

Japanese Journal of Fertility and Sterility

October 1976

日本不妊学会雑誌

第 21 卷

第 4 号

昭和 51 年 10 月 1 日

— 目 次 —

原 著

お知らせ

Cyclofenil による排卵誘発とその内分泌動態 郭 仁 智 1

PRODUCTION OF ANTI LUTEINIZING HORMONE

RELEASING FACTOR (LH-RF) SERUM:

IMMUNOBIOLOGICAL APPLICATION AND

DEVELOPMENT OF RADIOIMMUNOASSAY M. Shiina 12

THE EFFECT OF ENDOMETRIAL CELLS ON THE

GROWTH AND EXPANSION OF RABBIT

BLASTOCYST *IN VITRO* W. B. Yang 22

不妊患者の精子ミトコンドリア内暗調沈着物の

電子顕微鏡的研究 越 野 豊 30

雄性ラット生殖器系における Monoamine Oxidase および

Monoamines の局在について 友 田 明 40

牛凍結精子の融解温度条件と精子 acrosome の形態変化 平 尾 和 義 45

第21回(社)日本不妊学会学術総会抄録

日本医学会加盟についての御知らせ

今般、日本不妊学会は去る6月28日第39回日本医学会臨時評議員会の審議を経て、7月6日日本医師会常任理事会において日本医学会第73分科会として登録されました。

茲に本件に関しての会員各位の従来のご努力を感謝するとともに、併せて今後の御協力を御願ひ申し上げます。

理 事 長

澤 崎 千 秋

**FIRST ASIAN CONGRESS OF FERTILITY
& STERILITY**

19—23 February 1977

Bombay (INDIA).

Organised by :

Indian Association of Fertility and Sterility

With the Patronage of :

International Federation of Fertility Societies

Office ; Purandar Griha 31/C, Dr. N. A. Purandare

Marg, Bombay, 400007, India

CONTENTS

Clinical and Endocrinological Studies in Anovulatory Women Treated with Cyclofenil	<i>J. Kuo</i>	1
Production of Anti Luteinizing Hormone Releasing Factor (LH-RF) Serum: Immunobiological Application and Development of Radioimmunoassay	<i>M. Shiina</i>	12
The Effect of Endometrial Cells on the Growth and Expansion of Rabbit Blastocyst <i>In vitro</i>	<i>W. B. Yang</i>	22
Electron Microscopic Studies on the Intramitochondrial Dense Deposits in the Spermatozoa of a Infertile Man	<i>Y. Koshino, K. Imamura, Y. Nakai & T. Fukuoka</i>	30
Histochemical Localization of Monoamine Oxidase and Monoamines in the Reproductive Tracts of Male Rats	<i>A. Tomoda & S. Kuwabara</i>	40
The Effect of Thawing Temperature on Acrosomal Characteristics of Bull Spermatozoa	<i>K. Hirao & T. Mukai</i>	45

Cyclofenil による排卵誘発とその内分泌動態

Clinical and endocrinological studies in anovulatory
women treated with Cyclofenil

慶応義塾大学医学部産婦人科教室 (指導: 飯塚理八教授)

郭 仁 智

Jinchih KUO

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

概要: Cyclofenil を無排卵周期症および無月経第1度に投与して、その臨床成績および血中ホルモン動態を検討し、以下の結論をえた。

1. 排卵誘発成績は、症例別では497例中242例(48.7%)、周期別では932周期中292周期(31.3%)であった。
2. 55例の妊娠が成立し(妊娠率25.5%)、このうち正常分娩例は46で、全て単胎、性別は男児20名、女児26名であった。
3. 排卵率、妊娠率の上から400mg7日間および600mg7日間の2方式を適切とした。
4. 反復投与効果は、無排卵周期では5クール、無月経第1度では3クールまで期待出来る。
5. 特記すべき副作用はなかつた。
6. Cyclofenil 投与前後の血中ホルモン動態は
 - 1) LH, FSH ともに Clomiphene citrate 投与直後にみられる第1のピークはみられない。
 - 2) 排卵期の LH peak は正常排卵期よりやや低く、はつきりとした FSH peak はみられない。
 - 3) 排卵例では投与直後の E₂ 上昇は著明で、排卵前後の第1のピーク、+7日頃の第2のピーク、ともに正常周期のそれより大である。
 - 4) 以上により、Cyclofenil の中枢に対する作用は弱く、卵巣作用の方が強いと推定される。

緒 言

排卵の存在は、女性の妊孕性維持の基本であり、不可欠である。女性不妊の原因として無排卵症は大きな位置をしめており、これら無排卵婦人に対する排卵誘発法の確立は不妊症臨床にとり極めて重要な課題である。

その排卵誘発剤の1つである Cyclofenil は、1963年 Miquel ら¹⁾により、Ferrosan 社において合成された Asymmetric な diphenylethylenes の1種であり、構造的には Stilbestol に近い非ステロイド系エストロゲンである(図1)。

Persson^{2,3)}は、本剤を閉経期後婦人に投与し、尿中ゴ

ナドトロピン値および FSH/LH 比に影響をおよぼすことを認め、この結果をもとに、本剤が FSH/LH 比の失調にもとづくある種の月経異常や無排卵症の治療の可能

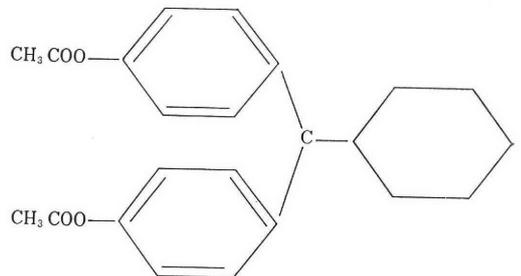


図1 Cyclofenil

性を考え、Cyclofenil の無排卵症婦人への最初の臨床応用を試みた。これ以来 Cyclofenil の基礎的および臨床的検討に関し、内外から多数の報告がみられるが、多くは臨床成績に関するもので、Cyclofenil 投与時の内分泌動態に関するものは少なく、とくに血中内分泌動態に関する研究は極めて少ない。

著者は多数例の無排卵症婦人(497例)に Cyclofenil を投与し、その排卵誘発効果、投与方法、妊娠例の予後、副作用およびまだほとんど報告のみられない投与前後の血中ホルモン動態について検討を加えた。

研究対象

慶応病院産婦人科ホルモン外来を訪れた無排卵症婦人1160例のうち、無排卵周期症211例延424周期および無月経第1度286例延508周期の計497例を対象に、延932周期の治療を行った。

対象のうちから任意に20例をえらび、消退出血後または月経開始後5日目より Cyclofenil 600mg 7日間の投与を行ない、投与前後および非投与周期の血中ホルモンを測定した。

研究方法

1. 無排卵症の定義：月経が周期的に存在しても無排卵になるものを無排卵周期症と診断した。また無月経の診断基準は、3ヶ月以上無月経持続をもつてした。3ヶ月間 BBT が無排卵性、かつ無月経が持続する場合はプロゲステロンデポ 50mg を筋注し、その後2週間経過を観察し、その間に消退出血が出現した例は無月経第1度と診断した。プロゲステロンデポ投与により消退出血の発現の無い例は、エストロゲンデポ 10mg を筋注し、1週間後にプロゲステロンデポ 50mg を追加投与し、これにより消退出血(+)なら無月経第2度と診断した。

2. 投与方法：Cyclofenil 400mg × 5日間、400mg × 7日間、400mg × 10日間、400mg × 10日間を20日間隔

で2回、および 600mg × 7日間の5通りの方式を検討した。

3. 血中ホルモン測定法：1) 血清 FSH, LH 定量は第1ラジオアイソトープ社のキットを用い、2nd IRP HMGmIU/ml にて示した⁴⁾。2) 血清 Estradiol および Progesterone 定量は帝国臓器神戸川、牧野博士提供による Estradiol-6-Oxime. BSA 抗体を用い、牧野⁵⁾、松本ら⁶⁾の方法によつて測定した。

4. 投与効果の判定：BBT の推移、頸管粘液の変化、膣スミアの変動、子宮内膜診、血中 Progesterone 値、妊娠成立などをもつて判定した。

研究成績

1. 臨床成績

1) Cyclofenil 排卵誘発成績に関して：

慶応病院産婦人科ホルモン外来を訪れた無排卵症婦人1160例の病型分布は表1に示した。これらに対する排卵

表1 ホルモン外来の病型分布(昭和47年6月～昭和50年6月)

病型	病例数	%
無排卵周期症	445	38.4
無月経第1度	388	33.4
無月経第2度	270	23.2
子宮性無月経	57	5.0
計	1160	100

誘発法としては、主に Cyclofenil, Clomiphene citrate, PMS-HMG, HMG-HCG が用いられた。それぞれの排卵誘発成績を比較検討のため表2に示した。

Cyclofenil 投与症例においては、無排卵周期症211例424周期の排卵誘発率は投与症例数に対して60.2% (127例)、投与周期数に対して37.7% (160周期)であつた。無月経第1度に対するそれはそれぞれ40.2% (115例)、

表2 Cyclofenil と他剤の排卵誘発成績の比較

診断	Cyclofenil		Clomiphene		PMS-HCG		HMG-HCG	
	症例別	周期別	症例別	周期別	症例別	周期別	症例別	周期別
無排卵周期症	127/211 (60.2%)	160/424 (37.7%)	193/241 (80%)	625/885 (70.6%)	12/19 (63.1%)	18/34 (52.9%)	12/24 (50%)	13/27 (48.1%)
無月経第1度	115/286 (40.2%)	132/508 (26.0%)	195/259 (75.2%)	494/1029 (48%)	19/35 (54.2%)	30/56 (53.5%)	31/40 (77.5%)	51/69 (73.9%)
無月経第2度	/	/	/	/	25/95 (26.3%)	34/167 (20.7%)	37/80 (46.2%)	49/107 (45.7%)
計	242/497 (48.7%)	292/932 (31.3%)	388/500 (77.6%)	1119/1914 (58.4%)				

26.0% (132周期) であつた。

2) 投与方式別排卵誘発成績:

無排卵周期症, 無月経第1度ともに 400mg 7日間, 400mg 10日間, 600mg 7日間投与ではほぼ同様の成績である。400mg 5日間と400mg 10日間 2回反復投与では前三者に比して明らかに排卵率の低下を認めた(表3, 4)。

表 3 無排卵周期症の投与方式別排卵成績

投与法	症例数	排卵例数	排卵率 (%)	投与周期数	排卵周期数	排卵率 (%)
400(mg/day) × 5(day)	12	5	41.7	24	5	20.8
400 × 7	45	28	62.2	107	41	38.3
400 × 10	34	21	61.7	82	31	37.8
600 × 7	116	73	62.9	203	83	40.8
400 × 10 を 20 日間隔で 2 回	4	0	0	8	0	0
計	211	127	60.2	424	160	37.7

表 4 無月経第1度の投与方式別排卵成績

投与法	症例数	排卵例数	排卵率 (%)	投与周期数	排卵周期数	排卵率 (%)
400(mg/day) × 5(day)	16	2	12.5	31	3	9.7
400 × 7	31	13	41.9	53	14	26.4
400 × 10	75	31	41.3	172	45	26.1
600 × 7	157	67	42.7	243	68	28.0
400 × 10 を 20 日間隔で 2 回	7	2	28.6	9	2	22.2
計	286	115	40.2	508	132	26.0

3) Cyclofenil 反復投与成績:

排卵不成立例に何回まで, 本剤を反復投与すべきか, 換言すれば, 何クール連用しても排卵不成立の場合に投与を中止, 他剤に変更するか, 検討したのが図2である。

無排卵周期症 211 例のうち, 初回クールで排卵した症例は 60 (排卵率28.4%) で, 排卵不成立例の 151 例について 2 クール以上反復投与すると, 第 2 クール44.0%, 第 3 クール26.2%, 第 4 クール40.0%, 第 5 クールに 45.4%の排卵率を認めた。

無月経第1度 286 例のうち, 初回クールで排卵した症例は 69 (排卵率24.1%) で, 排卵不成立の 217 例について, 2 クール以上反復投与すると, 第 2 クール21.2%, 第 3 クール22.7%の排卵率を認め, 第 4 ~ 5 クールでの排卵例はなかつた。

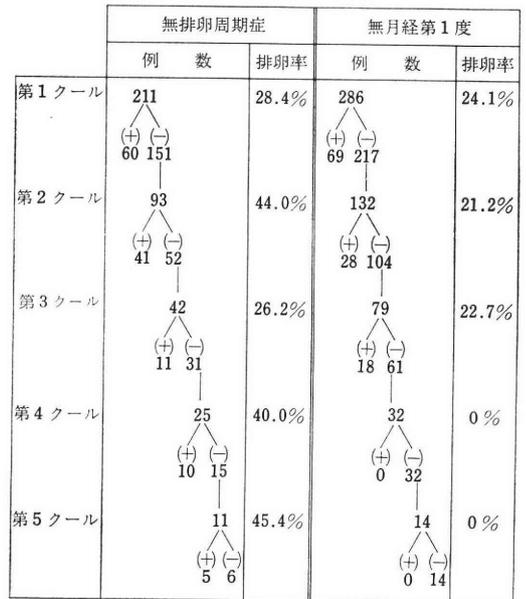


図 2 排卵不成功例に対する反復投与成績

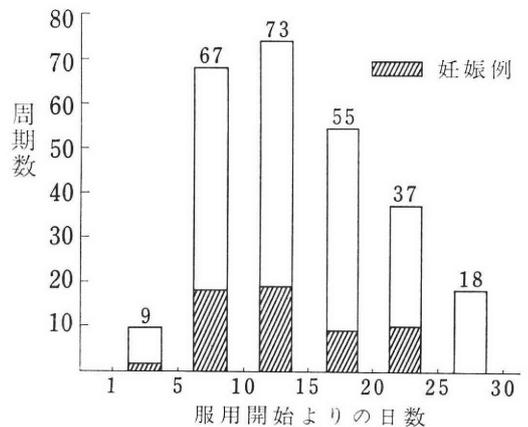


図 3 Cyclofenil 服用開始より排卵までの日数分布

4) 投与開始より排卵までの日数:

排卵誘発成功例について, 内服開始より排卵にいたつたまでの日数分布を 5 日間区分で図3に示した。259 排卵周期における平均日数は13.9日である。Cyclofenil 投与中の排卵例は 9 周期 (3.5%) のみであり, 11~15日目に排卵した例が最も多く73周期 (28.2%) で, ついで 6~10日目の25.9%, 16~20日目の21.2%であつた。ただし, この6~10日群は 9~10日間に排卵は集中した。内服開始して 20 日間 たつてから排卵する例は 55 周期 (21.2%) であつた。

5) 排卵後の高温持続日数:

排卵例の高温持続日数を BBT から判定すると, 観察した214周期の平均は12.7日であつた(図4)。11日間以

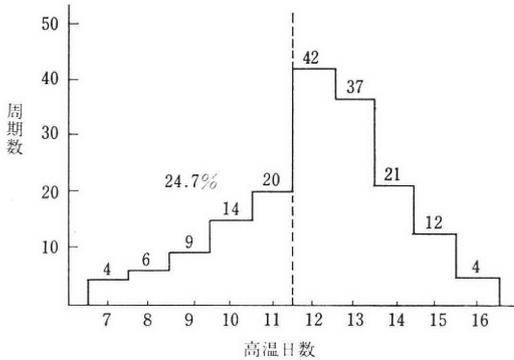


図 4 Cyclofenil 排卵例の BBT 高温持続日数

下の短縮高温日数を示したものが63周期あり、全体の25%をしめている。

6) 副作用:

自覚症状として、乳房痛を訴え Cyclofenil 投与を中止したものが1例あり、他は不正出血が主であった。すなわち無排卵周期症211例424周期のうち、24例(11.4%) 40周期(9.4%)に不正出血を認め、無月経第1度286例508周期のうち、30例(10.5%) 41周期(8.1%)に不正出血を認めた。

7) 妊娠, 分娩例の分析:

不妊婦人400例のうち、215例に排卵が成功し、55例の妊娠が成立した。排卵例に対する妊娠率は25.5%である。

妊娠率を投与方式別にみると 400mg 7日間の27.6%が最も高く、これについて400mg 10日間の26.7%, 600mg 7日間の25.7%, 400mg 5日間の14.3%, 同一周期に400mg 10日間反復投与の0%の順に低くなる(表5)。

妊娠成立までの投与回数を見ると第1回投与で27例に妊娠が成立した(表6)。

Cyclofenil 投与周期に妊娠が成立した55例について、その周期の Cyclofenil 服用開始より排卵にいたつたまでの日数分布を図3に示した。これによると妊娠の成立が特定の区間にかたよる傾向はみとめられなかった。

妊娠予後は、妊娠初期流産3例、妊娠14週流産2例、右卵管妊娠1例、満期死産1例、正常分娩46例、残り2例は現在妊娠続行中である。生児をえた46例はいずれも単胎であり、多胎妊娠は認められず、性別では男児20、女児26、生下時体重は未熟児1例(2385g)をのぞき、他は2600g~3850gの間にあつた。全例とも先天異常はない。妊娠中に合併症をともつたのは晩期妊娠中毒症1例、糖尿病1例で、いずれも正常分娩にいたつた。

2. Cyclofenil 投与前後の血中内分泌動態

表 5 投与方式別妊娠率

投与法	排卵例数	妊娠例数	妊娠率 (%)
400(mg/day)×5(day)	7	1	14.3
400×7	29	8	27.6
400×10	49	13	26.5
600×7	128	33	25.7
400×10を20日間隔で2回	2	0	0
計	215	55	25.5

表 6 投与回数と妊娠例数

妊娠までの投与回数	妊娠例数
1	27
2	12
3	10
4	2
5	3
6	1
計	55

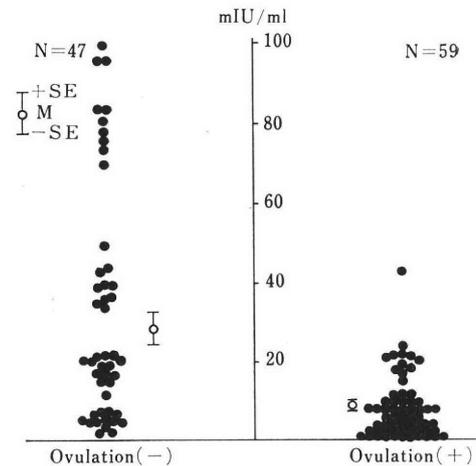


図 5 Cyclofenil 非投与周期の血中 LH レベル

1) 血清 LH:

Cyclofenil 非投与周期における月経または消退出血1~2週後の LH 動態の平均は図5に示した。これによると排卵例の LH レベルの平均値(M. ± S. E.)は9.0±1.0mIU/ml と、非排卵例の29.0±3.9mIU/ml より有意に低かつた(P<0.001)。

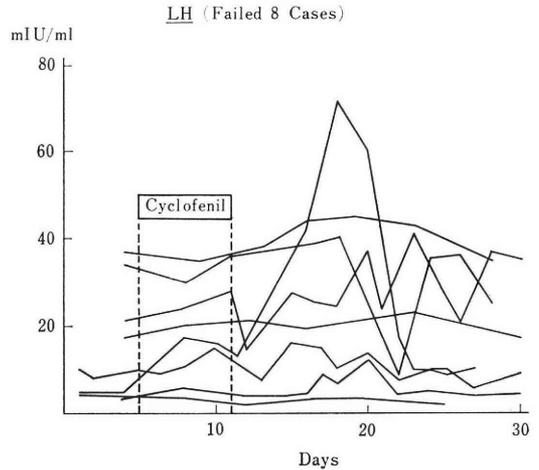
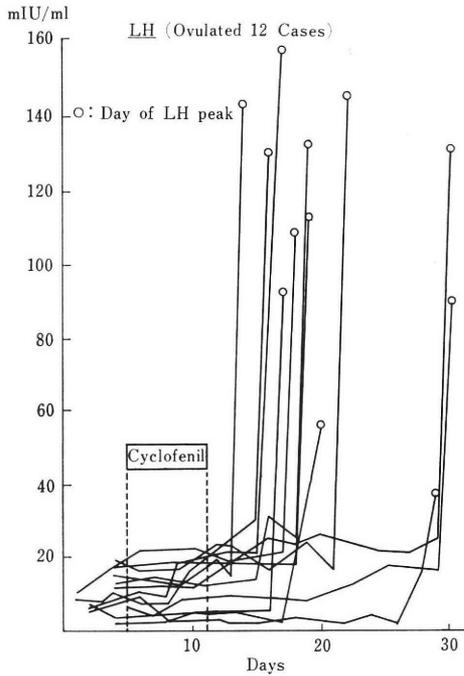


図 6 Cyclofenil 投与周期の血中 LH 動態

Cyclofenil 投与前及び直後の LH レベルを比較すると、排卵例では $9.7 \pm 1.4 \text{ mIU/ml}$ から $13.3 \pm 1.9 \text{ mIU/ml}$ と有意差をもつて上昇 ($P < 0.05$)、非排卵例では $27.4 \pm 11.0 \text{ mIU/ml}$ から $30.4 \pm 10.7 \text{ mIU/ml}$ とごく軽度の上昇を示したが有意差なく、Clomiphene citrate 投与時にみられるような、はっきりとした上昇はみられなかった。

排卵例の LH ピーク値の平均は $111.1 \pm 10.6 \text{ mIU/ml}$ と正常周期の LH ピーク値の平均 $153.7 \pm 6.8 \text{ mIU/ml}$ より有意に低かった ($P < 0.01$)、図 6。

2) 血清 FSH:

Cyclofenil 非投与周期の月経または消退出血 1~2 週後の FSH 動態は図 7 に示した。これによると Cyclofenil 排卵例の FSH レベルの平均値 (M.±S.E.) は $5.6 \pm 0.7 \text{ mIU/ml}$ と、非排卵例の $9.0 \pm 0.4 \text{ mIU/ml}$ より有意に低かった。

Cyclofenil 投与前および直後の FSH レベルは排卵例では $8.0 \pm 1.2 \text{ mIU/ml}$ から $9.2 \pm 1.2 \text{ mIU/ml}$ と、非排卵例では $6.8 \pm 0.8 \text{ mIU/ml}$ から $7.4 \pm 0.9 \text{ mIU/ml}$ といずれもごく軽度の上昇を示したが有意差はなかった。排卵日 (Day of LH peak) の FSH レベルは $18.7 \pm 3.1 \text{ mIU/ml}$ と正常周期の平均値 $28.1 \pm 1.9 \text{ mIU/ml}$ より有意に低く、はっきりとした FSH peak はみとめられなかった (図 8)。

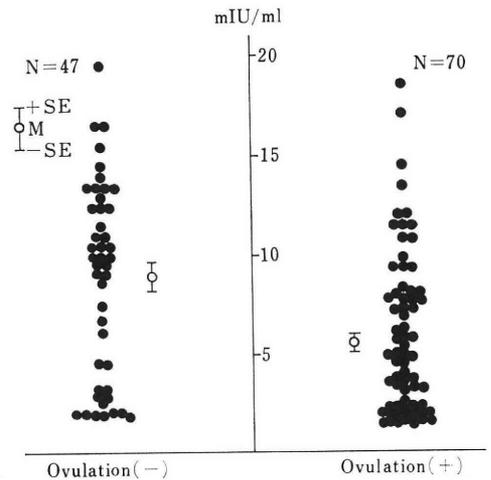


図 7 Cyclofenil 非投与周期の血中 FSH レベル

排卵例において、排卵日前の FSH レベル (-3 日以前の平均, $8.85 \pm 0.8 \text{ mIU/ml}$) を正常周期の卵胞期の平均 $10.8 \pm 0.8 \text{ mIU/ml}$ と比較すると、Cyclofenil 排卵例ではやや低く、排卵後のレベル (+3 日以後の平均 $5.05 \pm 0.6 \text{ mIU/ml}$) は正常周期の黄体期のレベル 4.2 ± 0.3

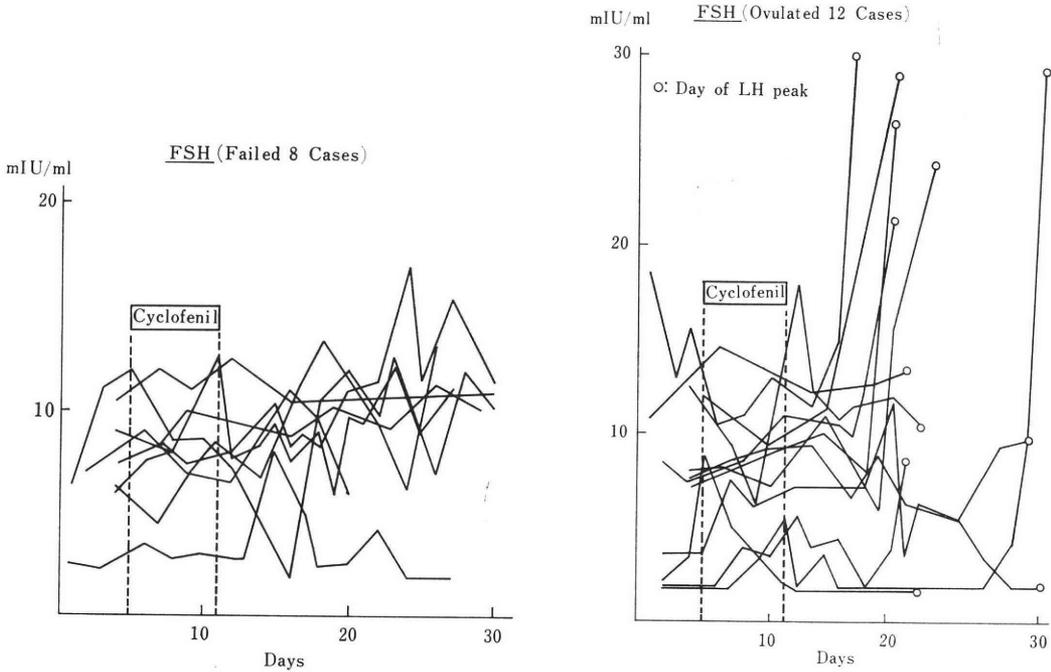


図 8 Cyclofenil 投与周期の血中 FSH 動態

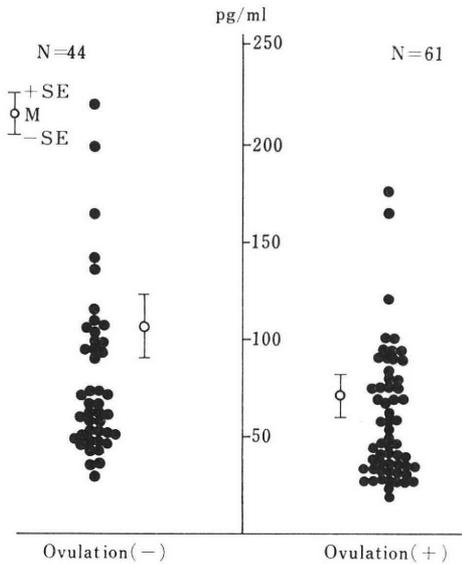


図 9 Cyclofenil 非投与周期の血中 E₂ レベル

mIU/ml とほぼ同一であった。

3) 血清 Estradiol :

Cyclofenil 非投与周期における E₂ レベルは、排卵

例では 71.4 ± 10.7 pg/ml, 非排卵例では 107.0 ± 16.5 pg/ml と、両者には有意差がみられなかった (図 9)。

Cyclofenil 投与周期においては、排卵例では Cyclofenil 投与前 5-50pg/ml の basal level より投与後直ちに上昇開始し、1例をのぞき 150-700pg/ml の第1のピークをつくつた後排卵した。非排卵例では、投与後も E₂ の上昇はみられなかった (図 10)。排卵例では LH peak の前日または当日に第1のピークをつくり、排卵後+7日目前後に 100-400pg/ml の第2ピークをつくつた。この第1のピークの平均値は 365.1 ± 56.2 pg/ml と正常周期の 229.7 ± 13.8 pg/ml より有意に大であった。第2ピークの平均値は 201.0 ± 29.2 pg/ml と正常周期の 161.75 ± 37.4 pg/ml より有意に大であった。しかしこの2つのピークがともに 40pg/ml 前後の低値で排卵した例が1例存在した (図 11)。

4) 血清 Progesterone :

Cyclofenil 排卵例の黄体期の Progesterone 動態はピーク値で 5-10ng/ml と正常周期のそれとほぼ同一レベルを示した (図 12)。

考 案

1. Cyclofenil の排卵誘発成績に関して :

慶応病院産婦人科ホルモン外来で用いられている排卵誘発剤は Cyclofenil, Clomiphene citrate, PMS-HCG,

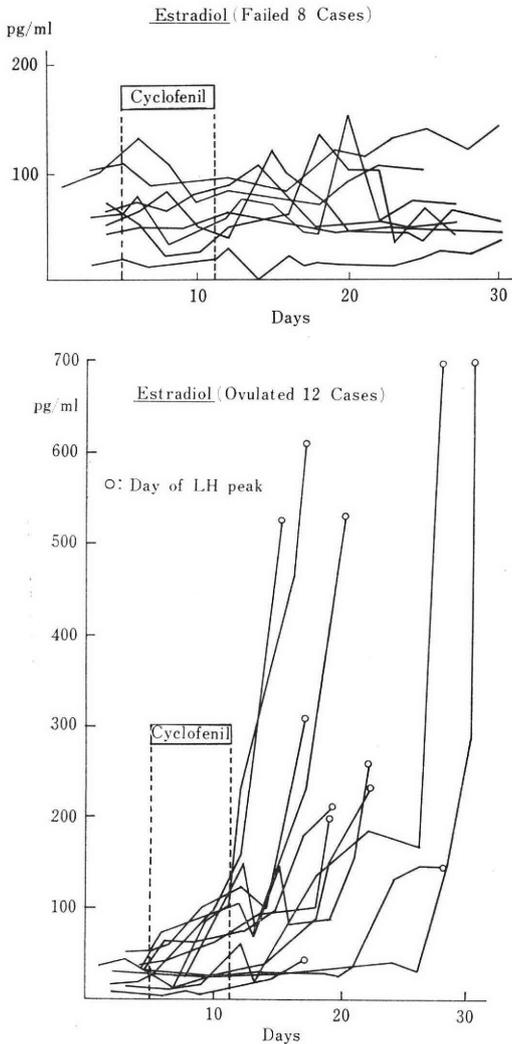


図 10 Cyclofenil 投与周期の血中 E₂ 動態

HMG-HCG 等が主である。しかし、これら排卵誘発剤のうち、HMG は卵巣への過剰刺激による卵巣腫大、腹水貯溜などの問題があり、PMS は、それ以外に抗体産生による効果減弱の問題があるために、適切な使用は難しく、そのために、適応症としては、中枢性の無月経第 2 度と Cyclofenil や Clomiphene citrate で無効であった無排卵症に限定される。他方、Clomiphene citrate は無排卵周期症や無月経第 1 度などには極めて有効であり、副作用も特記すべきものはない。これに対して、Cyclofenil も Clomiphene citrate と同様、投与後の不正出血をのぞいて副作用が少なく卵巣の過剰刺激がない。無月経第 2 度をのぞいた無排卵症における Cyclofenil の排卵率は、症例数の上からは 48.7%，周期数のそれは 31.3% であり、諸家^{17)~22)}の 40~75%，27~76% に

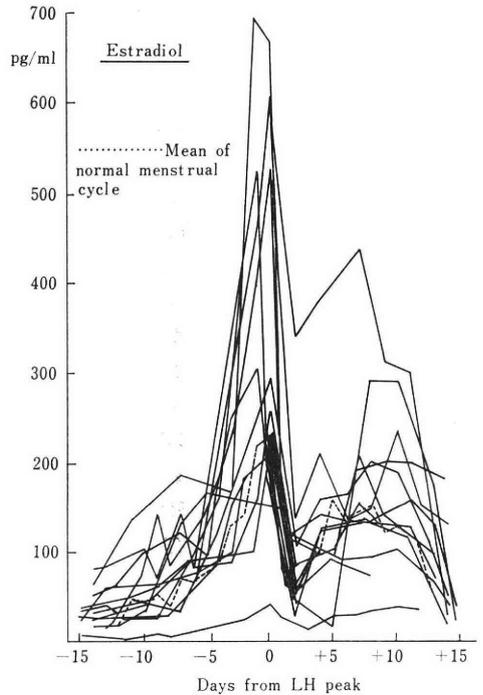


図 11 Cyclofenil 排卵例の血中 E₂ 動態

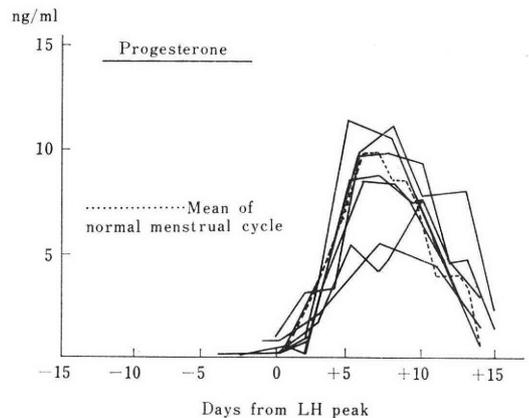


図 12 Cyclofenil 排卵例の血中 Progesterone 動態

劣らない成績である。この成績は Clomiphene citrate のそれよりやや劣るが、PMS-HCG や HMG-HCG による成績にほぼ匹敵することからも (表 2)，我々は無月経第 1 度や無排卵周期症に対しては、原則としてまず最初に本剤を用いている。また症例別、周期数別の排卵率とも、より軽症と思われる無排卵周期の方が、明らかに無月経第 1 度より高排卵率であることは、飯塚¹⁸⁾、Sato¹⁹⁾、東条¹⁷⁾、下村²⁰⁾の報告に一致した。

2. Cyclofenil 投与方式について：

Arnold²³⁾ は 1 日 100mg, 300mg, 600mg を 5~28 日

間投与した45例の成績から600mg 5~6日間投与、Sato⁷⁾は400mg 7日間投与、田村¹⁰⁾は600mg 5日間投与、飯塚¹⁸⁾は軽症には400mg 7日間、重症には600mg 7日間投与にて最も良い排卵率をえている。Ploman²⁴⁾は毎月10日間1日400mg、200mg 投与した75例の成績から1日200mgで十分であると報告している。著者は400mg 5~10日間、600mg 7日間投与の5通りの投与方式に分けてそれぞれ検討してみたが、400mg 7日間、400mg 10日間、600mg 7日間の3方式ではほぼ同様の排卵率をえており、また妊娠率の点からでもこの3方式が最も高く、一方400mg 7日間では排卵せず、600mgに増量すると排卵する症例も経験しており、よつて最少投与量である400mg 7日間および600mg 7日間を原則投与方式とするのが適切であると思われる。

3. Cyclofenil の反復投与効果について：

反復投与効果は排卵誘発剤を評価する重要な指標の1つとなる。ほとんどの報告者⁹⁾が反復投与による効果の増強をみとめており、反復回数は多くは3~6クールを良いとしている。著者の研究成績でも、本剤の初回排卵率は低いが、反復投与するにつれ、排卵にいたる症例が増えてくる。排卵率が症例別ではほぼ50%なのに、周期数別では低率であることが、これを良く裏書きしている。無排卵周期症においては、5クール反復投与ではじめて排卵にいたつた症例が存在し、無月経第1度においては、3クール反復投与ではじめて排卵にいたつたものの排卵率は22.7%であるが、4~5クール投与ではじめて排卵した症例は皆無であり、したがって Cyclofenil の反復効果を期待する場合、無排卵周期は5クールまで試み、無月経第1度では3クールまでを使用限界と考える。

4. 排卵の時期について：

内服開始後、排卵にいたるまでの日数の予知は妊娠成立を最終目的とする排卵誘発療法のさい、きわめて重要な点である。Sato⁷⁾は6~14日間に、中村⁹⁾は11~16日間に、下村²⁰⁾は10~15日間のついで5~10日間に最も多数例が排卵し、田村¹⁰⁾は90%までが20日以内に排卵したと報告している。著者の成績は図3に示す如く、一定の日数に集中する傾向はみられないが、11~15日間で6~10日間に排卵した例が多く、すなわち9~15日間に50%以上の周期が排卵している。また20日間たつてから排卵する症例も55周期(21.2%)存在している。

5. 排卵後の高温持続日数：

排卵後の黄体機能を知る指標の1つである高温相の持続日数についてみると、214周期の平均は12.7日で、中村⁹⁾の13.1日、下村²⁰⁾の12.1日、木村²¹⁾の12.4日と近似している。また全体の75%以上が12日間以上の高温持続

日数を示した。

6. 副作用：

乳房痛を訴えた症例が1例あり、他は不正出血であり、497例中54例(10.8%)、932周期中81周期(8.6%)が不正出血を訴えた。中村⁹⁾は25.5%、17.5%、下村²⁰⁾は36.4%、18.8%の出現率を報告している。いずれもエストロゲンの消退出血と思われる少量の出血で、止血処置を必要とする症例は皆無であつた。以上のように、重大な副作用はみられなかつた。

7. 妊娠例：

治療の結果妊娠したものは55例であり、排卵例に対する妊娠率は25.5%で、Persson^ら²⁵⁾の15%、中村⁹⁾の11.3%、赤祖父¹³⁾の26%、下村²⁰⁾の12%に比して良い成績である。妊娠までの治療周期数は第1クールで排卵して妊娠にいたつたものが約半数をしめ、残りの半数は第2~6クール目投与の間に妊娠したことは特記に値する。

8. 血中ホルモン動態について：

Cyclofenil の排卵誘発機序についてはいろいろな説がいわれているが、内外からの報告を大きく分類して間脳下垂体 primary site 説と卵巢 primary site 説の2つに分けられる。

1) 間脳下垂体に対する作用：尿中ゴナドトロピンおよびFSH/LHの比が変動すること²⁾、ラットの間脳LH-RH、FSH-RHが変動すること²⁶⁾、ラットの下垂体培養実験では下垂体LH、FSH放出をうながす作用があること²⁸⁾、家兔の脳電気生理学的閾値の変動より、下垂体前葉より上位の中樞神経系を本剤の作用部位と推論した報告²⁹⁾、マウスにおいてC¹⁴-Cyclofenilが下垂体に取り込まれること³⁰⁾などから推定される。

2) 卵巢に対する直接作用：マウスにおいてC¹⁴-Cyclofenilの卵巢黄体への取り込みが著明であること³⁰⁾、ヒトおよびラットの卵巢培養実験においてPregn-
enoloneからProgesteroneへの変換を抑制すること³²⁾、ラットの卵巢における3 β -hydroxysteroid dehydrogenase等Steroid生合成に関係の深い酵素活性が高まり、また卵巢に対するゴナドトロピンの作用効果が高まる³³⁾などから推定される。

しかしながら、ヒトにおいて、Cyclofenil投与前後のホルモン動態を追求しCyclofenilの作用機序についてのべた報告は、きわめて少ない。

林³⁴⁾は、Cyclofenil投与後、尿中FSHは、投与前比較的低下な症例では、排卵の有無にかかわらず、増加するが、LHは大半の例で、服用中または服用後増加するとのべている。

佐藤³⁵⁾は、投与前、中、後半の3回尿中LH、FSH

を測定し、LH は増加するも、FSH は変化しないとのべている。

一方、関³⁶⁾は、23 例の尿中 LH, FSH を測定し、排卵例では LH, FSH とともに増加するが、FSH の増加が先行し、卵胞発育を助長し、つづいて LH が衝撃的に増加して排卵を誘発すると推定し、Cyclofenil はまず中枢性に作用して LH, FSH のアンバランスを正常に近づけ、排卵させるとのべている。

他方、血中レベルよりゴナドトロピン動態をみた報告は、著者の成績以外みあたらない。著者の成績によれば、投与前の LH, FSH は、排卵例では、非排卵例に比して有意に低く、投与前と投与直後の LH は、ごく軽度の増加、FSH は不変であつた。排卵時の LH peak は、正常排卵時の LH peak より低く、FSH は、はっきりとしたピークとしては認められなかつた。正常排卵例では、FSH は一般に卵胞期>黄体期であるが、Cyclofenil 排卵例では、排卵前の FSH レベルは正常卵胞期のレベルより低く、排卵後では差はみられなかつた。このように Cyclofenil 投与によるゴナドトロピン動態は Clomiphene citrate 投与時にみられるような、投与直後の initial response としての LH, FSH の小さな peak, ついで排卵期の LH, FSH の peak³⁷⁾³⁸⁾ といつた、はつきりとした変化はみられず、また関³⁶⁾がのべるような LH peak に FSH の増加が先行し、卵胞成熟を助長するような現象もみとめられなかつた。したがつて、Cyclofenil の中枢作用は、Clomiphene citrate にみられる中枢性の作用より弱いものと推定される。

Cyclofenil 投与時の Estrogen の変化については、投与前の尿中 E 値が多少高値を示すものに、排卵成功例が多いとの報告³⁹⁾⁴⁰⁾、尿中 E₁ が増加するとの報告等がみられる。しかし Cyclofenil 服用時は、その代謝物のため従来の尿中 E 測定法では三分画を正確に定量できず、したがつて、Cyclofenil 服用時の尿中 E 値については再検討が必要である。関³⁶⁾は、神戸川⁴¹⁾の開発せる Cyclofenil 代謝物の影響をうけない新しい測定法を用い、Cyclofenil 服用時は E₃ 増加が特徴的であるとべている。

Cyclofenil 服用時の血中 E についての報告はほとんどみあたらない。著者の成績では、投与前の血中 E₂ 値は、排卵例、非排卵例間には差はみられなかつた。投与直後より、排卵例では E₂ の増加は著しく、排卵前日または当日に 150-700pg/ml の大きなピークをつくり、ついで+7 日前後に 100-400pg/ml の正常黄体期のピークより大きな第 2 のピークをつくつた。一方、非排卵例では、E₂ の増加は 100pg/ml 前後と小さく、はつきりとしたピークとしては観察されなかつた。このように、

Cyclofenil 投与によつて、E₂ の増加は著明であり、ゴナドトロピン動態の変化があまり著明でないことと対照的であつた。したがつて、Cyclofenil の卵巣への作用は、中枢への作用より著しいものと思われる。

Cyclofenil 排卵例の黄体機能については、佐藤³⁵⁾は高温日数よりみて正常とのべ、関³⁶⁾は BBT よりみた面積指数より正常、林³⁴⁾は子宮内膜診上、Cyclofenil 排卵例は正常分泌期像を示し、Clomiphene citrate 排卵例は非定型分泌期像を示すとのべている。また飯塚⁴²⁾は Dynamic test で、Cyclofenil 排卵例の一部にみられる黄体機能不全は、黄体ホルモン分泌不全型であり、子宮内膜は正常分泌期像を呈すとのべている。著者の血中 P 測定では、ほぼ正常排卵例のレベルを示し、また高温日数のみからみても Cyclofenil 排卵例の黄体機能は、ほぼ正常と思われる。このように、Cyclofenil 排卵例の黄体機能が良好であることは、Cyclofenil が排卵率では Clomiphene citrate に劣るも、妊娠率で Clomiphene citrate に遜色ない一つの理由と考えられる。

結 論

1. Cyclofenil を無排卵周期症および無月経第 1 度 497 例、延 932 周期に投与し、242 例 (48.7%)、292 周期 (31.3%) に排卵が成立した。
2. 55 例の妊娠が成立し (妊娠率 25.5%)、このうち正常分娩例は 46 で、全て単胎、性別は男児 20 名、女児 26 名であつた。
3. 投与方式は排卵率、妊娠率の上から 400mg 7 日間および 600mg 7 日間の 2 方式を適切とした。
4. 反復投与効果は、無排卵周期症では 5 クール、第 1 度無月経では 3 クールまで期待出来る。
5. 副作用は特記すべきものはみあたられなかつた。
6. Cyclofenil 投与前後の血中ホルモン動態は
 - 1) LH, FSH とともに Clomiphene citrate 投与直後にみられるといわれている第 1 のピークはみられない。
 - 2) 排卵期の LH peak は正常排卵期よりやや低く、はつきりとした FSH peak はみられなかつた。
 - 3) 排卵例では投与直後の E₂ 上昇は著明で、排卵前後の第 1 のピーク、+7 日頃の第 2 のピーク、ともに正常周期のそれより大であつた。

以上より

- 4) Cyclofenil の中枢に対する作用は弱く、卵巣性作用の方が強いと推定される。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜つた恩師飯塚理八教授ならびに終始御指導いただいた小林俊文講師、慶応健康相談センター婦人科医長中村幸雄博士、済生会

神奈川県病院産婦人科医長仁科進弘博士に謹んで深謝を捧げます。検査ならびに測定に御協力いただいた家族計画相談所ならびに健康相談センター研究室の諸兄姉に衷心より感謝いたします。

(なお本論文の要旨は、第49回日本内分泌学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Miquel, J. F., Wahlstam, H., Olsson, K., and Sundbeck, B.: Synthesis of unsymmetrical diphenylalkenes, *J. Med. Chem.* 6: 774, 1963.
- 2) Persson, B. H.: The Effect of Bis (p-acetoxypheyl) cyclohexylidenemethane (Compound F 6066) on Hormone Excretion in Postmenopausal Women, *Acta Soc. Med. Upsal.* 70: 1, 1965.
- 3) Persson, B. H.: Clinical Effects of Bis (p-acetoxypheyl) cyclohexylidenemethane (Compound F 6066) on Menstrual Disorders, *Acta Soc. Med. Upsal.* 70: 71, 1965.
- 4) 中村幸雄, 黒川博厚, 高 俊昭, 清水謙一, 松本 茂, 小林俊文, 齊藤 薫, 飯塚理八: LHRH Test と血中 LH, FSH の変動, *日不妊誌*, 18: 246, 1973.
- 5) 牧野拓雄: 性ステロイドホルモンの RIA, *日内分泌誌*, 49: 629, 1973.
- 6) 松本 茂, 中村幸雄, 川村尚道, 田辺清男, 飯塚理八: RIA によるステロイドホルモン (E₂, E₃, P) の測定法について, *ホと臨床*, 24: 411, 1976.
- 7) Sato, T., Ibuki, Y., Hirono, M., Igarashi, M., and Matsumoto, S.: Induction of Ovulation with Sexovid and its Mode of Action, *Fertil. Steril.* 20: 965, 1969.
- 8) 奥山通雄: 排卵誘発剤 Sexovid の臨床効果, *ホと臨床*, 23: 73, 1975.
- 9) 中村正彦, 倉野彰比古, 片桐英彦, 楠田雅彦: 排卵障害症に対する Cyclofenil (Sexovid) の臨床応用, *産婦の世界*, 27: 559, 1975.
- 10) 田村 貴, 水野正彦, 渡辺 卓, 小林拓郎, 吉田浩介: 排卵誘発剤 F 6066 の臨床使用成績, *日産婦関東連合会報*第12号, p. 40, 1970.
- 11) 長倉 基, 前田 勇: Sexovid による排卵誘発と妊娠例について, *日産婦関東連合会報*第12号, p. 41, 1970.
- 12) 花圃康喜, 立山造道, 熊本熙史, 楠田雅彦: F 6066 (Sexovid) による排卵誘発成績, *日不妊誌*, 16: 215, 1971.
- 13) 赤祖父一知, 光部啓一, 正木康之, 川田 肇: 各種排卵誘発剤の排卵誘発効果について, とくに Clomiphene citrate, Sexovid および HMG の使用経験, *日不妊誌*, 16: 85, 1971.
- 14) 北島正大: 主に F 6066 及び Clomiphene による排卵誘発, *医療*, 26: 650, 1972.
- 15) 一宮勝也, 岡 吉弥, 齊藤仁隆, 西川友和: Sexovid (F 6066) 投与による臨床経験, *産婦の世界*, 24: 1313, 1972.
- 16) 東条伸平, 林 要, 大沢悦二: Cyclofenil の排卵誘発機序に関する実験的研究, *日不妊誌*, 18: 123, 1973.
- 17) 東条伸平, 林 要, 大沢悦二: Cyclofenil の排卵誘発作用についての臨床的検討, *日本不妊誌*, 18: 123, 1973.
- 18) 飯塚理八, 小林俊文, 小林栄子: 排卵をめぐつて, *産婦の世界*, 25: 824, 1973.
- 19) 飯塚理八, 小林俊文: 排卵誘発と Clomiphene, Sexovid, 産と婦, 40: 445, 1973.
- 20) 下村 宏, 小田昌男, 徳川設夫, 藤本 俊, 崎浜秀英: Sexovid (F 6066) の臨床経験, *産婦の世界*, 26: 727, 1974.
- 21) 木村好秀: 排卵誘発剤 Sexovid の臨床使用成績, *産婦の世界*, 26: 1159, 1974.
- 22) 岡部泰樹, 佐藤卓宏, 金上宣夫, 光部啓一, 田中昭一: Cyclofenil (Sexovid) の臨床効果に対する検討, *日不妊誌*, 19: 78, 1974.
- 23) Arnold, M., Berger, M., Keller, M., Richter, R. H. H. and Uettwiller, A.: Clinical and Biochemical Studies in Patients Treated with Compound F 6066. *Acta endocr. (Kbh.) Suppl.* 119: 223, 1967.
- 24) Ploman, L.: 機能性不妊症に Cyclofenil (Sexovid) を使用した経験, *日不妊誌*, 16: 445, 1971.
- 25) Persson, B. H.: Basic information on Sexovid: p. 9, 1968.
- 26) Taubert, H. D., Kessler, R., Busch, G. and Werner, H. J.: The Effect of Clomiphene and Cyclofenil upon Pituitary LH and Hypothalamic LH-RF Content in the Female Rat, *Experimentia* 26: 97, 1970.
- 27) Seki, M., Seki, K., Takayanagi, H., Yoshihara, T. and Maeda, H. R.: Effects of Clomid and Sexovid on FSH and LH Secretion in Mature Female Rats, *Endocrinology* 91: 845, 1972.
- 28) Makino, T. and Greep, R. O.: The Effect of Compound F 6066 on rat LH and FSH Release in Vitro, *Fertil. Steril.* 24: 116, 1973.
- 29) 飯塚理八, 牧野恒久, 原 常勝: 排卵誘発物質 Compound F 6066 の作用機序 (特に中枢神経系活動への影響), *日不妊誌*, 15: 313, 1970.
- 30) Hanngren, A., Einer-Jensen, N. and Ullberg, S.: Distribution pattern of a non-steroid compound with endocrine actions, C-bis (p-hydroxyphenyl) cyclohexylidenemethane (compound F 6060) and its diacetate (compound F 6066), *Acta. Endocr.* 50: 35, 1965.
- 31) Hanngren, A., Einer-Jensen, N. and Ullberg, S.: Specific uptake in corpora lutea of a non-steroid substance with anti-gestagenic

- properties, *Nature* 208 : 461, 1965.
- 32) Larsson, H.: The metabolic fate of F 6060 and F 6066, *Acta pharmacol. et toxicol.* 23 : 337, 1965.
- 33) 東条伸平, 林 要, 大沢悦二: Cyclofenil (Sexovid, F 6066) の排卵誘発作用に関する基礎的実験, ホと臨床, 21 : 193, 1973.
- 34) 林 要, 大沢悦二: F 6066 の排卵誘発作用に関する臨床的研究, 産婦の世界, 20 : 943, 1968.
- 35) 佐藤恒治, 伊吹令人, 五十嵐正雄, 松本清一: Cyclofenil (sexovid) の臨床効果, 産婦の世界, 21 : 318, 1969.
- 36) 関 光倫, 高柳博海, 吉原暉文, 白石真人, 関克義: Sexovid (F 6066) 投与時の尿中 Hormone 動態, 産と婦, 37 : 782, 1970.
- 37) Jacobson, A., Marshall, J. R. and Ross, G. T.: Plasma LH du ring clomiphene-induced ovulatory cycles, *Am.J. Obst. Gynec.* 101 : 1025, 1968.
- 38) Dignam, W. J., Parlow, A. F. and Daane, T. A.: Serum FSH and LH measurements in the evaluation of menstrual disorders, *Am. J. Obst. Gynec.* 105 : 679, 1968.
- 39) 野嶽幸雄, 飯塚理八, 牧野恒久他: 第1回研究会, 演題要旨.
- 40) 山本 浩, 落合 寛, 岩田嘉行, 長田 宏, 浅岡健: F 6066 の臨床経験, 日産婦神奈川部会誌, 6 : 17, 1969.
- 41) 神戸川明: 第2回 F 6066 研究会, 1969.
- 42) 飯塚理八: 第23回 日産婦総会宿題報告 "着床の研究" p. 386, 1971.

Clinical and endocrinological studies in anovulatory women treated with Cyclofenil

Jinchih Kuo

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

1. Total 497 patients with anovulatory men-

strual cycles or 1st grade amenorrhoe were treated by cyclofenil for the purpose of inducing ovulation. Of the 497 women, 242 (48.7%) women were successfully induced one or more ovulations; and of the 932 cycles under treatment with cyclofenil, 292 cycles (31.3%) were ovulatory.

2. Of the 400 patients suffering from primary or secondary sterility, 55 became pregnant and 46 delivered normal healthy children.

3. Through the present investigation, it was revealed that the most effective clinical doses were between 400-600 mg daily for 7 days and continuous treatment for at least 3-5 cycles indicated more effectiveness than single treatment.

4. No serious side effects by cyclofenil were observed in 932 cycles of 497 patients.

5. In the course of clinical investigations, the serum levels of LH, FSH, estradiol-17 (E₂) and progesterone before and during the treatment were also studied.

1) The serum level of ovulatory LH peak was lower than that of the normal menstrual cycles. No significant ovulatory FSH peak was observed, although clomiphene citrate has been reported to induce marked LH and FSH peaks immediately after administration.

2) In the ovulated cases, E₂ level increased significantly promptly after cyclofenil therapy. Two peaks were observed in serum level of E₂, one occurring around the day of LH peak, another 7 days following the day of LH peak. Both of the E₂ peaks were higher as compared to those in normal subjects with regular menstrual cycles. The mode of action of cyclofenil was thus speculated to be mainly on the ovary side rather than of the hypothalamic-pituitary axis.

PRODUCTION OF ANTI LUTEINIZING HORMONE
RELEASING FACTOR (LH-RF) SERUM: IM-
MUNOBIOLOGICAL APPLICATION AND
DEVELOPMENT OF RADIOIM-
MUNOASSAY*

Masaki SHIINA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Keio University, Tokyo, 160
(Director: Professor Rihachi Iizuka)

Abstract: A specific antiserum to luteinizing hormone releasing factor (LH-RF) was generated in female rabbits by repeated intradermal injections of LH-RF-bovine serum albumin (BSA) conjugate emulsified in Freund's complete adjuvant.

In *in vitro* incubation, 20-30% binding of ^{125}I -LH-RF and linear dose-response relationship against cold LH-RF (the range from 2.5 to 2500 pg) were obtained using 1:1500-2000 dilutions of the antiserum. Compared with synthetic LH-RF, rat LH and FSH, substance P, oxytocin, lysine and arginine vasopressin, and synthetic TRF showed less than 0.03% displacement of LH-RF under these conditions.

Two hundreds μg of synthetic LH-RF were injected either intravenously or intramuscularly to healthy male adult. At the case of intravenous administration, the disappearance of exogenous LH-RF from the circulated blood was very rapid, and the half-life ($t_{1/2}$) was 3.9 min within the first 15 min.

Intravenous injections of 0.8 ml of this antiserum to 4-day cycling female rats on proestrous day blocked ovulation on the following day. In these rats, LH surge on proestrous evening was blocked, however, LH was maintained at basal levels.

At the time of about one year after the first immunization, the two female rabbits which produced these antisera showed histologically marked atrophy of ovaries and uteri. Serum LH and 20α -hydroxypregn-4-en-3-one (20α -OH-P) concentrations in these rabbits were low but detectable by radioimmunoassays.

These data indicate that the specific antiserum to LH-RF is applicable for biological experiments as well as for development of a radioimmunoassay of LH-RF.

Introduction

Since the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LH-RF) was purified from

porcine and bovine hypothalami and decided its structure as a decapeptide¹⁻⁵⁾, this hypothalamic hormone has been widely utilized for many basic animal experiments in neuroendocrinology as well as one of the useful clinical tools in differential diagnosis for pituitary and hypothalamic disorders. Furthermore sensitive and specific radioimmunoassays for LH-RF have been developed in many laboratories⁶⁻¹⁰⁾. However, the amounts of endogenous LH-RF in peripheral blood have been reported too small¹⁰⁻¹³⁾ to investigate the mode of action of

* Supported in part by Keio Medical School Research Fund 1974-1975.

* Presented at the 48th Annual Meeting of Japan Endocrinological Society, Kyoto, June 2-4, 1975, at the 20th Annual Meeting of Japan Society of Fertility and Sterility, Sendai, October 2-4, 1975, and at the 5th International Congress of Endocrinology, Hamburg, July 18-24, 1976.

LH-RF in vivo.

As one of the first steps toward approaching the problem, a large amount of antiserum to LH-RF was generated in order to conduct biological experiments as well as to develop a sensitive and specific radioimmunoassay for this hormone.

This report describes a successful production of antiserum to LH-RF, development of radioimmunoassay and biological experiments with the antiserum.

Materials and Methods

(1) Preparation of antiserum for LH-RF

The conjugation of LH-RF to bovine serum albumin (BSA) and immunization to the rabbits were identical as reported earlier¹⁴⁾. Fifty mg of synthetic LH-RF (Sankyo Pharmaceutical Co. Ltd., Japan) were deamidated by incubation in 0.5 N HCl solution with continuous stirring for 24 hr at 23°C. After the incubation, the reaction mixture was neutralized with NaOH solution to pH 7.0–7.3 and lyophilized. The deamidated LH-RF was conjugated to BSA (Sigma, Cohn Fraction V) by utilizing 1-ethyl-3 (3-dimethyl-aminopropyl) carbodiimide-HCl (EDC, Otto Chemical Co.) as the coupling agent. One hundred and seventy mg of BSA (2.5×10^{-6} M) were dissolved in 10 ml of phosphosaline buffer (0.15 M NaCl, 0.01 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{K}_2\text{HPO}_4$, pH 7.3) followed by the addition of the deamidated LH-RF and 40 mg of EDC (2.5×10^{-4} M). After the addition, the reaction mixture was diluted in 0.01 M phosphosaline buffer to make a final volume of 30 ml, and was incubated in the dark for 16 hr at 23°C. Then the conjugate was dialyzed against 0.01 M phosphosaline buffer for 48 hr at 4°C with frequent changing the dialyzing solution.

The conjugate was then kept frozen at -20°C . Anti LH-RF serum was generated in four New Zealand white female rabbits (5–6 months old) by repeated dorsal intradermal injections of approximately 1 ml in 30–40 sites of the conjugate solution emulsified in an equal volume of Freund's complete adjuvant (Difco). Booster injections of the same dose were given at 2-week intervals and blood was collected from the ear vein.

(2) Radioiodination of LH-RF

Synthetic LH-RF was radioiodinated by a modified chloramine T method¹⁵⁾. Ten μg of synthetic LH-RF and 1 m Ci of ^{125}I were mixed in 50 μl of 0.5 M tris-acetate buffer (pH 7.3). Twenty-five μl of chloramine T (2.5 mg/ml in 0.2 M tris-acetate buffer, pH 7.3) were added and the reaction was stopped 30 sec later by addition of 25 μl of sodium metabisulfate (10 mg/ml in 0.2 M tris-acetate buffer). Fifty μl of KI solution (5 mg/ml in 0.2 M tris-acetate buffer) were added to the mixture, which was then applied to a Sephadex G-10 column (0.9×15 cm) using 0.2 M tris-acetate buffer as the eluent. Fractions of 0.75 ml were collected into 1.2×7.5 cm disposable culture tubes containing 25 μl of 0.1 % gelatin in 0.2 M tris-acetate buffer. Two main radioactive peaks were collected, the first peak corresponding to ^{125}I -LH-RF and the second containing free iodine. The specific activity of the labeled LH-RF was approximately 140–160 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$.

(3) Radioimmunoassay for LH-RF

Two hundreds μl of antiserum (at dilutions of 1 : 1500–2000), 100 μl of ^{125}I -LH-RF (15000 cpm/tube, approximately 170 pg), 100 μl of unextracted serum samples (or standards diluted from 10 μl to 500 μl with 0.2 M tris-acetate buffer) and 100 μl of 1 % normal rabbit serum with 0.05 M EDTA were incubated for 3–4 hr at 4°C. The first incubation time and optimal temperature were decided, as the binding reached the maximum in these conditions. Duplicate standard curves with 12 points ranging from 1 pg to 5 ng were included in each assay. After addition of sheep anti rabbit gammaglobulin (25–50 μl , undiluted), further incubation was carried out for 24 hr at 4°C. At the end of the incubation, all tubes were centrifuged at $2000 \times g$ for 20 min at 4°C, the supernatant was decanted off, and the radioactivity of the precipitates was counted.

Synthetic TRF (Beckman), rat LH and FSH (NIAMD rat LH or FSH-RP-1), substance P (a tridecapeptide, Beckman), lysine and arginine vasopressin (Sigma) and oxytocin (Sigma) were examined for their ability to displace ^{125}I -LH-RF from the antibody.

(4) Administration of synthetic LH-RF in man

Four healthy male adults, aged 28-32 yr, were given either intravenous or intramuscular (two of these subjects) injection of 200 μ g of synthetic LH-RF into forearm vein or deltoid muscle. Peripheral venous blood samples from the contralateral forearm vein were obtained at the following times: 0, 2.5, 5, 10, 15, 30 min. Serum was separated after centrifugation at 4°C, and stored frozen at -20°C. Serum LH-RF and LH were measured by radioimmunoassays. Serum LH was determined by a double antibody radioimmunoassay method as described¹⁶⁾, and expressed in terms of LER 907. The biological potency of one mg of LER 907 is 20 IU's FSH and 60 IU's LH (2nd IRP-HMG).

(5) Administration of the anti LH-RF serum in female rats

To examine the biological potency of this antiserum, 0.8 ml of the antiserum was injected either intravenously or intraperitoneally at 1:00 p.m. and 3:00 p.m. on the day of proestrus into regularly (4-day) cycling female rats (Sprague-Dawley strain). In the control group, the same amount of normal rabbit serum (NRS) was injected intravenously. In another group 0.8 ml of the antiserum was injected into one femoral vein and, at the same time, 250 ng of LH-RF in 0.2 ml of 0.15 M saline was injected into the contralateral femoral vein.

Rat LH was measured by NIAMD rat LH assay kit. The values are expressed in terms of NIAMD rat LH-RP-1 (biological potency = approximately $0.03 \times$ NIH-LH-S₁).

(6) Histological and endocrinological studies on the immunized female rabbits.

The two immunized female rabbits were sacrificed after 10 to 12 months later from the first immunization. The pituitary glands, adrenals, thyroids, ovaries and uteri were removed and weighed. These organs were fixed in 10% formalin solution for histological examination. Sections were stained with haematoxylin and eosin.

The serum LH in the immunized rabbits was measured by a double antibody radioimmunoassay technique as reported¹⁷⁾. Rabbit

LH concentrations in sera are expressed as ng of the reference preparation (Papkoff EX 130 GB, biological potency = $0.79 \times$ NIH-LH-S₁ by OAAD).

The serum 20 α -hydroxypregn-4-en-3-one (20 α -OH-P) was also measured in extracts of 0.3 ml aliquots of serum using a radioimmunoassay technique without column chromatography and ³H-20 α -OH-P as a tracer¹⁸⁾. The 20 α -OH-P assay kit was kindly supplied by Dr. Takuo Makino and Dr. Akira Kanbegawa of Teikoku Zoki Pharmaceutical Co. Ltd., Tokyo, Japan.

Results

(1) Immunoreactivity of the antiserum

In Table I the competition between LH-RF and other hormones or substances for

Table I Displacement of ¹²⁵I-LH-RF for the antiserum by different compounds

Hormones	Relative Cross-reactivity*
Synthetic LH-RF (Sankyo)	100.0
Rat hypothalamic extract (NIAMD-Rat HE-RP-1)	100.0
Synthetic TRF (Beckman)	<0.01
Rat-LH (NIAMD-Rat LH-RP-1)	<0.03
Rat-FSH (NIAMD-Rat FSH-RP-1)	<0.03
Substance P (Beckman)	<0.15
Lysine-Vasopressin (Sigma)	<0.02
Arginine-Vasopressin (Sigma)	<0.02
Oxytocin (Sigma)	<0.01

* Molar weight required to replace 30% of ¹²⁵I-LH-RF is divided by the amount of LH-RF to displace comparable % of level.

the antiserum is shown. No marked displacement of LH-RF was observed with synthetic TRF, oxytocin, arginine and lysine vasopressin, rat LH and FSH. The hypothalamic extract (NIAMD-Rat HE-RP-1) apparently crossreacted with the antiserum, however, the weight of LH-RF present is uncertain. Four μ g of the HE-RP-1 were used in this experiment.

Figure 1 indicates the bound per cents of ¹²⁵I-LH-RF with the antisera after the 4th booster injection at different dilutions. About 20-30% binding of ¹²⁵I-LH-RF was

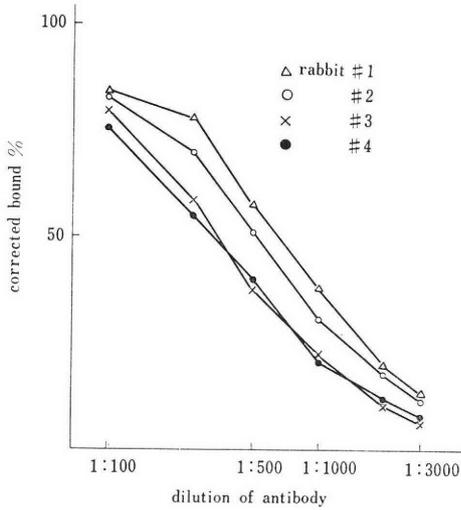


Figure 1. Titers of 4 batches (#1-#4) of the antisera after the 4th booster injection at different dilutions.

obtained with the antisera (batch #1, #2) at 1:1500-2000 dilutions.

A semilogarithmically plotted dose-response curve at 1:2000 dilution of the antiserum (batch #1) is shown in Figure 2. A linear dose-response to the addition of cold LH-RF is obtained in the range from 2.5 to 2500 pg.

(2) Serum LH-RF and LH levels after synthetic LH-RF administrations in man

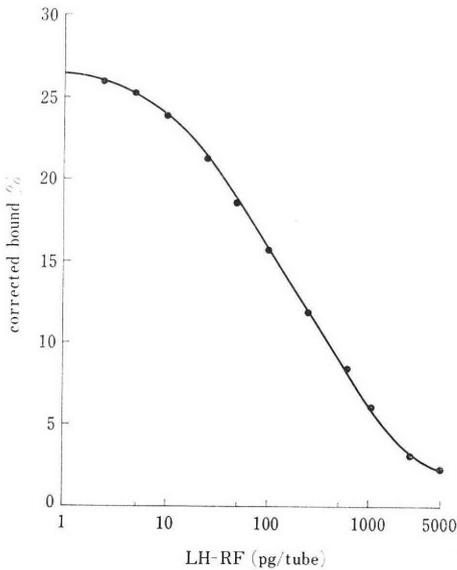


Figure 2. Inhibition curve for synthetic LH-RF. Each performed in duplicate.

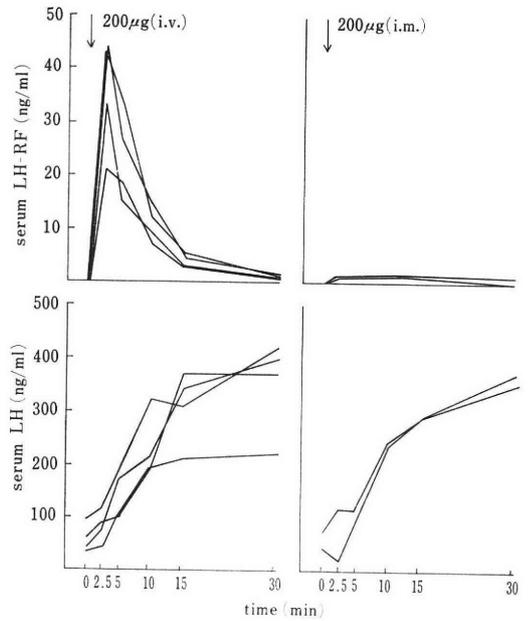


Figure 3. Serum LH-RF and LH levels after intravenous (i.v.) and intramuscular (i.m.) injections of 200 µg of LH-RF.

Figure 3 indicates serum LH-RF and LH levels after intravenous and intramuscular injections of 200 µg of LH-RF. In the case of intravenous injection, maximal concentrations of LH-RF (35.0 ng/ml, mean value) were observed at 2.5 min after the injection and serum LH-RF disappeared rapidly thereafter. Then the disappearance of LH-RF from the circulated blood was most rapid between 2.5-15 min ($t_{1/2} = 3.9 \pm 0.1$ min, mean \pm SE) and more delayed between 15-30 min ($t_{1/2} = 7.9 \pm 0.5$ min). In contrast, as shown in Fig. 3 (right), after intramuscular injection of the same dose, serum LH-RF increased very slowly and disappeared with maximal concentrations of only 1.6 ng/ml (mean value) at 10 min after the injection. Serum LH levels rose 5 min after both intravenous and intramuscular injections, and there was no significant difference between these two administrations. Endogenous LH-RF in unextracted serum before injections of synthetic LH-RF was not detectable (< 25 pg/ml) in this experiment.

(3) Passive transfer of the antiserum in female rats

Biological potency of the anti LH-RF

Table II Effect of administration of anti LH-RF serum on ovulation of normal cycling female rats*

Group	No. Animals	No. Ova		Body wt. (g)	Ovarian wt. (mg)	Uterine wt. (mg)
		(L)	(R)			
Control (NRS, i.v.)	7(7)**	7.3±1.4	6.7±0.9	286.3±20.0	69.2±3.6	431.3±13.3
A/S treated (i.v.)	7(0)	0	0	266.7±10.3	59.7±2.7	520.6±26.7
A/S treated (i.p.)	8(8)	6.8±1.2	7.0±1.3	271.1±14.6	68.8±1.8	488.3±30.6
A/S +LH-RF (i.v.)	6(6)	8.3±0.9	6.5±1.6	274.3±9.8	63.9±1.7	437.6±14.9

Organ weights and the number of ova are Mean±S.E.
 * The injections were repeated at 1 : 00 and 3 : 00 p.m.
 See details in Materials and Methods.
 ** Number of animals which had ovulated in parentheses.

serum is indicated in Table II. After 4 successive regular 4-day estrous cycles, complete inhibition of ovulation was observed in all antiserum-treated (i.v.) rats. In contrast, intraperitoneal injections of the antiserum failed to inhibit ovulation on the following day in 8 of 8 rats. Normal ovulation was also seen in NRS-treated rats. Simultaneous administration of a large amount of LH-RF (250 ng) reversed the effect of the antiserum.

As indicated in Table III, in these antiserum-treated (i.v.) rats, LH surge on proestrous evening was blocked, however, LH was maintained at basal levels.

Table III Serum LH levels in proestrous rats treated with anti LH-RF serum

Group	No. of rat	LH ng/ml serum (Mean±S.E.)	
		2 : 00P.M.	5 : 00P.M.
Control (N.R.S., i.v.)	6	569.0±204.1	1045.0±218.2
A/S (0.8ml×2, i.v.)	6	443.7±183.2	401.5±170.9

(4) Effect of the antibody for LH-RF in immunized female rabbits

All four rabbits appeared healthy through the course of the immunization. They were found to have antibodies in the circulated blood at least 10 weeks after the first immunization as their titers shown in Fig. 1. Serum LH and 20α-OH-P concentrations in these rabbits, as indicated in Figure 4, were low

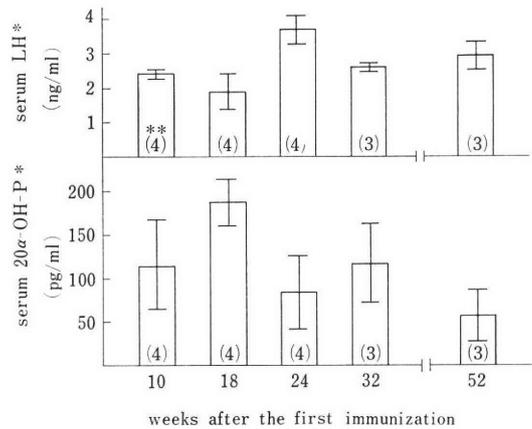


Figure 4. Serum LH and 20α-OH-P levels of the immunized rabbits with LH-RF after the 4th booster injection.

* Mean±S.E.
 ** Number of animals in parentheses.

but detectable after the 4th booster injection. The ovarian and uterine wet weights of the immunized rabbits (#1, #3) sacrificed after 10 to 12 months later from the first immunization were significantly reduced as compared to those of normal control rabbits (Table IV). As the control animals approximately same aged intact female rabbits are shown. On histological observations of ovaries of the immunized rabbits, interstitial gland cells were markedly involuted, and a serial follicular development was interrupted up to the stage of medium follicle (Figure 5, right). Similarly remarkable atrophy of both endometrium and myometrium was

Table IV. Effect of immunization with LH-RF on organ weights in New Zealand white female rabbits

	Ovaries (mg)		Uterus (g)	Pituitary (mg)	Adrenals (mg)		Thyroid (mg)
	(L)	(R)			(L)	(R)	
Control*	491	504	18.7	43	350	316	342
Control*	317	346	25.5	42	291	300	395
LH-RF immunized (rabbit #1)	35	42	1.5	20	**	**	**
LH-RF immunized (rabbit #3)	67	71	2.2	32	288	240	336

* As the control animals approximately same aged intact female rabbits are shown.

** not weighed.

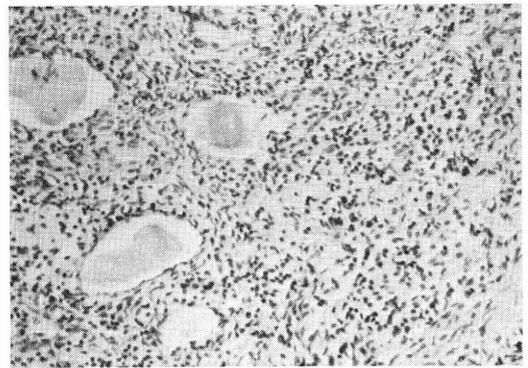
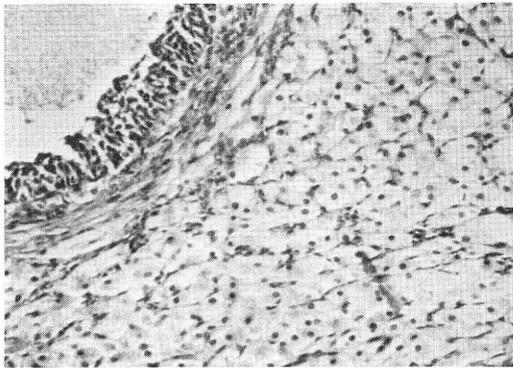


Figure 5. Ovary from a control rabbit (left). A large follicle and typical interstitial gland cells are observed. (× 100)
 Ovary from the rabbit #1 (right). Interstitial gland cells are converted into fibrous-like cells and small follicles are mainly detected. (× 100)

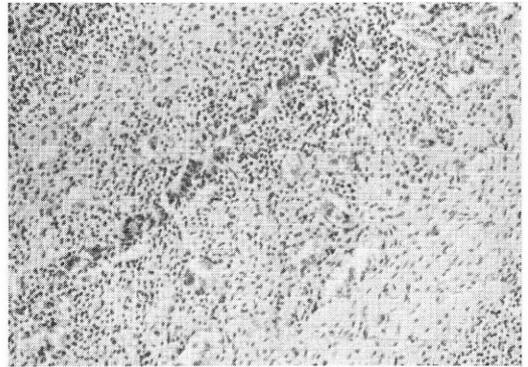
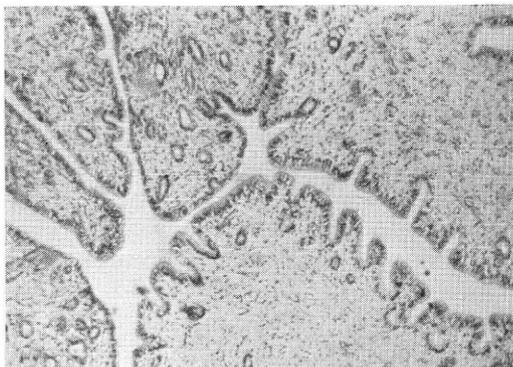


Figure 6. Uterus from a control rabbit (left). (× 100)
 Uterus from the rabbit #1 (right). Remarkable atrophy of endometrium as well as of myometrium is observed. (× 100)

observed in uteri (Figure 6, right). These changes in ovaries and uteri were more prominent in the rabbit #1 (which had higher titer of antibody) than in the rabbit #3.

The weights of the anterior pituitary glands in the immunized rabbits were slightly decreased. No remarkable change was observed in adrenals and thyroids of the

immunized animals.

Discussion

Since Kerdelhué et al. first reported a radioimmunoassay for LH-RF⁶⁾, successful production of antisera to LH-RF and development of radioimmunoassays for the decapeptide have been reported by many investigators⁷⁻¹⁰⁾.

Though the methods of generating antisera against LH-RF are varied in each investigator, the method of immunization with LH-RF-BSA conjugate by utilizing carbodiimide also easily raised the antibody to LH-RF in 4 out of 4 female rabbits. Compared with synthetic LH-RF, hypothalamic or pituitary hormones and substances showed no marked displacement ability, indicating that this antiserum appears to possess high specificity to LH-RF, although we have not yet examined it with many of the other peptide analogues which have been purified or synthesized¹⁹⁾.

By a modified chloramine T method with shortening the time of action, radioiodination of LH-RF was successfully achieved, and the range of dose-response against cold LH-RF was widened from 1 pg to 5 ng in comparison with the earlier report¹⁴⁾, though we have not yet performed the enzymatic iodination as reported²⁰⁾.

The disappearance of intravenously administered LH-RF from the circulated blood was most rapid within the first 15 min ($t_{1/2}=3.9\pm 0.1$ min) in this study. The finding is accord with the reports by radioimmunoassays by several authors^{10,11,21)} and also in agreement with the reports by using isotope-labeled LH-RF^{22,23)}. The data indicate that the degradation of exogenous LH-RF in man is extremely rapid. Therefore, as pointed out by Keye et al.¹¹⁾, if endogenous LH-RF is cleared at a similar rate, its pattern of secretion in peripheral blood must be described by frequent sampling.

There was no significant difference in serum LH levels between intravenous and intramuscular injections of LH-RF despite of the remarkable difference in serum LH-RF levels, indicating that these two administrations at this dose can be used equally

as clinical LH-RF test in terms of pituitary LH release. Endogenous LH-RF in unextracted serum was not detectable (<25 pg/ml) in this study. Keye and associates¹¹⁾ reported by their radioimmunoassay, endogenous LH-RF concentrations in unextracted plasma as 67.9 ± 17.3 pg/ml for adult male. Recently, lower values have been reported with methanol or ethanol extraction of serum or plasma samples^{10,12,13)}. Proposing to detect endogenous LH-RF in peripheral blood and in other biological fluids, similar attempt is now under study.

Intravenous injections of the anti LH-RF serum to 4-day cycling female rats on proestrous day blocked ovulation on the following day. Presumably, endogenous LH-RF was neutralized before it reached the anterior pituitary gland. In these rats LH surge on proestrous evening was also blocked, however, serum LH was maintained at basal levels. These findings indicate that endogenous LH-RF is necessary for LH surge but anterior pituitary is capable to secrete its basal levels of LH without stimulation by LH-RF. The ability of exogenous LH-RF to overcome the blockade by the antiserum was also reassured. Similar inhibition of ovulation in the rats by passive transfer of antiserum has been reported by some investigators²⁴⁻²⁶⁾. They also showed decrease of serum FSH as well as serum LH in antiserum-treated rats^{25,26)}.

The two female rabbits which produced these anti LH-RF sera showed histologically marked atrophy of ovaries and uteri. Arimura et al. demonstrated testicular atrophy and a decrease of pituitary LH content in antibody-producing male rabbits⁷⁾. Fraser and Gunn also showed involution of the seminiferous tubules and arrest of spermatogenesis in the three male rabbits producing antibodies to LH-RF²⁴⁾. This finding suggests that the action of endogenous LH-RF can be also inhibited by prolonged active immunization in female rabbits as well as in male. The pituitaries of the immunized rabbits showed no histologically marked change in this study, however, further close histological observations on change of various pituitary cell types should be investigated.

Serum LH and 20 α -OH-P concentrations in these rabbits were low but detectable by radioimmunoassays. Recently, Fraser et al. also reported decrease of serum levels of LH, FSH and testosterone with gonadal atrophy in LH-RF-immunized male rats²⁷⁾. In this report, the data which showed prolonged low levels of serum LH and 20 α -OH-P with marked atrophy in ovaries and uteri indicate that the anterior pituitary can secrete its basal levels of LH without any stimulation by the hypothalamic LH-RF but prolonged absence of estrous cycles by lack of LH-RF might induce atrophy of gonadal and accessory sex organs.

These data indicate that the specific antiserum to LH-RF is useful for biological studies as well as for development of the radioimmunoassay.

Acknowledgement

The author wishes to express his gratitude to Professor Rihachi Iizuka of Department of Obstetrics and Gynecology, Keio University for his numerous encouragements and valuable criticisms. The author is also indebted to Professor Toranoshin Ohno and Associate Professor Tsunehisa Makino of Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Dental College for many advices throughout this work. He is also grateful to Dr. Takuo Makino and Dr. Akira Kanbegawa of Teikoku Zoki Pharmaceutical Co. Ltd., for supplying 20 α -OH-P assay kit, NIAMD for providing human LH assay kit, rat LH and FSH assay kits and rat hypothalamic extract, and Sankyo Pharmaceutical Co. Ltd., for a gift of synthetic LH-RF.

References

- 1) Schally, A. V., Nair, R. M. G., Redding, T. W. and Arimura, A.: Isolation of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone-releasing hormone from porcine hypothalami. *J. Biol. Chem.*, 246: 7230-7236, 1971.
- 2) Schally, A. V., Arimura, A., Baba, Y., Nair, R. M. G., Matsuo, H., Redding, T. W., Debeljuk, L. and White, W. F.: Isolation and properties of the FSH and LH-releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43: 393-399, 1971.
- 3) Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. M. G., Arimura, A. and Schally, A. V.: Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43: 1334-1339, 1971.
- 4) Matsuo, H., Arimura, A., Nair, R. M. G. and Schally, A. V.: Synthesis of the porcine LH- and FSH-releasing hormone by the solid-phase method. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 45: 822-827, 1971.
- 5) Monahan, M., Rivier, J., Burgus, R., Amoss, M., Blackwell, R., Vale, W. et Guillemin, R.: Synthese totale par phase solide d'un decapeptide qui stimule la secretion des gonadotropines hypophysaires LH et FSH. *C. R. Acad. Sci. Ser. D.*, 273: 508-510, 1971.
- 6) Kerdelhué, B., Jutisz, M., Gillessen, D. and Studer, R. O.: Obtention of antisera against a hypothalamic decapeptide (luteinizing hormone/follicle stimulating hormone releasing hormone) which stimulates the release of pituitary gonadotropins and development of its radioimmunoassay. *Biochim. Biophys. Acta*, 297: 540-548, 1973.
- 7) Arimura, A., Sato, H., Kumasaka, T., Worobec, R. B., Debeljuk, L., Dunn, J. and Schally, A. V.: Production of antiserum to LH-releasing hormone (LH-RH) associated with gonadal atrophy in rabbits: Development of radioimmunoassays for LH-RH. *Endocrinology*, 93: 1092-1103, 1973.
- 8) Nett, T. M., Akbar, A. M., Niswender, G. D., Hedlund, M. T. and White, W. F.: A radioimmunoassay for gonadotropin-releasing hormone (Gn-RH) in serum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36: 880-885, 1973.
- 9) Jeffcoate, S. L., Fraser, H. M., Gunn, A. and Holland, D. T.: Radioimmunoassay of luteinizing hormone releasing factor. *J. Endocrinol.*, 57: 189-190, 1973.
- 10) Saito, S., Musa, K., Oshima, I., Yamamoto, S. and Funato, T.: Radioimmunoassay for luteinizing hormone releasing hormone in plasma. *Endocrinol. Japon.*, 22: 247-253, 1975.
- 11) Keye, W. R., Jr., Kelch, R. P., Niswender, G. D. and Jaffe, R. B.: Quantitation of endogenous and exogenous gonadotropin releasing hormone by radioimmunoassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36: 1263-1267, 1973.
- 12) Arimura, A., Kastin, A. J., Schally, A. V., Saito, M., Kumasaka, T., Yaoi, Y., Nishi, N. and Ohkura, K.: Immunoreactive LH-releasing hormone in plasma: Midcycle elevation in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38: 510-513, 1974.

- 13) Jeffcoate, S. L., Fraser, H. M., Holland, D. T. and Gunn, A.: Radioimmunoassay of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in serum from man, sheep and rat. *Acta Endocrinol.*, 75 : 625-635, 1974.
- 14) Makino, T., Takahashi, M., Yoshinaga, K. and Greep, R. O.: Ovulation blockade in rats by rabbit anti-luteinizing hormone releasing factor serum. *Contraception*, 8 : 133-145, 1973.
- 15) Greenwood, F. C., Hunter, W. M. and Glover, J. S.: The preparation of ^{125}I -labeled human growth hormone of high specific activity. *Biochem. J.*, 89 : 114-123, 1963.
- 16) Odell, W. D., Ross, G. T. and Rayford, P. L.: Radioimmunoassay for luteinizing hormone in human plasma and serum: *Physiological Studies. J. Clin. Invest.*, 46 : 248-255, 1967.
- 17) Makino, T. and Greep, R. O.: Effect of mating, ovariectomy, LH-RF and progestins on serum LH concentrations in the female rabbit. *Int. Res. Commun. Syst.*, March 1973.
- 18) Makino, T., Kanbegawa, A., Tanemori, K. and Yoshida, T.: Radioimmunoassays for 20α -hydroxy-4-pregnen-3-one (20α -OH-P) and 20β -hydroxy-4-pregnen-3-one (20β -OH-P). *Folia Endocrinol. Japon.*, 51 : 351, 1975.
- 19) Schally, A. V., Arimura, A., Carter, W. H., Redding, T. W., Geiger, R., Konig, W., Wissman, H., Jaeger, G., Sandow, J., Yanaihara, N., Yanaihara, C., Hashimoto, T. and Sakagami, M.: Luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) activity of some synthetic polypeptides. I. Fragments shorter than decapeptide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 48 : 366-375, 1972.
- 20) Miyachi, Y., Vaitukaitis, J. L., Nieschlag, E. and Lipsett, M. B.: Enzymatic radioiodination of gonadotropins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34 : 23-28, 1972.
- 21) Virkkunen, P., Lybeck, H., Partanen, J., Ranta, T., Leppäluoto, J. and Seppälä, M.: Plasma disappearance of injected synthetic LRH in man as measured by bioassay and radioimmunoassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39 : 702-705, 1974.
- 22) Miyachi, Y., Mecklenburg, R. S., Hansen, J. W. and Lipsett, M. B.: Metabolism of ^{125}I -luteinizing hormone-releasing hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37 : 63-67, 1973.
- 23) Redding, T. W., Kastin, A. J., Gonzalez-Barcena, D., Coy, D. H., Coy, E. J., Schalch, D. S. and Schally, A. V.: The half-life, metabolism and excretion of tritiated luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37 : 626-631, 1973.
- 24) Fraser, H. M. and Gunn, A.: Effects of antibodies to luteinizing hormone-releasing hormone in the male rabbit and on the rat oestrous cycle. *Nature*, 244 : 160-161, 1973.
- 25) Koch, Y., Chobsieng, P., Zor, U., Fridkin, M. and Lindner, H. R.: Suppression of gonadotropin secretion and prevention of ovulation in the rat by antiserum to synthetic gonadotropin-releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 55 : 623-629, 1973.
- 26) Arimura, A., Debeljuk, L. and Schally, A. V.: Blockade of the preovulatory surge of LH and FSH and of ovulation by anti LH-RH serum in rats. *Endocrinology*, 95 : 323-325, 1974.
- 27) Fraser, H. M., Gunn, A., Jeffcoate, S. L. and Holland, D. T.: Effect of active immunization to luteinizing hormone releasing hormone on serum and pituitary gonadotropins, testes and accessory sex organs in the male rat. *J. Endocrinol.*, 63 : 399-406, 1974.

抗 LH-RF 血清の免疫生物学的応用と radioimmunoassay の確立

椎名正樹

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

(指導: 飯塚理八教授)

黄体化ホルモン放出因子 (luteinizing hormone releasing factor: LH-RF) に対する特異性の高い抗体を製し、LH-RF に対する鋭敏な radioimmunoassay の確立と免疫生物学的実験を行った。

Carbodiimide を結合剤として牛血清アルブミンを付加した LH-RF を抗原とし、雌家兔背皮内に2週間毎に Freund の complete adjuvant と共に免疫し、4回目の booster のあと採血し、その血清を抗体として使用した。

1 : 1500~2000 倍に希釈した抗体は2抗体法の radioimmunoassay で約 20~30 % の結合能を示し、標準曲線上 2.5~2500 pg 間に直線の用量関係を得た。またこの抗体はラットの LH, FSH, 合成 TRF, oxytocin, vasopressin などと著明な交叉反応を示さなかつた。

この radioimmunoassay を用いて、健康成人男子に外因性に合成 LH-RF を投与し、その血中からの消退と下垂体の反応性を検討した。静注投与した際の外因性の LH-RF の血中よりの消退は投与後 2.5~15 分で最も迅速 ($t_{1/2}=3.9$ 分) で、投与後 15~30 分で最も緩徐 ($t_{1/2}=7.9$ 分) であつた。

4日周期の雌ラットの発情前期の 1:00 p.m. と 3:00 p.m. に、0.8 ml の抗血清を静注投与すると、翌朝の排卵が完全に阻止された。この際、発情前期の午後 LH surge は阻止されたが、血中 LH は basal level にと

どまつていた。

この抗体を産生した家兎（初回免疫後約1年）の卵巣，子宮は正常家兎と比較して，著明な湿重量の低下を示し，組織学的には，顕著な萎縮像を呈していた。これらの家兎の血中 LH 及び 20α -hydroxypregn-4-en-3-one (20α -OH-P) は低値だが，測定可能であつた。

以上の結果は，この抗体を用いることにより，LH-RF に対する radioimmunoassay の確立のみならず，その免疫学的中和作用を応用することにより，内因性の LH-RF の作用機序を窺うことに有用な手段となりうると思われる。

THE EFFECT OF ENDOMETRIAL CELLS ON THE GROWTH AND EXPANSION OF RABBIT BLASTOCYST IN VITRO

Wen-Bor YANG

Department of Obstetrics and Gynecology, Taipei Medical College,
Taipei, Taiwan, Republic of China

Abstract: Culture of 3-day rabbit blastocysts alone in a medium containing 0.8 ml Day-3 rabbit serum and 1.2 ml NOTC 199 in CO₂-incubator resulted in marked retardation in the growth of the blastocysts. Most of them herniated, some of them simply stopped their growth and only 2 of the 89 blastocysts (2%) developed anywhere near the size of normal Day-6 blastocysts (1500–3000 micron) after over 9 days of culture in the two control groups. Fresh Day-3 endometrial fragments appeared to be the most effective “feeder cells” for the growth of blastocysts since 23% of the 47 blastocysts developed into a size near to 3000 micron after 6 days of culture. Fresh kidney tissue fragments showed little effectiveness on the early growth of blastocysts, however cultured blastocysts stopped their expansion at earlier stage of development, or herniated following the blastocyst expansion to 400–1000 micron 4 to 5 days after the culture. On the other hand, 10 to 20 days old cultured cells of either endometrium, Fallopian tubal epithelium or kidney cells were not effective for the growth of blastocysts. It appeared that Day-3 fresh endometrial fragments but not kidney tissue fragments or other cultured cells of genital epithelia were the most effective “feeder cells” for the growth of rabbit blastocysts.

Introduction

The culture of rabbit eggs from the one cell stage to the blastocyst stage and the further expansion of the blastocyst has proved extremely difficult. Young mice eggs have been rather easily cultured from the one cell stage to the blastocyst stage even in synthetic media (Whitten and Biggers 1968). It has been demonstrated that for the culture of early rabbit eggs, a high percentage of rabbit serum in the medium or whole bovine serum are beneficial for the blastocyst formation in vitro, however blastocyst expansion failed (Austin, 1961; Onuma, Maurer and Foote 1968; Maurer, Whitener and Foot 1969). Amino acids (Daniel and Krishnan 1967; Kane and Foote 1970) or glucose (Maurer, Onuma and Foote 1970) is known to promote the cleavage of eggs and blastocyst formation in the rabbit. Following blastocyst formation

in the rabbit, another 3 days is required for blastocyst expansion before the blastocysts are able to become attached to the endometrium for implantation in the pregnant uterus. This process is very difficult to achieve in vitro when using rabbit morulae or early blastocysts in the medium containing rabbit serum alone (Pincus and Werthessen 1938). An uterine fluid protein component has been found to be effective for blastocyst expansion, however fully expanded blastocysts have never been demonstrated following such an experiment (Kirshnan and Daniel 1967). It is the purpose of the present experiment to examine whether the in vitro uterine environment containing endometrial cells may accelerate the blastocyst expansion in the rabbit.

Materials and Methods

New Zealand White Rabbits weighing from

2 to 4 kilograms were purchased from local breeders or supplied from NAMRU-2 (U.S. Naval Medical Research Unit No. 2 at Taipei, Republic of China). The animals were kept in an air-conditioned room between 23 and 25°C under constant 12-hr artificial light (0500-1700). Following isolation of the purchased female rabbit for 3 weeks in their cages, each animal was mated in the late afternoon with three different males, once with each male. These animals were then used as the donors for the culture of Day 3 eggs. At this time, most eggs were located in the oviduct (78%) but a few were in the uterus (22%). Half of the eggs had developed to the early blastocyst stage while half of them remained in the late morula stage and were either in the tubal or uterine environment.

Day 3 eggs were recovered 78 hours after the mating from the Fallopian tube or uterus by flushing the genital tract with saline solution. The recovered eggs were immediately transferred into the NOTC 199 medium supplemented by 40% rabbit serum. Meanwhile Day 3 Fallopian tubal epithelial fragments and endometrial fragments were collected into the same medium either by flushing the Fallopian tubes with medium or by scratching the inner surface of the uterine wall with piston-like movements with a glass tube. Kidney tissue fragments were also obtained by scratching the kidney surface with a surgical knife immediately after decapsulation of the organ. Following centrifugation, and decantation of the supernatant, the medium containing 40% rabbit serum and 60% NOTC 199 were added to the precipitate to make a 20 or 40 volume percent of tissue fragments in the suspension. Each 2 ml suspension of tissue fragments was put in a watch glass (10 mm in diameter) containing 0.1 ml of culture medium and kept inside petri dishes adequately humidified with moist sterile cotton. The suspensions of tissue fragments were used either immediately or 10-20 days later (when a monolayer of primary cultural cells was formed) as feeder cells for culture of Day 3 early blastocyst. Incubation was maintained at 37-38°C with 95-98% humidity and ventilated 200 ml per

minute with a gas mixture of 5% CO₂ and 95% air. Following culture, daily observations and measurements of the size of the eggs and blastocysts were recorded.

Results and Discussion

Our results confirmed earlier investigations on the culture of endometrial cells (Figge 1960, Ehrman, McKelvey and Hertz 1961, Mulnard and Leory 1962) and Fallopian tubal epithelial cells (Galstjan 1935), in the human, rabbit and rat, that both rabbit endometrial and tubal epithelial cells were able to grow and replicate in a medium containing 40% rabbit serum and 60% NOTC 199.

After the culture of endometrial fragments (Fig. 1) for 10 to 20 days in a glass tube or petri dish, over 50% of the bottom surface was covered with a monolayer of new growth. The new growth maintained the particular secretory function of the endometrium for about a week, as was shown by the presence of secretory vacuoles and granules (Fig. 2), thereafter the secretory activity disappeared. Following the culture of Fallopian tubal epithelial fragments for 2 or 3 weeks, on a glass tube or petri dish, similarly over 50% of the bottom surface was covered with a monolayer of the new growth. The new growth maintained the secretory function (Fig. 4) of the Fallopian tubal epithelium for about a week and the ciliary movement (Fig. 3) for about 2 or 3 weeks.

It has been demonstrated in previous investigations that early fertilized rabbit eggs have been successfully cultured from the one or two cell stage to the early blastocyst stage in medium containing 50% rabbit serum (Austin '61), in whole serum (Onuma et al '68, Maurer et al '69) or medium containing a macromolecular fraction of uterine fluid (Krishnan and Daniel '67) or glucose (Maurer, Onuma and Foote, 1970). Nevertheless, we found similar to earlier studies on the culture of early rabbit blastocyst (Pincus and Werthessen '38) that continued blastocyst expansion to the pre-implantation stage was difficult. In the control experiment, following the culture of the late morulae or early blastocyst in the

chemically defined medium 199 supplemented by rabbit serum alone, most blastocysts herniated (Figure 16) within several days and a very few (2.2%) continued their development to the size of approximately 2000 micron on Day 8 (Tables 1 and 2). By contrast, the addition of endometrial fragments in the culture medium markedly increased the percentage of fully expanding blastocysts in the cultured eggs (23.4%, Tab. 1) and accelerated the rapidity of blastocyst expansion (Fig. 6 to 12). There is no direct evidence in the present study to prove whether the production of macromolecules like "blastokinin" (Krishnan & Daniel '67) from the cultured endometrial fragments is the promotive factor for blastocyst expansion. An intimate metabolic relationship has been demonstrated by the selective uptake of ions of the rabbit blastocysts from the uterine fluid secreted by the endometrium (Lutwak-Mann, Hay and Adams '62). The transfer of serum antigens from the tubal epithelium to the eggs has also been demonstrated in the mouse, soon after the loss of the cumulus oophorus (Glass and McClure '65).

When rabbit blastocysts were cultured with a feeder layer of kidney fragments, blastocyst expansion was also observed (Fig. 13 to 15). Nevertheless, this stimulatory effect only persisted for a few days in culture (Table 1) and the moderately expanded bla-

stocyst herniated on Days 6-7 (Fig. 15). This experiment was comparable with the *in vivo* experiment that when eggs were transferred into extra-uterine loci such as, spleens (Kirby '63a), kidney (Fawcett '50), peritoneum (McLaren & Tarkowski '63) and testis (Kirby '63b), that such extratubular or extrauterine environments, cleavage of eggs and blastocyst expansion might continue for a short period, but due to disturbance of embryonic differentiation, those eggs were unable to grow into living fetuses.

It has been shown that young 2- or 4-cell eggs can develop into blastocysts by the culture of mouse eggs in the Waymouth's medium supplemented by cow serum. The addition of X-ray irradiated HeLa cells as "feeder layer" increased the proportion of blastocyst formation in the cultured eggs (Cole and Paul 1965). In the present study, when the old cultured endometrial cells were used as the "feeder layer" for the culture of early blastocysts in the rabbit, no marked effect on blastocyst expansion was seen (Table 2). This experiment demonstrated that blastocyst expansion in the rabbit depended more on fresh endometrial function than on old cultured endometrial cells. Lack of promotive factors for blastocyst expansion in the old cultured endometrial cells may have been due to the loss of secretory activity on the cultured endometrium following the isolation of the

Table 1 The growth of rabbit blastocysts in cultures with tissue fragments from endometrium, tubal epithelium or kidney cells.

Days after culture	Diameter of blastocyst	Culture with endometrial fragments No. of eggs (%)	Culture with kidney fragments No. of eggs (%)	Culture in the medium alone No. of eggs (%)
3 days	100- 200	1	2	12
	200- 400	11	15	18
	400- 600	13	16	13
	600- 800	15	9	2
	800-1000	7	0	0
6 days	less than 1500	38(80.9%)	42(100%)	44(97.8%)
	1500-3000	9(19.1%)	0	1 (2.2%)
9 days	less than 1500	36(76.6%)	42(100%)	44(97.8%)
	1500-3000	11(23.4%)	0	1 (2.2%)
Total No. of eggs cultured		47(100%)	42	45

Table 2 The growth of rabbit blastocysts in cultures with a feeder layer of endometrial, tubal or kidney cells

Days after culture	Diameter of blastocyst	Culture with endometrial cells No. of eggs (%)	Culture with tubal cells No. of eggs (%)	Culture with kidney cells No. of eggs (%)	Culture in the medium alone No. of eggs (%)
3 days	100- 200	10	20	16	17
	200- 400	14	11	15	13
	400- 600	18	8	13	12
	600- 800	2	1	1	2
	800-1000	0	0	0	0
6 days	less than 1500	44(100%)	40(100%)	45(100%)	44(100%)
	1500-3000	0	0	0	0
9 days	less than 1500	42(95.5%)	39(97.5%)	44(97.8%)	43(97.7%)
	1500-3000	2 (4.5%)	1 (2.5%)	1 (2.2%)	1 (2.3%)
Total No. of eggs cultured		44(100%)	40	45	44

tissue from the host (Ehrman, McKelvey and Hertz '61).

It appears that the beneficial effect of the endometrial cells as effective "feeder cells" for blastocyst expansion is a tissue-specific character. This specific activity of the endometrium is present in the fresh stage approximately for 7 days after its separation from that tissue of the hormone-regulated host animal.

Acknowledgement

Sincere thanks are due to Dr. W. H. Yang, Chairman and Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Taipei Medical College for his help and encouragement during this study, The author is also grateful to Dr. K. Sekiba, Chairman and Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, National Okayama University for his valuable advice and assistance in the preparation of the manuscript.

Reference

- 1) Austin, C. R.: The Mammalian Egg, Springfield, Blackwell Scientific Publications, 1961.
- 2) Cole, R. J., and Paul, J.: Preimplantation Stages of Pregnancy, P. 82, Boston, Little Brown and Company, 1965.
- 3) Daniel, J. C. Jr., and Krishnan, R. S.: Amino acid requirements for growth of the rabbit blastocyst in vitro, J. Cell Physiology, 70: 155, 1967.

- 4) Ehrman, R. L., Mckelvey, H. A., and Hertz, A. T.: Secretory behavior of endometrium in tissue culture, Obstetrics and Gynecology, 17: 416, 1961.
- 5) Fawcett, D. W.: The development of mouse ova under the capsule of the kidney, Anat. Rec. 108: 71, 1950.
- 6) Figge, D. C.: Growth characteristics of human endometrium in tissue culture, Obstetrics and Gynecology, 16: 269, 1960.
- 7) Galsjan, S.: Experimentell-histologische untersuchungen über das Eileiterepithel, Arch für exp. Zellforsch, 17: 231, 1935.
- 8) Glass, L. E., and McClure, T. R.: Pre-implantation Stages of Pregnancy, P. 294, Boston, Little Brown and Company, 1965.
- 9) Kane, M. T., and Foote, R. H.: Culture of two and four-cell rabbit embryos to the expanding blastocyst stage in synthetic media, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133: 921 1970.
- 10) Kirby, D. R. S.: Development of the mouse blastocysts transplanted to the spleen, J. Reprod. Fertility, 5: 1, 1963a.
- 11) Kirby, D. R. S.: The development of mouse blastocyst transplanted to the scrotal cryptorchid testis, J. Anat. Lond. 97: 119, 1963b.
- 12) Krishnan, R. S., and Daniel, J. C. Jr.: "Blastokinin": Inducer and regulator of blastocyst development in the rabbit uterus, Science, 158: 490, 1967.
- 13) Lutwak-Mann, C., Hay, H. F., and Adams, C. E.: The effect of ovariectomy on rabbit blastocysts, J. Endocrinol, 24: 185, 1962.
- 14) Maurer, R. R., Onuma, H., and Foote, R.

- H.: Viability of cultured and transferred rabbit embryos, *J. Reprod. Fertility*, 21: 417, 1970.
- 15) Maurer, R. R., Whitner, R. H., and Foote, R. H.: Relationship of in vivo gametes aging and exogenous hormones to early embryo development in rabbits, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 131: 882, 1969.
- 16) McLaren, A., and Tarkowski, A. K.: Implantation of mouse eggs in the peritoneal cavity, *J. Reprod. Fertility*, 6: 385, 1963.
- 17) Mulnard, J., and Leory, F.: Studies on human endometrium in tissue culture. I. Development of eosinophilic intranuclear inclusions in the epithelial cells, *Life Science*, 63: 419, 1962.
- 18) Mulnard, J., and Leory, F.: Studies on human endometrium in tissue culture. II. Successful cultivation of isolated glands and stroma, *Life Science*, 63: 427, 1962.
- 19) Onuma, H., Maurer, R. R., and Foote, R. H.: In vitro culture of rabbit ova from early cleavage stages to the blastocyst stage, *J. Reprod. Fertility*, 16: 491, 1968.
- 20) Pincus, G., and Werthessen, N. T.: The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro factors controlling the growth of the rabbit blastocyst, *J. Exp. Zool.* 78: 1, 1938.
- 21) Whitten, W. K., and Biggers, J. D.:

Complete culture of the pre-implantation stages of the mouse in vivo, *J. Reprod. Fertil.* 17: 399, 1968.

家兔胚胞期卵の培養と子宮内膜による影響

楊 文 博

台北医学院産婦人科教室 (主任: 楊文勳)

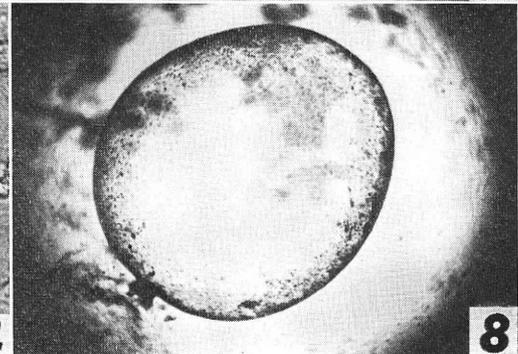
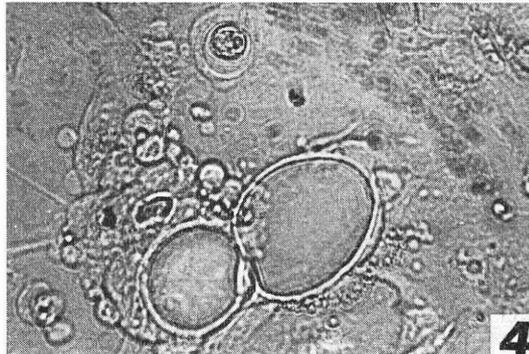
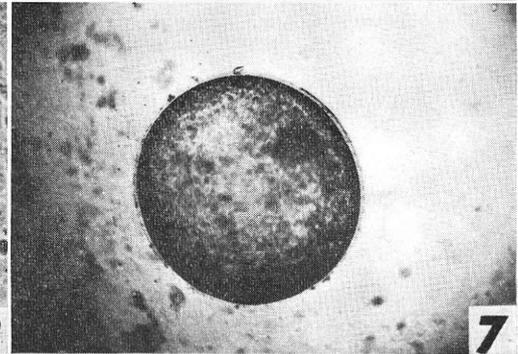
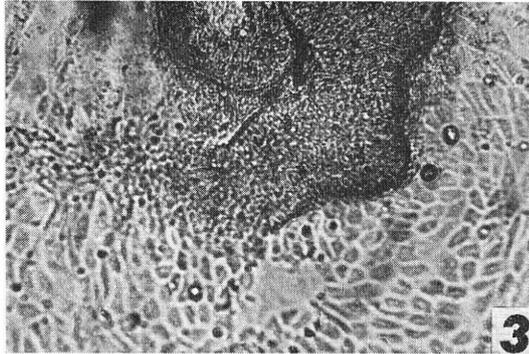
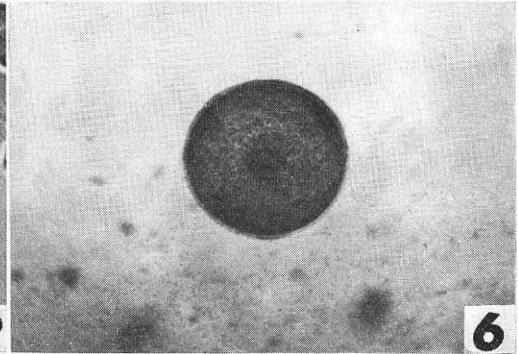
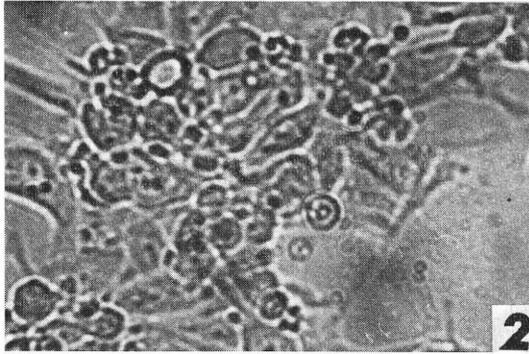
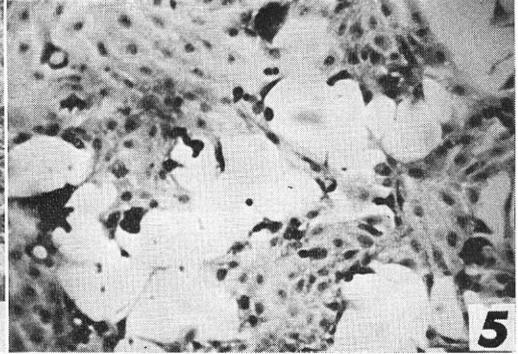
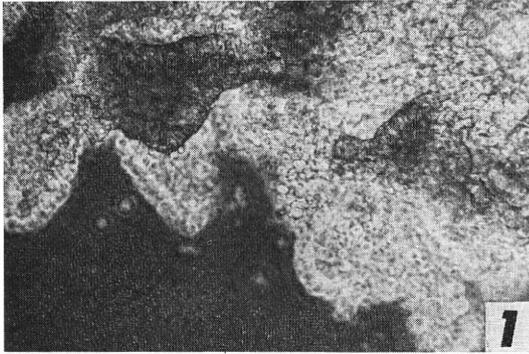
台湾省台北市吳興街 250 号

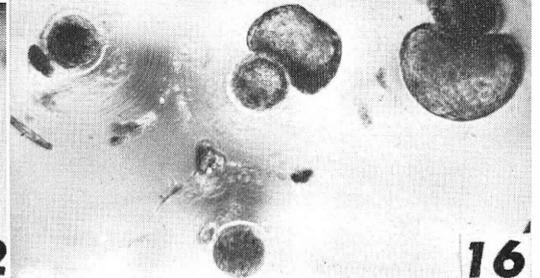
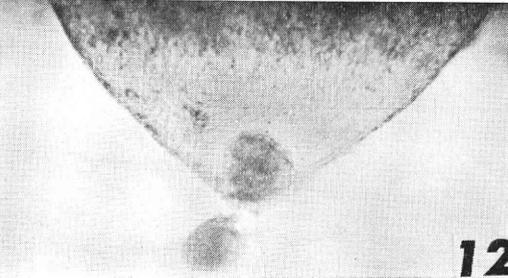
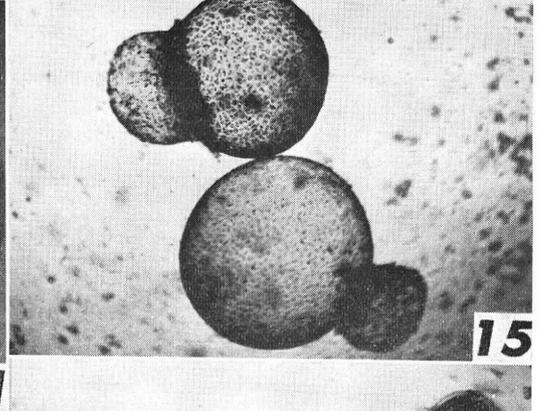
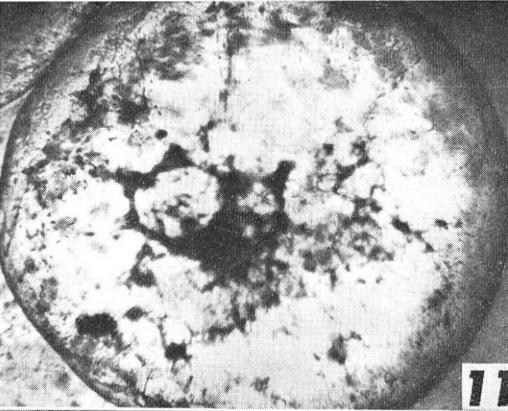
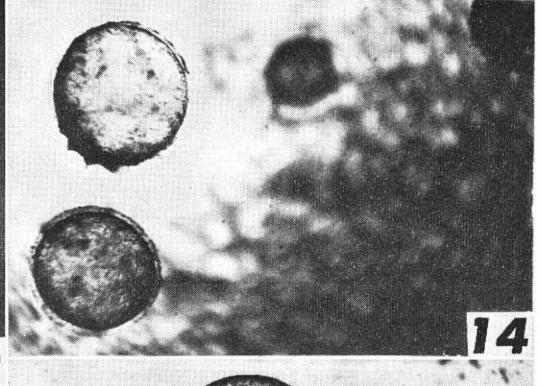
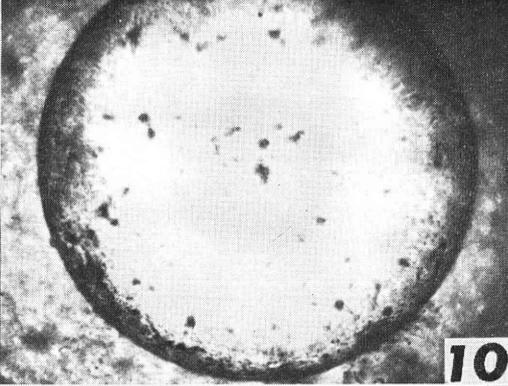
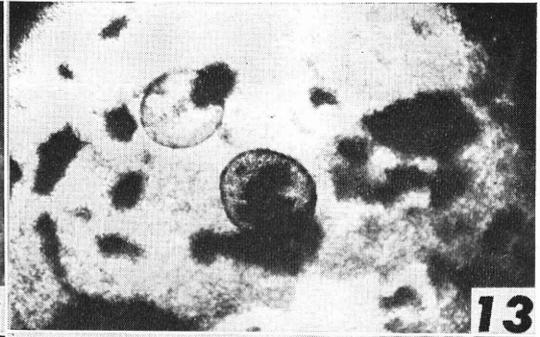
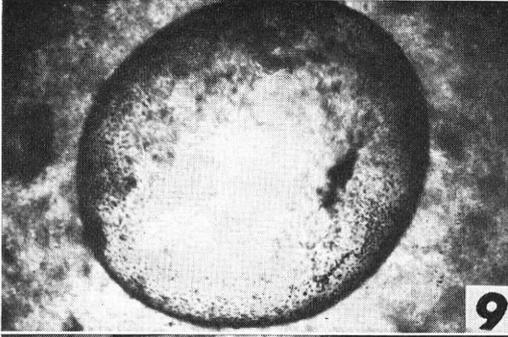
40%の家兔血清と60%の NOTC 199 よりなる培養液 2 ml のみで排卵後 3 回目の胚胞期卵を培養した場合、大部分の卵発育に発育停滞がみられ、透明帯の小間隙を通して卵黄実質の脱出する様なヘルニア現象が認められ、僅か 2% の卵が極めて長い 9 日間の培養後に 1500~3000 μ の大きさになった。

新鮮の子宮内膜破砕片と共に胚胞期卵を培養した時、卵の発育が最も早く促進され、47卵の培養卵中 23% が 9 日間で 1500~3000 μ 大になった。新鮮な腎臓組織破砕片と共に胚胞期卵を培養した結果、培養後 3~4 日の極く早期にのみ発育促進がみられたが、卵が 400—1000 μ 迄に増大した時、発育停止とヘルニア現象がみられた。

培養後 10~20 日の卵管上皮細胞、子宮内膜細胞、及び腎臓細胞で胚胞期卵と共に培養した結果は、殆んど卵発育に対する影響がみられなかつた。

新鮮な子宮内膜破砕片のみ胚胞期卵に対して明らかな発育促進の作用がみられるもので、腎臓破砕片には、このような作用はない。





EXPLANATION OF PLATE 1

- Figure 1. Fresh endometrial fragments collected from Day 3 rabbit uteri to be used as "feeder layer" for culture of eggs. Photographed under a stereomicroscope. Magnification 100×
- Figure 2. Endometrial cells following primary culture of the endometrial fragments in Fig. 1 for 10 days. Photographed under a microscope. Magnification 200×
- Figure 3. Fallopian tubal cells following primary culture of the tubal epithelial fragments for 10 days. Ciliary movement was observed on the cell surface in this area. Photographed under a microscope. Magnification 200×
- Figure 4. Another area of tubal cells following primary culture of the tubal epithelial fragments as above, showed no ciliary movement but some secretory vacuoles. Photographed under a microscope. Magnification 200×
- Figure 5. Kidney cells following primary culture of the kidney surface fragments for 7 days in the watch glass. Stained with Giemsa solution. Photographed under a microscope. Magnification 100×
- Figure 6. A rabbit blastocyst three days after the culture of Day 3 rabbit eggs in a watch glass with fresh endometrial fragments. Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 7. The same rabbit blastocyst as demonstrated in Figure 6, but four days after the culture of the Day 3 egg (Egg age was 7 days). Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 8. The same rabbit blastocyst as demonstrated in Figure 6, but five days after the culture (Egg age was 8 days). Photographed under a microscope. Magnification 25×

EXPLANATION OF PLATE 2

- Figure 9. The same blastocyst as demonstrated in Figure 6, but six days after the culture (Egg age was 9 days). Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 10. The same blastocyst as demonstrated in Figure 6, but seven days after the culture (Egg age was 10 days). Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 11. The same blastocyst as demonstrated in Figure 6, but eight days after the culture (Egg age was 11 days). Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 12. Attachment of the blastocyst on Figure 11 to the underlying cultured endometrium. Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 13. Rabbit blastocysts three days after the culture of Day 3 rabbit eggs in the watch glass with fresh kidney surface fragments. Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 14. The same blastocysts as demonstrated in Figure 13, but four days after culture (Egg age was 7 days). Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 15. The same blastocysts as demonstrated in Figure 13, but five days after culture (Egg age was 8 days) showing marked herniation through zona pellucida and retardation of the growth. Photographed under a microscope. Magnification 25×
- Figure 16. Four rabbit blastocysts five days after culture of Day 3 rabbit eggs with the medium alone. Marked herniation of blastocysts through zona pellucida and retardation in the growth were noted. Photographed under microscope. Magnification 25×

不妊患者の精子のミトコンドリア内暗調 沈着物の電子顕微鏡的研究

Electron Microscopic Studies on the Intramitochondrial
Dense Deposits in the Spermatozoa of a Infertile Man

昭和大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 赤坂裕教授)

越 野 豊 今 村 一 男

Yutaka KOSHINO Kazuo IMAMURA

昭和大学医学部第一解剖学教室 (主任: 中井康光教授)

中 井 康 光

Yasumitsu NAKAI

日立製作所那珂工場応技部

福 岡 孝 寿

Takatoshi FUKUOKA

Department of Urology (Director: Prof. H. Akasaka),
School of Medicine, Showa University, Tokyo, Japan

Department of Anatomy (Director: Prof. Y. Nakai),
School of Medicine, Showa University, Tokyo, Japan

Application Laboratory, Naka Works, Hitachi, LTD
Ibaraki, Japan

不妊患者の射出精子のうちその1例において、ミトコンドリア鞘を構成しているミトコンドリアの基質中に dense deposits が観察された。このような dense deposits は健康者および他の不妊患者の射出精子には観察されなかつた。この dense deposits は電子密度の高い微細顆粒状物質の集合からなっており限界膜は認められなかつた。ほぼ円形で大きさは $1,000\sim 2,000\text{\AA}$ 径であつた。このような dense deposits をもつミトコンドリアは射出精子のほとんどに認められたけれども、精液中に混在している上皮様細胞および生検で得た精巣中の精子形成過程のすべての精細胞、セルトリ細胞、間細胞およびその他の結合織細胞のミトコンドリアには dense deposits の沈着は観察されなかつた。このミトコンドリア内 dense deposits を X 線分析器を用いて分析した結果 Ca, Mg, P, Cu, S, I, Fe, Ti, Cl, Os, Si などが検出された。

緒 言

健康者および不妊患者の射出精子の透過型および走査型電子顕微鏡による観察から¹⁾¹¹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²³⁾²⁵⁾²⁶⁾、いろいろの種類の異形精子の存在が報告されている。これら異形精子の存在と不妊症の因果関係についての考察もなされている¹⁴⁾¹⁵⁾²¹⁾²³⁾。しかし射出精子のミトコンドリア

に異常に大きい電子密な沈着物が見られたとの報告はない。今回33例の不妊症の疑いのあるヒトのうち、1例に射出精子の大部分に異常な沈着物をもつたミトコンドリアを多数観察し、これらの沈着物をX線マイクロアナライザーで元素分析した結果 Ca, Mg, P, S, I, Fe, Ti, Cl, Cu, Os, Si などが検出できたので、このヒトの射出精子と生検で得た精巣の透過型電子顕微鏡による

観察結果を報告する。分離した細胞を Ca, Mg, Sr および Mn を含む培養液中で培養すると、細胞中のミトコンドリアはこれらのイオンを基質中にとり込むとの実験結果が多数報告されている²⁾⁵⁾⁶⁾⁸⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾²⁴⁾²⁷⁾²⁸⁾。該患者の生検精巢の観察結果、精子形成過程のすべての時期の精細胞のミトコンドリアの基質には異常沈着物が見られなかつたことから、射出精子の性状と精漿成分が問題となつてくるが、これらの点もあわせて考察する。

実験材料と実験方法

材料は33歳の会社員から採取したもので、該患者は既往歴として特記すべきものはなく、臨床検査上重金属中毒の疑いもなかつた。不妊期間は約2年である。

該患者から2週間間隔で3回的手法にて採取した精液を採取後約30分静置した後、2,500r.p.m.にて20分間遠心し、上澄を捨て沈査を1% glutaraldehyde (0.1 M millonig phosphate buffer pH 7.4)にて4°C、1時間固定した後、1% OsO₄ (0.1 M millonig phosphate buffer pH 7.4)で1時間後固定した。以後常規の方法によつてアルコール脱水、Epon 包埋を施した。Porter Blum MT-1 および MT-2 ミクロトームにて作成した超薄切片を uranyl acetate と lead solution の2重染色法で電子染色し、日立 HS-9 型電子顕微鏡にて観察した。

精巢の組織は open biopsy にて採取した。組織片を射出精子の場合と同様の方法にて固定、脱水、包埋し、超薄切片を作成した。

元素分析に用いた切片はやや厚め(約2,000 Å)に作成し、銅メッシュまたはナイロンメッシュにのせ電子染色も炭素蒸着も施さず分析用電子顕微鏡(エネルギー分散型X線分析器付電子顕微鏡)で観察するとともに同一切片の透過型電子顕微鏡による観察も行なつた。X線分析の測定は加速電圧 25kV、試料電流 5×10^{-14} A で200秒間行なつた。

結 果

I) 精液所見

精液量: 約3 ml

精子数: 92×10^6 /ml

運動率: 42%

活性率: 71%

光顕における奇形率: 8%

II) 射出精子の電子顕微鏡的観察所見

射出精子の90%において、ミトコンドリア鞘を構成しているミトコンドリアの基質中に電子密度の高い微細顆粒状物質の集合からなる沈着物 (electron dense depo-

sits) が観察された(図3, 4a, 5a, 6a)。これら dense deposits には限界膜は認められず、大部分のものは円形または楕円形で大きさは約1,000~2,000 Å 径であつた。このような dense deposits をもつミトコンドリアの大部分は一般にクリスタが不明瞭で、基質も明るく全体に膨化していたが、外膜が断裂して不連続となつたものはほとんど見られなかつた。このような所見はミトコンドリア鞘を構成しているミトコンドリアの大部分に見られ、特定の部位のミトコンドリアにのみ限局するというはなかつた。射出精子の細胞膜やミトコンドリア以外の細胞内小器官および核にはこのような dense deposits は認められず、またミトコンドリア以外のこれら細胞内小器官には微細構造上特に異常な所見も観察されなかつた。その他精液中に混在している上皮様細胞の細胞膜、細胞質中のミトコンドリアや他の細胞内小器官および核には dense deposits は観察されなかつた。すなわち精子のミトコンドリア鞘のミトコンドリアにのみ dense deposits が特異的に見られた。

III) 精巢所見

射出精子のミトコンドリアに見られた dense deposits の起因ならびにその由来を調べる目的で該患者の精巢生検を行なつた結果、精巢においては精子形成過程のすべての精細胞(精祖細胞、精母細胞、精娘細胞、精子細胞および成熟精子)のミトコンドリアおよびその他の細胞内小器官に dense deposits の沈着した所見は観察されなかつた(図1, 2)。しかし成熟した精子細胞の一部において、電子密度の高い小さい沈着物をもつたミトコンドリアが稀に見られた。精子形成はほぼ健康者と同様に正常であつた。すなわち精子形成過程のすべての段階の精細胞が見られ、また微細構造上にも異常なものは認められなかつた。セルトリ細胞および間質にある間細胞や線維細胞などのミトコンドリアにも異常所見は見られなかつた。またこれらの細胞の他の細胞内小器官や核にも電子密な物質の沈着している所見は全く認められなかつた。

IV) X線分析所見

射出精子のミトコンドリアに見られた dense deposits について、その構成元素を知る目的で dense deposits の微小部分をエネルギー分散型X線分析器を用いて分析した。その結果、Ca, Cl, P, Mg, S, Os, Cu, I, Fe, Ti, Si などが検出された。図4b, c は各々の試料を200秒づつ測定した結果のスペクトルであり、図4a はX線分析を行なつた試料のミトコンドリア内の dense deposits を示したものである。大部分の dense deposits において Cl と Ca が共通して比較的多量に検出された。同一の dense deposits 内では部位によつて検出イオン

の種類に差はほとんど認められなかつたが、一般に電子密度の非常に高い円形の dense deposits では Ca が多く (図 4, 5), 小さい不規則形の dense deposits では Ca が検出されない傾向があつた (図 6). 今回の X 線分析は定性的なもので定量的な結果を示したものではない. 図 5, 6 は銅メッシュを使わずナイロンメッシュを用いて測定したもので検出された Cu は dense deposits の構成元素のひとつと考えられる.

考 察

ヒトおよび種々の動物の精子の異形性についての電子顕微鏡的観察の報告は数多くある. 尾部においては, ミトコンドリア鞘の配列および巻き数の異常 (ウシ)⁴⁾ (ヒト)¹¹⁾ (ウマ)⁷⁾, 軸糸の数の異常または配列異常 (ヒト)¹¹⁾ (ウマ)⁷⁾ (ウシ)³⁾, 複数の尾部を持つもの (ウマ)⁷⁾ (ヒト)¹¹⁾, 精子尾部の曲折 (ウシ)³⁾ (ヒト)²³⁾ などが報告されている. しかし, ヒトの精子のミトコンドリアに異常に大きい dense deposits が見られたという報告は今迄にない. 該患者の場合, 精子の軸糸の数と配列およびミトコンドリア鞘のミトコンドリアの数と配列は健康者のものとほとんど差は認められなかつた. 該患者の精液を 2 週間間隔で 3 回採取し観察をくりかえしたが, いずれの場合においてもミトコンドリア内 dense deposits は多数認められた. ミトコンドリア内の dense deposits が固定などの試料作成の過程で出現する可能性も否定はできないが, 全く同じ方法にて試料を作成した他のヒトの精子ではミトコンドリア内に dense deposit は全く認められなかつた. また該患者から生検によつて得た精巣では精子形成過程の精祖細胞, 精母細胞, 精娘細胞, 精子細胞および成熟精子のどの時期の精細胞のミトコンドリアにも dense deposits は観察されなかつた. これらの所見から該患者の射出精子のミトコンドリアに見られた電子密な沈着物は精路中のどこかの過程でミトコンドリア内にとり込まれた可能性が高い.

精漿中の電解質や元素の定性ならびに定量的検査は行なつていないので, ミトコンドリア内の dense deposits の X 線分析で検出された元素が該患者の精漿中に異常に多く含まれていたのかどうか不明である. おそらく精漿中のこれらの物質が精子の細胞膜やミトコンドリア膜を透過してミトコンドリアの基質中に入り集積沈着したと考えられる. この場合, 精子の細胞膜が何らかの原因でその構造および組成成分に異常をきたし, その結果透過性が亢進したのか, それとも細胞膜やミトコンドリア膜の破壊によつて欠損部が生じ, そこから侵入したものか, この 2 つの可能性が考えられる. Hamilton¹³⁾ はヘビ精子で不規則な配列をしたミトコンドリア鞘のミトコ

ンドリアの基質に dense material を観察している. しかし dense material の化学的成分および機能的意義については不明であると述べている. 該患者の射出精子のミトコンドリア内の dense deposits の X 線分析の結果検出された元素のうち, Os は固定剤として用いた OsO₄ に起因し, P は固定液に用いた phosphate buffer に由来すると考えられる. Si は電子顕微鏡自体 (鏡体の不純物に由来) によつて試料中に人工的に含まれたものと思われる. また S, I, Ti は包埋剤であるエポキシ樹脂に由来する可能性が高い. Ca, Mg, Cl などは試料作成や観察の過程で人工的に生じたものではないと考えられる.

図 4 では比較的多くの Cu が検出されているが, これは銅メッシュを用いて分析したためと考えられる. 図 6 はナイロンメッシュを用いて分析した結果であるが, この場合も少量の Cu が検出されていることから dense deposits 内には少量の Cu が含まれていると考えられる. しかし電子顕微鏡の鏡体内にある試料ホルダーなどの銅の影響も否定できない. Ca, Cl はスポットをあてたほとんどの dense deposits に大量に検出された. Peachey¹⁸⁾ はヒキガエルの膀胱およびラットの腎臓から分離したミトコンドリアを Ca, Sr, Ba などの 2 価陽イオンを含む培養液中で培養すると, 膀胱の上皮細胞, 平滑筋細胞ならびに腎臓から分離したミトコンドリアの基質中に大きな電子密な沈着物が出現することを観察している. 彼はこれらの 2 価陽イオンが既存のミトコンドリア内顆粒に集積沈着した結果であり, ミトコンドリア内顆粒はミトコンドリアのイオンの調節の役割を果たしているであろうと述べている.

これら 2 価陽イオンを含む培養液中に浸漬するとミトコンドリア内顆粒はその大きさも電子密度も共に増大したと報告している. Engstrom and DeLuca¹⁰⁾, DeLuca et al.⁹⁾, Rasmussen and DeLuca²²⁾ らはミトコンドリアは Ca の輸送の役割を果たすと述べている. Greenawalt et al.¹²⁾ もラットの肝臓から分離したミトコンドリアを Ca と HPO₄ を含む培養液中に浸漬すると, ミトコンドリア中に 3,000 Å 径の大きさの電子密な顆粒状沈着物が出現し, これは Ca や HPO₄ の沈着によるものであろうと述べている. 今回不妊患者の射出精子のミトコンドリア中の顆粒状沈着物 (1,000~2,000 Å 径) 中に検出された Ca, Mg, Cl, Cu もおそらく精漿中からとりこまれたものと考えられる. このヒトの不妊の原因が精子自体にあるならば, このミトコンドリア内の dense deposits の出現が重要な不妊の原因の一因を担っているのではないかと考えられる. 過剰に種々の元素がミトコンドリア内に侵入蓄積したため, 細胞内呼吸やエ

エネルギー産生機構の障害をきたし、精子の運動能の減弱（精子個々の運動能は測定していない）をもたらし不妊の一因となつたのか、あるいは精子の卵への侵入に際して、これら元素が acrosome reaction の阻害因子として作用した結果が不妊の原因なのか、今後さらに経過を追つて検索したいと考えている。

結 語

不妊患者の射出精子のうちその 1 例において、ミトコンドリア鞘を構成しているミトコンドリアの基質中に dense deposits が観察された。dense deposits はほぼ円形で大きさは 1,000~2,000 Å 径であつた。この不妊患者の生検で得た精巣所見はほぼ正常であつた。このミトコンドリア内 dense deposits を X線分析器を用いて分析した結果 Ca, Mg, P, Cu, S, I, Fe, Ti, Cl, Os, Si などが検出された。

文 献

- 1) Ånberg, Å.: The ultrastructure of the human spermatozoon, *Acta Obstet. Gynec. Scand.* 36: 1, 1957.
- 2) Bartley, W. and Amooore, J. E.: The effects of manganese on the so lute content of rat-liver mitochondria, *Biochem. J.* 69: 348, 1958.
- 3) Blom, E. and Birch-Andersen, A.: The ultrastructure of a new hereditary sterilizing defect (the "Dag defect") in the bull sperm tail, *Proc. Vth Wld Congr. Fert. Steril., Stockholm. Excerpta med. Internat. Congr. Series No. 132: 602, 1966.*
- 4) Blom, E. and Birch-Andersen, A.: The ultrastructure of the "pseudo-droplet" defect in the bull sperm, *Proc. VIth Int. Congr. Anim. Reprod. AI, Paris, 1: 117, 1968.*
- 5) Brierley, G. P., Bachmann, E. and Green, D. E.: Active transport of inorganic phosphate and magnesium ions by beef heart mitochondria, *Proc. Nat. Acad. Sc.* 48: 1928, 1962.
- 6) Chappell, J. B., Greville, G. D. and Bicknell, K. E.: Stimulation of respiration of isolated mitochondria by manganese ions, *Biochem. J.* 84: 61, 1962.
- 7) Chenoweth, P. J., Pascoe, R. R. R., McDougall, H. L. and McCosker, P. J.: An abnormality of the spermatozoa of astallion, *British Veterinary Journal* 126: 476, 1970.
- 8) DeLuca, H. F. and Engstrom, G. W.: Calcium uptake by rat kidney mitochondria, *Proc. Nat. Acad. Sc.* 47: 1744, 1961.
- 9) DeLuca, H. F., Engstrom, G. W. and Rasmussen, H.: The action of vitamin D and

parathyroid hormone in vitro on calcium uptake and release by kidney mitochondria, *Proc. Nat. Acad. Sc.* 48: 1604, 1962.

- 10) Engstrom, G. W. and DeLuca, H. F.: The action of vitamin D in vivo and in vitro on the release of calcium from kidney mitochondria, *J. Biol. Chem.* 237: 974, 1962.
- 11) Fujita, T., Miyoshi, M. and Tokunaga, J.: Scanning and transmission electron microscopy of human ejaculate spermatozoa with special reference to their abnormal forms, *Z. Zellforsch.* 105: 483, 1970.
- 12) Greenawalt, J. W., Rossi, C. S. and Lehninger, A. L.: Effect of active accumulation of calcium and phosphate ions on the structure of rat liver mitochondria, *J. Cell Biol.* 23: 21, 1964.
- 13) Hamilton, D. W. and Fawcett, D. W.: Unusual features of the neck and middle-piece of snake spermatozoa, *J. Ultrastruct. Res.* 23: 81, 1968.
- 14) Holstein, A. F., Schirren, C. and Schirren, C. G.: Human spermatids and spermatozoa lacking acrosomes, *J. Reprod. Fert.* 35: 489, 1973.
- 15) Kagan, S. A.: Studies of the ultrastructure of spermatozoa under normal and pathological conditions, *Urology and Nephrology* 1: 201, 1969.
- 16) Lehninger, A. L., Rossi, C. S. and Greenawalt, J. W.: Respiration dependent accumulation of inorganic phosphate and Ca ions by rat liver mitochondria, *Biophys. and Biochem. Research Comm.* 10: 444, 1963.
- 17) Mraz, F. R.: Calcium and strontium uptake by rat liver and kidney mitochondria, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 111: 429, 1962.
- 18) Peachey, L. D.: Electron microscopic observations on the accumulation of divalent cations in intramitochondrial granules, *J. Cell Biol.* 20: 95, 1964.
- 19) Pedersen, H.: Ultrastructure of the ejaculated human sperm, *Z. Zellforsch.* 94: 542, 1969.
- 20) Pedersen, H.: Observations on the axial filament complex of the human spermatozoon, *J. Ultrastruct. Res.* 33: 451, 1970.
- 21) Pedersen, H. and Rebbe, H.: Fine structure of round-headed human spermatozoa, *J. Reprod. Fert.* 37: 51, 1974.
- 22) Rasmussen, H. and DeLuca, H.: Calcium homeostasis, *Ergebn. Physiol.* 53: 108, 1963.
- 23) Ross, A., Christie, S. and Kerr, M. G.: An electron microscope study of a tail abnormality in spermatozoa from a subfertile man, *J. Reprod. Fert.* 24: 99, 1971.

- 24) Saris, N. E.: Studies on active calcium transport in mitochondria, *Acta. Chem.* 17: 882, 1963.
- 25) Schirren, C. G., Holstein, A. F. and Schirren, C.: Über die Morphogenese rundköpfiger Spermatozoen des Menschen, *Andrologie* 3: 117, 1971.
- 26) Schultz-Larsen, J.: The morphology of the human sperm. Electron microscopic investigation of the ultrastructure, *Acta path. microbiol. scand.* 128, Suppl. 1, 1958.
- 27) Slater, E. C. and Cleland, K. W.: The effect of calcium on the respiratory and phosphorylative activities of heart-muscle sarcosomes, *Biochem. J.* 55: 566, 1953.
- 28) Vasington, F. D. and Murphy, J. V.: Ca ion uptake by rat kidney mitochondria and its dependence on respiration and phosphorylation, *J. Biol. Chem.* 237: 2670, 1962.

the mitochondria which constitute the mitochondrial sheath of the ejaculated spermatozoa in an infertile man. Such mitochondria with dense deposits were not found in both fertile and other infertile human ejaculated spermatozoa. The dense deposits composed of numerous fine dense particles were not encircled by a limiting membrane. They were mostly round in shape and approximately 1,000–2,000 Å in diameter. Although these mitochondria were recognized in almost all of the ejaculated spermatozoa in this patient, they were not observed in the cytoplasm of the epithelial cells present with the spermatozoa in the semen and also in the cytoplasm of the spermatogenic cells, Sertoli's cells and interstitial cells in the testis which obtained by biopsy from this patient. Ca, Mg, P, Cu, S, I, Fe, Ti, Cl, Os and Si were detected in such dense deposits in the mitochondria by X-ray microanalysis.

Electron Microscopic Studies on the
Intramitochondrial Dense Deposits
in the Spermatozoa of a
Infertile Man

Y. Koshino and K. Imamura

Department of Urology School of Medicine,
Showa University, Tokyo, Japan
(Director: Prof. H. Akasaka)

Y. Nakai

Department of Anatomy School Medicine,
Showa University, Tokyo, Japan
(Director: Prof. Y. Nakai)

T. Fukuoka

Application Laboratory, Naka Works,
Hitachi, LTD Ibaraki, Japan

Dense deposits were found in the matrices of

図 1

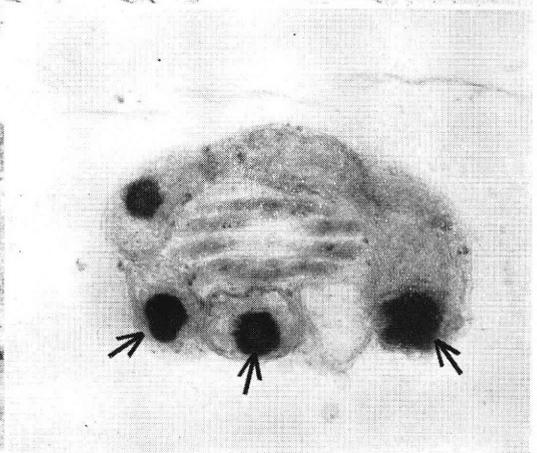
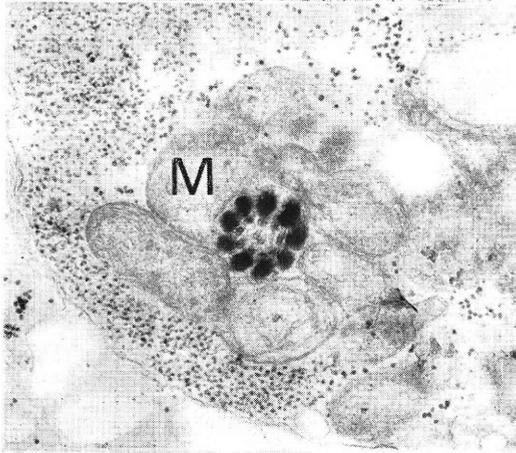
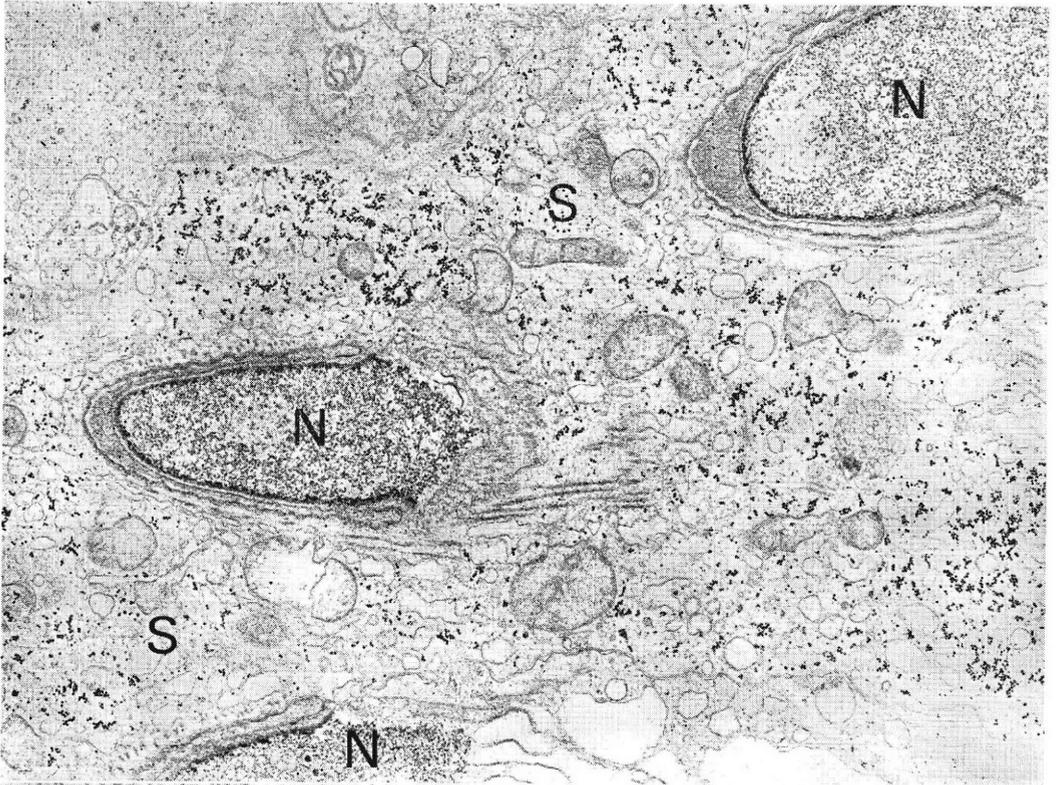
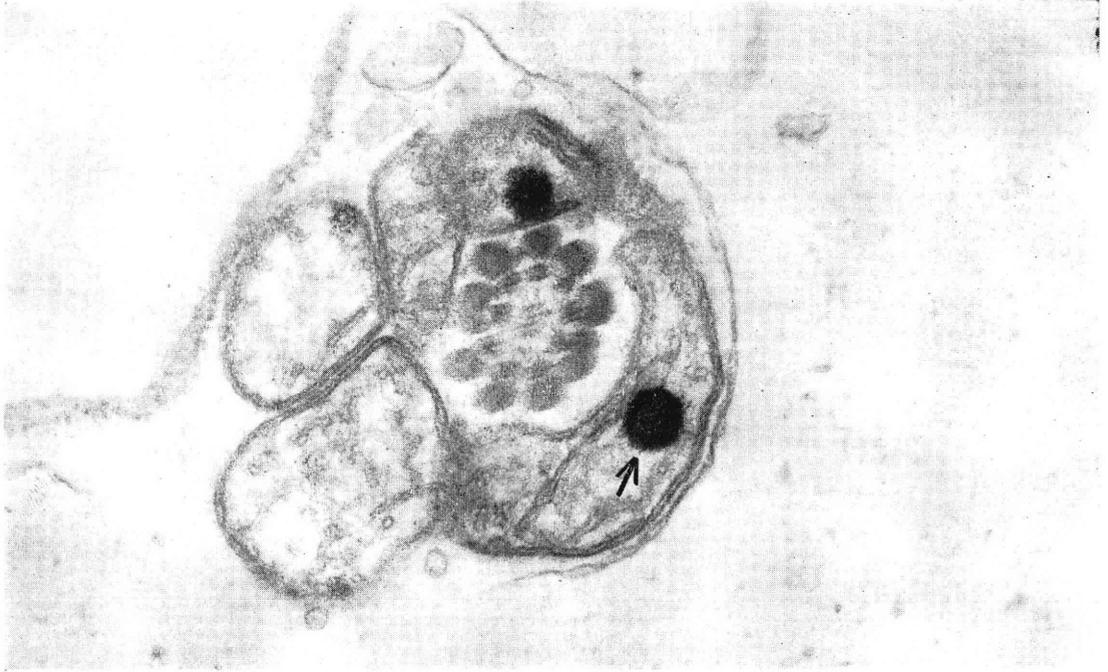


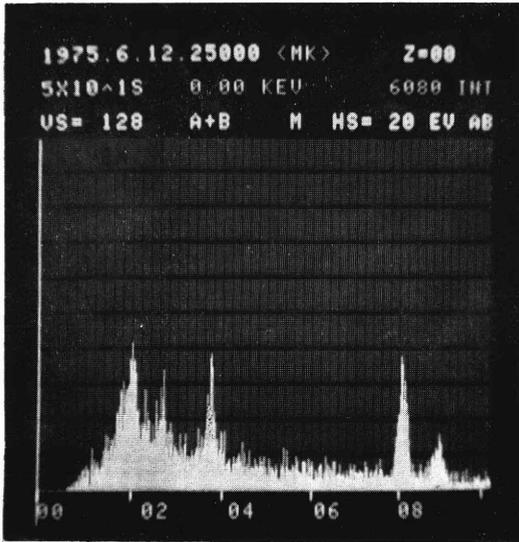
図 2

図 3

a



b



c

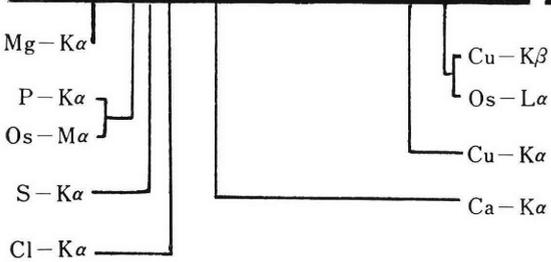
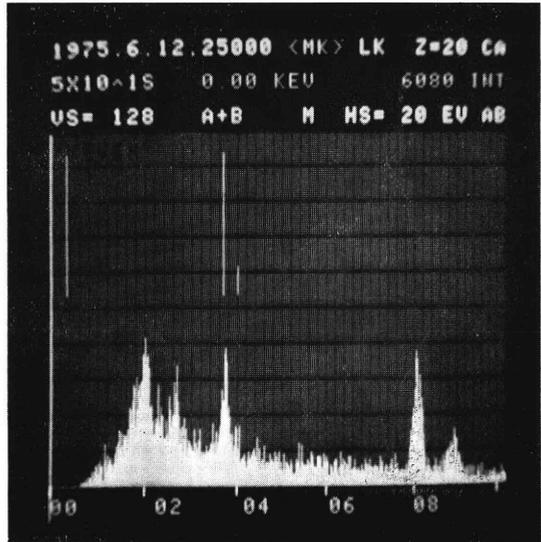
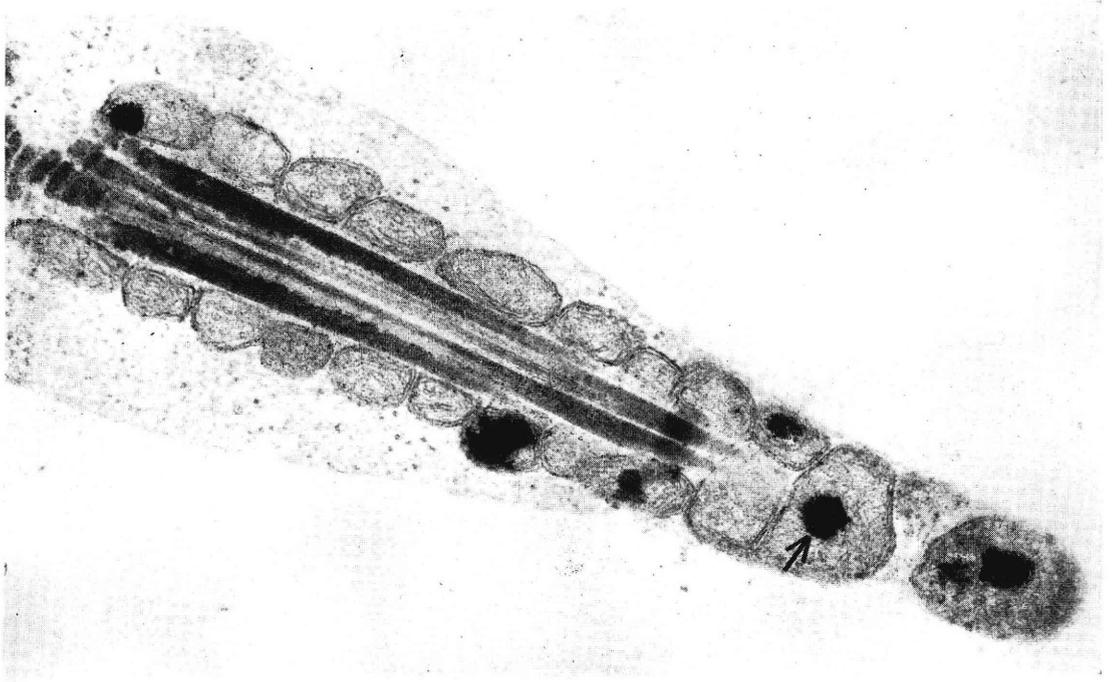
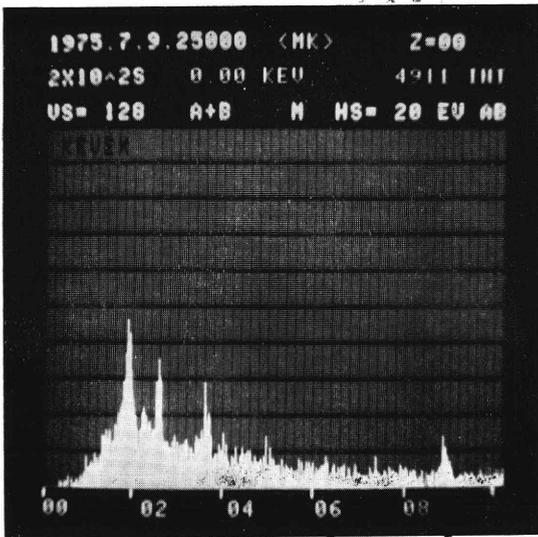


図 4

a



b



c

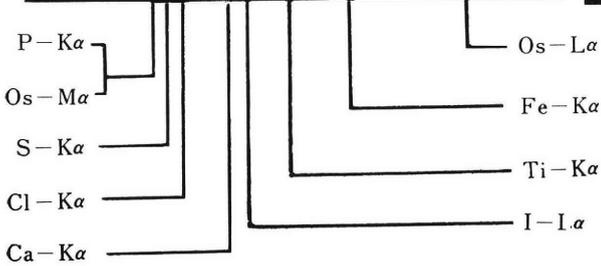
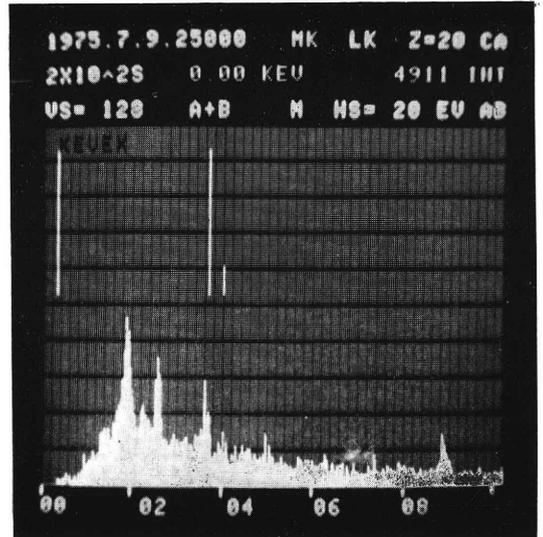
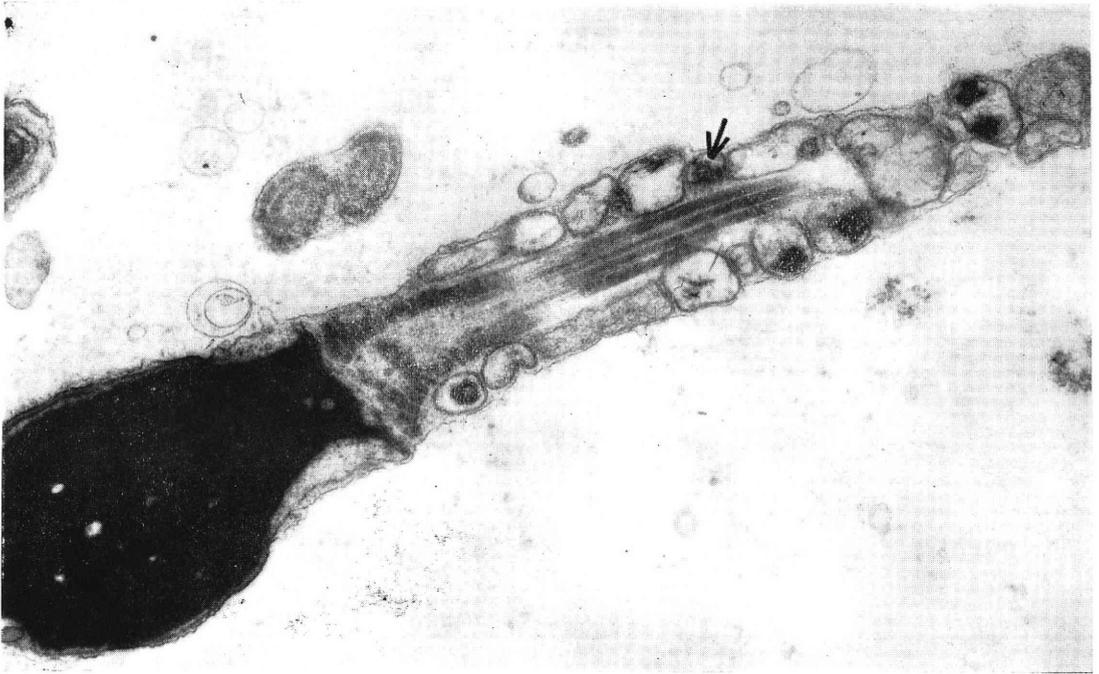
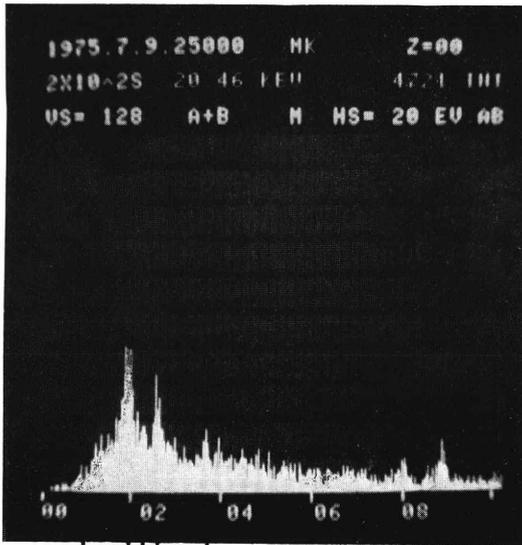


図 5

a



b



c

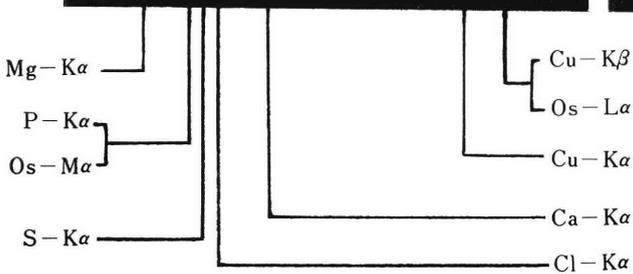
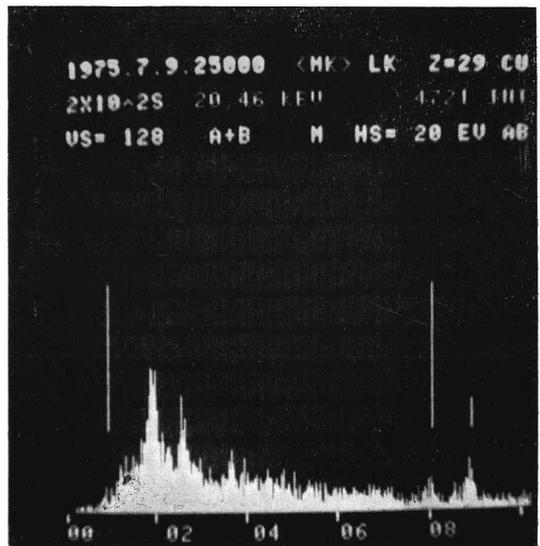


図 6

- 図 1 セルトリ細胞 (S) に囲まれた 3 個の精子細胞 (N) が見られる。これらの細胞のミトコンドリアには dense deposits は見られない。12,000倍
- 図 2 精巣中の成熟精子の尾部中間部の横断像で、ミトコンドリア (M) には dense deposits は見られない。25,000倍
- 図 3 射出精子の尾部中間部の横断像で、ミトコンドリアの基質中に大きい dense deposits (矢印) が見られる。34,000倍
- 図 4, 5, 6 図 4, 5, 6 の各図 a は X 線分析を行なった射出精子の尾部中間部で、ミトコンドリア中に大きい dense deposits が見られる。図 4, 5, 6 の各図 b, c は図 a の矢印で示した dense deposits についての X 線分析の結果である。図 4 は銅メッシュを、図 5, 6 はナイロンメッシュを用いた。各図 c の Z は atomic number と元素名であり、該元素のエネルギーの位置はカーソル線で表示されている。長いカーソル線は α 線、短いカーソル線は β 線である。

4 a : 60,000倍

5 a : 30,000倍

6 a : 20,000倍

雄性ラット生殖器系における Monoamine Oxidase および Monoamines の局在について

Histochemical Localization of Monoamine Oxidase and
Monoamines in the Reproductive Tracts of Male Rats

金沢医科大学産婦人科学教室

友 田 明 桑 原 惣 隆

Akira TOMODA Soryu KUWABARA

Department of Obstetrics and Gynecology, Kanazawa Medical
University, Japan.

雄性ラット生殖器系(精巣, 精巣上体および精管の各部位)における Monoamine Oxidase (MAO と略) および Monoamines (MA と略) の局在について組織化学的に検討を加えた結果, 以下の成績がえられた。

1) 精細管基底膜部には Falck & Hillarp 法で緑色蛍光として認識される Dopamine または Noradrenaline が局在し, その部に一致して Formazan 顆粒として局在を示される MAO 活性が観察された。この MAO 活性は組織切片のアセトン処理により消失したが, Testosterone 処置によつては影響をうけなかつた。

2) 精巣上体管上皮および精管上皮内には比較的弱い MAO 活性が観察された他, 精巣上体管上皮の基底部には顆粒状のやや強い MAO 活性も観察され, さらにこの MAO 活性は組織切片のアセトン前処理や Testosterone 処置後の組織学的検索により減弱ないし消失した。

以上の観察結果から, steroidgenesis, spermatogenesis あるいは精子輸送機構等に何らかの形で MAO の基質たる MA が関与することを示唆するものと考えられる。

緒 言

著者らは, 雌性ラット生殖器系(卵巣, 卵管および子宮の各部位)に MAO が局在し, かつその活性が性ステロイドホルモン動態と密接な関連性を有することを報告²⁾³⁾したが, 今回, 雄性ラット生殖器系における MAO および MA の局在について組織化学的に検討を加えた結果, 若干の知見をえたので以下報告する。

実験方法

使用動物は生後100~120日目の Wistar 系または Sprague-Dawley 系雄性ラット(体重250~300g)で, 一部は無処置群とし, エーテルで屠殺後, 直ちに精巣, 精巣上体および精管を摘出し, 一部の組織切片は MA の検索用とし, 一部の組織切片は MAO 検索用とした。

Table 1 Formaldehyde Condensation Method
(Falck & Hillarp et al., 1962)

1. Dissection
2. 7% polyvinylpyrrolidone for 5min.
3. 2-Methybutane cooled in liquid nitrogen
4. Freeze-dried for 48hrs. (Thermovac)
5. Exposed to formaldehyde vapour (1 hr., 80°C)
6. Paraffin embedding
7. Sectioning, Mounting
8. Fluorescence microscopy

A mercury vapour high pressure lamp, Leitz
A dark condenser
Schott BG 12, Zeiss 50, Kodak 15

MA の組織学的検索については表1に示した如く, Falck & Hillarp et al. により報告⁴⁾⁵⁾された原法に従い

Catecholamines および Serotonin に特異的な組織化学法である Formaldehyde Condensation Method を応用し、蛍光顕微鏡にてこれを観察した。MAO 組織反応については、既報¹⁾の Glenner et al. の原法に従って、組織摘出後直ちにドライアイスで凍結後、OCT 液で包埋し、Cryostat にて 15μ の凍結薄片を作成し、Medium 中で incubation して、組織標本を観察した。なお、一部の組織については、MAO 活性部位と脂質との関係を見る目的で、凍結薄片作成後、冷アセトン中に 5 分間浸した後、Medium 中で incubation し組織標本を作成した。組織標本における MAO 活性の判定については既報³⁾の判定基準に従って行なつた。他のラットについては、Testosterone propionate (Enarmon®) を $10\text{mg}/\text{rat}/\text{day}$, 3 日間皮下投与し、最終処置日の翌日屠殺して、先と同様に処置し組織標本を作成した。

実験結果

精巣精細管の基底膜部に一致して強い緑色蛍光が認められ、蛍光の特異性より分析してこの部には、Dopamine または Noradrenaline が存在しているものと思われる。なお、内部の精上皮および間質組織にも弱い蛍光を認めた(写真1)。一方、この基底膜部には顆粒状に沈着した MAO 活性の局在が観察されたが(写真2)、精上皮内部の精子形成部に一致して MAO 活性が局在している精細管も観察された。この MAO 活性は、冷アセトン処理により完全に消失したが(写真3)、Testosterone propionate 処置によつては著明な影響をうけなかつた(写真4)。なお、部分的に間質部にもびまん性に反応した MAO 活性が観察され、この MAO 活性は、アセトン処理や Testosterone propionate 処置に対して不変であつた。精巣上体管上皮内には、びまん

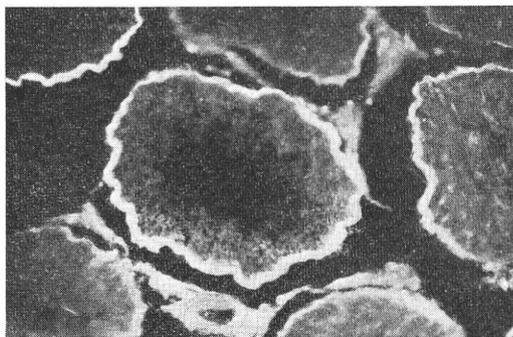


写真 1 精巣内 MA 蛍光像 ($\times 100$)
各精細管の精上皮の基底部に一致して強い緑色蛍光 (Dopamine または Noradrenaline) が観察される。なお、精上皮および間質組織に弱い蛍光が認められた。

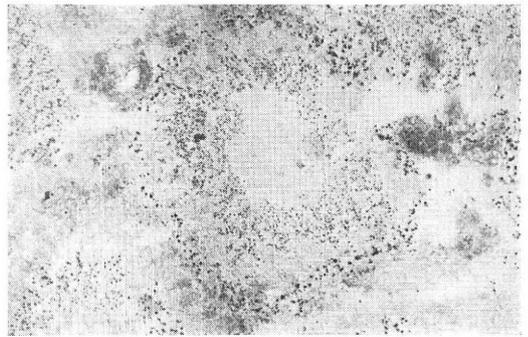


写真 2 精巣内 MAO 活性 ($\times 100$)
精細管の精上皮基底部に一致して顆粒状の MAO 活性が観察される他、この部の精細管では、精上皮内部の精子形成部にも一致して MAO 活性が観察される。

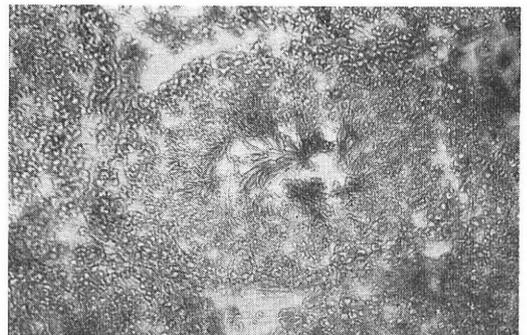


写真 3 アセトン処理後、精巣内 MAO 活性 ($\times 100$)
MAO 活性は完全に消失している。

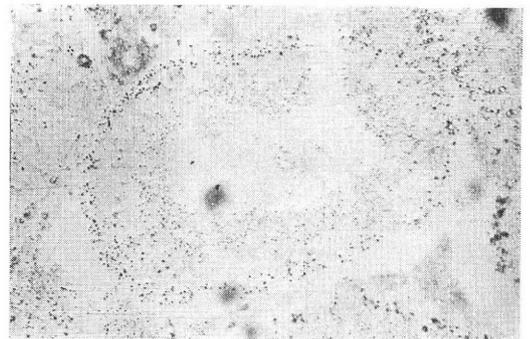


写真 4 Testosterone propionate 処置後、精巣内 MAO 活性 ($\times 100$)
写真 2 と同様の所見が観察される。

性に観察される弱い MAO 活性が局在する他、その基底膜部には顆粒状に観察される強い MAO 活性が局在し(写真5)、後者の MAO 活性は、冷アセトン処理(写真6)および Testosterone propionate 処置(写真7)により減弱ないし消失したが、前者のびまん性に観察さ

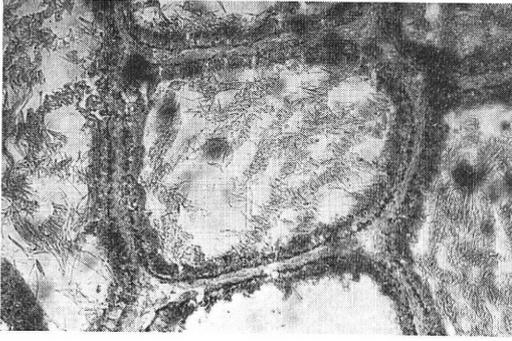


写真 5 精巣上体内 MAO 活性 (×100)
精巣上体管上皮内にびまん性の MAO 活性が局在している他、上皮基底部に顆粒状の MAO 活性も観察される。

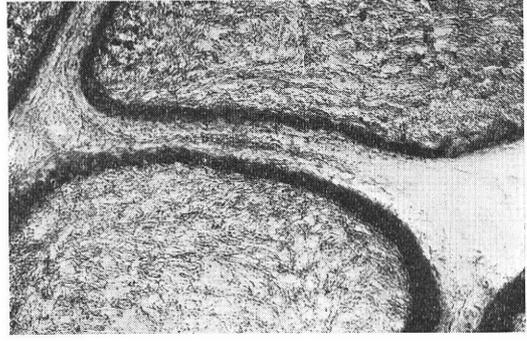


写真 8 精管内 MAO 活性 (×100)
精管上皮内にびまん性の MAO 活性が観察される。

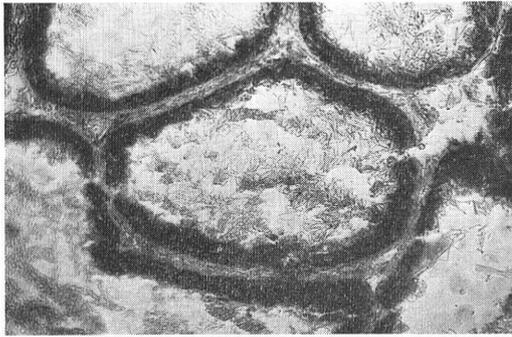


写真 6 アセトン処理後、精巣上体内 MAO 活性 (×100)
びまん性に観察された MAO 活性には著変はないが、顆粒状に観察されるべき MAO 活性はほぼ完全に消失している。

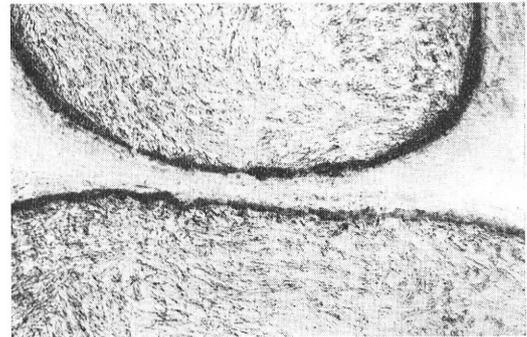


写真 9 アセトン処理後、精管内 MAO 活性 (×100)
写真 8 に比して著変はみられない。



写真 7 Testosterone propionate 処置後、精巣上体内 MAO 活性 (×100)
びまん性の MAO 活性には著変はないが、顆粒状の MAO 活性は著明に減弱している。

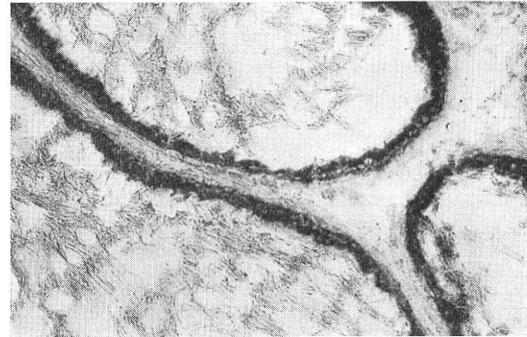


写真 10 Testosterone propionate 処置後、精管内 MAO 活性 (×100)
写真 8 に比して著変はみられない。

皮内には、びまん性に認められる MAO 活性のみが局在し (写真 8)、この MAO 活性は、冷アセトン処理 (写真 9) および Testosterone propionate 処置 (写真 10) により影響をうけなかった。

以上の結果をまとめると表 2 の如くなる。即ち、精細管基底膜部および精上皮内部の精子形成部、精巣上体管上皮基底膜部には、顆粒状に観察される強い MAO

れた MAO 活性は著明な変化を示さなかった。なお、顆粒状に認められる MAO 活性は、精巣上体頭部から尾部にゆくにかけて減弱する傾向が認められた。精管上

Table 2 Experimental Results

Sites	Tubuli seminiferi			Ductus epididymidis				Ductus deferens		
	Epithel	B. M.	Interstitial tissue	proximal		distal		Epithel	B. M.	
				Epithel	B. M.	Epithel	B. M.			
Monoamine (NA or DA)	±	≡	±	/	/	/	/	/	/	
MAO	No treatment	-~+*	+~≡*	±**	+**	≡~≡*	+~≡**	+~≡*	+~≡**	-
	Acetone treatment (in vitro)	-	-	±**	+**	-	+~≡**	-	+~≡**	-
	Androgen treatment	-~+*	+~≡*	±**	+**	±~+*	+~≡**	±~+*	+~≡**	-

B. M. = Basement membrane
 ** = diffuse stained MAO pattern
 * = granular stained MAO pattern

活性が局在し、これらの MAO 活性は、冷アセトン処理により消失し、Testosterone propionate 処置によつては、精巣上体管基底膜部の MAO 活性のみが減弱した。精巣間質組織の一部、精巣上体管上皮および精管上皮内には、びまん性に示された MAO 活性が局在し、この MAO 活性は、冷アセトン処理および Testosterone propionate 処置に対して著明な影響をうけなかつた。

考 案

雌性ラット生殖系（卵巣、卵管および子宮の各部位）に局在する MAO および MA については、既に 2, 3 の報告²⁾³⁾⁷⁾がみられ、その局在部位から、steroidgenesis, 排卵機構あるいは妊孕現象における MA の重要性が示唆されているが、雄性ラット生殖系における MAO あるいは MA の組織化学的局在に関する報告はこれまで少なく、わずかに Penttila et al. の MAO に関する報告⁶⁾ および桑原らの MA に関する報告⁷⁾がみられるにすぎない。著者らは、雌性ラット生殖系における MAO および MA の局在部位から、一連の生殖機構における MAO あるいは MA の重要性が示唆されることから、今回、雄性ラット生殖系における MAO および MA の局在について組織化学的に検討を加えた結果、前述した如く、各精細管の基底膜部に一致して、Dopamine または Noradrenaline と思われる MA が明らかに局在し、その部に一致して MAO が局在しており、かつこの MAO はアセトン処理により消失することから、脂質と密接に関連して局在しているものと推測される。この部の MAO あるいは MA がいかなる意義を有するののかについては、現在のところ全く不明であるが lipid を含有する Sertoli 細胞数および

lipid の含量が成熟するにつれ増加する事実やその局在部位から、物質のとり込み過程あるいは脂質代謝を介して steroid 合成または spermatogenesis に関与しているものと推測される。因に、直接あるいは中枢を介して間接的に spermatogenesis に関与するとされている Testosterone 投与後の MAO 活性の変化からは、この様な両者の関係を積極的に指示する所見はえられなかつたわけであるが、これには投与薬物の量的問題や投与期間の問題も考慮に入れねばならないので今後さらに検討を加える予定である。

一方、ラット卵巣では、その局在部位から steroidgenesis と MA の関係が強く示唆されているが、精巣での steroidgenesis については Leydig 細胞産生説が従来から定説となつており、従つて、この説に従う限り今回の観察結果では、精巣における steroidgenesis と MA との関係を示唆する積極的な組織学的所見としてはえられなかつたわけである。しかし、部分的に間質部にも弱いながら MAO 活性がみられたこと、MA の存在を示唆する弱い螢光が観察されたこと、あるいは、MAO や MA に富む基底膜と相接する Sertoli 細胞は豊富な lipid を保有し、かつ何らかの性ステロイドを分泌しているとの報告⁸⁾もみられるので、両者の関係については更に今後の検討を要するものと思われる。

次に、精巣上体管上皮にはびまん性に観察される MAO 活性が局在し、その基底部に一致して顆粒状に反応する強い MAO 活性が局在しているが、この顆粒状に反応する MAO 活性はアセトン処理により消失したことから、精細管部の MAO と同様に脂質と密接に関連して局在しているものと思われる。また、この顆粒状の MAO は Testosterone 処置により減弱することから、例えばラット子宮内膜内 MAO 活性と同様に性ステロ

イドホルモン動態によりその活性が変化するものと思われる。しかし、びまん性に観察される MAO 活性はラット子宮内(特に子宮筋層) MAO 活性と同様に性ステロイドホルモン動態によつては影響をうけないようである。その機構や意義はなお不明であるが、一つには後述する如く Isoenzyme の存在に基因するものと思われる。さらに、精巢上体は精子の成熟過程に関与するといわれていることから、精細管部と同様に、MA が精子成熟過程にも関与するのではないかと推測されるが、この部の MAO は、精細管部の MAO と異なり、精巢上体にも作用するといわれている Testosterone 投与により、その活性が変化したこと、その可能性が充分あるものと思われる。これに関しては、最近、Brown の報告⁹⁾がある。即ち、臨床的に精子運動率のみ異常のある症例では精子の精巢上体における環境に異常があると考えられ、その様な症例に Testosterone を投与することにより、その環境が改善し、精子運動率を高める試みを行ない、好結果をえている。従つて、今後、この方面からも MAO や MA の生殖機構における重要性が解明されてゆくものと思われる。

なお、ラット子宮内 MAO 活性については、その性質特異性の検討結果(友田、未発表)や電気泳動による結果¹⁰⁾から、Isoenzyme の存在が示唆されているが、雄性ラット生殖系に局在する MAO にも、前述した如く組織化学的に反応態度の異なる MAO が存在することから、Isoenzyme が存在するものと推測される。

本論文の要旨は、1975年12月13日、第11回日本不妊学会北陸支部総会(於金沢)において発表した。

文 献

- 1) 友田 明：ヒト胎盤および絨毛組織内 Monoamine Oxidase の局在について、日産婦誌、27: 377, 1975.
- 2) 友田 明：雌性ラット生殖系における Monoamine Oxidase の局在について、日産婦誌、27: 473, 1975.
- 3) 友田 明：雌性ラット生殖系内 Monoamine Oxidase 活性の性周期および性ステロイドホルモンの関係について、日産婦誌、27: 1284, 1975.
- 4) Falck, B.: Observation on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method, Acta. physiol. scand., 56, suppl.: 197, 1962.
- 5) Falck, B., Hillarp, N. Å., Thieme, G. & Torp, A.: Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde, J. Histochem. Cytochem., 10: 348, 1962.
- 6) Penttila, A. & Korman, M.: Monoamine oxidase activity in the testis and epididymis of the rat, Ann. Med. Exp. Biol. Fenn., 46, 557, 1968.
- 7) 桑原惣隆他：ラット性腺内カテコールアミンの組織化学的観察、日産婦誌、24: 819, 1972.
- 8) 永野俊雄：現代産科婦人科学大系、第4巻B II: p. 211, 中山書店, 1971.
- 9) Brown, J. S.: The effect of orally administered androgens on sperm motility, Fertil. Steril., 26: 305, 1975.
- 10) Collins, G. G. S. & Southgate, J.: The effect of progesterone and oestradiol on rat uterine monoamine oxidase activity, Biochem. J., 117: p. 38, 1970.

Histochemical localization of Monoamine Oxidase and Monoamines in the reproductive tracts of male rats (English abstract)

Akira Tomoda and Soryu Kuwabara

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kanazawa Medical University, Japan

Histochemical observations of monoamine oxidase (MAO) and monoamines (MA) in the reproductive tracts of male rats have been done by using tetrazolium salt reduction method (Glennier et al., 1975) and formaldehyde condensation method (Falck & Hillarp et al., 1962).

1) On the basement membrane of the seminiferous tubules, granular deposited MAO and strongly green colored fluorescence suggested presence of dopamine or noradrenaline were observed. This MAO activity was disappeared by acetone treatment in vitro, but not modified after testosterone administration in vivo. Furthermore diffuse deposited MAO and weak fluorescence were observed in the intersitial tissues.

2) In the epithelial cells of the ductus epididymidis and the ductus deferens, diffuse precipitation of MAO was noted. Furthermore on the basement membrane of the ductus epididymidis, granular deposited moderate MAO activity was found. This granular precipitations of MAO were disappeared following both acetone treatment in vitro and testosterone administration in vivo.

It may be that MA which are substrates of MAO and localized in the reproductive tracts of male rats are related to the steroidgenesis, the spermatogenesis or the processes of transport of spermatozoa.

牛凍結精子の融解温度条件と精子 acrosome の形態変化

The Effect of Thawing Temperature on Acrosomal Characteristics of Bull Spermatozoa

酪農学園大学畜繁殖学研究室

平尾和義 向井龍洋
Kazuyoshi HIRAO Tatsuhiko MUKAI

Lab. of Animal Reproduction, The College of Dairying
Ebetsu, Hokkaido, Japan

精子 acrosome の形態検査法として Wells-Awa 染色法を用いて牛新鮮精液, 異なつた融解温度下 (4°C, 15°C, 40°C, 50°C および室温) および融解後 (4°C) 24時間保存した凍結精液について, 融解温度と保存にともなう経過時間が, 精子 acrosome の形態に及ぼす影響を比較検討した。

その結果, 新鮮精液の acrosome 異常率は射精精液間および acrosome 崩壊 (膨化, 欠損) の程度には差がみられなかつたが, 融解温度別では 50°C 融解がもつとも高値で変動し, 40°C 融解は低値を示し凍結精液の適正な融解温度が必要であることが示唆された。4°C 融解 24時間保存精液の acrosome 異常率は経過時間とともに高くなり, 精子運動率および不動精子率との相関はそれぞれ負および正を示し, いずれも 1% 水準で有意差がみられた。今回実施した Wells-Awa 染色法は従来の Giemsa 染色および位相差鏡検法に比較して簡便であることから, 日常的な精子 acrosome の形態検査法として充分利用価値があるものと考えられる。

はじめに

牛, 馬, 豚, 兎および鶏の繁殖学の分野では, 精子の凍結保存が試みられている。なかんづく牛の人工授精では現在凍結精液が広範囲に利用されており, 従来の液状精液に比較し受胎成績も遜色なく技術的問題はほぼ解決されたかにみえる。しかしながらなお地域により受胎率の低いところもあるのが実状であり, その原因が雌あるいは雄牛いずれの側にあるかについては症例により精査が必要である。雄側の要因としては凍結精子は新鮮精子に比較し, 凍結・融解 (以下凍融) 過程で何らかの傷害をうけていることは充分考えられる。すなわち, 現在凍結精子のもつ特性として動物種および個体により耐凍性の低いものがあり, 希釈液中に普通用いられている耐凍性物質グリセリンも動物種によつては, 凍融後の精子生存率が良好であつても頭部破壊, とくに acrosome の破壊が高率であることも観察¹⁻⁹⁾ されており, 凍結保存下の精

子が極めて脆弱化していることが推察される。

牛においても人工授精に供される精液の形態異常精子のなかでは, 奇形のほかに acrosome に異常をもつ精子の出現の意外に高いものがあり, 日常の精液性状検査項目として考慮されなければならないとされている⁴⁾。また acrosome の形態異常と不受胎とのあいだに関連性があるとの報告⁵⁻⁹⁾もある。acrosome の形態異常のもつ意義については現在不明な点もあり, Giemsa 染色あるいは位相差鏡検法による検査方法も比較的煩雑で実施に時間がかかり, 日常の授精業務のなかでは実施困難な面もみられる。

今回, 筆者らは acrosome の崩壊 (膨化) が精子の死に起因する退化像を示すものであり, また牛人工授精時の凍結精液融解温度が次第に高温化する傾向がみられることに鑑み, 精子の acrosome 検査法として Wells & Awa¹⁰⁾ の報告した染色法を用いて採取直後の牛新鮮精液, 異なつた融解温度条件下の凍結精液および 4°C 融

解後24時間迄の保存精液につき、融解温度条件と保存にともなう経過時間が精子の acrosome の形態に及ぼす影響について比較検討したので、その成績の概要を報告する。

実験方法

1. 供試精液 ホルスタイン種雄牛3頭から採取した1および2回目の射精精液をプールした延10例の新鮮精液とこれを常法の如く1.0ml 太型ならびに0.5ml 細型プラスチックストロー精液容器に封入後、液体窒素中に凍結保存したものを供試した。供試精液の採取直後の性状は精液量3.0~9.7ml, 平均6.4ml, 精子数16.6~19.3×10⁹/ml, 平均17.9×10⁹/ml および精子活力は85[#]で、いずれも正常値の範囲内にあり、凍融後の精子活力は太型ストロー35~45[#]および細型ストロー40~55[#]で、実際に人工授精に供されているものである。

2. 染色混合液の調製 予め1.0% eosin B 溶液, 1.0% fast green FCF 溶液および95% ethyl alcohol をそれぞれ調製し、これらを使用直前に1:2:1容の割合で混合用意した。

3. 染色要領 新鮮原精液はその1滴を37°C 加温小試験管中で2.9%クエン酸ナトリウム溶液で10倍希釈し、凍結精液は融解後20°C 等温条件下で2倍量の0.1M-Sørensen リン酸緩衝液で2回洗滌(500 rpm, 10分間遠心2回)した。ついで洗滌精液と染色混合液とを等量スライドガラス上で混合し1~2分間放置後伸展し、これを37°C 金属加温板上で急速乾燥した。

4. 鏡検 作製標本は1,500倍油浸で鏡検し精子200個を観察、acrosome の変形、崩壊および膨化の割合を百分率で算出し、これを acrosome 異常率とした。acrosome 異常形態の分類は大沼⁴⁾の方法を参考にし、精子形成過程で起こる形成不全(反転, 舌状, 肥厚, 突出)を除き Fig. 1, 2 に示す如く、変形崩壊の程度を膨化+, 卍, 卍および欠損脱落の4段階に区分した。本染色法では acrosome は透明緑色, 後帽は淡赤色を呈する。

5. 融解温度条件 精液融解温度は4°C, 15°C, 40°C, 50°C および室温(22.5~24.0°C)の5群である。4°C 融解後24時間保存精液は融解直後, 3時間, 6時間, 12および24時間間隔で経時的に acrosome 形態変化の推移を観察した。なお Fig. 3 に示す如く、各融解温度とも-50°C から融解までの精液温上昇曲線を記録し、有害温度域通過時間および融解温度到達時間を比較した。

実験結果

1. 原精液 acrosome 異常率

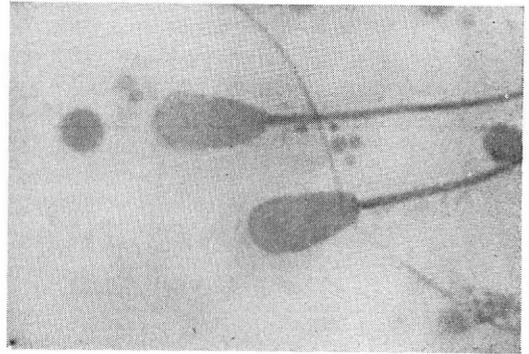


Fig. 1 Bull spermatozoa with acrosome abnormalities, one with a swollen, one with disintegrating acrosome (frozen semen, ×1500)

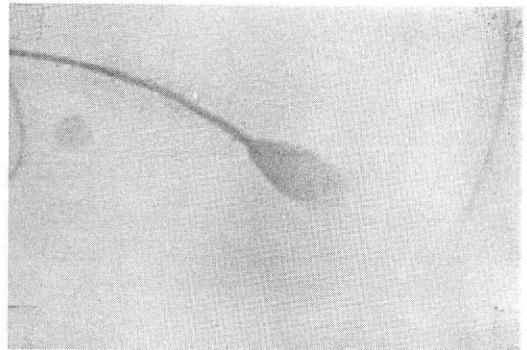


Fig. 2 Bull spermatozoa with no acrosome with the Wells-Awa stain (frozen semen, ×1500)

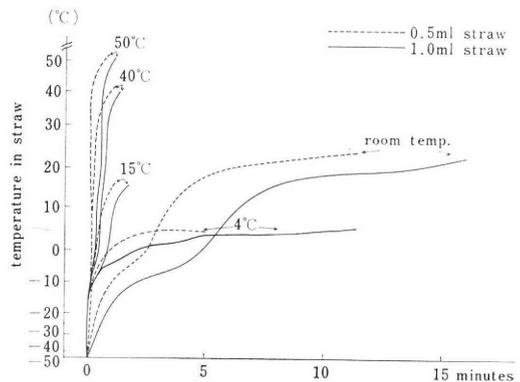


Fig. 3 Monitors of thawing curves in straws thawed at different temperatures.

Table 1 は採取直後の新鮮精液の acrosome 異常率を示したものである。3頭延10例の acrosome 異常率は8.25~11.75%, 平均10.08%で個体ならびに精液採取毎に若干変動するのがみられ、また各形態異常の平均値は膨化卍, 膨化+, 欠損および膨化卍の順であつたが大き

Table 1 Acrosomal abnormalities in ejaculates.

bull	degree of swelling (%)			detached form (%)	total
	+	++	+++		
B ₁	2.75	2.50	2.50	4.00	11.75
B ₂	3.75	2.25	1.25	2.75	10.00
B ₃	3.25	4.75	1.25	0.50	9.75
B ₁	2.25	2.75	3.00	3.00	11.00
B ₂	2.50	4.00	1.00	2.75	10.25
B ₃	1.25	4.00	2.00	1.00	8.25
B ₁	2.50	2.50	2.50	3.00	10.50
B ₂	2.50	3.25	1.25	3.00	10.00
B ₃	2.75	4.00	1.50	1.25	9.50
B ₁	2.25	2.00	2.50	3.00	9.75
range	1.25~3.75	2.00~4.75	1.00~4.00	0.50~4.00	8.25~11.75
average	2.57	3.20	1.88	2.43	10.08

な差はなかつた。牛新鮮液中の acrosome 異常率は 1.6~25.0%，平均 5.5~14.1% 程度であるとの報告⁴⁾があり、これらに比較すると表の数値はやや低いが、これは acrosome system の形成不全、すなわち精子形成過程で生じた奇形および染色異常精子を対象外にしたためではないかと考えられる。原精液の acrosome 異常率は他の報告^{10,11)}の如く大部分のものは膨化であり、膨化の程度の軽いものが多く、射精過程あるいは射精後に生じたものと推察される。

2. 融解温度および精液容器別の acrosome 異常率

Table 2 は各融解温度条件下で融解した凍結精液の容器別 acrosome 異常率の範囲と平均値を示したものである。acrosome 異常率は 50°C 融解群はもつとも高値で変動が大きくついで室温融解群であつたが、他の融解温度群ならびに各融解温度群の精液容器別の acrosome 異常率には大きな差がみられなかつた。原精液に比較し融解後における acrosome 異常率は 40°C 融解群以外は、各温度群とも一般に高くなる傾向が観察された。また融解温度別の acrosome 異常形態の分類は Fig. 4 に示す通りである。縦軸の acrosome 異常率は角変換した数値である (以下同様)。各融解温度群のうち 40°C を除く 4 融解群では、膨化+が著増するのがみられ、とくに室温および 50°C 融解群においては顕著であつた。これに反し 40°C 融解群は原精液に比較し、膨化の程度および欠損の割合は膨化+が増加した以外は概ね同じであり、精子の acrosome に与える凍融過程の温度感作が比較的少ないことが観察された。

3. 融解温度別の acrosome 異常率と精子生存率

Table 2 The percentages of total acrosomal abnormalities in different straws and thawing temperatures.

thawing temperature (°C)	straw (ml)	abnormal acrosomes (%)		
		range	average	
4	0.5	9.00~18.00	13.45	
	1.0	10.50~16.75	13.53	
	15	0.5	8.25~17.00	12.35
		1.0	10.75~18.50	13.19
	room temp.	0.5	15.25~25.25	19.10
		1.0	14.00~24.25	18.03
40	0.5	9.25~14.00	10.95	
	1.0	10.50~16.75	12.86	
50	0.5	10.50~43.50	20.60	
	1.0	13.50~36.75	19.75	
undiluted semen	first ejac.	8.25~11.00	9.87	
	second ejac.	10.00~11.75	10.87	

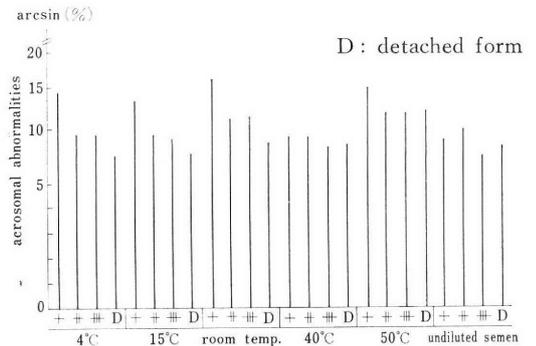


Fig. 4 The distribution of types of acrosomal abnormalities at different thawing temperatures.

精子生存率は不染精子率 (エオジン・ニグロシン染色法) をもつて表わした。各融解温度群のうち、精子生存率は 40°C 46.4~49.2% および 50°C 47.8~48.9% で高温融解群で高く、室温融解群では 40.8~41.2% でもつとも低かつたが、acrosome 異常率は逆に 40°C 融解群で低く、室温融解群では高くなる傾向がみられた。他の融解群では acrosome 異常率および精子生存率は変動しており、両者の間にとくに一定の傾向は認め難かつた。念のため両者の相関係数を求めたところ、その値は低く (-0.31) 有意差はみられなかつたが、acrosome 異常率は精子生存率の低下とともに漸増することが推察された。

4. 融解後の経過時間と acrosome 異常率および精子運動率の推移

液状精液保存温度である 4°C を選び融解後 24 時間迄

これをそのまま保持し、融解直後、3時間、6時間、12 および24時間間隔で経時的に acrosome 異常率と精子運動率の推移を比較した。各融解温度における融解直後から保存24時間迄の精子運動率は細型ストロー40.6~55.5%、大型ストロー32.3~41.8%を示し、acrosome 異常率は精子運動率の低下にともなつて増加する傾向があり、とくに保存6~12時間後精子運動率の急激な低下とともに著増していくのが認められた。すなわち融解直後から経時的に acrosome 異常率は漸増しており、膨化の程度は十~卅、さらに欠損へと acrosome の破壊率は進行し、それぞれの経過時間の間に1%水準で有意がみられた。また acrosome 異常率と不動精子率(精子活力検査法により運動を停止している精子の割合)とでは0.725および精子運動率とでは-0.360の相関係数が得られ、いずれも1%水準で有意差があつた。

5. acrosome 異常率の推計学的分析

各融解温度群の acrosome 異常率は変動したが、融解温度別、精液容器別および射精精液間で acrosome 異常率が異なるかどうかを検討するため、三元配置法により検定した。その結果、融解温度群に1%水準で有意差がみられ、これの WSD 検定を行つたものは Fig. 5 に示す通りである。acrosome 異常率は40°C、15°C、4°C、室温および50°C融解温度の順に高くなつており、40°Cと室温および50°C、4°Cおよび15°Cと室温および50°Cとの間にそれぞれ1または5%水準で有意差がみられた。従つて牛凍結精子の acrosome 異常率は、凍融過程の有害温度域通過時間の延長ならびに高温になるに従い次第に高率となる傾向があると考えられる。

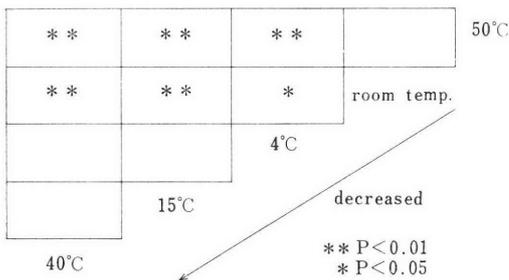


Fig. 5 Significant differences of acrosomal abnormalities at different thawing temperatures.

考 察

哺乳動物精子の acrosome の機能については未だ不明な点が多いが、acrosome 先端部は卵表層を溶解する諸酵素を含有し、受精時に重要な作用をするものと考えられている。また射出精液あるいは保存精液中の精子 ac-

rosome の形態的变化をもたらす要因についても検討されており、その膨化および崩壊の多くは精子の死に起因する退化像であることが明らかにされている^{12,13)}。acrosome の形態異常と不妊との間に関連があるという報告も多く、Blom¹⁴⁾ は牛において acrosome 欠損精子の出現が高いときは、生殖道の異常および病変が疑われるとしている。大沼は種雄牛センターにおいて人工授精に供される精液中の形態異常精子のなかでは、奇形のほかに acrosome に異常をもつ精子の出現が意外に高いものがあることを指摘し、精液検査性状項目として考慮されなければならないと述べている。従つて日常的な精液検査性状として精子 acrosome の形態異常の検索は、精液の質を判定するものとして重視されるべきである。従来一般にその検査法は主として Giemsa 染色法あるいは位相差鏡検法が用いられてきたが、これらの検査法は比較的煩雑で標準作製から検査にいたる迄に時間を要し、日常的に実施し難い面もあり、特定の場所に限定されるきらいもみられる。今回の実験に用いた Wells-Awa の染色法はこのような欠点を補うものであり、精子 acrosome の形態染色法としては極めて簡便であるのが特徴である。すなわち本法は従来の方法に比較し標準作製の時間が短縮され、明暗度良好、牛新鮮精液ならびに各融解温度条件下の凍結精液における精子 acrosome の形態変化を容易にとらえることができ、日常的に用いるスクリーニングテストとして極めて有用であることが判明した。

牛精子の凍融過程においては一般に -15~-20°C 迄は精子にとつて有害温度域とされ、この温度域は精子の生存に対して極めて不適なため急速に通過させた方がよいとされる。しかしながら Coulter & Roote¹⁵⁾ は牛精子凍結時の急速および緩凍凍結速度を比較し、精子運動率は両者の間に差がないが、acrosome の損傷は急速凍結の方が大きいと報告している。一方白山¹⁶⁾ は凍結過程の各温度で取り出した牛精子の acrosome 形態異常の有意の増加は -20°C で取り出した精子で認められ、-40°C 迄は温度の低下にともなつて漸増し、精子生存率の低下に関連すると述べている。また Robbins et al.,¹⁷⁾ Almquist & Wiggin^{19,20)}, Wiggin & Almquist²¹⁾ は急速融解は精子生存率および acrosome の維持に有益であると主張している。本実験においても 50°C の融解温度群を除き、融解迄の時間の長短と acrosome 異常率の増減とは平行しており、有害温度域通過時の温度感作が acrosome の形態に影響を与えることが充分推察され、acrosome 異常率の変動は概ねこれらの報告と一致していた。各融解温度群における融解温度到達時間および有害温度域通過時間は、室温では -30°C、4°C および

15°C 融解温度群では-10°C から時間差がみられ、太型ストローは細型ストローに比較し 2~2.5 倍有害温度域通過時間を要しており、acrosome 異常率は漸増する傾向がみられた。しかしながら 50°C 融解温度群は有害温度域の通過がもつとも急速で、精子生存率が良好であるにもかかわらず、逆に acrosome 異常率は高値で変動が大きく、このことは融解が急速であるため Robbins et al.¹⁸⁾ が指摘した如く、融解後精子細胞の過熱があつたものと考えられる。野外における牛凍結精液の適正な融解温度条件に関しては、日常慎重に考慮すべきであろう。

要 約

牛精子の acrosome の形態検査法として Wells-Awa の染色法をホルスタイン種種雄牛から採取した新鮮精液、4°C、15°C、40°C、50°C および室温融解温度条件下、4°C 融解後 24 時間保存凍結精液について試み、融解温度条件が精子 acrosome の形態に及ぼす影響について比較検討した。その結果を要約するとつぎの通りである。

(1) 新鮮精液の acrosome 異常率は 8.25~11.75%、平均 10.08% の範囲内にあり、個体間および形態異常の程度には大きな差がなかつた。

(2) 凍結精液融解温度別の acrosome 異常率は 50°C 融解 19.75~20.60%、平均 20.18% でもつとも高く、40°C 融解 10.95~12.86%、平均 11.9% でもつとも低く、凍結精子の適正なる融解温が重要であることが示唆された。

(3) 4°C 融解後、24 時間保存した acrosome 異常率の推移は時間の経過とともに高くなり、精子生存率とは -0.360、不動精子率とは 0.725 の相関を示し、いずれも 1% 水準で有意差がみられた。

(4) 今回実施した Wells-Awa の染色法は従来の Giemsa 染色法および位相差鏡検法に比較し簡便であり、精子の acrosome 形態検査法として日常的な利用価値があるものと考えられる。

稿を終るにあたり、御校閲を頂いた其田三夫教授に謝意を表わします。また供試材料の提供を受けた北海道家畜改良事業団札幌人工授精所に感謝します。

なお本論文は、昭和 49 年度不妊学会北海道地方部会において発表した。

参考文献

- 1) 和出 靖, 副島 昭, 枳田 博: 豚精液の凍結保存に関する研究, 日畜会報, 第 55 回 大会講演要旨: 1969.
- 2) Healey, P.: Effect of freezing on the ultrastructure of the spermatozoon of some do-

- mestic animals, J. Reprod. Fert., 18: 21, 1969.
- 3) Watson, P. F. & Martin, C. A.: A comparison of changes in the acrosomes of deep-frozen ram and bull spermatozoa, J. Reprod. Fert., 28: 21, 1972.
- 4) 大沼秀男: 家畜精子の acrosomic system に関する研究, 畜試研報, 3: 105, 1963.
- 5) Blom, E.: Interpretation of spermatocytology in bulls, Fertil. & Steril., 1: 223, 1950.
- 6) Donald, H. P. & Hancock, J. L.: Evidence of gene controlled sterility in bulls, J. Agri. Sci., 43: 178, 1953.
- 7) Hancock, J. L.: Evidence of an inherited seminal character associated with infertility of Friesian bulls, Vet. Rec., 81: 308, 1949.
- 8) Rollinsen, D. H. C & Mackinson, J. B.: Evidence of an inherited seminal character associated with infertility of Friesian bulls, Vet. Rec., 61: 373, 1949.
- 9) Teunissen, G. H. B.: An abnormality of the acrosome in the spermatozoa of a bull, Anim. Breed. Abstr., 15: 34, 1947.
- 10) Wells, M. E. & Awa O. A.: New technique for assessing acrosomal characteristics of spermatozoa, J. Dairy Sci., 53: 227, 1970.
- 11) Saacke, R. G., Amann, R. P. & Marshall, C. E.: Acrosomal cap abnormalities of sperm from subfertile bulls, J. Anim. Sci., 27: 1391, 1968.
- 12) Mathaway, R. R. & Hartree, E. F.: Observations on the mammalian acrosome, J. Reprod. Fert., 5: 225, 1963.
- 13) Marx, D.: Acrosome defects in spermatozoa of a four-year old boar, Anim. Breed. Abstr., 32: 203, 1963.
- 14) Blom, E.: Spontaneous detachment of Galea Captis in spermia of bull and stallion, Anim. Breed. Abstr., 14: 84, 1946.
- 15) Coulter, G. H. & Foote, R. H.: The motility, acrosomal morphology and oxygen uptake of bull spermatozoa during processing and after freezing in straws, A. I. Digest, 22: 12, 1974.
- 16) 白山勝彦: 牛精子の acrosome cap 形態変化に関する 2, 3 の知見, 三重農技研報, 1: 122, 1970.
- 17) Robbins, R. K., Gerber, L. E. & Saacke, R. G.: Influence of thawing rate on maintenance of the acrosomal cap, J. Anim. Sci., 35: 253, 1972.
- 18) Robbins, R. K., Connor, O., Chandler, P. T. & Saacke, R. G.: Freezing of bovine semen in French straws, J. Anim. Sci., 37: 327, 1973.
- 19) Almquist, J. O. & Wiggin, H. B.: Survi-

- val of bull spermatozoa frozen and thawed by different methods in plastic straws, A. I. Digest, 21 : 12, 1973.
- 20) Almquist, J. O. & Wiggin, H. B. : Effect of different combination of freezing and thawing rates upon survival of bull spermatozoa in U. S. plastic straws, A. I. Digest, 21 : 10, 1973.
- 21) Wiggin, H. B. & Almquist, J. O. : Effect of glycerol equilibration time and thawing rate upon acrosomal maintenance and motility of bull spermatozoa frozen in plastic straws, J. Anim. Sci., 40 : 302, 1975.

The effect of thawing temperature on acrosomal characteristics of bull spermatozoa

Kazuyoshi Hirao and Tatsuhiro Mukai

Lab. of Animal Reproduction, The College of Dairying Ebetsu, Hokkaido, Japan

The effect of thawing temperature on acrosomal characteristics of spermatozoa was studied on frozen semen from three Holstein friesian bulls. Acrosomal abnormalities of the fresh semen and the semen prepared by thawing at different temperatures of 4°C, 15°C, 40°C, 50°C and room temperature, and the abnormalities

caused by storage of semen at 4°C after thawing were examined. The Wells—Awa method was used in the acrosome stain.

The following results were obtained. In the case of the fresh semen, the percentage of the spermatozoa with abnormal acrosome ranged from 8.25 to 11.75%. No significant differences in acrosomal abnormalities were found between individual bulls. On the other hand, the abnormalities acrosome in the semen after thawing were significantly dependent on the thawing temperature ($P < 0.05$). The semen after thawing at 50°C showed the highest percentage of abnormal acrosome (ave. 20.18%), while the semen after thawing at 40°C showed the lowest value (ave. 11.91%). Thus, the thawing temperature of frozen semen is a very important factor for the acrosomal abnormalities. The semen thawed and preserved at 4°C showed the marked increase in the percentage of abnormal acrosome with the time after thawing. There were found highly significant correlation ($P < 0.01$) of acrosomal abnormalities to the viability of spermatozoa ($r = 0.36$) and to the percentage of non-motile spermatozoa ($r = 0.725$).

The Wells—Awa stain method was so easier and quicker than the Giemsa stain method or phase contrast microscopy in the examination of acrosomes of spermatozoa that it may be utilizable method in routine work.

第 21 回
日本不妊学会総会

プログラムならびに講演抄録集

会 期 昭和51年10月28日・29日
会 場 神 戸 文 化 ホ ー ル
会 長 石 神 襄 次

神戸大学泌尿器科学教室

第21回 日本不妊学会総会

会 長 : 神戸大学医学部教授 石 神 襄 次

会 期 : 昭和51年10月28日(木)、29日(金)

会 場 : 神戸文化ホール

神戸市生田区楠町4丁目26番地

TEL (078) 351-3535

第1会場 大ホール

第2会場 中ホール

総懇親会

期 日 : 昭和51年10月28日(木)

会 場 : 相 楽 園

神戸市生田区中山手通5丁目1

TEL (078) 341-1191



役員会(幹事会、理事会、評議員会)

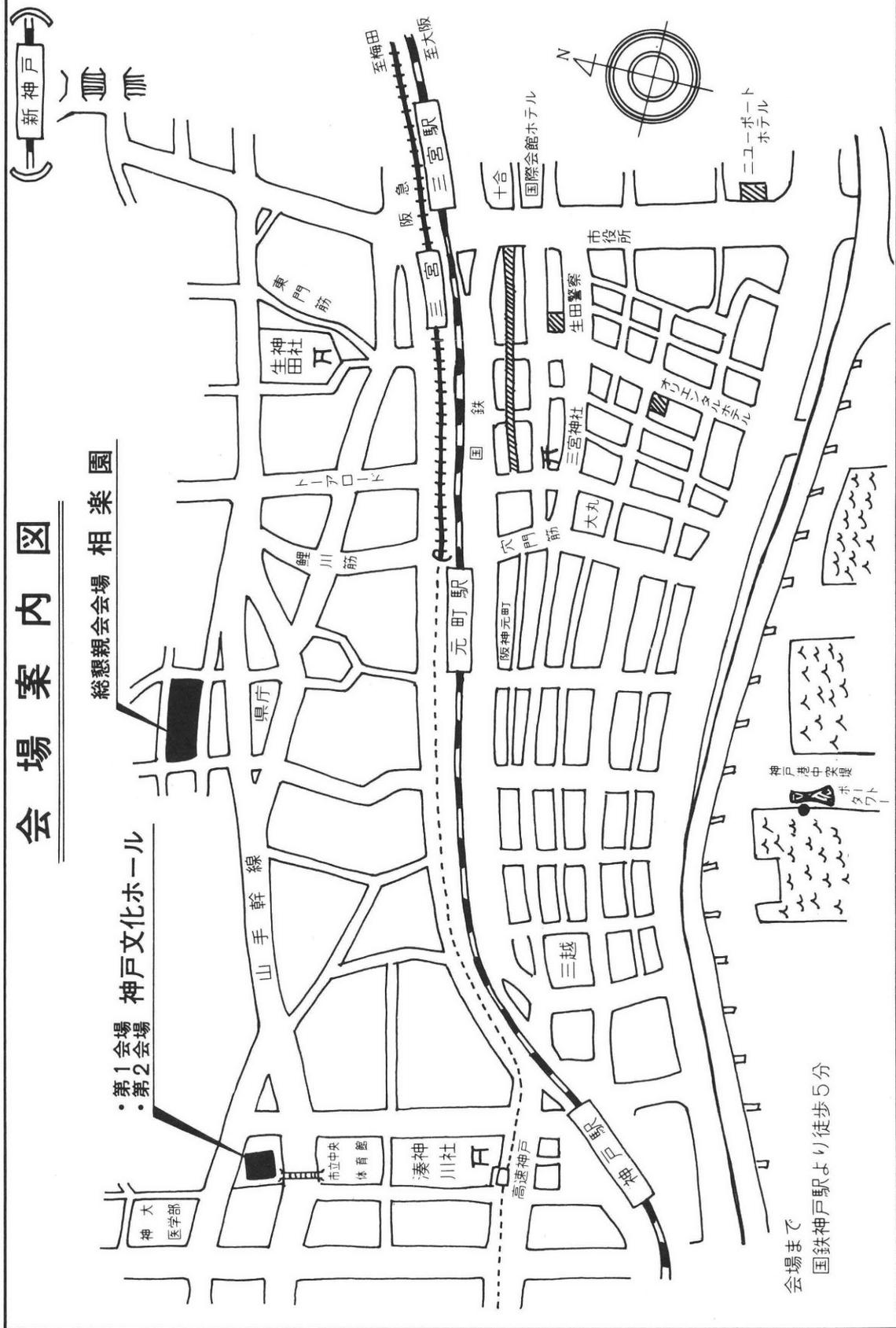
期 日 : 昭和51年10月27日(水)

会 場 : 神戸文化ホール

会場案内図

総懇親会場 相楽園

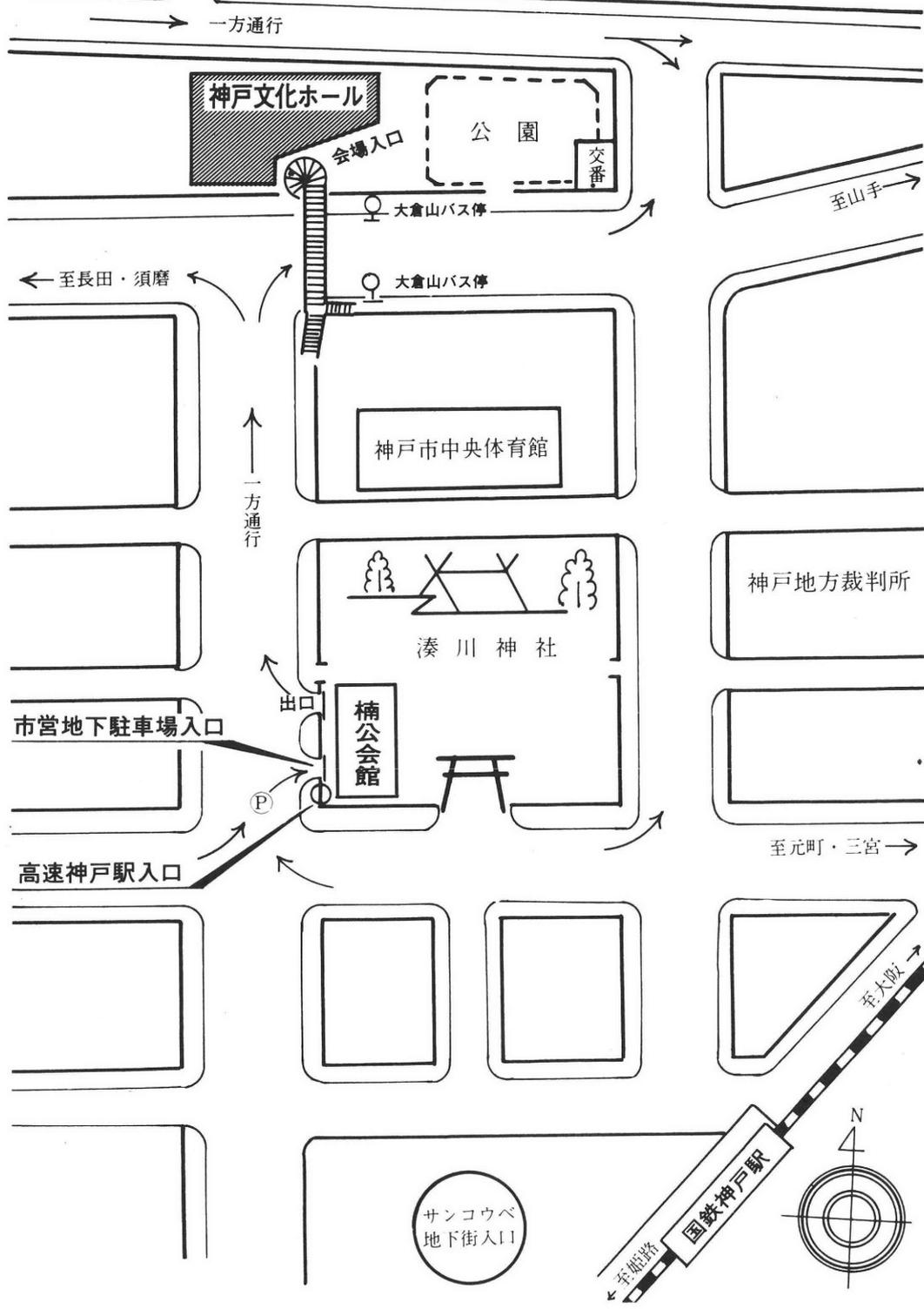
- ・第1会場 神戸文化ホール
- ・第2会場



会場まで
国鉄神戸駅より徒歩5分

会場案内図

神戸大学
医学部



← 至長田・須磨

↑ 一方通行

至山手 →

神戸市中央体育館

湊川神社

神戸地方裁判所

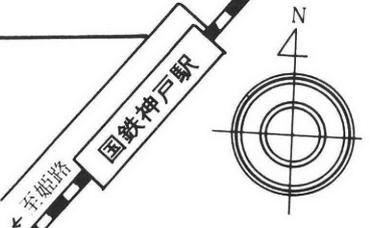
市営地下駐車場入口

楠公会館

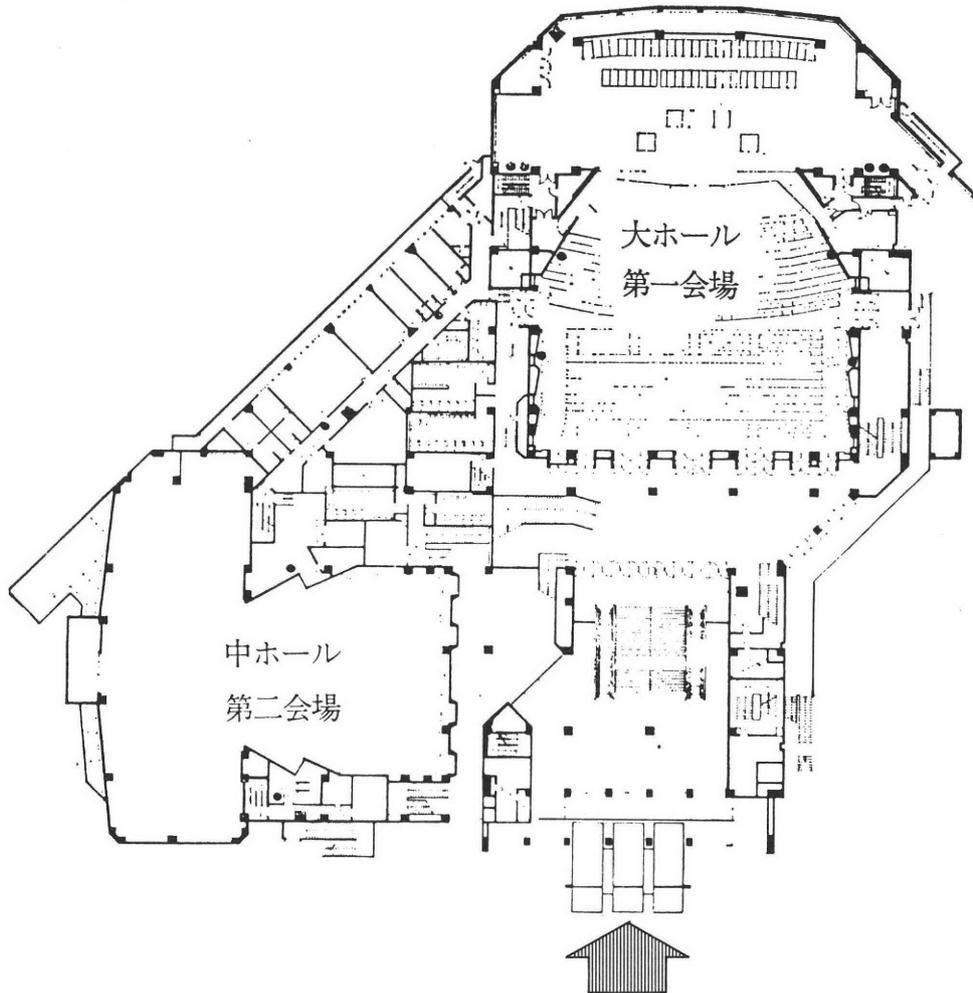
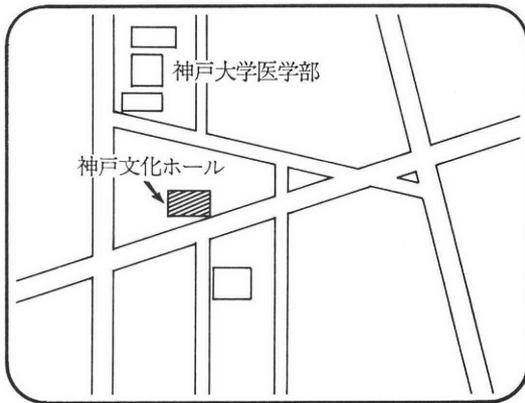
至元町・三宮 →

高速神戸駅入口

サンコウベ
地下街入口



会場案内図(神戸文化ホール)



ご注意とお知らせ

1. 参加者の方に

- (1) 本総会の参加申込みがすんでいない方は受付にて手続きして下さい。参加費は 4,000 円です。
- (2) 会場内では参加章を必ず着用して下さい。
- (3) 総懇親会の受付も会場内で行いますので午前中に申し込んで下さい。
会費は 4,000円です。10月28日（木）の学術講演会終了後会場前より貸切バスにてご案内いたします。午後6時開宴の予定です。

2. 一般演者の方に

- (1) 講演時間は**7分以内**です。終了1分前に青ランプ、終了時に赤ランプでお知らせします。講演時間を厳守して下さい。
- (2) 次演者、次々演者、同群演者は指定された席に着いて下さい。
- (3) 演者は各群の開始**30分前**までに、スライドをスライド受付係に提出して下さい。
- (4) 演者は講演終了後も所定の席にてその群の終了するまで待機して下さい。

3. シンポジウム演者の方に

- (1) 講演時間は各司会者の指示に従って下さい。終了1分前に青ランプ、終了時に赤ランプでお知らせします。
- (2) 演者は当該シンポジウムの間、指定の席に着席して下さい。
- (3) 演者は各群の開始**30分前**までに、スライドをスライド受付係に提出して下さい。

4. スライドについて

- (1) スライド映写機は**2台**用意します。
- (2) 一般講演のスライドは**左右共10枚以内**にお願いします。
- (3) スライドはスライド受付にて各自正確にホルダーに入れ試写し確認して下さい。
- (4) 2台使用の時は左右別を明記して下さい。
- (5) 一方だけ映写し、他方を暗くする時は黒のスライドをならべ、一方だけ続けて同じ画面を映したい時は同じスライドを必要なだけならべ、左右のスライドを常に同時に送れるようにして下さい。

5. 討論者の方に

- (1) 質疑、討論は必ず座長の指示に従い、フロアーに設けたマイクを使用して、所属、氏名を明瞭に告げてから発言して下さい。
- (2) 発言者は所定の用紙に発言要旨（200字以内）を記入し、発言終了後記録係に提出して下さい。
- (3) 時間の関係でご希望にそえない場合には交見室を利用させていただきます。

6. 役員の方に

各役員会を下記の要領にて10月27日（水）午後開催いたします。

なお、詳細は別にご連絡いたします。

- (1) 幹事会：12.30～14.30
- (2) 理事会：14.30～16.30
- (3) 評議員会：16.30～17.30

日 程 表

第 1 日		10月28日(木)	
第 1 会 場		第 2 会 場	
9.30	開 会		
	第 1 群 卵巣とホルモン		第 2 群 遺伝・先天異常
9.35	I (1~5)	9.35	I (15~18)
10.25	II (6~10)	10.15	II (19~23)
11.15	III (11~14)		第 3 群 診察法・検査法・測定法
		11.05	(24~28)
昼 休 み			
12.45	総 会		
13.05	会長講演		
13.25	招請講演		
	第 4 群 睪丸とホルモン		第 8 群 機能性不妊および免疫
13.55	(29~34)	13.55	(52~57)
	第 5 群・第 6 群 (I) 人工授精・保存精液		第 9 群 卵 管
	受精・着床 I	14.55	(58~63)
14.55	(35~38)		第 10 群 子 宮
	第 6 群 受精・着床	15.55	I (64~67)
15.35	II (39~42)	16.35	II (68~72)
16.15	III (43~46)		
	第 7 群 疫学・その他		
16.55	(47~51)		
18.00	総 懇 親 会 (相楽園)		

第 2 日		10月29日(金)	
第 1 会 場		第 2 会 場	
第 11 群 下垂体と性腺刺激ホルモン		第 12 群 避妊と不妊法	
9.15	I (73~79)	9.15	I (90~93)
10.25	II (80~84)	9.55	II (94~96)
11.15	III (85~89)	第 13 群 統 計	
		10.25	I (97~100)
		11.05	II (101~104)
昼 休 み			
第 14 群 流産・早産・外妊		第 15 群 神経内分泌とRH, RIH	
12.55	(105~111)	12.55	(112~116)
		第 16 群 精液・精子・精のう腺・ 精管・副睾丸	
		13.45	I (117~120)
14.05	シンポジウム I 「受精」	14.25	II (121~125)
		15.15	III (126~129)
16.05	シンポジウム II 「ゴナドトロピン治療の 適応と限界」		
18.35	閉 会		

招 請 講 演

10月28日（木）・第一会場・13.25～13.55

The Meaning of the Spermatozoan Enzyme Acrosin to Reproduction

座長 帯広畜産大学 学長 西 川 義 正

ミュンヘン大学・獣医学部 教授

W. Leidl

会 長 講 演

10月28日（木）・第一会場・13.05～13.25

男性不妊—20年の臨床経験—

座長 日本大学名誉教授 澤 崎 千 秋

神戸大学医学部泌尿器科

石 神 襄 次

シンポジウム I

10月29日（金）・第一会場・14.05～16.05

受精—比較生物学的アプローチ—

司会 林 基之（東邦大・産婦）

1. ヒトデ卵の成熟と受精能獲得

金谷 晴夫（東大・海洋研）

2. 魚類の受精について

岩松 鷹司（愛知教大・生物）

3. 哺乳動物卵子の受精

入谷 明（京大・畜産）

追加

1) ヒト卵子の体外受精について

久保 春海（東邦大・産婦）

2) 受精に関与する卵子側因子の2、3の問題点

鈴木 秋悦（慶大・産婦）

3) マウス、ラット卵の生体内および体外受精

豊田 裕（北里大・畜産）

シンポジウムⅡ

10月29日(金)・第一会場・16.05~18.35

ゴナドトロピン療法の適応とその限界

司会 酒 徳 治三郎 (山口大・泌尿)
東 條 伸 平 (神大・産婦)

1. FSHの排卵作用および黄体化作用とその家畜臨床への応用
今 道 友 則 (日獣畜大・生理)
2. 男性不妊に対するゴナドトロピン療法の評価
岩 動 孝一郎 (東大分院・泌尿)
3. 男性不妊治療としてのゴナドトロピンの役割について
谷 風 三 郎 (神大・泌尿)
4. 停留睾丸に対するゴナドトロピン療法
越 戸 克 和 (山口大・泌尿)
5. ゴナドトロピン療法の基礎的諸問題
森 崇 英 (京大・産婦)
6. ゴナドトロピン療法の適応と治療効果
仲 野 良 介 (神大・産婦)
7. ゴナドトロピン療法の副作用とその対策
平 野 睦 男 (東北大・産婦)

一 般 講 演

第 1 日 10月28日 (木) 第 1 会場

午前部

第 1 群 卵巣とホルモン

9.35~10.25 I (演題 1~5)

1. 過排卵ラット卵巣に及ぼす Prostaglandin (PG) の影響 (第一報)

神戸大・産婦人科

北 浦 豊 福 西 秀 信 東 條 伸 平

2. ゴナドトロピンの卵巣エストロゲン分泌に及ぼす影響について

東大・産婦人科

白 杵 愨 桑 原 慶 紀 木 川 源 則
坂 元 正 一

3. Gestagen 投与量による第 I 度無月経の分類と排卵誘発成績との相関

東北大・産婦人科

太 田 憲 道 平 野 睦 男 星 合 昊
羽根田 敦 高 橋 克 幸 鈴 木 雅 洲

4. 黄体機能における estrogen receptor の役割

京府医大・産婦人科

大 野 洋 介 玉 舎 輝 彦 二 岡 清 昇
古 田 典 夫 朴 震 光 岡 田 弘 二

5. 繁殖期・非繁殖期及び妊娠中のニホンザル血中プロゲステロンの動態

京大・霊長類研究所

大 島 清 林 基 治

10.25~11.15 II (演題 6~10)

6. 子宮内膜における progesterone と estriol の協調作用

日本バプテスト病院・産婦人科

ト 部 宏

7. 幼若ラット誘発排卵に対する抗プロゲステロン抗体及び抗エストロン抗体投与の影響

京大・産婦人科

鈴 木 瞭 森 崇 英 北 川 道 夫
藤 田 泰 彦 麻 生 武 志 西 村 敏 雄

帝国臓器薬理研究部

神戸川 明

8. 無月経患者における Dynamic Test 時の尿中・血中ステロイドホルモンの動態について

岡山大学・産婦人科

秋本 暁久	岡崎 裕行	相良 祐輔
宇埜 昭	関場 香	

9. Streak gonad の内分泌学的検討

新潟市民病院・産婦人科

布川 修

新潟大学・産婦人科

小川 弘良	王 正貫	佐藤 芳昭
高橋 威		

10. 多のう胞性卵巣のスクリーニングテストについて

— DXM-HCG 負荷時の血中ステロイドホルモンの動態 —

徳島大学・産婦人科

加藤 秀之	吉崎 健一	堤 康
竹内 悟	高橋 久寿	足立 春雄

11.15~11.55 III (演題11~14)

11. 卵胞の閉鎖過程に関する形態学的検討

立川共済病院・産婦人科

大山 俊雄

慶大・電顕

藤原 達司

慶大・産婦人科

依田 和彦 鈴木 秋悦

12. 人卵胞液の生化学的分析 (第二報)

慶大・産婦人科

小林 善宗 鈴木 秋悦

13. 新しい排卵誘発物質 tamoxifen の臨床応用成績

九大・産婦人科

片桐 英彦	中村 元一	中村 正彦
柴田 千城	倉野 彰比古	永田 行博
楠田 雅彦		

14. 新排卵誘発剤 tamoxifen 投与時の血中ホルモンの動態

九大・産婦人科

倉野 彰比古	片桐 英彦	中村 正彦
中村 元一	柴田 千城	永田 行博
楠田 雅彦		

午後各部

第4群 辜丸とホルモン

13.55~14.55 (演題29~34)

29. 停留辜丸の研究 (第一報)

—実験停留辜丸の組織学的検討—

東京慈恵医大・泌尿器科

谷野 誠 稲葉 善雄 小寺 重行

町田 豊平

東京慈恵医大・第二解剖

曾爾 彊 吉村 不二夫

30. 停留辜丸患者の性的成熟と妊孕性について

千葉大・泌尿器科

片山 喬 相川 英男 柳 重行

島崎 淳

31. 停留辜丸症例における Germinal Epithelium の組織所見の検討

札幌医大・泌尿器科

坂 丈敏 木村 正一 熊本 悦明

32. ヒト精子発生不全辜丸における血液—辜丸関門の電顕的研究

札幌医大・泌尿器科

古屋 聖児 熊本 悦明 三宅 正文

33. 男性不妊症例における内分泌学的検討 (第二報)

—辜丸生検組織所見との関連について—

都立大塚病院・泌尿器科

細井 康男

東大分院・泌尿器科

岩動 孝一郎 阿曾 佳郎

東大・泌尿器科

石田 肇 福谷 恵子 高安 久雄

都立駒込病院・泌尿器科

木下 健二

34. ヒト辜丸組織におけるゴナドトロピンの作用機序に関する免疫組織学的研究 (第II報)

日大・泌尿器科

北島 清彰 岡田 清己 岸本 孝

日大・第1病理

川生 明

第5群 人工授精 および 第6群 受精・着床 I

14.55~15.35 (演題35~38)

35. ラットの人工授精に関する研究

神戸常盤短大

宇賀昭二 青谷幸江 西原三枝子
原佳美

明大・農

友田仁

36. ヒト精液凍結保存法の再検討

慶大・産婦人科

真井徳幸 小林俊文 飯塚理八

37. ラット・マウス未受精卵の凍結保存について

明大・農

友田仁 尾川昭三

日大・農芸化学

名取正彦

38. LN₂長期保存ラット胚の生存性と、発育後の学習能力について

岡大・家畜繁殖

内海恭三 湯原正高 西村和彦

第6群 受精・着床

15.35~16.15 II (演題39~42)

39. 抗精子抗体の受精卵に及ぼす影響について

兵庫医大・産婦人科

宮本敬子 黄清熙 戸田一司
鎌田敏雄 磯島晋三

40. 妊娠子宮組織における妊卵の蛋白合成におよぼす効果

一片側卵管結紮妊娠ラットを実験モデルとして一

東京慈恵医大・産婦人科 (第一講座)

山本育代 木下英夫 篠塚正一
遠藤守 清水新緑 大高東皓
蜂屋祥一

41. 遅延排卵と妊娠

都立墨田病院・産婦人科

野口邦夫

都立府中病院・産婦人科

大塚晴久

東京医歯大・産婦人科

斉藤幹

42. 過排卵処置マウスの胚および胎児の生存率におよぼす Prolactin および HCG の影響

日大・衛生
伊藤 雅 夫
日大・公衆衛生
遠藤 克
日大・家畜生理
佐久間 勇 次

16.15~16.55 III (演題43~46)

43. 家兔脱落膜の Alkaline phosphatase

東邦大・産婦人科
真島 靖 重 林 基 之
東邦大・中検
畑下 敏 行
東邦大・生化
天野 久 夫

44. 家兔胞胚の被膜についての研究 — ムチン層の autoradiograph —

東邦大・産婦人科
野沢 あき子 岩城 章 林 基 之

45. ヒトトロフォブラストの固定ゼラチン膜上での培養の試み

京大・産婦人科
木下 幹 久 富永 敏 朗 曾根 春 男
小笹 宏 西村 敏 雄

46. ヒト未受精卵透明層に関する生理化学的検討

済生会中央病院・産婦人科
井上 正 人
慶大・産婦人科
柏 淵 成 一 鈴木 秋 悦

第7群 疫学その他

16.55~17.45 (演題47~51)

47. ヒト黄体機能に対する Prostaglandin, HCG の影響

日大・産婦人科
村井 一 郎 富田 雅 弘 橋本 正 夫
中沢 終 岡戸 孝 雄 坂内 寿 衛
田 根 培 吉田 孝 雄 高木 繁 夫

48. ヒデルギンによる乳汁分泌性無月経の治療

自治医大・産婦人科

田村 貴 玉田 太朗 丸山 正義

49. 生物学的方法による人子宮頸管粘液中の総プロスタグランディンの測定

都立荏原病院・産婦人科

森本 敬三 内出 洋道

東邦大・産婦人科

平川 舜

東京薬大

竹内 久米司 相沢 義雄

50. 不妊治療における夫側の態度に対する心身医学的解析

市立川崎病院・心療産婦人科

長田 宏 岩渕 庄之助 坂倉 啓一

山本 浩

東京都済生会中央病院・産婦人科

落合 寛 井上 正人 明石 敏男

51. 不妊症に対する針治療の試み

長崎大・産婦人科

森 淳躬 石丸 忠之 河野 前宣

三浦 清巒

東洋医学研究所

谷 美智士

第1日 10月28日(木) 第2会場

午前の分

第2群 遺伝・先天異常

9.35~10.15 I (演題15~18)

15. 男性不妊外来でみられる Klinefelter 症候群について

京大・泌尿器科

小松 洋輔 友吉 唯夫 吉田 修

16. Klinefelter 症候群の体型に関する研究

東邦大・泌尿器科

松本 英亜 中島 孝雄 三浦 一陽
安藤 弘

17. 低ゴナドトロピン性類宦官症における臨床的検討

—特に嗅覚異常について—

金沢大・泌尿器科

勝見 哲郎 田近 栄司 宮崎 公臣
黒田 恭一

18. XX男性の1例

埼玉医大・泌尿器科

内島 豊 駒瀬 元治 岡田 耕市

東京医歯大・泌尿器科

大島 博幸 根岸 壮治 高木 健太郎

10.15~11.05 II (演題19~23)

19. XY-female の5例

国立名古屋病院・産婦人科

戸谷 良造 三輪 是 黒木 尚之
鈴置 洋三

20. Rokitansky-Küster-Hauser 症候群と腹膜利用法による人工造膈術の3例

東邦大・産婦人科

片山 進 真島 靖重 中村 博
野口 昭二 岩城 章

21. 子宮鏡を用いた胎児奇形の多角的検索

藤枝市立志太総合病院・産婦人科

関 守利 橋本 直夫 布施 養慈
田崎 敬事 柴田 直秀 林 基之

22. Clomiphene citrate による排卵誘発後妊卵の細胞遺伝学的研究 (第1報)

北大・産婦人科

田中俊誠	河東寛	三橋裕行
佐藤力	藤本征一郎	

23. 家系的に発生した睾丸女性化症候群の2例

東大・産婦人科

千国宏文	森宏之	水口弘司
木川源則	坂元正一	

第3群 診察法・検査法・測定法

11.05~11.55 (演題24~28)

24. 陰茎温度曲線による器質的インポテンスのスクリーニングの意義

東北大・泌尿器科

石井延久	光川史郎	白井将文
------	------	------

25. 子宮卵管造影法の現況——61大学病院のアンケート調査より

東邦大・産婦人科

江沢健夫	林明坤	林新慶
百瀬和夫		

26. 不妊症における子宮発育不全の診断方法と妊娠率に関する検討

久留米大・産婦人科

下村宏	有馬昭夫	木村征夫
-----	------	------

27. 高感度赤血球凝集反応による尿中LH測定の不妊症診療への応用

長崎大・産婦人科

谷口忠臣	石丸忠之	今村定臣
今道節夫	三浦清巒	

28. 精子不動化試験の標準化について：特にモルモット血清中に含まれる精子毒性因子の検討

兵庫医大・産婦人科

鎌田敏雄	窪田耕三	伊熊健一郎
黄清熙	高節子	磯島晋三

午後の部

第8群 機能性不妊及び免疫

13. 55~14. 55 (演題52~57)

52. 液性ならびに細胞性免疫と流早死産

阪大・産婦人科

若尾豊一	佐治文隆	中室嘉郎
根来孝夫	都竹理	倉智敬一

53. ラットおよびマウスにおける同種精子、精巢および卵巣免疫の生殖におよぼす影響

農林省畜試

角田幸生

米国ウースター研

M. C. Chang

54. 無精子症患者のHLA抗原系について

神戸大・泌尿器科

真弓研介 守殿貞夫 石神襄次

神戸大・第3内科

中尾実信

東海大・血液センター

辻公美

55. 不妊婦人の頸管粘液とその改善策について、殊に妊娠率の検討

富山県立中央病院・産婦人科

舘野政也 大志摩敦朗 舌野徹

朝本明弘 西野隆 林義則

56. 排卵性機能性不妊の内分泌学的一考察

済生会神奈川県病院・産婦人科

福永友明 張延三 郭仁智

仁科進弘 田中清隆

57. いわゆる機能性不妊症に対する Clomiphene-HCG 療法の有効性について

徳島大・産婦人科

松家五朗 増田歳久 乾泰延

三村経夫 高橋久寿 足立春雄

第9群 卵 管

14.55~15.55 (演題58~63)

58. ヒト卵管間膜の微細構造

京大・産婦人科

岡村 均 森川 博史 大島 正義
万井 正章 西村 敏雄

59. ヒト mesotubarium ovarica の収縮性について

京大・産婦人科

森川 博史 岡村 均 万井 正章
西村 敏雄

60. 不妊と子宮内膜症

名大・産婦人科

中西 勉 成田 収 有井 吉太郎
万羽 進 東出 香二 後藤 濬二
後藤 孝 下須賀 洋一

61. 摘出人卵管の field stimulation に対する反応

九大・温研・産婦人科

是永 迪夫 吉田 耕治 松岡 幸一郎
門田 徹

62. 家兔性器組織におけるLDHアイソザイムについて

東邦大・産婦人科

橋本 直夫 伊藤 元博 林 基之

東邦大・生化学

岡田 健 天野 久夫

63. 重症無排卵症に対する Kaufmann 療法時における間脳・下垂体・卵巢系の変化

九大・温研・産婦人科

宇津宮 隆史 立山 浩道 梶原 健伯
山口 省之 門田 徹

第10群 子 宮

15.55~16.35 I (演題64~67)

64. Strassmann 手術法の工夫とその手術経過の検討

慶大・産婦人科

清水 謙一 河上 征治 中村 幸雄
飯塚 理八

65. ステロイド投与による子宮血管系の観察
カネボウサンエス薬品(株)開発部
小川 誠 一
三楽病院・産婦人科
唐沢 陽 介
住友別子病院・産婦人科
鎌田 昌 平
66. 子宮頸管ムチンのレオロジー 第5報：蛋白分解酵素インヒビターについて
聖マリアンナ医大・産婦人科
佐賀 正 彦 浜田 宏
67. CRYO-SCAN による頸管粘液の微細構造の観察 (第1報)
千葉大・産婦人科
前川 岩 夫 高野 昇 大久保 綜 也
高見沢 裕 吉
- 16.35~17.25 II (演題68~72)
68. 脱落膜細胞の形態に関する研究 (第2報)
東海大・産婦人科
塩塚 幸 彦 林 茂 興 林 茂一郎
佐橋 徹 藤井 成 彬 小林 一 夫
69. 機能性不妊婦人の内膜 glycogen と黄体機能に関する研究
熊本大・産婦人科
斉藤 厚 生 松尾 勇 中原 和 彦
前山 昌 男
70. 女性不妊治療法としてのエンドメトリオージスの保存手術成績
大阪医大・産婦人科
杉本 修 植木 実 伊藤 正 尚
土居 莊之介 池田 良 奥田 喜代司
仮野 隆 司 佐野 隆
71. ヒト子宮内膜における Progesterone Receptor の月経周期における変動
大阪医大・産婦人科
渡辺 克 一 植木 実 杉本 修
島根医大・医化学
下山 誠
72. フルオロスコープ下、子宮角部焼灼法の改良点
石川医院
石川 文 夫

第2日 10月29日 (金) 第1会場

午前の部

第11群 下垂体と性腺刺激ホルモン

9.15~10.25 I (演題73~79)

73. 家兔黄体化ホルモン (LH) の radioimmunoassay

慶大・産婦人科

牧野恒久 大野虎之進 飯塚理八

74. LH-RH の analogues による排卵誘発の試み

東京医歯大・産婦人科

矢追良正 熊坂高弘 西望

斉藤幹

チューレン大学・内科

有村章

75. LHRH test 無反応6症例に対する検討

長岡赤十字病院・産婦人科

土田勲

76. FSHと卵巣におけるステロイド産生 (cyclic AMP および protein kinase との関連において)

神戸大・産婦人科

片山和明 赤堀泰一郎 仲野良介

東條伸平

77. “対応式HMG (Human Menopausal Gonadotropin) 投与法” の設定とその背景および効果

北里研究所附属病院・産婦人科

白井英一郎 磯野光志 伊東正昭

78. Clomiphene—HMG—HCG 療法による排卵妊娠成績とその作用機序に関する内分泌学的検討

大阪大・産婦人科

安田基 青野敏博 三宅侃

衣笠隆之 近藤国男 宮崎正敏

倉智敬一

79. Estrogen の gonadotropin Release に対する Feedback Mechanism の解析：下垂体柄切断動物を利用して

自治医大・産婦人科

荒木重雄 小沼誠一 赤堀彰夫

水上尚典 玉田太朗

10.25~11.15 II (演題80~84)

80. 産褥における血中プロラクチン値、FSH値と乳汁分泌について

近大・産婦人科

服部 浩 吉田 威 淵 勲
野田 起一郎

81. 血清 Prolactin が高値を示すにもかかわらず正常月経周期を有する婦人の下垂体前葉機能

千葉大・産婦人科

関 克 義

82. Galactorrhea—amenorrhea 症候群患者のCB—154投与中の血中 Prolactin, LH, FSH の動態

札幌大・産婦人科

田中 昭 一 光部 啓 一 西島 毅
足立 謙 蔵

83. 無～乏精子症夫婦における間脳・下垂体・性腺系機能

日大・産婦人科

柳 沢 洋 二 遠藤 章 夫 新井 建 伯
野村 洋 二 坂田 寿 衛 田 根 培
高木 繁 夫

84. エンドメトリオーグス保存治療としての合成性ステロイド連続および周期投与による下垂体—卵巢系機能

大阪医大・産婦人科

池田 良 奥田 喜代司 佐野 隆
土居 莊之介 植木 実 杉本 修

11.15~12.05 III (演題85~89)

85. 正常排卵周期、特に排卵期における血中 LH, FSH, E
- ₂
- の変動について

横浜市大・産婦人科

植村 次 雄 高口 二 郎 鈴木 直 行
塩 島 令 儀

86. 無排卵婦人のLH—RH test と脳波異常に関する研究(第2報)

鳥大・産婦人科

金田 健 一 吉賀 峻 田頭 稔 弘
沢原 光 信 前田 一 雄

87. 卵胞発育過程におけるLH, FSHと顆粒膜細胞レセプターとの結合

神戸大・産婦人科

赤堀 泰一郎 片山 和 明 仲野 良 介
東 條 伸 平

88. 妊娠マウスにおけるHCGによる排卵誘起

日大・公衆衛生

遠藤 克 栃木 明人 西川 眞八

日大・家畜生理

佐久間 勇次

89. 排卵誘発剤と多胎妊娠(とくに gonadotropin 療法)

京府医大・産婦人科

東山 秀聲 岩崎 武輝 石原 政芳

岡田 弘二

午後部

第14群 流産・早産・外妊

12.55~14.05 (演題105~111)

105. HCG付加による、切迫流産の内分泌学的検討 (HCG-Progesterone を中心として)

大阪医大・産婦人科

假野隆司	神田隆善	奥田喜代司
渡辺克一	伊藤正尚	杉本修

106. きわめて稀な血液型(—D—)による反復せる流死産

大阪大・産婦人科

根来孝夫	中室嘉郎	佐治文隆
若尾豊一	都竹理	倉智敬一

阪大病院・輸血部

山本一恵

107. 流産病態の臨床的検討

新潟大・産婦人科

高橋威	徳永昭輝	岡田久
竹内正七		

108. 基礎体温による排卵期より妊娠初期にかけての血中ホルモン測定 of 初期流産予後判定上の意義

新潟大・産婦人科

王正貫	小川弘良	佐藤芳昭
高橋威	竹内正七	

新潟市民病院・産婦人科

布川修

109. 習慣性流早産患者の妊孕動態

名市大・産婦人科

小池皓弑	水野金一郎	八神喜昭
------	-------	------

110. 切迫流産の膣スメアと尿中hCG値

杏林大・産婦人科

阿部穰	北條泰輔	鈴木正彦
-----	------	------

111. 血中PGおよび尿中PG代謝物とhCGの比較検討による切迫流産の予後判定法について

岩手医大・産婦人科

郭銘宏	伊東邦郎	小山田敬司
鈴木博	小見克夫	川端徳衛
国本恵吉	秦良磨	

第2日 10月29日(金) 第2会場

午前の部

第12群 避妊と不妊法

9.15~9.55 I (演題90~93)

90. 本邦製新IUD-FD-1の臨床的研究

小山市立小山病院・産婦人科

大内 義也 和田 宏之 石浜 淳美

91. 優生リングとCopper T (Cu T) との比較及びIUDの石灰沈着について

東京電力病院・産婦人科

村山 茂 根本 謙 野口 忠夫

92. Rat におけるCu-IUDの作用機序について

東北大・産婦人科

広瀬 洋子 高橋 克幸 太田 憲道
水上 端 平野 睦男 鈴木 雅洲

93. Prostaglandin レベルより検討したIUDの避妊効果と経口避妊薬の副作用について

岩手医大・産婦人科

鈴木 博 郭 銘宏 伊東 邦郎
小山田 敬司 小見 克夫 川端 徳衛
国本 恵吉 秦 良麿

9.55~10.25 II (演題94~96)

94. 経口避妊薬服用中止後における糖および脂質代謝の変動

聖マリアンナ医大・産婦人科

林 方也 神谷 卓 浜田 宏

95. Danazol およびR2323の抗プロゲステロン剤としての可能性について

京府医大・産婦人科

古田 典夫 玉舎 輝彦 二岡 清昇
朴 震光 岡田 弘二

96. 微量のエストロゲンとプロゲステロン投与の卵巣ホルモン分泌に対する影響

東大分院・産婦人科

柳 沼 恣 小林 拓郎

第13群 統計

10.25~11.05 I (演題97~100)

97. 絨毛性腫瘍の緩解後における妊孕力についての検討

長崎大・産婦人科

秦 知 紀	三 浦 清 巒	平 島 直 信
加 瀬 泰 昭	石 丸 忠 之	山 辺 徹

98. Clomiphene 療法とその分娩例について

京府医大・産婦人科

竹 内 博	東 山 秀 聲	浅 井 政 房
玉 舎 輝 彦	木 津 収 二	岡 田 弘 二

99. Clomiphene 投与後の妊娠経過及び新生児について

大阪大・産婦人科

三 宅 侃	青 野 敏 博	宮 崎 正 敏
安 田 基	衣 笠 隆 之	近 藤 国 男
倉 智 敬 一		

100. LH-RH 負荷試験後の妊娠例の検討

東邦大・産婦人科

布 施 養 善	片 山 進	清 水 喜代治
谷 垣 学	林 新 慶	西 田 修 二
平 川 舜	林 基 之	

11.05~11.45 II (演題101~104)

101. 不妊外来開設後約2年間の当教室の不妊統計

奈医大・産婦人科

大 西 泰 彦	久 間 正 幸	野 田 恒 夫
植 田 充 治	辻 弘 達	上 羽 捷 之
西 川 義 雄	山 口 竜 二	

102. 最近六年間の当院不妊症クリニックの現況

向仁会永井病院・産婦人科

永 井 宏	古 賀 詔 子	永 井 泰
-------	---------	-------

103. 不妊外来における臨床統計的観察

伊勢崎病院・産婦人科

竹 中 恒 久	阿 美 邦 栄
---------	---------

群馬大・産婦人科

品 田 孝 夫	横 田 佳 昌	家 坂 利 清
---------	---------	---------

104. 当科不妊外来における原因別考察 (過去5年間)

九大・温研・産婦人科

松岡幸一郎	立山浩道	山口省之
白石裕基	宇津宮隆史	梶原健伯
安達宣武	是永迪夫	吉田耕治
門田徹		

午後の部

第15群 神経内分泌とRH, RIH

12.55~13.45 (演題112~116)

112. In Vitro における TRH の Prolactin 分泌刺激におよぼす Actinomycin D の影響

日大・繁殖

佐藤嘉兵 山本好男

113. 無排卵症患者に対する [Des-Gly-NH₂¹⁰, Pro-ethylamide⁹]-LH-RHの投与効果

群馬大・産婦人科

伊吹令人 竹中恒久 中村淳
五十嵐正雄

114. LH-RH test による Clomiphene 療法及び Gonadotropin 療法の排卵誘発難易度の予測について

横市大・産婦人科

高口二郎 植村次雄 鈴木直行
塩島令儀

115. LH-RH と TRH 連続投与後の血中 LH, estrogen, progestin の動態:とくに黄体初期との関連について

東京医歯大・産婦人科

小山嵩夫 斉藤幹

116. 無月経患者に対する LH-RH, TRH 負荷試験

群馬大・産婦人科

佐藤恒治 江原洋一 重城利国

第16群 精液、精子、精のう腺、精管、副睾丸

13.45~14.25 I (演題117~120)

117. 各種薬剤投与による精漿中遊離アミノ酸の変動

昭和大・泌尿器科

吉田英機 池内隆夫 今村一男

118. 精子尖体酵素アクロシンの精製

東京理科大・薬学

森脇千秋 兼子 智

119. Kremer's sperm penetration Test の新意義について

愛知医大・産婦人科

山田昌夫 中西正義 伊藤祐正

中北武男 野口昌良 渡辺金三郎

120. 精子不動化抗体に関与するヒト精漿抗原の検索

兵庫医大・産婦人科

高節子 鎌田敏雄 伊熊健一郎

窪田耕三 磯島晋三

14.25~15.15 II (演題121~125)

121. 両側精管欠損症の2例

練馬総合病院・泌尿器科

石川博義

122. 男子不妊症の超音波断層法による検討 (第1報) 内性器像の変化について

東北大・泌尿器科

棚橋善克 猪狩大陸 原田一哉

白井将文 石井延久 光川史郎

123. 精索静脈瘤の臨床的研究 (第4報) 精液所見についての検討

藤沢市民病院・泌尿器科

広川信 藤井浩

横市大・病理

松下和彦

朝倉医院

朝倉茂夫

124. 男性不妊症患者精液の粘性に関する研究 (予報)

大阪医大・泌尿器科

高崎登 岡野准 松瀬幸太郎

宮崎重

125. 射精に対する中枢神経系の役割、特にモノアミンとの関連について

東北大・泌尿器科

木村行雄 木崎 徳

東北薬科大・薬品作用

木皿憲佐 只野 武 酒井兼司

15.15~15.55 III (演題126~129)

126. 男子不妊症のG剤・ATP剤・循環ホルモン剤併用療法の成績

鹿児島大・泌尿器科

後藤俊弘 大井好忠 岡元健一郎

127. PMSG 療法を4回試み3児を得た男子不妊症例

聖マリアンナ医大・泌尿器科

長田尚夫 井上武夫

128. HMGによる無精子症、精子減少症の治療

北里研究所附属病院・産婦人科

磯野光志 白井英一郎 小林英子

伊藤正昭

129. Kallikrein による精子無力症の治療

東京医歯大・泌尿器科

根岸壮治 高木健太郎 吉田謙一郎

招 請 講 演

10月28日（木）・第一会場・13.25～13.55

The Meaning of the Spermatozoan Enzyme Acrosin to Reproduction

ミュンヘン大学・獣医学部 教授

W. Leidl

会 長 講 演

10月28日（木）・第一会場・13.05～13.25

男性不妊—20年の臨床経験—

神戸大学医学部泌尿器科

石 神 襄 次

The Meaning of the Spermatozoan Enzyme
Acrosin to Reproduction

University of Muenchen, Germany

W. Leidl and V. Wendt

In the acrosomes of mammalian spermatozoa enzymes are localized, which lead to the solution of the layers of the ovum during the fertilization. One of these enzymes is acrosin, a trypsinlike proteinase (MG 38,000), and it is activated by limited proteolysis of a higher-molecular zymogen (MG 70,000). Probably acrosin is localized on the inner acrosomal membrane and acts on the zona pellucida of the ovum in a very specific way. Above that it leads to a decrease of the viscosity of the cervical mucus and - over generating the kinin-system- to autostimulation of the sperm motility. The activity of the proteinase is controlled temporary and locally by naturally occurring trypsin (acrosin)-inhibitors, which can be found in the male and female genital tract.

The method most preferred for quantitative determination of acrosin in a single ejaculate is the acid-extraction of the acrosomes. The histochemical enzyme-proof in a single sperm cell can be achieved with the gelatin-substrate-film-method. The seizable enzyme activities of both methods are dependent on the condition of the acrosomal membranes and on zymogen-activation-processes. The respective activities from biochemical and histochemical determinations ($\text{mU}/10^8$ spermatozoa: μm^2 area of lysis/spermatozoa) correlate ($r = + 0.83$) up to a certain degree with the membrane lesion.

Acrosin determinations concerning clinical-andrological statements of the problem resulted in clear correlations between the histochemical and biochemical enzyme activity and --

- storage temperature and dilution medium of bull semen
- ejaculation frequency of bulls
- thawing methods of deep frozen bull semen
- acrosome damage during the deep freezing of boar semen
- maturation period of sperm in the female genital tract in-vivo or in genital secretions in-vitro
- quantity and quality of trypsin (acrosin)-inhibitors.

Acrosin and its prestages are important key enzymes of fertilization. The enzyme activity is correlated to physiological and degenerative acrosome alterations and therefore is a valuable furthermore parameter in andrological diagnosis.

This work was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (Le 105/14).

男性不妊—20年の臨床経験—

神戸大学医学部泌尿器科

石 神 襄 次

男性に起因する不妊の臨床的検索を系統的に実施して以来20年を経過した。その間、経験した症例について、集計しえた臨床検査結果、治療、予後などについて概述する。

過去20年間に、不妊を主訴として来院した患者の総数は4,017例であり、その間の本泌尿器科外来患者総数32,097例の12.5%である。そのうち、各種検索により男性側に明らかな不妊因子を認めえたものは3,305例で、不妊外来患者の82.2%である。初診時の患者の年齢は大部分30~35歳であるが、近時若年化の傾向がみられ、この点は、結婚後、初診迄の期間についても言いうる。精液所見では、無精子症がもっとも多く33.4%、次いで精子数 15×10^6 /ml以下の高度の乏精子症28.2%、と両者合わせて61.6%を占め、本症の治療の困難さを物語っている。無精子症中両側精管の通過障害によるものは210例で無精子症中の15.6%である。睾丸生検を施行した1,230例中では、性細胞欠如例が523例(42%)で精液所見同様予後不良の多いことを推察しうる。精の造影では、演者が15年来主張せるとく、主管の発達は見られるが、憩室の分岐の少い、2型が多く、本症と内分泌学的変化とのなんらかの関連があることを想像せしめる。病因としては、造精機転障害によるものが圧倒的に多く89.7%をしめ、次いで通過障害、副性器障害で、機能不全によるものは1.0%と予想外に少い。病因となり得る基礎疾患として明らかにしえたものでは、精索静脈瘤、停留睾丸、放射線障害、耳下腺炎性睾丸炎、両側副睾丸炎などがあるが、先天性の両側精管欠如46例、精管結紮後再開通希望の32例のあることが注目されよう。本症患者に対し、最近では可能な限り、臨床免疫学的、内分泌学的検索を施行しており、そのうち、HLA型において、特異のtypeが有意の差で多いことが明らかになりつつある。予後としては、約半数に各種の治療を試み、治療例の10.3% (158例) に妊娠の成立をみている。なおこの数は決して満足すべき結果とは言いえない。しかし、少なくとも、男性に起因する不妊症例のうちには、治療によって妊娠成立に導きうるものもあることを証しており、今後の本症の病因解明にも一沫の希望をもたらしめるものである。

シンポジウム I (S-I)

受精—比較生物学的

アプローチ

シンポジウム II (S-II)

ゴナドトロピン療法の

適応とその限界

S-I

1

ヒトデ卵の成熟と受精能獲得

東京大学海洋研究所

金 谷 晴 夫

S-I

2

魚卵の受精について

愛知教育大学・生物教室

岩 松 鷹 司

棘皮動物のヒトデでは排卵直前に卵巣内の卵（第1成熟分裂前期で休止している）が成熟分裂を再開し、海水中に産みだされた卵は卵核胞を消失しており受精可能な状態にある。

ヒトデの卵巣や卵は海水中に取りだして実験することが容易であるので排卵、卵成熟、受精などの研究にとって好材料である。

ヒトデ卵の成熟や排卵は神経系から分泌されるペプチドホルモン（生殖巣刺激物質）の支配下にある。神経から体腔内に分泌されたこのホルモンは卵巣内に入り、卵を囲む濾胞細胞に作用して、ここで第2次のホルモンである卵成熟誘起物質を生成、分泌させる。この物質は1-メチルアデニン（1-MA）である。1-MAは未成熟卵の表面に作用し、卵成熟を誘起するが、卵や精子の生殖孔からの放出もまたこの物質の作用によっておこる。

媒精によって正常な受精がおこるのは卵核胞が崩壊してからであり、それ以前に媒精しても卵は受精膜を形成することが出来ず、受精は成立しない。しかし、卵核胞の崩壊自身は卵の受精能獲得の原因ではなく、あらかじめ卵核胞を除去しておいた未成熟卵でも1-MAで処理すると媒精によって受精膜を形成するようになる。したがって、1-MA作用の1つとして卵の受精能獲得があげられる。

卵成熟に際して1-MAは卵表に働き、卵表層で第3次物質を生成させ、これが卵核胞を崩壊させることが、1-MA処理卵の細胞質を未成熟卵に微小注射することによって明らかにされた。1-MAの作用機構として卵表層蛋白のSH化が考えられるが、SH化剤であるジチオスレートールやBALによっても卵の成熟が誘起され、成熟した卵は媒精によって受精し、発生する。一方、SH阻害剤であるPCMB、沃度アセトアシド、N-エチルマレイミドなどは1-MAによる卵成熟を阻害する。

淡水産硬骨魚メダカにおいて、精子と接した卵に最初におきる反応（受精波誘起）については、現在殆ど知られていないが、可視的表層変化の過程について判ったので、精子の侵入過程と合わせて報告する。

魚の成熟卵は、受精前にすでに構造的にしっかりした卵膜をもっており、精子は卵内にはその卵膜にある卵門を通して侵入するしかない。精子の刺激を受けた卵は、表層変化（表層胞内容物の囲卵腔への放出、それに続く卵表と表層胞膜の収縮）および卵膜の僅かな薄膜化と硬化を示す。卵黄を多くもつ魚卵において、細胞質は表層部に薄く分布して、表層変化の後を追うように動物極へ向けて収縮反応を示しながら動物極に集積する。卵門を通過して、卵表に接した精子がいかに卵内に侵入するかについては、系統発生的な観点から興味あるところである。

人工媒精による精子の侵入開始時間は5秒以内である。その時点では、先体をもたない精子の原形質膜は卵原形質膜と接着しているが、まだ互に融合をおこなっていない。1分以内に、精子は卵表で抱き込まれるようにして卵表層部にかなり深く飲み込まれる。それとほぼ時を同じくして、卵と精子の両原形質膜は精子頭部で部分的に融合を示す。次いで、媒精後3分以内に、精子頭部は核膜の胞状化による消失と共にクロマチンの拡散がおき、雄性前核の形成が始まる。受精の最終段階である雌雄両前核の会合がおきるのは blastodisc の中心部で、媒精後45分前後である。

京大・畜産
入谷 明

哺乳動物卵子の受精については、研究の進展とともに分野も多岐にわたり、研究者の数も著しく増加している。生体内における時間的経過にともなう受精の初期像に関する研究成果は、AustinやChang(1951)による受精能獲得現象の発見によってよりの確に認識されるようになった。すなわち受精初期の両配偶子の形態的变化に加えて生理学的ならびに生化学的变化の実態が明らかにされ、さらに生体内および体外受精での配偶子のおかれる環境条件なども明らかにされてきた。マウス、ラット、ハムスター、兎などの実験動物では、比較的多数の卵子を容易にえられることもあって体内および体外における受精能の獲得や受精の生化学的機構に関する研究も急速に進展した。一方めん羊、山羊、豚、牛ならびに人を含めた霊長類では生体内、体外をとわず受精初期の実態は十分明らかにされていない。

こゝでは1970年以降の比較的最近の研究を概観し、大動物を中心に受精の初期像に関する成績を紹介する。実験動物では過去数年間に人工培地での精子の受精能獲得および体外受精、体外培養卵胞卵の受精、ハムスター、マウス、モルモット精子の先体反応、先体酵素の生化学的研究、精子被覆抗原に関する研究などのすぐれた成果がえられている。しかし体外受精卵のその後の発育に課題が残されている。家畜では受精卵移植の著しい発展にもかかわらず、受精の初期像や精子のcapacitationについては、豚でかなり明確な報告がみられる以外は、牛、めん羊、山羊などでは知見が乏しい。また人や霊長類卵子の受精は1960年以降に活発な研究がみられ、大部分の実験は体外で成熟させた卵胞卵の体外またはサル卵管内での受精による方式である。またこれらの種では精子の準備(capacitation)や、家畜の場合を含めて受精初期の卵黄質内での精子の確認などに課題を残している。

東邦大学産婦人科
久保 春海

近年、生殖生理学の分野の中でも哺乳動物卵の体外受精に関する研究は著しい進歩をとげた。ヒト卵についてもRock & Menkin(1944)の研究以来、多数の報告がなされるようになってきた。しかし、これらの成果を直接に臨床的応用に結びつけ、不妊症治療にあたるためには未だ幾多の課題が残されている。その問題点となるものを2,3列記してみると、次のごとくである：

1. 排卵直前の成熟卵もしくは体外培養によつて成熟可能な卵をDonorたる患者より最小限の侵襲でもつて、いかに容易に採取し得るか。

2. いわゆるCapacitationをin vitroでいかにして生じさせるか、またわ in VitroでのCapacitationしたヒト精子の容易な回収方法はどのようにするか。

3. 体外培養という異常条件下において、減数分裂期および受精卵初期発生課程での染色体異常発生の問題。

4. 体外受精卵をいかに容易に同一個体に再移植するか。そしてこの際体外受精卵と移植される子宮内膜のSynchronizationをどのようにするか。

当教室における体外受精の研究は不妊症治療(特に両側卵管閉塞症など)の意味を含めて始まったものであるが、人工的個体発生の問題についてテクニカルな面が近い将来にすべて解決され、いわゆる試験管ベビー誕生の可能性が大となつたとしても、法律的、宗教的な問題がなお残されるであろうことは言うに及ばない。

本シンポジウムにおいては前記の諸問題に関する若干の知見について報告する。

S-I 追加2 受精に関与する卵子側因子の2・3の問題点

慶大・産婦
鈴木秋悦、井上正人

受精の機序に関する詳細は、未だ明らかにされていないが、最近、精子頭部の諸酵素が同定され、Capacitation現象との関連で注目を浴び、受精現象解明への生化学的アプローチがなされてきている。従来の生殖生物学では、受精時に主導的役割を果しているのは精子側であり、卵子側は受動的な意味で、その関与が理解されてきたが、われわれは、精子のCapacitation現象も卵子側因子との相対的関連のもとで、初めて生物現象として成立するものと理解し、受精に関与する卵子側因子に関する若干の研究を行ってきた。しかし、現段階では、未だ結論的な成果は得られていないが、本シンポジウムでは、以下の諸点に触れ、卵子側因子の問題を提起して、その責を果したいと思う。

1. 卵胞液の生化学的組成と卵子の成熟分裂ならびに受精との関連。
2. 顆粒膜細胞とくに卵丘(cumulus oophorus)の役割。
3. 受精前後における透明層(zona pellucida)の動態、とくにsperm binding property。
4. 卵管環境の関与。
5. 卵子の受精能。

S-I 追加3 マウス・ラット卵の生体内および体外受精

北里大学畜産学部
豊田 裕

マウスおよびラットの受精現象は、哺乳動物の発生学、遺伝学および生理学のそれぞれの立場から注目され、近年活発に研究されるようになってきた。とくに、体外受精技術の確立に負う所が大きい。ここでは最近の体外受精研究によつて得られた知見を生体内での現象と対比させて考察する。

1. 精子の受精能獲得、ラットでは雌性生殖道における精子の受精能獲得現象が明瞭に観察される。すなわち、交尾雌の子宮から回収された精子は精巢上体尾部から採取された精子に比較して速やかに卵へ侵入する。マウスにおける同様な実験は、卵への精子侵入に要する時間が短いために明確な結論を導くには至らないが、体外受精によつて、いずれの動物種においても受精能獲得現象の存在が証明された。
2. 卵の成熟と受精能、LHサージから排卵に至る間に卵の第1成熟分裂が起る。成熟途上の卵胞卵の体外受精から、卵の受精能は成熟分裂の進行に伴つて現われることが知られた。
3. 卵の受精能保有時間、生体内では排卵後12時間を過ぎると受精率は低下し、異常受精の頻度が増加する。一方、体外受精の条件下では排卵後20時間(ラット)、または32時間(マウス)を経ても卵への精子侵入が起る。ただし、正常な受精卵の割合は生体内と同様である。
4. 多精拒否、生体内では受精の場である卵管膨大部に達する精子数が大巾に制限され、これが多精拒否の主要機構となつているが、卵自体も多精拒否機能を有することが侵入精子数の分布から推定されている。同様の結論は体外受精の実験からも導かれる。

S-Ⅱ

1 FSHの排卵作用および黄体化作用とその家畜臨床への応用

日本獣医畜産大学 生理学教室
今道友則

Fevoldら(1931)の報告以来、下垂体GTHには卵胞を发育さすFSHと排卵・黄体化を起すLHとが存在するとの作業仮設のもとに抽出精製と生物学的作用の研究が進められてきたが、FSHについては、如何に精製が進められても卵胞发育作用のみを有して黄体化作用を持たないという作業仮設に一致するものが得られなかった。

一方、著者は1957年、FSHが排卵作用をもつことを見出し、その後、各種のGTHと広範かつ詳細な比較研究を行った結果、FSH標品はその純度にかかわらず、下垂体摘出幼若ラットに卵胞を发育さす最少有効量(MED)とほぼ同等量(1~2MED)の投与で成熟ラットに排卵を誘起させ、8MEDで垂摘幼若ラットの卵胞を黄体化さすことを明らかにした。例えば、Woods(1961)の精製した極めて高力価のsheep FSH(MED 2.5 μ g)では、4 μ g(1.6MED)で排卵を誘起するが、ほぼ純粋なArmour Standard sheep LHでは、同等の排卵反応を得るには倍量の7.8 μ gを必要とすることからみても、FSHの排卵・黄体化作用は混在するLHによるものでなく本来の性質といえる。

そこで、従来LH不足による疾患とされていた家畜の排卵障害ならびに卵胞嚢腫に、FSHの排卵・黄体化作用を応用する治療試験を行い、卵胞发育障害の治療量よりも少量のFSH投与で良好な成績が得られた。著者の考案したラット排卵単位(R. Ov. U.)の約150~300倍量のGTHの静注で牛の卵胞嚢腫を治療し得ることが知られているので、1 Armour Unit = 15 R. Ov. U. の豚FSHを用いて150 R. Ov. U. を中心に投与した。排卵障害：牛では150 R. Ov. U. (10A. U.)の静注で15~22時間内に $18/22$ (81.8%)に排卵が誘起され、その18頭中16頭(88.9%)が妊娠した。馬では同量~倍量の筋注で牛と同様に良好な成績が得られた。卵胞嚢腫：排卵障害に有効な量の倍量(300 R. Ov. U.)の投与を必要とし、嚢腫は大部分が黄体化する治療経過をたどり、次回の発情時に交配することによって、70~80%の動物が妊娠した。これらの投与量は家畜の卵胞发育障害の治療量(50~100A. U. 750~1500 R. Ov. U.)よりも却って少量である。

S-Ⅱ

2 男性不妊に対するゴナドトロピン療法の評価

東京大学分院泌尿器科
岩動孝一郎

東京大学泌尿器科および東大分院泌尿器科において男性不妊症例を対象に施行したゴナドトロピン療法の適応と効果およびその限界についての考察を述べる。

1. 治療法の適応：造精機能障害による男性不妊患者に対しゴナドトロピン療法を行う場合の基準として、無精子症などの高度障害で血中FSHの上昇を伴っているような場合は不適当と考えている。それは間脳-下垂体系の自己調節により内因性のゴナドトロピンを十分分泌し得る機構が完全であり、外部からのゴナドトロピンの投与はあまり効果がないと思われる。したがって我々はゴナドトロピンの上昇がなく、精子濃度1000万/ μ cc以上の乏精子症例を中心に本療法を行った。閉塞性の無精子症例は勿論対象から除外した。
 2. ゴナドトロピン製剤の種類：PMS、hCGおよびhMGの三者が利用可能であるが、我々はこれまで過去にはPMS、現在はhCG(主として3000単位週2回または5000単位週1回)を使用している。今後はhMGの応用を考えている。
 3. 使用期間：男子睾丸における造精機能の完成には数ヶ月を要するといわれる。したがって造精障害の程度、あるいはゴナドトロピンの作用機転等によって効果発現までの時期が影響されるが、一応3ヶ月以上、一年程度は継続する必要があると考えている。
 4. 効果：多数例および長期間の観察では男性不妊症に対するゴナドトロピンの効果は症例によって様ではなく、また必ずしも良好ではない。PMS、hCGともに効果をあらわすものは比較的早期に精子濃度の増加をみるが、更に継続すると逆に低下の傾向を示すことが多い。PMSを3ヶ月以上使用した場合はほとんど例外なく抗PMS抗体価が上昇し、それ以上の継続は困難となる。またhCGの長期使用によっても一旦上昇した精子数が低下し、無精子症となる場合も経験された。
- この場合hCGの長期使用により内因性のFSHの抑制がおこっていることが見出し、このことが造精機能の低下と関係があるものと考えられる。今後本療法の対象、使用薬剤および使用期間等に十分配慮すればある程度の効果は得られるようになると思われる。

S-Ⅱ

3 男性不妊治療としてのゴナドトロピンの役割について

神戸大学医学部泌尿器科学教室
谷 風 三 郎

男性不妊、特に精子形成障害に対する一般的な治療としては、代謝改善剤 (Adenosin, Arginine, Glutamine 等)、血管拡張剤 (Kallikrein 等)、ビタミン剤 (Vit. B₁₂, Vit. E)、ホルモン剤 (Testosterone, Gonadotropin, Triiodothyronin 等) 等があり、我々はそれぞれの治療効果を報告してきたが、今回ゴナドトロピン治療及びそれに準ずるものとして Clomiphene citrate による治療についてその臨床効果と合わせて、組織学的、内分泌学的に検索した。

我々の不妊外来を訪れた男性不妊患者のうち、精路通過障害、副性器障害などを除いた、いわゆる特発性男性不妊と診断された、無精子症及び乏精子症を対象とし、HCG, HCG+HMG, Clomiphene citrate の3群につき、睾丸組織像と治療効果を、又後2者に対して更に内分泌学的に検索をすすめた。治療効果については、各群ともあまり良好とはいえない結果で、これら男性不妊に対するホルモン治療の困難さを示している。又内分泌学的には、今回の対象症例ではゴナドトロピン値の basal level は正常～やや高値を呈し、これらのゴナドトロピン治療は Replacement としての意味は少なく、むしろ over dosis の状態での精細管の反応性ということになろう。治療効果が乏しいということは今後、更にゴナドトロピン治療に加えて、その補助的な治療に関する検討が必要であると思われる。

S-Ⅱ

4 停留睾丸に対するゴナドトロピン療法

山 口 大 学 泌 尿 器 科
越 戸 克 和

停留睾丸の発生機序については未だ不明な点が多く確定したものはない。しかしながらいずれにせよ5～6才までに睾丸を正常位置に下降させなければならぬのは周知の事実である。

現在まで手術療法とホルモン療法が行われてきたが、男性ホルモンを使用するホルモン療法については効果および副作用の点から疑問視する意見が強く、現在では手術療法が多く行われている。

停留睾丸の大半は生後早期に自然下降し、これは残存しているHCGの作用によると考えられ、この点に着目してHCGの短期大量療法について数例の報告がある。

演者らは1～2才までの男児について

HCG 5000 単位隔日3回投与を行い下記の項目について検索した。

- | | |
|------------------|-----------------|
| 1) 身長および体重 | 2) 血清NaおよびK |
| 3) 骨 年 令 | 4) 血清LH |
| 5) 血清FSH | 6) 血清テストステロン |
| 7) 手術所見(下降しない症例) | 8) 組織変化 |
| 9) 体毛変化 | 10) 陰茎および睾丸の大きさ |
| 11) ヘルニオグラフィーの変化 | |

併せて両親の年齢、妊娠中の投薬の有無、遺伝関係についても検索し以下の点が判明した。

HCG 5000 単位3回投与では

- 1) 下降率は20% 前後であり積極的に推奨すべき治療法とは云い難い。
- 2) 副作用として陰茎の増大が認められるが大したものでなく、その他重篤な副作用は認められない。

S-Ⅱ

5 ギナドトロピン療法の基礎的諸問題

京都大学医学部婦人科学産科学教室
 (主任 西村 敏雄 教授)
 森 崇英

無排卵症に対するギナドトロピン療法は、排卵誘発法としての特異性が高いだけに、確実な効果を期待するにはその適応と限界を充分知っておくことが必要であろう。

ところがこれら適応や限界の設定は必ずしも容易でなく、確立した基準があるというよりむしろ試行錯誤的に決められているのが現状であろう。

このことはギナドトロピン治療が卵巣の生殖生理の基本的諸問題と深くかかわり合っていることから当然であろう。

卵巣は性ステロイド生合成と、卵形成から排卵という2つの基本的な機能を営んでおり、ギナドトロピンはこれらの両機能の発現に決定的な役割りを果している。今回演者はギナドトロピン治療の基礎的検討資料に供するため、卵巣のもっている2つの機能に関するこれまでの演者らの検討成績を御紹介し、ギナドトロピンの意義について考察を加え、諸賢の御教示を仰ぐ次第である。

卵胞の性ステロイド生合成機能は、卵胞の発育、成熟、排卵ならびに閉鎖過程によって著しく変動しているであろうことが予想されるが、その実態は殆んど明らかにされていない。演者らは卵胞における性ステロイド生合成の様相を、卵胞の組織構造と対比しながら質的、量的に分析するとともに、ギナドトロピンとくにLHのもつ意義を、急性効果と遅発効果との二重効果として把えてみた。

他方ギナドトロピンが卵胞の発育、排卵ならびに閉鎖過程の形態発現にどのような意義をもっているかを検討するため、HMGおよびhCG投与下におけるヒト卵巣の形態変化を観察し、それぞれのギナドトロピンに特有の形態像が誘導されることを明らかにするとともに、無排卵症卵巣における卵胞の発育、閉鎖の実態を把え、ギナドトロピン治療の適応決定の一指標を得ることを試みた。

S-Ⅱ

6 ギナドトロピン療法の
適応と治療効果

神戸大学医学部産科婦人科学教室
 (主任：東條伸平教授)
 仲野良介

無排卵症に対するギナドトロピン療法の適応は、まず、下垂体性無排卵症であり、ついで一部の卵巣性無排卵症と難治性の視床下部性無排卵症があげられる。しかしながら、ギナドトロピン療法を行うにあたっては、画一的な投与スケジュールに固執することなく、個々の症例について充分な病態分析を行い、その症例に応じたギナドトロピン療法を行うことが最も重要な問題と考えられる。

このような観点から、個々の症例について、ホルモン測定、内分泌学的負荷試験、卵巣生検など種々の検査を施行して病態分析を行い、ギナドトロピン療法の個別化に資するように心がけている。これまでの検討の結果では、ギナドトロピン療法の治療効果を左右する最も大きな要因は卵巣の組織学的所見、特に卵胞要素の発育の状態と、外因性ギナドトロピンに対する卵巣の反応性の二つであり、卵巣生検とギナドトロピン(HMG-HCG)試験の成績と治療効果との関係を中心に私どもの臨床成績を紹介したい。

従来、ギナドトロピン療法の個別化という問題は、主として投与する外因性ギナドトロピンの quantitative individualization の問題を中心として論ぜられて来たが、投与するギナドトロピンの FSH/LH 比などの qualitative individualization の問題も治療効果を考える上での大きな課題であろうと思われる。FSH/LH 比を中心としたギナドトロピン療法の質的個別化の問題に関する私どもの方針と治療成績についても言及したい。

以上、「ギナドトロピン療法の適応と治療効果」というテーマについて、私どもの研究成績を報告し、あわせてその生殖内分泌学的意義について考察を加えたい。

S—II

7 ゴナドトロピン療法の副作用とその対策

東北大学医学部産科婦人科学教室
平野 睦 男

HMGが本邦で使用されはじめてから10年になるが、卵胞成熟作用が強力で、しかもPMSのような抗体産生がないため、重症な無排卵症にもとづく不妊婦人にとっては、大きな福音となってきた。しかし、HMGにより卵巣腫大やMeigs症候群のような重篤な副作用が惹起していることから、当初よりHMGの適応や投与方法について、とくに細心の注意が喚起されていた。一方、本剤によって過排卵がおこり、多胎妊娠の成立する可能性の高いことも当初から指摘されてはいたが、本邦におけるHMG使用にもとづく品胎以上の多胎妊娠の報告例がすくなかったことなどから、HMGによる多胎妊娠は現実にはしばしばは起り難いこととして、むしろ卵巣腫大やMeigs症候群ほどには問題視されていなかったのが実情のように思われる。しかし、本邦ではじめてHMGによる五ツ子が誕生して以来、本剤の使用について医学的のみならず、社会的にも大きな関心をよぶに至った。

そこで、まず現実HMGがどのように使用され、どのような副作用があり、どのような対策がとられて来たかについて、全国の大学およびHMG使用病院を対象として、アンケート調査をおこない、また当教室におけるHMGの副作用発生の実情についても検討をおこなった。われわれの副作用発現例は、他の療法では排卵誘発の困難な、無排卵周期症や第1度無月経に多い傾向がみられた。従って、HMGを使用するに当っては、卵巣の感受性を適格に判断して、慎重な投与方法をおこなうことが大切ではあるが、排卵誘発と卵巣過剰刺激とは表裏の関係にある。まだ不明な点の多いヒト排卵機序についてさらに詳しい検討を加え、多胎妊娠動物とヒトの排卵機序の本質的な相違を解明しなければ、HMGによる副作用防止は困難な現状にあるものと考えられる。

— 般 講 演

1 過排卵ラット卵巣に及ぼす Prostaglandinの影響 (第一報)

神戸大学産科婦人科学教室
北 浦 豊 福 西 秀 信
東 條 伸 平

我々は黄体を内包する「ヒト子宮・卵管・卵巣ユニット」の灌流を行い、これに及ぼすProstaglandin(PG)の影響とその後のhuman Chorionic Gonadotropin(hCG)によるluteo-tropic effectについて検討を加えてきたが、PGF_{2α}の黄体に及ぼす効果は種属差が著しいことから、今回は、ラットにおけるPGF_{2α}の影響をProgesterone(Prog), 20α hydroxy-4-pregnen-3-one(20α Prog.)の動態から検討を加えてみた。

生後21日のWistar系雌ラット(体重50g)にPMS50 μ Uを背部皮下に注射しその56時間後にhCG30IU μ Uを同じく背部皮下に注射し過排卵を起した。hCG投与9日目にPGF_{2α}を1匹当り0.1 μ g, 1.0 μ g, 10 μ gの量をそれぞれ背部皮下に投与し、24時間後に断頭屠殺した。血液の採取と卵巣の摘出を行い、その卵巣をスライスし37°C, O₂95%・CO₂5%の条件下でTCM199をmediumとして30分間preincubationを行った。その後、スライスを2つにわけ、一方はhCG10IU μ Uを含むmediumで、他方はそのコントロールとしてincubationを行った。

血清及びmedium中のProg., 20αProg.をRadio-immunoassayにて測定した。

卵巣重量はコントロールとPGF_{2α}投与群に著差を認めなかった。

血清中のProg.濃度はPGF_{2α}の投与量の多い場合に明らかな減少がみられた。

また20αProg.については本実験でのPGF_{2α}投与量では目下の所著変は見られなかった。

medium中のProg.はhCG添加によりPGF_{2α}のいずれの投与量の群についても、コントロールに比べて増加がみられた。

これらの事より、本実験における投与量のPGF_{2α}のin vivo投与では、24時間後に血清Prog.の減少が見られたものの、その影響はhCGにより可逆的であった。

2 ゴナドトロピンの卵巣エストロゲン分泌に及ぼす 影響について

東京大学医学部産婦人科学教室
白 杵 祐・桑原慶紀・木川源則・坂元正一

目的：排卵前に於ける卵巣のエストロゲン産生調節機構については不明の点が多い。我々は、ゴナドトロピン及びCyclic AMPがこれらにどのような影響を与えるか検討すべく以下の実験を行なつた。

材料・方法：Wistar-Imamichi系雌ラットを用い、生後26日乃至27日にPMS75I.U.皮下投与し、24時間及び48時間後に卵巣を摘出し、in vitroでincubation及びperifusionし、FSH, LH及びProlactin(ovine, NIH), PGE₂, PGF_{2α}, ACTH, HCG及びDibutyryl cyclic AMPを添加し、Medium内のE₁, E₂及び組織内のcyclic AMPをR.I.A.で測定した。

結果：1) cyclic AMPはLH, FSHでdosedependentに上昇し、特にLHで顕著に上昇した。一方PGE₂ではcyclic AMPは上昇傾向を示さなかつた。

2) incubation実験：E₁はFSH, LHの投与で有意の増加を示さなかつたが、E₂はLH(2.0 μ g/ml, 20 μ g/ml)で増加し、しかもLH2.0 μ g/ml群でそれは著明であつた。

3) perifusion実験：24時間後の卵巣ではLH2.0 μ g/ml群でE₂は増加し、20 μ g/ml群ではむしろ減少の傾向があつた。

より発育の進んだ48時間後の卵巣では、LH2.0 μ g/ml群、LH20 μ g/ml群でE₂は著増し、しかもLH20 μ g/ml群で最もその傾向は著明で、LH200 μ g/mlではむしろ減少の傾向があつた。

PGE₂ではE₂はやや増加の傾向にあるがPGF_{2α}では増加しなかつた。

ACTH及びProlactinでもE₂は増加しなかつたがHCGでは著増した。

Dibutyryl cyclic AMPでは、E₂の増加はみられなかつた。

3 Gestagen 投与量による第 I 度無月経の分類と排卵誘発成績との相関

東北大学医学部産科婦人科学教室
太田 憲道, 平野 睦男, 星合 眞,
羽根田 敦, 高橋 克幸, 鈴木 雅洲

目的: 無月経の診療にあたり, 本邦では通常, gestagen の投与により消退出血の認められるものを第 I 度無月経としているが, この gestagen の投与量は各機関によって異なり, いまだ意見の一致をみていない。さきにわれわれは臨床的には progesterone / 0mg 筋注方法で目的を達しうるが, 少数例に progesterone / 0mg で消退出血はなく, さらに大量の gestagen を投与すると, 消退出血の認められる例のあることを指摘した。今回, われわれは progesterone / 0mg 筋注で消退出血のある例と, 17α -hydroxy progesterone capronate / 25mg 投与ではじめて消退出血のみとめられた症例の間に, 排卵誘発の成績に差が認められるか否かをする目的で, 以下の検討を行なった。

方法: 当科ホルモンクリニックを受診した第 I 度無月経患者を progesterone / 0mg で消退出血のあった群 (第 I 群) と, progesterone / 0mg で消退出血はなく, これにひきつづき 17α -hydroxy progesterone capronate / 25mg を投与して消退出血をみた群 (第 II 群) とにわけて, その治療成績を比較した。

成績: 第 II 群 26 例の排卵率は Clomid 療法, PMS-HCG 療法, HMG-HCG 療法, とともに第 I 群に比して低かった。また開腹による卵巣組織検査では卵胞組織のみられない例もあった。

考按: 以上の結果から 17α -hydroxy progesterone capronate / 25mg ではじめて消退出血をみた第 I 度無月経第 II 群は, 通常第 I 度無月経の治療による排卵, 妊娠は困難なことが多く, 第 II 度無月経に準じて治療をおこなわなければならないものと考えられる。

4 黄体機能における estrogen receptor の役割

京都府立医科大学 産婦人科学教室
大野 洋介, 玉舎 輝彦, 二岡 清昇,
古田 典夫, 朴 震光, 岡田 弘二

黄体の維持に estrogen が関与していることや, ある steroid や化合物は luteolysis をおこすことが知られている。そして estrogen が効果を発揮するには receptor が介在する。そこでウサギ卵巣黄体において estrogen receptor を検出し, 黄体維持や luteolysis に estrogen receptor が関与していることを知るために estrogen receptor の変動 (cytosol と核での receptor 量) と黄体機能の状態 (血中 progesterone 量と形態学的変化) との関係を比較検討した。さらに抗 estrogen 剤である clomid による luteolysis を同様に estrogen receptor の面より検討した。まず HCG 投与による黄体をもったウサギ卵巣 cytosol に estrogen と特異的に結合する receptor である 8S 高分子が存在し, その解離定数 $K_d = 3.3 \times 10^{-9} M$ であった。血中の progesterone の低下を黄体の形態学的な変化と estrogen receptor の cytosol や核での減少とが相関した。さらに, estrogen receptor と親和性のある clomid を投与 (皮下) すると黄体は早期に減退した。

このように卵巣には estrogen receptor が存在し黄体機能と良く平行関係のみられることは興味深いと考えられた。

5 繁殖期・非繁殖期及び妊娠中のニホンザル血中プロゲステロンの動態

京都大学霊長類研究所
大島 清 林 基治

正常性周期を有する成熟ニホンザル2頭及び妊娠ニホンザル5頭について血中progesteroneの動態を観察した。前2頭については、繁殖期及び夏季の非繁殖期のそれぞれ3ヶ月間毎日採血を、妊娠ザルについては妊娠直前から分娩1ヶ月前まで週2回の採血をおこなった。

progesteroneの測定は、Neillらの原法をMacdonaldが変法させたcompetitive protein binding methodによりおこなった。卵胞初期に0.3 ng/ml以下であったprogesterone値は、次回月経16日前には1 ng/mlとなり、月経8日前に最高値3.8 ng/mlを示し、以後漸減し、月経2~3日前には1.0 ng/ml以下となる。以上は繁殖期の月経周期に伴う動態であるが、非繁殖期である夏季にはprogesterone値は0.3 ng/ml前後の低値が続く。

妊娠20日前後(交尾後日数)の初期には、progesterone動態は二つの異なるパターンを示す。一つは持続的に妊娠経過に伴ない漸増してゆくパターンで、他の一つは上昇後いったん下降し、再び上昇する鞍馬風のパターンである。progesterone値の妊娠初期上昇は50~60日まで続き、以後130日頃まで種々の変動パターンをみるが一般に低値である。

非繁殖期(夏季不妊期)における無排卵期の低いprogesterone値はgonadotropinの投与で急増させ得るし、一方、LH-RH投与による血中LH放出パターンは繁殖期、非繁殖期で差のないことが分っているのでニホンザルの夏季不妊は、間脳より上位の中樞性抑制によることが推定される。

progesteroneの妊娠初期上昇は、chorionic gonadotropinの黄体刺激に基ずくと考えられるが、これは他のマカクと同様、ニホンザルでも例外ではない。

6 子宮内膜におけるprogesteroneとestriolの協調作用

日本パプテスト病院 産婦人科
ト 部 宏

多彩な生物学的作用を持つEstriol (E_3)はimpeded estrogenともよばれ、またbuffur作用概念で捕えようともされ、その作用はなお多くの未知なものを秘めていると言えよう。子宮に対するWeak estrogenとしてより他の作用を目的として現在汎用されているが、演者はこの子宮内膜作用を再度追求していささかの知見を得たので報告する。

研究方法一対象は不妊外来を訪れる患者に次のように行なった。1. 黄体期内膜に対する E_3 の効果、二相性周期の排卵前より E_3 、内服剤を1日6~9 mgを投与し着床周辺における内膜変化を日付診を中心に観察した。2. 増殖期内膜に対するprogesteroneの効果、月経第7~8日よりprogesterone 10~20 mgを1~2回投与した。3. 2におけるprogesteroneの反応に及ぼす E_3 の影響、progesteroneと E_3 を同時に投与した。

成績

1. B.B.T.曲線の良否にかかわらず日付診断のずれが少なく、estriolはprogesterone核下腔胞形成作用に及ぼす影響が強いと言いうる所見を得た。2. 増殖期内膜におけるprogesteroneの反応は軽度であるが認められる。その特徴は偽重層像の減少と腺の二重構造の出現にある。3. progesterone 20 mgと E_3 10 mgの2回投与例に特に明らかであるが、偽重層像の著明な減少と核下腔胞の著明な出現がその特徴をなすようである。現段階で、estriolの子宮内膜作用はprogesteroneの存在下で腺上皮の核下腔胞形成作用が増強されることよりprogesteroneとはantagonismではなくsynergismの状態にあると言えよう。

7 幼若ラット誘発排卵に対する抗プロゲステロン抗体及び抗エストロン抗体投与の影響

京都大学医学部婦人科学産科学教室
鈴木暁, 森崇英, 北川道夫, 藤田泰彦, 麻生武志
西村敏雄
帝国臓器製薬薬理研究部 神戸川明

目的: 排卵刺激後短時間のうちに卵胞における各種ステロイドの産生が増加することはすでに我々が家兔の実験系を用いて報告した通りである。今回は estrogen (E), progesterone (P) の排卵に対する生殖生理的意義を解明するため以下の実験を行った。

方法: 生後 21 日令の幼若ラットに PMS 5 IU を皮下注射し, 56 時間後に hCG 10 IU を静注し排卵を惹起した。hCG と同時又は 0.5, 1, 3, 6 時間後に家兔抗 P 抗血清または家兔抗 estrone (E₁) 抗血清 (Estradiol (E₂) との交叉率 61.5%) を静注した。内因性の P および E (E₁ + E₂) は予備実験により動物 1 匹当たりそれぞれ 1 µg および 36 ng と算定されたので抗血清はその 1~40 倍中和量を投与した。hCG 投与後 17 時間で開腹し, 卵管内の排卵数を算定した。

結果: 1) PMS 単独投与群では全例排卵を認めなかった。2) PMS + hCG 投与対照群では全例排卵を認め平均排卵数は 14.7 ± 4.9 であった。3) 抗 E₁ 抗血清投与群, 1.0 µg E₁ 相当量の抗 E₁ 抗血清投与群では hCG 投与後いずれの時間においても平均排卵数は対照群と差を認めず, 4.0 µg E₁ 相当量同時投与でも対照と差を認めなかった。4) 抗 P 抗血清投与群, hCG と同時に 1.0 µg P, 3.5 µg P, 7.0 µg P 相当量の抗 P 抗血清投与では平均排卵数は夫々 11.2 ± 3.5, 2.9 ± 3.9, 1.2 ± 1.7 と抗体量の増加と共に有意の減少を示した。排卵率は 3.5 µg P で 60%, 7.0 µg P で 33% でこの 2 群では卵巣重量も対照より有意の減少を認めた。また 3.5 µg P 相当量を用いて抗 P 抗体の排卵抑制に対する経時的効果を検討すると 3 時間まで平均排卵数の有意の減少をみとめた。つぎに 3.5 µg P 相当量を hCG と同時に投与し, 2 時間後に 20 µg の P の静注を行ったところ排卵数が対照例と同じレベルに回復した。

結論: 以上より E よりも P が排卵機構に関与していることが強く示唆された。

8 無月経患者における Dynamic Test 時の尿中・血中ステロイドホルモンの動態について

岡山大学医学部産婦人科教室
秋本暁久, 岡崎裕行
相良祐輔, 宇莚 昭, 関場 香

尿中及び血中ステロイドホルモンより, 性腺機能を判定する場合には, 常に副腎系のホルモン分泌に留意する必要がある。今回我々は, 無月経患者に, Cortisol 日内変動, ACTH test, メトピロンテスト, Insulin test, LH-RH test 及び dexamethasone 2mg/day 抑制下に HMG, HCG の負荷を行い, 尿中・血中ステロイドホルモンの検討を行った。血中ホルモンは, RIA 法により, Progesterone, Estradiol, Cortisol, FSH, LH の測定を行った。尿中ホルモンは, Pregnanediol, totale Estrogen, 17KS, 17-OHCS の測定を行った。LH-RH test の結果, 第 I 度・第 II 度無月経患者の間には, 反応パターンの同一性は認められなかった。血中 Progesterone 値は, 正常卵胞期に比し, 高値のものが多く, dexa により抑制されることにより, 副腎性の Progesterone がかなり分泌されているものと思われる。又 HMG HCG 負荷にて, 卵巣機能障害の程度の軽いものは良く反応した。血中 Estrogen 値は, 高値群と正常ないし低値群とあり, 高値群は dexa により抑制されたが, 低値群はあまり抑制されなかった。以上により無月経患者は, 卵巣機能障害のみでなく, 副腎系ホルモンの関与がうかがわれたので, 一部症例に, Cortisol 日内変動, ACTH test, メトピロンテスト, Insulin test を行ったので, これらの結果を報告する。

9 Streak gonad の内分泌学的検討

新潟市民病院産婦人科* 新潟大学産婦人科
 布川 修*, 小川弘良, 王 正貫, 佐藤芳昭,
 高橋 威,

近年、種々の排卵誘発剤の開発により、広く臨床面で応用されるに至るとともに、その功罪ともいえる過剰刺激からくる過排卵現象が現実にもみられるようになった。したがって、至適刺激量を症例によって検討してゆく必要がある。しかし、そのなかであらゆる排卵誘発を行っても反応しないまま月経の発来をくりかえす症例も少なくない。今回、当科内分泌不妊外来受診患者で、難治性の卵巣機能不全の症例に試験切除も考えて開腹し、streak gonad と判明した12例について、retrogradeにその内分泌環境を種々の面から検討したのでここに報告する。

実験方法；steroid hormone負荷試験により臓器診断を行い、卵巣原発の無月経、無排卵と診断した症例で、種々の排卵誘発を行ったが、全く無反応のもので開腹によってstreak gonad と判明した12症例について血中FSH, LH 及びestradiol, progesterone, 尿中17-KS, 17-OHCSの動きをretrogradeに検討するとともに、合成LH-RH100 μ g負荷による反応を検討した。

成績；12例中、30mg gestagen testで第1度無月経5例、第2度無月経7例であった。FSH, LH は正常卵胞期とほぼ同じで、異常高値はみとめられず、estrogen値は低値のものから正常値のものまで種々であった。当然のことながらprogesteroneは測定出来ず、尿中17-KS, 17-OHCS に著変は認められなかった。一方、LH-RH負荷試験ではsteroid hormoneはほとんど動かず、FSH, LH は発症の短いものにresponseするものがあるが、30代の症例では反応が非常に悪く、streak gonadの経過期間の差異を推定させた。

身体的特徴は長身、瘦身の1例以外とくに变りないが二次性徴の発達は一般に悪く、長身の1例では小児様体格であった。

結論；これらのことからみると、無月経の発症、原発性無月経かどうか、あるいは二次性徴の発現時期などのほかに、estrogen低値、LH-RHに対するsteroidの反応性を検討することはstreak gonadの診断に有用であると考える。

10 多のう胞性卵巣のスクリーニングテストについて -DXM- HCG負荷時の血中ステロイドホルモン動態——

徳島大学産婦人科教室
 加藤秀之 吉崎健一 堤 康
 竹内 悟 高橋久寿 足立春雄

多のう胞性卵巣患者(P.C.O)は必ずしも本邦ではSteinとLeventhalの述べた臨床所見とは一致しないことが一般的である。私達は主として無排卵周期症および第1度無月経等の月経異常を訴える患者の血中testosterone(T)およびestradiol(Ed)測定によりP.C.O発見のスクリーニングを行い、次いで非定型的なP.C.Oを鑑別する為、Netterの原法にもとづきDXMを1日2mg連続10日間投与して6日目よりHCG6000IUを3日間投与してT, EdならびにDHEA, androstenedioneの測定を経日的に行った。第1度無月経、無排卵周期症にDXM-HCG負荷試験を行うと負荷前値が正常範囲(T=31.9 \pm 6.0ng/dl)でHCG負荷で変化のない型(Type 1), HCG負荷でT値が正常範囲以上に増加する型(Type 2), DXM負荷前値が70ng/dl以上でDXMによってT値がほぼ正常範囲以内に抑制されHCG負荷でDXM負荷前値以上に増加する型(Type 3), HCG負荷で変化のない型(Type 4), 負荷前値が高値でDXMであまり抑制されずHCG負荷で著明に増加する型(Type 5)の5分類が可能であった。臨床症状, DHEA, androstenedione, Ed, LH-RH test等によりType 2, 3および5をprobable P.C.Oとして、clomid療法を行い、他方、clomid無効例には内視鏡検査でP.C.Oの確診の後、楔状切除術を行い、P.C.Oのscreening testとして有効な方法であることが判明した。

11 卵胞の閉鎖過程に関する形態学的検討

上川共済病院・産婦^{*}、慶大^{**}・産婦^{**}、慶大^{***}・電頭

大山俊雄^{*} 依田和彦^{**} 藤原達司^{***} 鈴木秋悦^{**}

卵胞の閉鎖過程、特に性周期発現前の卵胞の動態については今日まだ不明の点が多いが、われわれは、この時期に多数の卵子が閉鎖の過程をとって消失していくことに注目し研究をすすめている。すでに第19回および第20回本学会総会で性周期発現前マウス卵巣について、発育卵胞、閉鎖卵胞の形態学的な面からの検討を加え、これを報告したが、今回は光頭および、電頭オートラジオグラフィを用い、その取り込み像と個々の卵胞の形態との関連性について比較検討した結果を報告したい。

出生直後から性周期発現前の期間の幼若マウスを用い、それぞれに体重グラム当り、2 μ ciの

³H-Thymidineを腹腔内投与し、投与後30分および60分の卵巣を摘出し、それぞれ光頭オートラジオグラフィ、電頭オートラジオグラフィ試料に供した。光頭用試料は10%ホルマリン固定、水洗後、アルコール系列で脱水、パラフィン包埋し5 μ に薄切。脱パラフィン操作後、ディッピング法により試料を8週間感光させ、H-E染色を行った。

電頭用試料は試料摘出後ただちに4°C下で2.5%グルタルアルデヒド磷酸緩衝液で固定後、1%オスミウム酸で二重固定、アルコールおよびアセトン系列で脱水、Epon812で包埋。薄切後Wire-loop法にて乳剤をかぶせ、6週間の露出時間後、現像、鉛染色後Hu-11Bで観察した。

12 人卵胞液の生化学的分析 第二報

慶大・産婦

小林善宗・鈴木秋悦

卵胞成熟発育あるいは、卵子成熟と関連して、卵胞液の分析解明は非常に重要であるが、微量定量という方法上の困難さから、その報告は非常に少ない。

我々は、第20回不妊学会総会において、第1報として人卵胞液組成の蛋白量、蛋白分画を中心に各周期について、種々の直径の卵胞より採取した卵胞液を用いて、血清との比較を報告した。その結果、late follicular phase (卵胞直径7~13 mm)においては、Polyacrylamid gel electrophoresisによる蛋白分画に slow β -globulin と slow α_1 -globulin の間に血清と異なるピークがみい出された。また、sephadex G200 gel filtrationによって上記のピークの蛋白は分子量100万前後の最初のピークに存在した。

本総会においては、第2報として1% agarose gel, veronal butter (PH8.6, $\mu=0.05$)を用いたLaurell electroimmunoassayによって、各卵胞液の主な各蛋白の分画の定量的分析を行い血清との比較を報告したい。又 lipoprotein の各分画について Polyacrylamid gel electrophoresis, によって血清分画とは異なるピークを見いだしたので、これも合わせて報告したい。

さらに、卵胞液中の steroid としては、estradiol の定量をRIA法により施行した結果もあわせて報告したい。

13 新しい排卵誘発物質 tamoxifen の 臨床応用成績

九州大学医学部産婦人科
片桐英彦、中村元一、中村正彦、柴田千城、
倉野彰比古、永田行博、楠田雅彦

triphenylethylene 系の新合成物質である tamoxifen は 1-[4-(2-dimethylaminoethoxy) phenyl]-1,2-diphenyl-1-butene の trans isomer であり、マウスではエストロゲン活性を示すが、ラットでは抗エストロゲン効果を有するといわれる。ヒトについては抗エストロゲン効果を示し、乳癌の治療のほか、少数ながら無排卵症に対して排卵誘発効果があると報告されている。今回、我々はこの新合剤を排卵誘発の目的に応用する機会を得たので、現在までの臨床成績について報告する。

対象ならびに方法 九大産婦人科不妊外来を訪れた婦人中第2度無月経症を除く諸種の排卵障害症および unexplained infertility の婦人を対象とした。投与方法は第5週日より1日20mg、5日間の投与を1クールとして3クール反復し、これで無効な場合は1日投与量を40mg、60mgに増量する方法を原則とした。投与前後にわたり可及的連続採血してホルモン測定を行なうとともに頸管粘液の性状を検査し、排卵の測定は主に基礎体温曲線によって行なった。

成績 現在までに成績の判明したものは46例、117周期である。46例中30例(65.2%)に排卵が認められた。投与周期数で見ると、20mg投与群では99周期中59周期(59.6%)に、40mg投与群では18周期中9周期(50%)に、両者を平均すると58.1%に排卵が認められ、投与周期に妊娠の成立を認めたのは5例である。60mg投与群については現在経過観察中である。

頸管粘液は本剤投与後やや増量し、粘性も増加する傾向が認められた。投与前後のホルモン動態については別に報告する。

結論 新しい排卵誘発剤 tamoxifen を主に排卵障害を伴う不妊婦人に投与し、臨床的検討を行なった。現時点では Clomid や Sexovid との排卵率、妊娠率の優劣は論じられないが、かなり有用な排卵誘発剤であると思われ、今後なお検討の余地がある。

14 新排卵誘発剤 tamoxifen 投与時の 血中ホルモンの動態

九州大学医学部 産婦人科
倉野彰比古、片桐英彦、中村正彦、中村元一、
柴田千城、永田行博、楠田雅彦

化学構造 1-[4-(2-dimethylaminoethoxy) phenyl]-1,2-diphenyl-1-butene なる物質 tamoxifen はラット、サルなどのほ乳動物に対して抗エストロゲン作用を有し、エストロゲンの binding site を競合することから、ヒトにおいては無排卵症に対する新しい排卵誘発剤として応用されつつあるが、tamoxifen を投与した際の内分泌動態についての報告はほとんどみられない。今回われわれは tamoxifen をヒトに投与した際のゴナドトロピンおよび性ステロイドの動態を検討し、tamoxifen の間脳・下垂体・性腺系に及ぼす影響を検討したので報告する。

対象および方法は正常男子6例に tamoxifen 1日20mg を5日間投与し、無排卵患者10例に対しては消退出血開始後5日目より tamoxifen 1日20~40mg を5日間投与し投与前、投与後の血清LH、FSH、エストラジオール、テストステロン、(男子)をラジオイムノアッセイで測定した。

LHは tamoxifen 投与後3日目までは前値と変わらず、5~7日目より上昇傾向を示し、最高値は前値の2倍程度に達するものもあった。FSH はほとんどの例で著明な変動を示さなかった。が、投与後12日目以前値より高い値を示す例があった。エストラジオールは一定の傾向はみられなかったが、排卵成功例では投与後しだいに上昇した。男子のテストステロンは投与後5日目までは漸減し、その後は増加傾向をとり、全例前値より高値を示した。

以上の結果より、tamoxifen が間脳・下垂体・卵巣系に直接間接の影響を及ぼしていることが示唆されたが、更に詳細な検討が必要である。

15 男性不妊外来でみられる Klinefelter 症候群について

京都大学医学部泌尿器科
小松洋輔、友吉唯夫、吉田 修

過去6年間に65例の **Klinefelter** 症候群を経験した。

これらの症例の大半は男性不妊外来に不妊を主訴として来院し、発見されたものである。不妊を主訴とする

Klinefelter 症候群患者の特性について
のべる。

16 Klinefelter 症候群の体型に関する研究

東邦大学泌尿器科学教室
松本英亜、中島孝雄、三浦一陽、安藤 弘

Klinefelter 症候群の体型については、従来より、身長に比べ四肢が比較的長いことが知られているが、これまで本症候群の身体計測に関する詳細な報告はほとんどみられない。

我々は、20例の**Klinefelter** 症候群と30例の正常男子につき、身長、指極、下肢長を測定し、各々を比較すると共に、更に、指極：身長、下肢長：身長について両群の比較検討を行ない、統計学的にも有意な差を得たので報告する。

対象とした20例の**Klinefelter** 症候群（以下A群とする）の年齢分布は19歳から46歳まで、正常男子群（以下B群とする）は21歳から44歳で、骨系統疾患、内分泌疾患、全身疾患等の既往者は含まない。

1. 身長

A群では、平均 $167.18\text{ cm} \pm 6.97$ 、B群の平均は $168.66\text{ cm} \pm 4.71$ で両群の間に特に有意な差はみられなかった。

2. 指極

A群では、20例中9例（45%）が指極間距離が身長より大であったが、B群では、30例中4例（13%）であった。しかし、両群計測値の平均は、各々 $167.38\text{ cm} \pm 8.99$ 、 $165.23\text{ cm} \pm 5.74$ で有意な差は認められなかった。

3. 下肢長

A群では、平均 $95.90\text{ cm} \pm 7.43$ 、B群の平均は $92.09\text{ cm} \pm 3.85$ で $P < 0.05$ で有意な差を示した。

4. 指極：身長

A群では、平均 $100.104\% \pm 2.692$ 、B群の平均は $97.967\% \pm 2.209$ で $P < 0.01$ で有意な差を認めた。

5. 下肢長：身長

A群では、平均 $57.318\% \pm 2.736$ 、B群の平均は $54.595\% \pm 1.485$ で、 $P < 0.001$ で特に有意な差を認めた。

17 低ゴナドトロピン性類宦官症における臨床的検討

—特に嗅覚異常について—

金沢大学 泌尿器科
 勝見哲郎 田近栄司 宮崎公臣
 黒田恭一

Hypogonadotropic hypogonadism 及び anosmia の合併は近年本邦において次第に注目されるようになり、我々も第19回本学会において Kallman's syndrome の2例を報告した。

その後外来通院中の hypogonadotropic hypogonadism 7症例に嗅覚検査、及び LH-RH テストを行つたのでその結果につき報告する。

7症例中 anosmia は3例、hyposmia は3例、正常は1例であつた。LH-RH テストは全例に施行したが、anosmia、hyposmia 各1例はまだ結果が出ていない。anosmia は全例 no response であつたが、normal、hyposmia 各1例では LH-RH テストは good response を示した。しかし、normal の症例では gonadotropin テストも陰性で、再度の尿中 gonadotropin 測定にて $24 < 48 \text{ muu}$ を示し、睪丸組織像でも精細管の hyaline degeneration が強いことより、睪丸性の類宦官症が最も疑われる。全例において色覚異常や他の下垂体ホルモン異常の臨床症状は認められなかつた。先に報告した症例も含め我々が調べた hypogonadotropic hypogonadism の9症例中、8例に嗅覚異常が認められ、LH-RH テストの結果が判明した7例中、6例において LH-RH テストの反応と嗅覚異常の有無が一致したことより、嗅覚検査の必要性、並びに正確性が期待できると考える。以上より、hypogonadotropic hypogonadism 症例に今後 routine に嗅覚検査が施行されれば、anosmia の合併が更に増加するものと考えられる。

18 X X 男性の1例

埼玉医科大学、東京医歯大泌尿器科
 内島 豊、駒瀬 元治、岡田 耕市
 大島 博幸、根岸 壮治、高木健太郎

47歳、トラック運転手。戸籍上および社会的に男子として生活しており、31歳で正常の女子と結婚した。当時は性欲、勃起、性交、射精は正常であつたが、しだいに勃起力の減退をみるようになり、結婚後4年を経過するが、妻が妊娠しないために受診した。

家族歴：同胞8人中の第1子で、患者が出生したとき、父親は25歳、母親は19歳であつた。同胞中に既婚者は3名であるが、すべて小児の出生をみている。

既往歴：満期安産であり、著患は知らない。小学生時代は級長をつとめ、運動はとくに他人に劣るところはなかつた。12歳で声変わり、27歳ごろから太つてきた。

初診時所見：身長は162cm、体重は67kg、外見上はまったく正常の成人男子で、筋肉質。女性乳房は認めない。腋毛の発生はなく、陰毛は少なく、女性型の分布を示した。陰茎は短小である。睪丸は陰嚢内に両側とも触知するが、きわめて小さい(2cc)。前立腺は触知するが、やや小さい。精液は0.5ccで、無精子症であつた。末梢血による染色体検査では、染色体数は46で、その性染色体構成はXXであつた。

19 XY-femaleの5例

国立名古屋病院 産婦人科
戸谷 良造、三輪 是、黒木尚之、鈴置 洋三

XY-femaleの5例

最近の3年間に我々は5例のXY-femaleを経験した。1例は盲端に終る陰を有した男性仮性半陰陽であり手術療法後男性に変更した。他の4例はいづれもpure gonadal dysgenesisに属するものと考えたが、その臨床像は画一的ではなく、体型、性腺、子宮の状態乳房の発育、腋毛恥毛の発毛状態等にはかなりの差異がみられ、pure gonadal dysgenesisとtesticular feminizationの中間に位置すると考えられる症例もあった。各症例の特長は次の如くであった。症例1、20才正常卵巢の位置に正常卵巢大の硬い石灰化に富んだ性腺をみとめ、組織学的にはdysgenetic ovariesかと考えられる。子宮はよく発育した双角双頸子宮にて陰中隔を有する。乳房、乳頭の発育は全くみとめない。腋毛恥毛は中等量に発毛、女性型の外陰部にて陰核肥大をみとめない。症例2、18才性腺はstreak gonads、発育不良な子宮を有しわずかな乳房発育をみとめるも乳頭の発育は不良、恥毛腋毛はなく、外陰部は女性型にて陰核肥大をみとめない。症例3、18才性腺は正常卵巢の存在する位置に、極めて小さく帽針頭大の痕跡としてみとめ、組織学的には睾丸、わずかにMüller管の残存をみとめ索状の子宮、卵管が存在する。陰は正常の深さ、太さを有するもportioはほとんど形成されず盲端に終る。小さな乳頭を有するやや発育不良の乳房をみとめ、外陰部は女性型、陰核肥大はない。症例4 21才性腺は正常卵巢の位置に小さな睾丸をみとめた。子宮は十分にMüller管の癒合したやや小さい子宮、陰は正常大、乳房の発育は全くみられず、恥毛腋毛は中等量、外陰部は女性型陰核の肥大をみとめない。

20 Rokitansky-Küster-Hauser 症候群と腹膜利用法による人工造陰術の3例

東邦大学産婦人科
片山進 真島靖重 中村博 野口昭二
岩城章

先天性陰欠損症は、4,000から5,000例に1例という、まれな疾患であるが、患者に与える心理的影響は、極めて大きい。その為種々の方法による人工造陰術が、試みられているが、その目的は、危険性が少なく、手技が容易で、しかも、術後狭窄をきたさず、自然に近い陰腔をつくることにある。今回私達は、先天性陰欠損症に痕跡的充実性双角子宮と、正常な卵巢、卵管、円靭帯を伴ういわゆる、Rokitansky-Küster-Hauser症候群を呈する3例に対し、骨盤腹膜を利用することにより、良好な結果をえたのでここに報告する。Davydov及び真柄氏術式に、さらに陰円蓋部に痕跡的充実性双角子宮を使用し、陰円蓋部を腹膜とで二重に形成した。この為、円蓋部は十分に補強され、狭窄をふせぐことができた。術後、抗生剤、消炎酵素剤を塗布した、ゴム製プロテーゼを、そう入し、連日消毒交換し、感染を防ぐとともに、経口的に、エストリオール製剤を投与し、陰上皮化生を促進した。術後2年半を経過した現在、経過は良好である。

21 子宮鏡を用いた胎児奇形の多角的検索

藤枝市立志太総合病院産婦人科
関 守利, 橋本直夫, 布施養慈, 田崎敬事
柴田直秀, 林 基之

妊娠早期の胎児奇形をより正確に検索するには出来るだけ多くのデータを集めるべきである。我々は子宮鏡を導入しその効果をあげている。風疹を初めとして各種の原因によって人工妊娠中絶をすることが多いが、実際 胎児に奇形があったか否かの検討がなされていないことが多い。胎芽及び胎児の奇形は自然流産児を対象に行なわれて来たし、掻爬後の人工流産児及び児付属物によって行なわれてもいる。しかし掻爬時に児を無傷で体外に取り出すことはむずかしく確実でない。まして同時に羊水分析を行うことは更に至難の技である。

我々が行なっている子宮鏡を用いた方法によれば、

- ① 手指、足指までの詳細な観察が可能であるため胎児外表奇形の有無を判断することが出来る。
- ② 羊水の生化学的及び染色体の検査が可能である。従来の羊水穿刺の方法では、人工流産のため児側の問題は無いにして母体側の穿刺による合併症の危険は残り、また12週以前では手技がむずかしく確実性にかける。これに対し子宮鏡直視下では合併症はないし手技が確実である。
- ③ 子宮鏡直視下にて児を無傷で取り出すことによって 実体顕微鏡下のマクロ的解剖学的異常さらにミクロ的症理組織学的異常の検討と段階的な検査が可能である。

我々はこの方法により 現在、1. 正常で人工流産を行なった症例 2. 何らかの原因があって人工流産をせざるを得なかった症例 の2グループに分けて児の外表の観察、羊水分析及び胎児の解剖、病理組織を比較しており、多角的なこの検索方法は将来正確な胎児奇形の統計的データを出す上にも有効な方法であると思われる。

22 Clomiphene citrateによる排卵誘発後妊卵の細胞遺伝学的研究(第1報)

北海道大学医学部産科婦人科学教室
田中俊誠、河東 寛、三橋裕行、
佐藤 力、藤本征一郎

現在無排卵症婦人に対して各種の排卵誘発剤が繁用されているが、誘発後妊娠の妊卵に関する細胞遺伝学的な検討は詳細にはなされていない。動物実験においては、藤本ら(1974, 1975)が報告しているごとく、過排卵処置の家兎着床前受精卵では染色体異常個体の出現頻度が高くなることが確認されている。ヒトにおける排卵誘発の場合にも、流産率の上昇、多胎妊娠による低出生体重児の増加に加えて、染色体異常個体の出現頻度の増加が問題となる可能性がある。

(目的) Clomiphene citrateにより妊娠した場合の流産胎児及び新生児の染色体異常出現の有無を検索する。
(方法) 北大不妊症外来においてClomiphene citrate単独で妊娠し、自然流産に終わった6例中4例に染色体分析を施行した。また、同様に、新生児につき白血球培養による染色体分析を行った。

(成績) (1)初期(16週以内)自然流産率: Clomiphene citrate単独により現在まで37例が妊娠し、1例が人工中絶、1例が治療的流産、6例が自然流産であった。従って自然流産率は17.1% (6/35)であった。(2)染色体分析: 6例の自然流産中4例に染色体分析を施行した。1例は培養に失敗し、2例は正常、残り1例がTetraploidy (92, XXXX)であった。(3)目下、新生児の染色体分析を継続中である。

(結論及び考察) 今回の結果は昭和54年6月30日までのものであるが、以下の結論をえた。(1) Buxton and Southam (1958)は20.3%、Kistner (1975)は20%のClomiphene citrateでの流産率を報告しているが、今回の我々の成績でも17.1%と高い流産率を示した。(2)今回我々の分析例は3例と少ないが、1例にTetraploidyが出現した。ヒトにおいても排卵誘発剤が染色体異常を増加させる可能性を否定することはできない。(3)新生児における染色体異常の出現の可能性は、異常妊卵の早期死滅(自然淘汰)を考えれば、一般集団における出現頻度と差はないものと考えられるが、未だ詳細な調査は不足している。我々は、Clomid babyが細胞遺伝学的に正常であることを確認すべく新生児について染色体分析を施行中である。

23 家系的に発生した睾丸女性化症候群の2例

東大産婦人科

千国宏文, 森 宏之, 水口弘司, 木川源則
坂元正一

睾丸女性化症候群はその頻度はまれであるが、近年その病因が性ホルモンの作用機序と密接な関連性を持った性分化の異常と考えられている事により特に注目されてきている疾患である。即ち末梢標的臓器における男性ホルモンの効果発現の機構の異常であるとされその機序に酵素欠損説, 受容体欠損説の2つが最も有力とされている。今回我々は家系的に発生した睾丸女性化症候群の2例を経験し、その家系を詳しく調査すると同時に、内分泌学的検索を行い、かつまた性腺をとり出してそのステロイド代謝を検討した。同時に各種性ステロイドを負荷してゴナドトロピンの分泌動態を検討し、中枢へのステロイドのフィードバック機構に若干の知見をえ、その病因に対して考擦を加えた。

症例は26才および40才の同胞であるが、双方共外見、性格、声など全く女性様、外陰は女性型で陰も形成されているが盲端で、子宮はなく、恥毛、腋毛欠損、鼠径部に停留衆丸を有し、性染色体はXY, sex chromatin 陰性等の典型的な臨床像を示していた。同胞6名のうち4名が、また一世代前の尊属の同胞10名のうち4名に本症が発生している事が確認されたが、その遺伝形式がXlinked rescesiveまたはmale limited autosomal dominantのいずれであるかは明確ではない。

尿中17KS, 17OHCS値は正常であり、血中FSH LH値はいずれも高値であった。LH-RH試験では反応は良好であった。HCGの負荷によりE₂値の上昇を認めた。開腹では内鼠径輪部に gubernaculum testis に支えられた睾丸と副睾丸が認められMüller氏管の発育は認められなかった。光顕にて内分泌を営んでいると思われるLeydig細胞の巣が認められたが、精細管の発育は悪く、造精子像はなかった。除衆後施行したE₂負荷試験によって血中ゴナドトロピンの著明な抑制を認めたが、DHTの負荷では有意な抑制がみられなかった。以上より本症例では中枢のfeedback機構はDHTに依っては作動せず、E₂によって作動する事が判明した。従って中枢においてはtestosterone 5 α reductaseの欠損と云うよりもandrogen receptorの欠損が強く示唆され、末梢標的臓器の効果発現の異常もこれによって説明される可能性が大きく、睾丸女性化症候群は受容体異常症として位置づけられるものと考えられる。

24 陰茎温度曲線による器質的インポテンスのスクリーニングの意義

東北大学医学部泌尿器科学教室

石井延久, 光川史郎, 白井将文

私達の教室では従来器質的インポテン스와機能的インポテンスの客観的な鑑別診断法としてradioisotope (R. I.) を使用して陰茎血流動態を測定するradioisotope penographyを施行してきた。しかし、radioisotope penographyはR.I.を使用するため一定の管理区域内で施行しなければならない不便さがあることやR.I.による汚染や被曝を考えると余り頻回に検査ができないのでより簡便な方法の出現がのぞまれていた。ところが最近越戸らは勃起による血流の増加に伴う陰茎皮膚温の上昇をthermographyにより測定し、器質的インポテン스와機能的インポテンスの鑑別診断に応用し良好な成績を得たと報告した。そこで私達もこの勃起に伴う陰茎皮膚温の変化を接触式多打点式温度記録計を使用して連続的に測定し(私達はこの陰茎皮膚温度曲線をpenothermocurveと呼んでいるが)、radioisotope penogram所見と比較検討した所、視覚的の刺激負荷によるpenothermocurveとpenogram曲線の変化には密接な相関が認められた。

以上のことより本検査法は器質的インポテン스와機能的インポテンスの鑑別診断に十分使用可能であることが判った。本検査はR.I.を使用する必要がないため簡単に外来にて施行でき、患者に対する侵襲も殆どないので、器質的インポテンスのスクリーニングとして広く応用されるべき良い方法と考える。

25 子宮卵管造影法の現況——61大学病院のアンケート調査より

東邦大産婦

江沢健夫、林 明坤、林 新慶

百瀬和夫

子宮卵管造影法の現況をしらべるために、全国70大学病院を対象にアンケート調査を行った。

アンケート回収率は61施設87.6%であった。撮影の時期はほとんどが月経後3.4日になっている。

造影剤の種類は油性剤34.4%、水溶性剤34.4%、両者の適宜選択31.1%であった。注入圧の測定は比較的少なく、17施設27.9%にすぎない。注入量は3～7mlが36.1%、10mlが60.7%、10ml以上が3.2%であった。

造影法に先立って鎮痙剤を使用する病院は予想外に少なく、19施設31.1%にすぎなかった。またTVレントゲンによる透視を常用するものは44.3%、症例によって実施するとしたもの36.1%、透視を併用しないもの19.6%であった。

重篤な合併症を経験したことありは24病院39.3%で、炎症、塞栓、ショック、アレルギーなどが主なものであった。

26 不妊症における子宮發育不全の診断方法と妊娠率に関する検討

久留米大学医学部産婦人科

下村 宏、有馬昭夫、木村征夫

不妊症における子宮因子の中でも、子宮發育不全の占める割合は多いが、その診断基準については明確でないものが多い。

即ち、内診所見のみ、ゾンデ診によるものあるいはHSG所見によって決定したものなど、その診断方法により子宮發育不全の診断に相当の差異が生じるように思う。

そこで、この3方法による診断の差異と、その妊娠率について当科不妊外来患者約50名の子宮發育不全症例について検討した。

27 高感度赤血球凝集反応による尿中 LH 測定 の不妊症診療への応用

長崎大学医学部産科婦人科学教室
谷口忠臣, 石丸忠之, 今村定臣, 今道節夫
三浦清巒

〔目的〕不妊症の診療にあたって LH 測定の意義は高い。しかし radioimmunoassay (RIA) による血中 LH 測定は診療にあたってしばしば retrospective である。そこで簡便で迅速性に富む高感度赤血球凝集反応 (ハイゴナビス, HAR) による尿中 LH の測定と RIA による血中 LH 測定を同時に行ない比較し, HAR による尿中 LH 測定の不妊症診療における価値について検討したい。

〔方法〕(1) 正常周期婦人, 両側卵巣摘除婦人および閉経期婦人について, RIA による血中 LH と HAR による尿中 LH を同時測定し, 両側定値の相関性を検討した。(2) 無月経症を間脳性, 下垂体性および卵巣性の 3 群に分類し, それぞれの群の患者に LH-RH テストを施行し, 前, 60, 120, 180 分で同時に RIA による血中 LH 値と HAR による尿中 LH 値を測定し比較した。(3) 機能性不妊症 (黄体機能不全症を含む) の患者について BBT による排卵日 (0 日, 低温相水準を抜き出した日の前日とした) の 5 日前 (-5 日) より尿中 LH surge の認められる日まで連日 HAR により尿中 LH を測定し, 尿中 LH surge と BBT の関係から coitus timing を検討した。

〔成績〕(1) HAR による尿中 LH 値が $12.5 \sim 25 \text{ mIU/ml}$ および $100 \sim 200 \text{ mIU/ml}$ の範囲にある場合の RIA による血中 LH 値はそれぞれ $13.2 \pm 10.6 \text{ mIU/ml}$ および $165.8 \pm 49.5 \text{ mIU/ml}$ と比較的良好に相関した。しかし上記の範囲以外にある場合の相関性は低かった。(2) HAR により尿中 LH を測定した無月経症における LH-RH テストの結果は卵巣性で前値 100 mIU/ml 以上, peak 値 200 mIU/ml 以上, 間脳性で前値 25 mIU/ml 以下, peak 値 100 mIU/ml 以上, 下垂体で 25 mIU/ml 以下, peak 値 25 mIU/ml 以下であり, 3 群をほぼ鑑別できた。(3) 排卵期尿中 LH 値は大部分が 100 mIU/ml 以上を示し, 100 mIU/ml を示した最初の日には BBT による排卵日の -2 ~ +2 日の間 (0 日と +1 日が 60%) にあり, coitus timing に応用できることが分った。

〔結論〕不妊症診療において HAR による尿中 LH 測定は臨床的意義が高いと考えられた。

28 精子不動化試験の標準化について: 特にモルモット血清中に含まれる精子毒性因子の検討

兵庫医科大学
鎌田敏雄, 窪田耕三, 伊熊健一郎,
黄清照, 高節子, 磯島晋三

原因不明不妊婦人の中に血中抗精子抗体を保有しているものがあることが明らかな事実となり, 我々の考案した精子不動化試験による血中抗精子抗体の検索も漸次一般化されてきたが, 血中抗精子抗体の検出率にはいまだ大きな開きがあるのが現状である。そこで測定法の標準化が必要であり, 特に補体の質と力価が測定感度を大きく左右することが判明し, 既に補体力価については我々の行なっている精子不動化試験の反応感度をよくする為には各反応系に補体として加える 0.05 ml 中に 10 CH50 (Mayer's 50% hemolytic unit) 以上の補体量が必要であることを報告したが, これを満足する為には 200 CH50/ml 以上の補体力価を有する血清が必要となることより補体として用いる血清はモルモット血清が最も適当であることがわかった。しかしながらモルモット血清の中には精子に対する毒性を有しているものがあり, モルモット血清を補体として用いる際の大きな障害となっていた。そこで今回, モルモット血清中に存在する精子毒性因子について検索を行なったがその精子毒性因子は易熱性で 56° , 30 分で作用を消失したが, 抗原抗体結合物には影響される事が少ない点より見て, 精子毒性因子は精子に対する自然抗体である可能性は少なく, たとえ自然抗体としても力価としては非常に低いものと考えられる。又, この毒性因子は補体そのものとは考えられないことが示唆された。

29 停留睪丸の研究(第一報)

—実験的停留睪丸の組織学的検討—

東京慈恵会医科大学泌尿器科^{*};第二解剖学^{**}
 谷野 誠^{*};稲葉善雄^{*};小寺重行^{*};町田豊平^{*}
 曾爾 彊^{**};吉村不二夫^{**}

目的;停留睪丸の機能と形態を研究する目的で実験的停留睪丸を作成し、主として睪丸の重量及び組織学的変化について検討した。

実験方法;生後4週のウイスター今道系ラットを用い片側停留睪丸10匹、両側停留睪丸10匹を作成した。停留睪丸作成方法は、精巢上体頭部の固有膜を腹膜に固定し鼠径輪を閉鎖した。術後1週目、2週目、4週目、8週目に動物を殺した。それぞれの睪丸、下垂体、副腎、精のう腺の重量を測定し、摘出組織はブアン固定、パラフィン包埋、H.E染色、光顕により観察した。一部は電子顕微鏡による観察も行った。(続報)

結果;1)実験ラットの成長は同日令コントロールに比し両側睪丸固定後4週目では、体重が81.7%、片側睪丸固定後4週目で87.8%に減少をみた。しかし8週目では両実験群とも、コントロールとほぼ同体重を示した。2)睪丸重量の経時の変化。4週目、8週目とも、コントロールに比べ、固定睪丸は約30%の重量しかなく、コントロールと固定睪丸の間に、明らかな差がみられた。3)睪丸組織変化。実験1週目の実験群で、すでに精細管の萎縮精子形成能の低下を示す形態所見であった。4週目ではもっと著明な萎縮がみられた。4)下垂体、副腎、前立腺等の変化は後日発表予定。

結論;実験的停留睪丸にみられる睪丸の發育異常は、予期以上に急速であり、その組織学的退縮は著明であった。

30 停留睪丸患者の性的成熟と妊孕性について

千葉大学医学部泌尿器科学教室

片山 喬, 相川英男
 柳 重行, 島崎 淳

教室開設以来約15年間に停留睪丸のため手術を行なった症例につきその予後を検討するとともに、3年間にわたりplasma LH, FSH, testosterone を測定、また睪丸、外性器の發育状態を観察した。また成人例については精液検査により妊孕性の検討を行なったのでその成績につき報告する。

一部については既に第63回日本泌尿器科学会総会でも報告したが、その際の結論としては、睪丸固定術により睪丸を十分下降させるこれは出来ても睪丸萎縮が多くみられること、plasma FSH の高値のもののあること、男性不妊の停留睪丸合併例で精液所見のよくないものが多いことなどから、停留睪丸症例には先天的に造精機能障害の素因を有するものがあると推測され、停留睪丸の予後についてはとくにplasma FSH の測定が有意義であるとした。

患者の性的成熟度をTannerの方法で分類して観察したが、Klinefelter 症候群など一部の症例を除けば性的成熟はほぼ正常であり、血中ホルモン値も正常である。妊孕性については必ずしも低下しないが、明らかに障害例が多く認められた。

31 停留睪丸症例における Germinal Epithelium の組織所見の検討

札幌医科大学泌尿器科
坂 丈敏, 木村正一, 熊本悦明

停留睪丸の発生原因については諸説があるがいまだ定説はなく、睪丸固定術後も不妊を訴える症例が多い事及び対側陰嚢内睪丸の障害も認められる場合が多い事から Testicular Dysgenesis もその一因として考えられている。その点を検討するため今回我々は幼小児停留睪丸症例の Germinal Epithelium の細胞構成について検索したので報告する。

対象は 1969 年以降経験した停留睪丸症例で睪丸生検をも行つた 73 症例でその内訳は両側性 32, 片側性 41 症例である。停留位置の分類は屋間の分類 (1959) を用いたが、第 2 度が最も多かつた。

方法: Hedinger & Hösli (1974) は停留睪丸の精細管中の Spermatogonia count がその睪丸の障害程度の parameter として有用であると述べており、我々も 50 精細管中の Spermatogonia を count し以下の検討を行つた。

結果: ① 停留側睪丸: migratory testis では 15 例中 4 例 (26.7%) において Spermatogonia count は正常値を示していたが第 1~4 度では大部分の症例で減少していた。Spermatogonia が

- a) 全く認められないもの : 39 例 (43.3%)
- b) 著明に減少しているもの : 40 例 (44.4%)
- c) 軽度減少しているもの : 6 例 (6.7%)
- d) 正常数みられるもの : 5 例 (5.6%)

であつた。少数例に 1~2 才でも Spermatogonia の全く認められない症例もあつた。

② 対側陰嚢内睪丸: 19 例に生検を行つたが、10 例は Spermatogonia count が正常値を示し、9 例で減少していた。3 例では Spermatogonia が認められずそのうちの 2 例は対側停留睪丸の Spermatogonia も認められなかつた。

以上の結果は停留睪丸発生の一因として Testicular Dysgenesis が関与していることを示唆する data と考えられる。

32 ヒト精子発生不全睪丸における血液-睪丸関門の電顕的研究

札幌医科大学泌尿器科
古屋聖児, 熊本悦明, 三宅正文

目的: spermatogenesis と blood-testis barrier (BTB) の関係についてはまだ不明の点が多い。今回我々は、immature testis と hypospermatogenic testis における BTB の電顕的観察をおこなつた。

方法: Lanthanum tracer 法と Freeze-etching 法を用いて検討した (文献参照)

結果と考案:

1) Lanthanum の精細管内への浸透性
ほぼ年齢相当の発育を示していると思われる cryptorchism 症例 (3 才と 8 才) の睪丸では、Lanthanum は seminiferous epithelium の細胞間隙を完全に透過し、管腔を形成していない精細管の中心部迄浸透する。Lanthanum の透過を block する構造は形成されていながつた。ほぼ正常組織像を示す oligospermia 症例 (25 才) の睪丸では、Lanthanum の浸透は Sertoli cell junction = BTB によつて block された。すなわち、spermatogenesis がおこなわれている精細管では BTB が形成されており、この BTB によつて作られる特殊な環境 (adluminal compartment) が spermatogenesis にとつて必要であると考えられる。

2) BTB の微細構造

Sertoli cell junction は細胞膜が規則的に fusion して pentalaminar な構造を示す tight junction である。Lanthanum tracer 法では membrane fusion を示す electron-lucent line と、細胞間隙に充満した Lanthanum を示す electron-dense band が交叉に配列する特徴的な像を認めた。Freeze-etching 法では、30 本以上の strand が平行に配列し、この strand が複雑に branching して anastomosing network を形成していた。これらの所見から Sertoli cell junction は "very tight" であり、barrier としての効果は十分なものであるといえる。

3) azoospermia 症例における BTB の微細構造の変化

Sertoli cell junction の構造はほぼ正常睪丸と同じであるが所々に tight junction が拡張して、Lanthanum が pooling する像が認められた。この像は BTB の部分的な disruption を示すものとして考えられ Hypospermatogenesis の原因を考えるうえで興味深い。(文献) 古屋聖児: 日泌尿会誌, 66, 829, 1975

33 男性不妊症における内分泌学的検討、第2報 睾丸生検組織所見との関連について

都立大塚泌尿¹⁾，東大分院泌尿²⁾，東大泌尿³⁾，都立駒込泌尿⁴⁾
細井康男¹⁾，岩動孝一郎²⁾，阿曾佳郎²⁾，石田肇³⁾
福谷恵子³⁾，高安久雄³⁾，木下健二⁴⁾

我々は昨年の本学会総会において男性不妊症の内分泌学的検討の第1報として250症例における内分泌検査成績、とくに血中LH、FSH、およびテストステロン値について報告した。今回は男性不妊患者約150例について施行した睾丸生検による組織学的分析結果との関連について検討した結果を報告する。

睾丸組織像の分析結果をある程度数量化して検討する必要から我々はJohnsen(1970)によるTesticular biopsy score count法を採用し、mean scoreを算定することによりホルモン測定値およびその他のindexとの比較を試みた。また同時にLeydig cell score(LS)についても検討した。

まずmean scoreについてはLH、FSHともにMS3.00～3.99の範囲のものに最低値を示し2.99以下とくに1.99以下のもので最高値を示した。

逆に高値をとるものではMS4.00～7.99程度まではLH、FSHともに軽度上昇を示し、MS8.00以上になってはじめて正常化傾向を認めた。

Johnsenも指摘しているようにTesticular biopsy score countは個々の精細管の状態を知るためには有用であるがmean scoreとしてその平均値を数量的に應用することは必ずしも適当ではない。とくにScore count 1. 2. 3. 4 とつゞく変化は必ずしも連続的なものではなく質的な相異があると考えられるためその評価にはきわめて慎重でなければならない。このような点をも配慮した上で本法を用いた内分泌学的検査所見との対比について考察を加えたい。

34 ヒト睾丸組織におけるゴナドトロピンの作用機序 に関する免疫組織学的研究

(第II報)

日大泌尿器科 北島清彰 岡田清己 岸本孝
日大第1病理 川生 明

我々は、先の第64回泌尿器科学会総会で、生理的血中LHレベルでのヒト睾丸組織内のLHの局在部位を、蛍光抗体法、酵素抗体法の間接法を用いて検索し、その結果を報告した。蛍光抗体法、酵素抗体法ともLHの局在を示す陽性所見は、間質のごく少数の未熟型Leydig細胞に認められた。しかし酵素抗体法では、成熟型Leydig細胞が陽性に出ることもあった。

今回は外因性のhCGを投与したとき、このhCGが睾丸組織のどこに局在するかを、蛍光抗体法、酵素抗体法を用いて観察した。

症例は泌尿器疾患を有する10例の患者に、hCG5000iuを筋肉内に注射した。注射後30分で組織を得たもの1例、1時間2例、2時間2例、3時間4例、4時間1例であった。30分では睾丸の間質組織にfluorescein isothiocyanateの緑色蛍光、またはdiaminobenzidineの褐色が一様にみられた。1時間、2時間と陽性細胞の数は増加を示し、3時間で最高に達する。4時間では陽性細胞は減少傾向を示した。3時間の4例は種々の局在の違いを見せ、うち1例は多くのLeydig細胞に陽性反応が認められ、明らかに精細管内にhCGが局在していた。老人の睾丸組織は相対的に陽性細胞が少なかった。

また同一細胞における蛍光抗体法と酵素抗体法の比較も、あわせて報告する。

35 ラットの人工授精に関する研究

神戸常盤短期大学 ※明大農
 宇賀 昭二 青谷 幸江 西原三枝子
 原 佳美 ※友田 仁

目的：小実験動物の人工授精は、雌個体への精子注入を人為的に操作しうる点で、繁殖の基礎的諸問題研究の為の手段として有効と思われる。本実験では、ラットを用いて人工授精を行うと共に、精子注入時刻を変化させることにより、各時刻の授精率、精子の受精能力保有時間、産子数や性比について検討した。

方法：本実験には、当研究室で飼育し、自家繁殖しているウイスター今道系の雌雄で、平均体重200g、90～120日令のラットを用いた。これらは、人工照明下で14時間照明(6:00 a.m.～8:00 p.m.)、10時間暗黒(8:00 p.m.～6:00 a.m.) 餌と水を自由に与えて飼育した。ラットは毎朝9時に腔拵像を検査、発情前期を示すものを選び、精子注入の直前に子宮頸管開口部の電気刺激を用い、偽妊娠を誘起した。電気刺激の方法は、同心円電極を用い、交流(60HZ)10V 10秒間通電、5秒間休止を5回行った。授精には精巢上体尾部より採取した精子を用いた。方法は、あらかじめ37°Cに保持してある2mlの希釈液中に精巢上体尾部をとり、細切後、白濁した精子懸濁液(4000万～8000万/ml)を作製した。それらをツベルクリン注射筒にとり、子宮頸管を通して各側子宮角内に0.2mlづつ注入した。精子注入時刻は、発情前期の10:00 a.m.～10:00 p.m.までとした。また、精子を片側子宮角内のみ注入し、着床胎児の位置を観察した。精子注入の次の日の腔拵像に精子を認めたものを妊娠第1日目とし、妊娠17日目に開腹、着床胎児を記録し、分娩後、産子数、性比を観察した。

結果：産子数は、自然分娩と比較して若干減少する傾向があり、産子は、いくらか雌の多く生まれる傾向が認められた。片側子宮角内のみ精子を注入した場合、着床は、注入側の子宮角内のみ認められた。注入精子数を減少させてゆき、1ml中2000万の精子数でも妊娠が可能であることを認め、その値は1回の射精精子のはば1/2に相当した。精子注入時刻を変化させた場合、10:00 a.m.に行った実験においても、着床、分娩、産子を得た。このことは、卵子の排卵が発情期の1:00 a.m.であるとすれば、ラット精子の受精能力は少なくとも15時間は保有されることを示唆している。

36 ヒト精液凍結保存法の再検討

慶応義塾大学産婦人科学教室
 真井徳幸、小林俊文、飯塚理八

人工授精希望者は近年、増多の傾向にあり、授精用精液の確保、保存、すなわち精液銀行の必要性は増加してきている。

ヒト精液の保存は凍結保存法を主としているが、凍結精液による人工授精の妊娠率は、必ずしも満足すべきものではない。

そこで今回、ヒト精液の凍結保存、融解後の精子蘇生率の向上目的で以下の如き検討をした。

①凍結保存容器は従来、試験管法で行われているが、ウシなど家畜精液ではストロー法で好成绩を得ている。しかしヒト精液のストロー法については、Matheson, Carlborg, GemzellおよびBeck & Silversteinなどの報告をみるが、ほとんど検討されていない。そこで我々は、直径約25mm、容積が0.5mlのプラスチック製ストローを用い、同一精液について、試験管法と精子蘇生率につき比較検討した。

②精液保存液は、我々はK S mediumを用いてきたが、K S mediumとK S medium + T P D (VB₁誘導体、Thiamine Propyl Disulfide)及び、N S L B液の3種の保存液を用い、精子蘇生率を検討したが、T P D添加により、凍結・融解後の精子活力を良好にする傾向をみた。

③凍結速度と精子蘇生率との間には相関があり、プログラムフリーザー法が良好な成績であることを、すでに本学会に発表してきたが、今回は融解速度を室温融解と30～35°C微温湯中に15秒間浸漬する急速融解、4～5°C冷水による3者に分けて検討し急速融解が良好であることを再認識した。

④精液と保存液は等量希釈で行っているが、その希釈法につき、精液と保存液を全量混入する1回希釈と、3～4回に分ける分割希釈法とを比較検討したが、分割希釈法が好結果を得た。

37 ラット・マウス未受精卵の凍結保存について

※ 明治大学農学部
 ※※ 日本大学農獣医学部農芸化学科
 ※友田 仁 ※※名取正彦 ※尾川昭三

〔目的〕 哺乳動物胚の凍結保存は主として受精卵に限られている。未受精卵の凍結保存も可能ならば、その方法は遺伝育種研究のためにさらに有効な手段を提供すると言えよう。我々はマウス、家兎の未受精卵の凍結保存を試みた。〔方法〕 マウス、家兎は共に PMS・HOG 投与後卵管より未受精卵を採取した。卵はヒアロニダーゼ処理によって或程度顆粒細胞を除去してから凍結保存に供した。凍結および融解方法は、マウス卵では whittin-gham 等 (1972) の方法に準じたが、若干の修正を施した。すなわち、0℃までの冷却は 1℃/2.5min で行ない、DMSO 平衡後に Seeding 温度 (-4℃) までを 1℃/2min で下降せしめた。家兎卵では尾川等 (1973) の方法を修正して行った。すなわち 0℃までを 1℃/2.5min とし凍結の際に PBS の代りに HER 液 (血清不添加) を用いた。DMSO の最終濃度はマウスでは 8.5%、家兎では 12.5% であった。家兎卵の凍結融解は 6~7℃/min で稀釈は DMSO を含む PBS を段階的に加へ、さらに HER を加えて行なった。授精用精子はマウスでは精巢上体尾部精子を Brinster 液 (1965) 2 容に HER 1 容を混じたものの中で 3 時間、家兎では射精精液を卵管および子宮内を HER 液で洗滌したものの中で 5 時間両者共 CO₂ incubator で 37℃ 保持したものを用いた。授精処置は 5 時間とし各新鮮液中の卵に上記の精子液を滴下混和して保持した。以後、マウス卵を Brinster 液 3 容 + HER (血清加) 1 容液に移し CO₂ incubator 中にて培養、家兎卵は HER (血清加) 液の閉鎖条件下培養で、各々発達の有無をしらべた。〔結果〕 マウス卵では凍結融解後 23~40% の例が正常形態を保持した。授精処理後培養により 12~35% の例に分割発達像が認められ、家兎卵では、15~38% の例が正常形態を有し、授精培養の結果 18~23% の例に分割発達像が認められた。

38 L_{N2} 長期保存ラットの生存性と、発育後の学習能力について。

岡山大学農学部家畜繁殖学教室
 内海 恭三, 湯原 正高, 西村 和彦

近年哺乳動物卵の凍結保存の実験的成功例が 2, 3 の動物種で見られるようになった。演者らも第 19 回本学会において L_{N2} 凍結融解後のラット受精卵の宿主での産子への発育を報告した。しかし、長期 L_{N2} 凍結保存卵の融解後の発育性を検討した報告はマウス卵において散見されるに過ぎない。牛精子では 10 年以上の L_{N2} 保存精液による受胎率が報告されている。本実験では極低温下に暴かれた胚の生存性持続の機序を探る端緒として、L_{N2} 長期保存卵の融解後の産子への発育性を調べ、併せて新生児の発育性と成熟後の学習能力を検討した。

自家繁殖 Wistar 系雌に DA 系雄 (有色) を交配した受精卵 (胚盤胞) を演者らが先に開発した法に従って凍結し、L_{N2} 中に保存した。凍結直後の融解卵を対照として、保存 3 ヶ月、6 ヶ月、1 年および 1 年 6 ヶ月の各時期に融解して、Wistar 系宿主の子宮に移植した。次に分娩新生児の発育曲線を調べて発育性を比較した。知的能力の正常性を検討するために、1 年保存胚の産子の学習能力を、改良マウラー・ミラー型回避装置による回避学習を行った。1 日 30 試行 10 日間正反応の回数を調べた。

長期保存胚の融解直後の形態は保存日令によつて変化はなく、各日令胚とも約 60% が移植に供し得た。移植後の妊娠率は各日令とも 90% 以上で、移植卵数に対する産子率は 25%~40% で、保存日数による経時的な変化は認められなかった。新生児の発育性は新生時体重の整一性に欠けるためか、体重増加曲線に多様性が認められたが、いずれも正常範囲内に位置するものと思われた。成熟後の学習能力は 4~9 日目の間に大部分が習得した。このように現在のところ、最長 1.5 年間ではあるが、胚の -196℃ での長期保存性の可能性が示唆された。又その新生児の発育と知的能力においても、明白な異常が認められないことから、胚盤胞の低温障害は悉無的にあらわれることが想像された。

39 抗精子抗体 of 受精卵に及ぼす影響について

兵庫医科大学産科婦人科学教室
宮本敬子, 黄 清熙, 戸田一司, 鎌田敏雄
磯島晋三

原因不明不妊婦人の中には血中精子不動化因子を保有している者の存在するのを見出し、以来、その因子の究明を行なった結果、それが抗精子抗体であることが判明した。又我々は既に動物実験においては、血中抗精子抗体が雌性器管内に移行してくることを証明し、ヒトにおいても不妊婦人頸管粘液中に精子不動化因子が存在することを証明し得た。このことより血中精子不動化抗体が性器管内に移行して、性器管を上行してくる精子に何らかの障害を及ぼし、不妊の原因になるのではないかと考えられた。他方我々は受精後の精子特異抗原について、蛍光染色法を用いて検討を行なった結果、受精直後より胞胚に至るまで、その受精卵表面に、精子特異抗原が存在していると考えられる結果を得た。従って今回母体に抗精子抗体は存在するが、精子の運動性及び、受精そのものに障害を与えなかったような場合、(例えば抗体が非常に弱かったような時)受精卵が卵管、子宮の中で如何なる影響を受け、着床及びその後の発育に障害を及ぼすかどうかについて検討を加えてみた。

ラット受精卵(L₄)を家兎で作った抗ラット精子抗体7S γ -Gでin vitroで反応させた後、偽妊娠ラットの子宮内に移植して着床及びその後の発育について検討した結果、対照と比較して着床率はほとんど差がないにもかかわらず、抗精子抗体処理受精卵はほとんど吸収されて発育しなかった。他方in vitroで受精卵を処理するのではなく、雌ラットをラット精子で強力に免疫し、偽妊娠状態とした後、同系ラット受精卵(L₄)を子宮内に移植して着床及び、その後の発育について検討した結果、対照と比較して着床率に低下の傾向がみられた。

40 妊娠子宮組織における妊卵の蛋白合成におよぼす効果

一片側卵管結紮妊娠ラットを実験モデルとして—
東京慈恵会医科大学 産婦人科学教室第1講座
山本育代、木下英夫、篠塚正一、遠藤 守
清水新緑、大高東皓、蜂屋祥一

第28回産婦総会において我々の考案した片側卵管結紮妊娠ラットは脱落膜の持つ性格を分析し得る好箇な実験モデルとなり得ることを我々は発表し、さらにその同一個体における妊娠子宮側においては、非妊娠側をしのぐ蛋白の蓄積が確認されたが、この事実は thymidine kinase 活性、核酸代謝の面からみても子宮組織とくに脱落膜組織が妊娠および着床を契機として、妊卵の発育という目的に方向づけられることが推察された。本研究においてはここで蓄積された蛋白がいかなる因子により生成されるかということ、ならびに組織蛋白合成の律速性について検討を加えた。

対象と方法 実験対象は妊娠第4、5、6、9日目の片側卵管結紮ラットを用いた。屠殺2時間前にラットに蛋白の前駆体として ¹⁴C-Glycine を静注し、脱血死せしめて子宮を剔出(一侧は妊娠、他側は非妊娠状態を呈す)両側を頸部より分離し永冷下において10-20%の homogenate を作成、5% PCA, ethanol-ether 処理により粗蛋白分画を得、さらに ammonium を加え遠沈その上清部を蛋白液とした。この一部を Lowry 法による蛋白定量に供し、他を liqued scintillation cocktail に apply し、その radioactivity を求めた。

結果 1) 妊娠側の蛋白量は非妊娠側のそれを凌駕しておりこの差は第5日以降に著明となっていた。2) 蛋白の前駆体たる ¹⁴C-Glycine の単位蛋白重量当りの incorporation は妊娠側子宮において次第に高値を示してきた。すなわち ¹⁴C-Glycine を marker とした amino 酸の蛋白への incorporation は非妊娠側よりも妊娠側において亢進していた。非妊娠側と比較して妊娠側子宮における蛋白蓄積の増加はアミノ酸から蛋白合成の亢進に由来するものであることが明らかであり、このような妊娠子宮組織における代謝相の推移は胞胚のもたらす作用の結果と考えられた。

41 遅延排卵と妊娠

都立墨田産院* 都立府中病院** 東京医科歯科大学***
* 野口邦夫 **大塚晴久 ***斎藤 幹

最近の内分泌学および細胞遺伝学の進歩により卵に対する種々のアプローチがなされ、そのAgingおよびOverripenessが問題の焦点となつている。蛙、ラットにおいて遅延排卵による受精卵の異常の増加が報告され、ヒトにおいては胎児のCrown rump lengthの測定成績から遅延排卵による月経周期中期以降の受精が異常卵になる確率の高いことが推察されている。

今回、われわれは基礎体温により排卵日を推定し得、自然排卵による妊娠で分娩を終了した満8月以上の191例を対象として、通常の月経周期の変動を越えて遅延した排卵により妊娠した婦人の妊娠経過および分娩時の母児の状態についてretrospectiveに推計学的考察を試みた。

結果：1)月経周期日数を①25日以前、②26日～31日、③32日～40日、④41日以上、⑤不順の5群に分けると、26日～31日群は58.1%、不順群は14.1%であった。2)排卵日は最短8日で、12日から16日までが45%とはほぼ半数を占め、17日以降は減少した(ただし排卵日は月経第1日を0日として算出した)。排卵日平均は 18.4 ± 10.4 (M \pm SD)日である。3)月経周期①群から⑤群のそれぞれの排卵日平均の $+ \frac{1}{2} \sigma$ 以上を遅延排卵群とし、 $+ \frac{1}{2} \sigma$ 未満を正常群とすると遅延群18.8%、正常群81.2%であった。4)切迫流産の頻度は遅延群にて16.7%、正常群にて19.4%と差がなかった。5)遅延群では正常群に比し胎日数(排卵・分娩日数)257日以前のものが有意に多かつた($P < 0.01$)。6)生下時児体重平均は遅延群にて3,264g、正常群にて3,162gと遅延群においてやや高体重であった。また、遅延群においてLFDがやや多かつた。7)Fetal distress, Apgar scoreは両群間に差がなかった。8)遅延群に妊娠、分娩、児に関する異常の増加はみられなかった。9)児性別は両群間に差がなかったが、月経周期不順(⑤群)は26日～31日(②群)に比し有意に男児が多かつた($P < 0.01$)。

42 過排卵処置マウスの胚および胎児の生存率およびProlactinおよびHCGの影響

日本大学医学部衛生学教室 伊藤 雅夫
日本大学医学部公衆衛生学教室 遠藤 克
日本大学農獣医学部家畜生理学教室 佐久間勇次

過排卵誘起後の着床率が低いことや、着床後の妊娠の維持が困難である現象は、マウス、ラット、ウサギなどの実験動物で多く認められている。これらの現象の機序についてはいまだ不明の点が多いが、マウス、ウサギにおいては、妊娠の早い時期にProlactinを投与することによって、着床率を向上させ得ることが報告されている。しかし、Prolactin投与の場合においても着床後の胚および胎児の死亡率が高く、妊娠の維持という点においては不成功に終っている。演者らは、過剰に着床した場合の妊娠維持について追究する一過程として、今回、妊娠維持におよぼすProlactinおよびHCGの影響について、マウスを用いて検討を試みた。

方法：供試マウスはCFW, daY系の成熟雌マウスを用いた。過排卵誘起は、スミアにより発情を確認した2日後の休止期にPMS 10 IU,その後50時間目にHCG 5 IUをそれぞれ皮下に投与する方法で行った。Prolactinの投与は、妊娠1日目から9日目にかけて、合計3,9,27 IUになる様に連続投与した。HCGは妊娠6日目から15日目にかけて合計1,3,6,9 IUになる様に投与した。

結果：着床数はPL非投与群の184に対し、PL投与群では248～324であり、PLの投与量が過剰でないかぎりPL投与により有意に高い値を示している。また胎児の生存率はPL 3 IU \times 3日投与群、PL 0.5 IU \times 6日投与群、PL 1.5 IU \times 6日投与群において70.97～78.65%と非投与群の54.6%に比較して有意に高い成績を示している。しかしながら、この場合においても胚および胎児の死亡の状況からみると、PL投与による胚死亡の改善は妊娠前期において認められており、妊娠後期においてはPL投与による改善はほとんど認められていない。すなわち、妊娠前期における胚死亡率は非投与群17.66%に対し、PL投与群では6.45～7.87%であった。また妊娠後期における胎児死亡率は非投与群21.74%に対しPL投与群では13.48～22.58%であった。一方、妊娠中期にHCGを投与することにより、胎児死亡率の若干の改善がみられた。

43 家兎脱落膜のAlkaline Phosphatase

東邦大学産婦人科, 東邦大学生化学
真島靖重 林基之(産婦人科教授)
畑下敏行(中検部長) 天野久夫(生化学助教授)

第20回不妊学会総会でMorton原法にそい、水抽出によりAlkaline Phosphatase(以下Al-pとする)のPartial Purification(Butanol抽出, PH 4.9 acidification, 30~50% Acetone Fractionation)とAgar Gel電気泳動について発表したが、第2報として若干の知見を報告する。抽出液を、水、0.25% Sucrose, 5% Triton X-100として、比較したところ、Triton X-100が一番抽出時の比活性がよかった。妊娠23日目の白色家兎の水分含量は、非妊時子宮 $7.1.2 \pm 0.3$ (Mean \pm , S. D. 8 Rabbits) 胎盤 $8.3.7 \pm 0.4$, 脱落膜 $8.0.7 \pm 0.7$, 着床部位 $8.2.8 \pm 0.4$ であった。

ポリアクリルアシッドdisc電気泳動では5%, 7%, 10%濃度のポリアクリルアシッドと吉田法、水島法の染色法を比較検当したが、7%濃度と吉田法の組合せが、分離能、染色性の点ですぐれていた。ポリアクリルアシッドdisc電気泳動で胎盤3本、脱落膜2本、子宮、2本と分離できたが移動度によるIsoenzymeは脱落膜中のIsoenzymeは胎盤と同じ移動度であった。

44 家兎胞胚の被膜について

—ムチン層の autoradiography —

東邦大学医学部産婦人科教室
野沢あき子, 岩城章, 林基之

Shapiroらは家兎受精卵に付着した卵管分泌物(ムチン層)が、子宮腔内で短時間に消失する可能性のあることを報告している。事実、卵は子宮腔内進入直後では卵管卵とは同じ所見を呈しているが、間もなく透明帯とこれを取り囲む膜(ムチン層)は薄くなり、次いで一層の膜として認められる。我々は家兎の着床直前の胞胚の被膜におけるムチン層の関与は非常に少ないのではないかと報告した。今回はムチン層を ^{35}S でラベルし、卵の *in vivo*、*in vitro* における発育につれてのムチン層の変化を観察した。

実験には、自然交配直後の家兎にHCG 100 IU投与。交配後1~2日の間に $1.0 \sim 1.5 \text{ mci/kg}$ の $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ を静注し、その後交配後64~72時間で卵を回収した。その一部は直ちにグルタル、オスミウム酸の二重固定後エボン包埋切片を作製してautoradiographyを行なった。残りは一部を*in vitro*で培養し、一部はHCGにより偽妊娠誘起したRecipientに移植した。移植した桑実胚は21、30、72時間後に回収した。培養および移植後の回収卵は前記と同じ操作によりautoradiographyを行なった。その結果、回収直後の桑実胚、培養卵のムチン層には明らかに銀粒子を認めた。また移植後21、30時間で回収した初期胞胚の最外層の非細胞性被膜にも銀粒子を認めムチン層であると判定された。しかし72時間に回収した発育の著しい胞胚の被膜では銀粒子の発見は困難であった。

従って着床近い家兎胞胚の被膜の形成には透明帯のみならず、ムチン層もほとんど関与していないものと考えられ、前回の報告がうらづけられた。

45 ヒトトロフォブラストの固定ゼラチン膜上での培養の試み

京都大学医学部婦人科学産科学教室
木下幹久, 富永敏朗, 曾根春男,
小笹 宏, 西村敏雄

我々は組織培養法を応用して、トロフォブラストの生理、化学、妊娠着床現象の研究を行っているが、一般にトロフォブラストは他の組織、例えば子宮内膜等に比較すると、*in vitro*では生え難い細胞であるといってもよく、十分な培養成績を得ることは困難であった。今回、我々はBlandauがモルモットトロフォブラストの蛋白分解酵素の研究に酵素基質として利用したゼラチン膜の作製法を一部改変して、ゼラチン膜matrixを作製し、妊娠初期ヒト絨毛組織片の培養に応用したところ、満足すべき結果を得た。培養液は199-Hanks液：70%，牛胎児血清：30%の混合液を用いた。ゼラチンmatrix作製法：(1)ゼラチン顆粒408 mgに滅菌蒸留水12 mlを加え、37℃にて溶解。(2)ガラスカバースリップに薄膜状にゼラチン溶液を塗布。(3)ゼラチンを塗布したカバースリップを、空气中、室温にて24時間乾燥。(4)冷(4℃)滅菌蒸留水中に24時間浸漬(省略可)。(5)冷ゲルタルアルデヒド(0.05%，滅菌蒸留水で希釈)にて24時間固定。(6)冷Hanks液にて24時間浸漬。(7)冷99%ethanol中に24時間浸漬。(8)新しい冷Hanks液中に保存。用に臨んで使用。結果：培養開始24時間内に、トロフォブラストと思われる上皮性細胞の良好なmigrationを認めた。最も早い例で培養開始5時間後にmigrationを認めた。多核巨細胞も48時間内に認めたが、全く認められない場合もあった。一般にmesenchymal coreに由来するといわれているfibroblastは殆んど認められない。ガラス、プラスチック上での培養に比し、明らかに細胞のmigrationは良好であり、plasma clot, reconstituted rat tail collagenに比しても、ごみが少ないこと、水解放が起らないこと等が観察上の利点であり、またトロフォブラストのmigrationも文献的には明らかに我々の方法は優れているといえよう。contaminationは、これまでのところ皆無である。

46 ヒト未受精卵透明層に関する生理化学的検討

済生会中央病院・産婦^{*}、慶大・産婦^{**}
井上正人^{*}、柏瀨成一^{**}、鈴木秋悦^{**}

哺乳類では多精子受精は致死的であり、ハムスター、ヒトでは透明層が、また家兎では卵子細胞膜が、多精子受精に対する防御機構として働くといわれている。近年哺乳類卵子の体外受精が可能となり、さらに、受精卵の子宮内移植法も一部で試みられている。

一方、ハムスターの体外受精では、多精子受精の頻度が極めて高く、30～70%と報告されている。この高い多精子受精は、主として、受精に用いられる精子濃度が高いことが原因であると考えられている。しかし、精子濃度を下げると、受精率は著明に低下し、現在では、*in vivo*と同様の受精率をうることは非常にむづかしい。

従って、もしヒトの多精子受精に対する防御機構がハムスターと同様に透明層に依存し、ヒトの透明層の生理化学的な性質がハムスターのそれに近似しているならば、当然、ヒトの体外受精卵も高率に多精子受精となることが予想される。

しかし、これまでヒト透明層の生理化学的な研究は、我々の知るかぎり、ほとんどなされていない。

今回我々は、ヒト卵子の体外受精研究の一環として、マウス、ハムスター、ラット、に用いられた方法を利用して、ヒト未受精卵透明層のSolubility properties及び、Sperm binding propertiesを調べ、若干の知見を得たので報告する。

47 ヒト黄体機能に対する Prostaglandin HCG の影響

日本大学医学部産科婦人科学教室
村井一郎, 富田雅弘, 橋本正夫, 中沢 終,
岡戸孝雄, 坂内寿衛, 田 根培, 吉田孝雄,
高木繁夫

目的: ヒト黄体機能の調節機構の一つとして $PGF_{2\alpha}$ の luteolytic action と HCG の luteotropic action との関係を解明するため, 従来の実験的考察に加えて今回さらに次の如き検討を行なった。方法: 以下の4群においてそれぞれのBBT, 子宮内膜所見の変化, 血中 Progesterone (P値) の推移をみた。すなわち①正常黄体期婦人に $PGF_{2\alpha}$ を投与した群 ②黄体機能不全患者に 5,000, 10,000 iu の ACG を投与した群 ③黄体機能不全患者にまず HCG を投与し, ついで $PGF_{2\alpha}$ を投与した群 ④正常黄体機能婦人の 16 (3-trifluoromethyl-phenoxy) omega-tetranol-trans- β - $PGF_{2\alpha}$ -methyl ester (16-TF- $PGF_{2\alpha}$) を投与した群である。成績と結論: ①群でのP値は黄体期前・中・後期ともに投与前と変わらずほぼ一定であり, 子宮内膜所見にも変化は認められなかった。しかし後期の1例に出血を認めた。②群でHCG投与後のP値は上昇し, BBTも安定をみた。ついでこの群に $PGF_{2\alpha}$ を投与すると投与後60分でP値は投与前のほぼ $\frac{1}{2}$ に低下し, 24時間程度持続し, ついで再度のHCG投与により正常値に回復をみた。④群では黄体期前・中・後期のいずれでも投与後30~40分でP値の著減($\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$)を認めまた黄体期後期に投与した4例中3例には出血を認めた。以上より一応のHCGの黄体機能改善効果を認めることになるものの, $PGF_{2\alpha}$ の luteolytic 効果については黄体機能不全患者で明瞭であり, 正常機能のそれでは $PGF_{2\alpha}$ に比べて一層強い 16-TF- $PGF_{2\alpha}$ にのみそれが認めることになる。従来ヒトの luteolytic action については $PGF_{2\alpha}$ を含めてその解明が困難であり, さらに進んでその機序についても一層検討している。

48 ヒテルギンによる乳汁分泌性無月経の治療

自治医科大学・埼玉丸山病院、産婦人科
田村 貴、玉田太朗、丸山正義

(目的)市販の麦角アルカロイド剤であるヒテルギンを乳汁分泌症ないしは乳汁分泌性無月経患者に投与し、乳汁抑制および月経あるいは排卵誘発に有効であることを認めたので報告する。

(材料ならびに方法)

対象は乳汁分泌症11例で、そのうち無月経を合併したものの5例、月経順調なもの2例、ピルを服用していて規則的に消退出血をみていたもの2例、子宮摘除を行なったもの1例、妊娠初期1例である。これらを原因別に分類すると、1)分娩が誘因と思われるもの5例、2)特別の原因がないもの2例、3)ピル服用中止後2例、その他である。

ヒテルギンは Dihydroergocornine, Dihydroergocryptine および Dihydroergocristine の3種の麦角アルカロイドのメタスルホン酸塩を等量に含み、脳動脈硬化症、末しょう血管障害などを適応症としてすでに市販されているが、それを舌下錠あるいは内服として1日、2ないし6錠を投与した。

(結果)効果を乳汁分泌抑制と排卵ないしは月経の発来との2つの点からみると、前者については11例中著効6例有効3例、やや有効2例であった。著効および有効の9例では、その効果発現までの日数は3ないし14日であるが1例だけ131日を要したものがあつた。

月経および排卵に対する効果では、無月経を伴った5例のうち4例には月経が、2例には排卵が回復した。これらの症例のFSH、LH、Prolactinを測定した結果も併せ報告する。

49 生物学的的方法による人子官頸管粘液中の総プロスタグランディンの測定

都立荏原病院 産婦人科 森本敬三 内出洋道
 東邦大学 産婦人科 平川 舜
 東京薬科大学 竹内久米司 相沢義雄

プロスタグランディン(以下PGと略す)は、その特異的かつ広範囲な生理作用が、各界で注目され数多く報告されている。PGを生体試料から分別する方法は、これまで種々発表されているが、生体組織中の含有量が極微量のため、またPG自体が非常に代謝されやすく脂肪酸に酷似した化学的性質を有し、しかも化学構造的にも多くの同族体ないし分画に分かれているため満足すべき定量法が確立されていない。今回われわれは、PGの平滑筋収縮作用を利用し、ラット子宮角を用いた測定法により子宮頸管粘液の総PGsを測定した。対象は1.当院外来を訪れた避妊を希望する健康な婦人 2.ノルエチステロン微量投与により排卵を抑制しない婦人(1.の婦人より) 3.不妊を訴えて来院した婦人の排卵期に頸管粘液を採取し、その総PGs量を測定したので報告する。

50 不妊治療における夫側の態度に対する心身医学的解析

川崎市立川崎病院 心療産婦人科
 長田 宏, 岩淵庄之助, 坂倉啓一, 山本 浩
 東京都済生会中央病院 産婦人科
 落合 寛, 井上正人, 明石敏男

最近不妊を主訴として訪れる患者の不妊期間が短期化しつつあることは事実であろう。

これは、従来の家を基盤とした家族制度の場合と異つて、近年における核家族化の推進が、若い夫婦に素朴な淋しさをもたらすためとも思われる。一方不妊婦人の心的背景についてわれわれはこれまで本学会総会でもたびたび報告してきているが、屈折した様々な背景を有していた。また妊娠を夫婦の単位で考えるという原則からみれば、夫側の態度は極めて重要であると考えられる。今回は不妊を主訴として来院し、心身医学的検索・治療を行ったものの中で妊娠したもの4例、妊娠しなかつたもの6例を選び、夫側の態度に焦点をあて、考察を加えてみたので報告する。

妊娠した症例では夫が積極的に児を希望する様に変化が起つたり、妻の婚前の人工妊娠中絶を許し、真剣に夫婦の接近を許り、あるいはインポテンツの夫が妻の協力によつて素直に治療に努力するなどの状態が観察された。一方妊娠しなかつた症例のなかで二症例は結局夫婦共挙児に拒否的であつたが、夫婦の真の話し合いの結果、現在は互いに理解し合い静かに生活を営んでいる。症例N・Fの夫は軽度の心嚢炎にとらわれ、また同性愛的傾向がうかがわれた。症例I・Hの夫は神経質で、実母との精神的臍帯が断ち切れず、夫の方がむしろA・I・Hに積極的であつた。症例K・Aは夫婦共に大学卒、性生活は共に淡泊で、夫は仕事に逃避し、妊娠・挙児については人ごとの様な無関心さであつた。症例F・Yは夫婦共に結婚当初より3年間妊娠をしなれば離婚しようと話し合つていた。医学のめざましい進歩は身体的な面では微細に検索されるが、反面夫婦として不妊を考えるという原則をともしれば忘れがちである。そこで日常の診療に際し、夫が妻の不妊をどの様に考え、理解しているかを常に把握して治療にのぞむことが必要であると痛感される。

51 不妊症に対する針治療の試み

長崎大学医学部産科婦人科学教室

森 淳躬, 石丸忠之, 河野前宣, 三浦清巒
東洋医学研究所 谷 美智士

〔目的〕最近, 針によって手術や無痛分娩の麻酔あるいは種々の疾患の治療が行われるようになり, それらの効果とともに作用機序が注目を集めている。

そこで, 私共は針による不妊症の治療を試み, その有用性の有無を検討し, 同時にホルモン環境の変化を検索したい。

〔対象〕種々の治療によっても妊娠しなかった機能性不妊症(黄体機能不全症を含む)6例および無排卵周期症ならびに第1度無月経の7例を対象とした。

〔方法〕上記の対象患者に針治療を試みその有用性を検討した。この針治療の経路および取穴は個々の症例ごとに一定の基準を考案し, 週1~2回, 電気的経絡治療法を行なった。この治療法は経絡, 経穴を主とした針治療に, 電気力を応用したもので, 電気力としては低周波パルス刺激と高周波通電刺激を用いた。電気器はオリエンタン・パルスMixIIを使用した。また無排卵周期症3名について, 針治療前および後に採血を行ない, 血中LH, FSH, estradiol, progesteroneをRIAにて測定し, 針治療がホルモン環境にいかなる影響を及ぼすかについて検討した。

〔結果〕機能性不妊症6例のうち, 3例の妊娠に成功したが, このうち2例は妊娠5週および8週に流産した。他の1例は妊娠8週に流産した後, 再度妊娠し, 現在妊娠9ヶ月である。無排卵周期症および第1度無月経の例では, 排卵誘発剤やその他のホルモン剤の使用をすべて中止した後に針治療を開始し, その結果7例のうち6例の排卵誘発に成功した。なお周期別にみると18周期中12周期に排卵がみとめられた。これらのうち1例が妊娠し, 現在妊娠継続中である。なお針治療前および後の種々のホルモンを測定した結果から, 針治療による排卵誘発の機序についても考察するつもりである。

〔結論〕針治療が不妊症に対して有用な1つの治療法となりうるという成績を得た。

52 液性ならびに細胞性免疫と流早死産

大阪大学医学部産科婦人科学教室

若尾豊一, 佐治文隆, 中室嘉郎, 根来孝夫,
都竹 理, 倉智敬一

原因不明の流早死産のなかには個体間の組織適合抗原の差によって生じた免疫学的拒絶反応によるものが含まれている可能性がある。即ち胎児、胎盤は父親から受け継いだ組織適合遺伝子を有するので遺伝的に母体の組織とは異なる。一方妊婦の20-50%はこの父親由来の組織適合抗原に対して液性抗体を産生している。この液性抗体あるいは同時に産出される細胞性抗体が胎児や胎盤をallograftとみなし免疫学的拒絶反応を起す結果、流早死産が生じ得る。ところがヒトは遺伝的に雑系であり流早死産の成績を組織適合抗原に関して解析することは非常に困難である。そこで我々は遺伝的背景の確立した近交系マウスを用いて免疫学的機序による流早死産の実験モデルを作製した。

マウスの組織適合抗原に対する抗体、感作脾細胞作成のため、近交系C57BL/6Jマウスに組織適合抗原の異なるC3H/Heマウスの皮膚移植および脾細胞による腹腔内免疫を行なった。こうして得たC3H/Heの組織適合抗原に対する抗血清、感作脾細胞をC3H/Heオスマウスとmatingさせて妊娠したC57BL/6Jメスマウスの妊娠第7日に尾静脈から投与した。妊娠第18日に開腹し、子宮内胎児死亡の有無、胎仔数、胎仔重量、胎盤重量について検討した。感作脾細胞及び抗血清同時投与群では生存胎仔にまじって一部流産胎盤がみられ、同群の平均生存胎仔数(6.2)は抗血清投与群(10.5)、対照群(12.0)に比して著明に減少した。生存胎仔の平均重量(884mg)も抗血清群(1037mg)、対照群(1043mg)に比し著明な減少を示した。同様の傾向は感作脾細胞投与群でもみられた(平均胎仔数9.6、胎仔重量824mg)。胎盤重量は同時投与、感作脾細胞投与、抗血清投与の三群において対照群の105mgに比し約30%の増加がみられた。

以上の結果、①細胞性免疫が免疫学的流早死産の主体である。②細胞性免疫の効果は液性抗体の存在下で更に強力に発現される。③液性抗体単独では胎児に影響を与えない。

53 ラットおよびマウスにおける同種精子、精巣および卵巣免疫の生殖におよぼす影響

農 林 省 畜 試 角田幸生
米国ウースター研 M. C. Chang

目的 哺乳類精子並びに精巣の抗原性およびそれらの抗体の受胎に及ぼす影響については古くから数多くの研究が行なわれているが、卵巣の抗原性に関してはこれまでほとんど知られていなかった。しかしながら Shiversら (1972) により抗ハムスター卵巣血清中にハムスター精子の卵子への進入阻害作用があることが明らかにされて以来、活発な研究が行なわれてきた。本研究は精子および精巣と卵巣の同種免疫の生殖に及ぼす影響を比較することを目的として行なわれた。

方法 各抗原の免疫注射は定法に従って行ない、免疫動物の交配後の受精率、妊娠率および産児数を調べた。また一部の免疫マウスについては、その卵子の受精能を体外受精法により調べた。

結果 1) 排卵はラットおよびマウスとも全免疫区において阻害されなかった。2) 受精率はマウスにおいては全免疫区で低下したが、ラットにおいては卵巣投与区においてのみ若干の低下がみられた。3) マウスの卵巣投与区において透明帯の破損および透明帯の囲りに沈降層が観察されたが、ラットではいずれもみられなかった。透明帯の外側に生じた沈降層は異種抗卵巣血清で卵子を処理した時にみられる沈降層 (Tsunoda and Chang, Biol. Reprod. 354, 1976 a ; J. Exp. Zool. 409, 1976 b) と類似していた。4) 妊娠率および産児数の低下はマウスの全免疫区でみられ、特に卵巣投与区で著しかった。ラットにおいては、ともにほとんど低下しなかった。5) 免疫マウスより採取した卵子の受精能は全免疫区で阻害されたが、卵巣投与区でその傾向が著しかった。

54 無精子症患者のHLA抗原系について

神戸大学泌尿器科 真弓研介、守殿貞夫、石神襄次
神戸大学第3内科 中尾実信
東海大学血液センター 辻 公美

〈目的〉

ヒトの主要組織適合抗原であるHLA抗原の研究の進歩に伴い、近年HLAと疾患感受性の関係が注目されている。

男性不妊において、その原因と考えられる基礎疾患を明らかに説明しうるものは、きわめて少く、原因不明のいわゆる特発性男性不妊が大部分を占めるのが現状である。現在、諸家により種々の方法で研究がなされているが、その一つの考え方として本症の発症過程に免疫学的な機序が想定されている。今回、われわれはHLA抗原の免疫応答との関連から、無精子症患者のHLA抗原を検討し、若干の知見をえたので報告する。

〈対象と方法〉

当科不妊外来を訪れた男性不妊のうち、睾丸生検にて Germinal aplasia と確認された無精子症50名についてHLA抗原分析をおこなった。Ficoll-conray 遠心分画法で分離した、リンパ球につき Terasaki らの Microcyto-toxicity test に準じてHLAタイピングをおこなった。使用抗血清はベーリング・ベルケ社製および東海大学血液センターより提供された113種を用いた。

検定抗原数はLocus Aが11、Locus Bが17であった。対照として、同一血清により非血縁健康人50名のHLA抗原分析をおこない、HLA表現型発現頻度の比較をおこなった。

〈結果〉

① Locus A では正常対照に比べて無精子症患者の発現頻度に有意の差は認めなかった。

② Locus B では無精子症患者において、BW 35の発現頻度が高かった。

55 不妊婦人の頸管粘液とその改善策について 殊に妊娠率の検討

富山県立中央病院産婦人科
館野 政也, 大志摩敦朗, 舌野 徹
朝本 明弘, 西野 隆, 林 義則

妊娠現象が成立するためには精子と卵子が結合することが条件で、そのためには精子が頸管粘液内で活発に運動し、スムーズに上行可能な状態が作られることが必要である。一般に排卵期の頸管粘液の増量、粘稠性低下更にはPHの上昇は授精に必要な生理的環境の現われである。従来からわれわれは無排卵に起因する不妊婦人でClomidにより排卵誘発に成功しても妊娠に成功しない例のみられることをしばしば経験しておりこれらの例では不妊が頸管粘液の悪条件に起因することを知ったのでClomid療法において妊娠に必要な頸管粘液の好条件を作り出す必要があることを痛感した。われわれは過去2年来Clomid療法に引きつづきEstriol剤を用いて頸管粘液の増量をはかり妊娠率の向上につとめているがその成績についてのべる。

- (1) Postcoital testによってみると頸管粘液の好条件下では精子の運動率、精子の貫通性が極めて高い。
- (2) Clomidに引きつづきEstriol 2mg/day 10日間の使用では排卵抑制はみられず、投分中に排卵はおこり、しかも頸管粘液の好条件となる例が多かった。
- (3) Clomid不妊例でもEstriolの使用により妊娠率は20%近くみられ、EstriolはClomid不妊例の妊娠率を明らかに上昇させた。

56 排卵性機能性不妊の内分泌学的一考察

済生会神奈川県病院産婦人科
福永友明 張 延 三 鄒 仁 智
仁科進弘 田中清隆

不妊症に対する諸検査で、特に異常を認め難い排卵性不妊患者について、有効な治療法が見出し難いのが現状である。最近、排卵期より着床期に至る血清中のLH, FSH, Estradiol- 17β (E₂), およびProgesterone (P) を測定し、正常性周期を示す症例の内分泌変動と一部の排卵性機能性不妊のそれを比較検討した。

正常性周期を示す同一症例で、非妊娠周期および無治療で妊娠成立した周期の内分泌変動を測定し得たもので、両周期共にLHのPeakを定量し得た9例では、LH Peakは9.80~16.80 mIU/ml, E₂はLH Peak前日で191~380 pg/ml, 当日で108~280 pg/ml, 黄体中期のE₂ Peakは6~9日目に各々みられ110~141 pg/mlであった。PはLH Peak前日 0.254~0.436 ng/ml, 当日 0.59~0.89 ng/ml, 2日目には2.0 ng/mlを越え、黄体中期のPeakは6~8日目にみられ、7.12~12.1 ng/mlであった。

排卵性不妊患者の一症例では、LH Peakは正常性周期のそれとほぼ同一であったが、黄体中期のE₂は311 pg/mlとはるかに高く、PはLH Peakより起算して2日目になお0.412 ng/mlと低値を示し、その後漸次増量傾向を示したが、黄体中期のPeakは5.81 ng/mlと正常性周期のそれに比してやゝ低値を示した。さらに、頸管粘液量は当日0.35 ml, 2日目0.25 ml, 4日目になお0.1 mlを分泌し、BBTはLH Peakより4日目に高温相に移行し、10日間持続した。本症例に頸管粘液増量のPeak (LH Surgeが推定される) 時期にProgesteroneを補充投与し、投与周期に妊娠成立を見た。

投与周期のPおよびE₂は無治療妊娠例のそれにほぼ類似の変動を示した。

本症例に類似した他の2症例のうち、同様な治療により1例は妊娠成立し、他は不成立であった。以上のように、一部の排卵性機能性不妊と考えられていたものについて、早期のProgesterone投与療法を試みるのも一方法であると考えられる。

57 いわゆる機能性不妊症に対する Clomiphene — HCG 療法の有効性について

徳島大学産婦人科教室
松家五朗 増田歳久 乾 泰延
三村経夫 高橋久寿 足立春雄

機能性不妊症とは基本的検査で認むべき異常がなく、不妊要因を説明できない両性の不妊症を意味し、この中でも最も多く認められる排卵性卵巢機能不全症は適確な診断がつけ難く、治療についても種々の方法が示唆されている。今回 BBT 測定、黄体機能動的検査にて診断し得た排卵性卵巢機能不全の症例に Clomiphene — HCG 療法を行い、機能性不妊症の治療効果について検討した。黄体機能検査は従来の Jayle の方法とは異なり、黄体機能の最も盛んな時期即ち BBT 高温相の 4. 5. 6. 7 日目の血中 progesterone (P) estradiol (Ed) を RIA にて測定し、更に動的検査として HCG 5000 IU を負荷し判定した。BBT 松本氏分類 I ~ IV 型の P 値 $13.62 \pm 3.92 \text{ ng/ml}$ であるのに対し short luteal phase を有する V ~ VI 型では $7.52 \pm 2.13 \text{ ng/ml}$ と有意に低値を示しており、HCG 5000 IU 負荷を行った動的検査においても Ed 値には両群に有意な差はみられないが、P 値は I ~ IV 型において $1221 \pm 3.38 \text{ ng/ml}$ から $17.4 \pm 3.9 \text{ ng/ml}$ と増加するのに対し V ~ VI 型では $8.08 \pm 2.45 \text{ ng/ml}$ から $9.7 \pm 3.5 \text{ ng/ml}$ と殆んど反応していない。これは従来より行われている short luteal phase に対する HCG 療法の有効性の薄いことを物語っているといえる。そして 2 相性 BBT を有する排卵性不妊症例に Clomiphene — HCG 療法を行うと、P 値は対照周期の $8.7 \pm 2.6 \text{ ng/ml}$ から $22.8 \pm 11.3 \text{ ng/ml}$ と有意に増加し、BBT も I ~ III 型に改善され、Clomiphene — HCG 療法 3 cur 以上行った 15 症例中 4 例 (40%) に妊娠に成功した。これは従来からいわれている Clomiphene 投与による卵胞成熟の促進と正常の 2 倍にも達する高い LH peak による強制排卵、及び HCG 投与により黄体機能不全の改善がみられ、妊娠成立にまで至ったものと推測された。

58 ヒト卵管間膜の微細構造

京都大学医学部婦人科学産科学教室
岡村 均、森川博史、大島正義、万井正章
西村敏雄

ヒトにおいて排卵時に卵胞から放出された卵が卵管中に移行するためには卵管采による pick-up mechanism が必要と考えられている。このために卵管采は排卵時に卵管間膜筋組織の運動性により卵巢表面に密接するような位置をとると考えられる。しかし、ヒト広靱帯中に平滑筋が疎に存在することはいわれているが、卵管の運動性を支配する卵管間膜中での平滑筋の存在とその分布についての詳細は不明である。われわれはヒト卵管間膜のなかでも特に卵巣と卵管采の間の部分 (mesotubarium ovarica, MTO) についてその組織構造を超微形態学的に検討した。

子宮筋腫あるいは CIS のため子宮全摘術を受けた 30 才台の婦人から得た 7 例の卵管間膜を用いた。卵管間膜を伸展したままで固定し、光顕用パラフィン切片は間膜に平行面で作製し、Gomori's trichrome staining をほどこした。電顕用 Epon 超薄切片は MTO の横断面で作製し、lead citrate で染色した。

光顕的観察では Gomori 染色によって赤染する長紡錘状細胞質をもった細胞集団が束状に MTO 中を卵巢から卵管采にかけて走行しているのが認められた。これら平滑筋束はあたかも卵巢平滑筋と卵管采平滑筋を機能的に結合しているように観察される。微細構造上ではこれらの平滑筋束は横断面で 20 ~ 30 からなる平滑筋細胞集団として被覆腹膜上皮直下から認められる。個々の細胞は核近傍に位置する mitochondria および endoplasmic reticulum、細胞膜の pinocytotic vesicles、細胞質をみたく myofilaments といった典型的な平滑筋細胞に特徴的な所見を示しており、またいわゆる thick myofilament も明瞭にみとめられた。MTO 表面腹膜をおおう一層の上皮細胞には short microvilli をもったものは認められるが、cilia をもつものは認められなかった。これらの結果は卵胞腔から卵管への卵の移送には腹膜細胞表面構造ではなく MTO の運動性が重要な役割を果していることを示していると解釈される。

59 ヒト mesotubarium ovarica の収縮性について

京都大学医学部婦人科学産科学教室
森川博史、岡村 均、万井正章、西村敏雄

分娩における子宮、卵輸送における卵管、排卵における卵巣などの収縮に代表される内性器の収縮性は生殖過程において種々の役割を演じている。Halbart and Conrad は2枚の漿膜の間に薄い smooth muscle sheet を有する rabbit の mesotubarium superius (MTS) の運動性を *in vitro* で観察し、単に oviduct の支持に関与しているばかりでなく estrogen の withdrawal の時期に運動性が増加していることを報告している。われわれはヒトの mesotubarium ovarica (MTO) に十分な smooth muscle の存在することを形態学的に示したが、本報告ではその収縮性について検討し卵巣から卵管への卵輸送におけるその意義を考察した。開腹術を受けた42例の婦人より得られた長さ7mm前後で巾、厚さ共1mm位のMTOをmuscle chamber中でovarial siteを固定し、fimbrial siteをtransducerに接続し、自発収縮を記録した。収縮反応量を測定し比較するためまず自発収縮曲線をtraceする方法を用いた。すなわち5分間のtracing lengthからhorizontal lengthを減じた値はこの時間内の収縮量を示す指標となり、その平均値をearly follicular, late follicular, ovulatory, early luteal, mid luteal, premenstrual phaseについて比較するとearly follicular phaseに比しlate follicular phaseは約11倍、ovulatory phaseは約14倍と有意の高値を示した。また5分間の収縮の総量をg単位で表わし、これを各時期で比較するとearly follicular phaseに比しlate follicular phaseで約7倍、ovulatory phaseで約6倍の値を示した。現在までヒトにおけるMTOの運動性については報告をみないが、われわれのこの*in vitro*実験でMTOの自発収縮性はlate follicularおよびovulatory phaseで増強していることが明らかとなった。このことはMTOの運動性が卵管の卵の取込みおよびampullary portionにおける卵のtransportなどに重要な役割を演じている可能性を示唆している。

60 不妊と子宮内膜症

名古屋大学医学部産婦人科教室
中西 勉・成田 収・有井吉太郎・万羽 進
東出香二・後藤滯二・後藤 孝・下須賀洋一

(目的) 1. 不妊を主訴とする子宮内膜症患者に対するゲスターゲンス療法及び保存手術法の意義とその評価。
2. ホルモン療法及び手術療法を単独或いは併用した系統的治療法の確立。

(対象) 最近10年間当科で治療した子宮内膜症を有する不妊患者94例を対象とした。

(成績) 1. ゲスターゲンス療法が100日以上に及ぶと子宮内膜症病巣の組織はnecrobiosisが著明となり、組織学的にもゲスターゲンス療法の有効性が証明された。

2. 保存手術を行った18例とホルモン療法を施行した46例について治療後の妊娠率を検討し、妊娠率に影響を及ぼすと思われる要因と治療後の妊娠率との関連性を分析した結果、次のような事が明らかとなった。

I) 治療後の妊娠率はホルモン単独治療群では46例中7例(15.2%)であり、保存手術を行なったものでは48例中24例(50%)であった。

II) 保存手術を施行した症例のうち、術前の不妊期間が2年未満と比較的短期間の患者では、術後の妊娠率は約90%と高率であった。

III) 教室の分類ではIII度に属する子宮内膜症が相当高度に進行した症例でも、19例中7例(36.8%)に治療後妊娠が認められた。

IV) 保存手術を行なった症例の大部分に卵巣子宮内膜症が認められた。

(まとめ) 明らかに卵巣子宮内膜症を認める場合にはホルモン療法単独では不十分であり、保存手術の適応と考えられる。ダグラス氏窩の閉鎖した症例にも保存手術により比較的高い妊娠率が得られた。術前にホルモン療法を行った症例については、癒着部分の軟化が起き術中の癒着剥離が比較的容易であった。又、保存手術後ホルモン投与を行った症例において、2年以上のフォローアップ期間中に再開腹を要した症例は2例のみで、術後のホルモン投与が再発の防止に役立つものと考えられ、ここにホルモン療法の意義があると思われる。

61 摘出人卵管の field stimulation に対する反応

九州大学温泉治療学研究所産婦人科
是永迪夫 吉田耕治 松岡幸一郎
門田 徹

目的. 人卵管の矩形波電気刺激に対する反応形態, および各種薬剤による影響を調べる。
また ampulla, isthmus の反応の違いについて観察をおこなう。

材料, および実験方法. 子宮筋腫および子宮癌初期患者より得られた 14 検体につき実験をおこなった。実験は大部分摘出後 12 時間内におこなわれ, 検体の漿膜を剥離し, isthmus 標本は ampullary-isthmic junction を端とする 1.5cm, ampulla 標本は distal ampulla 1.5cm とした。矩形波刺激は 10mm 離れた径 8mm の白金 ring 間にておこなわれ, 刺激間隔は 3~5 分とした。記録は isometric におこない初張力は 0.5g 重とした。

結果, 結論. duration 1msec., frequency 50 Hz, 5 sec. の刺激で intensity を 12.5V - 150V まで変化させると 20V - 25V より反応があらわれ始め, 50V - 100V にて最大反応が得られた。反応強度は isthmus の方が ampulla に比し 2~10 倍大きかった。また 1msec., 50V - 100V, 5sec. の刺激で frequency を 2.5Hz - 200Hz まで変化させると 5Hz より反応があらわれ始め, 25Hz - 50Hz で最大反応をしめたが, ampulla は isthmus に比し反応のあらわれ始める frequency が高かった。また刺激時間は 10sec. - 20sec. で最大反応に達した。duration を 0.1msec. - 10msec. まで変化させると 1msec. - 5msec. で最大反応となるが 10msec. では反応の減少が観察された標本もあった。以上の反応は実験中長期にわたり可逆性であった。tyramine 10^{-5} g/ml では tension の上昇をもたらしたが ampulla ではこれを欠くこともあった。1msec., 50Hz, 50V - 100V, 5sec. の刺激に対し次の反応を観察した hexamethonium 2×10^{-5} g/ml は電気刺激反応に影響を与えなかった。propranolol 4×10^{-6} g/ml で反応の増強する標本があった。guanethidine 10^{-5} g/ml は反応を消失させた。また phenoxybenzamine 10^{-5} g/ml および phentolamine 4×10^{-6} - 2×10^{-5} g/ml は反応を抑制した。以上 duration 1msec. の field stimulation は節遮断剤によって影響をうけず α -blocker, guanethidine により抑制された。

62 家兎性器組織における LDH アイソザイムについて

藤枝市立志太総合病院. 東邦大学
橋本直夫, 伊藤元博, 林基之, (産婦)
岡田健, 天野久夫 (生化)

家兎性器組織における LDH アイソザイムについて我々は, 寒天ブロック電気泳動, DEAEセファデックスを用いて分離を試み, 卵管では M 型支配, 子宮では H 型支配であることを, さきの本学会に於て報告した。同一原器から発生するとされるこれらの組織にこのような変化がある事は, 生物学的, 遺伝学的に重要な現象であるので, 今回更に DEAEセルロースを用いて検討を加えた。

カラムは DEAEセルロース (容量 0.89 meq/g , 直径 1.7cm, 長さ 25cm) を用い, ステップワイズに下記の異った 7 種類の緩衝液で展開した。即ち

- I. リン酸緩衝液 (0.005M PH_{6.9})
- II. リン酸緩衝液 (0.005M PH_{6.9}), NaCl(0.04M)
- III. リン酸緩衝液 (0.005M PH_{6.9}), NaCl(0.08M)
- IV. リン酸緩衝液 (0.037M PH_{6.8})
- V. リン酸緩衝液 (0.05M PH_{6.8})
- VI. リン酸緩衝液 (0.05M PH_{6.8}) NaCl(0.1M)
- VII. リン酸緩衝液 (0.05M PH_{6.8}) NaCl(0.2M)

I - V までは, 各緩衝液は 70 ml, VI は 140 ml を用いた。実験に使用した各組織の抽出液は 2 ml を I の展開剤 18 ml に混和, 吸着。流速は 1.5 ml/分 で行ない 5 ml を分画採取し, それについて LDH 活性値と 280nm に於ける紫外外部吸収を測定した。

卵管は展開緩衝液 I - II, III - IV, V - VI, VII - VIII の部分で酵素活性のピークが認められ, 卵巣は, I, III, V, VII の部分で酵素活性のピークが認められ DEAEセファデックスの分離より明確に分離された。総 LDH 活性のピークがみられたフラクションについて, ポリエチレングライコール, セファデックス 150 で濃縮した後, 寒天電気泳動を行った。例えば, 卵巣では VII の緩衝液で流出させた部分は L₁ の部分と一致し, V の緩衝液では L₂ の部分と一致した。このことから DEAEセルロースクロマトグラフィーで分離する方が好ましいと思われる。

63 重症無排卵症に対するKaufmann療法時における間脳・下垂体・卵巢系の変化

九州大学温泉治療学研究所 産婦人科
宇津宮隆史, 立山浩道, 梶原健伯, 山口省之, 門田徹

(目的) 重症無排卵症に対するKaufmann療法の効果, および間脳下垂体・卵巢系に与える影響を解明する。(対象, 方法) 対象はgestagen testで消褪出血(一)の第II度無月経症7名である。Kaufmann療法はdepot剤筋注法によった。治療前にLH-RH testを行ない, その後, 毎回注射直前に採血を行ないながらKaufmann療法を3周期行なった。治療後, day-10にLH-RH testを行ない, その後, 約2~3カ月間の治療休止期間を設け, その間も2週間毎に採血を行なった。血中FSH, LH, estradiol (E₂)値をRIAにより測定した。そして, その動態からKaufmann療法の間脳・下垂体卵巢系に与える影響を検討した。(結果) Kaufmann療法前のLH-RH testで①high-good型を示した5例はFSHの前値48.4~52 mIU/ml, LH 35.0~172 mIU/mlであり, その後治療1周期終了後から著明に減少し, とくにestrogen投与後に低値を示した。治療終了後のLH-RH testではFSHの前値18.0~74.0 mIU/ml, LH 15.0~76.0 mIU/mlとなり, 反応は正常範囲内であった。②low-poor型の1例は治療中の血中FSH, LHはnon-detectableな範囲まで下降し, 治療後LH-RH testでも同様であった。③normo-good型の1例は治療後はlow-poor型を示した。治療前high-good型の5例のうち, とくに著明に下垂体の反応が低下した2例は, 治療後自然出血を認めた。またlow-poor型の1例は治療後gestagen testで消褪出血があり, 第I度無月経症に移行した。以上のことから, 消極的な排卵誘発法といわれるKaufmann療法のrebound効果は, 補充されたestrogenおよびprogesteroneの卵巢に対する直接的効果, すなわちgonadotropinに対する感受性の上昇等が示唆された。

64 Strassmann手術法の工夫とその手術経過の検討

慶応義塾大学産婦人科学教室
清水謙一, 河上征治, 中村幸雄, 飯塚理八

子宮内腔異常の手術適応とその限界については諸説があるが, 習慣性流産、長期不妊を伴う双角子宮に対し, Strassmann手術の効果は臨床の経験上充分評価されてきている。

私達のHSGによる子宮内腔奇形の診断とその妊娠成立率、流産率の解析では重複子宮が最も妊孕性が高く、次いで弓状子宮で、双角子宮が最低である。一方当不妊外来でHSG撮影例の15.1%に子宮奇形が存在することからStrassmann, TeLinde氏手術の適応が一つの有力な対策となっている。

私達は前者の手術法において子宮内腔到達法およびその一連の操作に手術器具を含め以下の工夫を行った

- (1)術前に子宮口をHegar 5~7号まで拡大し、子宮腔内にボーゼマンカテーテルを挿入する。それを助手に開腹後に下から子宮底に向かって強く挿入させる。

- (2)それにあたるように子宮底部に横切開を加えると確実に子宮腔内に到達可能である。

- (3)そのボーゼマンカテーテルの先端の孔にIUDに結びつけたナイロン糸を通し、ボーゼマンを引き出しながら中隔を切除した子宮腔内に固定する。

- (4)最後に子宮底部の横切開創を2層縫合で矢状方向に癒合させるがIUDは3ヶ月後抜去する。

上記の方法において私達はHegar 5~7号相当の先端を従来の屈曲より10度強くさせ、同部に内径5mmの孔を開け、ボーゼマンカテーテル様の器具を作成し、現在使用している。

これは同ヘガールを挿入する時屈曲先端を子宮内腔中央に向け挿入し同部に切開を入れれば子宮卵管角の損傷を防止し得、本法が従来の盲目的な子宮内腔到達に比し安全かつ確実であることを手術前後のHSGを含め報告する。

67 CRYO-SCAN による頸管粘液の微細構造の観察(第1報)

千葉大学 産科婦人科

前川 岩夫, 高野 昇, 大久保 綜也,
高見 沢裕吉

ヒト生殖過程の第1歩は頸管ならびに頸管粘液(CM)を精子が通過することによつて始る。この精子の通過に直接影響すると考えられるCMの微細構造について Cryo-Scanning Electron Microscopy(CRYO-SCAN)を用いて検討した。

明らかな2相性基礎体温を示す20才〜30才代の婦人より得られた排卵時期のCMを材料とし、採取後、量、性状、牽糸性、結晶形成等物理学的性状検査と共に直ちに2.5%グルタル固定(24時間以上)後、液体窒素で瞬間凍結、JEOL, JSM-50-A型走査電子顕微鏡で観察した。

すでにCMの微細構造について透過型電顕での観察、凍結乾燥あるいは臨界点乾燥法応用による走査型電顕での観察が行われている。

しかしこのCMの微細構造の観察は排卵期に98%にもなるCMの水分除去の技術的問題を含んでいる。これに反しCRYO-SCANは水分を含んだまま生体標本の観察が可能で、現在の所、CMのような水分含有量の多い標本観察には適していると考えられる。今回CRYO-SCANを用い、水分を含んだままCMの微細構造の観察を行った。その結果、すべての標本に明らかな網状構造が観察され、Odebladの仮説を確認すると同時にその周期性の存在を認めることができた。なおCMの微細構造と他の物理学的性状との相関についても検討したので報告する。

68 脱落膜細胞の形態に関する研究 第二報

東海大学医学部産婦人科教室

塩塚 幸彦, 林 茂興, 林 茂一郎
佐橋 徹, 藤井 成彬, 小林 一夫

妊孕現象において、脱落膜、特に脱落膜細胞が重要な機能をなしている事は疑うべくもないが、その詳細に関しては、いまだ不明な点が多い様である。またその形態についても完全には明らかでなく、脱落膜細胞、前脱落膜細胞が混同し論じられる事も多い様である。我々は、従来より脱落膜細胞の部位別検討、さらに前脱落膜細胞との比較検討を行ない、床脱落膜と壁脱落膜の形態的差異、及び脱落膜細胞と前脱落膜細胞が異っている事を明らかにして来た。

今回、この脱落膜細胞の形態を明確にし、その機能解明への第一段階として、光顕的に類似の形態を示す疑妊療法施行時内膜の、組織化学的、さらに電顕による超微形態学的検索を行なったので報告する。

検索対象、及び検索方法

子宮内膜症、又は子宮発育不全の為疑妊療法を施行した8例を検索対象とし、光顕的には、H-E染色、鍍銀染色、Masson染色、PAS染色、アルシアンブルー染色、M-G-P染色を行なった。電顕的には、グルタルアルデヒド、オスミウム酸の二重固定し、Epon包埋、JEM100C型電顕にて観察、撮影を行なった。

検索結果

疑妊療法施行せる子宮内膜は、光顕的には脱落膜類似の形態を示すが、組織化学的検索にては異った所見が認められた。PAS染色ではその発現は少なく、また、間質結合組織繊維の発達も少ない。電顕的検索では、間質細胞はorganelleの発達が少なく、脱落膜細胞の如き糸粒体、粗面小胞体の発達は認めない。核内封入体、ゴルジ装置、glyco caryxも明らかではない。この様に組織化学的、電顕的検索にて脱落膜細胞と疑妊療法施行例間質細胞とが明らかに異なる事より、脱落膜細胞の形成機序及びその機能の一端を示唆していると考えられる。

69 機能性不妊婦人の内膜 glycogen と 黄体機能に関する研究

熊本大学

齊藤厚生 松尾 勇
中原和彦 前山昌男

1970年 Huijing 等により開発された enzymic method によると微量組織中 glycogen の測定が可能であり、今回我々はこの方法を応用して機能性不妊婦人の子宮内膜を外来にて採取し、内膜 glycogen 量を測定するとともに、機能性不妊を様々な角度より分析検討したので報告する。

研究方法：対象は機能性不妊婦人 55 名であり、子宮内膜の採取はすべて分泌期前期に行なつた。そのうち原発性不妊 32 例、続発性不妊 23 例（自然流産既往 11 例、人工妊娠中絶術既往 12 例）で原発性不妊例は同時に Pregnandiol (Pd) をも測定し、内膜 glycogen との関連性を検討した。その他 BBT による黄体期日数との関連性、あるいは glycogen 代謝に重要な役割を演じる cAMP についても competitive protein binding 法により測定したので、この cAMP との関連性についても検討した。

成績ならびに考按：原発性不妊の内膜 glycogen 量は $466.25 \pm 28.63 \text{ mg} \%$ (Mean \pm SEM)、自然流産既往の続発不妊 $482.72 \pm 35.12 \text{ mg} \%$ 、人工妊娠中絶既往例 $704.16 \pm 44.23 \text{ mg} \%$ と人工妊娠中絶既往の続発不妊において内膜 glycogen の増加がみられた ($P < 0.005$)。原発不妊において Pd $2 \text{ mg} / \text{day}$ 以上の 21 例では内膜 glycogen $552.85 \pm 20.37 \text{ mg} \%$ 、 $2 \text{ mg} / \text{day}$ 未満 11 例のそれは $300.9 \pm 40.4 \text{ mg} \%$ と前者において有意の増加が認められた ($P < 0.005$)。次に黄体期日数についてみると 13 日以上群では $638.18 \pm 43.62 \text{ mg} \%$ 、13 日未満群 $441.33 \pm 32.77 \text{ mg} \%$ と黄体期日数が長い群で内膜 glycogen は増加していた ($P < 0.005$)。cAMP を測定した症例は全部で 15 例あつたが、cAMP が $15 \text{ pmol} / \text{mg protein}$ 以上を示した群 8 例において有意な内膜 glycogen は増加していた ($P < 0.005$)。

以上の結果より原発性不妊婦人において、内膜 glycogen は黄体機能と密接な関連性を示した。又、続発性不妊でも人工妊娠中絶既往のある症例では内膜 glycogen が比較的増加していたことは興味深い。

70 女性不妊治療法としてのエンドメトリオーシスの 保存手術成績

大阪医科大学産科婦人科学教室

杉本 修、植木 実、伊藤 正尚、土居荘之介
池田 良、奥田喜代司、飯野 隆司、佐野 隆

不妊原因としての外性エンドメトリオーシスは重要な疾患であるが、術前診断も難しく保存療法も十分確立されていない。われわれは不妊治療上最も有効な方法を探索するため偽妊娠療法と保存手術療法のそれぞれ単独あるいは組合せを検討した。

対象は骨盤内に器質的病変が疑われる症例および原因がはっきりしない不妊婦人 635 例にラパラスコピーを行ってエンドメトリオーシスを合併した 166 例である。ラパラスコピーによる分類では I 期 45 例、II 期 82 例、III 期 39 例である。

その結果、I 期では偽妊娠療法単独および手術後偽妊娠療法を行ったものが 50% の妊娠率を示し、II 期、III 期では偽妊娠療法と手術療法を種々に組合せた群に 45.7% の妊娠が成立した。これら保存療法によって 64 例 (39.5%) が妊娠したが、4 例は広汎な病巣のため根治手術を余儀なく行った。

以上から不妊のエンドメトリオーシスの治療前にはラパラスコピーが重要であり、不妊治療のための保存療法としての偽妊娠療法と保存手術法の単独または併用は価値あるものと考えられる。

71 ヒト子宮内膜における Progesterone Receptor の月経周期における変動

大阪医科大学産科婦人科学教室,*島根医科大学医化学教室
渡辺克一, 植木 実, 杉本 修,*下山 誠

Progesterone 結合因子は Karsznia et al. によってラット前立腺から分離され、その後 Q'malley et al. が離卵管細胞質においてその化学的性状や効果発現機構などについて報告している。しかしヒト子宮内膜の progesterone receptor に関する研究は少ない。そこでわれわれはヒト子宮内膜の progesterone receptor の分離を試み、月経周期による変動さらに基底層、機能層における個々の変動について検討した。

正調月経周期を有する患者の摘出直後の子宮内膜を用い、3倍量の buffer を加えて homogenize し、105,000G で60分間遠沈後、この上澄を cytosol とした。この cytosol と5~20%蔗糖密度勾配遠沈によって得た8Sと5Sとを³H-progesterone 存在下で4℃60分間 incubate した後 dextran coated charcoal で遊離型を吸着させ測定した。

その結果ヒト子宮内膜の progesterone receptor の affinity は高かった。しかし8Sと5Sの間には progesterone affinity および他の steroid による阻害の程度には著明な差を認めなかった。また月経周期における変動は8Sにおいて著明で、黄体後期よりも卵胞期に高値を示した。さらに機能層、基底層の検討からも機能層の8Sの変動が著明であった。これは月経周期における8Sの変動と合せて興味深く、その意義についても考察したい。

72 フルオロスコープ下、 子宮角部焼灼法の改良点

石川 医院
石川 文夫

子宮卵管造影法(H.S.G.)で子宮角部を焼灼する前と後との影像を比較すると種々の変形はあるが大きく二つの典型に別けられる。一つは子宮角部に明らかな癒着性癒着がみられるものと、他は単に円形類似の影像である。

前者は子宮腔の狭小が少い割に卵管の疎通が見当らず、後者には顕著な狭小がみられても卵管は疎通した症例があった。

また、焼灼された卵管間質部の剖検所見では癒着した部分は子宮腔に面する僅か数mmの筋層で卵管の組織ではない。残る間質部卵管は破壊または萎縮した部分に於いても管孔は疎通していた。従って子宮角部に形成された癒着性癒着は成績の成否を示す重要な影像であると思われた。

明らかな癒着の形成方法は子宮角部に所定の導子を接合して温度計の指針が摂氏(C)100°に達する時間(秒)の2倍の時間(秒)で火花放電を開始するように電流を調整して、放電をさらに30秒間継続することを目標とした。

この焼灼によって子宮内膜腺上皮は焼去され、筋組織の細片が導子金属部に付着するか、焼灼臭気が嗅がれるが、子宮後屈、後傾、時には前屈の子宮角も導子と適合されない症例があるからフルオロスコープすなわちH.S.G.で卵管間質部が焼灼の深さよりも長いことを確めた上で、卵管開口部と導子の適合を計った。

H.S.G.による検診は処置後12週(第3~4月経)以後に90mmHgで行ない、カセットの写真で判定した。

73 家兎黄体化ホルモン (LH) の radioimmuno-assay

慶大医学部産婦人科学教室
牧野恒久, 大野虎之進, 飯塚理八

私共は新しい家兎 LH の radioimmunoassay を開発し, これまでに LH-RF 免疫家兎の LH 分泌能について報告してきたが, 今回はこの RIA 系の細部をさらに検討し, 家兎血中の LH 濃度を平常時, 去勢後, 交尾後, 合成 LH-RF 投与後などの各状態において測定しこの実験動物の内分泌状態の一端を明らかにした。

radioimmunoassay の実際は NIH ovine LH を抗原として雄モルモットを免疫し得られた血清を抗体とし, その 20,000~50,000 倍に稀釈したものを assay に供した。標識および標準ホルモンとしては精製された家兎 LH (biological potency = $0.79 \times \text{NIH-LH-S}_1$) を用い通常二重抗体法によった。成熟雌家兎の血中 LH の basal level は 200~1,700 p.g./ml で去勢後 4 週で約 5~7 倍に上昇することが判明した。自然交尾では 3~5 時間後に 70~100 倍に急激に上昇し, 同時に血中 $20\alpha\text{-OH-P}$ も上昇が観察された。合成 LH-RF 1.0 μg を静注投与するときわめて短時間 (15~30 分) で LH の上昇がみられるが, 最高値・絶体量ともに自然交尾による LH 上昇に及ばないことが判明した。以上の各測定値は今後この種の実験動物の内分泌研究の基礎データの一つとなり得るものと思われる。

74 LH-RH の analogues による排卵誘発の試み

東京医科歯科大学産科婦人科学教室, チューレン大学 内科* 矢追良正, 熊坂高弘, 西望, 斎藤 幹, 有村 章*

LH-RH は, そのゴナドトロピン放出が短時間であるために, 排卵誘発成績は芳しくない。LH-RH の analogues である [Des-Gly¹⁰][Pro⁹-ethylamide]-LH-RH (以下 EA-LH-RH と略す) 及び [D-Leu⁶-des Gly¹⁰-NH₂]-EA-LH-RH (以下 D-Leu⁶-LH-RH と略す) はそのゴナドトロピン放出効果が強力で, long acting であることより, 排卵誘発剤としての応用が期待されている。我々はこの二剤につきその臨床的な特性を探り, 併せて排卵誘発への応用の可能性を検討した。LH, FSH 放出効果を比較するために, 正常周期婦人の排卵期に, LH-RH 100 μg , D-Leu⁶-LH-RH 25 μg を皮下投与, D-Leu⁶-LH-RH 2 mg を膣坐薬にて膣内投与し, 同一条件下で採血, 血中 LH, FSH を RLA により測定した。LH に関してはピークに到る時間は LH-RH, 30 分, EA-LH-RH, 2 時間, D-Leu⁶-LH-RH 4 時間であり, FSH に関しても同様の傾向がみられ, 24 時間後には前値に復している。一方 D-Leu⁶-LH-RH の膣内投与では LH, FSH 共に 24 時間以上にわたって高値を持続した。無排卵症例に EA-LH-RH を連日皮下投与すると, LH, FSH の反応は逐日低下し, エストロゲン値は逆に逐日上昇するも, 2~5 日間で低下した。排卵成績は EA-LH-RH 100 μg により 14.2%, EA-LH-RH + HCG により 22.7% であった。尚 EA-LH-RH により無排卵症例の約 50% に消退出血が認められた。D-Leu⁶-LH-RH 25 μg を連日皮下投与した症例の多くで排卵を伴わない消退出血が認められた。排卵誘発するためには卵胞成熟が促される必要があり, そのためには投与方式の工夫が必要であろうと思われ, それにより卵胞成熟, 排卵の成績が更に改善されよう。

75 LHRH test 無反応 6 症例に対する検討

長岡赤十字病院
土田 勲

我々は月経異常患者に対し、一般的生活指導を主に 3～6ヶ月経過観察を行い、各種検査とともにLHRH testも施行して居ります。昭和49年より昭和51年5月まで50例にLH, RH testを施行し8症例に無反応、低反応症例を認めました。6症例に対しClomid-HCG、或はPMS又はHMG負荷を行い、LHRH testを施行した。症例1。無月経、LHRH test無反応、脳外科検査異常なく、Clomid HCG 治療施行後排卵はないが、CM増加。LHRH test施行、反応良好でありClomid増量HCG治療にて排卵、3周期目妊娠す。

症例2。無排卵周期症、Clomid-HCG 9周期排卵、後無月経 LHRH test無反応 現在、Clomid HCGにて排卵あるが脳外科精査予定。症例3。第2度無月経Clomid無反応、LHRH test無反応、脳外科で下垂体腫瘍にて手術、放射線治療後HMG治療2回行うも排卵なし。目下卵巣検査後HMG負荷後LHRH test予定。症例4。原発性無月経、染色体女性型、下垂体性腺機能低下、HMG負荷LHRH test反応低HMG負荷増加、CM増加時LHRH test反応性良、その後HCGにて排卵はないが月経発来、以後、卵巣検査後HMG-HCG治療予定。症例5。第2度無月経、エストロゲン負荷時、左動眼神経麻痺あり、LHRH test無反応、卵巣検査：PCO、HMG-負荷LHRH test予定。

症例6。無月経、LHRH test無反応Clomid HCG後、低反応、HMG-負荷LHRH test反応：良、後HCG治療排卵あり、その後脳外科下垂体腫瘍として手術。手術時下垂体腫瘍確認出来ず。その後HMG-HCG治療にて排卵妊娠す。以上LHRH test無反応で下垂体腫瘍に関連しそうな6症例を報告し、会員御各位の御指導を乞う次第である。

76 FSHと卵巣におけるステロイド産生(cyclic AMPおよびprotein kinaseとの関連において)

神戸大学医学部産科婦人科学教室
片山和明 赤堀泰一郎
仲野良介 東條伸平

目的) FSHとsteroidogenesisとの関係をラットを用いたin vitroの実験でcyclic AMPの動態、protein kinaseの活性化、エストロゲン産生の面から検討した。

方法) 動物は生後21日目のSprague-Dawley系の幼若雌ラットおよび同系Parlowラットを用いた。卵巣を摘出後incubation mediumにFSHとしてNIH-FSH-S9を、LHとしてNIH-LH-S18を加えてインキュベートした。Cyclic AMP濃度はGilmanのprotein binding assay、protein kinase活性はYamamura等の方法によって測定した。また、エストロゲンは組織およびmedium中のものをエーテルにて抽出し、ラジオイムノアッセイにて測定した。

成績) 幼若ラット卵巣のcyclic AMP濃度は、FSH投与群でもLH投与群と同様に明らかな上昇を示し、しかも用量反応関係をもって上昇した。またcyclic AMP dependent protein kinaseはFSH、LHの両者によって活性化されたが、cyclic AMPの場合と異り、明らかな用量反応関係はみられなかった。またエストロゲンは、FSH、LH投与群で上昇がみられ、FSH20 μ g/ml投与例では対照群の約2倍量のエストロゲン(エストラジオール)が検出された。一方、Parlowラットでは、FSHによるcyclic AMP濃度、protein kinase活性の変化は明瞭でなく、エストロゲンの産生もFSHによる影響はほとんどみられなかった。

考案) FSHが卵巣のステロイド産生に関与するか否かについては従来から議論のあるところであるが、今回、我々はFSHが単独で、幼若ラット卵巣において、cyclic AMP、cyclic AMP dependent protein kinaseを介してエストロゲン産生に関与していることを示唆する実験成績を得たので報告する。

77 “対応式HMG (Human Menopausal Gonadotropin) 投与方法” の設定とその背景および効果

北里研究所附属病院産婦人科
白井英一郎、磯野光志、伊東正昭

自然排卵周期と異なりHMG排卵誘発治療下ではestrogen値と卵胞成熟度とが必ずしも相関しない事を指摘しこの原因を臨床面及び赤毛猿を使用した実験より検討し既に報告した。即ち、自然排卵周期では最初卵巣内に多数の原始卵胞が同時に発育するがregressionによりその数が次第に減少するといわれる。一方強力な卵胞発育促進作用を持つHMGなどの人工排卵誘発下ではこのregressionが障害され多数の未熟卵胞がそのまま発育しその結果未熟であるため各々の分泌量は少いが総計すると高いestrogen値が示されることを指摘報告した。初めてHMGを使用してより約10年になるが“漸減式投与方法”なるHMG投与方法を設定しその有益性を報告してより既に久しい。その後前述の如き現象を認めまた何が治療指針として重要かを観察した結果、新たな投与方法の必要性を痛感し“対応式投与方法”なるHMG投与方法を設定した。血清中FSHを測定すると共に必要に応じてTSH等の全身状態判定に必要な諸検査を実施した。血清中estrogen値およびprogesterone値を測定し経過観察した。昨年の本学会で報告せる頸管粘液結晶検査法を前述諸検査と共に治療の際の指針とした。HMG治療においては投与対象の症状および諸検査結果に応じて投与量を日々決定していくことが非常に重要であるが、現在の状況では各ホルモン測定結果を即日臨床面に利用し得る状態ではない。この点を考慮し前回報告せる頸管粘液結晶検査を主として投与量決定の基としたが他の諸検査とも十分な相関性を有した。前述した如く人工排卵治療では自然排周期より更に注意深い卵胞発育状態に対する監視体勢及びこれに則った治療法が必要であるが“対応式投与方法”は現在の段階で十分これに応え得る投与方法であると思う。

78 Clomiphene-HMG-HCG療法による排卵妊娠成績とその作用機序に関する内分泌学的検討

大阪大産婦人科
安田 基、青野敏博、三宅 侃、衣笠隆之、
近藤国男、宮崎正敏、倉智敬一

(目的) clomid単独やclomid-HCG又は、HMG-HCG療法に反応し難い無排卵婦人に対し、clomid-HMG-HCG療法を行ない、排卵誘発率及び妊娠率を検討したところ好成績が得られた。その作用機序を調べる目的で経日的に血中ホルモン測定を行なった。

(対象および方法) 過去5年間無排卵による不妊を主訴としてclomid-HMG-HCG療法を行なった20症例の40周期について排卵妊娠率を調べた。clomid-HMG-HCG療法のスケジュールは原則としてclomid 100mg 5日間内服に引き続きHMG 150 I.u. 5~7日間投与の後、HCG 5000 I.u.を筋注する方法と、clomid内服に重複してHMG 150 I.u. 5~7日間投与し、続いてHCG 3000 I.u.を3日間筋注する方法の2つの方法に従った。そのうち7例については連日血中LH-HCG, FSH, estradiol (E₂), progesterone (P)を測定し、controlとしてHMG-HCG単独投与の6例についても同様のホルモン測定を行なった。

(成績) clomid-HMG-HCG療法を行なった20症例40周期中、排卵周期は31周期(76%)で、妊娠は5例6周期であった。又同一症例のclomid単独、及びclomid-HCG療法では、それぞれ46周期中排卵周期1(2%)、51周期中排卵周期14(27%)であった。HMG-HCG療法では43周期中排卵周期21(49%)であったが、いずれも黄体機能不全等で妊娠に結びつかなかった。血中ホルモンパターンではHMG投与中のFSH値はclomid-HMG-HCG治療群とHMG-HCG治療群の両群に差がないのに対し、clomid併用群ではE₂の上昇が早期より認められかつ高く、又HCG投与前に内因性のLHの上昇がみられた。

(結論) clomid-HMG-HCG療法群では他の療法群に比し、有意に排卵率が上昇しており、HMG-HCG療法で妊娠し難い症例のうち5例、6周期が妊娠に移行した。そのうち3例は多胎妊娠であった。この排卵、妊娠率の上昇は、投与したclomidが主として卵巣レベルでHMGの卵胞発育効果を高かめ、排卵後の黄体を賦活する可能性が示唆された。

79 Estrogen の gonadotropin Release に対する Feedback Mechanism の解析：下垂体柄切断動物を利用して(1)

自治医科大学産婦人科
荒木重雄, 小沼誠一, 赤堀彰夫,
水上尚典, 玉田太朗

目的：人，サル及びラットに gonadotropin-Releasing Hormone (Gn-RH) 及び estradiol (Ed) を与え，長時間にわたり任意の血中レベルに保ち，その間の LH FSH, Ed 及び Gn-RH の経時的変動を検討し，排卵期を中心とした gonadotropin (G) 放出の機序を解明しようとして試みた．特に下垂体独自の役割を明らかにするためサル及びラットでは下垂体柄を切断した動物を使用した。

方法：①対象は正常婦人，卵巢機能低下婦人，正常又は下垂体柄切断サル及びラットを使用した。②Ed の投与は silastic implant 又は持続注入にて行つた。③Gn-RH は一回静注又は持続注入で投与した。④各種ホルモンは全て radioimmunoassay で測定した。

結果：①卵胞期初期及び去勢後の人及びサルに Ed を与え血中レベルを 150 pg/ml 以上にすると速やかに G レベルは低下した。その後時間に経て徐々にそのレベルは上昇し 36～60 時間で排卵期の G のピーク値に達する。Ed レベルが高い程この positive response が早期に出現した。②この positive response の各時期に Gn-RH を投与しても反応性はほぼ同一であつた。③下垂体柄を切断した動物に Ed を投与しても positive feedback effect は起らなかつた。あらかじめ Gn-RH を持続注入して G を上昇せしめ，さらに Ed を与えると速かな G の低下をみとめた。

考按：従来より estrogen が排卵期に positive feedback 機構を介して G 放出を起すということは知られているが，しかしその間実際に間脳-下垂体でどのような現象が起つているか不明である。私どものデータは estrogen の negative feedback effect は下垂体レベルで起り，次いでみられる positive feedback effect は内因性の Gn-RH が estrogen の影響下で一定時間下垂体で作用し出現することを示唆している。

80 産褥における血清プロラクチン値，FSH 値と乳汁分泌について

近畿大学医学部産婦人科
服部 浩, 吉田 威, 淵 勲, 野田起一郎

産褥期における乳汁分泌が長く続くほど，次回排卵，月経発来が遅くなることが，以前から臨床的にはいわれている。また産褥期における乳汁分泌と血清プロラクチン値は切り離すことのできない関係にあることも，種々な報告により明らかにされてきた。

そこで我々は，無作為的に 40 数名の産婦，褥婦を対象に選び，分娩直前，産褥 5 日目，約 1 ヶ月の血清プロラクチンを測定するとともに，産褥期の性機能回復をみる一つの指標として産褥 1 ヶ月目の FSH 値を測定した。一方産褥 1 ヶ月目における乳汁分泌の状態を母乳栄養群，混合栄養群，人工栄養群の 3 群にわけ，これらホルモン値との関係を比較検討した。

<結果> 1) 分娩直前における血清プロラクチン値は，産褥 1 ヶ月における，母乳栄養群，混合栄養群，人工栄養群とも差がなく，1 ヶ月後における乳汁分泌の状態を示す指標とはなり得なかつた。

2) 産褥 1 ヶ月における，血清プロラクチン値と乳汁分泌量との間には，母乳栄養群では，プロラクチン値は高値を示し，人工栄養群では低値を示すような相関関係のあることがわかつた。

3) 産褥 1 ヶ月における血清 FSH 値は，人工栄養群，混合栄養群，母乳栄養群の順に高い値を示した。

以上の結果より産褥 1 ヶ月における乳汁分泌量が多い程血清プロラクチン値は高値を示し，また逆に血清 FSH は低値を示した。このことが母乳栄養群の産褥期における排卵，月経開始が遅れる原因となるものと推察される。

81 血清 Prolactin が高値を示すにもかかわらず正常月経周期を有する婦人の下垂体前葉機能

千葉大学産婦人科
関 克 義

6 乳汁分泌無月経症候群の大部分の症例は血中 Prolactin (PRL) の高値を示し、PRL 放出を抑制する薬剤の投与により月経及び排卵を回復する。したがって血中 PRL の上昇は排卵を抑制するように推測されるが、血中 PRL の高値にもかかわらず正常月経周期を有する婦人の報告も見られる。このように PRL の生殖にはたず役割はなお不明の点が多い。今回血中 PRL が高値でしかも正常月経周期を有する婦人の下垂体前葉機能を検討した。7名の患者にアルギニン及び LH-RH, TRH を連続投与し、これらの刺激に対する下水体前葉ホルモン (FSH, LH, TSH, GH, PRL) の反応を正常婦人の Control と比較検討した。また血中 estrone estradiol, progesterone, T₃ 及び T₄ の baseline level も radioimmunoassay で測定した。progesterone 値よりこれらの患者に排卵が測定された。FSH, LH 及び GH の baseline level 及び刺激に対する反応は Control と異ならなかった。TSH の baseline level は有意に高く、反応も又増加した。しかし T₃ 及び T₄ 値は Control と異ならなかった。患者の PRL の baseline level は $58.4 \pm 12.9 \text{ ng/ml}$ で、軽度ながら Control に比して有意に高かった。しかし PRL の TRH 及びアルギニンに対する反応は正常であった。

82 Galactorrhea - amenorrhea 症候群患者の CB-154 投与中の血中 Prolactin, LH, FSH の動態

札幌医科大学産婦人科講座
田中 昭一、光部 啓一、
西島 毅、足立 謙蔵

Chiari-Frommel 症候群、Argonz-Castillo 症候群など乳汁漏出を伴う無月経症候群の病因は不明であるが、視床下部に障害が起き Prolactin (PRL) が増加するためといわれている。PRL と Gonadotropin とは逆の分泌調節機構であるから、PRL 高値が起ると Gonadotropin 分泌が抑制され無月経となると考えられる。したがって本症候群の治療法の 1 つは PRL の分泌を抑制することである。我々は乳汁分泌抑制作用のあるとされている 2-Br-ergocriptine (CB-154) を本症 2 例に投与し、投与中の血中 PRL, LH, FSH を連続測定したので、その成績を報告する。

〔症例 1〕25 才、Para 0(0)、昭和 49 年 6 月に甲状腺腫の手術を受け、抗甲状腺剤を服用していた。術後より無月経、乳汁漏出が出現し 10 月に当科を受診した。無月経第 2 度で LH-RH に反応良好であった。11 月より CB-154 投与開始し 4、3、2 錠/日と各 2 日間毎に漸減し、その後 1 日 2 錠を続けた。投与前の血中 PRL は $80 \sim 125 \text{ ng/ml}$ 、LH 7.5 mIU/ml 以下、FSH 4.8 mIU/ml 以下であった。投与 1 週間後に PRL 10 ng/ml を低下し、LH、FSH は $11 \sim 25 \text{ mIU/ml}$ と増加し、乳汁漏出も減少し、3 週間後には乳汁漏出は消失した。投与 1 ヶ月後 (74 錠投与) 月経開始、4 ヶ月後 (199 錠投与) より排卵性周期となった。

〔症例 2〕29 才、Para 1(1)、昭和 48 年 10 月に某医で死産、その後乳汁漏出、無月経となり Kaufmann 療法を受けていたが、乳汁漏出は止まらなく、昭和 50 年 7 月当科を受診した。無月経第 2 度で LH-RH に反応良好であった。8 月より CB-154 投与開始した。投与前の PRL は $100 \sim 150 \text{ ng/ml}$ 、LH $6 \sim 12 \text{ mIU/ml}$ 、FSH $8 \sim 10 \text{ mIU/ml}$ であったが、1 週間後に PRL $10 \sim 15 \text{ ng/ml}$ と低下し、LH は $22 \sim 31 \text{ mIU/ml}$ 、FSH $8 \sim 22 \text{ mIU/ml}$ となった。投与 2 ヶ月後 (98 錠投与) に乳汁漏出は消失し、月経発来した。4 ヶ月後 (208 錠投与) より排卵性周期となり、7 ヶ月後 (498 錠投与) に妊娠した。

83 無～乏精子症夫婦における 間脳・下垂体・性腺系機能

日本大学医学部産科婦人科学教室
柳沢洋二, 遠藤章夫, 新井健伯, 野村洋二
坂田寿衛, 田根培, 高木繁夫

目的：臨床上乏精子症でも妊娠することがあり，また，避妊希望男子の精液所見が乏精子状態のこともある。逆に精子の数や運動性が正常閾以上でも妊娠しにくい場合がある。この事実は単に精子の数や運動性という一面だけでは真の受精能の判定はしにくいということの意味している。したがって精子の頸管粘液を通過しうる能力からも受精能をテストせねばならず，むしろ精子の頸管粘液通過能，妻の頸管粘液の量，性状，精子の受容態度などこそ真の受精能を定めることになるものと思われる。また乏精子症でもこうした能力さえ十分にあれば妊娠が成立しうることになる。他方，頸管粘液通過因子の一つに不妊夫婦の間脳・下垂体・性腺系の機能が与り，夫婦相互間のこの機能が正常であればたとえ乏精子状態でも妊娠する可能性が考えられる。よって今回無～乏精子症例における夫婦間の間脳・下垂体・性腺系機能とそれの障害の有無や程度を知ってその両者を比較考察する目的で種々内分泌学的に検討した。対象：不妊無精子症15例，乏精子症20例計35例の不妊夫婦。

方法：血中のLH, FSH, テストステロン (以下T), エストロゲン (以下E) をRIAで測定，それらの基礎値に加え，LH-RHテスト, HCGテスト, Tテストを行ない，それらの値を比較して，間脳・下垂体・性腺系の内分泌動態を総合的に考察した。結果：1.HCG 1日1万単位を隔日5回筋注した無～乏精子症例35例中殆どの症例にT値の増加を認め，そのピーク時には基礎値 (平均2.373ng/ml) の2～4倍に達した。2.T 200mg1回筋注したクラインフェルター症候群の3例中全例にT値の上昇を認め，そのピーク時には基礎値 (平均1.920ng/ml) の5～7倍にも達した。

84 エンドメトリオージス保存治療としての合成性ステロイド連続および周期投与による下垂体-卵巣系機能

大阪医科大学産科婦人科学教室
池田 良, 奥田喜代司, 佐野 隆,
土居荘之介, 植木 実, 杉本 修

エンドメトリオージス保存療法として合成性ステロイドを連続あるいは周期投与し，下垂体-卵巣系機能に与える影響を比較検討した。正常排卵性周期および正常範囲のLH-RH test成績を有する婦人でエストロゲン，ゲスタゲン合剤による周期法と偽妊娠療法施行例を対象とし，これらの症例にLH-RH投与前後の血中FSH, LH測定や血中estradiol (E_2), progesterone (P)測定をおこなった。

両治療法とも施行中は，下垂体機能が抑制されたが，周期法が内服中は抑制進行，休業期間に機能回復傾向を示す周期的変化を呈した。偽妊娠療法では連続的な抑制を示した。

偽妊娠療法の方が投与早期から強い抑制を示した。ただ偽妊娠時破たん出血前にLH-RH testの反応性が亢進する例があった。療法中はいづれも血中 E_2 , Pは低値を示した。療法終了後は，下垂体の反応性の上昇は周期法では数日，偽妊娠では10～20日で見られ，FSHが正常値以上にreboundするのが周期法で5～10日，偽妊娠20～30日にみとめられ，また血中 E_2 , Pは中止後正常化した。

終了後両治療法とも下垂体の反応性の回復にともない正常排卵性周期の回復が見られたが周期法に比べ連続投与法は回復の遅れを示した。すなわちこの抑制はreversibleであると考えられた。

一方偽妊娠療法後の卵巣組織所見を観察するとほとんどの症例では成熟卵胞はみられず，発育卵胞も少なくかつ閉鎖卵胞が認められた。しかし一部，成熟卵胞および発育卵胞が見られる例があり，これは年令と治療期間の差によると考えられた。

85 正常排卵周期, 特に排卵期における血中LH, FSH, E₂の変動について

横浜市立大学医学部 産婦人科学教室
植村次雄 高口二郎
鈴木直行 塩島令儀

〈目的〉本年の日本産婦人科学会総会及び日本内分泌学会総会において, 排卵が起るには1定レベル以上の血中LH及びestradiol (E₂)が必要であることを報告したが, 今回は排卵期における血中LHの変動と血中E₂の変動との関係について検討した。

〈方法〉対象は正常月経周期婦人28例で, 経日的に採血し, 血中LH, FSH, E₂をRIAにて測定した。更に, 排卵期に連日採血しえた, その内の11例について, 血中LHとE₂との関係を追求した。

〈成績〉正常周期婦人で, 血中LHは卵胞期において, 40miu/ml以下であり, LH peak時には70~330miu/mlである。血中E₂は月経第1日目より, ほぼ平行状態で, 第7日目には58.6±25.6pg/mlの値を示し, LH peak8日前より上昇傾向を示し, 5日前には91.5±51.7pg/mlとなる。その後, 4日前より著明なる上昇を示し, 1日前に350.3±141.7pg/mlとpeakを作り, 以後急激に低下する。

排卵期に連日採血しえた11例についてみると, 卵胞前, 中期のE₂レベル(100pg/ml以下)より, E₂ preovulatory peak (209~568pg/ml)までに要する日数は2~4日である。LHは40miu/ml以上に上昇した後は0~2日でpeakに至ることから, このLH上昇開始日とE₂の変動との関係をみてみると, E₂が100pg/ml以上の値になってから, LH上昇開始までの日数は1日(2/11), 2日(2/11)3日(4/11), 4日(3/11)であり, E₂が200pg/ml以上を示してから, LH上昇開始までの日数は0日(5/11), 1日(3/11), 2日(3/11)である。E₂ preovulatory peakの日がLH上昇開始日と同日のもの(8/11), 1日前のもの(3/11)であった。

以上, LH上昇開始日とE₂値との関係について, 検討を試みた。

86 無排卵婦人のLH-RH testと脳波異常に関する研究 — 第2報 —

鳥取大学医学部産科婦人科学教室
金田健一, 吉賀峻, 田頭稔弘,
沢原光信, 前田一雄

研究目的: 最近LH-RH testによつて排卵障害の診断が飛躍的に進歩した。しかし, 間脳視床下部性と下垂体性との鑑別はまだ容易ではない。当教室では以前から脳波学的に下田らのいわゆる間脳症の一部に性機能障害を有することをみている。そこで私達は第20回日本不妊学会総会で, 無排卵婦人のLH-RH testと脳波異常との関係について発表した。その後, 症例を追加し検討した結果, 有意な相関を認めためて今回報告する。

研究対象および方法: 当科内分泌外来を訪れた52名の無排卵婦人を対象とし, 消退出血後10日前後にLH-RH 200μgを静注し, 投与前, 投与後15, 30, 60, 120分に採血し, 血清中LH, FSHを二抗体法RIAにて測定し, 脳波所見と比較検討した。

研究結果および考察: LH-RH testの型は次のように分類した。反応良好型(I型), 無~低反応型(II型), 過敏反応群(III型), および遅延反応群(IV型)。また脳波は発作性徐波, 6~14c/sec陽性棘波, 棘徐波結合を異常(A群)とし, 正常(N群), 境界領域(B群)と分類した。LH-RH testのI型17例のうち, 脳波N群41.2%, A群23.5%, B群35.3%, II型12例のうち, N群16.7%, A群58.3%, B群25.3%, III型11例のうち, N群54.5%, A群27.3%, B群18.2%であり, IV型12例のうち, N群8.3%, A群66.7%, B群25.0%であつた。またクロミッドによる排卵誘発率はI型53.8%, II型10%, III型0%, IV型50%であつた。このように従来余り注目されていないIV型に高率に脳波異常がみられ, I型とほぼ同様なクロミッド有効率がみられたことは間脳視床下部性の排卵障害を考える上で示唆に富むものと思われる。

87 卵胞発育過程における LH, FSH と顆粒膜細胞レセプターとの結合

神戸大学医学部産科婦人科学教室

赤堀 泰一郎 片山 和明
仲野 良介 東條 伸平

ブタの卵胞を、直径 1-2mm の small follicle、3-5mm の medium follicle、6-10mm の large follicle の 3 群に分類し、それぞれの卵胞より顆粒膜細胞を吸引採取し、 ^{125}I で標識された LH, FSH との結合の状態について検討した。 ^{125}I -LH の顆粒膜細胞に対する結合は、large follicle、medium follicle、small follicle の順に大であった。 ^{125}I -FSH のそれは逆に small follicle、medium follicle、large follicle の順に大であった。

次に、組織化学的手法を用いて、各 size の卵胞の 3β -HSD、G-6PD、LDH 活性を検討したが、small follicle、medium follicle では、顆粒膜細胞の組織化学的活性は弱く、LH の結合が良好であった large follicle では、顆粒膜細胞周辺部に強い組織化学的活性が認められた。さらに、顆粒膜細胞のプロゲステロン産生能についても radioimmunoassay により検討を加えたが、組織化学的活性の最も著名な large follicle において、プロゲステロン産生能は最大であった。

一方、卵胞液中のエストラジオール濃度を radioimmunoassay にて測定すると、卵胞直径が大きくなるにつれて高濃度を示し、large follicle において最大であった。ついで、エストロゲン (diethylstilbestrol) を medium 中に加えると、顆粒膜細胞に対する ^{125}I -LH の結合能は上昇し、 ^{125}I -FSH のそれは低下した。この事実は、卵胞液中のエストロゲン濃度が卵胞発育に伴って上昇する事実と考えあわせる時、興味深い。

LH, FSH の顆粒膜細胞に対する結合態度を検討する時、LH はステロイド産生に関与し、FSH は卵胞発育に関与するという可能性が示された。また、卵胞発育過程における LH, FSH の結合態度の変化に、エストロゲンが関与する可能性が推測された。

88 妊娠マウスにおける HCG による排卵誘起

日本大学医学部公衆衛生学教室

遠藤 克, 栃木 明人, 西川 眞八
日本大学農獣医学部家畜生理学研究室
佐久間 勇次

目的：近年、ホルモンの微量定量に著しい成果がみられるようになり、諸条件下におけるホルモン動態が明らかにされつつある。妊娠期におけるホルモンの変動もその一つであるが、これらの変動と諸現象が必ずしも平衡関係にない面も少くない。演者らは、妊娠マウスを用いて妊娠の各時期に、HCG を投与した場合、排卵現象にどのような変化がみられるかについて検討を試みた。

方法：供試マウスは自家繁殖した CF#1 系の生後 70~100 日令の未経産マウスで、1日の照明時は14時間とした。処置方法は、雌4雄1の割合で交配し、交尾した日を妊娠の第0日とし、妊娠第1日、3日、5日、7日、9日、11日、13日、15日および17日の各時期にそれぞれ HCG 5IU を皮下注射し、20時間後にと殺して卵管内卵子数および卵巣重量を記録した。

結果：CF#1系の正常マウスの排卵数は平均 12.3 個であり、性周期に関係なく HCG を投与したマウスの排卵数は平均 13.1 個であって、正常マウスとほぼ同程度であった。つきに、妊娠各時期に HCG を投与した結果は、妊娠第1日では供試例数 13 例中 10 例 (76.9%) が排卵、排卵数は平均 7.3 個、妊娠第3日では供試例数 9 例全例 (100%) が排卵、排卵数は平均 12.8 個。妊娠第5日では供試例数 12 例全例 (100%) が排卵、排卵数は平均 11.1 個。妊娠第7日では供試例数 12 例全例 (100%) が排卵、排卵数は平均 11.4 個。妊娠第9日では供試例数 10 例 (100%) が排卵、排卵数は平均 10.3 個。妊娠第11日では供試例数 10 例中 9 例 (90%) が排卵、排卵数は平均 6.7 個。妊娠第13日では供試例数 8 例中 4 例 (50%) が排卵、排卵数は平均 6.8 個。妊娠第15日では供試例数 10 例全例 (100%) が排卵、排卵数は平均 11.7 個。妊娠第17日では供試例数 12 例全例 (100%) が排卵し、排卵数は平均 15.7 個であった。また、卵巣重量は、妊娠第13日以降減少していることが認められた。

以上の結果から、妊娠各時期のマウスに HCG を投与すると、どの時期でも排卵が認められたが、誘起排卵数は妊娠時期によって差があり、とくに、第1日および第11、13日の排卵数は正常排卵数より少なかった。他の妊娠時期では、正常排卵とほぼ同様な排卵数であった。

89 排卵誘発剤と多胎妊娠 (とくに gonadotropin 療法)

京都府立医科大学 産婦人科学教室
東山 秀聲, 岩崎 武輝, 石原 政芳,
岡田 弘二

各種の排卵誘発法の中でも gonadotropin 療法による過剰排卵の問題が種々論議されている。本研究では PMS-HCG または HMG-HCG 療法後の排卵率, 妊娠率, 多胎妊娠率などについて検討するとともに, HMG-HCG 療法により極めて稀な5胎妊娠例を経験したので併せて報告する。研究対象は当産婦人科不妊外来において治療を行なった症例であり, PMS-HCG療法が56例, HMG-HCG療法が32例である。PMS-HCG療法では56例中23例, 41.1%に排卵が認められ, 7例, 12.5%に妊娠成立がみられた。一方, HMG-HCG療法では32例中25例, 78.1%に排卵がみられ, 12例, 37.5%に妊娠の成立が認められた。多胎妊娠はPMS-HCG療法では1例もないが, HMG-HCG療法では双胎2例, 3胎1例, 5胎1例, 計4例であり, 分娩数に対する多胎の頻度は44.4%である。

次にHMG-HCG療法による5胎妊娠例に関しては, 本症例は原発性不妊症, 子宮發育不全と診断された26才の症例である。BBTは1相性, 子宮卵管造影法では両側卵管疎通性は良好, 精液検査で軽度の精子減少症が認められた。種々の内分泌学的検索から, 間脳一下垂体性の第2度無月経と診断された。PMS-HCG療法に対し反応が全くみられず, HMG-HCG療法によったが, HMG1日150~225 IU, 14日投与でも反応性が悪かった。HMG総量9,300 IU投与により初めて頸管粘液量0.16 ml, 索糸性15 cm, 結晶形成(卅)となったから, HCG 5,000 IU, 3日投与にきりかえ, 排卵が誘発された。しかしこの周期の排卵は妊娠成立に結びつかなかった。次いで第2回のHMG-HCG療法を引き続き行ない, HMG総量9,600 IU投与により頸管粘液量0.26 ml, 索糸性8 cm, 結晶形成(卅)となるのがみられ, HCG 5,000 IU 3日投与で排卵が誘発され, 妊娠成立にいたった。本療法中の副作用として軽度の卵巣腫大が認められた。

以上 gonadotropin 療法における排卵率, 妊娠率, 多胎妊娠率ならびに5胎妊娠の1例を報告する。

90 本邦製新 IUD-FD-1 の臨床的研究

小山市立小山病院産婦人科
大内義也, 和田宏之, 石浜淳美

太田リング, 優生リングの公認により, わが国でも新しいIUDの開発が進められている。リングタイプのIUDは挿入除去が困難であり, またアメリカで開発されたループ, コイル等は自然脱出が多い。そこで挿入除去が簡単で, 脱出の少ないIUDの開発が世界中で進められている。

FD-1はこれらの要求に応じて, わが国ではじめて開発された新しいIUDである。

われわれはその成績の一部をすでに第20回総会において報告しているが, 今回はその後の成績及び経過中において行った一部臨床検査成績についても併せて報告する。

実験材料及び対象, 成績

FD-1は特有の魚骨または木葉状の構造をもったポリエチレン製のデイブイスである。また挿入器も特有の構造を有し, デイブイスは挿入器の途中に保持され, 挿入の際一時的に圧小さされ, 子宮腔内に挿入されるようになっている。

FD-1は厚生省の指示により, 昭和49年6月より初め3カ月間だけ3施設においてパイロット・スターディーが行われた。3カ月の集計の結果, 出血, 疼痛などは少なかったが, 自然脱出がいくぶん多かったので, 材料, 型は全くそのまま, 翼の硬度をいくぶん硬くしたものを作り, 昭和50年4月より全国で治験を開始した。

われわれはパイロット・スターディーより今回の臨床治験まで, 続けて治験を依頼されたので, その成績を簡単に報告する。なお旧FD-1の成績の一部は第20回総会において報告した。

対象は当院及び岩手県のフィールドにおいて, 避妊を希望して来院した健康経産婦で, 旧FD-1 120例, 新FD-1 62例, 計182例である。

その成績は, 昭和49年6月より51年6月までに旧型FD-1 120例総月数 2,880妊娠6, 脱出14, 医学的除去14, 新型FD-1 昭和50年6月より昭和51年6月まで総数62例, 総月数 368月妊娠1, 脱出(0), 除去(0)であった。今回は挿入前の膣スミア, 除去時の膣スミア, 内膜組織等の臨床検査成績も併せて報告する。

91 優生リングとCopper T (Cu T) との比較及びIUDの石灰沈着について

東京電力病院

村山 茂, 根本 謙, 野口忠夫

1. 日本及び外国で現在使用されている代表的なIUDである優生リング及びCu T の臨床成績を調査し比較した。
2. IUDの臨床成績を調査する場合、ティーツェの方法が世界的に推奨されており、本報告もこれに準じたが、従来の報告で実際に本法によったもの、特に多数例長期にわたる症例に本法を用いた報告は少い。
3. 優生リングは15年間700例、Cu T は3年間110例の使用成績を再検討したものである。
4. 現在なお調査を続行中であるが、その一部18ヶ月間の成績では、Cu T の妊娠、脱出、出血、疼痛・その他の比較がそれぞれ7.1, 20.3, 9.0, 2.5であるのに対し、優生リングは5.4, 0, 8.3, 5.1であった。よって、持続率はCu T 61.1に対し、優生リングは81.2で後者の方が良好であった。
5. 我々は除去されたIUDにしばしば石灰が沈着されているのを見る。この点についてその重量、これと挿入期間、出血、脱出等の副作用との関係、IUDの種類による沈着量の差異等について考察した。
6. 除去時の石灰沈着(重量増加)は優生リングの場合0.0005gから0.0597gのものまでであった。挿入期とは必ずしも比例しないようである。出血との関係は興味があるが、出血除去のための症例数が少く、挿入期間も短いため、必ずしも沈着量の増加を示さなかった。
7. Cu T の除去時の重量増加は優生リングに比し少い。逆にある症例では挿入時の重量より減少していた。これは銅の溶解による影響かも知れない。

92 RatにおけるCu-IUDの作用機序について

東北大学医学部産科婦人科学教室

広瀬洋子, 高橋克幸, 太田憲道, 水上 端, 平野睦男, 鈴木雅洲

目的: 避妊法の有力な手段であるIUDは、広く用いられているにもかかわらず、その作用機序は未だ明らかにされていない。今回、我々は最近開発された活性IUDであるCu-IUDを用いて、その作用機序を解明すべく、1) 性周期の変化、2) 交尾・避妊効果への影響、3) 精子透過性の3点に関してplastic-IUDとの比較検討を行なった。避妊効果に関しては他金属(Au, Ag, Zn)についてもあわせて検討を行なった。方法: 実験動物として体重200-250gのWis-tar系成熟雌ラットで、正常性周期を示すものを用いた。Cu-IUD, plastic-IUDはSearle Laboratories社製ラット用のものである。IUD装着方法はエーテル麻酔のもとに背部を切開、子宮を露出し、卵管接合部より5mm下の子宮角に装着した。controlとして、同位置をメスで切開をほどこし、縫合したのみのsham operationを行なった。

1) 性周期は毎朝10時の一定時間にスメアを採り、12週間続けて観察した。2) 雄と同居させ、交尾率を、また交尾後10日あるいは分娩日に開腹し、卵巣の黄体数と子宮内着床数を数えた。3) IUD装着ラットを直視下で自然交尾させ、交尾後30分におけるラット性管各部位の精子数を数えた。

結果: 1) 性周期はIUD装着による手術的因襲と思われるみだれが初期にみられたが、その他、IUDそのものによると思われる変化はなかった。2) 交尾に関してはCu-IUDによる影響はみられなかった。避妊効果は両群とも100%であり、両群の間に有意の差は認められなかった。他金属群ではどれも100%の避妊効果であった。3) control群とIUD装着群との間には、卵管内精子数に明らかな数の違いがみられた。さらにCu-IUD群の方がplastic-IUD群より卵管内精子数が少なかった。

結論: 作用機序は性周期・排卵に影響なく、IUD装着子宮のみ避妊効果を示すことから、局所的と思われるが、特にCu-IUDの作用機序の違いの1つは精子に影響を与える点にも考慮しなければならないと思われる。

93 Prostaglandin レベルより検討したIUDの避妊効果と経口避妊薬の副作用について

岩手医科大学産婦人科教室
鈴木 博, 郭 銘宏, 伊東 邦郎, 小山田 敬司
小見 克夫, 川端 徳衛, 国本 恵吉, 秦 良磨

避妊法については、現在 IUD および経口避妊薬 (P-O pill) が、効果ももっとも確実なものとして汎用されているが、IUD についてはなお 4% の失敗率、Pill については副作用の問題があり、その解決が待たれている。最近の Prostaglandin (PG) 研究の進歩は、IUD の機序、装着後の出血、腹痛などについて、PG が大きな意義を有することを明らかにしてきている。また Pill 服用時の全身的影響とくに血液凝固系への影響は、Pill 服用による PG 放出の異常により惹起される可能性が指摘されてきている。我々は、IUD 装着婦人および Pill 服用婦人について、使用前後の血清 PG および尿中 PG 代謝物 (PGF_{2a}-MUM) を測定し、同時に Plasmin 活性の検討を行なってこれらの問題点の意義を検討した。

1. 研究対象：各種 IUD 装着婦人および Pill 服用婦人について、当該年令層の正常婦人の成績と対照比較検討した。2. 研究方法：IUD 装着婦人については、装着前後の頸管粘液、月経血および血清について、PGE₂, PGF_{2a}, PGF_{2a}-MUM および Plasmin を測定した。Pill 服用婦人については、血清 PGE₂, PGF_{2a}, Plasmin および尿中 PGF_{2a}-MUM を測定した。3. 成績：1. IUD 装着婦人では、対照に比し頸管粘液、月経血、血清および尿中代謝物ともに有意に高値を示した。2. IUD 装着婦人では、使用前後で著明な変動を示し、とくに月経血、頸管粘液中に高値で、IUD の作業機序との関連性を強く示唆する成績が得られた。3. Pill 服用婦人では、服用前後で血清 PG 値の著明な変動を認め、対照の非服用婦人に比し高値を示した。4. 尿中 PGF_{2a}-MUM 値についても同様で、性ステロイド剤服用による全身的影響を示唆する成績を得た。

以上の成績から、とくに PG の動態から、服用による血液凝固系への影響は予想以上に大きいものであることを推定することが出来る。

94 経口避妊薬服用中止後における糖および脂質代謝の変動

聖マリアンナ医科大学産婦人科
林 方也 神谷 卓 浜田 宏

各種の合成 steroid がいわゆる "pill" として頻用されているが、近年その副作用発現の基盤となる代謝環境への影響が重視されている。

我々も 1967 年以来、norethisterone 2mg + mestranol 0.1 mg を 1~76 周期投与した 20 例および対照 12 例に 50g OGTT を実施すると同時に、IRI, HGH, FFA, TG の測定を行ない、その結果を 18 回総会で発表した。さらに今回服用中止後 6 年にわたり同様な検索を試みた。服用 16~20 日目、静脈血 GTT は、服用初期を中心とし比較的均等に分布する正常型 8 例、境界型 5 例、糖尿病型 7 例であり、それに対する IRI response は、GTT 正常型ではほぼ normal pattern を示し、境界型では遅延 2, 高反応 1 例、糖尿病型では IRI 異常をみる症例が多く、さらに HGH も糖尿病型で やゝ異常な推移を示した。FFA は、正常型では対照と差異なく、境界型で空腹時高値、糖尿病型では著明な空腹時高値および 3 時間値の低下をみたが、TG は全例空腹時高値を示し、糖負荷後も低下しない。消褪出血後では、軽度ながら耐糖能および IRI response の改善、FFA, TG も対照に近づく傾向がみられる。服用中止 4 カ月後、8 例の GTT 曲線はより正常型に近く、とくに糖尿病型 3 例は境界型に推移し、過剰遅延を示した IRI response は著明に対照に近接した。FFA はやゝ低下し、TG は著明に対照内に移行する傾向をみた。さらに 6~8 カ月後では、7 例に GTT 正常型がみられ、IRI response もほぼ normal pattern に近く、FFA, TG も正常範囲内にあることが認められた。しかし、10 および 76 周期投与の GTT その他異常を示した 2 症例については、8 カ月でほぼ正常域に復したのち、1 例は 3 年後境界型を示し、1 例は 2 年後境界型から 5 年後に糖尿病の発症をみた。

pill 服用時みられた諸代謝の変動は、服用中止後正常化へ向う reversible な変化を示したが、その後耐糖能異常を認める症例の存在は、今後これら問題に対する一層の検索の必要性を強く示唆するものと考えらる。

95 Danazol および R 2323 の抗プロゲステロン剤としての可能性について

京都府立医科大学 産婦人科学教室
古田 典夫, 玉舎 輝彦, 二岡 清昇,
朴 震光, 岡田 弘二

近年経口避妊薬や産婦人科治療面で合成 steroid が多く用いられてきた。この steroid の効果は黄体ホルモン効果, 抗黄体ホルモン効果, エストロゲン効果, 抗エストロゲン効果であり, 複雑な面を有している。ここでは特に抗黄体ホルモン効果を持つ合成 steroid として danazol, R 2323 を上げ, progesterone の標的臓器であるウサギ子宮で検討した。まず progesterone receptor との関係調べると, 親和性の面からは danazol ($k_i = 7.3 \times 10^{-8} M$), R 2323 ($k_i = 2.1 \times 10^{-8} M$) であり, progesterone のその receptor への解離定数 ($k_d = 8.1 \times 10^{-10} M$) から比較するとある程度の親和性がある。従ってこれら合成 steroid は progesterone receptor と親和性があるため結合して, さらにこの複合体は chromatin に結合すると考えられる。そこでこれら steroid と progesterone receptor との複合体により chromatin での template 活性化が起こるかを検討したが, 活性化が起こらなかった。このことは前記合成 steroid は progesterone receptor と親和性を持つため progesterone の receptor 結合部位を阻害するため, 結果的に抗黄体ホルモン効果となると考えられた。

96 微量のエストロゲンとプロゲステロン投与の卵巣ホルモン分泌に対する影響

東京大学医学部付属病院分院 産婦人科
柳 沼 恣
小 林 拓 郎

8人の婦人に月経開始日から5日後の間から始めて22日間、1日0.048mgのMESTRANOLと1.6mgのLYNESTRENOLを投与した。

この投与月経周期およびその前後の月経周期中の血中 ESTROGENS と PROGESTERONE を RADIOIMMUNOASSAY により、尿中 ESTROGEN と PREGNANDIOL を化学的に測定した。血液および尿は月経周期の前半に2回、後半に2回採取された。観察期間中、毎日基礎体温を測定した。

上記ホルモン投与中基礎体温は高温を持続し、投与終了後2~4日目に消退出血が出現した。

投与月経周期中に測られた血中 ESTROGENS および PROGESTERONE は、その前後の非投与月経周期の黄体期中に測られた値よりも低値であった。尿中 ESTROGEN と PREGNANDIOL も類似の傾向を示した。

これらの結果は、上記両ホルモンの投与により排卵が抑制されたことを暗示している。

97 絨毛性腫瘍の緩解後における妊孕力についての検討

長崎大学医学部産科婦人科学教室
 秦 知紀, 三浦清巒, 平島直信, 加瀬泰昭,
 石丸忠之, 山辺 徹

〔目的〕絨毛性腫瘍に対する種々の保存的手術療法(子宮内容除去術や子宮部分切除術など)はしばしば内性器に器質的变化をきたし,化学療法(methotrexateやactinomycin Dなど)は卵母細胞の障害や間脳・下垂体-卵巢系の内分泌機能に影響すると推察される。したがって,これらの治療により不妊症や不育症が招来される可能性があることになる。そこで絨毛性腫瘍患者の緩解後における妊孕力と治療法の関係を検討し,妊娠の指導方針を明確にしたい。

〔方法〕問診,カルテおよびアンケート調査により①月経の状態②妊娠の有無③妊娠症例における満期産,児の異常および奇胎妊娠の有無④緩解後に妊娠を経験していない症例における妊娠希望の有無とその理由および不妊原因について検討した。さらに調査し得た各々の症例の治療内容と不妊原因を比較検討した。

〔結果〕①46例中で月経異常が認められなかった症例は28例,無月経3例,月経量の減少11例,月経周期の変化が認められたもの4例であった。②緩解後の妊娠は29例であった。③29例の妊娠中25例が満期産であり,このうちの3例に児異常が認められた。奇胎妊娠は1例に認められた。また子宮部分切除5例中4例は満期産であった。中絶は4例であり,このうち1例は自然流産,残り3例は人工妊娠中絶であった。この理由は再発の恐怖のためと児の異常を心配したためであった。④妊娠しなかった症例は17例で,このうち妊娠を希望しているものは12例であった。以上のような調査内容を中心として,各々の症例の治療内容を検討し,さらに治療経過中抗腫瘍剤投与のために内分泌環境に特異な変化を来した症例についてその詳細な経過を報告する。

〔結論〕絨毛性腫瘍緩解後で妊娠を許可した後に妊娠しなかった症例がかなり認められ,絨毛性腫瘍の管理の上で緩解後の妊孕力に関する詳細な検討が今後必要であることについて述べた。

98 Clomiphene 療法とその分娩例について

京都府立医科大学 産婦人科学教室
 竹内 博, 東山 秀聲, 浅井 政房,
 玉舎 輝彦, 木津 収二, 岡田 弘二

最近,排卵誘発剤と多胎妊娠の関係が種々論じられている。本研究では排卵誘発法のうち,最も多く使用されている clomiphene citrate (clomiphene) により排卵が誘発され,妊娠が成立したもののうち分娩に至った症例について,妊娠経過,多胎妊娠数,児への影響を検索した。対象は本学教室 不妊外来で clomiphene 療法により妊娠が成立し,妊娠8カ月以後に分娩した症例82例である。なお中には黄体機能不全と考えられる5例も含まれている。clomiphene の投与法は月経または 消退出血発来5日から,1日50~150mg,5日投与である。分娩例のうちわけは clomiphene 単独投与49例, clomiphene-黄体期 HCG 投与29例, prednisolone-clomiphene 投与3例, clomiphene-HMG-HCG 投与1例である。排卵障害の程度は散発性無排卵症24例,無排卵周期症24例,第1度無月経26例,第2度無月経3例および黄体機能不全5例である。療法後の妊娠経過は早産6例,満期分娩75例,予定日超過の分娩1例である。多胎は2例で,すべて双胎であるが,妊娠28週の流産例の1例に双胎が確認されているから, clomiphene による多胎妊娠率は3.7%である。児の生下時体重は3,000~3,499gのものが最も多く,次いで3,500~3,999gの群である。2,500g未満の低体重児は8例であり,2例の双胎分娩の児はすべてこの群に属していた。また1例を除き,低体重児は早産例である。児の奇形は単胎分娩の2例に認められ,2例とも早産後死亡している。児の性別に関しては,男児が女児よりも多い。

以上, clomiphene 療法により妊娠が成立し,分娩の経過が明らか82例について,多胎妊娠率,妊娠経過ならびに児への影響について報告する。

99 Clomiphene 投与後の妊娠経過及び新生児について

大阪大学・産科婦人科
三宅 侃, 青野敏博, 宮崎正敏, 安田 基
衣笠隆三, 近藤国男, 倉智敬一

無排卵症の治療に種々の排卵誘発剤が用いられるが, その中でも clomiphene citrate は日常診療上常用されるにもかかわらず, 排卵妊娠後の経過, 多胎率や新生児の状態などに関する報告は少ない。この理由は, 一診療機関のみの成績では正確な統計資料を出し得ないためと考えられる。

そこで今回我々は全国的規模で clomiphene citrate による妊娠後の経過や新生児の状態を調査したので報告する。

全国十数診療機関で昭和47年より昭和49年までの3年間に clomiphene citrate を投与された症例を対象とした。排卵率は投与例数当りにして70%前後, 妊娠率は14~20%であり, このうち流産した症例は15%前後であり, これらの成績は今までの報告と一致する。これらの症例のうち卵巢過剰反応症候群となった症例は極めて少なく, 他の排卵誘発法特に HMG-HCG 法と大きく異なった点であった。多胎率は自然妊娠例に比べて, はるかに高いが, HMG-HCG 療法に比べ, やゝ少ない傾向を示した。

分娩まで管理可能であった症例より得た新生児のうち男児数が極めて多く, 女児との比は, 150~200%で自然出生児の約106%に比べ有意に高かった。これらの新生児のうち, 生後7日以内の新生児死亡率や先天奇型の認められた症例も, 本誘発法に特徴的な所見は認められなかった。

以上 clomiphene citrate による妊娠後経過を全国的規模で多数例について検討したが特徴的な所見は, 第一に自然妊娠例に比べ, 流産率・多胎率が高いこと, 第二に新生児で男児が女児に比べ有意に高かったことである。後者の原因については現在不明で今後検討を要する。

100 LH-RH 負荷試験後の妊娠例の検討

東邦大学医学部産婦人科教室
布施養善, 片山進, 清水喜代治, 谷垣学,
林新慶, 西田修二, 平川舜, 林基之

近年 LH-RH 負荷試験が日常臨床へ導入されるに至り, 排卵障害部位の診断が飛躍的に進展した。そこで48年4月から51年6月現在, 当科不妊外来を訪れた排卵障害患者のうち, LH-RH 負荷試験を施行した222例を対象とし, そのうち妊娠に成功した47例を抽出, その経過を詳細に検討した。対象: 男性不妊, 卵管その他の不妊因子を除外した排卵障害婦人を対象とした。成績: 1) 排卵障害群の臨床分類と LH-RH 反応パターン。散発性を含む無排卵周期症(以下 A-C と略); LH 過剰反応型, FSH 正常域(以下 PCO 型と称す)86例, 間脳不全型47。第1度無月経(以下 Am-I と略); PCO 型27, 間脳不全型18, 下垂体不全型4, 第2度無月経(以下 Am-II と略); 間脳不全型5, 下垂体不全型20, 卵巢不全型15。2) 臨床分類と妊娠例; A-C 24, Am-I 20, Am-II 3。計47例(21.2%)。3) 妊娠例にみる臨床分類と LH-RH 負荷試験の相関。A-C; PCO 型14, 間脳不全型10, Am-I; PCO 型9, 間脳不全型10, 下垂体不全型1, Am-II; 間脳不全型2, 下垂体不全型1。4) 妊娠に成功した排卵誘発法, 臨床分類と()内は LH-RH 反応パターン。A-C(PCO 型); Clomid5, Clomid-HCG 1, LH-RH(100 μ g) 単独1, Culdoscopic Wedge Resection 3, Rebound とと思われる例4, その他2。A-C(間脳不全型); Clomid 4, Clomid-HCG 1, LH-RH(100 μ g) 単独1, その他2。Am-I(PCO 型); Clomid 3, Culdoscopic W.R. 3, その他3。Am-I(間脳不全型); Clomid 3, Clomid-HCG 1, LH-RH(100 μ g) 単独1, HMG-HCG 1, Rebound とと思われる例1, 休薬期間の排卵例3, その他1。Am-II(間脳不全型); Clomid-HCG 1, HMG-HCG 1。Am-II(下垂体不全型) Rebound とと思われる例1。

以上妊娠例を Retrospective に分析した結果, 妊娠に成功した排卵誘発法は, 当然のことながら臨床分類との相関において従来の報告とよく一致する。さらに今回の成績から LH-RH 反応パターンによる排卵障害部位の診断, それに基づく至適な排卵誘発法の選定に LH-RH 負荷試験が不可欠であることが再認識された。

101 不妊外来開設後約2年間の当教室の不妊統計

奈良県立医科大学産婦人科学教室
大西泰考、久間正幸、野田恒夫、植田充治
辻弘達、上羽捷之、西川義雄、山口竜二

われわれは昭和49年4月より不妊外来を開設し、昭和50年2月までの約2年間の不妊患者について統計的分析を行なったので報告する。なお開設前3年間の当教室の分析(49年不妊学会にて発表)とも比較検討した。1) 外来総数は7,781人でそのうち不妊を主訴とする者は1,799人で約23%であり原発性不妊は120例で6.7%, 続発性不妊は59例3.3%であった。2) 続発不妊の先行妊娠は自然流産40.7%人工妊娠中絶20.3%で、この両者で61%を占め、正常分娩22.0%、帝王切開6.8%、子宮外妊娠5.1%の順であった。開設前と比較すると、前3者との差はなく、帝切、外妊の先行妊娠が約2~3倍に増加している。3) 不妊の因子別分類では子宮因子10.1%、卵管因子21.8%、卵巣を含めた内分泌因子25.7%、男性不妊因子4.5%であり、開設前と変わりはなかった。4) 妊娠に成功したものは、原発不妊患者の8例(6.7%)、続発不妊患者12例(20.3%)であった。これら妊娠例の因子別検討では子宮因子5%、卵管因子20%、卵巣内分泌因子40%、不明35%であった。続発不妊患者の成功率は開設前より約3倍に増加している。又、因子別の不明群7例中5例に明らかにHSG施行後妊娠した例があり、HSGは検査以上に治療の意味があるものと考えられる。5) 妊娠例のおもな治療内容はクロミッド、ホルモン療法通水、治療ソーン、手術などであった。

102 最近六年間の当院不妊症クリニックの現況

向仁会永井病院
永井 宏 古賀 詔子 永井 泰

近年不妊症の治療は大学病院や一部の特殊病院に偏する傾向が見られる。しかし不妊治療には患者に対する個別指導が最重要な要素と思われることから、第一線婦人科の役割は今後より多く期待されるべきと考える。我々は外来100名病室40床の一般病院であるが、当院における不妊症の治療について述べ、統計観察を行い考察を加えた。当院における検査は、内診、基礎体温の指導、子宮卵管造影、精液検査、頸管粘液検査で一般的検査の範囲を越えていない。かかる背景における、昭和45年から昭和50年までの6年間に不妊を主訴として来院した患者300例について観察した。不妊患者の比率は、昭和45年1.1%昭和46年1.9%昭和47年1.4%昭和48年2.4%昭和49年2.0%昭和50年2.4%と年々増加の傾向にあり、原発、続発不妊患者の比は、年度別に見て変化が見られず、原発性63.5%、続発性36.5%であった。初診時年齢は、26~30才までが全体の約半数を示し、不妊期間2~5年が61.0%不妊期間2年未満が21.3%もあり、比較的早く受診する傾向が認められた。不妊因子について内分泌因子21.4%、卵管因子20.0%、男性因子5.3%、機能的因子12.3%、その他3.7%、不明は37.3%であった。妊娠率は26.7%で原発性不妊患者23.7%、続発性不妊患者は31.8%であった。手術例は36例で11例が妊娠した。手術適応例は、卵管閉鎖、子宮筋腫、多嚢胞性卵巣が多かったが、特に最近増加の傾向をみせている骨盤子宮内膜症を主とする、骨盤内癒着症に対しても、積極的手術を行った。骨盤子宮内膜症の手術の予後は必ずしも高率とは言えないが、子宮内膜症由来と思われる線癌を3例認め、内膜症に対する手術療法は前向きに検討されるべきと思われる。以上、我々の不妊症治療を報告し考察を加えた。さらに、我々の経験を通じて不妊症治療に対する各医療機関における役割分担についても、一考を加えたい。

103 不妊外来における臨床統計的観察

伊勢崎病院産婦人科、群大産婦人科
 竹中恒久、阿美邦栄、品田孝夫
 横田佳昌、家坂利清

伊勢崎病院産婦人科にて昭和45年10月1日より不妊外来を開設し、昭和50年9月30日までの5年間に新患々者225名を検査治療した。当院は群大附属病院より約18kmの地点にあり市立の200床を有する総合病院である。

不妊外来を訪れた患者の大部分は伊勢崎市内およびその近郊からであり、年齢、不妊期間は、他の施設の統計とほぼ同じであった。たゞ当院は群大附属病院に近い為か排卵障害婦人は12名5.3%ときわめて少なく、残りの大部分213名94.7%は排卵性の不妊婦人であったのが特徴的である。

排卵障害婦人は第2度の無月経患者3名を含めclomiphene療法およびcyclofenil療法により12名中11名に排卵が誘発出来、内10名に妊娠が成立した。

排卵性の不妊婦人213名は不妊症の検査の結果大部分はいわゆる機能性の不妊婦人であった。そこで当不妊外来では機能性の不妊症の治療が中心となり、これに対し有効であると報告されている種々の治療法を行ったのでその結果を中心に報告する。機能性不妊患者に53名の妊娠が認められたが、その際用いた治療の内分けはcyclofenil療法17名、rebound療法9名、clomiphene療法6名、Rubin testまたはHCG後7名、その他が14名であった。この中で注目されるのは1日100mgのcyclofenilを月経周期の5日目から5日間投与する、卵胞期cyclofenil少量投与療法(品田他、日不妊誌20:292,1975)で、これにより排卵日が周期16日を中心にて一定し、卵胞発育が順調に進むと考えられることに加え、性生活の指導がしやすく、きわめて有効であった。

尙全妊娠例は63名であり当院産婦人科不妊外来の妊娠率は28%であった。

104 当科不妊外来における原因別考察(過去5年間)

九州大学温泉治療学研究所 産婦人科
 松岡幸一郎、立山浩道、山口省之、白石裕基、
 宇津宮隆史、梶原健伯、安達宣武、是永迪夫、
 吉田耕治、門田 徹

近年、人口問題は、世界的に重大な問題として取り上げられている。わが国でも家族計画に対する考え方が2~3人の子供を加えた家族構成による核家族化の傾向があるのに対して、不妊カップルの挙児を熱望する意識が一段と強いものになっていることは容易に考えられる事実である。しかし、不妊症に関する未だ解明されてない幾多の問題が残されていることはいうまでもない。そこで、この未解決な分野を取り上げ、解明してゆくための第一歩として不妊原因の究明とその対策について、常に検討を加える必要がある。

今回、われわれは、1971~1975年末までに挙児を希望して来院した患者約1120例について原因別集計を試み、その経過についての検討を行った。

まず、排卵の有無について検討するために外来に保存し得たBBTについて型分類を行うと、正常型が約62%、黄体機能不全型が約13%、無排卵型が約25%であった。さらに、無排卵例を臨床症型別に分類すると、第1度無月経が約40%で、ついで、無排卵周期症の約35%の順であった。妊娠例はclomid排卵による妊娠が多く、無排卵症例の妊娠率は約40%であった。

男性因子について検索した症例で乏精子症、無精子症が明らかにされた症例は約23%であった。しかも妊娠率は10%以下と低率であった。また、Huhner testでは、約45%に異常例を認め、この中から精液異常例を発見することが多かった。

卵管異常については、描記式通水法およびHSG-TVによる検索の結果、両側閉塞例および通過不良例を合すると約25%にみられ、約10%の妊娠しか認めることができなかった。

以上のことから、卵管異常、精子異常の治療成績が悪く、今後の治療に関する多くの課題を有し、この方面の研究の進歩により新しい治療法の開発が期待される。

105 HCG付加による、切迫流産の内分泌学的検討 (HCG-Progesterone を中心として)

大阪医科大学産科婦人科学教室

假野 隆司、神田 隆善、奥田喜代司
渡辺 克一、伊藤 正尚、杉本 修

妊娠第12週までの切迫流産12例と子宮筋腫合併患者2例について尿中HCGと血中 progesterone を連続的に測定し、この間治療としてHCGを筋注付加し、その動態を観察した。また合わせて初発症状ならびにその時点における末梢白血球像、血清タンパク分画所見の比較検討を行った。測定はすべて症状発現後入院、安静とし、1日おきに4回、採尿、採血した。

原則として後半2回の検体採取前14時間前に HCG 5,000IUを筋注した。尿中HCGは半定量 HAIR-Kitにて、血中 progesterone については CIS-Kit によるRIAで測定した。なお12例のうち、5ヶ月以上妊娠の継続に成功したものは8例、流産に終わったものは4例であった。初発症状については下腹部痛を伴う症例では流産に終るものが多かった。尿中HCG値は第1回目測定で8,000IU/l以下を示す症例では全て流産に終り、予後良好例ではすべて16,000IU/l以上を示し、しかもその後現状維持が上昇傾向を示した。また予後不良例の中には症状発現時に8,000IU/lを示し、漸減するものと、発現時より低値を示す2つのタイプが存在するようである。血中 progesterone 値は対照として選んだ筋腫合併例においてHCG投与前では13.4ng/ml、投与後13.9ng/mlであり、HCG投与による上昇傾向は認められなかった。予後良好例ではそれぞれ14.2、16.1ng/mlであるが、各症例の連続的観察においてもHCGの投与による上昇は明確には認められなかった。しかし尿中HCGが低値(16,000~32,000IU/l)を示す中に上昇傾向がうかがえる症例がみられた。予後不良例ではそれぞれ6.4ng/ml、3.6ng/mlと低く、最初高値を示していても、やがて漸減の傾向を示した。今回行なったHCG付加による連続的HCG-progesteroneの測定によってもその予後を明確に把握するに至らなかった。このことは妊娠維持や切迫流産時におけるHCGやprogesteroneの生物学的意義が十分明らかでなく、しかもHCGの投与量や投与方法にも問題があることによるのではなからうか。

106 きわめて稀な血液型(-D-)による反復せる流死産

大阪大学医学部産科婦人科学教室

根来孝夫、中室嘉郎、佐治文隆、若尾豊一
都竹 理、倉智敬一、山本一恵(大阪府立輸血部)

反復する流産あるいは死産の原因の一つに母児間の血液型不適合がある。今回我々はきわめて稀な血液型によると思われる習慣性流死産の症例を経験した。患者の血液型はO型、-D-で、この血液型についてはRaceらが1950年、新生児溶血性疾患の原因として母親の血液型について発表した。これはC,c,E,eのいずれの因子をも欠如しているため-D-血型と称される。

患者は26才女性、既婚歴：17才の時貧血症のため母親の血液400mlの輸血を受けた。妊娠歴：昭和47年、10カ月、男子(2600g)死産。外表奇型なし。昭和48年、10カ月、男子(2400g)出産。生後4時間で死亡。出生時児は黄染され皮膚の退行性変化著明。昭和50年5月妊娠3カ月にて自然流産。

今回の妊娠経過：最終月経 [] から7日間。 [] 妊娠第9週で来院。過去の流死産の原因追求のため、患者のトキソプラズマ抗体価、患者及び夫の染色体分析、血液型等につき検査した。

検査結果：トキソプラズマ抗体価512倍以下、ワッセルマン反応陰性、患者及び夫の染色体正常。夫の血液型はO型、Rh(CcDEe)。患者の血球はO型RhD(+)であるが、抗C、抗c、抗E、抗e抗体と反応せず-D-というきわめて稀な血液型であった。患者の血清は間接クームス検査陽性、O型RhD(+)血球を凝集した。既婚歴として結婚前に母親から輸血をうけていることから母親の血液型検査を行なったところ、O型、Rh(ccDEE)であった。

以上の結果から、患者(-D-)は母親(ccDEE)の輸血をうけたため、c、Eに対する抗体を産生した。その後夫(CcDEe)と結婚、妊娠によりCあるいはc、Eあるいはeを有する胎児をもうけたため、母体中の抗c、抗E抗体が作用し、反復して死産、流産を惹起したものと考えられる。

107 流産病態の臨床的検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室
高橋 威, 徳永昭輝, 岡田 久, 竹内正七

我々は、流産について内分泌学的、病理組織学的、免疫学的見地から種々検討を加えてきたが、その成因や病態についてはなお不明の点が多い。そこで今回は、これらの症例を臨床的に詳細な検討を加え、その本態を究明することを目的とした。

対象, 方法; 昭和48年から50年までの3年間に「切迫流産」の診断のもとに当科に入院した患者でその予後が判明しているもの138例を対象とし、流産スコア, 児心音聴取の有無とその時期, 流産時期と排出物, 臨床的原因, 最終転帰などについて検討した。

成績; すでに提唱してきた流産スコアと予後の関係をみると、スコアの上昇とともに流産率は高くなり、5点で75%, 9点以上で全例流産に終わった。妊娠継続し満期分娩に至った症例では86%が4点以内であった。

ドップラー法による児心音聴取との関係をみると、入院中あるいはそれ以前に聴取できた52例のうち、流産したものはわずかに8例(15.4%)であり、44例(84.6%)は妊娠継続し、うち30例(68.2%)は満期分娩に至っているが、早産が13例あり早産率が高い。

妊娠12週以前の初期流産と13週以後の後期流産にわけると、前者で児心音聴取可能例は比較的前後良好であったが、後者で児心音聴取不能例は全例流産した。また児心音聴取後流産した症例はすべて後期流産に属していた。

流産のタイプでは初期は不全流産が圧倒的に多く、後期はほかに稽留流産や完全流産が多い点が目立った。また流産物確認例について胎児の有無をみると、胎児の認められない例が初期では95.6%, 後期では66.7%であった。

流産の原因について臨床的にみると、初期流産では不明例が殆んどであり、後期流産では原因として判明したものでは、頸管無力症, 子宮奇形, 子宮内胎児死亡, 子宮筋腫合併例の順であった。

結語; 臨床的に流産スコアは予後を良くあらわしていることが確認された。流産の成因については、いわゆる初期流産と後期流産ではその機序が異なることが臨床的データから示唆された。

108 基礎体温による排卵期より妊娠初期にかけての血中ホルモン測定 of 初期流産予後判定上の意義

新潟大学産婦人科 新潟市民病院産婦人科*
王 正貫, 小川弘良, 佐藤芳昭, 高橋 威,
竹内正七, 布川 修*

妊娠が成立した場合、排卵後40日から60日目にかけてはLuteoplacental shiftと呼ばれ内分泌活動の主役が卵巣より胎盤絨毛へ移行する時期で、この時期の内分泌機能の確かな作動がその後の妊娠維持に関して重大な意義を有すると考えられる。そこでこの時期の血中各種ホルモンの測定を行い正常例と異常例との差異を検討し、切迫流産予後判定としてのこの時期の血中ホルモン測定 of 臨床的意義について検討を行った。

方法) 対象は当科不妊外来および内分泌外来において基礎体温表により排卵日より妊娠成立に至るまで観察し得た症例15例で、排卵日より10日毎に血中Estrogen(E), Progesterone(P), HPL, HCGを測定し、正常例、流産例について検討を行った。またat randomに採取した妊娠11週までの110例についても同様に測定を行った。測定方法はEの8分画, P, HPL, HCGともRIA法によつて血中ホルモンを測定した。

成績) 正常例ではE₁, E₂, E₃ともに排卵後40日目までは黄体期と同レベルであるが、これ以後増加が見られる。特にE₂の増加が著明であった。Pは排卵後60日目までは目立った増加は見られず60日を過ぎた頃より増加が始まる。HCGは20日目より増加が始まり、30日目ではLHpeakの値を越えその後は直線的な増加を示した。HPLは30日目より全例測定可能となり以後急増する。切迫流産で妊娠維持に成功した例では各ホルモンとも正常例と同様なパターンを示すが、流産に至った例では増加傾向が弱く、むしろ下降するものもある。特にE₂, HCG, HPLにおいてこの傾向が顕著であった。

結論) 流産になる症例においては早期より血中ホルモンの低値が見られ、この時期の血中各種ホルモンの測定は流産の予後判定に意義あるものと考えられる。そのなかでも、E₂の血中の動態をみることは臨床的に意義があると推定される。

109 習慣性流早産患者の妊孕動態

名古屋市立大学 医学部 産婦人科
小池 皓式, 水野金一郎, 八神喜昭,

臨床的に習慣性流早産患者に対していかなる妊娠管理並びに分べん管理をすべきかについて検討するために、当科における最近5年間の習慣性流早産患者の妊娠についての動態の検索を行った。

対象は昭和45年～49年に当科外来を受診した習慣性流早産患者のうち少なくとも1回の妊娠経過を観察しえた218例である。これら習慣性流早産患者妊婦を既往の流早産歴よりみて初期流産群、中期流産群、早産群、混合群に分類した。更に原発性及び続発性にも区別し、各群別に今回の妊娠経過、流早産、分べん状況並びに各群における治療法及びその予後について検討を行い、更には非妊時における諸検査を行い得たものについてはその成績をも加え検討を行った。

成績 対象の218例中、原発性習慣性流早産患者は146例あり、その内わけは初期流産群66例、中期流産群9例、早産群9例、混合群62例であった。初期流産群のうち今回の妊娠にて満期分べんしたものは65%と高く、そのうち頸管不全症と診断し頸管縫縮術を行ったものが7%に認め、それに子宮整形術を施行された1例も含まれている。中期流産群は今回の妊娠では妊娠初期並びに中期流産例は1例も認めなかったが1例の満期分べん例を除けばすべて早産となった。混合群では今回の妊娠の内55%が満期分べんをし、その内3%に頸管不全症として頸管縫縮術が行われた。又早産したものは8例であり中期流産は14例であったがそのうち5例に頸管縫縮術が行われている。続発性習慣性流早産72例についての今回の妊娠経過は4例に満期分べん(61.1%)をみ、早産9例(12.5%)、中期流産6例(8.3%)、初期流産13例(18.1%)であった。今回流早産に終わった症例につき頸管不全症以外の原因につき可及的その原因を追求しその詳細についても報告し、習慣性流早産患者妊婦の管理についても言及したい。

110 切迫流産の腔スミアと尿中hCG値

杏林大学 産科婦人科学教室
阿部 穰 北條 泰輔
鈴木 正彦

纖毛組織の活動状態を知ることはその妊娠が正常に進んでいるかどうかの一つの指標であり、纖毛性ホルモンの定量は、切迫流産の予後判定に信頼度の高い検査法とされている。今回われわれは、尿中hCGを測定すると同時に、従来まで比較的煩雑であった指数算出を簡易化した内分泌学的腔スミア診を施行し切迫流産の予後判定を検討する機会を得たので報告する。

切迫流産徴候を示した妊娠5週から16週の150例に対して、尿中hCGを赤血球凝集阻止反応にて半定量するとともに、腔スミアを採取した。標本をパパニコロー染色し、表層細胞、中間層細胞を識別し、それぞれを+, #, ##と表現し、その比をS・I ratioとしてa, b, c, dの4群($0 \leq a \text{群} < 1/g \leq b \text{群} < 1 = c \text{群} < d \text{群}$)に分けて検討した。S・I ratioが大きいことはestrogen効果が強く、小さいことはprogesterone効果が強いことを意味する。

妊娠週数によるS・I ratioの変化は、予後良好においては、妊娠4～8週でS・I ratioは大きく、妊娠12～16週では低い傾向を示したが、全体的にはS・I ratioが低いa群に大部分が属した。予後不良例では、妊娠週数に関係なくS・I ratioの大きいb, c, d群に大部分が属し、a群には少く存在した。尿中hCGとS・I ratioの相関は、予後良好例では、S・I ratioはa群、hCG値は10IU/ml以上の領域に多く分布したが、S・I ratioがかなり高い例も存在した。予後不良例では、S・I ratioが高くかつhCG値が10IU/ml以下の領域に多く存在し、a群に分布するものは少なかった。

以上より内分泌腔スミア診によるS・I ratioと尿中hCG値による切迫流産の予後判定とは比較的よく一致する成績を得た。腔スミア診は、流産の予後判定に有用であることと、腔スミアを通じて、流産の性ステロイド内分泌環境の一端をうかがい知った。

111 血中PGおよび尿中PG代謝物とhCGの比較 検討による切迫流産の予後判定法について

岩手医科大学産婦人科

郭 銘宏、伊東邦郎、小山田敬司、鈴木 博
小見克夫、川端徳衛、国本恵吉、秦 良麿

妊娠初期の内分泌環境については、従来性ステロイドホルモン hCG を中心とした報告が多い。最近の Prostaglandin (PG) 研究の進歩により流・早産の成因に、生体内PGの動態が大きな意義を有することが明らかとなってきた。

またhCGとPGとの間に、拮抗作用の存在が推定され、妊娠維持の機構に両者の相互作用が関与している可能性が推定される。この意味から妊娠の維持に伴うhCG濃度のPGへの影響の検討から、初期流産の成因との関連性を追求すべく本研究を行なった。

1. 研究対象：正常月経周期婦人、正常妊婦および切迫流産患者。2. 実験方法：正常月経周期婦人については、月経期・卵胞期・排卵期および黄体期、正常妊婦については、BBT上昇後高温相持続21日以上から、1週間1回にそれぞれ採尿、採血した。切迫流産患者については、入院と同時に採血、採尿し経過を観察した。血液、尿ともにRIAによりPG分画とhCGおよびLHを測定するとともに、尿中PG代謝物(PGF_{2a}-MUM)を測定した。3. 成績：1. 正常月経周期血清LHおよびPGF_{2a}濃度のpatternは同様の傾向を示した。2. 正常妊娠中のhCG濃度は、血清、尿ともに最終月経第1日より61-100日でpeakを示すが、尿中値より血清値がやや高値を示した。3. 正常妊娠血清PGF_{2a}濃度とPGF_{2a}-MUMのpatternはほぼ同様であるが、PGF_{2a}-MUMが高値を示した。4. 妊娠全期を通じてのPGF_{2a}-MUMは、妊娠初期61-100日で第1の低値、妊娠後期240-260日で第2の低値を示すが、その値の比較では後期がやや高値である。5. 切迫流産では、血清および尿中hCGともに有意の低値を示すのに対し、PGF_{2a}およびPGF_{2a}-MUMは有意の高値を示した。

以上の成績から血清PGF_{2a}および尿中PGF_{2a}-MUM値とhCG値との比較検討から切迫流産の予後判定が可能との成績を得た。

112. In Vitro におけるTRHのProlactin 分泌 刺激におよぼすActinomycin Dの影響

日本大学・農獣医学部・繁殖
佐藤嘉兵・山本好男

TRH が下垂体 prolactin (PRL) 分泌細胞に働き PRL の分泌を促進することが知られている。しかし PRL 産生細胞における PRL の合成・放出に対する TRH の作用機序については不明な点もあり十分な検討がなされていない。本実験ではラット下垂体の In Vitro 培養による TRH の PRL 分泌刺激およびこれに対する蛋白合成阻害物質である Actinomycin D (Act-D) の影響について検討した。方法：下垂体の donor として Wistar 系成熟雄ラットを用いた。断頭後、下垂体前葉を取り出し正中線に添って半切した。半した下垂体は 1 ml の Medium 199 を含む培養管に入れた。同一個体からの下垂体の半分は対照群として他の半分は実験群として組合せて用いた。30 分間 preincubation を行いその medium をすて、代りに各量の TRH または Act-D 単独あるいは両物質を含む Medium 199 1 ml を加え更に 2 時間培養を行った。培養は 37°C、気相 O₂ 9.5% - CO₂ 5%、湿度飽和で行った。培養終了時に下垂体の重量を測定し、下垂体および medium は PRL の測定まで -20°C で保存した。PRL の測定は polyacrylamide disc gel による electrophoresis によって行った。結果：TRH の 25.50 あるいは 500 ng/ml medium の添加では PRL の medium 中への放出は有意に増加した。しかし 5 ng/ml の添加では有意な放出はみられなかった。また、下垂体中の含量は各添加量群とも対照群にくらべ有意な差はみられなかった。一方、この TRH の PRL 放出刺激効果は TRH と Act-D 5 μg/ml の同時添加により消失した。下垂体中の PRL 含量は TRH 単独添加群と TRH と Act-D 同時添加群との間に有意な差はみられなかった。さらに、Act-D の PRL 分泌に対し、その 5, 10, 15, あるいは 30 μg/ml の添加では PRL の medium 中への放出量および下垂体含量とも対照群と比べ有意な差はみられなかった。以上の結果から、TRH の PRL の放出刺激作用は Act-D により抑制されるが、下垂体からの PRL の基礎分泌は影響を受けない事が示唆された。

113 無排卵症患者に対する〔Des-Gly-NH₂¹⁰, Pro-ethylamide⁹〕-LH-RHの投与効果

群馬大学産科婦人科学教室
伊吹令人 竹中恒久 中村 淳
五十嵐正雄

LH-RH analog の一つである〔Des-Gly-NH₂¹⁰, Pro-ethylamide⁹〕-LH-RH (以下TAP-031と略)を使用し、下垂体予備能に関するLH-RHとの比較検討、卵胞成熟促進効果、排卵誘発効果、無月経症に対する2~3週間連続投与効果などについて検討したので報告する。

1) 下垂体予備能検査

LH-RH及びTAP-031を100μg/回静脈内投与し、注射前及び注射後15分、30分、60分、120分、(180分)の血中LH、FSHの動態を観察した。その結果TAP-031はLH-RHに比べて効果の発現はやゝ遅いが、その持続は明らかに長いことが判明した。

2) 卵胞成熟促進効果

第1度無月経症10例、第2度無月経症7例、持続無排卵周期症1例、計18例20周期に、TAP-031/日50μg4~5日投与した結果15例で頸管粘液の増量をみとめたが一時的であった。

3) 排卵誘発効果

第1度無月経症例7名にTAP-031/回100μgを/日2回(間隔3時間)投与したが排卵はみられず、2例に月経が発来したのみであった。

4) 無月経症に対する2~3週間連続投与効果

第1度無月経症3例、第2度無月経症7例にTAP-031を/日/回100μg、14~21日間連日投与し、投与前後にLH-RH testを施行したがその反応性は投与前後を比較して殆ど不変であった。投与中/時頸管粘液は増量したが2~3週の投与直後には、以前の粘液と殆ど同様であった。

5) LH-RH=FSH-RHという一元説が正しいとすればLH-RHまたはそのanalog投与により卵胞は成熟し排卵が起る筈である。LH-RH投与で卵胞成熟が起らない説明としてLH-RHの作用が短時間であることがあげられているが長時間作用するTAP-031を投与しても卵胞成熟が起らなかったことは一元説を支持出来ない一拠を提供する。

114 LH-RH testによるClomiphene療法及びGonadotropin療法の排卵誘発難易度の予測について

横浜市立大学医学部 産婦人科学教室
高口二郎 植村次雄
鈴木直行 塩島令儀

我々は第19回本学会でLH-RH test 殊に投与後30分のLH値とLH/FSHとによるclomiphene療法の排卵予測について報告したが、今回は更に症例数をふやして排卵誘発の予測を行うと共に、gonadotropin療法についても検討を加えた。対象は無排卵周期症25名、第1度無月経36名、第2度無月経32名計93名である。LH-RH100μgを筋注し投与前、投与後30分の血中LH、FSHをRIAで測定した。治療により1回でも排卵した者を排卵例とし排卵率80%以上の者をA群、80~50%をB群、50%未満をC群とし、無効例をD群とした。

clomiphene療法で最も排卵例が多いのは、LH-RH投与後LH値100miu/ml以上・投与後LH/FSH8倍以上であることを前に報告した。今回この範囲に属した者は31例あり、内27例(87.1%)と高率に排卵したが、A+B群は15例(48.4%)と意外に低かった。そこで最も排卵しやすい範囲を検討してみると、投与後LH値200miu/ml以上・投与後LH/FSH4~16倍が最も良く、A群54.5%、B群36.4%、C群9.1%、D群0%と排卵率50%以上の者は90.9%と極めて高率であった。これに対し同じ投与後LH200miu/ml以上であっても、投与後LH/FSH16倍以上ではA+B群10%、C群60%、D群30%でありLH/FSHが高すぎても排卵率が低下することが分った。

gonadotropin療法はclomipheneが無効又は低排卵率の30例に施行した。LH-RH投与後LH/FSH4倍以上は14例あり、A群7例、B群6例、C群1例と排卵率50%以上は13例(92.9%)と高率であった。一方投与後LH/FSH4倍未満では全例D群に属し、又投与後FSH値が50miu/ml未満の例の中にはclomipheneの併用により排卵する者もあった。それ故このような症例の治療に際してはclomipheneの併用やHMGの投与法の工夫が必要であろう。

以上の様にLH-RH投与後30分のLH値、FSH値、LH/FSHから、排卵誘発治療の難易度の予測が可能であった。

115 LH-RH と TRH

連続投与後の血中 LH, estrogen, progestin の動態: とくに黄体初期との関連について

東京医科歯科大学医学部産科婦人科学教室
小山嵩夫, 斉藤 幹

Baboon (non human primate) において LH-RH 投与後 LH の放出に二相性があることがわかっているが、今回の実験においては黄体初期に LH-RH に続いて TRH を連続投与し、TRH の下垂体、性腺系における影響を検討してみた。5頭の baboon の黄体初期において、合成 LH-RH 100 μ g を皮下投与し、30分、60分後に TRH 40 μ g を皮下投与し、経時的に採血し、血中の LH, estrogen, progestin を測定した。なお対照として生理食塩水投与の場合、LH-RH のみ投与の場合においても同様に経時的に採血し、血中ホルモン測定を行ない比較検討した。LH-RH 投与により投与後30分以内(前半のピーク)と90~150分(後半の増加)に血中 LH の上昇が観察され、TRH 投与を加えた場合には後半の血中 LH の上昇にさらに増加傾向が認められたが、推計学的には LH-RH のみ投与の場合と LH-RH と TRH 両者投与との間には有意差は認められなかった。生理食塩水投与では血中 LH には増加は認められなかった。血中 estrogen レベルについては LH-RH のみ投与の場合と LH-RH と TRH 両者投与の場合において差異はなかった。血中 progestin レベルは LH-RH 投与により増加が認められたが、TRH 投与によりさらに増加は促進された。なおこのうちの3頭の baboon の別の月経周期において、排卵翌日より、連日 TRH 40 μ g を4日間皮下投与し、その後血中 progestin を次の月経迄隔日に測定した。これらにおいては血中 progestin は他の月経周期の同時期において、採血のみを行なった対照と比べて、TRH 投与により全例に増加を示した。これらのことから黄体初期において、LH が放出されている状態においては、TRH は下垂体に作用し、性腺よりの progestin の分泌を増加させることがわかった。これは baboon の黄体初期における、TRH の黄体刺激作用を示唆していると考えられる。(本研究は Dr. N. Hagino, the University of Texas Health Science Center at San Antonio, U.S.A. との共同研究によるものである。)

116 無月経患者に対する LH-RH, TRH 負荷試験

群大医学部産婦人科
佐藤恒治 江原洋一 重城利国

これまで原発並びに続発無月経患者に対して LH-RH test は行われ十分に検討されている。しかしながら TRH 負荷による PRL や TSH の変動について検討した報告は少ない。

この度私どもは原因不明の原発無月経12例、第2度続発無月経6例に対して LH-RH と TRH を同時投与して血中 FSH, LH, PRL, TSH を測定した。方法は19才から35才までの患者に早期空腹時に100 μ g の LH-RH (田辺製薬)と500 μ g の TRH (田辺製薬)を1回静脈注射して注射前2回、注射後15, 30, 45, 60, 90, 120分にてヘパリン採血して血漿 FSH, LH は NIAMD, PRL と TSH は第一アイソトープのキットにより測定した。

1) 原発無月経患者では LH, FSH が異常高値で LH-RH により過剰反応を示し PRL, TSH が正常のもの3例; LH, FSH や、高値であるが正常反応を示し PRL, TSH 正常のもの2例; LH, FSH は低値であるが正常反応を示し PRL, TSH 正常のもの3例; LH, FSH はや、低値で正常反応を示し、PRL, TSH も正常のもの1例で、以上の症例では PRL に異常はみられなかつたが LH, FSH が低値で LH-RH に殆んど反応がないもの3例のうち1例に PRL の異常高値がみられた。TSH は正常であった。

原発無月経には PRL の異常値を示すものがみられる。

2) 続発無月経では LH, FSH がや、高値で正常反応、PRL, TSH は正常のもの2例; LH, FSH は低値で正常反応を示すもの3例中2例に PRL がや、高値のものがみられた。LH, FSH 低値で過剰反応を示し PRL は異常高値を示し TSH 正常のものが1例で、この例は下垂体の微小腫瘍が発見された。興味あることは続発無月経に PRL 高値のものが2例みられたことで異常乳汁分泌症候群では PRL 異常高値でエストロゲン低値であることに鑑み無月経の原因が PRL 高値によることが示唆される。目下 CB-154 を投与してその反応性を検討中である。

117 各種薬剤投与による精漿中遊離アミノ酸の変動

昭和大学 泌尿器科
吉田英機 池内隆夫 今村一男

乏精子症および無精子症患者に対する、グルミン、メサルモンMの内服およびゴナステロン筋注による精漿中遊離アミノ酸の変動を16種のアミノ酸について検討した。

(1)先づ未治療群7例について2回精液を採取し、各アミノ酸値の変動をみた。(2)グルミン8週間内服群7例、ゴナステロン20本筋注直後群9例、メサルモンM8週間内服群8例について同様に各アミノ酸値の変動をみた。また同時に、総アミノ酸値に対する各アミノ酸値の百分率を算出し、その変動の状態をみた。

その結果(i)未治療群の個々のアミノ酸値の変動の範囲と、治療群の個々のアミノ酸値の変動の範囲を比較したが、その間に有意の差はみられなかった。

(ii)個々のアミノ酸を総アミノ酸値に対する百分率で比較してみると、アルギニンとグリシンでは、未治療群と比較し、治療群で有意の増加がみられた。

118 精子尖体酵素アクロシンの精製

東京理科大学薬学部
森脇千秋 兼子 智

哺乳類精子尖体にはトリプシン様タンパク分解酵素アクロシン(EO3・4・21・10)が存在し、精子機能との関係が検討されている。本酵素の抽出精製はFritzらによつて行われ、ほぼ均一な標品にまで精製され、最近はその多様性についても言及されている。彼等の方法はトリプシン阻害物質であるベンザミジン誘導体をリガンドとするアフィニティクロマトによつて行われるが、このリガンドは本酵素の精製に關し最適のものとは言いがたい。われわれは雄性生殖機能におけるキニン遊離酵素系の役割に關する研究の一部として本酵素に着目し、ブタ精液より抽出精製を行いその性状の一部を検討した。

精漿中には強いアクロシン阻害物質が存在しているため、まずこれを酸性条件下にゲル濾過して除いた。ついで阻害物質をリガンドとするのではなく、プロダクトアナログ型アフィニティクロマトグラフィーによる精製を試み、本酵素がArg-, LeuArg-, GlyGlyArg-, Sepharoseに親和性を示し、しかも親和力が吸着体のスパーサーの長さ按比例して増大することを認めた。溶出はPHの変化(6.3→3.0)、25%ジオキサンその他によつてほぼ定量的に行われ、ディスク電気泳動で均一な標品を活性回収率90%以上の高収率で得た。

親和力の異なる吸着体を利用して、本酵素の可溶性条件を変えることによつて性状のやゝ異なるものが得られ、本酵素の多様性の研究に大きく資することができると考える。

アクロシンはキニン生成作用も強く、トリプシンよりもむしろキニン遊離酵素に近い酵素と考えられている。演者らはすでにモルモット凝固腺に強いカリクレイン活性を認め、これを単離精製し現在その生成細胞を決定中であり、今後さらにアクロシンを含め雌性生殖器官系とキニン遊離酵素系の関係の解明を計りたい。

119 Kremer's sperm penetration Test の新意義について

愛知医科大学産科婦人科学教室
山田昌夫, 中西正美, 伊藤祐正, 中北武男,
野口昌良, 渡辺金三郎

1965年 Kremer によって開発された Sperm penetration Test (以下 P.T と略記) は、従来の Miller-Kurzrok Test に比し、精子の上昇速度、上昇率等を明確に観察できる点でよりすぐれた方法として脚光をあびるに至った。私共は本法を追試し、前記の利点を再確認するとともに、更に本試験法により頸管粘液を上昇した精子について、奇形の有無、及び精子の DNA 量を I.C.P (Impulse Cyto Photometer) を用いて測定した結果、次の如き新知見を得、本試験法に新たな意義を見出したので報告する。

実験対象は不妊症患者で、他の不妊因子を除外しえた夫婦 10 例について、基礎体温表、及び頸管粘液シダ状結晶の形成から排卵期を定め、その時期の頸管粘液を注射器にて採取し、同じ日に用手法により採取した精液をこれにあてた。

実験結果は以下のごとくであった。

- ① 排卵期の頸管粘液を上昇した精子には、ほとんど外表奇形は認められなかった。即ち、外表奇形精子は頸管粘液界面を上昇しないことを示した。
- ② 頸管粘液を上昇した精子の DNA 量を I.C.P にて測定したヒストグラムにもとづく按分比はほとんど一定であり、対照例精子のそれに一致する傾向を認めた。
- ③ P.T 試験において頸管粘液を上昇する精子には、2 時間後のものでは、DNA 量の多い 2 n、3 n の倍数のものが先行する傾向にあるが、24 時間後では②の按分比に近づく傾向が認められた。

なお、頸管粘液界面を上昇する精子の上昇距離についての検討も毛細管を凍結細断することにより前記の結果を更に詳細にすることも可能であり、目下実施中であることを付記する。

120 精子不動化抗体に関与するヒト精漿抗原の検索

兵庫医科大学産婦人科学教室
高節子, 鎌田敏雄, 伊熊健一郎,
窪田耕三, 磯島晋三

抗精子抗体による不妊症発生が明らかとなって以来、不妊症発生機序の解明及びこの不妊機序をいかに birth control に応用するかが、大きな課題となってきた。抗精子抗体保有患者血清中の抗体は、精子そのものに対するものと、精漿抗原に対するものがあることが考えられるが、birth control に応用するためには、どうしても精子特異抗原を分離・抽出・精製することが必要となってくるわけであり、従来より我々は精漿抗原分析を行ない、精漿中には人血清成分とか肝臓・腎臓などの可溶性抗原以外に少なくとも 6 種の抗原成分を含有しており、このうちの 2 つは人乳との共通抗原であり、4 つは、精漿特異抗原であることが判明し、精子不動化作用を有しているのは精漿人乳共通抗原及び、精漿特異抗原成分に対応する抗体であり、人血清成分などに対する抗体には不動化作用は認められなかったと報告してきましたが、2 つの精漿人乳共通抗原および 4 つの精漿特異抗原成分の内の全てが、精子付着抗原となっており、精子不動に関与しているのか、そのうち特定のものが関与しているのかは不明であったので、今回、精漿抗原を用いて、抗精子抗体保有患者血清の吸収実験を行なった。

飽和硫酸塩析法で採取した精漿蛋白を Sephadex G-200, DEAE-cellulose で分画し、各分画を用いて、抗精子抗体保有患者血清中の抗体を吸収した後、我々の行なっている精子不動化試験を行ない、その吸収前後における精子不動化作用を比較検討することによって精漿抗原群の中でいかなる抗原成分が精子不動化に関与しているかを検討した。

121 両側精管欠損症の2例

練馬総合病院泌尿器科
石川 博 義

精管欠損症は、最近の男子不妊症の検索、特に精嚢腺造影法等において発見されることが多くなっている。われわれの症例も、検査にともない発見され、手術的に副睪丸尾部迄追求して確認した。

症例1. 28才 農業

初診 昭和48年12月10日

25才で結婚するも、子宝に恵まれず。近くの病院で無精子症の診断を受け注射、内服の治療を受けるも改善しなかった。睪丸は正常大。精液量4CC。外陰部正常。

昭和49年1月、入院の上、精管造影行なうも精管不明、癒着強し。(これは、前記医師のもとで精管造影をおこなったが、不明であった由)。更に副睪丸部迄検するも、精管は発見出来なかった。睪丸組織は正常Spermatogenesisを示した。

症例2. 33才 会社員

初診 昭和47年9月6日

30才で結婚するも以後妊娠をみない。睪丸は両側共正常大、硬、副睪丸も正常であったが、精管は両側共触知せず。精液量0.9mlで粘調性薄。

尿、蛋白(-)、糖(-)。沈渣、正常。Al-p, 5.4単位。GOT, 26, GPT, 32。Hb, 13.5g/dl。白血球 6600。赤血球 447万。

精管造影を行わんとするも、両側共、発見出来ず。副睪丸尾部を検するに索状物の附着をみるのみで、精管はみられず。Probeでも、精管とは確認できず。睪丸はほぼ正常のSpermatogenesisを示し、精管欠損症と確認できた。

122 男子不妊症の超音波断層法による検討
(第1報) 内性器像の変化について

東北大学医学部泌尿器科学教室
棚橋善克, 猪狩大陸, 原田一哉,
白井将文, 石井延久, 光川史郎

男子不妊症患者の内性器、とくに精のうおよび前立腺について、経直腸の超音波断層法を用いて検索した。

超音波観測装置としては、AlocaSSD-60B型多目的超音波診断装置を用い、体腔内ラジアルスキャナーとしては、私達の開発したAlocaASU-8M-C型経直腸の走査専用装置を用いた。

この方法は、被検者を特殊なイスに座らせ、肛門より直徑10mm、発振周波数3.5MHzの探触子を挿入、任意の深さで超音波ビームを放射させ、その反射音の強弱を輝点表示法によりブラウン管上に表示し、かつ超音波ビームの方向を回転させることにより、ちょうどレーダーの様に骨盤内臓器の断層像を得る検査法である。

この方法によれば、精のうは直腸の両側より前内方に向う1対の紡錘型の中空臓器として描出され、一般に左右対称で内壁の乱れはみられない。これに対し、男子不妊症の精のう断層像は次のような異常パターンのうちのいくつかを示すことが多かつた。①左右両葉の非対称化、②いちぢるしい拡張像、③いちぢるしい分葉化、④内壁の乱れ、⑤発育不全。

また、前立腺断面は直腸の前方に三角型ないし半月型の実質性の臓器として描出されるのが一般的であるが、男子不妊症例では、被膜や内部エコー像の乱れが見られることがあり、軽度の炎症の存在が示唆された。

上記の如く、私達の開発した経直腸の超音波断層法は、被験者に何ら苦痛を与えることなく、繰り返し施行できるのみでなく、精管・精のう・射精管造影法では描出不能な前立腺の形態的变化をも明瞭にとらえ得る画期的検査法なので、この検査法をこれまでの一般的な検査法と併用することにより、男子不妊症の病態の解明が大いに進むものと考えられる。

123 精索静脈瘤の臨床的研究(第4報) 精液所見についての検討

藤沢市民病院 泌尿器科
 広川 信, 藤井 浩
 松下和彦(横浜市大病理), 朝倉茂夫(朝倉医院)

(目的) 精索静脈瘤による不妊症は良く知られている。しかし、すべての精索静脈瘤に、妊孕性の低下が認められるわけでない。その精液所見の変化を知ることは興味深い。経験した19例の精液所見について述べる。(対象と方法) 8例は不妊で、その他は、睾丸痛、陰囊部の不快感、あるいは腫脹を主訴として受診している。静脈瘤の程度は、第2度第3度である。精液は5日の禁欲期間をおき、用手法にて採取している。検査は、精液量、精子濃度、活動精子数、エオジン不染精子、精子奇形、精液中の酸フォスファターゼ値等について検討し、可能なかぎり3回おこなって、精子形成能を判定した。

(結果) ①精子濃度について：平均精子濃度 20×10^6 以下は、12症例にみられ、そのうち2例は、3回の検査で1回は、 20×10^6 以上を示した。精子濃度は、一定でなく、 $5 \times 10^6 \sim 13 \times 10^6$ の開きがみられた。2例では、 $(14 \times 10^6, 276 \times 10^6, 9.4 \times 10^6)$, $(46 \times 10^6, 15 \times 10^6, 52 \times 10^6)$ と、3回の精子濃度に大きなばらつきがみられた。②活動精子とエオジン不染精子について：多くの症例において、精子の活動性が良くない。60%以上を示したものは3例にすぎない。活動精子とエオジン不染精子との関係をみると、相関を示さない例、すなわち、エオジン不染精子の比率よりも活動精子の比率が極端に低下する例が、14例の検討で5例に認められた。③精液の酸フォスファターゼ値について： $10 \sim 40 \times 10^4 \text{ KA}_{\%l}$ にあるものは6例で、13例は、 $40 \times 10^4 \text{ KA}_{\%l}$ 以上で、多くは高値を示す傾向にある。

(まとめ) 精子濃度 20×10^6 以下が63%、活動精子が60%以下を示す例が89%と、精索静脈瘤の妊孕性の低下を示唆している。一部の症例で観察された、活動精子とエオジン不染精子とが相関しないこと、あるいは、精液の酸フォスファターゼの上昇する傾向などは、その臨床的意義は不明であるが、注目される現象である。

124 男性不妊症患者精液の粘性に関する研究(予報)

大阪医大 泌尿器科
 高崎 登, 岡野 達, 松瀬幸太郎, 宮崎 重

射精後精液の粘度は徐々に低下し液化することが知られている。男性不妊症には種々の原因があるが、殊に精液および精子の異常に由来するところが多い。精液の性状について生化学的研究は多くおこなわれているが、物理化学的立場から研究したものは少ない。男性不妊症患者の中には精液の粘度低下が遅延するものがあることが知られているところから、精液の粘性と不妊との関係を知る目的で、今回は人精液の流動学的特性すなわち、正常人および男性不妊症患者の精液について、その粘度を測定した結果について報告する。

測定方法は用手法にて精液を採取し、採取直後より室温 $24^\circ \sim 26^\circ \text{C}$ で60~90分まで経時的に円錐平板型回転粘度計を用いて測定した。

正常人の精液は採取直後より粘度低下をきたし、30~60分で一定粘度に達する。その値は5~8 centi poise で、採取直後の粘度の $1/10$ 以下である。

125 射精に対する中枢神経系の役割， 特にモノアミンとの関連について

東北大泌尿器科*，東北薬科大学薬品作用学教室**
木村行雄*，木皿憲佐**
只野 武**，酒井兼司**，木崎 徳*

昨年，本学会において，我々は犬およびラットを使用し，勃起および射精におよぼす Tetrabenazine, L-dopa, 5HTP, p-chlorophenylalanine (P-CPA), Reserpine および Haloperidol の影響について発表した。その結果，Tetrabenazine および Reserpine を投与した場合，射精の抑制が認められ，脳内 monoamine レベルはほとんどの部位で低下することが認められたが，次いで L-dopa を投与すると射精の回復と共に，脳内 Dopamine レベルだけが正常群迄回復することが認められた。

さらに Dopamine blocker である Haloperidol を投与した場合，射精の抑制が認められた，一方，P-CPA を投与し，脳内 5HT レベルだけが減少した状態下では勃起および射精の抑制は認められなかったが，次に 5HTP を投与すると射精の抑制が認められた。これらの事実は射精の中枢神経系内に於る賦活系の中心は Dopamine が抑制系のそれは 5HT が関与していることを示す。

今回は勃起および射精に関して中枢神経系の制御を詳細に検討する為に末梢性 Dopa decarboxylase 阻害剤である Ro 4-4602 を併用した結果について発表し，さらに，dopamine- β -hydroxylase 阻害剤である Diethylthiocarbamate (DDC) 投与時の影響についても検討した。

実験方法：体重 10～15 kg の雄の雑種成犬を使用し，用手刺激により起した勃起および射精に対する影響を観察し，同時にモノアミンの定量を行なった。

実験成績：Ro 4-4602 前処置後，5HTP を投与すると勃起の抑制は認められなかったが，射精の抑制が認められた。また，Tetrabenazine 投与後 Ro 4-4602 を投与すると，射精が抑制されたが，次に L-dopa を投与すると射精の回復することが認められた。一方，DDC 投与後，勃起の抑制はみられなかったが，射精の抑制されることが認められた。

これら薬物処置下における性行動の変化について考察を加え，さらにアミンの動態についても検討したのであわせて報告する。

126 男子不妊症の G 剤・ATP 剤・循環 ホルモン剤併用療法の成績

鹿児島大学泌尿器科
後藤俊弘・大井好忠・岡元健一郎

1973年から1976年6月までに当科外来を受診した男子不妊症患者は161名で，そのうち乏精子症104例，無精子症55例であつた。これらの症例のうち当科で加療した60例を対象として，HCG・PMSG を各2000単位あて週2回，計15回（総量6万単位）を1クールとして投与し，併用療法としてATP製剤であるトリノシン120mgと循環ホルモン剤であるカルナクリン300生物単位を1日量とし，経口投与した。対照群として，1967年より1972年までに当科においてHCG・PMSG とATP製剤の併用投与をおこなつた41名の治療成績をあてた。

治療開始前とクール終了後の精液検査を施行し，精液量・精子数・運動率が治療前値の30%以上増加したものを改善とした。

その結果，精液量は治療症例の30%，精子数は36%，運動率は21%に改善がみられた。

両治療群ならびに睾丸生検による病理組織学的障害度と治療成績について述べ，アンケート調査による妊娠成立につき報告する。

127 PMSG療法を4回試み3児を得た 男子不妊症例

聖マリアンナ医科大学泌尿器科
長田尙夫 井上武夫

男子不妊症治療の究極の目的は妊娠成立を得ることである。造精機能低下に対して種々の治療法があるが、いまだ満足すべき成績ではない。

われわれは乏精子症の男子不妊患者にPMSG療法を行ない挙子に成功し、その後患者の強い希望からPMSG療法を繰返して3児を得た興味ある1例を報告する。

第1回初診、29才、配偶者不妊因子が否定され不妊期間3年で受診、3回の精液検査平均値は精液量2.2ml、精子濃度 $17 \times 10^6 / \text{ml}$ 、運動率65%、奇形率3%で、乏精子症であつた。睪丸組織学的所見はhypospermatogenesisである。第1回PMSG療法(1回1000単位 週2~3回、20本を1クール)を行ない、終了時精液所見は4ml、 56×10^6 、70%、3%で、3ヶ月後に妊娠し男児出産した。

第2回初診、31才、第3回初診、32才、ともに正常精液所見であつた。

第4回初診、33才、精液所見5ml、 44×10^6 、20%、10%と前回より低下していたので第2回PMSG療法を行ない正常精液所見となつたが、妊娠しなかつた。

第5回初診、34才、精液所見5.3ml、 17×10^6 、45%、7%と乏精子症であつたので第3回PMSG療法を行なつたところ、1クール終了しないうちに妊娠成立し(前回の出産後3年6ヶ月)、男児出産した。

第6回初診、36才、精液所見4ml、 25×10^6 、10%、1%と乏精子症であつたため第4回PMSG療法を行ない、終了時妊娠成立し(前回の出産後1年8ヶ月)、その時の精液所見は4.7ml、 69×10^6 、70%、3%で、女児出産した。

以上、初診より約10年間にわたる経過中、患者の強い希望もあつてPMSG療法を4回行なつたところ、そのうち3回妊娠に成功し挙子を得た。ゴナドトロピン療法の適応と限界がテーマとしてとり上げられたので、興味ある一例として報告する。

128 HMGによる無精子症、精子減少症の治療

北里研究所附属病院産婦人科
磯野光志、白井英一郎、
小林英子、伊藤正昭

下垂体性ゴナドトロピン、なかでもFSHが造精機能を改善することはすでに知られているが、無精子症、精子減少症などの造精機能低下による男性不妊症の治療法には、従来あまり満足すべきものがない。近年HMGが女性の排卵誘発に使用され、その優れた成績が報告されてから男性不妊に対してもHMGが臨床応用されるようになった。

昭和48年より3年間に当院不妊外来を受診した男性不妊患者のなかで、無精子症3例、精子減少症7例に対しHMG治療を行ったので、その治療成績を報告する。

症例は29才から42才までの10例で、治療前少くとも2回以上の精液検査を行い、無精子症に対してはさらに睪丸組織検査を、精子減少症の一部にも睪丸組織検査を行い、血中FSH、LH、血中テストステロン、尿中17K S、170HCS定量、染色体検査、トルコ撮影、LH-RH test、睪丸の触診、計測などを行った。治療はHMG 75 I.u. 1本を隔日に筋注し、45本を1クールとした。治療中は1カ月毎に精液検査を行い、精子数と運動率を主として治療効果を判定した。3例で治療前後の睪丸組織所見を検討した。治療成績は無精子症3例中2例に運動精子を認め、精子減少症では精子数 $100 \times 10^4 / \text{ml}$ 以下の5例で全例に何らかの改善が認められたが、特に運動率の改善が著るしかなかった。このうち2例に妊娠成立をみたが、児には何らの異常も認められなかった。精液所見の改善と血中FSH、LHとの相関は認められなかった。

129 Kallikrein による精子無力症の治療

東京医科歯科大学 泌尿器科
根 岸 壮 治 高 木 健 太 郎
吉 田 謙 一 郎

男子不妊症の治療はまだ確立された治療方法もなく、多くの難問を抱えている。

前立腺炎や精索静脈瘤のように男子不妊症の原因としてはつきり判っているものに対しては、それぞれの原因を取り除くことによつて、今日ではかなりの治療効果をあげ、妊娠の成立をえている症例も少くない。しかし、無精子症や乏精子症についてはその精子形成能が惹起された機序が不明なことが少なく、その治療成績は極めて低く、治療方法についてあれこれと暗中模索している現状である。

とくに、精子活動率が極めて低下している精子無力症や精子が全く動いていない精子死滅症については、その機序に不明な点が多く、これらの治療は極めて困難であつて、これまで僅かに B₁₂、ATP、CoQ などによる治療が試みられているが、その成果はある程度の改善をみた症例もあるものの、多くは満足できる段階に至っていない。

最近、活性キニン生成酵素である Kallikrein を乏精子症症例に使用した成績が Stüttgen (1973)、Schill (1975)、Schirren (1975) らによつて報告され、精子数、精子活動率、および平常精子の増加がみられたと報告されている。本邦でも石神らは昨年(第20回不妊学会総会)で乏精子症に対してカリクレン・デポーを投与して、精子数、精子活動率および活動精子数の増加をみたと報告している。また、白井らは精液にカリクレンを加えた *in vitro* の実験で精子運動率や精子運動能の改善を報告している。

我々の不妊外来でも、乏精子症で精子活動率が0~30%の精子死滅症および精子無力症症例9例に、カリクレン・デポーを1回40KUを週3回、12週間計36Aを筋注投与した。

follow up できた7症例についてみると、精子死滅症の2例は不変、活動率10~30%の5例のうち2例は60%以上に改善し、うち1例に妊娠の成立をえているが、3例は不変であつた。現在症例を重ねているので、それらの症例も併せて治療成績について報告する。

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 21巻4号

昭和51年9月25日印刷

昭和51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