

日本不妊学会雑誌

第 23 卷

第 3 号

昭和 53 年 7 月 1 日

— 目 次 —

原 著

停留辜丸の h.C.G 投与に関する一考察 公平昭男・他 1

実験的辜丸免疫と内分泌学的検討 (第 1 報) 田中啓幹 12

男子不妊症患者の陰囊表面温度について 河村信夫・他 22

Relation of Progesterone and its Metabolites with Affinities for Progesterone Receptor and Progestational Activity in Rabbit Uterus T. Tamaya・他 26

Establishment of Pregnancy After Administration of H.M.G. and H.C.G. for Patients with Primary Amenorrhea of Long Duration A. Matono・他 31

先天性頸峡部欠損症の 1 例 吉沢伸二・他 35

家兎胞胚の被膜について —ムチン層の Autoradiograph— 岩城章・他 40

ヒトおよびブタ卵細胞のレクチン結合能に関する研究 長谷川美知子 47

培養顆粒膜細胞の形態学的研究 東条竜太郎 56

不妊症患者血中の抗卵巣抗体に関する臨床免疫学的研究 北川道夫 70

Field stimulation に対する摘出ヒト卵管の反応に及ぼす低濃度 prostaglandin E₁, indomethacin の影響 是永廸夫・他 78

子宮卵管造影が示す卵管通過障害陰影とその組織像に関する研究 日原弘 86

卵管性不妊に関する研究 (卵管形成術を中心として) 大久保綜也 93

Alkaline Phosphatase Isoenzymes within Placental Site in Rabbits Y. Majima・他 101

最近の不妊外来における妊娠成功例の検討 東出香二・他 108

当科不妊外来における妊娠例の臨床的分析 白川光一・他 115

最近 6 年間の当院不妊症クリニックの現況 古賀詔子・他 121

最近 4 年間の当科不妊症クリニックの現況—妊娠成功例の検討— 上田一之・他 127

過排卵ハムスター卵巣の卵胞動態に関する組織学的観察 石島芳郎・他 132

日本不妊学会関東・東北連合地方部会 137

第 74 回日本不妊学会関東地方部会 138

第 75 回日本不妊学会関東地方部会 138

第 76 回日本不妊学会関東地方部会 138

第 79 回日本不妊学会関西支部集談会 139

第 16 回日本不妊学会中四国支部総会 139

第 22 回日本不妊学会九州支部総会 140

第 20 回日本不妊学会北海道地方部会 140

第23回 日本不妊学会総会および学術講演会予告 (最終回)

第23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、多数御参加下さるよう御案内申し上げます。

会 期

昭和53年11月17日(金)、役員会(理事会、評議員会、幹事会)総会、理事長講演、18日(土)、19日(日)学術講演会

会 場

京王プラザホテル 〒160 東京都新宿区西新宿2-2-1 TEL(03)344-0111

学術講演会

I. 会長要請講演, II. 招請講演, III. シンポジウム, IV. 教育講演, V. 一般演題

I~IVにつきましては前号(第23巻2号)に演題、演者の記載がございますので御参照下さい。

一般演題の申込みはすでに締切りました。なお一般演題の申込をなされた演者ならびに共同研究者で、本学会に入会しておられない方は、至急年会費8,000円をそえて、〒160 東京都新宿区市ヶ谷砂土原町1-1、日本不妊学会に入会申込をして下さい。

総会、理事会、評議員会、幹事会

昭和53年11月17日(金)午後、京王プラザホテル

評議員懇親会

昭和53年11月17日(金)午後6時、京王プラザホテル

総懇親会

昭和53年11月18日(土)午後6時、京王プラザホテル

参加申込方法

- 1) 本学会誌前号(第23巻2号)挿入の振替用紙裏面が申込書となっております。必要事項を御記入の上お早めに参加費を払って登録して下さい。なお、学会当日の登録は参加費、総懇親会費とも6,000円となります。
- 2) 大学教室などに所属の方も必ず個人別に御申込下さい。
- 3) 本学会誌次号(第23巻2号)がプログラムおよび講演抄録集になりますので、学会当日必ず御持参下さい。

宿泊予約

本学会誌前号(第23巻2号)に宿泊予約案内および宿泊申込書が挿入されています。この用紙で昭和53年9月30日までに宿泊申込金5,000円を添えて現金書留で下記に御申込下さい。

〒101 東京都千代田区神田鍛冶町3-3 大木ビル内

(株)日本交通公社団体旅行東京中央支店第23回日本不妊学会総会係

第23回日本不妊学会総会会長

飯塚 理 八

連絡先 〒160 東京都新宿区信濃町35

第23回日本不妊学会総会事務局

TEL(03)353-1211, 内線2393, 2313

CONTENTS

h.C.G. Administration to Cases with Cryptorchidism..... <i>T. Kohdaira,</i> <i>Y. Kinoshita, M. Hosaka, R. Nishimura, S. Takai,</i> <i>K. Terashima & K. Sasaki</i>	1
Experimental Testicular Immunity and Endocrinological Study (First Report)	<i>H. Tanaka</i> 12
The Study on the Temperature of Scrotal Skin Surface of Male Infertile Patients <i>N. Kawamura</i> 22
Relation of Progesterone and its Metabolites with Affinities for Progesterone Receptor and Progestational Activity in Rabbit Uterus.....	<i>T. Tamaya, T. Motoyama,</i> <i>N. Furuta, S. Boku, Y. Ohno & H. Okada</i> 26
Establishment of Pregnancy After Administration of H.M.G. and H.C.G. for Patients with Primary Amenorrhea of Long Duration	<i>A. Matono,</i> <i>T. Nabuchi & T. Tani</i> 31
Segmental Aplasia of the Uterine Cervix	<i>S. Yoshizawa,</i> <i>K. Tasaki & K. Momose</i> 35
Studies on the Blastocyst Membrane of the Rabbit —Autoradiograph of the Mucin Layer.....	<i>A. Iwaki & A. Nozawa</i> 40
Binding of Lectins of the Zona Pellucida of Human and Porcine Ova.....	<i>M. Hasegawa</i> 47
Morphological Studies on the Cultured Human Granulosa Cells.....	<i>R. Tojo</i> 56
Autoantibodies to Ovarian Antigens in Infertile Women.....	<i>M. Kitagawa</i> 70
The Influence of Low Dose Prostaglandin E ₁ and Indomethacin on the Response of Isolated Human Oviducts to Field Stimulation.....	<i>M. Korenaga,</i> <i>K. Matsuoka, Y. Hatano & S. Yamamoto</i> 78
Comparative Study of Preoperative Hysterosalpingogram of Tubal Obstruction and Histopathological Findings.....	<i>H. Hihara</i> 86
Studies on the Tubule Infertility; Mainly of the Tuboplasty.....	<i>S. Okubo</i> 93
Alkaline Phosphatase Isoenzymes within Placental Site in Rabbits	<i>Y. Majima & H. Amano</i>101
Clinical Observations on the Pregnant Cases in our Infertility Clinic.....	<i>K. Higashide,</i> <i>O. Narita, S. Manba, Y. Shimosuka, T. Kimura,</i> <i>T. Nakanishi & Y. Tomoda</i>108
Clinical Analysis on the Pregnant Cases in our Infertility Clinic.....	<i>K. Shirakawa,</i> <i>A. Kumamoto, Y. Maruki & M. Nobori</i>115
Statistical Analysis of Infertile Women in our Clinic.....	<i>S. Koga,</i> <i>T. Nagai & H. Nagai</i>121
Statistical Study of Pregnant Cases of our Infertile Clinic.....	<i>K. Ueda,</i> <i>F. Miyauchi, T. Ito, T. Fujino,</i> <i>S. Yamashita & H. Morioka</i>127
Histological Observations on the Vicissitude of Ovarian Follicles in Superovulated Hamster Ovaries	<i>Y. Ishijima, S. Nimura & K. Ishida</i>132

学会開催のお知らせ

The 1st Pan American Congress of Andrology

日 時： 1979年3月13日—16日

場 所： Caracas (Venezuela)

演題締切： 1978年9月1日

会議登録締切： 1978年12月1日

問合せ、演題提出先：

Program Director Dr. E.F.E. Hafez, Wayne State
University School of Medicine, Medical Research
Building (Andrology), 550 E. Canfield, Detroit, Mi-
chigan. 48201, U.S.A.

停留辜丸の h.C.G 投与に関する一考察

h.C.G. Administration to Cases with Cryptorchidism

横浜市大泌尿器科 (主任: 高井修道教授)

公平昭男 木下裕三 穂坂正彦
Teruo KOHDAIRA Yuzo KINOSHITA Masahiko HOSAKA

西村隆一 高井修道
Ryuichi NISHIMURA Shudo TAKAI

Department of Urology, School of Medicine Yokohama City University
(Director: Prof. Dr. Shudo Takai)

神奈川県立こども医療センター泌尿器科

寺島和光 佐々木紘一
Kazumitsu TERASHIMA Koichi SASAKI

Department of Urology, Kanagawa Prefectural Childrens Medical Center
(Chief: Dr. Kazumitsu Terashima)

停留辜丸における辜丸下降に対する hCG 投与について検討するため片側性停留辜丸症例に hCG 4,000IU 3日間, 計12,000IU を投与し停留側及び反対側陰嚢内辜丸の刺激例, 非刺激例についてその *in vitro* の T 生成能, 及び電顕上の変化について検索した。その結果, (1) 停留側辜丸では hCG 刺激により T 生成能が上昇するのに対し, 反対側陰嚢内辜丸では年齢の上昇と共にむしろ非刺激例より減少がみられた。(2) 電顕上では 9~11歳群の反対側辜丸間質細胞ではミトコンドリア, 滑面小胞体が減少し空胞変性が多数出現した。このことより過剰の hCG 刺激により反対側辜丸が障害をうけ一層その精子形成能の低下をまねく危険性を指摘した。hCG の投与による辜丸下降の効果の低率から下降のための hCG 投与は検討すべきである事を強調した。

さらに hCG 刺激試験としての投与量が本症を含む小児においては, 過剰となり正しい辜丸間質細胞機能を反映しないので現行の4,000IU 3日間投与は再検討する必要があるとのべた。

I. 緒言

1932年, Engle¹⁾により猿の辜丸下降に妊婦尿よりの抽出物質が有効であるという報告以来, 本症の辜丸下降に対し様々の方式で h.C.G (human chorionic Gonadotropin) の投与が施行されている。

今回, われわれは片側性停留辜丸患者に hCG による刺激試験を施行し, 主として *in vitro* の androgen 生成能よりみた内分泌学的変化及び電顕所見よりみた組織学的変化に対し, 文献的考按を含めて検討し, 本症の辜丸下降に対する hCG の投与に対し考察を加えた。

II. *in vitro* の androgen 生成能

対象: 2~27歳の片側性停留辜丸症例を対象とした。内訳は hCG 非刺激例27 (停留側辜丸18, 反対側陰嚢内辜丸9), hCG 刺激例16 (停留側辜丸8, 反対側辜丸8) 計43辜丸である (表1)。

方法: 片側性停留辜丸症例に hCG 4,000IU を3日間筋注し, 4日目に辜丸固定術を施行した。検体は, この際採取した30mg の辜丸組織である。androgen 生成能の基質としては, progesterone-7 α -³H, 1.0 μ Ci (9.6Ci/mM) 104pmol を使用し, incubation time は60分であ

表 1 Materials on androgen biosynthesis

Age (Years)	Undescended Testes		Contralateral intrascrotal Testes	
	Non Stimulation	Stimulation	Non Stimulation	Stimulation
2	1			
4	3	1	2	
5	1		1	
6	2	1	1	2
7	1	1	1	
8	2	1	1	1
9	1		1	
10	1	1		1
11	1			
12	1	1		1
13	1		1	
14			1	
21	1			
22	1	1	1	1
23	1			
27		1		1
	18	8	9	8

Total 43 Testes

る。測定方法の詳細は、穂坂の方法に準じた²⁾。(穂坂ら, 1974)²⁾, (公平, 1976)³⁾(表2)。

結果: 結果は、基質に対する各生成物の生成変換率で表わした。われわれの方法では、その最終生成物である Testosterone (T) の生成率を以つて、基質よりの全経路の酵素活性の総括的評価、すなわち androgen 生合成能の指標とした。すでに別報では、同様な方法を用いて、停留率丸症例を検索し、停留率丸では、反対側陰嚢内率丸に比較し5歳以後成人に至るまで間質細胞の機能低下が存在する事を報告している⁴⁾。(公平, 1976)

今回の各症例の年齢群別の hCG 刺激、非刺激例の結果は表の通りである(表3, 図1)。

これからわかるように最終生成物の T 生成率は、停留率丸においては0~10歳では、hCG 非刺激例 $0.99 \pm 1.04\%$ とほとんど T 生成はないが、hCG 刺激例では $9.13 \pm 3.88\%$ と約10倍の増加がみられた。11~13歳では、非刺激例 $6.44 \pm 3.18\%$ と年齢の上昇と共に T の生成は増加し、hCG 刺激例では、さらに $16.7 \pm 0.0\%$ へと増加がみられた。成人例においては非刺激例 $7.9 \pm 2.2\%$ に対し刺激例 $21.5 \pm 0.7\%$ へと増加がみられた。

すなわち、停留率丸では、年齢の上昇と共に徐々に T 生成も上昇し、hCG 刺激によりさらに増加する事が判明した。

一方、反対側陰嚢内率丸においては、0~10歳では、

hCG 非刺激例 $3.73 \pm 3.78\%$ であるが、刺激例では $12.7 \pm 4.4\%$ へと増加がみられた。また11~13歳では非刺激例 $17.00 \pm 0.0\%$ とさらに上昇がみられるが、刺激例では、 $5.77 \pm 0.0\%$ と減少、さらに成人例では非刺激例 $19.30 \pm 0.0\%$ が、刺激例では $3.08 \pm 0.92\%$ へと減少がみられた。

すなわち反対側率丸では、hCG 非刺激例の場合、全年齢層にわたって停留率丸よりも T 生成の上昇がみられた。ところが、hCG 刺激例では年齢の増加と共に T 生成は減少しつつは hCG 非刺激例の値以下に減少がみられた。

III. 電顕を中心とした組織学的所見

hCG 刺激時の間質細胞の変化について、それぞれ、停留率丸12率丸及び反対側陰嚢内率丸11率丸、(hCG 非刺激例11率丸及び hCG 刺激例12率丸)について3~7歳群(8例, 15率丸)9~11歳群(5例, 8率丸)に分け、計13例23率丸について観察した。この際、androgen 生合成能の検索と電顕学的検索とは率丸組織採取量の関係より必ずしも同一症例で両者の検索を施行してないことを述べておく。従つて同様な年齢群の所見を比較、検討した(表4)。

1. 3~7歳群

(1) 停留率丸

a. hCG 非刺激例: Collagen fiber 著明, 粗面小胞

表 2 Flowsheet of a method

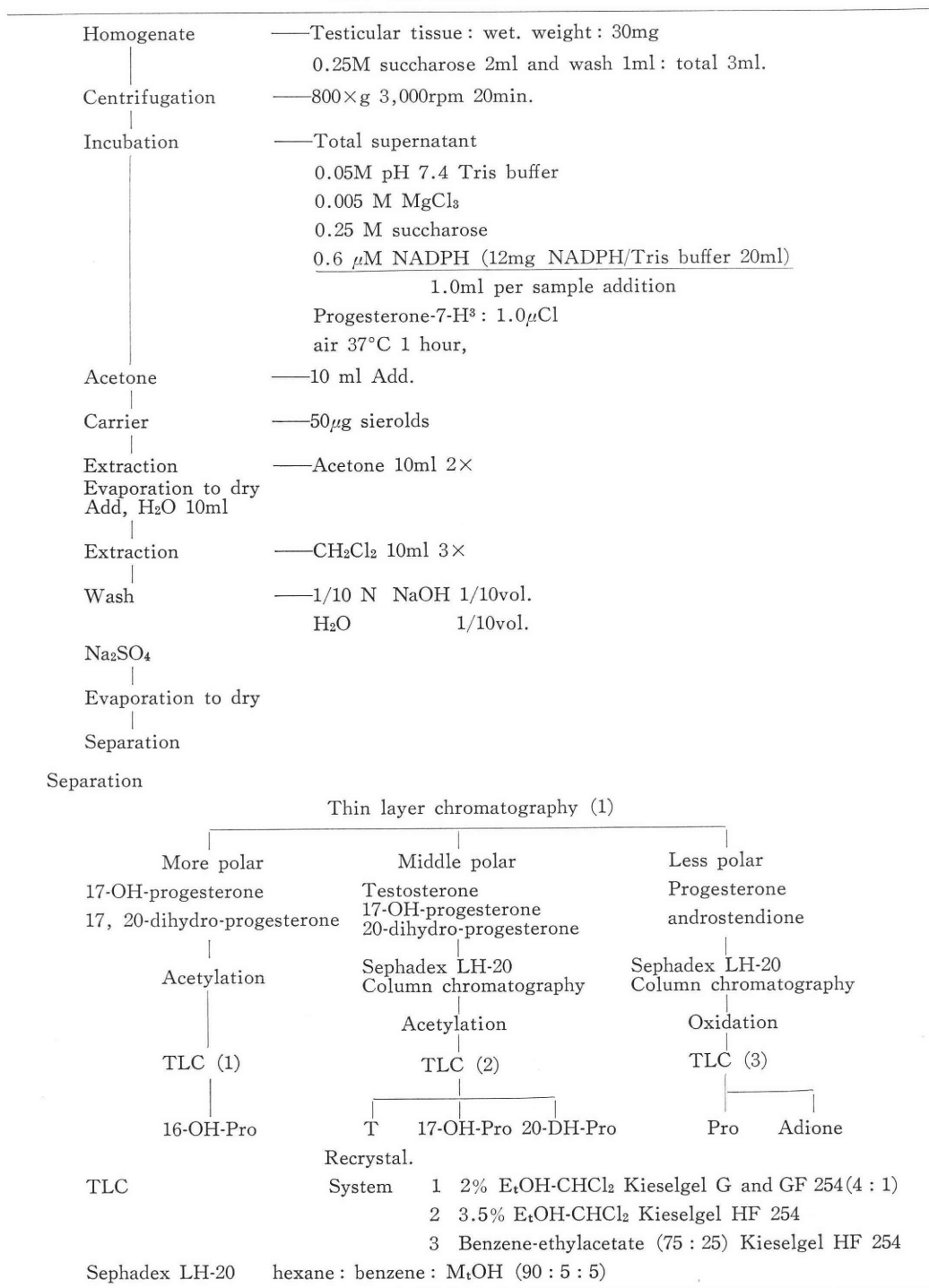


表 3 Testosterone formation

(Before and after hCG stimulation)

Age (years)	Undescended testes		Contralateral intrascrotal testes	
	Before	After	Before	After
0~10	0.99±1.04% (N=12)	9.13±3.88% (N=5)	3.73±3.78% (N=7)	12.7 ±4.4 % (N=4)
11~13	6.44±3.18% (N= 3)	16.7 ±0.0 % (N=1)	17.00±0.0 % (N=1)	5.77±0.0 % (N=1)
Adult	7.9 ±2.2 % (N= 3)	21.5 ±0.7 % (N=2)	19.30±0.0 % (N=1)	3.08±0.92% (N=2)

(% of conversion)

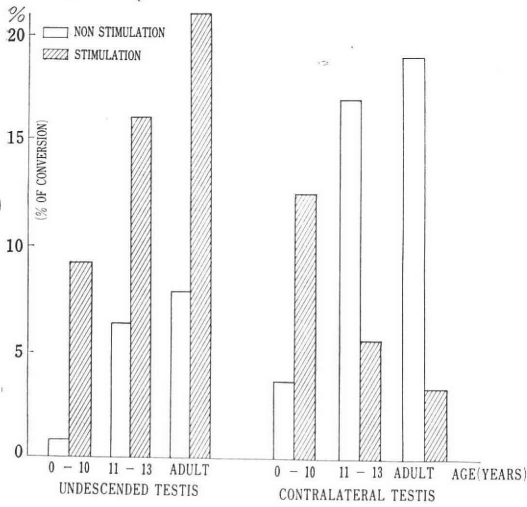


図 1 Testosterone formation in cryptorchidism. (hCG 4,000 IU daily, for 3 days)

体はわずかにみられるがミトコンドリア, 滑面小胞体はみられない(図2).

b. hCG 刺激例: Collagen fiber 著明. 粗面小胞体の軽度増加, ミトコンドリアはわずかにみられるが滑面小胞体はみられない(図3).

(2) 反対側率丸

a. hCG 非刺激例: Collagen fiber は, ほとんどみられない. 粗面小胞体はみられるが, ミトコンドリア, 滑面小胞体は存在しても少数である(図4).

b. hCG 刺激例: Collagen fiber はほとんどみられない. 非刺激例と比較し, ミトコンドリア, 滑面小胞体はやや増加している(図5).

2. 9~11歳群

(1) 停留側率丸

a. hCG 非刺激例: Collagen fiber 著明. ミトコンドリア, 粗面小胞体はみられるが, 滑面小胞体はほとんどみられない(図6).

表 4 Schematic representation of case with cryptorchid testis on electron microscopic studies

Case No.	Age	hCG	Undescended Testes	Contralateral intrascrotal T.
1.	3	(+)	1	1
2.	4	(+)	1	1
3.	5	(-)	1	1
4.	5	(-)		1
5.	5	(+)	1	1
6.	5	(-)	1	1
7.	6	(-)	1	1
8.	7	(-)	1	1
9.	9	(+)**	1	※
10.	10	(-)	1	1
11.	10	(+)	1	1
12.	9	(+)**	1	1
13.	11	(+)	1	※
Total			12	11 23 Testes

* Bilateral cryptorchidism

** hCG was administrated 5 years ago

*** hCG was administrated 5 months ago

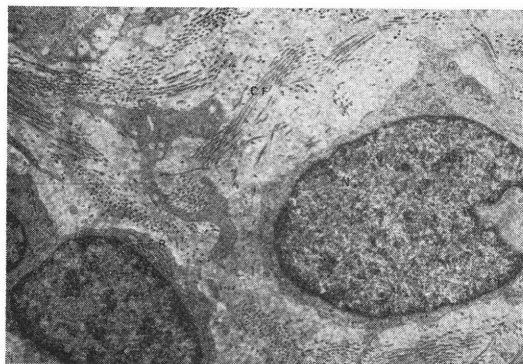


図 2

Electron microscopic findings of undescended testes in 3-7 age group. no hCG stimulation. (case no. 3)

Large amount of collagen fibers are shown in interstitium. Roughsurfaced endoplasmic reticulum is found, but mitochondria and smoothsurfaced endoplasmic reticulum are not found.

Abbreviation: N: nucleus, CF: collagen fiber, M: mitochondria, RER: roughsurfaced endoplasmic reticulum, SER: smoothsurfaced endoplasmic reticulum, V: vacuole, R: red blood cell

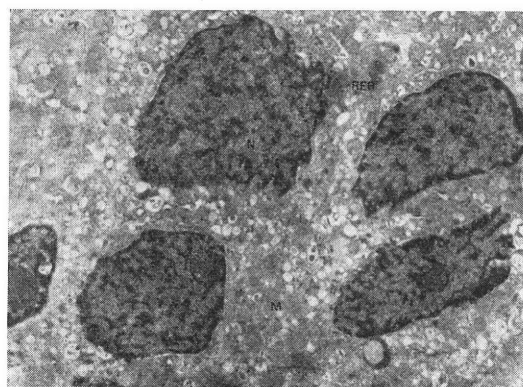


図 4

Electron microscopic findings of contralateral testes in 3-7 age group. No hCG stimulation. (case no. 3)

No collagen fiber is shown. Mitochondria is found.



図 3

Electron microscopic findings of undescended testes in 3-7 age group. hCG stimulation. (case no. 2)

Large amount of collagen fibers are shown. Roughsurfaced endoplasmic reticulum is slightly on the increase.

b. hCG 刺激例: Collagen fiber 著明. ミトコンドリアは増加し, 滑面小胞体がみられる(図7).

(2) 反対側睾丸

a. hCG 非刺激例: Collagen fiber はみられない. ミトコンドリア, 滑面小胞体共に豊富にみられる(図8).

b. hCG 刺激例: ミトコンドリア, 滑面小胞体は消失



図 5

Electron microscopic findings of contralateral testes in 3-7 age group. hCG stimulation. No collagen fiber is shown. Rough surfaced endoplasmic reticulum and mitochondria are found. (case no. 2)

ないし, あつてもわずかで間質には赤血球がみられた. 細胞質に大小多数の空胞の出現がみられた(図9).

(3) さらに以上の series と別に次の電顕的所見を観察した.

a. 9歳, 片側性停留辜丸症例, 5カ月前に某院で hCG 500IU. 週3回, 計6,000IU の筋注をうけた症例の反対側陰嚢内辜丸: 間質細胞はミトコンドリア, 滑面小胞体はほとんどみられない. 大小多数の空胞がみられた(図10).

b. 11歳, 両側性停留辜丸症例, hCG 4,000IU 3日間筋注し, 4日目に手術, 生検した処, 辜丸は腫大, 辜丸組織の断面は赤褐色を呈していた. 光顕及び電顕にて, 間質に多数の赤血球が存在した. 浮腫もみられた.

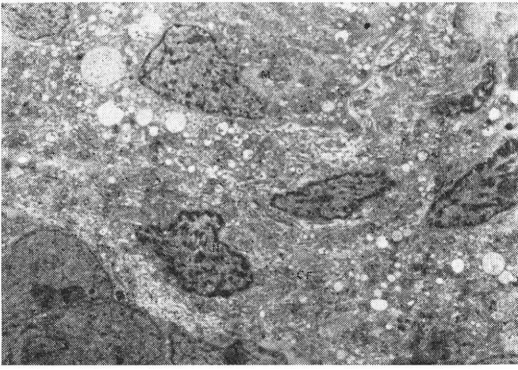


図 6

Electron microscopic findings of undescended testes in 9-11 age group. No hCG stimulation.

Large amount of collagen fibers are shown, mitochondria is slightly found, but smooth-surfaced endoplasmic reticulum is not found. (case no. 10)

Endocrinological data: Plasma testosterone concentration 15 ng/dl. Testosterone conversion rate 0.4%

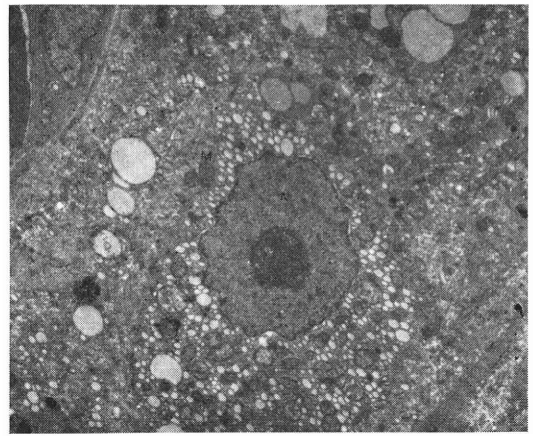


図 8

Electron microscopic findings of contralateral testes in 9-11 age group. No hCG stimulation.

No collagen fibers is shown. Large amount of mitochondria and smooth-surfaced endoplasmic reticulum are found. (case no. 10)

Endocrinological data: Plasma testosterone concentration 15 ng/dl testosterone conversion rate 13%

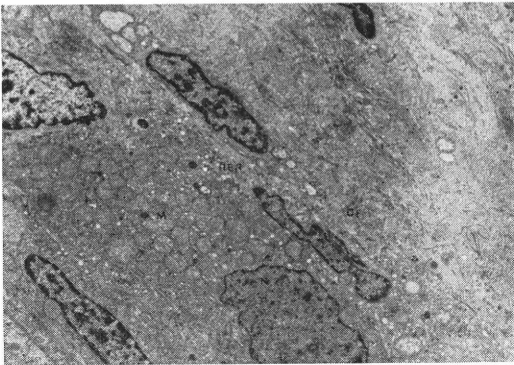


図 7

Electron microscopic findings of undescended testes in 9-11 age group. hCG stimulation. A lot of collagen fibers are shown in interstitium. Mitochondria markedly increased. endoplasmic reticulum appeared. (case no. 11)

Endocrinological data: Plasma testosterone concentration 80 ng/dl (before hCG stimulation), 353 ng/dl (After hCG Stimulation), Testosterone conversion rate 14.8%

間質細胞は、ミトコンドリア、滑面小胞体は豊富で、空胞変性は、みられなかつた(図11)。

以上より、電顕的所見としては、hCG 非刺激の場合、停留側率丸の方が、反対側率丸より、より未熟である事が判明した。hCG 刺激の場合には、停留側率丸では、

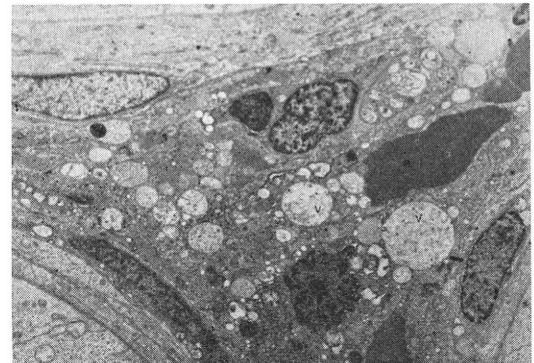


図 9

Electron microscopic findings of contralateral testes in 9-11 age group. hCG stimulation. Mitochondria and endoplasmic reticulum are not found. A lot of vacuoles appeared. Red blood cells are shown in interstitium. (case no. 11)

Endocrinological data: Plasma testosterone concentration 80 ng/dl (before hCG stimulation), 353 ng/dl (after hCG stimulation) Testosterone conversion rate 9.6%

それぞれ年齢に応じて、成熟の程度を増加した。しかし、反対側率丸3~6歳群では、同様にhCG刺激により成熟がみられるが、9~11歳群では、むしろ間質細胞では、変性が観察された(表5)。(3)の特殊な例について

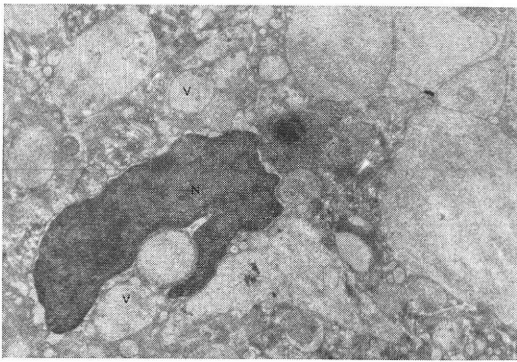


図 10

Electron microscopic findings of contralateral testis of 9 year old boy after administration of 6,000 IU of hCG for 5 months. Mitochondria and endoplasmic reticulum are few. A lot of vacuoles are found. Edem of cytoplasm is shown. (case no. 12)

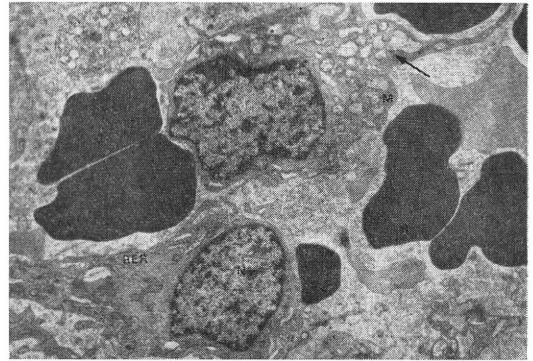


図 11

Electron microscopic findings of bilateral undescended testis, 11 years old boy. hCG stimulation. (case no. 13) Red blood cells are found in interstitium. Mitochondria and rough surfaced endoplasmic reticulum are found. Vacuole-like findings are shown (arrow mark).

表 5 Summary of electron microscopic findings

Organella	Age Yrs.		3 ~ 7 (N=15)				9 ~ 11 (N= 8)			
	Side	hCG	Undescended testis		Contralateral intrascrotal testis		Undescended testis		Contralateral intrascrotal testis	
			hCG(-)	hCG(+)	hCG(-)	hCG(+)	hCG(-)	hCG(+)	hCG(-)	hCG(+)
Collagen fiber			++	++	±	±	++	++	-	-
Mitochondria			-	±	±	+	±	+	++	-
RER			±	+	+	+	+	+	+	-
SER			-	±	±	+	±	+	++	-
Vacuolation			-	-	-	-	-	-	-	###

(RER : Rough surfaced endoplasmic reticulum)
(SER : Smooth surfaced endoplasmic reticulum)

ては考按で言及する。

IV. 考 按

(1) 辜丸下降に対する hCG 投与とその考え方

本症の辜丸下降に対し hCG を投与するきっかけとなったのは、1932年 Engle¹⁾が、妊婦尿中の抽出物質を使用して猿の停留辜丸に有効であったという報告のようである。その後、この報告をもとにして妊馬血清性腺刺激ホルモン(PMS),あるいは絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG) が使用され今日に及んでいる。

辜丸下降には母体の hCG が関与しているという考え方があり、今日では一般に hCG が多く使用されている。しかしながら、hCG が真に辜丸下降に関与し、どのようなメカニズムで下降するのか、その明確な根拠は現在まで不明である。そして一体 hCG それ自体が下降

に関与するのか、hCG により分泌された testosterone が、関与するのか、全くわからない状態といつてよい。

Palmer⁶⁾ (1833) によると、胎児の辜丸の下降状態は、胎生7カ月までは大部分腹部に停留しているが、9カ月では、ほとんどが陰嚢内に移動しているという。つまり何らかの機転で胎生8カ月の頃に急速に下降するものと思われる。

この下降時期と血中ホルモン濃度との関連について述べてみよう。

近年の血中各種ホルモンの測定法の進歩は血中T.の微妙な分泌状態を明らかにし辜丸間質細胞の活動時期を明らかにした。それによると、辜丸間質細胞の活動は、性器の分化する胎生11~12週、性中枢の分化に作用するという出生直後(生後1~3カ月)及び、二次性徴の発来する思春期の3つに peak をもつという。

下降に近い時期のホルモンの分泌についてみると、野村⁷⁾(1977)によれば、胎生4カ月以後の胎児血中T.値は、女性値の約3倍となり、その胎生24週(6カ月)までの持続を認めている。Reyesら⁸⁾(1974)によると胎生11~17週が最も血中T.濃度が、高値を示すという。多くの報告は胎生10~16週にかけて peak を有し、胎生6カ月以後は出生まで睾丸間質細胞は萎縮状態を示すという。

これからみる限りでは、血中T.の peak と睾丸下降の時期とは、大部ずれがありそうである。もし胎生4カ月頃に血中T.がなくそのために停留状態が持続するとするならば、一次性徴に異常を生ずる可能性があるが、そのような事実はない。

次に gonadotropin についてみると、野村⁷⁾は、LH は、胎生20~24週を peak として以後次第に下降するという。FSH は、妊娠中は、男児においてはほとんど上昇しないという。また Reyesら⁸⁾によると、hCG-LH の level は、胎生12~14週を peak とし以後、次第に下降するという。川口ら¹⁹⁾(1977)によれば、妊婦血中hCG を β -subunit の Radioimmunoassay にて測定したところ、妊婦10週前後に大きい peak があり、その後、妊娠34~38週に小さい peak があるという。

従つて、睾丸下降に関与するものとしてはどちらかといえば、血中T.よりは hCG-LH 濃度の方が関連がありそうである。それも大部分が hCG であるので、胎盤を通じて、胎児への影響が考えられる。

もし、hCG が下降に関与しているとする睾丸が下降する胎生8カ月頃の血中T.の上昇、組織学的にみた間質細胞の成熟、増殖が認められてよいはずである。しかし実際にはそうではない。

結局、停留睾丸の場合、ホルモンが関与しているとしても、(1) その下降不全が Gonadotropin のレベルが低いためにおこるのか、(2) Gonadotropin が低いために睾丸より分泌される T. の濃度が低くなるためにおこるのか、あるいは、(3) Gonadotropin は正常のレベルでも、睾丸自体の異常のために十分対応しえないのか。これらの問題については、現在全く未知であるといつてよい。

現在、本症の睾丸下降に対しては大別して(1) 大量短期療法として hCG 3,000IU を隔日3回投与する方法。(2) 少量長期療法として一回500IU を週3回、7週投与する方法の二種の投与方法がとられているようである⁹⁾。(Ehrlich, 1969)

これらの hCG 投与の下降に対する成績としては、以前には50~60%に有効という報告もみられた。しかし、正確な Control 群が得にくいこと、移動性睾丸との鑑別が不十分であつた事、あるいは停留の程度の変化を有

効としていたために、このような高率の成績が出たものと思われる。現在では、せいぜい10%以下であろうと考えられている。(辻, 1976)¹⁰⁾、(酒徳ほか, 1977)¹¹⁾

しかしながら、このように hCG 投与の根拠が不明である上に下降に対する効果が低いにもかかわらず、現在なお依然として本症の睾丸下降に対して、先にのべた量ないし、場合によっては、それ以上の大量の hCG の投与がなされているのが現状である。

(2) hCG 投与による副作用

hCG 投与の副作用としては、高安ら¹²⁾(1966)によると hCG 自体は allergic anaphylactic 物質ではなく、もつぱら hCG が睾丸を刺激して分泌する androgen の作用によるものであるという。それらは、陰茎の肥大、勃起、睾丸の腫大、恥毛の発生などの急速な二次性徴の発来ともいえる状態である。和久¹³⁾(1957)も同様な報告をおこなっている。このような androgen による副作用は、他の報告者よりもあげられているが、報告者によっては、多少やむおえないとする考え方も存在し、中にはこのような急速な二次性徴が、hCG 投与の限量であるとする考え方もあつたようである。

一方、組織学的に hCG 投与の副作用をのべているものとして、Charney¹⁴⁾(1960)は、hCG 投与時にみられる睾丸の腫大は一般に考えられているような tubular growth ではなく、浮腫によるものであるという。そして、大量の hCG の投与は、停留側及び、反対側睾丸共に永久的 cellular maturation の抑制をもたらすと述べている。

一方、間質細胞に対する hCG の影響についてみると、自験例の結果から、先にのべた如く、9~11歳の反対側睾丸では hCG 刺激により非刺激例よりもT.生成の低下がみられた。その機能低下は、電顕的にも間質細胞の変性の所見より確認された。

これは、畠山^{15,16)}(1965)によると hCG による間質細胞への overstimulation により滑面小胞体、ミトコンドリアなどの organelle の変性を生じたため、より未熟な停留側睾丸は hCG により、ある程度の成熟をし、一方元来より成熟した反対側睾丸にとっては、過剰反応としてあらわれたためであるという。

志田ら¹⁷⁾(1975)によると、hCG 刺激試験によると、成人にくらべ、幼児症例は反応倍率は、はるかに大きいとのべている。つまり未熟な間質細胞の方が hCG に対する反応が大きいという事である。また北島⁹⁾(1977)によると、免疫組織学的にみて、hCG の結合する細胞は主として未熟型 Leydig 細胞であり、この細胞の持っている hCG 結合部位の感度は、成熟型 Leydig 細胞に比して、高いとのべている。

ところで、間質細胞には hCG 刺激による成熟過程に一定の上限があり、その上限をこえる刺激をうけると、間質細胞は変性におちいるという pattern は、認めてもよさそうである。

これらの考え方からみると、停留辜丸をふくむ未熟な小児辜丸の hCG に対する反応率が大きなのは当然であり、他方より成熟した片側性停留辜丸の反対側辜丸間質細胞は、同じ hCG の刺激をうけても、停留側より早くに成熟の限界に達し、変性に至るものと考えられる。

今回の実験では、hCG 投与量はすべて4,000IU、3日間、計12,000IU に統一したわけであるが、次に注目すべき2例を紹介してみよう。第1例は、9歳片側性停留辜丸症例で、約5カ月前に他医で hCG 500IU を週3回、計6,000IU の投与をうけていた。この症例の反対側辜丸間質細胞を電顕的に検討すると、12,000IU 4カ月の場合と同様の空胞変性が、間質細胞にみられた。この空胞変性が6,000IU という比較的少量の hCG により出現したこと、及び、投与後5カ月後になおこの変化が存在していた事実は、非常に興味のもたれる点である。他の1例は11歳、両側停留辜丸症例で、他の症例同様4,000IU 3日間、計12,000IU を筋注後、4日目に手術を施行した処、両側辜丸は腫大し辜丸組織は赤褐色を呈し光顕的にも電顕的にも間質への出血を認めた。しかしこの間質細胞は十分な成熟がみられたものの明らかな空胞変性は認められなかつた。これは、本来より未熟であるので空胞変性まで至らなかつたと思われるが、腫大出血は空胞変性をきたした辜丸にもみられることから、この状態は、空胞変性の前段階の変化で、hCG 刺激による過剰反応の一つとみてよいと思われる。

さて本症の辜丸下降に対する投与量としては、先にのべた約10,000IU の hCG の他に、それ以上の大量の hCG を投与する場合も多くあると思われる。大量の hCG が投与された場合、今回の9~11歳の反対側辜丸のみならず、それ以下の年齢の反対側辜丸、あるいは、9~11歳でも、停留側辜丸にも変性を生ずる可能性が大きい。反対側辜丸は本来、停留側辜丸より精細管、間質細胞機能共に健全であり、今後は、本症の治療の対象を、従来の停留側辜丸から、反対側辜丸に向けるべきである事を主張しているわけであるが⁴⁾、(公平, 1976) その間質細胞に障害を生じた場合、その精子形成能は、さらに低下する可能性は大きい。

今回の症例数は必ずしも十分ではないのでこの変性はたして全例に発生するものか、もし発生するなら可逆的なものであるのか、非可逆的なものであるのか、また hCG 投与量、投与期間、さらには個体の感受性の相異など今後の検討する問題は大きい、いずれにしても、

その治療として投与したものが逆に本症の精子形成不全をさらに悪化させる結果となる危険をはらむならば、今後 hCG の投与は一層、慎重になされるべきであろう。

今回の hCG 投与に対する考察は、あくまでも、辜丸下降に対し投与される hCG に関するものであり、本来の精子形成不全に対する、内分泌的治療の一部としての hCG 投与については、その投与量、投与時期、併用薬剤など、他の不妊症一般と異なり一層困難な問題が多くこれについては、別の機会にふれたいと思う。

V. hCG 刺激試験について

現在、辜丸機能検査法としての hCG 刺激試験は、成人におけると同様、一般には小児においても4,000IU、3日間投与が、施行されている。

Grant, D. B. ら¹⁰⁾(1976) は、小児においては hCG 1,000IU、3日間の投与でも4,000IU、3日間投与の刺激と同様の反応が示されると報告している。

これは、4,000IU 3日間投与ばかりでなく、すでに1,000IU 3日間投与が小児辜丸の未熟な間質細胞にとっては、過剰の刺激であり、急速な成熟によりT.生成成分を亢進させその限界状態にいたっている事を想像させる。

特に片側性停留辜丸にとつては、停留側と反対側辜丸間質細胞それぞれに成熟の限界に達するまでの異なる過程が存在するものと思われる。そして、この限界に早く達するのは、元来より成熟した反対側辜丸間質細胞であり、その結果、より早く変性にまで達するのであると自験例の結果より考えられる。

自験例では、9~11歳の4例の片側性停留辜丸症例に hCG 4,000IU 3日間を投与した際、その前後の血中T.濃度を測定しているが、それによると前値平均15.75±1.08ng/dl、4日目平均347.0±164.3ng/dl で、反応率は実に20倍であつた(表6)。

この反応値は、反対側陰嚢内辜丸は変性状態にあり、また一方、停留側辜丸では変性にいたるほどの刺激にはならず、おそらく、成熟の限界に達している状態にある

表6 Response of plasma testosterone by hCG stimulation in 9-11 age group

Age (Years)	Before	After
9	17	284
10	16	112
10	14	543
11	16	449
M±SD	15.75±1.08	347.00±164.33

(ng/dl)

血中T. 濃度である事を知る必要がある。そして、一般には、この血中T. の反応値のみからこれらの率丸の組織学的変化を推定する事は不可能である。従つて、この値より両側の率丸機能を推定、評価するのは適切でなく、非常に危険でさえある。このような正しい評価の得られない場合、4,000IU 3日間投与のhCG刺激試験は、停留率丸および他の小児率丸疾患に、施行するのはのぞましくなく、今後の検討が望まれる。

VI. 結 論

片側性停留率丸症例に対するhCG 4,000IU. 3日間投与により、in vitro の androgen 生合成能及び電顕的所見より間質細胞の変化を検討した。

1. 9~11歳群の反対側陰嚢内間質細胞ではhCG刺激により変性が生ずる事が判明した。

2. この変化は、血中T.の反応性によつては判明しえない。

3. 本症の率丸下降に対するhCGの意義とその効果に疑問を与え。

4. 下降の効果の少ないにもかかわらず、より健全な反対側率丸を変性にいたらせる可能性の大きいhCG投与の危険性を強調した。

5. また、本症における率丸機能検査法としてのhCG刺激試験について、現行の方法の再検討の必要をのべた。

稿を終るに当たり、電顕学的変化について御指導いただいた東京医歯大畠山教授、また種々御協力いただいた神奈川県立成人病センター検査科田村猛氏に深く感謝の意を表します。

本論文の要旨は、第22回日本不妊学会総会において発表した。

なお本研究は、昭和51年度及び52年度文部省科学研究費の援助によるものである。ここに謝意を表する。

文 献

- 1) Engle, E. T.: Experimentally induced descent of the testis in the macacus monkey by hormones from the anterior pituitary and pregnancy urine, *Endocrinology*, 16: 513, 1932.
- 2) 穂坂正彦, 今野稔, 西村隆一: 率丸のステロイド生成, ホと臨床, 22: 709, 1974.
- 3) 公平昭男: 停留率丸の内分泌学的研究, 第1報: androgen biosynthesis (in vitro) における検体組織の微量化の検討, 日泌尿会誌, 67: 785, 1976.
- 4) 公平昭男: 停留率丸の内分泌学的研究, 第2報: 思春期前後の停留率丸症例における androgen biosynthesis (in vitro) の検討, 日泌尿会誌,

67: 795, 1976.

- 5) 北島清彰: 率丸におけるゴナドロピンの作用機序に関する免疫組織学的研究, 日泌尿会誌, 68: 713, 1977.
- 6) Palmer, J. F.: Quoted from Scorer, C. G.: *Congenital Deformities of the testis and epididymis*, Butterworth, London, 1971.
- 7) 野村洋二, 沢田昌夫, 栃木秀麿, 津端捷夫, 吉田孝雄, 高木繁夫: 胎児期ならびに新生児期における下垂体-性腺系の性差, ホと臨床, 24: 499, 1976.
- 8) Reyes, F. I., Boroditsky, R. S., Winter, J. S. D. and Faiman, C.: *Studies on Human Sexual Development. 2. Fetal and Maternal Serum Gonadotropin and Sex Steroid Concentration.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38: 612, 1974.
- 9) Ehrlich, R. M., Dougherty, L. J., Tomashefsky, P. and Lattimer, J. K., *Effect of gonadotropin in cryptorchidism*, *J. Urol.*, 102: 793, 1969.
- 10) 辻一郎: 小児泌尿器科の臨床(改訂2版), p. 246, 金原出版, 東京, 1976.
- 11) 酒徳治三郎, 他, 第6回アンドロロジー研究会での発表, 東京, 1977.
- 12) 高安久雄, 熊本悦明, 広瀬欽次郎, 木下健二, 岩動孝一郎, 横山正夫: 停留率丸におけるHCG療法の再検討, 特にHCGの身体発育に及ぼす影響について, 日泌尿会誌, 57: 619, 1966.
- 13) 和久正良: 停留率丸の研究, 日泌尿会誌, 48: 149, 1957.
- 14) Charny, C. W.: *The spermatic potential of the undescended testis before and after treatment*, *J. Urol.*, 83: 697, 1960.
- 15) 畠山茂: personal communication, 1977.
- 16) Hatakeyama, S.: *Acta Path. Jap.*, 15: 155, 1965.
- 17) 志田圭三, 他: ホと臨床, 増刊(内分泌負荷試験): 81, 1975.
- 18) Grant, D. B., Laurance, B. M., Atherden, S. M. and Ryness, J.: *HCG stimulation test in children with abnormal sexual development*, *Archives Dis. child.*, 51: 596, 1976.
- 19) 川口雄次, 牧野恒久, 赤塚正純, 大野虎之進, 飯塚理八: β -subunit hCGのRIAによる症例別にみた流死産患者の血中hCG値の変動, 日不妊会誌, 22: 39, 1977.

h.C.G. administration to cases
with cryptorchidism

**Teruo Kohdaira, Yuzo Kinoshita,
Masahiko Hosaka Ryuichi Nishimura
and Shudo Takai**

Department of Urology, School of Medicine
Yokohama City University
(Director: Prof. Dr. Shudo Takai)

Kazumitsu Terashima and Koichi Sasaki

Department of Urology, Kanagawa Prefectural
Childrens Medical Center
(Chief; Dr. Kazumitsu Terashima)

This report describes the effect of h.C.G. on biosynthesis of testosterone and on the electron microscopic findings of testis in cases with human cryptorchidism.

The results are summarized as follows:

1) It was noted that following administration of 4,000 IU of hCG for 3 days on patients with unilateral cryptorchism, the conversion rate of progesterone to testosterone in undescended testis in 0-10, 11-13 age group and in adult group showed an increase from $0.99 \pm 1.04\%$

(N=12) to $9.13 \pm 3.88\%$ (N=5), $6.44 \pm 3.18\%$ (N=3) to $16.7 \pm 0.0\%$ (N=1) and $7.9 \pm 2.2\%$ (N=2) to $21.5 \pm 0.7\%$ (N=2) respectively.

2) It was interesting that while the conversion rate of contralateral intrascrotal testis in 0-10 age group showed an increase from $3.73 \pm 3.78\%$ (N=7) to $12.7 \pm 4.4\%$ (N=4), the conversion rate in 11-13 age group and in an adult group showed a decrease from $17.00 \pm 0.0\%$ (N=1) to $5.77 \pm 0.0\%$ (N=1) and $19.30 \pm 0.0\%$ (N=1) to $3.08 \pm 0.92\%$ (N=2), respectively.

3) From the electron microscopic studies, it was demonstrated that while the interstitial cell (Leydig) of the contralateral intrascrotal testis in 9-11 age group showed a lot of smoothsurfaced endoplasmic reticulum and mitochondria before hCG stimulation, a lot of vacuoles (destructive change) were seen in the endoplasmic reticulum and mitochondria after hCG stimulation.

4) It was pointed out that the overdoses of hCG as a therapy for unilateral cryptorchism might have some destructive effect on almost normal contralateral intrascrotal testis.

5) It was also suggested that the stimulation test using 4,000 IU of hCG for 3 days was not reasonable to estimate interstitial cell function of human cryptorchism because of overdoses.

(受付: 昭和52年11月15日)

実験的睾丸免疫と内分泌学的検討 (第1報)

Experimental Testicular Immunity and Endocrinological Study (First Report)

川崎医科大学泌尿器科学教室 (主任: 大森弘之教授)

田 中 啓 幹
Hiroyoshi TANAKA

Department of Urology, Kawasaki Medical School, Kurashiki, Japan.
(Director: Prof. H. Oomori)

豚と Rat の睾丸より細胞性不溶リポ蛋白を抽出可溶化後 Rat と Guinea Pig (GP) に免疫し実験的アレルギー性睾丸炎 (EAO) を作成し、同時に Rat に Testosterone-3-BSA (T-3-BSA) で能動免疫した。その結果、ゲル内二重拡散法で異種抗原で感作した Rat と GP の沈降抗体は全匹陽性、同種間と異種間の沈降線は同一であった。同種抗原で感作した Rat は沈降抗体は陰性であったが凝集反応では高い抗体価が得られた。病理組織学的検査で EAO Rat と GP では明らかな精細管障害の差があり Rat は軽度、GP は高度の germ cell の細胞崩解と脱落が認められたが間質はほとんど変化がなかった。T-3-BSA 感作 Rat では間質の増殖と Leydig 細胞の腫大がみられたが精細管はほぼ正常であった。血清 Testosterone (T) 値と % Bound T 値は EAO Rat ではほぼ正常範囲内の変化であったが T-3-BSA 感作 Rat では両値共に明らかに高値を示した。

緒 言

男子不妊症の病因の多くは造精障害にあり、その原因として先天性あるいは後天性のものが挙げられているが、未だに大部分のものは病態が不明である。そこで、造精障害、さらに精子の生殖力喪失の原因の1つとして睾丸の自己免疫疾患が考えられている。島山¹⁾ (1974) によると、理論的には一般に自己の組織に対する免疫学的寛容性は胎生期に確立されるが、精子は思春期になって始めて形成される後天的出現をみる特殊な細胞で、免疫細胞と接触する可能性のない閉鎖的環境で終始することから十分自己抗原化する資格を有しているという。この理論的背景に立脚して多くの臨床的研究と動物実験がなされているが、これを大きく分けると、ひとつは精子に対する自己抗体 (抗精子抗体) の証明で、もうひとつは睾丸組織を使った免疫学的睾丸炎と無精子症の実験的作成である。前者の抗精子抗体は sperm agglutination, sperm cytotoxicity などの検査によつて代表される humoral antibody で、睾丸障害や妊孕性との間には現在の所矛盾した点も多々あり^{2,3,4,5)} 今後の研究が待たれ

る。一方、後者の免疫学的睾丸炎と無精子症の実験的作成は一般に実験的アレルギー性睾丸炎 (EAO) とよばれているもので、delayed type の cellular immune reactions により起るといわれる^{2,3,4,5)}。この睾丸炎の病理組織像は臨床的にしばしばみられる原因不明の男子不妊症の睾丸病理組織像と類似している点より多くの動物実験がなされて来たが実験の域を出ていない¹⁾。しかし、近年有効抗原の精製分離法が進んで、その物理化学的性状や組織特異性などが解明されたものも多く^{2,3,4,6,7)}、これらの中 Hyaluronidase や LDH_x などの enzyme や化学物質もあるが、やはり acrosome 由来の glycoprotein^{8,9)} がその代表的なものである。本邦においては、郷倉¹⁰⁾ (1974) と倉田^{11,12)} (1975, 1976) は人と動物の睾丸の細胞性不溶リポ蛋白を出発材料とした精細胞膜系特異抗原を分離精製し Guinea Pig (GP) に EAO を作成すると同時に男子不妊症患者血清中に抗睾丸細胞膜抗体を約半数に認めたとして報告している。抗原も特異的ではあるが臨床的検索がなされている点も注目に値する。

Gonadal hormone を用いて動物を免疫すると流血抗

体が上昇して free hormone と結合する結果, LH では 2 次的に androgen の減少, ひいては 辜丸の萎縮や造精障害を来すが, FSH ではほとんど変化がみられない^{6,13)}. Testosterone (T) による免疫では視床下部一下垂体一性腺系の障害の結果, LH, FSH, T の増加と間質の増殖がみられるが, EAO にみられるような精細管障害は認められないという^{6,14,15)}.

そこで著者は臨床的にもみるべきものがある郷倉, 倉田の報告に準じた方法を取り入れて実験的臨床的に男子不妊症を究明せんと試みている.

今回はその基礎実験として, 豚と Rat の辜丸より得た抗原を用いて Rat と GP に EAO を作成し, 同時に Testosterone-3-oxime-BSA (T-3-BSA) を Rat に active immunization して得た結果を免疫学的内分泌学的に比較検討したので報告する.

実験材料ならびに実験方法

抗原抽出材料 豚と Rat (Sprague-Dawley) の辜丸を用いた. 豚の辜丸は岡山県食肉地方卸売市場の御好意により種付け用の成熟豚を屠殺時に入手, 氷冷して実験室まで運び, 輸出管, 副辜丸および辜丸血管を全て除去し生食水にて可及的に血液を洗い流した後, -20°C に凍結保存した. 成熟 Rat の辜丸は第一製薬 K.K. 開発部高村功主査の御好意により豚の辜丸と同様に処理したものを凍結し, dry ice に入れ空輸されたものを -20°C に保存した.

精細胞特異抗原の作製 郷倉¹⁰⁾, 倉田¹²⁾の方法に準じて行つたが, 2, 3 変更した点を述べると, Teflon homogenizer で homogenize した溶液 300~400ml 当り 70W, 5 分間氷冷下で sonication (Brown Sonifire B 12 型) した後, $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ で 16,880g で遠沈した (日立高速冷却遠心機 20-PR 型). なお, 上清が trichloroacetic acid で白濁しなくなるまでには上記操作が 6~8 回必要であった. このようにして得られた沈渣が細胞性不溶リポ蛋白 (LP) である. 密封の上 -25°C に保存した. 用時融解した LP を 0.2% sodium deoxycholate (DOC) で可溶化した後冷 acetone でおとして乾固, これを PBS (pH 7.2~7.4) あるいは蒸留水にて水溶液とした (LPsol). LPsol を抗原として用いる時は PBS にて一夜透折して余剰の DOC を除去して実験に供した. さらに LPsol を精製する時は蒸留水溶液とし, 16,880g, 10分, $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ の冷温下で遠沈して得られた上清を Sepharose 4B CL (Pharmacia) の column (Pharmacia K 26/70, $2.6\times 45\sim 50\text{cm}$) にて Gel Filtration (4.0 ml/hr) を行い, OD₂₈₀ にて peak を求めて得られたものを濃縮後抗原として用いるが, 今回報告の実験には用

いていないので省略する.

免疫方法 同条件に飼育された体重 400g 以上の成熟雄 Wister 系 (W) と Sprague-Dawley 系 (SD) Rat と体重 500g 以上の成熟雄 Hartley 系 Guinea Pig (GP) を用いた. 異種抗原として LPsol (Pig) を 10.8~15.8 mg, 平均 12.3mg protein/animal (蛋白量の測定は BSA を standard とした Folin Ciocalteu 法によつた) を同溶液量の Freund's Complete Adjuvant (FCA) と共に 5 週間にわたつて Rat (W) と GP の初回のみ両側の hind foot pad と背部 6~8 カ所に, 2~4 回目は背部のみに皮下あるいは皮内注射した. 同種抗原の LPsol (Rat) も 4.2~8.2mg, 平均 6.0mg protein/animal を同じく FCA と共に Rat (SD) に感作した. 対照には抗原液量と同量の PBS と FCA を同様に注射した.

次に, 体重 400g 以上の成熟雄 Rat (SD) に Hillier¹⁶⁾ ら (1973) の方法に準じて T-3-BSA 0.5mg crystal weight/0.5ml saline/animal (T-3-BSA は帝国臓器製薬 K.K. 神戸川明博士より提供を受けた) を FCA 1.5ml に懸濁し上記 LPsol と同じ注射法で能動免疫した. 免疫期間は最初の 5 週間に 4 回, 以後 11 週間に 2 回計 16 週間にわたつて 6 回感作した.

検体採取 採血は ether 麻酔下にて, Rat は心穿刺あるいは尾端の切断で, GP は心穿刺で行つた. 屠殺時は断頭して全採血した. 血液は 4°C に 1 夜放置後ワンセパ A (東京志村合成化工 K.K.) を加え遠心し, 血清に分離後小分けして steroid 測定用は -25°C , 抗体測定には -80°C に凍結保存した.

辜丸副辜丸の摘出は免疫 7~9 週後 (最終感作 2~4 週後) ether 麻酔下に右除辜術により, 屠殺時には左あるいは両側除辜術, 前立腺と精囊腺は一塊として摘出, 辜丸, 副辜丸および前立腺と精囊腺の 3 つに分けて重量測定の後, 辜丸は Alcohol Bouin 氏液で, 他は 10% formalin 液で固定, paraffin 切片を作成, Hematoxylin-Eosin (HE) 染色を行つて鏡検した.

免疫学的検査 gel 内二重拡散法はいわゆる micro-Ouchterlony 法で行つた. 抗原の濃度 10~16mg protein/ml. 抗体は抗血清を 1~16 倍に稀釈して用いた. 沈降線は Amido black 染色を行つて判定した. 免疫電気泳動は鈴木式寒天免疫電気泳動装置 SE 型 (富士理研) を用い barbital buffer 中で 70mA で 1 時間 45 分泳動した. 得られた arc は Amido black 染色して判定した. Tannin 酸処理赤血球凝集反応は Boyden¹⁷⁾ (1951) の方法を modify した小西¹⁸⁾ (1970) の方法に準じて行つた.

内分泌学的検査法 血清 T の測定は牧野¹⁹⁾ (1973), 牧野ら²⁰⁾ (1973), 国分ら²¹⁾ (1975) の方法に準じた Radio

表 1 Gel 内二重拡散法による沈降線陽性率

	BW g	Antigen mg/animal	Micro-Ouchterlony				
			6~7W	8~9W	12~13W	18W	29W
Rat (W)	488	LPsol (Pia) 12.3×4/5W	4/5	5/5	0/4		0/3
Rat (W)	470	PBS ×4/5W	0/3	0/3	0/3		0/3
Rat (SD)	532	LPsol (Rat) 6.0×4/5W	0/2	0/2			
Rat (SD)	545	PBS ×4/5W	0/2	0/2			
Rat (SD)	560	T-3-BSA 0.5×6/16W	0/3			0/3	
Rat (SD)	570	BSA 0.5×6/16W	0/2			0/2	
Guinea Pig (HS)	1006	LPsol (Pig) 12.9×4/5W	3/3	3/3	2/2	2/2*	
Guinea Pig (HS)	805	PBS ×4/5W	0/2	0/2	0/2	0/2*	

* 14~15 weeks after first immunization

immunoassay (RIA) で測定した。被検血清0.06ml を用い、non-chromatographical に duplicate で行つた。なお使用した $^3\text{H-T}$ は Testosterone- 1β , 3β $^3\text{H(N)}$, sa 40.0Ci/m mole (NEN) を予め radio thin layer chromatography で pure であることを確認した後に、抗血清は Testosterone- 11α hemi-succinate-BSA (帝国臓器製薬 K.K.), 5α -Dihydrotestosterone との % cross reaction 13.5% を 15,000 倍に稀釈して測定に供した。% Bound Testosterone の測定は Forest²²⁾ら (1968) の変法である Hillier¹⁶⁾らの平衡透折法で行つた。なお、使用した $^3\text{H-T}$ は上記のものを 7,000dpm, Visking tube は径 8/32inch 規格のものをを用いた。Testosterone 抗体価の測定は被検血清を段階的に稀釈して $^3\text{H-T}$ 20,000 dpm の 50% bound をもつて求めた。Radioisotope の測定は Dioxane scintillator を用い Packard liquid scintillation spectrometer 3385型あるいは 2450型で測定した。

病理組織学的検査 前述のごとく HE 染色した標本を光顕的に検索したが、率丸障害は特に精細管において比較的病変の差が大きいので縦断面全域を検索出来るように切片を作成し、ほぼ円形の精細管を選んで Johnsen²³⁾ (1970) の mean score count をもつて精細管の障害度を表わした。

実験成績

Micro-Ouchterlony 法による gel 内二重拡散法の結果は、異種抗原である LPsol (Pig) で感作した Rat と GP は感作 6~7 週目 (最終感作 1~2 週目) では Rat 5 匹中 4 匹, GP 3 匹全て陽性, 8~9 週目では Rat, GP 共全匹陽性, 12~13 週目では Rat は 4 匹全て陰性, GP 2 匹共陽性であった。Rat では 7~8 週目に陰性となつたが GP では 14~15 週目でも陽性であった。なお、抗血清は最高 16 倍稀釈まで明らかな沈降線が得られたが多くのものは 1~2 倍稀釈で陽性であった。同種抗原である LPsol (Rat) で感作した Rat は 6~7 週目, 8~9 週目共全匹陰性であった。T-3-BSA 感作群, 対照群も全て陰性であった (表 1)。Rat を使つた同種間の gel 内二重拡散法は、図 1 と図 2 の schema に示した如く 5 匹共 1~2 本の同一の沈降線が得られた。Rat と GP を使つた異種間の反応は図 3 と図 4 の schema の如く同一の沈降線として認められた。なお、抗 T-3-BSA Rat 血清と LPsol (Pig) あるいは LPsol (Rat) との反応は陰性であった。

免疫電気泳動の結果は図 5 と図 6 の schema の如く、I の 2 つの well に正常 Rat 血清を、II の well に抗 LPsol (Pig) Rat 血清、III の well に抗 LPsol (Pig)

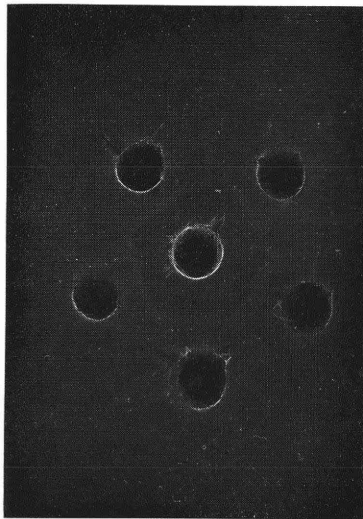
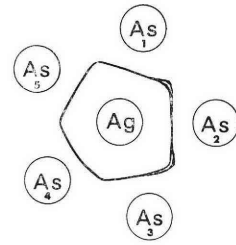


図 1 Rat Micro-Ouchterlony 引伸写真

Micro - Ouchterlony of Rats



As : LPsol(Pig) Antiserum 4w. 2x dil.

Ag : LPsol(Pig) Antigen

図 2 図 1 の Schema

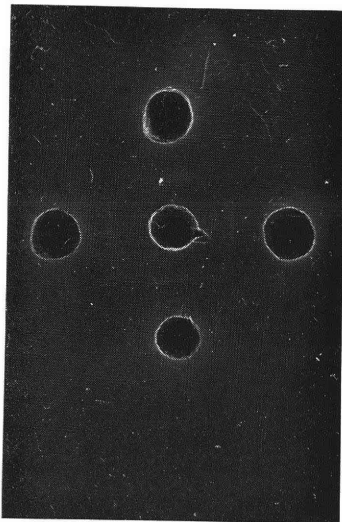
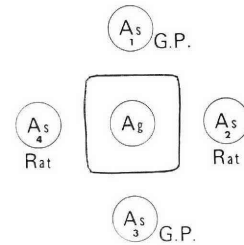


図 3 Rat および Guinea Pig Micro-Ouchterlony 引伸写真

Micro Ouchterlony of Rats and Guinea Pigs



As: LPsol(Pig) Antiserum As1, 2, 3: 1~2w, As4: 4w.

Ag: LPsol(Pig) Antigen

図 4 図 3 の Schema

GP 血清, IVの well に抗 PBS GP 血清を入れて泳動後 I の trough には抗 Rat Rabbit 血清を, II, III, IV の trough には LPsol (Pig) を入れて反応させたものである. II, III の Rat, GP 共ほぼ同一の位置に 1本の arc を認め I の control の arc と抗 Rat IgG Rabbit 血清を用いて別に泳動したものから IgG と思われた.

Tannin 酸処理血球凝集反応は陰性の control に正常 Rat 血清を, 陽性の control に抗 LPsol (Pig) Rat 血清を用いて判定した結果, 感作 6~7 週目 2匹共512倍の凝集価を, 8~9 週目1,024と8,192倍の凝集価を得た.

免疫動物の摘出臓器の中まづ重量についてみると,

Rat の睪丸は正常群, PBS あるいは BSA 対照群および LPsol あるいは T-3-BSA 免疫群の間に大きな差はなかったが, GP では正常群と PBS 対照群の1.1g/testis/500g body weight に比し LPsol (Pig) 免疫群は0.8g/testis/500g body weight と重量低下がみられた. Rat の副睪丸および前立腺と精囊腺重量は正常群, 対照群および免疫群の間に差はみられなかった. GP は副睪丸のみであるが Rat 同様差はなかった(図7). 次に病理組織学的検査を Johnsen's mean score count (msc) でみると, 正常 Rat は9.0~9.5 (平均9.2), PBS 対照群 8.1~8.7とやや score が低くこれは FCA の影響と思

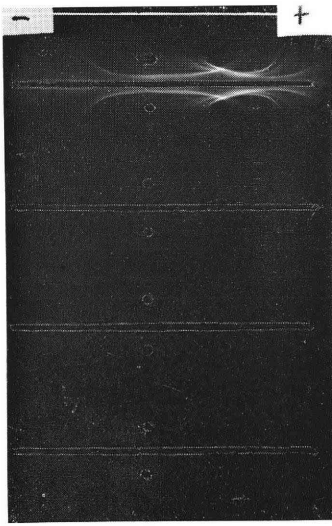


図5 Rat および Guinea Pig 免疫電気泳動密着写真

Electrophoresis in Agar

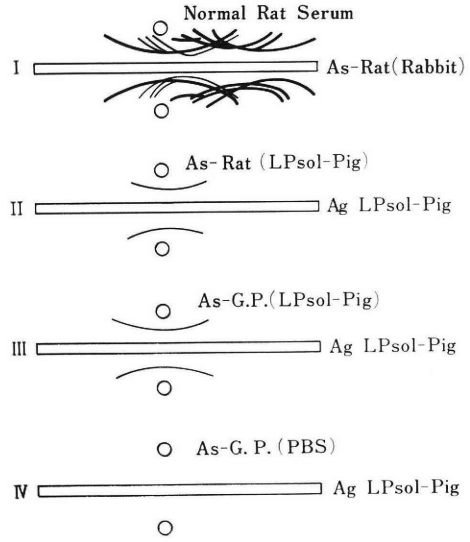


図6 図5の Schema

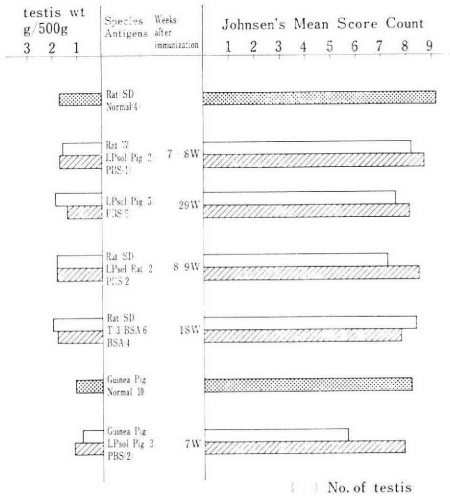


図7 摘出睾丸の重量と精細管障害度

われた。LPsol (Pig) 感作 Rat は msc 7.6~8.2 とさらに少し低かった。LPsol (Rat) 感作 Rat では msc 7.3 とわずかながらより低かった。T-3-BSA 免疫 Rat の score は PBS 対照群とほぼ同じで BSA 対照群の方が score はむしろ低かった。正常 GP の msc は 7.9~8.5 (平均 8.2) で、PBS 対照群 7.9 と少し FCA の影響が考えられたが、LPsol (Pig) 感作群は msc 5.6 と明らかに低値をみた。この点は睾丸重量の相関と種の特異性を示唆するものである(図7)。

図8は Rat (体重510g) を LPsol (Pig) で免疫し7~

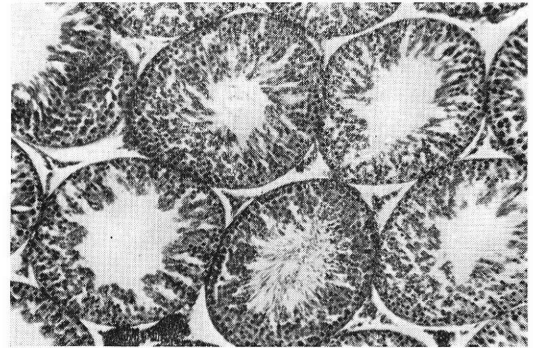


図8 LPsol (pig) 感作 Rat 右睾丸 (感作後 7~8 週目)
H. E. 染色, 200倍

8 週目に右除辜術を行った睾丸の HE 染色標本である。睾丸重量 1.8g, msc 8.3 のもので軽度の germinal cell arrest の所見である。図9は GP (体重 1,020g) を同じく LPsol (Pig) で免疫し7~8 週目に右除辜術を行ったもので、睾丸重量 1.0g, msc 3.0 と高度の germinal cell arrest ないしは germinal cell aplasia と Sertoli 細胞の空胞変性の著しい所見である。間質の変化は LPsol 免疫群では特記すべき変化はみられなかったが、T-3-BSA 免疫群では間質の増殖と Leydig cell の cytoplasm の腫大が認められた。図10は Rat (体重 580g) を T-3-BSA 感作 18 週目に屠殺したものの右睾丸 HE 染色標本である。睾丸重量 1.9g, msc 8.3 と軽度の germinal cell arrest はみられるが、前述した如く間質の増

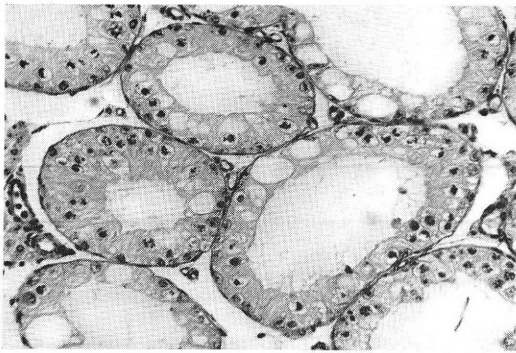


図 9 LPsol (pig) 感作 Guinea Pig 右睪丸 (感作後 7 ~ 8 週目)
H. E. 染色, 200 倍



図 10 T-3-BSA 感作 Rat 右睪丸 (感作後 18 週目)
H. E. 染色, 400 倍

殖と Leydig cell の cytoplasm の腫大が認められる所見である。なお、LPsol (Pig & Rat) 免疫群および T-3-BSA 免疫群共明らかなリンパ球の浸潤像は認められなかった。

睪丸輸出管と副睪丸の HE 染色による病理組織学的検索の結果は LPsol 免疫群の少数匹において管上皮の萎縮傾向をみせたが余り大きな変化ではなくほぼ正常域所見であった。前立腺と精囊腺の病理組織学的検査でも同じ傾向であった。なお、副睪丸には全匹精子が認められたが、輸出管内には造精障害の強い標本では管内に精子を認めないものをみたが一定の傾向として評価は出来なかった。

T の測定は前もつて正常成熟雄 Rat 4 匹 (平均体重 495g) の同じ血清を用いて牧野^{19,20)}の方法に準じて Sephadex LH-20 column chromatography を行ったもの (Recovery 平均 59.4%) と、non-chromatographical に行ったもの (Recovery 平均 86.9%) を triplicate で施行し比較した。その結果、前者 $2.11 \pm 0.17 \text{ ng/ml}$ 、後者 $2.11 \pm 0.30 \text{ ng/ml}$ であつたので non-chromatographical method で実験群は測定した。正常成熟雄 Rat 7 匹の T は $2.26 \pm 0.21 \text{ ng/ml}$ 、PBS 対照群、BSA 対照群および LPsol (Pig & Rat) 免疫群は $0.89 \sim 4.03 \text{ ng/ml}$ の変動で正常群とは多少の変動はあるものの論ずべき変動とはいへなかつた。所が、T-3-BSA 免疫群の T は感作 6 ~ 7 週目 $15.67 \sim 57.63 \text{ ng/ml}$ 、12 ~ 13 週目 $58.66 \sim 120.14 \text{ ng/ml}$ 、18 週目 $41.98 \sim 55.14 \text{ ng/ml}$ と高値であつた (図 11)。ちなみにこの 18 週目の抗 T-3-BSA 抗体価を測つてみると 1 : 1,500、1 : 2,700 および 1 : 3,900 であつた。

% Bound T の測定は前もつて外層に ³H-T を入れる Forest ら²²⁾の平衡透析法と内層に ³H-T を入れる Hillier ら¹⁶⁾の変法とを比較した。3 人の正常男子の 5 倍

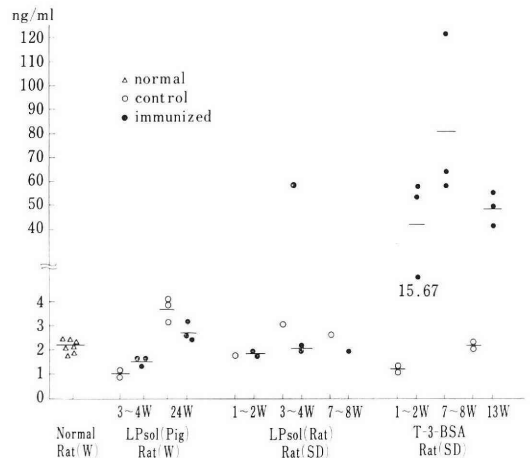


図 11 Serum Testosterone Concentration

稀釈血清を用いての検討では Forest らの方法平均 92.7%、Hillier らの変法 90.3%、3 匹の正常雄 Rat 5 倍稀釈血清ではそれぞれ平均 79.2%、平均 77.2% であつた。Hillier らが用いている 10 倍稀釈血清で測定してみると、上記の 3 人の平均値は 84.1%、3 匹の Rat の平均値は 67.1% であつた。これらの値を Forest らの報告している正常男子 5 倍稀釈血清の平均値 $93.1 \pm 1.9\%$ と Hillier らの報告している正常雄 Rat 10 倍稀釈血清の平均値 $65.0 \pm 2.75\%$ と比較してみるとほぼ一致する結果であつたのと実験に用いる血清量が充分でなかつたことより本実験には Hillier らの変法で測定した。正常成熟雄 Rat 4 匹の % Bound T は $67.8 \pm 2.03\%$ で、PBS、BSA 免疫群と LPsol (Pig & Rat) 免疫群は $61.1 \sim 69.7\%$ とほぼ正常範囲内の変動であつた。T-3-BSA 免疫群は感作 6 ~ 7 週目 $93.7 \sim 98.4\%$ 、12 ~ 13 週目 $98.4 \sim 98.8\%$ 、18 週目 $99.1 \sim 99.4\%$ と高い % Bound 値が得られた (図 12)。

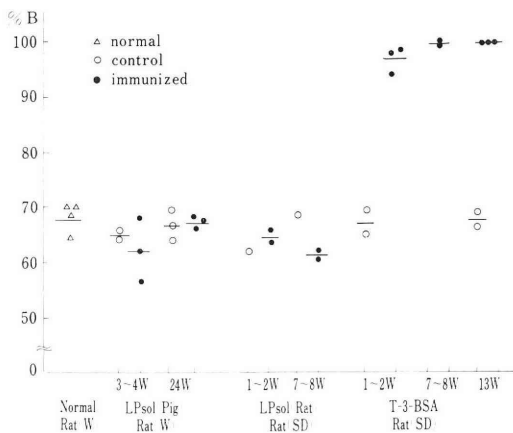


図 12 % Bound Testosterone

考 察

生殖免疫の研究は1899年 Landsteiner と Metchnikoff が別々に報告したのに始まり以後多くの実験的臨床的研究がなされ近年綜説もみられるようになって来た^{2,3,4,5,7,24,25,26}。

これらの研究の中、他臓器の allergy 性炎と同様に睾丸においても素因のある人において自己免疫的な睾丸炎が発生することも当然考えられる所で、その代表的な実験 model として FCA を使った Experimental allergic orchitis (EAO), Autoimmune aspermatogenic orchitis (AIAO), Experimental immunologic orchitis (EIO) などの呼び名で報告されている delayed type の自己免疫疾患を人²⁷や GP を始めとする多くの哺乳動物に作成し実験に供されている。この EAO を作成する抗原も近年精製分離が進歩し、組織特異抗原として報告されているが、その代表的なものとして、Freund ら²⁸ (1955), Brown ら²⁹ (1963) の protein-mucopolysaccharide, Katsh ら³⁰ (1972) の glycopeptide, Toulet ら⁹ (1973), Hagopian ら⁹ (1975) の glycoprotein および郷倉¹⁰ (1974) の lipoprotein がある。緒言でも述べた如く、郷倉¹⁰、倉田^{11,12}の研究は多くの報告が糖蛋白質系の抗原を用いているのに比しリポ蛋白であること、人の睾丸を用いて抗原を作成していること、甲状腺を始めとして他臓器にも応用していることも³⁰さることながら、実際に臨床例に応用して男子不妊症患者の約半数に沈降抗体をみだしていることは、臨床医にとって興味を引かれる所である。郷倉・倉田の精細胞細胞膜系特異抗原は睾丸あるいは精子の細胞性不溶リポ蛋白を出発材料として精製したもので、細胞膜や小胞体膜、mitochondria 膜(外膜)、核膜に共通して存在する膜 integral protein 粒子と考えられ、その分子量約47,000 dalton、その

subunit は同様抗原性を有しており分子量約3,800 dalton という。

今回の実験には LPSol という crude な段階の抗原を使用して Rat, GP に EAO を作製した。まず gel 内二重拡散法では、異種抗原で感作した Rat において5匹の同種間の micro-Ouchterlony 法で同一の沈降線が得られたがこの沈降線は一部で2つの band としてみられる所があつた(図1, 2)。これを免疫電気泳動してみたが、得られた arc は1本であつた(図5, 6)。さらに、Rat と GP それぞれ2匹ずつの抗 LPSol (Pig) 血清を用いた反応でも同一の沈降線が認められ(図3, 4)、免疫電気泳動でも同一の場所に arc が認められた(図5, 6)。このことからすれば同じ抗原で感作した EAO 作成動物(少なくとも Rat と GP の間では)の液性抗体は同じ抗原には同じ沈降抗体を生じるといえる。一般に、自己あるいは同種の抗原による免疫ではほとんどの場合沈降線を見ることは少なく、さらにせいぜい1~2本の band をみるのみであるという⁷。郷倉¹⁰は抗 hetero-LPSol GP 血清と LPFr. II (GP) との間に1本の沈降線を認めている。沈降抗体以外では Menge ら³¹ (1975) は人, Chimpanzee, Rhesus monkey および狒狒の睾丸抽出物と FCA による家兎と Rhesus monkey に EAO を作成した所、これら霊長類の間に cross react する精子不動化抗体をみだしている。gel 内二重拡散法による沈降抗体の証明は感作後6~7週目で Rat で5匹中4匹、8~9週目で5匹全例に、GP で6~7週目全匹に可能であつた。一方、この沈降抗体の消失は Rat で感作12~13週目全匹にみられたが、GP は14~15週目でもなお陽性であつた。Katsh ら³² (1971) は GP にいわゆる Katsh の ASA と FCA で1回免疫し、PHA inhibition test で経時的に観察しているが、感作1週目より上昇し、4~5週が最高で8週目もなお持続しているという。Barrera ら³³ (1976) も同種の睾丸 homogenate と FCA で GP に免疫し、その Cytophilic activity をみているが8日目~45日目の観察で大部分のものが血清 activity の上昇を認めている。

EAO の睾丸障害は一般に homo~auto の抗原での免疫の方が hetero の抗原で免疫するより強いといわれ²²、その障害は late spermatocyte phase におこり spermatid と mature spermatozoa の acrosome と pro-acrosomal 部分に始まり同時に Sertoli cell の空胞化がみられる。つづいて germ cell の cytolysis と sloughing, Sertoli cell の形質の空胞変性は必発といつてよいという^{7,37}。Pathogenesis について、初期にリンパ球浸潤があるとすると、リンパ球浸潤はないかあつてもわずかで二次的な現象とするものと、リンパ球浸潤は

一過性で見過してしまつたものといった議論の一致をみていないのが現状である^{2,5)}。初期の障害が睪丸網と輸出管にみられることより、精細管基底膜には blood-testis barrier が考えられており、炎症、抗原抗体反応、FCA の存在などが barrier の損傷をひきおこすと考えられている。さらにこれら睪丸障害が液性免疫によるものか細胞性免疫によるものかの検討がなされて来た。従来は液性抗体価と睪丸障害の相関がみられないことより細胞性免疫によるものと考えられていたが近年両者の必要性が論じられるようになって来た^{2,5)}。この点に関して郷倉¹⁰⁾は液性抗体の関与もあると示唆している。

一方、異種抗原による EAO の睪丸障害は種の特異性が高く²⁾、さらに Freund ら³⁴⁾ (1954) は同条件下で GP と Rat を同種睪丸抽出物で免疫した場合 Rat の方が影響を受けにくかつたと述べている。著者の実験において同種あるいは異種抗原で作成した Rat では睪丸障害は同種抗原で感作したものの方がわずかながら障害度が強かつた。実験例が少なく結論的にはいえないが、異種抗原で免疫した Rat と GP の間には沈降抗体の消失時期と睪丸障害(精細管障害)にはつきり差があり、種の特異性がうかがわれた。なお、全免疫動物の HE 染色標本の検査でリンパ球浸潤を認めたものはなくこの点郷倉¹⁰⁾の報告と一致した。

EAO の内分泌学的検査を行つた報告は少なく、Sanaez ら³⁵⁾ (1971) は家兎に精漿と FCA で免疫して EAO を作成し、T の biosynthesis を 4^4 と 4^5 代謝経路より検索しているが、Androstendione より T への conversion の減少を認め、Snipes ら、Becker らが GP で行っている結果と一致したという。Katsh ら³⁶⁾ (1968) は前述の ASP で感作した EAO GP の下垂体組織中の FSH, LH を測定した結果、FSH の上昇を認めたが LH は正常であつたという。一方、T-3-BSA で能動免疫した家兎^{14,15)} と Rat¹⁶⁾ の血清 T 値および % Bound T は著明に上昇しており、睪丸の重量増加、間質の増殖と Leydig 細胞の腫大を認めるが精細管障害はほとんどみられないという^{14,15)}。

EAO Rat と T-3-BSA 感作 Rat では睪丸の組織病変、血清 T 値、% Bound T 値共明らかに違いがあつたことは文献的にもみられる所である。

現在抗原の精製分離を行つて Rat, GP に免疫しその EAO を作成中であるのでさらに免疫学的内分泌学的検討を進めると同時に男子不妊症症例についても免疫学的検討を加えてゆく予定である。

結 語

豚と Rat の睪丸より郷倉・倉田の方法により細胞性

不溶リボ蛋白を抽出可溶性後 crude な抗原 (LPsol) のまま FCA に懸濁して Rat と GP に免疫し EAO を作成した。同時に T-3-BSA を用いて Rat に能動免疫した。

その結果

1) LPsol (Pig) 感作 Rat と GP は gel 内二重拡散法で全匹に沈降抗体が認められた。同種間および異種間の抗原 (LPsol-Pig) と抗血清 (抗 LPsol-Pig Rat or GP 血清) を用いた反応で同一の沈降線を認めた。LPsol (Rat) 感作 Rat では沈降抗体を認めなかつたが Tannin 酸処理羊赤血球凝集反応では高凝集価を得た。

2) 病理組織学的検査で Rat の EAO は軽度、GP の EAO は高度の精細管障害、すなわち、germ cell の崩解と脱落、Sertoli cell の空胞化を認めた。異種抗原感作動物の EAO の変化はいわゆる species-specific であつた。間質の障害はほとんどみなかつた。

T-3-BSA 感作 Rat では間質の増殖と Leydig cell の形質の腫大が認められたが精細管障害はほとんどみられなかつた。

3) 血清 T 値は EAO 作成 Rat とその PBS 対照群の間に差はなくほぼ正常範囲内の変動であつたが、T-3-BSA 感作 Rat では明らかな増加が認められた。

4) % Bound T 値は血清 T 値と同じ傾向がみられ EAO 群はほぼ正常範囲内、T-3-BSA 感作群は高値であつた。

本論文の要旨は第22回日本不妊学会総会において発表した。

稿を終えるに当り、御指導と御校閲頂いた大森弘之教授(現岡山大学教授)に深謝します。Testosterone-3-BSA を提供して下さいた帝国臓器製薬の神戸川明博士と Rat 睪丸を提供して下さいた第一製薬開発部高村功主査に謝意を表します。

文 献

- 1) 畠山 茂：睪丸の自己免疫疾患，医学のあゆみ，90：698，1974。
- 2) Hekman, A. and Rümke, P.: Auto and isoimmunity against spermatozoa, Text book of immunopathology Vol. 2, ed. 2: p. 947, New York, Grune & Stratton, 1976.
- 3) Hekman, A. and Rümke, P.: Seminal antigens and autoimmunity, Human semen and fertility regulation in men: p. 245, Saint Louis, The C. V. Mosby Co. 1976.
- 4) Hekman, A. and Rümke, P.: Antigens of semen and autoimmunity against spermatozoa in infertile men, Male fertility and sterility: p. 249, London, Academic Press, 1974.

- 5) Shulman, S.: Immunologic barriers to fertility, *Obstet. and Gynecol. Survey.* 27: 553, 1972.
- 6) Kalden, J. R.: Autoimmune phenomena in the reproductive system versus effects of hormone antisera, *Immunitization with hormones in reproduction research*: p. 33, Amsterdam, North-Holland Publishing Co., 1975.
- 7) Mancini, R. E.: Immunopathology of animal and human testes, *Human semen and fertility regulation in men*: p. 287, Saint Louis, The C. V. Mosby Co., 1976.
- 8) Toullet, F., Voisin, G. A. and Neminovsky, M., *Immunology*, 24: 635, 1973.
- 9) Hagopian, A., Jackson, J. J., Carlo, D. J., Limjuco, G. A. and Eyler, E. A., *J. Immunology*, 115: 1731, 1975.
- 10) 郷倉 満: 睾丸の細胞膜系組織特異抗原について, *十全医会誌*, 83: 268, 1974.
- 11) 倉田自章: 細胞膜の特異抗原と無精子症, *日不妊会誌*, 20: 83, 1975.
- 12) 倉田自章: 精細胞細胞膜系特異抗原と無精子症, *ホと臨床*, 24: 603, 1976.
- 13) Wakabayashi, K. and Tamaoki, B.: Influence of Immunization with luteinizing hormone upon the anterior pituitary-gonadal system of rats and rabbits, with special reference to histological changes and biosynthesis of luteinizing hormone and steroids, *Endocrinology*. 79: 477, 1966.
- 14) Nieschlag, E., Usadel, K. H., Schwedes, U., Kley, H. K., Schöffing, K. and Kruskemper, H. L.: Alterations in testicular morphology and function in rabbits following active immunization with testosterone, *Endocrinology*. 92: 1142, 1973.
- 15) Nieschlag, E., Usadel, K. H., Wicklings, E. J., Kley, H. K. and Wuttke, W.: Effects of active immunization with steroids on endocrine and reproductive function in male animals, *Immunitization with hormones in reproduction research*: p. 155, Amsterdam, North-Holland Publishing Co., 1975.
- 16) Hillier, S. G., Cole, E. N., Groom, G. V., Boyns, A. R. and Cameron, E. H. D.: Effect of active immunization against testosterone-3-BSA on circulating levels of testosterone, LH, prolactin and testosterone antibody titre in the male rat, *Steroids*. 22: 227, 1973.
- 17) Boyden, S. V.: The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera, *J. Exp. Med.* 93: 107, 1951.
- 18) 小西奎子: 抗肝細胞系抗体について, *臨床免疫*, 2: 103, 1970.
- 19) 牧野拓雄: 性ステロイドホルモンの Radioimmunoassay, *日内分泌会誌*, 49: 629, 1973.
- 20) 牧野拓雄, 稲富顕二, 吉田孝雄, 田根 培, 高木繁夫, 神戸川明: 性ステロイドホルモンの Radioimmunoassay (その4), *ホと臨床*, 21: 867, 1973.
- 21) 国分知子, 神戸川明: 新規抗原による Testosterone, DHT および DHA の Radioimmunoassay について, *臨床病理*, 23: 300, 1975.
- 22) Forest, M. G., Rivarola, M. A. and Migeon, C. J.: Percentage binding of testosterone, androsterone and dehydroisoandrosterone in human plasma, *Steroids*, 12: 323, 1968.
- 23) Johnsen, S. G.: The stage of spermatogenesis involved in the testicular-hypophyseal feed back mechanism in man, *Acta endocrinol.* 64: 193, 1970.
- 24) Report of a WHO Scientific Group: Reproductive function of the human male, *World Health Organization Technical Report Series No. 520*: p. 26, Geneva, 1973.
- 25) Voisin, G. A., Toullet, F. and D'Almeida, M.: Characterization of spermatozoal auto- and alloantigens, *Acta endocrinol.* 78, Suppl. 194: 173, 1975.
- 26) Behrmans, S. J. and Menge, A. C.: Immunologic aspects of infertility, *Human reproduction*: p. 237, Hargerstown, Harper & Row Publishers Inc., 1973.
- 27) Mancini, R. E., Andrada, J. A., Sarceni, D., Backmann, A. E., Lavieri, J. C. and Nemirovsky, M.: Immunological and testicular response in man sensitized with human testicular homogenate, *J. Clin. Endocr. Metab.* 25: 859, 1965.
- 28) Freund, J., Thompson, G. E. and Lipton, M. M.: Aspermatogenesis, anaphylaxis, and cutaneous sensitization induced in the guinea pig by homologous testicular extract, *J. Exp. Med.* 101: 591, 1955.
- 29) Brown, P. C., Glynn, L. E. and Holborow, E. J.: The pathogenesis of experimental allergic orchitis in guinea-pigs, *J. Path. Bact.* 86: 505, 1963.
- 30) Katsh, S., Aguirre, A. R., Leaver, F. W. and Katsh, G. F.: Purification and partial characterization of aspermatogenic antigen, *Fertil Steril.* 23: 644, 1972.
- 31) Menge, A. C. and Fuller, B.: Testis antigens of man and other primates, *Fertil Steril.* 26: 473, 1975.
- 32) Katsh, S., Leaver, F. W., Katsh, G. F. and Willson, J. T.: Circulating antibody titers in relation to fertility in male guinea pigs, *Fertil Steril.* 22: 456, 1971.
- 33) Barrera, C. N., Mazzoli, A. B. and Mancini, R. E.: Cytophilic activity in experimental immunologic orchitis, *Fertil Steril.* 27: 21, 1976.

- 34) Freund, J., Lipton, M. M. and Thompson, G. E.: Impairment of spermatogenesis in the rat after cutaneous injection of testicular suspension with complete adjuvants, *Proc. Soc. Exp. Biol.* 87 : 408, 1954.
- 35) Sananez, R. D., Faillaci, M., Aimar, G., Nowotony, E. and Yantorno, C.: Testosterone biosynthesis by normal and autoimmune testes from rabbits. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 352 : 1465, 1971.
- 36) Katsh, S. and Duncan, G.: Pituitary gonadotropin content of aspermatogenic guinea pigs, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 127 : 470, 1968.
- 37) Kierszenbaum, A. L. and Mancini, R. E.: Structural changes manifested by Sertoli cells during experimental allergic orchitis in guinea pigs, *J. Reprod. Fert.* 33 : 119, 1973.
- 38) 倉田自章: 実験的アレルギー性臓器炎の抗原, 臓器炎とその疾患モデル(1), 炎症学叢書 6 : 24, 医学書院, 1976.

Experimental testicular immunity and endocrinological study (the first report)

Hiroyoshi Tanaka

Department of Urology, Kawasaki
Medical school
(Director: Prof. H. Oomori)

A testis specific lipoprotein was isolated from cellular insoluble lipoprotein fractions of pigs and rats testes. Rats and guinea pigs injected with solublized lipoprotein emulsified in Freund's

complete adjuvant (FCA) developed circulating antibody and testicular lesion. Rats injected with Testosterone-3 oxime-BSA (T-3-BSA) in FCA developed high serum testosterone concentration, high % bound testosterone and interstitial cell hyperplasia.

Circulating antibody studied by double gel diffusion technique showed one or two precipitin lines in all animals sensitized with the heterologous antigen and the precipitin lines were obtained as the same line not only in the isospecies but in the two different species of rats and guinea pigs. In rats sensitized with homologous antigen, no precipitin line revealed, but high hemagglutination titre was obtained by tannic acid sheep red cell hemagglutination method.

The testicular lesion in experimental allergic orchitis (EAO) of rats and guinea pigs occurred in the seminiferous tubuli as cytolysis and sloughing of germ cells and vesiculation of Sertoli cells but little change in the interstitial cells. The degree of the lesion was apparently less of the rat testes than of the guinea pig testes, and this was recognized highly species-specific. The testicular lesion of rats actively immunized against T-3-BSA developed hyperplasia of interstitial cells and cytoplasmic enlargement of Leydig cells, but little change in the seminiferous tubuli.

Serum testosterone concentration was revealed within almost normal range (0.89~4.03 ng/ml) in EAO rats but very high value (15.67~120.14 ng/ml) in T-3-BSA sensitizing rats.

% bound testosterone was the same tendency of the serum testosterone such as 61.1~69.7% in EAO rats and 93.7~99.4% in T-3-BSA sensitizing rats.

(受付: 昭和52年12月1日)

男子不妊症患者の陰囊表面温度について

The Study on the Temperature of Scrotal Skin Surface of Male Infertile Patients

東海大学医学部泌尿器科学教室

河村 信夫

Nobuo KAWAMURA

Department of Urology, School of Medicine, Tokai University, Isehara, Kanagawa
(Director: Prof. M. Ohkoshi)

サーモスポットを臨床的に利用して陰囊表面の皮膚温を放射する赤外線から測定することを試みた。正常人17名、男子不妊症17名、Klinefelter 症候群2名、左精系静脈瘤7名の陰囊表面温度を測定したところ、正常人、男子不妊症患者の間には温度差がなく、左右の差もなかった。左精系静脈瘤患者については、右は正常人と差がないが、同一人でも左側は右に比して明らかに高温を示す症例が多く、静脈瘤の手術後は左右の温度差が消失することが知られた。

はじめに

造精能は温度の上昇により障害されることが多く、そのため高熱性疾患の既往、停留辜丸、精系静脈瘤などには男子不妊症が合併しやすいと言われているし、辜丸を低温に保つため、陰囊表面にはシワがあつて、放熱を行なつているといわれている。今回は述べぬが、我々の実験でも成熟ラットを手術的に停留辜丸にすると、造精能の障害、辜丸の萎縮が起つてくる。

これらのことから、原因の見当らない、いわゆる特発性男子不妊症患者の辜丸部の温度が、正常人より高いか否かをサーモスポットを用いて検討してみた。また精系静脈瘤の際の、陰囊表面温度上昇の有無、及び手術後の温度の変化についても検討した。

材料と方法

三栄測器製サーモスポットを使用した(図1)。本機は工業的用途の目的で作られていて、高温の方が測りやすく、低温のものでは0.3°C位のよみの誤差がさげられない。この機械を使用して物体から放出する赤外線をとらえ、温度として測定することが可能で、室温等も自動的に補正される。測定範囲は直径5mmの円型範囲内で、直接触れられぬ部分や軽度に動いている部分の表面の温度の測定には適している。

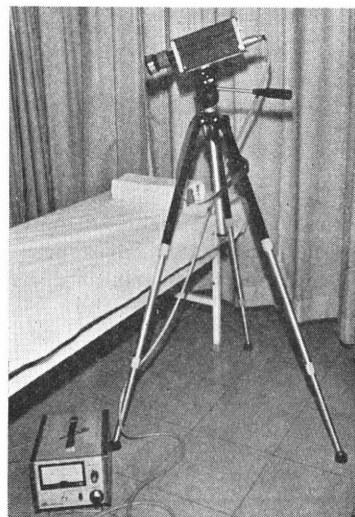


図1 サーモスポット一式

測定対象として、正常人は20~40歳で、現在性器に疾患がなく、すでに子供のある男子を選んだ。

男子不妊症患者は、東海大学病院泌尿器科受診患者のうち、結婚後避妊期間を除いて3年以上不妊である20~40歳の男子で、不妊の原因が特に見当らぬ者を選んだ。

精系静脈瘤は、やはり受診患者のうちで、静脈瘤が他の疾患に付随して生じている者以外の症例を選んだ。

測定は患者の下半身を裸にし、クッキングホイールで下

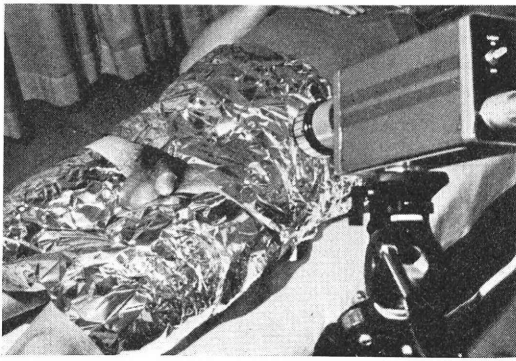


図 2 測定の様子

腹部、大腿部をおおって測定時に他部から放散する赤外線の影響をさけるようにし、20分位横臥させて温度が一定になったところで施行した。精系静脈瘤の者は、立位でも測定した。両側陰のう表面の温度と陰茎の温度、及び皮膚（下腹部）の温度を測定し、記録した(図2)。

結 果

表1の如く、正常人17例の平均陰囊表面温度は、右24.47°C、左24.46°Cで差はなく、陰茎及び皮膚表面温度とも差がない。右側陰囊表面温度(R)>左側陰囊表面温度(L)2例、R<L3例、R=L10例、R≒L2例、であり、皮膚温より陰囊表面温度の高い症例5例、低い症例1例であり、いずれも少数である。

次に精子数4000万/ml以下の男子不妊症患者の陰囊表

表 1 正常人陰囊表面温度

皮膚	右	左	陰茎	子供数	
25.0	24.0	24.0	24.0	1	
23.5	23.5	23.5	23.5	1	
24.0	24.0	24.0	24.0	2	
24.0	25.0	25.0	24.0	2	
25.0	24.3	25.0	24.0	1	
25.0	25.0	25.0	24.5	3	
25.0	25.0	25.0	25.3	2	
25.0	25.0	25.3	25.0	3	
22.5	23.5	24.0	22.5	3	
24.0	24.0	24.0	23.0	2	
22.0	24.0	24.0	25.2	2	
25.2	25.3	25.3	25.0	2	
27.1	28.0	27.0	27.8	1/2	
22.0	22.0	22.0	22.0	2	
26.6	26.6	26.7	26.6	3	
22.2	23.0	22.0	22.0	1	
24.0	23.8	24.0	23.6	2	
平均	24.24	24.47	24.46	24.24	1.9

表 2 不妊症患者陰囊表面温度

皮膚	右	左	陰茎	精子数	24h 尿中 ゴナド トロピン
	22.0	22.0	21.0	75×10 ⁵	12
22.0	23.0	22.0	22.4	0	6↓
	21.0	22.0	21.0	6×10 ⁶	24
25.0	25.0	25.0	25.0	0	12
25.0	24.5	24.3	25.0	38×10 ⁶	
23.0	23.3	24.0	23.0	2×10 ⁶	
23.3	23.3	23.3	23.3	0.7×10 ⁶	12
21.0	21.3	22.0	21.2	5.6×10 ⁶	48
23.2	23.2	23.0	23.0	3×10 ⁴	
26.3	26.2	26.6	26.8	0	24
26.0	26.0	26.0	26.0	75×10 ⁴	24
27.0	27.0	26.8	26.8	28×10 ⁶	48
24.0	24.0	24.0	24.0	0	48
24.1	24.0	24.0	24.3		
26.0	26.0	27.0	26.0	0	48
27.0	27.0	27.3	28.0		
24.2	25.2	26.3	25.2	15×10 ⁶	
26.0	26.0	26.0	26.0	0	
平均	24.57	24.33	24.53	24.32	

表 3 特殊症例

	皮膚	右	左	陰茎	精子数
W.Y.	26.3	26.2	26.6	26.8	0
S.T.	20.0	20.0	20.1	20.0	

面温度は表2の如く、これまた右平均24.33°C、左平均24.53°Cで左右差はなく、正常人とも差がない。また皮膚、陰茎の温度とも差がなかった。最近2カ月内に測定した精子数により分類すると、精子数0は6例、1000万/ml以下6例、1~4000万/ml3例で、この3群間に温度差はない。また同じく最近2カ月内に24時間尿中ゴナドトロピンを測定してある例について、12単位未満の1例、12~24単位の6例、48単位の4例の各々の群の温度をみても有意の温度差はない。

さらに Klinefelter 症候群の2例についての測定結果では、左、右、皮膚共、ほぼ同じ温度であった(表3)。

左精系静脈瘤のある患者7名について測定した結果は表4の如く、左右平均で約1度の温度差があり、明らかに左側が有意に高い。手術後に測定した3例は、いずれも左右差がなくなっていることがわかった。この場合の手術は、すべて左睾丸静脈高位結紮術で行なっている。

考 案

睾丸の温度は陰囊表面温度に相関するか否かが、先ず

表 4 左精系静脈瘤患者の陰囊表面温度

	皮膚	右	左	陰茎	立位右	立位左	精子数
1		22.0	23.0				26×10 ⁶
2		23.0	25.0				0
術後	(23.0)	(23.0)	(23.0)	(23.0)			(0)
3		22.0	23.0	22.3			子供 3人
術後	(25.0)	(25.0)	(25.0)	(25.0)			
4		26.0	26.2	26.3	26.3	27.2	
5		25.1	24.8	25.0			子供 2人
6		21.0	22.2	22.1	22.2	22.0	子供 2人
7		25.6	24.8	25.0	25.6	25.8	
術後	(26.0)	(26.0)	(26.0)	(26.0)			
平均	23.94 (24.67)	23.71 (24.67)	24.73 (24.67)	24.14 (24.67)	24.7	25.0	

問題となるであろう。この点については、我々はデータの持合せがないが、越戸等のサーモグラフィによる結果の発表によれば、陰囊を冷却すれば、その温度は下がるが、ある程度の時間がたてば一定になるという。また炎症性疾患により上昇することなどから、大体睾丸温度をその表面の温度があらわしていると考えてよいであろう。

また陰囊表面は一般に熱を放散する装置と考えられており、衣服をつけているときは、その温度は上つているが、脱ぐと始めは温度が高いが急速に下り、20分後には一定になる。従つて裸にして20分たてば、その後の温度の変動はない。また周囲からの輻射熱の影響を除くため、アルミホイルで出来るだけ身体他部をおおつてしまえば、著明な誤差は生じないであろう。

この測定で男子不妊症患者と正常人とに陰囊表面温度の差のみられなかつたことは、男子不妊症が熱放散の障害により二次的に起るものではなく、造精能は他の何かの原因で低下しているということを示すものと思われる。

我々が、この陰囊表面温度測定を試みた理由は、はじめにも述べた如く、造精能は温度によつて障害されることのあること、従つて原因の不明な男子不妊症患者は、睾丸の温度が上つているのではないかと考えたからであつた。図3に示すのはラットの睾丸で、左は正常、右は同一ラットの睾丸を腹腔内に押し戻し、人工的に停留睾丸にして7日後のものであるが、睾丸の大きさも明らかに異なつて右のものは萎縮しており、組織をみても造精能の低下がみられたという事がある^{2,3,4)}。これから類推して、もしも陰のうの温度が上昇していたら、そのために造精能低下、不妊症が起つてもよいであろうという考えから、サーモスポットを臨床に応用してみたものであるが、表1、2で示したように、正常人、不妊症患者

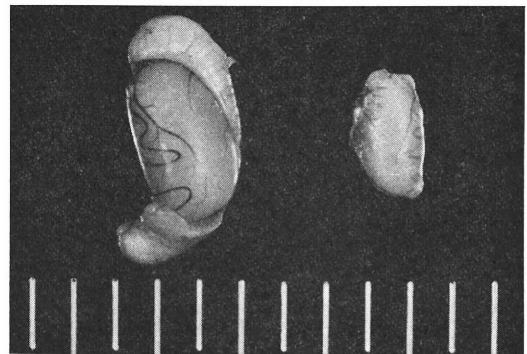


図 3 ラット睾丸、左は正常、右は人工的停留睾丸 7 日後

間に温度の差はなく、不妊症の原因としての温度の上昇ということのみられなかつた。つまり negative data を得たことになつた。

また表3の如く、Klinefelter 症候群でも、温度の上昇はみられない。

これに反し表4に示した如く、左精系静脈瘤では、明らかに患側の温度上昇がある。精系静脈瘤の患者には不妊症が合併しやすく、その場合、手術的治療を行なうと不妊症が治ることがあるということが広く知られている⁵⁾。しかし我々の集計した例では、不妊の訴えの者は2名であり、またこの2名とて、左側の温度上昇のみで右の造精能まで障害されていることは説明がつかぬ。結局これから引出せる結論は、不妊とは関係ないとしても、左精系静脈瘤では左半分の陰のう表面温度が上つており、サーモスポットは診断の一助になるであろうこと、手術によつて左右差がなくなることから、手術結果の判定や、程度の判定にも使える可能性があるということであつた。

結 論

我々は、サーモスポットを臨床的に陰囊表面の温度測定に応用し、以下の結論を得た。

1. 男子不妊症患者と正常人の陰囊表面温度の差はない。
2. 正常人でも男子不妊症患者でも、同一人の皮膚、陰茎、左右の陰囊表面温度は、ほぼ同じである。
3. 左精系静脈瘤では、左側の陰囊表面温度は右側に比して明らかに上昇しており、手術により、この左右差はなくなる。

本論文の要旨は第74回日本不妊学会関東地方部会に於て報告した。

文 献

- 1) 越戸克和など：陰囊内疾患の鑑別診断におけるサーモグラフィーの応用，昭和52年5月第65回日本泌尿器科学会総会発表。
- 2) Robinson, J. N. and Engle, E. T. : Some observations on the cryptorchid testis J. Urol, 71, 726-735, 1954.
- 3) Malatinsky, E. : Unterschiedlicher Einfluß der Semikastration und des einseitigen Kryptorchismus auf den kontralateralen Testis., Zsch. Urol. 68, 745-749, 1975.
- 4) Nelson, W. O. : Some problems of testicular function, J. Urol., 69, 325-338, 1953.

- 5) Scott, L. S. : Varicoele Ligation with improved fertility, J. Reprod. Fertil. 1, 45-51, 1960.

The study of the temperature
of scrotal skin surface of
male infertile patients

Nobuo Kawamura

Dep. Urol. Tokai Univ.

By clinical use of the thermospot, the temperature of scrotal skin surface was determined by the observation of the radiating infrared ray. From the observation of the scrotal skin surface temperature of seventeen normal persons, seventeen male infertile patients, two Klinefelter syndrome patients, and seven left side varicocele testis no temperature difference between normal persons and infertile patients and between the left and the right side was observed. In the case of left side varicocele patients, the temperature of the right scrotum was about the same as that of a normal person, but in many cases, the left side showed apparently higher temperature than the right, even for those of the same patient. This temperature difference between the left and the right side disappeared after varicocelectomy.

(受付：昭和53年1月5日)

RELATION OF PROGESTERONE AND ITS METABOLITES WITH AFFINITIES FOR PROGESTERONE RECEPTOR AND PROGESTATIONAL ACTIVITY IN RABBIT UTERUS

Teruhiko TAMAYA, Toshihiko MOTOYAMA, Norio FURUTA,
Shinko BOKU, Yousuke OHNO, and Hiroji OKADA
Department of Obstetrics and Gynecology, Kyoto Prefectural
University of Medicine,

Abstract: This study was designed to know the relation of progesterone metabolites with the progestational activity and the binding affinity for progesterone receptor in the rabbit uterus.

The interaction of progesterone metabolites with progesterone receptor was studied in the uterine cytosol (8S protein). The kinetic study determined by charcoal adsorption at 4°C showed that the dissociation constant (Kd) of progesterone-8S protein binding was 8.1×10^{-10} M and the inhibitor constant (Ki) of 5 α -pregnan-3,20-dione (5 α -DHP)-8S protein binding was 4.9×10^{-9} M. And 20 α - and 20 β -hydroxy-pregn-4-one (20 α - and 20 β -OH-P) were also studied for 8S protein binding, and Ki of 20 α -OH-P was 1.2×10^{-7} M and Ki of 20 β -OH-P was 7.6×10^{-8} M. These results indicate that progesterone has the highest affinity for progesterone receptor and Δ^4 double bond of progesterone has the less binding potential for its receptor than 20-ketone of it. Biologically 5 α -DHP was active (less than progesterone) in McGinty test.

These results in the rabbit uterus suggest that progesterone itself mediates the uterine progestational response via interaction with a specific receptor system instead of 5 α -DHP.

Introduction

We have studied progesterone receptor in rabbit uterus,^{6,13,17)} and considered that progesterone itself is a biologically active form. And also progesterone receptor has been studied tremendously in chick oviduct^{14,15)}, but Strott¹⁶⁾ suggested that 5 α -DHP may play an important role in the mechanism of progesterone action in chick oviduct. In the androgen receptor system in the prostate, 5 α -dihydrotestosterone acts the main role of androgen action instead of testosterone⁴⁾. The significance of progesterone metabolite in the progesterone action should be clarified in that sense. Therefore the metabolites of progesterone, especially 5 α -DHP were studied in relation to progesterone receptor in the rabbit uterus.

Materials and Methods

Radioactive steroid and counting of radioactivity

[1, 2-³H] Progesterone (47.8 Ci/mmol) was obtained from New England Nuclear (Boston, Mass.), and examined for the purity by paper chromatography. Radioactivity was counted in 10 ml of toluene base scintillation (4 g of 2,5-diphenyloxazole and 75 g of 1,4-bis [2-(5-phenyloxazolyl)]-benzene in 1 l of toluene) by a Packard 3390 scintillation spectrometer at 30% efficiency.

Steroids

Progesterone, 5 α -pregnan-3,20-dione (=5 α -DHP), 20 α - or 20 β -hydroxy-pregn-4-en-3-one (=20 α - or 20 β -OH-P) and estradiol-17- β were obtained from Sigma Chemical Company (St. Louis, Miss.)

McGinty test⁹⁾

The test was performed on the immature rabbits primed with daily subcutaneous injections of estradiol-17 β (50 μ g/d) in sesame oil for 7 days. On the day following the last injection, the uterus was exposed by laparotomy. An upper middle segment of each horn, 3 cm. long, was ligated with silk (#6) suture without disturbance of blood circulation. Progesterone or 5 α -DHP dissolved in sesame oil was injected into the lumen of right segment through the lower ligature which was left loose before injection, while no steroid was injected into the lumen of left segment. Three days after this operation, the rabbits were killed and the uterine segments were sectioned and stained by Hematoxyly-Eosin. The degree of progestational response was scored by the McPhail scale.¹⁰⁾

Preparation of uterine cytosol

Immature female rabbits were estrogen-primed with daily subcutaneous injections of 50 μ g estradiol-17 β in sesame oil for 8 days, killed by decapitation, and the uterus were excised. All subsequent steps were performed at 4°C. The uterus was minced and homogenized with a glass-teflon homogenizer in 3 volumes (v/w) of buffer A (0.01 M Tris, 1.5 mM EDTA, pH 7.4). The homogenate was centrifuged at 1,200 \times g for 10 minutes. The supernatant fraction was

centrifuged for 1 hour at 248,800 \times g (max.) in a Hitachi RPS 55T rotor to yield the supernatant fluid (cytosol).

Sucrose gradient centrifugation

The cytosol (0.5 ml) was incubated with ³H-progesterone (6.2 \times 10⁻⁹M) alone or together with 5 α -DHP (3.2 \times 10⁻⁷M) for 2 hours at 4°C. The incubate (0.4 ml) was layered on 5~20% sucrose gradient (total 4.5 ml) in buffer A and centrifuged at 40,000 rpm [159,200 \times g (max.)] for 16 hours at 4°C. After centrifugation, each fraction of 10 drops was collected from the bottom through a No. 21 gauge needle. Methanol (3 ml) was added to each fraction and radioactivity was counted.

After the uterine cytosol alone was centrifuged, the sample (about 1.4 ml) collected from 10 to 19 of the fraction number in Fig. 2 was diluted in 3 volumes (v/w) of buffer A and it was denoted as 8S proteins solution.

Cow fibrinogen and bovine serum albumin were used as sedimentation coefficient markers to standardize the gradients.

Double reciprocal plot⁸⁾

Five tenths ml of 8S protein solution was incubated with ³H-progesterone (from 6.2 \times 10⁻⁹M to 6.2 \times 10⁻¹⁰M) alone or together with unlabeled steroids for 2 hours at 4°C and then 0.5 ml dextran coated charcoal [0.001%

Table 1. Effect of 5 α -pregnan-3,20-dione on progestational proliferation by McGinty test

Steroid (dose)	number of observations	McPhail scale (mean)	McPhail scale (range)
progesterone			
1 μ g	2	1.0	1-1
5 μ g	6	2.2	1-2.5
10 μ g	6	2.1	1-4
5 α -DHP			
10 μ g	2	1.3	0-2.5
20 μ g	2	2.3	2-2.5
50 μ g	2	3.0	3-3
100 μ g	2	4.0	4
200 μ g	1	3.0	3
progesterone + 5 α -DHP			
10 μ g	10 μ g	1	4
10 μ g	200 μ g	2	4

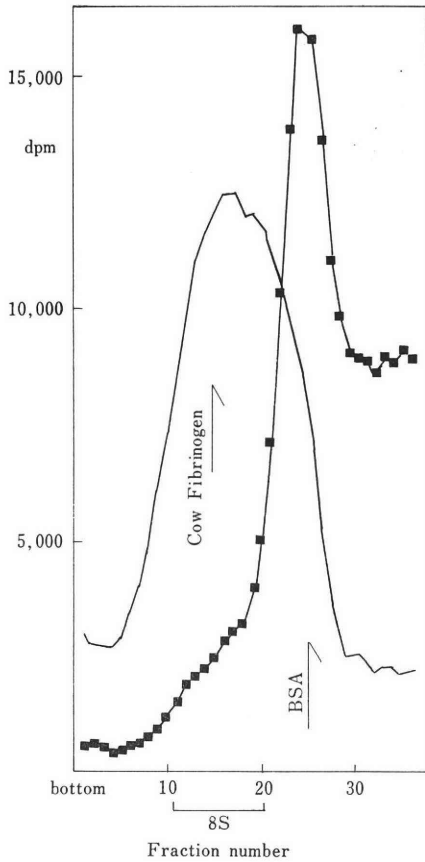


Fig. 1. Sedimentation pattern of ³H-progesterone-protein binding (—) and effect of unlabeled 5α-DHP (—■—■—■—, a 50 fold excess) on it. 5~20% sucrose gradient was centrifuged at 40,000 rpm at 4°C for 16 hours. "8S protein" means the collected samples from No. 11 to No. 20 of the fraction.

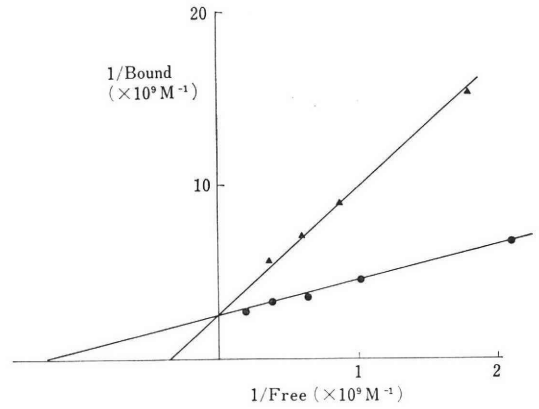


Fig. 2. Double reciprocal plot of ³H-progesterone-8S protein binding (—●—●—●—) and effect of 5α-DHP (—▲—▲—▲—) on it. K_d of progesterone-8S was $8.1 \times 10^{-10} M$ and K_i of 5α-DHP-8S was $4.9 \times 10^{-9} M$ ($i = 1.3 \times 10^{-8} M$, $K_p = 2.9 \times 10^{-9} M$) at 4°C.

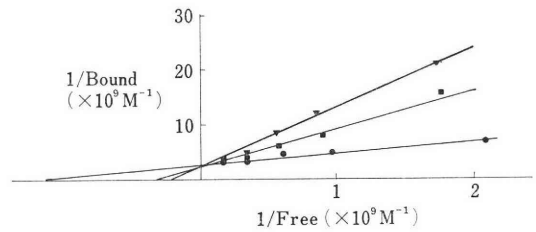


Fig. 3. Double reciprocal plot of ³H-progesterone-8S protein binding (—●—●—●—) and effect of either 20α- or 20β-OH-P on it. K_i of 20α-OH-P (—■—■—■—) was $1.2 \times 10^{-7} M$, ($i = 3.2 \times 10^{-7} M$, $K_p = 2.9 \times 10^{-9} M$) and K_i of 20β-OH-P (—▼—▼—▼—) was $7.6 \times 10^{-8} M$ ($i = 3.2 \times 10^{-7} M$, $K_p = 4.2 \times 10^{-9} M$).

dextran and 0.1% charcoal and 0.25 M sucrose in buffer A] was added to the incubate. The incubate was kept for 30 minutes at 4°C and centrifuged at $1,500 \times g$ for 10 minutes. Methanol (3.0 ml) was added to two tenths ml of the supernatant and radioactivity was counted as the bound form. The double reciprocal plot⁸⁾ was made and K_i (inhibitor constant) is the dissociation constant of inhibitor-receptor complex and calculated by the following equation: $K_i = iK_d / (K_p - K_d)$, where i is the concentration of inhibitor, K_d is the dissociation constant of progesterone-receptor complex, and K_p is

presence of inhibitor.¹⁹⁾

Results

the apparent dissociation constant in the McGinty test

This is the test for the local effect of steroid without the transformation to active form. Progesterone and 5α-DHP demonstrated the progestational proliferation, 5α-DHP was less active than progesterone and the administration of both steroids made the additive effect on the progestational proliferation, as shown in Table 1.

Sucrose gradient analysis

Sedimentation profile in Fig. 1 showed that ^3H -progesterone-8S protein binding was effectively inhibited by 5α -DHP (a 50 fold excess), resulting in the relative increases of ^3H -progesterone-5S binding and its free fraction. Since progesterone³⁾ has the strong affinity for CBG in 4-5S region, it is considered that the shift of ^3H -progesterone binding from 8S to 5S occurred.

Kinetic study

The 8S protein solution collected by sucrose gradient centrifugation was used to avoid the effects of CBG and weak progesterone binding protein in the cytosol. Double reciprocal plot in Fig. 2 and 3 revealed that every steroid was a competitive inhibitor for progesterone-8S protein binding. K_i of each steroid was calculated as follows; $4.9 \times 10^{-9}\text{M}$ for 5α -DHP, $1.2 \times 10^{-7}\text{M}$ for 20α -OH-P and $7.6 \times 10^{-8}\text{M}$ for 20β -OH-P.

Discussion

It is still unknown whether 5α -DHP may play a role in the mechanism of progesterone action or not. Consideration of marked inter-species differences must be taken in account. In the chick oviduct, the principal metabolite of progesterone is 5α -DHP,^{12,16)} and Strott¹⁶⁾ found that 5α -DHP binds to the progesterone receptor almost as well as progesterone does and that it is also as potent as progesterone in inducing synthesis of the specific protein (avidin). Therefore the formation of 5α -DHP may be suggested to play an important role in the mechanism of progesterone action. In the hamster uterus⁷⁾ there was no receptor system for 5α -DHP in the uterine cytosol at the basis of no receptor binding of 5α -DHP in vivo, and progesterone was metabolized to 5α -DHP and to a greater extent to 3α -hydroxy- 5α -pregnan-20-one in vitro experiments. In the rat,²⁾ 5α -DHP could be the intracellular mediator of progesterone action at the standpoint of estrogen-stimulated ring-A reducing enzyme activity of progesterone.

We have studied the mechanism of progestational action in the rabbit uterus. The metabolism of progesterone in the rabbit

uterus has not been clarified yet. Rabbit CBG is in 5~4S region and progesterone has the strong affinity for CBG³⁾ and while progesterone and its metabolites are quite similar in the structural configuration, CBG should be eliminated in the kinetic study. Progesterone ($K_d=8.1 \times 10^{-10}\text{M}$) is stronger in receptor binding affinity, comparing of 5α -DHP ($K_i=49 \times 10^{-9}\text{M}$). Wiest and Rao¹⁸⁾ found that 5α -DHP has an index of about 7% for relative displacement potency in the rabbit uterine cytosol. The affinity of 5α -DHP reported by us for progesterone receptor seems to be much higher than that of Wiest and Rao.

In the rabbit uterus, 5α -DHP is neither active in carbonic anhydrase test from subcutaneous route¹⁾ nor in both the endometrial proliferation and Clauberg assays^{5,11)} but it demonstrated the progestational proliferation in McGinty test (Fig. 1). It is indicated that 5α -DHP is inactive in the systemic administration, but the question why 5α -DHP demonstrates some biological effect in the local administration still remains, whereas Δ^4 double bond is considered to be necessary for progestational activity.

Progestational effect is produced by either 20α -, or 20β -OH-P in the Clauberg test [$0.3 \sim 0.5 \times$ progesterone in 20α -OH-P and $0.1 \sim 0.2 \times$ progesterone in 20β -OH-P] in the rabbit uterus.²⁰⁾ Therefore both steroids were studied in the interaction of progesterone receptor. The affinity of 20α -OH-P ($K_i=1.2 \times 10^{-7}\text{M}$) for progesterone receptor is lower than that of 20β -OH-P ($K_i=7.6 \times 10^{-8}\text{M}$). Wiest and Rao found same results in the rabbit uterus. These indicate that the biological activity and the binding potential for progesterone receptor of either 20α - or 20β -OH-P are converse.

These results suggest that Δ^4 double bond of progesterone is significant for the biological activity and less potential for receptor binding than 20-ketone of it, and that progesterone itself mediates the uterine progestational response via interaction with progesterone receptor in the rabbit uterus instead of 5α -DHP.

References

- 1) Adams, C. E. and Lutwak-Mann, C.: Endometrial carbonic anhydrase as hormone indicator for progesterone and related steroids. *J. Endocrinol.*, 13: XiX, 1955.
- 2) Armstrong, D. T. and King, E. R.: Uterine progesterone metabolism and progesterone response: effects of estrogens and prolactin. *Endocrinology*, 89: 191, 1971.
- 3) Chader, G. J. and Westphal, U.: Steroid-protein interactions XVI. Isolation and characterization of the corticosteroid-binding globulin of the rabbit. *J. Biol. Chem.*, 243: 928, 1968.
- 4) Fang, S. and Liao, S.: Androgen receptors. Steroid and tissue-specific retention of a 17β -hydroxy- 5α -androstane-3-one-protein complex by the cell nuclei of ventral prostate. *J. Biol. Chem.*, 246: 16, 1971.
- 5) Hecht-Lucari, G., Baldratti, G. and Sala, G.: Interactions of the uterus between progesterone and some of its C-21 metabolites in the immature rabbit. *Endocrinology*, 68: 543, 1961.
- 6) Ishihara, S., Tamaya, T., Shibata, M., Honjo, H. and Okada, H.: Progesterone receptor in the rabbit and rat uterus. *Folia Endocrinol. Jpn.*, 49: 1254, 1973.
- 7) Leavitt, W. W. and Grossman, C. J.: Characterization of binding components for progesterone and 5α -pregnane-3,20-dione in the hamster uterus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71: 4341, 1974.
- 8) Lineweaver, H. and Burk, D.: The determination of enzyme dissociation constants. *J. Am. Chem. Soc.*, 56: 658, 1934.
- 9) McGinty, D. A., Anderson, L. P. and McCullough, N. B.: Effects of local application of progesterone on rabbit uterus. *Endocrinology*, 24: 829, 1939.
- 10) McPhail, M. K.: The assay of progestin. *J. Physiol.*, 83: 145, 1934.
- 11) Miyake, T. and Rooks, W. H.: The relation between the structure and physiological activity of progestational steroids. in *Methods in Hormone Research*, Vol. 5 (ed. R. I. Dorfman) 59. Academic Press, New York, 1966.
- 12) Morgan, M. D. and Wilson, J. D.: Intracellular metabolism of progesterone- $1,2\text{-}^3\text{H}$ in the hen oviduct. *J. Biol. Chem.*, 245: 3781, 1970.
- 13) Okada, H., Ishihara, S., Tamaya, T., Honjo, H., Shibata, M. and Shimura, T.: Steroid specificity of progestogen receptor in rabbit uterus. *Folia Endocrinol. Jpn.*, 50: 1543, 1974.
- 14) O'Malley, B. W. and Means, A. R.: Female steroid hormones and target cell nuclei. *Science*, 183: 610, 1974.
- 15) O'Malley, B. W. and Schrader, W. T.: The receptors of steroid hormones. *Sci. Am.*, 234: 5, 1976.
- 16) Strott, C. A.: Metabolism of progesterone in the chick oviduct: Relation to the progesterone receptor and biological activity. *Endocrinology*, 95: 826, 1974.
- 17) Tamaya, T.: Studies on progesterone receptor—In connection with estrogen priming—*Acta. Obstet. Gynecol. Jpn.*, 27: 439, 1975.
- 18) Wiest, W. G. and Rao, B. R.: Progesterone binding proteins in rabbit uterus and human endometrium. In *Advances in the Biosciences*, Vol. 7 (ed. G. Raspé), 251. Pergamon Press, New York, 1971.
- 19) White A., Handler, P. and Smith, E. L. (Eds): In *Principles of Biochemistry*, 3rd ed. 235. McGraw Hill, New York, 1954.
- 20) Zander, J., Forbes, T. R., Von Münstermann, A. M. and Neher, R.: Δ^4 -3-ketopregnene-20 α -ol and Δ^4 -3-ketopregnene-20 β -ol, two naturally occurring metabolites of progesterone. Isolation, identification, biologic activity and concentration in human tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 18: 337, 1958.

Progesterone とその代謝物の Progesterone receptor および生物学的活性との関係

玉舎輝彦, 本山敏彦, 古田典夫,
朴 震光, 大野洋介, 岡田弘二

(京都府立医科大学産婦人科学教室)

黄体ホルモン効果発現に際して progesterone (=P) およびその代謝物の役割について、ウサギ子宮で、これらステロイドの progesterone receptor (=PR) に対する親和性の強さと生物学的活性との相関関係より検討した。子宮 cytosol より CBG の影響を除くため 5~20% 蔗糖密度勾配遠沈法により分画採取した 8S 液を用いて各種ステロイドと PR との親和性を反応速度論的に検討した。P ($K_d=8.1\times 10^{-10}\text{M}$), 5α -pregnan-3,20-dione (=5 α -DHP, $K_i=4.9\times 10^{-9}\text{M}$), 20 α -hydroxy-pregn-4-ene (=20 α -OH-P, $K_i=1.2\times 10^{-7}\text{M}$), 20 β -OH-P ($K_i=7.6\times 10^{-8}\text{M}$) であった。このことから P は PR にもつとも親和性が強く、さらにその Δ^4 二重結合よりも 20-ketone の方が PR への結合力は強い。5 α -DHP は局所投与法 (McGinty) にのみ黄体ホルモン作用 (P より弱い) を示す。したがってウサギ子宮では P そのものが PR との相互作用により黄体ホルモン作用を発揮するものと思われる。

(受付: 昭和53年11月21日)

ESTABLISHMENT OF PREGNANCY AFTER ADMINISTRATION OF H.M.G. AND H.C.G. FOR PATIENTS WITH PRIMARY AMENORRHEA OF LONG DURATION

Ataru MATONO, Torajiro NABUCHI and Toshiro TANI,
Dept. of Gynecology & Obstetrics, Osaka Kaisei Hospital

Abstract: In our gynecological clinic, several kinds of hormonal treatment had been applied to infertile women. In the present paper, I would like to report the results of administration of the human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin therapy for induction of ovulation in 6 patients with primary or secondary amenorrhea. The first case was a 17-year-old unmarried student with primary amenorrhea and no development of secondary sexual characteristics, showing monophasic B.B.T. and low urinary 17-KS excretion. Implantation of DOCA and EP pellets induced withdrawal bleeding. Then, after failure by a number of other hormonal therapies used, ovulation was initiated with success by a combination of H.M.G. and H.C.G.

Similar methods were further applied to 5 more cases, with achievement of normal pregnancy for one case and twin pregnancy ending in the premature delivery for another one. For remaining 3 cases the aimed therapeutic effect failed to be attained.

Our results and the data indicate that the dose of H.M.G. (FSH) required to induce an ovulatory response varied from 600 to 4900 I.U.

I would like to report the results of the human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin therapy for induction of ovulation in 6 patients with primary or secondary amenorrhea.

The first case was a 17-year-old unmarried student with primary amenorrhea and no development of secondary sexual characteristics at the time of the first visit in 1975 (Fig. 1). Her urinary excretions of 17-KS and estrogen were low, and BBT showed a monophasic pattern.

DOCA (desoxycorticosterone acetate) pellet 50 mg and EP (estrogen-progesterone) pellet 50 mg were implanted. Then withdrawal bleeding was observed for 3 days and androgen pasta was applied to the pubic region. After the therapy, development of breasts (Fig. 2) and genital hair appeared and gradually became thick.

One month later, EP pellet was implanted again and withdrawal bleeding was seen for 3 days. The administration of 5 mg of estro-

diol valerianate followed by ethinyl-19-nor steroid (Norluten) induced cyclical withdrawal bleeding for 4 days. Cervical mucus amounted to 300 to 500 mm³ and Spinbarkeit accounted for 20 to 40 cm. Crystallization also turned good. She got married at age of 23, but amenorrhea persisted when treatment was restrained.

Therefore, implantation of DOCA, (intravenous Premarin injection), administration of gonadotropin, gestagens, estrogens, etc. were attempted.

DOCA was given in the first half of the cycle and then 10 mg of Anovular were given for 7 days. After withdrawal bleeding, 20 mg of Premarin was intravenously given and the same course of treatment was repeated (Fig. 3). Although urinary estrogen increased to 126.3 μg and the finding of cervical mucus was good, she failed to be pregnant.

During May to August 1968, 50 mg and 100 mg of Clomid were administered (Fig. 4).

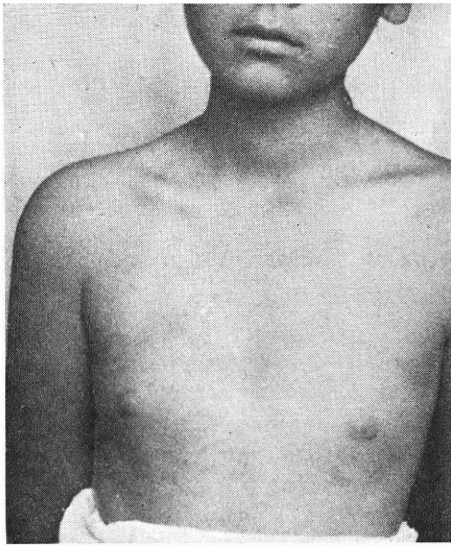


Fig. 1 before therapy

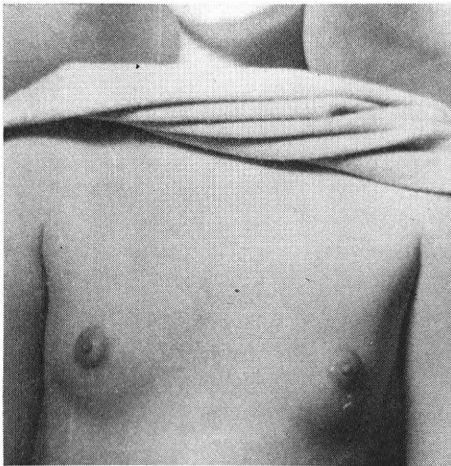


Fig. 2 after therapy

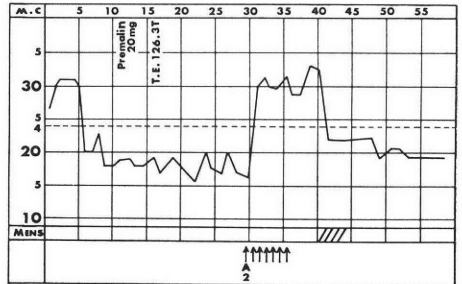
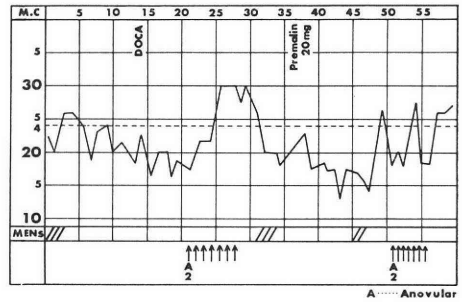
However, satisfactory results could not be obtained. Treatment was temporarily suspended.

Since [redacted] Humegon (HMG) had been used (Fig. 5).

At first, 10 mg of Norluten was given for 7 days but withdrawal bleeding failed to occur.

After administration of 2 mg of EP 3 times, withdrawal bleeding was observed for 3 days. Starting with the 8th day of the cycle, Humegon was given 6 times, totaling 900 I.U. which led to the increase of cervical mucus. In addition, 1,000 I.U. Primogonyl (HCG) were given 5 times and the rise in BBT continued, but ended in

23 years old primary Amenorrhea



Administration of Adrenocorticosterone (DOCA) with Intravenous Inj. of premlin 20mg

Fig. 3

28yrs old.

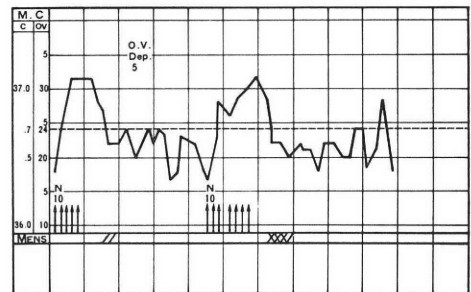
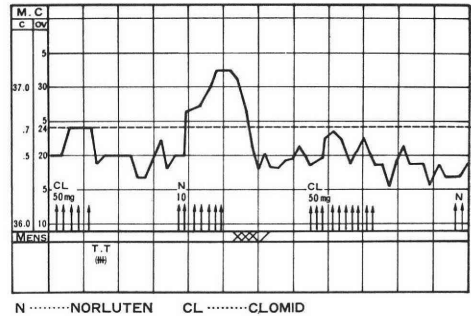


Fig. 4

withdrawal bleeding.

In the 2nd cycle, a total of 750 I.U. of Humegon was given. Seven days after ad-

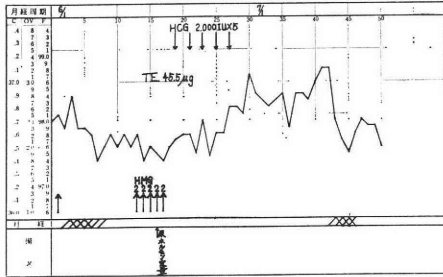
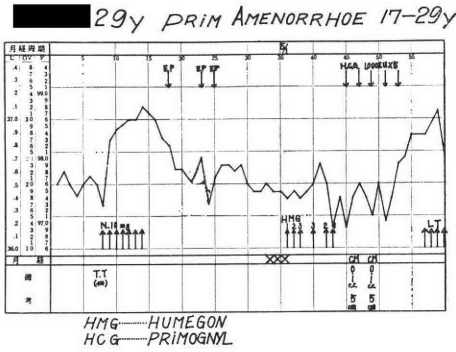


Fig. 5

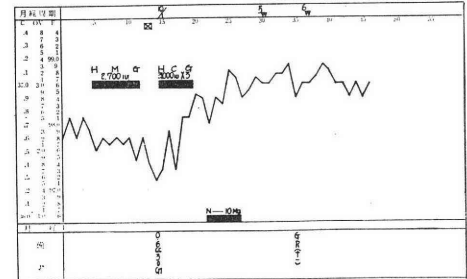
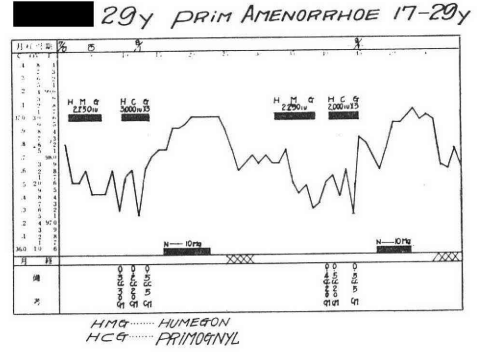


Fig. 6

ministration, total estrogen in urine reached to 45.5 μ g/day and the cervical mucus amounted to 250 mm³, Spinbarkeit accounted for 20 cm and crystallization was prominently improved.

Afterwards, 2,000 I.U. of Primogonyl were given 5 times resulting in withdrawal bleeding for 3 days.

Furthermore, starting with the 7th day of the cycle, 1,125 I.U. of Humegon was administered, as a result, the cervical mucus volume accounted for 300 mm³ (Fig. 6). After that, a total of 9,000 I.U. of Primogonyl were given and BBT shifted to high phase. Then 10 mg of Norluten were given for 5 days, subsequently withdrawal bleeding occurred for 4 days. In the following cycle also, the cervical mucus increased to 400 to 500 mm³ after administration of Humegon and crystallization was also favorable. Additionally 2,000 I.U. of Primogonyl were administered 3 times, and Norluten was also given following the increase of BBT and withdrawal bleeding.

For the subsequent cycle, starting with the 8th day, 2,700 I.U. of Humegon were administered in a mode of gradual increase and later step down of dosage. On the day after completion of HMG administration,

BBT rapidly rose. The cervical mucus amounted to 600 mm³ and Spinbarkeit accounted for 30 cm. The patient was instructed to have coitus.

The next morning the Huehner test revealed intensive positive, crystallization and many sperms with brisk motility.

After 3,000 I.U. of Primogonyl was given 3 times, BBT kept rising. And the pregnancy test proved to be positive. The patient delivered male matured twin on [redacted]. The twin weighed 3,134 gram and 3,260 gram, respectively and showed favorable growth.

In addition to the above case, similar methods were further applied to 5 more cases and normal pregnancy in one case and twin pregnancy ending in premature delivery in another case were achieved.

In the remaining 3 cases, the therapeutic effect failed to be attained. As to the urinary hormone assays in these 3 cases which failed to become pregnant (Table), all cases showed low levels in estrogen and pregnanediol, no prominent change in pregnanetriol and 17-OHCS and no change in enzyme but high levels in eticholanolone and androsterone. These data indicate the high possibility of polycystic ovary in latter

Table Urinary hormone assay (Prof. Dr. Matsumoto)

Case	Age	17-OHCS ($\mu\text{g}/24\text{hrs}$)	17-KS ($\mu\text{g}/24\text{hrs}$)	Total estrogen ($\mu\text{g}/24\text{hrs}$)	Pregnane- diol ($\mu\text{g}/24\text{hrs}$)	Pregnane- triol ($\mu\text{g}/24\text{hrs}$)	
1) Y.N.	25	3,080	3,280	3.0	Estriol 2.0 Estradiol 0 Estrone 1.0	not detected	940
2) K.K.	27	3,010	5,120	6.5	Estradiol \pm Estriol 2.9 Estrone 3.6	\pm	441
3) M.T.	27	4,710	3,400	7.9		\pm	500

cases.

Acknowledgment

The author is much grateful to Prof. K. Matsumoto, Osaka University, for his guidance and helpful advice through the course of this study, and to Dr. M. Honda, Osaka, Kaisei Hospital, for his assistance in translation and preparing the manuscript.

Presented at the Ninth World Congress of Fertility and Infertility, Miami Beach, U.S.A., April 12 to 16, 1977.

References

- Gemzell, C., Carlborg, C., Johansson, E. and Roos, P.: Treatment of Primary Amenorrhea with Human Pituitary and Chorionic Gonadotropins. *J. Obstet. and Gynec., Brit. Comm.* 77: 58-64, 1970.
- Greenblatt, R. B.: The V World Congress of Gynecology and Obstetrics. 1967. 9. Sydney.
- Matono, A., Nakamura, N., and Uemichi, T.: The V World Congress of Gynecology and Obstetrics. 356. 1967. 9. Sydney
- Matsumoto, S., et al., Igarashi, M. D: The V World Congress of Gynecology and Obstetrics. 357, 1967. 9. Sydney.
- Igarashi, M., Ibuki, Y., Kubo, H., Kamioka, J., Yokota, N., Ebara, Y., and Matsumoto, S.: *Am. J. Obstet. and Gynec.* 97: 120, 1967.
- Kato, J., Kobayashi, T. and Villace, C. A.: *Endocrinology*, 82: 1049, 1968.
- Kato, J. *Acta Obst. and Gynec. Jap.*, 18: 29 1971.
- Matono, A., and Nakamura, N.: The IV World Congress of Fertility and Sterility. 1962. 8. Rio De Janeiro.
- Goldzieher, T., Rice Wrag, W., Schult, E., Coutreras, M. and Arande Rosell, A.: *Am. J. Obst. and Gynec.* 84. 1474. 1962.

(受付: 昭和53年1月5日)

不妊症のホルモン療法特に H.M.G. 並びに H.C.G. による原発性長期無月経ならびに第 II 度無月経, 無排卵周期症の効果

的 埜 中, 南淵虎次郎, 谷 俊郎
大阪回生病院産婦人科

従来機能性不妊症に対して諸種のホルモン療法を行ってきたが今回原発性長期無月経 (1957~1969) ならびに第 II 度無月経, 無排卵周期症に対し H.M.G.-H.C.G. 療法の効果を報告する. 第 1 例は 17 歳 10 カ月の未婚の女子, 原発性無月経を主訴とし第 2 次性徴全くなく, 尿のホルモン定量は Estrogen 198 γ (蛍光法) 17 K.S. は 20 mg (Direkto 変法) で B.B.T. は 1 相性の發育不全型に DOCA (Desoxycorticosterone acetate) pellet 50 mg を臀部皮下に同様 prodiol pellet (E. P.-Estrogen-progesterone pellet) 埋没し消褪出血あり, 局部には Androgen Pasta 30 g を塗布したところ陰毛の發生, 乳房の増大し第 2 次性徴の發育良好となり尿中 17K.S は 5.3 mg/dl と増した. その後 estradiol Valerionate 5mg と ethinyl-19-norsteroid (Norluten, anovular etc.) 10 mg \times 7 日周期的に投与し消褪出血 4 日間發来し頸管粘液の増量, 牽糸性 (Spinbarkeit) の増加し 23 歳で結婚, その後 Premarin Kupperman 法 DOCA の併用等諸種のホルモン療法, 1968 年 clomid 投与方法を行うも自然来潮なく 1969 年 Humegon (H.M.G.) と primogonyl (H.C.G.) による排卵誘發 B.B.T の上昇妊娠成立し 成熟男子双生児を分娩し体重は 3,134 g と 3,260 g で發育良好である.

同様に他の 5 例中 1 例無排卵症は正常分娩他の 1 例は Humegon 750 I.U. 投与後旅行し再び 675 I.U. H.M.G. 投与し成功, 妊娠第 28 週で妊娠中毒症で切迫早産のため双胎分娩にて 1310 g の女兒と 1266 g の男児を得て成熟児に發育する. 残る 3 例の無月経症は尿中 Estrogen 並びに pregnanediol は低く eticholonolone ならびに Androsterone は高値で polycystic ovary の可能性が見られた. これ等に要した H.M.G. の所要量は 600~4900 I.U. である.

先天性頸峡部欠損症の1例

Segmental Aplasia of the Uterine Cervix

東邦大学医学部産婦人科教室

吉 沢 伸 二 田 崎 敬 事 百 瀬 和 夫
Shinji YOSHIZAWA Keiji TASAKI Kazuo MOMOSE

Dep. Obstet. Gynec. Toho Univ. School of Medicine

子宮体部と頸管の間の連続性が全くなく、両側は盲端に終り、その間には大きな穴が開いているという稀有な症例を経験した。

子宮頸管があるので、毎月月経に一致してわずかの出血があつたが、経血の大部分は腹腔内に逆流するか、子宮腔内に貯つていたと思われ、周期的な激しい下腹痛を訴え、子宮漿膜、両側付属器、骨盤腔には Endometriosis が著明で、経血の逆流が原因となつたものと思われた。

子宮体部と頸管の接合手術を行い、上行性感染を起こすこともなく、疎通性の回復に成功し、その結果、下腹部痛は全く消失し、月経も規則正しく発来するようになり、現在も妊娠すべく治療中である。

この奇形の原因は発生学的に Müller 氏管の癒合、分化、発達における障害で、Müller 氏管の頸峡部に相当する部分の Segmental Aplasia と考えられる。今後は、これまで人間の子宮奇形では考えられなかつた Müller 氏管の、より詳細な分節的発達障害による奇形を考慮しなければならないことが示唆された。

緒 言

子宮奇形には色々あり、成書にも同じような図が載っているのをよく見かけるが、なかでも先天性頸管閉塞の症例は稀である(図1)。我々は人間以外の動物では報告例があるが、人間ではごく稀と思われ、発生学的に極めて興味深い子宮奇形の1例を経験し、妊孕性保存のために疎通手術を行い、疎通性回復の目的は達したので報告する。また、これまで人間では起こり難いとされていた Segmental Aplasia という概念の奇形が人間でもあり得るので、これを性器奇形の中に加える必要があると考えられる。発生学的考察を加えて報告し、御批判を仰ぎたい。

症 例

生れ、1976年5月に結婚、同10月14日月経困難と下腹部腫痛を主訴として受診、家族歴、既往歴に特記すべきことはない。初経は12歳、月経は30日型で順調にあり、3～4日間続くが初経以来月経痛が強く、1～2日寝込む程であつた。また経血量はごく少なく、1～2日間の比較的多い時期でさえ、パット1枚で間に合う程度であつたが、それが普通のことと思つていたそ

うである。今回は特に月経痛が強いため近医を受診し、左卵巢囊腫を指摘され、当科を紹介された。

子宮は前傾屈、やや大、正常硬、右付属器には異常を認めないが、左側に鶏卵大の弾性硬の腫瘤を触れた。子宮腔部の大きさは正常で、びらんはない。膣・外陰部とも異常は認めず、左卵巢囊腫の診断のもとに入院し、一般術前検査に異常なく、特に詳しい検査は行わずに手術を行つた。

開 腹 所 見

子宮漿膜、両側付属器、Douglas 窩は Endometriosis が著明であるが、そのわりに周囲との癒着は少なく、子宮は前傾屈、やや大で、表面には線維様物が付着し、粗雑である。右卵管・卵巢は位置的に異常を認めず、癒着もないが、卵管壁にも Endometriosis を認めた。左卵管・卵巢は一塊となり、これが左卵巢囊腫として触れたものと判明した(写真1)。

両側円靭帯を牽引すると異常に伸びがよく、子宮体部が容易に腹壁の高さまで上る程であつた。膀胱側からのぞくと、子宮体部の下に腸管を認め、強く牽引したために頸管を引き裂いてしまつたかと誤解されたほどであるが、その穴をよくみると辺縁は平滑で、子宮体部の下方

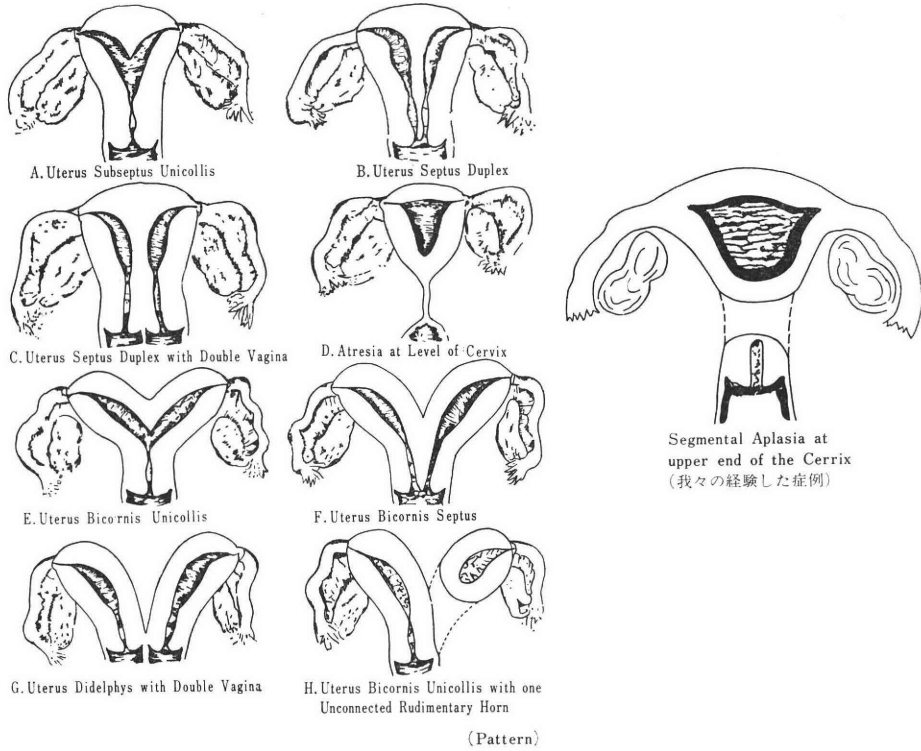


図1 各種子宮奇形と我々の経験した症例の模式図

に小さい漿液性嚢胞が多数付着し、もともとこの部分が欠損していることが判明した(写真2)。

外子宮口より挿入したゾンデは約3cmでつきあたり、腹腔から見るとゾンデ先端が頸管上部を通して中央に突出するのを認め、子宮体部と頸管の間が欠損していることがわかった。そこで子宮腔部からは頸管カニューレで、同時に子宮体腔内へは底部より刺入した注射針により Endografin を注入し、X線撮影を行った(写真3)。ここで子宮体部および頸管とも盲端となり、上下の交通が全くないことが判明した。左卵管は閉塞しているが、右卵管の疎通性は保たれているようであった。

手術方法

左側卵管は切除、右側は卵巣の Endometriosis の部分を切除し、健全と思われる部位を保存し、卵管はそのままとした。次いで子宮体部と頸管を接続すべく両側盲端部を水平に切除して開口させ、上下断端を接合するように前後左右4カ所で上下の筋層を2号クロミックカットグットで縫合し、さらにその表層4カ所で2層縫合とした(図2)。その際に接合部の再開塞を予防する目的で、8号ネラトンカテーテルを体部に置き、末端は頸管を通し外子宮口より腔腔内に出した。

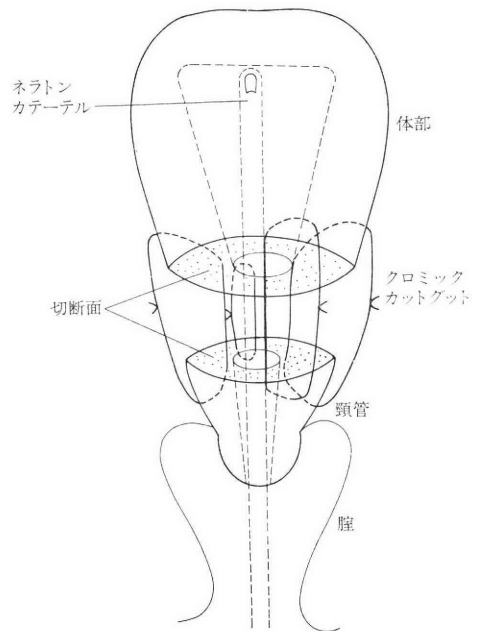


図2 子宮・頸管接手術々式の模式図

術後経過

術後1週間ネラトンカテーテルをそのまま子宮腔に

留置した後抜去し、次の日より毎日ネラトンカテーテルを外子宮口より子宮腔に通し、縫合部再閉塞を防止した。心配された上行性感染を起こすこともなく順調に経過し、術後15日目で退院した。

術後24日目に月経発来し、6日間持続した。術前と比べようもない程多量の出血で、1日にパットを6回もかえなければならず、本人も非常に驚いたそうであるが、月経痛は全くなかった。以後の月経も順調に28日型で発来し、月経痛は全く消失している。

術後2回目の月経終了後の子宮卵管造影では、左卵管は切除したため造影されず、右卵管は溜水腫状であったが、体部と頸管は予想以上に良く接合し、手術の目的は一応達成したものとと思われる(写真4)。

以後の治療方針としては右卵管溜水腫に対し、時期をみて卵管形成術を行う予定で、毎周期薬物通水を行っている。

検査所見

術中採取した組織の病理所見では、卵巣には多数の Endometriosis が認められ、手術は月経28日目に相当するにもかかわらず子宮内膜は分泌初期の像を呈していた(写真5)。頸管には病的に異常は認めなかった。

術後2周期目の月経直前(29日)に取った子宮内膜の病理組織検査では、分泌後期の像を呈し、周期性変化は正常になったと判定された(写真6)。なお、術後9日目の経静脈腎盂撮影、11日目の骨盤動脈撮影では特別な異常所見は認めなかった。また、末梢血球による染色体検査でも異常はなかった。

考 察

本例は極めて稀な子宮奇形で、文献的に検索しても他に報告例を見なかった。これまでの報告例のうちでは先天性頸管閉塞が我々の症例に最も近いと思われる。Rotter¹⁾は先天性頸管閉塞を3型に分類した。1) 頸管はあるが通過性がない、2) 腔から子宮に1・2本の細い束状物が連なっている、3) 腔から子宮へは全く連絡がない。従つて、我々の症例と先天性頸管閉塞とでは、子宮体部についていえば全く同じ状態で、ただ頸管の条件が異つていると考えられる。

本例の如き子宮奇形の成因を理解するには、子宮の発生学を考察する必要がある。すなわち、卵管、子宮、上部腔管は Müller 氏管が発達したもので、胎生6週末ごろ中腎管の外側に体腔中皮のひだとして現われ、これが陥没し(ここが後に卵管の腹腔口となる)、その盲端が先端となつて尾方に伸び、この管が Müller 氏管となる。胎生8週末には左右の Müller 氏管が合同して1本

となり、尿性洞の後壁に開口し、さらに発達し続ける。左右に分離したままの部分は卵管となり、合同して子宮腔管と呼ばれる部分が後に子宮と腔に分化する。この合同・分化の段階に障害があれば、さまざまの子宮奇形が発生する。

Jones²⁾も子宮奇形を理解する鍵はその発生学にあり、2本の Müller 氏管が1本に癒合し、開口するには3回の異つた時期と、3つの段階があり、子宮-頸管-腔の関係は24種類の異つた奇形を生ずる可能性があるという。我々の症例は Müller 氏管の頸峡部に相当する部分が合同せず、その上下だけが合同し、その後の分化発達も頸峡部で欠けてしまったと考えることが妥当であり、頸峡部の Segmental Aplasia と表現するのが最もふさわしい。一方、先天性頸管閉塞は Müller 氏管の合同が起こつても、その後の分化発達が頸管全体で欠けてしまったと考えられ、Congenital atresia あるいは Congenital absence of the uterine cervix と表現されている。これは1974年までに15例の報告があつたといわれ(Farber³⁾、Patten⁴⁾、Ludwig⁵⁾らは子宮奇形を分類する際に先天性頸管閉塞を入れたが、今後子宮奇形を考える際には Müller 氏管の細かい分節的な癒合・分化・発達の障害を考慮に入れる必要があると思われる。

その他この症例について問題となることは、1) 月経血の逆流が Endometriosis の原因になったと考えられる。2) 子宮と頸管を接合する手術が成功して、経血の排出が順調になり、月経痛が全く消失した。3) 手術により妊孕性が保たれたことの3点であるが、文献的に同様の症例をみないので、先天性頸管閉塞の報告例を参考にして考察を加えた。

Zarou⁶⁾が1973年までに収集した先天性頸管閉塞11例中、全例原発性無月経と進行性の周期的下腹痛があつたが、必ずしも Endometriosis が合併していたわけではない。Farber⁷⁾の報告も1例は Endometriosis なく、他の3例ではあつたという。我々の例は頸管からと思われ、ごく少量の経血らしい排出物があつたが、ほとんどの経血は子宮腔に溜まるか、一部は卵管を通つて腹腔内に逆流していたと思われ、下腹痛は激しく、骨盤腔には Endometriosis が著明であつた。しかし経血の逆流が必ずしも Endometriosis の成立に結びつかない例もあり、その理由は不明である。

Zarou の集計11例中、子宮全摘3例、保存手術8例であつた。手術療法については Geary⁸⁾、Fritzsche⁹⁾らは逆行性月経血による Endometriosis の増悪、頸管欠損のための不妊、上行性感染などの可能性をあげ、primary hysterectomy が最も良いと述べているが、患者の年齢から多くは妊孕性保存が必要となり、非常に困難な手術

方法を施行している。Farber が収集した15例中妊娠例は Zarou の1例のみで、この例は満期分娩をしたが、もし妊娠したとしても頸管無力症のために流産を起し易いのではないかと述べている。我々の症例も保存手術により今後 Endometriosis の増悪も考えられ、当初子宮全摘が考慮されたが、妊孕性の保存手術をせざるを得ない状況下におかれた。しかし先天性頸管閉塞にくらべると比較的よく発達した頸管が存在していたので、吻合手術は予想外に容易であつた。

本稿の一部は1977年7月第54回日本産科婦人科学会関東連合会地方部会総会にて発表した。

文 献

- 1) Rotter, C. W. : Surgical correction of congenital atresia of the cervix. *Am. J. Obstet. Gynec.* 76 : 643, 1958.
- 2) Jones, W. S. : Obstetric significance of female genital anomalies. *Obstet. & Gynec.* 10 : 113, 1957.
- 3) Farber, M. et al. : Congenital absence of the uterine cervix. *Am. J. Obstet. Gynec.* 121 : 414, 1975.
- 4) Patten, B. M. : *Human Embryology*, Churchill Ltd., London, 1953.
- 5) Ludwig, K. S. : *Gynäkologie u. Geburtshilfe*, Thieme, Stuttgart, 1969.
- 6) Zarou, G. S. et al. : Pregnancy following the surgical correction of congenital atresia of the cervix. *Int. J. Gynec. Obstet.* 11 : 143, 1973.
- 7) Farber, M. et al. : Reconstructive surgery for congenital atresia of the uterine cervix. *Fertil. & Steril.* 27 : 1277, 1976.
- 8) Geary, W. L. et al. : Congenital atresia of the uterine cervix. *Obstet. & Gynec.* 42 : 213, 1973.
- 9) Fritzsche, R. et al. : Ein Fall von Zervix-aplasie. *Geburtsh. u. Frauenhk.* 36 : 524, 1976.

Segmental aplasia of the uterine cervix

Shinji Yoshizawa, Keiji Tasaki and Kazuo Momose

Dep. Obstet. Gynec. Toho Univ. School of Medicine

We have encountered a rare and seldom anticipated case which had a complete discontinuity between the corpus and the cervix of the uterus, creating a cranially and caudally incommunicable wide defect.

Although monthly menstruated staining from the cervix was seen, she had experienced periodic severe lower abdominal cramps which was supposedly due to the menstrual blood forced into the peritoneal cavity and the resultant accumulation.

On exploration, the pelvic organs such as the serosal surface of the uterus and bilateral adnexae revealed marked endometriosis. This case report is an example demonstrating pelvic endometriosis originated from regurgitation of the menstrual flow.

The unification surgery of the corpus and the cervix achieved success without incurring ascending infection.

In consequence, she has been eliminated from the abdominal pain on regular menstrual flow, and she is thus under our surveillance for enabling conception.

The etiology of the malformation derives from embryonic defective fusion and impairment of growth potential and development of müllerian primordia, and it is recognized as segmental aplasia of the ducts destined for the future isthmus.

This case implies that an attention should be taken into consideration on a malformation from impairment of minute segmental growth of müllerian ducts which was unthinkable on the uterus in human.

(受付：昭和52年12月13日)

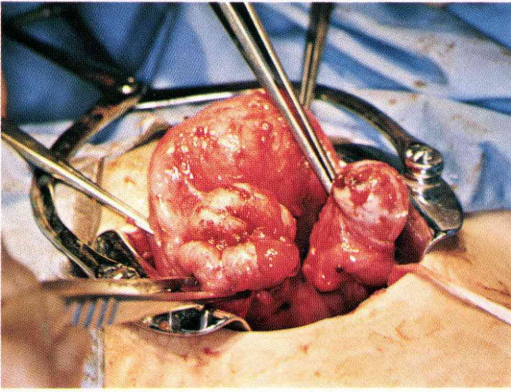


写真 1. 開腹所見 (後面より)

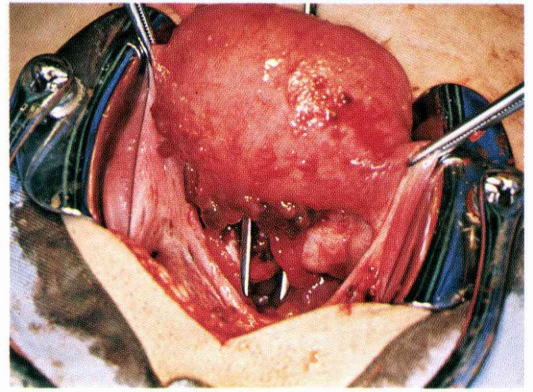


写真 2. 欠損部所見 (前面より)

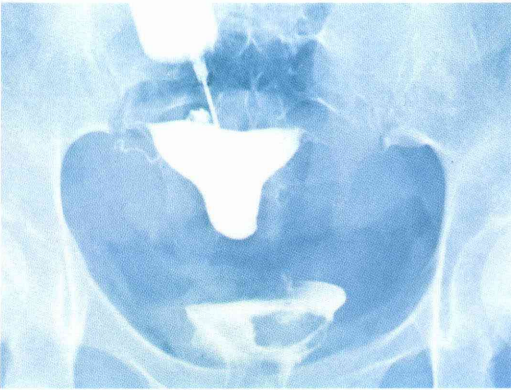


写真 3. 子宮体部造影 (開腹時)

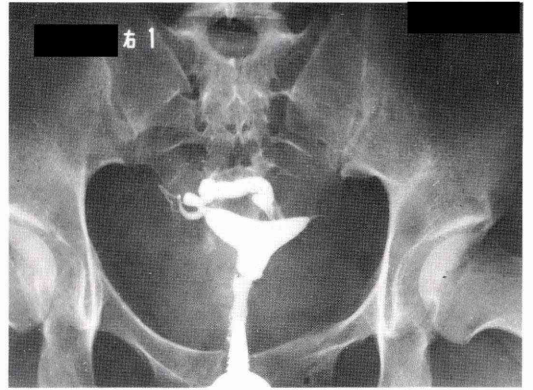


写真 4. 術後子宮卵管造影

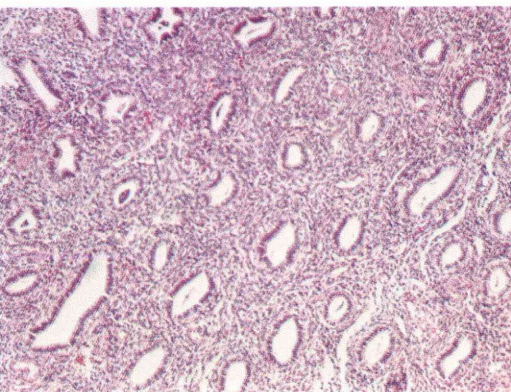


写真 5. 術中子宮内膜 (月経周期 28 日目)

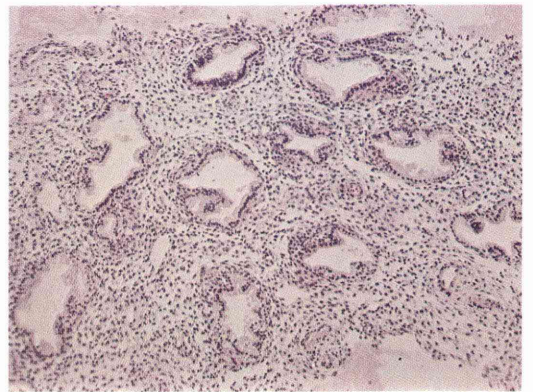


写真 6. 術後 2 周期目の子宮内膜 (29 日目)

家兎胞胚の被膜について

—ムチン層の Autoradiograph—

Studies on the Blastocyst Membrane of the Rabbit

—Autoradiograph of the Mucin Layer—

東邦大学医学部産婦人科学教室

岩 城 章 野 沢 あ き 子

Akira IWAKI Akiko NOZAWA

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

家兎の卵管内で透明帯の周囲に付着したムチン層が、その後の胞胚被膜の構築に関与しているか否かを検討した。

$\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ を交配後 48 時間までに静注して得た 3 日胚（桑実胚）の Autoradiography では、ムチン層に ^{35}S による銀粒子が明瞭にみとめられた。このラベル卵を Recipient に移植し、21, 30 時間後に再回収した卵の Autoradiography では被膜のほぼ全面に銀粒子が認められた。このため early expanding blastocyst stage の被膜の主体はムチン層であると云える。しかし移植後 72 時間の被膜には銀粒子がみとめられなかった。したがって着床ま近い胞胚の構築には透明帯と同様に、ムチン層もほとんど関与していないことが示された。

はじめに

われわれは家兎胞胚の被膜は本来の透明帯と同一物でなく、胞胚被膜の構造の主体は透明帯以外の成分とくに子宮分泌物の関与が想定されることを報告した^{1,2)}。すなわち、

- 1) 透明帯の容積のみでは胞胚被膜を形成する capacity を持たない。
 - 2) 胞胚被膜と透明帯では、染色性に著しい差がみとめられる。
 - 3) 5 日目胚で透明帯がとぎれとぎれになっているのが電顕で観察された。
 - 4) Mercaptoethanol で処理すると透明帯は溶解するが胞胚被膜は不溶である。
 - 5) *in vitro* で培養した初期胞胚はムチン層の存在により完全な hatching は抑制される。
- などの成績である。

ムチン層は強いメタクロマジーをおこし、卵管分泌物を電気泳動で処理すると硫酸基を多量に含有することが知られている。Shapiro³⁾は硫酸基を含む卵管分泌物が短

期間の間に卵の周囲から消失することを報告している。しかし上述のように我々の成績では hatching を抑制するのはムチン層と考えられ、初期胞胚におけるムチン層の存在の重要性が示唆されている。

そこでムチン層の硫酸基を ^{35}S でラベルした卵を Recipient に移植し、再回収した胞胚膜の Autoradiograph を観察することにより、ムチン層の消長を追跡し、発育中の卵被膜の構造にムチン層がどの程度関与しているかを検討した。

実験方法

1) 実験動物：2.5~3.0kg, 一回経産の日本白色家兎を用いた。飼育条件は温度 22~25°C, 湿度約 60%, 照明時間は 8:00~17:00 とした。金網床金属ケージに一頭づつ入れ、クレアの兎用固型飼料と水を自由摂取させた。

2) ^{35}S の投与方法と卵の回収法：Donor として用いた家兎には自然交配直後に HCG (帝国臓器) 100iu を投与し、11~48 時間の間に 1.0~1.5mCi/kg の $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ (第一化学) を静注した。この際どのように投与すればムチン層を強くラベルすることができるか検討するため

に、³⁵S の投与方法として 3 種類の方法を試みた。すなわち第 1 表の通り、I, II は 1mCi/kg を 2 または 7 回に分注投与、III は 1.5mCi/kg を 2 回に分けて投与した。交配後 64~72 時間に卵管を摘出し、約 5 ml の Hank's 液中に受精卵を回収した。

3) Autoradiography: 回収卵の一部は 2.5% の glutaraldehyde (Fisher 社) で 2 時間固定後、pH 7.4 のリン酸緩衝液で洗浄し 1% のオスミウム酸で二重固定した。固定後アルコール系列で脱水後、常法によりエボン包埋し、光顕用切片を作成した。切片は 2~3 倍に稀釈したサクラ NRM₂ 乳剤で dipping 後、4°C の暗室に 3 週間以上露光させて現象し、トルイジンブルーで後染色を施してから銀粒子の有無を調べた。なお一部については PAS 前染色を行った。

4) ³⁵S ラベル卵の移植および培養: 一部の回収卵は 30% 牛胎児血清 (Difco 社) を添加した medium 中で 30 時間培養した後に前述の操作により Autoradiography を行った。残りの回収卵はホルモン処置により疑妊娠を誘起した Recipient の卵管采に毛細管ピペットを用いて移植した。そのホルモン投与法は 100iu の HCG のみを静注するか、あるいは 80iu の PMS 投与後 48 時間に 100iu の HCG を投与する 2 法を行い、HCG の投与後 64~72 時間に卵を移植する。(なお HCG の静注時刻は Donor における HCG 投与時刻と同じにしてある)。移植後 21, 30, 72 時間に子宮から卵を再回収して、同様な方法で Autoradiograph を作成した。

実験成績

1. Donor からの回収成績およびその卵の Autoradiograph (表 1, 3, および図 1)。

³⁵S を投与した 5 例中 1 例からは受精卵が回収できなかったが I 群の 1 例から 6 個、II 群の 1 例から 10 個、III 群の 2 例から 18 個の卵が得られた。すべての回収卵は桑実期でありムチン層が厚く付着していた(約 150μ)。

この桑実胚のうち I 群 2 個、II 群 3 個、III 群 4 個、計 9 個の卵を Autoradiography に供したが、すべての卵のムチン層に銀粒子が認められた。また III 群からの回収卵がもつとも強くラベルされていた(図 1)。

表 1 Donor からの卵の回収成績

	投与量および方法	受精卵 回収例数/ 施行例数	回収 卵数	※
I	1mCi/kg 交配後 12h; 1/2量 " 36~48h; 残量を 6回に分割	1/1	6	2/2
II	1mCi/kg 交配後 14h; 1/2量 " 24h; 1/2量	1/2	10	3/3
III	1.5mCi/kg 交配後 11または14h; 1/2量 " 21または24h; 1/2量	2/2	18	4/4

* 銀粒子の認められた卵数/Autoradiography に供した桑実胚数。



図 1 桑実胚の Autoradiograph
ムチン層に多数の銀粒子が認められる

2. Recipient からの回収成績およびその卵の Autoradiograph (表 2, 3, および図 2, 3, 4).

移植後21時間に再回収したのはⅢ群の1例のみであるが4個の受精卵(移植した卵は4個)と19個の未受精卵が回収された。受精卵は Recipient から排卵された未受精卵に比べ胞胚腔形成による卵の増大によって透明帯が薄くなっているのが観察された(図2)。これらの回収卵の Autoradiograph では未受精卵のムチン層には銀粒子がみとめられないが、移植受精卵4個のすべてに、ムチン層に相当する部分に銀粒子が認められた(図3)。

移植後30時間に再回収したのはⅢ群の1例のみであるが、3個の受精卵(移植した卵は3個)と2個の未受精

卵が回収できた。この時期の卵を被っている膜は一見透明帯よりの外観を呈し(厚さ35~65 μ)、一層の膜として認められ、実体顕微鏡下では透明帯、ムチン層などの鑑別はできない。これらの受精卵3個の Autoradiograph を作製したが、いずれにおいても被膜上に銀粒子が観察された(図4)。Recipient 由来の未受精卵は21時間例と同じく銀粒子は認められなかった。

移植後72時間(6日目胚に相当する)に再回収する実験ではⅠ群の1例からの回収に失敗したが、Ⅱ群の1例からは5個(移植した卵は7個)、Ⅲ群の1例からは5個(移植した卵は5個)、合計10個の受精卵が回収できた。この場合には未受精卵は回収できなかった。これらの胞胚は直径約6mm 近くに発育し、洋梨型の Embryonic disc が観察された。Autoradiograph の結果ではすべての卵の被膜に銀粒子をみとめることができなかった。

3. 培養卵の Autoradiograph (図5)。

in vitro の培養卵でも卵の発育に伴って、胞胚腔形成および透明帯、ムチン層の非薄化がみとめられた。その後透明帯の一部から細胞部分が抜け出す hatching 様現象がみられるがムチン層を破らないことは既報¹⁾の

表 2 Recipient からの卵の回収成績

	回収卵数/移植卵数		
	移植後21時間	移植後30時間	移植後72時間
I	/	/	0/4
II	/	/	5/7
III	4/4	3/3	5/5

表 3 Autoradiography (ARG) の成績

	コントロール		実験区		
	Donor 回収卵の ARG	30 h 培養後 "	移植後 21 h "	移植後 30 h "	移植後 72 h "
※	9/9	2/2	4/4	3/3	0/10

* ARG で銀粒子を認めた胞胚数/ARG に供した卵数

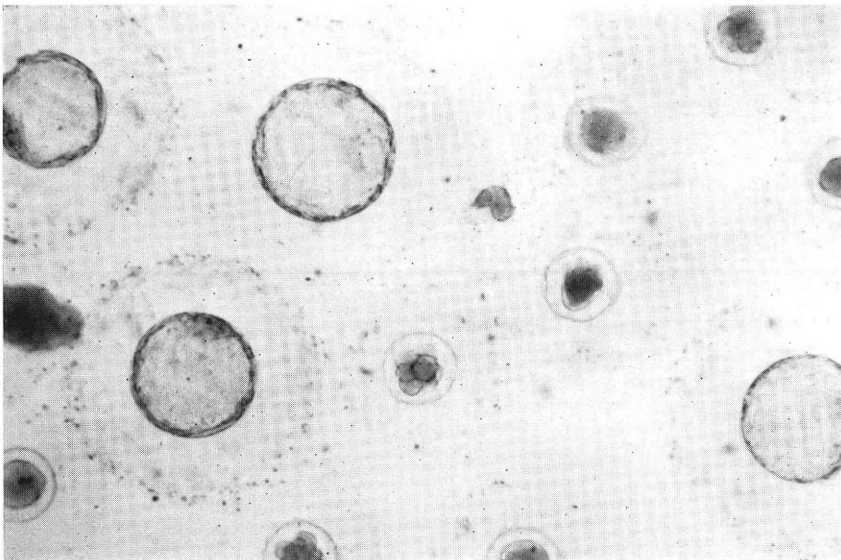


図 2 移植後、再回収した卵
充分発育した移植卵(初期胞胚)と未受精卵

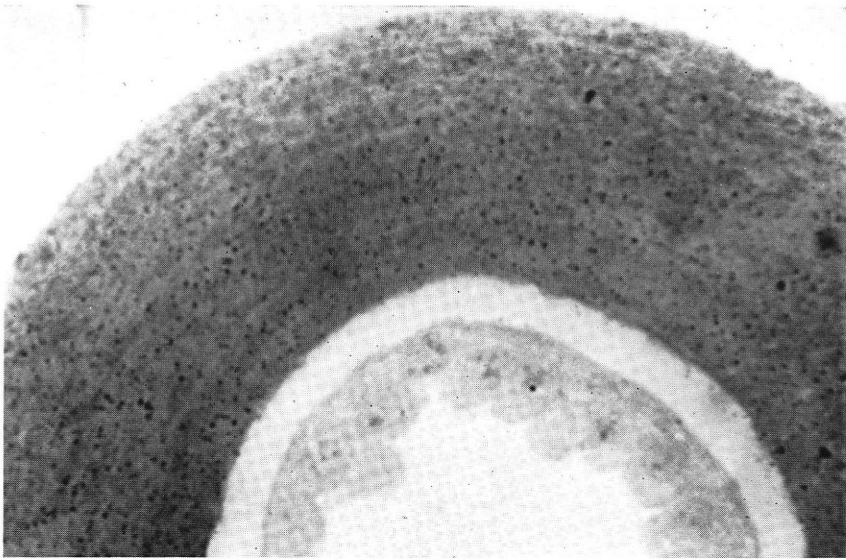


図 3 再回収卵の Autoradiograph
移植後21時間の卵. 被膜の外層に銀粒子が存在している



図 4 再回収卵の Autoradiograph
移植後30時間の卵. 図3の卵よりやや発育が進み胞胚被膜は薄くなっているが, 銀粒子が存在している

ごとくである。培養30時間後の卵から作った Autoradiography ではムチン層に銀粒子が明瞭に観察された(図5)。

考 按

家兔胞胚がラット、マウスなどの胞胚と形態的にもつとも異なる点は、後者の胞胚が桑実胚よりやや大きくなるに過ぎないのに反し、前者では著しく増大することである。さらにラット⁴⁾、マウス⁵⁾では透明帯そのものが

胞胚被膜であつて、細胞部分が透明帯から抜け出し、ついには透明帯が消失してしまう。家兔の場合に胞胚被膜すなわち透明帯とするならば、前記のように容積増大が著しいから、透明帯が光顕レベル以下のきわめて薄い膜になるか、または非常に伸展された結果、膜は胞胚の初期において破れ、hatchingをおこしてしまうかのいづれかが生ずるはずである。

ところが家兔胞胚には常に被膜が存在し、着床直後の胚においてさえ Blastocyst membrane が認められ

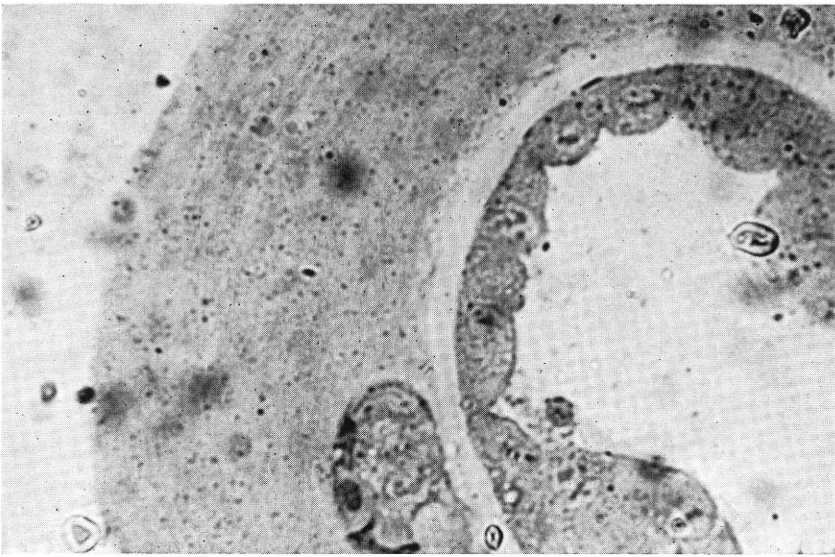


図 5 体外培養で發育した胞胚の Autoradiograph

る^{6,7)}。またその被膜は計算上の透明帯のみの厚さよりはるかに厚く、肉眼的にも識別することができる。これらの点からみて家兎胞胚の被膜を透明帯とまったく同一物であるとするものの不合理さに着目して種々の実験を行い、前記したような成績を得、両者に種々の差がある結果を認めた。

Shapiro⁸⁾は蛍光抗体法によりムチン層は3日胚に認められるが、4日胚には観察されず、この短期間の間に消失する可能性があるとして報告した。もし Shapiro の報告のごとく早期胞胚でムチン層の消失が起るとすれば、次のようなことを考えなければならない。すなわち、

① 早期胞胚の被膜は透明帯のみからなっているのか？

子宮内進入時に最外層に存在しているムチン層が消失するのであれば、透明帯が残り、これのみで早期胞胚被膜を形成するものと仮定しなければならない。確かにこの時期の胞胚には透明帯のような膜が存在している。しかし胞胚容積の増大に伴う透明帯の菲薄化は着床直前の数mm大の胞胚だけではなく、この時期の胞胚についても言えるのであつて、計算してみると、厚くても約 1μ である⁹⁾。ところが実際の測定値はそれよりもかなり大である。また計算上より得た値は元の透明帯の厚さの $1/10\sim 1/20$ になつて、透明帯が離断されている可能性が推定される。このことは実際に電顕像により証明されている。このような点からみて、早期胞胚の被膜は透明帯のみであつて、ムチン層は完全に消失されるとの仮定は否定されるであろう。

② それでは早期胞胚のムチン層が消失しながら、一

方では子宮分泌物が付加されるのか？

ムチン層が全部消失した後に子宮分泌物が付加すると考えることは、結局透明帯のみである時期の存在を肯定することになり、①と同じであるから不都合である。したがつて消失しながら一方では子宮分泌物の付加が生ずるのかという仮定が生じてくる。ところがメルカプトエタノールに対するムチン層の溶解性は胞胚被膜に近い成績¹⁰⁾である(透明帯より溶けにくい)点を考えると、ムチン層と子宮分泌物の溶解性はかなり似ているといえる。それゆえ絶えずムチン層の溶解が起りながら一方ではその周囲に子宮分泌物が蓄積しながら胞胚被膜を形成するとは考え難い。

それでは早期胞胚の透明帯様の被膜は何であるかという点を明らかにし、また着床直前の胞胚被膜においてムチン層がどの程度関与しているかを知るために本実験を行った。その結果、³⁵Sをムチン層にラベルした卵の移植後21, 30時間に回収した胞胚の被膜のほとんど全面にわたつて銀粒子が認められたことから、この時期の膜の主体はムチン層であり、Blastocyst membraneを構成していることが分つた。さらには、ムチン層が厚く附着した卵管卵を培養すると細胞部分がムチン層から外部へ抜け出すことはなかつた。また着床直前の胞胚(移植後72時間に回収した卵)では銀粒子が認められなかつた。これらの結果を合せて考えると、ムチン層は溶解により消失するというよりは、透明帯と同様に卵の發育増大にともなつて菲薄化が進行してゆくものと考えられる。Enders¹¹⁾は6日胚で透明帯の不連続性を観察しているが、我々の成績では5日目胚に同様な所見を得ており、

6 日胚では透明帯はほとんど認められない。ムチン層の容積，6 日胚の大きさから計算すると，6 日胚におけるムチン層の厚さは 5 日目胚の透明帯のそれとよく似ている。したがって Enders の述べた透明帯の不連続性というものは，もしかするとムチン層を観察した所見を報告しているのかもしれない。

4 日胚ですでに薄くなつたムチン層の容積ではさらに大きく發育した着床直前の被膜を構成し得ない¹⁴⁾。子宮腔へ入れたガラス玉に子宮分泌物が付着するという Böving の実験と，Kirchner の子宮分泌物に対する抗体が胞胚被膜と特異的に反応するという報告などを参考にすると家兎では子宮腔に進入し，ある程度の大きさになつた時に透明帯が破れるが，その時細胞が被膜の外に出るのを防いでいるのがムチン層であり，さらに着床前にいたるまでの發育時に形成された子宮分泌物がその後の hatching 様現象を防止すると考えられる。したがって子宮内の卵の正常な發育および着床には胞胚被膜が必要なものと思われる。

結 論

1) $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ を静注すると家兎卵管内桑実胚のムチン層に多数の銀粒子の存在を Autoradiograph により証明できる。

2) 1) の桑実胚を同調してある Recipient に移植し，21，30 時間後に回収すると胞胚被膜のほぼ全面に銀粒子が認められた。

3) 移植後 72 時間に回収した場合の胞胚には銀粒子が認められなかつた。

4) 1) の桑実胚を *in vitro* で培養し，透明帯から細胞部分が抜け出し，ムチン層内にとどまっている胞胚でもその被膜に明らかに銀粒子が認められた。

以上のことから早期胞胚の被膜の主体はムチン層であり，この膜が家兎の初期胞胚の hatching を防止しているものと考えられる。

本論文の要旨は第 21 回不妊学会総会において発表した。

稿を終るにあたり，本研究の御指導を頂きました故林基之教授に深謝します。

文 献

- 1) 野沢あき子：家兎胞胚の被膜に関する研究，日不妊会誌，21：359-369，1976。
- 2) 岩城 章，徐 常艶，野沢あき子：胞胚の形態と代謝，日医師会誌，74：818-823，1974。
- 3) Shapiro, S. S., Brown, N. E. & Yard, A. S.: Isolation of an acidic glycoprotein from rabbit oviducal fluid and its association with

the egg coating, J. Reprod. Fertil., 40: 281-290, 1974.

- 4) Bowman, P. & McLaren, A.: The reaction of the mouse blastocyst and its zona pellucida to pH changes *in vitro*, J. Reprod. Fertil., 18: 139-140, 1969.
- 5) Wu, J. T.: Precocious shedding of the zona pellucida in rats treated with progesterone, J. Reprod. Fertil., 33: 331-335, 1973.
- 6) Larsen, J. F.: Electron microscopy of the implantation site in the rabbit, Amer. J. Anat., 109: 319-334, 1961.
- 7) Steer, H. W.: The trophoblastic knobs of the preimplanted rabbit blastocyst; a light and electron microscopic study, J. Anat., 107: 315-325, 1970.
- 8) Enders, A. C.: The fine structure of the blastocyst, In the Biology of the Blastocyst (edited by Blandau) p. 71-94, Univ. Chicago Press, 1971.
- 9) Böving, B. G.: Rabbit egg covering, Anat. Rec., 127: 270-271, 1957.
- 10) Kirchner, C.: Immune histologic studies on the synthesis of a uterine-specific protein in the rabbit and its passage through the blastocyst coverings, Fertil. Steril. 23: 131-136, 1972.

Studies on the blastocyst membrane of the rabbit —Autoradiographs of the mucin layer—

Akira Iwaki and Akiko Nozawa

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

A study was carried out to determine whether the blastocyst membrane of the rabbit was composed of the mucinous layer adhered to the zona pellucida of the rabbit egg in the Fallopian tube.

With this object, a R.I. labeled sulphur compound was given to the rabbit to trace it in the egg up to the blastocyst stage by autoradiography.

The eggs (morula) recovered from the Fallopian tube of the rabbit in which the compound ($\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$) had been injected intravenously within 48 hrs after copulation, distinctly revealed the silver grains due to ^{35}S in the mucinous layer by autoradiography.

When the ^{35}S -labeled eggs were transplanted to the recipients, the eggs recovered at 21 and 30 hrs after transplantation showed positive re-

actions but the eggs recovered at 72 hrs after transplantation did negative autoradiographically.

From these results, it is suggested that similarly to the zona pellucida, the mucinous layer

may scarcely involve in the construction of the blastocyst membrane near the implantation, although it must play a leading role at the early expanding blastocyst stage.

(受付：昭和52年11月24日)

ヒトおよびブタ卵細胞のレクチン結合能 に関する研究

Binding of Lectins of the Zona Pellucida of Human and Porcine Ova

京都大学医学部婦人科学産科学教室（主任：西村敏雄教授）

長谷川 美知子
Michiko HASEGAWA

Department of Obstetrics and Gynecology
School of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Toshio Nishimura)

哺乳類卵の透明帯は種特異性の認識ならびに多精拒否反応の場として注目されている。本研究においてはヒト卵およびブタ卵の透明帯の生化学的構造を知ることを目的とし、ヒマ (RCA)、ナタ豆 (ConA)、小麦胚 (WGA) および大豆 (SBA) から得た4種の植物性赤血球凝集素の結合態度を暗視野における光散乱性、蛍光標識レクチンの結合性および卵細胞凝集反応によって調べた。ヒトおよびブタ卵透明帯にはいずれも SBA を除く3種のレクチンが結合し、その強さは RCA, ConA, WGA の順であった。しかし RCA の結合性は不均質で、ブタ透明帯では外層に強く、ヒト透明帯では内層に強く認められた。またヒト卵は ConA、ブタ卵は RCA の存在下に強い凝集反応を示した。これらの結果からヒトおよびブタ卵透明帯には D-galactose, α -D-mannose, D-glucose, N-acetylneuraminic acid の糖鎖構造が存在するが、その分布は両者で差のあることが見出された。

はじめに

哺乳動物の受精に際して卵を取り巻く比較的厚い、糖蛋白質よりなる透明帯 (Zona pellucida) が、種特異性の認識の場および多精拒否の場として生理的に重要な働きをしていることは次第に明らかにされつつある。しかしこれらの現象がどのような生化学的基礎の上に成り立っているかは必ずしも明らかではない。最近それが結合する糖または糖鎖の構造に関して極めて高い特異性をもつことが知られている種々の植物性赤血球凝集素、すなわちレクチンが動物細胞表面の複合糖質の検索のための試薬として注目されるようになって来た^{1,2)}。

この方法をいち早く応用した Oikawa ら³⁾は、ハムスターの透明帯に対して小麦胚凝集素 (WGA) が特異的に結合し、生体外受精を阻止することを見出した。これに引続いて Oikawa ら⁴⁾は数種のレクチンを用いてハムスター卵の透明帯の糖鎖構造を解析するとともに、受精

の阻害機序は透明帯の糖鎖がレクチンによって架橋されるためであると説明した。

他方、卵細胞透明帯は、卵巣特異抗原の局在部位であることがハムスター⁵⁻⁷⁾、ウサギ⁸⁻¹⁰⁾、マウス¹¹⁻¹³⁾で確かめられており、その特異抗体が生体外と生体内の受精を阻害することが明らかにされている。このように透明帯は生殖免疫学的にも重要な意味をもっており、最近 Mori ら¹⁴⁾も原因不明不妊患者血清中に抗透明帯自己抗体の存在を認めている。

本研究においては、ヒト卵細胞透明帯の生化学構造の一端を知ることを目的とし、レクチン・レセプターを通じてその糖鎖構造を分析することを試みた。またヒトとブタ透明帯との間には最近共通抗原性が証明されているので¹⁵⁾、ブタ卵細胞透明帯も同時に検索の対象とした。

実験材料と方法

1. 卵細胞の採取

ブタ卵巣は、と殺場にて得た卵巣を氷冷した生理食塩水中に浸して実験室に運び、そのまま実験に供するか、一部は凍結保存して適時実験に供した。ヒト卵巣は、子宮筋腫および子宮癌の適応のもとに開腹術を行なった患者(30歳~40歳)から、摘出の必要があるとの判断で摘出した卵巣80個を実験に供した。

卵巣を Tris-HCl 緩衝生理食塩水 (0.01M pH 7.4) にて充分洗浄した後、ハサミにて細かく切片にし、100 μ の金属メッシュ (阪倉金網, 羽曳野) 上で、上記緩衝液を加えながらろ過した。金網上の卵細胞を同液で再分散し実体顕微鏡 (オリンパス社製, SZ-II型) 下にマイクロピペットで集卵した。付着した顆粒膜細胞は、ピンセットで機械的に除去し、上記緩衝液で洗浄した。

2. レクチン

使用したレクチンはヒマ凝集素 (*Ricinus communis* agglutinin, RCA)¹⁶⁾、ナタ豆凝集素 (concanavalin A, ConA)¹⁷⁾、小麦胚芽凝集素 (Wheat germ agglutinin, WGA)¹⁸⁾、および大豆凝集素 (Soybean agglutinin, SBA)¹⁹⁾の4種である。これらの植物凝集素はいずれも糖結合性蛋白質で、細胞表面の対応する糖鎖を特異的に認識し、これに結合することが知られている。RCAはD-galactoseを¹⁶⁾、ConAは α -D-mannoseあるいは α -D-glucoseを¹⁷⁾、WGAはN-acetyl-D-glucosamin²⁰⁾、あるいはN-acetyl-neuraminic acid²¹⁾、そしてSBAはN-acetyl-D-galactosaminあるいはD-galactose²²⁾を結合する如くである。

3. 蛍光色素標識法

ConA, WGA および SBA は Rhodamine isothiocyanate (RITC) (Sigma Chemical Co., St. Louis) で、RCA は Fluorescein isothiocyanate (FITC) (Sigma Chemical Co., St. Louis) で蛍光抗体法における蛍光標識法に準じ、次の方法で標識した²³⁾。0.15M Na₂HPO₄ · 2H₂O 溶液 (pH 9.0) 1 ml あたり 1 mg の FITC を含む標準溶液を使用直前に調製する。レクチン 1 gr あたり FITC 溶液 10 ml を、室温でレクチン溶液に攪拌しながら加える。その後 0.1M Na₃PO₄ · 10H₂O 溶液を攪拌しながら加えて pH 9.5 に調製、室温で 60 分間反応させる。反応後試料を Sephadex G 25 のカラム (1.0 cm × 40 cm) に移し、Tris-HCl 緩衝液を溶出液として遊離の色素を除去した。得られた結合物の色素/レクチンの分子比 (F/P Ratio) は吸光度測定により検定した結果 2.5 であった。RITC の場合もこれと同様に行なった。

4. 観察方法

卵細胞透明帯へのレクチンの結合は、その結合によって誘導される光散乱性 (light scattering property) と

標識レクチンの結合による蛍光反応で観察し、反応の特異性を確認するため、それぞれ対応する阻害糖溶液で処理した場合、反応が出現しないことも確かめた。通常明視野顕微鏡で明瞭に観察できるレクチン未処理卵透明帯は、光散乱性がないため暗視野では不可視である。しかし卵をレクチンで処理した場合、レクチン結合部位に沈澱が生じ、光散乱性が生じるので、暗視野でも可視となる。よつてこの光散乱性を認めることによつてレクチンの結合を観察した。また通常透明帯は自家蛍光を発しないため、その存在を蛍光顕微鏡下に観察することができない。しかし、卵原形質については淡青色の自家蛍光を認めることができる。本実験では、RITC あるいは FITC で標識したレクチンを結合させた時、透明帯の呈する蛍光の強弱およびその位置によつて、それぞれのレクチンの透明帯への結合の強弱およびその位置を観察した。暗視野観察は明視野顕微鏡 (オリンパス光学工業社製 BHB 型) に暗視野装置 (Dc-Dry 0.8—0.92) を装着して行ない、かつ写真撮影にはフジミニコピーを用いた。蛍光観察は蛍光顕微鏡 (オリンパス光学工業社製モデル MMSP-RF 型) を用いて行ない、かつ写真撮影には MMSP-RF に Olympus PM 10A を装着し、フィルムとしてフジカラー F-II 400 およびコダック TRI-X を用いた。

5. 卵細胞凝集反応

凝集反応は Tris-HCl 緩衝生食液中で 100 μ g/ml のレクチン存在下に室温で 30 分インキュベートした⁴⁾。凝集反応の特異性は、対応する阻害糖液処置によつて一旦凝集した卵細胞が解離することと、対応しない糖溶液では解離しないことで確認した。

実験成績

1. ブタ卵細胞透明帯へのレクチンの結合

RCA: 光散乱性の観察では、透明帯の外表面に強い光散乱像を認めたが、中、内層には認められなかった (写真 1)。これに対し RCA-FITC 処理したブタ卵においては、その蛍光像が透明帯の外側に強く陽性であり、外側から内側へ次第にその強さを減じていた。このことは蛍光位相差顕微鏡写真 (写真 9) および蛍光顕微鏡写真 (写真 10) で示した観察結果とよく符合している。

ConA: 暗視野顕微鏡下では透明帯の外側表面に強い光散乱像を認め、内層にいくに従つて弱くなる (写真 2)。これに対し ConA-RITC 処理により透明帯の全層には弱く、卵原形質には強い均一な蛍光像が認められた (写真 11)。

WGA: 暗視野観察では透明帯の外表面に点状の光散乱像が認められた (写真 3)。他方 WGA-RITC 処理した

ブタ卵の蛍光観察では透明帯の全層に均一なびまん性蛍光像が認められた(写真12)。このほか卵原形質にも強い陽性像を示した。

SBA: 暗視野顕微鏡での光散乱の観察では透明帯の外側表面に軽度の光散乱が認められた(写真4)。蛍光観察では卵原形質に軽度の蛍光像を認めたのみで、透明帯は全く陰性であった(写真13)。

以上の結果を要約すると、検定した4種のレクチンのうち、SBAを除く3種はいずれもブタ卵細胞透明帯と結合することが判明した。この場合光散乱性の強さと蛍光像の強さはほぼ平行し、RCA, ConA, WGAの順であった。しかしレクチンの透明帯内での分布に関しては、同一レクチンを用いた場合両方法での検討成績は必ずしも平行せず、蛍光像でみる限りRCAの結合性は透明帯の外側に強く、外側から内層へ濃度勾配をなしているように観察された。これに対しConAとWGAの透明帯内分布については全層にほぼ均等に認められた。

2. ヒト卵細胞透明帯へのレクチンの結合

RCA: 暗視野顕微鏡下での光散乱性は、透明帯の外側に陽性で、内側には陰性であった(写真5)。RCA-FITCで処理した場合の蛍光像は、透明帯の内側に最も強く、外方に向かうに従って蛍光像は減弱していた(写真14)。写真15はRCA-FITC処理卵の蛍光位相差顕微鏡写真である。

ConA: 暗視野顕微鏡下では、光散乱性は透明帯の内層と外層に陽性であり中間層がぬけていた(写真6)。これに対し蛍光像は透明帯の内層に強く全層にわたっており、光散乱性においてみられたような内外2層の間の隙間は観察されなかつた。なお卵原形質も強い陽性像を呈した(写真16)。写真17は写真16の卵を光学顕微鏡で観察したものである。またこの場合卵原形質は強く陽性であった。

WGA: 暗視野顕微鏡下での光散乱性は透明帯の外側に観察された(写真7)。他方ヒト卵細胞をWGA-RITCで処理した場合、透明帯の内層に強く全層にわたる比較的強い蛍光像が観察されたほか、卵原形質にも強い陽性像が認められた(写真18)。

SBA: 暗視野顕微鏡下での光散乱性の観察では、透明帯には陰性で、卵原形質のみ陽性であった(写真8)。SBA-RITCで処理して蛍光顕微鏡で観察した結果も同様で、卵原形質の蛍光像は軽度で透明帯には全く認められなかつた(写真19)。

以上の検討成績を要約すると、検定した4種のレクチンのうちSBAを除く3種はヒト卵細胞透明帯に結合することが判明した。この場合光散乱性の強さと蛍光像の強さはほぼ平行しRCA, ConA, WGAの順であつ

た。しかしレクチンの透明帯での分布は、蛍光像でみる限りブタ透明帯の場合とは異なり、RCAによる陽性像は内層に強く外層に向って減弱する勾配が認められた。またConA, WGAともに内層に強く、外層に向ってはほぼ均一な蛍光像を生じたが、この点もブタ透明帯における分布との著しい相違であつた。

3. 卵細胞凝集反応

ブタおよびヒト卵細胞はRCA, ConAの存在下で凝集したが、WGA, SBAの存在下では凝集しなかつた。ヒト卵はConAにより強く(写真20)、RCAによつて弱く凝集したが、ブタ卵はこれとは逆にRCAによつて強く(写真21)、ConAによつて弱く凝集した。強く凝集した時には機械的刺戟(例えば強く振とうする)を加えても凝集した卵細胞は互いに解離せず、対応する阻害糖を加えた場合のみ解離することが観察された。

考 察

透明帯は哺乳類卵をとりまく透明な比較的厚い膜で、種特異性の認識ならびに多精拒否反応の場として重要な役割を荷っている。透明帯は従来、中性あるいは弱酸性ムコ多糖あるいはムコ蛋白質として記述されており²⁴⁻²⁸⁾、その構造の維持には-SS結合が含まれていることも知られている^{29,30)}。また種が異なれば透明帯の構造と組成に違いがあることが、種々の化学試薬、pH、酵素による処理に対する反応性、およびレクチンの結合性に相違があることより知られている³¹⁻³⁴⁾。

透明帯に対するレクチンの結合は、Oikawaら³⁾によつて初めて行なわれた。すなわち彼等はハムスター卵の透明帯に対するWGAの効果の研究して、このものが結合することによつて透明帯の光散乱性を増大すること、精子による透明帯の貫通を阻止することを見出した。彼等のこの報文は哺乳類の卵の透明帯に対するレクチンの作用を調べた最初のものである。これに引続いてOikawaら⁴⁾はハムスター卵の受精阻止にRCAが最も効果的であり、次にWGA, *Dolichos biflorus* 凝集素(DBA)、最後にConAの順に効果があることを見出している。このように1つの種の動物の卵についてもレクチンの結合能、受精阻止効果はレクチンの種類によつて差があることが認められ、これは透明帯の特異な糖鎖の分布状態を反映しているものと考えられる。

本研究においてはヒト卵とブタ卵を、RCA, ConA, WGAおよびSBAの4種のレクチンで処理し、光散乱性および蛍光の2方法によつて透明帯へのそれぞれのレクチンの結合をみたのであるが、その結果SBAを除く3種のレクチンとも両種透明帯に結合することが判明した。すなわちヒトやブタ透明帯には、D-galactose,

α -D-mannose, あるいは α -D-glucose, あるいは N-acetyl-neuraminic acid などの糖残基の存在を意味し、同時に N-acetyl-D-galactosamine 残基は存在しないことを意味するものである。蛍光像でみる限り、その強さはヒト卵、ブタ卵において共通しており、RCA, Con A, WGA の順であった。興味ある知見は RCA の結合分布がヒト卵とブタ卵と対照的である点で、ヒト卵において RCA の結合は透明帯の内側に最も強く、外方に向うに従って減弱するのに反し、ブタ卵においてはその逆に RCA の結合は透明帯の外層に強く、外層から内層へ濃度勾配があつた。さらに Con A, WGA はヒト卵では RCA と同様に内層に強く全層に結合し、ブタ卵では全層に均一に結合した。このようにヒト卵とブタ卵でのレクチン結合能の分布の相違は、けつ菌類卵で証明された種属差³⁴⁾を反映するものであろう。このことはまた、レクチンによる卵細胞の凝集反応でも明瞭に認められ、ヒト卵は Con A により、ブタ卵は RCA によつて強く凝集される事実によつても首肯されよう。

ヒトやブタ卵細胞の透明帯に RCA, Con A, WGA などのレクチン・レセプターが存在することが生殖生理的に何を意味するかはにわかには断定できない。ウサギ透明帯のシアル酸を除くと精子の透明帯通過が阻害されることは以前より知られていたが³⁵⁾、最近 Oikawa らの系統的な検討によると、1) 透明帯表面への精子の特異的結合部位がレクチンにより遮られて精子が認識できないこと、および 2) 透明帯表面の糖鎖がレクチンによつて架橋され、ために先体由来の透明帯融解酵素 (zonallysin, acrosin) に対して抵抗性ができるため精子が貫通し得ない、という少なくとも 2 つのメカニズムが提示されている。

他方抗透明帯抗体によつて受精が障害されることが最近明らかにされているが、その場合この抗体作用によつて精子の透明帯への付着 (attachment) が障害されるといわれている³⁶⁾。すなわち抗体によつて精子の特異的な認識部位がマスクされるためであろう。

透明帯におけるレクチンと抗体のレセプターが同じかどうかは今後の検討にまたねばならないが、受精阻害の様式が、前者が特異的結合を、後者は非特異的付着を阻止するという生物学的作用の相違からも、レクチン・レセプターと透明帯特異抗原とは別個のものである可能性が高い。最近 Mori ら³⁷⁾は自然抗体の一種である赤血球凝集素がヒトおよびブタ透明帯に結合すること、およびこの凝集素とは別に抗透明帯抗体の存在することを証明している。凝集反応という生物学的作用を共有したレクチンと赤血球凝集素が透明帯に共通した結合部位をもつかどうかは将来明らかにされねばならないが、上述の知

見はレクチン結合部位と抗透明帯抗体結合部位とが異なることを示唆するものであろう。

本研究によつて得られた透明帯の糖鎖構造の解析結果は、受精現象に関与する物質的基盤を明らかにする上で、きわめて有意義であると考えられる。

結 語

哺乳動物の受精現象に重要な役割を果たしている透明帯の物質的構造の一端を明らかにすることを目的として、特定の糖残基に特異的に結合することが知られている 4 種の植物性凝集素 (レクチン) の、ヒトおよびブタ卵細胞透明帯に対する結合能を、暗視野における光散乱性の変化、蛍光標識レクチンの結合状態ならびに卵細胞の凝集反応を用いて検討し、次の成績を得た。

- 1) ヒトおよびブタ透明帯には、ヒマ凝集素 (RCA)、ナタ豆凝集素 (Con A)、小麦胚凝集素 (WGA) は結合したが、大豆凝集素 (SBA) は結合しなかつた。
- 2) 結合の強さはヒト、ブタいずれの透明帯に対しても、RCA, Con A, WGA の順であつた。
- 3) RCA の結合分布は、ヒト透明帯では、内層に強く外層に向うに従って弱まる濃度勾配を示したのに対し、ブタ透明帯では逆であつた。
- 4) Con A, WGA の結合分布は、ヒト透明帯では内層に強く、外層に向かつてほぼ均一の分布強度を示したのに対し、ブタ透明帯では全層に均一な分布が認められた。
- 5) ヒト卵は Con A で、ブタ卵は RCA で強く凝集した。

以上の成績から、ヒトおよびブタ卵細胞透明帯には D-galactose, α -D-mannose, α -D-glucose および N-acetyl-neuraminic acid などの糖鎖構造が存在するが、その分布は両者で差のあることが見出された。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導、御鞭撻を賜わり御校閲を頂いた恩師西村敏雄教授に深甚の謝意を表しますとともに、直接御指導下さった森崇英講師ならびに山形大学理学部生物学教室発生学研究室及川風昭博士に深く感謝します。

文 献

- 1) 大沢利昭, 森 良一編: レクチン, 講談社, 東京, 1976.
- 2) Nicolson, G. L.: The interactions of lectins with animal cell surfaces. International Review of Cytology, 39: 89, 1974.
- 3) Oikawa, T., Yanagimachi, R., and Nicolson, G. L.: Wheat germ agglutinin blocks mammalian fertilization. Nature, 241: 256, 1973.
- 4) Oikawa, T., Nicolson, G. L., and Yanagi-

- machi, R.: Inhibition of hamster fertilization by phytoagglutinins. *Exp. Cell Res.* 83 : 239, 1974.
- 5) Ownby, C. L., and Shivers, C. A.: Antigens of the hamster ovary and effects of anti-ovary serum on eggs. *Biol. Reprod.* 6 : 310, 1972.
 - 6) Jilek, F., and Pavlok, A.: Antibodies against mouse ovaries and their effect on fertilization *in vitro* and *in vivo* in the mouse. *J. Reprod. Fert.* 42 : 377, 1975.
 - 7) Oikawa, T., and Yanagimachi, R.: Block of hamster fertilization by anti-ovary antibody. *J. Reprod. Fert.* 45 : 487, 1975.
 - 8) Sacco, A. G., and Shivers, C. A.: Antigens of the rabbit ovary, oviduct, and uterus. *J. Reprod. Fert.* 32 : 403, 1973.
 - 9) Sacco, A. G., and Shivers, C. A.: Localization of tissue-specific antigens in the rabbit ovary, oviduct and uterus by the fluorescent antibody technique. *J. Reprod. Fert.* 32 : 415, 1973.
 - 10) Sacco, A. G., and Shivers, C. A.: Effects of reproductive tissue-specific antisera on rabbit eggs. *Biol. Reprod.* 8 : 481, 1973.
 - 11) Tsunoda, Y., and Chang, M. C.: Effect of anti-rat ovary antiserum on the fertilization of rat, mouse and hamster eggs *in vivo* and *in vitro*. *Biol. Reprod.* 14 : 354, 1976.
 - 12) Tsunoda, Y., and Chang, M. C.: Reproduction in rats and mice isoimmunized with homogenates of ovary or testes with epididymis, or sperm suspensions. *J. Reprod. Fert.* 46 : 379, 1976.
 - 13) Tsunoda, Y., and Chang, M. C.: *In vivo* and *in vitro* fertilization of hamster, rat and mouse eggs after treatment with anti-hamster ovary serum. *J. exp. Zool.* 195 : 409, 1976.
 - 14) Mori, T., Nishimoto, T., Kitagawa, M., Noda, Y., Nishimura, T., and Oikawa, T.: Possible presence of autoantibodies to zona pellucida in infertile women. *Experientia in press*, 1978.
 - 15) Sacco, A. G.: Antigenic cross-reactivity between human and pig zona pellucida. *Biol. Reprod.* 16 : 164, 1977.
 - 16) Nicolson, G. L., and Blaustein, J.: The interaction of *Ricinus communis* agglutinin with normal and tumor cell surfaces. *Biochim. Biophys. Acta* 266 : 543, 1972.
 - 17) Agrawal, B. B. L., and Goldstein, I. J.: Protein-carbohydrate interaction. VI. Isolation of concanavalin A by specific adsorption on cross-linked dextran gels. *Biochim. Biophys. Acta* 147 : 262, 1967.
 - 18) Bloch, R., and Burger, M. M.: Purification of wheat germ agglutinin using affinity chromatography on chitin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 58 : 13, 1974.
 - 19) Vretblad, P.: Purification of lectins by bio-specific affinity chromatography. Personal communication.
 - 20) Burger, M. M., and Goldberg, A. R.: Identification of a tumor-specific determinant on neoplastic cell surfaces. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 57 : 359, 1967.
 - 21) Greenaway, P. J., and LeVine, D.: Binding of N-acetyl-neuraminic acid by wheat-germ agglutinin. *Nature, New Biol.* 241 : 191, 1973.
 - 22) Lis, H., Sela, B., Sachs, L., and Sharon, N.: Specific inhibition by N-acetyl-D-galactosamine of the interaction between soybean agglutinin and animal cell surfaces. *Biochim. Biophys. Acta* 211 : 582, 1970.
 - 23) The, T. H., and Feltkamp, T. E. W.: Conjugation of fluorescein isothiocyanate to antibodies. II. A reproducible method. *Immunology* 18 : 875, 1970.
 - 24) Braden, A. W. H.: Properties of the membranes of rat and rabbit eggs. *Aust. J. Sci. Res. Ser. B* 5 : 460, 1952.
 - 25) Jacoby, F.: Ovaian histochemistry. *In* The ovary, Vol. 1 (Zuckerman, S. ed.) p. 189, Academic Press, N. Y., 1962.
 - 26) Stegner, H. E., and Wartenberg, H.: Elektronenmikroskopische und histopochemische Untersuchungen über Struktur und Bildung der Zona Pellucida menschlicher Eizellen. *Z. Zellforsch.* 53 : 702, 1961.
 - 27) Loewenstein, J. E., and Cohen, A. I.: Dry mass, lipid content and protein content of the intact and zona-free mouse ovum. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 12 : 113, 1964.
 - 28) Soupart, P., and Noyes, R. W.: Sialic acid as a component of the zona pellucida of the mammalian ovum. *J. Reprod. Fert.* 8 : 251, 1964.
 - 29) Inoue, M., and Wolf, D. P.: Comparative solubility properties of the zonae pellucidae of unfertilized and fertilized mouse ova. *Biol. Reprod.* 11 : 558, 1974.
 - 30) Inoue, M., and Wolf, D. P.: Solubility properties of the murine zona pellucida. *Biol. Reprod.* 10 : 512, 1974.
 - 31) Mintz, B.: Experimental study of the developing mammalian egg: removal of the zona pellucida. *Science* 138 : 594, 1962.
 - 32) Mintz, B.: Mammalian embryo culture. *In* Methods in developmental biology. (Wilt, F. H., and Wessells, N. K. eds.) p. 379 Thomas Crowell Co., N. Y. 1967.
 - 33) Gwatkin, R. B. L.: Effect of enzymes and acidity on the zona pellucida of the mouse

- egg before and after fertilization. J. Reprod. Fert. 7 : 99, 1964.
- 34) Oikawa, T., Yanagimachi, R., and Nicolson, G. L. : Species differences in the lectin-binding sites on the zona pellucida of rodent eggs. J. Reprod. Fert. 43 : 137, 1975.
- 35) Soupart, P. and Clewe, T. H. : Sperm penetration of rabbit zona pellucida inhibited by treatment of ova with neuraminidase. Fertil. Steril. 16 : 677, 1965.
- 36) Shivers, C. A., Dudkiewicz, A. B., Franklin, L. E., and Fussell, F. N. : Inhibition of sperm-egg interaction by specific antibody. Science 178 : 1211, 1972.
- 37) Mori, T., Nishimoto, T., Nishimura, T., and Oikawa, T. : Specificity and immunoglobulin class of autoantibodies to zona pellucida in infertile women. under submission, 1978.

Binding of lectins to the zona
pellucida of human and
porcine ova

Michiko Hasegawa

Department of Obstetrics and Gynecology
School of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Toshio Nishimura)

The zona pellucida of mammalian eggs is well

known as the site of recognition of species specificity and of rejection of polyspermy on the interaction between the spermatozoa and the oocyte. In an attempt to analyse the biochemical composition of the structure of human and porcine ova, binding of four plant lectins to the zona was examined by changes in light scattering property, attachment of fluorescein-tagged lectins and by agglutination of eggs in the presence of the lectins. Binding of *Ricinus communis* agglutinin (RCA), concanavalin A (Con A) and wheat germ agglutinin (WGA) was indicated in the zona of both species with the decreasing intensity in that order. It was noted that RCA gave a strong reaction on the internal layer of the human zona with decreasing gradient towards the external layer, while the gradient in the intensity of RCA binding was reversed in the porcine zona. Human and porcine eggs agglutinated in the presence of RCA or Con A. Soybean agglutinin (SBA) did not bind to the structure nor agglutinated the eggs of both species. Based on the specificity of lectin binding to the carbohydrate residue, it was concluded that the human and porcine zona possess D-galactose, α -D-mannose, α -D-glucose and N-acetyl-neuraminic acid, although the distribution of these carbohydrate was different between the two species.

(受付: 昭和53年3月7日, 特掲)

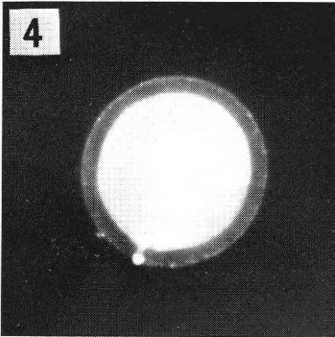
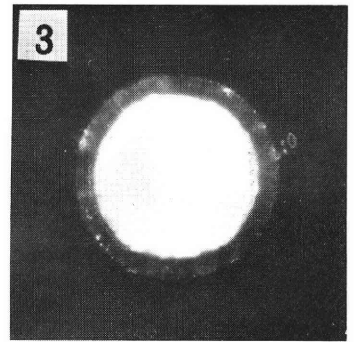
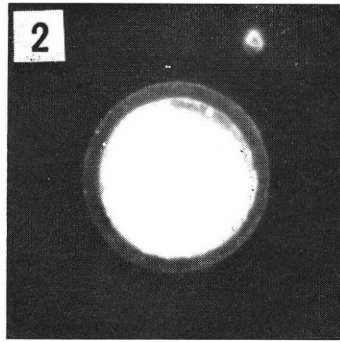
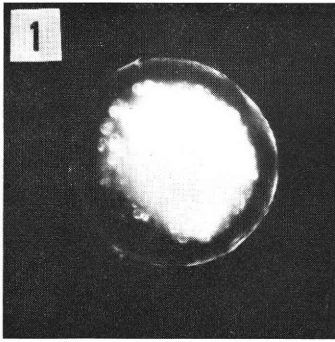


写真 1~4 レクチン処理ブタ卵の暗視野顕微鏡写真(×300)

- 写真 1 ブタ卵・RCA
- 写真 2 ブタ卵・Con A
- 写真 3 ブタ卵・WGA
- 写真 4 ブタ卵・SBA

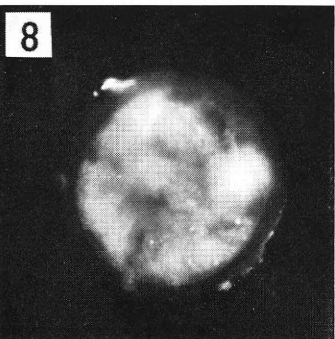
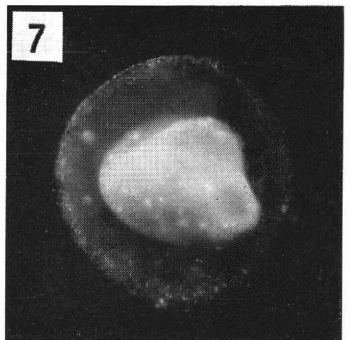
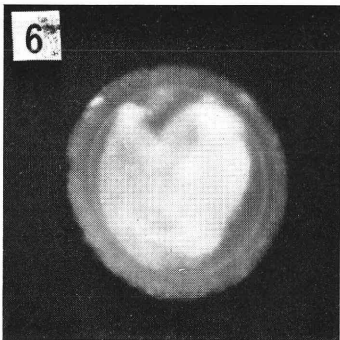
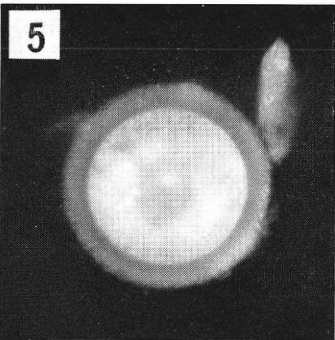


写真 5~8 レクチン処理ヒト卵の暗視野顕微鏡写真(×300)

- 写真 5 ヒト卵・RCA
- 写真 6 ヒト卵・Con A
- 写真 7 ヒト卵・WGA
- 写真 8 ヒト卵・SBA

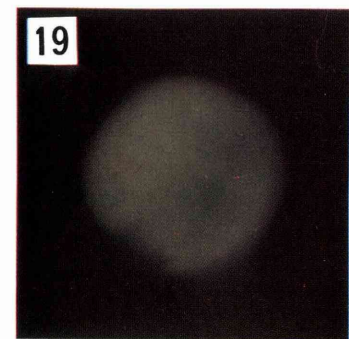
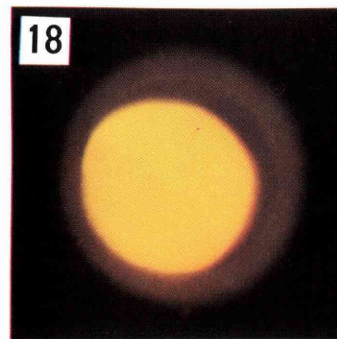
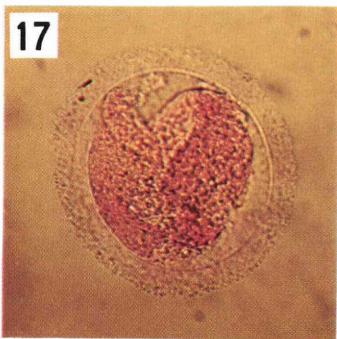
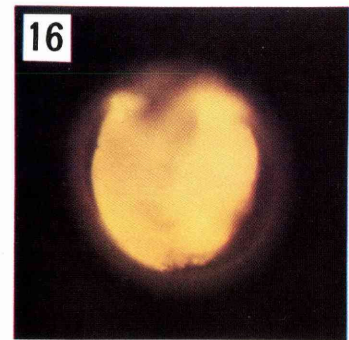
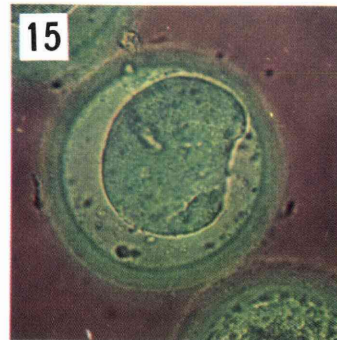
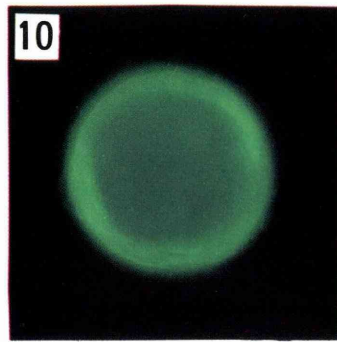
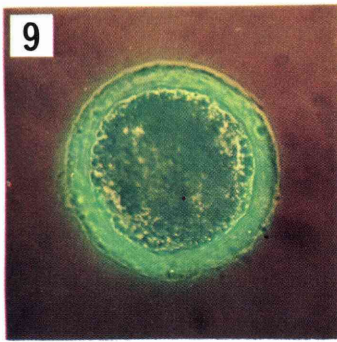


写真 9~13 蛍光標識レクチン処理ブタ卵の蛍光写真 (×300)

- 写真 9 ブタ卵-RCA-FITC (蛍光位相差)
- 写真 10 ブタ卵-RCA-FITC (蛍光)
- 写真 11 ブタ卵-Con A-RITC (蛍光)
- 写真 12 ブタ卵-WGA-RITC (蛍光)
- 写真 13 ブタ卵-SBA-RITC (蛍光)

写真 14~19 蛍光標識レクチン処理ヒト卵の蛍光写真 (×300)

- 写真 14 ヒト卵-RCA-FITC (蛍光)
- 写真 15 ヒト卵-RCA-FITC (蛍光位相差)
- 写真 16 ヒト卵-Con A-RITC (蛍光)
- 写真 17 ヒト卵-Con A-RITC (蛍光位相差)
- 写真 18 ヒト卵-WGA-RITC (蛍光)
- 写真 19 ヒト卵-SBA-RITC (蛍光)

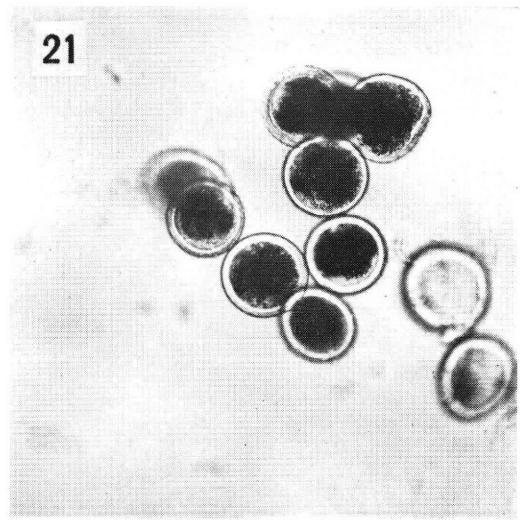
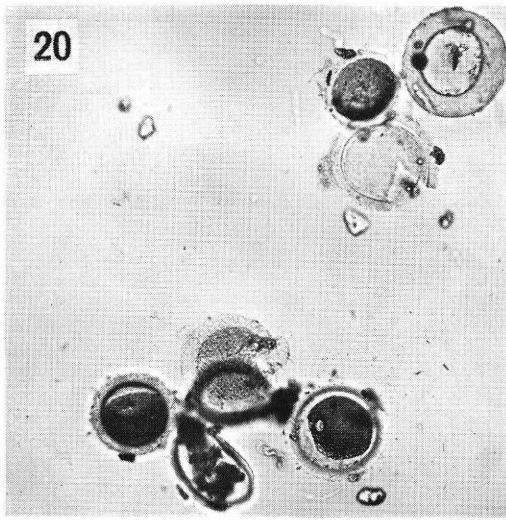


写真 20 Con A によるヒト卵の凝集

写真 21 RCA によるブタ卵の凝集

写真 20~21 レクチンによる卵細胞の凝集 (×100)

培養顆粒膜細胞の形態学的研究

Morphological Studies on the Cultured Human Granulosa Cells

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (指導: 飯塚理八教授)

東 條 龍 太 郎

Ryutaro TOJO

Department of Obstetrics and Gynecology, Keio University

School of Medicine, Tokyo, Japan

(Director: Prof. R. Iizuka)

卵巣の主たる機能である卵胞・卵子の発育、ステロイドホルモン分泌に顆粒膜細胞が重要な役割を果たしていることが認められつつある。この顆粒膜細胞を、種々の卵胞より採取して、培養し、発育形態、超微細構造およびプロゲステロン分泌能に検討を加え、以下の結果を得た。

- 1) ヒト顆粒膜細胞は、95% O₂, 5% CO₂ ガス環境下、20%仔牛血清添加 TCM-199にて良好な発育を示した。
- 2) 培養の経過とともに、極く初期は線維芽細胞様形態を示し、次いで上皮細胞様へ発育形態の変化を認めた。
- 3) 培養の経過に伴う超微細構造上の変化として、板状の cristae を有する桿状のミトコンドリアから管状の cristae を有する不定形のミトコンドリアへの変化、ゴルジ体や粗面および滑面小胞体の発達、脂肪顆粒の増加、輪状 nexus の出現等を観察し顆粒膜黄体細胞様細胞像をとることを認めた。
- 4) 表面構造上の変化として、培養2～4日に多数認められた微絨毛の消失、多数の顆粒状の細胞質隆起の出現を観察した。
- 5) 培養液中のプロゲステロンを測定し培養2日目より分泌を認めた。また卵胞期大卵胞より採取した顆粒膜細胞は小卵胞より採取した顆粒膜細胞より早期に多量のプロゲステロンを分泌することを認め、またプロゲステロン分泌が黄体細胞様細胞形態を呈する以前より始まっているとの結果を得た。
- 6) 排卵前期大卵胞より採取した顆粒膜細胞の培養前、培養6時間後、培養12時間後における細胞内小器官の変化を、定量的形態計測法 (Stereology) にて検討を加え、ゴルジ体の著しい発達粗面および滑面小胞体の増加を認めた。ミトコンドリアおよび脂肪顆粒の変化は僅かであった。これら細胞内小器官の変化がプロゲステロン分泌能発現に関与していることが示唆される。

1. 緒 言

原始生殖細胞が性隆起への移動を完了すると、原始生殖細胞は直ちに扁平な顆粒膜細胞群によつて囲まれる。顆粒膜細胞の細胞学的起源に関しては、種々の学説が報告されてきているが、性隆起の表層上皮¹⁾もしくは上皮組織下の組織²⁾、あるいはその両者³⁾から発生してくると推定される。

顆粒膜細胞と卵子の両者は、初期発生の過程から形態学的にも密接な相互関係を維持している。すなわち、顆粒膜細胞は、卵胞の発育過程にあつて、性腺刺激ホルモ

ンの標的細胞として分裂・増殖により顆粒膜層を形成し、機能的には卵巣ステロイドホルモン産生源となり、また、卵子の成熟、分裂との相関のもとに排卵現象に関与し、排卵後は卵胞内にあつて、黄体化するわちプロゲステロン産生細胞に変化していくことが明らかとされてきている。

この生殖生物学上重要な役割を果たしている顆粒膜細胞に関する従来の研究としては、主として馬⁴⁾、豚⁵⁾、および赤毛猿⁶⁾卵巣より採取した顆粒膜細胞の培養に関する一連の形態学的研究ならびに、Channing らの顆粒膜

細胞の黄体化に関する生化学的研究⁷⁾が主で、ヒト顆粒膜細胞に関する形態学的研究の報告は非常に少ない。

著者は、本研究において、まずヒト顆粒膜細胞の細胞培養法を確立し、培養細胞について透過型ならびに走査型電子顕微鏡を用いてその微細構造の変化を観察し、さらに黄体化の機序あるいはステロイド分泌機能発現に関し、形態学的知見より検討を加えることを目的とした。

2. 実験材料ならびに実験方法

1) 顆粒膜細胞採取法

慶応義塾大学病院産婦人科にて、各種婦人科疾患で開腹手術を施行した正常性週期婦人(28歳~44歳)の手術時摘出卵巣97例(卵胞期53例, 黄体期26例, 不明8例)より卵巣組織の一部を採取した。材料は無菌的に氷冷リン酸緩衝塩類溶液(Ca⁺⁺ および Na⁺⁺ 含まず)中に保存し、2時間以内に実験に供した。

顆粒膜細胞の採取は、実体顕微鏡下で卵巣組織中から卵胞を剔出、リン酸緩衝塩類溶液にて数回洗浄し、最大直径測定後、直径500 μ のガラスピペットにて卵胞液と共に顆粒膜細胞を吸引採取した。さらに細胞成分の分離の目的から Hanks 液にて数回洗浄、遠沈(1000rpm, 5分間)後に培養した。卵胞の最大直径により、直径7mm 以上を大卵胞、5mm 以下を中小卵胞とした。

2) 顆粒膜細胞の培養法

培養は開放系静置培養でおこない、培養器具は Labtec tissue culture chamber (4 および 8 chambers) を使用した。培養液は20%不活化仔牛血清添加 TCM-199 (penicillin 100iu/ml, streptomycin 100 μ g/ml 含有)を用い、培養条件は5% CO₂, 95% O₂ ガス下、温度37°C、湿度95%とした。培養液は48時間毎に全量交換した。培養細胞の観察はニコン倒立位相差顕微鏡で行い、適宜染色標本作製し、検討を加えた。

3) 光学および電子顕微鏡試料作製法

光学的顕微鏡用試料は、95%アルコール・エーテル等量混合液で固定後、ヘマトキシリン・エオジン重染色を施した。

透過型電子顕微鏡試料は、培養器具の室枠を除去し、スライドガラスに付着した細胞をそのままリン酸緩衝塩類溶液にて数回洗浄後回定操作を行った。まず4°C、2.5%グルタルアルデヒド 燐酸緩衝液にて1時間前固定後、0.1M リン酸緩衝液(pH 7.4)にて1昼夜洗浄し、1%オスミウム酸で2時間後固定をおこなった。脱水はエタノール系列で行い、アセトンを通したのち、Epon 812にて包埋した。包埋試料を液体窒素中でスライドガラスと分離させた後、超薄切片とし、酢酸ウランならびに水酸化鉛による二重染色を施して HU-11B および

HU-12AS 型電子顕微鏡(加速電圧: 75KV)で観察した。

走査電子顕微鏡用試料は、透過型試料と同様の固定および脱水処置後、酢酸イソアミルに浸し、臨界点乾燥を施した。さらに試料にカーボンおよび金の二重蒸着を行った後、JSM-SI 型走査電子顕微鏡(加速電圧: 10KV)で観察した。

4) 定量的形態計測法 (stereology)

細胞内小器管の変化を定量的に検索するために、Surface Density を求め、その指標として用いた⁸⁾。すなわち各試料の異った30の細胞の19500倍の写真を作製し、それに2cm 間隔の縦横の線をひき、各々の線がその細胞内の各微細小器管を横切る数を求めて、下記の式にて Surface Density (S_{vi}) として算出して比較の指標とした。

$$S_{vi} = (2 I_i \times M) / (L_t \times 1000)$$

I_i: the number of membrane-line intersections

M: magnification

L_t: the total length of test lines (mm)

5) プロゲステロン測定法

血漿および培養中のプロゲステロン濃度測定は、検体のヘキサンの抽出操作後、抗11 α -OHP-11-BSA 抗血清を用いた RIA 法 (CEA-IRE-SORIN 社製) にて行った。

3. 実験成績

1) 形態的变化

培養細胞は培養後2~6時間でスライドガラス表面に附着し、24時間後には細胞質の突起状伸展および分裂増殖による細胞数の増加がみとめられ、紡錘形の線維芽細胞様細胞による集落の形成が認められた(写真1)。培養24~48時間後には敷石状配列を示す培養細胞からなる大型の集落が観察された(写真2)。また細胞集落の各所に Call-Exner 小体様構造が認められた(写真3)。培養経過に従い、細胞集落の周辺に扁平な上皮細胞様細胞が出現し、その数は次第に増加し、培養3~5日後にはこれらの扁平細胞からなる融合性単層集落が大部分を占めた(写真4)。大卵胞より採取した培養細胞群では、培養24~48時間後でこのような単層集落が観察され、中卵胞ならびに小卵胞から採取した培養細胞群よりも早期に、かかる形態変化が認められた。これらの扁平細胞は大型で類円形の核を有し、細胞質に多数の微細顆粒を認めた。また、空胞および好酸性顆粒を有する細胞が観察された(写真5)。しかし、培養6~8日後には剝離または浮遊細胞群が増加し、生育細胞数も減少した。しかし、この時期になると核周辺に微細顆粒を有する大型(35~40 μ m)の扁平細胞が観察された(写真6)。

つぎに培養顆粒膜細胞の微細構造であるが、培養細胞は、ガラス面付着直後は小数の短い糸状偽足および小胞状の細胞質隆起を示すのみで、表面構造に乏しい所見を示していた(写真7)。しかし、培養24~48時間後では、多数の糸状偽足を伸し、数個の細胞質隆起と微絨毛を保有し(写真8)、集落の扁平化に伴い、集落の周辺は扁平細胞で占められるようになったが、その辺縁には細胞の扁平化の過程と考えられている細胞質のすだれ状伸展(cytoplasmic webbing)⁹⁾が認められた(写真9)。

培養24時間後の顆粒膜細胞は、一般的に、大型で電子密度の高い核と、板状の cristae を有する球状または桿状のミトコンドリア、少数の脂肪顆粒および一次ライソゾームを有していた(写真10)。ゴルジ体や小胞体の発達は著明でなく、microfilament の集合を認めた。隣接する細胞間に細胞結合の一種である Nexus (あるいは Gap junction) を形成するが、培養初期では板状の Nexus が多く認められ、黄体化過程の進行と合せて巨大な輪状 Nexus が観察された(写真10)。培養細胞の集落中に形成された Call Exner 小体様構造は、培養48時間から72時間の細胞増殖期に度々観察されたが、多数の細胞質突起と透明体様物質により構成されていた(写真11)。集落の中央部の細胞と辺縁部の細胞は表面構造が異なり、とくに比較的長い微絨毛は中央部に多数認められ、辺縁部では一般的に短く数も少かつた(写真12)。培養5~6日後には、超薄化、扁平化した大型細胞が出現し、この細胞は類円形の核と想定される隆起の周囲に極めて多数の顆粒状の細胞質隆起を有していた(写真13)。この細胞質隆起は0.1~0.3 μ の直径を持ち、培養初期より細胞縁に観察された小胞状細胞質隆起(直径約0.5~0.8 μ)より小さく、核と想定される隆起以外の細胞表面すべてに認められた。微絨毛はこれらの細胞には認められなかつた。透過型電子顕微鏡による観察では、大型の電子密度の低い核、管状または胞状 cristae を有する円形あるいは不定型のミトコンドリア、房状に配列する多数の脂肪顆粒、多くの粗面ならびに滑面小胞体、広範囲に分散したゴルジ体、一次および二次ライソゾームならびにリボゾームの集合を認めた(写真14)。これらの諸像が顆粒膜黄体細胞像と極めて類似し、その培養液中に多量のプロゲステロンが検出しうることから、自然黄体化過程にある細胞と判断した。

2) 培養液中のプロゲステロンの測定

卵胞期卵巣の大卵胞及び小卵胞より採取せる顆粒膜細胞より分泌されるプロゲステロンの濃度を、培養2, 4, 6, 8日に交換した培養液中より測定した(表1)。大卵胞より採取せる顆粒膜細胞は、培養2~6日において小卵胞より採取せる顆粒膜細胞より多量のプロゲステ

表1 卵胞期大卵胞 (Large Follicle) および小卵胞 (Small Follicle) より採取した顆粒膜細胞の培養液中のプロゲステロン濃度

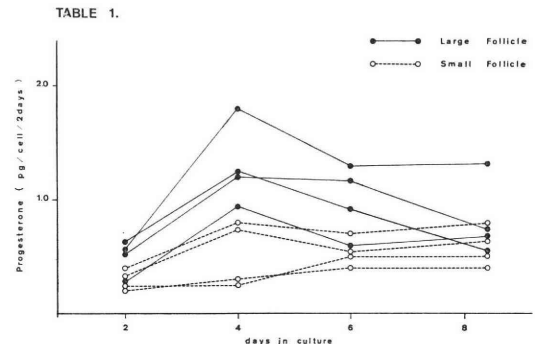
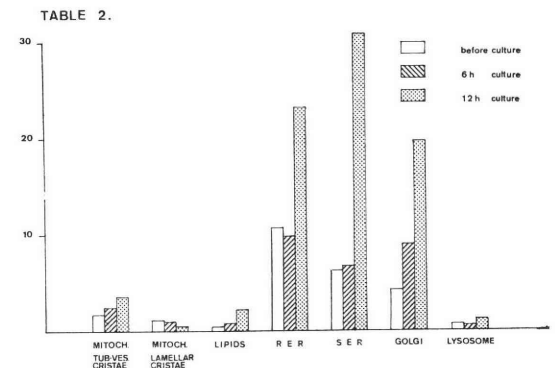


表2 排卵前期大卵胞より採取した顆粒膜細胞の、培養前、培養6時間後、培養12時間後の各細胞内小器管における Surface Density の変化



ロンを分泌し、培養4~6日目に1.8~0.95pg/cell/2daysの最大濃度となり、その後漸減した。小卵胞より採取せる顆粒膜細胞も同様に培養4~6日目に最も多量のプロゲステロン(0.4~0.8pg/cell/2days)を分泌する事が認められたが、その後もほぼ同程度のプロゲステロンが検出され、持続的にかんりの分泌能力を保持しているものと考えられる。

3) 定量的形態計測法 (stereology) による培養前及び培養初期の微細構造の変化に関する検討(表2, 写真15)

排卵前期大卵胞より採取せる顆粒膜細胞の、培養前、培養6時間後、培養12時間後における細胞内小器管の変化を、ミトコンドリア、脂肪顆粒、粗面及び滑面小胞体、ゴルジ体及びライソゾームに関し、Surface Density を求めて定量的に検討を加えると、管状あるいは胞状 Cristae を有するミトコンドリアの増加、板状 Cristae

を有するミトコンドリアの減少、脂肪顆粒の増加、著しいゴルジ体の発達培養より経時的に認められた。粗面及び滑面小胞体は、培養6~12時間に顕著な増加が認められた。ライソゾームは、主に一次ライソゾームが観察されたが、培養12時間後に増加する傾向が認められた。

4. 考 按

近年、生殖機構における顆粒膜細胞の重要性が強調され、卵胞内における細胞動態^{10,11}、卵子との形態学的ならびに機能的相関^{12,13}、黄体化過程における形態変化^{14,15}、さらにステロイドホルモン産生^{16,17,18}など顆粒膜細胞に関する研究が注目を浴びてきた。

顆粒膜細胞の細胞培養は、材料の採取が比較的容易で、他種細胞混入の危険も少く、試料としては実験に供し易いうえに、培養成功率も高いとされている。本研究ではヒト顆粒膜細胞を培養し、約74% (97例中72例) に良好な結果が得られ、コロニーの形成・発達などを認めた。しかし、培養成績は採取した婦人の年齢、卵胞の大きさ、月経周期などにより差が認められ、卵胞期卵巣では成功率81%、黄体期卵巣では成功率61%であった。更年期近い高齢の婦人の卵巣や黄体期大卵胞より採取した細胞の培養は極めて成績が悪かった。これらのことより、採取せる卵胞の発育過程により培養成功率が左右され、黄体期大卵胞においては卵胞が閉鎖過程をたどり、顆粒膜細胞も増殖能を失なっていくものと考えられる。同一卵胞内より採取した細胞では、卵胞期卵胞においては、卵丘細胞は顆粒膜層の細胞に比べてより旺盛な増殖を認めた。卵胞内部の部位によつて細胞動態が異なることが知られており¹⁹、排卵後も異なった運命をたどることから、増殖能に差が認められることは当然考えられることである。

培養条件、とくに培養液に関する予備実験として、MEM-Eagle, TCM-199, Ham F-12, RPMI (1960), Diploid-Growth Medium など各種培養液を用い、培養液単独あるいは0.5%牛血清アルブミン添加培養液での培養成績は極めて悪く、10%、20%、30%の不活化仔牛血清添加培養液では良好な培養成績を得たことから、本実験では20%不活化仔牛血清添加TCM-199を用いた。

顆粒膜細胞は、培養系に於いて線維芽細胞様と上皮細胞様の二種の発育形態を示すことが、マウス²⁰、馬⁴、豚⁵、赤毛猿⁶にて観察されている。培養細胞の発育形態は、培養条件により大きな影響をうけるが^{21,22}、同一環境内にあつては細胞の分裂周期により変化することが報告されている²²。本研究においても、線維芽細胞様細胞よりなる集落がしだいに扁平な上皮細胞様形態へ変化することを認めたが、これは培養細胞が培養系に入り同

じ速度で増殖を始め、一定期間分裂をくり返したのち、細胞分裂の周期を離れて成熟細胞、すなわち黄体化した細胞²³)に移行し変性過程をたどることによる形態的变化と考えられる。

顆粒膜細胞の黄体化は、排卵前成熟卵胞内にてすでに開始していることが知られており^{24,14,25}、また、*in vitro*では Channing (1966)¹⁵)により排卵前期大卵胞の顆粒膜細胞が自然黄体化を起すことを報告した。さらに、Crisp と Channing¹⁵)は培養赤毛猿顆粒膜細胞が自然黄体化により、ステロイド分泌細胞に特異的な微細形態^{26,27})を呈し黄体細胞と極めて類似した細胞像に変化するとともに、多量のprogesterone分泌を開始することを指摘した。ヒト顆粒膜細胞においても、自然黄体化による同様の超微細構造の変化を観察したが、黄体細胞に観察される旺盛な滑面小胞体の増殖は認められなかった。培養初期に観察された microtubules や microfilament は細胞の支持器管で、細胞の運動や分裂時に重要な働きをするとされているが、ステロイドホルモン分泌にも関与しているとの報告もある^{28,29,30})。またこれらの器管が、細胞の発育形態を左右し黄体化を促進すると考えられている cyclic AMP や阻止すると考えられている Cytochalasin B に影響されることから、黄体化への関連性が注目されている。細胞間結合様式の一種である nexus (もしくは gap junction) は卵胞内顆粒膜細胞や培養初期には線状 nexus が、黄体化過程にあると考えられる細胞では輪状 nexus が多く観察された。Nexus は、Sheridan³¹) や Merk³²) により物質の流通が確認され、卵胞の発育により変化し³³)、またエストロゲン刺激にて増加し³⁴)、さらに主に顆粒膜黄体細胞に多くの輪状 Nexus が認められることより、Nexus が黄体化に関し何らかの役割を担っているものと考えられる。

培養顆粒膜細胞の黄体化による表面構造に観察された変化は、顆粒状細胞質隆起の出現と微絨毛の消失である。培養細胞の表面構造は、細胞分裂周期³⁵)、細胞間接触³⁶)、細胞濃度³⁷)、細胞の凝集^{38,39})、および吸収などの細胞の機能⁴⁰)に影響を受けることが報告されている。また細胞質隆起 (blebb) が細胞膜の転換⁴¹)や細胞の変性時⁴²)に現われることが知られている。本研究にて観察された変化は、黄体化という変性過程をたどることにより出現する、発育形態の変化や細胞内小器管の変化に並行した形態的現象と考えられる。Chang ら⁴³)は卵胞の発育過程において、微絨毛の増加と LH receptor の増加の時期が一致するところから、それらの相関関係に意味付けを試みているが、著者ら⁴⁴)は LH receptor を保有しないと考えられる小卵胞に微絨毛の存在も認めており、微絨毛の増加が卵胞の発育による細胞分裂の激化に起因し、

培養顆粒膜細胞の黄体化による微絨毛の消失は、同細胞が成熟細胞となり細胞分裂を行なわなくなったためと理解している。

形態的研究と並行しておこなった培養液中のプロゲステロンの測定より、卵胞期の大卵胞より採取された顆粒膜細胞が中・小卵胞より採取された顆粒膜細胞より早期に多量のプロゲステロンを分泌し始め、黄体化過程に入るとの Channing ら⁴⁵⁾と同様の結果を得た。また、形態的な黄体細胞様変化に先んじて、すでにかなり高濃度のプロゲステロンが分泌されていることから、プロゲステロン分泌に関与すると考えられる培養初期の微細構造上の変化を定量的形態計測法 (stereology) にて検討を加えてみると、粗面および滑面小胞体やゴルジ体の著しい発達を認め、これらの器管がステロイド分泌機能に関与しているものと考えられる。

著者は、顆粒膜細胞の培養を通じ、同細胞の life span の終点に位置すると考えられる黄体化に重点を置き形態的検討を加えてきた。しかし、もちろん黄体化以前に同細胞の置かれた環境を無視することはできず、さらに卵胞内環境の黄体化に及ぼす詳細な検討が必要であるが、本研究が、卵胞の成熟、卵子との相関、卵胞液の変化、排卵の機序など今後に残された諸問題の解明への起点となるものと思われる。

結 論

ヒト顆粒膜細胞を種々の大きさの卵胞より採取して単層培養した。培養下の細胞の発育形態の変化を光学顕微鏡、透過型および走査型電子顕微鏡で観察するとともに、黄体化に起因する超微細構造所見に関し検討を加えた。

1) ヒト顆粒膜細胞は、95% O₂, 5% CO₂ ガス環境下、20% 仔牛血清添加 TCM-199 にて良好な発育を示した。

2) 培養の経過とともに、線維芽細胞様から上皮細胞様への発育形態の変化を認めたが、大卵胞から採取した培養細胞は早期より扁平化し、上皮細胞様の発育形態をとり、小卵胞から採取した培養細胞は長期間線維芽細胞様の形態を保つ傾向が認められた。

3) 培養24~76時間後の顆粒膜細胞は、一般的に板状の Cristae を有する桿状のミトコンドリア、小数の脂肪顆粒および一次ライゾソーム、microfilament の集積、発達の悪い粗面小胞体およびゴルジ装置を持つ。表面微細構造所見として、微絨毛や胞状の細胞質隆起が多くの細胞に観察された。

4) 培養5~6日に観察された大型かつ扁平な培養細胞は、管状の Cristae を有する不定形のミトコンドリア

ア、ゴルジ装置の発達、滑面および粗面小胞体の発達、多数の房状に配列した脂肪滴および輪状 Nexus の出現等、黄体化に起因すると考えられる超微細構造上の変化を認めた。

5) これらの大型・扁平細胞に多数の顆粒状の細胞質隆起を観察したが、微絨毛は認められず、これらの所見が黄体化過程にある細胞の表面構造上の変化であると判断した。

6) 卵胞期卵巣の大卵胞及び小卵胞より採取した顆粒膜細胞より分泌されるプロゲステロンの濃度を測定し培養2日目よりプロゲステロン分泌を認め、また大卵胞より採取した顆粒膜細胞は、培養2~6日において小卵胞より採取した顆粒膜細胞より多量のプロゲステロンを分泌することを認めた。

7) 定量的形態計測法 (stereology) を用いて、排卵前期大卵胞より採取した顆粒膜細胞の培養前、培養6時間後、培養12時間後における細胞内小器管の変化に検討を加えた。粗面及び滑面小胞体やゴルジ体は培養の経過とともに著しい発達を認めた。管状あるいは胞状 Cristae を有するミトコンドリアおよび脂肪顆粒のわずかな増加が認められた。

稿を終るに当たり、懇篤なる御指導、御校閲を賜った恩師、慶応義塾大学医学部産婦人科学教室、飯塚理八教授に深甚な謝意を表するとともに、研究を進めるにあたり御指示を頂いた鈴木秋悦助教授に深謝致します。更に、御協力を頂いた産婦人科学教室の諸兄ならびに慶応義塾大学電子顕微鏡研究室藤原達司氏に厚く御礼申し上げます。

尚本論文の要旨は、第20回日本不妊学会総会、第8回世界不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Gillman, J.: The development of the gonads in man, with a consideration of the role of fetal endocrines and the histogenesis of ovarian tumors, *Contrib. Embryol. Carneg. Inst.* 32: 81, 1948.
- 2) Witschi, E.: Embryogenesis of the adrenal and reproductive glands, *Rec. Progr. Hormone Res.* 6: 1, 1951.
- 3) Byskov, A. G.: The role of the rete ovarii in meiosis and follicle formation in the cat, mink and ferret, *J. Reprod. Fert.*, 45: 201, 1975.
- 4) Channing, C. P.: Tissue culture of equine ovarian cell type: culture methods and morphology, *J. Endocr.* 43: 381, 1969.
- 5) Schomberg, D. W.: The concept of a ute-

- rine luteolytic hormone, in *The Gonads*: p. 384, edited by K. W. Mckerns, New York, Appleton-Century-Crofts, 1969.
- 6) Channing, C. P.: Effects of stage of the menstrual cycle and gonadotropins on luteinization of rhesus monkey granulosa cells in culture, *Endocrinology*. 87: 49, 1970.
 - 7) Channing, C. P. and Tsafirri, A.: Mechanism of action of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone on the ovary in vitro, *Metabolism*. 26: 413, 1977.
 - 8) Loud, A. V., Barany, W. C. and Pack, B. A.: Quantitative evaluation of cytoplasmic structures in electron micrographs. *Lab. Inv.* 14: 258, 1965.
 - 9) Rajaraman, R.: A scanning electron microscope study of cell adhesion and spreading in vitro, *Exp. Cell Res.* 88: 327, 1974.
 - 10) Peters, H.: The development of the mouse ovary from birth to maturity, *Acta Endocr.* 62: 98, 1969.
 - 11) Pedersen, T. and Hartmann, N. R.: The kinetics of granulosa cells in developing follicles in the mouse ovary, *Cell Tissue Kinet.* 4: 171, 1971.
 - 12) Nekola, M. V. and Nalbandov, A. V.: Morphological changes of rat follicular cells as influenced by oocytes, *Biol. Reprod.* 4: 154, 1971.
 - 13) Zamboni, L.: Fine morphology of the follicle wall and follicle cell-oocyte association, *Biol. Reprod.* 10: 125, 1974.
 - 14) Blanchette, J.: Ovarian steroid cells. I Differentiation of the lutein cell from the granulosa cell during the preovulatory stage and under the influence of exogenous gonadotropins, *J. Cell. Biol.* 31: 501, 1966.
 - 15) Crisp, T. M. and Channing, C. P.: Fine structural events correlated with progesterin secretion during luteinization of rhesus monkey granulosa cells in culture, *Biol. Reprod.* 7: 55, 1972.
 - 16) Bjersing, L. and Carstensen, H.: The role of the granulosa cell in the biosynthesis of ovarian steroid hormones, *Biochim. Biophys. Acta.* 86: 639, 1964.
 - 17) Ryan, K. J. and Petro, Z.: Steroid biosynthesis by human ovarian granulosa and thecal cells *J. Clin. Endocr. Metab.* 26: 46, 1966.
 - 18) Channing, C. P.: Progesterone biosynthesis by equine granulosa cells growing in tissue culture, *Nature*, 210: 1266, 1966.
 - 19) Blandau, R. J. and Rumery, R.: Observations on cultured granulosa cells from ovarian follicles and ovulated ova of the rat, *Fertil. Steril.* 13: 335, 1962.
 - 20) 本田昭博: 卵巣の培養に関する研究, 日不妊会誌, 10: 26, 1965.
 - 21) Willmer, E. N.: *Cytology and evolutions*, Academic Press, New York, 1959.
 - 22) Crane, M. ST. J., Clarke, J. B., and Thomas, D. B.: Cell cycle dependent changes in morphology, *Exp. Cell Res.*, 107: 89, 1977.
 - 23) 小畑 義: 卵胞の機能と形態, 産婦進歩, 27: 361, 1975.
 - 24) Björkmann, N.: A study of the ultrastructure of the granulosa cells of the rat ovary, *Acta Anat.* 51: 125, 1962.
 - 25) Bjersing, L.: On the ultrastructure of granulosa lutein cells in porcine corpus luteum, *Z. Zellforsch.* 82: 187, 1967.
 - 26) Christensen, A. K. and Gillim, S. W.: The correlation of fine structure and function in steroid-secreting cells, with emphasis on those of the gonads, in *The Gonads*, p. 45, edited by K. W. Mckerns, New York, Appleton-Century-Crofts, 1969.
 - 27) Enders, A. C.: Cytology of the corpus luteum, *Biol. Reprod.* 8: 158, 1973.
 - 28) Motta, P. and Didio, L. J. A.: Microfilaments in granulosa cells during the follicular development and transformation in corpus luteum in the rabbit ovary, *J. Submicr. Cytol.* 6: 15, 1974.
 - 29) Gemmell, R. T. and Stacy, B. D.: Effects of colchicine on the ovine corpus luteum: role of microtubules in the secretion of progesterone, *J. Reprod. Fert.*, 49: 115, 1977.
 - 30) Mrotek, J. J. and Hall, P. F.: The influence of cytochalasin B on the response of adrenal tumor cells to ACTH and cyclic AMP, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 64: 891, 1975.
 - 31) Sheridan, J. D.: Dye movement and low-resistance junctions between reaggregated embryonic cells, *Develop. Biol.*, 26: 627, 1971.
 - 32) Merk, F. B.: Fate of nexus membranes in ovarian granulosa cells of intact and hormone treated rats, in 29th Ann. Proc. Electron Microscopy Soc. Amer. edited by C. J. Arceneaux, p. 554, Baton Rouge, Claitor's Publishing Division, 1971.
 - 33) Anderson, E. and Albertini, D. F.: Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary, *J. Cell Biol.*, 71: 680, 1976.
 - 34) Merk, F. B., Botticelli, C. R., Albright, J. T.: An intercellular response to estrogen by granulosa cells in the rat ovary; an electron microscope study, *Endocrinology*, 90: 992, 1972.
 - 35) Porter, K. R., Prescott, D., Frye, D.: Changes in surface morphology of chinese hamster ovary cells during the cell cycle, *J.*

- Cell Biol., 57 : 815, 1973.
- 36) Rubin, R. W. and Everhart, L. P.: The effect of cell-to-cell contact on the surface morphology of chinese hamster ovary cells, J. Cell Biol., 57 : 837, 1973.
 - 37) O'Neil, C. H. and Follett, E. A. C.: An inverse relation between cell density and the number of microvilli in culture of BHK 21 hamster fibroblast, J. Cell Sci., 7 : 695, 1970.
 - 38) Pethica, B. A.: The physical chemistry of cell adhesion, Exp. Cell Res. Suppl. 8 : 123, 1961.
 - 39) Lesseps, R. J.: Cell surface projections: their role in the aggregation of embryonic chick cells as revealed by electron microscopy, J. Exp. Zool., 153 : 171, 1963.
 - 40) Willoch, M.: Changes in Hela cell ultrastructure under conditions of reduced glucose supply, Acta. Path. Microbiol. Scand., 71 : 35, 1976.
 - 41) Eddy, E. H. and Shapiro, B. M.: Changes in the topography of the sea urchin egg after fertilization, J. Cell Biol., 71 : 35, 1976.
 - 42) Harris, A. K.: Cell surface movements related cell locomotion in Locomotion of tissue cells. CIBA Foundation, Symposium 14, edited by K. Porter, and D. W. Fitzsimons : p. 3, Amsterdam, Associated Scientific Publishers, 1973.
 - 43) Chang, S. C. S. Anderson, W., Lewis, J. C., Ryan, R. J., Kang, Y. H.: The porcine ovarian follicle. II. Electron microscopic study of surface feature of granulosa cells at different stages of development, Biol. Reprod. 16 : 349, 1977.
 - 44) Tojo, R., Fujiwara, T., Suzuki, S., Iizuka, R.: Surface morphology of granulosa cells in developing and atretic follicles, in press.
 - 45) Channing, C. P.: Influence of the *in vivo* and *in vitro* hormonal environment upon luteinization of granulosa cells in tissue culture, Recent Progr. Hormone Res., 26 : 589, 1970.

Morphological studies on the cultured human granulosa cells

Ryutaro Tojo

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

It is known that granulosa cells participate following ovulation in the formation of the

corpus luteum. The mechanism by which granulosa cells transform themselves into lutein cells has been the object of recent investigation in several mammalian species. Although it is known *in vitro* and *in vivo* that gonadotropins and a variety of hormonal mediators, such as cyclic AMP, are involved in stimulating induced biochemical transformation of granulosa cells into progesterone-producing cells, the exact mechanism by which such a transformation or differentiation occurs is unknown. Recent studies have indicated that biochemical differentiation precedes obvious morphological differentiation. Although cytological features of granulosa cells and lutein cells have been the object of several investigations, little attention has been paid to the changes undergone in granulosa cells during their differentiation into lutein cells.

The present study was designed to investigate the fine cytological and surface events which occurred in cultured human granulosa cells during luteal differentiation. In addition, we also wanted to confirm in the human the report of Crisp and Channing in the monkey.

Human granulosa cells were obtained from various sized follicles and cultured for 6 days. After culture for 2 hours, cultured cells started to attach to their substrates by means of partially flattened cytoplasm. After 24 hours in culture, the cells grew in fibroblastic manner and confluent monolayers were seen. At this time, any morphological evidence of steroid biosynthesis was detected. After 4 days, granulosa cells displayed differentiation of cell organelles involved in steroid production, such as numerous lipid droplets, pleomorphic mitochondria with tubular cristae, widely dispersed Golgi complexes and agranular endoplasmic reticula, and progesterone levels in culture medium increased dramatically (0.8-1.2 pg/cell/2 days). At the same time, the following surface changes were also observed by scanning electron microscopy: cell spreading, decreased concentration of microvilli and increase in the number of subplasmalemmal granular protrusions. Consequently, these changes are suggested as morphologic characteristics of cultured granulosa cells during *in vitro* luteinization.

Progesterone secreted by the cultured granulosa cells in the medium was measured by radioimmunoassay. After 2 days culture, progesterone was detected and the granulosa cells which obtained from large preovulatory follicles secreted much progesterone than the cells which obtained from small follicles from 2 to 4 days in culture.

Using the technics of quantitative morphome-

tory (stereology), ultrastructural changes which occurred in the cytoplasm during 12 hours after culture were observed as the follows: great increases of rough and smooth surfaced endopla-

smic reticulum and golgi complex, small increases of pleomorphic mitochondria and lipid droplets and a decrease of rod-shaped mitochondria.

(受付: 昭和53年 1 月21日)

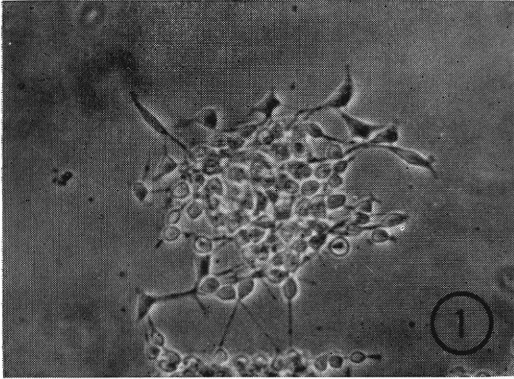


写真 1 ガラス面付着直後 (×25)

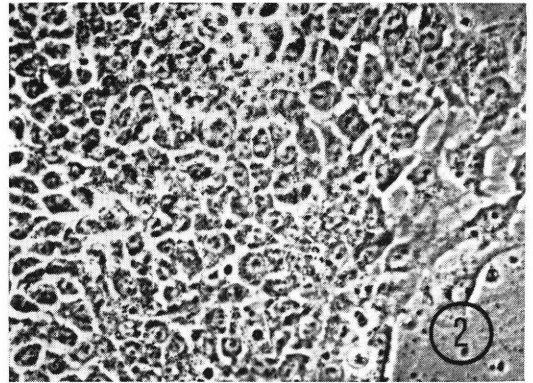


写真 2 培養3日目 (×25)

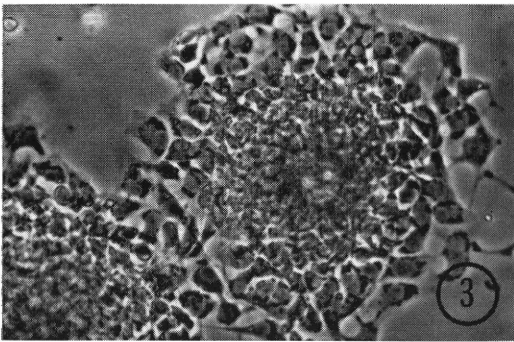


写真 3 Call-Exner 小体様構造 (×25)

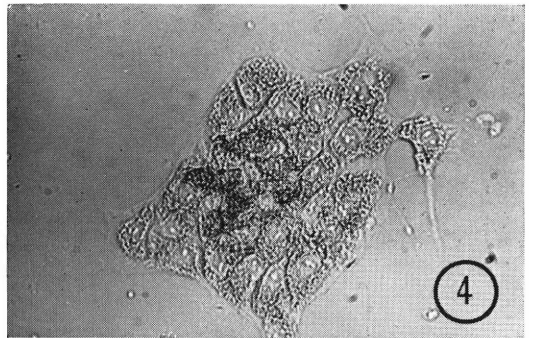


写真 4 培養5日目, 扁平細胞からなる
融合性単層集落 (×25)

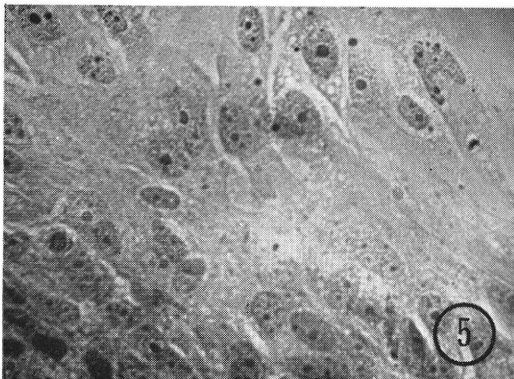


写真 5 培養5日目, 空胞や好酸性顆粒を保有する細胞 (H. E 染色 ×50)

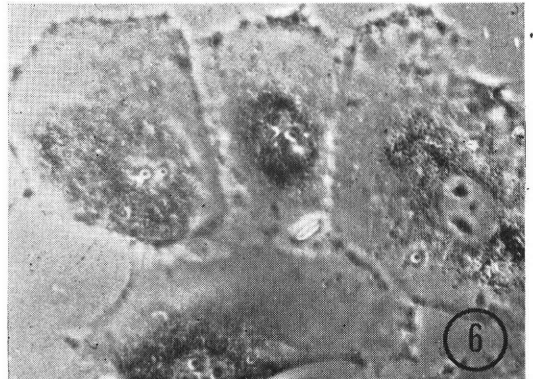


写真 6 培養5~6日頃より集落周辺に観察された大型扁平細胞 (×100)

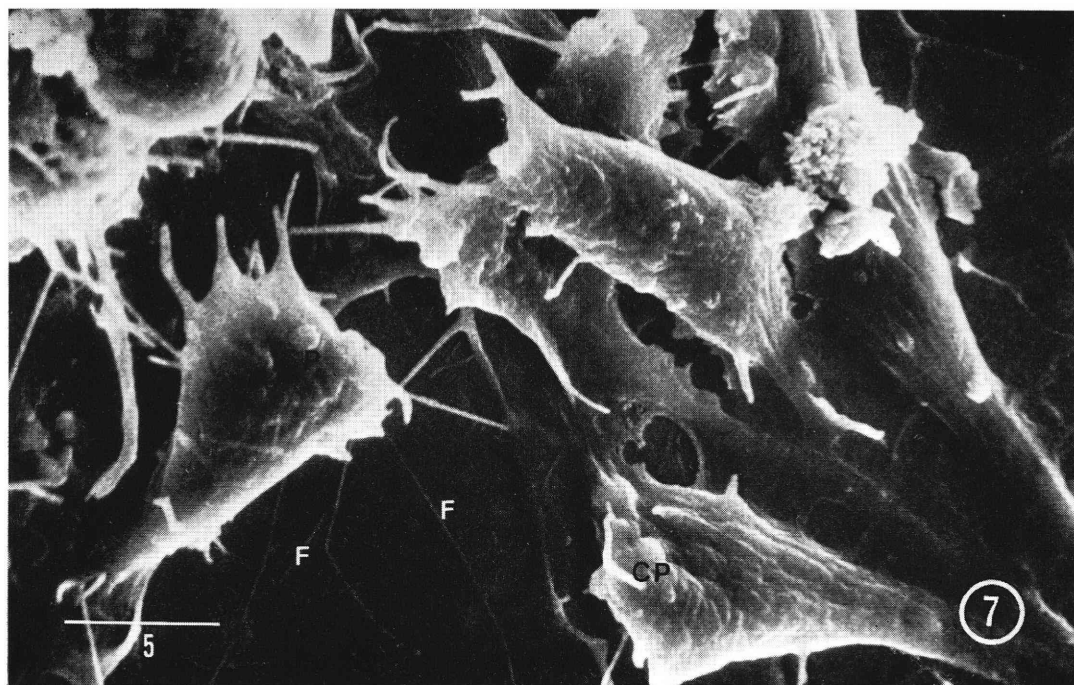


写真 7 培養 2 時間後、少数の糸状偽足 (F)、細胞質突起や胞状細胞質隆起 (CP) が観察されるのみで表面構造は乏しい。(走査電顕 ×3000)

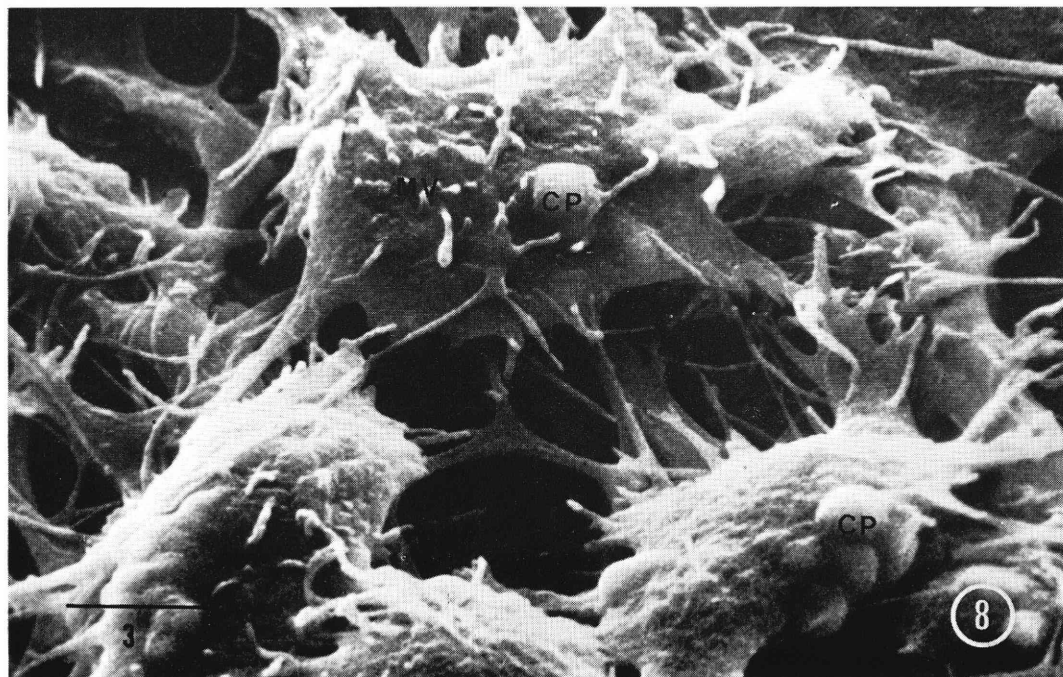


写真 8 培養 48 時間後、細胞質突起、胞状細胞質隆起 (CP) の増加、少数の微絨毛 (MV) が観察される。(走査電顕 ×6000)

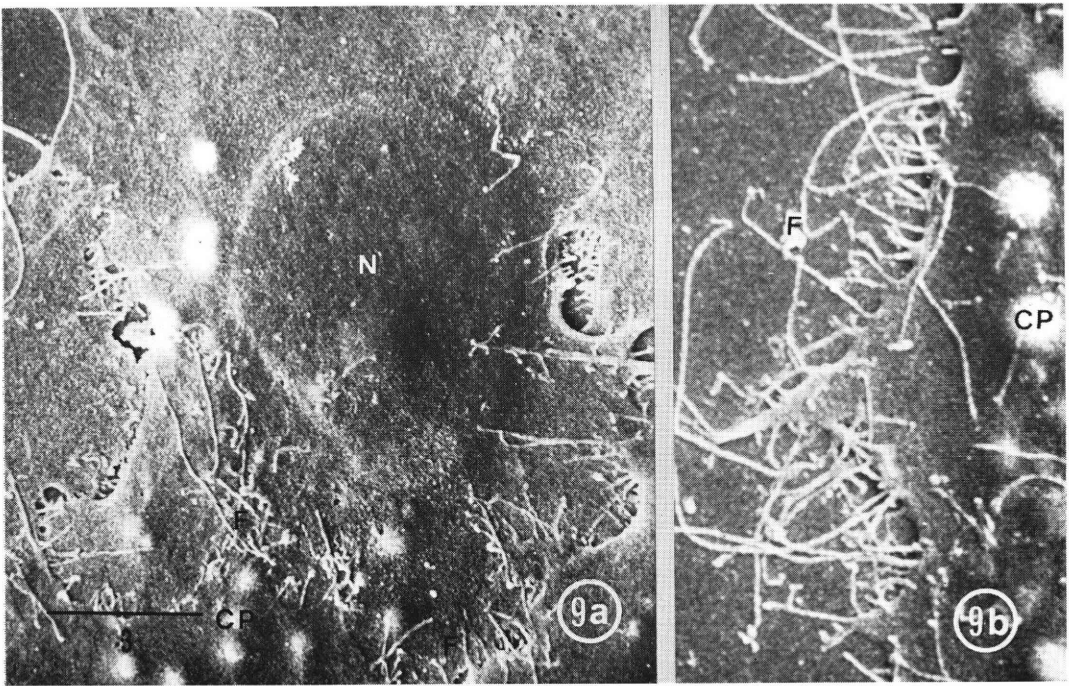


写真 9 培養2日目, 扁平細胞の細胞縁にそつて配列する胞状細胞質隆起 (CP) および糸状偽足 (F).
9a (走査電顕 ×6000), 9b (同 ×12000)

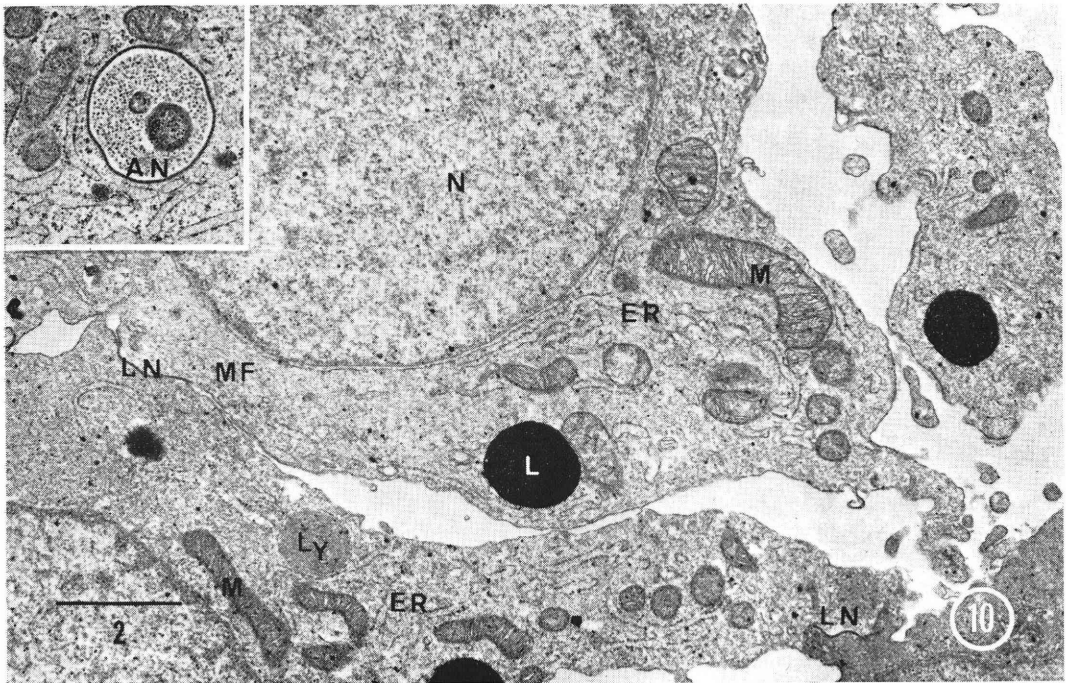


写真 10 培養48時間後, 板状の cristae を有する桿状のミトコンドリア (M), 粗面小胞体 (ER), 集積する microfilament (MF), 少数の脂肪顆粒 (L) や一次ライソゾーム (LY) が認められ, 隣接細胞とは線状 Nexus (LN) を形成する. 挿入写真は黄体化した細胞に認められる輪状 Nexus. (透過型電顕 ×13000)

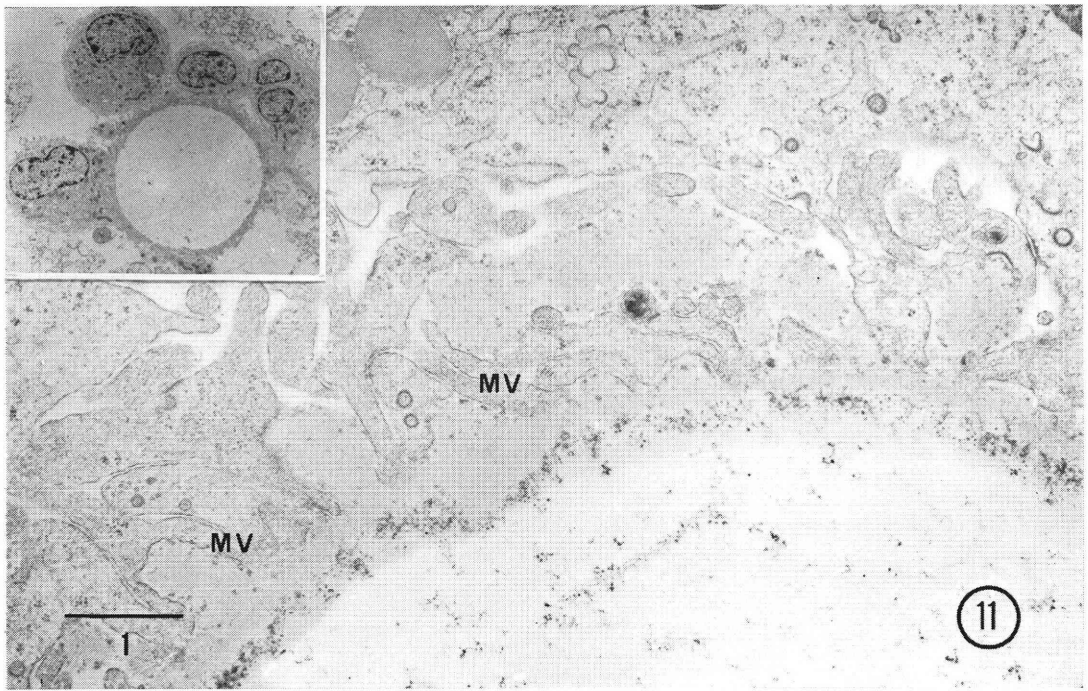


写真 11 Call-Exner 小体様構造, 周囲の細胞からの微絨毛様突起 (MV) や透明帯に類似した電子密度を有する物質より構成されている. (透過型電顕 $\times 20000$), (挿入写真 $\times 1000$)

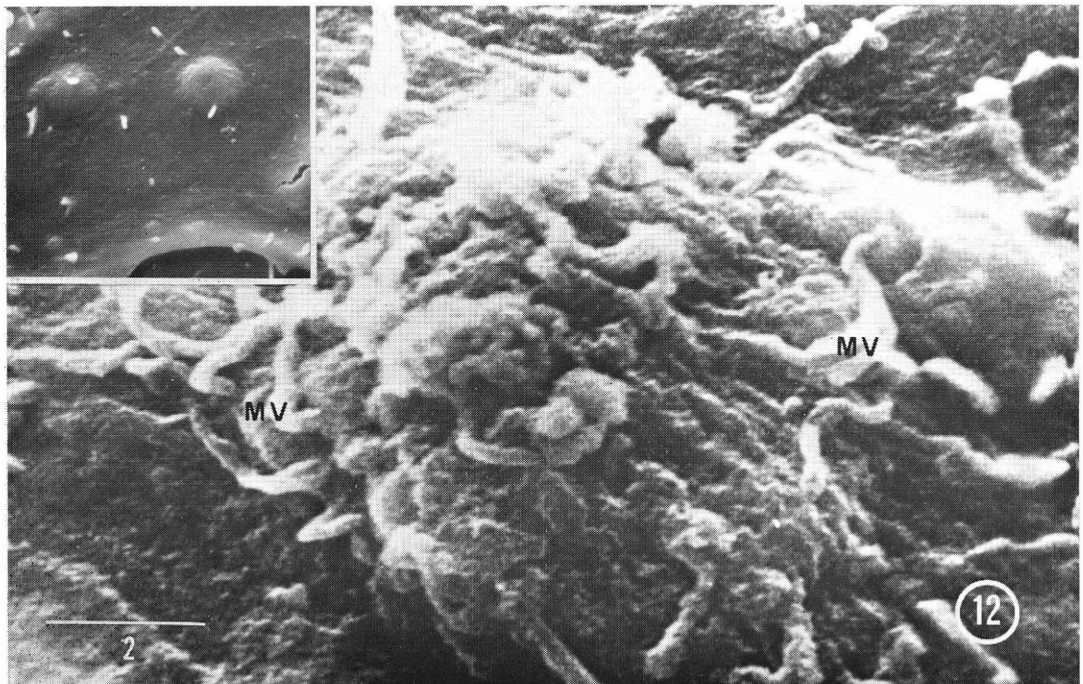


写真 12 培養 3 日目, 集落中央部の細胞表面に観察される多数の微絨毛. 集落周辺部の細胞 (挿入写真 $\times 2400$) は表面構造に乏しく, 微絨毛も少数で短い. (走査電顕 $\times 6000$)

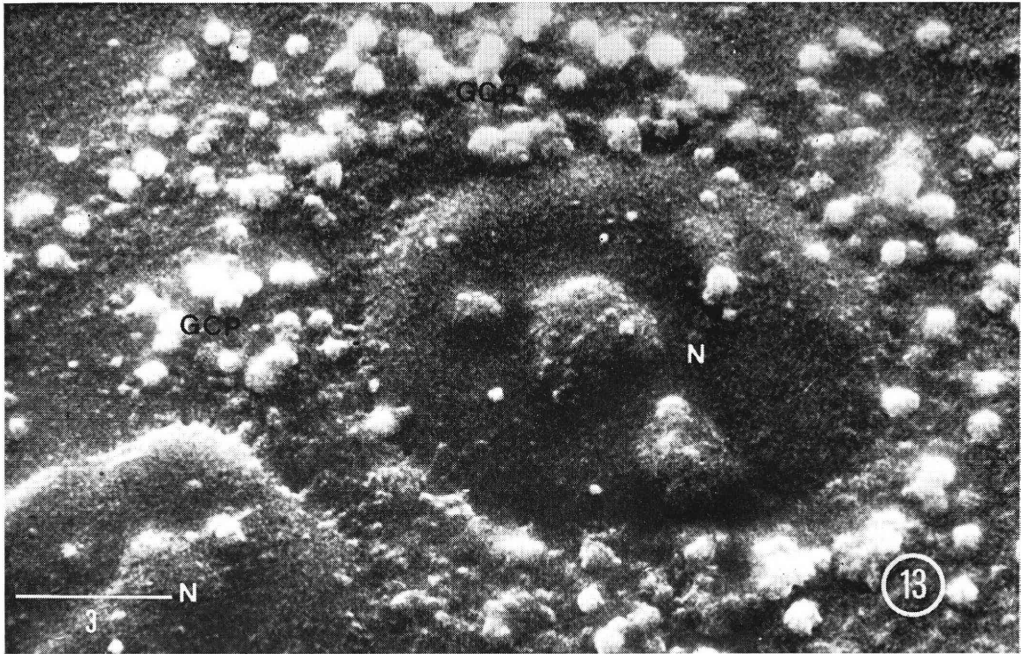


写真 13 培養 5 日目, 大型扁平細胞の表面は, 核と思われる隆起 (N) 以外は顆粒状細胞質隆起 (GCP) にうめつくされる。(走査電顕 $\times 3000$)

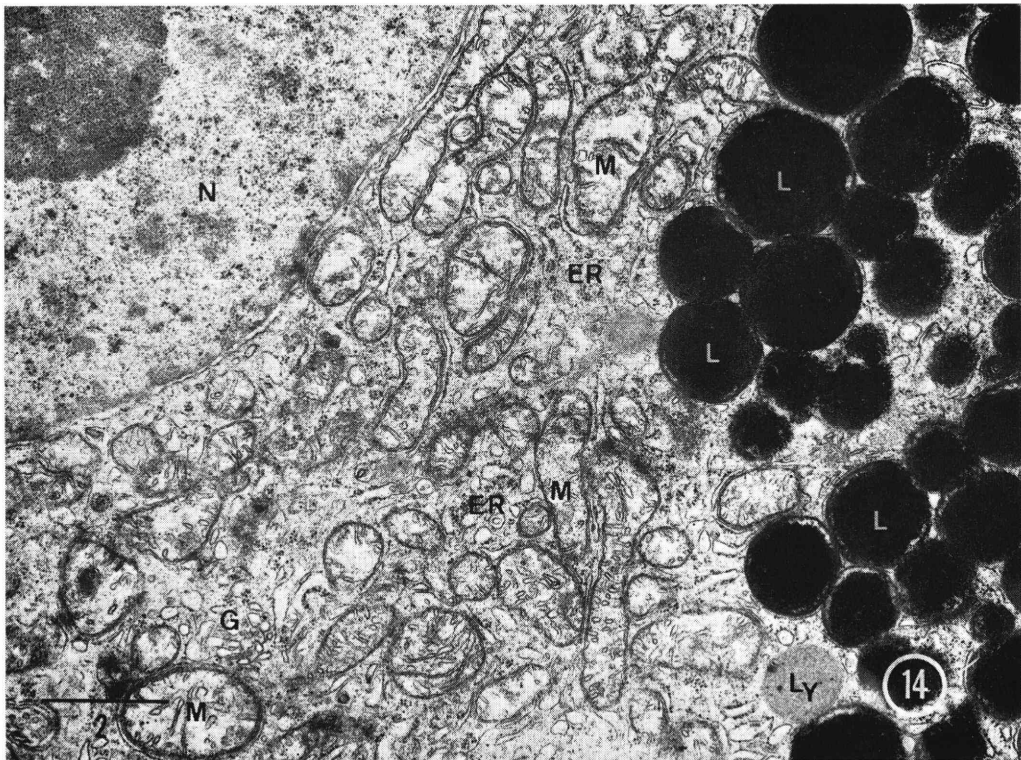


写真 14 培養 5 日目, 黄体化過程にある細胞, 多数の脂肪顆粒 (L), 管状の Cristae を有する不定型のミトコンドリア (M), 分散するゴルジ体 (G), 多くの粗面および滑面小胞体 (ER) を持つ。(透過型電顕 $\times 16000$)

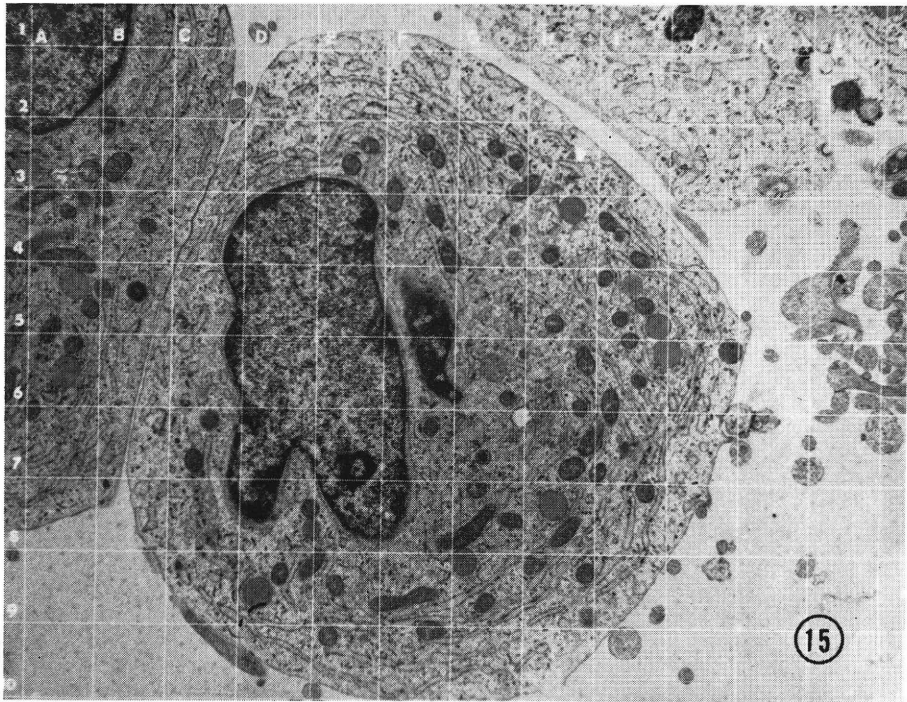


写真 15 培養 6 時間後, 定量的形態計測法 (Stereology) 写真. (透過型電顕 $\times 8000$)

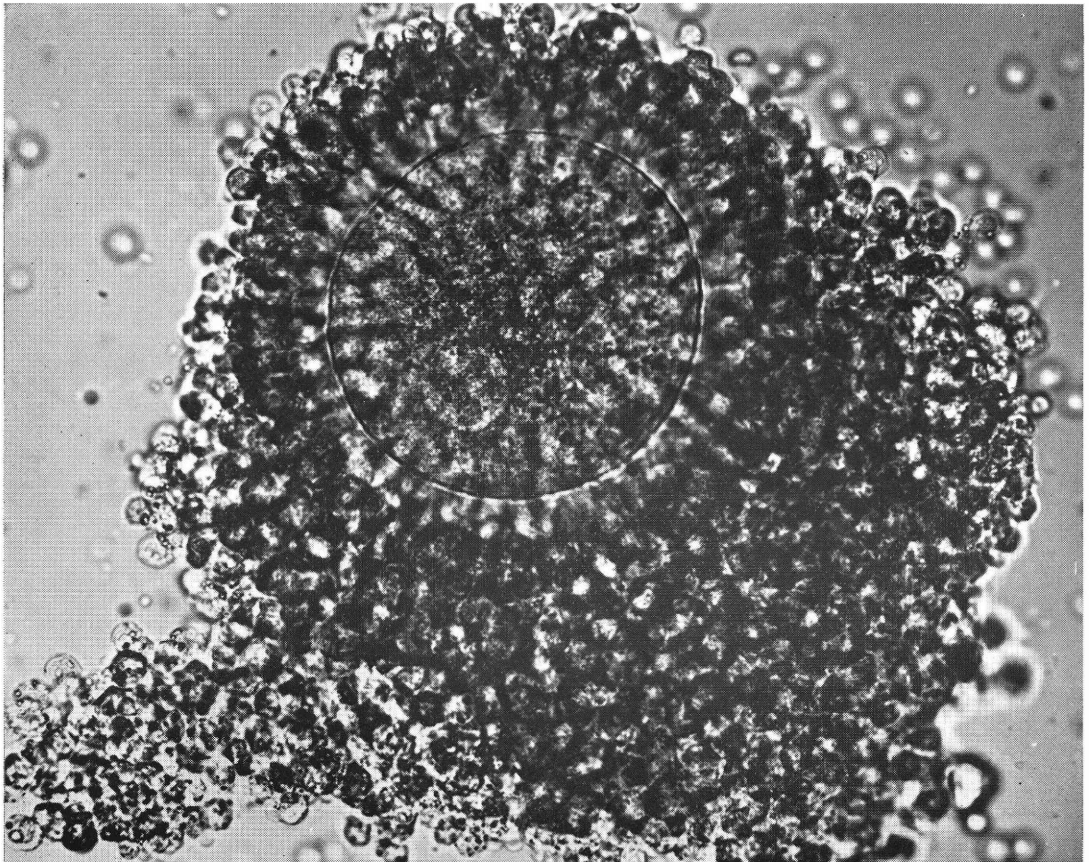


写真 16 卵胞より吸引採取された卵子と顆粒膜細胞(卵子を除去後培養系に移した)

不妊症患者血中の抗卵巣抗体に関する 臨床免疫学的研究

Autoantibodies to Ovarian Antigens in Infertile Women

京都大学医学部婦人科学産科学教室（主任：西村敏雄教授）

北川 道夫

Michio KITAGAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of
Medicine Kyoto University

(Director: Prof. Toshio Nishimura)

原因不明不妊症や原因不明無排卵症の成因を臨床免疫学的立場から検討する事を目的として、諸種病態の不妊患者193例、対照118例の血清を用い、その中の抗卵巣自己抗体の存在を、ウサギ卵巣を標的とした間接蛍光抗体法によつて追跡し以下の成績を得た。

蛍光像の局在からステロイド産生細胞に対する抗体と、卵細胞透明帯に対する抗体の2種を区別する事が出来た。前者の出現頻度は、無排卵症6.0%、原因不明不妊3.4%であつたが、対照群では全例陰性であつた。後者における出現頻度は、無排卵症7.5%、原因不明不妊10.3%であつたのに対し、対照群では出現しなかつた。蛍光像陽性患者の臨床記録から、ステロイド産生細胞に蛍光像を認めた患者には続発性無月経が、又透明帯に出現した患者では原発性又は続発性不妊が比較的特徴的であつた。以上の成績から抗卵巣抗体が、これら患者における不妊の発症に、病因的意義をもっている可能性が推想される。

緒 言

排卵障害を唯一の共通した徴候とする無排卵症は、成因の異なる諸種の病態を含んでいるが、これまでの臨床内分泌学的検討成績から、原因不明ないわゆる特発性無排卵症というカテゴリーの存在することが指摘されてきた^{1,2)}。これらの無排卵症に対し臨床免疫学的検討を加えた Mori ら³⁾の報告は、卵巣に対する自己抗体が発症要因として関与していることを示唆している。また Anderson ら⁴⁾、Bigazzi ら⁵⁾、Irvine ら⁶⁾は、時を同じくして特発性アジソン氏病患者血中に、副腎のステロイド産生細胞と反応する自己抗体を検出し、その病因的意義を強調しているが、これら自己抗体の中には、卵巣のステロイド産生細胞と交叉反応を示すものも存在することが指摘されている。

他方女性不妊のなかには、各種臨床検査を行つても原因不明なもの存在することは以前から知られており、いわゆる原因不明不妊 (unexplained sterility) と呼ば

れてきた。当教室の統計では全不妊症のおよそ20.6%を占めており⁷⁾、その成因の究明と治療法の確立がこの分野における重要課題の1つになつている。これら原因不明不妊患者血中には、抗精子抗体の存在が確認され、不妊の原因となることが指摘されているが、その頻度は精子不動化試験で検出した場合、原因不明不妊の18%程度であつて⁸⁾、そのすべてを説明できないことも事実である。最近になつて卵巣の抗原性に関する動物実験的知見が得られ始め、ハムスター卵巣の特異抗原の1つが卵細胞透明帯に局在していると報告されている⁹⁾。

もし原因不明不妊患者において、透明帯抗原に対する自己抗体が何等かの機序で産生されると、これが抗原側に結合して受精障害をもたらす、結果として不妊状態になる可能性は否定できない。

以上の如く原因不明の無排卵症や不妊患者において、抗卵巣自己抗体がその発症要因となつている可能性を検討する目的から、本研究では間接蛍光抗体法を用いて、抗卵巣抗体の存在を追求した。

実験材料と方法

1. 実験対象

田附興風会北野病院, 京都大学医学部附属病院, 国立京都病院, 兵庫県立塚口病院の各産婦人科外来で得た計 311 例の血清サンプルを検索対象とした. その臨床診断別内訳は, 無排卵症 134 例, 原因不明不妊症 29 例, 精子, 卵管異常などの既知の病因による不妊症 30 例の計 193 例に対し, 正常月経周期をもつた婦人 52 例, 正常妊婦 66 例の計 118 例を対照群に供した. 血清分離後直ちに凍結, -20°C で保存した. 補体を除去するため, 保存血清を使用直前に 56°C 30 分間インキュベートし, 非働化血清とした.

2. 蛍光抗体法

本研究では間接蛍光抗体法を用いたが, 具体的な手技は浜島ら⁸⁾の記載に従った.

標的組織: ヒト卵巣を用いることが理想的ではあるが, 通常の開腹時に得られる標本は, 発育, 成熟卵胞がきわめて少ないので, 体重 2.5~3.0kg の成熟ウサギ(静岡県浜松農協より購入)の卵巣の新鮮凍結標本を用いた. その理由は, モルモット, マウスと異なり, ウサギには異好抗原 (heterophile antigen) を含まないことによる. ウサギ卵巣を摘出後, ドライアイスでエチルアルコールを冷却しておき, その中にイソペンタン: アセトン (1:1) の混合液を入れたガラス容器を入れ, この溶液中に組織片を浸して, 瞬間的に凍結せしめた. これを O. C. T. Compound (Miles laboratories, Inc, Naperville Ill.) 中に包埋し, Dichlorodifluoromethane のスプレー (Aerosol, Marketing and chemical Co. Ltd, London) を用いて短時間のうちに凍結せしめ, -20°C で保存した. 凍結保存した組織片は, 原則として 24 時間以内, 遅くとも 3 日以内に使用した. 薄切はクリオスタット (Bright Instrument Co, Ltd, England) 中で厚さ 6μ の切片を数枚連続的に作成し, 室温で約 60 分自然乾燥後, 蛍光染色とヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色に供した.

FITC 標識 Conjugate: 抗ヒト IgG, IgA, IgM, kappa, lambda 家兎血清に, Fluorescein Isothiocyanate (FITC) を標識した Conjugate は Dakopatts A/S 社 (Copenhagen, Denmark, code # F 1009) より購入した. 色素: 蛋白 (F/P) の吸光度比は $E_{495m\mu}/E_{278m\mu} = 0.63 \pm 0.03$ であり, F/P のモル比は 1.86 であった. 使用直前に原液を磷酸緩衝生理食塩水 (phosphate buffered saline, PBS, 0.1M pH: 7.3) にて 8 倍稀釈した. その理由は後述の如く, 染色条件の検定成績に基づき, 対照血清を用いた場合の非特異蛍光像を完全に除去

し得る最小稀釈倍数であることを確認したためである.

染色手順: 無蛍光スライドガラス上に伸展した薄切切片を充分乾燥せしめたのち, PBS で 8 倍に稀釈した患者血清数滴を切片上に滴下, 標本の全表面を被うように液面をのばした. 37°C の恒温ふ卵器内に入れた moist chamber 中で 45 分間インキュベートし, 第 1 段階の反応を終了した. 終了後, 充分量の PBS 液中にて攪拌棒にてこれを攪拌しつつ, 少なくとも 5 分間浸して洗滌, これを 3 回繰返した. つぎに 8 倍に稀釈した FITC 標識抗ヒト免疫グロブリン数滴を切片上にのせ, 同様にその全面を被い, 37°C で 60 分間第 2 段階のインキュベーションを行なった. PBS によつて同様の洗滌操作を 3 回繰返し, 無蛍光グリセロール: PBS (9:1) の混合液にて水性封入した.

染色条件の検定: 蛍光抗体法とくに間接法では, 非特異的な蛍光像が出現しやすいことは, 一般に認められている. この非特異反応は, 血清蛋白や, 標識蛍光色素の非特異的吸着によることが知られているので, 非特異蛍光像を除去し得る染色条件を, あらかじめ設定しなければならない. この目的のために対照血清から 5 例の正常周期婦人と正常男子血清を選び, 血清および FITC conjugate を PBS で倍数稀釈した系列を作成し, 非特異像が完全に消失する最小稀釈倍数を求めた. その結果は表 1 に示す通りで, 血清, FITC conjugate ともに 8 倍稀釈すればよいことが知られた.

蛍光像の観察と記録: 蛍光像の観察はオリンパス落射型蛍光顕微鏡装置 (Model BH-RFL) にて行なった. また写真撮影はオリンパス自動露出撮影装置 (Model PM-10-A) を用い, Ektachrome-X (ASA 64) のフィルムにて写真撮影を行なった.

3. 臓器特異性の検定と血清の吸収操作

上述の染色条件で蛍光像が陽性に出現した場合, 間接蛍光抗体法の原理に基づき, 卵巣特異性の検定を臓器ホモジネートによる吸収テストによつて検定した. 吸収に用いた臓器は, 肝, 腎, 副腎, 睪丸および卵巣である. 臓

表 1 染色条件の検定成績

Conjugate 稀釈倍数	血清稀釈倍数						
	× 1	× 2	× 4	× 8	× 16	× 32	× 64
× 1	+	+	±	±	-	-	-
× 2	+	±	±	±	-	-	-
× 4	±	±	±	±	-	-	-
× 8	±	±	±	-	-	-	-
× 16	-	-	-	-	-	-	-
× 32	-	-	-	-	-	-	-
× 64	-	-	-	-	-	-	-

器ホモジネートによる吸収操作は Sacco and Shivers¹⁴⁾の方法に準拠した。すなわちウサギ肝、腎、副腎、辜丸または卵巣組織に等量の冷 PBS 液を加え、ガラスホモゲナイザーによってホモゲナイズし、50%の組織ホモジネートを作成した。被検血清に等量のホモジネートを加え、攪拌器にて攪拌したのち室温で30分静置、そのあと4°Cで12,000×g 30分間遠沈して沈渣を除去した。この上清に前記のホモジネートを吸収に用いた原血清と等量加え、同様の操作を行なったのち、4°Cで1夜放置した。翌朝同様の条件で遠沈し、上清を吸収血清とした。各臓器による吸収操作を連続2回ずつ行なうことによつて、原血清はそれぞれおよそ2倍に希釈されることになるが、PBSを追加して血清を希釈し、蛍光反応陽性を呈する最大希釈倍数を求め、この値が吸収前後でどのように変動するかを検定した。

4. ゲル内沈降反応

Ouchterloney 法に準じ寒天ゲル内重拡散法を行なった。この場合の抗原液には、卵巣重量の4倍量のPBSを加え、ガラスホモゲナイザーにて20%のホモジネートを作成し、4°Cで3,500回転、20分間の遠沈上清を用いた。蛍光像陽性反応を呈した22例の血清と反応させ、反応後7日間24時間おきに観察したが、いずれの症例も沈降線を検出することはできなかった。

実験成績

1. 蛍光像の特異性の検定成績

蛍光反応の卵巣に対する特異性を知るための吸収テストは、蛍光像が出現した全症例について行なったが、抗原の局在を異にする代表的な2例のテスト成績を表2に示した。症例村○多○では、卵細胞透明帯に局在した蛍光像は、肝、腎、副腎、辜丸のいずれの組織で吸収しても消失しなかったが、卵巣で吸収すると消失したので、卵細胞透明帯に出現した蛍光像は卵巣特異的であると判

定できた。しかしステロイド産生細胞に局在した蛍光像は、卵巣、辜丸、副腎などのステロイド産生細胞を含む組織によつて吸収すると消失しただけでなく、肝、腎臓で吸収しても消失したので、卵巣特異性があるとは判定できなかった。これに対し症例浜○和○において、ステロイド産生細胞に認められた蛍光像は、肝吸収で不変、腎吸収で最大希釈倍数が×32と低下したものの陽性像を呈し、辜丸や卵巣で吸収した場合のみ陰性となつたので、卵巣や辜丸に特異性があると判定できた。

2. 蛍光像の卵巣内局在

蛍光像の卵巣内局在は3種に大別することができた。その1つは卵胞の内莖膜細胞(図1)、黄体細胞(図2)ならびに間質細胞などのステロイド産生細胞に出現するものである。卵胞の形態像との関係を見ると、内莖膜細胞が分化したものであれば、発育、成熟、閉鎖卵胞のいかんを問わず蛍光反応は陽性であつたが、顆粒膜細胞にはいずれの型の卵胞でも検出されなかった。ステロイド産生細胞における蛍光像は、内莖膜細胞や黄体細胞では強く、間質腺細胞における反応は比較的弱い。そしてこれらの細胞における蛍光像の出現様式は、核を除く細胞質全体にび漫性に現われていた。第2の局在は卵細胞の透明帯(図3)であり、たいいては透明帯の全層に均質な蛍光像として認められるが、症例によつては透明帯外層に鋭い線状の蛍光像を呈する場合もあつた。第3のそれは卵細胞の核を含む卵巣細胞の核(図4)である。この場合には核内にび漫性、均質な蛍光像として現われる場合と、顆粒状の蛍光像として認められる場合とが区別されたが、卵巣のほか肝、腎等の核にも同様に出現したため、抗核抗体であろうと思われた。これらの蛍光像の分布から、抗卵巣抗体には少なくとも2種が区別されることが明らかとなつた。

3. 蛍光像の出現頻度

局在別にみた蛍光像の出現頻度は表3に示した通りで

表2 吸収テストによる臓器特異性の検定成績

吸収臓器	村○多○		浜○和○	
	卵細胞透明帯	ステロイド産生細胞	卵細胞透明帯	ステロイド産生細胞
無吸収	×8	×16	—	×64
卵巣	—	—	—	—
肝臓	×8	—	—	×64
腎臓	×8	—	—	×32
副腎	×8	—	—	×16
辜丸	×8	—	—	—

註：数字は血清の最大希釈倍数

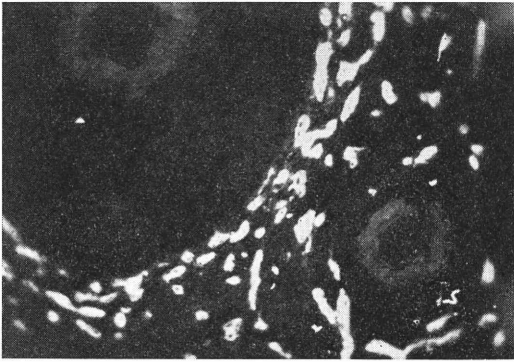


図 1 ウサギ成熟卵胞の夾膜細胞と間質腺細胞に出現した螢光像

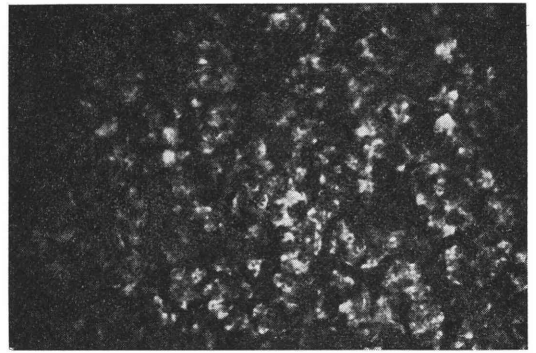


図 2 ウサギ黄体細胞に出現した螢光像

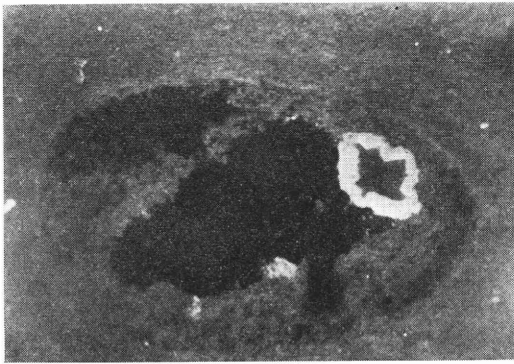


図 3 ウサギ卵細胞透明帯に出現した螢光像

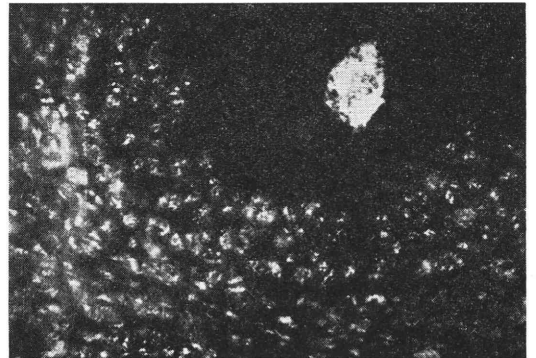


図 4 卵細胞を含むウサギ卵巢細胞核に出現した螢光像

表 3 抗卵巢抗体の出現頻度

	例数	ステロイド産生細胞		卵細胞透明帯陽性例	
		陽性例	陽性率%	陽性例	陽性率%
無排卵症	134	8	6.0	10	7.5
無排卵周期	44	1	2.3	6	13.6
第1度無月経	56	2	3.6	3	5.4
第2度無月経	25	4	16.0	1	4.0
無排卵出血	9	1	11.1	0	0
原因不明不妊	29	1	3.4	3	10.3
精子, 卵管異常不妊	30	0	0	0	0
計	193	9	4.7	13	6.7
対 照 例					
正常月経婦人	52	0	0	0	0
正常妊婦	66	0	0	0	0
計	118	0	0	0	0

ある。ステロイド産生細胞に対する抗体は、無排卵症では6.0%、原因不明不妊では3.4%、平均4.7%となっているのに対し対照群では全例陰性であった。無排卵症の

臨床診断別にみた場合の出現頻度は、第2度無月経や無排卵出血に高く、第1度無月経や無排卵周期では低い。他方透明帯における螢光像の出現頻度は、無排卵症で

表 4 抗ステロイド産生細胞抗体陽性例の臨床記録

症例番号	氏名	年齢	臨床診断	初潮	月経歴	妊娠歴	備考
1		32	第2度無月経	12	24歳まで12年間整以後無月経	7年間不妊	クロミヘン+PMS+hCG HMG+hCGとも無効 LH-RH テスト過剰反応
2		30	第2度無月経	12	初潮以来不整稀発月経型	1年間不妊	クロミヘン無効 T ₈ 高値 LH-RH テスト過剰反応
3		35	第2度無月経	18	初潮以来不整稀発月経型		クロミヘン無効
4		30	第2度無月経	14	初潮以来不整稀発月経型23歳以来無月経	27歳満期分娩以後3年間不妊	クロミヘン無効 PMS+hCG 有効
5		33	第1度無月経	14	初潮以来16年間整30歳より無月経		クロミヘン有効 30歳で脾膵
6		23	第1度無月経	13	初潮以来8年間整20歳より無月経	未婚	甲状腺機能低下 LH-RH 反応良好 クロミヘン無効
7		33	無排卵周期	11	初潮以来不整	21歳で2回流産以後9年間不妊	クロミヘン有効
8		20	無排卵出血	12	初潮以来不整稀発月経型	未婚	クロミヘン有効
9		28	原因不明不妊	14	初潮以来整	28歳流産	クロミヘン有効 トキソプラズマ抗体×8192

表 5 抗透明帯抗体陽性例の臨床記録

症例番号	氏名	年齢	臨床診断	初潮	月経歴	妊娠歴	備考
1		35	続発性第2度無月経	18	初潮以来稀発月経型	0	
2		26	無排卵周期	12	初潮以来稀発月経型	4年間不妊	
3		26	無排卵周期	13	不整23~60日型	19歳で中絶	
4		30	稀発月経型	12	26歳以来不整	0	
5		30	続発性第1度無月経	13	初潮以来稀発月経型	8年間不妊	
6		26	続発性第1度無月経	14	18歳以来不整	3年間不妊	
7		26	無排卵周期	13	25歳以来不整	0	子宮發育不全
8		31	続発性無月経	14	初潮以来不整	0	
9		30	続発性無月経	19	初潮以来稀発月経型	0	双角子宮
10		21	続発性第1度無月経	14	17歳以来稀発月経型	未婚	
11		46	原因不明不妊	15	初潮以来30年間整	0	更年期
12		31	原因不明不妊	15	初潮以来月経整	25, 26歳流産1回満期分娩	帝王切開
13		28	原因不明不妊	13	初潮以来月経整	1回満期分娩以後不妊	帝王切開

7.5%, 原因不明不妊10.3%と後者で高く, 平均6.7%となっており, 対照群の0%に比し有意に高い。

4. 螢光像陽性患者の臨床記録

ステロイド産生細胞に螢光像陽性反応を呈した症例9例の臨床記録を表4に一括して示した。全例に共通した臨床的特徴は認め難いが注目されるのは月経異常のパターンである。初潮はとくに遅れることはないが, 初潮以来不規則かまたは一定期間規則的な月経発来をみたのち無月経に移行する。つまり続発性無月経か早発閉経のパターンをとることが多い。ゲスターゲン・テストには反応しない第2度無月経が9例中4例を占めているが, 原因

不明不妊の1例も含まれていた。各種治療法に対する反応をみると, クロミヘンによる排卵誘発治療には抵抗を示すことが多いがゴナドトロピン療法に反応した症例としない症例とが各1例含まれていた。卵細胞透明帯に螢光像陽性反応を呈した症例13例の臨床記録を表5に一括して示してある。月経歴にはとくに一定の傾向を認めず, 排卵障害のあるものとなないものの両者が含まれていた。妊娠歴の上から3~8年間にわたる原発性, あるいは続発性不妊を指摘することができた。

5. 螢光像陽性患者の血中 FSH, LH 値

螢光像陽性患者のうち, 血中卵胞刺激ホルモン (FSH)

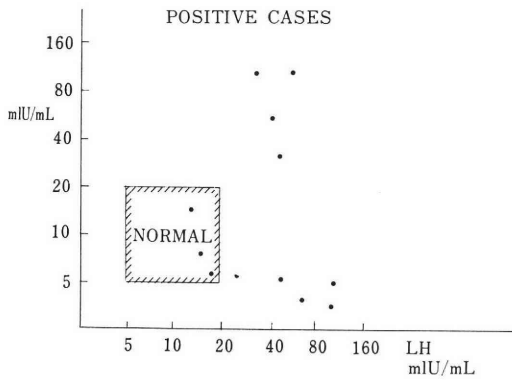


図 5 抗卵巣抗体陽性患者血中の FSH, LH.

と黄体化ホルモン (LH) を測定することのできた14例の測定値を図5に示した。LHは全例正常かまたは高値を示し、FSHは4例で低値を示したほかは、正常または高値を示した。しかし FSH, LH のいずれもが低値を示した症例は存在しなかった。

考 按

Isojima and Stepus¹⁰⁾の先駆的な検討では、モルモット卵巣には、異種免疫系でも同種免疫系でも卵巣の特異抗原は確認されておらず、以来卵巣には、臓器特異抗原はないものと考えられてきた。しかしつい近年になつて再検討された結果、ハムスター⁹⁾、ウサギ¹¹⁾、ヒト¹²⁾卵巣には、1~2本の特異沈降線によつて証明され得る特異抗原が存在するとの報告が相次いで発表されている。本研究の意図するところが抗卵巣自己抗体の存在を追求することであるから、本来は標的組織としてヒト卵巣を用いることが理想的ではある。しかしヒト卵巣にはけつ歯類卵巣と異なつて卵胞要素がきわめて少なく、さらに標本収集上の年齢的制約もあるため、止むを得ずウサギ卵巣を用いた。ウサギ諸臓器による血清の吸収テストによつて、出現した蛍光像の卵巣特異性は確認されたものの、上述した卵巣特異抗原がヒトとウサギの間に種をこえて共通するかどうか目下のところ確認されていないので、ウサギ卵巣を用いて得られた本研究の知見が、最終的にヒトに適用し得るか否かの評価はなお慎重でなければならないであろう。副腎のステロイド産生細胞に対する抗体が特異性アジソン氏病患者血中に出現することを見出した Anderson ら⁴⁾、Bigazzi ら⁵⁾、Irvine ら⁶⁾の報告によると、少数例にみられる抗体は卵巣の内葉膜細胞や黄体細胞、睪丸の間質細胞、胎盤の絨毛上皮細胞などのステロイド産生細胞と交叉反応を示すことが知られている。他方 Mori ら¹³⁾は、無排卵症の患者血清と、治療的目的で楔状切除を行なつた自己卵巣とを反応させ

た場合、卵胞液、ステロイド産生細胞などに蛍光像が出現するのを認め、排卵障害の免疫学的因子として重視している。本研究で、ステロイド産生細胞に陽性の蛍光反応を示した症例の、血中 FSH, LH 測定値から、これらの症例は何れも卵巣原発性の無排卵症であり、下垂体不全に続発したものでないことは明らかであるので、ステロイド産生細胞に対する抗体が、排卵障害の要因となっている可能性は充分考えられ、今後ヒト卵巣を標的としてさらに厳密な検討を要すると考えられる。

ステロイド産生細胞に対する抗体が、その生物活性によつて無排卵状態をもたらし得るかどうかは、この種の抗体の病因的意義を確立する上に重要な鍵となるであろう。これを証明するには、抗体の受働免疫によつて動物実験的に無排卵状態が惹起されるか否かをテストしてみなければならないので、この点も今後の重要な研究課題であろう。抗ステロイド産生細胞抗体の病因的意義を考察する上で、排卵過程が卵胞のステロイド産生機能に依存するという実験的事実は¹⁴⁾、きわめて示唆に富んでいる。教室 Suzuki ら¹⁵⁾の検討成績によると、成熟卵胞が排卵刺激をうけたあとの排卵過程で、性ステロイド生合成機能は急激な量的亢進と質的変動をとげるが、抗プロゲステロン抗血清を投与すると、その後起こるべき排卵が抑制されることも実証されている¹⁶⁾。もしステロイド産生細胞に対する抗体によつてステロイド産生細胞の機能が障害をうけると、排卵が抑制される可能性は高い。そして無排卵症卵巣の形態像、組織化学的所見から、Mori ら¹⁷⁾は一旦無排卵状態が成立すると、性上位部と卵巣との間に悪循環が生じ、卵胞の閉鎖過程が進行して、高度の卵巣機能不全に陥入ることを指摘している。この抗体が陽性であつた患者の臨床像で、早発閉経という特徴的な月経異常のパターンが認められた事実から、卵巣のステロイド産生細胞の機能が進行性に障害をうけているとみなされるのであつて、ヒト卵巣を標的組織として、ステロイド産生細胞に対する抗体を認めた Moraes-Ruehsen ら¹⁸⁾の報告とも符合している。

他方卵細胞透明帯に蛍光像が証明された患者では、排卵の有無にかかわらず長期間の不妊が認められた。ウサギ卵巣に対する特異抗体の抗原結合部位を間接蛍光抗体法で追跡した Sacco and Shivers ら¹⁹⁾の報告によると、閉鎖卵胞の内葉膜細胞と卵細胞透明帯であつたという。さらに動物実験的には、抗卵巣抗体は生体外 (in vitro) で精子の卵子内への貫通を阻害するのみならず、抗血清の受身移入によつて生体内 (in vivo) でも妊孕力を低下せしめることがハムスター^{20,21)}、マウス²²⁾やラット²³⁾で証明されている。本研究で透明帯に蛍光像を認めた患者血中の抗体が、同様の機序で受精障害をもたらしてい

る可能性は高いが、標的組織にウサギ卵巣を用いている点でなお断定し難い。最近ヒトならびにブタ卵細胞透明帯との間に、共通抗原性が証明されている事実から²⁴⁾、Mori ら²⁵⁾はブタ卵細胞を標的組織として、原因不明不妊症患者に抗透明帯自己抗体の存在を証明し、最終的にこの抗体がヒト卵細胞と反応する IgG 抗体であることを確認しているが²⁶⁾、これは本研究の検討成績を裏付けるものといえよう。原因不明不妊の発症における抗透明帯抗体の病因的意義を確立するには、この抗体の受精阻害作用が証明されなければならず、この点に関する検討が今後の緊急課題であると考えられる。

結 論

ウサギ卵巣を標的とした間接蛍光抗体法を用いて、無排卵症を含む不妊症患者血清中における抗卵巣自己抗体の存在を検討し、以下の成績を得た。

1) 蛍光像の局在からみた場合、抗卵巣抗体には2種が区別された。すなわちステロイド産生細胞に対する抗体と、卵細胞に対する抗体である。

2) ステロイド産生細胞に対する抗体の出現頻度は、無排卵症134例中8例(6.0%)、原因不明不妊29例中1例(3.4%)であつたが、精子卵管異常による不妊症、正常月経周期婦人、正常妊婦などでは出現しなかつた。

3) 卵細胞透明帯に対する抗体の出現頻度は、無排卵症134例中10例(7.5%)、原因不明不妊29例中3例(10.3%)であつたが、精子卵管異常による不妊症患者や、正常対照群では出現しなかつた。

以上の検討成績は、これら2種の抗体が原因不明の無排卵症や、不妊症の発生に関与している可能性を示唆するものであり、その病因的意義について考察した。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜つた恩師西村敏雄教授に深甚なる謝意を表します。また直接御指導いただいた森崇英講師に心から感謝致しますと共に、御教示いただいたニューヨーク州立バツファロー大学狩野恭一教授、また検体の御提供を賜つた北野病院下村虎男博士、国立京都病院清水保博士、兵庫県立塚口病院阪井耕博士に深謝致します。

本研究の一部は、第3回日本臨床免疫学会、第20回日本不妊学会、第48回日本内分泌学会総会、第23回西日本内分泌学会において発表した。

文 献

1) 西村敏雄, 森 崇英, 本橋 亨, 北川道夫, 麻生武志: 無排卵症卵巣の形態分類に関する臨床内分泌学的研究, 第1編, 病態像の臨床内分泌学的分析, 日内分泌会誌, 46: 79, 1970.

2) 西村敏雄, 森 崇英, 本橋 亨, 北川道夫, 麻生武志: 無排卵症卵巣の形態分類に関する臨床内分泌学的研究, 第2編, 無排卵症卵巣の形態学的研究, 日内分泌会誌, 46: 89, 1970.

3) Mori, T., Kasai, K., Tojo, S. and Nishimura, T.: Endocrinological and Morphological Studies on Human Anovulatory Ovaries (Including Immunological Study): p. 775, Proceedings of the Third Asia of Ocean Congress of Endocrinology, Part II, 1967.

4) Anderson, J. R., Goudie, R. B., Gray, K. and Stuart-Smith, D. A.: Immunological Features of Idiopathic Addison's Disease: An Antibody to Cells Producing Steroid Hormones. Clin. exp. Immunol. 3: 107, 1968.

5) Bigazzi, P. L., Andrada, J. A., Andrada, E. C., Beutner, E. H. and Witebsky, E.: Immunofluorescence Studies on Addison's Disease. Int. Arch. Allergy. 34: 455, 1968.

6) Irvine, W. J., Hartag, M., Bayliss, R. I. S., Ddury, M. I., Kolb, F. O., Scarth, L. and Chan, M. M. V.: Immunological Aspects of Premature Ovarian Failure Associated with Idiopathic Addison's Disease, Lancet II: 883, 1968.

7) 西村敏雄, 杉本 修, 矢野弘之, 林 俊郎, 鈴木瞭, 広崎彰良, 池谷東彦, 道本知子, 横山重喜: 不妊に関する統計, 第1編, 不妊原因についての統計的観察, 日不妊会誌, 12: 26, 1967.

8) Isojima, S., Tsuchiya, K., Koyama, K., Tanaka, C., Naka, O. and Adachi, H.: Further Studies on Sperum-Immobilizing Antibody Found in Sera of Unexplained Cases of Sterility in Women, Am. J. Obstet. Gynec. 112: 199, 1972.

8') 浜島義博, 京極方久: 蛍光抗体による染色の実際, 免疫組織学, p. 90, 医学書院, 東京, 1965.

9) Ownby, C. L. and Seivers, C. A.: Antigens of the Hamster Ovary and Effects of Antiovary Serum on Eggs. Biol. Reprod. 6: 310, 1972.

10) Isojima, S. and Stepus, S.: Antigenicity of Guinea Pig Testis and Ovary, Int. Arch. Allergy. 15: 350, 1959.

11) Sacco, A. G. and Shivers, C. A.: Antigens of the Rabbit Ovary, Oviduct and Uterus. J. Reprod. Fert. 32: 403, 1973.

12) Bailey, C. E., Evans, T. N., Weiner, L. M. and Moghissi, K. S.: Studies of Antigenicity of Human Ovarian Tissue. Am. J. Obstet. Gynecol. 114: 639, 1972.

13) Mori, T., Kasai, K., Suzuki, A., Kitagawa, M. and Nishimura, T.: An Immunological Factor in the Etiology of Human Ovarian Failure. Acta Obstet. Gynecol. Jap. 21: 110, 1974.

- 14) Lipner, H. and Greep, R. O. : Inhibition of Steroidogenesis at Various Sites in the Biosynthetic Pathway in Relation to Induced Ovulation. *Endocrinology*. 88 : 602, 1971.
- 15) Suzuki, A., Mori, T. and Nishimura, T. : Changes in Steroidogenesis by Isolated Rabbit Ovarian Follicles in vitro during the Preovulatory Interval with Emphasis on Active Androgen Production. *Endocrinologia Japon.* 24 : 129, 1977.
- 16) Mori, T., Suzuki, A., Nishimura, T. and Kambegawa, A. : Inhibition of Ovulation in Immature Rats by Anti-Progesterone Antiserum. *J. Endocr.* 73 : 185, 1977.
- 17) Mori, T. : Histological and Histochemical Studies of Human Anovulatory Ovaries Correlated with Endocrinological Analyses. *Acta Obstet. Gynecol. Jap.* 16 : 156, 1969.
- 18) Moraes-Ruehsen, M., Blizzard, R. M., Garcia-Bunnell, R. and Jones, G. S. : Autoimmunity and Ovarian Failure. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 112 : 693, 1972.
- 19) Sacco, A. G. and Shivers, C. A. : Localization of Tissue-Specific Antigens in the Rabbit Ovary, Oviduct and Uterus by the Fluorescent Antibody Technique. *J. Reprod. Fert.* 32 : 415, 1973.
- 20) Oikawa, T. and Yanagimachi, R. : Block of Hamster Fertilization by Anti-Ovary Antibody. *J. Reprod. Fert.* 45 : 487, 1975.
- 21) Tsunoda, Y. and Chang, M. C. : In vivo and In vitro Fertilization by Hamster, Rat and Mouse Eggs after Treatment with Anti-Hamster Ovary Antiserum. *J. exp. Zool.* 195 : 409, 1976.
- 22) Jilek, F. and Pavlok, A. : Antibodies against Mouse Ovaries and Their Effect on Fertilization in Vitro and in vivo in the Mouse. *J. Reprod. Fert.* 42 : 377, 1975.
- 23) Tsunoda, Y. and Chang, M. C. : The Effects of Passive Immunization with Hetero and Isoimmune Anti-Ovary Antiserum on the Fertilization of Mouse, Rat and Hamster Eggs. *Biol. Reprod.* 15 : 361, 1976.
- 24) Sacco, K. G. : Antigenic Cross-Reactivity Between Human and Pig Zona Pellucida. *Biol. Reprod.* 16 : 164, 1977.
- 25) Mori, T., Nishimoto, T., Kitagawa, M., Noda, Y., Nishimura, T. and Oikawa, T. : Possible Presence of Autoantibodies to Zona Pellucida in Infertile Women. *Experientia*

in press.

- 26) Mori, T., Nishimoto, T., Nishimura, T. and Oikawa, T. : Specificity and immunoglobulin class of autoantibodies to zona pellucida in infertile women : Submitted for publication.

Autoantibodies to ovarian antigens in infertile women

Michio Kitagawa

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Kyoto University
(Director : Prof. Toshio Nishimura)

In an attempt to examine the presence of autoantibodies to ovarian antigens in sera of infertile women, a total of 193 serum samples from infertile patients with idiopathic ovulatory failure, unexplained sterility or with known etiology were tested by the indirect immunofluorescent technique using fresh rabbit ovaries as targets. One hundred and eighteen serum samples from normal non-pregnant and pregnant women were served as controls. Specificity of the detected fluorescence was verified by absorption of the sera with homologous kidney, liver and ovary.

Two distinct localizations of immunofluorescence were observed in the ovary ; one is in the steroid-producing cells and the other is in the zona pellucida of oocytes. The incidence of fluorescence appearing in the steroid-producing cells was 6.0% in sera of the patients with ovulatory failure, 3.4% of the patients with unexplained sterility, while none of the control sera produced fluorescence. Positive fluorescent reactions in the zona pellucida were detected in 7.5% in sera of patients with ovulatory failure, 10.3% of patients with unexplained sterility, whereas none of the control sera showed fluorescence. The patients with positive fluorescent reactions in the steroid-producing cells were characterized by an association with secondary amenorrhea in their clinical records, while the patients with positive fluorescence in the zona suffered longstanding sterility. The autoantibodies detected in these patients may be involved in the development of sterility as potential etiologic factors.

(受付 : 昭和53年3月17日, 特掲)

Field stimulation に対する摘出ヒト卵管の反応 に及ぼす低濃度 prostaglandin E₁, indomethacin の影響

The Influence of Low Dose Prostaglandin E₁ and Indomethacin on
the Response of Isolated Human Oviducts to Field Stimulation

九州大学温泉治療学研究所産婦人科 (主任: 門田徹教授)

是永 勉 夫 松岡 幸一 郎

Michio KORENAGA Koichiro MATSUOKA

羽 野 義 孝 山 本 シ ズ エ

Yoshitake HATANO Shizue YAMAMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of

Balneotherapeutics, Kyushu University

(Director: Prof. Toru Kadota)

摘出ヒト卵管峡部縦走筋の外因性 noradrenaline に対する反応, field stimulation に対する反応, およびこれらの反応におよぼす低濃度 prostaglandin E₁, indomethacin の作用を観察し, 次の結果を得た. (1) noradrenaline 10⁻⁶g/ml に対する反応と field stimulation (1 msec., 10 pulses/sec., 10 sec.) に対する反応とは有意の相関があつた. (2) noradrenaline に対する収縮量/自発収縮量 (NA 反応度) は卵胞期後期に大であつた. また, 血中 estradiol 値を外因性ホルモンにより異常に高くしても NA 反応度は大きな値を示さなかつた. (3) 個体差はあるが, 性周期を有する10例中9例において, prostaglandin E₁ (2×10⁻¹¹~2×10⁻⁹g/ml) が field stimulation (10 pulses/sec.) に対する反応を抑制した. また, 外因性 noradrenalin に対する反応に及ぼす作用とは差異があり, pre-junctional 作用を示唆した. (4) indomethacin 投与により field stimulation に対する反応は大きくなり, 内因性 prostaglandins の筋神経抑制作用を示唆した.

はじめに

Prostaglandins (以下 PGs と略記する) の摘出ヒト卵管平滑筋に対する作用については, Sandberg¹⁾や, Fernandez²⁾の報告があり, in situ では microballoon を用いた Coutinho³⁾や, 通水法を用いた山田ら¹⁰⁾の報告がある. 一方, ヒト卵管平滑筋に adrenergic receptor の存在が報告されており, われわれ¹³⁾も確認している. また, 中西ら¹⁵⁾や, 是永ら¹⁴⁾は, 摘出ヒト卵管の交感神経の機能を観察し, Coutinho⁶⁾は in situ で卵管運動の観察を行い, out-burst は交感神経終末よりの noradrenaline (以下 NA と略記する) の local release によるものであろうと推測し, in situ の卵管運動の因子

として, 支配神経及び transmitter の作用を考慮する必要があると考えられ, 従つて, 生体内卵管運動に及ぼす PGs の作用を考慮するときは, 筋自体への作用と共に, 卵管支配神経及びその transmitter の遊離に対する PGs の作用を調べる必要がある.

自律神経に対する PGs の作用は, 動物の種や器管により様々であり²⁾, Hedqvist^{8,9,10)}はモルモットの輸精管や精嚢を用いて, PGE 系が交感神経よりの NA 放出を抑制したと報告し, ウサギ卵管においては, Brundin⁹⁾は低濃度 PGE₁ が, 下腹神経刺激や NA に対する反応を抑制することを観察し, Paton¹²⁾は摘出ウサギ卵管輸状筋において, PGE₂ の神経終末よりの NA 放出抑制作用を示唆した.

ところで、ヒト卵管には PGs の存在が証明されており¹⁷⁾、輸精管¹⁰⁾や、ウサギ卵管の研究¹²⁾を参考にすると、PGs が卵管運動をコントロールしていることが考えられる。

今回われわれは、卵管の支配神経調節に及ぼす外因性低濃度 PGE₁、及び内因性 PGs の作用を観察するため、以下の実験を行った。

1. 実験材料ならびに実験方法

実験方法の詳細については、既に報告¹⁴⁾しているので、以下略記する。

実験 1：子宮頸癌初期 6 例，子宮筋腫 11 例の計 17 例より，開腹手術時に得られた 20 卵管を用いた（3 例は両側卵管を用いた）。標本としては、漿膜を剝離した isthmus 部 1.5cm を用い、実験は卵管摘出後 12 時間以内に開始した。field stimulation（以下 FS と略記する）の条件は、pulse duration：1 msec.，intensity：8.5v/cm，10 sec. とし、frequency：10 pulses/sec.（以下 pps と略記する）を主として用いた。PGE₁ 濃度は $2 \times 10^{-11} \sim 2 \times 10^{-8}$ g/ml を用いた。

性周期の決定にあたっては、黄体期を 14 日として既往周期より推定した。なお、基礎体温及び血中 estradiol，progesterone を測定できた若干名については、それを参考にした。

実験 2：6 例より得た卵管 isthmus 部 1.5cm を縦方向に 2 分し、一方をコントロールとし、他方には indomethacin を 45 分間灌流した。FS 条件は、pulse duration：1 msec.，intensity：10 v/cm，frequency：10 pps，10 sec. とした。

2. 実験結果

17 例中、閉経期 1 例，卵胞期 5 例，黄体期 7 例，Primosiston (17-alpha-hydroxyprogesterone caproate 250 mg, estradiol benzoate 10mg) 投与例 4 例であった。

実験開始より 1 時間後の自発運動は、収縮頻度 6 ~ 32/min.，収縮量 0.04 ~ 0.8g 重であった。性周期による差異は、症例も少ないため見出せなかった。ただ、自発収縮量が大きい例は Primosiston 投与例や黄体期例に認められた。

NA の dose response 関係は、3 例につき観察した。10⁻⁶g/ml に対する反応を 100% とすると、10⁻⁷g/ml で 45 ~ 80%，10⁻⁸g/ml で 0 ~ 21% であった。NA 10⁻⁶g/ml に対する反応は、16 例につき観察したが、最大反応は 1.9g 重であった。NA に対する反応を観察すると、自発収縮量の大きい例程、NA 反応が大きい傾向にあり、今回 NA 反応度として NA 反応量を自発収縮量で除し

た値を用いた (NA 反応度 = NA 反応量 / 自発収縮量)。

FS 50pps に対する反応は、phenolamine, phenoxybenzamine, guanethidine により著明に低下ないし消失することを示した¹⁴⁾が、FS 2.5 ~ 20pps. に対する反応も同様に消失した。FS 10pps. に対する反応は、最大 1.3g 重であり、NA 反応度と同様に、反応量を自発収縮量で除した値を反応度とした (FS 反応度 = FS 反応量 / 自発収縮量)。

Fig. 1 は、NA 10⁻⁶g/ml に対する反応度と、FS 反応度 (10pps. 刺激時) との関係を示した 16 卵管につきプロットした図である。FS 反応度が NA 反応度より大きかった例は 4 例、同じ例は 3 例、小さかった例は 9 例であった。これらの相関係数は 0.88 で有意の相関があった (p = 0.01)。

NA 反応度を X，FS 反応度を Y とすると、回帰方程式は、 $X = 0.75Y + 0.23$ ， $Y = 1.04X + 0.59$ である。Primosiston 投与例が 4 例あるが、それらの図上での偏在は認められなかった。

Fig. 2 は、月経周期と FS 反応度 (実線)，NA 反応度 (破線) との関係を示した図である。黄体期に比べ卵胞期後期の NA 反応度は、5，7.1，10，と大きかった。しかし、同時期の FS 反応度の値は NA 反応度程大きくはなかった。day (-8)，(-9)，の例は、摘出直前に

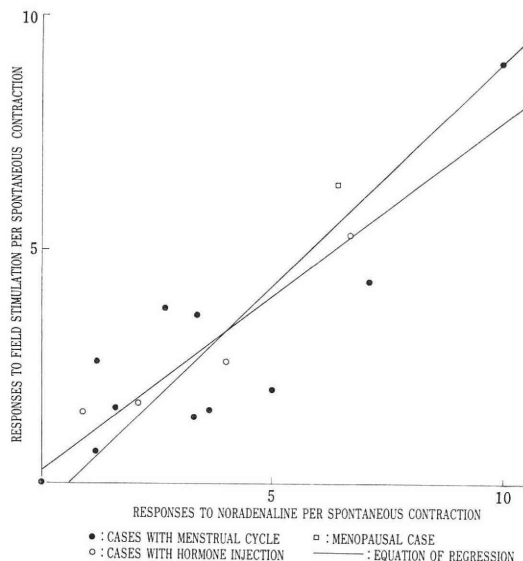


Fig. 1 The correlation of responses to noradrenaline and field stimulation. Noradrenaline: 10⁻⁶g/ml., Field stimulation: 1 msec., 10 pulses/sec. for 10 sec. The response to noradrenaline is correlative with that to field stimulation. The correlation coefficient is significant (r = 0.88).

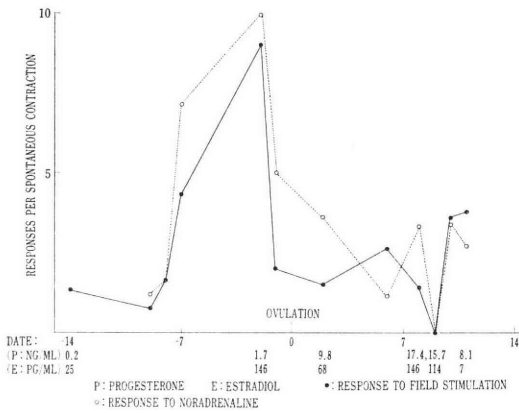


Fig. 2 The rate of responses to noradrenaline and field stimulation per spontaneous contraction through menstrual cycle.

Noradrenaline : 10⁻⁶g/ml., Field stimulation : 1 msec., 10 pulses/sec. for 10 sec. The response to noradrenaline in the late proliferative phase is higher than the others.

結合型 estrogen の Romeda が静注された例であり, day (-14) の例も摘出 6 日前に Romeda が投与されている. 当然のことながら, 黄体期例は血中 progesterone の値は高く, 黄体期中期の 2 例はとくに高かった.

Fig. 3 は, 横軸に Primosiston 投与後摘出までの日数, 縦軸に反応度を取り, 4 例につきプロットした図である. 2 日目に比べ 7 日目の例の反応は, NA 反応度, FS 反応度ともに小さい. 血中 estradiol 濃度は, 日がたつにつれて減少していたが, いずれの場合も Primosiston 非投与例に比べて高かった. 測定した 3 例の progesterone 値は, 2.7ng/ml 以下と低かった.

PGE₁ の FS 反応に及ぼす作用は, 11 例につき観察した. PGE₁ の投与後約 2 分 30 秒および 5 分 30 秒後の FS 反応におよぼす作用を観察したが, 1 例を除いて 1 回目の FS 時にその抑制は最大であつた. FS 反応は, 11 例中 6 例において, PGE₁ 洗滌除去しても投与前の大きさに復帰せず, 10% 以上の反応の減弱を示した例が 4 例あつた.

一方, NA 反応の場合は反応が大きくなつた例が 4 例あつたが, FS 反応の様に減弱した例はなかつた.

FS 反応抑制率としては, tachyphylaxis に無関係に, 各 PGE₁ 投与直前直後の値を用いた.

Fig. 4 には, その FS 反応抑制率を各濃度につき示した. 実線は初回投与の場合であり, 破線は 2 回目以後の投与時の抑制率である. 初回に 2 × 10⁻¹⁰g/ml を投与した 8 例, 2 × 10⁻⁹g/ml 投与した 2 例, 2 × 10⁻¹¹g/ml

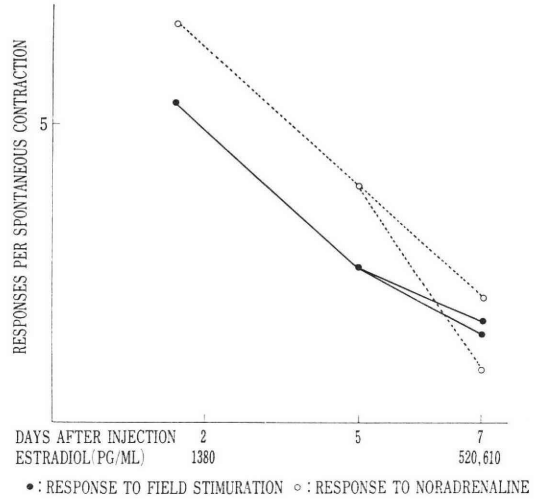


Fig. 3 Effect of the administration of 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate 250mg and estradiol benzoate 10mg on the rate of responses to noradrenaline and field stimulation per spontaneous contraction.

Noradrenalin : 10⁻⁶g/ml., Field stimulation : 1 msec., 10 pulses/sec. for 10 sec. Concentrations of plasma estradiol at each point are higher than in normal menstrual cycle but the rate of responses is not so high and decreases gradually after administration.

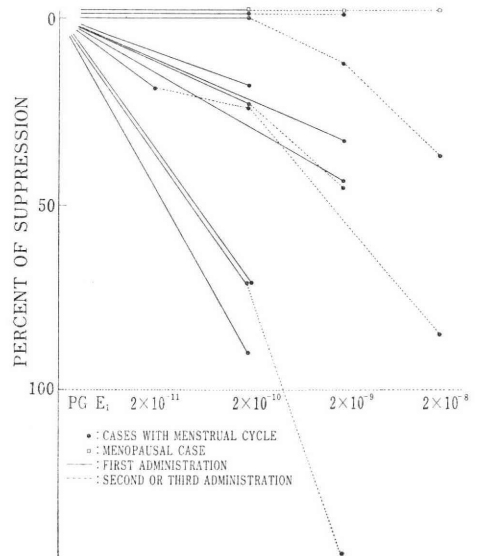
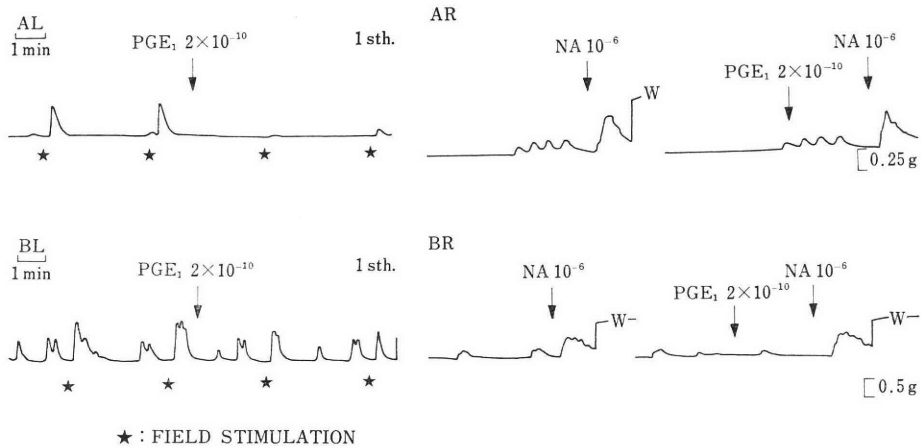


Fig. 4 The influence of prostaglandin E₁ on the response to field stimulation (1 msec. 10 pulses/sec. for 10 sec.). In the cases with menstrual cycle, responses to field stimulation are suppressed by prostaglandin E₁ with varying degrees except one case.



★ : FIELD STIMULATION
 Fig. 5 The influence of prostaglandin E₁ on responses to noradrenaline and field stimulation. Noradrenalin : 10⁻⁶g/ml., Field stimulation : 1msec., 10 pulses/sec. for 10 sec. These experiments were performed independently with bilateral oviducts (AR: right, AL: left, BR: right, BL: left). Upper : Response to field stimulation is apparently suppressed but not response to noradrenaline. Lower : Response to field stimulation is slightly suppressed but the response to noradrenaline is slightly enhanced.

投与した 1 例の計 11 例につき示した。抑制率は 2 × 10⁻¹⁰ g/ml の場合、最大 90% であつたが、3 例は抑制されなかつた。1 例は 2 回目投与時 2 × 10⁻⁹g/ml で抑制が起つたが、他の 2 例は更に濃度を上げて抑制は起らなかつた。2 × 10⁻⁹g/ml 初回投与の 2 例と同じ様に、2 × 10⁻¹¹ g/ml の 1 例でも FS 反応抑制が観察された。

2 回目投与は、3 例につき濃度を減少させ、他の例は同一濃度を反復するか、濃度を上げて観察を行つた。同一濃度を連続投与した 2 例では初回投与時と同一、またはわずかに大きな抑制率を示したが、濃度を減少させた 3 例、或いは同一標本で低濃度、高濃度と観察を繰り返し、再び低濃度を投与した場合は、抑制作用は観察できなかった。

NA に対する反応におよぼす PGE₁ の作用の観察は、FS 実験にひきつづき 8 例、対側卵管を用いて FS 反応とは独立に 3 例につき行つた。8 例全例に、2 × 10⁻¹⁰g/ml での NA 反応の抑制は観察されなかつた。更に FS 反応に用いた最高濃度での NA 反応に対する観察では、FS 反応への抑制以上の抑制を示したのは 1 例にすぎず、この例は、前述した PGE₁, NA の投与を繰り返すうちに NA 反応が大きくなり、それが高濃度 PGE₁ で元来の NA 収縮量に復した tachyphylaxis によるものであつた。NA 10⁻⁷g/ml の反応が抑制を受けなかつた例では、10⁻⁷g/ml の反応も抑制を受けなかつた。

Fig. 5 は、両側卵管を用い独立して実験を行つた例である。A では NA 反応が大きく、B では NA 反応が小さい。A では FS 反応は著明な抑制を受けているの

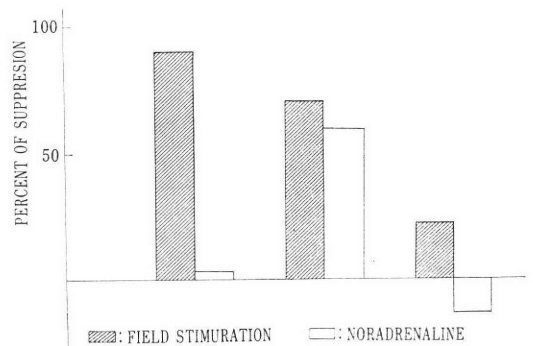


Fig. 6 The influence of prostaglandin E₁ on responses to noradrenaline and field stimulation. Noradrenalin : 10⁻⁶g/ml., Field stimulation : 1msec., 10 pulses/sec. for 10 sec. These experiments were performed independently with bilateral oviducts. Degree of suppression of the response to field stimulation is larger than that to noradrenaline.

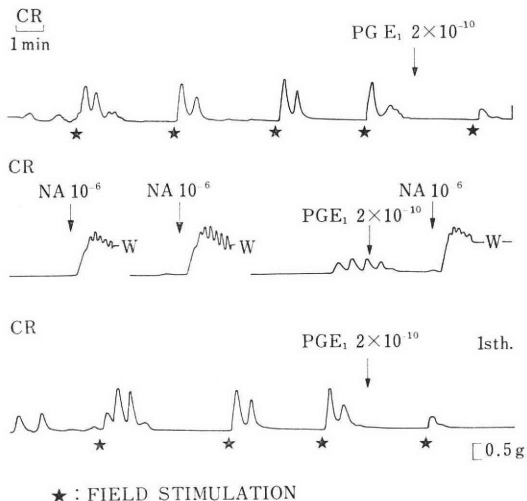
に、NA 反応はわずかにしか抑制を受けていない。また、B では FS に対する抑制も小さいが、NA 反応はわずかではあるが亢進している。

Fig. 6 は、PGE₁ 2 × 10⁻¹⁰g/ml の FS 反応、NA 反応に対する抑制率を独立して実験した 3 例につき示した図であるが、いずれの例も FS 反応への抑制率の方が大であつた。

Fig. 7 は、同一標本を用いて FS 反応、NA 反応、およびそれぞれに対する PGE₁ 2 × 10⁻¹⁰g/ml の作用を観

察した例であるが、FS 反応に対する抑制は、PGE₁ の繰り返し投与後もあらわれているのに対し、NA 反応は抑制を受けていない。

Fig. 8 には、indomethacin の影響を示した。上段はコントロールであり、その左図は、FS 2.5~20pps. に



★ : FIELD STIMULATION
Fig. 7 The influence of prostaglandin E₁ on responses to noradrenaline and field stimulation.

Noradrenaline: 10⁻⁶g/ml., Field stimulation: 1msec., 10pulses/sec. for 10sec. Here we record responses to three consecutive administrations of prostaglandin E₁ to single preparation. Suppression to field stimulation recurs without tachyphylaxis. Suppression to noradrenaline can not be observed.

に対する反応であり、右図は、45分後の反応を示す。下段左図は他方の浴槽で、やはり同様の FS を行い、その後45分間 indomethacin を灌流した後、同様の FS を加えたものである。コントロールでは、わずかではあるが、反応が減弱しているが、indomethacin 灌流例では逆に反応が大きくなっている。

Fig. 9 は、6例につき indomethacin の反応増大率を示した。コントロールでも45分後に FS 反応が増強した例があり、増大率として indomethacin 投与前後の反応増大比をコントロール時間経過増減比で除した値を用いた。いずれも1より大であるが、1例を除き、低頻度刺激の反応増大率が20pps. に比べて大きかった。

Fig. 10は、2例につき indomethacin 灌流後の反応

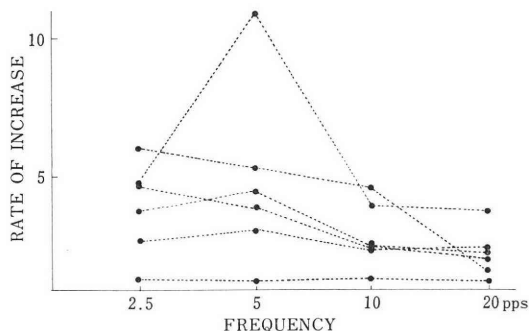
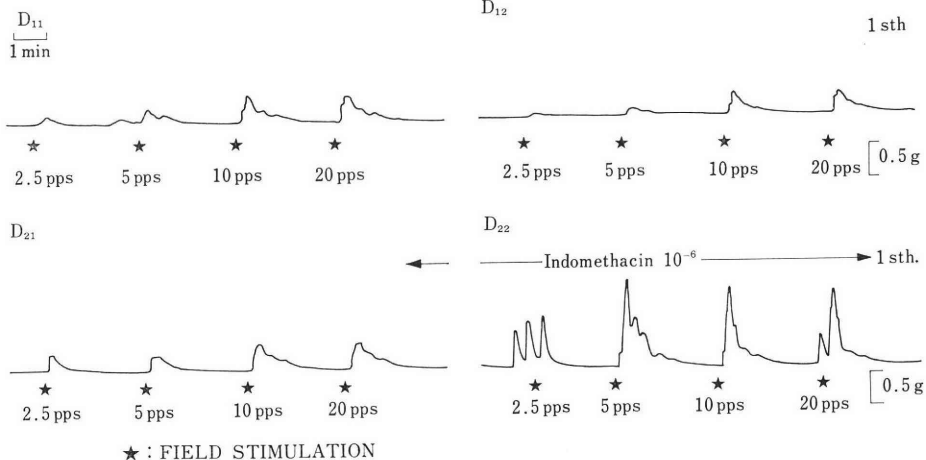


Fig. 9 Effect of indomethacin (10⁻⁶g/ml) on responses to field stimulation. The rate of increase of the response to field stimulation is larger than 1.0. Enhancement is remarkable in low frequency stimulation.



★ : FIELD STIMULATION
Fig. 8 Effect of indomethacin on responses to field stimulation (1msec., 2.5~20 pulses/sec. for 10 sec.). D₂₁ was recorded 45min. after D₁₁. Indomethacin enhances responses to field stimulation although control responses slightly decrease 45min. after first stimulation.

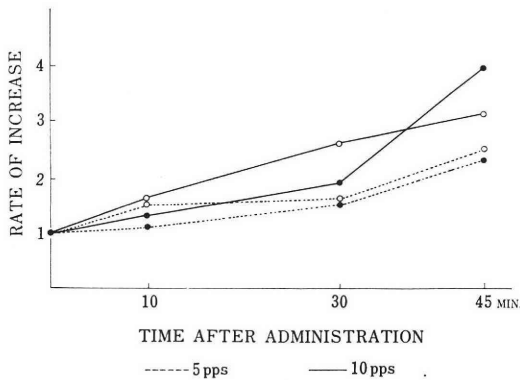


Fig. 10 Effect of indomethacin (10^{-6} g/ml.) to field stimulation. The response to field stimulation gradually increases after administration of indomethacin.

増大率を示した。5 pps., 10pps. 刺激につき示してあるが、10分、30分、45分と、増大率は上昇した。

3. 考 察

NA 反応度は卵胞期後期に亢進した。Coutinho⁶⁾は、in situ で黄体期には out-burst は少なく卵胞期には頻発したと述べているが、NA の local release による out-burst を想定すれば、NA に対する反応が増強しているのかも知れない。実際、彼は adrenergic agonist の作用は、黄体期に減弱したと報告している⁴⁾。また、われわれ¹³⁾は、実験法、処理法に若干の違いはあるが、やはり NA は progesterone の低い時期には卵管の tonus を上昇させるが、高い時期には tonus はわずかに上昇するか、逆に低下することを報告した。以上を考察すると progesterone は NA に対する作用を減弱する働きを有しているのかも知れない。

卵胞期初期の3例は結合型 estrogen が投与されているが in situ の報告⁴⁾のように、NA に対する反応度は大きくなく、輪状筋、縦走筋の違いも考慮に入れて検討する必要があると思う。primosiston 投与例では、estradiol は非常に高いのに NA 反応度は高くなかったが、今回の測定法では測定できなかった 5-hydroxyprogesterone の影響も加味して考えなければならないと思われる。

今回得られたデータでは、自発収縮量が大きければ反応度は小となる。たしかに、自発収縮量の大きい例は黄体期に認められるが、卵胞期と同等またはそれ以下の例につき NA 反応度を比べた場合でも、卵胞期後期に比べて小さい。絶対収縮量自体、標本差が存在し、同一人から摘出した両側卵管の場合でも、自発収縮量、NA 絶対収縮量に差があった。これらは標本の微妙な彎曲、標

本結紮部位によるのかも知れない。

NA に対する反応と FS に対する反応には、正の相関があり、NA 10^{-6} g/ml と FS (1msec., 10pps., 10 sec.) の反応を比べると、NA 反応がわずかに強いが、ほぼ同等であると思われる。このことは薬理的反応とあいまって、これら FS が NA release を惹起し、その結果筋収縮が生じたことを示唆する。卵管運動神経調節に関し、性周期、性ホルモンがいかなる作用を有するかは、今のところ明確ではないが、黄体期には、mid external portion の NA content が増大した¹³⁾という報告もある。今回われわれが用いた標本は internal portion であり、とくに mid portion 輪状筋においては、神経支配が重要な役割を有する可能性がある。われわれの実験結果を考察すると、NA には dose response 関係が存在すること、FS 反応と NA 反応には正の相関があつたことなどにより、性周期の卵管運動への作用機序としては、筋の receptor に重点をおくべきかも知れない。

PGE 系の交感神経よりの release 抑制作用は Hedqvist ら^{9,11)}により報告されている。すなわち、モルモットの輸精管においては、PGE 系は NA 反応に対する促進作用があり、transmurar stimulation 反応に対しては抑制作用があり、直接 NA 測定により release 抑制作用を確認したと述べ、また、この作用は低頻度刺激の場合著明であつたと報告している。

ヒト卵管 FS 反応の場合、2.5pps. や 5 pps. の反応はしばしば不安定で、とくに高頻度刺激を一度与えると、低頻度刺激に対する反応の著明な減少がおこる場合が多いので、今回は、10pps. の反応につき観察を行った。PGE₁ $2 \times 10^{-11} \sim 2 \times 10^{-9}$ g/ml は tonus に影響を及ぼさなかつたが、 2×10^{-8} g/ml に濃度を上げた場合、2例に tonus の上昇が認められた。これは Sandberg¹⁰⁾の internal 縦走筋に tonus の上昇を認めた結果と一致した。モルモットの輸精管では認められなかつた⁹⁾が、ヒト卵管 FS 反応においては、PGE₁ による tachyphylaxis をしばしば認めた。したがってこの様な例においては 2×10^{-9} g/ml が初回投与されたならば、さらに大きな抑制があらわれたらうと思われる。

NA 収縮に対する PGE 系の作用は、モルモットの輸精管⁹⁾では亢進作用、ウサギ卵管輪状筋¹²⁾では、PGE₂ $10^{-10} \sim 10^{-9}$ g/ml においては無作用の報告があるが、ヒト卵管縦走筋では、無作用か抑制作用を示した。NA 反応、FS 反応ともに抑制したという報告には Baum¹⁾のモルモットの心房を用いた実験がある。

今回のヒト卵管縦走筋の実験では、個体差はあるが、(1) FS 反応には、tachyphylaxis をしばしば認めたのに、NA 反応にはこの作用を認めなかつたこと。(2) FS

反応には著明な抑制作用をあらわすのに、ほぼ同等の収縮をおこす NA 10⁻⁶g/ml に対する反応には抑制作用を示さなかつた例のあること。(3) NA 収縮が抑制を受けた場合でも前述の1例を除き、FS 反応抑制度の方が大きかつたこと。(4) 更に NA 10⁻⁶g/ml に対する反応で抑制のみられなかつた2例では、さらに小さい収縮をもたらす NA 10⁻⁷g/ml に対する反応をも抑制しなかつたことなどにより、PGE₁ の prejunctional 作用が示唆された。

Hedqvist¹⁰⁾は ETA を用いて内因性 PG を阻害することにより、transmural stimulation による NA release 増大を認めている。Paton¹²⁾はウサギ卵管を用い、indomethacin が時間経過による desensitization を抑制したと述べている。

今回われわれの実験においても、indomethacin 投与後、徐々に反応が増大していくことは、indomethacin の PG 阻害には長時間を要することから考えて、indomethacin の筋への直接作用ではなく、内因性 PG を阻害し、その結果、反応が増大するという一つの根拠になると思われ、また、in situ において、内因性 PG が支配神経—筋収縮機構を抑制していることが暗示される。ただし PG が transmitter release 抑制機構に関与するか否かは更に検討を要する。

(門田徹教授の御校閲を深謝します。また、塩野義研究所、武田寛、堤内正美両先生の御指導を感謝し、血中ホルモン測定に御協力いただいた、梶原健伯、宇津宮隆史両助手に深謝します。)

文 献

- 1) Baum, T., and Shropshire, A. T.: Influence of prostaglandins on autonomic responses, *Am. J. Physiol.*, 22 : 1470, 1971.
- 2) Brody, M. J., and Phillip, J. K.: Prostaglandins as modulators of the autonomic nervous system, *Federation Proc.*, 33 : 48, 1974.
- 3) Brundin, J.: The effect of prostaglandin E₁ on the response of the rabbit oviduct to hypogastric nerve stimulation, *Acta Physiol. Scand.*, 73 : 54, 1968.
- 4) Coutinho, E. M., Maia, and H., Filho, J. A.: Response of the human fallopian tube to adrenergic stimulation, *Fertil. Steril.*, 21 : 590, 1970.
- 5) Coutinho, E. M., and Maia, H.: The contractile response of the human uterus, fallopian tube and ovary to prostaglandins in vivo, *Fertil. Steril.* 22 : 539, 1971.
- 6) Coutinho, E. M.: Physiologic and pharmacologic studies of the human oviduct, *Fertil. Steril.*, 22 : 807, 1971.
- 7) Fernandez, J. V., Gimeno, M. F., Lima, F., and Gimeno, A. L.: Spontaneous motility and distribution of prostaglandins in different segments of human fallopian tube, *Am. J. Obstet. Gynec.*, 122 : 663, 1975.
- 8) Hedqvist, P.: Prostaglandin induced inhibition of neurotransmission in the isolated guinea pig seminal vesicle, *Acta Physiol. Scand.*, 84 : 506, 1972.
- 9) Hedqvist, P., and Euler, U. S.: Prostaglandin-induced neurotransmission failure in the field-stimulated, isolated vas deferens, *Neuropharmac.*, 11 : 177, 1972.
- 10) Hedqvist, P.: Dissociation of prostaglandin and -receptor mediated control of adrenergic transmitter release, *Acta Physiol. Scand.*, 87 : 42A, 1973.
- 11) Hedqvist, P.: Prostaglandin action on noradrenaline release and mechanical responses in the stimulated guinea pig vas deferens, *Acta Physiol. Scand.*, 90 : 86, 1974.
- 12) Paton, D. M., and Johns, A.: Effects of prostaglandin E₂ and indomethacin on responses of the isthmus of rabbit oviduct to norepinephrine and transmural stimulation, *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 11 : 15, 1975.
- 13) 是永迪夫, 松岡幸一郎, 門田 徹: 卵管に及ぼす向交感神経薬, 性ホルモンの影響, 温研紀要, 26 : 174, 1974.
- 14) 是永迪夫, 山本シズエ: Field stimulation による摘出ヒト卵管の反応について, 日不妊会誌, 22 : 13, 1977.
- 15) Nakanishi, H., Wansbrough, H., and Wood, C.: Postganglionic sympathetic nerve innervating human fallopian tube, *Am. J. Physiol.*, 213 : 613, 1967.
- 16) Sandberg, F., and Sundberg, A. I.: The effect of prostaglandin E₁ on the human uterus and the fallopian tubes in vitro, *Acta Obstet. et Gynec. Scand.*, 42 : 269, 1963.
- 17) Ogra, S. S., Kirton, K. T., Tomasi, T. B., and Lippes, J.: Prostaglandins in the human fallopian tube, *Fertil. Steril.*, 25 : 250, 1974.
- 18) Dujovne, A. R., Laborde, N. P., Carril, L. M., Pedroza, E., and Rosener, J. M.: Correlation between catecholamine content of the human fallopian tube and the uterus and plasma levels of estradiol and progesterone, *Am. J. Obstet. Gynec.*, 124 : 229, 1976.
- 19) 山田滋彦, 是永迪夫, 松岡幸一郎, 立山浩道, 門田 徹: Prostaglandins の卵管に及ぼす影響 (描記式卵管通水による観察), 日産婦会誌 : 27 : 41, 1975.

The influence of low dose prostaglandin E_1 and indomethacin on the response of isolated human oviducts to field stimulation

Michio Korenaga, Koichiro Matsuoka,
Yoshitaka Hatano and Shizue Yamamoto

Department of Obstetrics and Gynecology,
Institute of Balneotherapeutics,
Kyushu University
(Director: Prof. Toru Kadota)

There exist compelling evidences that the prostaglandins may well have a physiological role in modulating autonomic transmission. Hedqvist demonstrated that out-flow of noradrenaline could be reduced by the prostaglandins in some, if not in all, experiments (particularly in the guinea pig vas deferens). In the rabbit oviduct, it was reported that low dose prostaglandin E_1 suppressed the responses to noradrenaline and hypogastric nerve stimulation and prostaglandin E_2 was suggested to inhibit adrenergic transmission. Yamada has recorded the influence of low dose prostaglandin E_s (5 μ g, i.v.) on the human hydro-tubation. In the previous report, we observed the function of adrenergic innervation in the human oviduct. The aim of this study is to investigate the influence of low dose prostaglandin E_1 and endogenous prostaglandins in the nervous control of the human oviduct. We recorded the responses to noradrenaline (10⁻⁶ g/ml) and field

stimulation (1 msec., 10 pulses/sec. for 10 sec.) and investigated the influence of prostaglandin E_1 (2×10^{-11} — 2×10^{-9} g/ml) and indomethacin (10⁻⁶ g/ml) on these responses of the isolated longitudinal isthmus of human oviducts.

Results are as follows:

(1) The response to noradrenaline was correlative with that to field stimulation. The correlation coefficient was significant ($r=0.88$).

(2) The rate of response to noradrenaline per spontaneous contraction in the late proliferative phase was higher than the others. When estradiol and progesterone were administered, the rate of response to noradrenaline was not large despite of high values of plasma estradiol.

(3) In cases with menstrual cycle, prostaglandin E_1 inhibited responses to field stimulation with varying degree except one case. The repeated administrations of prostaglandin E_1 occasionally induced negative tachyphylaxis in responses to field stimulation while not observed in responses to noradrenaline.

In some cases, prostaglandin E_1 failed to affect to responses to noradrenaline while it inhibited responses to field stimulation. In the other cases when responses to noradrenaline were inhibited, degree of suppression of the response to noradrenaline was smaller than that to field stimulation.

(4) Indomethacin enhanced the response to field stimulation (1 msec., 2.5-20 pulses/sec. for 10 sec.). In cases with menstrual cycle the rate of increase of responses was higher in low frequency stimulation than in 20 pulses/sec. stimulation.

(受付: 昭和52年12月9日)

子宮卵管造影が示す卵管通過障害陰影と その組織像に関する研究

Comparative Study of Preoperative Hysterosalpingogram of Tubal Obstruction and Histopathological Findings

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室（指導：飯塚理八教授）

日 原 弘

Hiroshi HIHARA

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

(Director: Prof. Rihachi Iizuka)

子宮卵管造影（H.S.G.）による卵管通過障害陰影とその病理組織上の解析はそれが保存手術であるため明確にされていない。漠然と理解されていた H.S.G. の陰影の特徴と組織所見との関連性を把握し、卵管不妊の治療指針を求めんとした。そこで術前に H.S.G.（油性、V.T.R. 付正側面撮影）にて卵管通過障害を示した86例の剔出卵管組織標本（通過障害の内腔に沿った横、縦断面）をヘマトキシリンエオジン、マロリー染色、繊毛状態は一部電顕をもって両者を比較し、次の成績を得た。

1) 慶応病院産婦人科不妊外来2000例（1976～1977年）の H.S.G. 所見の分類は両側卵管に特変なし47.2%、片側通過障害のあるもの37.2%、両側卵管通過障害を認むもの15.6%であった。

2) 卵管水腫、卵管采癒着、卵管内または卵管周囲癒着、卵管完全閉鎖を示す86例（コントロールとした5例を含む）の組織所見の内訳は炎症22、内膜症21、フィブリン析出等単純卵管采癒着16、腫瘍による卵管延長を示すも所見なし15、結核3、特変なし9。

3) H.S.G. 陰影の特徴と組織所見の関連性は、

- ① 後撮影残存像がガラスの碎け様陰影→骨盤子宮内膜症
- ② 弓状卵管延長像と卵管采癒着（PFA）では→卵巣子宮内膜症
- ③ 鍍針金様卵管陰影→結核
- ④ 卵管采癒着（PFA）と後撮影残存像に雲如状拡散を示す例は単純卵管采癒着
- ⑤ 卵管内腔拡大を伴う卵管水腫は炎症で繊毛の消失が高率である。

I 緒 言

女性不妊症における子宮卵管の形態学的因子の検索として子宮卵管造影（Hysterosalpingography 以後 H.S.G. と略）は不可欠である。1910年 Rindfleisch¹⁾がピスマス水溶液を使用し子宮卵管腔の X 線撮影を報告してより現在のビデオコーダー付 X 線 T-V 装置による H.S.G. にいたるまで造影剤、撮影方法は改良されて来た。しかし、H.S.G. による卵管通過障害陰影とその病理組織上の解析はそれが保存手術であるため、明確にされ

ていない。H.S.G. が卵管因子による不妊症の第一義的検査法と評価されているとはいえ、卵管通過性の有無を判定するのみで機能的閉鎖、器質的閉鎖の鑑別、卵管采部の癒着状態、卵管延長状態および卵管内腔の拡大等、卵管通過障害像を示す部位の病理組織学的検討は全く不十分であった。著者は現在まで漠然として理解されていた H.S.G. による通過障害像の特徴と組織所見との関連性を把握し、卵管不妊の治療指針を求めめるため、以下の研究を企図した。

1. 当不妊外来患者2000例の H.S.G. 所見より卵管内

造影剤の通過状態とその拡散範囲からみた卵管通過性の診断基準を作製する。

2. 術前の H.S.G. においてその診断基準上, 卵管通過障害陰影と判定した部分の組織所見を電顕を含めて検討する。

3. 上記の特徴的通過障害陰影と組織所見の関連性を抽出する。

以上の研究成績から, H.S.G. による卵管の陰影異常と同部の別出卵管の所見の相関を組織像の裏付けをもって明らかにし, H.S.G. 読影における診断的根拠を再評価してみた。さらに術前検査としての H.S.G. による手術適応の診断基準を開発せんとした。

II 研究対象および方法

1. 研究対象

1975年~1977年の慶応義塾大学病院産婦人科不妊外来患者のうち H.S.G. 施行中, 子宮内腔, 卵管像確認可能な2000例, 1975年~1977年の慶応義塾大学病院, 足利赤十字病院, 平塚市民病院, 済生会宇都宮病院, および荻窪病院にて術前 H.S.G. に卵管通過障害を示す手術症例86。

2. 研究方法

① H.S.G. 撮影方法

ビデオコーダー付 X 線テレビ装置を使用し70kV, 100 mA, 0.4~0.5秒, 管球フィルム間距離60cm, 注入速度5 ml/秒以内, 造影剤リピオドールウルトラフルイドにて撮影した。

② 組織像判定方法

別出した卵管通過障害部を卵管内腔に沿って横断面, 縦断面の組織をヘマトキシリン・エオジン染色, マロリー染色施行し, 絨毛状態は電子顕微鏡 (HITACHI 14型透過型電子顕微鏡) および走査電顕にて検討した。一方 H.S.G. 上卵管通過障害陰影とその組織所見については表 1 に示す項目について関連性を統計処理した。

III 研究成績

1. 卵管通過性の H.S.G. 読影上の分類基準

H.S.G. による卵管通過性の有無, 卵管水腫, 卵管延長像の解読は定見があるが卵管采癒着, 卵管周囲癒着, 卵管内腔拡大および狭窄等の卵管の通過障害を想定する陰影の分類基準はない。著者は卵管内腔を占める造影剤の量, 卵管内腔での造影剤の経時的残存状態および24時間後の撮影フィルムよりその拡散像の範囲をもって H.S.G. 上の卵管通過性の読影基準を次の7項目に分類した。

① 子宮内腔が造影剤で充満されて後, 2 ml 以内の

表 1

H.S.G. & Histology

Sample No.	Card No.	Name	Hospital Years
(1) Clinical Diag. History			
(2) Diag. of H.S.G.			r-Tube _____
			l-Tube _____
Score ()			Cavity _____
			Pelvis _____
(3) Macroscopic State in Operation			
(4) Histological Diag. :			
1. neutro.	5. fibrin		
2. lympho.	6. cilia		
3. edema	7. etc.		
4. endometriosis			

(5) Impression

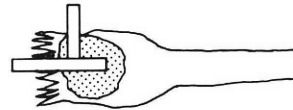


Photo. +. - .
OB & GYN KEIO

造影剤の追加で卵管采部よりその流出を認め, 後撮影で造影剤の拡散が骨盤腔内に均一な例。

② ①における後撮影で卵管采部のみ造影剤が残存し, 拡散は不均一である例。

③ 卵管内腔に2 ml 以上の造影剤を注入しても卵管采部で造影剤が通過障害を示し袋状を呈す例。

④ 子宮卵管角部で造影剤が通過障害を示し拡散像が全く見られない例。

⑤ 卵管狭部で造影剤が通過障害を示し拡散像が全く見られない例。

⑥ ③と⑤で卵管内腔の造影剤が24時間後の撮影で鍍針金様に残存する例。

⑦ 卵管像が弓状ないし直線的に延長を示す例。

以上7つに分類し, 各々が示す陰影から次の7項目の診断を想定し, H.S.G. による卵管通過性の診断基準とした。

①は通過性異常なしとし normal patency=NP と略以下同様に

②は卵管采癒着とし peritubal adhesion=PFA と略

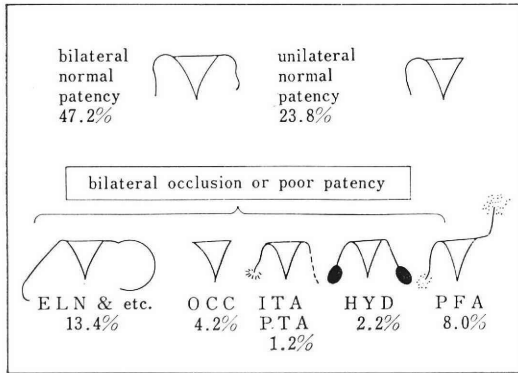
③は卵管水腫とし hydrosalpinx=HYD と略

④は卵管完全閉鎖 absolute occlusion=OCC と略

⑤は卵管内腔癒着 intratubal adhesion=ITA と略

⑥は卵管周囲癒着 peritubal adhesion=PTA と略

表 2 子宮卵管造影卵管像の分類
(1976年～1977年度大産婦人科)



⑦は付属器腫瘍または PFA による 卵管延長 tubal elongation=ELN と略

とした。

以上著者が作成した分類基準をもって不妊治療を目的で来院せる2000例の症例の H.S.G. を調査すると表2の如くなる。すなわち両側通過性異常なしが47.2%、片側に通過障害を示す例が31.7%、両側通過障害を認めるものが15.4%である。また、PFA, ELN, HYD, PTA または ITA, OCC の頻度はそれぞれ8.0%、13.4%、2.2%、1.2%、4.2%であった。

2. 卵管通過障害 (H.S.G. による) の組織像

卵管通過障害と診断した86例の術前の子宮卵管造影像は著者の分類基準によると次の如くである。両側の HYD を示すものが23例、片側の HYD で対側に卵管延長像を認めた(嚢腫, その他により延長したものも含めた)ものが22例、両側に卵管采部癒着を認めるものが18例、子宮卵管角から両側完全閉鎖なるものが11例、両側卵管周囲または卵管狭部閉鎖を示すものが7例、コントロールとして両側通過良好例5例を選びその組織像を判定した。86例中 H.E 染色にて写真1に示すように組織間浮腫と炎症所見(好中球等の浸潤)を示すものは22例であった。一方従来卵管通過障害因子としての存在率が明確でなかった子宮内膜症が22例で炎症とほぼ同じ比率を示している(写真2)。また、両側卵管采部の癒着が16例でこれらは術中所見で卵巣、子宮体、大網、骨盤腹膜、直腸との癒着を呈し、組織所見では炎症、内膜症を示さず fibrin の析出を主徴とした漿膜間の癒着像である。ELN の15例中14例は腫瘍摘出により3～6ヶ月後の H.S.G. 所見では直線的、弓状的卵管延長像は消失している。結核性変化を示した症例は3例でこれらは全例月経血培養にて陰性を示していた。コントロールとした H.S.G. 上卵管正常例5例(筋腫側)の卵管組織には特記すべき病理所見は認めなかった(表3参照)。

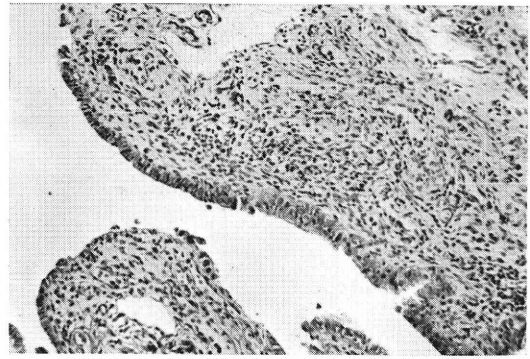


写真1 H.E. 染色 200× 好中球浸潤
H.S.G. 診断 PFA (卵管采)

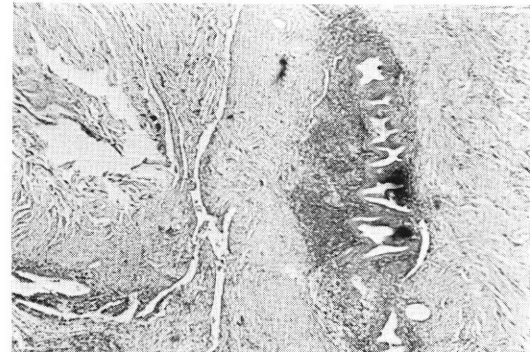


写真2 H.E. 染色 200× 子宮内膜症
H.S.G. 診断 PFA & HYD (卵管膨大部)

表 3 子宮卵管造影による卵管通過障害像 (手術例 86)

両側卵管水腫	23
片側卵管采癒着または卵管水腫があり他側卵管延長	22
両側卵管采癒着	18
両側卵管完全閉鎖	11
両側卵管内または卵管周囲癒着	7
両側卵管通過性良好	5

表 4 卵管通過障害の組織像

炎症 (浮腫, 好中球, リンパ球, プラズマ細胞の浸潤)	22
子宮内膜症	21
卵管采単純癒着	16
組織所見著変なし(腫瘍による卵管延長)	15
結核	3
特変なし	9

3. H.S.G. 陰影の特徴とその組織像の関連性

86例の手術前の H.S.G. 陰影とその組織像の診断表は表4の如くである。その結果から両者に強い関連性を

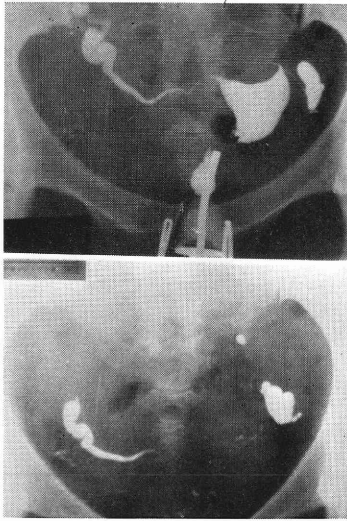


写真 3 症例 1 H.S.G. 両側卵管水腫

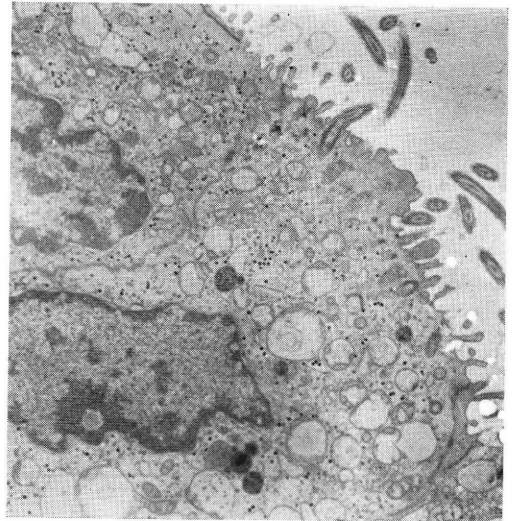


写真 5 症例 1 繊毛の棍棒状配列粗, 電頭 4000×
HYD ルートレットは存在するも, 繊毛は消失の傾向あり

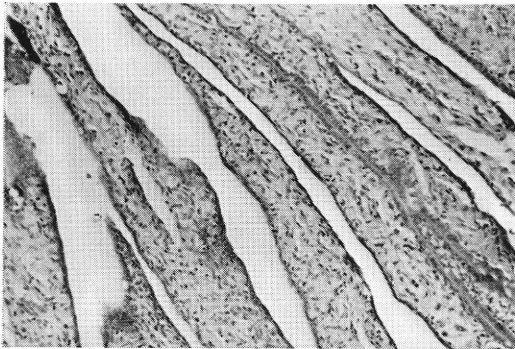


写真 4 症例 1 の巨大卵管水腫 (右) 繊毛の完全消失
H.E. 染色 100× HYD

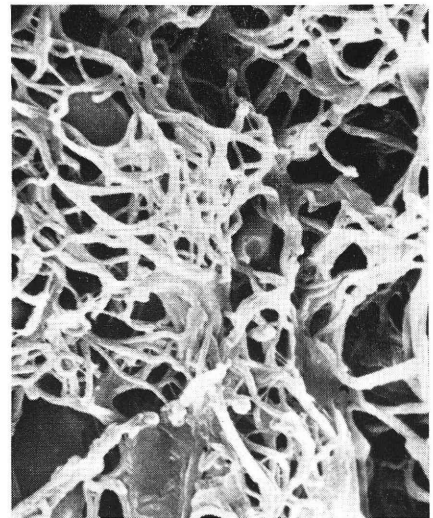


写真 6 症例 1 走査電頭 7000×
繊毛の萎縮 HYD

示すもの, すなわち術前の H.S.G. が示す卵管通過障害陰影の特徴とその組織像を抽出した.

① HYD では好中球, リンパ球の浸潤と組織間浮腫が強く炎症症状を示すものが23例中17例ある. しかも繊毛が棍棒状, 消失しているものが23例中16例であった. その16例全例が水腫内容 5 ml 以上の巨大な水腫で繊毛状態の確認は H.E. 染色では困難で, 電頭では棍棒状, ルートレットの残存およびマイクロプロジェクションの出現, 繊毛数は大幅な減少を示し, 走査電頭でも同様の所見を示した(写真 3, 4, 5, 6).

② PFAでは卵管采と漿膜が癒着を示し, フィブリン様物質の析出を示すが好中球, リンパ球, 浮腫, プラズマ細胞の浸潤は認め得ないいわゆる単純な癒着状態を呈するものが15例中 8 例であった. 著者はこれを simple adhesion とした. 一方 PFA では内膜症が15例中 8 例で感染を示す組織像はわずか 2 例であった. 繊毛は正常に配

列し保存されている(写真 7 ~ 10).

③ ITA では卵管内癒着を示し, しかも24時間後撮影の残存像に鏑針金像を呈するものであるが, これらの症例 4 例中 3 例は結核性変化を示した. うち結核の 3 例はいづれも鏑針金状の末端部に菊の蕾の様な円形状の造影剤の稽留をみた. 全例繊毛は完全に消失している.

④ 卵管延長像を示すものは卵管内腔の組織像に特記すべき所見を認め得ないものが22例中15例であった. しかし延長を示す側の卵巣の腫大が22例中19例を示した.

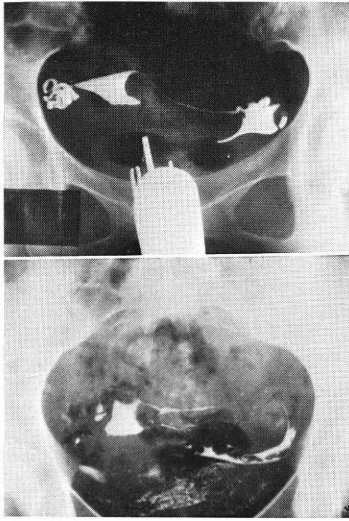


写真 7 症例 2 H.S.G. 両側卵管采癒着

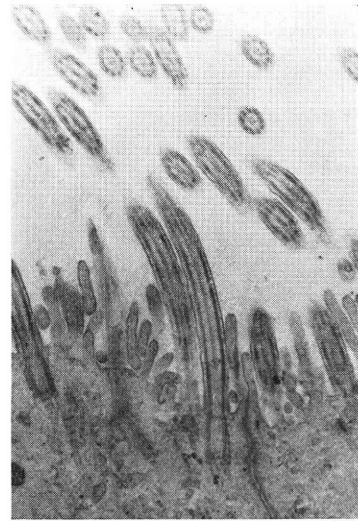


写真 9 症例 2 纖毛配列密, 電頭 10000× PFA

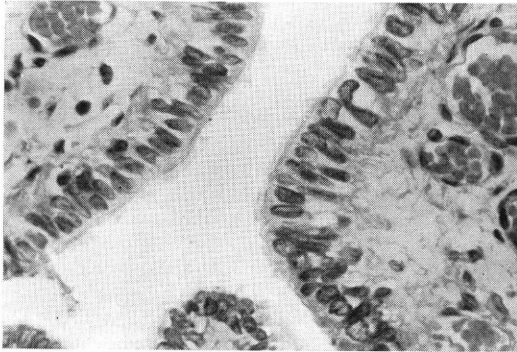


写真 8 症例 2 の卵管采切片, 纖毛, 正常例 H.E. 染色 400× PFA

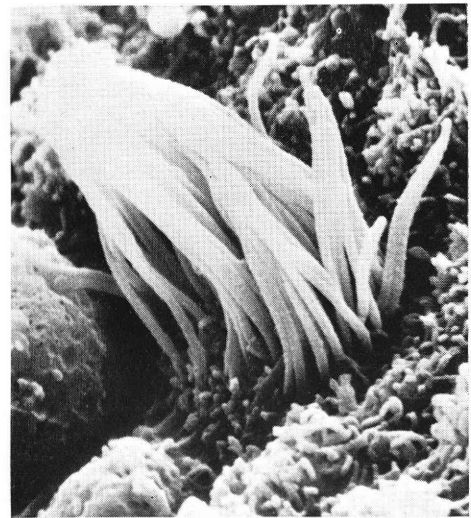


写真 10 症例 2 走査電頭, 纖毛配列良 PFA 7000×

一方纖毛は22例中21例特変を認めていない。

⑤ 拡散像にガラスの砕けた様な陰影を示す26例中21例に骨盤子宮内膜症の合併をみた。

以上①～⑤よりその関連性が70%以上を示す H.S.G. 陰影の特徴と組織像の関連性をまとめると表5, 6の如くなる。

IV 考 察

1. H.S.G. による卵管通過障害の読影

卵管通過性の有無の判定には H.S.G. のみでなく, 描写式通水(藤森)をはじめ通気法がある。しかし後二者は卵管内腔の形態とその通過状態を総合的に診断する点においておよばない。H.S.G. の読影には Siegler²⁾, 飯塚^{4,5)}, 山口^{6,7)}, 貴家⁸⁾等の図譜をはじめ, 杉山⁹⁾の H.S.G. のスコアがある。しかし卵管采, 卵管周囲癒着状態, 卵管の直線的延長と弓状延長の開腹所見による実

態とその比較は明確にされていない。それは従来の注入圧, 注入量の盲目的撮影と水溶性造影剤を使用することによる撮影時期の困難さにも起因していた。著者はビデオコーダー付 H.S.G. 撮影で注入圧を一定にし, 注入量を測定した。一方造影剤の選択において水溶性と油性造影剤の H.S.G. 撮影上の長所・短所(山口⁶⁾, 河上¹⁵⁾)から卵管通過障害像の解析にはシャッターチャンスに利点があり, しかも注入速度と拡散吸収の遅い読影に有利な油性を使用した。その結果, 卵管内腔の部位別通過性の有無, 卵管延長像はもとより卵管采癒着状態, 卵管内腔の拡大状態を従来よりも明確に把握することができ

表 5 H.S.G. 陰影とその組織学的所見内訳

特徴的陰影 (H.S.G.)	好中球リンパ球浸潤、浮腫像	子宮内膜症	漿膜との卵管単純癒着	卵管結核	織毛		特変なし
					正常	萎縮、消失	
両側卵管水腫様 bilateral HYD	19	4	0	0	7	16	0
両側卵管癒着像 PFA	2	8	10	0	15	3	0
卵管延長像 ELN	0	6	6	0	21	1	15
卵管鏑針金像 PTA, ITA	0	1	0	3	0	3	0
子宮卵管角閉鎖 OCC	0	2	0	0	5	2	0
卵管通過良好像 NP	1	0	0	0	5	0	4
拡散像がガラスの砕けた様	8	21	4	0	/		1

表 6 H.S.G 所見とその組織の関連

卵管水腫 (HYD)	
卵管延長 (ELN) ……………→卵巣子宮内膜症 ガラスの砕け様拡散像 (endometriosis ovarii)	
卵管癒着 (PFA) ガラスの砕け様拡散像 (pelvic endometriosis)	
卵管癒着 (PFA) 後撮影残存像で雲状状拡散像 (simple fimbrial adhesion)	
卵管癒着 (PFA) または卵管水腫 (HYD) にて卵管内腔拡大を伴う……………→炎症 (infection)	
卵管癒着 後撮影残存像で鏑針金様陰影……………→結核 菊花蕾像 (tuberculosis)	

た。卵管水腫についても、油性造影剤と浸出液との表面張力の差から水玉模様が出現し、卵管水腫の容易な診断が得られ、通過障害陰影の7つの分類基準を作成し得た。

2. 卵管通過障害部の組織像と H.S.G. 陰影の特徴
卵管通過障害の組織像 (Novak^{10,11}, Pauerstein¹², 郭¹³) に関しては炎症、結核、内膜症の解説があるがその頻度および H.S.G. 上の特徴的陰影と組織像の関連性についての報告はない。著者は術前の H.S.G. が示す卵管通過障害を開腹所見¹⁴とともにその組織像の相関を明示した。その結果、組織像において炎症所見と同等に子宮内膜症による卵管通過障害が目された。特に骨盤内膜症の合併が高率でこの場合 H.S.G. の拡散像にガラス砕けた様陰影を示すことが特徴的であった。一方卵管延長 (卵の輸送機能を失っていると想定される症例) については、直線的延長像は PFA、弓状延長像は卵巣腫瘍の合併が実証された。これらの卵管内腔組織像は正常であることが高率で卵管癒着剝離術、腫瘍摘出術が子後妊孕性を十分に期待できる有効な手術法¹⁵である。しかし、卵管水腫例、特に巨大水腫 (5 ml 以上の内容) では H.E. 染色、走査電顕において整配列の織毛の存在が確認し得ないものが高率でたとえ卵管開口術を施行したとしても妊娠成立の期待は極めて低率と考える。なお、

結核性変化を示す症例は卵管内腔の閉鎖が広範囲でしかも卵管周囲癒着が高度で織毛は消失しており、手術的操作が困難のため、妊孕性の回復は不可能であろう。

V 結 論

1. 慶応病院産婦人科の不妊患者の H.S.G. による卵管通過性の実態は両側通過性に異常を認めないもの (症例2000例), 47.2%, 片側に通過障害を認めるもの 37.2%, 両側通過障害を認めるもの15.6%であった。(2000例)。

2. 術前 H.S.G. 上卵管通過像 (NP, PFA, HYD, PTA, ITA, ELN, OCC.) を7つに分類して著者の診断基準上通過障害と判定した81例中77例に解剖学的、組織学的異常を認めた。

3. 直線的卵管延長を示す例では当該卵管の PFA, 弓状卵管延長を示す例では当該付属器腫瘍の存在を十分に診断し得る。一方延長した卵管内腔には組織学的変化は認め得ない。

4. H.S.G. による81例の卵管通過障害陰影を示す例の同部の組織所見は炎症、子宮内膜症、単純癒着、軽度浮腫を伴う解剖学的変化、結核、異常なしの順であった。

5. H.S.G. の特徴的陰影とその組織所見の関連性は以下のごとくである。

- ① ガラスの砕け様拡散像↔骨盤子宮内膜症
- ② 卵管周囲癒着 (PTA) ↔結核性卵管閉鎖
- ③ 卵管癒着 (PFA) または卵管水腫 (HYD) 単独↔炎症性変化
- ④ 卵管癒着 (PFA) + 卵管水腫 (HYD) + 卵管周囲癒着 (PTA) ↔子宮内膜症
- ⑤ 卵管延長 (ELN) ↔付属器腫瘍による解剖学的卵管延長
6. 卵管水腫においてその内腔容量が 5 ml 以上を示す例では卵管内織毛は棍棒化または消失を示している。
7. H.S.G. の卵管通過陰影の分類基準中両側の PFA, HYD, ITA, PTA, ELN を示す症例は卵管不妊

と診断し得る。

稿を終るにあたり御懇篤な御指導、御校閲を賜った飯塚理八教授に深甚なる謝意を表します。また御指導頂いた河上征治講師に感謝の意を表します。さらに御指導、御助言を頂いた病理学教室影山圭三教授、同教室三方淳男助教授、伊勢慶応病院電顕室長千田龍吉先生、また本研究に御協力頂いた済生会宇都宮病院、足利赤十字病院、平塚市民病院、荻窪病院、日野市立総合病院の産婦人科関係各位に心より感謝致します。(なお本論文の要旨は第29回日本産婦人科学会総会および第71回日本不妊学会関東地方部会にて発表した。)

参考文献

- 1) Rindfleisch: Darstellung des Cavum uteri. Klin. Wsch. 47: 780, 1910.
- 2) Sieglar, A. M.: Hysterosalpingography Hoeber Medical Division. Harper & Row publishers, New York, Eovanston, and London 1967.
- 3) 藤森速水: 描写式子宮卵管造影法, 産婦の世界, 26: 805, 1974.
- 4) 飯塚理八: 不妊症学, 金原出版, 東京, 1974.
- 5) 飯塚理八: 産婦人科シリーズ, 不妊症診断のすべて, 南江堂, 東京, 1975.
- 6) 山口龍二: 子宮卵管造影図譜, 医学書院, 東京, 1964.
- 7) 山口龍二: 子宮卵管造影法, 現代産婦人科大系 7 B, 1, 中山書店, 東京, 1971.
- 8) 貴家寛而: 子宮卵管造影法の実際, 金原出版, 東京, 1966.
- 9) 杉山 武: 妊孕性を基準とした Hysterosalpingography の scoring 開発とその臨床解析に関する研究, 日不妊会誌, 20: 1, 1975.
- 10) Novak and Woodruff: Gynecologic and obstetric pathology. Saunders.
- 11) Novak: Novak's Textbook of Gynecology, Williams & Wilkins, Baltimore, 1975.
- 12) Pauerstein: The fallopian Tube, Lee & Febiger, Philadelphia, 1974.
- 13) 郭 国鎮: 不妊患者における子宮レ線像に関する研究, 日不妊会誌, 14: 84, 1969.
- 14) 日原 弘: Comparative Study of Preoperative Hysterosalpingogram of Tubal Obstruction and Histopathological Findings. 日産婦

会誌, 29: 1860, 1977.

- 15) 河上征治, 日原 弘: H.S.G. よりみた卵管疎通障害の手術適応, 産婦の世界, 28: 9, 1976.
- 16) 河上征治: 産婦人科シリーズ, 不妊症診断のすべて, 子宮卵管造影, 南江堂, 東京, 1976.

Comparative study of preoperative hysterosalpingogram of tubal obstruction and histopathological findings

Hiroshi Hihara

Obs. & Gyn. dept. of Medical school,
Keio University

The histopathological analysis of the hysterosalpingogram (H. S. G.) was studied. The relationship between the features of H. S. G. and histopathological findings was investigated for establishing the therapeutic way of tubal sterility. 86 cases with tubal obstruction in preoperative H. S. G. were examined with microscope and cilia were checked with electronic microscope. The results showed: 1) the H. S. G. findings were classified as follows: normal 47.2%, unilateral obstruction 37.2%, bilateral obstruction 15.6%, 2) the histological observations of the 86 cases showing tubal edema, perifimbrial adhesion, isthmus obstruction and closed uterotubal junction were made up as follows: inflammation 22, endometriosis 21, simple adhesion with fibrination etc. 16, tubal elongation (possibly without irreversible changes) caused by tumors 15, tuberculosis 3, others 9) the assumed relation between H. S. G. features and histological findings was as follows: a shattered-glass-like shadow in the follow-up film—pelvic endometriosis, a bow-shaped tubal elongation and diffusion at fimbria (perifimbrial adhesion, P. F. A.)—ovarian endometriosis, rusty-wire-like shadow—tuberculosis, P. F. A. and cloud-like diffusion—simple adhesion, tubal edema with enlargement of lumen seem to frequently show the loss of cilia due to inflammation.

(受付: 昭和53年2月7日)

卵管性不妊に関する研究

(卵管形成術を中心として)

Studies on the Tube Infertility; Mainly of the Tuboplasty

千葉大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 高見沢裕吉教授)

大久保 綜也

Soya OKUBO

Dept. of Obst & Gyne, School of Medicine, Chiba University

(Director: Prof. Hiroyoshi Takamizawa)

卵管性不妊婦人83例, 126卵管に卵管形成術を行い, 次の結果をえた. ① 術後1年の疎通性回復は42例(50.6%), 62卵管(49.2%), 妊娠は14例(16.9%)であった. ② 加齢および, 不妊期間の長いものに妊娠率の低い傾向を認めた. 付属器炎, 性病既往歴のあるものは, 疎通性を回復しても, 妊娠例は見られなかった. ③ 術前 H.S.G. 像において, 卵管閉塞部位が采周囲, 峽部, 間質部, 膨大部の順に疎通性回復率が低い. 卵管陰影は, 子宮角より直上するものに重症内膜症が多く, 疎通性回復を認めなかった. ④ 卵管水腫例の疎通性回復率は75%と最も良いが, 妊娠例はなかった. ⑤ 術式別疎通性回復率は, 端々吻合術71.4%, 剝離術68.4%, 移植術40%, 開口術23.1%であった. ⑥ 組織学的小および, 走査電顕所見にて卵管粘膜上皮に異常のあるものは, 疎通性を回復しても, 妊娠率が著しく低い傾向を認めた.

緒 言

女性不妊のうち, 卵管因子によるものは約半数を占め⁶⁾, その治療として, 第一に通気, 通水法を用いるが, 無効の場合は観血療法が行なわれる^{5,7)}. 従来, 手術療法は卵管疎通性の回復が主目的とされ, 術式^{3,5,23)}として癒着剝離術(Goulliond), 卵管開口術(Martin), 卵管移植術(Cullen-Schau), 端々吻合術(Andrews)があり, 術後管理^{3,5)}において Polyethylen-Tubing 法(Castallo), Prosthesis 応用の端々吻合術(Schirodkar)³⁹⁾, Silicon Hood 応用の開口術(Mulligan)³⁶⁾, 血管縫合器応用の端々吻合術^{22,24)}(高野)などの工夫, 改良がなされてきた. これらの術後疎通性回復率⁵⁾は36.4%~90.0%であり, その妊娠率⁵⁾は9.1%~35.0%と正常婦人のそれに比べて低率であった.

今回, 教室で行った卵管形成術症例について, その既往歴, 術前所見, 術式, および卵管の組織学的検索, とくに, 卵管粘膜上皮表面微細構造と, 術後の疎通性回復, ならびに, 妊娠との相関について検討を加え, いささかの知見をえたので報告する.

研究対象

1967~1974年の8年間に, 千葉大学医学部付属病院産科婦人科不妊外来を訪れた, 2年以上の不妊を主訴とする婦人2927名中, 卵管性不妊と診断されたものは714名, 24.4%である. このうち, 卵管形成術を行い, 術後1年以上追跡することのできた83例を対象とした.

83例中, 原発不妊54例, 続発不妊29例であり, 手術時年齢は22歳から41歳に分布し, 平均30.3歳, 手術までの不妊期間は2年から15年にわたり, 平均4年5カ月であった.

研究方法

1. 不妊外来検査として, 基礎体温, Smea Index, 頸管粘液, 子宮卵管造影術(以下 HSG と略), 通気, 子宮内膜組織などの諸検査により卵管性不妊を確診した.

2. HSG は, 水溶性造影剤(Endographine)注入後, 連続撮影の意味も含め, 子宮充滿像, 腹腔拡散像, 5分後残遺像の3枚撮影を行った.

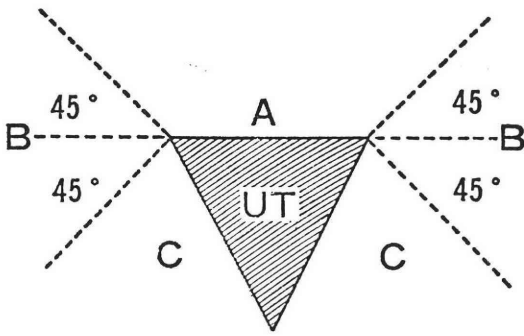


図 1 HSG 像における卵管走行方向の区分

像の解析には、図1のように、子宮底延長線をはさみ、両側子宮角より上下45°に仮想線を設定、子宮底上方をA、両側をB、下方をCの各区域に分け、卵管陰影の走行方向を分類し検討した。

3. 手術々は癒着剥離術24例、38卵管、開口術38例、52卵管、端々吻合術13例、21卵管、移植術3例、5卵管、その他5例、10卵管である。

吻合術のうち、3例、3卵管に Polyethylen Tubing 法を、10例、18卵管には、中山式血管縫合法を応用した。

手術時期は、全例、月経終了後の卵胞期に行った。

術後、再癒着、再閉塞の予防として、Polyethylen Tubing 法を行った症例には、薬物通水(抗生剤、DEXA-Scherson 2.5mg, Uronase 1,000I.U.)を併用した。

手術効果の追跡は、原則として、術後7日目に通気、以後、毎月1~2回の通気および薬物通水を反復、6か月ごとにHSGを施行、経過を観察した。疎通性回復の

判定は術後1年とした。

4. 44例、44卵管について卵管組織片を採取し、10% Formalin, 固定, Paraffin, 包埋後、顕微鏡切片を作製、Hematoxylin Eosin, P.A.S., Azan Mallory, Alcian Blue, Van Gieson, 鍍銀の各染色を施し、その組織像を観察した。所見は、卵管組織を粘膜上皮、粘膜下組織、筋層の各々について観察し、その変化の種類、程度と術後経過の関連を検討した(表8参照)。

5. 21例、21卵管について、走査型電顕(以下、SEMと略)による観察を行った。

SEMによる観察試料²⁷⁾は、2.5% Glutaraldehyde 液で固定、1% Osmic acid の後固定、臨界点乾燥ののち、炭素・金の二重蒸着を施し、SEM (JEOL, JSM-50 A型)による卵管粘膜上皮表面の微細構造を観察した。所見は上皮表面の変化を、線毛細胞と非線毛細胞について²⁷⁾、光学所見と対比しながら、細胞型²⁹⁾を分類し検討を試みた(表10参照)。

成 績

1. 手術時年齢と術後経過

卵管形成術症例83例の手術時年齢と術後疎通性、および、妊娠との関係を表1に示した。30歳以下48例中、疎通27例56.3%、妊娠11例22.9%であるが、31歳以上の35例では疎通15例42.9%、妊娠は3例8.6%であった。

2. 不妊期間と術後経過

形成術までの不妊期間と術後の疎通性、および、妊娠との関係を表2に示した。

疎通例は不妊期間5年以下59例中、30例50.8%、6~

表 1 手術時年齢と術後経過 (83例・126卵管)

手術時年齢	例数 (卵管数)	疎通例数 (卵管数)	妊娠数
20~25歳	8 (11)	3 37.5% (5 45.5%)	1 12.5%
26~30歳	40 (60)	24 60.0% (33 55.0%)	10 25.0%
31~35歳	20 (31)	9 45.0% (14 45.2%)	2 10.0%
36~ 歳	15 (24)	6 40.0% (10 41.6%)	1 6.7%
計	83 (126)	42 50.6% (62 49.2%)	14 16.9%

表 2 不妊期間と術後経過 (83例・126卵管)

不妊期間年数	例数 (卵管数)	疎通例 (卵管数)	妊 娠
0~5	59 (86)	30 50.8% (46 53.5%)	13 22.0%
6~8	18 (32)	9 50.0% (13 40.6%)	1 5.6%
9~	6 (8)	3 50.0% (3 37.5%)	0
計	83 (126)	42 50.6% (62 49.2%)	14 16.9%

表 3 主要既往疾患と術後経過 (83例・126卵管)

既往疾患	例数 (卵管数)	疎通例 (卵管数)	妊 娠
結核性炎	8 9.6% (14)	4 50% (7 50%)	2 25%
付属器炎	11 13.3% (19)	6 54.5% (8 42.1%)	0
性病	3 3.6% (4)	2 66.7% (3 75%)	0
子宮内膜症	11 13.3% (16)	5 45.5% (7 43.8%)	2 18.2%
開腹手術	66 79.5% (101)	34 51.5% (52 51.5%)	12 18.2%

(重複あり)

表 4 卵管閉塞部位と疎通性
(HSG像83例・126卵管)

閉塞部	卵管数	疎通数	%
間質部	5	2	40
峡部	24	15	62.5
膨大部	49	12	24.4
采周囲	48	33	68.7
計	126	62	49.2

8年18例中、9例50%、9年以上6例中、3例50%であるが、妊娠率は各々13例22%、1例5.6%、0であり不妊期間の長いほど妊娠率の低い傾向を示した。

3. 既往疾患と術後経過

既往疾患と術後の疎通性、および、妊娠との関係を表3に示した。

結核性炎9.6%、付属器炎13.3%、子宮内膜症13.3%、また、既往開腹例は79.5%であった。既往疾患別術後疎通性回復率は50~57%と有意差を認めないが、とくに付属器炎、性病既往例では妊娠例を認めなかった。

4. 術前 HSG 像と術後疎通性

i) 卵管走行方向と疎通性

形成術を行った126卵管の術前 HSG 像における卵管走行方向を図1に従って分類した。疎通性回復率は、A区域は4卵管で疎通例なく、B区域では37卵管中19卵管51.4%、BからAに向かうもの54卵管中31卵管57.4%、BからCに向かうもの7卵管中2卵管28.6%、C区域8卵管中2卵管25%、卵管像の造影されなかったもの16卵管中7卵管43.8%であった。

ii) 閉塞部位と疎通性

表4に示すように、HSG 像における閉塞部位別の疎通性回復率は、間質部閉塞5卵管中、疎通2卵管、40%、峡部24卵管中15卵管62.5%、膨大部49卵管中12卵管24.4%、采周囲48卵管中33卵管68.7%であった。

iii) 卵管像形態の異常と疎通性

HSG の卵管像形態異常と疎通性の関係が表5である。

表 5 HSG 像の卵管形態異常と疎通性

異常所見	卵管数	疎通数	%
水腫像	20	15	75.0
卵管延長	27	14	51.9
卵管蛇行	25	11	44.0
脈管像	2	0	
菊花蕾像	1	0	
錆釘様像	1	0	
卵管像欠損	8	4	50.0
単純閉塞	24	9	37.5
結紮術後	18	9	50.0
計	126	62	49.2

表 6 主要開腹所見と疎通性

所見	卵管数	疎通数	%
癒着	113	56	49.6
卵管炎	46	18	39.1
水腫	20	15	75.0
内膜症	15	11	73.3
卵巣嚢腫	15	12	80.0
子宮筋腫	9	6	66.7
結紮術後	18	9	50.0

(重複あり)

疎通性の回復したものは、水腫像20卵管中15卵管75%、卵管延長27卵管中14卵管51.9%、蛇行25卵管中11卵管44%である。卵管延長、蛇行、像欠損には卵巣腫瘍、内膜症、筋腫が認められ、術後の疎通性回復も良好であった。これに反し、脈管像、菊花蕾像、錆釘様像などの卵管結核を疑わせる症例は、少数ではあるが、疎通性回復を認めなかった。

5. 開腹時所見と疎通性

主要開腹時所見と疎通性回復の関係を表6に示した。癒着は126卵管中113卵管89.7%に見られ、疎通性は56卵管49.6%が回復した。癒着の程度は軽いほど回復率も良

い傾向が見られた。卵巣嚢腫、卵管水腫、子宮内膜症、子宮筋腫、結紮術後などが疎通性回復率も高く、結核を始めとする炎症性変化の見られる症例では回復率も低率である。

妊娠成立は癒着の軽いもの、卵巣嚢腫、内膜症、筋腫、結紮術後が多く、疎通性と同様、炎症性変化のある症例には少なかった。とくに卵管水腫例では、長期に疎通性が保たれても妊娠は皆無であった。

開腹時所見と術前 HSG 像の関係は、子宮内膜症では、両側子宮角より上方 (A 区域) に向かう卵管走行を示したものが15卵管中 9 卵管あり、卵巣嚢腫では腫瘤の大きさにもよるが、延長像をとまなつてゆるやかに上方 (B→A) に向かうもの 15 卵管中 7 卵管、子宮筋腫では卵管像欠除が 9 卵管中 4 卵管に認められた。水腫例は卵管のレトルト像、腸詰像、水面像などから考えられた開腹所見と実際の所見が良く一致した。

6. 卵管形成術々式と疎通性

i) 術式と疎通性

表7に術式別疎通性回復率を示した。癒着剝離術38卵管中26卵管68.4%、開口術52卵管中12卵管23.1%、吻合術は Polyethylen-Tube 利用の3卵管に疎通例なく、血管縫合器応用の18卵管中15卵管83.3%、移植術5卵管中2卵管40%、その他10卵管中7卵管70%であった。

ii) 術後通水療法と疎通性

開口術52卵管、吻合術3卵管、移植術5卵管の計60卵管に術後 Polyethylen-Tube を挿入した。術後、通水療法の対象としたのは開口術の52卵管であり、疎通性回復率は12卵管23.1%であった。

7. 組織学的所見と疎通性

44例、44卵管について組織学的検索を行った。この組織所見を粘膜上皮、粘膜下組織、筋層の各層別に、表8に示すように、組織所見の程度により a, b, c 3型に分類した。3層すべてaのものを「軽度」、1層でもbのあるものを「中等度」、1層でもcのあるものを「高度」と判定した。

この組織分類と疎通性の関係は表9である。軽度、中等度の疎通性は87.5%、77.8%であるのに、高度の変化を示す群では38.9%であった。また、妊娠率は37.5%、33.3%、0であった。

8. 卵管粘膜上皮表面微細構造と疎通性

21例、21卵管について SEM 像の観察を行った。粘膜上皮の表面構造の所見を表10のように正常範囲のものと、異常所見のあるものに分類した。表11はその結果を示したもので、同時に、同一試料の組織所見を疎通性、妊娠との関係で対比した。

SEM 所見で正常と判定されたもの11例中疎通性回復

表 7 卵管形成術術式と疎通性

術式	手術卵管	疎通数	%
剝離術	38	26	68.0
開口術	52	12	23.1
吻合術 (ポリエチレン・チューブ)	3	0	
血管縫合器 応用吻合術	18	15	83.3
移植術	5	2	40.0
その他	10	7	70.0
計	126	62	49.2%

表 8 組織像の判定

層 変化の程度	粘膜上皮	粘膜下組織	筋層
a	正常	同左	同左
b	軽度扁平上皮化 反応性増殖 線毛減少・消失 粘液減少・消失	軽度線維化 軽度変性 炎症細胞浸潤 小血管増生	軽度変性 炎症細胞浸潤 小血管増生
c	上皮剝離・欠損 扁平上皮化生	高度変性・壊死 高度線維化	変性・壊死 線維組織置換

表 9 組織所見分類と術後経過

分類	例数	疎通数	妊娠
軽度	8	7 87.5%	3 37.5%
中等度	18	14 77.8%	6 33.3%
高度	18	7 38.9%	0
計	44	28 63.6%	9 20.5%

10例(90.9%)、妊娠4例(36.4%)であるのに、異常所見群10例では4例(40%)であり、妊娠例は認められなかった。組織学的所見では、軽度、中等度の変化12例と高度9例であり、SEM 所見ときわめて良く一致した。

9. 妊娠例について

83例中14例16.9%に術後の妊娠成功例を認めた。1年以上の疎通性回復42例中では33.3%である。

i) HSG 像との関係

術前 HSG 像において、卵管走行方向が1側でも、B、または、BからA区域に向かうもの47例中12例25.5%の妊娠率であった。この妊娠は全14例中の12例85.7%であり、この区域に集中していた。閉塞部位別では、采部周囲の26例中7例24.1%、峡部16例中5例、31.3%、膨大部38例中2例5.7%であった。また、卵管像形態異常では延長20例中4例20%、蛇行15例中2例13%、結紮術後

表 10 卵管粘膜上皮の SEM 所見分類 (卵胞期のみ)

	粘膜上皮表面	線毛細胞	分泌細胞
正 常	細胞自由面 細胞境界 正常 細胞大きさ 線毛—非線毛細胞比	正 常  : Ia 型	正 常  : Ia 型
異 常	細胞自由面 異常膨隆 平坦化 粗糙化 細胞境界 不整・拡大 不鮮明化 細胞体 膨大・縮少 細胞比 著明に変化 細胞表面欠損腔形成 上皮細胞欠損	細胞数 減少 単一线毛細胞  II b 型増加 線毛減少 II d 型  線毛不整 I c, I d, II c 型 線毛の「クモの巣状」 連絡 V 型 	微絨毛 減少 I b 型  大小不同 癒合 粗糙化 細胞型表記 1973 Tanaka による

表 11 SEM と LM の観察所見比較

SEM				LM			
分類	例数	疎通	妊娠	分類	例数	疎通	妊娠
正 常	11	10	4	軽 度	4	4	2
		90.9%	34.4%			100%	50%
異 常	10	4	0	中 等 度	8	7	2
		40%				87.5%	25%
計	21	14	4	高 度	9	3	0
		66.7%	19%			33.3%	
				計	21	14	4

9 例中 4 例 44.4% であった。

ii) 開腹時所見と妊娠

開腹所見で卵巣嚢腫、内膜症、筋腫など、卵管そのものに病変の少ない症例 31 例では、妊娠 14 例中 7 例 50% を認めた。また、結紮術後、卵管萎縮などの 18 例では妊娠 5 例 35.7% を、水腫を始めとする卵管そのものに病変のある 34 例では、妊娠 2 例 14.3% であった。

iii) 術式と妊娠

術式中、最も成績の良かったものは、血管縫合器応用による端々吻合術であり、10 例中 5 例 50% の妊娠成立を認めた。癒着剝離術 24 例中 6 例 25%、開口術 38 例中 2 例 5.3% の妊娠率であったが、移植術 3 例には妊娠成立を見ていない。

iv) 組織所見と妊娠

組織所見では、粘膜上皮、粘膜下組織、筋層ともに変化の少ない濃度群 8 例中 3 例、中等度群 18 例中 6 例に妊

娠を認めたが、高度の変化のある高度群 18 例では 1 例も妊娠成功例がなかった。

v) SEM 所見と妊娠

SEM 像正常群 11 例中 4 例に妊娠成立が認められたが、異常群 10 例には妊娠成功例がなかった。また、組織所見とも良く一致した。

この結果、組織、あるいは、SEM 所見により、術後経過の推定が可能であり、卵管不妊の一因が粘膜上皮細胞のレベルにも存在しうると結論した。

考 案

卵管性不妊は女性不妊の約半数を占めていた⁶⁾が、最近では、結核、淋菌性卵管炎の減少と一致し、著しい減少傾向が見られている^{8,13,21,31)}。

卵管不妊の治療は一般に保存的療法を行うが、閉塞例では観血的療法が行われる^{5,7,22)}。しかし、閉塞の部位、癒着の程度により手術々式は異なるが、術後 1 年の疎通性回復率は 36.4%~90.0% であり、妊娠率は 9.1%~35.0% と低率である。

今回、83 例、126 卵管に卵管形成術を行い、疎通性回復率 49.2%、妊娠率 16.9% の成績をえた。

術後の疎通性回復率は、手術時年齢、不妊期間ともに関連を認めないが、妊娠率は加齢とともに減少傾向⁹⁾が認められた。とくに不妊期間 8 年以上では妊娠例を見なかった。

既往疾患では、子宮内膜症、開腹既往の増加が認められ、形成術症例では、さらに高頻度を示し、河合^{11,12)}、吉沢³²⁾らの指摘に一致した。これらのことから卵管不妊における早期診断、早期治療の重要性を認める。

卵管形成術における疎通性の回復は、術式の改良、術

後管理の工夫により、比較的容易になつてきたといわれるが、最終目的である妊娠の成功率はいまだに低率である²⁰⁾。

最近、河上¹⁹⁾は HSG 像の Scoring による疎通性予後の推定を行い、門田⁹⁾らは描記式 TV・HSG による診断向上をはかっている。当教室では連続撮影の意味も含めた 3 枚撮影法に側面像を加え、像の重複を除き、卵管走行方向の分類を試み、卵管走行形態、卵管像形態異常を分析し診断の精度向上、術後経過推定の資料としている²⁰⁾。

卵管走行方向は、開腹所見との相関において、両側子宮角より直ちに挙上するもの (A 区域に向かう) では、重症の子宮内膜症が認められ、疎通性、妊娠とも予後不良である。卵管延長を伴い、ゆるやかに挙上するもの (B→A 区域に向かう) は卵巣嚢腫が、また、卵管像欠落では子宮筋腫が多く、疎通性、妊娠とも良好であつた。水腫例では、疎通性回復率が良くても妊娠例はなく、結核を疑わせる像^{30), 31)}を示したものは疎通性、妊娠とも予後不良であつた。閉塞部位では、従来、采部、膨大部、峡部、間質部の順に良いといわれていた⁹⁾が、妊娠率において、峡部、采部、膨大部、間質部の順となつた。これは、血管縫合器応用の端々吻合術の好成績によるものである。

HSG 像と開腹所見の間には、以上のような密接な関係があるが、組織学的所見との関係においても同様であり、HSG 像で卵管の走行方向、形態に異常を示すものは、肉眼的な段階で識別しうる病変が存在し、術後の疎通性回復、妊娠率を低下させていた。

開腹所見において、既往開腹歴と内膜症の増加が示すように、癒着は 83 例中 75 例 90.4% の高率に認められた。癒着の程度が強いほど再閉塞は起り易いが、妊娠成立はあまり影響されず、卵管そのものの変化が影響をおよぼしていた。

最近の諸家の術後成績向上のための努力は、いずれも、術後の再閉塞、再癒着防止を主眼として報告されている。教室では、この目的のために中山式血管縫合器を端々吻合術に応用^{23), 24)}、疎通性回復 83.3%、妊娠率 50% の好成績をえた。卵管形成術の成否は、術式より残存卵管の良否によるといわれ^{1, 2, 15)}、一般に卵管そのものの肉眼的変化が少く、手術侵襲の少いほど術後経過は良好である^{1, 4)}。

このことは、組織学的変化と術後経過の関係を示唆するものである。林⁴⁾は 108 例の形成術症例中、25% に結核を認めたと述べている。今回の 83 例中には組織学的に 4 例 4.8% を認めた。

江口¹⁾は組織学的所見として、炎症性変化 76.4%、結

核 21.0% と報告、疎通性の回復が必ずしも妊娠に結びつかないことから、疎通卵管筋層の機能障害の重要性を指摘した。また、妊娠例の検討でも、妊娠成功例のほとんどの卵管に炎症性変化がなく、結紮術後の復元手術に妊娠成功例の多いことから妊娠を目的とした手術療法に限界があることを述べている。

今回の形成術症例 83 例中、44 例について組織学的所見を検討したが、これらの変化は、粘膜上皮下に始まり、粘膜上皮におよび、さらに、筋層に浸潤することが推定された。表 10 の成績のように、組織所見は変化の少いほど術後成績が良い。

SEM 所見でも、同様に異常所見の少いほど術後成績が良い。卵管水腫例のように、疎通性が回復しても妊娠しない症例の中には、粘膜上皮の異常例が多かつた。

光学所見との対比において、妊娠例には粘膜上皮層、あるいは、粘膜上皮表面に異常を示した症例は皆無であつた。また、筋層のみが高度の変化を示した症例もなかつたことから、卵管粘膜上皮の細胞レベルでの異常も、不妊の一因となりうるものが考えられ、術後の疎通性回復、妊娠の可能性を推定することができた。

稿を終るにあたり、本研究の御指導、御校閲を賜りました高見沢裕吉教授に謹んで感謝の意を表します。また、直接御指導、御鞭撻をいただいた高野昇前助教授に心からお礼申し上げるとともに、電頭など基礎的研究の御指導を戴きました白井敏雄山形大学教授をはじめ、御援助を賜りました教室の皆様にも厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 江口貞雄：卵管閉塞症に関する臨床的ならびに病理学的考察，日不妊会誌，4：49-53，1959。
- 2) 秦良麿，国本恵吉：不妊症における卵管因子一特に機能性卵管不妊について一，臨産産，23：385-389，1969。
- 3) 林方也：不妊症における卵管障害の手術療法，産婦世界，28：15-18，1976。
- 4) 林基之，江口貞雄，百瀬和夫：卵管閉塞症の病理的研究一主として卵管形成術を中心として一，産婦世界，10：1714-1720，1958。
- 5) 林基之：現代産婦人科学大系 9，不妊症，1-129，中山書店，東京，1970。
- 6) 五十嵐正雄，保坂久，佐藤昭吾，小沢睦男，藤間幸道：群馬大学産婦人科外来の検査成績，第 1 報，日不妊会誌，6：93-99，1961。
- 7) 飯塚理八，己斐秀豊，小林俊文：不妊症学，金原出版，東京，1974。
- 8) 飯塚理八，河上征治，中島進：不妊外来とその実際，産婦治療，32：39-44，1976。
- 9) 門田徹，山田滋彦：卵管疎通性の診断一とくに卵管通水法について一，産婦治療，32：61-66，1976。

- 10) 河上征治, 森定 優, 杉山 武, 林 和彦, 日原弘: HSG よりみた卵管疎通障害の手術適応, 産婦世界, 28: 9-14, 1976.
- 11) 河合信秀, 長阪恒樹, 中村淳子, 酒井純孝, 安田孝: 子宮内膜症の保存的手術療法, 産婦世界, 28: 617-622, 1976.
- 12) 河合信秀, 目崎 登, 砂川清治: 機能性不妊症の形態学的考察, 産婦世界, 28: 717-722, 1976.
- 13) 倉智敬一: わが教室における不妊症治療, 産婦治療, 32: 83-88, 1976.
- 14) 百瀬和夫, 郭 博文, 内出洋道, 間壁さよ子, 中村 博: 卵管粘膜における物質の分泌と吸収, 医学のあゆみ, 64: 760-765, 1968.
- 15) 関本昭治: 不妊患者の妊娠成功例の検討, 特に卵管不妊例について, 日不妊会誌, 12: 150-159, 1967.
- 16) 鈴木秋悦: 卵管, 医学のあゆみ, 83: 319-325, 1972.
- 17) 鈴木秋悦, 伊藤武夫, 関 賢一, 藤原達司, 浜田光磨: 卵管—とくに人ならびに家兎卵管上皮の表面微細像一, 産と婦, 49: 22-27, 1974.
- 18) 杉本 修: 女性不妊の診断と治療, 産婦治療, 32(1): 30-35, 1976.
- 19) 下山利雄: 成熟婦人卵管粘膜上皮の電子顕微鏡的研究, 日産婦誌, 15: 1237-1242, 1963.
- 20) 下山利雄: 人卵管粘膜上皮細胞の電子顕微鏡的研究—特に胎生期・妊娠期, および, 老年期における卵管上皮細胞の微細構造, 日産婦誌, 15: 1307-1312, 1963.
- 21) 高田道夫, 中山隆幸, 石和 久: 女子性器感染と不妊—妊娠能への影響とその予防ならびに治療, 産婦世界, 27: 617-622, 1975.
- 22) 高見沢裕吉, 高野 昇: 卵管不妊に対する手術療法, 手術, 29: 1153-1158, 1975.
- 23) 高野 昇: 卵管形成術について, 臨婦産, 25: 1227-1232, 1971.
- 24) 高野 昇, 川島 裕, 田巻勇次: 卵管形成術への血管縫合器応用について, 臨婦産, 28: 145-150, 1974.
- 25) 高野 昇, 大久保綜也: 卵管形成術後に発生した腹腔妊娠の 1 例, 産婦実際, 23: 999-1004, 1974.
- 26) 高野 昇, 高見沢裕吉: 卵管形成術症例の検討, とくにその予後について, 日不妊会誌, 20: 283-288, 1975.
- 27) 高野 昇, 大久保綜也, 高見沢裕吉: 卵管内部環境の異常—実験的異常家兎卵管内膜上皮の表面微細構造, 産婦世界, 27: 1197-1202, 1975.
- 28) 田巻勇次, 小堀恒雄, 高野 昇, 大久保綜也, 清水三郎, 田島朝信, 高見沢裕吉: 側面像による子宮卵管造影の解析, 日不妊会誌, 22: 58-66, 1977.
- 29) 田中 正明: 人卵管内膜の走査型電子顕微鏡的研究, 産婦進歩, 26: 213-221, 1973.
- 30) 山口竜二: 現代産科婦人科学大系 7 B, 婦人科診断学 II, 1-85, 中山書店, 東京, 1970.
- 31) 山口竜二: 現代産科婦人科学大系 8 A, 性器結核, 283-318, 中山書店, 東京, 1970.
- 32) 吉沢伸二, 内野鴻一, 百瀬和夫: 当教室における卵管不妊の経年的推移, 産婦世界, 28: 15-20, 1976.
- 33) Fredricsson, B. and Bjoerkman, N.: Morphologic alterations in the human oviduct epithelium induced by contraceptive steroids. Fertil. Steril., 24: 19-29, 1973.
- 34) Clyman, M. J.: Silastic hoods in tuboplasty; a new approach to their removal. Fertil. Steril., 19: 537-542, 1968.
- 35) Fenoglio, C. M., Richart, and Kaye, G. I.: Comparative electron-microscopic features of normal, hyperplastic, and adenomatous human colon epithelium. Gastroenterology, 69: 100-109, 1975.
- 36) Mulligan, W. J.: Use of polyethylene in tuboplasty. Fertil. Steril., 4: 428-435, 1953.
- 37) Patek, E. Nilsson, L. and Johannisson, E.: Scanning electron microscopic study of the human fallopian tube. Report 2. Fetal life, reproductive life, and postmenopause. Fertil. Steril., 23: 719-724, 1972.
- 38) Patek, E. Nilsson, L. Johannisson, J. Hellem, M. Bout, J.: Scanning electron microscopic study of the human midpregnancy and of various steroids. Fertil. Steril., 31: 24-31, 1973.
- 39) Shirodkar, V. N.: Plastic surgery of fallopian tubes. West. J. Surg. 69: 253-257, 1961.
- 40) Woodruff, J. D.: The Fallopian Tube 46-66, 307-335, Williams & Wilkins. U.S.A. 1969.

Studies on the tubal infertility; mainly of the tuboplasty

Soya Okubo

Department of obstetrics and gynecology,
School of Medicine, Chiba University,
Chiba
(Director: Prof. Hiroyoshi Takamizawa)

Tuboplastic operations were performed on 126 tubes of 83 infertile patients with various forms of tubal obstructions.

The results were as follows:

1) The recoveries from tubal occlusion were seen in 62 tubes (49.2%) of 126 tubes and the total numbers of post-operative pregnancy were 14 (16.9%).

2) Among the cases who recovered from the tubal occlusion, the post-operative pregnancy rate decreased in accordance with aging and

period of infertility. Furthermore, there were no post-operative pregnancy in the group who had suffered from adnexitis or venereal diseases.

3) Pre-operative hysterosalpingography (HSG) showed the following types of obstruction; infundibular, ampullar, isthmic and interstitial. In all cases, the best recovery rate was obtained in the cases with infundibular obstruction.

In the cases of endometriosis, the HSG images frequently showed the tubal shadows going straight upward from the uterine cornua and there were no recoveries from the tubal occu-

sion.

4) The highest recovery rate (75%) was found in the group with hydrosalpinx.

5) Four tuboplastic methods were employed. Their recovery rates were as follows; end-to-end anastomosis (71.4%), salpingolysis (68.4%), tubal implantation (40%), and salpingostomy (23.1%).

6) The post-operative pregnancy rate was very poor in the group whose tubal epithelium revealed abnormal microscopic or scanning electron microscopic findings, even though the tubal patency was recovered.

(受付：昭和53年2月20日，特掲)

ALKALINE PHOSPHATASE ISOENZYMES WITHIN PLACENTAL SITE IN RABBITS

Yasushige MAJIMA

Dept. of Obstetrics and Gynecology, Toho University, School of Medicine

Hisao AMANO

Dept. of Biochemistry, Toho University School of
Medicine, Ohta-ku, Tokyo, Japan

Abstract: To clarify the origin of decidual alkaline phosphatase (Al-P) and investigate its isoenzyme, Al-P from the placental site, i.e. the placenta, decidua and uterus were purified by the micro procedure which the authors modified after Ahmed and Morton's method using pregnant rabbits (post coitum 23 days). Physicochemical properties of the enzyme were analyzed by measuring specific activity, electrophoretic characteristics and effects of substances *in vitro*.

Specific activity per mg protein was highest in the placenta, followed by those of the implanted uterus, nonimplanted uterus and decidua in this order.

As to K_m , there were no significant differences within the placental site.

Heat stability test at 50°C for 30 min revealed that placental and decidual Al-P activities were decreased by 50% and uterine Al-P activity was decreased to only 25% of the original value.

Optimum pH of Al-P activity was at 10.01 for all tissues.

The decidual Al-P isoenzymes were found to be similar to the placental isoenzymes with regard to Mg^{++} effects, L-tryptophan effects and heat stability test.

Placental and decidual Al-P were separated in the same patterns in polyacrylamide disc electrophoresis, even though they were not separated in agar gel electrophoresis.

These data suggest that decidual Al-P was very similar to placental Al-P in enzymatic characteristics and that it probably originated from the placenta.

Introduction

It is a well known fact that acceleration of Al-P activity occurs in endometrial fibroblasts before nidation^{1,2,4,5,6}. Since decidual cells are transformed from endometrial fibroblasts and identical isoenzymes are regarded to be derived from the same origin, it is expected that the isoenzyme of decidual cells will be identical to that of the uterus. Furthermore Murdoch and others³ claim that the Al-P enzymes extracted from the nonimplanted and implanted uterine sites on day 9 of pregnancy displayed similar biochemical properties suggesting that the phosphatases at both uterine sites are the same protein although isoenzymes were not

investigated electrophoretically. It is interesting, then, to investigate isoenzymes in various portions of the rabbit placental site to study the biochemical basis of decidual cells^{7,8,9}.

Materials and Methods

Experimental animals

Japanese white virgin rabbits, weighing between 2,000 and 2,500 gm were used in these experiments. The animals in an air conditioned room were housed in individual metal cages in isolation for 3 weeks in order to avoid induction of pseudopregnancy. Twenty three days after mating, when the placenta was completely formed functionally

as haemoendothelial types, the animals were sacrificed by a neck dislocation, the uteri were taken out immediately and were separated on ice into decidua, implanted and nonimplanted portions. Since only 1-2 gm of tissue was obtained from one portion of implanted uterus, microprocedure was necessary for partial purification of Al-P. All processes were performed at 4°C.

Enzyme activity assay

For the determination of Al-P specific activity, the method of Kind-King¹⁰⁾ was employed, using Disodium α -naphthylphosphate as the substrate. Protein was measured by Lowry's method¹¹⁾. Specific activity was expressed in international units per mg of protein.

Enzyme purification procedure

For micro procedures of partial purification of Al-P, Morton's¹²⁾ butanol method and Ahmed's¹³⁾ method were modified. In order to obtain minced tissue, 1-2 gm each of separated decidua, uteri and placenta were washed with jets of distilled water to remove blood and lymph in the tissue. Each type of minced tissue was homogenized with twice volume of water at 1,500 r.p.m. for 2 min by a teflon Potter homogenizer and was adjusted to pH 6.5 with 0.1 N acetic acid by using a micro pH meter. Then each homogenate was centrifuged at 10,000 r.p.m. for 10 min. The supernatant was collected. This crude extraction was named step 1. At this step each extract was measured for specific activity of Al-P by the Kind-King method and the result was expressed in international units; protein was measured by Lowry's method. Then butanol (1.5 ml/g tissue) was added gradually with continuous vigorous mechanical stirring for 30 min. The homogenate became cream-coloured and well emulsified and was stabilized with 35°C heat treatment for 5 min. After centrifugation for 45 min at 10,000 r.p.m. at -4°C, the mixture was separated into 4 layers and the aqueous layer was collected and filtered through Watman No. 2 filter paper. This butanol treatment was named step 2. In order to precipitate inactive protein, acidification to pH 4.9 with 0.1 N acetic acid under continuous stirring was done. And after leaving at room

temperature for 30 min, the extract was centrifuged at 10,000 r.p.m. The clear filtrated supernatant was readjusted to pH 6.5 with 0.1 N acetic acid. This acidification was named step 3. Then by adding chilled acetone the supernatant was made into a 30% acetone solution. After 2 hours the supernatant was treated with more chilled acetone to a 50% solution. Acetone fractionation was named step 4. Attempts at further fractionation using ammonium sulfate were unsuccessful due to inactivation of Al-P.

Agar gel electrophoresis

An agar gel electrophoresis method and isoenzyme staining procedure devised by M. Yoshida of Toho University were used. The gels were placed in a Fujiriken electrophoresis chamber. For electrophoresis a constant current was applied at 2 mA per cm for the first 30 min. and then at 4 mA per cm for the next 3 hours. Then the gels were removed and stained by a solution of 48 mg of 1 mM Naphthol AS-BI phosphate (1), 95 ml of 0.25 M tris-HCl buffer pH 9.0, containing 5 mM magnesium sulfate (2), of 87.5 mg Diazonium fast blue BB salt (3) and 2.5 ml of 0.27 M N, N-Dimethylacetamide. For simultaneous coupling, each volume of 1), 2) and 3) are mixed immediately before use and incubated at 37°C for 1 to 2 hours. Polyacrylamide gel electrophoresis

Disc polyacrylamide gel electrophoresis was carried out in 7.5% standard gel according to Davis¹⁴⁾, conducted at a constant current of 2 mA per tube.

Results

Al-P of placenta, decidua, implanted uterus and nonimplanted uterus were purified and the results were summarized in Table 1. In the placenta, specific activity in step 1 was 680.1×10^{-3} I.U./mg and in step 4 was $11,051.9 \times 10^{-3}$ I.U./mg. Thus, placental Al-P enzyme was purified up to at least 16.3 times during these 4 steps. In the same way, decidua Al-P was purified up to 12.3 times, implanted uterine Al-P up to 25.4 and nonimplanted uterine Al-P up to 28.6 times. A comparison of specific activity in each tissue at step 1 was made and the mean S.D.

Table 1. Summary of purification of Al-P from placental sites during each step

Placenta							
Step No.	Vol. (ml.)	Activity (I.U./l)	Total Activity (I.U./l)	Protein (mg./ml)	Specific Activity (10^{-3} I.U./mg.)	Yield (%)	Purification
1	3.7	13602.3	50.3	20.8	680.1	100.0	1.0
2	2.0	9139.0	18.3	3.0	3046.4	36.4	4.5
3	1.4	5674.7	7.9	1.0	5674.7	15.7	8.4
4	1.0	4420.7	4.4	0.4	11051.9	8.7	16.3
Decidua							
1	2.5	850.1	2.1	18.4	64.2	100.0	1.0
2	1.2	680.1	0.8	5.5	123.7	38.1	2.7
3	1.0	347.1	0.4	2.1	165.3	19.1	3.6
4	1.0	283.4	0.3	0.5	566.8	14.3	12.3
Implanted Uterus							
1	3.0	3628.8	10.9	18.0	201.6	100.0	1.0
2	2.0	2630.4	5.3	5.3	496.3	48.6	2.5
3	1.3	2714.0	3.5	2.3	1180.0	32.1	5.9
4	1.0	2050.9	2.1	0.4	5127.3	19.3	25.4
Nonimplanted Uterus							
1	3.2	4080.7	13.1	28.0	145.7	100.0	1.0
2	1.7	2805.5	4.8	6.7	418.7	36.6	2.9
3	1.3	2408.7	3.1	2.8	860.3	23.7	5.9
4	1.0	2082.8	2.1	0.5	4165.6	16.0	28.6

was calculated from 6 rabbits. There were two marked differences in Al-P activity within the rabbits placental site (Table 2). First, the activity of Al-P in decidua, $5.06 \pm 9.7 \times 10^{-3}$ I.U./mg, was the lowest and second, there were statistically significant differences ($p < 0.001$) in Al-P specific activity between implanted and nonimplanted uterus.

The Michaelis constant for disodium phenyl phosphate as the substrate was 1.5×10^{-3} in the placenta, 2.2×10^{-3} in the decidua and 2.5×10^{-3} in the uterus as shown in the left graph of Fig. 1.

The optimum pH was found in the same range near 10.01 with disodium phenyl phosphate as the substrate in each tissue in the middle graph. The results of the heat stability test at $56^\circ\text{C}^{(5)}$ were shown in the right graph of Fig. 1. After incubation for 30 min, placental and decidual Al-P activities were decreased by 50%, whereas uterine Al-P activity was decreased to only 25% of

Table 2 Specific activity of alkaline phosphatase from rabbit placental site during step 1

Placenta	$627.6 \pm 88.6 \times 10^{-3}$
Decidua	$50.6 \pm 9.7 \times 10^{-3}$
Implanted Uterus	$203.2 \pm 11.9 \times 10^{-3}$
Nonimplanted Uterus	$145.7 \pm 9.2 \times 10^{-3*}$
I.U./mg. protein	
mean \pm S.D. of 6 rabbits	
* $P < 0.001$ versus implanted uterus	

the original value.

The effects of various concentrations of each substance on Al-P activity of rabbit placental site was shown in Figs. 2 and 3. L-leucine, L-phenylalanine, EDTA, ethanol, urea and zinc ion all acted as an inhibitor and showed the same inhibition profile in the placenta, decidua and uterus. On the other hand $\text{Mg}^{++(6)}$ acted as an activator at 10^{-3} and 10^{-2} molar concentrations and uterine Al-P activity was increased about 4 times

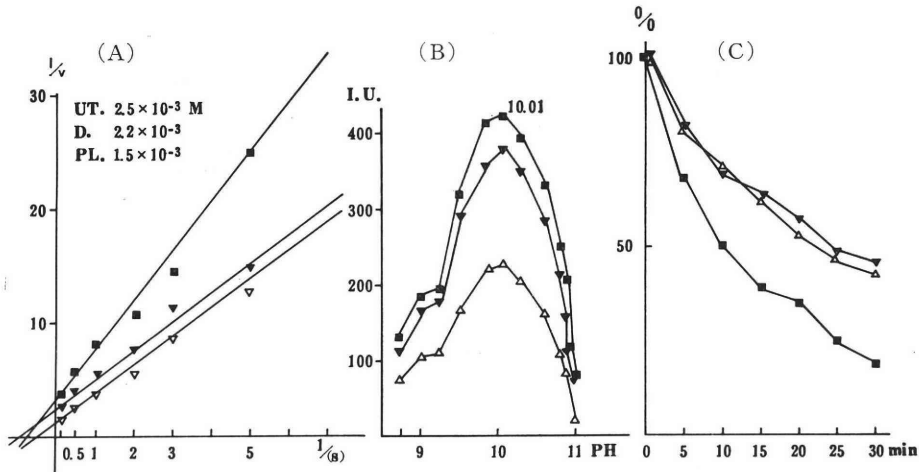


Fig. 1. Summary of partial purification procedure of alkaline phosphatase from rabbit placental site. (A): Michaelis constant determination. For a Michaelis constant determination, graded substrate concentrations (1 mM, 10 mM, and 100 mM of 2 Na phenyl phosphate as substrate) were employed and the reaction mixtures were buffered with 0.5 M carbonate buffer at pH 10.2 and distilled water was added to make 2 ml of reaction mixture in the final volume. K_m were obtained from linear reciprocal plots (Lineweaver and Burke plot) using graded final substrate concentrations ranging from 0.1 to 10.0 mM/ml. (B): Optimal pH determination. Eleven series reaction mixtures were prepared between pH 8.6 and 11.0 using 50 mM NaHCO_3 NaCO_3 buffer, and the effects of varying pH was tested. (C): Heat stability. Al-P activity from each tissue was determined every 5 minutes under incubation at 56°C and plotted as a percentage of original activity. (■—■ uterus, ▼—▼ placenta, ▲—▲ decidua)

while placental and decidual Al-P were accelerated two fold. As far as the effect of L-tryptophan is concerned, both placental and decidual Al-P were inhibited, while uterine Al-P was activated at concentrations up to 10^{-3}M .

To further clarify these resulting similarities between decidual and placental Al-P isoenzymes, agar and polyacrylamide electrophoresis were performed. Agar gel electrophoreograms are shown in Fig. 4 and polyacrylamide electrophoreograms are shown in Fig. 5. The electrophoreograms of the placental site are shown in Fig. 4. These broad tailing bands in the lower two strips were from the decidua and placenta, which were obviously different from the uterine one. In Fig. 5, the isoenzyme was separated into 3 bands in the uterus, which differed from the decidua and placenta, in which the isoenzyme was separated into 2 bands.

Discussion

During very early pregnancy, endometrial decidualization plays an important role in the provision of maternal nutrients near or before nidation. With advancing pregnancy, decidualization appears to prepare parts of the placental membrane for further fetal growth and development, by creating a favorable environment for the fetus such as an immunological barrier.

Manning and others^{17,18,19,20} claimed that the decidual Al-P in the rat is either released or activated by a latent precursor protein, and that de novo nucleic acid or protein synthesis is not necessary for the formation of the active Al-P enzyme molecule. Murdoch³ described enzymes extracted from interimplantation and implantation sites in the rabbits on day 9 of pregnancy which displayed biochemical properties similar to each other, suggesting that the phosphatases at both uterine sites are the same protein. Therefore, it seems that no

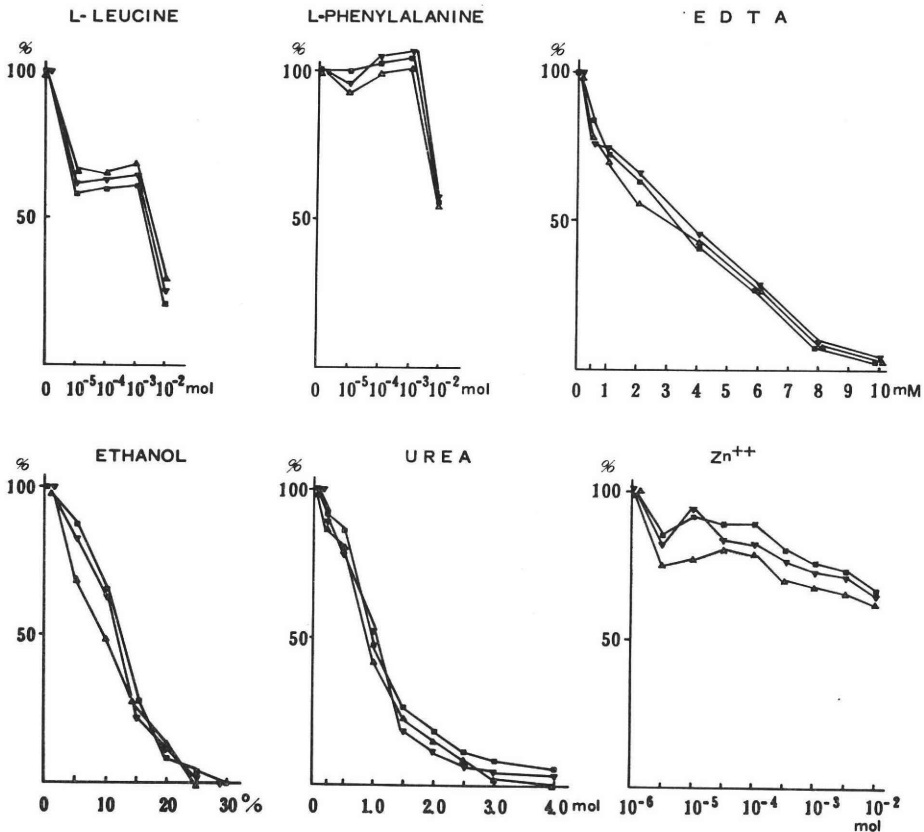


Fig. 2. Inhibiting effects of various substances on alkaline phosphatase activities of rabbit placental site. In order to investigate the effects of L-leucine, L-phenylalanine, EDTA, ethanol, urea, and Zn⁺⁺ on the activity of Al-P from rabbit placental sites, each substance was incorporated into the bicarbonate buffer solution, so as to give final concentrations in the mixture ranging in molarity (with the exception of ethanol concentrations which were expressed as % volume). The effects of various concentrations were expressed in percentages of the original activity. (■—■ uterus, ▼—▼ placenta, ▲—▲ decidua).

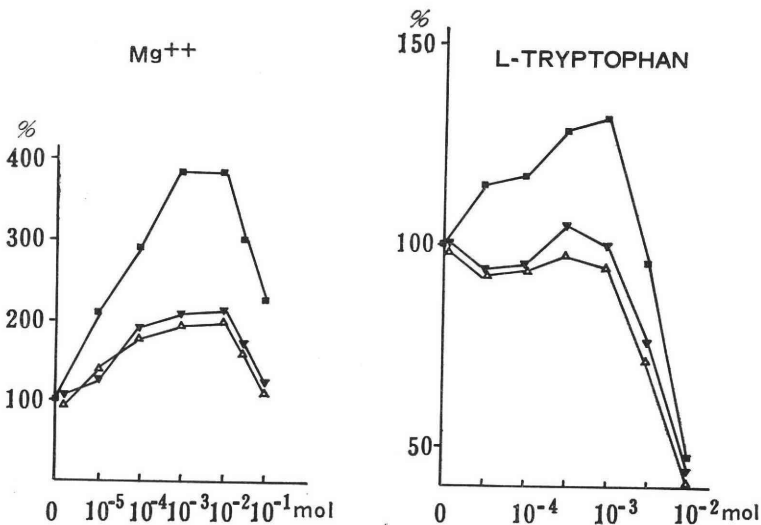


Fig. 3. Activating effects of Mg⁺⁺ and L-tryptophan on alkaline phosphatase activities of rabbit placental sites. Procedures were the same as for the inhibiting substances. (■—■ uterus, ▼—▼ placenta, ▲—▲ decidua).

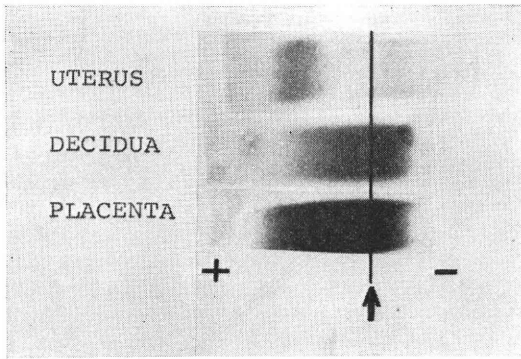


Fig. 4. Agar gel electrophoreograms of alkaline phosphatase isoenzyme patterns of rabbit placental sites.

such precursor as found in the rat exists in the rabbit. The results of our isoenzymatic investigations demonstrated the similarity of the isoenzymatic characteristics between the placental Al-P and the decidual Al-P, as far as heat stability tests, Mg^{++} effects and L-tryptophan effects. This suggests that the decidual Al-P originates from the placenta.

However, the absence of a precursor-type substance in the rabbit had not been confirmed by other isoenzymatic techniques, such as electrophoresis. Therefore, this investigation was conducted to provide some insight into this area of investigation.

In connection with our experiments described here, the investigation conducted by Yamamura²¹⁾ forms an interesting basis for comparison. His studies were concerned with the origins of Al-P in the various organs (liver, kidney, heart, small intestine, placenta) employed Morton's butanol method for purification and subsequent tests including electrophoresis, heat stability tests, optimum pH tests, and the effects of substances on the enzyme (L-phenylalanine, L-tryptophan, 4 M urea, Mg^{++} , etc.). In employing such techniques for the identification of Al-P origins, Yamamura was described (unpublished) characteristics of placental Al-P isoenzyme, quite similar to what we found in our investigation.

In the case of the Japanese white rabbit used in this investigation, experimental procedures were not commenced until the animals were in the last third of the normal gestation period (approximate last 10 days).

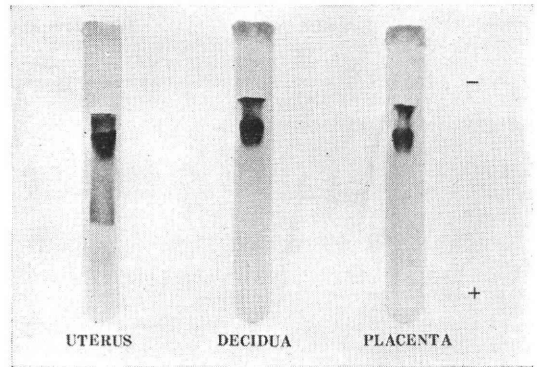


Fig. 5. 7.5% polyacrylamide disc gel electrophoresis of Al-P isoenzyme from rabbit placental sites.

This was due to the fact that until the final third, the placenta is not fully developed functionally into the hemoendothelial type. Hence the 23rd day post coitum was chosen as an appropriate stage for beginning the experimental procedure.

In stead of pooling of material from several placental sites of the uterus, only 1-2 g. of tissue from each site were used for avoiding obscuration of the biochemical origins of each type of tissue, the placenta, decidua and uterus. Therefore, the use of micro-procedures formed an essential part of the investigative process. Our procedure in partial purification of Al-P was adopted and modified from both Morton's butanol method and Ahmed's method to suit our needs for appropriate microprocedures.

Acknowledgements

The authors wish to thank Dr. S. Noguchi for his advice and constant encouragement during the course of this study, and Mr. K. Kurosu for reviewing the manuscript.

Presented at the ninth annual meeting of the Society for the Study of Reproduction Philadelphia, PA, August 10-13, 1976 and at the twenty first Japan Congress on Fertility and Sterility, Kobe, October 10, 1976.

References

- 1) Christie, G. A. : Histochemistry of implantation in the rabbit. *Histochemie*, 9 : 13, 1967.
- 2) Murdoch, R. N. : Uterine endometrial phosphomonoesterases in relation to implanta-

- tion in the ewe and rabbit doe. *Aust. J. Biol. Sci.*, 23:1089, 1970.
- 3) Murdoch, R. N.: Changes in acid alkaline phosphatase activities in the uterus and oviduct of the rabbit doe during early pregnancy. *Aust. J. Biol. Sci.*, 25:387, 1972.
 - 4) Iizuka, R.: Implantation: p 92, Japan, Keio Univ. press, 1971. (In Jap)
 - 5) Hafez, E. S. E. and White, I. G.: Endometrial and embryonic enzymes in relation to implantation of the rabbit Blastocyst. *Anat. Rec.*, 159:273, 1967.
 - 6) Pfeleiderer, A.: The action of oestradiol and histamine on the site of nidation in the rabbit. *Acta Endocr.*, 50:497, 1965.
 - 7) Boving, G. G.: Chap. VII, Mechanisms concerned with conception (edited by C. Hartman): p 321, London, Pergamin Press, 1962.
 - 8) Varma, S. K. and Talwar, G. P.: Changes in the activity of two enzymes in rabbit fallopian tube following copulation and hormonally induced ovulation. *Indian J. Med. Res.*, 61:1841, 1973.
 - 9) Gupta, D. N., Karkun, J. and Kar, A. B.: Biochemical changes in different parts of the rabbit fallopian tube during passage of ova. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 106:833, 1970.
 - 10) Yoshida, M.: Clinical analysis, 4: Enzyme, p 88, Tokyo kagaku dohjin press, 1970.
 - 11) Lowry, O. H. et al.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265, 1946.
 - 12) Morton, R. K.: The purification of alkaline phosphatases of animals tissues. *Biochem. J.*, 57:595, 1954.
 - 13) Ahmed, Z. and King, E. J.: Purification of placental alkaline phosphatase. *Biochim. Biophys. Acta.*, 40:320, 1960.
 - 14) Davis, B. J.: Disc electrophoresis-II. Method and application to human serum proteins. "Gel electrophoreses". *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121:404, 1964.
 - 15) Neale, F. C., Clubb, J. S., Hotchkis, D. and Posen, S.: Heat stability of human placental alkaline phosphatase. *J. Clin. Pathol.*, 18:359, 1965.
 - 16) PetitClerc, C., Delisle, M., Martel, M., Fecteau, C. and Briere, N.: Mechanism of action of Mg^{++} and Zn^{++} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the Soluble Zn^{++} and Mg^{++} alkaline phosphatases. *Canadian J. Biochem.*, 53:1089, 1975.
 - 17) Manning, J. P., Calenti, L. and Carter, S. G.: Prevention by estrogen of the decidual alkaline phosphatase response in intact and ovariectomized pseudopregnant rats. *Proc. Soc. Biol. Med.*, 133:1031, 1970.
 - 18) Manning, J. P., Green, S., Inglis, N. R. and Fishman, W. H.: Characterization of alkaline phosphatase from rat pregnant and pseudopregnant deciduae, fetal placentae, anestrus uteri and small intestine. *Enzymologia*, 37:261, 1969.
 - 19) Manning, J. P., Steintz, B. G., Babson, A. L. and Butler, M. C.: A simple and reliable method for estimation of alkaline phosphatase in tissue homogenates. *Enzymologia*, 31:309, 1966.
 - 20) Manning, J. P., Steintz, B. G. and Gianina, T.: Decidual alkaline phosphatase activity in the pregnant and and pseudopregnant rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 166:482, 1969.
 - 21) Hata, H., Tono, K., Hashinotsume, M. and Yamamura, Y.: Studies on alkaline phosphatase of various organs in rabbits. *Seikagaku*, 45:861, 1973.

家兎胎盤附着部における Alkaline phosphatase isoenzymes

真島靖重

東邦大学産婦人科

天野久夫

東邦大学生化学

Ahmed 法, Morton 法を基に alkaline phosphatase (Al-P) 微小精製法を考案し, 家兎自然交配後 23 日目の胎盤附着部位, 即ち, 胎盤, 脱落膜および子宮の Al-P を精製し, 酵素の物理化学的性質 (比活性, 電気泳動, *in vitro* での諸物質の影響) を検討し, 脱落膜中の Al-P の酵素由来を調べた。胎盤中の Al-P 蛋白比活性が最高値で, 着床部位子宮, 非着床部位子宮, 脱落膜の順であった。Km では有意差はなく, 56°C 耐熱性試験では胎盤, 脱落膜の Al-P 活性は始めの値より 50% 減少, 子宮の Al-P 活性は 25% 減少した。Al-P 活性の至適 pH は胎盤, 脱落膜, 子宮共に 10.01 であった。Mg⁺⁺, L-tryptophan による影響および耐熱性試験から脱落膜 Al-P と胎盤 Al-P の類似性がうかがわれた。胎盤と脱落膜 Al-P は寒天電気泳動では分離せず polyacrylamide disc 電気泳動で同じ pattern に分離した。以上実験結果の酵素的な性質上, 脱落膜 Al-P は非常に胎盤 Al-P に類似しており, 脱落膜 Al-P の由来は胎盤 Al-P であることが推察される。

(受付: 昭和 53 年 3 月 1 日, 特掲)

最近の不妊外来における妊娠成功例の検討

Clinical Observations on the Pregnant Cases in our Infertility Clinic

名古屋大学医学部産婦人科学教室（主任：友田豊教授）

東 出 香 二 成 田 収 万 羽 進
Kohji HIGASHIDE Osamu NARITA Susumu MANBA

下 須 賀 洋 一 木 村 隆 中 西 勉
Youchi SHIMOSUKA Takashi KIMURA Tsutomu NAKANISHI

友 田 豊
Yutaka TOMODA

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

(1) 妊娠率は、原発不妊901例中137例 15.2%，続発不妊 254例中56例 22.0%，全体としては1155例中 193例，16.7%であった。

(2) 193例の不妊因子別分類では、女性因子61.2%，男性因子6.2%，男性因子+女性因子6.2%，その他0.5%，因子不明群25.9%となっていた。また、女性因子118例中56.8%が排卵障害であった。

(3) 因子不明群及びその他を除く142例を妊娠成立に関与したと考えられる療法別にみると、ホルモン療法62.7%，手術療法7.7%，両者の併用療法4.9%，その他14.9%，無治療9.8%となった。

(4) 初診より妊娠に至る期間は、原発不妊137例では、12ヶ月未満に69.9%，続発不妊56例では、12ヶ月未満に78.6%が妊娠に成功した。

(5) 妊娠の転帰は、流産（中絶，胎状奇胎を含む）13.5%，分娩（早期産を含む）51.3%，妊娠継続中13.4%，不明21.8%の成績を得た。

はじめに

近年、医学的知識の普及と共に、不妊を主訴として、産婦人科及び泌尿器科を訪れる夫婦が増加していることは、諸家の報ずるところである。不妊の定義については、国際産婦人科連合では、結婚または前回妊娠後2年以内、アメリカ合衆国不妊学会では1年以内に妊娠しないものを不妊としている。

挙児を希望する婦人に、なるべく早い時期から治療を開始し、妊娠を成立させ、究極の目的である正常な児を得られるように努力することは、医師にかせられた使命であろう。

このような観点から、今回、我々は挙児希望にて当科を受診した夫婦のうち、初診時不妊期間が1年以上あり、妊娠に成功した症例について、妊娠成立に関与したと考

えられる治療法及び妊娠の転帰を中心に検討した。

対 象

昭和47年1月より、昭和51年12月までの間に挙児を希望して当科を受診した夫婦のうち、初診時不妊期間が1年以上であったのは1155例であった。このうち、昭和52年8月現在までに妊娠に成功した193例を対象とした。

なお、同一不妊婦人が妊娠成功を2回以上みた場合には、第1回目の妊娠のみについて検討を行った。

方 法

原発不妊，続発不妊別に、その妊娠率，初診時年齢，初診時不妊期間，既往歴を検討し、また、続発不妊の最終妊娠を分析した。

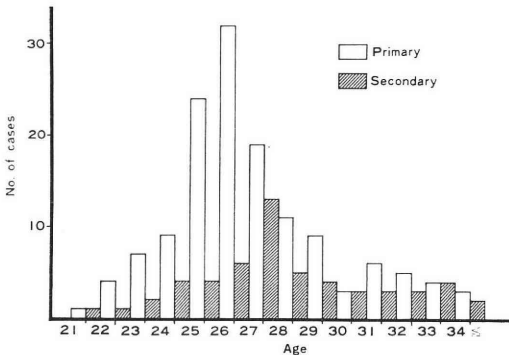
次いで、不妊因子別の頻度，妊娠成立に関与したと考

えられる治療法を不妊因子別及び治療法別に検討し、精液所見、初診から妊娠成立までの期間（初診年月日より妊娠に至る最終月経第1日目までの期間）、及び妊娠の転帰について分析した。

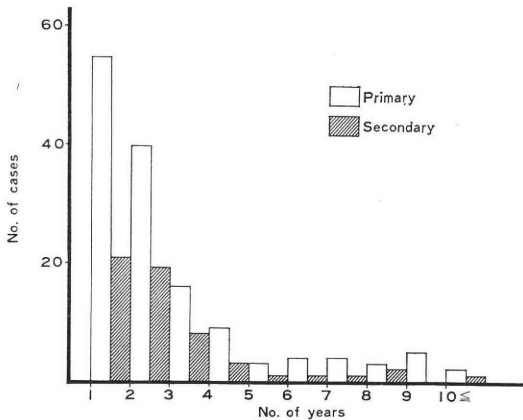
臨床成績

昭和47年1月より5年間に不妊を主訴として訪れた夫婦のうち、初診時不妊期間1年以上の婦人は1155例であり、原発不妊は901例(78.0%)、続発不妊は254例(22.0%)であった。妊娠率についてみると、原発不妊は901例中137例15.2%、続発不妊は254例中56例22.0%であった。続発不妊の妊娠率は原発不妊に比較して明らかに高かった。全体の妊娠率は16.7%であった。

[Figure 1] は初診時年齢分布を示したものである。原発不妊は、21歳から36歳に分布し、平均年齢は27.0歳であった。続発不妊は、21歳から42歳に分布し、平均年齢は28.3歳であった。全体の平均年齢は27.4歳であった。原発不妊と続発不妊とを比較すると、続発不妊では年齢による頻度の違いに著しい差を認めなかった。



[Figure 1] Age distribution of patients on first visit.



[Figure 2] Infertile periods on first visit of primary and secondary infertility.

初診時不妊期間を示したのが [Figure 2] である。原発不妊と続発不妊とは、やや異なる傾向を認めた。原発不妊では、不妊期間1年以上2年未満が55例40.1%と最も多かつた。2年以上3年未満では40例29.2%、3年以上4年未満では16例11.7%と不妊期間が長くなるに従って減少傾向を示していた。一方、続発不妊では、1年以上2年未満が21例37.5%、2年以上3年未満が19例33.9%と殆ど差を認めないが、3年以上になると、しだいに減少傾向を示していた。

不妊期間10年以上の症例が原発不妊で2例、続発不妊で1例みられた。原発不妊の1例は、36歳の婦人で男性因子に問題があり、精子所見が精子濃度 10×10^6 個/ml、精子運動率20%であったが、自然妊娠した。もう1例は、32歳でPCO (Polycystic ovary) があり手術後妊娠に成功した。続発不妊例は33歳の婦人で、自然流産後の患者で排卵障害があり、Clomiphene にて妊娠に成功した症例であった。

[Table 1] は193例の既往歴について分析したものである。原発不妊、続発不妊とも著変なしが最も多く、虫垂切除は、原発不妊が続発不妊よりやや低い有意の差を認めなかった。原発不妊の特色は、甲状腺疾患が4例、糖尿病が1例みられたことであり、続発不妊では子宮及び付属器の手術が比較的多く、また、子宮外妊娠手術2例、胞状奇胎娩出3例がみられた。

続発不妊56例の最終妊娠を分析したのが、[Table 2] である。自然流産が過半数を占め、次いで、満期産、人工流産の順であった。なお、胞状奇胎娩出の1例は外傷性子宮腔癒着症であった。

不妊因子別に分類したのが [Table 3] である。男性因子に関しては諸家の意見の異なるところであるが、今

[Table 1] Past history of 193 infertile women

	Primary (%)	Secondary (%)
Thyroid disease	4 (2.9)	0
Diabetes mellitus	1 (0.7)	0
Appendectomy	22 (16.1)	11 (19.6)
Operation of uterus & adnexa	5 (3.6)	4 (7.1)
Ectopic pregnancy	0	2 (3.6)
Hydatidiform mole	0	3 (5.4)
Tuberculosis	2 (1.5)	1 (1.8)
Peritonitis	1 (0.7)	0
Others	23 (16.8)	7 (12.5)
No past history	85 (62.0)	35 (62.5)

[Table 2] Antecedent pregnancy of 56 secondary infertile women

	No. of cases	%
Spontaneous abortion	30	53.4
Artificial abortion	11	19.8
Ectopic pregnancy	2	3.6
Hydatidiform mole	1	1.8
Full term delivery	12	21.4

[Table 3] Incidence of the causal factors of infertility

	Primary	Secondary	Total
Female factor			
① Ovulatory disturbance	48	19	67
② Ovarian factor	8	1	9
③ Tubal factor	6	8	14
④ Uterine factor	5	7	12
⑤ Cervical factor	2	1	3
⑥ More than two factors	11	2	13
Total	80	38	118
Male factor			
Male and female factor	9	3	12
Other	11	1	12
Other			
No obvious factor	1	0	1
No obvious factor			
	36	14	50

回、我々は精子濃度が $40 \times 10^6/\text{ml}$ 未満のものを男性因子とした。

女性因子が最も高く118例61.2%、次いで、因子不明群50例25.9%、男性因子および男性因子+女性因子の各々12例6.2%となっていた。なお、Other の1例は初診時不妊期間が2年あり、性知識に欠けており性生活指導により妊娠した。原発不妊と続発不妊とを比較してみると、原発不妊では、男性因子+女性因子が137例中11例8.0%と続発不妊の56例中1例1.8%より明らかに高く、一方、女性因子では、続発不妊56例中38例67.9%と原発不妊の137例中80例58.4%より高くなっていた。また、因子不明及び男性因子は原発不妊にやや高い頻度を占めていた。次に、女性因子を分析すると、原発不妊、続発不妊とも排卵障害が最も多かった。原発不妊では、排卵障害、卵巣因子及び因子不明群の頻度が高く、続発不妊では、卵管因子及び子宮因子が明らかに高かった。

[Table 4] は妊娠成立に関与したと考えられる療法を、因子不明群及びその他を除く、原発不妊100例、続発不妊42例について不妊因子別に検討したものである。

排卵障害は原発不妊48例、続発不妊19例、合計67例であり、このうち、Clomiphene 単独療法が過半数を占めていた。卵巣因子では、卵巣子宮内膜症7例中1例以外は全て原発不妊であった。卵管因子については、卵管の通気及び通水療法が妊娠に結びついたと考えられるのが最も多かった。子宮因子中無治療で妊娠したのは、子宮筋腫2例、双角子宮2例の4例であった。なお、hCG 療法例は子宮因子に加えて黄体機能不全が疑われた症例であった。頸管因子中、無治療で妊娠した例は Post coital test 及び Miller-Kurzrok test が不良であったし、hCG 療法例は重度の頸管炎に加えて、黄体機能不全が疑われた。2つ以上の女性因子を有する13例中5例は Clomiphene にて妊娠成立をみた。このうち、原発不妊の4例は、排卵障害に重度の頸管炎合併2例、双角子宮合併1例、卵管因子合併1例であり、続発不妊例は排卵障害に卵管因子が合併していた。なお、Continuous hormone therapy+Clomiphene 例、Myomectomy+Continuous hormone therapy 例のいずれも子宮内膜症合併例であった。男性因子の中には続発不妊3例が含まれており、無治療が最も多く、hCG 療法例は、黄体機能不全が疑われ、また、H.S.G 直後例は H.S.G に異常を認めなかった。最後の男性因子+女性因子12例には、排卵誘発によるものが8例、排卵誘発に AIH を併用したのが2例であった。無治療例は、不妊期間8年で双角子宮に精子減少症がみられ他院にて AIH 等を頻回に行つたが妊娠せず、当科受診し、諸検査施行中に妊娠した症例、及び、不妊期間2年、稀発排卵で精子濃度が $28 \times 10^6/\text{ml}$ (3回の精液検査で最も良かったもの) であった。

[Table 4] を、ホルモン療法、手術療法、及び、両者の併用療法、その他、に分類したのが [Table 5] である。142例中、ホルモン療法89例62.7%、手術療法11例7.7%、手術療法兼ホルモン療法7例4.9%、その他21例14.9%、無治療14例9.8%となっていた。まず、ホルモン療法についてみると、Clomiphene 療法が最も多く、次いで、Clomiphene+hCG 療法、hMG-hCG 療法となっていた。Clomiphene+hCG 療法は続発不妊に高く、hMG-hCG 療法は原発不妊に高かった。また、偽妊娠療法を行つた3例は、全て子宮内膜症であった。

手術療法では、子宮筋腫核出術が多く、また、原発不妊より続発不妊の方が相対的に多かった。

手術療法兼ホルモン療法例中、卵巣子宮内膜症は原発不妊4例(子宮筋腫合併1例)、続発不妊1例であった。他の2例は、Strassman 氏手術後 hMG-hCG 療法例と頸管炎の冷凍療法後 Clomiphene 投与例であった。

その他の中で、最も多いのは、通気、通水療法例であ

〔Table 4〕 Successful treatment (1)

Ovulatory disturbance				More than two female factors			
	Primary	Secondary	Total		Primary	Secondary	Total
Clomiphene	29	11	40	Clomiphene	4	1	5
Cyclofenil	1	0	1	Continuous hormone therapy+Clomiphene	1	0	1
Clomiphene+hCG	7	6	13	Clomiphene+cryosurgery	1	0	1
Cyclic steroid therapy	1	0	1	Bicornus uteri			
hMG+hCG	10	2	12	Clomiphene+hCG	0	1	1
Ovarian factor				hMG+hCG	1	0	1
Wedge resection of PCO	2	0	2	Cyclofenil+tubal insufflation	1	0	1
Endometriosis ovarii				Strassman operation +hMG+hCG	1	0	1
hormone therapy	2	0	2	Myomectomy+Continuous hormone therapy	1	0	1
operation	1	0	1	Tubal insufflation+AIH	1	0	1
operation & hormone therapy	3	1	4	Male factor			
Tubal factor				AIH	1	1	2
After HSG	2	0	2	No therapy	7	0	7
Tubal insufflation or hydrotubation	4	7	11	hCG	1	1	2
Tubal plasty	0	1	1	HSG	0	1	1
Uterine factor				Male and female factor			
Myomectomy	3	2	5	Clomiphene	4	0	4
Separation of intrauterine adhesion	0	2	2	Clomiphene+hCG	0	1	1
No therapy	2	2	4	Clomiphene+hCG+AIH	1	0	1
hCG	0	1	1	hMG+hCG	2	0	2
Cervical factor				hMG+hCG+AIH	1	0	1
AIH	1	0	1	Cyclofenil	1	0	1
No therapy	0	1	1	No therapy	2	0	2
hCG	1	0	1				

り、特に続発不妊に、その頻度が高かった。次に、AIH は、原発不妊 5 例、続発不妊 1 例であったが、AIH 単独は 3 例であった。無治療 14 例中 9 例は男性因子が関与しており、子宮因子 4 例、頸管因子 1 例を認めた。

因子不明群 50 例中、H.S.G あるいは Rubin test 後、月経何周期目に妊娠したかを追跡したのが〔Table 6〕である。5 周期までに妊娠したのは、原発不妊 36 例中 19 例 52.8%、続発不妊 14 例中 8 例 57.1% であった。また、その大部分は 3 周期までに妊娠していた。

3 例（原発不妊 1 例、続発不妊 2 例）に、B.B.T. 上、黄体機能不全が疑われ、hCG 療法にて成功し、その他の 20 例（原発不妊 16 例、続発不妊 4 例）は無治療であったが、そのうち、11 例は初診後 6 ヶ月以内に妊娠した。

〔Figure 3〕は、58 症例 68 検体の精子所見を示したものである。横軸に精子濃度、縦軸に精子運動率をとったものであり、精子濃度の平均は $101 \times 10^6 \pm 72 \times 10^6 / \text{ml}$ 精子運動率の平均は $61 \pm 21\%$ であった。

初診から妊娠に至る期間を、原発不妊、続発不妊別に示したのが〔Figure 4〕である。原発不妊、続発不妊とも 3 ヶ月以上 6 ヶ月未満にピークを示した。原発不妊では、6 ヶ月未満に 63 例 45.9%、12 ヶ月未満に 96 例 69.9%、18 ヶ月未満に 114 例 83.0% が妊娠した。最長は 42 ヶ月より 48 ヶ月未満に 2 例であった。一方、続発不妊では、6 ヶ月未満に 30 例 53.6%、12 ヶ月未満に 44 例 78.6%、18 ヶ月未満に 53 例 94.7% が妊娠に成功し、30 ヶ月未満に全て妊娠した。

[Table 5] Successful treatment (2)

Hormone therapy

	Primary	Secondary	Total
Clomiphene	37	12	49
Cyclofenil	2	0	2
Clomiphene+hCG	7	8	15
hMG+hCG	13	2	15
Cyclic steroid therapy	1	0	1
Pseudopregnancy therapy	2	0	2
Pseudopregnancy therapy+Clomiphene	1	0	1
hCG	2	2	4
Total	65	24	89

Operation

Myomectomy	3	2	5
Wedge resection of PCO	2	0	2
Separation of intrauterine adhesion	0	2	2
Tubal plasty	0	1	1
Resection of ovarian endometriosis	1	0	1
Total	6	5	11

	Primary	Secondary	Total
Operation and hormone therapy	6	1	7

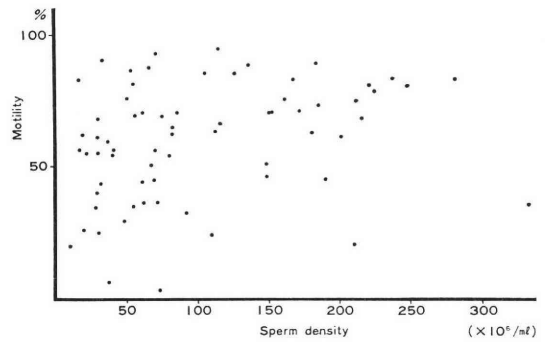
Others

After HSG	2	1	3
After tubal insufflation or hydrotubation	4	7	11
AIH	2	1	3
hMG+hCG+AIH	1	0	1
Clomiphene+hCG+AIH	1	0	1
Tubal insufflation+AIH	1	0	1
Cyclofenil+tubal insufflation	1	0	1
No therapy	11	3	14
Total	23	12	35

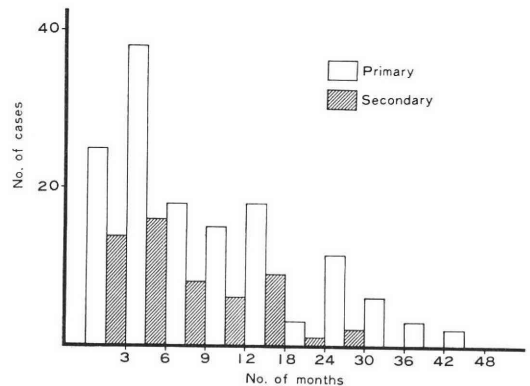
[Table 6] Conception of infertile women after H.S.G and Rubin test

Menstrual cycle						
	0	1	2	3	4	5
Primary	3(1)	6	3	5	2	0
Secondary	1	2(1)	2	1	1	1
Total	4(1)	8(1)	5	6	3	1

() after Rubin test



[Figure 3] Semen analysis (sperm density and motility)



[Figure 4] Infertile periods (from first visit to conception)

[Table 7] Outcome of pregnancy

	Primary	Secondary	Total
Spontaneous abortion	19	5	24
Artificial abortion	1	0	1
Molar delivery	0	1	1
Premature delivery	0	1	1
Full term deliver	65	33	98
Total	85	40	125
Pregnancy at present	19	7	26
Unknown	33	9	42

妊娠成立後の経過について示したのが [Table 7] である。193例中、転帰の明らかなのは125例64.8%、妊娠継続中26例13.4%、不明42例21.8%であった。転帰の明らかな例についてみると、全体の流産率は19.2%であったが、原発不妊22.4%、続発不妊12.5%と、明らかに原発不妊が高かった。全体の満期産率は78.4%であり、原発不妊では76.5%、続発不妊82.5%であった。人工中絶をした1例は、妊娠後 ASD (心房中隔欠損) を指摘さ

れ妊娠継続不能とされた症例であつた。胞状奇胎は Clomiphene にて妊娠成立をみた例であり、早期産に終わったのは、hMG-hCG 療法にて妊娠した例であり、無脳児だつた。

満期産例について検討すると、双胎が原発不妊に 1 例 (hMG-hCG 療法例)、帝王切開は、原発不妊 4 例、続発不妊 4 例の合計 8 例であり、その率は 8.2% であつた。

また、今回、転帰の不明だつた症例は、原発不妊が 24.1% と続発不妊 16.1% より高いのが特色であつた。

考 按

我々は、前回の報告¹⁾の中で、昭和 47 年 1 月より昭和 51 年 6 月までの間に挙児を希望して当科を受診し、昭和 52 年 2 月現在の不妊因子別妊娠率を述べたが、今回は昭和 47 年 1 月より昭和 51 年 12 月までの挙児希望者のうち、初診時不妊期間 1 年以上の患者を対象として、昭和 52 年 8 月現在、その妊娠成功例について検討を加えた。

不妊患者は 1155 例であり、原発不妊 901 例 78.0%、続発不妊 254 例 22.0% であつた。これは 諸家の報告より、原発不妊の頻度が高くなっている。この相違は、不妊期間のとり方、研究機関の違い等によるものと考えられる。

不妊患者の妊娠率についてみると、原発不妊 15.2%、続発不妊 22.0% となつており、明らかに後者の方が高かつたが、これは、伊東²⁾、高田³⁾等の報告と同じ傾向を示していた。

全体の妊娠率は 16.7% であつたが、これは、症例により観察期間の長短があり、厳密な率とは必ずしも言えないが、少くとも、1 時点での成績を示すものと言えよう。

初診時不妊期間と妊娠例については、原発不妊では、不妊期間が 1 年以上 2 年未満が 55 例 40.1%、2 年以上では 82 例 59.9%、続発不妊では 1 年以上 2 年未満が 21 例 37.5%、2 年以上では 35 例 62.5% となつた。これは、小畑⁴⁾の 1 年以上 2 年未満 39 例 (20.9%)、2 年以上 148 例 (79.1%) に比較して 2 年以上の頻度が低かつた。我々の成績は不妊期間 1 年以上の患者を対象とし、観察期間が短いもので 8 ヶ月であることが影響していると考えられる。

既往歴と妊娠との関係、及び、続発不妊の最終妊娠との間には、前回の我々の報告¹⁾ (母集団に多少の違いはある) と比較して特記すべき点は認めなかつた。

無排卵、両側卵管閉鎖、子宮腔の完全癒着、無精子症等のように絶対的不妊とも呼ぶべきものは、不妊原因が明確である。しかし、大多数の症例では、諸検査を行つても、これが不妊因子であると断言するのが難しいのが現状であり、おのずと、研究者により、不妊因子の分類法

がやや異なるのはやむをえないことである。今回、我々は、女性因子 118 例 61.2%、男性因子 12 例 6.2%、男性因子 + 女性因子 12 例 6.2%、その他 1 例 0.5%、因子不明群 50 例 25.9% の結果を得た。更に、女性因子 118 例を分析すると、排卵障害 56.8%、卵巣因子 7.6%、卵管因子 11.9%、子宮因子 10.2%、頸管因子 2.5%、2 つ以上の女性因子 11.0% であつた。金岡⁵⁾によれば、143 例の妊娠例中、卵巣、内分泌因子 76 例、卵管因子 26 例、子宮因子 17 例、頸管因子 12 例、男性因子 12 例となつており、我々の成績に比較して卵管因子及び頸管因子の頻度が高くなっている。我々の因子不明群 50 例中、H.S.G. あるいは Rubin test 後、月経 3 周期までに 23 例が妊娠をみており、これを卵管因子に入れるかどうかにより、卵管因子例が変化する。

しかし、我々は H.S.G あるいは Rubin test により異常所見を認めなかつたから因子不明としたが、これらの症例についてもより詳細な検討が必要と考えられる。同様なことが男性因子についてもいえる。精子濃度が $40 \times 10^6/\text{ml}$ 未満を男性因子としたが、教室の下須賀⁶⁾の報告のように精子濃度のみで男性因子とするのは問題があると考へている。

因子不明群およびその他を除く 142 例の妊娠成立に關与したと考えられる療法を検討すると、ホルモン療法 62.7%、手術療法 7.7%、手術療法兼ホルモン療法 4.9%、その他 14.9%、無治療 9.8% となつていた。ホルモン療法の進歩により主として排卵障害の治療成績が向上したが、妊娠率の上昇に大きく貢献しているのは、教室の成田^{7,8)}が報告している。手術療法兼ホルモン療法による妊娠成功例についても、成田⁹⁾が子宮内膜症を有する不妊婦人について報告しているところである。

初診より妊娠に至る期間は、3 ヶ月未満 39 例 20.2%、3 ヶ月以上 6 ヶ月未満 54 例 28.0%、6 ヶ月以上 12 ヶ月未満 47 例 24.4%、12 ヶ月以上 24 ヶ月未満 31 例 16.1%、24 ヶ月以上 22 例 11.4% となつていた。小畑⁴⁾によれば 5 年間の妊娠成功例では、3 ヶ月未満 69 例、3 ヶ月以上 6 ヶ月未満 24 例、6 ヶ月以上 1 年未満 44 例、1 年以上 2 年未満 41 例、2 年以上 22 例であつた。我々の成績と比較して 3 ヶ月未満と 3 ヶ月以上 6 ヶ月未満との頻度が逆転しているが、これは不妊期間の相違によるものであろう。

妊娠の転帰についてみると、流産 (人工中絶、胞状奇胎を含む) 13.5%、分娩 (早期産を含む) 51.3%、妊娠継続中 13.4%、不明 21.8% であつた。楠田¹⁰⁾によれば妊娠成功例 222 例中、流産 16.7%、分娩 52.6%、妊娠継続中 15.8%、不明 14.9% と我々の成績とほぼ同様な報告を行つている。

不妊夫婦の究極の目的である、生児を得るといふ願

は、少くとも妊娠の転帰の明らかな125例中98例78.4%に達成された。

文 献

- 1) 東出香二, 下須賀洋一, 万羽 進, 成田 収: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊会誌, 22: 208, 1977.
- 2) 高田 久: 農村都市における不妊症の実態, 日不妊会誌, 19: 137, 1974.
- 3) 伊東武久, 宮内文久, 木戸雄一, 右田満明, 福田栄: 最近2年間の当科不妊症クリニックの現況, 日不妊会誌, 21: 188, 1976.
- 4) 小畑 義, 石原貞尚, 東山秀声, 村上 旭, 岡田弘二: わが教室における昭和41~45年の外来不妊統計, 日不妊会誌, 18: 44, 1973.
- 5) 金岡 毅, 岡田悦子, 清水潤司, 森 巍, 関場香: 当院不妊外来における最近二年間の妊娠例についての検討, 日不妊会誌, 18: 99, 1973.
- 6) 下須賀洋一, 東出香二, 万羽 進, 成田 収: 男性不妊症の臨床, 産と婦, 44: 1150, 1977.
- 7) 成田 収, 水谷栄彦, 友田 豊, 石塚直隆: F 6066および Clomid の下垂体 LH の放出に関する臨床的研究, ホと臨床, 18: 685, 1970.
- 8) 成田 収: Human Menopausal Gonadotropin (Humegon) による排卵誘発, 現代医学, 23: 59, 1975.
- 9) 成田 収, 有井吉太郎, 東出香二, 後藤濬二, 下須賀洋一: 子宮内膜症を有する不妊婦人の保存手術療法について, 日不妊会誌, 22: 110, 1977.
- 10) 楠田雅彦, 立山浩道, 熊本照史, 中村正彦: 教室不妊外来における妊娠成功例の検討, 日不妊会誌, 17: 273, 1972.

fertility for more than 1 year and wishing for babies was seen during the period from January 1972 to December 1976. As of August 1977, pregnancy was achieved in 193 of them.

(1) Pregnancy was achieved in 137 (15.2%) of 901 patients with primary sterility, and in 56 (22.0%) of 254 patients with secondary sterility. As a whole, it was achieved in 193 (16.7%) of the 1155 patients.

(2) Female factors were responsible for infertility in 61.2% of the 193 patients, male factors in 6.2% and others in 0.5%. The infertility factor was unknown in 25.9% of the 118 patients with female factors, 56.8% were found to have ovulatory disturbances.

(3) The 142 patients excluding those with unknown factors and with other factors were classified by therapy which could be regarded as having contributed to the achievement of pregnancy; 62.7% by hormone therapy, 7.7% by surgical therapy, 4.9% by combination of both, 14.9% by other means, and 9.8% by no therapy.

(4) The interval between the first consultation and the achievement of pregnancy peaked at 3 months—6 months for both of the groups of primary sterility and secondary sterility. Of the 137 patients with primary sterility, 69.9% became pregnant within 12 months. Of the 56 patients with secondary sterility, 78.6% became pregnant within 12 months.

(5) Pregnancy resulted in abortion (including cases of artificial abortion and hydatidiform mole) in 13.5%, delivery (including 1 case of premature delivery) in 51.3%, still in progress in 13.4% and unknown in 21.8%.

Clinical observations on the pregnant cases in our infertility clinic

(受付: 昭和52年11月7日)

**Kohji Higashide, Osamu Narita,
Susumu Manba, Youichi Shimosuka,
Takashi Kimura, Tsutomu Nakanishi
and Yutaka Tomoda**

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

A total of 1155 patients complaining of in-

当科不妊外来における妊娠例の臨床的分析

Clinical Analysis on the Pregnant Cases in our Infertility Clinic

福岡大学医学部産婦人科学教室

白川 光一 熊本 有宏
Koichi SHIRAKAWA Arihiro KUMAMOTO
丸木 陽子 昇 幹夫
Yoko MARUKI Mikio NOBORI

Department of Obstetrics and Gynecology, School of
Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan
(Director: Prof. K. Shirakawa)

1年以上の不妊で来院し、妊娠した88例について検討したが、そのうち原発不妊48例、続発不妊40例であった。不妊期間は平均35.4カ月であつたが、2年未満のものが最も多く42%を占めていた。妊娠に要した診療期間は平均5.6カ月であつたが、6カ月以内のものが70.5%であり、年齢の差、原発、続発不妊の別、不妊期間の長短のいずれとも有意の差がみられなかつた。

不妊因子については未検査および原因不明例が35.6%あつたが、診断確定例では排卵障害が最も多く32.2%、両側卵管疎通障害が13.3%であつた。

妊娠に結びついた治療では排卵誘発治療によるものが43.3%で、そのうち cyclofenyl (+HCG) 使用が21%、clomiphene (+HCG) 使用が14.4%であつた。子宮卵管造影や卵管通水によるものも23.3%に認められた。

妊娠の予後は満期産77.8%、流早産17.7%であつた。

はじめに

近年、出産児数が低下している反面、希望する数だけ児を得たいという欲望もまた強いものがあり、医学の進歩に大いなる期待を抱いて来院する挙児希望患者はわれわれの不妊外来とても例外ではない。しかし不妊症の臨床は、生殖内分泌など一部の分野で著しい進歩を遂げているものの、未解明の部分も数多く、妊孕現象は現在でも極めて複雑かつ神秘的な存在であるといつてよい。この意味からも不妊症例の率直で客観的な臨床的観察、分析、検討は今後とも重要な研究課題であろう。

われわれの不妊外来はいまだ発足間もなく、少数の医師により診療を担当せざるを得ない現状であるが、このことは一面診療内容の統一性の点で有利であるとも考えられる。そこで今回われわれも不妊症患者中若干の妊娠例を得たので、これらの症例を種々の面から分析し、不

妊症の臨床に何らかの示唆を得ようと試みたのでその成績を報告する。

研究対象

昭和46年8月に設立された福岡大学医学部暫定病院(名称は香椎病院)および昭和48年8月より発足した福岡大学病院における不妊外来患者のうち、初診時に1年以上の不妊期間をもつ不妊症患者で昭和52年7月までの6年間に妊娠を確認した88例のみを対象とした。

妊娠に成功していない不妊症患者との比較的分析は行なっていない。

妊娠の予後については妊娠の終局を確認できたもののみについて行なつた。

成績

1. 原発、続発不妊と不妊期間

表 1 不妊期間別症例数

不妊期間 (年)	原発不妊	続発不妊	計
1 ~ 2	22	15	37
2 ~ 3	9	11	20
3 ~ 4	5	7	12
4 ~ 5	3	2	5
5 ~ 6	2	1	3
6 ~ 7	3	1	4
7 ~	4	3	7
計	48	40	88

表 2 続発不妊における最終妊娠

最終妊娠	例数(%)	
満期分娩	14(35.0)	正常分娩 11
		帝王切開 2
		鉗子分娩 1
自然流産	11(27.5)	3カ月以内 10 4カ月以上 1
人工妊娠中絶	15(37.5)	
計	40	

88例の妊娠例の中で原発不妊であったものが48例(54.5%)、続発不妊が40例(55.5%)と大差がなく、初診時における不妊期間は全症例の平均では35.4カ月であり、原発不妊の平均では28.7カ月、続発不妊では43.4カ月と平均では差があったが、不妊期間の分布では(表1)1年以上2年未満のものが最も多く、37例(42.0%)を占め、ついで2年以上3年未満のものが20例(22.7%)であり、この傾向は原発不妊、続発不妊ともに同様であった。このように妊娠例の78.4%は4年未満の不妊症例であり、4年以上のものは19例(21.6%)と少なかったが、不妊期間が7年以上のものも7例(約8%)認められた。

2. 続発不妊における最終妊娠

表2に示すように人工妊娠中絶後の不妊が最も多く37.5%に認められたことは遺憾に思われるが、ついでほぼ同数の35%が満期分娩後で、その内容的分析では特に異常分娩が多いという傾向は認められなかった。自然流産は27.5%と最も少なかったが、人工妊娠中絶例を除いた25例中の11例すなわち44.0%という数値は一般的な流産率(15%以下)に比し高頻度である。なお流産の時期は1例を除いてすべて3カ月以内であった。

3. 初診時における年齢分布

妊娠例の初診時における年齢の最低は18歳、最高は37

表 3 初診より妊娠成立までに要した期間

所要月数	例数(%)
~ 3	41(46.6)
4 ~ 6	21(23.9)
7 ~ 9	10(11.4)
10 ~ 12	5(5.7)
13 ~ 15	5(5.7)
16 ~ 18	3(3.4)
19 ~	3(3.4)

表 4 初診時年齢の分布と妊娠までの所要平均月数

初診時年齢	症例数(%)	平均月数
~25	23(26.1)	6.4
26~30	48(54.5)	4.7
31~35	15(17.0)	5.9
36~	2(2.3)	10.0
計	88	5.6

歳であり、平均年齢は27.6歳であった。うち原発不妊の平均年齢は27.2歳、続発不妊の平均は28.1歳と原発不妊より1歳高年齢であった(次掲の表5参照)。

年齢の分布をみると26歳から30歳までが54.5%と最高を占め、ついで25歳以下の26.1%であり、31歳以上の妊娠例は19.3%にすぎなかった。

4. 妊娠成立までの期間

診療開始から妊娠に至るまでにどれ程の日数を要したかを調査した。

当科不妊外来初診日より妊娠成立に移行した最終月経第1日までの期間を月数で表わし、妊娠成立までの所要期間とした。1カ月以内の日数は四捨五入した。

このような条件でみると妊娠成立までの最短所要月数は0カ月(初診日より最終月経までの期間が15日以内のもの)であり、最も長期間を要したものは22カ月であったが、全症例の平均所要月数は5.6カ月であった。しかし表3に示すように多く(46.6%)は、3カ月以内に妊娠しており、6カ月以内の妊娠成立が70.5%を占めていた。1年以上を要したものは12.5%にすぎなかった。

妊娠成立所要期間と年齢との関係を見ると、表4に示すような平均所要月数を得たが、症例数からみて有意の差を認めることはできなかった。

また原発不妊と続発不妊においても妊娠までの平均所要月数はほとんど同じであった(表5)。

さらに不妊期間別にみても不妊期間が3年以下の群と4年以上の群との間に妊娠成立までの平均所要月数に差

表 5 原発・続発不妊別平均年齢と妊娠までの所要平均月数

	例数	平均年齢	平均月数
原 発 不 妊	48	27.2	5.5
続 発 不 妊	40	28.1	5.7
	88	27.6	5.6

表 6 不妊期間と妊娠までの所要平均月数

不妊期間	例数	平均月数
1 ~ 3 (年)	57	5.5
3 ~	31	5.5
計	88	5.6

表 7 不妊因子別症例数

不 妊 因 子	例数(%)
排卵障害	29(32.2)
第1度無月経 12)	
持続性無排卵 9)	
散発性無排卵 8)	
排卵性卵巣機能不全	13(14.4)
子宮因子	4(4.4)
子宮腔癒着 3)	
筋腫 1)	
卵管因子	12(13.3)
不 明	32(35.6)
計	90

はまつたくなかった(表6).

5. 不妊因子の分析

全妊娠例について妊娠前に診断されていた主要不妊因子をみると、ほとんど1症例1因子であり(2名にのみ重複あり)、表7に示すように不妊因子の診断がついたものでは排卵障害が29例、32%と第1位を占め、その内容は第1度無月経、持続性無排卵、散発性無排卵など比較的軽症例が多かった。さらに黄体機能不全、卵胞機能不全など排卵性卵巣機能不全が13例、14.4%であり、これらを併せ内分泌機能障害に属するものが46.6%を占めていた。

卵管因子とは両側閉鎖や両側にわたって疎通障害があるもので、一側でも疎通性良好のものは含んでいないが、88名の妊娠例中に12例、13.3%に認められた。

子宮因子は4例、4.4%であった。

この他に検査未了のうちに妊娠したもののや一応の検査

終了後も不妊因子不明のまま妊娠に至ったものなど不妊因子不明例が32例、35.6%を占めていた。

6. 妊娠に直結した治療の分析

妊娠に移行した周期に行なつた主要治療を不妊因子別に分類して示すと表8の通りである。また治療を行なつた周期には妊娠に移行しなかつたが、その治療が障害部位を併せて明らかに有効であり、ついで妊娠にいたつたと認められ得る症例数を同表中()で示した。

表8に示すように妊娠に結びついた治療としては、薬剤では cyclofenyl または cyclofenyl+HCG 療法で、妊娠に直結したものおよび有効であったものが19例、21%と最も多く、ついで clomiphene または clomiphene+HCG 療法が13例、14.4%であった。cyclofenyl の使用方法は月経周期5日目より1日600mg、5日間を原則としたが、ときに400mg、7日間などの使用を行なつた。clomiphene は全例月経周期5日目より1日50~100mg、5日間の投与を行なつた。排卵の trigger として使用した HCG は10,000IU/1回筋注法を原則とした。

gonadotropin のみによる妊娠例は意外に少なく、有効例を含めて7例、7.8%にすぎなかつた。以上排卵誘発治療による妊娠は、妊娠に直結したもの33例、有効であったもの6例で計39例、43.3%であった。

その他の治療法では検査法では検査目的の子宮卵管造影および卵管通水治療によつて妊娠に至つたものが12例、23.3%と最も多く、子宮筋腫核出や子宮腔癒着剝離など子宮因子の治療によるものが4例、4.4%であった。その他、妊娠周期に治療を行なつておらず、それ以前の治療も妊娠に有効であったと判定し難いもの(不明例として表示)が18例、まったく無治療のまま妊娠にいたつたものが4例、併せて22例、24.4%が治療効果不明であった。

7. 結果的にみた治療と妊娠の関係

妊娠周期に行なつた治療行為は妊娠成立に何らかの有効な働きをしたと推定されるが、これらの治療と妊娠前に診断されていた不妊因子とを結果的に対照して検討してみた。

表9に示すように妊娠成立前に不妊原因の診断がついていたものは58例であるが、この中で排卵障害および排卵性卵巣機能不全など内分泌機能障害の42例についてみると、合理的ホルモン療法が妊娠に直結していたものが35例、83.3%であり、他の7例、16.7%は子宮卵管造影、卵管通水および必ずしも合理的治療とは判断できなかったものであった。

子宮腔癒着症や子宮筋腫など子宮性と診断されていた4例は、すべて癒着剝離術や筋腫核出術により妊娠にいたつた。

表 8 妊娠周期に行なつた治療内容の不妊因子別症例数
()内は妊娠周期外であるが明らかに有効と思われたもの

治療内容	排卵障害			排卵性 卵不全	子宮腔 癒着症	子宮筋腫	卵管疎 通障害	不明	計
	1 無	持無	散無						
Clomiphene	4	2	1	1					8
Clom.+HCG	3	2							5
Cyclofenyl	1(1)	3	4(1)	2					10(2)
Cycl.+HCG	1	(1)		2				3	6(1)
HCG				1				1(1)	2(1)
PMS			1						1
PMS+HCG	(1)								0(1)
HMG+HCG	1		(1)						1(1)
Gestagen				1				3	4
卵管造影				1			2	6(3)	9(3)
卵管通水		1					3(3)	2	6(3)
筋腫核出						(1)			0(1)
子宮腔拡張					(3)				0(3)
不明				5				10	18
無治療							1	3	4

1 無：第1度無月経 持無：持続性無排卵 散無：散発性無排卵

表 9 結果的にみた治療内容の不妊因子に対する反省

不妊因子	例数	合目的な治療	非合目的な治療
排卵障害 および 排卵性卵巣 機能不全	42	35 (83.3%)	7 (16.7%) {不明 5 通水 1 HSG 1}
子宮性	4	4 (100%)	0
卵管性	12	8 (66.7%)	4 (33.3%) {不明 3 無治療 1}
計	58	47 (81%)	11 (19%)

卵管性と判断されていた12例については、卵管治療によつたもの8例、66.7%であり、他の4例は無治療1名および何が有効であつたか判断できないもの3例であつた。

8. 妊娠の予後

妊娠の終局を確認できたものは45例であつたが、予後は表10に示すように満期産が35例、77.8%であり、流早産は8例、17.7%とやや多いように思われた。また卵管妊娠2例が認められた。

満期分娩例のみについて児の性別と生下時体重をみると(表11)、性別では35例中22例、62.9%が男児であつた。生下時体重は男性、女性ともに標準体重であつた。

表 10 妊娠の予後

予後	例数	備考
満期産	35(77.8)	うち帝切4例
早産	2(4.4)	
流産	6(13.3)	うち5カ月胎児死亡1例
卵管妊娠	2(4.4)	
計	45	

表 11 満期産例の児性別と平均体重

性別	例数	平均体重 (g)
男	22	3295
女	13	3248
計	35	3278

また多胎および奇形は認めなかつた。

考 察

近年、医学の進歩は確かに著しいものがあり、その一部は世間一般にも広く知られている。不妊症の患者もこの医学の進歩に期待して来院することが多く、かつてのように“子は天の授かりもの”とのみは考えていないようである。しかしながら妊孕のメカニズムは実に生命の神秘そのものであり、生殖病態生理学の進歩も不妊症の臨床の場実践的に役立つものばかりではない。そこで

われわれ臨床医は症例のひとつひとつを representative に検討反省し、理論的事実と照合し、その中から真の事実を見出す努力が必要であると考えられる。

われわれは1年以上の不妊を訴えて来院した患者の中から88例の妊娠例を確認し得た。これらの症例は必ずしも治療の成果と考えられるものばかりではないので“妊娠成功例”と呼ぶことにいささかのためらいがあり“妊娠例”と呼んだ。

妊娠例についての分析はこれまでも多数報告されている^{6,7,8,9)}が、今回のわれわれの報告は治療成果の報告としてではなく、妊娠例をできるだけありのままの状態で総合的に分析してみることに主眼がある。

妊娠例の不妊期間についての報告は小畑ら⁵⁾、金岡ら⁷⁾も行なっているが、われわれの平均不妊期間は35.4カ月であり、分布的には2年未満のものが最も多く42%を占めており、78.4%は4年未満の不妊症であった。しかしながら7年以上のものも8%近く認められたことは、後述の妊娠成立までの所要時間(平均5.6カ月)と併せ考えるとき診療の効果を思わせる。

続発不妊における最終妊娠では自然流産および人工妊娠中絶を合せて65%が流産後不妊であったが、これは続発不妊全般についての植村ら⁴⁾の統計60.6%、加藤ら⁹⁾の68.2%、三上ら¹⁰⁾の58.5%と大差がない。

初診時における年齢をみると26~30歳の妊娠例が54.5%を占めており、31歳以上の例は19.3%と少なかったが、三上ら¹⁰⁾の22.4%、楠田ら⁸⁾の19.4%と大差なく、高野ら⁹⁾も同様の数字をあげている。

初診から妊娠に至るまでの期間は平均5.6カ月であり、6カ月以内の妊娠成立が70.5%を占め、1年以上を要したものは12.5%にすぎなかった。小畑ら⁵⁾も妊娠例中の半数近くが6カ月以内の妊娠であったと報告している。しかし楠田ら⁸⁾は63%が、高野ら⁹⁾は55.3%が1年以上を要したと報告している。これらの差はわれわれの症例が比較的軽症例が多かったことや通院に熱心な患者が多いという事情などによるものであろうか。また妊娠成立までの期間は原発、続発不妊の別や不妊期間の長短とは平均でみる限りほぼ同じであり、初診時年齢との関係も35歳以下では有意の差を認めることができなかった。

不妊因子を妊娠前の確定診断でみると、排卵障害患者の妊娠が32.2%と最も多く、排卵性卵巣機能不全を含めた内分泌機能障害に属するものが46.6%を占めた。これは楠田ら⁸⁾の90%近い率よりは少ないが、金岡ら⁷⁾も55%を報告しており、東出ら¹¹⁾も妊娠例中53%に排卵障害例を認めている。これらは近年の不妊症治療における内分泌治療の進歩を反映していると思われる。両側性卵管疎通障害の妊娠例は12例、13.3%であったが、金岡ら⁷⁾

も143例の妊娠例中26例(18%)の卵管性不妊因子があったとわれわれとほぼ同様の数字を報告している。一般に卵管因子の診断は困難であるが、その不妊原因中に占める頻度はかなり高いと推定¹²⁾されており、その診断と治療は今後の課題となるであろう。

妊娠に結びついた治療効果の判定は慎重を要するが、妊娠周期に行なわれた治療行為は特に注目に値する。この治療行為を不妊因子別に表示してみると(表8)、排卵誘発剤による妊娠が43.3%と多くを占めていた。このことは他の報告者(金岡ら⁷⁾、楠田ら⁸⁾、高野ら⁹⁾)でも同様であり、clomiphene や cyclofenyl および HMG などの開発が不妊症治療に大きく貢献していることがうかがわれる。しかしながら子宮卵管造影や卵管通水治療が妊娠に結びついたと思われるのが23%の多くを占めており、同様のことは多くのものが経験することである。また無治療や種々の治療後数カ月無治療が続いた後に自然妊娠にいたった有効治療不明確例が24%を数えたことは、現在なお真の不妊因子を日常の臨床レベルで把握することの困難性を痛感させられる。

そこで妊娠前の診断と妊娠に結びついたと思われる治療内容との間に理論的矛盾の有無を検討してみたところ、子宮性不妊の4例はすべてその原因治療によって妊娠成立にいたったのに対し、不妊原因が内分泌機能不全と思われていたもののうちまったく合目的治療によって妊娠したと推定されたものは83.3%であり、また卵管性不妊は12例中4例の妊娠成立が原因治療によつたとの確信はなかった。総括的にみると合目的治療の成果によると思われた妊娠は診断確定群の81%であった。

妊娠例の予後については45例の予後確認例のみについて表10, 11に示したが、流早産が8例(17.7%)とやや多いように思われた。楠田ら⁸⁾、高野ら⁹⁾も流早産の高いことを述べている。満期産児の体重はすべて正常範囲内にあり、奇形、多胎はみられなかったが、性別では35例中22例(63%)が男性であった。clomiphene 治療後の妊娠例で男児が有意に多いとの報告¹⁴⁾もあり、今後さらに症例を重ねて検討したい。

おわりに

発足後いまだ日が浅い当科不妊外来で、固定した少数医師により一貫して不妊症の診療にあたってきたが、その中から若干数の妊娠確認例を得たのでこれを種々の面から分析し、診断、治療、成果などと照合し不妊症の臨床に新たに正しい認識を得て今後の指針にしようと試みた。今後さらに症例を重ね、また妊娠不成功例との比較分析による検討も必要であると考えている。

文 献

- 1) 足立春雄他：新婦人科学，初版：p. 510，南山堂，1977.
- 2) 伊東武久，宮内文久，木戸雄一，右田満明，福田栄：最近2年間の当科不妊症クリニックの現況，日不妊会誌，21：188，1976.
- 3) 稲葉芳一，鈴木崇夫，黒木修爾，岩垣重秋：不妊症患者の原因分析と妊娠率，日不妊会誌，16：138，1971.
- 4) 植村次雄，鴻崎次夫，塩島令儀，鈴木直行，吉川絹子：不妊患者の結婚年齢，既往妊娠に関する統計学的考察，日不妊会誌，18：188，1973.
- 5) 小畑 義，石原貞尚，東山秀声，村上 旭，岡田弘二：わが教室における昭和41～45年の外来不妊統計，日不妊会誌，18：44，1973.
- 6) 加藤 俊，岡本 元，宮原通義，井手 橘，松尾雅治：女性不妊症の外来臨床統計と妊娠成功例の検討，日不妊会誌，16：362，1971.
- 7) 金岡 毅，岡田悦子，清水潤司，森 颯，関場香：当院不妊外来における最近2年間の妊娠例についての検討—特に clomid 療法を中心として—，日不妊会誌，18：99，1973.
- 8) 楠田雅彦，立山造道，熊本照史，中村正彦：教室不妊外来における妊娠成功例の検討，日不妊会誌，17：273，1972.
- 9) 高野 昇，清水三郎，高見沢裕吉：当科不妊外来における妊娠例の検討，日不妊会誌，20：383，1975.
- 10) 秦喜八郎，有住 裕，上笹貫修，浜田政雄：当科における不妊症の臨床統計（昭和38年～昭和45年），日不妊会誌，21：438，1976.
- 11) 東出香二，下須賀洋一，万羽 進，成田 収：最近の当教室における不妊外来統計，日不妊会誌，22：208，1977.
- 12) 三浦清巒，松本 勝，田川博之，石丸忠之，加藤泰昭，自見昭司：最近のわが教室における不妊外来の臨床統計，日不妊会誌，16：357，1971.
- 13) 三上正憲，植村次雄，鈴木直行，高口二郎，塩島令儀：当教室における不妊クリニック統計，日不妊会誌，22：203，1977.
- 14) 三宅 侃，青野敏博，衣笠隆之，宮崎正敏，安田基，塩路武徳，近藤国男，倉智敬一：clomiphene 治療後の妊娠経過と新生児，日産婦誌，29：467，1977.

pregnant in our infertility clinic during the last 6 years (since the beginning of our school of medicine) including the early 2 years of provisional hospital named Kashii Hospital were analysed. The comparison of various data in these successful group with those in the unsuccessful group was not yet done. And the prognosis of pregnancies was evaluated only about the cases which could be certified concerning the outcomes.

All of 88 cases had possessed more than one year infertile period and they were consisted of 48 cases of primary infertility and 40 cases of secondary infertility. The average of their infertile period was 35.4 months, although the cases below 2 years occupied the largest part, 42%. And the period of therapy taken to become pregnant was 5.6 months on the average and 70.5% of all cases succeeded within 6 months. No significant difference could be noticed between the period required for therapy and the age, the kinds of infertility (primary or secondary) or the length of infertile period.

Concerning the clinical factors of infertility, except for 35.6% due to unknown etiology or not yet fully examined, the ovulation failure occupied the largest part, 32.2% next the tubal insufficiency 13.3%.

As the treatment seemed to contribute to be pregnant, the first was the ovulation induction therapy, 43.3%, consisting of 21% cyclofenyl combined with HCG and 14.4% of clomiphene combined with HCG. And then, 23.3% was due to hysterosalpingography or perturbation.

The incidence of spontaneous abortion in the successful group was 17.7% and in the remaining 77.8%, the pregnancies could be maintained to the full-term.

The features of this study seems to exist in the uniformity of the treatment and of the evaluation of various data, on account of the small number of participants due to the fact that our school of medicine is now in the beginning stage.

(受付：昭和52年11月24日)

Clinical analysis on the pregnant cases in our infertility clinic

Koichi Shirakawa, Arihiro Kumamoto,
Yoko Maruki and Mikio Nobori

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

Eighty-eight cases which were proved to be

最近六年間の当院不妊症クリニックの現況

Statistical Analysis of Infertile Women in our Clinic

向仁会永井病院 (院長: 永井宏)

古賀 詔子 永井 泰 永井 宏
Shoko KOGA Tai NAGAI Hiroshi NAGAI

Nagai Hospital, Sendai, Japan

昭和45年4月から昭和51年3月までの6年間に本院外来に不妊を主訴として来院した婦人361例について統計的観察を行った。

1. 不妊婦人の比率は年度別にみて年々漸増の傾向にあつたが、原発・続発不妊患者の比には変化がなかつた。
2. 不妊外来患者の初診時年齢分布は20~30歳が48.2%と最も多かつた。
3. 不妊期間は2~5年が59.8%、ついで2年未満が24.1%となつており、早期受診の傾向がみられた。
4. 妊娠率は27.0%であり、不妊因子別妊娠率は機能性因子が82.9%を占めた。治療別では HSG 施行後の未治療群が多く30.1%、Clomid 投与20.6%、通水16.5%の順であつた。
5. 不妊患者に対する手術施行46例中13例28.3%に妊娠をみ、最近増加の傾向にある子宮内膜症に関しても積極的な手術を行った。

はじめに

近年、不妊症の治療は大学病院をはじめとする一部の特殊病院に偏する傾向がみられる。しかし、不妊治療には患者に対する個別指導が最も重要であると思われることから、医師・患者の信頼感を保ちやすい第一線婦人科の役割もより多く期待されるべきと考える。当院は外来100名、病室40床の産婦人科専門病院であり、検査項目は、内診、基礎体温の指導、子宮卵管造影、精液検査、頸管粘液検査、子宮内膜検査等であり、一般診療所、病院での可能な検査の範囲を越えるものではない。このような状況下の当院における昭和45年から昭和50年までの6年間に観察した不妊症患者の実態についてまとめたのでここに報告する。

対象及び検査・治療

昭和45年4月から昭和51年3月までの6年間に永井病院外来に挙児希望の訴えをもつて来院した婦人すべてを対象とした。これらの不妊婦人には来院時、これから行う検査の方法や意義について説明し、少なくとも2年間は通院・治療の努力の必要性を理解させた。同時に、問診・全身検査・内診・基礎体温の指導・HSG の施行・粘液

検査・ホルモン負荷試験(図1)のごとき検査を行った。また、治療方針は概略次の如くである。

- 1) 第1度無月経・無排卵周期症には Clomid 50mg 5日間投与し、排卵がない場合は Clomid 150mg まで増量した。
- 2) 基礎体温で黄体機能不全が考えられる例にも前方刺激として Clomid を投与した。
- 3) Clomid 投与で排卵(+)例で頸管粘液の増量がなく妊娠にいたらない例には、Clomid を減量するかあるいは Clomid 投与を休止してみた。
- 4) Clomid 療法無効例、PMS-HCG 療法・HMG-HCG 療法無効例、および頸管粘液の増量や羊歯葉状結晶形成強陽性例に対して、HSG 所見や内診所見から多嚢胞卵巣を考え、卵巣楔状切除術を施行した。
- 5) 卵管障害のある例には通水及び卵管開口術を施行した。

以上の検査・治療により不妊原因を下記の如くにまとめた。(1) 内分泌因子、(2) 卵管因子、(3) 複数の不妊因子を有する患者を重複因子、(4) 我々の検査で正常であつた患者は機能性因子、(5) 男性因子、(6) 検査を終了しえなかつた患者を不明、そして(7) 子宮筋腫・膈横隔膜などをその他とした。

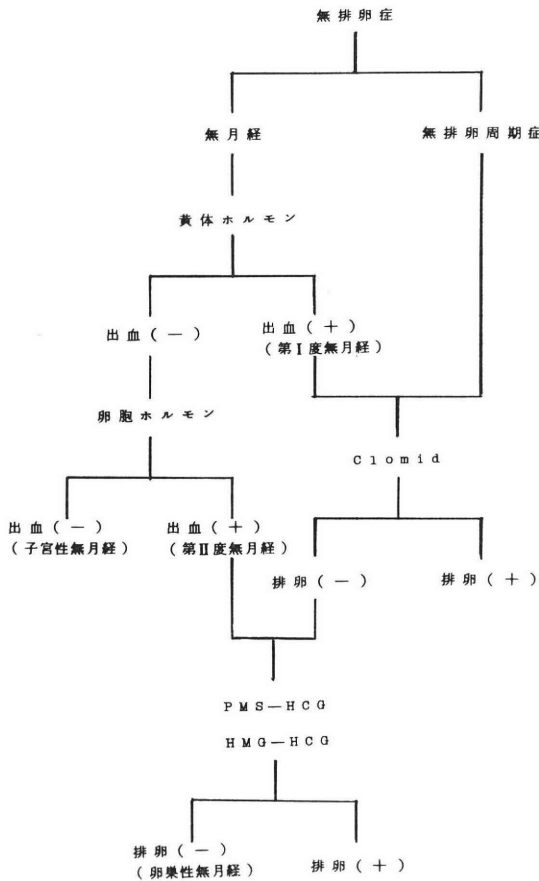


図1 ホルモン負荷試験

結果及び考察

(1) 不妊症の頻度

児を希望して当院外来を受診した不妊患者の新患総数に対する割合を図2に示した。昭和45年1.5%、昭和46年1.7%そして昭和50年3.4%であり、年々増加の傾向を示し、平均2.2%であった。不妊統計に関する報告は多数あり、不妊の定義も種々述べられている、今回我々は不妊期間の長短にかかわらず、不妊を主訴として訪れた婦人すべてを対象として統計観察を行った。一般には不妊主訴患者の頻度は不妊期間のとり方、調査機関の性格によって異なるが大およそ5~10%であり¹⁾、最近の報告でも伊藤ら²⁾の5.49%、高い頻度としては大西ら³⁾の23.0%である。我々の2.2%はこれらに比し、低値であるが、これは第一線治療病院の性格によるところが多いと考えられる。又原発不妊と続発不妊の比は年度別にみて差はなく、伊藤ら²⁾、秦ら³⁾の報告とほぼ同じ比率であった。

(2) 初診年齢

初診時の年齢分布を図3に示した。26~30歳の患者が

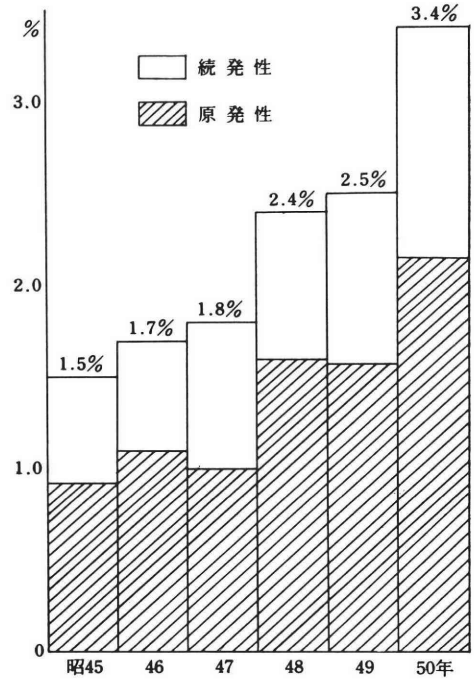


図2 年度別にみた不妊患者の新患総数に対する割合

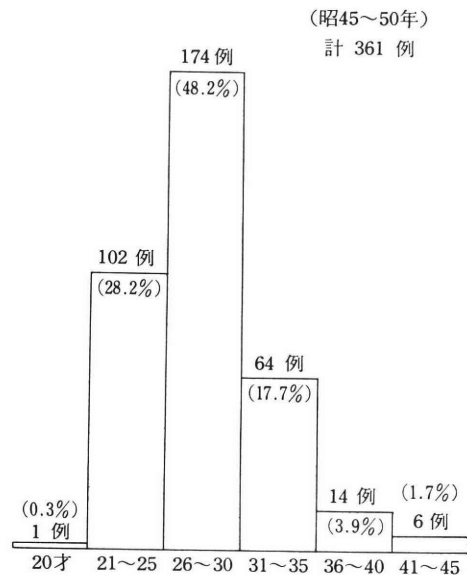


図3 年齢別にみた不妊患者数

約48%で最も多く、次いで21~25歳、31~35歳の順となり、小畑ら⁴⁾、伊東ら⁵⁾、秦ら³⁾の報告と同じ傾向がみられた。

(3) 不妊期間

初診時における不妊期間は2~5年が59.8%を占め、

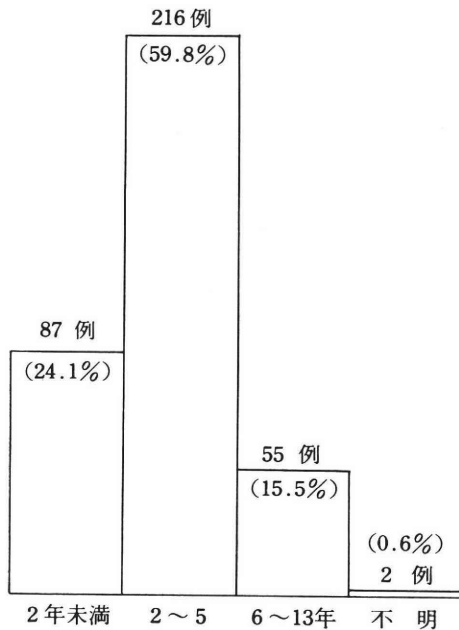


図 4 初診時不妊期間別にみた不妊患者数

表 1 不妊期間 2 年未満患者の不妊原因

不妊原因	例数	妊娠例
内分泌因子	12(13.8%)	3(25.0%)
卵管因子	14(16.1%)	4(28.6%)
重複因子	13(14.9%)	5(38.5%)
その他	4(4.6%)	2(50.0%)
機能的因子	14(16.1%)	11(78.6%)
男性因子	6(6.9%)	1(16.7%)
不明	24(27.6%)	0
計	87例	26(29.9%)

2 年未満の患者が 24.1% であり (図 4), 小畑ら⁴⁾, 秦ら⁵⁾, 伊藤ら²⁾の報告の如く, 早期受診の傾向がみられた。

(4) 不妊期間 2 年未満患者の不妊原因

一般検査範囲の検査により, 不妊期間 2 年未満患者の不妊原因を表 1 (例数の項) に示したが, 器質的変化の見られた例は 49 例で全体の 56.3% をしめていた。従来本邦で採用されてきた不妊期間 3 年及び FIGO の定義による不妊期間 2 年以上を不妊症とされていたが, 我々の成績から, 不妊期間 2 年未満で外来を訪れる不妊患者に対しても積極的な検査と治療が望ましいと考えられる。

表 1 の妊娠例の項は各因子に対する妊娠例数と妊娠率を示したものである。即ち機能的因子が 78.6% で最も妊娠率が高く, 男性因子が 16.7% であり, 最も低率を示した。2 年未満の妊娠率は, 小畑ら⁴⁾の報告 27.5% に比し, 29.9% とやや高率を示している。

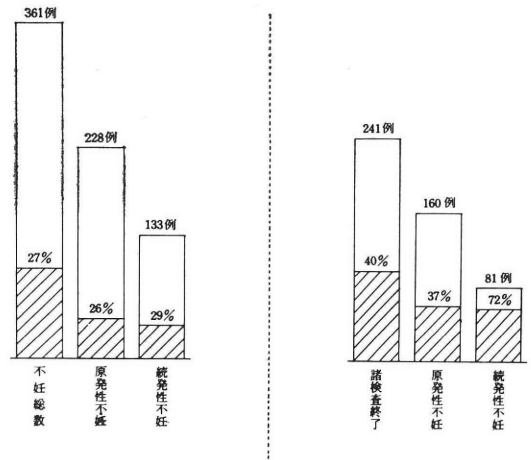


図 5 不妊患者の妊娠成功率 %

(5) 不妊患者の妊娠成功率

不妊症の妊娠率の報告はその調査機関に集まる不妊患者の質, 病院の治療内容のレベルなどによって異なるものと考えられる。我々は前述の如く, あくまで一般病院の検査・治療範囲での妊娠率を述べたものである。図 5 左にみる如く, 過去 6 年間の妊娠率は 27.0% である。館野⁶⁾らは 14.6%, 金岡⁷⁾らは 31.7%, 秦⁵⁾らは 27.8% と報告している。諸検査を終了し, 通院治療した患者は 361 例中 241 例にとどまり, 66.8% であつた。金岡⁷⁾らは 87.1%, 伊藤²⁾らは 86.9% と報告している。これは当院が一般病院であることと, 転医傾向を示す不妊患者の特性によるものと考えられるとともに, 同一機関における長期治療・経過観察をより強く指導する必要性のあることを示している。ちなみに通院中止を除外した妊娠率は, 241 例中 97 例妊娠率 40.0% の高値を示した (図 5 右)。

(6) 不妊原因

前述の分類により不妊原因を区別し, 妊娠成功との関係をみた (表 2)。小畑⁴⁾ら, 金岡⁷⁾ら, 秦⁵⁾らの報告と異なり, 当院では機能的因子の妊娠率が非常に高く 82.9% であつた。又, 秦⁵⁾らの報告では, 重複因子の妊娠率は 0% となっているが, 当院では 14.3% に妊娠をみている。卵管因子の妊娠率も高く 26.2% であるがこれは当院では長期にわたる通水療法を施行しており, 妊娠成功率の向上に関与しているものと考えられる。

(7) 各種治療による妊娠成功例

治療法により分類した妊娠成功例を表 3 に示した。Clomid 使用率が 20.6%, 通水療法例が 16.5% であり, これらの方法は比較的高い効果を示したが未治療群に 30.1% の妊娠をみたのは興味深い。この傾向は, HSG のみが 17.8% で最も多いとする加藤⁸⁾ら, 未治療群に

表 2 不妊原因

諸因子	例数	妊娠例
内分泌因子	46(12.7%)	21(45.7%)
卵管因子	61(16.9%)	16(26.2%)
重複因子	35(9.7%)	5(14.3%)
機能性因子	41(11.4%)	34(82.9%)
その他	19(5.3%)	7(36.8%)
男性因子	39(10.8%)	14(35.9%)
不明	120(33.2%)	0
計	361例	97(26.9%)

表 3 各種治療による妊娠成功例

HSG 施行済	1 未治療	30
	2 通水	16
3 クロミット	20	
4 通水+クロミット	7	
5 単純ホルモン療法	6	
6 人工授精	1	
7 その他	10	
8 男性治療	2	
HSG 未施行	1 未治療	4
	2 クロミット	1
計		97例

表 4 不妊患者妊娠例の経過

分 (奇形 1 例多胎なし)	娩	67(69.1%)
流	産	6(6.2%)
子宮外妊娠		2(2.1%)
転	科	22(22.7%)
計		97例

表 5 不妊患者に対する各種手術例と妊娠例

手術名	例数	妊娠数
子宮筋腫核出術	7	4
子宮位置矯正術	3	1
卵巣楔状切除術 {子宮内膜症(+) {子宮内膜症(-)	{10 {11	{1 {4
卵管開口術	5	1
卵管開口術+卵巣楔状切除術 {子宮内膜症(+) {子宮内膜症(-)	{5 {0	{1 {0
子宮位置矯正術+卵巣楔状切除術 {子宮内膜症(+) {子宮内膜症(-)	{2 {0	{0 {0
子宮位置矯正術+卵管開口術	1	0
子宮位置矯正術+卵巣楔状切除術+卵管開口術	1	0
膣整形術+卵管開口術	1	1
計	46	13(28.3%)

42.7%の妊娠成功をみている金岡⁷⁾らの報告でも認められる。このことから、不妊症治療には検査が優先されるべきであり、原因のはつきりしないままの治療開始はさけなくてはならないことが強調されるべきである。

(8) 不妊患者妊娠例の経過

不妊症患者の妊娠後の経過は表4の如くであり、分娩69.1%、流産6.2%、子宮外妊娠2.1%、転科22.7%であった。不妊症治療中妊娠に対する流産の頻度については金岡⁷⁾ら2.8%、小畑⁸⁾ら30.0%、高野⁹⁾ら25.6%などの報告がある。当院の流産率は6.2%で諸家に比し低率であるが当院では昭和48年より、切迫流早産妊娠に対し、積極的な安静療法を試みており¹⁰⁾、その効果によるものではないかと考えられる。当院の流産治療法は主として、安静療法であり薬物療法は妊娠のいかなる時期においても最小限にとどめて居る。

(9) 不妊患者に対する各種手術と妊娠例

不妊症に対する手術療法には検討しなければならない点が残されているが、当院では適応に考えられる症例に対して積極的態度を示している。不妊婦人に対する6年間の手術例は46例であり、手術施行後の妊娠率は28.3%であった(表5)。術後最も高率に妊娠をみた例は、子宮筋腫核出術後で7例中4例に妊娠をみている。百瀬¹⁰⁾らも37.9%と高い妊娠率を報告していることから、子宮筋腫に対する手術は有効と考えられる。したがってHSG、内診等で筋腫の確認された不妊症例では早期に手術の是非について検討されるべきものと考えられる。卵管開口術を施行したのべ症例は11例であり、3例に妊娠をみた。卵管開口術の術式、妊娠率については種々の報告があるが¹¹⁾、我々はプロテクターを用いず出来るだけ卵管采より遠方に固定する外翻縫合術を施行している。我々の卵

表 6 不妊症に対する一般検査

不妊一般検査	
女性側	男性側
問診	問診
内診	全身一般検査
全身一般検査	血沈
B・B・T測定指示	血液一般検査
H・S・G	血液型
血沈	精液検査
血液一般検査	
血液型	
胸部レ線検査	
頸管粘液検査	
膣スメア検査	
頸管粘液細菌培養	精液精密検査
性交後検査	前立腺分泌検査
子宮内臓検査	精巣組織検査
月経血結核培養	
卵管障害 カルドスコピー (ラバロスコピー)	内分泌障害 肝機能テスト Progesteronテスト estrogen・progesteron テスト 甲状腺機能テスト 尿ノアークS測定 各種尿中・血中ホルモン測定 LH-RHテスト カルドスコピー (ラバロスコピー) 染色体検査

管手術による妊娠率は27.3%であり、これには卵管結紮術後の再卵管吻合術を施行した1例も含まれている。開口術後の再癒着防止のため、術後2日目より抗生物質、ハイドロコーチゾン混合液による通水を試みている。他機関によるプロテクター使用群との間に妊娠成功率の差を認めていないが、今後さらに工夫、改良して検討する予定である。

子宮内膜症の存在は治療の予後を大きく左右する。組織検査により、子宮内膜症の有無を検討した成績を表5{(内)に示した。手術施行46例中17例に内膜症を確認している。子宮内膜症の手術の適応については諸家の意見は必ずしも一致してはいないが、内診、HSG等により、内膜症が疑われた症例に対して当院では積極的な手術療法を試みている。子宮内膜症による不妊はHSG所見上、卵管通過は認められるが、拡散に障害のあるものが多い。しかしこの所見は卵管の通過性が良好に保たれていることを示すために「HSG正常」と扱われている場合が多いのではないかと考えられる。拡散障害の診断はモリオドールによるのみ可能であり、不妊診断の際のHSGは同剤によることが望ましい¹²⁾。近年、子宮内膜症の増加が報告されており¹³⁾、その難治性であること¹⁵⁾、又当院において卵巣チョコレート嚢腫検索中に3例の子宮内膜症起源と思われる腺癌を認めたことなどとあわせ

考えて、その手術適応は、多くの問題点が残されているとはいえ今後の不妊治療上、積極的な態度での検討が望まれよう。

10) 一線病院における役割

現在の不妊一般検査を表6に示した。我々は点線ワク内を一般不妊検査と考え、他は特殊機関で十分検討の上検査・治療が行われるべきものと考えている。しかし一般検査により分類された各群の治療成績は前述した如く必ずしも低いものではない。即ち不妊治療のうち特殊機関のみで行われるべきものは、ごく少数と考えてさしつかえなく、第一線診療所での不妊症治療における役割は今後ますます重要な地位を占めて行くことが望ましいと考える。

結 び

1. 当院における過去6年間の不妊婦人の実態と治療成績を統計的に観察した。
2. 不妊期間2年未満の患者に対しても、積極的な指導と治療がかなり有効であった。
3. 子宮筋腫核出術や卵管開口術等の手術も妊娠成功率の向上に関与する結果が得られており症例によっては積極的に実施すべきものと思われる。
4. 子宮内膜症の治療には、腺癌の発見も含めて手術適応の意義がある。
5. 不妊治療の面においても、第一線病院の役割はより大きいので可能範囲で積極的にとりくむべきものと考ええる。

(本論文の概要は、第21回日本不妊学会総会において発表した)

文 献

- 1) 野嶽幸雄, 沢田喜彰: 不妊症概論, 現代日本産婦科大系, 9: 11, 中山書店, 1970.
- 2) 伊東武久, 宮内文久, 木戸雄一, 右田満明, 福田栄: 最近2年間の当科不妊症クリニックの現況, 日不妊会誌, 21: 188, 1976.
- 3) 大西泰彦他: 不妊外来開設後約2年間の当教室の不妊統計, 日不妊会誌, 21: 593, 1976.
- 4) 小畑義, 石原貞尚, 東山秀声, 村上旭, 岡田弘二: わが教室における昭和41~45年の外来不妊統計, 日不妊会誌, 18: 44, 1973.
- 5) 泰喜八郎, 有住裕, 上笹貫修, 浜田政雄: 当科における不妊症の臨床統計, 日不妊会誌, 21: 138, 1976.
- 6) 館野政也: 過去2年間(1966年4月~1968年3月)における不妊に関する統計的観察及びVitamin E使用の検討, 日不妊会誌, 14: 105, 1969.
- 7) 金岡毅, 岡田悦子, 清水潤司, 森巖, 関場香:

当院不妊外来における最近2年間の妊娠例についての検討, 日不妊会誌, 18:99, 1973.

- 8) 加藤俊, 岡本元, 宮原通義, 井手ノ橘, 松尾雅治: 女性不妊症の外来臨床統計と妊娠成功例の検討, 日不妊会誌, 16:362, 1971.
- 9) 高野昇, 清水三郎, 高見沢裕吉: 当科不妊外来における妊娠例の検討, 日不妊会誌, 20:383, 1975.
- 10) 百瀬和夫, 田中リナ, 吉沢伸二, 林 明坤, 江沢健夫: 子宮筋腫と不妊症, 産と婦, 43:767, 1976.
- 11) 林 方也: 不妊症における卵管障害の手術療法, 産婦の世界, 28:15, 1976.
- 12) 山口龍二: 子宮卵管造影図譜, p 26, 東京医学書院, 1965.
- 13) 安藤勝, 小池皓式, 平田修: 子宮内膜症の統計的観察, 日不妊会誌, 20:102, 1975.
- 14) 佐々木美代, 渡辺ふさ子, 橋本暁子, 古賀詔子, 永井宏: 当院における低体重児減少への努力, 母性衛生, 18:68, 1977.
- 15) 高田道夫: 子宮内膜症の治療成績, 臨婦産, 23:96, 1969.

Statistical analysis of infertile women in our clinic

Shoko Koga, Tai Nagai and Hiroshi Nagai
Nagai Hospital, Sendai, Japan

The statistical studies on 361 infertile women

who visited our clinic during the last six years from April 1970 to March 1976 were performed.

1. The incidence of infertile women to total outpatients showed a gradual increase, but that of the incidence of primary sterility and secondary sterility showed no change.

2. The age distribution of patients on the first visit was checked. The peak of the infertility was 20-30 years old. This group consisted of 48.0% of the total infertile women.

3. The infertile period on the first visit was studied. The infertile period of 2-5 years were 59.8% and 2 years or less of infertile period was 25.1%. The sterile patients tend to request physical examination earlier.

4. The pregnancy rate of the sterile women was 27.0%. The pregnancy rate of the difference of infertile factors was studied. The functional factor showed the highest frequency of the pregnancy rate. In term of therapy, the patient not yet undergoing treatment after application of HSG recovered the highest rate of 30.1%, followed by the application of Clomoid which showed 20.6% and hydrotubation 16.5%.

5. Pregnancy was observed in 13 cases of the 46 conservative surgeries. We have also been active in conducting operations on endometriosis which is being increasingly observed.

(受付: 昭和52年12月15日)

最近4年間の当科不妊症クリニックの現況

——妊娠成功例の検討——

Statistical Study of Pregnant Cases of our Infertile Clinic

山口大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 鳥越正教授)

上田一之 宮内文久 伊東武久
Kazuyuki UEDA Fumihisa MIYAUCHI Takehisa ITO
藤野俊夫 山下三郎 森岡均
Toshio FUJINO Saburo YAMASHITA Hitoshi MORIOKA

Department of Obstetrics and Gynecology Yamaguchi

University School of Medicine

(Director: Prof. Tadashi Torigoe)

昭和48年1月から昭和51年12月までの4年間に山口大学医学部産科婦人科不妊外来を受診した患者はのべ781例(原発性不妊症患者539例, 続発性例242例)で, 今回は特に妊娠成功例について詳細な検討を行った。上記観察期間中に妊娠に成功したものは126名(16.1%)を数え, 不妊期間4年以内, 治療期間1年以内により多くの妊娠例を認めた。不妊原因のうち高率に妊娠成立をきたしたものは無排卵周期症22.5%, 黄体機能不全23.9%, 第1度無月経16.9%, 及び原因不明20.7%であった。妊娠例のその後の経過は満期分娩に至ったもの82.5%, 切迫流産を経験したもの42.9%, 不幸にも流産に至ったもの15.1%であった。あえて大胆な妊娠しやすい治療スケジュールを考えるとすれば前周期に卵管因子に作用する治療法と黄体刺激療法をまず行ない次周期に原因に対する治療を行なうのがより良い方法と思われる。

はじめに

前回我々は当科不妊外来における2年間にわたる統計的観察を行ない, その結果を報告したが, 今回さらにその観察期間を4年間に延長し, 特に妊娠例について検討を加えたのでここに報告する。

1. 不妊症患者の妊娠頻度

昭和48年1月より昭和51年12月までの4年間に当科不妊外来を受診した不妊患者はのべ781例, そのうち原発性不妊症患者は539例(69.0%), 続発性患者は242例(31.0%)で, これら不妊症患者の妊娠例は表1に示すごとく126例(16.1%)であった。うちわけは, 原発性不妊症

患者群では539例中73例(13.5%), 続発性群では242例中53例(21.9%)であった。前回の報告では初診時の年度別に患者を分類し, 妊娠率を算出(25.7%)したが, 今回の報告では過去4年間ののべ患者数を妊娠率の対象とした。そのため同一患者を重複して数える場合が多くなり妊娠率はやや低く算出されているが, 従来報告通り, 続発性不妊症患者群により高率の妊娠例を認めた。

2. 妊娠に至るまでの不妊期間と治療期間

妊娠までの不妊期間と治療期間との関係を図1に示す。妊娠成功例中117例(92.8%)と非常に多くの患者が治療を開始して1年以内に妊娠している。

今回の成績からすると, 不妊期間4年以内で, 治療期間1年以内に妊娠の可能性が最も高いことが推測される。一方, 治療期間3年以上にも, あるいは不妊期間6年以上にも, 同様にいくつかの妊娠例が存在していた。つまり, 医師と患者は, 辛抱強い努力と, 適確な治療を怠ってはならないことを銘記すべきであろう。

表1 Pregnancy Rate

Primary Infertility	73/539 cases(13.5%)
Secondary Infertility	53/242 cases(21.9%)
total	126/781 cases(16.1%)

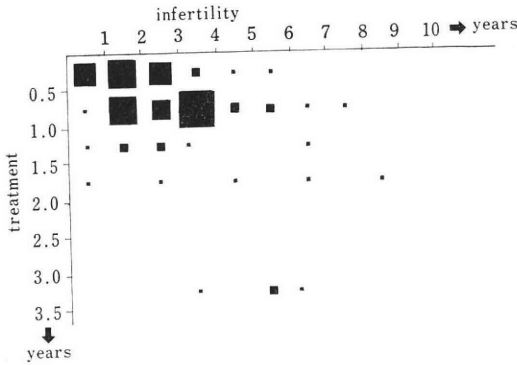


図1 Relationship between the period of infertility and treatment.

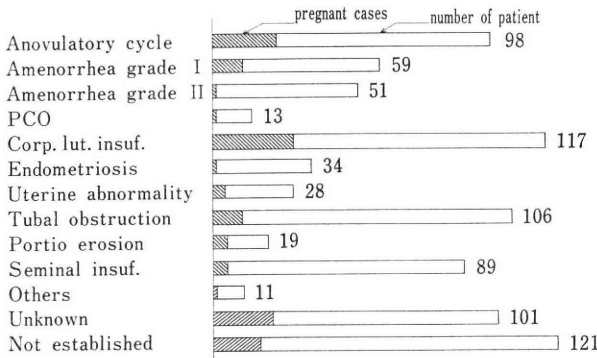


図2 Cause of infertility.

3. 不妊原因別患者数及び妊娠数

不妊を訴えて受診した患者には、基礎体温を記録させるとともに、諸検査を系統的に施行した。また症例によっては、種々の内分泌学的検査を行ない、不妊原因の探索、治療を行なった。不妊原因別の患者数及び妊娠例を図2に示した。不妊原因は、異常の認められるものは重複して記したが、妊娠例では第一義的と思われる項目のみを表示した。患者の分類は、すでに報告した診断基準に従って行なった。なお、この検査過程で妊娠したり、あるいは通院治療を中断したものは、検査未了と表現した。

不妊原因の多くを占めるのは、図2に示すごとく、無排卵周期症、黄体機能不全、卵管通過障害、精液不全及び原因不明であった。高い妊娠率を示したのは、無排卵周期症の98例中22例(22.5%)、黄体機能不全の117例中28例(23.9%)、第1度無月経の59例中10例(16.9%)、および原因不明の101例中21例(20.7%)であった。また一連の検査中に妊娠したのも、17例と高値を示している。

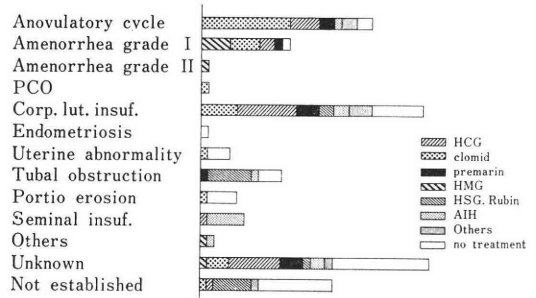


図3 Methods succeeded in pregnancy.

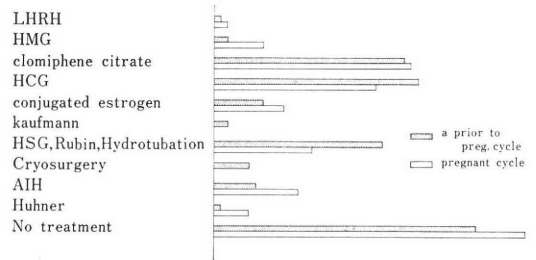


図4 Methods succeeded in pregnancy.

4. 妊娠周期における治療法

妊娠周期における治療法、すなわち妊娠に成功したと思われる治療法を図3に示した。無排卵周期症及び第1度無月経には、従来諸家の報告にもあるとおり、clomidが妊娠率でそれぞれ52.1%、33.3%と最も有効である。しかし、第1度無月経59例中4例にみられるごとく、HMG投与群に妊娠成功例のみみられることより、軽度の排卵障害例においても、必要に応じてHMGを用いることも考慮されねばならない。

黄体機能不全患者の26.7%にHCG投与が有効であったことは、その病態論からもうなづけることである。一方黄体機能不全症の妊娠例において、16.7%の患者にclomid投与により妊娠が成立したことは、その原因が単に排卵後の黄体のみにあるのではなく、卵泡期より何等かの要因が加わっているのではないかと推測され、興味深い点である。一方原因不明患者において31例中10例にclomid、あるいはHCG投与による妊娠が見られた。このことは、原因不明と分類してはいるものの、既述のことともあいまってその中には、黄体機能不全がかなりの頻度で存在することをうかがわせるのではないだろうか。

5. 妊娠周期及び妊娠前周期の治療

妊娠に至った治療法および、その前周期の治療法を図4に示した。

排卵障害に対するホルモン療法, また精液不全症に対する人工授精, あるいは検査過程での Huhner テストなどが, 妊娠前周期と比較して妊娠周期に多い点は, 当然のこととして納得し得るものである。一方, 妊娠前周期に多い治療法は, HCG 投与と, HSG, Rubin テスト, hydrotubation などの治療, 検査であった。妊娠前周期に HCG 投与例が多いことは, 黄体機能を賦活してやるのが次の周期に何等かの良い影響を与えているのではないかと推測される。

高度の子宮腔部びらん患者19例に cryosurgery を行ない, 5 例が妊娠に至ったことは, 頸管因子の重要性を考える上で興味深い結果といえるであろう。

6. 妊娠例の予後

妊娠例126例のその後の経過を, 図5に示した。満期分娩に至ったもの104例(82.5%), 早産あるいは子宮内胎児死亡を経験したもの3例であった。また切迫流産を経験した54例(妊娠例の42.9%)を原因別に図6に示す。高値を示したのは, uterine abnormality 75%, 黄体機能不全28.5%, 無排卵周期症27.2%, および検査未了の41.1%であった。検査未了を除けばやはり妊卵の着床障害および, 着床後の内分泌的維持に問題のあるこれらのものに切迫流産が多いことは, うなづけることである。なお, 19例(切迫流産の35.1%)は, 切迫流産に対する

治療を行なったにもかかわらず流産にいたつた。

考 按

4年間の不妊症患者は延べ781例であり, 原発性と続発性不妊症患者の比は, 69%対31%であった。これは諸家の報告^{2-11, 20-22}とおおむね一致する値である。

その妊娠率は, 16.1%であり, 今回我々は4年間におけるのべ患者数を分母としたため, その値は実際のものより低く現われていることを考慮すれば, 加藤ら³⁾の12.8%, 小畑ら⁵⁾の12.8%, 楠田ら⁶⁾の31.9%, 高野ら⁸⁾の14.1%, 金岡ら⁹⁾の31.7%, 田中ら¹⁰⁾の20.5%, 立山ら¹¹⁾の41.9%, 館野ら¹⁷⁾の19.5%, 東出ら²⁰⁾の19.6%の報告の中間に位置する。原発性不妊症患者群の妊娠率は13.5%, 一方続発性では21.9%と, 続発性不妊患者がより高率に妊娠に至っている。加藤ら³⁾, 稲葉ら⁴⁾, 田中ら¹⁰⁾, 立山ら¹¹⁾, 東出ら²⁰⁾, 三上ら²¹⁾, 門田ら²²⁾は我々と同様続発性不妊症患者群により多く妊娠例を認めているが一方, 林ら⁷⁾, 秦¹²⁾, 楠田ら¹³⁾は原発性不妊症患者群により高率に妊娠が成功したと報告している。

今回の我々の観察では, 妊娠例のうち88.0%が, 不妊期間4年以内であった。加藤ら³⁾は20歳代では30歳代より3倍の妊娠率を示すとし, 小畑ら⁵⁾は不妊期間2年未満に妊娠率が高いと述べ, 金岡ら⁹⁾は, 不妊期間が長くなればなるほど, 妊娠成功率は低下すると報告している。また門田ら²²⁾の報告によれば, 初診時年齢30歳以下, 不妊期間4年未満に妊娠例の50~60%が含まれている。また秦ら¹²⁾は初診時の不妊期間が5年以上のものになると, 明らかな妊娠率の低下が見られるとしている。妊娠成功例において, 不妊期間4年以内に妊娠にいたつた患者の頻度について, 金岡ら⁹⁾は83.9%, 立山ら¹¹⁾は75.3%, 門田ら²²⁾は83.8%と報告している。

妊娠成功例での治療期間と不妊期間との関係では, 不妊期間4年以内, 治療期間1年以内に妊娠したものが, 84.9%にもおよんでいることを今回我々は観察した。加藤ら³⁾は, 治療期間18ヶ月以降の妊娠成功例を認めていない。また小畑ら⁵⁾は, 妊娠例のうち68.5%が, 高野ら⁸⁾は, その半数が, 金岡ら⁹⁾は67.9%, 田中ら¹⁰⁾は77%前後が, 楠田ら¹³⁾は36.9%の症例が, 治療開始後1年以内に妊娠したとしている。また秦ら¹²⁾は, 治療期間2年以上のものは妊娠率が低下すると報告している。さらに楠田ら¹³⁾は, 初診時年齢の若いほど妊娠率の高い傾向がみられたと述べている。以上のことを総合すると, 既述のごとく, 不妊期間4年以内で治療期間1年以内に妊娠の可能性が最も高く, いいかえれば, 高齢者で不妊期間が長期にわたり, しかも治療にもかかわらず妊娠し難い患者をいかに治療するかが今後の大きな課題といえよう。

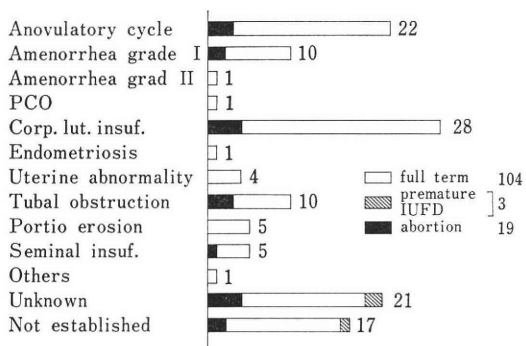


図5 Fate of pregnancy

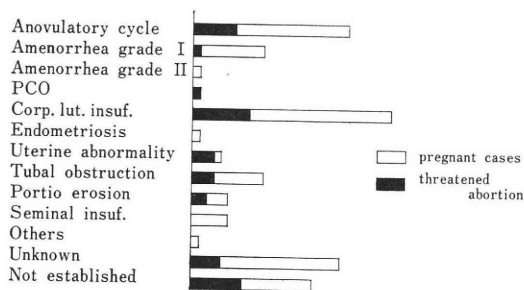


図6 Threatened abortion

野嶺ら²⁸⁾は不妊因子のうち(1)卵管通過障害の頻度が最も高く $1/3 \sim 1/2$ にみられ、(2)次いで分泌期子宮内膜機能不全が約 $1/3$ で、(3)排卵障害の頻度が約10%前後であるとしている。一方金岡ら⁹⁾は、卵巣内分泌因子が40%、卵管因子19.1%、子宮因子10.2%、また田中ら¹⁰⁾は卵巣因子36.1%、卵管因子34.5%、男性因子18.1%とし、館野ら¹⁴⁾は、無排卵周期症34%、卵管因子10%、精子異常3%としている。すなわち、不妊原因の頻度は、各報告者によりまちまちであり、病院の規模による差を認めるとの報告¹⁸⁾もあるが、我々の今回の調査では、卵巣内分泌因子が781例中392例50.2%、卵管因子14.8%、精液不全12.0%であり、卵巣内分泌因子が諸家に比して多いことが特徴的といえよう。

原因別妊娠率では、小畑ら⁵⁾は、排卵異常に40.4%、卵管閉塞6%前後と報告し、金岡ら⁹⁾は、卵巣内分泌因子群48.4%、卵管因子群46.2%、男性因子群12%に妊娠を得たとしている。また楠田ら⁶⁾は、黄体機能不全、第1度無月経、無排卵周期症、卵管機能不全の順に妊娠例は多いと報告している。我々も、ほぼ同様の傾向を示し、黄体機能不全39.3%、無排卵周期症22.5%、第1度無月経16.9%とやはり高率に妊娠に成功している。また高度の子宮腔部びらんで、cryosurgeryを行ない妊娠に至った報告は数少ないが、三谷ら¹⁶⁾は、37例中5例(13.5%)であると報告し、今回我々は19例中5例(26.3%)の妊娠成功率であった。

排卵障害の患者に各種排卵誘発剤を投与して妊娠にいたらしめた報告は数多い^{8,5,7,8,9,10,13,14,15,17)}。我々の今回の検討もその有効性を示している。一方、黄体機能不全患者に対するclomid投与効果については、金岡ら⁹⁾もその有効性を認めているが、我々の成績でも黄体機能不全症で妊娠した患者のうち16.7%がclomid投与によるもので、既述のごとく、排卵前卵胞期における何等かの要因を推測させ興味深い。

妊娠周期に治療を行なっていない妊娠例は比較的多く、これらが何を誘因として妊娠に至ったかを調べるため、妊娠前周期における治療をあげてみた。これによれば前周期に特徴的なものとして、clomid、HCG、HSG、Rubinテスト、hydrotubation、Cryosurgery、Kaufmann療法があげられる。また妊娠周期では、clomid、HCG、Huhnerテストなどが多いのは当然として、無治療例がそれにもまして多いということは、金岡ら⁹⁾も述べているごとくclomid、あるいは、Kaufmann療法などによるrebound現象の重要性を示すものといえよう。また女性因子に重複した男性因子が比較的多数存在することからして、高野ら¹⁹⁾の報告にもあるごとく、排卵誘発とAIHの併用療法は有効な治療法と考えられる。

不妊症患者の妊娠の予後は、外妊あるいは流早産に至るものが多いとされている。一般の流産率はほぼ10%内外と考えられるが、不妊症患者を対象とした報告ではほぼ15%前後に流産を経験しているものと思われる。つまり稲葉ら⁴⁾は14.2%、小畑ら⁵⁾17.5%、林ら⁷⁾27%、金岡ら⁹⁾7.8%、田中ら¹⁰⁾15%、楠田ら¹³⁾16.7%、と述べている。我々の今回の調査では、妊娠例126例中19例(15.1%)と、やはり同程度の数値である。なお、切迫流産例は、54例(42.9%)と高値であり、不妊症患者の妊娠例では嚴重な経過観察が必要なことをうかがわせている。何故不妊症妊娠例に流産が多いかその理由は不明であるが、田中ら¹⁰⁾も述べているごとく、ホルモン異常を一次的なホルモン投与で改善せしめ、妊娠にいたつたとしても、基礎に存在する内分泌異常の根本的改善は行なわれておらず、妊娠維持に必要な内分泌環境が得られないものと推測されよう。

おわりに

不妊症外来で治療を受けた患者のうち、妊娠に成功した例の多くは、若年者で不妊期間も短く、しかも治療後短期間のうちに妊娠にいたつていた。また原因別妊娠成功率では、卵巣内分泌障害および原因不明が高値を示していた。妊娠周期の治療の検索より、前周期における頸管卵管因子の治療の重要および、ホルモン療法におけるrebound現象の重要性が明らかになった。以上より、不妊期間にこだわることなく、不妊原因の検索にとり、早期に適確な治療を開始することが必要であると思われる。また今回我々の行なつたごとく、妊娠周期にとどまることなく、それ以前の治療法の検討により新たなより有効な治療法が見出されるのではないだろうか。

稿を終るに臨み、鳥越正教授のご指導ご校閲に深謝いたします。

本論文の要旨は昭和52年度日本産科婦人科学会山口地方部会総会(昭和52年6月、於下関市)および、第30回日本産科婦人科学会中国西国合同地方部会総会(昭和52年10月、於宇部市)の席上で発表した。

参考文献

- 1) 伊東武久ら：最近2年間の当科不妊症クリニックの現況，日不妊会誌，21：54，1976。
- 2) 植村次雄ら：不妊患者の結婚年齢，既往妊娠に関する統計学的考察，日不妊会誌，18：188，1973。
- 3) 加藤俊ら：女性不妊症の外來臨床統計と妊娠成功例の検討，不妊会誌，16：26，1971。
- 4) 稲葉芳一ら：不妊症患者の原因分析と妊娠率，日不妊会誌，16：16，1971。

- 5) 小畑 義ら：わが教室における昭和41~45年の外来不妊統計，日不妊会誌，18：44，1973.
- 6) 楠田雅彦ら：教室における不妊婦人の統計的観察，日不妊会誌，14：31，1969.
- 7) 林 敬平ら：不妊患者の原因疾患及び男性因子の診断と治療(第1報)，日不妊会誌，20：307，1975.
- 8) 高野 昇ら：当科不妊外来における妊娠例の検討，日不妊会誌，20：383，1975.
- 9) 金岡 毅ら：当院不妊外来における最近二年間の妊娠例についての検討—特に clomid 療法を中心として—，日不妊会誌，18：39，1973.
- 10) 田中昭一ら：札幌医大産婦人科不妊症センターの最近5年間の治療成績，産と婦，40：733，1973.
- 11) 立山浩道ら：当科不妊外来における原因別統計，温研紀要，26：24，1974.
- 12) 秦喜八郎ら：当科における不妊症臨床統計，日不妊会誌，21，138，1976.
- 13) 楠田雅彦ら：教室不妊外来における妊娠成功例の検討，日不妊会誌，17：61，1972.
- 14) 館野政也：不妊に関する統計的観察(第2報)，1970年1年間の当院不妊統計，日不妊会誌，17：42，1972.
- 15) 三浦清巒ら：最近のわが教室における不妊外来の臨床統計，日不妊会誌，16：21，1971.
- 16) 三谷 茂ら：最近における当院の不妊外来患者の統計的観察，日不妊会誌，14：37，1974.
- 17) 館野政也ら：不妊における診断的治療法としての卵管疎通性検査の意義(第2報)—過去9年間の統計を中心として—，日不妊会誌，19：41，1974.
- 18) 百瀬和夫ら：中規模病院における不妊外来—大学不妊クリニックとの比較，日不妊会誌，19：33，1974.
- 19) 高野 昇ら：教室における人工授精の実態ならびに，不成功例の検討について，日不妊会誌，18：263，1973.
- 20) 東出香一ら：最近の当教室における不妊外来統計，日不妊会誌，22：48，1977.
- 21) 三上正憲ら：当教室における不妊クリニック統計，日不妊会誌，22：43，1977.
- 22) 門田 徹ら：不妊症の原因，産婦治療，34：539，1977.
- 23) 野嶽幸雄ら：不妊症，避妊，現代産科婦人科学大系，9：50，中山書店，1970.

Statistical study of pregnant cases
of our infertile clinic

**Kazuyuki Ueda, Fumihisa Miyuchi,
Takehisa Ito, Toshio Fujino,
Saburo Yamashita and
Hitoshi Morioka**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yamaguchi University. School
of Medicine
(Director: Prof. Tadashi Torigoe)

Inferile women, who visited our clinic between the period of January 1973 and December 1976, were observed until December 1976. The total number of infertile women during this 4 years period was 781. Of the 781 cases, 539 involved in primary infertility, while the remaining 242 cases were classified as secondary infertility.

After systemic examination and/or treatment of these patients, there was a total of 126 pregnant cases (16.1%). It was noticed that pregnant cases were observed more frequently in cases whose infertile period was less than 4 years and in cases who succeeded in pregnancy after less than one year of treatment. The pregnancy success rates according to pre-pregnancy diagnosis were: luteal insufficiency-23.9%, anovulatory cycle-22.5%, first grade amenorrhea-16.9%, and unknown causes-20.7%. 82.5 percent of pregnant cases succeeded in having children, while 15.1% were spontaneously aborted. 42.9 percent of all cases were treated under the diagnosis of threatened abortion.

(受付：昭和53年2月13日)

過排卵ハムスター卵巢の卵胞動態 に関する組織学的観察

Histological Observations on the Vicissitude of Ovarian Follicles in Superovulated Hamster Ovaries

東京農業大学畜産学科

石 島 芳 郎

Yoshiro ISHIJIMA

Department of Zootechnical Science, Tokyo
University of Agriculture

新潟大学農学部畜産学科

新 村 末 雄 石 田 一 夫

Sueo NIIMURA Kazuo ISHIDA

Department of Animal Husbandry, Faculty of
Agriculture, Niigata University

過排卵処理がゴールデンハムスターの卵胞の動態に及ぼす影響を組織学的に観察した。過排卵誘起は Greenwald の方法によつて行つた。排卵約11時間後に卵巢を採取し、左側(15個)のみを10%中性ホルマリン液に固定してパラフィン連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色を施した。得られた成績の概要は次の通りである。(1)自然排卵卵巢(5個)にはグラーフ卵胞が平均12.0個含まれていたが、過排卵卵巢(5個)には平均2.0個しか含まれていなかった。新黄体は自然排卵卵巢には平均8.0個あつたが、過排卵卵巢には平均25.6個認められた。(2)過排卵後1周期経過して自然排卵を起こした卵巢(5個)では、グラーフ卵胞と新黄体はそれぞれ平均10.2個、7.2個で、自然排卵卵巢に近かつた。なお、過排卵日から次の自然排卵日までの日数は5匹中3匹が4日で、2匹が5日であつた。これらの結果から、過排卵後の卵巢内の卵胞数は、1周期(4~5日)経過すると概ね回復することが窺われた。

緒 言

性腺刺激ホルモンによる過排卵誘起は、受精卵子の移植や研究用卵子の生産に広く利用されているが、同一個体に過排卵処理を反復すると反応が著しく低下することが指摘されている¹⁻⁹⁾。こうした現象は、投与した性腺刺激ホルモンが卵巢機能に影響を及ぼすことによつて生ずるものと考えられており、卵巢の組織学的観察などから推察されている¹⁰⁻¹⁸⁾。Greenwald^{19,20)}はハムスターの卵巢について、過排卵処理後の卵胞の動的変化を卵胞を数えることによつて確かめている。本実験は過排卵卵巢と過排卵後1周期経過して自然排卵した卵巢の卵胞の発

育状態を知るために、連続標本によつて卵胞を数えたものである。

実験材料及び方法

4日の性周期を繰り返している体重120ないし170gのゴールデンハムスター(*Mesocricetus auratus*)15匹を使用した。飼育はコイトロン内で20°Cで行い、点燈は午前4時から午後6時までの14時間とした。過排卵誘起は Greenwald の方法¹⁹⁾によつた。すなわち、臍粘液が観察された日の午前10時に PMS(セロトロピン、帝国臓器)30IUを皮下注射し、3日後の午後5時に雄と交配させた。対照として用いた無処理雌(5匹)は、臍粘

液の観察された日から3日後の午後5時に交配させた。翌朝、膣スメア中の精子を確認し、午後1時に排卵数を調べ卵巣を採取した。一方、過排卵処理を施したハムスター(10匹)の半数は次期の排卵数と卵胞数を調べるために、処理後1周期置き、膣粘液の見られた日の午後1時に排卵数を調べ卵巣を採取した。ハムスターは発情開始後約8時間で排卵することが知られているので^{21,22)}、卵巣はいずれも排卵後約11時間のものを採取した。

卵巣は左側のみを10%中性ホルマリン液に固定し、7μのパラフィン連続切片を作製してヘマトキシリン・エオシン(H-E)で染色した。それぞれの標本について、二次卵胞、グラーフ卵胞、閉鎖卵胞および黄体を数えた。原子卵胞と一次卵胞は観察の対象から除外した。

実験結果および考察

卵胞を数えるに当たって、はじめに二次卵胞を直径0.24mm以下と0.25mm以上のものに分けた。0.24mm以下の卵胞の顆粒膜は2~9層で、0.25mm以上のものは10~15層であった(図1, 図2)。グラーフ卵胞はいずれも卵胞腔の極めて小さいものであった。これらは直径0.34mm以下、0.35~0.39mmおよび0.40mm以上の3つに分けた。卵胞の顆粒膜はそれぞれ13~15層、15~25層、13~33層であった(図3)。黄体は内腔の見られるものを新黄体(図4)とし、旧黄体(図5)と区別した。新黄体の内腔にはしばしば出血が認められた。なお、卵子を内蔵している閉鎖黄体(図6)を別に記録した。

1. 自然排卵卵巣と過排卵卵巣における卵胞数と黄体数

卵巣内の卵胞数と黄体数は表1に示した通りであった。

た。自然排卵卵巣にはグラーフ卵胞が平均12.0個含まれていたが、過排卵卵巣には平均2.0個しか含まれておらず、しかも後者の卵胞はいずれも直径0.34mm以下で極めて小型であった。二次卵胞の数は直径0.24mm以下のものが自然排卵卵巣で平均336.4個、過排卵卵巣で平均267.8個見られ、前者が後者より多い傾向にあったのに対し、直径0.25mm以上のものは自然排卵卵巣で平均10.8個、過排卵卵巣で平均16.4個あり、後者が前者より多い傾向にあった。一方、自然排卵卵巣には新黄体が平均8.0個、過排卵卵巣には平均25.6個認められた。なお、過排卵卵巣に閉鎖黄体が2個見られたが、これは過排卵処理の影響によって生じたものと思われる。

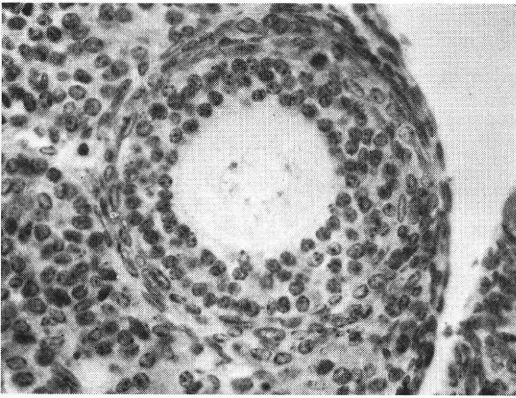
これらの結果から、PMSによつてグラーフ卵胞の大半が排卵したことは明らかであるが、(1)自然排卵卵巣のグラーフ卵胞数(12.0個)に新黄体数(8.0個)を加えても過排卵卵巣の新黄体数(25.6)個には達しない。さらに、(2)過排卵卵巣内の0.24mm以下の二次卵胞が減少し、0.25mm以上の二次卵胞が増加していることから考えると一部の二次卵胞もPMSによつて排卵にいたつたことが推察される。

Greenwald¹⁹⁾は成熟ハムスターの自然排卵卵巣の卵胞(直径0.27mm以上)の数を性周期に従つて観察するとともに、過排卵卵巣の卵胞数をPMSを注射してから排卵が起こるまでの期間観察した。その結果、自然排卵卵巣では性周期中の卵胞数は8~17個で、排卵当日は12個であったと述べている。本観察では、排卵日の自然排卵卵巣内の0.25mm以上の卵胞数は22.8個でGreenwaldの結果より多い傾向にあった。また、過排卵卵巣では排

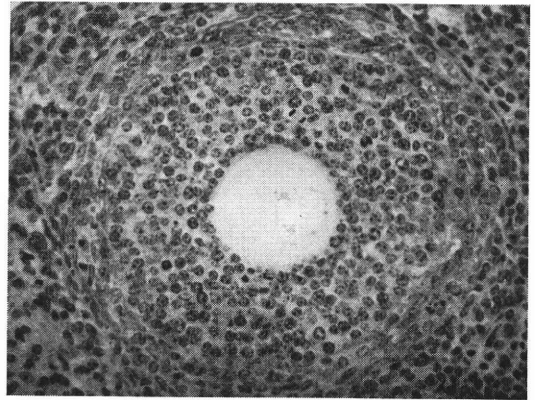
表 1 自然排卵および過排卵ハムスター卵巣の卵胞数と黄体数

	個体番号	二次卵胞		グラーフ卵胞			閉鎖卵胞	新黄体	旧黄体
		~0.24 ^{mm}	0.25~	~0.34	0.35~0.39	0.40~			
自然排卵	1	301	13	3	5	8	22	7	5
	2	407	17	2	3	4	22	7	3
	3	342	6	9	1	1	23	10	3
	4	317	10	1	3	9	23	7	2
	5	315	8	4	5	2	24	9	3
	平均値	336.4	10.8	3.8	3.4	4.8	22.8	8.0	3.2
過排卵	6	376	20	3	0	0	39	25	7
	7	286	16	0	0	0	23	25	6
	8	265	10	3	0	0	11	28+2*	6
	9	231	22	0	0	0	17	22	8
	10	181	14	4	0	0	22	28	6
	平均値	267.8	16.4	2.0	0	0	22.4	25.6	6.6

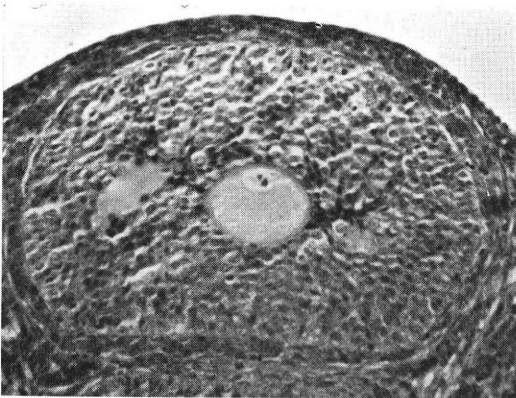
* 閉鎖黄体(新黄体の平均値算出から除外)



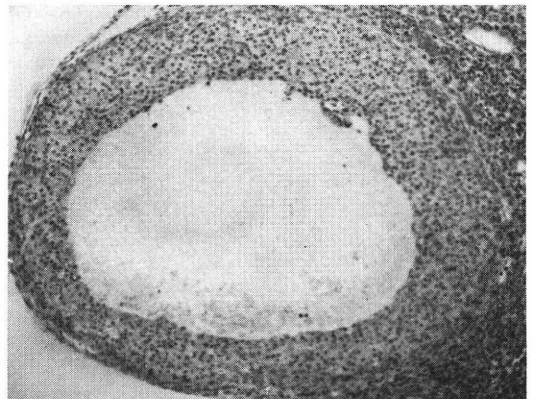
第1図 二次卵胞，顆粒膜2～4層，H-E染色．
×400.



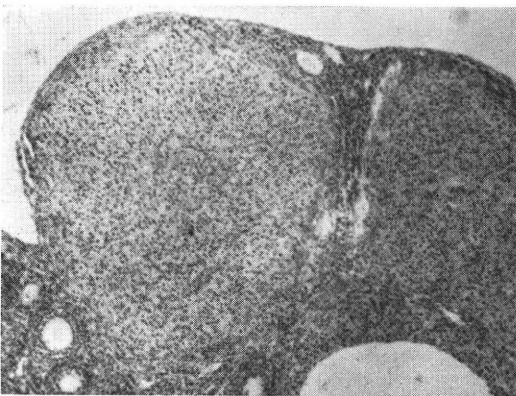
第2図 二次卵胞，顆粒膜9～11層，H-E染色．
×250.



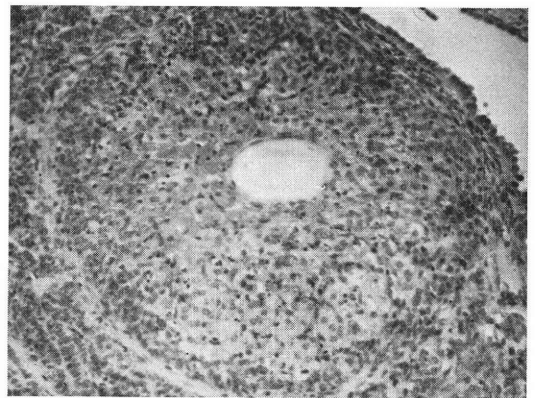
第3図 グラフ卵胞，顆粒膜12～15層．H-E
染色．×150.



第4図 新黄体．H-E染色．×100.



第5図 旧黄体．H-E染色．×80



第6図 閉鎖黄体．H-E染色．×120.

表 2 過排卵後 1 周期経過して自然排卵を起こしたハムスター卵巢の卵胞数と黄体数

個体番号	次期排卵 までの日数	二次卵胞		グラーフ卵胞			閉鎖卵胞	新黄体	旧黄体
		~0.24 ^{mm}	0.25~	~0.34	0.35~0.39	0.40~			
11	4	411	17	3	6	1	14	5+1*	26
12	5	248	15	3	2	3	19	12	15
13	5	241	11	2	4	0	16	7+2*	20
14	4	175	5	11	5	1	16	6	12
15	4	267	11	5	4	1	10	6	16
平均値	4.4	268.4	11.8	4.8	4.2	1.2	15.0	7.2	17.8

* 閉鎖黄体(新黄体の平均値算出から除外)

卵当日のグラーフ卵胞は 3 個であつたという。本実験ではこの時期のグラーフ卵胞は 2.0 個で、Greenwald の結果にはほぼ一致していた。

過排卵処理によつて發育する卵胞は、Greenwald²⁰⁾および Guraya と Greenwald²³⁾によると顆粒膜が 4~7 層の二次卵胞からであるという。本実験の結果では、直径 0.25mm 以上(顆粒膜 10~15 層)の卵胞は過排卵処理によつて明らかに増加しているので、直径 0.24mm 以下(顆粒膜 2~9 層)の卵胞が刺激を受けて發育したことが考えられるが、この時期の卵胞を細かく区分して数えていないので、どの程度の大きさの卵胞から發育を始めたのか明らかでなかつた。

2. 過排卵後 1 周期経過して自然排卵を起こした卵巢

過排卵日から次期自然排卵日までの日数は、表 2 に示したように、5 匹中 3 匹は正常(4 日)であつたが、2 匹は 1 日遅れて排卵が見られた。次に、過排卵後 1 周期経過して自然排卵を起こした卵巢内の卵胞数と黄体数を調べた。その結果(表 2)、二次卵胞数の平均値は 280.2 で個体間に著しい差異が見られた。グラーフ卵胞と新黄体の数は自然排卵卵巢(表 1)とほとんど変らなかつた。なお、自然排卵卵巢にもかかわらず閉鎖黄体が 3 個見られた。旧黄体は過排卵卵巢の新黄体(表 1)よりいく分少なかつたが、自然排卵卵巢(表 1)の新黄体に比べると著しく多く、1 周期前に過排卵が起こつたことが窺われた。

自然排卵卵巢においても、また、過排卵卵巢においても、二次卵胞の数は個体差が著しかつた(175~411 個)。これがいかなる原因によるものか明らかではないが、年齢、経産歴などの要因が考えられるので、将来、調べる必要がある。

Greenwald¹⁹⁾は成熟ハムスターに過排卵処理を施し卵胞を数えているが、排卵を起こした翌日に卵胞数は既にかなり回復していることを報告している。本実験においても、過排卵後 1 周期経過して自然排卵を起こした卵巢

には、グラーフ卵胞と新黄体が自然排卵卵巢と同程度含まれていた。従つて、過排卵後の自然排卵は概ね正常であつたものと推察される。ただし、過排卵卵巢に頻発する閉鎖黄体が見られたことは、過排卵処理の影響が若干残つていることを物語るものかも知れない。

過排卵後自然排卵を起こすまでの日数について、本実験では自然排卵が 1 日遅れた個体が相当数現われた。これは、正常に排卵するための内分泌的調整に手間取つたためと思考される。また、過排卵処理を同一個体に繰り返すと、排卵数の減少が著しいことが指摘されているが¹⁻⁹⁾、1 回の過排卵処理では次回の排卵数に影響をおよぼさないことが本実験の卵胞数の観察から裏付けられた。

文 献

- 1) Adams, C. E.: Inhibition of superovulation in the rabbit. *Nature*. 172: 82, 1953.
- 2) Willett, E. L., Buckner, P. J. & McShan, W. H.: Refractoriness of cows repeatedly superovulated with gonadotrophins. *J. Dairy Sci.* 36: 1083, 1953.
- 3) 山内 亮, 中原達夫: 牛における過剰排卵について. *家畜繁殖誌*, 6: 147, 1961.
- 4) 佐久間勇次, 石島芳郎, 小野元雄: 馬および緬羊の下垂体前葉抽出物と製剤による家兎の過排卵誘起に関する研究. *日農獣報*, 18: 25, 1964.
- 5) Lin, T. P. & Bailey, D. W.: Difference between two inbred strains of mice in ovulatory response to repeated administrations of gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.* 10: 253, 1965.
- 6) Maurer, R. R., Hunt, W. L. & Foote, R. H.: Repeated superovulation following administration of exogenous gonadotrophins in dutch-belted rabbits. *J. Reprod. Fert.* 15: 93, 1968.
- 7) 杉江 信, 相馬 正, 福光 進: 牛の人工受胎に関する研究. 反復過剰排卵誘起処置について. *日畜会報*, 43 (学会号): 45, 1972.

- 8) 杉江 俊, 相馬 正, 福光 進: 牛の人工受胎に関する研究. 反復多排卵誘起処置について(続報). 日畜会62回大会要旨, 49, 1973.
- 9) 石島芳郎, 佐久間勇次: 性腺刺激ホルモンによるマウスの反復過排卵誘起. 日不妊会誌, 22: 245, 1977.
- 10) 今井倭武, 西野芳隆, 笹本修司: 性腺刺激ホルモン(PMS 及び HCG) 投与幼若マウス卵巣の組織学的研究. 第1報(上). 獣畜新報, 292: 1338, 1960.
- 11) 今井倭武, 西野芳隆, 笹本修司: 性腺刺激ホルモン(PMS 及び HCG) 投与若幼マウス卵巣の組織学的研究. 第1報(中). 獣畜新報, 293: 1390, 1960.
- 12) 今井倭武, 西野芳隆, 笹本修司: 性腺刺激ホルモン(PMS 及び HCG) 投与幼若マウス卵巣の組織学的研究. 第1報(下). 獣畜新報, 294: 9, 1961.
- 13) 今井倭武, 笹本修司, 鈴木俊郎: 性腺刺激ホルモン(PMS 及び HCG) 投与幼若マウス卵巣の組織学的研究. 第2報. 家畜繁殖誌, 10: 114, 1965.
- 14) Ishida, K. & Sakuma, Y.: Histochemical studies of blood follicles of the rabbit. Jap. J. Fert. Ster. 7: 151, 1962.
- 15) 石島芳郎, 石田一夫: 過排卵処理による家兎卵巣の組織学的研究. 日不妊会誌, 15: 194, 1970.
- 16) 石島芳郎, 石田一夫: 過排卵処理によつて誘起された家兎卵胞の日数経過にともなう形態変化. 家畜繁殖誌, 16: 126, 1971.
- 17) 佐藤彰吾: 家兎卵巣における卵胞の發育動態の組織学的研究. 日不妊会誌, 18: 107, 1973.
- 18) 美馬博史: 家兎卵胞のゴナドトロピンの反応程度についての組織学的観察. 日不妊会誌, 20: 270, 1975.
- 19) Greenwald, G. S.: Analysis of superovulation in the adult hamster. Endocrinology. 71: 378, 1962.
- 20) Greenwald, G. S.: Quantitative aspects of follicular development in the untreated and PMS-treated cyclic hamster. Anat. Rec. 178: 139, 1974.
- 21) Harvey, E. B., Yanagimachi, R. & Chang, M. C.: Onset of estrus and ovulation in the golden hamster. J. Exp. Zool. 146: 231, 1961.
- 22) 橋詰良一, 石島芳郎, 平林 忠: 過排卵処置ハ

ムスターの排卵時間と卵子の分割進行程度. 畜産の研究, 29: 1217, 1975.

- 23) Guraya, S. S. & Greenwald, G. S.: A histochemical study of the hamster ovary. Am. J. Anat. 116: 257, 1965.

Histological observations on the vicissitude of ovarian follicles in superovulated hamster ovaries

Yoshiro Ishijima

Department of Zootechnical Science, Tokyo
University of Agriculture

Sueo Niimura and Kazuo Ishida

Department of Animal Husbandry, Faculty
of Agriculture, Niigata University

The effects of superovulation on the rise and fall of ovarian follicles in hamsters were histologically observed. Superovulation was induced according to the Greenwald method. Five naturally ovulated ovaries and 10 superovulated ones were taken about 11 hours after ovulation, fixed in 10% neutral formalin solution, embedded in paraffin, sectioned serially at the thickness of 7 μ , and stained with hematoxylin and eosin. The results were as follows.

(1) Naturally ovulated ovaries contained 12.0 of Graafian follicles on an average, while superovulated ones only 2.0 of such follicles. As for newly formed corpora lutea, naturally ovulated ovaries possessed 8.0 of such on an average, while superovulated ones 25.6. (2) Ovaries which ovulated naturally in the next cycle after super ovulation contained 10.2 of Graafian follicles on an average and 7.2 of newly formed corpora lutea, these numbers being similar to those of naturally ovulated ovaries. The number of days before the natural ovulation after a superovulation was 4 days in 3 animals out of 5 and 5 days in the rest. These results suggested that after one oestrus cycles, superovulated ovaries can regain the number of growing follicles as close as that in normal ovaries.

(受付: 昭和53年2月7日)

日本不妊学会関東・東北連合地方部会

日時：昭和52年6月11日

- 1) ミニ・ピル投与による排卵抑制の研究
小笠原仁, 津端捷夫, 高木繁夫
(日大産婦)
- 2) LH・RH テストによる無排卵症患者の病態に関する検討
山本育代, 遠藤 守, 庄司 誠
篠塚正一, 中島敏男, 細田 肇
木下英夫, 蜂屋祥一
(慈恵医大産婦)
- 3) 17 α -Pregnen-4-en-20-yno[2,3-d]-isoxazol-17-ol
(Danazol) の視床下部・下垂体・卵巣系機能におよぼす影響
柳 沼 恣(富山医科薬科大産婦)
岡村 隆, 貝原 学, 小林拓郎
(東大分院産婦)
- 4) 男性不妊症患者における間脳・下垂体・性腺系機能の内分泌学的・形態学的研究
小笠原 仁, 坂田寿衛, 田 根培
柳沢 洋二, 高木繁夫(日大産婦)
- 5) 月経周期ともなう血中 CBG, TeBG の変動について
川越慎之助, 広井正彦(山形大産婦)
6. Gonadotrophin および Prostaglandin が in vitro でハムスタ卵子の17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase 活性に及ぼす影響
新村末雄, 石田一夫(新潟大学農学部)
- 7) 当教室における血清精子抗体の検索結果
須藤寛人, 森田和雄, 吉沢浩二
高橋 威 (新潟大産婦)
8. ¹²⁵I をトレーサーとした E₂-RIA キットの検定
古橋信之, 星合 昊, 太田憲道
和田裕一, 平野睦男, 高橋克幸
鈴木雅洲 (東北大産婦)
9. 正常初期妊娠の血中 HCG 値の RRA・RIA による比較検討
田辺清男, 中村幸雄, 中島 進
上野 裕, 塗 百寛, 飯塚理八
(慶応大産婦)
- 10) 疑妊娠療法施行内膜の酵素組織化学的研究
塩塚幸彦, 林 茂興, 林茂一郎
佐橋 徹, 藤井成彬, 小林一夫
(東海大産婦)
- 11) 不妊症における漢方療法の応用
村田高明, 吉村泰典, 渡辺 茂
亀井 清 (埼玉病院産婦)
- 12) 過去3年間の当科における子宮奇形について
鳥取孝成, 須藤寛人, 森田和雄
吉沢浩志, 岸 博士, 佐藤芳昭
高橋 威 (新潟大産婦)
- 13) 子宮外妊娠の臨床像についての考察
古賀詔子, 永井 宏, 永井 泰
(向仁会永井病院)
- 14) 過去3年間における当科不妊外来患者の統計的分析
森田和雄, 須藤寛人, 吉沢浩志
高橋 威 (新潟大産婦)
- 15) 当科における不妊臨床統計
太田憲道, 星合 昊, 齊藤 晃
羽根田敦, 平野睦男, 高橋克幸
鈴木雅洲 (東北大産婦)
- 16) 高度の精子形成障害をともなつた精索静脈瘤の1例 —手術後, 5年間の精液所見について—
広川 信, 岩本晃明, 藤井 浩
(藤沢市民病院泌尿器)
松 下 和 彦(横浜市大第一病理)
- 17) 交叉性精管吻合による妊娠成功例
長沢正人, 平井庸夫, 一条貞敏
(福島医大泌尿器)
宮 田 宏 洋(郡山寿泉堂病院泌尿器)
- 18) 男性不妊症と陰囊温度
光川 史郎, 石井延久, 白井将文
松田尚太郎 (東北大泌尿器)
- 19) 男子不妊症における精路ディスクネジー：特に射精前後の SVG 所見について
一条貞敏, 横山 純, 長沢正人
白岩康夫 (福島医大泌尿器)
- 20) 男性インポテンスに関する研究
第11報 勃起前後の陰茎血流動態の観察
石井 延久, 光川史郎, 白井将文
松田尚太郎 (東北大泌尿器)
- 21) 精液の総合判定基準
特に Eliasson score の変法について
白井 将文, 石井延久, 光川史郎
松田尚太郎 (東北大泌尿器)

シンポジウム

「不妊診療をめぐる最近の歩進」

不妊症をめぐる免疫学的諸問題

金 沢 浩 二(新潟大産婦)

排卵誘発をめぐる諸問題

平野 睦 男(東北大産婦)

不妊と感染症について

吉田 茂 子(東京女子医大産婦)

不妊症とホルモン分泌

広井 正 彦(山形大産婦)

男子不妊症の治療

熊本 悦 明(札幌医大泌尿器)

第74回日本不妊学会関東地方部会

日時：昭和52年9月9日

一般演題

- 1) 当教室における男子不妊外来の臨床統計
附、男性側の不妊症に対する意識調査
吉田英機, 池田隆夫, 今村一男
(昭和大泌尿器)
- 2) 男子不妊症患者の陰のう表面温度について
河村 信 夫(東海大泌尿器)
- 3) ハムスター卵子における Prostaglandin dehydrogenase (基質 PGB, PGC) の組織化学的検出
新村末雄, 石田一夫(新潟大学農学部畜産)
- 4) XMA 分析による家兎卵被膜の S 含有量の変化について
Change of S (Sulfur) contents in external coat of the rabbit egg by using XMA.
野沢あき子, 加藤 守(東邦大第2解剖)
- 5) 染色体“逆位”と妊娠をめぐる二、三の問題点
田村 昭 蔵(慶大産婦)
木下 芳 広(健康相談センター)
前田 徹(北里大産婦)
大野 道 子(中央検査部)
- 6) 排卵誘発と血中ホルモン値
瀬尾 文洋, 鈴木秀宣, 高橋 諒
矢内原巧, 中山徹也
(昭和大産婦)
- 7) 当科における不妊外来の臨床統計
前川岩夫, 大久保綜也, 小堀恒雄
関 克義, 高見沢裕吉
(千葉大産婦)

特別講演

IUD の最近の進歩

我 妻 堯(国立病院医療センター産婦)

第75回日本不妊学会関東地方部会

日時：昭和52年12月13日

- 1) 当科における不妊症患者の妊娠成功例の検討
川田則子, 山内 格, 高橋昌俊
宮坂康夫 (杏林大産婦)
 - 2) Dibutyryl Cyclic AMP の Prolactin および Growth Hormone 分泌におよぼす Actinomycin D の影響
佐藤 嘉 兵(日大農獣医学部家畜繁殖)
 - 3) ヒト性管内精子の輸送について一開腹時における考察
角毅一郎, 金倉洋一, 日原 弘
森定 優, 河上征治, 飯塚理八
(慶大産婦)
 - 4) 排卵障害婦人の LH-RH test の検討
松峯 寿子, 柳沢康子, 扇内美恵
村山啓三郎, 大内広子
(東京女子医大産婦)
 - 5) 反復過排卵処理マウスの反応低下の要因
石島芳郎, 穴吹一広, 小松博道
(東京農大家畜繁殖)
 - 6) 分娩後の NFP について
伊藤 雅 夫(日大衛生)
 - 7) ブタにおける黄体退化不全に対する Prostaglandin F_{2α} の応用
高 嶺 浩(東京農工大獣医学科)
- 特別講演
原因不明不育症の臨床
高 橋 威(新潟大産婦)

第76回日本不妊学会関東地方部会

日時：昭和53年2月21日

- 1) スナネズミの卵子における脂肪及び関連酵素の組織化学的検出
新村末雄, 石田一夫(新潟大農学部)
- 2) マウス透明帯抗体の避妊作用
角田幸生, 杉江 佶(農林省畜試)
- 3) 過排卵ハムスター卵巣の卵胞動態についての組織学的観察
石島 芳 郎(東京農大)
新村末雄, 石田一夫(新潟大農学部)

- 4) 男子不妊症の臨床的観察
岩崎 皓, 木下裕三, 野口和美
西村隆一, 高井修道
(横浜市大泌尿器)
- 5) 半陰陽 2 例
柳 重行, 片山 喬, 相川英男
(千葉大泌尿器)
永野俊雄, 外山芳郎(千葉大学第 2 解剖)
- 6) 精子形成能のみられた, ゴナドトロピン単独欠損症の 1 例について
広川 信, 岩本晃明(藤沢市民病院泌尿器)
松下 和彦(中検)
朝倉 茂夫(朝倉泌尿器)
- 7) 不妊と子宮筋腫一核出術後の妊娠と再手術
林 明坤, 柿沼三郎, 百瀬和夫
(東邦大産婦)

- 7) Flexible Silicone Penile Prosthesis の使用経験
高橋 徹, 三品輝男, 荒木博孝
小林徳朗(京都府立医大泌尿器)
- 8) 精囊々腫症例
岡野 准, 松瀬幸太郎, 高崎 登
宮崎 重 (大阪医大泌尿器)
- 9) 男子不妊症における前立腺および精囊の超音波断層像
田中重喜, 大江 宏, 齊藤雅人
板倉康啓, 渡辺 決
(京都府医大泌尿器)
- 10) 特異な経過をとれる不妊恐怖症の一例
友吉唯夫, 小松洋輔, 吉田 修
(京大泌尿器)
三好 暁光
(京大保健管理センター・精神神経科)

特別講演

卵子ならびに卵胞環境に関する最近の問題点
鈴木 秋悦(慶応大産婦)
精細管とその導管系の上皮結合について
永野俊雄, 鈴木二美枝(千葉大解剖)

- 11) インポテンスにおける行動療法の経験
大山 武司(大阪通信泌尿器)

第79回日本不妊学会関西支部集談会

日時: 昭和53年 1 月 21 日

- 1) 最近 1 年間の不妊外来における妊娠
大坪一夫, 東山秀声, 中田好則
二岡清昇, 玉舎輝彦, 岡田弘二
(京都府立医大産婦)
- 2) 精子不動化抗体含有不妊婦人血清 IgG 並びに IgM 分画処理精子の頸管粘液通過性に関する研究
伊熊健一郎, 高 節子, 鎌田敏雄
香山 浩二, 磯島晋二
(兵庫医大産婦)
- 3) 不妊症とプロラクチン 第 1 報 ドグマーチル投与による血中プロラクチン, LH, FSH の動向
ト 部 宏(日本バプテスト病院産婦)
- 4) 排卵と Steroidogenesis, Prostaglandin の影響
加藤恵一, 中田好則, 高野 登
村上利樹, 木村順治, 小畑 義
岡田弘二 (京都府立医大産婦)
- 5) 排卵の成立におけるプロジェステロンの意義
木下 康, 鈴木 瞭, 森 崇英
西村敏雄 (京大産婦)
- 6) ラット妊娠後半の子宮内圧に対する性ステロイドホルモンの影響
市 川 茂 孝(大阪府立大農学部家畜繁殖)

第16回日本不妊学会中四国支部総会

日時: 昭和52年 9 月 18 日

- 1) 特発性性早熟症の一症例
金田健一, 吉賀 峻, 沢原光信
田頭稔弘, 梅沢潤一, 井庭信幸
(鳥大産婦)
大野 雅子(鳥大小児)
- 2. 正常妊娠経過における妊婦血中 estradiol 値の推移
佐々木元章, 小川重男(川崎医大産婦)
- 3) 正常妊娠経過における妊婦血中 progesterone 値の推移
杉山 守, 小川重男(川崎医大産婦)
- 4) 副睾丸精管吻合術とくに microsurgery の応用
永田一夫, 越戸克和, 那須誉人
滝原博史, 酒徳治三郎
(山口大泌尿器)
- 5) 睾丸測定器の試作について
那須誉人, 滝原博史, 平山 嗣
越戸克和, 酒徳治三郎
(山口大泌尿器)
- 6) 原因不明不妊症の腹腔鏡所見
田中良賢, 山崎典子(川崎医大産婦)

- 7) 卵巣過剰刺激症候群例の血中ステロイドホルモンの推移と超音波断層法による追跡
高橋久寿, 高柳 真, 乾 泰延
松家五郎, 増田歳久, 三村経夫
吉崎健一, 加藤秀之, 足立春雄
(徳大産婦)
- 8) 切迫流産の予後判定について(特に超音波診断を主とした)
鵜飼史貴, 吉良正道, 赤松信雄
丹羽国泰, 秋本暁久, 関場 香
(岡大産婦)
- 9) 加療にて妊娠の成立をみた男性不妊症例
鈴木 学, 山元敏嗣, 田中啓幹
大森弘之 (川崎医大泌尿器)
- 10) 男性半陰陽の内分泌学的検討
大橋輝久, 赤枝輝明, 森岡政明
(岡大泌尿器)
- 11) 雄マウスの実験的精子自己免疫の誘起
古川茂典, 内海蒸三, 湯原正高
(岡大農)

特別講演

雌生殖器官内での精子の生理と受精能獲得
入 谷 明(京大農学)

第22回日本不妊学会九州支部総会

日時: 昭和52年10月23日

- 1) ^{125}I をトレーサーした血中 estradiol のラジオイムノアッセイ
倉野彰比古, 中村元一, 楠田雅彦
(九大産婦)
- 2) 不妊婦人の頸管粘液不全について
山下裕国, 前里宗永(佐世保共済産婦)
- 3) 多嚢胞卵巣に対する楔状切除術後の臨床経過
津田 知輝, 中村元一, 尾上敏一
倉野彰比古, 永田行博, 楠田雅彦
(九大産婦)
- 4) 子宮を温存する粘膜下子宮筋腫
水元淳一, 中原和彦, 佐々木俊雄
三森寛幸, 中山道男, 前山 昌男
(熊大産婦)
- 5) 染色体異常を伴う先天性性腺發育不全症について
吉田耕治, 立山浩道, 門田 徹
宇都宮隆史, 山口省之
(九大温研産婦)

- 6) 極めて難治性の機能性子宮出血患者の妊娠例について
黄 宏駿, 谷口忠臣, 石丸忠之
三浦清巒, 山辺 徹(長大産婦)
- 7) 血中 gonadotropin 値からみた無排卵症について
宇都宮隆史, 立山浩道, 片桐英彦
梶原 健伯, 山口省之, 門田 徹
(九大温研産婦)
- 8) Polycystic ovary の超微形態
村上 誠, 吉田至誠, 牛丸敬祥
石丸忠之, 三浦清巒(長大産婦)
- 9) 長期偽妊娠療法施行時の内分泌環境
池田友信, 沖 利貴, 丸田茂徳
(鹿大産婦)

第20回日本不妊学会北海道地方部会

日時: 昭和53年1月24日

一般講演

I 群 不妊臨床統計

- 1) 第9回国際不妊学会総会に出席して
石 井 碩(小樽市)
- 2) 札幌医大産婦人科不妊外来における昭和51年の治療成績
下谷保治, 佐藤 卓広, 岡部泰樹
大野光春, 中佐藤利一, 神谷博文
田中昭一, 橋本 正淑
(札幌医大産婦)
- 3) 最近3年間の当院における不妊症例の観察一妊娠成功例の検討
宇野洋一, 飛世義則, 小野 宏
岩崎寛治 (天使病院産婦)
- 10) 不妊症診療における通水法の再評価
松岡幸一郎, 吉田耕治, 是永迪夫
立山 浩道, 門田 徹
(九大温研産婦)
- 11) 当科不妊外来における最近2年間の妊娠例の検討
奈良迫純子, 中村 元一, 尾上敏一
津田 知輝, 倉野彰比古, 永田行博
楠田 雅彦, 片桐 英彦(九大産婦)
- 12) 当教室における不妊外来統計
永山 孝, 仲地広順, 東 政弘
竹中静広 (琉大保健学部産婦)

特別講演

にわたりの受精

西山久吉(九大農学部)

- 4) 札幌医科大学不妊症外来における最近5年間の排卵誘発成積の検討

中佐藤利一, 岡部泰樹, 大野光春
佐藤卓広, 神谷博文, 下谷保治

田中昭一, 橋本正淑

(札幌医大産婦)

II群 不妊の治療

- 5) 男子不妊症の治療

1. 妊娠に成功した retrograde ejaculation の一例
2. oligospermia 症例の Kallikrein または, cholexamin による精子数の変動について

木村正一, 坂丈敏, 青山龍生
熊本悦明 (札幌医大泌尿器)

- 6) 黄体ホルモン授与による妊娠成功例について

大中吉人, 星信哉, 佐藤力
(旭川市立病院産婦)

田中俊誠, 一戸喜兵衛(北大産婦)

- 7) PCOD 患者の楔状切除術後の臨床経過について

田中俊誠, 沓沢武, 藤本征一郎
一戸喜兵衛 (北大産婦)

- 8) Rem 睡眠期における思春期女子 LH の観察

菊川寛(幌南病院産婦)

III群 異常妊卵

- 9) 遅延排卵と発生・染色体異常

上口勇次郎, 舟木賢治, 小出展久
美甘和哉 (旭川医大生物学)

- 10) 羊水採取の牛における応用と染色体分析

井上忠恕, 三宅陽一, 石川恒
(北大獣医部臨床繁殖)

河田啓一郎(酪農大獣医)

- 11) 排卵抑制後の回復周期における卵および胎子の異常について

芳賀宏光, 山田隆一, 清水哲也
(旭川医大産婦)

- 12) CLOMID による排卵誘発の問題点

田中俊誠, 菅原卓, 藤本征一郎
一戸喜兵衛 (北大産婦)

- 13) 絨毛性疾患における MTX-ACTD 療法の妊孕生理への影響

新開奈保子, 椎名美博, 大久保仁
一戸喜兵衛 (北大産婦)

- 14) マウス卵巣の Aging と奇形仔発生

岡田雄一, 桜木範明, 一戸喜兵衛
(北大産婦)

- 15) 母体の加齢と染色体異常の生成機序について

舟木賢治, 上口勇次郎, 菅原茂樹
美甘和哉 (旭川医大生物学)

IV群 生殖腺の生理

- 16) 血液一壘丸閥門 (Blood-Testis Barrier, BTB) の發育

古屋聖児, 三宅正文, 白木佳代子
熊本悦明 (札幌医大泌尿器)

- 17) 過排卵処理家兔卵子の生殖道内移動に関する研究

堤義雄, 寺見裕, 武田哲男
鈴木裕之, 松井滋

(北大農学部家畜育種)

- 18) 両側卵巣腫瘍摘出後の微小遺残卵巣による二相性基礎体温と妊娠例

大中吉人, 佐藤力, 星信哉
(旭川市立病院産婦)

- 19) 排卵現象における卵巣血行形態について

牧野田知, 沓沢武, 藤本征一郎
一戸喜兵衛 (北大産婦)

小山富康(北大応電研生理部門)

- 20) 培養顆粒膜細胞のステロイド産生分泌への卵子の影響

守谷修而, 菊地徳博, 田中俊誠
岡田雄一, 藤本征一郎, 一戸喜兵衛
(北大産婦)

特別講演

- I. 世界における牛の受精卵移植事業の概要

金川弘司

(北大獣医学部家畜臨床繁殖学)

- II. 最近の生殖医学研究領域における2・3の問題点について

鈴木秋悦(慶応大産婦)

日本学術会議第 74 回総会報告

第 11 期の最初の総会に当たる第 74 回総会は、1 月 23～25 日の 3 日間、日本学術会議講堂で開かれた。

総会は、規定に従い事務局長の議長代行のもとに開会され、まず沖縄県在住の科学者の代表として琉球大学法文学部教授米須興文氏及び琉球大学農学部教授赤司景氏がオブザーバーとして参加されている旨の紹介がなされた。

ついで会長選出に移ったが、会員から従来の方法では判断の資料が不足しているのでいったん休憩し、部会を開催して候補者についての情報の交換をしてはどうかとの意見が出され、これについて活発な議論が行われたが、結局従来の方法で行うことになった。

投票の結果、会長に伏見康治会員（第 4 部）が選ばれた。

就任の挨拶に立った伏見新会長は、(1) 全会員の英知を結集するため総会主義を貫く、(2) 重点的に問題をしばつて審議を行う、(3) 当面の仕事に追われて本質的な問題を見失なうようなことはしない、(4) 国際的な学術交流・協力にかかわる活動の強化、とりわけ発展途上国とのそれに重点を置く、など学術会議の今後の活動について会長としての抱負を述べた。

ついで、伏見会長が議長席につき副会長の選挙に入り、人文科学部門から岡倉古志郎会員（第 2 部）、自然科学部門から名取礼二会員（第 7 部）が選出され、両副会長からも挨拶があり、第 1 日目の日程を終えた。

午後の各部会では、部長、副部長、幹事の選出等が行われた。

総会第 2 日目には、まず、越智勇一前会長が第 10 期の総括的な報告を行つた後、引き続いての退任の挨拶の中で、我国の科学の発展にとって本会議の果たすべき役割の重要性を強調した。

ついで運営審議会付置小委員会の活動報告が行われた。特に高橋前副会長（財務委員会委員長）からは、本会議の予算の現状について詳細な説明があつた。また伏見前副会長による ICSUU 小委員会の報告では 1979 年に開催される NCSTED（国連開発のための科学・技術会議）にどう対処すべきかという問題提起があつた。この後、各部、各委員会等から第 10 期の活動のまとめや第 11 期への引継ぎ事項に関する詳細な報告があつた。

諸報告の終了後、短時間ではあつたが第 11 期の活動計画を策定するための手続き等について自由討論を行つた。討論は期の最初の総会にふさわしく、終始活発な質疑応答が行われ、予定を延長して午後 6 時すぎに終了した。

総会第 3 日目には、「第 11 期の活動に関する基本計画の策定並びにそれに伴う各種委員会の当面の措置について（申合せ）」についての審議が行われた。本議案は、第 11 期の本会議の基本的な活動計画を策定するため、4 月総会までの 3 カ月間、いかにして全会員が英知を結集して審議を行うか、ということに関する内容のものである。そこで、この議案については、岡倉副会長からきわめて詳細な提案趣旨の説明があり、慎重審議の上、第 11 期活動計画委員会を設置することを主要内容とするこの提案を全会一致で採択した。

この委員会は、(ア) 会長及び副会長、(イ) 各部の役員の中から選ばれた者各 1 名、(ウ) 各部の会員の中から選ばれた者各 3 名（新会員 1 名以上を含む）で構成するものとし、また各部にもこれに対応する小委員会を設け緊密な連絡をとりながら作業を進めることとなつた。

このため第 75 回総会までは、国際協力事業特別委員会を除く特別委員会はもちろん、常置委員会も発足しないことになつたので、この期間における臨時の措置として、常置委員会が継続して作業する必要がある場合及び第 10 期に設置された特別委員会が緊急に残務を処理する必要がある場合には、会長が第 10 期の委員だった現会員及びその他の会員をもつて構成される臨時委員会を

召集する等の手段によつて処理することが決められた。

さらに「科学技術会議日本学術会議連絡部会専門委員の推薦について」の議題が提案され、これについては両副会長及び各部より 1 名ずつを選出し推薦することとした。ついで、(1) 地方区世話人を各地方区選出会員の協議によつて選出すること、(2) 日本学術会議選挙管理委員会候補者の推薦を行うこと、及び第 75 回総会の日程を決めた。

議事終了後、伏見議長から、第 11 期の日本学術会議の出発に当つて、日本学術会議のあり方等について会員が自由に意見を述べるよう求めたのに対して、短時間ではあつたが活発な意見が表明された後、総会を終了した。

なお、今総会の出席率は第 1 日目から第 3 日目まで、それぞれ 96 %、94 %、95 %であつた。

(日本学術会議広報委員会)

日本学術会議第 75 回総会報告

交通ストで延期されていた第 75 回総会は、5 月 16 日～18 日までの 3 日間、日本学術会議講堂で開かれた。この総会の主目的は、今期の活動計画案を審議し、各種委員会等の構成を行うことであつた。

総会第 1 日目にまず、沖縄からオブザーバーとして参加された琉球大学山里栄昭、田港朝昭両教授が紹介された。次いで会長から前総会以後の経過報告が次の 5 項目について行われた：1) 前会長からの引継事項、2) 国内主要事項、3) 国際学術交流、4) 要望・声明等、5) その他。続いて科学技術会議関係報告及び日本学術振興会小委員会報告が行われた。

次に名取副会長から、財務委員会報告として、昭和 53 年度国際会議代表派遣旅費及び委員等旅費の配分について報告があつた。また、岡倉副会長から広報委員会報告があり、その中で学術会議の広報活動を強化する一環として報道機関論説委員等との懇談会を開いたことが述べられた。次いで勧告小委員会報告、UNCSTD 小委員会報告が行われた。

引き続き部会報告に移り、各部長から新設研連に対する部会意見等についての補足説明があつた。また研究費、国際学術交流及び資源・エネルギー問題の各臨時委員会報告があつた。

午後の議事は第 11 期活動計画委員会報告から始められた。会長の概括説明の後、要綱、課題及び研連各分科会について各委員長から補足説明があつた。法規分科会は本総会への提案に代えて、諸問題に関する分科会の見解を報告書として提出したが、これについて三宅義夫委員長から詳細な説明があつた。この報告書については、今後改革検討小委員会等が引き継ぎ、これに基づく方策等を検討することを確認した。

続いて「活動要綱」の審議に入つた。池田末利・要綱分科会委員長から前文、活動の基本姿勢、重点目標、及び審議・運営の基本的態度の 4 項目について要点の説明があつた後質疑に入つた。種々の観点から会員の意見が述べられたが、審議・運営の基本的態度に論議が集中した。今期における勧告等のあり方、政府及び国会との対応について原案に盛られた考え方が質された。活発な討論の後、会長から原案の文言のうち必要箇所は運営審議会で修正する条件で採決に入りたいとの提案があり、採決の結果賛成多数で「活動要綱」が採択され第 1 日目の議事を終えた。

総会第 2 日目の議事は「課題及び各種委員会」の審議から始められた。渡辺洋三・課題分科会委員長から課題と要綱との対応並びに各種委員会の運営及び任務・構成に関する特記事項の説明があり、質疑に入つた。本提案は具体的な活動内容を示しているだけに、多面的な論議が行われた。特記事項に関しては、1) 委員会の審議を期中に完結しようとする今期の基本方針とそれを受けた委員会運営に関する表現、及び 2) 今期新設された資料担当委員の任務と性格について論議が集中し

た。特に 2) については修正案が提案され、賛否ほぼ同数となつたが、これについて提案者が別途原案を修正し、了承された。ここで一旦常置委員会関係を部分採決し、賛成多数を得て午前の審議を終えた。

午後の審議では特別委員会関係に入つたが、特に研究公務員特例法の取扱いについて2~3の会員から意見開陳があつた。この問題は前期に集中審議を行い、また、関係者の要請も強いが、問題を前進させる現実的な方途は多々あり、慎重に対処すべきだとの趣旨であつた。ここで特別委員会関係を部分採決し、賛成多数を得た。次いで運営審議会付置小委員会の審議に入り、部分採決して賛成多数を得た後、本提案全体について採決を行いほぼ満場一致で可決された。

続いて「研連の組織・運営」の審議に入つた。今道友則・研連分科会委員長から詳細な説明があり、質疑応答の後採決に入り、賛成多数で本提案を採択し、総会 2 日目の議事を終えた。

午後 3 時からは各部会が開かれ、各種委員会委員の選出が行われた。

第 3 日目には、午前 10 時から午後 3 時にかけて各常置委員会、特別委員会等の初会合が行われ、委員長・幹事の選出並びに活動方針の審議が行われた。

午後 3 時から総会が開かれ、前日審議された諸提案の一部文書修正の結果が報告された。

また、次の総会を 10 月 25 日 (水)~27 日 (金) の 3 日間とすることを決めた。最後に、沖縄県在住の科学者を代表して田港朝昭氏から本総会への招へいに対する謝辞と今後の協力要請をこめた挨拶があり、総会を終了した。

なお、今総会の出席率は第 1 日目~第 3 日目まで、それぞれ 87.6%、90.5%、81.4%であつた。

(日本学術会議広報委員会)

投 稿 規 定

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

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

編集会議からのお知らせ

1. 超過頁は全文刷り上りで10頁をこえない範囲で認める。
2. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編とする。
3. 内容について著者にアドバイスすることもある。
4. 著者校正は原則として初校のみ1回とする。
5. 受付年月日を論文の末尾に掲載する。

日本不妊学会雑誌 23巻3号

昭和53年6月25日印刷
昭和53年7月1日発行

編集兼 芦原慶子
発行者 中村清雄
印刷者 東京都品川区上大崎3-12-15
一ツ橋印刷株式会社
印刷所 東京都品川区上大崎3-12-15
社団法人 日本不妊学会
東京都新宿区

市ケ谷砂土原町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