウスについて、5産次までの繁殖成績および5産終了後の生殖器等の異常、交尾時の排卵数および卵巣、子宮の重量を測定し、片側卵巣の摘出がマウスの妊娠および分娩にどのような影響を及ぼすかについて試験を行なつたので、その成績を報告する。

実験材料および方法

供試マウスは、当教室で自家繁殖した CF₁ 系の成熟した末経産マウスで70日齢、体重27~30g のものを用いた。これらの供試マウスは、初産時に正常な妊娠および分娩が認められ、さらに初回分娩の生存産子数が6匹以上のものを選び用いた。マウスはアルミケージに5匹ずつ収容し、妊娠末期にはそれぞれ1匹ずつ分離した。飼料はラット・マウス繁殖用固形飼料を用い、水と共に自由摂取とし不断に給与した。飼育中の照明時間は14時間とし、温度は22±2°C、湿度は55±5%とした。

供試マウスの片側卵巣摘出手術は、初回産子の分娩または離乳後(哺乳期間は分娩後21日間とした)10日目にネブタール麻酔下で背部より左側の卵巣を摘出した。

実験は、哺乳群および非哺乳群に分けて行つた。非哺乳群を設定した理由は、哺乳という正常な産褥経過を除くことによつて、その後におけるマウスの妊娠および分

娩にどのような影響をおよぼすかについてあわせて比較検討した。

実験方法：哺乳群(各産次の哺乳期間は分娩後21日間とした)は、初回産子を離乳後、10日目に左側卵巣を摘出し、その後10日以降に交配した。さらに、その後の各産次においては、離乳後10日以降に次の交配に移つた。

非哺乳群は、初回産子を分娩したその日に母親から分離し、10日目に左側卵巣を摘出し、その後10日以降に交配した。その後も各産次において、分娩後産子を除去して哺乳は行なわず、分娩後10日以降に次の交配に移つた。

その他の実験方法は両群共に同一とし、2産以降5産次までの各産次経過例数、食殺例数、産子数、生存産子数および5産終了後における性機能と生殖器系の異常、卵管内卵子数、卵巣、子宮の重量をそれぞれ記録した。なお、各交配時において、その交配期間が60日間を経過しても妊娠が確認出来なかつたマウスは、不妊マウスとしてと殺開腹し生殖器系の異常等を観察した。

実験成績

片側卵巣摘出マウスおよび正常マウスにおける産次回数と妊娠との関係について比較検討した成績はつぎの通りである。

(1) 各産次経過例数の比較

哺乳群および非哺乳群における片側卵巣摘出マウスおよび正常マウスについて産次回数の経過に伴う分娩例数を比較すると Table 1 に示す通りである。

哺乳群において、初産次に正常な分娩を経過して2産次以降の実験に用いたマウスは、対照区22例、摘出区36例、2産次を経過したマウスは、対照区22例中22例(100.0%)、摘出区で片側卵巣摘出後、初回の分娩を経過した

Table 1 Comparison of the Number of Mothers passed each Delivery and bore even one Offspring. (%)

Delivery		Experiment group				
		1st	2nd	3rd	4th	5th
S.G.	C.	22	22/22(100)	21/22(95.5)	17/22(77.3)	11/22(50.0)
	E.	36	36/36(100)	26/36(72.2)*	17/36(47.2)*	2/36(5.6)***
N.S.G.	C.	17	16/17(94.1)	15/17(88.2)	9/17(52.9)	7/17(41.2)
	E.	43	42/43(97.7)	40/43(93.0)	32/43(74.4)	24/43(55.8)

S.G.: suckling group: The suckling period for 21 days was allowed in the mice of this group.

N.S.G.: non suckling group: Suckling was not allowed even a day in the mice of this group.

C.: normal mice, E.: unilaterally ovariectomized mice

*: The ULO mice was compared with the normal mice in the same group and at each delivery.

*: 0.01<p<0.05, **: 0.001<p<0.01, ***: p<0.001

The mice in the E. group were unilaterally ovariectomized at the period between 1st and 2nd delivery.

Table 2 Comparison of the Litter Size (Living Litter Size) at each Time of Delivery.

Delivery		1st	2nd	3rd	4th	5th
S.G.	C.	12.1±2.33 (12.1±2.36)	13.3±2.76 (13.1±2.87)	11.7±3.38 (11.2±4.29)	11.8±3.09 (11.0±3.89)	10.4±2.42 (9.2±3.68)
	E.	11.7±2.01 (11.3±2.08)	8.4±3.10 ^{***} _{○○○} (8.3±3.32) ^{***} _{○○○}	9.2±3.60 ^{*○} _○ (8.7±4.41) _{○○}	8.1±3.96 ^{**○} _{○○} (6.7±4.65) ^{**○} _{○○○}	2.5±0.71 ^{***} _{○○○} (2.5±0.71) ^{***} _{○○○}
N.S.G.	C.	11.9±2.64 (11.8±2.04)	12.5±2.76 (12.4±2.85)	12.4±2.95 (12.3±2.84)	11.1±3.94 (8.9±5.47)	11.6±3.99 (11.4±3.91)
	E.	12.2±1.88 (11.8±2.57)	9.1±3.26 ^{***} _{○○○} (8.8±3.37) ^{***} _{○○○}	9.9±2.89 ^{**○} _{○○○} (9.4±3.08) ^{**○} _{○○○}	6.7±3.39 ^{**○} _{○○○} (5.0±4.26) _{○○○}	6.9±2.60 ^{**○} _{○○○} (4.6±3.75) ^{***} _{○○○}

○ : Each litter size was compared with it at the first delivery.
 ○ : 0.01 < p < 0.05, ○○ : 0.001 < p < 0.01, ○○○ : p < 0.001

ものは36例中36例(100.0%), 3産次は, 対照区21例(95.5%), 摘出区26例(72.2%), 4産次は, 対照区17例(77.3%), 摘出区17例(47.2%), 5産次は, 対照区11例(50.0%), 摘出区2例(5.6%)であつた.

非哺乳群において初産次に正常な分娩を経過して2産次以降の実験に用いたマウスは, 対照区17例, 摘出区43例, 2産次を経過したマウスは, 対照区17例中16例(94.1%), 摘出区の片側卵巣摘出後, 初回の分娩を経過したものは43例中42例(97.7%), 3産次は, 対照区15例(88.2%), 摘出区40例(93.0%), 4産次は, 対照区9例(52.9%), 摘出区32例(74.4%), 5産次は, 対照区7例(41.2%), 摘出区24例(55.8%)であつた.

このように, 各産次を経過するマウスの割合は産次回数経過とともに減少することが認められた. とくに哺乳群においては, 摘出区で3産次以降5産次まで有意な低下が認められ, 5産次を経過したマウスは36例中わずか2例(5.6%)が分娩したにすぎなかつた. また, 非哺乳群においては哺乳群とは逆に対照区が幾分低い結果であつた.

(2) 産子数および生存産子数と産次回数との関係

哺乳群および非哺乳群の正常および片側卵巣摘出マウスの各産次における産子数および生存産子数は Table 2 に示す通りである.

産子数(生存産子数)は, 哺乳群において, 1産次は, 対照区平均12.1匹(平均12.1匹), 摘出区平均11.7匹(平均11.3匹), 2産次は, 対照区平均13.3匹(平均13.1匹), 摘出区平均8.4匹(平均8.3匹), 3産次は, 対照区平均11.7匹(平均11.2匹), 摘出区平均9.2匹(平均8.7匹), 4産次は, 対照区平均11.8匹(平均11.0匹), 摘出区平均8.1匹(平均6.7匹), 5産次は, 対照区平均10.4匹(平均9.2匹), 摘出区平均2.5匹(平均2.5匹)であつた.

非哺乳群において, 1産次は, 対照区平均11.9匹(平

均11.8匹), 摘出区平均12.2匹(平均11.8匹), 2産次は, 対照区平均12.5匹(平均12.4匹), 摘出区平均9.1匹(平均8.8匹), 3産次は, 対照区平均12.4匹(平均12.3匹), 摘出区平均9.9匹(平均9.4匹), 4産次は, 対照区平均11.1匹(平均8.9匹), 摘出区平均6.7匹(平均5.0匹), 5産次は, 対照区平均11.6匹(平均11.4匹), 摘出区平均6.9匹(平均4.6匹)であつた.

つぎに, 1産次における産子数および生存産子数に対する2産次以降の産子数および生存産子数の割合は Fig. 1, 2 に示す通りである.

産子数(生存産子数)は, 哺乳群において, 2産次は, 対照区109.9%(108.3%), 摘出区71.8%(73.5%), 3産次は, 対照区96.7%(92.6%), 摘出区78.6%(77.0%), 4産次は, 対照区97.5%(90.9%), 摘出区69.2%(59.3%), 5産次では, 対照区86.0%(76.0%), 摘出区21.4%(22.1%)であり, 非哺乳群においては, 2産次は, 対照区105.0%(105.1%), 摘出区74.6%(74.6%), 3産次は, 対照区104.2%(104.2%), 摘出区81.1%(79.7%), 4産次は, 対照区93.3%(75.4%), 摘出区54.9%(42.4%),

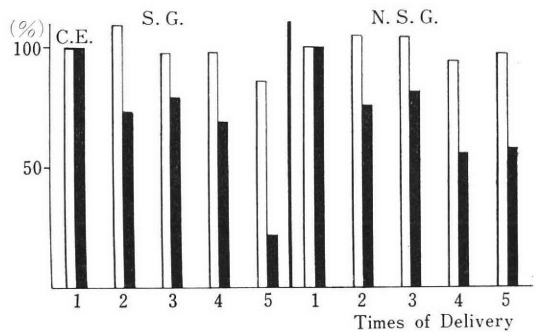


Fig. 1 Relationship between the Incidence of Litter Size and the Times of Delivery.

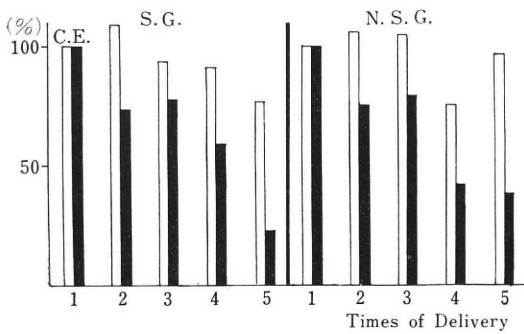


Fig. 2 Relationship between the Incidence of Living Litter Size and the Times of Delivery.

5産次では、対照区97.5%(96.6%)、摘出区56.6%(39.0%)であつた。産子数は、1産次において各マウスとも差は認められないが、両群の正常マウスにおいては、2産次では産子数は増加し、その後わずかに低下することが認められた。一方、片側卵巣摘出マウスにおいては、1産次の産子数に比較して2産次以降5産次までの産子数は有意に低下することが認められた。また、生存産子数においても同様に低下する傾向が認められた。また、各産次における産子数を、片側卵巣摘出マウスと正常マウスを比較すると、哺乳、非哺乳の両群とも片側卵巣摘出マウスが有意に低いことが認められ、さらに生存産子数は、哺乳群の3産次および非哺乳群の4産次を除いては片側卵巣摘出マウスが有意に低いことが認められた。

このように、産子数および生存産子数は、正常マウスより片側卵巣摘出マウスが2産次以降早期に低下してゆくことが認められた。

(3) 産次回数と食殺例数の関係

各産次において分娩産子を1匹でも食殺した親マウスの例数を、哺乳群および非哺乳群における正常および片側卵巣摘出マウスについて比較すると Table 3 に示す通りである。

哺乳群においては、1産次は対照区22例中1例が分娩産子を食殺し、摘出区36例中3例、2産次は対照区で2

産次に至つた22例中2例、摘出区36例中4例、3産次は、対照区21例中2例、摘出区26例中6例、4産次は、対照区17例中3例、摘出区17例中8例、5産次は対照区11例中5例、摘出区2例中0例の親マウスが分娩産子を食殺した。また、非哺乳群においては、1産次の対照区17例中1例、摘出区43例中4例、2産次は、対照区16例中1例、摘出区42例中7例、3産次は、対照区15例中2例、摘出区40例中11例、4産次は、対照区9例中5例、摘出区32例中17例、5産次は、対照区7例中1例、摘出区24例中16例の親マウスに分娩産子の食殺が認められた。

このように、各産次において分娩産子を1匹でも食殺した親マウスの割合は、各区とも産次の経過と共に増加することが認められ、また、その食殺する割合は両群とも片側卵巣摘出マウスに高い傾向がみられ、とくに、非哺乳群の5産次では有意な差が認められた。また、1産次における食殺例数に対して2産次以降各産次の食殺例数を比較すると、哺乳群の対照区では5産次、摘出区では4産次、非哺乳群の対照区では4産次、摘出区では3産次以降5産次まで各区の1産次よりも有意に高い食殺例が認められた。

このように、分娩産子を食殺する親マウスの割合は、産次回数の経過に伴つて増加し、片側卵巣摘出マウスは正常マウスより食殺が多いことが認められた。また、哺乳群と非哺乳群を比較すると、非哺乳群に食殺が多く、とくに5産次の摘出区では66.7%の親マウスに分娩産子の食殺が認められた。

(4) 実験終了時における排卵数、卵巣および子宮重量の比較

4産次以上を経過したマウスの排卵数、卵巣重量および子宮重量を比較すると Table 4 に示す通りである。なお、マウスは4産次または5産次の産子を分娩または離乳後10日以降に交配し膣栓を確認したマウスについて順次と殺開腹して観察した。

i) 排卵数

排卵数の哺乳群の正常マウスの左側より排卵された卵子数は平均7.2個、右側からの排卵数は平均7.8個であ

Table 3 Comparison of the Number of Mothers killed even one Offspring at each Time of Delivery. (%)

Delivery		1st	2nd	3rd	4th	5th
Experi- ment group						
S.G.	C.	1/22(4.6)	2/22(9.1)	2/21(9.5)	3/17(17.7)	5/11(45.5) _{oo}
	E.	3/36(8.3)	4/36(11.1)	6/26(23.1)	8/17(47.1) _{oo}	0/ 2(0.0)
N.S.G.	C.	1/17(5.9)	1/16(6.3)	2/15(13.3)	5/ 9(55.6) _{oo}	1/ 7(14.3)
	E.	4/43(9.3)	7/42(16.7)	11/40(27.5) _o	17/32(53.1) _{ooo}	16/24(66.7) _{ooo}

Table 4 Comparison of the Number of Ova, Ovarian and Uterine Weight in the Mice passed over the 4th Delivery.

Experi- ment group		No. of Ova		Ovarian Weight (mg)		Uterine Weight (mg)	
		Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD
		L.	R.	L.	R.	L.	R.
S.G.	C.	7.2±2.58	7.8±2.51	10.9±1.83	9.8±2.31	120.2±38.37	135.1±102.23
	E.	11.7±2.95	13.2±3.27	77.2±17.33	147.0± 47.11
N.S.G.	C.	7.0±3.56	7.0±2.71	10.4±2.69	12.2±2.42	137.9±37.24	146.7± 77.90
	E.	12.1±2.72	15.6±2.65	89.1±32.23	186.0±118.99

L.: left side, R.: right side

り、片側卵巣摘出マウスの残存卵巣からの排卵数は平均11.7個であつた。非哺乳群の正常マウスの左側からの排卵数は平均7.0個、右側からの排卵数は平均7.0個であり、片側卵巣摘出マウスの残存卵巣からの排卵数は平均12.1個であつた。

このように、正常マウスの右側からの排卵数と片側卵巣摘出マウスの右側の残存卵巣からの排卵数とを比較すると、片側卵巣摘出マウスの右側残存卵巣からの排卵数が有意 ($P < 0.001$) に高い値を示し、正常マウスの右側からの排卵数に対する排卵数は、哺乳群で1.5倍、非哺乳群では1.7倍であり、また、4産以上を経過しても同様な代償性排卵が認められた。

ii) 卵巣重量

卵巣重量は、哺乳群の正常マウスの左側卵巣で平均10.9mg、右側卵巣で平均9.8mg、片側卵巣摘出マウスの残存卵巣は平均13.2mgであつた。非哺乳群においては、正常マウスの左側卵巣で平均10.4mg、右側卵巣で平均12.2mg、片側卵巣摘出マウスの残存卵巣は平均15.6mgであつた。

このように、右側の残存卵巣重量は、正常マウスの右側卵巣より有意 ($0.01 < P < 0.05$) に重く、また、哺乳群および非哺乳群の残存卵巣の重量は正常マウスの右側卵巣重量の1.3倍であり、片側卵巣摘出マウスの残存卵巣においても代償性の重量増加が認められた。

iii) 子宮重量

子宮重量は、哺乳群の正常マウスの左側子宮で平均120.2mg、右側子宮で平均135.1mgであるが、片側卵巣摘出マウスの左側子宮は平均77.2mg、右側子宮で平均147.0mgであつた。非哺乳群の正常マウスは、左側子宮で平均137.9mg、右側子宮で平均146.7mgであるが、片側卵巣摘出マウスの左側子宮は平均89.1mg、右側子宮は平均186.0mgであつた。このように、正常マウスは左右の子宮の重量が同等であるのに対し、片側卵巣摘出マウスは右側子宮が左側子宮より有意 ($P < 0.001$) に

重く、右側は左側の約2倍の重量であつた。また、妊娠時に胎児が着床していない片側卵巣摘出側の左側子宮重量は、両群とも正常マウスの同側子宮より有意 ($P < 0.001$) に軽い値を示し、また、胎児が着床していた右側の子宮は、正常マウスの同側子宮より重い傾向を示した。なお、正常マウスと片側卵巣摘出マウスの左右合計の子宮重量を比較すると、両群ともに正常マウスの方が重い傾向が認められた。

(5) 実験終了時および不妊マウスにおける剖検所見
正常および片側卵巣摘出マウスの実験終了時および不妊マウスにおける剖検時に認められた生殖器系の異常例はTable 5に示す通りである。

哺乳群においては、対照区22例中4例(18.2%)、摘出区36例中11例(30.6%)に異常が認められた。非哺乳群においては、対照区17例中6例(35.3%)、摘出区43例中16例(37.2%)に異常が認められた。このように、生殖器系の異常例は両群とも摘出区が対照区より多く、また、哺乳群より非哺乳群に多く認められた。異常例の主なものは、卵管閉鎖、胎盤残留、卵巣のう腫であつた。また、原因不明の不妊例は、対照区39例中11例(28.3%)、摘出区79例中27例(32.9%)であつて、片側卵巣を摘出したマウスは正常マウスに比較して生殖器系の異常や不妊例が明らかに多くなることが認められた。

以上のように、産次回数を多く経過することによつて不妊マウスが多くなり、とくに片側卵巣摘出マウスと非哺乳群でその傾向が著しかった。また、産子数および生存産子数は、片側卵巣摘出マウスで正常マウスの約 $1/2$ まで減少すること、またさらに片側卵巣摘出マウスは生殖器系の異常や原因不明の不妊が増加することが認められた。

なお、5産終了時の片側卵巣摘出マウスにおいても残存卵巣の代償性の排卵数の増加および肥大が認められた。

考 察

片側の卵巣を摘出した動物の生殖機能に関する研究は

Table 5 Comparison of the Number of Mice occurred the Abnormality in the Genital Organs in the Mice passed the 5th Delivery or in the Sterile Ones. (%)

	Normal mice		ULO mice	
S.G.	4/22(18.2)		11/36 (30.6)	
	obstruction of oviduct	2	obstruction of oviduct	5
	retention of placenta	2	retention of placenta	2
			ovarian cyst	2
		adhesion of uterus	2	
N.S.G.	6/17 (35.3)		16/43 (37.2)	
	obstruction of oviduct	6	obstruction of oviduct	6
			retention of placenta	3
			ovarian cyst	5
			retention of fetus	2

これまで多数報告¹⁻¹⁷⁾されている。これらの報告は、片側卵巣摘出後の残存卵巣の代償性の肥大、排卵数の増加および内分泌環境の変化、さらに卵子の他側子宮への移行などが報告されている。また、婦人においては片側卵巣摘出後の内分泌環境、生殖能力は、正常婦人と変わらないと報告¹⁸⁾されており、残存卵巣の肥大は通常認められず、摘出後の他側卵管内への卵子の移行は希であると報告されている¹⁹⁾。著者らは、これまでに片側卵巣摘出マウスの生殖機能に関して5系統のマウスを用いて検討した結果、残存卵巣の代償性の発現とマウスの系統によつて代償作用の程度に差があることを報告²⁰⁾し、また、外因性ホルモンに対する感受性についても検討し、片側卵巣摘出マウスは正常マウスに比較して反応が異なることを報告した²¹⁾。さらに今回は、片側卵巣を摘出したマウスが妊娠および分娩を繰返しても正常マウスと同様な繁殖成績が得られるか否か、また、母体や産子にどのような影響をおよぼすかについて、哺乳または非哺乳の条件のもとで検討を試みた。

本実験において、マウスは初産次に正常な分娩および哺乳を行なわせたのち左側卵巣摘出を行ない、2産次以降5産次終了まで観察したが、各産次を経過する例数は、妊娠、分娩を繰返し継続することによつて減少することが認められた。このことに関連して、Biggers(1962)²²⁾らや Jones(1960)²³⁾らは、片側卵巣摘出後のマウスの繁殖能力について検討し、片側の卵巣を摘出したマウスの繁殖能力は正常マウスよりも早期に停止すると報告している。本実験は5産次で実験を終了しているので life span としての繁殖能力が停止するまでの性現象を正確に把握することはできなかったが、片側の卵巣を摘出したマウスは、正常マウスより繁殖能力が低下し、哺乳群

で5産次を経過したマウスはわずか5.6%にすぎず、正常マウスの50.0%に対し非常に少なかった。このように、産次経過例数が正常マウスに比較して片側卵巣摘出マウスに少なかったことは、実験終了時および不妊マウスの剖検によつて異常例が多く認められたように、片側卵巣摘出マウスは正常マウスより早期に生殖機能が低下するものと推察される。また、非哺乳群においては、哺乳群とは逆に幾分正常マウスの方が悪かつたが、これは両群間の経過日齢の相違から来ているものと考えられ、非哺乳群においても、片側卵巣摘出マウスは正常マウスより生殖能力は早期に低下するものと考えられる。

片側卵巣摘出マウスの産子数および生存産子数は、各産次において正常マウスより有意に低下した。この成績は、Biggers(1962)²⁴⁾らの報告と同様であり、片側卵巣摘出マウスは妊娠および胎児が片側子宮のみで維持されるため、片側子宮の過剰負荷により胚特に胎児の死亡が増加するためであろうと報告している。

本実験における実験終了時の片側卵巣摘出マウスの残存卵巣からの排卵数は、正常マウスの同側卵巣からの排卵数よりも有意に高く1.5~1.7倍であり、著者らが先に報告した結果²⁰⁾²¹⁾と良く一致している。このように、排卵数については大きな減少は認められないが、産子数が有意に減少することは卵子の着床時および着床後の胚、胎児の消失および吸収が大きいことによるものであり、また、剖検結果においても、片側卵巣摘出マウスの胎盤、胎児および子宮などに異常が多いことから推察される。

マウスの老齢化と内分泌環境に関して、一戸(1972)²⁵⁾らは、C₅₇BL/6J系マウスを用いて脾臓に卵巣を移植する実験を行なつた結果、life span に達する老齢マウスであつても、間脳一下垂体系には排卵を誘起するのに足る

充分な gonadotropin の分泌機能が保持されており、また、negative feedback に対する感受性は成熟マウスと変わらないと報告し、また、卵巣の組織像も片側卵巣摘出マウスと正常マウスとの間には差は認められず、残存卵巣内の卵細胞数は正常マウスと同様であると報告²³⁾している。これらのことから、本実験においても片側卵巣摘出マウスは、その内分泌環境の変化に伴う negative feedback 機構は保たれており、その結果、gonadotropin の分泌増加により残存卵巣からの排卵数は正常マウスの片側卵巣からの排卵数よりも増加しているものと考えられる。

子宮重量は、片側卵巣摘出マウスの残存卵巣側子宮が摘出側と比較して有意に高い値を示し、また、片側卵巣摘出側の子宮と正常マウスの同側を比較すると正常マウスが有意に高い値を示した。このことから、片側卵巣摘出マウスの残存卵巣側の子宮には過剰な負荷がかかっているものと考えられる。このことに関して Biggers (1962)²²⁾らが組織学的に検索した結果、片側卵巣摘出マウスは子宮内膜および筋層の肥厚、筋層間の血管の肥大を認めており、また、正常マウスの両側子宮に鉄イオンの沈着反応が認められるのに対し、片側卵巣摘出マウスは、残存卵巣側の子宮の鉄イオンの沈着反応が摘出側の子宮よりも高密度に認められたと報告しており、このことから片側子宮の負荷が過剰になっていると考えられる。従ってこれらのことが片側卵巣摘出マウスの産子数の減少、更には、繁殖能力の早期停止、不妊などの一因になっているものと考えられる。また、子宮の負荷が増大すると分娩時の負担も増大し、胎児残留、胎盤残留などの分娩異常が起るものと推察され、同時に分娩産子の食殺が多くなつてゆくものと考えられる。

産子数は、正常マウスで初産次の産子数よりも2産次が増加するのに対し、片側卵巣摘出マウスでは2産次以降明らかに減少し、片側卵巣摘出マウスは正常マウスの約 $\frac{1}{2}$ まで減少すると報告²²⁻²⁴⁾されている結果と同様の傾向が認められた。

残存卵巣重量は、片側卵巣摘出後の gonadotropin 分泌の増加⁹⁾¹²⁾¹³⁾に伴う卵胞、黄体の増加によって重量増加が認められるものと考えられ、排卵数も正常マウスに近いことから、残存卵巣の代償作用は充分に行われているものと考えられる。

このように、片側卵巣摘出マウスは、正常マウスに近い排卵数が得られるにもかかわらず、産子数の減少、生殖器系の異常および分娩異常などが多く認められたことは、マウスのような多胎性の動物では、片側卵巣摘出による内分泌環境の変化よりも、子宮および母体の過剰負荷による影響がより大きいものと考えられる。

また、哺乳と非哺乳との問題は、哺乳群の正常マウスにおいて、産次経過例数の減少が少なく、また、産子の食殺率も低く、さらに、剖検時の異常例も少ないことなどから、子宮の時間的あるいは内分泌環境の面からも産褥時の生理的経過である授乳を防げることが母体に何らかの影響を与えているものと考えられる。また、実験終了時の子宮重量も、哺乳群より非哺乳群の子宮重量が重い傾向が認められたが、これは非哺乳群では子宮が完全に復故されないうちに次回の妊娠に移行していたことが推察される。

以上のように、片側の卵巣を摘出したマウスにおける性現象は、残存卵巣に代償性機能の発現がみられること、また、その代償性機能は系統によつて差があること、さらに、残存卵巣の gonadotropin に対する感受性は正常マウスとは異なつていることなどが観察されたが、今回は、妊娠、分娩を繰返して初産から5産次までの分娩経過について検討した結果、片側卵巣のマウスは、正常マウスに比べて、生殖機能はより早期に低下してゆくことが観察され、正常マウスと同様な生殖能力を維持継続することはできないものと考えられる。

要 約

片側の卵巣を摘出したマウスが産次を経過しても正常マウスと同様の繁殖成績が得られるか否かを検討する目的で、哺乳または非哺乳の条件のもとに5産次までの産次経過例数、産子数、食殺例数およびと殺開腹時の剖検所見等について比較検討した。

1) 各産次の経過例数は、いずれの群においても産次回数を経過するごとに減少し、とくに哺乳群の摘出区では5産まで出産を継続できたものは5.6%にすぎなかつた。

2) 産子数および生存産子数は、摘出区において2産次以降明らかに低下することが認められた。

3) 食殺例数は、いずれの群においても産次回数の経過と共に増加し、とくに摘出区および非哺乳群において著しかった。

4) 実験終了時および不妊マウスの排卵数、卵巣重量は、いずれの群においても正常マウスの右側と比較すると有意に高く、また、左右合計と比較すると有意に低かつた。子宮重量は、摘出区の左側が、右側および正常マウスの同側と比較して有意に低かつた。

5) 剖検時に認められた異常例は、哺乳群の対照区で18.2%、摘出区で30.6%、非哺乳群の対照区で35.3%、摘出区で37.2%であり、その主なものは卵管閉鎖、卵巣のう腫、胎児残留および胎盤残留などであつた。

以上のことから、片側の卵巣を摘出したマウスは正常マ

ウスと同様に、妊娠、分娩現象を生涯通して維持継続することはできないものと考えられる。

本論文の要旨は、第19回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Carmichael, E. S. and Marshall, F. H. A. : On the Occurrence of Compensatory Hypertrophy in the Ovary, *J. Physiol.*, 36 : 431, 1908.
- 2) Arai, H. : On the Cause of the Hypertrophy of the Surviving Ovary after Semispaying (albino rat) and on the Number of ova in it, *Am. J. Anat.*, 28(1) : 59, 1920.
- 3) Greenwald, G. S. : The Effects of Unilateral Ovariectomy on Follicular Maturation in the Hamster, *Endocrinology*, 66 : 89, 1960.
- 4) Greenwald, G. S. : Quantitative Study of Follicular Development in the Ovary of the Intact or Unilaterally Ovariectomized Hamster, *J. Reprod. Fertil.*, 2 : 351, 1961.
- 5) 豊田裕 : ラットにおける排卵数の決定機構に関する研究 II. 片側卵巣摘出後の排卵数について, *家畜繁殖研究会誌*, 8(1) : 4, 1962.
- 6) McLaren, A. : Mechanism of ovarian compensation following unilateral ovariectomy in mice, *J. Reprod. Fertil.*, 6 : 321, 1963(b).
- 7) 佐久間勇次, 石島芳郎, 石田一夫 : 片側の卵巣と他側の生殖管を摘出した家兎における卵子の腹腔内移行および妊娠・分娩に関する研究, *家畜繁殖研究会誌*, 10(3) : 69, 1964.
- 8) Edgren, R. A., Parlow, A. F., Peterson, D. L. and Jones, R. C. : On the Mechanism of Ovarian Hypertrophy Following Hemicastration in Rats, *Endocrinology*, 76 : 97, 1965.
- 9) McLaren, A. : Regulation of ovulation rate after removal of one ovary in mice, *Proc. Soc. exp. Biol.*, B116/1004 : 316, 1966.
- 10) Grady, K. L. and Greenwald, G. S. : Studies on Interactions between the Ovary and Pituitary Follicle-Stimulating Hormone in the Golden Hamster, *J. Endocr.*, 40 : 85, 1968.
- 11) 佐久間勇次, 石島芳郎 : 片側卵巣と他側卵管摘出家兎における卵子の腹腔内移行の実験的研究, *家畜繁殖研究会誌*, 14(1) : 17, 1968.
- 12) Benson, B., Sorrentino, S. and Evans, J. S. : Increase in Serum FSH Following Unilateral Ovariectomy in the Rat, *Endocrinology*, 84 : 369, 1969.
- 13) Welschen, R. : Compensatory Ovarian Growth and Compensatory Ovulation after Unilateral Ovariectomy in Rats with an Ovarian Autograft in the Region of the Portal Vein, *Acta Endocr.*, 65 : 509, 1970.
- 14) Gerall, A. A. and Dunlap, J. L. : Evidence that the Ovaries of the Neonatal Rat secrete Active Substances, *J. Endocr.*, 50 : 529, 1971.
- 15) Peters, H. and Braathen, B. : The Effect of Unilateral Ovariectomy in the Neonatal Mouse on Follicular Development, *J. Endocr.*, 56 : 85, 1973.
- 16) 石島芳郎, 下村孝英, 平林忠 : ラット卵子の子宮内転移に関する研究 I. 農学集報, 12(3, 4) : 79, 1968.
- 17) 青木ひかる, 石島芳郎, 平林忠 : ゴールデンハムスター卵子の子宮内転移の実験的研究, *農学集報*, 18(3, 4) : 211, 1974.
- 18) 赤山紀昭, 金丸英彦, 成川守彦, 勝信昭, 馬淵義也, 一戸喜兵衛 : 1 側卵巣と生殖機能, 第18回日本不妊学会総会講演録集, 1973.
- 19) Speert, H., Warner, N. A. S. H., and Kaplan, A. L. : Tubal Pregnancy Some Observations on External Migration of the Ovum and Compensatory Hypertrophy of the Residual Ovary, *Obstet. Gynec.*, 7(3) : 322, 1956.
- 20) 遠藤克, 栃木明人, 西川漢八, 佐久間勇次 : 片側卵巣摘出マウスにおける卵子の着床と妊娠に関する研究—I 一系統差について—, *日不妊会誌*, 20(2) : 63, 1975.
- 21) 遠藤克, 栃木明人, 西川漢八, 佐久間勇次 : 片側卵巣摘出マウスにおける卵子の着床と妊娠に関する研究—II 一過排卵反応について—, *日不妊会誌*, 20(3) : 84, 1975.
- 22) Biggers, J. D., Finn, C. A. and McLaren, A. : Long-Term Reproductive Performance of Female Mice I. Effect of Removing one Ovary, *J. Reprod. Fertil.*, 3 : 303, 1962.
- 23) Jones, E. C. and Krohn, P. L. : The Effect of Unilateral Ovariectomy on the Reproductive Lifespan of Mice, *J. Endocrin.*, 20 : 129, 1960.
- 24) Biggers, J. D., Finn, C. A. and McLaren, A. : Long-Term Reproductive Performance of Female Mice II. Variation of Litter Size with Parity, *J. Reprod. Fertil.*, 3 : 313, 1962.
- 25) 一戸喜兵衛, 横田栄夫, 出口信幸, 小倉和子 : 高齢動物における卵巣脾内移植, 第17回日本不妊学会学術講演集, 1972.

Studies on the Implantation of Ova
and the Pregnancy in the Uni-
laterally Ovariectomized
Mice—III.

—Reproductive Life Span—

**Tuyoshi Endo, Meijin Tochigi and
Shinhachi Nishikawa**

(Dept. of Public Health, School of
Medicine, Nihon University)

Yuzi Sakuma

(Lab. of Animal Physiology, College of
Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University)

Present study was one part of series about the reproductive faculty in the unilaterally ovariectomized (ULO) mice and made to investigate whether, in ovulation, implantation and pregnancy, the ULO mice showed the similar reproduction, which the intact mice gave, through their reproductive life span.

This experiment was included two groups, one was S.G. (Suckling period after delivery was for 21 days.) and another was N.S.G. (Suckling was not allowed even a day.). An observation was made until these mice passed the 5th delivery and was made about the number of mothers passed each delivery, the litter size, the number of mothers killed even one offspring at each delivery, the macroscopic abnormality in genital organs and the number of ova, ovarian weight, uterine weight in the mice passed the scheduled times of delivery.

Results obtained as follows:

The number of mothers passed each delivery decreased as the times of delivery went by in

these two groups, in particular the tendency in the ULO mice in the S.G. was the strongest and the number of mothers passed the 5th delivery was 2 out of 36 (5.6%).

The litter size and the living litter after the 2nd delivery in the ULO mice were less than those given by the intact mice in each group and, in the comparison, there was statistically significant difference.

The number of mothers killed even one offspring at each delivery increased as the times of delivery went by in all mice, particularly the tendency in the ULO mice in the N.S.G. was the most remarkable and the number at the 5th delivery was 16 out of 24 (66.7%).

The number of ovulated ova and the ovarian weight in the ULO mice passed the schedule were statistically predominant as compared with those of the right side (reidsual side in the ULO mice) in the intact mice in each two groups. However, as compared with the total of the both side in the intact mice, the ULO mice was inferior to the intact mice.

The uterine weight of the side received unilateral ovariectomy (left side) was statistically inferior to that of the right side in the ULO mice and in the intact mice, and the left side in the intact mice.

The abnormality in the genital organs in the mice passed the scheduled times of delivery and in the sterile mice was found many in the ULO mice and those were obstruction of oviduct, ovarian cyst, retention of fetus, that of placenta and so on.

From the results mentioned above, we conclude that the unilaterally ovariectomized mice can not keep the similar reproductive faculty such ovulation, implantaion, pregnancy and delivery, as shown by the intact mice through their reproductive life span.

当科不妊外来における妊娠例の検討

Successful Case studies of Pregnancy in Our Clinic of Infertility

千葉大学産科婦人科学教室

高野 昇 清水 三郎 高見 沢 裕吉
Noboru TAKANO Saburo SIMIZU Hiroyoshi TAKAMIZAWA

Department of Obstetrics and Gynecology Chiba University School of Medicine
(Director: Prof Hiroyoshi Takamizawa)

昭和47, 48年の2年間に当科外来を不妊を主訴として来院した1081例の中152例14.1%に妊娠の成立をみた。この152例の検査, 治療ならびに妊娠成立後の転帰について調査検討した。

不妊症検査中, とくに H.S.G について検討した結果, 妊娠しやすい型のあることが認められた。

治療面については, H.S.G, 通気が診断のみならず治療効果のあることが再確認出来た。また最近排卵誘発剤の進歩により, ホルモン剤投与によると思われた妊娠例は96例63.1%と高率に認められた。この中とくにクロミフェンが効果的であつた。これに反し男性側因子としての精子減少症の妊娠例少く, 予後不良で, 今後この対策に再検討の必要があろう。

妊娠成立後の転帰は, 正常分娩79例52.0%流産39例25.6%で, 流産例が比較的多く認められた。これは無排卵患者の妊娠例に子宮發育不全型が多くみられたためと考えられる。

はじめに

不妊を主訴として来院するもの年々増加の傾向がみられている。これに対して, 検査あるいは治療面に検討が加えられ, 改良進歩してはいるが期待するほど妊娠成功率の上昇がみられていない。実際問題として, 不妊症治療の究極の目的は単に卵管疎通性の回復, あるいは排卵の誘発でなく, 妊娠を成立させ満期分娩によつて正常な児を得ることにある。この様な意味でとくに不妊外来における妊娠例を retrospective に分析して, その実態を把握し, 今後の不妊症診断, 治療指針の一助にするために検討を加えてみた。

I 対象ならびに研究方法

最近2年間(昭和47, 48年)に当科を不妊を主訴として来院したものは1081例で, この中152例14.1%に妊娠が認められた。この152の妊娠例について, 不妊症診断, 治療ならびに妊娠成立後の経過について調査検討した。なお他の施設で取り扱われた妊娠成立後の経過についてはアンケート調査で追究を行なつた。

妊娠成立前に routine に行なわれた諸検査の中, とくに子宮卵管造影法(H.S.G)を中心として妊孕性との関連について検討を行つた。H.S.G については最近超高感度増感紙(New SS)の採用と高電圧(前後像, 125 KVP, 160mA, 0.02秒, 側面像, 125KVP, 160mA 0.2秒)とにより被爆線量を一枚撮影につき, 従来の方法の約 $\frac{1}{4}$ に減少させることができるようになったことから, 次のような方法で撮影を行つた。

- ① 造影剤注入開始5秒後(造影剤5ccまで)撮影, 写真(1)
- ② 造影剤注入開始40~50秒後(造影剤9~10cc)撮影, 写真(2)
- ③ 側面像(右→左), 写真(3)
- ④ 造影剤注入終了5分後撮影, 写真(4)

(註: 水性造影剤使用)

以上の4枚撮影法を実施することによつて従来軽視されがちであつた機能面での観察の不備を補つた。

なお H.S.G 像については, 子宮腔の異常, 子宮角, 卵管走行方向, 卵管走行形態, 拡散像の程度について分析を行つた。子宮角は Schneider の分類図(1)によ

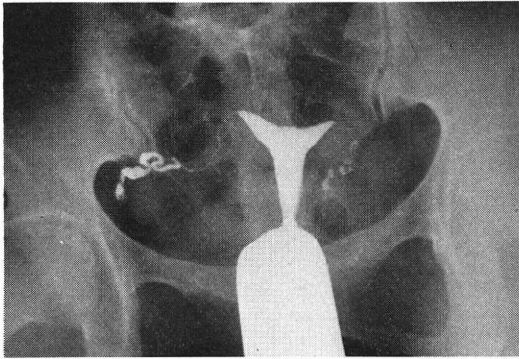


写真 (1) 造影剤注入開始 5 秒後像

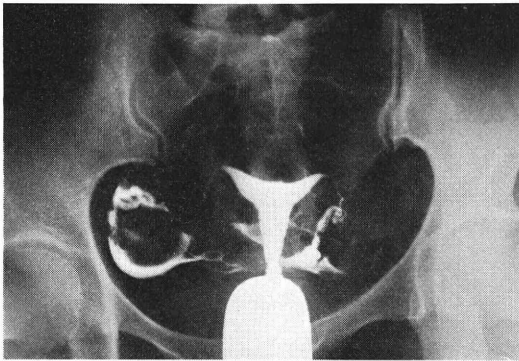


写真 (2) 造影剤注入開始 40~50 秒後像

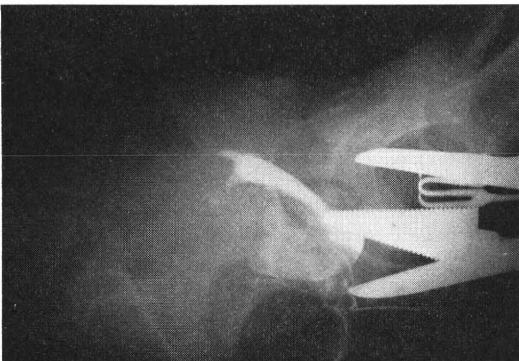


写真 (3) 側面像

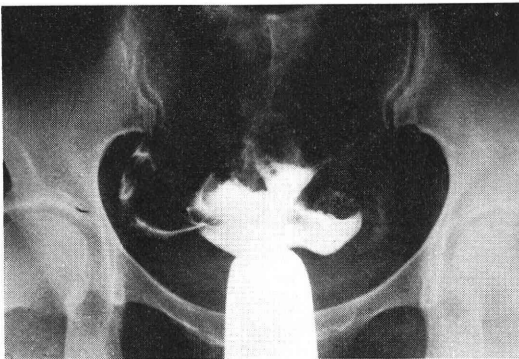


写真 (4) 造影剤注入終了 5 分後像

図 (1) 子宮角の形状 (Schneider)

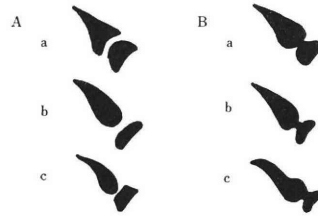


図 (2) 卵管走行方向

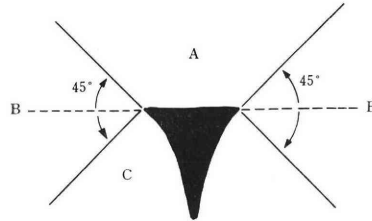
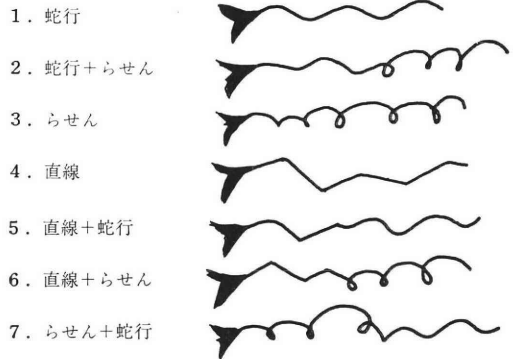


図 (3) 卵管走行形態



り、卵管走行方向については図(2)のように子宮底を左右に延長し子宮角で上方、下方各々45°方向に線を引き、その間をBとし、それより上方をA、下方をCと区画して卵管走行を分類した。走行形態については図(3)のように、やわらかい曲線を描くもの、らせん、直線の3つの型をいろいろ組合せ分類し、拡散像についてはA著明、Bやや著明、C著明ならぬの3つに分類検討を行った。

治療別妊娠例の検討には、最も有効と考えられたものについて分類し、精液異常例については精子濃度 $40 \times 10^6/cc$ 以下を精子減少症とし、 $30 \times 10^6/cc$ 以下のものについてはAIHを施行するのを原則とした。

II 調査成績

(1) 妊娠成立頻度

表 1 妊娠成立後の経過

		原発不妊	続発不妊
正常分娩	79(52.0%)	54(51.9%)	25(52.1%)
帝王切開	7(4.6%)	5(4.8%)	2(4.1%)
早・死産	7(4.6%)	4(3.8%)	3(6.2%)
流産	39(25.6%)	23(22.1%)	16(33.3%)
外妊	1(0.6%)	0	1(2.1%)
奇胎	0	0	0
不明	19(12.5%)	18(17.3%)	1(2.1%)
計	152	104	48

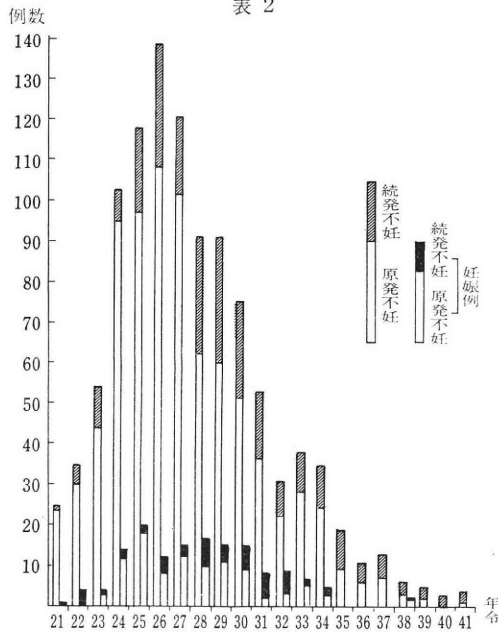
新生児（早産・多胎を除く）

86例 男 44例 女 42例
 平均体重 3174.0g 3168.4g

表 3 妊娠成立までの通院時間

期 間	例 数
1～3ヵ月	5
4～6ヵ月	16
7～9ヵ月	13
10～12ヵ月	34
～2年	48(31.5%)
～3年	23(15.1%)
～4年	6(3.9%)
～5年	2(1.3%)
～6年	4(2.6%)
～7年	1(0.6%)
計	152

表 2



昭和47年、48年度、当科を不妊を主訴として来院したもの1081例で、外来総数10816例の9.9%を占め、この1081例中152例14.1%に妊娠の成立を認めた。152例中原発不妊は104例68.4%で、続発不妊は48例31.6%であった。

(2) 妊娠成立後の経過

妊娠後の経過は表(1)の如くで152例中79例52.0%が正常経過を示し、流産が39例25.6%と比較的多く認められた。異常妊娠は子宮外妊娠が1例認められたにすぎなかった。新生児についてはとくに異常を認めなかった。

(3) 年齢分布

妊娠例の初診時年齢分布は表(2)のように25歳にピークがみられ、30歳までが約8割を占め、35歳以上では

わずか2例1.3%にすぎない。

(4) 不妊期間ならびに妊娠成立までの期間

不妊患者の中で不妊期間の最高は15年であるが、妊娠例の最高は13年で妊娠例と不妊期との間にはとくに関係なく、長期不妊例にも妊娠例が認められている。しかし初診から妊娠成立までの期間については表(3)のように1年以内に妊娠成立したもの68例44.7%とほぼ半数に近かった。6年あるいは7年の長期通院後妊娠をみたものが少数ではあるが認められている。

(5) 既往歴

この2年間に卵管閉塞症は1081例中121例11.2%にみられている。この閉塞症例中これを誘発したと思われるような既往歴の中で、とくに開腹手術を受けた経験のあるものが55例45.5%と多く、予後不良といわれている結核に関する既往は21例17.4%とまだ大きな因子となっている。妊娠例152例の既往歴には開腹経験者は13例8.6%とすくなく、13例とも虫垂切除例であった。結核の既往をもつものは1例も認められなかった。

(6) 治療別妊娠成功例

検査および治療と妊娠例との関係は表(4)の如くである。今回の調査は検査後3ヵ月前後までに妊娠したものに限ったが、H.S.G、通気、通水治療後の妊娠例は21例13.7%であった。筋腫核手術、内膜搔爬後に妊娠したものがそれぞれ1例づつみられた。

ホルモン療法によると思われた妊娠例は96例63.1%と高率にみられた。この中とくにクロミフェンによるものが49例32.2%と多かった。

男性側因子として精液異常は比較的多く、極度の質の低下したものについてはAIHによらざるを得ないが、この期間中のAIHは36例で妊娠成功例2例5.0%、AIDは5例中2例40%に妊娠の成立をみている。30×10⁶/cc～40×10⁶/ccのものについては適切な指導のもとに経過観

表 4 治療別妊娠成功例

治療別	例数	原発不妊	続発不妊
HSG 後	15(9.8)	6(5.7)	9(18.7)
通気・通水後	6(3.9)	3(2.8)	3(6.2)
卵管・卵巣手術	3(1.9)	2(1.9)	1(2.0)
計	24(15.7)	11(10.5)	13(27.0)
子宮内膜試験掻爬 筋腫核出術	1(0.6) 2(1.2)		1(2.0) 1(2.0)
計	3(1.8)	1(0.9)	2(4.0)
Kaufmann	2(1.3)	2(1.9)	
HMG+HCG	6(3.9)	5(4.8)	1(2.0)
PMS+HCG	6(3.9)	3(2.8)	3(6.2)
Clomid	49(32.2)	35(33.6)	14(29.1)
Sexovid	8(5.2)	6(5.7)	2(4.1)
Epimestrol	19(12.5)	10(9.6)	9(18.7)
HCG	4(2.6)	3(2.8)	1(2.0)
その他	2(1.3)	2(1.9)	
計	96(63.1)	66(63.4)	30(62.5)
AIH	2(1.3)	2(1.9)	
AID	2(1.3)	2(1.9)	
指導(精子減少症)	16(10.5)	16(15.3)	
計	20(13.1)	20(19.2)	
検査中	9(5.9)	6(5.7)	3(6.2)
計	152	104(68.4)	48(31.6)

察中, 16例10.5%の妊娠がみられた。

(7) 妊娠例の検査成績

不妊外来で行われる系統的検査の中で, とくに B.B.T, H.S.G, 精液検査について検討した。

(i) B.B.T

152例の妊娠例中明らかに 排卵障害によると思われた

もので, ホルモン療法によって妊娠した症例は152例中 96例63.1%と妊娠例の約6割を占めているが, これら症例の B.B.T は松本の分類によるⅢ, Ⅳ, Ⅴ型に属するものがほとんどでⅡ型に属するものは3例3.1%にすぎなかった。ホルモン治療以外での妊娠例56例の中Ⅰ, Ⅱ型を示したものは51例91.1%でⅢ型は5例8.9%であった。

(ii) 精液検査

この期間中に精液検査し得たものは161例で, 精子濃度 $40 \times 10^6/cc$ 以下の者は98例59.0%で, $10 \times 10^6/cc$ 以下のものには妊娠例が認められなかった。AIH 施行例は36例で, $11 \sim 20 \times 10^6/cc$, $21 \sim 30 \times 10^6/cc$ のそれぞれ1例計2例5.6%の成功のみであった。AID については精液提供者の選択に苦慮しているが5例施行し2例40%の成功をみている。

(iii) H.S.G

不妊症検査中, 現在 routine work として欠かすことなく, 最も多く用いられている H.S.G について, とくに詳細に観察を行ってみた。

(イ) 子宮腔陰影

妊娠例152例中143例に H.S.G が行なわれたが表(5)の如く139例97.2%がほぼ正常陰影を示し, 著明な変形あるいは奇形を示したものは4例2.8%にすぎなかった。この4例は全例とも流産した。

(ロ) 子宮角

子宮角の陰影については表(6)のようにA型にやや妊娠例少なく10%前後で, B型に約15%, Buldge のないものに21%に妊娠例がみられ, 多少の差が認められたが, どの型が妊娠しやすいかは不明であった。

(ハ) 卵管走行方向

表(7)の如く, B区域を走行するもの723例の H.S.G 像中302例41.8%と多く, 妊娠例では73.8%と高率にこのB区域のみの走行を示した。他の区域のものに妊娠例少なく, とくに2区域にまたがるものに妊娠例が少ない

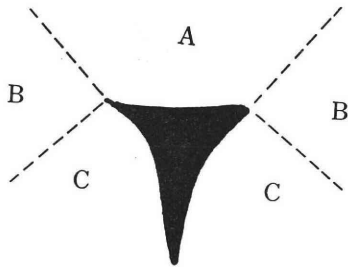
表 5 子宮腔像と妊娠

		症 例 数		妊 娠 例		妊 娠 / 症 例	
正 常		240(29.6%)		65(45.5%)		27.1%	
軽 度 変 化		457(56.2%)		74(51.7%)		16.2%	
変 形 著 明	萎 縮 筋 腫 内 腔 癒 着 奇 形	95(11.6%)	7(0.8%)	4(2.8%)	2(1.4%)	4.2%	2.7%
			73(8.9%)				
			4(0.5%)				
			1(1.4%)				
子 宮 像 不 明		23(2.8%)					
計		814		143(100%)		17.5%	

表 6
子宮角 (Schneider)

Type	例数	%	妊娠	妊娠/例数	
A	a	98	15.3%	13	13.2%
	b	91	14.3	7	7.6%
	c	44	6.9	7	15.9%
	233	36.5	27	11.6%	
B	a	121	18.9	18	14.8%
	b	158	24.8	22	13.9%
	c	125	19.6	19	15.2%
	404	63.4	59	14.6%	
なし	303		66	21.8%	

表 7 卵管走行方向の分類



723例

左右	A→	A→B	B→	B→A	B→C	C→	C→B	なし
←A	20		39		1	8		8
B←A		2						
←B	47		302	21	28	39	6	26
A←B	2		14	8	8	2		
C←B	3		12		6			
←C	8		28	4	2	32	4	1
B←C						4		
なし	4		24		4	6		

妊娠例 (142)

重複率 1.37 計 195

傾向がみられた。2 区域にまたがる走行を示したものに、卵巣腫瘍、子宮内膜症あるいは術後癒着等が予想さ

表 8 卵管走行形態



左右	1	2	3	4	5	6	7	なし	閉鎖
1	324 (51)	59 (4)	57 (5)	15 (2)	14 (1)	4	3	25 (4)	11
2	48 (6)	27 (3)	8	4	2	3		2	12
3	24 (2)	10	10	8 (2)	2	1	1		16
4	12 (4)	8	1	10 (3)	4		1	3	21
5	8 (2)	2	5	6	2	2		2	2
6	4	2	1	2	1	1		3	2
7	4	1	2	2	1				1
なし	16 (2)	6 (2)	4	4	1	2	1	5	2
閉鎖	10	8	4	19	3	2	1	3	9

HSG 453例, () は妊娠例 (93例)

れた。

(二) 卵管走行形態

表 (8) の如く、やわらかい曲線を画している 1 の type のものに圧倒的に妊娠例が多く、93例の中51例54.8%と半数以上が両側ともやわらかい曲線を画していた。直線的、らせん、蛇行を示したものには妊娠例が少ない傾向がみられた。走行形態のほか卵管陰影にリンパ管像等の異常所見のあるものには妊娠例はみられなかった。

(ホ) 拡散像

表 (9) のように拡散像著明なものに妊娠例が多く認められている。すなわち拡散像著明な症例476例中101例21.2%に妊娠を認めているが、拡散像が局限しているものは117例中11例9.4%、拡散像の著明でなかったものは59例中2例3.4%の妊娠例しか認めなかった。拡散著明でないもの、あるいは局限している像を示したものについては反復検討の必要があり、同様の結果を得る場合には精密検査を必要とするように思われた。

表 9 造影剤拡散程度 (5 分後判定)

	症 例	妊 娠	%	原 発	妊 娠	%	続 発	妊 娠	%
両側通過	538	108	20.1	384	84	21.8	154	24	14.3
	A 412	96	23.3	A 284	76	26.7	A 128	20	15.6
	B 90	10	11.1	B 72	6	8.3	B 18	4	22.2
	C 36	2	5.6	C 28	2	7.1	C 8		
右側閉鎖	65	4	6.2	31	3	9.6	34	1	2.9
	A 42	3	7.1	A 21	2	9.5	A 21	1	4.7
	B 12	1	8.3	B 5	1	20.0	B 7		
	C 11			C 5			C 6		
左側閉鎖	49	2	4.1	19	2	10.5	30		
	A 22	2	9.1	A 9	2	22.2	A 13		
	B 15			B 7			B 8		
	C 12			C 3			C 9		
両側閉鎖	66			31			35		
計	718	114	15.9	465	89	19.1	253	25	9.9

A 拡散著明, B やや限局, C 著明ならず

III 考 按

不妊患者の頻度は施設や不妊期間によつて 2~16%と相当大きな幅がみられる。不妊期間については各国、各研究者によつて 1, 2, 3 年と異なつてゐるが、最近短縮の傾向がみられてゐる(日産婦用語定義委員会¹⁾)。今回の調査は不妊を主訴として外来を訪れた者の実態を把握するという意味で満一年以上を含め検討した。このため不妊頻度 9.9% は多少多くなつてゐるのは当然で、一般的な満 2 年以上を対象とすれば、外来患者総数 10816 例中 850 例 7.9% でほぼ中間の値を示している。

妊娠成立頻度についても同様に 4%~40% と幅がみられている。報告例中妊娠成立頻度の低率のものゝ主なものをあげてみると久世²⁾らの戦前 4.6%、戦後 4.6%、徳田³⁾らは昭和 36 年から 40 年の 5 年間の統計的観察で平均 9.9%、第 19 回日本不妊学会総会での報告で上羽⁴⁾の 7.5%。高率では同じく第 19 回不妊学会総会発表の川田⁵⁾の 38.3%、鈴木⁶⁾の 24.5%、稲葉⁷⁾の 23.9% で、関本⁸⁾の 22.4%、中間的な例としては織田⁹⁾の 18.5%、井下田¹⁰⁾の 16.2%、藤原¹¹⁾の 20%、徳田¹²⁾の 16.3%、岡村¹³⁾の 17.2%、館野¹⁴⁾の 14.6%、加藤¹⁵⁾の 12.8%、小畑¹⁶⁾の 18.8%、西村¹⁶⁾の 15.1% 等の報告例がみられている。妊娠率については勿論観察期間に関係があり、短期間の観察では低率を示すのが当然で、徳田¹²⁾は、学問的には 3 年の観察が必要で、3 年の観察では妊娠率はおよそ 20% になるであろうと述べてゐる。著者らの今回の調査

は、最低一年以上の観察期間での集計で、14.1% とほぼこれらの報告例の中間の値を示している、加藤¹⁵⁾らは昭和 41 年から 45 年の 5 年間の報告で、年々妊娠率が増加していると述べてゐるが、報告例を年代別にみて多少増加の傾向がみられる程度であつた。全体に不妊症患者の妊娠率はいまだ低率で、表面的には理解されているが、未解決の問題の多い妊孕現象の奥深さを物語つてゐるようである。

妊娠成立後の経過については、西村¹⁷⁾らは全く正常婦人の群と変らなかつたと報告しているが、著者らの調査では流産が 152 例中 39 例 25.6% に認められた。これは無排卵患者の妊娠に子宮發育不全型が多くみられてゐるためと考えられた。

妊娠例の初診から妊娠成立までの期間については 68 例 44.7%、ほぼ半数が 1 年以内に妊娠しているが、小畑¹⁶⁾も同様に 200 例の妊娠例中 93 例 46.5% が半年以内に妊娠の成立をみたと報告している。しかし中には 6 年あるいは 7 年の長期の通院の上で妊娠が少数ではあるが認められている。この事は如何に挙児希望の熱意が強いかを示すもので、医師のみならず患者の根気も必要であるとの印象を受けた。

H.S.G 撮影後、あるいは無処置のまま B.B.T 測定を命じ、その経過観中に妊娠する例をしばしば経験する。実際に系統的検査施行中に妊娠が成立し、何が効果的であつたか解らない例が 152 例中 9 例 5.9% にみられた。藤原¹⁰⁾は妊娠 50 例中 27 例 54.0%、また西村¹⁶⁾は 127 例

の妊娠例中18例14.2%が無治療であつたと報告している。今回の調査は H.S.G 検査後3カ月以内に妊娠したものに限つたため152例中21例13.7%、教室¹⁸⁾での昭和29年から33年までの H.S.G 後の妊娠率20.1%より低率ではあつたが、H.S.G あるいは通気は検査のみならず治療としての価値のあることを物語っている。

最近、クロミフェン、HMG 等排卵誘発剤の発達により無排卵患者の妊娠例が増加の傾向がみられているが、加藤ら¹⁵⁾は昭和41年から45年の5年間の妊娠例が年々増加したのはこれらの新薬の登場によると報告している。また小畑ら¹⁶⁾は200例の妊娠例中排卵障害によるものの妊娠率は61.6%と、著者らの調査と同様な高率の報告をしている。

教室¹⁹⁾での昭和41年から47年の AIH は71例中12例16.9%に成功をみているが、この期間中での AIH は36例で成功例2例5.0%と低率であつた。著明な精子減少症の妊娠率は低く、この方面での治療法の向上が望まれる。

従来の H.S.G の不備を補うのを目的として藤森²⁰⁾は描写式子宮卵管造影法を採用し、この波形曲線から卵管機能の検討を行つている。また河上²¹⁾らは H.S.G に過去の妊娠例を retrospective にチェックしてスコアリングを採用、総合的にその妊娠性を検討しているが、著者らは従来器質的な障害のみに重点がおかれ、機能面での検討が軽視されがちであつた H.S.G に4枚撮影法を実施することによつて

- ① 造影剤の重なりもなくなり、子宮、卵管陰影を正確に、鮮明にとらえる。
- ② 連続撮影の効果として卵管采付近の陰影を正確にとらえる
- ③ 側面像を加え立体的観察が可能となる
- ④ 時間差による陰影拡散の程度、卵管の走行方向、卵管の走行形態等から卵管の機能面での観察の不備を多少とも補うことができた。すなわち盲目的な H.S.G に連続撮影の効果を取り入れ、卵管の機能面での観察に効果をあげることができた。またこの方法による観察から H.S.G 像に妊娠しやすい型のあることが推察された。

IV 総 括

(1) 最近2年間に不妊を主訴として来院した者1081例で、この中152例14.1%に妊娠が認められた。妊娠成立後の転帰については正常分娩79例52.0%、流産39例25.6%で、流産が比較的高率に認められた。これは無排卵患者の妊娠例に子宮發育不全型が多いためと考えられた。

(2) 妊娠例の初診時年齢は比較的若く25歳にピーク

がみられ、30歳までが約8割を占め、35歳以上ではわずかに2例1.3%に過ぎなかつた。

(3) 初診時から妊娠までの期間は1年以内68例44.7%と半数に、2年までに116例76.3%、3年までに139例91.3%とほとんどの症例が3年以内に妊娠している。不妊患者の臨床的観察は少くとも3年とすべきであろう。

(4) H.S.G あるいは通気後妊娠したものが21例13.7%に認められ、これらの不妊症診断方法に診断のみならず治療効果のあることが再確認出来た。

(5) ホルモン療法で妊娠したと考えられたものは152例中96例63.1%と多く、とくにクロミフェンが効果的で、96例中49例32.2%がクロミフェンによるものであつた。

(6) 精液異常によるものは妊娠率不良で、AIH 成功例は4例2.6%に過ぎなかつた。精液異常例についての治療法に改良が望まれる。

(7) 妊娠例の H.S.G 像についての検討の結果、子宮腔陰影に強度の変形のみられたものには妊娠例みられず、卵管走行形態、走行方向に妊娠しやすい型、すなわち B 区域にやわらかい曲線を画いて撮影され、拡散像が著明なものに、とくに妊娠例が多く認められた。このように H.S.G 像に妊娠しやすい型のあることが推察され、ただ疎通性の有無のみでなく、子宮、卵管陰影等詳細に検討して軽度でも異常の疑いのある場合には腹腔鏡等による詳細な検討を加える必要がある。

おわりに

最近2年間に不妊を主訴として外来を訪れたものの中妊娠の成立をみた152例について retrospective に検討を加えた。とくに routine として行われている H.S.G 像を中心として検討を加え、妊娠に結びつきやすい型のあることが推察し得た。この型を逸脱した症例については更に詳細な検討を加え、できる限り意味のない治療、むだな時間の浪費をさけるよう心掛ける必要がある。

(本論文の要旨は第19回日本不妊学会総会にて発表された)

文 献

- 1) 日産婦用語定義委員会：日産婦誌，8，1257，1956。
- 2) 久世栄一，染谷泰之：日不妊誌，5，2，25，1960。
- 3) 徳田源市，村上旭，小畑義，藤田博至：日不妊誌，13，2，20，1968。
- 4) 上羽捷之，大西泰彦，久間正幸ほか：第19回日本不妊学会総会抄録集。
- 5) 川田肇，金子宜淳：第19回日本不妊学会総会抄録集。

- 6) 鈴木直行, 高口二郎, 植村次雄ほか: 第19回日不妊学会総会抄録集.
- 7) 稲葉芳一, 鈴木崇夫, 黒木脩爾, 岩垣重秋: 日不妊誌, 16, 2, 16, 1971.
- 8) 関本昭治: 日不妊誌, 12, 2, 50, 1967.
- 9) 織田明, 向井秀信, 香田繁雄, 本間恒夫: 日不妊誌, 4, 6, 1, 1959.
- 10) 井下田純: 日不妊誌, 6, 3, 27, 1961.
- 11) 藤原幸郎, 野口裕三, 大森章一ほか: 7, 5, 21, 1962.
- 12) 徳田源市, 村上旭, 卜部宏ほか: 産婦の世界, 14, 11, 135, 1962.
- 13) 岡村泰, 滝波祐子ほか: 日不妊誌, 10, 3, 62, 1965.
- 14) 館野政也: 日不妊誌, 14, 2, 41, 1969.
- 15) 加藤俊, 岡本元, 宮原通義, 井手ノ橋, 松尾雅治: 日不妊誌, 16, 4, 26, 1971.
- 16) 小畑義, 石原貞尚, 東山秀声, 村上旭, 岡田弘二: 日不妊誌, 18, 1, 44, 1973.
- 17) 西村敏雄, 杉本修, 矢野弘之ほか: 日不妊誌, 12, 2, 25, 1967.
- 18) 森島邦夫: 日不妊誌, 4, 3, 17, 1959.
- 19) 高野昇, 清水三郎: 日不妊誌, 18, 4, 263, 1973.
- 20) 藤森速水: 産婦の世界, 26, 7, 75, 1974.
- 21) 河上征治, 杉山武: 日不妊誌, 19, 1, 19, 1974.

Successful Case Studies of Pregnancy in Our Clinic of Infertility

**Noboru Takano, Saburo Shimizu
and Hiroyoshi Takamizawa**

Department of Obstetrics and Gynecology
Chiba University School of Medicine
(Director: Prof Hiroyoshi Takamizawa)

Of 1081 cases visited our hospital with chief complaint of infertility in the past two years (1972-1973), 152 cases (14.1%) resulted in successful pregnancy by our treatment. The followings are our data of 152 cases on examinations, treat-

ments and clinical courses after onset of pregnancy.

(1) Prognostic figures of pregnant cases consist of 79 cases (52.6%) of normal delivery, 39 cases (25.6%) of abortion, 1 cases (0.6%) of ectopic pregnancy, and 7 cases (4.6%) of still birth and premature delivery. High percentage of abortion seem to be concerned with frequent numbers of hypoplasia uteri among anovulatory patients who were pregnant by our treatment.

(2) Ages of patients visited our clinic for the first time, are relatively young, indicating peak on 25 years, 80% cases under 30 years and only 2 (1.3%) over 35 years of age.

(3) Duration from their first visit to our hospital up to successful pregnancy ranges 68 cases (44.7%) within 1 year, 116 cases (76.3%) within 2 years and 139 cases (91.4%) within 3 years. This seem to show that therapeutic success of infertile patients depends on their clinical turns within the first three years. And follow up courses are to be limited to three years from the start of treatment.

(4) H.S.G. or kymoinsufflation resulted in pregnancy in 21 cases (13.7%) of infertile patient. These data are enough to reassess therapeutic effects of diagnostic examination on tubal infertility.

(5) 96 cases (63.1%) of pregnancy occurred by hormonal treatment. Clomiphene was most effective of all.

(6) Those by seminal abnormalities proved poor results. Only 4 cases (2.6%) of pregnancy were brought about by A.I. Some better treatment are keenly expected for seminal abnormalities.

(7) Closer analysis of H.S.G. suggested a certain type of tubal stenosis, relatively favourable for pregnancy. Those greatly deviated from this type are to be reconsidered on therapeutic policies.

第3回国際 IUD 学会に出席して

The IIIrd International Conference On Intrauterine Coencontraction

東京電力病院産婦人科 (慶大講師)

村 山 茂

Shigeru MURAYAMA

Tokyo Denryoku Hospital, 9-2 Shinano-machi, Shinjuku-ku, Tokyo.

昨年1974年12月12, 13, 14日の3日間, Egypt の Cairo において開催された第3回国際 IUD 学会に出席する機会を得ましたので, その内容の一端をお話し申し上げ, 更に我々には比較的なじみの薄い, 最近特に話題になっている Egypt の模様等ものべて見たいと思います.

学会そのものもなかなか印象が深かったのですが, 何と云っても5000年の人類の歴史の跡を眼のあたりに見たり, 砂漠という異質の風土に接したり, また Islam 教の強い宗教的雰囲気を楽しむことなど珍しいことが沢山ありました.

この度の学会は1962年, 1964年に続いて10年ぶりに開かれたもので, 1974年が世界人口年であつたことと関係があります. 学会場は Nile 河畔の Arab 連合本部総会議場で, Sadat 大統領夫人を名誉会長に仰ぎ, 米国 Population Council の Vice-President である Dr. Sheldon J. Segal が Conference Office の仕事その他を主催され, 地元 Al-Azhar 大学の F. Hefnawi 教授が地元の組織委員といった形で行われました.

主催は Population Council で W.H.O, The Pathfinder Fund, International Development Research Centre, Ford Foundation, International Planned Parenthood Federation, International Fertility Research Program. 等の協賛を得て行われました. 学会の参加国は38カ国におよび, 約200人近い人が参加しました, 日本からは私と私の友人の藤倉孝次郎博士 (蒲田にて開業) 他に岩手大学客員教授小山市立病院長の石浜淳美博士の3人が出席しました. 演題は全部で87題あり, 出題数の順に America (31), Egypt (12), 英国 (8) Sweden (8), India (5), Thailand (3), Turkey (3), 以下 Chile, Iran, Poland, Brazil, 日本等々で, 何と云ってもアメリカからの発表が多く, 地元のエジプトが之についておりました. 私は東電病院の過去15年間の臨床成績をもとに家族計画における IUD の新しい使用法を述べ, 石浜教授は新しく開発した IUD に関する

知見を述べました, 参加者は産婦人科医のみでなく, 生理学者, 生化学者等も含まれていました.

次に学会の内容ですが興味があつた2, 3の点を述べてその後で印象記に移りたいと思います. 1. 先ず使用された IUD の種類の頻度ですが Copper T (29%), Copper 7 (20%), Loop (20%), Dalkon Schield (13%), Antigon F (3.7%), Hormon 含有 (T型, 7型) (3.7%), Ypsilon (2.8%), Yusei, Ota (日本) (1.8%), LEM (1.8%) 以下 Spiral, Saf-T-Coil, M-211, Polygon 等々といった所です. (以上各演題にて使用された IUD の種類の累積計107に対する比率) すなわち second generation devices が問題にされ, 特に Copper を使用した IUD についての報告が多く見られました. 銅の有効持続期間については尚明らかではないようです. 昨年やつと日本で正式に使用が許可になつた Yusei, Ota Ring は外国ではほとんど使われておりません.

2. 臨床例の比較検討は例数が1000をこすものも多く認められ, なかには 10000例をこすものもあり, Life-table analysis による分析が行われ, 新しい IUD の評価が臨床成績によつて客観的に判定される迄になつておりました. Lippes 博士は Loop 440例の10年間に亘る詳細な検討を報告し, 10年後になお1/3が使用を継続していることは, 本法の有効なことを物語ると述べておりま

した。然しすべての点においてまさる IUD はまだないようです。

3. IUD 使用の際のマイナス面の考察が見られました。つまり使用による死亡について、1000の出産がさけられた場合 (Benefit) の IUD の使用者の死亡率 (Mortality) を表わしたものを Mortality Benefit Ratio と呼び、IUD は0.015であるのに対して、Pill は0.060、Condoms/diaphragms は 0.064であり、IUD は $\frac{1}{4}$ であるといえます。またアメリカの IUD 使用のための死亡率は1,000,000、婦人年に対し2~10、重症入院は1000、婦人年に対し、3~10であるといった報告がありました。外国では分娩後早期に挿入したり、医師以外の人が実施したりしている所もあるようで、このようなことと関係があるのかも知れません。何れにしろ今後取扱いを一層慎重に行う必要を感じました。

4. 分娩後早期すなわち直後に、あるいは5~6日後に挿入したり、流産内容除去術直後に挿入しても成績が悪くないという報告 (積極的にこの方がよいと云うのではない。) が7~8題見られました。また医師以外の看護婦、助産婦等も教育すれば安全に IUD を挿入し得るといった報告がありました。これは一度退院すれば来院しにくくなり避妊の実施がむづかしくなることや、開発途上国では、医師だけでは IUD の挿入が間に合わないといったことと関係するのでしょうか、医学的な判断を主とし、社会的な事情は従とすべきでしょう。これは日本の Ring 使用の際必要とする頸管の拡張とも関係しますが、医師以外の人が入挿入するような場合には、頸管の拡張を必要とすることはマイナスですが、日本のように医師、特に指定医が行う場合には重大な障害にはならないと思います。社会的な事情も大切ですが実際の IUD の成績の良否に重点をおいて判断すべきであろうと思います。

5. 同一 clinic における異なつた IUD の event rate の差よりも、同じ IUD を異なつた clinic で使つた場合の event rate の差の方が大きいという事実があることから、患者や医者への副作用への考え方の差や、挿入技術あるいは年齢、経産、分娩後挿入迄の期間の差等、IUD の特質以外にその成績に影響を及ぼす要因に対しても分析が必要であるということ述べたものがありました。このことは同一クリニックにおいて同一人によつて、同一時期に同じような対称に行つた成績による IUD の比較観察の貴重なことを物語っています。

なお、IUD は型よりも正しい位置への挿入法が重要で、これの容易なものが成績がよいということが述べられておりました。

6. 作用機序として特別なものはなく、トルコのサー

ロール (Sagiroglu) 博士は例の macrophage による食食作用を述べておりました。同君には後でお会いして日本のリングを贈呈しましたが、なかなか元気で積極的な方で、立派な別冊を私にくれ自説を滔々と述べておりました。また頸管粘液中の Cu イオンによる精子貫通の阻害作用を述べたものもありました (Hefnawi) (すなわちループに比し銅附着 IUD の場合は短い距離で早く精子が不動になるといいます)。

7. 産褥授乳期に IUD を挿入しても乳汁の化学的組成、分泌量は対称に比して変りなく、また分娩後は授乳の面から inert のものがよいであろうというもの。また他の報告では IUD 使用者では control に比し泌乳期間が有意に永いが、これは機械的な刺激が神経内分泌的反射をおこし、泌乳作用を持続するためかも知れない、しかし乳汁分泌反射における観察では、内因性の oxytocin の増加は示さなかつたといったものもありました。

8. ダルコンシールドの使用と感染、あるいはそのための妊娠中期の敗血症性流産による死亡が報告されており、これは IUD の尾部の糸の部の細菌学的な状態の差に関係があるかも知れないといえます。

9. 出血については出血主訴のある症例の組織像を見たもの (内膜のピラン、多核白血球の浸潤あり) 各種 IUD の出血量を比較したもの (Cu は対称と同じ、之に反ループは多い。) また出血例の場合血清鉄その他に変化が認められないことから全身的な作用でなく (内膜の検査結果から)、局所のフィブリン溶解能のたかまつているのが出血の原因であると述べたものなどがありました。

10. Progesterone-releasing system については放出量と有効性の関係を見たもの、その際の内膜の形態学的、生化学的状態、ゴナドトロピン、ステロイドの変化等を見たものがありました。また Progesterone や mestranol を付加すると出血が少く周期の乱れも少ないといえます。

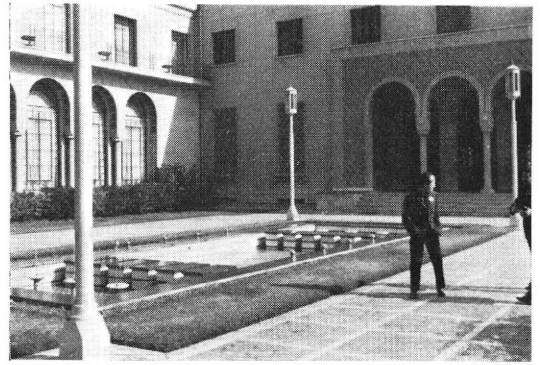
さて以上で簡単ですが学会の報告を終らせて頂き、次に印象記といったものを少しのべたいと思います。

今回の旅行は私にとっては、はじめての外国旅行であり、かつ Egypt というなじみの薄い場所でもあるので、出掛ける迄は実際の所不安でした。それに中近東の不穏の状況が伝えられ、治安、気候、衛生状態もよくないと聞いておりましたので、何故この冬の寒い季節にそんな所で学会を開催するのだろうと不審にさえ思いました。しかしこれは全く杞憂で、気候といい (5月頃の陽気) 会の運営といい、実に気持よく、この時期にここ Cairo で学会を開催した当局の意向を理解することがで

きました。

12月10日正午 S航空にて友人の藤倉博士と共に羽田空港を出発し、香港、バンコック、ボンバイを経て約20時間ぶりにアテネに到着し(現地時間午前2時)ホテルにて一休みした後市内を一巡しました。次いで同日(11日)午後6時夕闇迫る地中海に面した美しいアテネ空港をとびたちました。約2時間の飛行の後、目的地のCairoに到着しました。空港およびその周辺は人が多く雑踏、喧騒を極め、活気に溢れております。人口は510万あるといひます。見馴れない服装やアラビア文字が異国情緒を一層誘いました。空港には前以て連絡してあつたエジプト人の A. Saad 氏、および学会から Ain Shams 大学の Dr. M. Mahran 氏が出迎えにきていました。学会歓迎の札のある入口より這入り、フリーパスで税関を通過し、別室にて漸次休憩の後A氏の車にて宿舎の Sheraton ホテルに向いました。市内の交通機関は電車やバスが頻繁に走っているものの、満員で入口に鈴なりになっているものもあり、そのため傾いて走っているバスも見掛けました。あまりきれいではありません、余談ですがぶら下つている人は無料だそうです。またタクシーもあります、乗るのに一苦労の様子で、中流以上の人には通勤その他にどうしても自分の車が必要のようです。その夜はわれわれ2人にA氏を交え、3人でホテルの部屋に陣取り、日本から持参したウィスキーを飲み乍ら、Cairoの事、日本の事、家族の事、明日からの学会の事、その後の観光のこと等々について深更迄話し合いました。ホテルは日本の一流ホテルと全く変わりませんでした。「Casino」(賭博場)があるのが変わった印象を受けました。A氏は大柄で年齢は40歳位か、気持ちのよい方で英語と仏語を話します。Egyptでは高校から英語は必須、仏、独語は選択との事で、A氏およびA氏の夫人は共にカイロ大学出身との事です。

翌12日より学会が始まりました。9時より名誉会長である Sadat 大統領夫人の出席を仰いで開会式がアラブ連合本部会議場で行われます。朝そろそろ出掛けようかと部屋で準備しておりますと、今8時40分ですとの電話があり、ロビーに行くと学会係の若い人が迎えにきており、われわれ2人を自分の車に乗せて近くの会場迄はこんでくれました。車は古いフォルクスワーゲンでした。日本のトヨペットも時々見掛けました。式は地元の組織委員で事務局長ともいふべき Hefnawi 教授の挨拶に続き、首相代理、社会大臣、厚生大臣また本会の会長にあたる米国の Segal 博士等の挨拶があり、最後に Sadat 大統領夫人が立ち、開会の辞を述べられました。Segal 博士以外は全部アラビア語を以て話し、イヤホンを通じて英訳されました。会は荘厳にして緊張の気分が漲つ



1. 会場にあてられた Arab 連合本部会議場



2. 開会式に臨む Sadat 大統領夫人



3. 学会場風景 a.

ておりました。(石浜博士は別のルートでこれら会場ではじめてお会いしました)。開会式終了後、漸次休憩の後、11時より一般講演が開始され、以後、13、14日と学会が続いたわけであります。

さて第1日目は夜7時より9時迄われわれの泊っている Sheraton ホテルで学会主催の歓迎パーティーが行われました。この会の後でA氏はわれわれ日本から出席した3人を自宅に招待してくれました、お宅は市の中心を離れた閑静な場所にあり、石造りの建物の2階で5~6 D. K. ?位あり、夫人と子供3人と女中1人といたつた御家



3. 学会場風景 b.

中央 Sadat 大統領夫人
(右は Segal 博士, その右 Hefnawi 教授)



4. オリエンタルダンス (エジプトの踊り) (右に坐っているのは案内してくれたA氏夫人)

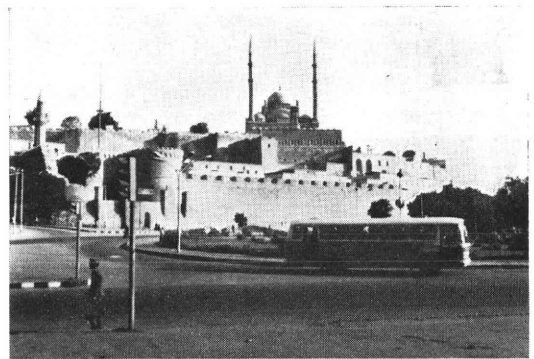
族でした。仲々立派で中流以上といった感じです。実際にエジプト人の家庭にお伺いしたことは印象が強く、親しみを感じ歓迎されたという感じを強くうけました。

しばし歓談の後、市内にある「メリーランド」(merryland)に御夫婦にてわれわれを案内してくれました。此処は社交場兼娯楽場といった所で、家族づれで出掛け、酒を飲んだり、踊ったり、民族音楽の演奏を楽しんだりする所で、若い人も年輩者もいるとどりででした。珍らしいと思つたのは新婚の夫婦2、3組を見掛けたことで、花嫁は白いドレスを着たまの姿できており、来場の客の拍手を浴び乍らダンスを楽しんでいました。この日は木曜日で丁度休日(金曜日)の前日にあたるため、特に賑かであつたのかも知れませんが、客は深更2時すぎ迄も踊りを楽しんでいました。第4次中東戦争が終つ

て漸く1年、引き続いて不穏状態が伝えられているにしては、Cairo には全く戦いの影は感じられませんでした。市民は陽気によく話し、よく食べ、ユーモアを解し、楽天的な印象を受けました。Egypt は Islam 教が国教で、金曜日は神聖な日であり、mosque (モスク、イスラム教寺院)に参拝して公式な礼拝を行わねばなりません。金曜日が休日で日曜日ではありません。後日 Alexandria 大学を訪問の際は日曜日に当つていましたので、医局の方々にお会いできないのではないかと心配しましたが、平常通り業務が行われておりました。

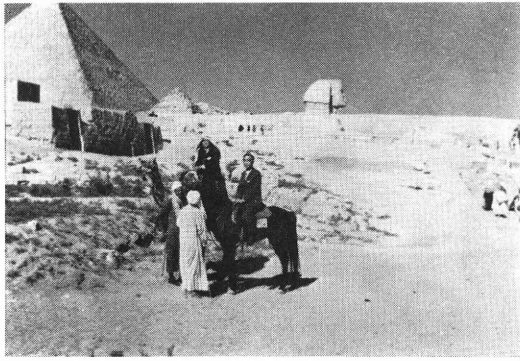
第2日は午後から夜に掛けて学会主催の観光が行われました。バス数台を連ね、各国の人々がつれだつて見物に出掛けました。先ず有名なスルタンハッサンモスクを訪れました。

これは14世紀中葉にできたもので、アラブ建築最高傑作の一つといわれ、要塞のような堅固な壁でかこまれておりました。一步中庭に這入ると全く静かです。次にムハンマドアリーモスクに行きました。2本のミナレット(尖塔)が美しく、本堂の中は広く、薄暗く威圧を感じました。アラブではどんな僻地の寒村に行つても必ずこ

5. モハメッドアリーモスク
(有名な回教の寺院)

のモスクがあり、Cairo でも1000をこえるといひます。イスラム教は仏教やキリスト教に比べ、はるかに大きな影響をその信徒に与えているようです。後刻 Cairo を後に出発の日、忙しい飛行場の待合室の中で祈りを捧げている一団を見て感銘を受けました。しかし最近ではカイロやシリアでは戒律がゆるんで、1日5回の礼拝も厳しくは行われていないとの事です。婦人で顔を隠している人もカイロではごく少数です。案内のA氏に貴方はイスラム教徒なのに礼拝を行う所を見掛けながどうしてですかと聞いた所、I am very busy. よつてアッラーの神もお恕し下さることでありましよう、答えたのには一笑を禁じ得ませんでした。

夜は輝く満天の星の下で、人工的な光を受けて変化す



6. ギザのピラミッドとスフィンクス (ラクダに乗っているのは筆者、馬上は藤倉博士)

るピラミッド、スフィンクスの姿を眺め乍ら、人類5000年の歴史を聴きました。昼の汗さえにじむ陽気は一変して、砂漠の夜は深々と冷えわたり、話にきいた以上に寒く驚きました。終つて少し離れた場所にあるベドウィン(遊牧民)のテントを思わせる幕舎の中で、会員一同日本式に坐つた席でパーベキューを食しました。ここでは音楽に合せて馬の踊りを珍しく思いました。続いて Oriental dance が遅く迄繰返し行われました。

次の第3日を以て学会は終了ですが、会期中は会場横の別室でエジプト独特の天然の濃い生ジュース、あるいはこれもドロドロに濃いトルココーヒー等のサービスが随時行われました。さて刻講演終了の後、会場の Arab 連合本部会議場の別室において、Sadat 大統領夫人主催の閉会式(お茶の会)が行われました。この時大統領夫人は入口においてわれわれ出席者一同に一人一人握手を以て学会出席の労をねぎらわれました。私もその榮に浴しましたが、このような事はエジプトでもあまりないとの事です。

写真にも見る通り夫人は背が高く仲々美人で、遙々日本から Egypt の学会に出席した労が報いられたような思いがした次第です。

会は本学会のフィナーレを飾るのにふさわしい立派なものでした。型の如く要路の人々について大統領夫人が挨拶されました。終つて出席者の夫人連は大統領夫人を囲み話はずんでる模様で、こういうことが国民外交というものかと思いました。

かくして会は終了し、漸次休憩の後、定刻を大幅に遅れて夜10時から別れの晩餐会が今度は Nile Hilton Hotel で開かれました。この時たまたま IUD の銅で有名なチリーの Zipper 教授夫妻と同席し、お話を伺うことができました。またアメリカの Tatum 博士に会い、先般 IUD を送つて頂いた件についてお礼を申しました。この会での Hefnawi 教授、および Segal 博士の

挨拶には本学会を滞りなく終了した喜びと安堵の色が隠せませんでした。例によつて Oriental dance が民族音楽に合せて深更に至る迄行われ、時を過しました。

このオリエンタルダンスはベリーダンスともいい、宴会にはつきものようです。体の線の美しさを極端に強調した踊りです。あまり見事なので聞いてみると、踊り子は子供の頃から学校に這入つて習うのだそうです。

最後に Alexandria (アレキサンドリア)を訪れましたのでその模様を述べて本稿を終りたいと思いますが、その前に Egypt の大学と博物館の事に一寸ふれたいと思います。Egypt には大学が8つあり、何れも医学部を有し、その中の4つの大学からはこの IUD 学会に演題が出されておりました。尚医学部の入学試験は非常にむづかしいとの事です。この中でカイロ大学は学部が18あり、最も大きく、案内をしてくれたA氏の母校でもあります。校内はきれいで大きな木が茂り、学生の様子も、日本と較べて変つた所は見当りませんでした。又 Al Azhar (アズハール)大学は紀元970年にファーティ



7. アズハール大学周辺 (タクシーは白と黒に塗られている。長い着物に注意)

マ朝によつて建てられたもので、世界で最も古い大学で、従来アラブ世界における宗教、学問、文化の中心となつてきており、各国から留学生もきておりこの大学を通じ、Egypt はアラブ圏に対し隠然たる影響力をもつてゐるとの事です。たまたま大学近辺の写真を撮つていた所、大学生数人がわれわれのまわりを集つてきて、人なつこくいろいろ話しかけてきました。自分達の大学が世界で最も古い歴史を有することを自慢し、また全員が箒をもつて、これから近辺の街の掃除を奉仕でやりに出掛けるのだといつていました。(この大学は旧カイロにあり、周囲の街はあまりきれいではありません。)何かほほえましい印象を受けました。

古代エジプト文明の遺産を一堂に集めた世界屈指のカイロ博物館は、1902年に建てられたとの事です。市の中央部解放広場に面しております。人類5000年の歴史を示

す発掘品の数々を、実際に眼の前にして感慨を禁じ得ませんでした。紙数の関係で省略致します。

ただここで面白かったのは、たまたま小学生の団が見学にきておりましたが、一見して髪の色や体つきの異なつた子供が混つており、成程いろんな人種がとけこんでいる国だと思いました。

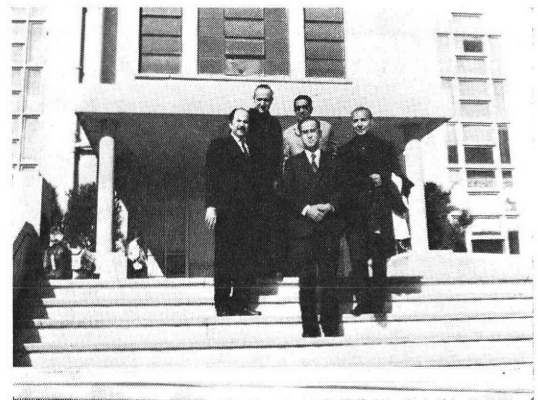
さて最後に Alexandria です。これは勿論紀元前3世紀、ギリシャのアレキサンダー大王の遠征に由来する名前であり、エジプトの代表的な都市の一つで、「雪のほかに欠くものはなし。」といわれた昔栄えた歴史的な都市です、またクレオパトラの故地でもあります。

15日の朝8時すぎ、Alexandria 大学産婦人科の Dr. Ibrahim Loutfi 氏 (イブラヒム、ロトフ博士) が助手の Dr. Sallem 氏と車でホテル迄迎えにきてくれました。私と同行の藤倉博士と計4人が同乗しました。前日訪れた郊外のギザのピラミットの横を通りぬけて進めば、見渡す限りの砂漠です。その中をアスファルトの道路が一本まっすぐに遙か地平線迄続いています。(アレキサンドリア迄は都市を通る別の道がもう一本あるそうです。) 砂漠の印象については和辻哲郎の「風土」にくわしく、読み返して見ると成程という感じを新たにしますが、この異質の風土である砂漠に対した時の強い印象はやはり実際砂漠に行つた者でないと分らないかも知れません。陽気は後頭部に陽を受けるとやや暑さを感じる程度です。砂漠の中に所々木々が青々と茂り、灌漑された田畑を見掛けました。これは今から数年前(1970年)ソビエットの技術援助により(技術という点を強調していました。費用は支払つたということか?)アスワンハイダムが建設されて、その水を利用した結果との事で、水が凡てを変えると Loutfi 博士はいつておりました。今後更に農地が開発されるとの事です。Egypt の人口増加率は毎年2.5%で、耕作面積の増加は重大な意味があるようです。砂漠が灌漑により農地に開発され得るといふことは、食糧問題を含めて大きな希望を人類に与えるものといえましょう。またダムの建設によつてカイロの電気料も1キロワット約25円であつたものが半分位になるそうです。途中で数少ないキリスト教徒である「コプト」の教会を砂漠の中に望見しました。

かくて車は約120km/h の速度で走り続けました。やがて青い湖をへだてた遙か彼方に、陽光を浴びて真白く浮び上るアレキサンドリアの街を望見しました。

大きな石造りの建物の立ちならぶ街中を通りぬけて、Alexandria 大学付属病院 Shatby University Hospital (シャトビーホスピタル) に到着しました。A. Gaafar 主任教授の部屋に通され、ここで教授とお会いしました。教授は私よりやや年輩か、実に温厚な紳士

でした。ここでお茶の接待を受け医局の方々に紹介されました。私は日本で行つてゐる避妊の方法や、分娩その他のことについてお話しをし、また持参した日本の避妊の器具その他と、少しばかりの土産品を贈呈しました。教授は非常に喜ばれて、御自身の著書である最新版の産科学 Clinical Methods in Obstetric Diagnosis にサインして私に下さいました。次いで病院の手術室、産室、標本室、研究室等を見せて頂きました。先年東大の坂元教授もここを訪問されたとの事でした。手術台、麻酔器、照明器具等は日本と比較して劣つてゐる感じがしました。病院は下層の人もくるのでそうきれいでない所があると医局の人もいつておりました。研究はプロスタグランディン、内視鏡、細胞診、避妊等それぞれ専門の係りがいて、各自が自信を持つて行つていました。手術の標本室も見せて頂きました。子宮癌の手術と照射の割合は半々位との事です。なおこちらでは避妊は無料かあるいは極く僅かの費用で行つてゐるそうです。コンドームは無料ピルは20錠40円で20カ月分が1包みになつていて800円との事です。



8. Alexandria 大学附属病院前にて(前列筆者、後列右より Gaafar 教授, Loutfi 博士, Toppozada 博士……)

記念の撮影を行つた後 Dr. Mokhtar Toppozada (モクタル、トポツァダ博士) ともう1人の医局の方と2人でわれわれを観光に案内してくれることになりました。先ず博物館を一巡し、次に「スポーツセンター」のホールで若い医局の方々数人を交え、昼食を御馳走になりました。ここで Egypt での食事の事に一寸ふれますと、一般に日本とちがつて量が非常に多いのが特徴です。羊の肉や魚もよく出ます。豚はたべません。われわれにはとても食べきれない程です。彼等はそれを次から次へと平らげて行きます。Egypt では美人の条件は第一にふくよかに太つてゐることだそうですが、そんなこととも関係があるのでしょうか。さてこの「スポーツセ

ンター」には各種の施設があり、その周囲には Golf 場や馬場がありました。丁度ゴルファーが陽光のもとでプレイを楽しんでいるのを見掛けました。プレイはすぐできるとのことで、日本とちがいのんびりしています。

次に車を駆つて町のはずれにある。かつてのファルーク王の離邸、モンタザ宮を訪れました。

地中海に面した広い敷地に、アラビアンナイトさながらの夢のような色鮮やかな高い宮殿が建っていました。今は一般に開放されております。芝生も海もきれいで風もなくよい気持ちです。またこの辺りは海水浴でも有名で、沢山のきれいなロッジがならんでいました。そばの一区劃には、エジプトの富豪や、ヨーロッパ人の豪勢な別荘があつて別天地を形造っていました。たまたま海で泳いでいる人を見掛けました。聞いて見るとあれはロシア人だといひます。そういえば先程も外国の若い水兵の一群が公園の中を隊を組んで歩いているのを見掛けました。われわれエジプト人は冬は泳がないと Dr. Topozada はいっていました。海に面した戸外のテラスに坐つて、例のトルココーヒを喫し乍ら、しばし時のたつのを忘れ海を眺めました。

夕刻、今度は列車で Cairo に帰ることになりました。Alexandria 駅は人が多く雑然としており、時間表も、切符の売場も私達には分かりません。また駅の時計が30分も違っているのには驚きました。医局の方が改札口の中の特別待合室(といつても一部屋に事務用の椅子が10数個置いてあるだけです。)迄雑踏する人波をわけてつれてきてくれました。また先程別れた Loutfi 博士も出発間際に見送りに駆けつけてくれました。列車は日本とは大部違つております。丁度終戦の頃を思わせる満員であふれた列車が何台か通過した後、われわれの乗る国際列車風の車輛が這入ってきました。切符は前以て予約してとつておいてくれたので指定の席につくことができました。坐席は通路をはさんで2人席と1人席が並び、つまり横に3人が掛けます。とても広くゆつたりしています。夏のためにか窓の日除けがしつかりしているのが印象に残りました。かくして思い出多いアレキサンドリアを後にしました。

以上を以つて学外印象記を終りますが、一般にエジプト人はわれわれ日本人には親しみを感じておるようです。お世話になつたエジプト人のA氏も、お世辞かも知れませんが自分はヨーロッパ人よりも日本人に親しみを感じるといつておりました。「Nile の水を飲みし者は、ふたたび Nile に還る」という諺があるそうですが、Egypt は何故かもう一度訪ねて見たい気持ちをわれわれにおこさせる所ようです。

(学会を主催された地元関係者の方々、Alexandria

大学の Prof. A. Gaafar, Dr. I. Loutfi, Dr. M. Topozada, Dr. Sallem 等の方々、カイロの Adel 氏に心から御礼を申し述べます)

(本稿の要旨は第 206 回 4 水会(1.22), 第66 回日本不妊学会関東地方部会(3.6.)において講演を行い、一部の要約を「産婦人科の世界」, 東電医報誌上に発表しました.)

The IIIrd International Conference On Intrauterine Contraception

Shigeru Murayama

Tokyo Denryoku Hospital, 9-2 Shinano-machi,
Shinjuku-ku, Tokyo

This is a report on the IIIrd International Conference On Intrauterine Contraception which was successfully held on December 12-14, 1974 at Cairo, Egypt, by the Population Council, with cooperation and support from the World Health Organization, the Pathfinder Fund, the International Development Research Center, the Ford Foundation, and the International Fertility Research Program. The conference was organized by Professor Fouad Hefnawi of Al-Azhar University and Doctor Sheldon J. Segal of the Population Council. Madame Jihan El-Sadat was the honorary president of the conference. About 200 gynecologists, biologists and biochemists were invited from 38 different countries and 87 abstracts were submitted to the meeting. The most popular IUDs on which the participants discussed at the conference were the second generation devices that is Copper T, Copper 7, Loop and Dalkon Shield. There was few report from foreign countries except Japan on Ohta and Yusei Ring which were officially allowed by the Ministry of Public Welfare of Japan for clinical practice. The abstracts on the serious complications of IUD were presented. The agreeable Mortality Benefit Ratio of IUDs was 0.015 as compared to 0.060 of the oral contraceptives. Serious infections in women with Dalkon Shield was also reported. It seemed that there was no new study on the mechanism of action of IUD. Under the pleasant climate and warm hospitality the conference was successfully ended and encouraged all participants to further clinical and basic studies.

Professor Atsumi Ishihama, Doctor Kojiro Fujikura and myself were three participants from Japan. We wish to express our sincere thanks to Professor A. Gaafar, Doctor I. Loutfi, Doctor M. Topozada, Doctor Sallem and Mr. S. Adel for their thoughtful arrangements and kind hospitality through the conference.

ヒト卵巣の収縮性

In vitro studies on human ovarian contractility

京都大学医学部婦人科学産科学教室（主任：西村敏雄教授）

岡村 均 岡崎 武志
Hitoshi OKAMURA, Takeshi OKAZAKI

愛媛大学医学部産婦人科教室

中 嶋 晃
Akira NAKAJIMA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Kyoto University, Sakyoku, Kyoto, Japan 606

ヒトにおける卵巣破裂機序を解明するためヒト卵巣各構成成分の収縮性を *in vitro* で検討した。卵胞期 8, 月経黄体期 7, 妊娠黄体期 3, cystic ovary 5, 閉経後卵巣 6 の計 29 例の卵巣より巾 1mm, 厚さ 1mm, 長さ 10mm の組織片をきりだし, これを muscle chamber 中で pressure transducer に接続した。neurotransmitters, prostaglandins $F_{2\alpha}$, E_1 および交流電気刺激を用いて卵巣片の収縮性を検討するとともに卵巣片中の組織構成成分を電子顕微鏡により検討した。ヒト成熟卵胞壁および黄体外鞘のみが norepinephrine, acetylcholine, PG $F_{2\alpha}$ に収縮反応を示し, 電気刺激に対してもヒト卵管と同様の収縮特性を示した。この結果はこれら卵巣片が卵管と同様の平滑筋により収縮を行うものと解釈され, 微細構造上も卵巣片中に細胞内小器管のよく保たれた平滑筋が認められた。卵胞壁基底部分は特に収縮能が強く, この自律神経支配下にあると考えられる卵胞壁基底部平滑筋の収縮が卵巣破裂に重要な役割を果していると考えられる。

緒 言

排卵過程において最終的に卵の排出を司る卵巣破裂という現象の発現機構を解明するべく近年積極的に研究がなされてきている¹⁾。超微形態学的にラット²⁾³⁾, モルモット⁴⁾, ネコ⁴⁾⁵⁾, 家兎⁴⁾⁵⁾, サル⁶⁾などの実験動物やヒト⁵⁾において卵巣内に平滑筋が存在することが観察されるとともに, 卵巣の収縮性もネコ⁶⁾, 家兎^{7,8)}, サル⁹⁾およびヒト¹⁰⁾¹¹⁾において *in vivo* および *in vitro* で検討されており, 卵巣収縮と排卵との関連性が示唆されている。しかし, これらの報告は卵巣全体を用いて収縮性を検討したものであり, 種々の内分泌環境にある卵巣の各構成成分を個々にとりだして検討するという詳細な研究はみられない。

本研究では種々の neurotransmitters, prostaglandins $F_{2\alpha}$, E_1 および電気刺激を用いてヒト卵巣卵胞壁, 黄体外鞘あるいは卵巣間質組織の収縮性を検討するととも

に, 実際に顕著な収縮反応を示した卵巣片を反応終了後電子顕微鏡により形態学的にその構成成分を観察した。

実験材料および方法

婦人科的疾患により子宮単全摘術を受けた 27 名の患者より得られた種々の内分泌環境にある卵巣を用いた。27 例中卵胞期 8 例, 黄体期 8 例, 無排卵性卵巣 5 例, 閉経後卵巣 6 例である。2 例の満期妊娠黄体外鞘は帝王切開術と同時に卵管結紮術を受けた婦人から biopsy により得た。これら卵巣よりその状態に応じて卵胞壁, 黄体外鞘あるいは間質組織から幅 1mm, 厚さ 1mm, 長さ 10mm の卵巣片をきりだし, これを 37°C に保ち酸素で飽和された modified krebs soln. をみたした muscle chamber 中で一端を固定し, 他端を pressure transducer に接続した。刺激電極には silver ring を用い, 両電極間の距離を 7mm とし, この ring 電極内を卵巣片が通りしかも電極が直接組織にふれないようにした (図

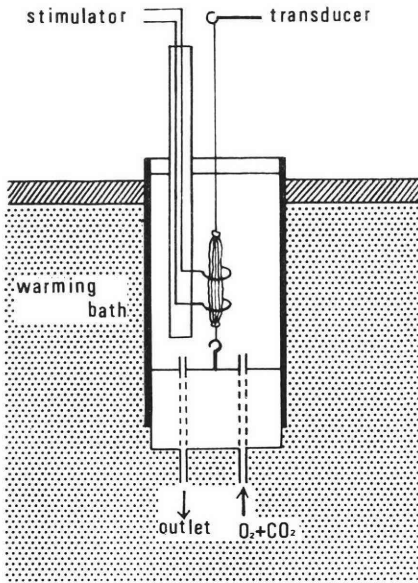


図1 本実験に用いた muscle chamber の模式図

1). norepinephrine (NE), isoxsuprine, phenoxybenzamine, atropine, acetylcholine (Ach), prostaglandin $F_{2\alpha}$, E_1 ($PGF_{2\alpha}$, PGE_1) の薬剤は直接 muscle chamber 中に加え、最終濃度が $10^{-6}g/ml$ となるようにした。刺激電流は60c/s の交流を用い両電極間にかかる電圧を10V から50V へと増加させることにより電流量を調節した。

顕著な収縮反応を示した 卵巣片は反応終了後 6.25% glutaraldehyde buffered with 0.1M cacodylate buffer および 1% osmium tetroxide soln. にて固定後、脱水し Epon 812 に包埋した。超薄切片は Portor-Blum MT 2B ultramicrotome を用いてガラスナイフで作製し、lead citrate による染色後 Hitachi HU-11D にて 75kV で観察した。

実験結果

種々の卵巣片のなかで卵胞壁と黄体外鞘のみが自発性収縮を示したが、この自発性収縮は弱く発現頻度も不規則である(図2)。この卵胞壁および黄体外鞘は NE (図3) や Ach (図4) に反応して収縮を示すが、閉経後卵巣片は収縮反応を示さない。Isoxsuprine と phenoxybenzamine の卵巣片に対する効果は著明でなく、本実験方法ではこれら β -receptor stimulator および α -receptor blocker の作用は明らかでない。卵胞壁および黄体外鞘の NE と Ach による収縮反応はそれらの blocker である phenoxybenzamine あるいは atropine によつて完全に阻害されており(図5)、これら卵巣片の

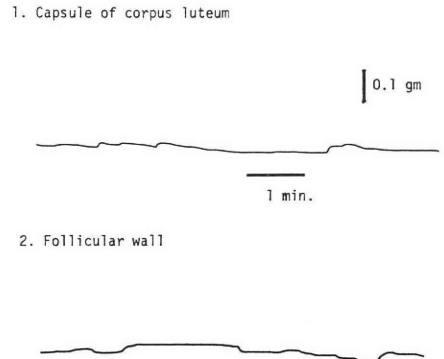


図2 黄体外鞘、卵胞壁の自発性収縮。自発性収縮は弱くて不規則である。

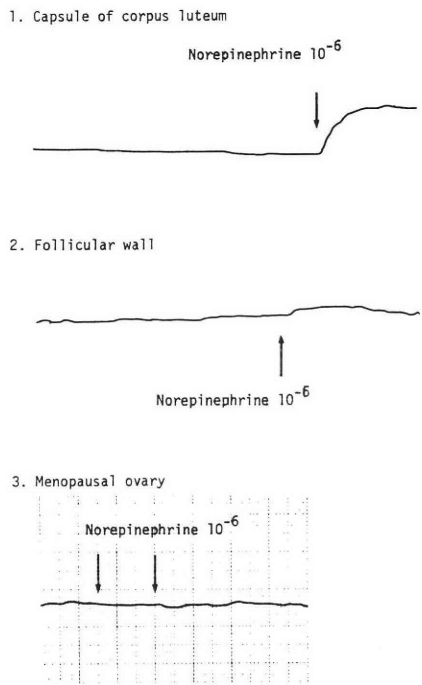


図3 Norepinephrine は黄体外鞘と卵胞壁に作用して収縮を起すが、閉経後卵巣片に対しては効果がない。

収縮が自律神経支配下にある平滑筋によるものであることを意味している。PG $F_{2\alpha}$ に対しては卵胞壁、黄体外鞘併せて17例中9例(53%)の卵巣片が収縮を示したが、PG E_1 に対してはその反応は収縮あるいは弛緩の2種を示し一定の傾向は得られなかつた(図6)。

これら卵巣片に電気刺激を加えると図7に示すごとく収縮反応が惹起される。この反応から刺激電流量—収縮反応強度の関係に基づいた反応曲線を求め各種卵巣片の特性を検討した。妊娠8週の妊娠黄体外鞘が示す反応曲線(図8B)は steep linear であり、ヒト卵管を同様に処

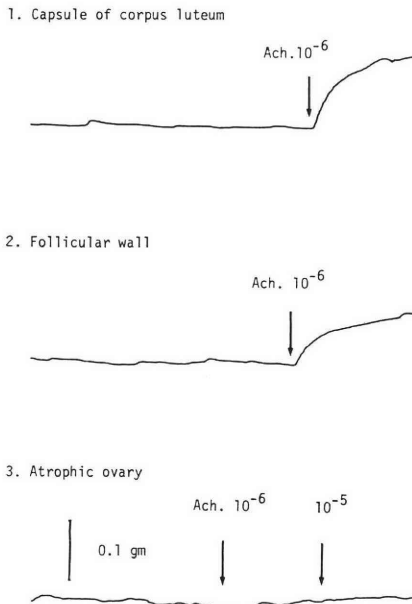


図4 Acetylcholine による顕著な収縮が黄体外鞘と卵胞壁にはみられるが萎縮性卵巣にみられない。

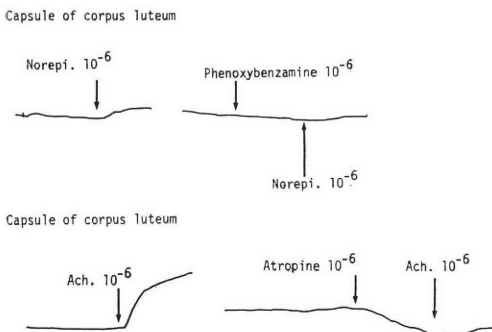


図5 phenoxybenzamine の存在下では NE も収縮を惹起しえないし, atropine の存在下では Ach も収縮作用を示さない。

理して得られた反応曲線(図8A)とほぼ同じである。この結果は卵巣片の収縮が卵管と同様の平滑筋によるものであろうと解釈される。月経黄体外鞘はやはり steep linear な反応曲線(図9A)を示すが、満期妊娠黄体外鞘のそれは linear ではあるが反応性が弱く(図9B)同じ黄体外鞘でも黄体機能の状態により反応性が異なることを示している。卵胞壁基底部の反応曲線(図10A)はやはり steep linear であるが卵胞壁頂部のそれは基底部に比し反応性が弱い(図10B)。閉経後卵巣や cystic ovary は電気刺激に対してほとんど反応せず、また反応があつてもその反応曲線は linear でない(図11A, 11

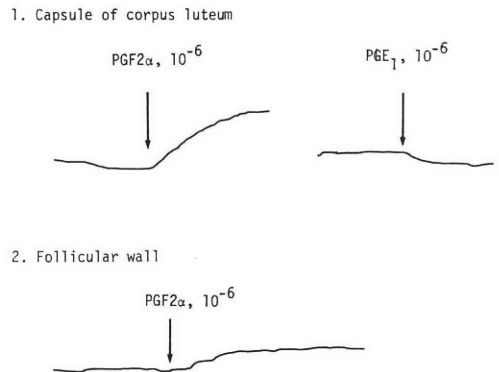


図6 PG F₂α は黄体外鞘や卵胞壁に作用して収縮反応を起すが PG E₁ は弛緩作用を示すこともある。

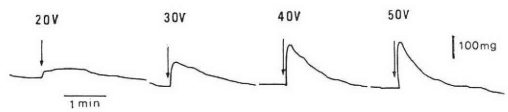


図7 電気刺激による典型的収縮反応を示す。

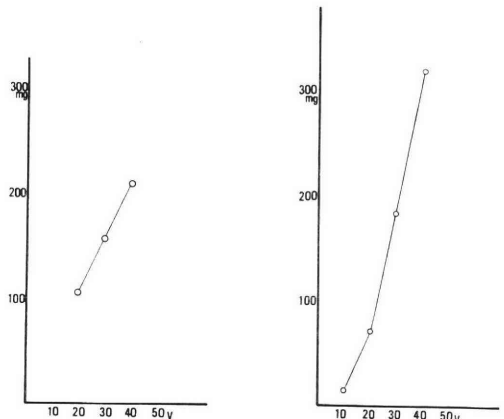


Fig. 8 A

Fig. 8 B

図8A. ヒト卵管片による反応曲線を示し, steep linear である。

8 B. 妊娠8週黄体外鞘の反応曲線も同様に steep linear である。

B).

顕著な収縮反応を示した卵巣片中には、その分布は密ではないが微細構造上平滑筋細胞と考えられる細胞が認められる(図12A)。その細胞内小器官の構造は数時間にわたる in vitro の実験後も比較的よく保たれており、これらの細胞が実際に収縮反応に寄与していたことを強く示唆している。

考 案

ヒト卵巣卵胞壁および黄体外鞘は 1) 自発性収縮を示

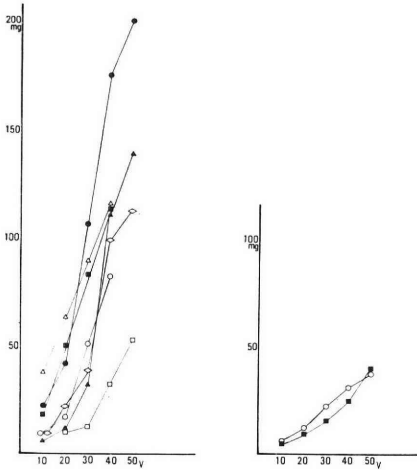


Fig. 9 A

Fig. 9 B

- 図 9 A. 7 例の月経黄体外鞘の反応曲線を集めて示したものでいずれも steep linear である.
- 図 9 B. 2 例の満期妊娠黄体外鞘の反応曲線は linear ではあるが月経黄体に比して反応が弱い.

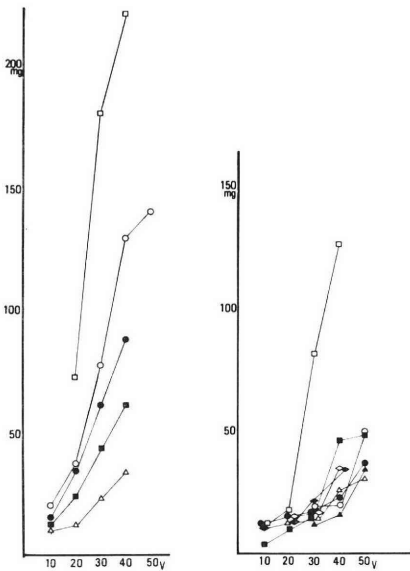


Fig. 10A

Fig. 10B

- 図 10 A. 5 例の卵胞壁基底部の反応曲線は steep linear である.
- 図 10 B. 8 例の卵胞壁頂部の反応曲線はいずれも linear ではなく反応性も弱い.

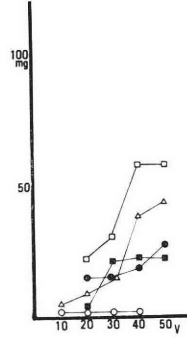


Fig. 11 A

図 11 A. cystic ovary (5 例) の反応曲線. linear でなく反応も弱い.

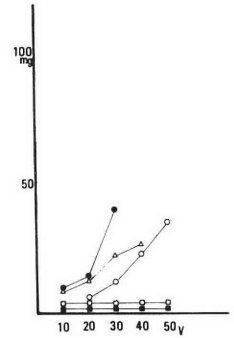


Fig. 11 B

図 11 B. atrophic ovary (5 例) の反応曲線. 2 例は全く反応していない.

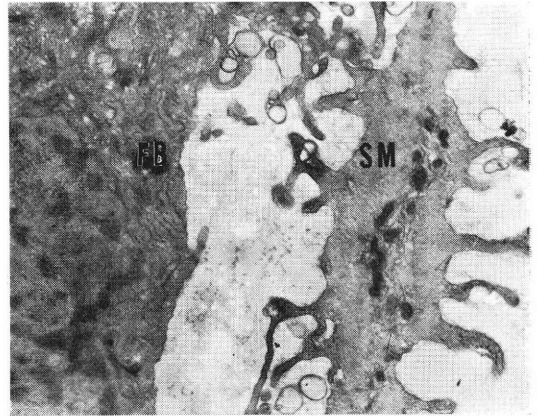


図 12 A. 実際に収縮を示して卵胞壁基底部の外夾膜層に観察された平滑筋 (SM) と線維芽細胞. 7000 倍.

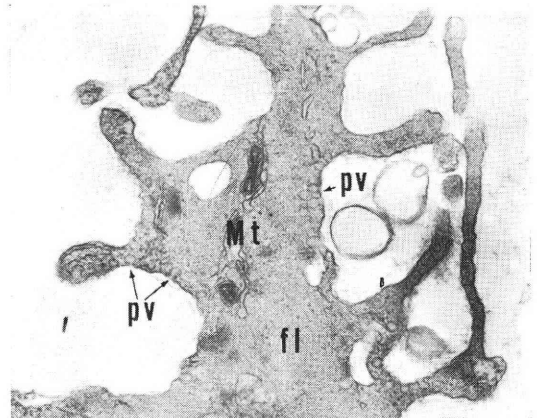


図 12 B. 平滑筋細胞内にはやや濃縮したミトコンドリア (Mt), フィラメント (fl) や pinocytotic vesicles (pv) が観察される. これら細胞内小器管の構造は数時間にわたる in vitro での実験後であるにもかかわらず比較的よく保たれている. 16000 倍.

し、2) NE, Ach および PG F_{2α} に反応して収縮し、3) 電気刺激により steep linear な収縮反応曲線を示すことが *in vitro* で観察された。この収縮性はヒト卵管と同様であり、ヒト卵巣収縮が卵管と同様の平滑筋によることを意味している。この卵巣収縮に関与する組織構成成分が卵巣平滑筋であることは、実際に収縮を示した卵巣片を電子顕微鏡により検討した結果確認された。この卵胞壁および黄体外鞘の収縮性に比し、閉経後卵巣や cystic ovary から得られた間質組織片はほとんど収縮を示さない。この事実は収縮能が卵巣の生理的機能に密接に関連していると解釈される。

満期妊娠黄体外鞘は月経黄体外鞘に比し収縮能が弱く、妊娠ザルの黄体のある側の卵巣が満期では収縮しないという報告⁹⁾と一致する。この黄体外鞘が黄体の機能状態によつて異なる収縮能を示すことは実に興味深い。黄体外鞘収縮能の生理的意義については現左不明だが、この catecholamine や PG F_{2α} に支配される収縮能を介して luteal regression に関与しているという推測は可能である。

本研究結果から、ヒト卵巣卵胞壁のなかでも特に基底部の収縮能が強く、その収縮性は catecholamine や PG F_{2α} によつて支配されることが明らかになった。これはヒト卵巣に adrenergic innervation が存在するという形態学的知見¹²⁾と一致する。近年 indomethacin を用いたラット¹³⁾および家兎¹⁴⁾における実験で、PG F_{2α} が卵胞破裂に重要な役割を果たしていることが報告されているが、ヒト卵巣においても PG F_{2α} は一部にはその卵胞壁への収縮作用を介して卵胞破裂に関与しているのではないかと考えられる。ヒト卵巣の *in vivo* での収縮性が gonadotropin によつて増強するという観察¹¹⁾とあいまつて、これらの知見は自律神経や PG F_{2α} に支配されるヒト卵胞壁基底部の収縮力がヒト卵胞破裂機構において重要な役割を果たすであろうという説を強く押し進めるものといえる。

謝 辞

御校閲いただいた西村敏雄教授に感謝いたします。本研究の一部は Population Council Grant M73・054C による。

文 献

- 1) 岡村 均, 吉田吉信, 西村敏雄: 卵胞破裂機序について, 産婦治療, 26 : 586, 1973.
- 2) O'Shea JD.: An ultrastructural study of smooth muscle-like cells in the theca externa of ovarian follicles in the rat. Anat Rec 167 : 127, 1970.
- 3) Osvaldo-Decima L.: Smooth muscle in the

- ovary of the rat and monkey. J. Ultrastruct Res 29 : 218, 1970.
- 4) Burden HW.: Ultrastructural observations on ovarian perifollicular smooth muscle in the cat, guinea pig, and rabbit. Am J. Anat 133 : 125, 1972.
- 5) Okamura, H, Virutamasen, P., Wright, KH., Wallach, EE.: Ovarian smooth muscle in the human being, rabbit, and cat. Am J. Obstet Gynecol 112 : 183, 1972.
- 6) Rocereto, T., Jacobowitz, D., Wallach, EE.: Observations of spontaneous contractions of the cat ovary *in vitro*. Endocrinology 84 : 1336, 1969.
- 7) Virutamasen, P., Wright, KH., Wallach, EE.: Effects of catecholamines on ovarian contractility in the rabbit. Obstet Gynec 39 : 225, 1972.
- 8) Virutamasen, P., Wright, KH., Wallach, EE.: Effects of prostaglandins E₂ and F_{2α} on ovarian contractility in the rabbit. Fertil Steril 23 : 675, 1972.
- 9) Virutamasen, P., Wright, KH., Wallach, EE.: Monkey ovarian contractility-its relationship to ovulation. Fertil Steril 24 : 763, 1973.
- 10) Palti, Z., Freund, M.: Spontaneous contractions of the human ovary *in vitro*. J. Reprod Fert 28 : 113, 1972.
- 11) Coutinho, EM., Maia, HS.: Effects of gonadotrophins on motility of human ovary. Nature 235 : 94, 1972.
- 12) Jacobowitz, D., Wallach, EE.: Histochemical and chemical studies of the autonomic innervation of the ovary. Endocrinology 81 : 1132, 1967.
- 13) Tsafiriri, A., Lindner, HR., Zor, U., Lamprecht, SA.: Physiological role of prostaglandins in the induction of ovulation. Prostaglandins 2 : 1, 1972.
- 14) O'Grady, JP., Caldwell, BV., Auletta, FJ., Speroff, L.: The effects of an inhibitor of prostaglandin synthesis (indomethacin) on ovulation, pregnancy, and pseudopregnancy in the rabbit. Prostaglandins 1 : 97, 1972.
- 15) Grinwich, DL., Kennedy, TG., Armstrong, DT.: Dissociation of ovulatory and steroidogenic actions of luteinizing hormone in rabbits with indomethacin, an inhibitor of prostaglandin biosynthesis. Prostaglandins 1 : 89, 1972.

In vitro studies on human ovarian
contractility

**Hitoshi Okamura, Takeshi Okazaki and
Akira Nakajima**

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Kyoto University,
Sakyoku, Kyoto, Japan 606

With follicular walls, capsules of corpora lutea and pieces of ovarian stroma obtained from twenty nine human ovaries in various endocrinological conditions, the effects of neurotransmitters, such as norepinephrine, isoxsuprine, phenoxybenzamine and acetylcholine, and prostaglandins $F_{2\alpha}$ and E_1 , and electrical stimulation, on contractile responses of the ovarian strips were studied in vitro. The strips obtained from walls of mature follicles and capsules of corpora lutea

showed spontaneous contraction and contractile responses to norepinephrine, acetylcholine and prostaglandin $F_{2\alpha}$. Contractile responses of these strips to electrical stimulation showed a steep linear dose-response relationship similar to that shown by the fallopian tube. The pieces of atrophic ovaries and cystic ovaries showed no detectable responses to stimuli. The basal portions of mature follicular walls showed much more distinct responses to AC-stimulation than the apical portions. The contractility of basal follicular walls which seems to be controlled by the autonomic nerves is observed and its possible role in the process of follicular rupture at ovulation is indicated in the human.

The contractile elements of these ovarian strips were electronmicroscopically investigated with the strips which had shown contractions and confirmed to be smooth muscle cells in the ovary.

THE FERTILIZATION OF PIG FOLLICULAR OOCYTES IN VITRO WITH CAPACITATED SPERMATOZOA

Akira IRITANI, Eimei SATO and Yoshimasa NISHIKAWA

Department of Animal Science, Kyoto University Kyoto 606, Japan

Abstracts: This study was undertaken to examine the possible capacitation of pig spermatozoa by the preincubation in the genital tracts of estrous sows and the fertilization *in vitro* of follicular oocytes with insemination of the capacitated spermatozoa. The oocytes were collected puncturing follicles and washed twice with modified Krebs's Ringer Bicarbonate including bovine serum albumin (modified KRB). The oocytes of germinal vesicle stage were cultured *in vitro* up to second metaphase in modified KRB. The freshly collected semen was washed with modified KRB, then incubated for 3 hr at 37°C in the oviduct or uterus removed from estrous sows immediately after slaughter. The recovered spermatozoa were washed again with modified KRB and 3 to 4 millions of spermatozoa were inseminated into each culture dish containing 8 to 10 oocytes. Fertilization of eggs was examined 3 to 40 hr after insemination.

Parthenogenetic development was not found in the 263 eggs cultured without insemination. The rates of eggs cleaved (2 to 4 cells), and of eggs undergoing fertilization were 0/128 (0%), 10/137 (7.3%) and 42/469 (9.0%), and 8/128 (5.5%), 12/137 (8.8%) and 54/469 (11.5%) in the eggs with insemination of spermatozoa preincubated in modified KRB, oviduct and uterus, respectively. Of 1,062 eggs in the total examined, only 5 eggs were fragmented. The results indicated that boar spermatozoa require capacitation and the female genital tracts are effective environments for their capacitation.

Introduction

There can be found several reports indicating that follicular oocytes matured *in vitro* are physiologically normal and fertilizable in humans¹⁾, cattle²⁾, sheep³⁾ and pigs^{4), 5), 6)}. In other hand, Thibault & Gerard⁷⁾ suggested the necessity of the presence of a male pronuclei growth factor for the normal fertilization of rabbit oocytes matured *in vitro*. Difficult problem to be solved is the preparation of spermatozoa, capacitation of spermatozoa for the successful fertilization of eggs *in vitro* in species other than laboratory animals. The capacitation of spermatozoa has not been made clear yet in the domestic animals such as pigs, cattle, goats and sheep, nor in primates, except for some reports on *in vivo* fertilization of pig eggs in relation to sperm capacitation^{8), 9)}

and on the indirect methods for the estimation of sperm capacitation by the increased metabolic activity, and by the removal of sperm coating antigen as indices in spermatozoa of the boar¹⁰⁾, bull^{10), 11)}, primate¹²⁾ and human¹³⁾. This paper reports the possible capacitation of pig spermatozoa by the incubation in the reproductive tracts of estrous sows, and the fertilization *in vitro* of follicular oocytes matured *in vitro* with insemination of the pretreated spermatozoa in the sow reproductive tracts.

Materials and Methods

The oocytes used for the present experiment were prepared by the following procedure; the ovaries were freshly removed from Landrace sows at the slaughter house and were transported to the laboratory in saline at 35°C within 1 hr, then follicular

oocytes were collected puncturing the follicles by needle under an elevated room temperature at 37°C. The size of follicles, from which the oocytes were collected, was 2 to 5 mm in diameter. The collected oocytes were washed twice with modified Krebs' Ringer bicarbonate solution (modified KRB; in addition to KRB, 100.8 mg/ml of glucose, 30 mg/100 ml of Na-pyruvate, 225.0 mg/100 ml of Na-lactate and 100 mg/100 ml of bovine serum albumin Fraction-V (Armour) were included and 50 µg/ml of streptomycin and 100 i.u./ml of penicillin were also added. pH of the medium was adjusted to 7.4), then oocytes of germinal vesicle stage were carefully transferred into a Petri dish containing 0.5 ml of modified KRB covered with paraffin oil. Oocytes were cultured up to second metaphase, taking 26 to 30 hr at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂ in air.

The preparation of spermatozoa used for insemination was accomplished by the following procedure; the semen was collected from two Landrace boars, and the colloidal fraction was removed with a double gauze, then 10 ml of the sperm rich portion of the semen was washed with modified KRB by centrifugation at 500 g for 10 minutes. The washed spermatozoa were resuspended in 5 ml of modified KRB. Each of three portions of the washed spermatozoa was incubated for 3 to 5 hr at 37°C in modified KRB, oviduct or uterine horn of an estrous sow immediately after removal at the slaughter house, respectively. The volume of sperm suspension and the number of spermatozoa incubated were 0.5 ml and 5×10⁸ in a horn and 0.1 ml and 1×10⁸ in an oviduct, respectively. After the introduction of spermatozoa, the ovarian end of the oviduct, the utero-tubal junction and cervical end of the uterus were ligated, and the reproductive tract containing spermatozoa was kept in saline for 3 to 5 hr at 37°C. It was carefully confirmed that oviducts and uteri to be used for sperm incubation were taken from estrous sows before any of the follicles had not ruptured, to ensure that there were no ovulated eggs in the reproductive tracts in which spermatozoa were to be incubated. The unwashed fresh semen was also kept as it is for 3 to 5 hr at 37°C as non-treated

control spermatozoa. The incubated spermatozoa were recovered by flushing oviducts and uteri 3 to 5 hr after incubation and washed again by centrifugation at 500 g for 10 minutes, then 0.02 ml of the concentrated sperm suspension, 2 to 3 millions of spermatozoa were inseminated into each culture dish containing 8 to 10 oocytes. The spermatozoa incubated in modified KRB were also washed again and inseminated in the same way as in the case of spermatozoa incubated in the oviduct or uterus. Eggs were fixed in 15% acetic-10% chloroform alcohol for 48 hr and stained with acetorcein, then examined under phase contrast microscope. The eggs undergoing fertilization was determined 3 to 16 hr after insemination according to the criteria such as sperm penetration into vitellus, the presence of swelling sperm head and sperm tail in the vitellus, and the evidence of second meiosis following sperm entry. The advanced stages of fertilization including cleavage of eggs were examined 16 to 40 hr after insemination.

Results and Discussion

The occurrence of the first evidence of each criteria either of undergoing fertilization or fertilization of eggs following insemination is summarized in Table 1.

Table 1 Process of fertilization of pig follicular oocytes *in vitro*

Time after introduction of spermatozoa	Evidences of fertilization observed
3-5	Sperm penetration into perivitelline space
5-10	Sperm penetration into vitellus
10-16	Second meiotic division (anaphase II) following sperm entry into vitellus
16-24	Formation of both pronuclei and their fusion
16-30	Cleavage

Note: About 20% of oocytes cultured *in vitro* had matured to the second metaphase at the time of insemination and the rate would have increased to about 70% several hours later.

Table 2 *In vitro* fertilization of pig follicular oocytes with insemination of spermatozoa treated under different environments

Treatment of spermatozoa	No. of eggs examined ^a	No. of eggs undergoing fertilization (%)	No. of eggs cleaved (%)	Remarks
Without insemination	263	0 (0.0)	0 (0.0)	
Unwashed	65	0 (0.0)	0 (0.0)	
Washed, incubated for 3-5 hr in modified KRB	128	8 (5.5)	0 (0.0)	
Washed, incubated for 3-5 hr in oviduct	137	12 (8.8)	10 (7.3)	1 3-celled 9 2-celled
Washed, incubated for 3-5 hr in uterus	469	54 (11.5)	42 (9.0)	6 4-celled 36 2-celled

a. About 10% of degenerated eggs during culture *in vitro* were excluded from the number of eggs examined.

Parthenogenetic development was not found in the 263 eggs cultured without insemination for 70 hr. In the separate series of experiments, 198 eggs were cultured without insemination under the same condition up to 80 hr, and only 3 of them (1.5%) showed nuclear activation, formation of 2 pronuclei at the period from 70 to 80 hr of cultivation *in vitro*. As shown in Table 2, no cleaved ova was found in the 65 and 128 eggs examined which were inseminated either with unwashed spermatozoa or those incubated in modified KRB. Ten (7.3%) of 137 eggs inseminated with oviduct sperm were cleaved 2 to 3 cells, and 42 (9.0%) of 469 eggs inseminated with uterine sperm were cleaved 2 to 4 cells. Of 1,062 eggs examined in total, 5 eggs were fragmented to 8-16 cells. The percentages of eggs undergoing fertilization were 5.5 (8/128), 8.8 (12/137) and 11.5 (54/469) in the eggs with insemination of spermatozoa preincubated in modified KRB, oviduct and uterus, respectively (Table 2 and PLATE 1). While no cleaved eggs was observed when oocytes were inseminated with spermatozoa preincubated in modified KBR, 8 of 128 eggs were undergoing fertilization. This may indicate the possibility of sperm capacitation by the preincubation even in the modified KRB itself which includes metabolic intermediates and bovine serum albumin, although its capacitating activity is probably lower than that of reproductive tracts. Since oocytes were transferred into a culture dish

after washing twice with modified KRB, the contamination of follicular fluid into the fertilization medium did not occur. Tubal and uterine environments were not also contaminated into the medium because spermatozoa were washed again with modified KRB after incubation in oviduct or uterus before insemination. Accordingly it is suggested that some of the boar spermatozoa had been capacitated by the preincubation in the isolated reproductive tracts for 3 to 5 hr at 37°C. The preincubation time of spermatozoa varied from 3 to 5 hr, but there was no appreciable difference in the subsequent fertility rate among preincubation periods.

While there could not be found any available report on the fertilization of pig eggs *in vitro* in relation to sperm capacitation, Hunter & Dziuk⁸⁾ reported that sperm penetration was observed in pig eggs recovered from oviducts 2 hr after artificial insemination. This suggests that pig spermatozoa could be capacitated within 2 hr in the reproductive tracts of estrous sow. Both their report and the results obtained here, the fertilization of pig eggs *in vitro* support the estimated sperm capacitation in pigs by an indirect method¹⁰⁾, the measurement of metabolic change and the removal of sperm coating antigen of spermatozoa which were preincubated in the sow reproductive tracts. Recently, Hunter⁹⁾ cited Polge's personal communication in the discussion of his report that more than five hours is required for

sperm capacitation in this species when the whole semen was deposited directly into the oviduct. A possible reason why pig follicular oocytes were fertilized with insemination of spermatozoa preincubated for 3 hr in the reproductive tracts at the present experiment might be that the seminal plasma which is detrimental for sperm capacitation was removed by washing with modified KRB before preincubation of them in the tracts, and the capacitation could be acquired faster.

While Hunter⁹⁾ reported that high incidence of polyspermic fertilization was observed in pig eggs fertilized *in vivo* deposition of whole semen in the oviduct (33.8%) and in the uterus (5.2%), and concluded that its incidence is significantly increased when large number of capacitated spermatozoa confront the newly ovulated eggs, its incidence was not frequent at the present experiment. The most possible reasons why the less frequency of the incidence of polyspermic fertilization was observed here might be that the eggs used here were follicular oocytes matured *in vitro* and that the number of fully capacitated spermatozoa around the eggs in the fertilization medium was less than that deposited into the utero-tubal junction *in vivo*.

A portion of this work was supported by a grant from the Ford Foundation (No. 740-0404).

References

- 1) Edwards, R. G., Bavister, B. D. and Steptoe, P. C.: Early stages of fertilization *in vitro* of human oocytes matured *in vitro*. *Nature* 221 : 632, 1969.
- 2) Sreenan, J.: *in vitro* maturation and attempted fertilization of cattle follicular oocytes. *J. Agric. Sci. Camd.* 75 : 393, 1970.
- 3) Crosby, T. F., Ryan, P. O. and Gordon, I.: Culture and fertilization of sheep ovarian oocytes. IV. Observations on sperm penetration in oocytes transferred to the sheep oviduct. *J. Agric. Sci. Camb.* 76 : 379, 1971.
- 4) McGaughey, R. W. and Polge, C.: Cytogenetic analysis of pig oocytes matured *in vitro*. *J. Exp. Zool.* 176 : 383, 1971.
- 5) Satoh, E., Iritani, A. and Nishikawa, Y.: Maturation of pig oocytes *in vitro* with special reference to germinal vesicle breakdown. *Jap. J. Zootech. Sci. Suppl.* 44 : 48,

1973.

- 6) Motlik, J. and Fulka, J.: Fertilization of pig follicular oocytes cultivated *in vitro*. *J. Reprod. Fert.* 36 : 235, 1974.
- 7) Thibault, M. C. and Gerard, M.: Facteur cytoplasmique necessaire a la formation du pronucleus male le dans l'ovocyte de plaine. *C. R. Acad. Sci. Paris, Series D* 270 : 2025, 1970.
- 8) Hunter, R. H. F. and Dziuk, P. J.: Sperm penetration of pig eggs in relation to timing of ovulation and insemination. *J. Reprod. Fert.* 15 : 199, 1968.
- 9) Hunter, R. H. F.: Polyspermic fertilization in pigs after tubal deposition of excessive numbers of spermatozoa. *J. Exp. Zool.* 183 : 57, 1973.
- 10) Iritani, A., Tsunoda, Y. and Nishikawa, Y.: The effect of preincubation *in vitro* with rinsings of the female genital tract and/or preincubation (*semi-in vivo*) in the oviduct or uterus on the respiration of bull and boar spermatozoa. *Proc. VII World Cong. Fertil. Steril. Tokyo & Kyoto (Excerpta Medica)* 788, 1973.
- 11) Ericsson, R. J.: Technology, physiology, and morphology of spermatozoa capacitation. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 2 : 65, 1967.
- 12) Dukelow, W. R. and Chernoff, H. N.: Capacitation of primate spermatozoa. *Proc. VI Int. Cong. Anim. Reprod. Paris* 1 : 51, 1968.
- 13) Hicks, J. J., Manauto, J. M., Pedron, N. and Rosado, A.: Metabolic changes in human spermatozoa related to capacitation. *Fertil. Steril.* 23 : 172, 1972.

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

京都大学農学部

雌生殖器道内培養による豚精子の受精能獲得ならびに培養精子による卵胞卵の体外受精を試みた。射出精液は修正 KRB で洗浄し、修正 KRB、発情豚の卵管及び子宮内にそれぞれ 3~5 時間培養後回収し、再洗浄して受精に供した。一方卵巣から卵核胞期の卵を採集し、修正 KRB 中で 25-28 時間培養して metaphase-II にまで成熟せしめて上記処理精子を添加した。卵への精子侵入や受精の有無は、精子添加後 3-40 時間に検査された。修正 KRB、卵管、子宮に前培養された精子による受精途上卵の率はそれぞれ 8/128 (5.5%), 12/137 (8.8%), 54/469 (11.5%) であり、分割卵 (2-4 細胞) の率はそれぞれ 0/128 (0%), 10/137 (7.3%), 42/469 (9.0%) であつた。また無処理精子の添加では受精途上卵は全くみられず、本培養条件下での核の活性化の起らないことも確認された。

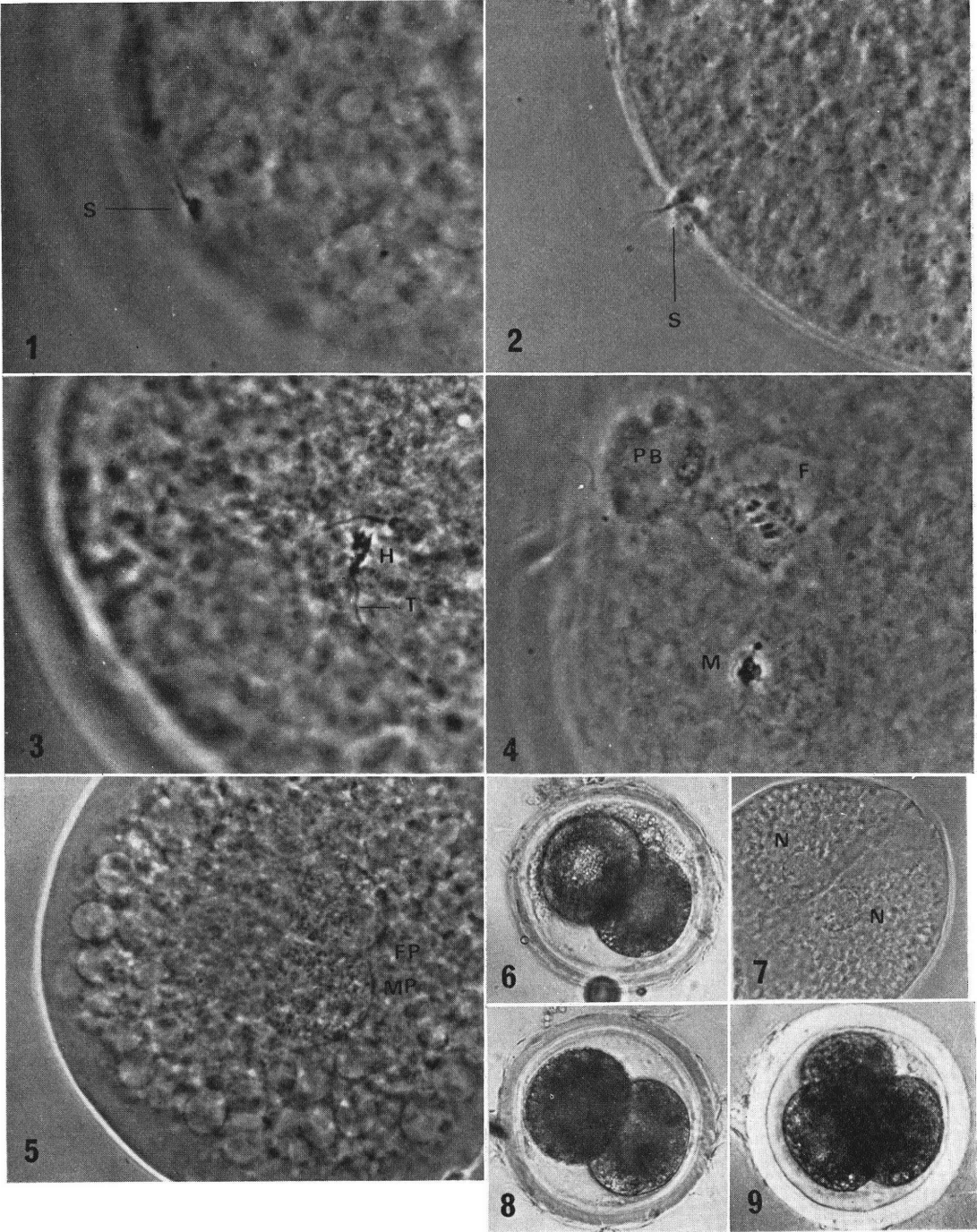


PLATE 1

- Figs. 1 and 2. Pig oocyte cultured for 27 hr and examined 5 hr after insemination. Sperm had just penetrated into vitellus. Approx. $\times 1,000$.
- Fig. 3. Pig oocyte cultured for 26 hr and examined 16 hr after insemination. Swollen sperm head (H) and clear tail (T) are visible. Unpenetrated spermatozoon is also adjacently located. Approx. $\times 1,000$.
- Fig. 4. Pig oocyte cultured for 28 hr and examined 18 hr after insemination. Anaphase of the second meiotic division, the first polar body (PB), female nucleus (F) and condensed chromatin of spermatozoa are visible. Approx. $\times 1,000$.
- Fig. 5. Pig oocyte cultured for 28 hr and examined 18 hr after insemination. Both pronuclei are visible. Approx. $\times 800$.
- Figs. 6, 8 and 9 show the cleaved eggs obtained 18 to 36 hr after insemination. (unstained, approx. $\times 200$).
- Fig. 7. The stained egg shown in Fig. 6. Nuclei (N) are visible in each blastomere. Approx. $\times 350$.

CLINICAL OBSERVATION ON NOCTURNAL BODY TEMPERATURE

Report I. —A Comparison of Nocturnal and Early Morning Body Temperatures in 17 Women Who Recently Gave Birth to a Full-Term Infant—

Yasuhiro SUZUKI, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Metropolitan
Bokuto Hospital

Abstracts: Body temperatures were taken twice daily, early morning and before retiring, from some 40 infertile women for 5 consecutive cycles or more to obtain charts. A comparison was then made between nocturnal and early morning temperatures in 17 of the women who recently gave birth to a full-term baby.

- 1) Nocturnal temperature curves were arbitrarily classified roughly into 4 types.
 - 2) Temperature curve for the cycle during which pregnancy occurred invariably was diphasic in the entire series of 17 cases.
 - 3) Temperature curve for 3 consecutive cycles previous to the last menstruation was diphasic in 14 cases and irregular or monophasic in the other 3.
 - 4) Hormonal therapy did not give rise to any gross changes in body temperature in 28 of entire 22 cycles treated.
-

Introduction

At present, it is a routine practice to obtain basal body temperature chart by taking temperature immediately upon awakening before any activity whatever in the treatment of infertility or for the purpose of contraception. However, body temperature taken before retiring, if it can be an adequate substitute for early morning reading, would certainly provide great advantage since temperature taking at bed time apparently is much less troublesome to the patient, ensures greater mental quietude and is practicable by a larger number of women than that on awakening in the morning. From some 40 patients chosen from those who were seen at our gynecologic clinic with the chief complaint of infertility since 1972, to the exclusion of those having an irregular bed time for occupational reasons, nocturnal body temperature charts were obtained for at least 5 consecutive cycles.

The present paper outlines the results of clinical observation in 17 women from this series who were recently delivered of a full-term infant.

Method

Nocturnal body temperature was taken in this series before retiring (when the patient feels most composed of the day) with the patient strictly in a sitting position but without any limitations on time of temperature taking. A temperature curve was described as diphasic when a difference of above 0.2°C was noted between the average temperature of an initial period (from menses to around 10th day of the cycle) and that of the ensuing period of some 10 days (up to around 10 days before the next menses) and hence distinction could be made clearly between the two successive periods). The cycle during which pregnancy occurred and 3 successive cycles previous to it were studied.

Results

Nocturnal body temperature curves thus obtained were roughly classified into the types shown in Fig. 1 in relation to corresponding early morning temperature curves. There was one case whose temperature curve belongs to type B at its low phase and to type A at its high phase.

Fig. 1 Types of nocturnal body temperature curve

A	High, not intersecting early morning temperature curve	4 cases
B	Intersecting early morning temperature curve	9 cases
C	Low, not intersecting early morning temperature curve	4 cases
D	Irregular (One case each from types A, B and C)	3 cases

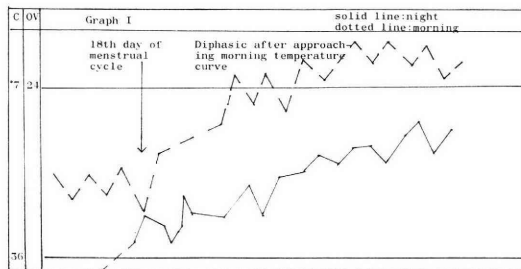
Nocturnal body temperature curve for the period subsequent to the last menstruation drew near morning temperature curve regardless of readings for the preceding 3 cycles, being diphasic invariably in all instances.

Types of nocturnal body temperature curve observed for the 3 successive cycles previous to the last menstruation were as shown in Fig. 2. In 14 cases, including 3 where

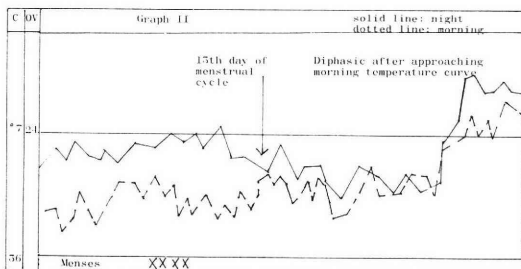
Fig. 2 Nocturnal body temperature curve for 3 cycles preceding last menstruation

A	Diphasic for all 3 cycles	11 cases
B	Diphasic for 2 of the 3 cycles	3 cases
C	Diphasic for 1 of the 3 cycles	0 cases
D	Irregular	3 cases

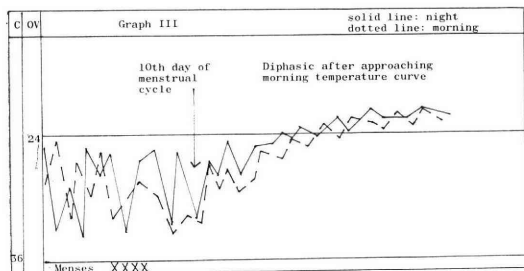
morning and nocturnal temperatures were identical, a diphasic temperature curve was obtained. Three cases showed an irregular temperature curve. In one of these 3, nocturnal body temperature was low enough



to be barely measurable. Graph I shows the temperature chart obtained from this patient. In this case, hormonal therapy resulted in slight elevation of morning body temperature with the appearance of a quasi-diphasic curve for only 2 of the 12 past cycles treated. Nocturnal body temperature remained disproportionately low without showing any appreciable changes for most of these cycles treated. However, from the last menstruation onward nocturnal body temperature tended to rise, though still relatively low in absolute value, forming an apparently diphasic curve. Graph II represents a tem-



perature chart obtained in a second case. As can be seen, the curve is monophasic, belonging to type A of Fig. 1. Morning temperature curve also was monophasic. From the last menstruation on, body temperature difference between morning and night tended to be smaller and the curve became diphasic. Morning and night temperature curves of a third case are given as Graph III. As is obvious, both curves are quite irregular, showing no consistent pattern of change. Hormonal therapy was given for 3 of 10 previous cycles. Of these 3 cycles, only one showed a diphasic temperature curve. Following the last menstruation morning and night temperature curves drew near and, moreover, were diphasic.



In this case, the patient aborted at 4 months of pregnancy 17 cycles previously. At that time of conception night and morning temperatures followed a similar course of changes.

Next, as for temperature changes following hormonal therapy, 15 of 17 cases received the treatment during 1 to 3 of previous menstrual cycles. During 22 of a total of 28 cycles treated, there occurred no changes in nocturnal body temperature. The other 6 cycles showed changes in nocturnal body temperature, i.e. 2 cycles with a monophasic morning temperature curve and a diphasic nocturnal temperature curve, 3 others with a rise in nocturnal temperature and other one with a fall in it.

Closing Remarks

These observations described above do not warrant any statistically guaranteed conclusion because of their being based on a small groups of infertile women with known or unknown abnormalities. Since, however, the study indicates that there were in-

stances in which nocturnal body temperature followed a similar pattern of changes as did morning body temperature, it seemed worthwhile to carry out a further investigation of nocturnal body temperature charts obtained under a few additional conditions of temperature taking from the rest of the present series and from healthy women, if available. The results will be reported next time. Any attempt to confirm or consolidate the findings presented herein will be appreciated.

References

K. J. Zuspan: Am. J. Obstet. Gynecol. 120 : 441 (1974).

夜間体温についての臨床的観察 第1報 最近満期産をした、17例を 中心として

鈴木 康弘

都立墨東病院産婦人科

不妊婦人約40名に早朝体温を測定させ、同日の夜間就寝時に、再び体温の測定をして、各人最低5周期以上の図表を得た。このうち最近満期産をした、17例の夜間体温を観察し、又早朝体温との比較もした。

- ① 夜間体温を4型に大別してみた。
- ② 妊娠の成立した周期は、17例全例が、2相性を示した。
- ③ 最終月経前3周期では、14例が2相性で、不規則又は、1相性のもの、3例
- ④ ホルモン投与による変化は、28投与周期中22周期に特に変化はみられなかつた。

clomiphene citrate による妊娠(とくに黄体期の 高単位 HCG 療法について)

Pregnancy following HCG therapy after clomiphene-induced ovulation

京都府立医科大学産婦人科学教室 (主任: 岡田弘二教授)

東山 秀聲 岩崎 武輝 木津 収二

Shusei HIGASHIYAMA, Takeki IWASAKI, Shuji KIZU,

村上 旭 岡田 弘二

Akira MURAKAMI, Hiroji OKADA

Kyoto Prefectural University of Medicine, Dept. of Obstetrics & Gynecology,

(Director: Hiroji Okada)

clomiphene citrate によつて誘発された排卵後の黄体機能不全の改善による妊娠率の上昇を目的として、排卵誘発後ただちに HCG 1日, 1,000IU を連日6~8日間, または3,000IU を1~5日間隔で2~4回投与し, 黄体の賦活を行なつた. 投与症例62例中40例に妊娠が成立し, 本法の妊娠率は64.5%となり, clomiphene 単独群の125例中54例, 43.2%と比べて上昇した. 投与周期数に対する妊娠率は, clomiphene-HCG 群では153周期中40周期, 26.1%となり, clomiphene 単独群の14.7%よりはかなり高くなつた. HCG 1,000 IU 群と3,000 IU 群の妊娠率の差異に関しては, 3,000 IU 群では妊娠率は投与症例数に対しては73.5%, 投与周期数に対しては28.3%となり, 1,000 IU 群のそれぞれ30.8%, 15.4%と比較して著しく上昇し, 3,000 IU の高単位 HCG 投与の方がすぐれた成績がえられた. 黄体期における HCG の投与間隔はその半減期を考慮すると, 隔日投与がよいと考えられた.

I はじめに

不妊症の原因のうち, 排卵障害が占める割合はかなり高い. 近年, 無排卵症の婦人に対する治療法は各種の排卵誘発剤の開発によつて, めざましい進歩をとげている. 排卵誘発剤のうち, clomiphene citrate (clomiphene) は, 1961年に Merrell 社で開発されたもので, 本剤は Greenblatt ら (1961) により秀れた臨床効果がえられることが報告されて以来, 一般に広く使用されるようになった. わが国での本剤による排卵誘発効果は平均60%以上となり, 比較的軽症の排卵障害婦人にはよい誘発効果がえられている. しかしながら, 秀れた排卵誘発効果の割には妊娠率は予想以上に低い. この原因については, clomiphene が anti-estrogenic な効果を持つため, 頸管粘液に対する影響により妊娠成立を障害することが第1にあげられる. 次に本剤にかぎらず, 人工的な排卵誘発後には黄体機能不全であることが多

く, これが妊娠率の低い原因になると考えられる.

そこでこの研究においては, clomiphene により排卵の誘発に成功した後 HCG 投与を行ない, 黄体機能不全の改善による妊娠の成立をはかつた. また, clomiphene-HCG 療法と clomiphene 単独治療による妊娠率の比較を行なつた.

II 治療対象ならびに方法

われわれの不妊外来を訪れ, 不妊の原因が排卵障害にのみ求められるもの, および精子数が3,000万~4,000万/ml 程度の軽度の精子減少症で AIH を同時に施行したもので, 主として排卵障害が原因と考えられる症例である.

clomiphene の投与は月経, または消退出血の開始第5日より, 1日50mg, 5日間内服させ, おもに BBT と頸管粘液の性状により, 時に内膜診によつて排卵の有無を推定した.

Table 1 Clomiphene citrate による排卵誘発効果

	症例数	排卵例数	排卵例数 症例数 %	投与周期数	排卵周期数	排卵周期数 投与周期数 %	くりこし効果 (周期)
散発無排卵症	37	37	100.0	102	102	100.0	16
無排卵周期症	56	54	96.4	240	173	72.1	19
第1度無月経	75	59	78.7	295	185	62.7	15
第2度無月経	25	4	16.0	49	7	14.3	0
計	193	154	79.8	686	467	68.1	

注：黄体期の HCG 投与例を含む

Table 2 Clomiphene citrate 投与と妊娠

	症例数	排卵例数	(a) 妊娠例	妊 娠 症例数 %	(b) 自然排 卵による妊娠	妊 娠 例 (a + b)	妊 娠 率
散発性無排卵症	20	20	7	35.0%	3	10	50.0%
無排卵周期症	48	46	20	41.7	4	24	50.0
第1度無月経	70	55	25	35.7	2	27	38.6
第2度無月経	25	4	2	8.0	0	2	8.0
計	163	125	54	33.1	9	63	38.7

clomiphene 1日50mg, 5日間投与で排卵誘発がみられない場合は, 消退出血開始第5日から clomiphene 1日 100 μ g, 5日間, さらに排卵誘発に成功しなかつたときは, 1日 150mg まで増量し, 同様の投与方法を行なつた. 本剤の1日 150mg, 5日間投与でもなお排卵がおこらなかつた場合は無効と判定した.

clomiphene による排卵誘発の成功例では, 連続2~3周期投与を行なつたあと休業し, くりこし効果を観察した.

次に, clomiphene による排卵誘発に成功した症例のうち62例に対して, BBT 上昇2~5日よりHCG 1,000 IU を連続6~8日間, あるいは同時期に高単位のHCG 3,000 IU を1~5日間隔で2~4回注射し, 黄体賦活を行なつた.

clomiphene による排卵誘発を行なつた症例のうちわけは, 散発性無排卵周期症37例, 無排卵周期症56例, 第1度無月経75例, および第2度無月経25例である.

なお, 無月経のうち progesterone 30mg の注射で消退出血が認められたものは第1度無月経, さらに estrogen または estrogenic progestogen 投与で始めて出血が認められるものは第2度無月経とした.

III 成 績

A) clomiphene による排卵誘発効果

clomiphene による排卵誘発成績は Table 1 に示した.

すなわち, 散発性無排卵周期症では37例中37例全例に,

無排卵周期症では56例中54例, 96.4%に, 第1度無月経では75例中59例, 78.7%に排卵が認められた. これらの症例数に対する誘発効果は78~100%となり, きわめて高率であつた.

投与周期数に対する誘発効果も, 散発性無排卵周期症では102周期の全周期に, 無排卵周期症では240周期中173周期, 72.1%に, 第1度無月経では295周期中185周

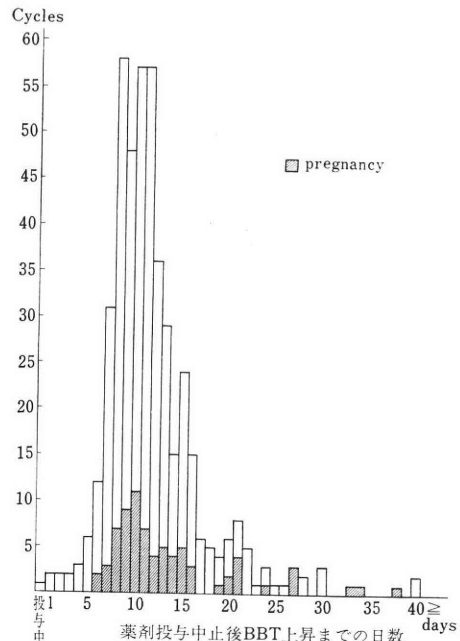


Fig. 1 clomiphene citrate による排卵誘発と妊娠

Table 3 Clomiphene citrate 投与と妊娠

	投与周期数	排卵周期数	(a) 妊娠例	妊 娠 % 投与周期数	(b) 自然 排卵によ る妊娠	妊 娠 例 (a + b)	妊娠成功率 %
散発無排卵症	59	59	7	11.9	3	10	16.9
無排卵周期症	210	143	20	9.5	4	24	11.4
第 1 度無月経	268	158	25	9.3	2	27	10.1
第 2 度無月経	49	7	2	4.1	0	2	4.1
計	586	367	54	9.2	9	63	10.8

期, 62.7%にみられ, 高い排卵誘発効果がえられた。

従来から clomiphene に無効とされている第 2 度無月経においても, この研究では投与症例 25 例中の 4 例, 16.0%に排卵が誘発された。投与周期に対する誘発効果は 49 周期中 7 周期, 14.3%であつた。

次に排卵誘発に成功した周期における排卵の時期を, clomiphene 中止後の日数からみたのが Fig. 1 である。中止後 7~16 日に排卵するのがきわめて多い。

B) clomiphene 単独療法による妊娠

clomiphene 単独投与時の妊娠は Table 2 に示したように, 投与症例数から妊娠の成立をみると, 散発性無排卵周期症では 20 例中の 7 例, 33.3%に, 無排卵周期症では 48 例中 20 例, 41.7%に, 第 1 度無月経では 70 例中 25 例, 35.7%に妊娠の成立が認められた。第 2 度無月経においては 25 例中 2 例, 8.0%ではあるが妊娠が成立した。すなわち, 全投与例数 163 例中 54 例, 33.1%に妊娠が成立した。

しかしながら, Table 3 のように, 投与周期数に対する妊娠成功率は散発性無排卵周期症では 11.9%, 無排卵周期症では 9.5%, 第 1 度無月経では 9.3%, 第 2 度無月経では 4.1%となつた。すなわち, 総投与周期数に対する妊娠成功率は 9.2%, くりこし効果による妊娠例を含めても 10.8%にすぎない。このことは妊娠成立までには, clomiphene を何周期かくり返して投与しなければならぬことを示している。

次に, 妊娠成立の時期を clomiphene 投与中止後の日数からみると, すでに Fig. 2 に示したように, 当然のことであるが排卵の最も多い時期に一致して, 妊娠の成立も多くなつてゐる。ここで特徴があることは, 投与中止後 6 日以内には排卵があつても妊娠成立が認められないことである。

C) clomiphene-HCG 療法による妊娠

clomiphene による排卵率が高いのに, それが妊娠成立に結びつくことが少ない。その原因の 1 つと考えられる排卵後の黄体機能不全の改善を行なう目的で, clomiphene 投与周期の黄体期に HCG を投与し, 黄体機能の賦活を行なつた。

Table 4 Clomiphene citrate 投与による妊娠

	排卵例数	妊娠例数	妊娠成功率
Clomiphene 単独	125	54	43.2%
Clomiphene+HCG	62	40	64.5

	排 卵 周 期 数	妊娠例数	妊娠成功率
Clomiphene 単独	367	54	14.7%
Clomiphene+HCG	153	40	26.1

Table 5 Clomiphene+HCG 療法による妊娠

	投与例数	妊娠例数	妊娠成功率
Clomiphene 6~8 days HCG 1000 IU/day	13例	4例	30.8%
Clomiphene 2~4 回 HCG 3000 IU/day	49	36	73.5

	投 与 周 期 数	妊 娠	妊娠成功率
Clomiphene 6~8 days HCG 1000 IU/day	26例	4例	15.4%
Clomiphene 2~4回 HCG 3000 IU/day	127	36	28.3

投与症例に対する妊娠成功率は, Table 4 に示したように, HCG 投与群では排卵例数 62 例中 40 例, 64.5%となり, HCG 投与を行なわなかつた clomiphene 単独投与群の排卵例数 125 例中 54 例, 43.2%の妊娠成功率と比較して, 著しい成績の向上が認められた。

また, 排卵周期に対する成功率は clomiphene 単独投与群では 14.7%であるのに対し, clomiphene-HCG 群では 153 周期中 40 周期, 26.1%となり, この面でもよい成績がえられた。

次に, 黄体期に投与する HCG 量と妊娠の関係を示したのが Table 5 である。

HCG 1 日 1,000 IU, 6~8 日投与では 13 例中 4 例, 30.8%に妊娠が認められたが, この成績は clomiphene 単独時よりもやや低い。一方, HCG 1 日 3,000 IU, 2

～4回投与では49例中36例, 73.5%とかなり高率に妊娠の成立が認められた。

HCG の投与周期数に対しては, HCG 1,000 IU 投与群では26周期のうち4周期, 15.4%, HCG 3,000 IU 投与群では127周期中36周期, 28.3%に妊娠が成立した。すなわち, HCG 1日3,000 IU の高単位療法の方が妊娠成功率が高くなった。

D) 妊娠例の経過とその転帰

clomiphene および clomiphene-HCG 療法後の妊娠の経過, ないし転帰は Table 6 のようである。

Table 6 妊娠とその後の転帰

	clomiphene 単独	clomiphene-HCG
満期産	38	17
早産	4	1
妊娠中流産	6	15
人工流産	12	7
人 工 流 産	2	0
胞状奇胎	3	0
不 明	1	0
	63	40
注 双胎	3	0
奇 形	1	1

clomiphene 単独療法時の流早産率は, くりこし効果による妊娠を含めて23.8%, clomiphene-HCG 療法では20.0%となり, 両者の間に有意差は認められなかった。

人工排卵誘発時に多いとされる多胎妊娠は3例にみられたが, いずれも双胎であり, 三胎以上の分娩例は認められていない。

なお, clomiphene 単独療法において胞状奇胎が3例に認められているが, clomiphene と胞状奇胎発生の因果関係については症例数も少なく, 即断はできない。

また, この研究でみられた胎児奇形の2例のうち, 1例は羊水過多症を伴った鎖肛, 他の1例は多指症であり, どれも妊娠8カ月以後の死産であった。clomiphene 投与後の奇形発生率は Mac Gregor (1968) の2,000例におよぶ集計で1.98であり, 特別の奇形のパターンはみられず, 英国での集計(1968)も2%である。したがって, 本研究における胎児奇形は clomiphene によるものとはただちに断定することはできない。

IV 考 按

clomiphene の排卵誘発機序にはいくつかの説がある。卵巣への直接作用説, あるいは LH surge の trigger

説 (Whitelaw et al. 1966) などがあるが, clomiphene が FSH releaser として作用し, estrogen の産生増加に基因する feed back による LH surge が一般的な考え方である (倉智1974)。

clomiphene は第2度無月経あるいは原発性無月経のような重症度が高い症例には奏効しないが, 軽症の排卵障害には高い排卵誘発効果がえられる。しかしながら, 秀れた排卵誘発率に比較して, 妊娠成功例が予期したほどえられず, また妊娠成立に成功しても流産になる率が高い。

妊娠成功率が低い原因の1つは前述のように, 人工排卵誘発後にみられる黄体機能不全にあると考えられる。すなわち, Murray & Osmond-Clarke (1971) は排卵した症例の約30%は黄体期, 高温期が短縮することを認めている。井上ら (1973) によると, clomiphene による排卵誘発例の着床期における子宮内膜診で, 黄体ホルモン単独分泌不全を示すものが多いと報告している。

そこで黄体機能の改善を目的として, clomiphene による排卵誘発後の黄体期に HCG を投与すると, 上述のように投与症例の64.5%に妊娠成立が認められ, clomiphene 単独によるよりも高い妊娠成功率がえられた。

HCG はヒトの卵巣に黄体を形成し, とくに内莖膜細胞にルテイン化をもたらし, 尿中 pregnanediol 値の上昇を示す生物学的作用がある。この作用を利用して, HCG は排卵誘発に利用されている。HCG にはまた, 形成された黄体を賦活する作用も持っている。

黄体機能不全が推定された症例に HCG 1,000 IU, または3,000 IU/day を前記の投与方法で投与した成績では (Table 7), 高温の期間は妊娠例を除外すると,

Table 7 HCG 投与と高温期間

日 数	HCG 1,000 IU/日	HCG 3,000 IU/日
≥11	1	2
12~13	6	11
14~15	10	15
16~17	1	26
18~19	1	9
20~21	2	3
22≤	1(1)	13(10)

() 内は妊娠例数

HCG 1,000 IU 群においては21日間, HCG 3,000 IU 群においては25日間まで延長した症例がある。前者では高温期間が14~15日, 後者では16~17日となるものが最も多くなった。

pregnanediol 値は、黄体期における投与前の値が $1.56 \pm 0.22 \text{ mg/24 hs}$ であり、第1回のHCG 3,000 IU 投与2~4日後は $1.93 \pm 0.24 \text{ mg/24hs}$ 、第2回投与2~4日後は $2.19 \pm 0.28 \text{ mg/24 hs}$ と増加した(東山1973)。第1回の HCG 投与2~4日後は黄体開花期に相当しているから pregnanediol が増量するのは当然であるが、開花期を過ぎた第2回投与後にも pregnanediol 値は上昇し、HCG 3,000 IU 投与で黄体が賦活されることが認められた。また、黄体期に HCG 投与後 estrogen, progesterone が著明に増加することが Strott (1969), 中村ら (1974) によつて報告されている。Noyes (1959) は HCG を黄体期に投与すると、子宮内膜は日付診上1~2日の促進が認められることを報告している。黄体機能不全の内膜は、着床期に腺、間質の不均衡がみられるが、HCG 5,000 IU を3日間投与すると、腺、間質の不均衡が是正されるという(中村ら1974)。

したがつて、clomiphene での排卵誘発後に HCG を投与すると、黄体賦活により内因性の性 Steroid 分泌が促進され、子宮内膜に作用し、このことが受胎のための好条件をもたらすようになると推定される。

clomiphene による人工排卵誘発後の黄体期に HCG を投与して、妊娠率の上昇を試みているのは Murray & Osmond-Clarke (1971), 中村ら (1974) があり、それぞれ clomiphene 単独時よりもよい妊娠率をあげている。森ら (1974) は clomiphene 無効の軽症排卵障害例や clomiphene 効果の不定な症例に排卵誘発を目的として高単位の HCG 投与後、ひきつづき黄体期に HCG 3,000~5,000 IU, 3日間の投与で排卵率が上昇し、妊娠成立の可能性が増大するとして、clomiphene-HCG 療法を推奨している。

さて、人工排卵誘発後を含めた黄体機能不全の症例に対して HCG を投与する場合、比較的低単位の HCG がよいか、それとも高単位のそれがよいか問題となる。この研究で示したように、HCG 1,000 IU では投与症例13例中の4例、30.8%に、HCG 3,000 IU では投与症例49例中の例、73.5%に妊娠が招来された。投与周期に対する妊娠率は、HCG 1,000 IU では26周期中の4周期、15.4%に、HCG 3,000 IU では127周期中の36周期、28.3%に妊娠が成立した。この成績から、妊娠成立には高単位の HCG 3,000 IU の方がはるかに秀れていることが認められた。従来、黄体機能不全に対しては、もつぱら HCG 1,000 IU~2,000 IU が使用されていたが、高単位の HCG の出現とともに現在では HCG 3,000 IU, または5,000 IU が用いられるようになってきている。現在、われわれは HCG 5,000 IU の投与症例についても検討を進めている。

次に、HCG の投与間隔と期間が論議の対象となる。

この研究では、1~5日の間隔で2~4回 HCG を投与した。低単位の HCG しか存在しなかつた頃には、連日投与または隔日投与が行なわれ、投与期間も5~14日というように各研究者によつて一定していなかつた。最近のわれわれの研究では、HCG 3,000 IU 投与翌日の血中、および尿中 ganadotropin level は LH として midcycle peak, またはそれ以上の level であり、2日後においても血中、尿中 level はまだ十分高値を示すこと(東山ほか1974)、HCG 3,000 IU を1~2日間隔で投与すると血中 HCG はおのおの40 mIU, 18 mIU 蓄積されるという玉田 (1973) の報告、HCG の半減期が30~33時間であるという Midgley et al. (1968), Rizkallah et al. (1969) の報告などを考慮すると、投与間隔は隔日でよいと考えられる。低単位 HCG の連日投与では、高単位 HCG の1~5日間隔の投与よりも妊娠率功率ははるかに劣り、また患者に負担をかける点でも合理的ではない。現在、血中 progesterone, estrogen 測定により、黄体機能不全における HCG の投与期間を含めて詳細な検討を実施中である。

clomiphene による排卵誘発後の妊娠率が良好でないもう1つの原因と考えられるものに、clomiphene の anti-estrogenic な作用がある。すなわち、日常臨床において、clomiphene 投与後に頸管粘液の増量が悪い症例に遭遇することが多い。また前述のように、この研究において clomiphene 投与中止後5日以内では、たとえ排卵が誘発されても妊娠の成立はみられなかつた。これらのことは clomiphene の anti-estrogenic な作用により頸管粘液の性状が影響をうけ、妊娠成立に至らなかつた1因と推測される。この因子を除く意味で clomiphene と併用して epimestrol (関ほか1972, 田島1974), quonestrol (Scharf et al. 1971, 田島1974), Conjugated estrogen (Poliak et al. 1973), あるいは PMS, HMG (Tymor et al. 1973, Kistner 1966) の投与が報告されている。

なお、妊娠成立の障害となる clomiphene 治療中の anti-estrogenic 効果と、排卵誘発後の黄体機能不全の2つの原因を同時に除去する目的で、estrogen 剤、PMS または HMG の併用法は一層、妊娠率を増加させ、正常婦人の妊娠率85~90% (Jones et al. 1970) に近づけることが可能と予想され、この点についても今後検討する予定である。

V むすび

clomiphene による排卵誘発効果は、軽症の排卵障害婦人には秀れた成績をあげるが、これが妊娠に結びつく

ことが少ない。この原因の1つと考えられる排卵誘発後の黄体機能不全を改善して妊娠率を高める目的で、HCG 投与を行なった。

その結果、妊娠率は投与症例に対しては HCG 療法群では64.5%、clomiphene 単独群では43.2%となり、また投与周期数に対しては HCG 療法群では26.1%、clomiphene 単独群では14.7%となり、HCG 投与により clomiphene 単独よりも妊娠率が有意に上昇した。

黄体期における HCG の投与量は、1,000 IU 投与群では妊娠率は症例数に対しては30.8%、投与周期数に対しては15.4%と低いが、1日3,000 IU 投与群では症例数に対して73.5%、周期数に対しては28.3%と妊娠率が高くなり、3,000 IU HCG 投与の方がはるかに秀れた成績がえられた。

また、HCG の投与間隔はHCG 3,000 IU 投与翌日の血中、尿中 HCG level, pregnanediol 値の動態からみて、HCG の隔日投与が合理的と考えられた。

本論文の要旨は第回近畿産科婦人科学会総会、第18回日本不妊学会総会でのべた。

主要参考文献

- 東山秀聲：黄体機能不全に対する HCG 療法，第1回近畿地区 MRC 研究会，1973。
- 東山秀聲ほか：排卵誘発剤投与中のゴナドトロピン動態，第2回近畿地区 MRC 研究会，1974。
- 井上彬：人工排卵周期における黄体機能の研究，日本不妊会誌，18：1，1973。
- 倉智敬一：間脳下垂体，性腺系の内分泌機能検査—とくに臨床実施医家のために—，日産婦誌，26：791，1974。
- 森宏之ほか：clomiphene citrate (Clomid) と HMG の順次投与による排卵誘発法の検討，産と婦，41：599，1974。
- 中村幸雄ほか：黄体機能不全に対する HCG 高単位療法，産婦の世界，26：37，1974。
- 関光倫ほか：clomid-Epimestrol 同時併用療法，第17回日不妊学会講演集，p. 205，1972。
- 田島朝信：clomiphene citrate と併用した quine-strol および epimestrol の血清 FSH, LH およびその他の内分泌環境に及ぼす影響，日産婦誌，26：601，1974。
- 玉田太郎：FSH, LH と排卵—排卵を中心としたホルモン動態—，日産婦誌，25：964，1973。
- Greenblatt, R. B. et al. : Induction of Ovulation with MRL/41 JAMA, 178 : 101, 1961.
- Insler, V. et al. : Cycle Pattern and Pregnancy Rate following Combined Clomiphene-Estrogen Therapy, Obstet. Gynec., 41 : 602, 1973.
- Jones, G. S. et al. : Pathophysiology of reproductive failure after clomiphene-induced ovulation, Am. J. Obstet. Gynec., 108 : 847, 1970.
- Kistner, R. W. : Use of Clomiphene Citrate, Human Chorionic Gonadotropin, and Human Menopausal Gonadotropin for Induction of Ovulation in the Human Female, Fertil. Steril., 17 : 569, 1966.
- MacGregor, A. H. et al. : Further Clinical Experience with Clomiphene Citrate, Fertil. Steril., 19 : 616, 1968.
- Midgley, A. R. & Taffe, R. B. : Regulation of Human Gonadotropin, 11. Disappearance of Human Chorionic Gonadotropin following Delivery, J. Clin. Endocri., 28 : 1712, 1968.
- Murray, M. & Osmond-Clarke, F. : Pregnancy Results following Treatment with Clomiphene Citrate, J. Obstet. Gynec. Brit. Comm., 78 : 1108, 1971.
- Poliak, A. et al. : Clinical Evaluation of Clomiphene ; Clomiphene and Human Chorionic Gonadotropin ; and Clomiphene, Human Chorionic Gonadotropin, and Estrogens in Anovulatory Cycles, Fertil. Steril., 24 : 921, 1973.
- Strott, C. A. et al. : Ovarian Physiology : Relationship between Plasma LH and Steroidgenesis by the Follicle and Corpus Luteum ; Effect of HCG, J. Clin. Endocri., 29 : 1157, 1969.
- Taymor, M. L. et al. : The combined use of clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin in ovulation induction, Fertility and Sterility ; ed Hasegawa, T. et al. P. 658, Excerpta Medica Amsterdam, American Elsevier Publishing Co., Inc. New York, 1973.
- Today's Drug : Clomiphene Citrate, Brit. Med. J. 1 : 363, 1968.

Pregnancy following HCG therapy after clomiphene-induced ovulation

Shusei Higashiyama, Takeki Iwasaki,
Shuji Kizu, Akira Murakami and
Hiroji Okada

Kyoto prefectural University of Medicine,
Dept. of Obstetrics & Gynecology,
(Director : Hiroji Okada)

It was reported that the pregnancy rate following the induced ovulation with clomiphene was lower as compared with the ovulation rate.

This clinical result was appeared to be due in part to antiestrogenic effect on cervical mucus and to corpus luteum dysfunction during and after the treatment of clomiphene. The present study concerns to a pregnancy rate in patients treated with human chorionic gonadotropin (HCG) in the clomiphene-induced postovulatory phase.

In the present study, infertile women who was

diagnosed as being due to anovulation were treated with clomiphene alone or clomiphene and HCG.

Group 1: clomiphene citrate alone

One hundred and sixty-three infertile women were treated during 586 cycles with clomiphene alone. The dose was 50 mg daily for 5 days, and then was increased, if ovulation was unsuccessful, up to 150 mg per day. The above regimen was started on the 5th day following withdrawal bleeding induced by progestogen.

Group 2: clomiphene citrate and HCG

Sixty-two infertile patients were treated during 153 cycles with clomiphene followed by HCG. HCG was injected subcutaneously 1,000 or 3,000 IU per day in the immediate postovulatory phase. Thirteen women were treated during 26 cycles with clomiphene followed by 6 or 7 daily 1,000 IU HCG injection and 49 women were treated during 127 cycles with clomiphene followed by 3,000 IU HCG every other day for 7 to 10 days in the postovulatory phase.

Ovulation was induced in 79.8%. In most cases ovulation occurred 7 to 16 days after the last dose. In group 1, 54 of 125 ovulated women

(367 ovulated cycles) conceived, giving a pregnancy rate of 43.2% of patients and of 14.7% of ovulated cycles. In this series, 9 pregnancies occurred in subsequent cycles without further treatment. In group 2, 40 of 62 ovulated patients (153 ovulated cycles) became pregnant with a pregnancy rate of 64.5% of patients and of 26.1% of ovulated cycles. These results clearly demonstrated that improved effect was obtained with the combined use of HCG in the immediate postovulatory phase. Moreover, the pregnancy rate using HCG in a dose of 3,000 IU was markedly higher than that using HCG in a dose of 1,000 IU. From this result, the use of 3,000 IU HCG appears to be more advisable in the improvement of pregnancy rate.

The outcome of all pregnancies is as follows; Pregnancy ending in term birth...53 single birth, 2 pairs of twins. Premature birth and abortion...4 single birth, 1 pair of twin, 19 spontaneous abortions, 2 induced abortions, 3 hydatiform moles. Twenty-one normal pregnancies and 1 unknown.

The 3 pairs of twins were all conceived in the treated cycles.

ラットにおける実験的同種免疫性無排卵症

I. 同種卵巣免疫の性周期に及ぼす影響

Experimental Alloimmune Ovulatory Disorder In The Rat. Effect Of Alloimmunization With Ovarian Tissues On The Cyclic Function Of The Ovary

京都大学医学部婦人科学産科学教室

森 崇 英 鈴木 瞭

Takahide MORI Akira SUZUKI

北川 道夫 西村 敏雄

Mitio KITAGAWA Tosio NISIMURA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Kyoto University, Sakyo-Ku, Kyoto Japan

Rockefeller University Population Council
Kenneth A. Laurence

ラットを用いて同種免疫性無排卵症の実験モデルを作ることを目的とし、Holzman 系ラット卵巣の全ホモジネートを Freund's complete adjuvant とともに同種成熟雌ラットを免疫した。対照群には卵巣組織の代わりに磷酸緩衝生理食塩水を、またステロイド対照群には同量の卵巣組織に含まれる estradiol-17 β , progesterone の3~4倍相当量を投与した。

陰脂膏によつて卵巣の周期的機能を経時的に観察した結果、卵巣感作群において周期の乱れの発現率や持続期間が対照群、ステロイド対照群に比して有意に高く、卵巣重量も不正周期をきたした卵巣感作動物で有意に減少した。

以上のことからラット卵巣の同種免疫で無排卵症の実験モデルを作ることができ、これは非特異因子や内分泌機序によるものではなく卵巣組織に特異的な反応として出現した生物学的現象であることが結論された。

はじめに

特発性アジソン氏病の患者血中に抗副腎抗体が存在することが1968年 Anderson et al.¹⁾, Irvine et al.²⁾によつて相前後して報告され、ステロイド産生細胞に対する自己抗体の発現がこれら疾患の発生病理と関連してにわかには注目をあびるようになった。

われわれも1967年来無排卵症患者に対して免疫組織化学的検討と内分泌学的検索をあわせ行なつて、性上位部ならびに卵巣に明瞭な原因の認め難い特発性無排卵症のなかには自己免疫的機序がその発症に関与していることを指摘、すでに報告した^{3,4)}。

卵巣の特異抗原性についてはモルモット (Porter et al.⁵⁾、ハムスター (Ownby et al.⁶⁾ や家兎 (Sacco et al.⁷⁾) が検討されているが、これらはいずれも he-

teroimmune system を用いての実験であり、上述の臨床知見を生殖免疫学的立場から分析するためには allogeneic あるいは syngeneic な実験系を用いて無排卵症の実験モデルを作ることが必要であるが、alloimmune 系を用いての検討は Isojima⁸⁾の報告があるのみである。

このような目的から今回われわれはラットを用い、同種免疫によつて無排卵症の実験モデルを作ることに成功し、生殖免疫学的検討を加えた。本論文では同種卵巣免疫の性周期に及ぼす生物学的影響を中心に報告する。

実験材料と方法

動物

体重180~200 g の Holzman 系成熟雌ラット (50% inbred) を使用した。これらのラットは温度26°C に保たれた飼育室で毎日14時間の照明条件下に固形飼料

Table 1 Material for immunization in three treatment groups of animals

	No. of animals	Injected material	Initial immunization ^a	2nd and 3rd immunization ^a
Sensitized group	24	Ovarian tissue	500 mg	500 mg
		Phosphate buffered saline ^b	0.5 ml	0.5 ml
		Freund's complete adjuvant	1.0 ml with 100 µg TB ^c	1.0 ml with 5 µg TB ^c
Control group	25	Phosphate buffered saline ^b	1.0 ml	1.0 ml
		Freund's complete adjuvant	1.0 ml with 100 µg TB ^c	1.0 ml with 5 µg TB ^c
Steroid control group	10	Phosphate buffered saline	1.0 ml	1.0 ml
		Estradiol-17β	50 ng	50 ng
		Progesterone	50 µg	50 µg
		Freund's complete adjuvant	1.0 ml with 100 µg TB ^c	1.0 ml with 5 µg TB ^c

a Per animal

b 0.02 M, pH 7.2

c Mycobacterium butyricum

Table 2 Ovarian contents of estradiol-17β and progesterone during the estrus cycle in the rat

Phase of the cycle	Estradiol-17β		Progesterone	
	no. of animals	Mean±S.E. ^a (Pg/100 mg tissue)	no. of animals	Mean±S.E. (ng/100 ml tissue)
Proestrus	5	3364±416	7	3585±580
Estrus	7	2429±374	7	2062±393
Diestrus I	7	2196±454	5	3195±345
Diestrus II	7	2278±375	7	3447±411
Mean throughout the cycle	26	2433±212	26	3007±263

a Mean±standard error

(Purina Co.) と十分な水を与えて飼育した。実験の全期間を通じて毎日午前10~11時の間に陰脂膏を調べ、卵巣の周期的機能の指標とした。また実験開始に先立って少くとも3周期4~5日の規則的な周期をもつた動物のみを選び出して実験に供した。合計59匹の動物を3群に分け、24匹は卵巣感作群、25匹は対照群、10匹は後にのべるステロイド対照群とした。

免疫材料 (表1)

免疫材料は表1に示した通りである。感作群に対しては同系成熟ラットの卵巣を抗原として用いた。卵巣組織を磷酸緩衝生理食塩水 (PBS, 0.02 M, pH 7.2) にて50%の homogenate を作り、これに等量の Freund's complete adjuvant (FCA) を加えて、water-in-oil の suspension を作成した。免疫に用いた卵巣の組織量は動物当り500 mg とし Mycobacterium butyricum の量は初回免疫には100 µg, Booster 免疫には5 µg とした。対照群に対しては卵巣組織の代りに PBS を用い、

ステロイド対照群に対しては50 ng の estradiol-17β と 50 µg の progesterone を含むように調製した免疫材料を用いた。これら性ステロイドの計算基準は以下にのべた通りである。

免疫方法

免疫方法は懸濁液を背部皮内に0.1 ml ずつ20カ所計 2.0 ml を注射した。初回免疫から10日後に2回目の免疫をさらにこれから28日後に3回目の免疫を施行した。これらのスケジュールは遅延型過敏状態を誘発するのに最も適当とされ米国ロックフェラー大学 Dr. Chase の方法に準じたものである。最終免疫から7日目と21日目に各実験群の半数の動物を殺し、血清、卵巣および諸臓器を剔出して以後の実験に供した。

Radioimmunoassay (表2)

卵巣組織ホモジネートから ethyl ether にてステロイドを抽出し、既知量の ³H-estradiol または ³H-progesterone の存在下に Linder⁹⁾の方法で作成した rab-

bit anti-estradiol-17β-BSA または rabbit anti-progesterone-BSA の一定量を加えて反応させたのち、dextran-coated charcoal 法にて B/F 分離を行ないこれらステロイドの含有量を求めた。これらの抗血清はロックフェラー大学 Population Council, Dr. Sundram から提供されたものである。測定成績は表 2 に示した通りであつてステロイド対照群に投与した量は、500 mg の卵巣組織に含まれるステロイド量の 3~4 倍に相当している。

実験成績

免疫処置の卵巣機能に及ぼす影響を発情周期の乱れと卵巣重量の変化から検討した。

発情周期の乱れの発現時期とパターン (図 1) : 膣脂膏が最短 7 日以上持続非発情あるいは持続発情状態を示したものを周期の乱れとした場合、各群において少くとも 1 回の不正周期をきたした動物についてその発現時期と持続期間を図 1 に示した。感作群では早いものでは初回免疫後 2 週間前後で周期の乱れが生じ始め 3 回目の免疫以後ではかなり高頻度に認められた。対照群およびステロイド対照群においてはやはり初回免疫後 10 日~2 週間前後から不正周期が現われ始めているが、日数の経過とともに特に頻度が高くなるという傾向は認められなかった。

不正周期のパターンとしては持続非発情を示すものが圧倒的に多く、少数の持続発情を示すものもあつたが日数の経過とともに持続非発情に移行するというパターンを示した。

発情周期の乱れの発現率と持続期間 (表 3)

周期の乱れの発現率は感作群では 24 匹中 14 匹 (58.3%)、対照群では 25 匹中 6 匹 (24.0%)、ステロイド対照群では 10 匹中 2 匹 (20.0%) と感作群で有意に高い発現率を示している。

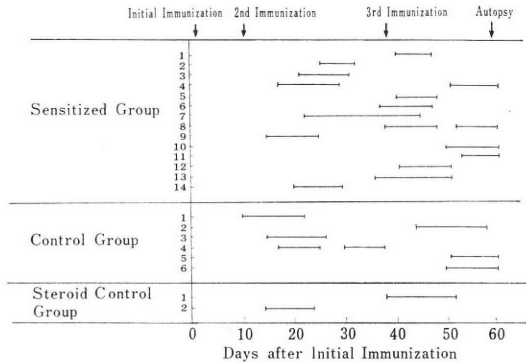


Fig. 1. Onset and duration of irregular cycles of the rat. Sensitized group of animals were immunized with allogeneic ovarian tissue in Freund's complete adjuvant. Control group of animals were immunized with phosphate buffered saline in Freund's complete adjuvant. Steroid control group of animals were immunized with 50 ng of estradiol-17β and 50 μg of progesterone in Freund's complete adjuvant as described in the text.

不正周期の持続期間は感作群では短いもので 7 日、長いもので 23 日となっているが、対照群、ステロイド対照群では最長 14 日となっている。なお発現時期と持続期間との間には必ずしも一定の相関関係を見出すことはできなかった。

各群における不正周期の持続日数を積算すると感作群 165 日、対照群 72 日、ステロイド対照群 24 日となっており、これを各群の全動物の全実験日数で除して不正周期の相対持続日数を算出すると、感作群では 13.2 日、対照群では 5.5 日、ステロイド対照群では 4.6 日とやはり感作群において有意に長い周期の乱れを生じており、対照群とステロイド対照群との間には有意義は認められなかった。

Table 3 Effect of immunization with ovarian homogenate on estrus cycle in the rat

	Sensitized group	Control group	steroid control group
No. of animals employed	24	25	10
No. of animals with irregular cycle	14	6	2
Percentage of animals with one or more irregular cycle	58.3%	24.0%	20.0%
Total duration in days of irregular cycles	165	72	24
Relative duration in days of irregular cycles ^a	13.2	5.5	4.6

a calculated as follows:

$$\frac{\text{Total duration in days of irregular cycles}}{\text{number of animals per group} \times \text{days from initial immunization to autopsy}} \times 100$$

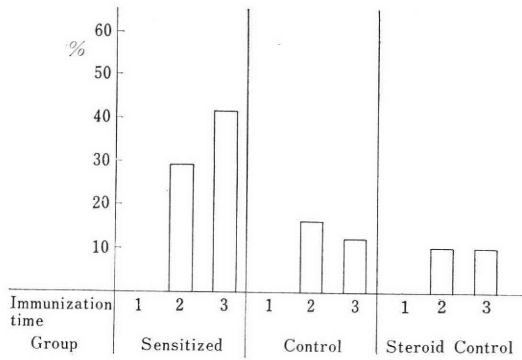


Fig. 2. Effect of repeated immunization on incidence of irregular cycles in each treatment group.

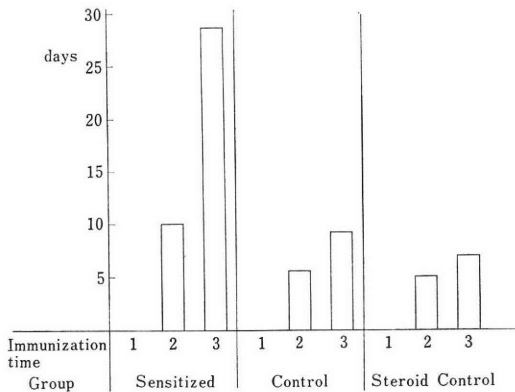


Fig. 3. Effect of repeated immunizations on relative duration days.

反復免疫処置の効果 (図 2, 3):

免疫回数を反復した場合の効果を知るため各回免疫後の周期の乱れの発現頻度を各群について比較検討した成績を図 2 に示してある。3 群とも初回免疫後には周期の乱れをきたした動物はいなかったが、感作群では 2 回免疫後には 29%、3 回免疫後には 42% と回数を重ねるにしたがって発現率が上昇している。これに対し、対照群、ステロイド対照群とも発現率は不変であった。

同様に反復免疫の効果を不正周期の相対持続期間でみると、図 3 に示した通り、感作群では少なくとも 3 回までの免疫処置で相対持続日数が有意に延長しているのに対し、対照群、ステロイド対照群では延長傾向は認められなかった。

卵巣重量に及ぼす影響

各実験群における卵巣重量を平均±標準偏差で表わすと、感作群 69.1±20.8 mg で周期の乱れを生じたもの 64.5±16.9 mg、乱れを生じないもの 74.1±17.1 mg であった。これに対し対照群では 82.5±19.4 mg ステロイド対照群では 84.4±12.4 mg であった。感作群では卵

巣重量の減少傾向が認められた群 t-test によつて有意差検定をしてみると感作群全体あるいは感作群のうち周期の乱れを生じなかつた群と対照群との間には有意差は認められなかつた。しかし感作群のうち周期の乱れを生じた群と対照群との間には 1% の危険率において有意に卵巣重量の減少が証明された。

考 按

今回の実験により同種ラット卵巣で同種ラットを免疫した場合、無排卵状態をもたらすことができることが明らかとなつた。この無排卵状態は同程度の免疫処置によるストレスが加わつたと考えられる対照群や、免疫に使用した卵巣組織量に含まれる estradiol-17β および progesterone の相当量の 3~4 倍以上の量を投与したステロイド対照群で誘発されなかつたことから、非特異的因子や内分泌機序によるものではなく、卵巣組織に特異的な反応として出現した生物学的現象であるといえよう。

この現象が果して免疫学的機序によつて起つたものかどうかは詳細な免疫学的分析によつて積極的かつ決定的な証左を得ることが必要であり、それらについては稿を改めて報告する。

自己免疫疾患の実験的発症には一般に同系動物の目的とする臓器で免疫する方法が常套手段として用いられており、実験甲状腺炎 (Witebsky and Rose¹⁰⁾、モルモット無精子症 (Freund et al.¹¹⁾、実験副腎炎 (Colover and Glynn¹²⁾ など性機能に直接関係した諸臓器についてすでに報告されているが、卵巣に関してはまだ成功していない。今回同様の免疫学的手段によつて無排卵症を実験的に発症させることができたが、もしこれが免疫学的機序によつて起つたものとするれば、日常の診療でしばしば遭遇する無排卵症の発生病理を追求するのに役立つだけでなく、卵巣の生殖生理現象を免疫学的側面から解析していくにも良い実験モデルとなり得るであろう。

Isojima⁹⁾の報告は卵巣の抗原性に関する免疫学的アプローチとして先駆的なものであるが、モルモット卵巣には異種免疫系でも同種免疫系でも特異抗原の存在は確認されていない。Porter¹³⁾はその後モルモットを用いての同種免疫で排卵が抑制され不妊状態になつたことを報じているが、これは今回のラットでの検討成績に一致し興味ある知見といえる。

む す び

ヒト無排卵症の実験モデルをラット卵巣の同種免疫処置によつて作成した。そしてこの無排卵状態は非特異的ストレスや内分泌機序によるものでなく、卵巣組織に特

異的な反応として出現した生物学的現象であることを確認した。

有益な御指導、示唆を賜わったロックフェラー大学 M. W. Chase 教授並びに川田典徳博士に深謝する。また、ステロイドの抗血清を提供して頂いた同大学 Population Council の Dr. Sundrum にも謝意を表わす。

文 献

- 1) Anderson, J. R., Goudie, R. B., Gray, K. and Stuart-Smith, D. A.: Clin. Exp. Immunol. 3: 107, 1968.
- 2) Irvine, W. J., Chan, M. M. W., Scarth, L., Kolb, F. O., Hartog, M., Bayliss, R. I. S. and Drury, M. I.: Lancet 2: 883, 1968.
- 3) 西村敏雄, 森崇英, 笠井寛司, 池谷東彦: 最新医学 26: 608, 1971.
- 4) Mori, T., Kasai, K., Tojo, S. and Nishimura, T.: Proc. Third Asia Oceania Congr. Endocr. 775, 1967.
- 5) Porter, C., Highfill, D. and Winorich, R.: Int. J. Fertil. 15: 171, 1970.
- 6) Ownby, C. L. and Shivers, C. A.: Biol. Reprod. 6: 310, 1972.
- 7) Sacco, A. G. and Shivers, C. A.: J. Reprod. Fert. 32: 403, 1973.
- 8) Isojima, S. and Stepus, S.: Int. Arch. Allergy 15: 350, 1959.
- 9) Linder, H. R., Perel, E., Friendlander, A. and Zeitlin, A.: Steroids 19, 357, 1972.
- 10) Witebsky, E. and Rose, N. E.: J. Immunol. 76: 417, 1956.
- 11) Freund, J., Lipton, M. M. and Thompson, G. E.: J. exp. Med.: 97, 711, 1953.
- 12) Colover, J. and Glynn, L. E.: Immunol. 1: 172, 1958.
- 13) Porter, C. W.: Int. J. Fertil. 10: 275, 1965.

Experimental Alloimmune Ovarulatory Disorder In The Rat.

Effect Of Alloimmunization with Ovarian Tissues On The Cyclic Function of The Ovary

**Takahide Mori, Akira Suzuki,
Mitio Kitagawa and
Tosio Nisimura**

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Kyoto University.
Sakyo-Ku, Kyoto Japan

Kenneth A. Laurence, Ph. D.

The Population Council, Bio-Medical Division
The Rockefeller University, New York,
N.Y. 10021, U.S.A.

In an attempt to establish an experimental model of human ovulatory disorder in the rat, 24 adult female Holzman rats were sensitized with allogeneic ovarian homogenate in Freund's complete adjuvant. Similar treatment was done using phosphate buffered saline instead of ovarian homogenate for 25 animals as control, and also using a certain amount of estradiol-17 β and progesterone for 10 animals as steroid control. Those amounts of steroids have been determined by radioimmunoassay to be more than three to four times the native content of steroids in the equivalent ovarian tissue.

Significantly higher incidence (58.3%) and longer duration of irregular cycles (13.2 days) were observed by vaginal smear in the sensitized group than in the control (24.0% and 5.5 days respectively), or in the steroid control group (20.0% and 4.6 days respectively). Ovarian weight of animals having irregular cycle in the sensitized group (64.5 \pm 16.9 mg) was significantly reduced as compared with those of control group (82.5 \pm 19.4 mg) and steroid control group (84.4 \pm 12.4 mg).

It was concluded that the observed cyclic disorder may well be induced by the immunization procedure as a specific biological response to the ovarian tissue, not to a non-specific stimulus or not to an endocrine disturbance. The established experimental anovulation may be a useful model to analyse human ovulatory disorder.

外傷性子宮腔内癒着症の検討

Studies on Traumatic Intrauterine Adhesions
a report of 14 cases

札幌医科大学産婦人科学教室 (主任: 橋本正淑教授)

田中昭一 西島毅 岡部泰樹
Shoichi TANAKA, Atsushi NISHIZIMA, Yasuki OKABE,
福島道夫 光部啓一 水元修治
Michio FUKUSHIMA, Keiichi MITSUBE, Shuji MIZUMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Medical College
(Director: Prof. M. Hashimoto)

昭和48年1月より49年12月までに不妊, 習慣性流産, 過少月経などを主訴とした婦人 705名に750回の子宮卵管造影を実施し, 14例の外傷性子宮腔内癒着症を経験した。

14例の先行妊娠は自然流産後10例, 人工妊娠中絶後3例, 分娩後1例であった。

子宮内操作回数は1回が5例, 2回が7例, 3回が1例, 8回が1例であった。

14例中治療を行なったものは10例で, その内容は9例は腔式に内膜癒着剝離を行ない再癒着防止のため3~6カ月 IUD を挿入した。1例は内膜癒着剝離のみであった。4例は未治療である。

治療の妊娠成功例は4例である。全例, 内膜癒着剝離に IUD を併用したもので, 未治療群には妊娠例はなかった。

妊娠例4例の経過は満期分娩1例, 妊娠中3例である。

はじめに

流産, 人工妊娠中絶, 分娩のときに子宮内に加えられた手術操作によって子宮腔前後壁が癒着する外傷性子宮腔内癒着症 (traumatic intrauterine adhesions) は臨床的にあまり重要視されていないが, 習慣性流産, 不妊, 月経異常などの原因となる重要な疾患と考えるべきであろう。

本症は1894年に Fritsch により最初に報告され, 1950年に Asherman がその病因, 臨床像, レントゲン写真所見, その治療法などについて詳細な報告をして注目されはじめ, 以後本症を Asherman's syndrome とも呼称するようになった。

著者らも子宮卵管造影法によって本症と考えられる症例を経験したので文献的考察を加えて報告する。

対象ならびに成績

昭和48年1月から49年12月末までの満2年間に札幌医

大産婦人科を不妊, 習慣性流産, 過少月経などの主訴で受診した婦人 705名に計750回の子宮卵管造影法 [Hysterosalpingography (以下 HSG と略)] を施行した。

HSG 所見より本症と診断したものは表1に示す14例である。

i) HSG の適応

HSG を行なった14例の適応は不妊9例, 習慣性流産3例, 過少月経2例である。

ii) 先行妊娠経過

14例の先行妊娠は自然流産10例, 人工妊娠中絶3例, 分娩1例である。

iii) 子宮内操作回数

子宮内操作の回数は1回が5例, 2回が7例, 3回が1例, 8回が1例であった。

iv) 月経血量の減少

14例中月経血量の減少を認めたのは8例であった。8例中症例7, 14の月経血は spotting 程度で期間も1~2日以内であった。

表 1

症例	年齢	Para	妊 娠 歴	子宮内操作回数	月経血量	治 療 内 容	治療成績
1	26	0(2)	自流, 人流	2			
2	29	0(1)	自流	1	減少		
3	35	1(3)	自流, 分娩, 人流	2	減少	剝離→IUD	治→妊娠中
4	36	0(1)	自流	1		剝離→IUD	治
5	30	0(2)	自流, 人流	2			
6	30	0(2)	人流, 人流	2			
7	33	0(2)	自流, 自流	3	著減	剝離→IUD	治→分娩
8	28	0(1)	自流	1	減少	剝離→IUD→剝離→IUD	治→妊娠中
9	34	0(2)	自流, 自流	2		剝離→IUD→剝離→IUD	不成功
10	38	0(1)	自流	1	減少	剝離のみ	治
11	29	0(1)	自流	1	減少	剝離→IUD	治→妊娠中
12	26	1(2)	人流, 分娩	2	減少	剝離→IUD 挿入中	
13	27	0(2)	人流, 自流	2		剝離→IUD→剝離→IUD 挿入中	
14	26	0(8)	人流, 自流, 自流, 自流, 自流, 人流, 自流, 自流	8	著減	剝離→IUD 挿入中	

{ 自流：自然流産
 { 人流：人工妊娠中絶
 { 剝離：内膜癒着剝離

v) 治療法

Hegar 氏頸管拡張器で腔式に内膜癒着剝離を行なったあと再癒着防止のため子宮内リング〔intrauterine device (IUD 略)〕である太田リングを挿入した例が9症例, 内膜癒着剝離術のみ1例, 未治断のもの4例であった。

vi) 妊娠例

癒着剝離術に IUD を併用した9例中, 現在も IUD 挿入中の3例を除く6例のうち, 妊娠したものは4例であった。内膜剝離術のみの1例と未治療の4例中からは妊娠例はなかった。

次に妊娠例を中心に若干の症例の病歴について述べる。

症例 3

35歳, Para (3), 25歳で結婚, 26歳妊娠3カ月で自然流産, 27歳正常分娩, 28歳で妊娠3カ月で人工妊娠中絶を行なっており, 計2回の子宮内操作を受けている。その後4年間の不妊を訴え昭和48年8月当科受診した。その時に実施した HSG は写真1に示すように子宮中央部に大きな陰影欠損があり, 49年4月に内膜癒着剝離後に IUD を挿入し, 同年9月に IUD 抜去した。HSG 予定でいたが, 11月を最終月経として妊娠し, 現在妊娠経過順調である。

症例 7

33歳, Para 0(2), 28歳で結婚, 29歳妊娠3カ月で自然流産し内容除去術をうけ, さらに20日後に再搔爬を受け



写真 1 (症例 3)

ている。30歳のとき妊娠3カ月で再び流産し内容除去術をうけ計3回の子宮内操作を受けた。その後月経血が spotting 程度に減少し習慣性流産と過少月経を主訴として最終流産後7カ月目に当科受診した。昭和48年1月に HSG を施行し写真2のように子宮内はわずかに造影されているのみであるが, 両側卵管の疎通性は保たれている所見を得た。HSG 実施直後に内膜癒着剝離を行なつて IUD を挿入し, 6カ月後の48年6月に抜去した。IUD 挿入中は月経血量は増加し月経期間も5日間と正常となった。IUD 抜去後の HSG は写真3である。弓

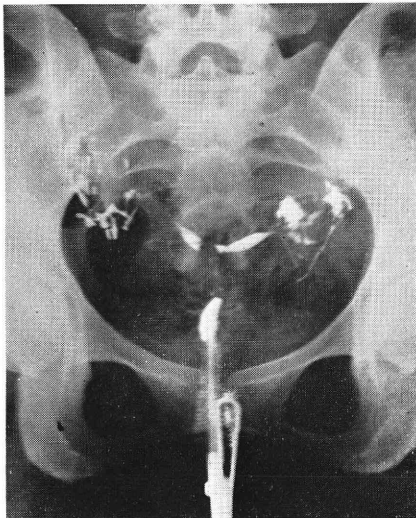


写真 2 (症例 7, 治療前)

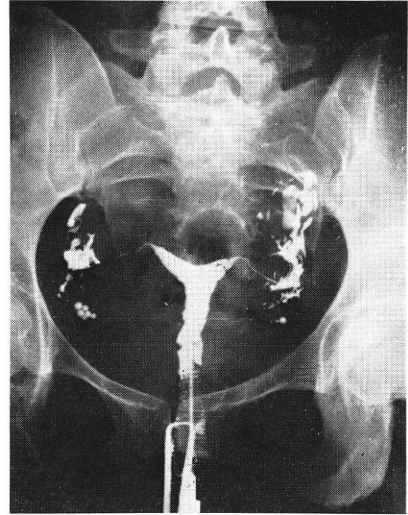


写真 4 (症例 7, 分娩後)

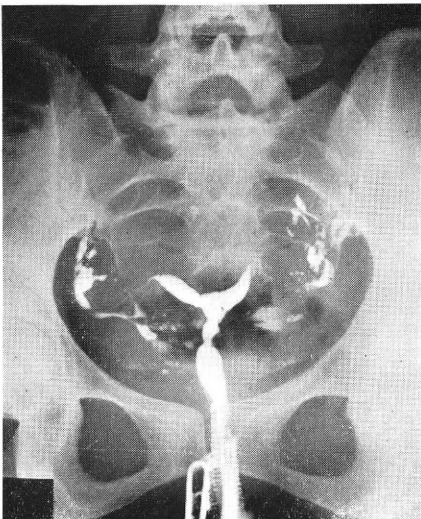


写真 3 (症例 7, 治療後)

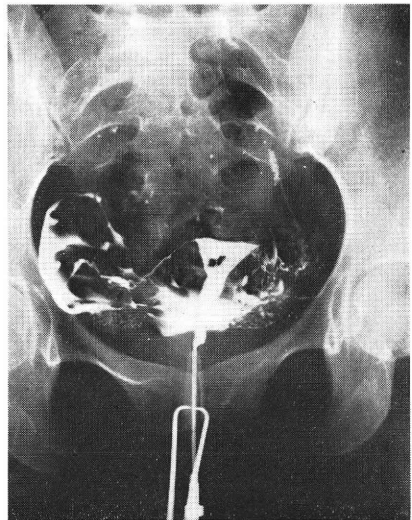


写真 5 (症例 8, 治療前)

状子宮であるが IUD 挿入前の写真 2 にくらべ子宮腔は拡大している。IUD 抜去 3 カ月後の昭和 48 年 9 月を最終月経として妊娠し、49 年 6 月に 2890 g の女児を満期分娩した。分娩後 5 カ月目の 49 年 11 月の HSG 所見は写真 4 に示した。

症例 8

28 歳, Para 0(1), 昭和 45 年に 25 歳結婚, 26 歳で妊娠 4 カ月で自然流産し子宮内容除去術を受けた。昭和 48 年 2 月 1 年 10 カ月の不妊を主訴として当科を受診した。5 月に HSG を実施し写真 5 に見られるように子宮中央部に 2 個と思われる陰影欠損がみられた。HSG 実施直後に内膜癒着剝離術を行ない IUD を挿入した。11 月に IUD を抜去し、再度 HSG を実施したが写真 6 に見ら

れるように欠損部は消失していず、49 年 2 月に再度内膜癒着剝離に IUD を併用し、8 月に抜去した。HSG 実施予定でいたが IUD 抜去直後に妊娠し、現在妊娠 7 カ月で経過順調である。

症例 10

38 歳, Para 0(1), 25 歳結婚, 昭和 47 年 7 月に 10 年間の不妊を主訴として来院した。各種検査の結果、不妊原因は無精子症のためと分り、AID を施行した。AID 10 回目の昭和 48 年 11 月を最終月経として妊娠したが 49 年 1 月に自然流産し内容除去術を受けた。流産後の HSG 所見は写真 7 である。子宮腔内に陰影欠損があり、3 カ月間月経直後に腔式に内膜癒着剝離術をくり返した。49 年 6 月に実施した HSG は写真 8 で内膜癒着は剝離し

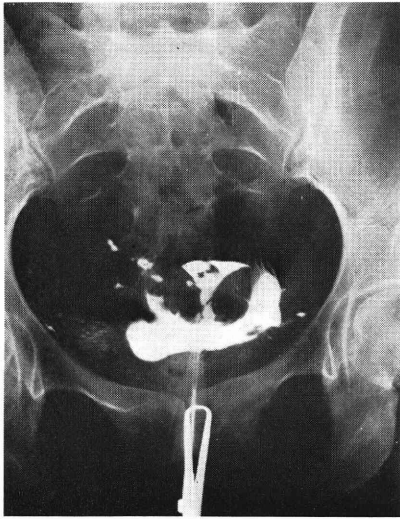


写真 6 (症例 8, 第 1 回治療後)

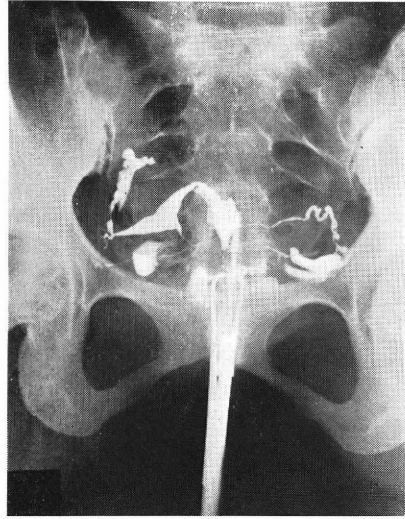


写真 8 (症例 10, 治療後)



写真 7 (症例 10, 治療前)

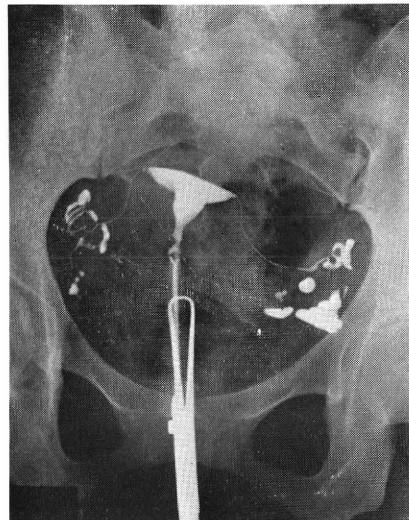


写真 9 (症例 11, 流産前)

ており現在も AID 実施中である。

症例 11

29歳, Para 0(1), 27歳結婚, 昭和49年3月に2年間の不妊を主訴として来院した。3月に HSG を実施し写真9に示すように正常所見を得た。HSG 実施直後に妊娠したが同年5月, 妊娠3カ月で自然流産し内容除去術を受けた。流産後の8月に実施した HSG は写真10に見られるように子宮腔中央部に陰影欠損があり, 癒着症の診断で内膜癒着部剝離を行ない IUD を挿入し3カ月後の11月に抜去した。抜去後の HSG は写真11で陰影欠損は消失している。HSG 実施直後に妊娠し, 現在妊娠経過は順調である。

症例 14

26歳, Para 0(8), 昭和44年に21歳結婚, 本症は表1に示すように14例中の最多である8回の子宮内操作を受けた症例で, 習慣性流産と過少月経を主訴として他医より紹介された。昭和49年6月に実施した HSG は写真12に示した。両側卵管はかろうじて通過しているが, 子宮腔はほとんど認められず子宮全面癒着症といえる。本症は鈍的剝離は困難で剪刀で鋭的に剝離し IUD を挿入し, 経過観察中である。IUD 挿入中の月経血量は増加し期間も6日間となってきた。

考 案

子宮内膜は月経周期の変動によって毎周期剝脱, 修復をくり返しており生理的条件下では内膜前後壁が癒着す

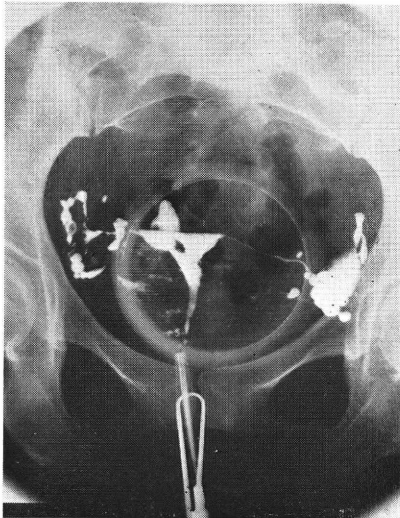


写真 10 (症例11, 流産後)



写真 12 (症例14)

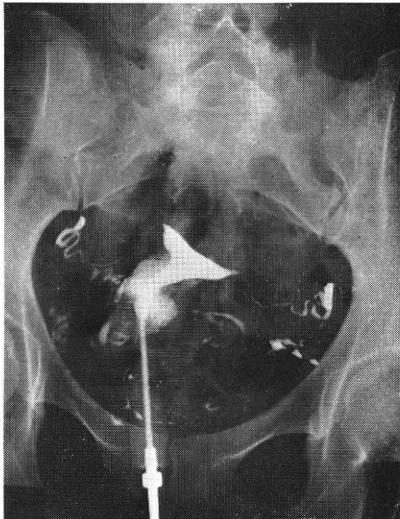


写真 11 (症例11, 治療後)

ることはありえない。この剝脱、修復、再生機序が正常に行なわれるためには内膜基底層の存在が必要であり、この基底層が破壊される場合に子宮腔前後壁の癒着が起こる。

この基底層が破壊される場合としては結核などの感染、子宮内膜にまで達する手術（筋腫核出術など）、子宮内膜搔爬などの子宮内操作を加えた場合などが考えられる。

子宮内膜搔爬などの子宮内操作、とくに妊娠と関連した子宮内操作によって基底層が破壊され内膜が癒着する外傷性子宮腔内癒着症は不妊、習慣性流産などの原因となる。

本症の最初の症例は1894年 Frithish が報告した分娩

後の強出血に対して子宮内膜搔爬を受け、その後無月経になった24歳の症例である。その後1927年 Bass が人工妊娠中絶後に発生した20例を、1946年には Stamer が流産、分娩後の子宮内操作により発生した24例を報告している。これらの症例は臨床的所見からの診断であり、子宮卵管造影による本症診断の最初の報告は Hald¹⁾ (1949) によつてなされた。

本症の臨床像、HSG 所見、病因、治療法などについて総合的に詳細に報告したのは Asherman²⁾ (1950) であり、本症を traumatic intrauterine adhesions と名付けた、以後 Asherman 症候群とも呼称されるようになった。

Asherman²⁾ (1950) の報告以後、本症についての文献も増え、本邦でも林³⁾ (1961)、松本⁴⁾ (1962) 百瀬ら⁵⁾⁶⁾⁷⁾ (1965)、仲村¹⁰⁾ (1971) などの報告例がみられる。

本症の発生頻度については Asherman²⁾ (1950) は2回以上の子宮内操作を受けた場合は68%に生ずると報告している。しかし一般にはこれよりも低率で Siegler⁸⁾ (1962) は不全流産で内容除去術を受けた61例中5例(8%)に、Sweeney⁹⁾ (1964) は2500例の HSG 実施例中29例(1.2%)に、仲村¹⁰⁾ (1971) は1964~1970年の7年間に HSG を実施した経妊婦 1257例中67例(5.3%)に、百瀬ら¹¹⁾ (1973) は経妊婦1468例に HSG を実施し74例(5%)に本症が見られたと報告している。著者らの頻度は705例の HSG 実施者中から14例(5%)であるが、この705例は非経妊婦も含まれており、経妊婦のみに限定するとこの頻度はさらに高くなるものと考えられる。これらのことより妊娠に関連して子宮に手術

操作を加えた場合はその5~10%に本症が発生する可能性があるといえる。

また本症は習慣性流産に多いといわれているが、著者らがこの2年間に習慣性流産例で HSG を実施したのは36例でこのうち3例(8%)が本症であった。文献では Halbrecht¹²⁾(1957)は習慣性流産の27%に、百瀬ら¹³⁾(1973)は15.2%に用られたとしており、百瀬ら¹⁴⁾(1973)は本症が習慣性流産に多いのは流産→搔爬→損傷→流産→搔爬という悪循環が成立するためであると説明している。そして子宮内操作回数が増加と共に本症頻度も増加し、子宮内操作を受けたことのない症例には発生しないが、子宮内操作回数1回で3.5%、2回7.2%、3回10.9%、4回11.7%、5回以上では19.0%の高率であったと報告している。

本症の先行妊娠としては自然流産、人工妊娠中絶、分娩などが考えられるが、著者らの14例の先行妊娠をみると自然流産10例、人工妊娠中絶3例、分娩1例で自然流産後が多かった。百瀬ら¹⁴⁾(1973)の報告でも自然流産551例中47例(8.5%)、人工妊娠中絶476例中15例(3.2%)、経膈分娩245例中9例(3.7%)に本症がみられ、自然流産後の発生頻度が高く、その原因として自然流産後の子宮内感染、過度搔爬やまた流産を引き起こす内分泌学的異常が内膜再生不全を起し内膜癒着を生ずるといふ機序を仮定している。

臨床症状の1つとして月経異常、特に無月経や過少月経が起こるが、著者らの14例中8例(57%)に月経血量の減少が認められた。当然のことであるが癒着面積と月経血量とは相関があり、症例7(写真2)、14(写真11)のような子宮腔内がほとんど認められない症例では月経血は spotting 程度でその持続も1~2日以内であった。Louros¹³⁾ら(1968)は自験例60例中、無月経8例、過少月経29例、正常23例と報告し、杉本¹⁴⁾(1972)は85例中、無月経14例、過少月経40例と報告しているが著者らの14例では無月経の症例はなかった。

治療法については消極論から積極論まで一定していないが、Asherman¹⁵⁾(1957)は158例の自験例より本症と妊娠能力とは相関しないと主張している。すなわち手術例7例から妊娠例は出なかつたが、手術をしなかつた例から多数の妊娠例が出たと報告し治療は不要といっているが、手術積極論の Netter¹⁶⁾(1956)は手術療法もしなければ完治し妊娠しにくいと主張している。手術法としては開腹して子宮前壁に切開を入れポリエチレン管を入れるという Jones¹⁷⁾(1964)の報告や子宮内膜移植をした松本ら¹⁸⁾(1964)の方法など各種報告されている。しかし最近では腔式に Hegar 氏頸管拡張器で癒着部を鈍的に剝離し再癒着防止のため intrauterine device

を挿入する方法が推奨されている。Louros¹³⁾(1968)は Lippes loop と Margnlies spiral の2種の IUD を癒着部位などにより使い分けて60例を治療し完治54例(90%)、不完全治癒6例(10%)で1例の不成功例もなかつたと報告している。杉本¹⁴⁾(1972)は85例の本症中47例に IUD を使用した報告をしており、百瀬ら⁵⁾⁶⁾⁷⁾(1965)も IUD の有効性を述べている。Oelsmer¹⁹⁾(1974)は41例の本症に頸管拡大し、腔内搔爬後に IUD を6週間挿入し、41例中16例が計20回の妊娠に成功し、IUD は有効であるといっている。著者らも腔式に Hegar 氏頸管拡張器で癒着部を鈍的に剝離し、鈍的に剝離不可能の症例は剪刃で鋭的に剝離して再癒着防止のため IUD を挿入している。治療成績をみると14例中、IUD 挿入は9例で現在も挿入中の3例を除き6例中完治したもの5例、不成功1例であり4例が妊娠した。IUD 挿入期間は3~6カ月とし、抜去後に再度 HSG を実施して治療効果を判定している。14例中1回の IUD 挿入で剝離に成功しなかつた症例8、9、13は再挿入を行ない、現在も IUD 挿入中である。2回の IUD 挿入でも癒着剝離に失敗した症例9は今後の治療方針を検討中である。

妊娠に成功した4例の経過をみると満期分娩1例、妊娠中3例である。本症治療後の妊娠経過が自然流産になることが多いといわれており妊娠中の3例は嚴重に経過観察中である。

妊娠例はいずれも内膜癒着剝離に IUD を併用した群であり、未治療群からは妊娠例がないことより IUD 治療は有効な方法といえる。

結 論

- 1) 昭和48年1月より49年12月末までの2年間に705名に750回の子宮卵管造影を実施し14例の外傷性子宮腔内癒着症を経験した。
- 2) 14例の先行妊娠は自然流産10例、人工妊娠中絶3例、分娩1例で自然流産後の発生が最も多かつた。
- 3) 子宮内操作の回数は1回が5例、2回が7例、3回が1例、8回が1例であつた。
- 4) 月経血量の減少は14例中8例(57%)に認めた。
- 5) 14例中治療を行なつたもの10例で、うち9例は腔式に内膜癒着剝離に IUD を併用した。1例は内膜癒着剝離のみで4例は未治療である。
- 6) 治療後の妊娠は内膜剝離に IUD を併用した9例中治療中の3例を除き6例中4例が妊娠した。その他の治療群および未治療群に妊娠した例はなかつた。
- 7) 妊娠例4例の経過は分娩したもの1例、妊娠中3例である。

稿を終るにあたり、御指導御校閲をいただきました橋本正淑教授に深謝いたします。

なお本論文要旨は、昭和49年度不妊学会北海道地方会で発表した。

参考文献

- 1) Hald, H.: On uterine atresia consequent to curettage. *Acta obst. et gynec. scandinav.*, 28: 168, 1948.
- 2) Asherman, J. G.: Traumatic intrauterine adhesions. *J. Obst. Gynec. Brit. Emp.*, 57: 892, 1950.
- 3) 林基之: 妊娠成立に関する臨床的ならびに基礎的研究, 日産婦誌, 13: 605, 1961.
- 4) 松本清一: 月経異常に関する研究, 第14回日産婦総会宿題報告, 148, 1962.
- 5) 百瀬和夫, 永井敏雄, 郭国鎮: 子宮腔癒着症, 産婦の治療, 11: 647, 1965.
- 6) 百瀬和夫, 郭国鎮, 永井敏雄, 今村雅幸, 森田互重: 子宮卵管造影からみた子宮腔癒着症, 産婦世界, 17: 761, 1965.
- 7) 百瀬和夫, 大島誠行, 石田洋子, 比嘉国郎, 中山和之: 外傷性子宮腔癒着症, 産婦実際, 16: 731, 1965.
- 8) Siegler, A. M.: Synechiae of the uterine cavity after curettage. *Am. J. Obst. Gynec.*, 83: 1595, 1962.
- 9) Sweeney, W. J.: Intrauterine synechiae. *Obst. Gynec.*, 27: 284, 1966.
- 10) 仲村健一: 外傷性子宮腔癒着症に関する研究, 日不妊会誌, 16: 347, 1971.
- 11) 百瀬和夫, 田中リナ, 柴田直秀: 外傷性子宮腔癒着症, 産婦実際, 22: 289, 1973.
- 12) Halbrecht, I.: Infertility and Sterility. *Fertil. Steril.*, 4: 274, 1953.
- 13) Louros, N. G., Danezis, J. M. & Pontifix, G.: Use of intrauterine devices in the treatment of intrauterine adhesion. *Fertil. Steril.*, 19: 509, 1968.
- 14) 杉本修: Hysteroscopy (外傷性子宮腔癒着症の診断と予後追跡), 産婦治療, 24, 457, 1972.
- 15) Asherman, J. G.: Traumatic intrauterine

adhesions and the effects on fertility. *Internat. J. Fertil.*, 2: 49, 1957.

- 16) Netter, P., Musset, R., Lambert, A. & Salmon, Y.: Traumatic uterine synechiae. *Am. J. Obst. Gynec.*, 71: 368, 1956.
- 17) Jones, W. E.: Traumatic intruterine adhesions. *Am. J. Obst. Gynec.*, 89: 304, 1904.
- 18) 松本清一, 佐藤恒雄: 子宮内膜移植による無月経の治療, 産婦世界, 16: 1197, 1964.
- 19) Oelsner, G., Davis A. Insler, V. & Serk, D. M.: Outcome of pregnancy after treatment of intruterin adhesions. *Obst. Gynec.*, 44: 341, 1974.

Studies on Traumatic Intrauterine Adhesions (a report of 14 cases)

Shoichi Tanaka, Atsushi Nishizima,
Yasuki Okabe, Michio Fukushima,
Keiichi Mitsube, and
Shuji Mizumoto

Department of Obstetrics and Gynecology,
Sapporo Medical College
(Director: Prof. M. Hashimoto)

Fourteen cases of traumatic intrauterine adhesions were studied during the past 2 years.

In all cases the diagnosis was made by hysterosalpingography.

In the majority of patients the incidence occurred in the wake of recent abortion.

Ten of 14 patients were treated in the following manner: 9 cases were subjected to ablation via the vagina followed by insertion of IUD, 1 case was subjected to ablation alone while 4 cases left untreated.

Conception occurred in 4 out of 10 cases which receiving therapy.

One case was delivered at term and the remaining 3 pregnancies are in gestation.

免疫学的観点よりみた流産の成因に関する研究

Immunological studies on the cause of spontaneous abortion

新潟大学医学部産科婦人科学教室

高橋 威 金沢 浩二 樋口 正臣
Takeshi TAKAHASHI Koji KANAZAWA Masaomi HIGUCHI
西山 藤司夫 徳永 昭輝 半藤 保
Toshio, NISHIYAMA Akiteru TOKUNAGA Tamotsu HANDO
竹内 正七
Shoshichi TAKEUCHI

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

妊娠現象は移植免疫学的立場からみると、同種移植片の長期間生存例として非常に興味ある現象である。このような観点からみると、原因不明の流産の中には免疫学的機序が働いている可能性も否定できない。今回、著者らは「流産現象における免疫の関与」について、各種免疫学的方法を用いて検討した。

妊娠ラットに抗胎盤・抗胎仔血清を投与することにより実験的に流産を起し得た。ついで臨床的に、IA法、蛍光抗体法および補体の動態の面から検討し、流産に液性免疫が関与していることが強く示唆された。また、細胞性免疫の面で、習慣性流産夫婦では夫婦間の移植抗原性の差が強いことがうかがわれた。多くの妊娠は免疫的攻撃から免れているが、免疫抑制因子の消長を検討したところ、妊婦血中には本因子が存在し、流産例では本因子の低下が認められた。以上の成績より、原因不明の流産の中には免疫的機序の関与するものがあることが強く示唆された。

I. 緒言

妊娠現象は移植免疫学的立場からみると、同種移植片の長期間生存例として非常に興味ある現象である。しかしながら、妊娠が10カ月の長きにわたり免疫的拒絶を免れる機序については現在のところまだ解明されていない。一方、妊娠のごく早期に排出されてしまう流産のなかには、原因のすでに解明されたものもあるが、なお依然として原因不明のものが多い。移植免疫学的立場からみた場合、これらの原因不明の流産の中には、何らかの免疫的機序が関与しているものがあるのではないかと、という疑問が生ずる。そこで、今回著者らは「流産現象における免疫の関与」について、各種免疫学的方法を用いてアプローチを試み、以下のような成績を得たので報告する。

II. 免疫学的方法による実験的流産

流産現象に免疫が関与しているならば、免疫学的方法で流産を惹起させることができなければならない。1968年 Koren¹²⁾らはマウスを用いた実験で、抗マウス胎盤家兎血清を妊娠マウスに注射することにより、妊娠が障害されたり流産が起ることを報告している。著者らはラットを用い、皮膚移植ならびに抗胎盤・抗胎仔家兎血清の投与により流産が起るかどうかを検討し、また、Fetectomyの妊娠におよぼす影響とFetectomy後の胎盤の形態学的変化についても検討した。

1. 実験材料および方法

実験動物はwistar系成熟雌雄ラットおよび抗血清作製には成熟家兎を用いた。雌ラットは連日膣スメアを採取し規則正しい性周期を示すものを用いた。交尾および

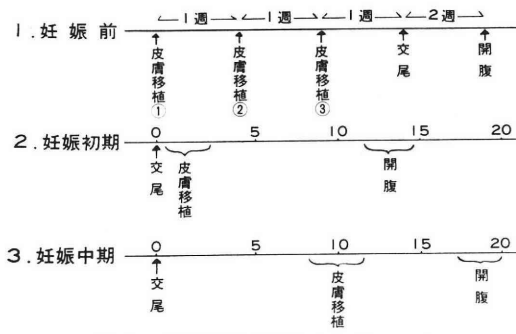


図 1 皮膚移植の実験スケジュール

妊娠の確認は精子の存在と陰スメアにより判定した。

(i) 皮膚移植は図1に示すようなスケジュールで5群にわけて行った。移植の方法は雄ラット背部の皮膚を剃毛後、2×2 cm の正方形に皮膚を切除し、被移植雌ラットも同様に切除し、この部位に可及的すみやかに3号絹糸で縫合移植した。妊娠前移植群は移植に用いた雄ラットと交尾させ、妊娠後移植群は交尾した雄の皮膚を移植した。移植後連日移植皮膚を観察し、その面積の半分以上が剥脱したり壊死に陥つた日を rejection された日としその前日までを生着期間とした。これらの5群について、流産・胎仔死亡などの妊娠継続障害の有無、平均出生胎仔数、出生時平均体重および移植皮膚の生着期間も検討した。

(ii) placental and fetal homogenate および抗血清の作製法、投与方法

妊娠15~17日齢のラットをエーテル麻酔下で開腹し、胎仔および胎盤をそれぞれ剔出し、図2の方法により作

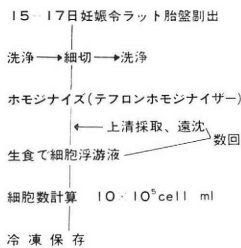


図 2 Placental homogenate 作成法

成した。この homogenate と同量の Freund's complete adjuvant で emulsion を作り、家兔爪下に1週間隔で1回1 ml 4~5回注射し、最終注射より4週間以上経て家兔より採血し血清中に Ouchterlony 法で抗体を証明したのち全血を採取した。抗血清は交尾した日より5日間 (L₀-L₄)。交尾した日より10日間 (L₀-L₉) および妊娠10日齢から5日間 (L₁₀-L₁₄) の3群に分け、1回0.5 ml を腹腔内に注射した。注射後は連日 vaginal bleedingの有無を観察し、出血ある場合は開腹して妊娠

の状態を観察した。

(iii) 胎仔摘出術、胎仔屠殺術

胎仔摘出術は上原⁴⁾の方法にしたがった。胎仔屠殺術は、原法の胎仔摘出術による子宮内容積減少の影響をとり除くため、より小さな切開創から臍帯だけを取り出し、これを結紮だけしてもとに復し子宮壁を縫合閉鎖した。これらの方法により、妊娠第10~19日齢に行い、処置後連日 vaginal bleeding の有無をしらべ、妊娠第20日齢にラットを屠殺し子宮・胎盤の状態を肉眼的、光顕的に観察した。

2. 実験成績

(i) 皮膚移植の影響

移植皮膚の生着期間は表1のごとく妊娠時の方がやや長く生着する傾向がみられたが有意差はなかつた。妊娠

表 1 妊娠・非妊ラットの皮膚移植生着期間

	ラット例数	皮膚生着期間 (日)
非 妊 時	15	9.62±1.31
妊 娠 初 期	18	10.48±1.14
妊 娠 中 期	19	10.52±1.23

表 2 皮膚移植の妊娠におよぼす影響

移植法	例数	妊娠率 %	妊娠障害数	出生胎仔数	出生胎仔重量 g
妊娠前	1回	100	0	9.4±0.9	5.7±0.4
	2回	90	1	9.5±1.3	5.7±0.2
	3回	86	2	8.7±1.1	5.6±0.3
妊娠時	初期		1	9.0±1.3	5.5±0.4
	中期		0	9.7±1.4	5.7±0.4
対 照	10	100	0	11.0±1.3	5.8±0.3

に対する影響では、妊娠率・妊娠障害では妊娠前移植の回数が多くなるほど妊娠率の低下と胎仔の障害される傾向がみられたが流産にいたるまでの例はなかつた。出生胎仔数、出生胎仔重量はいずれも対照に比しやや低値を示したが有意差はなかつた (表2)。

(ii) 抗胎盤・抗胎仔血清投与の影響

抗胎盤血清を L₀-L₄ までの5日間注射した群では23例中5例流産 (胎仔が存在しない)、2例胎仔死亡で計7例30.4%に妊娠継続障害がみられた。同様に L₀-L₉ では40.0%、L₁₀-L₁₄ では37.5%といずれの群でもかなり高率に障害された。抗胎仔血清投与群でも、抗胎盤血清投与群よりやや低率であつたが25%に障害がみられた。流産だけをみると、両血清投与の全例数86例中19例、22.1%であつた。出生胎仔数は対照に比しいずれも

表3 家兎抗ラット胎盤(胎仔)血清の妊娠におよぼす影響

抗血清	注射日	例数	妊娠障害数		障害率(%)	出生胎仔数	出生胎仔重量
			流産	胎仔死亡			
抗胎盤血清	L ₀ -L ₄	23	5	2	30.4	8.3±1.2	5.5±0.3
	L ₀ -L ₉	20	6	2	40.0	9.0±0.9	5.5±0.5
	L ₁₀ -L ₁₄	8	2	1	37.5	8.7±1.3	5.4±0.4
抗胎仔血清	L ₀ -L ₄	15	2	2	26.6	8.9±0.9	5.6±0.3
	L ₀ -L ₉	12	2	1	25.0	9.4±1.5	5.5±0.4
	L ₁₀ -L ₁₄	8	2	0	25.0	9.1±1.2	5.4±0.5
正常血清	L ₀ -L ₄	6	0	0	0	10.8±1.1	5.8±0.5
	L ₁₀ -L ₁₄	6	0	0	0	10.7±0.9	5.7±0.4

少なく、とくに抗胎盤血清を L₀-L₄ に注射した群で著明に減少した。胎仔重量は殆んど変化がみられなかつた(表3)。

(iii) 胎仔摘出術、胎仔屠殺術の妊娠におよぼす影響ならびに胎盤の組織形態学的変化

胎仔摘出・胎仔屠殺術後 vaginal bleeding を認めたものはなく、流産を起こした例もなかつた。一つおきに残した無処置の胎仔、胎盤は正常の生育を示した。胎仔の生存する胎盤と胎仔処置を行つた胎盤とを肉眼的に比較すると、術後1~2日でほとんど差は認められないが、長期経過するにつれ変色、変形が著明になつてくる。胎盤重量は胎仔処置後殆んど大きくなり、正常胎盤との比率では胎仔処置直後はほぼ1.0であるが、4日目で0.65、7日目で0.32、10日目で0.25となつた。

光顕的には胎仔処置後3日目位までは labyrinth (chorion に相当) の変化は少なく血管・血球に富んでいるが、次第に減少し、6日以上経過すると血球は殆んど消失した。また、5日目頃から構造の破壊が目立ち、組織が粗になり、次第に labyrinth 層が薄くなつた。labyrinth の外側の zona spongiosa は逆に次第に厚くなり、結合織の増生がみられた。

III. 胎児抗原にたいする母体の感作

免疫学的機序による流産が起るとすれば、その母体は胎児抗原によつて感作をうけていて、移植片(胎児組織)に対して免疫的攻撃を加えていると考えられる。母体における胎児抗原に対する抗体の有無を免疫粘着反応と蛍光抗体法で液性免疫の面より、また、抗原抗体反応には不可欠の補体の動態の両面より検討を加えた。

1. 実験材料および実験方法

(i) 免疫粘着反応 (immune abherence: IA法)

正常妊娠32例、自然流産37例についてそれらの絨毛細

胞を標的細胞として用いた。絨毛細胞をテフロンホモジナイザーを用い、緩衝液として GVB[#] を使用し 5×10^4 /ml の絨毛細胞浮遊液を作る。これに等量の母体血清を添加し37°C 30分恒温振盪後0°C 60分冷却する。この浮遊液を遠心し、沈渣の細胞にモルモット補体を添加し37°C 5分してヒトO型赤血球 (2×10^8 /ml) を0.1ml 加え37°C 10分反応させ、スライドガラス上に数滴滴下し鏡検した。判定は陰性(-)、陽性(+)および強陽性(++)とした。

(ii) 間接蛍光抗体法

材料は妊娠初期における正常絨毛26例、自然流産絨毛21例を用いて以下の方法で検討した。絨毛組織を dry-ice-aceton-bath-n-hexan-bath に入れ急速凍結を行ない、cryostat を用い 4μ の切片を作成、air dry 10~15分して前処理は行わず食塩加磷酸緩衝液 (PBS) に10分間浸し、一次抗体として患者血清を加え moist chamber に入れ37°C 90分間 incubate 後 PBS で洗浄する。ついで、二次抗体として FITC 標識抗ヒト IgG, IgM をかけ、37°C 45分間 incubate し PBS で30分間洗浄後、10% PBS glycerin buffer で封入し暗視野蛍光顕微鏡で観察した。

(iii) 補体価測定法 CH₅₀ 値

自然流産17例について流産物排出時にその母体血清を採取し、対照として同時期の正常妊婦血清26例を用いた。方法は Kabat³⁷⁾ による、50%溶血点を補体価とした CH₅₀ 値を利用した。すなわち、羊赤血球を GVB[#] で洗つて 1×10^9 /ml になるように調整し、これに同量の haemolysin を添加し37°C 30分恒温振盪する。これをあらかじめ GVB[#] で調整した被検血清の稀釈列に加え、37°C 90分振盪したのち遠心しその上清を分光光度計 (OD 541 m μ) にて測定した。羊赤血球を50%溶血させる母体血清の稀釈度をもつて補体価とし、この値を CH₅₀ 値とした。

2. 実験成績

(i) 免疫粘着反応 (IA 法)

表4に示すように、正常妊娠では32例中3例0.4%に陽性であつたのに比し、流産例では37例中7例18.9%に陽性がみられ、うち4例は強陽性であつた。また、流産例の中に母体血清を加えず、補体のみで強陽性を示した例が認められた。

表4 IA 実験成績

	例数	-	+	++	陽性率
流産	37	30	3	4	18.9%
正常	32	29	2	1	9.4%

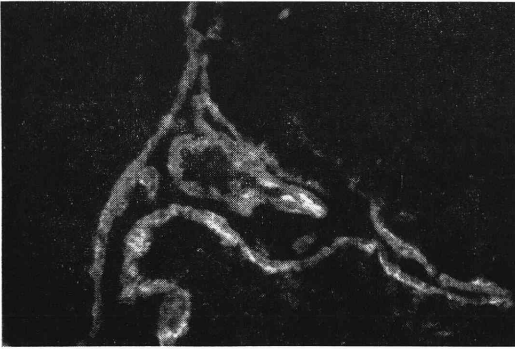


写真 1 正常絨毛：自己血清+FITC 標識抗ヒト IgG 細胞に蛍光を認める。

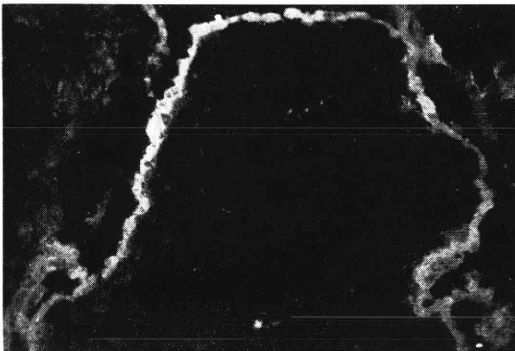


写真 2 流産絨毛：自己血清+FITC 標識抗ヒト IgG L細胞の他にS細胞にも強い蛍光を認める。

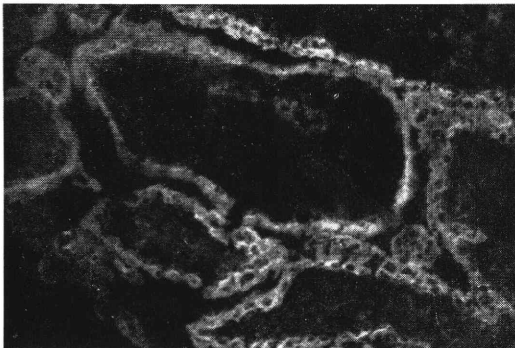


写真 3 流産絨毛：FITC 標識抗ヒト IgG L細胞、S細胞、間質細胞に蛍光を認める。

(ii) 間接蛍光抗体法

一次抗体として自己血清を用い、二次抗体として FITC 標識抗ヒト IgG を用いた場合、正常絨毛の26例中14例に Langhans 細胞（以下L細胞と略す）あるいは間質細胞に強い蛍光を認めたが（写真1）、syncytium 細胞（以下S細胞と略す）にも蛍光を認めたものは、わずか3例であつた。これに対して、流産絨毛では21例中9例にL細胞の他にS細胞にも強い蛍光を認め、蛍光の

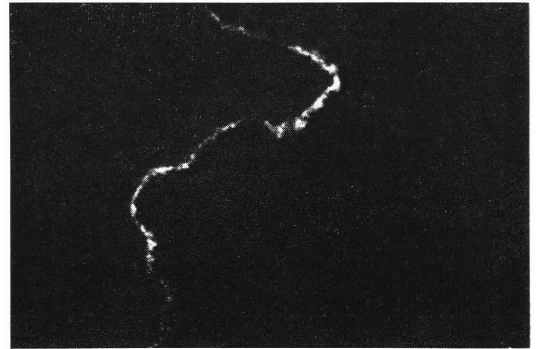


写真 4 流産絨毛：自己血清+FITC 標識抗ヒト IgM S細胞にのみ強い蛍光を認める。

強さは正常絨毛細胞の場合にくらべて強かつた（写真2）。一次抗体としての自己血清を反応させず、直接 FITC 標識抗ヒト IgG と反応させた場合、正常絨毛では殆んど蛍光を認めないが、流産絨毛では21例中10例に S細胞、L細胞、間質細胞に強い蛍光を認めた（写真3）。二次抗体として FITC 標識抗ヒト IgM を用いた場合、正常絨毛では蛍光が全く認められなかつたが、流産絨毛では14例中3例にS細胞にのみ強い蛍光を認めたものがあつた（写真4）。以上をまとめると表5のように表わすことができる。

(iii) CH₅₀ の動態

図3に示すように、正常妊娠26例の平均値 52.3 ± 8.5 に対し、流産17例 42.8 ± 8.6 と危険率5%以下で有意の低値を示した。

IV、流産の成因における免疫的機序の関与

流産に免疫が関与するならば、流産を起す、起さないは、母方と父方の移植抗原性の差の強弱によるとまづは考えられる。この観点より、原因不明の流産を繰り返した習慣性流産患者の夫婦間白血球混合培養を試み細胞性免疫の面より検討を加えた。また、従来より妊婦血中には免疫抑制物質の存在が指摘されているが、正常妊婦との対比において、流産患者血中の免疫抑制因子の消長を、PHA に対する白血球の反応性の面から検討した。

1. 実験対象および方法

(i) 習慣性流産夫婦間の白血球混合培養

対象として妊娠初期に原因不明の流産を3回以上繰り返した夫婦8組を用い、対照には正常分娩のみの夫婦10組を用いた。実験方法および判定方法は図4に示したように、夫婦それぞれの末梢血よりコンレイ・フィコール法にて白血球を採取し、これを反応細胞とし、一方この細胞を MMC で処理したものを刺激細胞とした。これらの細胞を図4のような組み合わせで混合培養あるいは単独培養を行ない、培養後反応細胞の反応性を ³H-TdR

表 5 正常および流産絨毛の蛍光抗体法よりみた抗原性

		自己血清 + 抗ヒト IgG*	抗ヒト IgG*	自己血清 + 抗ヒト IgG* + 抗ヒト IgG*	他人妊婦血清 + 抗ヒト IgG*	自己血清 + 抗ヒト IgM*	家兎抗絨毛血清 + 家兎抗 αgl*
正常 絨毛	合胞細胞	-~± (3/26)	-	-	-	-	-~+
	ラングハンス細胞	+~++ (14/26)	-~+	-	-~+	-	++
	間質	+~++ (14/26)	-~+	-	+	-	++
流産 絨毛	合胞細胞	-~+ (9/21)	-~++ (10/21)	-	-	-~+ (3/14)	+
	ラングハンス細胞	+~++	-~++	-	-~+	-	++
	間質	+~++	-~++	-	+	-	++

*: FITC ラベル血清, -: 蛍光陰性, +: 蛍光陽性, ++: 蛍光強陽性
() 内の数字は例数中の陽性例数.

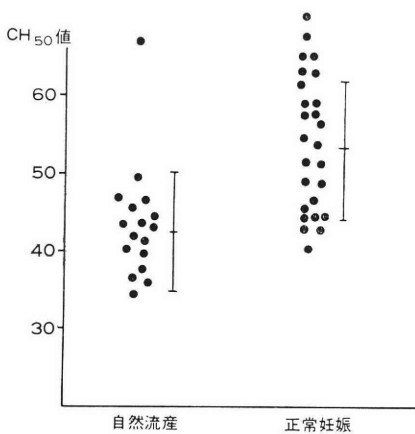


図 3 自然流産患者血清中の CH₅₀ 値

の取り込みによつて測定した. 判定は混合培養から単独培養の値を引いた net value で表わした.

(ii) 妊婦血漿の PHA に対する反応性への影響
流産妊婦 (妊娠 6~13週) 9 例, これらと同週数の妊

婦を含めた正常妊婦 (6~40週) 34 例について検討した. 対照として健常非妊婦血漿を用いた. 方法は, 第三者よりコンレイ・フィコール法にて白血球を採取して反応細胞とし, この白血球を $5 \times 10^5/0.6 \text{ ml}$ TC 199 に調整し, これを対象の流産妊婦血漿, 正常妊婦血漿および健常非妊婦血漿をそれぞれ 0.4 ml (40%) 加えて, 各群とも PHA-P 添加群と非添加群を作り, それぞれ 37°C 3 日間培養し, 培養後 $^3\text{H-TdR}$ を加え, この取り込みによつて反応性を測定した. 判定方法は同一例の PHA-P 添加群から非添加群を引いた値をそれぞれの net value とし, 対照である健常非妊婦の net value をそれぞれの症例の net value で割つた値を抑制指数とした. すなわち, 抑制指数が大きいほどその症例の血漿中に免疫抑制物質が多く含まれていることを意味する.

2. 実験成績

(i) 習慣性流産夫婦間の白血球混合培養

夫および妻の両白血球を反応細胞とした two way

図 4 習慣性流産夫婦間白血球混合培養の方法と判定法

実験方法

- a ヘパリン加末梢静脈血
 - ↳コンレイ・フィコール法→白血球.....反応細胞
 - ↳MMC 処理白血球.....刺激細胞
- b { 反応細胞 (5×10^5 0.65 ml TC 199 20% 自己血漿加) } 37°C
 { 刺激細胞 (5×10^5 0.65 ml TC 199 20% 自己血漿加) } 7 日間培養
- c 培養後 $^3\text{H-TdR}$ の取り込みによつて反応性を測定



net value = 混合培養 - 単独培養

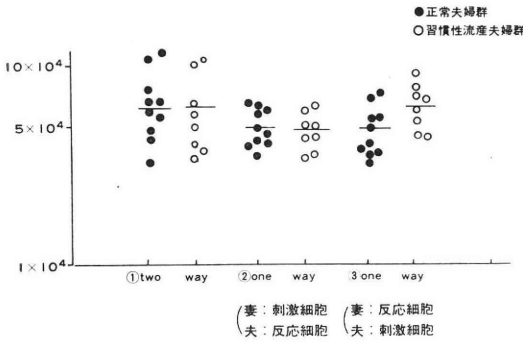


図 5 夫婦間白血球混合培養における ³H-TdR 取り込みによる反応性

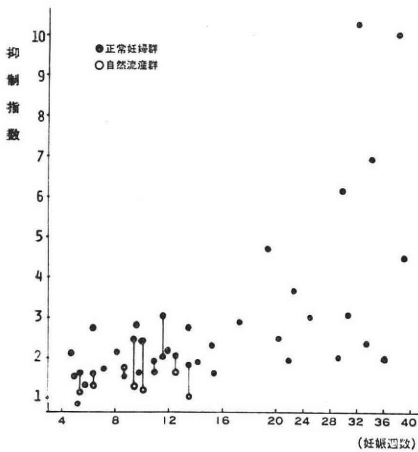


図 6 妊婦血漿のリンパ球の PHA 刺激への反応性に対する抑制作用

法、および夫白血球を反応細胞とした one way 法では正常夫婦群と習慣性流産夫婦群の間に差は認められなかったが、夫白血球を刺激細胞、妻白血球を反応細胞とした one way 法において習慣性流産夫婦群は有意 (P < 0.05) の高反応性を示した (図 5)。

(ii) 妊婦血漿の PHA に対する反応性への影響

図 6 に示すように、正常妊娠群は 1 例をのぞいていずれも 1 より高値であり、妊娠の進行とともに抑制指数は上昇した。一方、自然流産群は正常妊娠群にくらべ低値を示し、同一週数の正常妊娠との比較においても 9 例中 8 例は低値を示した (図 6 の実線で結んだ症例)。すなわち、妊娠中には妊婦血漿中に何らかの免疫抑制物質が存在するが、自然流産ではこの因子の低下が認められた。

V. 考案

妊娠現象そのものの免疫学が解明されていない現在、流産に免疫的機序が関与しているかどうかを論ずること

は難しい問題である。しかし、妊娠が同種移植片であるという観点からみると、原因不明の流産の中には何らかの免疫学的機序が働いているものがあるのではないかと推論される^{11,13)}。1962年 Bardwil ら¹¹⁾は、習慣性流産婦人のなかには、皮膚移植実験において、夫の皮膚を他の男性の皮膚より早く rejection し、それも white graft rejection の型のものがあり、これら婦人のなかには夫の移植抗原に強く感作されていて、流産は同種移植免疫による rejection によるものではないかという興味深い報告をした。この研究が流産と免疫の関係について臨床的にはつきり述べた最初の報告であるが、その後はこの方面の研究はあまりみられない。それは、従来の研究では絨毛細胞は抗原性が低下しているか、または欠如しているという見方^{7,9)}が強かつたためと思われるが、その後の研究で絨毛細胞にも抗原性が認められるという多くの報告^{11,10),13)}が出され、この問題が再認識されるようになってきた。本研究はこのような背景のもとに、流産現象を免疫学的な立場からとらえようとしたものである。

はじめに、動物実験で免疫学的に流産を惹起させることは可能か否かを検討した。皮膚移植による免疫化では、出生胎仔数のわずかな減少と妊娠前の皮膚移植回数を重ねた場合にやや妊娠率の低下がみられたが、流産を起すまでには至らなかった。Parmiani¹²⁾はマウスを用いて、交尾前に embryonal tissue を投与した群は妊娠率が著明に減少したと報告している。胎仔摘出術あるいは人工操作によつて胎仔を死亡させる動物実験は古くから行われてきたが、これらすべての報告は胎仔摘出後も胎盤は発育し続けると報告している¹⁴⁾⁻¹⁷⁾。今回、著者らは胎仔摘出術により流産が起るかどうかが検討したが、流産は起らなかった。しかし、胎盤の所見を観察すると、胎仔摘出術後は正常胎盤に比し重量増加が殆んどみられず、また labyrinth は変性破壊してくるのに spongy zone は幅広くなつてくることなど解釈の困難な点が多い。しかし、胎仔摘出が胎盤に何らかの強い影響をおよぼしていることは確実であり、これが胎仔摘出により免疫的攻撃が強くなつたための変化かどうかは今後さらに検討を要すると思われる。

一方、抗胎盤・抗胎仔血清を用いた場合には、注射時期によりやや差があつたが25~40%という高率に流産や胎仔死亡などの妊娠継続障害がみられた。Koren ら¹²⁾も同様の方法で抗血清を作製し、hemagglutination, immunoelectrophoresis, immunodiffusion 法で抗体を証明後、妊娠マウスに注射したところ流産を含め妊娠は高率に障害されたが、脾や肝には影響をおよぼさなかつたとし、また、Kometani ら¹³⁾も同様の方法で流産を起

し、生存出生胎仔重量の減少をみたと報告している。著者らの実験およびこれら諸家の成績からみて、胎児・胎盤抗原に対する強い抗体は、妊娠に対して攻撃的に働くことは確実であり、これらの中に流産という転帰をとるものがあり得ることが示された。しかしながら、本実験では抗体の量的検討がされておらず、また、この抗体がいかなる機序で流産を起すのか、すなわち胎盤に作用するのか、直接胎児を死に至らしめて流産を起すのか、などの点が解決されておらず今後の課題である。

つぎに、臨床的な面から、流産における免疫の関与について各種免疫学的アプローチを試みたが、これらの研究はまだ世界的にみても端緒についたばかりであり文献もとぼしく、今後大いに研究されるべき問題であろう。

はじめに、流産患者における絨毛抗原に対する感作について液性免疫の面から検討したが、これに関しては、古くは Gray²⁰⁻²³が流産の胎盤所見はリウマチ様関節炎においてみられる組織所見と類似しており、さらに、流産患者は Rose Waaller 反応が陽性になることを指摘し、流産における免疫の関与を示唆し、また、竹内¹の研究による、IA 法により流産患者は正常妊婦より絨毛細胞に対する血清抗体の出現率が高い、という報告ぐらいである。今回、著者らも同様に Nelson²⁵の IA 法で検討したところ、流産患者に 2 倍の陽性率を認め、また、患者血清を加えず補体のみで強陽性を示した例もあったことから、すでに抗原抗体反応の起つていたことを示す結果も得られた。蛍光抗体法よりみた成績では、正常絨毛にくらべ流産絨毛では、抗原性が強いように思われ、とくに絨毛の最外層の S 細胞においてはより多くの抗体と結合していると考えられる成績を得た。このことは、Kirby ら²⁷や Jones ら²⁴によつて示された免疫保護物質である fibrinoid layer や sialomucin によつて絨毛が母体の免疫的攻撃から保護されているとする考え方からみると、流産においては何らかの機序でこれらの物質が除かれた結果によるとも考えられる。このように、流産患者血中に抗絨毛抗体の出現率が高く、正常妊婦に比べ強く絨毛抗原に感作されていることを証明する成績が得られたが、この抗体ができたため流産が起つたのか、流産開始の結果として抗体が生じたものかは不明であるが、少なくとも流産物排出機転には母児間の移植免疫反応が関与しているものと思われる。

補体はかつては免疫学において抗原抗体反応のわき役的なものと考えられていたが、近年の蛋白分析の進歩により 9 つの成分にわけられ、各補体成分の反応の機序、順序も明らかにされ、免疫現象において重要な役割を演じていることが解つてきた。妊娠時における補体価は非妊時より上昇することが知られている。その意義とし

ては、単に補体価は抗原抗体反応による消費がまず考えられるが、それ以外にも、inhibitor, activator などと複雑に関連し合っているため、まだ直ちに妊娠現象における免疫的機序と結びつけては論じえない¹²⁵。しかしながら、本実験の成績が示すように、流産例において有意の低下を示したことは、流産の原因か結果かは不明としても、流産現象における免疫の関与を示唆させるものである。また、免疫反応においては、妊娠現象のような弱い移植抗原の場合の抗体は、主として IgM 分画にある可能性が強く、IgM は IgG より多く補体量を必要とする点から、補体量の減少は流産に液性免疫が関与している可能性を強く示唆するものである。

妊娠現象を同種移植と考えた場合、原因不明の流産を繰り返す習慣性流産夫婦の間には、夫婦間の移植抗原、組織適合性抗原の差が強いのではないかという疑問が生ずる。この点については、さきに述べた Bardawil ら⁶の有名な研究が解答を与えており、また、Halbrecht ら²⁶も、夫婦間白血球混合培養を用いて、流産例には blast-like transformation cells が対照に比し増加し、流産回数が増すにつれて transformation rate が増加すると報告している。組織適合性判定には各種の方法があるが、著者らは反応細胞の ³H-TdR のとり込みを指標とした夫婦間白血球混合培養法³⁶で検討した。実験成績の示すごとく、夫の白血球を刺激細胞とし、妻の白血球を反応細胞とした one way 法においてのみ習慣性流産夫婦間の反応性が正常妊娠分娩のみの群より著明に高かったことは、単にその夫婦間の移植抗原性の差が強いということを示すだけでなく、夫の移植抗原に対して、妻のリンパ球がすでに感作されている可能性を示すものである。

ここまで、実験的流産の成立や、流産患者が胎児(絨毛)抗原に強く感作されている証拠について述べてきたが、多くの妊娠は母体側から何らの免疫的攻撃を受けずに 10 カ月の長きにわたつて生育を続けるということをかんに理解すべきなのであろうか。Billingham²⁸や他の多くの母児間における移植免疫に関する文献にみられるように、妊娠が移植免疫による攻撃から護られているいくつかの説明がなされてきている。しかしながら、これらの仮説も近年の多くの研究により次第に真実性が薄らいできている。しかるに、近年母体血中に免疫抑制物質の存在が示唆され²⁹⁻³³注目をあびてきた。従来より、皮膚移植実験で妊娠時の方が生着期間が長く³⁴、また、非妊時でも cortisone と HCG を投与した場合に生着期間が延長する³⁵という報告はみられ、著者らもわずかではあるが妊娠時の方が生着期間の延長することを認めた。そこで、臨床的に妊婦血中に抑制物質が存在して、

流産例では本因子がどのように変化しているのかを検討するために、PHA に対する白血球の反応性を応用し、健常非妊婦、正常妊婦、流産患者の血漿を添加してその影響を検討した。成績に示すように、正常妊婦血漿中には明らかに免疫抑制物質の存在が認められ、妊娠の進行と共に増加した。一方、流産群では正常妊娠群に比して低値を示し、同週数の正常妊娠との比較においても9例中8例は明らかに低値を示した。この結果は、免疫抑制物質の消長と流産の関係をはつきり物語っているものといえよう。しかし、本物質が妊婦だけに特異的な物質であるのか、また流産との関係においても本物質の低下により流産を起すのか、流産を起こしつつある結果低下したのか今後検討する必要がある。

VI. 結 論

流産の成因における免疫の関与について種々の検討を加え以下のような成績を得た。

- 1) 皮膚移植、胎仔摘出術では流産を起こすまでには至らなかつたが、抗胎盤・抗胎仔血清の投与により、高率に流産を起こした。胎仔摘出術はその後の胎盤の発育に強い影響をおよぼした。
- 2) IA 法および蛍光抗体法により、流産患者は絨毛抗原に感作されている証拠をえた。
- 3) 流産患者の補体価は、正常妊婦に比べ低値を示した。
- 4) 習慣性流産夫婦間においては、移植抗原性の差の強いことが示唆された。
- 5) 正常妊婦血中には免疫抑制因子の存在が認められ、流産患者血中において本因子の低下が認められた。
- 6) 以上の成績より、原因不明の流産の中には免疫的機序の介入が推定され、少なくとも流産物排出機転において液性免疫的機序の関与が強く示唆された。

なお本論文の要旨は第18回日本不妊学会総会シンポジウムにおいて発表した。

文 献

- 1) 竹内正七：産婦人科領域における宿主腫瘍関係の免疫病理学的研究，第20回日産婦会総会宿題報告要旨，1968。
- 2) 竹内正七，川名尚，金子実：臨産，21：19，1969。
- 3) 竹内正七：産と婦，38：1421，1971。
- 4) 上原政夫，竹内正七，広井正彦：日産婦誌，27：9，1975。
- 5) 樋口正臣，竹内正七：産と婦，40：1581，1973。
- 6) Bardawil, W. A., Mitcheii, G. W., McKeogh, R. P. & Marchant, D. J.: Am. J. Obst. Gynec. 84: 1283, 1962。

- 7) Simmons, R. E. & Russell, P. S.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 99: 717, 1962。
- 8) Kirby, D. R. S.: J. Reprod. Fertil. 5: 1, 1963。
- 9) Lanman, J. T.: J. Exp. med. 119: 781, 1964。
- 10) Schlesinger, M.: J. Immunol., 93: 255, 1964。
- 11) Currie, G. A.: J., Obst. & Gynec. Brit. Comm. 74: 841, 1967。
- 12) Koren, Z., Abrams, G. & Behrman, S. J.: Am. J. Obst. Gynec. 102: 340, 1968。
- 13) Douthwaite, R. M. & Urbach, G. I.: Am. J. Obst. Gynec. 109: 1023, 1971。
- 14) Newton, W. H.: J. Physiol., 84: 196, 1935。
- 15) Hugget, A. St. G. & Pritchard, J. J.: Proc. Soc. Med. 38: 261, 1945。
- 16) Shintani, S., Glass, L. E. & Page, E. W.: Am. J. Obst. Gynec. 95: 547, 1966。
- 17) Shintani, S., Glass, L. E. & Page, E. W.: Am. J. Obst. Gynec. 95: 550, 1966。
- 18) Kometani, K. & Behrman, S. J.: Int. J. Fertil. 16: 139, 1971。
- 19) Parmiani, G.: Excerpta. med. I internal congress on immunity in obstetrics and gynecology 38, 1974。
- 20) Gray, J. D.: Am. J. Obst. Gynec. 72: 615, 1956。
- 21) Gray, J. D.: Am. J. Obst. Gynec. 74: 111, 1957。
- 22) Gray, L. D. Tupper, C. & Rowse, J. A.: Am. J. Obst. Gynec. 75: 43, 1958。
- 23) Gray, J. D.: J. Immunol. 92: 827, 1964。
- 24) Jones, B. M. & Williams, T. W.: Nature, 213, 1253, 1963。
- 25) Nelson, R. A.: Science, 118: 733, 1953。
- 26) Halbrecht, I. & Komlos, L.: Obst. & Gynec. 173: 31, 1968。
- 27) Kirby, D. R. S., Billington, W. D., Bardbury, S. & Goldstein, D. J.: Nature, 204: 548, 1964。
- 28) Billingham, R. E.: The new England Journal of Medicine, 270: 667, 1964。
- 29) Curzon, P., Jones, E. & Gaugas, L.: British Medical Journal, 4: 49, 1972。
- 30) Lenkin, S.: Lancet, 2: 43, 1972。
- 31) Kasakura, S.: J. Immunol. 107: 1296, 1971。
- 32) Hofmann, R., Straube, W. & Klausch, B.: Immunology in Obstetrics and Gynecology. Proceedings of the First International Congress. Padua. 226, 1973。
- 33) Takeuchi, S. & Kanazawa, K.: to be published.
- 34) Medawar, P. B. & Sparrow, E. M.: J. Endocrinology, 14: 240, 1956。
- 35) Warren, H., Pearse, M. D., Gray, L. & Curtis, B. S.: Am. J. Obst. Gynec. 104: 419,

1969.

- 36) Takeuchi, S. & Kanazawa, K.: Acta. Obst. et Gynec. Jap. 19(1) : 59, 1972.
- 37) Kabat, E. A. & Mayer, M. M.: Experimental Immunochimistry. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas, 2nd. edition, 1961.

Immunological studies on the cause
of spontaneous abortion

**Takeshi Takahashi, Koji Kanazawa,
Masaomi Higuchi, Toshio Nishiyama,
Akiteru Tokunaga, Tamostu Hando
and Shoshichi Takeuchi**

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

We studied on some immunological mechanisms possibly involved in pathogenesis of unexplained spontaneous abortions with animal and human materials from the standpoints of humoral and cellular immunology. The results obtained so far were as follows:

1. In the pregnant rats, abortion were induced in about 22%, when rabbit anti-placental or anti-fetal sera were injected intraperitoneally.

2. In the aborted patients, compared to normal pregnant women, higher incidence both in positive tests by immune adherence test (performed with trophoblasts and its autochthonous sera) and positive staining of syncytiotrophoblast by indirect immunofluorescent technique were observed. Moreover, value of CH50 in sera from aborted patients was significantly lower than that in sera from normal pregnant women.

3. In couples with a history of habitual abortion, higher value of ^3H -thymidine uptake in mixed leukocyte culture was obtained, compared to couples without history of abortion. In addition, in the aborted patients, the suppressive effect of plasma on PHA-induced lymphocytes response seemed to be lower than in pregnant women.

Thus, it was strongly suggested that both humoral and cellular immune mechanisms are probably involved in pathogenesis of unexplained spontaneous abortion.

第13回日本不妊学会中四国支部総会

会 期 昭和 49 年 9 月 18 日 (日) 午後 1 時

会 場 広島市松原町

広島ステーションホテル 5 階

1. 不妊外来における最近 5 年間の臨床統計的観察

佐々木健一郎・児玉光人・北野太路
(広島大泌尿器)

昭和44年より48年までの5年間に広島大学泌尿器科外来を訪れた男子不妊患者について臨床的統計的観察を行った。頻度は外来患者総数8227名に対し432名で5.3%、男性外来患者総数4964名に対して8.7%であった。初診時年齢は20~50才で30~34才が最も多く47.2%を占めた。結婚より来院までの期間は1年から最長は30年で、5年以内が70%であった。

職業別では公務員が比較的多かった。既往疾患では流行性耳下腺炎、高熱疾患が比較的多かった。精液所見では、無精子症161、減精子症158例であった。

睾丸生検を施行した93例では、Fibrosis 13例、Germinal aplasia, 39例、Spermatogenic arrest 21例、Disorganization 15例、Normal 5例であった。

精囊腺撮影では石神、森の分類でII型が多かった。

質問 堀 秀 雄(岡山大産婦)

無精子症を除いて精液の所見は連続採取して検査すると健康人(授精力ある人)でも日によつて非常に差がある。どの辺が不妊の規準とされているか

精子形態について触れていないが、不妊の原因として相当な意味があると思う。

回答 石 部 知 行(広島大泌尿器)

4~6日の禁欲ののち3回以上精液検査を行ない、2回以上一致したものを不妊指標としている。勿論この場合、内分泌異常、性染色体異常などのあるものを除いた原発性不妊症のみを今回対象とした。精子奇型率は1部について検討しているが、時間、労力などの面で全例について検討していない。

質問 酒 徳 治 三 郎(山口大泌尿器)

男性不妊症患者中、染色体異常は何%にみられたか

回答 石 部 知 行(広島大泌尿器)

広島大産婦人科に依頼して検査しているが、約20%にみられている。しかし特殊な症例のみに検査を行つてい

るので正確な頻度は解らない。

2. マウスおよび家兔受精卵の凍結保存に関する研究(予報)

○内海恭三・湯原正高(岡山大農・畜産)

演者らの研究室では液体窒素によるラット受精卵の凍結保存法の開発に成功した。本研究では家兔およびマウス受精卵をラットと同様の方法で凍結保存が可能か否かを検討した。

FSH-HCG 法による過剰排卵を施した日本白色家兔の初期胚胞を凍結に供した。卵を自家血清・生食(1:2)の媒液に浮遊させ、抗凍結剤として8% DMSO および12% DMSO を添加した。凍結融解後、12% DMSO 区は可視的な変化が認められなかつたので、修正 KRB・血清(1:4)で体外培養して卵の生存性を判定した。培養卵は20時間で Hatching を開始し、48時間で Hatched になった。マウスはスイス系マウスで、自然排卵による。2 cell 卵および初期胚胞を凍結した。8% DMSO あるいは12% DMSO 添加で凍結融解後は胚胞のみが正常な形を呈し、とくに12% DMSO 区は培養によつて胚腔の拡大が認められた。

質問 己 斐 秀 豊(広島市)

凍結保存したラット卵を移植する際、偽妊娠ラットを使用した例があつたら偽妊娠誘発の条件をうかがいたい。

回答 内 海 恭 三(岡山大・農)

偽妊娠ラットに凍結卵を移植して産仔を得ているが、偽妊娠誘起法として精管結紮雄との交配か、電気刺激を施している。電気刺激は、有核スメアを示した夜から翌朝までの間に交流20Vで3秒間、5秒間隔で頸外口部を刺激する。

質問 大 浜 絃 三(広島大・産婦)

1) マウスと家兔の受精卵培養に用いる培養液は同じものか、その種類はどうか。

2) 凍結受精卵の融解法は如何か。

3) 凍結受精卵の保存はどの位の期間可能か。現在までの成功率はどうか。

回答 内海 恭三

1) 一般的には修正 KRB+仔牛血清が万能のように使われているが、当教室では修正 KRB に自家不活化血清を 4:1 に混合したものを使用している。

2) 精子の凍結保存の場合と違って、卵子の場合は融解、即ち復水過程における細胞傷害が大きいいわれている。私共は LN₂ から、D.A., 水中、および室温へと 20 分くらいで段階的に融解する。凍結容器によっても融解法は異なると思われ、本法ではプラスチックストローの場合である。

3) ラット受精卵の D.A. 保存では数日間発生能を失う。LN₂ 保存では現在のところ半年保存から生存胎児を得ている。ラットの場合移植率は 90%, 着床率は 20% くらいである。

質問 植田 秀嶺

提示されたスライドには細菌の数が相当多いものも見受けられたが、細菌感染と成績の関係は如何。

3. 最近 2 カ年間における AID の成績

宮川和康・安村 浩(広島大産婦)

1972年5月より、1974年4月に到る、最近2カ年間に於ける、1974年6月30日現在の AID 成績について、2, 3 の検討を加え報告する。

1) AID 実施患者の年齢は 22 才から 39 才迄の 118 例であり、自然に近い方法の検討として、腔内法と頸管内法との中間法で施行した。

2) 妊娠成功率は、118 例中 41 例 (34.7%) で妊娠成立 41 例のうち、24 例が分娩終了、性比は 1.2 であり、12 例が妊娠中、5 例が自然流産した。

これらについて授精回数、周期別での成功率を検討した。

4. 選択的クロミッド+HCG 療法の臨床内分泌学的考察

己斐 秀豊(広島市)

CLOMID 服用後、頸管粘液 (CM) が増量し、結晶形成度も (卅) になっても排卵せぬものに、HCG を投与する、所謂、選択的 CLOMID-HCG 療法は既に 7 年前の関東地方部会で発表した。今回は、無月経第 1 度 30 例に対しクロミッド投与を行い、血中 FSH, LH を Radioimmunoassay で測定した結果から、クロミッド・テストの臨床内分泌学的意義を論じた。

無月経第 1 度はクロミッド投与に対する反応から 5 群

に分類されるが、投与後 CM の反応なく排卵する Ia では、投与前、投与後 LH 値は有意に高値であった。HCG 投与を行なっても排卵せぬ IIc では、投与前、投与後とも血中 LH は 78.3 ± 27.2 , 41.5 ± 13.4 と有意に高く、LH RH テストでも前値比較的高値、反応良好であり、この 4 例中 3 例は、開腹により PCO であることが確認された。

選択的 CLOMID-HCG 療法を行うことにより、無月経第 1 度におけるクロミッド・テストの意義はより大なることを強調した。

質問 鎌田 昌平(岡山大産婦)

Cloמיד+HCG療法は、最近時々行われている。頸管粘液量 (C.M.) によって HCG の投与時期をきめる、Cloמידは C.M. を抑制する作用があるので C.M. の量がどの位になったら HCG を開始したらよいか、通常の場合の 0.3~0.35ml を基準にしていもいいか。

回答 己斐 秀豊

CLOMID 服用中は、頸管粘液の増量は抑制されるが、服用後、CM が増量、結晶形成度 (卅) に達して、3 周期も排卵せぬものに対してのみ、HCG 投与を行うのが選択的 CLOMID-HCG 療法と考えている。CM の反応が不良の群は、PMS ないしは HMG 療法の対象を考える。

5. 異常な基礎体温を示した妊娠例について

鎌田昌平・相良祐輔・秋本眺久
関場 香(岡山大産婦)

26才で第2度無月経の症例に対して HMG-HCG グールをおこなった所、排卵誘発に成功したが HMG-HCG の 2 グール目に月経周期の 38 日目に排卵した、高温期は 14 日続いて基礎体温は下降した。月経が来れず酢酸クロルマジンを 7 日間投与した所、基礎体温は上昇して、投与後直ちに下降したが月経の発来はなかつた。その後約 2 ヶ月間 E-P cyclic therapy を施行しているが Progesterin 投与時のみ基礎体温は上昇した。その後しばらく当院を訪れることなく過していたが、腹部腫痛に気づき 5 月 1 日に当院を訪れた。子宮は成人頭大となっており、胎心音は明瞭に聴取され、尿中 Pregnenandiol は 15.8mg/day、尿中 Estriol は 6556 μ g/day、で妊娠 5 ヶ月の正常妊娠であり、上記 HMG, HCG 2 グール目に妊娠したもので、その基礎体温が興味あるパターンを示したので報告する。

質問 己斐 秀豊(広島市)

HMG, HCG 投与終了後、この例のように、なかなか排卵せず、なかばあきらめていたところ、10 日以上たつて

から、排卵する例が時に見られるが、このような例では、HMG の carry over effect と考えるべきか？

回答 鎌田 昌平(岡山大産婦)

HMG や PMS 治療した場合、そこで排卵がなかったらこの治療は失敗したという考え方には疑問をもっている。排卵はおこさないまでも治療前にくらべると卵胞の成熟過程において少くとも位相が進んでいるとみることもできると思う。

6. LH の Radioligand receptor assay

櫛木範夫・南沢 豊・儀間裕典
猪野博保・鎌田正晴・奈賀 脩
足立春雄(徳島大産婦)

LH の測定には、生物活性の測定が煩雑で、精度も悪く、実用性に乏しいため、一般に免疫活性の測定である Radioimmunoassay が広く用いられている。

このたび我々は Catt らにより検討された Radioligand receptor assay について、宮地らが発表した生物活性のダメージの少ない Enzymatic-Radioiodination でヨード化を行い、種々の検討を加え、さらに LH-RH 投与後、及び排卵期の LH について測定し、若干の知見を得たので報告した。

1) 今回 Binding fraction として 50mg/ml の濃度で 62.5mIU/ml 2 and IRP HMG の感度を得たが、Standard curve の slope がゆるやかで、精度に劣る欠点がある。これら感度、精度の上昇をもたらすには ^{125}I -hCG のより高い Specific activity 及び receptor の Binding capacity の向上が必要である。

2) LH-RH 投与後、排卵期とも RIA とほぼ同様の傾向を示したが、さらに症例を増やしたい。

7. 性染色体 XXp+ を呈した Aplasia ovarii の症例について

金田健一・井庭信幸・吉賀 峻
北尾 学(鳥取大産婦)

症例 19才、会社員、昭和48年9月原発性無月経を主訴として来院、家族歴、両親は血族結婚でなく、染色体異常を認めない。同胞兄2人ともに健在、外来所見、身長152.3cm、体重45kg、陰毛および腋毛は全く欠如し、乳房、乳腺の発育は不良であるが、他に体表奇形はみられない。臨床診断、1) 子宮發育不全、2) 原発性無月経(第2度無月経)。内分泌検査、甲状腺機能、副腎皮質機能正常、メトピロンテスト正常、血清卵巣ホルモン値ではエストロゲンおよびプロゲステロンともに全く低値で、LH・RH テストでは LH および FSH とも 1,500

mIU/ml 以上の過剰反応を示した。

染色体検査。末梢血 drum stick は異常に大きく、染色体では 46, XXp+ で X 染色体の短腕の先端部に X 染色体の長腕部が転座したものと推定される。開腹所見、両側の卵巣ともに aplasia ovarii であった。文献上 45, X/46, XXp+ の Turner 症候群の報告例はみられるが、本症例のような核型を示すものはまれである。

質問 大浜 紘三(広島大産婦)

核型が XXp+ で過剰部分は Xq であるとされているが、47, XXX の例においても正常表現型並びに性機能を有するものがあることを考えると、46, XXp+ とこの症例の卵巣の状態とを直接関連づけるのは困難な点もあると思われる。

回答 金田 健一(鳥取大産婦)

核型が 46, XXp+ で Aplasia ovarii を呈し血中エストロゲン、およびプロゲステロンが極めて低値を呈した症例で、その他には体表奇形を認めなかつたので、恐らくは X 染色体の異常によつて Aplasia ovarii を呈したものと推定した。

シンポジウム

不妊症診療の現況

- 1) 泌尿器科領域
- a) 傍留辜丸の診断

酒徳治三郎・越戸克和(山口大・泌尿)

傍留辜丸は男子生殖器奇形の中で最も頻度が高く、かつ造精機能障害をひきおこすので、その治療法ならびに治療時期の選定、予後の判定を早期に確立することが望まれる。

従来、本症に対する診断法としては、主として局所の触診法が行なわれるのみであつた。演者は一種の腹腔造影法により、傍留辜丸の位置や大きさ、腹膜鞘状突起の状態を観察し、辜丸生検所見と併せて検討を加えた。その結果、鞘状突起の閉鎖しているものおよびその形成不全例では、自然下降に関する予後ならびに造精機能に対する予後不良の例が多く、その意味から X 線検査法は価値があると思われる。

- b) 当教室における男子不妊症の現況

高田 元 敬(岡山大・泌尿)

岡山大学泌尿器科不妊外来を、昭和46年から48年の3年間に309例の男子が不妊を主訴として来院した。これら症例について、統計的観察・治療・予後を報告した。309例の内訳は、Azoospermia 154例、Oligospermia

135例, Oligo-necrospermia 15例, Normospermia 5例である。Azoospermiaの中には, Klinefelter 症候群9例, 類宮宦症3例, 先天性同側精管欠如症4例等が含まれている。これら症例について, 年齢・既往歴・睾丸長径・精のう腺像・睾丸組織像・原中ホルモン等の結果を報告した。治療は, 内分泌物質 (Gondotropin Androgen・甲状腺ホルモン)・非内分泌物質 (アルタミン・イノシン・ピタミン等)を単独或は組合せて行ない, 6例に妊娠の成立をみた。

又, 当教室で行なっている Plasma Testosterone・Estrogen・LH・FSH の測定方法と測定値をも合わせて報告した。

質問 堀 秀 雄 (岡山大・産婦)

- 1) 停留睾丸の手術時期について。
- 2) 自然下降の可能性は何%あるか。
- 3) 温度の睾丸に対する影響について。

回答 酒 徳 治 三 郎

1), 2) 1年以内に80%位に自然下降がみられ, それ以後は下降率が非常に悪い。生後1~1年半は経過観察する。3才位までは組織学的な変化はあまりみられず, 5才以上では退化変性が著明となる。3~5才位に手術を行うのが適当と考える。ホルモン療法はあまり実施しない。

3) 通常的位置の睾丸より inguinal testicle は 3.6°C 温度が高い。人間の場合睾丸の障害は原因が結果がはつきりしない面もある。

質問 平 山 剛 (広島大・産婦)

停留睾丸における睾丸悪性腫瘍の発生頻度について

回答 酒 徳 治 三 郎

我々の経験では停留睾丸患者70例中3例に発生をみている。正常例では1万人中1例の頻度で, 停留睾丸の場合ではその200倍 (50例に1例)の頻度であると文献上云われている。

質問 己 斐 秀 豊 (広島市)

男子不妊症の内分泌検査では, 従来, Azoospermia では高 Gonadotropic と云われたのに比し, 血中 FSH 値は高くなく, むしろ LH が高く, 血中 testosterone 値は低く, HCG テストの反応が不良のように思われ, かかる症例では間質細胞の反応性が一番重要と考える。

回答 高 田 元 敬 (岡山大・泌尿器)

無精子症に対する血中 LH・FSH 測定は, まだ6例に行なっているだけである。6例中4例は, FSH も高値を示した。

2) 産婦人科領域

a) 当科における不妊症治療の成績

井 庭 信 幸 (鳥取大産婦)

不妊症患者に対する脳波学的検査は常時行ない, 脳波異常例には phenobarbital, Contol, Balance を投与し, 性周期回復を試み, 少数例であるが妊娠に成功している。LH-RH 負荷テストによる下垂体機能検査は ovarian origin か pituitary origin かの決定には欠かせないものであり, 私達は cystic ovary と pituitary tumor を診断し得た。LH-RH による排卵誘発も試みられているが, 成績については報告者によつて異なり, 更に検討が必要と考えられる。卵管形成術を数例に施行し, かなりの成績を得た。不妊症患者のなかで肥満婦人の脂肪酸構成では正常婦人に比し, オレイン酸が高値, リノール酸が低値を示した。

最近3カ年の外来患者総数は7744名, そのうち育児希望者は386名, そのうち妊娠例は73名 (19.4%)。治療内容はクロミッド療法, 偽妊娠療法, HSG, 通水, PMS+HCG, Kaufmann 療法, HMG+HCG, premarin 静注法等を行なっている。

b) 血中ステロイドホルモン測定と不妊クリニック

高 橋 久 寿 (徳島大・産婦)

最近の血中ステロイドホルモンの RIA の進歩に伴い教室でもルチーンに測定可能となり不妊クリニックに応用した。

1) 無排卵周期症, 第1度無月経30例の血中 Testosterone (T) と Estradiol- 17β (Ed) 測定により polycystic ovary (PCO) の screening test への応用を試みた。Ed 値に関しては6例を除いて殆ど例は正常値 (early follicular phase $6.3 \pm 3.2\text{ng/dl}$) より高値であった。T 値は正常値が $31.9 \pm 6.0\text{ng/dl}$ で 80ng/dl 以上の高値の症例が11例あり, 臨床上也で強く PCO を疑わしめた。

また, 80ng/dl 未満のグループ19例中にも, LH-RH test と血中 T, Ed 測定を用いた Dexamesazone-HCG loading test を合せて行うことにより PCO を screening できると思われる。

まだ内視鏡や開腹による確診例は2例しかないが, 更に確診例を増やし screening test との相関を確かめ内視鏡検査を省略し, 最終的には clomid 無効例に対し開腹即ち治療 (wedge resection) ということにしたい。

2) 黄体機能不全の診断は中々難しく, Jayle による尿中 Estrogens, Pd 測定を用いた検査法がある。同様のスケジュールで血中の Progesterone (P) と Ed 測定

によつて黄体機能の dynamic test を試みた。

対照月経周期では高温相の 4, 5, 6, 7 日目の採血と、dynamic test の周期には高温相 2, 4, 6 日目に HCG 5000I.U を負荷し、5, 6, 7, 8 日目の採血を行い、この 4 検体の内で高値 3 検体の平均値で判定した。

BBT の松本氏分類 I-III 型では Ed ($25.0 \pm 6.6 \text{ ng/dl}$ $n=5$), P ($13.8 \pm 1.2 \text{ ng/ml}$ $n=5$) であつた。一方、松本氏分類 V 型 (short luteal phase) では Ed ($18.3 \pm 6.6 \text{ ng/dl}$ $n=4$), P ($8.8 \pm 3.0 \text{ ng/ml}$ $n=4$) で P 値は有意 ($p < 0.01$) に低値であり、HCG loading でも V 型においては反応が悪く P ($9.7 \pm 3.5 \text{ ng/ml}$ $n=4$) であつた。従つて、正常黄体機能をもつものでは P 値は略々 10 ng/ml あたりに borderlinI が引けそうである。

質問 田中良憲 (川崎大・産婦)

多のう胞卵巣は HCG の負荷によりエストロゲンが増加するといわれている。PCO では全例開腹されたか。

回答 高橋先生 (徳島大・産婦)

1) polycystic ovary の患者に対する Dexamethasone-HCG loading test の血中 Estradiol- 17β の変動は、報告した 3 例については 1 例が著増し、2 例は変化が少し、特に 1 例は逆に減少していた。

最近、PCO 患者では尿中 Estrogen が増加すると云われているが、アメリカ学派には卵巣の aromatization が障害されている例があると述べており、我々の報告の 2 例でも aromatization の障害があるのではないかと考えている。

2) 今後、内視鏡検査ないし試験開腹などにより PCO の確診を行い、血中ステロイドホルモン測定による内分泌学的検査との相関関係を検討し、将来検査の目的での開腹例をなくし、治療の開腹が主体となるようにしたい。

特別講演

抄録未着

第69回日本不妊学会関西支部集談会

日 時 昭和 49 年 9 月 7 日 (土) 午後 1 時より
場 所 京都ステーションホテル

A) 受精を中心とした問題点

1. 各種マウスの排卵数および体外受精率

小川 誠・佐治文隆・若尾豊一
根来孝夫・都竹 理・倉智敬一
(大阪大・産婦)

Vaginal plug を観察した マウスのうちで妊娠するものの率をみると、ddY とか ICR では約90%と高率であるのに対し C57BL/6J では約30%と低率である。そこで ddY と C57BL/6J の2種の Strain について PMS, HCG によつて誘発した卵子を用いて体外受精を行ない、排卵数および受精率(分割卵子数/全卵子数)を検討したところ

(1) 1 個卵巣当りの排卵数は ddY では 15.5 ± 6.0 であつたのに対し C57BL/6J では 6.9 ± 3.1 と少なかった。

(2) 受精率は ddY の 56.6~65.5% に対し C57BL/6J では 30.5~36.0% と低率であつた。

(3) Interstrain の組合せによる受精率は ddY の卵子と C57BL/6J の精子とでは 50.0%, C57BL/6J の精子と ddY の精子とでは 81.3% であつた。

以上の成績より ddY に比べ C57BL/6J においては排卵数も少なく受精率も低いことを知つた。なお受精率の低い原因はどちらかといへば卵子の側より精子の側にあるように思われた。

2. ブタ卵母細胞の成熟分裂休止機構について

佐藤英明・入谷 明・西川義正(京大農)

第三次卵腔内の卵母細胞の核分裂は dictyate stage にあり卵核胞 (germinal vesicle) を有して休止している。本実験ではこの核分裂の休止機構について、体内培養法を用いて検討した。

卵母細胞を顆粒膜細胞層に粘着させるシステムで in vivo の状態を in vitro で再現しうることを知つた。かつ顆粒膜細胞に卵核胞前塊抑制因子の存在を認めた。

その抑制効果は顆粒膜細胞により産生される物質により支配され、かつ卵母細胞の顆粒膜細胞への粘着様式に

依存することが知られた。

さらに抑制因子は 0.30μ のミリポアフィルターを通過し、その抑制は卵母細胞の RNA 合成を阻害することにより発現することを知つた。

3. Ovulation in the Monkey-Biological and Embryological Aspects

A. G. Hendrickx, California Primate Research Center, University of California, Davis.

The time of ovulation in experimental animals and man has been the objective of much research for many years. Its importance in our studies rests with the fact that it is the only reliable means of timing embryonic events. Consequently a variety of methods were employed to determine when ovulation occurred and which method might be of practical importance in managing a large colony of baboons, bonnet monkeys and rhesus monkeys for reproductive biology and embryology studies. Timed-matings, pairing of male and female for 2, 8 or 24 hours at midcycle, have proven to be practical and moderately reliable for timing embryonic events, however the conception rate is low (percentage of pregnancies to matings is 20~25%), and the ability to predict optimal time for mating (ovulation) is difficult. Further studies correlating vaginal cytology, basal body temperature, cervical mucus amylase and protein levels, progestins and estradiol- 17β indicated that estradiol 17β was the only value which showed a consistent and positive correlation to ovulation. It was shown that peak estradiol- 17β levels occurred 24~48 hours before ovulation. Total estrogen peak levels also occur 24~48 hours before ovulation and LH peak levels occurred about 12~15 hours after the estrogen

peak. From these data it appears that the time of ovulation, based on preovulatory estrogen levels, can be predicted. It now remains to be shown at what time mating (coitus) should occur to yield a high conception rate and embryos with accurate ovulation and fertilization ages. The most recent data indicate that mating at the time of ovulation does not result in conception. It is suggested that mating must occur at sometime before ovulation to allow for sperm transport, capacitation and ova transport. Studies to determine these factors are presently in progress.

B) 着床を中心とした問題点

1. Trophoblast の組織適合抗原について

金子義雄・杉本 修・西村敏雄
(京都大産婦)

Trophoblast(以下 Tr.)には species-specific あるいは tissue-specific antigens が存在していることは従来よりの報告で明らかである。しかし、Tr. に組織適合抗原が存在するか否かについては、未だ明確な報告はなされていない。我々は、今回 donor antigens によって前感作された宿主の腎被膜下および辜丸内への胞胚あるいは ectoplacental cone の移植実験で、Tr. に組織適合抗原の存在することを強く示唆する結果を得た。このような Tr. の組織適合抗原の存在が、妊卵の着床、Tr. の invasion あるいは胎児の成長、発育にどのような影響を及ぼすかは、現在のところ不明であるが、移植妊卵の着床率の検討等より、妊卵に対して、宿主が何らかの immunologic selection を行なっていると思わせるような結果も得られた。その他、このような実験下における、Tr. 周囲の extracellular materials についても光顕的レベルではあるが検討してみた。結果は、isograft 時、allograft 時とも、同様な extracellular materials の deposit が見られた。

2. ラット着床周期の胚-内膜関連の走査型電子顕微鏡

浜西正三・武木田博祐・林 要
東条伸平
(神戸大産婦)

着床現象解明の a priori の課題である胚及び内膜の表面微細構造の変化に関して走査型電顕を用いて検討し、今回はとくにラット胚の着床周期の表面構造につ

いて、経時的に観察したので報告する。

妊娠第 5 日午後 4 時、午後 8 時、第 6 日午前 2 時において、合計 146 個の胚を回収し、試料を作製した。

胚の透明帯消失後、trophoblast 表面に比較的均等に配列していた microvilli は比較的速やかに embryonic site からその形状が不整化し、粘性成分付着のためか、しだいに不明瞭化している。ついで細胞表面は全般的に不整な小隆起で被われるようになり、着床期にあつては、abembryonic site の trophoblast が膨隆し、粗大な隆起をもつようになる。

なおこれまでの観察において、内膜上皮の細胞境界部や細胞質突起による圧痕像を胚表面上に明らかにみることとはできなかった。また、胚表面に内膜片の付着を思わせる所見はこの時期において既に胚-内膜間に接着、嵌合が成立していることを示唆するものと考えられる。

3. estrogenised uterine RNA の着床促進効果

西川道則・武木田博祐・林 要
東条伸平(神戸大・産婦)

estrogen 投与後の去勢ラット子宮から抽出される biologically active RNA は、いくつかの estrogen 作用を replace することが報告されている。そこで今回、われわれは estrogen の持つ unique な生物学的作用である胚着床促進作用を、本 RNA が代用できるかどうかを検討したので報告する。

biologically active RNA は Kirby の須川氏変法により抽出した。本 RNA を遅延着床ラットの子宮腔内に投与したところ 1~100 μ g と云うかなり巾広い投与量で着床を誘起できた。一方、estrogen を投与しない状態で抽出された脱落膜性 RNA 投与では着床を誘起できなかった。更に、biologically active RNA と同様に去勢ラット子宮内膜増殖作用を持つヒト絨毛性 RNA、ラット着床期 RNA、ラット placental RNA を抽出し、胚着床促進作用を検討した結果、ラット着床期 RNA により胚着床を誘起することができた。

4. 着床期内膜および胚の超微形態学的所見

松岡謙二・李 文遠・武木田博祐
林 要・東条伸平
(神戸大・産婦)

胚着床の機序の実態を解明する目的で、wistar シラットを材料として attachment stage から invasion stage までの子宮内膜および胚の相互関係に焦点をあわせて電顕的観察を行なった。この結果 attachment stage では両者間に微絨毛の交互嵌合がこり、ついで adhesion

stage においては, simple apposition の状態となり, 更に intermediate junction like structure や gap-junction like structure などいわゆる細胞膜の specialization をきたし, このうち trophoblast は上皮内へ侵入した. また trophoblastic invasion に関しては明確な結論は得られなかつたが, trophoblast の histolytic mechanism や phagocytic mechanism, 更には表

面上皮の autodegeneration を思わせる所見等が観察された. 上皮消失後には trophoblast と間質細胞間に simple apposition や intermediate junction like structure が観察され, 間質細胞では上皮化や filbillar material の著明な増加が認められた. しかし私達の観察期間内では immunological barrier としての fibrinoid material の存在は認められなかつた.

第 15 回日本不妊学会東北支部総会

期 日 昭和 49 年 7 月 11 日 (木) P.M. 3:00—6:00

場 所 良陵会館大ホール (仙台市広瀬町 3 の 34)

1. 血球凝集反応による LH-RH 試験の簡易法について

星合 昊・服部 浩・中川公夫
平野睦男・高橋克幸・鈴木雅洲
(東北大・産婦)

近年、産婦人科領域における LH-RH 試験の意義についてはほぼ確認されてきたが、血清 LH の測定には RIA を使用するため、いまだにルーチンワークとはいえない現状である。一方、尿中 LH の定量は、血球凝集反応 (HAR) を応用したキットが開発されている。今回、われわれは RIA により測定した血清 LH の値と HAR により測定した尿中 LH の値を比較し、LH-RH 試験の簡易化を検討した。対象は、無排卵周期症 6 例 (A 群)、第 1 度無月経 8 例 (B 群)、第 2 度無月経 6 例 (C 群) の 20 例で、測定方法は、血清 LH、FSH には RIA キット、尿中 LH にはハイゴナビスを使用した。LH-RH 投与後血清 LH は、各群とも大部分が投与後 30 分にピークを示し、A 群で 8.4 倍、B 群で 5.8 倍、C 群で 3.7 倍であった。血清 FSH は各群とも著明なピークは作らず、投与後 30~60 分に 1.6~2.5 倍に上昇し、以後 180 分まで比較的高値を持続した。尿中 LH は、投与後 60 分に、A 群は 7.5 倍、B 群は 5.0 倍、C 群は 5.2 倍と血清 LH の上昇と類似した傾向を示したが、血清 LH の変動と異り、各群とも 180 分までピーク値を維持する傾向が見られた。以上の結果から LH-RH 投与前後の血清 LH の変動と尿中 LH の変動は非常に類似し、LH-RH 試験のスクリーニングとしては HAR キットによる尿中 LH の測定のみで判定可能と思われた。

2. 乳汁分泌—無月経症候群に対する CB 154 の効果

平野睦男・星合 昊・吉田 威
高橋克幸・鈴木雅洲
(東北大・産婦)

昭和 43 年以降、現在までの 6 年間に、われわれは、21 例の乳汁分泌—無月経症候群を経験しており、これらの

症例につき、臨床的、内分泌学的に多方面からの分析をこころみ、とくに最近、乳汁分泌抑制作用があると報告されている 2 α -Brome- α -erogocryptine、いわゆる CB 154 の臨床効果を、3 例の乳汁分泌—無月経症候群で検討した。投与方法は、はじめの 5 日間、毎日 7.5mg、その後は連日 5.0mg を内服させた。Chiari-Frommel 症候群 1 例と、Argonz-del Castillo 症候群の 1 例は、CB 154 投与により乳汁分泌が一時減少したが、30 日間の服用で完全に消失するまでに至らず、服用中止により、再び乳汁分泌が著明に認められるようになった。しかし第 3 例の Argonz-del Castillo 症候群では 5 日間投与では乳汁分泌が著明に減少し、20 日間投与で、完全に乳汁分泌が消失した。従来、われわれの経験では乳汁分泌—無月経症候群の乳汁分泌抑制作用は steroid hormone では全く期待することができず、わずかに clomid 療法で消失した例をみているが、CB 154 はこれらの療法に比し、乳汁分泌抑制作用はきわめてすぐれてはいるが、症例によつてその効果は差異があるところから、服用量や服用期間および適応の範囲などにつき、なお多くの問題が含まれているものと思われる。

3. 精路 Dyskinesia による射精障害例

一条貞敏・長沢正人・白岩康夫
(福島医大・泌尿器)

症例 31 才、公務員、主訴、不妊、射精障害妻は婦人科的に異常をみないが、結婚歴 2 年になるも妊娠せず、性生活は週 1~2 回、勃起は十分するも射精及び射精感なし。半年前までは、時に夢精を生ずことがあつた。既往歴には特に異常なし。

体格、栄養中等度、胸腹部に異常なく、外性器は正常男性型、前立腺、正常大、正常硬、肛門括約筋、緊張よく、諸神経学的検査に異常をみない。精巢生検上、造精能良好なるも精細管腔内に精子及び脱落細胞が充満し、通過障害の存在を示す。精囊腺造影では、精囊腺が左右に強く拡大し、精管も遠位部で拡張している。精囊腺部マッサージにより尿道口より多数の精子を含む分泌液を排泄し、この後の尿沈渣にも精子が多数みられた。

以上、精路の Dyskinesia によるとも考えられた原因不明の射精障害を経験した。現在、患者より採取した精子を用い、人工授精を計画中である。

4. 射精障害における COMT 阻害剤の効果

木村行雄・安達国昭・木崎 徳
伊勢和久(東北大・泌尿器)

射精障害、特に性交、masturbation にて ejaculation, orgasm が得られない射精障害の治療法として、これまで主として精神分析療法が行われて来た。一方、薬剤療法も試みられてはいるが、特に有効な薬剤は報告されていない。そこで seminal emission, ejaculation および尿管道口の閉鎖という射精の3現象が α -adrenergic receptor mechanism に支配されているという我々の実験成績に着目し、このような射精障害患者に交感神経系の感受性を高めるといふ塩酸イミプラミンと COMT 阻害剤である trihydroxypropiophenone を投与した。その結果、塩酸イミプラミンでは見るべき効果はなかつたが、trihydroxypropiophenone では症状の著明な改善が認められた。

5. ラット視床下部抽出物の Prolactin 分泌促進作用

若井貞子・小林洋子・斎藤昌治
吉田 威・高橋克幸・平野睦男
鈴木雅洲(東北大・産婦)

Prolactin (PRL) 分泌を調節する因子として視床下部からの PRL inhibiting factor (PIF) の放出が主張されているが、最近、これに対して PRL releasing factor (PRF) も報告され、両者に関する疑問は少なくない。そこで我々はこの問題解決の1つの approach として本実験を行なった。

実験方法:

妊娠末期W系ラットより摘出した視床下部を acetone-dry ice で瞬間凍結し、0.03M Tris-HCl-0.0015M Mg-Cl₂ buffer pH 7.8 で homogenize する。homogenate は Sonicator で cell free の状態にして 25,000×g 30分遠心し、その上清を S-I とする。S-I を更に 105,000×g 30分遠心し、上清を S-II として、各々ラット2頭分に相当する量を、産後48時間の産褥ラットに注射する。30分、60分後に断頭し、血中 PRL を RIA で測定した。又、正常雌ラットの視床下部 homogenate の 25,000×g の上清を妊娠ラットに注射し、血中 PRL を測定した。

実験成績:

S-I 投与群の血中 PRL 値は投与後30分では control

群と同じであったが、60分では著しく上昇し control 群の約3倍の値となった。これに対し S-II 投与群では control 群と比較して30分、60分後共変動を示さなかつた。このことは PRL 分泌の調節因子が microsome fraction に存在し、supernatant には存在しないことを示している。又、正常雌ラット視床下部抽出物が妊娠ラットの PRL を減少させる成績を得たが、S-I 投与による PRL 上昇が、果して PRF によるものか或いは PRF 活性も持つ TRH によるものなのかは、目下検討中である。

6. tetrapeptide のラット LH および FSH 放出に関する検討

広瀬洋子・平野睦男・中川六夫
高橋克幸・鈴木雅洲
(東北大・産婦)

目的: Schally らの LH-RH は FSH-RH でもあるという説に対し、Folkers らは LH のみを放出させるという tetrapeptide を合成し、さらに最近 FSH-RH 分画の存在も示唆している。そこで tetrapeptide の LH および FSH の放出能について検討した。

方法: 去勢雌ラットに estradiol benzoate 50 μ g および progesterone 25mg を皮下注射し72時間後に tetrapeptide を股静脈より注入し経時的採血を行ない血清中の LH, FSH の変動を2抗体法 radioimmunoassay で測定した。

結果: tetrapeptide 静注後15分で LH は上昇し、30分で下降しはじめた。最小限界量 50 μ g 投与群で3倍の増加がみられ、1.2mg 投与群で有意な増加があつた。また FSH は変動しないか、むしろ減少の傾向を示した。

7. LH-RH のラット下垂体前葉に対する影響

服部 浩・星合 昊・吉田 威
平野睦男・高橋克幸・鈴木雅洲
(東北大・産婦)

LH-RH のラット下垂体前葉に対する作用を検討する為、ウィスター系雌ラット約200g を去勢し、約3週間後に estrogen, progesterone で前処置を行なった。合成 LH-RH 100ng 静注し、経時的に断頭し下垂体前葉中の cyclic AMP 濃度の変化を調べたところ、15分で peak に達し、その値は control 群の2倍になり、60分後には、control 値に戻つた。また、合成 LH-RH 投与後経時的に断頭し摘出した下垂体前葉を用い in vitro で ³H-uridine を加え incubate しこの uptake を計測

すると、30分で ^3H -uridine uptake は peak に達し、60分後には control 値に戻った。この uridine uptake を DNA dependent RNA polymerase の阻害剤である Actinomycin D $3\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 加えると ^3H -uridine uptake は約 $1/3$ に抑えられた。このことよりこの uridine uptake は RNA 分画へのものと考えられる。cyclic AMP と uridine uptake の関係を調べる為、dibutyryl cyclic AMP/ $\mu\ \text{mole}/\text{ml}$ とラット下垂体前葉を15分、30分 incubation した後 ^3H -uridine uptake を測定したが、 ^3H -uridine uptake は、control に比して差がなかった。

以上より、合成 LH-RH のラット下垂体前葉に対する作用は、cyclic AMP 系と RNA 合成系の両面へ、関与しているものと考えられる。両者間には、15分、30分の shot incubation では、何ら関連性は認められなかった。

8. 射精前後における血漿 FSH, LH および testosterone 値について

白井将文・松田尚太郎・光川史郎
(東北大・泌尿器)

中村 護(東北大・放射線)
米沢 健三(東北大・薬剤部)

不妊を主訴として当科不妊外来を訪れた男子不妊症患者より10例を無作為に抽出し測定対象とした。これら10例の年齢は28~38才で、精液所見では無精子症2例、精子数 $1\sim 9\times 10^6/\text{ml}$ が2例、 $10\times 10^6/\text{ml}$ 以上が6例である。先ずこれら症例より採血して血漿 FSH, LH 及び testosterone を測定 (RIA による) して前値とし、用手法により射精させた後30分で再び採血して血漿中のこれらホルモンを測定して前値と比較してみた。その結

果射精前の血漿 FSH は $26\pm 18\text{mIU}/\text{ml}$, LH は $29\pm 21\text{mIU}/\text{ml}$ で testosrone は $738\pm 293\text{mg}/\text{dl}$ であったものが射精後30分の血漿 FSH は $30\pm 25\text{mIU}/\text{ml}$, LH は $28\pm 20\text{mIU}/\text{ml}$ と射精前と比較して FSH が多少増加を示したが LH には差はみられなかった。一方血漿 testosterone は $720\pm 263\text{ng}/\text{dl}$ と射精前とほとんど差はみられなかった。

9. Klinefelter 症候群患者の内性器超音波断層像について

棚橋善克・渡辺 洸・猪狩大陸
原田一哉・斎藤雅人・白井将文
(東北大・泌尿器)

Klinefelter 症候群患者では、一般に精管の發育も悪いいため、これまでは精管・精囊・射精管造影も思うにまかせず、この疾患における内性器の検索については、直腸内指診というあいまいな方法がほとんど唯一の手段であった。

今回私達は、性染色体構成が $47\ \text{XXY}$ を示す真性 Klinefelter 症候群患者5例について、私達の開発した経直腸的超音波断層法を施行し、次の結果を得た。

1) 前立腺断面形状は、一般に小さく、小児型を示し、推定重量は平均 9.5g と正常の約 $1/2$ の値を示した。

2) 精囊断面もごく小さかったが、その出現深度は、正常に近く、平均して肛門より 6.5cm から 3.5cm の間にわたって出現した。推定容積は平均 0.50ml で、正常の4%にも満たない値であった。

このことより、Klinefelter 症候群においては、前立腺の發育はかなり悪いが、それにも増して精囊の發育の悪いことが注目された。

投稿規定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
2. 原稿は、本会の目的に関連のある綜説、原著、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
3. 1論文は、原則として印刷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 20巻4号

昭和50年9月25日印刷

昭和50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