

Japanese Journal of Fertility and Sterility

January 1977

日本不妊学会雑誌

第 22 卷

第 1 号

昭和 52 年 1 月 1 日

— 目 次 —

会 告

第22回総会・学術講演会予告
 新名誉会員および役員改選について
 昭和51年度第2回通常総会議事録
 第11期日本学術会議会員選挙について

原 著

- 片側卵巣および子宮摘除婦人における遺残卵巣の
 内分泌学的研究……………赤 山 紀 昭… 1
- Cu-IUD 装着家兎卵子の卵管内通過性および
 着床についての検討……………水 上 端・他…11
- 卵管内細胞診とその臨床応用に関する研究……………吉 沢 伸 二…20
- STUDIES ON SULFONAMIDE-INDUCED ANOMALIES
 IN CHICK EMBRYOS (2)……………Tzu-Szu Yang…32
- ウシ卵母の性ステロイド合成機能……………森 崇 英・他…41
- インボタンスの診断におけるサーモグラフィーの応用……………越 戸 克 和・他…47
- 双角子宮31例に対する Strassmann 氏手術成績……………成 田 収・他…53
- 側面像による子宮卵管造影の解析……………田 巻 勇 次・他…58
- 着床期周辺における胞胚の子宮内膜間質細胞に及ぼす作用
 —片側妊娠ラットを実験モデルとして—……………木 下 英 夫…67
- FERTILIZATION IN VITRO USING RABBIT TUBAL
 OVA RECOVERED AT DIFFERENT INTERVALS
 AFTER HCG TREATMENT WITH EJACULATED
 OR IN VIVO CAPACITATED SPERMATOZOA……………H. Kubo…78
- 昭和50年度日本不妊学会北海道地方会……………88
- 第11回 日本不妊学会北陸支部総会……………89

第22回 日本不妊学会総会および 学術講演会予告 (第1回)

第22回日本不妊学会総会および学術講演会は、下記の要領により開催されますので、多数ご参加下さるよう、ご案内申し上げます。

会 期 昭和52年10月4日(火)、5日(水)

会 場 鹿児島県文化センター

〒892 鹿児島市山下町5の3

鹿児島市中央公民館

〒892 鹿児島市山下町5の9

学 術 講 演 会 シンポジウム, 特別講演, 一般演題

演題申込締切 昭和52年5月15日(当日消印有効)

演題申込資格 本会会員に限ります。会員以外の方(共同発表者を含む)は、演題申込みと同時に昭和52年度会費納入の上、会員となつて下さい。演題申込方法などについては次号でお知らせいたします。

第22回 日本不妊学会総会会長

森 一 郎

連絡先 鹿児島市宇宿町 1208-1

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室内

第22回日本不妊学会総会事務局

〒890 TEL(0992)56-2211(代)

内線 2122

新名誉会員および役員改選について

10月28日開催された昭和51年度第2回通常総会において次の7名の方々が新たに名誉会員として推薦、承認されました。また役員(理事および監事)の改選が行われましたので、10月29日新理事会を開き、互選により下記の如く理事長、副理事長、常任幹事を選出するとともに各理事の職務分担を決定しました。

名誉会員

九 嶋 勝 司(東北支部)、小 林 隆(関東支部)、野 嶽 幸 雄(関東支部)
 百 瀬 剛 一(関東支部)、渡 辺 行 正(関東支部)、梅 津 元 昌(関東支部)
 A. Campos da Paz(国際不妊学会会長、ブラジル)

役 員

理 事 長	澤 崎 千 秋		関 東 支 部, 再任
副 理 事 長	林 基 之	庶務・渉外	" "
"	石 神 襄 次	会計	関 西 支 部 "
"	高 嶺 浩	組織・編集	関 東 支 部 "
理事(常任)	高 井 修 道	会計・渉外	" "
" (")	松 本 清 一	庶務・組織	" "
" (")	飯 塚 理 八	組織・編集	" 新任
" (")	木 下 佐	庶務・会計	" "
" (")	坂 元 正 一	庶務・渉外	" "
" (")	佐 久 間 勇 次	編集・渉外	" "
" (")	和 久 正 良	会計・編集	" "
" (")	渡 辺 金 三 郎	会計	中 部 支 部, 再任
"	態 本 悦 明	組織	北 海 道 支 部, 新任
"	鈴 木 雅 洲	"	東 北 支 部, 再任
"	黒 田 恭 一	"	北 陸 支 部 "
"	西 村 敏 雄	"	関 西 支 部 "
"	藺 守 龍 雄	"	" 新任
"	足 立 春 雄	"	中国四国支部, 再任
"	滝 一 郎	"	九州支部 "
"	門 田 徹	"	" "
" (定員外)	森 一 郎	会長	" "
監 事	落 合 京 一 郎		関 東 支 部, 再任
"	森 山 豊		" "
"	西 川 義 正		北 海 道 支 部, 新任

昭和51年度第2回通常総会

本年度第2回通常総会は下記の如く神戸市において開催され、澤崎理事長を議長として各議案につき慎重審議の上採択を行った。

日 時 昭和51年10月28日(木) 12時45分～13時20分

場 所 神戸市 神戸文化ホール

開会当時の会員数 2294名

当日の出席会員数 1296名(含委任状 859)

議 事

第1号議案 名誉会員推薦の件

理事会および評議員会より推薦の別記7名につき審議の結果全員一致にて名誉会員とすることを承認した。

第2号議案 役員改選の件

評議員会の決定した候補者につき審議の上全員一致にて別記の如く次期理事(21名)、監事(3名)を選出した。

第3号議案 評議員改選の件

次期評議員は各支部よりの推薦をまち理事会にて選任されるが、各支部別評議員数については理事会、評議員会の原案通り下記の如く定めることを全員一致で承認した。

北海道支部 5名、東北支部 4名、中部支部 5名、北陸支部 4名

中国・四国支部 5名、九州支部 8名、関西支部 8名、関東支部 16名

第4号議案 日本医学会評議員、連絡委員、用語委員選出の件

理事会および評議員会推薦の通り下記の如く決定した。

評議員 黒田恭一、連絡委員 飯塚理八、用語委員 岩崎寛和

第5号議案 次々期学術講演会および総会に関する件

53年度学術講演会および総会は理事会、評議員会の原案通り、下記の如く開催することを全員一致で承認した。

担当支部 関 東 支 部

会 長 林 基 之

開 催 地 東 京 都

第6号議案 事務所移転の件

澤崎理事長より「学会事務所は現在まで止むを得ぬ事情で東邦大学内に置かれて来たが、学会としては独立の事務所をもつことが望ましいため、下記保健会館内の一室を区切つて日本産科婦人科学会東京地方部会と共同で借りることを検討中である」旨発言、さらに移転案の詳細および、理事会、評議員会における審議経過について報告の上賛否を求めた結果、全員一致にて移転を承認した。

新事務所、東京都新宿区市ケ谷砂土原町 1-1 保健会館別館 3 階

第7号議案 定款一部変更の件

上記事務所移転に伴ない定款第2条を下記の如く変更することを承認した。

新定款第2条 この法人は事務所を東京都新宿区市ケ谷砂土原町1丁目1番地、保健会館別館におく。

旧定款第2条 この法人は事務所を東京都大田区大森西7丁目5番22号におく。

報告協議事項

1. 日本医学会加盟について

澤崎理事長より長年の懸案であつた本学会の日本医学会加盟が承認され、7月6日第73分科会として登録された旨報告があり、関係者の努力に対する謝辞が述べられた。

2. 本年度事業報告

51年度上半期における庶務、編集、渉外、組織の各部活動についての報告が行われ全員了承した。

3. 50年度収支決算、51年度収支予算について

既に本年度第1回通常総会(通信)にて承認を得ているが、これについての補足説明および51年度上半期における予算執行状況についての報告が行われ全員了承した。

4. 次期および次々期学術講演会について

森次期会長の代理として池田助教授より51年度学術講演会ならびに総会の準備状況報告があり、ついで林次々期会長の挨拶が行われた。

5. 国際学会について

渉外部より明年の国際学会予定について下記の如く報告があり、多数会員の参加が要望された。

(1) 第9回世界不妊学会

日 時 1977年4月11日～16日

開催地 アメリカ、フロリダ州マイアミ(フオンテンブローホテル)

(2) 第1回アジア不妊学会

日 時 1977年2月19日～23日

開催地 インド、ボンベイ

第11期日本学術会議会員選挙について

1 前回(第10期, 昭和49年)の選挙の有権者の方へ

前回の選挙の有権者については, 前回提出のカードにより, 本年資格審査が行われました。

これに関し, 日本学術会議中央選挙管理会から登録用カードを再提出されるよう通知のあつた方以外の方は, すべて引き続き, 有権者名簿に登録されますから, 改めて登録用カードを提出する必要はありません。

ただし, 前回の登録における所属以外の部又は専門で今回の登録を求めようとする方は, 登録のしなおいをする必要がありますから, 様式第2の「所属部又は専門変更届」により, 登録用カード用索を請求してください。

2 今回(第11期, 昭和52年)の選挙に有権者となることを希望される方へ

(1) 今回の選挙に新たに有権者となることを希望される方で, 大学・研究機関等に所属される方は, 中央選挙管理会から大学・研究機関等に対して「登録用カード用紙請求者名簿」の提出方を依頼いたしましたから, なるべく所属の大学・研究機関等から提出の名簿によつて登録用カード用紙を請求してください。

なお, 名簿によつて請求される場合は個人からの請求は不必要ですから, 大学・研究機関等と個人の両方から重複して請求しないように, 特に注意してください。

(2) 新たに有権者となることを希望される方で, 大学・研究機関等に所属しているが大学・研究機関等から提出した「登録用カード用紙請求者名簿」にカード用紙請求者として氏名を記載されなかつた方は, 様式第1により個人で登録用カード用紙を請求してください。

3 登録用カード用紙の送付及び提出について

登録用カード用紙は, 請求あり次第「登録用カード用紙請求者名簿」提出の大学・研究機関等に対しては, 一括して送付します。また, 個人で請求の場合は, 直接, 請求人あてに送付します。

その際, 第11期会員選挙説明書及び登録用カード用紙提出用の封筒を同封いたします。登録用カード用紙に所要の事項を記入の際は, 選挙説明書の「登録用カード記載上の注意」を十分お読みになつたうえで記入してください。また, 登録用カード提出の場合は, 提出用の封筒を使用してください。第11期会員選挙のための登録用カードの受付期限は, 昭和52年3月31日ですから, 同日までに中央選挙管理会に必着するように提出してください。

なお, 昭和52年4月1日以降に到着した登録用カードは, 次回(第12期, 昭和55年)会員選挙の登録用カードとして中央選挙管理会で保管します。

4 有権者等の異動の届出について

有権者は氏名, 住所(住居表示の変更を含む), 本籍, 勤務機関及び職名, 勤務地等のいずれかに異動があつたとき, 又は博士の学位を取得した場合にはそのつどすみやかに, 様式第3により, 「有権者異動届」を中央選挙管理会に提出してください。これを怠ると有権者の権利を行使できないことがあります。

また, 新たに有権者となることを希望される方で, 登録用カードを提出し, その後に上記の異動があつた場合も, 異動の届を励行してください。

なお, 有権者が死亡した場合は, その旨を遺族又は関係者から届け出てください。

様式第1 (B5判)

登録用カード用紙請求書	
(ふりがな) 氏 名 住 所 (郵便番号)	

様式第2 (B5判)

所 属 部 又 は 専 門 変 更 届	
昭和 年 月 日	
日本学術会議中央選挙管理会 御 中	
(現登録の所属) 第 部 学 地方区	
(ふりがな) 氏 名	
私は、現在の専門を変更いたしたいので登録用カード用紙を請求いたします。	

様式第3 (B5判)

有 権 者 異 動 届		
日本学術会議中央選挙管理会 御中		
昭和 年 月 日		
第 部 学 地方区		
(ふりがな) 氏 名		
下記のとおり異動がありましたからお届けします。		
事 項	(新)	(旧)
1 氏 名		
2 住 所 (郵便番号)		
3 本 籍		
4 勤務機関及び職名		
5 勤務地 (郵便番号)		
6 博 士 の 学 位	① 学 位 の 種 類 ③ 授与年 昭和 年	② 授 与 大 学 ④ 所 属 学 会

(注) 新たに博士の学位を取得した者は、学位の種類、授与大学、授与年とともに必ず所属学会名を記入すること。

備考 様式第1, 第2, 第3とも用紙は「はがき」を用いても差し支えありません。

日本学術会議中央選挙管理会委員長

連 絡 先

〒 106 東京都港区六本木 722-32
電 話 (03) 403-6291

CONTENTS

An Endocrinological Study of the Ovary following Unilateral Ovariectomy and Hysterectomy.....	<i>T. Akayama</i>	1
Investigation on the Transport, Cleavage and Implantation of Ova in the Rabbit with Cu-IUD.....	<i>T. Mizukami, K. Takahashi, K. Nakagawa, M. Watanabe & M. Suzuki</i>	11
Studies on the Cytology of the Human Fallopian Tubes and its Clinical Application	<i>S. Yoshizawa</i>	20
Studies on Sulfonamide-Induced Anomalies in Chick Embryos (2).....	<i>Tzu-Szu Yang</i>	32
Steroid Hormone Formation in Bovine Ovarian Follicles <i>in Vitro</i>	<i>T. Mori, A. Suzuki, Y. Fujita & T. Nishimura</i>	41
Clinical Evaluation of Penile Thermography in Differential Diagnosis of Impotence	<i>Y. Koshido, M. Takara & J. Sakatoku</i>	47
The Strassmann Operation for Double Uterus in Thirty One Cases	<i>O. Narita, K. Higashide, M. Suzuki & Y. Shimosuka</i>	53
Analysis of Hysterosalpingogram by Adding Lateral View	<i>Y. Tamaki, T. Kobori, N. Takano, S. Okubo, S. Shimizu, C. Tajima & H. Takamizawa</i>	58
Some Informations from the Blastocyst to the Endometrial Cell	<i>H. Kinoshita, M. Endo, S. Tamai, M. Shinozuka, M. Shoji, I. Yamamoto, T. Nakajima & H. Yabana</i>	67
Fertilization in Vitro Using Rabbit Tubal Ova Recovered at Different Intervals After HCG Treatment with Ejaculated or in Vivo Capacitated Spermatozoa.....	<i>H. Kubo</i>	78

片側卵巣および子宮摘除婦人における遺残卵巣の 内分泌学的研究

An Endocrinological Study of the Ovary following Unilateral Ovariectomy and Hysterectomy

和歌山県立医科大学産科婦人科学教室（主任：一戸喜兵衛教授）

赤 山 紀 昭

Toshiaki AKAYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Wakayama Medical College
(Director: Prof. K. Ichinoe)

片側卵巣・子宮摘除術および子宮摘除術のみを受けた成熟年齢婦人における保存卵巣の機能を、臨床内分泌学上から多角的に観察し、下記の結果を確かめた。

1) 子宮摘除によつて卵巣への血液供給路の一部が絶たれるにもかかわらず、一側または両側卵巣が保存された生殖年齢婦人では、術後10年以上の経過観察において、その血清 LH, FSH 値および尿中 estrogen 値は、いずれも同齢の対照健康婦人値範囲にあることを認めた。

2) 術後1カ月間の短期連日観察では、手術後2, 3日目に血清 LH, FSH 値に若干の増加をみたが、術後5日目では術前に復元する。また術後卵巣機能の回復を示す初めての排卵時期は、BBT により追跡すると平均約 36.1 ± 13.9 日であるが、原則的には手術侵襲差が遅速を左右した。排卵惹起以後の BBT は一般健康婦人なみに2相性周期が連続し、その高温相での尿中 pregnanediol 値は健康黄体形成を指摘して、上位性中枢-卵巣系での内分泌周期は術後長期にわたり一般健康対照なみに維持される。

3) 術後2カ月より13年までの、28歳より46歳の子宮摘除婦人について、卵巣機能欠落障害の有無を、Kuperman 指数やとくに hot flashes の頻度から検討したが、保存卵巣の機能の低下を疑わせる症状は捉え難かつた。

以上、子宮摘除にもかかわらず、保存卵巣が1個の場合でも、その機能は健康婦人と比べて変らぬ生体内分泌環境を維持し、機能の寿命も一般健康婦人と同等の長きにわたるものの如く推測された。

はじめに

産婦人科医にとつて日常の臨床処置である片側卵巣摘除術後、とくに加えて子宮摘除という条件が負荷された場合、残された一個の保存卵巣の機能に関する知見は、臨床上はもちろん、内分泌学上からもきわめて重要であるにもかかわらず、本題について長期の臨床観察を行った報告は殆んどみられない。したがつて残された一個の卵巣の生理機能や寿命に関しては、知識といつてもほとんど憶測の域を出ないのが現況である。なかんずく子宮が摘除され、卵巣機能の一指標でもある月経が消失し、かつ子宮動脈という保存卵巣の血流供給路のひとつが断

たれることもあつて遺残卵巣機能の運命については簡単には推測できない。したがつて臨床内分泌学上、従来とも本題についてはすつきりとした究明が広くのぞまれていたところである。

本研究は子宮とともに一側卵巣の摘除を受けた成熟年齢婦人（片側卵巣・子宮摘除婦人）について、BBT, 尿中 estrogen, 尿中 pregnanediol および血清下垂体 gonadotrophin (PGH) を測定し、これを子宮摘除術のみを受け両側卵巣が保存されている成熟年齢婦人（両側卵巣遺残・子宮摘除婦人）や成熟年齢健康婦人における測定値と比較しつつ、多角的に上記の問題点を検討した。

観察対象および方法

(1) 観察対象：生殖齢にある19歳より46歳までの婦人171名で、これを比較検討のために以下の3群に分けた。

(a) 片側卵巣・子宮摘除婦人——広汎性子宮全摘術において片側卵巣を遺残する方法を選び、術後放射線治療を要しなかつた24歳より46歳までの52名を対象とした。観察期間は術後約13年にわたる。

(b) 両側卵巣遺残・子宮摘除婦人——子宮筋腫、子宮頸部上皮内癌等で子宮摘出術をうけ、両側卵巣を遺残せしめた28歳より46歳まで72名の婦人で術後約13年観察した。

(c) 対照成熟年齢婦人——19歳より36歳までの一般健康婦人47名を対象とした。

(2) 研究方法：BBT は毎朝午前6時前後に測定させ、各観察例とも3周期から最長14周期まで連続測定したが、一時的に中断してはまたくり返すようにした。血清PGHの測定は2抗体法によるradioimmunoassayで、RIA kit (第一RI研究所) を用いて測定し、2nd-IRP-HMGを標準品としmIU/mlで表現した。採血は早朝空腹時に行い、血清分離後-20°Cで保存し、同一条件下でduplicateして測定した。尿中estrogenの

測定は月経第3日より第14日までの卵胞期に該当した期間中に採取した尿を用い、Brown—神戸川氏法で測定した。尿中pregnanediolはRivera and Forchielliによるgaschromatography法で測定し、尿はBBT上昇後4~7日目を目標に採取し測定した。不定愁訴の検討はKupperman指数を用いて行い、さらに最も頻発する愁訴であるhot flashesについても調査した。

研究成績

〔I〕 片側卵巣・子宮摘除婦人の血清PGH

血中性ステロイドの濃度に対するfeedback systemの機能が完全である限り間脳——下垂体系の反応はきわめて鋭敏であるため、ここでは血清PGH測定を基として間接に卵巣機能状態を窺うこととした。

術後3年から10年までの経過をもつ36歳より46歳までの片側卵巣・子宮摘除婦人11名につき血清PGHを測定し、19歳より36歳までの34名の成熟年齢健康婦人のそれと比較しつつ検討した。

成熟年齢健康婦人では卵胞期(n=20)の血清LH値は $12.4 \pm 6.3 \text{ mIU/ml}$ (±SD以下略す)、FSH値は $7.7 \pm 2.4 \text{ mIU/ml}$ であり、黄体期(n=14)ではLH値が $11.0 \pm 4.7 \text{ mIU/ml}$ 、FSH値は $6.5 \pm 2.4 \text{ mIU/ml}$ である。

これに対して片側卵巣・子宮摘除婦人での血清LH

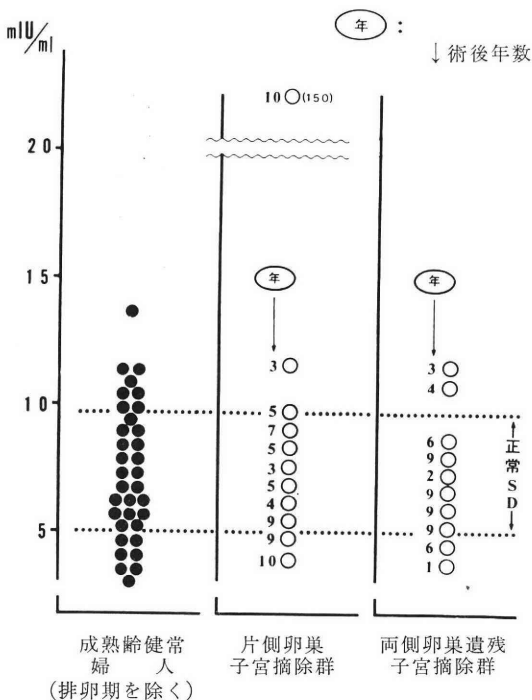


図1 片側卵巣・子宮摘除および両側卵巣遺残・子宮摘除婦人における血清LH値

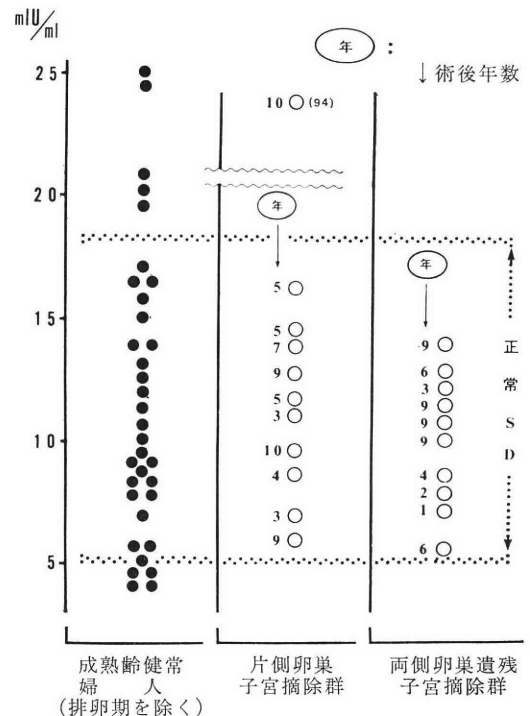


図2 片側卵巣・子宮摘除および両側卵巣遺残・子宮摘除婦人における血清FSH値

値は 11.3 ± 3.1 mIU/ml, FSH 値が 7.2 ± 2.2 mIU/ml で、術後10年を経過した43歳の閉経期の婦人と思われる1症例を除きすべてが成熟年齢常婦人値であつた。

同時に術後1年から9年経過中の両側卵巢遺残・子宮摘除婦人でも、31歳より44歳までの10名で血清 LH 値が 10.1 ± 2.4 mIU/ml, FSH 値は 6.5 ± 2.6 mIU/ml で、上記成熟年齢常婦人値とほぼ同じ分布をもつ点が明らかとされた(図1, 図2)。

〔II〕 片側卵巢・子宮摘除婦人の尿中ステロイド

(1) 尿中 estrogen 値

21歳より35歳の成熟年齢常婦人の卵胞期(n=13)における尿中 estrogen 値は、表1に示すごとく、平均値は estrone (E₁) が 9.9 ± 5.0 μ g/day, estradiol (E₂) は 7.6 ± 3.7 μ g/day, estriol (E₃) が 16.6 ± 9.1 μ g/day であつた。

これに対して29歳より46歳までの片側卵巢・子宮摘除婦人では、術後6ヵ月から10年の経過中、21名の尿中 estrogen 値は前記の1名を除き、すべて成熟年齢常婦人と同等値を示し、平均E₁ は 10.4 ± 6.7 μ g/day, E₂ が 9.2 ± 4.7 μ g/day, E₃ が 19.3 ± 8.8 μ g/day であつた。これらの両群値を比較したのが図3である。

なお同時に術後1年より9年を経過した31歳より44歳までの両側卵巢遺残・子宮摘除婦人7名における尿中 estrogen を測定したが、平均値はやはり E₁ が 12.5 ± 5.4 μ g/day, E₂ が 7.8 ± 3.7 μ g/day, E₃ が 27.9 ± 5.1 μ g/day と、成熟年齢常婦人値に比較してなんら変異をみとめなかつた。

表1 成熟年齢常婦人の卵胞期における尿中 estrogen 値

症 例	年齢	E ₁	E ₂	E ₃
	21	8.0	7.5	17.9
	23	13.8	5.8	8.1
	24	19.4	12.9	33.3
	28	11.4	12.8	27.8
	28	4.2	3.8	15.9
	28	12.2	5.1	23.4
	28	5.4	14.3	16.0
	29	6.0	4.9	6.4
	30	7.0	3.4	8.4
	30	3.5	4.9	7.1
	33	12.9	10.7	14.9
	34	6.5	4.7	6.3
	35	18.0	8.0	30.4
aAverage (S D)		9.9 (5.0)	7.6 (3.7)	16.6 (9.1)

単位 μ g/day

(2) 尿中 pregnanediol 値

上記の片側卵巢・子宮摘除婦人群21名において、BBT より推定した高温相で尿 pregnanediol を測定したが、BBT がすでに单相だつた前述の婦人を除く20名では、いずれも確実な排卵と黄体形成を示すといわれる1.0 mg/day 以上の値が測定され、平均値は 1.9 ± 0.6 mg/day であつた。これらの BBT も連続的(3周期以上)2相性を示していた(表2)。

一方また両側卵巢遺残・子宮摘除婦人群10名においても全例に1.0mg/day 以上の値がみられるとともに、平均値は 1.7 ± 0.4 mg/day であつて(表3)、BBT も連続的(3周期以上)2相性が観察された。

〔III〕 術後における遺残卵巢の機能回復期と欠落症状の有無について

(1) 片側卵巢・子宮摘除術の後、短期間にみられる血清 PGH の変動

術前に規則正しい排卵周期を示していた24歳より46歳までの片側卵巢・子宮摘除婦人6名について、術前および術後30日間の血清 PGH 測定を施行して、一侧卵巢欠落による feed back system への影響について検討した。血清 LH 値は術前平均 11.7 ± 3.8 mIU/ml であつたのに対し、術後3日目には 26.0 ± 7.8 mIU/ml と約2.2倍に上昇した。しかし5日以後再び術前値に復元し、その後は術後30日におよぶ安定した推移がみられた(図4)。一方また血清 FSH 値は術前平均値が 5.8 ± 3.3 mIU/ml であるに対し、術後2日目には 10.1 ± 1.6 mIU/ml

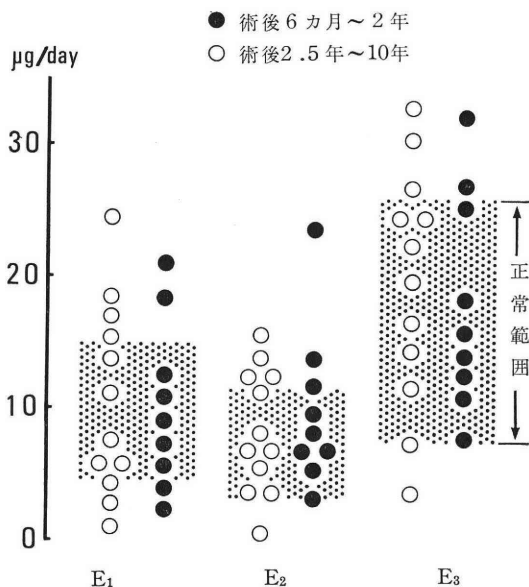


図3 片側卵巢・子宮摘除婦人における尿中 estrogen 値

ml とやや増加がみられたが、有意差はみとめ難かつた。その後は術後30日まで、術前なみの値が継続された(図4)。

(2) 片側卵巣・子宮摘除後の初回排卵

表2 片側卵巣・子宮摘除婦人の尿中 estrogen 値

症例	年齢	術後年数	BBT 2相性	尿中 (Per day)	
				E ₂ (μg) (低温相)	P-diol(mg) (高温相)
	29	1/2	+	9.4	1.3
	37	1/2	+	7.9	2.4
	32	1/2	+	7.4	1.3
	42	1	+	3.5	1.1
	37	1	+	6.9	1.7
	29	2	+	23.4	3.3
	36	2	+	11.0	1.7
	34	2	+	8.2	2.9
	36	2	+	13.8	2.6
	37	3	+	5.2	2.4
	44	3	+	8.2	2.1
	40	4	+	6.7	1.8
	36	5	+	15.3	1.4
	38	5	+	12.5	1.7
	38	7	+	12.0	3.0
	46	9	+	4.0	2.0
	39	9	+	6.3	1.2
	43	10	+	3.4	1.5
	38	10	+	13.8	1.9
	46	10	+	8.0	1.5
	43	10	-	0.5	0.2
Average (S.D.)		(M.N を除く)		9.2 (4.8)	1.9 (0.6)

表3 両側卵巣遺残・子宮摘除婦人の尿中 estrogen 値

症例	年齢	術後年数	BBT 2相性	尿中 (Per day)	
				E ₂ (μg) (低温相)	P-diol(mg) (高温相)
	35	1	+	15.1	2.0
	41	2	+	4.3	2.0
	44	3	+		1.4
	35	4	+		1.3
	31	6	+	4.8	1.1
	43	6	+	10.2	2.5
	36	9	+	6.3	2.1
	42	9	+		1.4
	36	9	+	4.6	1.5
	37	9	+	9.2	1.8
Average (S.D.)				7.8 (3.7)	1.7 (0.4)

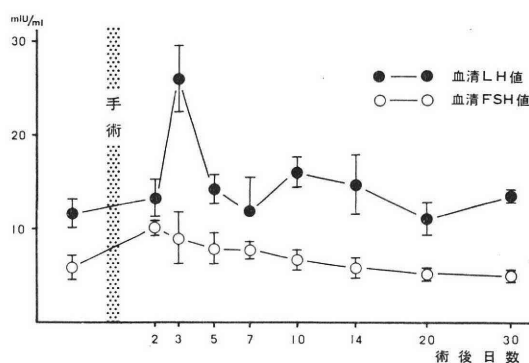


図4 片側卵巣・子宮摘除後の血清 gonadotrophin の変動

手術後の遺残卵巣の機能的回復までの期間を推測する目的で、一つの目標として、BBT による初回排卵惹起までの期間を調査した。その結果31歳より46歳までの片側卵巣・子宮摘除婦人21名において、分散が広がったが、平均値は43.9±14.6日であつた(表4)。

これに対して29歳より45歳までの両側卵巣遺残・子宮摘除婦人21名は主に腔式子宮全摘術によるもので、侵襲も軽度かつ一様であるためか、算定値の分散がきわめて小さく平均が28.7±6.6日であつた。しかし個人差の大きな両群間には本質的の差を認め難く、遺残卵巣の数よりもむしろ術式による侵襲差が排卵時期の遅速を大きく左右しているかにみえた(表4)。

しかし一方、これら排卵惹起の遅速とは別に、一旦排卵機能が復元した後の排卵は連続して順調な継続がみられることが BBT から注目されたが、代表的数例を術後経年的に図5に示した。

(3) 片側卵巣・子宮摘除婦人と卵巣機能欠落症状

子宮摘除後とくに片側卵巣遺残婦人について、卵巣機能欠落の有無を臨床的に知るため、不定愁訴の存否について調査した。このため一般に頻用されている Kupperman 指数と最も頻発する愁訴とされる“hot flashes”の発現頻度に関して調査し、間接的に保存卵巣の機能を窺った。

32歳より46歳までの術後半年から約13年(平均3年1カ月)におよぶ片側卵巣・子宮摘除婦人、23名について Kupperman 指数の調査を行った。しかしいずれも、“異常なし”とする指数15以下の範疇にとどまり、最も高いもので8ときわめて低く、平均は1.9±2.0であつた。また hot flashes も発現頻度は僅かに4.4%であつた(表5)。一方また28歳より46歳までの、術後2カ月より約13年(平均2年5カ月)経過した両側卵巣遺残・子宮摘除婦人52名においても同様であつて、Kupperman 指数は全例0から7までの低値であつた。またその平均

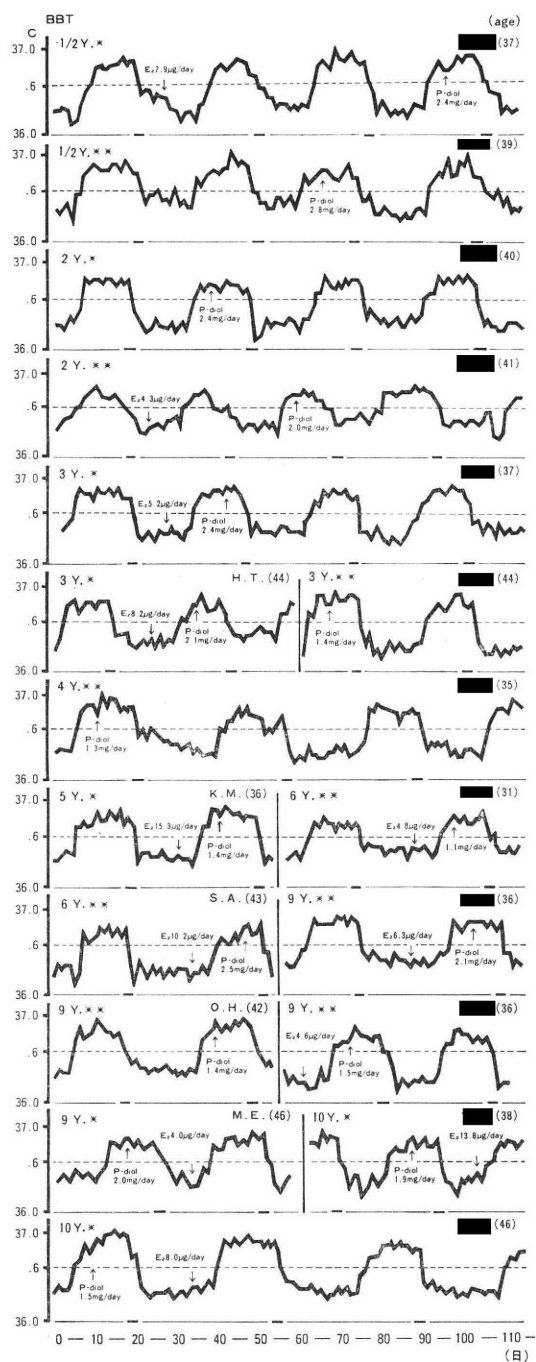
表 4 子宮摘除による術後初回排卵への影響
(片側卵巢・子宮摘除群)

症 例	年 齢	術 式	手術より 排卵まで
[Redacted]	31	広汎性子宮全摘	24(日)
	31	"	40
	33	"	23
	33	"	52
	34	"	49
	35	"	42
	35	"	18
	37	"	57
	39	"	45
	39	"	55
	40	"	38
	40	"	42
	40	"	50
	41	"	52
	41	"	63
	41	"	63
	43	"	53
	43	"	64
	44	"	29
	46	"	13
	46	"	50

術後排卵平均日数 43.9 ± 14.6 (S D)

(両側卵巢遺残・子宮摘除群)

[Redacted]	29	腔式子宮全摘	28(日)
	33	"	13
	34	"	17
	35	"	19
	35	"	24
	35	"	31
	36	"	26
	38	"	42
	39	"	22
	40	"	23
	40	"	39
	41	"	35
	42	"	28
	42	"	30
	43	"	30
	43	"	40
	44	"	36
	44	"	31
	45	"	27
	36	腹式子宮全摘	26
	39	"	26

術後排卵平均日数 28.7 ± 6.6 (S D)図 5 片側卵巢・子宮摘除および子宮摘除後の基礎
体温で比較のきれいなものを代表的にあげた

* は片側卵巢・子宮摘除群を

** は両側卵巢遺残・子宮摘除群を示す

も 1.8 ± 1.7 ときわめて低く、hot flashes も頻度は僅かに1.9%であつた(表5).

考 案

卵巣はその主たる産生ホルモンである estrogen を介して、婦人の性ホルモン上の動的平衡を維持しているため、その機能の低下は生体に大きな歪をあたえ、種々の精神、身体的変化をもたらすことは周知の如くである。

しかし婦人科の手術療法として屢々行われる片側卵巢摘除後に、残された一個の遺残卵巢の機能とその寿命、あるいは卵巢血流の供給路のひとつである子宮動脈をふくめての子宮摘除が及ぼす卵巢機能への直接的影響等については、その臨床的意義の重大さにもかかわらず、なお全く未知の問題として残されてきた。

これまで文献にみられる片側卵巣・子宮摘除婦人の保存片側卵巣の機能は、臨床症状というかなり漠然とした立場からの推測が主であつた。すなわち Sessums and

Murphy (1932) はその hot flashes 発現頻度を調査し、54名中実に28名 (51.8%) にこれを認めたといひ¹⁾、また Richards (1951) も手術時年齢が45歳までの婦人で術後2年以内の調査で66名中34名 (51.5%) に hot flashes の発現を認めたと述べており²⁾、ともに1個の遺残卵巣の機能的低下を強く示唆している。またわが邦でも杉山 (1965) は Kupperman 指数を用い、片側卵巣・子宮摘除例12名中、術後1カ月目に2名が卵巣欠落症状を呈したと述べ³⁾、さらに橋口ら (1965) も両側卵巣遺残・子宮摘除例43名で術後8.2%に、また片側卵巣・子宮摘除例 (28名) で9.1%に欠落症状を認めている⁴⁾。

しかしこれらの調査と相反し、Bancroft-Livingston (1954) は片側卵巣・子宮摘除術をうけた婦人91名および両側卵巣遺残・子宮摘除婦人119名の腔塗抹細胞診から、両者とも卵巣機能の不全や欠落症状の早期発現が認め難く、卵巣機能は術後かなりの期間維持されるものとみている⁵⁾.

表 5 片側卵巣・子宮摘除婦人における不定愁訴の調査

片側卵巣・子宮摘除群					両側卵巣遺残・子宮摘除群									
症 例	年齢	術後期間 年・月	K- 指数	紅潮	症 例	年齢	術後期間 年・月	K- 指数	紅潮	症 例	年齢	術後期間 年・月	K- 指数	紅潮
	32	1・6	1	—		28	・8	1	—		42	・9	1	—
	33	1・5	2	—		30	・7	4	—		42	・11	1	—
	35	1・2	3	—		34	・2	0	—		42	1・3	1	—
	36	5・4	1	—		35	2・0	2	—		42	1・6	0	—
	37	・7	1	—		36	・10	2	—		42	1・11	0	—
	38	1・5	3	—		36	1・6	1	—		42	2・1	0	—
	38	4・1	0	—		36	2・7	0	—		42	3・0	1	—
	39	1・8	1	—		37	1・0	0	—		42	3・4	0	—
	39	1・10	0	—		37	1・4	1	—		43	1・0	4	—
	39	2・1	0	—		37	1・8	2	—		43	1・2	2	—
	39	2・11	8	+		37	1・11	1	—		43	2・5	0	—
	39	4・11	0	—		37	2・3	3	—		44	1・4	5	—
	40	1・1	5	—		38	1・10	1	—		44	1・10	2	—
	40	7・10	1	—		38	3・4	0	—		44	2・5	2	—
	41	・6	0	—		38	7・3	4	—		44	2・5	1	—
	41	5・8	6	—		39	1・1	0	—		44	3・3	1	—
	42	2・9	3	—		39	2・1	0	—		45	・9	3	—
	42	12・8	1	—		39	2・1	0	—		45	1・4	1	—
43	1・4	2	—	39	12・5	3	—	45	1・5	1	—			
43	3・1	2	—	40	1・3	2	—	45	2・8	4	—			
44	1・1	1	—	40	2・4	1	—	46	1・2	5	—			
45	4・5	0	—	40	2・11	2	—	46	1・4	2	—			
46	1・7	3	—	40	11・10	7	+	46	1・11	2	—			
Average (SD)		3年1ヵ月 (2年9ヵ月)	1.9 (2.0)	4.4 %	41	1・4	6	—	46	2・4	1	—		
					41	12・3	1	—	46	3・6	5	—		
					42	・3	2	—	Average (SD)		2年5ヵ月 (2年8ヵ月)	1.8 (1.7)	1.9 %	
					42	・8	2	—						

著者は、片側卵巣・子宮摘除婦人と両側卵巣遺残・子宮摘除婦人75名の不定愁訴の有無を Kupperman 指数にてらしつつ、また文献と比較するため hot flashes の発現率について調査したが、上記の文献資料の術後年数や年齢に大きな差がないにもかかわらず、前述の如く Kupperman 指数も hot flashes の発現頻度もきわめて低く、Sessums and Murphy(1932)が報告している40歳以下の成熟年齢健常婦人での hot flashes 発現頻度5.6%という数値にてらしても、これら遺残卵巣婦人がいかに障害が少いか判る。したがってかなり主観的な色彩の濃い臨床的判定ではあるが、遺残卵巣は1個にせよ、2個にせよ、健常婦人と同様、長期にわたって精神、身体的な平衡維持をなしうる機能のあることが推測された。

次にまたこの種の問題に関する内分泌学的調査についての報告も少い。尿中ステロイドの測定では Brown ら(1969)の少数の片側卵巣・子宮摘除および両側卵巣遺残・子宮摘除婦人を対象とした調査があり⁹⁾、尿中 estrogen および pregnanediol を測定しているが、術後60%の婦人に内分泌異常が推定されたという。しかしこの資料にはすでに50歳を越えた婦人も含まれ、かなり粗い調査で信頼性は高いとはいえない。著者が行つた尿中 estrogen の測定は Brown-神戸川法(1961)⁷⁾であるが、神戸川(1967)による卵胞期での $[E_1: 2 \sim 20 \mu\text{g/day}, E_2: 0 \sim 10 \mu\text{g/day}, E_3: 2 \sim 30 \mu\text{g/day}]$ といった成績は⁸⁾著者の本研究で基準とした成熟健常年齢婦人卵胞期での尿中 estrogen 値とよく一致している。同時にまた片側卵巣・子宮摘除婦人および両側卵巣遺残・子宮摘除婦人においても、すでに閉経したと思われる1例を除き、他の全例はこの成熟健常婦人の基準値帯にあることが立証された。

なお上記の例外の1例は術後10年を経た43歳の婦人で、手術時の卵巣所見はないが、一般婦人でも閉経年齢が42歳以下の婦人が特に稀ではない。実際に教室での和歌山市周辺の3,025名の閉経婦人の調査でも²³⁾42歳以前の婦人が7.8%をも占めているし、また一戸ら(1957)の報告⁹⁾でも約10%、また森ら(1976)の報告¹⁰⁾からも5.9%が算定される。これ点を考慮すると、この婦人が自然に閉経に達したという可能性もありうる。いずれにせよこの例外を除けば、子宮摘除婦人は、術後10年を経過した婦人をもふくめ、その遺残卵巣が片側にせよ両側にせよ、成熟健常婦人なみに estrogen 分泌能が保持され続けることが充分推測される。

なお一個の遺残卵巣についての動物実験による観察はきわめて古く、Arai(1920)がはじめてラットについて観察記録¹¹⁾して以来、多くの研究者の報告がある。また Brinkley ら(1969)も豚でこの問題を検討している

が¹²⁾、これらの教えるところでは保存片側卵巣にみられる発育卵胞および成熟卵胞の数は正常卵巣2個分に相当し、かつ片側遺残卵巣は代償的に著しく肥大するということである。一方ヒトの保存卵巣については未だ形態観察の報告はないが、保存卵巣は動物実験同様に発育卵胞数が増加することにより2個の卵巣分の estrogen を分泌する可能性は想像に難くはない。しかし Mikhail(1969)がヒト両側卵巣静脈中の estrogen を測定して、卵巣を有する側の E_2 値は対側の E_2 値 ($0.36 \mu\text{g/dl}$) に比べて4倍以上 ($1.76 \mu\text{g/dl}$) も高い値を認める事実注目している¹³⁾如く、左右の卵巣機能には著しい相違がありうることを示唆される。しかもこのように排卵を担う1卵巣から1個体の血中 estrogen の大半が産生されている事実を考えると、ヒトにおいては1個の卵巣が2個分の機能を果たすのにとくに卵巣肥大を要することはなく、正常大のまま片側遺残卵巣は充分2個分の働きをなしうることが考えられよう。

次に尿中 pregnanediol 値であるが、これによつて排卵を推定するためには一定以上の量が必要とされている。測定方法で量的差はあるが、本研究での gas-liquid chromatography 法を用い Rivera and Forchielli(1967)は黄体期での値が1 mg/day 以上であれば、ほぼ確実に排卵を認めると述べている¹⁴⁾。本研究での片側卵巣・子宮摘除婦人では既述の閉経年齢と思われた1例を除き、いずれも BBT での黄体期に当り1 mg/day 以上の値を認めえた。これらは少なくとも全例連続3周期以上の二相性を確認しえたもので、1個の卵巣が連続排卵能のあることを示すものでもあつた。同様にまた両側卵巣遺残・子宮摘除婦人でも全例1 mg/day 以上の尿中 pregnanediol 値を認め、BBT でも連続排卵のあることが確認された。かくて遺残卵巣は子宮の存否にかかわらず、さらに遺残卵巣はたとえ1個でも、長期にわたり健常婦人と同程度に連続排卵や黄体形成を行うことが推測された。

次にまた、卵巣機能を知るため、卵巣性ステロイド産生低下による positive feed back 機構を介しての血清 PGH 上昇の鋭敏な反応を利用して、間接的に卵巣機能状態を推測したが、このための基準となるべき健常成熟年齢婦人の血清 LH 値、FSH 値については、すでに Saxena(1968)¹⁵⁾青野(1972)¹⁶⁾により詳細に検討されている。著者が本研究において測定した一般成熟健常婦人値もほぼこれらとよく一致していた。この基準にてらしてみれば片側卵巣・子宮摘除婦人は、ほぼ成熟健常婦人と何ら変らぬ値を示していたし、また同時に子宮を摘除し、両側卵巣を遺残した婦人においても同様の成績がえられた。したがって本研究は卵巣への給血路のひとつでもある子宮動脈を含む子宮を摘除しても、術後10年の長期に

わたつて卵巣機能に全く障害を与えていないことが立証された。

一方また術後短期日における片側卵巣摘除の上位中枢 feed back 機構への影響については、古くから動物実験による少なからぬ検索がなされてきたが、最近 Benson (1969) はラットの片側卵巣摘除後 3 日目より 12 日まで血中 FSH が有意に増加し、12 日目にして卵巣肥大が最大になるのをみ¹⁷⁾、また Ojeda (1972) は幼若マウスを用い、片側卵巣摘除後 5 日目に血中 LH の増加とそのあとの減少、術後 15 日目に血中 FSH の増加すること¹⁸⁾を伝えている。一方ヒトに関しても河村ら (1972) 術前値が片側卵巣・子宮摘除婦人で、術後 2 日目に血清 LH が約 1.5 倍に増加し、血清 FSH も術後 2 日目に術前値の 1.2 倍に増加するが、その後は直ちに術前値に復帰し、一側卵巣を摘除してもヒトでは PGH 分泌が変動しないことを報告している¹⁹⁾。本研究でも片側卵巣・子宮摘除後に血清 LH は術後 3 日目に有意の増加が、また血清 FSH は術後 2 日目に多少の増加がみられたが、両者ともその直後、術前値に復元するのが観察された。このようにヒトでは片側卵巣摘除後ごく短期日に PGH 分泌の上昇はあつても、動物実験と異なり、まもなく PGH 分泌上昇は消失することがわかつた。しかしヒトの場合は手術前後の複雑な処置が加わっているため、動物の成績とは直ちに比較しえないし、手術による stress が PGH 分泌を増加する可能性を指摘する研究者もあつて、この術後短期間におこる反応の理解は簡単ではない。Sohval ら (1952) は術後の尿中 gonadotrophin を調べ、18 例中 8 例において術後 4 日以内に排泄増加をみとめるとともに、stress が起因していると述べているが²⁰⁾、この術後一過性にみられる PGH の上昇は果して stress によるものか、一側卵巣の欠落反応かは向後さらに検討を要する問題である。なお本研究で追跡された 6 例は、術後 30 日目に何れも BBT から排卵期を捉ええなかつたもので、急激な LH 値の変動はなかつた。

次に術後遺残卵巣の排卵機能の回復までの時期については、両側卵巣・子宮摘除婦人に関し Doyle (1971) が血中 progesterone の経日測定を行い、5 名の婦人で術後 24 日より 44 日に排卵を認めており²¹⁾、河村ら (1972) もまた 5 名において術後 42 日頃に自然排卵を BBT 上で認めている¹⁹⁾。著者も両側卵巣遺残・子宮摘除群について BBT を基に初回排卵の時期を求めたが、平均して約 29 日が算定された。これに対して片側卵巣・子宮摘除婦人では排卵は平均 44 日を要し、かなりの遅れが目立つた。しかしこの後者の群でも、早期回復例がしばしば認められることもあり、おそらく初回排卵までの遅れは遺残卵巣の個数に関係したのではなく、広汎性子宮全摘

とか腔式子宮全摘といった手術侵襲差や術後処置の影響によるものと考えられる。したがって初回排卵の到来は、個体における既存の内分泌の場は勿論であるが、それぞれの手術付加条件に左右されるものと思われ、およそその傾向としてしか捉えられなかつた。また初回排卵後は一般健康婦人と同程度の連続した二相性 BBT が続き、有力な血流供給源のひとつでもある子宮動脈の欠如にもかかわらず、子宮摘除は卵巣機能の復帰ならびにその後の機能に本質的な影響を及ぼさないことが短期、長期の追跡から明らかとされた。

最後に遺残卵巣の寿命についてであるが、一個の卵巣の場合、連続排卵による 2 倍の過剰排卵で、卵巣老化の早発や過剰黄体堆積による影響がその寿命を短縮しないかという懸念がある。しかしこの点に関して著者の教室には、すでに片側卵巣のみを摘除され、一側卵巣と子宮が保存された婦人の、術後の妊娠率調査成績があり、成川ら (1972)²²⁾、一戸ら (1974)²³⁾によると手術をうけた 35 歳以前の婦人では、その 5 年間の妊娠率は 83%、ことに 30 歳以前では 92%、と一般既婚婦人となんら変らぬ高い妊娠率のみられることが統計的に指摘されている。しかも過剰排卵を強いられている片側卵巣にもかかわらず、それらの婦人の閉経齢は同じ調査地域における一般対照婦人 3,000 名の閉経齢分布と、全く変らぬ点が明らかとされている。かかる事実にてらすと、片側卵巣・子宮摘除婦人も理論的には遺残卵巣機能が一般婦人の閉経齢までその寿命を維持しうるであろうことが充分推考されうるものである。

結 語

片側卵巣と子宮摘除成熟齢婦人の一個の保存卵巣の機能や寿命について、子宮のみを摘除された成熟齢婦人ならびに一般成熟齢健康婦人の卵巣機能と臨床的ならびに内分泌学的に比較検討した。

その結果子宮の有無、遺残卵巣が 1 個か両側かに関係なく、術後長期間にわたつて、1) 成熟齢中は尿中 estrogen 値や BBT 高温相での pregnanediol 値、さらにまた血中 LH, FSH 値は、対照健康婦人のそれと全く変らぬことを認めた。2) また片側卵巣遺残・子宮摘除婦人の術後における排卵周期の乱れや、卵巣機能欠落症状について臨床的調査を行つたが、積極的にとりあげられる障害は全くみられないことを知つた。したがって片側遺残卵巣は、子宮摘除後遺残された両側卵巣や一般成熟齢健康婦人の卵巣に比べ、なんら変らぬ内分泌を長期間にわたつて維持しつづけ、充分に 2 個分の役割を果していることが立証された。

(稿を終るに臨み、本研究に際して終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜わった恩師一戸喜兵衛教授に深甚なる謝意を捧げると共に、研究に御協力をいただいた馬淵義也講師、横田栄夫講師、成川守彦博士、岡田雄一助手ならびに教室員各位に衷心より感謝する。)

参考文献

- 1) Sessums, J. V. and Murphy, D. P.: Hysterectomy and the artificial menopause, Surg. Gynec. Obstet., 55 : 286, 1932.
- 2) Richards, N. A.: The surgical menopause following hysterectomy, A study of 332 cases, Proc. Roy. Soc. Med., 44 : 496, 1951.
- 3) 杉山心一：子宮筋腫手術患者における子宮摘除後の smear index の変動，日産婦関東連合地方部会報，2 : 63, 1965.
- 4) 橋口精範，鈴木福子，田中寿一，高間高：子宮摘除後の卵巣機能について，日産婦関東連合地方部会報，2 : 63, 1965.
- 5) Bancroft-Livingston, G.: Ovarian survival following hysterectomy, J. Obstet. Gynec. Brit. Emp., 61 : 628, 1954.
- 6) Beavis, E. L. G., Brown, J. B. and Smith, M. A.: Ovarian function after hysterectomy with conservation of the ovaries in premenopausal women, J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlt., 76 : 969, 1969.
- 7) 神戸川明：尿中 estrogen の化学的測定に関する基礎的研究，日本内分泌誌，37 : 807, 1961.
- 8) 神戸川明：性腺ホルモン測定法，綜合臨床，16 : 935, 1967.
- 9) 菊地文男，門間忠夫，田畑時雄，木脇祐晋，鈴木信，一戸喜兵衛：婦人における閉経年齢，初潮年齢，分娩回数との相互関係について，北産婦誌，8 : 1, 1957.
- 10) 森一郎，荒武実江子：初潮・閉経年と有経期間の年次推移，Sexual Medicine, 3 : 28, 1976.
- 11) Arai, H.: On the cause of the hypertrophy of the surviving ovary after semispaying (albino rat) and on the number of ova in it, Am. J. Anat., 28 : 59, 1920.
- 12) Brinkley, H. J. and Young, E. P.: Effect of unilateral ovariectomy on the unilateral destruction of ovarian components on the follicles and corpus lutea of the nonpregnant pig, Endocrinology, 84 : 1250, 1969.
- 13) Mikhail, G.: Sex steroid in blood, Clin. Obstet. Gynec., 10 : 29, 1967.
- 14) Rivera, R. and Forchielli, E.: A modified method for the analysis of urinary 17 keto-steroids, pregnanediol and pregnanetriol by gas-liquid chromatography in normal subjects and subjects with various endocrine disorders, Acta. Endocr., 54 : 37, 1967.
- 15) Saxena, B. B., Demura, H., Gandy, H. M. and Peterson, R. E.: Radioimmunoassay of human follicle stimulating and luteinizing hormones in plasma, J. Clin. Endocr., 28 : 519, 1968.
- 16) 青野敏博，南川淳之祐，河村憲一，谷沢修，倉智敬一：ヒト下垂体 FSH および LH の radio-immunoassay による測定，日産婦誌，24 : 821, 1972.
- 17) Benson, B., Sorrentino, S. and Evans, J. S.: Increase in serum FSH following unilateral ovariectomy in the rat, Endocrinology, 84 : 369, 1969.
- 18) Ojeda, S. R. and Ramirez, V. D.: Plasma level of LH and FSH in maturing rats: Response to hemigonadectomy, Endocrinology, 90 : 466, 1972.
- 19) 河村憲一，南川淳之祐，青野敏博，深田信之，谷沢修，倉智敬一：卵巣および子宮摘除術前後の婦人血清中 LH, FSH 値の Radioimmunoassay による検討，日産婦誌，24 : 1027, 1972.
- 20) Shoval, A. R., Weiner, I. and Soffer, L. J.: The effect of surgical procedures on urinary gonadotropin excretion, J. Clin. Endocr., 12 : 1053, 1952.
- 21) Doyle, L. L., Barclay, D. L., Duncan, G. W. and Kirton, K. T.: Human luteal function following hysterectomy as assessed by plasma progesterone, Am. J. Obstet., Gynec., 110 : 92, 1971.
- 22) 成川守彦，勝信昭，岡田雄一，中山崇，一戸喜兵衛：一側卵巣，またはこれと子宮摘除のおよぼす婦人の内分泌状態，日産婦誌，25 : 1168, 1973.
- 23) Ichinoe, K., Okada, Y., Mabuchi, Y. and Narikawa, M.: On the aging relation between menarche and menopause-factors influencing menopause, VIII W. C. on Fertility & Sterility, (Abstracts No : 218), Buenos Aires, 1974.

An endocrinological study of the ovary following unilateral ovariectomy and hysterectomy

Toshiaki Akayama

Department of Obstetrics and Gynecology
Wakayama Medical College
(Director : Prof. K. Ichinoe)

A clincoendocrinological study was made on mature women subjected to unilateral ovariectomy with hysterectomy as to the residual ovarian function over ten years after operation. The results obtained were as follows :

- (1) When the ovary was preserved unilate-

rally or bilaterally following hysterectomy, despite a partial disruption of blood supply to the ovary, the level of serum LH, FSH and urinary estrogen of those women in reproductive age was within the range of those of normal controls.

(2) Daily postoperative observations for about one month showed that 2 to 3 days after operation an increase in serum LH, and FSH occurred, reverting, however, to the preoperative level by the 5th postoperative day. The first ovulatory period on BBT which indicates a recovery of postoperative ovarian function occurred about 29-44 days after operation. Principally, this period seemed to be depend upon the degree of surgical intervention, rather than on the number of residual ovaries.

On long term observation after the first postoperative ovulation, BBT was confirmed to reveal

serial biphasic as was the case with normal controls. Urinary pregnanediol level in the high phase of BBT indicates corpus luteum formation.

(3) The question of whether or not ovarian function decreased following hysterectomy was studied in 28 to 46-year old 75 women who had passed from two months to 13 years postoperatively, based on Kupperman's index and frequency of hot flashes development. As a result, few symptomatic manifestations were found suggesting no decreased function in residual ovary.

The present results strongly suggest that irrespective of hysterectomy, women with a preserved single ovary might maintain an endocrinological condition and keep a reproductive life span as in normal women with bilateral ovaries.

Cu-IUD 装着家兎卵子の卵管内通過性および 着床についての検討

Investigation on the Transport, Cleavage and Implantation of Ova in
the Rabbit with Cu-IUD

東北大学医学部産科婦人科学教室（主任：鈴木雅洲教授）

水 上 端 高 橋 克 美 中 川 公 夫

Tadashi MIZUKAMI Katsuyuki TAKAHASHI Kimio NAKAGAWA

渡 辺 正 昭 鈴 木 雅 洲

Masaaki WATANABE Masakuni SUZUKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University

School of Medicine

われわれは Cu-IUD と plastic-IUD 装着家兎を用いて、卵子の生殖器道下降速度および分割進行度を調べ、これらに IUD の影響があるか否かについて比較検討した。実験には IUD 装着後 10 日目の家兎を使用した。コントロールには自然発情時に交配のみをおこなった無処置家兎を用いた。各群とも交配後 24 時間、48 時間、72 時間、7 日目に一群 5 羽の家兎を屠殺し、排卵数を確認後生殖器を摘出し卵の回収をおこない、着床数を調べた。各群とも排卵数に有意差は認められなく、卵管分節内の卵分布でも下降遅延ないし促進も認められなかった。各 IUD 装着群で发育中止卵ないし分割遅延卵が認められたが、IUD の影響によるものか否かについては検討中である。Cu-IUD 群の着床率は 0%，plastic-IUD 群では 12.5% と両群の間では明らかな有意差を示した。

I. はじめに

1968 年、Zipper ら¹⁾ は家兎の子宮に装着した Cu-IUD が着床を阻止することを報告し、その後 Chang ら²⁾ のラットやハムスターを用いた基礎的実験によりその有用性が確認された。他方 plastic-IUD の研究では、1964 年 Mastroianni³⁾ がおこなった猿の卵管運動亢進説が有名である。この実験によると IUD は受精卵の卵管内通過を促進させ、受精卵が完全に分割しないうちに子宮に到達する為、着床障害を起こすと述べている。

今回、我々は Cu-IUD 装着家兎を用いて、卵子の卵管内通過速度、分割進行程度および着床の状態を調べ、これらに Cu-IUD の影響があるか否かについて plastic-IUD と比較検討したので報告する。

II. 実験材料および方法

A. 実験材料

1. 実験動物

体重 2.5~3.0kg の日本白色種非妊娠雌家兎を用いた。交配には同種の成雄家兎を用い、管理はすべて一頭ずつラビットケージに収容しておこなった。

2. IUD

使用した IUD は、Searle Laboratories 社製家兎用 plastic-IUD と Cu-IUD で、これを図 1、2 に示した。plastic-IUD は硫酸バリウム塩 1：ポリプロピレン 9 の混合材質で、全長 18mm、直径 2 mm の円筒形でその全長の $\frac{2}{3}$ は半径部分をけずり取つてある。又、Cu-IUD は材質構造は plastic-IUD と同じであるが、けずり取つた半径部分に全長 300mm、直径 0.2mm、重量 90mg、表面積 200mm² の純銅線を巻きつけてあり、どの IUD も滅菌され、真空密封した状態で保管されている。

B. 実験方法

1. IUD 装着方法

家兎を静脈麻酔（チオパール）下で開腹し、子宮を露出、双角子宮の一側卵管接合部より 5 mm 下の子宮角に

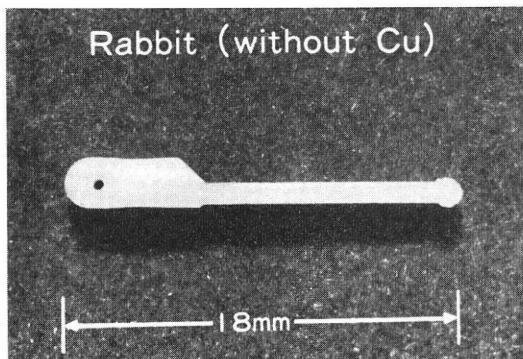


図 1

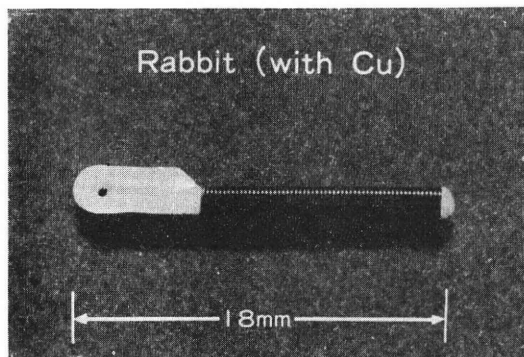


図 2

メスで約1mm 切開し、各 IUD を挿入した。各 IUD の一端にはあらかじめ日本工業規格外科用縫合糸軟質02号を結びつけておき、子宮切開口は同規格の糸で一針縫合し、その糸と上記の糸を結びあわせ、IUD を固定後腹部を閉じた。

2. Sham operation

各 IUD 挿入の他側子宮の同部位にメスで約1mm 切開し、各 IUD 挿入後ただちに IUD を除去し、そのまま縫合糸で縫合した。

3. 卵子の回収

交尾の時点から計算して24時間、48時間、72時間、7日目に各群5羽ずつを屠殺し開腹をおこなった。まず卵巣表面の排卵点、出血点を数え、それに見合う卵の回収に努めた。排卵数の算定は卵巣の排卵点（初期は出血点、長時間経過した場合は新黄体）の肉眼で観察をおこなった。子宮、卵管を摘出し周囲に固着する間膜及び脂肪を除去し頸管部で従裂の後、左右に分けそれぞれ子宮角尖端部の卵管子宮口において卵管と子宮を分離し、各卵管の全長を測定後卵管は4等分、子宮は2等分し、卵子の採取は卵管の場合生理的食塩水1回0.5cc で各卵管分節内を洗滌し、子宮の場合1回約5～10cc の生理的食塩水で洗滌し、いずれも時計皿に集めた。この操作は

数回くりかえしておこない、採取卵子はただちに実体拡大鏡下で鏡検し、卵子数を算定して各分節内で発見された卵の総数をもつてその分節の卵を表わした。さらに位相差顕微鏡で分割程度を観察した。

4. 避妊効果

着床に及ぼす影響を検討することにより避妊効果を調べた。着床については子宮を肉眼的に観察し、子宮漿膜面に一定の間隔をもつて球状となり内容が透けて見られるものの数を着床数としてかぞえた。

III. 実験成績

1. 排卵数についての検討

各実験群の排卵数を表1に示した。即ち、Control 群 9.6 ± 1.2 個、plastic-IUD 群 9.8 ± 2.4 個、Cu-IUD 群 9.0 ± 1.5 個であり各群の間には有意差はなかった。

表 1 各実験区の排卵数

実験区	例数	排卵総数	範囲	平均
Control	5	193	6～14	9.6 ± 1.2
PI-IUD	5	197	5～14	9.8 ± 2.4
Cu-IUD	5	181	7～12	9.0 ± 1.5

2. 経時的卵管内卵分布

各実験群の生殖器につき卵の分布状態を比較すると、交尾後24時間では図3に示す如く、各群とも卵管3分節に、Control では85%，plastic-IUD では61%，Cu-IUD では75%，卵が検出された。又、48時間では図4の如く Control では卵管4分節に55%，plastic-IUD 群では3分節に56%，Cu-IUD 群では3分節に70%，72時間では図5に示した通り各群とも卵管4分節に Control では90%，plastic-IUD 群では83%，Cu-IUD 群では77%の卵の分布が認められた。

3. 経時的卵子採取部位

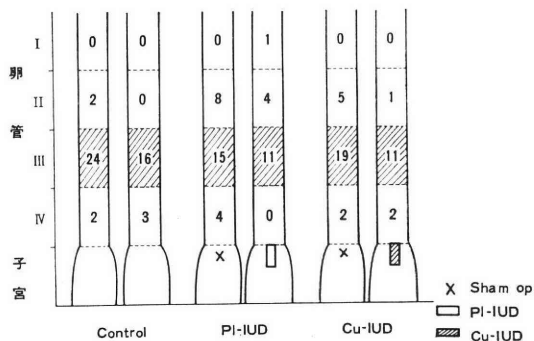


図 3 交尾後24時間の卵分布

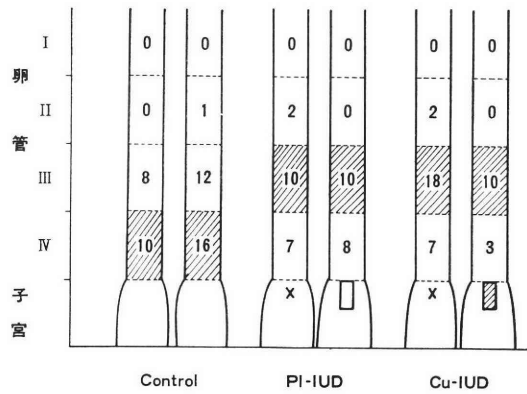


図 4 交尾後48時間の卵分布

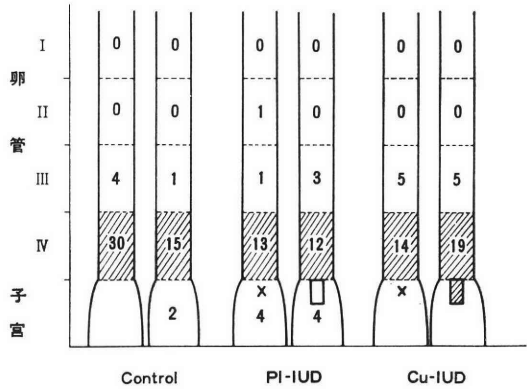


図 5 交尾後72時間の卵分布

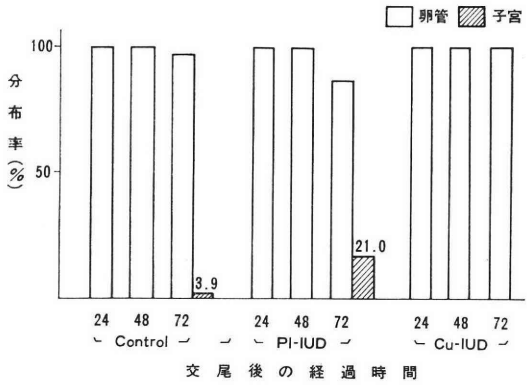


図 6 卵子の採取部位

図 6 に示した如く各実験群とも卵子は48時間まではすべて卵管内より検出された。

しかし72時間では Control 群では3.9%, plastic-IUD 群では21%が子宮内より検出されたが、Cu-IUD では子宮内より卵子の検出は認められなかった。

4. 経時的採卵率

交尾後24時間、48時間、72時間における卵巣所見より

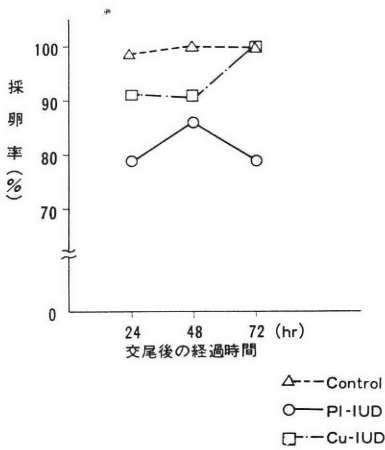


図 7 排卵率の経時的变化

表 2 経時的採卵率の変化及び採卵部位

実験区	交尾後の時間	例数	排卵数	採卵数	採卵率	採卵部位	
						卵管	子宮
Control	24hr	5	48	47	97.9%	47	
	48	5	46	47	100	47	
	72	5	51	52	100	50	2
PI-IUD	24	5	54	43	79.6	43	
	48	5	43	37	86.0	37	
	72	5	48	38	79.2	30	8
Cu-IUD	24	5	44	40	91	40	
	48	5	44	40	90.9	40	
	72	5	43	43	100	43	

検索した採卵率の成績を図 7 に示した。即ち、24時間後で control では約100%, plastic-IUD は約80%, Cu-IUD は90%であつた。時間の経過と共に若干の変動は認められたが、IUD の影響とみられる特異的な変化は認められなかつた。表 2 に具体的数値を示した。

5. 経時的卵分割速度

表 3 の如く各実験群とも交尾後24時間では2分割卵が最も多く、48時間で8分割卵、72時間では Morula が大部分を示した (図 8, 9, 10)。しかし各 IUD 装着群で (Sham operation 側も含めて) 发育中止卵ないし分割遅延卵 (24~72時間の未分割卵、48時間の2及び4分割卵、72時間の4分割卵) が観察され、変性卵も若干 (2.7%) 認められた (図11~18)。

6. 交尾後7日目の着床数

表 4 に示す如く Cu-IUD 装着群での着床率は0%, plastic-IUD 装着群の着床率は12.5%と有意差を示したが、sham operation 側では Control と有意差がなかつた (図19~21)。

表 3 卵子の分割速度

実験区	交尾後の時間	Cell stage						
		1	2	4	8~	M	B	変性
Control	24hr		46 (97.9)	1 (2.1)				
	48				33 (70.2)	14 (29.8)		
	72					52 (100)		
PI-IUD	24	8 (18.6)	34 (79.1)					1 (2.3)
	48	3 (8.1)			30 (81.1)	3 (8.1)		1 (2.7)
	72	1 (2.6)			2 (5.3)	34 (89.5)		1 (2.6)
Cu-IUD	24	17 (42.5)	23 (57.5)					
	48	7 (17.5)	1 (2.5)	5 (12.5)	18 (45.0)	7 (17.5)		2 (5.0)
	72	1 (2.3)		1 (2.3)		41 (95.3)		

M: Morula, B: Blastocyst () %

表 4 交尾後 7 日目の着床数

実験区	例数	排卵数	着床数	着床率
Control	右	5	18	100 %
	左		30	96.7
PI-IUD	右(S)	5	32	62.5
	左(PI)		24	12.5
Cu-IUD	右(S)	5	26	50
	左(Cu)		24	0

IV. 考 按

Pincus⁴⁾によると、家兎の自然排卵数は最多で13コ、最小3コ、平均8コであり、今回我々のおこなった実験はその報告と類似していた。Polidoro⁵⁾や Nutting ら⁶⁾も Cu-IUD 装着、非装着とも Corpora lutea 数に有意の差はなく排卵そのものには影響を及ぼさないと報告しており、IUD が排卵抑制に関与しているとは思われない。卵分布では、Greenwald⁷⁾によれば自然交配後12時間で卵は long fingerlike fold と spiralling circular muscle layer に代表される Ampulla 部分、即ち卵管2分節にあり(図22)、卵管筋の収縮と纖毛活動によって急速に Isthmus へと運ばれ、24~48時間で卵は well-developed circular muscle layer と longitudinal muscle に代表される Ampulla-Isthmus ないし Isthmus 部分、即ち卵管3~4分節(図23)に移行すると報告している。我々の成績もその成績と大差なく IUD による卵子の卵管内下降遅延ないし促進は認め難かつた。交尾後72時間での若干数の卵は子宮内で検出された

が、生殖器摘出時 utero-tubal junction 附近の卵が子宮内に溢れ落ちたのではないかと推察される。

卵分割程度は、各 IUD 装着群とも発育中止ないし分割遅延を示す卵も観察されたが、Walton⁸⁾の報告した排卵時間のバラツキ(卵胞破裂はすべてが同時に起こるものではない)によるものか、IUD の影響によるものかは今回の実験からは確認できなかった。

Cu-IUD の卵に関する報告では、Chang ら⁹⁾は Copper 装着ラットやハムスターで妊娠4日目、5日目の Morula と Blastocyst を数え、5日目には Blastocyst の存在が認められなくなることから、Copper が Morula から Blastocyst への発育を阻止するのであらうと結論している。Webb¹⁰⁾も又、ラットを用いた実験にて妊娠4日目の午後から夜にかけて IUD を除去していく時間が遅いほど、胎芽の生存は少なくなり、妊娠5日目の夜になると避妊効果は完全で、着床もしくは胎芽吸収痕さえ観察されなかつたと述べている。また、Copper の避妊作用は子宮内膜に著しい作用が働く前に胎芽が死滅するような embryotoxic environment が存在するからであり、胎芽は子宮腔に到達後すぐ死滅するのではなくて toxins に反応し易くなる時期、即ち Morula から Blastocyst への移行期に死滅するのであらうと報告している。Abraham ら¹⁰⁾は Cu-IUD 装着家兎の妊娠6日目に回収した Blastocysts の lysosomes (membrane-bound vacuoles として観察される)中に rubeanic acid 法にて copper 片を見いだした。この Blastocysts lysosomes への copper 浸入は lysosomal enzymes の放出や、細胞自己融解、さらにその細胞の死滅によって起こる現象であり、妊娠6日目以降、Blastocyst

tocyst は回収できなかつたと述べている。前記の Nutting ら⁶⁾も Cu-IUD 装着家兎について人工受精後、性生殖器の embryos transport と implantation の状態を観察した。その結果人工受精後 120 時間までは採卵、受精、胎芽輸送に Cu-IUD の影響はみられず、120 時間でわずかに胎芽の変性がみられ、144 時間では子宮内に Blastocysts は全くみられなく、192 時間で着床が完全に認められなかつたことから Cu-IUD の避妊効果は late preimplantation 期におこるのであろうと推察している。一方、Brinster ら¹¹⁾はマウスの 2 分割卵を CuCl₂ 含有培養液中で 3 日間培養したところ、albumin 濃度 1 mg/ml, CuCl₂ 濃度 2.5×10^{-5} M 以上で卵の死滅、Zona pellucida の溶解が起こり、銅表面積が増加すればこの作用が速く、protein 濃度が増加すればこの作用が遅くなることを認め、Naeslund¹²⁾もマウスの Blastocyst を濃度 0.1 m mol/l CuCl₂ 含有液で培養したところ、その外観、透明層に影響があらわれたと報告している。実際、子宮内に装着された copper から体組織へ溶出する銅イオンの毒性については、Ferm ら¹³⁾は妊娠 8 日目のハムスターに copper salts 2 種類を装置して、又 copper citrate (chelated form) 4.0 mg/kg と copper sulfate (uncomplexed form) 10.0 mg/kg の静注をしたところ、embryo の吸収と奇形 (小眼症、各種ヘルニア、尾欠損) が増し、特に ectopia cordis は Cu⁺⁺ に特有に現われるようであり、又、妊娠 8 日目の胎盤を radioactive copper は通過することも判明した。他方 Chang ら¹⁴⁾は同様にハムスターで、Blastocyst の着床した後、その子宮内に Cu-IUD を装着させても奇形がおこらなかつたと報告している。Ranney ら¹⁵⁾も猿の子宮に Cu-IUD を 36~43 日間装着させ、子宮及び近接臓器での copper 蓄積量を測定し、子宮内膜に 1.7 μ g/gm (対照群は 1.1 μ g/gm) の copper 蓄積をみているが、血清、肝、腎での蓄積は対照群と有意差がみられなかつたと述べている。さらに Moo-Young ら¹⁶⁾も猿の子宮と腹腔内に Cu-IUD を装着させ、腎に金属 copper の蓄積をみているが、副腎、脳、心臓、肝、肺、卵巣、睪、子宮内膜、子宮筋層への蓄積は組織学的にも異常がみられず、臨床的に重要な問題がないと報告している。これらの報告からみると Cu-IUD の銅イオンによる組織や器官への影響はないものと考えることができる。以上、今回我々のおこなった実験成績でも今迄発表された成績と変わりなく、Cu-IUD も又、卵子の卵管内通過速度及び分割程度、排卵に影響を及ぼすとは思われなかつた。ただ一部に発育中止卵ないし分割遅延卵が認められたが、これらの卵が Cu-IUD の避妊機序を解く鍵となるか、特に銅イオンの影響で変化を受けたもの

かなど検討を加える必要があろう。

なおこの論文の要旨は第 61 回日産婦会東北連合地方部会学術講演において発表した。

本実験は Cu-IUD 研究会の基礎部門担当の一部として行つたものである。

ラビット実験用 plastic-IUD, Cu-IUD を提供された大日本製薬株式会社・マルピーサール株式会社に謝意を表します。

V. 文 献

- 1) Zipper, J. A. Medel, M. & Prager, R.: Amer. J. Obst. & Gynec., 105: 529, 1969.
- 2) Chang, C. C., Tatum, H. J. & Kincl, F. A.: Fertil. & Steril., 21: 274, 1970.
- 3) Mastroianni, L. & Rosseau, C. H.: Amer. J. Obst. & Gynec., 93: 416, 1965.
- 4) Pincus, G.: Proc. Roy. Soc. B., 107: 132, 1930.
- 5) Polidoro, J. P., Black, D. L.: J. Reprod. Fert., 23: 151, 1970.
- 6) Nutting, E. F., Ranney, R. E.: Fertil. & Steril., 26: 838, 1975.
- 7) Greenwald, G. S.: Fertil. & Steril., 12: 80, 1961.
- 8) Walton, A., Hammond, J.: Brit. J. Exp. Biol., 6: 190, 1928.
- 9) Webb, F.: J. Reprod. Fert., 32: 429, 1973.
- 10) Abraham, R., Mankes, R., Fulfs, J., Golberg, L. & Coulston, F.: J. Reprod. Fert., 36: 59, 1974.
- 11) Brinster, R. L., Cross, P. C.: Nature, 234: 398, 1972.
- 12) Naeslund, G.: Contraception, 6: 219, 1972.
- 13) Ferm, V. H., Hanlon, D. P.: Biol. Reprod., 11: 97, 1974.
- 14) Chang, C. C., Tatum, H. J.: Contraception, 7: 413, 1973.
- 15) Ranney, R., Nutting, E., Hackett, P., Rancitelli, L., Daniel, J., Clarke, W. & Wheleale, R.: Fertil. & Steril., 26: 80, 1975.
- 16) Moo-Young, A. J., Tatum, H. J., Brinson, A. O. & Hood, W.: Fertil. & Steril., 24: 848, 1973.

Investigation on the Transport, Cleavage
and Implantation of Ova in the
Rabbit with Cu-IUD

**Tadashi Mizukami, Katsuyuki Takahashi,
Kimio Nakagawa, Masaaki Watanabe
and Masakuni Suzuki**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

Influence on the transport and cleavage of ova

in the rabbit oviduct with copper and plastic-IUD was investigated under condition inserted into the lumen near the uterotubal junction. Nonoperated uteri served as controls.

No alterations on the transport and cleavage were observed, but in the IUD groups, some ova that cleavage was depressed or delayed were observed. The depressive effect on implantation in the rabbits with copper-IUD was demonstrated. Difference on implantation was found between copper and plastic-IUD group.

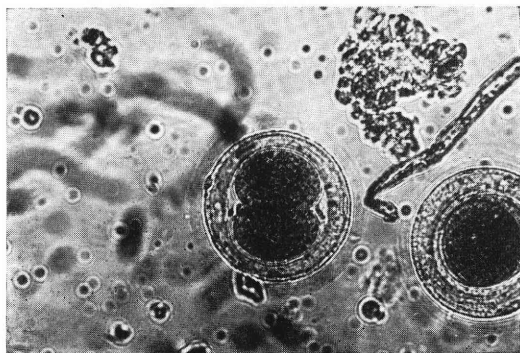


図 8 交尾後24時間の卵管内より採取した正常2分割卵 (×120)

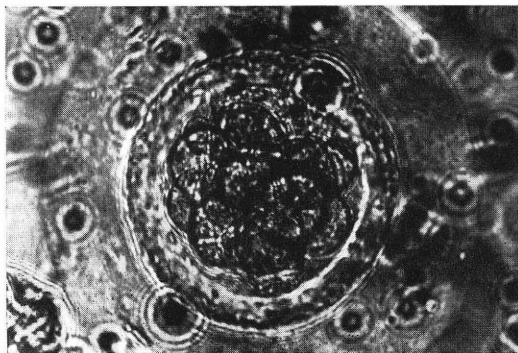


図 9 交尾後48時間の卵管内より採取した正常8～16分割卵 (×240)

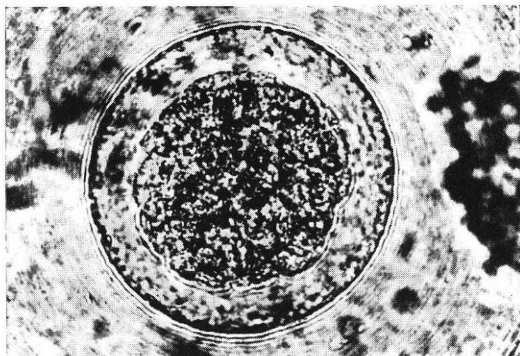


図 10 交尾後72時間の卵管内より採取した正常Morula (×240)

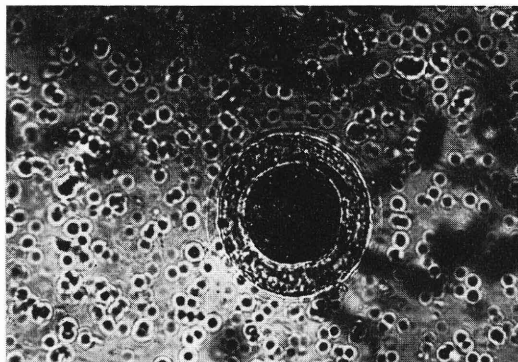


図 11 交尾後24時間の IUD 側卵管内より採取された未分割卵 (×120)

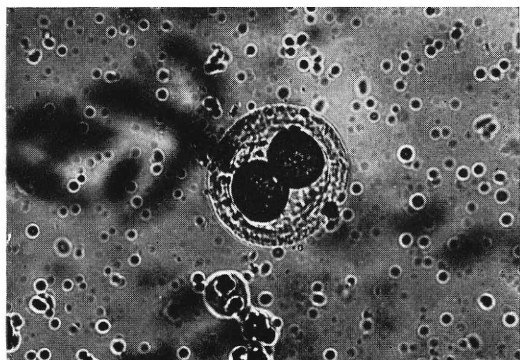


図 12 交尾後48時間の IUD 側卵管内より採取された2分割卵 (×120)

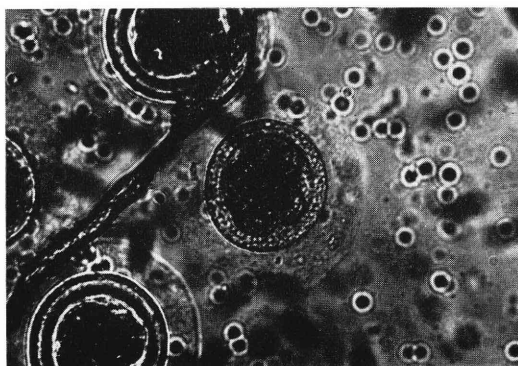


図 13 交尾後72時間の IUD 側卵管内より採取された4分割卵 (×120)

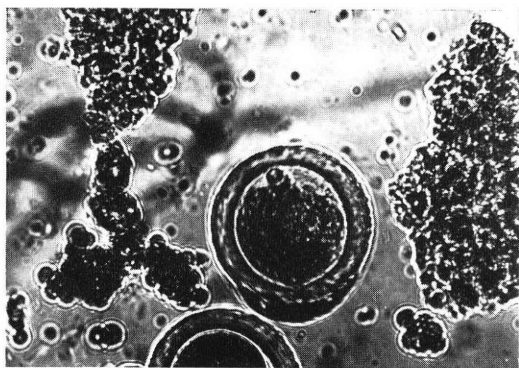


図 14 卵管内より採取した变性卵 (×120)

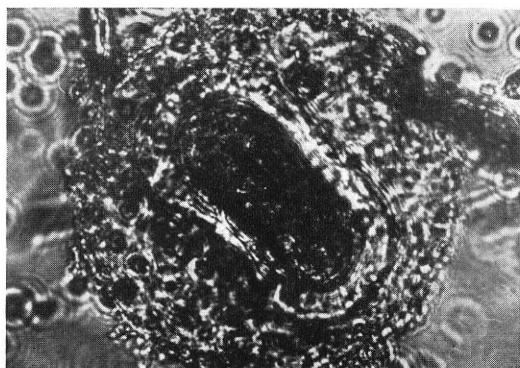


図 15 同变性卵 (×240)



図 16 同变性卵 (×120)

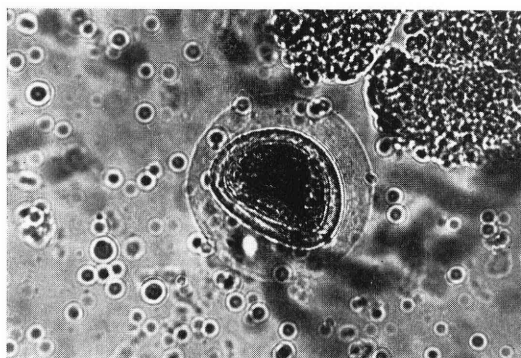


図 17 同变性卵 (×120)

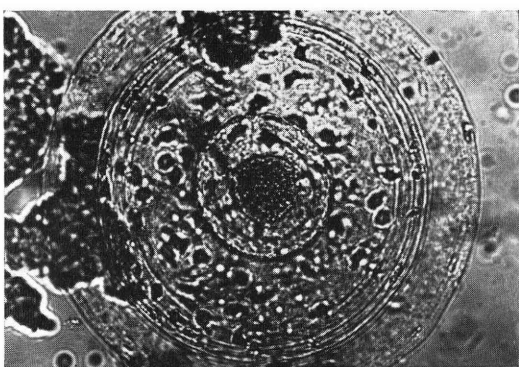


図 18 子宮内より採取した变性卵 (×120)

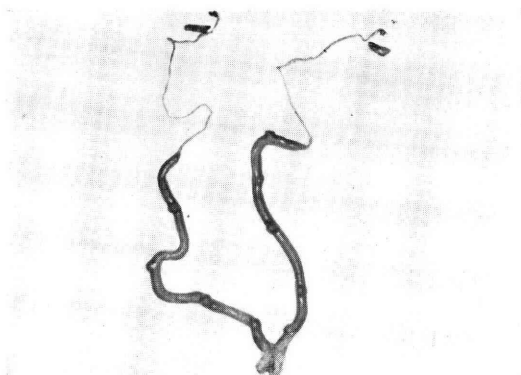


図 19 交尾後7日目の子宮 (control)

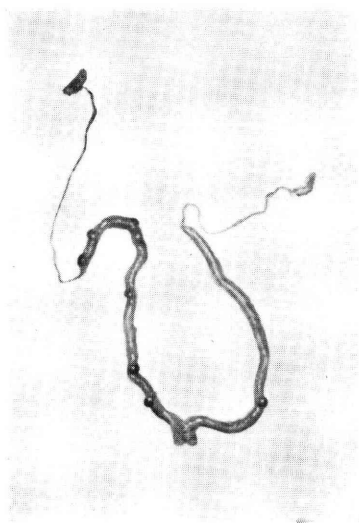


図 20 同 (左側 plastic-IUD 挿入) 右側 sham-operation

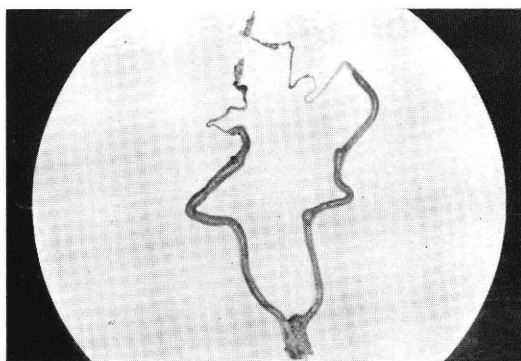


図 21 同 (右側 Cu-IUD 挿入) 左側 sham-operation

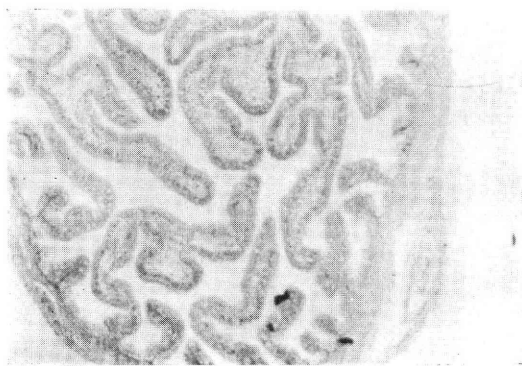


図 22 卵管第 2 分節

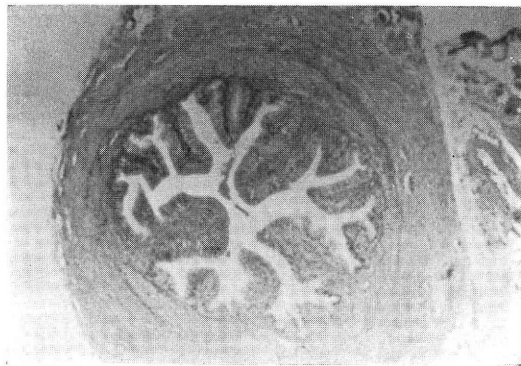


図 23 卵管第 3・4 分節

卵管内細胞診とその臨床応用に関する研究

Studies on the Cytology of the Human Fallopian Tubes and its Clinical Application

東邦大学医学部産婦人科学教室（主任：林基之教授）

吉 沢 伸 二

Shinji YOSHIZAWA

Dept. of Obstet. & Gynec., School of Medicine, Tōhō University

(Director: Prof. M. Hayashi)

Nucleopore filter を使用して、卵管洗浄液を濾過し、卵管内細胞診を行った。従来の方法に比べ、細胞の崩壊が少く、線毛細胞、無線毛細胞、裸核を正確に認識できた。

周期性変化として、線毛細胞は増殖期に数量、大きさとも増加し、分泌期には減少した。無線毛細胞、裸核には一定の傾向を見いだすことはできなかった。

エストロゲンの線毛細胞に対する影響、プロゲステロンの無線毛細胞に対する影響をうかがうことができた。

とくに子宮内膜症の卵管では、中心が最も重積が強くorangiophilic に染まった密な上皮細胞の集団を認めることが多い。

慢性卵管炎では、細胞重積、遊走細胞の集団、巨大組織球、円形の大きな無線毛細胞を認めることが多い。

本法によれば、術中卵管洗浄液でも十分な細胞数を採取することができ、その細胞診によつて、卵管内の炎症、増殖性変化を推測することにより、今後、卵管機能検査法の1つとして、臨床応用可能なことを立証しえたものと思う。

緒 言

細胞診を癌の日常検査法として応用しているものは、その診断の正確さに大きな信頼をおいている。今日、細胞診は産婦人科診療には必要欠くべからざるもので、一般に癌の早期診断の目的に用いられているが、これを臨床のより広い方面に応用できれば、臨床細胞診学にとつても、臨床医にとつても好都合であろう。そこで著者は、当教室の主要テーマの1つである不妊症に細胞診を応用したいと考えた。

不妊症の原因としては、一般には臓器別に、膣・頸管因子、子宮因子、卵管因子、卵巣因子、男性因子に分けられるが、卵管因子を除いて他の因子は器質的、機能的に多種の検査が実施可能である。しかし、卵管因子は他因子に比べると、妊娠予後が最も悪いにもかかわらず²⁵⁾、疎通性検査のみが主対象となつている。ところが卵管の機能は複雑で、卵摂取、精子・卵の栄養、受精の場、受精卵の分割・分化、子宮腔への移送などがあり、

それらがすべて正常に働いてはじめて妊娠が可能となる。

卵管内膜が性周期に応じて変化することは古くから知られていた。外性子宮内膜症では、進行例でも卵管の疎通性は保存されていることが多く、手術時外見的に異常を認めないにもかかわらず妊娠率は極端に低く、正常婦人の約 1/3 以下といわれている。従つて、卵管疎通性以外になんらかの不妊原因があるのではないかと考えられる。また、卵管閉塞症の原因は10年前までは結核が高率であつたものが、現在では非特異性炎症が主となつている²⁶⁾。

このように不妊症では卵管粘膜が正しく周期的に変化しているか、子宮内膜症では卵管に肉眼的に異常なくとも組織学的に変化があるのではないかと、また、炎症があつて近い将来卵管閉塞を起こすのではないかと、などを知る必要がある。しかし、卵管の性質上、実際に生検を施行することは不可能であり、また、最近の卵管手術の傾向として、できる限り卵管に損傷を与えず、卵管組織を

最大限に温存するような術式がとられているため⁷⁾, 手術時にも組織片を採取する機会が少なくなった。そこで, 卵管に損傷を与えることなく, 卵管内の細胞を採取し, その周期的変化および病理組織学的変化を推測しえないうかを検討した。

研究材料および方法

東邦大学産婦人科学教室にて, 主に子宮筋腫, 卵巣のう腫などの手術時に摘出した卵管を用いた。正常月経周期の正常卵管53例, 閉経期13例, 妊娠時12例, 子宮内膜増殖症19例, 子宮内膜症 45 例, 疎通障害例 12 例であった。但し, 子宮内膜症は一部重複する例がある。

卵管は損傷を避けるべく開腹直後に峽部より采部まで切断し, 峽部側に小児用メディカットの外針を挿入し, 注射器を接続して生理的食塩水で卵管腔を洗浄した。その洗浄液を Nuclepore filter で濾過し, 卵管細胞を収集した(図1)。細胞が収集されたフィルターをエーテル・アルコール等量液で固定後, Papanicolaou 染色を施行した。透徹後フィルターをスライドグラスにのせ, クロロホルムを数滴下しフィルターを溶解した後, 充分に乾燥させ, キシロールにて再度透徹後封入, 鏡検した。

洗浄後の卵管はホルマリン固定後, 采部, 膨大部, 峽

部の3ブロックに切り, 各病理組織標本を作製し, 細胞診と同時に鏡検した。

成 績

1. 月経周期と卵管内細胞の関係

正常卵管細胞として, 性周期と子宮内膜日付け診がほぼ一致し, 洗浄後の卵管組織に異常のないものを Control 群とし, 23歳から51歳までの53例を検討した。同定できた細胞の種類は, 線毛細胞(写真1), 無線毛細胞(写真2), 裸核(写真3)が主であった。組織学的には Peg-cell といわれる細胞があるが, 細胞学的にこれに相当すると考えられる細胞の確定は困難であった。後述の卵管疎通障害例に多く出現するような上皮細胞の重積した集団(写真4), 小型の暗い“Indifferent cell”と思われる遊走細胞の集団(写真5)は, 正常卵管でもわずかに認められたが, 重積程度および細胞量とも極く少かつた。

細胞の量は100倍で鏡検して, 各視野ごとに多数認めるものを(≡), 各視野ごとに1~2個を(≡), 数視野に1~2個を(+), 全視野に数個を(±), 全視野に1個も認めないものを(—)とした。

a. 線毛細胞の量

線毛細胞は月経期後半より増殖期にかけて増加し, 分泌期に至ると漸次その数が減少し, 月経前期にはほとんど認めなくなる(図2)。

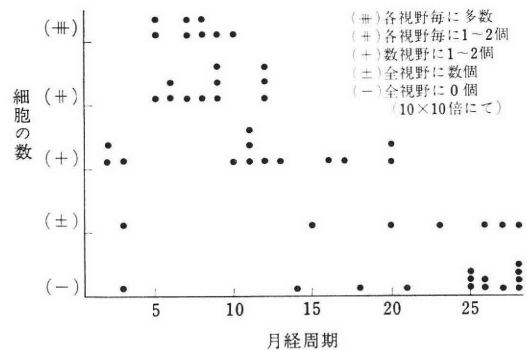


図 2 線毛細胞の数

b. 線毛細胞の大きさ

線毛細胞は増殖期には30~40 μ の大きなものが多く, 分泌期には15 μ 前後と小さいものが主体をなしていた(図3)。さらに注目すべきことは, 増殖期には線毛細胞が大きな細胞集団を形成して出現することである(写真6)。

c. 無線毛細胞の量と性状

無線毛細胞は全期にわたって出現するが, 数量的に一定の傾向を見いだすことはできなかった(図4)。また,

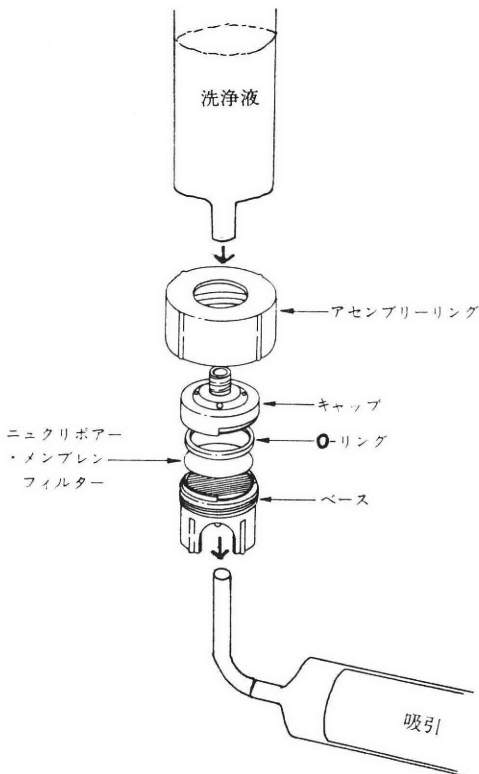


図 1 ニュクリポアーフィルターによる卵管洗浄液の吸引濾過法

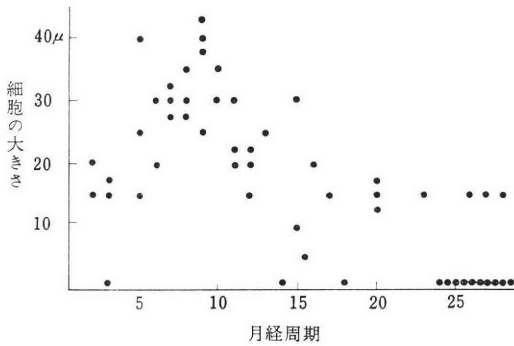


図 3 線毛細胞の大きさ

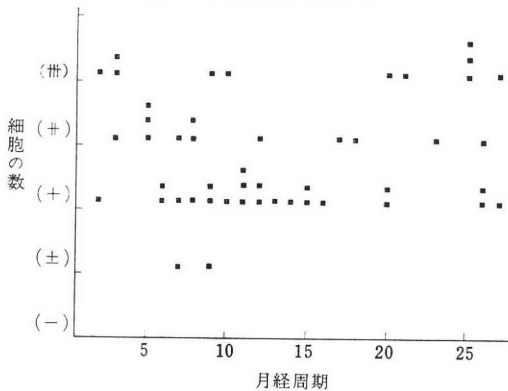


図 4 無線毛細胞の数

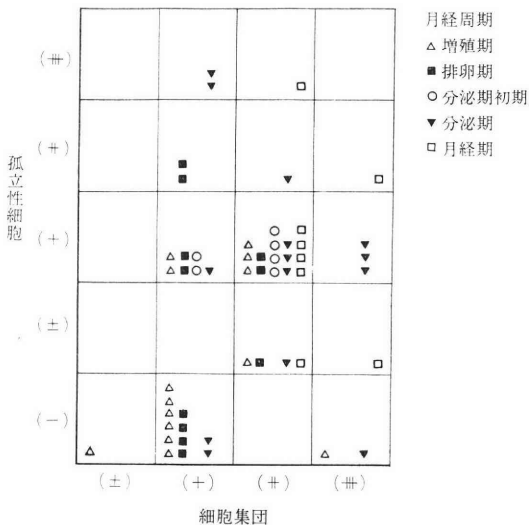


図 5 無線毛細胞の分布

これらの細胞は集団をなして出現するものと、孤立性に認められるものとがある(図5)。増殖期には集団をなす細胞が多く、孤立性のものは少い。分泌期には一般に、細胞集団から遊離してきたような孤立性細胞が増加してくる傾向が認められた(写真7)。

無線毛細胞の集団には、細胞質の多寡、細胞間結合の

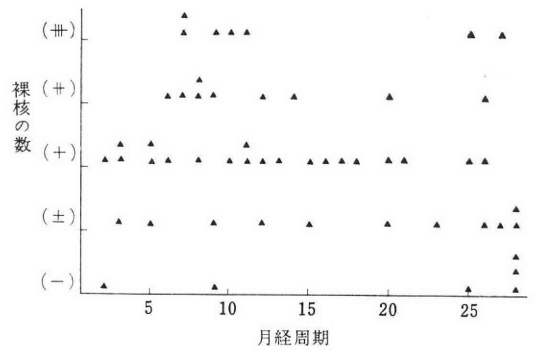


図 6 裸核の数

状態、核の大小、核小体の有無など、細胞の性状にかなり変動があるように思われたが、周期的に一定の傾向を見いだすことはできなかった。

d. 裸核の数と由来

裸核の出現状況を観察したが、数量的には一定の傾向を認めなかった(図6)。裸核の由来に関しては、増殖期では線毛細胞、分泌期では無線毛細胞の変性によると考えられる所見が多く認められた。

2. 閉経期の卵管内細胞(表1)

閉経期に特徴的な細胞所見はなかった。無線毛細胞は配列の整った集団を多く認めたが、線毛細胞は無いが、極く稀に認める程度の例が多かった。閉経後の年数と細胞の数量および大きさとの間には相関関係はないように思われた。細胞重積、遊走細胞は程度は軽い、一部にわずかに認められた。

3. 妊娠時の卵管内細胞(表2)

妊娠時に特有な細胞所見は認めなかった。しかし、妊娠初期には無線毛細胞の孤立性のものが出現していることが多く、妊娠末期では全体の細胞数が少くなることがわかる。線毛細胞は出現することは少ないようである。

以上のごとく、正常性周期、閉経期、妊娠時の正常卵管の細胞診では、細胞重積75例中16例(21.3%)遊走細胞の集団75例中6例(8.0%)に認めたが、その程度は極く軽いものであった。正常卵管の組織でも上皮の偽重層および増殖、間質の炎症細胞浸潤などを認める部分があつたが、それ程有意と考えられなかった。

4. 子宮内膜増殖症の卵管内細胞(表3)

子宮筋腫、子宮内膜症では内膜増殖症を合併していることが多い。これらの例では、月経周期日数が20日を過ぎていても、線毛細胞の出現頻度が高いことがわかる。無線毛細胞、裸核には特徴的傾向は見られなかった。子宮内膜症を除けば、細胞重積、遊走細胞の集団を認めることは少かった。

5. 子宮内膜症の卵管内細胞(表4)

表 1 閉経期の卵管内細胞診所見

症例	閉経後 年 数	主 病 変	細 胞 診 所 見								
			背 景	無線毛細胞		線 毛 細 胞		裸 核	細胞 重積	遊走 細胞	線毛細胞 の大きさ
				孤立性	集団性	孤立性	集団性				
1	0.5	卵 巢 囊 腫	汚	±	卅	—	—	+	+	—	/
2	0.5	子 宮 筋 腫	明	—	±	—	—	卅	—	—	/
3*	0.5	"	明	+	+	+	±	+	—	—	10~25 μ
4*	0.5	"	汚	—	+	—	—	卅	+	+	/
5	1	"	明	—	+	±	—	卅	—	—	15 μ
6*	1	"	汚	±	+	—	—	+	+	—	/
7	2	"	明	+	+	±	—	+	—	—	20 μ
8	2	体 部 癌	明	+	卅	±	—	卅	—	—	15 μ
9	5	頸 部 癌	明	±	+	±	—	—	—	—	15 μ
10	6	体 部 癌	明	+	卅	—	—	+	—	—	/
11	8	頸 部 癌	汚	—	+	±	—	卅	—	—	15 μ
12	18	卵 巢 囊 腫	明	±	+	—	—	卅	—	—	/
13	20	腹 壁 膿 瘍	汚	—	+	±	±	+	—	—	30 μ

卅：各視野ごとに多数

卅：各視野ごとに1~2個

+：数視野に1~2個

±：全視野に数個

—：全視野に0個

(*印は子宮内膜症例，表4と重複する，但し子宮内膜増殖症はない)

表 2 妊娠時の卵管内細胞診所見

症例	妊娠月数	主 病 変	細 胞 診 所 見							
			背 景	無線毛細胞		線 毛 細 胞		裸 核	細胞 重積	遊走 細胞
				孤立性	集団性	孤立性	集団性			
1	3	子 宮 筋 腫	明	+	卅	±	+	+	—	—
2	3	卵 巢 囊 腫	明	+	+	+	+	±	—	—
3	3	子 宮 筋 腫	明	卅	+	±	—	+	—	—
4	4	頸 管 妊 娠	汚	+	卅	±	—	±	—	±
5	5	子 宮 穿 孔	明	+	卅	—	—	—	+	+
6	5	子 宮 筋 腫	明	+	卅	—	—	+	—	—
7	5	頸 管 妊 娠	汚	+	+	—	—	+	±	—
8	10	(帝王切開)	明	—	±	—	—	—	—	—
9	10	"	明	—	—	—	—	+	—	—
10	10	"	明	—	+	—	—	卅	—	—
11	10	"	明	卅	卅	—	—	+	—	—
12	10	"	明	—	+	—	—	+	—	—

手術時，子宮，卵巣，骨盤腹膜などに子宮内膜症を認めても，卵管には外見上異常がないと思われた例や，軽い卵管周囲癒着を起こしているが疎通性良好と分つている卵管45例について，卵管摘出後の洗浄液を処理して細胞学的に観察するとともに，その卵管を組織学的に検討した。

一般に，卵管に子宮内膜組織が存在することは少く，本研究でも45例中3例に認めたにすぎないが，細胞診所見からすると，その細胞像は特異的であるといえる。すなわち，上皮細胞は円形・楕円形の細胞集団を形成し，中心に向うにしたがつてより密な重積性を示し，その中には炎症細胞の遊走しているのが認められた。これらは

表 3 子宮内膜増殖症例の卵管内細胞診所見

症例	月経日数	主 病 変	細 胞 診 所 見							
			背 景	無線毛細胞		線 毛 細 胞		裸 核	細胞重積	遊走細胞
				孤立性	集団性	孤立性	集団性			
1*	5	子宮筋腫	明	—	+	+	—	卅	—	—
2	8	〃	明	—	+	+	—	—	—	—
3*	16	〃	汚	卅	卅	±	—	—	卅	—
4	18	〃	汚	—	+	+	卅	+	—	—
5*	19	〃	明	卅	卅	卅	卅	+	+	+
6*	20	〃	明	+	+	卅	±	±	+	—
7*	20	〃	明	卅	卅	+	—	—	卅	—
8	23	〃	明	+	卅	卅	+	+	—	—
9	25	〃	明	—	+	+	—	卅	—	—
10*	25	〃	明	+	卅	卅	+	±	+	±
11	25	〃	明	—	+	+	—	卅	—	—
12*	28	〃	汚	±	±	+	—	±	—	+
13*	28	〃	明	+	卅	+	+	+	—	—
14	36	〃	汚	+	+	+	+	±	+	—
15	39	頸部癌	明	—	+	+	—	卅	—	—
16	45	卵巣出血	明	+	卅	+	+	+	—	—
17	不正出血	頸部癌	明	+	+	+	卅	+	—	—
18	〃	子宮筋腫	明	+	卅	—	—	+	—	+
19	〃	〃	明	—	+	+	—	卅	—	—

* 印は子宮内膜症例，表 4 と重複する。

Papanicolaou 染色で，中心部は重積性のため orangio-philic に染まる（写真 8）。

このような型の細胞重積は，正常例および後述の卵管疎通障害例の卵管内細胞に見られた重積性と異なり，その重積具合，大きさ，量的にも明らかに異質のものと思われ，45例中34例（75.6%）に出現していた。また，遊走細胞の集団も45例中22例（48.9%）に認められた。

背景は周期後半に進むにしたがい，細胞残渣，異物が多くなるが，無線毛細胞，線毛細胞，裸核には特徴的な所見は無かった。

これらの卵管組織所見は，上皮の偽重層，増殖，間質への炎症細胞浸潤，浮腫，うつ血などを認め，子宮内膜症が卵管自体に存在しなくても，子宮・卵巣・骨盤腹膜など他の部位にあれば，卵管に何らかの反応性変化が起きているのではないかと考えられた。

6. 疎通障害卵管の細胞所見（表 5）

慢性炎症の後遺症として，卵管溜水腫，溜膿腫，卵管閉塞を来すことが多い。これらの摘出卵管の洗浄液を処理して細胞診標本を作製した。

線毛細胞，正常配列の無線毛細胞は少く，背景も汚いが，特徴的な細胞像としては，20～25 μ の大きな孤立性

の細胞が多く出現する。細胞重積は子宮内膜症に現われたものとは異なり，写真 4 のような“まりも”状，あるいは広範囲な不整の重積性を示し，その中に炎症細胞の遊走を認める。また，遊走細胞の集団も多くなり，前者は12例中 9 例（75.0%），後者は 12 例中 8 例（66.7%）であつた。特に溜水腫では巨大組織球を認めることが多かった。

これらの卵管の病理組織診断は表 5，右欄に示したが，上皮の偽重層，増殖，間質の炎症細胞浸潤などは，正常卵管，子宮内膜症の卵管，慢性炎症卵管の順に強く，その範囲も広くなっているように思われた。

考 察

1. 卵管内細胞の研究手法

卵管の研究については古来から多くの発表があり，細胞学では Lehto (1963)²⁴⁾の報告があるが，純粹の細胞診に関しては Dudkiewicz (1968)²⁴⁾の手術材料からの吸引スミアにおける上皮細胞の形態学的研究が最初である。卵管癌の頻度は低く，細胞採取も困難であるため，この臓器の癌の早期発見という面からみると，細胞診は実用性に欠けている。また，卵管細胞は崩壊しやすく，

表 4 子宮内膜症例の卵管内細胞診所見

症例	月経日数	主 病 変	細 胞 診 所 見								備 考
			背景	無線毛細胞		線毛細胞		裸核	細胞重積	遊走細胞	
				孤立性	集団性	孤立性	集団性				
1	5日目	子宮筋腫	明	—	+	+	—	卅	—	—	腺筋症・内膜増殖症
2	"	"	明	+	卅	+	卅	±	+	—	腺筋症
3	"	"	明	+	卅	+	卅	+	+	—	"
4	6	附属器癒着	明	卅	+	—	—	—	+	±	卵巣チョコレート嚢腫
5	"	子宮筋腫	明	—	+	±	±	卅	—	±	腺筋症
6	7	卵巣嚢腫	明	+	卅	卅	+	卅	+	—	卵巣チョコレート嚢腫
7	9	"	明	卅	+	—	—	卅	+	+	"
8	"	子宮筋腫	汚	+	卅	±	—	+	卅	卅	腺筋症
9	"	附属器癒着	明	卅	卅	±	—	+	卅	+	卵巣チョコレート嚢腫
10	"	子宮筋腫	明	+	卅	+	+	±	卅	+	腺筋症
11	10	"	明	卅	卅	±	—	—	+	—	"
12	11	"	明	卅	卅	—	—	+	卅	卅	"
13	"	"	明	卅	+	—	+	+	+	—	"
14	"	"	明	—	+	+	卅	卅	—	—	"
15	13	"	明	—	+	+	—	+	+	+	"
16	14	"	汚	—	+	—	—	卅	—	—	ダグラス窩子宮内膜症
17	15	卵巣嚢腫	明	+	卅	+	—	卅	+	—	卵巣チョコレート嚢腫
18	16	子宮筋腫	汚	卅	卅	±	—	—	卅	—	腺筋症
19	"	"	明	+	卅	+	+	+	±	—	"
20	19	"	明	卅	卅	卅	卅	+	卅	+	腺筋症，内膜増殖症
21	20	"	明	+	+	卅	±	±	+	—	" "
22	"	"	明	卅	卅	+	—	—	卅	—	"
23	"	卵巣嚢腫	明	卅	卅	±	—	—	卅	—	卵巣チョコレート嚢腫
24	"	子宮筋腫	明	±	卅	±	—	+	+	—	腺筋症
25	23	"	明	—	+	+	卅	卅	+	—	"
26	25	"	明	+	卅	卅	+	±	+	±	卵巣チョコレート嚢腫，内膜増殖症
27	"	"	汚	+	+	±	—	±	—	+	腺筋症
28	"	"	明	+	卅	—	—	+	卅	+	"
29	"	"	汚	+	卅	—	—	—	+	+	"
30	26	"	明	±	+	±	—	卅	+	—	"
31	"	"	汚	±	卅	—	—	卅	+	—	"
32	27	"	汚	—	+	—	—	+	—	+	"
33	"	"	明	—	+	+	—	卅	+	+	"
34	28	"	汚	+	+	—	—	+	+	—	"
35	"	"	汚	±	±	+	—	±	—	+	" ， 内膜増殖症
36	"	"	汚	卅	卅	—	—	—	+	+	"
37	"	"	明	+	卅	+	+	+	—	—	" ， 内膜増殖症
38	"	"	汚	卅	卅	—	—	—	—	—	"
39	37	"	汚	卅	卅	—	—	+	卅	+	"
40	120	"	明	卅	+	—	—	—	卅	+	" ， 偽妊娠療法中
41	不正出血	"	明	+	卅	—	—	—	—	+	"
42	流産後19日	"	明	+	卅	+	—	+	卅	+	" ， 卵巣チョコレート嚢腫
43	閉経後6ヵ月	"	汚	—	+	—	—	卅	+	+	"
44	"	"	明	+	+	+	±	+	—	—	"
45	閉経後1年	"	明	±	+	—	—	+	+	—	"

表 5 疎通障害卵管の細胞診所見

症例	月 経 日 数	主病変	細 胞 診 所 見								そ の 他	卵管組織所見
			背景	無線毛細胞		線毛細胞		裸核	細胞重積	遊走細胞		
				孤立性	集団性	孤立性	集団性					
1	3	溜水腫	汚	+	+	-	-	-	+	+	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	単純性溜水腫
2	9	溜膿腫	汚	+	+	-	-	+	+	+	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	溜膿腫
3	9	閉 塞	明	+	+	-	-	+	+	+	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	単純性溜水腫
4	11	溜水腫	汚	+	+	-	-	-	+	+	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	濾胞性溜水腫
5	11	閉 塞	汚	+	+	-	-	-	-	-	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	慢性間質性卵管炎
6	13	閉 塞	汚	-	+	-	-	-	+	-	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	慢性間質性卵管炎
7	14	溜水腫	汚	±	±	-	-	-	-	+	組織球(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	濾胞性溜水腫
8	16	閉 塞	汚	+	+	±	-	+	+	-	線毛の欠けた線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	慢性間質性卵管炎
9	19	溜膿腫	汚	-	+	-	-	-	±	+	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	慢性間質性卵管炎
10	20	閉 塞	汚	+	+	+	-	-	+	-	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	慢性間質性卵管炎
11	21	溜水腫	明	+	+	±	-	-	-	+	円形の大きな無線毛細胞(+) 正常配列の無線毛細胞は少い	濾胞性溜水腫
12	不正出血	閉 塞	汚	-	-	-	-	-	+	+	正常上皮細胞は少い	慢性間質性卵管炎

従来の塗抹法および遠沈法では裸核が多くなるという標本作製上の困難さもあつた。

今回の研究では当初、Millipore filter も使用したが、背景が暗く、微細な細胞構造の認識が困難であつた。そこで Nuclepore filter を利用することにより、細胞崩壊は最小限に抑えられ、クロロホルム処理によるフィルターメッシュの消失で鏡検しやすくなり、卵管細胞が正確に認識できるようになった。本法によれば細胞学的にも、正常卵管内細胞は周期的に変化し、とくに増殖期における線毛細胞の出現量と大きさは図 2, 3 に示した如く、かなり明瞭な変化を示すことが明らかになった。一方、無線毛細胞や裸核は図 4, 6 で示したように一定の傾向を見いだすことはできなかった。

とくに症例を重ねるにつれて、子宮内膜増殖症では線毛細胞の出現頻度が高いことに気付き、これらを除外することによつて線毛細胞の周期的変動をより明瞭に把握できた。また、月経周期後半、妊娠初期から中期にかけて、および子宮内膜症で偽妊娠療法中の例では、細胞集団から遊離してきたような孤立性の無線毛細胞が多く認められた。以上の事実から、細胞診においても線毛細胞に対するエストロゲンの影響、無線毛細胞に対するプロゲステロンの影響をうかがうことができた。

卵管内細胞の鏡検時、写真 8 のように密な重積性のある上皮細胞を見だし、その後、子宮・卵巣などの摘出物の病理組織標本を観察すると、子宮内膜症の存在が証明されるということを度々経験した。また、このような細

胞重積の出現頻度は子宮内膜症では 75.6% と高率に及ぶので、この細胞所見が子宮内膜症に特異的に現われるといつても過言ではない。更に、この重積性は卵管上皮の増殖の結果であり、子宮内膜症では粘膜に増殖性変化を起こさせる反応が卵管で起きていて、それが妊娠率を悪化させる原因になっているのではないかと考えている。

2. 卵管機能と卵管上皮

卵管がその機能を円滑に営むためには、ホルモン、血液、リンパ液、筋肉、上皮など種々の要素が複雑に関与している。上皮の役割について、卵摂取に対しては線毛の働きは欠くことができない (Westman, 1959¹⁸), Mastroianni, 1962²⁰)。また、卵の移動のためにも線毛運動は重要である (Grosser, 1919¹¹), Hafez, 1973³²)。しかし、線毛現象に関しては、排卵前に線毛数が最大となり、排卵後はむしろ減少するという意見が多く (Moreaux, 1913¹⁰), 湯原, 1955¹¹), 鈴木, 1959³³)、閉経後も線毛が存在することが知られている (Hoehne, 1908⁹), Hartman, 1958¹⁷)。今回の卵管内細胞の研究でも、排卵前に線毛細胞が増加し、排卵後は減少する例が多いことから、線毛は卵輸送だけでなく、むしろその前に卵の通路を清潔にすることに意義があるのではないだろうか。

精子の移動には、精子の自動運動のほかに、やはり線毛運動、粘膜皺襞の収縮などが関与するという (Parker, 1948¹⁶), Hafez, 1973³²)。

卵の栄養に関しても、卵管粘膜の形態からして何らか

の意義を持つ(林, 1956²¹), また, 細胞の分泌顆粒が役立つ(下山, 1963⁴¹)ともいう。Fredricsson (1959)¹⁹によると, 線毛細胞中にはグリコーゲンがあり, 排卵後, 線毛活動が盛んになるにつれて, 細胞内グリコーゲンが減少する。そして分泌細胞中にはアミラーゼがあり, これが子宮内膜に働いてグリコーゲンを分解し, 着床初期の妊卵の栄養を助長するとのべている。本研究でも裸核が出現しているが, これはアポクリン分泌および細胞変性の結果と考えられる。しかし周期的に一定の傾向は認められなかつた。

3. 卵管の周期的変化とホルモンの影響

これまでも多くの光学顕微鏡, 電子顕微鏡, 走査型

電子顕微鏡の研究発表がある。古くは Novak(1928)¹²が, それまでの各研究者の意見を総括し, かつ彼自身の研究結果を追加している。それによれば, 卵管上皮の高さは月経直後から中間期にかけて高さを増し, 月経前では再び低くなる。線毛細胞, 無線毛細胞の分布は卵管の場所によつて異なり, とともに各周期相において変化する。線毛細胞は中間期に優勢となり, 分泌細胞は月経前に多くなるが, 中間期にその細胞質を放出するとした。Clyman (1966)²², Patek (1972)²⁶⁻³⁰, 田中 (1973)⁵¹, 関本 (1974)⁶¹ とも同じような内容を発表している。

妊娠時, 閉経期, 子宮筋腫における出血時などでは, 上皮は低くなるという (Joel, 1939¹⁵), 湯原, 1955¹³, 鈴

表 6 不妊症保存手術例の術中卵管洗浄液の細胞診所見

症例	月経日数	主 病 変	細 胞 診 所 見								備 考
			背景	無線毛細胞		線 毛 細 胞		裸核	細胞重積	遊走細胞	
				孤立性	集団性	孤立性	集団性				
1	3	癒 着	汚	—	卅	—	—	—	卅	—	子宮内膜症
2	6	卵巢囊腫	汚	—	±	—	—	—	卅	卅	子宮内膜症
3	6	閉 塞	汚	+	+	—	—	—	—	+	
4	8	癒 着	明	+	卅	+	—	+	±	—	
5	8	溜 水 腫	汚	—	卅	—	—	—	+	—	
6	11	癒 着	明	+	+	—	—	+	—	—	
7	11	閉 塞	汚	+	+	—	—	—	—	—	
8	11	溜 水 腫	汚	—	±	—	—	+	—	+	
9	12	閉 塞	汚	±	+	—	—	—	+	—	
10	12	溜 水 腫	明	+	卅	卅	—	+	+	+	子宮内膜症
11	13	多嚢胞卵巢	明	—	+	+	+	+	—	—	
12	13	閉 塞	明	+	+	—	+	+	+	+	
13	13	閉 塞	汚	—	+	—	—	—	卅	—	子宮内膜症
14	14	溜 水 腫	汚	±	±	—	—	—	—	+	
15	14	溜 水 腫	汚	卅	+	+	卅	卅	—	+	
16	16	閉 塞	明	—	+	—	—	±	—	—	
17	16	閉 塞	明	卅	卅	—	—	卅	—	—	子宮内膜症
18	16	癒 着	汚	—	+	—	—	—	卅	+	子宮内膜症
19	16	子宮筋腫	明	卅	+	+	+	+	+	—	子宮内膜症
20	18	閉 塞	明	—	+	—	—	+	—	—	
21	20	卵巢囊腫	明	+	+	—	±	卅	—	+	子宮内膜症
22	23	癒 着	明	卅	+	—	—	±	+	—	
23	26	癒 着	明	+	卅	—	—	+	卅	—	
24	26	閉 塞	汚	—	+	—	—	+	—	—	
25	28	多嚢胞卵巢	汚	—	+	—	—	—	+	卅	
26	28	閉 塞	明	+	+	—	—	—	—	+	
27	28	癒 着	明	+	+	—	—	+	—	—	偽妊娠療法中
28	28	癒 着	汚	+	卅	—	—	+	卅	—	子宮内膜症
29	46	癒 着	汚	—	+	—	—	卅	±	+	偽妊娠療法中
30	52	卵巢囊腫	汚	卅	卅	—	—	—	+	—	偽妊娠療法中

木, 1959³³, Patek, 1973²⁹).

ホルモンの影響としては, エストロゲンは上皮および線毛細胞を活性化し, プロゲステロンは分泌細胞とその分泌を活動させるという意見が多い (Tietze, 1929¹³, Caffier, 1938¹⁴, Fredricsson, 1973³¹, Patek, 1973²⁹, Gaddum-Rosse, 1975³²).

各研究者の論文を総括すると, 卵管の細胞分布は部位によつても, その性周期によつても異なる. 細胞診で無線毛細胞, 裸核に周期的変化が明瞭に判定できなかった原因はこの点にあると思われる. 即ち, 卵管全体の細胞の変化を1枚のフィルターに集めて観察するため, 局所的变化が隠されてしまうのであろう.

4. 卵管内細胞診について

卵管に関しては純粋な細胞診の研究発表は極めて少く, これまでに僅かに Dudkiewicz の論文のみである. 彼は卵管内の細胞を正確に識別することにより, 癌検診における誤診を避けようとした. 実際, 子宮内膜細胞と卵管無線毛細胞, 頸管内膜細胞と卵管線毛細胞を鑑別することに困難を感じる人が多い.

彼も, 分泌細胞が周期により異つた形態を示すことを指摘している. また, 論文中 Cells with protoplasmic junction, Light-staining cell という写真があるが, 著者の経験ではこれらの細胞は, プロゲステロンの影響が強い状況下で, 無線毛細胞集団の結合性が弛み, 単離してきた細胞質の豊富な細胞に類似しているように思われる.

5. 卵管内細胞診の臨床応用について

生体内の検査として Brosens (1975)³⁴ は, 卵管采の微小生検を行い, 線毛細胞の数の比率を求め, それが癒着, 外妊, 子宮内膜症では低下するとのべているが, 不妊症診療に携るものにとつて, 組織損傷を伴う微小生検には疑問を感じざるをえない.

卵管形成術あるいは他の不妊症手術中に, 組織片のとれない卵管に采より細いカテーテルを挿入し, 峽部を軽く圧迫しておき, 生理食塩水を流し, 采から逆流してくる洗浄液を集め, 細胞診を試みた (表6).

摘出卵管に比べ, できる限り損傷を与えないように扱わねばならないため, 細胞数が少ないと思われる例もわずかにあつたが, ほとんどの例で観察に十分な細胞を採取できた.

卵管内腔には病変が少いと思われる卵管周囲癒着, 多くの卵巣でも背景が汚く, 増殖期でも線毛細胞の出現頻度が少ない例がある. 細胞重積は30例中16例 (53.3%) に認められ, 特に子宮内膜症では12例中9例 (75.0%) に証明され, 遊走細胞の集団は30例中12例 (40.0%) に認められた.

湯原 (1955)¹¹ は, 月経時には卵管は非特異性炎症の像を呈すといい, Vesel (1975)³⁵ は, 分娩後の卵管の67.6%に浮腫, 充血, 炎症細胞浸潤を認め, これは卵管炎ではなく, 妊娠中の生理的反応と考えるべきであると主張している. Pauerstein (1966)²³ は, 正常上皮では真の増殖はないが偽重層を示し, Indifferent cell は基底部に多く, 炎症性変化としては上皮の不規則な増殖と, Indifferent cell の増加がみられ, その位置と型は多様化すると述べている.

卵管の軽度の細胞浸潤, 充血, 浮腫などは生理的反応として起こり得るので, むしろ増殖性変化の方が卵管にとつては問題があると思われ, 卵管細胞でも細胞重積, "Indifferent cell" と思われる遊走細胞の集団が少いことも重要な所見と考えられる.

卵管内細胞診の結果として, (1) 増殖期には線毛細胞の存在がある. (2) 白血球, リンパ球, 組織球などの炎症細胞が少く, 背景が清浄である. (3) 重積性のある上皮細胞の集団が少い. (4) "Indifferent cell" と思われる遊走細胞の集団が少い. (5) Papanicolaou 染色で中心部が orangiophilic に染まつた密な重積性で, ほぼ円形・楕円形を成し, その中に炎症細胞が遊走している, いわゆる子宮内膜症に特異的に多く出現する上皮細胞の集団が少い, などを判定の規準にするという知見が得られた.

本論文の要旨は第17回日本臨床細胞学会総会にて発表した.

稿を終るにあたり, 御指導御校閲を賜つた恩師林基之教授に深謝すると共に, 御指導御協力を賜つた東京都ガン検診センター臨床検査部長坂井義太郎博士, 当教室百瀬和夫助教授に厚く御礼申し上げます. 標本作製に御協力をいただいた, 東邦大学大森病院中検病理サイトスクリーナー中村久美子技士に感謝致します. 資料の採取に御協力いただいた教室員各位に感謝します.

文 献

- 1) 湯原安彦: 卵管粘膜の周期的変化について. 日産婦誌, 7: 1013, 1955.
- 2) 林基之, 他: 卵管の生理. 日新医学, 43: 415, 1956.
- 3) 鈴木章平: 細胞分離永久標本による卵管上皮細胞の研究. 信州医誌, 8: 1040, 1959.
- 4) 下山利雄: 成熟婦人卵管粘膜上皮細胞の電子顕微鏡的研究. 日産婦誌, 15: 1237, 1963.
- 5) 田中正明: 人卵管内膜の走査型電子顕微鏡的研究. 産婦進歩, 26: 213, 1973.
- 6) 関本昭治, 他: 走査型電子顕微鏡による卵管内膜上皮細胞の観察. 産婦世界, 26: 1005, 1974.
- 7) 百瀬和夫, 他: 卵管通水法と卵管形成術. 産婦の実験, 24: 707, 1975.
- 8) 吉沢伸二, 他: 当教室における卵管不妊の経年

- 的推移。産婦の世界, 28 : 5, 1976.
- 9) Hoehne, W. : Hypoplasie der Tube in ihrer Beziehung zur Extrauteringravitaet. Zchr. Geburtsh. Gyn., 63 : 106, 1908.
 - 10) Moreaux, R. : Recherches sur la morphologie et la fonction glandulaire de l'épithélium de la trompe utérine chez les mammifères. Arch. Anat. Micr. Morp. Exp., 14 : 515, 1913.
 - 11) Grosser, O. : Ovulation u. Implantation u. die Funktion der Tube beim Menschen. Arch. Gyn., 110 : 297, 1919.
 - 12) Novak, E. et al. : Cyclical and other variations in the tubal epithelium. Am. J. Obst. & Gynec., 16 : 499, 1928.
 - 13) Tietze, K. : Zur Frage nach den zyklischen Veränderungen des menschlichen Tubenepithel. Zbl. Gyn., 1 : 32, 1929.
 - 14) Caffier, P. : Über die hormonale Beeinflussung der menschlichen Tubenschleimhaut u. ihre therapeutische Ausnutzung. Zbl. Gyn., 62 : 1024, 1938.
 - 15) Joel, C. : Zur Histologie u. Histochemie der menschlicher Eileiter während Zyklus u. Schwangerschaft. Mshr. Geburtsh. Gyn., 110 : 252, 1939.
 - 16) Parker, G. : The passage of sperms and eggs through the oviducts of the rabbit and of the human being. Am. J. Obst. & Gyn., 23 : 619, 1948.
 - 17) Hartman, C. : How do sperms get into the uterus. Fert. & Steril., 8 : 403, 1958.
 - 18) Westman, A. : Studies of the function of the fallopian tube. Int. J. Fertil., 4 : 201, 1959.
 - 19) Fredricsson, B. : Histochemical observation on the epithelium of human fallopian tubes. Acta Obst. & Gynec. Scand., 38 : 109, 1959.
 - 20) Mastroianni, L. : The structure and function of the fallopian tube. Clin. Obst. Gynec., 5 : 781, 1962.
 - 21) Lehto, L. : Cytology of the human fallopian tube. Acta Obst. & Gynec. Scand., XLII : 1, 1963.
 - 22) Clyman, M. : Electron microscopy of the human fallopian tube. Fert. & Steril., 17 : 281, 1966.
 - 23) Pauerstein, C. and Woodruff, J. : Cellular pattern in proliferative and anaplastic disease of the fallopian tube. Am. J. Obst. & Gynec., 96 : 486, 1966.
 - 24) Dudkiewicz, J. : Cytomorphology of epithelial cells of fallopian tubes obtained by aspiration from operative specimens. Am. J. Obst. & Gynec., 102 : 82, 1968.
 - 25) Döring, G. : Über die Häufigkeit der verschiedenen Sterilitätsursachen bei der Frau und die Erfolgsaussichten ihrer Behandlung. Geburtsh. u. Frauenheilk., 30 : 302, 1970.
 - 26) Patek, E. et al. : Scanning electron microscopic study of the human fallopian tube. Report I. Fert. & Steril., 23 : 459, 1972.
 - 27) Patek, E. et al. : Scanning electron microscopic study of the human fallopian tube. Report II. Fert. & Steril., 23 : 719, 1972.
 - 28) Patek, E. et al. : Scanning electron microscopic study of the human fallopian tube. Report III. Fert. & Steril., 24 : 31, 1973.
 - 29) Patek, E. et al. : Scanning electron microscopic study of the human fallopian tube. Report IV. Fert. & Steril., 24 : 832, 1973.
 - 30) Patek, E. and Nilsson, L. : Scanning electron microscopic observation on the ciliogenesis of the infundibulum of the human fetal and adult fallopian tube epithelium. Fert. & Steril., 24 : 819, 1973.
 - 31) Fredricsson, B. and Björkman, K. : Morphologic alterations in the human oviduct epithelium induced by contraceptive steroids. Fert. & Steril., 24 : 19, 1973.
 - 32) Hafez, E. : Gamet transport and endocrine control in the female reproductive tract. Fert. & Steril., 186, Excerpta Medica/American Elsevier. 1973.
 - 33) Gaddum-Rosse, P. et al. : Studies of mucosa of postmenopausal oviducts. Fert. & Steril., 26 : 951, 1975.
 - 34) Brosens, I. and Degraef, R. : Microbiopsy of the fallopian tube as method for clinical investigation of tubal function in infertility. Int. J. Fertil., 20 : 55, 1975.
 - 35) Vesel, I. : Schwangerschaftsveränderungen in postpartalen Tubenexzistenzen. Zbl. allg. Path., 119 : 60, 1975.

Studies on the cytology of the human fallopian tubes and its clinical application

Shinji Yoshizawa

Dept. Obst. Gynec., School of Med., Tōhō University.

(Director : Prof. M. Hayashi)

The cytological study of the fallopian tube was undertaken on the nucleopore filtrate of the tubal washings. Comparing to the conventional approaches, this filtration method has the advantage of fewer cell destruction, enabling one to recognize the ciliated cells, the non-ciliated cells and the naked nuclei with a high degree of accuracy.

As for cyclic changes, the ciliated cells increased either in size and number at proliferative

phase but decreased at the secretory phase. No definitive features were observed on the non-ciliated cells and naked nuclei.

The positive effect of estrogen on the ciliated cells and progesterone on the non-ciliated cells was suggested.

It was very likely to find the clumps of the epithelial cells stained orangiophilic in the middle of the concentrated clusters obtained from the tubes of pelvic endometriosis.

In chronic salpingitis exfoliated concentrations of epithelial cells, clumps of "indifferent cells," giant histiocytes and round-shaped enlarged non-ciliated cells.

The application of this method during laparotomy may enable us to use clinically by assessing tubal function securing good number of cells required for inferring tubal pathology such as inflammatory process and proliferative change.

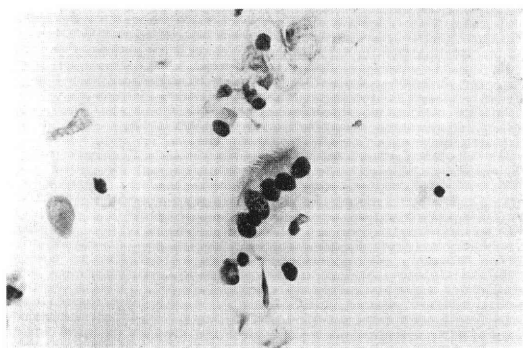


写真 1 絨毛細胞 ×400

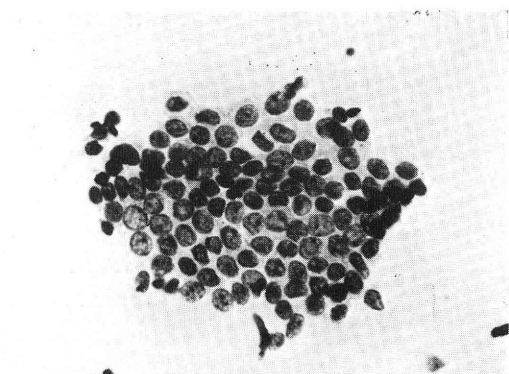


写真 2 無絨毛細胞 ×400

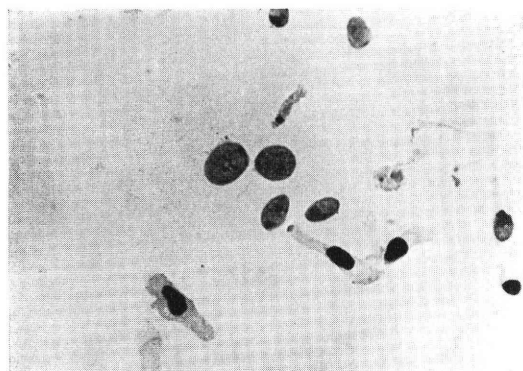


写真 3 裸核 ×400

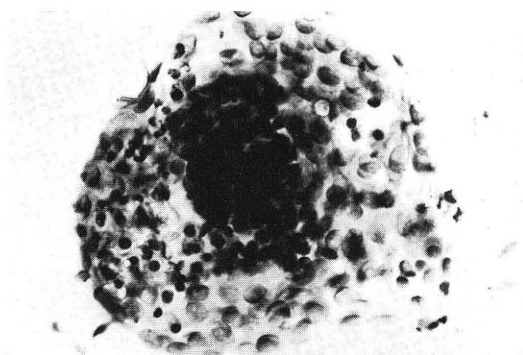


写真 4 “まりも” 状上皮細胞の重積 ×400

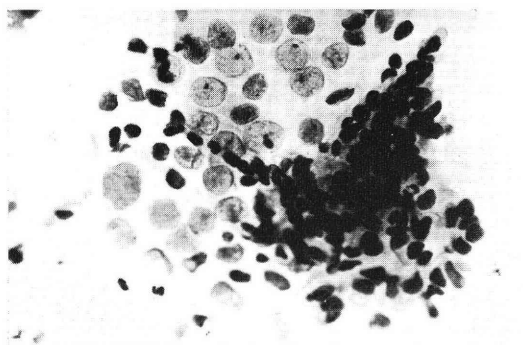


写真 5 遊走細胞の集団 ×400

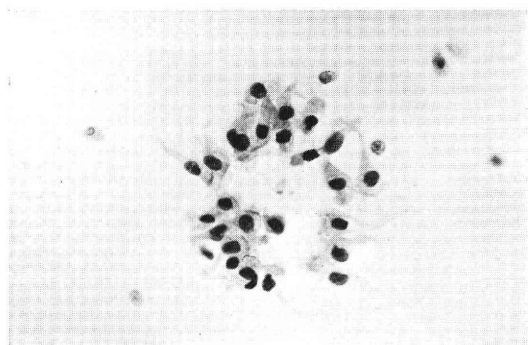


写真 6 絨毛細胞の集団 ×400

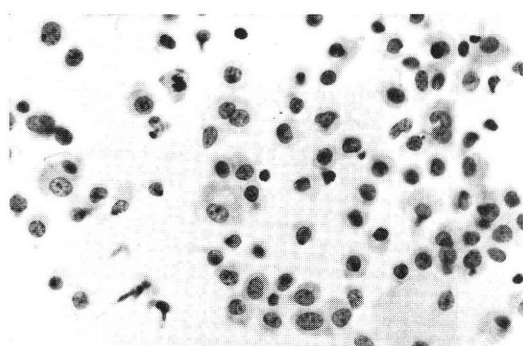


写真 7 孤立性無絨毛細胞 ×400

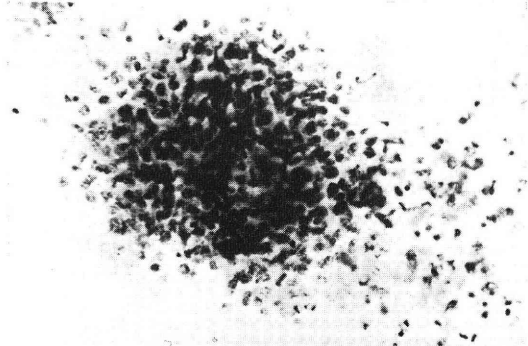


写真 8 子宮内膜症における細胞重積 ×200

STUDIES ON SULFONAMIDE-INDUCED ANOMALIES IN CHICK EMBRYOS (2)

Tzu-Szu YANG

Departments of Obstetrics and Gynecology, and Reproductive Physiology,
Taipei Medical College and Taipei Municipal Jen-Ai Hospital,
Taipei, Taiwan, Republic of China

Abstract: Teratogenic effects of sulfonamides in chick embryos were compared. The dosages were 1, 20 and 36 or 32 mg respectively. Sulfadimethoxine induced curved deviated and short upper beak, occasionally the lower beak also bent upward in a right angle. The feathers were unaffected. The malformation rates and intensities increased dose-dependently. The deformity was unique and irrespective of the injection sites, i.e. intra yolk sac to the central portion, intra yolk sac near to blastoderm, or intra albumen; however, the malformation rates and mortality rates increased as in the order of intra yolk sac injection to the central portion, intra albumen, and intra yolk sac near to blastoderm respectively. Alizarin stain of the skeleton did not show reduction deformity. No gross visceral malformation was found. The majority of the deformities induced by sulfamoprine, the close structure isomer of sulfadimethoxine, as well as the specific malformations induced by sulfisomidine and its isomer sulfamethazine were parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome, the deformity was unique regardless of the sites of injection, the malformation rates and intensities also showed dose-response relationship. Alizarin stain of the skeleton showed achondroplasia like malformation, i.e. thickened and shortened long bones of the wings and legs, especially the tibiotarsus and tarsometatarsus, which also bent medially. However, no reduction in number of the bones or visceral malformation was found.

Above data show that this method is sharp, dose-dependent, simple, economic and worthwhile for the primary screening of teratogenicity.

Introduction

In the previous report¹⁾, the author demonstrated that sulfadimethoxine induced a special type of malformation in the chick embryos, i.e. a curved deviated and short upper beak by injection of 20 mg of the drug into the albumen of the egg at the commencement of incubation, this malformation pattern was different from those produced by other sulfonamides, such as sulfanilamide, sulfathiazole, sulfaguanidine, sulfisoxazole, etc^{2,3,4,5)}. The malformations induced by those sulfonamides were parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome. The author also demonstrated

that sulfamoprine, the close structure isomer of sulfadimethoxine, induced malformations mostly of parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome, only quite a few cases were curved deviated and short upper beak, however sulfisomidine and its isomer, sulfamethazine induced same type of malformation, i.e. parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome.

This supplemental study was to show further the dose-response relationship of the teratogenic effects of the sulfa drugs with different methods of injection and also the investigation of skeletal and visceral malformations.

Materials and Methods

Eggs: Artificially fertilized eggs of White Leghorns of K₁₃₇ line, originally derived from Kimber Poultry Farm, U.S.A., which had been maintained as a closed flock were used. Fertility rate of the eggs was 80–90 %. The chickens were 12–24 month old, and had previously been vaccinated against Newcastle disease at the age of 5 months, no other medication such as coccidiostat was given, because sulfadimethoxine could be used as a coccidiostat.

Sulfonamides: Pure crystals of the following sulfonamides were used, which were ground as fine powders.

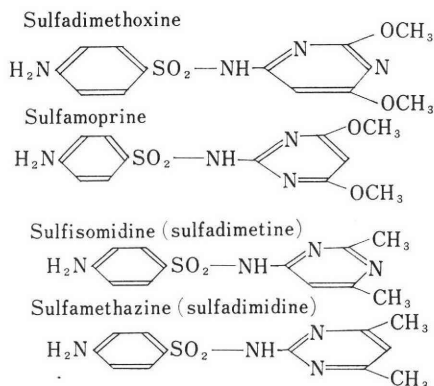
(1) Sulfadimethoxine: 6-sulfanilamido-2,4-dimethoxypyrimidine, Sulxin®, Omnibon®.

(2) Sulfamoprine: 2-sulfanilamido-4,6-dimethoxypyrimidine, Sulmox® (Imperial Chemical Industries, England).

(3) Sulfisomidine (sulfadimetine): 6-sulfanilamido-2,4-dimethylpyrimidine, Domian®.

(4) Sulfamethazine (sulfadimidine): 2-sulfanilamido-4,6-dimethylpyrimidine, Sulphamezathine® (Imperial Chemical Industries, England).

The chemical structures are shown as following.



Injection: Considering the relative positions of the blastoderm, the yolk sac and the albumen, three methods of injection were used, i.e. intra albumen injection, intra yolk sac to the central portion, and intra yolk sac near to blastoderm¹⁾.

As shown in Fig. 1, the blastoderm always tended to orientate at the upper pole of the yolk sac when the long axis of the egg was

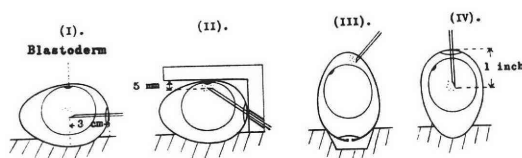


Fig. 1 Sites of injection¹⁾.

(I). Intra yolk sac to the central portion (designed by Yang)¹⁾

(II). Intra yolk sac near to blastoderm (designed by Chiu)^{1,6)}

(III). Intra albumen (Tsuno et al.)⁵⁾

(IV). Conventional technique of yolk sac inoculation

situated horizontally, and the yolk sac floated in the albumen, however, when the long axis of the egg was put vertically, the blastoderm was orientated near to the upper pole because the yolk sac was loosely fixed to both poles. Therefore the location of the drug injected, albumen or yolk sac, and the distances between blastoderm and the drugs in the yolk sac might influence the absorption rates in early embryonic life, because the sticky yolk impeded free diffusion of drug to the embryo at the early developmental stage, and also the chances of mechanical trauma to the embryo. The different absorption rates were proved by injection of thalidomide in eggs at the commencement of incubation or early embryonic stage with different methods of injection, the absorption rates were higher when thalidomide was injected near to the blastoderm, lower absorption rates were obtained by intra yolk sac injection to the central portion⁶⁾.

Suspensions of the sulfonamides and talc were made with distilled water containing 0.5 % carboxymethylcellulose, no antibiotic was added, the suspensions were sterilized by heat, then allowed to cool to room temperature. Recrystallization occurred in sulfisomidine, therefore the suspension was ground again.

Eggs were injected with single dose of 1, 20 and 36 mg of sulfadimethoxine or sulfamoprine in 0.1–0.3 ml of CMC solution. The latter dose 36 mg was equivalent on molar basis to 20 mg of sulfanilamide⁵⁾. In sulfisomidine and sulfamethazine, 20 and 32 mg were used, the latter dose was also

equivalent on molar basis to 20 mg of sulfanilamide⁵⁾. Eggs for control were injected with same weight of talc as a suspension in CMC. 300 intact eggs were also incubated for control of natural occurring malformations as shown in Table 6.

Rigid aseptic precautions were taken, after the puncture holes of the egg shell were sealed with paraffin vaseline mixture, the eggs were incubated at $38^{\circ}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and 75% relative humidity. The eggs were turned on their sides 4 times a day to avoid adhesion of the blastoderm to the shell, and were candled at different intervals. The embryos which died during the incubation period and the hatched chicks were examined for the presence of malformations.

Results

1. Phenotypes of the malformations

By injection of sulfadimethoxine, a specific malformation was induced, i.e. curved deviated and short upper beak, either to right or left side, Fig. 2, 3, occasionally the lower beak may turn upward resulting in a right angle, Fig. 5. This type of malformation is different from so called cross beak, in which both the upper and lower beaks are not curved. This drug induced malformation was unique, regardless of the different doses and sites of injection. However, by increasing the doses, higher malformation and mortality rates were obtained. As shown in Table 1 and 2, the malformation rates were 0%, 5.2%, 26.1% and 48.1% by injection of 1, 10, 20 and 36 mg intra albumen res-

Table 1 Teratogenic effects of 1, 10 or 36 mg of sulfadimethoxine in chick embryos

Injection sites	Dose mg	Volume ml 0.5% CMC in distilled water	No. of eggs injected	1-7 days mortality	8-14 days		15-21 days		Specific malformation
					mortality	malformation	survived	malformation	
Yolk sac center	0	0.5	20	11	1	0	8	0	0
	36	0.5	20	13	1	0	6	3 A : 3	A 3/7 (42.8%)
Yolk sac near blastoderm	0	0.3	20	12	3	0	5	0	0
	36	0.3	20	16	2	0	3	3 A : 2 E : 1	A 2/5 (40.0%)
Albumen	0	0.3	20	3	3	3 b : 1 E : 2	14	0	0
	36	0.3	20	8	3	2 A : 1 E : 1	9	7 A : 7	A 8/12 (66.7%)
Albumen	10	0.3	100	42	20	3 A : 2 E : 1	38	6 A : 1 A $\pm$: 5	A 3/58 (5.2%) A $\pm$ 5/58
Yolk sac center	0	0.5	20	12	1	0	7	0	0
	1	0.5	20	12	2	1 A $\pm$: 1	4	0	A $\pm$ 1/6
Yolk sac near blastoderm	0	0.3	20	12	1	0	7	0	0
	1	0.3	20	13	2	0	5	0	0
Albumen	0	0.3	20	12	0	0	8	0	0
	1	0.3	20	12	0	0	8	0	0

The drug was injected as a suspension in 0.5% CMC solution in distilled water, control groups were injected with CMC solution.

A : curved deviated and short upper beak.

A $\pm$: mild A type malformation.

b : simple brachygnathia superior.

E : eye defect.

Table 2 Teratogenic effects of 20 or 36 mg of sulfadimethoxine in chick embryos

Injected materials	Injection sites	No. of eggs injected	1-7 days mortality	8-14 days		15-21 days		Total malformation rates	Specific malformation A or B
				mortality	malformation	survived	malformation		
Sulfadimethoxine 20 mg	yolk sac center	200	72 (36%)	69	13 A : 12 h : 1	59	20 A : 17 b : 3	33/128 (25.8%)	A 29/128 (22.7%)
Talc 20mg	"	100	38 (38%)	9	0	53	0	0/62 (0%)	0/62 (0%)
Sulfadimethoxine 20 mg	yolk sac near blastoderm	100	47 (47%)	37	9 A : 8 E : 1	16	11 A : 10 B : 1	20/53 (37.8%)	A 18/53 (33.9%) B 1/53 (1.9%)
Talc 20mg	"	100	53 (53%)	22	0	23	2 E : 1 bE : 1	2/45 (4.4%)	0/45 (0%)
Sulfadimethoxine 20 mg	albumen	400	197 (49.3%)	158	22 A : 13 L : 2 E : 7	45	42 A : 40 B : 1 b : 1	64/203 (31.5%)	A 53/203 (26.1%) B 1/203 (0.5%)
Talc 20mg	"	150	84 (56.0%)	21	9 E : 8 L L : 1	45	3 E : 2 c : 1	12/66 (18.2%)	0/66 (0%)
Sulfadimethoxine 36 mg	"	70	43 (61.4%)	16	7 A : 5 h : 1 E : 1	11	9 A : 8 b : 1	16/27 (59.3%)	A 13/27 (48.1%)
Talc 36mg	"	50	35 (70%)	10	1 E : 1	5	0	1/15 (6.7%)	0/15 (0%)

The drug was injected as a suspension in 0.1 or 0.2 ml of 0.5% CMC solution in distilled water, control groups were injected with same weight of talc in same volume of CMC solution.

- A : curved deviated and short upper beak.
 B : parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome.
 b : simple brachygnathia superior.
 c : acrania.
 E : eye defect.
 h : heart anomaly, herniation.
 L L : sympodia.

pectively, also the intensities of the malformation were severer when the doses were increased, Fig. 2, 3. As shown in Table 2, the malformation rates by injection of 20 mg of sulfadimethoxine were 22.7%, 33.9% and 26.1% with injection sites of intra yolk sac to the central portion, intra yolk sac near to blastoderm, and intra albumen respectively, the early mortality rates were 36%, 47% and 49.3% respectively, at the sametime the malformation rates and mortality rates in the control groups using talc suspension also almost paralleled to the drug injected

groups, however, the malformations were not specific, such as anophthalmus, microphthalmus, simple brachygnathia superior, Fig. 10 or acrania, Fig. 10, etc.

As shown in Table 3, the majority of the malformations induced by sulfamoprine, the isomer of sulfadimethoxine, was parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome resembling achondroplasia, Fig. 6, 7, only quite a few showed curved deviated and short upper beak. As shown in Table 4 and 5, the malformations induced by sulfisomidine, Fig. 8, and its

Table 3 Teratogenic effects of 20 mg of sulfamoprine in chick embryos

Injection sites	No. of eggs injected	1-7 days mortality	8-14 days		15-21 days		Total malformation rates	Specific malformation B or A
			mortality	malformation	survived	malformation		
Yolk sac center	100	47 (47%)	22	11 B : 3 B ± : 7 E : 1	31	13 B : 6 L : 2 F : 3 F L : 2	24/53 (45.3%)	B 9/53 (19.0%)
Albumen	200	104 (52.0%)	83	18 B : 16 E : 2	13	10 B : 7 A : 3	28/96 (29.2%)	B 23/96 (24.0%) A 3/96 (3.1%)

The drug was injected as a suspension in 0.1 ml of 0.5% CMC solution.

A : curved deviated and short upper beak.

B : parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome.

B ± : mild B type malformation.

L : short legs.

F : poor feather formation.

E : eye defect.

Table 4 Teratogenic effect of 20 or 32 mg of sulfsomidine in chick embryos

Doses	Injection site	No. of eggs injected	1-7 days mortality	8-14 days		15-21 days		Total malformation rates	Specific malformation
				mortality	malformation	survived	malformation		
20 mg	albumen	100	56 (56%)	12	2 B : 1 E : 1	32	18 B : 18	20/44 (45.5%)	B 19/44 (43.2%)
32 mg	albumen	80	45 (56.3%)	8	2 L : 2	27	19 B : 17 E : 2	21/35 (60.0%)	B 17/35 (48.6%)

The drug was injected as a suspension in 0.1 or 0.2 ml of 0.5% CMC solution.

B : parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome.

E : eye defect.

L : short legs.

Table 5 Teratogenic effects of 20 or 32 mg of sulfamethazine in chick embryos

Doses	Injection sites	No. of eggs injected	1-7 days mortality	8-14 days		15-21 days		Total malformation rates	Specific malformation
				mortality	malformation	survived	malformation		
32 mg	yolk sac center	20	11 (55%)	6	4 B : 2 E : 2	3	1 B : 1	5/9 (55.6%)	B 3/9 (33.3%)
20 mg	albumen	100	52 (52%)	21	8 B : 6 E : 2	27	14 B : 14	22/48 (45.8%)	B 20/48 (41.7%)
32 mg	albumen	80	44 (55%)	28	13 B : 9 E : 2 L : 2	9	5 B : 5	18/37 (48.6%)	B 14/37 (37.8%)

The drug was injected as a suspension in 0.1 or 0.2 ml of 0.5% CMC solution.

B : parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome.

E : eye defect.

L : short legs.

Table 6 Spontaneous malformations in the untreated eggs

No. of eggs	1-7 days mortality	8-14 days		15-21 days		Total malformation rates	Corrected malformation rates for A or B
		mortality	malformation	mortality	malformation		
300	59 (19.7%)	24	0	217	2* **	2/241 (0.83%)	0/241 (0%)

* anophthalmus, agnathia superior and acrania.

** cyclopia and double beak.

isomer sulfamethazine, Fig. 9, were of the same type, i.e. parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome.

2. Skeletal anomalies

Alizarin red-S stain of the skeleton in 10 typical specimens of sulfadimethoxine-induced malformation revealed no reduction in number of the bones, Fig. 4. However, skeletal stain in the malformations induced by sulfamoprime, sulfisomidine and sulfamethazine revealed thickened and shortened long bones of the legs and wings, especially the tibiotarsus and tarsometatarsus, which also bent medially, however no reduction in number of the bones was found.

3. Visceral malformation

No gross visceral malformation was found in the sulfonamides-induced malformations.

Discussion

Chick embryos were chosen for the study of teratogenic action of sulfonamides in the present experiment, because there were several investigations already been established^{2,3,4,5}, certain type of malformation had been induced by various sulfonamides, which might serve as a parameter for the comparison of teratogenic action of the sulfa drugs with different but related chemical structures in this study.

Furthermore, basic embryological knowledge about this species is available and because its developmental stages and the doses can be easily controlled, besides chick embryo is not protected by the maternal environment, thus the drugs given do not mediate through maternal influence or metabolism, thus the abnormalities induced can be attributed to the direct action of the drugs to the fetus. This is particularly important as in the study of structure-activity relationship of the drugs, this ad-

vantage can not be achieved in mammals such as rat or mouse.

In the present study, a special type of malformation was induced in chick embryos by sulfadimethoxine, i.e. curved deviated and short upper beak, this was different from so called cross beak due to other factors, for instance maybe a rare natural occurring anomaly, also the sulfadimethoxine-induced malformation was different from the previously reported malformations by other sulfonamides, i.e. parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome.

It was demonstrated by Paget and Thorpe that sulfamoprime induced deviation of the midline suture of the skull and malocclusion of the incisor teeth and brachygnathia in the offsprings of mouse and rat⁷, however sulfamethazine in similar experiments revealed no effect on the same animals⁷. Furthermore, rabbit was not susceptible to sulfamoprime⁷. Nevertheless, in the present experiment, both sulfamoprime and sulfamethazine induced specific type of malformation, therefore by considering the susceptibility of chick embryos to the sulfadugs as in the present experiment, it would be considered as a sharp, simple and economic method of screening test for drug safety and as a tool for investigation in the comparison of different teratogenic effects of chemicals with related structures. The additional use of this method for the primary screening would be invaluable. Further studies are expected to explore the equal relation with other series of the compounds and mammalian species.

References

- 1) Yang, T. S.: J. Formosan Med. Assoc., 72, 450-457 (1973).
- 2) Ancel, P., Lallemand, S.: C. R. Soc. de Biol., 136, 255-256 (1942).
- 3) Zwilling, E., DeBell, J. T.: J. Exp. Zool.,

- 115, 59-81 (1950).
- 4) Matsumoto, T.: Jap. Pharm. J., 53, 249-280 (1957).
- 5) Tsunoo, S., Takahasi, K., Kato, S., Nagamura, Y., Yafuso, T., Nakagawa, R., Besso, T., Kimura, I.: Jap. Pharm. J., 55, 1051-1060 (1959).
- 6) Chiu, W. H., Yu, K. Y., Yang, T. S., Hsu, C. T.: J. Obst. & Gyn. Repub. of China, 3, 192 (1964).
- 7) Paget, G. E., Thorpe, E.: Brit. J. Pharm. and Chemotherapy, 23, 305-312 (1964).

サルファ剤の鶏胎仔に及ぼす 催奇作用 (第2報)

楊 子 思

(台北医学院台北市立仁愛醫院
産婦人科生殖生理科)

サルファ剤の鶏胎仔に及ぼす催奇作用を比較した。検体は 1, 20, 36 又は 32 mg の量を使った。注射の部位

は卵黄中心部、卵黄内胚葉近く、又は卵白内である。Sulfadimethoxine (SMX) は特有の嘴変形を起こした。すなわち上くちばしが曲り、偏奇して短く、偏奇は左右とも発生した。ときどき下くちばしは上方に曲り直角となった。羽毛には異常がなかった。奇形発生率とその程度は薬の量と平行した。奇形は注射の部位にかかわらず独特であった。ただし奇形の発生率と死亡率は卵黄中心部、卵白内、卵黄内の胚葉近くに注射することによって増加した。アリザリン染色によっても、化骨遅延、骨数減少および奇形はみられなく、内臓奇形もなかった。SMX 異性体 sulfamoprine による奇形の大部分および sulfisomidine とその異性体 sulfamethazine による奇形はオウム嘴、太く短い脚と羽毛發育不全の症候群であった。この特有の奇形は注射部位にかかわらず独特であり、薬量反応相対関係を示した。アリザリン染色によると軟骨形成不全のような変化があり、管状骨は短く肥厚し、特に脛足根骨と足根中足骨は短く内彎していた。骨減少奇形はなかった。内臓奇形も見られなかった。

以上の結果は鋭敏で用量に比例し、手技、経済性の点で無理の少ない方法なので、催奇性の一次スクリーニングに加えられる可能性を示している。

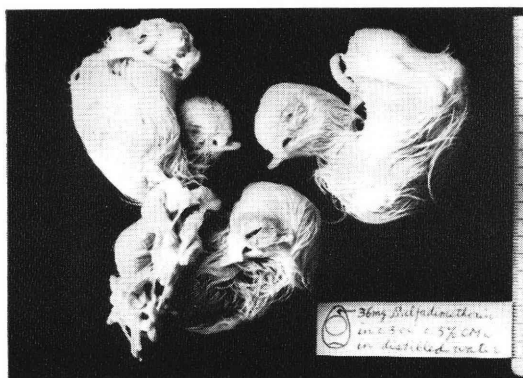


Fig. 2 Curved deviated and short upper beak in chick embryos induced by injection of 36 mg of sulfadimethoxine into the albumen.

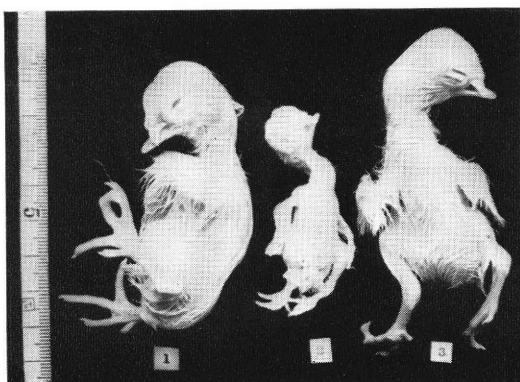


Fig. 3 Same beak malformation was induced by injection of 20 mg of sulfadimethoxine into yolk sac at the center, yolk sac near to blastoderm and albumen respectively, from left to right.

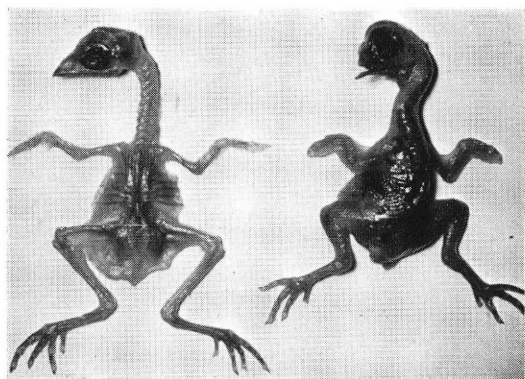


Fig. 4 Alizarin red-S stain of the skeleton in sulfadimethoxine-induced malformation on right, normal control on left.



Fig. 5 Occasionally in sulfadimethoxine-induced malformation, the lower beak also bent upward.

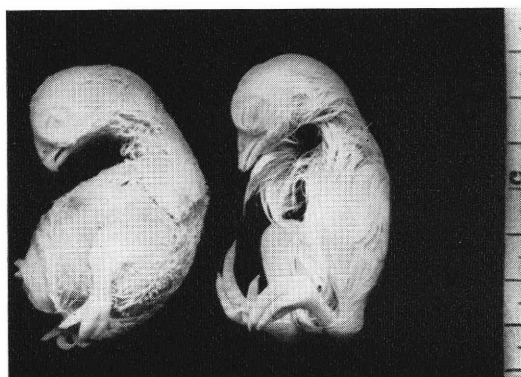


Fig. 6 Parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome induced by injection of 20 mg of sulfamoprine into the albumen on left; control on right.

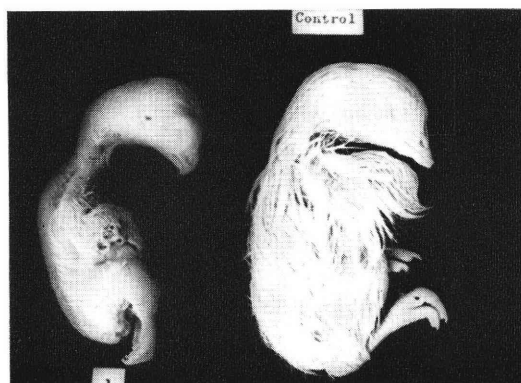


Fig. 7 Same malformation as Fig. 6 induced by injection of 20 mg of sulfamoprine into yolk sac at the center.

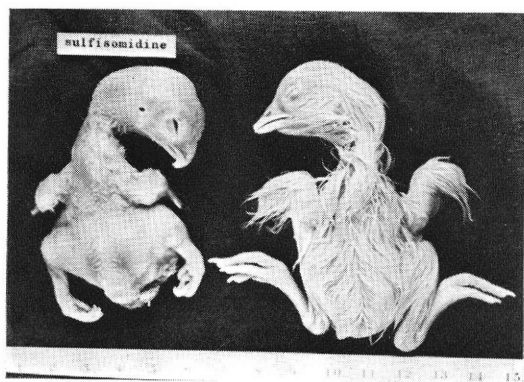


Fig. 8 Parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome induced by injection of 32 mg of sulfisomidine into albumen. Control on right.

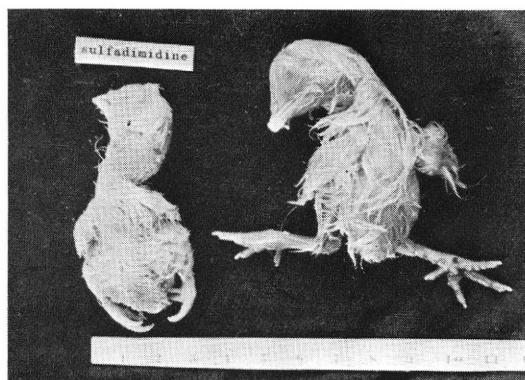


Fig. 9 Parrot beak, thick and short legs and poor feather formation syndrome induced by injection of 32 mg of sulfamethazine into albumen on left, control on right.

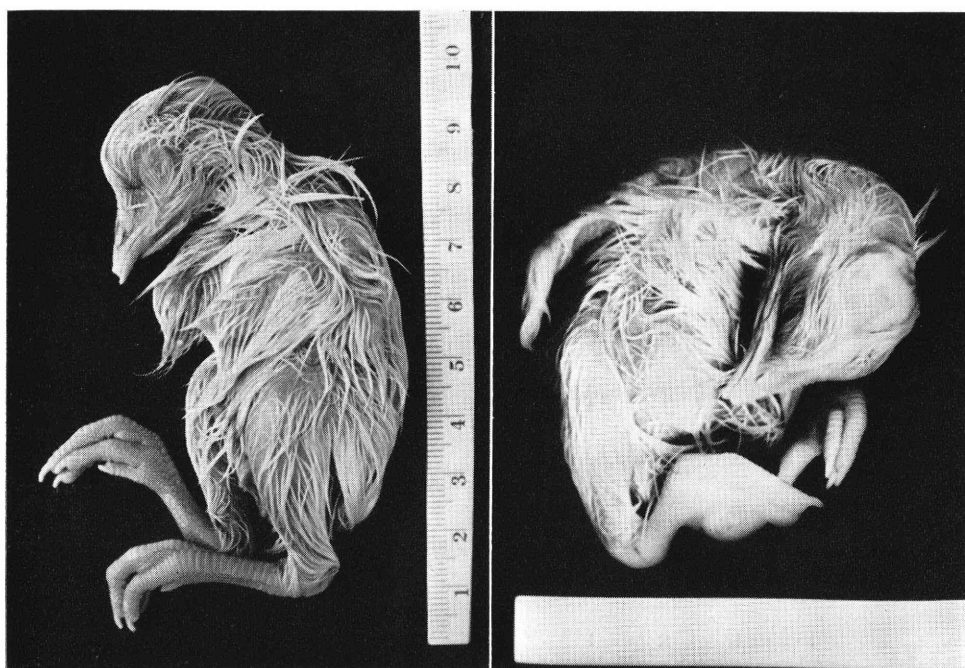


Fig. 10 Non specific malformations observed in control groups, on left, anophthalmus and simple brachygnathia superior; on right, acrania.

ウシ卵胞の性ステロイド生合成機能

Steroid Hormone Formation in Bovine Ovarian Follicles *in Vitro*

京都大学医学部婦人科学産科学教室

森 崇 英 鈴木 瞭

Takahide MORI Akira SUZUKI

藤 田 泰 彦 西 村 敏 雄

Yasuhiko FUJITA Toshio NISHIMURA

Department of Obstetrics and Gynecology, Kyoto University
School of Medicine, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

ウシ卵胞の *in vitro* に於ける性ステロイド生合成機能とこれに及ぼすヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) の影響を検討するため、ウシ卵巣より摘出した卵胞のミンスを acetate- ^{14}C または testosterone- ^{14}C を基質として incubation を行い、9種のステロイドへの ^{14}C のとりこみを測定した。

Testosterone- ^{14}C より estrogen への転換は対照で0.49%, hCG 添加実験で0.37%で、testosterone の芳香化は hCG により約30%の減少を認めた。

Acetate- ^{14}C を基質とした場合の主要産生ステロイドは 4-androstenedione と testosterone で、この2つで全体の85%近くを占めた。また少量ではあるが estrogen の産生も認められた。acetate- ^{14}C より各ステロイドへの ^{14}C の取りこみは hCG 添加により約50%の増加を認めた。実験に用いた卵胞が組織学的に閉鎖卵胞の像を呈していたことから、以上の結果はウシ閉鎖卵胞の性ステロイド生合成機能を反映したものと考えられる。

緒 言

黄体の性ステロイド生合成機能を *in vitro* に於いて acetate- ^{14}C から産生されるステロイドのパターンからみた場合、Savard¹⁾の報告したように2つのタイプに分けられる。その1つは progestin のみの産生がみられるウシ黄体^{1,2,3)}に属するタイプであり、他の1つはヒト黄体⁴⁾のごとく estrogen を含む多岐にわたるステロイド産生をみるタイプである。一方卵胞の性ステロイド生合成機能を同様に acetate- ^{14}C からのとりこみから検討すると、ヒトに関しては Ryan⁵⁾ 及び森他⁶⁾ により成熟卵胞と閉鎖卵胞では異なつたパターンがあることが報告されている。しかしウシ卵胞についてはこれまで十分な情報が得られていない。

今回我々はウシ卵胞の性ステロイド生合成機能及び *in vitro* に於ける human chorionic gonadotropin

(hCG) のステロイド生合成に及ぼす影響を検討し、有意義な知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 化学薬品及び性腺刺激ホルモン

実験に用いた有機溶媒はすべて市販の特級で、使用前に再蒸留してから用いた。基質として用いた sodium acetate-1- ^{14}C (61.8 mCi/mmmole) 及び testosterone-4- ^{14}C (58.8 mCi/mmmole)、回収率補正用に用いた ^3H で標識されたステロイドはすべて New England Nuclear Corporation, Boston, Mass. より購入し、testosterone- ^{14}C は濾紙クロマトグラフィー、 ^3H -steroids は薄層クロマトグラフィーにて純化してから使用した。

Human chorionic gonadotropin (hCG) は Ayerst Laboratories, New York N.Y. より提供を受けた。

2. Acetylation and Saponification

表 1 Sources of materials and substrates used

Experiment number	Incubation number	Substrates	Number of ovaries used	Tissue weight employed (mg)	
				Control	hCG
I	1	testosterone-4- ¹⁴ C 2.0 μ Ci	5	268.7	276.6
II	4	acetate-1- ¹⁴ C 100 μ Ci	36	2173.0	1938.6

表 2 ステロイドの化学名と略称

Steroids	Trivial names	Abbreviations
3 β -hydroxypregn-5-en-20-one	pregnenolone	Preg.
3 β , 17 α -dihydroxypregn-5-en-20-one	17-hydroxypregnenolone	17HOPreg.
pregn-4-ene-3,20-dione	progesterone	Prog.
17 α -hydroxypregn-4-ene-3,20-dione	17-hydroxyprogesterone	17HOProg.
3 β -hydroxyandrost-5-en-17-one	dehydroepiandrosterone	DHA
androst-4-ene-3,17-dione	androstenedione	And.
17 β -hydroxyandrost-4-en-3-one	testosterone	Test.
3-hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-17-one	estrone	E-1
estra-1,3,5(10)-triene-3,17 β -diol	estradiol-17 β	E-2

アセチル化は乾燥したサンプルに0.5mlのピリジンと0.5mlの無水酢酸を加え、室温にて18時間反応させて行つた。

Testosterone acetate の saponification は乾燥したサンプルに50%エタノールに5%の割合に苛性ソーダを含む試薬 20ml を加え、遮光下に24時間室温にて反応せしめた。

3. 卵胞の摘出とインキュベーション (表1)

非妊ウシより得た新鮮な卵巣より氷冷した生理的食塩水中にて直径5~30mmの卵胞を摘出した。5~13個の卵巣より得た卵胞を集め1部を組織学的検索用に切除した後、残りを細切してミンスを作成し、ほぼ同量に2等分して、一方は control とし、他の一方は hCG を加えて incubation を行つた。添加した hCG の量は Rice et al.⁷⁾ の報告に準じ、ヒト黄体のステロイド生合成を最も増大せしめるとされている量、すなわち medium 1 ml に 100 国際単位 (IU) を添加した。インキュベーションの方法は Mason et al.²⁾ の報告と同様で、4 ml の Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液 (pH 7.4) に基質として 2 μ Ci の testosterone-4-¹⁴C 又は 100 μ Ci の sodium acetate-1-¹⁴C を加え、95%O₂+5%CO₂の気相下に 37°C、3時間の incubation を行つた。用いた基質、卵巣の個数、組織の重量などは表1に示す通りである。終了後は -20°C のフリーザーにて凍結して反応を停止せしめ、分析を施行するまでそのまま保存した。

4. ステロイドの抽出、分離、同定 (図1、表2)

ステロイドの分析は progestogen, androgen, estro-

gen にわたる 9 種のステロイドを目標として reverse dilution technique⁴⁾ に行つた。目標としたステロイドの化学名と略称は表2に示した通りである。方法の詳細はすでに報告した⁸⁾ので省略するが、carrier として 100 μ g の各ステロイドと回収率補正用に 0.1 μ Ci の ³H-steroids を加えた後 homogenize し、図1に示すごとき操作にて9種のステロイドを分離純化した。

分離した各ステロイドは methanol-water, hexane-acetone, hexane-ethyl acetate などの溶媒系を用いて比放射活性が一定となるまで再結晶を繰り返し、放射化学的に均質であることを同定した。また testosterone の放射化学的均質性は saponification 前後の比放射活性が一定なることによつてさらに確認した。

5. 放射能の測定

放射能の測定は Packard Tri-Carb liquid scintillation counter, Model 3375 にて duplicate で行つた。測定効率は ¹⁴C については44.5%、³H については43.5%であつた。測定結果は dpm に換算して記録し、ステロイドに取り込まれた放射能は回収率を補正して組織 1 g 当りの dpm にて表わした。

実験結果

1. 使用した卵胞の組織学的所見

実験に供した卵胞の組織学的所見は以下のごとくである。内、外莖膜細胞層が著明に増殖し、少量の顆粒膜細胞と間質組織も認められた。莖膜細胞層は類上皮性変化をとげているが、黄体化は完全ではなかつた。一方顆粒

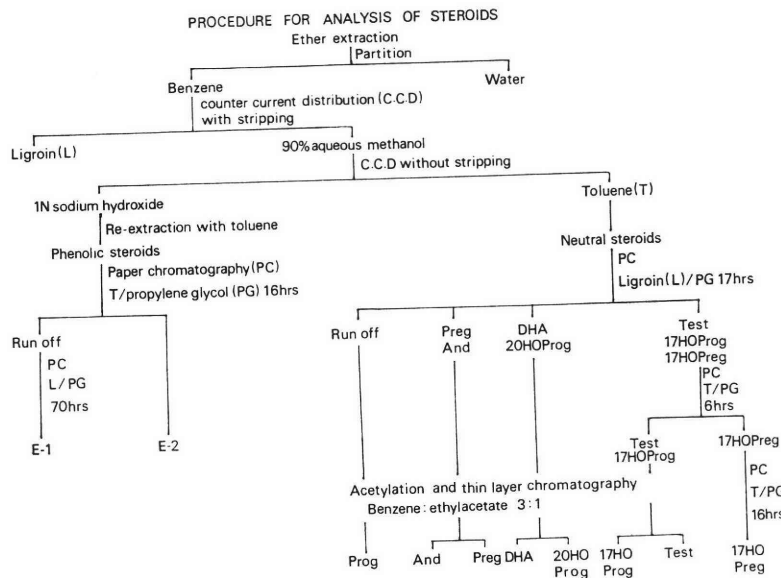


図 1 ステロイドの分析方法

表 3 Conversion of testosterone-4-¹⁴C into radioactive estrone and estradiol-17 β by bovine follicle minces in vitro and the effect of human chorionic gonadotropin.^a

Compounds	Incorporation of acetate- ¹⁴ C		
	Control	hCG	
	dpm/g tissue	dpm/g tissue	percent of control
Estrone	41,200	27,900	67.8
Estradiol	26,400	19,600	74.3
Total estrogen ^b	67,600	47,500	70.3

a: Bovine follicle minces were incubated with 2.0 μ Ci of testosterone-4-¹⁴C in 4.0 ml of Krebs-Ringer bicarbonate buffer, pH 7.4, for 3 hours at 37°C under 95% O₂+5% CO₂,
b: Combined accumulation of radioactivity into estrone and estradiol-17 β .

膜細胞層は変性しており、mitotic figure や黄体化像は認められなかった。すなわち本実験に用いた卵胞組織は閉鎖卵胞の像を呈していた。

2. Testosterone-¹⁴C より estrogen への転換 (表 3)

この実験は precursor として testosterone-¹⁴C を用い、実験に使用した組織が芳香化活性を有していることを確認する目的で行った。表 3 に示すごとく、対照群では 0.49% の、hCG 添加群では 0.37% の Test から E-1 および E-2 への転換が認められた。estrogen の絶対量は対照群では 611 μ moles、hCG 添加群では 430 μ moles であつた。Oakey and Stich⁹⁾ の報告によれば同一の実験条件下において成熟卵胞における Test. から E-1、E-2 への転換は組織 1 g 当り 197 μ moles から 871 μ moles である。従つて本実験に用いた卵胞組織は芳香化活性を充分有していることが確認出来たといえよう。

3. Acetate-¹⁴C より ステロイド 生合成 パターン (表 4、図 2)

Acetate-¹⁴C を substrate とした場合の実験結果は表 4、図 2 に示した通りである。

And. および Test. の 2 つが主要産生ステロイドで、DHA、17HOProg. の産生がこれに続き、Prog., 17HOProg., E-1、E-2 へのとりこみは少なく、対照、hCG 添加実験とも 1% 以下であつた。And., Test. への¹⁴C のとりこみの合計は実に対照例で 84.3%、hCG 添加例で 86.6% にも達している。

また対照実験においては 17HOProg. と DHA へのとりこみの和と Prog. と 17HOProg. へのとりこみの和がほぼ同じ値を示した。

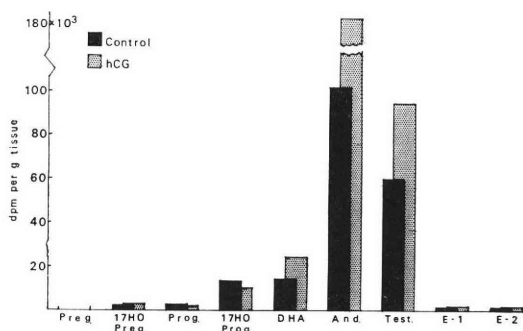
4. In vitro に於ける hCG の効果

表 4 にみられるごとく in vitro に hCG を添加した

表 4 Radioactive steroids formed from acetate- ^{14}C by follicle minces in vitro and the effect of human chorionic gonadotropin.^a

Compounds	Incorporation of acetate- ^{14}C		
	Control	hCG	
	dpm/g tissue	dpm/g tissue	percent of control
Prog.	2,000	1,930	97
17HOPreg.	1,400	1,740	124
17HOProg.	13,400	10,600	80
DHA	14,500	24,600	170
And.	113,000	173,000	154
Test.	59,800	94,500	158
E-1	637	1,300	204
E-2	439	1,010	230
Total	205,000	309,000	151

a: Bovine follicle minces were incubated with $100\mu\text{Ci}$ of acetate- ^{14}C in 4.0 ml of Krebs-Ringer bicarbonate buffer, pH 7.4, for 3 hours at 37°C under 95% $\text{O}_2 + 5\%$ CO_2 . Four incubations were collected.

図 2 Acetate- ^{14}C incorporation into steroids by bovine follicles, effect of hCG-in vitro

場合の総取り込みは対照の約50%近くの増加を示した。しかし hCG 添加による効果はステロイドによつて差が認められ、androgen および estrogen は著明に増加するが、17HOProg. あるいは Prog. へのとりこみの増加は認められなかった。また17HOPreg. と DHA へのとりこみの合計は hCG 添加により66%の増加を認めたが、17HOProg. と Prog. へのとりこみ値の和は対照と不変であつた。また hCG 添加により Test. から estrogen への転換が約30%減少したことは興味のある事実である(表3)。

考 按

ウシ黄体の性ステロイド生合成に関する組織生理的意義は Savard and Telegdy¹⁾ の報告によつて明らかにされており、ウシ黄体は最も単純なタイプで、acetate- ^{14}C

から産生されるステロイドは Prog., 20β -hydroxy-4-pregnen-3-one のみである。一方ウシ卵胞の性ステロイド生合成機能に関する組織生理的意義についての報告は少く、前述の Oakey and Stich⁹⁾ が testosterone を基質として芳香化能を検討した報告にとどまる。

今回の検討によりウシ卵胞において acetate- ^{14}C から産生されるステロイドは progestogen, androgen, estrogen を含む多岐に亘るが、予想に反し C_{18} ステロイドよりむしろ C_{19} ステロイドが主であることが判明した。このことは排卵過程にある家兎卵胞が一過性に androgen 優位の性ステロイド生合成機能をもっているというわれわれの検討成績⁹⁾ と合わせ考えると興味深い。卵胞において産生される androgen が何らかの生殖生理的意義を有するのか、あるいは単なる中間代謝物であるかは現時点では不明であり今後の検討を要する問題であろう。

ヒト卵胞の性ステロイド生合成機能を acetate- ^{14}C から各ステロイドへのとりこみからみた場合の主要産生ステロイドは成熟卵胞においては E-1, E-2 であり⁵⁾、閉鎖卵胞においては And., DHA, 17HOProg. である⁶⁾と報告されている。

このような事実からみて卵胞のステロイド生合成機能は均質な細胞集団である黄体と異なり、卵胞上皮の組織構成に応じて変るものと推測される。本実験に用いた卵胞組織は主として閉鎖卵胞の像を呈しており、ステロイド生合成パターンもヒト閉鎖卵胞によく類似するものであつた。このことから考えて今回の検討によつて得られたステロイド生合成パターンはウシ閉鎖卵胞の性ステロ

イド生合成機能を反映したものと考えられる。

次に *in vitro* に加えた hCG のステロイド生合成機能に対する効果について考察してみたい。

今回の実験において、*in vitro* に hCG を添加した場合 acetate- ^{14}C より 9 種のステロイドへの総取り込みは約 1.5 倍に増加したのに対し、testosterone- ^{14}C より estrogen への転換は約 30 % の減少を認めた。両者は一見相反する結果と見られるが Test. から E-1, E-2 への転換の減少は hCG の添加によつて Test. 合成に至る pathway が促進された結果、Test. の endogenous pool の増加が起り、ために基質として加えた testosterone- ^{14}C が dilute されたためではないかと考えられる。Oakey and Stich⁹⁾ も同様のウシ卵胞のインキュベーション実験において ovine FSH を *in vitro* に添加した場合、testosterone- ^{14}C から転換産生される radioactive estrogen が減少することを報告している。

また今回の実験に於いて hCG の添加によつて 17HO-Preg. と DHA への ^{14}C のとりこみは増加したが、Prog., 17HOProg. へのとりこみは変化しなかつた。

このような各ステロイド間における hCG に対する反応の差は、恐らく卵胞を構成する 2 型の細胞すなわち顆粒膜細胞と莢膜細胞の相対量や活性の差によるものと考えられ、今後これら 2 細胞のステロイド生合成における細胞生理の検討が望まれるところである。

ま と め

ウシ卵胞の性ステロイド生合成機能を testosterone- ^{14}C より estrogen への転換、acetate- ^{14}C より各ステロイドへの ^{14}C の取り込みおよびそれに対する *in vitro* に於ける hCG の効果の面から検討した。その結果 acetate- ^{14}C から産生される主要ステロイドは 4-androstenedione, testosterone の 2 つであり、また *in vitro* に添加した hCG は acetate- ^{14}C より各ステロイドへの ^{14}C のとりこみを増加するが、testosterone- ^{14}C から estrone, estradiol- 17β への転換は減少することが判明した。

文 献

- 1) Savard, K. and Telegdy, G.: Steroid formation in the bovine corpus luteum, Steroids, 5: Suppl. II, 205, 1965.
- 2) Mason, N. R., Marsh, J. M. and Savard, K.: An action of gonadotropin *in vitro*, J. Biol. Chem. 237: 1801, 1962.
- 3) Savard, K. and Casey, P. J.: Effects of pituitary hormones and NADPH on acetate utilization in ovarian and adrenocortical ti-

ssues. Endocrinology 74: 599, 1964.

- 4) Hammerstein, J., Rice, B. F. and Savard, K.: Steroid hormone formation in the human ovary: I Identification of steroids formed *in vitro* from acetate- $1\text{-}^{14}\text{C}$ in the corpus luteum. J. Clin. Endocrinol. Metab. 24: 597, 1964.
- 5) Ryan, K. J. and Smith, O. W.: Biosynthesis of estrogen by the human ovary. IV Formation of neutral steroid intermediates. J. Biol. Chem. 236: 2207, 1961.
- 6) 森 崇英, 鈴木 瞭, 森川博史, 北川道夫, 西村敏雄: ヒト卵巣の閉鎖卵胞におけるステロイド生合成機能とこれに及ぼす *in vitro* での hCG の影響, 日産婦誌, 27: 991, 1975.
- 7) Rice, B. F., Hammerstein, J. and Savard, K.: Steroid hormone formation in the human ovary: II Action of gonadotropin *in vitro* in the corpus luteum. J. Clin. Endocrinol. Metab. 24: 606, 1964.
- 8) 鈴木 瞭, 森 崇英, 西村敏雄: 排卵過程における家兎卵胞の性ステロイド生合成機能に関する研究, 日内分泌誌, 52: 197, 1976.
- 9) Oakey, R. E. and Stich, S. R.: Oestrogen biosynthesis by segments of bovine follicle and the effect of follicle stimulating hormone preparations, Acta Endocrinol. (kbh), 58: 407, 1968.

Steroid hormone formation in bovine ovarian follicles *in vitro*

Takahide Mori, Akira Suzuki, Yasuhiko Fujita and Toshio Nishimura

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyoto University School of Medicine,
Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

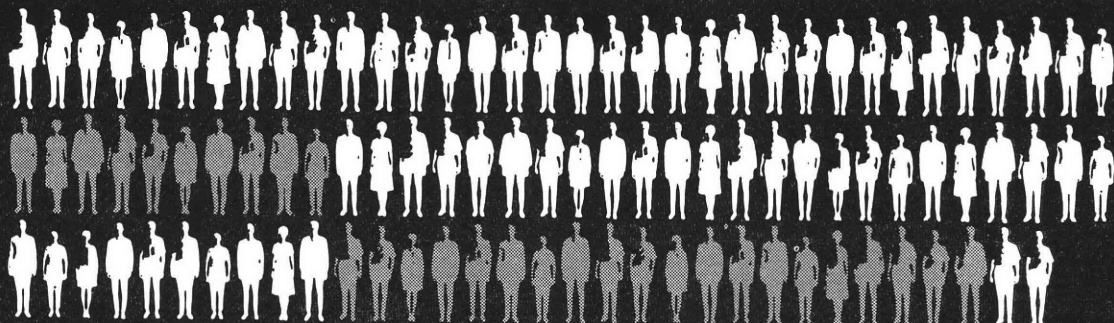
Histophysiological implication of the follicular compartment of the bovine ovary in steroid hormone formation and the effect of human chorionic gonadotropin (hCG) *in vitro* on follicular steroidogenesis have been investigated.

Follicles of 5-30 mm in diameter were mechanically isolated from non-gravid bovine ovaries and minced, then the minces of follicular tissues were incubated with radioactive testosterone or acetate in Krebs-Ringer bicarbonate buffer for 3 hours at 37°C in the presence and absence of hCG. Incorporations of radioactivity into pregnenolone, progesterone, 17-hydroxypregnenolone, 17-hydroxyprogesterone, dehydroepiandrosterone, 4-androstenedione, testosterone, estrone and estradiol- 17β were assessed by reverse isotope dilution technique with recrystallization to constant specific activity.

Incubation with testosterone-4- ^{14}C yielded significant amounts of estrone and estradiol- 17β ; hCG decreased the conversion approximately by 30%. The major steroidal products formed from acetate- ^{14}C were 4-androstenedione and testosterone with lesser amounts of dehydroepiandrosterone and 17-hydroxyprogesterone. The combined incorporation into androstenedione and testosterone consisted of approximately 85% of overall incorporation. In addition, small amounts of progesterone, 17-hydroxypregnenolone, estrone and estradiol- 17β were formed. HCG

added *in vitro* increased the overall incorporation of radioactive acetate into steroids approximately by 50%, although the increases was not uniform in the individual steroids under the experimental condition. Histology of the dissected follicle specimen was characterized by dominant theca cells undergoing luteinization with small amounts of granulosa cells, which showed neither proliferation nor luteinization.

The results obtained would appear to represent steroidogenic pattern of non-stimulated or atretic follicles of bovine ovaries.



ショックを起こした患者100名のうち、30名は死に到ります。

これは以前に比べるとかなり改善された数字です。しかし、もっと引き下げられる数字でもあります。*

■ご使用の際は、製品添付の文書の用法・用量・使用上の注意等をご覧ください。

* Blair, E., et al.: J.A.M.A., 207: 333-336 (Jan. 13) 1969.

水溶性副腎皮質ホルモン製剤

ショックに **ソル・コ・テフ** MIX-O-VIAL

250
500
1000

Upjohn

日本アップジョン株式会社
東京都新宿区西新宿2-6-1

インポテンスの診断におけるサーモグラフィーの応用

Clinical Evaluation of Penile Thermography in Differential Diagnosis of Impotence

山口大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 酒徳治三郎教授)

越戸 克 和 多 嘉 良 稔 酒 徳 治 三 郎

Yoshikazu KOSHIDO Minoru TAKARA Jisaburo SAKATOKU

Department of Urology, Yamaguchi University School of Medicine
(Director: Prof. J. Sakatoku)

インポテンスの原因が器質的なものか機能的なものかの客観的な鑑別は実際的には困難であり、従来よりこのために種々の特殊診断法が試みられて来た。白井らの radioisotope penogram も価値ある方法ではあるが RI を用意しなければならない。

著者らは勃起時の血流増加にもとづく陰茎皮膚温の上昇に注目し、温度パターンを輻射線としてとらえ映像パターンとして表現するサーモグラフィーを利用して観察を行い、さらに視覚的刺激およびフジカピン投与による影響を検索した。まず正常男子7例について検討を加えたところ、著明な温度上昇をみとめた。またインポテンスの9例についてサーモグラフィーを行い、その鑑別診断ならびに治療経過の観察に有用であった。

本法は非接触法であり、有害な副作用がなく患者に苦痛を与えない、また繰返し実施ができ、かつ操作が簡単である点などから、極めて実用性が高いと考える。

緒 言

従来泌尿器科領域においては、不妊を訴える患者は研究治療の対象として関心が持たれるが、インポテンスを訴える患者はともすれば等閑にされる傾向であつた。しかしながら基本的人権の尊重が叫ばれる今日、生命に直接関係ない故に無視され勝ちであつたインポテンスに関する問題が顕在化して来たことは周知の事実である。

インポテンスは本邦では陰萎、性的不能症等に訳されているが、その定義について金子¹⁾は、「性欲、勃起、性交、射精及び極致感のいずれか1つ以上欠けるか若しくは不十分なもの」をインポテンスと定義しており、これが一般に用いられている。又インポテンスの分類法も Ultzmann(1885)²⁾の生殖不能症(Impotentia generandi)及び性交不能症(Impotentia coeundi)に大別し、後者を更に 1) 器質的不能症(Organische Impotenz)、絶対不能症(Absolute Impotenz)、2) 精神性不能症(Ps-

ychische Impotenz)、比較的不能症(Relative Impotenz)、3) 過敏性衰弱性不能症(Impotenz durch reizbare Schwäche)、4) 痲痺性不能症(Paralytische Form der Imp.)に分類したのを基礎として色々な分類法が報告されている。現在では原因別に器質的インポテンス及び機能的インポテンスに大別されている^{2,3)}。インポテンスの机上の分類は簡単であるが、原因が器質的なものか機能的なものか客観的な鑑別は実際には極めて困難である。

インポテンスの鑑別に際しては、問診、神経系、内分泌系、循環器系などの検査は勿論必要であるが、特殊診断法についてもこれまで種々の方法が試みられて来た。勃起神経が膀胱支配神経と密接な関係を有する点より膀胱内圧曲線⁴⁾を測定したり、Rowan and Howley(1965)⁵⁾は電極を直腸内と陰茎部において特殊な電気刺激を加え疼痛に耐え得る最大電流をもつて鑑別を試みている。又勃起組織そのものの変化を知ろうとして陰茎海

綿体造影法 (Cavernosography) が May and Hirtl⁶⁾, Molnár and Hajós⁷⁾, Fetter et al.⁸⁾ Edling and Leander⁹⁾ 等により試みられている。Britt et al.¹⁰⁾ は mercury strain gauze を陰茎に巻きつけ Plethysmography を書かせ血管閉塞性インポテンスの鑑別利用している。赤木¹¹⁾ も陰茎に Mercury tube を巻きつけ Phallography の変化により鑑別を試みている。しかしこれらの方法はいずれも満足すべき方法とは云えない。

最近では白井^{3,12-21)} が放射性同位元素を利用して radioisotope penogram を報告し良好な成績をおさめている。しかし人体に害の少ない半減期が極めて短い放射性同位元素を用意しなければならない点で難点を残す。

勃起とは陰茎海綿体内の血流増加に他ならず、我々は血流増加により二次的にもたらされる陰茎皮膚温の上昇を利用して勃起現象の測定を試みた。末梢循環障害疾患の診断及び治療効果判定については皮膚表面からの赤外線輻射をとらえ、温度パターンを映像パターンとして表現するサーモグラフィー^{22,23,24)} が利用されている。同装置を用いてボルノグラフィー供覧およびフジカピン投与による陰茎皮膚温変化を測定し興味ある成績を得た。

方法及び対象

装置は日本電子 K.K. 製 JTG-MA型サーモビューアを使用した。室温 25°C²⁵⁾、湿度 60% 前後の部屋で、下腹部を露出させた被験者をベッドに仰臥させ室温に約15分曝露した後、ボルノグラフィー供覧及びフジカピン投与による陰茎皮膚温の変化を経時的に測定した。

陰茎皮膚温上昇の程度の判定にあたっては、25°C 前後で測定すれば陰茎以外の部では極めて徐々にではあるが温度低下傾向を示す為、わずかでも陰茎皮膚温の上昇を認めれば (+) とした。また肉眼的にも軽い勃起を認める温度上昇著しいものは便宜上 (++) とした。

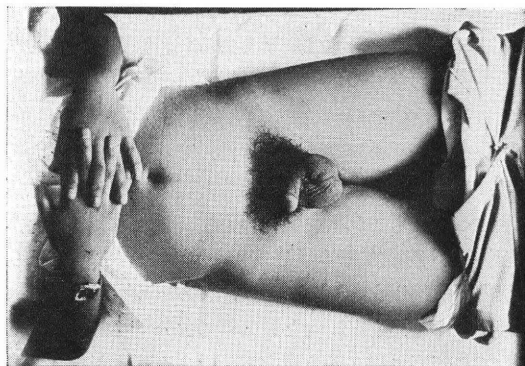


Fig. 1-a 24歳正常男子 (性的安静時)

対象は正常例7例及びインポテンス患者9例、計16例である。

成績

1. 正常例

Fig. 1-a は24歳独身正常男子の性的安静時の下腹部の写真である。Fig. 1-b は室温に曝露し皮膚温がほぼ落着いた時のサーモグラフィーである。右下方の弧状部は中心温度 33°C にセットして測定したことを表している。

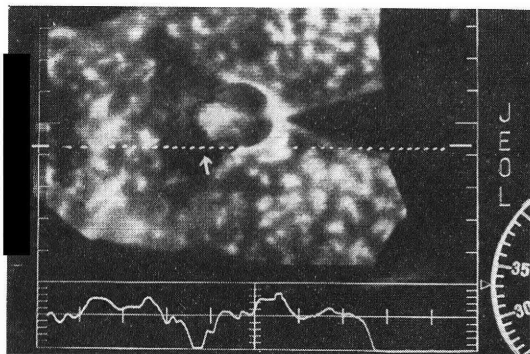


Fig. 1-b 24歳正常男子、性的安静時のサーモグラフィー (室温 26°C) 矢印陰茎部

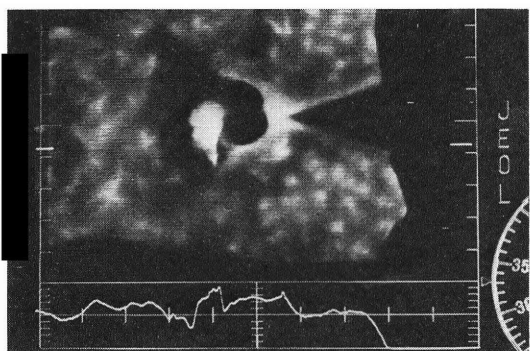


Fig. 1-c ボルノグラフィー供覧開始後2分

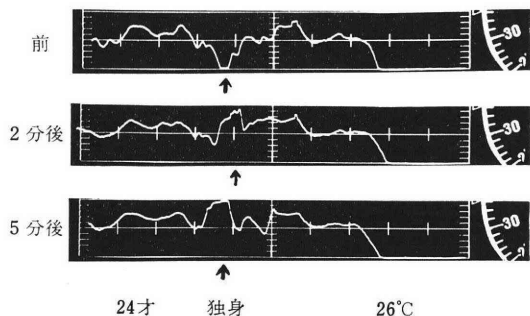


Fig. 1-d (矢印は陰茎部)

Table 1 正常例 7 例一覧表
(ポルノグラフィー供覧のみ)
正常人サーモグラフィー (ポルノ供覧)

No. 1	24歳	独 身	医 師	(++)
2	25	"	"	(++)
3	26	"	"	(-)
4	26	"	自 由 業	(+)
5	29	既 婚	医 師	(+)
6	35	"	会 社 員	(++)
7	41	"	船 員	(-)

(++) 勃起を認め、温度上昇も著しいもの。

(+) 勃起は認めない。温度上昇少ないもの。

(-) ポルノでは刺激されないもの。

下の曲線は上図破線上の皮膚温度変化を表わしており、中心温度 33°C、1 目盛 0.5°C となっている。

Fig. 1-c はポルノグラフィー供覧開始後 2 分のサーモグラフィーで陰茎部は鮮明に白く写り著しい温度上昇を認めた、Fig. 1-d は継続的变化を表わしたもので陰茎部 (矢印) の温度上昇は 5°C を超え、肉眼的にも勃起を認める典型的な正常例である。

Table 1 は正常例 7 例の表である。内 5 例は正常パターンを示したが No. 3 及び No. 7 ではポルノグラフィ

ーでは全く性的興奮を感じないとのことで、今後性的刺激法を改良する必要がある。

2. インポテンス患者例

ここで心因性インポテンスの代表的な 1 例について述べる。

症例 I. 41 歳独身、主訴勃起不全、既往歴及び家族歴、特記すべきものなし。現病歴、20 歳頃、軽度の雑菌性尿道炎に罹患したことがあり、以後そのことを気に病んで童貞をまもり完全な勃起が得られない様になり方々の病院を受診したが、簡単な診察のみで気の所為だと極め付けられて最近では完全な勃起不全となり当科を受診した。詳細な予診により心因性のものと考えられるが、客観的なデーターを得る為にサーモグラフィーを施行した。性的安静時 Fig. 2-a では陰茎部は周囲皮膚温より低温になつている。ポルノグラフィー供覧開始後 5 分 Fig. 2-b では陰茎部はかなり白くうつっている。15 分後 Fig. 2-c には約 2.5°C の温度上昇を認める。しかし肉眼的変化は認めないので (+) とした。それで心因性インポテンスと診断しサーモグラフィーの結果を示して勃起の可能性のあることを十分に説明した。

自信をつける為にフジカピンを 2 錠内服させ全身の熱感及び充実感を感じた時にヌードグラビアを見ながらマ

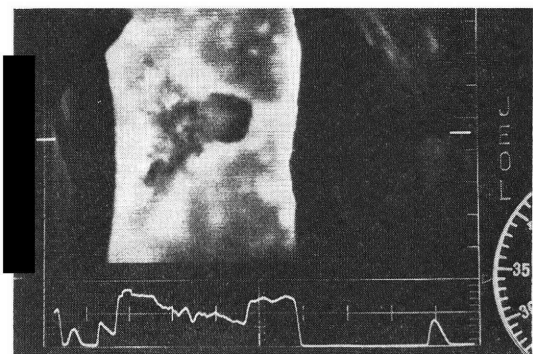


Fig. 2-a 41歳 勃起不全患者、性的安静時のサーモグラフィー 室温 25°C

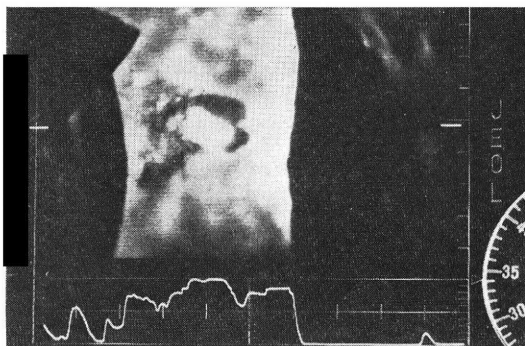


Fig. 2-c 41歳 ポルノグラフィー供覧開始後15分

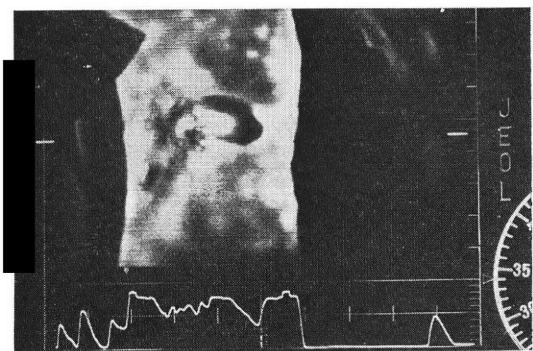


Fig. 2-b 41歳 ポルノグラフィー供覧開始後5分

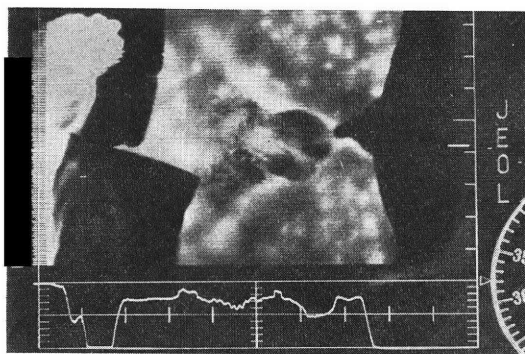


Fig. 2-d 41歳 ポルノグラフィー供覧開始前 (フジカピン内服) 室温 25.5°C

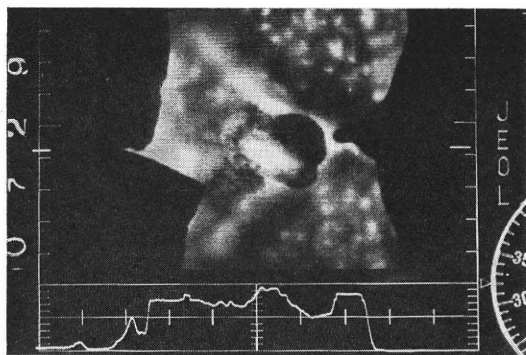


Fig. 2-e 41歳 ポルノグラフィー供覧開始後2分
(フジカピン内服)

スターベーションを試みる様に指導した。Fig. 2-dはフジカピンを投与して熱感を感じた時のサーモグラフィーである。Fig. 2-eはポルノグラフィー供覧開始後2分のものである。治療前には5分でようやく温度上昇を認めたのに、既に2分で温度上昇を認める。5分後には肉眼的にも軽度の勃起を認める様になった。

現在ではフジカピンを投与しなくても勃起可能となり、20年間の灰色生活から青春をとり戻し張り切つて生活している。

Table 2 はサーモグラフィーを施行したインポテンス患者9例の一覧表である。全般的にはサーモグラフィーの結果と主訴及び要因から推定される結果はほぼ一致する。しかし交通事故の賠償金の絡んだNo.5及び10年以上前に心房中隔欠損症手術をうけたNo.8の2例ではどう考えてみても機能的なものとしか考えられないのにサーモグラフィー上全く変化をみなかったことは今後検討しなければならない。

考 察

インポテンスの鑑定法は、厳密に言うならば、実際に性行為を行わせこれを観察するより他に方法はない。しかし十分な勃起が得られセックスパートナーの不満を減少させることが最優先される点に着目して緒言で述べた様に様々な検査法が試みられてきた。それらのいずれも満足すべき方法ではない。陰茎根部を圧迫する様な検査法は鬱血によつて陰茎膨大が起こるのは周知の事実である。それ故陰茎自体に機械的圧迫を加える検査法は好ましいとは言えず、非接触的な検査法の開発が望まれるのは当然である。

最近では白井^{8,12-21)}が radioisotope penogram を報告した。フジカピンは1錠中に塩酸ヨヒンビン 3mg と硝酸ストリキニーネ 0.3mg 及びメチルアルジン酸ソーダ 1mg を含有する。ヨヒンビンの薬理作用は α -Ad-

Table 2 インポテンス患者一覧表

症例	年 齢	主 訴	要 因	サーモグラフィー	
No. 1	41歳 独身	勃起不全	ノイローゼ	(+)	(++)
2	64 既婚	"	土 木 工 事 (陰茎挫傷)	(-)	(-)
3	42 "	"	前 立 腺 手 術 (巨大なシスト)	(-)	(-)
4	26 独身	"	完 全 包 茎	(+)	術後 (+)
5	34 既婚	{ 性欲欠除	交 通 事 故 (頭部腰部打撲)	(-)	(-)
6	53 "	{ "	土 木 工 事 (腰部打撲)	(-)	(-)
7	36 "	{ "	風 邪 ？	(-)	
8	34 "	{ "	A.S.D. 虚弱体質	(-)	
9	27 独身	勃起不全	前 立 腺 炎 失 業 状 態	(++)	

ポルノ 供覧のみ

フジカピン投与後ポルノ 供覧

renergic blocking agent で生殖器の動脈拡張による充血作用と同時に勃起中枢刺激による勃起促進であると言われ、ストリキニーネも一定量では勃起反射を促進することが知られている。又メチルアルジン酸ソーダは強壯作用を有する。

彼は先ずフジカピン投与による radioisotope penogram を測定し、次にポルノグラフィー供覧による visual sexual stimulation を加えてインポテンスの鑑別を試み目的を達している。

正常な勃起には1) 上位中枢(間脳) 2) 脊髓反射中枢 3) 神経経路 4) 勃起組織の全てが健全であることが必要であるが、また大脳皮質からは抑制刺激も下行するので抑制の度合が勃起現象を大きく作用する。この意味からも先ずポルノグラフィー供覧による大脳性刺激を加えて勃起組織の反応を検査し、これに反応しない者に対して次に脊髓反射中枢への刺激を追加して検査する方が順序として妥当と思われる。

Kinsey²⁶⁾ 及び Levi²⁷⁾ によれば男子は視覚刺激による性的興奮が著明であるとされており、我々も視覚刺激法を採用したが、ポルノグラフィーでは何ら性的興奮を来さない人もいて患者の教養程度、宗教、嗜好などを十分考慮して聴覚、触覚も動員して一定の性的興奮を得られる様配慮しなければならない。

我々の方法は陰茎内血流量そのものを測定するのではなく二次的にもたらされる温度上昇を把握するものである。検査室の温度や湿度により微妙に影響される。それ故ポルノグラフィー供覧では陰茎皮膚温に変化を来さ

なかつた患者群に対して、フジカピンを経口投与し口渇感及び全身の充実感を感じた時点でポルノグラフィー供覧による visual sexual stimulation を加えてサーモグラフィを施行した。

サーモグラフィの特長として次の様な点があげられる。1) 非接触法である。2) 有害な副作用が全くない。3) 患者に全く苦痛を与えない。4) 何回でもくり返して行える。5) 操作は簡単で短時間で済む。

従つて我々の方法は性的刺激法を工夫すれば臨床上インポテンスの鑑別に極めて実用性の高い検査法と考える。

結 語

ポルノグラフィー供覧及びフジカピン投与による陰莖皮膚温変化をサーモビューアを利用して測定した。本法はインポテンスの鑑別法として、簡便さからみて臨床上極めて実用性が高い。

稿を終るにあたり御協力いただいた山口労災病院長石田一夫博士ならびに同院臨床検査科石谷康治主任に深謝する。

なお本論文の要旨は昭和50年10月、仙台において開催された第20回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 金子栄寿：男性インポテンツ，7頁，鳳鳴堂書店，東京，1958。
- 牧角格：男性インポテンツに関する臨床的研究，日泌尿会誌，59：16-47，1968。より引用
- 白井将文，松田尚太郎：男性インポテンスの診断と治療，西日泌尿，36：289-294，1974。
- 山内秀一郎：男子糖尿病患者に頻発する性機能障害についての研究，第1報，臨床的研究，日泌尿会誌，56：715-732，1965。
- Rowan, R. L. & Howley, T. F.: The electrical pain response in impotency. J. Urol. 94: 92-93, 1965.
- May, F. & Hirtl, H.: Das Cavernosogram. Urol. internat. 1: 120-134, 1955.
- Molnár, J. & Hajós, E.: Kavernosogramme. Z. Urol. 53: 441-446, 1960.
- Fetter, T. R., Yunen, J. R., Dodd, G.: Application of cavernosography in the diagnosis of lesions of the penis. Amer. J. Roentgen. 90: 169-175, 1963.
- Edling, N. P. G., Leander, G.: Contrast medium examination of the erectile tissue of the penis (Cavernosography). Urol. internat. 18: 293-304, 1964.
- Britt, D. B., Kemmerer, W. T., Robinson, J. R.: Penile blood flow determination by mercury strain gauge plethysmography. Invest. Urol. 8: 673-678, 1971.
- 赤木 稔：性不能症の行動療法，西日泌尿，32：347-352，1970。
- 白井将文：男性インポテンスに関する研究，第1報，Isotope (^{131}I —人血清アルブミン) 使用による器質的インポテンスと機能的インポテンスの鑑別診断法に関する研究，日泌尿会誌，62：147-155，1971。
- 白井将文：男性インポテンスに関する研究，第3報， $^{113\text{m}}\text{In}$ -microcolloid 使用による radioisotope penogram に関する研究，日泌尿会誌，62：700-703，1971。
- 白井将文：男性インポテンスに関する研究，第6報，Radioisotope penogram の基礎的研究，日泌尿会誌，64：779-785，1973。
- 白井将文：男性インポテンスに関する研究，第7報，Visual sexual stimulation を応用した radioisotope penogram による機能的インポテンスと器質的インポテンスの鑑別診断法に関する研究，日泌尿会誌，64：786-792，1973。
- Shirai, M. & Nakamura, M.: Differential diagnosis of organic and functional impotence by the use of ^{131}I -human serum albumin. Tohoku J. exp. Med. 101: 317-324, 1970.
- Shirai, M. & Nakamura, M.: Radioisotope penogram by means of $^{113\text{m}}\text{In}$ -microcolloid. Tohoku J. exp. Med. 105: 137-140, 1971.
- Shishito, S. & Shirai, M.: Radioisotope penogram. Urology Digest. 10: 14-15, 1971.
- Shirai, M. & Nakamura, M.: A study on the radioisotope penogram in the dog. Tohoku J. exp. Med. 111: 179-186, 1973.
- Shirai, M. et al.: Differential diagnosis between functional and organic impotence by radioisotope penogram following visual sexual stimulation. Tohoku J. exp. Med. 111: 187-195, 1973.
- 穴戸仙太郎，白井将文：インポテンスの鑑別診断，日本医事新報，2586：25-28，1973。
- Barnes, R. B.: Thermography, Ann. N. Y. Acad. Sci., 121: 34, 1964.
- 渥美和彦，桜井靖久，藤正 巖：サーモグラフィ，医用電子と生体工学，3：281，1965。
- 桜井靖久，藤正 巖，森川幸月，渥美和彦：医用サーモグラフィ，医学のあゆみ，60：287，1967。
- 渡辺幸敬，村上 正，西坂 剛：皮膚温と環境温の平衡時間についての研究，医科器械学雑誌，44：46-47，1974。
- Kinsey, A. C., Pomeroy, W. B., Martin, C. E., Gebhard, P. H.: Sexual behaviour in the human female. Saunders Co., Philadelphia, 1953.
- Levi, L.: Psychosomatic Med., 31: 251, 1969.

Clinical evaluation of penile thermography in differential diagnosis of impotence

**Yoshikazu Koshido, Minoru Takara
and Jisaburo Sakatoku**

Department of Urology Yamaguchi
University School of Medicine
(Director: Prof. J. Sakatoku)

It is notoriously difficult to objectively make a diagnosis differentiating between organic and functional impotence. Various methods have been developed, but one of these methods is satisfactory.

Therefore, the authors devised testing pro-

cedures to offer a method of differential diagnosis of both types of impotence by observing changes in the surface temperature of the penis using a thermoviewer. The thermoviewer transforms the temperature pattern of the body surface into a picture by the acid of spontaneously radiated infrared rays.

A total of 9 patients with disturbances in erection were examined. The patients were sexually stimulated by being shown pornography and/or by oral administration of yohimbine preparation (Fujicapin)[®] and observed for any changes in temperature. In addition, 7 normal adult males served as controls.

Penile thermography proved to be a useful method of differential diagnosis of impotence.

双角子宮31例に対する Strassmann 氏手術成績

The Strassmann Operation for Double Uterus in Thirty One Cases

名古屋大学医学部産婦人科学教室

成 田 収 東 出 香 二

Osamu NARITA Kohji HIGASHIDE

鈴 木 正 利 下 須 賀 洋 一

Masatoshi SUZUKI Yoichi SHIMOSUKA

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

習慣性流早産、不妊、月経困難等を訴え、挙児を希望する、31人の双角子宮を示した婦人に Strassmann 氏手術を行い、手術後の妊娠分娩経過について観察した。

31例の手術前の満期産率は62妊娠中2回で3.5%、早産率は62妊娠中2回で3.5%、流産率は62妊娠中58回で93%であった。

しかるに、手術後の満期産率は34妊娠中19回で55.9%、早産率は34妊娠中5回で14.7%、流産率は34妊娠中10回で29.4%、と著しく改善された。なかでも、習慣性流早産を適応として手術した症例は最も優れた成績を得た。

分娩様式については、19例中9例が帝王切開分娩で、他は経膈分娩であった。

緒 言

双角子宮に対する子宮整形手術は、習慣性流早産、不妊、月経困難等を訴え、挙児を熱望する患者に対して、好んで行われている。

子宮整形手術後、満期産によって生児を得る可能性が増加する事は E.O. Strassmann^{1,2)}を始め多くの研究者によって報告されている。

子宮整形手術の術式については、現在までに、Strassmann 氏手術、Jones 氏手術³⁾、Tompkins 氏手術⁴⁾等が発表されている。

我々は、これまでに Strassmann 氏手術を用いた成績について報告してきた⁵⁾が、今回は、従来の症例にその後経験した症例を加えて、総計31例について、手術後の妊娠分娩歴、その他について報告し、本術式の評価を試みたいと思う。

対 象

名古屋大学産婦人科不妊外来に、習慣性流早産、不妊、月経困難等を訴えて来院し、挙児を希望する双角子宮を有する婦人を対象とした。習慣性流早産を適応とした婦人については、子宮奇形以外には流早産の原因がないことを確認し、不妊の婦人については、夫の精液検査をはじめ他の不妊因子の検索を行い、双角子宮以外に異常のないことを明らかにした上で、Strassmann 氏手術を行った。

臨床成績

Strassmann 氏手術を行った全症例の手術時年齢、適応症、手術前後の妊娠分娩歴等を Table 1 に示した。

手術時年齢は、19歳から34歳迄であった。手術の適応症は、1回流産患者3例、流産2回以上の習慣性流産患者14例、流産と早産をくりかえした患者2例、不妊患者9例、強度の月経困難患者3例であった。

Table 1 (1) Summary of our 31 cases subjected to Strassmann's metroplasty

No.	Case	Age	Married Age	Indication	Preoperative parity	Elapsed time between metroplasty and subsequent pregnancy	Postoperative parity
1		34	28	sterility	0-0-0-0	3 years	1-0-0-1
2		27	21	habitual abortion	0-0-2-0		
3		29	22	habitual abortion	0-0-4-0	10 months	1-0-0-1
4		21	20	habitual abortion	0-0-2-0	10 months	2-0-0-2
5		30	26	sterility	0-0-0-0		
6		26	24	habitual abortion	0-0-4-0	10 months	1-0-1-1
7		30	22	sterility (secondary)	1-0-0-0		
8		30	25	habitual abortion	0-1-5-0	4 months	0-1-0-1
9		19	18	dysmenorrhea	0-0-0-0	one & a half month	2-0-1-2
10		25	19	habitual abortion	0-0-5-0	3 months	0-0-1-0
11		27	24	sterility	0-0-0-0		
12		30	23	sterility	0-0-0-0		
13		25	22	dysmenorrhea	0-0-1-0		
14		25	23	habitual abortion	0-0-3-0	11 months	1-2-0-3
15		22	20	habitual abortion	0-0-2-0	7 months	0-1-0-1
16		28		habitual abortion	0-0-2-0	8 months	2-0-1-2
17		25	20	habitual abortion	0-0-2-0		
18		26	24	spontaneous abortion	0-0-1-0	3 years	1-0-1-1
19		27		spontaneous abortion dysmenorrhea	0-0-1-0		
20		27	26	habitual abortion dysmenorrhea	0-0-2-0	1 year	2-0-1-2

31例の手術前の妊娠回数は、62回で、そのうち満期産2回、早産2回、自然流産58回で、流産が大部分であり、生児を得た症例は全くなかった。

31例に対する手術の適応症と手術後の成績を Table 2 に示した。習慣性流産を適応とした症例は14例で、そのうち10例に生児を得ていて、成功率は71.4%であった。不妊を適応とした症例は9例で、2例に生児を得た。この成績は、習慣性流産の成功率71.4%に比較し、22.2%と低かった。月経困難を適応としたものは3例で、1例に生児を得ていて、成功率は33.3%であった。

なお、流産と早産をくりかえした2例は、手術により2例共、生児を得ることが出来た。また16例中、2例が早産であったが、14例は満期産であった。

手術を行っても生児を得られなかった症例は15例であり、そのうち7例は不妊を適応として手術が行われている。

手術後、妊娠しなかった症例は31例中、9例であり、自然流産したものは3例、また2例に子宮外妊娠が発生した。

Figure 1 は、手術前の妊娠回数と手術により生児を得た成功例との関係を示したものである。手術前の妊娠回数が多い程、手術の成功率が高くなっていることが明らかである。

Table 3 は、手術前の妊娠経過と手術後の妊娠経過とを比較してみたものである。

手術前62回の妊娠中、満期産2回、早産2回、自然流

Table 1 (2)

No.	Case	Age	Married Age	Indication	Preoperative parity	Elapsed time between metroplasty and subsequent pregnancy	Postoperative parity
21		28		habitual abortion	0-0-6-0	1 year	1-0-0-1
22		26	22	sterility	0-0-0-0		
23		26	23	dysmenorrhea r-ampullar abortion	0-0-2-0	5 years	0-0-1-0
24		26	24	sterility	0-0-0-0	6 years	0-0-1-0
25		27	23	habitual abortion	0-0-4-0	1 year	0-1-0-0
26		21	20	sterility	0-0-0-0	1 year	1-0-0-1
27		33	25	sterility	0-0-0-0		
28		27	23	spontaneous abortion	0-0-1-0		
29		27	23	habitual abortion	0-0-5-0	6 months	2-0-2-2
30		26	22	habitual abortion premature delivery	1-1-1-0	10 months	1-0-0-1
31		33	24	habitual abortion	0-0-3-0	1 year	1-0-0-1
					2-2-58-0		19-5-10-23

Remarks : first figure means full term delivery, second means premature delivery, third means abortion, fourth means living children

Table 2

Indication	Number of operative cases	Number of patients with living babies	Rate of success
abortion { once	3	1	33.3%
{ habitual	14	10 (1)	71.4%
abortion and premature delivery	2	2 (1)	100 %
sterility	9	2	22.2%
dysmenorrhea	3	1	33.3%
total	31	16 (2)	51.6%

産58回であつたのに対し、手術後34回の妊娠が成立し、満期産19回、早産 5 回、流産10回と明らかに満期産の頻度が増加した。

手術後の分娩経過については、19回の分娩中、帝王切開を行つたものは9例で、他の症例は、いずれも経腔分娩を試み成功した。

分娩時の子宮破裂、癒着胎盤、弛緩性出血等は1例も認められなかつた。

総括並びに考按

双角子宮に対する外科的手術の評価を最初に確立したのは、Paul Strassmann であつた。

□ Success : success means that she has living babies
▨ Failure : failure means that she has no living babies

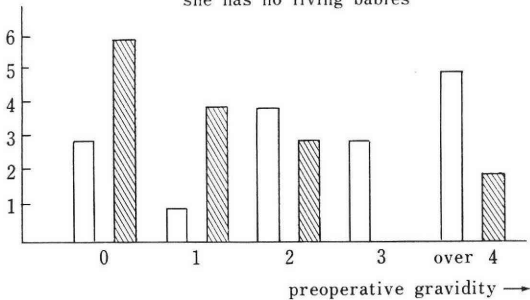


Figure 1

Table 3 Comparison of outcome of pregnancies between preoperative and postoperative period

	Fullterm			Prematurity			Miscarriage		
Before operation (62 pregnancies in 31 cases)	2(3.5%)			2(3.5%)			58(93%)		
After operation (34 pregnancies in 20 cases)	one abortion	1	19 (55.9%)	one abortion	0	5 (14.7%)	one abortion	1	10 (29.4%)
	habitual abortion	13		habitual abortion	4		habitual abortion	6	
	abortion and premature delivery	1		abortion and premature delivery	1		abortion and premature delivery	0	
	sterility	2		sterility	0		sterility	1	
	dysmenorrhea	2		dysmenorrhea	0		dysmenorrhea	2	

clinical abnormalities of the uterus
according to Jarcho

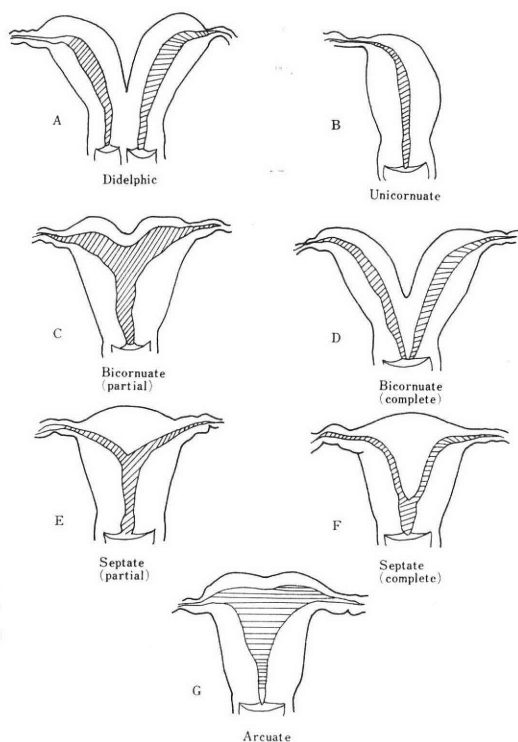


Figure 2

彼の手術の多くは、腔式に行われており、また子宮の奇形の種類は Jarcho の分類⁶⁾ (Figure 2) による bicornuate uterus が大部分であったと思われる。その理由として当時は、Hysterosalpingography による診断が行われていなかった時代だからである。

1955年 Steinberg⁷⁾ によつて報告された症例の大部分は、この Strassmann 氏手術によつて行われている。

しかし、その後、双角子宮に対する子宮整形手術の術

式もかなりの変化をとげた。

1952年、1957年 H. W. Jones は septate uterus (Figure 2) に対し Strassmann 氏手術とは異つた切開方法を用いる手術術式を発表した。

最近では、Tompkins も新しい手術方法を発表している。

我々の教室に於ては、双角子宮に対する手術方法として、従来からの Strassmann 氏手術に加えて、最近では、Jones 或いは Tompkins 等の方法も実施している。

しかし、これら3つの術式の効果を比較するには、後2者の症例数が少なく、また、適応症例の子宮奇形の種類と程度によつても異なるため、今回は Strassmann 氏手術を行つた31例の治療成績について報告し、この手術術式の効果とその限界について考察した。

その結果、31例の手術前、満期産率3.5%、早産率3.5%、流産率93%から、手術後は、満期産率55.9%、早産率14.7%、流産率29.4%、へと著しく改善された。

なかでも、習慣性流早産を適応として手術した症例は16例で12例に生児を得ている。その成功率は75%と極めて好成績であつた。

しかし、不妊を主訴として手術を行つた症例は9例中2例のみに生児を得たにすぎず、その成功率は習慣性流早産例の成功率に比し22.2%と低かつた。また、月経困難症を適応として、手術した症例は3例で1例に生児を得た。

双角子宮に対する手術術式の選択については、諸家により種々な意見が述べられている。

Kistner は bicornuate uterus に対しては、Strassmann 氏手術を、septate uterus に対しては、Tompkins 氏手術を用いると報告している。今回、我々は子宮の奇形の種類に関係なく、Strassmann 氏手術を用いた成

績について報告した。しかし、今後は子宮奇形の種類と手術術式及びその手術効果の関連について、より精細な分析を行い、術式の評価を行う必要があると思われる。

最後に、今回の Strassmann 氏手術施行 31 例について、手術前妊娠歴のない症例は 9 例であり、そのうち手術後妊娠した症例は 3 例であつた。一方、手術前、22 例に妊娠の経験があつたのにも拘らず、そのうち手術後妊孕力を失なつた症例は 6 例存在した。その 6 例のうち分けは、1 回流産患者 2 例、習慣性流産患者 2 例、続発不妊患者 1 例、月経困難患者 1 例であつた。このように手術後に妊孕性が失われた症例が 22 例中 6 例 27.3% あつたことから、双角子宮に対する Strassmann 氏手術の適応と術技については十分な配慮と経験のもとに行われることが必要と思われる。

文 献

- 1) Strassmann, E. O.: Plastic unification of double uterus, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 64 : 25, 1952.
- 2) Strassmann, E. O.: The Strassmann operation for double uterus, *Obstet. Gynecol.* 10 : 701, 1957.
- 3) Jones, H. W. and Wheelless, C. R.: Salvage of the reproductive potential of women with anomalous development of the müllerian ducts, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 104 : 348, 1968.
- 4) Kistner, R. W. and Patton, G. W.: *Atlas of infertility surgery*, First Edition, P. 71. Boston, Little, Brown Co., 1975.
- 5) Kawashima, Y., Narita, O., Hasegawa, G.: Strassmann's operation for double uterus follow up on thirteen cases, *J. Jap. Obstet. & Gyn. Soc.* 7 : 141, 1960.

- 6) Jarcho, J.: Malformation of the uterus, *Am. J. Surg.* 71 : 106, 1946.
- 7) Steinberg, W.: Strassmann's metroplasty in the management of bipartite uterus causing sterility of habitual abortion, *Obstet. Gynec. Surv.* 10 : 400, 1955.

The Strassmann operation for double uterus in thirty one cases

Osamu Narita, Kohji Higashide
Masatoshi Suzuki and
Yoichi Shimosuka

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagoya University School of Medicine,
Nagoya, Japan

Thirty one women with double uterus, complaining of habitual abortion, premature fetal loss, infertility, dysmenorrhea etc. and desirous of living babies were subjected to Strassmann operation and their subsequent course of pregnancy and delivery was investigated.

Prior to surgical unification of double uterus in the 31 patients, there were 62 pregnancies and only 2 (3.5%) proceeded to term, 2 (3.5%) had premature deliveries and 58 (93%) aborted.

However, after operation there were 34 pregnancies of which 19 (55.9%) proceeded to term, 5 (14.7%) had premature deliveries and 10 (29.4%) aborted. A considerable improvement was obtained, and in particular the result was far better than the rest in a woman who was operated on for habitual abortion and premature fetal loss.

As to delivery, 9 out of 19 cases were delivered by cesarean section.

側面像による子宮卵管造影の解析

Analysis of Hysterosalpingogram by Adding Lateral View

千葉大学産科婦人科学教室

田 巻 勇 次*	小 堀 恒 雄	高 野 昇
Yuji TAMAKI	Tsuneo KOBORI	Noboru TAKANO
大 久 保 緑 也	清 水 三 郎	田 島 朝 信
Soya OKUBO	Saburo SHIMIZU	ChoshinTAJIMA
高 見 沢 裕 吉		

Hiro Yoshi TAKAMIZAWA

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

不妊領域における子宮卵管造影法は一般には正面像のみの観察が行われており、卵管の疎通性は診断出来るが、妊娠成立に重要な卵管-卵巢位置関係、ダグラス窩内の状態を観察するには問題がある。そこで、従来の方法に側面撮影を加えることによって子宮卵管造影像の立体的解析を試みた。

不妊婦人を対象として水溶性造影剤6~10ml注入直後に正面像と側面像を撮影した。

同一造影状態を正面と側面から撮影する簡便な方法により、子宮位置形態、卵管走行および拡散像を立体的にとらえることが出来、正面像のみでは診断し得なかった異常例の検出および正面像の疑問例の解決が可能であり側面像撮影の意義を認めた。

I はじめに

不妊原因のうち卵管因子は35~50%を占めその検索法は日常不妊診療上重要である¹⁾。卵管検査法は Hysterosalpingography (HSG) により代表される。しかし、一般に行われている HSG は正面像のみの観察であり、卵管の疎通性は診断出来るが、妊娠成立に重要な卵管-卵巢位置関係、ダグラス窩内の状態を判定するには問題がある。そのため、従来より立体撮影法が試みられている^{2,3)}が、その装置および操作の複雑さに難点があり普及されるに至っていない。

そこで、われわれは HSG の側面撮影を追加することにより HSG のより詳細な立体的解析を試み若干の知見を得たので報告する。

II 研究対象及び方法

1) 昭和49年10月より昭和50年9月までの1年間に当科不妊外来を訪れた不妊婦人295名を対象とした。

2) HSG 撮影方法

施行時期は月経終了後の卵泡期である。造影剤は水溶性造影剤 Endografin を使用した。撮影方法は次の如くに行った。

①造影剤3~5ml注入直後に正面像撮影(腹→背方向)、②造影剤を追加し、計6~10ml注入直後に正面像撮影(腹→背方向)③②につづけてなるべく時間のズレを少なく側面像撮影(右→左方向)、④造影剤注入終了から5分後に正面像撮影(腹→背方向)以上4枚撮影を行った。体位は終始仰臥位とし、側面像撮影は管球を90°移動して行った。管球フィルム間距離は1mとし撮影条件は正面像の場合63KVP, 160mA 0.2sec, 側面像の場合高感度増感紙 New SS を使用し70KVP, 160mA,

* 現所属：松戸市立病院

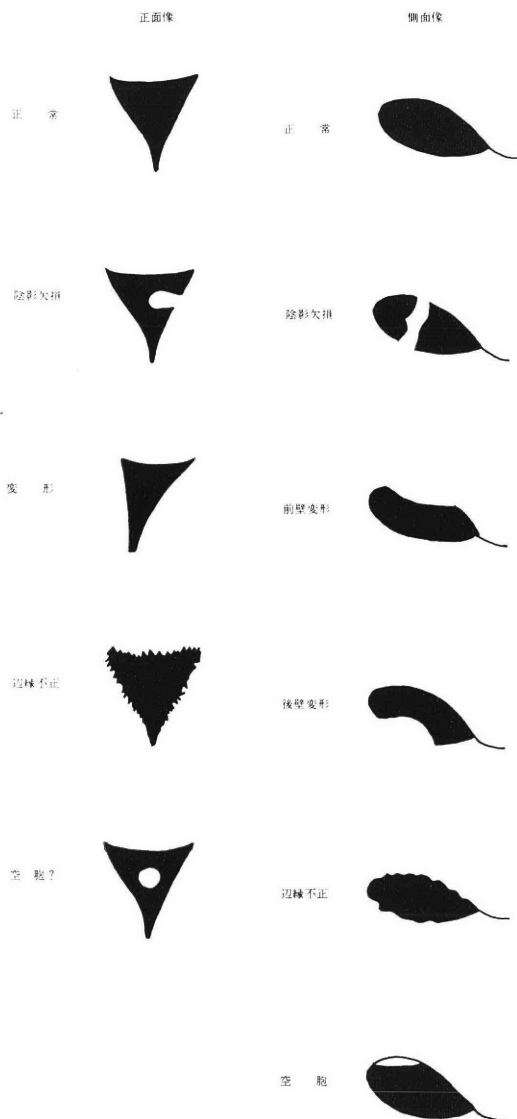


図 1 子宮腔像

0.64sec とした。

3) HSG 像の分類

子宮腔像、卵管走行像および拡散像について、その正面像と側面像を次の如く分類した。

(1) 子宮腔像：子宮腔充満像のみられた 273 例について図 1 の如くに行った。正面像は逆二等辺三角形を示す正常子宮腔の他に陰影欠損、変形、辺縁不正を示すもの、更に空胞が陰影欠損か区別し得ないものの 5 型に分類された。側面像は扁平な鶏卵形を示す正常子宮腔の他に陰影欠損、前壁又は後壁変形、辺縁不正、空胞像の 6 型に分類された。なお、子宮腔内の最腹側部になめらかな前壁変形を示すものを空胞像とした。



図 2 卵管像

(2) 卵管像：卵管走行像の認められた 267 例について図 2 の如く分類した。

正面像はなめらかな曲線をえがいて足方に向うものを正常とし、1 側又は両側の卵管が頭方へ向うものを卵管挙上像、卵管の伸展がみられるものを延長像、子宮角部にとぐろを巻く状態のものをらせん像、卵管水腫を疑わせるレトルト像、卵管膨大部レリーフ像の粗大化により放水せるが如き像を呈するものを放水像とした。

側面像はダグラス窩方向へ向うもの、子宮底部から頭方へ向うもの、子宮前面へ向うもの、卵管延長像を示すもの、水平面像を呈するものに分類された。

(3) 腹腔内拡散像：腹腔内に十分な拡散像のみられた 281 例について図 3 の如く分類した。

正面像を正常雲状拡散を示すもの、雲状拡散であるが子宮底部から頭方への拡散が主であるもの、子宮底部から頭方で雲状拡散とならず星芒状拡散を示し油水像と表現されるもの、造影剤の拡散がみられない貯留像、卵管

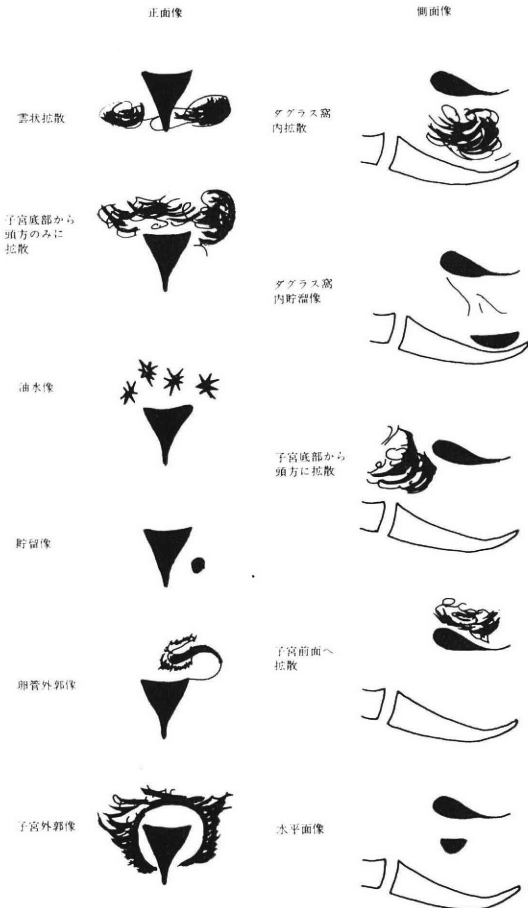


図 3 拡散像

の漿膜面が造影され卵管外郭像を示すもの、子宮の漿膜面が造影され子宮外郭像を示すものに分類した。

側面像をダグラス窩内に雲状拡散を示すものとダグラス窩貯溜像を示すものを正常例とし、子宮底部から頭方又は子宮前面へのみ拡散しダグラス窩像を欠くもの、ダグラス窩貯溜像とは異なる位置に水平面像を呈するものを異常例として分類した。

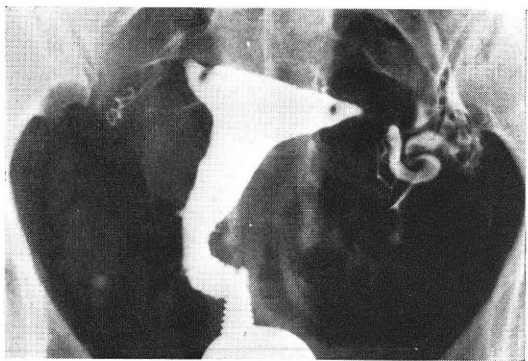


写真 1 a 正面像 (症例 K. Y)
子宮角部に小さな陰影欠損がみられるだけで辺縁不正は認められない。



写真 1 b 側面像 (症例 K. Y)
前壁後壁共に辺縁粗造である。

以上の分類に従って、正面像と側面像を比較検討した。

III 成 績

1) 子宮腔像 : (表 1) (写真 1 a, b, 2 a, b, 3 a, b)

表 1 は子宮腔充滿像の得られた 273 例についてその正面像と側面像を比較したものである。正面像にて正常像を示したものは 273 例中 235 例 (86.1%) であった。その

表 1 子宮腔 像

側 面 像 正 面 像	側 面 像						
	正 常	陰影欠損	前壁変形	後壁変形	辺縁不正	空 胞	
正 常	227	2	3	2	1		235(86.1%)
陰 影 欠 損	3	6	3	2	5		19(6.9%)
変 形	5		2	4	1		12(4.4%)
辺 縁 不 正					2		2(0.7%)
空 胞 ?	1		2			2	5(1.9%)
	236 (86.4%)	8 (2.9%)	10 (3.6%)	8 (2.9%)	9 (3.2%)	2 (0.7%)	273(100%)

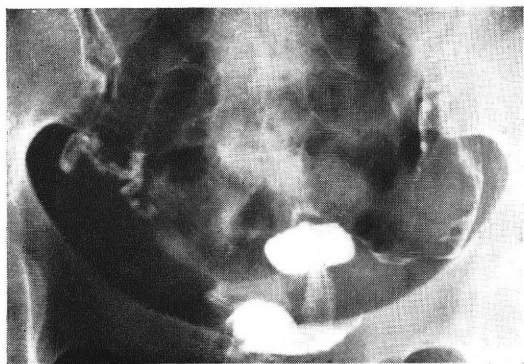


写真 2 a 正面像 (症例 ■■■)
子宮腔変形が疑われた症例

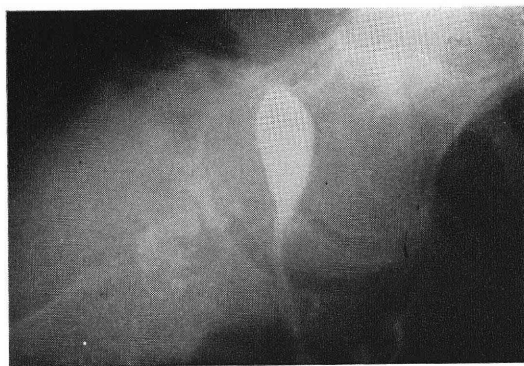


写真 2 b 側面像 (症例 ■■■)
強度子宮前屈のための見掛け上の子宮腔
変形であることが判明した。

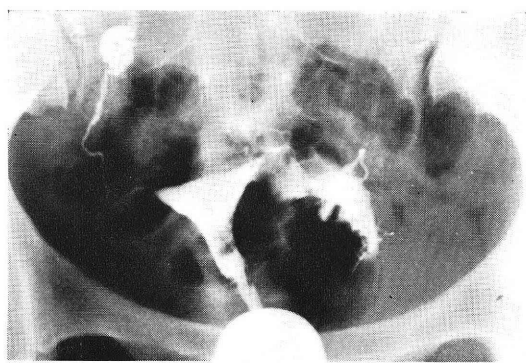


写真 3 a 正面像 (症例 ■■■)
子宮下節部分に空胞か陰影欠損かの判定
に苦しむ欠損像がみられる。



写真 3 b 側面像 (症例 ■■■)
最腹側部のなめらかな前壁変形がみられ
空胞と判定された。再撮影により空胞像
であることが確認された。

235例の側面像は正常227例であり、8例は陰影欠損、前後壁変形等の異常を示した。正面像にて陰影欠損を示すものは19例(6.9%)であり、その側面像は陰影欠損6例、前壁変形3例、後壁変形2例、辺縁不正1例(写真1 a, b)で、障害部位診断が可能であった。しかし、正面像にて陰影欠損像を示したが側面にて正常像を示すもの3例あり、これは側面像の false negativ 例と考

えられる。正面像にて変形を示すものは12例(4.4%)にみられた。その側面像で前壁又は後壁変形として認められ障害部位診断が可能な例もあつたが、正常像を示すもの(写真2 a, b)もみられた。これは正面像の変形が子宮強度前屈又は後屈による見掛け上のものであることが側面像で確認された。正面像にて空胞か陰影欠損か決

表 2 卵 管 像

側 面 像	Douglas 窩 方 向 へ	子宮底から 頭 方 へ	子宮前面へ	延 長 像	水 平 面 像	
正 面 像						
正 常 走 行	153	10	17			180(67.4%)
挙 上 像	16	23	11	4		54(20.2%)
延 長 像	1	5		5		11(4.2%)
子宮角部で の ら せ ん 像	6		2			8(2.9%)
レ ト ル ト 像					11	11(4.2%)
放 水 像					3	3(1.1%)
	176 (65.9%)	38 (14.2%)	30 (11.2%)	9 (3.4%)	14 (5.3%)	267(100%)

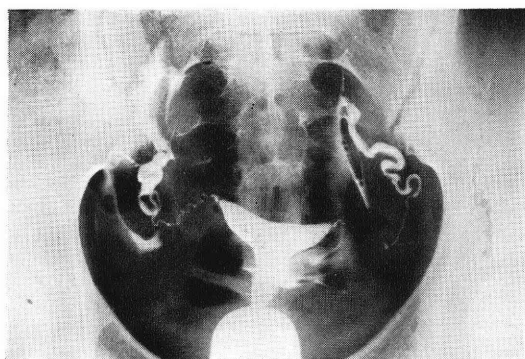


写真 4a 正面像 (症例 ■■■)
両側卵管挙上像を呈し卵管走行異常を疑わせる症例。

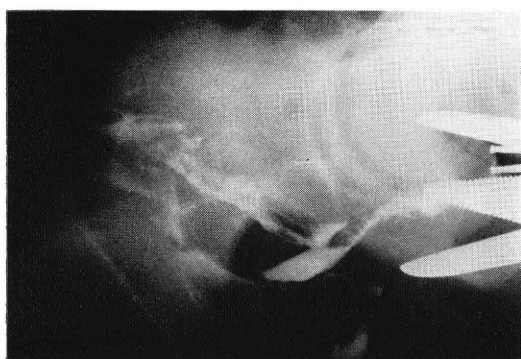


写真 4b 側面像 (症例 ■■■)
両側卵管の頭方への牽引像を示し卵管走行異常を示す。

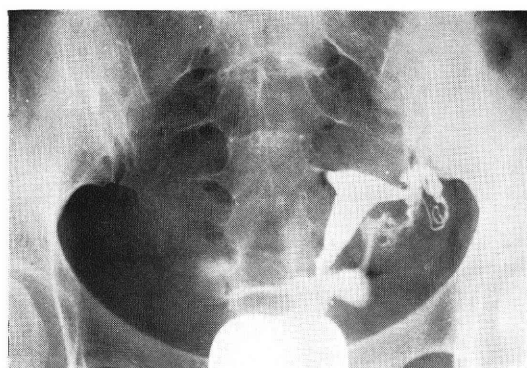


写真 5a 正面像 (症例 ■■■)
右卵管妊娠手術後の症例。左卵管は子宮角部にとぐろを巻き、らせん像を呈する。

定出来ないものが5例にみられたが、側面像によりその鑑別が可能であつた (写真 3a, b)。

2) 卵管像 : (表2) (写真 4a, b, 5a, b, 6a, b)

表2は267例の卵管像の正面像と側面像を比較検討したものである。



写真 5b 側面像 (症例 ■■■)
左卵管はダグラス窩方向へ走行し、見掛け上のらせん像であることが判明した。また、十分なダグラス窩貯溜像がみられ、軽度腹水の存在は考えられるがダグラス窩閉塞を来す様な癒着はない。

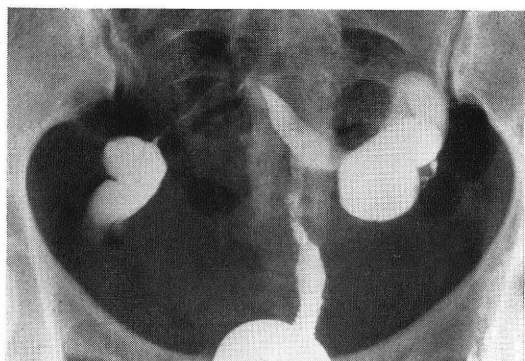


写真 6a 正面像 (症例 ■■■)
両側卵管はレトロ像を呈する。



写真 6b 側面像 (症例 ■■■)
卵管内貯溜による特有な水平面像を呈し卵管水腫と診断された。本症例は開腹術により両側卵管水腫であることが確認された。

正面像にて正常卵管走行を示したものは267例中180例 (67.4%) であり、その180例の側面像はダグラス窩方

表 3 拡散像

側面像 正面像	ダグラス窩内 拡散	ダグラス窩内 貯溜像	子宮底部から 頭方に拡散	子宮前面 への拡散	水平面像	
雲状拡散像	171	41	7	10		229(81.5%)
子宮底部から 頭方のみに拡散	2		3			5(1.8%)
油 水 像	2		13	1	1	17(6.0%)
貯 溜 像		6			7	13(4.6%)
卵 管 外 郭 像		2	4	4	2	12(4.3%)
子 宮 外 郭 像			2	3		5(1.8%)
	175 (62.3%)	49 (17.4%)	29 (10.3%)	19 (6.5%)	10 (3.5%)	281(100%)

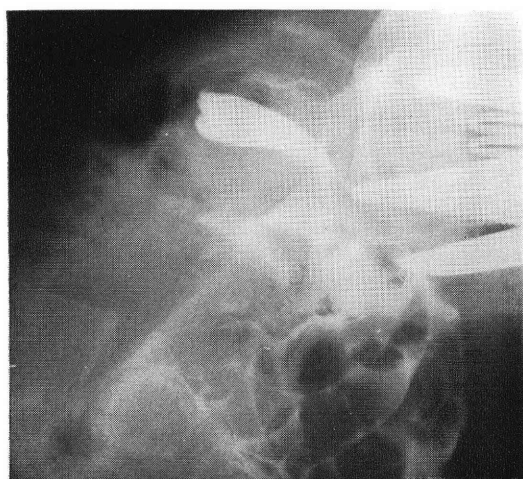


写真 7 正常側面像

ダグラス窩内に定型的雲状拡散像が認められる。

向へ走行し正常と考えられるもの 153 例、子宮底部から頭方又は子宮前面へ向い走行異常と考えられるもの 27 例であつた。正面像にて一側又は両側の卵管挙上像を示すものは 54 例 (20.2%) あり、その側面像は 38 例が走行異常 (写真 4 a, b) を示したが、残りの 16 例はダグラス窩方向への正常走行を示した。この 16 例は子宮強度前屈又は後屈による見掛け上の卵管挙上像であることが側面像により確認された。正面像にて卵管延長像を示すものは 11 例 (4.2%) にみられたが、側面像では 5 例のみであり、側面像では延長像とはとらえにくいと考えられる。正面像において子宮角部でのらせん像を示し卵管走行異常の疑われる例は 8 例 (2.9%) にみられたが、その側面像では走行異常を示すものは 2 例のみであり、他の 6 例はいずれもダグラス窩方向への正常走行を示し、卵管走行矢状面からの投影による見掛け上のらせん像であるこ

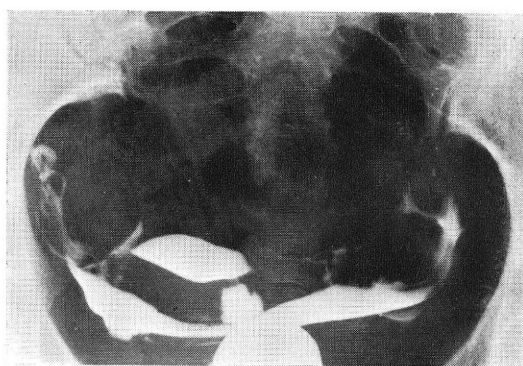


写真 8 a 正面像 (症例)

正常拡散像と考えられた症例



写真 8 b 側面像 (症例)

子宮前面 (主に膀胱子宮窩) のみへ拡散しダグラス窩内造影はみられず異常拡散像を示す。

とが側面像から確認された (写真 5 a, b)。正面像にてレトリート像を示したものは 11 例 (4.2%) であり、側面像にていずれも特異な水平面像を呈し卵管水腫であることが認められた (写真 6 a, b)。正面像にて放水像を呈したものは 3 例 (1.1%) であり側面像にて水平面像を

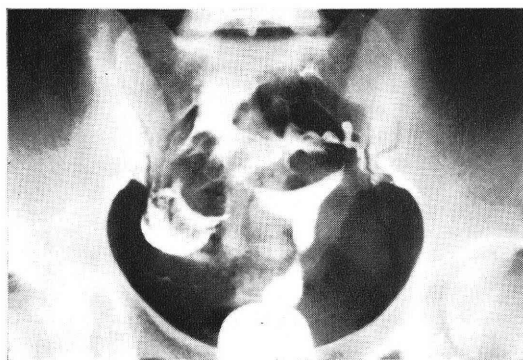


写真 9a 正面像 (症例■■■■)

左卵管挙上像がみられ、その拡散は子宮底より頭方にあり定型的な雲状とならず一部に油水像を呈し判定に苦しむ例である。

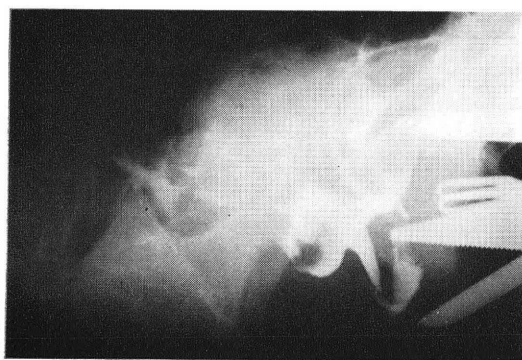


写真 9b 側面像 (症例■■■■)

子宮底部から頭方および子宮前面へのみ拡散し、ダグラス窩像を欠き異常拡散例と判定された。開腹術により外性子宮内膜症によるダグラス窩閉塞が確認された。

呈した。

3) 拡散像 (表3, 写真 7, 8a, b, 9a, b, 10a, b, 11a, b)

表3は281例の腹腔内拡散像の正面像と側面像を比較したものである。

正面像にて正常雲状拡散像を示したものは281例中229例(81.5%)であり、その229例の側面像はダグラス窩内拡散(写真7)又は貯溜像を呈し正常と考えられる212例の他に、子宮底部から頭方に拡散するもの7例、子宮前面へ拡散するもの(写真8a, b)10例が認められた。正面像にて子宮底部から頭方のみに拡散のみられるものは5例(1.5%)あり、その側面像は子宮底部から頭方のみに拡散しダグラス窩の造影されないもの(写真9a, b)3例と子宮強度前屈又は後屈による見掛け上の拡散異常を示す2例であった。正面像にて油水像を示すものは17

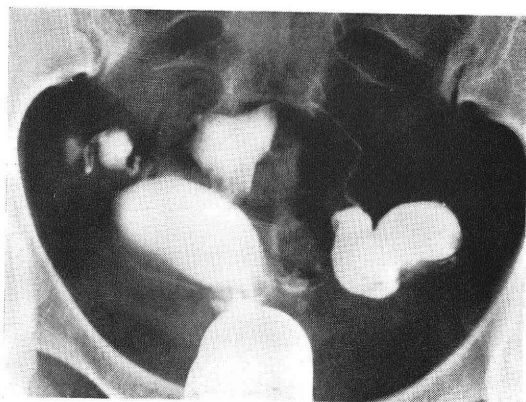


写真 10a 正面像 (症例■■■■)

左卵管はレトロ像を呈し、右卵管膨大部は拡張像なく、中央やや右よりの大きな腹腔内貯溜像がみられる。この貯溜像がダグラス窩貯溜像か癒着による閉鎖腔内のものかの判定は困難である。

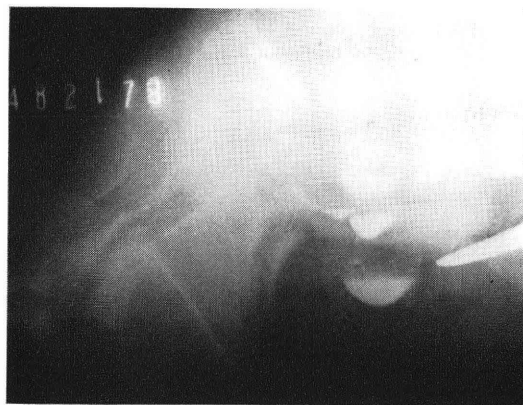


写真 10b 側面像 (症例■■■■)

骨盤底部からかなり離れた位置に水平面像を呈し、癒着による閉鎖腔内の貯溜像と判定された。

例(6.0%)あり、その側面像では正常拡散像を示すものは2例のみで他は全て異常拡散像を示し、特に子宮底部から頭方へ拡散する例に多く認められた。正面像にて貯溜像を示すものは13例(4.6%)あり、その側面像ではダグラス窩内貯溜像を示すものと閉鎖腔内貯溜を疑わせる水平面像の形成を示すもの(写真10a, b)が認められ、両者の鑑別が可能であった。正面像にて卵管外郭像を示すものは12例(4.3%)あり、その側面像では正常拡散像を示すものは2例のみで他は異常拡散像を示した。正面像にて子宮外郭像を示すものは5例(1.8%)あり、卵管疎通性も良好で正常拡散例と判定されやすいが、その側面像ではいずれもダグラス窩像を欠く異常拡散像を示した(写真11a, b)。

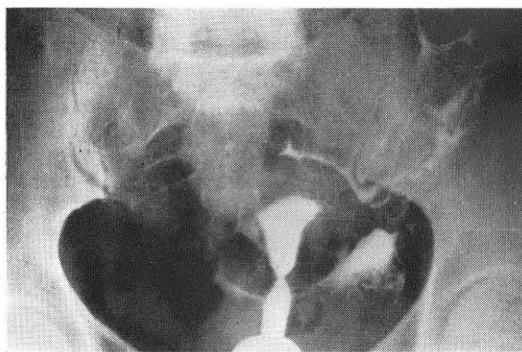


写真 11 a 正面像 (症例 [redacted])
左卵管からの造影剤により子宮外郭像が
形成された症例。

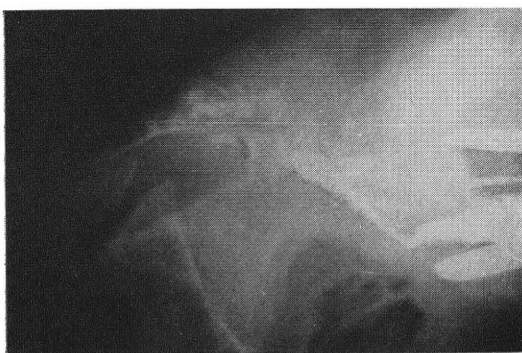


写真 11 b 側面像 (症例 [redacted])
子宮前面から頭方にのみ拡散しダグラス
窩像を欠き明らかな拡散異常例である。

IV 考案及び総括

HSG 施行に際し造影剤の選択は重要な問題であるが術者の好みにより油性あるいは水溶性造影剤が用いられている。諸家⁴⁾の報告でも両者にそれぞれ一長一短がある。副作用の少ない点では oil embolism や oil granuloma の発生の危険のある油性に比べ水溶性造影剤が優るとされている⁵⁾。造影能力に関しては子宮-卵管腔内の造影では水溶性造影剤が、腹腔内の造影では油性造影剤が優るとされている⁶⁾。しかし、近年内視鏡の普及により HSG は screening test としての性格を帯びて来ている⁷⁾。そのため副作用の少ない造影剤ということにより重点をおいて選択するのがよいと思われる。この意味において、我々は副作用の少ない水溶性造影剤を用い、その欠点である骨盤腹膜の造影能力の劣る点を補うために側面像撮影を行った。

従来、側面撮影は特殊撮影法の 1 つとして行われていたにすぎず、しかもその撮影法も管球の移動は行わずに患者の体位を変えて行われている⁸⁾。我々の場合は患者

の体位を変えず仰臥位とし管球の移動により側面撮影を行った。

造影剤又は HSG 施行法に関する報告は多くみられるが、造影像についての系統的分析を行ったものは数少なく、卵管の通過、不通過の判定にとどまっているのが現状である。我々は造影像を正面と側面の 2 方向より読影し、その系統的分析を行った。その結果は次の如くである。

子宮腔像について：(1) 陰影欠損又は変形部位の診断が可能である。(2) 辺縁不正は正面像より側面像にて検出されやすい。(3) 正面像にみられる変形は見掛け上の変形の場合がある。(4) 空腔が陰影欠損かの鑑別が可能である。

卵管像について：(1) 卵管走行を立体的にとらえ得る。(2) 正面像にみられる挙上像は真の挙上像と見掛け上の挙上像の場合がある。(3) 子宮角部でのらせん像は見掛け上の走行異常の場合が多い。(4) 卵管水腫では特有な水平面像形成が認められる。

拡散像について：(1) 正常例は明瞭なダグラス窩像が認められる。(2) 外性子宮内膜症等のダグラス窩閉塞例の検出に有力である。(3) 油水像、卵管外郭像、子宮外郭像は異常拡散像であり、しかも互に共存する場合が多い。(4) 正常貯溜像 (ダグラス窩) と閉鎖腔内の貯溜像の鑑別が可能である。

側面撮影を行うことによる生殖腺線量の増加は高感度増感紙 New SS の使用により 100 ミリラド程度におさえられ、4 枚撮影による生殖腺線量は 200 ミリラド程度であり X 線テレビ使用による場合の 780 ミリラド⁹⁾ と比べ少ない。

V おわりに

同一造影状態を正面と側面から撮影する簡便な方法により、子宮位置形態、卵管走行および拡散像を立体的にとらえることが出来、正面像のみでは診断し得なかつた異常例の検出、及び正面像の疑問例の解決が可能であり側面像撮影の意義を認めた。

本論文の要旨は第 68 回日本不妊学会関東地方部会にて発表した。

文 献

- 1) Arronet, G. H., Eduljee, S. Y., O'Brien, J. R.: A nine year survey of fallopian tube dysfunction in human infertility, Fertil, Steril, 20 : 903, 1969.
- 2) 沢崎千秋, 徳田源市, 村上 旭: 子宮卵管立体造影装置について, 日不妊誌, 3 : 19, 1958.
- 3) 千原 勤, 飯田正章, 梅村鋈三, 益川照夫: 子

宮卵管造影時における管球平行移動撮影法, 産婦実際, 11: 223, 1962.

- 4) Whitelaw, M. J. and Miller, F. B.: New watersoluble medium for hysterosalpingography, *Fertil. Steril.* 10: 227, 1959.
- 5) 徳田源市, 村上 旭: 子宮卵管造影剤の検討, 日不妊誌, 5: 138, 1960.
- 6) Murray, E.: Peritoneal factor in sterility, *Clin. Obstet. Gynec.* 5: 842, 1962.
- 7) Marc, J. N. C. Keirse, and Robert, Vanderwellen,: A comparison of hysterosalpingography and laparoscopy in the investigation of infertility, *Obstet. Gynec.* 41: 685, 1973.
- 8) 山口竜二: 子宮卵管造影図譜; 21, 医学書院, 1965.
- 9) Hashizume, T., Kato, Y. et al.: Genetically significant dose from diagnostic medical X-ray examinations in Japan, *Health Physics*, 23: 838, 1972.

Analysis of hysterosalpingogram by adding lateral view

**Yuji Tamaki, Tsuneo Kobori, Noboru Takano,
Saburo Shimizu, Soya Okubo,
Choshin Tajima and
Hiryoshi Takamizawa**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Chiba University School of Medicine

In general, the hysterosalpingogram is observ-

ed only on the frontal view.

In this method, tubal patency can be judged, but it is often difficult to observed the tubo-ovarian relationships and the status of the cul-desac. Therefore, the present study was undertaken for the purpose of the solid analysis of hysterosalpingogram by adding the lateral view to ordinary procedure.

The technic used for hysterosalpingography was the fractional injection of the watersoluble contrast medium (Endografin), initial dosis with 3-5 ml and followed by 5 ml. After total injection of 6-10 ml of Endografin the frontal and lateral views were immediately taken.

By the above simple method, the position and shape of the utrine cavity, the figure of the fallopian tube, and the peritoneal spread of the contrast medium can be taken as a solid figure. Therefore, the detection of abnormal cases which can not be judged in frontal figure is now possible, and also helps for the analysis of questionable cases.

In summary, we want to stress that the lateral view is of great importance in diagnosis of hysterosalpingogram.

着床期周辺における胞胚の子宮内膜間質細胞 に及ぼす作用

——片側妊娠ラットを実験モデルとして——

Some Informations from the Blastocyst to the Endometrial Cell

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室（主任、蜂屋祥一教授）

木下英夫 遠藤 守 玉井 滋

Hideo KINOSHITA Mamoru ENDO Shigeru TAMAI

篠塚正一 庄司 誠 山本育代

Masakazu SHINOZUKA Makoto SHOJI Ikuyo YAMAMOTO

中島敏男 矢花秀文

Toshio NAKAJIMA Hidebumi YABANA

Department of Obstetrics and Gynecology,
The Jikei University School of Medicine
(Director: Professor Shoichi Hachiya)

1. 脱落膜形成機序ならびにその生物学的意義を研究するために動物実験モデルを設定し、その実験モデルとしての有用性を検討した。
2. 実験動物ならびに方法：ラットの片側卵管を結紮後交配せしめ、L₃, L₅, L₇, L₉ に両側の非結紮側（L₅以後は妊娠側）ならびに結紮側子宮の反間膜側間質の形態的推移ならびにその差異について検討した。
3. 非結紮側においては既に L₅ より脱落膜化の初期の過程が観察された。しかしながら結紮側においては、間質細胞の脱落膜化への所見は認められなかった。このことより脱落膜化には内分泌因子のみならず、胞胚の存在が強く関与していることが示唆された。
4. 結紮側と非結紮側での L₅ 以降の形態的所見はさらに乖離を示しており、結紮側では間質細胞の変性所見が、一方非結紮側では L₇~L₉ において最も強い脱落膜細胞の分布が観察された。この事実は胞胚が胞胚それ自身にとって好適な着床環境因子を内膜間質細胞に賦与した結果と理解された。
5. 以上の結果より本実験モデル「片側卵管結紮妊娠ラット（略：片側妊娠ラット）」は脱落膜形成機序ならびにその意義を今後さらに機能的に解明する為の好適な実験系であることが確認された。

I 緒言および目的

妊娠成立過程において卵着床の機序が、性ステロイドたる estrogen と progesterone の組み合わせによつて成立することは遅延着床実験によつても明らかにされている実験的事実であり、さらに Karlson (1965)¹⁾ の Hormone-Gene thesis を嚆矢として、Aizawa, Mueller (1961)²⁾ の蛋白合成促進作用 (estrogen), Jensen-Jaco-

bson (1962)¹⁰⁾ の Hormone Receptor (estrogen), O'Malley (1967)¹¹⁾ の Avidin (progesterone), 等々の概念の発展とともにこれらのホルモンが、遺伝子の賦活化の結果その標的臓器に分子レベルで変化をもたらしていることが明らかとなつてきている。しかしながら他面において生殖生物学上最も大切な着床現象ならびにその維持作用についてはホルモン作用のみに重点が偏している傾向も否定出来ない。すなわち、子宮内膜が着床過程

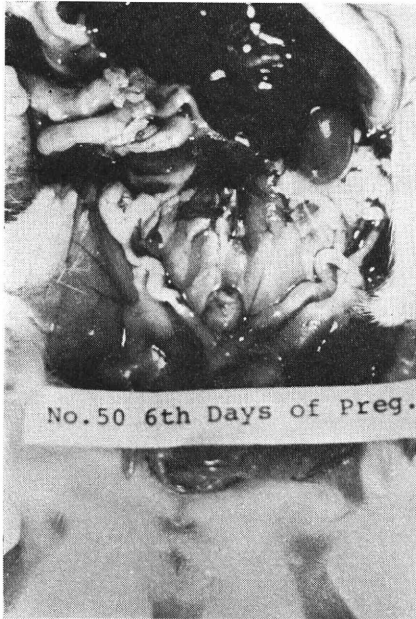


写真 1 左側のみが妊娠の為肥大
(腹部よりみたもの)

において、ホルモン作用のみならず、胞胚の影響をどのようなかたちで受けとめ、さらにその結果として子宮内膜が卵に対していかなる生物学的意義を持っているかに関して論及した報告はきわめて少ない。

形態的にみると妊娠成立の過程においてみられる間質反応として脱落膜細胞の出現、ないしは脱落膜化という現象が従来より着目されており、多くの報告がなされているが、この脱落膜の持つ生物学的意義についての報告はいわゆる Loeb (1908)¹⁷⁾を初めとし、その後 Shelesnyak (1957)²⁰⁾、DeFeo (1967)⁵⁾ ならびに Finn (1971)⁶⁾ 等により脱落膜腫形成が試みられている。しかしながらこのように人為的に誘発された脱落膜腫は真の脱落膜と内分泌環境の差、胞胚の存否という面から比較してみても、形態的類似性のみで、これら両者を同一視することは基本的に大きなへだたりがあると我々は考えている。

本研究においては片側卵管結紮ラットによる形態学的な検討を行い、その実験モデルとしての有用性を検討するとともに、脱落膜形成の因子ならびにこの脱落膜細胞が基本的には胞胚の着床ならびに維持に対していかなる目的性を持っているかの2点について考察した。

対象：Wistar-Imamichi 系雌性成熟ラット（体重170～220g）をエーテル吸入麻酔下にて背部皮膚より切開、片側卵管を血管の損傷なきように注意深く結紮（図1）オリエンタル餌料ならびに水を自由に摂取させつつ11/13の日照時間、ならび26°Cの条件下にて2週間経

PROCEDURES OF UNILATERAL LIGATION
OF SALPINX

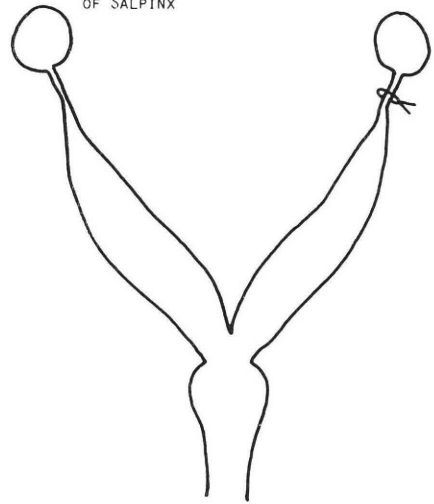


図 1

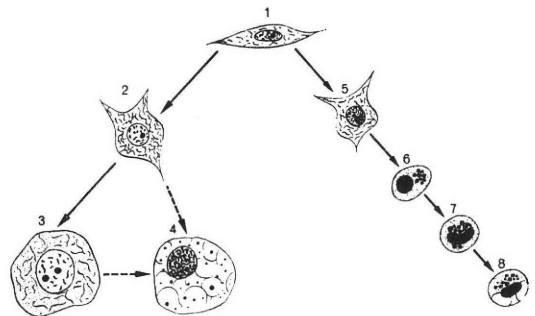


図 2 Decidual-Cell の形態推移 (G. Dahlenbach-Hellweg より引用)

過後、腔スメアーにて排卵性周期を確認、発情前期に成熟雄性ラットと同居、交尾せしめた。翌朝腔栓ならびに精子確認の日を妊娠第1日（以下L₁……L_nと略記）とし、L₃～L₉に至るRatを断頭、屠殺、子宮を摘出した、すなわち一側は妊娠、結紮側は非妊娠状態を呈していた（写真1）。

これら子宮組織を以下に述べる方法にて処理した。

II 観察方法

摘出子宮は直ちに1時間のCarnoy固定の後、非結紮側の妊娠側子宮は着床部を中心として、結紮側である非妊娠子宮は適宜に切り出し、次いで上昇アルコール系列にて固定、脱水、パラフィン包埋の後、約3～4μの連続切片を作成、Haematoxylin-Eosine染色を行つた。観察部位は着床側たる反間膜側を中心として間質細胞の逐日的変化を追求した。ヒト子宮内膜間質細胞の排卵以後

の形態は Dahlenbach-Hellweg, G (1954)⁴⁾によれば(図 2), fibroblast-like な poorly differentiated stromal cell とよばれるものが endometrial granulocytes とよばれるものと, circular predecidual cell とよばれるもの 2 つの異なった形態へ分化してゆくとし, 特に, circular predecidual cell とよばれるものが, 次第に円形化した細胞, すなわち decidual cell, もしくは metachromatic granules を含む foamy decidual cell へと分化してきているが, 今回, 我々はこの規準を用いてラットにおいても認められる同様な circular predecidual cell が次第に decidual, もしくは foamy decidual cell に至る経時的推移とその発現分布について追求した(以下 decidual, foamydecidual cell を D-cell と, その他の fibroblast, もしくは granulocytes を F-cell と略記する).

すなわち, D-cell の粗密度, D-cell/F-cell 比, 核小体の発現, 動静脈血管の発現等に関して着床部位としての子宮反間膜側にどのようにみられるかを光顕的に観察した.

III 結 果

1) L₃:

a) 妊娠側: 間質細胞は反間膜側において粗であり, いわゆる D-cell に近い形態変化が既に発現し始めている. D-cell/F-cell 比はやや D-cell が多く認められる傾向があるが, 動静脈の肥大, 拡張はいまだ不明である.

b) 非妊娠側: 妊娠側と比較してみると, 同様な形態が示されている, すなわち間質細胞の密度は粗である, しかし妊娠側と比較して, D-cell の核内における核小体も多少認められるが, 顕著とは言えない, D-cell と F-cell の発現は, ほぼ同程度である. 血管の拡張も着床側と同様の所見が示されている.

2) L₅:

a) 妊娠側: 子宮の輪状横断面積は非妊娠側と比してやや増加を示す, 間質細胞の密度は L₃ と比して粗な印象を受けるが, 詳細に観察すると細胞相互は Pavement like な pattern を呈し, 構築性が増してきている, またそれら間質細胞は L₃ 妊娠側よりもやや肥大した不整形の D-cell で占められており F-cell は殆んど認められない. 動脈壁の肥厚ならびに静脈の拡張もこの頃より増強してきている.

b) 非妊娠側: 輪状横断面積は L₃ の非妊娠側と比較しても殆んどその大きさの差異は認められない. 間質細胞は明らかに粗であり, 形態的構築性にも乏しく, D-cell, F-cell との比もほぼ同程度もしくは F-cell の方がやや高い程度である. D-cell の形態も L₃ 非妊娠側に

比してやや発達の傾向は認められるが, この時期の妊娠側のそれには, はるかに及ばない. さらにこの D-cell を詳細に観察すると, 円形の核は有するが, 染色性は多様であり, 細胞間相互の連絡性にも乏しく, 個々の細胞境界を明確に区分出来ない.

3) L₇:

a) 妊娠側: 子宮体積はますます増加し, 間質細胞はより緻密な Pavement like な配列を示し, それら間質細胞中に F-cell は殆んど認められず, 肥大化した D-cell で占められている. すなわちこれらの大きな D-cell により構築性はさらに増強されてきている. 一部の D-cell では, Mitosis, もしくはそこに至る途上の細胞も散見され, 核内に 2 つの核小体を有している. 血管の肥大, 拡張像はこの時期では, この反間膜側の上皮直下では左程明らかではない.

b) 非妊娠側: 子宮横断面はやや増加する程度である. 間質細胞は粗, 妊娠側に比してはるかに小型の D-cell が散在し, それらの核も同様に小型, 不整であり核小体にも乏しい. また, 低染色性の F-cell がその間に粗に埋められている程度で, 構築性にも乏しい. 血管の増生, その他の特記すべき所見も着床側と比して乏しい. すなわち着床側に比して, D-cell はきわめて小型, 未発達な状態にとどまっている.

4) L₉:

a) 妊娠側: この時期において Trophoblast の発達により, 胎盤の形成が明瞭となってくるが, その直下に全く新しい Basophilic な細胞融合とも考えられる濃染する核を有している Fibroblast 様な細胞が認められてくる. これらの細胞の由来は不明であるが, さらにその下に存在する D-cell の間隙にも散在する. D-cell は部位的には粗密に種々の程度を示し, その形態もまたやや異なつてはいるが, これらは子宮間質の存在するすべての部位に認められる. この D-cell は着床部においては大型化の傾向が認められ, 核も L₇ に比してはるかに大きい, L₅~L₇ に至る妊娠側間質細胞(D-cell)に比して構築性はやや低下している. このことは細胞個々についても同様であり, その細胞質は eosinophilic であり, 細胞のみならず組織全体としても一種の退行的変化の所見と考えられた.

b) 非妊娠側: L₇ 非妊娠側に比して Anti-Mesometrial Triangle における間質細胞は F-cell, D-cell ほぼ同じ程度の発現が認められた. 細胞質も少なく, 組織学的な構築性にも乏しい. D-cell 相互の細胞境界も不鮮明, かつ, 核も大小不同, 多形性に富んでいる.

5) D-cell の分布

図 3 で示されるごとく, D-cell の発現は, 非結紮側,

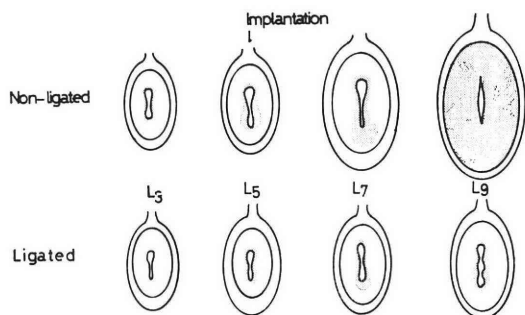


図 3 脱着膜細胞および類脱着膜細胞の発現分布

すなわち妊娠側においては L_9 に至るまで反間膜側を中心として次第に広範囲に発現してゆく過程が認められる。一方これと対応する反対側、すなわち非妊娠側を観察すると D-cell としての反応性は部位的に乏しい。 $L_5 \sim L_9$ の間、D-cell の発現分布はやや拡張するも、妊娠側と比較すると非常にせまく、 L_9 においてはむしろ F-cell が腺上皮下に認められている。

IV 考 按

緒言において述べたごとく、妊娠時における間質細胞、とくに Decidual Cell の持つ形態的、機能的な分析は、Loeb (1907)¹⁶⁾ (1908)¹⁷⁾、Shelesnyak (1962)²¹⁾ その他による DIF (Decidua Induced Factor) を用いて形成された脱着膜腫 (Deciduoma) という場において検討されており、これを実験系として脱着膜の形成因子ならびに、その生殖生理学的意義が解析されてきている。しかしながら、この脱着膜腫を直截的に真の脱着膜と同一次元のものとして理論構成を行うには多くの問題点が横たわつていと言えよう。すなわち、脱着膜と同様な変化を脱着膜腫として再現せしめ、その形態的变化を追求する事は、内分泌環境という点に関して肯首し得たとしても、それはあくまでも形態学的類似性もしくは相似性を有するというだけであり、妊娠時に形成される脱着膜に関する問題点に対する回答とはなり得ないと言えよう。

本研究の第 1 の目的はラットが双角子宮であることを利用し、片側卵管結紮による不妊手術を行った後、他側子宮を妊娠させることにより、一側に妊娠、他側に非妊娠という条件を設定し、第一にそれぞれが同一個体内かつ同一内分泌環境にあるにもかかわらず、いかなる異反応性を示してくるかを検討することによって、その実験モデルとして有用性を検討することであり、第 2 の目的としては、この実験モデルを用いて、脱着膜の成立機転ならびにその意義を、胞胚との関連性において理解しよ

うとしたものである。

従来よりの脱着膜形成ならびに誘発因子に関する論議は、Loeb (1907)¹⁶⁾、DeFeo (1967)¹⁸⁾ ならびに Shelesnyak (1957)²⁰⁾ 等の提唱するごとく絹糸、器械的刺激による内膜の損傷、 O_2 、Ringer 液等が脱着膜、ならびに脱着膜腫を形成すると考えられてきており、また、特に McLaren (1968)¹⁹⁾、Herthington (1968)⁹⁾ ならびに Brinster (1970)³⁾ 等は胞胚の産生する CO_2 が誘発因子であるとしている。以上が、脱着膜 (腫) 誘発因子の外因性因子のほぼ概略であるが、内因性因子として Shelesnyak (1957)²⁰⁾ は先にのべた外因性因子が、脱着膜形成に先立つて、内膜の血管透過性の亢進、浮腫等の形態的变化を誘発することから本質的な脱着膜形成因子の本体が Histamine であろうとしており、これを裏付ける根拠として、細胞増殖が旺盛な部位で Kahlson (1962)¹¹⁾ は histidine から histamine 合成への律速性が増加することを発表している。しかしながら Tachi et al. (1970)²²⁾ はこの説に対して必ずしも肯定的ではない。さらに内因性因子の一つとして、組織、細胞の破壊の際に prostaglandin の合成促進が起こることも、Di Rosa et al.²³⁾、Arthurson et al. (1975)²⁾ 等によりよく知られている事実であり、さらにこれは、炎症性反応の仲介物質 (mediator) と Ferreira, et al. (1974)⁷⁾ は考えている。

Tachi, et al. (1974)²³⁾、(1975)²⁴⁾ はこの prostaglandins を pseudopregnancy 初期の動物に注射したが完全な脱着膜の形成はいまだに認めておらず、抗ヒスタミンの一種である、Pyrazinazine-HCl の投与によって脱着膜形成を起こすことを彼等は認めているが、これもまた、一種の組織破壊が Prostaglandins 産生を促進したものと解釈しており、いずれにしても、Prostaglandins が脱着膜形成の内因性因子であると断定するにはまだ尚早であると報告している。

本研究において片側妊娠ラットによる実験系の樹立により従来よりの脱着膜研究にまつわる幾つかの問題点は解決され得たと考えられ、さらに、形態学的追求によっても、既に L_3 より、間質細胞が、結紮、非結紮側で大いに異なつた所見を示しており、 L_5 に至るとさらに顕著な差異が認められていたという事実は、妊娠早期から、内分泌環境ならびに胞胚の 2 つの要素により間質細胞が脱着膜細胞へと誘導されたと理解された。Loeb (1908)¹⁷⁾ は decidualization の過程をいくつかの段階に分けており、Shelesnyak (1962)²¹⁾ は、1) Priming phase, 準備期、2) State of Sensitivity, 感受期、3) Induction phase, 感受期、4) Growth phase, 成長期、5) Differentiation phase, 分化期とよんでいる。

また, C. Tachi (1975)²⁵⁾は準備期細胞増殖 (priming cell proliferation), 脱落膜形成細胞増殖 (decidual cell proliferation) と区別している。我々¹³⁾はこれに対して現在核酸合成の面より検討しているが、いずれにしても着床前より既に間質細胞が脱落膜化へと進行していることは確かであると言えよう。

また D-cell の分布に関しては既に妊娠側 L₂ においては、いわゆる脱落膜細胞が子宮腔に面する間質細胞に認められるも、非妊娠側ではまだ発現が認められず、この事実は、妊卵の着床以前より、着床環境を子宮内膜の間質細胞に与えているとも推察され、妊卵の存在が着床環境形成に重要な意義を持つものと理解された。既に Krehbiel (1937)¹⁴⁾は脱落膜形成の初期の段階において、ラット子宮反間膜側の上皮直下に脱落膜細胞 (primary decidual cell) が形成され、これは胚の作用によるものではなく、むしろ内分泌的作用によるものと解釈しているが、我々の実験モデルにおける、妊娠側 L₃~L₅, ならびに非妊娠側 L₅ でみとめられる間質細胞の形態的变化はまさしく Krehbiel (1937)¹⁴⁾の説を実験的に証明しえたと考えられよう。

さらに、L₁, L₃ の妊娠側においてきわめて広範囲な脱落膜形成があるにもかかわらず、非妊娠側にその発現が乏しいことは、種々の解釈もされようが、少なくとも、ホルモン投与実験と異なり、脱落膜形成には、ホルモン作用のみならず、妊卵の存在が伴なつて、脱落膜の形成が進行するものと考えられた。したがつて、非妊娠側子宮と比較して、妊娠側子宮に認められる一連の形態的变化は当然の事ながら胞胚側の因子が主体となると考えられ、さらに胞胚は、胞胚それ自身にとって好適な妊娠環境形成因子を内膜間質細胞に賦与するものと理解された。

以上、本報告においては、胚・内膜相關に関する研究の一部として、その間質細胞、すなわち脱落膜形成機構ならびにその意義を追求するための実験モデルを設定し、その形態学的な検討を行つたものであるが、もとよりこの脱落膜化も、複雑精緻な妊娠維持機構の一部分を分担しているにすぎないと考えられる。

最後に本実験ではラットを中心として述べたものであり、ヒトのそれと同一視して論ずるにはなお多くの問題点があることは否定出来ないが、脱落膜を形成する種において、胞胚と子宮内膜の接着、母体胎児間の免疫学的関係、内膜細胞、特に間質細胞の分裂制御機構 (Tachi 1975)²⁵⁾ 子宮血流量との相関、等々の問題は種による相違を越えた大きな基礎的命題であるとも考えられ、ある動物モデルでの実験系の確立が他種の問題点の解明の為の重要な鍵となり得る (Linder 1972)¹⁵⁾ と言え

う。この観点よりみると、本実験系の確立は、ヒトの脱落膜形成機序ならびにその意義を追求するための好適な実験系と考えられ、かつ産婦人科領域における臨床的問題を解決するモデルともなり得よう。

VI 結 論

1. 脱落膜形成機序ならびにその意義を追求する為に片側卵管結紮妊娠ラット (片側妊娠ラット) を実験モデルとして用い、その実験系としての有用性を検討した。
2. 実験モデルにおいて、非結紮側、結紮側の子宮反間膜側における間質細胞の脱落膜化への過程を比較検討した。
3. 非結紮側 (妊娠側) においては既に L₃ より脱落膜化への誘導が開始されていた。
4. 脱落膜化の過程には、内分泌的背景のみならず、胞胚の存在が強く関係することが示唆された。
5. 胞胚はそれ自身にとって好適な妊娠環境形成する為の因子を内膜間質細胞に賦与していることが推察された。
6. 以上の結果より、本実験モデルは、脱落膜形成機序、さらには着床現象を追求する為の好適な実験系であると考えられた。

拙筆するにあたり、御指導、御校閲賜りました蜂屋祥一教授ならびに東大動物学教室 館 鄰博士に深謝申し上げます。

References

- 1) Aizawa, Y. and Meuller, G. G.: The effect in vivo and in vitro of estrogens on lipid synthesis in the rat uterus. *J. Biol. Chem.* 236 : 381, 1961.
- 2) Arthurson, E., Hamburg, M. and Jonson, C. E.: Prostaglandins in human burn blister fluid. *Acta. Physiol. Scand.* 87 : 270, 1975.
- 3) Brinster, R. L.: in *Mammalian Reproduction* (Gibian, H. and Plotz, E. J. ed.): p. 229, Springer Verlag, Berlin, 1970.
- 4) Dahlenbach-Hellweg, G.: in *Histopathology of Human Endometrium* (Dahlenbach, G. Hellweg ed.) Springer Verlag, Berlin, 1971.
- 5) De Feo, V. J.: Decidualization, in *Cellular Biology of the Uterus*, (Wynn, R. M. ed.): p. 191, Appleton-Century-Crofts, New York, 1967.
- 6) Di Rosa, M., Giroud, J. P., and Willoghby, D. A.: Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by Carrageenan and Tuppentine, *J. Pathol.* 104 : 15, 1971.

- 7) Ferreira, S. H., Moncada, S. and Vane, J. R. : in Prostaglandine Synthetase Inhibitors (Robinson, H. J., and Vane, J. R. ed.) : p. 175, Raven Press, New York, 1974.
- 8) Finn, C. A. : The biology of decidul cells. *Adv. Reprod. Biol.* 5 : 1, 1974.
- 9) Herthington, C. : Induction of Deciduomata in the Mouse by Carbon Dioxide, 219 : 863, 1968.
- 10) Jensen, E. V. and Jacobson, H. I. : Basic Guide to the Mechanism of Estrogen Action, *Rec. Prog. in Hormone Res.*, 18 : 387, 1962.
- 11) Kahlson, G. : New Approches to the Physiology of Histamine. *Perspect Biol. Med.* 5 : 179, 1962.
- 12) Karlson, P. : in Mechanisms of Hormone Action (Karlson, P. ed.) p. 139 Thieme Stuttgart. 1965.
- 13) Kinoshita, H. et al. : Blastocyst induced uterine responses in the rat with unilaterally ligated salpinx (in press).
- 14) Krehbiel, R. H. : Cytological studies of the decidual reaction in the rat during early pregnancy and the production of deciduomata. *Physiol. Zool.* 10 : 212, 1973.
- 15) Linder, H. R. : Choice of animal model for study of ovum implantation, in the use of non-human primates in reserch on human reproduction, W.H.O. Symposium (Diczfalusy, E. and Standly, C.C. ed.) p.93, Karolinska Institute, Stockholm, 1972.
- 16) Loeb, L. : Wounds of the pregnant uterus. *Proc. Soc. Biol. Med.*, 4 : 93, 1907.
- 17) Loeb, L. : The production of deciduomata and the relation between the ovaries and the formation of decidua. *J. Am. Med. Assoc.*, 50 : 1897, 1908.
- 18) McLaren, A. : Can beads stimulate a decidual response in the mouse uterus. *J. Reprod. Fert.* 15 : 313, 1968.
- 19) O'Malley, B. W. and Kohler, P. O. : Studies on steroid regulation of synthesis of a specific oviduct protein in a new monolayer culture system. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 6 : 2359, 1967.
- 20) Shelesnyak, M. C. : Some experimental studies on the mechanism of ova-implantation in the rat. *Rec. Progr. Hormone Res.*, 13 : 269, 1957.
- 21) Shelesnyak, M. : Decidulization, the decidua and the deciduoma. *Perspectives Biol. Med.*, 5 : 503, 1962.
- 22) Tachi, C., and Tachi, S. : Action of anti-histamines on the endometrium and the histamine theory of decidual induction. *J. Reprod. Fert.*, 23 : 169, 1970.
- 23) Tachi, C., and Tachi, S. : Cellular aspects of ovum implantation and decidulization in the rat, in *Physiology and Genetics of Reproduction* (Continho, E. M. and Fuchs F. ed.) Part-B, p. P. 263, Plenum Publishing Corporation, New York, 1974.
- 24) 舘 鄰, 舘 澄江 : 着床における胚—子宮相互作用, *周産期医学*, 5 ; 551, 1975.
- 25) 舘 鄰, 舘 澄江 : 胚盤胞と子宮内膜の相互関係について—脱落膜形成機構を中心として, *日本医師会雑誌*, 74 : 844, 1975.

Some informations from the blastocyst to the endometrial cell

Hideo Kinoshita, Mamoru Endo, Shigeru Tamai, Masakazu Shinozuka, Makoto Shoji, Ikuyo Yamamoto, Toshio Nakajima and Hidebumi Yabana

Department of Obstetrics and Gynecology,
The Jikei University School of Medicine
(Director : Professor Shoichi Hachiya)

The mechanisms and significance of decidualization were investigated using the experimental model which we established.

Adult female rats were subjected to unilateral ligation of salpinx. After confirmation of normal sexual cycle on vaginal smears, those rats in proesterus or estrus phase were caged overnight with normal fertile male. Mating were determined by the presence of spermatozoa in the vaginal smear of the following morning, which was designed as the first day of pregnancy, i.e. L₁, the days after as L₂, L₃ etc.

During the day from L₃ to L₉ of gestation, bilateral uterine horns were removed and those specimens were fixed in Carnoy's fluid. Specimens were then embedded in soft paraffin wax and cut in about 4-5 μ in thickness. Thin sections were stained with haematoxyline and eosine for light-microscopic observation.

At the period of L₃, beginning of decidulization of stromal cell of the anti-mesometrial side, were observed in non-ligated (pregnant) uterine horn. On the other hand, ligated side showed no remarkable change. From L₅ to L₉, many stromal differences between non-pregnant (ligated) and pregnant (non-ligated) side were morphologically demonstrated. Thus, the stromal cell in the ligated side showed no remarkable change, but non-ligated side, decidualization marked gradually.

According to those findings, it will be elucidated that not only endocrinological environment such as in pregnancy, but also blastocysts make stromal cell to decidualize. Furthermore, after implantation, it may be concluded that those morphological findings would be induced by the

blastocyst which probably makes stromal cell sensitive around the peri-implant periods. This offers possibility of some information from the blastocysts to the stroma cell.

In this investigation, the mechanisms and

significance of decidualization about the nidus-endometrial (stromal cell) correlation were discussed using the experimental model, which we established.

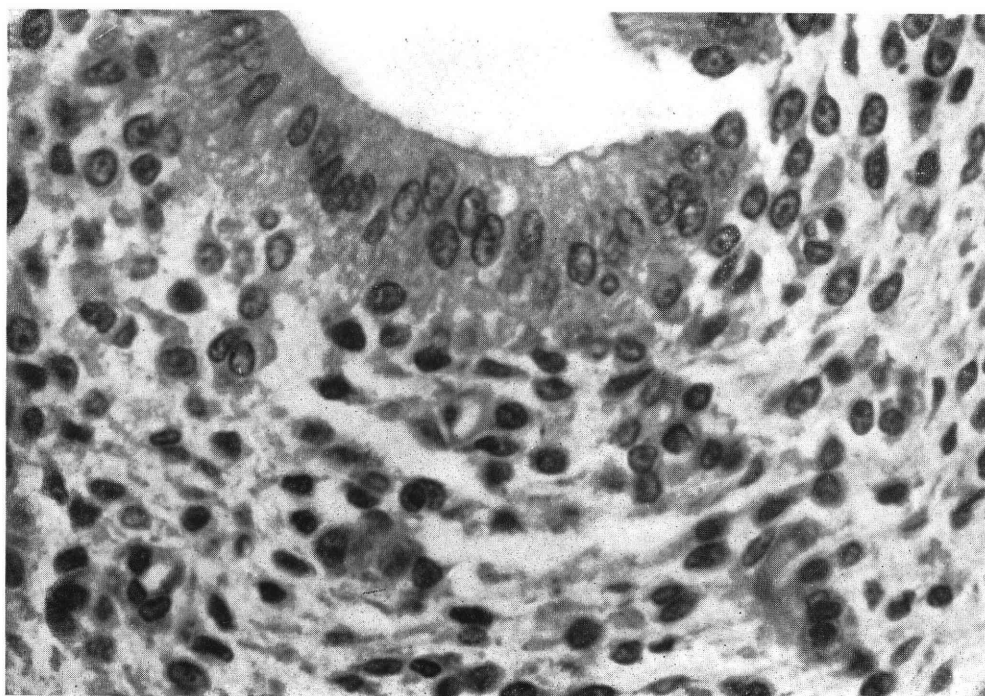


写真 2A 非結紮側 L₃ (R-47 P3) 200×

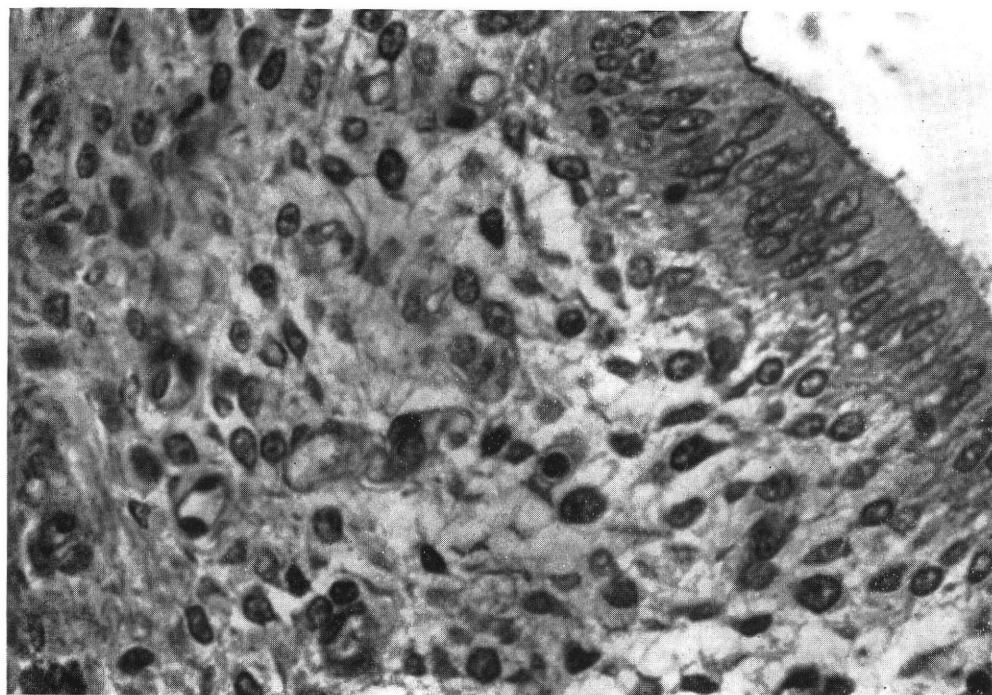


写真 2B 結紮側 L₃ (R-48 N3) 200×

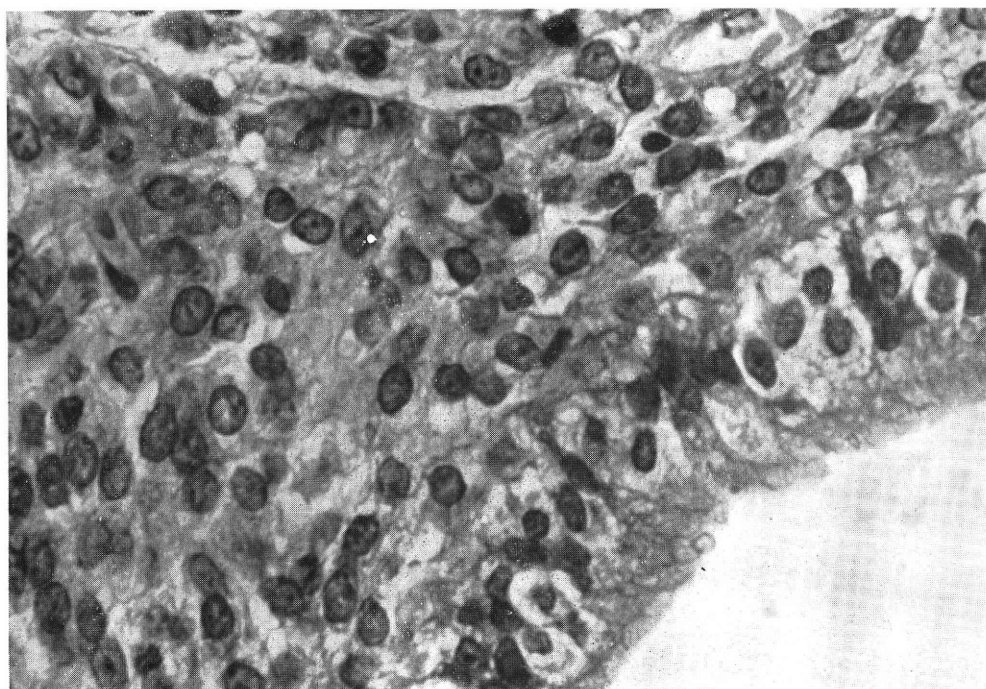


写真 3A 非結紮側 L₅ (R-23 P5) 200×

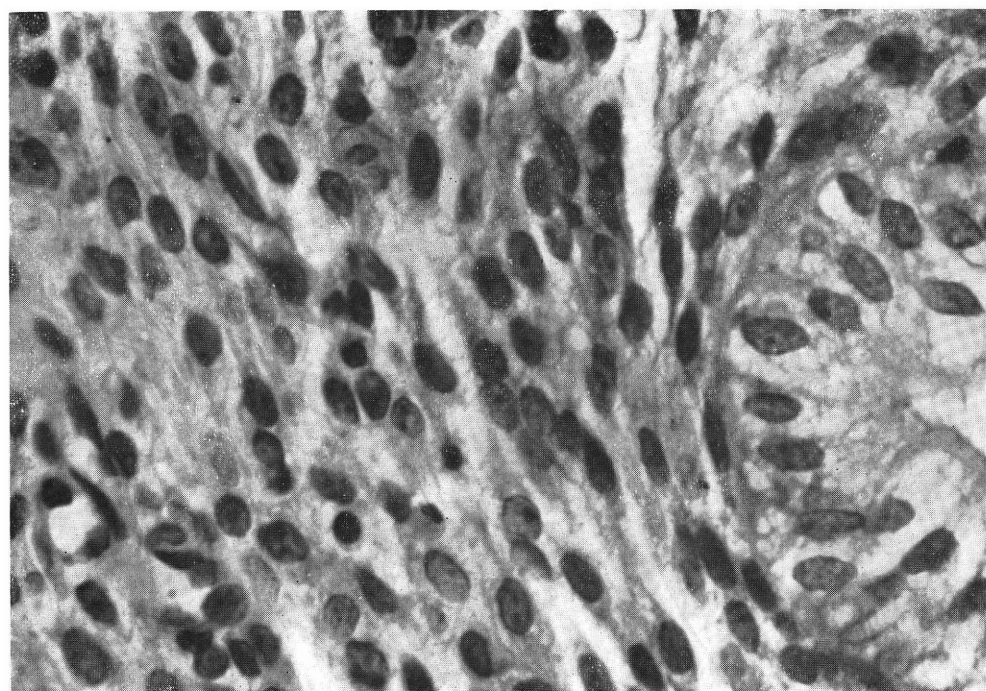


写真 3B 結紮側 L₅ (R-24 N5) 200×

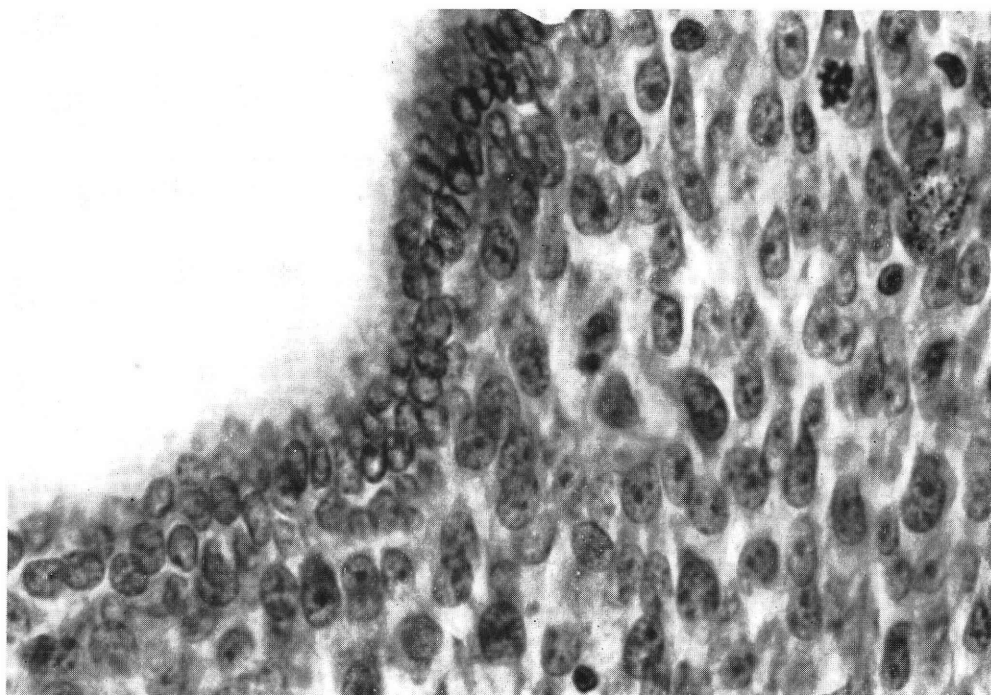


写真 4A 非結紮側 L₇ (R-57 P 7) 200×

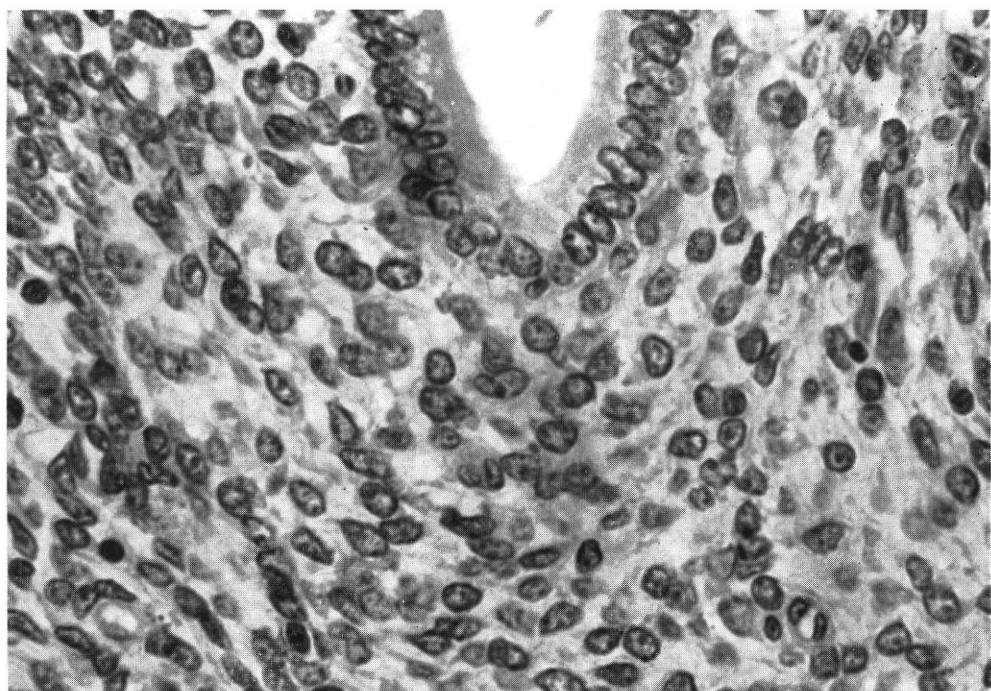


写真 4B 結紮側 L₇ (R-58 N 7) 200×

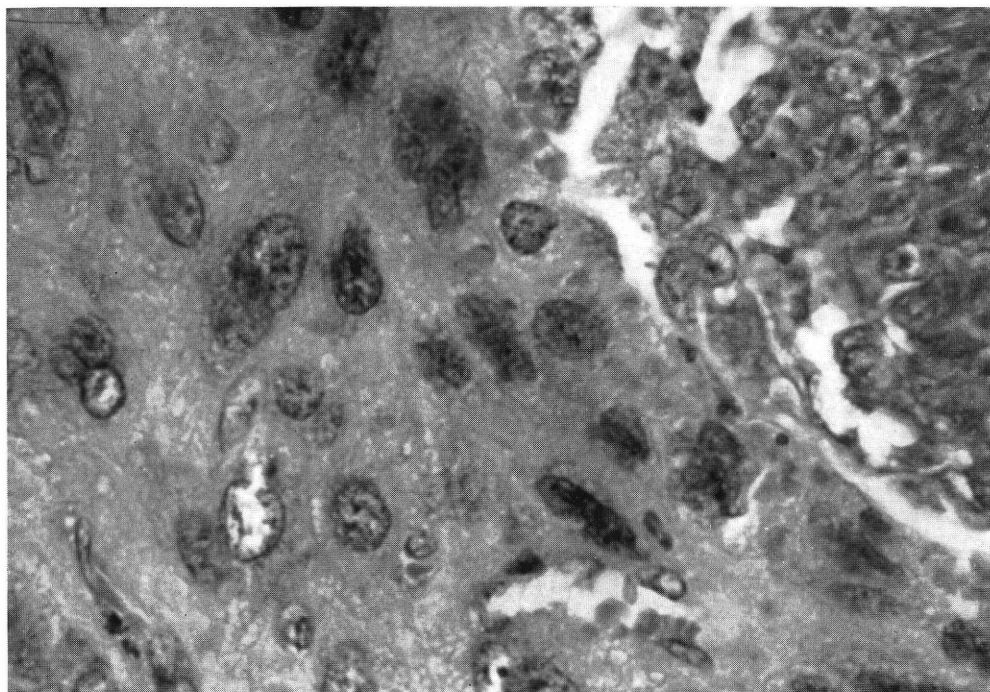


写真 5A 非結紮側 L₉ (R-33 P 9) 200×

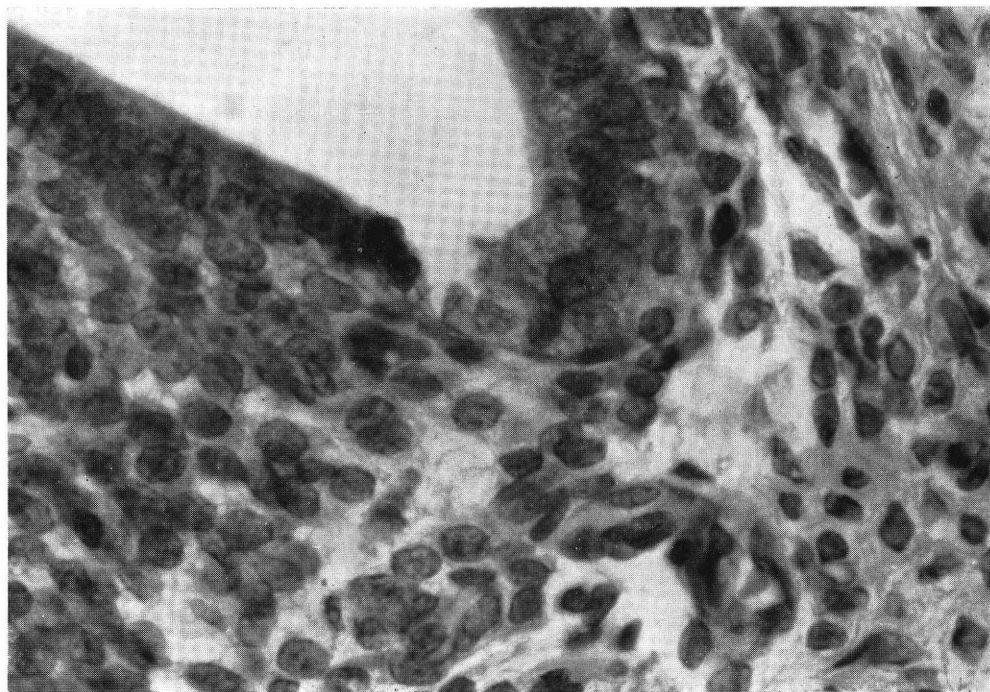


写真 5B 結紮側 L₉ (R-34 N 9) 200×

FERTILIZATION IN VITRO USING RABBIT TUBAL OVA RECOVERED AT DIFFERENT INTERVALS AFTER HCG TREATMENT WITH EJACULATED OR IN VIVO CAPACITATED SPERMATOZOA

Harumi KUBO

Department of Obstetrics and Gynecology Toho University,

School of Medicine

(Director; Prof., Motoyuki HAYASHI)

Abstract: In vitro fertilization experiments were carried out using 315 of rabbit tubal ova with ejaculated sperm or capacitated sperm recovered from female genital tract.

- 1) Recovered numbers of 20Hr-Ova (mean 19.4) were more than that of 15Hr-Ova (mean 13.3), and on the rate of degenerated ova, the former clearly higher (15.5%) than the latter (5.0%).
- 2) Fertilization rate of 15Hr-Ova (64.8%) was higher than 20Hr-Ova (58.9%), and the fertilization process of the latter was more retarded than the former, and the developmental ability after two-cell stage was almost decreased.
- 3) On the 20Hr-Ova which showed the fertilized phenomena, regular microvilli was disappeared, plasma membrane of the vitellus showed the irregular circumference, much granular substances were seen in perivitelline space, and dumbbell or spheroidal shaped mitochondria and vesicular bodies were seen in ooplasm under the electron microscopic examinations. These morphological changes are seemed to be aged phenomena of the ova which have passed for about ten hours or more after ovulation.
- 4) On the examinations of 15Hr-Ova inseminated with ejaculated or in vivo capacitated sperm;
 - a) fertilization rate of the former (64.8%) is lesser than the latter (74.2%).
 - b) formation of second polar body at the latter experiments had been 1-2 hours earlier than the former, but there was no difference with the time lapse of further development between them.
 - c) each ova which had been inseminated with ejaculated sperm clearly showed the fertilized phenomena, and there were no morphological differences from the ova which had been fertilized with capacitated sperm under light and/or electron microscopic examinations.

Introduction

Since the initial attempts at in vitro fertilization by Austin¹⁻³⁾ and Chang⁴⁻⁷⁾ of a need for sperm of fertile rabbits to reside in the female reproductive tracts for some hours before they could penetrate the zona pellucida of the ovum, many efforts have been directed toward eliminating the

requirement of the female reproductive tract in this process.

Although much speculation regarding the mechanism of capacitation at various mammalian species have been reported, controversy has continued as to its essential qualities.

Recent reports have shown that mouse sperm can be capacitated more rapidly in

defined media of elevated ionic strength by Toyoda^{8,9)}, Miyamoto and Chang¹⁰⁻¹²⁾. In the preceding reports of our laboratory, the results of fertilization in vitro using rabbit tubal and follicular ova with ejaculated sperm have been demonstrated since 1965 by Amano¹³⁾, Okinaga^{14,15)}, Kubo¹⁶⁾.

The purpose of this paper was to 1) capacitated ejaculated rabbit sperm in a synthetic medium and to document this achievement by in vitro fertilization, 2) determine whether the ageing of the ovum after ovulation effects on the fertilization process in vitro, 3) whether there were some differences regarding to the fertilization rate and morphological changes between the ova fertilized by ejaculated and "capacitated" spermatozoa.

Materials and Methods

Animals

Mature Japanese white rabbits weighing 2.5-3.2 kg were used. They were housed individually in metal cages for about 21 days prior to use to avoid pseudopregnancy, and fed a stock chow and water ad libitum.

The ovum donors were treated by subcutaneous injection of 150 IU of Pregnant Mare's Serum Gonadotropin (Serotropin; Teikokuzoki Co.), followed by 80 IU of Human Chorionic Gonadotropin (Gonotropin; Teikokuzoki Co.) given intravenously 72 hours later.

At different intervals after HCG injection, they were anesthetized with thiopental sodium, 0.2 gr (Ravonal A; Tanabe) and sacrificed by air embolism. Whole oviducts and ovaries were immediately removed and placed in 100×20 mm Petri dish containing warm sterile saline and carried into the adjacent warm tissue culture room. Oocytes were flushed from the oviducts using tuberculin syringe with 1 ml of the medium into 10-cm-diameter watch glasses under a dissecting microscope. The evaluation of oocyte's initial quality was made by direct observation at this time.

The secured oocytes, surrounded by a thick layer of follicular cells, were easily picked up with a fine pipet. They were transferred promptly to another watch glass

containing the synthetic medium and washed 2 or 3 times.

Ejaculated sperm was collected from buck rabbits by use of an artificial vagina. Technic and environmental control were practiced as aseptically as possible in order to prevent infection.

Only the liquid portion of semen was used and any jelly present in the ejaculate was discarded. The sperm cells were washed to remove excess seminal plasma by suspending them in 7-8 ml of the medium containing a small amount of sodium heparin and centrifugation at 395×g for 5 min, discarding the supernatant fluid, the precipitate was resuspended in 2 ml of the fresh medium and then allowed to stand at room temperature for 20-30 min.

Medium

The fertilization medium used in these experiments was shown in Table 1. Three

Table 1 Component of the Synthetic Medium
TC 199 : HamF 12 : HamF 10 (6 : 2 :
2) Vol. %

Serum Albumin	40.0 mg%
Vit. B ₁	0.15 mg%
Bactotryptose	10.0 mg%
Fetuin	3.0 mg%
KM	6.0 mg%

pH 7.5-7.8

Osmolality, 280-310 mOsm/Kg

Just prior to use, 6mM Sodium

Pyruvate was added

kinds of established combined mediums (TC 199, Ham's F12, Ham's F10) were mixed at the rate of 6:2:2 Vol. per cent and supplemented with Serum Albumin (40.0 mg), Vit. B₁ (0.15 mg), Bactotryptose (10.0 mg), Fetuin (3.0 mg), KM (6.0 mg) per 100 ml. Just prior to use in the fertilization medium system, 0.6 mM Sodium pyruvate was added and the medium was sterilized by filtration through a 0.45 μ pore size Millipore filter, using a Swinnex adapter and locked glass syringe. The solution was adjusted to pH 7.5-7.8 by the addition of 7.5 per cent NaHCO₃ and osmolality of approximately 280-310 mOsm/kg.

At about 24 hours after insemination,

heated rabbit serum (Flow Laboratories) was added to the medium to make up to 20 Vol. per cent.

Insemination

The concentrated sperm suspension was transferred by capillary to 55×13 mm Plastic Tissue Culture Dishes (Falcon Plastics Co.) containing 2 ml of medium, giving a sperm cell concentration of about 12×10^5 /ml. Three to five eggs with cumulus oophorus were placed in the sperm suspension.

As a control, one group of ova was placed in the medium without sperm cells. All these culture systems were covered by equilibrated mineral oil and incubated under a moist 5 per cent CO₂ in air atmosphere at 37–38°C in a CO₂-Incubator.

Morphological examinations were usually carried out for evidence of fertilization in the fresh state under inverted phase contrast microscope at intervals of 3 hr from the start of cultivation. When fertilization phenomenon was found in some of cultivated ova, they were mounted in fresh medium between a slide and 0.13 mm thickness of coverslip supported by a grease dot at each corner and examined minutely under phase contrast microscope and photographed. Some ova were fixed with 2 per cent glutaldehyde in 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.2–7.4), post fixed with 1.0 per cent osmium tetroxide, and embedded in Epon 812 prior to serial sectioning at $6-9 \times 10^{-7}$ mm for electron microscopic examination.

The criteria used to determine in vitro fertilization at light microscopy were the formation of two or more polar bodies and the presence of male and female pronuclei and symmetrical blastomere. At the electron microscopic study, the presence of midpiece and swollen sperm nucleus or male pronucleus within the ooplasm and completely devoid of cortical granules from the egg cortex usually be seen.

Three groups of examination were done in the synthetic medium. Exp. 1 is the fertilization of 15Hr-Ova, Exp. 2 is fertilization of 20Hr-Ova in the synthetic medium with ejaculated sperm respectively. Exp. 3 is fertilization of 15Hr-Ova with in-vivo capacitated sperm. The fertilization phen-

omenon in the culture system was checked with a inverted phase contrast microscope at intervals of 3 hr from the start of cultivation for 24–72 hr, and classified into five groups according to the latest stage reached.

Group 1: definitely unfertilized ova;—these ova displayed a first polar body in the perivitelline space and a second maturation spindle.

Group 2: pronuclear stage ova;—presented second polar body, male and female pronucleus, and some ova had supplementary sperm in the zona pellucida or in the perivitelline space, but did not show evidence of cleavage.

Group 3: two cell stage ova;—normally cleaved, but remained at the same stage.

Group 4: four to 16 cell stage ova;—normally cleaved but remained at the same stage.

Group 5: morula or more stage ova;—normally cleaved and reached morula or early blastocyst stage.

In the Exp. 3, capacitation was done by the method of acquisition in the female genital tract for 6 to 8 hr after natural matings for several times. Capacitated sperm was recovered from the uterine horn by the flushing of 2–3 ml of the culture medium. The sperm suspension was put into the centrifuge tube and centrifugated at $395 \times g$ for 5 to 8 min. The concentration of the sperm suspension was adjusted to $8-16 \times 10^4$ per ml finally.

Results

Ova from 20 Japanese white doses were studied. Of a total of 368 ova predicted by counting ovulation's points on the ovaries, 315 were found in these experiments and were accounted for in this report. The over-all recovery rate was therefore 85.6 per cent.

The initial evaluation of oocyte quality, based on observation with the dissecting microscope at the time of recovery, is shown in Table 2. Among the 15Hr-Ova (Which had been recovered at 15 hours after HCG injection), eight out of 160 oocytes (5.0 %) were found to be degenerated at recovery,

Table 2 Recovery Rate of Tubal Ova at Each Intervals After HCG Treatment

Recovery Time after HCG Inj	No. of Ovum Donors	No. of Ova Recovered		Mean No. of Ova from each Donor
		Degenerated	Normal	
15 hr	12	8	152	13.3
20 hr	8	24	131	19.4

Table 3 Fertilization Rate of 15 Hr Ova with Ejaculated Sperm in the Synthetic Medium

Exp. No.	No. of Ova Inseminated	Unfertilized	No. of Ova showing signs of Fertilization				Total %
			Pronuclear	2-Cell	4-16 Cell	Morula	
A	12	5	3	2	2	0	7(58.3)
B	5	2	1	0	1	1	3(60.0)
C	10	3	4	1	2	0	7(70.0)
D	11	4	4	0	3	0	7(63.7)
E	15	6	1	4	3	1	9(60.2)
F	58	19	20	9	7	3	39(67.2)
Total	111	39	33	16	18	5	72(64.8)
Control	10	10					

and among the 20Hr-Ove (which had been recovered at 20 hours after HCG injection), twenty-four out of 155 (15.5%) were degenerated. Since the purpose of this investigation was study of normal fertilization process, these oocytes were avoided. The first polar body had presented in almost all of the oocytes at the time of recovery.

Exp. 1 and 2 were designed to determine whether the aging of the oocytes after ovulation effects on the fertilization process in vitro. Results (Table 3) indicated that 72 (64.8%) of 111 ova in the Exp. 1 were fertilized, of which 39 ova cleaved normally and developed beyond the two cell stage, whereas none of 10 control ova was fertilized.

The formation of second polar body (Fig. 1) was found at 4 to 7 hr after insemination, and of pronucleus was found at 6 to 8 hr (Fig. 2). The first cleavage was found at 10 to 14 hr after insemination (Fig. 3).

Eighteen of these normally cleaved ova attained 4 to 16 cell stage (Fig. 4, 5), five ova developed to morula (Fig. 6), the other 16 ova remained at two cell stage.

Some oocytes which were serially sectioned

following removal from the culture at four hours after insemination were observed to be undergoing fertilization. At this time, sperm had already penetrated into the ooplasm. The sperm midpiece, mitochondria and coarse fibers remained unchanged (Fig. 7).

The sperm nucleus was seen to be undergoing decondensation (Fig. 8 and 9). Decondensation of the sperm nucleus occurred following loss of the nuclear membrane and presented a diffused and faintly staining appearance.

Ooplasmic organelles, mitochondria, vesicles, and endoplasmic reticulum surrounded the area of sperm decondensation (Fig. 8 and 9). Cortical granules were completely absent from the peripheral area of the ooplasm, where sperm penetration presumably had occurred (Fig. 8).

The phenomenon illustrated in Fig. 10 culminate in the liberation of the second polar body into the perivitelline space. The connection is seen in the form of an elongated cytoplasmic bridge containing the coated microtubules of the equatorial region of the spindle. Intcontrast to the first

polar body (left side), it is not unusual that the cortical granules could not be seen in the second polar body.

The cytoplasm of the bridge connecting the oocytes to the second polar body is occupied almost exclusively by the microtubules of the meiotic spindle, coated in their equatorial segment and forming the structure which is referred to as the "midbody". The compact arrangement of the microtubules in the central region of the bridge results from their inward sliding over one another at the time of second polar body formation. (Fig. 11)

Fig. 12 shows a sperm flagellum in the perivitelline space, containing nine outer dense fibers and axial filament.

In the Exp. 2, fifty-three (58.9%) of 90 ova were fertilized, and of which 35 ova cleaved normally, but few of them developed beyond the two cell stage (Fig. 13, 14). Two of 41 control ova cleaved equally, whereas they did not show only structure resembling pronuclei, but also contained nucleus in the

blastomeres. Therefore, they were estimated at fragmentation or degeneration.

Under the electron microscopic examination of the fertilized 20Hr-Ova, microvilli was disappeared, there were many granular substances in the perivitelline space, and dumbbell-shaped vacuolae intramitochondriales and vesicular body in the vitellus. (Fig. 15, 16).

It seems that such morphological changes were owing to the aging of oocytes. Therefore, the fertilization rate of this experiment was lesser than Exp. 1 and viability of oocytes was decreased after two cell stage.

In the Exp. 3, 15Hr-Ova with in vivo capacitated sperm were used. The experiments were designed to determine whether there were some differences regarding to the fertilization rate and morphological changes between the ova fertilized by ejaculated and in vivo capacitated spermatozoa.

Twenty-three (74.2%) of 31 ova fertilized, of which 16 ova cleaved normally and developed beyond two cell stage (Fig. 17, 18).

Table 4 Fertilization Rate of 20 Hr-Ova with Ejaculated Sperm in the the S ynthetic Medium

Exp. No.	No. of Ova Inseminated	Unfertilized	No. of Ova Showing Signs of Fertilization				Total %
			Pronuclear	2 Cell	5-16 Cell	Morula	
G	33	7	8	17	1	0	26(75.7)
H	2	1	0	1	0	0	1(50.0)
I	9	6	2	1	0	0	3(33.3)
J	13	7	3	3	0	0	6(46.2)
K	20	5	5	9	1	0	15(75.0)
L	13	11	0	2	0	0	2(15.4)
Total	90	37	18	33	2	0	53(58.9)
Control	41	41					

Table 5 Fertilization Rate of 15 Hr-Ova with In-Vivo Capacitated Sperm in the Synthetic Medium

Exp. No.	No. of Ova Inseminated	Unfertilized	No. of Ova Showing Signs of Fertilization				Total %
			Pronuclear	2-Cell	4-16Cell	Morula	
M	6	2	1	0	2	1	4(66.7)
N	14	3	3	0	6	2	11(78.5)
O	11	3	3	0	4	1	8(72.7)
Total	31	8	7	0	12	4	23(74.2)

The formation of second polar body was shown at 3-5 hr after insemination, pronucleus was found at 5-8 hr, and first cleavage was at 8-20 hr. The fertilization process was more rapid than that of Exp. 1 (using ejaculated sperm).

All of these normally cleaved ova attained 4-cell to late morula stage.

Discussion

Since the demonstration by Austin and Chang for a need of capacitation of rabbit sperm in female genital tract prior to penetrate zona pellucida, further studies on this problem have been carried out by many investigators, Bedford^{17,18)}, Brackett^{19,20)}, Soupart²¹⁾, Hamner^{22,23)}, Ericsson²⁴⁾.

Nevertheless, though 25 years have passed, little is yet known of the biological significance of capacitation, or of the changes which occur in spermatozoa as a concomitant of this process. Among these experiments, it is much interesting the Noyes et al.²⁵⁾ claimed rabbit sperm had become capacitated in such abnormal situation as the isolated bladder, the colon, seminal vesicles, and anterior chamber of the eye.

On the other mammals, Chang & Yanagimachi²⁸⁻³¹⁾ achieved the capacitation in vitro of golden hamster with epididymal sperm, and Toyoda et al. reported the capacitation of the mouse epididymal sperm in a chemically defined medium.

In 1965, Amano reported the in vitro fertilization of rabbit tubal ova with ejaculated sperm and also Okinaga did in 1972. Ogawa et al. claimed the achievement of fertilization of rabbit ova with epididymal sperm in chemically defined media. Recently, Brackett & Oliphant²⁷⁾ reported the capacitation of rabbit spermatozoa in the hypertonic (380 mOsm/kg) medium of increasing NaCl concentrations.

For the in vitro fertilization of mammalian ova, it is important to determine whether it is actually be needed for sperm to reside in the female genital tract for some hours before they could penetrate the zona pellucida. But, based on these reports, it seems likely that the acquisition of capacitation in female genital tract does not be

necessarily needed for the capacitation of rabbit sperm. Okinaga examined to fertilize in vitro using 12-, 18-, 24-, 48Hr-Ova with ejaculated sperm. In the results, 12- and 18Hr-Ova were succeeded to fertilization, 24- and 48Hr-Ova couldn't. Therefore, at Exp. 1 and 2, 15- and 20Hr-Ova were used to determine precisely the fertilizability of ova according to these results, that is, the former was expected to have excellent ability of fertilization and development, the latter seemed to be aged.

The fertilization rate of 15 Hr-Ova (64.8 %) was better than 20 Hr-Ova (58.9 %).

Though 39 of the 72 fertilized ova in the 15 Hr-Group developed 2 cell to morula stage, two of the 20 Hr-Ova showed only the second cleavage but could not develop further stage. Okinaga reported that 18 Hr-Ova had a highest successful rate of fertilization (39.1 %) and 38.3 % of which cleaved normally. But none of the 24 Hr-Ova fertilized nor cleaved. In these results, the first cleavage rate of 20 Hr-Ova were similar to that of 18 Hr-Ova, notwithstanding, it was likely that the developmental ability of 20 Hr-Ova after the first cleavage reduced abruptly.

The fertilization process of 20 Hr-Ova was more retarded than 15 Hr-Ova. The formation of the pronucleus on 15 Hr-Ova was seen at approximately 7 hours after insemination with a few exceptions in the range of 6-8 hours. There were no morphological differences between them under the phase contrast microscope in relation with the shape of polar body, pronucleus and blastomere.

But, under the electron microscopic examinations, though regular microvilli was seen in the perivitelline spaces and many round mitochondria which showed high electron density were seen in the vitellus at the pronucleus stage of 15 Hr-Ova (as shown in Fig. 13), regular microvilli was disappeared, plasma membrane of the vitellus showed the irregular circumference, and much granular substances were seen in the perivitelline space at the same stage of 20 Hr-Ova. Moreover, mitochondria became spheroidal and/or dumbbell-shaped, and vesicular bodies were seen in ooplasm (Fig. 14).

These morphological changes were seemed to be ageing phenomenons of the ova which have passed for about ten hr or more after ovulation. Owing to the lower DNA synthesis of the aged ova, cleaving and developmental ability decreased.

These phenomenons were seen in vivo as chronological ageing of oocytes in the ovarium according to the maternal age, overripeness of follicular ova or delayed fertilization. It seems that the incidence of spontaneous abortion and chromosomal abnormalities have been increased by the aged pathologic ova.

At the Exp. 1 and 3, 15Hr-Ova were inseminated with ejaculated or "capacitated" sperm respectively. It was recognised that the formation of second polar body at the Exp. 3 using capacitated sperm had been 1-2 hours earlier than the ejaculated. But, on the furthermore development of the fertilized ova, there were no differences with the lapse of time between them.

These results suggest more rapid completion of capacitation, at least most of the time, was made by ejaculated sperm than the present conception.

The overall impression was that sperm penetration including acrosomal reaction will began within a few hours after insemination and there were no morphological differences of the fertilized ova in each groups, even though on the electron microscopic examinations.

Acknowledgements

This research was conducted under the direction of Prof. M. Hayashi. Grateful acknowledgement is made to Assist. Prof. A. Iwaki for his constant guidance and criticism. Thanks are also due to Miss A. Nozawa, M.D. for expert assistance with various facets of this work.

The outline of this paper was presented at the XVIII Japan Congress on Fertility and Sterility on Oct. 26, 73.

References

- 1) Austin, C. R.: Nature, 170, 326 (1952).
- 2) Austin, C. R.: J. Reprod. Fertil., 6, 313 (1963).
- 3) Austin, C. R.: J. Reprod. Fertil., 12, 39 (1970).
- 4) Chang, M. C.: Nature, 168, 697 (1951).
- 5) Chang, M. C.: Endocrinol., 63, 619 (1958).
- 6) Chang, M. C.: Nature, 184, 466 (1959).
- 7) Chang, M. C.: Nature, 201, 943 (1964).
- 8) Toyoda, Y., Yokoyama, M., Hosi, T.: Jap. J. Anim. Reprod., 16, 147 (1971).
- 9) Toyoda, Y., Yokoyama, M., Hosi, T.: Jap. J. Anim. Reprod., 16, 152 (1971).
- 10) Miyamoto, H., Chang, M. C.: J. Reprod. Fertil., 30, 135 (1972).
- 11) Miyamoto, H., Chang, M. C.: J. Reprod. Fertil., 30, 309 (1972).
- 12) Miyamoto, H., Chang, M. C.: J. Reprod. Fertil., 33, 481 (1973).
- 13) Amano, E.: Jap. J. Obstet. Gynec., 17, 1092 (1965).
- 14) Okinaga, Y.: Jap. J. Fertil. Steril., 17, 107 (1972).
- 15) Okinaga, Y., Iwaki, A., Hayashi, M.: Asian Med. J., 17, 5 (1974).
- 16) Kubo, H.: Excerpta Medica, in press, (1976).
- 17) Bedford, J. M.: J. Reprod. Fertil., Suppl., 2, 35 (1967).
- 18) Bedford, J. M.: Am. J. Anat., 133, 213 (1967).
- 19) Brackett, B. G.: Fertil. Steril., 19, 144, (1968).
- 20) Brackett, B. G.: Federation Proceedings, 32, 2065 (1973).
- 21) Soupart, P.: Fertil. Steril., 21, 724 (1970).
- 22) Hamner, C. E., Sojka, N. J.: Nature, 220, 1042 (1968).
- 23) Hamner, C. E., Williams, W. L.: Fertil. Steril., 26, 660 (1975).
- 24) Ericsson, R. J.: J. Reprod. Fertil., Suppl., 2, 65 (1967).
- 25) Noyes, R. W.: J. Endocrin., 17, 374 (1958).
- 26) Ogawa, S., Satoh, K., Hamada, M., Hashimoto, H.: Natuae, 238, 270 (1972).
- 27) Brackett, B. G., Oliphant, G.: Biology Reprod., 12, 260 (1975).
- 28) Yanagimachi, R., Chang, M. C.: J. Exp. Zool., 148, 185 (1961).
- 29) Yanagimachi, R., Chang, M. C.: Nature, 200, 281 185 (1963).
- 30) Yanagimachi, R., Noda, Y. D.: Am. J. Anat., 128, 429 (1970).
- 31) Yanagimachi, R., Mahi, C. A.: J. Reprod. Fertil., 35, 55 (1973).

家兔卵管卵の体外受精
—射精精子と雌性生殖道内精子との比較—

久 保 春 海

東邦大学医学部産婦人科教室
(主任：林基之教授)

20羽の家兔から採取した315個の卵管卵と射精精子および雌性生殖道内精子を用いて体外受精をこころみた。その結果、HCG処置後、15時間および20時間では20時間の方が有意に採卵数が高かったが、変性卵の割合は15時間卵にくらべ15.5%と明らかに多く認められた。

受精率に関しては、15時間卵(64.8%)、20時間卵(58.9%)と有意の差を認め、20時間卵では受精後の発育能力が極端に低下した。前核形成を認めた20時間卵を電顕的に観察すると規則的絨毛の消失、空胞様変性、嚙鈴形ミトコンドリアなどが認められた。このような形態的变化は卵子の老化に伴うものと思われる。15時間卵に雌性生殖道内精子を用いて受精を試みたところ、受精率は74.2%で射精精子による受精率より高率であったが、受精卵子の形態的な所見は光顕的にも電顕的にも全く差は認められなかった。射精精子を用いた場合、媒精後第Ⅱ極体形成までに雌性生殖道内精子を用いた場合よりも1~2時間の遅延が認められたが、それ以後の発育には時間的差異を認めなかった。

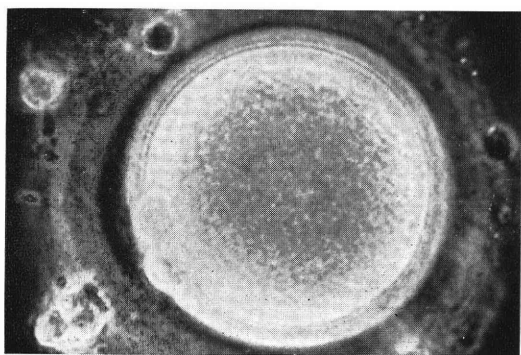


Fig. 1 Second polar body

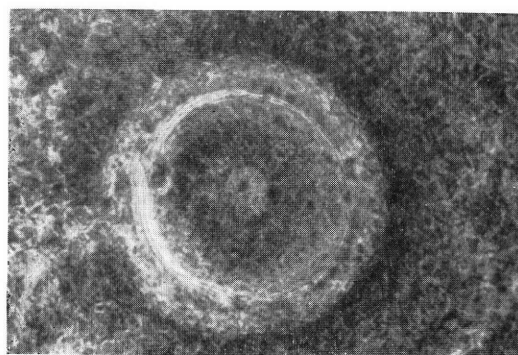


Fig. 2 Pronuclear stage

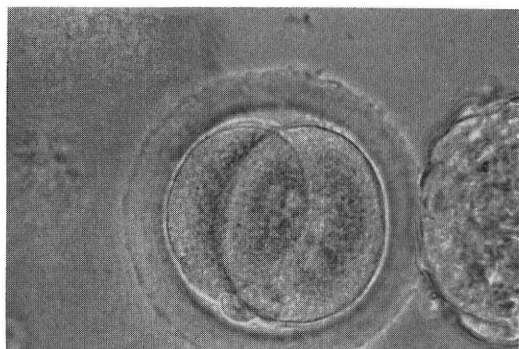


Fig. 3 2 cell stage



Fig. 4 4 cell stage

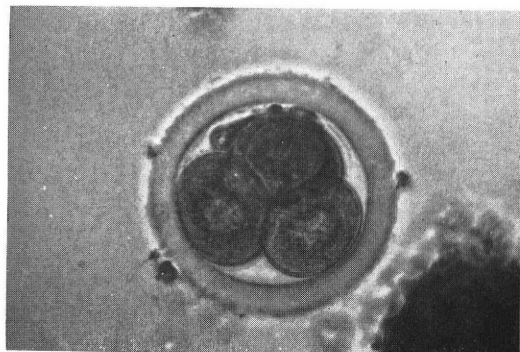


Fig. 5 4 cell stage

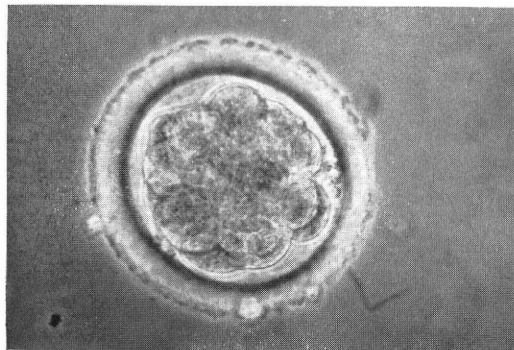


Fig. 6 Morula stage

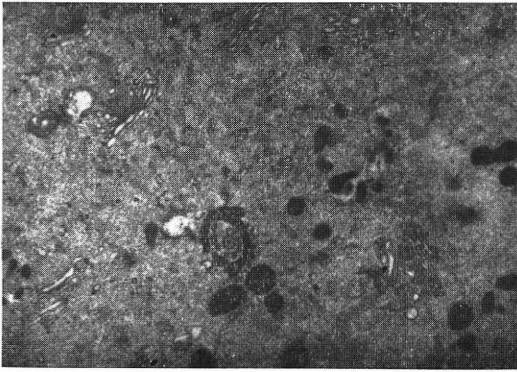


Fig. 7 A transversal section of sperm midpiece in an fertilized 15Hr-ovum, 4 hours after insemination ($\times 30,000$)

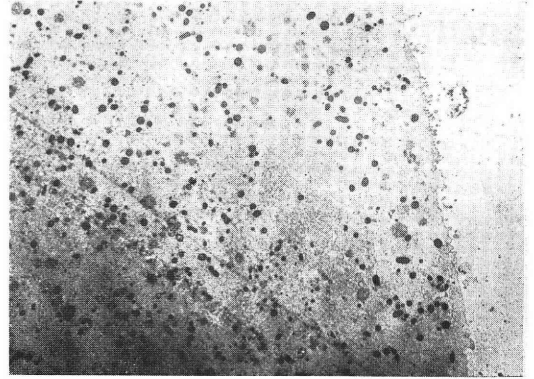


Fig. 8 A swollen sperm nucleus are evident within the ooplasm. The egg cortex is completely devoid of cortical granules. 15Hr-ovum 4 $\frac{1}{2}$ hours after insemination ($\times 10,000$)

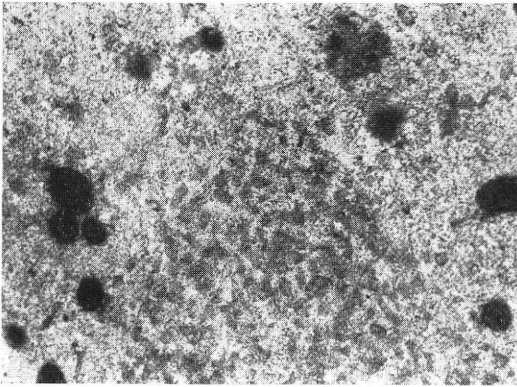


Fig. 9 A swollen sperm nucleus within the ooplasm. (same ovum as Fig. 8) ($\times 24,000$)

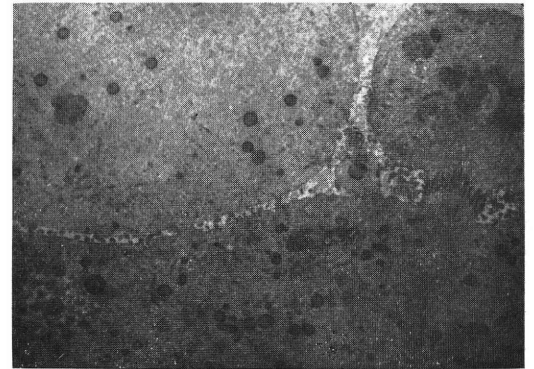


Fig. 10 Extrusion of the second polar body. The connection is seen in the form of an elongated cytoplasmic bridge. ($\times 8,000$)

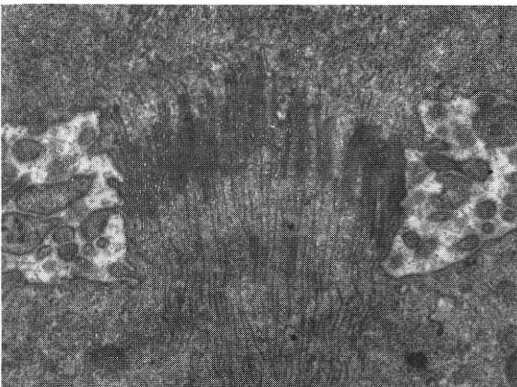


Fig. 11 The cytoplasm of the bridge connecting the egg to the second polar body (same ovum as Fig. 10)

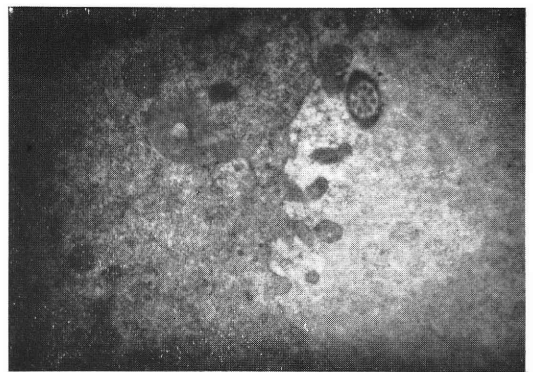


Fig. 12 The sperm flagellum in the perivitelline space of fertilized 15Hr-Ova, showing nine outer dense fibers and axial filament complex ($\times 10,000$)

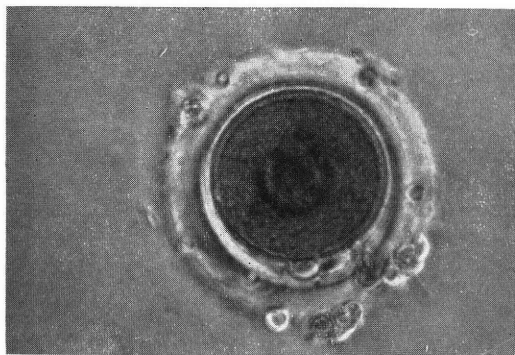


Fig. 13 Pronuclear stage

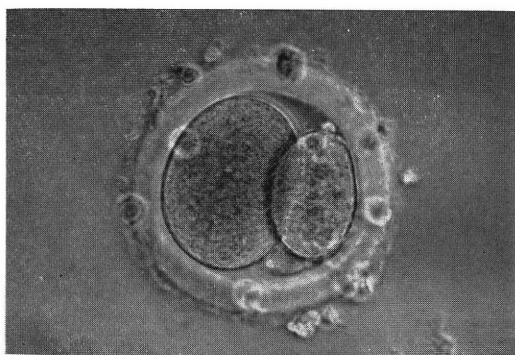


Fig. 14 2 cell stage

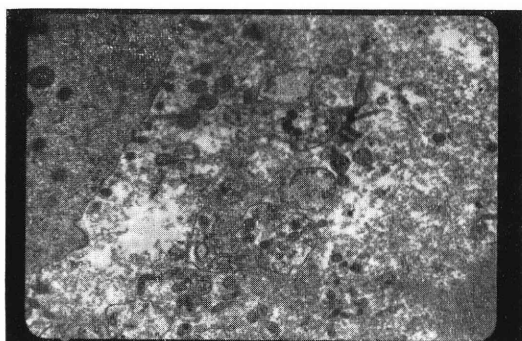


Fig. 15 Fertilized 20Hr-Ova. Regular microvilli was disappeared, plasma membrane of the vitellus showed the irregular circumference, and much granular substances were seen in the perivitelline space. ($\times 8,000$)

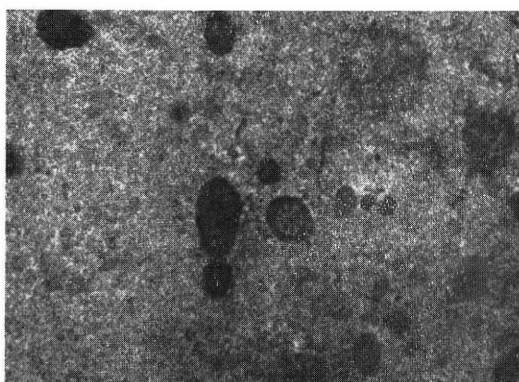


Fig. 16 Fertilized 20Hr-Ova. Mitochondria became spheroidal and/or dumbbell shaped, vesicular bodies and sperm flagellum were seen in ooplasm. ($\times 10,000$)

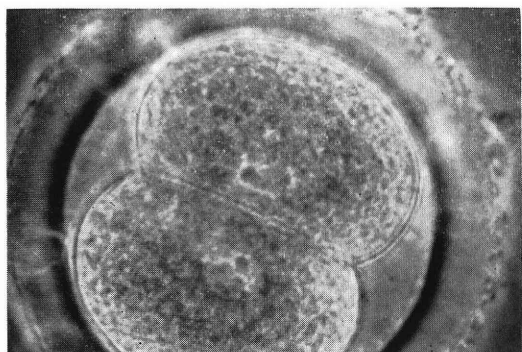


Fig. 17 2 cell stage

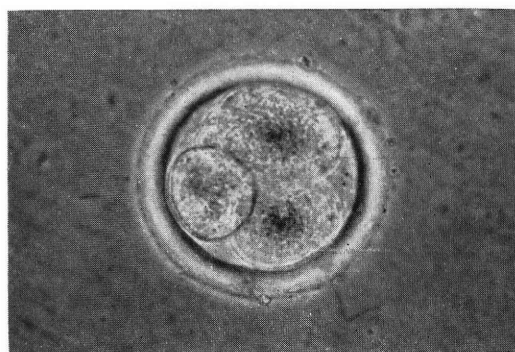


Fig. 18 4 cell stage

昭和50年度日本不妊学会北海道地方会

日 時 昭和51年 2 月 4 日 (水) PM 3:00~6:00

一般講 講

1. 哺乳類卵子の染色体標本作製の新技法
上口勇次郎, 舟木賢治, 美甘和哉
(旭川医大生物)
2. 牛染色体の G-band pattern による分類の試み
山中晴道, 三宅陽一, 石川 恒
(北大獣医学部臨床繁殖学)
3. 3 倍体生成機序に関する新知見
舟木賢治, 上口勇次郎, 美甘和哉
(旭川医大生物学)
4. PGF_{2α} 処理による家兎卵子の腔からの採取
堤 義雄, ○武田哲男, 田辺泰博
山本謙二
(北大農学部畜産学科家畜育種学)
5. 多嚢胞性卵巣症候群 (PCOD) における楔状切除術前後の血中ゴナドトロピン動態について
田中俊誠, 河東 寛, 沓沢 武
藤本征一郎, 松田正二
(北大産婦)

6. 頸管粘液よりみた妊孕性に対する検討

清水泰裕, 岡部泰樹, 光部啓一
佐竹 実 (札幌医大産婦)

7. 当科不妊症外来における過去 3 年間の治療成績

足立謙蔵, 田中昭一, 光部啓一
西島 毅, 佐藤卓広, 渡辺 亘
岡部泰樹 (札幌医大産婦)

8. 停留睾丸症例における germinal epithelium の組織所見の検討

坂 丈敏, 木村正一, 寺田雅生
熊本悦明 (札幌医大泌尿器)

9. 若年者の睾丸捻転症について

Edwans Remishovsky
(ハンブルグ大学 Andrology)

特別講演

1. 睾丸におけるゴナドトロピンの作用機序

宮 地 幸 隆 (広島大第三内科)

2. androgen 生合成と性の分化と成熟

松 本 圭 史 (大阪大病理)

第11回 日本不妊学会北陸支部総会

日 時 昭和50年12月13日 (土) 午後 3 時

場 所 金沢大学付属病院臨床第 1 講義室

1. 睾丸腫瘍を合併した hernia uteri inguinalis の
1 例

沢木勝, 三崎俊光 (金大・泌尿)

松 原 藤 継 (金大中検)

北 川 正 信 (金大第 1 病理)

松 田 健 央 (金大第 3 解剖)

2. 雄性成犬生殖器の自律神経染色 (第 1 報)

川口光平, 田近栄司, 萩中隆博

勝見哲郎 (金大・泌尿)

3. 最近 1 年間の不妊統計—殊に妊娠例の検討—

館野政也, 西野 隆, 大志摩敦朗

舌野 徹, 朝本明弘, 林 義 則

(富山県立・産婦)

4. 過去 1 年間の不妊統計の検討

関久美子, 栗野利春, 飯田和質

(福井県立・産婦)

5. 当院に於ける流産患者の取扱い

林 義則, 館野政也, 大志摩敦朗

舌野 徹, 朝本明弘, 西 野 隆

(富山県立中央・産婦)

6. 流産と免疫, 殊に流産における抗胎盤抗体の臨床
的意義について

舌野 徹, 館野政也, 大志摩敦朗

朝本明弘, 西野 隆, 林 義 則

(富山県立中央・産婦)

倉田自章, 岡田収司 (金大癌研)

7. 乳汁漏出症の症例

山城 玄, 木原順子, 飯田和質

(福井県立・産婦)

8. 発生学的性器異常症例

富田嘉昌, 寺田 督, 山田光興

(金大産婦)

9. 不妊患者の FSH/LH 比に関する研究, 殊に排
卵, 妊娠成功例における観察

朝本明弘, 館野政也, 大志摩敦朗

舌野 徹, 西野 隆, 林 義 則

(富山県立中央・産婦)

10. 排卵障害における LH/RH テスト

…特に血中および HAR 法による尿中 LH 値の
比較検討—

宮 越 洋 二 (福井愛育・産婦)

11. 当科における HMG 療法の成績

川原領一, 高邑昌輔 (国立金沢・産婦)

12. MAO 活性からみたラット精巣における Mono-
amines 局在について

友田 明, 桑原惣隆 (金沢医大・産婦)

投稿規定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
2. 原稿は、本会の目的に関連のある綜説、原著、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
3. 1論文は、原則として印刷6頁（図表を含む）以内とし、超過頁並びに特に費用を要する図表および写真に対しては実費を著者負担とする。
4. 綜説、原著、論説、臨床報告等には必ず400字以内の和文抄録並びに、ダブルスペース2枚以内の欧文抄録（題名、著者名、所属を含む）を添付すること。
5. 図表並びに写真は稿末に一括して纏め、符号を記入しかつ本文中に挿入すべき位置を明示すること。
6. 記述は、和文又は欧文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
 - a. 雑誌の場合
著者名：題名、誌名、巻数：頁数、年次
原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげる。
誌名は規定または慣用の略字に従うこと。特に号数を必要とする場合は、巻数と頁数との間に入れて括弧で囲む。すなわち
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次

- 例1. Kilbourne, N. J.: Varicose veins of pregnancy, Amer, J, Obstet, Gynec. 25: 104, 1933
2. 足高善雄, 竹村喬, 美並義博: 最近1カ年間の我が教室に於ける外来不妊患者の統計的観察, 日不妊誌, 4: 13, 1959
3. 中島精, 中村正六, 角田英昭: 人工妊娠中絶と妊孕性, 日不妊誌, 2(4): 38, 1957
 - b. 単行本の場合
著者名：題名、巻数：頁数、発行所、年次
- 例1. Rovinsky, J. J., and Guttmacher, A. F.: Medical, Surgical and Gynecological Complications of Pregnancy, ed 2: p 68, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1965
9. 原稿の採否、掲載順位その他編集に関する事項は編集会議で決定する。掲載は、原則として受付順による。
10. 特別掲載を希望する場合は、受付順序によらず、すみやかに論文を掲載する。この際は掲載に要する実費は全額著者負担としかつ特別掲載料を納付する。
11. 掲載の原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。(但し、特に費用を要した場合は、その一部を著者負担とすることがある)
それ以上を必要とする場合は、原稿に総別刷部数を朱書すること。30部をこす分についての実費は著者負担とする。
12. 投稿先および諸費用の送付先は、東京都大田区大森西7丁目5の22
社団法人 日本不妊学会 事務所宛とする。

日本不妊学会雑誌 22巻1号

昭和51年12月25日印刷

昭和52年1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