

日本不妊学会雑誌

第 26 卷

第 3 号

昭和 56 年 7 月 1 日

— 目 次 —

原 著

Identification of Specific Antigen in Pig Follicular Oocytes and Their Antigenic Cross-Reactivity with Oocytes of Other Mammalian Species.....Takashi MIYANO・他・1

In Vitro Fertilization of Rabbit Follicular Ova.....Kahei SATO・6

Electron-Histochemistry of Adenylate Cyclase and Cyclic AMP Phosphodiesterase in Hamster Eggs during Folliculogenesis and Early Developmental Stages.....Sueo NIIMURA・他・11

ネコの交尾排卵および排卵誘起に関する研究.....山田 均・他・15

過排卵処理マウスの排卵時間と反復処理の影響.....伊藤 雅夫・他・20

マウスの過排卵に及ぼす PMS または HCG の反復前処理の影響.....石島 芳郎・他・27

アカゲザルの副腎性 C₁₉ ステロイドの加齢に伴う推移.....鳥 居 隆 三・31

精索静脈瘤の臨床的研究：末梢静脈血と内精索静脈血のテストステロン動態について.....広川 信・他・38

AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の 1 例.....布施 秀樹・他・44

ナイロンファイバーによる精液濾過.....須藤 寛人・他・48

Occult pregnancy に関する臨床的研究.....石川 睦男・他・54

多嚢胞卵巣の内視鏡下小手術法による排卵効果.....小島 栄吉・他・59

子宮内膜症に対する偽閉経療法の検討
— isoxazol ethisterone (Danazol) の臨床効果について —.....田村 昭蔵・他・70

当教室における不妊クリニック患者の推移.....松山 明美・他・77

Clinical Reprography of Women Seeking Medical Termination of Pregnancy (M.T.P) at A.I.I.M.S. Hospital, New Delhi.....Singh RATAN・他・82

精子形態の臨床的研究
その 1：精子形態の分類と fertile men について
その 2：精索静脈瘤について.....岩本 晃 明・94

地方部会講演抄録.....119

お知らせ.....122

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 26, No. 3, 1981)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

| | |
|---|----|
| Identification of Specific Antigen in Pig Follicular Oocytes and Their Antigenic Cross-Reactivity with Oocytes of Other Mammalian Species..... | |
|T. Miyano, E. Sato & A. Iritani | 1 |
| In Vitro Fertilization of Rabbit Follicular Ova..... | |
|K. Sato | 6 |
| Electron-Histochemistry of Adenylate Cyclase and Cyclic AMP Phosphodiesterase in Hamster Eggs during Folliculogenesis and Early Developmental Stages..... | |
|S. Niimura & K. Ishida | 11 |
| Studies on Copulatory Ovulation and the Induction of Ovulation in the Adult Queen Cat..... | |
|H. Yamada, N. Tanaka, Y. Miyashita, K. Takahashi, E. Murasugi, K. Sato, T. Saito, K. Yabe, K. Kanayama & Y. Sakuma | 15 |
| The Time of Ovulation in Mice after Superovulation and Repeated Superovulation..... | |
|M. Ito, M. Dowaki, H. Kashiwabara, H. Komatsu & Y. Ishijima | 20 |
| Effect of Repeated Preinjection of PMS or HCG on Superovulation in Mice..... | |
|Y. Ishijima, H. Komatsu, M. Ito & S. Aoyama | 27 |
| The Change of Adrenal C ₁₉ Steroid according to Age in Rhesus Monkey..... | |
|R. Torii | 31 |
| Observation on the Testosterone Levels of Peripheral and Internal Spermatic Vein Blood in Patients with Varicocele..... | |
|M. Hirokawa, T. Iwamoto, H. Fujii, K. Sato, K. Matsushita & S. Asakura | 38 |
| A Case of Retrograde Ejaculation whose Wife Conceived by AIH..... | |
|H. Fuse, H. Minagawa, H. Ito & J. Shimazaki | 44 |
| Preparation of Sperm by the Filtration through Nylon Fiber Column..... | |
|N. Sudo, M. Furuya, K. Morita & Y. Misawa | 48 |
| Clinical Study of the Occult Pregnancy..... | |
|M. Ishikawa, S. Ariga, K. Yamashita, T. Yamazaki, H. Mizoguchi & T. Shimizu | 54 |
| Endoscopic Ovarian Wedge Resection in Patients with Polycystic Ovary..... | |
|E. Kojima, S. Nishida & S. Hirakawa | 59 |
| Study of Pseudomenopause Therapy for the Treatment of Endometriosis Using Idoxazol Ethisterone (Danazol)..... | |
|S. Tamura, Y. Fukuda, K. Yanagi, S. Kurihara, M. Yamaguchi, T. Oyama, K. Suzuki & S. Kan | 70 |
| Shifts and Changes of Infertile Patients in Our Clinic..... | |
|A. Matsuyama, K. Shirasu, J. Ohmori, N. Suzuki & T. Uemura | 77 |

| | |
|---|---|
| Clinical Reprography of Women Seeking Medical Termination of Pregnancy (M. T. P.) at A. I. I. M. S. Hospital, New Delhi..... | <i>S. Ratan & P. Kashyap</i> 82 |
| The Clinical Interpretation of Sperm Morphology in Relation to Fertile Men and Patients with Varicocele | <i>T. Iwamoto</i> 94 |

IDENTIFICATION OF SPECIFIC ANTIGENS IN PIG FOLLICULAR OOCYTES AND THEIR ANTIGENIC CROSS-REACTIVITY WITH OOCYTES OF OTHER MAMMALIAN SPECIES

Takashi MIYANO, Eimei SATO and Akira IRITANI

Department of Animal Science, College of Agriculture, Kyoto University

Abstract: Identification of specific antigens in pig follicular oocytes and their antigenic cross-reactivity with oocytes of other mammalian species.

Extracts from 5,000 pig oocytes in total were injected 12 times with 9–11 days interval with Freund's complete adjuvant into female rabbits. Antiserum obtained was absorbed with pig liver and small intestine and analysed by immunoelectrophoresis on agar-gel and the presence of specific antigens in the pig follicular oocytes was confirmed. Direct fluorescent antibody technique using fluorescein isothiocyanate labeled anti-pig oocytes γ -globulin made clear that the antigens were on the surface of zona pellucida. Common antigenicity of the pig oocytes antigens with oocytes of other mammalian species was investigated and it was suggested that the specific antigens were partially common with those of the zona pellucida of cattle, goat, human, rabbit and rat, but not of mouse and hamster.

(Jap. J. Fert. Ster., 26(3), 237–241, 1981)

Introduction

For the regulation of fertilization by immunological methods antigenicity of the zona pellucida has been most actively investigated. It has been reported that specific antigens located at the zona pellucida of the guinea pig¹¹, hamster^{2,3,4}, rabbit^{5,6}, mouse^{7,8}, pig^{9,10,11}, human^{12,13}, cow^{14,15} and probably rat¹⁶. It has been also made clear that the antibodies produced against the zona pellucida had inhibiting effect on zona lysis, sperm penetration to the zona pellucida and hatching from zona pellucida. Several studies are available which reported that there are common antigens on the zona pellucida among different combination of mammalian species; hamster vs. mouse¹⁷, pig vs. human^{9,18}, hamster vs. rhesus and squirrel monkey¹⁹, cattle vs. rabbit, rhesus monkey, marmoset, dog and hamster¹⁴. These studies suggested that the effect of the antibodies on the zona pellucida was not species specific. The pre-

sent study was to identify the specific antigens of the pig oocytes and examine the presence of common antigens using direct fluorescent antibody technique in the oocytes of cattle, goat, rabbit, rat, mouse, hamster and human.

Materials and Methods

Preparation of antigen for immunization. Pig ovaries were collected at a local slaughterhouse and transported to the laboratory in physiological saline at 4°C. The follicular oocytes were collected by puncturing follicles with a gauge needle and the oocytes with cumulus cells were washed five times with physiological saline by pipetting to remove the cumulus cells and pooled in a glass tube (1.2×3.0 cm). The final concentration of oocytes in suspension was about 700 cells/ml. The oocytes suspension was homogenized by ultrasonic homogenizer (Nihon Seiki Co.) for 30 min. This solution was stored at -20°C

until use.

Immunization and collection of serum. The homogenized oocytes solution was emulsified an equal volume of Freund's complete adjuvant in a double syringe. One milliliter emulsion was injected into Japanese White female virgin rabbit subcutaneously at 8-10 sites on her back. The consecutive twelve injections were given at an interval on 9-11 days. About 400 oocytes for each injection, 5,000 in total were used. Blood was collected from the cervical artery 7 days after last injection, allowed to clot at room temperature, and the serum was collected by centrifugation at 3,000 g. The serum was stored at -20°C .

Absorption of antiserum and immunoelectrophoresis. To obtain specific antiserum against pig oocytes, anti-pig oocytes serum was absorbed with pig liver and small intestine. Pig liver and saline (1:3 w/w) were homogenized by tissue grinder and ultrasonic homogenizer, and the homogenate was centrifuged at 10,000 g for 30 min, and the supernate was used as liver homogenate. The small intestine homogenate was prepared by the same procedure. Antiserum and these homogenates were mixed (1:1) and kept at 4°C for 48 h. Then the mixture was centrifuged at 10,000 g for 30 min and the supernate was used as liver- and small intestine-absorbed antiserum. For detection of specific antigens immunoelectrophoresis was applied as follows: Diffusion plates were prepared by pouring a 1% agarose (Agarose-II, Wako Chemical Co.) and 0.01% sodium azide in 0.05 M sodium diethylbarbiturate-HCl buffered solution (pH 8.4) onto glass plates (5×8 cm). The gel was cut with a template to give wells which located 1.6 cm from each other. The wells were filled with 0.005 ml of oocytes homogenate (10,000 cells/ml), which was electrophoretically separated at 4 V/cm in the agar-gel diffusion plates. Bromphenol blue with bovine serum albumin was used as a attracting dye. When the dye moved 5 cm from the antigen reservoir, the current was put out. Then absorbed and unabsorbed antisera were filled in the troughs which were midline of the antigen wells. Plates were allowed to react at room temperature for

48 h. After washing and drying the precipitins were stained with coomasie brilliant blue (Nakarai Chemical Co.) and their patterns were recorded photography.

Detection of common specific antigens in oocytes of other species. The direct fluorescent antibody technique was applied to examine the localization of the specific antigens and cross reactivity with oocytes of other mammalian species.

1) *Conjugation of fluorescein isothiocyanate (FITC) to antibody.* The anti-pig oocytes serum was conjugated with FITC; a γ -globulin fraction was obtained from the antiserum by precipitation with saturated ammonium sulfate (46%) and final precipitate was dissolved in a small amount of phosphate-buffered saline (PBS pH 7.2), dialysed against PBS, then γ -globulin fraction was concentrated by collodion bag to be a final concentration of protein at 10 mg/ml. A standard solution of 1 mg FITC/ml in 0.5 M Na_2CO_3 - NaHCO_3 buffer (pH 9.2) was added to the γ -globulin solution for reaction at 4°C for 6 h. The excess dye was removed by placing the crude conjugate on Sephadex G-25 column and eluting with PBS, then the conjugate was purified by placing it on a DEAE cellulose column at 4°C and eluting with PBS followed by step elution with 0.005, 0.03 and 0.1 M PBS. Fractions having a ratio between 1.0 and 1.5 of FITC/protein was pooled and concentrated to 0.5 mg pro-

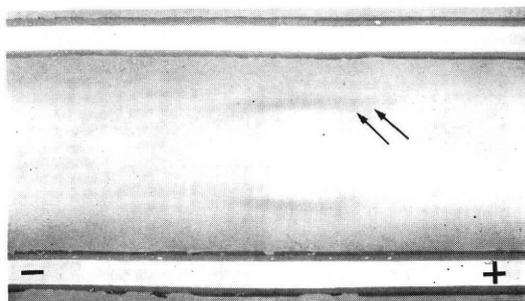


Plate 1

Precipitin band patterns detected in immunoelectrophoretic plate. From the well pig oocytes homogenate was separated by electrophoresis. The troughs were filled with anti-pig oocytes serum absorbed with liver and small intestine. Two precipitin bands (arrows) are seen in the positive zone even after absorption of the antiserum.

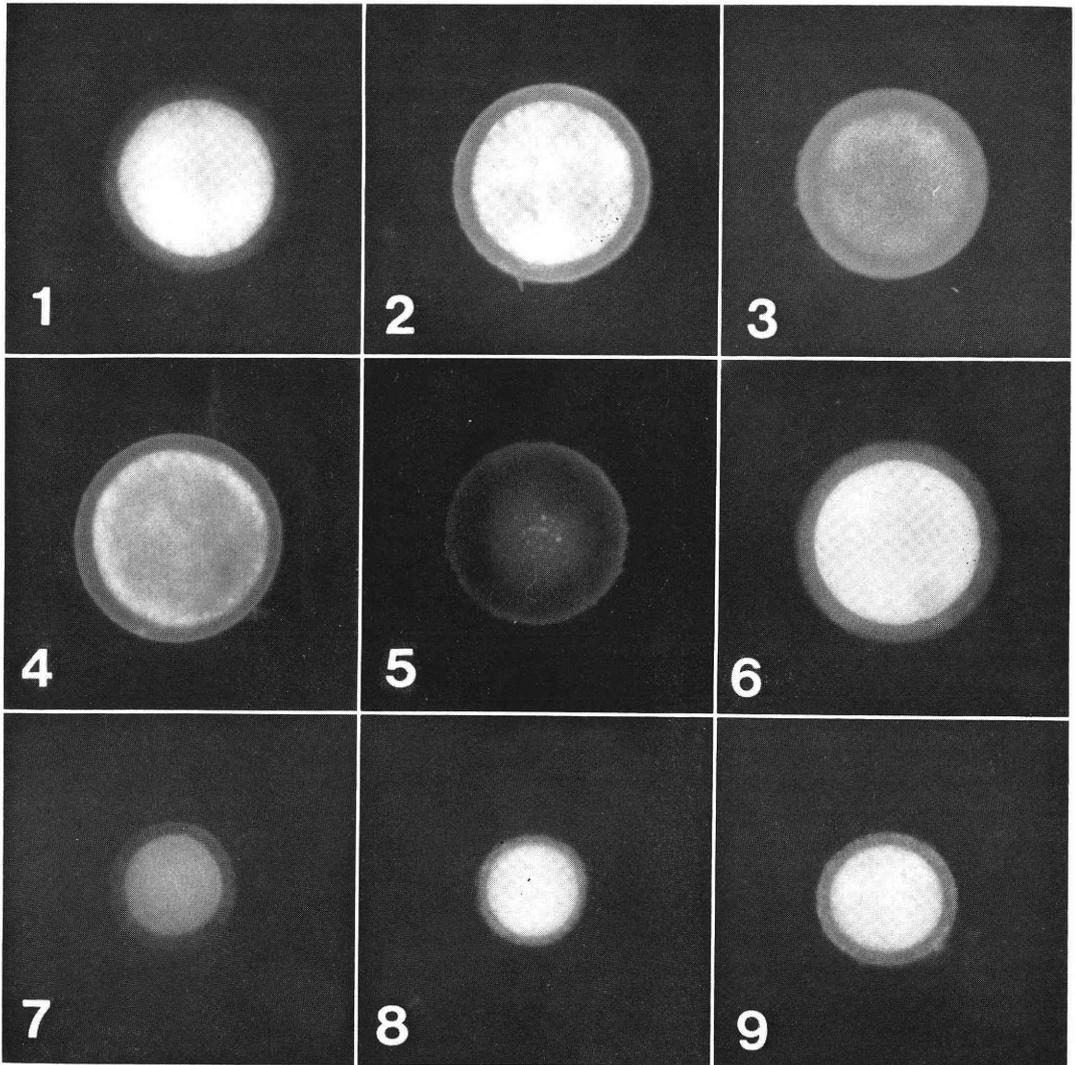


Plate 2

- Fig. 1 A pig oocyte treated with oocytes-absorbed FITC-labeled γ -globulin. A green fluorescence derived from FITC is not observed at any portion of the oocyte. $\times 340$.
- Figs. 2, 3, 4 and 5 Pig, cattle, goat and human oocytes treated with FITC-labeled rabbit anti-pig oocytes antibody in direct fluorescent antibody technique. A bright green fluorescence is observed at their zona pellucida, specially at their zona surface. $\times 340$.
- Figs. 6 and 7 Rabbit and rat oocytes treated with FITC-labeled rabbit anti-pig oocytes antibody in direct fluorescent antibody technique. A slight green fluorescence is observed at their zona pellucida. $\times 340$.
- Figs. 8 and 9 Mouse and hamster oocytes treated with FITC-labeled rabbit anti-pig oocytes antibody in direct fluorescent antibody technique. A fluorescence derived from FITC is not observed at any portion of the oocytes. $\times 340$.

tein/ml by dialysis. The labeled γ -globulin was stored at -20°C .

2) *Preparation and staining of oocytes.* The oocytes were obtained by puncturing

follicles with a gauge needle from the following species; pig, cattle, goat, rabbit, rat, mouse, hamster and human. To remove the cumulus cells the oocytes were washed by

pipetting in 0.01% sodium citrate in 0.05 M PBS. The denuded oocytes of different species were mounted *in toto* on glass slides, dehydrated with 50% ethanol quickly and washed by 0.05 M PBS. Then FITC-labeled specific anti-pig oocytes γ -globulin which absorbed with liver and small intestine was added. The glass slides were placed in moist Petri dishes and incubated overnight at 4°C. Immediately after washing, the oocytes were examined under fluorescence microscope (Nikon fluorescence microscope, FI with BV filter). Control preparations were treated by the same way with oocytes-absorbed FITC-labeled γ -globulin.

Results

Identification of specific antigens in pig oocytes. Unabsorbed antiserum against pig oocytes exhibited several precipitin bands when it was allowed to react with electrophoretically separated pig oocytes homogenate. When this antiserum was absorbed with pig liver and small intestine, two precipitin bands were detected in the similar positive zone from the immunoelectrophoresis (Plate 1).

A strong green fluorescence derived from FITC was observed on the zone surface of pig oocytes (Plate 2, Fig. 2). In other hand the oocytes incubated with oocytes-absorbed FITC-labeled γ -globulin did not show specific fluorescence and only blue auto-fluorescence was observed in the deutoplasm (Plate 2, Fig. 1).

Common antigenicity in oocytes of different species. The oocytes from several mammalian species were stained by the direct fluorescent antibody technique using anti-pig oocytes FITC-conjugated γ -globulin which was absorbed with liver and small intestine homogenates. Strong fluorescence was observed on the zona pellucida of cattle, goat and human oocytes and weak or slight fluorescence was observed on the zona of rabbit and rat (Plate 2, Fig. 3, 4, 5, 6, 7). But no specific fluorescence was observed in the oocytes of mouse and hamster (Plate 2, Fig. 8, 9).

Discussion

The present study made clear that the pig oocytes contained several antigens which were common with other tissues of the pig. Even after absorption with liver and small intestine, the antiserum still retained antibody activity when it was reacted against pig oocytes in immunoelectrophoresis as indicated by the formation two precipitin bands. This suggested the presence of at least two specific antigens in the oocytes. Furthermore the specific antigens had a negative charge at pH 8.4 as demonstrated by immunoelectrophoresis. Immunofluorescent technique demonstrated that pig oocytes specific antigens located at the surface of zona pellucida. These findings confirmed the recent informations on the pig zona antigens^{9,10}.

Cross-reaction between specific antigens of pig and human oocytes has been reported by Sacco¹³. Gwatkin and Williams¹⁴ reported that rabbit anti-bovine zona serum reacted with zona pellucida of rabbit, rhesus monkey, marmoset and dog, and mouse anti-hamster zona serum reacted with zona pellucida of mouse and primate¹⁹. These observation suggested that cross reaction of anti-zona pellucida serum was not species specific. In the present study rabbit anti-pig zona antibody strongly reacted with cattle, goat and human zona, weakly or slightly reacted with rabbit and rat zona, but did not react with mouse and hamster zona. This indicated that the specific antigens of pig zona were partially common with those of zona of cattle, goat, human, rabbit and rat, but not of mouse and hamster zona. In other hand it has been reported in hamster, mouse and rat that the fertilization *in vitro* was inhibited by anti-zona sera^{4,8,16,17}. Since the present study made clear that human, cattle, pig, rabbit and rat oocytes have common antigens on their zona pellucida, the antibodies to these antigens may be used to control fertilization in these species including human.

Acknowledgement

A portion of this work was supported by a grant from the Ford Foundation (No. 7400404).

References

- 1) Porter, C. W., Hightill, D. & Winovich, R.: Guinea pig ovary and testis: Localization of common gonad specific antigens. *Int. J. Fertil.* 15: 177, 1970.
- 2) Ownby, C. L. & Shivers, C. A.: Antigens of the hamster ovary and effects of anti-ovary serum on eggs. *Biol. Reprod.* 6: 310, 1972.
- 3) Dudkiewicz, A. B., Shivers, C. A. & Williams, W. L.: Ultrastructure of the hamster zona pellucida treated with zona precipitating antibody. *Biol. Reprod.* 14: 175, 1976.
- 4) Oikawa, T. & Yanagimachi, R.: Block of hamster fertilization by anti-ovary antibody. *J. Reprod. Fertil.* 45: 487, 1975.
- 5) Sacco, A. G. & Shivers, C. A.: Localization of tissue-specific antigens in the rabbit ovary, oviduct and uterus by fluorescent antibody technique. *J. Reprod. Fertil.* 32: 415, 1973.
- 6) Sacco, A. G. & Shivers, C. A.: Effects of reproductive tissue-specific antisera on rabbit eggs. *Biol. Reprod.* 8: 481, 1973.
- 7) Glass, L. E. & Hanson, J. E.: An immunologic approach of contraception: Localization of antiembryo and antizona pellucida serum during mouse preimplantation development. *Fert. Steril.* 25: 484, 1974.
- 8) Jilek, F. & Pavlok, A.: Antibodies against mouse ovaries and their effect on fertilization *in vitro* and *in vivo* in the mouse. *J. Reprod. Fertil.* 42: 377, 1975.
- 9) Sacco, A. G. & Palm, V. S.: Heteroimmunization with isolated pig zonae pellucidae. *J. Reprod. Fertil.* 51: 165, 1977.
- 10) Veselsky, L. & Dostal, J.: Antigens of pig follicular fluid and ovarian tissue and the effect of anti-ovarian serum on pig oocytes and spermatozoa. *Int. J. Fertil.* 23: 143, 1978.
- 11) Sacco, A. G.: Immunological specificity of anti-zona binding to zona pellucida. *J. exp. Zool.* 204: 181, 1978.
- 12) Sacco, A. G.: Antigenicity of the human zona pellucida. *Biol. Reprod.* 16: 158, 1977.
- 13) Sacco, A. G.: Antigenic cross-reactivity between human and pig zona pellucida. *Biol. Reprod.* 16: 164, 1977.
- 14) Gwatkin, R. B. L. & Williams, D. T.: Immunization of female rabbits with heat-solubilized bovine zonae: Production of anti-zona antibody and inhibition of fertility. *Gamate Research* 1: 19, 1978.
- 15) Gwatkin, R. B. L., Meyenhofer, M. & Williams, D. T.: Localization of zona antigen in bovine ovary sections by fluorescent antibody. *Gamate Research* 2: 201, 1979.
- 16) Tsunoda, Y. & Chang, M. C.: Effect of anti-rat ovary antiserum on the fertilization of rat, mouse and hamster egg *in vitro* and *in vivo*. *Biol. Reprod.* 14: 354, 1976.
- 17) Tsunoda, Y. & Chang, M. C.: *In vivo* and *in vitro* fertilization of hamster, rat, and mouse eggs after treatment with anti-hamster ovary antiserum. *J. exp. Zool.* 195: 409, 1976.
- 18) Shivers, C. A. & Dunbar, B. S.: Autoantibodies to zone pellucida: A possible cause for infertility in women. *Science* 197: 1082, 1977.
- 19) Gwatkin, R. B. L., Williams, D. T. & Carlo, D. J.: Immunization of mice with heat-solubilized hamster zonae: Production of anti-zona antibody and inhibition of fertility. *Fert. Steril.* 28: 271, 1977.

ブタ卵胞卵子の特異抗原の局在性と他種
哺乳動物卵子との抗原共通性について

宮野 隆・佐藤英明・入谷 明
(京都大学農学部畜産学教室)

哺乳動物の卵巣には臓器特異抗原が存在し、その特異抗原は卵子の透明帯に由来することが明らかにされている。本実験ではブタ卵子特異抗原の局在性を免疫組織学的に明らかにするとともに他の哺乳動物種の卵子抗原との共通性を調べた。免疫電気泳動法により、吸収抗ブタ卵胞卵子抗血清を調べたところ、2本の沈降線が認められた。FITC 標識抗ブタ卵胞卵子グロブリンを用いて、直接蛍光抗体法で特異抗原の局在性を調べたところ、透明帯とくに透明帯表層に強い特異蛍光が認められた。また FITC 標識ブタ卵胞卵子グロブリンとマウス、ラット、ハムスター、ウサギ、ヤギ、ウシおよびヒト卵子とを反応させたところ、マウスとハムスターでは特異蛍光は認められなかったが、ラットとウサギで弱い、ヤギ、ウシおよびヒト卵子では強い特異蛍光が透明帯とくに透明帯表層に観察され、これらの種にはブタ卵胞卵子特異抗原と共通の抗原が存在することが明らかにされた。

(受付: 昭和56年1月14日)

IN VITRO FERTILIZATION OF RABBIT FOLLICULAR OVA

Kahei SATO

Laboratory of Animal Reproduction, College of Agriculture and
Veterinary Medicine, Nihon University Setagaya-ku, Tokyo

Abstract: Ova were collected from ovarian follicles of gonadotropin-treated New Zealand White does. Ovum donors were injected with 100 iu of PMS subcutaneously. Ova were recovered from ovarian follicle 72 hours following PMS administration, and transferred into a suspension of spermatozoa capacitated in vitro. Ova were examined at varying intervals after in vitro insemination. The presence of sperm within the perivitelline space, sperm penetration of the vitellus, two polar bodies, pronuclear formation, and early cleavage embryos which have nuclei in all blastomeres were used as evidences fertilization and normal development of ova. In vitro fertilization following insemination was observed in 142 (70.3%) of 202 ova and normal cleavages of ova fertilized in vitro were observed in 57 (40.1%) of 142 ova. Cleaved ova were surgically transferred to oviducts of 4 recipients (Dutch Belted does). Two of 4 recipients had embryo implants, but the two recipients failed to deliver the offspring.

(Jap. J. Fert. Ster., 26(3), 242-246, 1981)

Introduction

The ability of rabbit follicular oocytes to undergo fertilization under in vitro optimal conditions has been reported¹⁻⁵. However, an abnormal fertilization of rabbit follicular ova that were matured in vitro has been reported by Thibault and Gerard⁶. This abnormality of fertilization is an inability of the head of penetrating sperm cells to swell and form a normal pronucleus. It is well known that human ova collected from ovarian follicles of gonadotropin-treated women are fertilized in vitro normally⁷. At the present time, however, the information for maturation and fertilization of follicular oocytes is a shortage.

The present study was performed to examine fertilization in vitro of ova collected from ovarian follicles of gonadotropin-treated does, and to observe the potential for in vivo subsequent development of ova fertilized in vitro.

Materials and Methods

New Zealand White rabbits, weighing 3-

4 kg, were used. The animals were housed in individual cages and were given ad libitum with foods and water. Ovum donors were injected subcutaneously with 100 iu of pregnant mare's serum gonadotropin (PMS, Teikoku Hormone Mfg.,) and were killed by over dose injection of Na-pentobarbital (Abbott Co.,) 72 hours after the PMS infection. Ovaries were removed and placed in a steril culture medium (TC-199). Large (3 mm < in diameter) and small (1-2 mm in diameter) follicles were punctured with a fine needle, and their contents were placed a culture dish containing 1 ml of the medium with 20% (V/V) fetal bovine serum under a dissecting microscope. As shown in Fig. 1, ova recovered from small size follicles were surrounded by a thick layer of follicular cells, but ova from large size follicles were denuded in their most population. Only follicular ova which were judged to be normal in appearance were used for the experiments. Ova recovered were transferred through two steril medium to decrease any possible contaminations and then ova were incubated in the culture medium (TC-199 containing 20% fetal bovine serum) for 2 hours at 37°C

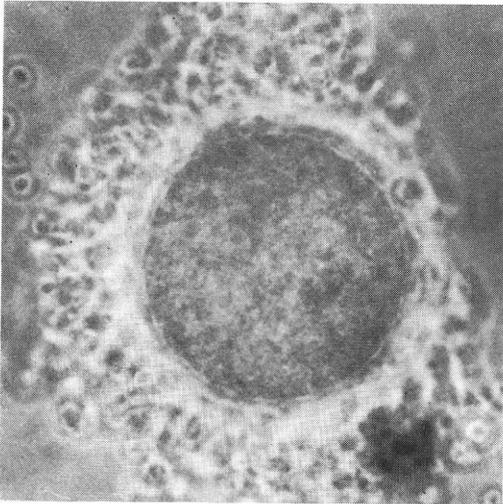


Fig. 1 Follicular Ovum collected 72 hours following PMS (100 iu) injection and cultured in the medium containing hyaluronidase for 15 minutes.

in a humid atmosphere of 5% CO₂ in air. At the termination of the incubation period, ova were gently washed by the medium containing 130 iu of hyaluronidase for 5 minutes to disperse cumulus cells and then cumulus-free follicular ova were transferred to a culture dish containing 1 ml of TC-199 with 20% fetal bovine serum for *in vitro* fertilization.

Sperm were collected from the tail of the epididymis. A piece of the epididymis were dissected in TC-199 with 20% fetal bovine serum and concentrated sperm suspension was diluted with TC-199 10 times. The diluted sperm suspension was incubated for 2 hours at 37°C in 5% CO₂ in air. After incubation, approximately 2×10^6 /ml sperm cells were taken from the suspension and added into a culture dish containing cumulus-free ova incubated previously.

Following insemination, follicular ova were incubated for 3 hours under a moist atmosphere of 5% CO₂ in air at 37°C; then all ova were transferred into the culture medium containing 20% fetal bovine serum and the incubation was continued for 90 hours, usually which allowed subsequent development. At varying intervals following the incubation, cultured ova were observed by a phase-contrast microscope (Nikon). The criteria for fertilization included the presence of

mortile sperm cells within the perivitelline space, two polar bodies in the cleaved embryos, male and female pronuclei in the ooplasm, and early cleavage stage embryos which have nuclei in all blastomeres. Some follicular ova were incubated in the culture medium without sperm cells to check for parthenogenic activation. The pH of the medium for fertilization and culture was adjusted with NaHCO₃ to 7.4 under a gaseous phase of 5% CO₂ in air. All media used were sterilized by filtration (0.45 μm, Millipore filter).

In order to obtain informations for the normality of *in vivo* embryonic development of follicular ova fertilized *in vitro*, embryo transfers were performed. For transfers of the embryo, pseudopregnant recipients were Dutch-belted females mated with vasectomized Dutch-belted males 23 hours prior to transfer. Four or five embryos at the 2-cell or the 4-cell stage with a small amount of the medium were transferred into oviducts of the recipient females. Laprotomies via mid-ventral incision were performed on the day 20 following the transfer.

Results

Examination of ova collected from ovarian follicles for first polar body formation and their fertilization *in vitro*.

Results obtained were shown in Table-1. Ova recovered from small size follicles were fertilized *in vitro* and developed to the 2-cell to morula stages, but gametes from large follicles did not cleaved. From these results, in the following experiments ova that were collected from small size follicles were used. In this experiment (Table-1), of 76 ova collected from small follicles, 62 (81.5%) had first polar bodies within the perivitelline space and of 64 ova collected from large follicles, 45 (70.3%) had first polar bodies.

Examination of follicular ova undergoing fertilization *in vitro*.

Results were shown in Table-2 and -3. A total of 202 ova was employed in this experiment. Of 202 ova, 142 (70.3%) were fertilized *in vitro* (Table-2). Ova were observed at varying intervals following insemination *in vitro* for evidence of fertilization.

Table 1 In vitro fertilization of follicular ova recovered from gonadotropin-treated does

| Follicular size | No. of ova examined | No. of ova fertilized | No. of cleaved ova | | | |
|-----------------|---------------------|-----------------------|--------------------|--------|--------|---------------|
| | | | 2-cell | 4-cell | 8-cell | Morula-Blast, |
| 1-3(mm) | 62 | 44 | 10 | 8 | 4 | 5 |
| 3<(mm) | 45 | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Table 2 In vitro fertilization of follicular ova recovered from gonadotropin-treated does

| Experiment No. | Exposed to sperm | | | Not exposed to sperm | |
|----------------|------------------|--------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|
| | No. of ova | No. of ova fertilized in vitro | No. of cleaved ova | No. of ova | No. of ova that cleaved |
| 01-03 | 12 | 10 | 9 | 5 | 0 |
| 01-04 | 9 | 9 | 2 | 4 | 0 |
| 01-06 | 38 | 30 | 10 | 6 | 0 |
| 01-07 | 52 | 38 | 11 | 5 | 0 |
| 02-02 | 27 | 16 | 10 | | |
| 02-03 | 34 | 18 | 5 | | |
| 02-04 | 30 | 21 | 10 | 4 | 0 |
| Total | 202 | 142(70.3%) | 57(40.1%) | 24 | 0(0%) |

Table 3 In vitro development of rabbit follicular ova fertilized in vitro

| Hours following in vitro insemination | Stages of ovum development | | | | |
|---------------------------------------|----------------------------|--------|--------|---------|--------|
| | 2-cell | 4-cell | 8-cell | 16-cell | Morula |
| 20-24 | 41 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 40-48 | 12 | 12 | 5 | 4 | 1 |
| 60-65 | 0 | 0 | 1 | 4 | 12 |

Sperm were recognized within the perivitelline space of ova when examined at intervals of 6 and 8 hours following in vitro insemination. Two polar bodies were seen within the perivitelline space of ova examined at 12 and 14 hours after insemination. Pronuclear formations were observed when ova were examined at 12 and 16 hours following in vitro insemination. In three experiments (01-04, 02-02, 02-04) 14 of 64 ova examined at 20 and 22 hours after insemination showed pronuclear formations in the ooplasm.

Examination for cleavage of follicular ova.

Ova were examined between 16 and 90 hours after in vitro insemination. In 7 experiments 57 (40.1%) of 142 ova developed to the 2-cell stage to morula stage after in

vitro insemination. None of the ova collected from ovarian follicles which were taken from the same ovum pools in this experiment series cleaved when manipulated and incubated under same conditions without exposure to sperm cells (Table-2). A developmental stage of ova inseminated were observed at varying intervals following insemination and the results were shown in Table-3. Most fertilized ova were in the 2-cell stage at 20-24 hours following insemination, but in Experiment 01-06 and 01-07, 12 of 22 ova cleaved were in the 2-cell stage at 40-48 hours after in vitro insemination. The 4-cell stage was found at 40-48 hours post-insemination. The 8-cell and the 16-cell stage were seen at 40-48 hours following

insemination. Some embryos had reached the morula stage by 60-65 hour after in vitro insemination. Only one ova reached the 8-cell stage at 60 hours after insemination.

Potential for in vivo development of ova fertilized in vitro.

In three experiments (Table-2) a total of 30 embryos were transferred surgically into the oviducts of 4 recipients. Two recipients had 4 and 3 embryo implants, respectively, but the two recipients failed to deliver the offspring. In remaining two recipients further development of transferred embryos was not observed.

Discussion

In the present study maturation to metaphase II of meiosis is observed in higher population of ova collected from ovarian follicles of does at 72 hours following PMS 100 iu injection. In addition, a higher rate of fertilization of follicular ova clearly indicates more complete maturation of ova collected. A similar result was reported by Brackett et al.³⁾ They succeeded in vitro fertilization of rabbit follicular ova when collected from does treated with 150 iu of PMS intramuscularly followed 83 hours later by intravenous injection of 75 iu of human chorionic gonadotropin (HCG). Suzuki and Mastoroanni⁹⁾ showed that fertilization in vitro of rabbit follicular ova is accomplished in the tubal fluid when collection of ova was performed 12 hours following HCG injection or when ova collected 8 hours following HCG injection were incubated to allow further maturation prior to in vitro insemination. Seitz et al.⁵⁾, also, succeeded in vitro fertilization of ova recovered from ovarian follicles of does treated with 150 iu of PMS followed by 75 iu of HCG given intravenously 72-96 hours later.

As shown in Table-3, the normality of the developmental potential of fertilized follicular ova is confirmed. Brackett et al.^{3,8)} have shown that all cleaved ova in their experiments are in the 2-cell stage between 14 1/2 hours-21 hours following insemination and were found to be in the 4-cell stage between 23 and 25 hours after insemination.

In this study, cleavage stages of embryos cultured were definitely delayed as compared with results of Brackett et al.^{3,8)}. Also, the duration of the cleavage stages in vitro is variable in ova used. Perhaps, the variability in progress of in vitro development may be explained differences of variability in maturation, in time of sperm penetration of individual ova or in the development of fertilization process of the ova in vitro.

The results of embryo transfer provide the evidence that fertilized follicular ova used in the present study have the normal developmental potential in vivo. Brackett et al.³⁾ and Seidel et al.⁴⁾ have reported successful transfer in the rabbit embryos that had been collected from ovarian follicles of does treated with gonadotropins, fertilized in vitro and then cultured long periods. A similar result was shown by Seitz et al.⁵⁾. From these results, it appears that follicular ova collected from gonadotropin-treated does have normal potential for fertilization and development. In vitro conditions that are comparable to the follicular environmental for maturation of follicular ova remain to be clarified.

This study was aided by research grant of the Japanese Ministry of Education (53602).

References

- 1) Chang, M. C.: The maturation of rabbit oocytes in culture and their maturation activation, fertilization, and subsequent development in falopian tubes, *J. Exp. Zool.*, 48: 379, 1955.
- 2) Chang, M. C.: Fertilization and normal development of follicular oocytes in the rabbit, *Science.*, 121: 867, 1955.
- 3) Brackett, B. G., Mills, M. B. and Jeiles, G. G.: In vitro fertilization of rabbit ova recovered from ovarian follicles, *Fertility and Sterility.*, 23: 898, 1972.
- 4) Seidel, G. E., Bowen, R. A. and Kane, M. T.: In vitro fertilization, culture, and transfer of rabbit ova, *Fertility and Sterility.*, 27: 861, 1976.
- 5) Seitz, H. M., Brackett, B. G. and Mastoroanni, L.: In vitro fertilization of ovulated rabbit ova recovered from the ovary, *Biology of Reproduction.*, 2: 262, 1970.
- 6) Thiibault, C. and Gerard, M.: Facteur cytoplasmique necessarie a la formation du pro-

- nucleus male dans ovocyte de Lapine, C R Acad. Sci (Paris), 270: 2025, 1970.
- 7) Edwards, R. G., Steptoe, P. C. and Purdy, J. M.: Fertilization and cleavage in vitro of preovulatory human oocytes, Nature (London), 227: 1307, 1970.
- 8) Brackett, B. G.: In vitro fertilization of rabbit ova: Time sequence of events, Fertility and Sterility., 23: 169, 1970.
- 9) Suzuki, S. and Mastoroianni, L.: In vitro fertilization of rabbit follicular oocytes in tubal fluid. Fertility and Sterility., 166: 716, 1968.

家兔卵胞卵子の体外受精

佐藤 嘉 兵

日本大学農獣医学部家畜繁殖学教室

New Zealand White 種成熟雌家兔に PMS 100 iu を皮下注射し、注射後72時間目に卵胞卵子を取り出してその受精能力を調べるために体外受精を試みた。その結果、206 個中、142 個の卵子に受精が成立した。また受精した卵子142 個を修正199液 (20% (v/v) 仔牛血清添加) 中に培養したところ、57 個が正常な分割を示した。分割卵子 (2細胞~4細胞期) を4頭の偽妊娠を誘起した Dutch-belted 種雌に外科的に卵管内に移植した。その結果、2頭に移植後20日目に正常な発育胎仔を認めたが分娩には到らなかった。

(受付: 昭和56年3月11日)

ELECTRON-HISTOCHEMISTRY OF ADENYLATE CYCLASE AND CYCLIC AMP PHOSPHODIESTERASE IN HAMSTER EGGS DURING FOLLICULOGENESIS AND EARLY DEVELOPMENTAL STAGES

Sueo NIIMURA and Kazuo ISHIDA

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, Niigata University

Abstract: Adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase were electron-histochemically demonstrated in the ovarian and tubal hamster eggs, to ascertain the presence of synthesis and metabolism of cyclic AMP in them during folliculogenesis and early developmental stages. The activity of these enzymes shown as lead granules high in electron density first appeared on the cytoplasmic membranes of eggs in the secondary follicles, and remained so until the eggs were blastocysts.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 26(3), 247-250, 1981)

Introduction

Cyclic AMP which is the second messenger of various kinds of hormones has some relation to cell division and cell growth¹⁻³⁾, and the amount of this substance in the cytoplasm is controlled by the activity of adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase. Biochemical demonstration of the substance in mammalian eggs was done using mice⁴⁾ and rabbits⁵⁾, while electron-histochemical studies were made only on mouse tubal eggs to demonstrate adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase in them⁶⁾. Our present study, also electron-histochemical, will cover the follicular as well as tubal eggs of hamsters and will demonstrate the same enzymes.

Materials and Methods

Mature golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) were used as materials. The ovarian eggs were obtained from the follicles of different sizes as follows: primordial follicles of 30 to 40 μm in diameter, primary follicles of 50 to 90 μm , secondary follicles of 100 to 590 μm and antral follicles of 600 to 1,000 μm . The developmental stages of tubal eggs,

taken by flushing oviducts or uteri, were of unfertilized 1-cell through blastocyst, and the ages of the eggs were presumed according to the method of Harvey, Yanagimachi and Chang⁷⁾: unfertilized eggs as of 2 hrs after ovulation; penetrated eggs, 4 hrs; pronuclear eggs, 11 hrs; 2-cell eggs, 32 hrs; 4-cell eggs, 52 hrs; 8-cell eggs, 65 hrs and blastocysts as 76 hrs old.

Demonstration of adenylate cyclase. In order to observe eggs in the primordial and primary follicles, pieces of ovaries were fixed 30 min at 4°C in a 4% glutaraldehyde 0.1 M cacodylate buffer solution (pH 7.4) containing 8% sucrose, and cut at the thickness of 50 μm with a Vibratome (Oxford Laboratories, San Metro, Calif., USA). As for the eggs taken out of the secondary and antral follicles by tearing them, and for the tubal eggs, the eggs as a whole were placed in a solution prepared the same and fixed under the same condition as mentioned above. The free eggs and Vibratome sections were rinsed overnight in a 0.1 M cacodylate buffer solution (pH 7.4). For the demonstration of the enzyme, the medium of Wagner, Kreiner, Barnett and Bitensky⁸⁾ was employed: Vibratome sections and free eggs were placed for 30 min at 37°C in a sub-

strate solution containing 0.5 mM of adenylyl-imidodiphosphate tetralithium salt (Boehringer, Mannheim, West Germany), 2 mM of lead nitrate, 2 mM of sodium fluoride, 4 mM of magnesium sulfate, 2 mM of theophylline, 6% of dextran (molecular weight 250,000) and 80 mM of tris maleate buffer solution (pH 7.4). For controls, several eggs were incubated in a mixture devoid of adenylyl-imidodiphosphate tetralithium salt. Being again rinsed in a 0.1 M tris-maleate buffer solution (pH 7.4) for about 10 min and later in a 0.1 M cacodylate buffer solution (pH 7.4) for another 10 min, the materials were post-fixed in a 1% osmium tetroxide 0.1 M cacodylate buffer solution (pH 7.4) for 1 hr at 4°C.

Demonstration of cyclic AMP phosphodiesterase. The pieces of ovaries including the eggs in the primordial and primary follicles were fixed for 10 min at 4°C in a 1% glutaraldehyde 0.1 M cacodylate buffer solution (pH 7.4) containing 8% sucrose, and cut at the thickness of 50 μ m with a Vibratome. The eggs taken out of secondary and antral follicles as well as tubal eggs were placed in a solution prepared the same and fixed under the same conditions as mentioned above. The free eggs and the Vibratome sections were first rinsed for 30 min in a 0.1 M cacodylate buffer solution (pH 7.4) and then another 30 min in a 0.1 M tris maleate buffer solution (pH 7.4). For the demonstration of the enzyme, the medium of Florendo, Barnett and Greengard⁸⁾ modified by Sugimura and Mizutani¹⁰⁾ was employed: all the eggs were pre-incubated for 45 min at 4°C in a solution which contained 5.0 mg/ml of 5'-nucleotidase, 2.0 mM of magnesium chloride, 0.25 M of sucrose and 50 mM of tris-maleate buffer solution (pH 7.4): then post-incubated for 30 min at 37°C in a substrate solution which contained 3.0 mg/ml of 5'-nucleotidase, 3.0 mM of adenosine 3': 5'-cyclic monophosphoric acid (Sigma Chemical Co.), 2.0 mM of lead nitrate, 0.25 M of sucrose and 170 mM of tris-maleate buffer solution (pH 7.4). The 5'-nucleotidase in the above mentioned two solutions was from of *Ophiphagus hannah* (Sigma Chemical Co.). For controls, a few eggs were incubated either in a mixture devoid of adenosine 3': 5'-cyclic mono-

phosphoric acid or in a mixture containing 50 mM of theophylline³⁾. After incubation, the Vibratome sections and free eggs were rinsed in a 0.1 M tris-maleate buffer solution (pH 7.4), and then post-fixed in a 1% osmium tetroxide 0.1 M cacodylate buffer solution (pH 7.4) for 1 hr at 4°C.

All the eggs prepared for the demonstration of the both enzymes were dehydrated in acetone, embedded in Epon 812, and cut with an ultramicrotome (JUM-7). These preparations were photographed through an electron microscope (JEM-100B).

Results

Treated by the method of Wagner et al.⁸⁾ for the demonstration of adenylate cyclase and by the method of Florendo et al.⁹⁾ for the demonstration of cyclic AMP phosphodiesterase, lead granules high in electron density were deposited on the cytoplasmic membranes of ovarian eggs in the secondary and antral follicles and of tubal eggs at the stages of 1-cell through blastocyst (Figs. 1 and 2), but not on those of ovarian eggs in the primordial and primary follicles, showing that these youngest eggs lack the enzyme activity in question. Such lead granules did not appear in the control eggs which were immersed either in the mixture devoid of the substrate or in the mixture including theophylline.

Observed in detail, the lead granules de-

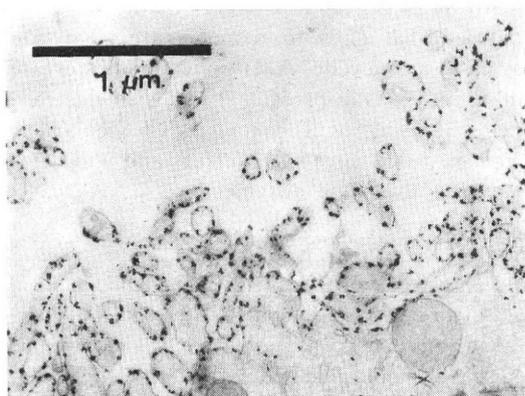


Fig. 1 The activity of adenylate cyclase demonstrated as lead granules on the cytoplasmic membrane of a hamster egg in an antral follicle. Wagner et al. method

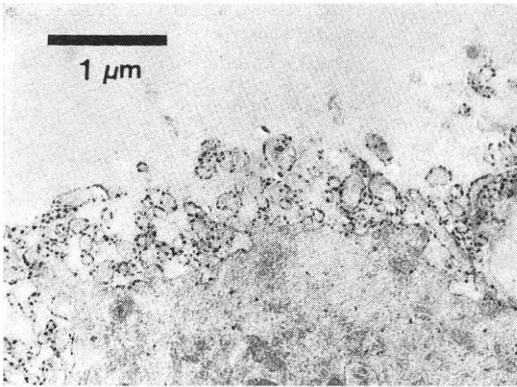


Fig. 2 The activity of cyclic AMP phosphodiesterase demonstrated as lead granules on the cytoplasmic membrane of a hamster egg in an antral follicle. Florendo et al. method

posited on the cytoplasmic membranes were always abundant at microvilli than at other parts. When the first polar body was extruded, the body was slightly deposited with lead granules while the egg itself heavily, but around the time the fertilization was over the lead granules in the first polar body were thoroughly gone. The second polar body also was slight loaded with lead granules at first, which as well were lost sometime later. After cleavage started, the lead granules on the cytoplasmic membranes tended to gather much more densely at the parts facing zona pellucida than at other sides, which phenomenon was observed till the eggs were blastocysts.

Table 1 shows the fluctuation in the activity of the two enzymes in hamster eggs during folliculogenesis and early develop-

mental stages: the activity of both adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase intensely and alertly appeared in ovarian eggs in the secondary follicles and remained so until the eggs were at the 1-cell stage. The activity became a little weaker in the eggs at the 2-cell stage, remaining so until they were blastocysts.

Discussion

Vorbrodt et al.⁶⁾ electron-histochemically demonstrated adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase in mouse tubal eggs, and reported that the activity of adenylate cyclase, first appearing at the time of fertilization, was retained throughout the early developmental stage, while the activity of cyclic AMP phosphodiesterase first appearing in the eggs at the 2-cell stage, was kept till the blastocyst stage. It was also mentioned that the lead granules produced by the activity of the two enzymes were deposited on the cytoplasmic membranes of mouse eggs except for the parts of those that faced blastocoeles in blastocysts. According to the results of the present investigation on hamster eggs, however, the activity of both adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase was present already in the eggs in the secondary follicles, and was retained in the eggs till they were blastocysts. The location of these enzymes was restricted on the cytoplasmic membranes of eggs at every stage of their development, agreeing with the results of Vorbrodt et al.⁶⁾ except for our result that demonstrated some lead granules even at the parts of the cytoplasmic

Table 1 The activity of adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase in hamster eggs during folliculogenesis and early developmental stages

| | Follicular eggs | | | | Tubal eggs | | | | | | |
|------------------------------|-----------------|---------|-----------|--------|--------------|------------|-------------|--------|--------|--------|------------|
| | Primordial | Primary | Secondary | Antral | 1-Cell | | | 2-Cell | 4-Cell | 8-Cell | Blastocyst |
| | | | | | Unfertilized | Penetrated | Pro-nuclear | | | | |
| Adenylate cyclase | - | - | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | + |
| Cyclic AMP phosphodiesterase | - | - | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | + |

++, strong; +, weak; -, absent.

membranes of trophoblast cells which faced blastocoels. Fisher and Gunaga⁴⁾ who quantitatively analyzed cyclic AMP in tubal mouse eggs reported that the amount was the most abundant in unfertilized 1-cell eggs, and that it gradually decreased as the eggs developed after fertilization. From what they thus reported, a high activity of adenylate cyclase and cyclic AMP phosphodiesterase will be expected in unfertilized 1-cell eggs, while Vorbrod et al.⁶⁾ reported of no activity of these enzymes in unfertilized 1-cell eggs. Our present investigation, in which an intense activity of these enzymes was detected in unfertilized 1-cell hamster eggs, support the observation of Fisher and Gunaga⁴⁾.

The results of the present study suggest that hamster eggs have the abilities in the synthesis and metabolism of cyclic AMP at the stages of late folliculogenesis and early development. They also allow speculation that the stimuli of trophic hormones to steroid synthesis in hamster eggs are mediated through adenylate cyclase-cyclic AMP system.^{11,12)}

References

- 1) Robison, G. A., Butcher, R. W. and Sutherland, E. W.: Cyclic AMP. *Ann. Rev. Biochem.* 37: 149, 1968.
- 2) Sutherland, E. W., Robison, G. A. and Butcher, R. W.: Some aspects of the biological role of adenosine 3', 5'-monophosphate (cyclic AMP). *Circulation* 37: 279, 1968.
- 3) Robison, G. A.: Cyclic AMP and hormone action. *Am. J. Pharm. Ed.* 36: 723, 1972.
- 4) Fisher, D. L. and Gunaga, K. P.: Theophylline induced variations in cyclic AMP content of the superovulated preimplantation mouse embryo. *Biol. Reprod.* 12: 471, 1975.
- 5) Dey, S. K., Kimura, F., Mukherjee, A. and Dickmann, Z.: Cyclic AMP and cyclic GMP in rabbit blastocysts. *J. Reprod. Fert.* 52: 235, 1978.
- 6) Vorbrod, A., Konwinski, M., Solter, D. and Koprowski, H.: Ultrastructural cytochemistry of membrane-bound phosphatases in preimplantation mouse embryos. *Devl. Biol.* 55: 117, 1977.

- 7) Harvey, E. B., Yanagimachi, R. and Chang, M. C.: Onset of estrus and ovulation in the golden hamster. *J. Exp. Zool.* 146: 231, 1961.
- 8) Wagner, R. C., Kreinger, P., Barnett, R. J. and Bitensky, M. W.: Biochemical characterization and cytochemical localization of a catecholamine sensitive adenylate cyclase in isolated capillary endothelium. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 69: 3175, 1972.
- 9) Florendo, N. T., Barnett, R. J. and Greengard, P.: Cyclic 3', 5'-nucleotide phosphodiesterase: cytochemical localization in cerebral cortex. *Science* 173: 745, 1971.
- 10) Sugimura, K. and Mizutani, A.: Electron-microscopic cytochemical study of cyclic nucleotide phosphodiesterase in rat brain. *Histochemistry* 55: 97, 1978.
- 11) Dickmann, Z. and Gupta, J. S.: Δ^5 - 3β -Hydroxysteroid dehydrogenase and estradiol- 17β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in preimplantation hamster embryos. *Devl. Biol.* 40: 196, 1974.
- 12) Niimura, S. and Ishida, K.: Histochemical studies of Δ^5 - 3β -, 20α - and 20β -hydroxysteroid dehydrogenases and possible progesterone production in hamster eggs. *J. Reprod. Fert.* 48: 275, 1976.

発育・発生過程におけるハムスター卵子の adenylate cyclase および cyclic AMP phosphodiesterase の電顕組織化学的研究

新村末雄・石田一夫

新潟大学農学部畜産学科

ハムスターの卵巣内卵子と卵管・子宮内卵子について adenylate cyclase と cyclic AMP phosphodiesterase を電顕組織化学的に検出し、発育・発生過程における卵子の cyclic AMP の合成能と代謝能を検討した。adenylate cyclase と cyclic AMP phosphodiesterase の活性は原始卵胞と一次卵胞の卵子には認められなかったが、二次卵胞の卵子から出現し、排卵後も胞胚期まで常に存在していた。二次卵胞期から胞胚期までの卵子において、酵素活性によつて生じた高電子密度の鉛顆粒は細胞膜にのみ分布していた。このことから、ハムスターの卵子は二次卵胞期から胞胚期まで cyclic AMP の合成能と代謝能を持ち合わせていることが推察され、これらの時期の卵子に adenylate cyclase-cyclic AMP 系の存在していることが示唆された。

(受付: 昭和56年3月5日)

ネコの交尾排卵および排卵誘起に関する研究

Studies on Copulatory Ovulation and the Induction of Ovulation in the Adult Queen Cat.

日本大学農獣医学部

山田 均 田中宗福 宮下泰人
Hitoshi YAMADA Noriyoshi TANAKA Yasuto MIYASHITA

高橋敬一 村杉栄治 佐藤嘉兵
Keichi TAKAHASHI Eizi MURASUGI Kahei SATO

斉藤利和* 矢部勝弘 金山喜一
Toshikazu SAITO* Katsuhiko YABE Kiichi KANAYAMA

佐久間勇次
Yuzi SAKUMA

(College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University)

埼玉県動物センター

(*Saitama Animal Center)

膣垢像が発情期を示す成熟雌ネコ37頭を供試し、交尾刺激による排卵現象および Gonadotrophin による排卵誘起について検討した結果、次の成績が得られた。

1. 雄ネコを許容し交尾した12頭中わずか4頭に交尾排卵が認められ、また排卵までの経過時間は交尾後28時間で確認された。
2. 膣垢像が発情期を示す雌ネコに HCG を静注した結果、300IU 5頭中1頭、400IU 5頭中3頭、500IU 5頭中4頭に排卵が認められた。
3. 交尾・HCG 500IU 併用では10頭中9頭に排卵が認められ、排卵までの経過時間は HCG 投与後28時間で確認された。

膣垢像が発情期を示す雌ネコに排卵を誘起させるためには、交配直後に HCG 500IU を静注することが有効であると推察された。
(*Jap. J. Fert. Ster.*, 26(3), 251-255, 1981)

緒 言

ネコはペットとして古くから広く一般家庭で飼育されているが、最近になって実験動物として多くの研究領域に用いられるようになり、ネコの純系を育種する目的でケージ内繁殖が盛んになってきた。このため、ネコの栄養あるいは疾病などの飼育管理に関する研究およびネコの繁殖生理について基礎的な研究が要望されるようになってきた。しかし、ネコの繁殖生理に関する基礎的研究はわが国においても、また、諸外国においても一般家畜、あるいは多くの実験動物に比べて、極めて少ないのが現状である。

そこで著者らは、成熟雌ネコを用いて交尾刺激による排卵現象と Gonadotrophin の投与による排卵誘起について検討した。

実験材料および方法

供試動物：本実験に供試したネコは、東京都西部動物管理所および埼玉県飼犬指導センターから入手した日本で普通に見られる雑種成熟雌ネコ体重2.5~3.5kg、推定年齢2~5歳の37頭である。入手後本学動物舎で1カ月以上ケージ内で飼育し、臨床上健康と認められたものを供試した。なお入手前の繁殖経歴は不明である。

飼育条件：動物舎は室温 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 10\%$ に設

定し、照明は蛍光灯により 14 時間照明¹⁾²⁾ (午前 5 時点灯、午後 7 時消灯) とした。ネコは 1 頭ずつウサギ用ケージ (36×50×34 cm) に収容し、実験ネコ用固形飼料 (オリエンタル酵母) を主体に与え、補充食として週 2 回煮干あるいは水煮の魚を給与してそれぞれ飼育した。

膣垢検査：膣垢は、ネコを仰臥保定後、先端の丸い膣垢採取用ガラスピペットで 0.5~0.1ml の滅菌蒸留水を注入し、交尾排卵といわれるネコに対して刺激を極力避けながら、膣内に注入した後、静かにこのピペットで吸引、注入を 1~2 回繰り返す、注入液と共に吸引した膣垢をスライドガラスに塗抹し、風乾後、エチルアルコール：メチルアルコールの 1 : 1 混合液で 1 分間固定した後、50~60 分間ギムザ染色を施して鏡検した。

膣垢像の判定³⁻⁸⁾は、基底細胞、中層細胞、有核表在細胞、無核表在細胞と分類し、剝離した上皮細胞を観察し総数百個の上皮細胞数を細胞の種類による平均分布率を算出して性周期を判定した。

実験方法

実験 I : 交尾刺激による排卵時間の検討；膣垢像が発情期を示す雌ネコと雄ネコを 1 : 1 で交配用ケージに約 1 時間だけ同居させ、その間に 3 回以上の交尾、交接時の嬌声⁹⁾、交接終了時の雌ネコの Postcoition-rolling⁹⁾ を認め交配直後に膣垢採取を行ない精子を認められた個体を交尾成立雌ネコとした。剖検までの時間は第 1 回目の交尾時を 0 時間として起算し、28, 32, 36, 48, 72, 96 時間目に卵巣ならびに卵管を取り出して検査した。

実験 II : 膣垢像が発情期の雌ネコに対する HCG 投与による排卵誘起の検討；膣垢像が発情期を示す雌ネコに HCG 300IU, 400IU, 500IU を静脈内注射し、排卵を誘起させるための HCG 投与量を検討した。HCG 静

注後 48 時間目に剖検して卵巣ならびに卵管を取り出して検査した。

実験 III : 交尾・HCG 併用による排卵誘起の検討；膣垢像が発情期を示す雌ネコを確実に排卵させるために交尾後ただちに HCG 500IU を静脈内注射し、排卵誘起について検討した。HCG 静注時を 0 時間として起算し、28, 32, 36, 48, 72 時間目に剖検し卵巣ならびに卵管を取り出して検査した。

排卵判定：卵巣は肉眼的に観察し、排卵点、卵胞数、卵胞 (1.0~1.5mm, 1.5~2.0mm, 2.0~3.0mm, 3.0mm 以上)¹⁰⁻¹³⁾ に分類し記録した。

卵子の回収・検索：卵巣とともに卵管を取り出し、採卵用ピペットを子宮に近い部分の卵管内に挿入して、0.85% 生理食塩水で卵管内を卵管采の方向に灌流し、その灌流液を時計皿に受け、しばらく放置してから実体顕微鏡下で卵子数と分割程度を観察した。

使用ホルモン製剤：本実験に使用したホルモン製剤は HCG (ゴナドトロピン、帝臓) で、1ml の生理食塩液中に必要量が含まれるように調製して前腕頭静脈に注射した。

実験成績

1. 実験 I : 交尾刺激による排卵時間の検討 (表 1)

膣垢像が発情期と判定した雌ネコ 42 頭を雄ネコと同居し交配試験を行ない、42 頭中 12 頭が雄ネコを許容し交尾成立雌ネコとして供試した。

供試 12 頭中わずかに 4 頭に排卵が認められたにすぎなかった。交尾後、28 時間、32 時間、36 時間、48 時間目に剖検した No. 2, No. 4, No. 5, No. 7 に排卵が認められたが、他の 8 頭は排卵が認められなかった。排卵が認められなかった 8 頭の卵巣には 2.0~3.0mm の成熟卵胞

Table 1 Time of ovulation in queen after mating

| No. of Queens | Time after Mating | Total No. of Follicles | Size of Follicles (mm) | | | | No. of Ruptured Follicles | No. of Recovered Ova | Developmental Stage of Recovered Ova | | |
|---------------|-------------------|------------------------|------------------------|---------|---------|------|---------------------------|----------------------|--------------------------------------|--------|--------|
| | | | 1.0-1.5 | 1.5-2.0 | 2.0-3.0 | 3.0— | | | 1-cell | 2-cell | 4-cell |
| 1 } 2 } | 28 hrs. | 5 | 1 | 1 | | 3 | 0 | | | | |
| | | 5 | | | 5 | | 2 | 2 | 2 | | |
| 3 } 4 } | 32 | 5 | | | 5 | | 0 | | | | |
| | | 4 | | | 4 | | 5 | 4 | 4 | | |
| 5 } 6 } | 36 | 2 | | | 2 | | 7 | 5 | 5 | | |
| | | 7 | | | 7 | | 0 | | | | |
| 7 } 8 } | 48 | 5 | | | | 5 | 2 | 1 | 1 | | |
| | | 20 | 5 | 5 | 10 | | 0 | | | | |
| 9 } 10 } | 72 | 8 | 3 | 4 | 1 | | 0 | | | | |
| | | 8 | 1 | 1 | 6 | | 0 | | | | |
| 11 } 12 } | 96 | 7 | | 2 | 5 | | 0 | | | | |
| | | 4 | | | | 4 | 0 | | | | |

Table 2 Induction of ovulation in estrus queen by HCG injection
(48 hrs. after HCG injection)

| No. of Queens | Doses of HCG | Total No. of Follicles | Size of Follicles (mm) | | | | No. of Ruptured Follicle | No. of Recovered Ova |
|---------------|--------------|------------------------|------------------------|---------|---------|---------|--------------------------|----------------------|
| | | | 1.0-1.5 | 1.5-2.0 | 2.0-3.0 | 3.0- | | |
| 1) | 300iu | 2 | 2 | | | 0 | | |
| 2) | | 8 | | 2 | 6 | 0 | | |
| 3) | | 10 | 6 | 4 | | 0 (1/5) | | |
| 4) | | 9 | | 5 | 4 | 3 | 2 | |
| 5) | | 15 | 1 | 2 | 12 | 0 | | |
| 6) | 400iu | 0 | | | | 5 | 4 | |
| 7) | | 4 | | 4 | | 0 | | |
| 8) | | 0 | | | | 5 (3/5) | 5 | |
| 9) | | 8 | | 1 | 7 | 0 | | |
| 10) | | 7 | | 7 | | 3 | 3 | |
| 11) | 500iu | 14 | 9 | 4 | 1 | 5 | 2 | |
| 12) | | 14 | 6 | 5 | 3 | 9 (4/5) | 8 | |
| 13) | | 18 | | 18 | | 0 | | |
| 14) | | 15 | 6 | 5 | 4 | 3 | 3 | |
| 15) | | 5 | | 5 | | 8 | 8 | |

Table 3 Induction of ovulation in estrus queens by a combination of mating and HCG administration (HCG : 500 iu)

| No. of Queens | Time after HCG | Total No. of Follicles | Size of Follicles (mm) | | | | No. of Ruptured Follicles | No. of Recovered Ova | Developmental Stage of Recovered Ova | | | |
|---------------|----------------|------------------------|------------------------|---------|---------|------|---------------------------|----------------------|--------------------------------------|--------|--------|--------|
| | | | 1.0-1.5 | 1.5-2.0 | 2.0-3.0 | 3.0- | | | 1-cell | 2-cell | 4-cell | 8-cell |
| 1) | 28hrs. | 11 | 3 | 6 | 2 | | 9 | 7 | 7 | | | |
| 2) | | 2 | | | 2 | | 8 | 8 | 8 | | | |
| 3) | 32 | 4 | | | 3 | 1 | 0 | 0 | | | | |
| 4) | | 1 | | | 1 | | 6 | 3 | 3 | | | |
| 5) | 36 | 0 | | | | | 5 | 6 | 6 | | | |
| 6) | | 5 | 1 | 4 | | | 7 | 6 | 6 | | | |
| 7) | 48 | 0 | | | | | 6 | 5 | | 5 | | |
| 8) | | 9 | 3 | 2 | 2 | 2 | 5 | 5 | | 4 | 1 | |
| 9) | 72 | 7 | 3 | 4 | | | 7 | 6 | | | 2 | 4 |
| 10) | | 5 | | 3 | 2 | | 6 | 5 | | | 2 | 3 |

が複数認められた。

以上の結果から、交尾から排卵までに要する時間は、少なくとも28時間以上必要と考えられた。

2. 実験Ⅱ：腔垢像発情期ネコに対する HCG 投与による排卵誘起の検討

腔垢像が発情期を示す雌ネコ15頭を供試し、HCG を各単位投与した結果、300IU 5頭中1頭、400IU 5頭中3頭、500IU 5頭中4頭に排卵が認められた。(表2)

3. 実験Ⅲ. 交尾・HCG 併用による排卵誘起の検討
腔垢像が発情期を示し雄ネコを許容した雌ネコ10頭に

ついて交尾後ただちに HCG 500IU を静脈注射した結果、供試10頭中9頭に排卵が認められた。(表3)

HCG 投与後、28時間2頭中2頭、32時間2頭中1頭、36時間2頭中2頭、48時間2頭中2頭、72時間2頭中2頭で排卵が認められ、排卵点は4～9個、平均6.4個であった。

卵管から回収された卵子は HCG 投与後、36時間までは未分割卵子、48時間では2分割及び4分割卵子、72時間では8分割卵子であった。

考 察

ネコはウサギ・イタチなどと同様に交尾排卵動物であると言われている。ネコの排卵現象については、Dawson ら¹⁰⁾¹¹⁾、Foster ら¹²⁾により自然の場合は交尾刺激によって排卵すると報告されている。また、Greulich¹³⁾、Michael¹⁴⁾、Diakow¹⁵⁾、Rantner ら¹⁶⁾によれば、ガラス棒、湿った綿栓棒などによる子宮腔部に対する刺激によって排卵したと報告している。Dow¹⁷⁾によれば、年齢のすすんだ処女雌ネコは体をなでるような軽い刺激で排卵が起こると報告している。

本実験において3回以上の交尾が認められた供試ネコ12頭中わずかに4頭にしか排卵が認められず、他の8頭の卵巣には排卵可能と思われる2.0~3.0mmの成熟卵胞が複数存在していた。ネコは交尾刺激によって排卵すると言われているが、本実験では陰垢像が発情期を示すネコで雄ネコを許容したものでも排卵しないという結果が得られた。

ネコの交尾行動⁹⁾¹⁴⁾¹⁸⁾¹⁹⁾は発情期において求婚段階一交接段階から成り、経験の豊富な雄ネコと雌ネコは1時間に10回以上も交尾するといわれている。この交尾行動に伴う雄ネコの乗駕、頸部の咬合、ペニスの挿入による腔一子宮頸管への刺激などの複合により排卵が誘起されるものと思われる。本実験において陰垢像が発情期を示す雌ネコ42頭に交配を試みたが、雄ネコを選び好みすることが多く、雄ネコを許容したものはわずかに12頭であった。本実験では3回以上の交尾が認められたものを雄許容雌ネコとして実験に供したが、さらに交尾回数を多くし、交尾刺激を増加することにより、排卵が誘起されるものと考えられる。

これまでに、ネコの交尾排卵時間に関する報告としては、Dawson¹⁰⁾らは24~30時間。Sojka²⁰⁾らは26~28時間。Greulich⁹⁾は25時間。信永²¹⁾らは27~30時間などの報告がある。また、UFAW Handbook²²⁾には25~27時間。Veterinary endocrinology and Reproduction²³⁾には24~50時間と記載されている。本実験においては、排卵が認められた4頭の排卵結果から推測すると、雄許容後28時間目に剖検した個体に排卵が認められ、一般に言われている交尾後30時間前後と同様な結果であり、交尾刺激から排卵までの時間は、交尾後30時間前後と推察される。

発情期雌ネコに対するホルモン剤投与による排卵誘起に関する研究は、Sojka²⁰⁾、Platz²⁴⁾、Wildt²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾ら、信永¹⁶⁾らなどによって報告されている。投与方法、投与量などに差異はあるが、多量のHCGを投与しなければ排卵が誘起されないという結果が得られている。本実

験において陰垢像が発情期を示す雌ネコにHCG 500IUを静脈注射する方法で、5頭中4頭(80%)の排卵率が得られ、Wildt²⁵⁾らのHCG 500IUを筋肉内注射する方法で100%の排卵率が得られたという報告と同様な成績であった。陰垢像が発情期を示す雌ネコに対してはHCG 500IUを静脈内注射する方法で容易に排卵が誘起されると考えられる。

実験IIの発情期雌ネコに対するHCG投与による排卵誘起成績から、HCG投与量を500IUと決定し、陰垢像が発情期を示す雌ネコを供試し、交尾後ただちにHCG 500IUを静脈内注射を併用した結果、供試ネコ10頭中9頭に排卵が認められ、排卵点4~9個、平均6.4個であった。HCG投与から排卵までの時間について、Sojka²⁰⁾らは発情期にHCGを筋注あるいは静注した場合に、処置後26~27時間で排卵が認められたと報告している。本実験ではHCG投与後28時間目に剖検した2頭に排卵が認められ同様な成績であった。このように交尾刺激による排卵までの時間も、ホルモン処置による注射から排卵までの時間とほぼ同様であることが認められた。

以上の事から、ネコは交尾刺激によって排卵すると言われているが、陰垢像が発情期を示す雌ネコは交尾を許容しても排卵しないものが多い。しかし、多量のHCGを静注すると排卵が誘起される。従って陰垢像が発情期を示す雌ネコに排卵を誘起させるためには、交配直後にHCG 500IUの静注を併用することが有効であると推察された。

文 献

- 1) 信永利馬, 岡本道生, 高橋和明: 小ケージ内で育成したネコの繁殖成績, 家畜繁殖誌, 22: 82-86, 1976.
- 2) Scott, P. P., and Loyd, M. A.: Reduction in anestrus period of laboratory cats by increased illumination. Nature. 184: 2022, 1959.
- 3) Cline, E. M., and L. L. Jennings., N. J. Sojka: Analysis of the feline vaginal epithelial cycle. Feline Practice. 10: 47-49, 1980.
- 4) Herron, M. A.: Feline vaginal cytologic examination. Feline Practice. 7: 36-39, 1977.
- 5) Michael, R. P.: Sexual behaviour and vaginal cycle in the cat. Nature. 181: 567, 1958.
- 6) Mower, R. T.: Cytology an approach to improvement of cat breeding. Vet. Med. 69: 691-696, 1975.
- 7) Mills, J. N., and Lummsden, J. H.: Cy-

- clial changes of vaginal cytology in cat. *Can. Vet.* 20 : 95-101, 1979.
- 8) 村杉栄治, 桑原志都夫, 佐久間勇次 : ネコの繁殖生理に関する研究 ; ネコの膣垢像に基づく性周期について, *東京獣畜誌*, 26 : 73-77, 1978.
 - 9) 奥野卓司, 新妻昭夫訳 : ネコのこころがわかる本, *ダイヤモンド社*, 東京, 1979.
 - 10) Dawson, A. B., and H. B. Friedgood. : The time sequence of pre-ovulation changes in the cat ovary after mating or mechanical stimulation of the cervix uteri. *Anat. Rec.* 76 : 411-429, 1940.
 - 11) Dawson, A. B. : The development and morphology of the CL of the cat. *Anat. Res.* 79 : 155-177, 1941.
 - 12) Foster, M. A., and F. L. Hisaw : Experimental ovulation and resulting pseudopregnancy in anestrus cat. *Anat. Rec.* 62 : 75-93, 1935.
 - 13) Greulich, W. : Artificially induced ovulation in the cat. *Anat. Rec.* 58 : 217-225, 1934.
 - 14) Michael, R. P. : Observations upon the sexual behaviour of domestic cat under the laboratory conditions. *Behaviour.* 18 : 1-24, 1960.
 - 15) Diakow, C. : Effects of genital desensitization on mating behaviour and ovulation in the female cat. *Physiol. Beha.* 7 : 47, 1971.
 - 17) Rantner, A., Koeing, J, Q., and Frazier, D. T. : Hypothalamic unit activity in the cat ; effects of estrogen and vaginal stimulation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 137 : 321, 1971.
 - 17) Dow, C. : The cystic hyperplasia-pyomatra complex in the cat. *Vet. Res.* 74 : 141-143, 1962.
 - 18) Barton, A. : Unconventional aspects of canine and feline sexuality. *Vet. Med.* 55 : 65-68, 1960.
 - 19) 木村喜久弥 : *ねこ—その歴史・習性・人間との関係*, 法政大学出版社, 東京, 1979.
 - 20) Sojka, N. J., and L. L. Jennings. : Artificial insemination in the cat. *Lab. Anim. Sci.* 20 : 198-204, 1970.
 - 21) 信永利馬, 高橋和明 : 日本イエネコの排卵誘起に関する基礎的研究, *家畜繁殖誌*, 22 : 89-94, 1976.
 - 22) Weipers, W. H. : *The UFAW Handbook*, 4th edition, UFAW. London. 1972.
 - 23) McDonald, L. E. : *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Lea & Febiger. 1969.
 - 24) Platz, C. C., and W. J. Seager. : Pregnancy in the domestic cat after artificial insemination with previously frozen spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 52 : 279-282, 1978.
 - 25) Wildt, D. W., and W, J, Seager. : Ovarian response in estrual cat receiving varying dosages of HCG. *Hormone Res.* 9 : 144-150, 1978.
 - 26) Wildt, D. W. and W, J, Seager. : Gonadotrophin induced reproductive cyclicity in the domestic cat. *Lab. Anim. Sci.* 28 : 301-307, 1978.
 - 27) Wildt, D. W.. and W, J, Seager. : Ovarian and behavioural cyclicity of the laboratory maintained cat. *Hormone. Behaviour.* 10 : 251-257, 1978.

Study on copulatory ovulation and the induction of ovulation in the adult queen cat

**Hitoshi Yamada, Noriyoshi Tanaka,
Yasuto Miyashita, Keiichi Takahashi,
Eizi Murasugi, Kahei Sato,
Toshikazu Saito* Katsuhiko Yabe,
Kiichi Kanayama and Yuji Sakuma**

College of Agriculture and Veterinary
Medicine, Nihon University
*Saitama Animal Center

In the present study, the induction of ovulation in estrus queens was investigated. A total of 37 random source adult queens were used in this experiment and their vaginal smears were checked daily. At 28 hours after mating ovulation was observed in 4 of 12 queens. On the other hand, when queens were injected intravenously with 300, 400 or 500 iu of human chorionic gonadotropin (HCG), ovulation was induced in 1 of 5, 3 of 5, 4 of 5 queens, respectively. When queens were applied with a combination of mating and HCG (500 iu) injection, 9 of 10 queens showed ovulation at 28 hours following the treatments. The average number of ruptured follicles in ovulated queens was 6.6 (5.0-9.0)

The present results suggest that under this experimental conditions, copulatory stimulation is not sufficient for the induction of ovulation in the estrus queen and that HCG injection or a combination of HCG injection and copulatory stimulus can induce ovulation fully.

(受付 : 昭和56年3月9日)

過排卵処理マウスの排卵時間と反復処理の影響

The Time of Ovulation in Mice after Superovulation and Repeated Superovulation

日本大学医学部衛生学教室

伊藤 雅夫 堂脇 昌慎 柏原 宏
Masao ITO Masachika DOWAKI Hiroshi KASHIWABARA

Department of Hygiene, School of Medicine, Ninon University

東京農業大学畜産学科

小松 博道 石島 芳郎
Hiromichi KOMATSU Yoshiro ISHIJIMA

Department of Zootechnical Science, Tokyo University of Agriculture

過排卵処理およびその反復が排卵時間や排卵所要時間に影響を及ぼしているかどうかをマウスを対象に検討した。その結果を要約すれば次の通りである。

1) 自然排卵の場合は、発情前期の日の24:00に50%の動物に排卵が認められ、その翌2:00に到つて全例に排卵が認められたのに対し、過排卵処理区の場合は、HCG投与後9時間(23:00)に30%の個体に排卵が認められ、HCG投与後13時間(3:00)で100%に達した。また、過排卵処理を3回反復した区では、前区同様にHCG投与後9時間に30%の個体に排卵が認められたが、HCG投与後15~16時間(5:00~6:00)でも90%の排卵陽性率にしか達しなかった。

2) 以上の排卵陽性率の帰直線を算出して、最初の個体に排卵が認められてから全例に排卵が揃うまでの時間(すなわち排卵開始の個体間差)を推定すると、自然排卵区、過排卵処理区および過排卵処理反復区それぞれ、3.2、5.7および6.9時間で、過排卵処理により所要時間が延長され、処理の反復によつてさらにそれが増大した。

3) 各時間における排卵数を排卵が完全に終了したとみられるHCG投与後48時間の排卵数で除して、その推移から個体の排卵所要時間を推定してみると、自然排卵区は2時間と短い時間に集中していたが、過排卵処理区では5時間、反復区では8時間を要していた。

4) 排卵数に占る退行卵子の割合や退行卵子を有する個体の割合は、自然排卵よりも過排卵処理した方が有意に高く、反復により一層それが増大した。
(*Jap. J. Fert. Ster.*, 26(3), 256-262, 1981)

性腺刺激ホルモン(GTH)による過排卵誘起を、受精卵移植、体外受精、体外培養、凍結保存など応用的、基礎的研究に用いる卵子の生産方法として応用していくには、過排卵処理により得られた卵子の正常性が高いことが前提となるが、近年、ウサギ、マウス、ゴールデンハムスターなど実験動物の過排卵誘起において、GTHの過剰投与や未成熟動物に処理して得られた卵子は、自然

排卵のものに比べ、形態異常や異常受精の率が高い、染色体異常の率が高い、体外受精における異常受精や染色体異常の割合が高い、あるいは体外培養における発生率が低いなど、何か欠陥のある卵子が含まれていることが示唆されている(Kaufman and Whittingham 1972, Fujimoto et al. 1974, 1975, Maudlin and Fraser 1977, 湊ら1977, 1980, 福田ら1978, 伊藤, 小松1979,

石島ら1980).

一方、過排卵処理を反復した場合、処理回数がすすむと排卵反応の著しい低下が起ることがウシ、ウサギ、マウスなどで知られているが (Willett et al. 1953, 佐久間ら1963, Lin and Bailey 1965, Jainudeen et al. 1966, Maurer et al. 1968, 杉江ら1972, 穴吹ら1977, 石島ら1977, 1978, 角田ら1978), この場合も、単に排卵反応の低下のみならず、排卵された卵子の受精率や胚発生率なども顕著に低いことがマウスで観察されている (伊藤ら1980).

このように過排卵処理ならびにその反復が卵子の正常性を低下させるのは、卵子の成熟や排卵が一定でなく、個体間あるいは卵子間にずれが生じていることに起因することが想定される。

そこで、本実験では、マウスを対象に過排卵処理およびその反復が排卵時間やその所要時間に影響を及ぼしているかどうか検討してみた。

材料および方法

実験に使用したマウスは、日本大学医学部衛生学教室で維持している ICR 系の成熟未経産雌 (2カ月齢) である。飼料は、オリエンタルの固型飼料を用い、飼料と水は不断に給与した。飼育環境は、室温を21~24°C に保ち、朝6時から夕方8時までの14時間照明とした。

過排卵誘起は、発情休止期に5IU の PMS (オルガンン社) を皮下注射し、ついで50時間後に5IU の HCG (動薬検標準品) を皮下注射する方法で行ない、この処理を1回行なうものを過排卵処理区、また、この処理を10日間隔で3回反復した区を過排卵処理反復区とした。

マウスは、HCG 投与後8時間 (22:00) から16時間 (翌日6:00) まで1時間ごとにと殺し、卵管内卵子を灌流した後、顕微鏡下で卵子数と卵子個々の形態を観察した。

対照のための自然排卵区は、スミア検査を実施し、発情前期に当る日の23:00から翌日の2:00まで1時間ごとにマウスをと殺して同様の観察を行なった。

結 果

自然排卵、過排卵処理およびその反復処理マウスの排卵時間を調べた結果は、Table 1 に示す通りである。

Table 1 からあきらかなように自然排卵の場合は、発情前期に当る日の23:00においてはまだ1例も排卵が認められなかったが、24:00に50%、翌日の1:00に70%のマウスに排卵が認められ、2:00にいたつて全例に排卵が認められた。この結果から、自然排卵における排卵開始時刻の個体間差は、回帰直線より推定してほぼ3.2時間であつた (Fig. 1)。

過排卵処理区の場合は、HCG 投与後8, 9, 10, 11, 12および13時間の排卵陽性率は、それぞれ0, 30, 50, 70, 80および100%で、すでに HCG 投与後9時間 (23:00) から排卵する個体がみられたが、排卵陽性率が100%に達するのは HCG 投与後13時間 (3:00) であつた。この結果から、最初の個体の排卵開始時間を回帰直線により推定すると HCG 後7.7時間と見積もられた。また、排卵開始時間の個体間差は5.7時間と推定された (Fig. 1)。

一方、過排卵 処理反復区の場合は、HCG 投与後8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15および16時間の排卵陽性率

Table 1 The time of ovulation in mice following natural ovulation, superovulation and repeated superovulation

| Hrs after HCG injection (O'clock) | Natural ovulation | | | Superovulation | | | Repeated superovulation | | |
|-----------------------------------|-------------------|--------------------------|------------------------|----------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| | No. of mice | No. of mice ovulated (%) | Mean no. of ova ± S.D. | No. of mice | No. of mice ovulated (%) | Mean no. of ova ± S.D. | No. of mice | No. of mice ovulated (%) | Mean no. of ova ± S.D. |
| 8 (22:00) | | | | 9 | 0 (0) | | 5 | 0 (0) | |
| 9 (23:00) | 6 | 0 (0) | | 10 | 3 (30) | 10.3±1.53 | 10 | 3 (30) | 7.3±2.52 |
| 10 (24:00) | 12 | 6 (50) | 11.8±5.60 | 10 | 5 (50) | 17.6±7.23 | 10 | 5 (50) | 12.0±9.38 |
| 11 (1:00) | 10 | 7 (70) | 14.1±1.77 | 10 | 7 (70) | 19.3±6.75 | 10 | 6 (60) | 13.2±2.23 |
| 12 (2:00) | 10 | 10 (100) | 15.2±2.20 | 10 | 8 (80) | 25.6±6.38 | 10 | 7 (70) | 15.3±3.20 |
| 13 (3:00) | | | | 10 | 10 (100) | 32.7±9.20 | 10 | 8 (80) | 16.0±8.83 |
| 14 (4:00) | | | | | | | 10 | 8 (80) | 18.0±11.14 |
| 15 (5:00) | | | | | | | 10 | 9 (90) | 19.4±8.86 |
| 16 (6:00) | | | | | | | 10 | 9 (90) | 22.8±8.09 |
| 48 | 25* | 25 (100) | 14.5±1.56 | 22 | 22 (100) | 35.0±10.95 | 35 | 30 (85) | 21.2±7.20 |

* 36 hours after ovulation

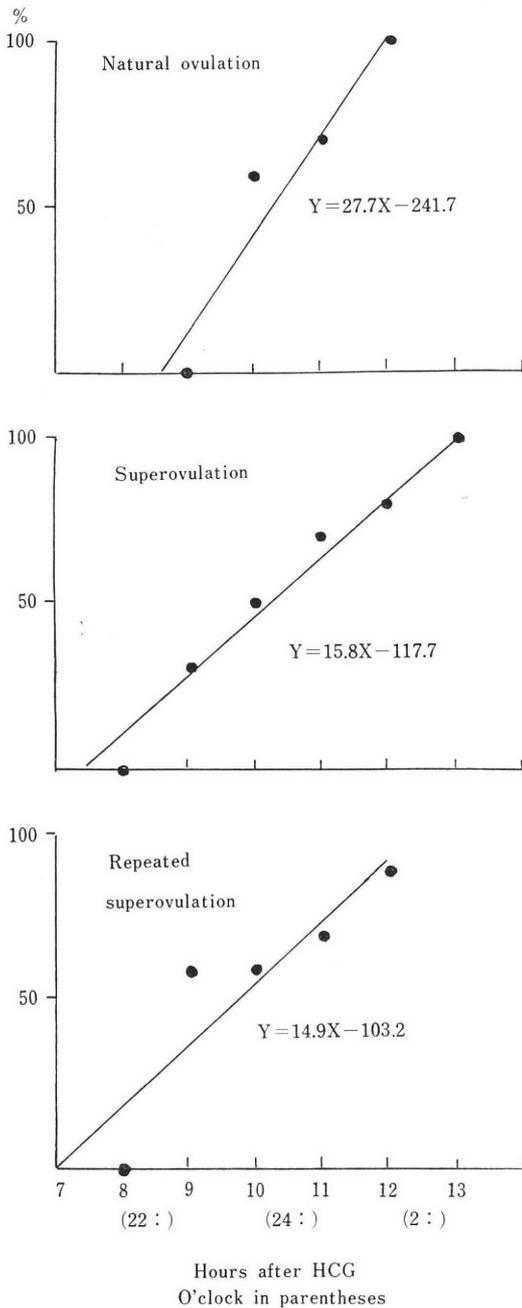


Fig. 1 Percentage of mice ovulated at time elapsing and their regression lines

は、それぞれ、0、30、50、60、70、80、80、90および90%で、HCG 後9時間から排卵する個体がみられることは前区と同様であったが、HCG 投与後15~16時間(5:00~6:00)に到つても100%には達しなかつた。反復処理の場合はもともと排卵陽性率は100%に達しな

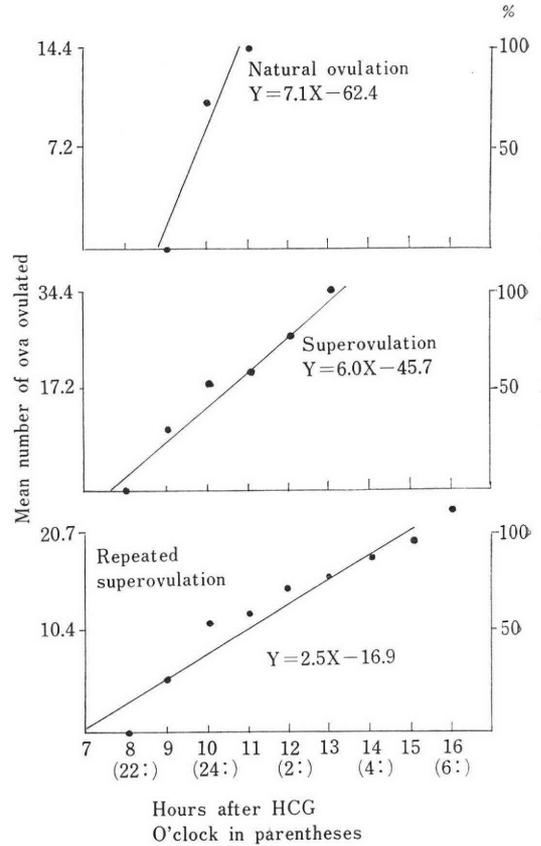


Fig. 2 Mean number of ova ovulated at time elapsing and their regression lines based in percentage per mean values at complete ovulation

いため (Table 1), 80%を maximum として、排卵開始時間の個体間差を推定するとおおよそ6.9時間と見積もられた (Fig. 1).

次に、各時間における排卵数を排卵が完全に終了されたと思われる HCG 投与後 48 時間 (自然排卵の場合は排卵後36時間) の排卵数で除し、排卵所要時間を推定してみた (Fig. 2).

Fig. 2 からあきらかなように、自然排卵の場合は、排卵されるべき数が一度にしかも短時間 (2 時間以内) に集中していたが、過排卵処理の場合は、開始時には排卵されるべき数の30%程度しか排卵されておらず、時間の経過と共に徐々にその率が高くなっており、最初の卵子が排卵されてから全ての卵子が排卵されるまで、過排卵処理区で5時間、また過排卵処理反復区で8時間を要していた。

また、排卵終了個体の出現頻度から排卵完了時間を推定したところ、Fig. 3 に示されるように、自然排卵に

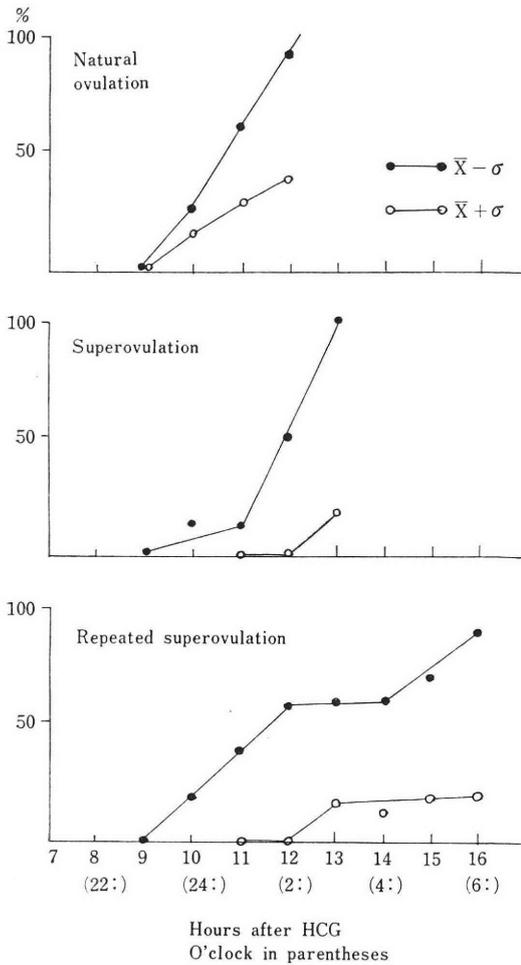


Fig. 3 Frequency of mice with complete ovulation

においては発情期の 2 : 00 に排卵完了と推定されたが、過排卵処理区では少くともそれより 1 時間遅れた HCG 後 13 時間 (3 : 00)、また、過排卵処理反復区ではそれよりもさらに 3 時間遅れた HCG 後 16 時間 (6 : 00) とみなされた。

この実験での排卵数に占める退行卵子の割合および退行卵子を有する個体の割合は、Fig. 4 に示す通りである。

Fig. 4 からあきらかなように、退行卵子の割合は、自然排卵においては 1 ~ 2 % であるのに対し、過排卵処理区では 10 % 前後、また過排卵処理反復区では 10 ~ 50 % であった。また、退行卵子を有する個体の割合は、自然排卵においては 10 ~ 20 % であるのに対し、過排卵処理区では、HCG 後 9 時間で 70 %、以後時間の経過と共に増加し、HCG 後 13 時間で 100 % を示した。一方、過排卵

処理反復区では、HCG 後 9 時間で全例に観察された。

考 察

マウスの自然排卵は発情期の 0 : 00 ~ 4 : 00 (Braden and Austin 1954, 信永ら 1965, 石島ら 1971) であるといわれており、本実験の結果もその範囲にあった。一方、成熟マウスの過排卵処理時における排卵時間は、HCG 投与後 10 ~ 14 時間 (Edwards and Gates 1959, 福田ら 1971, 石島ら 1971) で、排卵が開始されてから完了するまでの所要時間は、自然排卵の場合に比べて長いことが知られている (石島ら 1971)。今回の実験においても、過排卵処理した場合の排卵は早い個体で HCG 後 8 ~ 9 時間で開始され、全例に揃うのが HCG 後 13 時間と個体間差が大きいたことが認められ、またこの個体差は過排卵処理を反復すると増大することがあきらかになった。

このように、GTH 投与後の排卵時間が個体によって異なる原因のひとつは、排卵反応で見られる PMS や HCG に対する感受性のちがいが考えられる (伊藤ら 1976)。しかしながら、結果であきらかにしたように、同一個体においても排卵所要時間が異なっていることを考えると、PMS 投与後の卵胞の発育や成熟の時間的ずれも原因とみられる。石橋 (1967) は、過排卵処理後のラットの卵胞の発育、成熟について、多数の卵胞が逐次成熟して排卵されて行くことを認めており、石島ら (1969) によっても同様の推察がなされている。

また、過排卵処理の反復によって排卵時間のずれや遅延が増大するのは、卵巣機能の低下や、排卵反応の低下の一因とみられている反復処理血清中の抗物質 (石島ら 1979) による反応抑制が関係しているように思われる。

排卵数に占める退行卵子の割合や退行卵子を有する個体の割合は、いずれも過排卵処理やその反復によって有意に高くなることが示されており、この点からも、過排卵処理後の卵胞の発育、成熟過程にも問題があることが示唆されている。

いずれにせよ、過排卵処理は、排卵時間の個体間のずればかりでなく、個体内においても排卵のずれが生じており、これらの結果が過排卵卵子に何かの欠陥を生じさせる一因であることは想像に難くない。また、過排卵処理の反復によって、排卵時間や所要時間が延長することは、過排卵処理を反復して利用する場合の問題点が、単に反応低下だけの問題にとどまらないことを示唆している。

文 献

1) 穴吹一広, 石島芳郎, 平林 忠: マウスの反復

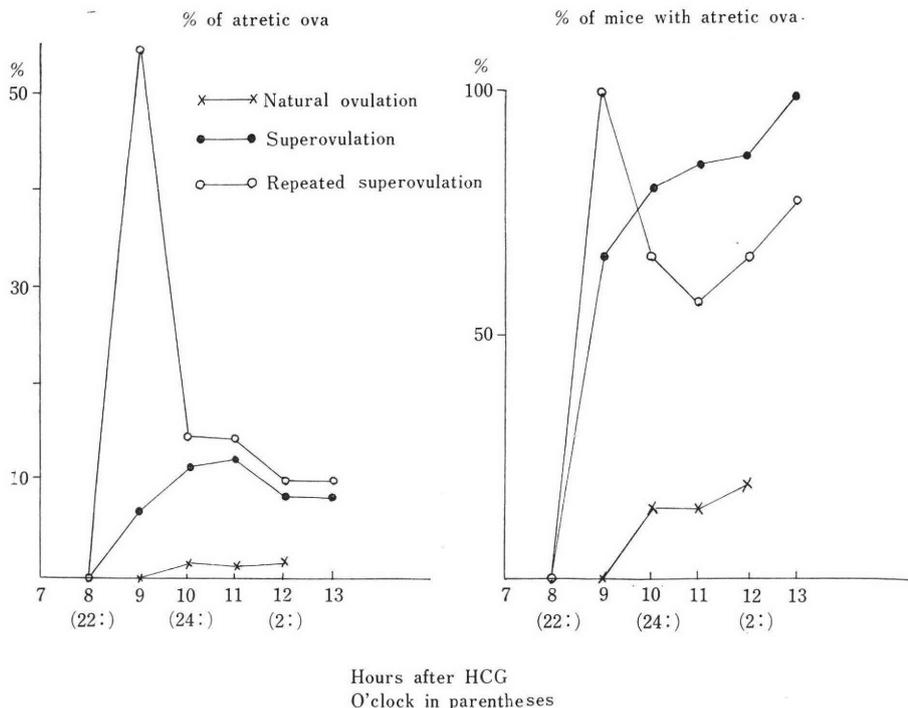


Fig. 4 Percentage of atretic ova and females with atretic ova in mice after natural ovulation, superovulation and repeated superovulation

過排卵誘起，とくに短期間の反復処理の影響，畜産の研究，31：899-900，1977.

- 2) Braden, A. W. H. and Austin, C. R.: The fertile life of mouse and rat eggs. *Science*, 120 : 361-362, 1954.
- 3) Edwards, R. G. and Gates, A. H.: Timing of the stages of the maturation divisions, ovulation, fertilization and the first cleavage of eggs of adult mice treated with gonadotrophins. *J. Endoc.*, 18 : 292-304, 1959.
- 4) Fujimoto, S., Pahlavan, N. and Dukelow, W. R.: Chromosome abnormalities in rabbit preimplantation blastocysts induced by superovulation. *J. Reprod. Fert.*, 40 : 177-181, 1974.
- 5) Fujimoto, S., Passantino, T. J. and Koenzoel, I.: A preliminary note on chromosome abnormalities in intratubal rabbit embryos. *Proc. Japan. Acad.*, 51 : 51-55, 1975.
- 6) 福田芳詔，伊藤信雄，今成右志，蛸名富夫，豊田裕：体外受精によるマウスの受精能保持時間の検討，日畜会報，42 (学会号)：55，1971.
- 7) 福田芳詔，土田 薫，細井俊江，笠井健吉，豊田裕：マウスにおける排卵数および排卵卵子の受精能に及ぼす PMS 投与量の影響について，日不妊会誌，23，600，1978.

- 8) 石橋 功：過排卵ラット卵子の形態的研究。II. 性腺刺激ホルモン投与後の卵子の成熟と排卵時期について，家畜繁殖誌，13：109-114，1967.
- 9) 石島芳郎，伊藤雅夫，平林 忠，佐久間勇次：過排卵処置家兎の排卵時間の検討，東農大農学集報，13：145-149，1969.
- 10) 石島芳郎，川瀬良夫，平林 忠：マウスの卵子の移動および分割に及ぼす過排卵処理の影響，東農大農学集報特別号 (創立80周年記念論文集)，63-72.
- 11) 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，22：245-250，1977.
- 12) 石島芳郎，穴吹一広，遠藤 克，佐久間勇次：反復過排卵処理に対するマウスの排卵反応の系統差，日不妊会誌，23：59-63，1978.
- 13) 石島芳郎，穴吹一広，平林 忠，伊藤雅夫，大沢雄治，神田 晋：反復過排卵処理マウス血清中の反応抑制物質の検索，日不妊会誌，24：1-4，1979.
- 14) 石島芳郎，新村末雄，佐藤栄治，石田一夫：未成熟ハムスターにおける過排卵卵子の形態的観察，家畜繁殖誌，26：138-140，1980.
- 15) 伊藤雅夫，横尾芳夫，関 秀雄，荻島 浩，野入五男，石川明芳：過排卵処置マウスにおける PMS および HCG の投与量と排卵数の関係，日大医誌，35：117-124，1976.
- 16) 伊藤雅夫，小松博道：マウスの過排卵誘起にお

- ける PMS 投与 Timing について, 第 70 回日本畜産学会大会講演要旨, 30, 1979.
- 17) 伊藤雅夫, 小松博道, 橋詰良一: 過排卵処理マウス卵子の 2-cell 分割率と体外培養成績からみた生存性, 第 71 回日本畜産学会大会講演要旨, 49, 1980.
 - 18) Jainudeen, M. R., Hafez, E. S. E., Gollnick, P. D. and Moyustafa, L. A.: Antigonalotropins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. *Am. J. Vet. Res.*, 27: 669-675, 1966.
 - 19) Kaufman, M. H. and Whittingham, D. G.: Viability of mouse oocytes ovulated within 14 hours of an injection of pregnant mares serum gonadotrophin. *J. Reprod. Fert.*, 28: 465-468, 1972.
 - 20) Lin, T. P. and Bailey, D. W.: Difference between two inbred strains of mice in ovulatory response to repeated administration of gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.*, 10: 253-259, 1965.
 - 21) Maudlin, I. and Fraser, L. R.: The effect of PMSG dose on the incidence of chromosomal anomalies in mouse embryos fertilized in vitro. *J. Reprod. Fert.*, 50: 275-280, 1977.
 - 22) Maurer, R. R., Hunt, W. L. and Foote, R. H.: Repeated superovulation following administration of exogenous gonadotrophins in dutch-belted rabbits. *J. Reprod. Fert.*, 15: 93-102, 1968.
 - 23) 湊 芳明, 笠井健吉, 豊田 裕: 誘発排卵マウス胚の培養成績について, 第 18 回哺乳動物卵子談話会要旨, 13-14, 1977.
 - 24) 湊 芳明, 豊田 裕: PMSG 単一投与および PMSG-HCG 投与による幼若マウスの未熟卵排卵と排卵卵子の受精能力について, 家畜繁殖誌, 26: 81-88, 1980.
 - 25) 信永利馬, 中村勝美, 細谷妙子: Gonadotrophin による排卵誘起反応における皮下, 腹腔内及び静脈注射間の鋭敏度の比較, IV. 正しく 4 日周期を画くべく育種を続けているマウス (4CS) における HCG 投与成績, 家畜繁殖誌, 11: 16-21, 1965.
 - 26) 佐久間勇次, 石島芳郎, 石田一夫: FSH 製剤による家兎の過排卵反復誘起に関する研究, 特にアンチホルモン産生に対する考察, 日不妊会誌, 9: 1-4, 1964.
 - 27) 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.
 - 28) 角田幸生, 入谷 明, 西川義正: 家兎の過排卵ならびに反復過剰排卵誘起に関する研究, 日畜会報, 49: 89-95, 1978.
 - 29) Willett, E. L., Buckner, P. T. and McShan, W. H.: Refractoriness of cows repeatedly

superovulated with gonadotrophins. *J. Dairy Sci.*, 36: 1083-1088, 1953.

The time of ovulation in mice after superovulation and repeated superovulation

Masao Ito, Masachika Dowaki and Hiroshi Kashiwabara

Department of Hygiene, School of Medicine, Nihon University, Itabashi-Ku Tokyo 173

Hiromichi Komatsu and Yoshiro Ishijima

Department of Zootechnical Science, Tokyo University of Agriculture, Setagaya-Ku, Tokyo 156

An experiment was carried out on mice to know what effect superovulatory treatment and its repetition could have on the ovulation time and the time required to ovulate. The results obtained were as follows:

1) In case of naturel ovulation, ovulation occurred in 50% of the animals at 24:00 on the day of proestrous and in 100% at 2:00 next day. In the group with the superovulatory treatment, ovulation was seen in 30% 9 hours after the HCG administration (23:00), and in 100% 13 hours after the administration (3:00). In the group repeated the superovulatory treatment three times, ovulation was seen in 30% 9 hours after the HCG administration, but reached no more than 90% 15 to 16 hours after the HCG administration (5:00-6:00).

2) When the regression line was calculated for the ovulation positivity rate, the time lapsed between the first and the last ovulation in the group, i. e. the difference in the time required to ovulate among the individuals, was estimated to be 3.2, 5.7 and 6.9 hours for the natural ovulation group, the one with superovulatory treatment, and the one with repeated superovulatory treatment respectively. Thus it was suggested that the superovulation treatment extended the time required to complete ovulation in the group and that the repeated treatment enhanced this tendency all the more.

3) The hourly number of ovulations was divided by that at 48 hours after the HCG administration, when all the animals were considered to have completed ovulation, to estimate the time required for an individual mouse to ovulate. It was found that in the natural ovulation group, ovulation converged at as short as 2 hours, while it took 5 hours to ovulate in the group with superovulation treatment and 8 hours in the group with repeated superovulation treat-

ment.

4) The ratio of degenerated eggs to the total number of ovulated eggs and that of the mother mice that yielded degenerated eggs to the total number of the animals were significantly higher

in the superovulation group than in the natural ovulation group. This tendency was all the more remarkable in the group with repeated superovulation treatment.

(受付：昭和56年3月14日)

マウスの過排卵に及ぼす PMS または HCG の反復前処理の影響

Effect of Repeated Preinjection of PMS or
HCG on Superovulation in Mice

東京農業大学畜産学科

石島 芳郎 小松 博道

Yoshiro ISHIJIMA Hiromichi KOMATSU

Department of Zootechnical Science, Tokyo University of Agriculture

日本大学医学部衛生学教室

伊藤 雅夫 青山 滋

Masao ITO Shigeru AOYAMA

Department of Hygiene, School of Medicine, Nihon University

反復過排卵処理マウスの反応低下の要因解析の一環として、PMS または HCG を単独 2 回処理した後の過排卵反応を比較した。

PMS を 2, 4, 8 および 12 日間隔で 2 回処理した後、それぞれ同じ間隔において過排卵処理した結果、排卵陽性率は 100, 100, 100 および 93% で、12 日間隔の前処理区がわずかに低い以外差はみられなかった。平均排卵数は、12.4, 15.8, 21.1 および 22.9 個 (排卵個体のみ 24.7 個) で、短期間の反復によりいくぶん抑えられた以外は過排卵対照区 (21.7 個) と差がみられなかった。

一方、HCG を 4, 8, 12 および 16 日間隔で 2 回処理した後、前記と同様過排卵処理した結果、排卵陽性率は 100, 43, 27 および 50% で、4 日間隔の前処理以外は顕著な排卵抑制がみとめられた。平均排卵数 (排卵個体のみ) は、それぞれ 20.9, 14.3, 14.3 および 13.7 個で、4 日間隔のもの以外はいずれも低いものであった。

以上の結果から、短期間の反復間隔は別としても、反復過排卵処理による反応低下の原因は、処理に用いる HCG 側の影響が大きいことが示唆された。 (Jap. J. Fert. Ster., 26(3), 263-266, 1981)

著者らは反復過排卵誘起の際の反応低下の要因についてマウスを用いて解析を行なっており、すでに、CF#1 系マウスに PMS-HCG の過排卵処理を反復すると、3 回目から排卵反応が著しく低下すること (石島, 佐久間 1977, 穴吹ら 1977, 石島ら 1978), また、こうした反応低下の原因の一端が反復処理血清中に PMS や HCG の作用を抑制する物質が産生されるためであることを示唆した (石島ら 1976, 1979)。しかしながら、この反応抑制物質がはたして PMS と HCG の両方に起因するのか、あるいはどちらか一方だけに起因するのか疑問

として残された。

本研究は、この点を知る手がかりを得る目的で、あらかじめ PMS または HCG を単独で 2 回反復処理した後、それぞれに過排卵処理を試み、その反応を比較してみた。

実験材料および方法

この実験には、当研究室ならびに日本大学医学部衛生学教室で閉鎖集団として維持している CF#1 系の成熟雌マウス (体重 27g 前後) を供試した。

実験は Fig. 1 に示す要領で実施した。すなわち、PMS 前処理のグループは、5 IU の PMS (オルガノン社) を 2, 4, 8 および 12 日間隔で 2 回皮下注射し、ついでそれぞれの 3 回目当たる日に PMS 注射がくるようにして過排卵を誘起した。なお、1 回目の PMS 注射はスミアによる発情休止期に実施した。HCG 前処理のグループは、5 IU の HCG (動薬検標準品) を 4, 8, 12 および 16 日間隔で 2 回皮下注射し、ついでそれぞれの 3 回目当たる日に HCG 注射がくるようにして過排卵を誘起した。なお、1 回目の HCG は発情前期に注射した。PMS および HCG の注射時刻は、過排卵処理にあわせ、前者は 11:00、後者は 13:00 とした。

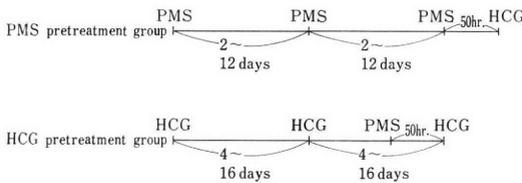


Fig. 1 Procedure of treatment

過排卵処理は、5 IU の PMS を 11:00 に皮下注射し、50 時間後 (2 日目の 13:00) に 5 IU の HCG を皮下注射する方法を採用した。この処理を前述の PMS または HCG 前処理の後に実施するのは別に、過排卵対照区として、前処理なしにこの過排卵処理を施す 1 群を設けた。

排卵検査は、いずれの場合も HCG 後 26 時間にマウスを殺し、摘出した卵管を 2 枚のスライドグラスにはさみ、顕微鏡下で行なった。

実験成績

PMS または HCG を単独で 2 回反復処理した後、PMS-HCG による過排卵処理を行ない、それぞれのホルモンの前処理が過排卵反応に影響を及ぼしているかどうか、いく通りかの日数間隔を設けて検討した結果、Table 1 に示すような成績が得られた。

PMS 前処理の場合は、2, 4, 8 および 12 日間隔で PMS を 2 回注射の後、それぞれの日数間隔に PMS 注射が来るようにして過排卵処理を行ったところ、Table 1 に示されるように、排卵陽性率は 12 日間隔が 1 例排卵しなかつたため 93% と率を下ざた以外は、いずれも 100% で、排卵陽性率に関しては顕著な影響を受けていなかった。平均排卵数はそれぞれ、12.4, 15.8, 21.1 および 22.9 個 (排卵個体のみ 24.7 個) で、2 日と 4 日間隔区が過排卵対照区に比べ低い値を示したが、8 日および 12 日間隔の場合は差がなかつた。

一方、HCG 前処理の場合は、4, 8, 12 および 16 日間隔で HCG を 2 回注射の後、それぞれの日数間隔に HCG 注射が来るようにして過排卵処理したところ、Table 1 からあきらかなように、排卵陽性率は、それぞれ 100, 43, 27 および 50% で、4 日間隔以外は著しい排卵阻止が認められた。また、平均排卵数は、4 日間隔のみ過排卵対照区と差がみられなかつたが、それ以外の日数間隔区はいずれも低下していた。

卵巣重量は、HCG 前処理で反応抑制がみられた 8, 12 および 16 日間隔区のみが、過排卵対照区に比べ低くなつていた以外、いずれの区にも差がみられなかつた。

Table 1 Effect of 2 successive preinjection of PMS or HCG on superovulation in mice

| Preinjection | Intervals | No. of mice examined | % ovulated | Mean no. of ova per ovulating mice \pm S.E. | Mean weight of ovaries \pm S.E. |
|-----------------------|-----------|----------------------|------------|---|-----------------------------------|
| PMS | 2 days | 7 | 100 | 12.4 \pm 2.08 | 21.6 \pm 1.79 mg |
| | 4 | 20 | 100 | 15.8 \pm 0.83 | 23.8 \pm 1.38 |
| | 8 | 7 | 100 | 21.1 \pm 2.46 | 20.0 \pm 1.17 |
| | 12 | 14 | 93 | 24.7 \pm 1.59 (22.9 \pm 2.30) | 23.1 \pm 1.50 |
| HCG | 4 | 21 | 100 | 20.9 \pm 1.39 | 27.4 \pm 1.92 |
| | 8 | 7 | 43 | 14.3 \pm 0.33 (6.1 \pm 2.90) | 16.3 \pm 3.60 |
| | 12 | 15 | 27 | 14.3 \pm 1.11 (3.8 \pm 1.70) | 18.3 \pm 0.96 |
| | 16 | 6 | 50 | 13.7 \pm 2.19 (6.8 \pm 3.21) | 14.8 \pm 3.14 |
| Superovulated control | | 6 | 100 | 21.7 \pm 2.68 | 20.2 \pm 1.57 |

() : Mean number of ova per examined mice

(Table 1).

考 察

マウスに PMS-HCG の過排卵処理を反復すると、3 回目以降の排卵反応が著しく低下すること(穴吹ら1977, 石島, 佐久間1977, 石島ら1978), また, こうした反応低下の原因の一端は, 反復処理血清中に PMS や HCG の作用を抑制する物質が産生されるためであることなど(石島ら1976, 1979)をすでに報告してきたが, この反応抑制物質が, 処理する PMS と HCG の両方に起因するのか, あるいはどちらか一方に起因するのかが問題として残された。

本実験は, この手がかりを得るため, PMS または HCG を単独で 2 回注射した後に過排卵処理を行ない, その反応を比較してみた。その結果は, すでに述べたとおり, PMS 前処理の場合は短期間の反復間隔においていくぶん排卵数が抑えられた以外は, 何ら前処理の影響が認められないのに対し, HCG 前処理の場合は短期間の反復を除いて, 著しい排卵抑制が認められ, 供試したマウスの半数もしくはそれ以上の個体が完全に排卵を阻止されていた。この状況は, マウスに過排卵処理を 3 回反復した反応とよく似かよっていた(穴吹ら1977, 石島, 佐久間1977)。

これらの結果からみると, 過排卵処理の反復によつて排卵反応が抑えられるのは, 主として HCG の反復に原因があることが推察される。しかし, 前報(石島ら1979)で, HCG の反応を抑制する物質の存在を確認したのは, 3 日間隔の反復過排卵処理(PMS, HCG とも 5 日間隔で注射されたことになる)においてである。もし, これが HCG 側の反復に起因するのであれば, 当然本実験の HCG 4 日間隔の前処理区も反応が抑制されなければならない。この点を再確認しなければ, 確実なことはいえないように思われる。また, 今回のような単独前処理の血清中にも反応抑制物質が存在するかどうかは調べていないので, この点もあきらかにする必要があろう。

いずれにせよ, 本実験の結果だけをみたかぎりでは, 処理に用いる HCG 側に大きな影響力があることはいふまでもない。反復過排卵処理による反応低下の原因が排卵誘起ホルモン(LH, HCG)側にあることは, すでにマウス(Lin and Bailey 1965), ウサギ(Maurer et al. 1968)などでも示唆されている。

文 献

- 1) 穴吹一広, 石島芳郎, 平林 忠: マウスの反復過排卵誘起, とくに短期間の反復処理の影響, 畜産の研究, 31: 899-900, 1977.
- 2) 石島芳郎, 穴吹一広, 平林 忠: 反復過排卵処理マウス血清中の反応抑制物質の検索, 第65回日本畜産学会大会講演要旨, 5, 1976.
- 3) 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: 245-250, 1977.
- 4) 石島芳郎, 穴吹一広, 遠藤 克, 佐久間勇次: 反復過排卵処理に対するマウスの排卵反応の系統差, 日不妊会誌, 23: 59-63, 1978.
- 5) 石島芳郎, 穴吹一広, 平林 忠, 伊藤雅夫, 大沢雄治, 神田 晋: 反復過排卵処理マウス血清中の反応抑制物質の検索, 日不妊会誌24: 1-4, 1979.
- 6) Lin, T. P. and Bailey, D. W.: Difference between two inbred strains of mice in ovulatory response to repeated superovulation of gonadotrophin. J. Reprod. Fert., 10: 253-259, 1965.
- 7) Maurer, R. R., Hunt, W. L. and Foote, R. H.: Repeated superovulation following administration of exogenous gonadotrophins in dutch-belted rabbits. J. Reprod. Fert., 15: 93-102, 1968.

Effect of repeated preinjection of PMS or HCG on Superovulation in Mice

Yoshiro Ishijima and Hiromichi Komatsu

Department of Zootechnical Science,
Tokyo University of Agriculture,
Setagaya-ku, Tokyo 156

Masao Ito and Shigeru Aoyama

Department of Hygiene, School of
Medicine, Nihon University,
Itabashi-ku, Tokyo 173

The effect of 2 successive preinjection of PMS or HCG on superovulation in mice were examined. Adult female mice of CF#1 strain were used. PMS or HCG was injected subcutaneously of 5 IU at various days interval. Superovulation was induced by injection of 5 IU PMS and 5 IU HCG 50 hours later.

The results were as follows: 1) In groups receiving 2 successive preinjection of PMS at 2, 4, 8 and 12 days interval, percentage of mice ovulated was 100, 100, 100 and 93, respectively, and mean number of ova per ovulating mice were 12.4, 15.8, 21.1 and 24.7, respectively. 2) In groups receiving 2 successive preinjection of HCG at 4, 8, 12 and 16 days interval, percentage of mice ovulated was 100, 43, 27 and 50, and mean number of ova per ovulating mice

were 20.9, 14.3, 14.3 and 13.7, respectively. 3)
The rate of mice ovulated and mean number
of ova ovulated in superovulated controls were

100% and 21.7.

(受付：昭和56年3月14日)

アカゲザルの副腎性 C₁₉ ステロイドの 加齢に伴う推移

The Change of Adrenal C₁₉ Steroid according
to Age in Rhesus Monkey

新日本薬品(株)

鳥 居 隆 三

Ryuzo TORII

Shinippon Yakuhin Co. Ltd.

アカゲザルの加齢に伴う副腎性 C₁₉ ステロイド、糖質副腎皮質ホルモンおよび性腺ホルモンの推移について検討した。その結果、副腎性 C₁₉ ステロイドの total 11-deoxy 17-KS は、幼若時に高く以後思春期に向い徐々に減少を示した。この total 11-deoxy 17-KS のうち、非抱合型は幼若、成熟サルに間に差はなく、しかも低値であつたのに比べ、抱合型は幼若時に高く成熟時に低値を示した。また、これらの主成分は前者は DHEA、後者は DHEA-S であつた。一方、糖質副腎皮質ホルモンは加齢に伴って漸減し、また、testosterone および dihydro testosterone は、成熟サルでは幼若サルに比べ明らかに高値を示した。以上のことから、アカゲザルにおける糖質副腎皮質ホルモンおよび性腺ホルモンの加齢に伴う推移は、ヒトと同様の傾向を示したのに対し、副腎性 C₁₉ ステロイドは、ヒトとは全く異質の推移がみられ、ヒトにみられる adrenarche の現象がないことが明らかになった。(Jap. J. Fert. Ster., 26(3), 267-273, 1981)

緒 言

副腎から分泌される副腎性男性ホルモン(以下副腎性 C₁₉ ステロイド)は、生後、加齢に伴いその分泌が増加し、それに伴って性成熟が完成されていくことが、ヒトにおいて知られており、この現象は、“Adrenarche” と呼ばれている。この副腎性 C₁₉ ステロイドは、血中において、ヒトでは、大部分が Dehydroepiandrosterone-Sulfate (以下 DHEA-S) が占めているが、他の動物においては、サルにその存在が認められており、副腎性 C₁₉ ステロイドの生理的機構の研究に、サルが有用視されている。そこで、今回、アカゲザルを用いて、副腎性 C₁₉ ステロイドの加齢に伴う推移を検討し、同時に副腎皮質ホルモンについても同様に検討を加えた。その結果、アカゲザルの副腎性 C₁₉ ステロイドの加齢に伴う推移は、ヒトとは全く異質の、adrenarche が認められない、現象を見出したので報告する。

材料と方法

1. アカゲザル(Rhesus monkey: *Macaca mulatta*)

本実験に供したアカゲザルは、2歳以上のサルは、個別ケージで、また、2歳未満の幼若サルは、母サルと同ケージにおいて、室温 24±2°C、湿度 50±5%、7:00~19:00点灯の条件下の部屋において、1日1回16:00に Monkey 用飼料(CLEA Japan Inc.)と果物(リンゴまたはバナナ)を与え、飼育・維持していたものである。

年齢及び使用頭数は、1歳未満の雌17頭、1~2歳の雌18頭、2~3.5歳の雄21頭、6歳以上の雄および雌合わせて19頭、計72頭である。

2. 採血

採血は、食前の午後2時にすべて行なつた。幼若サルでは、塩酸ケタミン(ケタラル®) 10mg/kg あて筋肉内注射により麻酔し、15分後に伏在静脈より、血液 2.5ml を採取、また、成熟サルでは無麻酔(訓練下)にて、同静脈より血液 3~5ml を、各々採取した。採血後は、2,500rpm で15分間遠心し、血清を分離した後、測定に供するまで-20°C のフリーザー内で保存した。

3. Dexamethasone 抑制試験

幼若サル雌2頭(No. 7404: 1歳8カ月, No. 7405:

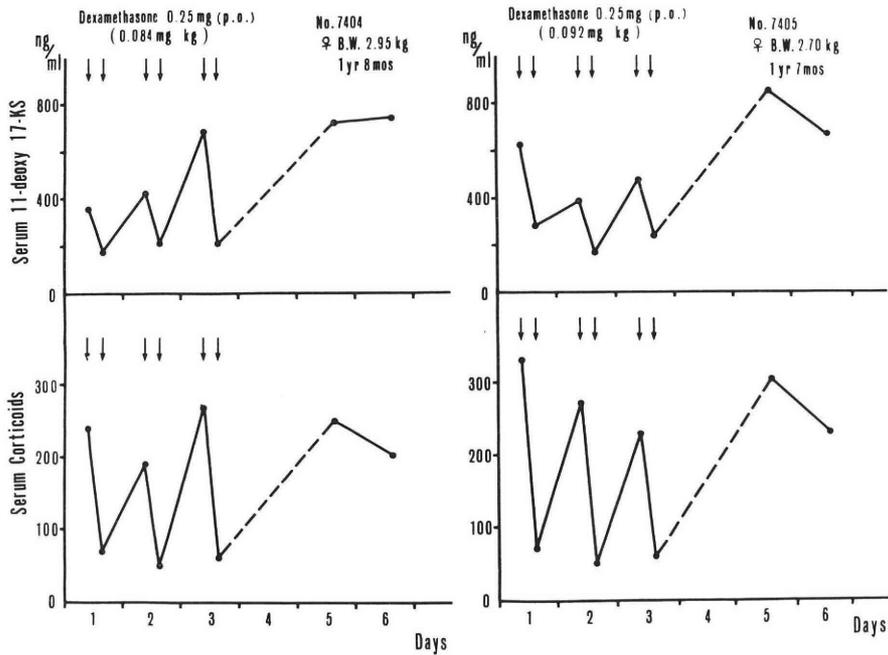


Fig. 2 Effect of oral administration of dexamethasone on serum 11-deoxy 17-KS and corticoids in juvenile rhesus monkey

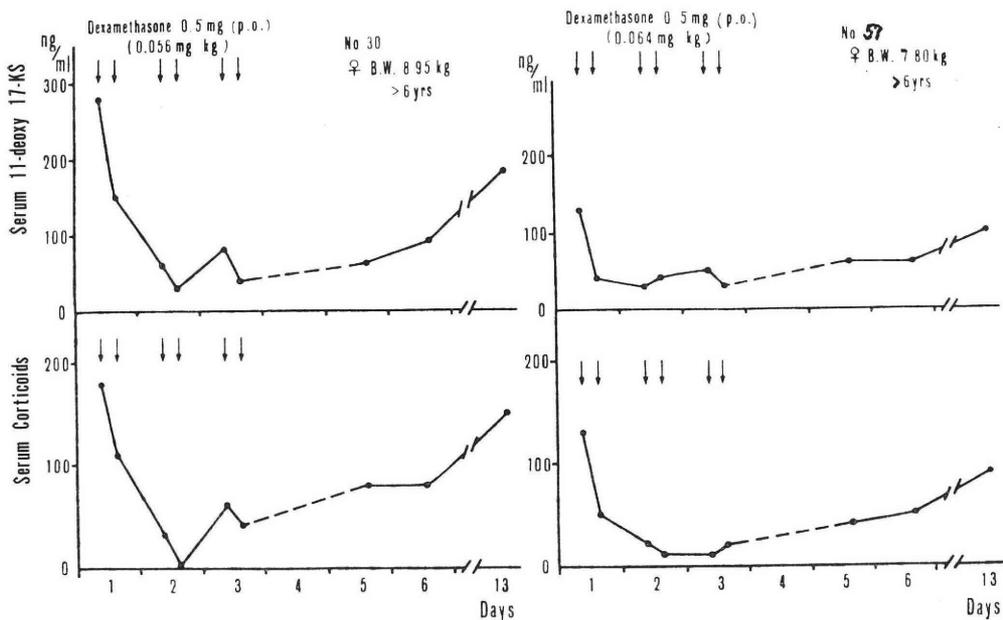


Fig. 3 Effect of oral administration of dexamethasone on serum 11-deoxy 17-KS and corticosteroids in adult rhesus monkey

$r = -0.6166$ を示し、有意な相関がみられ、又、その時の回帰直線は、 $Y = -25.96X + 1252.73$ を示し、加齢に

伴い、血中11-deoxy 17-KS 値は、急激に減少することが明らかとなった。

2. Dexamethasone 抑制試験 (Fig. 2 & 3)

Dexamethasone を幼若サルに0.25mg, 成熟サルには0.5mg を朝・夕の1日2回, 3日間連続経口投与した時の血中の total 11-deoxy 17-KS および total corticoids の推移を Fig. 2 と 3 に示した. 図に示した如く, 幼若サルでは, 血中 total corticoids は, 1日, 2日, 3日目, いずれも午後の投与直前には, 明らかな抑制がみられたが, 翌日の午前の投与直前には, 値の増加回復がみられた. 一方, 血中の total 11-deoxy 17-KS は, 先の total corticoids と極めてよく併行した動きを示した (Fig. 2). 成熟サルでは, 幼若サルに比べ, dexamethasone 投与後は, 血中 total corticoids および total 11-deoxy 17-KS とともに持続性の抑制がみられた. 以上の様に, 幼若, 成熟サルにおいて, dexamethasone による血中 total corticoids および total 11-deoxy 17-KS の抑制効果に差異はみられたが, 両者ともに, total 11-deoxy 17-KS は, dexamethasone により明らかに抑制が認められ, かつその変動は total corticoids と極めてよく一致していた.

3. アカゲザルの加齢に伴う血中 total corticoids 値の動態 (Fig. 4)

アカゲザルの加齢に伴う, 血中 total corticoids の推移を Fig. 4 に示した. 図に示した如く, 幼若時, 成熟時ともにほとんど変りなく, わずかに減少を示す傾向

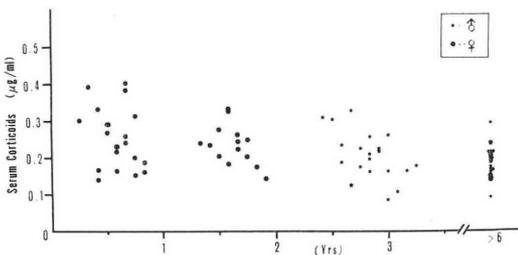
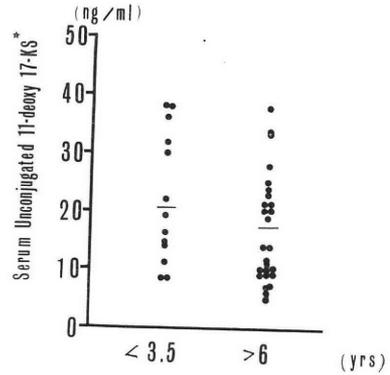


Fig. 4 Changes in serum corticoids levels according to age in rhesus monkey

にあつた. 即ち, 1歳未満の雌で139~400ng/ml, 平均257.5ng/ml, 1~2歳の雌で141~323ng/ml, 平均233.6ng/ml, また, 2~3.5歳の雄では84~323ng/ml, 平均210.0ng/ml であり, 6歳以上の成熟サルでは, 雌雄ともに86~290ng/ml, 平均187.0ng/ml であつた. この時の年齢と血中 total corticoids 値の間の, 相関係数は $r = -0.5818$ を示し, 有意な相関がみられ, また, その時の回帰直線は, $Y = -2.969X + 291.34$ を示し, 加齢に伴い血中 total corticoids は漸減することがわかつた.



* Dehydroepiandrosterone Equivalent

Fig. 5 Serum unconjugated 11-deoxy 17-KS levels in juvenile and adult rhesus monkeys

4. 幼若および成熟アカゲザルの血中 unconjugated 11-deoxy 17-KS 値 (Fig. 5)

Fig. 5 に, 3.5歳未満の幼若サルおよび6歳以上の成熟サルの血中 unconjugated 11-deoxy 17-KS 値を示した. Fig. 5 にみる如く, 思春期前の3.5歳未満の幼若サルでは, 血中 unconjugated 11-deoxy 17-KS 値は8~38ng/ml, 平均20.5ng/ml, 思春期後の6歳以上の成熟サルでは, 4~38.2ng/ml, 平均17.4ng/ml を示し, 幼若, 成熟サルともに有意な差はみられず, 思春期前後における変化はみられなかつた.

5. 幼若および成熟アカゲザルの血中 unconjugated 11-deoxy 17-KS の成分について (Table 1)

Table 1 に, 幼若および成熟アカゲザルの血中 unconjugated 11-deoxy 17-KS の成分につき, DHEA であるのか, 他の C₁₉ ステロイドであるのか検討する為, DHEA の2種類の抗血清 (抗 DHEA-3-BSA と抗 DHEA-11-BSA 抗血清) を用いて測定した成績を示した. Table 1 から明らかな様に, 2種の DHEA の抗血清を用いた時の値は, 両者の間で一致がみられた.

6. 幼若および成熟アカゲザルの血中 total 11-deoxy 17-KS の成分について (Table 2)

Table 2 に, 幼若および成熟アカゲザルの血中 total 11-deoxy 17-KS の成分につき検討を加えるべく, 抗 DHEA-3-BSA 抗血清を用いて total 11-deoxy 17-KS (DHEA-S 当量値) を求め, また, solvolysis を行なつた後, 抗 DHEA-3および抗 DHEA-11-BSA 抗血清を用いて DHEA 値を測定し, 三者の値の比較を行なつた成績を示した. Table 2 の左カラムが total 11-deoxy 17-KS 値(DHEA-S 当量値), 右カラムがDHEA-

Table 1 Serum unconjugated 11-deoxy 17-KS levels in juvenile and adult rhesus monkeys

| Monkey No. | | Unconjugate 11-deoxy 17-KS | |
|------------|------|----------------------------|-----|
| | | (A) | (B) |
| Juvenile | 7404 | 11 | 14 |
| | 7405 | 36 | 32 |
| | 7504 | 15 | 16 |
| | 7505 | 9 | 9 |
| Adult | 30 | 25 | 35 |
| | 35 | 5 | 7 |
| | 55 | 2 | 6 |
| | 57 | 11 | 12 |

(ng/ml)

A : Anti DHEA-3-BSA antiserum was used
 B : Anti DHEA-11-BSA antiserum was used

Table 2 Serum total 11-deoxy 17-KS and DHEA-S levels in juvenile and adult rhesus monkeys

| Monkey No. | | Total 11-deoxy 17-KS* (DHEA-S equ.) | DHEA-S** | |
|------------|------|-------------------------------------|----------|-----|
| | | | (A) | (B) |
| Juvenile | 7404 | 350 | 164 | 165 |
| | 7405 | 620 | 267 | 214 |
| Adult | 30 | 280 | 84 | 86 |
| | 57 | 130 | 32 | 35 |

(ng/ml)

* Anti DHEA-3-BSA antiserum was used
 ** Anti DHEA-3-BSA^{A)} & DHEA-11-BSB^{B)} antiserum were used

S の値を示し、右カラムの (A) が抗 DHEA-3-BSA 抗血清、(B) が抗 DHEA-11-BSA 抗血清を用いた時の値である。Table 2 から明らかな様に、DHEA の値において、2 種の DHEA 抗体を用いて測定した値は、両者の間によく一致がみられた。一方、これらの値は、total 11-deoxy 17-KS 値のおよそ 1/2~1/3 を示していた。

7. 幼若および成熟アカゲザルの血中 testosterone および dihydrotestosterone 値 (Fig. 6)

Fig. 6 に3.5歳未満の幼若アカゲザルと6歳以上の成熟アカゲザルの血中 testosterone および dihydrotestosterone の値を示した。図の如く、幼若サルでは、血中 testosterone および dihydrotestosterone は、各々0.02~1.70 ng/ml (平均0.68ng/ml)、0.10~1.60 ng/ml (平均0.82ng/ml) を示し、一方、成熟サルでは、各々5.4~10.0 ng/ml (平均8.40 ng/ml)、4.70~

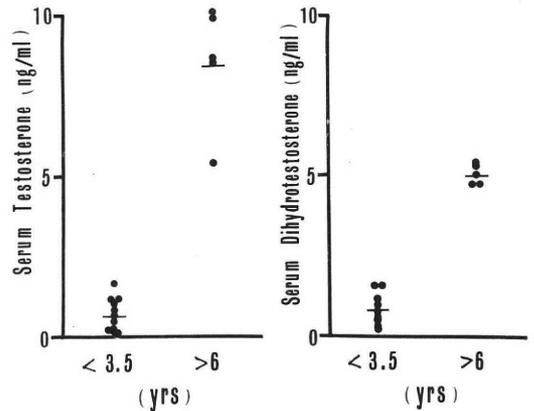


Fig. 6 Serum testosterone and dihydrotestosterone levels in juvenile and adult rhesus monkeys

5.45ng/ml (平均4.98 ng/ml) を示し、testosterone、dihydrotestosterone ともに、成熟サルでは、幼若サルに比べ有意に高値を示していた。

考 察

今回、アカゲザルの加齢に伴う副腎性 C₁₉ ステロイドおよびコルチコイドの推移について検討を加えた。この副腎性 C₁₉ ステロイドは、ヒトにおいて、思春期前にはほとんど検出できない程度の低値を示すが、思春期に至って急激に増加し、その後は加齢に伴い漸減することが知られている²⁾。この様に副腎性 C₁₉ ステロイドは、ヒトで思春期に増加を示し、性成熟への initial event としての役割をもつことがうかがわれ、とくにこの現象は“adrenarche”と呼ばれている。今回、アカゲザルを用いて、副腎性 C₁₉ ステロイドに、ヒトでみられる adrenarche の現象がみられるか否か、加齢に伴う推移とともに検討を加えた。

その結果、血中 total 11-deoxy 17-KS の加齢に伴う推移は、生後間もない時期に最も高く、以後思春期 (4~5歳) に向って徐々に減少を示し、年齢と高い相関を示しつつ成熟時には低値に至ることを見出した (Fig. 1)。一方、血中の total corticoids は、年齢と相関はみられたが、幼若期から成熟期においてほとんど大きな変動はみられず、ヒトの推移と同様に加齢に伴ってわずかに減少を示す程度であった。この total 11-deoxy 17-KS が副腎性であるか否かを検討すべく、幼若、成熟サル各2頭に dexamethasone を投与した結果、Fig. 2, 3 に示した如く、幼若、成熟サルともに、血中の corticoids と同時に血中の total 11-deoxy 17-KS に抑制がみられたことから、この total 11-deoxy 17-KS

は、大部分が副腎由来であることがわかった。また、血中の unconjugated 11-deoxy 17-KS 値は、幼若、成熟サルと比較した結果、両者の間に差異はみられず、かつ低値であつたことから、幼若時に高値を示した total 11-deoxy 17-KS の大部分が、conjugated form であることが示唆された (Fig. 5)。また、この unconjugated 11-deoxy 17-KS の成分について検討すべく、DHEA に対する異なる 2 種の抗体を用いて測定を行なつたところ、両者の間によく一致が認められたので、unconjugated 11-deoxy 17-KS の大部分は、DHEA であることが推測された (Table 1)。次に、total 11-deoxy 17-KS の成分について、solvolysis を行なつた後、先と同様に DHEA の 2 種の抗体を用いて検討した。その結果、solvolysis を行なつたものでは、2 種の異なる抗体を用いた時の値の間に差は認められなかつたが、この値は、solvolysis を行なわずに DHEA-S 当量として測定した時の値に比べ、約 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ の値を示していた。即ち、total 11-deoxy 17-KS の中で DHEA-S 以外の conjugated form のものが約 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{2}{3}$ 存在することになる。そこで、残りの conjugated 11-deoxy 17-KS の成分につき、solvolysis および β -glucuronidase を用いた酵素加水分解を行なつた後、ガスクロマトグラフィーによつて同定を試みた結果、DHEA-S 以外に androsterone-glucuronide が検出出来た。しかし、この点については、例数を増し十分検討を加えねばならない。

一方、幼若、成熟サルの性腺ホルモンについて検討した結果、血中の testosterone および dihydrotestosterone は、幼若時には低値を示していたが、成熟時には明らかに高値を示し、性腺由来のホルモンはヒトの場合と同じ傾向を示していた (Fig. 6)。

以上の如く、アカゲザルの血中糖質副腎皮質ホルモンおよび性ホルモンは、思春期前後でヒトと近似した動態を示していた。一方副腎由来の C₁₉ ステロイドは、conjugated 11-deoxy 17-KS は、ヒトとは全く異質、即ち、幼若期に高く、思春期に低下を示す推移を示し、また、unconjugated 11-deoxy 17-KS は、思春期前後で大きな変化はみられなかつた。この様に、今回得られた成績から、アカゲザルには、ヒトにみられる様な adrenarche の現象がないことが明らかとなつた。Cutler ら⁴⁾は、今回の成績と同様の傾向をアカゲザルにおいて認めている。一方、チンパンジーにおいては、DHEA-S および DHEA は、共に思春期に向つて増加することを見出し、ヒトと極めて近似した傾向にあることも報じている。この様に、ヒトやチンパンジーと、アカゲザルの副腎性 C₁₉ ステロイドの思春期前後の推移

の差異は、ヒトやチンパンジーでは、性機能の成熟に対する下垂体一性腺機能の刺激としての役割を、副腎性 C₁₉ ステロイドは担っているものと考えられるが、一方、アカゲザルにおいては、幼若期からすでに高値を示すことから推測して、副腎性 C₁₉ ステロイドは思春期発来に対してかなり早期から作用し、すでに思春期発来の開始がこの期から行なわれていることが疑われる。これは、ヒトやチンパンジーにおいてはむしろ思春期の発来を遅らせている⁴⁾ということにも関連するのかもしれない。

今後、これらの点もふまえ、アカゲザルの副腎性 C₁₉ ステロイドの分析とともに、各種の動物における加齢に伴う推移を検討してゆきたい。

本研究は、(財)実験動物中央研究所、在任中に行なつたものである。本研究に御協力いただいた、谷岡功邦、宇津佐知子、小泉均の各位に深く感謝の意を表する。

本研究の一部は、文部省科研費特定研究「実験動物の純化と開発」(No. 111505)によつた。

文 献

- 1) 井林 博, 山路 徹: 性ホルモンの代謝. 4. 副腎 androgens, 日本内分泌学会誌, 44, 858, 1968.
- 2) Sekihara, H. & Ohsawa, N.: A radioimmunoassay for serum 11-deoxy 17-ketosteroids, steroids, 23, 245, 1974.
- 3) Murphy, B. E. P.: Some studies of the protein-binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various steroids in body fluids by competitive protein-binding radioassay, J. Clin. Endocrinol., 27, 973, 1967.
- 4) Cutler, G. B., Glenn, M., Bush, M., Hodgen, G. D., Graham, C. E. & Loriaux, D. L.: Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals, and primates, Endocrinol., 103, 2112, 1978.

The change of adrenal C₁₉ steroid according to age in rhesus monkey

Ryuzo Torii

Shinnippon Yakuhin Co., Ltd.,
Kishiwada, Osaka, 596

Serum adrenal C₁₉ steroid in Rhesus monkeys according to age was investigated, and the following results were obtained; 1) Serum total 11-deoxy 17-KS decreased gradually according to age. 2) And serum conjugated 11-deoxy 17-KS decreased, but no change of serum uncon-

jugated 11-deoxy 17-KS was found. 3) Main serum steroid of unconjugated 11-deoxy 17-KS was DHEA, and conjugated 11-deoxy 17-KS was DHEA-S by the method of heterologous RIA. 4) Whereas serum total corticoids in Rhesus monkey was not changed markedly according to age, and the level of serum testosterone and

dihydrotestosterone in adult monkeys were higher than in juvenile monkeys. 5) It is concluded that in Rhesus monkey "Adrenarche" was not found, and it may be suggested that Rhesus monkey could not be taken the place of the model of human.

(受付：昭和56年1月30日)

精索静脈瘤の臨床的研究：末梢静脈血と内精 索静脈血のテストステロン動態について

Observations on the Testosterone Levels of Peripheral and
Internal Spermatic Vein Blood in Patients with Varicocele

藤沢市民病院泌尿器科

広川 信 岩本 晃明
Makoto HIROKAWA Teruaki IWAMOTO

藤井 浩 佐藤 和彦
Hiroshi FUJII Kazuhiko SATO

Department of Urology, Fujisawa City Hospital

藤沢市民病院病理

松下 和彦
Kazuhiko MATSUSHITA

Department of Pathology, Fujisawa City Hospital

朝倉泌尿器科医院

朝倉 茂夫
Sigeo ASAKURA

Private Practice of Urology, Fujisawa

精索静脈瘤におけるテストステロンの動態は、詳しく解明されていない、著者は手術した53症例について、末梢静脈血と内精索静脈血のテストステロン濃度を測定した。その結果、末梢静脈血テストステロン濃度が3.00ng/ml以下の低値を示す症例が24.5%みられ、また内精索静脈血テストステロン濃度は3.0~950ng/ml (Meanvalue203.5±SD 187.2ng/ml) に分布し、広い変動域を示した。コントロール群と比較すると、55%の症例で患側睾丸が障害されてテストステロン濃度が低下している。

精子形成能との関連をみると、精子濃度の減少あるいは睾丸生検像で高度の Hypospermatogenesis を示す場合、患側睾丸でテストステロン産生能の低下する現象が示唆された。ことに、精子濃度が1000万以下になると、患側睾丸でテストステロンの分泌低下が明瞭となる。(Jap. J. Fert. Ster. 26(3), 274-279, 1981)

結 言

精索静脈瘤と妊孕性との関連は古くから知られ、精液所見あるいは睾丸生検像についての報告は多い。しかし、テストステロン濃度について、末梢静脈血と内精索静脈血で測定して検討した報告は少なく、詳しく検索されていない。

著者は、精索静脈瘤におけるテストステロン値、ことに内精索静脈血中のテストステロン濃度の変動域を調べた。この観察からコントロール群と比較して、精索静脈瘤の患側睾丸でのテストステロン産生能について追求した。また、テストステロン産生能と精子形成能との関連についても検討をおこなった。

対象と方法

対象となつた精索静脈瘤は53例である。そのうち、30例は不妊で受診している。年齢分布は18歳から47歳にわたり、平均年齢は29歳である。その精子濃度をみると表1の通りである。精子濃度は中央値で示した。その内訳は精子濃度が1000万以下のもの22.6%、精子濃度が4000万以上のもの26.4%である。

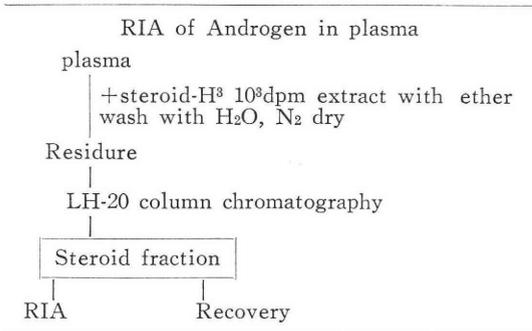
表 1 精索静脈瘤53例の精子濃度の分布

| 精子濃度 ($\times 10^6/ml$) | 0~10 | 10~20 | 20~40 | 40~ |
|------------------------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 症例数 (不妊例) | 12 (10) | 10 (5) | 17 (9) | 14 (6) |

53例のテストステロン濃度について、末梢静脈血と内精索静脈とで検討した。内精索静脈血のテストステロン濃度に対する末梢静脈血濃度の比を求め、文献例からみた正常群の比と比較した。また、テストステロン比と精子濃度あるいは睾丸生検像との関連についても検索をおこなつた。

テストステロン濃度の測定は RIA 法でおこなわれた¹⁾。その測定操作の概略を表2に示す。内精索静脈血の採取は、精索静脈瘤の治療法である内精索血管高位結

表 2 テストステロン測定法の概略



紮術の際に太い静脈から採血した。睾丸生検像について、表3の基準²⁾にしたがって精子形成能を判定した。

検討結果

(1) 末梢静脈血のテストステロン濃度についての検討
末梢静脈血のテストステロン濃度の変動をみると、3.00ng/ml 以下の群が13例(24.5%)、3.00~4.00ng/ml にある群が10例(18.9%)、4.00ng/ml 以上の群が30例(56.6%)にみとめられた。明らかにテストステロン濃度の低い症例が存在している。そのなかで不妊例をみると、3.00ng/ml 以下の群で8例、3.00~4.00ng/ml の

表 3 スコア・カウント法の基準

| Score | Histological criteria |
|-------|---|
| 10 | Full spermatogenesis |
| 9 | Many late spermatids, disorganized epithelium |
| 8 | Few late spermatids |
| 7 | No late spermatids, many early spermatids |
| 6 | No late spermatids, few early spermatids |
| 5 | No spermatids, many spermatocytes |
| 4 | No spermatids, few spermatocytes |
| 3 | Spermatogonia only |
| 2 | No germinal cells, Sertoli cells only |
| 1 | No seminiferous epithelium |

* Method modified from Johnsen (1970). Each tubule is given a score according to the histological criteria. "Late spermatids" refer to Sc, Sd₁, and Sd₂ stage, and "early spermatids" refer to Sa, Sb₁, and Sb₂ (see Clermont, 1963, and Fig. 1-1).

表 4 末梢静脈血テストステロン濃度の分布

| | 末梢静脈血テストステロン濃度 (ng/ml) | | |
|--------------|------------------------|-----------|------------|
| | 3.00以下 | 3.00~4.00 | 4.00以上 |
| 症例数 (不妊例) | 13 (8) | 10 (9) | 30 (13) |

表 5 末梢静脈血テストステロン濃度と精子濃度との関係

| | 末梢静脈血テストステロン濃度 (ng/ml) | | |
|---------------------------------|------------------------|-----------|--------|
| | 3.00以下 | 3.00~4.00 | 4.00以上 |
| 精子濃度 ($\times 10^6/ml$): 40以上 | 3例 | 4例 | 5例 |
| " : 40~20 | 4 | 1 | 11 |
| " : 20~10 | 5 | | 7 |
| " : 10以下 | 1 | 5 | 7 |

群で9例、4.00ng/ml 以上の群で13例をみる。このように、テストステロンの低い群に不妊例が多い(表4)。末梢静脈血のテストステロン濃度と精子濃度との相関は表5にみるように存在しない。

(2) 内精索静脈血のテストステロン濃度についての検討

53例の測定値をまとめると、図1のようになる。その分布域は3.0~950ng/ml になる。その変動域は広い。Mean±SD は203.5±187.2ng/ml である。35例(66%)は3桁の数値を示している。不妊で受診した群(30例)とその他で受診した群(23例)とで比較すると、前者が

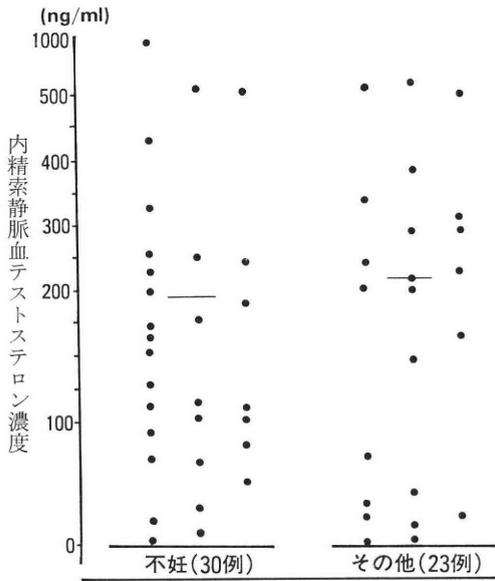
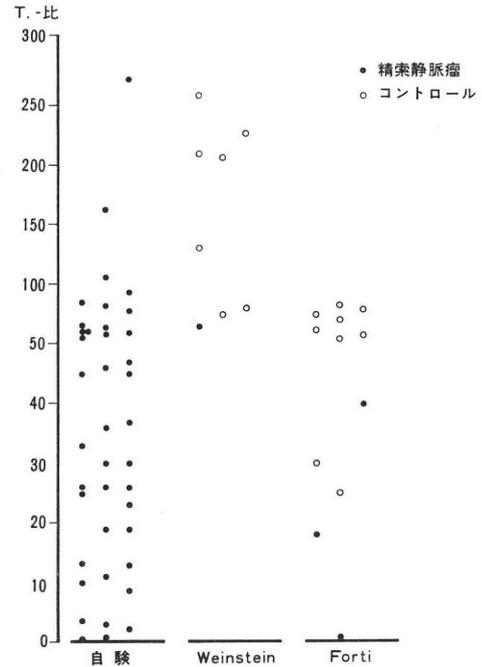


図1 内精索静脈血テストステロン濃度の分布



$$\text{T.-比} = \frac{\text{内精索静脈血テストステロン濃度}}{\text{末梢静脈血テストステロン濃度}}$$

図2 内精索静脈血のテストステロン濃度に対する末梢静脈血のテストステロン濃度の比

表6 T.-比と精子濃度との関係

| | | T.-比 40 以上の例 |
|-------------------|-----------------|--------------|
| 精子濃度1000万以下 : 12例 | | 0 (0%) |
| | 〃 1000万以上 : 28例 | 18例(64.3%) |
| | | T.-比 40 以上の例 |
| 精子濃度2000万以下 : 18例 | | 2例(11.1%) |
| | 〃 2000万以上 : 22例 | 16例(72.7%) |

* 末梢静脈血テストステロン濃度3.00ng/ml以上の症例で検討

表7 T.-比と精子のみられる精細管の比率との関係

| | 精子のみられた精細管の比率 | | |
|------------------|---------------|-----------|----------|
| | 25%以下 | 25~50% | 50%以上 |
| T.-比40以下の群 (22例) | 9(40.9%) | 9(40.9%) | 4(18.2%) |
| T.-比40以上の群 (18例) | 4(22.2%) | 12(66.7%) | 2(11.1%) |

患側睾丸の生検で精子のみられる精細管の比率と T.-比との関係を検討した。その結果は表7に示す通り

197.7±198.6ng/ml で、後者が 211.1±175.2ng/ml を示し、余り差をみとめない。

(3) 内精索静脈血のテストステロン濃度に対する末梢静脈血のテストステロン濃度の比についての検討
末梢静脈血のテストステロン濃度が 3.00ng/ml 以上の40症例について、内精索静脈血のテストステロン濃度に対する末梢静脈血のテストステロン濃度の比 (以下、T.-比と省略) を求め、コントロール群と比較した。その検討値は図2に示す通りである。T.-比が40以下を示した症例は22件、T.-比が40~80の間にある症例は12件、T.-比80以上の症例は6件である。コントロール群について文献例から検討すると、Weinstein³⁾の報告で T.-比が76~259に分布し、T.-比40以下の症例は存在しない。Forti⁴⁾の例でみると、T.-比が25~83に分布し、T.-比40以下の症例は22%にすぎない。

このように、コントロール群とくらべると精索静脈瘤の多くの症例で、T.-比が明らかに低値を示している。

次に、大雑把な手法であるが、T.-比と精子濃度との関係、また睾丸生検との関係について検討した。精子濃度との関係を T.-比が40前後で判定すると、表6のような結果がえられた。つまり、T.-比が40以上の症例をみると精子濃度1000万以下の群ではみられないが、精子濃度1000万以上の群で64.3%にみられた。また、精子濃度2000万以下の群で11.1%、精子濃度2000万以上の群で72.7%にみられている。精子濃度が1000万前後くらいまでに減少すると、患側睾丸でのテストステロンの産生能が低下していることが多い。

表 8 内精索(辜丸)静脈血のテストステロン濃度の報告例

| 報告者 | 報告年 | 内精索(辜丸)静脈血で テストステロン濃度 (ng/ml) | 対 象 例 |
|----------------------------|------|----------------------------------|---|
| Hudson ⁵⁾ | 1955 | 110—890 | |
| Hollander ⁶⁾ | 1958 | 25—1600 (正常例 400—1600) | 前立腺癌 10 例, 正常例 10 例 |
| Dupré ⁷⁾ | 1964 | 120—1190 | 正常例 1 例, gonadotrophin failure 3 例, primary seminiferous tubular failure 5 例 |
| Jeffcoate ⁸⁾ | 1967 | 85—1030 | 不妊 5 例 |
| Gandy ⁹⁾ | 1968 | 23.9—311 | 前立腺癌 6 例, 前立腺肥大症 1 例 |
| Laatikainen ¹⁰⁾ | 1971 | 平均 740 (250—1320) | そけいヘルニア 5 例 |
| Forti ⁴⁾ | 1972 | 81—571 5—136 | そけいヘルニア 9 例 精索静脈瘤 3 例 |
| Marberger ¹¹⁾ | 1973 | 10.2±3.5(4.5—18.5) | 精索静脈瘤 20 例 |
| 水谷 ¹²⁾ | 1973 | 14—1420 | 辜丸腫瘍 2 例, 前立腺癌 3 例 |
| Weinstein ³⁾ | 1974 | 751±114 (350—1550) | そけいヘルニア 13 例, 精索静脈瘤 1 例 |
| Bayard ¹³⁾ | 1975 | 92—720 | 前立腺癌 5 例 |
| Hammond ¹⁵⁾ | 1977 | 平均 255.1 (2.85—619.1) | 前立腺癌 9 例, 精索静脈瘤に合併した陰囊水腫 1 例, そけいヘルニア 1 例 |
| 福谷 ¹⁵⁾ | 1979 | 295±121(若い年代) 395±56(老人) | そけいヘルニア, 陰囊水腫 5 例 前立腺癌 16 例 |
| 広川 | 1980 | 203.5±187.2(3.0—950.0) | 精索静脈瘤 53 例 |

である。精子のみられる精細管の比率が25%以下の症例は、T.-比40以下の群で22例中、9例(40.9%)であるが、T.-比40以上の群で18例中、4例(22.2%)である。T.-比の低い群に Hypospermatogenesis の症例が多い。

考 案

テストステロンは、周知のように造精機能を調節する大事な因子で、精子形成に至適なテストステロン濃度が必要とされている。

男子の末梢静脈血のテストステロン濃度の変動について多くの報告がある。いずれの報告でも個人差が大きく、正常値の範囲は広い。同様なことが内精索(辜丸)静脈血のテストステロン濃度についてもゆえる。今迄に報告されている測定値をまとめると表8の通りである。年齢と対象によりテストステロン濃度は異なっている。広く対象を求めにくい点から、若い年代層の測定値が乏しい。福谷はテストステロン濃度が年齢で変りがないことを述べ、末梢静脈血濃度の約80倍くらいであると報告している。

精索静脈瘤について測定した報告は少ない。Forti は3例の精索静脈瘤について測定しているが、変動域が広い。Marberger は20例について調べ、4.5~18.5ng/ml と分布して、変動が小さく、低い濃度を示している。Forti はそけいヘルニアの9例をコントロール群にして

精索静脈瘤と比較している。コントロール群が81.0~571.0ng/ml であるのに対して精索静脈瘤では5.0~136.0ng/ml と低い傾向を示している。自験53例の内精索静脈血のテストステロン濃度をみると、3.0~950ng/ml にわたり広い変動域をもつ。Mean±SD は203.5±187ng/ml である。多くの症例が3桁の数値を示すが、34%くらいの症例は、100ng/ml 以下を示している。

精索静脈瘤が妊孕性を低下させることは良く知られ、精液所見について多くの報告がある。しかし、末梢静脈血あるいは、内精索静脈血のテストステロン濃度について詳しく検討した報告は少ない。Raboch ら¹⁶⁾は、末梢静脈血のテストステロン濃度が fertile men にくらべ精索静脈瘤の症例で有意に低いことを述べているが、Swerdloff ら¹⁷⁾の検討では、コントロール群と精索静脈瘤の群とで有意の差がなく正常域である。sexual disturbances をともなう精索静脈瘤の場合、テストステロン濃度が低値を示すと Comhaire ら¹⁸⁾は報告している。

著者らの53例の検討をみると、末梢静脈血のテストステロン濃度は24.5% (13例)において3.00ng/ml 以下を示している。しかし、これらの症例は sexual disturbances をともなっていない。末梢静脈血のテストステロン濃度の低い群に不妊例が多いが、末梢静脈血テストステロン濃度と精子濃度との関係は存在しない。

著者らは、末梢静脈血のテストステロン濃度が3.00

ng/ml 以上の40症例について、内精索静脈血テストステロン濃度に対する末梢静脈血テストステロン濃度の比(以下 T.-比と省略)を求めて精子濃度との関係を検索した。その結果、興味ある現象を見出した。T.-比は、0.38~271.4にわたるが、T.-比40以下の症例が55%にみられている。コントロール群についてみると、Weinstein の報告でT.-比が76~259に分布し、T.-比40以下の症例は存在しない。Forti の例でみると、T.-比が25~83に分布し、T.-比40以下の症例は22%にすぎない。コントロール群の多くは40以上のT.-比を示す。この点から考えると、精索静脈瘤では患側辜丸でのテストステロン産生能が、多くの症例で低下していると説明される。

次に、精子濃度との関連を考察する。精子濃度が1000万以下になると、全例がT.-比40以下を示した。また、精子濃度2000万以下の群では、T.-比40以下が88.9%みられ、精子濃度2000万以上の群でT.-比40以上の症例が72.7%にみられた。このことは、精子濃度が減少してくると、患側辜丸のテストステロン産生能が低下する現象を示唆している。ことに、精子濃度が1000万以下になると明瞭である。しかし、精子濃度の良好な症例でもT.-比の低い例が存在する。この事実はT.-比から精子濃度を推定できない。

辜丸生検像からみた精子形成能とT.-比との関係を見ると、同様なことが理解できる。精子の存在する精細管が25%以下の症例は、T.-比40以下の群で40.9%、一方、T.-比40以上の群で22.2%を占めている。このように高度のHypospermatogenesisになると、テストステロン産生能が低下する傾向にある。

結 語

(1) 精索静脈瘤における末梢静脈血のテストステロン濃度と患側の内精索静脈血のテストステロン濃度の測定をおこなった。その変動を53症例について検討すると、末梢静脈血のテストステロン濃度が3.00ng/ml以下の低値を示す症例が24.5%もみられた。内精索静脈血のテストステロン濃度のMean±SDは203.5±187.2ng/mlで、変動域の広いことが判明した。

(2) これらの観察結果と文献上にみられるコントロール群とを比べると、精索静脈瘤では患側辜丸でのテストステロン産生能が多くの症例で低下している。ことに、精子濃度が1000万前後、あるいは辜丸生検像で高度の精子形成の低下を示す場合、患側辜丸でのテストステロン産生能は明瞭に低下していると考えられた。

なお、本論文の要旨は第25回日本不妊学会総会で発表された。

参 考 文 献

- 1) 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.
- 2) de Kretser, D. M. and Holstein, A. F.: Testicular biopsy and abnormal germ cells. in Human Semen and Fertility Regulation in Men, p 336, Mosby Co., Saint Louis, 1976.
- 3) Weinstein, R. L., Kelch, R. P., Jenner, M. R., Kaplan, S. L. and Grumbach, M. M.: Secretion of uncojugated androgens and estrogens by the normal and abnormal human testis before and after human chorionic gonadotropin. J. Clin. Invest., 53, 1-6, 1974.
- 4) Forti, G., Fiorelli, G., Pazzagli, M. and Serio, M.: Determination of testosterone in peripheral and spermatic venous plasma by a competitive protein binding method. in The Endocrine Function of the Human Testis, p 91, Academic Press, New York and London, 1973.
- 5) Hudson, B., Coghlan, J., Dulmanis, A. and Wintour, M.: 2nd Internat. Cong. of Endocrin., Excerpt. Med. Internat. Congress Series, Part II, No. 83, 1127, 1965.
- 6) Hollander, N. and Hollander, V. P.: The Microdetermination of testosterone in human spermatic vein blood. J. Clin. Endocrin., 18, 966-971, 1958.
- 7) Dupré, J., Brooks, R. V., Hyde, R., London, D. R., Prunty, F. T. G. and Self, J. B.: Preliminary observations on testosterone in testicular vein blood from abnormal human testes. J. Endocr., 29, viii, 1964.
- 8) Jeffcoate, S. L., Brooks, R. V., Lim, N. Y., London, D. R., Prunty, F. T. G. and Spathis, G. S.: Androgen production in hypogonadal men. J. Endocr., 37, 401-411, 1967.
- 9) Gandy, H. M. and Peterson, R. E.: Measurement of testosterone and 17-ketosteroids in plasma by the double isotope dilution derivative technique. J. Clin. Endocr., 28, 949-977, 1968.
- 10) Laatikainen, T., Laitinen, E. A. and Vihko, R.: Secretion of free and sulfate-conjugated neutral steroids by the human testis. effect of administration of human chorionic gonadotropin. J. Clin. Endocr., 32, 59-64, 1971.
- 11) Marberger, M. und Frick, J.: Zur Ätiologie der Spermiogeneseschädigung bei der Varikozele: Untersuchungen über den

Plasmatestosteronspiegel in der Vena spermatica. Urol. int., 28, 377-384, 1973.

- 12) 水谷修太郎, 松本圭史, 越山健二郎: 睾丸静脈血中 testosterone 濃度, 日内分泌会誌, 49, 453, 1973.
- 13) Bayard, F., Boulard, P. Y., Huc, A. and Pontonnier, F.: Arterio-venous transfer of testosterone in the spermatic cord of man. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40, 345-346, 1975.
- 14) Hammond, G. L. Ruokonen, A., Kontturi, M., Koskela, E. and Vihko, R.: The simultaneous radioimmunoassay of seven steroids in human spermatic and peripheral venous blood. J. Clin. Endocrinol. Metab., 45, 16-24, 1977.
- 15) Fukutani, K., Isurugi, K., Ishida, H. and Yokoyama, M.: Effects of estrogens on the testosterone levels of peripheral and spermatic vein blood in patients with prostatic cancer. J. Urol., 122, 624-627, 1979.
- 16) Raboch, J. and Starka, L.: Hormonal testicular activity in men with a varicocele. Fertil. Steril., 22, 152-155, 1971.
- 17) Swerdloff, R. S. and Walsh, P. C.: Pituitary and gonadal hormones in patients with varicocele. Fertil. Steril., 26, 1006-1012, 1975.
- 18) Comhaire, F. and Vermeulen, A.: Plasma testosterone in patients with varicocele and sexual inadequacy. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40, 824-829, 1975.

Observations on the testosterone levels of peripheral and internal spermatic vein blood in patients with varicocele

**Makoto Hirokawa, Teruaki Iwamoto,
Hiroshi Fujii and Kazuhiko Sato**

Department of Urology, Fujisawa City Hospital
Kazuhiko Matsushita

Department of Pathology, Fujisawa City Hospital
Shigeo Asakura

Private Practice of Urology, Fujisawa

The secretion of an androgens by normal and varicocele testis was compared by determining the concentrations of the testosterone.

The concentrations of testosterone were measured in peripheral and internal spermatic venous plasma from 53 patients with varicocele. In 24.5% of the patients the peripheral testosterone concentrations were below 3.00 ng/ml. The level of testosterone in human internal spermatic vein blood varies from 3.0 to 950 ng/ml (Mean value $203.5 \pm SD187$ ng/ml). In 34% of the patients the internal spermatic testosterone concentrations were below 100 ng/ml. Most cases of the varicocele group had the spermatic vein testosterone to peripheral ratios lower than the normal group. There were significant differences in spermatic vein testosterone levels in the varicocele group when compared with the hernia control group. The internal spermatic testosterone concentrations were significantly decreased in patients with severe hypospermatogenesis.

These studies provide evidence that varicoceles could result in testicular disturbances which in turn affect the testosterone secretion by the Leydig cells.

(受付: 昭和56年1月30日)

AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の1例

A Case of Retrograde Ejaculation whose Wife Conceived by AIH.

千葉大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 島崎淳教授)

布施 秀 樹 皆 川 秀 夫
Hideki FUSE Hideo MINAGAWA

伊 藤 晴 夫 島 崎 淳
Haruo ITO Jun SHIMAZAKI

Department of Urology, School of Medicine, Chiba
University (Director: Prof. Jun Shimazaki)

36歳男子で、約10年前に椎間板ヘルニアの手術を受け、以後、orgasm に達するも、精液の射出をみない。masturbation 後、排尿させると最後に精液様のものが排出され、その精液検査では精子数 $86 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率4%であり、逆行性射精と診断した。Hotchkiss 法に準じて精液を採取し AIH を施行し3回目に妊娠に成功し、正常分娩にて成熟女児(体重3,170g)を出産し母子共に健在である。これは、本邦における妊娠成功例の第5例目と考えられる。
(Jap. J. Fert. Ster. 26(3), 280-283, 1981)

緒 言

不妊症の原因として逆行性射精の占める割合は、けつして多いものではない。しかし骨盤内手術、整形外科的手術、また交通事故あるいは降圧剤の使用等が増える傾向にあり、今後増加することが予想される。

我々も最近椎間板ヘルニア術後、逆行性射精をきたし AIH にて妊娠に成功し女児を得た1例を経験したので報告し若干の考察を行なった。

I. 症 例

並○国○ 36歳、男子、公務員

主訴、射精障害

家族歴、特記すべきことなし

既往歴、10年前に椎間板ヘルニアの手術

現病歴、椎間板ヘルニア術後、orgasm はあるが精液の射出をみないことに気付き、これを主訴に当科受診。排尿困難、尿失禁等の排尿障害はない。なお、妻は婦人科的に異常なし。

現症、身長168cm、体重57kg、乳房正常、恥毛男性型、陰莖、睾丸、副睾丸、精管、前立腺いずれも正常。神経

学的にも異常なし。

検査所見

血算、血液化学いずれも正常

尿所見 pH 6.0, 蛋白(-), 赤血球1/数視野, 白血球1/数視野

膀胱鏡所見

膀胱粘膜・尿管口正常であるが内尿道口が軽度開大し、Schramm 現象を認めた。

レ線所見

膀胱造影では頸部開大は認められないが、尿道造影では頸部の軽度開大を認める(図1, 2)。

膀胱内圧曲線

特に異常は認めず(図3)。

精液検査

masturbation 後、排尿させると最後の部分に精液様のものが排出され、その精液検査では、精液量2ml、精子数 $86 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率4%であった。

治療

内尿道口閉鎖に關与する交感神経賦活剤として imipramine 30mg を6週間内服させるも無効。60mgに増量して4週間内服させたがやはり効果がなかつた。

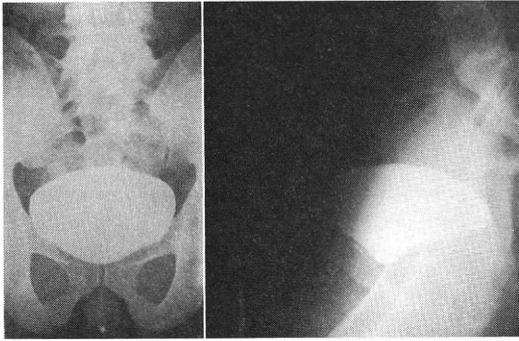


図 1

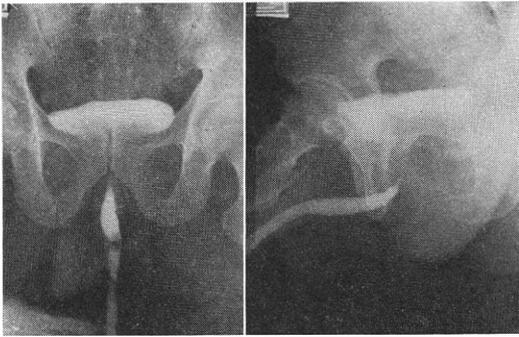


図 2

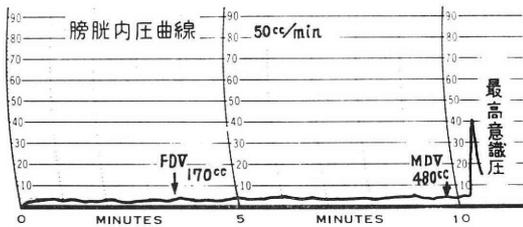


図 3

そこで配偶者間人工授精 (Artificial Insemination with Husband, AIH) を施行した。

AIH の方法と経過

妻の基礎体温、頸管粘液検査より排卵日を推定し、AIH 施行日を決定。夫に対しては、5日間の禁欲を命じ、当日は尿量減少目的のため早朝より水分摂取を制限させた。

Hotchkiss 法⁹⁾に準じて精液を採取すると精液量 1.3 ml, 精子数 $110 \times 10^6/\text{ml}$, 運動率62%であり、これを子宮腔内法にて AIH に使用した。

初回は失敗に終わったが、同じ方法にて3回目に妊娠に成功し経過順調で昭和55年11月18日正常分娩にて女兒(体重3,170g)を出産し2カ月を経た現在、母子ともに健康である。

II. 考 案

逆行性射精とは射精時、後部尿道に精液は排出されるが (Emission), 内尿道口に閉鎖不全があるため外尿道口より射出 (Ejaculation) されず、膀胱内に精液が逆流することを言う。

本症は1947年 Swaab により最初に報告されたが男子不妊症のなかで、これが原因となることは極めて稀である。

逆行性射精の原因として大きく分けて局所の器質的異常または、その支配神経の異常が挙げられる。前者の原因としては経尿道的前立腺切除術²⁾, 経尿道的膀胱頸部切除術³⁾などが挙げられる。

なお Rieser²⁾によれば、経尿道的前立腺切除術と経腹的剔除術を比較すると、前者のほうが高頻度に逆行性射精が生ずると報告している。

次に支配神経の異常をきたすものとして、胸腹部交感神経節切除術⁴⁾⁵⁾, 後腹膜リンパ節郭清術⁶⁾, 直腸癌の腹会陰手術等の骨盤内手術⁷⁾⁸⁾, diabetic neuropathy⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾などが挙げられる。

また、グアネシジン等の薬物による chemical sympathectomy など原因になりうる。

自験例は経腹的に椎間板ヘルニアの手術施行後に発症しており、その因果関係が考えられる。

射精現象は Emission, 内尿道口閉鎖, Ejaculation よりなる。

木村¹³⁾によれば Emission と内尿道口閉鎖は正常の骨盤神経支配下で下腹神経刺激によりおこり, Ejaculation は陰部神経と下腹神経が関与した反射運動と考えられている。

また犬の実験¹⁴⁾によると下腹神経の発する下腸間膜動脈神経叢にはいる中央線維群と側方線維群¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾のうち後者が、おもに内尿道口閉鎖に関与するという。以上のことより、ヒトと犬とを同一レベルでは考えられないが自験例は手術によつて下腹神経のうち内尿道口閉鎖に関与する線維に障害が及んだものと推定される。

本症の特徴的な所見として内視鏡的には精阜肥大, Schramm 現象, 後部尿道の炎症が認められ, 尿道膀胱造影では膀胱頸部開大像がみられる¹⁸⁾。

本症の治療法であるがブージー法¹⁹⁾, 硝酸銀注入法, 膀胱頸部縫縮術²⁰⁾²¹⁾²²⁾などによる成功例が報告されている。

また内尿道口閉鎖は α -Adrenergic receptor が関与している²³⁾²⁴⁾と言われていることより交感神経系賦活剤といわれる塩酸 Imipramine²⁵⁾や COMT 阻害剤²⁶⁾などが使用される。

表 1 逆行性射精の AIH による妊娠成功例 (本邦)

| No. | 報告者 | 年度 | 年齢 | 発症時期 | 尿道膀胱鏡所見 | 尿道膀胱レ線所見 |
|-----|-----|------|----|----------------|-------------------------|-------------|
| 1 | 白石 | 1971 | 30 | masturbation 後 | シュラーム現象, 精阜発赤浮腫 | 頸部やや開大? |
| 2 | 勝岡 | 1973 | 34 | masturbation 後 | シュラーム現象, 精阜肥大, 後部尿道発赤浮腫 | 頸部開大 |
| 3 | 熊本 | 1975 | 33 | 不明 | 不明 | 不明 |
| 4 | 田中 | 1978 | 28 | 不明 | 不明 | 不明 |
| 5 | 自験例 | 1980 | 36 | 椎間板ヘルニア術後 | シュラーム現象 | 尿道撮影で頸部やや開大 |

その他, 膀胱を充満させて立位にて射精すると順行性になることがあるという²⁷⁾. 簡便さゆえに, 試みても良い方法と考える.

次の方法としては AIH が施行される¹⁾²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾.

尿が精子運動性に悪影響を及ぼす³¹⁾と考えられているので, 精液採取の方法には工夫が必要である. その代表的なものとして, 本例にも応用した Hotchkiss 法¹⁾がある.

なお採取した精液を遠沈する方法もあるが Walter²⁹⁾らは, これは Motility を低下させることより静置後の沈渣使用を勧めている.

我々の症例では, 精子数 $86 \times 10^6/\text{ml}$ と十分な精子濃度であったこともあり遠沈を施行しなかつた.

本邦において AIH により妊娠に成功した例を挙げてみると, 我々の集計したかぎりでは表 1 の如く, 白石³¹⁾が最初に報告して以来, 自験例で 5 例目であった.

結 語

椎間板ヘルニア術後, 逆行性射精をきたした症例に AIH を施行し女兒を得たので報告し若干の文献的考察を加えた.

(本論文の要旨は第 25 回日本不妊学会総会にて発表した).

文 献

- Hotchkiss, R. S., Pinto, A. B., Kleegman, S.: Artificial insemination with semen recovered from the bladder. *Fertil. & Steril.* 6: 37, 1955.
- Rieser, C.: The etiology of retrograde ejaculation and a method for insemination. *Fertil. & Steril.* 12: 488, 1961.
- Ochsner, M. G., Burns, E. & Henry, H. H.: Incidence of retrograde ejaculation following bladder neck revision as a child. *J. Urol.* 104: 596, 1970.
- Rose, S. S.: An investigation into sterility after lumbar ganglionectomy. *Brit. Med. J.* 31: 247, 1953.
- Whitelaw, G. P. and Smithwick, R. H.:

Some secondary effects of sympathectomy with particular reference to disturbance of sexual function. *New Eng. J. Med.* 245, 121, 1951.

- Elliot, L. and Herbert, B.: Loss of ejaculation following bilateral retroperitoneal lymphadenectomy. *J. Urol.* 98: 375, 1967.
- Schellen, T. M. C. M.: A case of retrograde ejaculation caused by a colon operation. *Fertil. & Steril.* 11: 187, 1960.
- 白井将文, 松下鋤三郎, 一条貞敏, 竹内睦男, 佐々木桂一: 性生活調査成績, 第 III 報, 直腸, 結腸癌根治手術後の性生活, *日泌尿会誌*, 60: 508, 1969.
- Greene, L. F., Kelalis, P. P. and Weeks, R. E.: Retrograde ejaculation of semen due to diabetic neuropathy. *Fertil. & Steril.* 14: 617, 1963.
- Greene, L. F. and Kelalis, P. P.: Retrograde ejaculation of semen due to diabetic neuropathy. *J. Urol.* 98: 693, 1968.
- Ellenberg, M. and Weber, H.: Retrograde ejaculation in diabetic neuropathy. *Ann. Intern. Med.* 65: 1237, 1966.
- Bourne, R. B., Kretzschmar, W. A. and Esser, J. H.: Successful artificial insemination in a diabetic with retrograde ejaculation. *Fertil. & Steril.* 22: 275, 1971.
- 木村行雄: 射精の研究, 第 1 報, 射精と末梢支配神経について—後部尿道圧曲線を中心にして—, *日泌尿会誌*, 61, 284, 1970.
- 木村行雄: 射精のメカニズム, *臨泌*, 34: 103, 1980.
- Mizeres, N. J.: The anatomy of the autonomic nervous system in the dog. *Amer. J. Anat.* 96: 285, 1955.
- 春山千秋: 内臓神経に関する実験組織学的研究, 3. 胸腰神経前根切断時の内臓神経内有髄神経線維の変性追求, *福島医学雑誌*, 8: 683, 1958.
- 山家寿一, 鈴木麒一: 成犬両側大, 小内臓神経の有髄神経線維構成について, *福島医学雑誌*, 10: 651, 1960.
- 木村行雄, 安達国昭, 木崎 徳, 伊勢和久: 射精の研究, 第 7 報, 射精障害症例の検討, *日泌尿会誌*, 65: 218, 1974.
- 小川正見: 逆行性射精の 2 例, *日不妊会誌*, 11:

- 67, 1966.
- 20) 白井将文, 松下鉄三郎, 加賀山学, 一条貞敏, 竹内睦男, 佐々木桂一: 射精障害による男子不妊症, 日不妊会誌, 13: 84, 1968.
- 21) Abrahams, J. I., Solish, G. I., Boorjian, P. and Waterhouse, R. K.: The surgical correction of retrograde ejaculation. *J. Urol.* 114: 888, 1975.
- 22) Koraitum, M. and Al-Ghorab, M.: Normal ejaculation after Y-V urethrocystoplasty. *Brit. J. Urol.* 42: 464, 1970.
- 23) 安達国昭: 射精の研究, 第6報射精時における内尿道口の閉鎖の末梢機構について, 日泌尿会誌, 64: 484, 1973.
- 24) Kimura, Y., Miyata, K., Adachi, K. and Matsumura, S.: The role of alpha-adrenergic receptor mechanism in ejaculation. *Tohoku J. exp. Med.* 108: 337, 1972.
- 25) Brooks, M. E., Berezin, M. and Braf, Z.: Treatment of retrograde ejaculation with imipramine. *Urology*, 15: 353, 1980.
- 26) 安達国昭, 木村行雄, 木崎 徳, 伊勢和久: trihydroxypropiofenone 投与が著効を示した射精障害の2例, 臨泌, 28: 51, 1974.
- 27) Joan P. crich, A. I. M. L. S. and Anne M. Jequier, F. R. C. S., M. R. C. O. G.: Infertility in men with retrograde ejaculation: The action of urine on sperm motility. and a simple method for achieving antegrade ejaculation. *Fertil. & Steril.* 30: 572, 1978.
- 28) Fisher, I. C. & Coats, E. E.: Sterility due to retrograde ejaculation of semen. Report of pregnancy achieved by autoinsemination. *Obstet. & Gynec.* 4: 352, 1954.
- 29) Walters, D. & Kaufman, M. S.: Sterility

due to retrograde ejaculation of semen. Report of pregnancy achieved by autoinsemination. *Amer. J. Obstet. & Gynec.* 78: 274, 1959.

30) Calise, M.: Sterility due to retrograde ejaculation. *Int. J. Fertil.* 3: 320, 1958.

31) 白石祐逸, 須藤 進, 高村郁世, 石川登喜治: 逆行性射精の1例—配偶者間人工授精の成功例一, 臨泌, 25: 823, 1971.

A case of retrograde ejaculation whose wife conceived by AIH

**Hideki Fuse, Hideo Minagawa,
Haruo Ito and Jun Shimazaki**

Department of Urology, School of
Medicine, Chiba University
(Director: Prof. Jun Shimazaki)

A 36-year-old male complained of orgasm without ejaculation since he had underwent a transabdominal operation for intervertebral disc hernia ten years ago. The diagnosis of retrograde ejaculation was made as semen-like fluid, which had a sperm count of $86 \times 10^6/\text{ml}$ and motility of 4%, was identified in the terminal portion of urine obtained after masturbation.

His wife conceived after the third trial of AIH using the semen obtained by Hotchkiss method and delivered a mature baby girl weighing 3,170 g by normal delivery.

Mother and daughter are in good condition. In the Japanese literature this seems to be the fifth case whose wife became pregnant.

(受付: 昭和56年2月2日)

ナイロンファイバーによる精液濾過

Preparation of Sperm by the Filtration through Nylon Fiber Column

新潟大学産婦人科教室 (主任: 竹内正七教授)

須藤 寛人 古谷 元康
Norihito SUDO Motoyasu FURUYA

森田 和雄 三沢 芳夫
Kazuo MORITA Yoshio MISAWA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Shoshici Takeuchi)

射精ヒト精液をナイロンファイバーカラムに通過させる実験および遠心操作が精子回収に与える影響をみる実験を行い以下の結果を得た。

1. ナイロンファイバー 200mg をパスツールピペットに 5 cm になるように充填し、死滅精子が 100% の精液を通過させた時、精子の通過性は平均 4.2% であった。

2. 精子運動率が 50% 以上を示した検体をカラムに通過させた時、精子数の回収率は平均 42.8%、前進運動精子の上昇は平均 17.6% であった。

3. 精子運動率が 50% 以下の検体においては、精子回収率は平均 41.3%、前進運動精子の上昇は平均 24.3% であった。

4. 自然凝集精子塊は完全に除去された。

5. 奇形精子の除去は平均 11.2% であった。

6. 3,800回転 (734g)、5 分間の遠心による精子未回収量は平均 5.5% であり、沈査の再浮遊による精子運動率の低下は全く認められなかった。

以上のことより、Donor 精液より、自然凝集精子の混入しない、奇形精子数が少ない、そして精子運動率のより高い精液検体を、実験室において準備することができることが判った。血清精子不動化試験や血清精子凝集試験をはじめとするテストや“良好精子”を使用しなければならない各種の実験に応用できる可能性が示唆された。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 26(3), 284-289, 1981)

緒 言

著者らは、免疫と不妊症との関連性の検索にあたり、微量血清精子凝集試験、微量血清不動化試験を行ってきた¹⁾。この際、donor 精液の精液所見は良好であることが要求されており、一般には、精子数 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動率 60% 以上の精液検体を使用することが勧められている²⁾。特に、微量血清精子凝集試験においては、donor 精子の運動率の高低が、陽性陰性や抗体価を左右する因子になっていることを認めてきた。しかるに良好な精液所見を有する精液 donor を確保することは、實際上、

必ずしも容易ではない。

実験室的に、または臨床応用を目的とした“良好精子”を得るための各種方法がこれまでに発表されてきた。通常の遠心法のほか、精液静置法³⁾、精液に Buffer を重層する方法⁴⁾、Ficoll 液を用いる方法⁵⁾、各種薬物添加法^{6,7)}などを掲げることができる。

著者らは、Paulson and Polakoski^{8),9)} (1977) の glass fiber 法よりヒントを得て、精液を Nylon fiber column に通過させる実験を試みた。濾過された精液を濃縮するためには、遠心操作を必要とするので、遠心操作の精子回収率および精子運動率におよぼす影響につい

ても検討を加えた。

実験材料

実験に使用した器具は、市販のパスツールピペット(内径6mm,長さ11cm)の細い部分を切り捨てたものに、和光純薬工業のT・B細胞分離用のNylon fiberを充てんしたものである(写真1)。

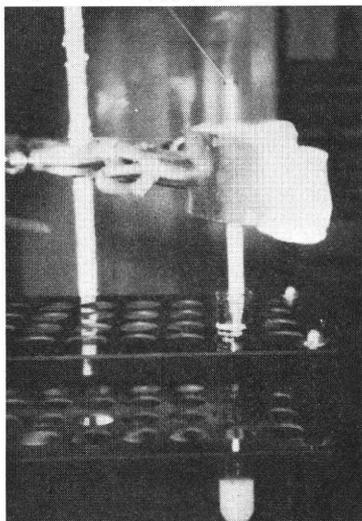


写真1 実験の手技

実験に使用した精液検体は、当院泌尿器科外来受診者の精液検査検体および当科不妊外来で AIH, AID に使用した残りの精液である。精液は、採取後45分から5時間までに実験に供された。実験に供した精液検体は70検体以上である。

精子運動率は、forward motility (以下 F.M.) と random motility (以下 R.M.) に分けて、通常の検鏡法にて算出した。自然精子凝集の程度は弱拡大にて検鏡し、凝集無し(-)、軽度凝集(+), 中等度凝集(++)、強度凝集(+++)と判定した。精子奇形率はギムザ染色後、油浸下で判定した¹⁰⁾。

遠心器は Kubota KC-70 を使用し、1,000rpm (=195g), 2,000rpm (=390g), 3,000rpm (=585g), 3,800rpm (=743g) であった。

実験結果

1) 予備実験

予備実験として、Nylon fiber の重量とカラムの長さを変えて精液の通過性を検討した。Nylon fiber 200mg を 2cm の長さに充てんすると、精液 1ml の通過に 30 分以上も要する検体のあること、また、5cm 以上に充てんすると、精液量の loss が 1ml 以上になることが

Table 1 Filtration of dead sperm
Nylon fiber 200 mg, column length 5 cm
Semen sample stored at 4° for 24 hrs.

| Samples / Observation | M | | K | | H | | T | | Average |
|--------------------------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|---------|
| | Before | After | Before | After | Before | After | Before | After | |
| Volume (ml) | 1.2 | 0.5 | 1.5 | 1.0 | 2.4 | 1.9 | 1.8 | 0.9 | |
| Density (×10 ⁶ /ml) | 82 | 4 | 150 | 4 | 49 | 2.4 | 163 | 5 | |
| Agglutination | ++ | - | ++ | - | + | - | ++ | - | |
| % of Passage | 4.9 | | 2.7 | | 4.9 | | 3.1 | | 4.2 |

Table 2 Improvement of motility after filtration
Semen sample; forward motility >50%
Nylon fiber 200 mg, column length 5 cm

| | Density (×10 ⁶ /ml) | | % Recovery | Forward motility (%) | | | Random motility (%) | | | Immotility (%) | | |
|---------|--------------------------------|-------|------------|----------------------|-------|------------|---------------------|-------|------------|----------------|-------|------------|
| | Before | After | | Before | After | % Increase | Before | After | % Increase | Before | After | % Increase |
| 1 | 17 | 12 | 70.6 | 62.7 | 86.7 | +24.0 | 12.0 | 11.4 | -0.6 | 25.3 | 1.9 | -24.3 |
| 2 | 23 | 8 | 34.8 | 57.8 | 74.5 | +16.7 | 9.3 | 9.1 | -0.2 | 32.9 | 16.4 | -16.5 |
| 3 | 128 | 31 | 24.2 | 73.0 | 96.0 | +23.0 | 0 | 0 | 0 | 27.0 | 4.0 | -23.4 |
| 4 | 94 | 30 | 31.9 | 85.0 | 90.0 | +5.0 | 10.0 | 7.7 | -2.3 | 5.0 | 2.3 | -2.7 |
| 5 | 128 | 67 | 52.3 | 73.0 | 92.5 | +19.5 | 0 | 0 | 0 | 27.0 | 7.5 | -19.5 |
| Average | | | 42.8 | | | +17.6 | | | -0.6 | | | -17.0 |

Table 3 Improvement of motility after filtration
Semen sample; forward motility <50%, > 15 %
Nylon fiber 200 mg, column length 5 cm

| | Density ($\times 10^6/ml$) | | | Forward motility (%) | | | Random motility (%) | | | Immotility (%) | | |
|---------|------------------------------|-------|------------|----------------------|-------|------------|---------------------|-------|------------|----------------|-------|------------|
| | Before | After | % Recovery | Before | After | % Increase | Before | After | % Increase | Before | After | % Increase |
| 1 | 39 | 8 | 20.5 | 28.4 | 60.3 | +31.9 | 6.0 | 14.9 | + 8.9 | 65.5 | 24.8 | -40.7 |
| 2 | 29 | 11 | 37.5 | 22.0 | 55.1 | +33.1 | 17.0 | 16.8 | - 0.2 | 61.0 | 28.0 | -33.0 |
| 3 | 32 | 14 | 43.8 | 35.0 | 46.0 | +11.0 | 4.0 | 23.0 | +19.0 | 61.0 | 31.0 | -30.0 |
| 4 | 43 | 20 | 46.5 | 43.0 | 59.0 | +16.0 | 23.0 | 29.0 | + 6.0 | 33.0 | 12.0 | -21.0 |
| 5 | 17 | 11 | 64.7 | 15.0 | 47.0 | +32.0 | 7.0 | 12.0 | + 5.0 | 77.0 | 42.0 | -35.0 |
| 6 | 28 | 13 | 46.4 | 20.2 | 62.3 | +42.1 | 18.5 | 18.9 | + 0.4 | 61.3 | 17.0 | -44.3 |
| 7 | 34 | 10 | 29.4 | 26.0 | 30.0 | + 4.0 | 16.0 | 36.0 | +20.0 | 59.0 | 34.0 | -25.0 |
| Average | 41.3 | | | +24.3 | | | + 8.4 | | | -32.7 | | |

Table 4 Loss of agglutinated sperm after filtration

| Criteria | No. of samples | |
|------------------------|----------------|-------|
| | Before | After |
| Strong agglutination | 4 | 0 |
| Moderate agglutination | 11 | 0 |
| Weak agglutination | 5 | 0 |

Table 5 Removal rate of abnormally morphologic sperm
Nylon fiber 200 mg, column length 5 cm

| Case No. Initial | % Abnormality | | Reduction rate | |
|---------------------|---------------|-------|----------------|-------|
| | Before | After | Crude | % |
| 1(K) | 20 | 5 | -15 | +75.0 |
| 2(S)* | 56 | 50 | - 6 | +10.7 |
| 3(I) | 43 | 9 | -34 | +79.1 |
| 4(N) | 38 | 15 | -23 | +60.5 |
| 5(I) | 11 | 7 | - 4 | +36.4 |
| 6(A) | 30 | 21 | - 9 | +30.0 |
| 7(S) | 29 | 23 | - 6 | +21.7 |
| 8(T) | 13 | 10 | - 3 | +23.1 |
| 9(M) | 15 | 16 | + 1 | - 6.7 |
| 10(N) | 52 | 41 | -11 | +21.2 |
| Average | | | -11.2 | +35.1 |

* Case of sever oligospermia

わかつた。Nylon fiber 100mg を 5cm に充てんした時と、200mg を 5cm に充てんした時の濾過された精子運動率を比較したところ、後者が常に優位であつた。以上のことより、実際上に取り扱い易いため、以下の実験系においては Nylon fiber 200mg を 5cm に充てんした時の成績について検討を加えた。

2) 死滅精子の通過性

精液検体を 4°C に 24時間静置し、100%死滅精子であることを確認した 4 検体をカラムに通過させたところ、精子の通過率は 2.7~4.9% 平均 4.2% であつた (表 1)。この時の精液未回収量は平均 0.65ml であつた。

3) 精子運動率 50% 以上の検体のカラム通過性

精子運動率が 50% 以上を示した 5 検体をカラムに通過させた時、精子数の回収率は 24.2%~70.6%、平均 42.8% であつた。F.M. の上昇は 5.0~24.0%、平均 17.6% であり、R.M. には変化が認められなかつた (表 2)。

4) 精子運動率 50% 以下、15% 以上の検体のカラム通過性

この criteria に入る 7 検体をカラムに通過させたところ、精子回収率は 20.5~64.7%、平均 41.3% であつた。F.M. の上昇は 4.0~33.1%、平均 24.3% で、R.M. の増加は -0.2~20.0%、平均 8.4% であり、これは平均 32.7% の不動精子の除去に相当した (表 3)。

5) 自然凝集精子の除去

各種程度に精子凝集の認められた 20 検体をカラムに通過させた観察では、全例の濾過後液において、精子凝集は皆無であつた (表 4)。

6) 奇形精子の除去

奇形精子の除去の検体を 10 検体の精液において行つた。奇形精子を全く除去できない検体もあつたが、34% の奇形率の減少をみた検体もあつた。平均は 11.2% の減少であり、これを奇形精子除去率でみると、それは平均 35.1% であつた (表 5)。形態学的にみると、頭部の膨大化した奇形精子が主に除去されることが分つた。

7) 遠心操作の精子回収率に及ぼす影響

遠心操作の精子回収率に及ぼす影響を 9 検体の精液について調べた。精液検体をまず 1,000rpm 5 分間遠心した上清における残存精子数を調べ、次に 2,000rpm、

Table 6 Effect of centrifugation to sperm collection

Centrifugation for 5 minutes

| Case | Residual sperm in supernatants (%) | | | |
|---------|------------------------------------|---------|---------|---------|
| | 1000rpm | 2000rpm | 3000rpm | 3800rpm |
| 1 | 56.7 | 41.8 | 29.9 | 10.4 |
| 2 | 91.9 | 50.0 | 7.1 | 5.4 |
| 3 | 48.8 | 45.0 | 17.5 | 8.8 |
| 4 | 6.5 | 1.1 | 0 | 0 |
| 5 | 47.2 | 26.4 | 12.5 | 5.6 |
| 6 | 83.7 | 23.3 | 16.3 | 9.3 |
| 7 | 47.4 | 31.6 | 15.8 | 5.3 |
| 8 | 53.3 | 28.2 | 4.2 | 1.4 |
| 9 | 32.8 | 29.9 | 11.9 | 3.0 |
| Average | 52.0 | 30.8 | 12.8 | 5.5 |

Testings were done 2 to 5 hours after semen collection.

3,000rpm, 3,800rpm にそれぞれ5分間遠心した時の上清中の精子残存数を調べた。残存精子数の平均値でみると、1,000rpm では52.0%, 2,000rpm では30.8%, 3,000rpm では12.8%, 3,800rpm では5.5%であった。これより、3,800rpm で5分間の遠心が最も良い精子回収率を示すことが分った(表6)。

8) 遠心操作の精子運動率に及ぼす影響

3,800回転, 5分間の遠心操作が精子運動率に及ぼす

Table 7 Effect of centrifugation to sperm motility
Centrifugation by 3800 rpm for 5 minutes

| Case | Sperm motility (%) | | Reduction % of motility |
|---------|--------------------|-------|-------------------------|
| | Before | After | |
| 1 | 46.0 | 49.1 | +3.1 |
| 2 | 68.0 | 73.3 | +5.0 |
| 3 | 49.0 | 45.9 | -3.1 |
| 4 | 58.0 | 58.2 | +0.2 |
| 5 | 57.1 | 52.5 | -4.6 |
| 6 | 41.4 | 40.0 | -1.4 |
| 7 | 48.0 | 43.4 | -4.7 |
| Average | | | -0.7 |

Testings were done 2 to 5 hours after semen collection.

* Residual volume were adjusted to 0.5 ml.

影響を7検体において調べたところ、全く運動率の低下をきたさないことがわかった(表7)。

9) 精液濾過と遠心操作を併用した時の結果

精液2~4ml をカラムに通過させ、得られた検体を直ちに3,800rpm, 5分間遠心した。遠心上清の精漿を捨て、残りの volume を0.2~0.5ml として沈澱精子を再浮遊させて、これにおける精子数, 精子運動率を測定した(表8)。原精液検体の運動率は32.3~75.0%, 平均48.1%であったが、処理後に得られた検体の精子運動率は61.8~90.4%, 平均75.4%であり、最低3.0%, 最

Table 8 Collection of "good quality semen" in laboratory

- 1) Nylon fiber 200 mg, column length 5 cm
- 2) Centrifugation at 3800 rpm for 5 minutes.
- 3) Condensation

| Case | original semen | | | After treatment | | | Increase of motile sperm | Recovery of motile sperm (%) | Minutes required for preparation |
|---------|----------------|---------------------------|--------------|-----------------|---------------------------|--------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| | Volume applied | Density ($\times 10^6$) | Motility (%) | Volume (ml) | Density ($\times 10^6$) | Motility (%) | | | |
| 1 | 4.0 | 56 | 68.0 | 0.5 | 35 | 89.0 | +21.0 | 10.2 | 25 |
| 2 | 3.0 | 102 | 44.1 | 0.5 | 28 | 63.2 | +19.1 | 6.6 | 30 |
| 3 | 2.0 | 22 | 39.2 | 0.2 | 48 | 61.8 | +22.6 | 34.3 | 25 |
| 4 | 2.0 | 80 | 75.0 | 0.5 | 110 | 85.4 | +10.4 | 39.1 | 35 |
| 5 | 3.0 | 36 | 44.3 | 0.5 | 30 | 90.4 | +46.1 | 28.4 | 130* |
| 6 | 3.0 | 58 | 35.3 | 0.5 | 126 | 81.2 | +45.9 | 83.4 | 30 |
| 7 | 3.0 | 76 | 59.5 | 0.2 | 265 | 62.5 | + 3.0 | 24.2 | 20 |
| 8 | 3.0 | 61 | 40.0 | 0.2 | 208 | 67.0 | +27.0 | 38.1 | 20 |
| 9 | 3.0 | 25 | 32.3 | 0.4 | 13 | 77.6 | +45.3 | 16.5 | 20 |
| 10 | 3.0 | 26 | 43.4 | 5.5 | 11 | 75.4 | +32.0 | 12.1 | 20 |
| Average | | | 48.1 | | | 75.4 | +27.3 | 38.5 | |

Testings were done 45 minutes to 3 hour after semen collection.

* Case of high viscosity sample.

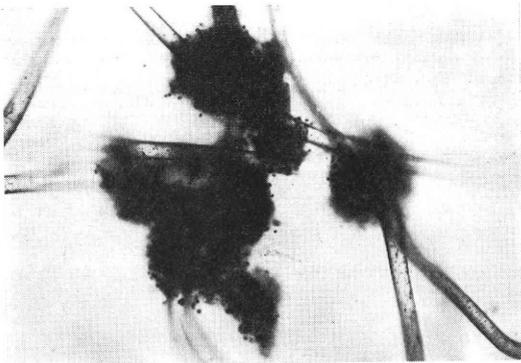


写真2 弱拡大における所見



写真3 強拡大における所見

高46.1%，平均27.3%の運動率の上昇として認められた。原精液検体の総運動精子数を100とすると、運動精子の回収率は6.6~83.4%，平均38.5%であった(表8)。

10) Nylon fiber column に残存した精子の検討

精液を Nylon fiber column に通過させた後、カラムより Nylon fiber をとりだし、トリパンプルー液を加えて検鏡した。染色された死滅精子が塊をなして Nylon fiber に付着している所見が観察された(写真2)。写真3にその強拡大を示した。

考 案

血清精子不動化試験や血清精子凝集試験において、donor 精液の運動率は高いことが良いと強調されている²⁾。その理由は2つあって、第1は精子運動率の高い精液検体は、抗原として質が良いこと、第2はテストにおいて判定がより正確にしかも簡単になることによると考えられる。著者らは、精子凝集試験において、donor 精液の精子運動率は陽性抗体価の高低に影響を与えることを報告したが⁷⁾、それは精子運動率が高いほど、精子

と精子の接触のチャンスが大きくなることによるためと理解している。

実験に使用するという目的で、80%以上の精子運動率をもつ精液を常時に得ることは必ずしも容易ではない。しかるに Paulson らは glass fiber を充てんしたカラムに原精液を通過させることによつて、平均98%の精子運動率を示す検体に変えることを報告した^{8,9)}。そこで今回、著者らは Nylon fiber を用いたらどうなるかという基礎的実験を試みた。

基礎実験において、Nylon fiber を密度の高いように強度に充てんすれば、100%運動精子を得ることは可能であった。しかし、著者らは回収された精子を次の実験に供するという目標があるため、回収時間を短時間にする必要があつた。この準備調整時間を20~30分程度とする時、Nylon fiber 200mg を5cm に充てんすることが適当であった。

濾過された検体の精子運動率は濾過前の検体に比しすべて高かつた。原精液の運動率が50%以下の検体群では精子運動率の上昇は平均24%、50%以上の検体群では平均17%であった。濾過前の自然精子凝集塊はすべての検体において、100%除去されていることがわかつた。奇形精子も平均して34%除去された。

遠心操作の影響を調べた実験では、3,800rpm 5分間が至適であり、この時の精子運動率の減少は認められなかつた。

これらの結果より、血清精子凝集試験を行う時の精液調整の際には、濾過法と遠心法を加えて得られた精液を使用した方がよいと示唆された。

死滅精子は Nylon fiber column をほとんど通過しないことがわかつたわけであるが、それがどのような理由によつてであるかは明確ではない。2つの写真で示したように、死滅精子が fiber fiber に積極的にあるいは能動的に付着しているような所見が得られた。

死滅精子は生存精子と異なつた細胞質膜の超形態学的変化をきたし、そのため fiber に付着するのではないかと考えている。

本実験において十分な検討がなされていない点のひとつに、用いた原精液の粘稠度を測定していないことが掲げられる。多くの実験は採液後2~5時間を経て行われたが、この時間で充分な精液の水様化(liquefaction)はなされたとみなしてよいであろう。しかし、表9に示した検体の如く、粘稠度が高く準備の時間に130分を要した例があつた。精液の粘稠性を客観的に容易に測定する一般的な方法はいまだないようである¹¹⁾。粘稠度は本実験に影響する factor であるとの考えの下で、これを今後の問題としたい。

本実験より派生した事項として、このようにして採取された運動精子を多量に含む調整精液を人工受精に応用できないかという問題である。乏精子症不妊に対する治療法として 2 分画法 AIH 法¹²⁾が確立されつつあるが、本実験を基とした別の新しい AIH 法を現在検討中である。

文 献

- 1) 須藤寛人, 森田和雄, 吉沢浩志, 高橋 威, 竹内正七: 原因不明不妊症患者における血清精子抗体の検索, 日産婦誌, 30: 685, 1978.
- 2) Rose, N. R., Hjort, T., Rümke, P., Harper, H. J. K. and Vyazov, O.: Techniques for detection of iso-and auto-antibodies to human spermatozoa. Clin. Exp. Immunol., 23: 175, 1976.
- 3) Friberg, J.: A simple and sensitive micro-method for demonstration of sperm agglutinating antibodies in serum from infertile men and women. Acta Obstet. Gynecol. (Suppl.) 36: 21, 1974.
- 4) Isojima, S. and Koyama, K.: Quantitative estimation of immobilizing antibody in the sera of sperm women with sterility of unknown etiology: the 50% sperm immobilization unit (SI 50). Excerpta Medica International Congress Series No. 370, p. 10, 1974.
- 5) 小林俊文: 人工受精周辺の精子妊孕性の評価, 第25回日不学会講演要旨, p. 100, 1980.
- 6) Schoenfeld, C., Amelar, R. D. and Dubin, L.: Stimulation of ejaculated human spermatozoa by caffeine. Fertil. Steril. 26: 158, 1975.
- 7) Schill, W. B.: Increased fructolysis of kallikrein-stimulated human spermatozoa. Andrologia. 7: 105: 1975.
- 8) Paulson, J. D. and Polakoski, K. L.: A glass wool column procedure for removing extraneous material from the human ejaculate. Fertil. Steril. 28: 178, 1977.
- 9) Paulson, J. D., Polakoski, K. and Leto, S.: Further characterization of glass wool column filtration of human semen. Fertil. Steril. 32: 125, 1979.
- 10) MacLeod, J.: The semen examination Clin. Obstet. Gynecol. 8: 115, 1965.
- 11) Wolf, D. P., Blasco, L., Khan, M. A. and Litt, M.: Human cervical mucus, I. Rheologic characteristics. Fertil. Steril. 28: 41, 1979.
- 12) Eliasson, R., Lindholmer, C.: Distribution and properties of spermatozoa in different fractions of split ejaculates. Fertil. Steril. 23: 252, 1972.

Preparation of sperm by the filtration through Nylon fiber column

**Norihito Sudo, Motoyasu Furuya,
Kazuo Morita and Yoshio Misawa**

Department of Obstetrics and Gynecology
Niigata University School of Medicine

(Director: Prof. Shoshichi Takeuchi)

The specimens of human ejaculated semen were filtrated through Nylon fiber column. Nylon fiber of 200 mg was softly packed into the pasteur pipette for 5 cm in length. The following results were obtained.

1. When semen with completely dead sperm were applied on the column, sperm filtration rate was found to be only 4.2% in average.

2. When semen with motility over 50% were used, the recovery of sperm was 42.8% in average and the increase of forward motility was 17.6% in average.

3. When semen with motility less than 50% were used, the recovery of sperm was 41.3% in average and the increase of forward motility was 24.3% in average.

4. When the filtrates were examined, the spontaneously agglutinated sperm were completely eliminated.

Another study was also carried out to see the effects of centrifugation on the sperm collection and sperm motility. The centrifugation at 3,800 rpm (743 g) for 5 minutes showed 5.5% loss of sperm and no observable loss of sperm motility in the resuspension of these pellets.

These results showed that Nylon fiber column and centrifugation at 3,800 rpm for 5 minutes was effective to prepare higher quality semen samples from donor materials, so that the semen samples thus prepared could be useful as a better antigens in the sperm immobilization test and sperm agglutination test in the laboratory.

(受付: 昭和56年3月3日)

Occult pregnancy に関する臨床的研究

Clinical Study of the Occult Pregnancy

旭川医科大学産婦人科学教室

石川 睦 男 有 賀 敏 山 下 幸 紀
Mutsuo ISHIKAWA Satoshi ARIGA Kohki YAMASHITA

山 崎 知 文 溝 口 久 富 清 水 哲 也
Tomofumi YAMAZAKI Hisatomi MIZOGUCHI Tetsuya SHIMIZU

Department of Obstetrics and Gynecology
Asahikawa Medical College

HCG の biological な測定法としての HCG-Radio-receptorassay (RRA) を用いて, occult pregnancy の本態を臨床的に試みた. 対象は, 不妊外来において 12 日以上高温を持続している 33 例に適宜採血を行い, HCG-RRA を 52 回測定した. 排卵時の LH-surge が 0.1IU/ml 以下であるため 0.2 IU/ml 以上を妊娠とした. (1) HMG, HCG 療法や clomid 療法の 6 周期に 18 日以上的高温相の延長を認めたが, HCG は 0.2 IU/ml 以下であり, prolonged luteal phase—非妊娠性脱落膜が確認された. (2) 妊娠を確認したものは, 33 例中 8 例で, 確認しえた日は高温相の 13 日目から 20 日目であった. (3) 8 例中に 2 例は, 高温 19 日目と 22 日目に性器出血を来し, 1 例は empty sac で villi が確認され, もう 1 例は villi はなかったが, 組織学的に subclinical abortion であった. HCG-RRA により, embryonic gonadotropin を測定して, occult pregnancy embryo を臨床的に確認し, preimplantation embryo の転帰を臨床的に明らかにした.

(*Jap. J. Fert. Ster.* 26(3), 290-294, 1981)

I 緒 言

妊娠成立以後の妊卵の転帰については, 生殖生理学上興味深いのが, preimplantation embryo の転帰については推測の域を出ない. Hertig¹⁾らは, 1956年に子宮全摘出術の際に 17 日齢の 34 個の受精卵を検討し, 10 例に重篤な受精卵の異常を認め, これらは妊娠のきわめて初期に流産に至るであろうと推測している. また一般には, 動物において, sheep, pig, rat, rabbit などに 15~16% の pregnancy wastage が確認されている.

Roberts²⁾らは, England と Wales の 20 歳から 29 歳の婦人の性交回数, 避妊を行なわない性交回数, 排卵周辺期における性交回数などから計算を行ない, 理論的には妊卵の 78% が reproductive wastage と考えている. これらの報告から, 臨床的には認めることのできない subclinical abortion や occult pregnancy がヒトには存在することが推測される. 事実, pilot study で Bloch³⁾

は, 基礎体温上で 12 日以下高温の続いた 37.5% に, 血中 LH の測定から occult pregnancy を報告している. しかし, この報告では, LH を測定しているため, 妊卵由来の biological な HCG を検出していないため, 正確な分析には至っていない. 今回, HCG の biological な測定法としての HCG-Radioreceptor Assay (RRA) を用いて, occult pregnancy の本態の臨床的解明を試みた.

II 対象および方法

対象は, 当科不妊外来において, 基礎体温上 12 日以上高温を持続している 33 例に適宜採血, 採尿を行ない, 血中ならびに尿中 HCG の測定を 52 回計測した. 血中 HCG は, Saxena により開発された bovine の corpus luteum の plasma membrane を HCG receptor とした Wampole Laboratories の BIOCEPT-G を使用した. HCG の standard は NIH の Division of

表 1 Pregnant group 6 cases/33 cases

| Patients | Treatments | Day of pregnancy | RRA | Hi-Gonavis | outcome of pregnancy |
|----------|-----------------|------------------|-----|------------|-------------------------------|
| 29y.o. | clomid+premarin | 17 | (+) | 128(+) | N.S.D. |
| 28y.o. | clomid | 20 | (+) | N. P. | D.&C. Subarachnoidal Bleeding |
| 31y.o. | CB-154 | 14 | (+) | N. P. | N.S.D. |
| 31y.o. | spontaneous | 13 | (+) | N. P. | ectopic pregnancy |
| 29y.o. | clomid+HCG | 20 | (+) | N. P. | Premature labor (31w) |
| 29y.o. | clomid | 7 | (+) | (-) | N.S.D. |

表 2 Prolonged luteal Phase

| HMG, HCG Treatment (Group I & II, WHO 1976) | | | | | |
|---|--------------------|-----|------------|---|--|
| Patients | Days of high phase | RRA | Hi-Gonavis | clinical status | |
| 26y.o. | 18 days | (-) | n.p. | vaginal bleeding from 18 day | |
| 30y.o. | 20 days | (-) | n.p. | vaginal bleeding from 20 day | |
| 27y.o. | 18 days | (-) | n.p. | vaginal bleeding from 18 day | |
| 29y.o. | 20 days | (-) | ×64(+) | vaginal bleeding from 31 day decidua like substance | |
| clomid, HCG Treatment | | | | | |
| 31y.o. | 18 days | (-) | n.p. | vaginal bleeding from 19 day | |
| 26y.o. | 21 days | (-) | ×64(+) | vaginal bleeding from 24 day no evidence of pregnancy | |

biogic standard の preparation A を使用した。排卵時の LH surge が 0.1IU/ml 以下であるため、この HCG RRA で 0.2IU/ml 以上を妊娠とした。尿中 HCG は HI-GONAVIS (MOCHIDA) を使用して、同時に測定を行なった。子宮内容物、ならびに流産と考えられる子宮内容物の組織検査をできる限り行ない、絨毛組織の確認を行なった。

III 成 績

1. 早期妊娠確認例

基礎体温上12日以上高温持続例33例中6例が妊娠であった。表1のごとく、clomiphene citarate 投与が4例、CB-154と自然妊娠が各々1例である。妊娠がHCG-RRA で確認された時点は高温の13日目より20日目である。最後の症例の Y.S. は高温の7日目のみの測定しか行っていないが、当然、この時点での HCG-RRA でも high Gonavis でも妊娠は確認されなかった。

2. 黄体期延長例

黄体期が16日以上延長している6例につき検討を試みた。WHO⁹⁾ の分類で group I ならびに II に対して、Gonadotropin 療法を行なった4例と clomiphene citarate 療法を行なった2例である(表2)。HCG-RRA

では6例とも妊娠は確認されなかったが、2例に HI-GO-NAVIS で64倍まで陽性になった。症例 A.M. は高温相の21日目で HCG-RRA は妊娠が確認されなかったが、HI-GONAVIS 64倍陽性であった。高温24日目に性器出血を来し、子宮内容清掃術を施行した。病理組織では、妊娠性変化はなかった。症例 H.E. は group I で HMG, HCG 療法で排卵がなく、clomid 投与に加えて、HMG, HCG 療法を行なった。高温相20日目に HCG-RRA は妊娠が確認されなかったが、HI-GONAVIS は64倍陽性であった(図1)。以後、経過を観察していたが、高温31日目に性器出血を来し、子宮内容清掃術を施行した。子宮内容物の病理組織では、間質細胞は腫大し、類円形を呈する脱落膜様の変化を示してはいるが、白井⁵⁾の提唱する非妊娠性脱落膜であった(図2)。

3. Occult pregnancy

Occult pregnancy と考えられる症例が33例中2例発見された(表3)。おのおの高温相9日目と20日に HCG-RRA で妊娠を確認された。症例 M.H. は、自然した例で、高温相20日目に HCG-RRA で妊娠を確認に妊娠され、HI-GONAVIS でも64倍まで陽性であった(図3)。しかし、高温相22日目に性器出血を来し、子宮内容物に empty sac を確認した。染色体分析のため、

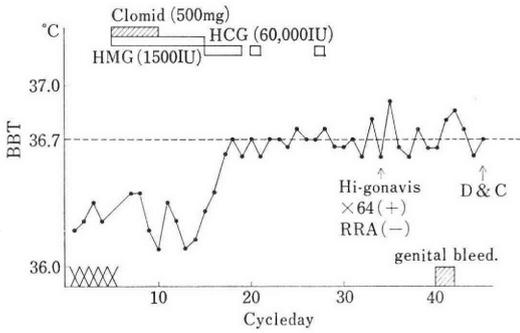


図1 29y.o.

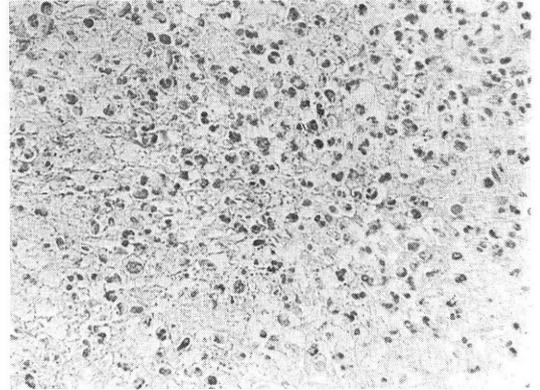


図2 症例 29y.o. の高温31日目の子宮内膜組織像

表3 Subclinical abortion 2 cases

| Patients | Treatment | Day of Pregnancy | RRA | Hi-Gonavis | Day of abortion |
|----------|-------------|------------------|-----|------------|----------------------------|
| 28 y.o. | spontaneous | 20 days | (+) | ×64(+) | 22 days empty sac |
| 34 y.o. | clomid | 9 days | (+) | n.p. | 19 days subclinal abortion |

n.p. 施行せず

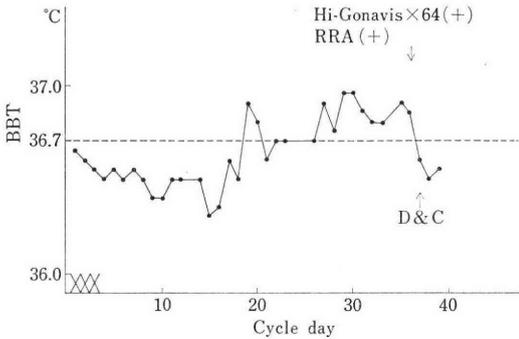


図3 28y.o.

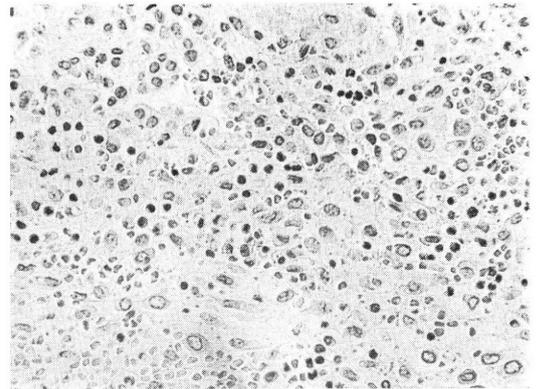


図5 症例 28y.o. の高温19日目の子宮内膜組織像

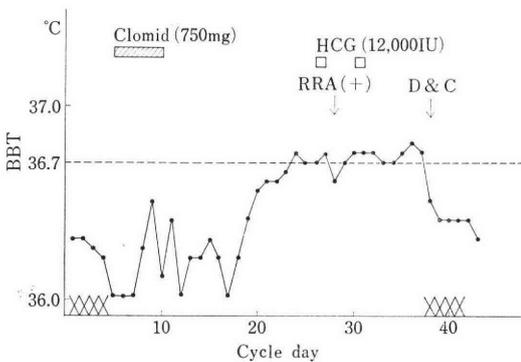


図4 34y.o.

組織培養を行なつたが、contamination のため染色体不成功に終つた。症例 K.K. は, clomid 1日150mg 5日間, 全量750mgを投与し, 高温相にHCGを2回分析は12000IU投与した。高温相9日目にHCG-RRAを行ない, 妊娠を確認した(図4)。

しかし, 高温相19日目に性器出血を来し, 子宮内容清掃術を施行した。病理組織学的には, 出血および白血球浸潤をともなう間質細胞の腫大, 膨化が著明であり, 絨毛は認められなかつたが, 妊娠の存在していたことが強く示唆され, subclinal abortion とした (図5)。

IV 考 案

現在まで、preimplantation embryo の転帰の報告では、Bloch が基礎体温で12日以上持続した例に、LH の測定を行ない、37.5%に occult pregnancy があつたというのが最初の報告である。この報告では、LH の測定を行なっていないため、embryonic gonadotropin を測定していないため、正確な分析とはいえない。Rosal & Saxena⁶⁾らによつて開発された HCG, RRA は HCG の感度が良いため、受精の8日から10日の間に妊娠を確認することができる報告されている。今回我々は、高温度が12日以上持続している例において、HCG-RRA を用いて高温相13日から20日の間に6例の妊娠を確認した。また高温相が16日以上延長している例においても、HCG-RRA が陰性なものでは、妊娠は確認されなかつた。これらの症例は白井の提唱する非妊娠性脱落膜があることが確認された。さらに高温9日目と22日目に、HCG-RRA が陽性で、各々高温相22日と19日目に性器出血を来した例において組織学的に妊娠を確認し、occult pregnancy の存在を臨床的に明らかにした。

Occult pregnancy の存在に関して、Chartier⁷⁾は、147例の不妊婦人の321cycle について血中の LH-HCG ならびに HCG の β -subunit 測定した。

71例に高温の10から14日の間に HCG の値から妊娠を確認した。また LH-HCG が高く、正常の月経を終了している72cycle のうち、HCG の β -subunit が4mIU 以上の例が19例存在し、妊娠90例中(21%)の spontaneous menstrual abortion を報告した。

また Landesman と Saxena⁸⁾は、HCG の radio receptor assay を利用して、IUD を挿入している婦人で正常の月経を示めている婦人48例について、HCG-RRA で HCG の存在がみられた症例が23例であり、そのうち18例に RIA でも HCG の存在が確認された。このことから、IUD 使用者の中には、blastocyst が着床せず、subclinical abortion に至るものがあることを示唆している。

現在まで、preimplantation の転帰についての臨床的研究は、このように極めて少ない。今回の HCG-RRA を用いて臨床的に明らかにした occult pregnancy の症例につき、現在までの少数の文献と比較検討として報告した。今後、HCG-RRA や HCG の β -subunit の RIA を用いて臨床症例を注意深く観察することにより、preimplantation embryo の転帰につきより詳細な成績を得ることが可能であろう。

本論文の一部は第32回日本産婦人科学会総会(東京、昭和55年5月)ならびに、第25回不妊学会総会(宇部、昭和55年10月)に発表した。

参 考 文 献

- 1) Hertig, A. T., Rock, J. & Adams, E. C.: A description of 34 human ova within the first 17 days of development, *Am. J. Anat.* 98, 435, 1956.
- 2) Roberts, C. J. & Lowe, C. R.: Where have all the conceptions gone? *Lancet*, I (No.7905), 498, 1975.
- 3) Bloch, S. K.: Occult pregnancy, *Obstet. Gynec.* 48:365, 1976.
- 4) Lunenfeld, B., et al.: WHO Consultation on diagnosis and treatment of endocrine forms of female infertility, WHO, 1976.
- 5) 白井英一郎: HMG・HCG 療法における副作用としての非妊娠脱落膜, *日本不妊学会誌*, 24(2):156, 1979.
- 6) Rosal, T. R., Saxena, B. B. & Landesman, R.: Application of a RRA of HCG in the diagnosis of early abortion, *Fert. Steril.* 26(11):1105, 1975.
- 7) Chartier, M., et al.: Measurement of plasma hcg and β -hcg activities in the late luteal phase: evidence of the occurrence of spontaneous menstrual abortions in infertile women: *Fert. Steril.* 31(2):134, 1979.
- 8) Landesman, R. & Saxena, B. B.: Results of the first radioreceptorassays for determination: A new, rapid, reliable and sensitive pregnancy test, *Fert. Steril.* 27(4):357, 1976.

Clinical study of the occult pregnancy

Mutsuo Ishikawa, Satoshi Ariga,
Kohki Yamashita, Tomofumi Yamazaki,
Hisatomi Mizoguchi and Tetsuya Shimizu

Department of Obstetrics and Gynecology
Asahikawa Medical College

The incidence of pregnancy in the human is quoted as being in the range of 25% per cycle. It has been suggested that other pregnancies may occur but about too for clinical diagnosis. Plasma human chorionic gonadotropin (HCG) was measured by radioreceptorassay (RRA) during luteal phase in 52 cycles in 33 infertile women. In 6 cases, the HCG-RRA measurement permitted the diagnosis of pregnancy between the 13th and 20th day after thermal nadir. 8 cases with prolonged luteal phase (≥ 16 days)

ended by apparently normal menses. Among 8 cases, significant HCG activity (≥ 0.2 IU/ml) was detected in 2 cases. This finding supports that subclinical abortions (Occult pregnancy) had oc-

curred in these women. The clinical significance of this finding is discussed.

(受付: 昭和56年1月21日)

多嚢胞卵巣の内視鏡下小手術法による排卵効果

Endoscopic Ovarian Wedge Resection in Patients with Polycystic Ovary

東邦大学医学部産婦人科学教室

小島 栄吉 西田 修二 平川 舜
Eikichi KOJIMA Shuji NISHIDA Shun HIRAKAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, Toho University School of Medicine

排卵障害患者のうち臨床像および内分泌学的検査より多嚢胞卵巣 (polycystic ovary: PCO と略) が推定された症例に内視鏡検査 (クルドスコピー, ラパロスコピー) を行い, 内視鏡分類および生検組織診により PCO と判定された症例を retrospective に検討し, 以下の成績をえた。

1. 組織学的所見および内分泌学的諸検査 (LH, FSH 基礎分泌値, LH-RH テスト, 血中テストステロン値, ゴナドトロピン負荷試験) は, PCO の診断基準を満足する。

2. PCO の診断基準を満足する卵巣形態群は, 第1度無月経, 持続性無排卵周期症, 散発性無排卵周期症に分布した。

3. 内視鏡下小手術後の排卵効果および妊娠率 [() 内の数字は症例数]

- 1) クロミフェン無効, 第1度無月経群 (9)
術後排卵率: 77.8% (7/9)
妊娠率: 55.6% (5/9)
- 2) クロミフェン有効*, 第1度無月経群 (7)
術後排卵率: 85.7% (6/7)
妊娠率: 85.7% (6/7)
- 3) クロミフェン無効, 持続性無排卵周期症群 (6)
術後排卵率: 66.7% (4/6)
妊娠率: 66.7% (4/6)
- 4) クロミフェン有効*, 持続性無排卵周期症群 (17)
術後排卵率: 88.9% (14/17)
妊娠率: 52.9% (9/17)
- 5) 散発性無排卵周期症群 (18)
妊娠率: 50% (9/18)

以上, 内視鏡下小手術の排卵, 妊娠率は, 開腹による楔状切除 (以下, 楔切と略) 術後の成績に近似する。

4. クロミフェン有効群において, 長期のクロミフェン療法にもかかわらず, 妊娠の成立しない症例では, 内視鏡下小手術の奏効することが実証された。

5. 内視鏡下小手術手技の限界より卵巣組織の切除量は, 術後の排卵誘発成績とは相関せず, PCO の楔切術による排卵奏効機序は, mechanical 説, Locus minoris 説に近いことが示唆された。

* クロミフェン有効でありながら, 内視鏡検査を施行した症例で, クロミフェン投与開始後1年以上を経過し, その間, クロミフェン投与が9クールに達して, 排卵あり, ないしは見掛け上の排卵ありと判定されていて, 妊娠の成立しない群である。

緒 言

PCOS は、卵巣被膜下に多数の小嚢胞（閉鎖卵胞）を並列する特異な形態をもち、その内分泌動態も特徴的である。また、無排卵から不妊を主訴とするが、妊孕性が高いことなどより無排卵症の中でも進行型病変を示す特異な位置づけがされている症候群である。

PCOS に対する楔切術は、諸家の報告にみるように術後排卵および妊孕成績が良好なことから、本症候のすぐれた治療法であることは衆目の一致するところである。

しかし、本療法の排卵奏効機序に関しては、いまだ統一見解のえられていないのが現状である。

今回、著者らは昭和52年度厚生省特定疾患ステロイド産生異常症調査研究班（班長井林・倉智）において設定された PCOS の診断基準に基づいて、本症と診断された症例を対象に、内視鏡操作というきわめて限定された条件下での卵巣表層への小手術を施行し、術後の排卵効果および妊孕成績について検討した。さらに PCO の診断基準を満足する症例で、クロミフェンの投与により排卵周期と判定されながら妊娠の成立しない症例についても同様の検討を行った。

対 象

昭和52年1月より昭和53年3月迄に当科不妊外来を訪れた排卵障害患者のうち、その内分泌機能を PCOS の診断基準に照らして比検討後、PCO の内視鏡分類^{1,2)}に基づき、PCO と診断された症例を対象とした。臨床分類では第1度無月経15名、持続性無排卵周期症20名、散発性無排卵周期症18名であった。無排卵周期は、基礎体温表上、松本³⁾の分類に準じ、V型、VI型群とした。連続して3周期排卵の認められなかつた群を持続性無排卵周期症とし、3周期以内で、排卵周期のある群を散発性無排卵周期症とした。

方 法

1. PCOS の診断基準

厚生省特定疾患ステロイドホルモン産生異常症調査研究班（班長井林・倉智）により設定された PCOS に関する診断基準の手引きを以下に示す。

スタイン・レーベンタール症候群 (Stein-Leventhal syndrome) および多嚢胞卵巣症候群 (polycystic ovary syndrome) の診断手引

1) 臨床症状

- ① 無月経 (60日以上)
- ② 不妊

- ③ 機能性出血又は持続性無排卵周期症 (3カ月以上)

- ④ 多毛

- ⑤ 男性化徴候 (陰核肥大その他)

- ⑥ 肥満

2) 治療的診断法

第1度無月経でクロミフェン (+HCG) 療法3クール以上を行つても排卵の認められないもの。

3) 内分泌検査所見

- ① 血中 LH が比較的高値 (20~50mIU/ml) で、FSH は正常範囲又は低値。
- ② 血中テストステロンの上昇 (>0.6ng/ml)
- ③ HMG 225IU 宛3日間注射後第6日目の尿中総エストロゲンが過剰増加反応 (150 μ g/day 以上)
- ④ デキサメサゾン 4mg 宛5日間内服後の尿中 11-deoxy-17-KS 高値 (>600 μ g/day)

4) 卵巣の形態 (内視鏡所見を含む)

① 肉眼所見

- (a) 新鮮黄体の欠如
- (b) 卵巣白膜の肥厚
- (c) 卵巣の腫大 (ほぼ正常大~鷲卵大)
- (d) 嚢胞状腫大卵胞の白膜下並列

② 組織所見

- (a) 内茨膜細胞層の肥厚・増殖
- (b) 間質の増生と間質細胞のルテイン化

[厚生省特定疾患、ステロイドホルモン産生異常症調査研究班、診断の手引 (倉智ら)]

2. 内分泌機能検査

LH-RH テストは、合成 LH-RH 100 μ g 静注法により、血中 LH, FSH 測定は2抗体法 radioimmunoassay により第一ラジオアイソトープ研究所, LH, FSH キットを使用した。負荷時期は原則として月経または消退出血より14日目とした。デキサメサゾン副腎抑制-HMG 卵巣刺激試験は倉智ら⁴⁾の方法に準じた。尿中エストロゲン測定は Brown-神戸川変法⁵⁾により、血中テストステロン値測定は R.I.A. によつた。

3. PCO の内視鏡分類

卵巣の表面性状、とくに卵胞を中心とした所見、すなわち、その進行度を指標とした grading による形態的分類である^{1,2)}。

grade I: 卵巣表面に隆起した小嚢胞を有する卵巣で柔らかな外観を呈し、大きさはほぼ正常大である (写真1)。

grade II: 表面性状は一部に隆起した小嚢胞を有し、表層下の嚢胞透視が可能であり、oyster 様外観を呈す

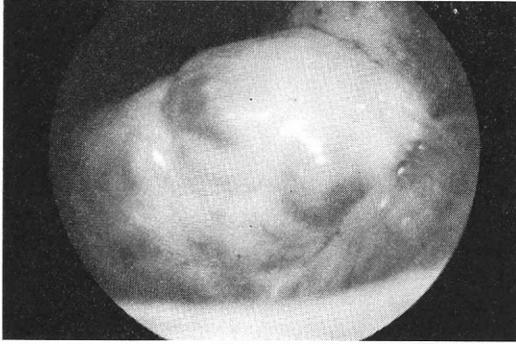


写真 1

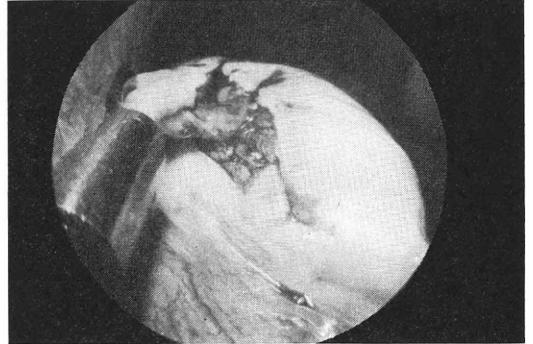


写真 4

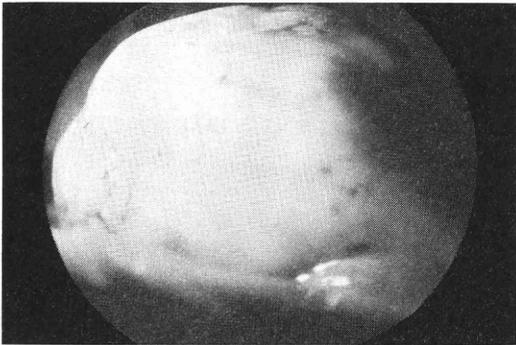


写真 2

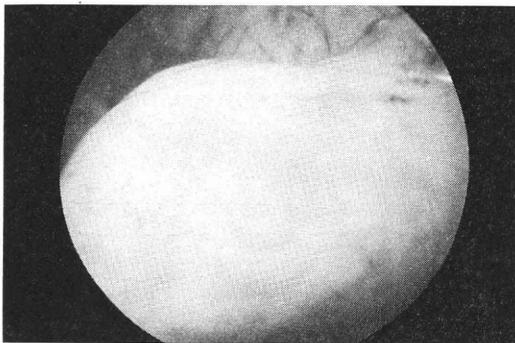


写真 3

るものから、血管分布をその表面に認めるものまであり、表面色調も pearly white grey を呈し、やや腫大～中等度腫大した形態を示す(写真2)。

grade III: PCO の中で最も進行した卵巣群でその表面は平滑で隆起した卵胞を欠き、いくつかの嚢胞は透視可能であるが、表面色調は特徴的な pearly white の光沢をもち、硬い外観を呈する群で、正常大～やや腫大傾向を示す(写真3)。

4. 内視鏡装置

スコープ: view field 90° クルドスコープ(町田製作所製), 65° ラパロスコープ(Wolf 社製)。

generator: 町田 RX-300G, Wolf# RIWO LP 5104 を使用した。

5. 生検操作

2 孔式手術法により採取した生検組織片にヘマトキシリン・エオジン重染色を行い、組織学的検索を行った。

6. 内視鏡下小手術法

麻酔法はケタミン持続点滴法、または modified neuroleptanalgesia (mNLA)) によつた⁶⁾。

スコープ直視下での forceps による操作には若干のコツを要する。forceps による卵巣表面の切開部位は、基本的には開腹による楔切術に準ずる。すなわち、解剖学的位置関係を考慮して卵巣の長軸に該当する内視鏡下に観察される卵巣の遊離縁に沿つて、forceps により徐々に白膜を把持、切除し、順次この操作をくり返して、さらに卵巣実質に切除範囲を掘り下げていく(写真4)。この際、卵巣門に近づくと卵巣動脈を損傷し、危険な出血を惹起するので注意を要する。もちろん、切開部の縫合は不可能故、若干出血は持続するがとくに出血に伴う副症状はおこらない。

この際、電気メスを使用すると切開創からの出血はほとんど認められないが、術後の排卵成績が不良であるので好しくない。

創部感染を防止するため、抗生剤を投与の上術後2週間は性交を禁止する。

成 績

1. 年齢分布

原発不妊では、27歳から31歳に高頻度に分布する。続発不妊については一定の傾向は認められない。平均年齢は29.4歳である。

2. 不妊期間

原発不妊では、3年の15例をピークとし、2年から7年の間に分布し、続発不妊では2年から13年不妊と分布は広く、平均4.1年である。

3. 臨床症状(表1)

表 1 症状と徴候

| | 第 1 度 無月経 | 持続性 無排卵 周期症 | 散発性 無排卵 周期症 | 合 計 |
|-------|--------------|-------------------|-------------------|-----|
| 肥 満 | 1 | 2 | 1 | 4 |
| 痤 瘡 | 3 | 2 | 1 | 6 |
| 多 毛 | 2 | 4 | 2 | 8 |
| 男性化徴候 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 不 妊 | 16 | 23 | 18 | 57 |

表 1 に示すごとく、肥満は第 1 度無月経 1 例、持続性無排卵周期症 2 例、散発性無排卵周期症 1 例、合計 4 例。痤瘡は第 1 度無月経 3 例、持続性無排卵周期症 2 例、散発性無排卵周期症 1 例、合計 6 例。多毛は第 1 度無月経 2 例、持続性無排卵周期症 4 例、散発性無排卵周期症 2 例、合計 8 例に認められた。男性化徴候を伴った、いわゆる Stein-Leventhal 症候群は 1 例も見られなかった。

4. クロミフェンテスト (表 4)

第 1 度無月経 16 例中クロミフェン無効 9 例、有効 (排卵の誘発された症例、または見かけ上、排卵したと考えられる症例) 7 例である。持続性無排卵周期症 23 例中クロミフェン無効 6 例、有効 17 例である。散発性無排卵周期症は 18 例全例がクロミフェン有効であった。

5. 対象症例の内分泌検査所見

検査値はすべて内視鏡下小手術前の値を示す。

1) 血中 LH 基礎分泌値 (図 1)

第 1 度無月経の血中 LH 基礎分泌値は 16.5~49mIU/ml (29.3±11.1)、持続性無排卵周期症で 12.5~54mIU/ml (31.0±13.9)、散発性無排卵周期症では 12.0~53.5 mIU/ml (28.6±11.5) にそれぞれ分布する。これら 3

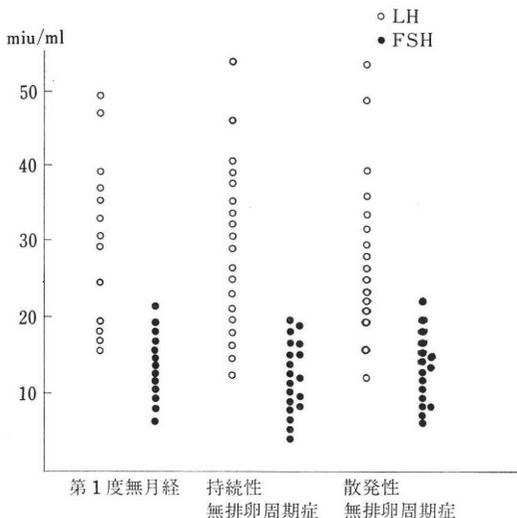


図 1 LH・FSH の基礎分泌値

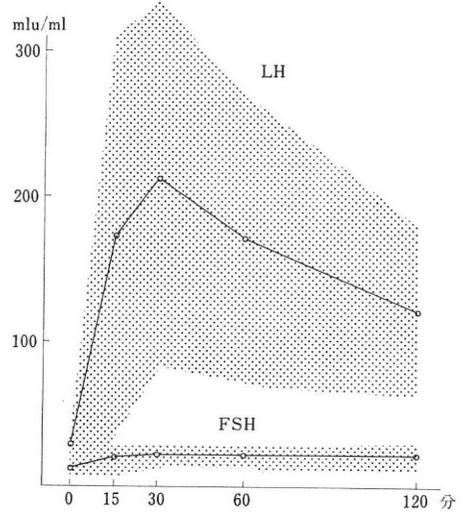


図 2 第 1 度無月経 : LH-RH テスト

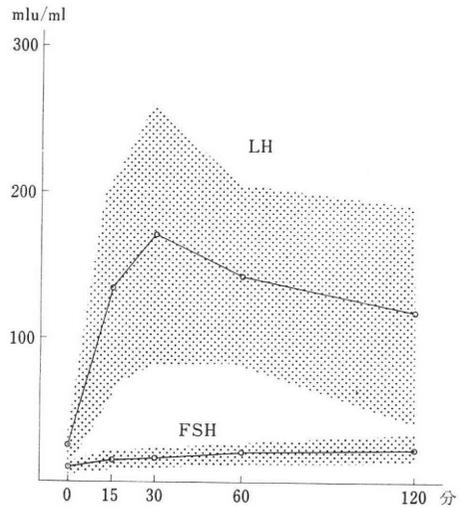


図 3 持続性無排卵周期症 : LH-RH テスト

群に分布上の有意差は認めず、いずれも PCO の診断基準値 20~50mIU/ml をほぼ満足している。

2) 血中 FSH 基礎分泌値 (図 1)

第 1 度無月経の FSH 基礎分泌値は 6.6~21.5mIU/ml (12.5±4.6)、持続性無排卵周期症では 4.2~19.0mIU/ml (11.8±4.5)、散発性無排卵周期症では、6.0~22.5 mIU/ml (13.2±4.4) にそれぞれ分布し、これら 3 群に分布上の有意差はない。いずれも PCO 診断基準にある FSH 正常範囲の条件を満足している。

3) LH-RH テスト (図, 2, 3, 4)

第 1 度無月経、持続性無排卵周期症、散発性無排卵周期症ともに、LH の反応性は hyper-good (PCO 型) から normo-good (視床下部障害型) に分布する。一方

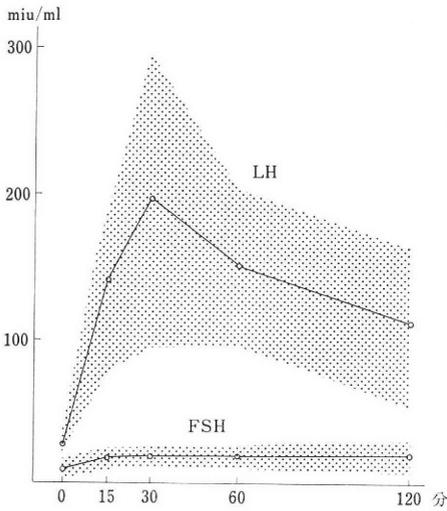


図4 散発性無排卵周期症：LH-RH テスト

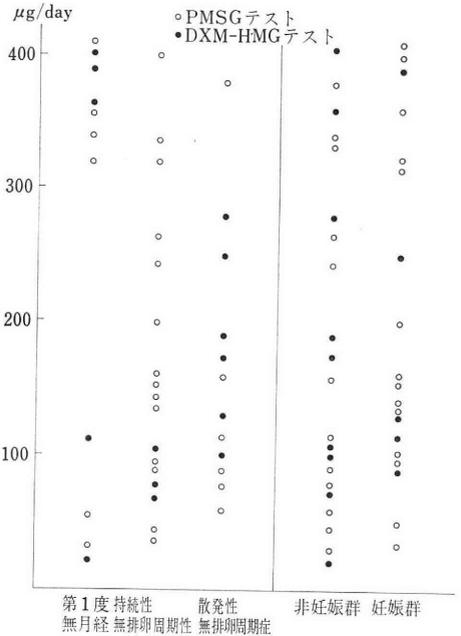


図6 ゴナドトロピン刺激テスト

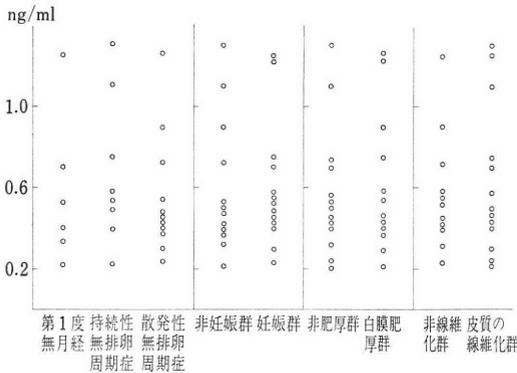


図5 血中テストステロン値

FSH の反応性は正常範囲内にある。

4) 血中テストステロン値 (図5)

① 臨床分類と血中テストステロン値

第1度無月経では0.2~0.6ng/mlの正常範囲に4例、他の2例はそれぞれ0.7, 1.25ng/mlのやや高値を示した(0.58±0.36 ng/ml)。持続性無排卵周期症では、正常範囲に5例、3例はやや高値の0.75, 1.1, 1.3ng/mlに分布する(0.68±0.34ng/ml)。散発性無排卵周期症では、8例が正常範囲にあり、3例が0.72, 0.9, 1.26ng/mlとやや高値に分布する(0.56±0.30ng/ml)。これらの分布は正常域からやや高値の範囲であり、3群の間に分布上の有意差は認められない。

② 白膜の肥厚および皮質の線維化と血中テストステロン値

白膜の肥厚および皮質の線維化の有無と血中テストステロン値との間には、有意の相関は認められない。

③ 妊娠成立症例の血中テストステロン値

術後妊娠成立症例と非妊娠症例との間に、術前の血中テストステロン値の有意差は認められない。

5) ゴナドトロピン負荷試験 (図6)

① 臨床分類とゴナドトロピン負荷試験

第1度無月経では、尿中エストロゲン値が300µg/dayを越える過剰反応を示す症例が7例存在し、2例は正常範囲(40~150µg/day)、他の2例は低反応(40µg/day以下)を示した(254.5±161.5µg/day)。持続性無排卵周期症の尿中エストロゲン値は、過剰反応域の400µg/dayから、低反応の35µg/dayまでの間にほぼ均等に分布している(169.2±108.7µg/day)。散発性無排卵周期症の尿中エストロゲン値は150µg/day以上の過剰反応が6例、他の6例は正常範囲である(167.3±95.1µg/day)。

② 妊娠症例とゴナドトロピン負荷試験

妊娠成立症例、非妊娠例ともに正常域から過剰反応を示すものまで広く分布しており、妊娠例202.7±125.4µg/day、非妊娠例183.2±126.3µg/dayのごとく、両群の間に有意差は認められない。

6. 生検組織像 (表2)

内視鏡操作による技術的限界により、常に満足する組織量を採取することは必ずしも可能ではない。第1度無月経11例、持続性無排卵周期症13例、散発性無排卵周期症14例を検討の対象とした。白膜の肥厚(79%)、皮質の線維化(84%)は高率に観察しうるが、Luteinizationの(66%)発現頻度は若干低下し、hyperthecosisは、さらに低下し、42%の頻度にとどまった。臨床分類別に

表 2 臨床分類と生検組織像

| | 白膜肥厚 | 皮質の 線維化 | lutein- ization | hyper- thecosis |
|----------------------|------|------------|--------------------|--------------------|
| 第1度無月経 11例 | 8 | 9 | 8 | 5 |
| 持続性 無排卵周期症 13例 | 10 | 11 | 8 | 4 |
| 散発性 無排卵周期症 14例 | 12 | 12 | 9 | 7 |

表 3 臨床分類と内視鏡当教室による grading

| | | gd. I | gd. II | gd. III | その他 |
|----------------------|----|-------|--------|---------|-----|
| 第1度無月経 16例 | 両側 | 0 | 13 | 1 | 0 |
| | 片側 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 持続性 無排卵周期症 23例 | 両側 | 0 | 17 | 0 | 0 |
| | 片側 | 3 | 5 | 1 | 3 |
| 散発性 無排卵周期症 18例 | 両側 | 0 | 8 | 0 | 0 |
| | 片側 | 6 | 8 | 0 | 6 |

見た発生頻度には差が見られなかった。

7. 内視鏡診断基準による PCO の進行分類と偏在性 PCO の存在について

西田¹⁾、平川ら²⁾による PCO の内視鏡診断基準に従い、PCO を gd I, gd II, gd III に分類した (表 3)。

第1度無月経では、16例中14例が両側性であり、そのうち13例は gd II, 1例は gd III である。残りの2例は grading に左右差を認めた。1例は、右卵巣が gd II, 左卵巣が gd III であり、他の1例は左卵巣が gd I, 右卵巣は normotype であつた。

持続性無排卵周期症では23例中17例が gd II の両側性である。残りの6例は grading に左右差を認めた。片側が gd II である5例中2例は他側が gd I であり、1例は他側が gd III, 1例は他側に endometriosis を認め、他の1例は単角子宮ための欠損であつた。残りの1例は片側が gd I であり、他側は normotype であつた。

散発性無排卵周期症では18例中8例に gd II の PCO を両側に認めたが、残りの10例には grading の左右差が見られた。左右差を認めた10例中、8例は片側が gd II であり、このうち4例は、他側が gd I, 2例は、他側が endometriosis, 他の2例は normo-type である。残り10例中2例は片側が gd I であり、他側が normo-type である。

8. 内視鏡下小手術による排卵効果と妊娠率

対象例中クロミフェン有効でありながら内視鏡を施行した症例はクロミフェン投与開始後1年以上を経過し、その間クロミフェン投与が9クールに達し、排卵ないしは見かけ上の排卵を認めながら妊娠の成立しない症例である。

1) 第1度無月経

① 術前クロミフェン無効群

術前クロミフェン無効例は9例存在し、内視鏡下小手術施行後、自然排卵を認めた例は2例、クロミフェン併用により排卵した例は5例、術後も排卵を誘発できなかった例は2例である。したがって内視鏡下小手術は9例中7例すなわち77.8%に有効であつた。妊娠移行は、術後自然排卵周期を回復した2例およびクロミフェン併用により、排卵、妊娠した3例の計5例、55.6%である (表4)。

表 4 内視鏡下小手術による排卵効果

| | 術前クロミフェン効果 | ク ル ド ス コ ピ ー | クルドスコーピー小手術効果 | | | |
|----------------------|------------|---------------------------------|---------------|-------------------|-----|-----------------|
| | | | 有 効* | 有 効** (クロミフェン) | 無 効 | 妊 娠 率 |
| 第1度無月経 16例 | 無 効 9 | | 2 | 5 | 2 | 5/9 (55.6%) |
| | 有 効 7 | | 4 | 2 | 1 | 6/7 (85.7%) |
| 持続性 無排卵周期症 23例 | 無 効 6 | | 2 | 2 | 2 | 4/6 (66.7%) |
| | 有 効 17 | | 6 | 8 | 3 | 9/17 (52.9%) |
| 散発性 無排卵周期症 18例 | 有 効 18 | | 7 | 11 | 0 | 9/18 (50%) |

* 自然排卵周期回復 ** BBT 改善例

② 術前クロミフェン有効群

術前クロミフェン有効 7 例中 4 例は、内視鏡下小手術施行により自然排卵周期を回復し、2 例はクロミフェン併用によよ BBT 上の改善を見た。術後もクロミフェン併用により BBT 上に変化を認めなかつた 1 例を除き、7 例中 6 例 85.7% に妊娠移行をみた。

2) 持続性無排卵周期症

① 術前クロミフェン無効群

術前クロミフェン無効 6 例中、内視鏡下小手術施行により、自然排卵周期回復例は 2 例、クロミフェン併用により排卵した例は 2 例、術後も排卵を誘発できなかつた例は 2 例である。妊娠移行は、内視鏡下小手術有効の 4 例で、妊娠率は 66.7% である。

② 術前クロミフェン有効群

術前クロミフェン有効 17 例中 6 例は内視鏡下小手術後、自然排卵周期を回復し、8 例はクロミフェン併用により、BBT の改善をみた。3 例は術後に改善を認めなかつた。自然排卵周期を回復した 6 例およびクロミフェン併用により改善のみられた症例より 3 例、計 9 例、52.9% の妊娠率を示した。

3) 散発性無排卵周期症

対象 18 例中 7 例は、術後に無排卵周期をみずに妊娠に移行した。他の 11 例は無排卵周期を認め、クロミフェン投与により 2 例が妊娠成立した。

9. 内視鏡下小手術施行より妊娠成立までの期間

1) 臨床分類別妊娠成立期間 (図 7)

① 第 1 度無月経

術後 1 周期 (手術施行の次周期) より 7 周期までの間に 8 例、10、11、12 周期に各 1 例の計 11 例が妊娠に成功した。

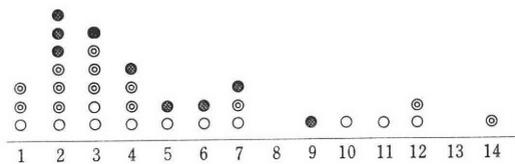


図 7 臨床分類別妊娠成立期間

- 第 1 度無月経
- ◎ 持続性無排卵周期症
- 散発性無排卵周期症

② 持続性無排卵周期症

術後 4 周期までに 10 例、7、12、14 周期に各 1 例の計 13 例が妊娠した。

③ 散発性無排卵周期症

術後 2 周期に 3 例、3、4、5、6、7、9 周期に各 1 例の計 9 例が妊娠した。

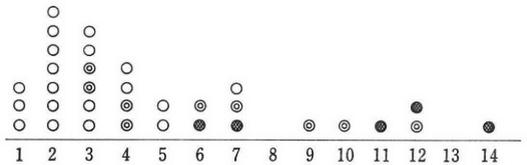


図 8 内視鏡下小手術施行より妊娠成立までの期間

- 内視鏡下小手術のみ
- ◎ 内視鏡下小手術+clomiphene
- 内視鏡下小手術+clomiphene+HCG

2) 内視鏡下小手術およびプロミフェン併用による妊娠成立期間 (図 8)

内視鏡下小手術操作のみで妊娠の成立した症例は、術後 1 周期: 3 例、2 周期: 7 例、3 周期: 4 例、4、5 周期各 2 例、7 周期: 1 例の計 19 例である。術後クロミフェン併用から妊娠した症例は 3 周期: 2 例、4 周期: 2 例、6、7、9、10、12 周期に各 1 例の計 9 例である。さらにクロミフェン+HCG で妊娠した症例は 6、7、11、12、14 周期に各 1 例、計 5 例である。

考 案

クロミフェンの無効な PCO

臨床症状より PCOS を推定し、方法の項に呈示した診断基準を満足した症例の中で楔切術の適応となる対象は、第 1 度無月経、クロミフェン無効例である。しかし、クロミフェン無効の PCO は内視鏡所見から無排卵周期症の一部にも存在することが確認されている⁷⁾。

以上の対象群は、教室の内視鏡分類では gdII に該当する症例が多い¹⁾。

クロミフェンの有効な PCO

クロミフェンの有効な PCO についての報告は多く、Stein-Leventhal⁹⁾は PCO の臨床症状を呈する症例中に機能性出血、月経困難症、さらには 2 相性の基礎体温を示す症例も存在するとし、Greenblatt⁹⁾は Stein-Leventhal 症候群 22 例中 18 例に、Zarate¹⁰⁾も 46 例中 40 例に、田中は 19 例中 11 例にをれぞれクロミフェンを投与して排卵を誘発したことを報告している。著者ら¹¹⁾も機能性出血、無排卵周期症、クロミフェンの有効な第 1 度無月経に PCO の分布することを報告した。

多嚢胞変性は正常卵巣の一部から機能性出血、無排卵周期症、第 1 度無月経に分布する事実より、青野ら¹²⁾は形態的变化のみを本症の診断根拠とすると、排卵のある症例も入ってくることを指摘している。

いずれにしてもクロミフェンの有効な PCO は排卵から妊娠が成立すれば、たとえ確定診断が下らなくとも臨床上の問題はおこらない。

飯塚ら¹³⁾は、HCG、クロミフェンを長期間にわたって投与された症例が PCO 化する可能性を報告しているが、今回、著者らも無排卵周期症、第1度無月経でクロミフェン9クール以上、治療経過1年以上を越えている24症例を内視鏡検査の対象として抽出した。これらの症例は、クロミフェン無効の診断基準以外はすべて PCO のそれを満たす症例である。すなわちクロミフェン投与により BBT 等から排卵周期と判定されている。内視鏡分類では PCO gd. II (教室分類) が大半を占め、一部に片側性の PCO が認められた。片側性 PCO の存在については、Adelusi¹⁴⁾、Siegler¹⁵⁾、林ら¹⁶⁾も報告しており、また Dignam¹⁷⁾は片側性 PCO の血中テストステロン値は正常婦人より有意に高いが、両側性 PCO 婦人よりは低値であることをのべている。すなわち、片側性 PCO はやがて両側性 PCO に移行する過程の卵巣形態群と考えられる。

PCOS の内視鏡分類である西田¹⁾、平川ら²⁾の分類は、本症を grading (進行度) にしたがって分類したもので、排卵障害のていどによく相関する。すなわち、散発性無排卵周期症では第1度無月経に存在する PCO に比較して初期段階のものが多く、また片側性 PCO や grading の左右差をみるなどの現象は、PCO が進行病変であることを示唆する所見である。

PCO の臨床症状を呈しながらクロミフェン有効というところで看過しているうちに、妊娠成立までに思わぬ期間を費やす症例が存在すること、またついには妊娠未成立のまま経過する症例に遭遇することを妊娠の成績の項で触れる。

青野ら¹²⁾はクロミフェンが妊娠に結びつきにくい原因の一つとして、BBT が2相性を示しても真の排卵ではなく閉鎖卵胞の黄体化による BBT の上昇が含まれることを指摘している。

また、Marik¹⁸⁾、佐藤ら¹⁹⁾、金子ら²⁰⁾により報告されている黄体形成があるため BBT は2相性を呈しながら、排卵の証しである stigma の観察されない Luteinized unruptured follicle syndrome も類似症候として興味深い。

以上の症候は、卵巣形態の観察、可能ならばその組織診断なくしては確定診断は困難である。この問題は平川ら^{2,11)}、Paldi²¹⁾の提唱するごとく内視鏡の導入により容易に解決できる。

PCO に対する内視鏡下小手術法の歴史的背景

PCO に対する内視鏡下小手術法施行の発端は、卵巣組織の生検操作後に排卵が惹起される現象の発見にある。

教室の西田¹⁾はクルドスコーピーにより、Sutton²²⁾、

Fayez²³⁾はいずれもラパロスコーピーによる生検操作後の排卵および妊娠成立現象について報告している。

西田¹⁾は PCO の forceps による生検操作をさらに拡大し、小手術法にまで発展させたことにより、術後の排卵成績が飛躍的に上昇した成績をのべている。

クロミフェン無効 PCO に対する内視鏡下小手術法の排卵効果

内視鏡下小手術法によりクロミフェン無効であつた PCO 中、第1度無月経9例中5例 (55.6%)、持続性無排卵周期症6例中4例 (66.7%) の妊娠を経験した。これらの成績は第1度無月経の PCO を対象とした開腹による楔切術の妊娠率60~80%に匹敵する良好な成績である。

倉智ら⁴⁾は PCOS における排卵の奏効機序について、楔切により血中エストロゲン、アンドロゲンが急激に低下し、これが間脳・下垂体系に negative feedback 作用を発揮して下垂体からのゴナドトロピン分泌を誘起すると考えられてきたが、最近 Yen²⁴⁾が手術により自然排卵が誘発された PCOS の各種血中ホルモンを調べた結果、術後テストステロン、アンドロステンジオンは著明に減少し、エストロゲンも減少傾向を示すにもかかわらず、術前高値を示す LH は術後も不変のまま排卵に移行している事実を報告したことから、楔切の効果は従来の考え方は大きく相違して、卵巣内におこつた局所レベルの変化が排卵機能の回復に結びつくものと考えざるをえないことを指摘している。

一方、著者らの内視鏡下小手術法による排卵効果の事実からは、(1) 楔切量は必ずしも術後排卵誘発の必須因子ではない。(2) 方法の項にのべた内視鏡下小手術の限界からすれば、楔切による排卵奏効機序は、肥厚白膜除去という mechanical 説 (Stein⁸⁾)、抵抗減弱ないしは Locus minoris 説 (中村ら²⁵⁾) を裏付ける現象と考えられる。

またこの際電気メスを用いると術後の排卵成績が低下することをのべたが、その理由は、切開部組織の熱凝固による壊死をおこす際に切開部周辺に分布する卵胞も同時に壊死に陥るためと考えられる。すなわち、この現象からも楔切部に並列する卵胞から術後に形成される Locus minoris を通じて排卵される可能性が推定される。

術前クロミフェン無効例で内視鏡下小手術法施行後クロミフェン有効となる症例

術前クロミフェンに反応しない PCO が開腹による楔切後クロミフェンに反応する症例が Zarate¹⁰⁾、楠田ら²⁶⁾により報告されている。

著者らの成績でも、第1度無月経クロミフェン無効9

例中内視鏡下小手術施行後クロミフェンにより排卵の誘発された症例 5 例を経験した。そのうち妊娠に移行した症例は 3 例である。また、クロミフェン無効無排卵周期症 6 例中、術後クロミフェンによる排卵効果のえられた症例は 2 例あり、2 例とも妊娠が成立した。

第 1 度無月経、無排卵周期症はクロミフェンによる排卵成績が良好な対象群であることは周知の事実である。しかし長期にわたってクロミフェン・クールを施行しながら、なかなか妊娠の成立しない症例も少なからず経験する。かような対象群中に相当数の PCO が存在することを銘記すべきである。

術前クロミフェン有効と判定されながら妊娠の成立しない症例の治療法

クロミフェン投与開始後 1 年以上を経過し、その間クロミフェン投与が 9クール以上に達した症例で、排卵あり、ないしは BBT 等により見掛け上排卵ありと判定されながら妊娠が成立しない症例を対象とした。

クロミフェン有効第 1 度無月経 7 例中、内視鏡下小手術施行後自然排卵周期を回復した症例は 4 例、術後クロミフェン投与で BBT の改善をみた症例は 2 例で、6 例とも妊娠が成立した。一方、クロミフェン有効無排卵周期症 17 例中、術後自然排卵周期を回復した症例は 6 例、術後クロミフェン投与により BBT の改善をみた症例は 8 例である。妊娠率は 17 例中 9 例 (52.9%) を示した。これらの成績は、従来報告されている開腹による楔切後の妊娠率に近似する治療成績である。

以上の良好な妊娠率から、内視鏡下小手術が奏効していることは否定できないが、この操作が排卵を誘発し妊娠を成立させる機序、および術後クロミフェン併用による真の排卵が誘発され妊娠が成就する機序については不明である。

かような症例に対して、本小手術法がきわめて有効な治療法であり、今後の治療方針における一つの方向性を実証したが、同様の対象例に開腹による楔切術を試みることは多くの問題が残される。しかし、当教室で施行している内視鏡施行スケジュールでは、卵巣の形態観察にひきつづいて生検、小手術操作を 15~20 分間で終了し、すべての操作を 1 日入院で処理しているので、この問題も比較的容易に解決している。

内視鏡下小手術法施行後の妊娠例

第 1 度無月経、無排卵周期症、術前クロミフェン無効、有効を問わず内視鏡下小手術後自然排卵周期を回復した症例が全例妊娠に至ったことは、はなはだ興味深い現象である。術後クロミフェン併用で妊娠した症例も既述したごとく相当数存在するが、自然排卵周期回復例に比較して妊娠率が低いのは、前述のクロミフェンが妊娠

に結びつきにくい原因によるものと考えられる。

内視鏡下小手術施行後妊娠成立までの期間

楔切後初排卵までの期間は、Yen ら²⁴⁾によれば 60% (6/8) が 13~25 日間におきるとし、楠田²⁵⁾も 65% (30/46) が術後 30 日以内におこることを報告している。一方、開腹による楔切後妊娠成立に至る期間は 6 周期以内とする報告が多い。

今回、著者らの内視鏡下小手術後における妊娠成立期間は、7 周期以内 : 79.2% (19/24)、4 周期以内 : 62.5% (15/24) である。これらの術後妊娠率は開腹による楔切後の成績に匹敵する。

4 周期以内に妊娠した 15 例中 10 例 (66.7%) が無排卵周期症であることは、過去の長いクロミフェンによる治療歴からみても、本操作法がすぐれた排卵誘発法であると同時に、第 1 度無月経に分布する PCO より進行度の軽いと考えられる無排卵周期症に分布する PCO も、排卵誘発を目的とした楔切の適応であることの証左と考える。

術後自然排卵周期を回復し妊娠に至った症例は 5 周期以内に局限し、全例の 50% (12/24) を占め、手術操作のみから妊娠した症例は、術後の短期間に集中しているのが特徴的である。術後クロミフェン併用で妊娠した症例は術後 3、4 周期にも存在するが、7 周期を越えた群にも分布する。

以上の成績より、術後自然排卵周期を回復した症例では、3 周期までは静観してよいが、それまでに妊娠が成立しない場合には、クロミフェンないしはクロミフェン + HCG を併用し積極的に排卵誘発することが望ましい。

白膜の肥厚度と血中テストステロン値および妊娠率との関係

Scott²⁷⁾がサルにテストステロンを投与し白膜の肥厚現象がおこることを報告して以来、白膜の肥厚、皮質の線維化は androgen dominant であることが定説化しているが、今回の対象症例中では両者間に有意の相関はえられなかった。

白膜の肥厚度について術後妊娠例と非妊娠例を比較検討したが有意の相関はない。術後における排卵の奏効機序が Locus minoris によるとすれば、肥厚度は必ずしも術後の排卵、ひいては妊娠成立に相関する因子とならない可能性も考えられる。

(病理組織について御指導をいただいた、第 1 病理学教室秋間道男助教授、一森繁生博士、産婦人科学教室大村剛博士に感謝致します。本研究の要旨は第 23 回日本不妊学会総会、9th World Congress of Gynecology and Obstetrics. (Tokyo) および、10th World Congress on Fertility and Sterility. (Madrid) に発表した。

文 献

- 1) 西田修二：クルドスコーピー手技による卵巣の形態的分類とその排卵効果—とくに多嚢胞性卵巣について—, 日不妊会誌, 20 : 251, 1975.
- 2) 平川 舜, 西田修二, 久保春海, 小島栄吉, 田中政信, 秋間道男, 一森繁生：多嚢胞性卵巣症候群の診断における内視鏡の意義, 厚生省特定疾患「ステロイドホルモン産生異常症」調査研究班, 昭和52年度研究報告書, 159, 1978.
- 3) 松本清一：基礎体温, 産婦人科治療, 5 : 139, 1962.
- 4) 倉智敬一, 宮崎正敏：あすへの産婦人科展望, 154, 金原出版, 1976.
- 5) 神戸川明：尿中 Estrogen の化学的測定に関する基礎的研究, 日内分泌誌, 37 : 807, 1961.
- 6) 小島栄吉：クルドスコーピー施行時の呼吸循環動態に関する研究, 日不妊会誌, 26 : 95, 1981.
- 7) 小島栄吉, 西田修二, 平川 舜：無排卵周期症に分布する多嚢胞性卵巣, 日不妊会誌, 23 : 592, 1978.
- 8) Stein, I. F. and Leventhal, M. L.: Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 29 : 181, 1935.
- 9) Greenblatt, R. B., Roy, S. and Mahesh, V. B.: Induction of ovulation, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 84 : 900, 1962.
- 10) Zárate, A., Hernández-Ayup, S. and Rios-Montiel, A.: Treatment of anovulation in the Stein-Leventhal syndrome, analysis of 90 cases, *Fertil. Steril.* 22 : 188, 1971.
- 11) 平川 舜, 西田修二, 小島栄吉：多嚢胞卵巣における内視鏡下小手術による排卵効果, 厚生省特定疾患「ステロイドホルモン産生異常症」調査研究班, 昭和53年度研究報告書, 226, 1979.
- 12) 青野敏博, 宮崎正敏, 三宅 侃, 衣笠隆之, 倉智敬一：多嚢胞卵巣症候群の病態生理と治療, 産婦人科, 30 : 47, 1976.
- 13) 飯塚理八, 中村幸雄, 清水謙一, 黒川博厚, 川村尚道：多嚢胞性卵巣—主としてゴナドトロピン動態を中心として, ホルモンと臨床, 22 : 803, 1974.
- 14) Adelus, B., Aimakhu, V. E. and Wright, E. A.: Polycystic ovaries, Presentation and response to wedge resection, *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 14 : 232, 1976.
- 15) Siegler, A. M. and Brooklyn, N. Y.: A unilateral ovary with polycystic disease, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 64 : 431, 1952.
- 16) 林 基之, 西田修二, 柴田直秀, 平川 舜：多嚢胞性卵巣の内視鏡所見, ホルモンと臨床, 22 : 797, 1974.
- 17) Dignam, W. J., Pion, R. J., Lamb, E. J. and Simmer, H. H.: Plasma androgens in women, II. Patients with polycystic ovaries and hirsutism, *Acta Endocrinologica*, 45 : 254, 1964.
- 18) Marik, J. and Hulka, J.: Luteinized unruptured follicle syndrome : A subtle cause of infertility, *Fertil. Steril.* 29 : 270, 1978.
- 19) 佐藤和雄：排卵におけるプロスタグランディンの意義, 日産婦誌, 31 : 975, 1979.
- 20) 金子慶賛, 小島栄吉, 西田修二, 大村 剛, 平川舜：Luteinized unruptured follicle の内分泌動態と内視鏡形態, 日産婦誌, 32 : 1351, 1980.
- 21) Paldi, E., Timor-Tritsch, I., Brandes, J. M., Peretz, A., Abramovici, H. and Fuchs, K.: Operative culdoscopy as treatment for the polycystic ovary, *Int. J. Fertil.* 17 : 109, 1972.
- 22) Sutton, C.: The limitations of laparoscopic ovarian biopsy, *J. Obst. Gyne. Brit. Common.* 81 : 317, 1974.
- 23) Fayez, J. A. and Jonas, H. S.: Assessment of the role of laparoscopic ovarian biopsy, *Obstet. Gynecol.* 48 : 397, 1976.
- 24) Yen, S. S. C., Vela, P. and Rankin, J.: Inappropriate secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in polycystic ovarian disease, *J. Clin. Endocr. Metab.* 30 : 435, 1970.
- 25) 中村幸雄, 清水謙一, 川村尚道：多嚢胞性卵巣症候群 (PCO), 産婦人科の世界, 27 : 604, 1975.
- 26) 楠田雅彦：多嚢胞卵巣と不妊症, 産婦人科治療, 38 : 35, 1979.
- 27) Scott, R. B.: Thickening of the ovarian tunica, Effect of its production artificially upon ovulation in monkeys, *Fertil. Steril.* 7 : 44, 1956.

Endoscopic ovarian wedge resection in patients with polycystic ovary

Eikichi Kojima, Shuji Nishida and Shun Hirakawa

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

A retrospective study has been made on those who were diagnosed endoscopically as polycystic ovary (PCO) with the following results :

1. Histological findings and endocrinological status (basal levels of LH and FSH, LH-RH tests, serum testosterone levels and gonadotropin stimulation tests) satisfied the diagnostic criteria of PCO. The data so obtained could not rule out the difference among first grade amenorrhea and anovulatory cycle. The presence of PCO has been elucidated from the above results not only in the first grade amenorrhea

group non-responsive to clomiphene, but also in the anovulatory cycle group.

2. Ovulation-inducing effect after a minor operation made with the aid of endoscopy and pregnancy rate.

1) First grade amenorrhea group non-responsive to clomiphene (9 cases)

postoperative ovulation rate: 77.8% (7/9)

pregnancy rate: 55.5% (5/9)

2) First grade amenorrhea group responsive to clomiphene (7 cases)

Postoperative ovulation rate: 85.7% (6/7)

Pregnancy rate: 85.7% (6/7)

3) Anovulatory cycle group non-responsive to clomiphene (6 cases)

Postoperative ovulation rate: 66.7% (4/6)

Pregnancy rate: 66.7% (4/6)

4) Anovulatory cycle group responsive to clomiphene (17 cases)

Postoperative ovulation rate: 88.9% (14/17)

Pregnancy rate: 52.9% (9/17)

5) Oligo-anovulatory cycle group (18 cases)

Pregnancy rate: 50% (9/18)

As status above, ovulation and pregnancy rates after a minor operation performed with the aid of endoscopy approximated to those obtained after wedge resection following laparotomy.

3. In the responsive group to clomiphene, the minor operation made with the aid of endoscopy was demonstrated to produce successful results in cases where pregnancy had not been confirmed, despite of the long-term clomiphene therapy.

4. Because of the limitation of handiwork in a minor operation performed with the aid of endoscopy, the resected amount of the ovarian tissue was not correlated with the post operative ovulation-inducing effect. As for the action mechanism of inducing ovulation by wedge resection, the mechanical theory and Locus minoris theory were supported.

(受付: 昭和55年12月19日)

子宮内膜症に対する偽閉経療法の検討

— isoxazol ethisterone (Danazol) の臨床効果について —

Study of Pseudomenopause Therapy for the Treatment
of Endometriosis Using Idoxazol Ethisterone (Danazol)

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

田村昭蔵 福田良夫
Shozo TAMURA Yoshio FUKUDA

柳健一 栗原操寿
Kenichi YANAGI Soju KURIHARA

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

公務員共済組合連合会立川病院産婦人科

山口光哉 大山俊雄
Mitsuya YAMAGUCHI Toshio OYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Tachikawa-Kyosai Hospital

警友病院産婦人科

鈴木健治 甘彰華
Kenji SUZUKI Shoka KAN

Department of Obstetrics and Gynecology, Keiyu General Hospital

慶応病院・公務員共済連合会立川病院・警友病院各産婦人科の協同研究として、昭和52年12月より昭和54年5月の間に、子宮内膜症患者52名を対象に60回の Danazol (以下D) 療法〔200mg : 11例, 400mg : 26例, 600mg : 22例, 800mg : 1例〕を試み、以下の成績を得た。

1) D投与により200mg 投与の1例を除き全例排卵は抑制され、大部分の症例で無月経ないし希発月経様出血を認めるのみとなり、自覚症の著しい改善をみた。他覚所見のうち付属器腫瘍は89.7%に消失ないし縮小を認めたが、その他の所見の改善は僅かであった。

2) D投与終了後は96.4%で8週以内に排卵を認め、治療前月経困難を訴えた47例中42例(89.4%)で初回月経時症状の軽快を認めた。

3) follow up の結果、自覚症の改善は59.6%に、付属器所見の改善は48.1%に維持された。

4) 挙児希望例25例中3例で妊娠し、2例で満期分娩し児に異常なく、1例では流産した。

5) 種々な副作用、検査値の若干の変動を認めたが比較的軽度で、投与後直ちに正常に復した。

(Jap. J. Fert. Ster. 26(3), 306-312, 1981)

緒言

子宮内膜症は最近増加の傾向にあり、その対策に苦慮

されることの多い疾患である。特に本症が挙児希望例にもしばしば認められ、不妊原因ともなっており、妊孕性温存のままこれを治療する必要性に迫られるが、効果的

方法を欠き、患者は長期に亘り焦躁と忍耐を強いられる結果となつている。従来、手術的方法が最も効果的とされ、これに次ぐ保存療法としては偽妊娠療法 pseudo-pregnancy therapy があげられて来たが、有効性は認められるとは言え、副作用も多く、妊孕性改善を含めた場合その治療成績はなお極めて不充分的域に止まつており、他の有効な薬剤・治療法の登場が待たれていた。しかるに最近新しい治療薬剤として Danazol (以下Dと略)が登場した。本剤は 17 α -ethinyltestosterone の 2, 3 isoxazol 誘導体で、従来のホルモン療法とは大きく趣を異にし、下垂体性 gonadotropin の放出抑制により人為的に閉経状態を現出し、子宮内膜症を治癒に導こうとする所謂偽閉経療法 pseudomenopause therapy なる新しい治療概念に立脚するものであり、この点からも子宮内膜症治療に重要な新天地を開くものとして期待された。欧米では夙に子宮内膜症に卓効を示すものとして秀れた治療成績が報告されており^{1,2)}、既に市販されている。今回われわれは出来るだけ種々な病像の子宮内膜症を対象とし、かつ投与量をかえて効果を幅広く検討することを目的とし、慶応病院、公務員共済連合会立川病院、警友病院の三機関による共同研究を試み以下の成績を得たので報告する。

1. 研究対象と方法

対象は昭和52年12月より昭和54年5月に慶応病院・公務員共済連合会立川病院・警友病院の各産婦人科外来通院中の子宮内膜症患者52例で、すべて自・他覚症の顕著な症例であり、病院別内訳は35・8・9例である。このうち再発のため再投与した症例が合計8例あり、投与延べ症例数としては合計60例となる。以下これを以て症例数とし以下の検討を行なつた。Dの初回投与量は200, 400乃至600mg/日とし同一量の連続投与を原則としたが、不正出血持続などの理由で途中投与量を変更した症例が13例あつた。今回はこれらの症例の投与量別分類にあつては便宜上最も長期間用いた投与量を以て代表せしめ、分類した。この様にして各投与群別症例数を示すと、200mg:11例, 400mg:26例, 600mg:22例, 800mg:1例である。投与開始は原則として月経第5日とした。手術直後の再発防止のための使用、あるいはfollow upを不可能にする投与直後の手術は極力避けたが、結局D単独療法に終始した症例数は54例、手術との併用例は6例である。これらの症例と投与量との関係を表1に示した。また病巣発生(占居)部位別、投与量別に症例数を示すと表2の如くであり、卵巣・ダグラス窩あるいは子宮旁結合織などにはそれぞれ約半数の症例に所見が認められている一方、幅広く対象を求めて腸・

表 1 対 象(分類)

| | | | |
|-----------|-----|--------------------------|--|
| 1. 用 量 | | | |
| 1) 200mg | 11例 | | |
| 2) 400mg | 26例 | | |
| 3) 600mg | 23例 | { 600mg 22例 800mg 1例 | |
| 2. 療 法 | | | |
| 1) D単独 | 54例 | | |
| 2) D+保存手術 | 4例 | { 保存手術→D 2例 D→保存手術 2例 | |
| 3) D+根治手術 | 2例 | | |

表 2 発 生 部 位

| | 200 mg | 400 mg | 600 mg | 計 |
|---------|--------|--------|--------|-----------|
| 子 宮 | 4 | 7 | 9 | 20(33.3%) |
| 卵 巢 | 7 | 13 | 12 | 32(53.3) |
| 卵 管 | 1 | 2 | 4 | 7(11.7) |
| ダグラス窩 | 4 | 16 | 10 | 30(50.0) |
| 後 膣 円 蓋 | 2 | 9 | 3 | 14(23.3) |
| 直 腸 | 0 | 4 | 4 | 8(13.3) |
| 膀 胱 | 0 | 0 | 1 | 1(1.7) |
| 臍 | 0 | 0 | 2 | 2(3.3) |
| 旁 結 合 織 | 1 | 16 | 10 | 27(45.0) |
| S 状 結 腸 | 0 | 0 | 1 | 1(1.7) |
| 会 陰 部 | 0 | 1 | 0 | 1(1.7) |
| 計 | 19 | 68 | 56 | 143 |

表 3 D投与量別対象症例における子宮内膜症進行度ならびに開腹時所見の重症度の分類

| | | 200mg 11例 | 400mg 26例 | 600mg 23例 | 合計 60例 | % |
|-----|-------|--------------|--------------|--------------|-----------|------|
| 内 診 | 内性のみ | 1 | 2 | 1 | 4 | 6.7 |
| | I | 0 | 1 | 0 | 1 | 1.7 |
| | II | 3 | 7 | 10 | 20 | 33.3 |
| | III | 7 | 16 | 11 | 34 | 56.7 |
| | IV | 0 | 0 | 1 | 1 | 1.7 |
| 開 腹 | 軽 症 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 中 等 症 | 1 | 1 | 2 | 4 | 30.8 |
| | 重 症 | 0 | 7 | 2 | 9 | 69.2 |

膣・会陰部など種々な部位の性器外子宮内膜症例も含まれている。子宮壁子宮内膜症では大部分が多かれ少なかれ外子宮内膜症を伴つていた。表3は認められた外子宮内膜症の Beecham 分類別症例数の分布を投与量別にみたものでIII度が56.7%と最も多く、次いでII度33.3%でI度の症例は少ない。開腹既往歴のあるものについて開腹時の重症度を Acosta の分類によりみたもの

表 4 臨床像

| | 200mg (11例) | 400mg (26例) | 600mg (23例) | 計 |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------|
| 平均年齢 | 33.2歳 | 34.0 | 31.7 | 33.0歳 |
| 不妊例数 | 6 例 | 10 | 9 | 25例 |
| 妊期間 | 4.2 年 | 6.5 | 4.1 | 5.1 年 |
| 投与期間 | 6.6ヵ月 | 7.0 | 6.4 | 6.7ヵ月 |
| Follow up 期間 | 3.4ヵ月 | 9.2 | 7.3 | 7.4ヵ月 |

表 5 臨床検査

| | 検査項目 |
|---------|---|
| 血液一般検査 | WBC, RBC, Hb, Ht, 血小板, 血沈 |
| 血液生化学検査 | 総蛋白, アルブミン, Na, K, Cl, Ca, P, 総コレステロール, BUN, クレアチニン, ビリルビン, TTT, ZTT, Al-p, 黄疸指数, 血糖, A/G 比 |
| 血液凝固系検査 | 出血時間, 凝固時間, プロトロンビン時間, プラスミノノーゲン, フィブリノーゲン |
| 内分泌機能検査 | 17-KS, 17-OHCS, ¹³¹ I-T ₃ レジン摂取率, サイロキシン, TSH |
| 尿 検 査 | 蛋白, 糖, pH, 沈渣, ビリルビン, ウロビリノーゲン, 比重 |
| そ の 他 | 心電図 |

を同表の下段に示した。平均年齢・投与期間・follow up 期間を投与量別に示したのが表 4 で、200mg 投与は遅れて試みられた関係上、follow up 期間が短い。本研究では昭和54年5月末までに投与を開始した症例のみを対象とし、1回の最長投与期間は13ヵ月、follow up の最長期間は15ヵ月である。なお不妊症例は25例で、平均不妊期間は5.1年である。

なおD投与中は経過観察のため毎週来院せしめ自覚・他覚症の変化を観察したほか、副作用発現の有無を厳重に聴取、観察し、さらに表5の如き諸検査を投与前、投与中は2乃至3ヵ月毎に、また投与終了時、さらに投与終了後は1および3ヵ月目に施行した。

2. 成 績

1) D 投与中および投与終了直後の成績

D投与時の最も典型的な臨床経過としては投与開始直後の周期より排卵は抑制され、BBT は間もなく低温相あるいは低温相と高温相との中間値附近を持続的に示し、平常の如き月経は消失し、希発過少な月経様出血を認めるか無月経様となる。従つて当然の事ながら月経随

表 6 排卵抑制 (投与中)

| | 抑 制 率 | |
|-------|-------|-------|
| 200mg | 90.9% | 10/11 |
| 400mg | 100% | 26/26 |
| 600mg | 100% | 23/23 |
| 計 | 98.3% | 59/60 |

表 7 投与による一次効果

| | | 200mg | 400mg | 600mg | 合計 |
|-----------------|----------|-------|-------|-------|------|
| 月 経 困 難 症 | | 72.7% | 88.2 | 100 | 89.4 |
| 月 経 時 以 外 の 症 状 | 下 腹 痛 | 100 | 100 | 76.9 | 91.2 |
| | 腰 痛 | 83.3 | 93.3 | 80 | 87.1 |
| | 性 交 痛 | 100 | 60 | 85.7 | 76.9 |
| | 排 便 痛 | 100 | 85.7 | 75 | 83.3 |
| 他 覚 所 見 | 内診時の疼痛 | 44.4 | 89.5 | 66.7 | 71.7 |
| | ダグラス窩の硬結 | 71.4 | 60 | 73.3 | 57.1 |
| | 子宮可動性の制限 | 45.5 | 83.3 | 55.6 | 63.8 |
| | 卵巣腫瘍の変化 | 100 | 81.8 | 90.9 | 89.7 |

伴症状は認められなくなり、月経時以外の症状も次第に消失の傾向を示した。しかし投与量により、また同一量を用いても症例により異なる経過を示すものも認められた。表6は投与量別にみた排卵抑制効果であり、400mg/日以上では排卵は100%に抑制されたが、200mg/日投与の1例では排卵が認められている。また不正出血が頻発あるいは、継続して出現する症例が認められたが、増量しても止血せず、このため投与中止に至った症例が4例あった。D投与中は前述の如く正常な月経を欠くため、月経困難症状の改善度をみるのが困難であるので、投与終了後の初回月経時の症状を以て効果判定の指標とし、月経随伴症状以外の諸症状については投与終了時の所見で効果を判定し、Dの一次効果を投与量別に検討した。成績は表7に示す如くで、先づ月経困難症については投与前月経困難頭著であった47例中42例(89.4%)に有効で、投与量の増加に伴ない有効率も高くなっている。また経血量も著減34%、減少50%、不変15%であった。月経時以外の諸症状のうち自覚症状では下腹痛、腰痛、排便痛の順に有効性が高く、性交痛で改善率が最も低かった。一方他覚所見では卵巣腫瘍の縮小・消失が89.7%に認められたが、ダグラス窩の硬結では改善度は低かった。D投与終了後の排卵の回復状況をみると表8の如くで、4週以内に排卵の認められたものは71.4%、8週以内96.4%で、1例のみクロミッドを用い排卵した。

表 8 投与終了後の排卵までの日数

| | 4週以内 | 8週以内 | 12週以内 | 13週以降 | 平均 排卵日数 |
|-------|---------------|--------------|-------------|-------|------------|
| 200mg | 75% 3/4 | 25 1/4 | | | 21.5 |
| 400mg | 64.3 9/14 | 35.7 5/14 | | | 24.0 |
| 600mg | 80 8/10 | 10 1/10 | 10 1/10 | | 21.3 |
| 計 | 71.4 20/28 | 25 7/28 | 3.6 1/28 | | 22.7 |

表 9 Follow up 成績

| | | 200mg | 400mg | 600mg | 合計 |
|--------------------------------------|----------|-------|-------|-------|------|
| 月 経 困 難 症 | | 54.5% | 66.7 | 55.6 | 59.6 |
| 月 経 時 以 外 の 症 状 | 下 腹 痛 | 50 | 93.3 | 53.8 | 70.6 |
| | 腰 痛 | 66.7 | 86.7 | 75 | 79.3 |
| | 性 交 痛 | 100 | 100 | 80 | 90.9 |
| | 排 便 痛 | 100 | 71.4 | 40 | 61.5 |
| 他 覚 所 見 | 内診時の疼痛 | 55.6 | 88.9 | 60 | 71.4 |
| | ダグラス窩の硬結 | 71.4 | 69.2 | 46.2 | 60.6 |
| | 子宮可動性の制限 | 36.4 | 82.4 | 50 | 59.5 |
| | 卵巣腫瘍の変化 | 42.9 | 63.6 | 33.3 | 48.1 |

表 10 一次効果, 著効例における再発率

| | 200mg | 400mg | 600mg | 平 均 |
|-----|-------|---------------|--------------|--------------|
| D単独 | | 16.7% 2/12 | 38.5 5/13 | 28.0 7/25 |

投与終了時「著効, 有用」と判定された症例についての再発率

2) follow up 成績

初回月経時およびそれ以後の再発例を含めて自覚症・他覚症の改善率をみたのが表9である。follow up 期間が短いものも含まれており特に200mg 投与例に多く投与量別の差異を結論することは困難である。自覚症では月経困難症の改善率は59.6%, 次いで排便痛となっている。他覚症状については、投与終了時最も改善された卵巣腫瘍の増大するものが多く、改善維持率が48.1%となり約半数の症例に再発が認められている。その他の他覚症では投与終了時の改善率と余り変らない。これらの症例のうち投与終了後の初回月経時著効と判定され、その後少なくとも3カ月以上 follow up し得た400, 600mg 投与例につき再発率をみたのが表10で平均28%となる。

表 11 副作用

—全用量 (60例) について—

| 症 状 | 発 現 率 | 症 状 | 発 現 率 |
|---------------|-------------|---------|------------|
| 肩 こ り | 23.3% (14例) | 足 が つ る | 6.7 (4) |
| 瘡 瘡 | 56.7 (34) | 関 節 痛 | 6.7 (4) |
| 浮 腫 | 28.3 (17) | 色 素 沈 着 | 13.3 (8) |
| イ ラ イ ラ | 3.3 (2) | 発 疹 | 6.7 (4) |
| 嘔 声 | 6.7 (4) | 紅 斑 | 1.7 (1) |
| 便 秘 | 5.0 (3) | 瘙 痒 | 3.3 (2) |
| 下 痢 | 5.0 (3) | 発 汗 | 1.7 (1) |
| 嘔 気 | 16.7 (10) | 毛 髪 減 少 | 5.0 (3) |
| 胃部不快感 | 23.3 (14) | 耳 鳴 り | 5.0 (3) |
| 食 欲 不 振 | 1.7 (1) | 帯 下 | 1.7 (1) |
| 口 渴 | 1.7 (1) | 疲 れ 目 | 5.0 (3) |
| 頭痛・頭重 | 8.3 (5) | 眠 気 | 1.7 (1) |
| 脱 力 感 | 3.3 (2) | 陰 核 肥 大 | 3.3 (2) |
| ほ て り ・ の ぼ せ | 3.3 (2) | 乳 汁 分 泌 | 1.7 (1) |
| め ま い | 10.0 (6) | 舌 苔 | 1.7 (1) |
| 筋 肉 痛 | 6.7 (4) | | |

表 12 投与量別にみた体重の変化

| | 例 数 | 平均増加体重 (最小~最大) |
|-------|-----|-------------------|
| 200mg | 9 | 1.4 kg (0 ~+4.0) |
| 400mg | 26 | 3.2 (0 ~+7.0) |
| 600mg | 23 | 3.6 (-2.0~+7.0) |
| 計 | 58 | 3.1 (-2.0~+7.0) |

また平均再発期間は400mg 群では7.5カ月, 600mg 群では5.8カ月であった。

3) 妊娠率

不妊症例25例のうち、妊娠は3例に認められ、すべて投与終了後2周期目の妊娠であり、2例は満期分娩し児に異常を認めず、1例は妊娠9週で自然流産した。

4) 副作用

D投与全例60例を対象に副作用の種類別に、投与中にそれらの認められた症例数ならびに全例に対する頻度を示したのが表11である。最も頻度の高かったのは瘡瘡であり34例に認められ、浮腫, 肩こり, 胃部不快感, 嘔気, 色素沈着, めまい, 頭痛の順となっている。投与量別の差も検討したところ、瘡瘡, 色素沈着, 嘔声では投与量の増加に伴ない増加の傾向が認められ、かつ投与終了後1カ月後なお認められた症状の主なものはいずれであった。体重増加も重要な所見の一つで平均3.1kg の増加で、400mg 以上で急増している(表12)。

諸検査値については、すべての検査項目につき各症例

表 13 臨床検査値

(mean±S.E.)

| | | 200mg | 400mg | 600mg |
|-----|-----|------------------|------------------|--------------------|
| LDH | 投与前 | 253±15 (n=11) | 251±10 (n=26) | 247±14 (n=23) |
| | 投与中 | 303±20* (n=11) | 271±11* (n=26) | 266±14* (n=23) |
| GOT | 投与前 | 13.9±0.9 (n=11) | 15.2±0.9 (n=26) | 15.1±1.2 (n=23) |
| | 投与中 | 19.8±2.1* (n=11) | 26.8±4.2* (n=26) | 22.0±1.8** (n=23) |
| GPT | 投与前 | 6.0±0.6 (n=11) | 6.7±0.7 (n=26) | 7.6±0.9 (n=23) |
| | 投与中 | 13.4±3.1* (n=11) | 23.0±5.8* (n=26) | 18.1±2.6*** (n=23) |

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

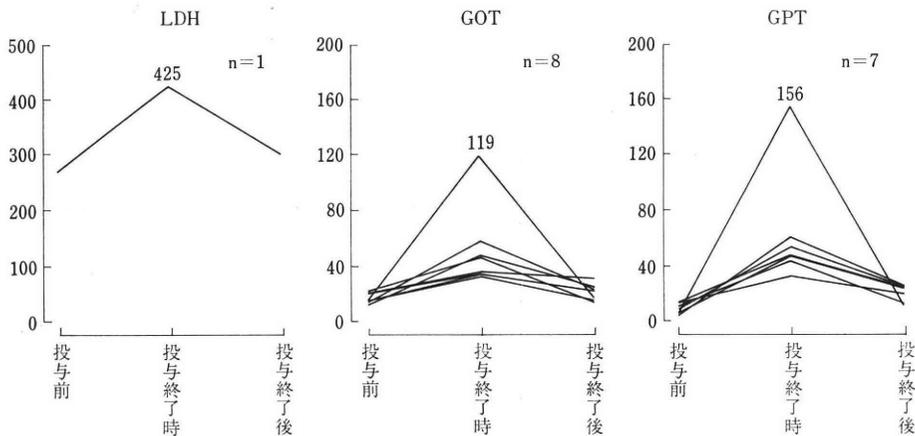


図1 臨床検査値異常上昇例の推移

の投与経過中の最高ないし最低値と投与前値とを比較検討した。その結果、肝機能検査では表13に示す如く推計学的に有意の上昇をみたが、大部分正常域内の変動にすぎず、僅かに400mg投与時GPTがやや高値を示したにすぎない。異常上昇はLDH1例、GOT8例、GPT7例に認められたが図1の如く、投与終了後速かに正常に復している。

その他諸検査でも投与前後に増減が認められ推計学的に有意差を認めるものもあつたが正常域内の変動であり、異常値を示すものは認められなかつたが、サイロキシンは投与前7.26±0.32μg/dl、投与中3.84±0.24μg/dlと2例で低値を示した。

副作用のため投与中止に至つた症例数は14例で、内訳は不正出血持続4例、肝機能異常3例、胃部不快感2例、腹部膨満感、頭痛、全身性発疹、紅斑、肝斑各1例であつた。

5) 総合的評価

若し、薬剤が症状の改善に有効に作用しても副作用が著

表 14 総合評価

| | 著効 | 有効 | やや有効 | 無効 |
|----------------|--------------|---------------|--------------|------------|
| 200mg (11例) | | 27.3% (3例) | 63.6 (7) | 9.1 (1) |
| 400mg (26例) | 15.4 (4) | 42.3 (11) | 42.3 (11) | |
| 600mg (23例) | 26.1 (6) | 39.1 (9) | 30.4 (7) | 4.3 (1) |
| 計 (60例) | 16.7 (10) | 38.3 (23) | 41.7 (25) | 3.3 (2) |

しかつた場合、治療薬剤としてこれを高く評価することは出来まい。斯かる観点より、本剤の投与直後の一次的効果、follow up成績(妊娠を含む)、副作用等すべてを勘案し、患者病像の改善に及ぼす本剤の価値を総合的に評価した成績を示すと表14の如くで、有効55%、やや有効を含めると96.7%の成績を得た。

考 察

妊娠により子宮内膜症が改善され、病巣の消失をみることがあることは従来から指摘されている所であり、偽妊娠療法の発想はこれを利用せんとするものである。一方有排卵性の卵巣機能の存在が症状の発現、病巣の増悪に導くことも子宮内膜症病態の基本的理解とされている。従つて排卵抑制法も従来子宮内膜症治療上確立された治療指針とされているところである。また子宮内膜の萎縮縮小を来す方法は子宮内膜症に有効な手段とされて来た。

後二者は閉経により自然に充足され得るところであり、手術的卵巣摘除によりその有効性は広く知られているところである。

Danazol 療法の妙はその投与期間中に偽閉経状態に導き、排卵を抑制し、かつ子宮内膜の萎縮をはかり病巣の縮小、消失をはかり、投与終了後は速かに排卵から早期妊娠に導き、挙児希望の目的を適えると同時に、病巣改善の機会を増大せしむるものとして多角的 approach の手段となり得るところにあると思われる。

斯かる観点から今日のわれわれの治療成績をみるに、本剤200mg/日以上投与により、基礎体温曲線上排卵はほぼ全例が抑制され、かつ子宮内膜組織診所見上子宮内膜は萎縮し、内診上特に付属器腫瘍は漸次縮小傾向を示し59%にほぼ消失状態を呈し、かつこの間偽妊娠療法にみる如き一時的増大などの危惧すべき episode をみなかったことは、本剤の有効性の証左として先づ指摘すべきところであろう。さらに休薬後1例を除き全例が直ちに排卵性周期に復し、かつ長期間投与例でも同様であったことは本剤により妊孕性の可能性を高め、挙児目的を達するに役立つのみならず、ひいては子宮内膜症治療上の利点となるものとして高く評価すべきものと思考された。

本研究では子宮内膜症の種々な病像を幅広く対象とし、投与による直接的効果を症状や他覚所見の改善度の上から容易かつ的確に判定せんとする立場から主として進行症例を対象とした。従つて対象に挙児希望例が少なく、かつ不妊原因の検索が不充分的な症例が含まれており、間接的効果としての投与後における妊娠率の検討が不充分的な恨みがあるが、それにも拘らず挙児希望例25例中3例12%の妊娠をみ、かつそれらの妊娠がすべて投与終了後2周期目に成立したことは他のほとんど総ての症例において、投与直後より有排卵性卵巣周期を認めた点と考え合わせたとき、症例をより厳しく選別するならば妊娠率は遙かに増大するものと思われ、今後の検索に期待されること甚だ大なるものがある。この点に関し文

献的に諸家の成績をみるに、Greenblatt ら⁹⁾、Dmowski ら⁵⁾、Friedlander⁵⁾など多くの報告があり、服用による即時的効果が極めて顕著で、有効率はほぼ100%に近く、かつ投与終了後の正常周期の回復も極めて速かであることが共通して認められ再発率や妊娠率については Dmowski ら⁶⁾は症状の再発39%、他覚的所見の再発33%、妊娠率については46.4% (修正妊娠率72.2%) との秀れた成績を報告している。しかし成績を仔細にみると、対象に軽症例が比較的多く、中等症以上を対象として試算すると再発率は55例中28例51%となり、われわれの成績と可成り近い値となる。われわれは本研究に当り、同時に血中ホルモン動態を測定し、成績の一部を既に報告しているが⁷⁾、その成績によると、D投与により LH・FSH surge は速かに抑制されるが、投与全経過の推移をみると、LH・FSH はほぼ正常域内を示し、特に低値を示すことは認められなかつた。しかし、それにも拘らず E₂ は常に低値を示した。最近 Rannevik²⁾もこの事実に着目し、かつこれが HMG 投与によりD投与下でも正常かつ急速に反応する事実を見出し、Dの作用機作の一つの可能性として glycoprotein hormone の heterogeneity による生物学的活性化作用を指摘している。その他卵巣内 steroidogenesis に対する直接的関与、あるいは内膜組織に対する直接的作用なども指摘されているところである。このようにDの作用はきわめて多彩と思われ、Dの示す臨床効果の多面性は本剤のもつ基本的性格の多様性に基づくものと思われる。これらの多面性が子宮内膜症病巣の改善に多角的に作用し、総合的に治療に導く可能性を秘むるものと考えられ、この観点に立つならば、本剤の効果は適応の選別、投与方法など本剤運用の妙に大きく左右されてるものと推測される。

最後に副作用であるが、主なものは steroid 剤服用時に広く認められる類のもの、あるいは本剤の androgenic や anabolic 作用によるものであり、一般に服用が大量・長期に亘るほど増加する傾向を示し、服用中止により比較的速かに回復した。また少数例ながら不正性器出血が持続し、投与中止に至つたものもあり、これらに対しては今後、有効な対策が検討されねばならない。さらに、本研究では、投与前・中・後を通じ、可成り広汎な臨床的諸検査を施行したが、その結果、1) SGOT、SGPT など肝機能検査の異常高値を示すものがみられたこと、2) サイロキシンの異常低値を示すものがあつたことが注目された。しかし前者については他の steroid 剤服用時にもしばしば認められるところであり、服用中止により速かに正常域に復している。後者については既に Pannall ら⁸⁾、Thorell ら⁹⁾も同様の結果を得て、それが thyroid hormone binding globulin (TBG)

の減少に基因するものであり、見かけ上の低下にすぎず、何ら病的意義を有するものではないが、D投与中の甲状腺機能判定上留意すべきことと強調している。われわれの成績でも投与中止により速かに正常に復している。

結 語

悪性腫瘍に対する抗癌剤における如き病巣撲滅的薬剤を求めることが至難な現段階において、求め得た最も unique な子宮内膜症に対する治療薬剤として、Danazol は今後広く臨床的応用が試みられ、検討されるべきものと信ずる。

なお、本稿の要旨は、第58回日本産科婦人科学会関東連合地方部会、第24および第25回不妊学会総会にて発表した。また Danazol は東京田辺製薬株式会社より提供を受けた。

文 献

- 1) Greenblatt, R. B., Dmowski, W. P., Mahesh, V. B. and Scholer, H. F. L.: Clinical studies with an antigonadotropin-Danazol, *Fertil. Steril.*, 22: 102-112, 1971.
- 2) Rannevik, G.: Hormonal metabolic and clinical effects of danazol in the treatment of endometriosis, *Postgraduate Medical Journal*, 55(Suppl 5) 14-20, 1979.
- 3) Greenblatt, R. B., Borenstein, R. and Hernandez-Ayup, S.: Experiences with Danazol (an antigonadotropin) in the treatment of infertility, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 118: 783-787, 1974.
- 4) Dmowski, W. P. and Cohen, M. R.: Treatment of endometriosis with antigonadotropin, Danazol. A Laparoscopic and histologic evaluation, *Obstet. Gynecol.*, 46: 147-154, 1975.
- 5) Friedlander, R. L.: The treatment of endometriosis with Danazol, *J. Reprod. Med.*, 10(4): 197-199, 1973.
- 6) Dmowski, W. P. and Cohen, M. R.: Antigonadotropin (danazol) in the treatment of endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 13: 41-48, 1978.
- 7) 田村昭蔵, 柳 健一, 福田良夫: 子宮内膜症のホルモン療法—Danazol を中心として—, 産婦人科の実際, 29, 1193-1206, 1980.
- 8) Pannall, P. R. and Mass, D. A.: Danazol and thyroid-function test, *Lancet*, i, 102, 1977.
- 9) Thorell, J. I., Dymling, J. F. and Rannevik, G.: Effect of danazol on thyroid function in women, *Postgraduate Medical Journal*, Suppl (5), Vol. 55, 33, 1979.

Study of pseudomenopause therapy for the treatment of endometriosis using isoxazol ethisterone (Danazol)

**Shozo Tamura, Yoshio Fukuda,
Kenichi Yanagi and Soju Kurihara**

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

Mitsuya Yamaguchi and Toshio Oyama

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tachikawa-Kyosai Hospital

Kenji Suzuki and Shoka Kan

Department of Obstetrics and Gynecology,
Keiyu General Hospital

Results of therapy of 52 patient (60 course) with endometriosis treated by Danazol in Keio University Hospital, Tachikawa-Kyosai Hospital and Keiyu General Hospital were presented. Danazol was administered in four different dosage of 200 mg (11 cases), 400 mg (26 cases), 600 mg (22 cases) or 800 mg daily (1 case), and started mainly on 5th day of the menstrual cycle. Results were as follow.

1) During therapy, the majority of patients developed amenorrhea or vaginal spotting with marked improvement of subjective symptoms showing the inhibition of ovulation. But there was less improvement in objective findings except for adnexal masses which became either absent or significantly smaller in 89.7 per cent of patients.

2) After discontinuation of Danazol, 96.4 per cent of patients had the first ovulation within 8 weeks and of 47 patients who had severe dysmenorrhea before treatment, 42 was pain-free or less painful at the first menstruation.

3) By the follow up study, the improvement rate was 59.6% in subjective symptoms and 48.1% in adnexal findings.

4) Of 25 infertile women who desired pregnancy after treatment, 3 conceived. The results of conceptions were two normal term deliveries and one abortion.

5) There were various side effects, but almost of them were mild.

(受付: 昭和56年3月16日, 特掲)

当教室における不妊クリニック患者の推移

Shifts and Changes of Infertile Patients in Our Clinic

横浜市立大学医学部産婦人科学教室 (主任: 水口弘司教授)

松山明美 白須和裕 大森治郎
Akimi MATSUYAMA Kazuhiro SHIRASU Jiro OHMORI

鈴木直行 植村次雄
Naoyuki SUZUKI Tsuguo UEMURA

Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama City
University, School of Medicine (Director: Prof. Hiroshi Minaguchi)

今回、昭和50年6月より昭和55年5月に至る5年間の不妊外来統計(55年度群)を行い、過去に発表した昭和44年1月より昭和50年5月に至る6年5カ月間の不妊外来統計(50年度群)と比較し、不妊外来の推移について検討し、次の結果を得た。

- (1) 続発不妊は33.6%から26.8%に有意に減少したが、最終妊娠における人工妊娠中絶が有意に減少していることから、人工中絶の減少もこの傾向に関与しているものと思われる。
- (2) 過去の統計に認められた結婚年齢の高齢化傾向や、不妊患者の早期受診傾向は認められなかった。
- (3) 55年度群における不妊原因の頻度は、50年度群の場合と同様に、排卵卵巣因子(27.7%と31.4%)が第1位で男性因子(24.2%と27.0%)が第2位であり、不妊原因の大きな順位の変動はなかった。
- (4) 排卵障害の中では、第II度無月経の妊娠率が上昇した。
- (5) 全体の妊娠率は、26.4%から29.5%へと少しずつではあるが上昇を認めた。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 26(3), 313-317, 1981)

はじめに

近年わが国でも少数計画出産の傾向が強くなり、他方不妊夫婦の挙児希望の熱意も並々ならぬものがあり、外来不妊患者は増加の傾向にある。また各種ホルモンの微量の進歩や排卵誘発剤の開発により、かつては排卵誘発が不可能と考えられた患者でも妊娠の可能性が見出せるようになってきた。そこで我々は今後の不妊症の診断治療の上で参考とするため、過去に発表した昭和44年1月より昭和50年5月までの6年5カ月間の不妊外来統計(以下略して50年度群)と、昭和50年6月より昭和55年5月までの5年間の不妊外来統計(以下略して55年度群)を比較し患者の推移を検討した。

成績

- (1) 原発不妊と続発不妊(表1)

横浜市大病院婦人科不妊外来を受診した不妊1年以上

表1 不妊外来患者数と妊娠率

| | 不妊外来患者数 | 妊娠例数 (妊娠率%) |
|-------|-------------|----------------|
| 50年度群 | 895 | 236 (26.4) |
| 原発不妊 | 594 (66.4) | 147 (24.7) |
| 続発不妊 | 301 (33.6) | 89 (29.6) |
| 55年度群 | 775 | 229 (29.5) |
| 原発不妊 | 567 (73.2)* | 166 (29.3) |
| 続発不妊 | 208 (26.8)* | 63 (30.3) |

* $P < 0.005$

の新患者総数は、50年度群では895名であり、55年度群では775名であった。原発不妊と続発不妊の頻度は50年度群において原発不妊594例(66.4%)、続発不妊301例(33.6%)であり、その割合は約2:1であったが、55年度群では原発不妊567例(73.2%)、続発不妊208例

(26.8%) で約 3 : 1 の比率となり、原発不妊の割合が 66.4% から 73.2% に有意に増加した。妊娠率については原発不妊、続発不妊ともに妊娠率が上昇し、全体についてみても 26.4% から 29.5% まで上昇した。

(2) 続発不妊の最終妊娠 (図 1)

そこで原発不妊の増加、続発不妊の減少の原因をみるため続発不妊の最終妊娠について検討したが、50年度群



図 1 続発不妊の最終妊娠

で頻度の多い順は正常分娩 38.5%、自然流産 30.9%、人工中絶 27.6% であり、55年度群も同様に正常分娩 39.9%、自然流産 36.1%、人工中絶 20.7% の順であった。両群を比較すると人工中絶が 27.6% から 20.7% に減少しているのが大きな特徴と言える。

(3) 初診年齢 (図 2)

両年度群で原発不妊、続発不妊ともに初診年齢は 20~30 歳が約半数前後を占めており、当然の事ながら続発不妊に初診時年齢が高い。続発不妊の場合、25 歳以下が 13% から 5.3% に減少した他は大きな変化は認められず、全体についてみると初診年齢は若齢化というよりはむしろ

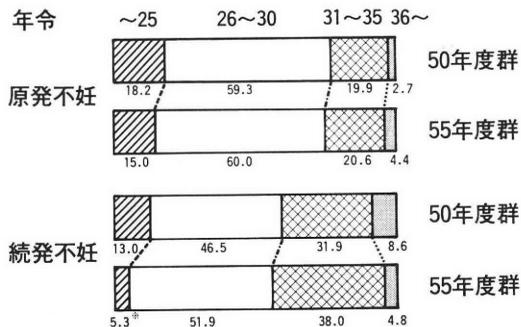


図 2 初診年齢

ろわずかながら高齢化している傾向にあった。また初診年齢と妊娠率については両年度群の間に差異はなく、ただ 36 歳以上の妊娠率が両年度群ともに低値であった。

(4) 結婚年齢 (図 3)

両年度群とも 90% 以上のものが 30 歳以下で結婚しており、今回の比較でみる限り原発不妊の結婚年齢が最近さらに高くなってきているとはいえない。

(5) 不妊期間 (図 4, 図 5)

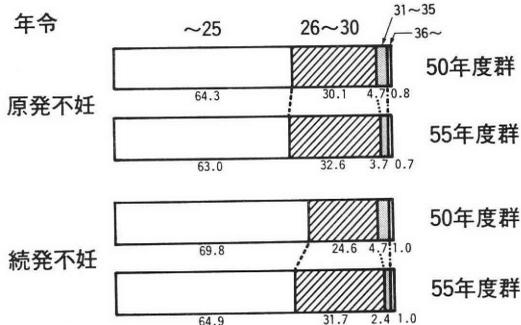


図 3 結婚年齢

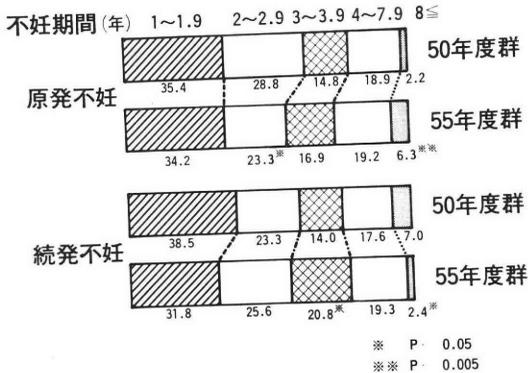


図 4 不妊期間

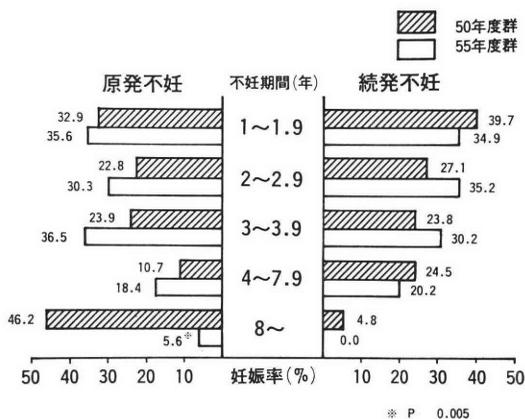


図 5 不妊期間と妊娠率

初診時の不妊期間に関して 55 年度群を 50 年度群と比較すると、原発不妊において 2~2.9 年のものの減少と 8 年以上のものの増加を認め、これに対し続発不妊では 3~3.9 年のものの増加を認めた。全体としては原発不妊、続発不妊とも不妊期間 3 年未満のものはむしろ減少し、不妊期間の長いものが増えている傾向を認めた。

不妊期間と妊娠率を検討すると、不妊期間 4 年未満では両年度群にあまり変化なく妊娠率は約 30% 前後であつ

た。50年度群の不孕期間8年以上の原発不妊で妊娠率が46.2%と極めて高率であったのを除外すると、4年以上の不孕期間では両年度群とも妊娠率が低下する傾向にあった。

(6) 乏精子症の推移 (図6)

乏精子症の頻度は両年度群の間に大きな変化はなく、ただ続発不妊でも前回同様今回も25%前後の高率に乏精子症が発見されている。精子濃度と妊娠率については、両年度群の間に有意差は認めなかった。

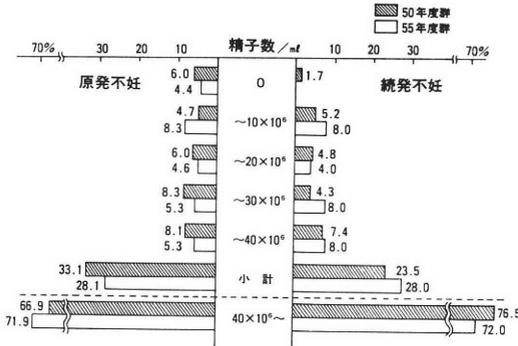


図6 乏精子症の推移

(7) 不妊原因 (図7)

不妊原因を「排卵卵巣因子」「卵管因子」「子宮因子」「頸管因子」「男性因子」「機能性不妊」の6項目に分類し、複数の因子があるものはその主たる項目に含めて検討した。不妊原因の頻度は50年度群では排卵卵巣因子27.7%、男性因子24.2%、機能性不妊22.7%、卵管因子12.3%、頸管因子9.6%、子宮因子3.5%の順であり、55年度群では排卵卵巣因子31.4%、男性因子27.0%、機能性不妊16.5%、頸管因子10.5%、卵管因子9.7%、子宮因子4.8%の順となり、両年度群の間に大きな順位の変動は認められなかった。因子別にみると排卵卵巣因子と

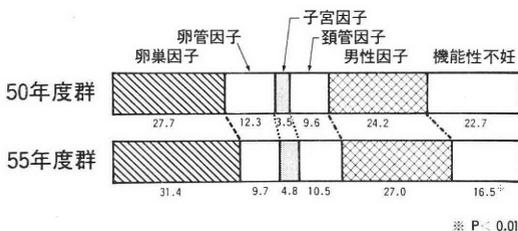


図7 不妊原因

男性因子がやや増加し、機能性不妊と卵管因子が若干減少していた。

不妊原因別の妊娠率については両年度群の間に大きな変化はみられなかった。

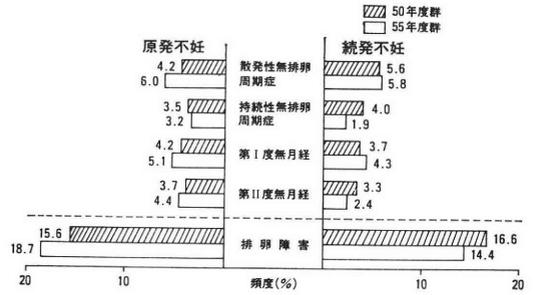


図8 排卵障害の頻度

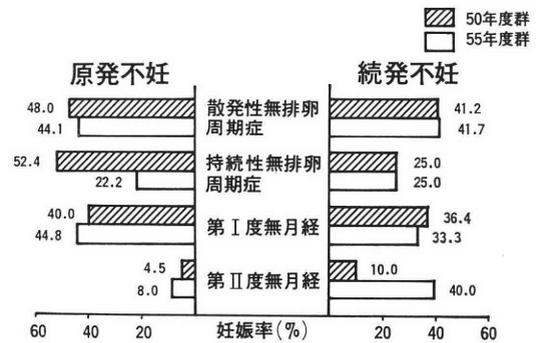


図9 排卵障害の分類と妊娠率

(8) 排卵障害 (図8, 図9)

排卵障害の頻度は、原発不妊では全体の15.6%から18.7%へ増加し、続発不妊では16.6%から14.4%へ減少した。重症度分類別にみると原発不妊に関しては散発性無排卵周期症、第I度無月経、第II度無月経の頻度が増加し、持続性無排卵周期症の頻度がわずかに減少した。また続発不妊に関しては散発性無排卵周期症と第I度無月経の頻度が増加し、持続性無排卵周期症と第II度無月経の頻度が減少した。以上若干の増減は認めるものの推計学的には両群の間に有意な差異は認められなかった。

排卵障害別の妊娠率については、無排卵周期症や第I度無月経で両年度群とも22.2~52.4%と高率に妊娠成立が認められ、第II度無月経でも55年度群の続群の続発不妊で、40.0%と高い妊娠率が得られた。

考 察

原発不妊と続発不妊の比については一般に原発不妊が多いとされ、鈴木¹⁾は、68.5%、中村²⁾は57.4%、伊東³⁾は66%と報告しており、今回の我々の両年度群の統計でもやはり66.4%、73.2%と原発不妊の頻度が多かった。東出⁴⁾や藤村⁵⁾らは最近続発不妊の割合が増してきていると報告しているが、我々の統計では原発不妊と続発不妊の割合が50年度群では約2:1であるのに対し、55年度群では約3:1との変化し、有意に続発不妊が減少した。

そこで続発不妊の最終妊娠を調べてみると、過去の統計⁶⁾と同じく両年度群とも正常分娩が最も多いが、人工中絶が27.6%から20.7%へと減少しているのが特徴で、全国的な傾向でもある人工中絶の減少⁷⁾が少数計画出産とともに続発不妊の減少に関与しているものと思われる。

初診時年齢は当然ながら続発不妊の方が年齢が高く、原発不妊は続発不妊と同様に26~30歳が約半数を占めており、36歳を過ぎる妊娠率の急激な低下を示す事などは両年度群でほとんど同じであった。

結婚年齢は昭和18年頃より年とともに高齢化しており⁸⁾、また過去に我々は原発不妊の結婚年齢が対照群に比して有意に高齢であると報告⁹⁾してきたが、今回の比較では最近さらに原発不妊の結婚年齢が高齢化したというデータは得られなかった。

挙児を強く希望する場合1年を不妊期間とするのが治療上実際的であるので、昭和44年以降1年以上の不妊期間を有するものを不妊クリニックの対象として、1年以上2年未満の場合にも最低限の検査、即ちBBT、精液検査、子宮卵管造影は施行してきた。この初診時の不妊期間については、3年以上のもの増加(原発不妊; 35.9%→42.4%, 続発不妊; 38.6%→42.5%)が認められ、不妊症患者の早期受診の傾向は認められずむしろ遅れるように思われた。不妊期間と妊娠率では東出⁴⁾や白川¹⁰⁾らと同じく4年以上の不妊期間では妊娠率の低下を認めたが、当教室の三上⁶⁾の報告にもあるように50年度群の原発不妊で、8年以上のもの妊娠率が13名中6名で46.2%と極めて高率であった。

今回我々は過去のデータ¹¹⁾より精子数 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下のものを乏精子症としたが、続発不妊においても25%前後に乏精子症が見出されるので、男性不妊の重要性を説明し精液検査を不妊検査の当初より行う必要があることを再確認した。

不妊原因は報告者によりまちまちであるが、近年の不妊症治療における生殖内分泌学の進歩を反映してか、両年度群とも排卵卵巣因子が最も多く、続いて男性因子が多かった。しかしこれら排卵障害、乏精子症という第一義的不妊原因の、不妊症全体に対する頻度は変化しなかった。機能性不妊の頻度が最近減少してきているが、従来機能性不妊と診断されてきていたものの不妊原因が次第に解明されてきつつあることにも依つていると思われる。

排卵障害例の妊娠率については、既に cyclophenil や clomiphene 等の排卵誘発剤が広く用いられていた50年度群と、今回の55年度群では、無排卵周期症や第I度無月経の妊娠率は著変がないが、第II度無月経につい

ては HMG が健康保健扱いとなり患者負担が軽くなった事も影響して妊娠率の増加が認められた。

終りに、御校閲をいただいた水口弘司教授に深謝いたします。本論文の要旨は1980年10月、第60回日産婦科東連合地方部会(横浜)にて発表した。

文 献

- 1) 鈴木直行, 植村次雄, 市川 宝, 菅田吉郎, 柴田光夫, 長田久文: 昭和45年度不妊症クリニック統計, 日産婦科奈川会誌, 8(2): 17, 1971.
- 2) 中村元一, 寺島 溥: 社会保険佐賀病院における不妊外来統計, 日不妊会誌, 25(1), 79, 1980.
- 3) 伊東武久, 宮内文久, 木戸雄一, 右田満明, 福田栄: 最近2年間の当科不妊クリニックの現況, 日不妊会誌, 21: 188, 1976.
- 4) 東出香二, 下須賀洋一, 万羽 進, 成田 取: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊会誌, 22: 208, 1977.
- 5) 藤村健次, 相良祐輔, 野上一郎, 秋本暁久, 関場香: 当教室における不妊外来統計, 日不妊会誌, 24(1): 74, 1979.
- 6) 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(3): 203, 1977.
- 7) 厚生省児童家庭局母子衛生課: 母子衛生の主なる統計, 1678.
- 8) 厚生統計協会: 厚生指標, 18(2): 54, 1971.
- 9) 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(3): 188, 1973.
- 10) 白川光一, 熊本有宏, 丸木陽子, 昇 幹夫: 当科不妊外来における妊娠例の臨床的分析, 日不妊会誌, 23(3): 361, 1978.
- 11) 植村次雄, 鈴木直行, 市川 宝, 長田久文, 升田博: Hypoxanthine rsboside による男性不妊の治療, 産婦の世界, 24(2): 189, 1972.

Shifts and changes of infertile patients in our clinic

Akimi Matsuyama, Kazuhiro Shirasu,
Jiro Ohmori, Naoyuki Suzuki
and Tsuguo Uemura

Department of Obstetrics and Gynecology
Yokohama City University,
School of Medicine
(Director; Prof. Hiroshi Minaguchi)

The infertile patients treated for 5 years (June 1975-May 1980) in our clinic were analyzed and compared with those treated for 6 years and 5 months (January 1969-May 1975).

1) The rate of secondary sterility decreased

from 33.6% to 26.8%, that seems to be due to the reduction of artificial abortions in the last 5 years.

(2) The marriage-age of primary sterility patient was not higher than before.

Sterile patients did not visit the hospital for the examinations so earlier as before.

(3) On the causes of sterility, the ovulatory disturbance was the highest incidence among

the causes of sterility, and the male factor was the second incidence of them. The incidences of each cause of sterility were almost same as before.

(4) The pregnancy rate in patients with second grade amenorrhoea increased than before.

(5) The pregnancy rate of the infertile patients increased gradually from 26.4% to 29.5%.

(受付：昭和55年12月1日)

CLINICAL REPROGRAPHY OF WOMEN SEEKING MEDICAL TERMINATION OF PREGNANCY (M. T. P) AT A. I. I. M. S. HOSPITAL, NEW DELHI

SINGH RATAN and P. KASHYAP

Centre for Community Medicine, All India Institute for Medical Sciences, New Delhi

Summary: Clinical Reprography is the programmed analysis of reproduction which has been used to measure the information on reproduction of the abortion seeking women in the present study. The seven fertility variables (age, parity, future baby desire, induced abortion, child loss, contraception and education) were used to construct clinical reproductive profile for quick reference at M. T. P. clinics.

The woman seeking abortion at AIIMS HOSPITAL was married (85.0%), Hindu (84.2%), of intermediate age 20-39, (86.1%), of para 1-3 (57.4%) and educated up to secondary and above among low parity (Para 1-2) women (78.0%). She wanted a total of 2.5 children out of which 2.35 children already had; shifted from spacer group to stopper group between para 2 to 3; had 12.5 abortions 100 lives births and 11.7 abortions per 100 pregnancies, and had 5.7 child loses per 100 live births. She was low contraceptive user (33.3%) during current conception, was less enthusiastic (46.1%) in planning for contraceptives before termination and was high contraceptive adopter (80.8%) at the time of undergoing abortion or immediately afterwards. Age and education were found to influence directly the acceptance of pre-conceptive fertility control methods among abortees.

(*Jap. J. Fert. Ster.* 26(3),318-329, 1981)

Introduction

India implemented its liberalized abortion law (M. T. P. 1971) on 1st April 1972, extending it to cover contraceptive failures and socioeconomic reasons irrespective of the woman's marital status. By August 1975, 1,340 institutions had been approved by the Government of India to carry out pregnancy terminations. The number of abortions performed since liberalization at approved institutions has been steadily increasing from 24,138 in 1972-73 to 44,147 in 1973-74 and 96,500 in 1974-75³⁾. Four fold increase, (though much less against the estimated average of 3.9⁴⁾ million per annum) in number of terminations in a short period of 3 years arouses the attention.

Throughout the world, a significant number of women (and couples) have found it easier to postpone action until faced with

reality of a missed menstrual period and threat of an unwanted pregnancy. Available information on the characteristics of abortion seekers in India is fragmentary, even among pre-conceptive contraceptive adopters occasional contraceptive failure is likely to result in an unwanted pregnancy which would require pregnancy termination. The present study was to depict the reproductive characteristics of these women seeking abortion.

Materials and Method

Three hundred and sixty (360) consecutive women attending M. T. P. clinic of A. I. I. M. S. Hospital between 1st January 1975 to 30th April 1975 have been included. The information from these women was collected on a semistructured "pre-tested" questionnaire by interview technique. Among few resistant cases the help of clinical psycholo-

gist proved to be of great success. The analysis of the seven variables (age, parity, education, contraception, future baby desire, induced abortion and child loss) have been done using the method first used by Mehta²⁾, in presenting the "Early findings of a Co-operative study of Abortions in India in 1972".

For the purpose of national and international comparison of the clinical reprogaphy of women, data in present study has been compared with the abortion data from all India study (Mehta 1972), Yugoslavia (Andolsek, L; 1971) and U.S.A. (Tietze, C; 1971), as reported by Mehta²⁾ to International Fertility Research Programme, 1972.

Observation and Discussion

The woman seeking abortion at A.I.I.-M.S. Hospital was mainly married (85.0%), Hindu (89.2%) of intermediate age (20-35 years, 76.1%), of urban residence (90.1%), with 1-2 living children (50.3%) and 1-2 living sons (70.1%).

Figure 1. shows unidirectional shift in age, parity, marriage and educational status in all the four studies.

Figure 2 shows the seven fertility variables which have been analysed in relation to one another. These seven variables are of great importance in constructing a clinical Reproductive Profile for quick reference at M. T. P. and Family Planning clinics, where women seek abortion services.

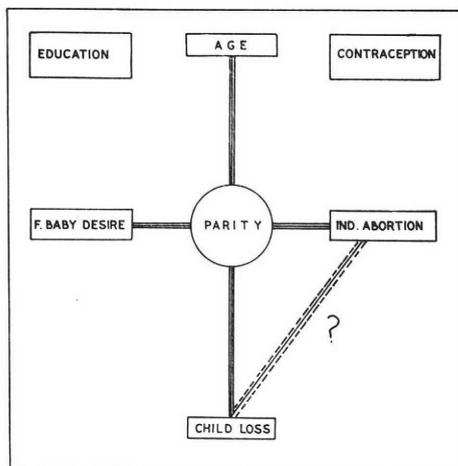


Fig. 2 The seven fertility variables analysed in detail

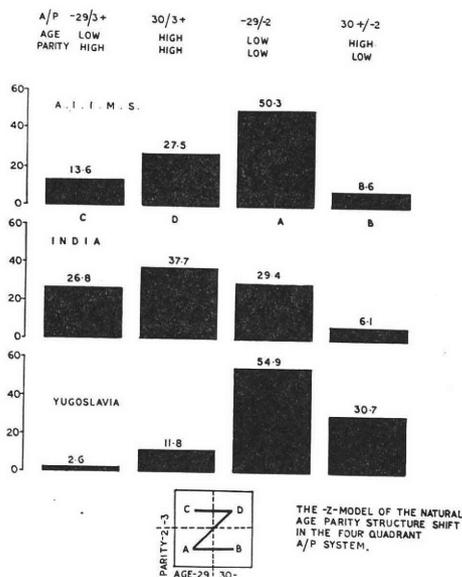


Fig. 3 Clinical fertility profile of women of three studies A. I. I. M. S. (360) INDIA (425) YUGOSLAVIA (1198)

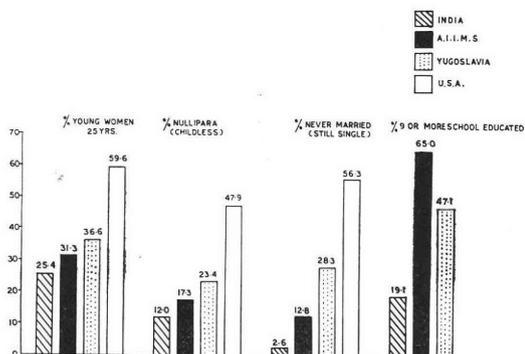


Fig. 1 The women who received abortion in unidirectional shift in age, parity, marriage, education structure in four studies

A. *Fertility attained (Age Versus Parity) (a-1) The first step to describe the reproductive profile would be to analyse the group by age and parity. In four-Quadrant subdivision (see the bottom of figure 3) women of high parity already at low age (Quadrant C) and women still of low parity at high age (Quadrant B) form two extremes of a

* Fertility attained; It means the number of live births the woman had, excluding the abortion and still births.

decreasing fertility spectrum (C-D-A-B) referred to as Z-model of naturally shifting ageparity structure.

(a-2) As the age of the woman increases the parity goes up. Figure 3 also makes it clear that different stages of age/parity composition exist along with A/P-Z-axis; the highest proportion (50.3%) of woman in the present study fall into quadrant A (low age, low parity) followed by Quadrant D (High age, high parity), quadrant B (high age, low parity) and quadrant C (low age, high parity).

(a-3) Thus women of low parity at low age (quadrant A) and women of low parity at high age (quadrant B); demographically the most desirable group form two extremes of decreasing fertility order. The women of high parity at low age (quadrant C)—demographically least desirable group formed 13.6% in the present study is nearer to the all India group (26.8%) than the Yugoslavian group (2.6%).

(a-4) The horseshoe like "Index of Excess Births"* (Figure 4) derived from age-parity structure has been constructed to describe the fertility attainment of the women. This "marginal area" has been depicted black in Figure 4. The excess fertility index for A. I. I. M. S. group was 11.2 per cent as compared to 29.6% in the Indian group and

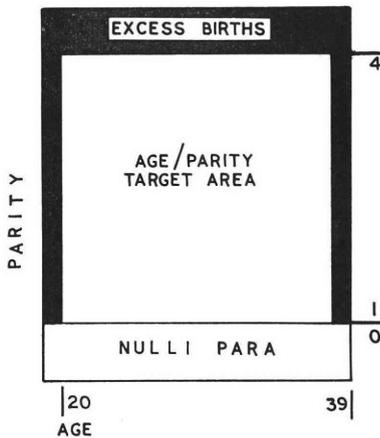


Fig. 4 The A. I. I. M. S. area Age/parity system

* Index of Excess Births = $100 - (\text{Nulliparous} + \text{Target})$. Index of Excess Births in the present study = $(100) - (062 + 252) \times 100/360 = 11.2$

9.2% in the Yugoslavian group.

The couples who desire to regulate their fertility need further study under different social condition. This excess fertility variable can then be compared with other variables to reproduction.

B. *Fertility Desire* :* (Parity and future Baby desire) the proportions of women who want additional children in the future have been compared with the women of various fertility levels. Approximately the medium number of children wanted (live born plus wanted in future) have been estimated by plotting parity-specific proportions, as shown in Figure 5.

(b-1) The low parity women who attended AIIMS Hospital for abortion services wanted one child more than the Yugoslavian women. The group of spaces was replaced by stoppers between parity—2 and 3 at A. I. I. M. S. Hospital and between parity—1 and 2 in Yugoslavian women. In the Indian group almost similar findings were reported as for A. I. I. M. S. group.

(b-2) The A. I. I. M. S. women wanted 2+0.5* children in total; whereas in the Indian and Yugoslavian group it was found that they wanted 2+0.6 and 1+0.6 children respectively.

(b-3) 6.5 per cent of mullipara (even after

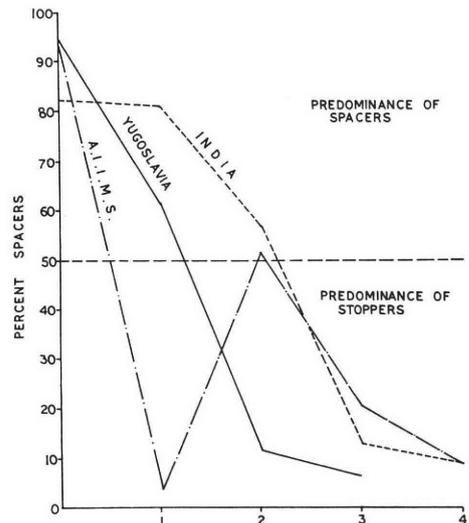


Fig. 5 Parity-specific spacer rates per 100 aborted women in four studies

* *Fertility desired* : It means here the number of additional children wanted at a later date.

marriage) and 95.8 per cent of para-1 of A. I. I. M. S. group did not wish to have any additional child in future. This is either due to some undetected error in recording the responses or false answers by respondents and/or due to an over reaction among parous women to the large family norm of recent past. Even in Indian group (Figure 5) 17.5% of the women with Zero parity did not wish to have any child. This observation needs further investigation.

(b-4) Fertility desire on the whole, in the A. I. I. M. S. group and Indian group is low ; 2.5 and 2.6 children per woman respectively. The woman in present study wanted one child more than Yugoslavian woman.

Assumption: It is assumed that 50.0 per cent of women who want additional children may be equated that they want only one additional child thus giving the figure 0.5 children per woman. This assumption is realistic, if space rate falls rapidly when the next higher parity woman is asked for additional children wanted, which is true for three studies under consideration.

C. Attained fertility versus wanted** fertility: Desired fertility of low parity womem (Para-1 and para 2) has been compared among A. I. I. M. S., Indian and Yugoslavian groups. (See Figure 6).

(c-1) The difference between the fertility desired and fertility attained was +0.10, +0.15 and -0.7 in Yugoslavian, A. I. I. M.-S. and Indian groups respectively. By 1/15 of a child AIIMS woman had achieved exactly what she wanted, while the woman in Indian group had 0.7 children excess of what she wanted. Thus in the present study women are very much within the boundary of their desired fertility.

(c-2) A. I. I. M. S. Women have almost attained their desired fertility. To help them, they probably need highly effective contraceptives during pre-conceptive period with a cover of post-conceptive fertility control measure if and when these methods fail.

* This figure also includes fraction of spacers at the highest parity lev d.

** It means the total number of children wanted by a woman throughout the reproductive span. It includes fertility attained plus fertility desired.

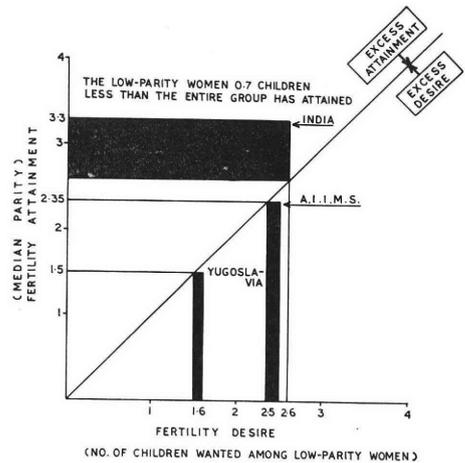


Fig. 6 Attained fertility among all women against desired fertility among the corresponding low-parity women abortion studies in india and yugoslavia and at A. I. I. M. S.

In the Indian group when abortion was not legalized, failure of a contraceptive method resulted in an unwanted pregnancy and birth. In Yugoslavia where abortion has been legalized over a decade women well regulate their fertility and do not exceed their desired fertility by pre and post contraceptive fertility control methods.

(c-3) The importance of post contraceptive fertility control clearly comes to the forefront when compared with the Indian group when abortion was not legalized. The excess of desired fertility was probably due to non availability of legalized abortion services.

(c-4) A little excess desire among AIIMS women is quite understandable, as probably low parity women (nulliparous women excluded) had a slightly higher baby desire as compared to the entire group as also observed in the Yugoslavian women.

D. Abortion versus attained fertility

(d-1) The important events of pregnancy out come are shown in Table 2 by the different age groups of women seeking abortion in three studies. Out of 360 women interviewed among AIIMS group, there were 114 abortions (induced and spontaneous) and 844 live births which gives the figures of 0.32 abortions and 2.35 live births per woman. In the Indian study there were 0.42 abortions and 3.33 live births per woman;

Table 1 Some Characteristics of Women seeking abortion at A.I.I.M.S.
and three other studies (Quoted by Mehta 1972).
A.I.I.M.S. India (Mehta 1972), Yugoslavia (Andolsek 1971), U.S.A. (Tietze 1971).

| Characteristics | A.I.I.M.S. Percent | INDIA. (Mehta) 1972 Percent | Yugoslavia. (Andolsek) 1971 Percent | U.S.A. (Tietze) 1971 Percent |
|--|-----------------------|--------------------------------------|--|---------------------------------------|
| 1. Religion : Hindu | 84.2 | 85.9 | — | — |
| Christian | 6.4 | 2.8 | — | — |
| Sikh | 6.2 | 3.1 | — | — |
| Muslim | 2.8 | 7.5 | — | — |
| Others | 0.5 | 0.7 | — | — |
| 2. MARITAL STATUS | | | | |
| Never married | 12.8 | 2.6 | 28.3 | 56.3 |
| Currently married | 85.0 | 88.0 | 69.2 | 29.7 |
| Formerly married | 2.2 | 9.4 | 2.5 | 14.0 |
| 3. AGE IN YEARS. | | | | |
| 19 & Less | 9.1 | 6.1 | 8.4 | — |
| 20m-29 | 54.5 | 50.1 | 49.0 | — |
| 30-39 | 31.6 | 39.7 | 34.5 | — |
| 40 & above | 4.4 | 3.7 | 7.9 | — |
| Not known | — | 0.2 | — | — |
| 4. PARITY Nil | 17.2 | 12.0 | 23.4 | 47.9 |
| 1 | 13.3 | 10.1 | 26.3 | 12.8 |
| 2 | 26.3 | 13.4 | 36.0 | 11.2 |
| 3 | 17.8 | 18.1 | 9.8 | 6.7 |
| 4 | 13.3 | 19.1 | 3.1 | 5.0 |
| 5 | 5.6 | 11.5 | 1.3 | — |
| 6 & more | 4.4 | 15.7 | 0.3 | 1.4 |
| 5. EDUCATIONAL STATUS OF LOW PARITY WOMEN (PARA 1-2) | | | | |
| None | 12.1 | 10.9 | 0.1 | — |
| Primary | 9.9 | 24.7 | 23.7 | — |
| Secondary | 43.9 | 46.6 | 69.6 | — |
| College | 34.1 | 17.8 | 6.6 | — |
| 6. No. of Living Children. | | | | |
| None | 4.8 | — | — | — |
| 1-2 | 50.3 | — | — | — |
| 3-4 | 36.3 | — | — | — |
| 4-5 | 21.4 | — | — | — |
| 6+ | 3.8 | — | — | — |
| 7. No. of living sons | | | | |
| None | 16.2 | — | — | — |
| 1-2 | 70.4 | — | — | — |
| 3-4+ | 13.3 | — | — | — |

Table 2 Age specific outcome events (Abortion) Still Births/Parity, Frequencies, Abortion rate per 100 live births and per 100 Pregnancies) in Abortion Studies of A.I.I.M.S., India and Yugoslavia.

| Age in Yrs. | Women | Still Births | Parities | Abortions | A/P×100* | A/S+P+A×100** |
|-------------------|-------|--------------|----------|-----------|----------|---------------|
| A.I.I.M.S. | | | | | | |
| Below 20 | 33 | 0 | 7 | 3 | 42.8 | 30.0 |
| 20-29 | 197 | 8 | 359 | 31 | 8.6 | 7.8 |
| 30-39 | 114 | 4 | 400 | 71 | 17.7 | 14.9 |
| 40 & Over | 16 | 8 | 78 | 9 | 11.5 | 9.5 |
| All ages | 360 | 20 | 844 | 114 | 13.5 | 11.7 |
| INDIA | | | | | | |
| Below 20 | 26 | 0 | 11 | 10 | 90.9 | 47.6 |
| 20-29 | 213 | 1 | 546 | 56 | 10.3 | 9.3 |
| 30-39 | 169 | 13 | 754 | 104 | 13.8 | 11.4 |
| 40 & Over | 16 | 0 | 100 | 8 | 8.0 | 7.4 |
| Not known | 1 | — | — | — | — | — |
| All ages | 425 | 14 | 1,411 | 178 | 12.6 | 11.1 |
| YUGOSLAVIA | | | | | | |
| Below 20 | 101 | 0 | 12 | 9 | 75.0 | 42.9 |
| 20-29 | 588 | 13 | 640 | 390 | 60.9 | 37.4 |
| 30-39 | 414 | 29 | 884 | 628 | 71.0 | 40.8 |
| 40 & Over | 95 | 3 | 234 | 149 | 63.7 | 38.6 |
| All ages | 1,198 | 45 | 1,770 | 1,176 | 66.4 | 39.3 |

* Number of Abortions per 100 live births prior to present interruption.

** Number of Abortions per 100 pregnancies prior to the present interruption.

whereas the corresponding figures for the Yugoslavian group were 0.98 and 1.48 respectively. Number of abortions in AIIMS groups is low as compared to Indian group because parity is also low in AIIMS group. On the other hand number of abortions in AIIMS group is only one-third of the Yugoslavian group; it could possibly be due to low baby desire and availability of legalized abortion services for a long time in the later group.

Figure 7 gives abortions and live births per 100 women in the age group 20-29 years. The number of abortions per 100 women were: 15.7 for AIIMS group, 26.3 for Indian group and 66.3 for Yugoslavian group whereas the number of live births were 182.2, 256.3 and 108.8 respectively. The AIIMS women had less number of abortions and live births than the Indian group. The Yugoslavian group had 4 times more abortions than AIIMS group though the number of live births per 100 women were almost half of AIIMS group.

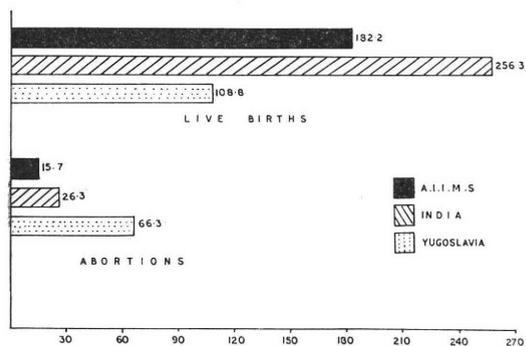


Fig. 7 Live births and abortions per 100 women requesting an abortion in three studies restriction to age group 20-29

(d-3) When abortion and parity were put to ratio (see figure 8) it was observed that there were 13.5 abortions in AIIMS group, 12.6 abortions in Indian group and 66.4 abortions in Yugoslavian GROUP PER 100 live births. The proportion of abortions in Indian and AIIMS groups was half of the Yugoslavian group, mainly because the le-

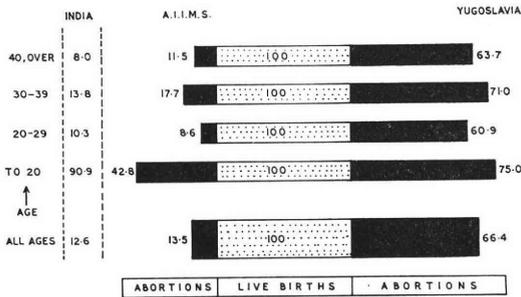


Fig. 8 Abortion-parity ratios by age for the A. I. I. M. S., Indian & Yugoslavian abortion studies

galized abortion services were not existing (Indian group) or were of short duration (Since April 1972 in AIIMS) than the later group where these services were available for over a decade. Thus, 1 to 5 ratio of abortions in AIIMS and Yugoslavian women holds true for 3 age categories i. e. 20-29, 30-39 and 40 years and over. The proportion of abortions below 20 years of age was 42.8 (AIIMS), 90.9 (Indian) and 75.0 (Yugoslavian) per 100 live births. This needs further documentation.

E. Child loss* Versus Attained fertility

Table 3 a, b and c show the relations of child loss (infant and child mortality) to parity.

(e-1) Among the parous women (para 1-8+) the overall child loss (1+) was 11.7, 21.1 and 0.7 in the AIIMS, Indian and Yugoslavian groups respectively. In low parity (para-1-2) women, the corresponding

per cent of women with child loss was 2.7, 11.0 and 0.8 respectively. Though risk of losing a child in AIIMS group was 4 times less than Indian group, yet it was 3.5 times more than the Yugoslavian group.

(e-2) The child loss per 100 women was 2.7 and 11.0 for para 1-2; 13.4 and 19.0 for para 3-4; 42.8 and 27.6 for para 5-6; 50.0 and 48.3 for para 7 and above in AIIMS and Indian groups respectively. Among Yugoslavian group there was 0.8% child loss, only in Para 1-2. The proportion of women losing child is less in AIIMS group (except for Para 5-6) than Indian group and it steadily increases as the parity of the women goes higher and higher. The dramatic increase (50 per cent) of women with child loss after para 7 and above could be excepted because babies born to multiparous and grand multiparous women face greater risk of child mortality which is a well documented fact. There is no obvious explanation for more number of women (42.8%) with child loses at para 5-6 in the AIIMS group than the Indian group (27.6%). The much less proportion of women with child losses among low parity women in the present study than the Indian group may probably be due to their being highly selective group.

(e-3) Among parous women (para 1 and above) total child loss per 100 live births was 5.7, 9.1 and 0.6 in AIIMS, Indian and Yugoslavian groups respectively.

(e-4) As shown in Figure 9 the parity

Table 3

- (a) Per cent women having ever lost live birth (s) by Parity in AIIMS, INDIA and Yugoslavian studies.
- (b) Probability of live birth loss by order of loss and Parity.

| Parity | Women | A. I. I. M. S. | | | | | INDIA | | YUGOSLAVIA | |
|------------|-------|-------------------|------------|--------------|-------------|---------------------|-------|---------------------|------------|---------------------|
| | | Women with Losses | | Three Losses | Four Losses | Women with 1+Losses | Women | Women with 1+Losses | Women | Women with 1+Losses |
| | | One Loss | Two Losses | | | | | | | |
| 1-2 | 150 | 4 (2.7%) | — | — | — | 4 (2.7%) | 100 | 11(11.0%) | 360 | 3(0.8%) |
| 3-4 | 112 | 13(11.6%) | 1(0.9%) | 1(0.9%) | — | 15(13.4%) | 158 | 30(19.0%) | 67 | 0 — |
| 5-6 | 28 | 9(32.1%) | 2(7.1%) | 1(3.6%) | — | 12(42.8%) | 87 | 24(27.6%) | 9 | 0 — |
| 7-8+ | 8 | 0 — | 3(37.5%) | 0 — | 1(12.5%) | 4(50.0%) | 29 | 14(48.3%) | 1 | 0 |
| Total 1-8+ | 298 | 26(8.7%) | 6(2.0%) | 2(0.7%) | 1(0.3%) | 35(11.7%) | 374 | 79(21.1%) | 437 | 3(0.7%) |

Table 3

(c) Parity Specific Cumulative Loss of Live Births, Frequencies, Loss Rate/100 Live Births. Abortion Studies A.I.I.M.S. India and Yugoslavia.

| Parity | A. I. I. M. S. | | | INDIA | | | YUGOSLAVIA | | | | | |
|--------|---------------------|------------|------------|--------------------|------------|----------|--------------------|------------|-----------|-----|------|------|
| | No.* of Live Births | Child Loss | **L/B ×100 | No. of Live Births | Child Loss | L/B ×100 | No. of Live Births | Child Loss | L/B ×100 | | | |
| 1 | (47) 50 | 4 | 1.6 | (43) 43 | 157 | 11 | 7.0 | (140) 140 | 580 | 5 | 0.86 | |
| 2 | (98) 197 | 247 | 4.7 | (57) 114 | 555 | 47 | 8.4 | (220) 440 | 221 | 0 | — | |
| 3 | (63) 190 | | | (77) 231 | | | | (47) 141 | | | | |
| 4 | (48) 193 | 142 | 11.2 | (81) 324 | 483 | 36 | 7.6 | (20) 80 | 45 | 0 | — | |
| 5 | (20) 100 | | | (49) 245 | | | | (7) 33 | | | | |
| 6 | (7) 42 | 61 | 16.4 | (38) 238 | 221 | 34 | 15.4 | (2) 12 | 7 | 0 | — | |
| 7 | (3) 21 | | | (11) 77 | | | | (1) 7 | | | | |
| 8 | (5) 40 | | | (18) 144 | | | | (—) — | | | | |
| 1-8X | (291) 833 | 833 | 48 | 5.76 | (374) 1416 | 1416 | 128 | 9.1 | (437) 853 | 853 | 5 | 0.58 |

* Figures in parenthesis are number of women and outside parenthesis are number of live births.
 ** L=Loss, B=Birth.

specific child loss rate 100 live births in AIIMS and Indian groups were: 1.6 and 7.1 at para 1-2, 4.7 and 8.5 at para 3-4, 11.2 and 7.6 at para 5-6, 16.4 and 15.4 at para 7 and above respectively. In Yugoslavian group only child loss (0.6%) was observed at para 1-2. The low mortality figures observed among AIIMS and Yugoslavian women could be because of their high educational status, easy accessibility to modern amenities of life including better medical and health services. The child loss in AIIMS and Indian groups reached similar proportion at para 7 and above possibly be-

cause both groups of elderly women have similar socio-economic background.

(e-5) The multiple child loss increases with parity. In present study at para 1-2, 4 women had one child loss; at para 3-4 (out of 15 women with child losses) 13 women had one child loss, 1 each had one and two child losses; at para 5-6 (out of 12 women) 9 women had one child loss, 2 had two and 1 had three child losses; and at para 7 and above (out of 4 women) with child losses 3 women had two and 1 had four child losses.

It is apparent that relationship of pre-birth loss (induced abortion) and post live birth loss needs further exploration in India.

F. Contraceptive Profile

Contraceptive use and choice among abortion cases at three successive points in time of the most employed means of preconceptive fertility control is shown in Table 4 and Figure 10.

(f-1) Methods used at current conception

(a) Contraceptive Non-Users: In the three groups (AIIMS, India and Yugoslavia) 66.7%, 86.8% and 58.3% of the women did not use any method during the current conception respectively.

(b) Contraceptive Users: 12.5% of AIIMS group, 14.0% Indian group and 21.0% Yugoslavian group used withdrawal method;

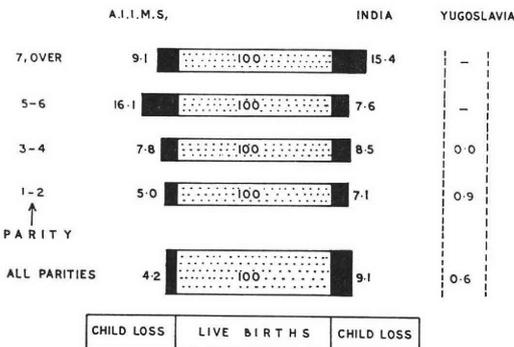


Fig. 9 Child loss-parity ratios by parity for the A. I. I. M. S., Indians and Yugoslavian studies

Table 4 Use and Choice among Abortion seekers at three successive points in time of the most employed Pre-Conceptive Control Methods in three studies.

| CONTRACEPTIVE METHODS | A.I.I.M.S. GROUP | | | | | | INDIAN GROUP | | | YUGOSLAVIAN GROUP | | |
|-----------------------|---------------------------|-------|-------------------------|-------|------------------------|-------|---------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|
| | Used at current Pregnancy | | Planned before Abortion | | Adopted after Abortion | | Used at current Pregnancy | Planned before Abortion | Adopted after Abortion | Used at current pregnancy | Planned before Abortion | Adopted after Abortion |
| | No. | % | No. | % | No. | % | % | % | % | % | % | |
| None | 240 | 66.7 | 194 | 53.9 | 69 | 19.2 | 86.8 | 24.2 | 30.1 | 58.3 | 76.2 | 48.4 |
| CONDOM | 61 | 16.9 | 88 | 24.4 | 55 | 15.3 | — | — | — | — | — | — |
| WITHDRAWAL/RHYTHM | 45 | 12.5 | 70 | 19.4 | 43 | 11.9 | 1.4 | 0.5 | 2.8 | 21.0 | 8.7 | 12.9 |
| ORAL PILLS | 4 | 1.1 | 2 | 0.6 | 39 | 10.8 | 2.1 | 15.5 | 14.4 | 7.5 | 8.4 | 17.7 |
| IMPLANT | 7 | 1.9 | 3 | 0.8 | 50 | 13.9 | — | — | — | — | — | — |
| I.U.C.D. | 2 | 0.6 | 2 | 0.6 | 56 | 15.6 | — | — | — | — | — | — |
| STERILIZATION | 1 | 0.3 | 8 | 0.22 | 35 | 9.7 | 0.9 | 47.3 | 41.9 | — | — | — |
| OTHERS | — | — | 3 | 0.8 | 13 | 3.7 | 8.7 | 12.5 | 10.8 | 13.1 | 6.7 | 21.0 |
| TOTAL | 360 | 100.0 | 360 | 100.0 | 360 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

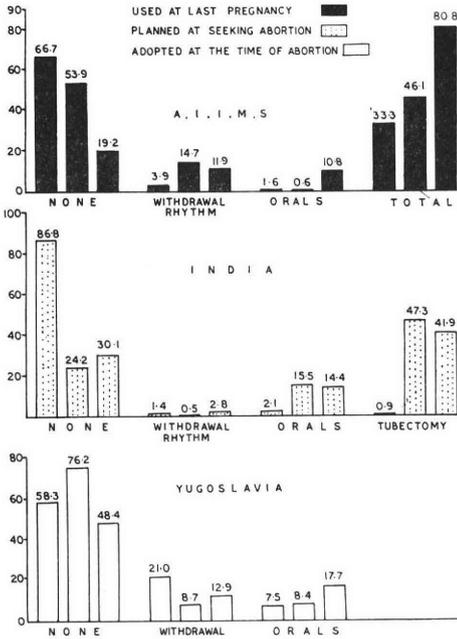


Fig. 10 Use and choice among abortion cases at three successive points in time of the most employed means of pre-conceptive fertility control at A.I.I.M.S. in India and Yugoslavia

whereas 1.1%, 2.1% and 7.5% used oral pills correspondingly. In the AIIMS group 16.9% used condom, 1.1% used oral pills and 0.6% used I.U.C.D. A small propor-

tion of women, 0.3% in AIIMS study and 0.9% in Indian-study conceived even after sterilization of one of the spouse. Thus these were mostly Non-contraceptive users in all the three studies. Approximately one-third of the women in AIIMS, (33.3%) study; one-fourth in Indian (23.2%) and one-half in Yugoslavian (41.7%) groups conceived even after using a contraceptive method. This needs further investigations.

(f-2) Method Planned Before Termination.
a) Contraceptive Non Planners :

53.9% of AIIMS women, 24.2% of Indian women and 76.2% of Yugoslavian women had no plans to use a method in future after termination.

b) Contraceptive Planners :

Out of 46.1% (AIIMS), 75.8% (Indian) and 23.8% (Yugoslavian) women who planned a method mostly though of condom (24.2%) and withdrawal (19.4%) in the present study and of sterilization (47.3%) and Oral pills (15.5%) in Indian study; and of withdrawal (8.7%) and Oral pills (8.4%); in the Yugoslavian study. Most of the AIIMS women in the present study who did not plan a method were unmarried (who mostly said they would not have intercourse before marriage), married nulliparous or recently married women of low parity. In the Indian

group a large proportion of women (47.3%) planned to stop their reproductive cycle by undergoing sterilization as they had already produced surplus of desired number of children. In the Yugoslavian group only (23.8%) planned a contraceptive method for future use this might probably be due to the fact that women in Yugoslavia preferred abortion as a method of fertility control.

(f-3) *Method adopted immediately after undergoing Abortion*

(a) *Contraceptive Non Adopters :*

19.2% in the AIIMS study, 30.1% in the Indian study and 48.40% in the Yugoslavian women did not adopt any preconceptive control method.

(b) *Contraceptive Adopters :*

Of the adopter group in the AIIMS (present study), 40.3% accepted a clinical method (I. U. C. : 15.6% ; implant 13.9% and oral pills 10.8%), 26.2% accepted a non clinical method (Condom 15.5% ; withdrawal 11.9%), had undergone sterilization and 3.6% adopted other methods.

In the Indian group a large proportion of women (41.9%) had undergone sterilization followed by oral pill (14.4%), withdrawal (2.8%) and other methods (10.8%). In the Yugoslavian group, 17.7% adopted oral pills.

12.9% adopted withdrawal and 21.0% adopted other methods of preconceptive control methods.

A large number of women adopting a contraceptive method in AIIMS and Indian study immediately after undergoing termination suggest that they are highly receptive at the time of undergoing abortion or soon after. A high rate of clinical methods adopted in AIIMS group may be due to doctors bias.

G. Adoption of Post abortion Pre-conceptive fertility control by age and education among low parity women. (Para 1-2).

Table 5 Probability of Accepting post abortion Pre-conceptive fertility control in three studies by age and Education, who had given birth to 1-2 children only.

1. As seen in Table 5 a, contraceptive adopters constituted 75.0% under 19 years of age and increased to 100 per cent between 30-34 years of age in AIIMS study ; was 50% and 54.5% in Indian group and was 75.0% and 54.5% in Yugoslavian women for the corresponding two age categories. The low parity AIIMS women were high contraceptive adopters even under 19 years of age and were 100 per cent adopters between the age of 30-44 years and after,

Table 5

(a) Acceptance by AGE.

AGE

| Study | Up to 19 yrs. | | 20-29 yrs. | | 30-34 yrs. | | 40 yrs & More | |
|-------------|----------------|------|-------------------|------|-------------------|-------|-----------------|-------|
| | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| A.I.I.M.S. | $\frac{6}{8}$ | 75.0 | $\frac{113}{163}$ | 69.0 | $\frac{25}{25}$ | 100.0 | $\frac{1}{1}$ | 100.0 |
| INDIA | $\frac{3}{6}$ | 50.0 | $\frac{36}{68}$ | 52.9 | $\frac{12}{22}$ | 54.5 | $\frac{29}{52}$ | 55.8 |
| YUGOSLAVIAN | $\frac{9}{12}$ | 75.0 | $\frac{223}{279}$ | 79.9 | $\frac{163}{299}$ | 54.5 | $\frac{29}{52}$ | 55.8 |

(b) Acceptance by EDUCATION.

EDUCATION

| Study | None | | Primary | | Secondary | | College. | |
|-------------|-----------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-----------------|-------|
| | No. | % | No. | % | No. | % | No. | % |
| A.I.I.M.S. | $\frac{12}{17}$ | 70 | $\frac{11}{14}$ | 78.5 | $\frac{62}{71}$ | 87.0 | $\frac{40}{48}$ | 83.0 |
| INDIA | $\frac{8}{32}$ | 25.0 | $\frac{6}{18}$ | 33.3 | $\frac{25}{34}$ | 73.5 | $\frac{13}{13}$ | 100.0 |
| YUGOSLAVIAN | 1 | — | $\frac{102}{176}$ | 57.9 | $\frac{289}{517}$ | 55.8 | $\frac{33}{49}$ | 67.3 |

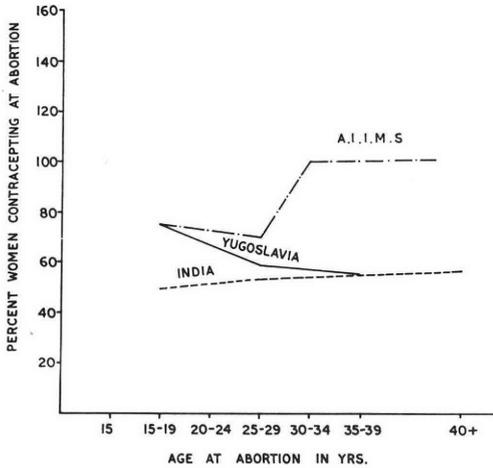


Fig. 11 Likelihood of accepting fertility control means among low-parity women (1, 2) by age for the three studies at A. I. I. M. S. in India and Yugoslavia

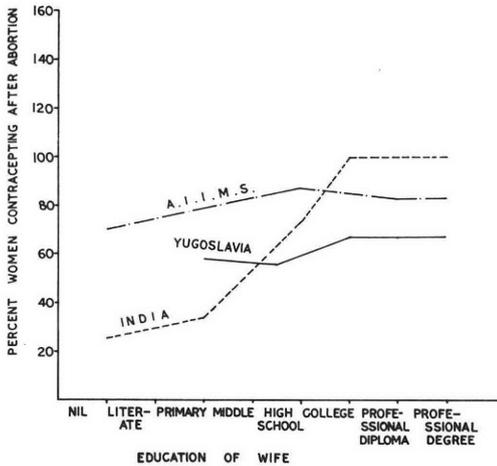


Fig. 12 Likelihood of accepting fertility control means among low-parity women (1, 2) by age and education for the abortion studies in A. I. I. M. S., India and Yugoslavia

The contraceptive adopters in AIIMS group were 70% among illiterates 78.5% among primary educated and 83.0 among college educated. Similarly adopter rate also increased in Indian group from 25% among illiterates to 100.0% among college educated. In the Yugoslavian group contraceptive adopters rate was observed to increase from 75.0% under 19 years : 79.9% between 30-35

years and 55.8% at 40 and above; whereas according to education status acceptor rate was 57.9% among primary educated, decreased slightly (55.8%) among secondary educated and again increased to 67.3% among college educated women.

Figure 11 and 12 depict the same findings in graphic form. In conclusion, the proportion of contraceptive adopters postabortively was found to be positively influenced by age and education and more so by education among AIIMS group and Indian group.

References

- 1) I. P. P. F. Medical Bulletin. Induced Abortion. A report of the meeting of I. P. P. F. Pannel of Experts on Abortion. Held in Novi Sad Yugoslavia, 24-29, June, 1971, and approved by I. P. P. F. Central Medical Committee in February, 1972.
- 2) Mehta, A. C.: "Early Findings of the Co-operative study of Abortion in India" Paper presented at the Annual Meeting of the American Association of Planned Parenthood Physicians. Detroit, Michigan, April 6-7, 1972.
- 3) Ministry of Health and Family Planning Government of India. Personal Communication from Mr. Chandrasekhar, Additional Secretary, Ministry of Health and Family Planning. Aug. 1975.
- 4) Shanti Lal Shah: Study of question of legalization of abortion-under Ministry of Health and Family Planning Govt. of India, 1966-67.
- 5) The Medical Termination of Pregnancy Act, No. 34 of 1971, 10th August 1971, Govt. of India.

全インド医科学研究所付属病院における人工妊娠中絶患者の臨床統計

Singh RATAN and P. KASHYAP
Centre for Community Medicine, All India Institute for Medical Science, New Delhi, India

全インド医科学研究所付属病院に人工妊娠中絶を希望して訪れた婦人は、既婚85.0%, ヒンズー教徒84.2%, 20-39歳が86.1%, 1-3回経産57.4%であった。1-2回経産婦で中学以上の教育を受けたものは78.0%である。

2.5人の挙児希望で、すでに2.35人の児を得ている。生児100に対して流産12.5, 妊娠100に対しては流産11.7

となる。また生産100につき児死亡は5-7であつた。

避妊実行率は低く (33.3%)，人工中絶前は避妊計画に不熱心 (46.1%)，しかし手術後は避妊 80.8%になつ

た。年齢と教育程度が避妊法のうけ入れに関係しているように思われた。

(受付：昭和55年11月13日)

精子形態の臨床的研究

その1: 精子形態の分類と fertile men について

その2: 精索静脈瘤について

The Clinical Interpretation of Sperm Morphology in Relation to Fertile Men and Patients with Varicocele

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 高井修道教授)

藤沢市民病院泌尿器科 (主任: 広川 信 医長)

岩 本 晃 明

Teruaki IWAMOTO

Department of Urology, Yokohama City University School of Medicine

(Director: Prof. Shudo Takai)

Department of Urology, Fujisawa City Hospital

(Director: Chief. Makoto Hirokawa)

妊孕能を知る上で精子形態は重要なパラメーターである。光学顕微鏡下で精子頭部をみると、ゆがみ、あるいは、ひずみのみられる精子、oval form と tapering form, oval form と amorphous form, oval form と round form との中間にある精子が観察される。これらの精子を従来の分類法で行うとその判定が難しい。著者はこれらの精子を「変形精子」と便宜上、呼称して分類に加えた。このことにより精子形態の分析が容易となり判定に客観性がみられた。試案した分類による fertile men の精子形態の分布率は Papanicolaou 法で正常型精子 $61.6 \pm 11.8\%$ 、変形精子 $28.0 \pm 7.8\%$ 、先細小型精子 $5.5 \pm 5.1\%$ 、病的精子 $3.7 \pm 2.0\%$ 、幼若細胞 $0.1 \pm 0.2\%$ である。Papanicolaou 法 (P.-法と省略) と超生体染色法 (Testsimplets Slides® 法 T.-法と省略) とから fertile men と精索静脈瘤症例について精子形態を比較したところ次の事実がえられた。

① 精子頭部が P.-法で縮小する現象を認めた。② 精索静脈瘤の精子形態は fertile men と比べて P.-法では正常型精子が低く、変形精子、先細小型精子、病的精子、幼若細胞が高い値を示す。T.-法では正常型精子が低く変形精子、病的精子が高い値を示す。③ 約 $\frac{2}{3}$ の fertile men では両染色法で正常型精子の出現率に差をみないが、 $\frac{1}{3}$ の症例で差をみた。精索静脈瘤では差のない群 (V.-A 群) と差のある群 (V.-B 群) とを半数ずつ観察した。V.-A 群は正常型精子が両染色法とも低く、減(乏)精子症が多い。V.-B 群では T.-法の精子形態が fertile men のパターンを示すが P.-法では正常型精子が低く、変形精子、先細小型精子が高い値を示す。精子濃度の良好例が多い。④ 正常型精子の出現率から妊孕能との関連をみると、精子濃度が良好であつても正常型精子の出現率が P.-法、T.-法ともに fertile men より低い場合には妊孕能の低下傾向が推定された。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 26(3), 330-354, 1981)

はじめに

妊孕能を精液検査で判定する際に精子数、運動性、精子形態は重要な parameter となっていることは周知のことである。ヒト成熟精子の形態に関しては多くの分類

が試みられている。そして各分類項目の判別は困難であり日常検査において不便を感じている。精子形態の観察の際に種々な染色法があり、染色法が異なるにつれ同一検体でも分類分布が異なる。著者はまず fertile men の精子について最も日常検査に便利で妥当性のある分類法

を光学顕微鏡下で検討した。

男子不妊症の一原因である精索静脈瘤の精子形態分布について固定標本 (Papanicolaou 法) と超生体染色標本 (Testsimples Slides 法) とから検討し, fertile men と比較して精索静脈瘤における精子形態分布の特徴を追求した。また多くの精索静脈瘤をみると, 妊孕例や精子濃度の良好な群も存在する。このことから不妊群と妊孕能のある群における精子形態の変化についても検討を行った。

その 1: 精子形態の分類と fertile men について

精子形態分類の問題点について

ヒト成熟精子の形態について多くの分類が試みられている。

分類法を大別すると, 成熟精子の頭部, 体部, 尾部で分類する方法¹⁻⁹⁾, 成熟精子の頭部と尾部で分類する方法⁷⁻⁹⁾, 成熟精子の頭部のみで分類する方法¹⁰⁻¹⁶⁾, とになる。

Joël¹⁷⁾は幼若細胞から成熟した精子まで含めて詳細な分類をしている。spermioqram (成熟した種々の精子形態), spermioctyogenetic cells (spermatogonia, spermatocytes, prespermatids, spermatids), spermiohistogenetic cells (metaspermatids, residual bodies) に分けて精液中にみられる形態を分類している。Joël の詳細な分類は合理的な考えではあるが複雑で臨床面で応用しにくい。そこで簡略化した分類法が望まれる。

臨床面で精子形態を評価する場合, 頭部の形態が重視されている¹⁸⁾。

妊孕能を判定する上で normal sperm の出現率を知ることが重要であるが normal sperm の評価の仕方が報告者により異なる。fertile men の normal sperm の出現率は表 1 に一括して示すように 60% から 95% と広く分布し, また標準偏差値も 5.6% から 15% まで幅がみられ報告者により異なっている。そこで光学顕微鏡下でみられる精子形態の判別上の難しさについて文献例から述べる。

normal sperm についてみると, Macleod²³⁾は妊孕能をもつヒトの精液中に oval form の精子の出現率が高いことを観察し精子頭部が oval form の精子を normal sperm としている。Page ら¹²⁾は, おおまかに oval form に近い精子をすべて正常型精子としている。このために fertile men 129 例の oval form の出現率が 88% と他の研究者よりも高い比率を報告している。Joël は big-, small-, round-, pointed-head をすべて正常精子とみなしている。Eliasson²⁴⁾は頭部の長さ 3.0 から

表 1 normal sperm の出現率

| 報告者 (年) | 出現率 (%) |
|-----------------------------------|---------------------|
| Hotchkiss ら (1938) ¹⁵⁾ | 89.81 (65.76~98.85) |
| Pollak ら (1939) ¹⁸⁾ | 80 |
| Davis ら (1943) ¹⁸⁾ | 80~95 |
| Weisman (1943) ¹⁸⁾ | 80~90 |
| Falk ら (1950) ¹¹⁾ | 88.4 (70~97) |
| Macleod ら (1951) ³⁵⁾ | 79±14 |
| Davidson (1952) ²²⁾ | 74 |
| Sroka (1965) ¹⁹⁾ | 80~85 |
| Czyglik ら (1973) ³⁶⁾ | 71.1±5.6 |
| Sobrero ら (1975) ²⁰⁾ | 73±6 |
| Zaneveld ら (1977) ⁶⁾ | 60~70 |
| Sherins ら (1977) ²¹⁾ | 63.6±15 |

5.0 μ , 幅 2.0 から 3.0 μ の範囲にある oval shape をしている精子を normal head としているが borderline form をしている精子も normal head と分類している。Freund⁷⁾は normal sperm の頭部の長さ と幅を測定し, その平均値の±40%の範囲内にある精子を normal head としている。Hellinga¹⁶⁾は size, relation between length and width, shape of the head near the midpiece, contour の 4 点を基準にして正常範囲内の分類基準を厳密におこなった。oval form は size 8.5 μ m², Ratio 1.7, round form は 7.0~13.0 μ m², Ratio < 1.4, elongated form は 7.0~13.0 μ m², Ratio < 2.0, pearshaped form は 7.0~13.0 μ m², Ratio 1.4~2.0 と定めている。この範囲内であれば oval form でなくとも normal head と診断している。このように normal sperm の観察の仕方が報告者により異なり一定していない。

次に tapering form について述べる。

Freund⁷⁾は tapering form として long head, narrow, lancet shaped head, elongated head, miscellaneous tapering forms, spiriform, lepto などを入れている。Macleod¹⁰⁾は tapering の程度により acute tapering form, moderate taper, tendency to taper と分けている。Hotchkiss¹⁵⁾は tapering form の程度を 3 段階に分けている。tapering-1 は oval form に似ており, tapering-3 はもつとも tapering の程度が強い精子と定義している。実際の分類上では, tapering-1 を oval form としている。このように tapering form の観察にもむずかしさがある。

出現率は低い が round form についても種々の考え方が報告されている。

Moench³⁾によると, 幾らか丸くなっているような精

子は normal sperm とみなし、真に丸い精子のみ abnormal sperm として round form に分類している。Hellings, Joël は round form でも normal size 内にあるものは normal sperm として分類している。しかし Hotchkiss, Falk ら, Page ら, Moench らは異常形として分類している。Macleod は round form を abnormal sperm としているが精液中に非常にまれにしかみられないことから分類から除外している。

同じ分類法を用いながらも、観察者により臨床データが異なる報告がみられる。Johnson ら²⁴⁾は, Macleod¹⁰⁾の分類基準を用いて精索静脈瘤について調べているが oval form の出現率が Macleod の報告と大きく相違している。Macleod²⁵⁾は精索静脈瘤で34%と報告している。ところが Johnson らは94例の精索静脈瘤で、正常の精子濃度を示す群では oval form は85.1%, 乏精子症を示す群では76.4%である。この現象は oval form についての見解の違いによるものである。oval form に近似している精子が多く存在していることを示唆している。

以上のように精子形態の判別が観察者により異なっている。日常の精子形態の検査において、だれが行っても分類しやすい煩雑性の少ない分類法が望まれる。著者は一つの試みとして形態上 oval form と tapering form, oval form と amorphous form, oval form と round form の中間にある精子で、厳密な意味で oval form, tapering form, round form, amorphous form と判定できない精子を別の項目を設けて判定した。後述するが、これらの精子を便宜上「変形精子」と呼称した。

検討方法

① 標本の作製方法

多くの研究者により検討されている papanicolaou 法と超生体染色法と考えられる Testsimplets Slides®法

の2つの方法を用いて精子形態の観察をおこなった。

Papanicolaou 法による作製方法(以下 P.-法と略す)
精子濃度1500万/ml 以上の精液は、原液で塗抹標本を作る。精子濃度1500万/ml 以下の精液は2000回転、10分間の遠沈を行い、沈澱物で塗抹標本を作る。卵白グリセリンを塗布したスライドガラスに精液をうすく塗抹する。このスライドガラスを半乾燥させ、次に粘液溶解剤(アレバール®: サペリン0.125%, 重曹2%, グリセリン5%の溶液)液中に、2, 3度ひたし精漿を出来るだけ取り除き、95%アルコールとエーテルの同量液で30分間固定し、次に papanicolaou 染色を行って標本作製する。

Testsimplets Slides®法による作製方法(以下 T.-法と略す)

Testsimplets Slides®は西ドイツのペーリンガーマンハイム社より発売されているヘモグラム用のスライドガラスである。この Testsimplets Slides を精子形態の観察に臨床応用した。このスライドガラスは、すでに染色液(Methylene blue N と Cresyl violet acetate の重染色)が表面に塗布されている。このスライドガラスの上に精子濃度1500万/ml 以上の精液の場合には原液を一滴、また精子濃度1500万/ml 以下の場合には2000回転、10分間の遠沈を行った沈澱物を一滴たらし、カバーガラスをかけて標本とする。室温に30分から2時間おいて検鏡する。

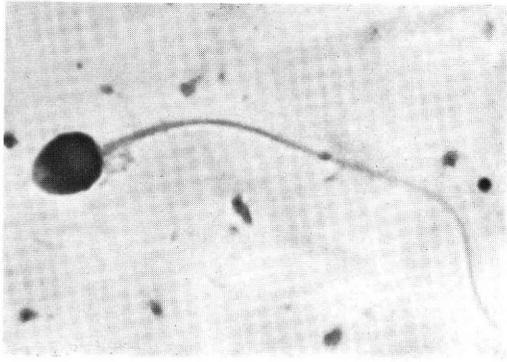
② 標本の観察方法

P.-法と T.-法とによつて出来た標本を油浸下1000倍で検鏡して写真にとり、キャビネ版に引伸してから精子形態を観察した。判定方法は従来の分類のほかに「精子形態分類の問題点について」で述べた変形精子を入れて表2に示す分類基準で観察を行った(図1)。同一資料で3標本作製し、一標本につき原則として200個以上の精子を数え、その平均を算出している。一症例につき1回から2回の精液を検討した。

表2 著者の精子の分類基準

| | |
|----------------------|--|
| 正常型精子 (oval) | : 頭部の長さ平均 4.5 μ , 幅平均 3.0 μ でその \pm 40%以内にある oval form |
| 先細小型精子 (tapering) | : 頭部が先細小で細長い精子 |
| 大型精子 (large) | : 頭部の長さ 6.3 μ 以上, 幅 4.2 μ 以上の精子 |
| 小型精子 (small) | : 頭部の長さ 2.7 μ 以下, 幅 1.8 μ 以下の精子 |
| 円型精子 (round) | : 頭部の長さと同幅で真に丸い精子 |
| 病的精子 (amorphous) | : 頭部の大きさに関係なく形あるいは輪郭の著しい irregularity を示す精子 |
| 幼若細胞 (immature cell) | : spermatocyte, spermatid など精子の前段階の細胞 |
| 変形精子 (distorted) | : oval form と tapering form, oval form と amorphous form, oval form と round form との中間にある精子, あるいは頭部にひずみやゆがみのみられる精子 |

分類不能



10 μ

1



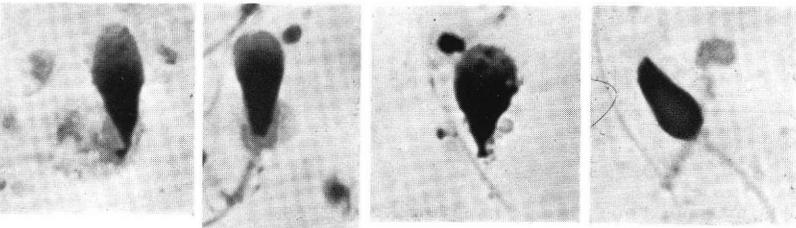
2

3

4

5

6

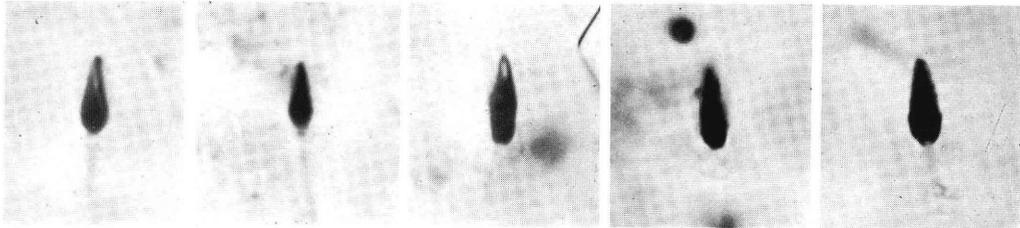


7

8

9

10



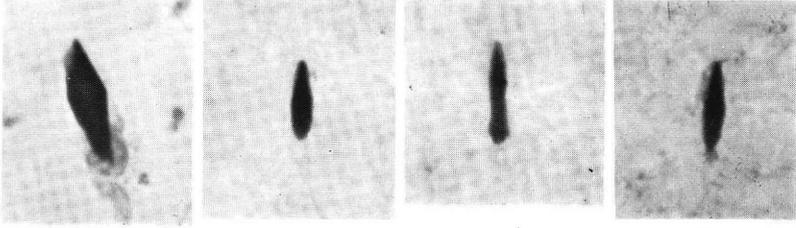
11

12

13

14

15



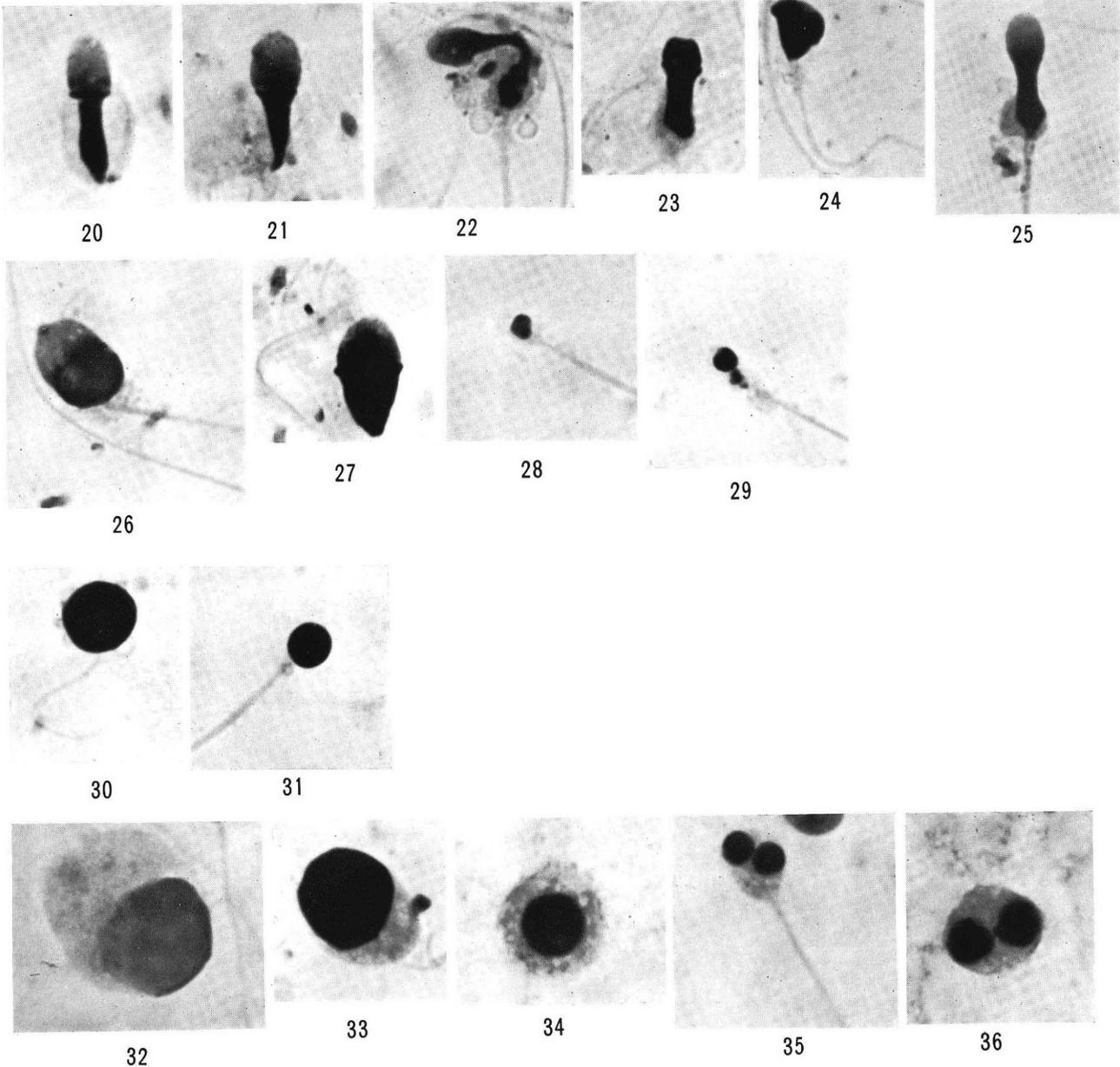
16

17

18

19

図 1 著者の検討した精子形態のいろいろ



写真説明

- 1 正常型精子 2~10 変形精子 11~18 先細小型精子 20~25 病的精子 26~27 大型精子
 28~29 小型精子 30~31 円型精子 32~36 幼若細胞

表 3 fertile men 13例のまとめ

| | 症 例 | 年齢 | 精液量(ml) | 精子濃度(×10 ⁶ /ml) | 活動精子率(%) | 子 供 | 備 考 | |
|---------|-----|-----|---------|----------------------------|----------|-----|-------|-------|
| I 群 | 1 | 37 | 2.3 | 51 | 67 | 3 | 精管結紮術 | |
| | 2 | 36 | 3.5 | 196.8 | 50 | 2 | | |
| | 3 | 28 | 4.7 | 57 | 68 | 1 | | |
| | | | 5.0 | 53.2 | 67 | | | |
| | 4 | 32 | 5.0 | 90 | 55 | 1 | | |
| | | | 5.0 | 80 | 63 | | | |
| | 5 | 36 | 2.5 | 204.8 | 56 | 妊娠中 | | |
| 6 | 33 | 2.0 | 150.6 | 50 | 2 | | | |
| 7 | 31 | 2.3 | 63.6 | 65 | 1 | | | |
| II 群 | 8 | 31 | 2.7 | 50.2 | 37 | 3 | 精管結紮術 | |
| | 9 | 34 | 3.0 | 203.6 | 35 | 3 | | |
| | 10 | 28 | 5.0 | 68.4 | 31 | 2 | | |
| | 11 | 32 | 1.7 | 92.6 | 50 | 2 | | |
| | 12 | 35 | 3.0 | 25.6 | 40 | 3 | | 精管結紮術 |
| | 13 | 44 | 2.0 | 34.8 | 23 | 2 | | 精管結紮術 |

また、推計学的検定は student の t 検定により行つた。

対 象

子供のある人を fertile men として 13 例について検討した。精液量、精子濃度、活動精子率により fertile men を 2 群にわけた。I 群は精液量 2 ~ 5 ml、精子濃度 4000 万/ml 以上、活動精子率 50% 以上の精液所見をもつ症例である。II 群は精液所見の一部に異常を認める症例である。13 例の精液所見を表 3 に一覽する。

症 例

I 群症例 1 (37歳) 3 児をえているため不妊手術を希望して昭和 53 年 6 月来院している。
 症例 2 (36歳) 昭和 50 年 2 月結婚し、昭和 51 年 3 月長男、昭和 53 年 1 月次男をえている。
 症例 3 (28歳) 昭和 51 年結婚し 1 年半の不妊期間があるため来院している。精液所見が良好なため経過観察中に、妊娠がみられ昭和 54 年第 1 子をえている。
 症例 4 (32歳) 昭和 48 年 9 月結婚し、不妊期間 3 年にて来院したが、精液検査は正常と判断された。その後第 1 子を昭和 52 年 9 月にえている。
 症例 5 (36歳) 昭和 49 年 10 月結婚し 5 年 3 カ月の不妊期間があるため

来院している。精液所見が良好なため経過観察中に昭和 55 年 5 月妊娠 10 週目と判明した。

症例 6 (33歳) 昭和 47 年 3 月結婚し昭和 51 年 3 月長女、昭和 52 年長男が生れる。昭和 55 年 3 月に精液検査を行つている。
 症例 7 (31歳) 昭和 54 年 1 月結婚し昭和 54 年 12 月長女が生れる。昭和 55 年 3 月に精液検査を行つている。
 II 群症例 8 (31歳) 昭和 47 年 11 月結婚し昭和 50 年 6 月、昭和 52 年 4 月、昭和 54 年 4 月と 3 児をえている。昭和 54 年 7 月に不妊手術を希望して来院している。
 症例 9 (34歳) 昭和 45 年 3 月結婚し昭和 46 年 4 月長男、昭和 47 年 10 月次男、昭和 49 年 8 月長女が生れる。昭和 53 年 11 月に精液検査を行つている。
 症例 10 (28歳) 昭和 53 年 6 月結婚し昭和 54 年 2 月長男、昭和 55 年 8 月第 2 子の誕生予定である。
 症例 11 (32歳) 昭和 50 年 5 月結婚し昭和 51 年長男、昭和 53 年次男が生れる。昭和 53 年 8 月に精液検査を行つている。
 症例 12 (35歳) 昭和 50 年 4 月第 1 子、昭和 51 年 8 月第 2 子、昭和 53 年 6 月第 3 子をえている。昭和 53 年 10 月に不妊手術を希望して来院している。
 症例 13 (44歳) 昭和 40 年 10 月結婚し昭和 42 年 7 月第 1 子、昭和 45 年第

表 4 fertile men I 群の精子形態の分布
(Papanicolaou 法)

| 症 例 | 1 | 2 | 3 | | 4 | | 5 | 6 | 7 |
|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 検 討 回 数 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 正常型精子 | 50±12.5 | 78.6±0.5 | 55.3±7.5 | 54±5.8 | 34.4±3.7 | 60.4±4.1 | 79.6±2.2 | 59.5±2.6 | 78.5±3.0 |
| 変形精子 | 38.2±7.2 | 16.3±0.7 | 31.8±6.4 | 31.1±4.3 | 37.9±2.5 | 30.1±3.9 | 17.8±3.3 | 28.4±2.1 | 16.7±1.8 |
| 先細小型精子 | 8.5±5.9 | 0.5±0.4 | 3.5±2.0 | 2.8±2.1 | 19.8±6.8 | 1.6±1.7 | 0.1±0.2 | 9.2±4.2 | 0.4±0.5 |
| 大型精子 | | | 0.1±0.1 | | | | | | |
| 小型精子 | 0.3±0.2 | 0.3±0.4 | 0.1±0.2 | 1.0±0.6 | 2.4±0.5 | 0.2±0.2 | 0.1±0.2 | | 0.3±0.2 |
| 円型精子 | | 1.2±0.5 | 0.3±0.2 | 0.7±0.4 | 0.7±0.2 | 0.6±0.6 | | 0.2±0.3 | |
| 病的精子 | 3.0±0.5 | 2.5±1.0 | 7.4±1.1 | 9.6±2.6 | 3.7±1.6 | 6.2±1.5 | 1.8±1.0 | 2.5±0.2 | 4.1±1.5 |
| 幼若細胞 | | 0.4±0.3 | 0.3±0.2 | 0.6±0.4 | 0.9±0.4 | 0.2±0.2 | | 0.2±0.3 | |
| 分類不能 | | 0.3±0.2 | 1.1±0.6 | 0.5±0.4 | 0.±20.2 | 0.7±0.6 | 0.5±0.6 | | |

% (Mean±SD)

表 5 fertile men II 群の精子形態の分布
(Papanicolaou 法)

| 症 例 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------|----------|-----------|----------|----------|-----------|----------|
| 正常型精子 | 56.5±2.0 | 59.8±17.4 | 50.5±2.8 | 50.7±4.0 | 70.9±15.1 | 64.9±1.9 |
| 変形精子 | 33.5±3.2 | 25.5± 4.1 | 38.1±3.4 | 32.4±3.9 | 21.6± 2.4 | 29.1±1.7 |
| 先細小型精子 | 5.0±0.1 | 9.2± 5.9 | 8.8±1.1 | 15.6±1.5 | 1.1± 1.3 | 0.3±0.5 |
| 大型精子 | | | | | | |
| 小型精子 | | 0.1± 0.2 | | | 0.5± 0.7 | 0.6±0.3 |
| 円型精子 | 0.5±0.4 | 0.1± 0.2 | 0.6±1.1 | 0.4±0.3 | 0.1± 0.2 | 1.2±0.3 |
| 病的精子 | 4 ±2.0 | 4.9± 1.7 | 1.6±0.8 | 0.9±0.7 | 5.6± 1.7 | 3.6±0.5 |
| 幼若細胞 | | | 0.3±0.2 | | | |
| 分類不能 | 0.5±0.4 | 0.3± 0.2 | 0.1±0.2 | | 0.2± 0.3 | 0.3±0.3 |

% (Mean±SD)

2子を出している。昭和55年1月に不妊手術を希望して来院している。

fertile men の精子形態の検討結果

① P.-法での精子形態の分類結果

fertile men 13例の検討結果についてその詳細を表4, 5に示す。

正常型精子の出現率をみると、70%以上の出現率をみた症例は13例中4例(31%)、60~70%は1例(8%)、50~60%は7例(54%)である。13例中12例は正常型精子の出現率が50%以上であった。同一症例で2回行った精液検査で精子形態をみると、症例3では正常型精子の出現率が55.3%、54%とあまり変動しないが、症例4では第1回の検査で正常型精子の出現率が34.4%と低値を示したが第2回の検査で60.4%を示し、検査日により変動がみられた。

著者の試案した変形精子について実際例から説明する。

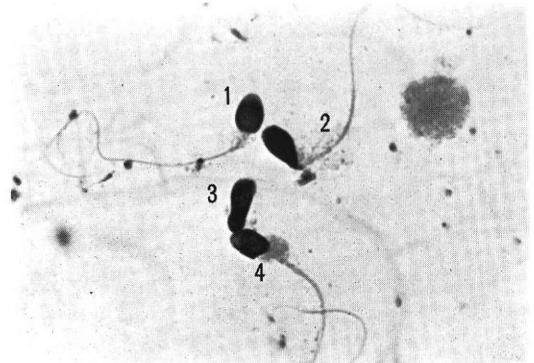


図2 症例5 (Testsimplets Slides 法)
1 正常型精子 2 変形精子 3 病的精子
4 変形精子

図2は症例5の標本(T.-法)である。1の精子は oval form で典型的な正常精子である。3の精子はひょうたん型に近い奇妙な形をしており明らかに病的精子

と分類できる。ところが2と4の精子は分類に難しさがある。2の精子は頭部の長さ 5.9μ 、幅 3.0μ で頭部が体部に向つて細くなっている。Hotchkiss の分類によると tapering-1, Macleod によると tendency to taper となる。しかし Hellinga の分類では頭部の測定結果から normal sperm の範ちゆうに入る。このように2の精子が正常型精子に入るのかあるいは先細小型精子に入るのか観察者により異なる。oval form と tapering form の中間型として著者は変形精子と分類した。4の精子は写真上、頭部が外側にやや突出している形で oval form とは云い難い。Page ら, Eliasson らの基準でみると正

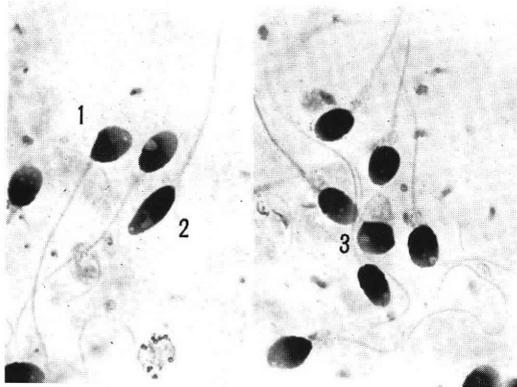


図3 症例7 (Testsimplets Slides 法)
1. 2. 3. 変形精子

常型精子の borderline form として分類される。著者は前述したようにこの精子を変形精子と分類している。本例での変形精子の出現率は11.9%である。

図3は症例7の標本(T.-法)である。84.8%と正常型精子が多く出現している。この標本について厳密に観察すると、従来の分類項目に入らない精子がみられている。1の精子は頭部の下半分がやや細くおろし厳密な意味で oval form ではない。おそらく他の研究者は正常な精子として分類すると思われる。2の精子は頭部の長さ 7.4μ 、幅 3.0μ で細長い形をしている。Eliasson の分類では tapering form となる。しかし Macleod の分類では頭部の先端が尖っていないため tapering form と判定できない。3の精子は oval form がつぶれたような形をしている。Hellings, Eliasson の分類によると normal sperm の borderline form として分類される。しかし病的精子とするにはそれほど異常な形をしていないが oval form と云い難い。これらの1, 2, 3の精子を著者は変形精子と分類した。本例の変形精子は10.5%みられている。

図4は症例11の標本(P.-法)である。1の精子は頭部が先細小で細長い形をしている。典型的な先細小型精

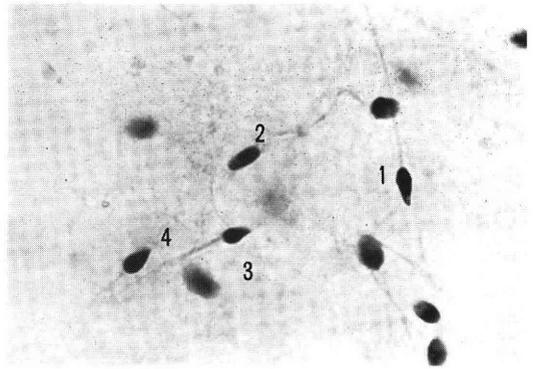


図4 症例11 (Papanicolaou 法)
1. 先細小型精子 2. 3. 4. 変形精子

子である。2の精子は頭部の長さ 4.1μ 、幅 1.9μ でやや細長い形をしている。正常範囲内の変化とみなす研究者が多いが、明らかに oval form と云い難い。3と4の精子は Zaneveld らによると正常精子と判定される。しかし頭部の先端が尖つていて oval form ではない。

これらの精子(2, 3, 4)を変形精子と分類した。本例の変形精子の出現率は32.4%である。

著者の試案した変形精子は正常型精子について多くみられた。その出現率は16.3%から38.2%にわたり平均 $28.0 \pm 7.8\%$ である。

先細小型精子は0.1%~19.8% (平均 $5.5 \pm 5.1\%$)みられている。10%以上の出現率を示す症例は13例中2例を観察している。

病的精子も fertile men で出現している。その出現率は0.9%から8.5%にわたり平均 $3.7 \pm 2.0\%$ であつた。

円型精子と小型精子は平均1%以下の出現率でそれぞれ0~1.2% (平均 $0.4 \pm 0.4\%$)、0~2.4% (平均 $0.3 \pm 0.4\%$)である。

大型精子は症例3の第1回の検査で0.1%出現している。他には出現していない。

幼若細胞は成熟精子とともに100%の比率でみているため、ごく少数しかみられていない。平均 $0.1 \pm 0.2\%$ であつた。

fertile men 13例について精液所見の良好な群(I群, 7例)と精液所見の一部に異常を認める群(II群, 6例)とで精子形態を比較したところ、正常型精子の出現率はそれぞれ64.0%, 58.9%, 変形精子は26.2%, 30.0%, 先細小型精子は4.6%, 6.7%, 病的精子は3.9%, 3.4%, 幼若細胞は0.2%, 0.1%となり、I群とII群とで精子形態に有意の差を認めなかつた。

② T.-法での精子形態の分類結果

P.-法を行つた11症例(症例1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13)について、同一資料で T.-法によ

表 6 fertile men I 群の精子形態の分布
(Testsimplers Slides 法)

| 症 例 | 1 | 2 | 5 | 6 | 7 |
|--------|-----------|----------|----------|----------|----------|
| 正常型精子 | 51.9±11.4 | 73.2±6.3 | 85.1±1.5 | 86.4±1.4 | 84.8±3.9 |
| 変形精子 | 31.2± 6.4 | 21.0±4.2 | 11.9±2.2 | 10.3±0.8 | 10.5±2.2 |
| 先細小型精子 | 9.9± 5.0 | 1.9±1.2 | | | |
| 大型精子 | 0.1± 0.2 | 0.4±0.3 | 0.2±0.2 | | 0.3±0.4 |
| 小型精子 | 0.1± 0.2 | | | 0.3±0.3 | |
| 円型精子 | 0.5± 0.2 | 0.4±0 | 0.2±0.2 | | 0.2±0.2 |
| 病的精子 | 4.4± 1.3 | 2.3±1.2 | 2.3±0.6 | 2.7±0.8 | 4.0±1.1 |
| 幼若細胞 | 1.0± 0.7 | 0.2±0.2 | 0.2±0.2 | 0.3±0.3 | 0.2±0.2 |
| 分類不能 | 0.8± 0.6 | 0.6±0.6 | 0.2±0.2 | | 0.2±0.2 |

%(Mean±SD)

表 7 fertile men II 群の精子形態の分布
(Testsimplers Slides 法)

| 症 例 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 正常型精子 | 83.4±2.0 | 63.3±2.8 | 85.0±2.7 | 74.0±0.8 | 70.6±0.5 | 68.8±4.4 |
| 変形精子 | 12.0±3.5 | 27.5±2.8 | 9.9±2.7 | 22.2±1.5 | 20.5±0.9 | 28.4±3.8 |
| 先細小型精子 | | 2.1±1.4 | | 1.1±1.6 | 2.7±1.4 | |
| 大型精子 | 1.3±1.5 | | 0.1±0.2 | 0.1±0.2 | 0.3±0.4 | |
| 小型精子 | | 0.3±0.2 | | 0.1±0.2 | | |
| 円型精子 | 0.2±0.2 | 0.3±0.2 | 1.9±0.3 | 0.4±0.3 | 0.3±0.2 | 0.4±0.5 |
| 病的精子 | 3 ±0.9 | 5.9±0.9 | 2.5±0.9 | 1.9±1.3 | 4.3±0.4 | 1.1±0.8 |
| 幼若細胞 | 0.2±0.2 | 0.1±0.2 | | | 0.4±0.4 | 0.6±1.1 |
| 分類不能 | | 0.5±0.3 | 0.6±0.5 | 0.1±0.2 | 1 ±0.2 | 0.5±0.5 |

%(Mean±SD)

る精子形態の分類を行った(表6, 7)。

正常型精子の出現率は51.9%から86.4%にわたり、平均75.1±11.1%である。70%以上の出現率をみた症例は11例中8例(73%) 60~70%は2例(18%), 50%代は1例(9%)である。

次に多くみられる精子は P.-法と同様で変形精子である。その出現率は9.9%から31.2%にわたる(平均18.7±8.1%)。

病的精子は先細小型精子より多くみられ、出現率は1.1%から5.9%にわたる(平均3.1±1.4%)。

先細小型精子の出現率は0から9.9%にわたる(平均1.6±2.9%)。

円型精子の出現率は0から1.9%にわたる(平均0.4±0.5%)。

大型精子、小型精子はわずしかみられていない。それぞれ平均0.3±0.4%, 0.1±0.1%の出現率である。

幼若細胞の出現率は平均0.3±0.3%である。

fertile men 11例について精液所見の良好な群(I

表 8 P.-法と T.-法での正常型精子の出現率の比較
出現率に差がみられない群(N.-A群) 出現率に差がみられる群(N.-B群)

| 症例 | 正常型精子の出現率(%) | | 症例 | 正常型精子の出現率(%) | |
|----|--------------|------|----|--------------|------|
| | P.-法 | T.-法 | | P.-法 | T.-法 |
| 1 | 50 | 51.9 | 6 | 59.5 | 86.4 |
| 2 | 78.6 | 73.2 | 8 | 56.5 | 83.4 |
| 5 | 79.6 | 85.1 | 10 | 50.5 | 85.0 |
| 7 | 78.5 | 84.8 | 11 | 50.7 | 74.0 |
| 9 | 59.8 | 63.3 | | | |
| 12 | 70.9 | 70.6 | | | |
| 13 | 64.9 | 68.8 | | | |

群、5例)と精液所見の一部に異常を認める群(II群、6例)とで精子形態を比較したところ、正常型精子の出現率はそれぞれ76.3%、74.2%、変形精子は17.0%、20.1%、先細小型精子は2.4%、1%、病的精子は3.1%、3.1%、幼若細胞は0.4%、0.2%となりI群とII群

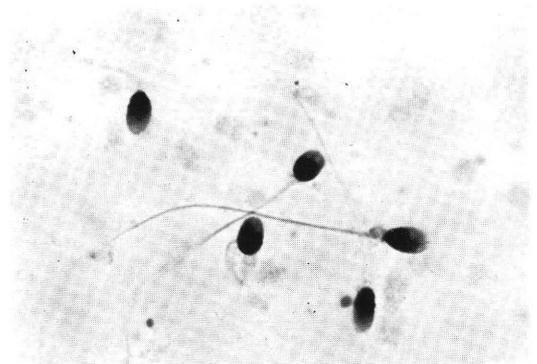
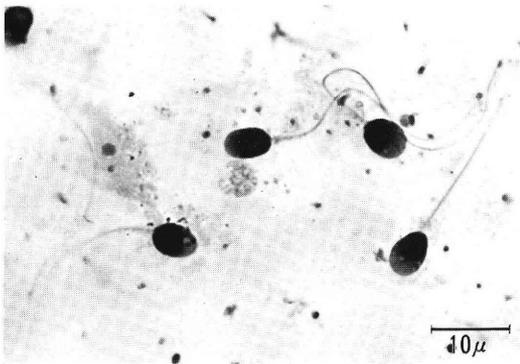
表 9 Papanicolaou 法と Testsimplets Slides 法による正常型精子頭部の検討

| fertile men | 頭 部 の 長 さ | | | 頭 部 の 幅 | | |
|-------------|-----------|----------|------|---------|---------|------|
| | P.-法 | T.-法 | P/T | P.-法 | T.-法 | P/T |
| 症 例 1 | 9.6±1.1 | 11.9±1.1 | 0.81 | 5.7±0.7 | 6.9±0.8 | 0.83 |
| 2 | 10.1±1.1 | 12.2±1.1 | 0.83 | 6.8±0.9 | 7.9±0.8 | 0.86 |
| 5 | 10.0±0.8 | 12.8±1.2 | 0.78 | 6.5±0.8 | 8.8±0.8 | 0.74 |
| 6 | 10.5±0.9 | 13.8±1.1 | 0.76 | 6.3±0.8 | 8.9±0.8 | 0.71 |
| 7 | 10.8±0.9 | 14.3±1.2 | 0.76 | 6.7±0.8 | 9.3±0.8 | 0.72 |
| 8 | 10.7±1.0 | 14.7±2.0 | 0.73 | 6.3±0.9 | 9.4±1.4 | 0.67 |
| 9 | 10.4±1.3 | 13.4±1.2 | 0.78 | 5.9±0.9 | 8.0±1.0 | 0.74 |
| 10 | 9.5±1.2 | 12.2±1.1 | 0.78 | 6.4±0.9 | 8.3±0.8 | 0.78 |
| 11 | 10.5±0.9 | 13.9±1.1 | 0.76 | 6.6±0.8 | 9.3±0.9 | 0.71 |
| 12 | 10.3±1.5 | 13.0±1.4 | 0.79 | 5.9±0.7 | 7.4±0.7 | 0.80 |
| 13 | 9.2±1.2 | 11.4±1.2 | 0.81 | 5.8±0.8 | 7.2±0.9 | 0.81 |

単位 mm (27 mm=10 μ)

算定した精子数は、P.-法では97個から216個(平均146個)、T.-法では101個から193個(平均166個)である。

図 5 Papanicolaou 法と Testsimplets Slides 法との比較
(正常型精子の大きさについて)



症例 7

上図は T.-法で下図は P.-法である。正常型精子の頭部の長さとは幅は、24%、28% P.-法で縮小している

症例 9

上図は T.-法で下図は P.-法である。正常型精子の頭部の長さとは幅は22%、26% P.-法で縮小している

とで精子形態の比率に有意の差を認めなかった。

③ P.-法と T.-法との精子形態の比較

精子を生に近い状態で観察する T.-法に対して固定という操作の加わる P.-法が精子形態にどのような影響を及ぼすかを検討した。

P.-法と T.-法における正常型精子の出現率をみると(表8), P.-法と T.-法とで正常型精子の出現率にあまり差がないと考えられる群(N.-A 群)と, T.-法に比較して P.-法での正常型精子の出現率が低い現象を示す群(N.-B 群)とを観察する。N.-A 群は7例で N.-B 群は4例である。fertile men の64%は両染色法で正常型精子の出現率に相違をみない。

変形精子の出現率を比較すると N.-A 群で7例のうち4例は5%以内の変動で, 他の3例も10%以内の変動であった。N.-B 群では4例とも10%以上 T.-法に比較して P.-法での出現率が増加している。症例8は21.5%, 症例10は28.2%も P.-法において増加している。

先細小型精子の出現率を T.-法と P.-法とで比較すると N.-A 群で7例のうち6例は3%以内の変動である。N.-B 群では4例とも5%以上 P.-法での出現率が増加している。

病的精子と幼若細胞は有意の差を認めない。

④ P.-法と T.-法とによる正常型精子の頭部の大きさについて

P.-法と T.-法とで染色した正常型精子を同一条件で精子頭部の長さや幅の測定を行い比較検討した(表9)。P.-法で観察される精子頭部は T.-法よりも縮小する現象を認めた(図5)。

fertile men 11例の測定結果は T.-法での頭部の長さ $13.1 \pm 1.1 \text{mm}$, 幅 $8.3 \pm 0.9 \text{mm}$, P.-法での頭部の長さ $10.1 \pm 0.5 \text{mm}$, 幅 $6.3 \pm 0.4 \text{mm}$ であった。

P.-法と T.-法との頭部の長さや幅の比(P/T 比)をもとめ縮小率をみると, 長さの P/T 比は0.77, 幅の P/T 比は0.76となり頭部の長さは23%, 幅は24%くらい縮小している。頭部の長さや幅とも有意の差で P.-法の精子が T.-法より小さいことが判明した ($p < 0.05$)。

考 案

1. 染色法による精子形態の比較

臨床では多くの場合, 固定標本が使用されいろいろな工夫がおこなわれている。

標本の固定についてみると, Freund, Falk, Haeden, Amelar²⁶⁾は10%ホルマリンで1~2分間の固定を行つている。Eliasson は99.5%のエーテルとエタノールの等量液で5分間固定している。Hellings²⁷⁾は固定液の種類による精子形態におよぼす影響を検討してい

る。10%ホルマリンによる固定は abnormal head の出現率が高く profix (spray) による固定はホルマリンより abnormal head の出現率が低いが, midpiece から protoplasm droplets が離れやすい。メチルアルコールによる固定は異常な midpiece と tail の出現率が高い。そして96%アルコールによる固定は abnormal spermatozoa の出現率が最も低いことなどが述べられてアルコール固定が推奨されている。

染色にも Papanicolaou 法^{2,10,24,28,29,30)}, Mayer's Haematoxylin Eosin^{1,7,11,31)}, Gentian violet¹²⁾, eosin-nigrosin¹³⁾染色など多くの方法がみられる。

Hellings²⁷⁾は Papanicolaou, Giemsa, Haematoxylin Eosin と3つの染色法を比較している。Giemsa による染色は abnormal head の出現率を増加させ, しばしば尾部が完全に染色されないことから精子形態を知るに不適當で, Papanicolaou と Haematoxylin Eosin とでは大きな違いのないことが報告されている。

Emilsson ら¹³⁾は eosin-nigrosin 染色を行つて viability と morphology の分析が同時に行える方法を発表している。この染色による精子の形態分類の結果は H-E 染色と良く相関している。

最近, 超生体染色法と考えられる Testsimplets Slides[®] が精子形態の検討に応用されている。Testsimplets Slides は永久標本とならない欠点があるが, 信頼性があり, 簡便であることから臨床診断に有用であると Schirren ら³²⁾, Calamera ら³³⁾により述べられている。

Schirren ら(1977)は Papanicolaou 染色法と比較している。それによると T.-法と P.-法とで染色後2時間, 24時間でみると normal spermatozoa と head defects の比率に有意の差がなかったことを観察している。Calamera ら(1979)は T.-法と Pappenheim's papnotic method, Couture's method とで精子形態を比較して有意の差を認めていない。

著者も追試をし, その有用性を確認した。しかし T.-法と P.-法とで同一症例, 同一資料について精子形態を比較すると2つの興味ある現象がみられた。

一つは, 正常型精子の頭部の長さや幅を測定した結果, T.-法に比べて P.-法で頭部の長さが23%, 幅が24%くらい縮小していることが判明した。P.-法の固定は95%エタノールとエーテルの等量液で行われ, エタノールは細胞内物質に強い化学変化をおこさないが強い脱水作用と脂質の溶解により組織の強い収縮をおこすことが知られている³⁴⁾。精子頭部の縮小は固定操作によるものと考えられる。

次に fertile men 11例の精子形態を比較すると, P.-

法と T.法とで精子形態に差のあまりみられない群64% (N.-A 群) が、また差のみられる群36% (N.-B 群) がみられた。N.-A 群が fertile men にみられる精子形態の傾向と考えられる。N.-B 群では、P.法での正常型精子が T.法での出現率より23.3%~34.5%減少し、そのかわりに変形精子が10.2%~34.5%、先細小型精子が5%~14.5%増加している。病的精子と幼若細胞には差を認めない。fertile men の一部の症例において両染色法で精子形態に差のであることを観察した。

2. fertile men の精子形態の分類分布について

精子形態を詳細に分類してその比率を出している研究者は少ない。

Falk ら¹⁴⁾は、精液検査時に妊娠している人、今までに2人以上の子供をもつ人、そして今までに自然産産の経験がなかった人の100人より得られた精液の精子形態を分類している。その結果は oval form 88.4%, small form 2.3±1.2%, large form 2.4±1.4%, tapering form 3.0±1.4%, round form 1.6±1.0%, amorphous form 2.1±1.9%, double form 0.3±0.5%であった。Macleod ら³⁵⁾は、989人の fertile men の形態分類を平均して oval form 79%, large form 1%, small form 8%, tapering form 4%, duplicate form 1%, amorphous form 7%と報告している。Hotchkiss ら¹⁵⁾は200人の fertile men を検討した結果、oval form (tapering-1を含む) 89.81%, tapering-2,-3 3.68%, round form 1.65%, duplicate form 1.84%, giant and pin head 0.6%, amorphous form 2.1%であった。Harvey ら⁴⁾は50人の probably fertile men の精液を成熟精子の頭部、体部、尾部で分類した結果、normal form 73.5%, amorphous heads 8%, giant, double, monster heads 1%, pin, tapering, pear and round heads 2%, collar (midpiece) 3.5%, bent (midpiece) 5.0%, thick neck 4.5%, double tail, folded tail 6.5%, ring form 2.0%と報告している。このように研究者により精子形態の分類が違いため一律に比較することができない。

自験例について考察する。

P.法による自験13例の正常型精子の出現率は61.6±11.8%であった。Macleod ら、Falk ら、Hotchkiss らと比較して自験例の出現率は低い。これは Sherins らの平均及び標準偏差に近似している。一般に言われている60%の妊孕性の基準を超えた症例はわずか5例(38%)であった。著者の分類法で行くと正常型精子の出現率が50%以上あれば妊孕力のある精液と考えられる。fertile men のなかには自験例(症例4)にみるように、正常型精子の出現率が34.4%、60.4%と変動する場

合もある。

変形精子の臨床的意義について述べる。

精子形態の分類データが診療の参考データとして活用されなくては意味がない。しかし前述したように Joël, Page, Eliasson, Macleod, Zaneveld らはそれぞれ normal sperm についての見方がことなる。著者が round form, tapering form と判定する精子までが Joël, Zaneveld ら、Hellingsa によると normal sperm に含まれてしまう。Page は精子頭部が oval form に近似していれば normal sperm と診断している。このように分類データに混乱の根源がある。まず診療の上で、精子形態の分類が確定的な要素を与えるデータとして活用されるには、normal sperm の判定を一定なものにしておくはならない。そこで著者は normal sperm を頭部が一定の oval form に限定し、oval form に近似している精子あるいは頭部にひずみのある精子を試案した「変形精子」に分類した。著者の述べる変形精子の実例をまとめると図1の2~10に示される。変形精子の概念には理論的背景はないが経験的なもので便宜的な分類である。しかしこのことにより、oval(normal) form, tapering form, round form, amorphous form の判定が容易となる。normal sperm の診断をていねいにおこなえば主観に頼ることなくだれにでも精子形態の分析がおこなえて分類データに客観性がともなってくる。変形精子を設けることにより、normal sperm の比率は従来の比率からみると低下している。

自験13例の変形精子の出現率をみると16.3%から38.2%におよんでいる。正常型精子について多くみられた精子である。

先細小型精子は fertile men においてもみられる。Falk らは3.0%、Macleod らは4%、Hotchkiss らは3.68%と報告している。自験例では5.5±5.1%の出現率で症例4の第1回の検査においては19.8%の高い出現をみている。

病的精子の出現率は自験例で3.7±2.0%みられ Falk らの2.1%、Hotchkiss らの2.1%よりも多く出現している。一方 Macleod ら、Harvey らはそれぞれ7%、8%と自験例の2倍以上の出現率をみている。

fertile men を精液所見の良好な I 群と精液所見の一部に異常を認める II 群とに分けてみると、精子形態に有意の差を認めない。

II 群において症例12と13は精子濃度がそれぞれ25.6×10⁶/ml, 34.8×10⁶/ml と減精子症を呈し、また活動精子率がそれぞれ40%、23%と不良であった。しかし正常型精子の出現率は70.9%、64.9%と良好である。症例8、9、10は活動精子率の低下を認め、症例11は精液量が

1.7ml と少量であった。このようにⅡ群の6例は精液量、精子濃度、活動精子率に一部異常を認めたが、精子形態ではⅠ群と差をみないことが判明した。

ま と め

1. 精子形態を良く観察すると、精子頭部にゆがみ、あるいは、ひずみのみられる精子、oval form と tapering form, oval form と amorphous form, oval form と round form との中間にある精子が光学顕微鏡下で観察された。これらの精子の分類を従来の分類法で行うとその判定が難しい。著者は分類基準を明確にするために、これらの精子を「変形精子」と便宜上、呼称して従来の分類項目に加えた。このことにより、精子形態の分析が容易となり、判定に客観性が増すと考えられた。

2. fertile men の精子形態について試案した分類基準で P.-法により分析すると、正常型精子 61.6 ± 11.8 %、変形精子 28.0 ± 7.8 %、先細小型精子 5.5 ± 5.1 %、大型精子 0.0 ± 0.0 %、小型精子 0.3 ± 0.4 %、円型精子 0.4 ± 0.4 %、病的精子 3.7 ± 2.0 %、幼若細胞 0.1 ± 0.2 % であつた。正常型精子の出現率が50%以上あれば妊孕性があると考えられた。

3. Papanicolaou 法 (P.-法) と超生体染色法と考えられる Testsimplets Slides®法 (T.-法) とで精子形態を同一症例、同一資料について比較して2つの事実を見出した。①正常型精子の頭部の長さや幅が T.-法にくらべて P.-法でそれぞれ23%、24%くらい縮小する現象を認めた。②約 $\frac{2}{3}$ の fertile men においては、両染色法で精子形態に差がみられないが、約 $\frac{1}{3}$ の症例で T.-法にくらべて P.-法で正常型精子の出現率の減少、変形精子と先細小型精子の増加、つまり精子形態の分布率が染色法により異なることが判明した。

その2：精索静脈瘤について

対 象

精索静脈瘤46例について精子形態の分類を Papanicolaou 法で行った。そのうちの20例については同一資料で Testsimplets Slides 法で行った。年齢は15歳から40歳 (19歳以下3例、20歳～29歳24例、30歳～39歳18例、40歳1例) 平均 28.6 ± 5.7 歳 (Mean \pm SD) である。来院時の主訴は不妊 (結婚して3年以上不妊で、精路障害がなく、妻も婦人科的な異常を認めない症例) 25例、陰囊痛・腫脹8例、血尿4例、鼠径部痛3例、尿路結石2例、その他4例である。静脈瘤の程度は Nechiporenko、鈴木³⁷⁾の分類で第1度2例、第2度16例、第3度28例である。精液所見についてみると、精液量は $0.5 \sim 7.0$ ml、 3.6 ± 1.4 ml (Mean \pm SD) である。精子濃度は

3.6×10^5 /ml \sim 123×10^6 /ml (60×10^6 /ml 以上10例、 $40 \sim 60 \times 10^6$ /ml 8例、 $20 \sim 40 \times 10^6$ /ml 13例、 $10 \sim 20 \times 10^6$ /ml 7例、 10×10^6 /ml 以下8例) $38.1 \pm 32.6 \times 10^6$ /ml (Mean \pm SD) である。活動精子率は $8 \sim 83$ % (60 %以上8例、 $30 \sim 60$ % 23例、 30 %以下15例) 40.1 ± 17.9 % (Mean \pm SD) である。その詳細について表10に一覧する。

検 討 結 果

1. P.-法での精子形態の分類結果

精索静脈瘤46例について、一症例に1回から3回の検討をおこなつた。その詳細を表11に示す。

正常型精子の出現率は26.1%から69.0%に分布し、 41.7 ± 11.5 % (Mean \pm SD, 以下同じ) である。60%以上の出現率をみた症例は46例中4例 (9%)、50～60%は7例 (15%)、40～50%は15例 (33%)、30～40%は12例 (26%)、30%以下は8例 (17%) であつた。

次に多くみられた精子は変形精子である。その出現率は21.3%から48.4%に分布し 33.1 ± 6.6 % である。40%以上の出現率をみた症例は46例中9例 (20%)、30～40%は20例 (43%)、30%以下は17例 (37%) であつた。

ついで先細小型精子が多くみられる。その出現率は0から35.6%に分布し、 13.0 ± 9.0 % である。20%以上の出現率をみた症例は46例中14例 (30%)、10～20%は11例 (24%) であつた。

精索静脈瘤においては病的精子が多く出現している。その出現率は1.0%から22.5%に分布し、 8.3 ± 5.6 % である。20%以上の出現率をみた症例は46例中1例 (2%)、10～20%は13例 (28%)、5～10%は18例 (39%) であつた。

大型精子は46例中9例にみられ、その出現率は0.1～0.2%程度できわめて少数である。

小型精子の出現率は0から2.8%と低いが、46例中39例にみられている。

円型精子も小型精子の出現率と同じ程度である。

幼若細胞の出現率は0から11.1%に分布し 1.8 ± 2.2 % である。5%以上の出現率をみた症例は4例であつた。

2. T.-法での精子形態の分類結果

P.-法を行つた20例 (症例24から43まで) の同一資料で T.-法による結果をまとめると表12のようになる。

正常型精子の出現率は33.8%から84.4%に分布し 58.8 ± 14.3 % (Mean \pm SD, 以下同じ) である。60%以上の出現率をみた症例は20例中11例 (55%)、50～60%は4例 (20%)、40～50%は1例 (5%)、40%以下は、4例 (20%) にみられている。

次に多くみられた精子は P.-法と同様で変形精子である。その出現率は11.9%から45.2%に分布し 29.3 ± 8.6

表 10 精索静脈瘤46例の臨床所見

| 症例 | 年齢 | 精索静脈瘤の程度 | 主 訴 | 精液量 (ml) | 精子濃度 ($\times 10^6/ml$) | 活動精子率 (%) | 備 考 |
|----|----|----------|--------|--------------|---------------------------|-------------|-------------------------|
| 1 | 30 | 3 | 不 妊 | 2.2(2.0~2.5) | 23.9(8.6~50.2) | 60.7(55~72) | 不妊期間 3 年, 自然流産 |
| 2 | 21 | 2 | 陰囊痛 | 3 (2.5~3.5) | 43.5(37 ~50) | 43.5(37~50) | 右停留辜丸 |
| 3 | 26 | 2 | 陰囊腫痛 | 2.7(1.3~3.5) | 81.3(14 ~120) | 28 (11~49) | |
| 4 | 34 | 2 | 不 妊 | 4.5(1.8~7.0) | 18.9(0.3~40.6) | 12.3(5~21) | 不妊期間 8 年 |
| 5 | 26 | 2 | 不 妊 | 4.4(3.5~5.0) | 23.0(10 ~44.6) | 55.3(32~80) | 不妊期間 4 年 6 ヲ月 |
| 6 | 30 | 3 | 陰囊腫脹 | 5.2(4.0~7.0) | 11.3(3.2~18.3) | 24 (15~31) | |
| 7 | 28 | 3 | 不 妊 | 5.2(4.7~5.5) | 29 (19 ~44) | 41 (30~52) | 不妊期間 3 年 3 ヲ月 |
| 8 | 25 | 3 | 腎疾患検索中 | 4.8(4.5~5.0) | 21.9(5.7~38) | 44 (28~60) | |
| 9 | 40 | 3 | 不 妊 | 4.4(3.8~5.0) | 20.5(19 ~22) | 11 (8~14) | 不妊期間 11 年 術後 1 ヲ月目妊娠 |
| 10 | 34 | 2 | 血 尿 | 3.2(3.0~3.3) | 128 (96 ~160) | 25.5(14~37) | 子供 1 人 |
| 11 | 35 | 3 | 不 妊 | 3.9(3.7~4.0) | 54.5(46 ~63) | 34 (31~37) | 不妊期間 3 年 術後 8 ヲ月目妊娠 |
| 12 | 28 | 3 | 不 妊 | 3.0(3.0~3.0) | 10.1(3.1~17) | 65.5(54~77) | 不妊期間 3 年 術後 6 ヲ月目妊娠 |
| 13 | 29 | 3 | 左鼠径部痛 | 1.5(1.3~1.7) | 44.7(33.7~55.6) | 58.5(53~64) | |
| 14 | 33 | 1 | 不 妊 | 5.4(3.7~7.0) | 26 (24 ~26) | 55.5(50~61) | 不妊期間 4 年 |
| 15 | 20 | 3 | 膀胱症状 | 4.8(4.5~5.0) | 63.4(24.8~10.2) | 52.5(46~59) | |
| 16 | 27 | 3 | 鼠径部痛 | 3.4(3.3~3.4) | 17 (12 ~22) | 62.5(42~83) | |
| 17 | 31 | 2 | 不 妊 | 2.2(2.2~2.2) | 6.1(5.8~ 6.4) | 35.5(35~36) | 不妊期間 3 年 6 ヲ月 |
| 18 | 34 | 3 | 不 妊 | 5.3(4.5~6.0) | 36.5(34 ~39) | 65 (60~70) | 不妊期間 3 年 3 ヲ月 |
| 19 | 27 | 3 | 不 妊 | 3.0(3.0~3.0) | 79 (74 ~84) | 50.5(40~61) | 不妊期間 3 年 |
| 20 | 23 | 2 | 不 妊 | 3.3(2.0~4.5) | 68.8(61.6~76) | 23.5(17~30) | 不妊期間 7 年, 流産 2 回 |
| 21 | 28 | 2 | 残尿感 | 3.4 | 30 | 52 | |
| 22 | 30 | 3 | 検 診 | 2.7 | 123 | 50 | |
| 23 | 35 | 2 | 不 妊 | 7.0 | 0.62 | 18 | 不妊期間 6 年, 流産 1 回 |
| 24 | 20 | 3 | 尿路結石 | 1.2 | 106.8 | 22 | |
| 25 | 27 | 2 | 不 妊 | 3.0 | 51.8 | 17 | 不妊期間 3 年 6 ヲ月 |
| 26 | 29 | 3 | 不 妊 | 2.6 | 23.2 | 22 | 不妊期間 3 年 1 ヲ月 |
| 27 | 33 | 2 | 不 妊 | 2.4(2.0~3.0) | 50.5(39.2~59.4) | 31.7(20~52) | 不妊期間 5 年, 流産 2 回 |
| 28 | 33 | 3 | 不 妊 | 4.0 | 3.3 | 50 | 不妊期間 3 年 4 ヲ月 |
| 29 | 18 | 3 | 血 尿 | 2.3 | 50.2 | 35 | |
| 30 | 15 | 3 | 陰囊痛・腫脹 | 0.5 | 78.8 | 34 | |
| 31 | 28 | 3 | 不 妊 | 4.5 | 26.4 | 45 | 不妊期間 3 年 |
| 32 | 29 | 3 | 陰囊痛 | 3.2 | 58.4 | 77 | 子供 2 人 |
| 33 | 17 | 2 | 血 尿 | 3.0 | 85.2 | 60 | |
| 34 | 32 | 1 | 不 妊 | 3.0 | 22.8 | 26 | 不妊期間 3 年 3 ヲ月 |
| 35 | 27 | 3 | 不 妊 | 2.7 | 19.0 | 18 | 不妊期間 3 年 |
| 36 | 29 | 3 | 不 妊 | 5 | 1.3 | 27 | 不妊期間 3 年 7 ヲ月 |
| 37 | 37 | 3 | 不 妊 | 2.2 | 0.36 | 22 | 不妊期間 6 年 |
| 38 | 36 | 2 | 陰囊痛 | 5.0 | 8.6 | 32 | 子供 3 人 |
| 39 | 30 | 2 | 不 妊 | 2.5 | 71 | 47 | 不妊期間 3 年 5 ヲ月 |
| 40 | 20 | 2 | 陰囊痛・腫脹 | 5.5 | 22 | 35 | |
| 41 | 38 | 2 | 鼠径部不快感 | 1.5 | 51.8 | 69 | 子供 2 人 |
| 42 | 28 | 3 | 不 妊 | 6.4(6.0~6.8) | 32.2(22.6~41.8) | 53 (46~60) | 不妊期間 3 年, 流産 1 回 |
| 43 | 25 | 3 | 尿管結石 | 3 | 11.8 | 74 | |
| 44 | 26 | 3 | 血 尿 | 3.5 | 14.8 | 40 | |
| 45 | 28 | 3 | 陰囊腫脹 | 3.2 | 0.547 | 8 | |
| 46 | 35 | 3 | 不 妊 | 6.5 | 0.39 | 32 | 不妊期間 4 年 6 ヲ月 |

表 11 精索静脈瘤 46 例の

| 症 例 | 正 常 型 精 子 | 変 形 精 子 | 先 細 小 型 精 子 | 大 型 精 子 |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|
| 1 | 44.4(42.6~45.9) | 41.0(39 ~42) | 4.7(4.1~ 5.8) | 0.0(0 ~0.1) |
| 2 | 53.3(44.9~61.6) | 34.3(44.9~61.6) | 7.6(3.0~12.0) | |
| 3 | 26.1(23.6~31) | 28.6(24.5~35) | 27.4(15.2~30.3) | 0.1(0 ~0.2) |
| 4 | 42.8(23.3~56.3) | 30.4(29 ~31.2) | 14 (4.3~28.4) | 0.0(0 ~0.1) |
| 5 | 27.7(26.7~28.8) | 33.2(27.3~39) | 23.1(16 ~28.7) | 0.0(0 ~0.1) |
| 6 | 30.8(27.7~36.7) | 30.6(30.3~31) | 13.0(3.6~21.1) | |
| 7 | 28.2(22.8~32.2) | 24.0(21.8~27.0) | 17.2(14.0~23.3) | 0.1(0 ~0.2) |
| 8 | 26.7(22.1~31.3) | 26.2(25.3~26.6) | 20.9(10.0~31.8) | 0.2(0 ~0.3) |
| 9 | 35.9(28.3~43.5) | 30.1(29.8~30.4) | 6.7(2.1~11.3) | 0.1(0.1~0.1) |
| 10 | 31.4(25.8~36.9) | 26 (22.6~29.4) | 26.3(23.4~29.1) | 0.1(0.1~0.1) |
| 11 | 42.1(36.8~47.4) | 27.5(26.0~29.0) | 20.3(18.3~22.2) | |
| 12 | 33.3(23.4~43.1) | 30.2(30.0~30.3) | 15.2(2.8~27.5) | |
| 13 | 30.1(25.2~35.0) | 26.1(26.0~26.1) | 35.6(31.7~39.5) | |
| 14 | 28.3(25.9~30.6) | 33.1(31.4~34.8) | 22.2(21.0~23.3) | |
| 15 | 41.2(22.3~60.0) | 30.2(29.0~31.3) | 20.0(3.7~36.2) | |
| 16 | 27.1(23.1~31.1) | 34.8(34.0~35.5) | 20.6(18.8~22.4) | |
| 17 | 30.8(22.6~39) | 34.3(31.5~37) | 18.3(11.1~25.5) | |
| 18 | 29.6(24.1~35.0) | 22.8(20.8~24.6) | 27.8(21.5~34.1) | |
| 19 | 29.1(28.2~30.0) | 29.7(27.6~31.8) | 24.0(24.0~24.0) | |
| 20 | 50 (45.1~54.9) | 33.5(31.2~35.8) | 8.1(5.5~10.6) | |
| 21 | 35.1 | 28.0 | 16.3 | |
| 22 | 41.0 | 29.2 | 23.9 | |
| 23 | 51.0 | 31.1 | 4.3 | |
| 24 | 46.1 | 27.5 | 21.9 | 0.1 |
| 25 | 46.2 | 42.1 | 6.5 | |
| 26 | 50.2 | 36.2 | 9.7 | |
| 27 | 45.8(33.3~55.8) | 29.2(28.6~30.3) | 15.0(4.2~27.0) | |
| 28 | 53.8 | 38.8 | 3.2 | |
| 29 | 35.4 | 43.1 | 10.6 | |
| 30 | 54.4 | 29.5 | 9.2 | |
| 31 | 48.8 | 45.9 | 1.5 | |
| 32 | 39.5 | 36 | 20.4 | |
| 33 | 40.0 | 48.4 | 4.7 | |
| 34 | 30.3 | 33.1 | 17.5 | |
| 35 | 45.2 | 44.1 | 4.3 | |
| 36 | 42 | 42.9 | 3.2 | |
| 37 | 35 | 43 | | |
| 38 | 46.6 | 34.7 | 8.4 | |
| 39 | 55.9 | 38.5 | 3.5 | |
| 40 | 32.6 | 39.8 | 11.6 | |
| 41 | 65.3 | 26.4 | 2.4 | |
| 42 | 43.3(31.9~54.6) | 32.5(31.3~33.7) | 16.5(7.6~25.4) | 0.1(0 ~0.1) |
| 43 | 66.2 | 25.8 | 2.7 | |
| 44 | 65.1 | 26.2 | 1.5 | |
| 45 | 69.0 | 21.3 | 1.2 | |
| 46 | 46.4 | 41.3 | 4.6 | |

Papanicolaou 法での精子形態の分布

| 小型精子 | 円型精子 | 病的精子 | 幼若細胞 | 分類不能 |
|--------------|--------------|-----------------|----------------|--------------|
| 1.3(0.5~1.8) | 0.7(0.5~1.2) | 6.1(4.4~ 7.1) | 1.6(1.2~ 1.8) | 0.2(0 ~0.3) |
| 0.1(0 ~0.2) | 0.9(0.7~1.0) | 3.5(2.7~ 4.2) | 0.3(0.1~ 0.4) | 0.2(0 ~0.3) |
| 1.5(0.9~2.1) | 0.1(0 ~0.2) | 17.5(15.5~21.3) | 1.3(0.8~ 1.9) | 0.9(0.4~1.1) |
| 2.5(0.7~5.4) | 0.6(0.5~0.6) | 8 (6.8~ 9.0) | 0.3(0.1~ 0.6) | 1.2(0.5~2.0) |
| 1.9(1 ~3.1) | 0.2(0 ~0.5) | 8.7(7.7~10.8) | 4.4(3.3~ 6.0) | 0.7(0.2~1.3) |
| 1.2(0.4~1.8) | 0.9(0.5~1.5) | 18.1(15.2~23.5) | 4.3(3.0~ 6.9) | 1.2(1.0~1.3) |
| 1.3(1.1~1.5) | 0.6(0.3~0.9) | 22.5(18.1~26.7) | 3.9(2.2~ 5.5) | 2.1(1.7~2.4) |
| 1.8(1.4~2.2) | 0.2(0.1~0.2) | 12.4(8.4~16.4) | 11.1(1.6~20.5) | 1.1(0.4~1.7) |
| 1.3(0.9~1.7) | 0.5(0.4~0.5) | 19.4(18.3~20.4) | 4.2(2.3~ 6.1) | 1.9(1.6~2.1) |
| 2.1(0.9~3.2) | 1.1(0.7~1.5) | 6.2(5.4~ 6.9) | 6.1(2.7~ 9.4) | 1.0(0.5~1.4) |
| 1.4(0.1~2.6) | 0.3(0.2~0.4) | 6.1(6.0~ 6.1) | 1.8(1.5~ 2.1) | 0.7(0.3~1.0) |
| 0.5(0 ~1.0) | | 19.3(14.8~23.7) | 2 (0.5~ 3.5) | |
| 1.0(0.7~1.3) | 0.2(0 ~0.4) | 5.1(5.0~ 5.2) | 1.9(0.7~ 3.0) | 0.2(0 ~0.3) |
| 2.8(1.5~4.1) | 1.9(1.7~2.0) | 5.5(5.0~ 6.0) | 6.2(3.8~ 8.5) | 0.3(0.2~0.3) |
| 0.9(0 ~1.8) | 0.4(0.1~0.7) | 5.7(4.3~ 7.0) | 1.3(0.1~ 2.4) | 0.9(0.5~1.3) |
| 0.9(0.8~1.0) | 0.2(0 ~0.4) | 9.5(7.7~11.3) | 6.0(3.0~ 9.0) | 0.8(0.5~1.0) |
| 0.9(0.3~1.0) | 1.1(0.3~1.8) | 12.3(12.1~12.4) | 1.9(1.7~ 2.0) | 0.9(0.2~1.5) |
| 0.9(0.8~1.0) | 0.1(0 ~0.2) | 16.1(15.4~16.8) | 2.1(0.8~ 3.3) | 1.3(0.9~1.6) |
| 1.0(0.7~1.3) | 0.8(0.4~1.1) | 11.9(9.5~14.3) | 2.5(1.5~ 3.4) | 1.2(0.8~1.6) |
| 1.1(1.0~1.2) | 0.7(0.5~0.9) | 5.7(5.4~ 6.0) | 0.1(0 ~ 0.1) | 0.6(0.4~0.8) |
| 1.0 | 0.4 | 14.9 | 2.2 | 2.1 |
| 1.5 | 0.4 | 2.5 | 1.4 | |
| 1.6 | 0.3 | 10.6 | | 1.2 |
| 0.1 | 1.0 | 2.8 | 0.4 | |
| 0.3 | 0.6 | 3.3 | 0.6 | 0.4 |
| 1.1 | 0.6 | 1.8 | 0.3 | |
| 0.7(0.1~1.1) | 0.3(0.1~0.5) | 8.2(7.0~ 9.0) | 0.5(0~ 0.9) | 0.3(0.1~0.5) |
| 0.3 | 0.9 | 2.5 | 0.2 | 0.3 |
| 0.2 | 0.3 | 9.8 | 0.2 | 0.4 |
| | 0.2 | 6.5 | 0.3 | |
| 1.2 | 1.4 | 1.2 | | |
| 0.3 | 0.7 | 2.7 | 0.3 | 0.1 |
| 0.2 | 2.1 | 2.2 | 1.3 | 1.1 |
| 1.1 | 0.8 | 13.3 | 3.1 | 0.7 |
| 0.3 | 3.1 | 1.4 | 1.1 | 0.4 |
| 0.3 | 1.3 | 7.2 | 2.9 | 0.6 |
| 0.3 | 1.6 | 16.5 | 0.7 | 2.9 |
| 0.3 | 0.3 | 8.5 | 0.8 | 0.6 |
| | 0.8 | 1.0 | 0.3 | |
| | 0.3 | 14.5 | 1.2 | |
| 0.1 | 0.3 | 5.3 | | 0.2 |
| 0.7(0 ~1.3) | 0.7(0.3~1.1) | 4.8(4.1~ 5.4) | 1.2(0.4~ 2.0) | 0.3(0.1~0.4) |
| | 1.2 | 3.4 | 0.5 | 0.3 |
| | 0.1 | 6.9 | | 0.2 |
| | 0.6 | 7.6 | 0.2 | 0.2 |
| | 0.6 | 4.9 | 1.5 | 0.6 |

% Mean (Mic.~Max.)

%である。40%以上の出現率をみた症例は20例中2例、30~40%は8例、30%以下は10例にみられている。

病的精子の出現率は1.6%から21.4%に分布し6.3±4.8%である。10%以上の出現率をみた症例は2例みられている。

先細小型精子の出現率は0.2%から11.6%に分布し2.5±3.1%である。20例中17例は5%以下であつたが、10~20%は1例、5~10%は2例にみられている。

円型精子の出現率は0から3.8%にわたり、1.0±1.0%である。

小型精子の出現率は0から2.2%にわたり、0.5±0.4%である。

大型精子はわずかしみられていない。その出現率は0.2±0.2%である。

幼若細胞の出現率は0.8±1.2%である。

3. 精子濃度良好な群と減(乏)精子症群との精子形態の比較

精子濃度40×10⁶/ml以上の良好群9例と40×10⁶/ml以下の減(乏)精子症群11例との精子形態を比較した。

1) P.-法での検討

精子濃度良好群と減(乏)精子症群の正常型精子の出現率はそれぞれ47.9±8.8%、45.9±10.1%変形精子は35.6±7.5%、37.8±5.9%、先細小型精子は10.4±6.7%、6.3±5.0%、病的精子は4.5±2.7%、6.9±5.4%、幼若細胞は0.5±0.4%、1.0±1.0%であつた。両群で精子形態の分布率に有意の差を認めない。

2) T.-法での検討

精子濃度良好群と減(乏)精子症群の正常型精子の出現率はそれぞれ67.8±9.2%、45.9±10.1%変形精子は24.1±7.4%、33.6±6.9%、先細小型精子1.3±1.5%、3.5±3.6%、病的精子は4.9±2.3%、7.5±5.9%、幼若細胞は0.4±0.4%、1.2±1.4%であつた。精子濃度良好群の方が正常型精子の出現率は有意に高かつた(p<0.01)。一方減(乏)精子症群では変形精子の出現率が有意に高かつた(p<0.01)。

4. P.-法と T.-法との精子形態の比較

両染色法を行つた20例の正常型精子の出現率をみると(表13)、P.-法と T.-法とで正常型精子の出現率にあまり差のない群(以下 V.-A 群と省略)と、正常型精子の出現率が T.-法に比べて P.-法で低い現象を示す群(以下 V.-B 群と省略)とをみる。V.-A 群と V.-B 群はそれぞれ10例ずつを観察した。正常型精子以外の精子形態をまとめると表14、15ようになる。V.-B 群のなかで変形精子と先細小型精子とが T.-法に比べると P.-法で有意に高い値を示した(p<0.01)。

V.-A 群、V.-B 群と精子濃度との関連、活動精子率

との関連について検討する。

精子濃度との関連について(表16): V.-A 群の精子濃度は3.6×10⁶/ml から71×10⁶/ml まで幅広く分布し平均23.1±21.1×10⁶/ml である。この群では減(乏)精子症群が多い。V.-B 群をみると症例28で3.3×10⁶/ml と低い良好例が多く症例24では106.8×10⁶/ml である。平均すると53.7±29.5×10⁶/ml となる。V.-A 群と V.-B 群との間で有意の差を認めた(p<0.02)。

活動精子率との関連について(表17): V.-A 群10例の活動精子率は18%から74%に分布し平均41±20.2%である。V.-B 群10例では17%から77%に分布し平均41.4±19.0%である。両群で有意の差を認めなかつた。

5. fertile men と精索静脈瘤との比較

1) P.-法での比較(図6)

その1で述べたように fertile men 13例の精子形態分布は正常型精子61.6±11.8%、変形精子28.0±7.8%、先細小型精子5.5±5.1%、病的精子3.7±2.0%、円型精子0.4±0.4%、小型精子0.3±0.4%、幼若細胞0.1±0.2%、大型精子0.0±0.0%であつた。精索静脈瘤46例と比較すると図に示すように精索静脈瘤では正常型精子の出現率が fertile men より有意に低く(p<0.01)、一方変形精子(p<0.05)、先細小型精子(p<0.01)、病的精子(p<0.01)、および幼若細胞(p<0.01)の出現率が高い値を示す。

2) T.-法での比較(図7)

fertile men 11例の精子形態分布は正常型精子75.1±11.1%、変形精子18.7±8.1%、先細小型精子1.6±2.9%、病的精子3.1±1.4%、幼若細胞0.3±0.3%、小型精子0.1±0.1%、円型精子0.4±0.5%、大型精子0.3±0.4%である。精索静脈瘤20例と比較すると図に示すように精索静脈瘤では正常型精子の出現率が fertile men より有意に低く、変形精子と病的精子の出現率が高い値を示す(p<0.01)。

3) 正常型精子の出現率と妊孕能との検討

精子濃度40×10⁶/ml以上と良好でありながら不妊である3例の精索静脈瘤と精子濃度40×10⁶/ml以上で妊孕のある2例の精索静脈瘤について正常型精子の出現率から fertile men と比較して検討する。これら精索静脈瘤の不妊例をみると、症例39では正常型精子の出現率が P.-法で55.9%、T.-法で51.3%と V.-A 群に属し、症例25の正常型精子の出現率は P.-法で46.2%、T.-法で69.4%、症例27は P.-法で48.2%、T.-法で62.2%と V.-B 群に属する。また妊孕例をみると症例32では正常型精子の出現率が P.-法で39.5%、T.-法で74.5%と V.-B 群に属し、症例41は P.-法で65.3%、T.-法で70.8%と V.-A 群に属する。これらの5症例に

表 12 Papanicolaou 法と Testsimplets Slides 法との比較
(精索静脈瘤 20 例の同一資料における精子形態の分布)

上段 : Testsimplets Slides 法
下段 : Papanicolaou 法

| 症例 | 正常型精子 | 変形精子 | 先細精子 | 大型精子 | 小型精子 | 円型精子 | 病的精子 | 幼若細胞 | 分類不能 |
|----|-----------|----------|----------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|
| 24 | 70.5± 7.4 | 21.0±6.9 | 1.5±1.0 | | 0.3±0.2 | 0.9±0.7 | 4.7±0.7 | 0.5±0.7 | 0.8±0.2 |
| | 46.1± 4.1 | 27.5±1.0 | 21.9±2.3 | 0.1±0.2 | 0.1±0.2 | 1.0±0.9 | 2.8±0.8 | 0.4±0.3 | |
| 25 | 69.4±15.1 | 25.5±3.4 | 0.5±0.4 | | 0.3±0.4 | 0.4±0.4 | 3.0±1.6 | 0.2±0.2 | 0.6±0.4 |
| | 46.2± 1.9 | 42.1±3.6 | 6.5±1.9 | | 0.3±0.2 | 0.6±0.6 | 3.3±0.3 | 0.6±0.4 | 0.4±0.4 |
| 26 | 69.8±16.2 | 23.8±4.4 | 1.3±1.0 | 0.2±0.2 | 0.7±0.6 | 1.0±0.7 | 2.7±2.4 | 0.3±0.2 | 0.2±0.2 |
| | 50.2± 3.0 | 36.2±3.0 | 9.7±1.2 | | 1.1±0.2 | 0.6±0.6 | 1.8±1.6 | 0.3±0.2 | |
| 27 | 62.2± 4.8 | 25.5±2.5 | 0.2±0.3 | | 0.8±0.9 | 0.6±0.2 | 9.1±2.5 | 0.8±0.4 | 0.8±0.3 |
| | 48.2± 1.5 | 28.7±1.4 | 13.9±2.0 | | 1.1±0.7 | 0.2±0.3 | 7.0±1.1 | 0.9±0.3 | 0.1±0.1 |
| 28 | 66.2± 4.5 | 29.7±4.1 | 0.3±0.2 | | | 2.0±0.4 | 1.6±0.1 | | 0.3±0.2 |
| | 53.8± 2.1 | 38.8±1.9 | 3.2±1.2 | | 0.3±0.2 | 0.9±0.4 | 2.5±0.8 | 0.2±0.2 | 0.3±0.5 |
| 29 | 56.9± 1.7 | 34.8±1.7 | 1 ±0.7 | 0.3±0.4 | 0.5±0.0 | 0.6±0.2 | 5.5±0.6 | | 0.4±0.3 |
| | 35.4±14.9 | 43.1±5.1 | 10.6±3.5 | | 0.2±0.2 | 0.3±0.2 | 9.8±3.1 | 0.2±0.2 | 0.4±0 |
| 30 | 70.1± 1.6 | 20.4±1.0 | 0.2±0.2 | 0.8±0.2 | 0.2±0.2 | 0.3±0.5 | 7.8±1.6 | | 0.3±0.2 |
| | 54.4±10.5 | 29.5±6.0 | 9.2±7.0 | | | 0.2±0.2 | 6.5±1.5 | 0.3±0.4 | |
| 31 | 60.1±11.0 | 30.0±4.1 | 4.9±3.5 | 0.2±0.2 | 1.1±1.6 | 0.3±0.2 | 2.5±2.1 | 0.2±0.2 | 0.7±0.2 |
| | 48.8± 4.6 | 45.9±3.5 | 1.5±0.6 | | 1.2±0.2 | 1.4±0.7 | 1.2±0.7 | | |
| 32 | 74.5± 7.5 | 20.1±4.3 | 1.3±1.5 | | 0.5±0.7 | 0.5±0.4 | 2.4±1.2 | | 0.8±0.4 |
| | 39.5± 2.6 | 36 ±0.2 | 20.4±4.0 | | 0.3±0.2 | 0.7±0.4 | 2.7±1.0 | 0.3±0.4 | 0.1±0.2 |
| 33 | 84.4± 1.4 | 11.9±0.9 | 0.2±0.2 | 0.3±0.4 | | 0.7±0.2 | 2.4±1.0 | 0.1±0.2 | |
| | 40.0± 2.7 | 48.4±4.2 | 4.7±1.3 | | 0.2±0.2 | 2.1±0.5 | 2.2±0.8 | 1.3±0.4 | 1.1±0.2 |
| 34 | 33.8± 3.6 | 41.3±4.3 | 3.8±1.7 | | 0.6±0.5 | 0.3±0.4 | 15.9±2.6 | 3.6±0.4 | 0.8±0.8 |
| | 30.3± 1.9 | 33.1±1.0 | 17.5±1.4 | | 1.1±0.5 | 0.8±0.3 | 13.3±0.6 | 3.1±1.6 | 0.7±0.2 |
| 35 | 53.4±17.1 | 36.4±6.2 | 1.0±0.4 | 0.3±0.2 | 0.6±0.6 | 3.8±1.7 | 3.2±1.2 | 0.5±0.4 | 0.8±0.2 |
| | 45.2± 6.0 | 44.1±6.7 | 4.3±0.6 | | 0.3±0.4 | 3.1±0.3 | 1.4±0.4 | 1.1±0.4 | 0.4±0.6 |
| 36 | 39.2 | 45.2 | 1.1 | 0.5 | 2.2 | 3.2 | 7.0 | 0.5 | 1.1 |
| | 42 ± 2.7 | 42.9±3.2 | 3.2±1.6 | | 0.3±0.5 | 1.3±0.8 | 7.2±1.2 | 2.9±0.4 | 0.6±0.2 |
| 37 | 34.8± 3.2 | 34.0±5.3 | 2.3±1.8 | | 0.7±1.0 | 1.5±1.1 | 21.4±4.4 | 4.4±4.7 | 0.8±1.2 |
| | 35 ± 4.2 | 43 ±3.3 | | | 0.3±0.4 | 1.6±1.0 | 16.5±2.1 | 0.7±0.5 | 2.9±1.6 |
| 38 | 54.5±11.8 | 34.4±3.1 | 0.9±0.1 | 0.6±0.4 | | 0.3±0.5 | 8.1±3.3 | | 1.1±0.3 |
| | 46.6± 2.6 | 34.7±2.0 | 8.4±1.8 | | 0.3±0.5 | 0.3±0.5 | 8.5±2.2 | 0.8±0.6 | 0.6±0.6 |
| 39 | 51.3± 9.1 | 37 ±4.9 | 5.3±5.9 | 0.1±0.2 | 0.1±0.2 | 0.7±0.2 | 3.3±0.9 | 1.3±0.4 | 0.9±0.5 |
| | 55.9± 3.0 | 38.5±2.5 | 3.5±0.5 | | | 0.8±0.3 | 1.0±0.6 | 0.3±0.4 | |
| 40 | 36.0± 5.0 | 39.6±3.0 | 11.6±2.5 | | 0.3±0.2 | 0.3±0.2 | 9.6±1.3 | 1.3±0.9 | 1.2±0.5 |
| | 32.6± 5.7 | 39.8±2.0 | 11.6±4.1 | | | 0.3±0.2 | 14.5±1.7 | 1.2±0.2 | |
| 41 | 70.8± 5.0 | 20.3±3.3 | 1.4±2.0 | | 0.1±0.2 | 0.3±0.2 | 6 ±0.7 | 0.3±0.2 | 0.8±0.3 |
| | 65.3± 1.5 | 26.4±1.1 | 2.5±1.0 | | 0.1±0.2 | 0.3±0.2 | 5.3±0.5 | | 0.2±0.2 |

表 12 (つづき)

| 症例 | 正常型精子 | 変形精子 | 先細小型精子 | 大型精子 | 小型精子 | 円型精子 | 病的精子 | 幼若細胞 | 分類不能 |
|----|-----------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 42 | 47.9±12.8 | 34.3±4.2 | 9.6±8.4 | 0.3±0.4 | 0.3±0.5 | 1.0±0.2 | 4.6±0.5 | 0.9±0.8 | 1.1±0.8 |
| | 54.6± 5.4 | 31.3±2.0 | 9.6±4.1 | 0.1±0.2 | | 0.3±0.2 | 5.4±1.3 | 0.4±0.4 | 0.1±0.2 |
| 43 | 69.7± 1.9 | 20.9±2.2 | 1.4±1.2 | 0.2±0.2 | | 0.7±0.8 | 5.4±2.4 | 1.1±1.0 | 0.6±0.4 |
| | 66.2±18.5 | 25.8±9.8 | 2.7±2.8 | | | 1.2±0.6 | 3.4±1.7 | 0.5±0.4 | 0.3±0.4 |

表 13 精索静脈瘤における P.-法と T.-法での正常型精子の出現率の比較

| 症例 | 出現率に差がみられない群 (V.-A群) | | 症例 | 出現率に差がみられる群 (V.-B群) | |
|----|----------------------|------|----|---------------------|------|
| | 正常型精子の出現率 (%) | | | 正常型精子の出現率 (%) | |
| | P.-法 | T.-法 | | P.-法 | T.-法 |
| 34 | 30.3 | 33.8 | 24 | 46.1 | 70.5 |
| 35 | 45.2 | 53.4 | 25 | 46.2 | 69.4 |
| 36 | 42 | 39.2 | 26 | 50.2 | 69.8 |
| 37 | 35 | 34.8 | 27 | 48.2 | 62.2 |
| 38 | 46.6 | 54.5 | 28 | 53.8 | 66.2 |
| 39 | 55.9 | 51.3 | 29 | 35.4 | 56.9 |
| 40 | 32.6 | 36.0 | 30 | 54.4 | 70.1 |
| 41 | 65.3 | 70.8 | 31 | 48.8 | 60.1 |
| 42 | 54.6 | 47.9 | 32 | 39.5 | 74.5 |
| 43 | 66.2 | 69.7 | 33 | 40.0 | 84.4 |

表 14 V.-A群の精子形態の分布

| | T.-法 | P.-法 |
|--------|-----------|-----------|
| 正常型精子 | 49.1±12.9 | 47.4±12.2 |
| 変形精子 | 34.3± 7.6 | 36.0± 6.4 |
| 先細小型精子 | 3.8± 3.7 | 6.1± 5.0 |
| 病的精子 | 8.5± 5.6 | 7.7± 5.2 |
| 幼若細胞 | 1.4± 1.4 | 1.1± 1.0 |

% (Mean±SD)

表 15 V.-B群の精子形態の分布

| | T.-法 | P.-法 |
|--------|----------|----------|
| 正常型精子 | 68.4±7.4 | 46.3±5.9 |
| 変形精子 | 24.3±6.1 | 37.6±7.0 |
| 先細小型精子 | 1.1±1.3 | 10.2±6.5 |
| 病的精子 | 4.2±2.4 | 4.0±2.7 |
| 幼若細胞 | 0.2±0.3 | 0.5±0.4 |

% (Mean±SD)

について, fertile men の両染色法で正常型精子の出現率に差のない群 (N.-A 群) と差のみられる群 (N.-B 群) で対比して正常型精子の出現率を検討してみると図 8 のような結果がえられた。つまり, 不妊である 3 例の精

表 16 精索静脈瘤の V.-A 群, V.-B 群と精子濃度との関連

| 精子濃度 (×10 ⁶ /ml) | 10以下 | 10~20 | 20~40 | 40以上 |
|-----------------------------|------|-------|-------|------|
| V.-A 群(例) | 3 | 2 | 3 | 2 |
| V.-B 群(例) | 1 | | 2 | 7 |

表 17 精索静脈瘤の V.-A 群, V.-B 群と活動精子率との関連

| 活動精子率 (%) | 30以下 | 30~50 | 50以上 |
|-----------|------|-------|------|
| V.-A 群(例) | 4 | 3 | 3 |
| V.-B 群(例) | 3 | 3 | 4 |

索静脈瘤は P.-法, T.-法ともに正常型精子の出現率は fertile men に比べて低い結果をえた。妊孕のある 2 例をみると, 症例 41 は fertile men N.-A 群の正常型精子の出現率の分布域にある。しかし症例 32 について fertile men N.-B 群と比較すると T.-法で正常型精子の出現率は fertile men の数値に近い値を示すが P.-法では明らかに低値を示している。

なお精子濃度が 40×10⁶/ml 以下の減(乏)精子症の不妊例を同じ様に検討してみると図 9 のような結果が得られた。不妊である 8 例の精索静脈瘤は正常型精子の出現率が P.-法, T.-法ともに fertile men にくらべて低い値を示した。

考 案

1. 精索静脈瘤の精子形態

精索静脈瘤における精液中の精子形態について Davidson³⁸⁾をはじめとして Macleod²⁵⁾, Brown³⁹⁾らが impaired spermatozoal morphology と精液中に spermatis や spermatocytes のような desquamated precursors が高率に出現することを指摘している。このことは精索静脈瘤の睾丸生検像からも知れるように sloughing 現象が精液中に反映されていることを示している⁴⁰⁻⁴²⁾。Macleod は精子形態のうち tapering form と amorphous form それに immature cell が高率にみられる現象を “stress pattern” と呼んでいる²⁵⁾。

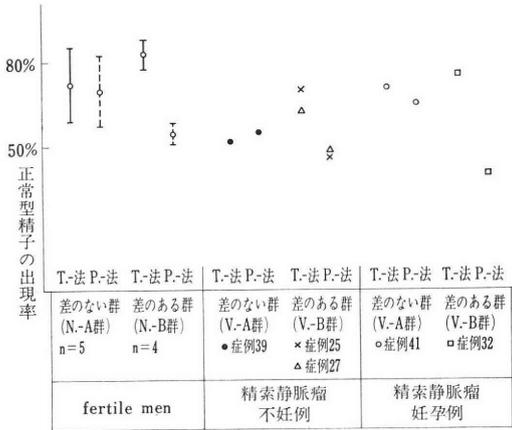


図8 正常型精子の出現率と妊孕能との検討
精子濃度 $40 \times 10^6/ml$ 以上の症例

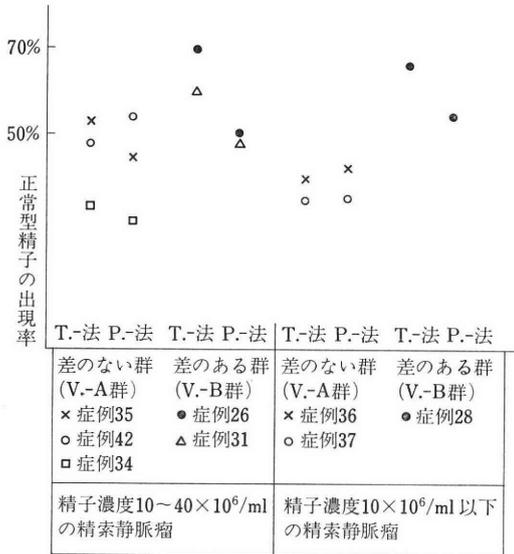


図9 正常型精子の出現率と妊孕能との検討
精子濃度 $40 \times 10^6/ml$ 以下の不妊例

が32.9%で、術後妊娠に成功した103例の平均が35%で、あまり差をみとめない。Zorgniottiら⁴⁴⁾の50例の検討では平均36.6%である。Fernandoら¹⁴⁾は16例の検討で13%から70.2%までみられ、その平均が39.3%である。Czyglikら³⁶⁾は平均 $30.9 \pm 5.3\%$ ともつとも低い出現率を報告している。Johnsonら²⁴⁾は94例の精索静脈瘤について、正常の精子濃度および活動性をもつ35例のoval formの平均は85.1%、乏精子症である25例の平均は76.4%、活動性が不良な34例の平均は82.5%ともつとも高い出現率を報告している。自験例をみると46例の平均が41.7%とMacleod, Brown, Zorgniottiらよりも高くFernandoらに近い比率であった。正常型精子が

60%以上みられた症例は4例(9%)と少ない。

② 先細小型精子について

精索静脈瘤に特徴的にみられる先細小型精子の出現率をMacleodは23%, Zorgniottiらは25.4%, Fernandoらは2.3%~50.5% (平均23.7%)と報告している。Anniballo⁴⁵⁾はover-elongated typeとacutely tapering typeが95%もみられた症例を発表している。自験例をみると平均13.0%で前3者よりも10%程度出現率が低い。Lindholmerらは平均4.8%とさらに低い比率を報告している。彼らによると精索静脈瘤の有無にかかわらずtapered formがみられると述べられている。

③ 病的精子について

Macleodは25%, Zorgniottiらは19.3%, Fernandoらは1~78% (平均12.7%)とtapering formについて高率にみられている。しかし自験例をみると平均8.3% (1.0%~22.5%)と出現率が低い。

④ 幼若細胞について

Macleodは16%, Zorgniottiらは18.0%と報告している。幼若細胞についてMacleod, Zorgniottiらは成熟精子の分類と分けて比率をもとめているため比較できないが、自験例では平均1.8%みられている。著者らと似たような分類をしているFernandoらは平均12.7%と出現率が高い。

⑤ 変形精子について

変形精子の臨床的な意義についてはその1で述べたので省略する。従来にない項目であるため他の研究者と比較できない。精索静脈瘤においてもfertile menと同様に正常型精子について多くみられる精子である。46例の平均は33.1%であった。変形精子の出現率が40%以上みられる症例が20%もあり、46例中12例は正常型精子よりも多く出現している。

次にfertile menと精索静脈瘤との精子形態を比較する。

Macleod^{25, 35)}の症例でみるとoval formはfertile menで79%みられたものが精索静脈瘤で34%となり45%も減少している。一方tapering formはfertile menで4%みられたものが精索静脈瘤で23%となり19%の増加である。またamorphous formはfertile menで7%, 精索静脈瘤で25%となり18%, tapering formと同じ程度の増加をみている。immature form (spermatids)はfertile menで0.3%しかみられなかったが精索静脈瘤で16%と増加している。睾丸に精索静脈瘤というstressが加わったためにoval formの約半数がtapering formにあるいはamorphous formに変化しそして精細管にsloughing現象がおこりimmature formが増加してきたためとMacleodは説明

している⁴⁶⁾。Czyglik ら³⁶⁾によると正常例で oval form が71.1%出現していたものが精索静脈瘤では30.9%に減少し, tapering form が正常例で3.5%であったものが20.8%に増加している。他にも体部と尾部の異常が増加している。

自験例をみると P.-法によれば正常型精子の出現率が fertile men で61.6%, 精索静脈瘤で41.7%となり19.9%低く出ている。そのかわりに変形精子が5.1%, 先細小型精子が7.5%, 病的精子が4.6%, 幼若細胞が1.7%と有意に高い値を示す。自験例においても Macleod²⁵⁾と同様な結果をえた。

著者は精子濃度との関連をみると, P.-法では精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の良好群と減(乏)精子症群とで精子形態の分布率に差を認めないが, 精子濃度良好群の精子形態は T.-法で fertile men に近いパターンを示し, 減(乏)精子症群と比べて正常型精子の出現率が有意に高く, 変形精子の出現率が低いことが判明した。

2. P.-法と T.-法との精子形態の比較

精索静脈瘤の精子形態の報告は固定標本によるものが多い。著者は超生体染色に相当する“Testsimplets Slides”を用いて精子形態を観察し, 同一資料について P.-法と比較した。その結果, 新しい事実を精索静脈瘤の症例にみいだした。その1で述べたように fertile men では P.-法と T.-法とで正常型精子の出現率に差をみなかつた群(N.-A 群)を64%観察している。ところが精索静脈瘤は両染色法で正常型精子の出現率に差をみない V.-A 群, 10例と T.-法より P.-法の出現率が低い V.-B 群, 10例とを同程度に観察している。V.-A 群の10例についてみると8例は正常型精子の出現率が T.-法と P.-法ともに fertile men の N.-A 群よりも著明に低い値を示している。そのかわりに変形精子, 先細小型精子と病的精子の出現率が高い値を示す。この群の精子濃度は減(乏)精子症が多いのが特徴である。減(乏)精子症を伴う精索静脈瘤は超生体染色法の T.-法も P.-法と同じ様な精子形態のパターンを示す。V.-B 群において T.-法の精子形態をみると, 正常型精子の出現率は平均68.4%で80%以上の出現率をもつ症例が1例, 70~80%が3例, 60~70%が5例で60%以上の症例が90%もみられている。この群の精子形態のパターンは fertile men と同じパターンを示している。この点が V.-A 群と異なる。V.-B 群の P.-法の結果をみると, 正常型精子の出現率は平均46.3%で60%以上の出現率をもつ症例は1例もなく50~60%が3例, 40~50%が5例, 40%以下が2例である。T.-法の出現率に比べて平均22.1%も低い値を示している。特に症例32では35%, 症例33では44.4%も低い。一方, P.-法で変形精子が3.2%~36.5%

(平均13.3%), 先細小型精子が2.9%~20.4% (平均9.1%) 高い値を示している。この事実から V.-B 群の精子をみると, T.-法で正常型精子と観察された一部の精子が P.-法により先細小型精子あるいは変形精子に変化したものと推定される。さらに V.-A 群と異なる点は精子濃度が平均 $53.7 \times 10^6/\text{ml}$ と良好な症例が多い。

活動精子率をみると V.-A 群と V.-B 群とで差がないことが判明した。

3. 正常型精子の出現率からみた精索静脈瘤症例の妊孕能について

精索静脈瘤で不妊例の場合には精子濃度良好群でも減(乏)精子症群でも正常型精子の出現率は P.-法, T.-法ともに fertile men と比べて低い値を示すことが判明した。一方, 精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の妊孕例のうちで, 症例41は正常型精子の出現率が fertile men の分布域に入っている。しかし症例32の正常型精子の出現率は T.-法では fertile men に近い値を示すが P.-法では低い値を示した。検討例が少ないので確定的な結論はえられないが, これらの事実から著者は正常型精子の出現率をみるのが妊孕能の検索に重要であると考えた。また精子濃度が良好であつても正常型精子の出現率が P.-法, T.-法ともに fertile men よりも低い場合, 妊孕能の低下傾向が推定された。

ま と め

1. 精索静脈瘤46例について著者の試案した分類基準に従つて精子形態の検討を行った。

P.-法) 正常型精子の出現率は $41.7 \pm 11.5\%$, 変形精子は $33.1 \pm 6.6\%$, 先細小型精子は $13.0 \pm 9.0\%$ 病的精子は $8.3 \pm 5.6\%$, 大型精子は $0.0 \pm 0.0\%$, 小型精子は $0.8 \pm 0.7\%$, 円型精子は $0.7 \pm 0.6\%$, 幼若細胞は $1.8 \pm 2.2\%$ であつた。正常型精子の出現率が50%以上の症例は24%しかみられない。fertile men と比べて精索静脈瘤の精子形態は正常型精子の出現率が低く, 変形精子, 先細小型精子, 病的精子と幼若細胞が高い値を示している。

T.-法) 精索静脈瘤20例の正常型精子の出現率は $58.8 \pm 14.3\%$, 変形精子は $29.3 \pm 8.6\%$, 先細小型精子は $2.5 \pm 3.1\%$, 病的精子は $6.3 \pm 4.8\%$, 大型精子は $0.2 \pm 0.2\%$, 小型精子は $0.5 \pm 0.4\%$, 円型精子は $1.0 \pm 1.0\%$, 幼若細胞は $0.8 \pm 1.2\%$ であつた。fertile men と比べて精索静脈瘤の精子形態は正常型精子の出現率が低く, 変形精子と病的精子が高い値を示している。

2. 精索静脈瘤で精子濃度の良好な群と減(乏)精子症群との精子形態をみると, P.-法では両群で精子形態の分布率に差をみなかつた。T.-法では前者で正常型精子の出現率が高く後者で変形精子の出現率が低い値を示

した。

3. 同一資料について P.-法と T.-法とで精子形態を比較すると、両染色法で精子形態に差のみられない群 (V.-A 群) と差のみられる群 (V.-B 群) とを半数ずつ観察した。V.-A 群をみると正常型精子の出現率が P.-法, T.-法ともに低く、減 (乏) 精子症例が多い。V.-B 群をみると T.-法の精子形態は fertile men と同じパターンを示す。ところが P.-法では正常型精子の出現率が低く、変形精子と先細小型精子が高い値を示している。この群は V.-A 群と異なり精子濃度の良好な症例が多い。

4. 精索静脈瘤で不妊例の場合、精子濃度の良好群でも減 (乏) 精子症群でも正常型精子の出現率が P.-法, T.-法ともに fertile men よりも低い。一方精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の妊孕の 2 例では、1 例は正常型精子の出現率が P.-法, T.-法ともに fertile men の分布域に入る。他の 1 例は T.-法で fertile men に近い値を示すことを観察した。結論をえるには多数例の検討が必要であるが、正常型精子の出現率から妊孕能をみると正常型精子の出現率が P.-法, T.-法ともに fertile men よりも低い場合に妊孕能の低下傾向が推定された。

稿を終るにあたり、本研究を御指導、御校閲を賜りました高井修道教授、直接の御指導をいただいた藤沢市民病院泌尿器科広川信医長に心より感謝致します。また本研究に御協力いただいた藤沢市民病院中検病理松下和彦医長に深謝致します。

本論文の要旨は第 66 回、第 68 回日本泌尿器科学会総会、第 376 回、第 379 回日本泌尿器科学会東京地方会、第 23 回、第 24 回日本不妊学会総会にて発表した。

文 献

- Haedden, G F.: Seminal analysis. J. Med. Lab. Tech. 24: 42-47, 1967.
- Eliasson, R.: Analysis of semen. p. 695, Progress in infertility. edited by Behrman, S. J. and Kistner, R. W. ed. 2, Boston, Little Brown, 1975.
- Moench, G. L. and Holt, H.: Sperm morphology in relation to fertility. Am. J. Obstet. Gynecol., 22: 199-210, 1931.
- Harvey, C. and Jackson, M. H.: Assessment of male fertility by semen analysis. An attempt to standardise methods. The Lancet, July 28, 1945: 99-104.
- 高島達夫: 精子について, 臨床皮泌, 13: 887-900, 1954.
- 坂倉啓夫, 金子宣淳, 横山 稔, 佐々木達, 泉 勝視, 青木寿一: 精液検査, ホと臨, 11: 35-46, 1963.
- Freund, M.: Standards for the rating of human sperm morphology. Int. J. Fertil., 11: 97-180, 1966.
- Zaneveld, L, J. D. and Polakoski, K. L.: Techniques of human andrology. edited by E. S. E. Hafez, pp. 168-171, Amsterdam, North-Holland, 1977.
- J. Sans P., Soledad Berrios, M. and Fontecilla, E.: X to Y spermatozoal ratio in normal and oligozoospermic human semen and its relationship to fertility parameters. andrologia, 9: 271-278, 1977.
- Macleod, J.: The semen examination. Clin. Obst. Gynec., 8: 115-127, 1965.
- Falk, H. C. and Kaufman, S. A.: What constitutes a normal semen? Fertil. Steril., 1: 489-503, 1950.
- Page, E. W, and Houlding, F.: The clinical interpretation of 1000 semen analyses among applicants for sterility studies. Fertil. Steril., 2: 140-151, 1951.
- Emilson, L. B. V., Dougherty, K. A., Cockett, A. T. K. and Urry, R. L.: Simultaneous determination of human sperm morphology and viability. Simple office technique. Urology, 11: 488-491, 1978.
- Fernando, N., Leonard, J. M. and Paulsen, C. A.: The role of varicocele in male fertility. andrologia, 8: 1-9, 1976.
- Hotchkiss, R. S., Brunner, E.K. and Grenly, P.: Semen analyses of two hundred fertile men. Am. J. Med. Sci., 196: 362-384, 1938.
- Hellinga, G.: Clinical Andrology. p. 24, London, William Heinemann Medical Book, 1976.
- Joël, C. A.: Fertility Disturbances in Men and Women. pp. 91-92, Basel, Karger, 1971.
- 4) より引用.
- Sroka, L.: Morphology and histochemistry of normal and abnormal sperm. Fertil. Steril., 16: 613-626, 1965.
- Sobrero, A. J. and Nagma-E-Rehan: The semen of fertile men. II. Semen characteristics of 100 fertile men. Fertil. Steril., 26: 1048-1056, 1975.
- Sherins, R. J., Brightwell, D. and Sterntal, P. M.: The testis in normal and infertile men. edited by Troen, P. and Nankin, H. R. Raven Press. New York, 1977.
- Davidson, H. A.: The male factor in the infertile marriage. Practitioner, 169: 126-132, 1952.
- Macleod, J.: The significance of deviations in human sperm morphology. Adv. Exp. Med. Bio., 10: 481-494, 1970.
- Johnson, D. E., Pohl, D. and Rivera-Cor-

- rea, H.: Varicocele: An innocuous condition? *South. Med. J.*, 63 : 34-36, 1970.
- 25) Macleod, J.: Seminal cytology in the presence of varicocele. *Fertil. Steril.*, 16 : 735-757, 1965.
- 26) Amelar, R. D.: Infertility in men. p. 38, Philadelphia, F. A. Davis, 1966.
- 27) Hellinga, G., Ruward, R. and Oppers, V. M.: The influence of fixation and staining on the morphology of spermatozoa. In *Fertility and Sterility. Proc. VII World Congress Japan*, pp. 233-235, 1964.
- 28) Frank, I. N., Benjamin, J. A. and Seger-son, J. E.: Cytologic examination of semen. *Fertil. Steril.*, 5 : 217-226, 1954.
- 29) Hartmen, C. G., Schoenfeld, C. and Cope-land, E.: Individualism in the semen picture of infertile men. *Fertil. Steril.*, 15 : 231-253, 1964.
- 30) Lindholmer, C., Thulin, L. and Eliasson, R.: Semen characteristics before and after ligation of the left internal spermatic veins in men with varicocele. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 9 : 177-180, 1975.
- 31) Cary, W. H. and Hotchkiss, R. S.: Semen appraisal. *J.A.M.A.*, 102 : 587-590, 1934.
- 32) Schirren, C., Eckhardt, U., Jachczik, R. and Carstensen, C. A.: Morphological differentiation of human spermatozoa with Test-simpler® Slides. *andrologia*, 9 : 191-192, 1977.
- 33) Calamera, J. C. and Vilar, O.: Comparative study of sperm morphology with three different staining procedures. *andrologia*, 11 : 255-258, 1979.
- 34) 寺島 寛 : 臨床検査技術全書, 第8巻, 病理形態検査, p. 55, 医学書院, 1978.
- 35) Macleod, J. and Gold, R. Z.: The male factor in fertility and infertility. IV. Sperm morphology in fertile and infertile marriage. 2 : 394-414, 1951.
- 36) Czyglik, F., David, G., Bisson, J. P., Jonnet, P. and Gernigon, Cl.: La tératosp-ermie du varicocèle. *La Nouvelle Presse médicale*, 28 : 1127-30, 1973.
- 37) 鈴木良徳 : 精索静脈瘤の研究, 日泌会誌, 58 : 1105-1114, 1967.
- 38) Davidson, H. A.: Treatment of male subfertility. Testicular temperature and varicoceles, *Practitioner*. 173 : 703-708, 1954.
- 39) Brown, J. S.: Varicocelectomy in the subfertile male.: A ten-year experience with 295 cases. *Fertil. Steril.*, 27 : 1046-1053, 1976.
- 40) Charny, C. W.: Effect of Varicocele on Fertility. Results of Varicocelectomy. *Fertil. Steril.*, 13 : 47-56, 1962.
- 41) Dubin, L. and Hotchkiss, R. S.: Testis biopsy in subfertile men with varicocele. *Fertil. Steril.*, 20 : 50-57, 1969.
- 42) Etriby, A., Girgis S. M., Hafnawy, H. and Ibrahim, A. A.: Testicular changes in subfertile males with varicocele. *Fertil. Steril.*, 18 : 666-671, 1967.
- 43) Dubin, L. and Amelar, R. D.: Etiologic factors in 1294 concecutive cases of male infertility. *Fertil. Steril.*, 22 : 469-474, 1971.
- 44) Zorngiotti, A. W. and Macleod, J.: Studies in temperature, human semen quality, and varicocele. *Fertil. Steril.*, 24 : 854-863, 1973.
- 45) Annivallo, R.: An excessive ratio of tapering forms of spermatozoa as a distinctive feature in the presence of varicocele. *Fertil. Steril.*, 32 : 704-705, 1979.
- 46) Macleod, J.: Further observations on the role of varicocele in human male infertility. *Fertil. Steril.*, 20 : 545-563, 1969.

The Clinical Interpretation of Sperm Morphology in Relation to Fertile Men and Patients with Varicocele

Teruaki Iwamoto

Department of Urology, Yokohama City
University School of Medicine
(Director : Prof. Shudo Takai)
Department of Urology, Fujisawa
City Hospital
(Director : Chief. Makoto Hirokawa)

Sperm morphology is one of the important parameters for evaluating fertility. However, different classifications based on various standards are used and that has produced inconvenience in classifying sperm morphology in routine examination. Therefore, the author investigated simple and clear classification about spermatozoa in fertile men.

1. On observing sperm morphology in detail with light microscope, spermatozoa which can not be classified in the conventional forms are observed. Some of them are contorted in shape of the head and others are intermediate between oval form and tapering form, oval form and amorphous form and oval form and round form. According to the conventional classification, it is difficult to classify these spermatozoa. The author named all these spermatozoa "distorted form" for the sake of convenience in order to clear classification and added this to the conventional classification. The author thinks that this makes an analysis of sperm morphology

easier and more objective.

2. Using the author's classification of sperm morphology, the morphologic examination of spermatozoa in fertile men (13 cases) was performed by Papanicolaou's stain. The mean frequency and standard deviation of each morphologic form were as follows: frequency of oval form, $61.6 \pm 11.8\%$; of distorted form, $28.0 \pm 7.8\%$; of tapering form, $5.5 \pm 5.1\%$; of amorphous form, $3.7 \pm 2.0\%$; of round form, $0.4 \pm 0.4\%$; of small form, $0.3 \pm 0.4\%$; of immature cell, $0.1 \pm 0.2\%$; of large form, $0.0 \pm 0.0\%$. Thus from the author's point of view, the percentage of oval form for the fertility is more than 50%.

3. The same samples from 11 fertile men were stained with Papanicolaou's method and supravital staining with Testsimplets Slides and the results were compared. This revealed the followings.

①. The length and width of oval form, when stained by Papanicolaou's method were smaller about 23% and 24% respectively than when stained by Testsimplets Slides.

②. In about $\frac{1}{3}$ of fertile men, the percentage of oval form stained by Papanicolaou's method was much lower than that of the same form stained by Testsimplets Slides. Accordingly in these men, the percentage of tapering form and distorted form was higher when stained by Papanicolaou's method than when stained by Testsimplets Slides.

Varicocele has been noted as one of the causes of male infertility to influence spermatogenesis. There have been many clinical researches about varicocele, but they deal little with sperm morphology. The author investigated sperm morphology in cases of varicocele and compared it to that of the fertile men without varicocele to reveal the relation of varicocele to fertility.

1. Using the author's classification of sperm morphology, the morphologic examination of spermatozoa in 46 men with varicocele was performed by Papanicolaou's stain. The mean frequency and standard deviation of each morphologic form were as follows: frequency of oval form, $41.7 \pm 11.5\%$; of distorted form, $33.1 \pm 6.6\%$; of tapering form, $13.0 \pm 9.0\%$; of large form, $0.0 \pm 0.0\%$; of small form, $0.8 \pm 0.7\%$; of round form, $0.7 \pm 0.6\%$; of amorphous form, $8.3 \pm 5.6\%$; of immature cell, $1.8 \pm 2.2\%$. Only in

24% of cases with varicocele, the percentage of oval form was more than 50%.

As compared to fertile men without varicocele, the percentage of oval form was much lower and that of distorted form, tapering form, amorphous form and immature cell higher in men with varicocele.

The morphologic examination of spermatozoa in 20 men with varicocele was performed by Testsimplets Slides. The mean frequency and standard deviation of each morphologic form were as follows: frequency of oval form, $58.8 \pm 14.3\%$; of distorted form, $29.3 \pm 8.6\%$; of tapering form, $2.5 \pm 3.1\%$; of large form, $0.2 \pm 0.2\%$; of small form, $0.5 \pm 0.4\%$; of round form, $1.0 \pm 1.0\%$; of amorphous form, $6.3 \pm 4.8\%$; of immature cell, $0.8 \pm 1.2\%$.

As compared to fertile men without varicocele, the percentage of oval form was much lower and that of distorted form, amorphous form higher in men with varicocele.

2. When cases of varicocele with normal sperm concentration were compared with cases of varicocele with oligozoospermia, the pattern of morphologic analysis revealed by Papanicolaou's stain was equal to both groups, but in that revealed by Testsimplets Slides, the percentage of oval form was much higher in the former group and that of distorted form was much lower in the latter group.

3. The same sample from 20 cases of varicocele were stained with Papanicolaou's method and Testsimplets Slides. In 10 cases the two staining methods gave the same results. The percentage of oval form in these cases was much lower than that of fertile men without varicocele and in most of the cases oligozoospermia was also found. In another 10 cases, Testsimplets Slides revealed the same morphological pattern as fertile men without varicocele. However, the Papanicolaou's stain revealed lower incidence of oval form than that of fertile men without varicocele and in most of the cases good sperm concentration was also found.

4. Judging from the sperm morphology, the tendency of infertility may be conjectured in varicocele cases with lower incidence of oval form stained with both methods than fertile men without varicocele.

(受付: 昭和56年3月9日, 特掲)

地方部会講演抄録

第23回北海道不妊学会総会・学術講演会

昭和55年12月16日

(株)ムトウ会議室

一般講演

1. ウシの回収卵からみた繁殖性の検討

井上忠恕, 金川弘司 (北大獣医)

ウシの受精卵を体外に回収し, これを他の雌牛の子宮内に移植して妊娠させる受精卵移植を試み数例の成功例を得ている. しかし, 受精卵を採取出来なかつた不成功例もあり, 子宮および卵管還流により, その繁殖性について検討した.

いずれも過剰排卵処置, 発情誘起および人工授精後, 7日目に Foley のカテーテルで子宮あるいは卵管を手術的および非手術的に還流して, 卵回収を試みた. その結果次に示したような正常な受精卵を得られない症例が認められた.

- 1) 卵巣がホルモンに反応してなくて卵が回収されない (4例中7個の卵巣)
- 2) 卵巣に黄体と卵胞が共存しており回収卵の大部分が変性を示していた場合 (4例)
- 3) 卵巣は正常であるが未受精卵あるいは変性卵の回収されたもの (2例)
- 4) 卵巣はホルモン反応を示しているが卵管が閉鎖して卵が回収されなかつたもの (1例)

以上のことから, 子宮および卵管を還流しその回収液を検索することにより, 繁殖性について検討することが可能ではないかと考えられる.

2. 排卵抑制中および抑制後の卵胞の動態に関する基礎的研究

芳賀宏光, 林 博章 (旭川医大産婦)

旭川医大で飼育している Closed colony チャイニーズハムスターに Norethisterone 20: Mestranol 1 (Sophia C) を 200Mg/day (最小排卵抑制量), 40日間投与した群および妊娠・分娩・授乳による生理的排卵抑制群 (約40日間) の排卵抑制中, 抑制後の卵巣組織標本

を作製し, 卵胞の発育状態を観察した.

両群とも, 排卵抑制中は, いかなる時期においても, 中等度まで発育した変性卵胞, 退化卵胞, 正常な小卵胞などをみとめることから, 排卵抑制中の卵巣内卵胞は, 中等度までの発育, 変性, 退化をくり返しているものと推定される. 一方, 両群の排卵抑制後第1周期の排卵時の unruptured mature follicle 数, 第1周期妊娠における黄体数, 着床確認数から算定した luteinized unruptured follicle 数は正常周期群, 排卵抑制後第2周期群に比し増加しており, 排卵抑制後第1周期では排卵抑制終了直前の軽度変性卵胞の一部が妊娠により黄体化すると考えられる.

3. Cortisol の double antibody enzyme immunoassay

中尾敏彦, 玉村 太, 角田修男
河田啓一郎 (酪農学園大)

E. coli 由来の β -galactosidase (β -gal) を標識とした Cortisol (F) の enzyme immunoassay を確立し, 血漿中 F 濃度の測定に応用した.

標識: F-21 hemisuccinate 1 mg と 1 M carbodii-mide 0.1ml を室温で30分間反応させ, これに β -gal 5 mg を加え, 4°C で一夜放置. 透析後, Sephadex G-25を用いた column chromatography により未反応の F と F- β -gal を分離.

測定: 標準 F または血漿の dichloromethane 抽出液を乾涸後, 0.1M Phosphate buffer pH 7.0を0.1ml 加える. 抗 F-21 hemisuccinate-BSA 家兎血清 ($\times 4,000$) を0.1ml 加え, 30分間室温で放置. 適正希釈した F- β -gal を0.1ml を加え, 2時間放置. 抗家兎 γ -globulin 山羊血清 ($\times 40$) (第2抗体) を加え, 4°C で一夜放置後, 遠心分離 (3,000 γ pm, 30min). 沈殿物中の酵素活性を O-nitrophenyl- β -D-galacto-pyranoside を基質として測定.

測定感度は 25 pg/tube. 回収率は 90%以上. 測定内および測定間変動係数は 15%以内であった.

4. 腎移植患者の下垂体—睾丸機能の検討

野々村克也, 榊原尚行, 富樫正樹
平野 哲夫 (北大泌尿器)

最近, 腎移植, 人工腎臓の普及により, 腎不全患者の長期延命, 社会復帰が得られるようになってきた. 又, 腎不全患者は, 性機能障害を伴うものが多いことも加わってきた.

しかし, これらの性機能障害が, 腎移植により, どの様に变化していくかはほとんど知られていない. 昭和51年度当地方会において, 当教室広田らが腎移植患者の性機能につき報告した. 今回は, 移植時年齢17歳から35歳迄の8例の男子腎移植患者を中心として, 経時的に, 血清ゴナドトロピン, テストステロンを測定し, 正常者, 慢性人工透析患者のそれと比較検討した. LH は, 正常高値及び高値より, 移植後しだいに正常化する傾向を示した. FSH は, 移植後6カ月以内で, 一度高値をとり, その後正常値に戻る傾向を示した.

5. 精液中プロラクチンおよび酸性フォスファターゼに関する検討

大野一典, 小椋 啓, 熊本悦明
(札幌医大泌尿器)
生垣舜二
(陸上自衛隊札幌地区病院泌尿器)

正常な男子および不妊症男子の精液中プロラクチン, 酸性フォスファターゼを測定検討した. 精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の群の精液中プロラクチン値は, $15.3 \pm 6.2 \text{ ng/ml}$, 精子濃度 $20 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6/\text{ml}$ の群では, $1.31 \pm 5.8 \text{ ng/ml}$, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の群では $9.5 \pm 6.0 \text{ ng/ml}$ (平均 \pm S.D.)であつた. また精子濃度と精液中プロラクチン値には相関傾向が認められた.

さらに精液中の酸フォスファターゼについても同様の検討を行ったので報告する予定である.

6. Hühner test と精液所見の関係

幡 洋, 岡部泰樹, 佐藤卓広
田中昭一, 橋本正淑
(札幌医大産婦)

Sims (1869) により提唱され, Hühner (1913) によつて実用化された Hühner Test は, 不妊の頸管因子解析の為の基本的, かつ重要な検査法として広く行なわれている. しかしその方法, 判定には統一基準はなく, 各機関によつて異なつていようである. 我々の方法

は, 原則として禁欲期間4日以上, 性交後検査実施までの時間を約3時間とし, 後腔円蓋, 外子宮口, 頸管内, 子宮腔内の4カ所より材料採取, 直ちに鏡検し, 400倍視野にて頸管内に6~7以上の運動性良好な精子を認めたと場合を正常と判定している.

今回, 我々は Hühner Test を基本的に検討する目的で, 昭和51年より55年までの5年間の成績について, その実施方法や, 精液所見との関係, 頸管粘液所見との関係等について検討したので報告する.

7. 不妊症における腹腔鏡の利用

野田 健, 高階俊光, 田中昭一
橋本正淑 (札幌医大産婦)

近年腹腔内臓器の診断に ME などが利用されるようになってきたが, 従来からの腹腔鏡も広く応用されている. 特に婦人科領域では子宮内膜症, 付属器腫瘍, 子宮外妊娠などの診断には非常に有効である. 又不妊症では卵管因子の検索には欠かせない検査である. 特に今回我々は系統的検査にて原因が明らかにされないいわゆる機能性不妊症例に腹腔鏡検査を試みた. 卵管因子の検索には HSG, Rubin test があるがその両者で通過障害の認められなかつたもの, あるいは軽度通過障害のあつたものを対象として23例に施行した. その結果いわゆる機能性不妊と考えられていた症例の中に手術を必要とする通過障害を認めたので報告する.

8. 先天性副腎過形成の妊娠, 分娩について

石川睦男, 千古一雄, 溝口久富
清水哲也 (旭川医大産婦)
野々村克也, 述 一郎
(北大泌尿器)

先天性副腎皮質過形成に伴う副腎性器症候群は steroidogenesis. において副腎皮質の酵素欠損により cortisol 合成障害, 副腎性の androgeric steroid の分泌亢進をきたす疾患であり, 無排卵, 不妊を呈することが多い. Wilkins による cortisone の使用以来妊娠, 分娩例の報告が認められるが数は少ない. 今回我々は 21-hydroxylase 欠損による先天性副腎性器症候群の妊娠, 分娩例を経験したので報告する.

〔対象〕 患者は23歳, 昭和36年陰核形成を受けて以来副腎皮質 hormone の投与をうけている. 昭和46年初潮発来, 昭和54年挙児希望にて当科初診, 副腎皮質以外の内分泌学的検査, HSG 等に異常は認められない. 今回の妊娠は clomid にて排卵誘発し妊娠に至る. 妊娠経過中 dexamethasone 維持量投与により 17KS, 17-

OHCS, 血中 cortisol, DHEA-S に著変なく順調に経過する。妊娠 38W に至り fetal distress 出現のため帝王切開術にて 2,280g の男児を娩出。その後母児共に順調に経過した症例を報告する。

9. ツムラ当-23婦薬散の不妊症における臨床経験

桜木範明, 田中俊誠, 金子正博
宇野洋一, 一戸喜兵衛

(北大産婦)

当科不妊症外来において当婦芍薬散を使用した症例のうち, その効果について追跡しえた 40 症例につき検討を加え, その有効性をみた。40 症例の外来診断の内訳は, 第 2 度無月経 4 例, 第 1 度無月経 4 例, 無排卵周期症 7 例, 遅延排卵 2 例, 黄体機能不全 9 例, 頸管粘液不良 7 例, 機能性不妊 7 例であった。その効果判定基準は第 2 度無月経=排卵又は月経の発来, 第 1 度無月経=排卵又は月経の発来, 無排卵周期症=排卵, 遅延排卵=排卵の前傾化, 黄体機能不全=BBT 又は内膜診上改善又は妊娠成立, 頸管粘液不良=頸管粘液の改善又は妊娠成立, 機能性不妊=妊娠成立をみたものを有効とした。また他剤を併用して、どちらによる効果か不明な場合は判定保留とした。その結果, 全体としての有効率は 20/40=50%, 妊娠率は 4/40=10% であった。個々の群の有効率は第 2 度無月経 25%, 第 1 度無月経 75%, 無排卵周期症 57%, 遅延排卵 50%, 黄体機能不全 67%, 頸管粘液不良 71%, 機能性不妊 0% であった。

10. Occult Pregnancy に関する臨床的研究

石川睦男, 溝口久富, 万 豊
山田隆一, 山下幸記, 清水哲也
(旭川医大産婦)

有賀 敏 (北辰病院産婦)

HCG の Biological な測定法の HCG-Radioreceptor assay (RRA) を用いて, Occult pregnancy の本

態を臨床的に検討した。対象は, 不妊外来において 12 日以上高温を持続している 33 例に適宜採血を行い, HCG-RRA を 52 回測定した。排卵時の LH-surge が 0.1IU/ml 以下であるため 0.2IU/ml 以下を妊娠とした。(1) HMG・HG 療法や Clomid 療法の 6 周期に 18 日以上高温相の延長を認めたと, HCG は 0.2IU/ml 以下であり, prolonged luteal phase—非妊娠性脱落膜が確認された。(2) 妊娠を確認したものは, 33 例中 8 例で, 確認しえた日は高温相の 13 日目から 20 日目であった。(3) 8 例中 2 例は高温 19 日目と 22 日目に性器出血を来し, 1 例は empty sac で villi が確認され, もう 1 例は villi はなかったが, 組織学的に subclinical abortion であった。HCG-RRA により embryonic gonadotropin を測定して, occult pregnancy を臨床的に確認し, preimplantation embryo の転帰を臨床的に明らかにした。

11. 当科不妊症外来における昭和 53 年の臨床統計

高階俊光, 東口篤司, 野田 健
佐藤卓広, 岡部泰樹, 田中昭一
橋本正淑 (札幌医大産婦)

当科不妊症外来を受診する不妊患者は年々増加する傾向を示す。今回, 昭和 53 年に当不妊症外来を受診した不妊期間 2 年以下の患者は 221 名である。これは同年の新患総数の 5.8% を占めている。221 名は原発性 153 名, 続発性 63 名 (不明 5 名) である。

この 221 名中妊娠例は 48 名で妊娠成功率は 21.7% であった。今回, この 221 名につき不妊期間, 不妊原因など, また妊娠成功例につき妊娠に関与したと思われる治療法, 妊娠経過などについて報告する。

特別講演 妊娠と免疫

新潟大学産婦人科教室 竹内正七教授

日本不妊学会関西支部事務局移転のお知らせ

旧事務局 大阪 山田文夫先生
新事務局 〒650 神戸市中央区楠町 7 丁目 5 番 1 号
神戸大学医学部泌尿器科内 TEL 078 341-7451
日本不妊学会関西支部 石神 襄次

3 月中頃より都合により旧事務局より新事務局に移転になりましたので今後事務連絡等は上記にお願い申し上げます。

日本学術会議第82回総会報告

日本学術会議第82回総会は、5月15～17日の3日間開かれた。

第1日は、9時35分開会、ただちに会長報告が行われた。会長は、第11期では各種委員会の本格的活動の開始までに、半年間を費やした経験にかんがみ、今期は活動計画委員会をつめた結果に基づいて、今総会において各種委員会を発足させ、実質的審議を早めたいという基本方針を述べた。なお、政府の科学技術政策の新しい動向に注目し、科学技術会議については、第80回総会の要望「工学技術振興の方途を早急に講ずることについて」との関連もあり、今期からはやや詳細に報告する旨を述べた。続いて、日本学術振興会、広報、財務、国際会議主催等検討および工学技術振興の運営審議会付置各委員会報告があつた。

各部報告は、書面により行われ、国際学術交流、国際協力事業両委員会も書面をもって報告に代えた。学問・思想の自由委員会は口頭により第11期に採択した「科学者憲章」を国民に呼びかけ、それを普及するため、5月28日講演会を本会議講堂で開催することを報告した。第12期活動計画委員会の報告をうけて、会長から年度末の多忙な時期に全会員の協力の下に精力的に作業を続けた同委員会と、事務局職員の献身的協力への謝辞が述べられた。

休憩の後、「第12期における日本学術会議の活動要綱について(申合せ)」の提案、審議が行われた。この提案は総会前日の連合部会でも報告されたので、提案理由は要綱分科会委員長の補足的説明のみとした。続いて24～5名の会員から、活発な質問、意見がだされ、日本学術会議と各省庁との関係や、本会議の基本性格にふれる問題から、活動の具体的内容にいたるまで、論点は多岐にわたつた。13時7分再開、それらの意見をふまえ、文言上の修正も加えた提案が圧倒的多数で採択された。本要綱では、(1)学問研究の長期的展望の確立、(2)人間の可能性を展開させる教育の探究、(3)平和に貢献する科学者の責務の遂行、が今期活動の重要目標とされている。

ついで、「第12期における課題および各種委員会(研究連絡委員会を除く)の整備について(申合せ)」が提案され、(1)委員会の構成および運営上の事項(2)委員会の任務、課題について(3)運営審議会付置小委員会について説明された。常置委員会としては国際学術交流、学術

体制、研究費問題、長期研究計画、科学者の地位および学問・思想の自由の6委員会、特別委員会としては、平和と科学、教育問題、科学・技術振興機構、エネルギー・原子力、学術情報・資料、発展途上国学術協力問題、自然災害問題、環境問題、生物資源および国際協力事業の10委員会が設置された。なお、運営審議会付置として広報等毎期常設の委員会の外に日本学術会議改革、研連検討、沖繩学術連絡の各小委員会が設置された。

休憩後、15時17分「第12期における研究連絡委員会問題の根本的改革について(申合せ)」の提案があり、数名の会員から質問がだされ、翌日になお審議を継続することとなつた。

第2日は10時2分再開、冒頭、第1日に採択された「課題及び各種委員会の整備について」の文言修正について報告があり承認された。

ついで、前日に引き続き「研究連絡委員会問題の根本的改革について」審議が行われ、活発な意見が述べられた。

さらに第12期における根本的な改革に至るまでの暫定的措置をとりきめる「第12期における研究連絡委員会の組織運営に関する当面の措置について(申合せ)」が提案され質疑がかわされた。12時45分再開後の総会で、文言の修正を行なつた前記二つの提案が採択された。

13時より各部会が開かれ、常置、特別、運営審議会付置の各委員会委員の選出を行なつた。それに基づいて16時より各常置委員会、16時30分より各特別委員会が開かれ、委員長、幹事を選出した。

第3日は10時より前日に引き続き各常置、特別委員会、15時まで開かれた。各委員会では、今総会中に役員決定のみでなく今期の委員会活動について実質的審議をはじめるといふ趣旨に基づき、委員会の任務、方針が討議された。15時より運営審議会付置の各委員会およびICSU等の分科会が開かれ、ここでも、それぞれの任務、審議事項が議せられ、役員が決定された。かくして、第12期のすべての委員会が早くも体制を整え、活動を開始することとなつた。

総会の出席率は、第1日91.9%、第2日95.2%、第3日93.3%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。學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

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。

- 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。

日本不妊学会雑誌 26巻3号

昭和56年6月25日印刷
昭和56年7月1日発行

| | |
|------------|--|
| 編集兼 発行者 | 芦原慶子 |
| 印刷者 | 中村清雄 |
| 印刷所 | 東京都品川区上大崎3-12-15 一ツ橋印刷株式会社 |
| 発行所 | 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 |