

日本不妊学会雑誌

第 27 卷

第 3 号

昭和 57 年 7 月 1 日

— 目 次 —

原 著

- 妊馬血清ゴナドトロピン投与マウス卵巣からの
血管誘導因子の分離……………佐藤英明・他… 1
- Quantitative Assay of Oxytocin Release During
Suckling Stimuli and Electrical Stimulations
of PVH or SO in Rats……………Toshi WATANABE… 8
- In Vitro* Fertilization of Rabbit Ova by Epididymal
Spermatozoa in a Defined Medium……………Kahei SATO・他…14
- In Vitro* 受精システムを用いて検討したヒトの受精における
精子の preincubation の影響
——ヒトの受精における最適条件の検討 (1)……………星 和彦・他…18
- 排卵障害婦人における尿中 catecholamine の動態……………斎藤真一・他…25
- HMG-HCG 投与時における臨床的卵胞成熟指標の再評価……………三輪 是・他…30
- Clomiphene とそのバリエーション療法による
排卵の誘発ならびに妊娠の成立……………東山秀聲・他…36
- 黄体機能不全症の治療……………ト部 宏…46
- 黄体機能不全症に対するクロミフェン黄体期投与療法……………大野洋介・他…53
- 流産・子宮外妊娠における細胞診の応用……………和田順子・他…59
- 慶応健康相談センター婦人科開設以来の AID 妊娠統計……………中村幸雄…63
- 自動通水システムの開発……………是永迪夫・他…71
- 先天性副腎皮質過形成 (21-Hydroxylase 欠損)
における妊娠、分娩例……………千石一雄・他…76
- 男子不妊症の臨床統計的観察……………山本雅憲・他…81
- 精管欠損症の 3 例……………内島 豊・他…89
- De novo の均衡型複合転座を有する
低ゴナドトロピン性類宦官症の 1 例……………大橋輝久・他…97
- 男子不妊症における精索静脈瘤
——選択的精索静脈造影所見と手術成績の関連について——……………石川博通・他…105
- Effect of Sex Hormones on Collagen Biosynthesis of
Male Accessory Sex Organs in Young Rats……………Teruhiro NAKADA・他…112
- ラット精巣における塩化カドミウムの
アンドロゲン代謝に対する作用……………小鹿真理・他…118
- 地方部会講演抄録……………127

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 27, No. 3, 1982)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

- Separation of an Angiogenic Factor from the Ovaries of Mice Injected with Pregnant Mare Serum Conadotropin *E. Sato, R. Furubayashi & T. Ishibashi* 1
- Quantitative Assay of Oxytocin Release During Suckling Stimuli and Electrical Stimulations of PVH or SO in Rats *T. Watanabe* 8
- In Vitro* Fertilization of Rabbit Ova by Epididymal Spermatozoa in a Defined Medium *K. Sato, M. Kimura & Y. Sakuma* 14
- Effect of Preincubation of Human Spermatozoa on *In Vitro* Fertilization *K. Hoshi, A. Saito, M. Suzuki, R. Yanagimachi & K. Hayashi* 18
- Urinary Levels of Catecholamine in Anovulatory Women *S. Saito, M. Shimada & K. Mori* 25
- Reappraisal of Clinical Indexes Follicular Maturation at Administration of HMG-HCG *T. Miwa, H. Yasue, N. Kuroki, R. Totani & Y. Suzuoki* 30
- Induction of Ovulation and Pregnancy following Clomiphene Treatment *S. Higashiyama, M. Fujii, T. Yamada, Y. Ohno, T. Tamaya & H. Okada* 36
- Management of Infertility with Luteal Phase Defects *H. Urabe* 46
- Clomiphene Treatment during the Luteal Phase in Infertile Women with Luteal Phase Defect *Y. Ohno, T. Tamaya, H. Okada & H. Urabe* 53
- Cytologic Trial for Diagnosis of Abortion and Ectopic Pregnancy *Y. Wada, A. Matsumura, F. Takahashi, T. Iguchi, H. Kasai & Y. Takanashi* 59
- Results of Eleven Years (1970~1980) Study of Artificial Insemination with Donor Semen at Keio Health Councelling Center *Y. Nakamura* 63
- Development of Automatic Hydrotubation System *M. Korenaga & T. Utsunomiya* 71
- A Case of Successful Pregnancy of Congenital Adrenal Hyperplasia *K. Sengoku, M. Ishikawa, T. Shimizu & K. Nonomura* 76
- A Clinical and Statistical Study on Male Infertility *M. Yamamoto, K. Miyake, Y. Maseki, H. Kakei, M. Goto, S. Takamura, S. Sai & H. Mitsuya* 81
- Congenital Absence of the Vas Deferens: Report of Three Cases *Y. Uchjima, Y. Nakame, S. Hiraga, K. Okada, T. Negishi, K. Yoshida & H. Oshima* 89
- De Novo Complex Translocation in a Case with Hypogonadotropic Eunuchoidism *T. Ohashi, M. Morioka, N. Mitsuhata, T. Kaneshige, K. Kakeda, H. Ohmori, K. Narahara, S. Kimura & H. Kimoto* 97
- An Evaluation of Varicocele in Male Infertility *H. Ishikawa, K. Nagakura, M. Shinoda, M. Sasaki, Y. Koyama, M. Nakazono & K. Kodera* 105

Effect of Sex Hormones on Collagen Biosynthesis of Male Accessory Sex Organs in Young Rats.....	<i>T. Nakada, Y. Hattori & J. Shimazaki</i>112
The Effect of Cadmium Chloride on Androgen Metabolism in the Rat Testis	<i>S. Koshika, Y. Nakayama, M. Hosaka,</i> <i>Y. Kinoshita, R. Nishimura & M. Harada</i>118

妊馬血清ゴナドトロピン投与マウス 卵巣からの血管誘導因子の分離

Separation of an Angiogenic Factor from the Ovaries
of Mice Injected with Pregnant Mare
Serum Gonadotropin

京都大学農学部畜産学科

佐藤 英明 古林 亮介 石橋 武彦
Eimei SATO Ryosuke FURUBAYASHI Takehiko ISHIBASHI

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
Kyoto University, Kyoto 606

ゴナドトロピン投与マウスの卵巣抽出物質に炎症反応を伴わない血管誘導能が存在することが認められたので、その血管伸長の程度を数量化するとともに妊馬血清ゴナドトロピン (PMSG) 投与マウス卵巣抽出物質から血管誘導因子の分離を試みた。マウス卵巣抽出物質をエチレンビニルアセテートコポリマーでサンドイッチ状にして固め、マウスの腹直筋筋膜外壁へ移植し、移植後20日にフィルム上への血管伸長の程度を調べた。血管伸長の程度を図1に示すように5段階に分類し、それぞれに得点を与え数量化し分布指数としたが、無処理の卵巣にも分布指数0.8~0.9程度の血管誘導作用が認められた。しかし PMSG 投与48時間後に採取した卵巣抽出物質では分布指数は3.0~3.5を示し、強い血管誘導作用のあることが明らかにされた。PMSG 投与48時間後の卵巣抽出物質を含むフィルムへの血管伸長は移植後10日ごとに調べると移植後10日ですでに伸長がみられ、20日で最大となり30日では減少することが示された。ついで卵巣抽出物質中の血管誘導作用をもつ活性物質の分離と部分的精製を試みたが血管誘導因子は硫酸飽和度20~40%で沈殿する画分に含まれ、この画分をさらにカラム Sephadex G-100 で分取し、4つの分画に分けてその活性を判定したところ分子量43,000以上の画分に血管誘導因子が含まれることが明らかにされた。

(*Jap.J. Fert. Ster.*, 27(3), 289-295, 1982)

原始卵胞から排卵直前のグラフ卵胞に至る各時期の卵胞壁血管構築の経時的变化を調べた報告¹⁾によると卵胞の発育につれて壁血管床の急激な量的増加が観察されている。とくに卵胞の発育にともなって卵胞周囲血管網が単層より多層へと変化し、その内面では1枚のレース状に全卵胞腔を包む内側血管網が形成される。

著者らはこのような現象をふまえて発育卵胞には血管誘導因子が存在するのではないかと考え実験を進めてきた²⁾が、妊馬血清ゴナドトロピン (PMSG) 投与マウス卵巣抽出物質に炎症反応を伴わない血管誘導作用のあることを認め、さらに PMSG 投与マウス卵巣から血管誘導因子の分離を試みたので報告する。

材料および方法

1. 卵巣抽出物質の調整

3~4週齢のマウス (JCL-ICR) を業者より購入し、温度22±5°C, 14時間照明の飼育室で実験動物用固型飼料 (オリエンタル酵母工業製) と水を自由に与えて飼育した。5週齢になったとき PMSG (5 I.U.) を背部皮下に投与し、投与後24および48時間後に屠殺して卵巣を採取した。採取した卵巣を0.5M 炭酸アンモニウム (pH 8.9) で洗浄した後卵巣重量1に対して0.5M 炭酸アンモニウム溶液 (pH 8.9) を3量加え、ガラス製ホモジナイザーで約2分ホモジナイズした。ついで凍結融解を1回行ない、その後54,000×g で1時間遠心分離し、その

上清を卵巣抽出液とし凍結乾燥を行ない、 -20°C に保存した。

2. 塩析による分離

PMSG 投与後 48 時間後に採取した卵巣抽出物質の凍結乾燥粉末 50mg をリン酸緩衝液 (pH 7.3) に溶解し、ついで飽和度が 20% および 40% になるように順次粉末硫酸を加えて 4°C で 30 分間静置し、それぞれの濃度において沈殿した蛋白質を遠沈 (2,500×g, 15 分, 4°C) することによつて A, B 分画とし、さらに飽和度 40% で沈殿しないものを C 分画とした。沈殿分別した蛋白質にリン酸緩衝液を加えて溶解した A, B 分画および飽和度 40% で沈殿しない蛋白質を含む C 分画をセルロース透析膜に注入しリン酸緩衝液 (pH 7.3) に対して 12 時間透析し、その非透析画分を凍結乾燥し使用まで -20°C に保存した。

3. Sephadex G-100 による分離

Sephadex G-100 (superfine) に蒸留水を加えて 5 日間静置することによつて完全に膨潤させ、それをガラス製のカラム (1.5×100cm) に充填した。ゲル床の高さを 95cm に調節し、リン酸緩衝液 (pH 7.3) を十分流しカラムを安定させた後、さきの硫酸分画のうち飽和度 20~40% で沈殿した蛋白部分 (B 分画) を 1 ml のリン酸緩衝液 (pH 7.3) に溶解させ、さらに透析後の非透析画分をゲル床上部に添加した。溶媒に用いたリン酸緩衝液 (pH 7.3) の流出速度は 4.5ml/hr とし 1 フラクション当り 1.85ml を集めた。分取した各フラクションの蛋白量を分光光度計で 280nm における吸光度として測定しクロマトグラムを作成したのち、分画 I (フラクション No. 22 から No. 37 まで)、分画 II (フラクション No. 38 から No. 46 まで)、分画 III (フラクション No. 47 から No. 60 まで)、分画 IV (フラクション No. 61 から No. 80 まで) に分けて凍結乾燥し使用まで -20°C に保存した。

4. 血管誘導能の検定法

a. 卵巣成分を含むフィルムの作成

エチレンビニルアセテートコポリマー (Elwax 40) を 100% エタノールで 3 回洗浄し、最終濃度が 12% (w/v) になるように塩化メチレンに溶解させた。Langer and Folkman の方法³⁾ に従つてスライドガラス上に 12% Elwax 40 溶液を落とし、弱い減圧下で乾燥させ薄い透明なフィルムを作成した。ついで卵巣抽出物質ないし卵巣抽出物質画分の凍結乾燥粉末を含む 12% Elwax 40 溶液をフィルム上にのせ弱い減圧下で乾燥させた。さらにこのフィルム上へ 12% Elwax 40 溶液を落とし乾燥させ、試験物質をフィルム中にサンドイッチ状に固めた。このようにしてできたフィルムをカミソリで 3 mm 角の大き

さに調整して移植フィルム片とした。

b. フィルムの移植と血管伸長の程度の判定

フィルム片への血管伸長の判定はフィルム片をマウスに移植して行つたが、用いたマウスは 8~7 週齢の雌マウス (JCL-ICR) である。ネブタール麻酔下で皮膚を切開しフィルム片を腹直筋筋膜外壁に移植し、移植後 10, 20, 30 日にフィルムを周囲の組織とともに取り出し実体顕微鏡下でフィルム上への血管の伸長の程度を観察した。移植後移植片周囲に浮腫様の症状を呈したものを炎症反応とし、炎症反応のみられたものは結果から除外した。なお図 1 の模式図に示すようにフィルム上での血管分布の程度により血管伸長の程度を 5 段階に分類した。まずフィルム上への血管伸長の有無で分類し、ついで血管伸長の認められるものについてはフィルム上で血管網を形成しているかどうかで分類し、さらにそれぞれを血管伸長の程度により 2 段階に細分類し、計 5 段階に分類した。それぞれ 0, 1, 2, 3, 4 の得点を与えて血管伸長の程度を数値化し“分布指数” (“Index number”) と表示した。なお図に示されている“分布指数”は 20~30 個のフィルムで観察された“分布指数”の平均値と標準誤差である。

結 果

1. PMSG 投与マウス卵巣抽出物質の血管誘導能

移植後 20 日のフィルム片上への血管の分布指数を図 2 に示したのが図 2 である。無処理卵巣でも血管誘導能が観察され卵巣抽出物質 2 mg を含むフィルムでは“分布指数”は 0.8, 6 mg では 0.9 であったが PMSG 投与後 24 時間後に採取した卵巣の抽出物質では 2 mg で 1.85, 6 mg で 2.0 と“分布指数”は高い値を示した。PMSG 投与後 48 時間後に採取した卵巣の抽出物質では 2 mg で 3.2, 6 mg で 3.5 と“分布指数”は PMSG 投与後 24 時間後の卵巣にくらべて顕著に大きい値を示した。

図 3 には PMSG 投与 48 時間後に採取した卵巣の抽出物質を含む移植フィルム片への血管分布指数と移植後の日数の関係について示したが、無処理卵巣では移植後 10 日ではまだ血管分布は認められず移植後 20 日で分布が観察されるようになるが、移植後 30 日では分布はみられるものの“分布指数”は 20 日のものにくらべ低下した。PMSG 投与マウスの卵巣抽出物質では移植後 10 日ですでに血管分布が観察されるようになり移植後 20 日で最大となり移植後 30 日では“分布指数”は移植後 10 日のレベルまで低下した。

2. 塩析による分離

硫酸飽和度が 20 および 40% において沈殿分別した A, B 分画, 硫酸飽和度 40% においてもなお沈殿しない C 分

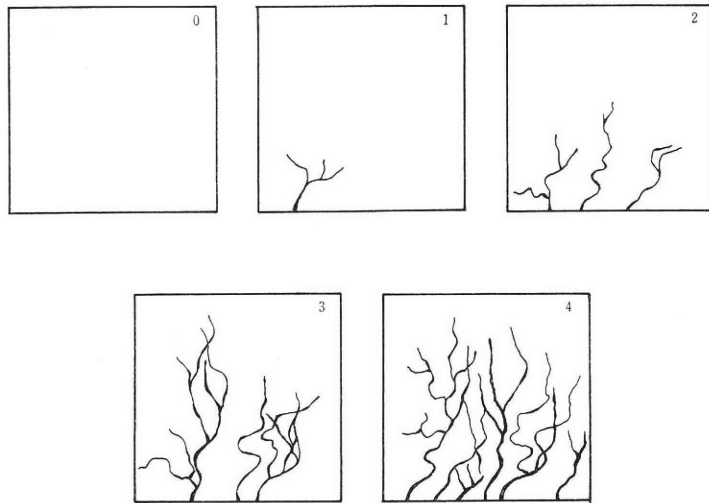


Fig. 1 Classification of the implanted films by the degree of neovascularization and the "index number" of neovascularization. These illustrations show typical degrees of neovascularization at each "index number": 0, negative and 1-4, positive. 1 and 2; characterized by the presence of newly formed blood vessels, with subdivisions according to the number of blood vessels, 3 and 4; characterized by newly formed networks with subdivisions again according to the number of blood vessels.

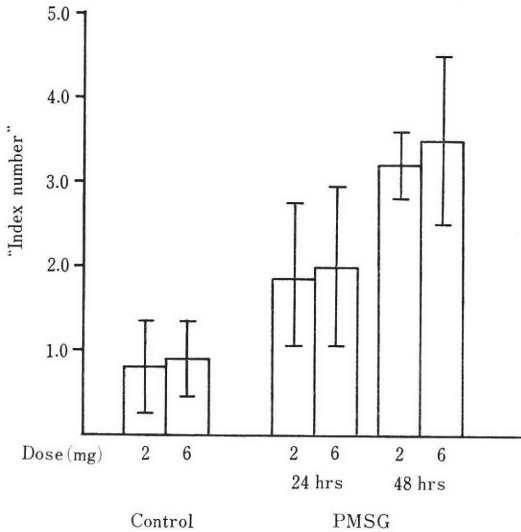


Fig. 2 Effect of the mouse ovarian extract on neovascularization

画の3分画に卵巣抽出物質を分け、3mm角のフィルムに500 μ gの凍結乾燥粉末が含まれるようにしてその血管誘導能を調べたが、図4に示すように無処理卵巣抽出物質では“分布指数”は0.8、硫安飽和度20、40%で沈殿するものではそれぞれ0.45、1.95であり、硫安飽和度40%でなお沈殿しないものは0.75である。以上のように

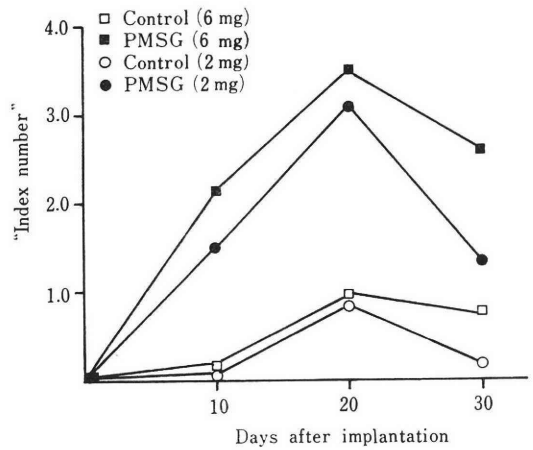


Fig. 3 Effect of the mouse ovarian extract on neovascularization

“分布指数”は硫安飽和度40%で沈殿するB分画で高く、卵巣抽出物質の血管誘導能はB分画に集中する傾向がみられた。

3. Sephadex G-100 による分離

硫安による飽和度20~40%において沈殿分別されるB分画に血管誘導因子が集中することが明らかになったのでさらにゲルクロマトグラフィーによる精製を試みた。B分画をカラム Sephadex G-100 で分取し、280nm に

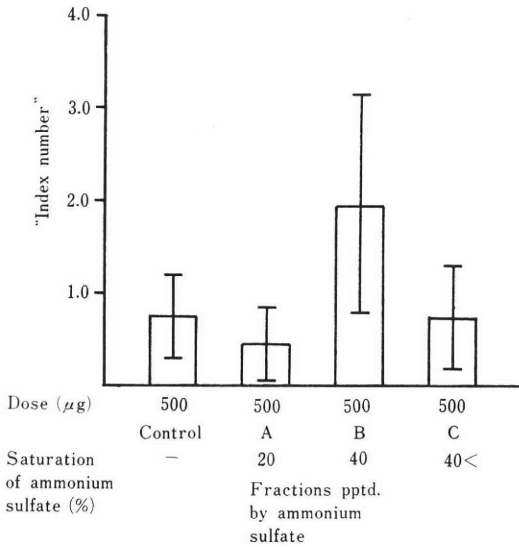


Fig. 4 Angiogenic activity in fractions obtained by ammonium sulfate precipitation from the ovarian extract (50 mg dry weight) recovered from mice at 48 hours after the injection of PMSG

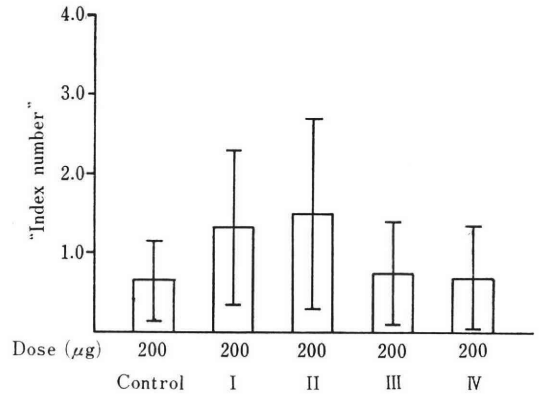


Fig. 6 Effects of the substances separated on a column of Sephadex G-100 from Fraction B on the angiogenesis in lateral wall of M. rectus abdominis of mice. Fraction I, II, III and IV: see Fig. 5

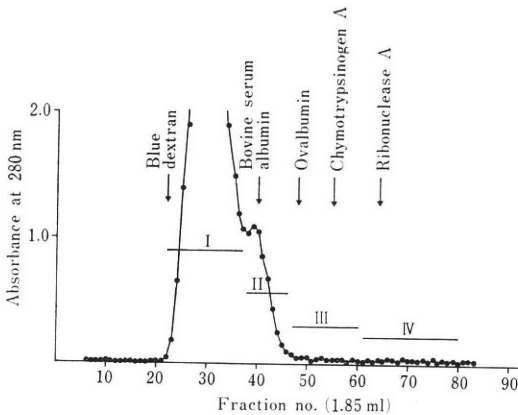


Fig. 5 Chromatogram of the substance (Fraction B) salted out with 20 to 40% saturation of ammonium sulfate on Sephadex G-100 (1.5×95 cm). Each fraction contains 1.85 ml of effluent

における吸光度を測定してクロマトグラムを作成した (図5)。これを分画 I, II, III および IV の 4 つの分画に分けて凍結乾燥後 3 mm 角のフィルム中に 200 µg の乾燥粉末が含まれるようにしてその血管誘導能について調べたが結果は図6に示す通りである。対照として行った無処理マウス卵巣抽出物質では移植後20日の“分布指数”は0.65, 分画Iは1.3, 分画IIは1.5, 分画IIIは0.8, 分画IVは0.7であり, 血管誘導活性は分画IおよびIIで高い

傾向を示した。同様の流出条件で分子量既知のブルーデキストラン (分子量200,000), ウシ血清アルブミン (分子量67,000), 卵アルブミン (分子量43,000), キモトリプシノーゲンA (分子量25,000), リボヌクレアーゼA (分子量13,700) を流出させ 280nm における吸光度を測定しそれらの流出部位を推定したが最大吸光を示した部位は図5に示した通りである。血管誘導能は分画I, IIで高い傾向を示すことから, これより血管誘導因子の分子量を推定するとその分子量は卵アルブミンの分子量(43,000)よりも大きいと推定される。

考 察

血管新生のバイオアッセイ法として, ある部位に断続的に試験物質を注入する方法と試験物質をなんらかの媒体によりフィルム状としそのフィルムを生体に移植する方法が考えられている。前者の方法の応用例としてはラットの皮下に空気をいれて小さな袋を作り細いチューブを装着し試験物質を注入して試験物質の血管誘導作用を調べた報告がある⁴⁾。後者のフィルム移植法が現在広く用いられているがフィルム作成に使う物質の条件としてはそれ自身に炎症誘起作用がないこと, 試験物質が徐々にフィルム外へ分泌されること, 試験物質の生理活性を低下させないことの3つの条件を満足させなければならない。

近年これら3つの条件を満足させるものとしてエチレンビニルアセテートコポリマー (Elwax 40) が推奨されており⁵⁾, アルコールで洗浄された Elwax 40は全く炎症反応を誘起せず, また Elwax 40や Elwax 40の溶媒

である塩化メチレンに対して多くの生理活性物質は安定であることが知られている⁹⁾。さらに Elwax 40 によって作られたフィルムからは物質が徐々に分泌されて行くことが証明されている⁹⁾。Elwax 40 によつてサンドイッチ状に固められたダイズトリプシンインヒビター(分子量21,000)では37°Cの生理食塩液中で10日で約50%、20日で約60%が分泌されるのみである。アルカリ性フォスファターゼ(分子量88,000)、カタラーゼ(分子量250,000)についても調べられており、分子量の小さいものの方が早く分泌されることが明らかにされているが、50%分泌されるのに要する日数はアルカリ性フォスファターゼで約15日、カタラーゼで約17日となっている。

このような Elwax 40 の特性は今回の実験でも確かめられた。マウス腹直筋筋膜外壁に移植されても Elwax 40 フィルムは炎症反応を誘起せず、また Elwax 40 フィルムに封入された卵巣抽出物質にも炎症反応によらない血管誘導作用が認められ、Elwax 40 や Elwax 40 の溶媒である塩化メチレンには害作用はみられなかった。さらに移植後30日でもまだフィルム中に抽出物質が約40%残存していることが確かめられ卵巣抽出物質も Elwax 40 から徐々に分泌されると思われた。

フィルムの移植部位としてニワトリ胚の絨毛尿管⁵⁾、ウサギの前眼房⁶⁾、ハムスターの頬嚢⁷⁾、ウサギの角膜⁸⁾などが検討されているが現在ではウサギの角膜への移植がもつとも良いとされている。しかし角膜への移植は高度な技術が必要であり、またウサギの1眼球当り1個のフィルムしか移植できないので多数の移植フィルムの作用を同一条件下で1度に比較するのはむづかしい。著者らは多数のフィルムを同時に移植する必要性からマウスを用い、マウス腹直筋筋膜外壁へ移植したが、この部位に Elwax 40 フィルムを移植しても Elwax 40 フィルムのみでは全く血管の伸長が観察されず、また炎症反応も実体顕微鏡下で確認することができ試験物質の血管誘導能の判定は可能であった。

in vivo での研究によると2つの異なつた血管新生の型が観察されている。第1は血管内皮細胞の分裂を促進する生理活性因子の作用にもとづく血管新生の型であり、第2は血管内皮細胞に対し分裂促進作用をもたない物質による白血球やマクロファージの誘導を通した、すなわち炎症反応による血管新生の型である。第1の型は黄体¹⁰⁾、唾液腺¹¹⁾、腫瘍組織¹²⁾など活発に細胞分裂を行なっている組織で観察される型と考えられており、腫瘍組織からは腫瘍血管造成因子(Tumor angiogenic factor)が分離されている^{4,13)}。また上皮組織増殖因子や線維芽細胞増殖因子はともに血管内皮細胞の分裂促進作用をもつがこれらを含むフィルムをウサギ角膜へ移植し

ても血管誘導作用をもつことが明らかにされている⁹⁾。第2の型はセロトニン、ブラディキニン、ヒスタミンなどのような炎症誘起作用をもつ物質による血管形成の型として知られているが、炎症反応にともなう血管形成の過程では血管形成に先だつて白血球の浸潤が観察される^{14,15)}。また活性マクロファージによつても血管形成が誘起されることから白血球やマクロファージが血管形成因子を分泌すると考えられている^{7,16,17)}。なお白血球の血管形成因子はゲルクロマトグラフィーによる実験結果から35,000~55,000の分子量をもつ蛋白であると推定されている⁷⁾。

以上のようなことから卵巣抽出物質による血管誘導作用は炎症反応にもとづくものかどうか明らかにすることが重要である。卵巣抽出物質によつて炎症反応が誘起される場合として第1に卵巣抽出物質中に炎症誘起物質が含まれている場合、第2に卵巣抽出物質に臓器特異抗原や組織適合性抗原が含まれている場合、第3に手術操作中に雑菌により汚染された場合が考えられる。

移植フィルム片周囲に浮腫、蓄膿が観察された場合を炎症としたが、今回の実験では移植後30日まではいずれの場合にも蓄膿は観察されていない。浮腫は無処理卵巣抽出物質を用いた対照区においても PMSG 投与群においても5~9%においてみられ、その率はほぼ同程度であり、PMSG 投与による血管誘導能の上昇にともなつて炎症を誘起する例が多くなることは観察されていない。また部分的に精製された血管誘導因子を用いても炎症誘起作用は増強されないことから PMSG 投与によるマウス卵巣抽出物質の血管誘導能の増強は炎症誘起物質あるいは臓器特異抗原や組織適合性抗原などの免疫反応誘起物質の増加にもとづくものではないと考えられる。

部分的に精製された卵巣の血管誘導因子の分子量をゲルクロマトグラフィーによつて推定すると分子量43,000の卵アルブミンよりも大きいと推定され上皮組織増殖因子や線維芽細胞増殖因子の分子量と異なることが理解される。今後本因子をさらに精製し血管内皮細胞の分裂促進作用をもつ上皮組織増殖因子などとの分子的同一性を明らかにしたいと思つている。

ウサギで調べた報告によると卵巣に入った動脈は卵巣長軸に沿つて走行する螺旋動脈から第1次細動脈が分枝して各々の卵胞に達しその周囲でバスケット状の血管網が形成されるが、卵胞の発育にともなつて卵胞周囲の血管網が急激に増加することが観察されている¹⁾。また血管の側から卵胞発育の問題を説明すれば血管の進入または接近は卵胞の発育をひき起こし、血管分布の状態が同じであれば血流量や毛細血管の透過性の違いがその後の卵胞の発育を異なつたものとすると考えられる¹⁸⁾。

幼若マウスに PMSG を投与すると卵胞の急激な発育が観察される¹⁹⁾。血管誘導能は無処理のマウスの卵巣抽出物質にくらべて PMSG 投与マウスの卵巣抽出物質で顕著に強く認められたので血管の側からみれば PMSG は血管誘導能の上昇を通して卵胞の発育をうながしたものと考えられる。すなわち卵胞の血管誘導因子の産生分泌はゴナドトロピンによつて調節されていると考えられ、ゴナドトロピンは血管誘導因子の増加を通して卵胞周囲の急激な血管網の増加をうながし、ひいては卵胞の急激な発育を促進するものと思われる。

卵胞は血中ゴナドトロピンに等しく反応せず、その反応の相違が卵胞の選択的発育や退行に関係していると考えられるが、著者らはウシとブタの卵胞液からゴナドトロピン抑制物質を分離している^{20,21)}。本物質は顆粒膜細胞で産生され、かつ FSH の顆粒膜細胞への結合を抑制する作用をもっている²²⁾。免疫組織学的に調べると卵胞腔をもつ卵胞の約60%の卵胞の顆粒膜細胞に同定されている²³⁾。著者らは本物質を産生するようになった卵胞はその後の発育が抑制されると考えており、本物質が卵胞の選択的発育の分子レベルでの調節に関与していると推定している。しかし本物質は卵胞腔をもたない卵胞には存在しない²³⁾ことから本物質によるゴナドトロピンの分子レベルでの機能調節だけでは卵胞の選択的発育を説明することはできない。卵胞腔形成にともない卵胞周囲の血管網の増加が認められる¹⁾ことから卵胞の選択的発育を考える上で血管系の変化の調節機構を明らかにすることが重要と思われる。すなわち卵胞の選択的発育は第1には血管分布の相違により、第2には血管の伸縮による血流量の相違により、第3には毛細血管の透過性の相違により、第4にはゴナドトロピンレセプターやゴナドトロピン抑制物質の量の相違を通して制御されていると推定される。第2、第3および第4の問題については比較的多くの報告がみられるが、第1の血管分布については形態レベルでの研究に終止している。今回著者らは卵巣中に血管誘導因子の存在することを明らかにしたが、このような因子を分離し、さらに卵胞発育にともなう動態を明らかにすることができれば卵巣の血管分布の調節系の解明はもとより卵胞の選択的発育の調節系を明らかにすることができると思つている。

文 献

- 1) 神崎秀陽, 岡村 均, 奥田雄二, 竹中 章, 森本幸巳, 西村敏雄: 排卵誘発刺激前家兔卵巣血管構築の鋳型走査電子顕微鏡法による観察, 日産婦誌, 33: 11, 1981.
- 2) Sato, E. and Ishibashi, T.: Induction of blood vessels by the ovarian extracts from mice in-

jected with gonadotropins. Jpn. J. Zootech. Sci. in press

- 3) Langer, R. and Folkman, J.: Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules. Nature 263: 797, 1976.
- 4) Folkman, J., Merler, E., Abernathy, C. and Williams, G.: Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. J. Exp. Med. 133: 275, 1971.
- 5) Jakob, W., Jentzsch, K. D., Mauersberger, B. and Heder, G.: The chick embryo chorioallantoic membrane as a bioassay for angiogenesis factors: Reactions induced by carrier materials. Exp. Path., Bd. 15: 241, 1978.
- 6) Gimbrone, M. A., Leapman, S. B., Cotran, R. S. and Folkman, J.: Tumor dormancy *in vivo* by prevention of neovascularization. J. Exp. Med. 136: 261, 1972.
- 7) Nishioka, K. and Katayama, I.: Angiogenic activity in culture supernatant of antigen stimulated lymph node cells. J. Pathol. 126: 63, 1978.
- 8) Gimbrone, M. A., Cotran, R. S., Leapman, S. B. and Folkman, J.: Tumor growth and neovascularization: An experimental model using the rabbit cornea. J. Natl. Cancer Inst. 52: 413, 1974.
- 9) Gospodarowicz, D., Bialecki, H. and Thakral, T. K.: The angiogenic activity of the fibroblast and epidermal growth factor. Exp. Eye Res. 28: 501, 1979.
- 10) Gospodarowicz, D. and Thakral, K.: Production of a corpus luteum angiogenic factor responsible for proliferation of capillaries and neovascularization of the corpus luteum. Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A. 75: 847, 1978.
- 11) Hoffman, H., McAustan, B., Robertson, D. and Burnett, E.: An endothelial growth-stimulating factor from salivary glands. Exp. Cell Res. 102: 269, 1976.
- 12) Folkman, J.: Tumor angiogenic factor. Cancer Res. 34: 2109, 1974.
- 13) Phillips, P. and Kumar, S.: Tumour angiogenesis factor (TAF) and its neutralization by a xenogeneic antiserum. Int. J. Cancer 23: 82, 1979.
- 14) Zauberman, H., Michaelson, I. C. and Bergmann, F.: Stimulation of neovascularization of the cornea by biogenic amines. Exp. Eye Res. 8: 77, 1969.
- 15) Fromer, C. H. and Klintworth, G. K.: An evaluation of the leukocytes in the pathogenesis of experimental induced corneal vascularization. Am. J. Path. 82: 157, 1976.
- 16) Clark, R. A., Stoney, R. D., Leung, D. Y. K., Silver, I., Hohn, D. C and Hunt T. K.: Role of macrophages in wound healing. Surg.

- Forum. 27 : 16, 1976.
- 17) Polverine, P., Cotran, R., Gimbrone, M. and Unanue, E. : Activated macrophages induce vascular proliferation. *Nature* 269 : 804, 1977.
 - 18) 山下和雄 : 卵巣の微細構造, *細胞*, 12 : 50, 1980.
 - 19) 笹本修司 : 幼若雌マウスの誘起排卵反応による性腺刺激ホルモンの生物学的検定法に関する研究, *家畜繁殖誌*, 12 : 35, 1966.
 - 20) 佐藤英明, 石橋武彦 : ウシ卵胞液中に認められたゴナドトロピン抑制物質の部分的精製について, *日畜会報*, 49 : 313, 1978.
 - 21) Sato, E., Miyamoto, H., Ishibashi, T. and Iritani, A. : Identification, purification and immunohistochemical detection of the inhibitor from porcine ovarian follicular fluid to compensatory ovarian hypertrophy in mice. *J. Reprod. Fert.* 54 : 263, 1978.
 - 22) Sato, E., Ishibashi, T. and Iritani, A. : Effect of inhibin-like substance isolated from porcine follicular fluid on the follicle-stimulating hormone (FSH) level in mouse serum and on FSH binding to porcine granulosa cells. *Fertil. Steril.* 34 : 55, 1980.
 - 23) Sato, E. and Ishibashi, T. : Immunohistochemical localization of a follicle-stimulating hormone (FSH) inhibitor from bovine follicular fluid. in *Reproductive Biology and Medicine*. (Fujii, T. ed.) Pergamon Press, Oxford. in press

Separation of an angiogenic factor
from the ovaries of mice injected
with pregnant mare serum
gonadotropin

Eimei Sato, Ryosuke Furubayashi
and Takehiko Ishibashi

Department of Animal Science, Faculty
of Agriculture, Kyoto University,
Kyoto 606

An angiogenic factor seems to be present in growing follicles, as the blood vessels surrounding the follicles undergo striking increases in number during follicular growth. We have found that extracts from ovaries of mice injected with gonadotro-

pins show angiogenic activity, and that the ovarian extract induces inflammation in few cases. Therefore the ovarian extract seems to contain an angiogenic factor which is not inflammation-inducing.

Separation and partial purification of an angiogenic factor from the ovaries of mice injected with pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) were attempted, ovarian extract from mice injected with PMSG having shown the greatest angiogenic activity. Immature female mice (JCL-ICR) were injected subcutaneously with 5 I.U. of PMSG dissolved in 0.2 ml of physiological saline. The ovaries were removed after 24 or 48 hours of injection, and ovaries from non-treated mice were also removed as controls. The ovaries were homogenized in 0.5 M ammonium carbonate for 2 minutes. After freeze-thawing, the homogenate was centrifuged at 54,000×g for 1 hour and the supernatant, i.e., the ovarian extract, was lyophilized. Thin, transparent ethylene vinyl acetate copolymer (Elwax 40) film containing lyophilized ovarian extract was prepared as described by LANGER and FOLKMAN²⁾ and the film was then cut into squares (3×3mm) and implanted on lateral wall of *M. rectus abdominis* of young adult mice (JCL-ICR), and examined 10, 20 or 30 days later under a stereomicroscope. Excluding cases of inflammation such as oedema from these results, the degree of neovascularization was divided into five classes as shown in Fig. 1, each being assigned on "index number".

With 2 and 6 mg of the ovarian extract from control mice, the "index number" were 0.8 and 0.9, with 2 and 6 mg of the ovarian extracts from mice injected with PMSG, the "index numbers" were 1.85 and 2.0 for the ovarian extract recovered at 24 hours after injection, and 3.2 and 3.5 for that recovered at 48 hours after the injection. Selective precipitation with ammonium sulfate was carried out on the ovarian extract recovered at 48 hours after the injection of PMSG to concentrate the angiogenic factor and most of the angiogenic factor was precipitated at 20 to 40% saturation of ammonium sulfate. These substances were separated on a column of Sephadex G-100, and the angiogenic activity was detected in the fractions of an estimated molecular weight of more than 43,000.

(受付: 昭和56年11月27日)

QUANTITATIVE ASSAY OF OXYTOCIN RELEASE DURING SUCKLING STIMULI AND ELECTRICAL STIMULATIONS OF PVH OR SO IN RATS

Toshi WATANABE

Laboratory of Veterinary Physiological Chemistry, College of Agriculture and
Veterinary Medicine, Nihon University, Fujisawa-shi, Kanagawa Pref. 252

Abstract: An oxytocin release during suckling stimuli in lactating rats was estimated with a bioassay method of intra-uterine pressure (IUP) and the electrohysterogram (EHG). It was also bioassayed following an electrical stimulation of the nucleus paraventricularis hypothalami (PVH) or nucleus supraopticus hypothalami (SO) in primiparous rats.

The oxytocin level determined with suckling stimuli in lactating rats was 9.30 ± 3.82 milliunits (mu) with a range of 5.0 to 13.5 mu. Oxytocin levels released by electrical stimulations of PVH and SO were 9.10 ± 4.25 with a range of 3.5 to 19.0 mu and 4.46 ± 3.25 with a range of 0.3 to 9.0 mu, respectively. It was found that an electrical stimulation of PVH produced about two times higher oxytocin release than that of SO stimulation.

When PVH and SO nuclei were intercepted surgically by a brain knife to manifest the oxytocin-releasing reflex of hypothalamic pathways, no changes of IUP and EHG were observed with suckling stimuli, indicating no oxytocin release.

The patterns of EHG observed during suckling stimuli as well as electrical stimulations of PVH or SO showed a striking resemblance to those observed following a direct injection of synthetic oxytocin.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 27(3), 296-301, 1982)

Introduction

Since Turner and Slaughter³¹⁾ suggested in 1930 that milk ejection would be caused by a hormone released from the posterior pituitary, studies on the matter have been carried out by many investigators^{17, 25-28)}. At present it is a common view that milk ejection is caused by oxytocin^{4, 9-11, 20, 22-23, 37)}. Various stimuli including suckling^{5, 13-14, 21)}, milking^{17, 34)} and parturition^{12, 35)} can cause oxytocin release and it is well documented that the release of oxytocin occurs by an electrical stimulation of PVH and SO^{1-3, 6, 15-16, 36, 38-39)}. Therefore, it is presumable that oxytocin is released into the blood stream from the posterior pituitary due to the activation of nuclei, paraventricularis hypothalami (PVH) and supraopticus hypothalami

(SO).

Although a number of publications have appeared in recent years, little is referred to the quantitative aspect of the oxytocin release in rats. The purpose of the present paper is to determine oxytocin levels released during suckling stimuli as well as following an electrical stimulation of PVH or SO. Estimation was also carried out following a surgical isolation of these nuclei, i. e. an interception of hypothalamic pathways during suckling stimuli.

Materials and Methods

1. Oxytocin Release during Suckling Stimuli in Lactating Rats.

Primiparous lactating rats of Wistar-Imamichi strain were used. They were reared

under the controlled condition of room temperature of $23 \pm 1^\circ\text{C}$ with 55 to 65% humidity with a 14 light: 10 dark schedule and fed *ad libitum* with Nihon-Clea solid feed, CE 2.

The mother rat was experimented on the 13th day of lactation. The litter was isolated from the mother usually at 8:30 AM, then mother animal was anesthetized with an intraperitoneal injection of 100 mg of urethane per 100 g of body weight. After abdominal section of the animal a polyethylene tube of 1 mm diameter filled with Ringer solution was inserted into, and ligated at the base of one uterine horn and connected with a transducer via an amplifier so that the intrauterine pressure (IUP) could be recorded. An electrohysterogram (EHG) of the same portion of the uterine horn was recorded by a monopolar system. For more details of the bioassay method of the oxytocin, refer to the previous report³³⁾. The experiment was done usually in the afternoon (3:00 PM) when pups, the number of which was reduced to 2 to 4 were again allowed to suckle from the mother and IUP and EHG were estimated.

2. Electrical Stimulation of PVH or SO.

Primiparous rats, ovariectomized and injected with $2 \mu\text{g}$ of estradiol were employed. Methods of anesthesia, cannulation of the uterine horn and recording of IUP and EHG were the same as mentioned above.

The head of the rat was fixed by a stereotaxic instrument. A steel electrode was mounted in the micromanipulator of the instrument and gradually lowered to the PVH or SO according to the brain atlas of De Groot⁷⁾.

A concentric bipolar electrode constructed of nichrome wire of about 0.12 mm in diameter was connected via a current isolation unit to a square-wave stimulator. Electrical stimulations were given with a frequency of 10 c.p.s., 10 ms-pulse duration and 3.0 mA. The oxytocin released following the electrical stimulation of PVH or SO was assayed by the determination of IUP.

3. Surgical Isolation of PVH and SO by a Brain Microknife.

Surgical isolation both of PVH and SO was made stereotaxically to observe the pathways involved in the oxytocin-releasing re-

flex under urethane anesthesia. The brain microknife was held in an electrode carrier on the stereotaxic instrument. The pathway of PVH and SO was cut by turning the knife through 360°C at the site of nuclei. The rat was then given suckling stimuli when IUP and EHG were estimated. The brain knife used for neurosurgery which consisted of ground stainless steel wire and tube is shown in Fig. 1.

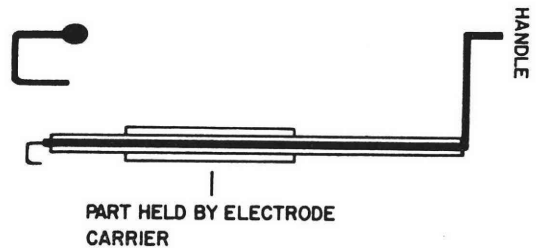


Fig. 1 Structure of brain microknife used for cutting PVH, SO routes. The knife was made by ground stainless steel wire and tube.

4. Others.

In each experiment, after the experiment was over, synthetic oxytocin was directly injected into the rat at an appropriate time and IUP and EHG were estimated for the comparison. Moreover, histological examination was performed to ascertain the localization of electrical stimulation and also lesions of PVH and SO pathways made by the operation with the brain knife. Animals were killed by perfusion of saline solution with 10% neutral formalin. Brains were embedded in paraffin and stained with hematoxyline-eosin.

Results

The result of oxytocin estimation by the IUP method during suckling stimuli of lactating rats is shown in Table 1, in which the mean value with the standard deviation and the range are indicated. Fig. 2 shows a representative pattern both of IUP and EHG during suckling stimuli and after the direct injection of oxytocin. In Fig. 3, only IUP pattern which is used for the oxytocin quantitation by a slow run of chart paper is presented when suckling stimuli and oxy-

Table 1 Oxytocin amount released by suckling stimuli (After IUP bioassay)

	No. of animals	Oxytocin (mu)
Average ± S.D.	5	9.30 ± 3.82
Range		5.0 - 13.5

Note: The mother rat was experimented on the 13th day of lactation. After the litter was isolated, the mother was anesthetized with urethane and operated for the bioassay and electrohysterogram. Determination was conducted when pups were again allowed to suckle from the mother.

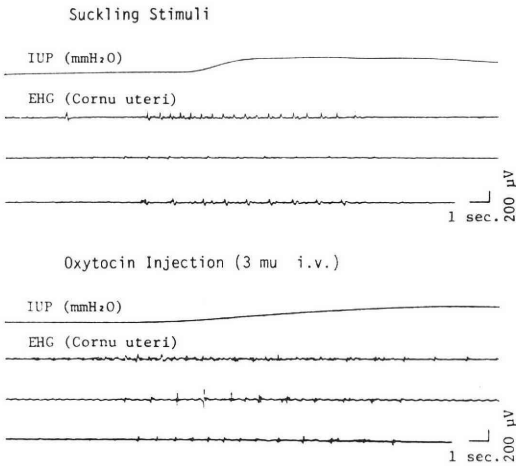


Fig. 2 Representative patterns of intra-uterine pressure (IUP) and electrohysterogram (EHG) during suckling stimuli and following oxytocin injection.

tocin are given. Changes of intra-uterine pressure during suckling stimuli bore a striking resemblance to that observed following the experimental injection of oxytocin. Similar patterns of uterine motility with the equal intensity were clearly demonstrated between both. The oxytocin amount bioassayed following electrical stimulation of PVH (N=10) or SO (N=5) is shown in Table 2. Fig. 4 presents patterns of IUP and EHG after the electrical stimulation of PVH and Fig. 5 those after the SO stimulation. The electrical change of EHG observed by the stimulation of nuclei was a polyphasic spike train with an increased and prolonged bursts of activity. These patterns of EHG bore a

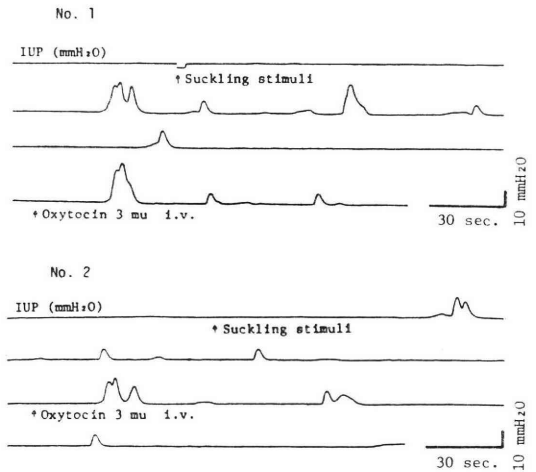


Fig. 3 Representative patterns of intra-uterine pressure (IUP) as expressed by the slow run of chart paper during suckling stimuli and following oxytocin injection.

Table 2 Oxytocin amount released by the electrical stimulation of PVH or SO in primiparous rats, ovariectomized and estradiol treated (After IUP bioassay)

	No. of animals	Oxytocin
PVH stimulation	10	9.10 ± 4.25
SO stimulation	5	4.46 ± 3.25

Note: Experiment was carried out under the urethane anesthesia.

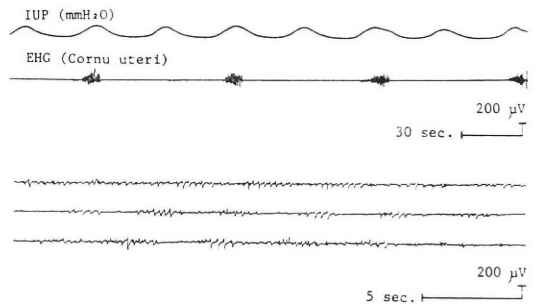


Fig. 4 Representative patterns of intra-uterine pressure (IUP) and electrohysterogram (EHG) by the electrical stimulation of PVH route.

striking resemblance to those observed during suckling stimuli as well as following the

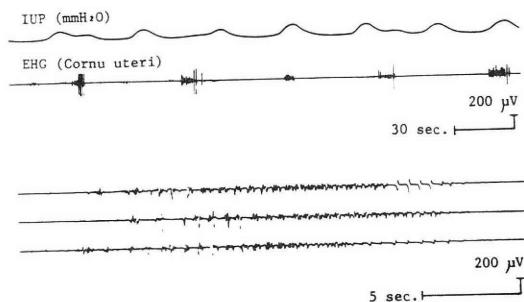


Fig. 5 Representative patterns of intra-uterine pressure (IUP) and electrohysterogram (EHG) by the electrical stimulation of SO route.

experimental injection of oxytocin. Contrary, the saline injection or no stimulation only produced a diphasic spike train of 10 to 120 microvolts lasting 11 to 35 seconds, with a frequency of 0.7 to 1.5 seconds.

When hypothalamic pathways from both the PVH and SO were sectioned by the brain knife, changes of IUP and EHG were not observed following suckling stimuli.

Discussion

High levels of oxytocin were estimated during suckling stimuli in lactating rats. The mean oxytocin level of five lactating rats with a standard deviation was 9.30 ± 3.82 mu with a range of 5.0 to 13.5 mu. Cross⁵⁾ reported, by kymograph records of milk ejection, oxytocin levels from 0.5 to 50 mu/ml serum during suckling stimuli in rabbits. Fuchs and Wagner¹⁴⁾, using a thin fingershaped rubber balloon, reported oxytocin levels from 10 to 100 mu during suckling stimuli in fourteen rabbits. Pickford²¹⁾ reported, during milk ejection responses, 15 mu of oxytocin during suckling stimuli in dogs. Folley and Knaggs¹³⁾ also reported, using a milk ejection method of Tindal and Yokoyama²⁹⁾, changes of oxytocin level in sows during suckling stimuli and in cows and goats during milking processes. They suggested that in rabbits, sows and cows, the milk ejection was a neurohormonal reflex involving an oxytocin release, but in goats, provided the animal was carefully hand-milked, normal milk yield can be obtained without an oxytocin release. It was reported

that in small ruminants, such as goats and sheep milk ejection can occur without a release of oxytocin^{8,18-19,40)}. In rats, however, the milk ejection did not occur without a release of oxytocin, as was reported previously by the present author³⁶⁾. According to Fuchs and Wagner¹⁴⁾, the amount of oxytocin to be released is independent of the duration of suckling, the quantity of milk, and the milk flow.

Although it is well documented that the release of oxytocin occurs by electrical stimulation of nucleus paraventricularis hypothalami (PVH) and nucleus supraopticus hypothalami (SO)^{1-3,6,15-16,36,38-39)}, little is known of the quantitative aspect of this release. To confirm the release of oxytocin by the electrical stimulation of PVH or SO in rats, the experiment was performed. When the PVH was electrically stimulated and the oxytocin was bioassayed in ten rats, the average value \pm S.D. was 9.10 ± 4.25 with a range of 3.5 to 19.0 mu. When the SO was stimulated, it was 4.46 ± 3.25 with a range of 0.3 to 9.0 mu in five rats. Oxytocin release by PVH stimulation was about two times higher than that of SO stimulation.

EHG led from the uterine horn was recorded to observe whether uterus contracting material was released during suckling or by electrical stimulation of PVH or SO. Since the phase of action potential, burst duration and spike frequency produced by those stimuli bore a striking resemblance to those observed with the direct injection of oxytocin, the uterus contracting material should be oxytocin itself.

On the other hand, the rat which received a cutting of hypothalamic pathways (PVH and SO projections to the posterior pituitary) with a brain knife did not release oxytocin despite the suckling stimuli. This is in agreement with the result of many earlier workers^{1-3,6,15-16,36,38-39)} and the release of oxytocin from the posterior pituitary into the blood stream through the exitation of PVH and SO seems to be proved. According to Tindal and Knaggs³⁰⁾, destruction of the paraventricular nucleus by a radio-frequency lesion, which spared the supraoptic nucleus, blocked the release of oxytocin.

Also, undercutting of the paraventricular nucleus to isolate them from the ventral hypothalamus blocked the release of oxytocin. Undercutting of the paraventricular nucleus ipsilateral again blocked the release of oxytocin, while undercutting of the contralateral paraventricular nucleus had no effect. These authors suggest that the paraventricular nucleus, therefore, lies on the ascending path of the milk ejection reflex, while the supraoptic nucleus does not. This ascending pathway from the midbrain forward remains uncrossed. Voloshin and Tramezzani³²⁾ reported that among simple cuttings of rostral, dorsal, lateral or caudal hypothalamic afferent, the cutting of caudal fibers only caused a blockage of milk ejection reflex. When multiple cuts of two or three afferents to the hypothalamus were made in different combinations, the milk ejection reflex was blocked only when caudal fibers had been involved. These findings demonstrate that the triggering of the milk ejection reflex does not necessarily require an integrity of paraventricular afferents.

Rüsse and Marshall²⁴⁾ reported that the ganglion-blocking agent such as hexamethonium reduced the uterine sensitivity to oxytocin during a hypogastric nerve stimulation. Uterine sensitivity to oxytocin might be mediated by the stimulation of preganglionic fibers in the hypogastric nerve. One physiological function of adrenergic nerves to the myometrium might be a modulation of myometrial excitability to oxytocin and possibly to other agents as well.

Acknowledgements

The author wishes to express his appreciation to Prof. Dr. J. Obara, of the Nihon University for his constant guidance and interest in this investigation. The author is also to Dr. Harlan, R. E. of the Rockefeller University for his helpful advice and criticism.

References

- 1) Anderson, B.: Some observation on the neuro-hormonal regulation of milk-ejaculation. *Acta Physiol. Scand.* 23: 1, 1951.
- 2) Anderson, B.: The effect and localisation of electrical stimulation of certain parts of the brain stem in sheep and goats. *Ibid.* 23: 8, 1951.
- 3) Anderson, B.: Further studies on the milk-ejection mechanism in sheep and goats. *Ibid.* 24: 24, 1951.
- 4) Benson, G. K. and Cowie, A. T.: Lactation in the rat after hypophysial posterior lectomy. *J. Endocr.* 14: 54, 1956.
- 5) Cross, B. A.: Neurohormonal mechanisms in emotional inhibition of milk ejection. *J. Endocr.* 12: 29, 1955.
- 6) Cross, B. A.: The motility and reactivity of the oestrogenized rabbit uterus *in vivo*. *J. Endocr.* 16: 237, 1958.
- 7) De Groot, J.: The rat hypothalamus in stereotaxic coordinates. *J. Comp. Neuro.* 113: 289, 1959.
- 8) Denamur, R. and Martinet, J.: Physiological mechanisms concerned in the maintenance of lactation in the goat and sheep. *Nature* 185: 252, 1960.
- 9) Denamur, R.: The hypothalamo-neurohypophysial system and milk-ejection reflex. Part II. *Dairy Sci. Abst.* 27: 263, 1965.
- 10) Dyer, R. G., Dyball, R. E. J. and Morris, J. F.: The effect of hypothalamic deafferentation upon the ultrastructure and hormone content of the paraventricular nucleus. *J. Endocr.* 57: 509, 1973.
- 11) Ely, F. and Petersen, W. B.: Factors involved in the ejection of milk. *J. Dairy Sci.* 24: 211, 1941.
- 12) Fitzpatrick, R. J. and Walmsley, C. F.: Concentration of oxytocin in bovine blood during parturition. *J. Physiol., Lond.* 163: 13, 1962.
- 13) Folley, S. J. and Knaggs, G. S.: Milk-ejection activity (oxytocin) in the external jugular vein blood of the cow, goat and sow, in relation to the stimulus of milking and suckling. *J. Endocr.* 34: 197, 1966.
- 14) Fuchs, A. R. and Wagner, G.: Quantitative aspects of release of oxytocin by suckling in unanesthetized rabbits. *Acta Endocr., Copenh.* 44: 581, 1963.
- 15) Gale, C. C. and McCann, S. M.: Hypothalamic control of pituitary gonadotrophins impairment in gestation, parturition and milk ejection following hypothalamic lesions. *J. Endocr.* 22: 107, 1961.
- 16) Gale, C. C., Taleisnik, S., Friendman, H. M. and McCann, S. M.: Hormonal basis for impairments in milk synthesis and milk ejection following hypothalamic lesions. *J. Endocr.* 23: 303, 1961.
- 17) Gormez, E. T.: The relation of the posterior hypophysis in the maintenance of lacta-

- tion in hypophysectomized rats. *J. Dairy Sci.* 22: 488, 1939.
- 18) Linzell, J. L.: Transplantation of mammary glands. *Nature* 188: 596, 1960.
 - 19) Lizell, J. L.: Some effects of denervating and transplanting mammary glands. *Q. Jl. Exp. Physiol.* 48: 34, 1963.
 - 20) Petersen, W. E. and Ludueick, T. M.: The hormonal nature of the factor causing the let down of milk. *Fedn. Proc. Amer. Soc.* 1: 66, 1942.
 - 21) Pickford, M.: Factors affecting milk release in the dog and the quantity of oxytocin liberated by suckling. *J. Physiol. Lond.* 152: 515, 1960.
 - 22) Richad, Ph.: The reticulo-hypothalamic pathway controlling the release of oxytocin in the ewe. *J. Endocr.* 53: 71, 1972.
 - 23) Rrosvenor, C. E., Denuccio, D. J., King, S. F., Maiwec, H. and Mena, F.: Central and peripheral neural influences on the oxytocin-induced pressure response of the mammary gland of the anaesthetized lactating rat. *J. Endocr.* 55: 299, 1972.
 - 24) Rüsse, M. W. and Marshall, J. M.: Uterine response to adrenergic nerve stimulation in the guinea-pig. *Biology of Reproduction* 3: 13, 1970.
 - 25) Selye, H.: On the nervous control of lactation. *Amer. J. Physiol.* 107: 535, 1934.
 - 26) Selye, H., Collip, J. B. and Thomson, D. L.: Nervous and hormonal factors in lactation. *Endocr.* 8: 237, 1934.
 - 27) Selye, H. and Mckeown, T.: The effect of mechanical stimulation of the nipples on the ovary and the sexual cycle. *Surg. Gynec. Obstet.* 59: 886, 1934.
 - 28) Selye, H. and Mckeown, T.: Further studies on the unfluence of suckling. *Anat. Rec.* 60: 323, 1934.
 - 29) Tindal, J. S. and Yokoyama, A.: Assay of oxytocin by the milk-ejection response in the anesthetized lactating guinea pig. *Endocr.* 71: 196, 1962.
 - 30) Tindal, J. S. and Knaggs, G. S.: Determination of the detailed hypothalamic route of milk-ejection reflex in the guinea-pig. *J. Endocr.* 50: 135, 1971.
 - 31) Turner, C. W. and Slaughter, I. S.: The physiological effect of pituitaryextract (posterior lobe) on the lactating mammary gland. *J. Dairy Sci.* 13: 8, 1930.
 - 32) Volochin, L. M. and Tramezzani, J. H.: The neural input of the milk ejection reflex in the hypothalamus. *Endocr.* 92: 973, 1973.
 - 33) Watanabe, T. and Sakuma, Y.: Oxytocin bioassay by the determination of intra-uterine pressure of the rat. *Jap. J. Fert & Ster.* 21: 67, 1976.
 - 34) Watanabe, T. and Sakuma, Y.: Assay of oxytocin levels in the blood of jugular vein of cows during milking stages. *J. Tokyo Vet. Zootechn. Sci.* 23: 22, 1976.
 - 35) Watanabe, T. and Sakuma, Y.: Assay of oxytocin levels in the blood of jugular vein of cows during parturition stages. *J. Tokyo Vet. Zootechn. Sci.* 23: 27, 1976.
 - 36) Watanabe, T. and Sakuma, Y.: Neural mechanisms of oxytocin on the electrothalamogram during suckling stimuli in lactating rats. *J. Tokyo Vet. Zootechn. Sci.* 26: 14, 1978.
 - 37) Yokoyama, A.: Milk-ejection responses following administration of "TAP" stimuli and posterior pituitary extracts. *Endocr. Jap.* 3: 32, 1956.
 - 38) Yokoyama, A. and Ota, K.: The effect of hypothalamic lesions on litter growth in rats. *Endocr. Jap.* 6: 14, 1959.
 - 39) Yokoyama, A. and Ota, K.: Effect of oxytocin replacement on lactation in rats bearing hypothalamic lesions. *Endocr. Jap.* 6: 268, 1959.
 - 40) Yokoyama, A. and Ota, K.: The effect of anaesthesia on milk yield and maintenance of lactation in the goat and rat. *J. Endocr.* 33: 231, 1965.

ラットの吸乳刺激および PVH (室房核),
SO (視索上核) の電気刺激による
oxytocin 放出量の測定

渡 部 敏

(日本大学農獣医学部獣医生理化学教室)

ラットを吸乳刺激することにより、また PVH (室房核) あるいは SO (視索上核) を電気刺激することによって oxytocin の放出が認められた。吸乳刺激による oxytocin の放出量は 9.30 ± 3.82 (5.0~13.5) mu, PVH の電気刺激による oxytocin の放出量は 9.10 ± 4.25 (3.5~19.0) mu, SO の電気刺激による oxytocin の放出量は 4.46 ± 3.25 (0.3~9.0) mu であった。

PVH と SO の両者を切断したラットでは吸乳刺激を与えても、子宮内圧の増加および EHG (子宮電図) の電気的变化が認められず、oxytocin の放出は認められなかった。このことはラットにおいても oxytocin の放出を支配している神経核は PVH および SO であることを示唆していた。

(受付: 昭和56年12月16日)

IN VITRO FERTILIZATION OF RABBIT OVA BY EPIDIDYMAL SPERMATOZOA IN A DEFINED MEDIUM

Kahei SATO, Madoka KIMURA and Yuji SAKUMA*

Laboratory of Animal Reproduction and *Laboratory of Veterinary
Physiology, College of Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University, Fujisawa-shi, Kanagawa Pref. 252

Abstract: This research was carried out to define the fertilizing ability of rabbit epididymal spermatozoa capacitated in a simple defined medium. Epididymal spermatozoa were collected from tail of the epididymis. The epididymal sperm cells were suspended in TC-199 medium containing 20% fetal bovine serum. The sperm cell suspension was incubated for 3 hours prior to insemination. Ova were obtained by superovulation with treatments of PMSG and HCG. *In vitro* fertilization after the insemination was observed in 94 (92.2%) of 114 ova examined. Of 94 ova fertilized *in vitro* 57 (60.6%) cleaved. Fourteen 2-cell and twenty-one 4 cell stage ova were surgically transferred into the oviducts of recipients (Dutch belted does). Two recipients became pregnant. They had 5 and 2 normal sized-implants, respectively at 15 days after the transfer.

(Jap. J. Fert. Ster., 27(3), 302-305, 1982)

Introduction

Sperm capacitation, the physiological changes that prepare sperm for penetration of ova, has been reported to occur *in vitro* fertilization following various treatments for rabbit sperm^{1,2}. Brackett and Oliphant (1975)³ showed that exposure of ejaculated rabbit sperm cells to a defined hypertonic medium for 20 minutes could fertilized in high proportions of rabbit ova and the ova fertilized had the potential for continuation of development of embryos. While, rabbit epididymal spermatozoa have been known to have fertilizable potential *in vivo*^{4,5} and *in vitro*^{3,6,7,8}. Erickson (1972)⁹ has reported a evidence for *in vitro* fertilization of rabbit epididymal spermatozoa incubated with Sendai virus. Ogawa et al. (1972)⁶ have observed that rabbit epididymal sperm cells incubated in a complex defined medium can fertilize the tubal ova and the ova can develop to the blastocyst stage. Hosoi et al. (1981)¹⁰, also, have reported that capacitation of epididymal spermatozoa can be in-

duced in a high ionic strength medium reported by Brackett and Oliphant (1975)³. In the present time, however, informations for capacitation of the epididymal spermatozoa is unsatisfying. The present work was undertaken to document the fertilizability of rabbit epididymal sperm cells capacitated in a simple defined medium under relative simple experimental conditions.

Materials and Methods

Mature New Zealand White rabbits, 3-3.5 kg, were employed. All does were housed individually to check the possibility of pseudopregnancy. Ovum donors were superovulated with 100 IU of PMSG (Teikoku Hormone Co.,) given intramusculally followed by 50 IU of HCG (Teikoku Hormone Co.,) 70 hours later. To 11 to 13 hours after HCG injection ovum donors were killed by injections of Na-pentobarbital (Abbot Co.,) and immediately the oviducts were removed. The oviducts were flushed by TC-199 medium (Nissui Co.,) containing 20% fetal

bovine serum (v/v) (GIBCO Laboratories) to obtain ovulated ova. The pH of the medium was adjusted with NaHCO_3 to 7.4. The media used were sterilized by filtration with Millipore filter (Pore size, 0.45μ). This medium also used for preincubation of spermatozoa to obtain capacitated sperm cells. Sperm cells were collected from tail of the epididymis of adult bucks by the method described previously⁸⁾. The sperm suspension was placed in a sealable culture dish at 37°C in 5% CO_2 in air for 1 or 3 hours. Ova collected were placed in dishes containing the sperm suspension incubated previously and the dishes containing the gametes were covered with plastic caps and then the dishes were kept at 37°C under gaseous phase of 5% CO_2 in air. Under these conditions when ova were incubated with adequate numbers of incubated spermatozoa (8×10^5), the cumulus cells were dispersed within 6 hours. As a further control to rule out parthenogenetic cleavage, ova were incubated under same conditions for fertilization without sperm cells.

The criteria used for fertilization included pronuclear formation, the presence of sperm cells in the perivitelline space, two polar bodies in the cleaved embryos, the presence of nuclei in all blastomeres in early cleaved stage embryos or continued *in vivo* development following transfer of fertilized ova to recipient does. Embryos transfer were carried out as described previously⁸⁾. Ova were examined at varying intervals following the insemination for evidences of fertilization

and subsequent development. Microscopic examinations were carried out in the fresh state of ova using the phase-contrast microscope (Nikon).

Results

In preliminary experiment the time of sperm penetration into the ova was examined. Penetration of spermatozoa into the ova began in 6 hours after insemination when the spermatozoa were preincubated for 1 hour. On the other hand, when the spermatozoa were preincubated for 3 hours, sperm cells were observed within the perivitelline space of the ova at 1 hour following the insemination. Thus, in the following experiments the spermatozoa preincubated for 3 hours were used for insemination.

A total of 114 of ova superovulated was used in this work. In the ova were examined for fertilization at various time intervals following *in vitro* insemination (Table-1). Of 114 ova examined 94 (92.2%) fertilized *in vitro*. None of 27 control ova did not cleaved (Table-1). Pronuclear formations were observed when the ova were examined at 6 and 9 hours after the insemination, both male and female pronuclei were well developed. Of 94 ova fertilized 57 (60.2%) cleaved into 2-cell or more developed stage (Table-2). The ova examined between 20 and 24 hours the majority were found to be in the 2-cell stage (Table-3). When examinations were carried out between 30 and 34 hours, nearly 65% of the ova cleaved

Table 1 *In vitro* fertilization of rabbit tubal ova by epididymal sperm cells preincubated *in vitro*

Experiment No.	Exposed to sperm			Not exposed to sperm	
	No. of ova examined	No. of ova fertilized <i>in vitro</i>	No. of cleaved ova	No. of ova examined	No. of ova that cleaved
01	12	6	2	5	0
02	37	32	16	4	0
03	8	6	4	0	0
04	11	10	4	6	0
05	36	30	26	4	0
06	10	10	5	8	0
Total	114	94(92.2%)	57(60.0%)	27	0

Table 2 Development *in vitro* of rabbit ova fertilized by epididymal spermatozoa capacitated *in vitro*

Experiment No.	No. of fertilized ova cultured	Stages of development of ova					
		1-cell	2-cell	4-cell	8-cell	Morula	Blastocyst
01	6	4		2			
02	32	16	7	2	2	4	1
03	6	2	2	2			
04	10	6		2	2		
05	30	4	15	7	2	2	
06	10	5				1	4
Total	94	37	24	15	6	7	5

Table 3 Development stage of fertilized rabbit ova

Hours after culture	Stage of development of ova				
	2-cell	4-cell	8-cell	Morula	Blastocyst
20 ~ 24	45				
30 ~ 34	12	28	1		
48 ~ 54		4	15		
60 ~ 72			2	4	
72 ~ 80				3	5

(From Table 2)

were in the 4-cell stage. Forty to 45 hours were required to reach 8-cell ova. Morula stage was observed between 60 and 72 hours and further blastocyst stage were seen at 80 hours after the insemination.

In some ova fertilization was confirmed by subsequent *in vivo* development of 2-cell and 4-cell ova. Fourteen 2-cell and twenty-one 4-cell stage ova cleaved *in vitro* were surgically transferred into the oviducts of 5 recipients (Dutch belted does). Only 2 of the recipients became pregnant. They had 5 and 2 normal sized implants, respectively at 15 days after the transfer.

Discussion

The present results indicated successful accomplishment of *in vitro* fertilization of rabbit ova by epididymal spermatozoa in a simple defined medium and *in vitro* development of resulting embryos to the blastocyst stage. The high ionic strength treatment is known to be effective for *in vitro* capacitation of ejaculated sperm³⁾. Using this hy-

per tonic medium Brackett et al. (1978)⁷⁾ have reported that cauda epididymal sperm exhibit a marked advantage in fertilizing ability. Brackett and Oliphant (1975)³⁾ have revealed that a hfgh ionic strength medium (380 mOsm/kg) can remove and alternate sperm surface seminal plasma antigenic components. Removal of the sperm surface components is known as a part of capacitation process¹¹⁾. In the present experiment, however, it does not seem likely that capacitation induction of epididymal sperm cells is due to high osmolarity of the medium, because the medium used in this work is a isotonic medium (287 mOm/kg). Recently, viriyapanich and Bedford (1981)¹¹⁾ showed that rabbit ejaculated spermatozoa capacitated in a hypertonic medium (high ionic strength medium) failed to penetrate into the ova immediately in the oviducts. This result indicates clearly the speciality of sperm capacitation that is induced in the hypertonic medium. A recent study reported that there is no differences between the treatment of rabbit ejaculated sperm cells with the iso-

tonic and hypertonic medium as far as the time of sperm penetration into the ova *in vitro*¹⁰⁾. Under the present experimental conditions, sperm is considered to be induced by chemical components or physical conditions with the exception of osmolarity of the medium. Further study on sperm capacitation inducing factors in the medium is requested.

In the present experiment a high proportion of the ova fertilized *in vitro* developed into the 2-cell or further early embryonic stages. The test for viability of embryos cultured *in vitro* is their subsequent development into fetues after the transfer to suitable recipients. The present results clearly proved viability of ova fertilized *in vitro* by epididymal sperm by their subsequent development *in vivo* following the transfer. Similar results have been obtained by some workers^{3,8)}. However, in these works containing the present work the development of the ova fertilized *in vitro* into the fetues is very low rate. Further studies on this problem are needed.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the excellent technical assistance provided by Mr. O. Sasaki. This work was supported in part by research grant of the Japanese Ministry of Education (No. 536021).

References

- 1) Brackett, B. G.: *In vitro* fertilization and its assessment with embryo culture. In Beltsville symposia in agricultural research (3), Animal Reproduction., p.171, Alanheld Osmun & Co., 1978.
- 2) Toyoda, Y: Fertilization *in vitro* of ova. In Advances in Animal Reproduction. P. 153. Buneido Co., 1978 (Japanese).
- 3) Brackett, B. G. and Oliphant, G.: Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. Biology of Reproduction, 12, 260, 1975.
- 4) Overstreet, J. W.: Fertilizing capacity of

epididymal spermatozoa. J. Reproduction & Fertility., 21, 423, 1970.

- 5) M. C. Orgebin-Crist and Nader, J.: Delayed cleavage of rabbit ova after fertilization by young epididymal spermatozoa. Biology of Reproduction., 16, 358, 1977.
- 6) Ogawa S., Sato, K., Hamada, M. and Hashimoto, H.: *In vitro* culture of rabbit ova fertilized by epididymal sperms in chemically defined media. Nature. 238, 270, 1972.
- 7) Brackett, G. B., Hall, J. L. and Yon-Kak Oh.: *In vitro* fertilizing ability of testicular, epididymal, and ejaculated rabbit spermatozoa. Fertility & Sterility. 29, 571, 1978.
- 8) Sato, K.: *In vitro* fertilization of rabbit follicular ova. Japanese J. Fertility & Sterility. 26, 242. 1981.
- 9) Ericsson, R. J., Buthala, D. A. and Norland, J. F.: Fertilization of rabbit ova *in vitro* by sperm with adsorbed Sendai virus. Science, 173, 54, 1971.
- 10) Hosoi, K., Niwa, S., Hatanaka, S. and Iritani, A.: Fertilization *in vitro* of rabbit eggs by epididymal spermatozoa capacitated in achemically defined medium. Biology of Reproduction, 24, 637, 1981.
- 11) Viriyapanich, P. and Bedford, J. M.: The fertilization performance *in vivo* of rabbit spermatozoa capacitated *in vitro*. J. Experimental Zology, 216, 169, 1981.

精巢上体精子による家兎卵子の体外受精

佐藤嘉兵, 木村まどか, 佐久間勇次*

(日本大学農獣医学部家畜繁殖学教室
*家畜生理学教室)

20% (v/v) fetal bovine serum を含む TC-199 medium 中で3時間の培養を行い, capacitation を行った家兎精巢上体尾部精子を用いて, 卵子の体外受精を行った。その結果, 114個の卵子中94個(92.2%)が受精し, 受精した94個中57個(60.6%)が2-cell stageあるいはそれ以上の初期胚のstageに分割した。14個2-cell stage 卵子と21個の4-cell stage 卵子を偽性交尾を行った5頭のrecipients (Dutch belted 種雌)の卵管内に移植を行った。その結果, 2頭のrecipientsが妊娠した。移植後15日目に開腹して調べたところ各々5及び2個の正常胎仔を認めた。

(受付: 昭和56年11月25日)

In Vitro 受精システムを用いて検討した ヒトの受精における精子の preincubation の影響

—ヒトの受精における最適条件の検討 (1)

Effect of Preincubation of Human Spermatozoa
on In Vitro Fertilization

東北大学医学部産科学婦人科学教室

星 和 彦 齊 藤 晃 鈴木 雅 洲
Kazuhiko HOSHI, Akira SAITO, Masakuni SUZUKI

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

ハワイ大学医学部解剖学・生殖生物学教室

柳 町 隆 造
Ryuzo YANAGIMACHI

Department of Anatomy and Reproductive Biology,
University of Hawaii School of Medicine.

福井県立病院産婦人科

林 恵 子
Keiko HAYASHI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Fukui-kenritsu Hospital

ヒト精子と透明帯除去ハムスター卵との *in vitro* 受精システムおよびヒト精子と塩溶液内保存ヒト卵透明帯との *in vitro* 受精システムを用いて、ヒト精子を培養液(mBWW 液, 3.5% HSA 含) 中で preincubation したときの受精に与える影響について検討し、次のような結果を得た。

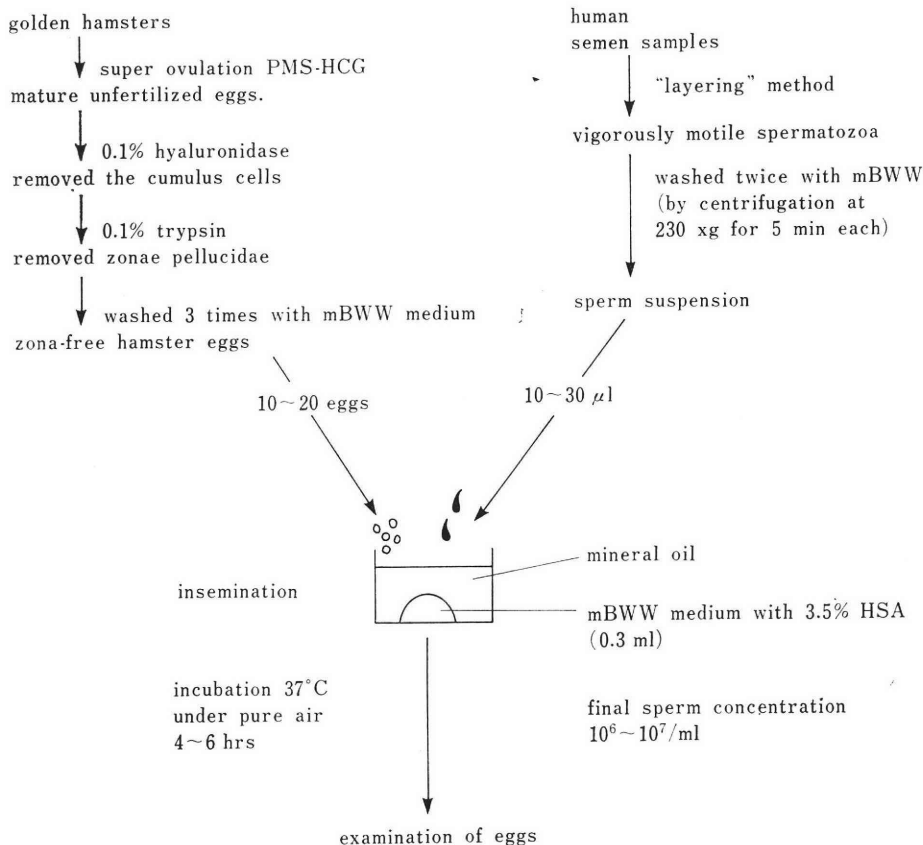
- 1) ヒト精子は preincubation の時間が長いほど、透明帯除去ハムスター卵への受精が容易であつた。
- 2) ヒト精子は preincubation の時間が長くなると、ヒト卵透明帯には侵入しにくくなつた。

ヒト精子は mBWW 液内で preincubation することにより、数時間で先体反応をおこし、容易に透明帯除去ハムスター卵に侵入するようになるが、先体反応をおこして先体内の acrosin がすでに放出したヒト精子は透明帯を通過しにくくなるものと考えられる。
(*Jap. J. Fert. Ster.* 27(3), 306-312, 1982)

緒 言

受精 (fertilization) には、精子の受精能獲得 (capaci-

tation) と先体反応 (acrosome reaction) が必要であるが、それらのおこる機序についてはいまだ十分解明されていない。



A hamster egg was recorded as "penetrated" when at least 1 swollen sperm head or sperm pronucleus with accompanying sperm tail was discernible within the egg cytoplasm.

図 1 Outline of technique used

in vitro での受精を成功させるためには、受精能力を有する精子・卵子の準備が必要なのはもちろんであるが、授精 (insemination) の時期 (timing) もきわめて重要である。最適な授精を考えるためには、精子の capacitation・acrosome reaction のおこる時期と受精開始との関連を検討せねばならないが、ヒトについてこの点を調査した報告は少ない。

今回われわれは、in vitro 受精システムを用い、ヒト精子を授精前に培養液中で前培養 (preincubation) したときの受精および透明帯通過性に与える影響について検討したのでその成績について報告する。

なお、受精については、ヒト精子の受精能を検討する上でヒト卵の代りに十分使用可能といわれる透明帯除去ハムスター卵を用い、透明通過性については塩溶液中で保存された成熟卵を用いて実験を行なった。

研究方法・材料

1. 実験方法の概略

透明帯除去ハムスター卵と、高濃度塩溶液中にて保存されたヒト卵透明帯を用いて、ヒト精子との in vitro 受精実験を行ない、授精前に精子を preincubation したときの影響を検討した。透明帯除去ハムスター卵とヒト精子との in vitro 受精実験法の概略は図 1 に示した。

2. 培養液

基本となる培養液としては、modified Krebs Ringer 液を用いた。その組成は表 1 に示した。以後文中では、この培養液を modified Biggers, Whitten and Whittingham 液¹⁾ (mBWW 液) と呼ぶ。

3. 透明帯除去ハムスター卵の作製

体重 100g 前後の成熟メスゴールデンハムスターを用いた。発情周期の第 1 日目 (postestrous discharge の認

表 1 Composition of standard medium used

	mBWW	
	g/l	mM
NaCl	4.910	84.00
KCl	0.356	4.78
CaCl ₂	0.189	1.71
KH ₂ PO ₄	0.162	1.19
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.294	1.19
NaHCO ₃	3.000	35.71
Na-pyruvate	0.028	0.25
Na-lactate	2.416	2.158 ^a
Glucose	1.000	5.56
Human serum albumin ^b	35.000
Antibiotics stock soln. ^c	1.0ml
mOsmol	308	

^a DL-lactic acid, Na-salt (Sigma Chem., St. Louis, MO); 60% syrup, 3.68 ml.

^b Purified human serum albumin, Norite-treated, (Sigma Chem., St. Louis, MO)

^c 100,000 iu/ml K-penicillin G and 50 mg/ml streptomycin sulfate in distilled water, stored frozen until use.

められた日)の午前中に PMS (pregnant mare's serum) 30iu, 第3日目に HCG (human chorionic gonadotropin) 30iu を腹腔中に注入して過排卵を誘導し, HCG 注射17時間後に開腹して卵管中より未受精卵を採取した。

とり出した卵を0.1% hyaluronidase を含む mBWW 液で15分間処理し, 卵丘細胞を除去した. mBWW 液で2回洗浄後, 0.1% trypsin を含む mBWW 液にて3分間処理を行ない, 透明帯を完全に除去した. その後 mBWW 液で3回洗浄して実験に供した。

4. ヒト卵透明帯の作製・保存

ヒト卵透明帯の作製・保存法の概略を図2に示した。

手術で得られたヒト卵巣を Dulbecco's phosphate buffered saline (PBS) 中で細切し, 実体顕微鏡下に未成熟ヒト卵を採取する. 3~5回 PBS で洗浄後, ヒト卵成熟培養用培養液(表2)に入れ, 37°C 5% CO₂ 大気中で48時間培養して成熟させた. 48時間後に卵をとり出し高濃度塩溶液中(表3)に入れ, 4°C で実験に使用するまで保存した. 実験に際しては mBWW 液で5回洗浄して用いた。

塩溶液中に入れられることにより, 卵実質はもちろん死滅するが, 透明帯は精子付着・侵入に対する性質を変えることなく保存されることが報告されている。

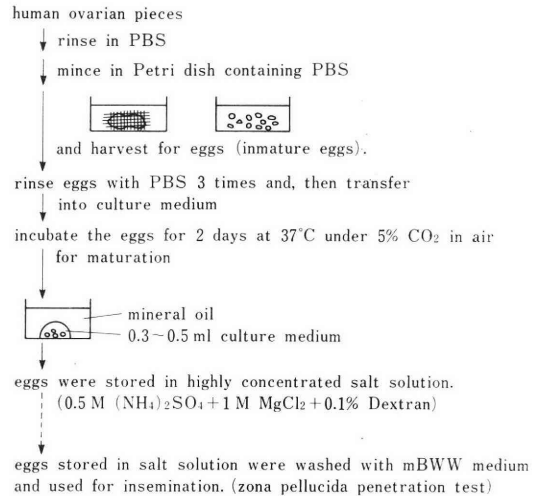


図2 Preparation of zonae pellucidae of human eggs for insemination

表2 Medium used for human oocyte in vitro

Material	Amount
TC Medium 199 ^a	80 ml
Fetal calf serum ^b	20 ml
Lactate/Pyruvate stock soln. ^c	5 ml
Antibiotics stock soln. ^d	0.1 ml
NaHCO ₃	160 ml
Distilled water	20 ml

This mixtun has PH 7.3 under 5% CO₂ in air and an osmolality of about 290 mOsmol.

^a Hank's solution; base; Difco Lab., Detroit, MI.

^b Heat-inactivated; Grand Island Biol. Co., Grand Island, NY.

^c 200 mM Na-lactate and 20 mM Na-pyruvate in distilled water, stored frozen until use.

^d 100,000 IU K-Penicillin G and 50 mg/ml streptomycin sulfate in distilled water, stored frozen until use.

表3 Egg storage solution

0.5 M (NH ₄) ₂ SO ₄ + 1 M MgCl ₂ + 0.1 % dextran

5. 精液からの精子の分離——精液静置法——概略を図3に示した。

精液は健康男子より用手法にて得られた. 20分間室温で十分液化された精液を0.5ml ずつ, mBWW 液が2ml 入れられた小試験管底に静かに分注する。

精液・培養液境界面が大きくなるように試験管を30°傾け, 試験管口をパラフィルムでシールして, 37°C に

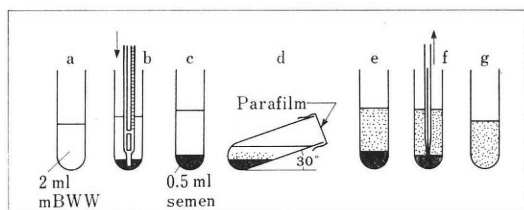


図 3 A “layering” method to separate a population of vigorously motile spermatozoa from semen sample

1 時間静置する。

この間に、運動良好精子は精液中から培養液中に浮遊して来る。管底に残った精漿を捨て、残った mBWW 液を集めて $230 \times g$, 5 分間遠心する。上清を捨て、新しい mBWW 液を 10ml 加えて攪拌し、再度遠心して上清を捨て sperm pellet を作製する。それに少量の mBWW 液を加えて高濃度精子浮遊液にする。

6. in vitro 受精実験および受精の判定

3.5% ヒト血清アルブミン (HSA) を含んだ mBWW 液 0.3ml を $3.5\text{cm} \times 1.0\text{cm}$ の Petri Dish 内に入れ、その上をミネラルオイルでおおう。

培養液内に 0.03ml の高濃度精子浮遊液を入れ、 37°C 大気中で一定時間 preincubation する。一定時間後、透明帯除去ハムスター卵あるいはヒト卵 (透明帯) を加えて受精させ、さらに 37°C 大気中で培養し、一定時間後に卵をとり出して受精の有無を観察した。

最終精子濃度を $4 \sim 9 \times 10^6/\text{ml}$ になるよう調節した。

受精の判定は、卵を位相差顕微鏡下に観察して行なつた。透明帯除去ハムスター卵の場合は、卵内に一個以上の膨化精子頭部もしくは雄性前核が認められた場合に“受精”とした。ヒト卵透明帯通過の判定は、囲卵腔に 1 匹以上の精子が認められたとき“通過あり”と判定した。

写真 1 は、卵実質内に 1 個の膨化精子頭部を認め、受精と判定された透明帯除去ハムスター卵を示している。写真 2 は、囲卵腔内に透明帯を通過して来た多数の精子を認めたヒト卵である。

成 績

表 4 は、3.5% の HSA を含む mBWW 液内で一定時間 preincubation したヒト精子の透明帯除去ハムスター卵への受精の状態を、授精後の時間経過とともに調べたものである。

preincubation を行なわない場合には、授精後 1 時間で 8% の受精率を示し、以後漸増して 4 時間後には 93% であつた。1 時間の preincubation では授精後 3 時間で 79%、3 時間の preincubation では授精後 2 時間で 89%

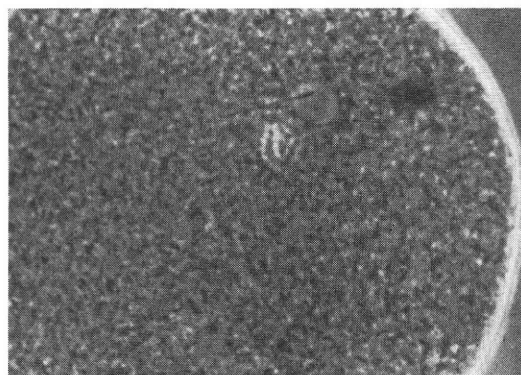


写真 1 (10×40)

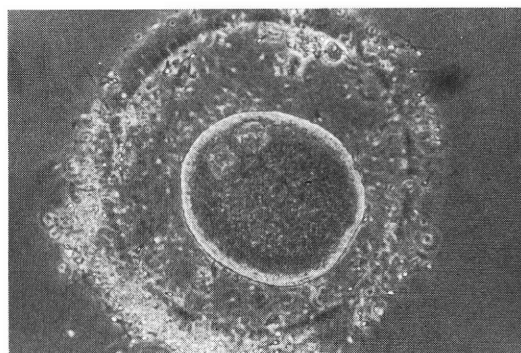


写真 2 (10×20)

を示している。4 時間の preincubation では授精後 30 分ですでに 21% の受精率を示し、2 時間後には 100% であつた。

すなわち、preincubation の時間が長くなればなるほど授精後短時間で受精がおこり、時間経過にともなう受精率の上昇もすみやかである。

受精精子の数は、受精率の増加とともに増えている。

図 4 は、受精率の変化をグラフにして示したものであるが、preincubation の時間が長いほど、上昇カーブが急峻である。

表 5 は、同様に preincubation されたヒト精子のヒト卵透明帯への通過性、付着状態について示したものである。授精から観察までの培養時間は全て 6 時間とした。

透明帯除去ハムスター卵の場合とは反対で、preincubation の時間が長いほど精子の透明帯通過はおこりにくい結果が得られた。今回の実験では、preincubation が 3 時間以上になると透明帯通過は認められなかつた。

透明帯への精子の付着も preincubation の時間が長いほど少なく、透明帯への侵入程度も浅い。

表 4 Penetration of human sperm preincubated in mBWW medium into zona-free hamster eggs

Time of preincubation	Time of insemination	No. of experiments	Total no. of eggs inseminated	No. (%) of eggs penetrated	No. of swollen sperm heads	
					No. of eggs inseminated	
0 hr	30 min	2	25	0 (0)		
	1 hr	3	48	4 (8)		0.10
	2	3	49	22 (45)		0.61
	3	3	55	39 (71)		1.38
	4	3	44	41 (93)		2.18
1 hr	30 min	2	21	0 (0)		
	1	3	61	15 (25)		0.26
	2	3	73	42 (58)		0.90
	3	3	63	50 (79)		1.33
	4	3	67	56 (84)		1.90
2 hrs	30 min	2	22	0 (0)		
	1 hr	3	60	24 (40)		0.50
	2	3	59	44 (75)		1.75
	3	3	67	59 (88)		2.97
	4	3	50	49 (98)		2.90
3 hrs	15 min	2	17	0 (0)		
	30	2	17	0 (0)		
	1 hr	3	54	35 (65)		1.28
	2	3	36	32 (89)		2.78
	3	3	30	30 (100)		5.80
4 hrs	15 min	3	46	0 (0)		
	30	3	52	11 (21)		0.29
	45	3	44	31 (70)		0.61
	1 hr	3	65	61 (94)		2.57
	2	3	46	46 (100)		5.17

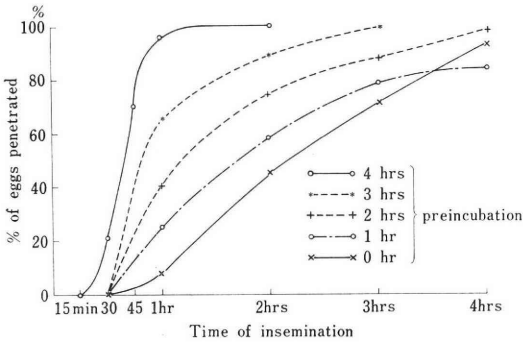


図 4 Penetration of human sperm preincubated in mBWW medium into zona-free hamster eggs

考 案

ヒトの受精について研究する場合、ヒト精子と十分に成熟した新鮮なヒト卵子を用いて検討するのが最も望ましいことであるが、多数のヒト成熟卵を得ることはきわ

めて困難である。そこで、このような場合はヒト卵の代用となる卵を得ることが必要となる。

1976年 Yanagimachi ら²⁾は、acrosome reaction を完了したヒト精子が透明帯除去ハムスター卵に受精可能なことを報告し、ヒト精子の受精能を検討する際にヒト卵の代りに透明帯除去ハムスター卵が十分使用できると述べた。Barros ら^{3,4)}、Rogers ら⁵⁾、Overstreet ら⁶⁾、そして、そのほか多くの研究者⁷⁻⁹⁾が実際にこの“ヒト精子—透明帯除去ハムスター卵による in vitro 受精システム”を使用して不妊症診断を行ないその成果について報告している。その詳細についてはわれわれの書いた総説¹⁾を参照されたい。

しかし、精子が卵と受精するときには、卵実質の表面をとりまわっている透明帯が重要な役割を果しており、透明帯を通過できない精子は実際に受精することができない。透明帯除去ハムスター卵を使用した実験系では、ヒト精子と透明帯との関わりを検討することは不可能である。

表 5 Effect of preincubation of spermatozoa in mBWW medium on the penetration of human sperm into zonae pellucidae of human eggs stored in salt solution.

Preincubation hrs.	No. of experiments	Total no. of eggs inseminated	Sperm attachment to zona ^a	No. (%) of eggs penetrated ^b	Location of sperm head
0	3	6	Very many	5 (83)	Perivitellin space
1	3	6	Very many	3 (50)	Perivitellin space
2	3	6	Many	2 (33)	Perivitellin space
3	3	6	Few	0 (0)	Zona Pellucida
4	3	6	Very few	0 (0)	Outside of zona pellucida

^a After pipetting. ^b Examined 6 hrs after insemination.

1979年 Yanagimachi ら¹⁰⁾は手術で得られたヒト卵巣から未熟ヒト卵を採取し、これを48時間培養することにより成熟卵が得られること、さらにその卵を高濃度塩溶液に入れておくことより、その透明帯は精子付着・精子侵入などに対する性質を変えることなく保存できることを報告した。この保存ヒト卵を使うことより、精子の透明帯通過に関する実験が可能である。

2つの *in vitro* 受精システム、すなわち“ヒト精子—透明帯除去ハムスター卵による *in vitro* 受精システム”と“ヒト精子—塩溶液内保存ヒト卵透明帯による *in vitro* 受精システム”を使用することにより、ある程度ヒト精子・ヒト卵の受精現象を検討することができると思われる。

今回は、この2つのシステムを用いて、授精 (insemination) の timing を、精子の preincubation という面から検討してみた。その結果、preincubation された精子は透明帯除去ハムスター卵には侵入・受精しやすくなるものの、透明帯通過は阻止されることが認められた。

精子は、先体 (acrosome) にあるトリプシン様蛋白質分解酵素・アクロシン (acrosin) で透明帯を溶かしながら、透明帯を通過するといわれており、受精がおこるためには acrosome reaction が必要不可欠である。

今回の実験成績は、ヒト精子は mBWW 液 (3.5% HSA 含) 中で数時間培養することにより acrosome reaction が惹起され、そのために容易に透明帯除去ハムスター卵に受精したが、acrosome reaction をおこして時間の経過した精子は、先体の acrosin がすでに放出してしまつたために透明帯通過が阻止されたことを示していると考えられる。

われわれが報告したように¹¹⁾、ヒト精子の capacitation や acrosome reaction に要する時間には個人差がかなりあり、さらに培養液のわずかな組成の違いによつても大きく異なるため、一概に結論を下すことはできな

いが、今回示された実験成績はヒトの体外受精を行なう際の授精の timing を検討する上できわめて重要であると考えられる。

文 献

- 1) Biggers, J. D., Whitten, W. K. and Whittingham, D. G.: The culture of mouse embryos *in vitro*. In “Methods in Mammalian Embryology”. Edited by Daniel J.C., San Francisco, Freeman, : p. 86, 1971.
- 2) Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. and Rogers, B. J.: The use of zona-free animal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol. Reprod.* 15 : 471, 1976.
- 3) Barros, C., Gonzales, J., Herrera, E. and Bustos-Oregon, E.: Spermatozoa evaluated by actual penetration of foreign eggs. *Conception* 17 : 87, 1978.
- 4) Barros, C., Gonzales, J., Herrera, E. and Bustos-Oregon, E.: Human sperm penetration into zona-free hamster oocytes as a test to evaluate the sperm fertilizing ability. *Andrology*. 11 : 197, 1979.
- 5) Rogers, B. J., Camper, H. V., Ueno, M., Lambert, H., Bronson, R. and Hale, R.: Analysis of human spermatozoa fertilizing ability using zona-free ova. *Fertil. Steril.* 32 : 664, 1979.
- 6) Ovestreet, J. W., Yanagimachi, R., Katz, D. F., Hayashi, K. and Hanson, F. W.: Penetration of human spermatozoa into zona pellucida and the zona-free hamster egg: A study of fertile donors and infertile patients. *Fertil Steril* 33 : 534, 1980.
- 7) Hall, F. J.: Relationship between semen quality and human sperm penetration of zona-free hamster ova. *Fertil Steril* 35 : 457, 1981.
- 8) Karp, L. E., Williamson R. A., Moor, D. E., Shy, K. K., Plymate, S. R. and Smith,

- W. D. : Sperm penetration assay : Useful test in evaluation of male fertility. *Obstet Gynecol* 57 : 620, 1981.
- 9) Zausner Guelman, B., Blasco, L. and Wolf, D. P. : Zona free hamster eggs and human sperm penetration capacity : a comparative study of proven fertile donors and infertile patient. *Fertil Steril* 36 : 771, 1981.
- 10) Yanagimachi, R., Lopata, A., Odom, C. B., Mahi, C. A. and Nicolson, G. L. : Penetration of biologic characteristics of zona pellucida in highly concentrated salt solution : The use of salt-stored eggs for assessing the bsrtilizing capacity of spermatozoa. *Fertil Steril* 35 : 562, 1979.
- 11) 齊藤 晃, 星 和彦, 鈴木雅洲, 柳町隆造, 林 恵子 : ハムスター卵子を使用したヒト精子の受精力検討 : 方法と利用の現況, 投稿中,

Effect of preincubation of human spermatozoa on in vitro fertilization

**Kazuhiko Hoshi, Akira Saito,
Masakuni Suzuki**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

Ryuzo Yanagimachi

Department of Anatomy and Reproductive
Biology, University of Hawaii
School of Medicine

Keiko Hayashi

Department of Obstetrics and Gynecology,
Fukui-kenritsu Hospital

Effect of preincubation of human spermatozoa in

modified Biggers, Whitten and Whittingham's medium (Biggers et al. 1971) on in vitro fertilization was investigated.

In vitro fertilization assay employing the zona-free hamster eggs (Yanagimachi et al. 1976) and the salt-stored human eggs (Yanagimachi et al. 1979) were used to analyze human spermatozoal fertilizing ability.

Human spermatozoa were preincubated for 0 to 4 hours prior to the addition of the zona-free superovulated hamster eggs or the salt-stored human eggs.

The zona-free hamster eggs were examined microscopically 15 minutes to 4 hours later for evidence of swelling or decondensing sperm heads in the cytoplasm.

The salt-stored human eggs were examined 6 hours later for evidence of sperm penetration into the perivitelline space.

The following conclusions were obtained.

1) Human spermatozoa preincubated for few hours penetrated into the zona-free hamster eggs more rapidly than spermatozoa not preincubated.

2) But, human spermatozoa preincubated for few hours failed to attach to or penetrate through the zona pellucidae of salt-stored human eggs.

(受付 : 昭和56年12月23日)

排卵障害婦人における尿中 catecholamine の動態

Urinary Levels of Catecholamine in Anovulatory Women

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室
齋藤真一 島田美津江
Shinichi SAITO Mitsue SHIMADA

The First Department of Obstetrics and Gynecology,
Toho University School of Medicine, Tokyo

産業医学総合研究所
守 和 子
Kazuko MORI

Department of Industrial Physiology, National
Institute of Industrial Health, Kanagawa

正常月経周期婦人10例および排卵障害婦人24例の尿中 noradrenaline, adrenaline, dopamine と尿中 estradiol, 血中 LH, FSH との関連を検討した。

正常月経周期婦人の遊離および総 noradrenaline と LH との間に高い正の相関が認められた。

無排卵周期症, 第1度無月経, 第2度無月経の症例では, noradrenaline, adrenaline, dopamine は低下傾向にあり, estradiol も著しく低く, LH, FSH の変動が大きく, noradrenaline との間に一定の関係は認められない。

下垂体障害に起因する排卵障害の症例においては, 遊離および総 noradrenaline はいずれも低レベルの状況下にあり, かつ dopamine も低下し, さらに LH, FSH の基礎値は低く, estradiol も低値である。

視床下部不全型の排卵障害の症例では, noradrenaline, adrenaline, dopamine の分泌は比較的良く保持されてはいるものの, LH, FSH, estradiol の分泌は不良である。

これらの結果から noradrenergic mechanism は排卵性 LH release を activate する可能性を示唆している。
(*Jap. J. Fert. Ster.* 27(3), 313-317, 1982)

緒 言

Noradrenaline (NA) を家兎の第三脳室に直接注入すると, 下垂体の LH release が activate され¹⁾, ovariectomized estrogen-primed rat への progesterone の投与により, 血中 LH の上昇に先行して NA の surge が惹起される²⁾。正常月経周期婦人においては血中の estradiol (E₂) surge の出現後で, LH peak 発来直前に NA は漸増する^{3,4)}。また脳内における catecholamine (CA) の局在⁵⁾が明らかにされ, rat の median eminence において, LH terminal と dopaminergic terminal

とは overlappe して存在し, dopamine (DA) は視床下部 LH-RH の release と下垂体前葉ホルモンの release に対して強い影響を与えている。このように下垂体 LH の release に対する神経内分泌的調節機構の中で, とりわけ NA の効果は LH release の trigger になる重要な要因ではないかと指摘され, NA は中枢を介して排卵現象に重大な影響をおよぼしていることが, 次第に解明されつつある。

排卵障害婦人の, 特に排卵前の尿中 CA を観察し, 尿中 E₂ および血中 gonadotropin との関連性を検討したので報告する。

表 1 排卵障害婦人における尿中 CA, E₂ と血中 LH, FSH

例数	E ₂ μg/day	遊離 C A			総 C A			LH mIU/ml	FSH mIU/ml	
		NA μg/day	A μg/day	DA mg/day	NA μg/day	A μg/day	DA mg/day			
正常月経周期婦人	10	5.6±1.6 [☆]	21.8±11.0	2.9±1.1	0.16±0.05	88.2±32.9	7.4±3.6	0.73±0.19	11.0±5.9	8.1±1.7 ^{☆☆}
無排卵周期症	3	2.5±0.6 ^{☆☆}	14.8±1.8	2.4±0.9	0.12±0.04	69.0±32.3	3.9±3.0	0.49±0.15	20.4±14.3	11.0±1.3
第1度無月経	7	2.1±0.8 ^{☆☆}	21.4±6.3	3.7±1.2	0.19±0.08	82.1±26.6	13.0±7.2	0.71±0.24	31.7±16.2	17.0±5.3 ^{☆☆}
第2度無月経	14	1.3±0.3 ^{☆☆}	16.9±10.3	2.6±1.1	0.12±0.06	56.7±25.1	5.3±2.9	0.52±0.22	22.3±21.7	39.1±39.7 ^{☆☆}

有意差 ☆ P<0.01 ☆☆ P<0.05 mean±SD

対象および方法

1. 対象

対象は正常月経周期婦人10例, 続発性無月経の排卵障害婦人24例である。

2. ホルモン測定

月経または消退出血開始後14日目に合成 LH-RH 100 μg を静注し, その投与前および投与後15, 30, 60, 120分に血清 LH, FSH を2抗体法 radioimmunoassay により測定した。尿中 E₂ は血中 LH, FSH の測定の前日から当日にかけて24時間蓄尿し, その一部を Brown-神戸川法を用いて測定した。

3. Catecholamine 測定

尿中 NA, adrenaline (A), DA の分析は Euler ら⁶⁾の方法にしたがい, 月経または消退出血開始後13日目から14日目にかけての24時間尿を, 塩酸性下に蓄尿し, その一部をアルミナにより抽出, 精製し, 0.5M 酢酸で溶出した。この溶出液を蛍光反応検出器を備えた高速液体クロマトグラフ⁷⁾で CA を自動的に分析した。蛍光反応は trihydroxyindole (THI) 法によった。

成 績

1. 排卵障害婦人における尿中 estradiol

正常月経周期婦人の尿中 E₂ 値は表1のように平均 5.6±1.6(SD) μg/day である。これに対して無排卵周期症, 第1度無月経および第2度無月経の症例の E₂ 値は正常月経周期婦人に比べていずれも有意 (P<0.01) に低く, 第2度無月経の E₂ 値が最も低かつた。

2. 排卵障害婦人における尿中 catecholamine

1) 遊離型 catecholamine

正常月経周期婦人の尿中遊離 CA についてみると, 表1の如く NA は平均21.8±11.0 (SD) μg/day, A は 2.9±1.1 μg/day, DA は0.16±0.05mg/day である。無排卵周期症, 第1度無月経, 第2度無月経の症例の遊離

NA, A, DA は正常月経周期婦人に比して低値傾向を示すが, 両者の間に有意の変化は認められない。

2) 総 catecholamine (遊離型+拍合型)

正常月経周期婦人の尿中総 CA は表1の如く, NA は平均88.2±32.9 (SD) μg/day, A は7.4±3.6 μg/day, DA は0.73±0.19mg/day である。無排卵周期症, 第1度無月経, 第2度無月経の症例の総 NA, A, DA は遊離 CA と同様に正常月経周期婦人に比べて低下傾向を示すものの, 両者間に有意差を認めない。

3. 血中 LH, FSH

無排卵周期症, 第1度無月経, 第2度無月経の症例の血中 LH および FSH は表1のように正常月経周期婦人より高値の傾向を示し, 第1度無月経の FSH と正常月経周期婦人との間に有意 (P<0.05) の変化が認められる。

4. 排卵障害の障害部位別における尿中 catecholamine, estradiol と血中 LH, FSH

排卵障害婦人に合成 LH-RH 100 μg を静注し, 投与後15, 30, 60, 120分の血中 LH, FSH を測定し, LH, FSH の反応パターンより排卵障害の部位を視床下部不全型, 下垂体不全型, 卵巣不全型および多嚢胞性卵巣症候群型 (PCO) の4型に分類し, 各障害別の尿中 CA, E₂ と血中 LH, FSH の変化を示したのが表2である。

1) 尿中 estradiol

視床下部不全型, 下垂体不全型, 卵巣不全型および PCO 型の尿中 E₂ 値はいずれも正常月経周期婦人に比べて有意 (P<0.01) の低値を示し, その中でも下垂体不全型と卵巣不全型の低下が著しい。

2) 遊離型 catecholamine

下垂体不全型の尿中 CA の変化は図1, 表2のように, NA は平均9.8±5.2(SD) μg/day と正常月経周期婦人の約45%で, 両者間に有意 (P<0.05) の差が認められる。視床下部不全型, 卵巣不全型, PCO 型の NA と視床下部不全型, 下垂体不全型, 卵巣不全型, PCO

表 2 排卵障害部位別における尿中 CA, E₂ と血中 LH, FSH

例数	E ₂ μg/day	遊離 C A			総 C A			LH mIU/ml	FSH mIU/ml	
		NA μg/day	A μg/day	DA mg/day	NA μg/day	A μg/day	DA mg/day			
正常月経周期婦人	10	5.6±1.6 [☆]	21.8±11.0 ^{☆☆}	2.9±1.1 [☆]	0.16±0.05 ^{☆☆}	88.2±32.9 ^{☆☆}	7.4±3.6	0.73±0.19	11.0±5.9 ^{☆☆}	8.1±1.7 ^{☆☆}
視床下部不全型	6	2.1±1.0 ^{☆☆}	20.2±7.9	3.0±1.4	0.16±0.08	79.1±18.7	6.7±4.3	0.62±0.16	12.8±5.1	11.0±2.8
下垂体不全型	5	1.3±0.3 ^{☆☆}	9.8±5.2 ^{☆☆}	1.8±0.4	0.09±0.02 ^{☆☆}	38.7±4.0 ^{☆☆}	4.4±1.0	0.53±0.30	2.3±1.0 ^{☆☆}	2.6±1.9 ^{☆☆}
卵巣不全型	7	1.3±0.4 ^{☆☆}	19.2±10.2	2.8±1.2	0.14±0.05	59.9±25.8	4.9±2.8	0.49±0.20	39.6±17.6 ^{☆☆}	73.5±25.2 ^{☆☆}
PCO型	6	2.1±0.6 ^{☆☆}	21.1±7.4	3.6±1.2	0.17±0.09	81.4±32.6	13.4±7.8	0.66±0.27	38.6±10.6 ^{☆☆}	17.7±5.2

有意差 ☆ P<0.01 ☆☆ P<0.05 mean±SD

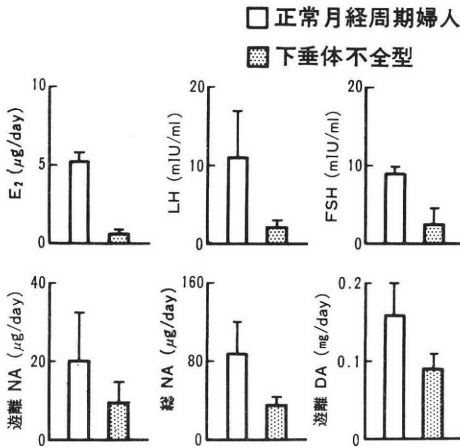


図 1 下垂体不全型における尿中 CA, E₂ と血中 LH, FSH

型の A は多少の変化はするものの、正常月経周期婦人との間に有意差は認められない。DA に関しては下垂体不全型のみ正常月経周期婦人に比べて有意 (P<0.01) の低値を示した。

3) 総 catecholamine (遊離型+拍合型)

視床下部不全型, 下垂体不全型, 卵巣不全型, PCO 型の NA はいずれも正常月経周期婦人より低下したが, 下垂体不全型にのみ有意 (P<0.01) の低下が認められた。PCO 型の A は増加傾向を, 視床下部不全型, 下垂体不全型, 卵巣不全型, PCO 型の DA は低下傾向を示すものの, いずれも有意の変動はしない。

4) 血中 LH, FSH

下垂体不全型の血中 LH の低下率は正常月経周期婦人の約80%で, 両者間に有意差 (P<0.01) が認められる。卵巣不全型の FSH は正常月経周期婦人に比べて有意 (P<0.01) に高く, 下垂体不全型の FSH は有意 (P<0.01) に低い。

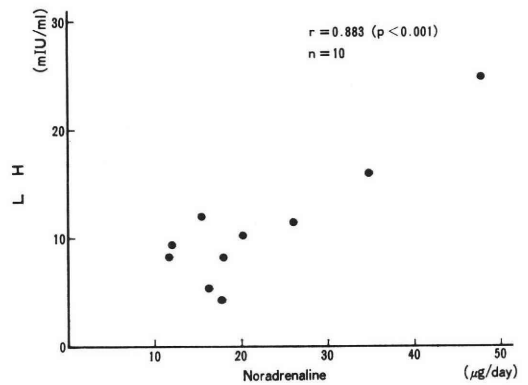


図 2 尿中遊離 NA と血中 LH の関係

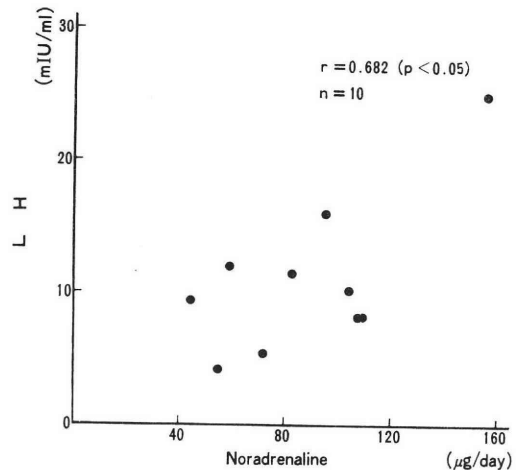


図 3 尿中総 NA と血中 LH の関係

5. 尿中 catecholamine と血中 LH との関係

正常月経周期婦人における尿中 NA と血中 LH の相互関係は図 2, 図 3 の如く, 遊離 NA と LH との相関係数は 0.883 で両者間に有意 (P<0.001) の正の相関

が、総 NA と LH との相関係数は0.682と両者間に有意 ($P < 0.05$) の正の相関が、いずれも認められる。

考 案

LH は LH-RH の作用により下垂体から release され、この LH-RH の視床下部からの release に対する調節因子の一つとして、脳内 CA の役割が重要視されつつある。ヒトにおいて血中 LH surge の出現に先行して NA が急増するという見解が散見され、Zuspan³⁾ はヒト月経周期で LH peak に一致してまたはその前に血中 NA の surge を、Rosner ら⁴⁾ は血中 NA の surge が E₂ peak と LH peak の両者間に出現することを確認し、この血中 NA の surge が LH surge の trigger になる可能性を示唆している。

排卵障害婦人におけるホルモン動態を、生殖現象に極めて重要なポイントを握っていると思われる神経内分泌の方面より検討するため、まず月経開始後13~14日目の正常月経周期婦人10例および消退出血開始後13~14日目の無排卵周期症(3例)、第1度無月経(7例)および第2度無月経(14例)の排卵障害婦人24例における尿中 CA の変化をみてみると、CA と血中 gonadotropin との関係で最も特徴的なことは遊離および総 NA と LH の両者に、前者の相関係数は0.883 ($P < 0.001$)、後者の相関係数は0.682 ($P < 0.05$) と正の相関が高く認められたことである。しかし尿中 E₂ は 5.6 ± 1.6 (mean \pm SD) $\mu\text{g/day}$ と正常範囲内で、変動が少なく、E₂ に対応するような NA の変化は認められない。反面排卵障害婦人の尿中 NA, A, DA はいずれも低いレベルを維持する傾向にあり、その中でも第2度無月経における NA の低下が著しく、尿中 E₂ も低下しているが、これとは逆に血中 LH, FSH の基礎値は高値の傾向にある。この LH, FSH の高値は第2度無月経の症例を排卵障害部位別にみた場合に、LH, FSH の基礎値が高い卵巣不全型や PCO 型の症例が一部含まれているためと思われる。このように排卵障害婦人においては尿中 NA は低いレベルを持続し、この NA の低下に対応して LH が低下せず、逆に高値の点が正常月経周期婦人と大きく異なり、この検査の周期にはいずれの排卵障害の症状においても排卵は認められなかった。

次に排卵障害の症例に LH-RH 投与試験を行い、排卵障害の原因を視床下部不全型、下垂体不全型、卵巣不全型および PCO 型の4型に分類し、尿中 CA の変化を障害部位別にみると、視床下部不全型は尿中 E₂ は低いものの、NA, A, DA はほぼ正常範囲のレベルを保持し、血中 LH, FSH の基礎値もさほど不良ではない。下垂体不全型の E₂ は著しく低下し、CA の変動も著明

で、とりわけ遊離および総 NA は極めて低レベルの状況下であり、遊離 DA も低下している。さらに血中 LH, FSH の基礎値は極端に低く、LH surge の出現はなく、正常月経周期婦人において認められるような E₂ 上昇→NA peak→LH surge のパターンは認められない。卵巣不全型においては血中 LH, FSH の基礎値は高値ながらも、尿中 CA は正常月経周期婦人と比べて殆んど変動はなく、尿中 E₂ の著明な低下が著しい変化である。PCO 型においては遊離および総 NA が増加傾向を呈しているが、NA と DA には著しい変化はない。これらの結果は、estrogen は視床下部に feedback 作用し、LH-RH を介して gonadotropin 放出に強く影響を与えてはいるが⁵⁾、NA と LH とには緊密な相互作用が存在し、排卵性 LH surge にはその surge に先行して NA の peak の存在が必要であることの一端を示していると考えられる。Estrogen-primed rabbit の第Ⅲ脳室に直接 NA を投与して、下垂体性 LH surge を惹起せしめ、排卵を誘発することができたとの Sawyer et al⁶⁾ の動物実験の事実からみても、NA は排卵性 LH release の trigger になる可能性は充分考えられる。これらの排卵障害の中で、下垂体障害に起因する症例は E₂ 値の低下、NA 分泌不全、LH, FSH 基礎値の低レベルというように四者がいずれも低値の状況下であり、下垂体の gonadotropin 分泌機能低下とあいまって、NA 分泌の機能構造の重大な欠陥が存在していると考えられる。

Nagle and Rosner²⁾ は ovariectomized estrogen-primed rat に progesterone を投与することによつて、LH peak が出現する前に、末梢血中に NA が増量することを認め、この NA が増量している時には anterior hypothalamus 自体における NA が減少し、jugular vein の NA 濃度が carotid artery の NA 濃度よりも高くなり、動、静脈血中に NA 濃度差が存在することをつきとめて、血中 NA は大部分脳内の catecholaminergic synapse に由来すると指摘していることや、卵巣機能障害のように末梢性障害に基づく排卵障害の症例では、NA 低下は認められず、下垂体不全型のように中枢性排卵障害の症例では、NA は低レベルを維持するという著者らの成績から、末梢における NA の変化は脳内の下垂体レベルにおける noradrenergic synapse の activity を直接反映したものであると思われる。

一方 DA については estrogen-primed rabbit の第Ⅲ脳室への DA の注入により LH surge の出現は抑制され⁷⁾、ヒトの静脈に DA を連続投与すると LH はしだいに減少し、投与を中止すると LH は急速に元のレベル

に回復してくる⁹⁾。そして下垂体不全型の排卵障害の症例のみ遊離 DA は NA と同様に低値の状態にある。したがって DA は LH release に対して抑制的に作用していると解釈するのが妥当性は高いようである。しかし DA の LH 放出に対する抑制機序は不明であるが、Yen et al.⁹⁾ は、DA は視床下部レベルにおける LH-RH の放出を抑制すると同時に下垂体レベルにおいて LH-RH の効果を調節して、LH の分泌に影響をおよぼしているであろうと報告している。

また fluorescence-immunocyto-chemistry の方法⁹⁾によつて、形態的に CA の局在が明らかにされ、ラットの median eminence において、dopaminergic terminal と LH-RH terminal とが overlap し、DA は視床下部の LH-RH release と下垂体ホルモンの release を調節する要因として、強力な影響力を保持している。

NA は性周期中の卵巣ホルモンに影響されながら、交感神経系の活動にもなつて作動している。脳内において NA は estrogen によつて蓄積され⁹⁾、排卵前の多量の NA 分泌は視床下部の LH-RH release を刺激し、最終的には下垂体性 LH の release をもたらす trigger になり得るのではないかと思われる。

本論文の要旨の一部は第25回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Sawyer, C. H., Jessamine Hilliard., Kanematsu, S., Scaramuzzi, R., and Blake, C. A.: Effects of intraventricular infusions of norepinephrine and dopamine on LH release and ovulation in the rabbit. *Neuroendocrinology*. 15 : 328, 1974.
- 2) Nagle Carlos A., and Rosner Jorge M.: Rat brain norepinephrine release during progesterone-induced LH secretion. *Neuroendocrinology*. 30 : 33, 1980.
- 3) Zuspan, F. P. and Zuspan, K. J.: Ovulatory plasma amine (epinephrine and norepinephrine) surge in the woman. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 117 : 654, 1973.
- 4) Badano, A. R., Nagle, C. A., Casas, P. R. F., Miechi, H., Mirkin, A., Turner, D., Aparicio, N., and Rosner, J. M.: Plasma levels of norepinephrine during the periovulatory period in normal women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 131 : 299, 1978.
- 5) McNeill, T. H., and Sladec, Jr. J. R.: Fluorescence-immunocyto-chemistry: Simultaneous localization of catecholamines and gonadotropin-releasing hormone. *Science*. 200 : 72, 1978.
- 6) Von Euler, U. S., and Lishajko, F.: Improved technique for the fluorimetric estimation of catecholamines. *Acta Physiol. Scand.* 51 : 348, 1961.
- 7) 守 和子: カテコールアミン, インドールアミン, LC-蛍光分析, p. 139, 講談社, 東京, 1978.
- 8) Yen, S. S. C., Vandenberg, G., and Siler, T. M.: Modulation of pituitary responsiveness to LRF by estrogen. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39 : 170, 1974.
- 9) Leblanc, H., Lachelin, G. C. L., Abu-Fadil, S., and Yen, S. S. C.: Effects of dopamine infusion on pituitary hormone secretion in humans. *L. Clin. Endocrinol. Metab.* 43 : 668, 1976.

Urinary levels of catecholamine in anovulatory women

Shinichi Saito and Mitsue Shimada

The First Department of Obstetrics and Gynecology, Toho University School of Medicine, Tokyo

Kazuko Mori

Department of Industrial Physiology, National Institute of Industrial Health, Kanagawa

In order to investigate some endocrine disturbances in anovulatory women, the values of urinary catecholamine were measured in 10 ovulatory and 24 anovulatory women by a high pressure liquid chromatographic method with a fluorescent reaction system.

24 hour urine specimens for noradrenaline, adrenaline, dopamine and estradiol were collected on day 13 of the menstrual cycle. Blood samples were drawn on day 14 of the menstrual cycle. LH and FSH in the serum were determined before and at 15, 30, 60 and 120 min after intravenous administration of 100 μ g LH-RH. A positive correlation was found between urinary noradrenaline and serum LH in ovulatory women. Anovulatory women showed an atypical pattern of LH and low estradiol secretion and noradrenaline showed low levels without any correlation with estradiol or LH levels. Urinary noradrenaline levels in women with low LH and FSH response to LH-RH injection were significantly lower than in normal women. The results indicate that a noradrenergic mechanism exists an activating effect on pituitary LH release.

(受付: 昭和56年12月8日)

HMG-HCG 投与時における臨床的 卵胞成熟指標の再評価

Reappraisal of Clinical Indexes Follicular Maturation at Administration of HMG-HCG

国立名古屋病院産婦人科

三輪 是 安江 弘之 黒木 尚之
Tadashi MIWA Hiroyuki YASUE Naoyuki KUROKI
戸谷 良造 鈴置 洋三
Ryozo TOTANI Yozo SUZUOKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagoya National Hospital

HMG-HCG 療法を施行した患者 11名 18周期における卵胞成熟度の判定指標として、腔内分泌細胞診〔① Acidophilic Index (A.I.) ② Pyknotic Index (P.I.)〕、頸管粘液〔③ 頸管粘液量 (C.M.) 及び ④ Mucous Score (M.S.): Insler の Cervical Score¹⁾ より cervix の開大度を除いたもの。〕を連日測定、同時に測定した血中 Estradiol と比較し、これらの指標を評価した。排卵の有無は、血中 Progesterone, B.B.T. により判定し、18周期中12周期に排卵を認め、以下の結果を得た。1) A.I., P.I. は、E₂ Peak との lag-time は同じであつたが、A.I. の方がより高値を示した。2) A.I., P.I., C.M. 及び M.S. と E₂ Peak との lag-time は各々1.5, 1.5, 1.1, 0日であり M.S. が一致した。3) A.I., P.I. とともに卵胞成熟は推察されたが、排卵の時期を予測するものではなかつた。4) 排卵時期を推定するには、A.I., P.I. より、C.M., M.S. の方が優つていた (Jap. J. Fert. Ster. 27(3), 318-323, 1982)

緒 言

HMG-HCG 療法を行う際の卵胞成熟度の判定には、血中 estrogen の rapid radioimmunoassay が最もすぐれているとされているが、臨床的にこれを実施することは容易ではなく、一般的には腔内分泌細胞診、頸管粘液が指標とされている。そこで我々は、HMG-HCG 療法を施行した患者の血中 estradiol を連日測定し、同時に観察した腔内分泌細胞診および頸管粘液所見を比較することにより、排卵時期推定指標としての臨床的有用性を検討した。

対象および方法

当科不妊外来において、HMG-HCG 療法を施行した

●Menses (6ヵ月以上の問診による)

Eumenorrhea 26~39days
Polymenorrhea ~25days
Oligomenorrhea 40~ days
(Irregular menses 上記3者の混在したもの)
Amenorrhea 6M~

Amenorrhea I) progesterone 50mg
Amenorrhea II) 筋注法にて分類

●BBT (無加療期間3ヵ月以上の記録による)






Regular diphasic 
Irregular diphasic 
Habitual diphasic 
Occasional diphasic 
Low monophasic 

図 1 当院における月経異常、BBT 所見の分類基準

Table 1 Summary of HMG-HCG therapy in 11 Patients

Case No.	Patient	Age	BBT	Menstruation	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	PRL (ng/ml)	Dose of		Present results			
								HMG (IU)	HCG (IU)	E ₂ peak (Pg/ml)	Pg peak (ng/ml)	OV	Preg.
1	M.U.	28	regular diphasic	eumenorrhea	11.8	10.5	17.0	1650	25000	570.9	22.9	+	-
2	K.T. 1	27	low monophasic	oligomenorrhea	3.6	2.8	9.2	1350	25000	464.0	6.7	+	-
3	2							1450	25000	203.0	2.0	+	?
4	T.K. 1	25	low monophasic	oligomenorrhea	11.7	50.9	17.4	1050	40000	195.4	2.2	+	?
5	2							2400	30000	396.9	9.5	+	-
6	K.J. 1	27	habitual diphasic	irregular menses	10.9	12.4	12.5	1200	50000	551.8	8.7	+	-
7	2							900	30000	655.0	11.0	+	-
8	K.T. 1	30	low monophasic	amenorrhea I	85.1	103.1	11.2	4500	45000	353.0	3.2	+	-
9	2				21.3	27.7	11.3	4500	5000	620.0	4.4	+	-
10	3							7200	0	23.8	-	-	-
11	K.K.	32	low monophasic	amenorrhea I	14.7	34.3	9.2	1050	35000	432.2	3.0	+	-
12	C.T. 1	25	low monophasic	amenorrhea I	1.8	4.2	14.2	1950	25000	803.9	5.8	+	-
13	2							1950	25000	364.4	3.6	+	-
14	T.B. 1	33	low monophasic	amenorrhea I	8.1	20.1		1200	25000	886.1	87.0	+	-
15	2							3300	15000	74.9	-	-	-
16	K.W.	27	low monophasic	amenorrhea I	17.5	14.2	29.6	1350	15000	1434.0	201.0	+	+
17	J.K.	28	low monophasic	amenorrhea II	5.5	3.9	18.7	6050	0	250.0	-	-	-
18	K.M.	39	low monophasic	amenorrhea II	125.9	65.9	14.9	6900	30000	165.1	-	-	-

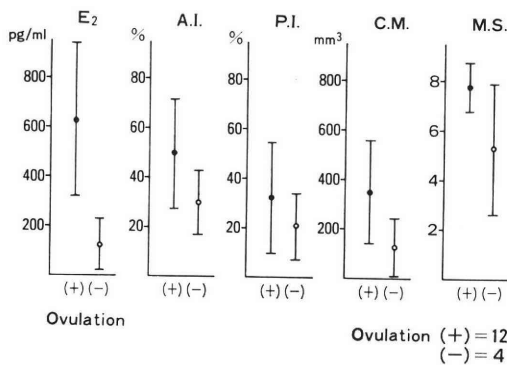


図 2 BBT 所見による排卵推定日の各指標平均値と排卵誘発不成功例の比較

患者11名18周期に関し検討した。患者の排卵障害度は我々が設定している月経周期異常分類基準(図1)²⁾に従って分類した。eumenorrhea 1例, oligomenorrhea 2例, irregular menses 1例, amenorrhea I 5例, amenorrhea II 2例であり(表1), これらは、すべて clomiphene 療法, Kaufmann 療法で妊娠の成立をみなかった症例である。HMG-HCG 投与前の FSH, LH, PRL の測定結果は、amenorrhea I および amenorrhea II の症例各1例に FSH, LH 高値の症例を認めたのみで他は正常値であり、PRL は全例正常域であった。

HMG, HCG の投与方法は、原則的には HMG の漸増投与を行ない、C.M. が0.3ml 以上に増加したのを確認して、翌日から HCG を5,000iu 5日間連続投与した。

A.I., P.I. の測定方法は、膣上部 $\frac{1}{3}$ の側壁から綿棒にて採取した細胞を Papanicolaou 染色し、400倍の視野で200個の細胞を数え、その%で表現した。頸管粘液の採取は、ツベルクリン用注射器を用い、C.M. はその目盛により概量を測定した。血中 E₂, progesteron は、血清を-20°C に冷凍保存し、第1ラジオアイソトープ社の RIA-Kit で測定した。

結 果

表1に症例の一覧を示すが、結果的に無排卵と判定した周期は4周期(Case, No. 10, 15, 17, 18)あり、うち2例(Case, No. 17, 18)は E₂ の軽度上昇を認めた。また、E₂ および Progesterone の軽度上昇を認めた2周期(Case, No. 3, 4)は、B.B.T. が数日間高温相を維持したのみであり、正常な排卵周期と見なすよりは、むしろ閉鎖卵胞の黄体化を疑うため今回の検討からは除外した。また、Case No. 16の妊娠の成立をみた症例は、E₂ peak が1.439pg/ml と高値を示し、HCG 投与中に卵巣腫大を来した過剰刺激を推定しうる症例であ

った。以上を除外した排卵周期において、排卵推定日どの指標が最も有効であったかを検討した。図2は、排卵例における排卵と推定される時期の各指標の peak の mean および standard deviation (S.D.) と無排卵例の mean および S.D. を比較した図であるが、排卵群と無排卵群との間に最も大きな差を認めたのは E₂ であり、卵成熟ひいては排卵時期を推定するにはやはり血中 E₂ が最も有効とされた。

次に、排卵例の血中 E₂ 量と各指標との相関を検討した(図3)。各指標との相関係数(r)は、A.I. 0.529, P.I. 0.603, C.M. 0.288, M.S. 0.310で、相関関係は、P.I. > A.I. > M.S. > C.M. の順になり、これは膣スミア内分泌診が頸管粘液よりも E₂ 量との相関が強いことを示している。

次に、排卵例に関し排卵と密接な関係のある E₂ peak と、A.I., P.I., C.M., M.S. peak 出現時期との lag-time を検討した(図4)。A.I., P.I. peak は、それぞれ E₂ peak 前2日から後4日、前2日から後5日平均1.5日と差が大きいのにに対し、C.M. peak は、E₂ peak 日から後4日、M.S. peak は、E₂ peak 前2日から後1日と C.M. が平均1日の遅れ、M.S. は E₂ peak と一致していた。そこで、E₂ peak を主軸とした各指標の経目的変動を mean および S.D. で比較した(図5)。A.I., P.I. とともに E₂ peak に向つて上昇傾向を示すものの変動時期の個体差が大きく、明らかな peak を示さなかつた。これに対し C.M. は E₂ の上昇傾向と最も類似しており、M.S. とともに出現時期も E₂ peak に近く、頸管粘液を用いた指標が排卵時期を推定するのに、より有効であることが示唆された。しかしながら各指標とも個体差が大きく、E₂ peak を適確に推定することは困難であり、そこで、これらの指標のうち E₂ peak と最も関連のあつた C.M. に関し、0.1ml 以上連日的に採取し得た日と E₂ peak までの日数を検討してみた(図6)。1例を除き C.M. は E₂ peak 前に出現し、その日数は5日間から0日で平均2日間を要した。

考 案

膣内分泌細胞診、頸管粘液検査法はいずれも生体内の Estrogen 作用を間接的に知る方法で、これらを正常月経周期において比較検討した報告も少なくない³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾。また、人工的に排卵を誘発する HMG-HCG 投与時における卵胞成熟度の指標としてもこれらの検査法や尿中、血中 Estrogen の測定が行なわれている⁹⁾¹⁰⁾。更に、より適確に HCG への切り替え時期を決定予知するために、rapid estrogen RIA を使用した報告もなされている⁷⁾⁸⁾。しかしながら本検査法は簡便化されているとはい

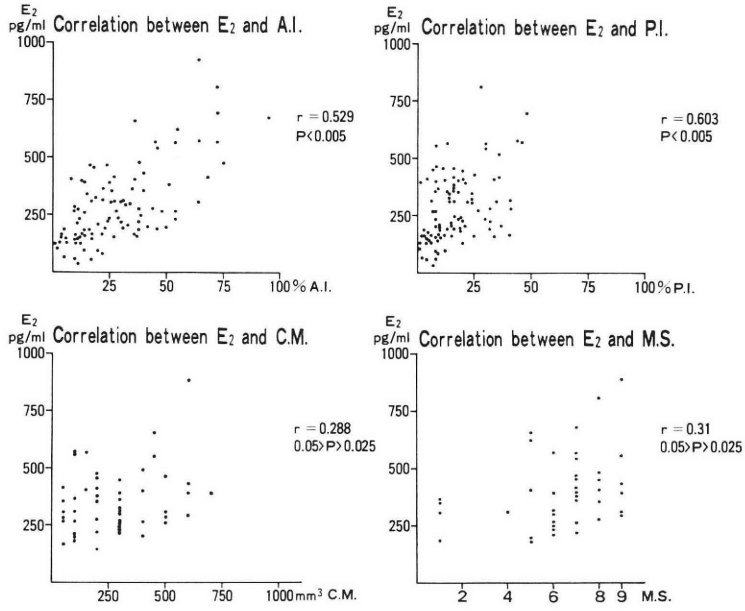


図 3 血中 Estradiol と各指標との相関

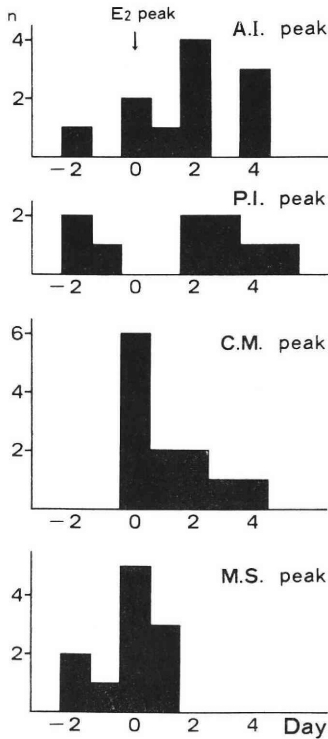


図 4 E₂ peak と各指標 peak 出現時期との Lag-time

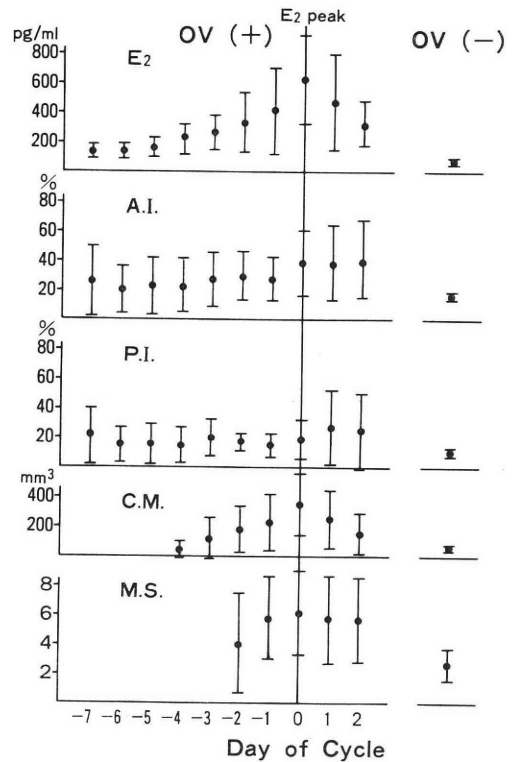


図 5 E₂ peak を主軸とした各指標の経日的変動

え、その簡便さは日常臨床に応用される域に至っていない。腔内分泌細胞診、頸管粘液検査法には、簡便性において捨て難い利点があり今回敢て有用性の再検討を試み

た。

血中 E₂ を主軸として各指標を retrospective に比較検討したところ、月経周期全体に亘って血中 E₂ とより

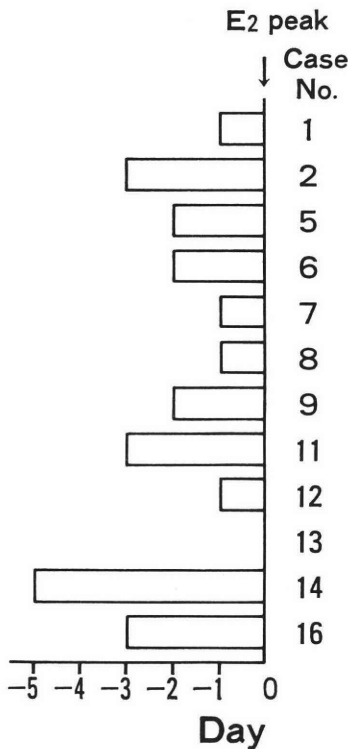


図 6 C.M. 0.1ml 以上出現日より E₂ peak までの日数

相関を示したのは、A.I., P.I. の腔内分泌細胞診であった。しかし腔内分泌細胞診は微量の estrogen も反映するため、HMG 投与初期より高値を示す症例を認めたり、また、peak の出現時期も個体差が大きく、prospective に排卵時期を予測するのは困難であると言える。これに対し C.M., M.S. を指標とする頸管粘液は、血中 E₂ との相関が悪いにもかかわらず、頸管粘液量 0.1 ml 以上測定可能時期が平均血中 E₂ 値 220pg/ml の上昇を認めた時点であり、また、peak の出現時期では、血中 E₂ peak との lag-time が腔内分泌細胞診のそれより約 1 日少なかった。これは、佐藤が正常月経周期で観察した成績即ち、頸管粘液量は estrogen 作用の強い時に鋭敏で、且つ estrogen 作用は腔内容塗抹像より頸管粘液に 1～2 日早く現われる報告⁹⁾と一致した。従つて、HMG の投与により排卵誘発に成功した症例では、腔内分泌細胞診、頸管粘液検査法のいずれの指標も卵の成熟に伴う上昇傾向を認めるが、排卵時期を卵胞期に推定するには、C.M., M.S. を指標とする頸管粘液が優つていえる。

今後、HMG-HCG 療法時における卵成熟の判定にはより簡便な血中 estrogen 測定キットの開発が望まれる

が、血中 estrogen 値のみでは、多胎妊娠の回避は困難であると言われている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾。近年、超音波診断法の発達により、卵胞の大きさから直接排卵時期を推定したり、或は卵胞数から多胎妊娠の回避を試みる報告¹²⁾¹³⁾もあり、この方面からも検討を加えるべきと考えている。

本論文の要旨は、第24回日本不妊学会総会に発表した。

文 献

- 1) Insler, V., Melmed, H., Eden, E., Serr, D. and Lunenfeld, B.: Clinical application of human gonadotropins. p. 87 by G. Bettendorf and V. Insler. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1970.
- 2) 戸谷良造, 佐伯明彦: 不妊外来における排卵障害の治療方針, 医療, 28: 121, 1974.
- 3) 中村幸雄: Ink Stain による人腔脂膏の研究, 産婦の世界, 19: 997, 1967.
- 4) 杉本 毅: 人腔脂膏の内分泌学的研究, 日産婦誌, 14: 937, 1962.
- 5) 佐藤昭吾: 臨床的卵巣機能検査法に関する研究, 日産婦誌, 15: 551, 1963.
- 6) 五十嵐正雄, 中村 淳, 根岸正勝: 卵胞成熟の病態とその検査, ホと臨, 22: 689, 1974.
- 7) Tredway, D. R., Goebelsman, U., Thornycroft, I. H. and Mishell, D. R.: Monitoring induction of ovulation with human menopausal gonadotropin by a rapid estrogen radioimmunoassay. Am. J. Obstet. Gynecol. 120: 1035, 1974.
- 8) Wu, C. H.: Plasmaestrogen monitoring of ovulation induction. Obstet. Gynecol. 46: 294, 1975.
- 9) 荻野璃美, 青野敏博, 安田 基, 宮崎正敏, 南川淳之祐, 三宅 侃, 塩路武徳, 近藤国男, 倉智敬一, 松本圭史: Estrogen の迅速 radioimmunoassay による HMG-HCG 療法での monitoring, 日産婦誌, 32: 153, 1980.
- 10) 平野睦男, 山谷義博, 広瀬洋子, 鈴木雅州: HMG 投与時の血中 estradiol と頸管粘液所見との相関, 産と婦, 45: 57, 1978.
- 11) 高木繁夫, 津端捷夫, 浜田正一, 坂元秀樹: 排卵誘発と多胎妊娠, 産婦治療, 33: 504, 1976.
- 12) Ylöstalo, P., Rönnberg, L. and Jouppila, P.: Measurement of the ovarian follicle by ultrasound in ovulation induction. Fertil. Steril. 31: 651, 1979.
- 13) 岡井 崇, 河合康夫, 椋棒正昌, 上妻志郎, 熊谷 清, 箕浦茂樹, 原 量宏, 佐藤和雄, 坂元正一: 排卵誘発剤使用時の卵胞発育, 日超医論文集, 38: 507, 1981.

Reappraisal of clinical indexes of
follicular maturation at admini-
stration of HMG-HCG

**Tadashi Miwa, Hiroyuki Yasue,
Naoyuki Kuroki, Ryozo Totani
and Yoza Suzuoki**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagoya National Hospital

In order to obtain indexes for judgement of follicular maturation in 18 cycles of 11 patients who received HMG-HCG treatment in our outpatient department of sterility, we carried out cytodiagnosis of vaginal secretion [Acidophilic Index (A.I.), Pyknotic Index (P.I.)] and analyzed cervical mucus [amount of Cervical Mucus (C.M.), Mucous Score (M.S.): an index eliminated the appearance of the external cervical os from Cervical Score] every

day. We measured estradiol retrospectively in blood sampled at the same time and reappraised the above indexes. Ovulation judged in the light of blood progesterone and BBT was detected in 12 cycles out of 18. We obtained the following results.

1) A.I. and P.I. showed the same length of Lag-time to E₂ peak each other; however, A.I. showed higher peak than P.I.

2) Lag-time from A.I., P.I., C.M. and M.S. peak to E₂ peak were 1.5 days, 1.5 days, 1.1 days and 0 day respectively; M.S. peak appeared first.

3) Both A.I. and P.I. suggested the possibility of ovulation prior to follicular maturation; however, those indexes suggested nothing on the time of ovulation.

4) C.M. and M.S. were superior to A.I. and P.I. for the assumption of the time of ovulation.

(受付: 昭和56年10月28日)

Clomiphene とそのバリエーション療法による 排卵の誘発ならびに妊娠の成立

Induction of Ovulation and Pregnancy following Clomiphene Treatment

京都府立医科大学産婦人科学教室

東山秀聲 藤井正博 山田俊夫
Shusei HIGASHIYAMA Masahiro FUJII Toshio YAMADA
大野洋介 玉舎輝彦 岡田弘二
Yosuke OHNO Teruhiko TAMAYA Hiroji OKADA

Department of Obstetrics and Gynecology, Kyoto Prefectural
University of Medicine, Kyoto, Japan

clomiphene 療法による排卵誘発と妊娠成立に関する9年間の成績を報告すると共に、clomiphene 無効例に対するclomiphene と他剤の併用療法についてのべ、さらに妊娠率向上のための二、三の方法についても報告する。clomiphene 単独療法は536例に用い、443例、83.4%に排卵が誘発され、208例が妊娠し、妊娠成立は46.5%であった。clomiphene 1日150mg 無効例にはclomiphene-hCG, prednisolone-clomiphene, bromocriptine-clomiphene 療法を行った。clomiphene-hCG では120例中86例に排卵が推定されたが、妊娠は15例にすぎず、低率に止まった。prednisolone-clomiphene は87例中74例に排卵が起こり、妊娠成立は38例、妊娠率51.4%と高率であった。clomiphene の抗エストロゲン作用改善の目的で少量のestrogen との併用療法を行ったが、妊娠率は低かった。clomiphene 療法時の黄体機能賦活にhCG 3000IU を黄体期に使用すると、妊娠率が著るしく上昇し、これは推奨すべき方法と考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 27(3), 324-333, 1982)

はじめに

研究方法

経口排卵誘発剤の一つであるclomiphene citrate (clomiphene) は1961年、Greenblattら¹⁾により、その臨床効果が発表された。それ以来、本剤は排卵障害婦人に対する治療薬として広く使用されるようになった。

clomiphene による排卵誘発効果は平均60%以上であり、軽症の排卵障害婦人には優れた誘発効果がえられる。しかしながら、この優れた排卵誘発効果の割には妊娠率が予想以上に低いことも、これまでに多く指摘されている。

本研究では、過去9年間の教室におけるclomiphene 療法の排卵誘発効果と妊娠成立の成績を報告し、合わせてclomiphene 療法時の妊娠率向上のための方法をのべるとともに、若干の考察を加えた。

1. 投与対象

clomiphene の投与対象は昭和47年より昭和55年12月までに本学不妊外来を受診したもののうち、無排卵周期症(散発性と持続性)ならびに第1度無月経と診断された軽症排卵障害の婦人である。しかしながら、第2度無月経であつても、clomiphene を使用した症例もある。

なお第1度無月経はprogesterone 50mg 量までの筋注によつて消退出血が認められたものとした。しかし中にはprogesterone 50mg で消退出血がなくてもnon-sterogenic progestogen (Duphastone 10mg) 5~7日間投与で消退出血がみられたものも第1度無月経とした。

2. clomiphene の使用法

単独投与ならびに他剤との併用の2つの方法によつ

た。

A. 単独療法

progesterone による消退出血または月経の開始第 5 日より 1 日 50mg (1錠), 5 日間投与した。この量に無反応の場合は段階的に増量し, 1 日 150mg (3錠), 5 日間投与まで増量投与を行った。なお, 初回 50mg, 5 日間投与で反応しないものに, 次周期に再度同量の投与を繰返したものもある。

また, 1 日 150mg 5 日間投与を連続 3 周期行つても排卵が認められないものは clomiphene 無効例とした。

B. 併用療法

clomiphene 無効例に対しては, 以下のような clomiphene と他剤との併用療法を行った。

1) clomiphene-hCG 療法

clomiphene 無効例の一部と clomiphene 1 日 100mg, 5 日間投与によつて排卵が誘発されなかつた一部のものに対し, 本療法を行った。

hCG 投与は clomiphene 投与終了 5~10 日後に 1 日 3,000IU 3 日間, または 1 日 5,000IU 2 日間投与のいずれかを用いた。しかし, 時には 10,000IU 1 回投与の症例もある。

2) 月経周期第 5 日からの clomiphene-estrogen 療法

clomiphene 投与に引続いて mestranol 1 日 1錠 (0.02 mg) を 7 日間投与した。estrogen の投与は clomiphene の頸管粘液に対する抗 estrogen 作用の拮抗と内因性 LH-RH に対する下垂体の反応性増大の目的のためである。

3) clomiphene-estrogen-hCG 療法

clomiphene 投与中止 5~10 日後に hCG を投与するものである。

4) prednisolone-clomiphene 療法

clomiphene 無効例の多くはこの療法を用いた。とくに臨床症状, 血中 LH, FSH レベル, LH-RH 負荷試験などから多嚢胞卵巣が疑われた clomiphene 無効例に対しては, 積極的にこの療法を用いた。

投与方法は a) progesterone による消退出血, または月経開始第 5 日より prednisolone 1 日 5 mg を 5 日間投与し, これに引続き第 10 日より clomiphene 1 日 150 mg を 5 日間投与する順次投与方法と b) 出血開始第 2 日より prednisolone 1 日 5 mg を 10~14 日間投与し, さらに第 5 日より clomiphene 1 日 150mg, 5 日間投与する併用投与方法によつた。

なお, 最近では作用機序や臨床成績などから, 併用投与方法を用いている²⁻⁴⁾。

5) prednisolone-clomiphene-hCG 療法

prednisolone-clomiphene 療法によつても排卵が誘発されない症例に対し, clomiphene 投与中止 5~10 日後に hCG を投与するものである。

hCG の投与量は 1) の場合と同じである。

6) bromocriptine-clomiphene 療法

本療法の適応は, まず第 1 に高プロラクチン血症であつて bromocriptine 単独療法に無効な症例である。血中 prolactin レベルが正常域と考えられる 30ng/ml 以下になるよう bromocriptine の投与量を決定し, その量を維持する。さらに progesterone による消退出血または月経開始第 5 日から, clomiphene 1 日 150mg を 5 日間投与する。

血中 prolactin が正常レベルの clomiphene 無効例に本療法が有効なことが報告されている⁵⁾。投与方法は消退出血開始第 2 日から bromocriptine を 1 日 2.5~5 mg あて 14 日間投与し, 周期第 5 日から clomiphene 1 日 150 mg を 5 日間投与するものである。

3. clomiphene 療法時の黄体機能賦活療法

clomiphene による排卵率が高いのに, それが妊娠成立に結びつくことが少なく, 排卵率と妊娠率に解離がみられるとする報告が多い。その原因の一つに, 排卵後の黄体機能不全が伴いやすいことが考えられる。この改善を行う目的で, 黄体機に種々の用量の hCG を投与し, 黄体機能の賦活を行った。

hCG の投与量と投与方法は次の 3 法によつた。また, hCG の投与開始は BBT 上昇 1~2 日後からとした。

1) hCG, 1,000IU/日, 6~8 日間連続投与方法

BBT 上昇 1~2 日後から hCG 1 日 1,000IU あて連続 6~8 日間投与する。

2) hCG 3,000IU/日投与方法

BBT 上昇 1~2 日後から hCG 1 日 3,000IU を隔日または 2 日おきに 2~4 回投与する。その後は 3~7 日に同量の hCG を投与する。

3) hCG 5,000IU/日投与方法

投与方法は 3,000IU の場合に準じて行う。

なお, 本研究では排卵が誘発されたという推定は以下のようにして行つた。

- 1) BBT が高温に移行し, 10 日以上持続したとき
- 2) 子宮内膜生検で分泌期像を示したとき
- 3) 血中 progesterone が 5 ng/ml 以上を持続したとき
- 4) 妊娠が成立したとき

成 績

A. clomiphene 単独療法

第 2 度無月経を含めた排卵障害婦人に対する排卵誘発

Table 1 Ovulation induction and pregnancy with clomiphene alone treatment

	No. of treated patients	No. of ovulated patients	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated patients	per no. of ovulated patients
Occasionally anovulatory cycles	108	107	99.1	55	50.9	51.4
Persistently anovulatory cycles	204	197	96.6	82	40.2	41.6
Amenorrhea 1st grade	193	139	72.0	69	35.8	49.6
Amenorrhea 2nd grade	31	4	12.9	2	6.5	50.0
total	536	447	83.4	208	38.8	46.5

	No. of treated cycles	No. of ovulated cycles	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated cycles	per no. of ovulated cycles
Occasionally anovulatory cycles	628	602	96.2	55	8.8	9.1
Persistently anovulatory cycles	1497	1285	85.8	82	5.5	6.4
Amenorrhea 1st grade	937	540	57.6	69	7.4	12.8
Amenorrhea 2nd grade	63	7	11.1	2	3.2	28.5
total	3123	2434	77.9	208	6.7	8.5

成績は表1に示したように、投与症例536例に対し排卵が誘発された症例は447例、排卵率は83.4%である。投与周期数に対する排卵率は、3123周期中2434周期に排卵が起こったから77.9%である。

第2度無月経を除外した軽症排卵障害に対する誘発成績は、505症例中の443症例に排卵が起こったから、排卵誘発率は87.7%ときわめて高率であった。投与周期数に対する排卵率も、3060周期のうち2427周期に排卵が誘発されたから79.3%である。

排卵障害の程度と排卵率の関係は、投与症例数に対して散発性無排卵周期症99.1%、持続性無排卵周期症96.6%、第1度無月経72.0%、第2度無月経は12.9%となり、排卵障害の程度が高くなるほど排卵率は低くなった。

clomiphene 単独療法による妊娠成立は208例である。したがって、妊娠率は投与症例数に対しては38.8%、排卵症例数に対しては46.5%となった。一方、投与周期数と排卵周期数に対する妊娠率はそれぞれ6.7%、8.5%であった。妊娠率に関して排卵障害の程度と排卵例数に対する妊娠率の間には差は認められず、ほぼ一定の率となった。

B. 併用療法

1) clomiphene-hCG 療法

clomiphene-hCG 療法による排卵誘発成績は表2に示した。投与症例数に対しては、120例にこの治療を行い、そのうち86例に排卵が起こり、排卵率は71.7%であった。

投与周期数に対する誘発成績は、279周期中154周期に排卵が誘発され、排卵率は55.2%となり、やや低率であった。

この療法による成績は、第1度無月経では対投与周期数、対投与症例数とも無排卵周期症と比べると劣っている。

この療法時の妊娠成立は15例にすぎず、投与症例数および排卵症例数に対する妊娠率はそれぞれ12.5%、17.4%となり、併用療法の中では最も低率であった。

なお、本療法においても軽症排卵障害では、排卵障害の程度と妊娠率の間にはほとんど差が認められず、ほぼ一定であった。

2) clomiphene-estrogen 療法と 3) clomiphene-estrogen-hCG 療法

この療法による排卵率は表3のように投与症例数に対しては69.2%で、投与周期数に対しては77.3%であった。本療法による妊娠成立は2例であった。

clomiphene-estrogen-hCG 療法は4例に対してこの療法を行い全例に排卵が誘発されたが、しかし妊娠成立例

Table 2 Induction of ovulation and pregnancy with clomiphene-hCG treatment

	No. of treated patients	No. of ovulated patients	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated patients	per no. of ovulated patients
Occasionally anovulatory cycles	19	15	78.9	3	15.8	20.0
Persistently anovulatory cycles	47	38	80.0	7	14.9	18.0
Amonorrhea 1st grade	54	33	61.1	5	9.3	15.2
total	120	86	71.7	15	12.5	17.4

	No. of treated cycles	No. of ovulated cycles	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated cycles	per no. of ovulated cycles
Occasionally anovulatory cycles	38	31	81.6	3	9.9	9.7
Persistently anovulatory cycles	103	71	68.9	7	6.8	9.9
Amenorrhea 1st grade	138	52	37.7	5	3.6	9.6
total	279	154	55.2	15	5.4	9.7

Table 3 Induction ovulation and pregnancy with clomiphene-estrogen and clomiphene-estrogen-hCG treatment

	No. of treated patients	No. of ovulated patients	ovulation rate	pregnancy rate	pregnancy rate	
					per no. of treated patients	per no. of ovulated patients
clomiphene-estrogen	13	9	69.2	2	15.4	22.2
clomiphene-estrogen-hCG	4	4	100.0	0	0	0

	No. of treated cycles	No. of ovulated cycles	ovulation rate	pregnancy rate	pregnancy rate	
					per no. of treated cycles	per no. of ovulated cycles
clomiphene-estrogen	22	17	77.3	2	9.1	11.8
clomiphene-estrogen-hCG	4	4	100.0	0	0	0

はなかつた。

4) prednisolone-clomiphene 療法と 5) prednisolone-clomiphene 療法

prednisolone と clomiphene の順次投与、併用投与ならびに prednisolone-clomiphene-hCG 療法による排卵誘発成績、および妊娠成立の例数は表 4 に示したようである。

順次投与方法では投与症例 6 例中 3 例に排卵が誘発され、そのうち 2 例に妊娠が成立した。併用投与方法では投与症例 84 例に対し 65 例 (77.4%) に排卵が起こり、その

うち 30 例に妊娠の成立が認められた。併用投与方法による妊娠率は投与例数および排卵例数に対してそれぞれ 35.7%、46.2% と高率であった。prednisolone-clomiphene-hCG 療法では、投与症例 36 例のうち 27 例 (75.0%) に排卵が誘発され、そのうち 6 例に妊娠が成立した。この投与方法の投与症例数および投与周期数に対する妊娠率はそれぞれ 16.7%、22.2% となり、prednisolone と clomiphene との併用投与方法の場合よりもかなり低率であった。

一方、投与周期数に対する排卵率は、順次投与方法では

Table 4 Induction of ovulation and pregnancy with prednisolone-clomiphene treatment

	No. of treated patients	No. of ovulated patients	No. of ovulated rats	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated patients	per no. of ovulated patients
sequential method	6	3	50.0	2	33.3	66.7
combined method	84	65	77.4	30	35.7	46.2
prednisolone-clomiphene-hCG	36	27	75.0	6	16.7	46.2
total	126	95	75.4	38	30.2	40.0

	No. of treated cycles	No. of ovulated cycles	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated cycles	per no. of ovulated cycles
sequential method	13	8	61.5	2	15.4	25.0
combined method	340	230	69.6	30	8.8	13.0
prednisolone-clomiphene-hCG	105	51	48.6	6	5.7	11.8
total	458	289	63.1	38	8.3	13.1

Table 5 Summary of results obtained with 3 therapeutic regimens

No. of treated patients	No. of ovulated patients	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
				per no. of treated patients	per no. of ovulated patients
87	74	85.1	38	43.7	51.4

No. of treated cycles	No. of ovulated cycles	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
				per no. of treated cycles	per no. of ovulated cycles
458	289	63.1	38	8.3	13.1

13周期中8周期, 61.5%, 併用投与方法では340周期中230周期67.6%となり, 極めて良好な排卵誘発成績がえられた。しかし, prednisolone-clomiphene-hCG 療法では105周期にこの方法を用いたが排卵したのは51周期48.6%であつて, 前二者に比べると低率であつた。

重複例を調整後の上記3方法による排卵率と妊娠率は表5に示した。すなわち, 87症例にこの治療を行ない, そのうち74症例に排卵が誘発され, 排卵誘発率は85.1%ときわめて高率であつた。3方法による妊娠成立はこれまでに38例に認められ, 投与症例数に対する妊娠率は43.7%, 排卵症例数に対する妊娠率は51.4%となり, これもきわめて高率となつた。投与周期数に対する成績は, 458周期に治療を実施し, そのうち289周期に排卵が起こり, 排卵誘発率は63.1%と良好であつた。

6) bromocriptine-clomiphene 療法

高プロラクチン血症のうち, bromocriptine 単独療法で排卵が起こらなかつた8例に対し, bromocriptine と clomiphene の併用療法を行い, 6例に排卵が誘発され, そのうち3例に妊娠の成立をみた。

以上の clomiphene 単独療法または clomiphene と他剤の各種の併用療法を行つた症例につき, 重複例を調整した後の成績は表6に示した。治療を行つた症例数は545例であつて, そのうち516例に排卵が誘発され, 排卵率は94.7%となつた。また, 妊娠成立は266例に認められ, 妊娠率は投与症例数に対しては48.8%, 排卵症例数に対しては51.6%となつた。

clomiphene 療法時の黄体機能賦活療法

hCG 投与により黄体機能の賦活を行つた際の妊娠成功率は表7と8に示した。hCG 投与群では投与例数179例中107例, 59.8%に妊娠が成立したが, hCG 投与を行

Table 6 Summary of results obtained with clomiphene alone and clomiphene variation therapies

No. of treated patients	No. of ovulated patients	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
				per no. of treated patients	per no. of ovulated patients
545	516	94.7	266	48.8	51.6

Table 7 Pregnancy with clomiphene alone and clomiphene-hCG treatment at the post ovulatory phase

	No. of treated patients	No. of pregnancies	pregnancy rate
clomiphene alone	261	110	42.1
clomiphene+hCG at the post-ovulatory phase	179	107	*59.8

* P<0.01

Table 8 Pregnancy with hCG treatment at the post ovulatory phase

	No. of treated patients	No. of pregnancies	pregnancy rate
clomiphene + hCG 1000IU/day, 6-8days	13	4	30.8
clomiphene + hCG 3000IU/day, 3-4times	50	36	* 72.0
clomiphene + hCG 5000IU/day, 3-4 days	116	67	57.8

* P<0.01

わなかつた場合は妊娠成立は261例中110例, 42.1%となり, 黄体期の hCG 投与で著しい成績の向上が認められた。

次に, 黄体期に投与する hCG 量と妊娠の関係を示したのが表 8 である。

hCG 1日1,000IU, 6~8回投与群では13例中4例, 30.8%に妊娠が成立したのみであり, この成績は clomiphene 単独時よりも低い。一方, hCG 1日3,000IU 投与群では50例中36例, 72.0%, hCG 5,000IU 投与群では116例中67例, 57.8%と高率に妊娠の成立が認められた。すなわち, hCG による黄体機能賦活は1日3,000IU の高単位療法が優れていると考えられる。

考 案

clomiphene は cyclofenil と同様, 抗エストロゲン剤の研究過程の中で排卵誘発効果が認められたものであり, 適応症は軽症排卵障害である。clomiphene はまた,

黄体機能不全や機能性不妊症(黄体機能不全の一部も含まれる)の治療にも使用される。この薬剤は本研究でもみられたように, 第2度無月経という重症の排卵障害に対しても, 少数例ではあるが有効のようにみられる。しかしこれは第2度無月経の診断に問題があると考えられ, 作用機序から考えて clomiphene は第2度無月経は適応ではないとすべきであろう。しかしながら, 高プロラクチン血症を伴う第2度無月経に対しては, bromocriptine との併用で clomiphene が有効ことが多い。一方, 第1度無月経でも progesterone 50mg までの用量で消退出血がなく, progesterone 125mg または nonestrogenic progestogen 5~7日間の投与で初めて消退出血がみられるものは clomiphene 単独では無効のことが多く, clomiphene と他剤との併用が必要となる。

軽症排卵障害で clomiphene に反応しないものの割合は, 10~30%とする報告が多い。われわれの成績は表1でみられたように, 第1度無月経までの排卵率は87.7%であった。

軽症排卵障害であつても clomiphene で排卵が誘発されない無効例に対し, hMG-hCG 療法をただちに推奨するものがあるが⁷⁾, これにはいくつかの問題があり, 直には賛成できない。clomiphene 無効例の多くに, 本研究で示したように hMG-hCG 療法によらずに clomiphene と他剤との併用療法, いわゆる clomiphene の variation 療法で排卵の誘発に成功することが多く, また妊娠成立例も多い。clomiphene variation 療法は hMG-hCG 療法と比較すると, 1) 重篤な副作用である卵巣の過剰刺激症状の発症がきわめて少ない。2) 多胎妊娠率が低い⁸⁾。3) 毎日注射しなくてもよい。4) 安価である。などの利点がある。しかしこの療法は hMG-hCG 療法と比べて適応が狭い。

したがって, 軽症排卵障害に対する排卵誘発法の選択はまず, clomiphene 単独療法を採用し, clomiphene 無効例には clomiphene の variation 療法を実施する。次いで, clomiphene variation 療法によつても排卵が誘発されなければ, hMG-hCG 療法へと進むという方針をとるとよいと考えられる。

clomiphene 無効例には多嚢胞卵巣が多く, また視床

Table 9-A Ovulation induction and pregnancy with clomiphene therapy

	No. of treated patients	No. of ovulated patients	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated patients	per no. of ovulated patients
clomiphene alone	536	447	83.4	208	38.0	46.5
clomiphene-estrogen	13	9	69.2	2	15.4	22.2
clomiphene-hCG	120	86	71.7	15	12.5	17.4
clomiphene-estrogen-hCG	4	4	100.0	0	0	0
prednisolone-clomiphene	90	68	77.4	32	35.6	47.7
prednisolone-clomiphene-hCG	36	27	75.0	6	16.7	22.2
bromocriptine-clomiphene	8	6	75.0	3	37.5	50.0

Table 9-B Ovulation induction and pregnancy with clomiphene therapy

	No. of treated cycles	No. of ovulated cycles	No. of ovulated rate	No. of pregnancies	pregnancy rate	
					per no. of treated cycles	per no. of ovulated cycles
clomiphene	3123	2434	77.9	208	6.7	8.5
clomiphene-estrogen	22	17	77.3	2	9.1	11.8
clomiphene-hCG	279	154	55.2	15	5.4	9.7
clomiphene-estrogen-hCG	4	4	100	0	0	0
prednisolone-clomiphene	353	238	67.4	32	9.1	13.4
prednisolone-clomiphene-hCG	105	51	48.6	6	5.7	11.8
bromocriptine-clomiphene	13	8	61.5	3	23.0	37.5

下部における estrogen の positive feedback 機能の不全のものがあるから^{2,4)}, variation 療法のうちでも clomiphene-hCG 療法は良い方法のように思われる。しかしながら、先に示したようにこの療法の排卵率はそれほど高くはなく、とくに投与周期数に対する率が低い。この理由の一つは、clomiphene の抗エストロゲン作用のため、hCG 投与の時期が頸管粘液の性状を指標とする方法では適確に把握できないことがあげられる。したがって、卵胞成熟がまだ完成していない時期に hCG が投与されてしまつて、排卵が起こらずに luteinized unruptured follicle の状態に止まるものがあると推定される^{9,10)}。このことは、prednisolone-clomiphene-hCG 療法についても同様である。

clomiphene 療法による妊娠率について興味あることは、clomiphene 単独療法と clomiphene-hCG 療法では軽症排卵障害婦人のうち排卵が誘発された婦人においては、妊娠率がほぼ一定の率となつたことであり、無排卵症と第1度無月経には差は認められなかつた。

clomiphene 療法による排卵率は高いが、妊娠率はそれほど高くないことは、これまでも数多く報告されて

いる。表9は本研究における clomiphene 単独と clomiphene variation 療法の排卵率と妊娠率をまとめたものである。さらに Table 6 は、これらの療法の重複例を調整した後の成績であり、545 例のうち 516 例、94.7% に排卵が起こつたが、妊娠成立は 266 例であつて、排卵例に対する妊娠率は 51.7% に止まつた。しかし、この妊娠率は諸家の報告と比べてけつて低くはなく、高率である。clomiphene 療法における排卵率と妊娠率が解離するのは、1) clomiphene の抗 estrogen 作用により頸管粘液の性状に変化をきたし、排卵時に精子の通過性が阻害される。2) この抗 estrogen 効果が子宮内膜にも及び、着床不全がもたらされる可能性がある。3) 本剤による排卵誘発には黄体機能不全が多い¹¹⁾。4) 黄体化のみが起こり、排卵が起こつてはいない。luteinized unruptured follicle の存在^{9,10)}、5) 排卵の時期が一定しない。6) 卵管の運動に変化がおきる。などにあることが考えられる。各種の clomiphene 療法のうちでも hCG を追加投与する clomiphene-hCG 療法と prednisolone-clomiphene-hCG 療法による妊娠率が、ほかの療法と比較して低い。これは前述のような clomiphene 療

法に共通する理由によるほか、排卵率が他の方法と比べてやや低いうえに、排卵した卵のものに問題があるのかも知れない。

clomiphene 療法時の妊娠成立を阻害する因子を除去する目的で、種々の方法が考案されている。頸管に対する抗 estrogen 作用に対しては、estrogen との併用療法が行われる¹²⁻¹⁴⁾。これによつて、Poliak ら¹²⁾のように 66 例のうち 30 例 (45.5%) に妊娠成立がみられたとするなど、妊娠率が向上するもののがかなりある。しかし、本研究でみられるように estrogen を併用しない clomiphene 療法では prednisolone-clomiphene 療法の 47.7% や単独療法の 46.5% のように高い妊娠率がえられ、これと比較すると clomiphene-estrogen 併用療法で満足すべき成績があげられていないようである。また estrogen を併用すると排卵が遅延したり、時には排卵誘発が不成功に終る例もある。

排卵のタイミングを調整する目的に、この clomiphene-estrogen 併用療法を提唱するものもある^{15,16)}。clomiphene 投与に引続いて結合型の estrogen の少量 0.1 mg を数日間使用して、排卵のタイミングを高率に一定の時期に集中させ、妊娠率を高めるものである。

人工の排卵誘発後には黄体機能不全が伴いやすいことが、排卵率と妊娠率の解離の一因とする報告は多い。この対策として、排卵後に hCG や progestogen の投与が行われる。黄体期に高単位の hCG を隔日に 3~4 回投与して黄体機能の賦活を行うと、前述のように非投与群に比べて著しい妊娠率の向上がみられ、有意に高い妊娠率がえられた。この場合の 5,000IU よりも 3,000IU の方がより良い成績があげられるようである。

hCG の投与間隔に関する考察は、すでにその一部については報告した¹⁶⁾。その成績に加えて、hCG の半減期が 30~33 時間とする報告¹⁹⁾²⁰⁾や、hCG の 1 回投与で血中濃度が 2~3 日間維持され、連日の投与では hCG の蓄積をもたらすとする報告¹⁷⁾などを考慮すると、投与間隔は高単位 hCG では 2~3 日でよいと考えられた。

本研究でえられた clomiphene 療法の妊娠率は、自然排卵の妊娠率 85~90%²¹⁾と比較すると低い率に止まつたが、諸家の報告と比べるときわめて優れた妊娠率であると考えられる。とくに、黄体期における hCG 3,000IU 隔日投与の妊娠率は、排卵症例に対して 72.0% となり、きわだつて高率であつた。

このように、clomiphene 療法の妊娠率がこれまでのものより高率となつたのは、前述のようにまず、①排卵誘発時にみられる黄体の機能不全に対する治療である。このほか当然のことであるが、②排卵誘発施行前に治療を行つて排卵障害以外の不妊因子を除去する。③精子減

少症、性交後試験不良のもの、頸管粘液分泌不良のものには AIH を併用するなどを行つたことにある。

clomiphene 療法時にみられる副作用は、下腹部痛、卵巣の腫大などの卵巣過剰刺激、頭痛、顔面紅潮、悪心嘔吐が主なるものである。しかし、これらの副作用の発生頻度は非常に低く、投薬を中止した症例はごく少数であつた。下腹部痛、卵巣腫大などの卵巣過剰刺激は、初回から大量投与を行つた際に発生することが多く、大量投与を必要とする場合は、段階的に増量すれば、これを防ぐことができる。

排卵誘発で問題となる多胎妊娠は、clomiphene 療法では hMG-hCG 療法よりもはるかに少ないが²²⁾、自然排卵による多胎妊娠率 0.6~1.2% と比べると、これよりは高い。本研究の期間内においては、妊娠成立 266 例中の多胎妊娠は 10 例であつて、多胎妊娠率は 3.8% であり、すべて双胎である。MacGregor²²⁾の調査では、2196 例の妊娠中、1744 例が産出し、多胎は 136 例、多胎率は 7.8% である。

なお、妊娠経過や出生新生児への影響については別稿で報告する。

まとめ

われわれの教室の不妊外来におけるこれまでの 9 年間の clomiphene 療法による排卵誘発成績、clomiphene 単独療法無効例に対する排卵誘発の進め方、およびこの間の妊娠成立に関して報告した。延べ 807 例に対し延べ 3899 周期あたり clomiphene 単独療法、clomiphene-estrogen 療法、clomiphene-hCG 療法、clomiphene-estrogen-hCG 療法、prednisolone-clomiphene 療法、prednisolone-clomiphene-hCG 療法、ならびに bromocriptine-clomiphene 療法を、それぞれの適応に応じて用いた。

排卵率は、投与症例数に対してはどの療法でも差は認められなかつたが、投与周期数に対しては clomiphene-hCG と prednisolone-clomiphene-hCG 療法ではやや低くなつた。妊娠率もまた clomiphene-hCG 療法と prednisolone-clomiphene-hCG 療法では低かつた。すなわち clomiphene 投与後に hCG 投与を行つて排卵を誘発する場合は、妊娠率がほかの療法と比較して低率となつた。これは対投与周期数に対する排卵率が低いことのほか、黄体化無排卵卵胞の出現が多いことや排卵した卵の問題などに理由があると考えられた。また、clomiphene-estrogen 療法の妊娠率も低率となつた。

clomiphene 療法時の妊娠率向上の一方法として、hCG による黄体賦活によつて黄体機能の改善を行うと、妊娠率が著しく上昇した。この際の hCG の用量は 3,000

IU の 2 ~ 3 日ごとの投与がよいと考えられた。

以上の種々の clomiphene 療法の重複例を調整した後の最終成績は、治療を行った 545 症例中の排卵例は 516 例、排卵率は 94.7% と極めて高率となった。この間の妊娠成立は 266 例であつて、妊娠率は対症例数に対しては 48.8%、対排卵例数に対しては 51.6% と極めて良好であつた。

参考文献

- 1) Greenblatt, R. B., Barfield, W. R., Tungek, E. C. and Roy, A. W.: Induction of ovulation with MRL-41, JAMA, 178 : 101, 1961.
- 2) 東山秀聲, 大野洋介, 山元貴雄, 岡田弘二: prednisolone-clomiphene 療法による排卵誘発とその作用機序, 日産婦会誌, 30 : 1107, 1978.
- 3) 東山秀聲: 排卵誘発—その理論と実際—産婦人科 Mook, No. 13, クロミフェンとコルチコイド併用療法 (仲野良介編集), p. 138, 金原出版, 東京, 1980.
- 4) Higashiyama, S., Yasuda, J., Ohtsubo, K., and Okada, H.: Ovulation induction with prednisolone-clomiphene therapy in clomiphene failure, Jap. Fertil. & Steril., 26 : 1, 1981.
- 5) 田村 貴, 玉田太郎: CB-154 の正常プロラクチン血症性無排卵症に対する排卵促進効果, 日内分泌会誌, 55 : 1185, 1979.
- 6) 小池浩司, 青野敏博, 南川淳之祐, 安田 基, 三宅 侃, 塩路武徳, 堤 博文, 高田 満, 倉智博文, 倉智敬一: 正常プロラクチン値の無月経例に対する bromocriptine-clomiphene 療法の排卵誘発効果, 日内分泌会誌, 55 : 1186, 1979.
- 7) Kistner, R. W.: Use of clomiphene citrate, human chorionic gonadotropin and induction of ovulation in the human female, Fertil. Steril., 17 : 569, 1966.
- 8) 東山秀聲: 排卵障害とその治療—排卵誘発剤と多胎妊娠, 産婦治療, 40 : 458, 1980.
- 9) Jewelewicy, R.: Management of infertility resulting from anovulation, J. Obstet. Gynecol., 122 : 909, 1975.
- 10) Marik, J. and Hulka, J.: Luteinized unruptured follicle syndrome. A subtle cause of infertility, Fertil. Steril. 29 : 270, 1978.
- 11) Murray, M. and Osmond-Clarke, F.: Pregnancy results following treatment with clomiphene citrate, J. Obstet. Gynec. Brit. Comms. 78 : 1108, 1971.
- 12) Poliak, A., Smith, J. J. and Romney, S. L.: Clinical evaluation of clomiphene: clomiphene and human chorionic gonadotropin; and clomiphene, human chorionic gonadotropin and estrogens in anovulatory cycles, Fertil. Steril. 24 : 921, 1973.
- 13) Taubert, H. D. and Dericks-Tan, J. S. E.: High doses of estrogens do not interfere with

the ovulation inducing effect of clomiphene citrate, Fertil. Steril., 27 : 375, 1976.

- 14) Tateno, M.: Studies on the cervical mucus in steril women, Jap. J. Fertil & Steril., 24 : 63, 1979.
- 15) Boutselis, J. S., Dickey, R. P. and Vovry, N.: Control of ovulation time with steroid and nonsteroid compounds, Am. J. Obstet. Gynecol. 112 : 171, 1972.
- 16) 佐々木謙司, 仲野良介: クロミフェン療法における排卵時期の調整: 少量の結合型エストロゲン併用療法について, 日不妊会誌, 25 : 268, 1980.
- 17) 玉田太郎: FSH, LH と排卵—排卵を中心としたホルモン動態—, 日産婦会誌, 25 : 964, 1973.
- 18) 東山秀聲, 岩崎武輝, 木津収二, 村上 旭, 岡田弘二: clomiphene citrate による妊娠 (とくに黄体期の高単位 hCG 療法について), 日不妊会誌, 20 : 413, 1975.
- 19) Midgley, A. R. & Taffe, R. B.: Regulation of human gonadotropin, II Disappearance of human chorionic gonadotropin following delivery. J. Clin. Endocri. 28 : 1712, 1968.
- 20) 青野敏博, 宮崎正敏, 南川淳之祐, 三宅 侃, 衣笠隆之, 倉智敬一, 松本圭史: hMG-hCG 療法による排卵誘発時の血中ホルモン動態, 日内分泌会誌, 50 : 1265, 1975.
- 21) Jones, G. S.: Pathophysiology of reproductive failure after clomiphene-induced ovulation. Am. J. Obstet. Gynecol. 108 : 847, 1970.
- 22) MacGregor, A. R.: Further clinical experience with clomiphene citrate. Fertil. Steril. 19 : 616, 1968.

Induction of ovulation and pregnancy following clomiphene treatment

Shusei Higashiyama, Masahiro Fujii,
Toshio Yamada, Yosuke Ohno,
Teruhiko Tamaya and
Hiroji Okada

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyoto Prefectural University of
Medicine, Kyoto, Japan

Clomiphene is widely used for the treatment of anovulation. In this paper results of its clinical use in the Infertility Clinic of Kyoto Prefectural University Hospital are reported. The classification of anovulation was divided the cases into 4 types. Patients who do not ovulate but have menstruation like bleeding can be defined as having anovulatory cycles. Furthermore, anovulatory cycles can be divided into 2 types, such as persistently and occasionally anovulatory cycles. Amenorrhea with wit-

hdrawing bleeding after administration of progesterone can be defined as first grade amenorrhea. Second grade amenorrhea is when withdrawal bleeding follows use of both estrogen and progestogen. Clomiphene alone therapy was performed for the treatment of most patients with anovulatory cycles and first grade amenorrhea. Clomiphene was administered from the 5th day of the menstrual cycle. Dose were from 50-150mg/day. In patients in which ovulation was not induced by clomiphene, clomiphene-hCG, prednisolone-clomiphene and prednisolone-clomiphene-hCG therapy were used in turn. Hyperprolactinemic women having bromocriptine failure were treated with bromocriptine-clomiphene therapy.

Sequential regimen of clomiphene and estrogen was used as a means of counteracting an undesirable antiestrogenic effect of clomiphene in several women of the group treated with clomiphene alone.

1. clomiphene alone therapy

Five hundred and thirty-six infertile women were treated during 3123 cycles with clomiphene alone. Four hundred and forty-seven patients had ovulations and the total of cycles with ovulation was 2434. The ovulation rate was 83.4% for the patients and 77.9% for the treated cycles. In this group, 208 of 447 ovulated women conceived giving a pregnancy rate of 46.5% of ovulated women and of 8.5% of ovulated cycles.

2. Clomiphene-hCG therapy

One hundred and twenty patients were treated during 279 cycles with clomiphene-hCG therapy. In this group, 86 of 120 patients respond with ovu-

lation and 154 of 279 treated cycles (55.2%) resulted in apparent ovulation. Fifteen women conceived and a pregnancy rate 17.4% of ovulated cases.

3. Prednisolone-clomiphene therapy which was used for patients having clomiphene failure resulted in apparent ovulation in 74 of 87 treated cases (85.1%) and in 289 of 458 treatment cycles. Thirty-eight women conceived, giving a pregnancy rate 51.4% of ovulated patients and of 13.1% of ovulated cycles.

4. Hyperprolactinemic patients who failed to ovulate with bromocriptine was treated with bromocriptine and clomiphene. In this group, 6 of 8 women (75.0%) and 8 of 13 treatment cycles responded with ovulation.

5. Clomiphene-estrogen therapy

Thirteen patients were treated during 22 cycles with clomiphene-estrogen treatment. Nine patients had ovulation and a total of 17 cycles responded with ovulation. However, only 2 women became pregnant.

Adjusting the overlapping cases treated with clomiphene alone and its variation therapies, 516 of 545 patients (94.7%) resulted in apparent ovulation and 266 women became pregnant in this study. A pregnancy rate is 48.8% and 51.6% in treated and ovulated patients respectively. The use of 3,000 IU hCG with immediate postovulatory phase appears to be more advisable in the improvement of a pregnancy rate with clomiphene therapy.

(受付: 昭和56年10月19日)

黄体機能不全症の治療

Management of Infertility with Luteal Phase Defects

日本バプテスト病院
ト 部 宏
Hiroschi URABE
Japan Baptist Hospital

月経第6～7日に Proluton 25mg, Progynon Dep. 10mg, Hyholin 20mg をそれぞれ先ず投与し, 更に6～7日後に Clomid 50～100mg を5日間投与する方法を用いた.

この方法により88例中24例に妊娠が認められた.

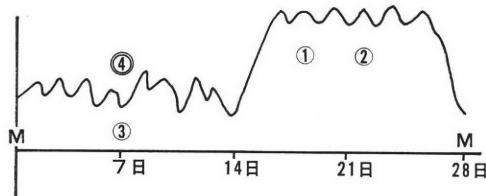
黄体機能改善機序は性周期全体とのかかわりの中にある. それは一時的排卵抑制およびその後投与する clomid によつて起こる Follicles の変化に起因するようと思われる.

(Jap. J. Fert. Ster. 27(3), 334-340, 1982)

はじめに

黄体機能不全症の治療に当り, 黄体細胞の Life Span はそのエネルギーを性周期のどの時点で獲得するであろうかという間に長年ついやして来た. そこでほぼ一定に動いている各個人の性周期を改めて考えて見るに, 黄体

期はほぼ一定であり, 排卵が運命づけられるであろう時点から推定排卵日まで (少量の薬剤で性周期変更が可能な時点から推定排卵日まで) は現在の知見を総合すればほぼ一定と考えてよいようである (図1). このことは顆粒膜細胞の Life Span ともかかわりあいがある可能性を示すものと考えて, 黄体機能不全症の治療の焦点 (起点) を月経第6～7日頃に置いておこなつた研究の報告である.



- ① 萩野説, 排卵期がおよそ次の月経の前12～16日にある。
- ② 黄体の完全成熟は8～9日 成書。
● 黄体の機能は卵胞成熟過程・排卵時におけるG. に規定される。 西村。
- ③ 卵胞成熟には6～7日を要す。 成書その他。
● M7日以内にE₂投与により排卵抑制が起る。 五十嵐。
● HCG 投与により排卵を抑制し得る。 峰屋。
● 1つの卵が成熟すると他の卵胞は閉鎖卵胞となる。
- ④ 卵胞成熟のスタートが決定されるであろう時期 (M. 7日頃) に重点。
= 卵胞及び黄体細胞の Life span とのかかわりにおいて =

図1 黄体機能不全の治療への着想

研究方法

黄体機能不全症の判定は BBT と内膜日付診によつた. 研究スケジュールは図2の如くである. 月経第6日

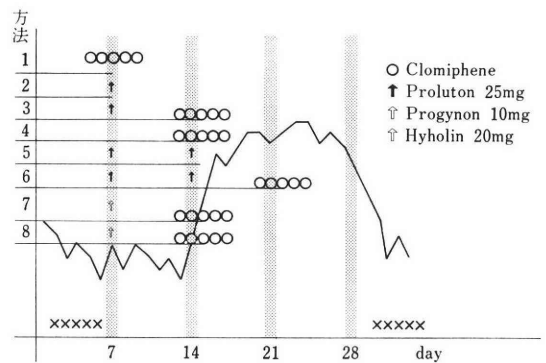


図2 Clomid 投与スケジュール

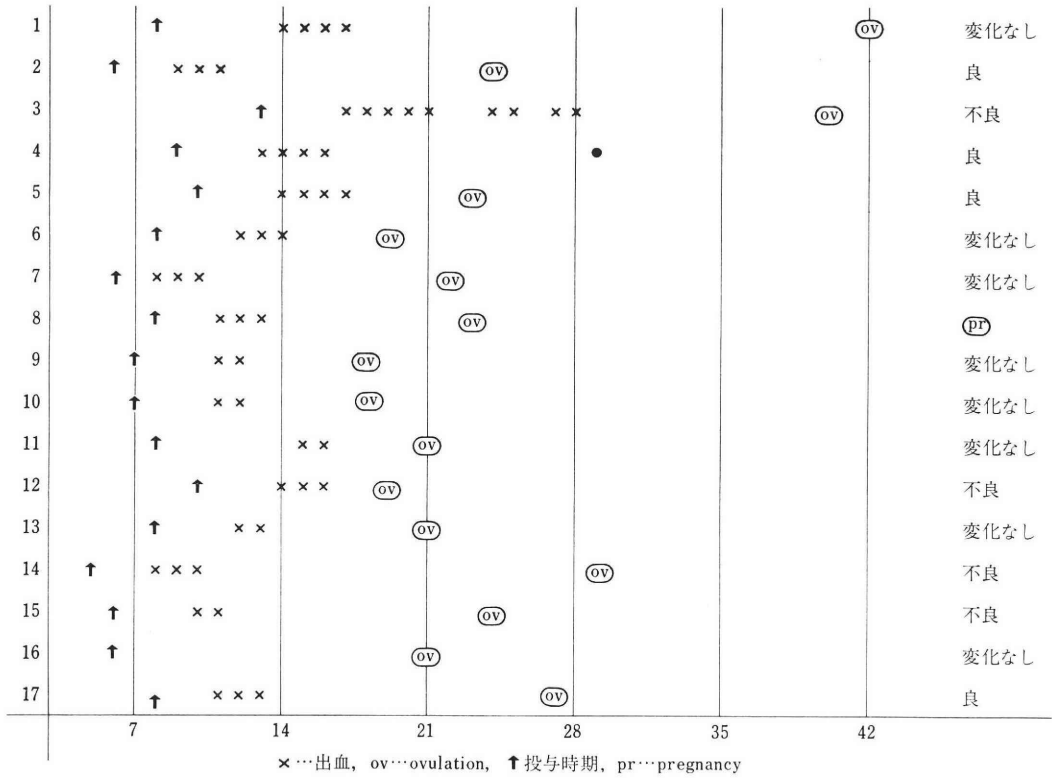


図 3 Prolutone 25mg

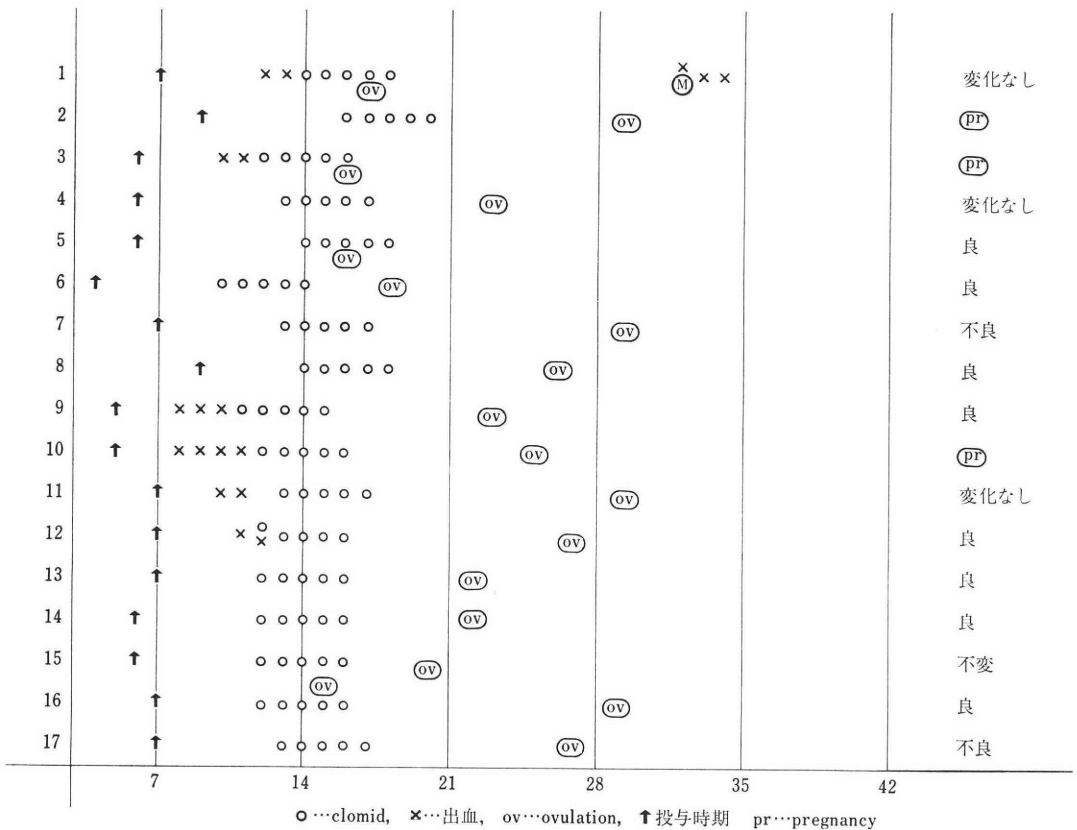


図 4 Prolutone 25mg + Clomid

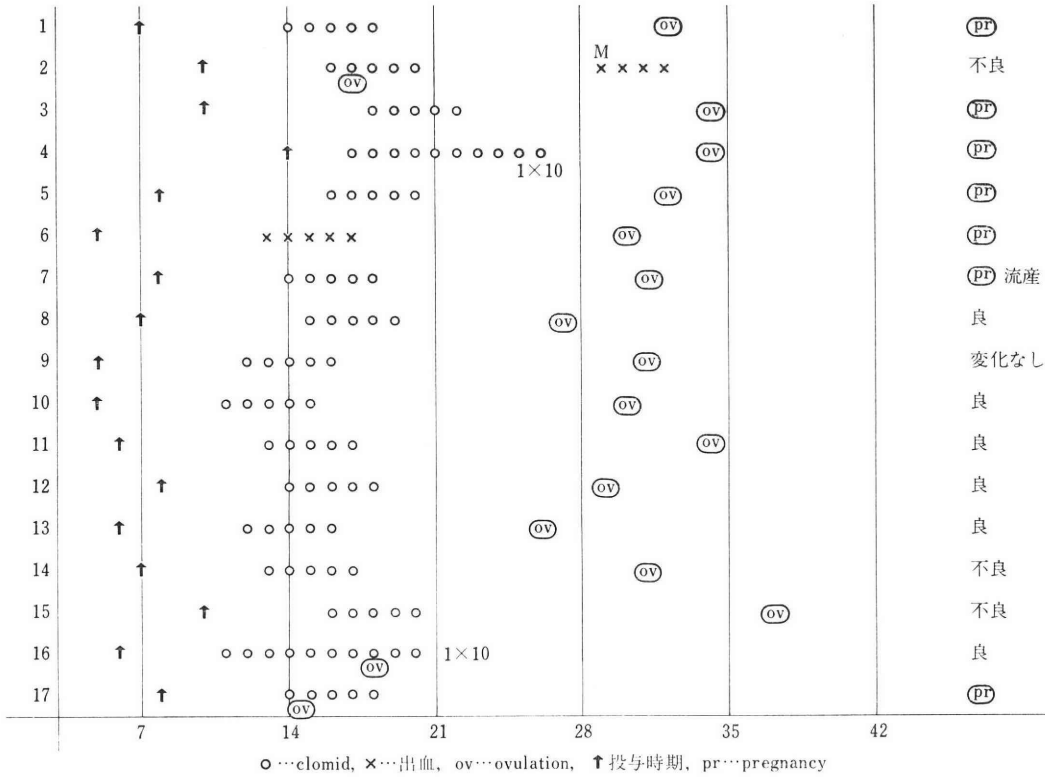


図 5 Progynon, Dep. 10mg+Clomid

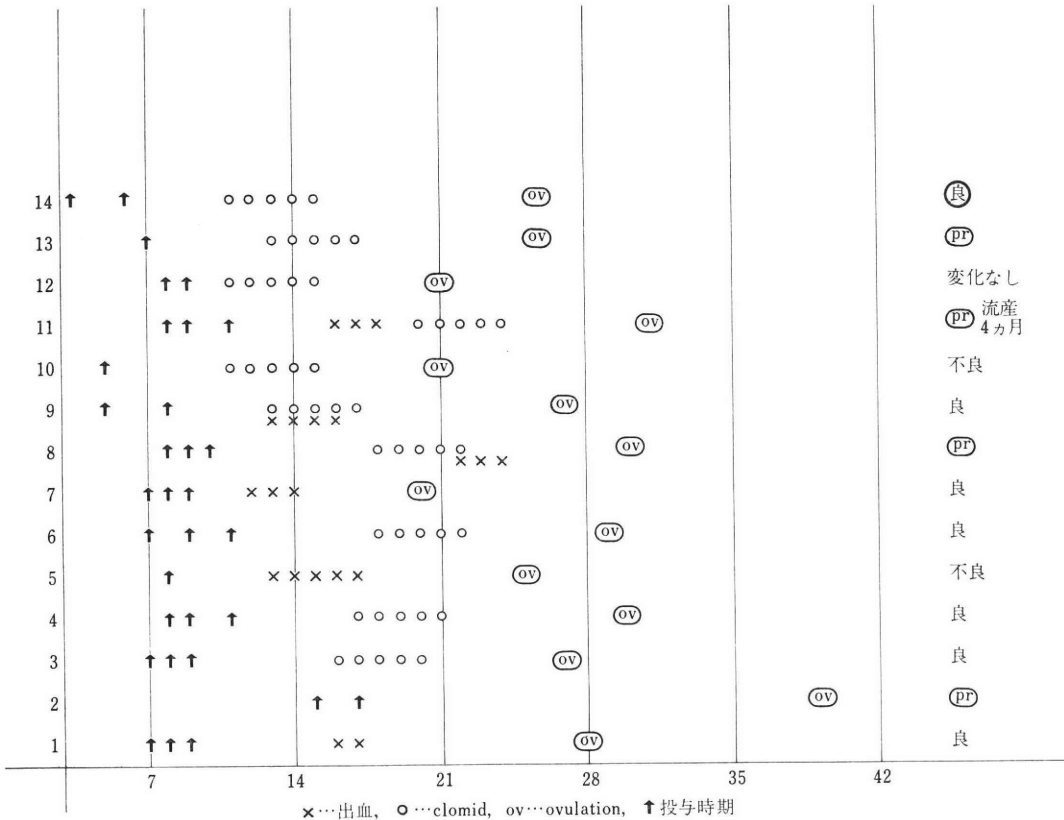


図 6 ハイホリン+clomid

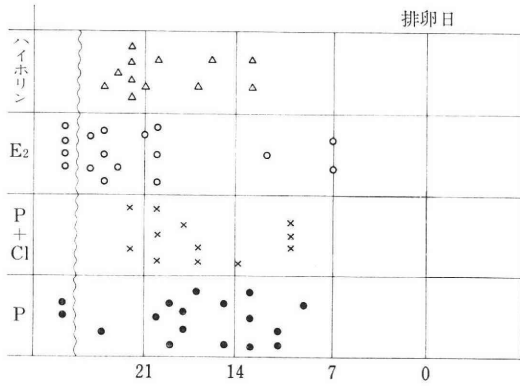


図 7 Prolutone, E₂ challenge と排卵日との関係

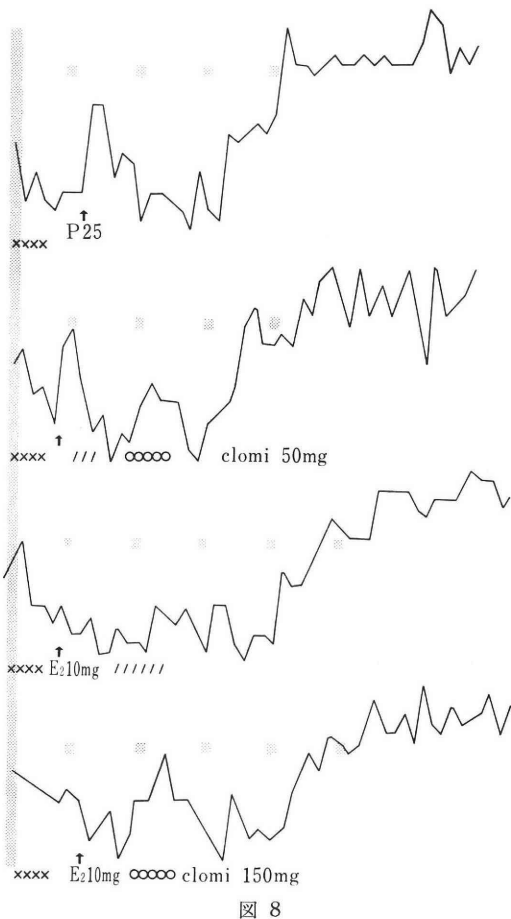


図 8

～7日を中心に Prolutone 25mg, Progynon Dep. 10mg, Hyholin 20mg, それぞれを先ず投与し, 更に6～7日後より Clomid 50mg～100mg を5日間投与する方法を中心に行なった。性周期と推定排卵日の動向を見るため, Prolutone 25mg, 又は Hyholin 20mg を7日お

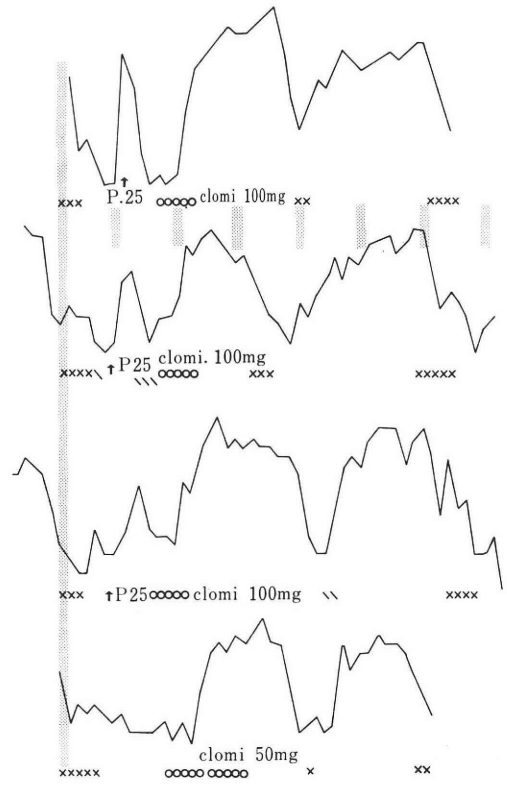


図 9

きに2回投与した後 Clomid 100mg を5日間投与する方法をも行なった。

成 績

Prolutone 25mg 投与群17例はほとんどの症例に消退出血を認めたが体温上昇作用は現われないものもあつた。排卵時期は約半数は一週間以上遅れた。BBT は多くのものが乱れた。

妊娠例は1例認めた(図3)。

実務に当たっている場合, 推定排卵日の予測があまりにもつきかねることは, 患者との治療関係がうまく行かないので, clomid を追加投与したものが図4である。排卵日がほぼ予測出来, BBT の改善例も明らかに増加した。

妊娠例も3例認められた。

Progynon Dep. 10mg と Clomid 投与例は図5の如くである。排卵日のバラツキは少ない。黄体機能改善例が多く, 妊娠例も7例認められた。消退出血を認める症例は少かつた。

Hyholin 20mg と Clomid 投与例は図6の如くである。排卵日のバラツキも少なく, 黄体機能の改善例も多

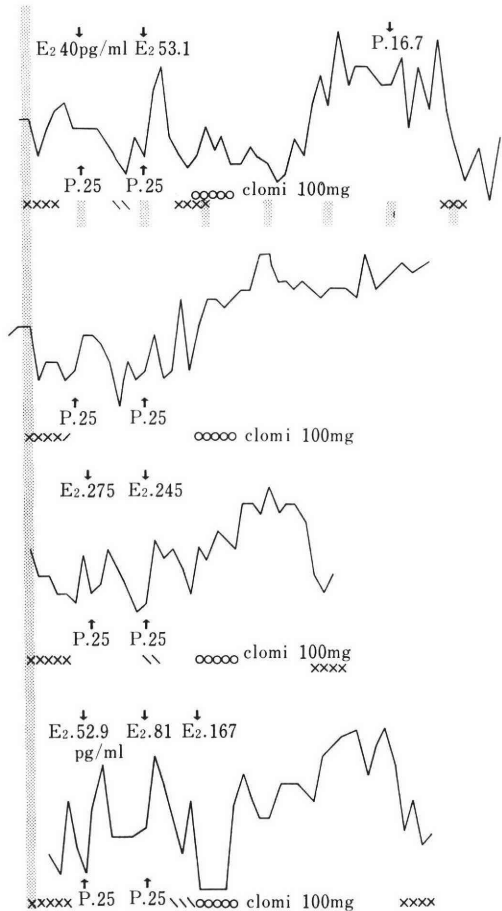


図 10 Progesterone 2回投与例

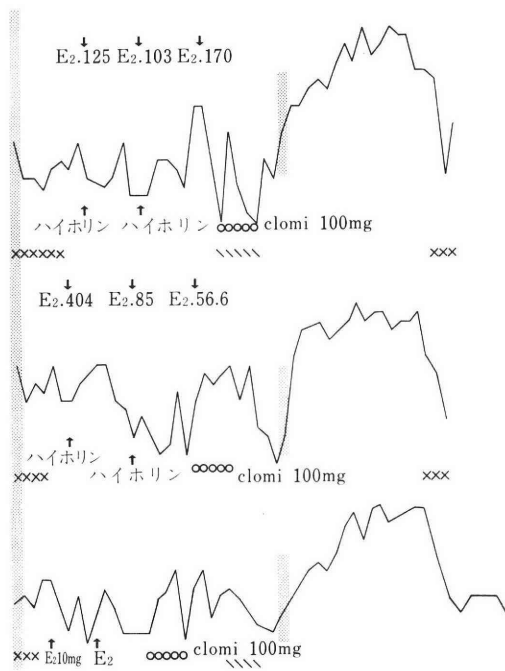


図 11 ハイホリン 2回投与例

い、妊娠例は 4 例認められた。この表では Hyholin 投与量が一定していないが、後ほど行なつた症例では 1 回投与の方が有効であつた。

これらの成績を推定排卵日を中心にしてまとめたものが図 7 である。Progynon, Hyholin 投与群と Prolutone 投与群とは少しその作用を異にしているようである。

実例を BBT と共に示すと、図 8, 9 である。

図 9 に現われている如く、あたかも黄体期に再排卵があつたとも思われる症例が 8 例あつた。また黄体期が 20 日前後の症例が 3 例認められた。

更に Progesterone などによる一時的排卵抑制と性周期の動向を見るため、2 回投与による BBT の変化を少数例であるが行なつた。

図 10, 11 に示す如くであるが、少数例であるためその動向はさだかでなかつた。

そこで昭和 40~56 年までの妊娠例で保存されていた BBT, 120 例中に現われた (治療例も含む) 推定排卵日を、次のようにして集計を行なつた。周期の 7 日 ± 1 日

の倍数群を A 群とし残りの 4 日の倍数群を B 群とした。それぞれ非妊周期と妊娠周期を区別した表が図 12 である。妊娠周期で A 群のものすなわち推定排卵日が月経第 7 日 ± 1 日, 月経第 14 日 ± 1 日, 月経第 21 日 ± 1 日, 月経第 28 日 ± 1 日, 月経第 35 日 ± 1 日に入るものが 64% であつた。

まとめ

今回著者が行なつた黄体機能不全症の治療方法は先にも述べたように一性周期全体とのかかわりの中で黄体機能変化していることを暗示する結果が得られた。集計出来た症例は 88 例で、その内妊娠例が 24 例認められた。図 2 に示した Clomid とのかかわりの 8 つの方法の中で現在効果的方法であると考えているのは 1, 4, 7, 8 の 4 つの方法である。黄体機能改善機序を考えるに当り、この研究で暗示される手がかりは図 2 に示した clomid の投与形式と、その前に投与した Progesterone, Estrogen の作用機序とのかかわり、及び図 9 の BBT の現われ方、そして表 6 に示すように妊娠例の排卵日が周期の 7 日 ± 1 日の倍数に 64% が入ること、図 12 の Hyholin 2 回投与例で同調例があることなどであろうか。これらのことのみで一つの考えを表現することは尚計であると思うが、あえて図 13, 14 を提示し諸家の叱責を願う次第である。図 13 は正常性周期のもので、先ず卵巣機

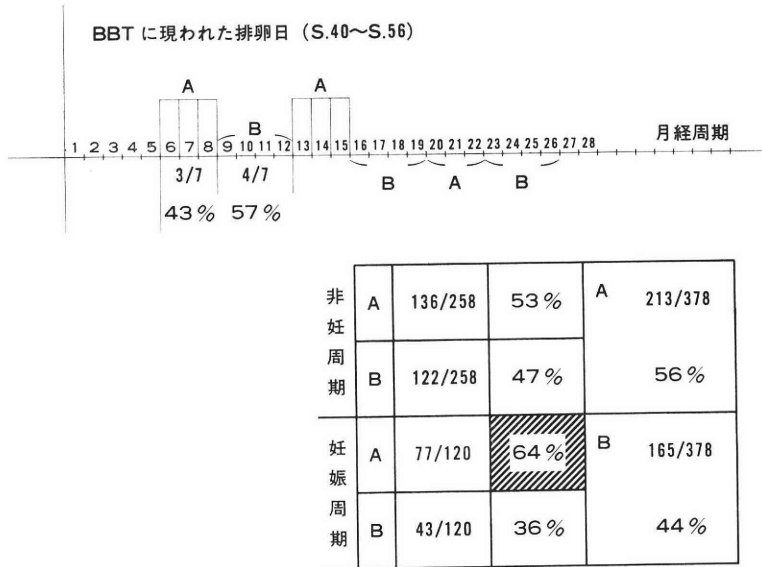


図 12 卵胞発育過程に周期性があるのだろうか

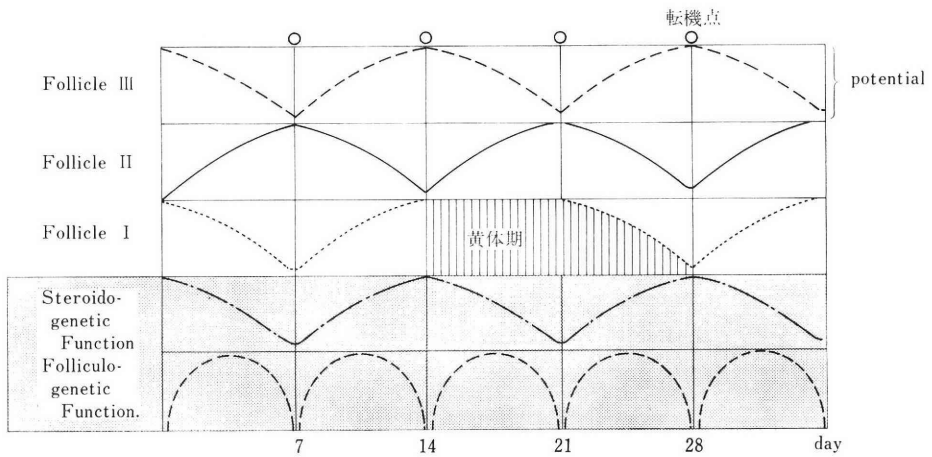


図 13 卵胞の発育動態 (考えて見たこと) (I)

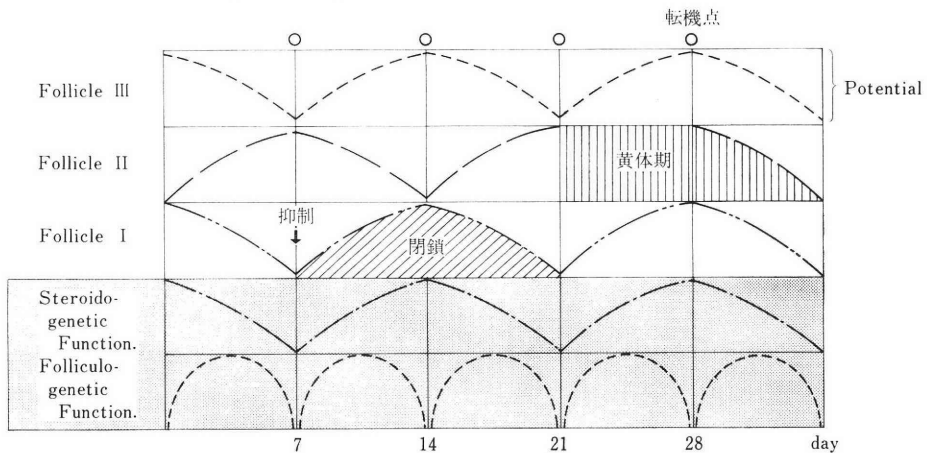


図 14 卵胞の発育動態 (考えて見たこと) (II)

能を Steroidogenetic Function と Folliculogenetic Function に分けそれぞれ機能に周期性を認め前者を2週間、後者を1週間とした。性周期の始めに3ヶの成熟可能な Follicle があり、その Potential が2週間の周期で変動している。性周期そのものが1週間の周期で転機点を持つている。この転機点で Potential が最大か最低になつたとき卵胞がその時点で変化すると仮定すると図13が生れる。図14のように7日目に抑制剤を投与すれば Follicle I は運命をかえて次の転機点で Follicle II に排卵の運命が移る。この間に3ヶの卵胞がお互に作用して黄体機能をよくする。あたかも三相交流(電気)の位相差の違いによつて力を出すごとくである。

文 献

- 1) 五十嵐正雄：内分泌婦人科学，南山堂，275，1978.
- 2) 西村敏雄，東條伸平，編：産科婦人科診療の指針1，S. 46.
- 3) 荻野瑠美，青野敏博，他：Estrogen の迅速 radioimmunoassay による HMG-HCG 療法の monitoring，日産婦誌，32：153，1980.
- 4) 蜂屋祥一，他：卵胞初期および中期における HCG 投与のヒト性周期に与える影響，日不妊誌，25：109，1980.

- 5) 岩崎克彦：ヒト卵の体外受精に関する研究，日不妊誌，24：65，1979.
- 6) Tamaya, T. and Urabe, H.: Clomiphene citrate during the luteal phase in the management of infertility with luteal phase defects. 日不妊誌，2：53，1981.

Management of infertility with luteal phase defects

Hiroshi Urabe

Japan Baptist Hospital

The method of administering each of Prolutone 25 mg, Progynon Dep. 10 mg, Hyholin 20 mg at the 6th and 7th day of menstruation was used at first, then 6 to 7 days later administered Clomid 50 mg-100 mg for 5 days. This method resulted in 24 pregnancies out of 88 cases. This seems to be the result of change in follicles due to the administration of Clomid following the temporal suppression of ovulation; since the mechanism of improving luteal function is related to the sexual cycle as a whole.

(受付：昭和56年12月2日)

黄体機能不全症に対するクロミフェン 黄体期投与療法

Clomiphene Treatment during the Luteal Phase in
Infertile Women with Luteal Phase Defect

京都府立医科大学産婦人科学教室

大野 洋 介 玉 舎 輝 彦 岡 田 弘 二
Yohsuke OHNO Teruhiko TAMAYA Hiroji OKADA

Department of Obstetrics and Gynecology, Kyoto
Prefectural University of Medicine

日本バプテスト病院産婦人科

ト 部 宏
Hiroshi URABE

Department of Obstetrics and Gynecology,
Japan Baptist Hospital

子宮内膜日付診 (EB) による黄体機能不全症患者27例に黄体期クロミフェン療法をのべ44周期施行した。クロミフェン50mg を基礎体温上の推定排卵日より1~3日後から5日間経口投与した。投与後 EB による改善率は約40%で、4例に妊娠の成立をみた。基礎体温上でも多くの投与周期に高温相日数の延長、高温相の上昇などの改善が認められた。

高温相中期の内分泌検査にて投与周期では血中 FSH, LH 値が上昇していたが、血中プロゲステロン、エストラジオール値については有意の差を認めなかつた。同時に測定した血中プロラクチン、セックスホルモンバインディンググロブリン値もクロミフェンの投与にり影響を受けなかつた。クロミフェン黄体期投与療法の効果発現機構は複雑であるが、少なくとも中枢性に作用しゴナドトロピンの分泌を増加させることが関係していると考えられた。

(*Japan. J. Fert. Ster.* 27(3), 341-346, 1982)

緒 言

黄体機能不全症に対する治療は現在黄体期 hCG 投与法が主に行なわれており、また卵泡期の FSH 分泌が黄体機能に影響している可能性から卵泡期クロミフェン投与法が試みられている¹⁾。さらに黄体機能不全の診断は現在確立されておらず、基礎体温 (BBT)、子宮内膜日付診 (EB) および血中プロゲステロン (P) 値がその診断に用いられている。BBT 上では高温相の持続日数および低温相との温度差、高温相における BBT パターンなどから診断されている。EB は黄体機能不全の診断には欠くことのできないものとして現在最も信頼性の高い

ものと考えられている。諸家の報告によつても子宮内膜日付診の重要性を唱えるものが多く、BBT や血中 P 値による本症の診断は困難であるという意見やデータも多い²⁾³⁾。今回検討した症例はすべて EB により、BBT 上昇第7日目の子宮内膜につき日付診のずれが2周期以上にわたつて3日以上であるため黄体機能不全症と診断されたもので、その効果判定も EB によるものである。

卵巢黄体機能に限つてみると卵巢の黄体維持にはエストロゲンが必要であると考えられ⁴⁾すでに著者らは、うさぎ黄体機能とエストロゲンとの関係についてエストロゲンレセプターの面より検討し、黄体維持とエストロゲンとが密接に関係していることを報告した⁵⁾。さらにク

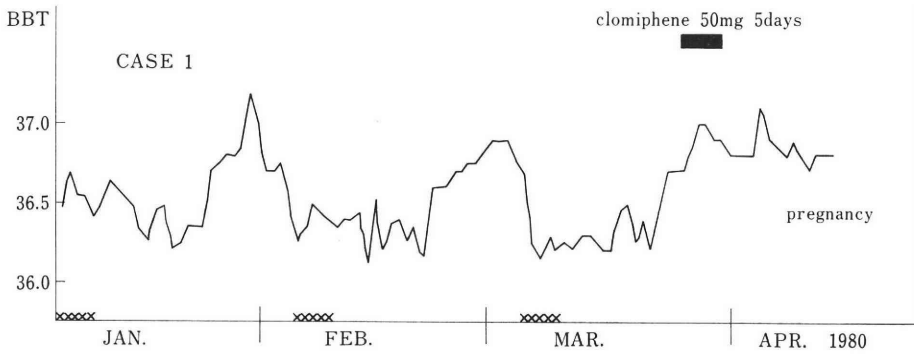


図 1

ロミフェンのうさぎ黄体機能におよぼす影響について hCG 偽妊娠うさぎにクロミフェンをヒト常用量投与し、黄体維持に上位中枢を介して促進的に作用する可能性を報告した⁹⁾。

そこで今回本学不妊外来を受診した黄体機能不全症例に黄体期にクロミフェンを投与し有効な成績を得たので報告し、さらにその内分泌動態についても検索した。

対象ならびに方法

投与対象は本学不妊外来を受診した不妊症患者のうちで EB により 3 日以上のおずれが 2 周期以上に認められた症例の中で、他の器質的および免疫学的不妊因子の除外された黄体機能不全症患者を対象とした。

投与法はクロミフェン 50mg を BBT 上の推定排卵日 (thermal drop) より 1~3 日後から連日 5 日間経口投与した。子宮内膜採取および採血は、BBT 上の推定排卵日から 7~10 日目の黄体期に行った。

血中 LH, FSH, P, エストラジオール (E₂) 値は、CIS 社製 RIA キットにより測定した。

血中ステロイドホルモン結合グロブリン (SHBG) の測定には、患者血清を TEG buffer (10mM Tris-HCl, 1.5mM EDTA, 10% glycerol, pH 7.4) にて 10 倍に希釈し 0.5% Dextran Coated Charcoal (DCC, 0.5% Norit A, 0.05% Dextran T 70 in TEG buffer) を等量加え、攪拌後内因性のステロイドを除去 (20°C, 1 時間) 後 3,000rpm で 10 分間遠沈、上清 0.5ml を 1 nM~6 nM の [³H]-dihydrotestosterone (specific activity 40Ci/mmol) と 100 倍量の非放射性的 dihydrotestosterone の存在、非存在下に 4°C, 2 時間インキュベートし、0.3% DCC 0.5ml を加え攪拌し、10 分間放置後 3,000rpm で 10 分間遠沈後上清 0.2ml にメタノール 2 ml を加え攪拌、トルエンシンチレーター 10 ml (toluene 2 L, DPO 8 g, POPOP 200mg) を加えその放射能を測定 Scatchard⁷⁾ 解析により最大結合部位数を求め血清 1 ml あた

りの [³H]-dihydrotestosterone の最大結合容量として示した。

成 績

1. 臨床成績

クロミフェンを黄体期に投与した症例は 27 例で、投与のべ周期は 44 周期である。うち妊娠例は 4 例、投与後 EB がなされた 18 例中 EB の改善例は 7 例で約 40% の改善率を示した。もちろん BBT 上でも多くの症例に高温相の持続日数の延長、高温相の上昇などの改善が認められた。妊娠例 4 例のうち 3 例は投与第 1 周期に、残り 1 例は投与第 3 周期に妊娠に至り、各々正常分娩し、児に異常を認めていない。

図 1 は投与第 1 周期に妊娠に至った症例 1 の BBT で、本症例は不妊期間 2 年、不妊一般検査において内膜日付診および BBT により黄体機能不全症と診断され、卵胞期クロミフェン投与、黄体期 hCG 投与を受けたが妊娠成立せず、黄体期クロミフェン単独療法の第 1 周期に妊娠成立した。妊娠経過に異常なく、昭和 55 年 12 月 21 日、3850gr の男児を正常分娩した。現在のところ児には異常を認めていない。

図 2 は投与第 3 周期に妊娠に至った症例 2 の BBT で、本症例は不妊期間 2 年、不妊一般検査において内膜日付診より黄体機能不全症と診断され、黄体期クロミフェン療法を開始、投与第 3 周期に妊娠が成立した。妊娠経過に異常なく、昭和 56 年 2 月 22 日、3,300gr の女児を正常分娩した。

図 3 は黄体期クロミフェン療法により EB の改善した症例 3 の BBT を示し、高温相の延長が投与周期に認められた。本症例の黄体期クロミフェン投与周期の次の周期に卵胞期の短縮が認められた。このように本療法の副作用として投与周期の次の周期に卵胞期の短縮が認められ、投与前の平均低温相日数より 4 日以上短縮した症例は 27 例中 10 例 (37%) と 1/3 以上に卵胞期短縮を認めた。

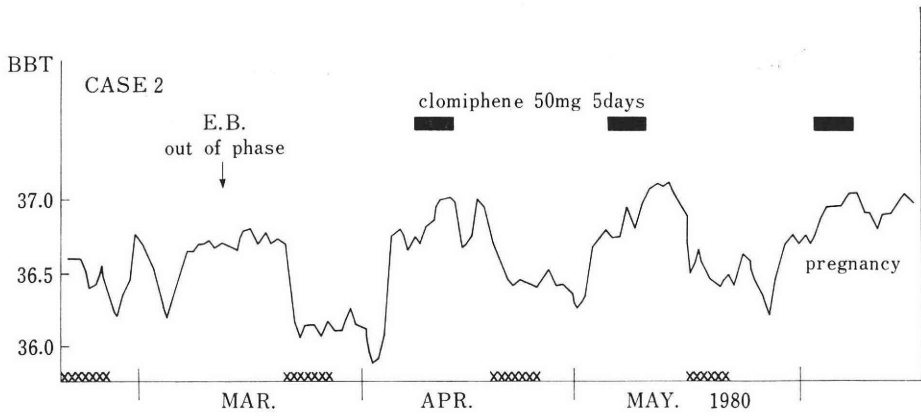


図 2

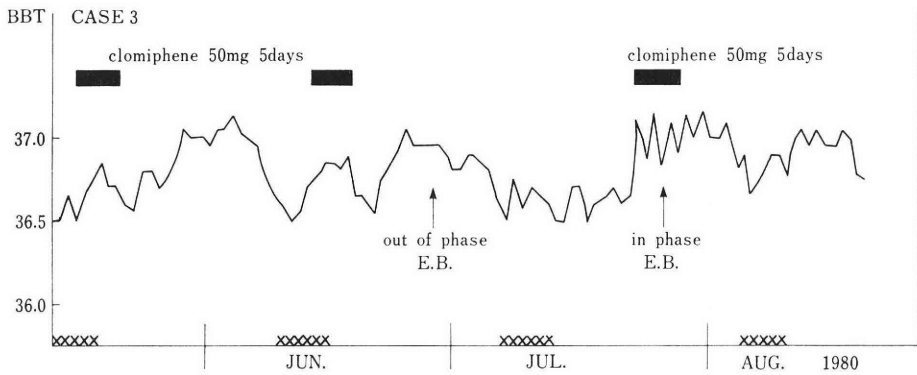


図 3

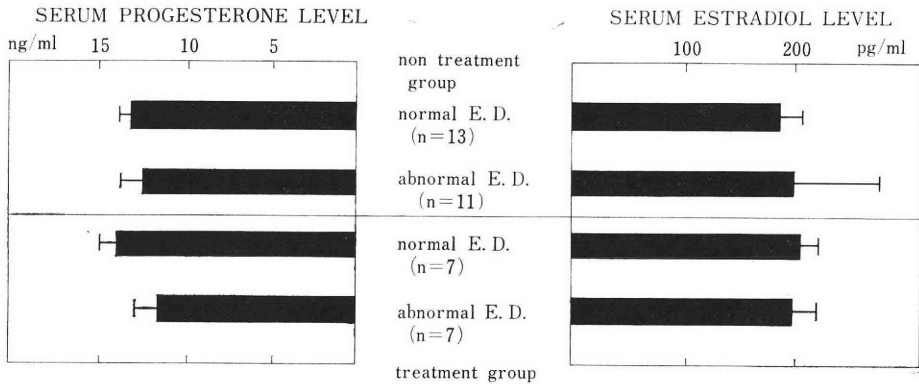


図 4 Effect of clomiphene citrate treatment during luteal phase on serum progesterone and estradiol levels. Endometrial biopsy and endocrinologically examinations were investigated at mid luteal phase (7-10th day after ovulation). E. D. : Endometrial dating, this abbreviation was used in figures. Each value was represented mean \pm SEM.

なお治療効果と副作用出現には相関を認めていない。

2. 内分泌成績

血中P値, E₂値をEBの良否によつてそれぞれクロミ

フェン投与群と非投与群について比較した(図4). 血中P値については非投与群で正常EB群12.9 \pm 1.8ng/ml (mean \pm SDM), 異常EB群12.3 \pm 3.8ng/ml, 投与群

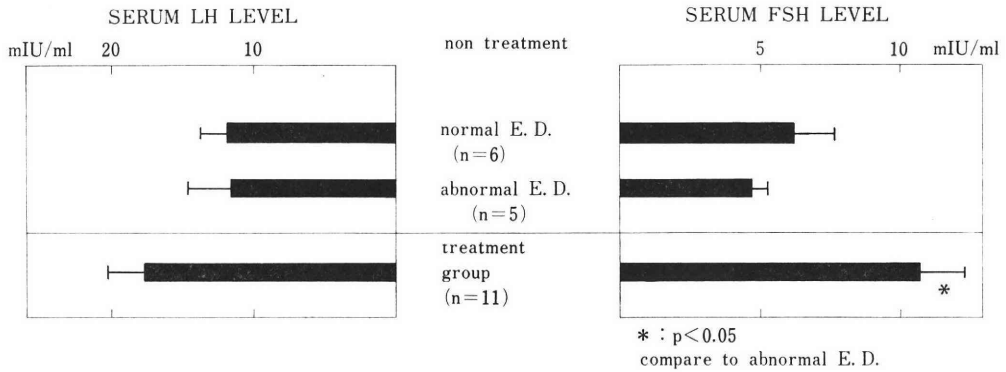


図 5

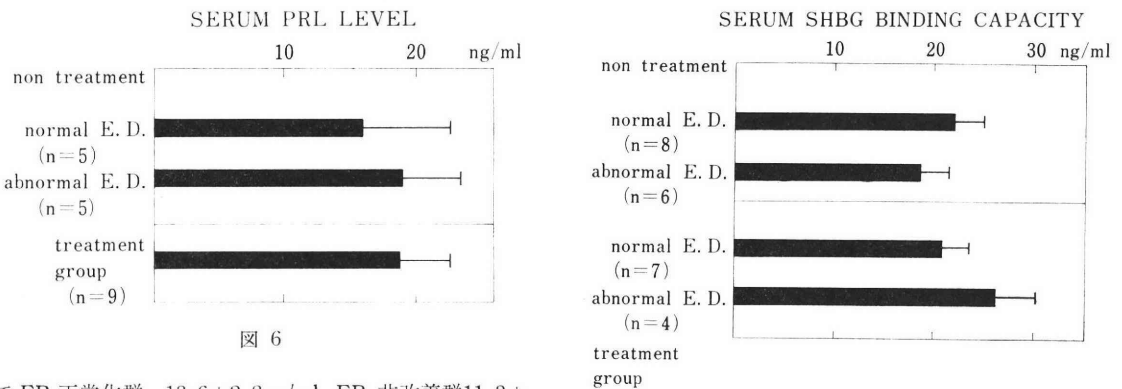


図 6

図 7

で EB 正常化群, $13.6 \pm 2.8 \text{ ng/ml}$, EB 非改善群 $11.3 \pm 4.2 \text{ ng/ml}$, と一定の傾向を認めなかつた. 血中 E_2 値も正常 EB 群 $194 \pm 56 \text{ pg/ml}$, 異常 EB 群 $205 \pm 159 \text{ pg/ml}$, 投与群で EB 正常化群 $211 \pm 49 \text{ pg/ml}$, EB 非改善群 $201 \pm 48 \text{ pg/ml}$ と血中 P 値と同様全群においてほぼ同じ値を示したが, 非投与群の EB 異常群での E_2 値のばらつき [$66 \sim 552 \text{ pg/ml}$] が著明であつた.

次に血中 LH, FSH 値をクロミフェン非投与群および投与群について検討した(図5). なお正常 EB 婦人の本キットにおける LH, FSH 値は各々 $11.9 \pm 3.8 \text{ mIU/ml}$, $6.2 \pm 3.0 \text{ mIU/ml}$ ($n = 6$)であつた. クロミフェン投与により血中 FSH 値は有意に増加し ($P < 0.05$), 一方 LH 値も増加傾向を示した. クロミフェンは抗エストロゲン剤として中枢, 主に視床下部に作用しゴナドトロピンの放出を促進する⁸⁾ためと考えられる.

プロラクチン (PRL) もゴナドトロピンと同様にエストロゲンにより調節されると考えられており⁹⁾, 血中 PRL 値についても検討した(図6). 血中 PRL はクロミフェン投与においても影響を受けなかつた.

最近血中 SHBG はエストロゲンやその他のホルモンによりコントロールされていることが報告され¹⁰⁾, 抗エストロゲン剤であるクロミフェンが SHBG に影響を与

える可能性もある. SHBG 測定法は種々報告されているが¹¹⁾¹²⁾¹³⁾, ここでは前述の DCC による簡易測定法を用い測定した. 本測定法による Scatchard 解析から解離定数 (Kd) は $3.9 \times 10^{-9} \text{ M}$ とほぼ一定であつた. 本測定法による正常男子の SHBG 結合量は $10.4 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$ と正常月経周期婦人の $22.5 \pm 2.9 \text{ ng/ml}$ に比し明らかに低値を示し, 諸家の報告に一致した¹¹⁾¹²⁾¹³⁾. クロミフェン投与による SHBG 量はほとんど非投与群と差は認められず, また EB の正常化とも関係がなかつた(図7).

考 案

クロミフェンは非ステロイド系合成薬剤で現在排卵誘発剤として最も多く用いられている. その作用機序はクロミフェンがエストロゲンレセプターに強い親和性をもつが, その生物学的効果のほとんどないことから抗エストロゲン剤として主に視床下部下垂体系に作用し, ゴナドトロピンの放出を促進することによると考えられている⁸⁾. クロミフェンが黄体機能不全症の治療に用いられているのも, これら内因性ゴナドトロピンの増加を目的としたものである. しかしクロミフェンの抗エストロゲ

ン効果は中枢のみならず末梢においても発揮される。クロミフェン投与周期での頸管粘液減少はしばしば経験することであり、もちろんエストロゲンレセプターの存在する卵巣および内膜に対しても抗エストロゲン効果を発揮しているものと考えられる。エストロゲンは黄体機能維持に必要であり、卵巣に対してクロミフェンが抗エストロゲン効果を発揮することは逆に黄体機能不全をさらに悪化させるようにも考えられる。事実今回の検討によつても血中ゴナドトロピンの増加にもかかわらず、血中のステロイドホルモンが影響を受けていないのはこの理由であらうと考えられる。しかしこのことは黄体機能不全症の病因が卵巣自身か、子宮のステロイド反応性によるのかによつて異なり、したがつて黄体機能不全の診断を子宮内膜日付診、すなわちこれらホルモンの最終的作用部位を基準にすることが必要となる。

血中プロゲステロン値と内膜日付診の良否には相関を認めないという報告が多い²³⁾ことも内膜のプロゲステロンの反応性の違いによることも考えられ、さらに可能であれば子宮内膜のエストロゲンやプロゲステロンレセプター (PR) を測定するのがよいという報告もある¹⁴⁾。PR はエストロゲンにより合成される¹⁵⁾ことから子宮内膜の反応性はプロゲステロンよりむしろエストロゲンによるものと考えられる。さらにエストロゲンの PR 合成能の感受性の違いにもある。このようにエストロゲンは卵巣や子宮内膜に対して重要な役割を演じている。エストロゲンは血中では蛋白と結合した型で存在するものと結合しない状態で存在するものがあり、生物学的効果を発揮するのは非結合型であるとされている。結合型は血清中の SHBG と結合し¹⁶⁾、SHBG 量はエストロゲンの生物学的効果に影響を与えている。SHBG は肝で合成されエストロゲンにより合成が促進され、アンドロゲンはこれに拮抗的に作用すると考えられている¹²⁾。抗エストロゲン剤であるクロミフェン投与 (おそらく肝にも作用すると考えられる) によつて SHBG 値に変化を示さなかつたのはホメオスタシスが働いたためと考えられる。

このようにクロミフェンの黄体期投与によつて血中のゴナドトロピンは増加するが性ステロイド、PRL や SHBG には影響を与えていない。しかしながら投与例において約40%に子宮内膜の改善を認め、多くの症例で BBT 上の改善を認めた。このことは内因性のゴナドトロピンの増加による卵巣への影響とクロミフェンの卵巣への直接作用とで黄体機能に作用し、また一方ではクロミフェンが直接子宮にも作用しエストロゲンレセプターを調節している可能性が考えられる。これらのことすべてが調和し、黄体機能不全患者にクロミフェンがうまく

作用した場合には子宮内膜が改善されると考えられる。黄体機能不全症は性ステロイドレベルの低下によるものもあるが、大部分がステロイド、ステロイドレセプター、効果発現という3つの機構の不調和であると考えられる。

従来黄体機能不全症といえばプロゲステロンという程両者はきつてもきれない関係のように論じられてきたが、プロゲステロンを投与しても作用部位である PR が少ないと作用しない、そしてこの PR 産生にはエストロゲンが必要である。したがつてクロミフェンのように中枢に作用し内因性の生理的なゴナドトロピンの分泌を促進するものが良好な結果をもたらすと思われる。

一方クロミフェンの黄体期投与による催奇性の問題については黄体期のごく初期の着床前の投与であるので影響は少ないと考えられるが、hCG やプロゲステロン投与無効例に使用することがよいと考えられる。

文 献

- 1) Dodson, K. S., Macnaughton, M. C. and Co-utis, J. S. T.: Infertility in woman with apparently ovulatory cycles. II. The effects of clomiphene treatment on the profiles of gonadotropin and sex steroid hormones in peripheral plasma. *Brit. J. Gynecol.*, 82 : 625, 1975.
- 2) Jones, G. S.: The luteal phase defect. *Fertil. Steril.*, 27 : 351, 1976.
- 3) Annos, T., Thompson, I. E. and Taymor, M. L.: Luteal phase deficiency and infertility: Difficulties encountered in diagnosis and treatment. *Obstet. Gynecol.*, 55 : 705, 1980.
- 4) Miller, J. B. and Keyes, P. L.: Progesterone synthesis in developing rabbit corpora lutea in absence of follicular estrogens. *Endocrinology*, 97 : 83, 1975.
- 5) 玉舎輝彦, 大野洋介, 二岡清昇, 古田典夫, 本山敏彦, 岡田弘二: うさぎにおける黄体機能と卵巣の Estrogen Receptor との関係. *日本不妊会誌*, 23 : 135, 1978.
- 6) Tamaya, T., Ohno, Y., Furuta, N., Boku, S., Ide, N., Tsurusaki, T. and Okada, H.: Effect of clomiphene citrate on luteal function in rabbit. *J. Kyoto Pref. Univ. Med.*, 87 : 923, 1978.
- 7) Scatchard, G.: The attraction of proteins for molecules and ions. *N. Y. Acad. Sci.*, 51 : 660, 1949.
- 8) Vandenberg, G. and Yen, S. S. C.: Effect of antiestrogenic action of clomiphene during the menstruation cycle. Evidence for a change in the feed back sensitivity. *J. Clin Endocrinol. Metab.*, 37 : 356, 1973.
- 9) Haug, E. and Gautvik, K. M.: Effect of sex

- steroids on prolactin secreting rat pituitary cells in culture. *Endocrinology*, 99 : 1482, 1976.
- 10) Burke, C. W. and Anderson, D. C. : Sex-hormone-binding globulin is an oestrogen amplifier. *Nature*, 240 : 38, 1972.
 - 11) Rosner, W. : A simplified method for the quantitative determination of testosterone-estradiol-binding globulin activity in human plasma. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, 34 : 983, 1972.
 - 12) Corvol, P. L., Chrambach, A., Rodbord, D. and Bardin, C. W. : Physical properties and binding capacity of testosterone estradiol binding globulin in human plasma, determined by polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 246 : 3435, 1971.
 - 13) Anderson, D. C. : Sex-hormone-binding globulin. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 3 : 69, 1974.
 - 14) Rosenfeld, D. L. and Garcia, C. R. : A comparison of endometrial histology with simultaneous plasma progesterone determinations in infertile women. *Fertil. Steril.*, 27 : 1256, 1976.
 - 15) 玉舎輝彦 : Progesterone receptor に関する研究一特に estrogen priming の関連性について一, *日産婦誌*, 27 : 439, 1975.
 - 16) Rosenbaum, W., Christy, N. P. and Kelly, W. G. : Electrophoretic evidence for the presence of an estrogen-binding β -globulin in human plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 26 : 1399, 1966.
 - 17) Vermeulen, A., Verdock, L., Van-der Straeteu, M. and Orié, N. : Capacity of the testosterone-binding globulin in human plasma and influence of specific binding of testosterone on its metabolic clearance rate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 29 : 1470, 1969.

Clomiphene treatment during the luteal phase in infertile women with luteal phase defect

Yohsuke Ohno, Teruhiko Tamaya,
Hiroji Okada

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyoto Prefectural University of Medicine

Hiroshi Urabe

Department of Obstetrics and Gynecology,
Japan Baptist Hospital

Forty four cycles of twenty seven infertile women with luteal phase defect diagnosed by endometrial dating in the mid-luteal phase as ascertained by basal body temperature were treated with clomiphene citrate during luteal phase. Clomiphene citrate, 50 mg daily, was given for 5 days beginning on the 1st to 3rd day after the ovulatory day (thermal drop of the basal body temperature). In treated cycles, the endometrial dating became in phase in about 40% of patients (7/18) and four patients had pregnancy. Serum FSH and LH levels at mid luteal phase were increased but serum progesterone and estradiol levels were not altered. Clomiphene treatment did not affect serum prolactin and sex hormone binding globulin levels.

There was a suggestion that clomiphene stimulates the hypothalamopituitary system and increases gonadotrophin secretion, resulting in normalization of the luteal phase defect in some cases.

(受付 : 昭和57年2月4日特掲)

流産・子宮外妊娠における細胞診の応用

Cytologic Trial for Diagnosis of Abortion and Ectopic Pregnancy

東京女子医科大学第2病院産婦人科

和田 順子 松村 章子 高橋 文子
Yoriko WADA Ayako MATSUMURA Fumiko TAKAHASHI
井口 登美子 河西 洋 高梨 安弘
Tomiko IGUCHI Hiroshi KASAI Yasuhiro TAKANASHI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tokyo Women's Medical College 2nd Hospital

妊娠の継続が不可能なとき、子宮内清掃術を行うが、その内容物に胎児や絨毛組織が確認できない場合をしばしば経験する。この時、組織学的検査が必要であるが、著者らは同時に細胞診標本を作製し、絨毛細胞の有無を検索し、組織診—細胞診—臨床経過の相関関係を検討した。

研究対象40例において、最終診断は、流産31例、子宮外妊娠5例、非妊娠4例であった。組織診は流産で、細胞診に絨毛をみとめたものが24例あった。組織診は脱落膜・増殖期内膜が16例で、細胞診に絨毛をみとめないものは15例であった。すなわち細胞診は組織診に対し97.5%の相関を示した。細胞診に絨毛をみとめない場合、6例が流産、5例が子宮外妊娠、4例が非妊娠であった。

以上の結果から、簡単に迅速に結果の得られる細胞診は、流産や子宮外妊娠における有力な補助診断法であることが判明した。
(*Jap. J. Fert. Ster.* 27(3), 347-350, 1982)

I. 緒 言

妊娠初期に出血や腹痛をきたして妊娠の正常な継続が期待できない場合、子宮内清掃術をおこなうが、その摘出標本を観察して、肉眼上、絨毛組織や胎児がはっきり認められない症例をときどき経験する。

このような例の時、流産後か子宮外妊娠かの診断に迷うものである。もちろん摘出物の組織学的検査をおこなうが、著者らは組織標本採取と同時に細胞診標本を作製し、緊急時の鑑別診断の補助としての細胞診の応用を検討した。

II. 研究対象ならびに方法

東京女子医大第2病院産婦人科を受診中の妊婦で、出血や腹痛を訴えて入院・加療中、その妊娠の継続ができないものに対して子宮内清掃術をおこなうが、その際、子宮内容物に肉眼的に絨毛組織や胎児を認めないもの、

または、はっきり確認できないもの40症例を対象とした。

方法は子宮内容物を血液や液体成分と分けて、肉眼的にまた拡大鏡をもちいて観察してから、4~8枚の捺印細胞診標本を作製した。この時 *flosted glass* (全面および部分フロスト) を使用した。また一部の症例では、検体を固定液に入れる前に約20mlの生食水に入れ、軽く振とうし、そこからふたたび検体を取り出して、フォルマリン固定液に入れて組織診に供し、生食水は遠心沈澱法によって細胞成分を分離して細胞診標本を作製した。アルコール固定後、パパニコロウ染色をほどこし、絨毛細胞の有無について検討した。

III. 結 果

研究対象の年齢、妊娠の診断法やその時期、子宮内清掃術施行時の臨床診断、細胞診における絨毛細胞の有無、組織診断、臨床経過は表1, 2, 3, 4の如くであ

表 1

No	年令	妊娠診断法・時期	臨床診断	細胞診絨毛	組織診	臨床経過
1	28	BBT 4W1 7 ^W 3 ^D	不全流産	(+)	流産	
2	27	G(+) 11 6	"	"	"	
3	28	BBT 18日 ¹ 4 4 内診	" ? 卵巣機能不全?	(-)	増殖期内膜	
4	45	G(+) 11 6	不全流産	"	脱落膜 (C A-S)	異常なし(16ヶ月)
5	38	" 6 5	外妊	"	(")	左卵管妊娠
6	43	" "	不全流産	(+)	流産	
7	37	他医でD-C 5 1 外妊? 絨毛遺残?	"	(-)	脱落膜 (C A-S)	左卵管妊娠
8	25	G(+) 6 6	不全流産	(+)	流産	
9	23	" 7 0	"	(-)	脱落膜	異常なし(16ヶ月)
10	30	" 9 2	"	(+)	流産	

表 2

No	年令	妊娠診断法・時期	臨床診断	細胞診絨毛	組織診	臨床経過
11	22	G(+) 11 ^W 2 ^D	不全流産	(+)	脱落膜	異常なし(16ヶ月)
12	30	" 11 4	"	"	流産	
13	23	" 10 5	"	"	"	
14	42	" 6 6	外妊?	(-)	脱落膜 (C A-S)	左卵管妊娠
15	43	" 8 5	不全流産	"	増殖期内膜	
16	29	" 11 5	進行流産	(+)	流産	
17	25	" 10 2	"	(-)	脱落膜	異常なし(14ヶ月)
18	34	" 9 5	不全流産	(+)	流産	
19	27	IUD(+)	"	"	"	
20	35	G(+) 8 0	進行流産	"	"	

表 3

No	年令	妊娠診断法・時期	臨床診断	細胞診絨毛	組織診	臨床経過
21	36	G(+) 9 ^W 4 ^D	不全流産	(+)	流産	
22	34	" 10 1	"	"	"	
23	39	" 6 5	子宮筋腫	(-)	脱落膜	異常なし(13ヶ月)
24	26	BBT 22日 ¹ 5 5 内診	不全流産	"	(C A-S)	" (12ヶ月)
25	25	G(+) 8 5	"	(+)	流産	
26	27	" 7 3	"	(-)	脱落膜	" (15ヶ月)
27	25	" 5 5	"	(+)	流産	
28	24	" 6 4	"	(-)	増殖期内膜	
29	26	" 11 1	"	(+)	流産	
30	27	" 8 6	"	"	"	

る。すなわち患者年齢は20歳未満 0名, 21~30歳 25名, 31~40歳 11名, 41歳以上 4名, 平均30.4歳である。子宮内清掃術をおこなった時, 妊娠7週未満のもの23名, 8~11週のもの17名, 12週以後のものは0名であった。手術施行時の診断は, 不全流産32例(または卵巣機能不全の疑い1例, 子宮筋腫合併1例を含む), 進行流産3例, 子宮外妊娠またはその疑い5例(または絨毛遺残の疑い1例を含む)であった。

臨床所見, 検査結果および患者退院後16カ月にわたる

表 4

No	年令	妊娠診断法・時期	臨床診断	細胞診絨毛	組織診	臨床経過
31	31	G(+) 7 ^W 2 ^D	外妊?	(-)	脱落膜 (C A-S)	左卵管妊娠
32	25	" 7 1	不全流産	(+)	流産	
33	22	" 11 0	"	"	"	
34	29	" 7 5	"	(-)	増殖期内膜	
35	30	" 10 4	"	(+)	流産	
36	29	" 9 4	"	"	"	
37	31	" 7 6	外妊?	(-)	脱落膜 (C A-S)	左卵管妊娠
38	32	" 10 4	不全流産	(+)	流産	
39	22	" 8 0	"	"	"	
40	40	" 11 0	"	"	"	

c A-S: Arias-Stella 反応を伴うもの
外妊: 子宮外妊娠 G: 妊娠反応

表 5 最終診断

流 産	31 例
子宮外妊娠	5 例
非 妊 娠	4 例
計	40 例

表 6

		細胞診—組織診—臨床経過		
組織診 細胞診	流 産	脱 落 膜 A-S(-)	A-S(+)	増殖期内膜
絨毛 (+)	24	1 (流産)	0	0
(-)	0	4 (流産)	7<5 (外妊) 2 (流産)	4

follow-up から, 最終診断は, 流産31例, 子宮外妊娠5例, 非妊娠4例であった。

細胞診—組織診—臨床経過の関連は表5の如くである。組織診は流産で細胞診にも絨毛をみとめたものが24例, 組織診は脱落膜または増殖期内膜というものが16例で, 細胞診に絨毛を認めないものが15例であった。すなわち組織診に対する細胞診の相関は97.5%を示した。

Negative correlation を示した15例のうち, 6例は流産であり, 5例は子宮外妊娠であった。細胞診に絨毛細胞をみとめない場合, 6例が流産であり(40%), 5例が子宮外妊娠であり(33.3%), 4例は非妊娠であった(26.7%)。

相関を示さなかつた症例11は, 組織検査では脱落膜との診断をえたが, 細胞診には絨毛細胞をみとめている(写真1, 2)。

IV. 考 按

妊娠初期にその継続が期待できない場合, 子宮内清掃術が必要になるが, この内容物に絨毛組織や胎児を確認

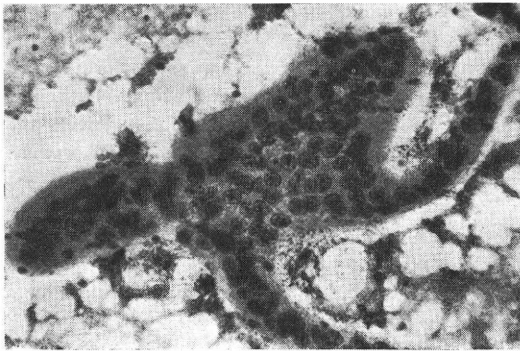


写真 1

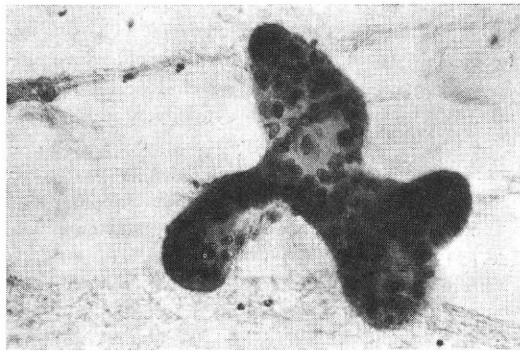


写真 2

写真 1, 2 ×1000 パパニコロ染色, 細胞診標本に認められた, 血性の背景をもつたジンチチウム型絨毛細胞の出現

できない時, 子宮内妊娠の流産後か, 子宮外妊娠か, 絨毛性腫瘍かの鑑別が必要になる。奇胎分娩のように肉眼所見で特異なものは除外するとして, 実際には組織診の結果を待たねばならず, その報告書を得るのに4~6日を要す。なかでも単なる流産後か, 子宮外妊娠かの区別は, 臨床所見で決定が困難なとき, 組織診の結果が出るまで待期する数日は治療上不都合なことが多い。ここに細胞診を応用し, 絨毛細胞の有無について検索を行った結果, 細胞診所見と組織診所見は高度の相関を示した。至急に組織診の結果が得られない時, 一時間以内で鏡検可能な細胞診は, 流産や子宮外妊娠における有力な補助診断法になりうる事が判明した。

子宮外妊娠の場合, 成書には, 子宮内膜にみとめられる脱落膜性変化や Arias-Stella 反応の出現についてその関連性が記載されているが¹⁾, また子宮内膜細胞診にも, これに一致する変化が指摘されているが^{1, 6)}, 今回著者らの経験した子宮外妊娠5例には, 特有な細胞診所見はみとめられなかつた。細胞診を子宮外妊娠の診断に役立つ直接的な方法についてはまだ研究の余地が多く残されており, Albuquerk もその困難であること²⁾と, 内膜癌

と誤診をした報告³⁾を行っている。

越野ら⁴⁾は, 頸管妊娠の診断に細胞診が役立つ二例について, 子宮内膜細胞診に絨毛細胞を証明せず, 頸管細胞診に多数の絨毛細胞を証明して術前診断に成功している。

著者らの研究において, 症例11は組織診では脱落膜だけを見とめ, しかし細胞診には絨毛細胞を見とめ, 妊娠反応や基礎体温測定などの follow-up の結果, 最終診断は流産とした例であるが, もし組織標本のブロックをさらに切出せば, 絨毛組織を証明できた可能性も充分残されており, 組織診に対する細胞診の相関は97.5%以上になつていたかもしれない。

絨毛細胞を見とめない15症例のうち, 5例は子宮外妊娠, 4例は非妊娠であつたが, 6例の流産例の臨床経過は出血の多いもの, 発症後の日数が比較的長いもの, 妊娠のごく初期のものなどである。

絨毛細胞にみとめられる異常または悪性所見に関する報告もあるが^{4, 5)}, 今回の対象40症例には絨毛性腫瘍に由来するような細胞診所見は得られず, 組織診にも, 臨床経過にもその疑いはまったくみとめられなかつた。

V. 結 語

妊娠の診断が確立しても, その正常な継続が不可能であれば, 子宮内清掃術を行うが, 子宮内容物に肉眼上, 胎児や絨毛組織を確認できないことがある。この場合組織学的検索が必要になるが, 著者らは組織診標本採取と同時に細胞診標本を作製し, 絨毛細胞の有無について調べた。組織診—細胞診—臨床経過の相関関係について検討した。

研究対象40例において, 最終診断は, 流産31例, 子宮外妊娠5例, 非妊娠4例であつた。組織診では流産, 細胞診にも絨毛細胞を見とめたものは24例であつた。組織診では脱落膜または増殖期内膜としたものは16例で, 細胞診に絨毛を見とめないものは15例であつた。すなわち細胞診は組織診に対し97.5%の相関を示した。この結果から, 至急に組織診の結果が得られないとき, 一時間以内で簡単に鏡検可能な細胞診は, 流産や子宮外妊娠における有力な補助診断法であることが判明した。

本論文の要旨は第25回日本不妊学会学術総会(昭和55年10月, 宇部市)において発表した。また一部は第18回日本臨床細胞学会秋期大会(昭和54年11月, 大阪市)において発表した。

謝 辞

本論文の御指導, 御校閲をいただいた東京女子医大産婦人科教室大内広子教授, オハイオ州立シンシナティ大

学医学部病理学教室細胞診断室主任益川照夫博士に感謝いたします。

文 献

- 1) Novak, E. R. and Woodruff, J. D.: Ectopic Pregnancy. Gynecologic Obstetric Pathology, ed 8: p. 442, Philadelphia, W. B. Saunders Comp., 1967.
- 2) Albukerk, J.: Arias-Stella Reaction. Acta Cytol 22: 120, 1978.
- 3) Albukerk, J.: False-Positive Cytology in Ectopic Pregnancy. New Engl J Med 291: 1142, 1974.
- 4) 越野三男, 半藤 保, 草野和夫: 頸管妊娠に細胞診が役立った二症例, 産と婦, 44: 1534-1537, 1677.
- 5) 田中 昇, 他: 細胞診教本—その基礎と実際—(2) 癌および異型病変, G婦人科細胞診上の二, 三のコツ, 2核小体の目立つ場合, (e) 絨毛上皮腫, 第5版: p. 176, 東京, 宇宙堂, 八木書店, 1977.
- 6) Albukerk, J., Gnecco, C.: Atypical Cytology in Tubal Pregnancy. J Reprod Med. 19: 273-376, 1977.

Cytologic trial for diagnosis of abortion and ectopic pregnancy

**Yoriko Wada, Ayako Matsumura,
Fumiko Takahashi, Tomiko Iguchi,
Hiroshi Kasai and
Yasuhiro Takanashi**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tokyo Women's Medical College
2nd Hospital

Fetal fragments and/or chorionic villi can not always be identified in D & C specimens macroscopically when curettage was performed because of normal pregnant course being unexpected.

Histo-pathologic work-up is routinely necessary for a correct diagnosis of abortion, ectopic pregnancy or chorionic diseases.

Besides histologic examination, but the authors obtained imprint cytologic specimens from the D & C material to check the presence of chorionic cells, and studied cytology-histology-clinical findings with follow-up correlation.

40 cases were examined, in which abortion 31, ectopic pregnancy 5, and non-pregnant 4 on the final diagnoses. 24 cases showed abortion on histology with the presence of chorionic cells on cytology. 16 cases were decidua or proliferative endometrium on histology, in which 15 cases showed none of chorionic cells on cytology. This means 97.5% accuracy in histology-cytology correlation. 15 cases without chorionic cells on cytology were consisted of six abortions (40.0%), five ectopic pregnancies (33.3%) and four non-pregnant condition (26.7%).

From the above, cytology is quick, reliable, diagnostic and useful especially for differential diagnosis of post-abortion or ectopic pregnancy.

(受付: 昭和56年10月7日)

慶応健康相談センター婦人科開設 以来の AID 妊娠統計

Results of Eleven Years (1970~1980) Study of
Artificial Insemination with Donor Semen at
Keio Health Counselling Center

慶応健康相談センター婦人科
慶応義塾大学医学部産婦人科
中村 幸雄
Yukio NAKAMURA

Gynecology Clinic of Keio Health
Counselling Center
Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Keio University.

昭和45~55年慶応健康相談センター婦人科の AID 妊娠統計は次の如くである。①年間 AID は約500症例, 2500回に及ぶ, ②妊娠例は916例で妊娠率61.7%, 2児目妊娠84例, 凍結精液妊娠例40例であった。③流産例は117例(12.8%)であった。④妊娠例の平均 AID 施行周期(M±S.D)は7.06±7.15周期(1~105周期), 施行回数は7.45±7.74回(1~107回), 平均妊娠年齢30.40±3.63歳(21~43歳)であった。⑤妊娠に要する AID 周期数は90%迄は15周期, 50%は4~5周期であった。⑥分娩経過は正常産477例に対し帝切129例と異常高率を示した。⑦性比は男:女=107.5:100であった。⑧40歳以上の高齢妊娠は9例存在し, 流産, 帝切の割合が高い。⑨奇形は9例存在したが凍結精液使用例は0であった。⑩非妊娠例の平均 AID 施行周期は10.98±8.76周期, AID 中止時の年齢は32.75±4.51歳であった。

(Jap. J. Fert. Ster. 27(3), 351-358, 1982)

I. 緒言

慶応健康相談センターは昭和45年5月慶応病院より分離し別法人として病院別館内に人間ドックとして開設され, さらに昭和45年7月より不妊症・AID 診療を中心とする慶応健康相談センター婦人科(以下センターと略す)が開設された。

慶応病院産婦人科家族計画相談所(以下相談所と略す)は, 昭和40年頃より①AID 希望者の増大に伴いその要求に応じ切れなくなつた。②AID 希望者の増大にもかかわらず, 大学紛争のあおりから donor の確保が困難となつた。③相談所が大学病院の一部門として教育に携る関係上, たえず若い医師の rotation 下にあり, これが患者側にとって診療する医師が固定しないという不

満をもたらす, 等の欠点が生じてきた。そこで新に相談所では全く分れた別法人として, 病院別館内に少数の固定した熟練医師による AID, 不妊診療を目的とした慶応健康相談センター婦人科が開設されたのである。

以来10年以上, 初期の目的通り順調に経過し最近では AID 施行回数では相談所に匹敵するようになったのを機会に, 昭和45年より昭和55年末迄のセンターの AID 妊娠統計をとり, 従来のデータと比較検討を行つてみた。

II. 対象, 方法

昭和45年7月センター開設後, 昭和55年末迄に AID を施行せる症例を昭和50年8月迄 follow up し, 経過不明者にはアンケートを呈出, 昭和56年11月末迄回答のあ

つた症例を対象とした。

AID は原則として新鮮精液 0.4ml を推定排卵日に 1 回子宮腔内に注入し、30 分間骨盤高位にて安静後抗生物質 2 日分投与して帰宅せしめた。尚一部症例は保存液 (昭和53年末迄は KS 保存液、それ以後は14% glycerin 加生食水) 1 容、新鮮精液 1 容を混じり-80°C 超低温槽中に凍結保存した凍結精液を使用した。

III. 成 績

1) アンケート回収率

AID は、その性質上、当事者はなるべく秘密にしたのが人情であり、そのため妊娠しても報告のある症例は極めて少く、そのため経過不明者に対しアンケート調査が必要となる。表 1 に示す如く昭和45年から昭和50年初診の症例では経過不明者 502 例にアンケートを呈出し60.2%、昭和51~55年初診者のうち 443 例の経過不明者にアンケートを呈出、62.8%の回収率を得た。昭和

表 1 アンケート回収率

初診日	呈出アンケート数	妊娠 (+)	妊娠 (-)	もどり	回答 (-)	回収率
昭和45年~昭和50年	502	234	68	86	114	60.2%
昭和51年~昭和55年	443	178	100	48	117	62.8%
昭和45年~昭和55年	945	412	168	134	231	61.4%

45~昭和55年を通しては61.4%の回収率を得た。アンケート呈出数は、初診者が昭和51年以降図 1 に示す如く圧倒的に多いにもかかわらず、経過不明者は少くなっている。

2) AID 施行回数, 症例数

表 2, 図 1 に示す如く昭和53年迄施行回数, 症例数ともに直線的に増加し、その後は年間約2500回, 500 症例の AID 施行数を維持している。尚 AID 施行症例数の項には、同一人が数年間にわたり AID を施行した場合、各年度ごとに各々算定している。同様に延妊娠例数の項でも 2~3 児目妊娠又は流産後再妊娠例は各妊娠年度ごと

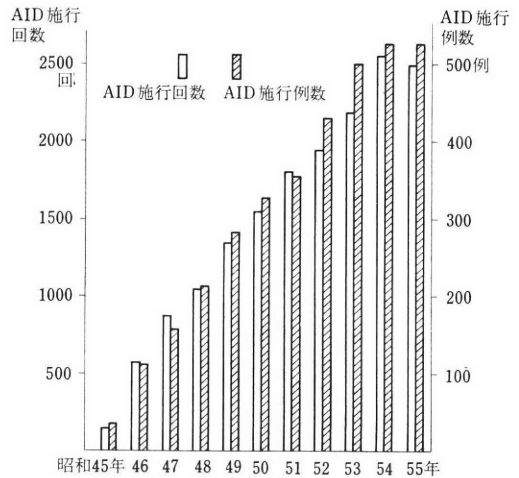


図 1 年度別 AID 施行回数及び施行例数

表 2 AID 妊娠成績

年 度	AID 施行		妊 娠		流 産			* 2 児目 妊娠例数	** 凍結精液 妊娠例数
	延 例 数	回 数	延例数	妊 娠 率 (症例)	例 数	流 産 率	流産後 妊娠例		
昭和45年	36例	165	13	36.1	0	0 %	0	1例	1例
46	112	569	31	27.7	5	16.1	1	2	3
47	157	878	43	27.4	5	11.6	2	1	7
48	212	1,054	68	32.1	12	17.6	6	2	7
49	283	1,350	89	31.4	11	12.4	8	10	5
50	328	1,550	87	26.5	6	7.1	2	5	3
51	355	1,808	84	23.7	13	15.5	4	4	0
52	431	1,950	83	19.3	11	13.3	7	11	3
53	500	2,191	124	24.8	20	16.1	11	8	4
54	525	2,556	123	23.4	16	13.0	10	9	0
55	526	2,493	171	32.5	18	10.5	4	31	7
合 計	延3,465例	16,399回	延916例	26.4%	117例	12.8%	55例	84例	40例

○平均結婚年齢 (M±SD) = 24.09 ± 2.54 歳 (18 歳 ~ 35 歳)
 ○平均妊娠年齢 = 30.40 ± 3.63 歳 (21 歳 ~ 43 歳)
 ○平均 AID 施行周期数 = 7.06 ± 7.15 周期 (1 ~ 105 周期)
 ○平均 AID 施行回数 = 7.45 ± 7.74 回 (1 ~ 107 回)

* 3 児目妊娠: 2 例
 ** 凍結精液流産例: 3 例

表 3 AID 妊娠率 (症例別)

初 診 日	AID 施行例数	不 明	妊娠例数	妊娠率
昭和45年～ 昭和50年	706	200	346	68.4%
昭和51年～ 昭和55年	926	165	436	57.3%
昭和45年～ 昭和55年	1,632	365	782	61.7%

に重複して算定した。

3) 妊娠数, 妊娠率, 平均結婚年齢, 平均妊娠年齢 (表 2)

AID 妊娠症例の結婚年齢の平均 (M±S.D.) は24.09±2.54歳で, 18歳から最高35歳迄分布した。妊娠年齢の平均 (M±S.D.) は30.40±3.63歳で21歳から最高43歳迄分布した。

妊娠例は年々増加し, 最近では年間100例以上を示し, 年間施行例数の19.3~36.1% (平均26.4%) が妊娠している。

表 2 の延妊娠例 916 例中, 2 児目妊娠例 (1 児目妊娠が相談所例は除く) 79 例, 流産後再妊娠55例の合計 134 例は重複するので除外した 782 例につき症例別にみた妊娠率を計算してみた (表 3)。

表 3 に示す如く昭和45年~50年初診者を昭和50年11月末迄 follow up したところ, 706 例中不明200例, 妊娠346 例で68.4%の症例別妊娠率を得た。同様に昭和51年~55年初診者 962 例では57.3%の妊娠率, 昭和45年~55年通しては61.7%の妊娠率を得た。このうち凍結精液妊娠例は40例であった。

4) 妊娠迄の AID 施行回数・周期数

妊娠迄の平均 AID 施行回数 (M±S.D.) は 7.45±7.74回で, 1 回から最高 107 回であった。妊娠迄の平均 AID 施行周期 (M±S.D.) は7.06±7.15周期で, 1 周期から最高105周期にも及んだ。

次に妊娠迄の AID 施行周期の累積度数をみると, 図 2 に示す如く, 妊娠例の90%は15周期内に妊娠し, 50%は 4~5 周期内に妊娠している。

5) 流産 (表 2)

流産例は117例存在し, 流産率は12.8%であった。117 例の流産例中55例 (47%) は再び AID にて妊娠している。凍結精液妊娠例は 40 例中 3 例 (7.5%) の流産率を示した。

6) 妊娠分娩経過, 性別, 奇形

妊娠経過は図 3 に示す如く正常産 477 例に対し, 帝王切開129例と, きわめて高い帝切率を示した。骨盤位 4, 鉗子 4, 死産 4, 流早産122, 双胎 3, 経過不明173例で

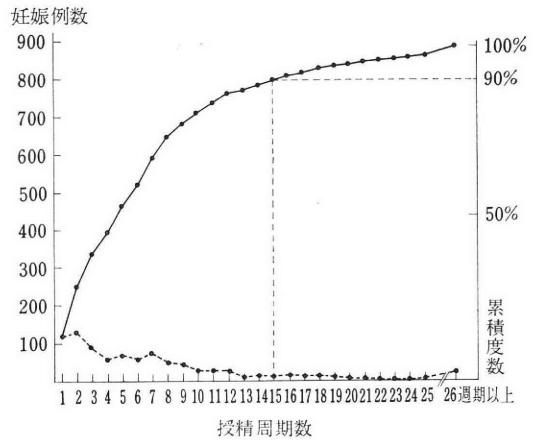


図 2 妊娠までの授精周期数及び累積度数 (888 例)

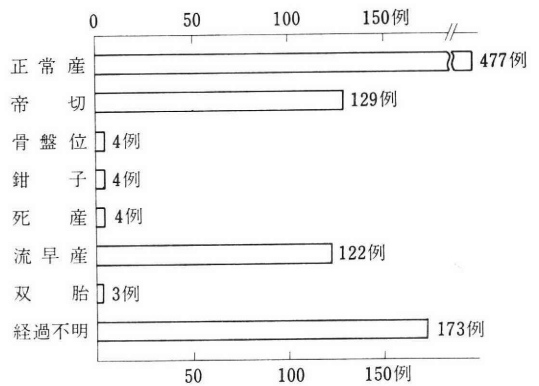


図 3 AID 妊娠916例の妊娠及び分娩経過

表 4 AID 児の性別

	♂	♀
昭和45年	3(100.0)	3(100)
46	12(171.4)	7
47	11(100.0)	11
48	17(73.9)	23
49	26(104.0)	25
50	29(93.5)	31
51	30(125.0)	24
52	34(113.3)	30
53	44(97.8)	45
54	47(102.1)	46
55	75(125.0)	60
合 計	328(107.5)	305

あつた。双胎 3 例は, いずれも自然排卵例であつた。

性別は表 4 に示す如く, 年度ごとに多少の差はあるも全体では男 (328例) : 女 (305例) = 107.5 : 100であつ

表 5 AID 児の奇形症例

Mongolismus	(36歳)
腸ヘルニア+鎖肛	(26歳)
腸奇形	(28歳)
先天性腸奇形	(31歳)
肛門狭窄	(28歳)
胆道閉鎖	(25歳)
小指ゆ着	(38歳)
頭部動静脈吻合	(29歳)
無脳児	(30歳)

(すべて新鮮精液使用例)

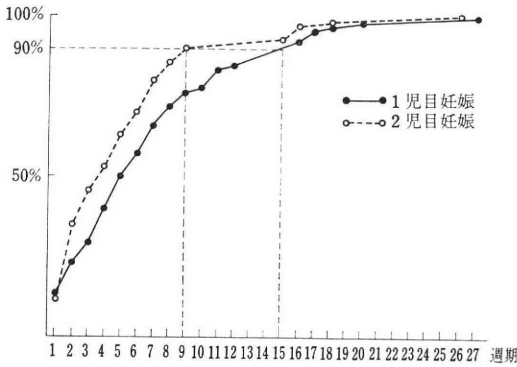


図 4 1 児目, 2 児目妊娠までの授精周期数, 累積度数の比較 (68例)

た。

奇形発生は表 5 に示す 9 例存在し, その平均年齢は 30.11歳で AID 妊娠全体の妊娠年齢 30.40歳と変わらず, 特に高年者に発生率が高いことはなかった。この 9 例の奇形のうち, Mongolismus, 腸ヘルニア+鎖肛, 腸奇形, 先天性腸奇形, 無脳児の 5 例は, 児死亡したが, Mongolismus の一例を除き, 他の 4 例は 2 児目は健康児を得ている。凍結精液妊娠例の奇形発生はみられなかった。

7) 2 児目妊娠 (表 2)

AID による 2 児目妊娠は表 2 に示す如く 84 例存在し, うち 62 例が出産を確認している。3 児目妊娠は 2 例存在し, うち一例は第一児が奇形にて死亡したため, 3 児とも健在例は一例のみである。現在 (昭和 56 年 12 月末) 2 児目希望にて通院中の症例は 63 例存在する。

2 児目妊娠の平均年齢 (M±S.D.) は 31.57±3.23 歳で 1 児目の 30.40±3.63 歳より約 1 年後であつた。

1 児目妊娠時の AID 施行周期数と 2 児目妊娠時の施行周期の累積度数を比数すると, 図 4 に示す如く, 1 児目の 90% は 15 周期内に妊娠しているが 2 児目の 90% は 9 周期内で妊娠し 2 児目は 1 児目より早期に妊娠しているこ

表 6 高年齢 AID 妊娠例の経過

症 例	年 齢	AID 施行周期数	妊 娠 経 過
K. I.	40	12 周期	?
K. K.	40	5	○ 帝 切
T. O.	40	8	○ 正常産 (2 児目)
M. K.	40	8	流 産
M. H.	40	1	?
T. S.	40	12	流 産
Y. Y.	41	1	?
A. S.	41	2	○ 帝 切
H. I.	42	49	流 産
A. I.	43	17	流 産
C. K.	43	3	○ 正常産

妊娠迄の AID 施行周期

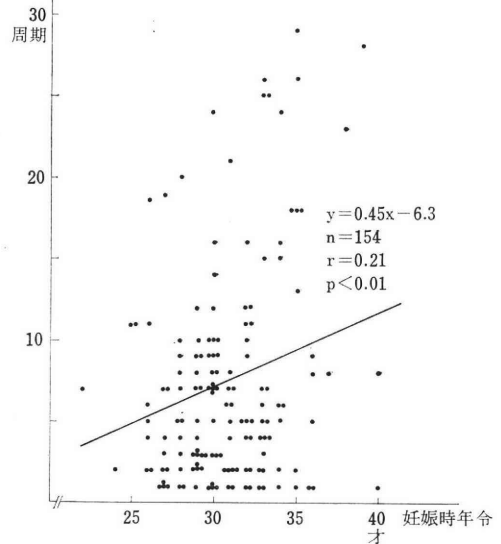


図 5 妊娠までの AID 施行周期数と妊娠時年齢との相関 (昭和 55 年)

とを示している。

8) 高年齢妊娠例 (表 6)

妊娠時年齢が 40 歳以上の症例は表 6 に示す如く 12 例存在し, 正常産 2, 帝切 2, 流産 4, 不明 4 例で, 帝切及び流産例が多いことが目立つ。奇形発生は 1 例もみられなかった。

妊娠迄の AID 施行周期数と妊娠時年齢との相関をみると図 5 に示す如く, n=154, r=0.21, p<0.01 と高年齢者ほど妊娠する迄の AID 施行周期数が有意に多いことを示している。

9) 長期 AID 施行例

AID 100 回以上施行にて妊娠した症例は 2 例存在す

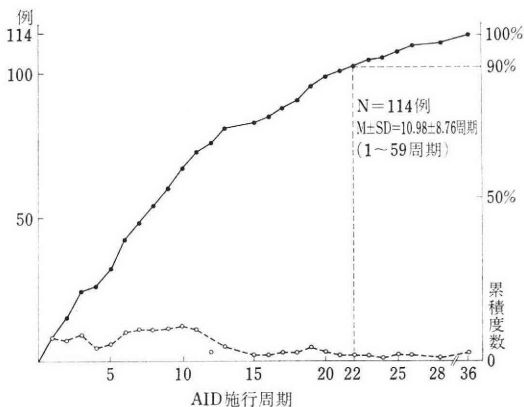


図 6 AID 非妊娠例における AID 施行周期数及び累積度数

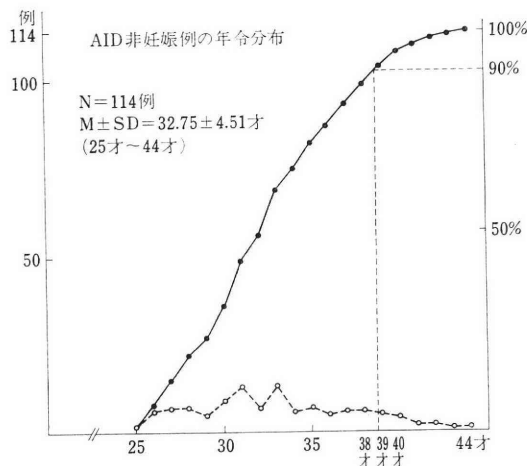


図 7 AID 非妊娠例の AID 中止時の年齢

る。

症例一①：結婚25歳，初診34歳，AID 施行回数 107 回，施行周期105周期，妊娠年齢42歳，分娩経過不明。

症例一②：結婚25歳，初診28歳，AID 施行回数 103 回，施行周期83周期，妊娠時年齢 34 歳，35歳にて正常産。

いずれの症例も，女性例には各種検査 (H.S.G., 通気，内膜検査，血中 LH, FSH, PRL, Progesterone, Estradiol の経日測定，頸管粘液検査) にて異常を認めず，本人達の強い希望のため 100 回以上 AID を続け幸運にも妊娠したものである。尚症例一②の AID 施行回数が周期数に比し多いのは，後半に至りなかなか妊娠しないため本人の希望によつて同一周期に数回の AID を施行せるためである。

一方長期 AID 施行せるも妊娠しない症例 (AID 50 回以上施行例) としては現在のところ①結婚29歳，初診 31歳，現在42歳，AID 71回 (71周期) 施行，②結婚27歳，初診34歳，現在44歳，AID 97回 (94周期) 施行，③結婚27歳，初診31歳，現在39歳，AID 63回 (61周期) 施行の 3 症例が存在する。この 3 例も精査によつて特に不妊要因は発見できなかった。

10) 非妊娠例

現在のところ AID の継続は，はつきりとした不妊要因の存在しないかぎり，特に医師側から AID 中止を勧告せず本人の意志にまかせてある。本人の意志にて AID を中止し，明らかに妊娠していないことが確認されている114例につき，AID 中止迄の周期数，年齢について調べてみた。図6に示す如く，非妊娠例の AID 中止迄施行周期数 (M±S.D.) は10.98±8.76 周期で1周期から最長59周期にも及ぶ。AID 中止例の90%は22周期以内に中止しているが，なかには1~2周期の短期間に中止している例もみられる。中止例の50%は8~9周期

以内に中止している。次に AID 中止時の年齢は図7に示す如く平均 (M±S.D.) 32.75±4.51歳で25歳から44歳迄分布する。90%は38~39歳で AID を中止し，50%は32歳迄に AID を中止している。

IV. 考 案

AID 妊娠統計をとる上に，アンケート調査は欠くことのできない方法である。今回のアンケート回収率は約60%と，従来の成績，例えば昭和40，41年度相談所のデータ，1531通中691通45.1%の回収率¹⁾とくらべすぐれている。これは前述の如く，少数の固定した医師による診療のため，患者との communication がよくとれていたため，当事者にとつて秘密にしたい事柄なるもアンケートに回答してくれたものと解釈している。また昭和51年以降は AID 手続時に妊娠，分娩時必ず連絡するようパンフレットを渡し説得していることも効果をあらわし，経過不明者は AID 施行者の増加にもかかわらず減少している。

AID 施行回数，症例も表1，図1の如く現在では年間約2500回，500症例以上，1日平均10例弱を示している。この数は最近の相談所の施行回数に匹敵するか，やや凌駕している。延妊娠例数は表1の如く916例存在するが，このうち前述の如く重複する134例を除いた782症例が実際の妊娠症例となる。

症例別妊娠率を計算する際，AID 開始後数年後に妊娠する症例も考慮して計算するためには，何年間かの follow up 期間を必要とする。著者は妊娠例の平均 AID 施行周期数 (7.09±7.15周期)，非妊娠例の平均 AID 施行周期数 (10.98±8.76周期) よりみて，少なくとも2年間の follow up は必要と考えた。そこで今回は，それ

より余裕をみて昭和45~50年, 昭和51~52年初診群の2群に分け, いずれも昭和56年11月末迄 follow up して妊娠率を求めた. 前者は follow up 期間が長いため68.4%と後者57.3%より高い妊娠率を示し, 両者は合すると61.7%と従来の相談所の37.1~40%²⁾より高い妊娠率が得られた. 従来 AID の妊娠率は厳密に行つても40%前後²⁾と言われていたが, それ以上の60%近くの妊娠率を得られたのは, 相談所のデータは, 膨大な外来カルテより AID 妊娠例を抽出するに際する見落とし, 観察期間が調査ごとに一定しない(2~5年), 多数の不特定医師によるカルテ記載の不統一及び患者との communication の不足による経過不明例の増加等が原因として考えられる.

一方欧米の報告では, 相談所・センターと同様新鮮・凍結精液を併用している所で, 79.4% (865例中684例妊娠)³⁾, 47.13% (488例中)⁴⁾, 新鮮精液のみの所で75~81%⁵⁾⁶⁾, また米国不妊学会会員に対するアンケート調査による成績では57%で, 妊娠率は AID 施行数が多いクリニックほど高い⁷⁾との発表がみられ, 我国の発表より高妊娠率を示している.

AID 妊娠率を比較する場合 ①症例別の妊娠率か周期別か, ②何年間の follow up を行つたか, ③2児目, 流産後再妊娠例の重複例をどう取扱つているか, ④新鮮か凍結精液使用か, 等を充分考慮して比較しないと, 各々のデータは比較出来ない. また実際上くわしい記載のない場合が多く, 厳密な比較は困難である.

しかし本来 AID は女性側の不妊要因は原則としてゼロに近く, 新鮮精液を使用するかぎり90%近くの妊娠率が期待されてもよく, 事実欧米の報告ではそれに近い値が得られている. 今後の診療方法の改善によつて, さらに高い妊娠率が期待できると思われる.

AID 施行後何周期目ぐらいに妊娠するかは図2に示す如く90%は15周期迄, 50%は4~5周期迄に妊娠している. これを相談所の242例と比較すると²⁾90%は9周期, 52.4%は3周期迄に妊娠しており, 今回のセンターの成績より早期に妊娠している. Traina ら⁴⁾は230例について調べ76.52%が3カ月, 93.48%が9カ月, Behrman⁸⁾は391例につき調べ92.8%が6カ月に妊娠すると報告している. しかし今回のセンターのデータは888例と多数例について検討したためと, 長期 AID を継続した症例が多いため, 妊娠に要する周期数が長くなつたと考えられる. センターでは, AID の継続はあく迄本人の意志によつているため, 100周期近くの長期間例も存在し, もし, もつと短期間に AID 中止せしめれば, 当然妊娠に要する AID 周期数は減少すると考えられる. したがつて従来通り10周期前後(約1年間)を一つ

のめどとして, AID 継続者の不妊要因の再検討を行うことは妥当と思われる.

流産率は916例中117例12.8%で, 凍結精液使用例では40例中3例7.5%であつた. 相談所のデータは⁹⁾, 自然妊娠例の流産率10.8%, 新鮮精液による AID 12.9%, 凍結精液15.4%の流産率とくらべ, センターのデータは新鮮精液では同レベル, 凍結精液では低く, 自然妊娠と同一であつた.

また欧米の報告では13%¹⁰⁾, 16.8%³⁾と比較的高値を示す. AID 流産例は, 挙児希望強いためまず100%流産後再び来院するため, 流産例の把握は100%に近いのに反し, 一方妊娠例の把握はかなり低い. このため AID 妊娠例の流産率は相対的に自然妊娠の流産率より高く出るのであつて, 実際は自然妊娠と変わらないと思われる.

妊娠分娩経過は図3に示すように帝切率がきわめて高率であることに特徴がある. これを相談所の昭和40, 41年の報告²⁾と比較すると, 242例中経膈分娩134例, 帝切17例, 昭和38年の飯塚¹¹⁾の報告では367出産中46例の帝切とくらべても異常に高率である. センター妊娠例は慶応病院での出産例は10%以下で, 出産病院は全国各地に広く分布しており, 特定の病院で帝切率が高いためとは言えず, AID 児は, どこで分娩しても帝切率が高くなることを示している. その原因としては, 平均妊娠年齢が 30.40 ± 3.63 歳で range が21歳~最高43歳と高齢妊娠例が多いこと, 平均結婚年齢 24.09 ± 2.54 歳から平均約6年後に, やつと妊娠しているため, 夫婦間のみならず診療する医師側にも valuable baby としての意識が強く, 少しの変調が生じても帝切になること等が考えられる. さらに最近の医事紛争増加のため, めんどうなことが起る前に早目に帝切しようとする風潮がこの高帝切率に拍車をかけていると推定される.

奇形は9例存在したが, 特に高い発生率ではなく, また凍結精液妊娠例は一例も存在しなかつた. AID 妊娠の奇形発生についての報告は少く, 相談所では367例中2例¹²⁾の奇形発生を報告しており, Gigonは¹⁰⁾454例中7例の奇形発生をみとめている.

センターの奇形例の平均年齢は30歳で, AID 妊娠例の平均妊娠年齢と同一であり, 特に奇形発生例に高年齢者が多い傾向はみとめられなかつた.

性比は男:女=107.5:100とほぼ自然妊娠と同一であつた. 相談所の初期データでは116:100, 160:100, 149:100¹³⁾と男子の割合が多かつたが, 症例が増えるにつれ, 当初の予想通り自然の性比に近づいている.

2児目妊娠例は84例存在し, うち62例が出産を確認している. 2児目希望者は年々増加しており, 昭和56年末現在63例が2児目希望にて通院中である. このことは

AID 児が家庭内でうまく適合し、問題がないため、2 児希望が増加していると思われる。

1 児目妊娠と 2 児目妊娠時における AID 施行周期の比較は、図 4 に示す如く 1 児目の 90% は 15 周期、2 児目の 90% は 9 周期内に妊娠している。一方相談所のデータでは²⁾、1 児目 6 周期、2 児目 7 周期で、2 児目が 1 周期余計に AID を行っており、この理由として 1 児目、2 児目の間隔が 4 年以上ひらいているためとしている。センターの 1 児目平均妊娠年齢と 2 児目平均年齢の差は 1 年と短いことが、相談所のデータとは逆に 2 児目の方が早く妊娠しやすいと云う結果がでたと考えられる。したがって 2 児目を希望する場合、1 児目分娩より、なるべく早期に AID 開始する方が早く妊娠しやすいと思われる。

40 歳以上の高年齢妊娠例では、表 6 の如く全体の例数は少ないが、流産・帝切の多い傾向がみとめられた。しかし奇形発生は一例もみられず、高年齢妊娠に奇形発生率が高いと云う一般論はこの場合当てはまらなかった。しかし図 5 に示すように年齢が増加するにつれ、妊娠迄の所要 AID 周期数は増加する傾向がみられることから、もし AID を決意するなら年齢が若いうちに開始することが望ましいことがわかる。

長期 AID 施行妊娠例は、相談所のデータでは 47 周期²⁾が最長であり、Schoysman-Deboeck の報告³⁾では 60 周期が最長であった。センターの 2 例は 105 周期 (107 日)、83 周期 (103 回) と、前者は初診から 8 年 (結婚から 17 年)、後者は初診から 6 年 (結婚から 9 年) を要している。現在尚通院中の 61, 71, 94 周期の 3 症例も、上記 2 例と同様、検査所見上何等の不妊要因も認めず、本人達の涙ぐましい努力によって長期間 AID を施行しつつある。これら症例の挙児希望はきわめて強く毎周期規則正しく通院しており、また AID 高年妊娠例に奇形発生率が高いとのデータもなく、また妊娠しても羊水穿刺によって奇形発生がある程度予知可能であるから、特に医師側から AID 中止をほのめかすようなことはしていない。

AID 非妊娠例が、何周期目、何歳の時点で中止しているかを、明らかに妊娠していないことが確定している 114 例についてみると図 6 の如く平均 10.98 周期、32.75 歳で中止している。しかし AID を開始して 2~3 周期の早期に中止している例も少なくなく、AID をすれば 1~2 周期で必ず妊娠すると誤解している例も少なくない。医師側から特に勧告せぬのに、90% が 38~39 歳で中止していることは、年齢とともに妊娠しにくくなること、分娩経過の問題 (帝切率、流産率の増大)、夫の児成人迄の経済力維持の問題等からも望ましい結果といえる。

AID は本邦に於ては昭和 23 年故安藤画一教授によって開始され、その後飯塚理八教授によって相談所が引きつがれ、すでに 33 年、AID によって生殖生理学上数多くの貴重な知見が得られている。著者も相談所、センターとすでに 17 年間 AID に携り、AID が安藤教授の云われる「窮余の最後策」として行なわれるものの、当初はかなり抵抗感があった。しかし 2 児目希望のため来院した夫婦が「母親より父親似といわれます」とうれしそうに語るのをしばしば聞くにつれ、また沖繩、北海道から飛行機で来院する夫婦、100 周期以上の AID によってやつと妊娠した症例を経験するにつれ、いかに AID 以外に実子の得られない AID 希望者の挙児希望が強いのか、せつせつと感じられるようになった。

実の親子でも傷つけ、殺し合うこの世相に反し、AID の場合は、夫側にいわば弱味があることが逆にプラスに作用し、夫婦、親子間の結びつきは普通以上に強いものと考えられる。しかし AID の増加に伴う AID ゆえの何等かの問題が起りうる可能性は否定できず、多少の懸念は存在する。しかし幸いなことに、現在迄 AID なるがために問題となつたケースを我々は経験していない。

AID に対し感情的、宗教的、色々な批判はあるも、AID でなくては挙児希望のかなえられない夫婦にとつて、厳密な適応のもとに行なわれるかぎり、AID は容認されるべき一方法と思われる。

またセンターの妊娠率が従来 40% 前後より高い 60% 近くの高妊娠率が得られたことは、不妊症、AID 診療にとつて、適切な治療の timing と、円滑なる医師、患者間の communication の確保が如何に重要であるか、またそのために固定した医師の診療が重要であることを示していると思われる。

稿を終るにのぞみ、センター開設以来御指導及び診療に御協力いただいた恩師飯塚理八教授、また診療に御協力いただいた河上征治講師、東京歯科大学市川病院産婦人科大野虎之進教授、椎名正樹博士、慶応健康相談センター職員一同に深謝いたします。(尚本論文の要旨は昭和 56 年 12 月 4 日第 85 回日本不妊学会関東地方部会にて発表した)

参考文献

- 1) 野嶽幸雄, 飯塚理八, 河上征治, 仁科進弘, 牧野恒久, 小林俊文: 最近 2 年間の当教室不妊クリニックに於ける成績統計 (特に人工授精について), 日不妊誌, 13: 332: 1968.
- 2) 飯塚理八, 己斐秀豊, 小林俊文: 不妊症学, p. 274, 金原出版, 1975.
- 3) Schoyman-Deboeck, A., Merckx, M., Segal, L., Vekemans, M., and Verhoeven N.: Re-

- sults of AID in 865 Couples. Human artificial insemination and semen preservation. p. 231, New York, Plenum Press, 1979.
- 4) Traina, G. and Traina, V.: Results of AID with fresh and frozen semen: 488 cases, Human artificial insemination and semen preservation, p. 273, New York, Plenum Press, 1979.
 - 5) Behrman, S. J.: Artificial insemination, Fertil. & Steril., 10: 248, 1959.
 - 6) Warner, M. P.: Results of a twenty-five-year study of 1,553 infertile couples, N.Y. State J. Med. 62: 2663, 1962.
 - 7) Curie-Cohen, M., Luttrell, L. and Shapiro, S.: Current practice of artificial insemination by donor in the United States. The New Eng. J. of Med. 300: 585, 1979.
 - 8) Behrman, S.J.: Artificial insemination. Progress in infertility, p. 779, New York, Little Brown and Comp. 1975.
 - 9) 大野虎之進, 椎名正樹, 飯塚理八: ヒト人工授精の展望, 産婦の世界, 31: 689, 1979.
 - 10) Gigon, V. and Hadlemann, Rm: Results of heterologous insemination at the University of Berne gynecology clinic. Human artificial insemination and semen preservation. p. 267, New York, Plenum Press, 1979.
 - 11) 飯塚理八: 人工授精の臨床, (第8回日本不妊学会総会招請講演別冊, p. 109, 1963).

Results of eleven years (1970-1980)
study of artificial insemination
with donor semen at Keio
Health Councelling Center

Yukio Nakamura

Gynecology Clinic of Keio Health Counselling
Center, Department of Obstetrics and
Gynecology, School of Medicine,
Keio University.

Results of artificial insemination with donor semen (AID) at Gynecology Clinic of Keio Health Counselling Center (KHCC) from 1970, when KHCC had become independent from Keio University Hospital, to 1980 were analysed.

During these 11 years, 782 cases had pregnancy, (82 had the second pregnancy, 2 had the third pregnancy), and pregnancy rate was 61.7%.

One hundred and seventeen cases resulted miscarriages (12.8%) and among these cases 55 became pregnant again.

Congenital malformations were noted in 9 cases and average age of mother was 30.

Average (M±S.D.) cycle of AID was 7.06±7.15 (range 1-105) and average time of AID was 7.45±7.74 (range 1-107).

Average age of marriage in pregnant cases was 30.40±3.63 (range 21-43). Ninety percent of pregnancies succeeded within the first 15 cycles and 50% within the first 4-5 cycles.

Forty pregnancies were noted following AID with frozen semen, in which 3 resulted miscarriages, and had no congenital malformation. Sex-ratio (M:F) was 107.5:100. Four hundred and seventy seven cases had normal full-term delivery, while 129 had Cesarean section.

Primigravida over 40 years old was found in 12 cases (4 resulted miscarriages, 2 had Cesarean sections, 2 did not report in details).

Average time of AID in unsuccessful cases was 10.98±8.76 and average age of drop out was 32.75±4.51.

(受付: 昭和57年1月7日)

自動通水システムの開発

Development of Automatic Hydrotubation System

九州大学温泉治療学研究所産婦人科部門（主任：門田 徹教授）

是 永 迪 夫 宇 津 宮 隆 史

Michio KORENAGA Takahumi UTSUNOMIYA

Department of Obstetrics and Gynecology, Research

Institute of Balneotherapeutics, Kyusyu University

(Director: Prof. Toru Kadota)

最近の電子技術の発達には目ざましいものがあり、ある程度の法則を熟知すれば、デジタル機器のハードを組み立てるのも容易となつてきた。ハード部分の開発に介入すれば、ソフト部拡張も容易となる。

ところで卵管機能評価法の一つとして卵管通水法がある。しかしこの検査も確立されたものではなく、外来診療上でも計量的データを得つつ段階的に確立した検査法へ近づけていかなければならない。

今回、外来に設置できる小型のものであり繁雑な診療中においても迅速に正確なデータが得られること、省力化により患者への対応時間が増やせること、将来各種のデータ解析を可能にすることなどを目的に、最近発達したマイクロコンピュータを用い、自動通水システムを作製したので紹介する。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 27(3), 359-363, 1982)

はじめに

卵管は、卵の子宮腔内への輸送に重要な働きをもつと考えられている。しかし卵の輸送機構については今の所推測の域を出ていない。in vitro では cilia¹⁾, mucus²⁾ について研究がなされている。われわれも卵管筋運動について報告を行なつてきた^{3,4)}。一方 in vivo では microballoon⁵⁾, tuboscopy などを用いて、卵管機能の研究がなされてはいるが、その手技の複雑さのゆえに一般的に用いられるものではない。

現在日常診療では子宮卵管を一つの系として検査する子宮卵管造影法、Rubin test 卵管通水法などが用いられている。卵管機能のみを考えた場合、これらの機器は不満足なものであり、解析方法やデータのとり方に工夫を加える必要があると思われる。

しかし現段階では、われわれは門田ら⁶⁾の述べている利点のもとに、通水検査を卵管機能解析の一手段として用い、機器はトイイツ KH-600型を使用している。すなわちプランメーターを用いて通水曲線下面積を計測し、定量的観察を行ない、疎通性判定における平均圧の意義(描記式 HSG との対照実験を行い)について述べ⁶⁾、

山田ら⁷⁾は薬剤の通水曲線に及ぼす影響について計量的報告を行なつてきた。

ただこの検査の場合 ①1分間あたり4mlの通水で20ml通水に5分間かかり比較的手間のかかる方法である。②通水圧が200mmHgで自動的に通水が止められるように設計された機器ではあるが、患者の疼痛がその圧以下でも強いことがあり、医師は通水の間患者と常に対応をおこなうことができない。③一般的な曲線の定量化である平均値についても外来で算出することは時間的に不可能であり、正確なデータを用いての患者への解説が遅れる。④トランスジューサー部は防水のための工夫がしてあるが、消毒などのためにセンサー部の着脱をくりかえすと0点がずれることがあるなどの欠点があげられる。

さて最近の電子技術の発達には目をみはるものがあり簡易なデジタル機器ならわれわれで容易に設計できる時代となり、CPU、周辺LSI、TTLなどの素子を使つて、アセンブラでソフトを組み感覚でハードを組み込むことが可能となつてきた。したがつてこれらの機器にわれわれ医師のもつソフトを活用して、データの迅速かつ正確な処理、ひいては医師の省力化、患者サービスの向上を

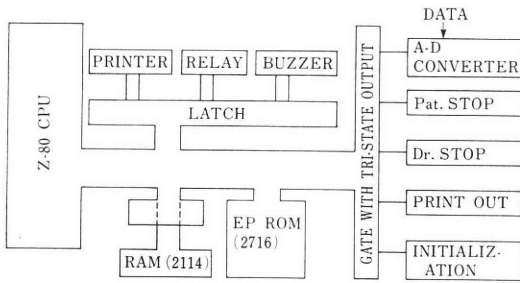


図 1 ハード部の略図

計ることが可能となつてきたように思われる。

I. 目的

卵管通水機器の①自動化, 省力化を計り, ②迅速かつ正確なデータ処理および表示, ③患者への迅速なサービス, ④医師側より機器のソフトの変更が可能であることを目的に以下のような機器を作製した。

II. 材料

OP アンプにてトーツ式通水診断治療器の出力を10倍に増幅し, 8ビット AD 変換器 (MN 5123) に接続した。

CPU 本体には Z-80 (シャープ) を用い, プログラムは EPROM 2716 に収納し, static RAM は 2114, 4 コを装着した。プリンターには DP-1200 型 (シチズン) を用いた。この製作資料を文献の項にあげておく。

III. 製作および結果

(1) ハード部

図 1 にハード部の略図を示す。

コモンバスにスイッチ類, ブザー, AD 変換器, プリンター部, RAM および ROM をつないである。

現機器のトランスデューサーで得られた通水曲線の場合, その周波数成分は低く, サンプリングを多く必要としないが, 今回は十分余裕をみて 1 秒間に 3 回, 5 分間で 900 回とした。したがって RAM 部はデータ (8 ビット) 保存およびスタック, ワーキングエリアとして 1 K バイトもあれば十分であるが, 将来のことも考え, RAM は 4 K バイトまで装着した。

ROM ではプログラムに 1740 バイトを必要とすること, 書きこみ消去が可能なことなどから EPROM 2716 (2 K バイト) を使用した。

入力部は tristate buffer を介してコモンバスに接続しているが, スイッチ類 (initialization, start, Dr. stop, Pat. stop, print out) は bit check により検出した。出力部はブザー, プリンターおよび通水器の電源スイッチ

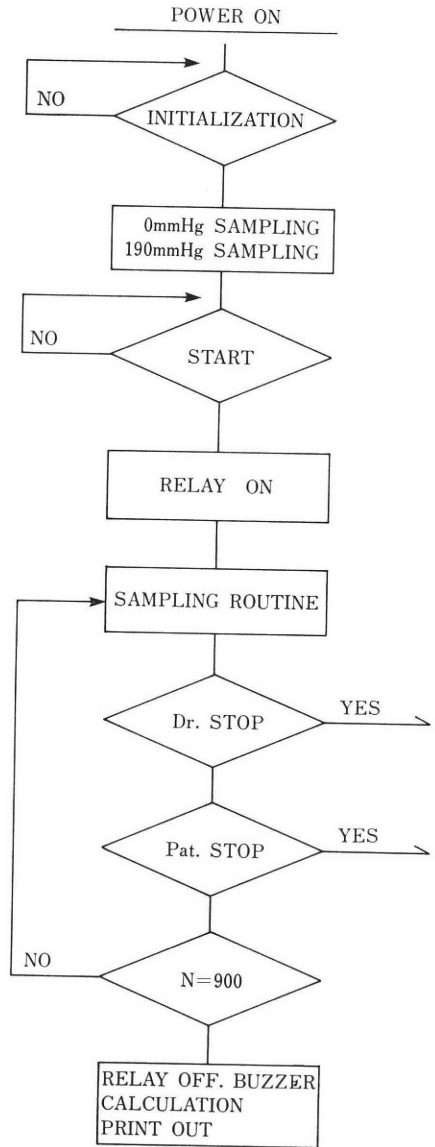


図 2 フローチャートその 1

用リレーであるが, ソフトスイッチによりリレーを駆動させている。

(2) ソフト部

簡潔なフローチャートを図 2 に示す。まず診療前にその日使用するトランスデューサー部の 0 点, 比例定数決定のため initialization を行なう。すなわち通水の高さでの圧 (0 mmHg) のサンプリングと, 水銀圧 190mmHg の圧を加えた時のサンプリングによって行なわれる。

データ補正は表 1 のように行なつた。この操作は 1 日 1 回でよく, その後は通水が終了するたびに以下のスタート部から始まる。

表 1 データ補正

$$\text{データ (mmHg)} = (\text{サンプリングデータ (電圧)} - A) \div (B - A) \times 190$$

A (電圧) = 患者の高さでの 0 mmHg 値サンプル
 B (電圧) = 患者の高さでの 190 mmHg 値サンプル

表 2 データの種類, プリント出力

1 サンプリング データ数	1.....900
2 平均値	2.....104
3 最大値	3.....190
4 最大値の数	4.....002
5 最大値の出たサンプリング 番号	5.....319
M

表 3 本機器の特徴

- 1 小型で, 外来に設置可能
- 2 ある程度の省力化が可能
患者コントロール
自動停止
- 3 データが正確となり, 処理が迅速
データ補正
定量的説明
続け処理
- 4 機器機能の柔軟性
医師のソフトへの介入

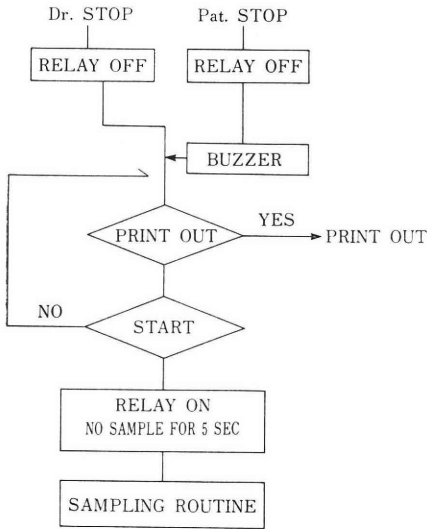


図 3 フローチャートその 2

バルーン式の通水カテーテルを頸管を通して装着したのち、スタートボタンをおせば通水器の電源がオンとなり、機器は1/3秒毎に出力電圧をサンプリングする。この間、Dr. stop, Pat. stop スイッチが押されていない限り900個データをサンプリングするまでこのサンプリングルーチンをくりかえす。900個のデータサンプル後、通水器電源をオフにしブザーを鳴らし、データの補正を行なったのち、データをプリントアウトする。

もしストップボタンが押されていた場合、図3のように患者からのものであればブザーをならして医師に知らせる。通水を中止しデータを出力させるか、通水をそのまま続行 (restart) するか医師の判断をまつ。restartの場合データはストップ前のデータに追加されるが、通水をストップしたため、通水圧がさがっておりこの部の圧が最終データに入らぬよう、再通水後5秒間サンプリングをしないように組んである。すなわち再通水開始後5秒してサンプリングを始める。

(3) データ出力部

表2にプリンター出力, およびデータの種類を示した。今回は基本的なデータのみを出力させてある。

以上のようにハード, ソフト部とも簡易な構成ではあるが、その利点を表3に示してある。今回の機器は臨床



図 4 自動通水システム

面においてその省力化, 便利さが重点ではあるが、それにもまして重要なことはこの機器機能の柔軟性である。すなわち将来, ソフトやハード部の一部変更により、波形分析の結果などを複雑な日常臨床の場からでも、得ることができるという点である。最後に KH-600を使った自動通水システムを図4にあげておく。

IV. 考 察

外来診療部門では、通常の単一手技検査はできるだけ省力化し、その時間を患者との対応にまわし、かつ診療をスムーズに行なうよう心掛けなければならない。この点検査の自動化は各種の医療機器において急速に進められつつある。この手段として、最近急速に進歩した電子技術とくにデジタル処理技術が多用され、検査の自動化はもとより、データ処理の迅速化、正確さがはかれるようになってきた。

日常診療で外来医師のする仕事は大きくわけて患者との対応、検査との対応の二つがある。患者との対応の場合においては、画一的な仕事をやるというコンピューターの特性を考えれば、コンピューターを使つて患者に対応するには各種の問題があり、現在のところ診断ルーチン、処方ルーチンなどに努力がはらわれている。一方検査部門においては、一般ルーチン検査が、検査室レベルで発達をとげ多くの機器が開発されており、電子機器のもつとも活躍する部門であろう。

ただ日常診療では患者との対応、検査との対応の二つが判然と区別できぬ小検査が多く、これらの小検査においては、電子技術者のみの思考で成り立つものではなく、そこに介在する医師側のノウハウが重要なポイントとなる。そこには患者の流れ、個々の患者にあわせてのデータの判別などを現時点では考慮しなければならないからである（将来は統一される可能性はあるが）。

通水の功罪についてはこれまで報告されてはいるが^{8,9)}、現時点では卵管機能判定法の一つとして用いられている。電子機器ではハードを知らなければ I/O 拡張のソフト作製が困難となることもあつて、今回通水法の利用価値を向上させるための小検査機器をハードにも介入しつつ作製した。機器自体は簡易、単純の域を出てないものであるが、われわれの目的を十分に満たすものであつた。

将来拡充するためには、CPU の重要動作である割りこみや、周辺 LSI の使用も考慮しなければならないと思われる。今回は外来診療に役立つということで小型専用器を作製したが、研究用として、またスペースが許されるならばプログラムはパーソナルコンピュータなどを使つて開発するのが便利であろう。

最後に現在使用中の通水器 (KH-600 型) の圧トランスデューサーについてであるが、メーカーは通水液が生食水であることを考慮して細かな工夫をしてはいるが、この部は清毒のため着脱をくりかえすとバネの係数などに誤差が生じ圧測定に支障を来し、しばしば記録が不正確になることを経験するので、トランスデューサー部に

はさらに一考が必要であろう。

おわりにトーイツ式通水診断治療器の出力部の相談に応じていただいたトーイツ株式会社、および設計、作製に御協力いただいた大分新鶴海興産電気事業部の安東誠、武田克也、三ッ股義夫の各氏に深謝します。

文 献

- 1) Weström L., Mårdh P. A., von Merklenburg C. and Hakansson C. H.: Studies on ciliated epithelia of the human genital tract. The mucociliary wave pattern of fallopian tube epithelium. *Fertil. Steril.* 28(9): 955, 1977.
- 2) Jansen R. P. S.: Cyclic changes in the human fallopian tube isthmus and functional importance. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136(3): 292, 1980.
- 3) 是永迪夫: 排卵後のウサギ卵管峡部輪状平滑筋の機能的変化, 日不妊会誌, 24(2): 175, 1979.
- 4) Korenaga M. and Kadota T.: Changes in mechanical properties of the circular muscle of the isthmus of the human fallopian tube in relation to hormonal domination and post-ovulatory time. *Fertil. Steril.* 36(3): 343, 1981.
- 5) Coutinho E. M., Maia H. and Filho J. A.: Response of the human fallopian tube to adrenergic stimulation. *Fertil. Steril.* 21(8): 590, 1970.
- 6) 門田 徹, 山田滋彦: 不妊症における卵管疎通性検査法, 産と婦, 45(4): 454, 1978.
- 7) 山田滋彦, 是永迪夫, 松岡幸一郎, 立山浩道, 門田 徹: Prostaglandins の卵管に及ぼす影響 (描記式卵管通水による観察), 日産婦誌, 27(5): 401, 1975.
- 8) Beyth Y., Yaffe H., Levij I. SH. and Sadvsky E.: Retrograde seeding of endometrium: A sequela of tubal flushing. *Fertil. Steril.* 26(11): 1094, 1975.
- 9) Comminos A. C. and Mannouelides N. S.: Hydrotubation. *Int. J. Fertil.* 19: 23, 1974.

参考資料

- 1) シャープ株式会社カタログ, マイクロコンピューター技術資料 No. 401, 1981.
- 2) 八木広満, 額田忠之: 保存版 Z-80 徹底研究トラ枝, 17(11): 244, 1980.
- 3) マイクロネットワーク社総合カタログ, 1979.

Development of automatic hydrotubation system

Michio Korenaga and Takahumi Utsunomiya

Department of Obstetrics and Gynecology,
Research Institute of Balneotherapeutics,
Kyusyu University

(Director : Prof. Tōru Kadota)

Recently, there has been remarkable development in semiconductive devices. These devices can not be a matter of indifference to a physician. The hydrotubation has been one of the important methods in evaluating tubal function. We have quantitatively studied the pressure curve during hydrotubation, using an apparatus for hydrotubation (KH-600, Tooitsu, Tokyo), and have proposed criteria for tubal function. However, analysis of tubal function based on this method is not sufficient. So, referring to the quantitative data, we must make the efforts to improve the hydrotubation system.

One of the purposes of this study is to develop an automatic system for hydrotubation to obtain

accurate quantitative data immediately after the hydrotubation in outpatient department and the other is to develop a system that can be altered for more effective analysis. This time, considering that alteration of software requires knowledge of the hardware in microcomputers, we designed hardware in addition to software for hydrotubation. Though the system is simply composed of a CPU, an AD converter, an EPROM and a static RAM, it has the following characteristics :

1) The size of the system is small and can be set up in the outpatient department.

2) Once we set the balloon catheter in the uterus through the cervix and push the start switch, there is 5 min. of hydrotubation followed by a buzz and immediate data print-out.

3) The patient as well as the doctor can stop the hydrotubation when painful.

4) We can obtain accurate pressure data immediately after hydrotubation in the outpatient department.

5) We can easily modify the I/O and software to perform more effective analysis.

(受付 : 昭和57年1月8日)

先天性副腎皮質過形成 (21-Hydroxylase 欠損) における妊娠, 分娩例

A Case of Successful Pregnancy of Congenital Adrenal Hyperplasia

旭川医科大学産婦人科学教室

千石 一雄 石川 睦男 清水 哲也
Kazuo SENGOKU Mutsuo ISHKAWA Tetsuya SHIMIZU

Department of Obstetrics and Gynecology
Asahikawa Medical college

北海道大学医学部泌尿器科学教室

野々村 克也
Katsuya NONOMURA

Department of Urology, School of Medicine,
Hokkaido University

4歳時より副腎皮質ホルモンの投与をうけている先天性副腎皮質過形成 (21-Hydroxylase 欠損) 患者の妊娠, 分娩を経験し, その内分泌学的側面, 出生前診断および配偶者の保因者の問題に関し検討した。〈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ホルモンの投与をうけている。昭和46年初潮発来(14歳) HSG, 副腎皮質以外の内分泌学的検査に異常は認められない。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 に著変なくも 17- α -OHP は高値を持続。妊娠38週に至り Fetal distress 出現のため帝王切開術により2,280gの男児を娩出。羊水, 臍帯血の 17- α -OHP, 21-DOF に著変なく配偶者の rapid ACTH 負荷試験も正常で術後母児共に順調に経過した症例を報告し文献的考察を行なった。
(*Jap. J. Fert. Ster.* 27(3), 364-368, 1982)

先天性副腎皮質過形成に伴う先天性副腎性器症候群は副腎皮質における酵素欠損により Steroidogenesis に障害がおきる。その中で特に頻度の高い 21-Hydroxylase 欠損では 17- α -Hydroxyprogesterone (17- α -OHP) から cortisol への転換が抑制され, その結果 ACTH 分泌の増加, 過剰な androgene が分泌され男性化, 排卵障害により月経の異常, 不妊を呈することが多い。1950年 Wilkins による cortisone 療法開始以来先天性副腎皮質過形成患者の妊娠, 分娩例が報告されてきている。また適切な治療により本病患者の妊娠, 分娩の増加につれ児に対する遺伝が問題となり, 出生前診断が最近注目を集めている。今回我々は 21-Hydroxylase 欠損副腎性器症候群患者の妊娠, 分娩例を経験し, 羊水, 臍帯血を含めた内分泌学的検索を行なうとともに配偶者の保因者の問

題について若干の検索を行なったので報告する。

症 例

Y. M. 23歳, P=0-0-0-0

現病歴>昭和36年(4歳時)陰核肥大に気づき北大泌尿器科を受診, 尿中 17-KS, Pregnantriol 高値により先天性副腎皮質過形成 21-Hydroxylase 欠損の診断をうけ同時に陰核形成術をうけた。以来 Prednisolone 10mg/day の内服をうける。17歳より Dexamethasone 0.75mg/day の内服で尿中 17-K.S (4.4~5.5mg/day), 17-OHCS (1.0~1.9mg/day) に維持されている。初経は14歳時, 月経周期は25~28日型で規則的, 持続は4日間。昭和53年12月結婚。昭和54年10月27日挙児を希望して当科を受診した。

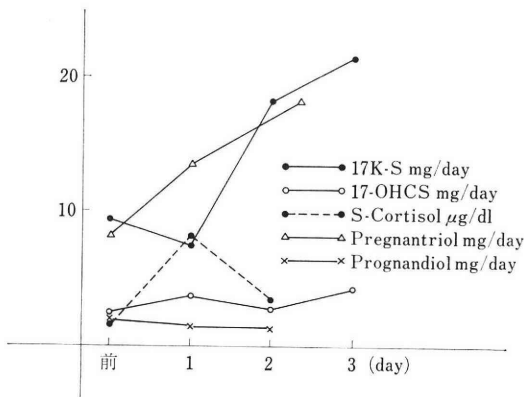


図1 ACTH 負荷試験

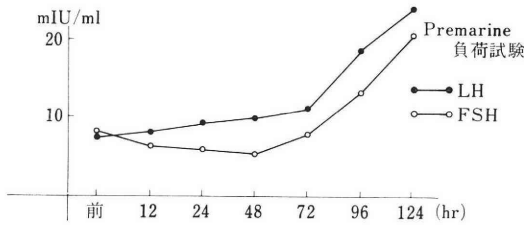
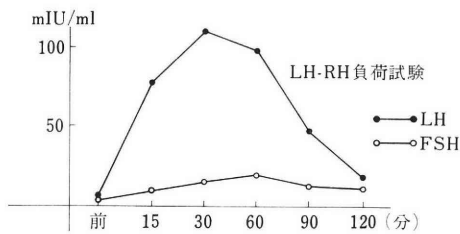


図2

家族歴, 既往歴>特記すべきことなし。

臨床所見>来院時身長154cm, 体重53kg, 体型は女性型であるが全体に筋肉質の傾向が認められた。坐落, 変声は認められず, 乳房の発育も正常である。陰毛は女性型, 外陰部は陰核形成術の痕跡があり, また低形成気味であるが小陰唇, 大陰唇とも正常範囲内の発育を呈していた。血圧110/70mmHg, 血清 Na 139mEq/L, K 3.9 mEq/L, Cl 101mEq/L, RBC 407万/mm³, Hb 12.3g/dl, WBC 5100, その他肝機能, 腎機能にも異常は認められない。胸部 X-P, IVP, 頭部 X-P も正常, また子宮卵管造影を施行したが子宮形態, 卵管の通過性にも異常はない。

内分泌学的所見>図1に示すように Dexamethasone を投与していたため尿中 17-KS の前値は正常上限, cortisol 値は低値を示し Pregnantriol 値は高値を示していた。ACTH 負荷試験では副腎皮質の反応性が認められた。LH-RH 負荷および Premarine 負荷試験におい

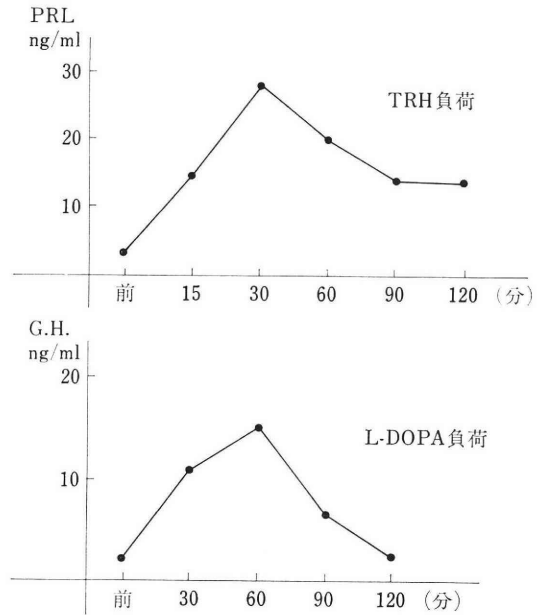


図3

表 1

Thyroid function	
PBI	5.9μg/dl
T3R-UP	42.2%
T4	8.0μg/dl
TSH	3.2μIU/ml
Serum E ₁	
E ₂	134.0pg/ml
E ₃	113.0pg/ml
	5.0pg/ml 以下
Serum progesterone	
	13.4ng/ml (luteal phase)

ても normogonadotropic pattern を示した(図2)。TRH 負荷試験, L-DOPA 負荷試験を施行したが, PRL 値, Grows hormone も正常であり下垂体の反応性, positive-feed-back 機構に異常は認められない(図3)。その他甲状腺機能および血清 estrogene, Progesterone 値も正常範囲内を示し卵巣機能にも異常はない(表1)。

妊娠, 分娩経過

昭和54年12月より当科不妊症外来にて follow up していたが基礎体温上排卵の timing がはつきりせず, また黄体機能不全 pattern を示していたため clomid-HCG 療法を施行した。施行後1クール目にて排卵が確認され昭和55年2月19日を最終生理として妊娠が成立した。以後 Dexamethasone を非妊時と同量の0.75mg/day 服用

表 2

G.W.	Ut-Fundus (cm)	17-KS mg/day	17-OHCS mg/day	DHEAS ng/ml	E ₂ pg/ml	E ₃ pg/ml	Progesterone ng/ml	Cortisol μ g/dl	17-OHP ng/ml	21-DOF ng/ml	testosterone ng/dl
15W	13	31.0	3.2	111							↓以下
19	16	17.0	3.2	50	1593	605	44.5				
23	19	16.1	3.5	101	2641	909	58.2	2.3			
27	22	10.7	1.1	154	3000	1767	55.5	3.9			
32	27	15.9	1.5	105	4105	2159	48.1	3.2			595
34	27	13.7	1.4	90.5	2959	1360	76.1	8.6			
35	27	11.5	1.4	98.4	5860	2046	91.7		125.5	16.4	585
37	27	7.2	0.6	124				3.9	102.0	30.1	545
37+2	27	8.4	1.2	200				6.0	123.0	38.6	605
38	27	16.3	2.7	79.9			78.3	5.9	125.5	31.8	805
+2d		3.47		50↓	63	16	2.5		1.41	0.386	53
+7d		1.8	0.6	63.6	10↓	10↓	0.3	1.1	13.1	2.56	77

を続けたが妊娠初期一時服用を中止していた時期がある。妊娠経過は順調であったが32週以降子宮底長の増加が認められず, IUGRが疑われ10月27日再入院した。妊娠中の各種 steroid 値を表2に示した(表2)。正常妊娠の尿中 17-KS 値は妊娠月数とともに増加し, 妊娠末期には15mg/dayに達するとされているが本症例でも7.2~17.0mg/day とほぼ正常の値を示した。妊娠15週に17-KS 値が31.0mg/day の高値を示したのは Dexamethasone 服用中止時と一致している。血漿 cortisol は概して低値を示し, estradiol (E₂), estriol (E₃), DHEAS 値も低値ではあるが, 一般にみられる妊娠進行に伴う増加傾向がうかがわれる。progesterone は正常範囲の増加を示したが 21-Hydroxylase 欠損症の診断, 管理上有用とされる 17- α -OHP, 21-Deoxycortisol (21-DOF) は各々 108~125.5ng/ml, 16.2~38.6ng/ml と異常な高値を示し続けた。再入院後も子宮底長の増加, BPD の増加はみられず, 一方胎児胎盤機能検査上尿中 E₃ (7.0~21.9 mg/day) 値は低値かつ変動も大きく, 血中 E₃ も低値であった。HPL 値は入院時の10.0 μ g/ml から低下傾向を示し, 妊娠38週には3.0 μ g/ml を示した(表3)。また NST は reactive pattern を呈していたが, 妊娠37週と4日で late deceleration が出現し C.S.T. を施行したところ明らかな陽性所見が得られた。骨盤写真上 CPD は認められなかったが, 軟産道の伸展性不良, IUGR, latent fetal distress と診断し妊娠38週と2日で腹式帝王切開術を施行した。手術時の shock に備へ手術日およびその後3日間 Hydrocortisone 250~500mg の点滴を施行している。新生児は2280g SFD の男児で Apgar score 9点(1分) 外表奇型も認められず血中 17- α -OHP

表 3

Date	G.W.	U-E ₃ mg/day	HPL μ g/ml	NST	BPD mm
10/27	35W	7.0	10.0	reactive	
10/31		7.9		reactive	88
11/01		10	6.0	reactive	
11/04			6.0	reactive	
11/05		7.0		reactive	
11/08		17.5	6.0	reactive	88
11/10	37W		6.0	reactive	
11/13			5.0	reactive	
11/14		21.9	6.0	Late deceleration	
11/15			5.0	reactive	88
11/17	38W	18.3	3.0	reactive	
11/18			3.0	CST positive	

(1.31ng/ml), cortisol (17.7 μ g/dl) と正常であり妊娠中の母体 steroid 投与による withdrawal symptom もみられず順調に発育し出産後14日目まで母児ともに退院した。帝王切開時羊水および臍帯血を採取し各々の steroid を測定した。17- α -OHP 値は羊水中3.33ng/ml, 臍帯血中20.6ng/ml と正常であり, 他の steroid 値にも異常は認められなかった(表4)。また出生前診断として児の本症罹患の可能性を検索するため配偶者が本疾患の保因者か否かを rapid ACTH 負荷試験を行い血中 17- α -OHP, 21-DOF を測定した。結果は 17- α -OHP, 21-DOF とともに反応値は正常であり出生前に児の本症発生の確率の非常に低いことが推定された(図4)。

表 4 臍帯血, 羊水の各 steroid 値

	17- α -OHP ng/ml	DHEA ng/ml	DHEA-S ng/ml	cortisol μ g/dl	teststerone ng/dl	progesterone ng/ml	21-DOF ng/ml
臍帯血	20.6	3.72	319.0	15.7	720	179.0	—
羊水	3.33	1.72	50.0	3.1	4.55	18.3	0.183

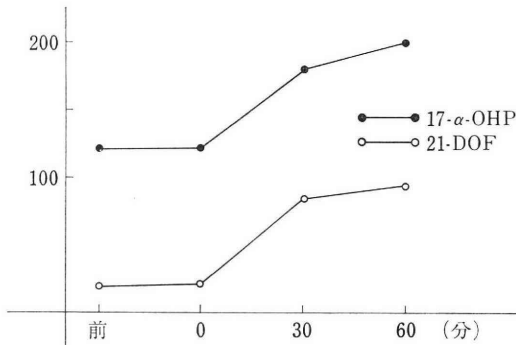


図 4 rapid ACTH 負荷試験 (配偶者)

考 察

副腎皮質よりの androgene 過剰分泌により男性化が進み性機能障害をもたらす副腎性器症候群の原因としては副腎の先天性過形成と腫瘍によるものが考えられている。先天性過形成は副腎内酵素欠損が病因であり、それにより 21-OHase 欠損, 11 β -OHase 欠損, 3 β -OH-steroid dehydrogenase 欠損, 17 α -OHase 欠損, 20-22-lyase 欠損, 18-OH-lase 欠損に分類され、臨床症状としては、単純男性型、食塩喪失型、高血圧型等を呈する。その中で本症例の 21-OHase 欠損単純男性型が最も頻度が高く、妊娠、分娩に関しても glucocorticoid 療法開始以来、Grans, Swyer¹⁻²⁾ 等の報告を始めとして³⁻⁵⁾ 本邦においても何例かの分娩に成功している⁶⁻⁷⁾。糖質ホルモンの補給は鈴木⁸⁾によれば4歳未満からの投与がその後の最終身長、二次性徴の発達に好影響を及ぼすとされている。本症例は4歳時より steroid の投与をうけており、月経発来も正常、子宮の hypoplasia も認められず、順調な発育をとげている。一方内分泌学的にも視床下部-下垂体-卵巣系の反応は正常であった。妊娠、分娩の管理に関して A.G.S. の場合その高い流産率の報告が認められる。その予防には従来 steroid 投与により、尿中 17-KS, pregnantriol 値を正常妊娠範囲の増加に維持することが必要とされている。本症例でも 17-KS 値は steroid 服用中止時を除き 7.1~17.0mg/day に維持され、他の報告と同様妊娠中も非妊時と同量の steroid 量で control 可能であるように思われた。しかし最近

A.G.S. の診断、治療に血中 17- α -OHP, 21-DOF の測定が最も有用であり⁹⁾、これらを中心とする管理が推奨されてきている。本症例の 17- α -OHP, 21-DOF は妊娠時の正常値 (0.3~5.6ng/ml) をはるかに逸脱しており、また 17-KS 値との間にもかなりの相違が認められる。この点からも A.G.S. 患者の妊娠時の 17 α -OHP の推移に関する報告はみられないが、従来通りの 17-KS, pregnantriol に 17 α -OHP, 21-DOF の測定を加えた総合的管理が妊娠時の control 特に steroid 維持量の検討に今後必要となるであろう。一方胎児胎盤機能検査として尿中 E_s 値は頻用されているが、本例では低値で変動も大きく HPL 値との相関もみられない。血中 E₂, E₃, DHAS も低値であり補充量の steroid にもかかわらず母体副腎の抑制のみならず胎盤を通過する steroid が胎児副腎をも抑制し胎児胎盤系に影響を与えたものと推定される。また A.G.S 患者は骨盤の低形成、軟産道因子が不良のため分娩時帝王切開となる率が高い。本例は pelvimetry 上 C.P.D. は認められなかったが、OCT の陽性、軟産道因子を考慮し帝王切開術を施行した。手術時の stress に対しては、当然副腎皮質ホルモンの追加が必要である。遺伝学的面では、21-hydroxylase 欠損症は常染色体劣性遺伝型をとり、その発生頻度は国によつて差があるが我国では4500人出生に対し1人、Heterozygote は106人に1人と推定されている。もし配偶者が carrier の場合本疾患患者の罹患児出生の確率は50%と高い率となる。したがって出生前診断および予防の面でも carrier の検索が重要である。carrier の検索には ACTH 負荷による 17- α -OHP 測定および HLA typing による方法が報告されている¹⁰⁾。本配偶者に対して rapid-ACTH 負荷試験を施行したが、正常の反応を示し児の本症罹患の可能性が低いことが推測された。しかし、さらに HLA に対しての検索も必要である。また同様に出生前診断としての羊水穿刺は最近妊娠30週以前の 17 α -OHP 測定に意義があり、従来の 17-KS, pregnantriol の高値は意味がないとされている。本例の羊水中 17- α -OHP, 21-DOF を始めとする各々の steroid は正常値を示した。妊娠中の steroid 投与による side effect に関し Speroff は一過性の低血圧、steroid 潰瘍を報告しているが、ほとんど影響はない。また steroid の児に対

する催奇性について口蓋裂発生の報告はあるが少数であり, A.G.S. の場合その投与量はあくまで補充量であり生理的量であることを考え合わせると危険は少ないであろう。

今回我々は 21-Hydroxylase 欠損副腎皮質過形成患者の妊娠, 分娩例を経験したので内分泌学的側面, carrier の問題およびその出生前診断に関して若干の文献的考察も加え報告した。

文 献

- 1) G. I. M. SWYER, D. M., M. D., D. phil : Successful pregnancy in a female pseudohermaphrodite. Brit. Med. J. 1 : 1005, 1961.
- 2) F. Gans and J. Ser : Normal pregnancy and delivery in female pseudohermaphroditism Acta Endocrinol. 30 : 424, 1959.
- 3) Leon Speroff : The adrenogenital syndrome and its obstetrical aspect a review of the literature and caes report Obstet. and Gynec. Survry 20 : 185, 1965.
- 4) J. Eyton-Tones, M. B., Ch. B., F.R.C.S.(Ed), M.R.C.O.G. : The adrenogenital syndrome and pregnancy. J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 75 : 1063, 1968.
- 5) Peter A and Lee : Congenital adrenal hyperplasia. Baltimore cliniv. Park press 1977 p. 353.
- 6) Norimasa Mori and Isao Miyakawa : Congenital adrenogenital syndrome and successful pregnancy. Report of a case. Obstet. and Gynaec. 35 : 394, 1970.
- 7) 多賀理吉, 他 : 先天性副腎性器症候群における妊娠, 分娩例, 産と婦, 45 : 1048, 1978.
- 8) 鈴木 滋 : ステロイド 21水酸化酵素欠損による先天性副腎過形成41例の臨床的観察, 日不妊誌, 25 : 112, 1980.
- 9) Manubai Nagameni and Paul. McDoNOUGH et al. : Maternal and amniotic fluid 17 α -hydroxy progesterone levels during pregnancy : Dia-

gnosis of congenital adrenal hyperplasia in utero. Am. J. Obstet. Gynecol. 130 : 791, 1978.

- 10) 齊藤喜親, 他 : 21-Hydroxylase 欠損症における heterozygous carrier の検索, ホと臨床, 28 : 767, 1980.

A case of successful pregnancy of congenital adrenal hyperplasia

Kazuo Sengoku, Mutsuo Ishikawa and Tetsuya Shimizu

Department of Obstetrics and Gynecology,
Asahikawa Medical College

Katsuya Nonomura

Department of Urology, School of
Medicine, Hokkaido University

This report is presented of a patient with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency who had a successful pregnancy.

The patient was a 23 years old female who was performed clitoridectomy and supplement therapy with glucocorticoids since 4 year old.

Menarche occurred at 14 years old, and periods were regular with an interval of 28 days.

However her basal body temperature showed anovulatory pattern, ovulation induced clomiphene citrate and conceived.

Urinary 17-KS, 17-OHCS and plasma cortisol were normal range during pregnancy, but 17- α -OHP and 21-DOF were remarkable high level maintained.

She was delivered a male infant weighting 2,280 g by cesarean section because of latent fetal distress and soft tissue dystocia.

In view of the fact that her husband had a normal response to ACTH stimulation, he was not suspected to be a heterozygote carrier.

(受付 : 昭和57年1月11日)

男子不妊症の臨床統計的観察

A Clinical and Statistical Study on Male Infertility

名古屋大学医学部泌尿器科教室

山本 雅 憲 三宅 弘 治 欄 芳 郎
Masanori YAMAMOTO Koji MIYAKE Yoshiro MASEKI
筧 英 雄 後藤 百万 高村 真 一
Hideo KAKEI Momokazu GOTO Shinichi TAKAMURA
蔡 紹 謨 三 矢 英 輔
Shomo SAI Hideo MITSUYA

Department of Urology, Nagoya University
School of Medicine
(Director: Prof. H. Mitsuya)

1973年より1980年3月までの7年3カ月間の当科不妊外来症例(922例)につき、臨床統計的観察を行い、以下の結論を得た。1) 不妊患者は、男子外来患者の8.8%を占め、受診年齢は、26~35歳に集中し、不妊期間は、3年以上4年未満が最多であった。2) 原因別統計では、いわゆる特発性男子不妊症が全体の92.6%を占めている。3) 妊娠成立例は69例であり、精子数が1000万/ml未満では、治療群、未治療群とも妊娠率が低いが、1000万/ml以上では、両群で、ほとんど妊娠率に差が認められなかつた。4) 128例の特発性男子不妊症について、FSH, LH, テストステロン値を測定したところ、FSH, LHは、精液所見が悪くなるにつれて、上昇傾向を示し、テストステロンは、大部分が正常範囲内であった。5) 245例の特発性男子不妊症に対し、MDSを投与した結果、有効率は40%、妊娠率は10%であった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 27(3), 369-376, 1982)

緒 言

近年、泌尿器科外来における男子不妊症患者は、増加の傾向にあるといわれる。今回、我々は、1973年より1980年3月までの7年3カ月に、名古屋大学泌尿器科外来を訪れた不妊患者922名につき、臨床統計的観察を行い、さらに、アンケートによる追跡調査の結果をもとに、妊娠成立例につき、これを、治療群と未治療群に分けて比較検討した。さらに、MDSによる治療効果についても検討を加えたので、その成績を報告する。

対象及び方法

1973年より1980年3月までの7年3カ月に、名古屋大学泌尿器科外来を訪れた不妊患者は、922名であった。

これらにつき、外来患者頻度、受診年齢、不妊期間、既往歴、原因統計、初診時精液所見等の観察を行い、妊娠成立例については、これを治療群と未治療群に分けて比較検討した。又、精液所見と、精巣生検所見、及びホルモン値との関連性について検討し、さらに、MDSによる治療効果についても検討を試みた。

成 績

①患者数

1973年より1980年3月までの7年3カ月に来院した患者数は922人である。患者数は、1977年よりの最近3年間で、漸増する傾向にあり、全体としては、男子外来患者総数の8.8%を占めている(表1)。

②初診時の年齢

表 1 不妊主訴患者数

年度別	男子外来患者総数	不妊主訴患者数	対男子患者数比率(%)
1973	1,200	124	10.3
1974	1,293	174	13.5
1975	1,237	117	9.5
1976	1,597	156	9.8
1977	1,768	103	5.8
1978	1,721	120	7.0
1979	1,316	101	7.7
1980	310	27	8.7
計	10,442	922	8.8

表 2 受診年齢

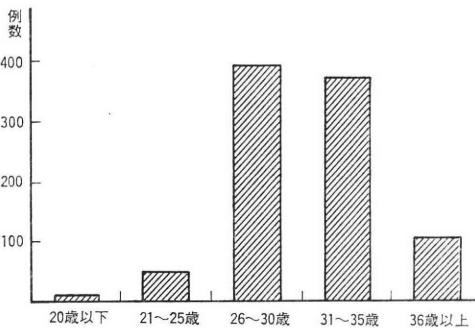
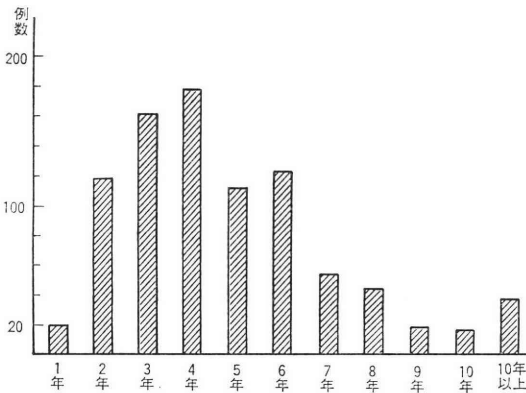


表 3 結婚より来院までの不妊期間



初診時における年齢は、最低17歳から最高47歳にわたり、特に、26歳から35歳に集中し、これらが全体の83%を占めている(表2)。

③不妊期間

結婚後、初診までの不妊期間は、2年間から、6年間にかけてが多く、3年以上4年未満で来院したものが最も多かつた(表3)。妊娠成立例での不妊期間は、6年未満が85%を占めた。

④既往歴

表 4 男子不妊症の原因統計

原因	患者数
特発性男子不妊症	854
精路閉塞	43
精索静脈瘤	17
類宦官症	4
クラインフェルター症候群	2
クラインフェルター症候群の疑い	2

表 5 閉塞性無精子症の原因

原因	患者数
先天性両側精管欠損。	20
結核による両側精管閉塞。	5
鼠径ヘルニア術後の両側精管閉塞。	4
一侧がヘルニア手術による、他側が先天性精管欠損による閉塞。	2
原因不明の両側精管閉塞。	2
両側精管炎による閉塞。	1
一侧がヘルニア手術による、他側が結核による閉塞。	1
一侧が停留精巣、他側が精巣部手術による閉塞。	1
一侧が結核による、他側が先天性精管欠損による閉塞。	1
両側精巣上部の閉塞。	1

既往歴を有するものは、380人で、このうち流行性耳下腺炎が最多で、全体の16%となっている。

⑥男子不妊症の原因統計

不妊患者を原因別に分類したものが表4である。西村らの報告によれば、その多くがいわゆる特発性男子不妊症の症例であり、我々もこれと一致する。特発性男子不妊症は、全体の約93%を占めている。又、精路閉塞例や、精索静脈瘤のような、外科的治療により、効果が期待できるものも多くみられる。閉塞性無精子症をさらに原因別に分類したものが表5である。最も多いものは、先天性両側精管欠損であり、全体の47%にあたる。

⑥初診時精液所見

原則として3日~5日禁欲後、用手法にて採取せしめ、室温にて30~40分放置後、精液検査に供した。精子濃度が5000万/ml以上を正常として²⁾分類すると、無精子症328例(35.5%)、乏精子症326例(35.5%)とほぼ同率であり、正常は222例(24.1%)、精子無力症は23例(2.5%)であった。

⑦発症推定年齢

過去に妊娠させた経験を持つ者は、32人おり、このうち、妻又は妻以外の女性を妊娠させた既往歴の判明して

表 6 発症推定年齢

歳	初診時精液				妻又は女性 を妊娠させ た既往歴	妊娠 させ得た 推定年齢
	ml	×10 ⁶ /ml	Motile %	妊孕 係数		
28	2.5	50	90	125.9	10年前	18
33	2.7	60	70	113.4	9年前	24
27		5	80		10年前	17
30	2.5	35	70	61.25	9年前	21
30	2.7	35	70	66.2	5年前	25
30	5.0	50	70	175	8年前	22
29	5.5	5	50	13.8	6年前	23
32	1.9	0	0	0	8年前	24
28	3.5	1.5	30	1.6	9年前	19
24	6.3	13	40	32.8	4年前	20
30	3.9	18	50	35.1	5年前	25
25	2.2	5	50	5.5	5年前	20
25	4.0	6	80	19.2	6年前	19
29	2.4	0	0	0	4年前	25
44	2.2	60	60	79.2	1年前	43
24	5.0	12	40	24.0	2年前	22
					1年~10年	19~43 平均22.9歳

表 7 妊娠成立例

	妊娠成立数	妊娠率
治療群 (294名)	30名 (AIH 1名)	10.2%
未治療群 (628名)	39名 (AIH 8名)	6.2%

いる16例の一覧表を示す(表6)。これらは、造精機能障害が後天的原因により生じたものと思われるが、初診時精液所見では、乏精子症が大部分を占め、妊孕係数(=精液量×精子濃度・10⁻⁶×運動率・10⁻²)は、80以下がほとんどであった。妊娠させた既往歴は、1年~10年にわたり、これから逆算した発症推定年齢は、19~43歳、平均23歳であった。

⑧妊娠成立例についての検討

アンケート方式によって、不妊患者836名に対して追跡調査を行い、223名(26.7%)より回答を得た。それにより判明した結果をもとに、妊娠成立例69例につき、以下の検討を行った。69例中、自然妊娠は60例、AIHによるものは、9例であった。これらを治療群と未治療群に分けて比較すると、表7の如く、未治療群では、6.2%の妊娠率であるのに対し、治療群では、約1.5倍の10.2%の妊娠率を示した。次に、これを妊孕係数別、及び、精子数別に分けて比較してみた。まづ妊孕係数別では、表8に示すような5群に分けると、治療群では、1~40

表 8 妊娠成立例の妊孕係数別分類

(A) 治療群

妊孕係数	例数	妊娠成立数	(%)
0	40	1	2.5
≦1~40	137	19	13.9
≦40~80	10	1	10
≦80~185	4	0	0
≦185	32	2	6.3

(B) 未治療群

妊孕係数	例数	妊娠成立数	(%)
0	283	1	0.35
≦1~40	53	4	7.5
≦40~80	9	9	100
≦80~185	21	12	57.1
≦185	26	5	19.2

表 9 妊娠成立例の精子濃度別分類

(A) 治療群

精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	例数	妊娠成立数	(%)
10未満	165	12	7.3
≦10~20	65	9	13.8
≦20~50	31	4	12.9
≦50	19	3	15.8

(B) 未治療群

精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	例数	妊娠成立数	(%)
10未満	352	1	0.28
≦10~20	29	3	10.3
≦20~50	73	10	13.7
≦50	155	19	12.3

の群が、未治療群では、40~80の群が、それぞれ、最高の妊娠率を示した。精子濃度別では、表9に示すような4群に分けると、治療群、未治療群とも、精子濃度が1000万/ml未満では、妊娠率が低いが、1000万/ml以上では、ほとんど妊娠率に差が認められないことがわかる。

⑨精巢生検所見

精巢生検は、Charny⁹⁾法に準じて観血的に精巢白膜を露出し、尖刃刀にて精巢背側面に約5mmの切開を加えて、圧出により切開創より膨出してくる部分を尖刃鉗ですばやく切除するという方法で行った。採取した組織をカルノア固定液で固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色した標本について検討した。精巢組織像の分類は、市川⁴⁾の分類及びJohnsen's Score⁵⁾に準じて行った。

表 10 ホルモン動態



291例に施行され、このうち、精路閉塞43例を除いた症例につき、その組織所見と、精液所見との関連性をみたが、相関関係は認められなかった。

⑩ホルモン動態についての検討

128例の特発性男子不妊症について、FSH, LH, テストステロン値を測定した結果と、精液所見との関連性は、表10に示されている。FSH, LH は、両者とも、乏精子症においては、さほど上昇しないが、無精子症になると、著しく増大する。テストステロン値は、無精子症で上昇するものもみられるが、大部分正常範囲内である。一方、精巢生検像でのレイディッヒ細胞の数と、LH, テストステロン値との関係を見ると、表11に示すように、レイディッヒ細胞の数が増えているものは、大部分 LH が上昇しているが、逆に、テストステロン値は減少する傾向にあるという。一見矛盾した事実が判明した。

⑪MDS による治療効果についての検討

245例の特発性男子不妊症に対し、抗動脈硬化剤、脂質代謝改善剤として用いられている MDS (デキストラン硫酸ナトリウム製剤) を、900mg/day, 最低14日、最高4年5カ月間経口投与した効果について検討した。治療効果判定基準は、表12のように精子濃度を四段階に区分し、治療により、精液所見がほとんど変わらないものは無効とし、一段階上昇したものをやや有効とし、二段階以上、上昇したものを有効とし、妊娠成立をみたものは、著効とした。245例のうち、MDS 単独投与は218例

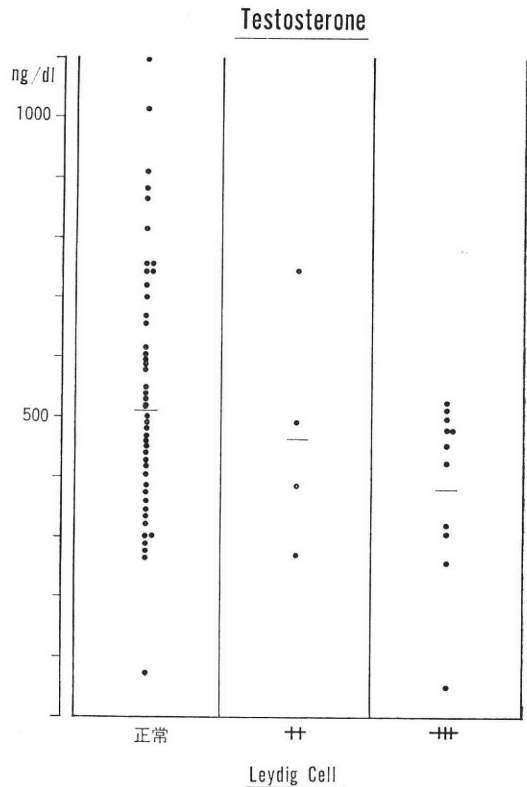


表 11 レイディッヒ細胞の数とテストステロン値との関係

表12 治療効果判定規準

効果判定	精子濃度(×10 ⁶ /ml)			
	5未満	≤5~20	≤20~50	≤50
無効	精子濃度がほとんど変わらない。			
やや有効	精子濃度が一段階上昇する。			
有効	精子濃度が二段階以上上昇する。			
著効	妊娠成立。			

表13 MDS による治療効果

	無効	やや有効	有効	著効 (妊娠 成立)
1カ月未満	5	2	0	2
≤1カ月~6カ月	48	19	2	11
≤6カ月~1年	38	13	1	8
≤1年~2年	23	22	4	3
2年以上	5	10	1	1

表14 MDS 投与による妊娠成立例
(妊孕係数別に分類)

妊孕係数	例数	妊娠成立数	(%)
0	34	1	2.9
≤1~40	133	17	12.8
≤40~80	10	1	10
≤80~185	3	0	0
≤185	0	0	0

表15 MDS 投与による妊娠成立例(精子濃度別に分類)

精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	例数	妊娠成立数	(%)
10未満	148	10	6.8
≤10~20	61	9	14.8
≤20~50	28	2	7.1
≤50	10	1	10

であり、これについての結果をまとめたのが表13である。妊娠率は約10%である。しかし、MDSを投与した群と、しない群とで、有効性に関し、カイ二乗検定を行ったが、有意な差は認められなかった。245例のうち無精子症は43例で、この場合の妊娠率は7%であり、乏精子症は202例で、妊娠率は10.9%であった。投与期間別では、1カ月~6カ月投与した群が、有効率(40%)、妊娠率(13%)ともに最高を示した。従ってMDS有効例は、早期に効果を示すと思われる。妊孕係数別では、1~40の群に(表14)、又精子濃度別では、1000万/ml~

2000万/mlの群が(表15)、それぞれ最高の妊娠率を示した。

考案

①外来頻度

諸家によれば^{2,6,7,8,9,10}、不妊患者の男子外来患者に対する割合は、平均すると、5.9~14.9%であるが、近年に至るにしたがって10%以上の頻度が多く増えてきている。

②受診年齢及び不妊期間

これも諸家の報告^{7,8,9,10}と一致し、30歳前後が最多で、26歳~35歳の者で全体の83%を占めている。不妊期間は、3年以上4年未満が最も多い。又、最近では、2年以内に不妊外来を訪れる者も多くなっており、我々の例でも138例(15%)を占めている。

③既往歴

流行性耳下腺炎が最多で、全体の16%を占めている。その多くは、小児期での罹患であり、成人してからの罹患、及び続発した精巣炎の既往は少ない。そのための不妊の報告¹¹もあるが、むしろ既往歴を有さぬ男子不妊症の方が多いようである。

④男子不妊症の原因

原因疾患としては、西村¹²、白井²⁰らと同様、その多くが、いわゆる特発性男子不妊症例である。しかしながら、精路周囲手術による精管閉塞例や、精索静脈瘤のような、外科的治療が適応となる疾患も多くみられることから、今後 microsurgery の発展に伴い、外科治療により治癒する男子不妊症例が増えていくものと期待される。閉塞性無精子症の原因として、先天性両側精管欠損が20例(47%)認められることは注目に値する。精管欠損症は、John Hunter¹²が剖検により見出して以来、又本邦においては高井¹³が本症の第1例を報告して以来、漸次増加の傾向にある。本症は、発生学的にみて、ウォルフ氏管より発生するため、精囊腺、射精管欠損が高率に合併するものと考えられる。しかし、精囊腺、射精管の異常の有無は、逆行性精囊腺造影あるいは観血の手術によらなければ確認できないため¹⁴、今回の統計では、そうした検索が行われた症例は皆無であった。

⑤発症推定年齢

初診時の年齢が26歳~35歳に集中しており、又発症推定年齢が23歳頃ということから、特発性男子不妊症においては、少なくとも、20代前半に、ある種の因子により、何らかの造精機能障害が引き起こされるものと考えられる。従って、成人と同時に、いわばスクリーニングの意味で、精液検査を勧めることが、本症の発生を予防し、又、早期発見につながるのではないかと筆者は考え

ている。しかしながら、こうした問題は、個人のプライバシーに関わることであり、実施しにくい面が多いのも事実である。

⑥妊娠成立例について

男子不妊症の妊娠成功率はその報告者により、また治療法によりまちまちである。治療群と未治療群の間に妊娠率の差がないので、現段階では薬物療法は効果がないとする者もある¹⁵⁾。しかし、白井ら²⁾の述べるごとく、我々も又、治療群で妊娠率10.2%、未治療群6.2%と、治療群で妊娠率が高く、しかも治療群の方が未治療群に比して精液所見が悪いにもかかわらず妊娠率が高いことより、少なくとも薬物療法は無意味ではないと考えている。精子濃度別に、治療群と未治療群での妊娠率を比較すると、精子濃度が1000万/ml未満では、両群とも妊娠率が低いが、1000万/ml以上では、両群とも精子濃度による妊娠率の差はほとんど認められない。従つて、精子濃度1000万/ml以上の乏精子症を、いくつかに分けても、妊娠率という点からみれば、さほど意味はないように思われる。しかしながら、治療即ち妊娠という面から考えた時、小松ら¹⁶⁾によれば、配偶者間人工受精(A.I.H.)の妊娠成功率は16.2%であり、その最小の精子数は 11×10^6 /mlとしており、また白井²⁾の述べているごとく、女性の性機能が密接に影響してくることを考慮すれば、1つの到達点を、1000万~1500万/mlにおき、積極的にA.I.H.を試みるのも1つの方法ではないかと考える。

⑦精巣生検所見

精液所見と、生検所見とが比較的相関したという報告¹⁾もあるが、今回の我々の検討では、両者は一致しないことが明らかとなつた。このことは、すでに多くの研究者によつて報告されているが、三宅ら¹⁷⁾は、この疑問に対し、明快な解答を与えている。つまり、こうした不一致は、精細管壁の変化と精上皮の障害が、同じ精細管の各所に不連続的に発生する。言い換えれば、1本の精細管のうちでも場所によつて、精上皮の障害の程度が異なるために起こるとしている。我々は、特発性男子不妊症においては、精細管壁の変化、特に肥厚が最初の変化であり、精上皮の変化は、それに附随する二次的な変化であり、従つて精上皮の所見は、必ずしも、不妊精細管の正確な病態を伝えてはいないという仮説のもとに研究を進めてきた。従つて、精液所見と、精巣組織所見が一致しないことは、むしろ当然であり、その意味では、主として、精細管内の変化に視点を置いた。従来の各種の分類法は、今後、男子不妊症の分類が、再編成されていく過程において、取捨選択されていくものと考えており、精細管壁の変化を加味した新しい分類法を検討して

いきたいと思つている。

⑧特発性男子不妊症におけるホルモンの動態

128例について、FSH, LH, テストステロンを測定した。FSH, LHは、両者とも、乏精子症においては、さほど上昇しないが、無精子症になると、著しく増大する。テストステロンについては、大部分が正常範囲内である。以上の結果、及び精液所見とホルモン値の変動の関係とから、造精機能の低下が、ホルモン異常に続いて、二次的に発生したものではないと考えられる。又、乏精子症の大部分が、類宦官症やクラインフェルター症候群などと異なり、明らかなホルモン異常を示していない。従つて、こうした症例に対して、ゴナドトロピンによるホルモン治療を行うことは、的を得ていないと、筆者は考えている。

無精子症でのFSH上昇の機序については、精細管壁の肥厚と共に、精上皮が荒廢し、さらに、セルトリ細胞も障害を受け、その結果、インヒビリンが減少し、FSHが上昇するものと考えられる。LHの上昇については、無精子症でも、なおテストステロン値が正常範囲内のものが多いことより、これを、feed back理論で説明するのは、少し無理なように思える。

一方、無精子症の一部に、テストステロン値が上昇するものが認められるが、このことは、1972年のDeKrester¹⁸⁾の報告と矛盾する。無論、テストステロンが低値を示す男子不妊症も存在するが、いづれにせよ、テストステロンとレイディッヒ細胞の関連性をもう少し吟味する必要がある。そこで、生検所見から、レイディッヒ細胞の数を算定し、これとテストステロン値とを対応させてみた。すると、LHが上昇し、レイディッヒ細胞の数が増えているものは、逆にテストステロン値が減少する傾向にあることが判明した。レイディッヒ細胞がテストステロン分泌に関与しているという事実からすれば、このことを、feed back理論で説明することはできない。むしろ、特発性男子不妊症においては、レイディッヒ細胞のアンドロゲン分泌に関して、形態的、機能的な変化が起こつていることを示唆しているように思える。従つて、電子顕微鏡組織化学的手段を用いて、正常人と不妊患者のレイディッヒ細胞の相違を証明するか、あるいは、細胞培養により、両者におけるレイディッヒ細胞のアンドロゲン生合成能の違いを追求することが必要であり、今後の検討課題としたい。

⑨MDSによる治療効果について

MDSは、デキストラン硫酸エステルナトリウム塩であり、ヘパリンの有する種々の欠点を改善した、抗動脈硬化剤、脂質代謝改善剤として用いられている薬剤である。今回我々が、この薬剤を男子不妊症の治療に応

用しようとしたのは、以下の理由による。我々は、特発性男子不妊症における一次的な変化は、精細管壁の結合組織の異常増生であるという考えを持っている¹⁹⁾。従つて、結合組織の異常増殖抑制作用を有する²⁰⁾ MDS に着目したわけである。しかしながら、特発性男子不妊症において、精細管周囲に肥満細胞が増加し、かつ分泌能が亢進しているという事実²¹⁾、及び、肥満細胞から分泌されるヘパリンが、線維細胞増殖性に働くという報告²²⁾などから、MDS の有効性が疑問視される面があることも事実である。

治療効果判定基準を、表12のように定めたのは、精子濃度の変動幅が約1500万/ml~3000万/mlのものが、最も妊娠率が高いという結果からである。今回の検討では、MDS の有効性に関し、統計学的検査では有意な差が認められなかつたが、投与期間1カ月~6カ月の群が、有効率、妊娠率ともに最高を示したことより、MDS 有効例は、早期に効果を示すと考えられる。尾本ら²³⁾が指摘するように、年齢、精液所見、投与期間、投与量等の因子を一定にした母集団で、統計的処理を行うのが望ましいが、今回の場合、服薬により、精液所見が改善しないと、自ら治療を中断してしまう例が多く、そのため適切な母集団を得ることができなかつた。従つて、今後十分な follow up により症例を重ね、正確な有意差検定の結果を提示していくつもりである。又、表14、15が示すように、精液所見と妊娠率が比例しないということは、抗精子抗体のような女性側の因子が関与している可能性もあり、それらも含めて、MDS の治療効果について、今後も検討していく予定である。

結 語

1973年より1980年3月までの7年3カ月間に、名古屋大学病院泌尿器科外来を受診した男子不妊患者922名について、臨床統計的観察を行い、以下の結論を得た。

- 1) 不妊患者は、男子外来患者の8.8%を占め、受診年齢は、26~35歳に集中し、不妊期間は、3年以上4年未満が最多であつた。
- 2) 既往歴を有するものは、380人で、このうち流行性耳下腺炎が最多で、全体の16%を占めている。
- 3) 原因別統計では、いわゆる特発性男子不妊症が全体の93%を占めている。又、閉塞無精子症の47%が先天性両側精管欠損であつた。
- 4) 初診時精液所見では、無精子症35.5%、乏精子症35.4%、正常例24.1%、精子無力症2.5%であつた。
- 5) 過去に妊娠させた経験を持つ者のうち、妻又は妻以外の女性を妊娠させた既往歴の判明している16例から逆算した発症推定年齢は、平均23歳であつた。

6) 妊娠成立例は69例であり、未治療群では、6.2%の、治療群では10.2%の妊娠率であつた。又、精子数が1000万/ml未満では、治療群、未治療群とも妊娠率が低いが、1000万/ml以上では、両群でほとんど妊娠率に差が認められなかつた。

7) 精路閉塞例以外の248例に精巢生検を施行し、精液所見との関連性をみたが、相関関係は認められなかつた。

8) 128例の特発性男子不妊症について、FSH、LH、テストステロン値を測定したところ、FSH、LHは精液所見が悪くなるにつれて、上昇傾向を示し、テストステロンは、大部分が正常範囲内であつた。

9) 特発性男子不妊症の中で、LHが上昇し、レイディヒ細胞の数が増えているものは、逆にテストステロン値が減少する傾向にあることが示された。

10) 245例の特発性男子不妊症に対し、MDS 900 mg/dayの経口投与を行い、有効率40%、妊娠率10%の結果を得た。又、MDS 有効例は、早期に効果を示すと思われた。

本論文の要旨は、第25回日本不妊学会総会において発表された。

文 献

- 1) 西村隆一、岩崎 皓、木下裕三、野口和美、高井修道：男子不妊症の臨床的観察，日不妊会誌，24：205，1979。
- 2) 白井将文：精子形成障害，特に男子不妊症について，臨泌，26：281，1972。
- 3) Charny, C. W.: Testicular biopsy. its value in male sterility. J. A. M. A., 115:1429, 1940.
- 4) 市川篤二、熊本悦明、小野田廉雄：無精子症の研究，最新医学，15：1549，1960。
- 5) Johnsen, S. G.: Testicular Biopsy Count A method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and results in 335 hypogonadal males, hormones, 1:2, 1970.
- 6) 石神襄次：男子不妊の治療：臨泌，31：475，1977。
- 7) 長沼弘三郎、後藤俊弘、前山泰典、岡元健一郎：男子不妊症の臨床的観察，西日泌尿，39：611，1977。
- 8) 片山 喬：男性不妊に関する2、3の問題，千葉医学，52：225，1976。
- 9) 碓井 亜、林 睦雄、中津 博、石部知行：男子不妊症の臨床的観察，西日泌尿，38：40，1976。
- 10) 平野章治、沢木 勝、大川光央、黒田恭一：男子不妊症の臨床的検討，日不妊会誌，20：11，1975。
- 11) 白井将文、竹内睦男、佐々木桂一：流行性耳下

腺炎性率丸炎後の造精機能障害について, 日不妊会誌, 16: 14, 1971.

- 12) Hunter, J.: Nelson, R.: J. urol., 63: 176, 1950.
- 13) 高井修道: 先天性両側精管欠損症, 日泌尿会誌, 48: 121, 1957.
- 14) 穴戸仙太郎, 白井将文: 男子性器疾患の診断と治療, 南山堂, 62, 1970.
- 15) 酒徳治三郎: 男子不妊症の薬物療法, 泌尿紀要, 12: 799, 1966.
- 16) 小松洋輔, 友吉唯夫, 岡田謙一郎, 高山秀則: 男子不妊症の臨床統計的観察ならびにその追跡調査成績について, 日不妊会誌, 14: 346, 1969.
- 17) 三宅弘治, 三矢英輔: 走査型電子顕微鏡による不妊精細管の外形観察, 日泌尿会誌, 66: 6, 1975.
- 18) De Krester, D. M., Burger, H. G., Fortune, D., Hudson, B., Long, A. R., Paulsen, C. A., Taft, H. P.: Hormonal, histological and chromosomal studies in adult males with testicular disorder, J. Clin. Endocr. Metab. 35: 392, 1972.
- 19) 三宅弘治, 佐橋正文, 渡辺文治, 山本雅憲, 欄芳郎, 三矢英輔: 走査型電子顕微鏡による不妊精細管壁内膠線維構築の観察, 日不妊会誌, 24: 372, 1979.
- 20) 平野洋一: 線維形成に対する Dextran Sulfate の影響に関する実験的研究, 関西医科大学雑誌, 27: 182, 1975.
- 21) 三宅弘治, 欄芳郎, 佐橋正文, 渡辺文治, 山本雅憲, 三矢英輔, 北村裕和, 山田和順: 特発性男子不妊症の精巣間質における肥満細胞, 日泌尿会誌, 71: 1211, 1980.
- 22) 渡辺洋望: 結合組織, 13: 44, 1981.
- 23) 尾本徹男, 平野 遙, 神崎仁徳, 百瀬俊郎: 男子不妊外来の追跡調査について, 西日泌尿, 33: 447, 1971.

A clinical and statistical study on male infertility

**Masanori Yamamoto, Koji Miyake,
Yoshiro Maseki, Hideo Kakei,
Momokazu Goto, Shinichi Takamura,
Shomo Sai and Hideo Mitsuya**

Department of Urology, Nagoya University,
School of Medicine
(Director: Prof. H. Mitsuya)

A clinical and statistical analysis was performed on infertile male patients (922 cases) who had visited our urology clinic for 7 years and 3 months from 1973 to March 1980. The conclusions obtained were as follows:

1) An incidence of infertile male was 8.8% as compared to the total male outpatients. Age distribution of the patients ranged mostly from 26 to 35 years old. Infertile period was most commonly distributed within 4 years after their marriage.

2) In statistical analysis by cause, the number of idiopathic infertile male occupied 92.6% of whole patients.

3) Pregnancy was obtained in 69 cases. When the sperm count was less than 10 million/ml, pregnancy rate was low in both treated group and non-treated group, while when it was 10 million/ml or more, there was almost no difference in pregnancy rate between the two groups.

4) In 128 cases of idiopathic infertile male, FSH, LH and testosterone values were determined; FSH and LH tended to increase with worse findings of semen and testosterone value was in normal range in most of patients.

5) As result of administration of MDS to 245 cases of idiopathic infertile male, effective rate was 40% and pregnancy rate, 10%.

(受付: 昭和56年9月28日)

精管欠損症の3例

Congenital Absence of the Vas Deferens: Report of Three Cases

埼玉医科大学泌尿器科学教室

内 島 豊 中 目 康 彦
Yutaka UCHIJIMA Yasuhiko NAKAME
平 賀 聖 悟 岡 田 耕 市
Seigo HIRAGA Koichi OKADA

Department of Urology, Saitama Medical School

東京医科歯科大学泌尿器科学教室 (主任: 横川正之教授)

根 岸 壮 治 吉 田 謙 一 郎 大 島 博 幸
Takeharu NEGISHI Kenichiro YOSHIDA Hiroyuki OSHIMA

Department of Urology, School of Medicine,
Tokyo Medical and Dental University
(Director: Prof. M. Yokokawa)

男子不妊症の原因として精路通過障害は約7%とされ、その中でも1/3は先天的なものである。精路異常の中で精管異常には精管欠損、精管開口異常、重複精管があり、われわれは Guizzetti らの分類で Class III に属する3例の両側精管欠損症を経験した。

精管欠損症は本邦で116例報告され患側不明5例を除き両側例79例、偏側例32例であり大部分の症例が不妊を主訴とした。合併奇形として副睾丸奇形51例、腎奇形9例、精囊奇形16例を認めた。組織検査が施行されている症例において造精機能は両側精管欠損例で両側睾丸とも正常は33例(62.3%)、偏側精管欠損例で同側の睾丸正常は10例(50%)であった。治療として精路再建術が行なわれているが、人工的な精液瘤造設術も今後検討に値する方法と考えた。
(*Jap. J. Fert. Ster.*, 27(3), 377-384, 1982)

I. 緒 言

男子不妊症の原因には、(1) 造精機能障害、(2) 精路通過障害、(3) 副性器障害、(4) 性交障害があるが、大部分は特発性造精機能障害であり、精路通過障害の頻度は大よそ7%とされる^{1,2)}。一方無精子症の半数以上は精路通過障害を原因とし、精路通過障害のうち約30%は先天性、残り70%は炎症や外傷に基づく後天性のものである^{1,2)}。

精路(副睾丸、精管、精囊、射精管)は副睾丸頭部を除き発生学的に Wolff 氏管(中腎管)由来であり、精路異常は Wolff 氏管異常症とも云い換え得る。また精

路の発生と腎、尿管すなわち尿路の発生は密接な関連があり、精路異常に尿路異常を伴なう頻度が高いことが認められている。Guizzetti & Pariset (1911)³⁾は発生学的観点から精路異常と尿路異常の関係を3段階に分け、Class I: 精路異常(精路・完全欠損と部分欠損)を伴なう尿路異常、Class II: 精路異常を伴わず尿路異常のみ、Class III: 尿路は正常であるが精路にのみ異常を認めるものに、分類した。Class I と Class III にみられる精路異常のうち精管の異常としては精管欠損、精管開口異常、重複精管などが報告されており、われわれも最近 Class III に属する3例の両側精管欠損症を経験したので自験例を報告し、先天性精管欠損症に関して種々

の面から考察を加えた。

II. 症 例

(症例1) ██████████ 26歳 会社員

主訴：不妊

既往歴：1年半前 非淋菌性尿道炎

家族歴：特記事項なし

現病歴：結婚後1年4カ月になるが、子供が出来ず精査のため来院。妻(26歳)は婦人科的に異常なく、性生活も正常

現症：体格中等度。胸腹部に異常なし。陰茎、陰毛正常で、両側睾丸は15ml程度であり、硬度も正常。右副睾丸は正常所見であつたが、左副睾丸は頭部のみ触知可能。両側精管は陰囊内に触知できなかつた。前立腺に異常はない。

検査成績：射精液量0.8ml、粘稠性なく精子を認めなかつた。血中 FSH 6mIu/ml, LH 4mIu/ml, テストステロン852ng/dl といずれも正常値であつた。レ線検査；排泄性腎盂撮影にて両側腎、尿管に異常なし。

両側精管欠損症と診断し、精管の検索、睾丸生検および精管精囊腺撮影の目的で手術を施行した。

手術所見：両側陰囊を皮切し、陰囊内容を露出した。両側睾丸は正常、右副睾丸も正常所見であつたが、左副睾丸は頭部のみで体部尾部を欠如していた。外鼠径輪まで精索内を検索したが両側精管を認め得なかつた。

睾丸組織所見：生検は左側睾丸のみに施行し、造精機能は正常。

(症例2) ██████████ 32歳 大工

主訴：不妊

既往歴・家族歴：特記事項なし

現病歴：結婚後4年目であるが子供が出来ず、近医にて無精子症と診断され、左睾丸生検を施行された。紹介され当科受診。妻(30歳)は婦人科的に異常なく、性生活も正常。

現症：体格中等度。胸腹部に異常なし。陰茎、陰毛正常所見で、両側睾丸、副睾丸も正常であるが陰囊内に精管を触知出さなかつた。前立腺は正常大でとくに異常なし。

検査成績：射精液量0.4ml、粘稠性なく精子を認めず、果糖も検出せず、血中 FSH 11.1mIu/ml, LH 20.0mIu/ml, テストステロン 837ng/dl で FSH, LH はやや高値を示した。LH-RH テスト (LH-RH 100 μ g 静注)；FSH は最大26.5mIu/ml, 反応率2.4倍, LH は最大159mIu/ml, 反応率8.0倍であり正常。hCG テスト (hCG 3,000単位3日間筋注)；注射前837ng/dl, 注射後1,114ng/dl で反応率1.3倍であり正常。レ線検査；排泄性腎盂撮

影で両側腎、尿管に異常なく、膀胱鏡所見も異常なし。末梢血リンパ球の染色体検査は46, XYであつた。

両側精管欠損症の診断で、精管の検索、睾丸生検および精管精囊腺撮影の目的で手術を施行した。

手術所見：両側陰囊を皮切し、陰囊内容を露出した。両側睾丸、睾丸垂、副睾丸は正常所見で、外鼠径輪まで精索内を検索したが両側とも精管を認め得なかつた。

睾丸組織所見：両側睾丸はともに軽度の造精機能障害を示した。両側副睾丸は軽度に腫大し副睾丸管の管腔内には剝離上皮と多数の精子が混在していた。

(症例3) ██████████ 32歳 会社員

主訴：不妊

既往歴：小学生頃左下肢骨折

家族歴：特記事項なし

現病歴：結婚3年1カ月目であるが子供が出来ないので精査目的にて来院。妻(27歳)は婦人科的に異常なく、性生活も正常。

現症：やや肥満。胸腹部に異常所見なし。陰茎、陰毛は正常で、両側睾丸は15ml以上の大きさがあり硬度も正常。両側副睾丸は共に頭部のみしか存在せず、陰囊内には両側精管とも触知出来なかつた。前立腺は正常所見。

検査成績：射精液量0.8ml、粘稠性なく精子を認めず、果糖も検出せず。血中 FSH 8.4mIu/ml, LH 9.6mIu/ml, テストステロン 574ng/dl, E₁ 48pg/ml, E₂ 29pg/ml, プロラクチン7.3ng/ml と正常であつた。LH-RH テスト (LH-RH 100 μ g 静注)；FSH は最大31mIu/ml, 反応率3.8倍, LH は最大94.4mIu/ml, 反応率7.3倍で正常。hCG テスト；注射前574ng/dl, 注射後1,257ng/dl, 反応率2.2倍で正常。レ線検査；排泄性腎盂撮影にて両側腎、尿管に異常なく、膀胱鏡所見でも異常なし。末梢血リンパ球の染色体検査では46, XY であつた。

両側精管欠損症の診断で、精管の検索、睾丸生検および精管精囊腺撮影の目的にて手術を施行した。

手術所見：両側陰囊を皮切し、陰囊内容を露出した。両側睾丸、睾丸垂、副睾丸垂、副睾丸頭部は正常所見であつたが、両側副睾丸の体部、尾部は欠損していた。(Fig. 1a, Fig. 1b)

外鼠径輪まで精索内を検索したが両側とも精管を認め得なかつた。副睾丸頭部の遠位端を一部切除し、副睾丸頭部を圧迫した所、黄色クリーム状の液体を認め、術中の顕鏡にて運動性はほとんどないが精子の存在を確認した。次いで睾丸固有鞘膜の一部を切除し副睾丸頭部の切除断端部に、3-0Dixon 糸で嚢状に連続縫合し、精液嚢の造設を試みた。(Fig. 2a, Fig. 2b)

睾丸組織所見：両側睾丸は正常の造精機能を示し (Fig. 4), 両側副睾丸の副睾丸管は拡張し中に成熟精子

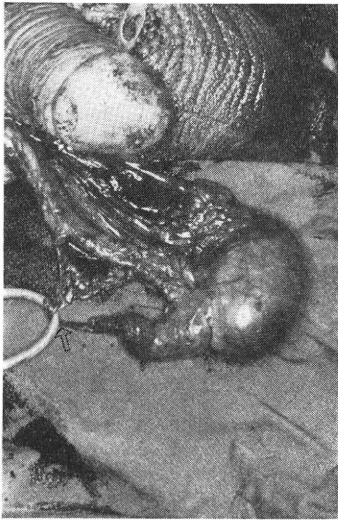


Fig. 1a Case 3; Congenital absence of the right vas deferens with the globus major. The white arrow shows the vessels.

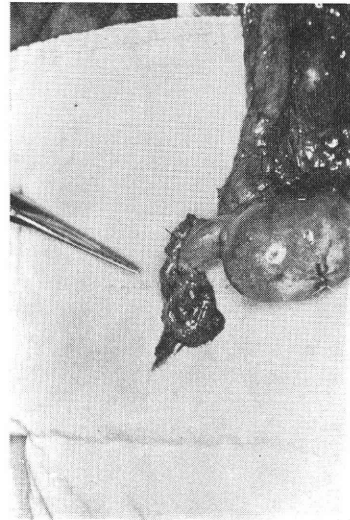


Fig. 2a Case 3; Creation of a right artificial spermatocele by utilizing the isolated flap of the tunica vaginalis.

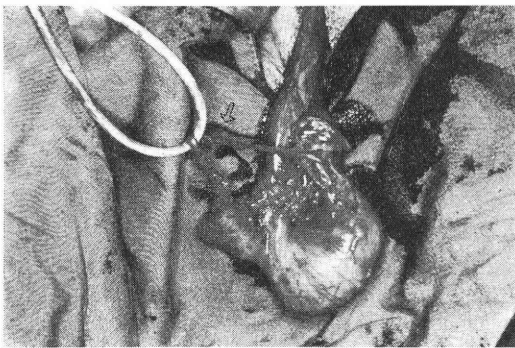


Fig. 1b Case 3; Congenital absence of the left vas deferens with the globus major. The white arrow shows the vessels.

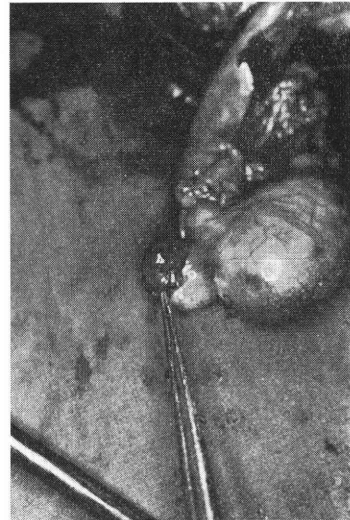


Fig. 2b Case 3; Creation of a left artificial spermatocele by utilizing the isolated flap of the tunica vaginalis.

を認めた。(Fig. 3)

術後経過：術後2カ月目の局所所見は両側副睾丸頭部に硬結が存在し，穿刺にて内容液の吸引はなく，超音波検査（Bモード）で管腔の形成が明らかではないため，縫合した固有鞘膜が癒着化していることが推定された。

III. 考 察

先天性精路異常，とくに精管異常症としては，(1) 精管欠損 (2) 精管開口異常 (3) 重複精管などがあるが，後2者が比較的稀であるのに対し，前者の精管欠損症の報告例は近年増加している。

先天性精管欠損症の報告は，1755年 John Hunter⁴⁾が剖検例において両側精管の一部欠損，両側副睾丸尾部欠

損，両側射精管欠損を認めたのが最初で，1918年 Lespinase⁵⁾は臨床例を報告し，本邦では1937年佐藤⁶⁾が37歳の右精管欠損の第1例を報告し，1956年原口⁷⁾らが両側例を報告している。最近是不妊夫婦の間において男性側に原因がある事がかなりの頻度で認められ，従来非常に稀とされた精管欠損症の報告が近年増加している。Hanley (1962)⁸⁾は81例，Charny (1965)⁹⁾は37例，Girgisら (1969)¹⁰⁾は32例，酒徳 (1967)¹¹⁾は71例集計報告



Fig. 3 Case 3; Histology of the globus major with distended vasa efferentia filled with spermatozoa. (H.E. $\times 100$)

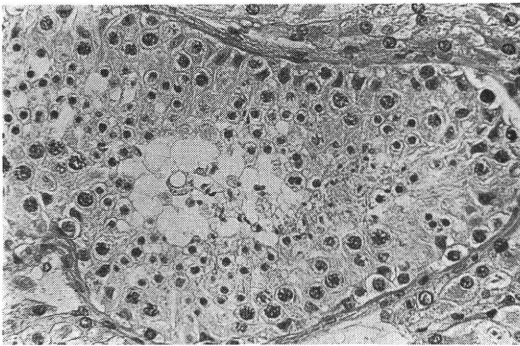


Fig. 4 Case 3; Normal histological appearance of the right testis. (H.E. $\times 200$)

している。重松の報告¹²⁾ (1940年の秋山ら¹³⁾の第3例 [26歳] は精管欠損ではなく、副睪丸欠損と考えられ、1963年岡村¹⁴⁾の症例は1966年小田¹⁵⁾の報告例と同一症例と考えられるので重松の集計は78例) 以後本邦では我々が集計し得た限りでは自験例を含めて38例追加報告されているので116例の報告となる。

O'Connor (1961)¹⁶⁾は157例の無精子症の原因として両側精管欠損5例 (3.2%)、対側の睪丸萎縮を伴う偏側精管欠損5例 (3.2%) を認め、Girgis ら¹⁰⁾は正常の精子形成があるにも拘らず無精子症である299例中両側精管欠損22例 (7.4%)、偏側精管欠損10例 (3.3%) を認め、Rubin (1965)¹⁷⁾は117例の無精子症中に両側精管欠損12例 (10.3%)、偏側精管欠損2例 (1.7%) を認めている。酒徳は精路通過障害による無精子症の50%は本症

であるとしているなど精管欠損症はかなりの頻度に存在すると考えられる。本邦116例中20歳代42例、30歳代51例で20から30歳代が全体の80%を占める。患側不明5例を除いて両側欠損例79例中63例 (80%)、右側欠損例16例中9例 (56%)、左側欠損例16例中5例 (31%) が不妊を主訴としているので結婚適齢期、あるいは結婚後何年かのちに子供が出来ない事を悩む20から30歳代に本症が発見される事は十分理解できる。10歳代の2例は各々全身倦怠感と左陰囊内容の硬結を主訴とし、50歳代以降の4症例中2例は陰囊内腫張 (53歳)、睪丸腫張 (57歳) を主訴とし、他の2例は両側精管結紮時 (50歳)、両側除睪術時 (72歳) に精管欠損を認めている。臨床で精管欠損を認めても症例報告ではなく統計内に例数のみ記される事もあり、特に偏側の場合、対側に障害がないと受診せず、発見されずに終る事が多いと考えられるので現在の報告例以上に多く症例は存在すると考えられる。

発生学的に Wolff 氏管下端から尿管芽が形成され、これは背頭方に伸び、造後腎組織へ侵入して尿路が形成されるの¹⁸⁾ で Wolff 氏管異常である精管欠損に尿路異常を伴うことが多い。腎欠損に同側の精管欠損を伴う頻度は、Ballowitz¹⁹⁾は113例中13例 (11.5%)、Guizzetti ら²⁰⁾は13例中5例 (38.5%)、Priesel²⁰⁾は7例中5例 (71.4%) と報告し、Nelson²¹⁾も精管欠損28例中3例に同側腎欠損を報告し、佐藤⁶⁾も著書の中で正常尿路を持ちながら精管の欠損をみることは極めて稀と記している。確かに精管欠損に腎欠損を伴う事は多いようで El-Itreby ら (1961)²²⁾ は精管欠損9例中3例に同側の腎欠損を、Rubin¹⁷⁾も両側精管欠損10例中2例に左腎欠損、1例に右腎欠損と左骨盤腎、1例に腎盂の変形の存在を報告した。

本邦116例中尿路の検索が不明である54例を除く62例中腎欠損例を8例、腎位置異常を1例に認め、14.5%に尿路異常を認めることになる。両側精管欠損44例中右腎欠損1例、左腎欠損3例、左腎位置異常1例であり、右精管欠損9例中3例に右腎欠損を (IVP で右側上部尿路の排泄を認めない症例があるが、それが先天的な腎欠損か前立腺腫瘍による無機能腎か判然としないので除外した)、左精管欠損8例中1例に左腎欠損を認めた (Table 1)。尿路にも異常を認める症例の場合、単なる精路の異常のみではなく尿管芽が形成する胎生4~5週以前に Wolff 氏管に広範な異常が生じたと考えるか、あるいは Wolff 氏管が全く発生しなかつた可能性が考えられる。しかし剖検例を除けば大部分の精管欠損症例では手術的に骨盤内精管、精囊、射精管の検索まで行なう症例は少なく、Vicker (1975)²³⁾は、①無精子症、②1.5 ml 以下の射精液量、③果糖を検出せず、④射精液の凝

Table 1 Anomalies of the upper urinary tract (UUT) in patients with the congenital absence of the vas deferens (VD).

UUT anomalies \ Absent side of VD	Bilateral		Right		Left	
	r	l	r	l	r	l
Normal	43*	40	6	9	8	7
Defect	1**	3***	3	0	0	1
Anomalies of position	0	1	0	0	0	0
Unknown	35	35	7(1)	7(1)	8	8

* Contralateral UUT defected in 3 cases and anomalies of position on contralateral UUT in one case.

** Contralateral UUT is normal.

*** A part of the ureter exists in one case.

() On study of IVP it is difficult to diagnose whether no visualization of UUT is congenital defect or no function of the kidney because of prostate carcinoma.

固性(-), ⑤十分な陰囊内容の触診で精管を認めなければ精管欠損症と診断してよいと述べ, 診断の為だけの手術は不要との考え²⁴⁾もあるので, 腎欠損を伴う症例で Wolff 氏管由来の精路がどの程度まで欠損しているのかは実際には不明であり, Wolff 氏管に広範な異常が生じたとは断定することはできない。一方同側精路および尿路の完全欠損症例の報告もあり²⁵⁾, その様な症例では, Wolff 氏管の発生がなかったとの考えも成立する。但し, 本邦例で腎欠損を伴う 8 例中 5 例においては同側の副辜丸は正常あるいは尾部のみの欠損であり Wolff 氏管の発生がなかったと考えるよりは Merrenら (1952)²⁶⁾ が述べている様に Wolff 氏管は発生したものの 2 次的に変性消失したと考える方が妥当と思われる。精管欠損症においては精管欠損の程度に種々の形があり, 副辜丸あるいは精囊にも種々の奇形を生ずることもこの考えに対する一つの傍証となり得る。

前記の理由から本邦の大部分の症例では精管の存在の検索は内鼠径輪までしか行なわれていないが, それでも精管が陰囊内で完全欠損している症例 (両側精管欠損で右側40例, 左側37例, 右側精管欠損で10例, 左側精管欠損で8例) ばかりでなく, 精管が副辜丸より何 cm か存在している症例 (両側精管欠損で右側2例, 左側4例, 右側精管欠損で2例, 左側精管欠損で1例) や精管の一部欠損例 (両側精管欠損で右側1例, 左側精管欠損で1例), 精管の一部が副辜丸と離れて存在する例 (両側精管欠損で左側1例) も認められる。酒徳¹³⁾のいわゆる外型欠如に相当するものは両側精管欠損で右側7例, 左側

8 例で, 右側精管欠損で1例, 左側精管欠損で1例であった。

精管欠損症には体部尾部が欠損しても副辜丸頭部の存在する場合が多いとされ, その理由として副辜丸頭部は体部尾部と異なり Wolff 氏体より由来することが考えられている。確かに本邦でも両側精管欠損において両側副辜丸の体部尾部欠損を認めたのは10例, 偏側に体部尾部欠損を認めたのは1例で計11例となり, 右側では18.3%, 左側では18.6%の頻度であり, 右側精管欠損では13例中3例 (23.1%), 左側精管欠損では14例中4例 (28.6%) に同側副辜丸の体部尾部欠損を認めるが, 一方正常の副辜丸を伴う例は両側欠損例で右側50%, 左側50.8%の頻度であり, 右側精管欠損例で23.1%, 左側精管欠損例で42.9%に認めた。また尾部のみの欠損を伴う症例も多くみられることから, 副辜丸の奇形の程度については発生母地の差異だけでなく 2 次的な変性消失の程度に左右されると考えられる。(Table 2)

Table 2 Anomalies of the epididymis.

Epididymal anomalies \ Absent side of VD	Bilateral		Right		Left		
	r	l	r	l	r	l	
Normal	30**	30	3	5	6	6	
Part of the defect	Whole	1	1	1	0	0	2
	Body and tail	10	11	3	0	0	4
	Half of body and tail	1	2	0	0	0	0
	Tail	13	9	2	0	0	2
Others*	5	6	4	3	0	0	
Unknown	19	20	3	8	10	2	

* Cystic changes in the head of epididymis, etc.

** Contralateral epididymis in 26 cases is normal.

精囊の異常の報告が少ないがこれは骨盤内までの検索を行なう事が少ないことも一因と考えられる。本邦例で異常を認めたのは16例に過ぎない。両側精管欠損において両側精囊が欠損した症例は3例, 偏側精囊欠損は2例 (対側精囊は1例正常, 1例發育不全) 偏側精囊發育不全1例であり, 右側精管欠損では同側精囊發育不全1例, 対側精囊發育不全5例および対側精囊の陰囊内転移1例を, 左側精管欠損では同側精囊發育不全1例と対側精囊の左方偏位2例を認めた (Table 3)。これらの症例以外に果糖測定より精囊の發育不全あるいは欠損が疑

Table 3 Anomalies of the seminal vesicle(SV)

Absent side of VD Anomalies of SV	Bilateral		Right		Left	
	r	l	r	l	r	l
Normal	3	3	0	4	3	0
Defect	4*	4**	0	0	0	1†††
Hypoplasia	1†	1	1††	5	0	0
Unknown	0	0	8	0	0	2

* Contralateral SV in one case is hypoplastic.

** Contralateral SV in one case is normal.

†,††,††† Contralateral SV is normal.

われる症例を自験症例2および症例3を含め6例に認めた。

精管欠損症では睾丸の造精機能は正常の場合が多いと考えられており、本邦例において睾丸組織所見の明らかな73例について検討すると、両側精管欠損53例において両側とも造精機能が正常であったのは33例(62.3%)、両側とも造精機能が低下していたのは14例(26.4%)、一方が造精機能正常で対側が低下していたものは6例認めた(6例中1例は造精機能の低下のみられた睾丸は停留睾丸であった)。右側精管欠損10例のうち両側とも造精機能が正常であったのは5例(50%)、両側とも造精機能が低下していたのは2例(20%)であり、左側精管欠損10例のうち両側とも造精機能が正常であったのは3例(30%)、両側とも造精機能が低下していたのは4例(40%)であり、同側の造精機能低下例を更に2例認めるが、うち1例は精索捻転例である(Table. 4)。Charny⁹⁾は37例の精管欠損症全例において造精機能は正常であったと報告し、Rubin¹⁷⁾は14例28個の睾丸中25個が正常であり残り3個中2個は尿毒症により、1個は耳下

Table 4 Histological appearance of the testicular biopsies.

Absent side of VD Spermatogenesis	Bilateral		Right		Left	
	r	l	r	l	r	l
Normal	39	33	6*	5	3	4***
Hypo.	14	20	3**	3	5	6
Unknown	0	0	0	1	2	0

* Spermatogenesis on contralateral testis in one is hypo.

** Spermatogenesis on contralateral testis in one is unknown.

*** Spermatogenesis on contralateral testis in one is hypo.

腺炎性睾丸炎による萎縮を示したと報告している。精管欠損症例における造精機能の検討で正常の造精機能を示す症例が多い理由として、第1に睾丸と精路で発生母地が異なり、第2に精管欠損症例で外生殖器異常を伴う症例が極めて少なく(本邦116例中1例に尿道上裂を認める)、睾丸垂を除けば Müller 氏管の遺残を認めない点から、Wolff 氏管の異常はあるものの胎生期睾丸の男性ホルモンと anti-Mülleric hormone の分泌は正常に存在したと推定される事が挙げられる。しかし造精機能の低下を示す症例もあり造精機能が他の要因によつて影響される事も考えられる。

精管結紮は精路の完全通過障害という点で精管欠損と共通しているが結紮後造精能がどのように変化しているのかを検討する事は精管欠損症例の造精機能について一つの示唆を与える。精管結紮後には造精機能の障害はないとする意見もあつたが、最近では精子凝集試験、精子不動化試験の普及により、精管結紮後血清中にかなり高率に精子抗体価が上昇する事が知られるようになった。Alexander ら(1980)²⁹⁾は精管結紮術を施行した60例について検討し、術後6週で14%、術後3カ月で31%、術後1年で41%に抗精子抗体の出現を認めた。組織学的にも、精管結紮後精細管基底膜の肥厚、精子細胞の変性消失が知られている²⁹⁾。しかし精管欠損症例において抗精子抗体に関する検討は現在までほとんど行なわれておらず今後の検討課題といえる。

精管欠損症例について何らかの治療法を試みる必要があるのは論を待たない。O'Conor¹⁶⁾は無精子症5例に精管一副睾丸の交叉性吻合を行ない2例に成功を認め、Charny の精管一副睾丸吻合の1例は失敗であつた。Microsurgery の技術が進歩した現在では、精管欠損部が短く造精機能が正常の症例では精管—精管吻合あるいは精管—副睾丸吻合は試みて良い治療法の一つである。Hanley(1956)³⁰⁾は両側精管欠損症例で副睾丸に合併した精液瘤の穿刺液中精子を使用して妊娠に成功したと報告し、Schoysman(1968)³¹⁾は大伏在静脈で副睾丸に精液瘤を形成した17例中4例に妊娠を生ぜしめているが、以後の30例中1例にしか成功しておらず、Cognat ら(1973)³²⁾も施行した7例全例失敗であつたと報告している。Rubin も睾丸固有鞘膜を使用して6例に精液瘤の形成を試み、3例に精液瘤の形成が成功したものの種々の理由から妊娠させるまでに致つておらず、自験例のうち1例に精液瘤造設術を施行したが成功は得られなかつた。今後使用する材料を含め更に検討する予定である。

IV. 結 語

最近我々は Guizzetti ら(1911)の Class III に属す

る両側精管欠損症 3 例を経験したので症例について報告するとともに、本邦における精管欠損症に関して若干の文献的考察を行った。

V. 謝 辞

この稿を終わるにあたり御協力頂いた宮崎洋美氏に深謝致します。

文 献

- 1) 石神襄次：男子不妊の治療，臨泌，31：475，1977.
- 2) Dubin, L., and Amelar, R. D.: Etiologic factors in 1294 consecutive cases of male infertility. *Fertil. Steril.*, 22: 496, 1971.
- 3) Guizzetti, P. and Pariset, F.: Beziehungen zwischen Mißbildungen und der Geschlechtsorgane. *Virch. Arch.*, 204: 372, 1911.
- 4) Hunter, J.: 21) より引用.
- 5) Lespinasse, V.: 21) より引用.
- 6) 佐藤三郎：正常尿路ヲ有シ副辜丸腫脹ヲ来セル右輸精管ノ先天的畸形ニ就テ，日泌尿会誌，26: 617, 1937.
- 7) 原口泰彦，井口久男，山脇春夫：最近経験せる疾患症例(ロ)両側精管欠損症，泌尿紀要，2: 371, 1956.
- 8) Hanley, H. G.: Congenital anomalies. *Proc. R. Soc. Med.*, 55: 1044, 1962.
- 9) Charny, C. W., and Gillenwater, J. Y.: Congenital absence of the vas deferens. *J. Urol.*, 93: 399, 1965.
- 10) Girgis, S. M., Etriby, A., Ibrahim, A. A., and Kahil, S. A.: Testicular biopsy in azoospermia. A review of the last ten years' experience of over 800 cases. *Fertil. Steril.*, 20: 467, 1969.
- 11) 酒徳治三郎，吉田 修，小松洋輔，高山秀則，原田 卓，上山秀磨：先天性精管欠如症について，泌尿紀要，13: 769, 1967.
- 12) 重松俊郎，中川克之，三好信行，江藤耕作：先天性精管欠損症，西日泌，35: 75, 1973.
- 13) 秋山一雄，大杉圭吉，伊藤 博：輸精管及び副辜丸 1 部欠損例，皮紀要，36: 161, 1940.
- 14) 岡村和弘：先天性両側精管欠損症，日泌尿会誌，54: 774, 1963.
- 15) 小田完五，久保泰徳，小野利彦：男性不妊症の臨床統計的観察，付：両側精管欠損症の 1 例，日不妊会誌，11: 313, 1966.
- 16) O' Connor, V. J.: Surgical correction of male sterility. *J. Urol.*, 85: 352, 1961.
- 17) Rubin, S.-O.: Congenital absence of the vas deferens. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 9: 94, 1975.
- 18) Patten, B. M.: *Human embryology*. 2nd ed.: chap. 18, 549-607, New York, McGraw-Hill Book Company., 1953.
- 19) Ballowitz, E.: Ueber angeborenen, einseitigen, vollkommenen Nierenmangel. *Virch. Arch.*, 141: 309, 1895.
- 20) Priesel, A.: Über das Verhalten von Hoden und Nebenhoden bei angeborenem Fehlen des Ductus deferens, zugleich ein Beitrag zur Frage des Vorkommens von Zwischenzellen im menschlichen Nebenhoden. *Virch. Arch.*, 249: 246, 1924.
- 21) Nelson, R. E.: Congenital absence of the vas deferens: a review of the literature and report of three cases. *J. Urol.*, 63: 176, 1950.
- 22) El-Itreby, A. A., Girgis, S. M.: Congenital absence of vas deferens in male sterility. *Internat. J. Fertil.*, 6: 409, 1961.
- 23) Vickers, M. A.: Creation and use of a scrotal sperm bank in aplasia of the vas deferens. *J. Urol.*, 114: 242, 1975.
- 24) Homonnai, Z. T., Paz, G., and Kraicer, P. F.: A retrospective diagnostic study on fifty cases of vas deferens agenesis. *Andrologia.*, 10: 410, 1978.
- 25) 西村洋司，村橋 勲：左腎，尿管，精管，精囊腺欠損と右精管良性腫瘍の合併した 1 例，臨泌，22: 455, 1968.
- 26) Merren, D. D., and Kelley, R. A.: Congenital absence of the vas deferens: report of three cases. *J. Urol.*, 68: 377, 1952.
- 27) Marshall, F. F., Reiner, W. G., and Goldberg, B. S.: The embryologic origin of the caput epididymis in the rat. *Invest. Urol.*, 17: 78, 1979.
- 28) Alexander, N. J., Free, M. J., Paulsen, C. A., Buschbom, R., and Fulgham, D. L.: A comparison of blood chemistry, reproductive hormones and the development of antisperm antibodies after vasectomy in men. *J. Andrology.*, 1: 40, 1980.
- 29) Bigazzi, P. E., Alexander, N. J., Silber, S. J.: Studies on testicular biopsies from vasectomized men. 28) より引用.
- 30) Hanley, H. G.: Pregnancy following artificial insemination from epididymal cyst. *Proc. Soc. Study Fertil.*, 8: 20, 1956.
- 31) Schoysman, R.: La création d'un spermatocele artificiel dans les agénésies du canal déférent. *Bull. Soc. R. Belge. Gynecol. Obstet.*, 38: 307, 1968.
- 32) Cognat, M., and Guillaud, M.: Le spermatocele veineux pour aplasie congenitale du deferent. *Andrologia.*, 5: 37, 1973.

Congenital absence of the vas deferens; Report of three cases

**Yutaka Uchijima, Yasuhiko Nakame,
Seigo Hiraga and Koichi OKADA**

Department of Urology, Saitama
Medical School

**Takeharu Negishi, Ken-Ichiro Yoshida
and Hiroyuki Oshima**

Department of Urology, School of Medicine,
Tokyo Medical and Dental University
(Director: Prof. M. Yokokawa)

The three cases of the absence of the vas deferens belonging to class III by Guizzetti and Pariset's classification (1911) are reported.

The incidence of the obstruction of the vas deferens among male infertility was reported as 7%. One third of them are congenital. In the causes of the obstruction of the vas deferens congenital

absence of the vas deferens, ectopic vas deferens and double vas deferens are included.

A total of 116 cases of the congenital absence of the vas deferens including our three cases has been reported in Japanese literature. 79 cases of them were bilateral and 32 cases unilateral. Most of them have visited urological clinics with the chief complaint of sterility. Associated anomalies of the epididymis in 51 cases, the upper urinary tract in 9 cases and the seminal vesicles in 16 cases.

In those cases of bilateral absence of the vas deferens normal spermatogenesis on bilateral testes were reported in 33 cases and in the cases of unilateral ones normal spermatogenesis on ipsilateral testes were reported in 10 cases. An artificial spermatocele by utilizing an isolated flap of the tunica vaginalis was made in one of experienced cases. The result, however was poor.

The clinical features and pathogenesis of the congenital absence of the vas deferens were discussed.

(受付: 昭和56年9月30日)

De novo の均衡型複合転座を有する 低ゴナドトロピン性類宦官症の1例

De Novo Complex Translocation in a Case with
Hypogonadotropic Eunuchoidism.

岡山大学医学部泌尿器科 (主任: 大森弘之教授)

大橋輝久 森岡政明 光畑直喜
Teruhisa OHASHI Masaaki MORIOKA Naoki MITSUHATA
金重哲三 武田克治 大森弘之
Tetsuzo KANESHIGE Katsuji KAKEDA Hiroyuki OHMORI

Department of Urology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Hiroyuki Ohmori)

岡山大学医学部小児科 (主任: 木本浩教授)

橋原幸二 木村俊介 木本浩
Kouji NARAHARA Shunsuke KIMURA Hiroshi KIMOTO

Department of Pediatrics, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Hiroshi Kimoto)

De novo の均衡型複合転座を有する低ゴナドトロピン (G) 性類宦官症19歳例を経験したので報告する。臨床症状としては、外性器發育不全、右ソ径部停留睪丸が認められたが、嗅覚障害、女性化乳房は認められなかった。また矮小睪丸であり、その組織像は infantile type であった。

内分泌学的検査成績では、LH、FSH、PRL、GH、Testosterone の basal 値および LH-RH、TRH、Insulin、HCG に対する反応の低下を認め、この症例は低 G 性性腺不全症の他に何らかの下垂体機能障害が示唆された。

現在までに報告されている de novo の均衡型複合転座を有する症例は自験例を含め4例あるが、2症例は、非特異的多発奇形および知能遅滞を有し、他の1例は無精子症を認めているにすぎず、低 G 性類宦官症を呈したのは自験例のみである。(Jap. J. Fert. Ster. 27(3), 385-392, 1982)

緒 言

外性器發育不全を有する疾患には、しばしば染色体異常を認めるが、そのほとんどは性染色体異常であり、常染色体のみに異常を認めることは稀である。

今回、著者らは3つの常染色体に複雑な translocation を認めた低 gonadotropin (G) 性類宦官症の1例を経験し、内分泌学的検討を行なったので報告する。

症 例

19歳 男子
主訴: 矮小陰茎
初診: 昭和53年2月27日
家族歴、既往歴に特記すべき事なく、母親の妊娠中、ホルモン剤の投与を受けていない。
現病歴: 満期正常分娩にて出産。小学4年生頃より矮小陰茎に気づくも放置。しかし高校生になっても第二次

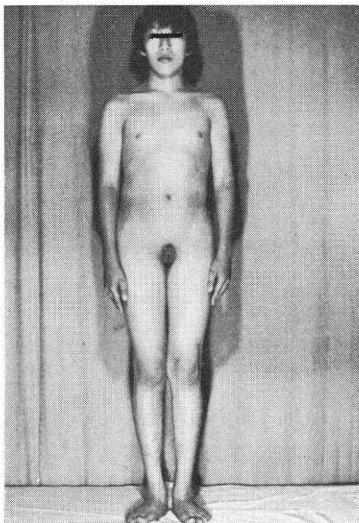


Fig. 1 General appearance reveals typical eunuchoidal stature without gynecomastia.

性徴の出現を認めず、昭和53年2月某病院受診し、精査のため当科紹介され、昭和53年4月26日当科入院す。

入院時現症：身長165.8cm, 体重51.0kg. 顔貌 小児様。脈拍84/min, 整, 緊張良好。球・臉結膜に貧血, 黄疸を認めず。女性化乳房なし。胸腹部理学的所見異常なし。陰茎は、仮性包茎で伸張時6cm。尿道, 陰囊に異常を認めなかつたが, 右陰囊内容は触知せず, 左陰囊内容はエンドウ豆大であり, 前立腺も矮小であつた。

入院時検査成績：血圧114/62mmHg, 血沈4mm/1^o,

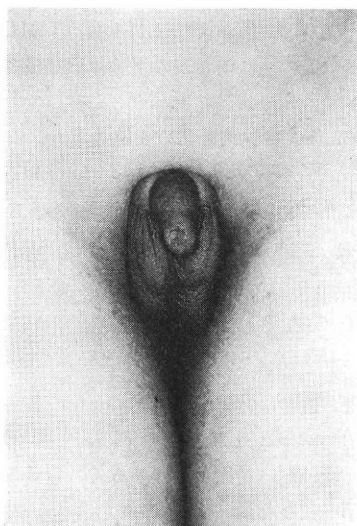


Fig. 2 External genitalia reveals that of prepubertal boy.

17mm/2^o. 血液像 RBC 426×10^4 , Hb 12.6g/dl, Ht 33.2%, WBC 5300. 血清総蛋白 6.9g/dl, Alb. 61%, α_1 -G 3.0%, α_2 -G 8.5%, B-G 9.7%, γ -G 17.6%. Al-P 3.0 B.L.U, GOT 34u., GPT 24u., ビリルビン 総0.63mg/dl, 直接0.19mg/dl, コレステロール151mg/dl. FBS 89mg/dl, 50g GTT 正常パターン. 血清電解質 異常なし. BUN 13mg/dl, クレアチニン0.74mg/dl, PSP 15min. 40%, 120min, 100%, 濃縮試験 異常なし. 尿所見 異常なし. BMR 37%.

ECG within normal limit, トルコ鞍X-P 浅床であり前床突起なし (Fig. 3). 半根骨 X-P, 胸部 X-P, DIP, 胃小腸造影, 大動脈造影, 異常なし. 尿道膀胱造影にて male utricle を認む (Fig. 4).

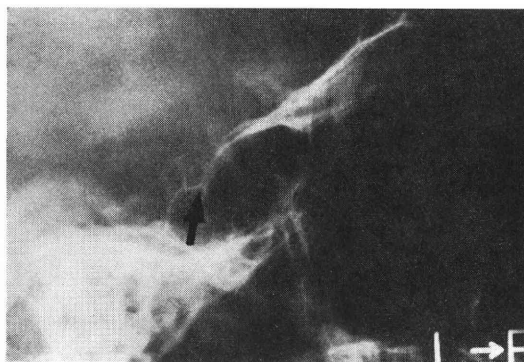


Fig. 3 Sella shows sawcer like appearance and no visualization of anterior clinoid process.



Fig. 4 Urethrocytogram reveals male utricle (arrow)

染色体分析

Phytohemagglutinin 添加後72時間培養した末梢血リンパ球を用いて染色体分析を行った。染色体同定には、G-band 法¹⁾, Q-band 法²⁾および R-band 法³⁾を用いた。分析したすべての細胞において、2番, 3番およ

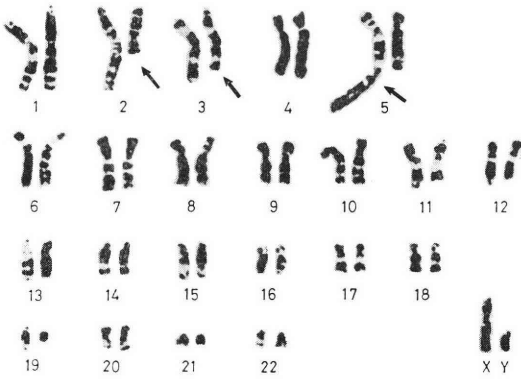


Fig. 5-a Complete G-banding karyotype.

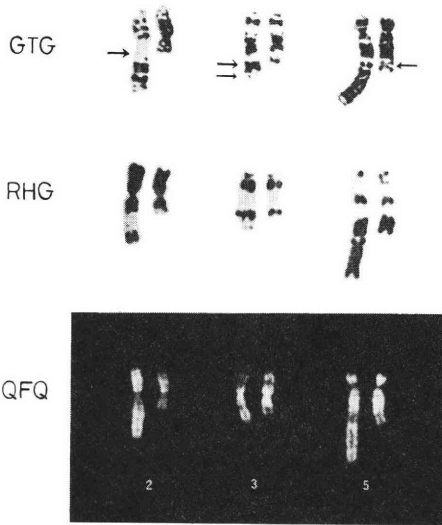


Fig. 5-b Partial karyotypes ; G-banding (top), R-banding (middle), and Q-banding (bottom).

び5番染色体に発生した均衡型複合転座が認められた (Fig. 5a, 5b).

転座染色体の分染パターンから核型は46, XY, t(2; 3; 5) (2pter→2q13::5q33→5qter; 3pter→3q25::3q27→3qter; 5pter→5q33::3q27→3q25::2q13→2qter)と考えられた (Fig. 6). 両親および姉の染色体検査は正常であった。

内分泌学的検査成績 (Table 1)

Luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) は basal 値, LH-RH に対する反応とも低下, prolactin (PRL) も basal 値, TRH に対する反応とも低下傾向を認めた。また growth hormone (GH) も insulin 負荷に対し低反応であり, 下垂体前葉機能の低下が示唆されたが, thyroid hormone (TSH) は逆に basal 値高値で, TRH 負荷に対し過剰反応を呈

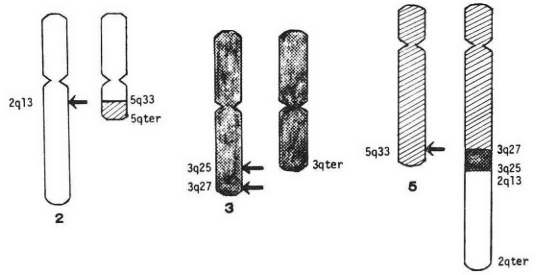


Fig. 6 Schema in a balanced complex translocation.

Table 1 Endocrinological data

1) Plasma LH and FSH responses to LH-RH (100 μ g i.v.)		basal		30 min.			
LH (mIU/ml)		5.5		9.4			
FSH (mIU/ml)		3.0		7.2			
2) Plasma PRL and TSH responses to TRH (500 μ g i.v.)		basal	15	30	60	120 min.	
PRL (ng/ml)		3.4	23.7	17.9	10.4	5.7	
TSH (μ U/ml)		10.9		53.1	44.1	40.0	
3) Plasma GH response to insulin (5.5 u.i.v.)		basal		15	30	60	90 min.
GH (ng/ml)		2.8	1.9	2.0	4.4	6.0	
4) T ₃	33.8%	T ₄		11.2 μ g/dl			
5) Plasma DHA and F responses to rapid ACTH stimulation (Cortrosyn 25 i.u. i.v.)		basal		30	60 min.		
DHA (ng/dl)	196	296		353			
F (μ g/dl)	21.6	36.1		60.0			
6) Plasma T response to HCG (4000 i.u. daily i.m. for 3 days)		Day 1		2	3	4	
T (ng/dl)	33.0	18.0		40.0	40.0		

した。

T₃, T₄ は正常範囲であった。Rapid ACTH stimulation に対し cortisol (F) は充分な反応を呈したが, dehydroepiandrosterone (DHA) は basal 値, 反応とも低下がみられなかった。Testosterone (T) は, basal 値が女性レベルであり, HCG 負荷に対しても無反応であった。

手術および病理所見

昭和53年10月19日, 右ソ径部停留睾丸に対し, 固定術および両側睾丸生検を行った。睾丸組織像は両側とも精細管は未熟であり, いわゆる infantile type を呈し (Fig.

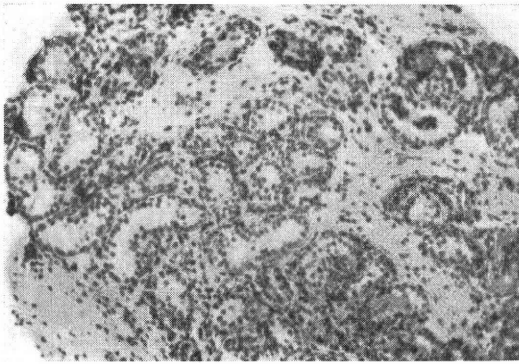


Fig. 7-a

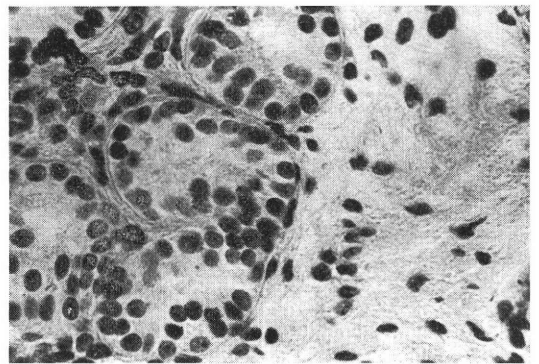


Fig. 7-b

Fig. 7-a, b Histology of testis reveals prepubertal seminiferous tubules and leydig cells.

7-a), 間質細胞も疎であつた (Fig. 7-b).

治療経過

術後順調に経過し, 7月24日より fluoxymeterone 6 mg/day 6カ月内服させるも, 陰毛の発育なく, 前立腺は依然矮小であつた. 昭和54年3月5日より testosterone enanthate 125mg 1回/週間筋注を開始し, 17回終了時には陰茎は伸張時9cm, 前立腺は雀卵大となり, erotic erection を認め, 陰毛も軽度発育するようになった.

さらに筋注療法を続け, 39回終了時には, 陰茎は伸張時9.5cm となり, 前立腺も正常サイズ, 陰毛も tanner IV 度とほぼ正常となり (Fig. 8), また masturbation でオルガスムスを得るようになった.

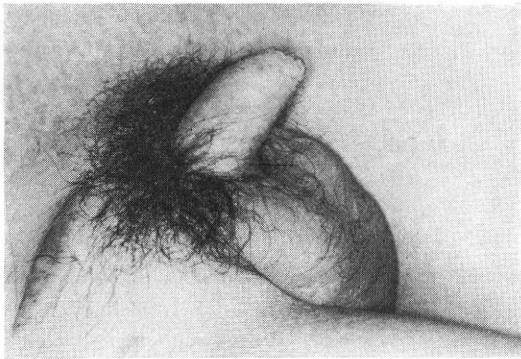


Fig. 8 External genitalia after testosterone replacement reveals that of normal adult male.

内分泌学的にも T: 400ng/dl, RPL basal 値: 19.0 ng/ml, TPH 負荷後の peak 値: 37ng/ml と上昇を認めたが, LH, FSH は当然の事ながら basal 値 4.5 mIU/ml, 1.4mIU/ml, LH-RH 負荷後30分値8.5mIU/

ml, 2.6mIU/ml と低値を示した.

以後も testosterone enanthate 筋注を続け, 昭和55年7月21日現在, penis 伸張時9.6cm, 亀頭部の発育良好となり, Tは1120ng/dl, LH, FSH は, 各々11.0mIU/ml, 3.9mIU/ml であつた.

考 察

人の染色体異常に基づく先天異常は1959年 Lejeune ら⁴⁾の Down 症候群 (21トリソミー) の報告に始まり, 染色体分析技術の発達とともに種々の染色体異常症候群が報告されている⁵⁾. 3個以上の染色体に発生する複雑な転座 (複合転座 Complex translocation) は比較的稀な染色体異常であり, 現在までに21例が文献上記載されている (Table 2⁶⁾-2⁶⁾). これらの異常はすべて表現型に異常を有する個人あるいは流産胎児に確認されたものである.

21例のうち14例において, 複合転座は家族性であり, 転座に関与する染色体の一部が欠失あるいは重複した発端者 (不均衡型転座) から同定されている. この際, 1例 (Case 17) を除いて, 発端者の染色体異常はすべて母親の均衡型複合転座に由来している.

一方, de novo に発生した複合転座は7例にみられるが, 自験例にみられた如き de novo の均衡型複合転座は3例 (Case 5, 10, 21) にすぎない. これらの3症例はすべて何らかの表現型異常を有している. 即ち, Case 5 および Case 21 の症例には非特異的な多発奇形および精神遅滞が, Case 10 には無精子症が認められた. 均衡型転座を有する男子では, 減数分裂における pairing の異常が精子形成を障害するという報告があり²⁷⁾, Case 10 にみられた無精子症と関係するかも知れない. いずれにしても, 均衡型転座でありながら表現型異常が認められることは, 両者の間に因果関係が存在する事を唆し

Table 2 Complex translocations reported in the literature

Case No.	Chromosomes involved	Main clinical features	Origin of the rearrangement	Reference
1	1, 2, D, 16	18-trisomy-like features	de novo (no banding)	de Grouchy and Lautman, 1968
2	3, C, 15	Mental retardation	de novo (no banding)	Nuzzo et al., 1968
3	5, 9, 3	Multiple malformations	Maternally derived	Fredga and Hall, 1970
4	6, 14, 20	Multiple malformations	Maternally derived	Allderdice et al., 1971
5	1, 5, 8, 9	Multiple malformations	de novo (balanced)	Marinetti and Noel, 1973
6	5, 7, 17	Multiple malformations	Maternally derived	Berger et al., 1974
7	3, 4, 14	Multiple malformations	Maternally derived	Creasy et al., 1974
8	9, 13, 14	Multiple malformations	Maternally derived	Fujita et al., 1974
9	11, 12, 13	Multiple malformations	Maternally derived	Sanchez et al., 1974
10	4, 7, 15	Azoospermia	de novo (balanced)	Chandley et al., 1975
11	7, 11, 21	Down syndrome	Maternally derived	Schwinger et al., 1975
12	2, 21, 21	Abortus with Down syndrome	de novo (unbalanced)	Creasy et al., 1976
13	9, 21, 22	Multiple malformations	Maternally derived	Dallapiccola et al., 1976
14	3, 11, 20	Multiple malformations	Maternally derived	Palmer et al., 1976
15	4, 6, 9	Multiple malformations	Maternally derived	Tanaka et al., 1977
16	3, 11, 14	Multiple malformations	de novo (unbalanced)	Buchanan et al., 1978
17	6, 10, 13	Multiple malformations	Paternally derived	Schwanitz et al., 1978
18	1, 5, 6	Multiple malformations	Maternally derived	Hustinx et al., 1979
19	2, 4, 18	Multiple malformations	Maternally derived	Mattei et al., 1979
20	1, 8, 15	Multiple malformations	Maternally derived	Ballesta et al., 1980
21	3, 7, 21, X	Multiple malformations	de novo (balanced)	Pai et al., 1980

ている。Jacobs²⁸⁾は、de novo の均衡型転座が表現異常をきたす機序として、(1) 転座にともなう染色体の微細な欠失、(2) 転座による遺伝子の位置効果 (position effect)、(3) 切断点に位置する遺伝子の突然変異 (gene mutation) を提唱している。自験例では、染色体欠失の必発症状である精神遅滞および奇形が認められず、表現型異常の発現に (2) あるいは (3) の機構が関与していることが推定される。常染色体劣性遺伝形式をとる家族性低G性類宦官症の存在²⁹⁻³¹⁾は、著者らの仮説を支持するものであろう。また既に報告されている複合転座の症例では、特定の染色体 (No. 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 14, 21染色体) に転座が発生する傾向がみられる。

自験例では No. 2, 3 および 5 染色体に転座が認められ、上記の傾向をうらづけている。

内分泌学的検討に関しては、自験例では、LH、FSH の basal 値および LH-RH に対する反応の低下を認めたが、視床下部障害による低 G 性類宦官症では、LH-RH に対する反応は正常でなければならない。しかしこの点について井村³²⁾らは視床下部障害により長期間内因性 LH-RH が抑制されていた場合は 1 回の LH-RH 投与では十分な反応が得られないと考え、LH-RH 400 μ g

の 2 時間点滴静注を連日くり返した後に、再び LH-RH test を行なうと、LH の反応の正常化がみられ、視床下部性と確定できると報告している。自験例では前述した LH-RH 連続投与を行なつておらず、またトルコ鞍 X-P にて浅床であるので視床下部障害とは断定できない。

自験例では GH の insulin 負荷に対する反応の低下がみられたが、井村³²⁾らも同様な結果を得ており、Boyar³³⁾らは 6 例中 2 例に arginine および insulin 負荷に低反応を示しただけでなく、4 例に睡眠中の GH が prepubertal stage の小児より低値である事を認めており、GH 分泌にも軽度障害がある事が示唆される。

次に PRL、TSH に関してであるが、basal 値、TRH に対する反応とも正常であるとの報告が多い³²⁻³⁵⁾が、自験例では PRL の低下と逆に TSH の上昇という結果を得た。PRL 分泌に関しては、視床下部より分泌される prolactin inhibiting factor が dominant であるが、自験例の PRL 低値は下垂体よりの分泌能障害が示唆される。しかし TSH の basal 値および反応とも上昇しており、下垂体分泌能障害のみでは解決できない問題点であり、今後の検討を要すると思われる。

副腎性 androgen である DHA、DHA-S については

Copeland ら³⁶⁾の検討で低G性性腺不全症は, idiopathic delayed puberty と異なり DHA, DHA-S とも正常範囲に認められ, とくに DHA-S は bone age で検討すると高値を認めたと述べている. しかし自験例では, DHA, DHA-S とも低値であるが, DHA, DHA-S とも睾丸性のものがかなり含まれる事³⁷⁻³⁹⁾を考慮すると同年齢の正常人男子に比し低値であると考え. しかし Copeland³⁶⁾らの結果を考え併せると低G性性腺不全症における DHA, DHA-S 分泌も個人差がかなりあるものと推察する.

最後に視床下部障害による低G性類宦官症では clomiphene citrate 投与に対し無反応である^{32,35,40)}といわれているが, Hamilton ら⁴¹⁾は multiple pituitary hormone deficiencies, 完全嗅覚障害型, 不完全嗅覚障害型および嗅覚障害のない単独G欠損症に対して Clomiphene citrate を20mg 7~14日間, 続いて50~100mg 4週間投与を行ない, 不完全嗅覚障害型3例中2例, 嗅覚障害のない2例中1例にGおよびTの上昇, さらには睾丸組織像の正常化を認め, 妊娠例もあつたと報告している. これは視床下部障害の部位および程度にかなり個人差があると考え. しかし自験例では, HCG 負荷に対しTが充分な反応を示す例が多いといつた従来の報告^{33,35,40,42)}と異なり HCG に対し無反応であつたような症例では, clomiphene citrate 投与の効果はあまり期待できないと考えるが, 低G性類宦官症に対し, 視床下部病変の詳細な検討を行い, 症例によつては clomiphene citrate による治療の必要性も示唆される.

結 語

De novo の均衡型複合転座を有する低G性類宦官症例を経験したので染色体分析, 内分泌学的検査を中心に検討を加えたので報告した. 性染色体だけでなく, 常染色体異常も視床下部, 下垂体, 性腺系に何らかの障害を与える事が示唆された.

摺筆するにあたりホルモン測定に御協力頂いた本学中央検査室齊藤利興技師長並びに当教室河原厚己技官に感謝します.

尚本論文の要旨は, 第18回日本不妊学会中国四国支部総会にて発表した.

文 献

- 1) Seabright, M. A.: A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 2: 971-972, 1971.
- 2) Caspersson, T., Zech, L., Johanssen, C. and Modest, E. J.: Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agent. *Chromosoma* 30: 215-217, 1970.
- 3) Sehested, J.: A simple method for R-banding of human chromosomes, showing a pH-dependent connection between R and G bands. *Hum. Genet.* 21: 55-58, 1974.
- 4) Lejeune, J., Turpin, R. and Gantier, M.: Le mongolism, premir exemple d'aberration antosomigie humaine. *C. R. Acad. Sci.* 248: 1721-1722.
- 5) 外村 晶: 染色体異常—ヒトの細胞遺伝学, p. 119-167, 朝倉書店, 東京, 1978.
- 6) De Grouchy, J. and Lautmann, F.: Caryotype 46, XX, 1q⁻, 2q⁻, Dq⁺, 16q⁺ chez une enfant polymalformée. *Ann. Génét.* 11: 129-131, 1968.
- 7) Nuzzo, F., Marini, A., Baglioni, C., Ford, C. E., De Caril, L. and Sereni, L. P.: A case of multiple chromosomal rearrangements with persistence of foetal haemoglobin. *Cytogenetics* 7: 169-182, 1968.
- 8) Fredga, K. and Hall, B.: A complex familial translocation involving chromosomes 5, 9 and 13. *Gytogenetics* 9: 294-306, 1970.
- 9) Alderdice, P. W., Miller, O. J., Miller D. A., Breg, W. R., Gendel, E. and Zelson, C.: Familial translocation involving chromosomes 6, 14 and 20, identified by quinacrine fluorescence. *Humangenetik* 13: 205-209, 1971.
- 10) Martinetti, J. and Noel, B.: Remaniement complexe de novo touchent quatre chromosomes chez un nouveau-né. *Ann. Génét.* 16: 285-288, 1973.
- 11) Berger, R., Derre, J. and Ortiz, M. A.: Le trisomie partielle du bras long du chromosome 7. *Nouv. Presse. Méd.* 3: 1801-1804, 1974.
- 12) Creasy, M. R., Crolla, J. A. and Daker, M. G.: A familial reciprocal translocation between three chromosomes. *Humangenetik* 24: 303-308, 1974.
- 13) Fujita, H., Abe, T., Yamamoto, K. and Furuyama, J.: Possible complex translocation t(9; 14; 13)(q12; p1?; q31) in mother of a with 9p-trisomy syndrome. *Humangenetik* 25: 83-92, 1974.
- 14) Sanchez, O., Yunis, J. J. and Escobar, J. I.: Partial trisomy 11 in a child resulting from a complex maternal rearrangement of chromosomes 11, 12 and 13. *Humangenetik* 22: 59-65, 1974.
- 15) Chandley, A. C., Edmond, P., Christie, S., Gowans, L., Fletcher, J., Franchiewicz, A. and Newton, M.: Gytogenetics and infertility in man. I. Karyotype and seminal analysis: results of a five-year survey of men attending a subfertility clinic. *Ann. Hum.*

- Genet. 39 : 231-254, 1975.
- 16) Schwinger, E., Mikkelsen, M. and Niesen, M.: Familial balanced (7; 11; 21) translocation and Down's syndrome in two siblings. Clin. Genet. 7 : 304-307, 1975.
 - 17) Creasy, M. R., Crolla, J. A., Polani, P. E. and Elliott, M. G.: A three chromosome translocation involving two homologous chromosomes in a trisomic abortus. Clin. Genet. 9 : 15-19, 1976.
 - 18) Dallapiccola, B., Bollea, G., Mazzilli, C. and Gandini, E.: Complex translocation t (9; 21) (9; 22) (q12 p13) (q12 p11) in the family of a child with 9p trisomy syndrome. Hum. Genet. 33 : 73-76, 1976.
 - 19) Palmer, C. G., Poland, C., Reed, T. and Kojetin, J.: Partial trisomy 11, 46, XX, -3, -20, +der 3, +der 20, t (3; 11; 20), resulting from a complex maternal rearrangement of chromosomes 3, 11, 20. Hum. Genet. 31 : 219-225, 1976.
 - 20) Tanaka, N., Ikeuchi, T., Yara, I. and Kitahara, K.: Trisomy 9p due to a maternal complex translocation involving chromosomes 4, 6 and 9. Jpn. J. Hum. Genet. 21 : 261-268, 1977.
 - 21) Buchanan, P. D., Kathleen, W. R., Carolyn, L. D. and Arthur, S. A.: A Complex translocation involving chromosomes, 3, 11 and 14 with an interstitial deletion, del (14) (q13 q22) in a child with congenital glaucoma and cleft lip and palate. Birth Defects Original Article Series 14 : 317-322, 1978.
 - 22) Schwanitz, G., Schmid, P., Berthold, H. J. and Grosse, K.-P.: Partial trisomy 13 with clinical signs of Patau syndrome, resulting from a complex paternal rearrangement of chromosomes 6, 10 and 13. Ann. Genet. 21 : 100-103, 1978.
 - 23) Hustinx, T. W. J., Nabben, F. A. E. and Scheres, J. M. J. C.: Partial trisomy of chromosome 1 resulting from a complex maternal rearrangement of chromosomes 1, 5, and 6. Am. J. Med. Genet. 3 : 353-358, 1979.
 - 24) Mattei, M.-G., Mattei, J.-F., Bernard, R. and Giraud, F.: Partial trisomy 4 resulting from a complex maternal rearrangement of chromosomes 2, 4 and 18 with interstitial translocation. Hym. Genet. 51 : 55-61, 1979.
 - 25) Ballesta, F., Fernández, E. and Milá, M.: Translocation t(1; 8; 15) maternelle et trisomie 8qter chez la fille (Conseil Genetique). J. Génét. Humaine 28 : 361-366, 1980.
 - 26) Pai, G. S., Thomas, G. H., Mahoney, W. and Migeon, B. R.: Complex chromosome rearrangements. Report of a new case and literature review. Clin. Genet. 18 : 436-444, 1980.
 - 27) Chandley, A. C., Christie, S., Fletcher, J., Frackiewicz, A. and Jacobs, P. A.: Translocation heterozygosity and associated subfertility in man. Cytogenetics 11 : 516-533, 1972.
 - 28) Jacobs, P. A.: Correlation between euploid structural chromosome rearrangements and mental subnormality in humans. Nature 249 : 164-165, 1974.
 - 29) Biben, R. L. and Gordan, G. S.: Familial hypogonadotropic eunuchoidism. J. Clin. Endocrin. 15 : 931-942, 1955.
 - 30) Ewer, R. W.: Familial monotropic pituitary gonadotropin insufficiency. J. Clin. Endocrin. 28 : 783-788, 1968.
 - 31) Spitz, I. M., Diamant, Y., Rosen, E., Bell, J., Ben-David, M., Polishuk, W. and Rabinowitz, D.: Isolated gonadotropin deficiency. A heterogeneous syndrome. New Eng. J. Med. 290 : 10-15, 1974.
 - 32) 井村裕夫, 松倉 茂, 吉村祥生, 加藤 謙, 阪本登, 森寺邦三郎, 服部正宏, 岸原道三, 堀松 徹: 家族性ゴナドトロピン単独欠損症の2家系, 最新医学, 31 : 2425-2431, 1976.
 - 33) Boyar, R. M., Finkelstein, J. W., Witkin, M., Kaper, S., Weitzman, E. and Hellman, L.: Studies of endocrine function in "isolated" gonadotropin deficiency. J. Clin. Endocrinol. Metab. 36 : 64-72, 1974.
 - 34) Antak, A., Somma, M.-Wyman, H. and Gampenhout, J. V.: Hypothalamic pituitary function in the olfacto-genital syndrome. J. Clin. Endocrinol. Metab. 38 : 1083-1089, 1974.
 - 35) Hashimoto, T., Miyai, K., Onishi, T., Matsumoto, K. and Kawahara, Y.: Comparison of short and long-term treatment with synthetic LH-releasing hormone and clomiphene citrate in male hypothalamic hypogonadism. J. Clin. Endocrinol. Metab. 41 : 905-910, 1975.
 - 36) Copeland, K. C., Paunier, L. and Sizonenko, P. C.: The secretion of adrenal androgens and growth patterns of patients with hypogonadotropic hypogonadism and idiopathic delayed puberty. J. Pediat. 91 : 985-990, 1977.
 - 37) Nieschlag, E., Lorianx, D. L., Ruder, H. J., Zucker, I. R., Kirschner, M. A. and Lipsett, M. B.: The secretion of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in man. J. Endocrin. 57 : 123-134, 1973.
 - 38) 大橋輝久: 男子における Estrogen の研究, 第2報 正常人男子および性腺疾患患者における合成 ACTH, HCG 刺激に対する血中 Estrogen 効能, 日泌尿会誌, 70 : 915-927, 1979.

- 39) 大橋輝久, 森岡政明, 武田克治, 光畑直喜, 赤枝輝明, 大森弘之: Klinefelter 症候群19例における内分泌学的研究. 日不妊会誌, 25: 234-241, 1980.
- 40) Bardin, C. W., Ross, G. T., Rifkind, A. B., Cargille, C. M. and Lipsett, M. B.: Studies of the pituitary-leydig cell axis in young men with hypogonadotropic hypogonadism and hyposmia: comparison with normal men, prepuberal boys, and hypopituitary patients. J. Clin. Invest. 48: 2046-2056, 1969.
- 41) Hamilton, C. R. Jr., Henkin, R. I., Weir, G. and Kliman, B.: Olfactory status and response to clomiphene in male gonadotropin deficiency. Ann. Intern. Med. 78: 47-55, 1973.
- 42) 森岡政明, 大橋輝久, 赤枝輝明, 大森弘之, 高田元敬, 新島端夫: 男子性腺疾患における内内分泌学的検討, 第2報 クロマトグラフィー不要RIAによる血中 Testosterone を指標とする HCG 負荷テストの意義, 西日泌尿, 40: 491-495, 1978.

De novo complex translocation in a case with hypogonadotropic eunuchoidism

Teruhisa Ohashi, Masaki Morioka, Naoki Mitsuhashi, Tetsuzo Kaneshige, Katsuji Takeda and Hiroyuki Ohmori

Department of Urology, Okayama University, Medical School
(Director: Prof. Hiroyuki Ohmori)

Kouji Narahara, Shusuke Kimura and Hiroshi Kimoto

Department of Pediatrics, Okayama University Medical School
(Director: prof. Hiroshi Kimoto)

A case of hypogonadotropic eunuchoidism with a de novo balanced complex translocation in a 19-year-old boy is herein reported.

He showed prepubertal external genitalia and right inguinal cryptorchidism, but no olfactory dysfunction or gynecomastia. He had also infantile testes, which showed typical early prepubertal histology with biopsy.

The endocrinological studies revealed that both basal levels and responses to luteinizing hormone-releasing hormone, thyrotropin releasing hormone, insulin and human chorionic gonadotropin were low in plasma luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin, growth hormone and testosterone respectively. It was suggested that this case is hypogonadotropic hypogonadism associated with some pituitary dysfunction. But both basal level and response of plasma cortisol to adrenocorticotropic hormone were normal. 4 cases of de novo complex translocation have been reported including our case. Two cases showed multiple malformation and mental retardation and one revealed azoospermia. Only our case showed hypogonadotropic eunuchoidism.

(受付: 昭和56年10月29日)

男子不妊症における精索静脈瘤

—選択的精巣静脈造影所見と手術成績の関連について—

An Evaluation of Varicocele in Male Infertility

国立霞ヶ浦病院泌尿器科

石川 博 通

Hiromichi ISHIKAWA

Dept. Uro. National Kasumigaura Hosp., Ibaragi.

慶応義塾大学医学部泌尿器科学教室（主任：田崎 寛教授）

長倉 和彦 篠田 正幸 佐々木 光信

Kazuhiko NAGAKURA Masayuki SHINODA Mitsunobu SASAKI

小山 雄三 中 蘭 昌明

Yuzou KOYAMA Masaaki NAKAZONO

Dept. Uro. School of Med. Keio Univ., Tokyo

(Director: Prof. Hiroshi Tazaki)

慶応義塾大学医学部放射線診断部

古 寺 研 一

Kenichi KODERA

Dept. Diagnostic Radiology School of Med.

Keio Univ., Tokyo.

左精索静脈瘤を有する乏精子症患者17例に対し、選択的精巣静脈造影を行った。その所見を分析し、手術成績との関連性について検討を加え次のような知見を得た。

1) 精巣静脈造影の全体像から症例は2群に分類できた。即ち第1群は蔓状静脈叢までが造影されるもので、17例中10例(58.8%)がこれに該当した。第2群は蔓状静脈叢を經由して精巣静脈以外の静脈が抽出されるもので、7例がこれに該当した。

2) 精巣静脈の全症例における最大径は大腿骨骨頭上縁で平均5.2mm、恥骨結合下縁では平均3.3mmであった。また両者を通る血管数を比較したが有意差を認めなかった。蔓状静脈叢の静脈の最大径は平均3.8mm、長さは平均6.1mmであった。これらの所見においては第1群、第2群の間で有意な差異は認められなかった。

3) 手術成績と造影所見との関係をみると、第1群の10例中7例が有効と認められ、有効率は77.8%であったのに対し、第2群では7例中、2例が有効と認められ、有効率は28.5%と有意な相違が認められた。しかし、その他の造影所見と手術成績との間の関連性について検討を加えたが、有意な結果はみられなかった。

(*Japan. J. Fert. Ster.*, 27(3)393-399, 1982)

緒 言

精索静脈瘤は、一般に立位で valsalva の手法を用いて診断がなされているが¹⁾、必ずしも客観的手法とはいえない。また精索静脈瘤の存在は造精機能障害をおこし^{2,3)}、男子不妊症の原因となり得ることは従来より知られている。その機序として温度調節異常⁴⁾、腎、副腎からの内分泌物質の逆流⁵⁾、および酸素分圧の低下⁶⁾等が考えられているが未だ決定的な因子の解明はなされていない。

一方諸家の報告では、精索静脈瘤の手術的治療により、30~55%^{7,8,9)}に妊娠の成立をみており、男子不妊症の治療として、他に比較して妊娠成立率が圧倒的に高く、しかもその理論的根拠が完全に確立されたものがない現状では、これは積極的に行うべき治療の一つであると考えられる。

このような観点から選択的精索静脈造影所見の分析を行い、精索静脈瘤の客観的診断を試みるとともに、造影所見と手術成績との関連についても検討し、興味ある知見を得たので報告する。

対 象

昭和53年9月から昭和56年3月までに慶応義塾大学病院泌尿器科外来を受診した乏精子症患者で左精索静脈瘤を認め高位結紮術を施行したものは38例であったが、そのうち術前に選択的精索静脈造影を行い、かつ術後3カ月間以上経過観察をし得た17例を対象とした。

方 法

1. 選択的精索静脈造影およびその所見の分析

右大腿静脈から Seldinger 法で左精索静脈にカテーテルを挿入し左精索静脈造影を行った。カテーテルは、Cook Green PART 7.2 をコプラ型に作成したものを使用し、造影剤は76%ウログラフィン15~20mlを用いた。造影剤の注入は手圧で行い、注入開始時より15秒間連続撮影をした。

次にこの方法で得られた造影所見の全体像を分析した。さらに大腿骨骨頭上縁、恥骨結合下縁での静脈像および蔓状静脈叢(精索静脈瘤)の形態についても検討を加えた。

2. 精子数による手術成績の判定

精子数は術前および術後にそれぞれ3回以上検査し、術前術後の最大値を比較し、術後に50%以上の増加が認められたものを有効とし、その他を無効とした。

3. 選択的精索静脈造影所見と手術成績の関連の検討 選択的精索静脈造影所見の分析結果と手術成績を比較

し、検討を加えた。

結 果

1. 精索静脈造影の全体像による分類(表1)

表1 精索静脈造影の全体像による症例分類

第1群	蔓状静脈叢まで造影されるもの —10例(58.8%)
第2群	その他の静脈の造影されるもの —7例(41.2%)

選択的精索静脈造影の全体像から17例を2群に分類できた。即ち第1群は左精索静脈の左腎静脈入口部から蔓状静脈叢までの範囲が造影されたもので17例中10例(58.8%)がこれに相当した。そのうち8例は蔓状静脈叢が完全に描出され(図1)、残り2例は左精索静脈の



図1 症例 M. Y. の精索静脈造影像
左精索静脈から蔓状静脈叢までが造影されている

中枢側のみが造影されるにとどまった(図2)。第2群は蔓状静脈叢を通過して精索静脈以外の静脈への造影剤の流入がみられたもので、17例中7例(41.2%)であった。この7例中6例では外腸骨静脈が造影された。その経路は外精索静脈から浅腹壁静脈を通過して外腸骨静脈にいたつたもの(図3)が3例あり、陰囊静脈から陰部静脈を通過して外腸骨静脈にいたつたもの(図4)が2例であった。また両方の経路から外腸骨静脈に達したもの(図5)が1例認められた。さらに精管静脈が造影されたものが4例あり、そのうち1例は内腸骨静脈が描出された(図6)。

2. 精索静脈の最大径と本数

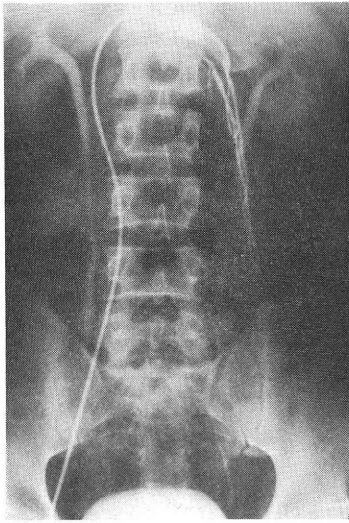


図 2 症例 S. M. の精巣静脈造影像
造影剤は左精巣静脈の中枢側から、
第 4 腰椎の高さまで達しているが蔓
状静脈叢は描出されていない。



図 4 症例 T. S. の精巣静脈造影像
蔓状静脈叢を經由して、陰部静脈
(↑) が描出されている。

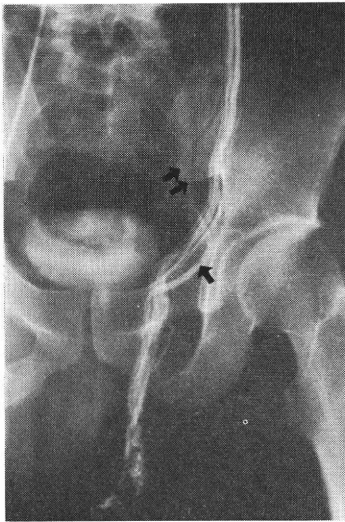


図 3 症例 T. I. の精巣静脈造影像
造影剤は、左精巣静脈から蔓状静脈
叢を通り、外精巣脈 (↑) および外
腸骨静脈 (↑↑) が描出されている。



図 5 症例 H. O. の精巣静脈造影像
蔓状静脈叢を通った造影剤が陰部静
脈 (↑)、外精巣脈を通り、外腸骨
静脈 (↑↑) に流入している。

大腿骨骨頭上縁で精巣静脈の描出されたものは16例で最大径は平均5.2mm、本数は平均2.7本であった。また恥骨結合下縁では15例の精巣静脈が描出され、その最大径は平均3.3mmで、本数は平均3.7本であった。すなわち、精巣静脈は大腿骨骨頭上縁では、恥骨結合下縁に比較して、その最大径は有意に大きかった ($p < 0.01$) が、本数には両部位で有意差はなかった (表2)。

3. 蔓状静脈叢の造影所見
17例中15例の蔓状静脈叢が描出され、その静脈の最大径は平均3.8mm であり、蔓状静脈叢の長さは平均6.1 cm であった (表3)。

4. 術前術後の精子数と手術成績の判定結果
術前術後の精子数を比較して手術成績を判定すると、17例中9例 (52.9%) が有効であり、8例 (47.1%) は

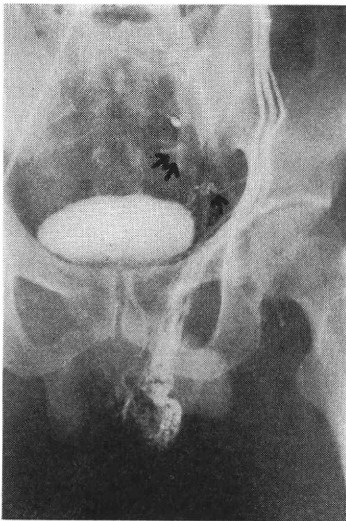


図 6 症例 K. O. の精巣静脈造影像
蔓状静脈叢から精管静脈 (↑) が造影され、さらに内腸骨静脈 (↑↑) も摘出されている。

表 2 精巣静脈の最大径と体数

症 例	大腿骨骨頭上縁		恥合結合上縁	
	最大径	本数	最大径	本数
S.K.	4mm	2本	4mm	2本
K.N.	3	7	3	5
T.K.	4	5	4	5
T.W.	8	1	4	5
F.N.	7	2	4	4
S.M.	—	—	—	—
M.Y.	6	3	4	5
H.O.	3	5	2	4
S.U.	5	3	2	4
K.O.	4	3	3	6
T.S.	4	2	3	3
N.E.	6	1	—	—
S.H.	7	1	4	2
T.I.	4	3	2	5
M.S.	5	1	4	3
Y.T.	9	1	5	2
M.R.	4	3	2	5
平均	5.2	2.7	3.3	3.7

無効であった (表 4)。

5. 手術成績と精巣静脈造影の全体像との関係

有効例 9 例中 7 例 (77.8%) が第 1 群で残り 2 例 (22.2%) が第 2 群であった。また無効例 8 例中 5 例 (62.5%) が第 2 群であり、残り 3 例 (37.5%) が第 1 群であ

表 3 蔓状静脈叢の造影所見

症 例	静脈の最大径	長 さ
S.K.	3 mm	6 cm
K.N.	4	8
T.K.	4	5
T.W.	8	8
F.N.	5	4
S.M.	—	—
M.Y.	3	8
H.O.	5	8
S.U.	3	8
K.O.	2	7
T.S.	2	4
N.E.	—	—
S.H.	4	5
T.I.	3	5
M.S.	4	4
Y.T.	5	6
M.R.	2	5
平均	3.8	6.1

表 4 術前術後の精子数と手術成績の判定結果

症 例	術前精子数	術後精子数	手術成績
S.K.	4×10 ⁶ /ml	3×10 ⁶ /ml	無効
K.N.	40	30	無効
T.K.	9	13	有効
T.W.	10	20	有効
F.N.	1	4	有効
S.M.	8	20	有効
M.Y.	10	40	有効
H.O.	8	2	無効
S.U.	16	80	有効
K.O.	0.5	0.5	無効
T.S.	12	16	無効
N.E.	1.5	3	有効
S.H.	10	13	無効
T.I.	12	20	有効
M.S.	5	10	有効
Y.T.	0.4	0.4	無効
M.R.	30	40	無効

つた (図 7)。すなわち第 1 群の有効率は 70.0% であり、第 2 群の有効率は 28.6% であつた。

6. 手術成績と大腿骨骨頭上縁の静脈像の関係

静脈の最大径は有効例では平均 5.6mm、無効例では 4.8mm であり、本数は有効例では平均 2.1本、無効例では 3.3本であつた。両者の間で最大径および本数の有

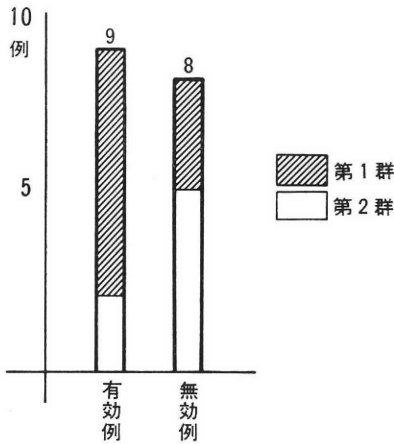


図 7 手術成績と精巣静脈造影の全体像との関係

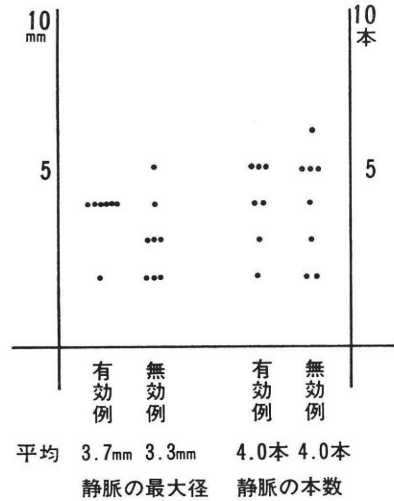


図 9 手術成績と恥骨結合下縁の静脈像の関係

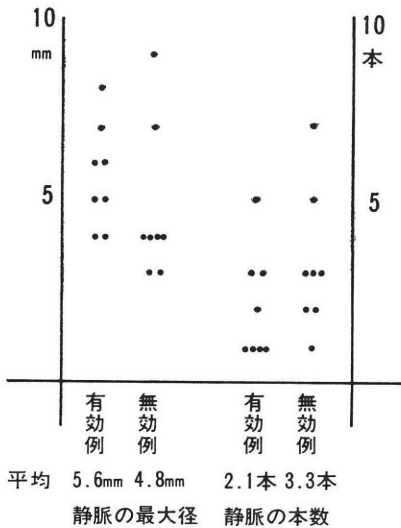


図 8 手術成績と大腿骨骨頭上縁の静脈像の関係

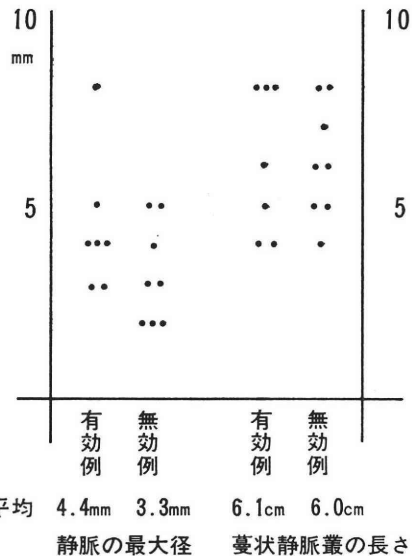


図10 手術成績と蔓状静脈叢の造影所見との関係

意差は認められなかつた (図8).

7. 手術成績と恥骨結合下縁の静脈像の関係

静脈の最大径は有効例では平均3.7mm, 無効例では3.3mmであり, 本数は両者とも平均4.0本であつた. すなわち静脈像の有意差は両者間に見られなかつた (図9).

8. 手術成績と蔓状静脈叢の造影所見の関係

静脈の最大径は有効例では平均4.4mm, 無効例は3.3mmで, 長さは前者では平均6.1cm, 後者は6.0cmであり, とともに有意差はなかつた (図10).

考 按

選択的精巣静脈造影は, Ahlberg ら¹⁰⁾が腎静脈造影をおこなつた際, 精巣静脈への造影剤の流入が12%にある

ことを確認したのをきっかけに Jacobs¹¹⁾らが初めておこない, Comhaire¹²⁾らは左精索静脈瘤に応用し, 本法の診断における有用性を報告した. 本邦でも松下¹³⁾らが左精索静脈瘤10例に選択的精巣静脈造影を施行し, 術前診断を確実にし, 高位結紮術をおこなうにあつて有用な検査法であると述べている. さらに最近 Coolseat¹⁴⁾は, 精索静脈瘤に対し, 選択的精巣静脈造影および総腸骨静脈造影を併用し, 精索静脈瘤の原因を血流動態から分析した.

一般に特発性精索静脈瘤の90%以上が左側におこるとされ¹⁵⁾, その理由として, (1) 左精巣静脈は左腎静脈に流入しており, 下大静脈に流入する右側と比較して

back pressure を受けやすいこと, (2) 剖検的に左精索静脈の弁形成不全が右側より多いこと, (3) 左腎静脈は上腸間膜動脈と大動脈にはさまれており, 圧迫を受けやすいことなどがあげられる^{15,16)}が, 実際にはこれらの要因が関連しあつて左精索静脈瘤が発生するものと考えられる. また諸家の報告やわれわれの行なつた選択的精索静脈造影の成績からすれば, 精索静脈瘤が存在する場合には, 精索静脈の逆流を伴っているといえよう. さらに15秒間の連続撮影での観察では, 第1群と第2群に分類でき, 逆流のおこり方も種々の程度や様式のあることがわかつた. このような現象がおこる原因としては前述した3つの要因の個々のもつ強さがそれぞれ異なること, また精索静脈瘤の発生によりおこる血流動態の変化, すなわち睾丸から精索静脈に環流すべき血流の一定量の腸骨静脈や下腹壁静脈の流入のしかたが, これらの静脈の状態により相違することなどが考えられる. さらに腸骨静脈や下腹壁静脈の逆流¹⁴⁾もこの現象に関連するであろう.

次に手術成績と精索静脈造影所見との関連をみると, 全体像では有効例の77.8%が第1群であり, 無効例には第2群が62.5%と多く, 第1群の手術成績のよいことが示された. このように血流動態の違いが, 術後の精液検査成績に影響を及ぼすという事実は興味深い. この両者の関連性を説明するものとして, 時間的要因があげられる. すなわち多くは精索静脈の逆流により精索静脈瘤が発生するが, この状態が長く続くことにより, 蔓状静脈叢から, 腸骨静脈や下腹壁静脈への血流が増加すると同時に, 精索組織の造精機能障害が進行しており, 手術成績の悪いことにつながる事が考えられる. Lipshultz¹⁷⁾らも精索静脈瘤の存在期間が長いほど手術成績が悪いと述べている. また精索静脈の逆流を量的な面からみると, 逆流量が多ければ, 蔓状静脈叢を介した他の静脈への流入量が増加するとともに, 精索組織への影響も強くなる事が考えられる. さらに観点をかえると, 高位結紮術は精索静脈血の逆流をなくし, 当然腸骨静脈および下腹壁静脈への血流増加を期待するものであるが, 第2群では血流動態の変化が第1群に比して少ないため, 精子濃度の改善がおこりにくとも考えられる.

その他の形態学的所見には, 有効例と無効例の間で有意差は認められなかつた. このことは, 精索静脈瘤の高位結紮術による精子濃度の変化は, 術前の血流動態との関連性が強いことを示唆すると同時に, 精索静脈瘤の存在がいかにして造精機能障害を惹起するかという根本的な問題は, 精索静脈の逆流という事実を踏まえて, その際に生ずる病態生理の検討によつて解決されることを意味するものと考えられる.

文 献

- 1) 鈴木良徳: 精索静脈瘤の研究, 日泌尿会誌, 58: 1105, 1967.
- 2) 奥山明彦, 武本征人, 板谷宏彬, 水谷修太郎, 吉田隆夫, 小出卓生, 宮川光生, 松本圭史: 特発性精索静脈瘤, 第1報 睾丸機能について, 日泌尿会誌, 69(6): 787, 1978.
- 3) Dubin, L., and Hotchkiss R. S.: Testis biopsy in subfertile men with varicocele. Fertil. Steril. 20: 50, 1969.
- 4) Zorogniotti, A. W., and MacLeod, J.: Studies in temperature, human semen quality and varicocele. Fertil. Steril. 24: 854, 1973.
- 5) Comhaire, F., and Vermeylen, A.: Varicocele. Steril. 25: 88, 1974.
- 6) Donohue, R. E., and Brown, J. S.: Blood gases and PH determination in the internal spermatic veins of subfertile men with varicocele. Fertil. Steril. 20: 365, 1969.
- 7) Charmy, C. W.: Effect of Varicocele on fertility. Fertil. Steril. 13: 47, 1962.
- 8) Dubin, L., and Amelar, R. D.: Varicocelelectomy as therapy in male infertility. J. Urol. 113: 640, 1975.
- 9) Brown, J. S.: Varicocelelectomy in the subfertile male: a 10 year experience with 295 cases. Fertil. Steril. 27: 1046, 1976.
- 10) Ahlberg, N. E., Bartley, D., and Chidekel, N.: Retrograde contrast filling of the left gonadal vein, Acta. Radiol. 3: 385, 1965.
- 11) Jacobs, J. B.: Selective gonadal venography. Radiol. 92: 885, 1969.
- 12) Comhaire, F., and Kunnen, M.: Selective retrograde venography of the internal spermatic vein: A conclusive approach to the diagnosis of varicocele. Andrologia. 8: 11, 1976.
- 13) 松下昌人, 光川史郎, 松田尚太郎, 白井将文, 杉田篤生: 選択的精索静脈造影法の検討, 臨泌, 32(5): 447, 1978.
- 14) Coolseat, B. L. R. A.: The varicocele syndrome, venography determining the optimal level for surgical management, J. Urol. 124: 833, 1980.
- 15) Brown, J. S., Dubin, L., and Hotchkiss, R. S.: The varicocele as related to fertility. Fertil. Steril. 18: 46, 1967.
- 16) 前川正信, 新武三: 精索静脈瘤, 臨泌, 28(7): 13, 1974.
- 17) Lipshultz, L. I., and Corriere, J. N.: Progressive testicular atrophy in the varicocele patient. J. Urol. 117: 175, 1977.

An evaluation of varicocele
in male infertility
—Relationships between venographic
findings of the internal spermatic
veins and operative treatment—

Hiromichi Ishikawa

Dept. Uro. National Kasumigaura
Hosp., Ibaragi

**Kazuhiko Nagakura, Masayuki Shinoda,
Mitsunobu Sasaki, Yuzou Koyama
and Masaaki Nakazono**

Dept. Uro. School of Med. Keio
Univ., Tokyo
(Director : Prof. H. Tazaki)

Kenichi Kodera

Dept. Diagnostic Radiology School
of Med. Keio Univ., Tokyo

Varicocele in male infertility was evaluated based on venographic findings of the internal spermatic veins and results of operative treatment. Seventeen oligozoospermic patients with left varicocele were submitted to the study.

The patients were divided into two groups according to the venographic findings.
group 1: Visualization of the veins was not

beyond the panpiniform plexus. In this group injected dye medium did not pass the panpiniform plexus. Ten out of 17 patients were included in the group (59%).

group 2: the injected dye medium pass the panpiniform plexus and the father venous system could be visualized. Seven out 17 patients were included in the group (41%).

The mean values of the maximum diameter of veins were 5.2mm and 3.3mm where the veins run the upper edge of head of thigh bone and the lower edge of symphysis pubis respectively. No difference was observed in their numbers. The mean value of maximum diameter of the panpiniform plexus vein was 3.8mm and the mean length of the veins was 6.1 cm. No significant difference was observed in there items between group 1 and group 2.

In group 1 semen analysis improved in 7 out of 10 patients with operative treatments and it was 78 % of the improved patients.

Only 2 out the 7 cases effective results were obtained by operative procedure in group 2.

No remarkable relationship between the operative results and other venographic findings was observed the study.

(受付：昭和56年12月2日)

EFFECT OF SEX HORMONES ON COLLAGEN BIOSYNTHESIS OF MALE ACCESSORY SEX ORGANS IN YOUNG RATS

*Teruhiro NAKADA, **Yoshihiro HATTORI and **Jun SHIMAZAKI

*Department of Urology, Faculty of Medicine, Toyama Medical
and Pharmaceutical University, Toyama

**Department of Urology, Chiba University, School of Medicine, Chiba

Abstract: Effects of 14 days of sex steroid treatment on collagen metabolism of male accessory sex organs were studied in vivo in rats at 8 weeks of age. Administration of estradiol-17 β (50 μ g daily) resulted in a growth retardation of seminal vesicles, both ventral and dorsolateral prostates concomitant with reduction of incorporation of ³H-lysine into the collagenous protein of these organs. In addition, lysine incorporation into the collagenous protein of seminal vesicles and dorsolateral prostate of castrated rats received estradiol-17 β (50 μ g daily) in addition to testosterone (50 μ g daily) was lower than that of the castrated testosterone treated rats ($p < 0.05$, respectively). Whereas, the amount of collagen of each accessory sex organ of rat received estradiol-17 β was significantly higher than that of the respective tissue of rat received vehicle alone ($p < 0.001$, respectively). Total protein of each organ in rats given estradiol-17 β (50 μ g daily) increased uniformly. Estradiol-17 β (50 μ g daily) operated synergistically with testosterone (50 μ g daily) on the weight gain of seminal vesicles and dorsolateral prostate. However, the amount of collagen of each male accessory sex organ was similar between the castrated testosterone-treated rats and castrated testosterone and estradiol-17 β -treated animals.

It is suggested that increased accumulation of collagen of male accessory sex organs in young rats received estradiol-17 β derived mainly from nonspecific stimulation of protein synthesis, but collagen biosynthesis appeared to be suppressed following treatment with estradiol-17 β .

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 27(3), 400-405, 1982)

Introduction

In both the immature and adult ovariectomized rat, the total protein and collagen content of the uterus have been increased after estradiol-17 β administration¹⁾. It has been already shown that estradiol-17 β inhibits collagen breakdown in the involuting uterus²⁾. We extended these observations in this report whether biologically active estrogen, such as estradiol-17 β , or other hormone treatments might change the accumulation of collagen and biosynthesis of collagenous protein in accessory sex organs of male rats.

Materials and Methods

A total of 44 male Sprague-Dawley (SD) rats were obtained at 4 weeks of age from the commercial source. They were maintained under a light regimen (12h light; 0600 to 1800h), controlled temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) with standard rat chow and distilled tap water available ad libitum. Prior to practicable use, they were housed in quarters for 1 week after being delivered. Then, twenty-four rats were subjected to bilateral orchidectomy.

At 6 weeks of age, all animals were divided into four groups and hormone treat-

ment was initiated with subcutaneous injection of each hormone, dissolved in 0.1 ml of sesame oil, once daily for consecutive 14 days. Each rat belongs to Group I (10) received an equivalent volume of sesame oil. A second Group (10) was given 50 μ g of estradiol-17 β benzoate. Pre-castrated third Group (12) received 50 μ g of testosterone propionate. Pre-castrated fourth Group (12) was administered a combined regimen of testosterone propionate and estradiol-17 β benzoate 50 μ g of each.

Body weights were measured 6 times during the course of the experiment. All animals, now at the age of 6 weeks, having been fasted overnight without stopping the delivery of drinking water, received 0.4 μ g/body weight of radiolabeled lysine (i. p.) (3 H-lysine[4,5- 3 H(N)], M.W. 146.2, specific activity=50.0 Ci/mole, New England Nuclear Corp., Boston, Mass.). They were killed by decapitation 2 hr after the injection. Blood specimens collected from trunks were centrifuged to obtain sera. Ventral prostates, dorsolateral prostates and seminal vesicles were quickly dissected. After being blotted on moist absorbent paper, wet weight of each specimen was measured and frozen in the liquid nitrogen. Tissue collagen was extracted by the method of Fitch et al.³⁾. The amount of protein in tissue homogenate, extracted by cold and hot 5% trichloroacetic acid (TCA) was measured by the method of Lowry et al.⁴⁾. Incorporation of 3 H-lysine

into the collagen of examined tissues was manifested in cpm/mg protein. Total free lysine was determined in the supernatant of 5% precipitated serum.

Results

The effects of hormone treatment on body weight of rats are summarized in Table 1. Two patterns could be distinguished. One continued to gain weight, such as Group I, received sesame oil only, and Group III, pre-castrated and testosterone-treated Group. The other, such as Group II, treated with estradiol-17 β alone, or Group IV, pre-castrated and treated with testosterone propionate in addition to estradiol-17 β showed significant retardation of gaining body weight as compared with that of sesame oil-treated Group ($p < 0.001$, or $p < 0.01$, respectively). Remarkable atrophy of ventral prostates, dorsolateral prostates and seminal vesicles was obvious in the estradiol-17 β -treated rats. The administration of testosterone also decreased average weight of the same male accessory sex organs of castrated rats slightly, but significantly ($p < 0.05$) (Table 1).

Treatment of castrated rats with testosterone in addition to estradiol-17 β resulted in the elevation of average weights of dorsolateral prostates and seminal vesicles ($p < 0.01$, and $p < 0.001$, respectively) as compared with those of castrated testosterone-

Table 1 Weight changes in total body, ventral prostate, dorsolateral prostate and seminal vesicles of rats received hormone treatment

Treatment	Body weight (g)		Organ weight (mg/100g body weight)		
	Initial	Final	Ventral prostate	Dorsolateral prostate	Seminal vesicles
I. Sesame oil (n=10)	148 \pm 7	186 \pm 7	90 \pm 8	85 \pm 10	77 \pm 6
II. Estradiol-17 β (n=10)	151 \pm 5	152 \pm 5***	32 \pm 3***	44 \pm 4**	24 \pm 1***
III. Castration+Testosterone (n=12)	139 \pm 2	184 \pm 3	65 \pm 4*	61 \pm 3*	60 \pm 5*
IV. Castration+Testosterone +Estradiol-17 β (n=12)	143 \pm 4	158 \pm 5###**	54 \pm 4***	72 \pm 2##	85 \pm 4###

The rats were treated for 2 weeks as described in the text.

Rats belong to Groups III and IV were castrated 1 week prior to the initiation of drug treatment. Values are expressed as mean \pm S.E.M.

n: number of animals.

Significantly different from Group I: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Significantly different from Group III: ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$.

Table 2 The amount of collagen of ventral prostate, dorsolateral prostate and seminal vesicles in rats received hormone treatment

Treatment	The amount of collagen (mg/tissue, g)		
	Ventral prostate	Dorsolateral prostate	Seminal vesicles
I. Sesame oil (n=10)	19±3	40±4	29±3
II. Estradiol-17 β (n=10)	59±5***	52±3*	67±6***
III. Castration+Testosterone (n=12)	16±5	41±2	26±3
IV. Castration+Testosterone +Estradiol-17 β (n=12)	21±6	35±2	29±3

The rats were treated for 2 weeks as described in the text.

Rats belong to Groups III and IV were castrated 1 week prior to the initiation of drug treatment.

Values are expressed as mean \pm S. E. M.

n: number of animals.

Significantly different from Group I: * p<0.05, *** p<0.001.

Table 3 Total protein of the ventral prostate, dorsolateral prostate and seminal vesicles in rats received hormone treatment

Treatment	total protein (mg/tissue, g)		
	Ventral prostate	Dorsolateral prostate	Seminal vesicles
I. Sesame oil (n=10)	150±60	268±14	251±42
II. Estradiol-17 β (n=10)	488±21***	359±21**	542±39***
III. Castration+Testosterone (n=12)	113±68	264±22	234±30
IV. Castration+Testosterone +Estradiol-17 β (n=12)	144±42	294±18	340±41

The rats were treated for 2 weeks as described in the text.

Rats belong to Group III and IV were castrated 1 week prior to initiation of drug treatment.

Values are expressed as mean \pm S.E.M.

n: number of animals

Significantly different from Group I: ** p<0.01, *** p<0.001

Table 4 Incorporation of ^3H -lysine into the collagenous protein of ventral prostate, dorsolateral prostate and seminal vesicles in rats received hormone treatment

Treatment	Incorporation of ^3H -lysine ($\frac{\text{cpm/g collagenous protein}}{\text{cpm}/10\mu\text{l plasma}}$)		
	Ventral prostate	Dorsolateral prostate	Seminal vesicles
I. Sesame oil (n=10)	199.6±34.4	45.1±4.2	177.1±23.6
II. Estradiol-17 β (n=10)	46.7±6.2***	23.6±2.9***	29.7±2.7***
III. Castration+Testosterone (n=12)	189.8±37.4	55.4±5.8	110.7±22.5
IV. Castration+Testosterone +Estradiol-17 β (n=12)	127.4±23.7	38.3±4.4 ⁺	59.0±10.0****

The rats were treated for 2 weeks as described in the text.

Groups III and IV were castrated 1 week prior to initiation of drug treatment.

Values expressed as mean \pm S. E. M.

Significantly different from Group I: *** p<0.001

Significantly different from Group III: ⁺p<0.05

treated animals.

A comparison was made on collagen content of both the ventral and dorsolateral prostates and seminal vesicles (Table 2). The administration of estradiol-17 β caused a marked increase in the collagen content of each male accessory sex organ ($p < 0.05$ — $p < 0.001$). There was a consistent and highly significant rise in total protein segregated by TCA precipitation of each male accessory sex organ in rats given estradiol-17 β ($p < 0.01$ — $p < 0.001$) (Table 3).

Lysine incorporation into the collagenous protein of both ventral and dorsolateral prostates and seminal vesicles is shown in Table 4. The incorporation of ^3H -lysine into the collagenous protein in these organs in rats treated with estradiol-17 β is significantly ($p < 0.001$) lower than that of the vehicle-treated rats. There is an evident reduction ($p < 0.001$) in the ^3H -lysine incorporation into the seminal vesicles of pre-castrated and testosterone plus estradiol-17 β -treated rats (Group IV) as compared to that of the sesame oil-treated rats (Group I). Corresponding tendency is also observed between Group I rats and Group IV rats as for the incorporation of ^3H -lysine into the same protein fraction of both ventral and dorsolateral prostates, but these differences are statistically not significant. When testosterone and estradiol-17 β were both given to the castrated rats, the incorporation of ^3H -lysine into the dorsolateral prostate and seminal vesicles was significantly lower than that of the castrated and testosterone treated animals ($p < 0.05$, respectively).

Discussion

Suppressive effect of estradiol-17 β on weight gain in both castrated and noncastrated rats is well known entity^{5,6}. Atrophy of both ventral and dorsolateral prostates in estradiol-17 β -treated rats was also noticed⁷. Our results confirmed these findings (Table 1).

It is also intriguing to remark the androgen-estrogen interaction indicating that exogenously administered estrogen produces an obvious synergistic effect instead of sup-

pressive androgen action⁸. Some explanations of the synergistic effect of estrogen have been reported. For instance, exogenously administered estrogen might alter peripheral androgen metabolism by enhancing pituitary prolactin release⁹, or estrogen evokes muscular hypertrophy and androgen increases the amount of epithelial tissues¹⁰. In the present study of organ weight, this synergism is apparent in dorsolateral prostate and seminal vesicles (Table 1). However, the amount of collagen of the male sex accessory sex organs in castrated rats given both testosterone and estradiol-17 β was almost similar to that of castrated rats received testosterone alone (Table 2). Thus, the possibility that the overproduction of collagen in accessory sex organs in the former group plays an important role for the pathogenesis of synergism appears to be less likely. Collagen biosynthesis has been estimated by determining peptidylproline hydroxylase activity using procollagen and cofactors¹¹, the rate of formation of hydroxyproline- ^{14}C from uniformly labeled proline- ^{14}C in vitro¹², or counting the tritiated lysine or proline into the collagenous fraction in tissues in vivo^{13,14}. We used the last method as a parameter of collagen biosynthesis, and a dose of 50 μg of estradiol-17 β administered daily for 14 days reduced the incorporation of ^3H -lysine into the collagen of both ventral and dorsolateral prostates as well as seminal vesicles (Table 4). Reduction of ^3H -lysine incorporated into the collagenous protein of seminal vesicles was also noted in rats received estradiol-17 β in addition to testosterone (Table 4).

There are some evidences that increased isotope concentration of exogenously administered tritiated amino acid into the collagenous protein concomitant with the weight gain in vessels of hypertensive animals¹³. But, we used normotensive animals through the experiment. Administration of estradiol-17 β caused the accumulation of collagen in the seminal vesicles and both ventral and dorsolateral prostates in the absence of increased lysine incorporation into the collagenous protein of these male accessory sex organs. The exact mechanism for this phenomenon is poorly understood. But, by in-

fluencing the inhibition of collagenase, other degradation enzymes or decreased turnover of this protein fraction must be presumably accounted for by an elevation in the collagen in these male accessory sex organs. The other inference as regards the sequence of this phenomenon can be attributed to the non-specific stimulation of protein synthesis. Since, the total protein of each tissue homogenate in rats treated with estradiol-17 β also increased (Table 3). Cis isomers of 4-fluoroproline was utilized by a collagen-synthesizing system with the production of abnormal collagens manifested in the cells¹⁵. Enzymatic alteration of peptidylproline to peptidyl-4-hydroxyproline eventuates exclusively in collagen-influenced biosynthesis of proline moieties¹⁶. The ability of these proline analogues to be incorporated into procollagen seems to be effective in the presence of prolyl-t RNA ligase¹⁷. Estradiol-17 β might suppress the peptidylproline hydroxylation by influencing the tRNA and proline. However, true mechanism of estradiol-17 β in reducing the incorporation of ³H-lysine into the collagenous protein of the examined male accessory sex organs cannot be clarified in this study.

Acknowledgement

The authors thank Misses Y. Itoh and R. Sato who participated in the initial part of the study.

References

- 1) Salvador, R. A. and Tsai, I.: Accumulation of collagen in the uterus of the immature rat administered estradiol-17 β . *Biochem. Pharmacol.*, 22: 37, 1973.
- 2) Jeffrey, J. J. and Gross, J.: Collagenase from rat uterus isolation and partial characterization. *Biochemistry*, 9: 268, 1970.
- 3) Fitch, S. M., Harkness, M. L.-R. and Harkness, R. D.: Extraction of collagen from tissues. *Nature (London)*, 176: 163, 1955.
- 4) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265, 1951.
- 5) Fischer, G. M. and Swain, M. L.: Effect of sex hormones on blood pressure and vascular connective tissue in castrated and noncastrated male rats. *Am. J. Physiol.*, 232: H617, 1977.
- 6) Tisell, L.-E., Anderson, H. and Angervall, L.: A morphological study of the prostatic lobes and the seminal vesicles of castrated rats injected with oestradiol and/or insulin. *Urol. Research*, 4: 63, 1976.
- 7) Yamanaka, H., Shimazaki, J., Imai, K., Sugiyama, Y. and Shida, K.: Effect of estrogen administration on activities of testosterone 5 α -reductase, alkaline phosphatase and arginase in the ventral and the dorsolateral prostates of rats. *Endocrinol. Jap.*, 22: 297, 1975.
- 8) Woodruff, M. W. and Perez-Mesa, C.: The effect of hormonal modification on prostatic morphology. *J. Urol.*, 88: 273, 1962.
- 9) Moger, W. H. and Geschwind, I. I.: The action of prolactin in the sex accessory glands of the male rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 141: 1017, 1972.
- 10) Chemes, H. E., Podesta, E. and Rivarola, M. A.: Action of testosterone, 5 α -dihydrotestosterone and 5 α -androstane-3 α , 17 β -diol on the spermatogenesis of immature rats. *Biol. Reprod.*, 14: 332, 1976.
- 11) Zimmerberg, J., Greengard, O. and Knox, W. E.: Peptidyl proline hydroxylase in adult, developing, and neoplastic rat tissues. *Cancer Res.*, 35: 1009, 1975.
- 12) Cutroneo, K. R., Guzman, N. A. and Liebelt, A. G.: Elevation of peptidylproline hydroxylase activity and collagen synthesis in spontaneous primary mammary cancers of inbred mice. *Cancer Res.*, 32: 2828, 1972.
- 13) Ooshima, A., Fuller, G. C., Spector, S. and Udenfriend, S.: Increased collagen synthesis in blood vessels of hypertensive rats and its reversal by antihypertensive agents. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 71: 3019, 1974.
- 14) Nakada, T. and Lovenberg, W.: Lysine incorporation in vessels of spontaneously hypertensive rats: Effects of adrenergic drugs. *Europ. J. Pharmacol.*, 46: 87, 1978.
- 15) Gottlieb, A. A., Fujita, Y., Udenfriend, S. and Witkop, B.: Incorporation of cis- and trans-4-fluoro-L-proline into proteins and hydroxylation of the trans isomers during collagen biosynthesis. *Biochemistry*, 4: 2507, 1965.
- 16) Prockop, D. J. and Kivirikko, K. I.: Relationship of hydroxyproline excretion in urine of collagen metabolism. *Ann. Internal Med.*, 66: 1243, 1967.
- 17) Shirota, F. N., Nagasawa, H. T. and Elberling, J. A.: Potential inhibitors of collagen biosynthesis. 4, 4-difluoro-L-proline and 4, 4-

dimethyl-DL-proline and their activation by prolyl-tRNA ligase. J. Medical Chemistry, 20: 1176, 1977.

性ホルモンの雄性ラット副性器における collagen 代謝に与える影響

中田瑛浩*, 服部義博**, 嶋崎 淳**

*富山医科大学医学部泌尿器科学教室
(主任: 片山 喬教授)

**千葉大学医学部泌尿器科学教室
(主任: 嶋崎 淳教授)

幼若雄性ラットに性ホルモンを連続 14 日間投与し, ^3H -lysine $0.4 \mu\text{Ci/g}$ を静注した後, 屠殺, 副性器の collagen 分画への ^3H -lysine の取り込みを測定した. Estradiol-17 β (以下 E と略す) $50 \mu\text{g/day}$ 投与により,

精のう, 前立腺腹葉, 前立腺背葉の重量が減少し, これら臓器の collagen への ^3H -lysine の取り込みも減少した. 除睾術を受け, E+testosterone (以下 T と略す), 各 $50 \mu\text{g/day}$ の投与を受けたラットの副立腺背葉への ^3H -lysine の取り込みは, 除睾術を受け, T 投与を受けたラットのそれより低い ($p < 0.05$). E 投与を受けたラットのこれら副性器の collagen 含量は対照群より高く ($p < 0.05 - p < 0.001$), total protein も高い ($p < 0.01 - p < 0.001$). E は T と synergistic action を示して精のうと前立腺背葉の重量を増加させる. しかしながら, 除睾術を受け, T を投与されたラットの副性器 collagen 含量は, 除睾術を受け T+E を投与されたそれとは有意差がない.

以上の成績より, E 投与を受けた幼若雄性ラットの副性器への collagen の蓄積は, 主としてタンパク代謝の non specific な刺激によるものであり, E 投与で collagen 代謝は抑制されると推測される.

(受付: 昭和 56 年 9 月 28 日)

ラット精巣における塩化カドミウムの アンドロゲン代謝に対する作用

The Effect of Cadmium Chloride on Androgen
Metabolism in the Rat Testis

神奈川県立歯科大学学生化学教室

小鹿真理 中山義之
Shinri KOSHIKA Yoshiyuki NAKAYAMA

Department of Biochemistry Kanagawa Dental College

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室

穂坂正彦 木下裕三 西村隆一
Masahiko HOSAKA Yuhzo KINOSHITA Ryuichi NISHIMURA

Department of Urology School of Medicine
Yokohama City University

秋田大学医学部第二病理学教室

原田昌興
Masaoki HARADA

Department of Pathology School of Medicine
Akita University

Wistar 系ラット (8週令) に塩化カドミウム (CdCl_2) 10mg/kg 皮下投与し、投与後1, 3, 6, 12時間および14, 60, 110, 160, 200, 300日の精巣における pregnenolone から testosterone にいたる各種酵素活性を検討した。その結果 CdCl_2 投与により、 17β -hydroxysteroid dehydrogenase は投与後1時間のうちにその活性が著明に低下し、12時間後には、血中 testosterone 量も減少し始める。また14日以後には pregnenolone から testosterone の生成は著しい障害を示す。そして投与300日では pregnenolone から testosterone 生成に関与する酵素は全てその活性を失っていた。

以上の結果より、 CdCl_2 によるラット精巣 androgen 分泌能に対する障害は投与後1時間の短時間のうちに出現し、投与300日では、Leydig Cell の再生および集簇傾向が認められるにもかかわらず testosterone の生成分泌能を完全に失っていることが判明した。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 27(3), 406-414, 1982)

緒言

CdCl_2 の精巣に及ぼす障害については、1956年 Parizek¹⁾ により提唱されて以来、多くの報告が見られ、とくに Gunn, Gould^{2,3,4)} によると CdCl_2 を1回投与するだけで組織学的障害がきわめて早期に出現すると言わ

れている。すなわち、ラット、マウスでは投与後、2～4時間ですでに精巣間質の capillary stasis, edema が生じ、8時間で hemorrhage が、そして24～48時間には精巣の hemorrhagic necrosis が見られると報告されている^{1,5)}。

さらに、この精巣障害の特徴は、精細管は永久的に破

壊されるが、間質細胞は強度の障害を受けた後に再生されることであり、Gunn^{3,4)}、Roe⁵⁾らは投与約1年後には interstitial cell tumor を形成すると述べている。しかし CdCl₂ 投与後長期間にいたつて回復し得た Leydig 細胞における androgen 生合成能については、現在なお明らかにされていない。したがつて CdCl₂ 投与後に生ずる Leydig 細胞の増殖は、androgen 生合成能をも回復し得るものであるのか否かについて検討すべく、androgen 標的臓器の重量 および 精巢の組織学的所見とともに、pregnenolone から testosterone の生成に関与する各種酵素活性および、血中ならびに組織中 testosterone 濃度につき経時的に検討した。

材料および装置

1) Pregnenolone (3 β -hydroxy- 5-pregnene-20-one), progesterone (4-pregne-3,20-dione), 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -hydroxy-4-pregnene-3,20-dione), 4-androstenedione (4-androstene-3,17-dione), testosterone (17 β hydroxy-4-androstene-3-one) は全て Merck 社のものを使用した。

2) [7(n)-³H] Δ^3 -pregnenolone (specific activity = 10.5Ci/m mol) は The Radiochemical Center Amer-sham のものを使用した。pregnenolone-4-¹⁴C (Sa = 55.7mCi/mmol), progesterone-4-¹⁴C (sa = 55.7mCi/m mol), 17 α -hydroxyprogesterone-4-¹⁴C (sa = 50mCi/m mol), 4-androstenedione-4-¹⁴C (sa = 57.5mCi/m mol) は New England Nuclear Corp. のものを使用した。

3) antiserum : testosterone-11 α -succ. 帝国臓器製薬 (株) 薬理研究部より提供

4) tris buffer : tris aminomethane (Sigma), MgCl₂ · 6H₂O (小宗化学), sucrose (和光純薬), HCl (和光純薬)

5) NAD, NADPH (Sigma)

6) Kieselgel G および GF₂₅₄ (Merk)

7) Sephadex LH-20 (Pharmacia)

8) dioxane scintillator : dioxane (和光純薬), DPO, POPOP (同仁化学), naphthalene (関東化学)

9) 各種有機溶媒 : 和光純薬のもので全て特級

10) rotary evaporator (Sibata, Type SPC)

11) fraction collector (Toyo, SF 160K)

12) spectrophotometer (Hitachi, Model 101)

13) thin layer chromatogram scanner (Aloka Model TLC-20)

14) liquid scintillation counter (Packard, Tricarb Model 3390)

実験方法

Wistar 系ラットの精巢を実験材料として用いた。CdCl₂ 生理食塩水に溶解し、8週令のラットに10mg/kg 1回皮下投与した。そして投与1, 3, 6, 12時間後、さらに14, 60, 110, 160, 200, 300日後にエーテル麻醉下で除宰した。

1) testosterone 生成に関する追跡実験法

a) enzyme preparation

秤量した精巢組織を0.25M 蔗糖液に入れ、氷冷中で teflon-glass homogenizer にて homogenize し、800g, 20min で遠沈しその cell free homogenate を実験に用いた。

b) incubation および抽出

³H-pregnenolone (1 μ Ci, 95.2pmol) を incubation flask にとり、N₂ gas で乾固し、propylene glycol を1滴加えた後、0.25M 蔗糖溶液1ml, 酵素溶液1ml および0.05MgCl₂, 0.25M 蔗糖 および NAD (1.2 μ M), NADPH (0.6 μ M) を含む0.05M. pH 7.4の tris-HCl buffer 1ml 計3ml の incubation medium 中で、37°C, 95% O₂, 5% CO₂ の気流下で一定の速度で振盪しつつ20分間 incubate した。ついで10ml の dichlormethane を添加し incubation を停止したのち予想される代謝物、すなわち pregnenolone, progesterone, 17 α -hydroxyprogesterone, 4-androstenedione, testosterone を carrier としてそれぞれ100 γ ずつ加えた。代謝物の抽出は10ml dichlormethane により3回行ない、水洗後芒硝にて脱水した。

c) chromatography

代謝物の分離は Kieselgel G : GF₂₅₄ (4 : 1) の thin layer chromatography を用い、benzene : acetone = 4 : 1 (V/V) の system で展開した。各代謝物は254nm の紫外線および iodine 蒸気にて確認し、さらに同一の solvent system により thin layer chromatography にて精製し、同定は再結晶法によつた。代謝物の放射性活性は liquid scintillation counter で測定した。

2) microsome fraction を用いての各種精巢酵素活性の測定

CdCl₂ 投与300日後の精巢 microsome を用い pregnenolone から testosterone にいたる各種酵素、すなわち 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, isomerase (3 β -HSD), 17 α -hydroxylase, C17-20 lyase および 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (17 β -HSD) の活性を測定した。

a) enzyme preparation

酵素溶液の調整は Tamaoki⁷⁾ らの方法に順じた。精

巣組織を0.25M 蔗糖液 (pH 7.4) で homogenize し, 800g, 20min の cell free homogenate を得, これを 10,000g, 20min 冷却遠心した. さらにこの上清を 105,000g, 1時間で遠心し microsomal fraction を得た. これを酵素溶液として用いた.

b) incubation おらび chromatography

各種 steroid を基質とし, microsome を用いて incubate した. ^{14}C -pregnenolone ($10 \times 10^4\text{dpm}$, $1.8\mu\text{g}$) を基質にした場合は 0.25mM NAD および 0.2mM NADPH を, ^{14}C -progesterone ($10 \times 10^4\text{dpm}$, $1.0\mu\text{g}$) を基質にした場合は 0.1mM NADPH を, ^{14}C -17 α -hydroxy progesterone ($10 \times 10^4\text{dpm}$, $1.0\mu\text{g}$) を基質にした場合は 0.1mM NADPH を, そして ^{14}C -4-androstenedione ($10 \times 10^4\text{dpm}$, $30\mu\text{g}$) を基質にした場合は 0.25 mM NADPH をそれぞれ incubation medium に添加した. そしてこれ以外の incubation 条件, chromatography の条件および代謝物の同定は上記追跡実験の方法と同様に行なつた.

c) 酵素活性の表現

3β -HSD は pregnenolone より生成された 4α -3-oxo-steroid の量で, 17 α -hydroxylase は progesterone より生成された 17 α -hydroxy progesterone, 4-androstenedione および testosterone の総和で, C17-20 lyase は 17 α -hydroxy progesterone より生成された 4-androstenedione と testosterone の和で, そして 17 β -HSD は 4-androstenedione より生成された testosterone の量でそれぞれの酵素活性を表現した. タンパクは Lowry 法⁹⁾ で定量し, これら酵素活性は n mol/mg protein/20min. の単位で表現した.

3) 血中および精巣組織中 testosterone の測定

血中および精巣組織 testosterone の測定は穂坂らの方法^{9,10)} に従い, radioimmunoassay にて測定した. 血清および精巣 homogenate を ether で抽出し, sephadex LH-20 column chromatography (0.7 \times 12cm, 2 ml, hexane : benzene : methanol=90 : 5 : 5) で testosterone を分離した. 抗血清は testosterone-11 α -succ で作製されたものを用い, 遊離型と結合型の分離は 50% W/V 硫酸を使用した. 本測定の precision は inter

assay variance 4.0%, intra assay variance 7.6% であった.

4) 精巣および androgen 標的臓器の重量

CdCl_2 投与後, 1 および 12時間さらに 110, 160, 300 日のラット精巣, 精巣上体, 精管, 精囊, 前立腺前葉についてその重量を測定した.

5) 精巣組織学的所見

CdCl_2 投与後, 110日, 160日, 300日の精巣組織検索を行なつた. 摘出した精巣を直ちに buffered 10% formalin で 24時間固定し, その後常法通り, 脱水, paraffin 包埋し, 切片作製後, haematoxylin-eosin 染色をほどこし観察した.

結 果

1) CdCl_2 1 回投与後の短期作用

a) 精巣および副性器の重量変化 (Table 1).

CdCl_2 投与 1 時間および 12時間後の精巣, 精巣上体, 精管, 精囊, 前立腺前葉のいずれの重量も control 群と有意差は認められなかった.

b) 血中および精巣組織中 testosterone 濃度 (Table 2).

control 群の血中 testosterone は $161 \pm 75\text{ng/dl}$ であった. これに対し CdCl_2 投与 1 時間後では $151 \pm 22\text{ng/dl}$ の値を 12 時間後では $102 \pm 17\text{ng/dl}$ の値を示した. また, 精巣組織中の testosterone は control 群で $73.3 \pm 16.7\text{ng/g}$ の値を, 投与後 1 時間, 12 時間ではそれぞれ 84.9 ± 42.5 , $52.6 \pm 25.3\text{ng/g}$ であった. 血中, 精巣組織中 testosterone 濃度はいずれも CdCl_2 投与 1 時間後では, control 群と有意差は認められないが, 投与 12 時間後は血中, 精巣組織中 testosterone 濃度はともに control 群と比較して有意な低下を示した.

c) 追跡実験法による pregnenolone から testosterone にいたる代謝 (Fig 1)

control rat 精巣および, CdCl_2 投与 1, 3, 6, 12 時間後に摘出した精巣の cell free homogenate と ^3H -pregnenolone を incubate し, pregnenolone から progesterone, 17 α -hydroxyprogesterone, 4-androstenedione, testosterone の代謝について検討した. Fig 1 は組

Table 1 Short term effect of CdCl_2 on the weight of rat reproductive organs

After CdCl_2 injection	Testis	Epididymis	Vas deferens	Seminal vesicle	Prostate
Control	2732 ± 76.9	584 ± 76.6	182 ± 23.5	345 ± 62.0	308 ± 54.8
1 hr.	2727 ± 252.2	525 ± 25.7	147 ± 6.2	337 ± 66.7	293 ± 29.8
12 hr.	2939 ± 239.9	550 ± 49.0	159 ± 19.7	400 ± 31.9	237 ± 77.5

(mean \pm SD. mg. n=5)

Table 2 Short term effect of CdCl₂ on plasma and intratesticular testosterone concentrations in the rats

After CdCl ₂ injection	Testosterone level	
	Plasma (ng/dl)	Intratesticular (ng/g)
Control	161±75 (n=7)	73.3±16.7 (n=7)
1 hr.	151±22 (n=4)	84.9±42.5 (n=4)
12 hr.	102±17 (n=4)	52.6±25.3 (n=4)

(mean ± SD)

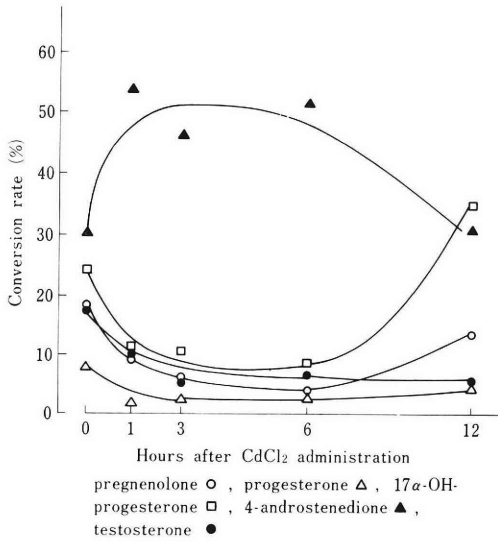


Fig. 1 *In vitro* pregnenolone metabolism to testosterone in short term after CdCl₂ administration in the rat testis

織100mg を用い1時間 incubate したものである。pregnenolone から最終産物である testosterone への変換率は control 17.0%で、1、3、6、12時間後で9.7、5.3、7.5、5.1%の値を示し、pregnenolone から testosterone の生成は CdCl₂ 投与1時間後にはすでに有意の低下を示した。これに対し、CdCl₂ 投与1時間から6時間まで 4-androstenedione の著明な蓄積が見られ、pregnenolone から 4-androstenedione の変換率が control 30.0%であるのに対し、投与1、3、6時間後では

Table 3 The degree of testosterone formation from pregnenolone in rat testicular tissue following CdCl₂ administration

Days after administration	Control	14	60	110	160	200	300
Testosterone (%)	100	32	11	29	26	14	16

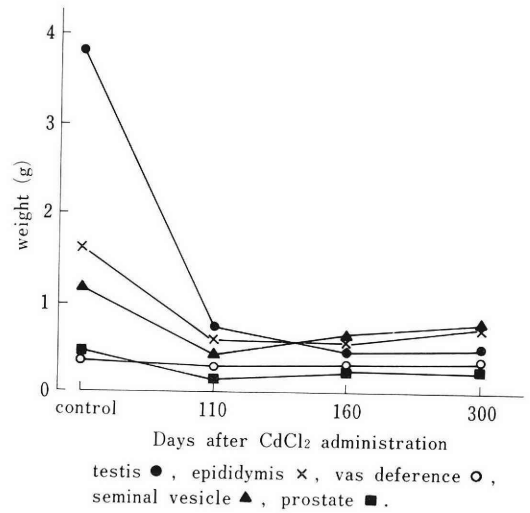


Fig. 2 Long term effect of CdCl₂ on the weight of rat reproductive organs

54.2, 46.8, 51.7%であつた。ついで、CdCl₂ 投与12時間後には 4-androstenedione の生成率は低下の傾向を示し、これに対し 17α-hydroxyprogesterone の蓄積が著明であつた。

2) CdCl₂ の長期作用

a) 精巣および副性器の重量変化 (Fig 2)

CdCl₂ 投与後 110, 160, 300日後の精巣および副性器の重量を測定した。control ラット精巣は3.80g で110, 160, 300日の精巣は0.70, 0.41, 0.48g と control に比べ著明な低値をとつていた。精巣上皮, 精管, 精囊, 前立腺の重量も CdCl₂ 投与により減少し、300日後にいたつてもこれらの重量は増加する傾向は認められなかつた。

b) 追跡実験法による pregnenolone からの testosterone 生成率 (Table 3)

Control, CdCl₂ 投与後 14, 60, 110, 160, 200, 300日のラット精巣100mg の cell free homogenate と pregnenolone を incubate し testosterone の生成率を検索した。control の pregnenolone から testosterone の生成率は17%でありこの値を100とし投与後の testosterone 生成の比率を現わした。testosterone の生成は14日から300日後にいたり著明に抑制され、生成回復は長期間に

Table 4 Enzyme activities in the microsome of rat testis 300 days after CdCl₂ administration

	Enzyme activities (n moles/mg protein/20 min.)			
	17 β -HSD	C17-20Lyase	17 α -Hydroxylase	3 β -HSD
Control	0.937	0.232	0.143	0.311
300 days	0.069	0.014	0.014	0.015

おいても認められなかった。

c) CdCl₂ 投与による精巣各種酵素活性 (Table 4)

CdCl₂ 投与300日のラット精巣 microsome 中の 3 β -HSD, 17 α -hydroxylase, C17-20 lyase および 17 β -HSD の活性を測定した。17 β -HSD は control 0.937n moles /mg protein/20min (n moles) に対し投与ラットでは 0.069 n moles で, C17-20 Lyase は control 0.232 n moles に対し投与ラットでは 0.014n moles であった。また, 17 α -hydroxylase については control 0.143 n moles, 投与ラット 0.014n moles で, 3 β -HSD は control 0.311n moles, 投与ラット 0.015n moles であった。

以上のように, pregnenolone から testosterone 生成に関与するすべての精巣酵素群は 300日で障害を受けていた。

d) 精巣組織学所見 (Fig. 3-A~D)

control 群では (Fig. 3-A), 整然とした造精細胞の成熟過程を示す直径約280 μ m の均等な大きさの精細管が, 薄い基底膜および固有層をもって, 間質と明瞭に境いさされて認められる。間質の幅は狭く, 疎性結合織中に毛細血管と少数の間質細胞が見られる。間質細胞は直径12 μ m 程度の小さな細胞で, 細胞境界の不鮮明な類円形ないし紡錘型細胞として見られ, 毛細血管周囲に集簇する

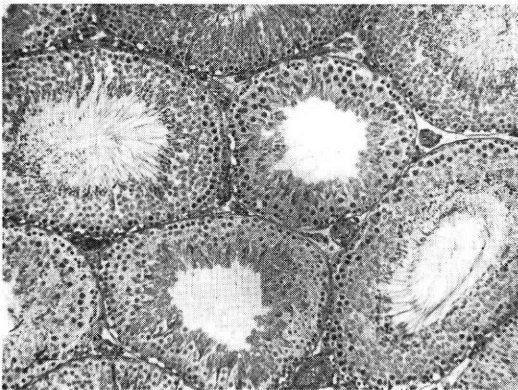


Fig. 3-A

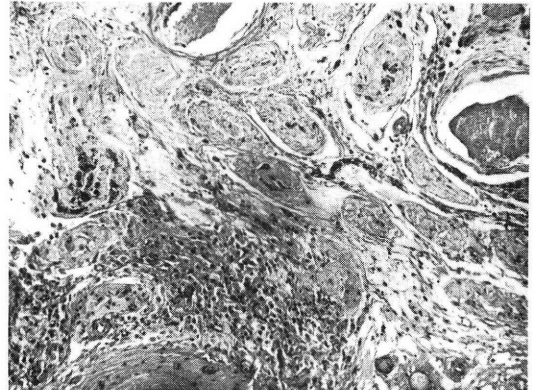


Fig. 3-C

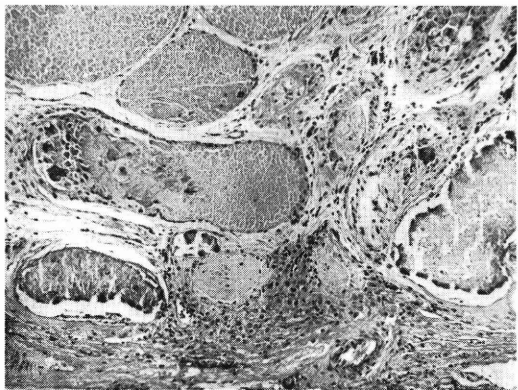


Fig. 3-B

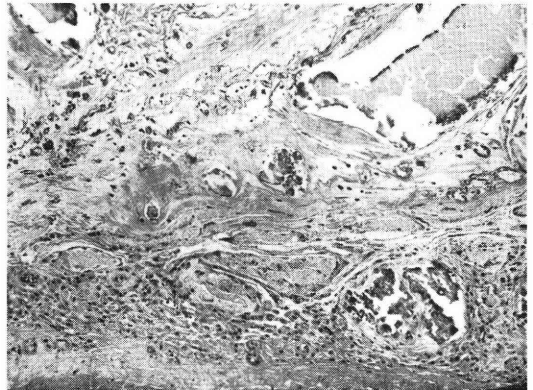


Fig. 3-D

傾向を示しているが、明らかな Leydig 細胞と同定される細胞はきわめて少数である。

CdCl₂ 投与後110日では (Fig. 3-B), 精細管の直径は 80~200 μ m で、著明な萎縮を示し、輪廓は保持されているが、ほとんど全ての精細管は好酸性凝固壊死物質で充満され、造精細胞は消失し、時に変性した Sertoli 細胞が僅かに残存するにすぎない。又、壊死物質への2次的な石灰沈着もしばしば認められる。間質は膠原線維の増加、線維芽細胞の増加により肥厚し既存の間質毛細血管も内腔が閉塞され、増生結合織と共に癩痕性器質化組織で置換されている。精巣被膜下付近に、Leydig 細胞の集簇性増殖巣が僅かに散見される。この Leydig 細胞は、直径15 μ m 程度のやや大型な細胞で、明瞭な細胞境界を示し、両染色微細顆粒状の細胞質と、細顆粒状染色質、明瞭な核小体の見られる類円形核を有している。

投与後160日では (Fig. 3-C), 精細胞の荒廃はより高度となり、直径25~50 μ m 程度の完全に硝子化を示すものが目立ち、石灰化傾向も強くみられる。精細管周囲固有層の線維性肥厚も著しい。著明な線維化を示す間質には新生毛細血管様構造が散見され、形質細胞、少数の好酸球浸潤が目立つ処もある。周辺部被膜下付近の集簇性巣状 Leydig 細胞増殖は、110日群より目立ち、直径200 μ m 程度の結節状を示している。増殖細胞は20 μ m 位の大型細胞で好酸性細胞質と明瞭な核小体を有する細顆粒状染色質を示す核を有する。増殖巣辺縁では、紡錘型線維芽細胞様の間質細胞との移行傾向を示す。又、さらにその周辺では、脂肪色素、ヘモジデリン等黄褐色色素の沈着、貪食細胞が散見される。

投与後300日群では (Fig. 3-D), 精細管の荒廃、萎縮は更に増強され、輪廓が不鮮明となり間質の増生線維性組織に器質化される傾向が著しく、精巣の基本構造の改変を示す。精細管の再生性変化は全くみられない。間質の癩痕性、肉芽組織形成も高度で、単位積当りの間質部分は60~80%程度に達する。精巣の周辺部被膜下には結節状 Leydig 細胞増殖はないが、帯状にむしろややびまん性的間質細胞増殖が認められる。この間質細胞中には Leydig 細胞として形態的特徴を示すものも少なくないが幼若な線維芽細胞様の細胞、あるいは脂肪色素貪食細胞を含む成熟細胞球も混在している。

考 察

マウス、ラットの実験によると^{1,5)} CdCl₂ 投与の障害は投与後短時間のうちに精巣に特異的に出現する。この作用機序は、spermatic artery-pampiniform plexus complex の特殊性による (Mason ら¹¹⁾) ものとされているが、前川ら¹²⁾はこの種の血管系をもたぬハトを使った

実験でも CdCl₂ による精巣組織障害が起こると報告している。いずれにしても、精巣の血管床や精巣への血流が CdCl₂ 投与後非常に早い時期に影響を受けることはすでに知られている事実である^{13,15-17)}。Gunn ら⁴⁾は精巣の internal spermatic vessel, vasal vessel を外科的に結紮しても、結紮1年後に精巣間質細胞腫の形成が見られることから CdCl₂ による精巣障害を“Selective chemical ligation” of the testicular vasculature と定義している。しかし、これらの組織学的変化すなわち、精巣間質における capillary stasis, edema, hemorrhage および necrosis と内分泌学的機能との関連を追求した研究は数少なく、とくに、CdCl₂ 投与後の精巣 androgen 生合成についての報告は現在のところ認められてない。また、投与後長期においていつたん CdCl₂ により強度の障害を受けた後に再生される精巣間質細胞が内分泌機能をも回復するか否かについては、報告者により意見が異なりいまだ解明されていないのが現状である。

著者らは、³H-pregnenolone を用い、pregnenolone から testosterone 代謝にいたる追跡実験を試み、CdCl₂ 投与による androgen 生成障害の経時的变化について検索したが、CdCl₂ 投与後、12時間までの変化については投与後1時間ですでに testosterone 生成障害が見られ、12時間後では testosterone 生成率はさらに下降を示している。一方、先に述べたごとく、1時間後に精巣組織中の testosterone 生成能の低下が認められているが、この時期の生成障害は、血中および精巣組織中 testosterone 濃度に影響をおよぼす程の強度のものでなく、12時間後にはじめて、精巣内 testosterone 量および血中 testosterone 濃度は有意の低下が認められている。このように、CdCl₂ によるラット精巣 testosterone 生成障害は、血中ないしは組織中の testosterone 値では判定し得ないわずか1時間後にすでに生じているものと言える。さらに、CdCl₂ 投与後12時間までには副性器の重量は control と比して変化なく、この時期内での血中 testosterone 量は 161 \pm 75ng/dl から 102 \pm 17ng/dl の減少にとどまり、血中 testosterone の変動による副性器への影響はないものと判断される。さらに、in vitro の追跡実験で示したごとく testosterone の生成低下ともない、CdCl₂ 投与1~6時間にわたり、4-androstenedione の著明な蓄積が認められ、6時間から12時間にかけて、4-androstenedione 生成量の減少とともに、17 α -hydroxyprogesterone の蓄積が見られることから、CdCl₂ 投与後12時間までのラット精巣内 androgen 生成の短期障害は、まず投与1時間のうちに17 β -HSD が障害され、ついで1から6時間にかけて C17-20 lyase の活性障害を生じることが示唆される。

Gunn ら⁹⁾は CdCl₂ 投与後 2~3 週間で精巣間質の再生が起るとしており、石井¹⁷⁾は、間質は CdCl₂ 投与 10 日後から精巣白膜直下より線維細胞が発生し、やがて投与後 150 日頃から Leydig 間質細胞が再生されると述べている。この組織変化について Parizek⁵⁾ からも同様の知見を報告している。さらに Gunn⁹⁾らは CdCl₂ をラットないしマウスに皮下投与し、1 年後で 70~80% に精巣間質細胞腫の形成が見られたと報告し、また Roe (1964)⁶⁾ らのラットを用いた実験では、精巣の萎縮が現われた後、Leydig 細胞の hyperplasia が出現し、そしてこれは neoplasia に発展すると言っている。CdCl₂ 投与と長期間の精巣組織所見について著者の検討の結果では、精細管は著明に萎縮し、凝固壊死さらに、硝子化変性、石灰沈着、癩痕性器質化に陥った状態を示し、投与 300 日後でも再生性変化は生じないことを認めている。一方、間質組織については 110 日後の精巣周辺部および、被膜下での間質細胞の集簇性増殖を認め、さらにその後の 160 日では、この集簇巣がより明瞭な大型の Leydig 細胞の結節状増殖として認められる知見を得、この時期での間質細胞の再生は生じるものであり、諸家の報告と一致した結果が得られている。

このように再生された間質細胞が組織学的にもまた、androgen からみても Leydig cell 本来の機能を回復しているという説がある。つまり投与 52 日になると精囊、前立腺の重量が再び増加し、これは間質の増殖と平行していることから、再生された間質細胞は androgen 物質を産生しているとの報告⁵⁾ がある。また、Favino ら (1966)¹⁸⁾ のラット精巣を用いた *in vitro* の実験では、投与後 10 日では testosterone 生成は著明に低下しており、pregnenolone からの testosterone 生成は精巣重量あたり control に比べ 1% であるのに対し、投与 100 日ないし 150 日後になると testosterone 生成は有意に増加し、それらの値は 7.6, 49% と、再び androgen 生成を開始する結果を報告している。また Niemi (1968)¹⁹⁾ により精巣の回復期において、白膜直下に 3 β -HSD に反応する細胞が存在することも報告されている。しかし、これらの報告とは相反し、投与後 7, 15 日のラット serum testosterone および dihydrotestosterone の低下²⁰⁾ や、CdCl₂ により生じた interstitial cell tumor では、progesterone から testosterone の生成が低下し、これは 4-androstenedione から testosterone の生成障害によることが報告²¹⁾ されている。

著者の得た、CdCl₂ 投与長期精巣についての結果は、pregnenolone から testosterone の生成は control に比べ投与 14 日から 300 日にわたり、回復することなく低値を示しており、testosterone 分泌は長期にわたり障害を

受けると言え、その障害は回復しえない非可逆的な変化であることが判明した。副性器もまた、投与後 110 日に著明な重量減少を示したまま 300 日後にいたつてもその重量は増加せず、この事実は、精巣内 androgen 生成能の障害の程度と一致している。従つて Favino ら (1966)¹⁸⁾ の言う testosterone 生成回復および Parizek⁵⁾ による副性器重量の回復は、著者らの得た結果では認められない。

CdCl₂ 投与長期では精巣組織全体の萎縮は進行的であるが確かに Leydig 細胞の増殖は局所的に経時的に著明となつている。しかし、先に述べたごとく、追跡実験による testosterone 生成低下、および副性器重量の減少から、この Leydig 細胞は androgen 分泌能は有していないものと判断される。加えて投与 300 日経つたラット精巣内 testosterone 生成酵素である 3 β -HSD, 17 α -hydroxylase, C17-20 lyase, 17 β -HSD の pregnenolone から testosterone にいたる酵素群のすべての活性は消失しており、再生された精巣間質細胞は内分泌学的に見れば、no function であると言える。

結 語

CdCl₂ 投与ラット精巣を用い、CdCl₂ による精巣 androgen 生成障害について検索し、以下の結論を得た。

- 1) 投与 300 日にいたつても、精巣、精巣上体、精管、精囊、前立腺の重量の回復は見られなかつた。
- 2) 投与 12 時間後には、血中および精巣内 testosterone 値はそれぞれ 161 \pm 75ng/dl から 102 \pm 17ng/dl, 73.3 \pm 16.7ng/g から 52.6 \pm 25.3ng/g と減少された。
- 3) 投与 110~160 日経過した精巣において Leydig 細胞の再生および増殖が認められる。
- 4) 投与後短期間に testosterone 生成は障害されるものであり、まず投与 1 時間以内に 17 β -HSD 活性が障害され、さらに投与 6 時間以内には C17-20 lyase の活性障害が認められた。
- 5) 300 日経つた精巣の pregnenolone から testosterone 生成に関与する酵素すなわち、3 β -HSD, 17 α -hydroxylase, C17-20 lyase 17 β -HSD は全てその活性を失つていた。

文 献

- 1) Parizek, J. and Zahor, Z.: Effect of cadmium Salts on testicular tissue. *Nature*. 177: 1036, 1956.
- 2) Gunn, S. A. and Gould, T. C.: Vol 5 Male reproductive system, sec. 7 Endocrinology, *Handbook of physiology*, p 117, Washington, D. C., Am. physiol. Sci., 1975.

- 3) Gunn, S. A., Gould, T. C. and Anderson, W. A. D.: Cadmium induced interstitial cell tumors in rat and mice and their prevention by zinc. *J. Nat. Cancer Inst.* 31 : 745, 1963.
- 4) Gunn, S. A., Gould, T. C. and Anderson, W. A. D.: Comparative study of interstitial cell tumors of rat testis induced by cadmium injection and vascular ligation. *J. Nat. Cancer Inst.* 35 : 329, 1965.
- 5) Parizek, J.: The destructive effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc. *J. Endocrinol.* 15 : 56, 1975.
- 6) Roe, F. J. C., Dukes, C. E., Cameron, K. M., Pugh, R. C. B. and Mitchley, B. C. V.: Cadmium neoplasia: testicular atrophy and leydig cell hyperplasia and neoplasia in rats and mice following the subcutaneous injection of cadmium salts. *Brit. J. Cancer.* 18 : 674, 1964.
- 7) Tamaoki, B.: Steroidgenesis and cell structure. Biochemical pursuit of site of steroid biosynthesis. *J. Steroid Biochem.* 4 : 89, 1973.
- 8) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265, 1951.
- 9) 穂坂正彦, 今野 稔, 西村隆一: 血中 Testosterone の Radioimmunoassay. *横浜医学*, 24 : 47, 1973.
- 10) Hosaka, M., Oshima, H., Nankin, H. and Troen, P.: Studies of the human testis. 11. Leydig cell clusters and levels of intratesticular testosterone and 20α -dihydroprogesterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47 : 1164, 1978.
- 11) Mason, K. E., Brown, J. A., Young, J. D. and Nesbit, R. R.: Cadmium-induced injury of the rat testis. *Anat. Res.* 149 : 135, 1964.
- 12) 前川久太郎, 鈴木卓朗, 恒成靖生: ジュズカケバト (*streptopelia risoria*) 生殖巣に対するカドミウムの阻害効果, *解剖学雑誌*, 39 : 294, 1964.
- 13) Gunn, S. A., Gould, T. C. and Anderson, W. A. D.: The selective injurious response of testicular and epididymal blood vessels to cadmium and its prevention by zinc. *Amer. J. Path.* 42 : 485, 1963.
- 14) Chiquoine, A. D.: Observation on the early events of cadmium necrosis of the testis. *Anat. Rec.* 149 : 23, 1964.
- 15) Waites, G. M. H. and Setchell, B. P.: Changes in Blood flow and vascular permeability of the testis, epididymis and accessory reproductive organs of the rat after the administration of cadmium chloride. *J. Endocrinol.* 34 : 329, 1966.
- 16) Setchell, B. P. and Waites, G. M. H.: Changes in the permeability of the testicular capillaries and of the 'blood-barrier' after injection of cadmium chloride in the rat. *J. Endocrinol.* 47 : 81, 1970.
- 17) 石井富夫: 辜丸機能の下垂体性腺刺激ホルモン分泌能に及ぼす影響について, *泌尿紀要*, 7 : 3, 1961.
- 18) Favino, A., Baillie, A. H. and Griffiths, K.: Androgen synthesis by the testes and adrenal glands of rats poisoned with cadmium chloride. *J. Endocrinol.* 35 : 185, 1966.
- 19) Niemi, M.: Cadmium-induced testicular necrosis. *Work-Environment-Health.* 5 : 54, 1968.
- 20) Saksena, S. K., Dahlgren, L., Lau, I. F. and Chang, M. C.: Reproductive and endocrinological features of male rats after treatment with cadmium chloride. *Biol. Reprod.* 16 : 609, 1977.
- 21) Lucis, O. J., Lucis, R. and Aterman, K.: Tumorigenesis by cadmium. *Oncology.* 26 : 53, 1972.

The effect of cadmium chloride
on androgen metabolism
in the rat testis

**Shinri Koshika and
Yoshiyuki Nakayama**

Departments of Biochemistry Kanagawa
Dental College

**Masahiko Hosaka, Yuhzo Kinoshita
and Ryuichi Nishimura**

Department of Urology School of
Medicine Yokohama City University

Masaoki Harada

Department of Pathology School of
Medicine Akita University

To evaluate the effect of cadmium chloride ($CdCl_2$) on androgen metabolism in the rat testis, determinat of the weight of androgen target organs, histological examination of the testis, measurement of plasma and intra testicular testosterone concentrations and testicular biosynthetic studies were performed. Rats were sacrificed 1, 3, 6 and 12 hours, further, 14, 60, 110, 160, 200 and 300 days after 10 mg/kg of $CdCl_2$ administrations.

Testosterone formation from pregnenolone was impaired only one hour after the administration mainly by decrease in the activity of 17β -hydroxysteroid dehydrogenase. Plasma and intra testicular testosterone concentrations were significantly decre-

ased in 12 hours after the injection, while the weight of the androgen target organs such as epididymis, vas deferens, seminal vesicle and prostate showed no change. However, the weight of the androgen target organs was markedly decreased approximately 110 days after the treatment, and no restoration of the weight was demonstrated in 300 days.

3β -Hydroxysteroid dehydrogenase, 17α -hydroxylase, C17-20 lyase and 17β -hydroxysteroid dehydro-

genase in the microsomal fraction obtained from testicular tissue were completely destroyed on 110 to 300 days after CdCl_2 single injection, even Leydig cells were distinctly recognized by histological examination.

It is likely suggested that Leydig cells of CdCl_2 poisoned rat reveal no function in the production of testosterone.

(受付：昭和57年2月25日，特掲)

地方部会講演抄録

第84回日本不妊学会関東地方部会

期日：昭和56年7月11日

場所：京王プラザホテル

1. 心疾患合併妊婦の流産について

楊 瑞銘・貞永明美・安達知子
黄 長華・吉田茂子・大内広子
(東女医大・産婦)

2. 不全患者の妊娠と出産について

東間 紘・高橋公太・鈴木利昭
太田和夫・梅津隆子
(東女医大・第3外, 泌尿器)

3. 黄体機能不全の内分泌的背景

前川岩夫・寺田夏樹・小堀恒雄
(千葉大医・産婦)

従来、臨床的に BBT, Progesterone (P) の 3 ポイント測定, 子宮内膜組織診等によつて診断されてきた黄体機能不全 (L. I.) は, その病態は勿論のこと, 妊孕性との関連についても今だに正確には解明されていない。そこで, 不妊例で BBT 高温持続期間が 9 日以下の例を LI 群, 分娩歴を有し高温持続期間が 12 日以上例を正常群とし, その各々について全黄体期間にわたり, 連日採血を行い, 血中 P, estradiol, FSH, LH を測定し, ① 黄体の P 分泌能と BBT 型との相関, ② LI 群と正常群間における黄体期中総 P 分泌量の差, ③ 両群間の内分泌学的背景の差等について比較検討した。

4. 高年不妊婦人の臨床的検討

横山 敬・楠原浩二・安江育代
中島敏男・蜂屋祥一
(慈医大・産婦)

最近, 挙児希望婦人の中で, 比較的高年齢の患者の割合が少くない。これら高年不妊の治療は比較的困難で, その詳細な原因について明らかではない。そこで今回, これら高年不妊の臨床像を分析し, その病態を検討した。尚, 高年不妊の定義は現在一定ではないが, 34歳以

上では妊娠率と挙児率が低下するという池田らの報告にしたがい, 34歳以上を一応, 高年不妊とし, またそれ以下をコントロール不妊とした。検索対象は, 昭和50年1月より同56年6月まで, 当科不妊外来を受診した不妊患者403名である。その中で, 高年不妊は51名, 12.7%であつた。原発性, 続発性不妊の別を比べると, コントロール不妊では, 原発性が72.2%, 続発性が27.3%, 高年不妊では各々, 52.9%, 47.1%と当然の事ながら続発性不妊が増加する結果であつた。不妊期間も, 高年不妊では, 11年以上と長い例も少くなかつた。さらに不妊因子を比較した場合, コントロール不妊は, 排卵障害が24.7%, ついで機能性不妊18.5%, 精子因子10.8%の順で高率であつた。一方, 高年不妊では, 機能性不妊が19.6%と高率であり, 卵管因子も17.6%と増加し, 逆に, 排卵障害が17.6%と減少する傾向であつた。さらにその妊娠率を不妊因子別に検討してみると, コントロール不妊では, 排卵障害性不妊が55%, 黄体機能不全が50%と高率であつた。一方, 高年不妊では, 黄体機能不全や子宮因子の妊娠率が, 各々, 75%, 67%と高い一方, 不妊因子の頻度が高い排卵障害不妊が22.2%, 機能性不妊が20.0%と低率に留まつた。以上の妊娠率をまとめてみると, コントロール不妊の妊娠成功率が34.1%に対し, 高年不妊では23.5%と低い結果であつた。その原因としては, 不妊原因の高い割合を占める排卵障害が卵巣性で難治性であつた事, 及び, 今後もその治療法の究明が必要な機能性不妊の妊娠率が低かつた事によると思われた。妊娠の予後に関しては, 高年不妊では, 流産率が42.6%とコントロール不妊の値11.8%に比し有意に高かつた。この事は, 高年不妊の妊娠では, 妊卵そのものの異常がうかがわれた。以上, 従来あまり検討されなかつた高年不妊に焦点をあて, その病態を検討した。今後, 女性の社会への進出や, 結婚年齢の高齢化等により, ますます高年不妊が増加するものと思われるが, 高年初産と対応するような定義や治療法の確率が必要になるのではないかと考え, 報告した。

5. 原発性甲状腺機能低下に伴う乳汁分泌無月経症候群の2例

広橋 武・石黒隆雄・星野明生
佐藤芳昭 (新潟大・産婦)

無排卵症の原因の中に高プロラクチン血症がその原因となつてることが少なくない。これらは、いわゆる乳汁分泌無月経症候群 (galactorrhea amenorrhea syndrome <GAS>) という病態で総括されている。最近、我々は、乳汁分泌と無月経、不妊を主訴として来院した患者の中で、初診時のトルコ鞍撮影で Sella の拡大と高プロラクチン血症を認め、下垂体腺腫を疑った患者が、実際は原発性甲状腺機能低下症 (biopsy では橋本氏病) であった2例を経験し、かつ甲状腺剤による治療によつてプロラクチン値は正常化し、一例は自然排卵とともに妊娠が成立した興味ある症例を経験したので報告した。

6. フルオロウラシルの家兎卵子の受精に対する影響

佐藤嘉兵・木村まどか
(日大・農獣医)

抗腫瘍剤として用いられているフルオロウラシルの家兎卵子の受精に及ぼす影響について体外受精法を用いて検討した。日本白色種を用い、PMS 100iu 静注後72時間目に HCG 100iu を静注して過排卵を行った。HCG 投与14時間後に卵管から卵子を回収した。20 (v/v) % の仔牛血清を含む TC-199 液で3時間培養した精巢上体尾部精子を用いて、BWW 液中で体外受精を行った。受精後、一定時間後に卵子の観察を行った。その結果、control (FU 無添加群) では20個中全部に受精が成立した。FU 5 μ g/ml 14個中7個には受精が見られたが残りの7個は未受精であった。また FU 25 μ g, 50 μ g, 100 μ g/ml を添加した培養液中で受精を行った卵子では受精の確認はできなかつた。FU を添加した培養液中で前培養した精巢上体尾部精子を使用した受精実験を行い、FU の受精阻害効果につき併せて検討を加えた。

7. 男子不妊症患者に対する TKT-100 (Kallidinogenase 製剤) の使用経験

牧 昭夫・松橋 求・高波真佐治
村上憲彦・三浦一陽・中山 孝一
白井将文・安藤 弘
(東邦大医・泌尿器)

我々は、精液所見に異常 (無精子症は除く) のある男子不妊症患者20名に、TKT-100 (Kallidinogenase 製剤)

を1日、6T、3カ月間にわたつて単独投与しその結果を観察した。

効果の判定基準は、我々が日常使用している、精液の総合判定法、すなわち、Eliasson Score の変法である東邦大法に準じた。その結果、薬剤投与前と投与後に、著明な Score の改善はみられなかつたが、投与後3名に妊娠の成立をみた。この3名のうち2名には、Score の改善がみられたが、他の1名は、改善がみられなかつた。

今回は、全投与症例の Sperm Density, Sperm Motility, Sperm Motile Efficiency Index, Sperm Morphology の各項目について、投与前後の変化を検討したので、それらの結果について報告する。

7.への追加 男子不妊症に対する Kallikrein 製剤 (TKT-100) の精液所見におよぼす効果について

甲斐祥生 (昭和大藤が丘病院・泌尿器)

Kallikrein 製剤 (TKT-100) を男性不妊の患者に投与して精液所見におよぼす効果について検討した。

対象は、Azoospermia 5例、Oligozoospermia 28例、精子数は正常であるが、運動率や奇形率、死滅精子数で異常を示した Normozoospermia 16例の49症例で、年齢の平均は32歳、不妊期間は平均3.9年である。投与量は1日 600KU で、1~2カ月後と3~4カ月後に測定した。

精液量に関しては特に有意の変化はみられなかつた。精子濃度は Oligo. が24.9から42.8 $\times 10^6$ /ml, Normo. が84.0から108.6 $\times 10^6$ /ml と増加した。運動率は、Oligo. が45から49.9%に、Normo. で54.3から63.7%と上昇した。奇形率と死滅精子率は、著明な改善はみられなかつた。

妊娠成功例は6例で、2例は Olig. であったが、4例は Normo. である。しかしこの4例も本薬剤投与の効果によるものと考える。

8. 男子不妊症における精索静脈瘤の選択的精巣静脈造影について

石川博道

(国立霞浦病院・泌尿器)

篠田正幸・相川 厚・中菌昌明
田崎 寛 (慶大医・泌尿器)

乏精子症患者のうち左精索静脈瘤のある17例に対し、選択的精巣静脈造影を行った。その所見を分析し、手術成績との関連についても検討を加え次のような知見を得た。

1. 精巣静脈造影所見の全体像から症例は2群に分類できた。第1群は蔓状静脈叢までが造影されるもので17例中10例(58.8%)あり、第2群は蔓状静脈叢を經由して精巣静脈以外の静脈が描出されるもので7例(41.2%)であつた。2. 精巣静脈の最大径は大腿骨骨頭上縁では平均5.2mm、恥骨結合下縁では平均3.3mmであり、前部の方が太かつたが、その本数には有意差がなかつた。3. 蔓状静脈叢の静脈の最大径は平均3.8mm、長さ平均6.1cmであつた。4. 手術成績と造影所見の関係をみると、第1群の10例中7例が有効であり、これは有効例の77.8%を占めたのに対し、第2群では7例中2例が有効であるにすぎなかつた。またその他の造影所見と手術成績との間には、関連性はなかつた。

9. 男子不妊症における精索静脈瘤の選択的精巣静脈造影について

中菌昌明(国立霞浦病院・泌尿器)

10. 無精子症で精子の出現した3例

吉田英機・河合誠郎・田代博紹
内藤善文・今村一男

(昭和大・泌尿器)

無精子症で、両側睾丸生検後非内分泌療法および内分泌療法により精子の出現した3例を経験したので報告する。

症例1は32歳、睾丸組織像は Johnsen の score 2 ないし3の spermatogenic arrest で、CoQ₁₀ 1日60mg の内服療法により76日目に精子の出現が見られ、その後非内分泌療法のみで精子濃度10~13×10⁶/ml、運動率70%となつたが、まだ妊娠には成功していない。症例2は26歳、睾丸組織像は score 5 の spermatogenic arrest で、クロミッド1日25mg の内服療法により79日目に精子の出現を見、その後非内分泌療法を継続したが精子数の著明な改善は認められなかつた。症例3は24歳の学生で、両側停留睾丸であり、睾丸固定術時の睾丸生検像は、seltory cell only であつた。各種の非内分泌療法やHCG単独療法を約1年間施行したが精子の出現はみられなかつた。その後HCG 1000IU と HMG 75IU の混合内分泌療法により82日目に精子の出現を見、現在精子濃度2~4×10⁴/ml、運動率48%の精液所見である。

11. 停留睾丸の造精能障害の原因に関する一考察

和久正良・石田克美・真弓昌子
(帝京大医・泌尿器)

停留睾丸は鼠径部筋肉内に囲まれ留つていると造精細胞の分裂が抑制され、とくにこの状態は思春期に入ると非常に顕著となり、精細管は Sertoli tubule となり、さらに進んで Hyalinization を起こす。造精細胞の温度依存性は以前より知られているが、造精過程のうちとくに精子細胞より過度依存性が強くなる。ラット睾丸中精子細胞のみを集めてその蛋白代謝をみると34°Cを頂点としてそれより上ると代謝障害が顕著となる。またその蛋白代謝には Glucose を極度に要求する。しかも実験から Glucose そのものではなくそれより作られる ATP をエネルギー源として代謝が進む。この場合 anaerobic であつても aerobic の十分の一以下の割合において ATP が作られ、エネルギー源となる事が判明した。この事は造精能代謝の特色を示し、これらの特色から造精能障害につき考えるべきである。

昭和56年度日本不妊学会東北支部総会

期日：昭和56年9月12日

場所：長陵会館

1. 過去2年間における当病院の妊娠例の検討

太田節子・山本博尚・池野暢子
渡辺正昭・遠藤 紘・島 功
森塚威次郎・高橋克幸

(国立仙台病院・産婦)

当科における過去2年間の不妊症患者の妊娠例を検討した。過去2年間の外来患者総数7893名のうち、不妊症治療例は268名、3.4%で妊娠成功例は76名、28.36%であつた。不妊の原因としては、卵管性不妊が105例と最も多く、次いで下垂体・卵巣性不妊が81例の順であつた。HSG は不妊患者の約76%に施行しているが、HSGのみ施行した54例中24例に妊娠の成立をみている。通水療法では19例で妊娠、以下HCG-HMG療法、クロミッド療法、AIHなどの施行により妊娠が成立している。また、最近取り入れた漢方薬投与法により2例、卵巣楔状切除術施行後に3例、妊娠の成立をみている。不妊期間を調べてみると、平均31.6月、また治療開始より妊娠成立までの期間は平均6.5月という成績を得た。妊娠成立した76名中当科で分娩を終了したのは41例で、2例が流産しており、24例は妊娠成立後他医にて経過観察を受けている。

2. 当院における不妊症妊娠例の検討（腹腔鏡診断との関連において）

古賀詔子・永井 宏（永井病院）

不妊症治療方針決定のため、特に外科的療法適応の確定診のためには腹腔鏡をはじめとする内視鏡のルーチン化は論をまたない。

当院では、3年前よりオリンパス NCS-3427D 型腹腔鏡を用いているが、日常臨床に用いて種々の利点があり、不妊症診断上十分に目的を達している。本器具を用いて腹腔鏡診に基づく治療方針をたて、妊娠した例について臨床的検討を加えたので報告する。

また、不妊症妊娠例は“いわゆる Variable Kind”であることが多いが、本群に対する周産期管理についても私見を述べる。

3. 当科不妊外来における妊娠例の予後について

福島峰子・鈴木美千子・太田博孝

（秋田大医・産婦）

昭和50年から54年に至る5年間の無精子症52例を除く不妊治療対象数678例中236例（34.8%）の妊娠成功例があり、その中209例について転帰を確認出来た。

自然分娩が76%あり、帝王切開頻度は8.6%でやや高率であった。流産例は30例（14.3%）でその半数は稽留流産また子宮内胎児死亡であった。流産例の妊娠前の治療は無処置周期の自然排卵が12例あり、治療方法よりも不妊をもたらしている病態に問題があつたと考えられた。双胎4例、要胎1例の多胎妊娠は HMG-HCG による排卵誘発3例、Clomid 単独また Clomid-HCG 投与各1例の排卵誘発例であつた。双胎は全部2卵性双胎、要胎は3卵性4胎でこれらの多胎妊娠機序は過排卵によると考えられた。多胎5例中3例が前期破水、早産となり未熟児またそれに近い出生時体重児を娩出した。多胎妊娠例は32週を過ぎると入院しての妊娠管理が望ましい。

4. 妊娠に成功した難治性精嚢腺炎の一例一両側精管からの抗生物質液の注入

高橋 薫・木村正一・光川史郎

松田尚太郎・折笠精一

（東北大医・泌尿器）

31歳男子、主訴は不妊、発熱及び会陰部不快感。直腸指診で前立腺に圧痛を認め、右精嚢腺を固く触れた。前立腺マッサージ後の分泌液中には8~10個の白血球を認

めたが、尿の一般細菌培養では陰性であつた。以上から慢性前立腺精嚢腺炎と診断し、TC 系の抗生物質を投与した。前立腺分泌液中の白血球は1~2個と正常化した。依然として発熱を繰り返す精液中には15~20個の白血球を認め精子運動率も低下していた。本症例の精嚢腺炎は非常に難治性であり、マイコプラズマ等による炎症も考え、新しい試みとして TC 系薬剤を直接精管より注入した。その結果発熱等の症状は改善し、精液中の白血球も消失、精子運動率も正常化し、妻の妊娠を確認できた。

5. 男子不妊症に対する methylcobalamin の治療効果

木村正一・光川史郎・松田尚太郎

石川博夫・折笠精一

（東北大医・泌尿器）

血中 LH, FSH, testosterone 値正常の乏精子症に methylcobalamin を投与し、3ヵ月投与前後の精子数 (total sperm count), 精子運動率および精漿内果糖、亜鉛、前立腺性酸性フォスファターゼ (PAP), Vitamin B₁₂ (V. B₁₂) 濃度を検討した。73例中58例 (79.5%) で精子数の増加を認め、投与前の精子数 100×10^6 未満の59例中21例 (36.0%) が 100×10^6 以上に増加した。 100×10^6 以上に増加しなかつた症例の果糖前値は正常例よりも高値であつた。亜鉛と PAP は投与前後で正常例と比較し有意差を認めなかつた。V. B₁₂ の前値に有意差を認めないが、投与後は有意に上昇した。精子運動率は73例中60例 (82.2%) で改善し、中でも50.8%の症例が運動率55%以上に改善した。妊娠成立例は73例中17例 (23.0%) の症例で確認できた。

6. 成熟雌の自然排卵卵子を用いたラットの体外受精について

堀内俊孝・浜野光市・菅原七郎

正木淳二 （東北大・農）

1. 目的：成熟雌からの自然排卵卵子を用いたラット卵子の体外受精率は非常に低いと報告されている (Niwa & Chang, 1974)。本研究は卵子の排卵時間と気相条件を検討し、自然排卵卵子を用いた体外受精を試みた。

2. 方法：Wistar 系成熟雄ラットの精巣上体尾部から精子を採取し、Toyoda & Chang (1974) の修正クレブス液を用いて、液量0.4ml、精子濃度 $0.5 \sim 1.6 \times 10^6/\text{ml}$ で約5時間、前培養し、これに成熟雌からの自然排卵卵子を加えた。8~10時間の培養後、卵子を固定シラクモ

イド染色を行ない、受精状態を判定した。3. 結果：空気下 7% CO₂ の気相条件下で排卵後 1/2 ~ 1 時間, 2 1/2 ~ 3 時間, 4 ~ 4 1/2 時間で回収した卵子を用いると各 71%, 74%, 83% の精子侵入率であった。空気下 5% CO₂, 3% CO₂ の気相条件下で排卵後 4 ~ 4 1/2 時間で回収した卵子を用いると各 67%, 74% の精子侵入率であった。本研究の成績は成熟雌ラットからの自然排卵卵子でも高率に体外で受精できることを示した。

7. In Vitro 受精システムを用いて検討した、ヒト受精における精子の Preincubation の影響

星 和彦・桃野耕太郎・長池文康
鈴木雅洲 (東北大医・産婦)

ヒト精子—透明帯除去ハムスター卵、およびヒト精子—ヒト卵透明帯の in vitro 受精システムを用いて、ヒト精子を培養液中で preincubation したときの受精に与える影響について検討した。

preincubation しないときの透明帯除去ハムスター卵への受精率は、incubation 4 時間後に 93% を示したが、30 分後には受精は認められなかった。4 時間 preincubation したときは、15 分後にすでに受精がおこり、1 時間後では 94% であった。preincubation の時間が長いほど、透明帯除去ハムスター卵への受精は容易になるようである。しかし、ヒト卵透明帯への侵入は、透明帯除去ハムスター卵の場合とは逆で、preincubation の長いほど入りにくいという結果が得られた。

preincubation により精子の先体反応が惹起され、透明帯除去ハムスター卵には受精しやすくなるものの、先体物質放出のため透明帯通過が困難になったものと考えられた。

8. 雄豚射出精液中の膠様物表面に付着する球状物質の分泌部位

佐藤正光・正木淳二 (東北大・農)
橋爪 力 (岩手大・農)
丹羽太左衛門 (東農大)

雄豚の射出精液量は平均 250ml と、人や他の家畜に比べて多く、そのうち膠様物が約 30% 含まれている。その主成分は尿道球腺からのり状の物質として分泌され、精のう腺液と混じることによって寒天状の膠様物が生成される。しかし、その生成機序に関しては十分に明らかとなっていない。

演者らは膠様物生成の機序を調べる目的で、射出直後の膠様物を走査型電子顕微鏡で観察したところ、その表

面に多数の球状物質が付着していることを認めた。本実験はそれら球状物質の分泌部位を組織学的に検索した。

材料および方法

雄豚生殖器は宮城県古川屠場で入手した雄豚 2 頭を使用した。屠殺後、直ちに尿道球腺、前立腺、精のう腺、精巢、精巢上部、包皮腺を採取し、ホルマリン緩衝液で固定後、クリオスタットを用いて 8 μm 切片とし、種々の染色を行い光学顕微鏡で観察した。

結果および考察

球状物質は尿道球腺腺胞終末部においてのみ認められた。また、その導管部、分泌物中に認められた。それらは直径約 20 μm であり、膠様物表面のものと同じの大きさであった。球状物質はアゾカルミン G、ズダンブラック、ズダン III・IV、PAS 反応、エオジンに染まり、膠様物表面のものと同じの染色性を示した。また、上皮細胞から分泌された顆粒が集塊を形成して球状物質をなす様相が観察された。球状物質は染色性から、糖・脂質を含むことが示唆された。本観察から膠様物表面に付着している球状物質は尿道球腺から分泌されていることが明らかとなった。これら球状物質が膠様物生成にどの程度関与しているかについては今後の研究課題である。

9. Layering method による good sperm の分離

長池文康・星 和彦・桃野耕太郎
星合 昊・森良一郎・鈴木 雅洲
(東北大医・産婦)

精液中より運動性良好かつ形態学的にも正常な精子 (good sperm) を分離回収することは、in vitro での受精研究に必要である。精液静置法は、この目的のために磯島らにより考案された方法である。

今回我々は、この静置法により回収された精子を分析し、その有用性について検討したので報告する。

用手法にて得られた精液を 0.5ml づつ、2 ml の medium の入った試験管底に分注し、37°C にて一定時間 incubation した後、medium 中に swim up してきた精子を回収した。

回収された精子は、精液中では運動率 57 ~ 86%、形態学的正常性 68 ~ 93% であったのに対し、それぞれ 90% 以上、90% 前後と良好であった。また good sperm の回収率が良好なことが認められた。

good sperm が受精能の最低条件を満たす精子と考えられるので、本法は受精研究のうえで極めて有益な方法と思われる。

10. 不妊症婦人における premarin 投与の頸管因子に及ぼす影響

森崎伸之・小田隆晴・川越慎之助
 広井正彦 (山形大医・産婦)

排卵誘発剤として多用されている Clomid は排卵誘発率は高いが抗 estrogen 作用の為に頸管粘液が悪条件となり、妊娠率が低いとされている。これに対して estrogen 剤の併用により頸管粘液の改善をはかるのが Clomid-estrogen 併用で、今回 estrogen 剤として premarin 錠を併用して頸管粘液の変化をみた。対象は、第1群 clomid により排卵のあるもの、第2群 clomid に対して散発的に排卵のあるもの、第3群 clomid により排卵のないものとした。第1群では約半数に頸管粘液の増量をみたが、著明な改善は25%程度であり、第2、3群でも改善はあつたが、改善はわずかであつた。又 premarin 錠併用により少なからず排卵抑制があることを示した。

今症例中1例の妊娠成功例があり、これを紹介する。今回の clomid+premarin 併用療法の調査では充分な結果が得られなかつたが、今後、投与する estrogen 剤の種類や、投与量、投与方法などの考察が必要であることを述べる。

11. 2つの in vitro 精子・頸管粘液適合試験の検討

桃野耕太郎・星 和彦・長池文康
 星合 昊・上原茂樹・平野 睦男
 鈴木雅洲 (東北大医・産婦)

目的：新しく考案した精子・頸管粘液適合試験が不妊因子をさぐる上での有用性を検討した。方法：精液と Medium の間に頸管粘液 (CM) を満たした2.5cm の毛細管を置き、精液中から5CM を貫通し Medium 中に移行してきた精子を経時的に観察、不妊 Couple と対照とで比較検討した。結果：(1) Medium 中に移行し現われた精子は運動性や形態学上ほぼ正常だつた。(2) 貫通移行精子数は不妊 Couple が対照に比較し明らかに少なかつた。(3) 不妊 Couple の中には Kremer test で良好と判定されても、本 test では不良と診断されたものもあつた。考察：生殖過程における CM の精子に対する役割を考えると、CM を貫通し、子宮腔内に移行したと想定した精子数を数えた本 test は Kremer test の結果より臨床データとよく一致し、精子・頸管粘液適合因子をスクリーニングするのに有効な方法と考えた。

12. 頸管粘液 pH と妊孕性について

小田隆晴・森崎伸之・金杉 浩
 広井正彦 (山形大医・産婦)

頸管粘液の性状は妊孕性に関して重要な役割を果しており、科学的な試みが進められている。

今回私達は頸管粘液の pH が精子運動にいかなる影響をもたらすか in vitro で検討したので報告する。

① 頸管粘液の pH は6.0~8.2の間にあり、排卵前5日目は6.94で排卵に近づくにつれ上昇し排卵日に7.54と peak となり以後下降した。

② 精子と種々の pH の modified Baker's Solution でのインキュベーションでは、時間の経過と共にまた精子の pH 環境が酸性になる程、運動能は低下し、6時間、12時間のインキュベーションでは pH 6.0、6.5では pH 7.6、7.8に比し有意差をもつて精子運動の quality は低下した。

③ 種々の pH の頸管粘液内の精子の penetration 後の運動能は、3時間、6時間、12時間後の観察では pH 6.5では pH 7.6、8.0に比し有意差をもつて死滅精子が多く、また精子運動の quality も不良であつた。

13. 黄体機能とプロスタグランدين

伊藤邦郎・鈴木 博・郭 銘宏
 塚谷栄紀・芳賀健一・小山田敬司
 小見克夫・国本恵吉・西谷 巖
 (岩手大医・産婦)

14. 無月経婦人における各種排卵誘発法の検討

川越慎之助・金杉 浩・小川哲司
 小島純子・広井正彦
 (山形大医・産婦)

無月経婦人に対する排卵誘発法として、clomid や HMG 療法、さらに最近では bromocriptine (CB-154) などが用いられてきている。これらの薬剤の有効性につき、progesterone 試験との比較において検討し、薬剤の選択法について考察した。対象患者は、progesterone 30mg 投与後の消退出血の有無で第1度、第2度無月経とし、さらに galactorrhoea の有無によつて分類した。第1度無月経では、clomid によつて、59/76 (78%) に、galactorrhoea のある例でも3/4 (75%) に排卵し、第2度無月経群では8/23 (24%)、galactorrhoea 例では0/7であつた。HMG-HCG 療法では第1度無月経例でそれぞれ21/25、2/2で排卵があり、第2度では9/18、

2/7であった。また、galactorrhea 症例で clomid, HMG 無効例などを含めて11例に CB-154 を投与し、8例で排卵し、5例妊娠した。以上より、第1度無月経例では galactorrhea の有無にかかわらず clomid を第1選択とし、第2度では、galactorrhea (-) 例で HMG (+) 例で CB-154 を選択するのがよいと思われる。

第19回日本不妊学会中国・四国支部総会

期日：昭和56年9月19日

場所：米子国際ホテル

1. 不妊を主訴として発見された精囊腺異常拡張症の2例

國富公人・猪妻忠治・福田和夫
宮川征男・竹中生昌・後藤 甫
(鳥大医・泌尿器)

不妊患者に精路撮影を施行し、読影できた61例中、精囊腺および精管末端部の異常を拡張を示したものは9例であった。そのうち、睾丸生検でもほぼ正常造精能を示した2例を報告した。

(1) 35歳、5年前に結婚したが不妊である。

精液検査では、精子数 $1.5 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動性はなかった。精路撮影で両側精囊腺は、小鶏卵大に腫大していた。

(2) 29歳、3年前に結婚したが不妊である。

精液検査では、無精子でした。精路撮影で両側精管膨大部は拇指頭大に拡張し、精囊腺は、右側は拡張していたが、左側は不明だった。精路撮影後の CT で両側精囊腺は腫大していた。IVP にて、囊胞腎を合併していた。

2. 真性半陰陽の1例

武田克治・光畑直喜・森岡政明
大森弘之 (岡大医・泌尿器)

18歳、戸籍上男性。主訴、左陰囊内容の腫大。会陰部尿道下裂を認め、右性腺は鼠径部、左性腺は陰囊内に認める。組織学的に両側性腺とも Ovotestis。女性内性器は認めず、右側に副睾丸を認めるが、両側とも卵管、精管は認めない。性染色質は陽性、末梢血染色体構成は 46, XX。治療は尿道形成術、右性腺摘除、左性腺卵巣成分摘除術施行し、術後、アンドロゲン補充療法を施行している。

3. 広島大学医学部泌尿器科における最近6年間の臨床統計

長藤達生・中本貴久・瀬尾一史
安川明広・石野外志勝

(広大医・泌尿器)

1975年より1980年までに当科外来へ不妊を主訴として来院した男性患者を対象として、患者数の年度別変遷、受診時年齢、結婚より受診までの期間、精液量、精子数、睾丸容量、睾丸生検像、精囊腺造影について検討してみた結果、男子不妊症は外来総患者数の6.2%を占め、その平均年齢は20歳台後半～30歳台前半であり、受診時までの結婚期間は5年以内が大半を占めていた。精液量、精子数ともに正常精子濃度群、軽度乏精子症群、高度乏精子症群、無精子症群の間に有意な差をみなかった。無精子症、乏精子症の睾丸組織では Hypospermatogenesis, Sertoli cell only が大半を占めていた。精囊腺造影ではその約70%に精囊腺の発育障害がみとめられた。

4. 精管—精管吻合術における新しい試み

酒徳治三郎・瀧原博史・山本憲男
安井 平造・清水芳幸・永田一夫
越戸克和 (山口大医・泌尿器)

精管の欠如部分の距離が長く、両端をそのまま近接されるのが困難な症例に対し、我々は新しい手術方法を試みた。欠如部をおぎなうため、副睾丸尾部および体部を睾丸から剝離して直線化し、さらに屈曲蛇行している精管起始部を丹念に剝離して延長することにより目的を達した。吻合は microsurgery を利用した。

幼児期に両側鼠径部の手術を受けて精管が切断されたと考えられる34歳と33歳の2例の無精子症に対して、上記手術をこころみた。両者とも欠如距離が約10cm あつたが、容易に吻合することが出来た。その術式、経過と問題点について言及する。

5. 男子不妊症患者睾丸組織と血清 FSH, LH, Testosterone 値を中心とした内分泌的検討

安川明広・石野外志勝・中本貴久
長藤達生・瀬尾一史

(広大医・泌尿器)

平均年齢 30歳の精子数 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の高度乏精子症および無精子症を対象とし、精子数濃度と睾丸生検より得られた組織所見について血清 LH, FSH, Testos-

terone 基礎値の比較検討を行った。高度乏精子症、無精子症では正常成人男子に比べ、LH、FSH 基礎値は高値を示した。Johnsen のスコアカウントにより精細管内の造精子状態を分類すると、spermatocyte から spermatid の分化を生じる時点で血中ゴナドトロピン基礎値が正常化する傾向が認められた。

6. 男子不妊症における LH-RHtest について

植田秀雄・木内弘道・大田修平
田中啓幹 (川崎医大・泌尿器)

52年8月より56年2月までの3年7カ月間に経験した特発性男子不妊症144例のうち、Clomid 療法を施行した例で、LH、FSH の上昇を認めなかったもののうち5症例に対し、LH-RHtest を行なった結果と、Testosterone Rebound 療法症例5例と Klinefelter 症候群例3例の LH-RHtest の結果を対比し検討した。Clomid 療法例5例の結果では、LH では全例注射後30分で Peak を示し、基礎値に対し平均27.6倍の上昇を認めた。FSH では30分値では3例が Peak を示し、30分値の平均では3.9倍の上昇にすぎなかった。この LH の過剰反応については、視床下部不全も完全には否定できないが、Clomid 投与により LH、FSH の放出がおこらないまでも、下垂体予備能の増加を来し、LH-RH によつて過剰反応がおこつたものと推察された。

7. 抗精巣抗体によるラット受精胚の発育性と性別の可能性について

内海恭三・湯原正高
(岡大農・家畜繁殖)

演者らはラットの桑実胚の *in vitro* 培養系において、ラットの雄脾抗血清が加えられた時、胞胚腔を形成して胚盤胞へ発育する胚と、桑実胚のまま胞胚腔を形成しない胚の2種類に分別されることから、着床前胚の雌雄分別の可能性を示唆した。本研究ではラット新生児精巣抗血清による桑実胚による分別の可能性を検索した。雄精巣ホモジネートの DA 系雌ラット腹腔内注射 (×6 プラス×1) によつて抗血清を得た。モルモット血清を雄ラット脾で吸収したものを補体とした。抗血清のみで培養したものでも胚盤胞へ発育するものと、桑実胚のままのものと分別されたが、処理時間が長くなると、標準培養液に房しても発育を再開しなくなった。最低、一時間だけでも抗血清にさらした後、補体中では胚は分別され、しかも24時間後でも発育停止卵は標準培養中で胚盤へと発育を再開した。分別率は1:1 (241:244) であつたが、宿主での新生児へ発育したものの内、胚盤胞の

70% (24/35) は雌に、桑実胚の65% (13/20) は、雄に発育した。

8. Testicular Feminization の症例について

岩成 治・山本和彦・松永 功
北尾 学 (島根医大・産婦)

Testicular Feminization の1症例を経験したので報告する。主訴:17歳原発性無月経、外型:ほぼ完全女性型 (乳房発育良好、女性型骨格)、外性器:先端、7cm の腔形成有り、内性器:子宮形成、卵巢形成なく、腹腔内両側に未熟睾丸形成あり、染色体:46XY、睪丸組織:精祖細胞、精子はなく、Sertoli 細胞のみ存在し、間質に Leydig's 細胞の増生あり。Retentio Testis の場合、悪性化が高いため、testectomy を施行。その前後のホルモンを測定した。Estron, Estradiol はそれぞれ76.0pg/ml, 21.0pg/ml が、20.0pg/ml, 10.0pg/ml に減少し、Testosterone は395ng/dl から40ng/dl に低下した。LH、FSH は Ope 後上昇し、1年半後も167mIU/ml, 200 mIU/ml と高値が続き、更年期障害様症状が出現している。Testosterone 軟膏塗布によつて pubic hair の増生が認められたことより、本症例は5 α -11ダクターゼ欠損型の Testicular Feminization と推定された。

9. Gonadotropin 療法時の血中エストロゲン、アンドロゲンと 17-OH-プロゲステロンの変化とその生理的意義

乾 泰延・吉崎健一・三村経夫
竹内 悟・山野修司・大野義雄
松家五朗・高橋久寿・森 宗英
(徳大医・産婦)

排卵障害婦人の Gonadotropin 療法時の血中 estradiol (Ed), Δ^4 -androstenedione (A), testosterone (T) と 17-OH-progesterone (17-OHP) を RIA にて測定しその動態と意義について retrospective に検討し以下の結論を得た。

1) Ed の変化は hMG に反応して血中 Ed は286~4944pg/ml まで増加し排卵例16周期中15周期において排卵前 Ed ピークが300pg/ml を超え、又1100pg/ml を超えた6周期中5周期と高率に OHS が発症した。

2) A の変化は排卵周期においては hMG に反応して正常卵胞期の2~3倍に増加し、このパターンをみると Ed ピークに先行する例が15周期中10周期にみられ、これは卵胞成熟徴候を示唆している。

3) T の変化は hMG にはあまり反応せず hCG に

切換え後急増し、正常排卵期にはみられない変化であり、重症排卵障害卵巣ではその間質成分や莖膜の増殖、また病的閉鎖卵胞の存在が示唆された。

10. マウス雄尿性フェロモンについて

西村和彦 (大阪府農技センター)
藤谷泰裕・内海恭三・湯原正高
(岡大農・家畜繁殖)

成熟雄マウス尿中には幼若雌マウスの春機発動を促進するフェロモンが存在することが知られている。しかしこれまでこのフェロモンの分離同定は成功していない。演者らもこれを目的に実験を進めこれまでに低分子アミンにフェロモン活性があることを示した。本実験で演者らは雄尿中に特異的なアミンをガスクロマト質量分析器によつて同定した。そして同定された二つの物質の生物検定を行なつた。ガスクロマトグラフィーによつて得られた二つの雄尿中特異的ピークのマススペクトルはそれぞれイソブチルアミンとイソアミルアミンの標品のスペクトルと一致した。同定されたイソブチルアミンとイソアミルアミンのフェロモン活性が雌マウスの腔開口と初回発情日齢を指標として検定された。雌マウスの初回発情日齢はイソブチルアミン29.2、イソアミルアミン29.4、混合28.7で、蒸留水区35.6に比べてそれぞれ春機発動が促進された。

11. Microsurgery を利用した動物での卵管、卵巣子宮移植実験 (第1報)

岩浅義彦・松原正和・竹内 薫
見尾保幸・沢原光信・前田一雄
(鳥大医・産婦)

不妊症の原因の中で卵管閉塞による不妊は重要な位置を占め、この問題の解決が急務となつている。最近、産婦人科領域に於いても microsurgery が導入され、卵管形成術が行われ好成績を収めている。しかし広範囲かつ高度の卵管閉塞例に対する解決方法は、Steptoe および Lopata らの成功例にみられる体外受精法か、卵管移植術しか解決法が存在しない。今回我々は人間での卵管移植術応用の基礎実験として、microsurgery を利用した微小血管吻合を利用した動物での卵巣、卵管、子宮移植実験を施行した。方法) 今回の実験に使用した動物は、ハムスター、家兎、犬で、同種移植実験を、American optical 社製 microscope および Martin 社製および Codman 社製、マイクロ持針器、Jeweller's forceps、マイクロ剪刃、血管縫合用クランプを使用して行つた。

成績) ハムスター、家兎では移植実験が麻酔管理上の問題点があり術後死亡し、犬では移植実験が成功した。

12. 黄体機能検査法と機能性不妊症に対する Clomiphene Citrate および Cyclofenil の効果

三村経夫・吉崎健一・竹内 悟
山野修司・大野義雄・松家五朗
高橋久寿・森 崇英
(徳大医・産婦)

機能性不妊症に Cyclofenil と Clomiphene を投与し、その有効性を著者らが考案した血清プロゲステロン (P)、エストラジオール (Ed) 測定による黄体機能検査法により検討した。黄体機能検査法として、高温相の4~7日目に、hCG 負荷周期は、5~8日目に連日採血した。黄体機能不全はhCG 負荷にPはまったく反応せず、正常周期群はPの著しい増加 ($P < 0.01$) をみた。さらに Cyclofenil と Clomiphene (hCG) にて人工排卵周期をつくり、黄体機能を検討してみたところ、P、Ed 値の増加がみられ、とくに Clomiphene (hCG) 投与周期のP値は対照周期の $8.7 \pm 2.6 \text{ ng/ml}$ から $22.8 \pm 11.3 \text{ ng/ml}$ と著しい上昇をみた。機能性不妊症と診断した105例中10例に Cyclofenil を投与し、1例が妊娠をした。また61例 (58%) に Clomiphene を投与し、18例が妊娠をした。3例は休薬次周期の妊娠であり、これを Clomiphene の "Carry over effect" とした。以上より機能性不妊症の治療として、排卵誘発剤による人工排卵周期をつくり、卵胞発育を刺激することが有効と考える。

13. Greenblatt Syndrome (Ovarian hypogenesis) 疑いの1症例

沢原光信・中村百合・岩浅義彦
富永好之・前田一雄
(鳥大医附属病院・産婦)

性染色体構成が XX でありながら卵巣の発達が非常に不良で、痕跡的卵巣を呈するものを Ovarian hypogenesis または ovarian hypoplasia と呼んでいます。その内で Greenblatt Syndrome と思われる症例を経験した。症例: 29歳の女性で26歳に結婚し、主訴は原発性無月経、原発性不妊症であり、身長171cm、体重69kg で体格良好で外陰部発育並びに乳房発育も良好、染色体も46XX と正常であつた。家族歴、既往歴異常なく、子宮は超鳩卵大で小さく、付属器、泌尿器系に異常みられず、S55年6月から clomid+HMG+HCG 治療を繰り返

返し行つたが、排卵も月経もなかつた。血中ホルモン測定で、LH は40~110mIU/ml, FSH は50~170mIU/ml と高値、一方 E₂ は7~30pg/ml と低値で HMG 投与(3000IU~4650IU)でも増量せず、Testosterone は35~50ng/dl と正常女性レベル、他のホルモン(GH, PRL, TSH, T₃, T₄, etc)も正常であつた。CT, LH-RH test, TRHtest, premarin test 結果からも、ovarian dygenesis 又は ovarian hypogenesis を疑い、正常身長、第二性徴存在から Greenblatt syndrome とした。

14. 血中 E₂ モニタリングによる卵巣過剰刺激の予防

伊東武久・山下三郎・蔵本武志
野見山宏寿(徳山中央病院・産婦)

現在卵胞の成熟徴候を推測するには頸管粘液検査がルチンに行われているが頸管粘液分泌不全例やクロミフェン投与時には頸管粘液量が増加しない例が多い。HMG 投与時に血中 E₂ (Estradiol) でモニターすることは HMG 量の増減及び HCG への切り換え時期決定に非常に有益である。今回我々は血中 E₂ を測定して種々検討した。

1. クロミフェン投与時には正常排卵周期の E₂ 値に比較して高値であるが頸管粘液量は0.1ml 以下が多い。

2. クロミフェン+HMG 投与例ではクロミフェン単独投与に比較して更に高値で卵巣過剰刺激が起り易いが頸管粘液検査ではチェックできない。

3. 無投与で血中 E₂ 値をモニターする場合は約 300 pg/ml 前後で卵胞成熟が起つているものと一応判断できる。

クロミフェンや HMG を使用する場合は約800pg/ml 前後で卵胞成熟が起つているものと一応判断できる。

4. HCG にて排卵誘発する場合1~3日後に BBT が上昇する例が多い。LH-RH 100 μ g では2日後に BBT が上昇する例が多い。プロゲステロン 5mg では翌日 BBT が上昇してそのまま排卵する例が多い。

5. 排卵前の血中 E₂ 値は個人差がひどく何pg/ml とはつきり線がひけない。

6. E₂ の RIA は、標準 E₂ を最初から抽出操作に加えて行えば少量のサンプルでも処理できる。

15. 教室における非配偶者間人工授精(AID)の9年間の成績

河野美代子・砂堀公二・松岡敏夫
田中基史・藤原 篤(広大医・産婦)

昭和47年5月より、56年4月までの9年間の、非配偶者間人工授精(AID)の成績を報告した。

AID 実施例は、のべ508例であり、妊娠例は294例(57.9%)であつた。流産は46例(15.6%)、分娩した児の性比は110であつた。

年齢別妊娠成功率の検討では、若年ほど高率であり、40歳を過ぎると、ほとんど妊娠は成功しなかつた。

妊娠までの実施周期では、12周までで90%を越えた。

single insemination で妊娠したものは190例(64.6%)であり、それらと BBT, 頸管粘液との関係を検討した。排卵日の推定には、頸管粘液量より、結晶度の方が有力な手がかりとなつた。

294例の妊娠成功例のうち、104例が女性不妊因子の治療を受けていた。

昭和55年2月より、凍結精子も一部使用しているが、現在7例が妊娠し、3例が健康な女兒を分娩している。

16. 不妊とプロラチン分泌性下垂体腺腫

魚住 徹・迫田勝明・吉本尚規
大田正博・米沢 学・玄 守鉄
(広大医・脳神経外科)

我々は下垂体腺腫の手術に transsphenoidal surgery を用いている。1980年10月までの PRL 産生下垂体腺腫の手術例は48例である。そのうち25例は microadenoma, 11例は large invasive adenoma, 残りは medium size tumor であつた。25例の microadenoma については手術のみで月経の再来したものの70%、妊娠例は10例である。PRL 産生下垂体腺腫は血中 PRL 濃度と tumor size との間に正の相関が認められ、PRL 濃度の高いもの、従つて腫瘍の大きい例では手術のみで PRL 濃度を正常化することは極めて困難である。従つて神経放射線学的に腫瘍の存在を確認することが必須であつて出来るだけ早期に腫瘍を発見して手術療法(transsphenoidal surgery)を行い、選択的腺腫摘出と下垂体の保全に努めるべきであると考えられる。

17. 当科に於ける高プロラクチン血症（4例）の臨床的検討

沢田康治・金田健一・井庭信幸
北尾 学 （島根医大・産婦）

高プロラクチン血症が、注目されているが我々は、これを4例経験した。この4例は、下垂体腺腫1例、Chiari-Frommel 症候群1例、Argonz-del Castillo 症候群2例である。下垂体腺腫は、Hardy 手術を行い chromophoke adenoma を確認した。術前の血中 PRL 値は、1200ng/ml と高値を示したが、術後下降し、排卵をみた。

Chiari-Frommel 症候群は、Bromocriptine 単独投与により排卵、妊娠が成立した。

Argonz-del Castillo 症候群は、Bromocriptine Clomid の併用療法を行い、1例は排卵した。

Chiari-Frommel 症候群、Argonz del Castillo 症候群は、Bromocriptine 投与により、血中 PRL 値は5週間に以内に正常値となった。

18. Antigen 2 のリンパ球幼若化への効果

猪野博保・鎌田正晴・奈賀 脩
森 崇英 （徳大医・産婦）

目的：妊婦尿、絨毛性疾患患者尿及び市販 hCG 中には、hCG の他に hCG 及び α , β subunit と抗原性を共有し、 β subunit と分子量を等しくする蛋白 (Antigen 2: Ag²) が存在する。母胎胎児間の免疫寛容に hCG が関与しているという多くの報告があり、粗製 hCG に存在する免疫抑制効果が、高度純化 hCG には存在しないという報告もあり、この免疫抑制効果が Ag² に由来するものでないかと推測し、PHA によるリンパ球芽球化テストを用いて検討した。

方法：リンパ球芽球化テストは正常リンパ球の RPMI 浮遊液（細胞数 1×10^6 /ml）を作成し、マイクロプレートの well に 0.2ml を注入し、各濃度の hCG 及び Ag² を加え、さらに PHA 0.5 μ g を加え、48時間培養後、³H-thymidine 0.5 μ ci/well を加え、³H-thymidine の放射活性を測定した。

結果：高度純化 hCG では、0.2mg/ml まで抑制は認められなかったが、³H-thymidine の取り込みは、絨毛由来 Ag² の 0.05mg/ml で 82%、0.1mg/ml で 62%、市販 hCG からの Ag² の 0.2mg/ml で 67% と減少した。

19. 不妊症原因の1つとしてのフーナーテストに対する検討

白河尚子・吉田信隆・鈴木康之
山下浩一・早田幸司・林 伸旨
占部 清・秋本暁久・関場 香
（岡大医・産婦）

岡山大学不妊外来で昭和 55 年 1 年間の不妊症患者 342 例について検討した。妊娠率は 25.4% であった。不妊原因を単独群と複合群にわけて検討すると Hühner test 異常は単独群 31 例、複合群 59 例であり、Hühner test 異常のみ複合群の方が妊娠率が良かった。複合群のうち卵巣因子のみ合併が 45 例もあつたため有効排卵周期に対する妊娠率を検討すると単独群より卵巣因子複合群の方が有意に妊娠率が良かった。又、治療面からみると単独群では排卵誘発剤が有効でなく、複合群は有効排卵周期総数に対し 7.7% の妊娠を認めた。又、Hühner test 異常単独群と乏精子症について AIH の効果を比較すると Hühner test 異常単独群では AIH 施行例に対し妊娠例はなく、乏精子症では 16.0% の妊娠率であった。従つて Hühner test 異常単独群に対する治療は AIH や排卵誘発剤は効果的とは言えず、免疫学的考察など今後一層の検討を加えたい。

特別講演 I. 卵胞破裂の調節機序

森 崇英（徳大医・産婦）

排卵のメカニズムは、古くから生殖生理学の一大課題であつたが、常に新しい問題を提起してきた。排卵調節における視床下部、下垂体系の機能は詳しく解析されているが、卵巣レベルでの排卵機序の解析は必ずしも充分進んでいるとはいえない。そこで本講演では卵胞破裂のメカニズムについて、演者らがこれまで検討してきた成績を中心に紹介したい。

排卵過程におけるヒト卵胞の性ステロイド生合成の実態を調べてみると LH サージによる排卵刺激をうけたあと progesterone, androgen, estrogen とともに著増し、卵胞破裂前に著減するという二方向性の変化を示している。その生理学的意義を知るため、幼若ラットに PMS と hCG の順次投与を行う誘発排卵実験系を用いて検討した。hCG と同時に、抗 progesterone 抗血清を投与すると用量反動的に卵管内平均卵数は減少し、かつ外因性 progesterone 投与によつて排卵した卵数が回復することから、hCG 投与後に急増する progesterone は卵胞破裂に必須であることが判明した。更に詳しく調べると progesterone 依存性ステップは排卵過程の前半期で

あることも知られた。同様の方法により、抗 testosterone 抗血清を用いた抑制実験ならびに外因性 testosterone 補充による回復実験の成績から androgen も卵胞破裂に関与しているか estrogen は直接関与しないことも明らかとなった。

他方 prostaglandin も卵胞破裂を調節していることが知られているので、性ステロイドとの相関を明確にしなければならない。そこで prostaglandin 生合成阻害剤である indomethacin を hCG と同時に投与すると、用量反応的に排卵反応を抑制したので、排卵を完全に抑制する最少有効量を hCG と同時投与したときの血中ステロイドの経時的推移をみると、排卵過程前半期にみられる progesterone と testosterone の一過性ピークは完全に抑止された。したがって一つには、prostaglandin は性ステロイド生合成を介して排卵を調節していると考えてよい。ところが indomethacin の投与時期を hCG 投与から遅らせると、排卵抑制効果が失われ、排卵過程後半期では無効となることが知られた。そこで卵胞破裂直前と判定された時期に indomethacin の投与量を増加してみると、同時投与のときの最少有効量の約 8 倍量で完全に排卵を抑制し得ることが明らかとなった。すなわち indomethacin は排卵過程の前半とは異なったメカニズムで卵胞発育を促進していると考えられた。そのメカニズムの詳細は今後検討を要するが、排卵酵素の一つと考えられている plasminogen activator 活性を演者らの開発した方法で測定すると、卵胞破裂の時期に一致して著しく増加することが観察された。

以上の検討成績から、卵胞破裂には排卵過程の前半期における性ステロイドと、後半期における排卵酵素との協同作用が必要であるが、何れも prostaglandin による二重の調節支配を受けていることが判明した。今後これら生理活性物質の作用機序についてさらに詳細な検討が望まれる。

特別講演 II. 国立台湾大学医学院泌尿器科男子不妊症特別問診

江 萬煊 (台湾大医・泌尿器)

男子不妊症特別問診 (外来診察) は 1955 年から正式に設立され、毎週午後 1 回主に専門に紹介された不妊症男子を診察し 25 年間以上を経過しました。資料が割合に完全にそろっている 1972 年から 1981 年迄の統計によると、毎年平均 389 人の新患者を診察し、新患、旧患延べ診察人数年平均 1,437 人中無精子症患者平均 72 人 (18.5%)、そのなかで染色体検査を受けた無精子症患者 418 人中 65 人 (15.5%) に染色体異常が認められた。染色体異常中

50 名が XXY であり XXY/XY mosaic が 12 名、46XYq smallY が 2 名、XYY が 1 名あった。

1980 年から 1981 年 6 月末迄 135 名の無精子症患者の臨床診断は下記の如くである。

後天性	精管結紮不妊手術	8 名	} 28 名
	副睾丸炎 結核性	4 名	
	不明原因	14 名	
	両側ヘルニア手術	2 名	} 109 名
先天性	両側停留睾丸	2 名	
	先天性精管部分欠損、あるいは副睾丸部分異常	18 名	
	睾丸異常に小さいか或は萎縮	51 名	
	睾丸正常大、副睾丸、精管正常	38 名	

又 1980 年から 1981 年 6 月末迄の新患 484 名のうち 32 名が鑄鉄工場かあるいは料理場で長時間高温にあたる作業に従事する人達であるのも目立つた事実でした。

又台大泌尿器科は台湾省の人口増加をおさえるための家庭計画に協力し、1973 年から毎週 2 回教室員が台北市家庭計画中心 (センター) 及び婦嬰 (母子) 衛生中心 (センター) に出張して精管結紮を年 500 名以上行っています。ちなみに台湾省の人口は現在 18,000,000 人に達し人口密度はバングラデッシュに次いで世界二位の密度です。

第 90 回日本不妊学会関西支部集談会

期日：昭和 56 年 10 月 3 日

場所：京都府立医科大学

1. 経口避妊薬服用中止後の妊娠と胎仔に及ぼす影響

東山秀聲・岡田弘二

(京都医大・産婦)

ピル服用中止直後の妊娠と胎仔への影響を検討した。使用ピルは ethynodiol diacetate と mestranol の比が 5 対 1 の合剤である。正常の雌成熟ラットとマウスに 0.012mg/kg, 0.3mg/kg, 1.2mg/kg の 3 用量を 60 日間経口投与した。投与終了後直ちに交配する群、10 日後に交配する群、20 日後に交配する群に細分し、同系の雄と 10 日間交配させた。妊娠不成立例には中止後 30 日に再び交配させた。妊娠率はラット直後群のうち、1.2mg/kg 群では対照のそれと比べて有意に低かった。死胚を含む着床数は、対照の 12.4 ± 1.72 頭と比べてラットの 0.3mg/kg 群と 1.2mg/kg 群で減少し、とくに 1.2mg/kg 群の減少は有意 (P < 0.05) であり、大用量の直後群では着床阻止作用があると考えられた。マウスでは各群の各用量とも妊娠率と着床数には変化は認められなかつた。出

生胎仔はラット、マウス共生仔数、体重などに著しい変化はなく、外表奇形の出現もみられなかった。しかし、ラットでは肋骨の変形例が少数に認められた。

2. ウサギ卵巣および子宮の単離細胞をもちいたプロラクチンのエストロゲンレセプターへの影響

大野洋介・玉舎輝彦・山田俊夫
和田圭介・岡田弘二

(京都医大・産婦)

プロラクチン(PRL)を *in vivo* に投与するとうさぎ子宮および卵巣に直接作用しエストロゲンの効果を高める。これは PRL がエストロゲンレセプター(ER)を介するエストロゲンの作用機構に働くためである。今回は *in vitro* でうさぎ子宮単離細胞へ短期 PRL の作用によるエストロゲンの取り込みについて検討した。うさぎ子宮および卵巣単離細胞を 5 nM の [3 H]-E₂ を含む medium 中にて 37°C 1 時間インキュベート後サイトソール分画, KCl 抽出核分画, 最終沈査に分離し, それぞれの分画の特異的結合量を測定した。PRL 添加によるうさぎ子宮単離細胞へのエストロゲン取り込みに与える影響は 1~100 ng/ml の濃度において各分画に変化を認めなかった。このことから PRL のエストロゲン作用増強は短時間に作用するのではなく, PRL 効果が伝わり順次反応の結果エストロゲン-ER 複合体の核内移行促進をもたらすためと考えられた。

3. ブタ透明帯に対するモノクロナル抗体を産生するハイブリドーマの確立

長谷川昭子・香山浩二・磯島晋三
(兵庫医大・産婦)

卵透明帯は受精機構に関し種々の意義をもつと考えられるが, それを解明するためにはそれぞれの機能をもつ物質を分離することが必要である。そこで今回ヒト透明帯と交叉性を有し且つ大量の透明帯を採取することが可能なブタ透明帯を用い, 細胞融合法によりモノクロナル抗体を作製した。現在までに 5 種類 (B11C8, C6H1, D3H4, G10G5, G10F9) のモノクロナル抗体産生ハイブリドーマを確立している。抗体のクラスは B11C8 が IgG2a, 他の 4 種は IgM であった。これらの抗体を用いて他種動物の卵を間接蛍光抗体法で染色すると B11C8 はブタに特異的であったが, 他の 4 種の抗体は他種動物透明帯とも反応した。動物種によつて又抗体によつてその染色性に差違が見られた。いずれの抗体もブタの他の組織と反応しなかった。ブタ精子の卵への binding に対

する影響では, B11C8, C6H1, D3H4, G10F9 に有意の binding 阻止効果が認められた。このような抗体は免疫学的避妊法の開発にも貢献するものと考えられる。

4. 腔欠損症の臨床—10年間の症例より—

益子和久・本山 覚・藤原卓夫
丸尾 猛・東條伸平

(神大医・産婦)

過去10年間に我々の教室で手術を行った完全腔欠損症12例につき, 各種の検討を行った。手術方法は, できるだけ自然に近く, また性行為可能な永久性のある腔を造るため, 我々はS状結腸を利用した造腔術を施行している。このS状結腸利用法は A. Sigmoidea を残し, 腸管を反転させる Ruge の変法を行っている。開腹時所見では, 子宮は2例が拇指頭大で残りは痕跡双角子宮であり, 卵巣, 卵管は肉眼的に正常であった。手術直後, 腔の狭窄を認めたものが数例あるが, これは手術時, M. Bulvocavernosus を充分切断しなかつたものと考えられる。しかし, ヘガール, コルポスタットの挿入により, 退院時には異常を認めず, 広さ30号, 深さ10cm と良好な状態となつた。退院後の調査では8名の回答があり, 全員自覚症状を認めず, 内5名が結婚している。性交時, 2名が疼痛と分泌物異常を訴えているが, 極く軽度で障害とまではなつていない。

5. Clomid 投与(有排卵)とBBTの動向

ト部 宏(日本パペテスト病院・産婦)

不妊症の治療に clomid が汎用されている現在, clomid を有排卵患者に次のスケジュールのもとに使用した。①月経第7日を中心に, ②月経第7日に progesterone 25mg を投与し月経第14日より用いる法。③月経第7日に E₂ 10mg を, 月経第14日より用いる法。④月経第7日に ハイホリン 20mg, 月経第14日より用いる法, ⑤月経第14日より用いる法。⑥月経第7日, 14日に progesterone 25mg, 月経第21日より用いる法。⑦月経第7日, 14日に E₂ を, 月経第21日より用いる法。このような方法で黄体機能の改善, 妊娠例などを得た。この中で黄体期に再排卵をしたと思われる数例の症例について報告した。妊娠例で保存された120例の基礎体温表より排卵日を集計するとその64%が7日±1日の倍数に当つた。その他より卵巣における成熟卵胞の動向を推論して見た。

6. 超音波断層法による卵胞発育のモニタリング

高井一郎・野田洋一・森本紀彦
山田一郎 (京大医・産婦)

不妊婦人の治療に際し、卵胞の発育ならびに排卵の有無を知ることは必要不可欠であり、これまで臨床的検査として頸管粘液検査、脛細胞診、子宮内膜生検、基礎体温測定および腹腔鏡検査が行われてきた。一方、最近超音波断層法が卵胞の観察に応用され、その有用性が報告されている。しかしながら、その観察はすべて腹壁からのもので、卵巣の位置とその腹壁からの距離および腸管のガス像の影響等により、卵胞の観察は決して容易ではない。これらの問題を解決するために、今回われわれは、セクタ式電子走査形超音波診断装置を用いて経腔的アプローチを試み、リニア式電子走査形装置による経腹壁のアプローチの結果と比較検討した。その結果、卵胞ないし黄体像と思われる echo-free space の検出率は、排卵周辺期に限ってみると、リニア式約80%に対し、セクタ式約70%であり、セクタ式はリニア式に決して劣らないことが判明した。今後さらに多数の症例検討が期待される。

第26回日本不妊学会九州支部総会

期日：昭和56年11月29日

会場：沖縄グランドキャッスル

1. Olfacto-Genital Syndrome (Kallmann's Syndrome) の1症例

井上 博・小池弘幸・宮川男生
森 憲正 (宮崎医大)

Kallmann et al は1944年、anosmia を伴う hypogonadotropic hypogonadism を発表した。現在では、これは gonadotropin 単独欠乏症の特殊型に分類され、olfacto-genital syndrome (Kallmann's syndrome) とも呼ばれている。今回我々も、各種の内分泌学的検査を行い、Kallmann's syndrome と診断しえた症例を経験したので、文献的考察を加えて報告する。

症例は原発無月経を主訴とし anosmia を伴う29歳の既婚女性である。gonadotropin は低値で、LH-RH 投与による、その分泌は軽度であるが、増加が認められたことにより、視床下部に障害をもつことが判明した。又 TRH 投与試験による PRL、及び TSH 分泌は正常域であり、下垂体副腎皮質系にも異常を認めなかった。又 hMG 負荷試験 (hMG 225 IU 10日間投与) では血中

E₂は、前値10.0ng/ml から132.0ng/ml の上昇を示し、卵巣の反応性が認められた。本症例は挙児希望であり、子宮の発育を目的に、現在 Kaufmann 療法中であるが、今後、排卵誘発を試みる予定である。

2. 当科外来における若年婦女子の統計的観察

吉満陽孝・野崎雅裕・堂地 勉
永田行博・楠田雅彦

(九大医・産婦)

若年婦女子の疾患には成熟婦人に見られる疾患とは内容的にも頻度においても相違がみられる。しかし、全体の中に占める頻度が少ないこともあつて、その疫学的検討に充分に行われていないのが現状である。今回我々は過去16年間にわたつて当科外来を受診した20歳以下の患者の統計的分析を行い、若干の知見を得たので報告する。

若年婦女子の外来受診の頻度は、過去16年間で総数1577人であり、外来患者の1.96%を占めた。

疾患別に分けてみると、内分泌異常が最も多く全体の約1/3を占め、次いで妊娠、炎症の順に多かつた。

年齢別に外来受診者数を見ると、17歳からの受診者数が増加する。年代順に疾患のパターンを見ると、学童期前では性器奇形、炎症が主で、初潮がみられてよい年齢頃より内分泌異常によるものが多くなり、18歳以降で妊娠が増加する。しかし、腫瘍は年齢にかかわらず同頻度に発生していた。

またこの年代の患者の特徴として、非常に follow up 率が低いことも判明した。

3. 思春期の体重減少を伴う続発無月経の検討

池田友信・鶴木康資・森田明夫
森 一郎 (鹿児医大・産婦)

近年、続発無月経を訴え受診する思春期少女で体重減少を伴うものの頻度が増加している。当科を受診した16~19歳の続発無月経の患者を、初診時の標準体重に対する体重減少(不足)率が10~14% (うち第I度無月経…A—I群: 3例、第II度無月経…A—II群: 3例)、15~19% (第II度無月経…B群: 4例) および20%以上 (第II度無月経…C群: 5例) の各群に分け、また対照として、体重減少を伴わない続発性の第I度無月経 (D—I群: 5例) および第II度無月経 (D—II群: 5例) をえらんで、心身医学面や内分泌学面から比較観察した。

また、治療の面では、心身医学的治療法の他に、一部

のものについては長期偽妊娠療法を行い、比較的良好な成績をえているので、これについて述べるとともに、最近の例では食事摂取の状況を調査し、分析したので結果を報告する。

4. 高感度 HAR による排卵日推定法の問題点

中野龍夫・今村定臣・王 志洪
梶村秀夫・岡本純英・森崎正幸
石丸忠之・山辺 徹 (長崎大)

現在私どもは、排卵日の推定法として、高感度 HAR (Hi-gonavis) による早朝尿中 LH 値の連日測定を行い、8 倍希釈以上陽性 (LH: 100IU/L 以上) を LH surge とみなし、不妊症患者に対する性交日の指導および AIH に応用している。この方法は簡便迅速であり、外来で行う検査法としては実用性に富むものといえる。

今回、基礎体温が二相性を示し、尿中 LH 値を連日測定した 83 例 (163 周期) について、Hi-gonavis が排卵日推定に有用か否かを検討したところ、(1) LH surge 日が基礎体温上からみて ± 2 日の範囲内であったものは 68 例 (130 周期)、(2) LH surge が基礎体温による排卵推定日より 3 日以上先行したものの 5 例 (12 周期)、また (3) 排卵推定日前後に LH surge が認められなかつたものの 10 例 (21 周期) であつた。このうち Hi-gonavis による LH surge と基礎体温の結果が一致しなかつた (2) および (3) の 15 例 (33 周期) について retrospective に調査し、Hi-gonavis による排卵日推定をより確実にを行う方法に関して検討した。

5. 不妊症患者に合併した子宮頸部初期病変に関する検討

白水充典・森永英徳・平井ひろみ
河田文子・安部正勝・有馬 昭夫
下村 宏・加藤 俊

(久留米大医・産婦)

近年子宮頸癌の診断技術の向上、並びに集団検診の普及に伴い、子宮頸癌初期病変の発見が著明に増加しているが、同時に若年者の発見例も増加を示している。特に不妊婦人に於ける合併例の報告は少なく、その取り扱いについての見解は一致していないものと思われる。今回我々は昭和 54 年 1 月 4 日～昭和 56 年 6 月 30 日の間に当科不妊症外来を訪れた不妊患者に於ける細胞診成績を検討してみました。不妊新患総数は 690 例で、細胞診施行数 620 例で 89.9% の施行率であり、残りの約 10% は、1 年以内の既受診者が殆どであつた。その内訳は I 型 379

例、II 型 230 例、IIIa 7 例、IIIb 0 例、IV 型 4 例であつた。当科に於ては初診時全例に細胞診、コルポ診を施行。この結果、狙い組織診施行した症例のうち、mod. Dyspl. 以下で細胞診 IIIb 以上と、severe Dyspl. の症例に対しては、3W 毎 3 回の follow とし、その結果で cone の可否を決める。狙い組織診にて上皮内癌や微小浸潤癌に対しては cone を施行し、以下の条件を満たす場合は、上皮内癌、症例によっては微小浸潤癌も嚴重な管理の下に follow する。ただし微小浸潤癌は原則として根治術とする。条件] ①子宮癌検診に習熟した、経験豊富な専門医の存在。②患者、家族への説明、了解が充分満足出来る事。③患者との Contact, follow 体制が充分整っている事。④病巣が完全に摘出され、残存病巣がない事。

[まとめ] ①不妊症外来に於ても、細胞診による癌検診は重要な事であり、又不妊治療の長い症例では、follow を忘れ勝ちになる。②上皮内癌、微小浸潤癌の発見率は、それぞれ 0.48%、0.16% であつた。③ cone 後の follow に於て、再発、残存病巣がないと思われる症例に対しては早期妊娠を計る。④ cone は創面無縫合で、オキシセルガーゼを使用。⑤非不妊婦人と違い、不妊患者では、上皮内癌でも、条件が許す限り、cone を最終治療とする。

6. 不妊症 232 例の腹腔鏡所見について

宇津宮隆史・山口省之・松岡幸一郎

是永迪夫・門田 徹 (九大温研・産婦)

232 例の不妊症に対する腹腔鏡検査所見について報告する。年齢は 25～35 歳が多く、やや高年齢者が多かつた。腹腔鏡により明らかとなつた異常所見は、子宮では發育不全症、卵巣では卵巣機能不全症に基く形態異常、卵管では周囲との癒着などが多かつた。検査による副作用、損傷はいづれも軽度のもので多く、皮下、筋膜下気腫が多かつた。腸管、大網穿刺を 3 例、1 例にみたが軽度で問題になる例はなかつた。術後障害では肩痛、上腹部痛を訴える例が多く、横隔膜が気腹により刺激されたためと思われ、特に処置は必要としなかつた。術前の HSG 所見と腹腔鏡所見の比較ができた 112 例についてみると、卵管疎通性においては診断一致率は 51% であつたが、HSG で卵管閉塞と診断されていた 51 卵管のうち、5 卵管が腹腔鏡で疎通性良好と診断された。また、卵管周囲癒着については、HSG と腹腔鏡の診断一致率は 47% と低率で、とくに HSG で癒着ありと診断されていた例で腹腔鏡では癒着なしとされた場合が多かつた。術前に原因不明とされた不妊症 27 例の腹腔鏡検査では、

8例に子宮内膜症, 6例に卵管異常がみられ, 異常の認められなかったのは8例にすぎず, 原因不明不妊症のなかには意外と子宮内膜症が多いのではないかと思われた. 子宮内膜症は232例中34例にみられ, その発生部位は卵巣, 子宮, ダグラス窩に多く, とくに卵巣では両側同時発生例が多かった. また, ごく初期の内膜症が意外と多く, 他の検査法では決定的な所見の得られにくい本症の診断に腹腔鏡は有用な検査手段であると思われた.

7. ヒト培養顆粒膜細胞および黄体細胞に対する Gonadotropin および Bromocriptine の影響

岡本純英・山口敦巳・村上 誠
石丸忠之・山辺 徹 (長崎大)

ヒト卵巣における steroido genesis に対する gonadotropin と bromocriptine の影響について検討した.

手術により得られた卵巣より McNatty の方法に準じて顆粒膜細胞を, また dispase 分散法により黄体細胞を分離し, 20% fetal bovin serum を含む TC-199培養液中で37°C 5% CO₂ in air の条件下に培養した. dispase は2000IU/ml の濃度で10分間作用させ, 200G 10分間の遠心にて細胞を洗浄することにより作用を停止させた.

細胞数を調整したのち LIMBRO mulch dish にて単層培養を行った. 培養液は毎日交換し倒立位相差顕微鏡を用いて観察した. また透過型電子顕微鏡による観察を行い, 培養細胞を同定した. 培養液中に各濃度の bromocriptine, LH, FSH および prolactin を加え, 培養液中に産生分泌される progesterone を RIA で測定し, 対照群と比較した.

8. 黄体機能不全とプロラクチン

堂地 勉・大久保信之・津田知輝
中村正彦・永田 行博・楠田雅彦
(九大医・産婦)

黄体機能不全(今回は Short luteal phase に限定)と PRL との関係を探る目的で, 今回子宮内膜日付診を行う周期において, P 値と PRL 値を高温相中期に測定し, Short luteal phase 35例, コントロール73例において, 高温相の持続日数卵胞期の持続日数, さらに CB 154の高温持続日数に与える影響をみた.

① 今回対象とした, Short luteal phase には, PRL 値が, 25mg→100ng/ml の比較的高い, 高 PRL 血症が少なからず存在していた.

② 高 PRL 血症性の Short luteal phase において

は, PRL 値と高温持続日数は逆相関があつた. また, 卵胞期は, control と比較して遅延していた.

③ CB 154で治療する際, 極端に下げすぎると再度, Short luteal phase になることがある. PRL の至適濃度が存在するかも知れない.

④ 正常 PRL 血症の Short luteal phase の症例に lisuvide 752/日を投与し, 妊娠成立を3例みだが, 正常 PRL レベル内で, PRL を微妙に低下させても, 菌体持続日数の改善を見る場合もあるし, lisuvide が PRL と無関係に黄体機能に影響を及ぼしている可能性も示唆された.

9. 高プロラクチン血症治療後の排卵とプロラクチンレベル

野崎雅裕・永田行博・堂地 勉
津田知輝・楠田雅彦

(九大医・産婦)

高プロラクチン(PRL)血症によつて惹起される排卵障害には CB-154の投与や下垂体腫瘍の摘出術が有効である. しかし PRL がどの程度まで低下したら排卵が誘発されるかははつきりしていない.

我々の下垂体腫瘍摘出後の症例の follow up 中, PRL が50ng/ml 前後の高値を示すにもかかわらず自然排卵を来し妊娠した症例や, PRL 値は正常域にまで低下しているにもかかわらず CB-154のみでは排卵が見られない症例もみられた.

また非腫瘍群ではほとんどが100ng/ml 以下の PRL 値であるが, 50ng/ml 以下では月経のある症例が多かった.

これらのことは治療前後の PRL レベルによつて性中枢の抑制の程度と回復が異なるのではないかということを示唆しており, 我々は下垂体腫瘍15例を含む55例について考察を加えた. その要約3点を以下に記すと.

① 非腫瘍群では PRL 値が正常化することで容易に排卵し, しかもほとんどが15日以内で排卵している.

② 腫瘍群では投与した薬剤量にもよるが, PRL 値が急速に低下するものと30日以上を経て正常化するものに分けられ, 早く低下したものが早く排卵する傾向があつた. しかし, PRL 値が正常化したからといって必ずしも排卵しない例もあつた.

③ 術後 PRL 値は正常化しなくても性中枢の改善が見られ自然排卵が認められたものがあつた.

10. 乏精子症に対するクロミッド療法

上間信弘・永山 孝・東 政弘
竹中静廣 (琉球大)

今回我々は、乏精子症患者にクロミフェン投与を行って比較的良好な成績を得たので報告する。対象は精子数が4,000万未満の男性不妊症例で、内訳は原発性不妊16例、続発性不妊1例である。投与方法は Check などの方法に従って、クロミフェン1日25mg 25日間連日服用を1クールとし、5日間の休薬期間をおき、3~4クール投与後に効果判定を試みた。治療前の精液検査所見では、100万未満が1例、100万以上1,000万未満が5例、1,000万以上2,000万未満が7例、2,000万以上3,000万未満が3例、3,000万以上が1例である。運動率は40%以下が5例、40~60%が8例、60%以上が4例である。不妊期間は2~3年が6例、4~5年、6~7年が3例ずつで、8~9年が1例、10年以上の長期不妊が4例に認められた。クロミフェン投与後の精子数は、半数以上が増加の傾向を示し、著明に増加したのは6例で、このうち4例が4,000万以上に増加した。2例に軽度の減少が認められたが、そのほかは殆んど変化が認められなかった。運動率は大した変化は認められなかった。

クロミフェンの治療効果は、妊娠例も入れると17例中10例に有効と認められた。精子数100万以下の1例では効果はなく、100万以上1,000万未満の例では5例中3例に治療効果が認められ、1例は妊娠し分娩に至っている。1,000万以上2,000万未満の例では7例中5例に治療効果が認められ、2例が妊娠し1例が流産に終わり1例が双胎の分娩に至っている。2例とも AIH を行つた症例であった。2,000万以上3,000万未満の例では3例中1例に治療効果が認められたが流産に終わり、3,000万以上の1例は妊娠し分娩に至っている。この他に、今回の発表からは除いてあるが、精子数は良好で運動率の悪い例にクロミフェンを投与した成績では、3例中2例が妊娠し、1例は流産で1例は分娩に至っている。分娩に至った例はいずれも児の異常を認めていない。

11. 当科不妊外来における男性因子の検討

河田 文子・森永英徳・白水充典
平井ひろみ・深川良二・大島敏幸
森田 淑生・泉 茂樹・松永隆嗣
有島 昭夫・下村 宏・加藤 俊
(久留米大医・産婦)

不妊症の診療にあたっては、常に夫婦を1つの unit として考える必要があるが、一般には男性側の協力は充

分には得難い。しかし、近年、男性不妊についての診断・治療の向上と共に多くの知見が得られるようになり、一般には不妊症の約1/3は男性側に原因があるとみられている。今回我々は、当科不妊外来を受診した。昭和53年から3年間の不妊患者716名について、男性側不妊因子の検査成績並びに予後等に関して検討し報告する。

3年間の外来新患数は10987名で、不妊新患数は716名6.2%であった。原発不妊は続発不妊の約1.8倍であった。男性因子の精査は716例中291例40.6%が施行し、そのうち異常があつた例は45%と高率であった。又、全例の妊娠成功例を見ると、不妊期間の長い例程、妊娠率の低下を見た。精査を施行したうち異常を認めたのは5年以上6年未満がピークで59.3%であったが、7年以上も45~55%の異常率を示した。全例の妊娠率は27.2%で、精査例の妊娠率は23.4%とやや低かつた。男性因子の異常をみると性交不能291例中2例、無精子症291例中31例、乏精子症291例中95例32.6%で、乏精子症を 40×10^6 ml $\sim 20 \times 10^6$ ml 以下、 20×10^6 ml $\sim 10 \times 10^6$ ml 以下、 10×10^6 ml 以下と分けると、 20×10^6 ml 以下で妊娠率は有意に低下した。本症の治療の1つとして、AIHを施行し77例中10例12.9%の妊娠率であった。更に、分画射精を試みているが、10例中7例は分画射精による妊娠であった。分画射精の精子濃度、運動率について、正常、乏精子症と分けて、第一分画、第二分画を見ると、いずれの群でも精子濃度は第一分画が2~5倍の高値を示し、運動率も良好であった。

婦人科の立場より、男性因子にアプローチすることは、大変難しいが、婦人科での精査、加療、泌尿器科との密接な情報交換、患者への指導等により、治療効果を期すべきであると考える。

第85回日本不妊学会関東地方会

期日：昭和56年12月4日

場所：森永プラザビル

1. 子宮内膜症性不妊に対する Danazol 療法

前川岩夫・内藤正文・寺田夏樹
小堀恒雄 (千葉大医・産婦)

子宮内膜症の薬物療法として、従来から偽妊娠療法が行われてきたが、最近 ethinyltestosterone 誘導体である Danazol が、ゴナドトロピン分泌を抑制し、持続的低エストロゲン状態をつくり出して、内膜症組織の萎縮、変性を来たすことから、子宮内膜症の治療に有効と報告されている。

今回、21例の子宮内膜症が原因と考えられた不妊症例

に対し、Danazolを投与して、8例(38.1%)が妊娠した。臨床進行期は6例がBeechamのⅡ期、2例がⅢ期であり、不妊期間は平均3.0年であった。Danazol服薬終了後から妊娠までの期間は平均6.5カ月で、このうち、1例は流産し、5例は満期正常産、2例が現在妊娠中である。

軽症子宮内膜症が不妊原因と考えられる場合、Danazol療法も有効な一治療法と考えられた。

2. 10年間のAID統計(慶応健康相談センター)

中村幸雄(慶大医・産婦)

慶応健康相談センターは昭和45年、慶応病院家族計画相談所より分離し、不妊診療を開始後10年以上を経過した。今回昭和45年から55年迄のAID妊娠統計について発表する。

総AID施行回数16,399回(3,465例)、妊娠916例、流産117例、2児目妊娠84例(うち3児目2例)、凍結精子妊娠40例であった。平均結婚年齢24.09歳、妊娠年齢30.4歳、平均AID施行周期7.06日、平均施行回数7.45回であった。妊娠例の90%はAID15周期以内に妊娠している。分娩経過は正常産477例に対し、帝切129例と帝切率が著しく高率であった。40歳以上の妊娠例は11例存在し、最高43歳で正常産2、帝切2、流産4、不明3であった。昭和45年～55年、1632例中762例、不明365例で、妊娠率は61.7%であった。性比は100:107.5であった。AID100日以上施行し妊娠した例が2例存在し各々117日(105周期)、103日(83周期)のAID後妊娠した。

3. 多嚢胞性卵巣の病理一組織学的検索

荘司延三(村山病院・産婦)

飯塚・中村のwedge resection(W-R)の適応例を選別するためのPCO診断criteriaによつて、W-Rを行つたPCO症例中のgroup(I)の30例について、病理組織学的検索を行なつた。対照正常卵巣としては、年齢30～37歳の正常性周期を有する婦人の卵巣を用いた。次のような成績が得られた。

(1) W-R後の自然排卵率が約76%で、その後のclomiphene排卵率は97%を示した。妊娠率は約60%であった。

(2) PCOに特異的な病理組織所見は存在しなかつたがPCOの容積が平均として、正常卵巣の約2倍の腫大を示し、また、PCOの白膜の厚さにかなりのバラツキを認めたが対照卵巣に比べ、僅かながら0.15mmの有意

な肥厚が見られた。さらに、PCOには著明なhypertecosisも認めた。

(3) しかし、これら顕著な所見のいずれも、W-R後の排卵成績との相関はみられなかつた。

4. 産褥期低ゴナドトロピン血症に対する内因性オピオイドの関与について

石塚文平・丸岡 充・浜田 宏
(聖マリアンナ医大・産婦)

〔目的〕近年、ヒトに於て内因性オピオイドのLH・RH-LH分泌抑制作用が示唆されているが、今回我々はヒト産褥期のhypogonadotropinismに於る内因性オピオイドの関与について検討した。〔方法〕正常非授乳褥婦5名を対象とし、産褥10日目より25日間に4～5日間隔でNaloxonを点滴静注(1.6mg/hr 2時間)して、LH、FSHの反応を見た。またその反応と外因性LH・RH 10 μ g静注後のLH、FSH上昇との相関を検討した。〔成績〕産褥10日目ではNaloxonに対しLH、FSHとも反応を示さなかつたが、13～25日間では両者ともNaloxonに有意な反応を示し、13～15日間ではFSHの反応がLHに対して優位であった。またLH、FSHともNaloxonに対する反応と外因性LH・RHに対する反応の間に有意な正の相関($P<0.01$, $\gamma=0.636$ [LH], $\gamma=0.722$ [FSH])が見られ、ヒト産褥期に内因性オピオイドのLH・RH分泌抑制の亢進が示唆された。

5. 卵管手術時におけるSplint挿入の卵管粘膜に及ぼす影響について

長田尚夫・津端捷夫・高木繁夫
(日本大医・産婦)

Microsurgeryの進歩にともない卵管性不妊症に対し手術療法が大変有効な手段として認められてきている。End-to-end anastomosis, Tuben implantationならびに卵管の通過障害部位の確認のために、卵管にSplintを挿入することがある。既にこのSplint挿入の卵管粘膜に及ぼす影響については、Splintの挿入期間、太さならびに硬さ等の問題については多くの検討がされている。今回、我々は、家兎卵管を用いてSplint挿入後の卵管粘膜上皮の変化を走査電顕を用いて観察し、Splint挿入操作自体が卵管粘膜上皮の損傷を起し、しいては妊卵の通過障害をきたすことを認めたので報告する。

6. 未知の“妊娠関連蛋白”のロケット免疫電気泳動法による測定法の開発

渥美正典・中居光生・馬嶋恒雄
新井正夫 (北里大医・産婦)

私たちは未知の妊娠関連蛋白の存在について報告したが、この物質を Laurell のロケット免疫電気泳動法を用いて血中濃度の測定を行う際に必要な諸条件について検討した。

精製物質を家兔に注射し吸収後特異抗血清を作成した。抗血清濃度の 0.7%, 2 V/cm の定電圧で 18 時間泳動を行った場合に最高の感度が得られた。抗原量は標準血清中濃度を 100u. とすると 1.5u. から 25u. の範囲で検量曲線は直線性を示し、同時再現性と日差再現性も良好であった。この測定法を用いて、この物質の非妊婦及び妊婦血清中濃度を測定した結果、非妊婦では感度以下の症例が多数であったのに対して、妊婦では高値を示した。この物質の体液中濃度の測定を行ない、臨床的意義の解明に役立てることが期待される。

7. 精液中のアングiotenシン変換酵素 (ACE) について

藤尾幸司・松橋 求・牧 昭夫
村上憲彦・三浦一陽・中山孝一
白井将文・安藤 弘
(東邦大医・泌尿器)

精液中には、種々の物質の存在が知られているが、我々は、正常者と無精子症患者の精液中のアングiotenシン変換酵素 (ACE) 濃度を測定したので報告する。測定法は Cushman-Cheung 法の Lieberman 変法で、採取後の精液を 7.5% Ficoll 液に重層し、遠沈後、精漿部分と精子部分に分離し、それぞれの ACE を測定した。その結果、正常者の精漿は $710.7 \pm 136.4u$ ($u: nmol/ml/min$) で、無精子症の精漿では $677.7 \pm 207.9u$ であった。これら両者の間には、統計学的に有意差は認められなかった。一方、正常者の精子中の ACE は $31.3 \pm 14.7u$ であり、精子中にも ACE が存在することが判った。angiotensin I より angiotensin II へ変換する ACE が、ブラジキニンを不活性フラグメントに分解するキナーゼ II と同一酵素であることが判明している。従来、Kin-Kallikrein 系が精子の運動に密接な関係を有することが判っており、精液中の ACE もキニンに作用して、精子の運動に関与している可能性が考えられる。

8. Prostigmine のクモ膜下注入により人工的射精を誘発し、配偶者間人工授精 (A.I.H) に成功した脊髄損傷者夫婦の症例報告

宮崎一興・石堂哲郎
(神奈川県総合リハビリテーション
センター・泌尿器)

脊損男子患者には正常勃起能力が著しく障害されるのみでなく、射精能力はより強く障害され、たとえ健康な女性と結婚しても実子を挙げることは極めて稀である。

われわれは、かねて脊損男子に Prostigmine クモ膜下注入により人工的射精が起る現象を利用し、A.I.H を試みて来たが、今回本邦初の授精成功例を見たので報告する。

夫は 28 歳でスキー転倒による C₆ 頸髄損傷者、妻は 28 歳で転落事故による L₁ 損傷者で共に受傷後約 6 年経過する。2 年半前に結婚し、夫の反射性勃起を利用して性交可能であるが射精は全く不能である。

実子分娩の希望により、昭和 55 年 10 月 27 日より 2 回にわたり、Prostigmine クモ膜下注入テスト (0.3~0.5 mg) を行い、4~5 ml の精液を採取し得て、精子数 $245 \times 10^6/ml$ 、運動率 74%、奇形率 4% で妊娠可能と判定された。妻の排卵日に合せて夫の Prostigmine test を行い、56 年 4 月 18 日初回の A.I.H を行ったが不成功、6 月 22 日に行った A.I.H は成功した。分娩予定は 57 年 3 月中旬である。

9. マウスにおける過排卵処理・誘起排卵後の卵管内未受精卵子の分割について

金山喜一・矢部勝弘・永谷健二郎
百瀬正人・加藤 誠・石井 涉
佐久間勇次 (日大農獣医・家畜生理)

哺乳動物の未受精卵子がまれに卵管内で分割することが知られており、これらのうち少数例は segmentation のこともあるが大部分は退化に伴う fragmentation であろうと考えられている。演者らは、マウスに過排卵処理および誘起排卵処理を反復した場合、交尾をさせていないのに卵管内に分割した卵子が頻繁に出現することを認めたのでその成績を報告する。

ddY 系マウスに過排卵処理または誘起排卵処理を 5 日間隔で反復した 3 つの試験区で、いずれも第 1 回目では卵管内での分割卵子はほとんど認められなかったが、反復処理によつて急増し、特に 5 回目においては検出卵子の約半数が fragmentation と思われる卵子であった。

このことは同一個体に過排卵処理あるいは誘起排卵処

理を反復して行なうと、排卵した卵子は正常排卵の卵子に比べて、より早く退化・変性することを示唆するものである。家畜、特に牛の新しい改良増殖方法として広く一般に実用化されている胚移植において、同一 Donor 牛に反復して過排卵処理を行なうと処理回数が多くなるにつれて変性卵子の出現頻度が増加することが知られており、その要因として短い間隔で反復することもその一因であろうと考えられる。

10. ハムスター胚の移植に関する検討

佐藤嘉兵・木村まどか・大山昌弘
(日大農獣医・家畜繁殖)

ハムスター胚の初期発育に関する情報は他の小実験動物のそれに比べて少ない。主な原因はハムスター胚の体外培養が困難であることによる。本実験ではハムスター胚の移植について検討を加え、ハムスター胚の初期発育についての情報を得ようとした。交尾後一定時間にハムスターを供試し、各ステージの初期胚を取り出し、交尾時刻と同時に偽妊交尾を行った Recipients の卵管あるいは子宮角に移植を行った。その結果、1-Cell, 2-Cell, 4-Cell の各ステージの卵管内への胚移植では胎仔への発育する割合は各々、31, 24.5, 20, 44.3%であった。8-Cell で子宮角に移植した場合 45.5%であった。Blastocysts の移植では35%であった。また、発育中の胚の死亡率は 4-Cell 及び 8-Cell 胚の移植で若干増加する傾向が見られたが、他のステージの胚と比べて本質的な差は認められなかった。

特別講演：不妊症診療の変遷

平野陸男(東北大医・産婦)

わが教室においては、篠田教授時代(昭14~31年)は主として性器結核の研究がおこなわれた。この時期では性器結核は不妊症の約30%以上を占めていた。九嶋教授時代(昭31~46年)には燕麦物質や銅塩など、排卵物質の開発を中心にホルモン療法の基礎的研究が進められる一方、昭38年にはホルモン不妊クリニックが開設された。鈴木教授時代(昭46年以降)に入り、FSH・LH・PRL・性ホルモンの測定に基づく内分泌異常に関する基礎的・臨床的研究とともに、精子不動化試験による血中抗精子抗体の研究、およびハムスター卵を用いたヒト精子受精能の研究などもおこなわれている。しかし、不妊症診療全体としてみると、すぐれた排卵誘発剤の開発により無排卵症の治療は著しく進歩したにもかかわらず、卵管不妊はマイクロ・サージャリーや試験管ベビー

の研究による治療成績の向上が待たれ、男性不妊は人工授精以外には効果的な治療方法がないのが実情である。わが教室における昭14~16年ころと最近の不妊症治療成績を対比しながら、不妊症診療の変遷と将来について、教室のデータを中心として述べる。

第86回日本不妊学会関東地方部会

期日：昭和57年2月13日

場所：千葉大学医学部附属病院

1. ダナゾール療法における子宮内膜の形態学的変化

田巻勇次・伊沢美彦・木曾原宏之
片山純男・栗原 洋
(松戸市立病院・産婦)

3例の子宮内膜症婦人の Danazol 療法(600 mg/日投与)中に、子宮内膜検査を行い、その内膜像の変化について検討した。

投与開始から、2~6週の間に変異的なながら分泌性変化を呈し、8週以後、萎縮内膜となった。その後は、そのまま高度な萎縮状態を維持する例と、一旦、萎縮した内膜が、再度、分泌性変化を呈し、内膜像の変動を示す例が認められた。前者の pattern は著効例にみられ、後者の例はやや治療効果の劣る症例にみられた。

2. 過排卵処理妊娠家兔の胚および胎子の形態的観察

富樫 守・石島芳郎
(東農大・家畜繁殖)

過排卵処理による過剰妊娠の試みは、これまで実験動物で多数行なわれてきているが、処理後の胚および胎子の損失が多く、まだ実用化できる方法はみられない。そこで、その原因を探るために自然交配(対照区)、過排卵処理(PMS+Estradiol-HCG)後交配(SO区)およびSO区に Pralactin を投与した家兔(SO+P区)の交尾後4, 6, 11および20日目の胚もしくは胎子を対象に形態的比較を行なった。その結果、4日胚は対照区、SO区およびSO+P区ともすべて Blastocyst に達しており、うち Expanded Blastocyst (EB)が37.5, 60.6および52.7%を占めていた。6日胚ではいずれもEBに移行しており、その大きさはSO両区が対照区の約2倍であった。次に11と20日目の各区の着床例数は、5/5, 4/10, 7/9と5/5, 3/8, 6/8であり、胎子生存率は、90.7, 70.7, 78.4%と90.4, 46.8, 62.7%であった。胎子・胎盤重量は、11日目のSO区が対照区に比べてともに低く、20日目では胎盤重量のみSO両区が低い値を示し

た。

3. 当院不妊外来における妊娠例の検討

黄 健哲・望月 博・高野 昇
(国立横浜東病院)

当院婦人科開設以来 5 年間 (S52~56) に挙児希望で来院したものの 298 例 (新患総数の 4.0%) の中妊娠例は 78 例 26.2% であつた。これら妊娠例を中心として臨床統計的観察を行った。

治療別妊娠成立頻度は、BBT 記録指示経過観察中妊娠したもの 10 例 12.8%、HSG、通気通水治療後のもの 27 例 34.6%、ホルモン治療によるもの 21 例 26.9%、AIH によるもの 2 例 2.6%、手術療法によるもの 18 例 23.1% (卵管形成術 2 例、筋腫核出術 12 例、子宮内膜保存手術 2 例、卵巣楔状切除術 1 例、外陰腫瘤摘出術 1 例) であつた。HSG 後にみられる妊娠例が第 1 で、報告にみられるように HSG は診断のみならず治療としての一面を持っていることが再確認された。ホルモン治療例については Clomid+hCG 療法によるものが 21 例中 18 例 85.7% と圧倒的に多かつた。筋腫による不妊例は 20 例中 12 例 60% の高率に妊娠例がみられ積極的手術適応と考えられたが、卵管形成術は 12 例中 2 例 12.5% の妊娠成立率で、卵管形成術については症例選択の重要性、術式の改良、人工卵管、卵管移植あるいは体外授精を必要とする症例の未だ多いことが再確認された。

妊娠成立後の経過については現在妊娠中 12 例、不明 3 例を除き、正常分娩 36 例 57.1%、帝切 15 例 23.8%、早産 2 例 3.2%、流産 9 例 14.3% であつた。外妊は卵管形成術に 1 例みられたが、胎状奇胎はみられなかつた。新生児についてはほとんどに異常を認めなかつた。

以上当院の不妊外来における妊娠例について種々 retrospective に検討し、今後の不妊症診療指針の 1 つとした。

4. 造精機能導入に成功した Kallmann 症候群の 1 例

布施秀樹・伊藤晴夫・皆川秀夫
川村健二・島崎 淳
(千葉大医・泌尿器)

症例：26歳，男子，公務員，未婚。主訴：射精障害。既往歴：特になし。家族歴：弟 1 人，既婚にて子供 1 人。現病歴：勃起するが射精をみないため当科受診。現症：身長 1180cm，体重 65kg，指極 186.5cm，乳房正常，睾丸両側ともに 6 ml，副睾丸，精管ともに正常，前立腺触れず，恥毛はほとんど認めない。検査成績：血中ホルモン値，LH 4.5mIU/ml，FSH 2.0mIU/ml，testos-

terone 68ng/dl。hCG 試験で血中 testosterone 値は，前値 72ng/dl が 4 日目で 515ng/dl となつた。LH-RH 試験では，静注後，LH は 30 分で 18.8mIU/ml，FSH は 120 分で 7.0mIU/ml と最大値を示した。嗅覚試験で無嗅覚症と診断された。

以上より Kallmann 症候群と診断し，二次性徴の発現を目的として hCG 1000 単位，週 2 回投与を開始した。20 回投与を 1 クールとした。3 クール終了後に，射精可能となり，精液所見は，精液量 1.5ml，精子濃度 82×10^6 /ml，運動率 30% であつた。

5. プロラクチン産生下垂体腺腫に対する腺腫剔出術の効果

関 克義・加藤 一
(防衛医大・産婦)

6 名のプロラクチン産生下垂体腺腫 (macro-adenoma) を有する患者に 1 例は frontal approach，5 例は transsphenoidal approach にて腺腫剔出術を施行した。全例血中プロラクチン (PRL) は術後低下したが，正常値になつたのは 1 例のみであつた。血中 LH 及び FSH の基礎値は術後低下し，luteinizing hormone releasing factor (LRF) に対する LH 及び FSH の反応も減少した。手術療法のみによつて 1 例に月経が発来したが，この患者は妊娠を希望しなかつた。挙児希望の 5 名に術後 CB-154 を追加投与し 2 名が妊娠した。合併症としては一過性の多尿が全例に認められた。2 例に髄液漏が発生したが，脳神経外科学的処置により治癒した。

6. 精子運動能に及ぼすキニンおよびアンギオテンシンの影響

兼子 智・小林俊文・小埜 清
(慶大医・産婦)
森脇千秋 (東理大・生理化)

ジペプチジルカルボキシペプチダーゼ (DCP) は精液中にも存在し，その含量が精子減少症，精子無力症では正常者と比べ有意に少ないことを認めた。そこで DCP によつて分解，生成を受けるキニン (BK, KD)，アンギオテンシン (AT I, AT II) の精子運動への影響を，DCP 阻害剤 SQ 14225 の存在下に検討した。

BK, KD は低濃度で運動速度を増加させ，高濃度では逆に運動率を抑制した。AT II も低濃度で運動速度を増加させたが，AT I は無効であり，また両者は共に高濃度で強力に運動を抑制した。AT II 拮抗剤サララシン共存下では AT II の作用は完全に抑制され，AT II

は精子表面のレセプターを介して作用することを認めた。

7. 最近10年間における子宮外妊娠の統計的解析

佐藤信義・河合 俊・高木繁夫
(日大医・産婦)

最近、出生数の減少に伴って人工妊娠中絶(人中)数そのものは、年々減少して来ているが、その一方、若年者の中絶が増加する傾向があり問題視されている。もとより外妊は人中の既往をもつものが多いと言われていた。そこで我々はそれらの観点から教室における昭和47年より10年間に手術を施行した外妊295例を対象に、主に年齢別頻度及び既往歴を中心に検討した。まずこの期間における分娩総数は10145例、婦人科総手術数は4489例であり、これらに対する外妊の比率は各々2.9%、6.6%であり、最近5年間のそれは、2.2%、5.5%となり減少した。一方年齢別頻度でみると20~24歳15.5%、25~29歳33.5%、30~34歳30.8%となり19歳以下でも4例、そのうち最若年者は16歳であった。しかも既往歴は244例人中178例72.9%、流産51例20.9%、虫垂切除42例17.2%、反復外妊18例7.3%であり、いずれの症例も子宮内操作の既往が多く多妊は子宮内操作と強い関連があることが示唆された。

8. 男子不妊症患者の臨床統計

松橋 求・牧 昭夫・高波真佐治
村上憲彦・三浦一陽・中山 孝一
白井将文・安藤 弘

(東邦大医大森病院・リプロダクションセンター)

昭和53年1月から昭和56年12月までの4年間に当院リプロダクションセンターへ男性不妊症を主訴として来院した483症例について検討を行った。患者の平均年齢は32.3歳で、結婚より来院までの期間は平均4年2カ月であった。初診時の精液所見を東邦大法(Eliasson scoreの変法)で分類すると、正常73例(15.1%)、Score 2~4の異常が疑われる症例は45例(9.3%)、Score 5~10の病的の症例は47例(9.7%)、Score 11以上の高度の病的の症例は175例(35.8%)、azoospermiaの症例は132例(27.3%)、残る11例(2.3%)は、逆行性射精や、その他の症例である。

以上の症例についての原因疾患の有無、あるいは、各Score群における睾丸のサイズの比較、各Score群におけるLH、FSH、testosterone値の比較検討を行った。一方、各種治療を施行し、完全にfollow-upできた症例

についてのScoreの推移、治療後の妊娠率などについて検討したので報告する。

9. hMG+hCG 負荷試験と排卵誘発時 OHSS 発生との関係

前川岩夫・内藤正文・寺田夏樹
小堀恒雄・高見沢裕吉
(千葉大医・産婦)

10. 特発性男性不妊症に対する漢方薬とC₆Q₁₀併用内服療法の効果

吉田英機・田代博紹・内藤善文
今村一男 (昭和大医・泌尿器)

normoasthenozoospermia 3例、精子濃度40~10×10⁶/mlのmoderate oligozoospermia 16例、および精子濃度10×10⁶/ml未満のsevere oligozoospermia 14例、計33例の特発性男性不妊症例に対し、漢方薬であるツムラ八味地黄丸(TJ-7) 5.0gとC₆Q₁₀剤であるノイキノン60mgの併用内服療法を試み、各々の単独投与による効果とを比較検討した。その結果、TJ-7とC₆Q₁₀併用群での妊娠率は9.1%となり、TJ-7単独群の20.5%、C₆Q₁₀単独群の17.2%と比較し低値であったが、総合的な精液所見の改善率は63.6%を示し、単独投与2群よりもやや良好な結果を得た。今回のTJ-7とC₆Q₁₀併用群で、以前にTJ-7のみの投与で無効であった7例中3例で有効となり、またC₆Q₁₀のみの投与で無効であった3例中1例で有効であったことから、これらの併用投与はある程度期待が望まれる方法であると思われる。

11. hMG による排卵誘発時における血中各種ステロイドの変化

日高輝幸・平戸久美子・清水 篤
矢内原 巧・中山徹也
(昭和大医・産婦)

<目的>

HMG投与による排卵誘発例での、末梢血中性ホルモン動態を、排卵前における卵巣ステロイド動態に主眼を置いて検査した。

<方法>

I] 対象 1) 対照: 正常周期婦人7例につき、排卵前後10日間経日的に採血した。2) 排卵誘発例: 第2度無月経例にHMG→HCG療法を行い、頸管粘液量による切替え時に採血した。うち臨床効果別に3群に大別し、頸管粘液の増加も排卵も認めた6例を第I群。頸管

粘液の増加は認められたが排卵にいたらなかった 8 例を第 II 群。共に認めなかった 4 例を第 III 群とした。II] 測定：末梢血中 LH, FSH, estradiol (E_2), progesterone (P_4), $17\alpha\text{OH-P}_4$ ($17P_4$), Δ_4 androstenedione, testosterone (Tes), pregnenolone (P_5), $17\alpha\text{OH-P}_5$ ($17P_5$), DHA, Δ_5 androstenediol, $20\alpha\text{OH-P}_4$ を RIA 法で測定した。

<成績>

1) 第 III 群において, FSH ($183 \pm 30 \text{ nIU/ml}$), E_2 ($19.6 \pm 3.7 \text{ pg/ml}$) より hypergonadotropic-hypogonadism の像で, 卵巣性無月経の pattern を呈した。2) 第 I 群と第 II 群の比較において i) E_2 は共に対照よりも高値を示すが, I 群 ($571 \pm 113 \text{ pg/ml}$), II 群 ($301 \pm 65 \text{ pg/ml}$) に有意の差は認められなかった。ii) Δ_4 系ステロイド, 特に $17P_4$, Tes が I 群 II 群共に対照より低値を示した。iii) $17P_5$ において, 第 I 群 ($11.0 \pm 1.8 \text{ ng/ml}$) は対照より有意の高値 ($P < 0.01$) を示し, 第 II 群 ($2.4 \pm 0.7 \text{ ng/ml}$) との間にも有意の差 ($P < 0.001$) を認めた。

<結論>

HMG における卵巣刺激作用は, E_2 が高値を示すことと共に $17P_5$ の著明な上昇を併うことより, 芳香化促進作用以外に Δ_5 系経路の生成促進作用をもつことが示唆された。

12. 最近, 経験した尿路生殖器結核による無精子症の 2 例

岩本晃明・熊谷治巳

(大和市立病院・泌尿器)

広川 信・岩崎 皓

(藤沢市民病院・泌尿器)

松下和彦 (同上・中検病理)

朝倉茂夫 (朝倉泌尿器科医院)

近年生殖器結核に遭遇することはまれである。藤沢市民病院の不妊外来で診断された尿路生殖器結核による無精子症の 2 例について報告する。

症例 1 (25 歳) 不妊期間 4 年で来院。左副睪丸尾部に硬結を触れる。精液所見：水様, 量 2~2.4ml, 無精子で白血球を多数認める。無菌性膿尿から結核菌が証明され, 両腎・前立腺・副睪丸の結核と診断した。なお, 左精索静脈瘤をみとめる。

症例 2 (34 歳) 不妊期間 7 年で来院。精液所見：水様, 量 0.2~0.5ml, 無精子。精管造影は両側とも閉塞像を示した。IVP で右無機能腎とわかり, 腎摘により腎結核と判明した。前立腺結核, 結核性精管炎による無精子症と臨床的に考えられた。

これら 2 例の左右睪丸生検像について検討する予定である。

特別講演：卵巣のステロイド合成に関する最近の知見

玉置文一

(国立放射線医学総合研究所)

成熟した動物では, 性周期にしたがつて, 排卵前にはエストロゲンを分泌し, 排卵後にはプロゲステロンを主として分泌する。排卵前後において, 生理作用も異り, 化学的にも構造の違いをもつ二つのステロイド・ホルモンの生成を制御している生化学的メカニズムを研究した。未成熟メスラットに, PMSG を与えて, 同期的に排卵前の状態に卵巣を誘導し, また, hCG を追加投与することにより, 排卵直後の状態をもたらした。卵巣のステロイド生成に関与する酵素活性と, 同一動物の血清中のステロイド濃度を測定し, ステロイド合成能と, 分泌されているステロイドとの関係をしらべた。排卵後のアロマテース (エストロゲン生成酵素) 活性を除いて, すべての卵巣の酵素活性は, 血中の直接ステロイド生成物の含量と密接な関係を示した。

排卵後, 血中のエストラジオールの濃度は激減するにも拘らず, 卵巣のアロマテース活性自身は非常に高く, 排卵前の活性を遙かに超えていた。この矛盾を次のように説明し得た。「排卵後のエストラジオール分泌の減少は, その生成の減少にある。排卵後アロマテース活性は確かに高いが, 17α -水酸化酵素と C_{17} - C_{20} ライエース活性が激減し, その結果, エストロゲン生成の材料となるアンドロゲン (aromatizable androgen) が減少しており, これが主な原因である」。これを支持する次のようなデータが得られた。

排卵後のラットに, aromatizable androgen としてテストステロンを与えると, 卵巣中のエストラジオール含量は, 与えない場合に比較して, 著しく増加する。この増加効果は non-aromatizable androgen である 5α -ジヒドロテストステロン (DHT) の投与では, 全くみられなかった。他方, ヒトの月経周期の各時期における卵巣の最大卵胞または黄体の酵素活性をしらべたが, 本質的には上述のラットのモデル実験の結果と一致した。現在, 排卵後の 17α -水酸化酵素と C_{17} - C_{20} ライエース活性の低下現象の生化学的機構について研究中である。

投 稿 規 定

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

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

編集会議からのお知らせ

1. 超過頁は全文刷り上りで10頁をこえない範囲で認める。
2. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編とする。
3. 内容について著者にアドバイスすることもある。
4. 著者校正は原則として初校のみ1回とする。
5. 受付年月日を論文の末尾に掲載する。

日本不妊学会雑誌 27巻3号

昭和57年6月25日 印刷
昭和57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 市ヶ谷砂土原町1丁目1番 保 健 会 館 別 館 内 Tel (03) 267-4635 振替口座番号 東京 7-93207