

Japanese Journal of Fertility and Sterility

April 1977

日本不妊学会雑誌

第 22 卷

第 2 号

昭和 52 年 4 月 1 日

— 目 次 —

会 告

第22回総会・学術講演会予告

原 著

卵巣過剰反応症候群の一例(特に病理組織学的所見について).....高野 利典・他..... 1

ヒト閉卵胞の性ステロイド生成機能.....森 崇英・他..... 7

不妊検査における Huhner test の診断的意義.....若尾 豊一・他.....14

子宮内膜症を有する不妊婦人の保存手術法について.....成田 収・他.....20

排卵障害症婦人の下垂体性 gonadotropin 分泌に関する研究
 I. 正常性周期婦人の gonadotropin 分泌 Secretion of
 Gonadotropin Secretion of Gonadotropin in Normal
 Ovulatory Women中村 正彦.....25

EFFECTS OF ACTINOMYCIN D ON THE RELEASE OF
 PROLACTIN AND GROWTH HORMONE FROM RAT
 PITUITARIES IN VITRO BY THYROTROPIN RELEASING
 HORMONE.....K. SATO・他.....33

β -subunit hCG の Radioimmunoassay による症例別にみた流死産
 患者の血中 hCG 値の変動.....川口 雄次・他.....39

排卵誘起作用を指標とする LH-RH の Bioassay 法.....山崎 巖・他.....46

¹²⁵I-Progesterone を使用した Progesterone RIA Kit の基礎的
 検討及び臨床応用.....松本 茂.....53

お知らせ.....60

第21回日本不妊学会九州支部会.....66

第73回日本不妊学会関西支部集談会.....67

第74回日本不妊学会関西支部集談会.....68

第75回日本不妊学会関西支部集談会.....69

第76回日本不妊学会関西支部集談会.....70



略 歴

大正 2 年 6 月 17 日	和歌山県那賀郡に生る
昭和 13 年 3 月 13 日	東京帝国大学医学部医学科卒業
13 年 4 月 23 日	東京帝国大学医学部副手・産婦人 科学教室勤務
22 年 8 月 31 日	東京医学歯学専門学校講師嘱託
22 年 10 月 31 日	文部教官
23 年 12 月 23 日	東京大学講師
25 年 8 月 26 日	アメリカ合衆国へ出張
26 年 12 月 3 日	医学博士授与
32 年 6 月 16 日	東京大学助教授
34 年 1 月 10 日	東邦大学教授
40 年 4 月 1 日	東邦大学医学部附属高等看護学校 校長
40 年 4 月 1 日	東邦大学医学部附属大橋病院長
40 年	学校法人東邦大学評議員
44 年 4 月 1 日	医師国家試験審査員
48 年 4 月 1 日	厚生省血液研究会委員
49 年 10 月 1 日	日本不妊学会副理事長
52 年 2 月 19 日	逝去
52 年 3 月 4 日	正五位勲三等瑞宝章叙勲

弔 詞

私達の

学会活動の中心人物でありしかも敬愛措く能わざる林基之博士が2月19日逝去されましたことを心から御悔み申し上げます 私博士を甫めて識つたのは昭和13年4月君が当時の東京帝国大学産科婦人科学教室に新入医局員として入つて来られた時です

当時私は助手を勤めて居りましたので些か君の指導の任に当りました

才気煥發直情径行の君の若い当時の姿は今でもありありと思ひ浮べます

君はなかなかの勉強家でしかも語学に堪能当時の外国論文の抄録は君に負うところ莫大でした

当時支那事変は次第に苛烈化してその年の暮には君は応召されました それから幾星霜 荒涼たる戦野にあつても君は学問への情熱を燃やしつづけ22年帰還してからは「新生児の骨髓輸血」によつて学位をとられました

その後不妊症の研究に転じ26年から約1年半米国に留学されました その頃のわが国では生きることさえ大変だったのですが 御家族をおいてよくも思いきられたものと君の向学精神に強く打たれたものでした

当時わが国に於ける不妊症の研究は極めて幼稚でしたが 君のカルドスコピー、卵子の体外受精等々相つぐ世界的業績に刺戟されて漸く隆昌の兆しが顕著となり産科婦人科 泌尿器科 畜産系 基礎系等の同学の士が相集い 昭和31年日本不妊学会発会の端緒をつくり34年東大助教授から東邦大学産婦人科教授に昇任されてからは教授室内に同学会の事務所をおき文字通り本学会の育成に尽瘁され 昨年本学会を日本医学会の分科会とすることに成功 目下は副理事長の要職にあり 明年第23回会長が約束されていました

君は天性進取英邁しかも健康に恵まれ外国留学無慮十数回各地で講演を行い不妊学会の親学会である World Congress of Fertility & Sterility には1928年その 発足当初から参画し昭和46年秋 第7回国際大会を日本に招致し 長谷川敏雄会長を助けて東京と京都に於て盛大な会を催したことは今なお記憶に新たなところであります

かくて君の学勲はわが国のみならず全世界に著明であります

然し好事魔多しとやら申しますが 日の出の勢にあつたその君が今や有終の美を飾るべき舞台をすぐ目前にして突如としてこの世を去られたことは余りにも残酷な巡りあわせであります

君や御遺族や同門の方々にとつて無念と悲痛はこの上もなく また学会にとつてもその損失は極めて甚大であります

誠に茫然自失いべき言葉を探し得ないのが私の現在の心境であります

然しまた一方生には限りあり活動量には限界のあるのはこの世の儚ないさだめです

ここに於てこの天地の法則に準じて 君の遺業を継ぎ人類に福祉を齎すべく努力するのが現在の私達に課せられた君の霊を慰める唯一の手だてであると信ずる次第です

従いまして私達は今後も君の拓かれた道をひたむきに歩み続けます

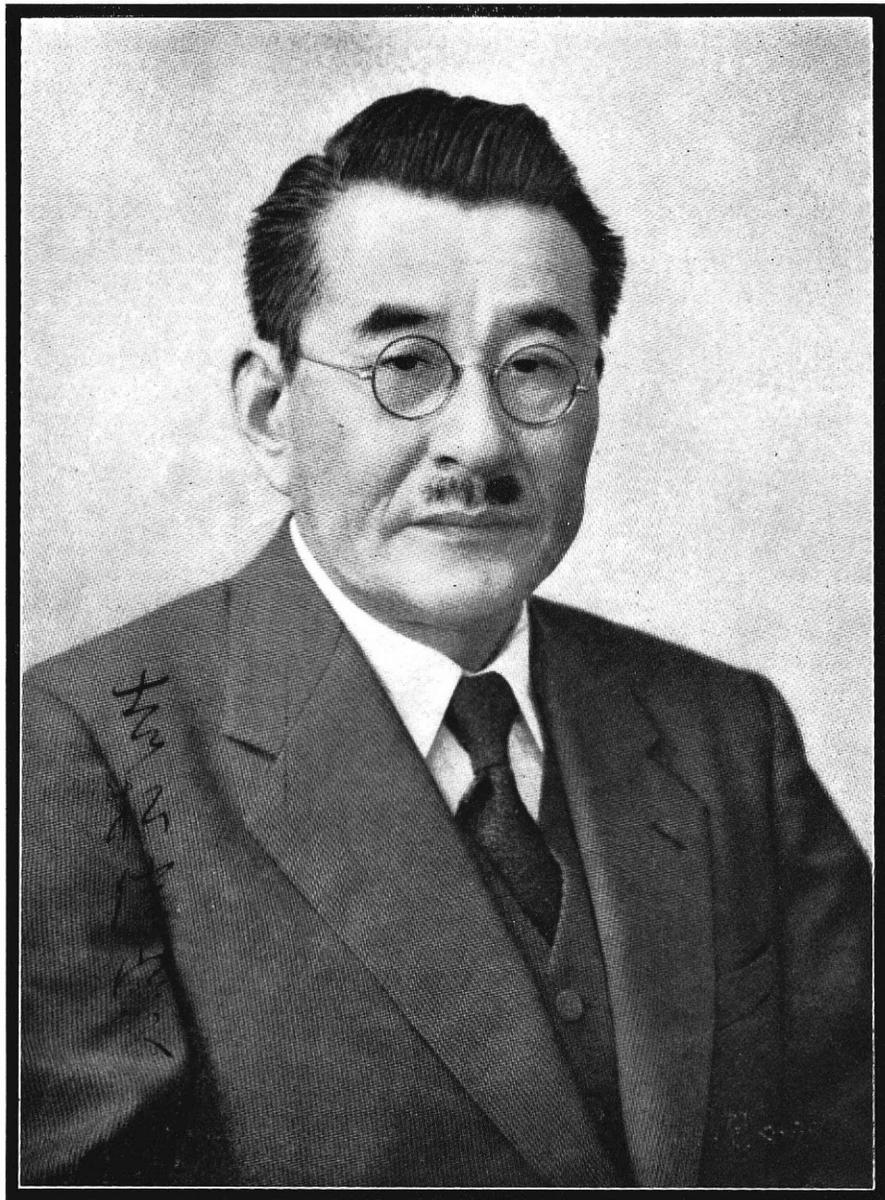
そしていつかはその成果をお話する機会があることを信じております

天にまします君の霊よ

安らかにやすみ下さい

昭和52年3月7日

日本不妊学会理事長 澤 崎 千 秋



よし まつ のぶ たか
吉 松 信 寶 博 士 略 歴

明治24年1月25日 出生
大正5年7月 府立大阪医科大学卒業
医化学教室勤務
大正6年10月 大阪医科大学助手
大正8年11月 大阪医科大学助手 (大学名変更)
大正13年3月 願により退職 副手を命ぜられ産婦人科勤務
大正13年11月 医学博士称号受領
昭和5年2月 在外研究員欧米各国出張
昭和6年5月 大阪帝国大学医学部講師 (大学名変更)
昭和10年11月 大阪帝国大学教授
昭和21年7月 文部省医学視學員
昭和21年12月 大阪帝国大学医学部長兼附属病院長
昭和22年8月 学術研究会議會員 (内閣)
昭和23年1月 附属病院長依願免職 医学部長専任
昭和23年1月 大阪府医師会長
昭和23年5月 学術研究会議員 (総理庁)
昭和23年5月 大学設置委員会委員 (内閣総理大臣)
昭和23年12月 日本学術會議員
昭和24年4月 日本婦人科学会会長
昭和24年2月 医師国家試験審議員
昭和27年1月 奈良県立医科大学長併任
昭和27年7月 外国出張 (招により北米合衆国)
昭和29年3月 大阪大学停年退職 奈良医科大学長専任
昭和29年4月 大阪大学名誉教授
昭和29年4月 日本婦人科学会名誉會員
昭和31年4月 社団法人日本不妊学会名誉會員
昭和35年3月 奈良県立医科大学依願退職 同大学名誉教授
昭和41年4月 勲二等瑞宝章受章
昭和43年11月 武田科学振興財団から科学賞受賞
昭和51年12月5日 死亡

故 吉松信宝先生を悼む

名誉会員 藤 森 速 水

昭和51年12月5日、名誉会員吉松信宝先生御逝去さる。誠に悲しい極みである。

先生の蘊蓄極りない生化学の御講義、そして上機嫌な折に語られる浄瑠璃の1節など、最早拝聴できないと思うと、よき指導者を失った悲しみがこみあげてくる。

先生が偉大な医学者であり、産婦人科医であつたことは今更申し上げるまでもないが、茲に先生の学問的業績の一端を追憶して見度いと思う。

先生は、阪大医学部に於ける研究生活の初期に於いて専ら生化学の研究殊にアミノ酸の中間代謝の研究に没頭された。そして苦心を重ねた結果1924年 Kynurenin を発見し、その後 Butenands により若干追試、訂正されたが19年目即ち1943年に吉松先生の業績の全貌が明らかにされたのである。

先生は産婦人科領域に於いて、先づ子宮癌組織の酸化還元と取組み組織内の酸化酵素作用機序を重要視すべきことを解明し、今日我々が癌治療に向つても酵素学的の検索を忘れていることを指摘された。先生は子宮癌組織中に還元力の偉大な物質の存在を見てこれを Vito arenomorphzucker であろうと考えたが約1年後、独逸人によりこれは V.C. であると発表された。

これから考察して、酸化力の欠乏を裏書した現在迄の癌治療法は、その何れもが満足の域に達していない今日、この酸化酵素に着眼すべきことを提唱した。

又妊娠腎と子癇との関係に於いて、芳香族 Amino 酸の生体内 Amino 基脱により生ずる Keto 酸の程度で肝機能を窺い、中毒症患者の沃度酸還元値は増加を見るが、残余窒素の上昇は僅少であることを証明して、肝障害の著しいことを証明し、又血中沃度酸還元値、残余窒素の測定によつて、妊娠腎と腎炎との鑑別、惹いては尿毒症と子癇との区別を実証し得た。(昭25, 26, 27年日産婦学会総会)

更に妊娠中毒症に関して物質代謝、肝、腎機能の面から詳細な研究を行い、いわゆる中毒症の成因について、イミダゾール体代謝の異常が、重要な役割を演じていることを強調し、この方面の研究に一新生面を開拓した。

先生の妊孕現象に関する研究は戦時研究員として着手されたものである。即ち、受精に両配偶子の賦活、凝集、接合の3条件を提案して、先づ賦活から着手した。

成熟百合の雄蕊花粉の中に、人精子運動の維持延長に有効な物質の存在を見、該物質は、水溶性であつて、アセトンに不燃性低分子含磷酸陰イオン性260 μ に極大吸収を示し、A.T.P-ase によつて脱磷酸される。

Adenosin, クレアチン, 無機磷酸を含まず、よつてこの物質は A.T.P. を主体とするものであろう(恐らく A.T.P. そのものであろう)。しかも、精子運動維持は葡萄糖の共存によつて作用が増強する。

牛の精子についても同様であること、又子房柱頭には存在しないことも証明した。(昭29年、第6回日産婦学会総会)

上記は吉松先生の御業績のほんの一端に過ぎないが、これから窺つても先生の御研究が如何にユニークなものであり、生化学と産婦人科学との間の懸橋となつていくかが頷かれる。

先生の研究態度は極めて峻厳であつたが、患者に対しては慈父の如き優しさを以て診療に従事され、先生が取扱われた子宮癌を始め多数の患者や妊産婦達は健康を恢復し得た喜びを以て先生を慕つていたのである。又宴会の席上で、先生が愛用の葉巻煙草を燻らせながら、浄瑠璃、壺坂靈験記の段を語られたことなどは先生の高尚な御趣味の一端を物語るものと言えよう。

先生は御在職中 阪大附属病院長，医学部長を歴任され，昭和27年定年御退職後 昭和29年まで奈良医大
学長として又文部省視学委員として大学行政に参画されたのである。そして昭和41年多年の功勞により，勲
2等瑞宝章を授与された。

先生が本学会創立並びに育成に多大の御尽力をされたことは私共の感銘しているところである。

憶々，悲しい哉，吉松信宝先生は今や幽明界を異にされた。

茲に先生の御遺徳を偲び，御冥福を祈つて追悼の辞に代える次第である。合掌

第22回日本不妊学会総会および 学術講演会予告(第2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い。

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5-3 鹿児島市中央公民館、〒892 鹿児島市山下町5-9
学術講演会	(I) 招請講演 チューレン大 有村 章 (II) 教育講演 農林省 杉江 侑 (III) 会長講演 鹿大・産婦 森 一郎 (IV) シンポジウム 1. 思春期の性機能をめぐって 2. 生殖と免疫 (V) 一般講演
演題申込資格	すべての講演者は本学会員に限ります。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(8,000円)を納入の上、会員となつて下さい。
演題申込方法	必ず本誌に挿入されてある所定の用紙を使用し、800字以内の講演内容要旨を添付して書留郵便で送つて下さい。講演内容要旨はそのまま写真印刷をして本誌第22巻4号(第22回日本不妊学会総会特集号)に掲載されます。(なお演題の採択は会長に一任させていただきます)。
演題抄録記載要領	(a) 一研究施設より2題以上出題のときは順位をつけて下さい。 (b) 応募演題の内容が不備である場合は、再提出を求めることがあります。 (c) 演題の採択は会長に一任させていただきます。 (d) 演題分類の項にしたがつて講演希望項目を指定し、抄録用紙の指定場所に分類番号を明記して下さい。 (e) 抄録は直接オフセット印刷しますから必ず和文タイプを使用し、外ワクの青線からはみ出さないようにして下さい。 (f) 和文タイプは原則として14ボ明朝活字を使用し、ヨコ4.8ピッチ(24文字)、タテ7ピッチ(38文字)でタイプして下さい。カーボンリボンを使用のこと。 (g) 図および表は使用しないで下さい。 (h) 文字の訂正は、白い紙を訂正個所に貼って訂正して下さい。
演題発表方法	一般演題は各題7分以内とし、またスライドプロジェクターは2台用意いたしますが、使用するスライドの枚数は、全部で20枚以内にとどめて下さい。
演題申込締切	昭和52年5月15日(当日消印有効)
演題申込先	〒890 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 池田友信宛(Tel. 0992-56-2211 内線2122)
理事会、幹事会、評議員会	昭和52年10月3日(月)午後
総懇親会	昭和52年10月4日(火)夕刻
参加申込方法	(1) 本誌に挿入されている振替用紙に、各事項をご記入の上、参加費を納入して下さい。

- (2) 大学教室などに所属の方も必ず個人別にお申込み下さい。
- (3) 締切 昭和52年7月31日
- (4) 学会参加費 4,000円
懇親会費 4,000円

第22回 日本不妊学会総会会長
森 一 郎

連絡先 〒 890 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
Tel. (0992) 56-2211 (代) 内線 2122

第22回 日本不妊学会総会

—宿泊・乗物ご予約案内—

この度鹿児島市において開催されます総会ご出席の皆様方のご便宜をはかるため日本交通公社鹿児島支店がお手伝いをさせていただくことになりました。本学会が開催されます時期は旅行シーズンにもあたっておりますのでお早目にご予約をおすませになられますようおすすめ申し上げます。

鹿児島市東千石町12番22号 (〒892)
日本交通公社鹿児島支店団体旅行課
第22回日本不妊学会総会係
電話 (0992) 26-1515・26-6806

(乗物の予約)

- ① 航空——特別仕入をいたしております。人数が限られておりますので先着順にて予約申込みをうけたまわります。

10/3	東 京	→	鹿 児 島	11:05 発	12:30 発	15:00 発
(月)	名 古 屋	→	鹿 児 島	10:25 発		
	大 阪	→	鹿 児 島	11:10 発	13:15 発	

(52.1現在ダイヤによりますので若干の変更もあらかじめお含みおきください)

- ② その他——以上の他にご希望のむきは何なりとお申しつけくださいませ。航空・国鉄・フェリーその他も申し受けます。

(宿泊の予約)

期間中は一覧表の通り特別仕入をいたしまして、ご利用をお待ち申し上げます。室タイプによりまして早々と満員になることもございますから、なるべくお早目にお申込みくださいませ。

A	4000円	1泊朝食付税奉仕料込	ビジネス・ホテル	ツイン・ルーム又は和室相部屋(4~5人室)
B	5000円	〃 〃	ビジネス・ホテル	シングル・ルーム
C	6000円	〃 〃	国際観光旅館	和室(2人1室)
D	6000円	〃 〃	政府登録ホテル	ツイン・ルーム(2人1室)
E	7000円	〃 〃	〃 〃	シングル・ルーム

(注) A. C. Dタイプのは2人1室又は和室4~5人部室ですので出来るだけ定員人数連名にてご利用ください。

(観光のごあんない)

全国より、はるばるご参加されます皆様に、せつかくの機会でもございますので、南国鹿児島をご観光いただくようにエクスカーションもご用意致しました。募集定員になり次第締切ります。

Aコース(指宿温泉と亜熱帯の風物を訪ねる旅) 80人募集 18,000円

10/5									
				会 18.30	指 宿				
				場 17.00	場				
10/6	指宿 8.30	長崎鼻	開聞岳	池田湖	桜島	16.50	西島鹿児駅		

Bコース(南海の秘境屋久島を訪ねる旅)

80人募集

28,000円

10/6	鹿 児 港 島	~~~~~	宮 ノ 港 浦	大川ノ滝・平佐宿中温泉・自然公園	尾 ノ 間	尾ノ間
10/7	尾 ノ 間	屋久杉ランド・ガジュマル公園	宮 ノ 港 浦	~~~~~	鹿 児 港 島	

(注) 各コース共20人にみえない場合は中止することもございます。運賃・料金・ダイヤ改訂の場合、それにしたがってそれぞれ変更します。

(乗物・宿泊・観光の申込方法)

申込予約金 乗物……………1人1便または1列車(1席)につき 1000円
 宿泊……………泊数にかかわらず内金として1人につき 2000円
 観光……………1人につきA・Bコース共 2000円

申込締切日 昭和52年8月31日(必着)

備考 所定申込書にご記入の上、予約金をそえて現金書留にて送付ください。

(取消規程)

	当 日	前 日	2 日 前	3 日 前	4 日 前	5 日 前	6 日 前
宿 泊	50%	20%	20%	20%	事務費	事務費	事務費
観 光	50%	40%	30%	30%	30%	30%	事務費
乗 物	各運輸機関の約記によります						

CONTENTS

A Case Report of Ovarian Hyperstimulation Syndrome (Especially Histopathological Findings).....	<i>T. Takano, Y. Sakaguchi, S. Hachiya, I. Obata & Y. Hori</i>	1
Steroid Hormone Formation <i>in vitro</i> by Human Ovarian Follicles.....	<i>T. Mori, A. Suzuki, Y. Fujita & T. Nishimura</i>	7
Diagnostic Significance of Huhner test.....	<i>T. Wakao, F. Saji, T. Negoro & K. Nakamuro</i>	14
Conservative Surgical Treatment of Endometriosis with Infertility.....	<i>O. Narita, Y. Arii, K. Higashide, S. Goto & Y. Shimosuka</i>	20
Studies on Secretion of Pituitary Gonadotropin in Patients with Ovulatory Defect.....	<i>M. Nakamura</i>	25
Effects of Actinomycin D on the Release of Prolactin and Growth Hormone from rat Pituitaries <i>in vitro</i> by Thyrotropin Releasing Hormone.....	<i>K. Sato & Y. Yamamoto</i>	33
Case Studies of Serum Levels of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) Secretion in Various Pregnancies Measured by β -subunit HCG Radioimmunoassay.....	<i>Y. Kawaguchi, T. Makino, M. Akatsuka, T. Ohno & R. Iizuka</i>	39
LH-RH Bioassay with a Parameter of Ovulation-Induction in the Diestrous Rat.....	<i>I. Yamazaki, H. Nakagawa, K. Yoshida & R. Nakayama</i>	46
Basic Evaluation and Clinical Application of ^{125}I -progesterone RIA Kit.....	<i>S. Matsumoto, Y. Nakamura, K. Tanabe & R. Iizuka</i>	53

卵巢過剰反応症候群の一例 (特に病理 組織学的所見について)

A Case Report of Ovarian Hyperstimulation Syndrome
(Especially Histopathological Findings)

慈恵医大産婦人科学教室

高野 利典 阪口 耀子 蜂屋 祥一
Toshinori TAKANO Yohko SAKAGUCHI Shohichi HACHIYA
Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University
School of Medicine, Tokyo

佼成病院産婦人科

小幡 功 堀 洋二
Isao OBATA Yohji HORI
Department of Obstetrics and Gynecology, Kohsei Hospital, Tokyo

続発性無月経に対し Gonadotropin 製剤を投与することが日常診療に広く普及しつつある現在、その最も重要な副作用の1つである Ovarian hyperstimulation syndrome の病因に関しては殆んど知られていない。今回我々は PMS, HCG 投与後本症候群を認めた1例を経験したのでここに報告し、過排卵処置を施行した家兎卵巢の病理組織学的所見と比較検討を試みた。

その結果卵胞に於ては発育卵胞 I 型、II 型が多数認められ、間質に於てはリンパ管様管腔拡大、浮腫及び充血が共通の所見としてみられた。一方、本症例では多数の排卵後と思われる黄体形成が主であるのに対し、家兎の過排卵処置群では類黄体血胞、嚢状卵胞が著明に認められたのが相違点であった。

近年排卵誘発剤に関する数多くの研究、報告がなされ、日常診療にも広く普及してきているが、その副作用の1つに卵巢過剰反応症候群がある。主なる症状は卵巢腫大、卵巢破裂、多胎妊娠、Meigs syndrome 等である。今回我々は排卵誘発剤投与後に、両側卵巢の腫大及び腹水を認めた1例を経験したのでここに報告し、過排卵処置を施行した家兎卵巢の病理組織学的所見と比較検討を試みた。

症 例

患者：■■■■ 28歳、主婦
家族歴：特記すべきことなし。
既往歴：特記すべきことなく、既往妊娠もない。
主 訴：結婚後約2年半不妊
生 理：不規則、月経痛なし。
配偶者：33歳、健康
初診時所見：全身状態良好

内診所見：

外子宮口；円錐形、子宮腔部ビランなし
子宮；前傾前屈
小鶏卵大
弾性硬
可動性有
付属器；(右) 触知せず
(左) 超拇指頭大

上記不妊を主訴とし、昭和49年11月26日、当科外来を受診した。持参した基礎体温表は低温一相性を示していたため、Gestagen 30mg 投与により消腿出血をおこした後 Kaufman 療法を開始した。方法としては、出血開始後第8日目頃に Estrogen depot 10mg, 第18日目頃に Estrogen depot 10mg, Progesterone depot 125mg を注射した。Kaufman 療法 4 cur 終了した時点で、rebound を期待する意味で約2カ月間無処置にて経過をみた。昭和50年5月7日(約2カ月後)無月経にて再

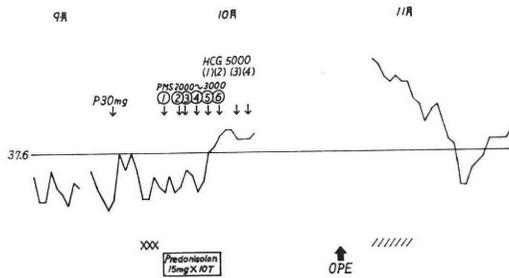


図1 基礎体温表

び来院し、基礎体温表でも rebound の効果はみられなかった。そのため Gestagen 30mg 投与して消腿出血をおこした後 clomid 1日 50mg 5日間を1 cur とし、2 cur 行った。同年9月10日再度無月経にて来院したため、Gestagen 30mg 投与して消腿出血発来の後、図1に示す如く出血開始後第5日目より PMS 2000 単位を隔日に4回投与すると同時に Prednisolone 1日15mg を10日間連用させた。PMS 2000 単位4回目投与の時点で、頸管粘液量 0.2ml、結晶形成 (+) のため、PMS 3000単位及び HCG 5000 単位を同時に隔日に投与し、更に隔日で HCG 5000単位を2回追加した。昭和50年10月6日、即ち HCG 5000 単位5回目の注射のため来院した際、左卵巣に超オレンジ大の嚢胞状の腫瘤を触知し、更に腹水貯留が認められたため入院となった。入院後も、腹部膨満感、腹痛、嘔気が持続したため、卵巣嚢腫茎捻転或は、付属器炎も否定できないと考え、一応消炎療法を行い、又腹水貯留に対しては Lasix 1日1錠を1週間服用させた。10月11日(入院後5日目)腹水穿刺を施行したところ、腹水は血性を呈していたが、16日、20日(手術時)は漿液性であった。腹水は総量で約3400ml 吸引され、腹水の性状は pH 8.0、Protein 2.7g/dl、Rivalta 反応+, やや活動性のある中皮細胞、核分裂像の細胞が認められたが、悪性細胞はみられなかった。

入院2週間後、腹部膨満感は多少軽減したが、下腹痛及び拡散する圧痛が持続したため、卵巣嚢腫茎捻転或は卵巣破裂の診断のもとに、10月20日手術を施行した。

表1は入院時、術前の諸検査成績を示したものであるが、血液一般、生化学的検査、血清蛋白分画、電解質には特に異常がなかった。又尿中ホルモン定量は術前(10月19日即ち手術の前日)に患者の尿を24時間冷蓄尿し、帝国臓器臨床検査所に測定を依頼した。術後は11月20日(手術後約1カ月)の値で、同様の方法で測定したものである。術前 Total Gonadotropin 値は1日の尿量1200ml につき32IU/ml を示していた。又17-OHCS 値が低下しているのは、Steroid 投与により、副腎機能が

表1 入院時諸検査成績

血液一般:		生化学的検査:	
WBC	11200	T.P.	5.7g/dl
RBC	405×10 ⁴	Urea-N	11mg/dl
Hb	13.3g/dl	LDH	280u
Ht	36.4%	CRP	1.5+
血清蛋白分画:		ASLO	50T.u
Albumin	52.8%	RA-test	(-)
α ₁ -gl	8.4%	電解質:	
α ₂ -gl	11.6%	Na	134mEq/l
β-gl	16.8%	Cl	96 "
γ-gl	10.4%	K	5.1 "
		Ca	4.7 "
尿中 Hormone 定量:			
		術前	術後
Total Gonadotropin		32IU/1200ml	4IU/450ml
17-OHCS		0.02mg/day	3.99mg/day
17-KS		8.71mg/day	6.96mg/day
Total Estrogen		15.21μg/day	43.76μg/day
Pregnandioli		0.30mg/day	1.76mg/day

抑制されているためと考えられる。

写真1は開腹時の所見であるが、左卵巣は超オレンジ大に、右卵巣は超鶏卵大に腫大し、弾性硬で、表面には排卵後と思われる黄体が多数認められ、又数カ所に卵胞破裂がみとめられた。第1回腹水穿刺時(10月11日)に腹水が血性を呈していたのは、この部からの出血であったと思われる。写真2は左卵巣の剖面であるが、卵巣皮質間質の各所に直径2~3cmの黄体が認められ、右卵巣の剖面も同様の所見を呈していた。写真3は、アザンマロリー染色、4×10倍の所見であるが、白膜の肥厚や皮質間質の Fibrosis は認められず、又卵胞においては発育卵胞I型、II型は多数認められるが、III型以上の発育卵胞はみられなかった。写真4はヘマトキシリン・エオジン染色、4×10倍の黄体所見であるが、中心腔への出血及び結合織化が認められ、排卵後第8日目頃の黄体と思われる。写真5はヘマトキシリン・エオジン染色、4×10倍の同様に黄体所見であるが、顆粒膜黄体細胞は多少変性に陥っている所見を呈し、排卵後第10日目頃の黄体と思われ、皮質間質の大部分はこれらの黄体によって占められていた。写真6はヘマトキシリン・エオジン染色、2×5倍の類黄体血胞所見であるが、顆粒膜細胞層の黄体化が著明に認められる。写真7はアザンマロリー染色、4×10倍の皮質間質所見であるが、リンパ管様管腔拡大が認められる。写真8はその強拡大の所見であるが、aでは浮腫がみられ、bでは充血が軽度みられる。

術後6日目より7日間不正性器出血をみた頃より基礎

体温は下降し始め、その後は二相性を呈した。又術後は経過良好で、退院時臨床諸検査値にも異常なく50年11月4日退院した。写真9は家兎に過排卵処置即ち、PMS 40単位を5日間皮下注射した後、HCG 50単位を静注した時の卵巣所見であるが、肉眼的にも正常卵巣に比し5~6倍の大きさに腫大し、組織学的には多数の類黄体血胞が認められ(写真9のa)また多くの嚢状卵胞もみられる(写真9のb)。

そして卵胞では写真10にみられる様に、発育卵胞Ⅰ型~Ⅲ型は多数みられるが、Ⅳ型以上は減少している。写真10はヘマトキシリン・エオジン染色、4×10倍の所見であるが、aでは著明な充血がみられ、bではリンパ管様管腔拡大と浮腫がみられる。

表2は、下垂体性 Gonadotropin を投与した時のヒト卵巣、即ち今回の症例と過排卵処置を施行した家兎卵巣の病理組織所見を比較した表である。卵胞に於ては発

表 2

卵胞型		ヒト卵巣	家兎卵巣 (過排卵処理)
卵胞の種類	Ⅰ	卅	卅
	Ⅱ	+	卅
	Ⅲ	-	卅
	Ⅳ	-	+
	Ⅴ	-	+
	Ⅵ	-	+
組織所見			
閉鎖卵胞	-	-	
嚢状卵胞	+	卅	
リンパ管様管腔拡大	卅	卅	
充血	+	卅	
浮腫	卅	卅	
出血卵胞	-	卅	
類黄体血胞	+	卅	
黄体形成	卅	+	

育卵胞Ⅰ型、Ⅱ型が多数認められた点、両者共類似しているが、Ⅲ型以上の発育卵胞は本症例では認められず、又家兎の過排卵処置群ではやや減少していた。組織所見については、卵巣皮質間質のリンパ管様管腔拡大、浮腫、充血は共通の所見として認められたが、一方本症例では多数の排卵後と思われる黄体形成が主であるのに対し、家兎の過排卵処置群では、類黄体血胞、嚢状卵胞が著明に認められたのが相違点である。

考 按

一般に Poly cystic ovary (PCO) 症例に Gonado-

tropin 療法を施行すると卵巣の過剰反応をおこし易いことは良く知られている。しかし PCO の病因については現在もお定かではなく、従つて診断基準についても、臨床症状、内分泌学的検査或は病理形態学的検査を診断根拠とする各種の方法がとられている。特に病理形態学的変化を本症の診断根拠とすると本来卵巣は嚢胞を形成する性質をもっているため、正常卵巣との鑑別が困難な場合もある¹⁾。又田中²⁾は無排卵症卵巣において非特異型卵巣は正常性成熟期卵巣に極めて類似した所見を呈すると述べている。そして、今回の症例ではその組織所見において、PCO にいわれている様な、白膜の肥厚、皮質間質の Fibrosis、嚢状卵胞或は閉鎖卵胞の増加は認められなかつた。

Goldfalb³⁾等は卵巣過剰反応症候群を3群に分類し、卵巣の大きさが10cm 以下のものをA群、10cm 以上のものをB群、10cm 以上で腹水又は胸水を伴う例をC群に規定した。そしてその組織学的特徴所見として、両側卵巣は multicystic であり、黄体化が著明で、間質の浮腫、卵巣内血管の栓塞、壊死、急性炎症像が認められたといっている。

従来より当教室において我々は、家兎に過排卵及び反復過排卵処置を施行した時の卵巣の形態学的変化につき報告してきた^{3,4)}。そしてこれらの処置群に於て、正常卵胞動態は著しい変動をきたし、更に間質に於ても、前述の様な著明な変性を認めている。

今回の症例に投与された PMS 及び HCG の量に関して、それが常用される maximam の量ではあつたが必ずしも過剰投与では無く、かかる反応態度は本症例が Gonadotropin に対する感受性が高く、反応性が亢進していたことが示唆される。

Jewelewicz⁵⁾等は本症の pathogenesis につき最も重要な副作用の1つは、Gonadotropin 療法による arterial thrombosis であると述べている。又その予防にあたり、Taymor⁷⁾等の提唱する如く、FSH 投与期間中は頸管粘液検査と並行して尿中 Total Estrogens 定量等を可及的に施行するべきであつたと反省された。

そして本症例のような卵胞動態及び間質の変性所見が、卵巣の器質的变化によるものであるか、それとも中枢側に起因するものであるか、更にはこの様な状態で排卵された卵子の異常或は妊孕性の問題等については、今後更に検討すべき課題であると思われる。

本論文要旨は、1976年9月、第212回日本産科婦人科学会東京地方部会にて発表した。

文 献

- 1) 青野敏博・他：多嚢胞卵巣症候群の病態生理と治療，臨床婦人科産科，30(5)：393，1976.
- 2) 田中耀子：無排卵症における卵巣の病理組織学的研究，慈大医誌，87(2)：325，1972.
- 3) 平野靖雄：過排卵及び反復過排卵処置によつて惹起された家兎卵巣の形態学的観察について，日不妊誌，25(7)：595，1973.
- 4) 美馬博史：家兎卵巣のゴナドトロピン反応態度についての組織学的観察，日不妊誌，20(3)：270，1975.
- 5) Alvin, F. Goldfalb and Abraham, E. Rakoff: Experience with the hypersitimulation syndrome during menotropin therapy, *Excerpta Medica*. Amsterdam: 225, 1973.
- 6) R. Jewelewicz and T. Engel: Ovarian hyperstimulation syndrome, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 112(8) : 1052, 1972.
- 7) Melvin, L. Taymor and Marvin, A. Yushman, Estrogen monitoring in ovulation induction, *Fertility and Sterility*, 21(11) : 759, 1970.

A case report of ovarian hyperstimulation syndrome (Especially histopathological findings)

**Toshinori Takano, Yohko Sakaguchi
and Shohichi Hachiya**

Department of obstetrics and Gynecology,
The Jikei University School of
Medicine, Tokyo

Isao Obata and Yohji Hori

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kohsei Hospital, Tokyo

Gonadotropins have been used extensively for the treatment of infertility due to secondary ovarian failure. But little is known about the pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome, which is the most important side effect of this therapy. Recently we have experienced a severe case of this syndrome and compared the histopathological findings to those of the rabbit ovaries with superovulation treatment.

DISCUSSION: In each case, many developing folliculi of pattern I and II were observed. Dilatation of the lymphatic-vessels-like canal space, edema, and congestion were seen in the stroma. On the other hand, in this case the ovaries were occupied by many corpus lutea, but in rabbits corpusluteum-like bloody folliculi and cystic folliculi were markedly increased.

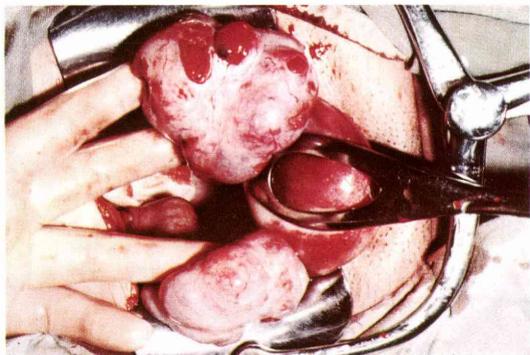


写真1 開腹時所見

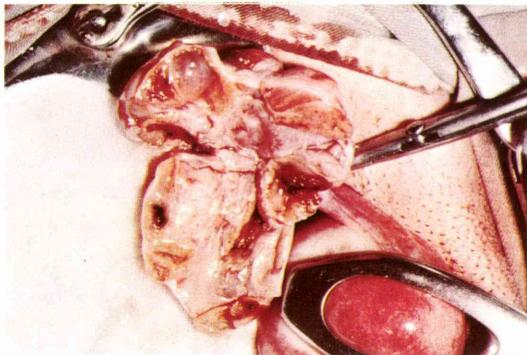


写真2 左卵巣剖面

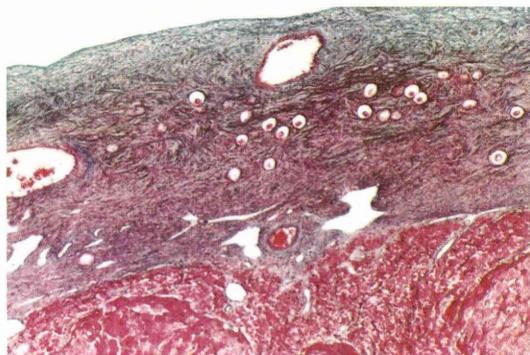


写真3 アザンマロリー染色
4×10倍

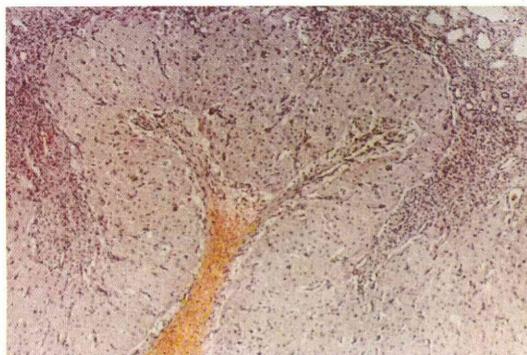


写真4 ヘマトキシリンエオジン染色
4×10倍

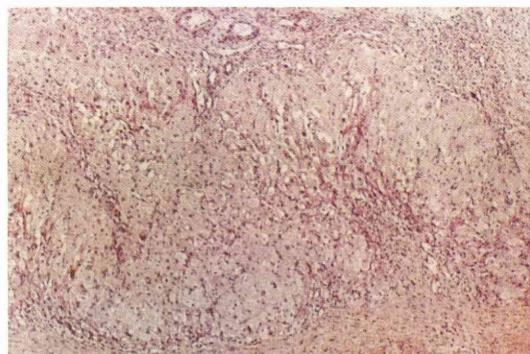


写真5 ヘマトキシリンエオジン染色
4×10倍

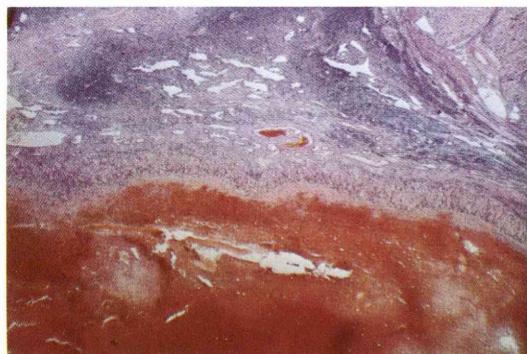


写真6 ヘマトキシリンエオジン染色
2×5倍

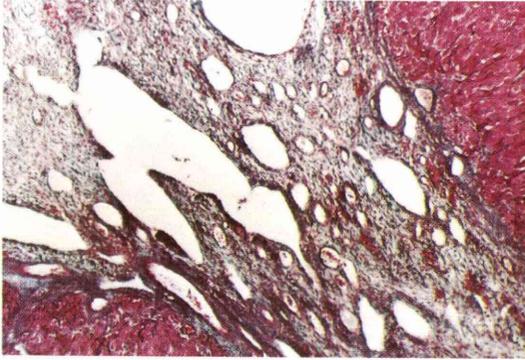


写真7 アザンマロリー染色
4×10倍

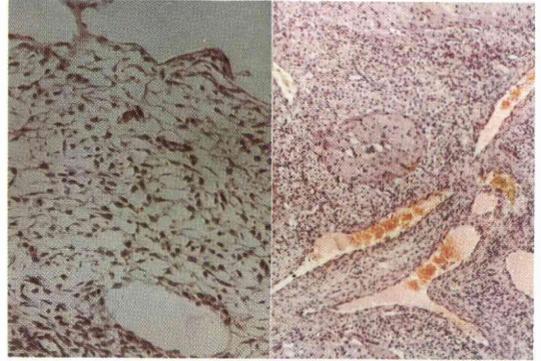


写真8 ヘマトキシリンエオジン染色
10×10倍

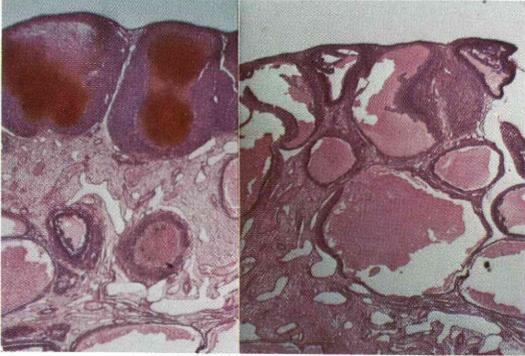


写真9 ヘマトキシリンエオジン染色
2×5倍

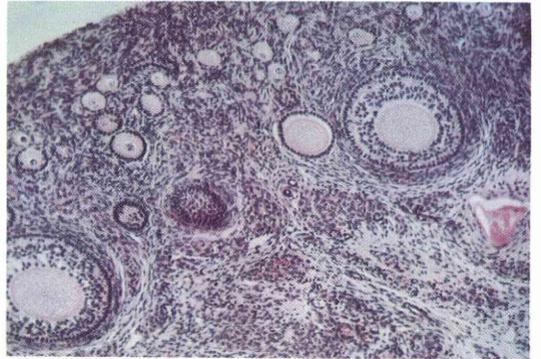


写真10 ヘマトキシリンエオジン染色
4×10倍

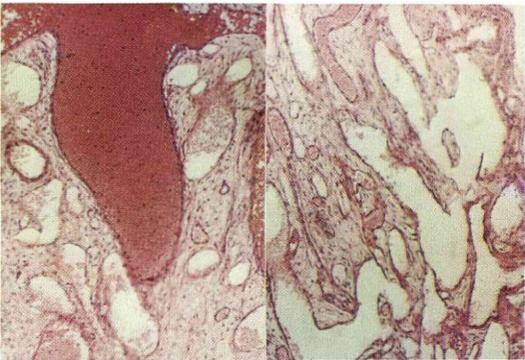


写真11 ヘマトキシリンエオジン染色
4×10倍

ヒト閉鎖卵胞の性ステロイド生成機能

Steroid Hormone Formation *in vitro* by Human Ovarian Follicles

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.

生理的条件下のヒト卵胞の性ステロイド生成機能とそれにおよぼす *in vitro* でのヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) の影響を知るため、婦人科的適応にて開腹術をうけた34名の患者より得た都合45個の卵巣から卵胞を剔出し、 ^{14}C -testosterone または ^{14}C -acetate を基質としてインキュベートし各種ステロイドへの転換を検討した。その結果、1) testosterone- ^{14}C より estrogen への転換は約1%であった。2) acetate- ^{14}C からの主要ステロイドは androstenedione と17-hydroxyprogesterone の2つで、estrogen への ^{14}C のとりこみは全体の約0.5%にすぎなかつた。3) *in vitro* に hCG を添加した場合 testosterone より estrogen への転換は対照に比し19.1%減少し、acetate- ^{14}C よりステロイドへのとりこみは全体で約30%増加したが、hCG に対する反応は各ステロイド間で一様でなかつた。組織学的に用いた卵胞を閉鎖卵胞の像を呈していたことから、本実験の結果は閉鎖卵胞の性ステロイド生成機能を反映したものと考えられる。

緒 言

ヒト卵巣の解剖学的構成要素にはそれぞれ固有の性ステロイド生成機能があることが最近明らかにされつつある。すなわち *in vitro* において acetate- ^{14}C より各ステロイドへのとりこみをみた場合、黄体¹⁾、間質²⁾にはそれぞれ固有のパターンが存在するとされており、また卵胞に関しても Ryan and Smith³⁾の報告によつて estrogen 生成に大きな役割をもつことが明らかにされている。しかしながら Ryan ら³⁾の実験に用いられた卵胞は手術前に大量の卵胞刺激ホルモンの投与を受けたものであるから、このような処置によつて卵胞の性ステロイド生成機能は大幅な修飾をうけていると考えられる。従つて何らゴナドトロピンの負荷を受けていない生理的条件下における卵胞の性ステロイド生成機能を検討することにより、ヒト卵巣の性ステロイド生成における卵胞の役割がより明らかになると考えられるが、これに関する報告はまだみられない。

一方ゴナドトロピンことにヒト絨毛性ゴナドトロピン

(hCG) は *in vitro* において黄体¹⁾、間質²⁾の性ステロイド生成に対して促進的に働くとされているが、卵胞の性ステロイド生成に与える影響についてはまだ報告をみない。

今回われわれは生理的条件下における卵胞の性ステロイド生成機能とそれにおよぼす *in vitro* での hCG の影響を検討し、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. 化学薬品およびゴナドトロピン

実験に用いた有機溶媒はすべて特級で、使用前に再蒸留して使用した。基質として用いた $1\text{-}^{14}\text{C}$ -sodium acetate (61.8mCi/mmol), $4\text{-}^{14}\text{C}$ -testosterone (55.8mCi/mmol) および回収率補正用に用いた tritium 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、 $4\text{-}^{14}\text{C}$ -testosterone は濾紙クロマトグラフィーにて、 ^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。hCG (APL, 20,000IU/vial) は Ayerst Laboratories,

New York, N. Y., U.S.A. より提供を受けた.

2. Acetylation and Saponification

pregnenolone, dehydroepiandrosterone, testosterone の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一昼夜反応せしめた.

Testosterone acetate の saponification は乾燥したサンプルに50%エタノール中に5%の苛性ソーダを含む試薬20ml を加え、遮光下に室温にて24時間反応せしめた. 反応終了後は60ml の ethyl acetate にて3回抽出した後、slica gel column chromatography にて純化した.

3. 卵胞の剔出とインキュベーション

婦人科的適応のもとに開腹術をうけた患者のうち正常月経周期をもつた34名の婦人から都合45個の卵巣を得、氷冷した Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液中にて直径5~15mm の卵胞を剔出し、一部を組織学的検索用に切除した後、以下に述べるごとく3つの実験を行った.

実験 I : 剔出した卵胞より注射針による穿刺によつて卵胞液を排除した後、鉋にて卵胞組織を細切してミンスを作成し、ほぼ2等分した. うち一方は hCG 100 国際単位 (IU) を加え、他方は hCG を添加しない対照実験に供した.

この実験では21歳から46歳におよぶ患者3名を対象とし、1人の患者の一侧または両側卵巣から得られた卵胞組織を用いてそれぞれインキュベーションを繰返した. この場合卵巣1個より得た卵胞組織につき1.0 μ Ci の $4\text{-}^{14}\text{C}$ -testosterone を基質として合計5.0 μ Ci の $4\text{-}^{14}\text{C}$ -testosterone で3回のインキュベートを行ったことにな

る. 分析にはこれらの資料を一括して用いたので使用した組織の重量は hCG 非添加群で318.8mg, hCG 添加群で302.8mg であつた.

実験 II : 実験 I と同様にミンスを作成し、基質として1回のインキュベーションにつき100 μ Ci の acetate- ^{14}C を用いた. 22歳より49歳にわたる20名の患者より得た26個の卵巣を実験に供した. 組織の重量は対照群で合計2643.1mg, hCG 添加群で2735.7mg であり、基質として両者共合計2.0mCi の acetate- ^{14}C を用いた.

実験 III : 前2者と異なり本実験では34歳の1名の患者より得た両側の卵巣より直径5~15mm の卵胞を剔出し、卵胞液を注射針による穿刺にて排除せる後、卵胞を半分にて切断し、ミンスとせずそのままインキュベーションに用いた. 基質としては100 μ Ci の acetate- ^{14}C を用い、組織の重量は対照群で310.7mg, hCG 添加群で324.7mg であつた.

インキュベーションの方法は2ml の Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液 (pH 7.4) にそれぞれ前述の基質を加えたものを medium とし95% O_2 + 5% CO_2 の気相下に37°C, 3時間のインキュベーションを行った. 終了後は直ちに-20°C に凍結し反応を停止せしめ、分析に移るまでそのまま保存した.

3. ステロイドの抽出, 分離, 同定

ステロイドの分析は pregnenolone (以下 Preg と略), 17-hydroxypregnenolone (17HO-Preg), progesterone (Prog), 17-hydroxyprogesterone (17HO-Preg), dehydroepiandrosterone (DHA), androsterone (And), testosterone (Test), estrone (E-1), estradiol-17 β (E-2) の9種のステロイドを目標として

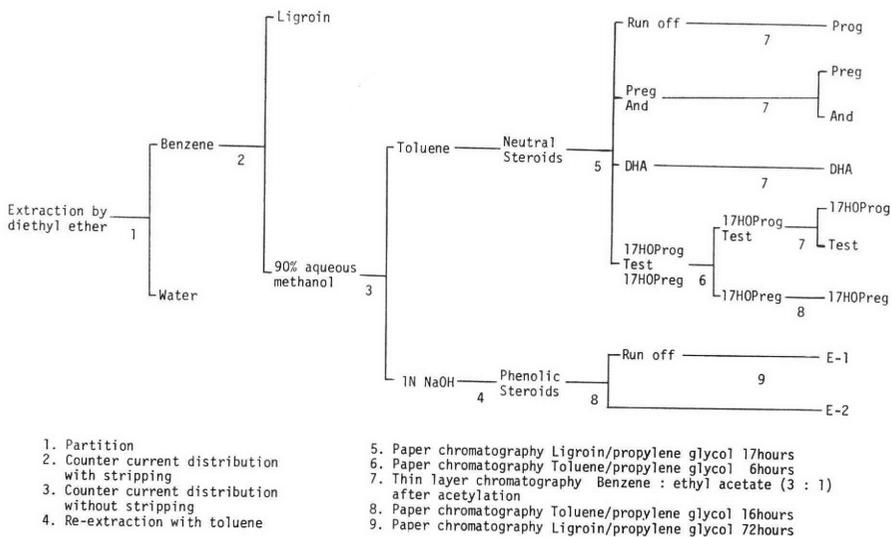


Fig. 1 Procedure for analysis of steroids

reverse dilution technique¹⁾にて行つた. 方法の詳細はすでに報告²⁾したので省略するが, carrier として400 μ g の非標識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 して ether にて抽出し, 以下図1に示すような操作にて9種のステロイドを分離した.

分離した各ステロイドは比放射活性が一定となるまで再結晶をくり返し, 放射化学的に均質であることを同定した. 放射化学的均質性の判定基準は最終回の再結晶における結晶と母液の比放射能の差が $\pm 5\%$ 以内であるか, 連続2回の再結晶における結晶の比放射能の差が $\pm 5\%$ 以内であることとした. なお testosterone の放射化学的均質性は saponification 前後の比放射能が一定なることによつてさらに確認した.

4. 放射能の測定

放射能の測定は Packard Tri-Carb Liquid Scintillation Counter, Model 3375 にて duplicate にて行つた. 測定効率は ¹⁴C については44.5%または48.0%, ³H については43.0%, または43.5%であつた. ステロイドにとりこまれた放射能は回収率を補正して組織1g 当りの dpm にて表わした.

実験結果

Radioactive testosterone の estrogen への転換

表1に示すごとく ¹⁴C-testosterone から E-1+E-2 への転換率は対照では1.17%, hCG 添加例で0.96%であつた. 産出された estrogen の化学量は組織1g 当り対照で1057 pmoles, hCG 添加実験で865 pmoles と計算された.

Radioactive acetate から各種性ステロイドへのとりこみ

Table 2 Incorporation of 1-¹⁴C acetate into steroids formed by human follicular tissue and the effect of hCG in vitro

Substrate ¹⁴ C Incorporation into Steroids (dpm/g tissue)	Exp. II			Exp. III		
	Control	hCG	% of control	Control	hCG	% of control
Pregnenolone	27,400	34,600	126.3	14,300	63,900	446.9
Progesterone	11,000	14,500	130.6	7,300	13,700	187.7
17-Hydroxypregnenolone	6,900	10,900	158.0	17,500	70,500	402.9
17-Hydroxyprogesterone	87,600	163,000	186.1	252,000	494,000	196.0
Dehydroepiandrosterone	122,000	171,000	140.2	24,400	78,300	320.9
Androstenedione	205,000	194,000	94.6	668,000	626,000	93.7
Testosterone	5,700	4,840	84.9	40,900	34,800	85.1
Estradiol	1,030	1,270	123.3	0	0	—
Estrone	1,390	1,870	134.5	0	0	—
Total incorporation	468,000	596,000	127.4	1024,000	1380,000	134.7

Table 1 Conversion of 4-¹⁴C testosterone to estrogens by human follicular tissues

	Control	hCG	
	dpm	dpm	% of control
Estrone	54,900	73,000	133.0
Estradiol	61,700	22,500	36.5
Total estrogens	116,000	95,500	81.9

Combined incorporation of ¹⁴C radioactivity into estrone and estradiol.

表2に実験IIおよびIIIの結果を一括表示した. 表から判る通り, And および 17HO-Prog が実験 II, III に共

ACETAE-1-¹⁴C INCORPORATION INTO STERODIS IN HUMAN OVARIAN TISSUE EFFECT OF hCG IN VITRO-ATRETIC

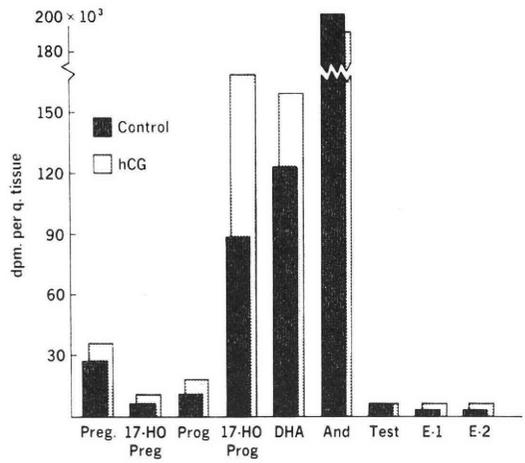


図 2

通の主要産生ステロイドで、実験Ⅱにおいては DHA も主要産生ステロイドであった。Preg, 17HO-Preg, Prog へのとりこみは少なく、また実験Ⅱ, Ⅲ何れにおいても Test へのとりこみは少量であった。E-1, E-2 へのとりこみは実験Ⅱにおいては少量ながら明瞭に確認出来たが(約0.5%)、実験Ⅲにおいては確認できなかった。実験Ⅱにおけるステロイド生合成パターンは図2に示した通りである。

in vitro における hCG の影響

表2に示した通り9種のステロイド全体への¹⁴Cの総とりこみは in vitro に hCG を添加することにより、実験Ⅱでは27.4%、実験Ⅲでは37.4%増加した。これをそれぞれのステロイド別にみると個々のステロイドによって増加の程度は一樣でなく、And および Test への¹⁴C のとりこみは増加しないのに対し、実験Ⅱ, Ⅲともに hCG 添加により17HO-Prog および17HO-Preg へのとりこみは著明に増加した。また radioactive testosterone から estrogen への転換は表1に示す通り hCG の添加により18.1%減少した。

組織学的所見

卵胞の組織学的所見は個々の卵胞で多少の異同は認められたけれどもほぼ類似の所見を示していた。共通した形態像を以下に述べると卵胞壁は内、外茨膜細胞層が大部分を占め、顆粒膜細胞層はごく少量であった。内茨膜層は血管増生を伴って類上皮性の変化をとげ黄体化しつつある像を呈する反面、核濃縮傾向、細胞質の空泡形成などの変性像の併存も認められた。顆粒膜層には核分裂像や黄体化像は認められず、核濃縮像や排列不整、脱落像などの変性像が著明に認められた。すなわち本実験に用いた卵胞は閉鎖過程にあるものと考えられた。代表的な組織像を図3に示してある。また実験Ⅲに用いた患者の子宮内膜は軽度の炎症を伴った増殖期後半の像であった。

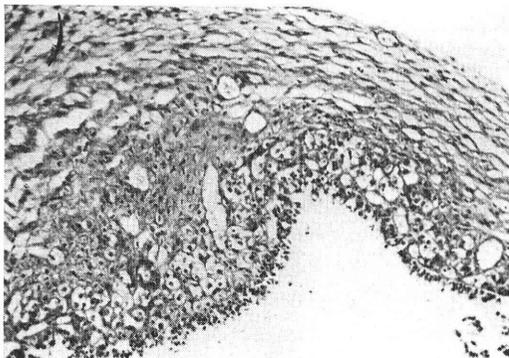


図 3

考 按

in vitro において acetate-¹⁴C より産生される性ステロイドのパターンは黄体¹⁾、間質²⁾においてはほぼ不変であることから、この方法によつて卵巣の解剖学的構成要素のステロイド生合成における組織生理的意義を規定できると考えられる。今回の実験においてヒト卵胞により acetate-¹⁴C から産生される主要ステロイドは実験Ⅱ, Ⅲで And, 17HO-Prog で、さらに実験Ⅱでは DHA も主要産生ステロイドの1つであった。このようなパターンは Patwardhan et al.³⁾が Preg を基質としたヒト卵胞のインキュベーション実験結果と類似しているが、術前に大量の FSH の投与をうけた卵胞についての Ryan et al.³⁾の実験結果とは著しく異なるものである。後者の実験成績では卵胞において acetate-¹⁴C より産生される主要ステロイドは E-1, E-2 であったと報告されている。今回の成績と Ryan の報告との最も著しい差異は主として用いた卵胞の芳香化機能の量的な差によつて生じたものと考えられる。

ヒト卵巣の芳香化機能についてのこれまでの報告をみると、卵巣全体の in vitro における radioactive testosterone から estrogen への転換は0.1~0.2%であるとされている^{7), 8)}。一方 in vivo に投与したゴナドトロピンの estrogen 生合成に与える効果については、ovine FSH の投与が尿および卵胞液中の estrogen を著明に増加したとの報告や⁹⁾、ovine FSH と hCG の順次投与をあらかじめ行つた場合、ヒト卵胞における And から E-1, E-2 への転換が15%に達したとの報告¹⁰⁾などから明らかなように、in vitro に投与したゴナドトロピンはヒト卵胞の estrogen 生合成機能に対し刺激的に働くと考えられる。今回の実験では何らゴナドトロピンによる前処置は行われておらず、Test から estrogen への転換は約1%にすぎなかつた。以上のことから Ryan³⁾の報告した成績はゴナドトロピン刺激をうけた卵胞のステロイド生合成機能を反映したものと考えられ、これはわれわれが HMG を投与した場合のヒト卵胞のインキュベーション実験で同様の成績を得た^{11) 20)}ことによつても裏付けられよう。これに対し今回の成績は卵胞の組織所見は個々に多少の差はあるとはいえ、ゴナドトロピンの刺激をうけていない卵胞のステロイド生合成機能を反映したものと考えられる。

つぎに今回の成績につき卵胞の組織構成との関連の面から考按してみたい。ゴナドトロピンの前処置を行つた前述の Ryan et al.³⁾の実験に用いられた卵胞の組織像については別の報告で記載されているが¹²⁾、それによると顆粒膜細胞層の増殖が著明で成熟卵胞あるいは排卵前

卵胞の組織像を呈している。これに対し今回の実験に用いられた卵胞は個々については多少の差が認められるものの、共通した形態像としては顆粒膜細胞層が量的に少ないこと、莖膜細胞層が黄体化しつつある像を示していること、および顆粒膜、莖膜両細胞ともに変性像を示していることであり、すなわち大部分は閉鎖卵胞の像を呈していたことである。卵胞を構成する2つの細胞層すなわち顆粒膜細胞層と莖膜細胞層のステロイド生合成機能についてこれまでの報告をみると、まず Falck¹³⁾は卵胞における estrogen 生合成には顆粒膜、莖膜両細胞の協同作用が必須であることをラット卵巣細胞の前眼房への移植というユニークな方法を用いて証明している。馬については莖膜細胞より顆粒膜細胞の芳香化機能の強いことも報告されている¹⁴⁾。ヒト卵胞については顆粒膜、莖膜細胞とも Preg, Prog を estrogen へ転換する能力をもつ¹⁵⁾が、acetate-¹⁴C より estrogen への ¹⁴C のとりこみは別個にとりだした両細胞を再結合することにより著明に増加する¹⁶⁾ことが報告されている。一方組織培養法を用いた Channing¹⁷⁾の実験成績によると莖膜細胞は顆粒膜細胞に比べ 4-neutral steroids をより多く産生するとされている。

以上の報告は卵胞における estrogen 生合成には2型の細胞の共存が必要であることを積極的に支持している成績である。以上のことから考えて今回の実験において estrogen への ¹⁴C のとりこみが少なかった事実は閉鎖卵胞の一特徴である顆粒膜細胞の量的不足によって説明することは可能であろうし、得られたパターンはヒト閉鎖卵胞のステロイド生合成機能を反映したものと考えられる。同様なパターンがウシ閉鎖卵胞においても認められることをわれわれは確認しているし¹⁸⁾、acetate-¹⁴C から estrogen へのとりこみが卵胞の構造とくに顆粒膜細胞の増殖度に依存している実験成績も報告しているが²⁰⁾、これらは何れも今回得られた成績を直接、間接に支持するものである。

つぎに今回の実験では in vitro に hCG を添加することにより acetate-¹⁴C より全ステロイドへの総とりこみは約30%増加した。hCG の効果判定の基準としては Rice et al.⁴⁾はヒト黄体を用いた同様のインキュベーション実験において ¹⁴C のとりこみが100%以上増加したときのみ効果ありと判定している。この基準を適用すると今回の実験においては acetate-¹⁴C よりステロイドへの ¹⁴C のとりこみに対し hCG が促進的に働いたとは結論出来ないことになる。しかし実験 I において Test より estrogen への転換が hCG 添加により減少したことは hCG によって Test の生合成に至る経路が刺激され¹⁹⁾、その結果 Test の endogenous pool の増加が起

り、基質として添加した testosterone-¹⁴C が希釈された結果であると理解され、hCG が卵胞のステロイド生合成に促進的に働いたことの間接的な証明になると考えられる。

ヒト黄体¹¹⁾、間質²¹⁾を用いた同様のインキュベーション実験において各ステロイドへの acetate-¹⁴C のとりこみは hCG 添加により一様に増加し、そのステロイド生合成パターンは不変であるとされている。これに対し今回の実験においては hCG に対する反応は各ステロイドによって一様ではなかった。これは黄体や間質が均一な細胞から成る組織であるのに対し、卵胞は酵素活性の異なった顆粒膜、莖膜という2つの細胞から成っており、この組織構造上の不均質性によって起つたものと解釈するのが妥当であろう。

ま と め

生理的条件下のヒト卵胞の性ステロイド生合成機能とそれにおよぼす in vitro での hCG の影響を検討し次の結論を得た。

1. Radioactive testosterone より estrone, estradiol-17 β への転換は対照で 1.17%、hCG 添加実験では 0.96%であった。
2. Radioactive acetate よりの主要産生ステロイドは androstenedione, 17-hydroxyprogesterone の2つで、ミンズを用いた場合はこのほか dehydroepiandrosterone も主要ステロイドの一つであった。estrone+estradiol-17 β へのとりこみは全体の約0.5%に過ぎなかった。
3. in vitro に hCG を添加することにより radioactive acetate より全ステロイドへの総とりこみは約30%増加したが、hCG に対する反応は個々のステロイドで一様でなかった。
4. このような性ステロイド生合成パターンは組織学的所見からみてヒト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。

文 献

- 1) Hammerstein, J., Rice, B. F. and Savard, K.: Steroid hormone formation in the human ovary: I. Identification of steroids formed in vitro from acetate-1-¹⁴C in the corpus luteum, J. Clin. Endocrinol. Metab., 24: 597, 1964.
- 2) Rice, B. F. and Savard, K.: Steroid hormone formation in the human ovary: IV. Ovarian stromal compartment; Formation of radioactive steroids from acetate-1-¹⁴C and action of gonadotropins, J. Clin. Endocrinol.

- Metab., 26 : 593, 1966.
- 3) 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.
 - 4) Rice, B. F., Hammerstein, J. and Savard, K. : Steroid hormone formation in the human ovary : II. Action of gonadotropins in vitro in the corpus luteum, J. Clin. Endocrinol. Metab., 24 : 606, 1964.
 - 5) 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.
 - 6) Patwardhan, V. and Lanthier, A. : The in vitro formation of androstenedione from C₂₁ steroids by follicles isolated from human ovaries, Acta Endocr. (kbh), 67 : 698, 1971.
 - 7) Baggett, B., Engel, L. L., Savard, K. and Dorfman, R. I. : The conversion of testosterone-3-¹⁴C to ¹⁴C-estradiol-17 β by human ovarian tissue, J. Biol. Chem., 221 : 931, 1955.
 - 8) Wotiz, H. H., Davis, J.W., Lemon, H. M. and Gut, M. : Studies in steroid metabolism V. The conversion of testosterone-4-¹⁴C to estrogens by human ovarian tissue, J. Biol. Chem., 222 : 487, 1956.
 - 9) Smith, O. W. and Ryan, K. J. : Estrogen in the human ovary, Amer. J. Obst. Gynec., 84 : 141, 1962.
 - 10) Smith, O. W. and Ryan, K. J. : Biogenesis of estrogens by the human ovary, The conversion of androstenedione-4-¹⁴C to estrone and estradiol in high yield, Endocrinology, 61 : 869, 1961.
 - 11) 鈴木 瞭, 森 崇英, 村田匡好, 藤田泰彦, 佐川典正, 西村敏雄 : Human menopausal gonadotropin 投与下のヒト卵胞の性ステロイド生合成機能, 日産婦誌, 29 : 65, 1977.
 - 12) Ryan, K. J. and Smith, O. W. : Biogenesis of steroid hormones in the human ovary, Recent Progr. Horm. Res. 21 : 367, 1965.
 - 13) Falck, B. : Sites of production of oestrogens in rat ovaries as studied in microtransplants, Acta Physiol. Scand., 47 : suppl. 163, 1959.
 - 14) Ryan, K. J. and Short, R. V. : Formation of estradiol by granulosa and theca cells of the equine ovarian follicle, Endocrinology, 76 : 108, 1965.
 - 15) Ryan, K. J. and Petro, Z. : Steroid biosynthesis by human ovarian granulosa cells and theca cells, J. Clin. Endocrinol. Metab., 26 : 46, 1966.
 - 16) Ryan, K. J., Petro, Z. and Kaiser, J. : Steroid formation by isolated and recombined ovarian granulosa and theca cells, J. Clin. Endocrinol. Metab., 28 : 355, 1968.
 - 17) Channing, C. P. : Steroidogenesis and morphology of human ovarian cell types in tissue culture, J. Endocr., 45 : 297, 1969.
 - 18) Mori, T. : Steroid hormone formation in bovine ovarian follicles, Endocrinol. Jap., 22 : 361, 1975.
 - 19) Oakey, R. E. and Stich, S. R. : Oestrogen biosynthesis by segments of bovine follicle and the effect of follicle stimulating hormone preparations, Acta Endocr. (kbh), 58 : 407, 1968.
 - 20) Suzuki, A., Mori, T., Fujita, Y., Murata, M., Kitagawa, M. and Nishimura, T. : Steroid hormone formation *in vitro* by human ovarian follicles with different structures, Acta Obst. Gynec. Jap., 23 : 207, 1976.

Steroid hormone formation *in vitro* by human ovarian follicles

**Takahide Mori, Akira Suzuki,
Yasuhiko Fujita and Toshio Nishimura**

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

Steroid hormone formation *in vitro* by human ovarian follicles and the effect of human chorionic gonadotropin (hCG) *in vitro* were investigated. Forty-five ovaries were obtained from 34 patients at surgery for gynecological indications and follicles of 5 to 15 mm were dissected from adjacent tissue under stereomicroscope. Three experiments were performed. In experiment I, minced follicular tissues were incubated with radioactive testosterone in the presence or absence of hCG. Minced follicular tissue in experiment II and intact follicles in experiment III were incubated with 100 μ Ci of radioactive acetate in the presence or absence of hCG. Incorporation of radioactivity into pregnenolone, 17-hydroxypregnenolone, progesterone, 17-hydroxyprogesterone, dehydroepiandrosterone, androstenedione, testosterone, estrone and estradiol-17 β were assessed by reverse isotope dilution technique with recrystallization to constant specific activity. Significant amounts of estrone and estradiol-17 β were formed by minced follicular tissues on incubation with testosterone-4-¹⁴C; hCG decreased the conversion approximately by 20%. The major radioactive products formed from acetate-1-¹⁴C were 17-hydroxyprogesterone and androstenedione in experiment II and III. Dehydroepiandrosterone was also one

of the major products in experiment II. The minor products were testosterone, progesterone and pregnenolone in either experiment. Smaller, but definitive incorporations of radioactive acetate into estrone and estradiol were found in experiment II. The addition of hCG *in vitro* increased the overall incorporation of radioactive acetate into the nine steroids approximately by 27 to 35%, although the range of increase was not uniform in the individual steroids under

the experimental conditions. Histology of the dissected follicle specimen was characterized by hypertrophied theca cells and small amounts of granulosa cells, which showed neither mitotic changes nor luteinization. In brief, the follicles used in this experiment showed atretic changes. The pattern of distribution of radioactivity among steroids formed from acetate- ^{14}C represent steroidogenic profile of human atretic follicles.

不妊検査における Huhner test の診断的意義

Diagnostic Significance of Huhner test

大阪大学医学部産科婦人科学教室 (主任 倉智敬一教授)

若尾 豊 一 佐治 文 隆

Toyokazu WAKAO Fumitaka SAJI

根来 孝 夫 中室 嘉 郎

Takao NEGORO Karo NAKAMURO

Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine, Osaka University

(Director: Prof. Keiichi Kurachi)

我々は不妊症検査における Huhner test の診断的意義を向上させる目的で Huhner test の成績を正常群 (I群), 中間群 (II群), 不良群 (III群) の3群に分類した。各群の比率はそれぞれ 22.4%, 32.7%, 44.9%であった。Huhner test の成績と各不妊検査の比較を行ない以下の結果を得た。1. 精子減少症では殆んどが Huhner test III群に属し順次II群, I群と分布した。精液検査正常群では各群に差はみられなかった。2. 頸管粘液不良群では Huhner test III群に属する例が半数近くを占め、ついでII群, I群の順であった。頸管粘液良好群では各群に差はみられなかった。3. 精液検査正常かつ頸管粘液良好群でしかも Huhner test 不良群に属するものの中には一部抗精子抗体が関与していた。4. 妊娠率では Huhner test 各群で差はみられなかった。しかし Huhner test 不良群では AIH によつて妊娠したものが 50%あり、Huhner test 不良群に対して積極的に AIH を施行することにより Huhner test 正常群, 中間群とかわらない妊娠率に高め得た。

緒 言

Postcoital test いわゆる Huhner test は 1869 年 Sims によつて最初に記載され、50 年後 Huhner によつて実用化された検査法である。この Huhner test は不妊患者の診断に広く用いられている検査の一つであり、その成績の解析については既に多くの検討がなされてきた。それにもかかわらず Huhner test の判定にまだ明確な基準がみられない。たとえば性交後の頸管粘液を強拡大 (400 倍) で鏡検して運動精子が 1 匹でも認められれば正常とするもの¹⁾から、1 視野に 6 匹以上の精子を認めかつそのうち 60%以上が運動精子であるときを正常とするもの²⁾、1 視野に 20 匹以上の精子を認めそのうち 75%以上が運動精子であるときを正常とするもの³⁾まで様々である。

また Huhner test の成績と妊娠率との関係をみた報告でも一致した見解はない。

今回我々は Huhner test の成績と妊娠率との相関を検討する為、Huhner test の成績を 3 群に分類した、そ

してこの診断基準を他の不妊検査例えば精液検査、頸管粘液検査、抗精子抗体検査等の成績と対比させて検討を行なつた。更にこの診断基準にもとづいて Huhner test の成績不良群に対して選択的に治療を行なつた結果、妊娠率の著明な改善をみたので報告する。

臨床成績

1. 対象

昭和 46 年 9 月より昭和 50 年 5 月までの 3 年 9 か月の間に大阪大学医学部産婦人科外来に挙児希望を主訴として来院した患者のうち、BBT により排卵が認められるにもかかわらず不妊である症例 304 名を対象とした。無排卵と思われる患者は対象より除外した。対象患者中、原発性不妊は 224 名、続発性不妊は 80 名であった。対象となつた原発性不妊患者の 88%、続発性不妊患者の 79% が 24~32 歳で占められていた。そのピークは両群ともに 7 歳であった (第 1 図)。これら対象患者のうち妊娠成功例は 54 名 (原発性不妊 37 名、続発性不妊 17 名) で年齢分布図に斜線で示した。不妊期間 (結婚後当科初診までの期

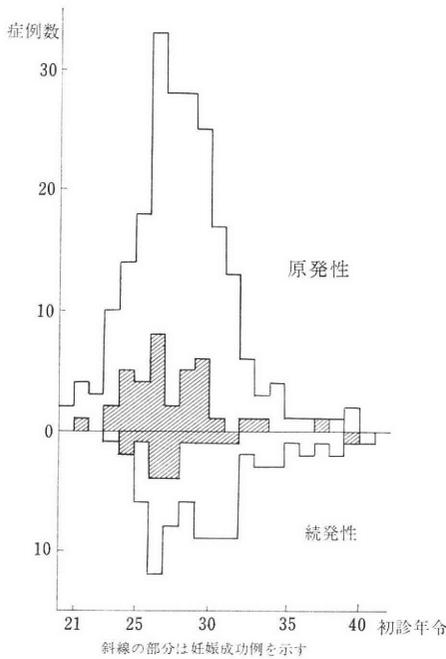


図 1 不妊患者の年齢分布

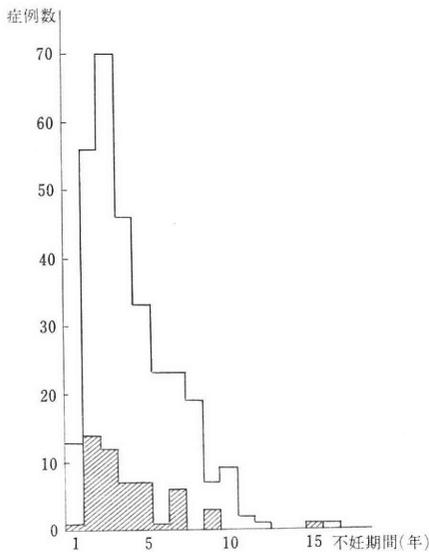


図 2 不妊期間

表 1 不妊患者の夫の精液検査

	精 子 数			計
	正 常 $\geq 4 \times 10^7/\text{ml}$	精子減少症 $< 4 \times 10^7/\text{ml}$	無精子症 (精子死滅症)	
原発性 不妊	106	72	20	198
続発性 不妊	36	18	0	54
計	142	90	20	252

3段階, I 精子数 $4 \times 10^7/\text{ml}$ 以上, II 精子数 $4 \times 10^7/\text{ml}$ 未満, III 無精子症(精子死滅症も含む)に分類した(第1表). 検査をうけた 252 名のうち, 精液検査で正常群(I群)は 142 名 56.3%であり, 精子減少症(II群)は 90 名 35.7%, 無精子症(III群)は 20 名 7.9%であった. 原発性不妊群は精子正常群 54%, 精子減少症群 36%, 無精子症群 10%と 3 群に分布したが, 続発性不妊群では正常群 67%, 減少症群 33%で, 無精子症群に属する症例はみられなかった.

精液検査の成績と妊娠率との関係を見ると精液検査正常群(I群)では 142 名中 31 名 21.8%が妊娠し, 精子減少症では 90 名中 14 名 13.5%が妊娠した. 無精子症では妊娠したものはない.

3. 卵管通過性検査

対象患者 304 名のうち 202 名に HSG (hysterosalpingography) を行なった(第2表). 202 名中 HSG の所見

表 2 不妊患者の HSG 所見

	子宮形状: 正常 かつ卵管両側ま たは片側通過	子宮形状: 異常 または卵管両側 閉塞
HSG 施行症例数	139	63
うち妊娠例	27(19.4%)	10(15.9%)

子宮形状異常は子宮筋腫, 弓状子宮, 子宮發育不全, 陰影欠損等を認めた症例

見で子宮の形状が正常でかつ少なくとも一方の卵管通過性を示した症例は 139 名 (68.8%) で, 残り 63 名 (31.2%) は子宮の形状に異常(子宮筋腫, 弓状子宮, 子宮發育不全, 陰影欠損等)を認めるか, あるいは卵管の両側閉塞を示した. HSG の所見と妊娠率をみると HSG 所見正常群では 19.4% (27/139) HSG で異常所見を認めた群では 15.9% (10/63) と大差は認められなかった. ただし HSG で両側卵管閉塞を示した 19 名中 3 名が妊娠したが, うち 2 名は Rubin test で通過性を認め残りの 1 名については繰り返し通気, 消炎療法を行なって妊娠したものである.

間で避妊期間は差し引く)は 3 年をピークとし過半数は 5 年未満であった(第2図). 不妊期間と妊娠率との関係を見ると不妊期間 3 年未満で 19%, 4~6 年で 16%, 7 年以上 16%であり不妊期間と妊娠率との関係は特にみられなかった.

2. 精液検査

夫の精液検査を行ないその結果を精子数に関して次の

4. Huhner test

Huhner test の実施法は、数日間の禁欲の後 BBT 上より予定排卵日に行なつた。頸管粘液採取の上 400 倍の倍率で 3 視野を検査し、1 視野中の全精子数及び運動精子数を算出した。その内最も良い値を採用した。性交後検査までの時間は頸管粘液中に精子が最も多く侵入している 2 時間から 4 時間の間に⁴⁾施行した。

このようにして得られた Huhner test の成績を我々は次の 3 群に分類した。I 群(正常群)は総精子数 20 匹以上でそのうち直進運動を示す精子数が 15 匹以上ある場合(振子様運動を示す精子はこの数の中へは含まない)。II 群(中間群)は総精子数 20 匹未満 6 匹以上でかつ直進

表 3 精液検査と Huhner test との関係

精液検査	Huhner test			計
	正常群 (I 群)	中間群 (II 群)	不良群 (III 群)	
精子数 4×10^7 /ml 以上	27	38	39	104
精子数 4×10^7 /ml 未満	1	7	25	33
計	28	45	64	137

Huhner test, I 群(正常群)は総精子数 20 匹以上でそのうち直進運動を示す精子数が 15 匹以上ある場合(振子様運動を示す精子はこの数の中へは含まない)、II 群(中間群)は総精子数 20 匹未満、6 匹以上でかつ直進運動を示す精子が 15 匹未満、3 匹以上ある場合、III 群(不良群)は総精子数 6 匹未満あるいは直進運動精子が 3 匹未満の場合とした。

運動を示す精子が 15 匹未満 3 匹以上ある場合、III 群(不良群)は総精子数 6 匹未満あるいは直進運動精子が 3 匹未満の場合とした。

Huhner test を行なつた 147 名についてみると I 群 33 名、II 群 48 名、III 群 66 名であつた。我々が対象とした不妊患者では I 群に属する Huhner test 正常例は 22.4% と少ないことがわかつた。Huhner test の成績には色々な因子が影響を与えると考えられるが、まず精液検査と比較できた 137 名について、Huhner test と精液検査との関係を検討した(第 3 表)。

Huhner test で I 群と分類された症例中精子減少症 (4×10^7 /ml 未満)は 3.6% (1/28) であり Huhner test II 群では 15.6% (7/45) が精子減少症であつた。ところが Huhner test III 群中精子減少症は 39.1% (25/64) と Huhner test の悪い群では精子減少症が増加した。そこで精子減少症と判定された症例での Huhner test の成績をみると Huhner test I 群 3.0% (1/33)、II 群 21.2% (7/33)、III 群 75.8% (25/33) であり、精子

減少症の 4 分の 3 以上が Huhner test 不良群に属することがわかつた。しかるに精液検査正常群 (104 名) における Huhner test の成績はそれぞれ 25.9% (27/104), 36.5% (38/104), 37.5% (39/104) と各群とも等しく分布した。精子減少症では Huhner test の成績が悪く、またたとえ精液の性状が正常であつても他の因子が Huhner test の成績に大きく関与していることが考えられた。

つぎに Huhner test の成績と頸管粘液との関係をみた(第 4 表)。ここでは精子数が 4×10^7 /ml 以上の精液検査正常群についてのみ検討した。頸管粘液の成績については透明で粘液量が 0.2ml 以上あり、かつ羊歯様結

表 4 頸管粘液と Huhner test との関係 (精子数 4×10^7 /ml 以上の場合)

頸管粘液	Huhner test			計
	正常群 (I 群)	中間群 (II 群)	不良群 (III 群)	
良好群: 透明, 0.2ml 以上 羊歯様結晶(+)	11	17	11	39
不良群: 良好群の条件を満たさないもの	15	20	28	63
計	26	37	39	102

Huhner test の正常群, 中間群, 不良群の分類は表 3 脚注に示した。

晶(+)を頸管粘液良好群とし、それらの条件を満たさないものを頸管粘液不良群とした。Huhner test I 群, II 群では頸管粘液不良を示した症例はそれぞれ 57.7% (15/26) 54.1% (20/37) であつたが、Huhner test III 群において頸管粘液不良を示した症例は 39 名中 28 名でその割合は 71.8% であつた。Huhner test の悪い場合頸管粘液不良を示す症例が増加したので頸管粘液不良群における Huhner test の成績をみてみると I 群 23.8% (15/63)、II 群 31.7% (20/63)、III 群 44.4% (28/63) であつた。このように頸管粘液不良群ではたとえ精液検査正常例でも半数近くが Huhner test 不良群 (III 群) に属した。頸管粘液良好群では Huhner test の成績は I 群 28.2% (11/39)、II 群 43.6% (17/39)、III 群 28.2% (11/39) と大差はみられなかつた。したがつて精液検査が正常で頸管粘液が良好な場合でも更に他の因子が Huhner test に影響を及ぼすことがわかつた。

これら不妊症患者に対して種々の治療を行ない、妊娠率との比較をした。まず治療として、精子減少症に対しては性細胞賦活と精子運動性を上昇させる目的で Vit. B₁₂ (カロマイド 6 錠/日)、Vit. E (ビタヨノン 6 錠/日) の投与を行なつた。卵管の通過障害を示す症例に対

表 5 Huhner test と妊娠との関係

Huhner test	対 象	妊娠症例	妊娠症例中 AIH によるもの
正常群 (I 群)	33	8	1
中間群 (II 群)	48	11	1
不良群 (III 群)	66	14	7
計	147	33	9

しては通気療法と消炎酵素剤（プロクターゼP 6錠/日）の投与を行なった。頸管粘液不良症例に対しては結合型エストロジェン製剤（ロメダ0.3mg/日）の投与を行ない頸管粘液の性状の改善をはかった。排卵が認められるが低温相の延長のみられる症例ではクロミフェン（クロミッド1T/日）で排卵誘発を行ない排卵を前進化する等の治療を行なった。Huhner test III 群に対しては以上のような治療と並行して AIH を積極的に行なった。そのように治療した結果 Huhner test 各群の妊娠率は I 群 33 名中 8 名 (24.2%)、II 群 48 名中 11 名 (22.9%)、III 群 66 名中 14 名 (21.2%) (第 5 表) で、それぞれの群での差は認められなかった。ところが妊娠した症例中 AIH 施行によつた症例の割合を各群で比較すると I 群 8 名中 1 名 (12.5%)、II 群 11 名中 1 名 (9.0%)、III 群 14 名中 7 名 (50%) となり III 群の妊娠症例中半数までが AIH によつて妊娠している。

5. 抗精子抗体

不妊患者の血清中には精子特異抗原に対する抗体いわゆる抗精子抗体が産生され、この抗体が頸管粘液中に分泌される為精子は頸管粘液中でその運動性を失う。抗精子抗体を調べるため磯島による精子不動化試験を行なった。即ち患者血清を非働化し、ヒト精子浮遊液と補体とを小試験管内で混合、incubate し incubate 後の運動精子率を算定した。対照として患者血清のかわりに未婚婦人血清を用いて同様に運動精子率を算定した。対照と比較して運動精子率が50%以下である場合を精子不動化試験陽性とした。

表 6 Huhner test と精子不動化試験

精子不動化試験	Huhner test		
	正常群 (I 群)	中間群 (II 群)	不良群 (III 群)
陰 性 例	3	8	8
陽 性 例	0	0	2

精子不動化試験：患者血清を補体の存在下で精子と反応させ、精子運動率を算定する。対照の50%以下の運動率を示す場合を精子不動化試験陽性とした。

我々は現在まで精子不動化試験を77名の症例について行なつたが、そのうち5名6.5%に陽性例を認めた。これら77名のうち Huhner test を同時に行なつている 21 症例について精子不動化試験と Huhner test との成績を比較した(第 6 表)。21 名中精子不動化試験陽性例は 2 名 (9.5%) で陰性例は残り 19 名であつた。陰性例 19 名についてみると Huhner test I 群に 3 名、II 群に 8 名、III 群に 8 名であつたが、精子不動化試験陽性の 2 例はいずれも Huhner test III 群 (不良群) にみられた。この 2 例についてみると 1 例は精液検査正常、頸管粘液検査良好で他の例は精液検査正常、頸管粘液検査不良であつた。そのうち治療を継続して行なえた後者の 1 例は AIH によつて妊娠に成功した。このように精液検査が正常な場合または頸管粘液が良好な場合でも Huhner test III 群に属する症例の中には抗精子抗体の影響によるものが含まれている。

考 察

Huhner test は不妊患者における両性の適合因子を検討する方法である。ところが Huhner test の判定基準に関して明確なものはなく、頸管粘液中に運動精子が 1 匹あれば陽性とするものから、20 匹以上を正常とするものまで様々である。

従来とられてきた Tyler³⁾ の Huhner test の判定基準 (400 倍 1 視野での総精子数が 20 匹以上でそのうち 15 匹以上が直進運動を示すものを正常とする) を我々の対象患者に適用した場合、陽性患者はわずか 22.4% であり、残り 77.6% は陰性患者であつた。従つて Tyler の基準では不妊患者の実に 3/4 が Huhner test 陰性群に入ることになる。

我々は不妊患者の大半を占める Huhner test 陰性例においても Huhner test の診断的意義を更に向上させる目的で Huhner test の成績を 3 群に分類した。即ち I 群は総精子数 20 匹以上でそのうち直進運動を示す精子数が 15 匹以上ある場合、II 群は総精子数 20 匹未満、6 匹以上でかつ直進運動を示す精子が 15 匹未満、3 匹以上ある場合、III 群は総精子数 6 匹未満あるいは直進運動精子が 3 匹未満の場合とした。このように分類した結果、I 群 22.4%、II 群 32.7%、III 群 44.9% であつた。

精液検査と Huhner test の関係をみると精子減少症では Huhner test 各群に占める割合は圧倒的に III 群に多く、順次 II 群、I 群と減少した。ところが精液検査正常群が必ずしも Huhner test 正常群 (I 群) に偏するという結果はみられず、I、II、III 群に均等に分布していた。従つて精液検査正常の場合には Huhner test の成績は精液以外の他の因子の影響をうけるものと考えら

れる。

我々はすでに頸管粘液不良の場合殆ど例において Huhner test 陰性になることを発表した⁵⁾。今回精液検査の正常例に限って Huhner test と頸管粘液の関係をみたところ、頸管粘液不良群では Huhner test III 群が半数近くを占め、各群別にみると III 群、II 群、I 群と順次減少していた。一方頸管粘液良好の場合、I、II 群が多いという結果は得られなかった。即ち Huhner test の成績には精液の性状、頸管粘液の性状以外の因子の関与のあることがわかった。

そのような因子の一つに抗精子抗体の関与が考えられる。そこで我々は不妊患者に精子不動化試験を行ない、抗精子抗体を検索したところ 6.5% (5/77) に抗精子抗体陽性患者を発見した。これら症例中 Huhner test を同時に行なっている症例について Huhner test の成績と精子不動化試験の成績とを比較してみたところ精子不動化試験陽性例 2 名は共に Huhner test III 群に属した。このことより頸管粘液、精液検査が良好であつても、抗精子抗体により Huhner test が陰性になる場合が考えられる。

磯島⁶⁾らも精子不動化試験で不妊患者全体の 6.9% (14/204) に抗精子抗体の存在を認めており、不妊症診断に於て精子不動化試験は重要な意味をもつものと考えられる。

さて Huhner test の成績と妊娠率とをみた場合、Huhner test 各群の妊娠率は Huhner test の成績の悪い III 群でも適切な治療すなわち AIH を実施することによつて Huhner test 良好群と変わらない結果が得られた。Huhner test の成績と妊娠率をみた報告は意外に少ない。今までの報告は頸管粘液の性状が良好で 1 視野中 20 匹以上の精子を認める場合に妊娠率が向上したとするもの⁷⁾や、頸管粘液の性状及び 1 視野中の運動精子数と妊娠率の間には関連は認められないとするもの⁸⁾などがあるがその結論に一致をみていない。

我々は Huhner test I、II、III 群でかわらない妊娠率をみたが、各群の妊娠例における AIH の割合をみると III 群では 50% が AIH をうけていた。Huhner test 不良群といえども積極的な治療を行なうことにより Huhner test 良好群とかわらない妊娠率が得られることを示唆している。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を頂いた倉智敬一教授に謝意を表します。

なお、本研究の一部は文部省科学研究費、厚生省研究費(胎児環境研究班)により行われた。

文 献

- 1) Grant, A.: Cervical Hostility, Fertil Steril. 9: 321, 1958.
- 2) 木下 佐: 不妊症検査としての頸管粘液検査, 産婦人科学大系, 9: 131, 1970.
- 3) Tyler, E. T.: Sterility office management of the infertile couple, ed by Tyler, E. T.: p. 101, New York, Mc-Craw-Hill Book Co., 1961.
- 4) Tredway, D. R., Settlege, D. F., Nakamura, R. M., Motoshima, M., Umezaki, C. U. and Mishell, Jr. D. R.: Significance of timing for the postcoital evaluation of cervical mucus, Amer. J. Obstet, Gynec. 121: 387, 1975.
- 5) 小川 誠, 佐治文隆, 若尾豊一, 根来孝夫, 都竹理, 蛭名勝忠: 不妊婦人の頸管因子, 日不妊誌, 19: 23, 1974.
- 6) 磯島晋三: 妊孕現象に関する免疫学的研究, 第 23 回日産婦総会宿題報告要旨, 1971.
- 7) Jette, N. T. and Glass, R. H.: Prognostic value of the postcoital test, Fertil Steril. 23: 29, 1972.
- 8) Giner, J., Merino, G., Luna, J. and Aznar, R.: Evaluation of the Sims-Huhner postcoital test in fertile couples, Fertil Steril. 25: 145, 1974.

Diagnostic Significance of Huhner Test

Toyokazu Wakao, Fumitaka Saji,
Takao Negoro and
Karo Nakamuro

Department of Obstetrics & Gynecology,
School of Medicine, Osaka University
(Director: Prof. Keiichi Kurachi)

Clinical evaluation of Huhner test was carried out by classifying the result into three groups: I good group: twenty or more spermatozoa are found per high power field and out of which fifteen or more spermatozoa are actively motile, II intermediate group: six to nineteen spermatozoa, out of which three to fourteen actively motile, III poor group: five or less spermatozoa or two or less motile spermatozoa. Twenty two per cent couples showed good result in Huhner test, 33% intermediate result and remaining 45% poor result.

Comparison of the results of Huhner test with that of sperm test, cervical mucus test, antisperm antibody test revealed that

1) The patients with oligozoospermia mostly showed poor result in Huhner test and occasionally belonged to intermediate group, while the

patients with normal sperm test fell equally into 3 groups of Huhner test.

2) Nearly 50 per cent of patients with poor cervical mucus showed poor result in Huhner test despite they showed normal sperm test.

3) Antisperm antibody is one of the causes

of poor Huhner test even in the patients with normal sperm test and normal cervical mucus.

4) Application of AIH to poor Huhner test group achieved 21% of pregnant rate, which is comparable to that of good Huhner test group.

子宮内膜症を有する不妊婦人の保存手 術療法について

Conservative surgical treatment of endometriosis with infertility

名古屋大学医学部産婦人科学教室

成田 収 有井吉太郎 東出香二
Osamu NARITA Yoshitaro ARII Kohji HIGASHIDE
後藤 濬二 下須賀洋一
Shunji GOTO Youichi SHIMOSUKA

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

最近10年間に、不妊を主訴として、当院を訪れた子宮内膜症患者に、挙児を目的として、保存手術療法を行いさらに症例に応じて、黄体ホルモン療法を試み、手術後の妊娠率と、その妊娠率に影響を及ぼす要因について検討を加え、次の結論を得た。

1. 保存手術後の妊娠率は、49例中25例、51%であった。
2. 保存手術前の不妊期間が、2年未満の患者の妊娠率は、83.3%、2年以上の患者の妊娠率は、40.5%であった。
3. Beecham の分類に準じた我々の分類による子宮内膜症の進行度と妊娠率との関係は、ダグラス窩の閉鎖していないⅡ度では、62.5%、更に進行しダグラス窩の閉鎖したⅢ度では、43.5%であった。
4. 保存手術を施行した49例中44例に卵巣子宮内膜症が認められ、卵巣子宮内膜症が妊孕力に重要な影響を与えていることが示唆された。
5. 保存手術と術後ホルモン療法の併用例42例中21例に妊娠の成立をみたが、そのうち10例は治療終了後6カ月以内であった。一方、保存手術単独療法例7例中4例に妊娠の成立をみ、うち3例は6カ月以内であった。

以上の結果から、子宮内膜症を有する不妊患者においては、出来るだけ早期に保存的手術を行うことが妊娠の成立に有効であると考えられる。

緒 言

子宮内膜症が、不妊の原因として、最近次第に注目されつつある。

本症の妊孕力低下を来す機構については種々の説がある。骨盤子宮内膜症では、その殆んどが卵管の通過性を保有することから、本症特有の癒着の形成による卵管の運動性障害が重視されている。

子宮内膜症を有する不妊婦人の妊孕力を回復する治療法として、従来より、ホルモン療法及び保存手術療法が行われてきた。

今回、我々は、妊娠成立を目的とした子宮内膜症の治療という立場から、不妊患者に保存手術を行なった場合の術後の妊娠率とその妊娠率に影響を及ぼす要因について、検討を加えたので、ここに報告する。

研究対象および方法

最近10年間に、不妊を主訴として、名古屋大学産婦人科を受診し、子宮内膜症がうたがわれ、手術を受け、組織学的に骨盤子宮内膜症と診断された患者は、80名であり、うち63名が保存手術を受けている。

今回の研究対象は、この63名のうち、1年以上の不妊

期間をもち、男性因子その他の明らかな不妊因子がなく、少くとも術後1年以上の経過を追求できた49例を対象とした。

これらの症例の大部分に対して、術前及び術後に、主として黄体ホルモンによる偽妊娠療法が行なわれている。

研究成績

1) 手術方法と年齢

Figure 1 に子宮内膜症がうたがわれ、手術を行い、組織学的に骨盤子宮内膜症を確認した80名の不妊婦人の手術時年齢と手術方法（根治手術及び保存手術）との関係を示した。

保存手術は30歳以下に多く、30歳を過ぎると根治手術の割合が増加した。

更に Table 1 に、今回の研究の対象となつた、49名の保存手術を受けた子宮内膜症患者の年齢分布を示した。

Table 1 age at time of operation

age	subsequently conceived	not conceived	total
20~24	5	4	9
25~29	11	14	25
30~34	8	6	14
35~	1	0	1
total	25	24	49

保存手術は、25歳から29歳までの間に受ける割合が最も多く、約半数を占めていた。24歳以下及び35歳以上では、9名及び1名と少なかった。

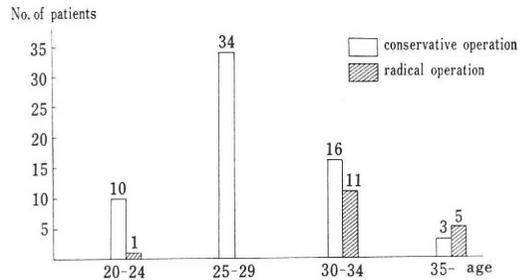
24歳以下では、ホルモン投与を中心とした偽妊娠療法が、35歳以上では、根治手術が適応されたためと思われる。

2) 既往妊娠分娩歴

既往妊娠分娩歴は、Table 2 に示す如くで、49例中41例、83.7%が原発不妊患者であった。経妊婦人は8

Table 2 gravidum and parity of patients

gravidum-para	subsequently conceived	not conceived	total
0~0	20	21	41
1~0	2	3	5
2~0	2	0	2
1~1	1	0	1
total	25	24	49



Conservative operation rate of pelvic endometriosis with infertility is 63/80 (78.75%)

Figure 1 Age at time of operation

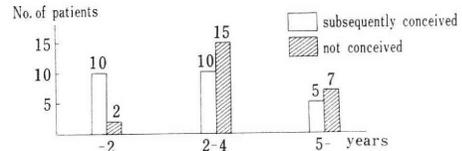


Figure 2 Duration of infertility to operation

名、経産婦は1名のみであり、保存手術の対象となつた子宮内膜症患者には、原発不妊が極めて多い。

3) 術前不妊期間と妊娠率

結婚後、保存手術を受けるまでの期間と手術後の妊娠率との関連をみたのが、Figure 2である。注目されるのは、不妊期間が2年未満の症例12例中10例、83.3%に妊娠成立が認められたことである。これに対し、不妊期間が2年以上のもの術後の妊娠率は、37例中15例、40.5%と前者に比較して低率を示した。

4) 子宮内膜症の進行度と妊娠率

子宮内膜症の進行度を、客観的に表現する方法として、従来より種々の分類が試みられている。

我が教室では、従来より、Table 3 に示すような Beecham の分類¹⁾に準じて、子宮内膜症の進行度分類を行なつて来た。

Table 3 子宮内膜症の進行度分類

grade I	小骨盤内臓器漿膜面に内膜症の小斑点のみ存するもの
II	硬結性病変、軽度癒着あるも Douglas 窩が閉鎖していないもの
III	II度病変増強し、Douglas 窩閉鎖せるもの
IV	Frozen pelvis.

この基準に従つて、症例を分類してみると Table 4 の如くで、I度2例、II度24例、III度23例であった。

進行度別に、治療後の妊娠率をみると、II度の症例では、24例中15例、62.5%であり、かなり癒着の高度なIII

Table 4 classification of the stage

grade	subsequently conceived	not conceived	total	pregnancy rate (%)
I	0	2	2	0
II	15	9	24	62.5
III	10	13	23	43.5
IV	0	0	0	0
total	25	24	49	51.0

度の症例においては、23例中10例、43.5%と比較的良好な妊娠率が得られた。

この事実は、患者が挙児を希望する場合、子宮内膜症がある程度進行しているものでも保存手術の適応となし得ることを示唆するものと考えられる。

5) 子宮内膜症の病変部位

子宮内膜症患者の開腹時に、手術野に認められた子宮内膜症の局在部位を、特に不妊と関係が深いと思われる卵管及びその周辺を中心に Table 5 に示した。

Table 5 localization of the lesion

localization		subsequently conceived	not conceived	total
ovary	uni-	15	10	25
	bi-	9	10	19
douglas cavity		10	13	24
tube		1	2	3

一側あるいは両側卵巣に子宮内膜症が認められたものが最も多く、49例中44例であり、次いで Douglas 氏窩であった。即ち、卵巣子宮内膜症は、不妊婦人の妊孕力に重要な影響を与えていると考えられる。

6) 保存手術の術式

Table 6 に49例に対して行われた保存手術の術式を示した。

Table 6 method of conservative operation

method	subsequently conceived	not conceived	total
unilateral partial resection	6	6	12
unilateral adnectomy	5	2	7
bilateral partial resection	4	8	12
unilateral partial resection and adnectomy	9	7	16
tubal plasty	2	4	6
uterine suspension	6	15	21

癒着剥離及び子宮漿膜面などの異所性内膜組織の切除は、殆んどの症例に行なっているのに、表には記載していない。大部分の症例において、卵巣の部分切除術、或いは片側の付属器摘除術が行なわれており、また子宮の位置矯正術も併せ行われている。

施行された術式と妊娠率との間には、一定の相関性は見い出せなかった。

7) 妊娠成功例における保存手術から術後の初回妊娠までの期間

Table 7 は、術後妊娠成立した25例について、保存手術から妊娠成立(最終月経)までの期間を示したものである。

Table 7 length of time from operation to first pregnancy

year	exposed	pregnancy	per cent
~ 1	49	11	22.4
1 ~ 2	38	6	15.8
2 ~ 3	32	5	15.6
3 ~	27	3	11.1
mean		17.9months	

25例中22例が術後3年以内に妊娠し、その平均は約1年6カ月であった。

保存手術から初回妊娠までの期間が、比較的長いのは、49例中42例に、術後のホルモン投与が行なわれていたためと考えられる。

そこで、術後ホルモン投与終了時から、初回妊娠までの期間を Figure 3 に示した。

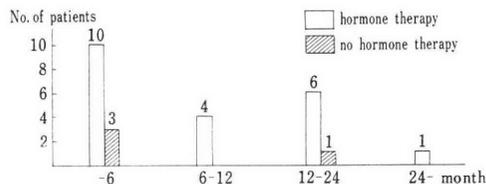


Figure 3 Length of time from finish of therapy to first pregnancy

術後ホルモン投与を受けた症例は、42例であり、そのうち21例が妊娠成立に成功している。

術後ホルモン投与を受けていない症例は、7例あり、うち4例が術後妊娠をみている。

この7例は、いずれも手術時に、子宮内膜症の病巣を殆んど完全に除去し得たと考えられた、いわゆる進行度の低い症例であったので、術後のホルモン療法を行なわなかった。

この4例中3例は、保存手術後、6カ月以内に妊娠成

立をみている。

術後ホルモン投与が行なわれ妊娠した症例は21例であり、うち10例、47.6%が6カ月以内に妊娠している。従って妊娠成功例全体について検討してみると、25例中13例、52.0%が、治療後6カ月以内に妊娠している。即ち、保存手術と術後ホルモン療法の併用療法による妊娠の成立は、21例中10例と、約半数が6カ月以内であり、大部分が2年以内に分布することが明らかとなった。

考 按

子宮内膜症を有する不妊婦人の治療法として、従来より、ホルモン療法及び保存手術療法が行なわれてきた。

1958年、Kistner²⁾が、子宮内膜症に対する黄体ホルモン療法の有効性を提唱して以来、不妊婦人に対しても広く用いられ、教室でも度々報告して来た。

教室の有井³⁾は、子宮内膜症を有する46例の不妊婦人に、黄体ホルモン療法を行ない、7例、15.2%に妊娠の成立をみたと報告している。この成績は、妊娠を最終目標とした、不妊婦人の治療法としては、決して満足すべきものとは言い難い。

従って、ホルモン療法をある期間行なつても、妊娠成立に至らない場合、或いは、ある程度以上に病勢が進行している症例、特に卵巣子宮内膜症が著明に触知される症例に対しては、最初から、手術を適用しなければならぬ場合がある。

手術療法には、妊孕力を保存する保存手術、及び根治手術がある。そのいずれを選ぶかは、患者の年齢と病勢の進行度、既往妊娠分娩歴などに応じて決定される。

我々は、80例の挙児希望患者に、妊娠を目的として手術を行なつたが、17例、21.3%は年齢、病勢の進行度を考慮し、根治手術を行なわざるを得なかつた。

保存手術を行なつた症例は、63例であり、うち1年以上の経過観察期間を有する49例の症例のうち、25例、51%に妊娠成立を認めた。保存手術後の妊娠率は、患者の年齢、病勢の進行度、手術時期などに左右され、報告者によつても大きな違いがある。

Spanger⁴⁾らは、85人の不妊患者に保存手術を施行し、51%に妊娠成立をみたと報告し、Rogers及びJacobs⁵⁾は、120人中63%、Green⁶⁾は41%、Grant⁷⁾は40%に、妊娠成立をみたと報告している。最も高い妊娠率を報告したのは、Norwood⁸⁾の94.4%、次いで Ranney⁹⁾の87.5%があり、一方、Andrews及びLarson¹⁰⁾らは、19%と低い妊娠率を報告している。

しかし、これらは特殊な報告に属し、一般に、子宮内膜症を有する不妊婦人に、保存手術を行なつた場合、40~50%の妊娠率が期待されると考えるのが、妥当と思

われる。

治療後の妊娠成立は、通常、手術後2年以内に成立することが多く、3~4年目に妊娠するのは、極めて少数にすぎないという。

我が教室における妊娠成立例では、約半数が6カ月以内で、大部分は2年以内に妊娠するとの成績を得た。

Green (1966)⁶⁾、Ranney (1970)¹¹⁾、Rogers (1958)⁵⁾からも同様の成績を報告している。

不妊期間と手術後の妊娠成功率との関係については、術前の不妊期間が2年未満と、結婚後比較的早期に、手術を行なつた症例では、良好な妊娠率が得られた。

Acosta¹²⁾らも、107人の患者のうち、45.7%に妊娠の成立をみたが、不妊期間が、1~3年のものでは、57%に妊娠成立をみたのに対し、4~5年のものでは、わずかに25%であつたという。

また、子宮内膜症の進行度と妊娠率との間には、明らかな相関があり、mild degree では75%、moderate degree では、50%であるのに対し、severe degree では、わずか33%であつたという。

我が教室でも、Beecham の分類による進行度Ⅱ度例では、24例中15例、62.5%と、過半数に妊娠成立を認めたのに対し、Ⅲ度の症例では、23例中10例、43.5%と、前者に比し低下を示した。しかし、かなり病勢が進行しているⅢ度の症例においても、43.5%に妊娠が成立したということは、患者が挙児を切望する場合には、保存手術の適応を考慮する必要がある。特に、双合診上、明らかに触知するような卵巣子宮内膜症が存在する場合には、ホルモン療法単独の効果は、あまり期待できないので、早期に手術療法に切り換えるべきだと考える。

ホルモン療法の意義については、術前にホルモン投与することは、癒着部分の軟化をきたし、術中の癒着剝離を容易にするなどの利点を有する。

保存手術を施行しても、子宮内膜組織の完全摘出は、殆んどどの症例において不可能であり、再発を防ぐためには、術後のホルモン投与が必要との意見も多い。保存手術を行なつた症例のうち、術後のホルモン療法が施行された症例は42例あり、また、経過観察中に、再発のために再開腹を必要とした症例は、2例、4.8%であつた。

しかし、妊娠成功例の殆んどが、治療終了後、6カ月以内に認められることから、保存手術後のホルモン療法を長期間行なうことの可否については、今後、症例をかさね検討する必要がある。

文 献

- 1) Beecham CT: Classification of endometriosis, Obstet & Gynec 28: 437, 1966.

- 2) Kistner RW: The use of newer progestins in the treatment of endometriosis, *Am J Obstet Gynec* 75: 264, 1958.
- 3) 有井吉太郎: 子宮内膜症を有する不妊患者の治療—保存手術とホルモン投与の併用療法について, *日産婦誌*, 28: 719, 1976.
- 4) Spangler DB, Jones GS, Jones JW: Infertility due to endometriosis: Conservative surgical therapy, *Am J Obstet Gynec* 109: 850, 1971.
- 5) Rogers SF, Jacobs WM: Infertility and endometriosis: Conservative surgical treatment, *Fertil Steril* 19: 529, 1968.
- 6) Green TH: Conservative surgical treatment of endometriosis, *Clin Obstet Gynec* 9: 293, 1966.
- 7) Grant, A.: Infertility surgery of the oviduct, *Fertil Steril* 22: 496, 1971.
- 8) Norwood GE: Sterility and fertility in women with pelvic endometriosis, *Clin Obstet Gynec* 3: 456, 1960.
- 9) Ranny, B.: The management of endometriosis. In *Controversy in Obstetrics and Gynecology*, Second Edition, edited by DE Reid, CD Christian, Philadelphia, WB Saunders Co. 1974, p. 637.
- 10) Andrews WC, Larson, D.: Endometriosis: Treatment with hormonal pseudopregnancy and/or operation, *Am J Obstet Gynec* 118: 643, 1974.
- 11) Ranney, B.: Endometriosis I. Conservative operations, *Am J Obstet Gynec* 107: 743, 1970.
- 12) Acosta AA, Buttram VC Jr, Besch PK, Malinak RI, Franklin RR, Vanderheyden JD: A proposed classification of endometriosis, *Obstet & Gynec* 42: 19, 1973.

Conservative surgical treatment of endometriosis with infertility

**Osamu Narita, Yoshitaro Ariei,
Kohji Higashide, Shunji Goto
and Youichi Shimosuka**

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

With the primary aim of examining the fertility rate after conservative surgery and to investigate the various factors which influence the fertility rate of women with endometriosis and infertility, these women who wanted to have a family were treated by conservative surgery or with progestational drugs in the last 10 years. From the results of the study the following conclusions were drawn.

1. Of the 49 women treated 25 (51%) became pregnant after conservative surgery.

2. The fertility rate of the women who were sterile for less than 2 years prior to conservative surgery was 83.3%, and of the women who were sterile for more than 2 years it was 40.5%.

3. Based on our classification, a modification of Beecham's, the fertility rate of women with Grade II endometriosis with an unclosed cul-de-sac was 62.5%, and with women with Grade III endometriosis with a closed cul-de-sac it was 43.5%.

4. Ovarian endometriosis was found in 44 of the 49 women who were treated by conservative surgery, indicating a possible role of the ovarian endometriosis on fertility.

5. Of the 42 women who were treated by conservative surgery and progestational drugs after surgery, 21 women achieved pregnancy, 10 of them within 6 months. On the other hand, of the 7 women treated by conservative surgery only, 4 achieved pregnancy, 3 of them within 6 months after treatment.

From the results of the study it would appear that in the case of sterility due to endometriosis, conservative surgery performed in the early stage of the disease would be effective in the achievement of pregnancy.

排卵障害症婦人の下垂体性 gonadotropin 分泌に関する研究

Studies on Secretion of Pituitary Gonadotropin in Patients with Ovulatory Defect

I. 正常性周期婦人の gonadotropin 分泌 Secretion of Gonadotropin in Normal Ovulatory Women

九州大学医学部産婦人科学教室 (主任: 滝一郎教授)

中 村 正 彦
Masahiko NAKAMURA

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Kyushu University
(Director: Prof. Ichiro Taki)

正常性周期婦人を対象として下垂体性 gonadotropin の分泌動態を検討した。

I. 可及的連日に測定して得られた mid cycle peak の値は, LH: 95.1 ± 42.6 mIU/ml ($M \pm SD$), FSH: 21.5 ± 8.2 mIU/ml であつた。

II. 卵胞期, 排卵期, 黄体期の LH の平均値は 13.3 ± 7.0 mIU/ml ($M \pm SD$), 67.4 ± 57.7 mIU/ml, 12.9 ± 6.4 mIU/ml, FSH の平均値は 11.8 ± 6.6 mIU/ml, 19.6 ± 10.9 mIU/ml, 10.3 ± 5.7 mIU/ml であつた。

III. LH-RH $100 \mu\text{g}$ の負荷による下垂体の反応性を比較検討した結果, 反応は LH, FSH のいずれについても, 排卵前期に最高となり, 排卵期から遠ざかるにつれて低下を示した。

IV. 各症例ごとに同一性周期の黄体前, 中, 後期に負荷試験を行ない, LH については, 排卵期から遠ざかるにつれて反応が低下するのが確認された。

V. 負荷試験の種々の指標を比較検討し, 反応性の定量的な判定指標としては, 面積指数が最も妥当であるとの結論を得た。

緒 言

性腺機能系の成立, 調節機構に関しては従来多くの知見が得られているが, まだ十分に解明されていない現状である。この調節機構の乱れから生ずる排卵障害症は, 不妊症を取扱う施設ではしばしば遭遇する症候群であるが, その病態はきわめて多岐にわたり, 数多くの因子が複雑にからみあい, なお未知の因子も関与していることが予測される。排卵障害症の病態の研究は, 単に疾患の診断や治療面のみでなく, 性腺機能系の調節機構を解明する上での多くの有用な知見をもたらすと考えられるので, 著者は今回, 排卵障害症婦人の gonadotropin 分泌について, 基礎分泌および負荷試験時の血中レベルの変

動パターンを検討した。本論文では, この種の研究の基礎となる正常性周期婦人についての成績を報告する。

研究方法

1. 対象

対象は九州大学医学部附属病院産婦人科, 不妊・内分泌外来を受診した23歳から34歳までの婦人で, 3カ月以上にわたって記録された基礎体温表 (BBT), 月経歴, 治療経過などから, 規則的に排卵していると判定された正常性周期婦人を選んだ。

2. 方法

(1) 正常性周期婦人の gonadotropin 基礎分泌
正常性周期婦人31例について, BBT を正確に記録さ

せた上で、午前9時から11時の間に、肘静脈より採血し、ただちに氷室に保存後、可及的すみやかに血清を分離し、測定に供するまで、 -20°C で凍結保存した。

(2) LH-RH 負荷試験

正常性周期婦人42例に対し、朝9時から10時30分までの間に負荷前の採血をした後、合成 LH-RH (DB-2521, 第一製薬) $100\mu\text{g}$ を生理的食塩水10ml に溶解して、約1分間かけて静注し、静注終了後15分、30分、60分、120分に経時的に採血し、血清を前述の方法で保存した。

負荷試験施行時期は、BBT を参考として次の6期に分けて検討を加えた。すなわち、BBT からみた排卵日(低温最終日)を0日として、①卵胞初期:月経開始後-10日まで、②卵胞中期:-9日から-4日まで、③排卵前期:-3日から0日まで、④黄体初期:+1日から+4日まで、⑤黄体中期:+5日から+9日まで、⑥黄体後期:+10日から次回月経開始前日まで、の6期である。

(3) ホルモン測定

血中 LH および FSH の測定は、さきに楠田他¹⁾(1973) が報告した方法を採用した。すなわち、第一ラジオアイソトープ研究所のヒト LH およびヒト FSH radioimmunoassay kit を用い、二抗体法によつた標準品は 2nd IRP-HMG を用い、測定値は mIU/ml で表現し、すべての測定は duplicate で行ない、同一人の検体はすべて同一の測定系で処理した。

結 果

1. 排卵日を中心とした血中 LH, FSH の動態

正常性周期婦人31例について、排卵期を中心にして可及的連日の採血を行ない、その LH, FSH 値を測定し、LH ピークを0日として ± 5 日にわたり、その平均値 \pm 標準偏差(mean \pm SD)を算出して図1に示した。LH ピークは $95.1\pm 42.6\text{mIU/ml}$ 、FSH ピークは $21.5\pm 8.2\text{mIU/ml}$ で、 ± 1 日を含む3日間が他に比べてLH, FSH ともに高値を示した。

2. 正常性周期婦人の血中 LH, FSH 値

さらに多数例の LH, FSH 値を知るため、BBT を記録した正常性周期婦人より任意に採血を行ない、BBT 上で排卵日 ± 1 日を排卵期、-2日以前を卵胞期、+2日以後を黄体期として、各々の平均値、標準偏差を表1に示した。血中 LH は卵胞期に $13.3\pm 7.0\text{mIU/ml}$ 、排卵期に $67.4\pm 57.7\text{mIU/ml}$ 、黄体期に $12.9\pm 6.4\text{mIU/ml}$ の値を示した。血中 FSH は卵胞期に $11.8\pm 6.6\text{mIU/ml}$ 、排卵期に $19.6\pm 10.9\text{mIU/ml}$ 、黄体期に $10.3\pm 5.7\text{mIU/ml}$ の値を示した。

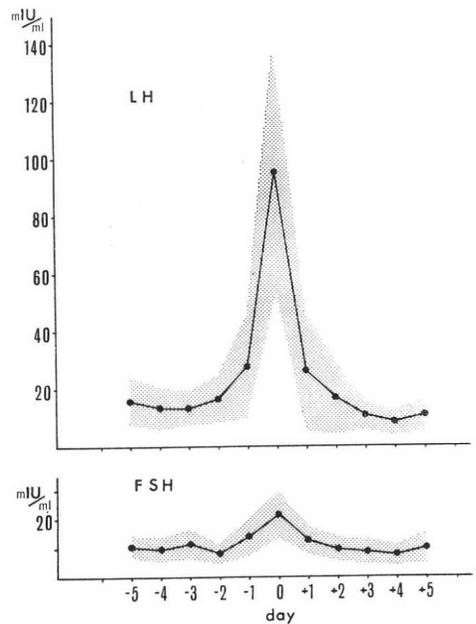


図1 排卵前後の血中 LH, FSH 値 (31例の平均値および標準偏差)

表1 月経周期各期の血中 LH, FSH 値

	Mean \pm S.D.	Range	N
LH			
	mIU/ml		
Follicular phase	13.3 \pm 7.0	(2.1~ 33.0)	78
Ovulatory phase	67.4 \pm 57.7	(12.3~285.0)	63
Luteal phase	12.9 \pm 6.4	(2.1~ 31.0)	109
FSH			
	mIU/ml		
Follicular phase	11.8 \pm 6.6	(2.2~ 29.0)	69
Ovulatory phase	19.6 \pm 10.9	(4.3~ 56.0)	56
Luteal phase	10.3 \pm 5.7	(2.3~ 36.0)	107

3. 下垂体 gonadotropin 放出予備能

正常性周期婦人42例について、LH-RH 投与後の gonadotropin 増加を、最高値、最高値の前値に対する比率、最高値と前値の差、面積指数(楠田他²⁾, 1974)を各々算出し、それぞれの平均および範囲を月経周期の各期に分けて表2に示した。面積指数は LH-RH に対する反応曲線を描き、前値より基線に平行な直線を引いて、その直線と反応曲線で囲まれた部分の面積を120分後までについて算出し、 $1\text{mIU}\times 15\text{min.}$ を1単位として表現した。上述の各指標を用いて検討すると LH, FSH ともに反応性は月経周期の各期により有意の差異を示した。すなわち、LH, FSH の両者とも、排卵前期に反応性が強く、排卵日から遠ざかるにつれて反応性が

表 2 月経周期各期の下垂体性 gonadotropin 放出予備能

Phase of Menstrual cycle	Peak value*	Maximum-fold	Max. Net Increase*	Area**
LH				
early follicular	79.8(55~113)	3.9(2.6~ 4.9)	59.5(33~ 90)	305.5(183~ 496)
mid follicular	85.9(27~161)	8.3(3.0~17.6)	73.8(22~146)	353.5(191~ 748)
preovulatory	193.3(120~328)	7.4(4.1~15.6)	167.4(100~298)	993.4(465~1644)
early luteal	130.8(57~220)	7.8(2.5~14.4)	109.3(46~205)	585.4(249~ 859)
mid luteal	102.0(50~290)	6.2(2.9~10.0)	91.2(37~288)	417.9(164~ 780)
late luteal	54.1(19~100)	8.7(4.2~20.0)	48.5(15~ 95)	281.1(68~ 595)
FSH				
early follicular	26.8(24~ 33)	1.7(1.4~ 2.0)	10.0(9~ 12)	40.3(6~ 70)
mid follicular	20.6(7~ 42)	2.3(1.5~ 4.9)	11.4(3~ 33)	48.5(9~ 143)
preovulatory	25.8(15~ 40)	3.7(1.4~ 5.2)	16.9(8~ 28)	76.9(35~ 120)
early luteal	18.8(8~ 31)	2.1(1.5~ 2.5)	10.2(3~ 18)	50.0(16~ 83)
mid luteal	15.0(7~ 20)	2.9(1.5~ 7.4)	8.5(3~ 17)	37.3(19~ 73)
late luteal	10.9(9~ 14)	2.9(1.8~ 4.6)	6.6(4~ 10)	33.6(21~ 56)

* mIU/ml ** Unit=mIU・15min.

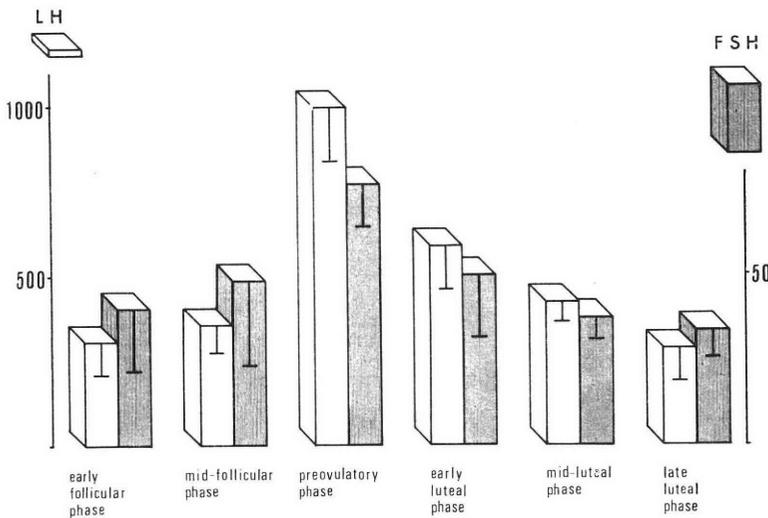


図 2 月経周期各期の下垂体 gonadotropin 放出予備能
《面積指数 (1 単位 = 1 mIU × 15min) の平均値および標準誤差》

低下する傾向が認められ、黄体後期、卵胞初期に最も弱い反応を示した。このことは面積指数について平均と標準誤差を示した図2に最も明らかに表現されている。

月経周期の各期における下垂体の反応性の差を、同一個体について検討する目的で、6例の正常性周期婦人を対象に、各々、同一周期中の黄体初期、黄体中期、黄体後期と連続的に LH-RH 負荷試験を試みた。なお卵胞期については、LH-RH 負荷により放出される LH が排卵機構面に及ぼす影響が大であることを考慮して施行しなかった。各症例について各時期における反応曲線を図3に示す。ほとんどの症例において LH (実線) の反

応性は、黄体初期、中期、後期の順で低下を示したが、FSH (点線) の反応にはこの傾向を全く認めない。これらの反応曲線から面積指数を算出した6例の平均、標準誤差を図4に示す。

考 案

女性の性機能の特徴づける排卵は、間脳、下垂体、卵巢系の機能環の総合的な表現であり、これらの機能環が正常に働く時にのみ認められる。換言すれば、排卵障害症はこれらの機能環のいずれの部位の異常でも起こりうるし、大脳皮質、自律神経系、他の内分泌系がこれらの

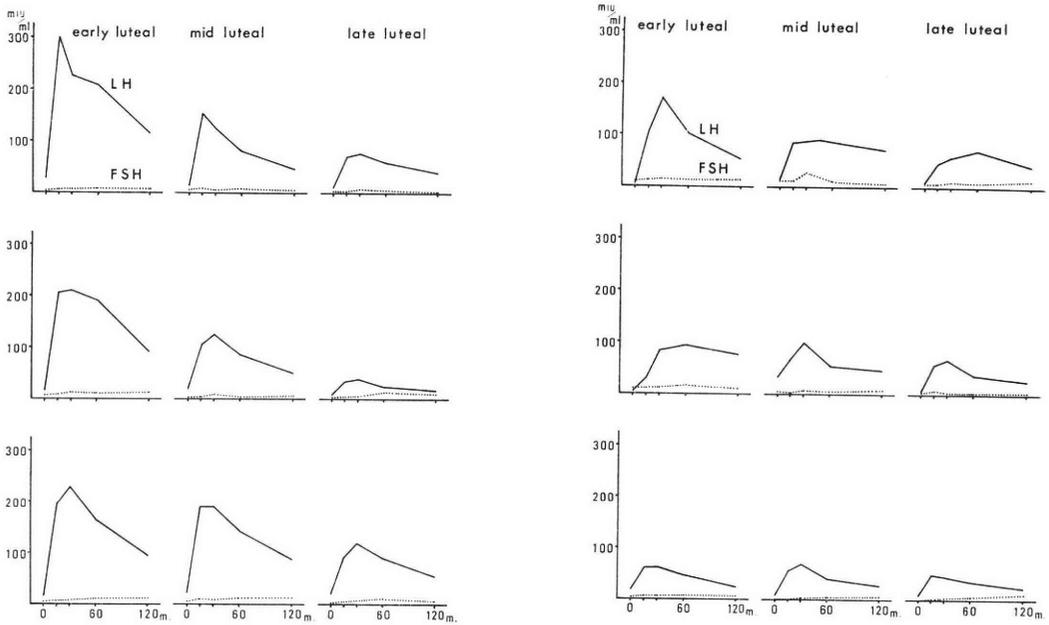


図3 同一周期の黄体各期の gonadotropin 放出予備能 (6例)

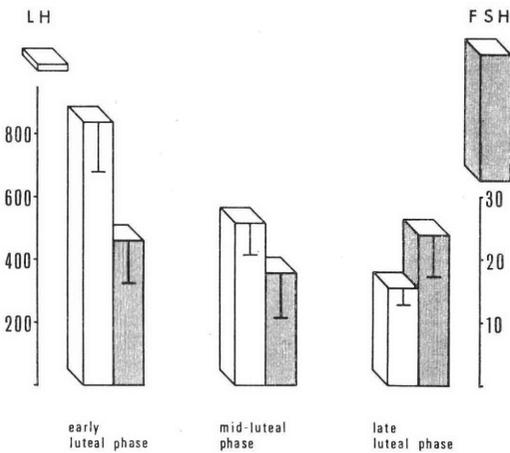


図4 黄体期各期の gonadotropin 放出予備能 << 6例の面積指数 (1単位 = 1 mIU × 15min) の平均値および標準誤差 >>

機能環に密接に関連しているの、その原因はきわめて多岐にわたり、病態生理を複雑に修飾し、その解明を困難なものにしている。したがって、排卵障害症を取扱う場合には、種々の検査を行ない総合的判定下で適切な治療に移るべきである。

卵巣の機能検査としては、卵巣から分泌される性ステロイドの生物学的作用を応用した種々の方法があり、そのうちのいくつかは、確立した検査法として、不妊あるいは避妊を含む reproduction の分野で欠かせぬものと

なっている。他方、下垂体の機能検査としては、間脳・下垂体・卵巢系だけに限った場合、下垂体から分泌される gonadotropin を直接測定する方法しかない。すなわち、この機能環では下垂体の標的臓器が卵巢であるので、卵巢の機能を介さずに間脳・下垂体機能をうかがうにはこれより他に方法がないのである。

従来、排卵障害症を取扱うのに feed-back の概念から性腺機能低下症を、高 gonadotropin 性と低 gonadotropin 性とに分け、治療法の選択のよりどころとしていた。多くは尿を材料として bioassay がなされていたが、radioimmunoassay が登場して以来、血中 gonadotropin の測定が可能となつたので血中 gonadotropin についても同様の解析がなされるようになった。著者は以上の観点から、まず血中 gonadotropin の分泌動態を正常性周期婦人について検討し、血中 gonadotropin 値の正常範囲の設定を行なつた。

正常性周期婦人の血中 gonadotropin 値についての報告は今までに数々見られる (Abraham 他⁹⁾, 1972, Cargille 他⁹⁾, 1969, Midgley, Jr. 他⁹⁾, 1971, Mishell, Jr. 他⁹⁾, 1971, 永田⁷⁾, 1973, Saxena 他⁹⁾, 1968)。これらの報告ですべて一致しているのは、排卵期に相当する mid-cycle の LH および FSH の一過性の上昇 (surge) で、これは尿の bioassay についても確かめられていた (Becker 他⁹⁾, 1965, Rosemberg 他¹⁰⁾, 1965)。著者が今回の排卵周期について得た成績 (図1) は、これらの報告と一致する。この様に、LH ある

いは FSH の midcycle surge を考慮に入れて血中 gonadotropin 値の正常範囲を設定しなければならないのであるが、血中 gonadotropin 値の評価をただ一度の測定のみで行なうことには、大きな危険性を伴うことが改めて確認された。gonadotropin の mid-cycle surge の持続時間については、4～6 時間ごとに測定することにより、Midgley, Jr. 他¹¹⁾ (1968) は 36～48 時間、Thomas 他¹²⁾ (1970) は 46 時間、Thorneycroft 他¹³⁾ (1974) は 48 時間と、それぞれ近似した成績を発表している。また Ferin 他¹⁴⁾ (1973) によれば、排卵は mid-cycle の LH 上昇後 24～36 時間、ピーク値から 12～24 時間後に起こることが明らかにされている。著者の図 1 から判断しても、血中 gonadotropin の評価に関しては、経目的に測定した場合に LH peak の日を 0 日とし、その前後 1 日ずつを排卵期として、他の時期と区別して扱う必要がある。

以上のような観点から正常性周期婦人の血中 gonadotropin 値を、卵泡期、排卵期、黄体期に分類して、平均値および標準偏差を求めると表 1 に示すようになる。従来の諸報告と近似した値が得られている。しかし、これらの報告が必ずしも一致しないのは、永田⁷⁾ (1973) も述べているように、測定に使用した抗原抗体、bound と free の分離法、標準品のちがいなどによって考えられる。しかし、これら測定法の差以外に、gonadotropin、特に LH の分泌そのものが、絶えず同一のレベルを保つ静的な分泌でなく、episodic あるいは pulsatile な変動を示す (Midgley, Jr. 他⁵⁾, 1971, Yen 他¹⁵⁾, 1972) 分泌であることにも起因しているであろう。

排卵障害症婦人の gonadotropin 値をこれらの正常性周期婦人のそれと対比させる場合、周期のどの時期を選ぶべきかについては、次の理由から卵泡期が妥当であると考えた。すなわち、両者の本質的な相違は、排卵とそれに引き続く黄体機能の有無にある。排卵期、黄体期の gonadotropin 値は当然排卵の数日前から急速に変動する卵巣性ステロイドによる上向性調節によつて修飾されており、いいかえれば、一定の条件付けがなされていると考えられる。したがつて、比較的性ステロイドの産生が少ない卵泡中期までの値を対比させることが妥当と考えられる。しかしこれはあくまで、1 回あるいは少数回の血中 gonadotropin 測定の結果を対比させる場合のことであり、その評価に当つては慎重であらねばならない。

今回の数値の処理については、過去の数多くの報告と同様に、これらの数値が正規分布に従うものとして平均値、標準偏差を求めた。Kletzky 他¹⁶⁾ (1975) は、正常性周期婦人の LH、FSH などのホルモン測定値につい

て、統計学的手法を用いて、これらの値が正規分布でなく、log-normal の分布を示すことを証明し、graphic analysis により正常範囲を示し、従来の方法による結果と比較している。正規分布に従えば、正常範囲の設定の方法によつては、その下限値が負の値となり、決められないことも起こりうるが、graphic analysis によれば、正常範囲が負にまで及ぶことはなく現実的であり、検討に値する方法であると考えられる。

1 回だけの gonadotropin 測定値の評価については、値が低い場合に特に注意せねばならない。すなわち、たとえ graphic analysis を応用して正常範囲を設定したにしても、下限はかなり低値となり、測定系の感度の限界に近づく。しかも radioimmunoassay の再現性から考えて、得られた値に約 10% 程度の幅を持たせて解釈すべきであるとするならば、下限値をはつきり決めることの意味が薄れ、ここに動的な検査の意義が生ずることになる。卵巣の機能検査の際も、単なる性ステロイドの測定にとどまらず、gonadotropin の負荷を行ない、性ステロイドの消長をみる方法がとられるが、LH-RH の登場によつて下垂体の動的機能検査が可能になった。

1971 年 Schally ら¹⁷⁾ のグループにより LH-RH が抽出され、その構造が明らかにされて (Matsuo 他¹⁸⁾ 1971) から、下垂体の gonadotropin 分泌に関する動的機能検査は急速な進歩をとげた。すなわち、Schally グループの Kastin 他¹⁹⁾ (1972)、Guillemin グループの Yen 他²⁰⁾ (1972) により、合成 LH-RH を人体へ応用する道が開かれて以来、合成 LH-RH は下垂体機能検査を強力に推進させることとなつた。

正常性周期婦人の gonadotropin 放出予備能に関しては、著者らの報告 (楠田他²⁾, 1974) を含めて数多くの報告がある。月経周期の各時期における反応の差についても、LH については Nillius 他²¹⁾ (1972)、Aono 他²²⁾ (1973)、Yen 他²³⁾ (1972) が報告し、排卵前期に反応性が最大となるという点では、いずれも一致している。これらの報告を見ると、卵泡期については、early-, mid-, late follicular (preovulatory) に細分し検討しているが、黄体期についてはほとんど一括して取扱つている。

著者は今回黄体期をさらに細分して測定を行なつたが、その成績によると、図 2 にも示されているように、反応性は排卵前期 > 黄体初期 > 黄体中期 ≧ 卵泡中期 > 卵泡初期 ≧ 黄体後期の順に減少していた。面積指数のみでなく他の指標でも、表 2 に見られるように、最高値 (peak value)、最高値と前値の差 (maximum net increase) は同様の傾向を示している。最高値の前値に対する比率 (maximum fold) ではやや異なつた結果が得

られた。卵胞期、黄体期の反応性の大小を比較することの可否について議論があるが、今回の成績から明らかのように、同じ卵胞期、同じ黄体期でも、初期、中期、後期において反応の大小が著しく異なり、卵胞期、黄体期を一括して取扱うことは適切でない。

黄体期を細分して反応性を検討した報告は、著者らの報告(楠田他²³, 1974)を含めても数少ないが、今回はさらに、同一対象の同一周期の黄体初期、中期、後期に負荷試験を実施した結果を示した(図3, 4)。同一周期の連続負荷には、蓄積作用、下垂体 gonadotroph の疲労等の問題があるが、LH-RH を投与し血中の LH-RH を LH, FSH と同時に測定した著者らの成績(永田他²⁴, 1975)によれば、静注により 200 μ g 投与した LH-RH は最初の20分間は2.2分、その後9.1分の半減期をもつて減少し、45分以後はさらに血中消失速度は低下するが、90分後には測定感度以下まで減少している。したがって、少なくとも3日間以上間隔をおいて行なった今回の負荷試験では、蓄積作用を考慮する必要はない。しかも、mid-cycle surge の時期に数十時間にもわたり、他の時期に比べ有意に多量の gonadotropin を分泌する下垂体 gonadotroph が1回の LH-RH 投与で疲労して分泌が低下するとは考えられない。したがって、黄体初期、中期、後期の結果を各々独立したものととして、評価して差支えないものと考ええる。

黄体期における LH については、図2に示した結果から予測されるとおり、初期>中期>後期の順に反応が小さくなるという結果が得られた。個々の症例についてもこの傾向がうかがえる。川越他²⁵(1975)は月経周期各相を著者と同様に細分し、最高値と前値の差を指標として、反応性の変化をみているが、黄体期の反応は初期、中期、後期のいずれの時期も、きわめて低かつたと報告し、その理由を estrogen, progesterone の両者による下垂体レベルでの反応抑制によると推論している。しかし、著者の成績では、最高値と前値の差(maximum net increase)を指標にしても、黄体初期、中期の反応はさほど弱くなく、川越らとは異なった結果となる。

反応性をみる指標としては、投与後の最高値、最高値と前値の差、最高値と前値の比、面積指数等いろいろあるが、投与後の最高値をとれば、前値が高値で反応がさほど強くない例と、前値が低値で反応が強い例が、同程度の反応と判定されることがある。最高値と前値の差をとれば、この欠点は除けるが、これらの指標では、最高値という単一の値が基準となっているため、採用する際には反応曲線のパターンが一定であるという前提条件が必要である。しかし、最高値が同じでも、その後急激に値が低下する例と、そのまま平坦な曲線を描く例が認め

られるが、その差はこれらの指標では表現できない。最高値と前値の比をとつてみても同じことが言えるが、この指標ではさらに、前値は月経周期の時期あるいは episodic または pulsatile な分泌により変動することが知られており、その変動する前値のもつ意味が大きく、反応性を比較する際の指標としては適当でないと考えられる。面積指数は、LH-RH 投与によりもたらされた LH あるいは FSH の増量を比較的正確に反映していると考えられ、これらの指標の中では、反応性の定量的な判定指標として最も妥当であると思う。その意味からも著者の今回の黄体期における下垂体反応性の検討は、きわめて意義があると考ええる。

正常性周期婦人の LH-RH に対する FSH の反応については、LH ほど詳細には検討されていない。Niilius 他²¹(1972)、Yen 他²⁰(1972)、Aono 他²²(1973)の報告でも、LH とほぼ並行した反応を示すが、さほど反応が大きくないとされているだけである。著者の成績では、表2、図2に示されるように、LH の反応にほぼ並行していることがうかがえた。すなわち、排卵前期の反応が最も大きく、それを頂点とする山型の反応性が見られた。しかし、詳細に検討すると、最高値、最高値と前値の差等の指標では、LH のそれとやや傾向を異にして、卵胞初期、中期でも反応はかなり大きく、さらに図4に示す同一周期の黄体期における反応については、LH と並行しないなど、問題点がいくつかある。著者の方法によると、FSH は大多数例で120分後に最高値を示し(楠田他²³, 1974)、30分後に最高値となることの多い LH と比べると、指標の意義が若干異なるため、このような違いが生じたとも考えられる。FSH の反応は著者の LH-RH 投与量では、LH のそれに比べてきわめて小さいので、FSH-RH の問題を抜きにして、LH-RH による FSH の反応の意義を論ずることは慎むべきことが確認された。

要 約

排卵障害症婦人の下垂体性 gonadotropin の分泌動態を知る目的で、まず正常性周期婦人を対象として検討を行ない、下記の結果を得た。

I. 多数の正常性周期婦人について、排卵日前後にできるだけ連続して採血し、血中 LH および FSH を測定したところ、それぞれの排卵期 surge の平均値(M \pm SD)は、LH: 95.1 \pm 42.6mIU/ml, FSH: 21.5 \pm 8.2 mIU/ml (31例)で、 \pm 1日を含む3日間が他に比べて高値を示した。

II. 同様に、卵胞期、排卵期(0日および \pm 1日を含む)、黄体期に分けて採血し、血中 LH および FSH を

測定したところ、LH は卵胞期 13.3 ± 7.0 mIU/ml、排卵期 67.4 ± 57.7 mIU/ml、黄体期 12.9 ± 6.4 mIU/ml、FSH は卵胞期 11.8 ± 6.6 mIU/ml、排卵期 19.6 ± 10.9 mIU/ml、黄体期 10.3 ± 5.7 mIU/ml の値を得た。

Ⅲ. 下垂体の gonadotropin 放出予備能を検討するために、42 例の正常性周期婦人に LH-RH $100 \mu\text{g}$ を静注投与し、その前後の LH、FSH の値から下垂体の反応性を検討したところ、下垂体の反応は、LH、FSH のいずれについても、排卵前期に最高となり、排卵期から遠ざかるにつれて低下を示した。

Ⅳ. 各症例ごとに同一性周期の黄体前、中、後期に、負荷試験を行ない (6 例)、LH については、排卵から遠ざかるにつれて反応が低下することが確認された。

Ⅴ. 負荷試験の指標として、負荷後の LH あるいは FSH の最高値、最高値と前値の差、最高値と前値の比、反応曲線を積分して求めた面積指数等について比較検討し、反応性の定量的な判定指標としては、反応容量を比較的正確に表現する面積指数が最も妥当であるとの結論を得た。

稿を終えるにあたり、御懇切な御指導と御校閲を賜った恩師滝一郎教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、終始御指導いただいた楠田雅彦助教授、永田行博講師、さらに御援助いただいた教室内分泌研究室の諸先生、実験助手の皆様は心から感謝します。

文 献

- 1) 楠田雅彦, 中村正彦, 尾上敏一: 二抗体法 Radioimmunoassay による血中 LH, FSH の測定, 産婦の世界, 25: 543, 1973.
- 2) 楠田雅彦, 永田行博, 中村正彦, 尾上敏一: 正常性周期婦人における下垂体性ゴナドトロピン放出予備能, 日産婦誌, 26: 975, 1974.
- 3) Abraham, G. E., Odell, W. D., Swerdloff, R. S. and Hopper, K.: Simultaneous radioimmunoassay of plasma FSH, LH, progesterone, 17-hydroxyprogesterone, and estradiol- 17β during the menstrual cycle, J, Clin, Endocrinol, Metab. 34: 312, 1972.
- 4) Cargille, C. M., Ross, G. T. and Yoshimi, T.: Daily variations in plasma Follicle Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone and progesterone in the normal menstrual cycle, J. Clin, Endocrinol, Metab. 29: 12, 1969.
- 5) Midgley, Jr., A. R. and Jaffe, R. B.: Regulation of human gonadotropins: X. Episodic fluctuation of LH during the menstrual cycle, J, Clin, Endocrinol, Metab. 33: 962, 1971.
- 6) Mishell, Jr., D. R., Nakamura, R. M., Crossignani, P. G., Stone, S., Khurma, K., Nagata, Y. and Thorneycroft, I. H.: Serum

gonadotropin and steroid patterns during the normal menstrual cycle, Am, J, Obstet, Gynecol. 111: 60, 1971.

- 7) 永田行博: Solid phase tube 法による血中ゴナドトロピン (LH, FSH) の Radioimmunoassay, 日産婦誌, 25: 283, 1973.
- 8) Saxena, B. B., Demura, H., Gandy, H. M. and Peterson, R. E.: Radioimmunoassay of human Follicle Stimulating and Luteinizing Hormones in plasma, J, Clin, Endocrinol, Metab. 28: 519, 1968.
- 9) Becker, K. L. and Albert, A.: Urinary excretion of Follicle-Stimulating and Luteinizing Hormones, J, Clin, Endocrinol, Metab. 25: 962, 1965.
- 10) Rosemberg, E. and Keller, P. J.: Studies on the urinary excretion of Follicle-Stimulating and Luteinizing Hormone activity during the menstrual cycle, J, Clin, Endocrinol, Metab. 25: 1262, 1965.
- 11) Midgley, Jr., A. R. and Jaffe, R. B.: Regulation of human gonadotropins: IV. Correlation of serum concentrations of Follicle Stimulating and Luteinizing Hormones during the menstrual cycle, J, Clin, Endocrinol, Metab. 28: 1699, 1968.
- 12) Thomas, K., Walckiers, R. and Ferin, J.: Biphasic pattern of LH midcycle discharge, J, Clin, Endocrinol, Metab. 30: 269, 1970.
- 13) Thorneycroft, I. H., Sriyatta, B., Tom, W. K., Nakamura, R. M. and Mishell, Jr., D. R.: Measurement of serum LH, FSH, progesterone, 17-hydroxyprogesterone and estradiol- 17β levels at 4-hour intervals during the periovulatory phase of the menstrual cycle, J, Clin, Endocrinol, Metab. 39: 754, 1974.
- 14) Ferin, J., Thomas, K. and Johansson, E. D. B.: In Hafez, E.S.E. and Evans, T. N. (ed.) Human Reproduction, p. 260, Harper & Row, Hagerstown, 1973.
- 15) Yen, S. S. C., Tsai, C. C., Naftolin, F., Vanden Berg, G. and Ajabor, L.: Pulsatile patterns of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function, J, Clin, Endocrinol, Metab. 34: 671, 1972.
- 16) Kletzky, O. A., Nakamura, R. M., Thorneycroft, I. H. and Mishell, Jr., D. R.: Log normal distribution of gonadotropins and ovarian steroid values in the normal menstrual cycle, Am, J, Obstet, Gynecol. 121: 688, 1975.
- 17) Schally, A. V., Arimura, A., Baba, Y., Nair, R. M. G., Matsuo, H., Redding, T. W., Develjuk, L. and White W. F.: Isolation and properties of the FSH and LH-Releasing Hormone, Biochem, Biophys, Res, Commun.

- 43 : 393, 1971.
- 18) Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. M. G., Arimura, A. and Schally, A. V.: Structure of the porcine LH- and FSH- Releasing Hormone. I. The proposed amino acid sequence, *Biochem, Biophys, Res, Commun.* 43 : 1334, 1971.
- 19) Kastin, A. J., Schally, A. V., Gual, C. and Arimura, A.: Release of LH and FSH after administration of synthetic LH-Releasing Hormone, *J, Clin, Endocrinol, Metab.* 34 : 753, 1972.
- 20) Yen, S. S. C., Rebar, R., VandenBerg, G., Naftolin, F., Ehara, Y., Engblom, S., Ryan, K. J. and Benirschke, K.: Synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Factor: A potent stimulator of gonadotropin release in man, *J, Clin, Endocrinol, Metab.* 34 : 1108, 1972.
- 21) Nillius, S. J. and Wide, L.: Variation in LH and FSH response to LH-Releasing Hormone during the menstrual cycle, *J, Obstet, Gynec, Brit, Cwllth.* 79 : 865, 1972.
- 22) Aono, T., Minagawa, J., Kinugasa, T., Tanizawa, O. and Kurachi, K.: Response of pituitary LH and FSH to synthetic LH-Releasing hormone in normal subjects and patients with Sheehan's syndrome, *Am, J, Obstet, Gynecol.* 117 : 1046, 1973.
- 23) Yen, S. S. C., VandenBerg, G., Rebar, R. and Ehara, Y.: Variation of pituitary responsiveness to synthetic LRF during different phases of the menstrual cycle, *J, Clin, Endocrinol, Metab.* 35 : 931, 1972.
- 24) 永田行博, 中村正彦, 楠田雅彦: 外因性 LH-Releasing Hormone の血中動態と下垂体の反応, *日産婦誌*, 27 : 395, 1975.
- 25) 川越慎之助, 広井正彦, 小川弘良, 王 正貫, 大原 康, 佐藤芳昭, 布川 修, 高橋 威: 正常月経周期に見られるホルモン動態と下垂体予備能の検討, *ホと臨床*, 23 : 1249, 1975.

Studies on Secretion of Pituitary Gonadotropin in Patients with Ovulatory Defect

I. Secretion of Gonadotropin in Normal Ovulatory Women

Masahiko Nakamura

Department of Obstetrics and Gynecology
Faculty of Medicine, Kyushu University
(Director: Prof. Ichiro Taki)

As a control study, normal ovulatory women were investigated for serum gonadotropin levels and pituitary reserve function to release gonadotropins. Serum LH and FSH were measured with double antibody radioimmunoassay.

Consecutive measurements revealed that the values of mid-cycle surge were 95.1 ± 42.6 (mean \pm SD) mIU/ml for LH, and 21.5 ± 8.2 mIU/ml for FSH in 31 normal ovulatory women. Mean LH and FSH levels were 13.3 and 11.8 mIU/ml, respectively, in follicular phase, 67.4 and 19.6 mIU/ml in ovulatory phase (days 0 and ± 1), and 12.9 and 10.3 mIU/ml in luteal phase.

Forty two normal ovulatory women were administered 100 μ g of synthetic LH-RH on various days of the menstrual cycle, and serum gonadotropin levels were examined before and after administration. Pituitary functional reserve to release LH was biggest in the pre-ovulatory phase and smallest in the early follicular or the late luteal phase. The response of FSH to LH-RH was minimal and almost parallel to that of LH. Degression of LH response to LH-RH in the luteal phase was confirmed individually in six normal volunteers who were examined 3 times in one menstrual cycle.

As an index of this LH-RH test, the area index which was derived from integration of the response curve was seemed to be most reliable on comparing responsibility.

EFFECTS OF ACTINOMYCIN D ON THE RELEASE OF PROLACTIN AND GROWTH HORMONE FROM RAT PITUITARIES IN VITRO BY THYRO- TROPIN RELEASING HORMONE

Kahei SATO and Yoshio YAMAMOTO

Laboratory of Animal Reproduction, College of Agriculture
and Veterinary Medicine, Nihon University

Abstract: Anterior pituitary halves from adult male rats were incubated *in vitro* for 2 hours following a preincubation of 30 minutes in 1 ml of medium 199. PRL and GH levels in the medium and anterior pituitaries incubated were determined by the methods of polyacrylamide gel disc electrophoresis. TRH at doses of 5 to 500 ng/ml stimulated significantly PRL and GH release, but showed no elevation of the pituitary concentration of PRL. On the other hand, 500 ng/ml of TRH stimulated a significant increase of the pituitary concentration of GH, but other doses of TRH (5 to 50 ng/ml) used showed no alteration of the pituitary GH concentration. Act-D at doses of 5 to 30 μ g/ml did not interfere with the basal release of the two pituitary hormones from the pituitaries. Also, Act-D at doses used showed no alteration in the pituitary concentration of the two pituitary hormones.

Act-D at dose of 5 μ g/ml abolished the release of the two pituitary hormones by TRH. These doses of Act-D, also, showed no alteration of the pituitary concentration of the two pituitary hormones after the stimulation of TRH.

The present results suggest that *de novo* protein synthesis is required for TRH to act on the release of both PRL and GH *in vitro*.

Introduction

Thyrotropin releasing hormone (TRH) has been shown to stimulate the release of prolactin (PRL) as well as of thyrotropin (TSH) in rats¹⁻⁴), sheep⁵⁻⁷), cows⁸), and humans^{9,10}). This peptide, also, elicits growth hormone (GH) release in rats¹¹), cows⁸), and humans^{12,13}). GH-releasing hormone, somatostatin, has been reported to suppress the release of GH and TSH by TRH⁴). These results have suggested that TRH act directly on the pituitary gland to release of PRL and GH. However, the mechanisms by which TRH stimulates PRL and GH release are unknown. The present work was carried out to investigate the mechanisms of action of TRH on the pituitary cells in the release of PRL and GH. An inhibitor of protein synthesis, actinomycin D

(Act-D), was used to obtain information on the mechanisms of action of TRH in increasing release of both PRL and GH and specifically to determine if protein synthesis is required for its action.

Materials and Methods

Pituitary incubations *in vitro* were performed by the methods of Deuben and Meites (1964)¹⁵). Adult male rats of Wistar strain, weighing 250-280 g, were used as pituitary donors in all experiments. The rats were decapitated and each pituitary was rapidly removed. After posterior lobe of the pituitary was separated, each anterior pituitaries were cut in half along the midline. Two or 3 pituitary halves were placed in each of 2 incubation tubes containing 1 ml of medium 199 (NISSI SEIYAKU Co., LTD.), one serving as a control and other with an

equal number of pituitary halves from the same animals, as an experimental. Incubations were performed in a metabolic shaker (OMRON TATEISI ELECTRONICS Co.,) at 37°C under an atmosphere of 95% O₂-5% CO₂. After a preincubation of 30 minutes, the medium was discarded and replaced with fresh 1ml of medium 199 or 1ml of medium 199 containing test materials and then incubations were continued for an additional 2 hour periods. Synthetic TRH (Takeda Pharmac. Indust. Co., Ltd) was dissolved in the medium and added into the incubation medium at the concentration of 5, 25, 50, or 500 ng/ml. Act-D also was dissolved in the medium 199. This antibiotic was added to the incubation medium at the concentration of 5, 10, 15 or 30 ug/ml after preincubation period. the incubation medium used contained 20 IU/ml and 30 ug/ml of penicillin and streptomycin, respectively. At the end of the incubation, the medium from incubation tubes was decanted from pituitaries which were then weighed.

PRL and GH in the medium and anterior pituitary tissues were determined by polyacrylamide gel-electrophoresis according to the methods of Nicoll et al. (1969)¹⁶⁾. The optical density of PRL and GH bands was measured by ORUMA densitometer (ASUKA MANUFACTURING Co., Ltd). The densitometric readings of the two hormone bands were converted to ug of sheep PRL (NIH-P-11) and sheep GH (NIH-GH-11) using for standard cuves, respectivel.

Student's t-test was used for calculation of statistical significance of different between groups.

Results

Effect of TRH on the release of PRL and GH from rat pituitaries incubated in vitro.

The results of an experiment to examine effects of TRH on the release of PRL and GH by anterior pituitaries incubated are shown in Table 1 and 2. When TRH was tested at doses of 25, 50, or 500 ng/ml on anterior pituitaries in vitro, PRL release from the glands was stimulated significantly but 5 ng/ml of TRH failed to alter the release of this pituitary hormone into the medium.

Table 1 Effect of TRH on prolactin release from rat anterior pituitaries incubated

Treatments	No. of tubes	Medium prolactin (μg/ml/mg AP)	Pituitary prolactin (μg/ mgAP)
Control	5	0.71±0.08a	3.79±0.44
TRH 5 ng/ml	5	0.87±0.10	3.65±0.25
Control	5	0.44±0.23	3.64±1.24
TRH 25 ng/ml	5	1.84±0.54**	4.93±0.74
Control	5	0.55±0.16	2.48±1.11
TRH 50 ng/ml	5	0.90±0.09*	3.89±0.35
Control	5	0.42±0.14	3.92±0.53
TRH 500ng/ml	5	1.04±0.27*	4.45±0.39

AP: Anterior pituitary

* P<0.05 versus control

** P<0.01 versus control

a: Mean±SME

Table 2 Effect of TRH on the release of growth hormone from rat anterior pituitaries incubated in vitro

Treatments	No. of tubes	Medium GH (ug/ml/mg AP)	Pituitary GH (ug/mgAP)
Control	5	7.44±0.32a	23.73±2.35
TRH 5ng/ml	5	9.40±0.84*	24.43±1.30
Control	5	4.13±0.52	20.87±4.51
TRH 25ng/ml	5	7.79±1.89*	19.05±3.37
Control	5	3.80±0.51	15.59±1.17
TRH 50ng/ml	5	6.68±0.55**	18.28±0.99
Control	5	4.33±0.65	16.83±1.87
TRH 500ng/ml	5	7.71±0.13*	21.53±1.88*

GH; Growth hormone (NIH-s-11)

AP; Anterior pituitary

*) P<0.05 versus control

***) P<0.01 versus control

a: Mean±SME

While TRH at 5 to 500 ng/ml enhanced GH release from the glands incubated. At the end of the incubation, no alteration of the concentration of PRL in the glands incubated, when doses of TRH at 5 to 500 ng/ml were added to the incubation medium. On the other hand, although doses at 5 to 50 ng/ml of TRH had no influence on the pituitary concentration of GH, the highest

dose of 500 ng/ml resulted in a significant increase of concentration in the glands.

Effect of Act-D on the release of PRL and GH from anterior pituitaries by TRH.

The results of an experiment to examine effects of Act-D on the release of PRL and GH by anterior pituitaries after the stimulation of TRH are shown in Table 3 and 4. Act-D (5 ug/ml) had an inhibitory effect on

Table 3 Effect of actinomycin D on TRH-stimulated prolactin release from rat pituitaries incubated

Treatments	No. of tubes	Medium prolactin ($\mu\text{g/ml/mg AP}$)	Pituitary prolactin ($\mu\text{g/mgAP}$)
Control	5	0.65 \pm 0.15a	3.97 \pm 0.40
TRH+Act. D 25ng 5 μg	5	0.74 \pm 0.10	3.18 \pm 0.31
Control	5	0.84 \pm 0.15	3.37 \pm 0.44
TRH+Act. D 50ng 5 μg	5	0.84 \pm 0.19	2.27 \pm 0.16
Control	5	0.93 \pm 0.25	3.37 \pm 0.25
TRH+Act. D 500ng 5 μg	5	0.61 \pm 0.11	3.35 \pm 0.61

Act. D; Actinomycin D
AP; Anterior pituitary
a: Mean \pm SME

Table 4 Effect of actinomycin D on TRH-stimulated growth hormone from rat anterior pituitaries incubated in vitro

Treatments	No. of tubes	Medium GH (ug/ml/mg AP)	Pituitary GH (ug/ml/mg AP)
Control	5	7.34 \pm 1.41a	25.13 \pm 1.48
TRH+Act. D 5ng 5 μg	5	6.55 \pm 0.53	26.69 \pm 1.27
Control	5	7.99 \pm 0.68	28.69 \pm 2.29
TRH+Act. D 25ng 5 μg	5	7.19 \pm 0.72	25.29 \pm 0.74
Control	5	8.59 \pm 0.70	28.41 \pm 2.90
TRH+Act. D 50ng 5 μg	5	7.61 \pm 0.83	27.23 \pm 2.09
Control	5	7.99 \pm 1.14	27.20 \pm 3.16
TRH+Act. D 500ng 5 μg	5	6.59 \pm 0.91	26.39 \pm 2.73

GH; Growth hormone (NIH-S-11)
AP: Anterior pituitary
a: Mean \pm SME

the release of two pituitary hormones in response to varying doses of TRH (5 to 500 ng/ml). The addition of 5 to 500 ng/ml to the medium with 5 $\mu\text{g/ml}$ of Act-D, however, did not alter the pituitary concentration of the two pituitary hormones.

Effect of Act-D on the release of PRL and GH from anterior pituitaries in vitro.

The results of an experiment to examine effects of Act-D on the release of the two pituitary hormones by anterior pituitaries incubated in vitro are shown in Table 5 and 6.

Table 5 Effect of Actinomycin D on prolactin release from rat anterior pituitaries incubated

Treatments	No. of tubes	Medium prolactin ($\mu\text{g/ml/mg AP}$)	Pituitary prolactin ($\mu\text{g/mgAP}$)
Control	5	0.90 \pm 0.13a	3.13 \pm 0.18
Act. D 5 $\mu\text{g/ml}$	5	0.89 \pm 0.08	3.08 \pm 0.17
Control	5	0.53 \pm 0.13	3.38 \pm 0.23
Act. D 10 $\mu\text{g/ml}$	5	0.71 \pm 0.12	3.01 \pm 0.20
Control	5	0.62 \pm 0.04	3.06 \pm 1.77
Act. D 15 $\mu\text{g/ml}$	5	0.64 \pm 0.05	3.06 \pm 0.08
Control	5	1.18 \pm 0.34	2.24 \pm 0.58
Act. D 30 $\mu\text{g/ml}$	5	0.76 \pm 0.04	1.86 \pm 0.36

Act. D: Actinomycin D
AP: Anterior pituitary
a: Mean \pm SME

Table 6 Effect of actinomycin D on growth hormone release from rat anterior pituitaries incubated

Treatments	No. of tubes	Medium growth hormone (ug/ml/mg AP)	Pituitary growth hormone (ug/mgAP)
Control	5	9.14 \pm 1.20a	21.72 \pm 1.14
Act. D 5 $\mu\text{g/ml}$	5	9.00 \pm 1.41	22.41 \pm 1.99
Control	5	6.71 \pm 0.47	24.40 \pm 0.85
Act. D 10 $\mu\text{g/ml}$	5	7.08 \pm 0.61	22.36 \pm 1.38
Control	5	6.95 \pm 0.12	25.65 \pm 1.73
Act. D 15 $\mu\text{g/ml}$	5	8.06 \pm 1.05	24.81 \pm 1.00
Control	5	10.15 \pm 1.46	20.33 \pm 3.21
Act. D 30 $\mu\text{g/ml}$	5	10.36 \pm 1.10	20.46 \pm 3.17

Growth hormone; NIH-S-11.
AP; Anterior pituitary.
Act. D; Actinomycin D.
a), Mean \pm SME

Act-D added in doses of 5, 10, 15, or 30 ug/ml to the medium had any effect on the release of the two pituitary hormones by the glands. Also, Act-D at doses used showed no alteration in the concentration of the hormones.

Discussion

Some observations have shown that TRH can stimulate PRL¹⁻⁴⁾ and GH¹¹⁾ release from rat pituitaries. The present results provide these results reported previously. Convey et al. (1973)⁸⁾ have reported that TRH administration causes a significant increase of serum PRL and GH levels in lactating cows, but addition of TRH into the incubation medium failed to stimulate PRL and GH release from bovine anterior pituitaries in vitro. Takahara et al. (1974)⁵⁾ have demonstrated to be stimulated the release of both PRL and GH from sheep anterior pituitaries in vitro in response to TRH. However, Lu et al. (1972)¹⁷⁾ have reported to have little influence on the secretion of PRL by rat anterior pituitaries in vitro. LaBell et al. (1971)¹⁸⁾ have shown that TRH had no effect on the release of PRL and GH from bovine pituitaries in vitro. Wilber (1971)¹⁹⁾ have found no effect of TRH on GH release from rat pituitaries in vitro. The discrepancy in these results may be explained by species difference in the responsiveness of pituitary PRL and GH secretion cells to TRH and also, by differential experimental conditions used.

The results from this experiment have raised fundamental questions concerning the hypothalamic control of PRL and GH secretion. The possibility that TRH is a physiological releaser of PRL in humans^{9,10)} have been shown. However, it has been reported that PRL releasing factor (PRF) and TRH are separate entities²⁰⁾ and that GH releasing factor (GRF) is demonstrated to stimulate no effect on TSH release in vivo and in vitro²¹⁾. Furthermore, the release of TSH- thyroid hormone usually do not parallel PRL release under most conditions²²⁾. These results have indicated to express doubt about the possibility that TRH is a physiological releaser of PRL and GH. The ability of TRH to release both pituitary hormones

suggests that TRH may be structurally related to hypothalamic PRF and GRF, or that the functional TRH receptors in pituitary PRL and GH secretion cells are very similar.

Act-D is an inhibitor of ribonucleic acid (RNA) and consequently that of protein. The present results have shown that 5 ug/ml of Act-D can abolish the enhancement of the stimulatory effect of TRH on the release of both PRL and GH. This is interesting since this antibiotic at the concentration up to 2 ug/ml does not abolish the stimulatory effect of TRH²³⁾, GRF^{24,25)}, and FSH-RF²⁶⁾ on the release of TSH, GH, and FSH in vitro, respectively. The present results also indicate that de novo protein synthesis is required for TRH to act on the two pituitary hormones in vitro. From the present results, the possibility that TRH may stimulate the synthesis of deoxyribonucleic acid (DNA) dependent formation of messenger RNA is considered. The inability of Act-D to block the release of both pituitary hormones in vitro seems to suggest that in spite of suppression of DNA dependent formation of messenger RNA there is still enough RNA left to permit protein synthesis or that the basal release of the two pituitary hormones in vitro does not require de novo synthesis of the pituitary hormone proteins.

TRH of 500 ug/ml stimulated the increase of the pituitary concentration of GH at the end of the incubation period, but the pituitary PRL concentration was not stimulated significantly. Other doses of TRH used had no effect on the two pituitary hormones in the concentration of the pituitary glands. These results from this experiment were not clearly apparent for TRH on the synthesis of the two pituitary hormones under this experimental conditions.

Acknowledgement

We are grateful to our director, Professor S. Nakajo, Nihon university, for his interest and advice on this work.

References

- 1) Tashjian, A. H., Barawsk, N. J. and Tensen, D. K.: TRH: Direct evidence for stimula-

- tion of prolactin production by pituitary cells in culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43 : 516, 1971.
- 2) Vale, W., Blackwell, R., Grant, G. and Guillemine, R.: TRF and thyroid hormones on prolactin secretion by rat anterior pituitary cells in vitro. *Endocr.* 93 : 26, 1973.
 - 3) Rivier, C. and Vale, W.: In vitro stimulation of prolactin in the rat by TRF related peptides and hypothalamic extracts. *Endocr.* 93 : 975, 1974.
 - 4) D'angelo, S. A., Wall, N. R. and Bower, C. Y.: Effects of acute and chronic administration of TRH on thyrotropin and prolactin secretion in normal and hypothalamic rats. *Neuroendocr.* 18 : 161, 1975.
 - 5) Takahara, J., Arimura, A. and Schally, A. V.: Effect of catecholamines on the TRH-stimulated release of prolactin and growth hormone from sheep pituitaries in vitro. *Endocr.* 95 : 1490, 1974.
 - 6) Fell, L. R., Findly, J. K., Cumming, I. A. and Goding, J. R.: Effect of synthetic TRF on prolactin release in the sheep. *Endocr.* 93 : 487, 1973.
 - 7) Blake, C. A.: Stimulation of pituitary prolactin and thyrotropin release in lactating and proestrus rats. *Endocr.* 94 : 503, 1974.
 - 8) Convey, E. M., Tacker, H. A., Smith, V. G. and Zolman, J.: Bovine prolactin, growth hormone, thyroxine and corticoid response to TRH. *Endocr.* 92 : 471, 1973.
 - 9) Bowers, C. Y., Friesen, H. G., Hwang, D., Guyda, H. J. and Folkers, K.: Prolactin and thyrotropin in release in man by synthetic pyroglutamyl-histidyl-prolinamide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 45 : 1033, 1967.
 - 10) Jacobs, L. S., Synder, P. J., Wilber, J. F., Utiger, R. D. and Daughday, W. H.: Increased serum prolactin after administration of synthetic TRH in man. *J. Clin. Endocr.* 471, 1973.
 - 11) Kato, Y., Chihara, K., Maeda, K., Ohgo, S., Okanishi, Y. and Imura, H.: Plasma growth hormone response to TRH in the urethane-anesthetized rat. *Endocr.* 96 : 1114, 1975.
 - 12) Irie, M. and Tushima, T.: Increase of serum growth hormones concentration following TRH injection in patients with acromegaly or gigantism. *J. Clin. Endocr. Metab.* 40 : 501, 1975.
 - 13) Maeda, K., Kato, Y., Ohgo, S., Chihara, K., Yoshimoto, M., Yamaguchi, N., Kuroshima, S. and Imura, H.: Growth hormone and prolactin release after injection of TRH in patients with depression. *J. Clin. Endocr. Metab.* 40 : 501, 1975.
 - 14) Vale, W., Rivier, C., Brazeau, P. and Guillemine, R.: Effects of somatostatin on the secretion of thyrotropin and prolactin. *Endocr.* 95 : 968, 1974.
 - 15) Deuben, R. R. and Meites, J.: Stimulation of pituitary growth hormone release by a hypothalamic extract in vitro. *Endocr.* 91 : 982, 1972.
 - 16) Nicoll, C. S., Parans, J. A., Florindo, R. D. and Nichols, S. C.: Estimation of prolactin and growth hormone levels by polyacrylamide disc electrophoresis. *J. Endocr.* 45 : 183, 1969.
 - 17) Lu, K. H., Shaar, C. J., Kortright, K. H. and Meites, J.: Effects of sunthetic TRH on in vitro and in vivo prolactin release in the rat. *Endocr.* 91 : 1540, 1972.
 - 18) LaBella, F. S. and Vivian, S. R.: Effect of synthesic TRF on hormone release from bovine anterior pituitary in vitro. *Endocr.* 88 : 787, 1971.
 - 19) Wilber, J. F.: Stimulation of C-glucosamine and C-alanin incorporation into thyrotropin by synthetic TRH. *Endocr.* 89 : 873, 1971.
 - 20) Valeverde-R, C., Chieffo, V. C. and Reichelin, S.: Prolactin-releaing factor in porcine and rat hypothalamic tissue. *Endocr.* 91 : 982, 1972.
 - 21) Schally, A. V., Arimura, A., Bowers, C. Y., Kastin, A. J., Sawano, S. and Redding, T. W.: Hypothalamic neurohormones regulating anterior pituitary founction. *Recent. Prog. Hormon. Res.* 24 : , 1968.
 - 22) Meites, J.: Cntrol of prolactin secretion in animals. "Human prolactin", p. 132, *Excepta Medica/American Elsevier.* 1973.
 - 23) Schally, A. V. and Redding, T. W.: In vitro studies with thyrotropin releasing factor. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 126 : 320.
 - 24) Schally, A. V., Muller, E. E. and Sawano, S.: Effect of porcine growth hormone-releasing factor on the release and synthesis of growth hormone in vitro. *Endocr.* 82 : 271, 1968.
 - 25) Sawano, S., Matuo, T., Yamazaki, Y. and Baba, Y.: Studies on growth hormone-releasing activity in bovine hypothalami. *Psychoneuroendocrinology.* p. 232, Karger-Basal, 1974.
 - 26) Watanabe, S., Dhariwal, A. P. S. and McCann, S. M.: Effect of inhibitor of protein synthesis on the FSH-releasing action of hypothalamic extracts in vitro. *Endocr.* 82 : 674, 1968.

In vitro における TRH の Prolactin 及び Growth hormone の放出に およぼす Actinomycin D の影響

佐藤嘉兵・山本好男

(日本大学・農獣医学部家畜繁殖学教室)

ラット下垂体前葉の in vitro 培養による TPH の prolactin (PRL) 及び growth hormone (GH) の放出におよぼす Actinomycin D (Act-D) の影響について検討を加えた。PRL 及び GH の測定は polyacrylamide disc electrophoresis によつて行つた。結果は以

下の通りであつた。(1) TRH の 25, 50 あるいは 500 ng/ml の添加では PRL の medium 中への放出は有意に増加した。また, 5, 25, 50 あるいは 500 ng/ml の TRH 添加により GH の放出量も同様に増加した。しかし, 培養終了時の下垂体中の両ホルモン濃度は Control にくらべ有意な差は見られなかつた。(2) 上記の TRH 量による両ホルモンの放出効果は Act-D 5 μ g/ml の添加により抑制された。(3) Act-D の 5, 10, 15 または 30 μ g/ml の単独添加では medium 中への両ホルモンの放出及び培養終了時の下垂体中の両ホルモンの濃度には有意な影響は与えなかつた。この結果は TRH の両ホルモン放出には新しい蛋白合成の必要性を示唆した。

β -subunit hCG の Radioimmunoassay による 症例別にみた流死産患者の血中 hCG 値の変動

Case Studies of Serum Levels of Human Chorionic Gonadotropin
(hCG) Secretion in Various Pregnancies Measured
by β -subunit HCG Radioimmunoassay

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

川口雄次 牧野恒久 赤塚正純
Yuji KAWAGUCHI Tsunehisa MAKINO Masazumi AKATSUKA
大野虎之進 飯塚理八
Toranoshin OHNO Rihachi IIZUKA

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

ヒトの Luteinizing Hormone (LH) とは免疫交叉性がなく、胎盤の human Chorionic Gonadotropin (hCG) のみに特異性の高い hCG の β -subunit の Radioimmunoassay を用いて、正常妊婦の妊娠全期にわたる血中 hCG 値、分娩後の血中 hCG 値、さらに流産、死産、異常妊娠時の血中 hCG 値を症例別に測定し、これらを比較、検討した。

1) 正常妊娠 6~40 週においては、妊娠 6 週頃より血中 hCG 値は極めて高い値を示し妊娠 10 週前後に peak を形成した。妊娠 15 週以後の血中 hCG 値は次第に減少し妊娠末期の 34~38 週にやや上昇するものの、妊娠の比較的初期と中期~後期との間に有意の差が見られた。

2) 正常分娩後、人工妊娠中絶後、進行流産の子宮内容除去術施行後および子宮外妊娠時の術後などでは、血中 hCG 値は妊娠状態の除去と共に速かに減少した。しかし術後 5 日目前後でも hCG は血中で測定可能であり、hCG の血中半減期がかなり長いことを示した。

3) 進行流産の症例を除けば、妊娠形態のいかんにかかわらず卵管妊娠・卵巣妊娠例においても、血中 hCG 値は正常妊娠例とほぼ同様の変動を示した。

4) 子宮内胎児死亡が明らかな進行流産の場合は、時期的に新鮮な症例と陳旧性と思われる症例の血中 hCG 値に明らかな有意差が認められた。特に時期的に陳旧性と思われる子宮内胎児死亡の症例では、同時期の正常妊娠例の血中 hCG 値と比較すると半分以下の値を示した。

血中 LH の干渉を受けない hCG の β -subunit の Radioimmunoassay は、血中 hCG 値の変動によって妊娠状態を外側から判定し得るようになる可能性を秘めており、今後 human reproduction の重要なアプローチ方法の 1 つになり得ると思われる。

はじめに

ヒトの妊娠過程のなかで、その早期に起きる流死産および子宮外妊娠などのいわゆる早期の異常妊娠は、症状が発現してから初めてそれと解ることが多く、妊孕現象

を扱う者にとって妊娠中の胎児の予後を判定することは最も難かしい問題の 1 つであると思われる。この問題に対するアプローチの 1 つとして、血中の human Chorionic Gonadotropin (hCG) の変動を生体外から知ることは、極めて重要な意味を持つものと思われる。衆知

の如く hCG は α と β の 2 つの subunit より構成されており、そのうち Swaminathan, N. and Bahl, O. P. (1970) および Morgan, F. and Canfield, R.C. (1971) によつて報告されたように β -subunit に hCG の生物学的、免疫学的特異性が存在している。Vaitukaitis et al. (1972) はこの特異性を考慮して、下垂体前葉より分泌される Luteinizing Hormone (LH) の影響を受けずに、資料中の微量の hCG のみを測定し得る特異性の高い hCG の β -subunit の Radioimmunoassay を開発した。以来本邦でも、主として絨毛性腫瘍患者の管理を中心としたいくつかの報告が成されて来ており、最近では臨床的により follow up し易いように血中のみならず尿中の低単位 hCG の分泌動態も測定されるようになってきている。また、ヒトの10カ月間という長期にわたる着床—妊娠—分娩という全妊娠過程、さらに分娩後の血中 hCG の動態がこの β -subunit の Radioimmunoassay を使つて Ashitaka et al. (1974)、牧野 et al. (1975) によつて報告されている。

本研究では、妊娠過程の比較的早期に起きた流産、死産、子宮外妊娠などの異常妊娠例や人工妊娠中絶例などのバラエティーに富んだいくつかの症例につき上記の方法によつて血中 hCG 値の変動を追うことが出来たので、正常妊婦の例とも比較、検討しながら分析を試み以下に報告する。

研究対象および方法

研究対象は外来を訪れた妊婦であり、いずれも妊娠後に流産産その他異常妊娠等の転帰をとり、入院のうえ手術を施行した症例である。これらの症例において術前および術後の末梢血液検査等の際その一部を、またそれ以外は本人の了解を得て術後経過中出来得るだけ回数を多くしかし必要最少限の採血を行ない、hCG のホルモン測定用に供した。測定された血中 hCG 値は、いずれも手術直前の状態を 0 日とし、以後の日数は術後何日目に採血されたかを示すようにした。男子の場合は、著者らの中から 2 名を対象とした。採血された全資料は速やかに遠沈し、血清を分離後 -20°C に保存された。

健康男子を対象とした 2 名の被験者に対しては、0.1mg の合成の視床下部 LH 放出因子 (LH-RF, Lot No. 100 ITFW, 第一製薬) が静注され、以後 30 分、60 分、90 分、120 分後に採血し、血清中の LH, hCG 値の推移を Radioimmunoassay により測定した。

hCG の β -subunit の Radioimmunoassay は通常の 2 抗体法を実施したが、測定に使用した hCG (CR 115, 1 ng = 4.9 mIU of the 2nd International Standard hCG), β -subunit hCG (CR 115 B), anti-

hCG- β -subunit は、NIAMDD (USA) より提供された。hCG- β -subunit に対しては Chloramin T 法 (Greenwood et al. 1963) の一部変法により ^{125}I または ^{131}I を標識し、 ^{125}I or ^{131}I labeled hCG- β -subunit とし、Sephadex G-50 の column (0.9×17.0cm) にて organic と inorganic fraction に分離した。測定に用いた緩衝液は、0.1% の gelatine を含む 0.01M Phosphate Buffered Saline (pH 7.2) で、正常男子血清 50~100 μl が全 tubes に加えられた。Standard として hCG (CR 115) を用い、また資料中の hCG 濃度はすべて hCG ng/ml serum として表わした。Incubation は 4°C で 48~72 時間行ない、その後遊離の放射性 hCG を除くため過剰の anti-Rabbit γ -Globulin (p-3, Antibody Inc., Davis, California, U.S.A.) を加え、上清を遠沈で除いたあと Autowell γ -counter にて沈渣の放射能を測定した。

血清の LH は NIAMDD より提供を受けた hLH (LER-960, 1 mg = 4620 IU LH of the 2nd IRP Standard by Bioassay) に、hCG の測定と同様の方法で ^{125}I または ^{131}I を label した。Standard は LER-907 (1 mg = 60 IU of the 2nd IRP HMG by Bioassay) とし、anti-hLH (Batch # 1) を 20,000~70,000 倍に稀釈して使用し、LH の血中濃度は LER-907 ng/ml serum として表わした。

研究結果

0.1mg の合成 LH-RF を静注投与した男子血清中の LH および hCG 値は、図 1 のような推移を示した。2 症例ともに LH-RF 投与後血中 LH は著明な上昇を示し、30 分後には peak に達し以後漸次減少したが、血中 hCG は本法の β -subunit hCG の Radioimmuno-

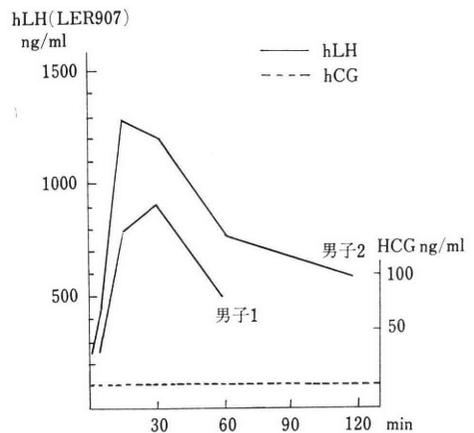


図1 LH-RF 投与後の血中 hLH, hCG 値の推移

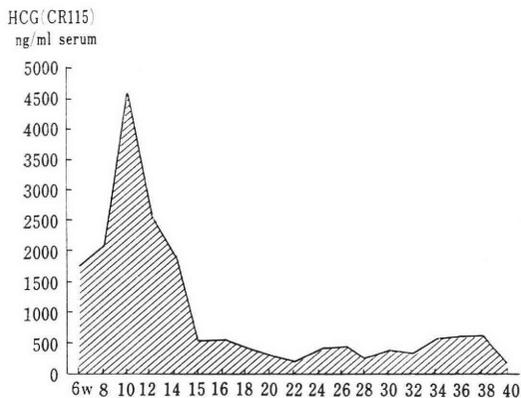


図2 正常妊娠6~40週の血中 hCG 値の推移

assay では全く検出不能であつた。hCG の β -subunit の Radioimmunoassay における Standard curve を作製すると、この測定系においては0.5~50ng の間で直線的用量曲線を得ることが出来た。

正常妊娠6~40週における血中 hCG 値の推移を図2に示した。血中 hCG 値は妊娠6週では1,500~2,000 ng/ml 前後とすでに極めて高値を示し、妊娠10週前後で4,550ng/ml と peak となり、15週以後は次第に減少し個々の症例で500~1,000ng/ml の間を上下し、妊娠末期の34~38週にやや上昇し、分娩直前に再び減少した。妊娠全期を通じての特徴は、妊娠初期とくに10週前後に血中 hCG 値が最も高い値を示すことで、妊娠中期および後期における血中 hCG 値に比較すると極めて対照的であつた。

正常妊娠における血中 hCG 値の推移と比べて、流産、死産、異常妊娠などにおける血中 hCG 値の変動を各症例ごとに示すと以下の如くであつた。

症例1は、40歳、2回経産で強度の腹痛を主訴として緊急入院をし、最終月経より無月経5週、尿中の妊娠反応(+), Douglas 窩穿刺にて比較的 fresh な血液が認められ、妊娠5週、子宮外妊娠の診断で即日手術施行したものである。術後診断は左卵巣妊娠であり、左卵巣切除術を行なつた。この症例における血中 hCG の変動を術前および術後1, 3, 5日目について図3に示した。術前では血中 hCG 値2,900ng/ml の高値であつたが、術後では1日目1,000ng/ml, 3日目520ng/ml, 5日目330ng/ml と顕著な hCG 値の減少が見られた。

症例2は、36歳、3回経産で症例1と同様に腹痛を訴え緊急入院、妊娠12週で内診にて右付属器に強度の圧痛があり Douglas 窩穿刺にて腹腔内出血を認めた。妊娠12週、子宮外妊娠の診断の下に即日手術を施行、術後診断は右卵管流産で右卵管切除術を行なつた。この症例における血中 hCG 値は、図4の如く術前1,640ng/ml で

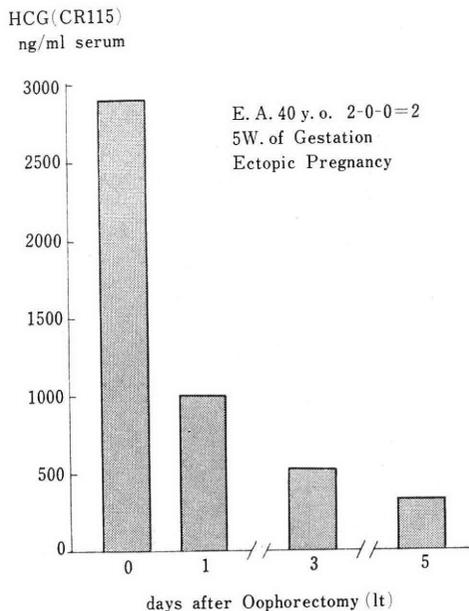


図3 子宮外妊娠(症例1. 卵巣妊娠)の血中 hCG 値

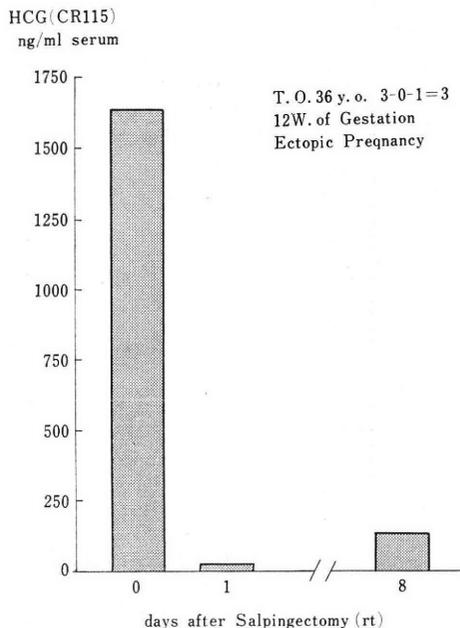


図4 子宮外妊娠(症例2. 卵管妊娠)の血中 hCG 値

あつたものが、術後1日目には23ng/ml と急激な減少を示した。

症例3は、33歳、2回経産で正常妊娠7週であつたが、気管支喘息のため人工妊娠中絶を施行したものである。術前および術後1, 3, 5日目における血中 hCG

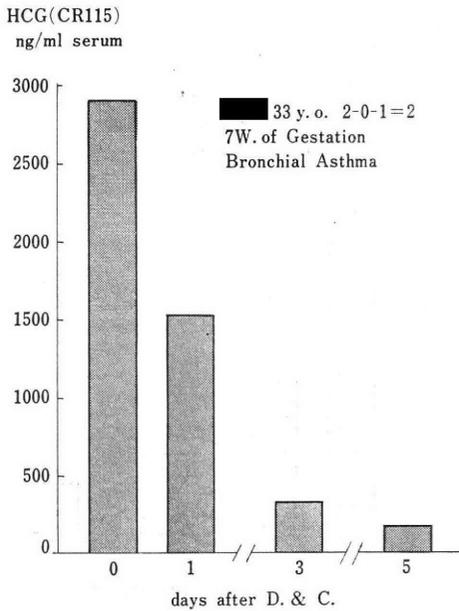


図5 人工妊娠中絶(症例3)の血中 hCG 値

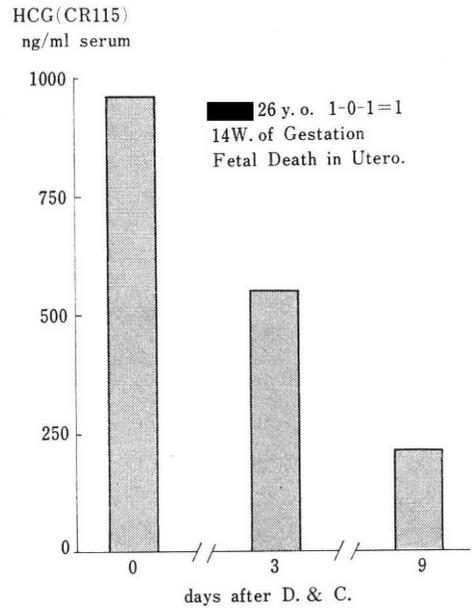


図7 陳旧性の子宮内胎児死亡(症例5)の血中 hCG 値

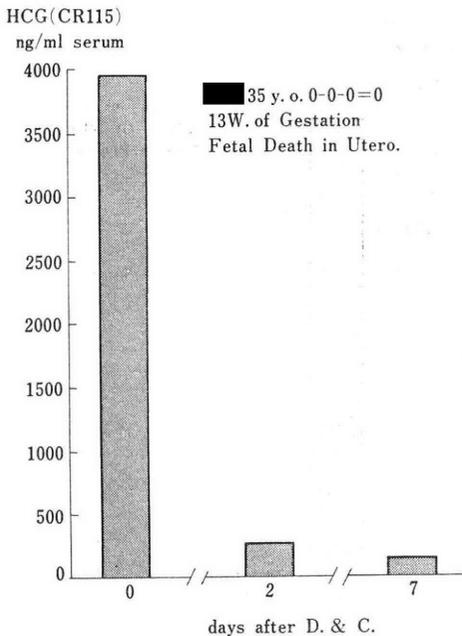


図6 子宮内胎児死亡(症例4)の血中 hCG 値

値の変動は図5の如くである。術前には hCG 値 2,900 ng/ml の高値を示したものが、術後1日目1,520ng/ml、3日目320ng/ml、さらに5日目に至つては164ng/ml と血中の hCG 値が着実に減少していく様子が観察せられた。ここでは術後5日間を経過しても低値ながら血中の hCG の測定が可能であつた。

症例4は、35歳、初めての妊娠で、性器出血および中等度の腹痛を伴つて外来を訪れ、ドップラー胎児心音計にて心音聴取不能、尿中の妊娠反応(-)、妊娠13週、子宮内胎児死亡の診断の下に子宮内容除去術を施行したものである。この際に子宮口は閉じておりヘガールによる頸管拡張を必要としたが、子宮内容物には卵膜に包まれた胎児が認められ、臨床的に比較的新しい時期の子宮内胎児死亡と思われた。血中 hCG 値の変動を図6に示したが、術前 3,960ng/ml の高値であつたものが、術後2日目には 260ng/ml と急激な減少が見られ、術後7日目には150ng/ml と測定された。

症例5は、26歳、1回経産で2、3日前より性器出血があり軽度~中等度の腹痛が持続したため外来を訪れたものである。症例4と同じくドップラーにて胎児心音聴取不能、尿中の妊娠反応(-)で妊娠14週、子宮内胎児死亡の診断にて子宮内容除去術を施行した。内診時の性器出血はやや暗赤色で凝血塊を伴つており、また手術施行の際子宮口はほぼ完全に開大しておりヘガールの頸管拡張器も #12 が殆ど抵抗なしに挿入出来る程であつて、臨床的に陳旧性の子宮内胎児死亡と思われた。子宮内容物には胎児、脱落膜および絨毛を認めた。図7に血中 hCG 値の推移を示したが、術前でも hCG 値は 960 ng/ml とすでに極めて低い値を示し、以後は術後3日目 550ng/ml と減少し9日目212ng/ml と測定された。

考 案

妊娠の早期診断や子宮外妊娠の補助的診断、さらには絨毛性腫瘍患者の管理等において hCG の分泌動態を知ることが患者管理のうえからも極めて重要な位置を占めている。しかし従来の hCG の測定法では bioassay にしろ immunoassay にしろ下垂体前葉より分泌される LH の影響を受け、微量の hCG の正確なる変動値の追求が困難となっていた。Vaitukaitis et al. (1972) はこの問題を解決し、LH とは免疫学的交叉性のない hCG のみに特異性の高い hCG の β -subunit の Radioimmunoassay を開発したが、以来本邦においてもこの測定法が、磯島 et al. (1973)、足高 et al. (1974)、牧野 et al. (1975) らによつて試みられている。本研究においても、LH-RF が下垂体前葉より有意に LH および FSH を放出することを利用して、0.1mg の合成 LH-RF を正常男子に静注投与したが、血中 LH 値は投与後 15~30 分後に有意に上昇したにもかかわらず、血中 hCG 値は本法の β -subunit の Radioimmunoassay によれば同一資料より検出不能であり、本法によれば血中 LH の干渉を全く受けないかあるいは無視し得る程度に僅かであることを証明するものと思われる。

正常妊娠 6~40 週における hCG 値の推移は、妊娠の比較的初期と中期~後期との間に有意の差が見られる。すなわち、血中 hCG 値はすでに妊娠 6 週頃より極めて高い値 1,500~2,000ng/ml 前後を示し、妊娠 10 週前後で 4,550ng/ml と最高値となり、妊娠 15 週以後は極めて低値を示している。また妊娠末期の 34~38 週にかけて血中 hCG 値は再びやや上昇する傾向が見られ、分娩直前に再度下降するというパターンを示している。本法の β -subunit hCG の Radioimmunoassay により測定された妊娠全期にわたるこのような血中 hCG 値の変動は、従来の bioassay および immunoassay により測定された血中 hCG の変動状態とほぼ一致しており、妊娠過程の全期にわたる血中 hCG 値の質動パターンはほぼ上記のようなものと思われる。しかし妊娠全般にわたるこのような hCG 値の消長や妊娠 10 週前後に hCG 値の peak があることは、Syncytiotrophoblast よりの hCG 産生、分泌の生物学的 mechanism の問題とからんで様々に指摘されているが、それがどのようなものであるかは現在なお解明されていない。

正常分娩後における血中 hCG 値の推移に関しては、牧野 et al. (1975) によつて経日的に観察されておりその濃度は分娩後次第に減少する傾向が見られているが、分娩後 3~5 日目においてもなお低値ながら過半数の症例で血中 hCG 値の測定が可能となっている。

流産および異常妊娠各症例における血中 hCG 値の変動を、正常妊娠および分娩後のそれと比較分析するといくつかのことが導き出せると思われる。まず、進行流産と思われる症例以外では、妊娠形態のいかんにかかわらず子宮外妊娠に関しても、血中 hCG 値は通常の妊娠状態とほぼ同様の変動を示すことが認められる。症例 1~4 までは個々に多少のばらつきは見られるものの、術前における血中 hCG 値は正常妊娠時の各妊娠週数の値とほぼ一致していると思われる。また、子宮外妊娠における手術、流産の際の子宮内容除去術などいかなる方法によつても、妊娠状態を取り除くことによつて血中 hCG 値は急激に減少することが確認された。特に正常妊娠と思われる例で人工妊娠中絶を施行した症例 3 の場合では、術後着実に血中 hCG 値が減少していく様子が観察されている。

正常分娩後の血中 hCG 値の経日的推移と進行流産および人工妊娠中絶の術後の変動を比較してみると、妊娠状態が除去された後は血中 hCG 値の急激な減少が一致して見られるだけではなく、術後 5 日目にも血中にて微量の hCG が測定可能である。これらのことは血中 hCG 値の半減期が極めて長いということを示唆するものと思われる。

子宮内胎児死亡が明らかな進行流産の場合は、時期的に新鮮な症例 4 と陳旧性と思われる症例 5 の血中 hCG 値を比較すると明らかに有意の差が認められる。特に、陳旧性の子宮内胎児死亡の場合は同じ正常妊娠時期の血中 hCG 値と比較して半分以下の値を示している。胎児死亡が起きたと思われる時期よりかなり時間が経過すると、正常妊娠の場合と比べ血中 hCG 値レベルは相当低値を示すようである。

切迫流産兆候が見られる妊娠初期の患者管理に際して、その予後を見極めることの困難さは日常診療上よく経験することである。出血、腹痛などの症状が強くなっていくような症例では殆どの場合進行流産へと移行していくことが多く、どの時点でいわゆる真の子宮内胎児死亡が起きているのかは生体外から窺い知ることは現在のところ不可能であり、また原因も不明な場合が多い。しかし、一方では性器出血がかなり長期にわたつてだらだらと続いている場合でも、妊娠状態が持続され正常分娩まで到達する case も決してまれではなく、妊娠維持の mechanism に演じている主役は今もつて解明されていない。

切迫流産の進行、予後判定に関しては、hCG 以外にも血中の Progesterone 値の変動も 1 つの重要な指標になるものと思われ、臨床的に簡便かつ有効な判定材料の 1 つとして基礎体温 (BBT) の推移も注意を払う必要が

あると思われる。また異常妊娠の1つである絨毛性腫瘍の場合の血中 hCG 値に関しては、正常妊娠のそれと比べ異常な高値を示すものもあるが一方殆ど値に差が見られない症例もあり、血中 hCG 値が高値を示さないからといってそれが直ちに絨毛性腫瘍を否定する根拠にはなり得ない場合があり、いずれにしても妊娠初期の状況判断には総合的検索による慎重なアプローチが望まれる。

本研究における典型的な症例のみを抜き出した血中 hCG 値の変動を見る限りにおいては、切迫流産等では症状発現の強弱とあいまつて一旦血中 hCG 値が正常時に比べ相当低値を示す場合は妊娠維持は極めて難かしいと思われ、また治療に関しては症状が始めたら出来る限り早い治療を施行すること、さらに正常妊娠初期の血中 hCG 値と比較して、切迫流産時の HCG 療法については相当高単位の HCG 投与をしなければ治療効果は余り期待出来ないのではないかと推定される。これらに関してはなお多くの症例について検討する必要があると思われ、また浅井(1976)の報告にもあるが日常診療上で検体採取の容易な尿中 hCG 測定は、血中のそれとらんで絨毛性腫瘍管理のみならず切迫流産、その他異常妊娠等にも極めて有効と思われる。

血中 LH の干渉を受けない hCG の β -subunit の Radioimmunoassay は、血中 hCG 値の変動によつて妊娠状態を生体外から判定し得るようになる可能性を秘めており、今後 human reproduction の重要なアプローチ方法の1つになり得ると思われる。

おわりに

ヒトの LH との免疫交叉性がなく、胎盤の human chorionic Gonadotropin (hCG) のみに特異性の高い hCG の β -subunit の Radioimmunoassay を用いて、正常妊娠の妊娠全期にわたる血中 hCG 値、分娩後の血中 hCG 値、さらに流産、死産、異常妊娠時の血中 hCG 値を測定しこれらと比較、検討した。正常妊娠 6~40 週では妊娠 10 週間後に peak が存在し妊娠 15 週以降はやや低値を示すが、妊娠 34~38 週に再び上昇を示すパターンが得られた。進行流産、人工妊娠中絶、また分娩後では妊娠状態の除去と共に速かに血中 hCG 値は減少するが、5 日目でも血中で測定可能であり hCG の血中半減期の長いことを示した。

子宮内胎児死亡の進行流産の症例では、臨床的に陳旧性と新鮮な場合に血中 hCG 値に有意の差が認められた。子宮外妊娠の例では術前に正常妊娠群の血中 hCG 値と有意差が見られなかった。

血中 LH の干渉を受けない hCG の β -subunit の Radioimmunoassay は、絨毛性腫瘍管理、切迫流産の

予後判定、異常妊娠の早期診断等の human reproduction のアプローチの1つとして今後役立つと思われる。

文 献

- 1) Swaminathan, N. and Bahl, O. P.: Dissociation and Recombination of the Subunits of Human Chorionic Gonadotropin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 40 : 422, 1970
- 2) Morgan, F. and Canfield, R. C.: Nature of the Subunits of Human Chorionic Gonadotropin, *Endocrinology* 88 : 1045, 1971.
- 3) 飯塚理八: 着床の研究, 第23回日本産科婦人科学会総会宿題報告, 東京, 1971.
- 4) Vaitukaitis, J. L., Braunstein, G. D. and Ross, G. T.: A radioimmunoassay which specifically measures human chorionic gonadotropin in the presence of human luteinizing hormone, *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 113 : 751, 1972.
- 5) 三宅 侃, 山地建二, 青野敏博, 谷沢 修, 倉智敬一: HCG- β -subunit の測定に関する研究, *日産婦誌*, 26 : 63, 1974.
- 6) 足高善彦, 遠藤善則, 西村隆一郎, 東條伸平: 125 I-hCG の subunit への分離, *日産婦誌*, 26 : 403, 1974.
- 7) Ashitaka, Y., Nishimura, R., Endoh, Y. and Tojo, S.: Subunits of Human Chorionic Gonadotropin and their Radioimmunoassays, *Endocrinol. Japon.* 21 : 429, 1974.
- 8) Ashitaka, Y., Nishimura, R., Futamura, K., Ohashi, M. and Tojo, S.: (Rapid Communication) Serum and Chorionic Tissue Concentrations of Human Chorionic Gonadotropin and Its Subunits During Pregnancy, *Endocrinol. Japon.* 21 : 547, 1974.
- 9) Pastoride, G. B., Goldstein, D. P. and Kosaka, T. S. The use of a radioimmunoassay specific for human chorionic gonadotropin in patients with molar pregnancy and gestational trophoblastic disease, *Amer. J. Obstet. Gynec.* 120 : 1025, 1974.
- 10) 牧野恒久, 大野虎之進, 椎名正樹, 飯塚理八, 玉置文一: β -subunit hCG の Radioimmunoassay によるヒト着床期より分娩後にいたる血中 hCG の動態, *日産婦誌*, 27 : 373, 1975.
- 11) Dattatreya-murty, B., Sheth, A. R., Joshi, L. R. and Rao, S. S.: Changes in the ratio between serum and "specific" levels of human chorionic gonadotropin in different trimesters of pregnancy, *Amer. J. Obstet. Gynec.* 121 : 300, 1975.
- 12) Catt, K. J., Dafau, M. L. and Vaitukaitis, J. L.: Appearance of hCG in Pregnancy Plasma following the initiation of implantation of the blastocyst, *J. Clin Endocrinol.*

Metab., 40 : 537, 1975.

- 13) 友田 豊, 浅井保正, 三輪忠人, 佐迫明彦, 石塚直隆, 青木孝充: 抗 β -subunit hCG 血清を用いた尿中および血清中 hCG の Radioimmunoassay, ホと臨床, 24 : 345, 1976.
- 14) 浅井保正: 絨毛性腫瘍管理に於ける β -subunit hCG system による尿中 hCG 測定の意義, 日産婦誌, 28 : 703, 1976.

Case studies on Serum levels of Human chorionic gonadotropin (hCG) Secretion in Various pregnancies measured by β -subunit HCG radioimmunoassay

**Yuji Kawaguchi, Tsunehisa Makino,
Masazumi Akatsuka, Toranoshin Ohno
and Rihachi Iizuka**

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

By using radioimmunoassay for β -subunit human Chorionic Gonadotropin (hCG), which specifically measures hCG in serum samples containing both human Luteinizing Hormone (hLH) and hCG, serum levels of hCG secretion were determined in normal and abnormal pregnant women. Typical abnormal cases such as ectopic pregnancy, intrauterine fetal death and others were compared with normal cases. The results were as follows:

1) In normal pregnancy from 6th to 40th gestational week, the values of serum hCG revealed already significantly high level at 6

weeks of gestation. The highest levels of serum hCG were obtained around 10 weeks of gestation, then the values decreased gradually after 15 weeks of gestation and slightly increased from 34 to 38 weeks of gestation and fell again to the term.

2) Serum levels of hCG decreased immediately after normal child delivery, surgical operation for ectopic pregnancy and intrauterine fetal death. However, serum hCG was still detectable about 120 hours after removal of chorionic villi or placenta, indicating that the half life of this hormone in circulatory blood is longer than that of other pituitary gonadotropins.

3) Serum levels of hCG among any type of ectopic pregnancy were found no significant difference in comparison with those of normal pregnancy.

4) Serum hCG values in intrauterine fetal death of missed abortion were less than the half values in the normal pregnancies. However, serum levels of hCG in the earlier case of intrauterine fetal death were found no significant difference as compared to those of normal pregnancies.

Since the assay system for hCG is highly specific and immunocrossreaction with hLH may be negligible, there can be possibility for earlier diagnosis of normal and abnormal pregnancy by applying for this specific radioimmunoassay for hCG, and it could be utilized for further studies in human reproduction.

排卵誘起作用を指標とする LH-RH の Bioassay 法

LH-RH Bioassay with a Parameter of Ovulation-Induction in the Diestrous Rat

武田薬品工業株式会社中央研究所医薬研究所
山崎 巖 中川 秀和
Iwao YAMAZAKI Hidekazu NAKAGAWA
吉田 啓司 中山 亮
Keiji YOSHIDA Ryo NAKAYAMA

Medicinal Research Laboratories, Central Research Division,
Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan

LH-RH の生物活性を総合的かつ簡便に検定する方法を確立するため、intact ラットにおいて LH-RH による排卵誘起の条件を検討し、次のごとき成績を得た。

1. diestrous ラットに LH-RH を単回皮下投与すると、自然排卵よりも1日早く排卵が誘起された。
2. LH-RH の用量の対数と排卵率の Probit との間に良好な直線関係が認められ、これより50%排卵誘起量 (ED₅₀) を計算し、LH-RH の生物活性の指標とした。回帰直線の勾配は急であり、また ED₅₀ の95%信頼限界幅は比較的狭く、高い精度であつた。2年10カ月の期間において同一 lot の LH-RH について assay したが、再現性は良好であつた。
3. LH-RH の投与量は、動物当りで用いるよりも体重当りで用いる方が排卵誘起率の変動が少なかつた。

以上の成績からみて、intact diestrous ラットに LH-RH を投与して誘起される排卵を指標とした検定法は LH-RH の生物活性を総合的に把握するのに適した、すぐれた方法であると考えられる。

緒 言

視床下部の黄体化ホルモン放出ホルモン (LH-RH) のアミノ酸配列が decapeptide amide であることが発表され¹⁾これが合成されるようになって²⁾以来、臨床的に十分な効果をあげうる高活性誘導体を求めて多数の誘導体が合成され、それらの構造-活性相関が検討されてきた。

従来より LH-RH の bioassay 法として、卵巣摘除-エストロゲン、プロゲステロン前処置ラット^{3,4)}に検体を注射し、一定時間後の血中 LH あるいは FSH を radioimmunoassay (RIA) などにより測定する in vivo 法と、下垂体組織片の incubation 時に検体を加え、medium 中に放出された LH あるいは FSH を bioassay あるいは RIA で測定する in vitro 法^{5,6)}が広く一般に用いられている。しかし前者の方法では、す

で報告されているように^{7,8)} LH-RH と異なつた経時的パターンで下垂体から LH あるいは FSH を放出させるような誘導体の場合にはその活性を的確にとらえることができず、後者の方法は生体内の条件とは大きく異なつており、さらに dose-response curve の傾斜が緩く、測定値の信頼度が低い。またこれら2つの方法はいずれも2段階の実験操作を組合せて行なうので、測定誤差が大きくなる可能性がある。したがつて、LH-RH およびその誘導体の生物活性を総合的に把握し、操作がより簡便で信頼度の高い bioassay 法の開発が望まれる。これらの条件を満たすものとして、下垂体から放出された gonadotrophin の総合的な作用を反映する排卵現象を指標とする方法が考えられる。

Campbell et al⁹⁾は1961年にウサギまたは去勢雄牛の視床下部抽出物をウサギの下垂体前葉に灌流して排卵を

誘起せしめたが、これが LH-RH による排卵誘起の最初の報告である。その後 Nikitovitch-Winer¹⁰⁾ は pentobarbital で自然排卵を block したラットに牛またはラットの視床下部抽出液を灌流し、また Arimura et al.¹¹⁾ は同様のラットに豚視床下部抽出液を頸動脈内に投与して排卵を誘起せしめた。さらに Arimura et al.¹²⁾ は pentobarbital で自然排卵を block した golden hamster に合成 LH-RH を皮下投与して排卵を誘起せしめた。

著者らは自然排卵抑制剤を用いないで diestrous ラットに合成 LH-RH を投与して、自然排卵より 1 日早く排卵を誘起せしめる方法を検討し、精度および再現性がよく、操作が簡便な bioassay 法を設定することができたので、以下に報告する。

材料および方法

動物：日本クレア社から S. 46 年 10 月～50 年 10 月にわたって購入した Sprague-Dawley 系成熟雌ラットで、120～150 日齢、体重は、一部の実験を除いて、250～330g のものを用いた。これらの動物は空調した飼育室(温度 24±1°C、湿度 50～60%) 内で 7:30～21:30 の 1 日 14 時間照明下で、市販の固形飼料 CE-2 (日本クレア社製) および水を自由摂取させ、実験に使用前少なくとも 4 週間この環境に馴化させて飼育した。これらのラットの腔垢を毎朝検査し、規則的な 4 日性周期を少なくとも 2 回以上連続して反復した固体のみを用いた。

排卵検査：検体投与翌日 9:00～11:00 の間にラットをクロロフォルムガスを用いて屠殺し、卵管を摘出してこれを 2 枚のスライドガラス間に圧平して、微分干涉顕微鏡を用いて卵管内の卵を検査した。卵管膨大部内に顆粒細胞の付着した卵が 1 個以上存在した個体を反応陽性とし、50% の動物に排卵を誘起させる検体量 (ED₅₀) を Finney の Probit 解析法¹³⁾ を用いて計算した。

合成 LH-RH：当研究所藤野¹⁴⁾ によって合成され

た。合成 LH-RH は合成後凍結乾燥したのみでは種々の程度に水分を含んでいるが、これを 50°C で 3 時間以上減圧乾燥すると恒量状態になるといわれている(藤野ら：私信)。著者らは合成 LH-RH (TAP-002) を上記条件下で乾燥し排卵誘起 ED₅₀ 量をしらべたところ、見かけ上約 40% 活性が上昇した。したがって、サンプル秤量直前に上記の条件下で乾燥することが必要前提条件と考えられ、著者らは各 LH-RH 検体を秤量直前に毎回いずれも 50°C 5 時間減圧乾燥し実験に用いた。検体の溶媒としては 0.1%、牛血清アルブミン(和光純薬社製)、20 単位/ml トラジロール® (バイエル社製) および 0.01N 塩酸を含む生理食塩水を用い、検体の所用量が溶液の 0.1ml/100g 体重投与されるように調製した。調製した検体は速やかに使用したが、保存する必要がある場合には -20°C に凍結し、一旦これを融解使用後は廃棄した。

実験成績

I. 性周期の各 stage の intact ラットに対する

LH-RH の排卵誘起作用

性周期の各 stage のラット 1 群 5 匹ずつに LH-RH (TAP-002) 1 μg/100g 体重を 14:30 に単回皮下投与後の排卵成績を Table 1 に示す。卵管膨大部内に顆粒細胞の付着した排卵後間もないと考えられる卵 “fresh ova” が認められたのは proestrus および diestrus に LH-RH を投与された群のみであった。proestrus に LH-RH を投与された群の卵数は自然排卵卵数と差がなく、この排卵が LH-RH 投与によって起つたものか、自然排卵によつたものかを判別することはできなかった。diestrus に LH-RH を投与された群の卵数は自然排卵卵数よりも少なかったが、この群の排卵検査の日は自然排卵日の前日に当るので、LH-RH により排卵が 1 日早く誘起されたものと判断される。estrus または metestrus に LH-RH を投与された群では卵管膨大部

Table 1 Ovulation following subcutaneous administration of LH-RH at various estrous stages of the rat

Stages of estrous cycle at the administration	“Fresh” ova (in the ampulla)		“Shed” and “cleft” ova (in the lower part than ampulla)	
	No. of rats ovulating / No. of rats examined	No. of ova in ovulating rats (Mean ± S.E.)	No. of rats ovulating / No. of rats examined	No. of ova in ovulating rats (Mean ± S.E.)
Proestrus	5/5	14.6 ± 0.7	0/5	—
Estrus	0/5	—	5/5	9.4 ± 0.9
Metestrus	0/5	—	5/5	7.4 ± 1.7
Diestrus	5/5	6.2 ± 1.2	0/5	—

The subcutaneous dose of LH-RH, (TAP-002), 1 μg/100 g body weight, was given at 14:30.

Table 2 Changes in the ovulation-inducing effect of LH-RH according to the injection time in the diestrous rat

Time of injection	LH-RH* 150ng/100g body wt.		LH-RH* 300ng/100g body wt.	
	No. of rats ovulating /No. of rats examined	No. of ova in ovulating rats (mean±S.E.)	No. of rats ovulating /No. of rats examined	No. of ova in ovulating rats (mean±S.E.)
12:30	1/8(12.5%)	1	4/11(36.4%)	4.8±2.3
14:30	0/8 —	—	2/11(18.2%)	4.5±1.5
16:30	1/8(12.5%)	4	2/10(20.0%)	5.5±4.5
18:30	4/8(50.0%)	3.5±1.3	7/10(70.0%)	3.4±1.1
20:30	0/9 —	—	5/10(50.0%)	5.0±1.4

* LH-RH (TAP-002) was injected subcutaneously.

Table 3 Dose-response relationship in the induction of ovulation by the subcutaneous administration of LH-RH in the diestrous rat

Dose of LH-RH (ng/100g b.w.)	14:30*	18:30*
50	0/10(0.0%)	0/10(0.0%)
100	0/10(0.0%)	3/10(30.0%)
150	4/10(40.0%)	7/10(70.0%)
200	6/10(60.0%)	7/10(70.0%)
300	11/15(73.3%)	9/10(90.0%)
400	9/10(90.0%)	9/9(100.0%)
ED ₅₀ (95% fiducial limits) (ng/100 g b.w.)	197(153~245)	142(102~181)

N/N: No. of rats ovulating/No. of rats examined.

*: LH-RH(TAP-023, lot 5) was administered at 14:30 or 18:30. on the day of diestrus.

内に排卵直後の fresh ova は認められず、これより下部に、顆粒細胞がなく卵分割の起つている卵“shed and cleft ova”が認められ、これらは LH-RH 投与前に自然排卵によつてすでに排卵されていた卵であると判断された。したがつて intact ラットの排卵誘起作用により LH-RH 活性を assay するには diestrous ラットを用いるのが適当と考えられる。

II. diestrous ラットにおける LH-RH 投与時刻の検討

diestrus の日の 12:30~20:30 の間の種々の時刻に LH-RH (TAP-002) の 150 または 300ng/100g 体重を単回皮下投与後誘起された排卵の成績を Table 2 に示す。いずれの用量でも 18:30 投与では他の投与時刻よりも高い排卵率(排卵動物数/実験動物総数)が認められたが、12:30, 14:30 ならびに 16:30 投与ではほぼ一致した成績であつた。

III. LH-RH による排卵誘起の用量反応

LH-RH (TAP-023, lot 5) を diestrous ラットに 14:30 または 18:30 に単回皮下投与した場合の誘起排卵の用量反応成績は Table 3 に示すごとくである。いずれの投与時刻においても排卵率に良好な用量反応関係がみられ、用量の対数 (X) と排卵率の Probit (Y) との間には直線関係が認められ、回帰はそれぞれ $Y=4.3 \times -4.8$ および $Y=4.0 \times -3.7$ となつた。50% 排卵誘起量 (ED₅₀) はそれぞれ 197 (153~245, $p=0.05$) および 142 (102~181, $p=0.05$) ng/100g 体重であり、18:30 投与の方が 14:30 投与よりも高い反応を示した。いずれも 95% 信頼限界幅は比較的狭く、精度が高いことが示された。以上の実験成績より投与時刻の多少のずれに影響されず安定した反応が得られると思われる投与時刻として 14:30 をえらび、以下の実験はすべてこの投与時刻で行なつた。

IV. LH-RH 投与量の体重当り投与と動物当り投与の比較

通常用いている日齢 (120~150 日齢) のラットのうちで体重の小さな個体 (240~280g) と体重の大きな個体 (320~360g) をえらび、各々の群に前記と同様にして LH-RH (TAP-023, lot 10) を体重当りまたは動物当りで皮下投与して誘起排卵反応を比較した成績を Table 4 に示す。体重当り投与では、体重の小さい群と大きい群の ED₅₀, それぞれ 166 および 183ng/100g 体重間には有意差は認められなかつた。これに反して動物当り投与のこれら 2 群の ED₅₀, それぞれ 416 および 633ng/rat 間には有意差が認められた。したがつて、この assay 系においてラットの体重幅を極めて狭い範囲に限つて用いることの困難な条件下では体重当りで投与するのが妥当である。

V. 再現性

同一 lot の LH-RH (TAP-023, lot 5) を実験 1 では冬季 (1972 年 12 月)、実験 2 では夏季 (1973 年 7 月)、および実験 3 では秋季 (1975 年 10 月) にこの方法で

Table 4 Differences in ovulating effect of LH-RH (TAP-023, lot 10) between the dose administered per body weight and per rat

Body weight range of rats	Dose (ng/100g body wt.)	No. of rats ovulating /No. of rats examined	Dose (ng/rat)	No. of rats ovulating /No. of rats examined
240~280 g	100	0/5	300	2/10
	150	5/15	450	7/13
	200	8/10	600	9/10
	300	5/5	900	5/5
	ED ₅₀ =166(138~201, p=0.05)		ED ₅₀ =416(319~503, p=0.05)	
320~360 g	100	0/5	300	0/5
	150	4/16	450	1/13
	200	3/5	600	5/10
	300	6/6	900	6/7
	ED ₅₀ =183(154~245, p=0.05)		ED ₅₀ =633(536~839, p=0.05)	
	Potency ratio=0.91(0.70~1.14, p=0.05)		Potency ratio=0.65(0.48~0.83, p=0.05)	

LH-RH was administered subcutaneously at 14~30.

Table 5 Reproducibility in ovulation-inducing effect of the same lot of synthetic LH-RH

Experiment No.	Dose of LH-RH (ng/100g body weight)					ED ₅₀ (95% fiducial limits) (ng/100g body weight)
	100	150	200	300	400	
1	0/10	4/10	6/10	11/15	9/10	197(153~245)
2	1/10	4/10	10/20	10/10		180(148~217)
3	0/10	3/10	10/20	17/19		194(164~224)

LH-RH (TAP-023, lot 5) was administered subcutaneously at 14:30.

Time interval between Experiments 1 and 2 was about 7 months, and that between Experiments 2 and 3 was about 27 months.

Table 6 Ovulation inducing effect of various lots of synthetic LH-RH in the diestrous rat administered subcutaneously at 14:30

Lot No. of LH-RH	Dose (ng/100g body weight)						ED ₅₀ (95% fiducial limits) (ng/100g body weight)
	50	100	150	200	300	400	
TAP-002		1/15		3/20	14/20	18/20	252(212~293)
TAP-023 lot 1		0/5		6/9	6/9	8/10	200(78~284)
" lot 2	0/10	2/10	5/10	7/10	10/14	10/10	164(123~210)
" lot 3				1/10	5/10	9/10	206(173~249)
" lot 4			1/10	4/10	5/10	6/8	275(207~459)
" lot 5		0/10	4/10	6/10	11/15	9/10	197(153~245)
" lot 6		1/10		7/15	5/10	7/10	255(182~359)
" lot 7		1/9	5/10	7/10	7/9	5/5	166(118~215)
" lot 8		4/10	6/10	10/10	10/10		117(67~145)
" lot 10		0/10	2/10	6/10	9/10		191(160~234)
" lot 11		0/10	4/10	8/10	5/5		163(137~196)

assay を行ない、再現性をしらべた成績を Table 5 に示す。各々の ED₅₀ 値は197, 180および194ng/100g 体重であつて、相互間には有意差は認められず、再現性は良好であつた。

VI. 種々の lot の合成 LH-RH の活性比較

当研究所で合成された11 lots の LH-RH のこの assay 系による活性測定値の変異をしらべた実験成績を Table 6 に示す。最も高い活性が認められた TAP-023 lot 8

の $ED_{50}=117\text{ng}/100\text{g}$ 体重は最も低い活性が認められた TAP-023 lot 4 の $ED_{50}=275\text{ng}/100\text{g}$ 体重の 2.4 (1.7~4.2, $p=0.05$) 倍の活性であつた。これら 11 lots の ED_{50} の平均値±標準偏差は $199\pm 47\text{ng}/100\text{g}$ 体重であつた。

考 察

排卵抑制剤を用いない intact ラットに diestrus の日の 14:30 に LH-RH を単回皮下投与して自然排卵よりも 1 日早く誘起される排卵を観察する方法を用いて、精度ならびに再現性がよく、操作簡便で、LH-RH の下垂体 gonadotrophin 放出作用を総合的に把握することができる assay 法を設定した。排卵率を指標とした assay の性質上、再現性は LH-RH に対するこのラットの strain 内の個体の感受性のばらつき状態と strain 全体の平均感受性が長期間にわたって一定であることに依存しているが、今回行なわれた実験では 2 年 10 カ月間に 3 回の実験を行なつて良好な再現性が認められた。感度に関しては、著者らが卵巣摘除—エストロゲン、プロゲステロン前処置ラット (OEP ラット) を用いて合成 LH-RH 投与後の血中 LH 濃度を測定した成績 (in preparation) では LH-RH $0.5\text{ng}/100\text{g}$ 体重で有意な上昇が認められたことから、今回報告した排卵誘起法は OEP ラットを用いた方法の約 $1/200$ と低感度であるので微量の LH-RH を検出する方法としては不適である。しかし前述のように精度ははるかに高いので、合成 LH-RH 誘導体の下垂体 gonadotrophin 放出活性の比較のように、検体を比較的多量使用し得る場合には適した方法と考えられる。

estrus または metestrus の intact ラットに LH-RH を投与した群に認められた卵管下部の “shed and cleft ova” は石橋¹⁵⁻¹⁷または著者ら¹⁸が報告しているように、前回の自然排卵時の卵であつて、LH-RH 投与によつて起つたものではないと考えられる。

Okamoto and Nobunaga¹⁹ は Wistar-Imamichi 系のラットを用い、metestrus の日に合成 LH-RH 3.2 および $6.4\mu\text{g}/\text{rat}$ を皮下投与することによりそれぞれ 5 例中 1 例および 5 例全例に排卵が誘起されたことを報告している。しかし今回の実験成績からは著者らが用いた系統のラットでは LH-RH によつて排卵は認められなかつた。そこでさらに LH-RH の高用量を投与してしらべたところ、第 1 回の実験において 14:30 投与では $200\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重までの用量で排卵が認められず、18:30 投与では $100\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重で 5 例中 1 例のみに排卵が認められた。第 2 回の実験では 14:30 に $50\mu\text{g}$ および $500\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重投与でそれぞれ 5 例中 2 例および 5 例

中 1 例に排卵が誘起されたが、 $100\mu\text{g}$ および $1,000\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重では排卵が認められなかつた。これらの成績と上記の Okamoto and Nobunaga¹⁹ の成績との相違は用いた系統のラットの metestrus における LH-RH に対する感受性の相違に起因するものと考えられる。

diestrus の日の 18:30 に LH-RH を投与した場合では他の時刻における投与より排卵率が高い傾向が認められた (Tables 2 および 3) が、この 18:30 はこの系統のラットの著者らの照明条件下における critical period に相当している²⁰。もしこのように critical period 相当時刻投与の LH-RH の排卵誘起効果が高いものとする、まず第 1 に内因性に放出された LH との同時協力作用ということが考えられるが、血中 LH の radioimmunoassay の成績²¹⁻²⁴の示すところによると、ラットでは proestrus の日以外には spontaneous LH surge は認められていない。しかし diestrus の日のほぼ critical period 相当時刻に pentobarbital などの blocking agent を投与すると cycle の 1 日延長が認められることなど^{25,26}から proestrus 以外の日にも 24 時間周期で critical period 相当時刻あたりに LH 放出は伴わないまでも neural triggering mechanism の興奮のみは起つているらしいと推測されている。もしこの時 LH 放出には至らぬ程度の endogenous LH-RH 量が下垂体に作用しているものとすれば、これが booster として 18:30 投与の exogenous LH-RH の効果を高めるように働いたことが考えられよう。

稿を終るにあたり、合成 LH-RH の各検体を提供して下さつた藤野政彦博士ならびに同研究室の方々に感謝いたします。また御校閲を賜つた菊地慎太郎博士ならびに島本暉朗博士に深謝いたします。

なお本論文の一部は第 16 回日本内分泌学会総会 (1973 年、京都) において発表した。

引用文献

- 1) Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. G. M., Arimura, A. and Schally, A. V.: Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43: 1334, 1971.
- 2) Matsuo, H., Arimura, A., Nair, R. M. G. and Schally, A. V.: Synthesis of the porcine LH- and FSH-releasing hormone by the solid-phase method, *ibid.* 45: 822, 1971.
- 3) McCann, S. M. and Taleisnik, S.: The effect of a hypothalamic extract on the plasma luteinizing hormone (LH) activity of the estrogenized, ovariectomized rat, *Endocrinology* 68: 1017, 1961.

- 4) Ramirez, V. D. and McCann, S. M.: A highly sensitive test for LH-releasing activity: The ovariectomized, estrogen-progesterone-blocked rat, *ibid.* 73 : 193, 1963.
- 5) Mittler, J. C. and J. Meites: In vitro stimulation of pituitary follicle stimulating hormone release by hypothalamic extract, *Proc. Soc. Exper Biol. Med.* 117 : 309, 1964.
- 6) Kuroshima, A., Ishida, Y., Bowers, C. Y., and Schally, A. V.: Stimulation of release of follicle-stimulating hormone by hypothalamic extracts in vitro and in vivo, *Endocrinology* 76 : 614, 1965.
- 7) Coy, D. H., Coy, E. J., Schally, A. V., Vilchez-Martinez, J., Hirotsu, Y. and Arimura, A.: Synthesis and biological properties of [D-Ala-6, des-Gly-NH₂-10]-LH-RH ethylamide, a peptide with greatly enhanced LH- and FSH-releasing activity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 57 : 335, 1974.
- 8) Rippel, R. H., Johnson, E. S., White, W. F., Fujino, M., Yamazaki, I. and Nakayama, R.: Ovulating and LH-releasing activity of a highly potent analog of synthetic gonadotrophin-releasing hormone, *Endocrinology* 93 : 1449, 1973.
- 9) Campbell, H. J., Feuer, G., Garcia, J. and Harris, G.: The infusion of brain extracts into the pituitary gland and the secretion of gonadotrophic hormone, *J. Physiol.* 157 : 30p, 1961.
- 10) Nikitovitch-Winer, M. B.: Induction of ovulation in rats by direct intrapituitary infusion of median eminence extracts, *Endocrinology* 70 : 350, 1962.
- 11) Arimura, A., Schally, A. V., Saito, T., Müller, E. and Bowers, C. Y.: Induction of ovulation in rats by highly purified pig LH-releasing factor (LRF), *ibid.* 80 : 515, 1967.
- 12) Arimura, A., Matsuo, H., Baba, Y. and Schally, A. V.: Ovulation induced by synthetic luteinizing hormone-releasing hormone in the hamster, *Science* 174 : 511, 1971.
- 13) Finney, D. J.: *Probit Analysis*, Cambridge Univ. Press, 1952.
- 14) Fujino, M., Kobayashi, S., Obayashi, M., Fukuda, T., Shinagawa, S., Yamazaki, I., Nakayama, R., White, W. F., and Rippel, R. H.: Synthesis and biological activities of analogues of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 49 : 698, 1972.
- 15) 石橋 功: 白鼠未受精卵子の分割について, *日本畜産学会報*, 30 : 212, 1957.
- 16) 石橋 功: ラット未受精卵子の分割, 特にその細胞学的観察, *ibid.*, 32 : 291, 1961.
- 17) 石橋 功: ラット卵子の形態学的研究, 特に卵子の成熟について, *家畜繁殖研究会誌*, 15 : 1, 1969.
- 18) Yamazaki, I. and Nakayama, R.: Prevention of implantation by estrogenic compounds in reference to after-effect on the fertility, *武田研究所報*, 30 : 49, 1971.
- 19) Okamoto, M. T. and Nobunaga, T.: Induction of ovulation by synthetic luteinizing hormone releasing factor (LH-RF) in various stages of 4-day cyclic rats and mice, *Endocrinol. Japon* 20 : 619, 1973.
- 20) Yamazaki, I. and Ryo, Nakayama: Comparison of ovulation-inducing effect between estrogen and progesterone in the ovulation blocked rat by chlorpromazine, *ibid.* 19 : 175, 1972.
- 21) Monroe, S. E., Rebar, R. W., Gay, V. L. and Midgley, Jr., A. R.: Radioimmunoassay determination of luteinizing hormone during the estrous cycle of the rat, *Endocrinology* 85 : 720, 1969.
- 22) Gay, V. L., Midgley, Jr., A. R. and Niswender, G. D.: Patterns of gonadotrophin secretion associated with ovulation, *Fed. Proc.* 29 : 1880, 1970.
- 23) Danne, T. A. and Parlow, A. F.: Periovarulatory patterns of rat serum follicle stimulating hormone and luteinizing hormone during the normal estrous cycle: Effects of pentobarbital, *Endocrinology* 88 : 653, 1971.
- 24) Taya, K. and Igarashi, M.: Changes in FSH, LH and prolactin secretion during estrous cycle in rats, *Endocrinol. Japon.* 20 : 199, 1973.
- 25) Brown-Grant, K.: The effect of progesterone and pentobarbitone administered at the dioestrous stages on the ovarian cycle of the rat, *J. Endocrinol.* 43 : 539, 1969.
- 26) Okamoto, M., Nobunaga, T. and Suzuki, Y.: Delay in ovulation with pentobarbital anesthesia applied at various stages of the 4-day cyclic rat, *Endocrinol. Japon.* 19 : 11, 1972.

LH-RH Bioassay with a Parameter of Ovulation-Induction in the Diestrous Rat

**Iwao Yamazaki, Hidekazu Nakagawa,
Keiji Yoshida and Ryo Nakayama**

Medicinal Research Laboratories, Central
Research Division, Takeda Chemical
Industries Ltd., Osaka, Japan

Using ovulation-induction as a parameter, a simple and reliable bioassay method for luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) has

been established.

1. Single subcutaneous administration of synthetic LH-RH to the diestrous rat induced ovulation on the day of proestrus, i.e., one day prior to the spontaneous ovulation.

2. A linear relationship established between logarithmic doses of LH-RH and probits of frequencies in ovulating rats afforded a 50% ovulating dose (ED_{50}) available for a reasonable evaluation of the biological activity of LH-RH.

The linear regression was steep in slope and the ED_{50} was in a relatively small range of 95% fiducial limit. In addition, highly reproducible assay results were obtained in estimations on the same lot of synthetic LH-RH 2 years and 10 months apart.

3. Smaller variation in the ovulating frequency was obtained when the doses of LH-RH were administered per body weight than administered per animal.

^{125}I -Progesterone を使用した Progesterone RIA Kit の基礎的検討及び臨床応用

Basic evaluation and clinical application of ^{125}I -progesterone RIA Kit

慶応義塾大学医学部産婦人科教室

松本茂 中村幸雄

Shigeru MATSUMOTO Yukio NAKAMURA

田辺清男 飯塚理八

Kiyoo TANABE Rihachi IIZUKA

Obst. & Gyn. Dept. of Medical school Keio University

Summary

^{125}I -progesterone RIA Kit を検討して、以下を得た。

①抽出は、ether より n-hexane が望ましい。

②intraassay-C.V. は13.1%、interassay C.V. は17.9%であった。

③ ^3H -progesterone を用いた RIA に比し、本法による測定値は、約1.29倍高値を示す。

④標識化合物の比放射能が高いため、放射能測定時間が1分内と短時間で済み、100検体処理で24時間以内に終了する。

以上 本 Kit は one day assay 法として、臨床的にも充分実用性のあることが判明した。

(1) はじめに

Reproduction 領域に於て、黄体機能や胎盤機能の指標として、血中 progesterone 値の意義は大きく、その測定のルーチン化及び迅速化が広く望まれている。1971年 Abrahamら¹⁾が、deoxycorticosterone-21-BSA を抗原とした抗血清と ^3H -progesterone を使用した radioimmunoassay を報告して以来、測定法の改善は、特異性に優れた抗血清の作製に向けられてきた²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾。この結果現在ではクロマト省略法による測定が可能となり、簡便化された⁶⁾⁷⁾、標識核種として ^3H を使用の為、高価な liquid scintillation counter が必要となる。この点の改良につき、今度第一ラジオアイソトープ研究所より、広く普及している、well type γ -scintillation counter で測定可能な ^{125}I を標識 tracer とする、progesterone RIA Kit が試作された⁸⁾ので、その使用経験につき報告する。

(2) キットの内容と操作法

1) キットの内容

抗血清および progesterone- ^{125}I を用いて以下のごとき radioimmunoassay キットが作成されている。

本キットには8種類の試薬が組み合わされており、1キット100検体用である。抗血清、標準 progesterone を始めとして主な試薬を凍結乾燥することにより、保存時の試薬劣化防止を考慮されている。

- (1) プロジェステロン抗血清 (凍結乾燥品) 1バイアル
- (2) 標準プロジェステロン (凍結乾燥品) 1バイアル
- (3) プロジェステロン- ^{125}I (凍結乾燥品) : 2.0 μCi 以下 1バイアル
- (4) 牛血清グロブリン (凍結乾燥品) 1バイアル
- (5) ポリエチレングリコール液 (PEG) 2バイアル
- (6) プロピレングリコール溶液 (メタノール溶液) 1バイアル

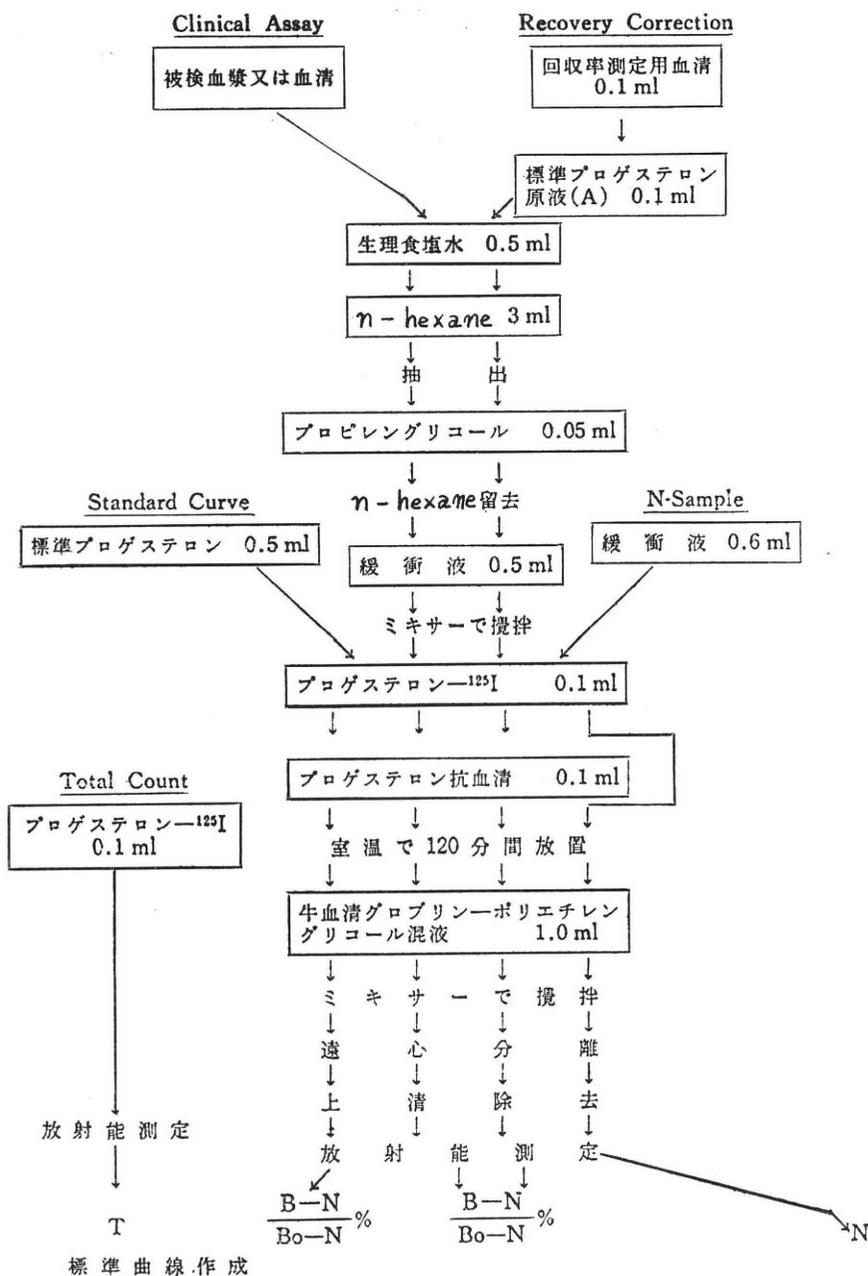


図1 操作法手順

(7) リン酸緩衝剤 (凍結乾燥品) 1バイアル

(8) 回収率測定用血清 (凍結乾燥品) 1バイアル

2) 抗血清

抗原は Erlanger らの方法に従い, 11 α -hydroxy progesterone より hemisuccinate を経て BSA conjugate を合成された。得られた conjugate 1 mg を 1 ml の生理食塩水に溶解し, これに 1 ml の complete Fre-

und's adjuvant を加えエマルジョン化を行い, 家兎の脊部皮下多数カ所に接種した。追加免疫は始めの 1 カ月は 2 週間ごとに, 以後は 1 カ月ごとに行い, 追加免疫 10 ~ 14 日後に採血したものである。その cross reaction を表 1 に示す。

3) ¹²⁵I-progesterone

抗原を合成する際に得られた, 中間生成物である

表 1 使用抗体の cross reaction

Compounds	Cross Reaction
progesterone	100 %
11 α -hydroxy progesterone	65 //
17 α -hydroxy progesterone	0.5 //
DOC	2.9 //
pregnenolone	<0.1 //
11-deoxy cortisol	0.19 //
corticosterone	0.85 //
cortisol	0.15 //
cortisone	<0.1 //
testosterone	0.14 //
DHEA	<0.1 //
estradiol	<0.1 //

hemisuccinate を, tyrosine methyl ester (TME) と結合することにより progesterone-11 α -hemisuccinyl-TME を得, 次に本品 5 μ g と 2 mCi の Na ¹²⁵I を使用し, クロラミンT法で標識された. 反応液をシリカゲル薄層プレートに带状にスポットし, クロロホルム:メタノール:水 (9:1:0.1) で展開する. 展開後 monoiodinated form の部分を掻き取りエタノールで抽出されたものである.

4) 操作法

図 1 に操作法を津島らの方法を一部 modify して示した(図 1). 本キットの操作上, 次の点で特徴である.

(1) ¹²⁵I-progesterone を使用しているので, 従来 of ステロイド radioimmunoassay のごとく, ³H-progesterone を使用して回収率を求めることができない. 従って既知量の progesterone についての検体と同一の操作を行い, これより回収率を求め検体値を補正する方法をとっている.

(2) 抽出溶媒として n-hexane を使用し, Voltex ミキサーで40秒間攪拌抽出を行う. 次いでドライアイス-メタノール寒剤で水層を氷結することにより, 上層のエーテルを小試験管へ移す.

(3) 次に n-hexane に直接プロピレングリコールを添加した後 n-hexane を揮発する. 次いで緩衝液を添加攪拌し, progesterone を緩衝液へ溶解する.

(4) progesterone-¹²⁵I を約 2 \times 10⁴cpm, 次いで希釈した抗血清を加え室温で2時間インキュベーションする.

(5) Bound と Free の分離方法としてポリエチレングリコール法で行っている. ここでポリエチレングリコールは牛ガンマグロブリンとの混合液として加える. 本操作は室温で可能な為, 繁用されているチャコール法と比べ操作は簡単である.

(3) 結果

(A) 基礎的検討

(1) 標準曲線: 図 2 は本 Kit に於ける標準曲線を示

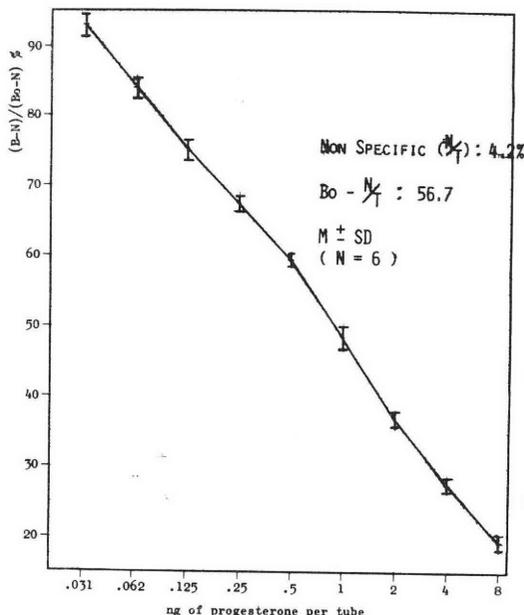


図 2 標準曲線

す. 非特異的結合 (N/T) は 4.2%, 添加 progesterone 0 に於ける Bound % (B₀-N/T) は 56.7% であった. 縦軸には B-N/B₀-N を, 横軸には progesterone 値を示し, 8 ng より倍数希釈でのそれぞれの標準偏差は最大 1.5% であり, 安定していることがうかがえる. 90%, 50%, 30% のそれぞれの結合率での progesterone 値は, それぞれ約 40pg, 900pg, 7.5ng であった.

(2) 抽出溶媒について: 図 3 に示すように, progesterone free の回収率補正用血清を n-hexane で抽出した液の標準曲線に及ぼす影響を調べたところ, 結合率を変化させる脂質の抽出はほとんどないことがわかる. これに反して, ethyl ether での抽出では, 結合率をやや低下させる傾向があるので, n-hexane の使用がより望ましいと思われ, 使用した.

(3) 精度: 黄体期患者血清を使用し検討したところ, inter-assay variance は 13.1% (N=6), inter-assay variance は 17.9% (N=6) であり十分満足し得るものであった.

(4) 回収率: 図 4 に回収率補正用血清に既知量の progesterone を添加した回収率を示す. 1.6ng では 1.58 \pm 0.19ng でその変動係数は, 12.1% であった. 0.8ng 以下でもいずれも 15% 以内であり, 95% 以上の回収率を示す.

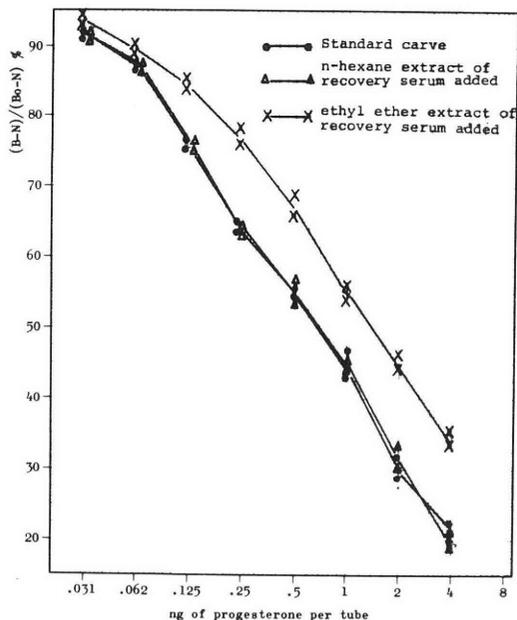


図3 抽出溶媒についての検討

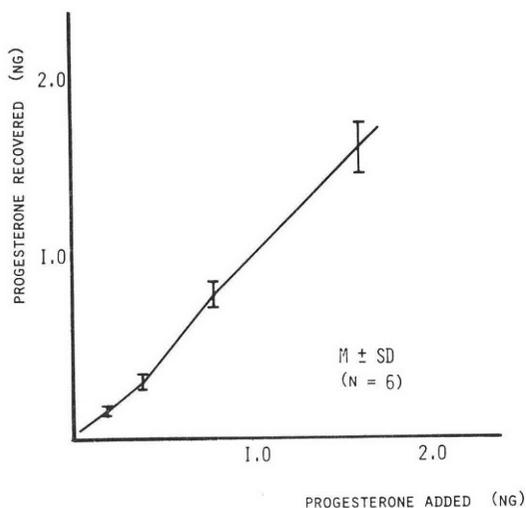


図4 回収率

(5) 血清量と測定値の関係: 本法では n-hexane 抽出後クロマトグラフィーを使用しない為、脂質による非特異的反応障害が予定されるが、図3に示すように、回収率補正血清程度では、結合障害は認められず、どの血清を使用しても30 μ l まではきれいな直線性が認められた。

(6) ³H を使用した従来の方法との相関: 一昨年来我々のルーチン化して使用している³H、帝国臓器神戸川、牧野博士提供による抗血清を使用した³HでのRIAとの比較を図5に示す。相関係数は0.9489であり、本法で

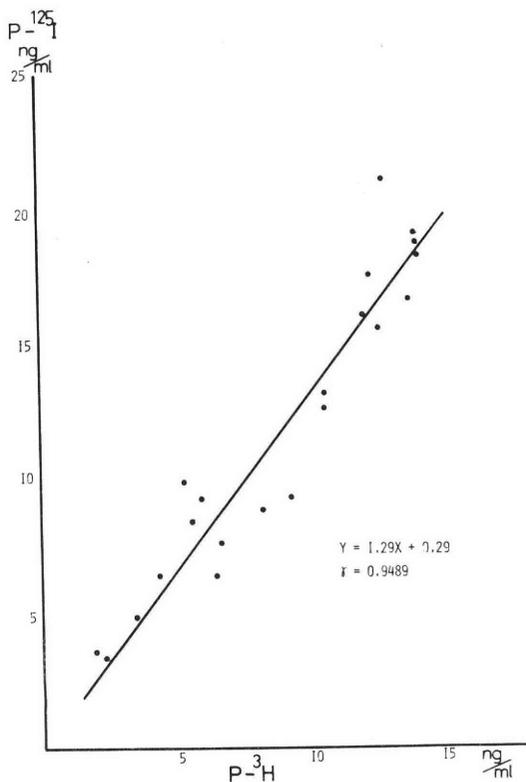


図5 ³Hを使用した方法との比較

の方法は従来の方法に比して、約1.29倍高くなる。

(B) 臨床応用

対象は慶応病院産婦人科、慶応健康相談センター婦人科患者とし、男子、月経中婦人、更年期婦人それぞれ5名ずつ15検体、BBT 高温期13日以上認める婦人18名63検体(連続採血一名)、BBT 高温期短縮を認める婦人2名13検体、経過観察中に妊娠の成立をみた婦人1名12検体、合計、103検体を duplicate にて測定し、検討した。

(イ) 男子、月経中婦人、更年期婦人の血中P値: 合計15検体中、12検体に於ては、測定感度の1ng/mlであったが、対象のそれぞれ1検体に、1.2、1.5、2.1ng/mlの値を得た。

(ロ) 正常性周期婦人の血中P値: 基礎体温表低温最終日を0 day として、それぞれの日の値を図6に示す。0 day では5検体中1ngが3検体で、他は1.1ng、1.4ngであった。6日目、7日目、8日目計17検体の平均は13.9ng \pm 5.35(5.4~22.3ng)であった。

(ハ) 連続採血による正常性周期例: 図7に連続採血によるLH peakのつかめた患者のBBT及び血中P値を示す。この例では卵胞期に於ては測定感度の1ng以

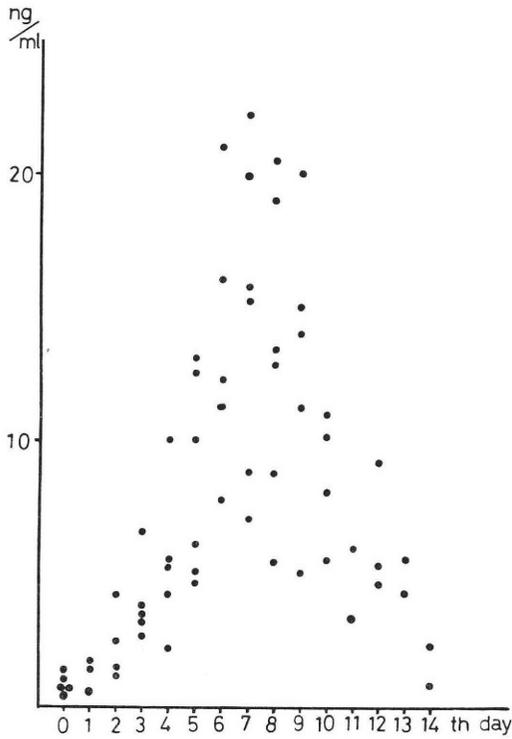


図6 正常性周期婦人の血中P値

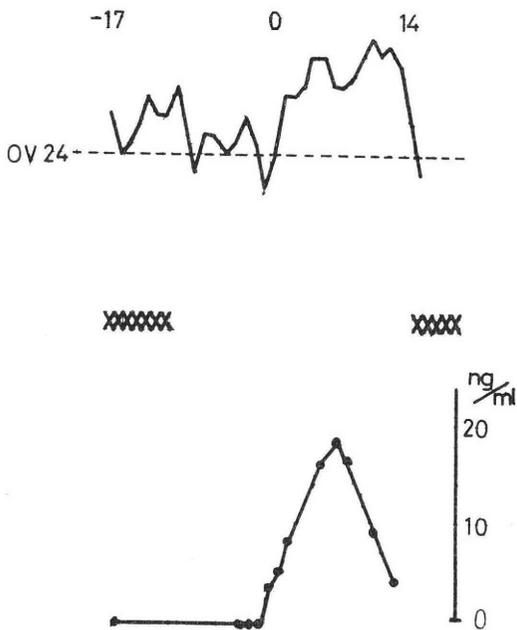


図7 正常性周期婦人例(連続採血)

下であり、LH peak の翌日には BBT の上昇を認め、黄体期に於ける P 値の peak は 8 日目 18.5ng/ml であつた。

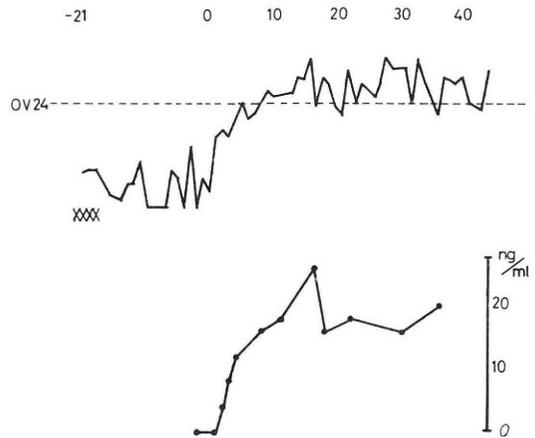


図8 妊娠成立例

(ニ)妊娠成立例：図8に連続採血による妊娠成立例の血中P値を示す。本例では前症例と異なり、高温期10日目でも血中P値の低下傾向はみられず、妊娠成立をこの時点でも示唆している。

(ホ)黄体機能不全例：図9、10に BBT 高温期それぞれ9日、11日と比較的短縮例を示す。図9の症例は LH

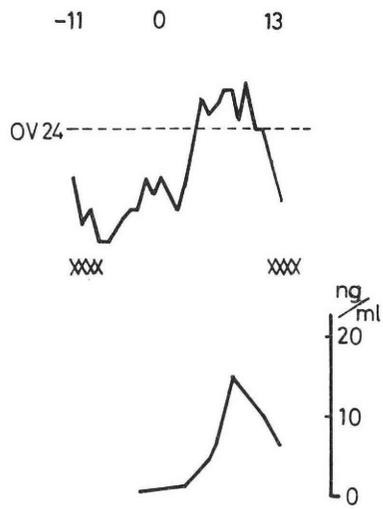


図9 黄体機能不全例

peak 後3-day かつ 5-day にかけて徐々に BBT 上昇をみた例である。3-day に於ても 血中P値は3.9ng/ml で P 値の peak は 6-day で 15.9ng/ml であり、その後急激に減少している。図10に示す例は LH peak をつかめなかつたが、33日目で BBT 上昇、血中P値の peak は 5-day で 13.0 ng/ml であり、この症例でも急激に以降減少傾向を示した。

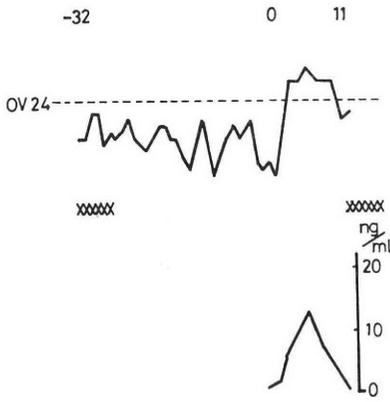


図10 黄体機能不全例

(4) 考案

血中 progesterone 測定法は螢光法, ガスクロ法, double isotope derivative 法らの変遷を経て, 現在では RIA 法が主力である.

assay に使用される抗体として, 11-desoxycortisol-21-hemisuccinate-HSA¹⁾, p-3-oxime-BSA²⁾³⁾, p-6-oxime-BSA などが使用されたが, C-11 を使用したものは特異性が最も高いとされており³⁾⁴⁾, 本邦に於ても高力価の特異性に秀れた抗体が得られたことは喜ばしいことである. cross reaction として cortisol では0.15%, 17 α -hydroxy progesterone では0.5% を認め, 前者は血中濃度が通常20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ である為0.3ng/ml 前後の上積みされる可能性はあるが, 黄体期血清の測定に際しては問題にならない程度である.

^{125}I -progesterone は progesterone-11 α -hemisuccinyl TME 5 μg と ^{125}I 2 mCi の Na ^{125}I を使用し, 反応率は60~70%であり, これより240~280 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ (175.7~204.9Ci/mM)となり, ^{125}I を使用した場合の最大比放射能の約 $1/10$ である. このことは, 1 Kit が2 μCi であるから tube 当り, $4.44 \times 10^4 \text{dpm}$ で充分の count 数が得られると同時に hot をかえるに当り, progesterone として30pg 程度しか入らず, 最小測定感度の上昇に好都合である.

progesterone は cortisol や aldosterone などと異なり抽出操作なしでの測定は不可能であり, この操作の為, 結合率に影響を及ぼす lipid も同時に抽出してしまう為, chromatography や processed standard curve が必要とされることもある. 又回収率補正も加わり, RIA 系を複雑にしている. 我々は従来より progesterone の RIA では n-hexane を使用しており, 本 Kit に於ても ether との比較検討したところ, 図3に示すように, n-hexane がより優れていると思われた. ただ

n-hexane を使用により, 攪拌抽出に要する時間が60秒 evaporate するのに5分程度余分に時間がかかるが敢えて採用した.

^3H を使用した従来の方との比較検討であるが, 我々の data では約1.3倍高くなった. しかし, 相関係数は0.9489と両者の相関は良好であった. 又従来の方では1 ng 以下であった男子, 月経期, 更年期婦人でもやや高値に出る症例もあり, 抽出溶媒, 回収率, assay の最小測定感度, 抗体の cross reaction など今後充分検討したいと思う.

血中 progesterone 測定を広く臨床応用する場合, 排卵の有無など one day assay 及びその日のうちの data 処理まで行なえることが理想であるが, 本 Kit は1 Kit で約35検体(duplicate)測定した場合でも assay に要する時間が4時間, data 処理(counting も含めて)に2時間で結果が得られた. このことは, 流産予後判定に, 今後大きな武器となる可能性もある. 又, 早期妊娠診断についても, 図8に示すように, 高温期10日目でも血中 progesterone の減少傾向がみられないことは, 妊娠成立を強く示唆し, 薬剤, 放射線などから胎児を守る上で重要と思われる.

黄体機能不全症への応用であるが, 現在この定義も一定せず, どの値以下なら機能不全と云うか明確ではなく大きな問題であるが, まず正常及び内膜診断, 婦人体温表等で異常と思われる症例についての精査が必要である. 図9, 10に示した症例はいずれも, 高温期が短縮しており, 図9に於ては, 血中P上昇と BBT 上昇までの不一致, 及び LH surge から BBT 上昇までの時間的なずれを認めた. 図10に於ては, 血中P値の peak 値が5日目であり, その後急激な減少傾向を認めた. このように初期流産との関係が強いと思われる黄体機能不全に於ても, その管理の基礎的検討及び治療の改善に大きな貢献をするのであろう.

(5) 結論

以上, 第一ラジオアイソトープ研究所の開発した ^{125}I -progesterone RIA Kit を検討したが, 本 Kit は核種として ^{125}I を使用の為, well type scintillation counter さえあれば, その他特別な器具を必要とせず, 簡便であり, 室温で操作が可能で, 又標識化合物の比放射能が高い為, 放射能測定時間が1分間で充分で100検体処理しても one day RIA 及びその日のうちに data 処理まで可能で, 排卵前後の hormone 動態をつかみ, 適切な治療を行う助けになるとと思われる.

(本論文の要旨は, 昭和51年日本内分泌学会東部部会講演にて発表した).

本キットを提供された第一ラジオアイソトープ研究所
に深謝する。

文 献

- 1) Abraham, G. E., et al.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 32:619, 1971.
- 2) Furuyama, S., et al.: Steroids, 17:663, 1971.
- 3) Lindner, H. R., et al.: Steroids, 19:181, 1972.
- 4) Spieler, J. M., et al.: Steroids, 19:751, 1972.
- 5) 牧野拓雄: 日内分泌誌, 49:629, 1973.
- 6) 牧野拓雄, 他: 臨床病理, 21:930, 1973.
- 7) 松本茂, 他: ホと臨, 24:411, 1976.
- 8) 津島章一郎, 他: 産婦の世界, 28:65, 1977.

Basic Evaluation and Clinical Application of ^{125}I -progesterone RIA kit

**Shigeru Matsumoto, Yukio Nakamura,
Kiyoo Tanabe and Rihachi Iizuka**

Obst. & Gyn. Dept. of Medical School
Keio University

^{125}I -progesterone RIA kit was evaluated and the following results emerged.

1. It is better to use n-hexane for extraction, rather than ether.

2. Coefficient variance is 13.1% for intra-assay, and 17.9% for interassay.

3. The determined value by this method is about 1.29 higher than that measured by ^3H -progesterone RIA.

4. Because of higher specific activity of labelled compound, only 1 minute is enough for counting. And 100 samples can be determined within 24 hours.

Therefore, ^{125}I -progesterone RIA kit is qualified for clinical application as one of one day assay method.

昭和 52 年 4 月 1 日

会員各位殿

日本不妊学会

理事長 澤 崎 千 秋

通 信 総 会

本会副理事長兼次期会長林基之理事が逝去されたため、副理事長として松本清一理事を理事会で選出致しましたので御報告申し上げます。

なお次期会長選出ならびに昭和51年度収支決算、昭和52年度収支予算につきましては、早急に総会での決定を要しますので、下記理事会案を提示して本通信総会にお諮りします。よろしく御検討の上同封の葉書にて5月10日までに賛否をお知らせ下さい。期日までに御通知のない場合は御承認を得ましたものとさせていただきます。御不審の点は事務局宛お問い合わせ下さい。

議案ならびに説明書

I. 次期会長および学術講演会・総会開催地の件

昭和53年度会長および学術講演会・総会開催地は下記の如くする。

会 長 飯 塚 理 八 開催地 東 京 都

II. 昭和51年度収支決算の件

昭和51年4月1日より52年2月28日迄の収支に基づく年度末決算見込は62-63頁に示す如くである。ただし年度末における多少の変更は了承されたい。収支合計では4,207,244円が余剰金として次期に繰越されることになるが、50年度よりの繰越金を除いた年度内収支では、2,767,709円の残であり、会費値上げ初年度の余剰金としては必ずしも多額に過ぎるものではないと思われる。

- a. 収入：収入総計は27,917,077円で予算に対し4,628,542円の増であるが、これは事務所建設基金よりの繰入れ2,913,600円を含むもので、経常収入としては1,684,922円の増である。
- (1) 会費収入は51年度会費については年度内徴集率76.7%、過年度会費については296名分(未納者の65.5%)でほぼ予算通りである。
 - (2) 賛助会費は1口分1社増
 - (3) 医学会助成金は日本医学会分科会加入に伴い今年度より支給
 - (4) 特別掲載料は希望者が予想より多かつたため増収
 - (5) 購読料の増は寄贈誌、交換誌を制限したためと思われる。
 - (6) 広告料はほぼ予算通り
 - (7) 利子収入増は50年度における51年度会費前納者が多かつたこと等によると思われる。
 - (8) 固定資産処分は複写器買換え時の下取り金
 - (9) 建設積立金繰入は事務所移転に際し、保障金、敷金相当額を建設基金より繰入れたもの
- b. 支出：支出総計(次年度繰越金を除く)は23,709,833円で、予算(予備費を除く)に対し3,204,833円の増である。
- (1) 会誌印刷費が約164万円減少しているが、これは寄贈誌、交換誌を整理して発行部数を約200部減らしたこと、総会抄録集を会誌と兼用したことなどによる。
 - (2) 委員会経費は役員改選、事務所移転等のため、臨時理事会、幹事会の開催が多かつたため予算超過
 - (3) 事業雑費および給与手当の増も事務所移転に伴う運送費、アルバイト代等の増加による。
 - (4) 旅費交通費は国鉄値上げが遅れたためやや減

- (5) 事務所費は2月分(半月分), 3月分の賃借料, 共益費, 清掃代
- (6) 通信費の減は予算がやや過大であつたためと思われる。
- (7) 器具備品費は複写器, 事務所用冷蔵庫の購入で694,600円の支出があつたが, これは資産に繰入れられるため引当金繰入支出に記載した。
- (8) 過年度修正額は昭和45年, 46年度に仮受金および前受金の一部を収入に重複記入した分があることが判明したので今年度において修正したものである。
- (9) 事務所保証金, 敷金計2,913,600円は収入の部の建設積立金繰入に相当する支出である。
- (10) 退職積立金は従来極めて不十分であるので予算より50万円増とし150万円を繰入れた。
- (11) 建設積立金は今年度より不要なわけであるが, 昨年秋の総会で諸事業積立金(仮称)として存続してはとの意見もあつたので一応予算通り繰入れた。

III. 昭和52年度収支予算の件

昭和52年度収支予算案は64-65頁に示す如くである。ただし51年度よりの繰越金, 52年度当初会員数などがなお確定的でないため多少の変更があり得ることを了承されたい。

52年度においても約411万円の予備費(明年度への繰越予定)が計上されているが, 前年度からの繰越金を除いた年度内収支ではすでに89,700円の赤字となつている。

- a. 収入: 収入総計は29,229,244円であり, 繰越金を除く年度内収入では51年度予算に対し3,173,000円増, 51年度決算見込(引当金繰入収入を除く)に対し1,488,058円の増となる。
 - (1) 52年度会費については, 年度当初会員数2150名, 年度内徴集率約76%として算出, 過年度会費は51年度会費未納者552名, 徴集率約60%として算出した。
 - (2) 賛助会費は日本シェリング社より18口(180万円)の申込があるため大幅に増収となつている。ただしこれは一応3年間の契約になつており必ずしも永続性があるものではない。
 - (3) 特別掲載料は51年度実績より300万円を計上したが, この増減は会誌印刷費の増減と見合うもので全体の収支バランスとはほぼ無関係と考えてよい。
 - (4) 購読料, 広告料, 予金利子, 雑収入はほぼ51年度実績に準じた。
- b. 支出: 支出総計(予備費を除く)は25,111,700円で, 51年度予算(予備費を除く)に対し4,606,700円増, 51年度決算(翌年度繰越金および事務所保証金, 敷金を除く)に対し4,315,467円の増である。51年度予算より増額した主なものは, 総会補助金, 委員会経費, 名簿作製費, 給与手当, 事務所費, 通信費, 退職積立金等であり, 減額したものは, 会誌印刷費である。
 - (1) 総会補助金は従来より増額希望が強かつたので今回20万円の増とした。
 - (2) 会誌印刷費は4号分440万円(1冊平均65頁, 2800部印刷で1号あたり110万円)を基本とし, これに超過頁, 特別掲載等の自己負担分300万円を加えて740万円とした。昨年同様総会抄録集は会誌と兼用にする予定である。
 - (3) 委員会経費は昨年度実績を考慮し, かつ従来会場費, 食事代等を一部乳業会社に負担させていたのを止めるために大幅に増額し90万円とした。
 - (4) 名簿作製は従来よりの懸案であつたが, 医学会分科会加入記念の意味も含めて今年度発行を計画し100万円を計上した。
 - (5) 給与手当は事務員3名につき月額371,000円(51年度の10%増)×17.5カ月(賞与を含む)+残業手当, アルバイト料307,500円で計680万円を計上した。
 - (6) 事務所費は月額113,125円(貸室料75,268円, 共益費30,957円, 清掃費6,900円)の12カ月分である。
 - (7) 通信費は昨年度実績に電話料を加えて60万円を計上した。電話料は従来東邦大学負担となつていたので使用実績不明であるが, 一応月3万円程度と見込んだ。
 - (8) 慶弔費は今年度より新項目として加えた。
 - (9) 退職積立金は今年度の積立で約500万円に達し, 明年度以降は余り多額の積立を要しない見込である。
 - (10) 諸事業積立金は従来事務所建設基金に代るものとして一応50万円を計上した。その名称, 性格等については尚検討を要する。
 - (11) その他の支出はほぼ前年度予算並ないし物価上昇を考慮し10~20%増として計上した。

昭和 51 年度収支決算書 (見込)

自昭51年4月1日 至昭和52年3月31日

収入の部

項 目	決 算 額	51年度予算額	増 減 (△)	備 考
I 会 費 収 入	17,612,300	17,280,000	332,300	
会 員 会 費	15,712,300	15,480,000	232,300	説明書Ⅱ-a-(1)
賛助会員会費	1,900,000	1,800,000	100,000	Ⅱ-a-(2)
II その他の収入	5,921,642	4,569,000	1,352,642	
医学会助成金	100,000	0	100,000	Ⅱ-a-(3)
特別掲載料	3,182,665	2,500,000	682,665	Ⅱ-a-(4)
購読料	820,500	639,000	181,500	Ⅱ-a-(5)
広告料	843,200	850,000	△ 6,800	Ⅱ-a-(6)
予金利子	955,962	550,000	405,962	Ⅱ-a-(7)
雑収入	19,315	30,000	△ 10,685	
III 引当金繰入収入	2,943,600	0	2,943,600	
固定資産処分	30,000	0	30,000	Ⅱ-a-(8)
建設積立金繰入	2,913,600	0	2,913,600	Ⅱ-a-(9)
IV 繰越金収入	1,439,535	1,439,535	0	
前期繰越金	1,439,535	1,439,535	0	
合 計	27,917,077	28,288,535	4,628,542	

註：年度内収入 (I + II + III)

決算額 26,477,542円

予算額 21,849,000円

会費収入の内訳

(1) 会員会費 計 15,712,300円

昭和51年度分 14,528,000円 (1816人分, 徴収率 76.7%)

過年度分 1,184,300円 (296人分)

(2) 賛助会費 計 1,900,000円

昭和51年度分

1口18社 (オルガノン, 太田製薬, 小野薬品工業, 日本ブリストル, 大日本製薬, 山之内製薬, サンド薬品, 日本シェーリング, ミドリ十字, 協和醸酵, 科薬抗生物質, 武田薬品, 三共製薬, 第一製薬, 持田製薬, 塩之義製薬, 帝国臓器, エックス日本)

1/2口2社 (エーザイ, 大塚製薬)

支出の部

項 目	決 算 額	51年度予算額	増 減	備 考	
I 事業費	10,102,805	11,310,000	△ 1,207,195		
総会補助金	700,000	700,000	0		
総会諸経費	301,870	300,000	1,870		
会誌	印刷費	6,657,595	8,300,000	△ 1,642,405	説明書Ⅱ-b-(1)
	発送費	846,360	900,000	△ 53,640	
	編集費	68,000	100,000	△ 32,000	
IFFS 会費	100,000	100,000	0		
支部運営費	362,600	360,000	2,600		
委員会経費	476,000	200,000	276,000	Ⅱ-b-(2)	
雑費	590,380	350,000	240,380	Ⅱ-b-(3)	
Ⅱ 事務費	7,915,185	7,695,000	220,185		
給与手当	6,165,576	6,000,000	165,576	Ⅱ-b-(3)	
福利厚生費	81,000	70,000	11,000		
旅費交通費	571,840	700,000	△ 128,160	Ⅱ-b-(4)	
事務所費	158,245	0	158,245	Ⅱ-b-(5)	
印刷費	0	60,000	△ 60,000		
通信費	213,250	400,000	△ 186,750	Ⅱ-b-(6)	
消耗品費	187,462	200,000	△ 12,538		
修繕費	64,082	50,000	14,082		
器具備品費	0	30,000	△ 30,000	Ⅱ-b-(7)	
会議費	0	30,000	△ 30,000		
会計指導費	120,000	120,000	0		
租公課	2,500	5,000	△ 2,500		
慶弔費	11,850	0	11,850		
雑費	26,060	30,000	△ 3,940		
過年度修正額	313,320	0	313,320	Ⅱ-b-(8)	
Ⅲ 引当金繰入支出	5,691,843	1,500,000	4,191,843		
事務所保証金	2,428,000	0	2,428,000	Ⅱ-b-(9)	
事務所敷金	485,600	0	485,600	Ⅱ-b-(9)	
什器備品費	694,600	0	694,600	Ⅱ-b-(7)	
電話加入権	83,643	0	83,643		
退職積立金	1,500,000	1,000,000	500,000	Ⅱ-b-(10)	
建設積立金	500,000	500,000	0	Ⅱ-b-(11)	
Ⅳ 次期繰越金	4,207,244	2,783,535	1,423,709		
当期余剰金	4,207,244	2,783,535	1,423,709		
合 計	27,917,077	23,288,535	4,914,942		

註：年度内支出（Ⅰ＋Ⅱ＋Ⅲ）

決算額 23,709,833円（収支差2,767,709円）

予算額 20,505,000円（収支差1,344,000円）

昭和 52 年度収支予算案

自昭52年4月1日 至昭和53年3月31日

収入の部

項 目	予 算 額	51年度予算額	増 減	備 考
I 会 費 収 入	19,412,000	17,280,000	2,132,000	
会 員 会 費	15,712,000	15,480,000	232,000	説明書Ⅲ-a-(1)
賛助会員会費	3,700,000	1,800,000	1,900,000	Ⅲ-a-(2)
II その他の収入	5,610,000	4,569,000	1,041,000	
医学会助成金	100,000	0	100,000	
特別掲載料	3,000,000	2,500,000	500,000	Ⅲ-a-(3)
購読料	800,000	639,000	161,000	Ⅲ-a-(4)
広告料	840,000	850,000	△ 10,000	〃
予金利子	850,000	550,000	300,000	〃
雑収入	20,000	30,000	△ 10,000	〃
III 繰越金収入	4,207,244	1,439,535	2,767,709	
前年度繰越金	4,207,244	1,439,535	2,767,709	
合 計	29,229,244	23,288,535	5,940,709	

註：年度内収入 52年度予算額 25,022,000円
51年度予額額 21,849,000円
51年度決算見込 26,477,542円

会費収入の内訳

- (1) 会員会費 計 15,712,000円
52年度会費 8,000円×1,634人=13,072,000円
(会員数 2,150人, 年度内徴集率約76%)
過年度会費 8,000円×330人=2,640,000円
(52年度会費未納者 552人, 年度内徴集率約60%)
- (2) 賛助会員会費 計 3,700,000円
18口1社 (日本シェーリング)
1口18社 (オルガノン, 太田製薬, 小野薬品, 大日本製薬, 山之内製薬, サンド薬品,
日本ブリストル, ミドリ十字, 協和醸酵, 科薬抗生物質, 武田薬品, 三共製薬, 第一
製薬, 持田製薬, 塩野義製薬, 帝国臓器, エックス日本, 藤沢薬品)
¹/₂口2社 (エーザイ, 大塚製薬)

支出の部

項 目	予 算 額	51年度予算額	増 減	備 考	
I 事 業 費	12,387,200	11,310,000	1,077,200		
総会補助金	900,000	700,000	200,000	説明書Ⅲ-b-(1)	
総会諸経費	330,000	300,000	30,000		
会誌	印刷費	7,400,000	8,300,000	△ 900,000	Ⅲ-b-(2)
	発送費	900,000	900,000	0	
	編集費	100,000	100,000	0	
IFFS 会費	100,000	100,000	0		
支部運営費	357,200	360,000	△ 2,800		
委員会経費	900,000	200,000	700,000	Ⅲ-b-(3)	
名簿作製費	1,000,000	0	1,000,000	Ⅲ-b-(4)	
雑費	400,000	350,000	50,000		
II 事 務 費	10,244,500	7,695,000	2,529,500		
給与手当	6,800,000	6,000,000	800,000	Ⅲ-b-(5)	
福利厚生費	90,000	70,000	20,000		
旅費交通費	800,000	700,000	100,000		
事務所費	1,357,500	0	1,357,500	Ⅲ-b-(6)	
印刷費	50,000	60,000	△ 10,000		
通信費	600,000	400,000	200,000	Ⅲ-b-(7)	
消耗品費	200,000	200,000	0		
器具備品費	50,000	30,000	20,000		
修繕費	50,000	50,000	0		
会議費	30,000	30,000	0		
会計指導費	132,000	120,000	12,000		
公租公課	5,000	5,000	0		
慶弔費	30,000	0	30,000	Ⅲ-b-(8)	
雑費	30,000	30,000	0		
III 引当金繰入支出	2,500,000	1,500,000	1,000,000		
退職積立金	2,000,000	1,000,000	1,000,000	Ⅲ-b-(9)	
諸事業積立金	500,000	500,000	0	Ⅲ-b-(10)	
IV 予 備 費	4,117,544	2,783,535	1,334,009		
合 計	29,229,244	23,288,535	5,640,709		

註：年度内支出（Ⅰ＋Ⅱ＋Ⅲ）

52年度予算額	25,111,700円
51年度予算額	20,505,000円
51年度決算見込額	23,709,833円

第 21 回日本不妊学会九州支部会

日 時 昭和 51 年 11 月 14 日 (日) 午後 1 時 30 分より
場 所 熊本大学医学部第三講義室

I. 一般演題

1. ^{125}I Progesterone RIA kit の検討
宇津宮隆史, 梶原健伯, 立山浩道
門田 徹 (九大温研産婦)
2. 妊娠成立周期の着床期周辺の内分泌環境
梶原健伯, 立山浩道, 宇津宮隆史
山口省之, 門田 徹
(九大温研産婦)
3. Higonavis による排卵日の推定
谷口忠臣, 河野前宣, 森 淳躬
加瀬泰昭, 石丸忠之, 三浦清巒
山辺 徹 (長崎大産婦)
4. 新排卵誘発剤 tamoxifen 投与時の血中ホルモン
動態
倉野彰比古, 片桐英彦, 中村正彦
中村 元一, 柴田千城, 永田行博
楠田 雅彦 (九州大産婦)
5. 新排卵誘発剤 tamoxifen の臨床応用成績
片桐英彦, 倉野彰比古, 中村元一
中村正彦, 柴田 千城, 永田行博
楠田 雅彦 (九州大産婦)
6. 絨毛性腫瘍の緩解後における妊孕力についての
検討
高村慎一, 平島直信, 秦 知紀
石丸忠之, 加瀬泰昭, 三浦清巒
山辺 徹 (長崎大産婦)
7. Positive feed back 機構に関する 2, 3 の知見
今村定臣, 石丸忠之, 今道節夫
谷口忠臣, 加瀬泰昭, 三浦清巒
山辺 徹 (長崎大産婦)
8. 切迫流産の hCG 療法に関する 2, 3 の知見
黄 宏駿, 加瀬泰昭, 三浦清巒
山辺 徹 (長崎大産婦)
9. 不妊症に対する針治療の試
森 淳躬, 石丸忠之, 加瀬泰昭
河野前宣, 三浦清巒, 山辺 徹
(長崎大産婦)
谷 美智士 (東洋医学研究所)
10. Asherman's syndrome 患者に対する Foley
catheter 留置療法後の長期経過
池田 功, 井上 悟, 前山昌男
(熊本大産婦)
森 憲 正 (宮崎大産婦)
11. 不妊症 (過短卵胞周期症) の治療について
池田友信, 沖 利貴 (鹿大産婦)
12. 着床期子宮内膜とくに妊娠例についての検討
安達宣武, 白石裕基, 立山造道
門田 徹 (九大温研産婦)
13. 九大温研不妊外来における妊娠成功例の予後に
関する追跡調査 (過去 5 年間)
吉田 耕治, 立山造道, 梶原健伯
松岡幸一郎, 是永迪夫, 門田 徹
(九大温研産婦)

第 73 回日本不妊学会関西支部集談会

日 時 1976 年 2 月 7 日 (土) 午後 1 時 30 分より
場 所 大阪府立大学農学部 中講義室 (4F)
(堺市百舌鳥梅町 4 丁 804) (0722-52-1161)

開会の辞 当番世話人 大府大農 藺守 龍雄

(休けい) 10分

特別講演 (I)

1. 「胎生期の間脳・下垂体系機能—ラットの 実験を通じて」

○江口保暢 大阪府大・農(獣医)

一般講演

1. ヒト胎児胎齢による下垂体—性腺系機能の変遷と性差

○吉田 裕, 細道太郎, 佐々木謙司
横田栄夫, 一戸喜兵衛
和歌山医大(産婦)

2. ヒト胎児下垂体副腎系機能について

- 1) 副腎の組織形態学的立場から

○岡村 均 京大・医(産婦)

- 2) 臨床内分泌学的立場から

○麻生 武志 京大・医(産婦)

3. 妊娠個体の下垂体機能—特に成長ホルモン (LGH), プロラクチン (LPRL), ならびに甲状腺刺激ホルモン (LTSH) 分泌予備能を中心として

○森川 肇, 中村 章, 川口恵子
斉田幸次, 金沢精一, 望月真人
東條伸平 神戸大・医(産婦)

4. 異常妊娠の内分泌と Dehydroepiandrosterone sulfate (DHA-S) テスト

○本多俱彦, 平井 至, 出口正喜
森川 肇, 望月真人, 東條伸平
神戸大・医(産婦)

特別講演 (II)

「性ホルモンの生合成と性の分化」

○松本圭史 大阪大・医(病理II)

閉会の辞 次回当番世話人 北野病院 下村 虎男

第 74 回日本不妊学会関西支部集談会

日 時 1976 年 6 月 19 日 (土) 午後 2 時~5 時
場 所 好文クラブ

開会の辞 当番世話人 北野病院 下村 虎男

一般講演

1. 液性ならびに細胞性免疫の流早産に対する影響
○佐治文隆, 中村嘉郎, 若尾豊一
根来孝夫, 都 竹理, 倉智敬一
(大阪, 医, 産婦)
2. 無排卵症患者の免疫学的検討
○北川 道夫 (北野病院, 産婦)
3. 卵胞発育に及ぼす性ステロイドの使用
○和田裕充, 水野正允, 仲野良介
東條伸平 (神戸大, 医, 産婦)
4. 雌性幼若ラット卵巢中 MAO 活性の酵素組織化学的検討
○万井正章, 森川博史, 岡村 均
西村敏雄 (京大, 医, 産婦)
吉田吉信 (滋賀, 医大, 産婦)

5. ヒト「子宮, 卵管, 卵巣ユニット」灌流時における Prostaglandin の影響 (第 2 報)
—とくに黄体を内包するユニットについて—
○北浦 豊, 郭 英富, 土橋俊明
福西秀信, 東條伸平
(神戸大, 医, 産婦)
6. 乏精子症の妊娠例について
○布谷弘光, 下村虎男
(北野病院, 産婦)
7. 「エンドメトリオーゼス」の疑妊娠療法における下垂体, 卵巣機能
○池田 良, 植木 実, 佐野 隆
土居荘之介, 杉本 修
(大阪医大, 産婦)

閉会の辞 次回当番世話人 神戸大, 医 東條伸平

第 75 回日本不妊学会関西支部集談会

日 時 1976 年 9 月 4 日 (土) 午後 2 時 ~ 5 時
場 所 神戸大学医学部 (附属病院) 第 4 講堂

開会の辞 当番世話人 神戸大学医学部 東條伸平
一般講演

麻生 武志 (京都大・医・産)

大島 清, 松林清明

(京都大・産科)

1. 長期不妊後, HMG-HCG 療法で妊娠, 分娩した一症例

橋場信之, 仲野良介, 東條伸平
(神戸大・医・産)

鷺尾元夫 (国立明石病院・産)

2. Clomiphene-HMG-HCG 療法による排卵誘発

安田 基, 衣笠隆之, 三宅 侃
近藤国雄, 宮崎正敏, 青野敏博
倉智敬一 (大阪大・医・産)

3. ヒト月経周期中 Monoamine Oxidase 活性

森川博史, 万井正章, 岡村 均
西村敏雄 (京都大・医・産)

4. 妊孕現象と性ステロイドの免疫学的意義

小林八郎, 森 崇英, 鈴木 瞭
北川道夫, 西村敏雄
(京都大・医・産)

5. 生殖生理研究モデルとしてのニホンザルの意義

6. 長期不妊婦人に見られる卵管周囲癒着の診断と治療

杉本 修 (大阪医大・産)

7. ラットの X 線照射卵巣および polycystic ovary におけるステロイド・ホルモン分泌

沢田 勉, 市川茂孝

(大阪府大・農)

8. 男性不妊外来における Klinefelter 症候群について

谷風三郎, 真弓研介, 高橋靖昌
守殿貞夫, 石神囊次

(神戸大・医・泌)

特別講演 「性ステロイドの効果発現過程」

京都府立医大教授 岡田 弘 二

閉会の辞 次回当番世話人 京都大学農学部 入谷明

第 76 回日本不妊学会関西支部集談会

日 時 昭和 52 年 2 月 5 日 (土)

場 所 京都大学医学部産科婦人科学教室講堂

開会の辞 当番世話人 京都大学農学部 入 谷 明

演 題

- (1) 男性不妊外来における妊娠成功例の検討

(最近の症例を中心に)

○友吉唯夫, 小松洋輔

(京大泌尿器科)

- (2) 抗ゴナドトロピン抗体を用いた新しい避妊法に関する研究

○谷沢 修, 山地建二, 久 靖男

倉智敬一 (阪大産婦人科)

小林彌仁 (大阪成人病センター)

- (3) ラット卵巣におけるプロジェステロンの核内移行に対する
- 5α
- dihydroprogesterone の促進効果

○森岡宏至, 市川茂孝

(大阪府大畜産学科)

- (4) 家兎黄体形成過程におけるステロイド生合成

○鈴木 瞭, 森 崇英, 藤田泰彦

西村敏雄 (京大産婦人科)

- (5) ヒト・トロホプラストの組織培養, とくに走査・透過電顕的観察

○木下幹久, 富永敏朗, 曾根春男

小笹 宏, 西村敏雄

(京大産婦人科)

- (6) ヒト卵胞の酵素組織化学的検討

○万井正章, 森川博史, 岡村 均

西村敏雄 (京大産婦人科)

吉田吉信 (滋賀医大産婦人科)

- (7) ラット 卵子の体外受精に及ぼす各種ヘキソースの影響

○丹羽皓二, 入谷 明

(京大畜産学科)

閉会の辞 次回当番世話人

大阪大学産婦人科 倉 智 敬 一

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、平がなを用い、現代かなづかいによる。
7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
 - a. 雑誌の場合
著者名：題名、誌名、巻数：頁数、年次
原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげる。
誌名は規定または慣用の略字に従うこと。特に号数を必要とする場合は、巻数と頁数との間に括弧で囲む。すなわち
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次
- 例 1. Kilbourne, N. J.: Varicose veins of pregnancy, Amer. J. Obstet. Gynec. 25:104, 1933
2. 足高善雄, 竹村喬, 美並義博: 最近1カ年間の我が教室に於ける外来不妊患者の統計的観察, 日不妊誌, 4:13, 1959
3. 中島精, 中村正六, 角田英昭: 人工妊娠中絶と妊孕性, 日不妊誌, 2(4):38, 1957
 - b. 単行本の場合
著者名：題名、巻数：頁数、発行所、年次
- 例 1. Rovinsky, J. J., and Guttmacher, A. F.: Medical, Surgical and Gynecological Complications of Pregnancy, ed 2: p 68, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1965
9. 原稿の採否、掲載順位その他編集に関する事項は編集会議で決定する。掲載は、原則として受付順による。
10. 特別掲載を希望する場合は、受付順序によらず、すみやかに論文を掲載する。この際は掲載に要する実費は全額著者負担としかつ特別掲載料を納付する。
11. 掲載の原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。(但し、特に費用を要した場合は、その一部を著者負担とすることがある)
それ以上を必要とする場合は、原稿に総別刷部数を朱書すること。30部をこす分についての実費は著者負担とする。
12. 投稿先および諸費用の送付先は、東京都大田区大森西7丁目5の22
社団法人 日本不妊学会 事務所宛とする。

日本不妊学会雑誌 22巻2号

昭和52年3月25日 印刷
昭和52年4月1日 発行

編集兼 発行者	芦原慶子
印刷者	中村清雄 東京都品川区上大崎3-12-15
印刷所	一ツ橋印刷株式会社 東京都品川区上大崎3-12-15
発行所	社団法人 日本不妊学会 東京都新宿区 市ヶ谷砂土原町1丁目1番 保健会館別館内 Tel (03) 267-4635 振替口座番号 東京 7-93207