

# 日本不妊学会雑誌

第 28 卷

第 1 号

昭和 58 年 1 月 1 日

## — 目 次 —

### 会 告 原 著

- 視床下部・下垂体・性腺系のホルモン動態からみた  
bromocriptine (CB-154) の作用について……………森 田 明 夫…11  
妊娠時における腓外分泌能（とくに悪阻を中心に）……………北 川 道 弘…11  
プロラクチンの卵巣レセプターに及ぼす影響について……………星 野 明 生・他…18  
Plasma Prolactin in Luteal Insufficiency and Treatment  
with Bromocriptine……………T. KANO・他…26  
高プロラクチン血症婦人の下垂体機能と CB-154 投与  
ならびに手術療法の治療成績……………平 塚 圭 祐・他…33  
短時間で測定可能な PROLACTIN RIA KIT II  
(DAINABOT) の検討ならびに臨床応用……………吉 田 裕・他…39  
Inhibitory Effect of Corpus Luteum on Follicular Growth  
and Induced Superovulation in Immature Rats……………M. FUKUDA・他…45  
Application of Real-Time Ultrasound for Evaluations  
of Sterile Women……………T. HATA・他…50  
頸管粘液中の同種凝集素の検出……………実 繁 幸 男・他…54  
基礎体温 (BBT) が高温一相性を示す不妊症例の内分泌学的検討……………山 下 三 郎・他…59  
卵管端々吻合術への細小血管吻合器の応用とその臨床成績……………高 野 昇・他…63  
最近の当教室における不妊外来統計……………寺 田 夏 樹・他…69  
高年不妊婦人の臨床的検討……………横 山 敬・他…76  
“原因不明不妊” 例についての retrospective な検討……………恩 田 博・他…84  
当科不妊外来における妊娠成功例の妊娠、分娩経過の検討……………森 下 一・他…89  
当教室における最近 5 年間の不妊症に関する統計的考察……………富 田 哲 夫・他…94  
われわれの行っている精液静置法 “layering method”  
による精液中からの良好精子の分離……………星 和 彦・他…101  
男子不妊症の外科的治療……………石 川 博 通・他…106  
無辜丸症の臨床的検討—興味ある小児例の経験—……………野々村克也・他…110  
ハムスター顆粒層細胞の黄体化に関する酵素組織化学的研究……………新 村 末 雄・他…118  
チャイニーズハムスター真性糖尿病母体環境の催奇性作用に  
関する未着床期および胎仔期の研究……………舟 木 賢 治・他…124  
過排卵処理家兎の胚または胎子の形態的観察……………富 樫 守・他…133  
地方部会講演抄録……………140  
お知らせ

## 会 告

### 第28回日本不妊学会総会および学術講演会 (第1回予告)

下記の如く第28回日本不妊学会総会ならびに学術講演会を開催いたしますので、多数の方々が御参加下さいますようお願い申し上げます。

記

期 日：昭和58年11月15日（火）役員会

11月16日（水）  
11月17日（木）

学術講演会

会 場：愛知県厚生年金会館（名古屋市千種区池下町）

詳細については次号を御参照下さい。

第28回日本不妊学会会長

三 矢 英 輔

連絡先：名古屋市昭和区鶴舞町 65（〒446）

名古屋大学医学部泌尿器科教室内

第28回日本不妊学会総会事務局

事務局長 下地敏雄

Tel. 052-833-1880



## 改革第1次案をめぐる討議—日本学術会議第84回（臨時）総会—

日本学術会議は、1982（昭和57）年2月19日、第84回（臨時）総会を開催した。学術会議改革委員会から提出された「日本学術会議の組織・運営の改革・改善について」（第1次案）をめぐる、終日、白熱した討議が展開され、同案に対する厳しい批判や有意義な提言がなされた。また、改革との関連で国際学術交流代表派遣基準（案）および地域学術交流の原則（申し合せ、案）についても審議が行われた。

「学術会議の改革は自主的に行われねばならず、各方面からも期待されている」との、伏見会長の冒頭挨拶の後、改革案に基づいて審議が進められた。改革案は、昨81年4月の第82回総会で設置をみた学術会議改革委員会（委員長・岡倉副会長）によつて策定されたものであるが、その背景には、中山前総理府総務長官からの本会議の改革を迫る強い要望や、本会議の速やかな自主的改革を求める報道機関の論調、そして会員の危機感等があった。その改革案（A5版31頁—「日本学術会議月報」2月号に全文掲載—）は、大きく3部から成り、第1部の総論は、改革を必要とする問題状況、改革の基本姿勢と前提、改革の基本的方向と改革・改善案を策定すべき事項、科学・技術行政機構全体の抜本的改革構想の模索等について言及している。第2部の各論では、科学者と学術会議との結びつきの強化策をはじめ、選挙制度及び内部組織の再編や、他の学術関係機関との関係改善について具体策が提示されている。最後の第3部は、改革・改善案の策定の段取りやその実現の方途を明らかにしている。

この改革案をめぐる、発言者は延べ50人に及んだ。総論・各論をとおして、その多数が基本的に賛意を表しながらも、他方では部分的批判や積極的提言を行い、さらに改革問題に関する政府・自民党の態度に危機感を表明した。

総論に関するおもな意見を挙げると—(1) 改革の基本的要素にアクセントをつけて、学術会議の任務が何であるかを科学者や国民に明示すべきである。政府の国益中心の一面的科学技術政策を、巨視的・全面的立場からは正してゆくことこそ、学術会議の使命だ。(2) 学術会議は学問の基礎的研究を軽視したことに対する自己批判を怠っており、科学者から遊離している最大の理由も実は、学術会議が批判的精神を失い、また学問の最先端で役に立っていないむきもある。(3) 学術会議の政府からの「独立性」について、改革案の姿勢が弱い。単にその

法的根拠を挙げるのみならず、学術会議創立の原点に立ち帰つて、独立性の基本的論理を明確にすべきである。

(4) 自民党・政府の学術会議に対する姿勢はきわめて厳しいものがあり、適確な情勢判断をもち、科学者の総力と国民の支持を得て対処する必要がある。外部の学識組職者をはじめ政府や政党等の関係者からも積極的な意見聴取を行うべきだ。

各論の「科学者との結びつきの強化」について—(1) 各常置・特別委員会等で検討している緊要な問題や総会での審議内容を、学協会誌等に掲載して一般科学者に周知させる必要がある。(2) 研究連絡委員会（研連）委員長を会員と同等に取扱い、総会に参加させてはどうか。研連委員は、男女バランスのとれたものにして欲しい。

(3) 有権者に大胆に依拠し、自発的拠金を求めたり、関係資料の有料配布を考えたかどうか。

さらに、同じ各論のなかの「選挙制度及び内部組織の再編」について—(1) 投票用紙の受取人不明による返送率を気にしたり、立候補者用葉書の使用を禁止しようとする姿勢は、官僚主義的、事大主義的で賛成しかねる。

(2) 地方区選挙制度の廃止には反対。有権者との結びつきという点で地方区制度は重要であり、しかもその地方区から選挙で選ばれたという実績は無視できないものがある。(2) 地方区選挙で無競争の場合でも、信任投票の意味で投票を行うべきだ。(3) 地方区運営費が少なすぎる。

こうした意見に対し、岡倉委員長や渡辺洋三幹事などから種々回答や説明があつたが、総会として改革案の賛否を決するまでには至らず、以上の審議状況と第1次案に関する全会員の意見書の提出、学協会等からの意見聴取等をふまえて第2次案を策定し、次の総会で審議を進めることになった。学術会議をとりまく厳しい状況を反映してか、終始、会場には格別の緊張感がみなぎっていた。出席率も、88.1%であつた。

なお、国際学術交流代表派遣基準（案）は、本会議の代表派遣が他の省庁のそれと性格上異なる点を明確にすることを骨子としたものであり、また、地域学術交流の原則（案）は、アジアなど特定地域の国際学術交流が5原則（平和への貢献、汎世界的等）に基づいて行われるべきことを主眼としたものである。いずれも、全体的に肯定的評価を受けたので、さらに学協会にも諮り、成案を得た後、次の総会に提案される予定である。

（日本学術会議広報委員会）



渡 辺 金 三 郎 氏

わた なべ きん ざぶ ろう  
故 渡 辺 金 三 郎 先 生 略 歴

|          |                      |
|----------|----------------------|
| 本 籍      | 名古屋市中区錦3丁目10番地       |
| 遺族現住所    | 名古屋市中区新栄1丁目13の26     |
| 生 年 月 日  | 明治40年5月20日名古屋市に生る    |
| 大正15年3月  | 愛知県立明倫中学校卒業          |
| 15年4月    | 名古屋医科大学予科入学          |
| 昭和4年4月   | 名古屋医科大学医学科入学         |
| 8年3月     | 名古屋医科大学医学科卒業         |
| 8年4月     | 名古屋医科大学副手            |
| 8年12月    | 短期現役陸軍二等軍医           |
| 10年4月    | 名古屋医科大学副手            |
| 10年8月より  | 昭和15年12月まで日支事変応召     |
| 16年2月    | 名古屋帝国大学医学部講師         |
| 16年7月より  | 同年11月まで大東亜戦争応召       |
| 16年11月   | 医学博士の学位を授与さる         |
| 16年12月   | 名古屋帝国大学附属医学専門部講師兼務   |
| 19年9月    | 名古屋帝国大学附属医学専門部教授     |
| 25年4月    | 名古屋大学医学部助教授          |
| 33年6月    | 名古屋市立大学医学部教授         |
| 37年4月    | 日本産科婦人科学会総会宿題報告      |
| 38年5月    | 名古屋市立大学医学部附属病院長に併任さる |
| 39年3月    | 日本産科婦人科学会総会特別講演      |
| 39年5月    | 中日文化賞受賞              |
| 42年12月   | 名古屋市立大学医学部長に併任さる     |
| 44年8月    | 日本産科婦人科学会連合専門部会会長    |
| 46年3月    | 名古屋市立大学退職（停年制）       |
| 46年4月    | 名古屋市立大学名誉教授          |
| 46年4月    | 日本産科婦人科学会名誉会員        |
| 46年12月   | 愛知医科大学教授             |
| 48年10月   | 日本不妊学会会長             |
| 53年3月    | 愛知医科大学退職（停年制）        |
| 53年3月    | 愛知医科大学名誉教授           |
| 53年5月    | 勲三等瑞宝章               |
| 53年11月   | 日本不妊学会名誉会員           |
| 57年7月18日 | 逝去、正四位に叙せられる         |

## 追悼の辞

八 神 喜 昭

名古屋市立大学名誉教授渡辺金三郎先生は昭和57年7月18日午後1時15分、肺腫瘍のため75歳の御生涯を終えられました。ここに謹んで先生の御霊前に哀悼の意を捧げます。

先生は昭和8年に名古屋医科大学を御卒業になり、名古屋大学助教授を経て昭和33年6月名古屋市立大学教授として昭和46年3月停年御退官にいたるまで13年間産婦人科学教室を主宰され、その後は引き続き愛知医科大学の教授として昭和53年3月御退職までの本当に長い期間医学教育のためにつくされて来ました。この間における先生の学問的業績は今更数え上げる迄もなく、多方面に亘り輝かしいものでありますが、特に不妊、不育症に関しては先生の生涯の研究テーマとされ、多く

の業績を残されました。

昭和31年に創立された日本不妊学会には、創設当時より評議員として参画され、昭和40年より理事として学会運営に努力してこられ、昭和48年には会長として第18回日本不妊学会総会を主宰されるなど、不妊学会の発展につくされました。

昭和55年の秋頃から御身体の不調を訴えられ病床につかれた後も、門下生の研究面の事から学会の動向など細かな点まで気をつかわれ、示唆に富んだ御話しを承っておりました。このように最後まで先生は医学教育に傾注されたことがしのばれ、心から畏敬の念を禁じえません。

ここにありし日の先生を偲び心より御冥福を御祈り申し上げます。

# Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 28, No. 1, 1983)

Japanese Society of Fertility and Sterility

## CONTENTS

|                                                                                                                                     |                                                                                                                                                    |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Action of Bromocriptine (CB-154) as Observed from Hypothalamus, Pituitary and Gonadal Hormone Dynamics .....                        | <i>A. Morita</i> ....                                                                                                                              | 1  |
| The External Secretion of Pancreas during Pregnancy (with special reference to hyperemesis gravidarum) .....                        | <i>M. Kitagawa</i> ....                                                                                                                            | 11 |
| Effects of Prolactin on Ovarian Receptors .....                                                                                     | <i>A. Hoshino, T. Hirohashi, T. Ishiguro, Y. Sato &amp; S. Takeuchi</i> ....                                                                       | 18 |
| Plasma Prolactin in Luteal Insufficiency and Treatment with Bromocriptine .....                                                     | <i>T. Kano, K. Nishikawa, T. Kanda, K. Miyazaki &amp; O. Sugimoto</i> ....                                                                         | 26 |
| Study on Pituitary Function of Women with Hyperprolactinemia and Outcome after Treatment with CB-154 and/or Adenoma Resection ..... | <i>K. Hiratsuka, F. Miyauchi, H. Toyoshima, K. Ueda, H. Tsutsui, H. Yamashita, T. Mano, O. Hirakawa, H. Kato, T. Torigoe &amp; T. Okamura</i> .... | 33 |
| Clinical Evaluation of the PROLACTIN RIA KIT II (Dainabot); A New Rapid Solid Phase Method for hPRL .....                           | <i>Y. Yoshida, T. Ohkawa, H. Okano, Y. Shiomi, H. Iwase, K. Arai &amp; S. Okinaga</i> ....                                                         | 39 |
| Inhibitory Effect of Corpus Luteum on Follicular Growth and Induced Superovulation in Immature Rats .....                           | <i>M. Fukuda, K. Katayama, D. Tsujimoto &amp; T. Akahori</i> ....                                                                                  | 45 |
| Application of Real-time Ultrasound for Evaluations of Sterile Women .....                                                          | <i>T. Hata, K. Kaneda, K. Sawada, K. Yamamoto, F. Murao &amp; M. Kitao</i> ....                                                                    | 50 |
| Detection of Isoagglutinins in Cervical Mucus .....                                                                                 | <i>Y. Saneshige, S. Okamoto, C. Fukuda &amp; M. Sawahara</i> ....                                                                                  | 54 |
| Endocrinological Profile in the Patients Showing "High Monophasic" Basal Body Temperature .....                                     | <i>S. Yamashita, T. Ito, H. Nomiya &amp; T. Kuramoto</i> ....                                                                                      | 59 |
| Application of a Suture Apparatus for Small Blood Vessel to End-to-End Anastomosis of the Tube and its Clinical Results .....       | <i>N. Takano, K. Koh, I. Maekawa, K. Higaki &amp; H. Takamizawa</i> ....                                                                           | 63 |
| Statistical Studies on the Infertile Women in Our Clinic .....                                                                      | <i>N. Terada, I. Maekawa, M. Naitoh, T. Kobori &amp; H. Takamizawa</i> ....                                                                        | 69 |
| Clinical Study of Aging Infertile Women .....                                                                                       | <i>K. Yokoyama, K. Kusuhara, K. Matsumoto, I. Yasue, E. Kimura &amp; S. Hachiya</i> ....                                                           | 76 |

|                                                                                                                                               |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| A Retrospective Study in the Cases of "Functional Sterility" .....                                                                            |     |
| ..... <i>H. Onda, N. Takano, H. Sako, S. Tomoda,</i>                                                                                          |     |
| <i>B. Tanaka, K. Hamada &amp; T. Sugarwa</i> ....                                                                                             | 84  |
| Outcome of Pregnancy and Delivery in Infertile Women with Established Pregnancies after Treatment .....                                       |     |
| <i>H. Morishita, T. Mori &amp; H. Shimakawa</i> ....                                                                                          | 89  |
| Evaluation of Etiologic Factors and Treatment on the Infertile Patients during Past 5 years .....                                             |     |
| <i>T. Tomita, S. Kuwabara,</i>                                                                                                                |     |
| <i>K. Sugiura, T. Ishima &amp; K. Matsui</i> ....                                                                                             | 94  |
| A "Layering Method" to Separate a Population of Good Spermatozoa from Semen Sample .....                                                      |     |
| <i>K. Hoshi, F. Nagaike, K. Momono, K. Kyono,</i>                                                                                             |     |
| <i>A. Tsuiki, A. Saito, M. Suzuki, K. Hayashi &amp; R. Yanagimachi</i> ....                                                                   | 101 |
| Operative Treatment for Male Infertility .....                                                                                                |     |
| <i>H. Ishikawa, S. Nemoto,</i>                                                                                                                |     |
| <i>A. Aikawa, M. Shinoda, K. Nagakura, M. Nakazono &amp; H. Tazaki</i> ....                                                                   | 106 |
| Clinical Studies of Congenital Anorchia—A report of three interesting prepubertal cases — .....                                               |     |
| <i>K. Nonomura, S. Nagamori, K. Sasaki, T. Hirano,</i>                                                                                        |     |
| <i>T. Koyanagi, K. Fujieda, N. Matsuura &amp; K. Motomura</i> ....                                                                            | 110 |
| Enzyme-histochemical Studies on Luteinization of Hamster Granulosa Cells .....                                                                |     |
| ..... <i>S. Niimura &amp; K. Ishida</i> ....                                                                                                  | 118 |
| A Study on Teratogenic Effects of Maternal Diabetes during Pre- and Postimplantation Stages in a Diabetic Strain of the Chinese Hamster ..... |     |
| ..... <i>K. Funaki &amp; K. Mikamo</i> ....                                                                                                   | 124 |
| Morphological Observation of Embryos or Fetuses in Superovulated Rabbits .....                                                                |     |
| ..... <i>M. Togashi &amp; Y. Ishijima</i> ....                                                                                                | 133 |

## 視床下部・下垂体・性腺系のホルモン動態からみた bromocriptine (CB-154) の作用について

Action of Bromocriptine (CB-154) as Observed from  
Hypothalamus, Pituitary and Gonadal Hormone Dynamics

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 森 一郎教授)

森 田 明 夫

Akio MORITA

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

最近, bromocriptine (CB-154) が正 PRL 血性無排卵症に有効なことがあるという報告があるが, その機転については明らかでない. これを検討するため正 PRL 血性無排卵症婦人, 偽妊娠療法中の婦人, 正常婦人に CB-154 を投与し, その前後の血清 LH-RH, LH, FSH, PRL, E<sub>2</sub>, P, T 各値を測定するとともに, LH-RH および TRH テストを行つた. その結果は, 正 PRL 血性無排卵症婦人では, LH-RH テストによる LH 反応の亢進傾向, PRL および TRH テストによる PRL 反応の低下がみられたが, LH-RH 値その他は不変であつた. 偽妊娠療法中の婦人や正常婦人では, LH-RH テストによる LH 反応の不変を除き他は正 PRL 血性無排卵症婦人とほぼ同様な傾向を示した. したがつて, CB-154 による排卵効果は, LH-RH, ギナドトロピン, 性腺系のホルモンの分泌改善とは考えられず, LH-RH に対する LH 反応性の改善, および PRL 分泌抑制と関係する機転ではないかと思われた.

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 1-10, 1983)

### 緒 言

最近 bromocriptine (CB-154) がいわゆる正プロラクチン (PRL) 血性無排卵症に有効であるとの報告が Seppälä ら<sup>1)</sup> をはじめ数多くあるが, その作用機転については明らかでない. そこで著者は CB-154 投与前後の血清 LH-RH, LH, FSH, PRL, estradiol (E<sub>2</sub>), progesterone (P), testosterone (T) を測定するとともに, LH-RH テストおよび TRH テストを行い, この点について検討してみた.

### 対象および方法

対象は, 標準体重域にある無月経患者のうち, 卵管通過性があり, また多のう胞性卵巣と思われるものを除外した正 PRL 血性無排卵症症例で, clomiphene を投与し無効であつたもの7例 (第1度無月経1例, 第2度無

月経6例)のうち, CB-154 で排卵に成功した5例 (第1度無月経1例, 第2度無月経4例)をA群として観察した. この際の排卵の有無については, 常識的に基礎体温 (BBT), 月経様出血によつたほか, 一部の症例では血清P値も参考にした. 次に, 正常排卵周期をもつ子宮内膜症症例で偽妊娠療法中 (Sophia C による漸増投与法)のもの, つまり, 視床下部・下垂体・性腺系の機能は元来正常で, その機能を抑制した状態のもの6例をB群とし, さらにB群の状態に CB-154 を併用した4例をC群として検討した. なお, CB-154 投与については, 正常婦人3例をD群として, その前後も観察した.

A群の CB-154 の投与方法は, clomiphene 投与を中止したのち, clomiphene の影響を考え, 2カ月間おいて, CB-154 を1日2.5mg, 2週間投与し (排卵2例), 排卵の認められないものには, さらに2週間投与を続けた (排卵3例). C群では, 偽妊娠療法の14週目から

CB-154 を 1 日 2.5mg, 2 週間併用し, D 群では, 月経周期の 5 日目から CB-154 を 1 日 2.5mg, 次回月経周期の 5~10 日目までの約 4 週間投与した。

採血は, A 群では, CB-154 の投与前と排卵を認めたのちの低温相期 (月経周期の 5~10 日目にあたる) に, B, C 群では, 偽妊娠療法前および CB-154 の投与前 (偽妊娠療法の 14 週目) と 2 週間の CB-154 の投与後 (偽妊娠療法の 16 週目) に, D 群では, CB-154 の投与前 (月経周期の 5 日目) と投与後の低温相期 (次回月経周期の 5~10 日目) に, それぞれ午前 9~10 時頃, 肘静脈から行った。LH-RH テストでは, 合成 LH-RH 100  $\mu$ g を静注し, 注射前, 注射後は 15, 30, 60 各分毎に, TRH テストでは, 合成 TRH 500  $\mu$ g を静注し, LH-RH テストと同様の時間おきに採血した。

LH, FSH, PRL,  $E_2$ , P, T は, 「ミドリ十字」のキットで, LH-RH は, 林<sup>2)</sup>による橋村法で測定した。

なお, 結果の評価については, 主として, Welch の検定によつたが一部 T 検定 (表の 0 で囲んだもの) も用いた。

## 結 果

### 1. LH-RH

薬物投与前の各群の LH-RH 値を比べてみると, 表 1 のように,  $A < B \approx C \approx D$  (いずれも傾向) の各群間の関係がみられ, A 群では, LH-RH 値は正常値下限であつた。次に薬物療法の影響をみると, A 群では, CB-154 投与後は投与前に比べ, 差はなく, B 群では, 偽妊娠療法前に比べ, 本療法中の 14, 16 週目では, いずれも低下 (ともに  $P < 0.02$ ) がみられた。C 群では, 偽妊娠療法前, CB-154 投与前 (B 群の 14 週目にあたり低値) 後の各時期で B 群とほぼ同様なパターンを示した。D 群

では, CB-154 投与後は投与前に比べ, 差がなかつた。

すなわち, 子宮内膜症に対する偽妊娠療法では, LH-RH の低下がみられ, CB-154 投与では, これを与えた A, C, D 群いずれでも変化はみとめられなかつた。

### 2. LH, FSH, PRL

薬物投与前の各群の LH, FSH, PRL 値を比べてみると, 表 2 のように, LH については,  $A < B$  ( $P < 0.05$ ),  $D$  ( $P < 0.02$ ),  $A < C$  (傾向), FSH については,  $A < B$  ( $P < 0.01$ ),  $D$  ( $P < 0.025$ ),  $A < C$  (傾向), PRL については,  $A \approx B \approx C \approx D$  の各群間の関係がみられ, A 群では, LH, FSH は低値, PRL は正常範囲であつた。次に, 薬物療法の影響をみると, A 群では, CB-154 投与後は投与前に比べ, LH, FSH はいずれもほとんど差がなかつたが, PRL では, 低下がみられた。B 群では, 偽妊娠療法前に比べ本療法中の 14, 16 週目で LH (それぞれ  $P < 0.04$ ,  $P < 0.02$ ), FSH (ともに  $P < 0.02$ ) はいずれも低下がみられ, PRL (それぞれ  $P < 0.01$ ,  $P < 0.04$ ) は増加していた。C 群では, CB-154 投与前までは同時期の B 群とほぼ同様であつたが, 投与後は LH および FSH はほとんど差がなく, PRL は低下 ( $P < 0.05$ ) した。D 群では, CB-154 投与後は投与前に比べ, LH, FSH はほとんど差はなかつたが, PRL は低下の傾向を示した。

すなわち, 子宮内膜症に対する偽妊娠療法では, LH および FSH の低下, PRL の増加がみられ, CB-154 投与では, これを与えた A, C, D 群いずれでも LH, FSH は不変であつたが, PRL は低下もしくはその傾向がみとめられた。

### 3. $E_2$ , P, T

薬物投与前の各群の  $E_2$ , P, T 値を比べてみると, 表 3 のように,  $E_2$  については,  $A < B$  ( $P < 0.05$ ),  $C$  ( $P <$

Table 1 Plasma LH-RH concentrations in each group

| Group | No. | Before PPT*1      | Before CB*2<br>(PPT 14 weeks) | After CB<br>(PPT 16 weeks) |
|-------|-----|-------------------|-------------------------------|----------------------------|
| A     | 5   |                   | 4.53 $\pm$ 1.25               | 4.56 $\pm$ 0.93            |
| B     | 6   | 5.92 $\pm$ 1.30*1 | 3.63 $\pm$ 0.48               | 3.44 $\pm$ 0.21            |
| C     | 4   | 5.37 $\pm$ 0.39*1 | 4.30 $\pm$ 0.09               | 4.30 $\pm$ 0.14            |
| D     | 3   |                   | 5.57 $\pm$ 0.60               | 5.24 $\pm$ 0.48            |

(pg/ml) \*1 PPT: pseudopregnancy therapy \*2 CB: bromocriptine medication

A: anovulatory women with normoprolactinemia

B: pseudopregnancy therapy in women with endometriosis

C: pseudopregnancy therapy and bromocriptine medication in women with endometriosis

D: normal women

\*1  $p < 0.02$  compared to PPT 14 and 16 weeks

\*1  $p < 0.02$  compared to before and after CB



Table 2 Plasma LH, FSH and PRL basal concentrations in each group

| Group | No. |     | Before PPT                               | Before CB<br>(PPT 14 weeks) | After CB<br>(PPT 16 weeks) |
|-------|-----|-----|------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| A     | 5   | LH  |                                          | 1.25±0.60                   | 0.93±0.38                  |
|       |     | FSH |                                          | 0.69±0.28                   | 1.05±0.55                  |
|       |     | PRL |                                          | 3.67±1.72* <sup>#1</sup>    | 0.84±0.36                  |
| B     | 6   | LH  | 3.21±1.47* <sup>#1</sup> * <sup>#2</sup> | 0.95±0.48                   | 0.65±0.25                  |
|       |     | FSH | 1.72±0.46* <sup>#3</sup>                 | 0.38±0.15                   | 0.33±0.11                  |
|       |     | PRL | 3.80±1.24* <sup>#4</sup> * <sup>#5</sup> | 13.73±4.09                  | 18.90±10.09                |
| C     | 4   | LH  | 4.15±1.58* <sup>#2</sup>                 | 0.43±0.03                   | 0.28±0.13                  |
|       |     | FSH | 2.23±0.94* <sup>#1</sup> * <sup>#3</sup> | 0.32±0.14                   | 0.25±0.11                  |
|       |     | PRL | 4.78±1.71* <sup>#4</sup>                 | 14.41±4.95* <sup>#1</sup>   | 3.60±0.71                  |
| D     | 3   | LH  |                                          | 3.67±1.19                   | 2.90±1.27                  |
|       |     | FSH |                                          | 1.47±0.34                   | 1.52±0.30                  |
|       |     | PRL |                                          | 4.94±1.74                   | 2.10±0.86                  |

(ng/ml) \*<sup>1</sup> p<0.05 compared to after CB\*<sup>2</sup> p<0.04 compared to before and after CB\*<sup>3</sup> p<0.05 compared to before CB\*<sup>4</sup> p<0.04 compared to before CB#<sup>1</sup> p<0.04 compared to PPT 14 weeks#<sup>2</sup> p<0.02 compared to PPT 16 weeks#<sup>3</sup> p<0.002 compared to PPT 14 and 16 weeks#<sup>4</sup> p<0.01 compared to PPT 14 weeks#<sup>5</sup> p<0.04 compared to PPT 16 weeksTable 3 Plasma estradiol (E<sub>2</sub>), progesterone (P) and testosterone (T) concentrations in each group

| Group | No. |                | Before PPT                 | Before CB<br>(PPT 14 weeks) | After CB<br>(PPT 16 weeks) |
|-------|-----|----------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| A     | 5   | E <sub>2</sub> |                            | 28.00± 6.58                 | 22.07± 4.42                |
|       |     | P              |                            | 15.79± 3.98                 | 14.56± 3.38                |
|       |     | T              |                            | 35.60±15.02                 | 37.72±11.56                |
| B     | 6   | E <sub>2</sub> | 53.89±11.87* <sup>#1</sup> | 7.25± 1.24                  | 6.88± 1.51                 |
|       |     | P              | 43.72± 6.94* <sup>#1</sup> | 3.93± 0.83                  | 3.76± 0.80                 |
|       |     | T              | 34.92± 8.01                | 34.83± 6.21                 | 32.25± 5.67                |
| C     | 4   | E <sub>2</sub> | 51.62± 8.08* <sup>#1</sup> | 6.16± 0.38                  | 6.67± 1.02                 |
|       |     | P              | 41.25± 6.70* <sup>#1</sup> | 4.45± 0.84                  | 4.28± 0.87                 |
|       |     | T              | 35.80± 6.96                | 32.01± 5.98                 | 31.83± 8.28                |
| D     | 3   | E <sub>2</sub> |                            | 56.79±21.79                 | 51.36±23.63                |
|       |     | P              |                            | 43.30± 5.47                 | 32.09± 7.64                |
|       |     | T              |                            | 35.77± 3.92                 | 35.23± 9.74                |

E<sub>2</sub> (pg/ml), P · T (ng/dl)#<sup>1</sup> p<0.002 compared to PPT 14 and 16 weeks\*<sup>1</sup> p<0.002 compared to before and after CB

0.05), A<D (傾向), P については, A<B≡C≡D (いずれも P<0.02), T については, A≡B≡C≡D の各群間の関係がみられ, A 群では, E<sub>2</sub> および P はいずれも正常値以下で, T は正常範囲であった. 次に, 薬物

療法の影響をみると, A 群では CB-154 投与後は投与前に比べ, E<sub>2</sub>, P, T はいずれもほとんど差がなく, B 群では, 偽妊娠療法前に比べ本療法中の 14, 16 週で, E<sub>2</sub> (ともに P<0.002), P (ともに (P<0.002) はいずれ

Table 4 Plasma LH and FSH concentrations following intravenous administration of 100  $\mu$ g synthetic LH-RH in each group

| Group | No. |              |                      |     | Basal           | 15 min.          | 30 min.           | 60 min.           |
|-------|-----|--------------|----------------------|-----|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|
| A     | 5   | Before       | CB                   | LH  | 1.25 $\pm$ 0.60 | 3.36 $\pm$ 3.22  | 5.33 $\pm$ 4.55   | 4.23 $\pm$ 4.36   |
|       |     |              |                      | FSH | 0.69 $\pm$ 0.28 | 1.58 $\pm$ 1.03  | 2.73 $\pm$ 1.48   | 2.07 $\pm$ 1.25   |
|       |     | After        | CB                   | LH  | 0.93 $\pm$ 0.38 | 7.28 $\pm$ 3.71  | 9.42 $\pm$ 3.54   | 8.54 $\pm$ 4.00   |
|       |     |              |                      | FSH | 1.05 $\pm$ 0.55 | 2.28 $\pm$ 1.06  | 3.21 $\pm$ 1.46   | 2.80 $\pm$ 1.38   |
| B     | 6   | Before       | PPT                  | LH  | 3.21 $\pm$ 1.47 | 11.85 $\pm$ 5.89 | 18.60 $\pm$ 11.00 | 14.25 $\pm$ 10.34 |
|       |     |              |                      | FSH | 1.72 $\pm$ 0.46 | 3.47 $\pm$ 1.56  | 5.18 $\pm$ 2.40   | 4.47 $\pm$ 1.92   |
|       |     | PPT 14 weeks |                      | LH  | 0.95 $\pm$ 0.48 | 2.65 $\pm$ 1.72  | 3.27 $\pm$ 2.18   | 1.80 $\pm$ 1.33   |
|       |     |              |                      | FSH | 0.38 $\pm$ 0.15 | 0.61 $\pm$ 0.23  | 0.71 $\pm$ 0.31   | 0.53 $\pm$ 0.31   |
|       |     | PPT 16 weeks |                      | LH  | 0.62 $\pm$ 0.23 | 1.24 $\pm$ 0.50  | 1.35 $\pm$ 0.50   | 0.95 $\pm$ 0.32   |
|       |     |              |                      | FSH | 0.33 $\pm$ 0.11 | 0.40 $\pm$ 0.14  | 0.44 $\pm$ 0.16   | 0.40 $\pm$ 0.14   |
| C     | 4   | Before       | PPT                  | LH  | 4.15 $\pm$ 1.58 | 9.25 $\pm$ 4.80  | 15.00 $\pm$ 8.39  | 13.00 $\pm$ 7.15  |
|       |     |              |                      | FSH | 2.23 $\pm$ 0.94 | 3.05 $\pm$ 1.27  | 5.30 $\pm$ 1.84   | 4.18 $\pm$ 1.72   |
|       |     | Before       | CB<br>(PPT 14 weeks) | LH  | 0.43 $\pm$ 0.03 | 0.70 $\pm$ 0.25  | 0.80 $\pm$ 0.40   | 0.63 $\pm$ 0.17   |
|       |     |              |                      | FSH | 0.32 $\pm$ 0.14 | 0.39 $\pm$ 0.07  | 0.41 $\pm$ 0.09   | 0.39 $\pm$ 0.07   |
|       |     | After        | CB<br>(PPT 16 weeks) | LH  | 0.28 $\pm$ 0.13 | 0.43 $\pm$ 0.25  | 0.55 $\pm$ 0.45   | 0.43 $\pm$ 0.25   |
|       |     |              |                      | FSH | 0.25 $\pm$ 0.11 | 0.35 $\pm$ 0.18  | 0.35 $\pm$ 0.18   | 0.35 $\pm$ 0.18   |
| D     | 3   | Before       | CB                   | LH  | 3.67 $\pm$ 1.19 | 5.38 $\pm$ 1.50  | 18.73 $\pm$ 0.38  | 18.07 $\pm$ 0.82  |
|       |     |              |                      | FSH | 1.47 $\pm$ 0.34 | 3.07 $\pm$ 0.63  | 4.57 $\pm$ 1.18   | 3.00 $\pm$ 1.65   |
|       |     | After        | CB                   | LH  | 2.90 $\pm$ 1.27 | 4.03 $\pm$ 0.61  | 15.80 $\pm$ 1.30  | 15.03 $\pm$ 0.24  |
|       |     |              |                      | FSH | 1.52 $\pm$ 0.30 | 2.52 $\pm$ 0.27  | 3.38 $\pm$ 0.86   | 3.20 $\pm$ 0.49   |

(ng/ml)

も低下がみられたが、Tは各時期で差はなかった。C群では、E<sub>2</sub>, P, Tは偽妊娠療法前、CB-154投与前後の各時期でB群とほぼ同様なパターンを示した。D群では、CB-154投与後は投与前に比べ、E<sub>2</sub>, P, Tはいずれもほとんど差はなかった。

すなわち、子宮内膜症に対する偽妊娠療法では、E<sub>2</sub>およびPは低下がみられ、CB-154投与では、これを与えたA, C, D群いずれでもE<sub>2</sub>, Pは不変であった。なお、Tは各群の各時期で不変であった。

#### 4. LH-RH テスト

A, B, C, D群の各時期のLH-RHテストによるLH, FSHの反応平均値を示したものが表4である。ピークは、C群のCB-154投与後で15分であった以外はすべて30分でこれがみられた。

薬物投与前の各群のLH, FSHのピーク値、最大実質増加値、最大増加率を比べてみると、表5のように、LHのピーク値については、A<B (P<0.05), D (P<0.005), A<C (傾向)、最大実質増加値については、A<B, C, D (いずれも傾向)、最大増加率についてはA $\approx$ B $\approx$ C $\approx$ Dの各群間の関係がみられた。FSHのピーク値、最大実質増加値については、ともにA<B $\approx$ C $\approx$

D (いずれも傾向)、最大増加率についてはA $\approx$ B $\approx$ C $\approx$ Dの各群間の関係がみられ、A群では、LH-RHテストによるLHおよびFSHの反応の低下がみとめられた。次に、薬物療法の影響をみると、A群では、CB-154投与後は投与前に比べ、LHのピーク値、最大実質増加値は傾向として、最大増加率 (P<0.005) は明らかにいずれも増加がみられたが、FSHのピーク値、最大実質増加値、最大増加率はCB-154投与前後でいずれも差がみられなかった。B群では、偽妊娠療法前に比べ本療法中の14, 16週目いずれでもLHのピーク値 (それぞれP<0.05, P<0.04)、最大実質増加値 (それぞれ傾向, P<0.04)、最大増加率 (それぞれ傾向, P<0.01) は低値もしくはその傾向がみられ、FSHのピーク値 (それぞれP<0.02, P<0.01)、最大実質増加値 (それぞれ傾向, P<0.05)、最大増加率 (ともに傾向) もLHとほぼ同様なパターンを示した。C群では、偽妊娠療法前に比べCB-154投与前・後でLHのピーク値、最大実質増加値、最大増加率はいずれも低い傾向を示し、FSHのピーク値 (それぞれP<0.04, P<0.02)、最大実質増加値 (ともに傾向)、最大増加率 (ともに傾向) は低値もしくはその傾向がみられ、B群とほぼ同様なパターンを

Table 5 Plasma LH and FSH values response to LH-RH in each group

| Group | No. |                             | Basal         |               | Reponse to LH-RH                |                                |                              |                             |                             |               |
|-------|-----|-----------------------------|---------------|---------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|
|       |     |                             |               |               | Max. increase                   |                                | Max. net increase            |                             | Max. fold increase          |               |
|       |     |                             | LH            | FSH           | LH                              | FSH                            | LH                           | FSH                         | LH                          | FSH           |
| A     | 5   | Before CB                   | 1.25<br>±0.60 | 0.69<br>±0.28 | 5.33<br>±4.55                   | 2.77<br>±1.19                  | 4.08<br>±4.49                | 2.01<br>±1.41               | 4.55<br>±3.83 <sup>①</sup>  | 4.17<br>±2.39 |
|       |     | After CB                    | 0.93<br>±0.38 | 1.05<br>±0.55 | 9.52<br>±3.57                   | 3.21<br>±2.43                  | 8.59<br>±3.39                | 2.16<br>±1.18               | 11.51<br>±4.50              | 3.44<br>±1.55 |
| B     | 6   | Before PPT                  | 3.21<br>±1.47 | 1.72<br>±0.46 | 18.60<br>±11.00 <sup>#1#2</sup> | 5.21<br>±2.38 <sup>#3 #4</sup> | 15.39<br>±9.73 <sup>#2</sup> | 3.49<br>±2.53 <sup>#5</sup> | 5.64<br>±1.47 <sup>#4</sup> | 3.34<br>±1.94 |
|       |     | PPT 14 weeks                | 0.95<br>±0.48 | 0.38<br>±0.15 | 3.27<br>±2.18                   | 0.71<br>±0.31                  | 2.32<br>±1.92                | 0.33<br>±0.21               | 3.61<br>±1.99               | 2.05<br>±0.73 |
|       |     | PPT 16 weeks                | 0.65<br>±0.25 | 0.33<br>±0.11 | 1.35<br>±0.50                   | 0.44<br>±0.16                  | 0.74<br>±0.34                | 0.10<br>±0.11               | 2.24<br>±0.62               | 1.31<br>±0.38 |
| C     | 4   | Before PPT                  | 4.03<br>±0.03 | 2.23<br>±0.94 | 14.90<br>±8.22                  | 5.30<br>±1.84 <sup>*2*3</sup>  | 10.88<br>±8.17               | 3.08<br>±1.57               | 3.96<br>±1.91               | 2.69<br>±1.38 |
|       |     | Before CB<br>(PPT 14 weeks) | 0.43<br>±0.03 | 0.32<br>±0.14 | 0.86<br>±0.40                   | 0.41<br>±0.09                  | 0.43<br>±0.39                | 0.09<br>±0.12               | 2.00<br>±0.91               | 1.79<br>±1.28 |
|       |     | After CB<br>(PPT 16 weeks)  | 0.28<br>±0.13 | 0.25<br>±0.11 | 0.43<br>±0.25                   | 0.35<br>±0.18                  | 0.15<br>±0.26                | 0.10<br>±0.17               | 1.75<br>±1.30               | 1.50<br>±0.87 |
| D     | 3   | Before CB                   | 3.67<br>±1.19 | 1.47<br>±0.34 | 19.00<br>±0.00                  | 5.03<br>±1.61                  | 12.00<br>±3.54               | 3.57<br>±1.62               | 6.11<br>±2.39               | 3.16<br>±0.96 |
|       |     | After CB                    | 2.90<br>±1.27 | 1.52<br>±0.30 | 16.00<br>±1.13                  | 3.55<br>±0.76                  | 13.23<br>±0.05               | 2.03<br>±1.06               | 6.31<br>±1.82               | 2.57<br>±1.15 |

(ng/ml) ①: T-test \*, #: Welch's

① p&lt;0.05 compared to after CB

\*2 p&lt;0.04 compared to before CB

\*3 p&lt;0.02 compared to after CB

#1 p&lt;0.05 compared to PPT 14 weeks

#2 p&lt;0.04 compared to PPT 16 weeks

#3 p&lt;0.02 compared to PPT 14 weeks

#4 p&lt;0.01 compared to PPT 16 weeks

#5 p&lt;0.05 compared to PPT 16 weeks

示した。D群では、CB-154 投与後は投与前に比べ、LH、FSH ともにピーク値、最大実質増加値、最大増加率はいずれも差がなかった。

すなわち、子宮内膜症に対する偽妊娠療法では、LH-RH テストによる LH、FSH の反応の低下がみられ、CB-154 投与では、A群で LH の反応は亢進の傾向、FSH の反応は不変であった。C、D 群では、LH および FSH の反応はともにいずれも不変であった。

##### 5. TRH テスト

A、B、C、D 群の各時期の TRH テストによる PRL の反応平均値を示したものが表 6 である。ピークは、A 群の CB-154 投与前で 15 分であった以外はすべて 30 分でこれがみられた。

薬物投与前の各群の PRL のピーク値、最大実質増加値、最大増加率を比べてみると、表 7 のように、いずれも A=B=C=D の各群間の関係がみられ、各群とも正常範囲であった。次に、薬物療法の影響をみると、A 群では、CB-154 投与後は投与前に比べ、ピーク値、最大

実質増加値（ともに P<0.005）は明らかに、最大増加率は傾向としていずれも低下がみられた。B 群では、偽妊娠療法前に比べ本療法中の 14、16 週目いずれでもピーク値（それぞれ傾向、P<0.002）、最大実質増加値（それぞれ傾向、P<0.002）は増加もしくはその傾向がみられたが、最大増加率（それぞれ P<0.04、P<0.05）は低下した。C 群では、CB-154 投与後は投与前に比べ、ピーク値、最大実質増加値は低下の傾向がみられたが、最大増加率はほとんど差がなかった。D 群では、CB-154 投与後は投与前に比べ、ピーク値、最大実質増加値（ともに P<0.04）は明らかに、最大増加率は傾向としていずれも低下がみられた。

すなわち、子宮内膜症に対する偽妊娠療法では、TRH テストによる PRL の反応の亢進がみられ、CB-154 投与では、これを与えた A、C、D 群いずれでも PRL の反応の低下もしくはその傾向がみられた。

Table 6 Plasma PRL concentrations following intravenous administration of 500  $\mu$ g synthetic TRH in each group

| Group | No. |                          | Basal             | 15 min.           | 30 min.           | 60 min.           |
|-------|-----|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| A     | 5   | Before CB                | 3.67 $\pm$ 1.72   | 43.58 $\pm$ 15.34 | 38.07 $\pm$ 12.32 | 25.10 $\pm$ 11.93 |
|       |     | After CB                 | 0.84 $\pm$ 0.36   | 3.60 $\pm$ 1.75   | 3.68 $\pm$ 1.85   | 2.62 $\pm$ 1.28   |
| B     | 6   | Before PPT               | 3.80 $\pm$ 1.24   | 40.65 $\pm$ 15.65 | 42.38 $\pm$ 16.95 | 19.34 $\pm$ 7.37  |
|       |     | PPT 14 weeks             | 13.73 $\pm$ 4.09  | 61.48 $\pm$ 20.68 | 67.83 $\pm$ 24.36 | 39.14 $\pm$ 23.30 |
|       |     | PPT 16 weeks             | 18.90 $\pm$ 10.91 | 76.53 $\pm$ 18.08 | 88.80 $\pm$ 13.70 | 49.90 $\pm$ 23.97 |
| C     | 4   | Before PPT               | 4.78 $\pm$ 1.71   | 20.75 $\pm$ 11.73 | 43.79 $\pm$ 13.69 | 17.26 $\pm$ 10.94 |
|       |     | Before CB (PPT 14 weeks) | 14.41 $\pm$ 4.95  | 54.13 $\pm$ 30.35 | 68.73 $\pm$ 36.25 | 34.85 $\pm$ 11.69 |
|       |     | After CB (PPT 16 weeks)  | 3.60 $\pm$ 0.71   | 14.90 $\pm$ 10.80 | 15.73 $\pm$ 10.23 | 9.95 $\pm$ 4.71   |
| D     | 3   | Before CB                | 4.97 $\pm$ 1.74   | 21.87 $\pm$ 7.31  | 42.57 $\pm$ 10.21 | 19.30 $\pm$ 8.42  |
|       |     | After CB                 | 2.10 $\pm$ 0.86   | 8.90 $\pm$ 1.63   | 10.73 $\pm$ 3.19  | 6.00 $\pm$ 1.93   |

(ng/ml)

Table 7 Plasma PRL values response to TRH in each group

| Group | No. |                          | Basal             | Response to TRH                 |                                 |                                               |
|-------|-----|--------------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|
|       |     |                          |                   | Max. increase                   | Max. net increase               | Max. fold increase                            |
| A     | 5   | Before CB                | 3.67 $\pm$ 1.72   | 42.62 $\pm$ 12.26* <sup>1</sup> | 37.95 $\pm$ 10.88* <sup>1</sup> | 10.21 $\pm$ 3.45                              |
|       |     | After CB                 | 0.84 $\pm$ 0.36   | 3.98 $\pm$ 1.91                 | 3.14 $\pm$ 1.59                 | 4.79 $\pm$ 1.48                               |
| B     | 6   | Before PPT               | 3.80 $\pm$ 1.24   | 43.32 $\pm$ 16.33* <sup>1</sup> | 39.51 $\pm$ 15.94* <sup>2</sup> | 11.79 $\pm$ 4.29* <sup>3</sup> Ⓢ <sup>4</sup> |
|       |     | PPT 14 weeks             | 13.73 $\pm$ 4.09  | 69.70 $\pm$ 23.63               | 55.97 $\pm$ 21.52               | 5.35 $\pm$ 1.51                               |
|       |     | PPT 16 weeks             | 18.90 $\pm$ 10.91 | 90.88 $\pm$ 14.28               | 71.99 $\pm$ 11.24               | 6.37 $\pm$ 3.20                               |
| C     | 4   | Before PPT               | 4.78 $\pm$ 1.71   | 42.45 $\pm$ 13.69* <sup>2</sup> | 36.67 $\pm$ 13.54* <sup>2</sup> | 10.65 $\pm$ 3.69                              |
|       |     | Before CB (PPT 14 weeks) | 14.41 $\pm$ 4.95  | 68.73 $\pm$ 36.25               | 54.32 $\pm$ 35.60               | 5.01 $\pm$ 2.97                               |
|       |     | After CB (PPT 16 weeks)  | 3.60 $\pm$ 0.71   | 15.73 $\pm$ 10.23               | 12.13 $\pm$ 10.45               | 4.77 $\pm$ 3.14                               |
| D     | 3   | Before CB                | 4.97 $\pm$ 1.74   | 42.57 $\pm$ 10.21* <sup>3</sup> | 37.60 $\pm$ 8.60* <sup>3</sup>  | 9.89 $\pm$ 1.22                               |
|       |     | After CB                 | 2.10 $\pm$ 0.86   | 11.27 $\pm$ 2.78                | 9.17 $\pm$ 1.97                 | 5.95 $\pm$ 1.06                               |

(ng/ml) \*1 p&lt;0.005 compared to after CB

Ⓢ<sup>2</sup> p<0.05 compared to after CB

\*3 p&lt;0.04 compared to after CB

#1 p&lt;0.002 compared to PPT 16 weeks

#2 p&lt;0.01 compared to PPT 16 weeks

#3 p&lt;0.04 compared to PPT 14 weeks

Ⓢ<sup>4</sup> p<0.05 compared to PPT 16 weeks

## 考 察

性周期と血中 LH-RH 値については、卵胞期と黄体期で変化がないという報告<sup>2,3,4)</sup>が多いが、中間期の血中濃度については、LH surge に伴う一過性の LH-RH surge を認めているものもある<sup>4,5)</sup>。しかし、いわゆる正 PRL 血性無排卵症に CB-154 を投与した場合とか、あるいは子宮内膜症での偽妊娠療法前後、さらに同療法中の CB-154 の投与前後、また、正常婦人に CB-154 を

投与した際の LH-RH 値などについての報告はほとんどみられない。著者の成績では、A, B, C, D 群の薬物投与前の LH-RH をみると、A 群では、正常値下限で、他群に比べ低値の傾向がみられ、B, C, D 各群では正常範囲であつた。A 群でのこのような結果は、本群での視床下部の機能低下が疑われたが、この点については、Tolis ら<sup>6)</sup> もこのようなことを推定している。また、各群に対する薬物療法の著者の結果では、偽妊娠療法で LH-RH の低下がみられ、CB-154 投与で LH-RH は不

変であつた。偽妊娠療法の結果については、Swerdloff ら<sup>7)</sup>、Schally ら<sup>8)</sup>が長期の経口避妊薬は視床下部を抑制するのではないかという報告を裏付けているようであるし、Minaguchi ら<sup>9)</sup>、東山ら<sup>10)</sup>の norethynodrol と mestranol の合剤をラットに皮注すると LRF (LH-RH) が低下するという報告にも似ている。したがって、偽妊娠療法中は LH-RH の測定は重要なことではないかと思う。また、CB-154 投与の結果についての報告はほとんどみられない。ただ、CB-154 ではないが L-ドーパを正常婦人に投与した場合でも、投与前後で LH-RH に変化がみられなかったという報告<sup>11)</sup>はある。したがって、CB-154 投与後の LH-RH 値は A、C、D 群いずれも投与前に比べ差がなかったことから、CB-154 投与による正 PRL 血性無排卵症での排卵効果は、LH-RH 分泌の増加にあるのではないかというこれまでの推定<sup>12-14)</sup>を証明しうる結果はえられなかった。

A、B、C、D 群の薬物投与前の LH、FSH、PRL 値をみると、LH、FSH については、A 群では一般に低値で、その他の群に比べいずれも低値もしくはその傾向がみられ、B、C、D 各群では正常範囲であつた。PRL については、各群間で差がみられず、いずれも正常範囲であつた。A 群すなわち正 PRL 血性無排卵症の LH、FSH については、Tolis ら<sup>6)</sup>はいずれも正常範囲、Koike ら<sup>15)</sup>は LH はやや高値、FSH は正常範囲、加藤ら<sup>16)</sup>はいずれも低値と報告者により異なるが、著者の成績は、加藤ら<sup>16)</sup>とほぼ一致した。また、各群に対する薬物療法の著者の結果では、偽妊娠療法で LH および FSH の低下、PRL の増加がみられ、CB-154 投与で LH および FSH の不変、PRL の低下もしくはその傾向がみられている。偽妊娠療法の結果については、諸家の報告<sup>7,8,17)</sup>とほぼ一致した。また、CB-154 投与の結果については、A 群では、石丸ら<sup>18)</sup>、Seppälä ら<sup>12)</sup>と一致したが、加藤ら<sup>16)</sup>、森ら<sup>13)</sup>は PRL の低下、LH、FSH いずれもの増加を報告している。C 群については、報告がほとんどみられない。D 群については、Schulz ら<sup>19)</sup>と一致したが、Lachelin ら<sup>20)</sup>は PRL の低下、LH の低下、FSH の不変を報告している。したがって、CB-154 投与後の LH、FSH 値は、A、C、D 群いずれも投与前に比べ差がなかったことから、CB-154 のゴナドトロピンへの影響はほとんどないのではないかと考えている。なお、著者の成績では、CB-154 投与後の PRL 値は、投与前に比べ A、C、D 群いずれでも低下がみられ、その低下の程度は  $A \approx C > D$  の各群間の関係であつた。これは、A、C 群では、いずれも CB-154 投与前の LH-RH、LH、FSH 値の低値もしくはその傾向がみられていることから視床下部・下垂体系の失調が想像されるので、

CB-154 に対し、より敏感に反応したのか、あるいは石丸ら<sup>18)</sup>のいう質的な問題も関係しているのか、いずれかであろう。

A、B、C、D 群の薬物投与前の  $E_2$ 、P、T 値をみると、 $E_2$ 、P については、A 群では、一般に低値で、その他の群に比べ低値もしくはその傾向がみられたが、B、C、D 各群では、正常範囲であつた。A 群でのこのような結果は、著者の成績では、LH-RH、LH、FSH 値が低値もしくはその傾向を示していることから、視床下部・下垂体系の失調にともなう  $E_2$  および P の分泌の低下と思われる。だが、A 群の  $E_2$ 、P については、Moggi ら<sup>21)</sup>はいずれも正常範囲、加藤ら<sup>16)</sup>は  $E_2$  は正常値下限か低値、P は正常範囲という報告もある。A 群の T についての報告はほとんどみられないが、著者の成績では、各群間で差はなくいずれの群でも正常範囲であつた。また、各群に対する薬物療法の著者の結果では、偽妊娠療法で  $E_2$  および P の低下、T の不変、CB-154 投与で  $E_2$ 、P、T はいずれも不変であつた。偽妊娠療法の結果については、諸家の報告<sup>22,23)</sup>とほぼ一致した。また、CB-154 の結果については、A 群では、 $E_2$  に関しては石丸ら<sup>18)</sup>と一致したが、Seppälä ら<sup>12)</sup>、Dickey ら<sup>24)</sup>は  $E_2$  の増加を述べ、この点について CB-154 の卵巣への直接作用を推定している。A 群での P、T についての報告はほとんどみられず、また、C 群の CB-154 投与前後の  $E_2$ 、P、T についての報告もほとんどみられない。D 群については、Schulz ら<sup>19)</sup>は  $E_2$  の不変、P の低下を述べ、P の低下については、CB-154 投与による PRL の低下が、卵巣の LH レセプターを減少させ、P の分泌を低下させるのではないかと推定している。D 群の T についての報告はほとんどみられない。したがって、CB-154 投与後の  $E_2$ 、P、T 値は、A、C、D 群いずれも投与前に比べ差がなかったことから、CB-154 の性腺への影響はほとんどないのではないかと考えている。

A、B、C、D 群の薬物投与前の LH-RH テストによる LH、FSH 値の反応をみると、LH および FSH のピーク値、最大実質増加値については、A 群では、一般に低値で、他群に比べ低値もしくはその傾向がみられ、B、C、D 各群では正常範囲であつた。最大増加率については、各群間で差はみられなかった。A 群の LH-RH テストによる LH、FSH の反応については、Moggi ら<sup>21)</sup>は正常範囲か低下、加藤ら<sup>16)</sup>は正常範囲と報告している。以上、著者の成績では、A 群での LH-RH テストによる LH、FSH の反応はともに他群に比べ鈍く、LH-RH、LH、FSH、 $E_2$ 、P 値も低いことから、本群は長期の視床下部機能低下があるのではないかと思われた。なお、各群に対する薬物療法後の LH-RH テスト

の著者の結果では、偽妊娠療法で LH, FSH のピーク値, 最大実質增加值, 最大増加率の低下もしくはその傾向がみられ, CB-154 投与で A 群の LH のピーク値, 最大実質增加值は傾向として, 最大増加率は明らかにいずれも増加がみられた以外, その他は LH, FSH のピーク値, 最大実質增加值, 最大増加率はいずれも不変であった。以上, 偽妊娠療法後の LH-RH テストの結果については, 諸家の報告<sup>22, 25)</sup> とほぼ一致した。CB-154 投与後の LH-RH テストの結果については, A 群では, 加藤ら<sup>16)</sup> は LH, FSH とともに反応は不変, 森ら<sup>19)</sup> は LH の反応は不変, FSH の反応は増加という報告もある。C, D 群についての報告はほとんどみられない。したがって, 著者の成績から, CB-154 は, C, D 群では, LH-RH に対する LH, FSH の反応の変化に影響はないかもしれないが, A 群すなわち正 PRL 血性無排卵症では, LH-RH に対する LH の反応性が増しているのではないかと考えられた。

A, B, C, D 群の薬物投与前の TRH テストによる PRL 値をみると, ピーク値, 最大実質增加值, 最大増加率は, 各群間でいずれも差はみられず正常範囲であった。A 群の TRH テストによる PRL の反応については, 諸家<sup>16, 19, 21)</sup> の報告と一致した。また, 各群に対する薬物療法後の TRH テストの著者の結果では, 偽妊娠療法で PRL の反応は亢進し, CB-154 投与で PRL の反応は抑制された。偽妊娠療法の結果については, Yen ら<sup>26)</sup> の報告と一致した。CB-154 投与の結果については, A 群では, 諸家の報告<sup>16, 19, 27)</sup> と一致したが, C, D 群についての報告はほとんどみられない。なお, A, C, D 群での PRL の反応の抑制の程度は  $A > D > C$  の順であり, 前述の基礎値の低下の程度 ( $A \approx C > D$ ) と異なっている。このことについては, C 群では, 偽妊娠療法で下垂体が不安定な状態におかれ, そのため TRH に対する PRL 反応の標準偏差が大きくなったことによるのではないかと考えている。

以上, 著者の成績では, CB-154 投与後 (A, C, D 群) では, 投与前に比べいずれの群でも PRL は低下したが, LH-RH, LH, FSH,  $E_2$  P, T はいずれも不変であった。一方, LH-RH テストによる LH の反応は, A 群では増加の傾向を示したが, 他群は不変で, FSH の反応も各群で不変であった。また, TRH テストによる PRL の反応は, 各群で低下がみられた。したがって, CB-154 は PRL 分泌抑制の機転のみに関係しているように思われる。

なお, A 群で排卵がみられるようになったことについては, A 群では, LH-RH テストによつて LH 反応の亢進化が起こったためではないかと思うが, この点につ

いては, Seksena ら<sup>28)</sup> が prostaglandin (PG)  $F_{2\alpha}$  と PRL はお互い antagonist であろうと推論していることや, 佐藤<sup>29)</sup> が PG  $E_1, E_2, F_{2\alpha}$  は下垂体の LH-RH に対する感受性を増強し, LH 放出に対し増幅器のような働きがあると述べていることから考えると, A 群では, CB-154 投与によつて, PRL が低下し PG が増し, LH 反応の亢進という経過が起こったためではないかと思うが, しかし, 一方, PG は卵巣に直接働いて排卵に関係するという報告<sup>30)</sup>もあるので, そのいずれかによつて排卵が起こるようになったのではないかと思う。

稿を終わるに臨み, 御懇篤な御指導, 御校閲を頂いた森一郎教授に深甚なる謝意を表するとともに, 実験にあたって御指導下さった池田友信助教授, 林 信昌教室員ならびに研究室各位に厚く御礼申し上げます。

なお本論文の要旨の一部は第33回日本産婦人科学会学術講演会 (1980年) で発表した。

## 文 献

- 1) Seppälä, M., Hirvonen, E. and Ranta, T.: Bromocriptine treatment of secondary amenorrhoea. *The Lancet*. 1: 1154, 1976.
- 2) 林 信昌: 正常男女の加齢, 女性の去勢・更年期障害, 妊娠・分娩・産褥時の血中 LH-RH について, 日産婦誌投稿中, 1982.
- 3) Askel, S. and Glass, R.: Luteinizing hormone-releasing hormone levels in human plasma. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 134: 619 1979.
- 4) 三宅 侃, 川村泰弘, 青野敏博: ヒト血中 LH-RH の測定, 産婦人科治療, 39: 363, 1978.
- 5) Arimura, A., Kastin, A. J. and Schally, A. V.: Immunoreactive LH-releasing hormone in plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38: 510, 1974.
- 6) Tolis, G. and Naftolin, F.: Induction of menstruation with bromocriptine in patients with euprolactinemic amenorrhoea. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 126: 426, 1976.
- 7) Swerdloff, R. S. and Odell, W. D.: Serum of luteinizing and follicle stimulating hormone levels during sequential and nonsequential contraceptive treatment of eugonadal women. *J. Clin. Endocrinol.* 29: 157, 1969.
- 8) Schally, A. V., Parlow, A. F., Carter, W. H., Saito, M., Bowers, C. Y. and Arimura, A.: Studies on the site of action of oral contraceptive steroids. *Endocrinology*. 86: 530, 1970.
- 9) Minaguchi, H. and Meites, J.: Effects of a norethynodrel-mestranol combination (Enovid) on hypothalamic and pituitary hormones in rats. *Endocrinology*. 81: 826, 1967.

- 10) 東山秀聲, 木津収二: Gonadotropin 放出因子と合成 steroid ホルモン, 日不妊会誌, 16: 17, 1971.
- 11) Polansky, S., Muechler, E. and Sorrentino, S.: The effect of L-dopa and clomiphene citrate on peripheral plasma levels of luteinizing hormone-releasing factor. *Obstet. Gynecol.* 48: 79, 1976.
- 12) Seppälä, M., Unnerus, H. A., Hirvonen, E. and Ranta, T.: Bromocriptine increases plasma estradiol-17 $\beta$  concentration in amenorrhea patients with normal serum prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43: 474, 1976.
- 13) 森 宏之, 合阪幸三, 木川源則, 水口弘司, 坂元正一: Bromocriptine の正常 Prolactin 血症性排卵障害婦人の FSH・LH 分泌に及ぼす影響, 日産婦誌, 33: 1741, 1981.
- 14) Van der Steeg, H. J. and Coelingh Bennink H. J. T.: Bromocriptine for induction of ovulation in normoprolactinemic post-pill anovulation. *The Lancet.* 1: 502, 1977.
- 15) Koike, K., Aono, T., Miyake, A., Tsutsumi, H., Matsumoto, K. and Kurachi, K.: Induction of ovulation in patients with normoprolactinemic amenorrhea by combined therapy with bromocriptine and clomiphene. *Fertil. Steril.* 35: 138, 1981.
- 16) 加藤廣英, 新部哲雄, 細谷則幸, 渡辺 博, 森隆生, 大谷 博, 正岡 薫, 大蔵健義, 熊坂高弘: 正常および高 Prolactin 血症・無月経症における Bromocriptine の効果, ホと臨床, 29: 932, 1981.
- 17) Mishell, D. R., Kletzky, O. A., Brenner, P. F., Roy, S. and Nicoloff, J.: The effect of contraceptive steroids on hypothalamic-pituitary function. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 128: 60, 1977.
- 18) 石丸忠之, 森 広康, 黄 宏駿, 今道節夫, 森崎正幸, 河野前宣, 吉田京子, 今村定臣, 山辺 徹: 正常プロラクチン血症性無排卵症に対する Bromocriptine (CB-154) の意義について, 日産婦誌, 32: 1583, 1980.
- 19) Schulz, K. D., Geiger, W., del Pozo, E. and Kunzig, H. J.: Pattern of sexual steroids, prolactin and gonadotropic hormones during prolactin inhibition in normal cycling women: *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 132: 561, 1978.
- 20) Lachelin, G. C. L., Leblanc, H. and Yen, S. S. C.: The inhibitory effect of dopamine agonists on LH release in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44: 728, 1977.
- 21) Moggi, G. and Giampietro, O.: Pregnancy induction after bromocriptine-cyclofenil treatment in some normoprolactinemic anovulatory women. *Fertil. Steril.* 32, 289, 1979.
- 22) 池田 良, 佐野 隆, 奥田喜代司, 鐘 坤井, 土居荘之介, 植木 実, 杉本 修: エンドメトリオーグスの偽妊娠療法における下垂体-卵巣系機能に関する臨床的研究, 日産婦誌, 29: 177, 1977.
- 23) Brenner, P. F., Mishell, D. R., Stanczyk, F. Z. and Goebelsmann, U.: Serum levels of *d*-norgestrel, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol, and progesterone in women during and following ingestion of combination oral contraceptives containing *dl*-norgestrel. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 129: 133, 1977.
- 24) Dickey, R. P., Facog. and Stone, S. C.: Effect of bromo-ergocriptine on serum hPRL, hLH, hFSH, and estradiol 17- $\beta$  in women with galactorrhea-amenorrhea. *Obstet. Gynecol.* 48: 84, 1976.
- 25) 水口弘司, 森 宏之, 坂元正一: 下垂体前葉の合成 LH-RH 反応性におよぼす性ステロイドの影響, 日内分泌誌, 49: 202, 1973.
- 26) Yen, S. S. C., Lasley, B., Wang, C. and Ehara, Y.: Steroid modulation of the hypothalamic-pituitary system in the secretion of reproductive hormones. *J. Stero. Biochem.* 6: 1047, 1975.
- 27) Hirvonen, E., Ranta, T. and Seppälä, M.: Prolactin and thyrotropin response to thyrotropin-releasing hormone in patients with secondary amenorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42: 1024, 1976.
- 28) Sakesena, S. K. and Lau, I. F.: Prostaglandin F<sub>(2 $\alpha$ )</sub> induced termination of pregnancy and its reversal by prolactin or progesterone in rats. *Excerpta Med.* 38: 111, 1978.
- 29) 佐藤恒治: Prostaglandin とホルモンとの相関, 日産婦誌, 26: 689, 1974.
- 30) 木下 康: 排卵調節における Prostaglandins と性ステロイドの相関に関する実験的研究, 日産婦誌, 32: 187, 1980.

Action of bromocriptine (CB-154) as  
observed from hypothalamus,  
pituitary and gonadal  
hormone dynamics

Akio Morita

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

In recent years, reports have been made on the effect of bromocriptine (CB-154) for anovulatory women with normoprolactinemia, but its mechanism of action has not been clarified yet. In order



to examine this point, determination was made with plasma LH-RH, LH, FSH, PRL, estradiol, progesterone, testosterone and LH-RH and TRH test in the groups who had been suffering from anovulatory women with normoprolactinemia and women with endometriosis during pseudopregnancy therapy and normal women. In anovulatory women with normoprolactinemia, the LH value slightly increased in response to the LH-RH test, simultaneously reducing the basal PRL and its response to the TRH test, without causing changes of LH-RH and other hormones. In women

with endometriosis during pseudopregnancy therapy and normal women, there was a similar tendency to anovulatory women with normoprolactinemia, without causing change in the LH value response to the LH-RH test. Consequently, it was suggested that the induction of ovulation of CB-154 might be caused by the improvement of LH value response to LH-RH and the mechanism of action reducing PRL value, not by the improvement of LH-RH, gonadotropin and gonadal hormones.

(受付: 昭和57年9月2日, 特掲)



## 妊娠時における膵外分泌能

(とくに悪阻を中心に)

### The External Secretion of Pancreas during Pregnancy (with special reference to hyperemesis gravidarum)

東京慈恵会医科大学第一産婦人科学教室 (主任: 蜂屋祥一教授)

北 川 道 弘

Michihiro KITAGAWA

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

妊娠時における膵外分泌能とその調節につき正常妊婦170例、重症妊娠悪阻35例を対象に検討を行い、以下の結果を得た。

① PFD test による膵外分泌能は妊娠中漸次低下したが、悪阻時のみ著明な亢進を示した。

② 血清 amylase は妊娠11～15週で頂値をとり、悪阻群では更に高値を示し、その isozyme pattern は唾液腺型優位であった。

③ 体液性調節因子: 血清 gastrin は悪阻を含め妊娠経過中著変を認めないが、secretin は妊娠5～15週に頂値を示し、悪阻群で有意に高値を示した。

④ 神経性調節因子: 心電図 R-R 間隔の変動係数 CV (迷走神経機能) は悪阻群でのみ特異的高値を示し、PFD test と強い相関を示した。( $\gamma=0.66$ ,  $P<0.01$ ) 交感神経機能の変化は認められなかった。

悪阻時における膵外分泌能亢進は、迷走神経の易興奮性に起因し、消化管ホルモンの失調により修飾を受けるものと推定された。悪阻時の病態把握、客観的治療効果を知る上で膵外分泌能、CV の測定は有用であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 11-17, 1983)

#### 緒 言

妊娠時の膵外分泌能の詳細は内分泌能にくらべ研究されておらず、とくに妊娠成立後、強い消化器症状を示し、消化器系異常とりわけ膵外分泌異常が強く示唆される悪阻時における検索は遅れている。

1971年 Imondi ら<sup>22,23)</sup>が BT-PABA (N-benzoyl-L-tyrosyl-P-aminobenzoic acid) を用いた経口膵外分泌能検査 (Pancreatic Function Diagnostant test: PFD test) を報告してから、諸家の臨床成績の報告がみられるようになり<sup>1,9,18)</sup>、妊婦に不適当なため行い得なかった従来の方法にかわって妊娠中の膵外分泌能検査が可能となった。

膵外分泌の調節は、消化管ホルモンによる体液性因子と自律神経を介する神経性因子によつて行われる。本研

究においては、体液性因子として血清 secretin および gastrin の測定、神経性因子として迷走神経機能を心電図 R-R interval の変動、交感神経機能を血漿 catecholamine および DBH 活性 (dopamin- $\beta$ -hydroxylase) を用いて測定し、PFD-test、血清 amylase 値に代表される妊娠膵外分泌の調節機能および上記検査の有用性につき検討を行った。なお心電図上の R-R interval を迷走神経機能の指標としたことの正当性と意義については、考案において詳述する。

#### 研究対象および方法

##### A. 対象

昭和53年1月より12月まで慈恵医大第3病院受診者のうち妊娠各週の正常妊婦170例、薄井の Emesis Index<sup>7)</sup>

26点以上で入院加療中の重症妊娠悪阻35例を対象とし、正常非妊婦30例を control 群とした。なお、各群とも肝腎機能正常者のみを選び、各群間の平均年齢は有意差を認めなかった。

## B. 研究方法

① PFD-test の尿中 PABA の定量は、Bratton-Marshall 法の Smith 変法<sup>31)</sup>を用い、悪阻群は経口的に試薬摂取可能な状態まで回復後 test 施行した。

② 血清 amylase, gastrin, secretin は早朝安静空腹時採血を基準とし、amylase は Somogi 法、amylase isozyme は電気泳動、gastrin および secretin は RIA 法を用いた。

③ 迷走神経機能の指標とした心電図 R-R interval の変動測定<sup>2,3,17)</sup>は、10分間以上安静後連続する100個の R-R 間隔を計測し、その平均値および変動係数 coefficient of variation (CV) を用いて検討を行った。

④ 交感神経機能は、血漿 catecholamine 3分画を THI 法 (高速液体クロマト法)、DBH 活性は永津らの方法<sup>3)</sup>により測定し、交感神経緊張を除くため、朝食後1時間の安静のち仰臥位採血を行った。

## 成 績

### (A) 膵機能と消化管ホルモン

#### ① PFD-test

尿中 PABA 6時間排泄率は悪阻、(一)妊婦群では  $76.1 \pm 7.3\%$  で、control 群 (正常非妊婦  $77.5 \pm 9.3\%$ ) と同様の値を示したが、悪阻群では  $88.6 \pm 6.6\%$  と有意

に高値を示し ( $P < 0.01$ )、しかも排泄率の立上りが強く、あきらかに悪阻時における膵 chymotrypsin 排泄亢進が認められ、悪阻症状の改善とともに悪阻 (一) 群との有意差は認められなくなった。その後の妊娠経過では PABA 排泄率は低下し、third trimester では  $70.8 \pm 9.2\%$  と control 群より低値を示した。なお、TYPE II 糖尿病 (NIDDM) では  $66.2 \pm 8.9\%$  と control 群に比し有意の低下を示し ( $P < 0.05$ )、内分泌能低下とともに外分泌能の低下も特徴的に認められた (図1)。

#### ② 血清 amylase および amylase isozyme

血清 amylase は妊娠11~15週に  $172 \pm 43 \text{ u/ml}$  と、control 群  $102 \pm 35 \text{ u/ml}$  に比し有意の高値を示したが ( $P < 0.05$ )、その後徐々に下降し、control 群との有意差は認められなくなった。

膵と唾液腺由来の amylase isozyme ratio (S/P) は、amylase 値と同様、初期に上昇しその後低下、つまり初期の salivary 優位を認めた (図2右)。悪阻群と悪阻 (一) 群では血清 amylase 値は悪阻群が軽度高値を示したが有意差はなく、S/P は悪阻群が有意に高値を示した ( $P < 0.05$ )。つまり妊娠初期の amylase 増加は salivary 由来の amylase 増大であり、それは悪阻群で著明であった。

#### ③ 消化管ホルモン

血清 gastrin は妊娠経過中変化が少なく、control 群と同様の値を示したが、secretin は5~15週に有意に高値を示し ( $P < 0.05$ )、その後下降し、16週以降 term まで著変は認められない (図2左)。

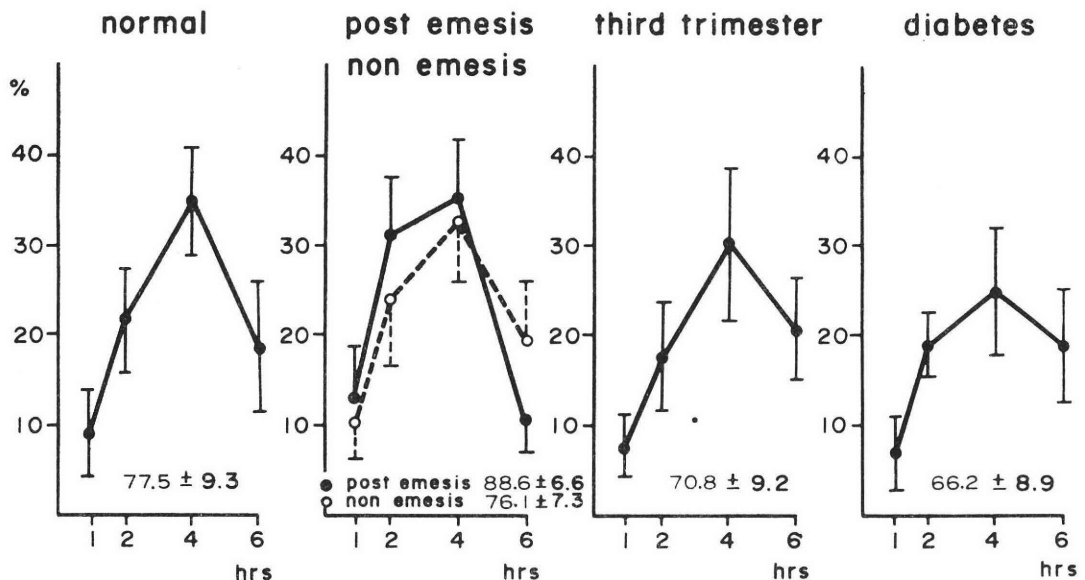


図1 Pancreatic Function Diagnostic test (PFD test)

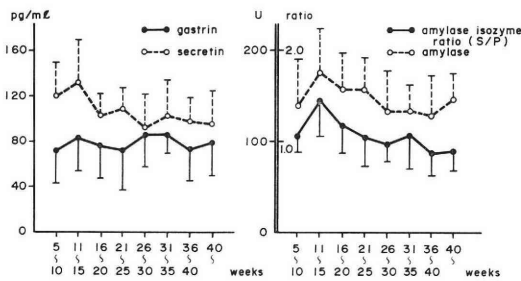


図 2 Serum gastrin, secretin, amylase and amylase isozyme ratio in gestation

次に gastrin および secretin の悪阻群、悪阻（一）群との比較を行うと、gastrin は両者に差はみられず正常範囲を示したのに反し、secretin は悪阻群において有意に高値を示し ( $P < 0.01$ )、十二指腸 S 細胞よりの secretin 分泌亢進状態を示した (図 3)。悪阻群における膵外分泌能 PFD test と血清 secretin 値は  $r = 0.48$  と比較的相関を示した。

#### (B) 膵機能と自律神経機能

##### ① 迷走神経機能

心拍動周期の変化を示す心電図 R-R interval の変動係数 CV は正常妊婦では 11 週以後 control 値と変わらないが (図 4)、悪阻群では  $7.07 \pm 2.82$  と著しい高値を示し ( $P < 0.01$ )、この値は硫酸 atropin  $30 \mu\text{g}/\text{kg}$  静注安静によつて  $1.02 \pm 0.50$  と激減するため、悪阻時の心拍周期の激しい変動は迷走神経由来のものであることを示した。このことはまた神経障害のある糖尿病群 (非妊)

では  $CV = 1.91 \pm 0.92$  と対照的に低値であることから、CV は迷走神経遠心路の活動状態を示すものと思われる (表 1)。

次に膵外分泌能との関連をみる目的で PFD test と CV の相関を悪阻群でとつてみると (図 5 左)、 $r = 0.66$  と強い相関がみられ、悪阻時において膵外分泌能に及ぼす迷走神経の強い影響が裏付けられた。

##### ② 交感神経機能

catecholamine 3 分画 (adrenaline, nor-epinephrine, dopamine)、DBH 活性は図 6 に示す如く妊娠経過を通じて control 群と有意差はなかつた。これは悪阻時にも同様で、DBH 活性と PFD test との相関は  $r = 0.02$  と全く相関を示さず (図 5 右)、また悪阻群、悪阻（一）群間にも有意差はなく、妊娠および悪阻時の膵外分泌能については迷走神経と異つて交感神経の影響は認めることが出来なかつた。

#### 考 案

妊娠下における膵外分泌能は未知の分野であり、妊娠に伴う基礎代謝の亢進、胎児发育に伴う代謝変化、ホルモン環境の変化などより、その機能変化を知る事は重要であるにもかかわらず今日まで詳細は判明していない。そこで妊娠経過における膵外分泌能、主として悪阻時における膵外分泌能の特異性とその調節因子である消化管ホルモン、自律神経機能との関連性を追究し、自覚症状に重点がおかれ、治療の要否、治療効果の判定に客観性を欠いている悪阻を中心に検討を行った。

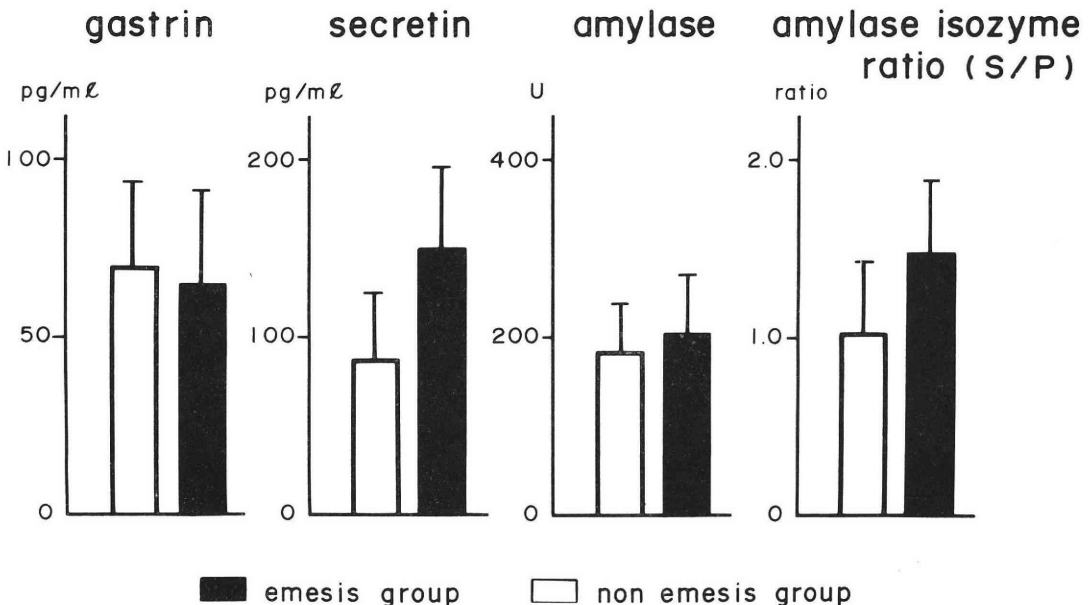


図 3 Comparison with emesis group and non emesis group

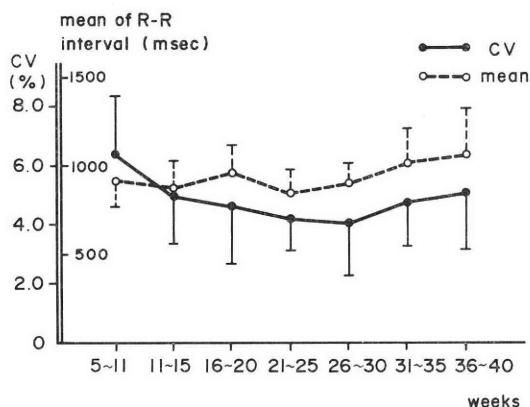


図 4 Mean and CV of R-R intervals in gestation

表 1 Mean and CV of R-R interval variations on the ECG

|                                        | Mean of R-R interval (msec) | CV (%)    |
|----------------------------------------|-----------------------------|-----------|
| Control (n=10)                         | 1015±65                     | 4.46±1.98 |
| Non-emesis (n=20)                      | 962±61                      | 4.93±2.22 |
| emesis { before<br>atropin inj. (n=30) | 901±70                      | 7.07±2.82 |
| { after<br>atropin inj.                | 456±58                      | 1.02±0.50 |
| diabetes (n=5)                         | 622±54                      | 1.91±0.92 |

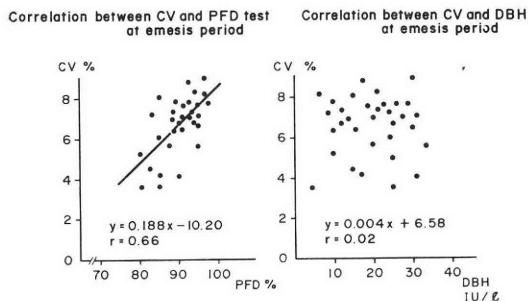


図 5 CV and PFD, DBH

# ① PFD test

## (i) 評価と安全性

これまで膵外分泌能検査として用いられている panc-reozymin-secretin test (P-S test) は、その操作の煩雑性、危険性のため妊娠下における応用は困難である。今回用いた PFD test は、P-S test と強く相関を示し、その診断の有用性を高く評価されているが<sup>4,21)</sup>、この test は尿中に排泄される PABA を測定するために、小腸からの PABA の吸収能、さらにそれらが代謝・排泄

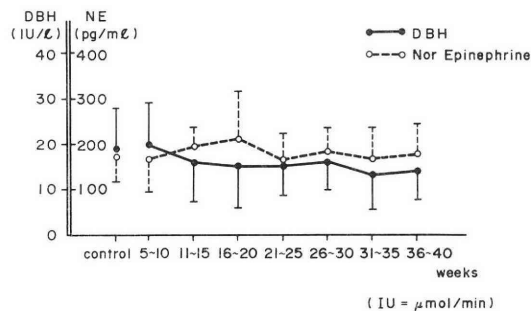


図 6 Serum DBH and Nor-Epinephrine activity in gestation

される肝腎機能に影響される欠点がある。

Deiss らは、肝障害のある患者に PABA 3000mg の大量投与を行うと、肝での代謝が障害され、腎より尿中への排泄率の低下をみると報告<sup>15)</sup>しているが、そのため今回の実験では肝腎機能の正常な妊婦を選んだ。また妊婦の腸管の吸収能の直接の評価は行っていないが、悪阻群の成績や妊婦の訴えや強い栄養障害のないことから大差を認めないと考えられた。PABA の投与量については 50mg 程度の少量では肝腎機能に著明な障害がない限り、生体、特に胎児にも影響がないと考えられる<sup>19)</sup>。

## (ii) 妊娠中の変化

control 群の尿中 PABA 6 時間排泄率は、加藤<sup>25)</sup>、升島<sup>27)</sup> らと同様の値であった。妊娠経過における PABA 排泄率は低下するが、妊娠悪阻群でのみ特異的な高値を示し、膵疾患における PFD test の低下、つまり膵機能低下と対照的な結果を得た。また悪阻回復後の妊娠は正常妊婦と同様の経過をとり、term では control 群より低下し、DM 群に近づいたことは興味深い。

悪阻時における PFD test と secretin との相関係数は  $r=0.48$  で、悪阻時膵液分泌ホルモンと膵酵素である chymotrypsin 分泌との間に比較的相関がみられたが、悪阻時以外はこの現象は認められなかった。

## ② amylase

amylase は前述の様に妊娠初期に gastrin 上昇を伴わない上昇を示すが、その値は Kaiser<sup>24)</sup>、中島<sup>6)</sup> らのように妊娠 21~25 週でピークに達する上昇より早期にピークを持ち、また Kaiser らの述べるような妊娠後半期に唾液腺優位になるという isozyme の変化とは異つた結果を得た。この相違を来した原因について検討中である。S/P ratio については、膵にも 0.8~1.7% の唾液腺 type の amylase 分泌があり、ヒト膵癌で唾液腺 type の上昇を示す例や異所性 amylase 産生腫瘍は唾液腺 type であることなどから、悪阻時唾液腺優位になる理由が流涎に象徴される唾液腺の機能亢進によるものか、膵細胞の

機能変化によるものを速断することは出来ない。しかし S/P ratio を計算に入れても脾の amylase 分泌は妊娠初期に軽度の上昇傾向にあることが推察された。また、これらが妊娠に伴う内分泌環境の変化によると推定し得る根拠 (HCG 値, progesteron 値) は今回認めることは出来なかつた。

### ③ gastrin, secretin

gastrin は胃液分泌刺激作用とともに cholecystkinin-pancreozymin (CCK-PZ) より弱い膵酵素分泌刺激作用を有し、また secretin は脾よりの水と重炭酸塩の分泌促進作用とともに gastrin により遊離される胃酸分泌を抑制する作用があり、通常両者は共存的に増強作用を示す<sup>10)</sup>。妊娠全経過中 gastrin は強い変化がなく正常範囲であるが、上記の原則に反して secretin は妊娠初期に gastrin 正常値であるにもかかわらず高値を示し、16週以降安定した。悪阻時には絶食、嘔吐などにより胃液の酸度の低下状態が存在するにもかかわらず gastrin 正常値、secretin 高値が更に著明となるのは、secretin 高値によつて gastrin 低下が惹起されないこと、胃液の酸度低下によつても secretin 低下が起らないことを示し、

(1) secretin 産生細胞 (S 細胞) の酸に対する反応性の変化

(2) 通常と異なる feed back mechanism による gastrin 分泌細胞 (G 細胞) の gastrin 遊離の不完全な抑制

(3) 幽門洞における神経性因子、特に迷走神経による特殊な神経調節状態が示唆された。

### ④ 迷走神経と脾外分泌

脾外分泌調節は Pavlov による神経説<sup>20)</sup>が有力であつたが、secretin などの消化管ホルモンの発見により Bayliss<sup>11)</sup>らの体液調節説の方が関与度が高いと考えられている。White らは実験により体液性因子の関与しない胃脾反射 (gastro-pancreatic reflex) の存在および自律神経系の関与を提唱した<sup>18,32)</sup>。また Chey らは secretin による脾外分泌は、選択的迷走神経切除術および近位迷走神経切除術では神経調節機構が保たれており脾外分泌に影響を及ぼさないが、全迷走神経の切断では明らかに低下し、脾外分泌機能維持には迷走神経の支配が重要であることを報告し<sup>12)</sup>、secretin と迷走神経の協働を強調している。

#### (i) 心電図 R-R interval における CV の意義

R-R interval の変動を表す際、平均値、標準偏差では誤差が大きく、標準偏差と平均値を組み合わせた CV が有用である<sup>2,3)</sup>。CV に変動を及ぼすものとして迷走神経求心路、中枢 (間脳、延髄)、遠心路があるが、末梢

より中枢への呼吸運動に伴う求心性発射を同一条件下で行つており、正常洞調律下での CV の増大は、中枢および遠心性発射に起因すると考えられる。

#### (ii) 妊娠経過と CV

非妊正常婦人 CV ( $4.46 \pm 1.98$ ) は景山<sup>2,3)</sup>らと同様の成績で、悪阻 (一) 群では  $4.93 \pm 2.22$  と有意差は示さず、その後の妊娠経過においても著明な変化はみられない。しかし悪阻群では有意に高値を示し ( $P < 0.01$ )、迷走神経の不安定な状態を示している。Murray<sup>26)</sup>、景山<sup>2)</sup>は糖尿病性自律神経障害における R-R interval の変動は、罹病期間の長い群、網膜症進行群、体性神経障害群に有意の CV 低下を認め、自律神経障害度の診断における有用性を報告している。これとは逆に CV の増大は迷走神経機能の易過敏性、易反応性を反映していると思われ、悪阻時における迷走神経機能の不安定な状態が推察される。

#### (iii) 脾機能と CV

CV で代表される迷走神経機能は、心臓枝に限らず他臓器への遠心性発射も反映していることは明白である。そこで悪阻時、CV と脾機能を PFD test で代表し相関を求めると、図 4 に示す如く相関係数  $r = 0.66$  と有意の相関を示し、悪阻時における脾外分泌能亢進と心電図による迷走神経の易刺激性との間に高い相関があることが裏付けられた。しかし正常妊娠における全経過および悪阻回復後の妊婦では CV と PFD 値は相関を示すことなく、迷走神経機能について悪阻状態のみが特異的环境下にあることが判明した。

### ⑤ 交感神経と脾外分泌

交感神経機能の指標として catecholamin 3 分画および DBH 活性の測定を行い、特に DBH 活性は交感神経末端より分泌され、体位変換による変動も少なく比較的安定しており<sup>28)</sup>、交感神経機能を反映するもの<sup>3)</sup>として検討に加えた。妊娠経過中 catecholamin 3 分画はほとんど変化を示さず正常範囲を示した。また DBH 活性も悪阻時に軽度高値を示すものの有意差は認められなかつた。悪阻時における迷走神経機能交感神経機能間の関連をみるため、CV と DBH 活性との相関を検討したが  $r = 0.02$  と全く相関を示さず、また脾外分泌能 PFD test と DBH 活性との相関も同様であつた。

脾外分泌能に対する交感神経の影響については迷走神経のようなはっきりした報告はない。動物実験で交感神経を刺激すると脾液量はやや減少すること、十二指腸への内臓神経を刺激すると脾液量はやや増加するという報告<sup>10,20)</sup>がみられるが、交感神経の脾外分泌に及ぼす影響は現時点では否定的である。ただ妊娠中の交感神経機能についての著者らの実験では wister 系 rat に haloperi-

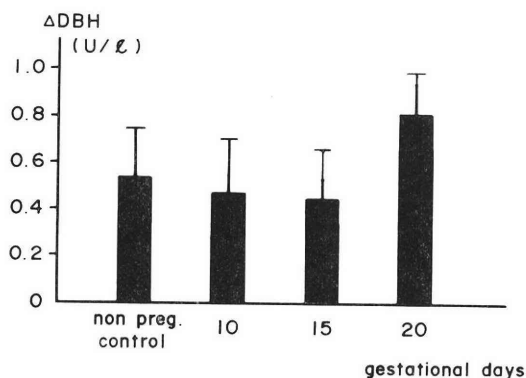


図7 Serum  $\Delta$ DBH levels of rats after treatment of haloperidol injection

dol 0.5mg/kg 静注投与後2時間の血清 DBH 活性の増加量 ( $\Delta$ DBH) を図7に示したが、妊娠中期までは非妊時と有意差は認められないが、妊娠20日目にて haloperidol に対する交感神経の 高い反応性を示した。しかしながら、ヒトにおいては haloperidol の胎児への影響のため実験は行えず、妊娠期間の短い rat についての実験であるため、現時点では推定にとどめておく。

#### まとめ

すでに著者らは rat の膵血管鋳型標本の走査電顕像および膵外分泌細胞の透過電顕像につき、妊娠中の膵血管壁および血管構築には著明な変化はみられないこと、つまり妊娠時における膵血流の急激な変化は否定的であることを報告した。ヒトにおいても PFD test, secretin, amylase 動態などから膵血流量は非妊時とほぼ同様に保たれ、正常妊婦の安静、空腹時における膵機能は、ほぼ安定した自律神経機能に依存しており、体液性因子の感受性変化により修飾されているものと推定された。しかしながら悪阻時における変化のみ 特異的であり、secretin と心電図 R-R interval の CV が強い相関を示しながら変化することは、悪阻時は妊娠初期の gastrin, amylase その他に示されるような急激な内分泌環境の変化に即応出来なかつた個体が迷走神経易刺激状態、つまり自律神経失調症を発症することがその本態と考えられた。

今日まで悪阻はほとんど自覚症状のみで判定されていたが、合併症の有無・治療の要否、あるいはその効果判定の客観性に欠ける。今回の実験により、これまでの検査に加え PFD test, amylase isozyme を含む膵外分泌能と迷走神経機能の指標である CV, 体液性調節因子の探索も病態把握、効果判定の裏付けに有用であると考えられた。また Dandona<sup>14)</sup> ら、Adrian<sup>8)</sup> らは糖尿病患者における膵内分泌能障害が外分泌障害と平行すると報告しており、糖尿病妊娠、妊婦糖尿病はもちろん、糖負荷試験で境界領域を示すものにも膵内分泌系の探索に加え外

分泌系の探索も施行し、膵全体としての機能、障害度を判定する必要があると思われた。

稿を終るに臨み、ご指導ご校閲をいただきました蜂屋祥一教授に深甚なる謝意を表するとともに、実験にあたって御指導いただいた久慈直志助教授に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は、第57回、第61回日本産婦人科学会関東連合地方部会で発表した。

#### 文 献

- 1) 細田四郎, 衣笠勝彦: キモトリブシン 活性の in viro test (PFD テスト). 治療, 58: 65, 1976.
- 2) 景山 茂, 清水光行, 笹生文雄, 斉藤宣彦, 種瀬富男, 阿部正和: 糖尿病性自律神経障害の定量的分析に関する研究. 糖尿病, 22: 627, 1979.
- 3) 景山 茂, 持尾聡一郎, 阿部正和: 定量的自律神経機能検査法の提唱. 神経内科, 9: 594, 1978.
- 4) 桑原靖道, 阿部正秀, 井上庄二, 久保保彦, 葉師寺英邦, 谷川久一: N-benzoyl-L-tyrosyl-P-aminobenzoic acid を用いた経口膵外分泌機能検査の臨床的検討. 診断と治療, 66: 116, 1978.
- 5) 永津俊治: 血清ドーパミン- $\beta$ -水酸化酵素について. 生化学, 46: 53, 1974.
- 6) 中島澄夫: 膵と酵素活性. 現代医療, 10: 253, 1978.
- 7) 薄井 修: 悪阻指数. 産科と婦人科, 29: 550, 1962.
- 8) Adrian, T. E., Barnes, A. J. et al.: Hypotripsinemia in diabetes mellitus. Chim. Acta. 97: 213, 1979.
- 9) Arvanitakis, C., et al.: Diagnosis of pancreatic diseases by a synthetic peptide (A new test of exocrine pancreatic function). Lancet, I: 663, 1976.
- 10) Baxter, S. G.: Nervous control of the pancreatic secretion in the rabbit. Am. J. Physiol. 98: 349, 1931.
- 11) Bayliss, W. M. & Starling, E. H.: The mechanism of pancreatic secretion. J. Physiol. 28: 325, 1902.
- 12) Chey, W. Y., Kim, M. S. et al.: Influence of the vagus nerve on release and action of secretion in dog. J. Physiol. 293: 435, 1979.
- 13) Arranitakis, C., Greenberger, N. J.: Diagnosis of pancreatic disease by a synthetic peptide. Lancet, March 27: 663, 1976.
- 14) Dandona, P., Elias, E. et al.: Serum trypsin concentrations in diabetes mellitus. Br. Med. J. 2: 1125, 1978.
- 15) Deiss, W. P., Cohen, P. P.: Studies in pa-

- raaminohippuric acid synthesis in human; its application as a liver function test. *J. Clin. Investigation*. 29 : 1014, 1950.
- 16) Grossman, M. I. : Gastrointestinal hormones. *Physiol. Rev.* 30 : 33, 1950.
  - 17) Gundersen, H. J. G., Neubauer, B. : A long term diabetic autonomic nervous abnormality. *Diabetologia*. 13 : 137, 1977.
  - 18) Guzman, S., Chayvialle, J. A. & Banks, W. A. : Effect of vagal stimulation and on blood levels of gastrin, cholecystokinin, secretion, VIP, and somatostatin. *Surgery*. 86 : 329, 1979.
  - 19) Gyr, K., Stalder, G. A., Schiffmann, I., Fehr, C. : Oral administration of chymotrypsin-labile peptide—a new test of exocrine pancreatic function in man. *Gut*. 17 : 27, 1976.
  - 20) Haper, A. A. & Vass, C. C. N. : The control of the external secretion of the pancreas in cats. *J. Physiol.* 99 : 415, 1941.
  - 21) Imamura, K., Nakamura, T. et al. : Oral administration of chymotrypsin labile peptide for a new test of exocrine pancreatic function (PFD) in comparison with pancreozymin-secretin test. *Am. Coll. of Gastroenterology*. 69 : 572, 1978.
  - 22) Imondi, A. R. et al. : A new test for exocrine pancreatic function. *Pharmacologist*, 13 : 290, 1971.
  - 23) Imondi, A. R. et al. : Synthetic peptides in the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency in animals. *Gut*. 13 : 726, 1972.
  - 24) Kaiser, R. et al. : Serum amylase changes during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 122 : 283, 1975.
  - 25) Kato, K. et al. : N-benzoyl-L-tyrosyl-para-aminobenzoic acid. (exocrine of pancreas) *Basic Pharmacology & Therapeutics*. 6 : No. 4. 1979.
  - 26) Murray, A., Ewing, D. J. et al. : R-R interval variations in young male diabetes. *Br. Heart J.* 37 : 882, 1975.
  - 27) Masujima, Y. et al. : A new test of exocrine function. *Basic Pharmacology & Therapeutics*. 6 : No. 4. 1979.
  - 28) Okada, T., Fujita, T. et al. : A 24-hour rhythm in human serum DBH activity. *Experientia*. 30 : 605, 1974.
  - 29) Pavlov, I. P. : The work of digested glands. Griffin Co., London. 1902.
  - 30) Shimamura, J. et al. : Does human pancreas contain salivary-type isoamylase? *Gut*. 16 : 1006, 1975.
  - 31) Smith, H. W., Finkelstein, N., Aliminos, L., Crawford, B., Graber, M. J. : The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog

and man. *Clin. Invest.* 24 : 338, 1945.

- 32) White, T. T. et al. : Gastropancreatic reflex after various gastric operations. *Surg. Forum*. 13 : 286, 1962.

## The external secretion of pancreas during pregnancy (with special reference to hyperemesis gravidarum)

**Michihiro Kitagawa**

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

The external secretion of pancreas in pregnancy and its regulation were evaluated in 170 normal pregnant women and in 35 patients with hyperemesis gravidarum. The following results were obtained.

1) The function of external secretion of pancreas evaluated by PFD was gradually hampered during pregnancy, whereas it was markedly accelerated only in the cases of hyperemesis gravidarum.

2) The levels of serum amylase reached a peak at 10-15 weeks of pregnancy, and showed an even higher level in the cases with hyperemesis gravidarum, in which parotid gland type was found in its isozyme pattern.

3) Humoral regulatory factor : The serum level of gastrin showed no remarkable change during the course including the hyperemesis gravidarum, whereas the serum level of secretin showed a peak during 5-15 weeks and a significantly high level in the group with hyperemesis gravidarum.

4) Neural regulatory factor : Specifically higher levels were noted only in the group with hyperemesis gravidarum in CV (vagus nerve functions), which is a coefficient of variations of the R-R interval in the electrocardiogram, and were close relation to the results of PFD test ( $f=0.66$ ,  $p<0.01$ ). No change was seen in the functions of sympathetic nerve system.

It was assumed that the promotion of external secretion of pancreas in the cases with hyperemesis gravidarum is caused by the susceptibility of vagus nerves to excitation and modified by disorders of the hormones in the digestive tracts. The external secretion of pancreas functions and the determination of the CV proved to be useful for evaluating the pathological conditions of the cases with hyperemesis gravidarum and the objective effects of therapeutic treatments.

(受付 : 昭和57年9月7日, 特掲)



## プロラクチンの卵巣レセプターに及ぼす影響について

### Effects of Prolactin on Ovarian Receptors

新潟大学医学部産科婦人科学教室

星 野 明 生   広 橋   武   石 黒 隆 雄  
Akio HOSHINO   Takeshi HIROHASHI   Takao ISHIGURO

佐 藤 芳 昭   竹 内 正 七  
Yoshiaki SATO   Shoshichi TAKEUCHI

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

ヒトおよびラットの卵巣の細胞膜分画を用いて、PRL 投与による  $^{125}\text{I}$ -LH, FSH の uptake の変化を検討した。

1) ラット卵巣に PRL を  $^{125}\text{I}$ -LH と同時に incubate して、 $^{125}\text{I}$ -LH の uptake をみると、non specific な binding は上昇したが、specific な binding は一定の傾向がなかった。ヒト卵巣についても同様であった。

2) ヒト卵巣に PRL を  $37^\circ\text{C}$  で1時間 incubate して前処置した場合、未処置群に比し、 $^{125}\text{I}$ -LH の uptake は有意に減少した。ラット卵巣に PRL の前処置で incubate すると、30分 PRL 前処置群は LH の uptake で有意に減少し、60分、120分では減少がみられなかった。また、PRL 前処置後、PRL を加えて  $^{125}\text{I}$ -LH の uptake をみた群では、30分 PRL 前処置群にみられた減少はなかった。

3) ヒト卵巣に PRL を30分前処置後、細胞質分画を作成し、ラット卵巣およびヒト卵巣に  $^{125}\text{I}$ -LH と、この細胞質分画を同時に加えると specific な LH の binding は減少した。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 28(1), 18-25, 1983)

### 緒 言

ヒトにおいて、高プロラクチン血症（以下高 PRL 血症）は、種々なる月経異常をきたし、特に排卵障害との関係が注目されている<sup>1)</sup>。しかも、baboon を使った実験では、月経周期のどの時期に高 PRL 血症を誘発するスルピリドを投与しても、排卵の抑制、遅延と黄体機能の抑制がおこり、月経異常がみられている<sup>2)</sup>。この排卵障害は PRL のレベルが高い程、その障害が高度である。

高 PRL 血症は排卵を抑制するが、FSH, LH などの gonadotropin 系の抑制はなく、 $\text{E}_2$  も軽度減少がみられる程度のものである<sup>1)</sup>。また、LH-RH レベルも変化しないといわれており<sup>3)</sup>、血中のホルモンレベルでは正常月経周期のものとは大きな差はみられない。しかし、ブレマリン投与を行って、estrogen の LH 放出に対する

positive feed back 機構は明らかに抑制がみられ<sup>4,5)</sup>、間脳一下垂体レベルでの障害が推察されるが、一方 gonadotropin (HMG) に対する estrogen の反応も弱いという報告<sup>6)</sup> もみられ、卵巣機能の抑制も充分考えられる。そこで、今回我々は、ラットおよびヒトの卵巣を用いて、PRL を投与した場合の gonadotropin の binding を調べ、高 PRL 血症における卵巣の receptor level での障害を検討した。

### 材料および方法

1) 材料は生後12週 Fischer 系ラット、体重 150g 前後のもので、estrous, preestrous の時期のものを使用し、ヒト卵巣は、正常月経周期を有する増殖期の婦人で、子宮筋腫などの術後15分以内に卵巣を  $-80^\circ\text{C}$  に凍結保存した<sup>7)</sup>。ラットの場合、断頭屠殺後直ちに開腹し、卵巣を摘出、 $-80^\circ\text{C}$  に凍結保存した。PRL, LH

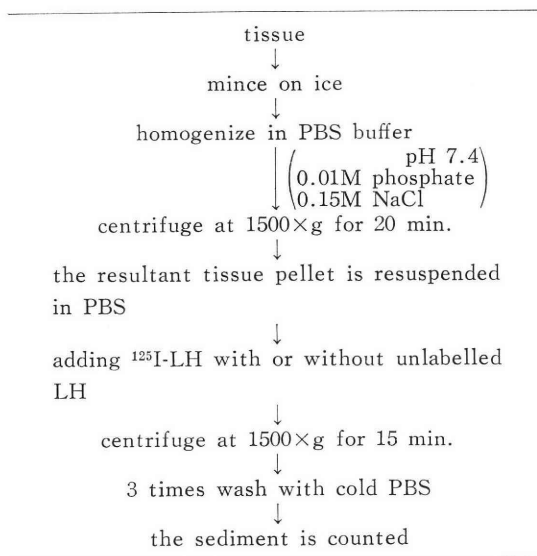


はヒツジ, FSH はブタ (Sigma 社) のものを用いた。ラベルした  $^{125}\text{I}$ -LH,  $^{125}\text{I}$ -FSH (ミドリ十字) の specific activity は  $200\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$  である。

## 2) 細胞膜分画の作製

Bex<sup>8)</sup> らの方法に準じ, 卵巣の組織を徐々に解凍し, よく洗って細切し polytron homogenizer にて homogenize, これを  $4^{\circ}\text{C}$  20分間  $1500\text{g}$  で遠心, その pellet に PBS buffer を加え攪拌し, これを粗細胞膜分画とした (図 1)。

表 1



## 3) PRL の前処置

PRL (100IU/g) を  $37^{\circ}\text{C}$  で卵巣の細胞膜分画と 1 時間 incubate した。

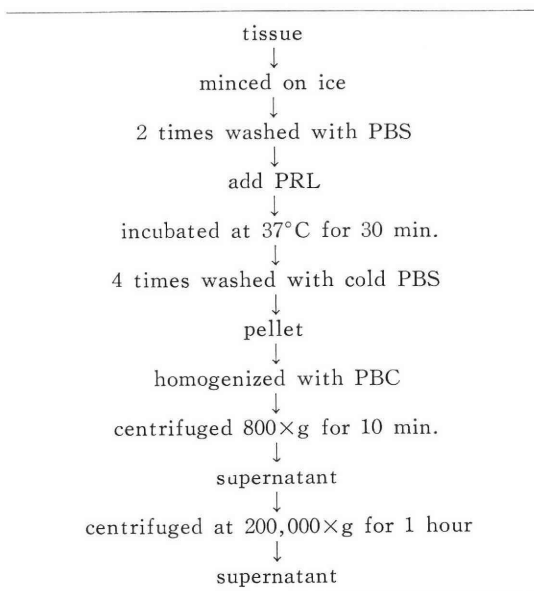
## 4) PRL 30分前処置後の卵巣細胞質分画の作成

卵巣の組織をよく洗い細切し, PBS buffer で 2 回洗浄し, PRL を 100IU/g 加え  $37^{\circ}\text{C}$  30分間 incubate する。その後, 再び 4 回洗って余分の PRL を除去し, 最終pellet を PBS で homogenate し  $4^{\circ}\text{C}$  10分間  $800\text{g}$  で遠心, その上清をさらに  $4^{\circ}\text{C}$   $200,000\text{g}$  で 1 時間遠心し, 上清を細胞質分画とした (図 2)。

## 5) Binding Assay

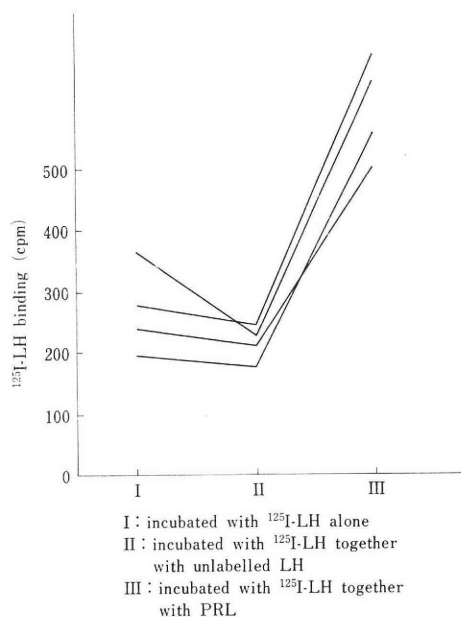
label した  $^{125}\text{I}$ -LH,  $^{125}\text{I}$ -FSH 10IU/g に label しない 200倍量の LH, FSH を加えたものと, 加えないものを先の卵巣細胞膜分画と  $37^{\circ}\text{C}$  で 60分間 incubate した。incubate 後  $4^{\circ}\text{C}$   $1500\text{g}$  で 15分間遠心し, さらに PBS で 3 回洗い最終 pellet を count した。これらはすべて duplicate で行った。

表 2



## 成 績

ラット卵巣に  $^{125}\text{I}$ -LH 単独とこれに label しない LH を加えてみた場合, label しない LH を加えたものは  $^{125}\text{I}$ -LH と compete し  $^{125}\text{I}$ -LH の uptake は減少したが,  $^{125}\text{I}$ -LH に PRL を同時に加えて incubate するとむしろ  $^{125}\text{I}$ -LH の取り込みは増加した (図 3)。

図 1  $^{125}\text{I}$ -LH binding of rat ovaries

PRL を同時投与した場合、先に述べたように、 $^{125}\text{I}$ -LH の取り込みは上昇したが、specific な LH の取り込みは増加するものも減少するものもあり、一定の傾向はなかった (図4)。

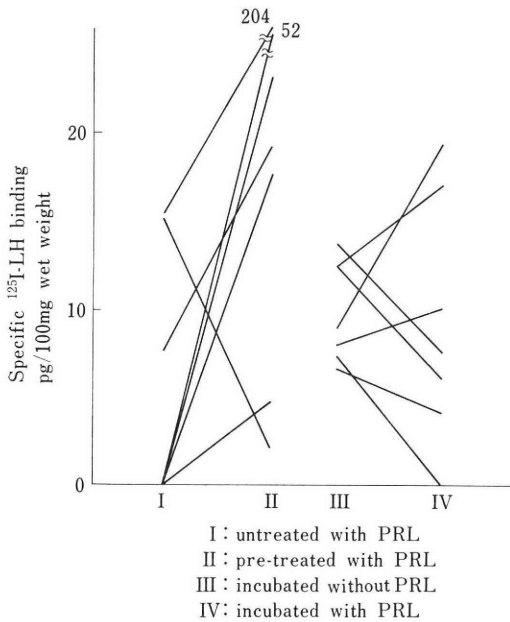


図2 The effects of pretreated with PRL on the specific  $^{125}\text{I}$ -LH binding of the rat ovaries  
 $^{125}\text{I}$ -LH binding of rat ovary incubated with or without PRL

PRL をラット卵巣の細胞膜分画と  $37^\circ\text{C}$  で1時間 incubate して前処置した場合、PRL 未処置群に比して明らかに  $^{125}\text{I}$ -LH の uptake の上昇したものが多かった (図4左)。

ヒト卵巣について、その細胞膜分画に  $^{125}\text{I}$ -LH と PRL を同時投与した場合、 $^{125}\text{I}$ -LH の specific な binding はラット卵巣の場合と同様に一定の傾向をもたなかった (図5)。

ヒト卵巣細胞膜分画に PRL を  $37^\circ\text{C}$  60分間投与する前処置を行ったものは、PRL 未処置群に比して、 $^{125}\text{I}$ -LH の specific binding は有意に減少し ( $P < 0.05$ )、その後、再び PRL を加えて  $^{125}\text{I}$ -LH の uptake をみると、逆に若干上昇し、回復傾向がみられるようであった (図6)。

ラットの卵巣を用いて、その細胞膜分画を作成し、PRL 未処置群、PRL 前処置群、さらに PRL 前処置後、再び PRL を加えた群と分けて  $^{125}\text{I}$ -LH の uptake をみると、PRL 未処置群はわずかではあるが徐々に減少し、PRL 前処置群は、前処置30分で0分に比し有意

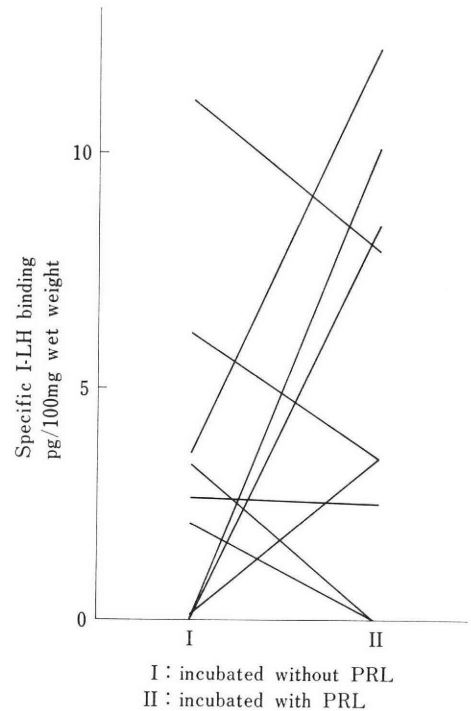


図3  $^{125}\text{I}$ -LH binding of human ovary incubated with or without PRL

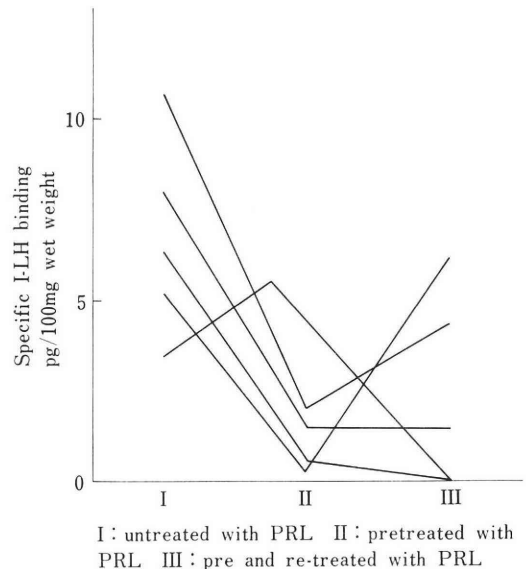


図4 The effects of pre and re-treated with PRL on the specific I-LH binding of the human ovaries

に減少し ( $P < 0.05$ )、60分では再び0分値に戻り、120分値も変化がなかった。PRL を前処置後、再び PRL を加えて  $^{125}\text{I}$ -LH の binding をみた場合は、PRL 前処

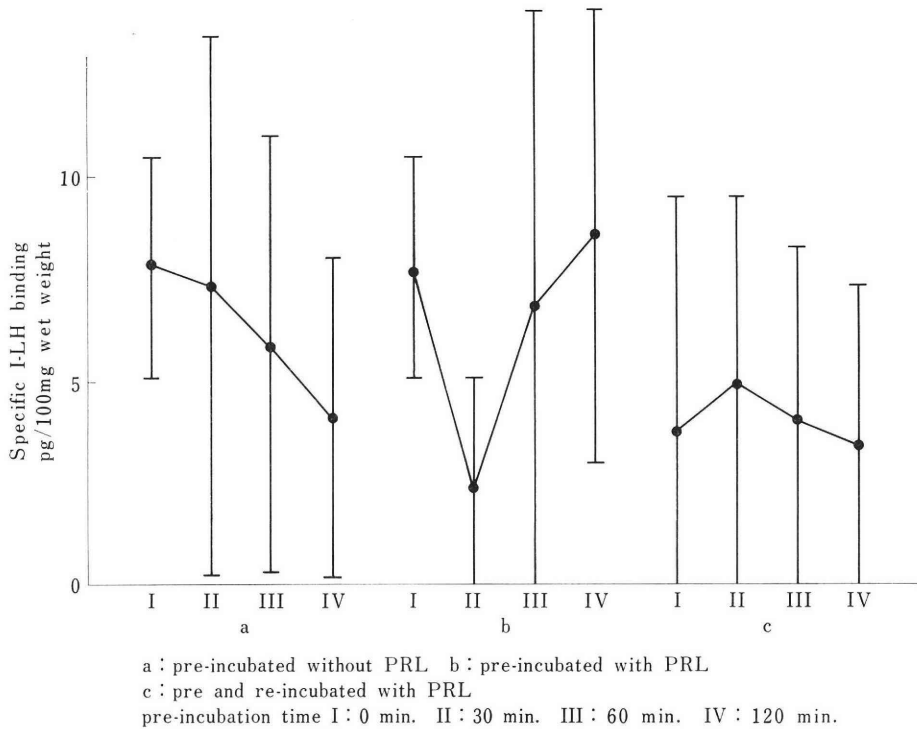


図 5 The effects of pre-incubation with PRL on the specific  $^{125}\text{I}$ -LH binding of the rat ovaries

置の時間に関係なく一定で、30分値の減少もみられなかった (図7)。そこでヒトの卵巣に PRL を30分前処置した後、細胞質分画を作成し、これをラット卵巣の細胞膜分画に  $^{125}\text{I}$ -LH と同時に投与し、 $^{125}\text{I}$ -LH の uptake をみた。PRL 30分前処置群は、未処置群に比し有意に減少し ( $P < 0.05$ )、かつ PRL 30分前処置後、再び PRL を加えて  $^{125}\text{I}$ -LH の binding をみると、若干回復傾向がみられた (図8)。次に PRL で30分前処置したヒト卵巣の細胞質分画を、ヒトの卵巣細胞膜分画に  $^{125}\text{I}$ -LH と同時に加えて incubate すると、PRL 未処置群より減少傾向にあり、この減少は、再び PRL を加えて  $^{125}\text{I}$ -LH の uptake をみると、回復傾向があり、ラット卵巣の場合と同様の結果であつた (図9)。もう一つの gonadotropin である FSH についても同様に、PRL を  $37^\circ\text{C}$  で30分、ヒト卵巣と incubate し、その後、卵巣の細胞質分画を作成し、それをヒト卵巣の細胞膜分画に  $^{125}\text{I}$ -FSH と同時に加えて incubate し、 $^{125}\text{I}$ -FSH の uptake をみると、PRL 前処置群では有意に減少した ( $P < 0.01$ )。この際、PRL を再び加えて  $^{125}\text{I}$ -FSH の uptake をみたが、LH とは異なり uptake の回復傾向はみられなかった (図10)。

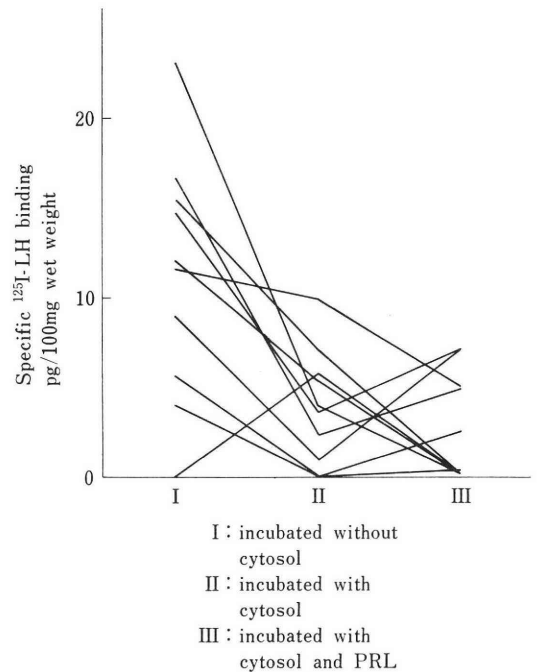


図 6 The effects of cytosol from human ovarian homogenates treated with PRL on the specific  $^{125}\text{I}$ -LH binding of rat ovaries

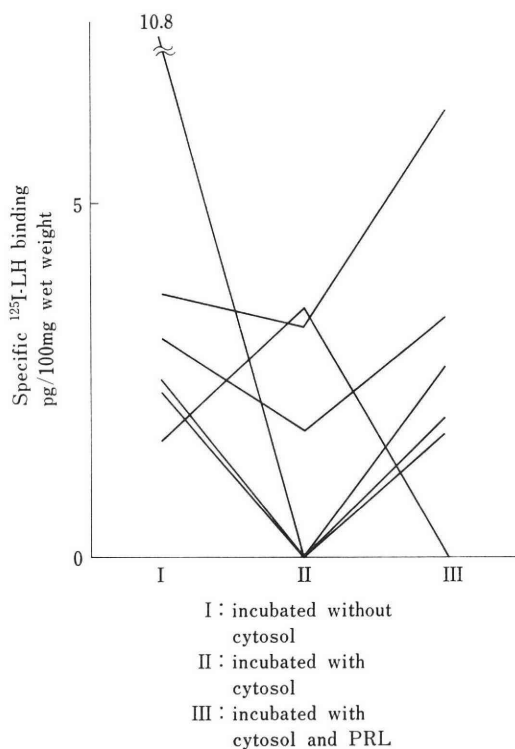


図 7 The effects of cytosol from human ovarian homogenates treated with PRL on the specific  $^{125}\text{I}$ -LH binding of human ovaries

### 考 察

PRL は、哺乳類だけではなく魚類に至るまで広く存在しているが、その作用に関しては、乳汁分泌作用の他にも、成長作用、水、電解質の代謝などがあり、不明な点が多い。しかし、1972年 Hwang, P.<sup>9)</sup>らにより hPRL が抽出、精製され、それ以来 PRL の研究がさかんになり、そのホルモン作用等も次第に解明されつつある。また最近 PRL の RIA が確立され血中 PRL の動態が明らかとなってきた。Chiari-Frommel 症候群、Argonz-Castillo 症候群、Forbes-Albright 症候群などの乳汁漏出性無月経は血中の PRL が高値であり、この PRL が negative feed back により gonadotropin の放出を抑制すると考えられていたが、gonadotropin の RIA も確立し、gonadotropin を測定してみると抑制はみられない。そこで高 PRL 血症による排卵障害の成因については、positive feed back 機構の障害等の間脳、下垂体レベルでの障害があるのではないかとされている<sup>4,5)</sup>。

事実、高 PRL 血症の中でも 200ng/ml 以上の高値を示すものは、下垂体腺腫のものが多く<sup>1,10)</sup>、何らかの形

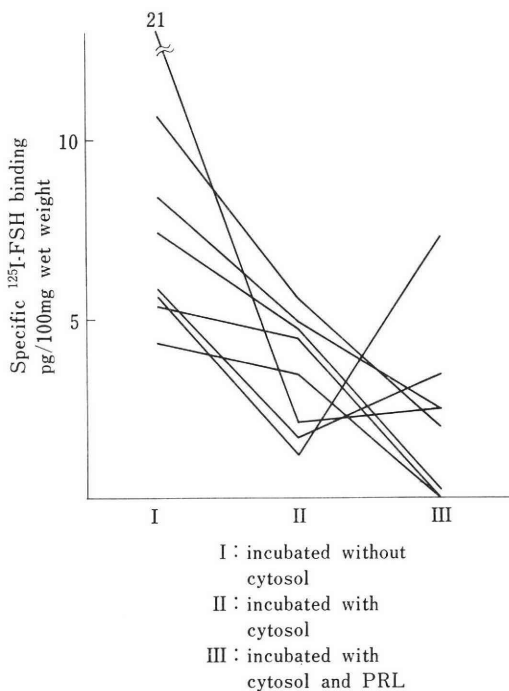


図 8 The effects of cytosol from human ovarian homogenates treated with PRL on the specific  $^{125}\text{I}$ -FSH binding of human ovaries

で下垂体や間脳に障害を与えているものと考えられる。しかし、一方で下垂体腺腫の存在しない場合、あるいは microadenoma である場合でもかなり高度の高 PRL 血症をみることもあり<sup>11)</sup>、一概に間脳、下垂体レベルのみでは、高 PRL 血症の排卵障害は説明がつかない。このことは高 PRL 血症の際に HMG などの gonadotropin を投与した場合、estrogen の上昇がみられないとの報告<sup>6)</sup>をみても、卵巣レベルにおいても障害があることは十分考えられる。一般的にはホルモンは、そのホルモンのもつ specific な receptor と binding し、ホルモン作用を促すと考えられている<sup>12)</sup>。

高 PRL 血症は、血中の gonadotropin、性ステロイド level 等は正常婦人における動態と大きな差はないがホルモンレセプター level での抑制は充分推察される。一般に gonadotropin の receptor は細胞膜に存在し<sup>13)</sup>、steroid hormone の receptor は細胞質および核に存在するといわれている<sup>14)</sup>。そこでわれわれは今回、Bex らの方法による粗細胞膜分画を作成したが、homogenate を使つて gonadotropin の uptake をみる報告もある<sup>15)</sup>。PRL をラットの黄体に投与すると、LH の uptake が増加するといわれている<sup>16)</sup>が、これはラットの場合、PRL が luteotropic に働くためと解釈される<sup>17)</sup>。今回

の実験では図 4, 5 に示したごとく, PRL をラットの preestrous, estrous の卵巣に加えて, LH の uptake をみると, nonspecific な binding が上昇したが, specific な LH の binding は一定でなかった。これはヒトの卵巣を用いても同様であった。しかし, PRL を 37°C で 1 時間ラット卵巣やヒトの卵巣の細胞膜分画と incubate したのち, LH の uptake は, PRL 未処置より減少傾向がみられた。しかし出口らの報告<sup>18)</sup>に従えば, PRL と LH が競合して LH receptor に binding するとは考えられない。しかもこの時, PRL は前処置後, 充分洗浄しており余分な PRL の干渉は考えられない。よつて PRL が粗細胞膜分画と incubate 後, 何らかの物質が生じ, Posner<sup>19)</sup>が述べているように, これが LH の uptake を障害する可能性が十分に推察される。この物質は, 現状では, はつきりと特定はし得ないが, 先に述べた LH の nonspecific binding のものかもしれない。すなわち, PRL 前処置により, cytosol 中に LH の nonspecific binding をおこす物質(作用)が生じ, LH receptor との binding を障害する可能性も考えられた。また時間的な推移を知る目的で, 図 7 のごとく, この PRL 前処置の時間を 0, 30, 60, 120 分と変えてみると, 前処置 30 分値で有意の減少がみられた。しかし, PRL 前処置後, <sup>125</sup>I-LH と同時に PRL を加えて LH の uptake をみた場合, 30 分値の減少はみられなかった。PRL を前処置した場合, 30 分経過で LH の uptake は抑えられるが, 再び PRL を加えてみると, LH の uptake は差がみられないということは, LH の uptake を抑制する作用は早期に消失し, しかもこれは, PRL により regulate されている可能性がある。PRL などの peptide hormone は, 細胞膜にある receptor と binding する (cyclic AMP 依存性 protein kinase の合成が促され, その結果ホルモン作用が発揮される<sup>20)</sup>)。従つて, PRL と incubate した場合, その PRL の作用機序発達の mechanism は膜より, むしろ細胞質レベルと考えられ, しかも粗細胞膜分画にはかなりの細胞質成分が含まれていると思われる。そこでこのような PRL を前処置した時の LH の uptake の抑制を起こす物質は細胞質分画にあり, しかも, ラット卵巣の場合, PRL 前処置 30 分値が一番 LH の uptake の抑制が著しいことから, ヒト卵巣に PRL を 30 分, 37°C で incubate 後, 細胞質分画を作成し, ラット卵巣およびヒト卵巣の細胞膜分画に <sup>125</sup>I-LH と同時に incubate すると, PRL 未処置群より LH の uptake は抑えられた。ヒトの場合は, ラットの卵巣ほど著明に LH の uptake は抑制されなかったが, ヒトとラットの種属特異性や, ヒトの卵巣の場合, PRL の前処置の incubation time

がラットの場合と異つた態度を示す可能性も考えられる。ヒトの卵巣を用いた場合, FSH も同様に, PRL 前処置 30 分後, 細胞質分画を <sup>125</sup>I-FSH と同様に加えて uptake をみると, 有意に減少傾向がみられた。FSH の場合, ヒト卵巣と PRL の前処置 30 分で充分 uptake が抑制された。しかし, LH と異なり, PRL 前処置後, 再び FSH を加えても uptake の回復はみられなかった。ホルモンは, ホルモンレセプターを介してその作用が発現されることを勘案すると, 血中のホルモンレベルに変化がなくても, そのホルモンレセプターの質的, 量的変化があれば, ホルモンはその作用を発揮できないことは十分に考えられよう。従来報告では高 PRL 血症の場合, 排卵障害がみられるが, 血中 gonadotropin, 性 steroid hormone 等の level は正常月経周期と大差がない<sup>1-3)</sup>ことから, 今回の我々の実験結果をみると gonadotropin の receptor level は PRL を前処置した場合, FSH, LH の uptake は抑制され, この抑制は再び PRL を加えると回復傾向がみられている。さらに LH の uptake の場合, ラット卵巣では PRL 前処置群は減少し, さらに PRL を加えると uptake はやや回復するが, PRL 未処置群程には回復がみられない。しかしヒトの卵巣では, ラットほどこの現象は明らかではなかった。このように PRL を再び加えた場合, LH の uptake がやや回復するのは, ラットの場合は, PRL が LH 作用をもつといわれている<sup>17)</sup>ようにヒトにおいても多少 LH の uptake を support する作用がある可能性も推定される。いずれにしても, FSH, LH は PRL の前処置により uptake は抑制されたが, これは PRL の濃度とも関係があると思われ, 臨床的には高 PRL 血症と排卵障害の程度とは血中の PRL と正の相関があり, PRL の量と gonadotropin の uptake の抑制の程度とは dose dependent と考えられるが, 今後さらに検討すべき点であろう。FSH, LH は in vitro で PRL 前処置により uptake は抑制され, しかも, 再度 PRL を投与しても, LH は uptake が若干回復するが, FSH は回復しないことから, 高 PRL 血症の生体内では, 高 PRL 血症により 30 分前後くらいに FSH, LH の uptake が抑えられ, さらに PRL が卵巣に入つてきても, gonadotropin の uptake は若干回復するかも知れないが, 再び高 PRL により uptake が抑制されると想像された。LH, FSH の血中濃度とその hormone receptor との間には, 逆相関の関係があり, すなわち, down regulation を取るといわれており, gonadotropin の uptake が卵巣 level で抑制され, その receptor level も低ければ, むしろ血中の gonadotropin level が正常の月経周期 level と大きな差がないのも当

然と考えられる。以上のことより FSH, LH のヒト卵巣における uptake の減少により receptor level での障害があり、その結果、排卵が抑制されるのが一因であることが推定された。

## 文 献

- 1) 石黒隆雄：乳汁分泌無月経症候群の内分泌学的背景に関する研究，不妊会誌，27：96，1982.
- 2) 麻生武志，蘇 鈞煌，松岡賢光，堀 克行，高橋 晃，泰井俊造，本橋 亨：高プロラクチン血症と月経異常，産と婦，47：33，1980.
- 3) Miyake, A., Kawamura, Y., Aono, T., and Kurachi, K.: Changes in plasma LRH during the normal menstrual cycle in women. *Acta Endocrinology*, 93 : 257, 1980.
- 4) Aono, T., Miyake, A., Shioji, T., Kinugasa, T., Onishi, T. and Kurachi, K.: Impaired LH release following exogenous estrogen administration in patients with amenorrhea-galactorrhea syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 42 : 696, 1976.
- 5) Aono, T., Miyake, A., Shioji, T., Yasuda, M., Koike, K. and Kurachi, K.: Restoration of estrogen positive feedback effect on the release by bromocriptine in hyperprolactinaemic patients with galactorrhea-amenorrhea. *Acta Endocrinology*, 91 : 591, 1979.
- 6) Asfour, M., L'Hermite, M., Hedouin-Quincampoix, M. and Fossati, P.: Evaluation of pituitary gonadotropins reserve before and under bromocriptine, *Acta Endocrinology*, 84 : 738, 1977.
- 7) Kato, J., Onouchi, T., Okinaga, S. and Ito, N.: Estradiol receptor in rat testis, *Endocrinology*, 94 : 902, 1974.
- 8) Bex, F. J. and Bartke, A.: Testicular LH binding in the hamster, modification by photoperiod and prolactin, *Endocrinology*, 100 : 1223, 1977.
- 9) Hwang, P., Guyda, H. and Friesen, H.: Purification of human prolactin, *J. Biol. Chem.*, 247 : 1955, 1972.
- 10) Kleinberg, D. L., Noel, G. L. and Frantz, A. G.: Galactorrhea: a study of 235 cases, including 48 with pituitary tumors, *N. Eng. J. Med.*, 296 : 589, 1977.
- 11) Martin, J. B., Reichlin, S. and Brown, G. M.: *Clinical Neuroendocrinology*. Philadelphia, F. A. Davis: 141, 1977.
- 12) 武田誠郎：Cyclic AMP による代謝調節の機構。総合臨床，23：1167，1974.
- 13) Dufau, M. L., Charread, E. H. and Catt, K. J.: Characteristics of a soluble gonadotropin receptor from the rat testis, *J. Biol. Chem.* 248 : 6973, 1973.
- 14) O'Malley, B. W., McGuire, W. L., Kohler, P. O. and Korenman, S. G.: Studies on the mechanism of steroid hormone regulation of synthesis of specific proteins. *Recent Prog. Horm. Res.* 25 : 105, 1969.
- 15) Garri, R., David, R., Nanesmark, S., Seguin, C., Kelly, P. A. and Rothchild, I.: The lack of relationship between luteinizing hormone receptor in the rat corpus luteum and the critical need for luteinizing hormone in the luteotropic process, *Endocrinology*, 107 : 486, 1980.
- 16) Holt, J. A., Richards, J. S. and Midgley, Jr. A. R.: Effect of prolactin on LH receptor in rat luteal cells, *Endocrinology*, 98 : 1005, 1976.
- 17) Malven, P. V.: Luteotrophic and luteolytic responses to prolactin in hypophysectomized rats, *Endocrinology*, 84 : 1224, 1969.
- 18) 出口正喜，森川 肇，望月真人，東條伸平：胎盤性ラクトゲンの肝・乳腺細胞膜への特異的結合，日産婦誌，32：471，1980.
- 19) Posner, B. I., Josefsberg, Z. and Bergeron, J. M.: Intracellular polypeptide hormone receptors. 235 : 4067, 1978.
- 20) 近藤洋一：ホルモンレセプターの2，3の問題点，ホと臨床，29：3，1981.

## Effects of prolactin on ovarian receptors

Akio Hoshino, Takeshi Hirohashi,  
Takao Ishiguro, Yoshiaki Sato  
and Shoshichi Takeuchi

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

Hyperprolactinemia in women is commonly seen in relation to infertility and sterility. Gonadal and hypothalamohypophyseal effects of hyperprolactinemia are as yet incompletely solved today.

In hyperprolactinemic women, serum FSH, LH and Estradiol concentrations are normal in the majority of cases. So the mechanism of the ovulation-disturbance in hyperprolactinemic patients remains obscure now.

In this experiment, mice and human ovarian tissues were used and binding assay was measured at 37°C at time of 60 minutes by addition  $^{125}\text{I}$ -LH or  $^{125}\text{I}$ -FSH to 200  $\mu\text{l}$  aliquots of ovarian cytosol preparation.

Results as follow :

(1) PRL has significantly increased the binding of cytosol non-specific  $^{125}\text{I}$ -LH, but didn't have a certain tendency in the specific binding. Study

in the human ovarian experiment has shown similar results.

(2) Significant decreases of  $^{125}\text{I}$ -LH binding of human ovary were found in the condition of 30 minutes PRL-preincubation time, but binding measured at time interval of 60 and 120 minutes

showed no significant responses.

(3) Cytosol preparation of 30 minutes incubation after the load of PRL made to decrease the specific binding of LH in human ovary

(受付：昭和57年2月5日特掲)

## PLASMA PROLACTIN IN LUTEAL INSUFFICIENCY AND TREATMENT WITH BROMOCRIPTINE

Takashi KANO and Kiyoshi NISHIKAWA

Nishikawa Gynecological Clinic

Takayoshi KANDA, Kazunori MIYAZAKI and Osamu SUGIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka Medical College

**Abstract:** In order to evaluate the role of prolactin in the luteal insufficiency, the changes of plasma prolactin levels in the control subjects with normal menstrual cycle and the patients with luteal insufficiency were investigated. Prolactin levels were significantly increased in the middle luteal phase (9–12th day of high phase). This change was probably related to luteolysis in the control subjects. However, the plasma prolactin levels remained high during the menstrual cycle without any definite trend in the patients with luteal insufficiency. The mild hyperprolactinemia from the menstrual phase to the early luteal phase might play an etiological role in the luteal insufficiency. In order to decrease the plasma prolactin levels at this period, bromocriptine was orally administered during the follicular phase. BBT finding was improved and progesterone secretion was increased. The administration of bromocriptine in the patient with luteal insufficiency appear to be effective in those with plasma prolactin level above 25 ng/ml. Bromocriptine might decrease the inhibitory effect of prolactin on the follicular growth, therefore progesterone might be increased.

**Key words:** Luteal insufficiency, Prolactin, Bromocriptine, Progesterone

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 28(1), 26–32, 1983)

### Introduction

Amenorrheas with galactorrhea like as Chiari-Frommel's syndrome occurring post-partum, Argonz-del Castille's syndrome and Forbes-Albright's syndrome those occurrence are unrelated to pregnancy, have been given a specific position in the past classification of anovulation. A detail clinical picture has been elucidated by the radioimmunoassay for prolactin (PRL) developed by Sinha et al.<sup>1)</sup> and Cole et al.<sup>2)</sup>.

It has been evidenced that bromocriptine (CB-154, Parlodel®) inhibits the production and the excretion of PRL through a dopamine receptor agonist<sup>3)</sup>. Bromocriptine became the drug of the first choice in the treatment for anovulation with hyperprolactinemia.

However, it was recognized that some of the patients with luteal insufficiency had

slightly higher PRL level than the subjects who has normal menstrual cycles.

In the present study, we investigated the changes of plasma PRL levels in the patients with normal menstrual cycles and luteal insufficiency during menstrual cycle. This study also investigated to evaluated bromocriptine as a possible treatment in the luteal insufficiency.

### Materials and Methods

#### 1) Subjects

Human subjects were 189 control, 24 to 36 years old, and 38 patients with luteal insufficiency, 25 to 34 years old. Control subjects visited us with a wish for baby. They were non milk secreting women who had normal menstrual cycle according to basal body temperature (BBT). Some of them were in the test period of a routine inferti-



lity examinations and in the rest period of AID treatment. The other were treated with hydrotubation for tubal obstruction. The patients with luteal insufficiency were corresponded to type 4 and 5 of BBT classification by Iizuka<sup>4)</sup>.

## 2) Method of blood hormone measurement

Blood samples were obtained 9 and 11 a.m. from resting subjects. PRL was measured by Dinabott Kit, and progesterone by France Atomic Energy Agency (CIS, Midori Juji) through radioimmunoassay.

## 3) Method of bromocriptine treatment

The patients with luteal insufficiency whose plasma PRL level was higher than 25 ng/ml during menstrual or follicular phase were given bromocriptine orally at evening meal for 7-10 days. The treatment began on the 5th day in the menstrual cycle. The bromocriptine doses was 2.5 mg in the patients whose plasma PRL level was lower

than 50 ng/ml, and 5.0 mg whose level was higher than 50 ng/ml.

## 4) Statistic study

The results were expressed as a mean  $\pm$  standard deviation for each group. Significance of the difference was examined by Student's t-test.

## Results

The changes of plasma PRL levels in the control subjects and in the patients with luteal insufficiency during a menstrual cycle were investigated (Fig. 1). The mean plasma PRL level in the control subjects was  $10.4 \pm 3.1$  ng/ml in menstrual phase, and it was almost constant until 6th day in luteal phase. However, the mean PRL values on the 9th and 10th, and 11th and 12th days were significantly increased to  $19.5 \pm 7.0$  and  $21.9 \pm 6.6$  ng/ml, respectively. ( $P < 0.01$ ). The

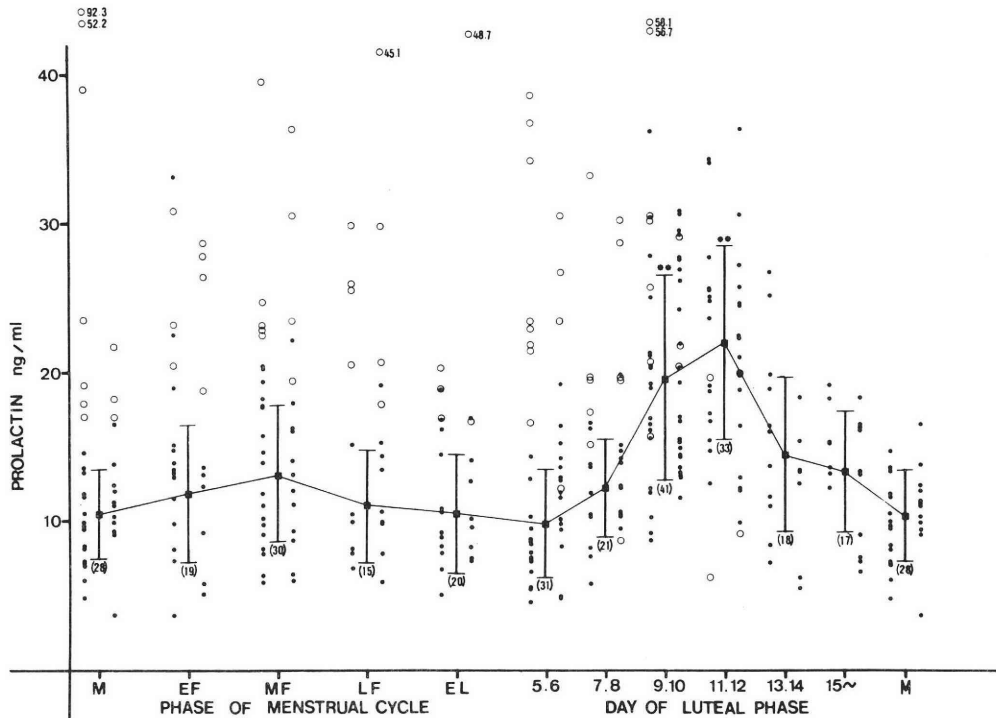


Fig. 1 Changes of plasma prolactin during a menstrual cycle. Each bar represents the means  $\pm$  SD of two days in control subjects.

Statistical analysis was made by an analysis of variance, comparing the values with those in menstrual phase of control subjects. \*\*  $P < 0.01$

Symbols: ● control subjects ○ luteal insufficiency

Abbreviation: M; menstrual phase EF; early follicular phase MF; middle follicular phase LF; late follicular phase EL; early luteal phase

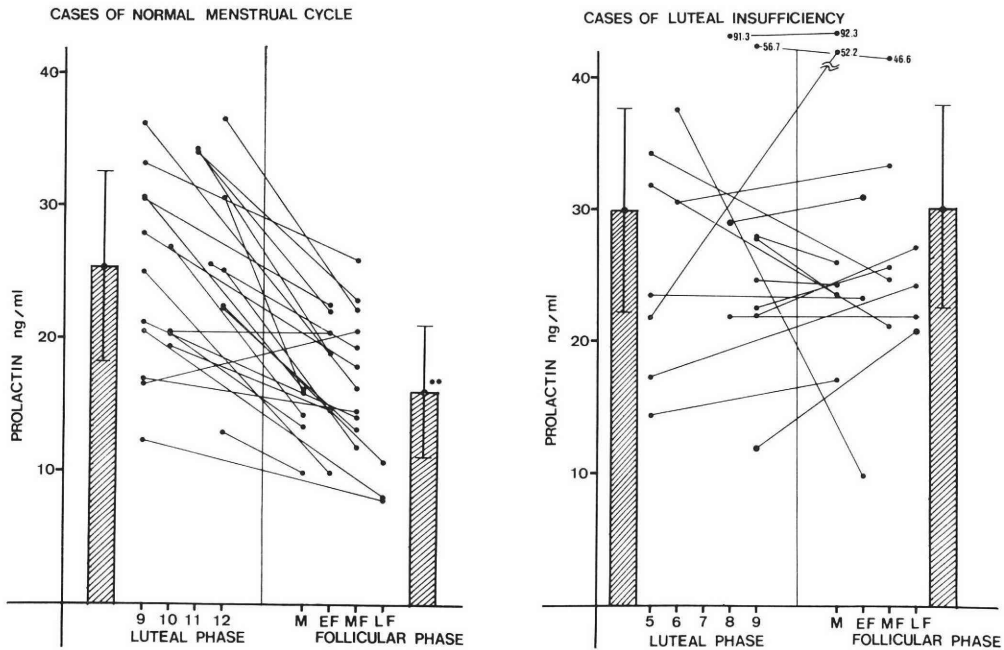


Fig. 2 Plasma prolactin levels in the control subjects (left) and in the patients with luteal insufficiency (right) during luteal phase and follicular phase. Each column and bar represents the mean and SD in each phases. \*\*  $P < 0.01$

elevated levels were decreased before the next menstrual phase. The mean values of the control subjects during all phase was  $13.3 \pm 6.5$  ng/ml.

In the patients with luteal insufficiency, the mean plasma PRL level in menstrual phase was significantly higher than that of the control subjects ( $31.7 \pm 24.2$  ng/ml,  $P < 0.05$ ). The high level was maintained during all phase of a menstrual cycle. A periodical change of plasma PRL levels was recognized in the control subjects but not in the patients. Moreover, the plasma PRL level in each subject (25 control subjects and 19 patients with luteal insufficiency) was measured during luteal phase and follicular phase (Fig. 2). The magnitude of change varied from subject to subject, however, the elevated PRL levels were decreased in all control subjects. The mean level of plasma PRL were  $25.4 \pm 7.2$  ng/ml in the luteal phase and  $16.0 \pm 5.8$  ng/ml in the follicular phase ( $P < 0.01$ ). The each plasma PRL level was increased in 6 patients and not changed in 7 patients and decreased in 5 patients. Significant variance of the mean PRL levels was not shown between in luteal

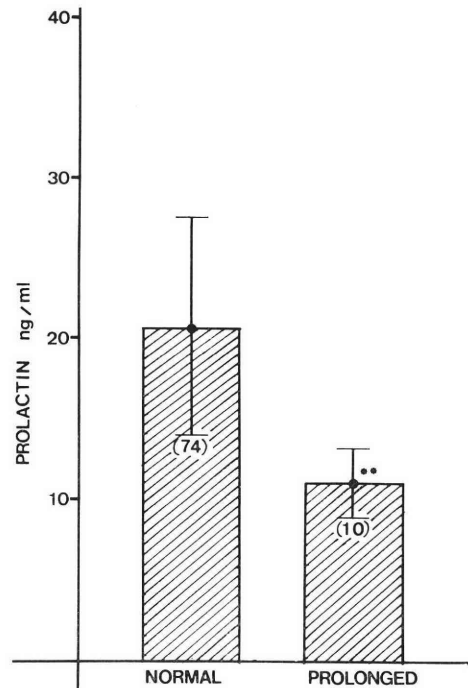


Fig. 3 Plasma prolactin levels on the 9-12th day in the luteal phase in the control subjects and in the subjects with prolonged luteal phase. Each column and bar represents the mean and SD. \*\*  $P < 0.01$

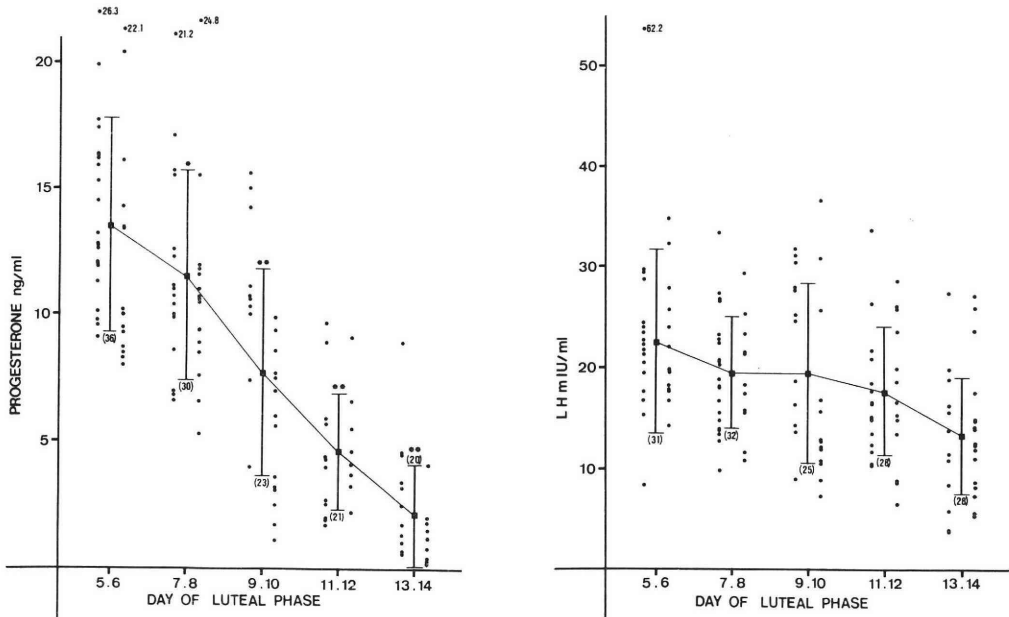


Fig. 4 Changes of plasma progesterone (left) and LH (right) in the control subjects during luteal phase. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of two days. Statistical analysis was made by an analysis of variance, comparing the value with those in 5th and 6th days. \* $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

phase and in follicular phase ( $29.8 \pm 17.8$  ng/ml and  $30.0 \pm 17.8$  ng/ml, respectively).

The measurement shown in Fig. 3 were carried out in order to settle the question whether or not the PRL has luteolytic effect. The plasma PRL values on the 9th to 12th day in the luteal phase in the subjects whose menstruation started within 16 days of the high phase, was significantly higher than that in the subjects whose high phase were more than 18 days. The mean levels in 74 control subject and in 10 subject who had prolonged luteal phase were  $20.6 \pm 6.9$  ng/ml and  $11.0 \pm 2.2$  ng/ml, respectively ( $P < 0.01$ ). These result indicated that prolonged luteal phase should be depend upon the low PRL level.

The plasma level of progesterone and LH were measured in the control subjects from 5th of the luteal phase (Fig. 4). The mean plasma progesterone levels on the 5th and 6th day was  $13.5 \pm 4.3$  ng/ml and it was decreased to  $7.7 \pm 4.1$  ng/ml on the 9th and 10th day ( $P < 0.01$ ). However, the mean plasma LH levels on the 5th and 6th days was  $22.4 \pm 9.2$  mIU/ml and it was maintained during the luteal phase. These results in-

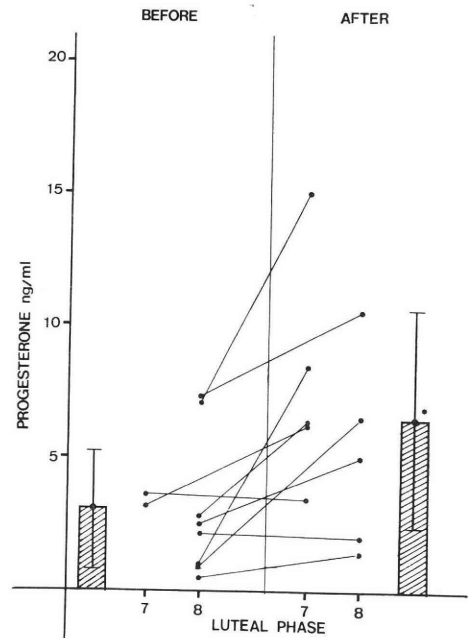


Fig. 5 Changes of plasma progesterone before and after the treatment with bromocriptine. Statistical analysis was made by an analysis of variance, comparing the values with those in before treatment. \*  $P < 0.05$

indicated that the decreasing of plasma progesterone is due to the increasing of the secretion of PRL.

Thus, we undertook the improvement of PRL secretion by treatment with bromocriptine for patients with luteal insufficiency. The plasma progesterone levels on the 7th and 8th day in the luteal phase before and after treatment with bromocriptine were shown in Fig. 5. A significant increase in plasma progesterone was noted after the treatment with bromocriptine in the patient with luteal insufficiency ( $3.1 \pm 2.3$  ng/ml and  $6.5 \pm 4.1$  ng/ml,  $P < 0.05$ ).

Table 1 Effect of the treatment with bromocriptine on BBT in the patients with luteal insufficiency

| BBT                                                                               | Cases | Bromocriptin Treatment |            |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------------|------------|-------------|
|                                                                                   |       | Improved               | Unchanged  | Anovulation |
|  | 25    | 16 (64.0%)             | 8 (32.0%)  | 1 (4.0%)    |
|  | 8     | 4 (50.0%)              | 4 (50.0%)  | 0 (0.0%)    |
| TOTAL                                                                             | 33    | 20 (60.6%)             | 12 (36.4%) | 1 (3.0%)    |

The changes of BBT after treatment with bromocriptine in the patients with luteal insufficiency were also measured (Table 1). After treatment, prolonged high phase of BBT was shown in 16 of 25 patients (64%). The dip in the high phase disappeared in 4 of 8 patients (50%). The improved BBT were noted in 60.6% of treated patients.

### Discussion

Plasma PRL levels have been measured during menstrual cycles. In some experiments<sup>5-8)</sup>, significant changes were not shown when plasma PRL levels were compared in menstrual cycle. On the other hand, significant higher plasma PRL levels was shown in the luteal phase than in the follicular phase<sup>9,10)</sup>. In the present study, the plasma PRL level changes periodically, which increased in the middle luteal phase, decreased in the late luteal phase, and maintained during menstrual phase until early luteal phase at low.

Wiest<sup>11)</sup>, and Hashimoto and Wiest<sup>12)</sup> in-

vestigated the luteotropic effect of PRL, however, it also disagree<sup>13,14)</sup>. Malven<sup>15)</sup> suggested that PRL has a biphasic, luteotropic and luteolytic effects according to the aging of the corpus luteum by the experiment using hypophysectomized rats. Hirai et al<sup>16)</sup> reported that PRL acts luteolytically with prostaglandin  $F_{2\alpha}$  on a rat corpus luteum. In human, the progesterone secretion was decreased in the patients with hyperprolactinemia<sup>17)</sup>. Aso<sup>18)</sup> reported the occurrence of luteal insufficiency during a transient period leading to anovulation in sulpiride induced experimental hyperprolactinemia in humans and baboons. In the present study, frequent prolongation of the luteal function in the cases with low plasma PRL in the middle luteal phase was demonstrated. These results might indicate that a relationship between the luteolysis action and the rise of PRL in the middle luteal phase. However, such action are not that of PRL alone, but are in cooperation with other hormones. Other factor are probably predominant in the women with low PRL values on the 9-12th day of the luteal phase.

Progesterone secretion was noted to increase when bromocriptine was administered by DelPozo et al.<sup>19)</sup> through the luteal phase in the patients with luteal insufficiency. Mühlenstadt et al.<sup>20)</sup> also demonstrated that bromocriptine was useful in prolonging the high phase and increasing progesterone secretion. However, oversuppression of PRL to less than 3 ng/ml induced the hypofunction of corpus luteum. Koike et al.<sup>21)</sup> reported a higher rate of gestation without bromocriptine administration than with its administration during the luteal phase in the patients with hyperprolactinemic anovulation.

We demonstrated that plasma PRL levels remained high from the menstrual phase to the early luteal phase in that patients with luteal insufficiency when compared to the control subjects. The treatment with bromocriptine was carried out for 7-10 days from the 5th day of the menstrual cycle in order to decrease the plasma PRL level during this period. Improvements of BBT were observed in 60.6% of the patients. Progesterone secretion also increased. Bro-

mocriptine appeared to be useful in the patients with luteal insufficiency whose plasma PRL level was above 25 ng/ml from the menstrual phase to the early luteal phase.

It seems reasonable to expect that bromocriptine decrease the inhibitory effect of PRL on the follicular growth, therefore progesterone secretion is increased from the corpus luteum.

### References

- 1) Sinha, Y. N., Selby, F. W., Levis, U. J. and Vandertaan, W. P.: A homologous radioimmunoassay for human prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36: 509, 1973.
- 2) Cole, E. N. and Boyns, A. R.: Radioimmunoassay of human plasma prolactin with antiserum raised against extract of amniotic fluid. *J. Endocrinol.*, 58: 24, 1973.
- 3) Hokfelt, B.: Dopaminergic transmission and dopamine agonism. *Acta Endocr. Suppl.* 216: p. 9, 1978.
- 4) Iizuka, R., Kai, H. and Kobayashi, T.: *Fuinshogaku*. p. 34. Kanehara Press. 1974.
- 5) Hawang, P., Guyda, H. and Friesen, H.: A radioimmunoassay for human prolactin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 68: 1902, 1971.
- 6) Ehara, Y., Silber, T., Vendenberg, G., Sinha, Y. N. and Yen, S. S. C.: Circulating prolactin levels during the menstrual cycle; Episodic release and diurnal variation. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 117: 962, 1973.
- 7) McNeilly, A. S. and Chard, T.: Circulating levels of prolactin during menstrual cycle. *Clin. Endocrinol.*, 3: 105, 1974.
- 8) Ishimaru, T., Mori, H., Koh, K., Imamichi, S., Morisaki, M., Kohno, A., Yoshida, K., Imamura, S. and Yamabe, T.: A study on the significance bromocriptine (CB-154) administration in normoprolactinemic anovulatory women. *Acta Obstet. Gynecol. Jpn.*, 32: 1583, 1980.
- 9) Guyda, H. and Friesen, H. G.: Serum prolactin levels in human from birth to adult life. *Endocrinol. Res.*, 7: 534, 1973.
- 10) Verkman, M., Delvoye, P., L'Hermite, M. and Robyn, C.: Serum prolactin levels during menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44: 989, 1977.
- 11) Wiest, W. G., Kidwell, W. R. and Balogh, K. Jr.: Progesterone catabolism in rat ovary; A regulatory mechanism for progestational potency during pregnancy. *Endocrinology*, 82: 844, 1968.
- 12) Hashimoto, I. and Wiest, W. G.: Luteotropic and luteolytic mechanism in rat corpora lutea. *Endocrinology*, 84: 866, 1969.
- 13) Rennie, P., Davis, J. and Friedrich, E.: Failure of ovine prolactin to show luteotropic or luteolytic effect in rabbit. *Endocrinology*, 75: 622, 1964.
- 14) Malven, P. V. and Sawyer, C. H.: A luteolytic action of prolactin in hypophysectomized rat. *Endocrinology*, 79: 268, 1966.
- 15) Malven, P. V.: Luteotropic and luteolytic response to prolactin in hypophysectomy rat. *Endocrinology*, 84: 1224, 1969.
- 16) Hirai, M., Masubuchi, Y., Tajima, M. and Kumai, T.: Regulatory effect of prolactin and PG F<sub>2α</sub> on luteinized ovary in rat. *Japan. J. Pharmacol.*, 30: p. 164, 1980.
- 17) Delvoye, P., Taubert, H. D., Jürgensen, O., L'Hermite, M., Delogene, J. and Robyn, C.: Influence of circulating prolactin increased by a psychotropic drug on gonadotropin and progesterone secretion. *Acta Endocr. Suppl.*, 75: 110, 1974.
- 18) Aso, T.: The influence of hyperprolactinemia on human and baboon ovarian function. *Acta Obstet. Gynec. Jpn.*, 32: 1239, 1980.
- 19) DelPozo, E., Wyss, G. H., Alcaniz, J., Campano, A. and Naftolin, F.: Prolactin and deficient luteal function. *Obstet. Gynecol.*, 53: 282, 1979.
- 20) Mühlentstet, D., Wuttke, W. and Schneider, H. P. G.: Prolactin and short luteal infertility. *Acta Endocrinol. Suppl.*, 84: 43, 1977.
- 21) Koike, K., Aono, T., Shioji, T., Yasudy, M., Miyake, A. and Kurachi, K.: Induction of ovulation in patient with galactorrhea-amenorrhea by short intermittent administration of bromocriptine. *Acta Obstet. Gynec. Jpn.*, 32: 161, 1980.

### 黄体機能不全症と血中 prolactin および Bromocriptine による治療

假野隆司・西川 潔

西川婦人科クリニック

神田隆善・宮崎和典・杉本 修

大阪医科大学産婦人科学教室

黄体機能不全症への prolactin (PRL) の関与を検討する目的で正常月経周期例と黄体機能不全症の PRL 周期内変動を比較検討した。正常周期例では黄体中期から後期にかけて luteolysis と関係があると考えられる peak を認めたが、黄体機能不全症例では周期全体が高く、一定の変化は認められなかった。この結果、月経期から黄体初期にかけての PRL 比較高値は同症の原因と

なり得と考え、同時期の PRL 値を下降させる目的で Bromocriptine を卵胞期に経口投与したところ BBT 所見に改善が認められ、progesterone 分泌も増加した。このため黄体機能不全症の中で月経期、卵胞期の PRL

が 25 ng/ml 以上の症例では Bromocriptine の卵胞期療法が有効と考えられ、この機序は Bromocriptine が PRL の卵胞抑制効果を軽減するためと考えられた。

(受付：昭和 57 年 4 月 7 日)

## 高プロラクチン血症婦人の下垂体機能と CB-154投与ならびに手術療法の治療成績

Study on Pituitary Function of Women with Hyperprolactinemia  
and Outcome after Treatment with CB-154 and/or  
Adenoma Resection

山口大学医学部産科婦人科学教室

平塚圭祐 宮内文久 豊島博幸  
Keisuke HIRATSUKA Fumihisa MIYAUCHI Hiroyuki TOYOSHIMA

上田一之 筒井晴代 山下裕幸  
Kazuyuki UEDA Haruyo TSUTSUI Hiroyuki YAMASHITA

真野隆文 平川修 加藤紘  
Takafumi MANO Osamu HIRAKAWA Hiroshi KATO

鳥越正  
Tadashi TORIGOE

Department of Obstetrics and Gynecology, Yamaguchi  
University School of Medicine, Ube

山口大学医学部脳神経外科学教室

岡村知實  
Tomomi OKAMURA

Department of Neurosurgery, Yamaguchi  
University School of Medicine, Ube

---

27例の高プロラクチン血症患者についてその原因ならびに下垂体機能に関して検討を加えた。さらに児を希望する21例に adenoma resection, CB-154 あるいは両者の併用による治療を行い、その治療効果について検討し、次の結果を得た。

1) 高プロラクチン血症患者は下垂体腫瘍群、薬剤服用に起因する群および原因不明群の3群に大別され、下垂体腫瘍群の血中プロラクチン値は他の群に比べて、明らかな高値を示した。

2) 血中 FSH は下垂体腫瘍群、原因不明群において、正常卵胞期婦人に比べ明らかに低値を示したが、血中 LH に関してはいずれの群も正常卵胞期婦人との間に差は認められなかった。

3) 腫瘍群では、TRH, Domperidone に対する prolactin の反応性が低下あるいは欠如していた。

4) 腫瘍群では、手術 (Hardy's operation) のみで排卵した症例は認められず、排卵、妊娠に至るには CB-154 の併用を必要とした。また、原因不明群に対しても、CB-154 の投与は効果的であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 33-38, 1983)

---

## 緒 言

近年、高プロラクチン血症における内分泌環境についての報告が多方面よりなされており、高プロラクチン血症は、無月経、乳汁漏出などの典型的な臨床症状を呈するばかりでなく、無排卵周期症、黄体機能不全などを伴い、不妊の一原因として重要な意義を有することが明らかにされてきた。

今回われわれは、高プロラクチン血症患者について、主としてその下垂体機能に関し種々検討を加え、さらに薬物療法ならびに手術療法の効果等についても検討したので報告する。

## 対象

最近2年間に、不妊あるいは月経異常を主訴として当科を受診した患者で、血中プロラクチンを測定しえた173名のうち、プロラクチン値が25ng/ml を越えた27名について検討を加えた。

## 方法

高プロラクチン血症と判定した27名に対しては、その原因を検索すると共に、月経あるいは消退出血開始後6～10日目に、以下に述べる如き検査を行った。

### 1) LH-RH test

LH-RH 100 $\mu$ g を筋注負荷し、投与前、投与後30分、60分、90分、120分に採血し、血中 LH, FSH を測定した。

### 2) Domperidone test

プロラクチンの分泌に関して、dopamine-antagonist である domperidone 10mg を静注負荷し、投与前、投与後15分、30分、60分、90分、120分に採血して、血中プロラクチンを測定した。

### 3) TRH test

TRH 500 $\mu$ g を静注負荷し、投与前、投与後15分、30分、60分、90分、120分に採血して、血中プロラクチン、TSH を測定した。

### 4) Insulin test

Insulin 0.1 IU/kg を静注負荷し、投与前、投与後15分、30分、90分、120分に採血し、血糖値、血中 growth hormone、血中 cortisol を測定した。

さらに、これら高プロラクチン血症婦人に対して、手術あるいは薬物療法を行い、その治療効果等について検討を加えた。

## 成 績

高プロラクチン血症を呈した27例は、原因により3群に分けられ、明らかな下垂体腫瘍が認められた群、薬剤服用に起因する群および原因不明の群が認められた。そ

の内わけは下垂体腫瘍群10例 (macroadenoma 2例, microadenoma 8例)、薬剤服用に起因するもの4例、原因不明の群は13例であった。Fig. 1に各群の血中プロラクチン値を示した。腫瘍群の血中プロラクチン値は原因不明群に比べて、明らかに高い症例が多く、microadenoma の3例をのぞいて100ng/ml 以上を示し、macroadenoma の2例は1000ng/ml 以上であった。

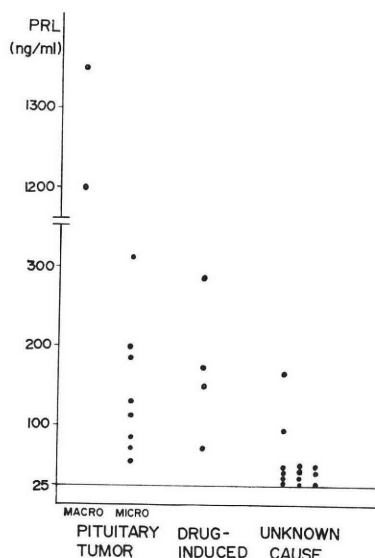


Fig. 1 Basal prolactin levels in patients with hyperprolactinemia

LH, FSH の基礎値 (base LH, base FSH) ならびに LH-RH に対する LH および FSH の反応頂値 (peak LH, peak FSH) を Fig. 2 に示した。腫瘍群では、base LH  $8.6 \pm 2.7$  mIU/ml, base FSH  $8.4 \pm 1.3$  mIU/ml, 原因不明群では base LH  $9.6 \pm 6.2$  mIU/ml, base FSH  $8.2 \pm 0.9$  mIU/ml であった。各群の base LH は対照群 (base LH  $15.3 \pm 1.7$  mIU/ml, base FSH 11.8

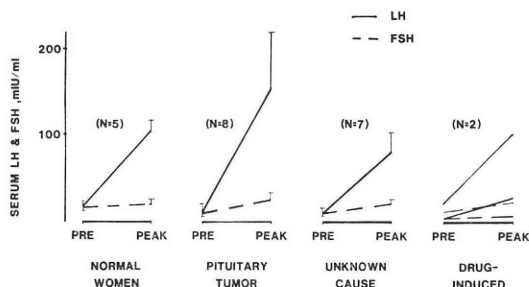


Fig. 2 Responses of LH and FSH to LH-RH in patients with hyperprolactinemia (values shown are the mean  $\pm$  SEM)



$\pm 0.5\text{mIU/ml}$ ) と比べて明らかな差は認められなかったが, base FSH は腫瘍群, 原因不明群ともに対照群に比べて明らかに低値を示した. LH-RH に対する反応性は, 腫瘍群では peak LH  $156.7 \pm 65.2\text{mIU/ml}$ , peak FSH  $25.9 \pm 5.9\text{mIU/ml}$ , 原因不明群では peak LH  $80.1 \pm 22.8\text{mIU/ml}$ , peak FSH  $19.1 \pm 3.3\text{mIU/ml}$  であった. 腫瘍群において対照群 (peak LH  $90.2 \pm 13.7\text{mIU/ml}$ , peak FSH  $9.3 \pm 1.2\text{mIU/ml}$ ) に比べ, LH の反応性が高い傾向を示すものの明らかな差は認められなかった.

Domperidone に対するプロラクチンの反応パターンを Fig. 3 に示した. 腫瘍群では Domperidone に対して prolactin はほとんど反応せず, 対照群に比べて明らかな相違を認めた. 原因不明群では 3 例が良好な反応性を示し, 他の 4 例では反応性が抑えられていたが, これらの原因について詳細は不明である.

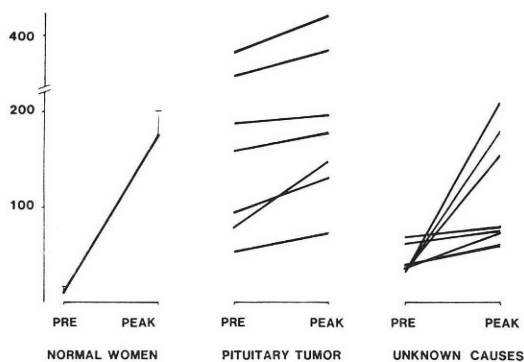


Fig. 3 Prolactin responses to domperidone in patients with hyperprolactinemia

腫瘍群について, TRH を投与した際の TSH, プロラクチンの反応パターンを Fig. 4 に示した. TSH は正常の反応を示したが, プロラクチンは TRH に反応せず, 分泌増加はほとんどみられなかった. また, 腫瘍群における Insulin に対する血糖値, GH の反応を Fig. 5 に示した. いずれの症例も, 反応性は良く保たれていた. また, 図には示さなかったが, 同時に測定した cortisol も正常の反応を示した.

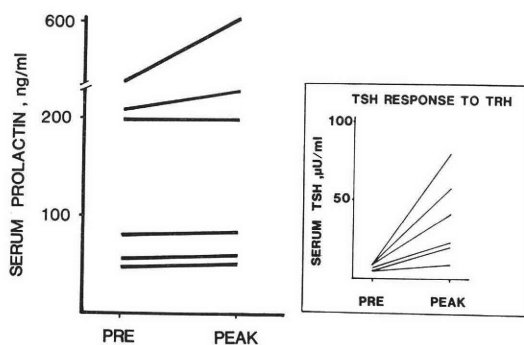


Fig. 4 Prolactin responses to TRH in patients with pituitary tumor

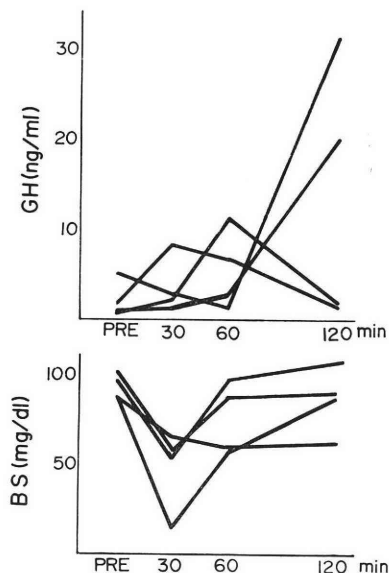


Fig. 5 BS and GH responses to insulin in patients with pituitary tumor

高プロラクチン血症患者に実施した治療法およびその成績を, Table 1 に示した. 腫瘍群では, 手術のみを施行したものが 3 例 (macroadenoma 1 例, microadenoma 2 例), 手術+CB-154 (Bromocriptine) で治療したも

Table 1 Prognosis of patients with hyperprolactinemia

| Group           | Treatment         | No. of cases | Ovulation | Pregnancy |
|-----------------|-------------------|--------------|-----------|-----------|
| Pituitary tumor | operation         | 3            | 0         | 0         |
|                 | op.+CB-154        | 1            | 1         | 0         |
|                 | op.+CB-154+clomid | 1            | 1         | 1         |
|                 | CB-154            | 3            | 2         | 2         |
| Unknown causes  | CB-154            | 12*          | 3         | 3**       |
|                 | CB-154+clomid     | 1            | 1         | 0         |

\* 9 cases had ovulation before treatment

\*\* 1 case had ovulation before treatment

のが 1 例 (macroadenoma), 手術+CB-154+clomid で治療したものが 1 例 (microadenoma), CB-154 のみで治療したものが 3 例 (microadenoma), 未治療のものが 2 例 (microadenoma) であった. その中で妊娠に至った症例は, 手術+CB-154+clomid で治療した 1 例と, CB-154 のみで治療した 2 例の計 3 例であった. 原因不明群に対する治療は 12 例に CB-154 のみで, 1 例に CB-154+clomid で治療した. 妊娠に至った症例は, CB-154 のみで治療した 3 例であった.

## 考 察

われわれは高プロラクチン血症患者 27 例を, 下垂体腫瘍群, 薬剤起因群, 原因不明群の 3 群に分類して, 血中プロラクチンレベル, 下垂体機能について検討した. 血中プロラクチン値が 100ng/ml 以上の値を示すものは下垂体腫瘍の存在が疑われ<sup>1,2)</sup>, 200ng/ml 以上では確実であるといわれる<sup>2)</sup>. また, 下垂体腫瘍の大きさと血中プロラクチンレベルとの間には, 正の相関関係が認められたという報告がなされている<sup>3,7)</sup>. 今回われわれが観察した下垂体腫瘍群の血中プロラクチンレベルは明らかに高値を示し, ことに macroadenoma の 2 例は 1000ng/ml 以上の高値を示し, microadenoma の 8 例中 5 例が 100ng/ml 以上であった. しかし microadenoma 8 例中 3 例は血中プロラクチン値が 100ng/ml 以下を示しており, 下垂体腫瘍の診断に際しては十分な注意が必要であることを示している.

血中プロラクチン値とゴナドトロピンの基礎値との間には, 逆の相関関係を示唆する報告がみられる<sup>3,8)</sup>. われわれの成績では, 下垂体腫瘍群, 原因不明群における血中 FSH の基礎値は対照群に比べて明らかに低値を示した. 青野ら<sup>1)</sup>は, FSH の低下が高度の場合には下垂体腫瘍の存在が疑われると述べており, また Badawy ら<sup>9)</sup>は下垂体腫瘍群においてわれわれと同様の成績を示し, FSH の低下は視床下部における Dopamine mechanism の変化によるものではないかと推論している. われわれの成績でも, LH-RH に対する LH, FSH の予備能は他の報告者<sup>2,9,10)</sup>と同様に, 高プロラクチン状態においても, 比較的良く保たれていた.

Dopamine antagonist である Domperidone が, 正常婦人においてプロラクチンを刺激することは既に報告<sup>11)</sup>したが, この Domperidone を高プロラクチン血症の症例に使用してみたところ, 腫瘍群では全例にプロラクチンの反応性の低下を認め, 原因不明群では 7 例中 4 例に反応性の低下を認め, 他の 3 例は対照群と同様の正常な反応性を認めた. Domperidone が腫瘍と非腫瘍の鑑別を行ううえで, 有効な手段となりうるか否かは, 今

後さらに検討を必要とするが, 少なくとも下垂体腫瘍の場合, Domperidone に対する反応性は欠如または低下していた.

Turksoy<sup>12)</sup>, Kleinberg<sup>13)</sup> らは, TRH 負荷が下垂体腫瘍の鑑別に有用であると報告しているが, われわれの成績でも腫瘍群では, TRH に対するプロラクチンの反応性は低下していた.

Insulin test は腫瘍群 4 例について行つたが, GH, cortisol とも正常の反応性を保持しており, これは Badawy<sup>9)</sup>らの報告と一致する.

われわれの各種薬剤を用いた下垂体予備能の検査結果では, 下垂体機能はよく保持されており, 排卵障害の部位は下垂体より高位の中樞あるいは末梢レベルにあると推定される. この点に関して青野ら<sup>9)</sup>は, gonadotropin の cyclic center の機能が欠如しているために, estrogen の positive feedback mechanism が障害されると述べている. 一方, 麻生<sup>4)</sup>らは, Baboon を用いた実験的高プロラクチン血症で, 過剰なプロラクチンが卵巣機能に抑制的な影響を与えており, これによる排卵障害の可能性を示唆しているが, われわれの成績からは, これらの点について結論を得ることは困難であった.

近年 Bromocriptine (CB-154) の出現により, 高プロラクチン血症に対する治療法は著しい発展をとげた. ことに原因不明群に対しては, CB-154 は治療の first choice であり, clomid の併用などによりすぐれた成績が多く報告されている<sup>5,10,14,15)</sup>. 下垂体腫瘍においては, 腫瘍の大きさ, 臨床症状の程度により, 適宜手術療法が実施されている. しかし, 手術のみで正常プロラクチンレベルに復することは困難な場合も多く, われわれの経験した症例でも, 血中プロラクチン濃度を正常値に低下させ, また排卵を回復するためには CB-154 の併用を必要とした. microadenoma に対しては, 手術あるいは CB-154 のいずれを選択するか現在なお明確な結論は得られていない. microadenoma でも妊娠を希望するものには手術を行つておくべきであるとの説<sup>16,17)</sup>もあるが, 厳重な管理をすれば CB-154 による治療でもよいという意見<sup>18)</sup>もあり, 一定の見解は得られていない. われわれの教室では microadenoma を有する患者の妊娠例は 3 例であり, うち 2 例は CB-154 のみで妊娠に至り, また残りの 1 例は手術+CB-154+clomid で妊娠に至った. 3 症例とも, 妊娠の診断確定と共に CB-154 投与を中止したが, それ以後, 視野狭窄, 頭痛などの症状は認めておらず, 経過良好である. なお, 妊娠の経過とともに下垂体腺腫が増大し, pituitary apoplexy を引き起こすという報告もあり, microadenoma の取り扱いについては慎重に対処しなければならない.

本論文の要旨は第34回日本産科婦人科学会中国四国合同地方部会(昭和56年10月米子市)にて発表した。  
Domperidone は協和発酵株式会社より提供を受けた。

## 文 献

- 1) 青野敏博, 小池浩司, 倉智敬一: Galactorrhea-amenorrhea syndrome の診断, 総合臨床, 29: 267, 1980.
- 2) 木村 隆, 成田 収, 鈴木正利, 友田 豊, 桑山明夫, 景山直樹: 高プロラクチン血症における内分泌動態とその治療に関する臨床的研究, 日産婦誌, 32: 784, 1980.
- 3) 森信太郎, 魚住 徹, 青野敏博, 倉智敬一: Prolactinoma の診断と治療—とくに Hardy 手術について, 産科と婦人科, 47: 1603, 1980.
- 4) 麻生武志, 蘇 鈞煌, 松岡賢光, 堀江克行, 高橋 晃, 泰井俊造, 本橋 亨: 高プロラクチン血症と月経異常—高プロラクチン状態における卵巣機能を中心に—, 産科と婦人科, 47: 1579, 1980.
- 5) 福永友明: 高 Prolactin 性無排卵症の病態とその Bromocriptine 療法に関する研究, 日産婦誌, 33: 229, 1981.
- 6) Wiebe, R. H., Hammond, C. B. and Borcher, L. G.: Diagnosis of prolactin-secreting pituitary microadenoma, Am. J. Obstet. Gynecol. 126: 993, 1976.
- 7) Chang, R. J., Keye, W. R., Young, J. R., Wilson, C. B. and Jaffe, R. B.: Detection, evaluation and treatment of pituitary microadenomas in patients with galactorrhea and amenorrhea, Am. J. Obstet. Gynecol. 128: 356, 1977.
- 8) Badawy, S. Z. A., Nusbaum, M. L. and Omar, M.: Hypothalamic-pituitary evaluation in patients with galactorrhea-amenorrhea and hyperprolactinemia, Obstet. Gynecol. 55: 1, 1980.
- 9) Aono, T., Miyake, A., Shioji, T., Kinugasa, T., Onishi, T. and Kurachi, K.: Impaired LH release following exogenous estrogen administration in patients with amenorrhea-galactorrhea syndrome, J. Clin. Endocrinol. Metab. 42: 696, 1976.
- 10) Wiebe, R. H., Hammond, C. B. and Handwerker, S.: Treatment of functional amenorrhea-galactorrhea with 2-bromoergocryptine, Fertil. Steril. 28: 426, 1977.
- 11) Fujino, T., Kato, H., Yamashita, S., Aramaki, S., Morioka, H., Koresawa, M., Miyauchi, F., Toyoshima, H. and Torigoe, T.: Effects of Domperidone on serum prolactin levels in human beings. Endocrinol. Jap. 27: 521, 1980.
- 12) Turksoy, R. N., Farber, M. and Mitchell, G. W.: Diagnostic and therapeutic moda-

lities in women with galactorrhea, Obstet. Gynecol. 56: 323, 1980.

- 13) Kleinberg, D. L., Noel, G. L. and Frantz, A. G.: Galactorrhea: A study of 235 cases, including 48 with pituitary tumors, N. Eng. J. Med. 296: 589, 1977.
- 14) Dickey, R. P., Facog, P. D. and Stone, S. C.: Effect of bromo-ergocriptine on serum hPRL, hLH, hFSH and estradiol 17- $\beta$  in women with galactorrhea-amenorrhea, Obstet. Gynecol. 48: 84, 1976.
- 15) Franks, S., Jacobs, H. S., Hull, M. G. R., Steele, S. J. and Nabarro, J. D. N.: Management of hyperprolactinaemic amenorrhea, Br. J. Obstet. Gynecol. 84: 241, 1977.
- 16) Gamzell, C. and Wang, C. F.: Outcome of pregnancy in women with pituitary adenoma, Fertil. Steril. 31: 363, 1979.
- 17) Bergh, T., Nillius, S. J. and Wide, L.: Clinical course and outcome of pregnancies in amenorrhoeic women with hyperprolactinemia and pituitary tumors, Brit. Med. J. 8: 875, 1978.
- 18) Mornex, R., Orgiazzi, J., Hugues, B., Gagnaire, J. and Claustrat, B.: Normal pregnancies after treatment of hyperprolactinemia with bromoergocriptine, despite suspected pituitary tumors J. Clin. Endocrinol. Metab. 47: 290, 1978.

Study on pituitary function of women with hyperprolactinemia and outcome after treatment with CB-154 and/or adenoma resection

Keisuke Hiratsuka, Fumihisa Miyauchi,  
Hiroyuki Toyoshima, Kazuyuki Ueda,  
Haruyo Tsutsui, Hiroyuki Yamashita,  
Takafumi Mano, Osamu Hirakawa,  
Hiroshi Kato and Tadashi Torigoe

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Yamaguchi University School of  
Medicine, Ube

Tomomi Okamura

Department of Neurosurgery, Yamaguchi  
University School of Medicine, Ube

Twenty-seven patients with hyperprolactinemia were studied for some endocrine features and the prognosis of disease. The patients were divided into three groups according to the causes of hyperprolactinemia; the pituitary tumor group, the drug-induced group and the unknown cause group. Serum prolactin levels in the pituitary

tumor group were significantly higher than those in the other groups. Serum FSH levels in the pituitary tumor group and the unknown cause group were significantly lower than those in the control group, but serum LH levels were not significantly different in all groups. The pituitary tumor group showed poor prolaction responses to TRH or domperidone.

Twenty-one cases, including 8 cases with pituitary tumor and 13 cases with unknown cases were treated with CB-154 (bromocriptine) and/or

adenoma resection (Hardy's operation). Three patients received adenoma resection, but no one showed ovulation after surgery. Two patients were treated with CB-154 after surgery and had ovulations, followed by successful pregnancy. Three patients were treated with CB-154 alone. All these cases showed ovulations and 2 of them had pregnancy afterward.

CB-154 treatment also induced pregnancy in 3 of 13 cases with unknown cause.

(受付：昭和57年6月3日特掲)

## 短時間で測定可能な PROLACTIN RIA KIT II (DAINABOT) の検討ならびに臨床応用

Clinical Evaluation of the PROLACTIN RIA KIT II (Dainabot);  
A New Rapid Solid Phase Method for hPRL

帝京大学医学部産婦人科教室

吉 田 裕      大 川 と み      岡 野 秀 子  
Yutaka YOSHIDA      Tomi OHKAWA      Hideko OKANO

塩 見 芳 朗      岩 瀬 一      荒 井 清  
Yoshiro SHIOMI      Hajime IWASE      Kiyoshi ARAI

沖 永 莊 一  
Shouichi OKINAGA

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Teikyo University School of Medicine

近年、無月経および卵巣機能不全の不妊婦人の高 PRL 血症が注目されてきている。簡便、敏速で、信頼性の高い PRL 測定方法が開発され、これを臨床的に応用した。

B/F 分離に、第2抗体をコーティングしたビーズを用いた。測定方法は簡便で、その日のうちに作業は終了する。測定系は PRL 濃度 5~300ng/ml の範囲で測定可能で、感度は $2.6 \pm 0.1$  ng/ml であった。25.5ng/ml のコントロール血清を用いた時、アッセイ内変動は4.9%、アッセイ間変動は6.0%であった。平均回収率は100.6%であった。この新しいキットは PROLACTIN RIA KIT (Dainabot) と良く一致する結果を得た。

卵巣機能不全、正常妊娠、産褥、および正常性周期の臨床例につき検討した結果、満足すべき結果が得られ、この新しいキットは臨床検体測定に有用であることが立証された。

(Jap. J. Fert. Ster. 28(1), 39-44, 1983)

女性側不妊症の原因として重要な無排卵性無月経患者の中に、乳汁漏出の有無にかかわらず、高プロラクチン(PRL)血症のものがかなり存在することが明らかとなってきた<sup>1-5)</sup>。間脳下垂体卵巣系の機能異常が疑われる場合、FSH, LH の周期性分泌動態と、卵巣性ステロイドホルモンの血中濃度変化とを追求すれば充分と考えられていたが、最近では、これに血中 PRL 測定を追加することがルーチン化されるようになった。特に、単なる無月経と診断された患者の中に、下垂体腫瘍例が潜在する可能性から、スクリーニングの意味からも、PRL 測定の意義が重要視されて来た。更に、高 PRL 血症の

治療効果判定、follow-up と、血中 PRL 測定の需要は急速に増大しつつある。

今回、2抗体法ラジオイムノアッセイ(RIA)で、第2反応を solid phase 法で行うことにより、測定操作の簡便化と測定時間の短縮とを可能にし、かつ広い測定範囲をもつ、新しい RIA システムの検討を行い、その臨床応用を試み、満足すべき結果を得たので報告する。

### 実験方法

#### 1. 測定方法

## (1) PRL 測定キットの内容

- ・  $^{125}\text{I}$ -hPRL
- ・ PRL 標準液 (0, 5, 10, 20, 50, 100, 300 ng/ml)
- ・ 抗 PRL 血清液
- ・ 第2抗体ビーズ

## (2) 必要器具

- ・ マイクロピペット (50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ )
- ・ 分注器 (1 ml 用)
- ・ アッセイチューブ (7  $\times$  100 mm), チューブ立て
- ・ サンプルミキサー
- ・ ウェル型シンチレーションカウンター

## (3) 操作法

- ① 標準曲線用および検体測定用チューブをそれぞれ duplicate に準備する。
- ② 各濃度の PRL 標準液, あるいは検体を 50  $\mu\text{l}$  ずつ, それぞれのチューブに加える。
- ③ 全てのチューブに,  $^{125}\text{I}$ -hPRL 液 100  $\mu\text{l}$  を加え, 充分混和する。
- ④ 全てのチューブに抗 PRL 血清液を加え, 充分混和する。
- ⑤ 室温 (20~30°C) にて 1 時間インキュベートする。
- ⑥ インキュベーション終了後, 全てのチューブに第2抗体ビーズを 1 個ずつ入れて充分混和する。
- ⑦ 室温で 3 時間, 振とうしながらインキュベートする。
- ⑧ インキュベーション終了後, 各チューブに蒸留水 1 ml ずつ加える。
- ⑨ 吸引などにより反応液を除去する。
- ⑩ ⑧⑨の操作を再度繰り返す。
- ⑪ チューブの放射能を測定する。
- ⑫ それぞれの結合率 ( $\text{B/T}\%$ ,  $\text{B/Bo}\%$  など) を求め, 標準曲線を作成し, 各検体の結合率から PRL 濃度を読みとる。

## 2. 対象

本キットを用いて PRL 測定を行った臨床症例は次の通りである。

- ① 正常月経周期を有する 26~30 歳の婦人 3 名の末梢血を連日, ないし隔日に採取した。
- ② 各週数の正常妊婦, 計 43 例, 妊娠中毒症例 8 例, 甲状腺機能亢進妊婦 1 例, 高 PRL 血症妊婦各 1 例の末梢血を各週において採取した。
- ③ 産褥 3 日目および 4 日目の褥婦 44 例について末梢血を採取, あわせて産褥 3 日目の褥婦 5 例に TRH テストを施行した。採血および負荷試験は, 授乳後, 2 時間を経過したのち行い, また同試験は,

TRH 500mg 静注によって行い, 負荷後 15 分, 30 分に採血した。

- ④ 不妊症を含む婦人科患者 33 例で, 無排卵性無月経症例 16 例, 機能性子宮出血症例 10 例, 良性腫瘍 (子宮筋腫ならびに卵巣のう腫) 4 例, 悪性腫瘍 (卵巣癌および子宮体癌) 2 例, 両側卵巣切除 1 例について末梢血を採取した。

## 結 果

## PROLACTIN RIA KIT II の基礎的検討

## (1) 標準曲線

5 回のアッセイにて得た標準曲線の LOG I T-LOG プロットを図 1 に示す。本プロットにおいて, 標準曲線は良い直線性を示し, 各濃度での標準偏差は 1.39~2.73 % と比較的安定した標準曲線を得た。

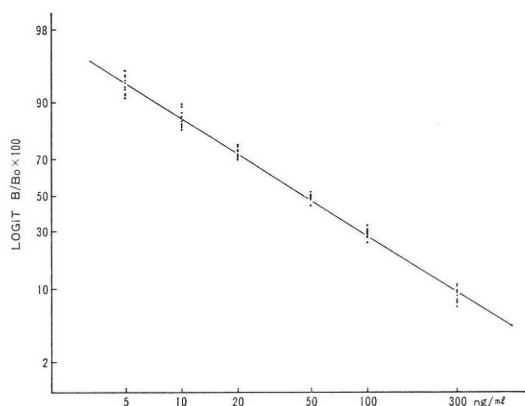


図 1 標準曲線の LOGIT-LOG プロット (5 assays)

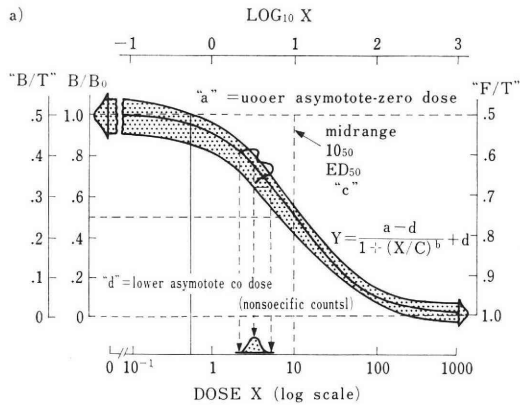
Rodbard 等の LOGISTIC モデル<sup>8)</sup>により求めた 23 assay の標準曲線について, 諸パラメーターをまとめ, 図 2 に示した。本アッセイ系の 50% intercept は,  $35.3 \pm 2.1 \text{ ng/ml}$ ,  $\text{Bo/T}$  は  $44.6 \pm 1.3\%$  であり, 感度は  $2.6 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$  である。なお, 0.03% 正常家兎血清を抗体のかわりに添加し, 非特異的結合を検討したところ,  $3.1 \pm 0.2\%$  と充分な低値を示した。

## (2) 標準曲線の平行性

本アッセイ系の標準曲線と, NIH ヒトプロラクチンで作成した標準曲線を比較すると, 図 3 a に示すように, 両者は完全に一致しており, NIH 標準品との平行性は良好で, しかも, 絶対値も信頼性の高いことを確認した。

一方, 血清の希釈曲線と標準曲線も平行しており (図 3 b), 精度の高い測定系であるといえる。

## (3) 測定内および測定間変動



a) LOGISTIC モデルの概念図 (Rodbard-等による)

(23 assays)

| parameter                 | mean ± S.E.   |
|---------------------------|---------------|
| A : Upper asymptote       | 8548 ± 297    |
| B : Slope factor          | 1.291 ± 0.028 |
| C : 50% Intercept (ng/ml) | 35.34 ± 2.07  |
| D : Lower asymptote       | 571.5 ± 31.2  |
| Total (cpm)               | 18492 ± 575   |
| Bo/Total (%)              | 44.58 ± 1.31  |
| BKG/Total (%)             | 3.1 ± 0.2     |
| Sensitivity (ng/ml)       | 2.57 ± 0.09   |

b) 標準の諸パラメータ

図 2 LOGISTIC モデルによる標準曲線の記述

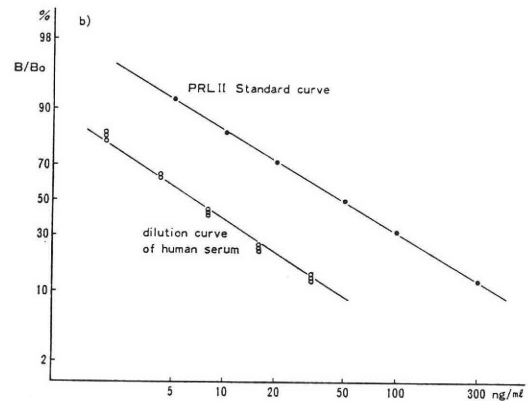
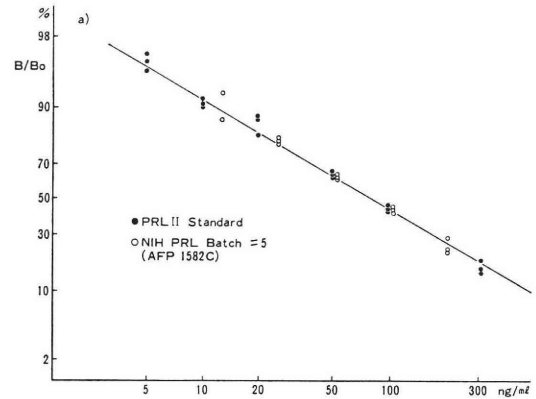
本キットの測定内変動ならびに測定間変動を表 1 に示す。低濃度域では、比較的大きな測定内変動、測定間変動を示すが、中ないし高濃度では変動係数は低値であった。

#### (4) 回収試験

血清に既知量プロラクチン標準品を添加して測定し、回収率を検討した。結果は表 2 に示す如くで、10~60 ng/ml 相当の標準品を加えた際の平均回収率は 100.6% であり、満足すべき結果を得た。

#### (6) 従来法との比較

各種検体を PROLACTIN RIA KIT II ならびに同じくダイナボット社製のプロラクチンリアキットにて測定し、両者による測定値の相関を検討した (図 4)。2 つ



a) NIH PRL (AFP 1582C) ならびに PRO-LACIN RIA II による標準曲線の比較

b) 血清の希釈曲線ならびに PROLACTIN RIA KIT II による標準曲線の比較

図 3 標準曲線の平行性

のアッセイ系での測定値の相関係数は 0.979 と極めて高く、また、最少 2 乗法にて求めた回帰直線は、傾き 1.045、Y 切片 1.730 であり、本キットは測定の絶対値においても従来法とよく一致すると考えられた。

### PROLACTIN RIA KIT II を用いた 臨床検体の測定

#### (1) 正常性周期

月経周期を通じて、血中 PRL 値は大きな変動を示さ

表 1 PROLACTIN RIA KIT II の測定内および測定間変動

| Serum | No. of assay | No. of replication | within assay variance |        | between assay variance |        |
|-------|--------------|--------------------|-----------------------|--------|------------------------|--------|
|       |              |                    | mean ± S.D. (ng/ml)   | CV (%) | mean ± S.D. (ng/ml)    | CV (%) |
| a     | 8            | 3                  | 9.40 ± 0.98           | 10.40  | 9.40 ± 1.27            | 13.45  |
| b     | 5            | 3                  | 25.46 ± 1.24          | 4.88   | 25.46 ± 1.54           | 6.04   |
| c     | 6            | 4                  | 57.00 ± 2.09          | 3.67   | 57.00 ± 1.82           | 3.19   |

表 2 標準プロラクチン添加時の回収率

| Added Standard (ng/ml) | N | Observed Level (ng/ml) | Increment (ng/ml) | Recovery (%) |
|------------------------|---|------------------------|-------------------|--------------|
| 0                      | 6 | 15.38±2.00*            | 0.0               | —            |
| 10                     | 6 | 26.59±2.24             | 11.21             | 112.1        |
| 20                     | 6 | 35.29±2.22             | 19.91             | 99.6         |
| 60                     | 6 | 69.47±5.29             | 54.09             | 90.2         |
| Mean Recovery (%)      |   |                        |                   | 100.6        |

\* mean±S.D.

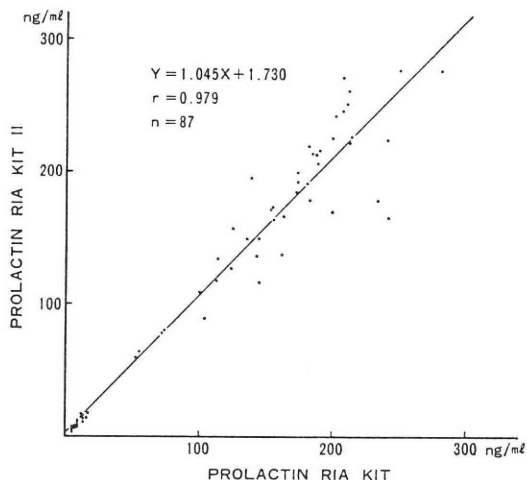


図 4 PROLACTIN RIA KIT II と従来法との測定値の相関

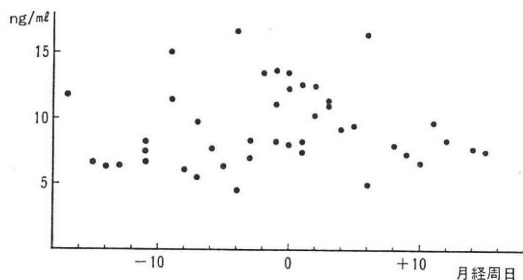


図 5 正常月経周期における血中 PRL 値の変動

ず、その平均値は  $9.59 \pm 0.46 \text{ ng/ml}$  であった (図 5)。一方、月経周期内で、卵胞初期、卵胞後期、排卵期、黄体初期、黄体後期の平均値はそれぞれ、 $8.75 \pm 1.22$ ,  $9.42 \pm 1.03$ ,  $10.80 \pm 0.72$ ,  $10.18 \pm 1.32$ ,  $7.91 \pm 0.44 \text{ ng/ml}$  であり、排卵期ついで黄体初期に高値をとり、黄体後期に最も低値をとる傾向を示した。また排卵期の PRL 値は黄体後期のそれに比べ有意に高値 ( $P < 0.01$ ) となった。

## (2) 妊娠経過

図 6 に妊娠週数による血中 PRL の推移を示した。

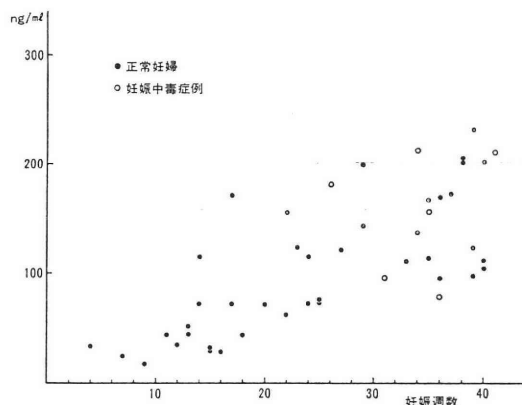


図 6 妊娠経過にともなう妊婦血中 PRL 値の変動

正常妊婦では、PRL は妊娠初期から後期へ漸増するパターンをとり、妊娠 12 週未満、 $30.2 \pm 5.7 \text{ ng/ml}$ , 12~23 週、 $74.4 \pm 12.0 \text{ ng/ml}$ , 24~36 週、 $140.8 \pm 23.6 \text{ ng/ml}$ , 37 週以降、 $204.8 \pm 33.2 \text{ ng/ml}$  となった。

妊娠中毒症例においては、24~36 週  $129.1 \pm 24.4 \text{ ng/ml}$ , 37 週以降  $232.8 \pm 16.9 \text{ ng/ml}$  と正常妊娠例と変化なく推移した。

また、甲状腺機能亢進症を合併した妊娠例についても、22 週で  $46.6 \text{ ng/ml}$  と正常範囲内の PRL 値を示した。

高 PRL 血症の妊娠例は、CB-154 服用後妊娠した症例で、妊娠成立後投薬を中止し、18 週で  $225.7 \text{ ng/ml}$ , 24 週で  $442.8 \text{ ng/ml}$  と妊娠週数から期待されている値よりはるかに高い PRL 値を示した。

## (3) 産褥 (図 7)

産褥 3 日および 4 日の PRL 基礎値は、それぞれ、 $215.9 \pm 30.8 \text{ ng/ml}$ ,  $222.4 \pm 24.1 \text{ ng/ml}$  であった。なお産褥 3 日および 4 日の授乳量は、 $22.8 \pm 4.4 \text{ ml}$ ,  $36.1 \pm 5.1 \text{ ml}$  と増加しているのに対し、血中 PRL 値も若干の増加傾向をみる。

一方、産褥 3 日の TRH 負荷試験では、負荷前値は  $161.0 \pm 34.4 \text{ ng/ml}$  に対し、15 分後  $718.5 \pm 127.5 \text{ ng/ml}$ ,



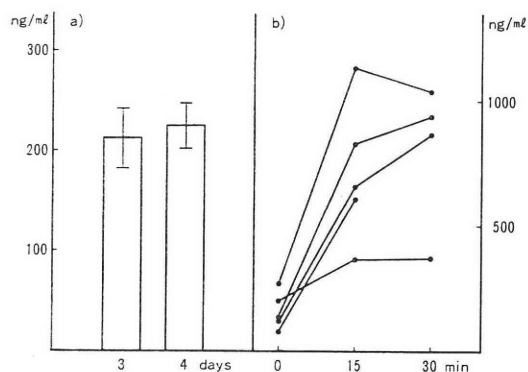


図 7 産褥期の母体血中 PRL 値

a) 産褥 3 日および 4 日の母体血中 PRL 基礎値

b) 産褥 3 日目の TRH 反応性

30分後  $801.5 \pm 147.8 \text{ ng/ml}$  と上昇し、上昇率は、15分、30分で平均 446, 498% となった。TRH に対する反応性が高い 4 例は、いずれも検査当日の授乳量が 0 ~ 30 ml であるが、一方、TRH に対する反応性の低い 1 例では授乳量が 88ml と多量であり、乳汁分泌量と下垂体の PRL 放出予備能の関係が示唆された。

#### (4) 婦人科疾患 (図 8)

今回測定した無排卵性無月経 16 例のうち、血中 PRL が  $30 \text{ ng/ml}$  以上の高値を示した症例は 10 例であり、これらの高 PRL 群の 3 例に乳汁漏出を認めた。

| 症 例      | 例数 | 50  | 100 | 150 | 200 (ng/ml) |
|----------|----|-----|-----|-----|-------------|
| 無排卵性無月経  | 13 | ... | .   | .   | .           |
| 乳汁漏出性無月経 | 3  | ●   | ●●  |     |             |
| 機能性子宮出血  | 10 | ●   |     |     |             |
| 良性腫瘍     | 4  | ... |     |     |             |
| 悪性腫瘍     | 2  | ... |     |     |             |
| 両側卵巣切除   | 1  | ... |     |     |             |

図 8 各種婦人科疾患における血中 PRL 値

(●乳汁漏出を認めた症例)

機能性子宮出血群においては、1 例で  $78.6 \text{ ng/ml}$  と高値を示し、乳汁漏出をみたのに対し、他の 9 例では、血中 PRL 値は正常範囲内に分布した。

その他の良性腫瘍、悪性腫瘍、両側卵巣切除例では、血中 PRL 値はいずれも  $30 \text{ ng/ml}$  未満の低値を示した。

#### 考 案

以上述べた如く、本キットは、臨床応用に十分な感度、精度、再現性を示し、また、従来法との測定値の相関も良好であった。

血中 PRL の月経周期内変動については、多くの報告

があり、従来、月経周期による PRL 変動はないとされていたが、排卵や黄体形成期に  $E_2$  のピークと一致して PRL が上昇する<sup>9,10,11)</sup> という報告もみられる。今回の測定では黄体後期に比べ、排卵期で有意の血中 PRL 上昇を認め、PRL 分泌と内因性エストロゲン分泌動態の関連を示唆する結果を得た。

無月経症例中に、乳汁漏出を伴うものが存在することはよく知られている<sup>12,13)</sup>。今回の無月経症例 16 例のうち 19% に、乳汁漏出を認め、これらの症例は、高い血中 PRL 値を示した。一方、乳汁漏出の見られない無月経症例中にも高 PRL 血症を示す例が多数存在した。従って不妊症患者で、無排卵が主要症状である場合、血中 PRL 値のスクリーニングが不可欠である。また、機能性子宮出血例においても、高 PRL 血症が混在しており、これらの症例の診断ならびに高 PRL 血症の治療効果判定手段として、操作が簡便で精度の高い測定系が望まれる。今回検討した PROLACTIN RIA KIT II は、インキュベーション時間が 4 時間と著しく短縮されており、第 2 抗体をコーティングしたプラスチックビーズを用いることにより、B/F 分離操作が簡便に行えること、さらに、 $300 \text{ ng/ml}$  までの広範囲の PRL を測定できること等、今後、臨床応用面で広く使用されるものと思われる。

(稿を終るにあたって、プロラクチンリアキットならびに PROLACTIN RIA KIT II を提供された、ダイナボットラジオアイソトープ研究所に深謝致します。)

#### 文 献

- 1) Bohnet, H. G., Dahlén, H. G., Wuttke, W., and Schneider, H. P. G.: Hyperprolactinemic anovulatory syndrome, *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 42: 132, 1975.
- 2) Carter, J. N., Gomez, F., and Friesen, H. G.: Human prolactin and galactorrhea-amenorrhea syndromes, in *Endocrine Causes of Menstrual Disorders*, Givens, J. R. ed.: p. 115, Chicago, London, Year Book Medical Publishers, Inc., 1978.
- 3) Jacobs, H. S., Frands, S., Murray, M. A. F., Hull, M. G. R., Steel, S. J., and Nabarro, J. D. N.: Clinical and endocrine features of hyperprolactinaemic amenorrhea, *Clin. Endocrinol.*, 5: 439, 1976.
- 4) Fournier, P. J. R., Desjardins, P. D., and Friesen, H. G.: Current understanding of human prolactin physiology and diagnostic and therapeutic applications: A review, *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 118: 337, 1974.
- 5) Tolis, G., J. Somma, M., Van Campen-

hout, J., and Friesen, H.: Prolactin secretion in sixty-five patients with galactorrhea, *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 118: 91, 1974.

- 6) 倉智敬一, 青野敏博: パーロデル療法による妊娠・出生児調査, 高プロラクチン血症研究会報告書, 1981.
- 7) 麻生武志, 蘇 鈞煌, 松岡賢光, 堀江克行, 高橋 晃, 泰井俊造, 本橋 亨: 高プロラクチン血症の月経異常, 産と婦, 47: 1579, 1980.
- 8) Radbard, D., and Hutt, D. M.: Radioimmunoassay and related procedures in medicine. International Atomic Energy Agency, 165, Vienna 1974.
- 9) Ehara, Y., Siler, T., Vander Berg, G., Sinha, Y. N., and Yen, S. S. C.: Circulating prolactin level during the menstrual cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 117: 962, 1973.
- 10) Aksel, S.: Sporadic and recurrent luteal phase insufficiency, *Fertil. Steril.* 33: 372, 1980.
- 11) Vekeman, M., Delvoye, P., L'Hermite, M., and Robyn, C.: Serum prolactin levels during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocr.*, 44: 989, 1977.
- 12) Franks, S., Murray, M. A. F., Jequier, A. M., Steel, S. J., Nabarro, J. D. N., and Jacobs, H. S.: Incidence and significance of hyperprolactinemia in women with amenorrhea, *Clin. Endocrinol.*, 4: 597, 1975.
- 13) 麻生武志: 高プロラクチン状態におけるヒトおよび baboon (ヒヒ) の卵巣機能, 日産婦誌, 32: 1239, 1980.

# Clinical evaluation of the PROLACTIN RIA KIT II (Dainabot); A new rapid solid phase method for hPRL

**Yutaka Yoshida, Tomi Ohkawa, Hideko Okano, Yoshiro Shiomi, Hajime Iwase, Kiyoshi Arai and Shoichi Okinaga**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Teikyo University School of Medicine

Recently, attention has been focused on hyperprolactinemia among infertile females with amenorrhea due to anovulation. A simple, rapid and reliable method for measuring PRL was developed, and its critical evaluation was made.

Separation of the bound from the free fraction was carried out by a solid phase method; the beads coated with the second antibody were used. The whole procedure could be easily completed within a working day. The assay system covered from 5 to 300 ng/ml of PRL; the sensitivity being  $2.6 \pm 0.1$  ng/ml. Within assay coefficient of variation (C. V.) was 4.9, and between assay C. V. was 6.0, when the quality control sample containing 25.5 ng/ml of PRL was used. The average recovery was 100.6%. The results obtained by this new kit correlated well ( $r = 0.979$ ) with those by PROLACTIN RIA KIT (Dainabot).

Clinical cases of ovarian dysfunction, normal pregnancy and puerperium, and normal menstrual cycles were studied. Satisfactory results were obtained, and it was concluded that the new kit was suitable for the clinical laboratories.

(受付: 昭和57年6月3日)

## INHIBITORY EFFECT OF CORPUS LUTEUM ON FOLLICULAR GROWTH AND INDUCED SUPEROVULATION IN IMMATURE RATS

Misao FUKUDA, Kazuaki KATAYAMA, Daiji TSUJIMOTO,  
and Taiichiro AKAHORI

Department of Obstetrics and Gynecology, Kobe University School of Medicine  
7 Kusunoki-cho Chuo-ku Kobe (650), Japan

Shimpei TOJO

Department of Gynecology and Obstetrics, Kyoto University, Faculty of Medicine  
Sakyoku Kyoto (606), Japan

---

**Abstract:** We investigated the effect of corpus luteum on follicular growth and pregnant mares' serum and human chorionic gonadotropin (PMS-HCG) induced superovulation in immature rats. Certain numbers of corpora lutea after ovulation were achieved with different doses of PMS. The numbers of corpora lutea after the first PMS-HCG injections were as follows: PMS 5 IU, 15.0; PMS 10 IU, 70.8; PMS 20 IU, 115.5. While corpora lutea were present, fixed doses of PMS-HCG was again administered to induce superovulation two weeks after the first PMS-HCG injections. The numbers of ova after the second PMS-HCG injections were as follows: administration of 5 IU PMS at the first injection, 28.4; 10 IU PMS, 10.9; 20 IU PMS, 2.4. An inverse correlation was seen between the number of corpora lutea after the first PMS-HCG injections and the number of ova after the second PMS-HCG injections.

Ovarian histology was examined just before the second PMS injection. Some corpora lutea and antral follicles were seen in rats treated with 5 IU PMS at the first injection, whereas many corpora lutea and a few preantral follicles were observed in rats treated with 20 IU PMS at the first injection.

These results may indicate that corpus luteum inhibits locally follicular growth and consequently suppresses PMS-HCG induced superovulation.

**Key words:** Corpus luteum — Follicular growth — Superovulation

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 28(1), 45-49, 1983)

---

### Introduction

We have previously demonstrated that progesterone inhibited early follicular growth, suppressing the proliferation of granulosa cells, and consequently suppressed PMS-HCG induced superovulation in hypophysectomized rats (Fukuda et al., 1980). It is well known that progesterone is mainly secreted by corpus luteum. Therefore, the present study was undertaken to determine the effect of corpus luteum on neighboring follicles and PMS-HCG induced superovulation in imma-

ture rats.

### Materials and Methods

Female Sprague-Dawley rats were used. They were kept at 22°C with 12 hour illumination in 24 hour and free access to food and water.

Fifty-eight immature rats, 22 days of age, were given 5 IU, 10 IU, or 20 IU PMS dissolved in physiological saline; 56 hours after PMS injection, 10 IU HCG was given subcutaneously. Twenty hours after HCG in-

jection, thirty rats were laparotomized under pentobarbital anesthesia (intraperitoneal injection) and only tubes were removed. Tubal ova were counted under a dissecting microscope. These rats were autopsied at 36 days of age just before the second PMS injection and the numbers of corpora lutea formed in the ovaries were counted under a dissecting microscope. When many corpora lutea were present in an ovary, it was divided into several segments, and the total number of corpora lutea was counted under a dissecting microscope. Some ovaries of those treated with 5 IU PMS and of those treated with 20 IU PMS were fixed in Bouin's fluid, embedded in paraffin, sectioned at  $5\mu\text{m}$  and stained with hematoxylin and eosin for histological study.

Twenty-eight rats were not autopsied and at 36 days of age, 2 weeks after the first PMS injection, they were treated with 20 IU PMS; 56 hours after the last PMS injection, 10 IU HCG was given subcutaneously. Twenty hours after the last HCG injection, rats were autopsied and tubal ova were counted under a dissecting microscope. Experimental schedule is shown in Fig. 1.

## Results

The mean numbers of ova after the first PMS-HCG injections were as follows: rats ( $N=10$ ) treated with 5 IU PMS, 10.2; those ( $N=10$ ) treated with 10 IU PMS, 49.8; those ( $N=10$ ) treated with 20 IU PMS, 75.2 (Table 1).

The mean numbers of corpora lutea in the ovaries after the first PMS-HCG injections were as follows: rats ( $N=10$ ) treated with 5 IU PMS, 15.0; those ( $N=10$ ) treated with 10 IU PMS, 70.8; those ( $N=10$ ) treated with 20 IU PMS, 115.5. The number of corpora lutea was slightly higher than the number of ova (Table 1).

The mean numbers of ova after the second PMS-HCG injections were as follows: rats ( $N=7$ ) treated with 5 IU PMS at the first injection, 28.4; those ( $N=11$ ) treated with 10 IU PMS, 10.9; those ( $N=10$ ) treated with 20 IU PMS, 2.4 (Table 1). An inverse correlation was seen between the number of corpora lutea after the first PMS-HCG injections and the number of ova after the second PMS-HCG injections as shown in Fig. 2.

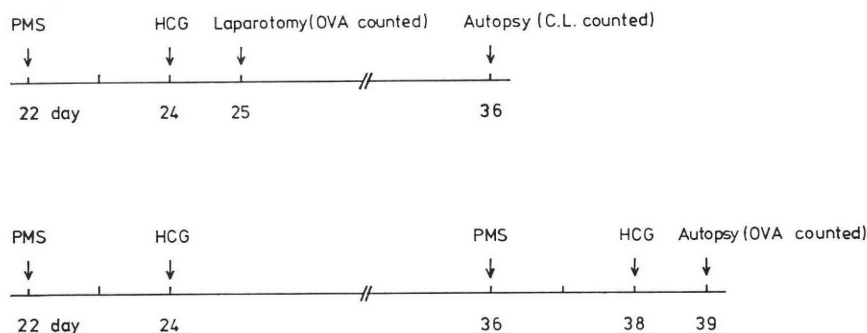


Fig. 1 Experimental schedule using immature rats (C.L.: Corpora lutea)

Table 1 Numbers of ova after the first PMS-HCG injections, numbers of corpora lutea (C. L.) after the first PMS-HCG injections, and numbers of ova after the second PMS-HCG injections (mean  $\pm$  S.D.). Statistically significant compared with values at 5 IU PMS: \* =  $P < 0.01$ , \*\* =  $P < 0.05$ .

| Amount of PMS | NO. of ova after first PMS-HCG | NO. of C.L. after first PMS-HCG | NO. of ova after second PMS-HCG |
|---------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 5 IU          | 10.2 $\pm$ 1.4 ( $N=10$ )      | 15.0 $\pm$ 1.6 ( $N=10$ )       | 28.4 $\pm$ 8.4 ( $N=7$ )        |
| 10 IU         | 49.8 $\pm$ 7.6* ( $N=10$ )     | 70.8 $\pm$ 11.1* ( $N=10$ )     | 10.9 $\pm$ 3.9** ( $N=11$ )     |
| 20 IU         | 75.2 $\pm$ 7.8* ( $N=10$ )     | 115.5 $\pm$ 15.1* ( $N=10$ )    | 2.4 $\pm$ 3.2 * ( $N=10$ )      |

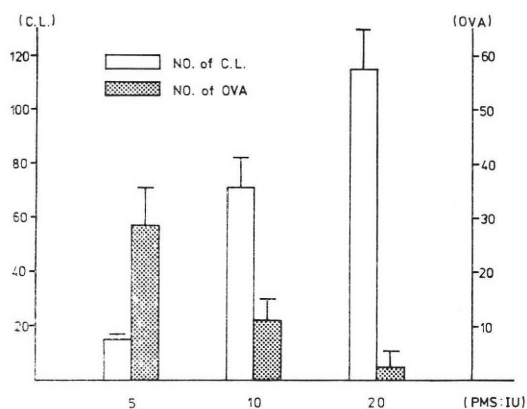


Fig. 2 Relation between numbers of corpora lutea (C.L.) after the first PMS-HCG injections and numbers of ova after the second PMS-HCG injections (mean  $\pm$  S.D.).

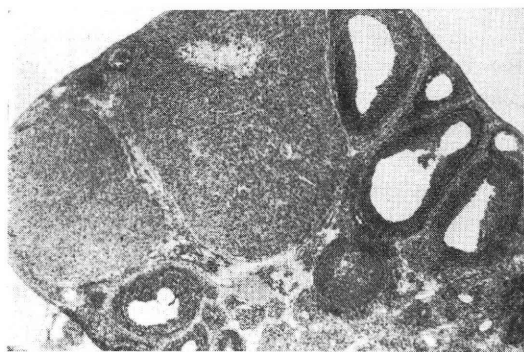


Photo. 1 An ovary of 36 day-old immature rat just before the second PMS injection. The rat had been treated with 5 IU PMS at the first injection. Some corpora lutea and antral follicles are observed. H.E. stain,  $\times 32$

The ovarian histology just before the second PMS injection in rats treated with 5 IU PMS at the first injection indicated some corpora lutea and antral follicles as shown in Photo. 1. In contrast, the ovarian histology in rats treated with 20 IU PMS at the first injection showed many corpora lutea and a few preantral follicles among them as shown in Photo. 2.

### Discussion

The number of corpora lutea in the ovaries 12 days after the first HCG injection was slightly higher than the number

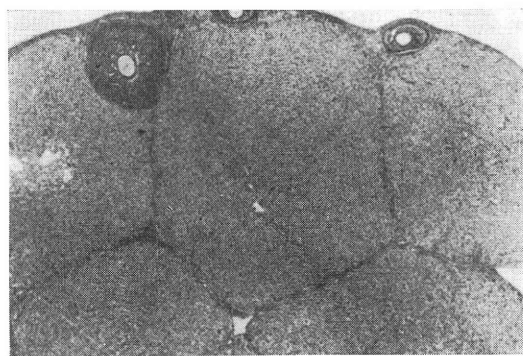


Photo. 2 An ovary of 36 day-old immature rat just before the second PMS injection. The rat had been treated with 20 IU PMS at the first injection. Many corpora lutea and a few preantral follicles are observed. H.E.stain,  $\times 32$

of ova 20 hours after the first HCG injection. The reason for this difference is not known. This might be possibly due to intraovarian release of eggs in rats (Osman and Dullaart, 1976) or luteinized unruptured follicles in human (Marik and Hulka, 1978). Further experiments are required to elucidate this mechanism.

Release of ova or ovarian responsiveness is diminished when superovulation is induced repeatedly by gonadotropins in some mammals (in mice, Lin and Bailey, 1965; Ishijima et al., 1979; Ishijima et al., 1981; in rabbits, Maurer et al., 1968; in rats, present result). The possible mechanisms for the inhibition of the subsequent gonadotropin (PMS-HCG) induced superovulation can be pointed out as follows: hypothalamic pituitary factor (especially prolactin, etc), antibody formation to gonadotropin, consumption of follicles, and presence of corpus luteum (physical factor and chemical factor).

Hypothalamic pituitary factor cannot be excluded as an explanation for the inhibition mechanism in repeated superovulation since hypophysectomy that causes cessation of pseudopregnancy state in rats was not performed in the present experiment.

It was reported that antibody formation to gonadotropin (PMS-HCG) took at least 30 days in mice (Yasuda et al., 1961). The interval between the first PMS-HCG injections and the second PMS-HCG injections

was 14 days in the present study. Therefore, antibody formation to gonadotropin may not be a likely explanation for the inhibition mechanism in repeated superovulation.

According to a previous report (Mizuno, 1977), a whole ovary in a hypophysectomized rat contained 244 growing follicles more than 31  $\mu$ m in diameter. Because abundant oocytes and follicles may still be present in the ovaries even after the first PMS-HCG induced superovulation, consumption of follicles might not be a likely explanation for the inhibition mechanism in repeated superovulation.

Following ablation of active corpus luteum, follicular development resumed anew and subsequent ovulation was advanced in monkeys (Goodman et al., 1977; Goodman and Hodgen, 1979; diZerega and Hodgen, 1981). Likewise, an inverse correlation was seen between the number of corpora lutea after the first PMS-HCG injections and the number of ova after the second PMS-HCG injections in rats (present finding). These results indicate that the presence of corpora lutea has local inhibitory effect on follicular growth and is a highly likely explanation for the inhibition mechanism in repeated superovulation.

There existed so many corpora lutea in the ovaries just before the second PMS injection in rats treated with 20IU PMS at the first injection that follicular growth among corpora lutea seemed to be depressed as shown in Fig. 4 (present result). Seeing such ovarian histology, physical obstruction by corpus luteum to neighboring follicles may be a likely explanation for the inhibition mechanism in repeated superovulation.

Recently presence of ovarian receptor for progesterone has been reported in bovine (Jacobs and Smith, 1980) and in human (Jacobs et al., 1980). In addition, progesterone suppressed the binding of  $^{125}$ I-FSH to porcine granulosa cells in vitro (Akahori, 1978). Moreover, progesterone may have a local inhibitory effect on follicular estradiol production in hamsters (Greenwald, 1977; Saidapur and Greenwald, 1979) and in human (Bäckström et al., 1982). Progesterone caused atresia of oocytes and follicles using mouse ovarian fragments in vitro (Tyler et

al., 1980). Likewise, progesterone inhibited early follicular growth and caused atresia, suppressing the proliferation of granulosa cells, and consequently suppressed PMS-HCG induced superovulation in hypophysectomized rats (Fukuda et al., 1980). These results strongly suggest an antifolliculogenic effect of progesterone. Some secretory factor from corpus luteum other than progesterone was proposed to inhibit follicular growth in monkeys (Goodman and Hodgen, 1979). However, from the present result as well as previous reports (Fukuda et al., 1980; Tyler et al., 1980), it may be surmised that progesterone secreted by corpus luteum inhibits directly early follicular growth and consequently suppresses PMS-HCG induced superovulation, and that this chemical factor is the most likely explanation for the inhibition mechanism in repeated superovulation. Based on the present experiment, a following plan with regard to the inhibition of multiple ovulation in gonadotropin (HMG-HCG) therapy is supposed: at the first gonadotropin therapy a patient should prevent conception but at the second gonadotropin therapy under the presence of newly-formed corpus luteum she should conceive. Further clinical study is required to elucidate the availability of this *first contraception second conception therapy*.

#### Acknowledgements

The authors are indebted to Dr. Fumihiko Kobayashi, Shionogi Research Laboratory, for his valuable advice and suggestions throughout this investigation. This study was supported in part by a Grant-in-Aid (NO. 377497) from the Ministry of Education, Japan.

#### References

- 1) Akahori, T.: The effect of follicular maturation and sex steroids upon LH and FSH binding to porcine granulosa cells. *Acta Obstet. Gynaecol. Jpn.* 30: 191, 1978.
- 2) Bäckström, T., Carlström, K., von Schoultz, B., Toivonen, J.: Effect of progesterone, administered via intravaginal rings, on serum concentrations of oestradiol, FSH, LH and prolactin in women. *J. Reprod. Fertil.* 64: 53, 1982.
- 3) di Zerega, G. S., Hodgen, G. D.: Folliculogenesis in the primate ovarian cycle.

- Endocrine Reviews. 2: 27-49, 1981.
- 4) Fukuda, M., Katayama, K., Tojo, S.: Inhibitory effect of progesterone on follicular growth and induced superovulation in the rat. Arch. Gynecol. 230: 77, 1980.
  - 5) Goodman, A. L., Nixon, W. E., Johnson, D. K., Hodgen, G. D.: Regulation of folliculogenesis in the cycling rhesus monkey: selection of the dominant follicle. Endocrinology. 100: 155, 1977.
  - 6) Goodman, A. L., Hodgen, G. D.: Between-ovary interaction in the regulation of follicle growth, corpus luteum function, and gonadotropin secretion in the primate ovarian cycle. II. Effects of luteectomy and hemiovariectomy during the luteal phase in cynomolgus monkeys. Endocrinology. 104: 1310, 1979.
  - 7) Greenwald, G. S.: Exogenous progesterone: Influence on ovulation and hormone levels in the cyclic hamster. J. Endocrinol. 73: 151, 1977.
  - 8) Ishijima, Y., Anabuki, K., Hirabayashi, T., Ito, M., Osawa, Y., Kanda, S.: Biological analysis of anti-hormone activity in the serum of mice following repeated superovulation-treatment. Jap. J. Fertil. Steril. 24: 1, 1979.
  - 9) Ishijima, Y., Komatsu, H., Ito, M., Aoyama, S.: Effect of repeated preinjection of PMS or HCG on superovulation in mice. Jap. J. Fertil. Steril. 26: 263, 1981.
  - 10) Jacobs, B. R., Smith, R. G.: Evidence for a receptor-like protein for progesterone in bovine ovarian cytosol. Endocrinology. 106: 1276, 1980.
  - 11) Jacobs, B. R., Suchocki, S., Smith, R. G.: Evidence for a human ovarian progesterone receptor. Am. J. Obstet. Gynecol. 138: 332, 1980.
  - 12) Lin, T. P., Bailey, D. W.: Difference between two inbred strains of mice in ovulatory response to repeated superovulation of gonadotrophin. J. Reprod. Fertil. 10: 253, 1965.
  - 13) Marik, J., Hulka, J.: Luteinized nruptured follicle syndrome: A subtle cause of infertility. Fertil. Steril. 29: 270, 1978.
  - 14) Maurer, R. R., Hunt, J., Foote, R. H.: Repeated superovulation following administration of exogenous gonadotrophins in dutch-belted rabbits. J. Reprod. Fertil. 15: 93, 1968.
  - 15) Mizuno, T.: The mechanism of follicle growth. I. The effect of folliclestimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) and estrogen on follicle growth. II. The mode of action of the follicle-stimulating hormone (FSH) on follicle growth. Folia Endocrinol. Jpn. 53: 1159, 1977.
  - 16) Osman, P., Dullaart, J.: Intraovarian release of eggs in the rat after indomethacin treatment at pro-oestrus. J. Reprod. Fertil. 47: 101, 1976.
  - 17) Saidapur, S. K., Greenwald, G. S.: Regulation of  $17\beta$ -estradiol synthesis in proestrous hamster: Role of progesterone and luteinizing hormone. Endocrinology. 105: 1432, 1979.
  - 18) Tyler, J. P. P., Smith, D. M., Biggers, J. D.: Effect of steroids on oocyte maturation and atresia in mouse ovarian fragments in vitro. J. Reprod. Fertil. 58: 203, 1980.
  - 19) Yasuda, Y., Takase, M., Hosaka, Y.: Experimental studies on antigonadotrophin formation followed on repeat injection with gonadotrophin. II. Experimental studies on mice. Jap. J. Animal Reprod. 7: 21, 1961.

#### 幼若ラットにおける黄体の卵胞発育および誘発多発排卵に対する抑制効果

福田操男・片山和明・辻本大治・赤堀泰一郎

神戸大学医学部産科婦人科学教室

東條伸平

京都大学医学部婦人科学産科学教室

黄体の卵胞発育および PMS-HCG 誘発多発排卵に対する影響を幼若ラットを用いて検討した。種々の量の PMS 投与により排卵後一定の黄体数が得られた。第 1 回目の PMS-HCG 投与後の黄体数は PMS 5 IU 投与群で 15.0, PMS 10 IU 投与群で 70.8, PMS 20 IU 投与群で 115.5 であった。第 1 回目の PMS-HCG 投与より 2 週間後、黄体の存在下に多発排卵を誘発すべく一定量の PMS-HCG を再投与した。第 2 回目の PMS-HCG 投与後の排卵数は、第 1 回目の PMS 5 IU 投与群では 28.4, PMS 10 IU 投与群では 10.9, PMS 20 IU 投与群では 2.4 であった。第 1 回目の PMS-HCG 投与後の黄体数と第 2 回目の PMS-HCG 投与後の排卵数の間には逆相関関係がみとめられた。

第 2 回目の PMS 投与直前に卵巣を組織学的に検索したところ、第 1 回目に PMS 5 IU を投与したラット卵巣では数個の黄体と antral follicle がみとめられたのに対して、第 1 回目に PMS 20 IU を投与したラット卵巣では多数の黄体と少数の preantral follicle がみとめられた。

以上の成績より、黄体が隣接する卵胞発育を抑制し、その結果 PMS-HCG 誘発多発排卵を抑制するということが示唆された。

(受付: 昭和 57 年 6 月 18 日)



## APPLICATION OF REAL-TIME ULTRASOUND FOR EVALUATIONS OF STERILE WOMEN

Toshiyuki HATA, Kenichi KANEDA, Kohji SAWADA,  
Kazuhiko YAMAMOTO, Fuminori MURAO  
and Manabu KITAO

Department of Obstetrics and Gynecology, Shimane Medical University,  
Izumo 693, Japan

**Abstract:** Ultrasonic measurements of the graafian follicles were carried out in 12 Japanese to estimate the precise day of the ovulation. Twenty-three serial ultrasonic measurements of the follicular size were obtained. Ovulation was evident in the form of 6 cycles with clomiphene therapy, in 4 cycles with clomiphene-HMG therapy, in 3 cycles with HMG-HCG therapy, and in 4 with spontaneous ovulation. The average diameter of the preovulatory follicles in spontaneous ovulation cycles was  $24.5 \pm 0.9$  mm, and was  $31.7 \pm 7.1$  mm in the ovulation induction groups. The size of ovarian follicles was maximum at the time simultaneous with the LH peak or somewhat later. Thus, the precise ovulation day could be determined noninvasively using ultrasound. Moreover, real time ultrasound measurements are useful to eliminate ovarian hyperstimulation by ovulation induction therapy, and to clarify the diagnosis of polycystic ovary.

**Key words:** Real-time ultrasound, follicular size, ovulation, sterility

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 50-53, 1983)

### Introduction

Ultrasound is being used to estimate the ovulation time in sterile women<sup>1)</sup> and the growth of graafian follicles and the corpus luteum can be determined and measured using this approach.

We now report our experiences with ultrasonic observations for the estimation of the ovulation, prevention of the ovarian hyperstimulation, and making a diagnosis of the polycystic ovary.

### Materials and Methods

To measure the size of graafian follicles during the menstrual cycle, 12 patients including 6 given clomiphene treatment, 4 on clomiphene-HMG treatment, 3 on HMG-HCG treatment, and 4 with spontaneous ovulatory cycles, who visited to the outpatient department of sterility of the Shimane Medical University Hospital, were exam-

ined, using a real-time scanner (Sonovista P MODEL MEU 1572) with a transducer of 3.5 MHz. First, a full bladder technique was used, before the ultrasonic examination. A probe was placed at the midline scanning line, and tilted to the left or right for detection of the ovaries and follicles (Fig. 1). Serum luteinizing hormone (LH) levels were determined by validated radio-immunoassay.

### Results

Ovulation could be assessed in 17 cycles from 23 cycles of 12 patients. In these 17 cycles, the clomiphene therapy included 6, the clomiphene-HMG therapy 4, the HMG-HCG therapy 3, and the spontaneous ovulation 4 (Fig. 2). Ovulation could not be detected in 1 cycle of one patient who had a polycystic ovary, and 4 cycles of two patients with an ovarian hyperstimulation. Ovulation was noted in one cycle from 17 by the ultrasound and LH level, but the



phase of the basal body temperature (BBT) remained low. Two patients in Fig. 2. became pregnant.

The serial change of graafian follicles in one patient treated with clomiphene-HMG therapy is shown in Fig. 3a, and Fig. 3b shows the serial change of graafian follicles

in both ovaries, under conditions of clomiphene therapy.

The correlation between the LH peak and the size of graafian follicles is shown in Fig. 4.

Fig. 5a is an ultrasonic image of a polycystic ovary, and Fig. 5b that of ovarian hyperstimulation.

## Discussion

Kratochwil et al.<sup>2)</sup> reported that gross anatomical changes and cyclical changes of the ovary could be successfully observed using ultrasound, and Hackelöer and Nitschke-Dabelstein<sup>3)</sup> found it was possible to

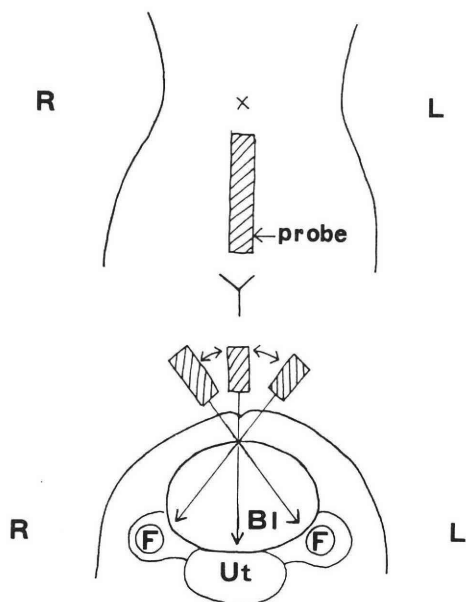


Fig. 1 Midline approach for detecting the follicle, R: right side, L: left side, Bl: bladder, Ut: Uterus, F: follicle.

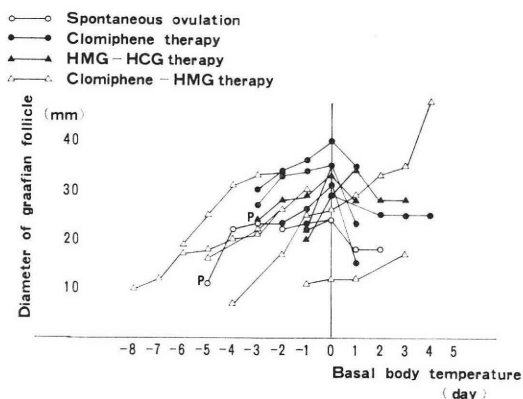
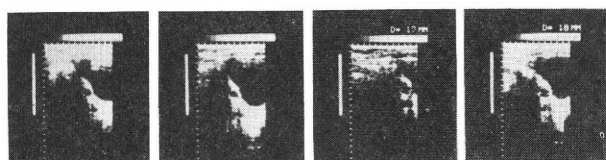
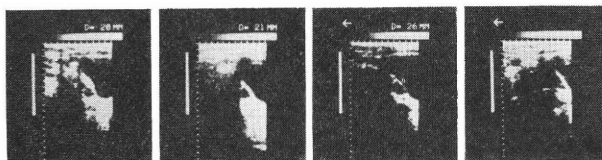


Fig. 2 Basal body temperature and diameter of the graafian follicle.



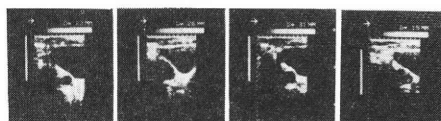
9th day 10th day 11th day 12th day



13th day 14th day 15th day 16th day

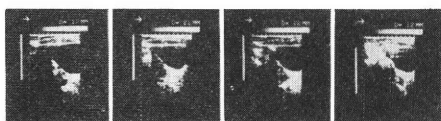
3a

### Right Graafian follicle



15th day 16th day 17th day 18th day

### Left Graafian follicle



15th day 16th day 17th day 18th day

3b

Fig. 3a Changes in size of the graafian follicle with time. The peak diameter is 26mm on the 15th day.

3b Right graafian follicle is the chief follicle, and the left the second follicle. Both the graafian follicles reached the maximum size on the 17th day.

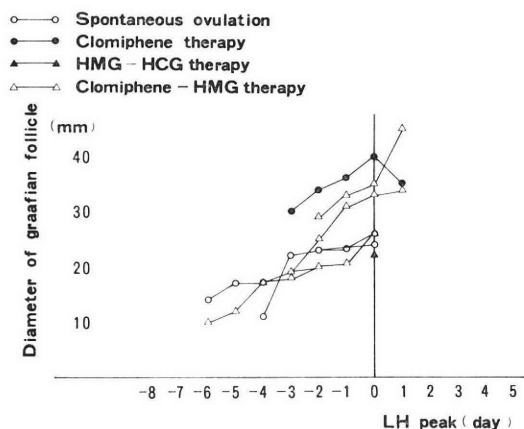
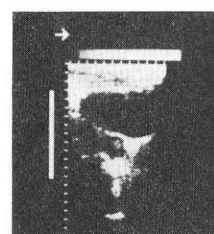
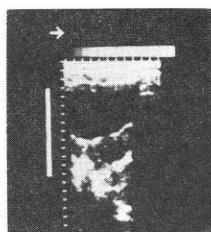


Fig. 4 LH peak and diameter of the graafian follicle.

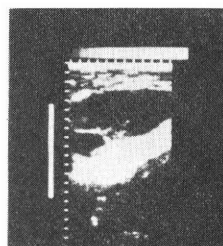


longitudinal  
plane

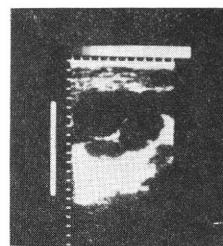


transverse  
plane

5a



right ovary



left ovary

5b

Fig. 5a Image of the polycystic ovary. The central asteroid echo pattern is typical.

5b Image of ovarian hyperstimulation.

demonstrate ovarian vessels within the infundibulopelvic ligament. We used this same approach to identify the ovary.

Using the contact compound scanner, serial longitudinal scans can be made at 2 to 5 mm intervals<sup>4-6)</sup>, but in the case of the real-time scanner, only tilting the probe head towards either the iliac fossa makes feasible identification of the graafian follicles.<sup>7)</sup>

In the case of spontaneous ovulation, Hackelöer and Robinson<sup>1)</sup> reported that the follicle just prior to ovulation had a diameter of approximately 18 to 24 mm, and the mean value was 19.7 mm. O'Herlihy et al.<sup>7)</sup> found that the mean value of the follicle just prior to ovulation was 20.1 mm, and Kerin et al.<sup>6)</sup> that the mean peak diameter of the ovulating follicle was  $23.2 \pm 0.3$  mm (range 18-29 mm). In our study, the mean

the onset of the LH surge.

Nitschke-Dabelstein et al.<sup>9)</sup> reported that shortly after ovulation there was an increase in solid echoes as the cystic follicle decreased in size until a small, less intense echogenic area stained visibly within the ovary. Our ultrasound studies also revealed a decrease in size and an increase in the internal echoes.

Real-time ultrasound is most useful to assess ovulation in sterile women, and serial observations prevent ovarian hyperstimulation by induction therapy. Ultrasound may also be used to diagnose polycystic ovary.

#### Acknowledgement

We thank M. Ohara for advice on the manuscript.

## References

- 1) Hackelöer, B. J. und Robinson, H. P.: Ultraschalldarstellung des wachsenden Follikels und Corpus luteum im normalen physiologischen Zyklus. Geburtsh. Frauenheilk., 38: 163, 1978.
- 2) Kratochwil, A., Urban, G. and Friedrich, F.: Ultrasonic tomography of the ovaries. Ann. Chir. Gynaecol. Fenn., 61: 211, 1972.
- 3) Hackelöer, B. J. and Nitschke-Dabelstein, S.: Ovarian imaging by ultrasound: An attempt to define a reference plane. J. Clin. Ultrasound, 8: 497, 1980.
- 4) Ylöstalo, P., Rönberg, L. and Jouppila, P.: Measurement of the ovarian follicle by ultrasound in ovulation induction. Fertil. Steril., 31: 651, 1979.
- 5) Hackelöer, B. J., Fleming, R., Robinson, H. P., Adam, A. H. and Coutts, J. R.: Correlation of ultrasonic and endocrinologic assessment of human follicular development. Am. J. Obstet. Gynecol., 135: 122, 1979.
- 6) Kerin, J. F., Edmonds, D. K., Warnes, G. M., Cox, L. W., Matthews, C. D., Young, G. B. and Baird, D. T.: Morphological and functional relations of graafian follicle growth to ovulation in women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements. Br. J. Obstet. Gynaecol., 88: 81, 1981.
- 7) O'Herlihy, C., De Crespigny, L. J. Ch. and Robinson, H. P.: Monitoring ovarian follicular development with real-time ultrasound. Br. J. Obstet. Gynaecol., 87: 613, 1981.
- 8) De Crespigny, L. J. Ch., O'Herlihy, C. and Robinson, H. P.: Ultrasonic observation of the mechanism of human ovulation. Am. J. Obstet. Gynecol., 139: 686, 1981.
- 9) Nitschke-Dabelstein, S., Hackelöer, B. J. and Sturm, G.: Ovulation and corpus luteum formation observed by ultrasonography. Ultrasound in Med. & Biol., 7: 33, 1980.

## 不妊症患者への超音波断層法の応用

秦 利之・金田健一・沢田康治  
山本和彦・村尾文規・北尾 学

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

島根医科大学産婦人科不妊外来を訪れた不妊症患者 12 例、のべ 23 周期において電子走査スキャンによる排卵日推定が行われた。23 周期中 17 周期において排卵が確認できた。排卵を確認できた内訳は、自然排卵群は 4 周期、Clomiphene 投与群は 6 周期、Clomiphene-HMG 投与群は 4 周期 HMG-HCG 投与群は 3 周期である。自然排卵群の卵胞最大径は平均  $24.5 \pm 0.9$  mm であり、誘発剤使用群の平均は  $31.7 \pm 7.1$  mm であった。LH ピークと卵胞最大径との関連において、LH ピークより同時期あるいはそれより遅れて卵胞は最大径となり、LH ピークの後に排卵が起きることを示しているように思われた。12 例中 2 例において妊娠が成立した。電子走査スキャンを用い、卵胞の最大径を測定することにより、より正確な排卵日推定を、簡便かつ短時間で無侵襲に行うことが可能となった。

(受付: 昭和 57 年 2 月 18 日)

## 頸管粘液中の同種凝集素の検出

### Detection of Isoagglutinins in Cervical Mucus

鳥取大学医療技術短期大学部

実 繁 幸 男   岡 本 至 公   福 田 千 佐 子  
Yukio SANESHIGE   Shikō OKAMOTO   Chisako FUKUDA

Department of Medical Technology, Tottori University  
College of Medical Care Technology

鳥取大学医学部産婦人科学教室

澤 原 光 信  
Mitsunobu SAWAHARA

Department of Obstetrics and Gynecology, Tottori  
University School of Medicine

頸管粘液中の同種凝集素の検出法について検討した。AB型以外の138例すべての試料から抗A・抗B同種凝集素が検出され、原因不明の不妊婦人の試料10例では1:128~1:1,024の titer で、血清ならびに唾液中の凝集素価に比べてすべて高力価であった。抗原抗体反応は粘性が高い場合には起こりにくいが、精子表面に ABO 式血液型抗原が存在し、しかも腔液中に相対応する同種抗体を高力価に保有する場合には、あるいは不妊のひとつの原因として考えられるかも知れない。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 54-58, 1983)

#### 緒 言

ヒト精子表面に、ABO 式血液型抗原が存在していることを、Edwards, Ferguson and Coombs<sup>1)</sup>, Boettcher<sup>2)</sup> や Parish, Carron-Brown and Richards<sup>3)</sup> が以前から述べており、最近では井上と岡田<sup>4)</sup> が電子顕微鏡を用いた酵素抗体法によつて、その抗原の存在を確認した。

唾液中には ABO 式血液型抗原ばかりでなく、血清と同様に抗A・抗B同種凝集素が存在しているという報告があり<sup>5)</sup>、理論的には他の体液中にも同種凝集素が存在していると考えられてきた。唾液には粘性の主成分である mucin が含まれていて、通常の方法では血球凝集反応が起こらないので、凝集素を検出することがむずかしい。

頸管粘液も唾液と同様で、採取した頸管粘液そのままでは、赤血球凝集反応を肉眼的に観察することは出来ない。

先にわれわれは、唾液中の同種凝集素の検法として、toluene 処理法<sup>6)</sup> について報告したが、今回はこの方法を応用して頸管粘液中の同種凝集素検出とその力価を、原因不明の不妊婦人の試料も含めて検査したので報告する。

#### 実験材料および方法

##### 1. 頸管粘液

##### 1) 基礎実験用頸管粘液

鳥取県米子市内の産婦人科医院の外来患者で、月経終了後3日以上経過した18~49歳の AB 型を除く138人から、あらかじめ秤量した塩化ビニール製のパスツールピペットに採取して、再度秤量後頸管粘液の重量を測定した。

##### 2) 原因不明の不妊婦人の頸管粘液

鳥取大学医学部附属病院産婦人科ならびに長田産婦人科医院の各外来患者で、原因不明の不妊と診断され性交後5日以上経過した婦人10人から、あらかじめ重量を測

定した塩化ビニール製パスツールピペットに採取して、再度秤量後頸管粘液そのものの重量を測定した。

## 2. 原因不明の不妊婦人の唾液ならびに血清

### 1) 唾液

食後約 3 時間経過してから、口腔内を水道水で充分うがいをした後、自然流出唾液を約 3 ml 採取した。

### 2) 血清

食後 3 時間以上経過後、肘静脈から採血して室温に放置してから血清分離した。

### 3. 指示血球

鳥取大学医学部附属病院中央検査部から供与を受けた血液を A, B および O 型の各血液型の血液を数人分ずつを、各型ごとにいつしよにして洗浄血球泥をつくり、所要の濃度のものを生理食塩水に浮遊させて使用した。

## 4. 頸管粘液の処理用試薬ならびに希釈用メディウム

市販されている各有機溶媒の特級試薬を頸管粘液処理に、希釈には和光純薬 1 級のウシ血清アルブミンを含む生理食塩水溶液を用いた。

### 5. 血球凝集反応

microtiter 法の術式に従い、頸管粘液 1 重量に対し等重量の PBS pH 7.2 を加え、5 分以上激しく転倒混和したもの 25 $\mu$ l を 2% ウシ血清アルブミン生理食塩水で 2 倍連続希釈した後、0.5% の A, B, O 型の各型指示血球生理食塩水浮遊液をマイクロプレートの各孔に 25 $\mu$ l ずつ滴下し、ミキサーで 5 分以上充分混合した後 20°C の湿潤箱の中に 60 分間静置して凝集反応の有無を肉眼で判定した。

## 6. 頸管粘液中の糖類ならびにタンパク質の定量

### 1) 糖類 (Molish 試験)

藤井<sup>7)</sup>の方法に準じ和光純薬社製、試薬特級の  $\alpha$ -naphthol, ethanol および硫酸、第一化学社製のブドウ糖を用い、頸管粘液 0.3mg を共栓付スピッツに採取し、5%  $\alpha$ -naphthol の ethanol 溶液 1 ml を加えて激しく混合したのち、3 ml の濃硫酸を徐々に加え栓をして流水中で振盪混和後冷却し、分光光度計 (572nm) で測定して、ブドウ糖による検量線から糖類の含有量を測定した。

### 2) タンパク質 (Biuret 反応)<sup>8)</sup>

関東化学社製試薬特級の水酸化ナトリウムおよび硫酸銅を用い、頸管粘液 300mg に 2 N の水酸化ナトリウム 2 ml を加えて充分混合し、M/20 硫酸銅溶液 2 ml を 1 滴ずつ、試験管を振りながら約 2 分間で滴下したのち、分光光度計 (550nm) で測定した。

## 実験成績

### 1. 頸管粘液の処理法

#### 1) 化学的処理法

頸管粘液に等重量の PBS pH (pH 7.2) を加えて充分混合したもの 1 容量に対して、10 種類の有機溶媒 1 容量を各々添加し 4 ~ 5 分間激しくミキサーの上で混和後、毛細ガラス管 (75 $\times$ 1.5mm) に吸引して、一端を火炎で溶封後 3,000rpm, 5 分遠心沈殿して 3 層に分離した。中間層を試料として抗 A, 抗 B 同種凝集素価を測定したところ、toluene 処理の場合が最も高い凝集素価を示し、つづいて cyclohexane, ether, n-hexane, benzol, xylene など、その他の溶媒は処理効果が認められなかった (表 1)。

#### 2) toluene の添加量

Table 1 Titer of anti-A agglutinins in cervical mucus with chemical treatment (cervical mucus of B blood type)

| Reagents    | Indicator cells | Agglutinin Titer (2 <sup>n</sup> ) |    |    |   |   |   | Control |
|-------------|-----------------|------------------------------------|----|----|---|---|---|---------|
|             |                 | 1                                  | 2  | 3  | 4 | 5 | 6 |         |
| Toluene     | A               | ++                                 | ++ | ++ | + | + | — | —       |
| n-Hexane    | A               | ++                                 | ++ | +  | + | — | — | —       |
| Chloroform  | A               | +                                  | +  | +  | — | — | — | —       |
| Acetone     | A               | —                                  | —  | —  | — | — | — | —       |
| n-Heptane   | A               | +                                  | +  | +  | — | — | — | —       |
| Petroleum   | A               | +                                  | +  | —  | — | — | — | —       |
| Cyclohexane | A               | ++                                 | +  | +  | + | — | — | —       |
| Ether       | A               | ++                                 | ++ | +  | + | — | — | —       |
| Benzol      | A               | ++                                 | ++ | ++ | + | — | — | —       |
| Xylene      | A               | h                                  | ++ | ++ | — | — | — | —       |
| nontreated  | A               | +                                  | ±  | —  | — | — | — | —       |

B and O indicator Cells : none agglutination    h : hemolysis

頸管粘液の粘性を低下させて、赤血球凝集反応を容易におこさせるために、頸管粘液と PBS とを各々等重量ずつを混合したもの 1 容量に対して、toluene を 5 倍から  $1/20$  容量を加えて、5 分間激しく転倒混和して遠心沈殿後中間層を試料にして凝集素価を測定したところ表 2 のような成績であつたので、以後の実験には 2 倍量の toluene を加えることとした。

Table 2 Volume of toluene add to cervical mucus

| Volume of Toluene | Indicator Cells | Agglutinin Titer ( $2^n$ ) |    |    |   |   |   |
|-------------------|-----------------|----------------------------|----|----|---|---|---|
|                   |                 | 1                          | 2  | 3  | 4 | 5 | 6 |
| 1 : 1/20          | A               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | B               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | O               | —                          | —  | —  | — | — | — |
| 1 : 1/10          | A               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | B               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | O               | —                          | —  | —  | — | — | — |
| 1 : 1/5           | A               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | B               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | O               | —                          | —  | —  | — | — | — |
| 1 : 1/2           | A               | +                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | B               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | O               | —                          | —  | —  | — | — | — |
| 1 : 1             | A               | ++                         | +  | +  | — | — | — |
|                   | B               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | O               | —                          | —  | —  | — | — | — |
| 1 : 2             | A               | +++                        | ++ | ++ | + | + | — |
|                   | B               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | O               | —                          | —  | —  | — | — | — |
| 1 : 5             | A               | ++                         | ++ | +  | — | — | — |
|                   | B               | —                          | —  | —  | — | — | — |
|                   | O               | —                          | —  | —  | — | — | — |

## 2. 粘性度

頸管粘液 8 例について、toluene 処理前後の粘性度を Ostwald の粘度計を用い、20°C の蒸留水の粘性度を 1 センチポイズとして測定したところ、toluene 処理前では頸管粘液がひとつのかたまりになって測定不可能であつたが、処理後ではすべての試料の粘性度を測定することができた (表 3)。

## 3. 成分の変化

5 例の頸管粘液 10 例について、toluene 処理前後について、糖類とタンパク濃度の比較を Molisch 試験と Biuret 反応によつておこなつてみたところ、いずれも toluene 処理により、著明な減少がみられた (表 4, 5)。

## 4. 血清、唾液ならびに頸管粘液の凝集素価

Table 3 Effect of toluene treatment on saliva viscosity

| Blood Type | Sample No. | Before | After (cp**) |
|------------|------------|--------|--------------|
| A          | 1          | N.D.*  | 3.59         |
|            | 2          | N.D.   | 4.91         |
|            | 3          | N.D.   | 2.83         |
| B          | 4          | N.D.   | 3.32         |
|            | 5          | N.D.   | 3.77         |
| O          | 6          | N.D.   | 4.22         |
|            | 7          | N.D.   | 3.50         |
| AB         | 8          | N.D.   | 3.96         |

N.D.\* : not detectable cp\*\* : centipoise

Table 4 Variation in the components of cervical mucus

| Sample No. | Saccharids (mg/dl) |       |
|------------|--------------------|-------|
|            | Toluene Treatment  |       |
|            | Before             | After |
| 1          | 37                 | 21    |
| 2          | 48                 | 30    |
| 3          | 41                 | 26    |
| 4          | 50                 | 33    |
| 5          | 28                 | 24    |

Table 5 Variation in the components of cervical mucus

| Sample No. | Protein (mg/dl)   |       |
|------------|-------------------|-------|
|            | Toluene Treatment |       |
|            | Before            | After |
| 1          | 24                | 19    |
| 2          | 38                | 25    |
| 3          | 21                | 12    |
| 4          | 39                | 34    |
| 5          | 42                | 30    |

原因不明の不妊婦人の頸管粘液、血清、唾液の 3 試料について、toluene 処理をおこなつて同種凝集素価を測定したところ、表 6 に示すように、頸管粘液中の抗 A・抗 B の力価が他の 2 つの試料よりはるかに高いものがみられた。

## 5. 経時的変化

原因不明の不妊婦人の頸管粘液 10 例の同種凝集素価を 3 日おきに試料を採取して、測定した。そのうちの 5 例を図 1 に示したが力価は常に一定ではなく、かなりの変動が見られた。

Table 6 Titer of body fluids

| Sample No. | Serum  | Saliva Titer | Cervical Mucus |
|------------|--------|--------------|----------------|
| 1          | 1 : 32 | 1 : 16       | 1 : 256        |
| 2          | 1 : 16 | 1 : 16       | 1 : 512        |
| 3          | 1 : 32 | 1 : 32       | 1 : 1,024      |
| 4          | 1 : 64 | 1 : 32       | 1 : 128        |
| 5          | 1 : 64 | 1 : 32       | 1 : 128        |
| 6          | 1 : 16 | 1 : 8        | 1 : 512        |
| 7          | 1 : 16 | 1 : 32       | 1 : 256        |
| 8          | 1 : 32 | 1 : 32       | 1 : 512        |
| 9          | 1 : 32 | 1 : 64       | 1 : 512        |
| 10         | 1 : 16 | 1 : 32       | 1 : 256        |

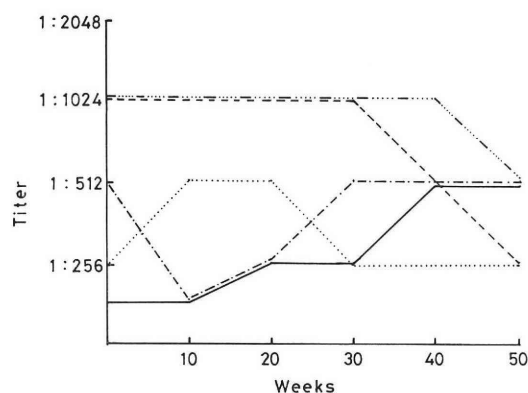


Fig. 1 Titer of cervical mucus change with the passage of time

## 考 察

体液の中でも、頸管粘液は特に粘性が高いため、抗A・抗B同種凝集素の検出が困難で、迅速かつ鋭敏な試験管遠沈法が実施できない。このような不便な点を除くために、頸管粘液中の凝集素を損なうことなしに、粘性を低下させることにした。

組織から cholinesterase を抽出ならびに純化する操作の中で、組織内の mucin を除去するのに toluene を添加して 30~40日間冷室に放置する方法を Rothenberg らが報告しているが、粘性の主成分である mucin の除去に toluene が有効ではないかと考え、toluene をはじめとして各有機溶媒を用いて実験してみたところ、頸管粘液と PBS の等重量を試験管内で充分混合したもの 1 容量に対して、toluene を 2 倍量加え激しく転倒混和後毛細ガラス管に吸い上げ、遠心沈殿して中間層を試料に、microtiter 法で容易に凝集素の検出とその力価を測定した。また toluene で頸管粘液を処理すると、mucin の構成成分である糖ならびにタンパク質の双方が著明に

低下することが認められるので、toluene 処理によって頸管粘液中の mucin がある程度減少するものと思われる。

AB 型を除く 138 例の婦人から採取した頸管粘液の全例から凝集素が検出され、また少数例ではあるが原因不明の不妊婦人の頸管粘液中の凝集素価は、全体に高力価であった。

最近、井上ら<sup>4)</sup>は、精子表面に ABO 式血液型抗原が存在しているという報告をしたが、粘性の高い精液ならびに腔液の中で、精子の ABO 式血液型抗原と、頸管粘液中の相対応する同種凝集素とが容易に抗原抗体反応をするとは考えにくい<sup>5)</sup>が、頸管粘液中に高力価の同種凝集素が存在する場合、あるいは精子表面の血液型抗原と凝集反応をおこすことがあるかも知れない。

(なお本論文の要旨は第26回日本不妊学会総会において発表した。)

## 文 献

- 1) Edwards, R. G., Ferguson, L. C. and Coombs, R. R. A.: Blood group antigens on human spermatozoa. J. Reprod. Fertil., 7: 153, 1964.
- 2) Boettcher, B.: Human ABO blood group antigens on spermatozoa from secretors and non-secretors. J. Reprod. Fertil., 9: 267, 1965.
- 3) Parish, W. E., Carron-Brown, J. A. and Richards, C. B.: The detection of antibodies to spermatozoa and to blood group antigens in cervical mucus. J. Reprod. Fertil., 13: 469, 1967.
- 4) 井上晃孝, 岡田吉郎: ヒト精子の血液型抗原の局在部位. 第65次日本法医学会総会講演要旨, p. 51, 1981.
- 5) 湯浅 勲, 岡田吉郎: 型的二重結合法変法による体液の ABO 式血液型の証明. 米子医学雑誌, 26: 237, 1975.
- 6) 実繁幸男: 人唾液中の型的凝集素の特性と検査法. 米子医学雑誌, 26: 246, 1975.
- 7) 藤井暢三: 生化学実験法, p. 65, p. 84, 南山堂, 東京, 1964.
- 8) 藤井暢三: 生化学実験法, p. 289, 南山堂, 東京, 1964.
- 9) Rothenberg, M. A. and Nachmansohn, D.: Studies on cholinesterase. J. biol. Chem., 168: 223, 1947.

Detection of isoagglutinins in  
cervical mucus

**Yukio Saneshige, Shikō Okamoto,  
and Chisako Fukuda**

Department of Medical Technology,  
Tottori University College of  
Medical Care Technology

**Mitsunobu Sawahara**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tottori University School of Medicine

This paper reports of a new procedure to establish a more satisfactory detection of quantities of agglutinins in cervical mucus.

Precision of typing from cervical mucus ag-

glutinins was raised up to 99 per cent by the pursuit of procedures below :

1) Add 1 volume of toluene to 1 volume of a solution of cervical mucus and PBS in the ratio of 1:1 (weight) without any stimulus and mix for 5 min. on a mixer.

2) Centrifuge at 3,000 rpm for 5 min. and provide the middle layer as a test sample.

3) Double the sample by adding equal volume of either 2 per cent bovin serum albumin in saline.

4) Add 25  $\mu$ l of 0.5 per cent saline suspension of A, B or O red cells into each of three lines micro plate containing 25  $\mu$ l of above solution.

5) Incubate at room temperature for 60 min. after agitating for 5 min. on a mixer and read the reaction macroscopically.

(受付 : 昭和57年3月4日)



## 基礎体温 (BBT) が高温一相性を示す 不妊症例の内分泌学的検討

### Endocrinological Profile in the Patients Showing "High Monophasic" Basal Body Temperature

社会保険徳山中央病院産婦人科

山下 三郎 伊東 武久  
Saburo YAMASHITA Takehisa ITO

野見 山宏寿 蔵 本 武志  
Hirohisa NOMIYAMA Takeshi KURAMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tokuyama Chuo Hospital

卵胞期の BBT の平均が  $36.7^{\circ}\text{C}$  を越え、かつ monophasic pattern を示す不妊患者 5 名につき内分泌学的検索 (血清 Estradiol ( $\text{E}_2$ ), progesterone, LH, FSH, prolactin,  $\text{T}_3$ ,  $\text{T}_4$ , 尿中 17-KS, 17-OHCS, Endometrial Biopsy) を行つた。子宮内膜日付診, 血清  $\text{E}_2$ , progesterone 値の変化より, 5 症例中 4 症例に排卵性の変化を認め, そのうち 2 例は follow up 期間中に妊娠した。また排卵 4 症例のうち黄体機能不全は 1 例, 正常は 3 例であつた。血清  $\text{T}_3$ ,  $\text{T}_4$ , 尿中 17-KS, 17-OHCS は全例正常範囲に認められた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 59-62, 1983)

#### はじめに

BBT より排卵を推定することは現在広く一般臨床に用いられている。しかし一見して排卵日が推定できるものから排卵日の推定のできないものまでさまざま、今日まで多くの pattern の分析がなされてきた<sup>1,2)</sup>。今回われわれは卵胞期, 黄体期を通じて高温一相性の BBT pattern を示す症例に着目し, その内分泌学的背景を検討し, 若干の考察を加えたので報告する。

#### 対象と方法

対象は, 1980年8月より1981年9月までに社会保険徳山中央病院産婦人科外来を受診した挙児希望の婦人で, そのうち特に卵胞期の BBT の平均が  $36.7^{\circ}\text{C}$  以上, かつ一相性の BBT pattern を示す 5 症例について, 以下の如き検査計画を立てて検討した。即ち, 従来の BBT や頸管粘液の所見を参考にし, 卵胞期初期 (月経開始後 6~9 日目) に血中 LH, FSH, prolactin,

$\text{T}_3$ ,  $\text{T}_4$  および尿中 17-KS, 17-OHCS をチェックし, 以後 2~3 日毎に可及的に採血し, 血中  $\text{E}_2$  および progesterone level を測定した。血中  $\text{E}_2$  の測定は, 伊東ら<sup>3)</sup>の方法に従つて行つた (Fig. 1)。

頸管粘液量増量の認められる症例では, 血清  $\text{E}_2$  値の他, 頸管粘液量, 羊歯状結晶, 牽糸性を参考にして卵胞の成熟を monitor した。一方, 頸管粘液量の増量が認められない症例では, 前日の血清  $\text{E}_2$  値をもとにして卵胞成熟を推定した。血清  $\text{E}_2$  値および頸管粘液所見の変化より排卵を推定し, 排卵後 7 日目に子宮内膜日付診を行つた。

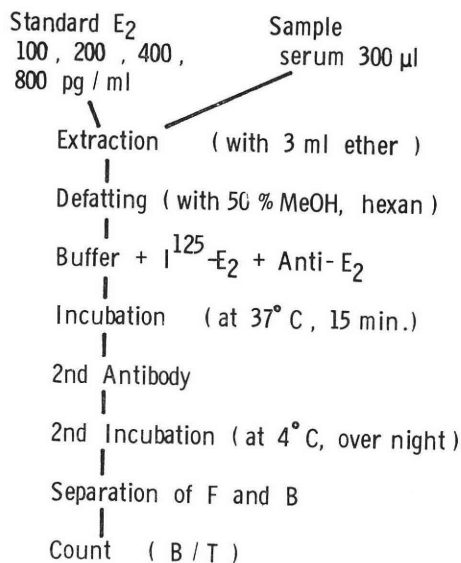
#### 成 績

1) 症例 1 Y. H. 30 歳 (Fig. 2)

不妊期間 7 年間。続発性不妊症。G-1, P-0。

頸管粘液の増量が比較的良好で, 血清  $\text{E}_2$  値もこれと同様の変動パターンを示した。血清  $\text{E}_2$  値, progesterone 値, 頸管粘液所見の変動から見て月経第 23 日目頃の

## ASSAY PROCEDURE

Fig. 1 血中 E<sub>2</sub> 測定法

## Case 1 Y.H. 30y.o. Secondary Sterility

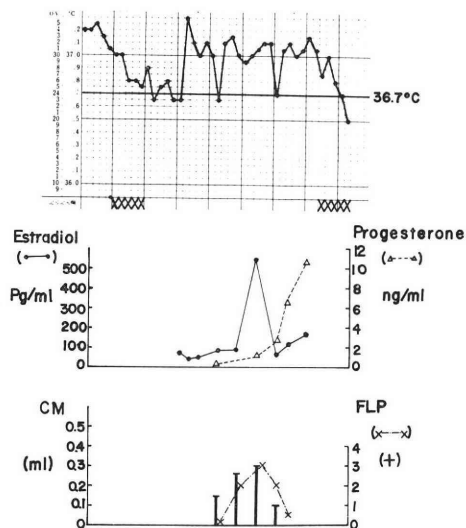


Fig. 2 症例 1

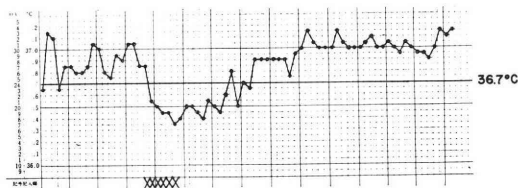


Fig. 3 症例 1 の BBT

排卵と思われた。子宮内膜日付診では黄体機能不全の所見を得た。卵胞期の血清 T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, LH, FSH, prolactin, 尿中 17-KS, 17-OHCS は正常範囲を示した。Fig. 3 は、次周期の BBT で月経第5日目より、Vitamin C 600mg/day 投与を2週間行つたところ、初めて卵胞期は正常な低温相を示した。この周期に妊娠したが、妊娠第10週で自然流産の転帰をとつた。

## 2) 症例 2 K. S. 34歳 (Fig. 4)

不妊期間3年間。続発性不妊症。G-3, P-1.

本症例も頸管粘液の増量が著明で、血清 E<sub>2</sub> 値も 496 pg/ml まで増加した。BBT では、月経第16日目に体温の低下が認められるが、血清 E<sub>2</sub> 値および頸管粘液の性状からみて、恐らくこの頃に排卵が認められたものと推定できた。子宮内膜日付診では分泌期内膜を示し、特に異常を認めなかつた。卵胞期の血中 LH, FSH, prolactin, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, 尿中 17-KS, 17-OHCS は、正常範囲を示した。

## Case 2 K.S. 34y.o. Secondary Sterility

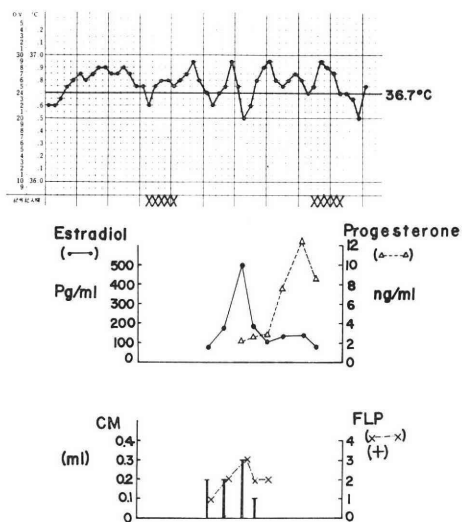


Fig. 4 症例 2

## 3) 症例 3 H. T. 31歳 (Fig. 5)

不妊期間6年間。続発性不妊症。G-1, P-0.

血清 E<sub>2</sub> 値の変動は低値で周期を通じて血清 progesterone の増加も認められない、BBT では、一見、二相性の如く見え、月経第16日目頃に基礎体温の陥落が認められるため、この日を高温相第0日とし、第7日目に子宮内膜日付診を行つたが、組織学的診断は、増殖期内膜の所見を得た。これらの所見を総合すると BBT では一見、二相性の如く見えても実際には、本例は無排卵の症例と思われた。卵胞期の血清 LH, FSH, prolac-

## Case 3 H.T. 31y.o Secondary Sterility

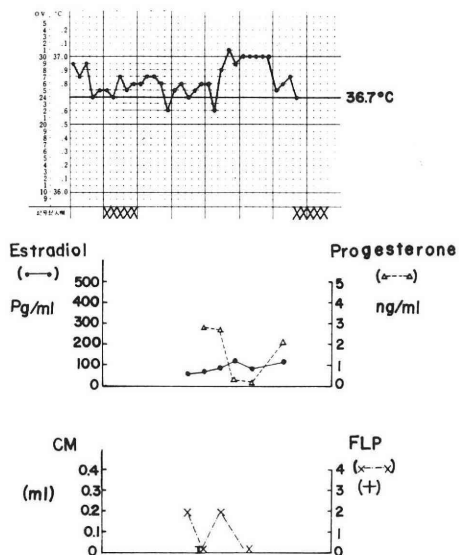


Fig. 5 症例 3

tin,  $T_3$ ,  $T_4$ , 尿中 17-KS, 17-OHCS は、正常範囲を示した。

## 4) 症例 4 S. T. 36歳 (Fig. 6)

不妊期間 3 年間。続発性不妊症。G-2, P-1.

月経第 21 日目頃の排卵。血清  $E_2$  値は最大 310pg/ml まで増加した。子宮内膜日付診でも分泌期内膜像を示し正常。卵胞期の血清 LH, FSH, prolactin,  $T_3$ ,  $T_4$  および尿中 17-KS, 17-OHCS の値は、正常範囲。次周期に

## Case 4 S.T. 36y.o Secondary Sterility

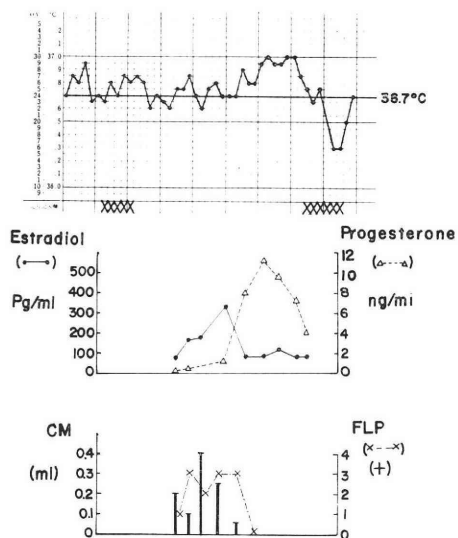


Fig. 6 症例 4

は卵胞期の BBT は低温相のレベルを示したが、月経第 11 日目の血清  $E_2$  値が 54.6pg/ml と低値を示したため、月経第 12 日目より HMG 150IU を連日 5 日間使用した。その結果血清  $E_2$  値の増加および頸管粘液所見の改善を認めたため、血清  $E_2$  値が 574pg/ml になった時点で HCG 投与に切りかえたが、その周期に妊娠が成立した。現在妊娠 5 カ月で経過観察中である (Fig. 7)。

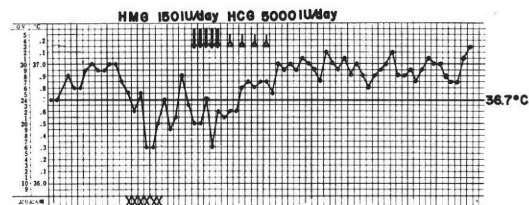


Fig. 7 症例 4 の BBT

## 5) 症例 5 A. S. 28歳 (Fig. 8)

不妊期間 4 年間。原発性不妊症。頸管粘液分泌不全の症例。月経第 10 日目に血清  $E_2$  値が 343pg/ml を示した後低値となつた。血清 progesterone 値は月経第 21 日目に 12.3ng/ml と高値を示した後、月経第 25 日目に 3.0ng/ml と低値を示した。卵胞期の血清 LH, FSH, prolactin,  $T_3$ ,  $T_4$  および尿中 17-KS, 17-OHCS は正常範囲。子宮内膜日付診は月経第 25 日目に施行したが、分泌期内膜像を示し、正常範囲であつた。

## Case 5 A.S. 28y.o Primary Sterility

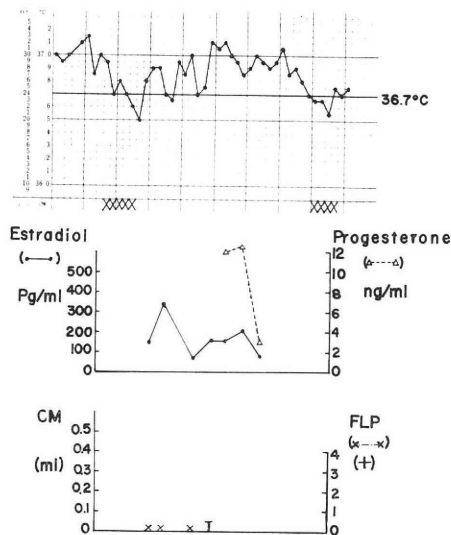


Fig. 8 症例 5

## 考 案

今回、卵胞期—黄体期を通じて高温一相性の BBT

pattern を示す5症例について報告した. monophasic BBT でも内分泌学的動態からみて明らかに排卵があるという症例は、種々報告されている. 例えば Moghissi K. S.<sup>4)</sup> は、正常性周期を有する19歳から41歳までの女性30名について連日血清 LH, progesterone, E<sub>2</sub> または尿中エストロゲンを測定し、これらの結果と、BBT pattern とを比較検討したところ、明らかに排卵性のホルモンプターンを示しながらも BBT は low monophasic pattern であった症例が6例(20%)に認められたと報告している. 同様に Johansson et al.<sup>5)</sup> は17名の正常性周期を有する女性の血中 progesterone, 尿中エストロゲン、および BBT を測定したところ12%に low monophasic BBT を認めた.

今回われわれは、血清 E<sub>2</sub> 値および progesterone 値も卵胞期のレベル内の変動でありながら BBT の平均が 36.7°C 以上の高温相のレベルとなる症例を報告した. 一方、藤井は基礎体温型の分類で卵巣機能不全の type の中に、卵胞期における低温形成不良の型を卵胞期低温形成不全型として分類したが<sup>3)</sup>、しかしこの type も全体としては biphasic pattern であった. 今回報告した症例のうち Case 3 がこれに近似していると思われるが、Case 1, 2, 4, 5 は明らかに高温一相性のパターンであり、高温二相性の“藤井の卵胞期低温形成不全型”とは異なっている. 今回示した症例のうち2例(Case 1 および 4) が治療により妊娠したが、その妊娠周期の BBT では卵胞期には正常の低温相の形成がみられた(Fig. 3, 7). 卵胞期に BBT を上昇させる何らかの因子が不妊の原因になっているのかどうか現在不明であるが今後検討すべき問題点と思われる.

御校閱いただきました山口大学医学部産科婦人科学教室加藤弘講師に深謝いたします. また資料作製に御協力いただいた岡 咲子、木村勢子、栗山はるみの諸嬢に感謝します.

## 参考文献

- 1) 松本清一、他：月経異常に関する研究、第14回日本産婦人科学会宿題報告要旨、1962.
- 2) 藤井高明：女性の不定愁訴症候群 p. 27, 1974. 金原出版.
- 3) 伊東武久、他：多胎妊娠ならびに分娩管理—排卵誘発の問題点に関連して—、日産婦中四会誌、29-1, 1981.
- 4) Moghissi, K. S.: Accuracy of basal body temperature for ovulation detection: Fertil. Steril. 27: 1415, 1976.
- 5) Johansson E. D. B., Larsson-Cohn, U., Gemzell, C.: Monophasic basal body temperature in ovulatory menstrual cycles. Am. J. Obstet. Gynecol. 113: 933, 1972.

## Endocrinological profile in the patients showing “high monophasic” basal body temperature (BBT)

Saburo Yamashita, Takehisa Ito,  
Hirohisa Nomiyama and Takeshi Kuramoto  
Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tokuyama Chuo Hospital

The presence of ovulation was examined in 5 patients who showed „high monophasic pattern” in BBT by serial determination of serum estradiol (E<sub>2</sub>), progesterone, LH, FSH, prolactin, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, cervical mucus findings, and by endometrial biopsy.

Changes in serum E<sub>2</sub> and progesterone levels indicated that 4 subjects (80%) had ovulatory cycles.

Two of these cases (40%) became pregnant during the follow-up periods.

Serum T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> and urinary 17-KS, 17-OHCS were within normal range in all cases.

It is also noted that daily determinations of serum E<sub>2</sub> level were useful for monitoring the follicular maturation.

(受付：昭和57年3月8日)

## 卵管端々吻合術への細小血管吻合器の応用と その臨床成績

### Application of a Suture Apparatus for Small Blood Vessel to End-to-End Anastomosis of the Tube and its Clinical Results

国立横浜東病院産婦人科

高 野 昇 黄 健 哲  
Noboru TAKANO Kentetsu KOH

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Yokohama Higashi National Hospital

千葉大学医学部産婦人科

前 川 岩 夫 檜 垣 康 二 高 見 沢 裕 吉  
Iwao MAEKAWA Kohji HIGAKI Hiroyoshi TAKAMIZAWA

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

---

われわれは卵管端々吻合術に細小血管吻合器を応用し、その臨床成績について検討した。

卵管性不妊患者12例15卵管の端々吻合術に細小血管吻合器（中山式）を応用し、15卵管中13卵管86.7%に疎通性の回復を得、12例中6例50.0%に妊娠の成立を認めた。症例選択に問題はあるが、術後疎通性の回復、妊娠成立に比較的良好な成績を得、かつ、

- 1) 操作が簡単で、熟練を必要としない
- 2) 吻合部の出血殆どなく、周囲組織の損傷も少ない
- 3) 術後、狭窄、再閉塞を起こしにくい

等の利点が認められ、卵管端々吻合術への血管吻合器の応用は有効な方法と考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 63-68, 1983)

---

#### はじめに

卵管形成術については古くから多くの術式が考案され、検討されてきた。しかし期待する程の効果がみられず、一般に悲観的な意見が多く今日に至っている。卵管閉塞症対策として、人工卵管、卵管移植、test tube babyなどの研究が行われてはいるが未だ実用段階に至っていない。現時点では卵管性不妊因子に対して如何に卵管に病理組織学的に異常があろうと、これを最大限に利用し、疎通性は勿論のこと、機能の回復を計らねばなら

ない。最近卵管形成術に microsurgery なる新しい考え方、技術が導入され、臨床成績向上の報告が散見されるようになってきた。われわれは卵管端々吻合術に対する術式改良の1つとして、操作が簡単で熟練を必要としない細小血管吻合器<sup>1)</sup>（中山式）を応用し、その臨床成績の検討を行ってみた。

#### 対象ならびに研究方法

卵管性不妊12例15卵管に細小血管吻合器応用による卵管端々吻合術を施行した。この12例には卵管結紮術後の

表 1 症例のまとめ

## Details of Cases

| Name    | Age (yr) | Duration of sterility (yr) | Previous history                                     | Operative procedure | Length of the postoperative remaining tube(cm) | Postoperative course ( ) : months within which pregnancy occurred after operation |
|---------|----------|----------------------------|------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 1 M.I.  | 27       | 1                          | Ectopic pregnancy                                    | I I (1)             | 5 <                                            | Miscarriage (3), later normal delivery (12)                                       |
| 2 I.Y.  | 34       | (3)*                       | Vaginal tubal sterilization                          | I A (r)             | 3 - 5                                          | Miscarriage (2), later normal delivery (25)                                       |
| 3 R.F.  | 36       | 5                          | Nephritis, pulmonary tuberculosis, ectopic pregnancy | I I (1)             | 3 - 5                                          | Patency maintained 2 years after operation but no pregnancy achieved              |
| 4 J.F.  | 32       | (3)*                       | Two children, abdominal tubal sterilization          | I I                 | 3 - 5                                          | Normal delivery (6)                                                               |
| 5 E.T.  | 30       | (11)*                      | Vaginal tubal                                        | AA                  | 5 <                                            | Normal delivery (3)                                                               |
| 6 H.M.  | 38       | (8)*                       | One child, vaginal tubal sterilization               | I I<br>AA           | 3 - 5<br>3 - 5                                 | Patency maintained 1 year after operation but no pregnancy achieved               |
| 7 T.O.  | 36       | (10)*                      | Two children, abdominal tubal sterilization          | I A                 | 3 - 5                                          | Normal delivery (6)                                                               |
| 8 A.T.  | 32       | 6                          | Pulmonary tuberculosis                               | I I                 | 3 - 5                                          | Reobstruction in 3 months postoperatively                                         |
| 9 R.S.  | 39       | (11)*                      | One child, vaginal tubal sterilization               | I A<br>I A          | 5 <<br>5 <                                     | Miscarriage (6)                                                                   |
| 10 T.M. | 35       | (6)*                       | Two children, abdominal tubal sterilization          | I I                 | 3 - 5                                          | Reobstruction in 6 months postoperatively                                         |
| 11 M.S. | 32       | 6                          | Partial oophorectomy (b), I I (dermoid cyst)         | I I                 | 3 - 5                                          | Patency maintained 1 year after operation but no pregnancy achieved               |
| 12 Y.K. | 42       | (8)*                       | Three children, abdominal tubal sterilization        | I I<br>I I          | 5 <<br>5 <                                     | Patency maintained 1 year after operation but no pregnancy achieved               |

( ) \* : years after tubal sterilization, I I : isthmic-isthmic anastomosis, IA : isthmic-ampullary anastomosis, AA : ampullary-ampullary anastomosis, (r) : right, (l) : left, (b) : both

復元希望例 8 例が含まれている。詳細は表 1 に提示したが、これら症例の年齢は 27 歳から 42 歳に亘り、平均年齢は 34.4 歳で、不妊期間（卵管結紮術例を除き）の最長は 8 年である。

応用した細小血管吻合器は 1963 年中山、高橋らによって考案、開発され、吻合輪、同把持鉗子、圧坐鉗子などから構成されている。この主役をなすタンタルムで作られた吻合輪と同把持鉗子を写真 1 に示した。この吻合輪には 2.2, 3, 4, 5 mm の 4 種類があり、輪上に 6 本の針と 6 つの穴を有し、この二輪をかみ合せると針は対側輪の孔を通り、裏面で屈曲し、両輪がかみ合い、吻合が

成立するように作られている。

実際の応用方法は次の如くである（図 1）。

A) 頸管からインジゴカルミンの注入あるいは卵管腹腔端から子宮側へ空気注入あるいはゾンデによつて閉鎖部位を確認する。

B) 卵管閉鎖部位の漿膜を剝離、閉鎖部位を切除する。

C) 残存卵管の両切断端を絹糸で結紮する。

D) 卵管切断端をこの絹糸の誘導により吻合輪をくぐらせ、卵管壁の一部を吻合輪の針に固定する。

E) 絹糸とともに卵管端を切断し、卵管切断端の卵管壁を吻合輪の 6 本の針に回転固定する。

用いる吻合輪は卵管の径に近いものを選び、峽部対膨大部のように卵管の径の異なる場合には細い方の卵管壁を引き延ばすか、あるいは卵管壁に小縦切開を加え弁状として吻合輪の針に回転固定する。

F) 次いで卵管壁が固定された両吻合輪をかみ合わせ、圧迫する。これによつて簡単に卵管の端々吻合が成立する。

G) 吻合成立後、卵管被覆漿膜を整復する。

H) 最後に頸管よりインジゴカルミンを再注入し疎通性の回復を確認する。

以上の実際例を写真 2, 3, 4, 5（症例 9）に提示した。

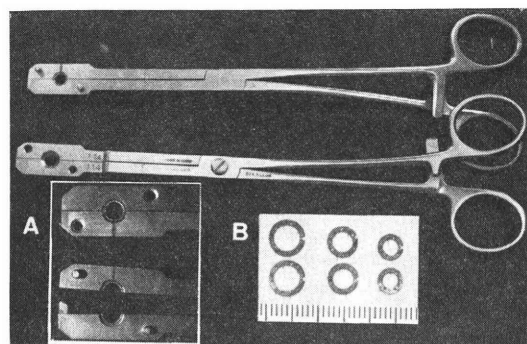


写真 1 細小血管吻合器（中山式）

A) 吻合輪把持器拡大図  
B) タンタルム吻合輪

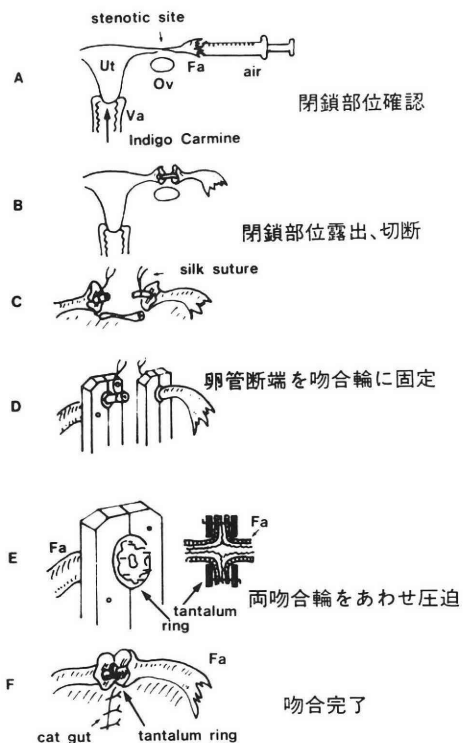


写真 1 細小血管吻合器応用による卵管端々吻合術

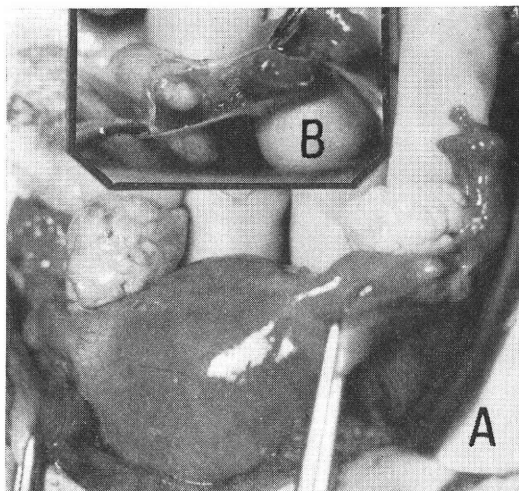


写真 2 症例 9. R. S. 39 歳. 1 回経妊 1 回経産,  
卵管結紮術後復元希望  
A: 卵管閉鎖部位確認  
B: 閉鎖部位露出

## 臨床成績

卵管結紮術後復元希望 8 例 11 卵管を含む卵管性不妊 12 例  
15 卵管の端々吻合術に細小血管吻合器を応用した。妊娠

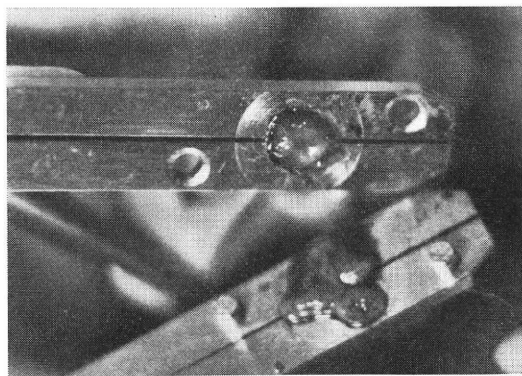


写真 3 卵管断端を吻合輪に固定

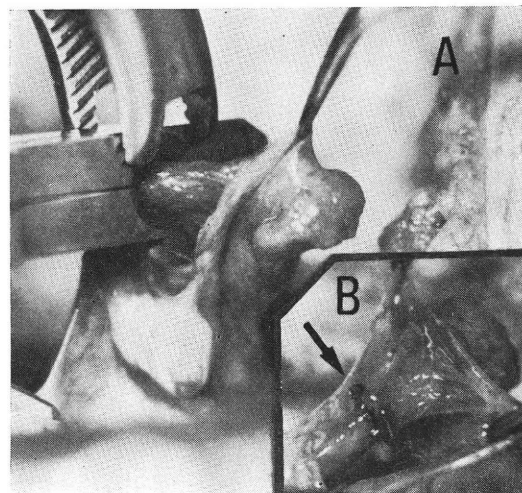


写真 4 A: 両吻合輪をあわせ圧迫  
B: 吻合完了 (↑: タンタルム輪)

例を含め術後 1 年以上の疎通性回復率は 15 卵管中 13 卵管 86.7% で、妊娠成立例は 12 例中 6 例 50% であった。これら症例の妊娠経過については、正常経過をたどり正常分娩に至ったもの 3 例、流産後再妊娠正常分娩に至ったものの 2 例、流産にのみ終わっているもの 1 例で、外妊、胎状奇胎などの異常妊娠はみられていない。術後妊娠成立までの期間については最低 3 カ月、全例 6 カ月以内に妊娠の成立を認めている。

卵管結紮術後復元希望 8 例のみについては疎通性の回復は 11 卵管中 10 卵管 90.9%、妊娠例は 8 例中 5 例 62.5% である。他の 4 例は外妊後、卵巣腫瘍摘出術後あるいは肺結核の既往のある例で、4 卵管中 3 卵管 75.0% に疎通性の回復を得たが、4 例中 1 例 25.0% の妊娠率であった。

吻合部位と術後経過との検討結果を表 2 に示したが、峡部対峡部、峡部対膨大部、膨大部対膨大部いずれの吻合例にも妊娠例がみられる。とくに峡部対膨大部では全



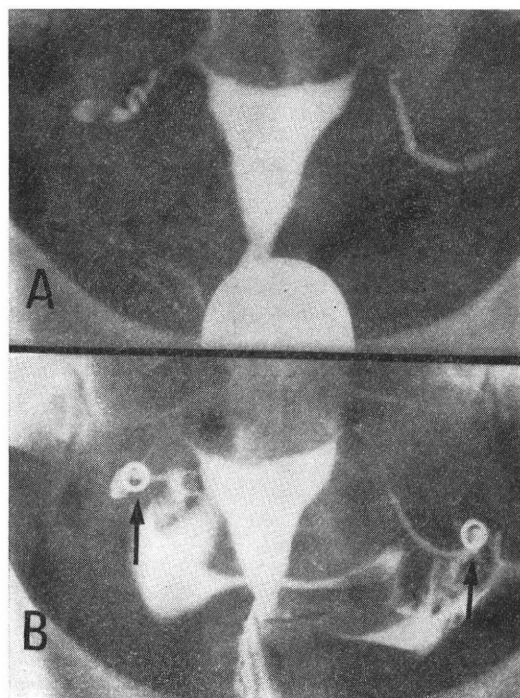


写真 5 症例 9. A: 術前 HSG 像  
B: 術後 HSG 像  
(術後 3 カ月)  
(↑: タンタルム輪)

例妊娠の成立がみられている。

残存卵管の長さについては表 3 に示す如く 全例 3 cm 以上で、3～5 cm 群では 8 例中 3 例 37.5%，5 cm 以上群では 4 例中 3 例 75.0% の妊娠例がみられ、残存卵管の長さについては長い方が有利である傾向がみられている。

卵管形成術における残存卵管の機能の良否は予後を決する重要な因子であるが、切除卵管の切断端に近い部位での組織学的検索で推測してみた。卵管結紮術後復元希望例 8 例中 7 例については光学ならびに走査電顕 (SEM) による卵管粘膜上皮表面微細構造の観察とも正常生理的範囲の像を示した。代表例として症例 9 の SEM 像を写真 6 に示したが、線毛、非線毛細胞とも数、形とも正常生理的範囲の像を示した。しかし症例 10 の 1 例のみ写真 7 の SEM 像の如く、非線毛細胞表面粗となり、微絨毛の融合、手を結ぶような細胞間に糸状の連絡がみられ、光学レベルでも軽度の炎症性的変化が観察され、術後 6 カ月に再開鎖が確認された。卵管結紮術後の復元

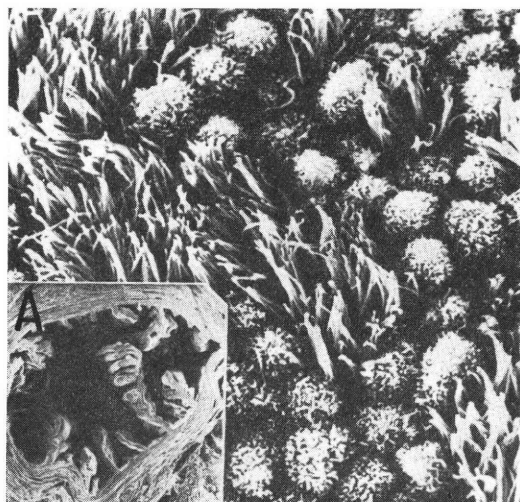


写真 6 症例 9. 切断端に近い部位の切除卵管  
粘膜上皮表面微細構造 (×3,000)  
A: 同部輪切り像

表 2 吻合部位

| Anatomical Site of Anastomosis | Isthmic-isthmic | Isthmic-ampullary | Ampullary-ampullary |
|--------------------------------|-----------------|-------------------|---------------------|
| Total no. of anastomosed Tubes | 9               | 4                 | 2                   |
| Pregnant                       | 2               | 4                 | 1                   |
| Not pregnant                   | 7               | 0                 | 1                   |
| Reobstruction postoperatively  | 2               | 0                 | 0                   |

表 3 残存卵管の長さ と 妊娠率

Relationship between the Length of the remaining tube after the end-to-end anastomotic tuboplasty and Pregnancy

|                                   | Length of the postoperative remaining tube (cm) |       |       |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------|-------|-------|
|                                   | < 3                                             | 3 - 5 | 5 <   |
| Total no. of patients             | 0                                               | 8     | 4     |
| Pregnant                          | 0                                               | 3     | 3     |
| Not pregnant                      | 0                                               | 5     | 1     |
| Normal intrauterine pregnant rate |                                                 | 37.5% | 75.0% |



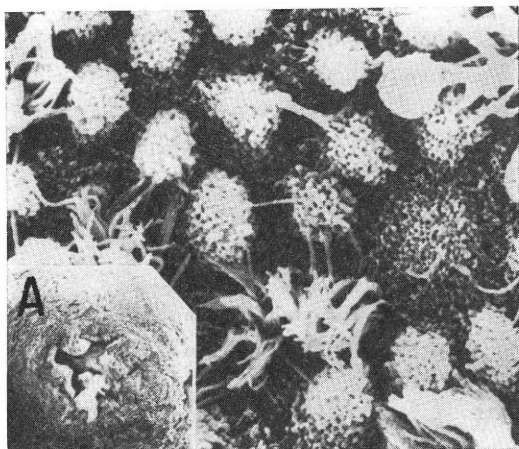


写真 7 症例10. T. M. 35歳, 2回経妊, 2回経産, 卵管結紮術後復元希望例, 術後6カ月卵管再開鎖. 切断端に近い部位の切除卵管粘膜上皮表面微細構造 (×6,000)  
A: 同部輪切り像

希望例以外の4例中3例にはとくに機能の明らかな低下を思わす光学ならびに SEM 所見がみられなかったが, 症例8の肺結核の既往を持つ例については結核性卵管炎の組織像が観察され, 術後3カ月の短期間で再開鎖が確認され, 不成功に終わっている。

#### 考案ならびにまとめ

卵管閉塞症に対し手術的に疎通性を回復させることは比較的容易であるが, これを維持し, 機能面での回復を完全なものにすることは困難である。術後卵管の狭窄, 再開鎖, 再癒着を防ぎ, 術後長期に亘って疎通性の維持に努めなければならない。このために卵管形成術には polyethylene tubing<sup>2)</sup>, polyethylene hood and tubing 等, 数多くの術式の工夫, 改良, 術後処置の工夫が試みられてきた。いずれも期待する程の効果がみられず今日に至っている。

肉眼的手術の限界を越えた画期的な手術手技として, 最近卵管形成術に microsurgery が Swolin<sup>4)</sup> (1967) によつて導入され, 卵管機能の回復損傷治癒機転などに改善が計られ, わが国でも臨床応用, その成績の報告<sup>5,6,7)</sup>がみられるようになってきた。しかし熟練と手術に長時間を必要とすることが隘路となつている。

このような時期に細小血管吻合法の1つで, 器械吻合法として開発された細小血管吻合器(中山式)を卵管端々吻合術に応用し, その臨床成績を検討し, 今後の問題点を探つてみた。

血管吻合はすでに9世紀末より試みられ, 手縫法, あるいは無縫合法と多くの業績が報告されてはいたが, 5

mm 以下の細小血管の吻合についてはその成績は悪く, 臓器移植や癌の拡大根治手術などを可能にするために是非とも細小血管吻合の必要が高まっていた。このような need に応じ, 千葉大学においても1960年秋より細小血管吻合の器械化に着手, 翌1961年3月にタンタルム輪を使用した第1号試作品が完成, 臨床応用が行われるようになった。

われわれはこの細小血管吻合器の卵管形成術への応用に際して, この方法が誰でも簡単に応用し得ること, 手術侵襲の少ないこと, 術後の効果が充分期待できる等の応用条件を満たす方法と考え, 家兎での動物実験を経て, 臨床応用<sup>8)</sup>し, 現在までに12例の卵管端々吻合症例を経験, その臨床経過を観察することができた。

細小血管吻合器応用による卵管端々吻合術を12例15卵管に施行したが13卵管86.7%の疎通性の回復, 12例中6例50.0%の比較的高率に妊娠の成立を認めた。12例中8例が卵管結紮術後復元希望例で6例の妊娠例中5例が結紮術後復元希望例である。如何に術式の工夫, 術後処置の改善が試みられても, 卵管形成術症例選択に問題があり, 卵管に機能の低下, 廃絶を思わす組織学的異常所見のみられる例は予後不良で, 症例選択が形成術施行の重要な条件<sup>9)</sup>であることは言うまでもない。

血管吻合器応用に際して, 唯一技術的に問題となつたのは吻合部の両卵管切断端の径の極端な違いであるが, 吻合輪は径の大きい卵管切断端の径に合わせ, 小さい卵管壁を引き伸ばすか, 卵管壁に小縦切開を加えることで容易に解決することができた。

なお少数例ではあるが, 残存卵管の長さ, 吻合部位について検討を行つてみた。Silber (1980)<sup>10)</sup>らは microsurgery による卵管端々吻合25例の経験で, 残存卵管3cm 以下では妊娠例なく, 長い程妊娠率が高いと報告している。我々の経験では3cm 以下の極端に短い症例はないが, 同様に残存卵管の長い例に妊娠率が高い傾向がみられ, 健常であればできる限り卵管を残すよう配慮が必要と考えられた。また吻合部位についてはいずれの部位での吻合例にも妊娠例がみられ, とくに峡部対膨大部吻合群では全例に妊娠の成立を認めている。

卵管端々吻合術の術式改良の1つの方法として細小血管吻合器を応用し, その臨床成績の検討を行つた。もちろん症例選択に問題はあつたが術後疎通性の回復維持, 妊娠成立に比較的良好な成績を得, かつ

- 1) 操作が簡単で, 熟練を必要としない
- 2) 吻合部の出血殆どなく, 周囲組織の損傷も少ない
- 3) 術後, 狭窄, 再開鎖を起こしにくい

等の利点が考えられ, 未だ少数例の検討ではあるが, 卵管端々吻合に細小血管吻合器の応用は有効な方法と考え

られた。今後さらに症例を経験し、あわせて吻合器自体の改良も試みたいと考えている。

(本論文の要旨は第26回日本不妊学会総会にて発表した。)

## 文 献

- 1) 高橋英世：細小血管吻合器の考案。医科器械誌, 33: 1, 1963.
- 2) Castallo, M. A., Wainer, A. S.: Polyethylene intubated salpingoplasty, a newer approach to closed tube sterility. Amer. J. Obstet. Gynecol., 66: 385, 1953.
- 3) Mulligan, W. J., Rock, J. and Easterday, C. L.: Use of polyethylene in tuboplasty. Fertil. & Steril. 4: 425, 1953.
- 4) Swolin, K.: Beiträge zur operativen Behandlung der weiblichen Sterilität. Experimentelle & klinische Studien. Acta Obstet. Gynecol. Scand. [Suppl 4], 46: 1, 1967.
- 5) 井上正人, 篠塚孝男, 杉原義信, 見常多喜子, 黒島義男, 藤井明和：マイクロサージェリーの臨床応用。臨婦産, 31: 663, 1977.
- 6) 印牧義孝, 土屋栄一：卵管不妊に対する Microsurgery の応用。産と婦, 45: 1043, 1978.
- 7) 河上征治：卵管形成術。日不妊誌, 23: 519, 1978.
- 8) 高野 昇, 川島 裕, 田巻勇次：卵管形成術への血管吻合器の応用について。臨婦産, 28: 145, 1974.
- 9) 高野 昇：卵管形成術後の妊娠成功。産と婦, 46: 26, 1979.
- 10) Silber, S. J. and Cohen, R.: Microsurgical reversal of female sterilization, The role of tubal length. Fertil. & Steril. 33: 598, 1980.

## Application of a suture apparatus for small blood vessel to end-to-end anastomosis of the tube and its clinical results

**Noboru Takano and Kentetsu Koh**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Yokohama Higashi National Hospital

**Iwao Maekawa, Kohji Higaki  
and Hiroyoshi Takamizawa**

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

We applied a suture apparatus for small blood vessels to end-to-end anastomosis of the tube and studied clinical results obtained.

With a suture apparatus for small blood vessels (Nakayama's model) applied to end-to-end anastomosis of the tube in 12 cases, 15 tubes of tubal sterile patients, recovery of passage was obtained in 13 out of 15 tubes, 86.7 % and establishment of pregnancy was observed in 6 out of 12 cases, 50.0 %.

This method produced relatively good results in terms of recovery of postoperative passage and establishment of pregnancy and had advantages as follows.

1) That it is easy to operate, requiring no skill.  
2) That it causes little bleeding at the site of anastomosis and few damages to the surrounding tissue.

3) That it does not easily cause stenosis and obstruction after surgical operation.

Thus, application of a suture apparatus for small blood vessels to end-to-end anastomosis of the tube was considered as an effective method.

(受付：昭和57年4月26日)

## 最近の当教室における不妊外来統計

### Statistical Studies on the Infertile Women in Our Clinic

千葉大学医学部産婦人科学教室

寺田 夏樹 前川 岩夫 内藤 正文  
Natsuki TERADA Iwao MAEKAWA Masahumi NAITOH

小堀 恒雄 高見 沢裕吉  
Tsuneo KOBORI Hiroyoshi TAKAMIZAWA

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

昭和49年1月より、昭和55年12月までの7年間の不妊外来登録患者1610例と最近4年間に登録された不妊患者669例中、妊娠例166例について以下の成績を得た。

- (1) 外来における不妊患者の頻度は5.6%であり、原発不妊68.4%、続発不妊31.6%であった。
- (2) 初診時年齢分布は、原発不妊で27歳にピークを示し、24歳から31歳までが80.9%を占め、続発不妊は29歳にピークを示し、25歳から33歳が81.5%であった。
- (3) 妊娠率は全体で18.4%であったが、昭和49年から51年の13.8%に比し、最近4年間では24.8%と改善されていた。
- (4) 初診時不妊期間5年が一つの目安と考えられた。
- (5) 初診時年齢31歳以上の原発不妊に著明な妊娠率の低下がみられた。
- (6) 治療必要期間は最低2年間と考えられる。
- (7) 不妊因子別妊娠率は、内分泌因子が39.2%と最も高く、子宮因子が12.7%と最も低かった。
- (8) 流産率は18.6%であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 69-75, 1983).

#### はじめに

社会環境の改善とともに、女性不妊の原因も変化し、また、不妊の診断、治療方法も進歩し、今まで妊娠を断念せざるを得なかった婦人も生児を得ることができるようになってきた。一方、結婚年齢の高齢化、出生率の低下とともに、不妊症に対する理解も深まり、挙児を希望して不妊外来を受診する患者数は増加し、とくに不妊期間の短い患者の受診数が増えてきている。

今回われわれは、今後の不妊外来のあり方を検討する目的で、当院産婦人科不妊外来に登録された挙児希望者につき、retrospectiveに臨床統計的観察を行ったので報告する。

#### 対象および研究方法

昭和49年1月より、昭和55年12月までに、挙児を希望して千葉大学医学部産婦人科外来を受診した、1610人を対象として、不妊因子の分析を行った。

また、昭和52年1月から、昭和55年12月までの4年間に登録された不妊患者669人のうち、昭和56年12月現在の妊娠例166人について報告する。

#### 成 績

##### 1. 頻度

表1に当科外来新患総数と、不妊外来登録者数とを年度別に示した。年度により4.1%から6.7%とひらきがあ

表 1 Incidence of infertility

|       | total outpt. infertile pt. |      | %   |
|-------|----------------------------|------|-----|
| S. 49 | 5731                       | 384  | 6.7 |
| 50    | 5610                       | 312  | 5.6 |
| 51    | 3817                       | 245  | 6.4 |
| 52    | 4450                       | 184  | 4.1 |
| 53    | 3637                       | 187  | 5.1 |
| 54    | 2878                       | 159  | 5.5 |
| 55    | 2793                       | 139  | 5.0 |
| total | 28916                      | 1610 | 5.6 |

表 2 Incidence of primary and secondary infertility

|       | total | primary    | secondary |
|-------|-------|------------|-----------|
| S. 49 | 384   | 261(68.0)  | 123(32.0) |
| 50    | 312   | 217(69.6)  | 95(30.4)  |
| 51    | 245   | 169(69.0)  | 76(31.0)  |
| 52    | 184   | 119(64.7)  | 65(35.3)  |
| 53    | 187   | 133(71.1)  | 54(28.9)  |
| 54    | 159   | 100(62.9)  | 59(37.1)  |
| 55    | 139   | 103(74.1)  | 36(25.9)  |
| total | 1610  | 1102(68.4) | 508(31.6) |

(%)

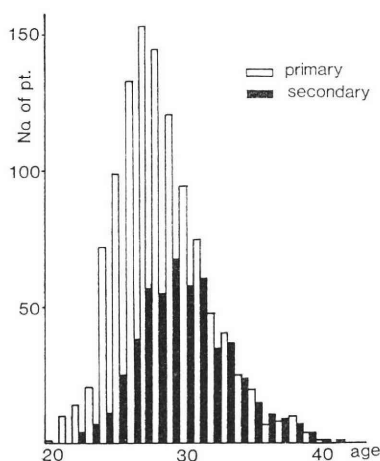


図 1 Age distributin on 1st visit

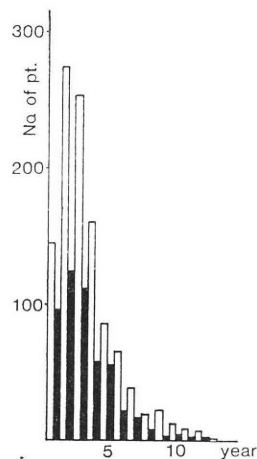


図 2 Duration of infertility on 1st visit

るが、7年間の平均は、外来患者総数 28,916人中1,610人、5.6%であった。また、不妊例について原発、続発別にみると(表2)、各年度により不妊患者数にばらつきがあつても、原発不妊対続発不妊の比率は、ほぼ2:1と一定しており、7年間の平均では、不妊患者総数1,610人中、原発不妊1,102人(68.4%)、続発不妊508人(31.6%)であった。

## 2. 初診時年齢分布(図1)

不妊外来患者の初診時年齢分布は、20歳(1名)より41歳(1名)までと広範にわたっていた。このうち、原発不妊は27歳にピークがあり、26歳から29歳までが50.0%、24歳から31歳までが80.9%と大部分を占めていた。一方続発不妊では、29歳にピークを認め、27歳から30歳までが46.9%、25歳から33歳までが81.5%であった。

## 3. 初診時不妊期間(図2)

原発不妊、続発不妊別に初診時不妊期間の分布をみると、ともに不妊期間2年目に最多数の患者が受診してい

た。初診時不妊期間4年以内の例は、原発不妊の75.8%、続発不妊の76.8%を占めていた。なお、初診時不妊期間1年未満の挙児希望者は原発不妊の13.2%、続発不妊の18.9%であった。

## 4. 不妊原因(図3)

排卵障害や黄体機能不全を中心とした内分泌因子30%、不妊原因不明群28%、卵管因子17%、男性因子14%、子宮因子11%であった。

## 5. 妊娠率(表3)

各年度につき、原発続発不妊別に妊娠率をみると、やや漸増傾向を示し、昭和52年から昭和55年の4年間の平均では24.8%であり、7年間の平均妊娠率は18.4%であった。また、原発不妊患者数は続発不妊の約2倍であるにもかかわらず、その妊娠率では原発不妊16.0%、続発不妊23.6%と、原発不妊は続発不妊の約2/3の妊娠率となっている。

## 6. 妊娠成功例の検討

|       | male | endocrine | tubal | uterine | unknown |
|-------|------|-----------|-------|---------|---------|
| S.49  | 15   | 30        | 16    | 8       | 31      |
| 50    | 15   | 24        | 16    | 8       | 37      |
| 51    | 15   | 27        | 15    | 19      | 24      |
| 52    | 10   | 39        | 14    | 11      | 26      |
| 53    | 11   | 32        | 12    | 9       | 36      |
| 54    | 8    | 27        | 26    | 8       | 31      |
| 55    | 14   | 32        | 15    | 8       | 31      |
| total | 14   | 30        | 17    | 11      | 28      |

100%

図 3 Causes of infertility

表 3 Conception rate

|       | primary        | secondary     | total          |
|-------|----------------|---------------|----------------|
| S. 49 | 26/ 261(10.0)  | 20/123(16.3)  | 46/ 384(12.0)  |
| 50    | 19/ 217( 8.8)  | 17/ 95(17.9)  | 36/ 312(11.5)  |
| 51    | 23/ 169(13.6)  | 25/ 76(32.9)  | 48/ 245(19.6)  |
| 52    | 35/ 119(29.4)  | 21/ 65(32.3)  | 56/ 184(30.4)  |
| 53    | 31/ 133(23.3)  | 12/ 54(22.2)  | 43/ 187(23.0)  |
| 54    | 23/ 100(23.0)  | 19/ 59(32.2)  | 42/ 159(26.4)  |
| 55    | 19/ 103(18.4)  | 6/ 36(16.7)   | 25/ 139(18.0)  |
| total | 176/1102(16.0) | 120/508(23.6) | 296/1610(18.4) |

( % )

昭和52年1月から昭和55年12月までの4年間に登録された不妊症例669例のうち、昭和56年12月現在の妊娠例166例につき、初診時不妊期間、年齢分布、治療方法、治療期間、妊娠の転帰について報告する。

#### a) 初診時不妊期間 (図4)

原発性不妊では、不妊期間が3年以内の例が64.8%を占め、87.0%が不妊期間5年以内に含まれていた。続発性不妊では、不妊期間3年以内に70.6%、5年以内に91.6%が含まれ、原発、続発とも約90%が不妊期間5年以内であった。不妊期間7年以上の妊娠例は原発性不妊4例、続発性不妊3例のみであった。

#### b) 初診時不妊期間と妊娠率 (図5)

初診時不妊期間と妊娠率の関係を、原発、続発不妊に分けてみると、両者ともに初診時不妊期間が短いほど妊娠率が良好であった。また、初診時不妊期間が5年未満の例では、妊娠率が約20%であったが、不妊期間が5年以上の例では、原発不妊16.9%、続発不妊16.7%と妊娠率が低下していた。

#### c) 初診時年齢分布 (図6)

妊娠例の初診時年齢分布をみると、原発不妊では28歳

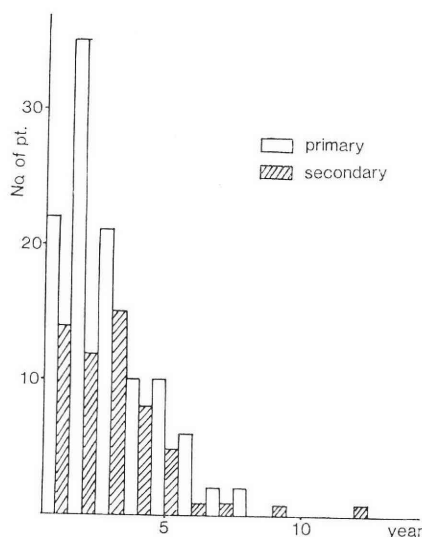


図 4 Duration of infertility on 1st visit (pregnant cases S. 52-55)

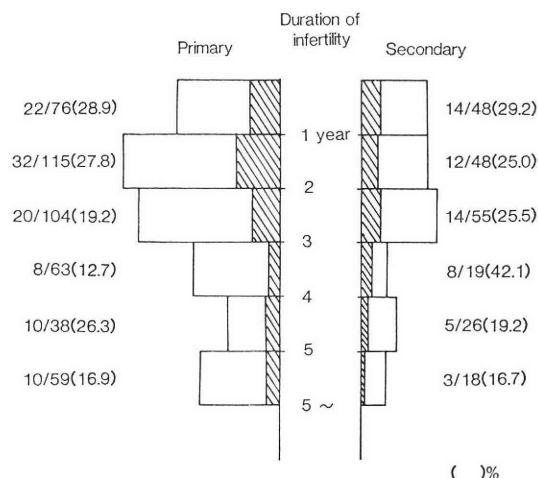


図 5 Duration of infertility on 1st visit and pregnancy rate

をピークに、これより若年層に多く、続発不妊では30歳をピークに、これより若年、高年域にほぼ均等に分布していた。初診時年齢の最高例は41歳の続発不妊例であった。

#### d) 初診時年齢と妊娠率 (図7)

初診時年齢を30歳以下および31歳以上の2群に分けて、原発、続発別に妊娠率をみると、30歳以下の群の妊娠率26.5%、31歳以上の群の妊娠率15.5%と、初診時年齢が31歳以上になると妊娠率が低下している。これに対し、続発不妊では初診時年齢30歳以下の群の妊娠率26.2%、31歳以上の群の妊娠率29.0%と年齢による妊娠率の低下は認められなかった。

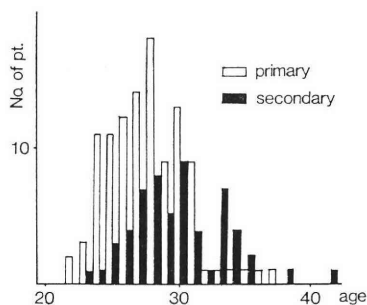


図 6 Age distribution on 1st visit  
(pregnant cases, S. 52-55)

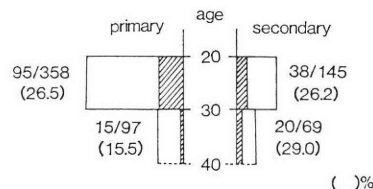


図 7 Age and pregnancy rate

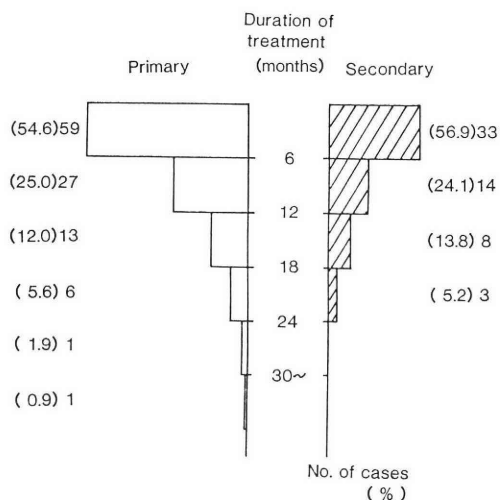


図 8 Duration of treatment from 1st visit  
to pregnancy

#### e) 妊娠に至るまでの治療期間 (図 8)

原発、続発別に初診から妊娠に至るまでの治療期間の分布をみると、原発不妊では治療開始から 6 カ月以内に 54.6%，1 年以内に 79.6%，2 年以内に 98.2% が妊娠していた。一方、続発不妊においても 6 カ月以内に 56.9%，1 年以内に 81.0%，2 年以内に 100% と同様の傾向であった。

#### f) 不妊原因 (表 4)

妊娠例の不妊原因では、排卵障害を主とした内分泌因子が 51.2% と最も多く、次いで原因不明群 25.3%，以下子宮内膜症をも含めた卵管因子 12.7%，oligospermia，逆行性射精等の男性因子 6.0%，奇形，子宮筋腫等の子宮因子 4.8% の順であった。

#### g) 治療方法および妊娠の転帰 (表 5)

妊娠例について、直接妊娠につながったと考えられる治療法をみると、Clomid, HMG-HCG, Sexovid による排卵誘発例がそれぞれ、28.9%，9.6%，7.2% と排卵

表 4 Causes of infertility  
(preg. cases, S. 52-55)

| causes of infertility | primary | secondary | total (%) |
|-----------------------|---------|-----------|-----------|
| male                  | 8       | 2         | 10 (6.0)  |
| oligoovulation        | 25      | 14        | 39        |
| anov. cycle           | 8       | 2         | 10        |
| amen. I°              | 8       | 4         | 12        |
| amen. II°             | 5       | 1         | 6         |
| S.L.P.                | 1       | 0         | 1         |
| P.C.O.                | 9       | 8         | 17        |
| tubal                 | 10      | 4         | 14        |
| endometriosis         | 6       | 1         | 7         |
| uterine               | 5       | 3         | 8 (4.8)   |
| unknown               | 23      | 19        | 42 (25.3) |
| total                 | 108     | 58        | 166       |

誘発剤による治療が全妊娠例の 45.8% と約半数を占めていた。ついで、不妊原因が不明のため、性交のタイミング指導のみを行なつて経過観察中に妊娠したもの 25.3%，hysterosalpingography 後の妊娠 13.3%，通気通水後の妊娠 9.0% であった。

妊娠成立後の転帰では、現在妊娠中の 5 例を除いた 161 例中 117 例 (72.7%) が満期自然分娩し、10 例 (6.2%) が帝王切開分娩、早産 1 例 (0.6%)、流産 30 例 (18.6%)、他に胎状奇胎 2 例、子宮内胎児死亡 1 例であった。

#### 考 案

不妊の定義として、国際婦人科連合では、結婚または前回妊娠後 2 年以内、アメリカ合衆国不妊学会では 1 年以内に妊娠しないものを不妊としているが、今回われわれは、不妊を主訴として来院した全例を検討の対象とし

表 5 Therapy and outcome of pregnancy

(pregnant cases S. 52-55)

| therapy \ outcome   | NSD  | C/S | abortion | others | preg. at present | total | %    |
|---------------------|------|-----|----------|--------|------------------|-------|------|
| clomid              | 32   | 4   | 10       | 1*     | 1                | 48    | 28.9 |
| HMG                 | 10   | 2   | 3        | 0      | 1                | 16    | 9.6  |
| sexovid             | 6    | 1   | 5        | 0      | 0                | 12    | 7.2  |
| HCG                 | 0    | 0   | 0        | 0      | 1                | 1     | 0.6  |
| HSG                 | 18   | 2   | 2        | 0      | 0                | 22    | 13.3 |
| Rubin hydrotubation | 11   | 0   | 4        | 0      | 0                | 15    | 9.0  |
| AIH Huhner          | 3    | 0   | 1        | 0      | 1                | 5     | 3.0  |
| Danazol             | 2    | 0   | 0        | 1***   | 0                | 3     | 1.8  |
| myomectomy          | 0    | 1   | 0        | 0      | 1                | 2     | 1.2  |
| observation         | 35   | 0   | 5        | 2**    | 0                | 42    | 25.3 |
| total               | 117  | 10  | 30       | 4      | 5                | 166   |      |
| %                   | 70.5 | 6.0 | 18.1     | 2.4    | 3.0              |       |      |

\* hydatid. mole

\*\* premature delivery

\*\*\* intraut. fetal death

た。

不妊患者の頻度は、不妊期間のとり方、報告機関の性格等によりかなりの幅がみられるが、当科では7年間の外来患者総数28,916人中1,610人、5.6%であった。このうち不妊期間1年未満で来院した挙児希望者数は241人15.0%であった。最近の大学病院不妊外来統計では、楠田<sup>1)</sup>の10.9%、東出<sup>2)</sup>の11.6%、松家<sup>3)</sup>の8.0%の報告がある。

原発不妊、続発不妊の頻度は68.4%対31.6%とほぼ2:1であり、これは諸家の報告<sup>1-5)</sup>とおおむね一致する値であった。また初診時年齢分布は、原発不妊では、27歳にピークを認め24歳から31歳までが80.9%を占めるのに対し、続発不妊では29歳にピークを認め、25歳から33歳までが81.5%を占め、当然ながら続発不妊例が1~2歳高齢となっていた。

個々の症例について正確に不妊原因を確定することは困難なことであるが、各症例に主たる不妊原因を1つ抽出すると、排卵障害や黄体機能不全を主とした内分泌因子が30%と最も多く、ついで原因不明群が28%であった。卵管、子宮因子がそれぞれ17%、11%と1960年代の統計<sup>1,6)</sup>に比べ低値であることは、生活環境の改善、抗生物質療法の発達等により結核、淋菌等による重症炎症性疾患が減少したことの反映であろう。また、不妊原因不明群が28%と高率である事は、現在の診断技術では特定し得ない不妊原因のあることを意味し、不妊診療において今後解明されねばならない問題の多いことを示唆するものと考えられる。

妊娠成立頻度は原発不妊16.0%、続発不妊23.6%、全

体で18.4%であり、とくに昭和49年から51年の妊娠率13.8%に比し、昭和52年から55年までの妊娠率は24.8%と改善されてきている。これは、不妊診療の充実を計るとともに、昭和52年頃より排卵障害例に対しHMGの積極的使用を始めたためと思われる。諸家の報告をみても、上田<sup>7)</sup>16.1%、松家<sup>3)</sup>の21.5%、中居<sup>7)</sup>25.7%等があり、最近のわれわれの成績とほぼ同じである。

初診時不妊期間と妊娠率に関しては、初診時不妊期間が長いほど妊娠率が低下するといわれており、東出<sup>2)</sup>は不妊期間5年以上、松家<sup>3)</sup>は4年以上では妊娠率が急激に低下すると報告している。われわれの成績でも、不妊期間が短いほど妊娠率が良好であった。とくに不妊期間5年未満の場合、原発、続発ともに約20%の妊娠率が維持されており、不妊期間が5年以上となると、原発不妊では16.9%、続発不妊では16.7%と低下した。したがって初診時不妊期間5年が一つの目安と考えられ、不妊例においては、これ以前の早期受診が重要であろう。

楠田ら<sup>8)</sup>は、初診時年齢が若いほど妊娠率が良好であることを報告しているが、初診時年齢を30歳前と後に分けて妊娠率を比較してみると、続発不妊群では差がなかったが、原発不妊群では26.5%から15.5%へと著明な妊娠率の低下が認められた。したがって原発不妊の場合、30歳以前に治療を開始することが望ましいと考えられる。

初診から妊娠までに要した期間には、白川<sup>9)</sup>らの報告同様に、原発、続発不妊の間に差は認められず、6カ月以内の妊娠が55.4%を占め、1年以上を要した例は19.3%であった。また、原発不妊の98.2%、続発不妊の100



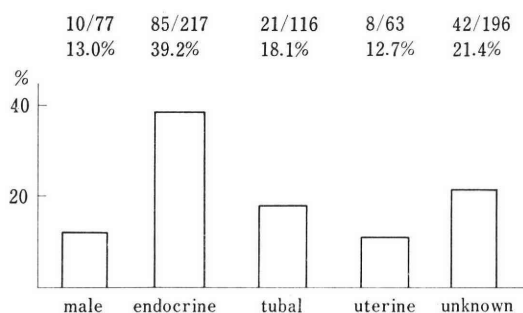


図 9 Conception rate

%が2年以内の妊娠成立であり、不妊診療にあたり、最低2年間が治療必要期間であろう。

妊娠例の不妊原因では、排卵障害を主とした内分泌因子が51.2%と過半数を占め、金岡ら<sup>10)</sup>、東出ら<sup>2)</sup>の報告と同様であった。またこのことは、不妊原因が内分泌因子である場合、39.2%が妊娠したことになり(図9)、最近の内分泌性不妊に対する系統的診断、治療法の進歩をうかがわせるものであろう。しかし、原因不明群が21.4%と高率を占め、卵管因子が18.1%、男性因子が13.0%と低率であることは、受精から着床に至る妊娠現象の生殖生理学的解明が不充分であること、卵管性不妊、男性不妊の治療法の確立が、妊娠率の改善には不可欠の問題であると考えられる。

妊娠の転帰についてみると、現在妊娠中の5例を除いた161例中127例、78.9%に生児を得、流産率18.6%であった。楠田ら<sup>1)</sup>は16.7%、東出ら<sup>2)</sup>は13.5%、高野ら<sup>11)</sup>は25.6%の流産率を報告しており、自然妊娠例の流産率が10~11%との報告<sup>12)</sup>と比較して、不妊例が妊娠した場合の流産率は高いといえよう。とくに、排卵誘発妊娠例の流産率が24.3%と高いことは、無排卵例では子宮發育不全に加えて、妊娠成立後にも内分泌異常が基礎に存在している可能性を示唆するものであり、その後の慎重な指導、経過観察が必要である。

本論文の要旨は、第25回日本不妊学会総会(昭和55年10月、宇都宮市)において発表した。

## 文 献

- 1) 楠田雅彦, 納富康正, 熊本照史, 福嶋恒彦: 日不妊会誌, 14: 95, 1969.
- 2) 東出香二, 下須賀洋一, 万羽 進, 成田 収: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊会誌, 22: 208, 1977.
- 3) 松家五朗, 増田歳久, 吉崎健一, 乾 泰延, 三村経夫, 竹内 悟, 山野修司, 高橋久寿: 当不妊外来における最近5年間の妊娠例の検討, 日不妊会誌, 25: 85, 1980.

- 4) 加藤 俊, 岡本 元, 宮原通義, 井手 伸, 橋, 松尾雅治: 女性不妊症の外来臨床統計と妊娠成功例の検討, 日不妊会誌, 16: 362, 1971.
- 5) 上田一之, 宮内文久, 伊東武久, 藤野俊夫, 山下三郎, 森岡 均: 最近4年間の当科不妊症クリニックの現況, 日不妊会誌, 23: 127, 1978.
- 6) 西村敏雄, 杉本 修, 矢野弘之, 林 俊郎, 広崎彰良, 鈴木 瞭, 池谷東彦, 横山重喜, 道本知子: 日不妊会誌, 12: 125, 1967.
- 7) 中居光生, 馬嶋恒雄, 西島正博, 尾崎周一, 前田 徹, 新井正夫, 長内国臣: 当院における不妊外来統計, 25: 506, 1980.
- 8) 楠田雅彦, 立山造道, 熊本照史, 中村正彦: 教室不妊外来における妊娠成功例の検討, 日不妊会誌, 17: 273, 1972.
- 9) 白川光一, 熊本有宏, 丸木陽子, 昇 幹夫: 当科不妊外来における妊娠例の臨床的分析, 日不妊会誌, 23: 115, 1978.
- 10) 金岡 毅, 岡田悦子, 清水潤司, 森 颯, 関場 香: 当院不妊外来における最近2年間の妊娠例についての検討—特に clomid 療法を中心として—, 日不妊会誌, 18: 99, 1973.
- 11) 高野 昇, 清水三郎, 高見沢裕吉: 当科不妊外来における妊娠例の検討, 日不妊会誌, 20: 383, 1975.
- 12) 倉智敬一: 現代産婦人科学大系17-A「流早産」: 21, 中山書店, 1974.

## Statistical studies on the infertile women in our clinic

Natsuki Terada, Iwao Maekawa,  
Masahumi Naitoh, Tsuneo Kobori  
and Hiroyoshi Takamizawa

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

The statistical studies on 1610 infertile women who visited our infertile clinic from January 1974 to December 1980 were performed and 166 cases became pregnant within last 4 years were studied.

(1) 1610 cases (5.6% of the total number of outpatients) were classified into primary infertility (68.4%) and secondary sterility (31.6%) according to the history of gestation.

(2) Age distribution of patients on first visit was checked. Peak of primary infertility was 27 years old and that of secondary sterility was 29 years old. Distribution of 24-31 years old was 80.9% of primary infertility and that of 25-33 years old was 81.5% of secondary sterility.

(3) The pregnancy rate was increased to 24.8% in 1977-1980, compared to that in 1974-1976 (13.8%). Eighteen point four percent of all patients (1974-1980) conceived.

(4) Infertile patients should be treated within



infertile period of 5 years.

(5) The pregnancy rate decreased markedly in primary infertile patients over 31 years old of age.

(6) We suppose we should treat infertile patients for at least 2 years.

(7) The pregnancy rate of endocrine infertility was the highest (39.2 %), while that of uterine infertility was only 12.7 %.

(8) The abortion rate was 18.6 %.

(受付：昭和57年2月9日)

# 高年不妊婦人の臨床的検討

## Clinical Study of Aging Infertile Women

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室（主任：蜂屋祥一教授）

横山 敬 楠原 浩二 松本 和紀  
Kei YOKOYAMA Koji KUSUHARA Kazunori MATSUMOTO

安江 育代 木村 英三 蜂屋 祥一  
Ikuyo YASUE Eizo KIMURA Shoichi HACHIYA

Dept. of Obstetrics and Gynecology, The JIKEI  
University School of Medicine  
(Director: Prof. Shoichi Hachiya)

近年、結婚年齢の高齢化のため比較的高年齢の不妊婦人（高年不妊と略す）が少なくない。しかもこれら高年不妊の治療には時に困難を伴う事も多い。そこで今回これら高年不妊の臨床像を分析しその病態の解明を試みた。その結果は以下の通りである。

1) 今回は34歳以上を高年不妊、それ以下を control 不妊とした。高年不妊は全不妊患者403例中 51例、12.7%であった。

2) 不妊期間をみると control 不妊に比し、高年不妊の不妊期間は長期の例が少なくなかった。

3) 高年不妊の不妊原因は機能性不妊19.6%、排卵障害、卵管因子が各17.6%と不妊原因の主なものであった。

4) 高年不妊の治療の結果、妊娠率は23.5%で、control のそれが34.1%と比べ低率であった。

5) 妊娠率が不良な理由は卵巣性排卵障害例が多く排卵誘発が困難であったり、また卵管因子の妊娠率が不良のために加え、機能性不妊の妊娠率が低かったためである。前2因子は絶対的不妊因子ともいえるのに対し、機能性不妊は治療の向上が期待でき、高年不妊の治療成績を向上させるポイントと考えられた。

6) 妊娠の予後は、control 不妊の挙児率が84.1%で流産率は12.7%であるのに反し、高年不妊では挙児率は53.8%と低く、逆に流産率は46.2%と高率であった。このことから高年不妊では妊娠した胚そのものの異常も推定された。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 76-83, 1983)

### 緒 言

近年、挙児希望婦人のなかで比較的高年齢の不妊患者が占める割合が少なくない。

その原因は結婚年齢の高齢化や、既婚婦人の就業の機会が増加した事により、いわゆる子づくりが遅れる事が原因とも考えられる。

一方これら高年齢の不妊婦人（以下高年不妊と略す）の治療はそれ以下の若い不妊例と比べ比較的难度な事が

多く、また妊娠しても挙児率が低いとされている。その原因は従来漠然と加齢による妊孕性の低下と考えられておりその詳細についてはなお不明な点が多い。そこで今回著者らはこれら高年不妊の臨床像と特徴を分析し高年不妊の治療法について考察した。

### 検索対象ならびに方法

検索対象は昭和50年1月より同56年6月まで当院不妊外来を受診した高年不妊患者を含む不妊症例 403名であ

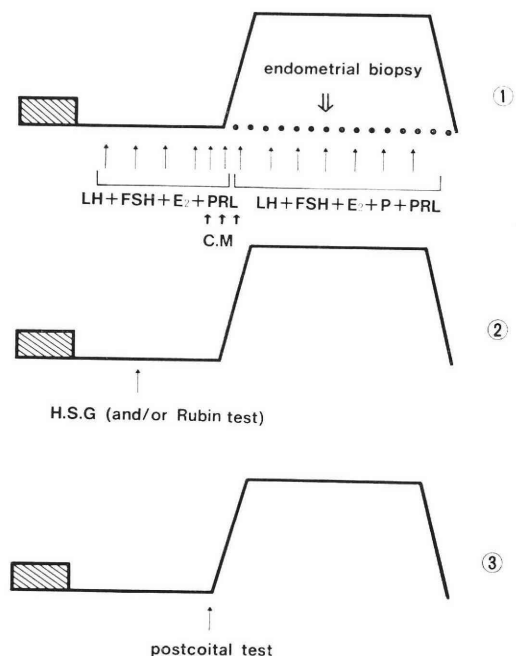


図 1 不妊症の検査スケジュール (排卵性不妊)

る。

これらに対して行つたルーチンの不妊検査の手順は以下の通りである。まず最初の 1 カ月間は BBT を測定し、排卵の有無を鑑別した。そして排卵性不妊例には図 1 に示したスケジュールにて検査を施行した。すなわち第 1 周期は内分泌機能の把握を主眼として、卵胞期中期から黄体期後期にかけ血中 LH, FSH, Prolactin を隔日に、また排卵期には連日測定した。また卵胞成熟の指標として卵胞期中期から排卵期まで estradiol を、また黄体機能判定の指標として黄体期全期にわたり隔日に血中 progesterone, estradiol を RIA 法にて測定した。その間、卵胞期後期に頸管粘液を観察し、また排卵後 7 日目の着床期に子宮内膜組織診を行つた。

また第 2 周期の卵胞期中期に Hysterosalpingography を、第 3 周期目の排卵期に Huhner test, Miller-Kurzrock test 等の頸管粘液—精子適合試験を行つた。

ついで排卵障害性不妊には図 2 に示した検査スケジュールにしたがい、その障害部位を診断した。さらに排卵性不妊と同様、H.S.G., 精液検査を、また必要に応じ腹腔鏡検査等を実施した。

以上の不妊症の諸検査結果より各例の不妊因子を判定した。不妊因子が単一なものはそれを、また重複する場合にはそれらを全て不妊因子とした。

ところでここで問題になるのは何歳以上の不妊患者を高年不妊とするかである。高年不妊の定義は現在のところ充分検討されているとはいひ難いが、34 歳以上では妊

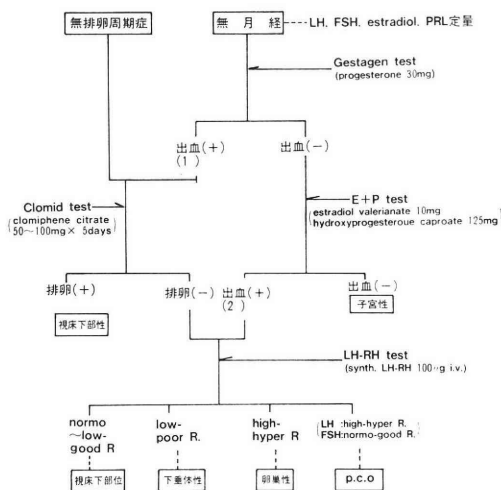


図 2 不妊症の検査スケジュール (排卵障害性不妊)

娠率と挙児率が低下する事からそれ以上を高年不妊とするという池田<sup>1,2)</sup>の報告にしたがい、今回われわれは一応 34 歳以上を高年不妊とし、それ以下を control (以下 control 不妊と略す) とした。

## 結 果

### 1. 不妊患者の年齢分布と高年不妊の頻度

全不妊患者 403 例の年齢分布を図 3 に示した。最年少は 22 歳、最高齢者は 41 歳であつた。その間 29 歳が症例数が最も多かつた。このうち今回問題にしている 34 歳以上の高年不妊は 51 例で全不妊患者の 12.7% であつた。このように高年不妊は不妊患者の割強と決して少なくない

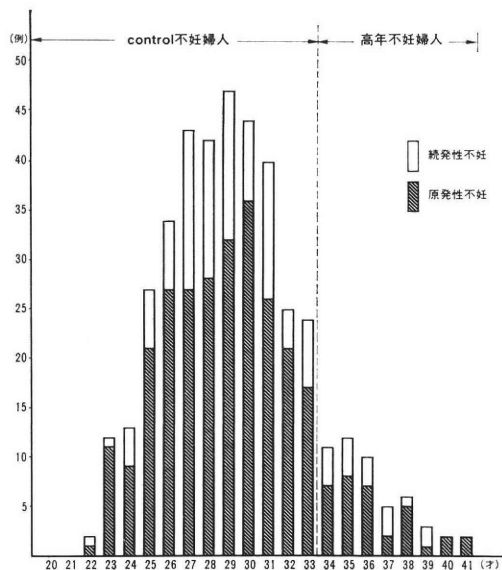


図 3 不妊婦人の年齢分布

表 1 高年不妊の頻度

| 年 齢 | ～33歳 | 34歳～ | 総 数  | 高年不妊婦人の頻度    |
|-----|------|------|------|--------------|
| 患者数 | 352名 | 51名  | 403名 | 51/403=12.7% |

頻度であつた(表1)。

## 2. 原発, 続発性不妊の割合

control 不妊 352例のうち原発性不妊は256例72.2%, 続発性不妊は96例27.3%と前者が多かつた。一方高年不妊では原発性は27例52.9%, 続発性不妊は24例, 4.17%と両者相半ばする結果であり当然の事ながら高年不妊では続発性不妊症が増加する傾向をしめした(表2)。

表 2 不妊婦人の原発および続発性の比率

|                           | 原 発 性           | 続 発 性          | 総 数              |
|---------------------------|-----------------|----------------|------------------|
| Control<br>不妊婦人<br>(～33歳) | 256名<br>(72.2%) | 96名<br>(27.3%) | 352名<br>(100.0%) |
| 高年不妊婦人<br>(34歳～)          | 27名<br>(52.9%)  | 24名<br>(47.1%) | 51名<br>(100.0%)  |

## 3. 不妊期間

結婚後の避妊期間を割り引いた実質的期間を不妊期間とし control 不妊, 高年不妊別に不妊期間を検討した結果が図4である。

まず control 不妊では不妊期間が2年以内の例がかなり多く, 特に実質不妊期間が1年未満の例が最も多い結果であつた。この事は2年以上の不妊期間を不妊症とす

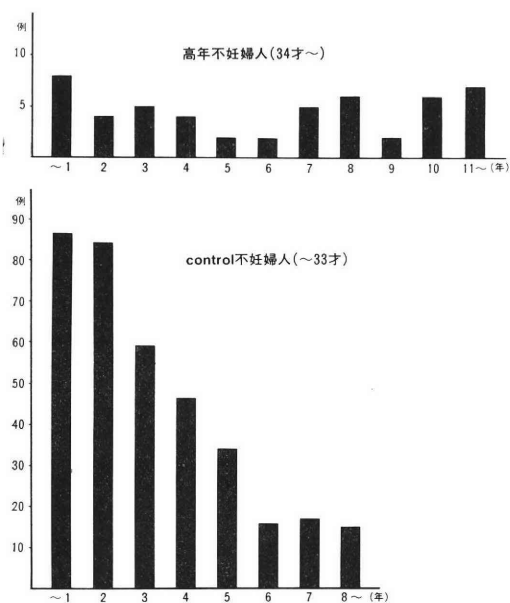


図 4 不妊期間

るという本症の定義には反する事ではあるが, 現実にはこのような結婚後早期に挙児を希望して来院する患者がかなり多く, このような例も現実には無視し得ないと考えあえてこれらを含めた。

一方高年不妊では明らかな傾向がなく, すべての不妊期間に満遍なく分布した。また10年以上とかなり長い不妊期間の例も少なくない結果であつた。

## 4. 不妊因子

control 不妊, 高年不妊それぞれの不妊因子を分析し両群を比較した。

その結果 control 不妊では表3の上段に示すように, 不妊因子の割合は排卵障害が24.7%と最も多く, 以下明らかな不妊原因が見い出せない機能性不妊が18.5%, 無精子症, 精子減少症, 精子無力症からなる男性因子が10.8%で以上3因子が不妊原因の主なものであつた。以下卵管因子8.8%, 黄体機能不全8.0%, 子宮因子4.8%, 子宮内膜症3.7%の順であつた。

一方高年不妊の不妊原因を同様に表3下段に示した。すなわち高年不妊では機能性不妊が19.6%と最も多く, つぎに排卵障害と卵管因子で, とともに17.6%とつづき, 以下, 精液因子11.8%, 黄体機能不全7.8%, 子宮因子5.9%の順であつた。以上の結果から高年不妊の不妊因子を control 不妊と比較すると, 高年不妊では排卵障害因子がやや減少し, 逆に卵管因子がやや増加する傾向を示し, また機能性不妊が両群に多くみられた。

なお充分な不妊検査が実施し得なかつた例は不明とした。

## 5. 治療成績

妊娠からみた治療成績について control 不妊, 高年不妊の両群について検討した。

全対象403例中妊娠例は132例で, 妊娠率は32.8%であつた。そのうちわけは control 不妊は352例中妊娠例が120例, 妊娠率34.1%であり, 一方高年不妊は51例中妊娠例は12例で, 妊娠率は23.5%であつた。このように妊娠率では高年不妊が明らかに低率の結果であつた(表4)。

つぎに不妊因子別の妊娠率について検討した。その結果を集計したものが表5である。この表は横軸に各不妊因子の頻度を, 縦軸に各不妊因子それぞれの妊娠率を shadow にてあらわした。

その結果 control 不妊では排卵障害性の不妊が55.0%と最も高率に妊娠し, 以下黄体機能不全50.0%, 機能性不妊35.4%の順に高い妊娠率を示した。一方精液因子は15.8%, 卵管因子は12.9%と低い妊娠率にとどまつた。

高年不妊では黄体機能不全の妊娠率が75.0%と最も高率に妊娠し, 以下子宮因子67.0%であつた。しかし不妊

表 3 不妊因子の頻度

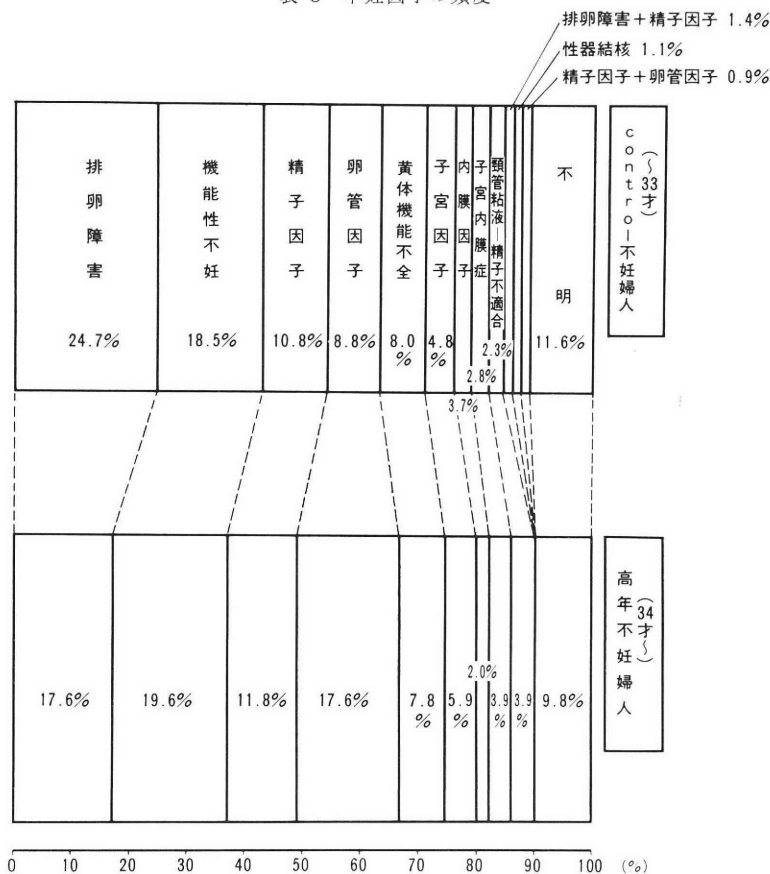


表 4 妊 娠 率

|            | 症例数  | 妊娠例数 | 妊娠数 | 妊 娠 率<br>(妊娠例/症例) |
|------------|------|------|-----|-------------------|
| Control 不妊 | 352名 | 120名 | 123 | 34.1%             |
| 高年不妊       | 51名  | 12名  | 17  | 23.5%             |
| 計          | 403名 | 132名 | 140 | 32.8%             |

因子の中で高い割合を占める排卵障害、機能性不妊の妊娠率はそれぞれ22.2%、20.0%と低い結果におわつた。

#### 6. 妊娠の予後

妊娠に成功した132例140妊娠(複数回の妊娠例5例)の予後を検討した。その結果を表6のように control 不妊、高年不妊にわけて比較した。表の中で不明とあるのは妊娠成立後に他院へ転院したため等の理由でその転帰が不明な例である。また満期産、早産、流産の割合は現在妊娠している例と予後不明の例を除外した症例での割合で求めた。

その結果、control 不妊では120例123妊娠のうち除外

例60例を引いた63妊娠中、満期産は53妊娠84.1%、早産2妊娠3.2%、流産は8妊娠12.7%であつた。

一方高年不妊12例、17妊娠中、除外例4例をのぞいた13妊娠のうち、満期産は7妊娠53.8%で、残り6妊娠46.2%は流産におわつた。

このように高年不妊では control 不妊に比べ流産率が高率でそのため挙児率が低かつた。なお分娩様式のうち、帝王切率は control 不妊では53例中5例9.4%であるが、高年不妊では7例中2例、28.6%と高率であつた。

#### 考 察

近年、当院の不妊外来では比較的年齢の高い挙児希望例が不妊患者に占める割合が少なくなく、また年々増加する感がある。

このような傾向は著者と同じ都会の中での診療機関では同様の傾向にあるのではないかと推定される。

さて、このような傾向の理由には結婚年齢の高齢化、結婚後の避妊期間の長期化などが考えられる。その背景には近年の女性の職場への進出が大きな要因と考えら

表 5 不妊因子別妊娠率

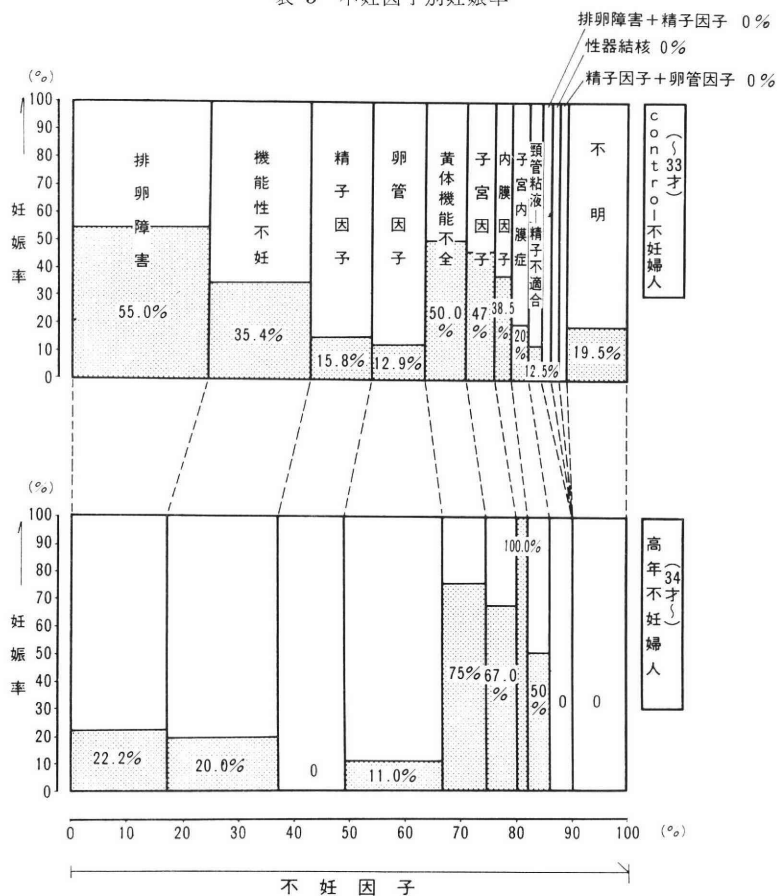


表 6 妊娠の予後

|                 | 満期産<br>正常分娩 : 帝王切            | 早産              | 流産                | 妊娠中 | 不明 | 計   |
|-----------------|------------------------------|-----------------|-------------------|-----|----|-----|
| Control<br>不妊婦人 | 48<br>.....<br>53<br>(84.1%) | 2<br><br>(3.2%) | 8<br><br>(12.7%)  | 17  | 43 | 123 |
| 高年不妊婦人          | 5<br>.....<br>7<br>(53.8%)   | 0<br><br>(0%)   | 6<br><br>(46.4%)  | 2   | 2  | 17  |
|                 | 53<br>.....<br>60<br>(78.9%) | 2<br><br>(2.6%) | 14<br><br>(18.4%) | 19  | 45 | 140 |

れ、もしこの傾向が今後強まればますます高年不妊が増加する事も予想されるところである。またこれら高年不妊では妊娠率も低くまた挙児率も悪いといわれ、一般不妊患者より以上に適切な対処が必要ではないかと考えられ、今回検討を試みた。

ところで何歳以上を高年不妊とするかについては現在までその用語とともに統一的な見解はないといつてよい。古谷<sup>2)</sup>は30歳以上を、また池田<sup>3)</sup>は、年齢的に33歳と34歳の間で妊娠率と挙児率が最大の低下率を示した事から34歳以上を高年不妊と規定している。

著者もこの点には苦慮したが、著者の対象とした不妊患者は全体的に結婚年齢がやや高いことや、不妊患者の年齢分布で29歳がそのピークであることから30歳を高年不妊とするには早すぎると考えられ、また Tulandi<sup>4)</sup> のいう36歳以上では症例そのものが稀少になる事などの理由から、池田<sup>2)</sup> のいう34歳以上を高年不妊とする事が妥当な線と考え、一応今回は34歳以上を高年不妊とし、それ以下を control とした。

このように34歳以上を高年不妊としたときその不妊患者に占める割合についてみると、池田<sup>2)</sup> は14.6%、古谷<sup>3)</sup> は35歳から39歳が14.9%、40歳以上8%で計17.3%、品田<sup>5)</sup> は13.8%、秦<sup>6)</sup> 9.7%と、著者の成績12.7%とほぼ類似する結果であつた。このように不妊患者のうち約10%内外が高年不妊とみてさしつかえないであろう。

つぎに、control 不妊では不妊期間が比較的短く、2年未満と不妊症としての厳密な定義には反する挙児希望患者が多いのに反し、当然の事ながら高年不妊では比較的長期間の不妊例が多い傾向をみせた。この事は池田<sup>2)</sup> の報告でも同様の傾向である。

なお今回不妊期間が2年未満の例を不妊症の中にあえて加えたのは、実際にはこのような挙児希望患者がかなり多く、現実的には、検査ないし加療の対象とせざるを得ない場合が少なからず存在したからである。

つぎに高年不妊の原発、続発不妊の割合を control 不妊のそれと比較してみると、当然高年不妊では続発不妊が高い割合を占めている。

その理由には第1児分娩後、第2児を希望するまでにかなりの間隔をとつてしまい、いざ妊娠を希望してもなかなか妊娠にいたらず来院する例や、流産を繰り返しているうちに高年にいたる例、また種々の治療にもかかわらず妊娠せず高年にいたる例、再婚後の不妊例などが含まれているためと考えられる。

つぎに高年不妊の不妊因子については、年齢に関係なく不妊因子を分析した最近の諸家の報告では、品田<sup>5)</sup> は機能性不妊が最も多く、以下卵巣因子、男性因子の順で、また中居<sup>7)</sup> の報告では、男性因子、卵管因子、機能性不妊の順であるという。以上のようにその詳細な頻度は別として、諸家の報告では機能性不妊、排卵障害、卵管因子、精液因子が不妊原因の主なものと考えられる。

著者の control 不妊例では排卵障害が最も多く、以下機能性不妊、精液因子、卵管因子の順であり、前記の諸家の報告とほぼ一致する結果であつた。

一方高年不妊の不妊因子は機能性不妊、卵管因子、排卵障害の順であつた。これは池田<sup>2)</sup> の高年不妊の卵管因子、排卵障害、子宮因子の順序とほぼ一致する結果である。池田<sup>2)</sup> は高年不妊では卵胞期間の著しく短縮する例

が多くみられ、これを過短卵胞周期症とし排卵障害の一種と考えている。著者も高年不妊におけるこのような現象を不妊原因として重視しているが、今回の不妊原因の検索では、他に原因がない場合はこれを機能性不妊にいったため、著者らの成績では機能性不妊の頻度が最も高くなつたものと考えられる。

不妊因子を高年不妊と control 不妊と比較すると、前者では排卵障害が減少し、逆に卵管因子が増加する傾向であつた。高年不妊に排卵障害が減少する理由として、近年中枢性排卵障害に対する clomid, HMG あるいは乳汁漏出性無月経に対する bromocriptine などによる排卵誘発法が一段と進歩し、比較的早期に治療が成功するため高年にまでいたらない事などがその理由と考えられる。ちなみに高年不妊での排卵障害不妊は卵巣性の排卵障害例が多く、排卵誘発そのものが困難で、妊娠率も control 不妊の排卵障害因子のそれと比較すると低い結果である。

また逆に卵管因子が相対的に増加する理由は control 不妊でも治療成績の不良な卵管因子例が妊娠に成功せず高年にまでもちこされる例がかなりあるためではないかと考えている。ちなみに卵管因子の妊娠率は control 不妊では12.9%、高年不妊では11.0%と極めて不良の成績に終わっている。

つぎに高年不妊の治療について、全不妊患者の妊娠率は32.8%である。うち control 不妊は34.1%、高年不妊は23.5%であり、後者の妊娠率は明らかに低率といえる。

高年不妊の妊娠率を諸家の報告と比較してみると、池田<sup>2)</sup> の報告では control 不妊の38.8%に比し、高年不妊の妊娠率は13.0%と有意に低い。同様 Tulandi<sup>4)</sup> は36歳以上を高年とした場合、その妊娠率は33%と比較的高い妊娠率ではあるが、やはり一般不妊婦人と比較し低率であるという。このように今回の著者の成績も、また文献的にみても高年不妊の妊娠率が低い事は明らかなようである。

その原因として、著者の成績では高年不妊では control 不妊に比べ、不妊原因の多くを占める排卵障害、精液因子、機能性不妊の妊娠率が低いため、全体として高年不妊の妊娠率が低い結果におわつたと考えられる。高年不妊の排卵障害因子例の妊娠率が低い理由は既にのべた通りである。また精液因子の妊娠率も control 不妊と比べてかなり不良であつた。

高年不妊の低妊娠率の原因は先にふれた排卵障害、精液因子のほかに、機能性不妊の妊娠率が20.0%と低い事も大いに関係している。前2者の不妊因子がほぼ絶対的不妊であるのに対し、機能性不妊は妊娠の可能性が充分

にあり、その治療が高年不妊の治療成績を向上させる大きなポイントであると考えられる。

さて高年不妊の内分泌学的特徴として、池田<sup>8)</sup>は視床下部-下垂体-性腺系の機能の老化徴候がみられるという。すなわち LH の反応は亢進し、早期に排卵が起こりその結果、過短卵胞周期を生じるという。また排卵期から黄体期の estrogen 分泌低下も示すという。

著者ら<sup>9)</sup>は不妊症の系統的検査法の一つとして排卵性不妊には排卵後 7 日目に子宮内膜組織診を行つていますが、そのうち内膜の形態学的所見が、間質に比べ腺の分泌化が遅延し、両者の日付診所見が跛行するタイプ（分離型）には BBT に、池田<sup>8)</sup>のいう過短卵胞期が多い事に注目している。またこのような例は比較的高年齢者に多く aging の徴候であると細田<sup>10)</sup>も指摘するところである。その病態生理は、卵胞期が短縮する事により時間的に内膜に対する estrogen priming の不足をもたらし、その結果、着床期における内膜の異常をきたし着床不全をひきおこすと推定している。この事は高年不妊の着床期内膜には促進型が多いという池田<sup>8)</sup>の報告とよく一致するところである。その組織所見を著者ら<sup>9)</sup>の分離型との厳密な対比はあくとして、このような内膜の促進状態が着床障害をまねく事は Chan<sup>11)</sup>, Noyes<sup>12)</sup>, 杉本<sup>13)</sup>らもすでに報告している。

このように過短卵胞周期すなわち早期の排卵と、それに引きつづいた着床期内膜の異常は着床障害を起こし、機能性不妊にいたる経過は高年不妊の一つの特徴と考えてさしつかえないものと思われる。

したがって高年不妊の、特に機能性不妊の治療には上記の事を充分留意すべきである。池田<sup>8)</sup>は過短卵胞期での estrogen 投与 (premarin 0.625~1.25mg/day) が有効であるという。同様に機能性不妊の治療法について検討した徳倉<sup>14)</sup>の成績でも比較的高年で卵胞期が短縮し、かつ着床期内膜が分離型を示すものは卵胞期での estrogen 補充療法、あるいは estrogen 投与による rebound 療法が有効であるという。

このように高年不妊の機能性不妊で卵胞期短縮例には、卵胞期での estrogen 投与は試みてよい治療法であろう。

しかし高年不妊の妊娠率、特に機能性不妊の妊娠率の低さを卵胞期の短縮のみでは充分解明し得ない事も事実である。高年不妊の流産率の高い事も考慮に入れば、加齢に伴う卵そのものの異常も考えなければならないであろう。

事実、鈴木<sup>15)</sup>は老齡ラットでは老化の進行とともに顆粒膜細胞層の肥厚、基底膜の変化、卵子周囲の顆粒膜細胞壁の変性像がみられるといい、また岩城<sup>16)</sup>も老齡ラッ

トでは受精卵における異常卵の割合が高いという。同様美甘<sup>17)</sup>も卵子そのものに老齡化による退行変性が起こると報告している。

このような高年不妊の卵の異常は妊娠率のみならず挙児率にも重大な影響をおよぼす事は容易に推定されるところである。事実著者の高年不妊の妊娠例の予後のうち流産率は control 不妊と比べきわめて高率で、また不妊症で妊娠した例の流産率を検討した諸家の報告（楠田<sup>18)</sup> 16.7%、山田<sup>19)</sup> 19.4%、東出<sup>20)</sup> 19.2%、松家<sup>21)</sup> 20.3%）と比較しても極めて高い流産率であつた。

このように高年不妊の妊娠例での挙児率の低下と流産率の高い原因には母体側の環境の異常とともに、あるいはそれ以上に胎児そのものの異常を考慮せざるを得ないであろう。事実、一戸<sup>22,23)</sup>は40歳以上の人工流産の胎児、絨毛の核型分析でかなり高い率で染色体異常がみられるといい、また高齡ラットの着床前の卵を検討した岩城<sup>24)</sup>の報告でも若齡群の異常受精卵が3.3%であるのに反し、高齡群では未受精卵の増加とともに13.2%の高率で受精卵の異常がみとめられたという。このような現象はラットのみならずヒトにおいても充分推定されるところであり、母体の加齢にともなう卵の種々な異常がその妊孕性に影響をおよぼしていると考えられる。

以上のような理由から高年不妊では、不妊の治療とともに一旦妊娠に成功してもなおその予後に予断を許さないと考えられた。

（本論文の要旨は第84回日本不妊学会関東地方部会において発表した。）

## 文 献

- 1) 池田友信, 中島清子, 丸田茂徳, 森 一郎: 高年不妊症の取扱い, 第23回日本不妊学会総会抄録集。
- 2) 池田友信, 森田明夫, 今村昭一, 森 一郎: 高年不妊症の臨床的観察, 第25回日本不妊学会総会抄録集。
- 3) 古谷元康, 須藤寛人, 吉沢浩志, 石黒隆雄, 岸 博士, 佐藤芳昭, 高橋 威, 竹内正七: 高年不妊婦人の臨床的検討, 第25回日本不妊学会総会抄録集。
- 4) Tulandi, T., Arronet, G. H., McInnes, R. A.: Infertility in women over the age of 36, *Fertil. & Steril.*, 35: 611, 1981.
- 5) 品田孝夫, 竹中恒久, 横田佳昌, 大和田信夫, 阿美邦栄: 不妊外来における臨床統計的観察, *日不妊会誌*, 24: 80, 1979.
- 6) 秦喜八郎, 有住 裕, 上笹貫修, 浜田政雄: 当科における不妊症の臨床統計, *日不妊会誌*, 21: 438, 1976.
- 7) 中居光生, 馬嶋恒雄, 西島正博, 尾崎周一, 前田 徹, 新井正夫, 長内国臣: 当院における



- 不妊外来統計, 日不妊会誌, 25: 506, 1980.
- 8) 池田友信, 森 一郎: 高年不妊婦人の処置, 産と婦, 46: 899, 1979.
- 9) 楠原浩二: 機能性不妊における着床期子宮内膜の病態に関する研究, 日不妊会誌, 23: 180, 1978.
- 10) 細田 肇: 機能性不妊における子宮内膜因子の研究, 日不妊会誌, 22: 191, 1977.
- 11) Chan, M. C.: Development and fate of transferred rabbit ova or blastocyst in relation to the ovulation time of recipients, J. of Exp. Zool., 114: 197, 1950.
- 12) Noyes, R. W., Calif, S. F.: The underdeveloped secretory endometrium, Am. J. Obstet. & Gynecol. 77: 929, 1959.
- 13) 杉本 修, 中堀 等, 林 章子, 石黒達也: 不妊診断の問題点, 産婦治療, 16: 320, 1968.
- 14) 徳倉昭治: 機能性不妊の治療に関する研究, 慈医大誌, 96: 580, 1981.
- 15) 鈴木秋悦, 大山俊雄, 東条竜太郎, 小林善宗: 高年齢妊娠による心身障害発生に関する研究, 心身障害発生防止に関する胎児環境的研究, 研究報告書, p. 87, 昭和51年.
- 16) 岩城 章, 清水工経, 野沢あき子: 高年齢妊娠による心身障害発生に関する研究, 心身障害発生防止に関する胎児環境的研究, 研究報告書, p. 97, 昭和51年.
- 17) 美甘和哉: 卵子のエイジングと染色体異常, 医学のあゆみ, 97: 459, 1978.
- 18) 楠田雅彦, 立山浩道, 熊本熙史, 中村正彦: 教室不妊外来における妊娠成功例の検討, 日不妊会誌, 17: 273, 1972.
- 19) 山田紳介, 占部 清, 清水健治, 関 正明, 長川富保, 林 伸旨, 早田幸司, 吉田信隆, 秋本暁久, 関場 香: 不妊症治療後妊娠とその予後, 日不妊会誌, 27: 54, 1982.
- 20) 東出香二, 成田 収, 万羽 進, 下須賀洋一, 木村 隆, 中西 勉, 友田 豊: 最近の不妊外来における妊娠成功例の検討, 日不妊会誌, 23: 108, 1978.
- 21) 松家五朗, 増田巖久, 吉崎健一, 乾 泰延, 三村経夫, 竹内 悟, 山野修司, 高橋久寿: 当不妊外来における最近5年間の妊娠例の検討, 日不妊会誌, 25: 85, 1980.
- 22) 一戸喜兵衛, 馬淵義也, 辻 清, 岡田雄一:

- 高年齢妊娠による心身障害発生に関する研究, 心身障害発生防止に関する胎児環境的研究, 研究報告書, p. 90, 昭和51年.
- 23) 一戸喜兵衛, 馬淵義也, 赤山紀昭, 辻 清, 佐々木謙司, 岡田雄一, 中山 崇, 矢本希夫: 高年齢妊娠による心身障害発生に関する研究, 心身障害発生防止に関する胎児環境的研究, 研究報告書, p. 87, 昭和50年.
- 24) 岩城 章, 清水工経, 野沢あき子: 高年齢妊娠による心身障害発生に関する研究, 心身障害発生防止に関する胎児環境的研究, 研究報告書, p. 91, 昭和51年.

### Clinical study of aging infertile women

**Kei Yokoyama, Koji Kusuvara,  
Kazunori Matsumoto, Ikuyo Yasue,  
Eizo Kimura and Shoichi Hachiya**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
The JIKEI University School of Medicine  
(Director: Prof. Shoichi Hachiya)

We examined the etiology of infertility and the pregnancy outcome in aging infertile women.

1) We divided the infertile women into 2 groups on the basis of age: those behind 34 years old (control group: 352 cases) and those over 34 years of age (aging infertile group: 51 cases).

2) In aging infertile group, period of infertility was longer than that of control group.

3) The most important etiologic factors in infertility of aging infertile group were as follows: unexplained infertility 19.6%, ovulatory disturbance 17.0%, and tubal factor 17.0%.

4) The pregnancy rates was lower with aging infertile group (23.5%) as compared with the control infertile group (34.1%).

5) Pregnancy outcome in control group, full-term delivery rate were 84.1%, abortion rates were 12.7%, in contrast, in aging infertile group, full term delivery rates were 53.8% and abortion rates were 46.2%.

(受付: 昭和57年2月15日)

# “原因不明不妊”例についての retrospective な検討

## A Retrospective Study in the Cases of “Functional Sterility”

大阪市立大学医学部産科婦人科学教室

恩 田 博 高 野 登 迫 久 男  
Hiromu ONDA Noboru TAKANO Hisao SAKO

友 田 昭 二 田 中 文 平 浜 田 和 孝  
Shoji TOMODA Bunpei TANAKA Kazutaka HAMADA

須 川 侑  
Tadashi SUGAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka City  
University School of Medicine, Osaka

昭和55年1月より昭和56年9月末までに当科不妊外来を受診した患者で、系統的検査にて明らかな不妊原因を認めない“機能性不妊”は、458名中64名（14.0%）で、これら64例を retrospective に検討した。

原発性不妊46例（71.9%）、続発性不妊18例（28.1%）であつた。詳細に再検討すると、不妊の主原因とは言えないまでも一要因と考えられるものが発見された。BBT 曲線上の軽度黄体機能不全が35例（54.7%）と最も多く、次いで頸管粘液分泌不全16例（25.4%）、頸管粘液精子不適合4例、mycoplasma 検出1例の順であつた。軽度黄体機能不全例の中には、卵胞期血中 estradiol 値と黄体期血中 progesterone 値が正常範囲内にあるのに、内膜日付診上“ずれ”を認める例があり、子宮内膜の hormone 感受性の低下が推察された。黄体機能不全には排卵誘発剤が、頸管粘液分泌不全には少量 hMG 療法が有効であつた。64例中12例（18.8%）に妊娠成立をみたが、なお14例（22.2%）は原因不明で、更に詳細な検討が望まれた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 84-88, 1983)

### I. 緒 言

系統的検査で明らかな不妊原因が認められない、いわゆる“機能性不妊”は全不妊患者の1割以上にも達し、しかもその妊娠率は低いとされている。そこで今回われわれは、原因不明不妊と分類した症例に対し retrospective に検討を加え、若干の知見を得たので報告する。

### II. 研究対象及び方法

昭和55年1月から昭和56年9月迄に、大阪市立大学附属病院産婦人科不妊外来を受診した患者で、系統的検査を施行し終えた不妊患者は458名あり、そのうち特に明確な原因が認められなかった64名（14.0%）を対象とした。無排卵症を除外した機能性不妊の診断基準を表1に

示したが、今回は不妊原因となりうる器質的疾患を有する患者は全て対象から除外した。血中の progesterone と estrogen の測定は RIA 法によつた。

### III. 成 績

原因不明不妊患者64例中、原発性不妊患者は46例（71.9%）、続発性不妊患者は18例（28.1%）であり、原発性が続発性を7:3と上まわり、全不妊患者における比率6:4より高率であつた。

1) 年齢・不妊期間・治療期間分布(図1, 2, 3)  
年齢は25~35歳に広く分布しており、平均30.2歳で、本院における全不妊患者の平均年齢28.8歳に比べ、やや高年齢であつた。初診時迄の平均不妊期間は3.6年であつたが、4年以上におよぶものが15例（23.4%）に認め

表 1 機能性不妊の診断基準

1. 精液検査 正常  
精子数:  $5000 \times 10^4/\text{ml}$  以上  
運動率: 80% 以上  
奇形率: 20% 以下
2. 卵管疎通性検査 良好  
Hydrotubation and/or HSG
3. 器質的病変 (一)  
Physical examination
4. 基礎疾患 (一)  
既往歴・現病歴
5. 基礎体温曲線  
松本分類: I or II 型

表 2 機能性不妊患者に認められた推定原因頻度  
(総数 64例)

|              |     |       |
|--------------|-----|-------|
| 1. 軽度黄体機能不全  | 35例 | 54.7% |
| 2. 頸管粘液分泌不全  | 16例 | 25.4% |
| 3. 頸管粘液精子不適合 | 4例  | 6.3%  |
| 4. マイコプラズマ検出 | 1例  | 1.6%  |
| 5. 狭義の機能性不妊  | 14例 | 22.2% |

## 2) 推定不妊因子 (表 2)

不妊原因が不明とは言え、これら不妊患者をより詳細に検討・検索してゆくと、主原因とはなり難いが、一要因と考えられるものがみつかることがある。それらを推定原因として64例について検討した。

① 軽度黄体機能不全: 基礎体温曲線上、数周期に1回程度排卵が月経周期の17~20日目と比較的遅れて認められたり、高温相が10~11日の short luteal phase を認める症例や、高温相は12日以上あるが体温の変動が著明な症例を軽度黄体機能不全とした。これらは64例中35例 (54.7%) と半数以上に認められた。

② 頸管粘液分泌不全: 排卵期においても頸管粘液が全く増加しないか、増加を認めても0.1ml 以下で粘稠度が強く牽糸性の極めて低いものが16例 (25.0%) 認められた。周期により良好、不良をくり返す症例も認められたが、今回の統計に含めなかった。

③ 頸管粘液・精子不適合: 頸管粘液分泌は良好であるのに3回以上 Huhner test が陰性の症例が4例 (6.3%) 認められた。

④ Mycoplasma 症: 64例中21例で血清中抗 mycoplasma 抗体の検索を寒冷凝集法により検討したが、陽性例は1例であった。

⑤ 各種検査において、いずれも異常が認められなかった“狭義”の機能性不妊患者は14例 (22.2%) であった。

## 3) 軽度黄体機能不全患者の分泌期血中 progesterone 値 (図 4)

軽度黄体機能不全35例中28例において、高温相の6~11日目に子宮内膜診を施行し、同時に血中 progesterone 値を測定した。血中 progesterone 値は2例を除き全てが正常範囲内であつたが、この2例では内膜日付診上の“ずれ”を認めたものの、正常血中 progesterone 値を示した症例の中にも4例において“ずれ”が認められた。

## 4) 軽度黄体機能不全患者の卵胞期血中 estradiol 値 (図 5)

子宮内膜診と同周期に卵胞期の血中 estradiol 値を測定したものが、28例中17例あつた。分泌期内膜日付診

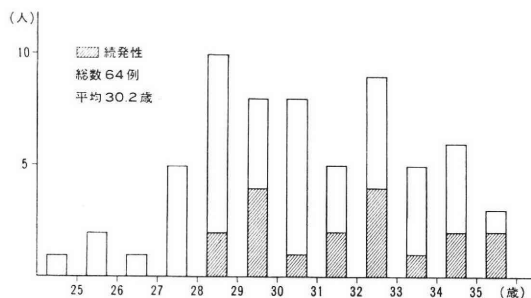


図 1 機能性不妊患者の年齢分布

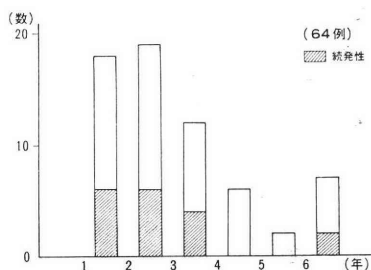


図 2 機能性不妊患者の不妊期間

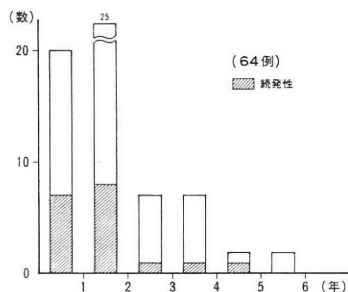


図 3 機能性不妊患者の治療期間

られ、これらの多くは過去において既に他院で治療を受けていた。治療期間は平均2.2年であつたが、4年以上と長期におよぶものも4例 (6.3%) 認めた。

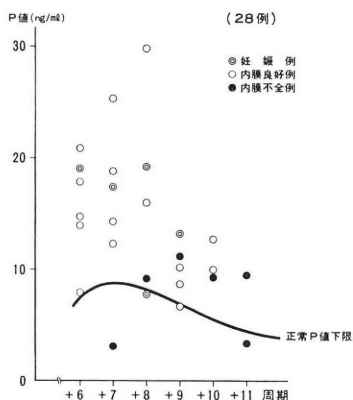


図 4 軽度黄体機能不全患者の分泌期血中 Progesterone 値

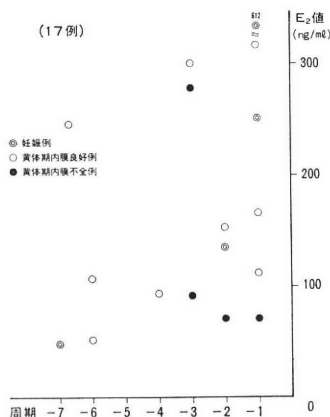


図 5 軽度黄体機能不全患者の卵胞期血中 Estradiol 値

で低分泌型を示した症例が卵胞期後期に低 estradiol 値を示す傾向を認めたが、概ね estradiol 値も正常範囲内であり、しかも estradiol が十分分泌されていても分泌期内膜日付診上“ずれ”を示す症例も認められた。

#### 5) 原因不明不妊患者の治療内容 (表 3)

治療方法の選択は当然のことながら推定原因の頻度に平行していた。すなわち排卵誘発剤が64例中50例 (78.1%) に最も高頻度で使用されていた。軽度黄体機能不全を認めた35例においては、黄体ホルモン補充療法や黄体賦活剤としての hCG 療法だけでなく、全例に排卵誘発剤を使用していた。hMG-hCG 療法は17例 (27.0%) に施行しており、うち5例が軽度黄体機能不全例に、残り12例は次に推定原因として頻度の高かった頸管粘液分泌不全例に対し使用されていた。頸管粘液分泌不全の治療法としては他に、estrogen 剤投与例が15例、頸管拡張術が5例施行されていた。AIH も10例に施行していた。器質的疾患とは言えない子宮腔部ビランにおいては、高

表 3 機能性不妊患者の治療内容 (64 例)

|                                 |     |       |
|---------------------------------|-----|-------|
| 1. 排卵誘発剤                        | 50例 | 78.1% |
| Sexovid                         | 26例 |       |
| Clomid                          | 43例 |       |
| Tamoxifen                       | 5例  |       |
| 2. Gestagen (Duphastone)        | 8例  | 12.7% |
| 3. hCG                          | 10例 | 15.9% |
| 4. hMG-hCG                      | 17例 | 27.0% |
| 5. Estrogen (Premarin, Estriol) | 15例 | 23.8% |
| 6. 頸管拡張術                        | 5例  | 7.9%  |
| 7. AIH                          | 10例 | 15.9% |
| 8. Cryosurgery                  | 4例  | 6.3%  |

度な症例に頸管炎予防の目的で cryosurgery を積極的に施行しているが、そのような例が4例に認められた。

#### 6) 妊娠成功例 (表 4)

64例中12例 (18.8%) に妊娠の成立をみた。原発性、続発性不妊患者ともに6例で、続発性不妊の方が高率であった。不妊期間は3年未満のものが $\frac{2}{3}$ を占め、治療期間も1例を除き全てが2年未満であった。推定原因別では、軽度黄体機能不全6例、頸管粘液分泌不全3例、狭義の機能性不妊3例であった。最終治療を妊娠に対する有効治療としてまとめると、排卵誘発剤が5例と最も多く、続いて hMG-hCG 療法が3例でこれは特に頸管粘液分泌不全例に有効であった。狭義の原因不明不妊群においては Huhner test 周期中の妊娠が2例あり、タイミングの重要性が判る。しかし、AIH による妊娠例は認められなかった。

### IV. 考 察

いわゆる機能性不妊は、全不妊患者の14.0%で妊娠率は18.8%であり、これらは諸家の報告<sup>1,2)</sup>と差が認められない。しかも不妊期間が4年以上である症例が23.4%あり、それらは他院にて既に治療を受けているものも多く、本院での治療期間も4年以上におよぶものもあり、本群治療の困難さが再確認された。子宮筋腫、子宮内膜症、卵巣のう腫などの器質的因子は、不妊の絶対的原因とは成り得ないが、今回の統計では除外したため推定原因のうちでは軽度黄体機能不全症例が半数以上に達した。黄体機能の判定には一般に基礎体温曲線<sup>3,4)</sup>、血中 gonadotropin 測定<sup>5)</sup>、子宮内膜日付診<sup>6)</sup>、血中 estrogen & progesterone 測定<sup>7)</sup>などが用いられているが、retrospective な検討が可能な基礎体温曲線を今回使用した。黄体機能の調節すなわち黄体の維持と持続的な progesterone の分泌は luteotropic factor と luteolytic factor の2重支配を受けると解されている。従つて、その機能

表 4 機能性不妊患者の妊娠成功例

| No. | 年齢(歳) | 原発続発 | 不妊期間     | 治療期間     | 推 定 原 因  | 最 終 治 療             |
|-----|-------|------|----------|----------|----------|---------------------|
| 1   | 35    | P    | 7 年      | 1 年 7 月  | CM分泌不全   | hMG-hCG             |
| 2   | 33    | S    | 3 年 6 月  | 1 年 0 月  | 軽度黄体機能不全 | hCG                 |
| 3   | 29    | S    | 3 年 7 月  | 11 月     | 軽度黄体機能不全 | Clomid-Estriel      |
| 4   | 30    | S    | 2 年 0 月  | 4 年      | CM分泌不全   | hMG-hCG             |
| 5   | 32    | S    | 2 年 3 月  | 1 年 11 月 | 軽度黄体機能不全 | Clomid-Estriel      |
| 6   | 29    | S    | 2 年 6 月  | 1 年 0 月  | 不 明      | Sexovid (3 cycle 目) |
| 7   | 32    | S    | 2 年 3 月  | 10 月     | 軽度黄体機能不全 | 通水検査後               |
| 8   | 27    | P    | 2 年 3 月  | 9 月      | 不 明      | Huhner cycle        |
| 9   | 33    | P    | 3 年 2 月  | 7 月      | 軽度黄体機能不全 | Clomid (4 cycle 目)  |
| 10  | 30    | P    | 3 年 0 月  | 11 月     | 軽度黄体機能不全 | Sexovid (3 cycle 目) |
| 11  | 32    | P    | 2 年 3 月  | 6 月      | CM分泌不全   | hMG-hCG             |
| 12  | 29    | P    | 1 年 11 月 | 1 年 0 月  | 不 明      | Huhner cycle        |

妊娠率 12/64=18.8%

不全は中枢よりの gonadotropin 分泌不全, 卵巣の黄体内分泌不全ならびに子宮内膜のホルモン反応性の低下などによる内膜への受精卵の着床準備・維持機能障害と考えられる。軽度黄体機能不全患者において, 同周期での卵胞期 estradiol 値と分泌期内膜日付診および progesterone 値を検討した結果, 血中 estradiol, progesterone 値が正常範囲内にあるにもかかわらず, 内膜日付診上分泌不全型を示すものも認めた。またわれわれは, 内膜日付診により黄体機能不全と診断した症例において, 子宮内膜腺上皮細胞の卵胞期と分泌期の核 DNA 量を走査型顕微鏡濃度計を用いて測定し, 正常子宮内膜と比較検討した(図 6, 7)。増殖期においては, 正常例で核 DNA 量は aneuploid に分布し増殖の旺盛な状態を示すのに反し, 黄体機能不全例では diploid に優位を示す非定型型ヒストグラムを示す。分泌期では両者とも diploid にモードがみられ, DNA 合成が抑制されている。内膜日付診による黄体機能不全患者においても卵胞期 estradiol 値, 分泌期 progesterone 値に低下を示さない例を認め, このことは子宮内膜の estrogen に対する反応性の低下が存在し“黄体機能不全発症”の一要因となつていたことが推察される。このことは子宮内膜ホルモンレセプターの検討<sup>9)</sup>とも一致する。

黄体機能不全の治療には, progesterone 分泌不全には黄体ホルモン投与, estrogen 分泌不全には estrogen 剤投与, 両者の不全に対しては hCG 投与という飯塚らの説<sup>9)</sup>に加え, Jones ら<sup>10)</sup>の相対的 FSH 分泌不全が黄体機能不全の原因となつていとする説も考慮して, 排卵誘発剤を使用している<sup>11)</sup>。軽度黄体機能不全例における治療成績からも排卵誘発剤の有効性が認められ, これらに“不完全排卵”症例が含まれていることを推定させ

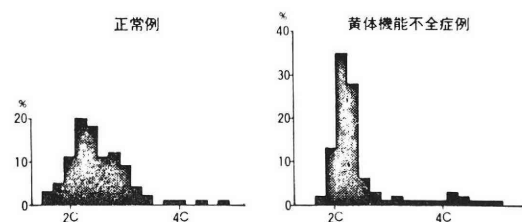


図 6 子宮内膜腺上皮細胞核 DNA 量 (増殖期)

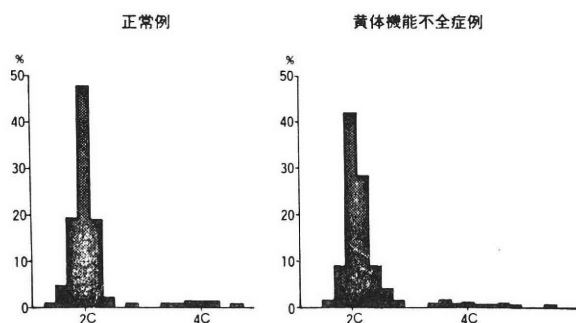


図 7 子宮内膜腺上皮細胞核 DNA 量 (分泌期)

る。

次に推定原因として多かつた頸管粘液分泌不全例は, 原因不明不妊患者の約 1/4 に認められた。頸管拡張術では一時的な改善しか認められず, 少量 estrogen 投与にては十分な増加が得られず投与量を増量すると排卵の抑制を認めたり破綻出血をきたしたりする。そのため hMG 療法を施行する例の増加傾向が認められ, またその有効性が確認された。しかし hMG 療法の施行に当つては, 多胎妊娠, 卵巣過剰刺激に対する厳重な注意が必要であらう。

*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* 感染と不妊に関する報告が1972年 Gnärpe ら<sup>12)</sup>により指摘されて以来、その当否に賛否両論があるが、治療後の妊娠成功例の報告<sup>12,13,14)</sup>もあり、原因不明不妊の立場より膣炎をくり返す症例には検討する価値があろう。

狭義の機能性不妊患者において、2例に Huhner test サイクル中での妊娠成立をみ、タイミングの大切さを教えられたが、AIH による妊娠例を認めず、精子・卵子の受精能力を含む reproduction に関する今後の研究が望まれる。

## V. おわりに

原因不明不妊患者をより詳細に検討・検索してゆくと、不妊原因の一要因と推定されるものが発見されることがある。今回の検討でも77.8%に何らかの推定原因を認めた。しかしなお全く原因不明なものが22.2%存在し、機能性不妊が狭義・広義を問わず、現時点での検索にて未だ原因が発見しえないものと考えらるならば、心因性因子も含め更に細岐にわたる器質的、機能的検索が一層望まれる。

## 文 献

- 1) 高橋久寿, 松家五朗, 加藤秀之, 乾 泰延, 三村経夫, 増田歳久: 機能性不妊症の薬物療法, 産婦治療, 39: 93, 1979.
- 2) 佐竹 実, 田中昭一, 藤松光正: いわゆる機能性不妊症に対する治療のすすめ方, 日産婦誌, 26: 251, 1974.
- 3) 松本清一: 月経とその異常, 医学の世界社, 1962.
- 4) 山辺 徹, 石丸忠之, 河野前宣: BBT よりみた黄体機能, 産と婦, 46: 865, 1979.
- 5) Van de Wiele, R. L., Bogumil, J. Dyrenfurth, I., Ferin, M., Jewelewicz, P., Warren, M., Rizkallah, T. and Mikhall, G.: Mechanisms Regulating the Menstrual Cycle in Women, Recent Progr. Hormone Res., 26: 63, 1970.
- 6) Noyes, R. W.: Dating the Endometrial Biopsy, Fertil. Steril., 1: 3, 1950.
- 7) 飯塚理八, 中村幸雄, 上野 裕, 小林 徹, 春日義生: 黄体機能不全, 産と婦, 46: 1174, 1979.
- 8) 岡田弘二: 黄体 ホルモン・リセプター, 産と婦, 46: 1188, 1979.
- 9) 飯塚理八: 着床の研究, 第23回日産婦学会宿題報告要旨, 1970.
- 10) Jones, G. S., Ruehsen, M. M., Johanson, A. J., Raiti, S. and Blizard, R. M.: Elucidation of normal ovarian physiology by exogenous gonadotrophin stimulation following steroid pituitary suppression, Fertil.

Steril., 20: 14, 1969.

- 11) 須川 信, 田中文平: 子宮内膜と黄体機能, 産と婦, 46: 1168, 1979.
- 12) Gnärpe, H. and Friberg, J.: *Mycoplasma* and human reproductive failure. I. The occurrence of different mycoplasma in couples with reproductive failure, Amer. J. Obstet. Gynecol., 114: 727, 1972.
- 13) Matthews, C. D., Clapp, K. H., Tausing, J. A. and Cox, L. W.: T-mycoplasma genital infection: The effect of doxycycline therapy on human unexplained infertility, Fertil. Steril., 30: 98, 1978.
- 14) 吉田茂子: マイコプラズマと不妊, 産と婦, 47: 1462, 1980.

## A retrospective study in the cases of “functional sterility”

Hiromu Onda, Noboru Takano, Shoji Tomoda, Hisao Sako, Bunpei Tanaka, Kazutaka Hamada and Tadashi Sugawa

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka City University School of Medicine, Osaka

Sixty-four women with “functional sterility” were studied retrospectively. They were 14.0 % of all sterile women. By further examinations, several minor causes of infertility were found in these cases. The most frequent cause was mild luteal insufficiency evaluated BBT, which was found in 35 cases (54.3 %). In most of them, serum estradiol concentrations in late follicular phase and also serum progesterone levels in mid luteal phase were within normal ranges, but in some of those cases, the endometrium on luteal phase showed secretory hypoplasia. It was suggested that the low sensitivity of the uterine endometrium to ovarian hormones (especially to estrogen) might cause to disturb in implantation of a fertilized ovum. Clomiphen was recognized more effective for the luteal insufficiency.

The next frequent minor cause was deficient cervical mucus on periovulatory phase, and such cases were found in 16 women (25.4 %). The most effective treatment for them was hMG therapy with low dosage.

The present study concluded that several minor causes of infertility might be found in the women with “functional sterility” by further examinations. Therefore, 14 cases (22.2 %) could not be explained any minor causes of infertility in this study, so furthermore minute evaluations might be undergone for them.

(受付: 昭和57年2月18日)

## 当科不妊外来における妊娠成功例の妊娠、 分娩経過の検討

### Outcome of Pregnancy and Delivery in Infertile Women with Established Pregnancies after Treatment

徳島大学医学部産科婦人科学教室

森 下 一 森 崇 英  
Hajime MORISHITA Takahide MORI

Department of Obstetrics and Gynecology, School  
of Medicine, The University of Tokushima

徳島大学医学部附属助産婦学校

嶋 川 ひ ろ 子  
Hiroko SHIMAKAWA

Midwives Training School Annexed to the School  
of Medicine, The University of Tokushima

不妊期間が1年以上で当科不妊外来で治療中、妊娠し、昭和47年1月から昭和56年9月までの約10年間に当科で分娩した初産婦102例の妊娠、分娩経過について検討し、以下の結果を得た。

切迫流、早産および吸引分娩が対照群と比較して不妊群で有意に高率に認められた。切迫流、早産率が不妊群で高い原因は不明であるが、吸引分娩の高率は高年齢に起因していることが推定された。

妊娠中毒症、早期産、帝王切開、分娩所要時間、分娩時出血量、分娩時異常出血、頸管裂傷、会陰裂傷・側切開、児体重、Apgar・スコアなどは対照群との間に有意差は認められなかった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 89-93, 1983)

#### I. 緒 言

不妊症治療の目的は妊娠を成立させ、満期分娩により健康な児を得ることである。妊娠の成立には多大の関心が向けられ、不妊症の原因、治療および妊娠成功例などについては多くの報告があり、また不妊症患者の妊娠成功例の妊娠経過に関してもかなりの報告がみられるが、分娩経過についての報告は意外と少ない。今回われわれは当科不妊外来を受診し、妊娠に成功し、当科で分娩した初産婦の妊娠、分娩経過を検討したので報告する。

#### II. 対 象

徳島大学医学部附属病院産婦人科の不妊外来を受診

し、妊娠が成功し、昭和47年1月から昭和56年9月までの約10年間に当科で分娩を行つた初産婦102例を対象とし、その妊娠、分娩経過を調査した。なお対照群には、昭和55年6月から昭和56年9月までに当科で妊娠、分娩を経過した不妊歴のない初産婦200例を選んだ。

#### III. 成 績

##### 1. 不妊期間、年齢

実質不妊期間は1.2年から15年までで、平均4.2年であった。最終月経開始日の平均年齢(以下平均年齢とする)は $28.11 \pm 0.35$ 歳(平均値 $\pm$ 標準誤差)で対照群 $25.99 \pm 0.26$ 歳と比較すると有意に高かった( $P < 0.001$ )。

##### 2. 不妊因子

最大不妊因子を一つだけ選び表 1 に示した。卵巣・内分泌因子が過半数を占めていた。

表 1 初産婦 102 例の不妊因子

| 不妊因子     | 例数        |
|----------|-----------|
| 卵巣・内分泌因子 | 58(56.9%) |
| 卵管因子     | 10(9.8%)  |
| 子宮因子     | 4(3.9%)   |
| 男性因子     | 4(3.9%)   |
| 機能性不妊    | 26(25.5%) |

### 3. 治療

妊娠成立周期の治療内容を表 2 に示した。Clomid, Sexovid, HMG, HCG などの排卵誘発剤使用例が最も多く、次いで無治療、通水などが上位を占めていた。なお無治療には前周期、前々周期に排卵誘発剤使用例がかなりみられた。

表 2 妊娠成立周期の治療

| 治療法                  | 頻度    |
|----------------------|-------|
| 無治療                  | 30.3% |
| Clomid               | 22.4% |
| Clomid+HCG           | 3.9%  |
| Clomid+progesterone  | 3.9%  |
| Clomid+estrogen      | 1.0%  |
| Clomid+AIH+HCG       | 2.0%  |
| Sexovid              | 2.0%  |
| Sexovid+progesterone | 2.0%  |
| HCG                  | 4.0%  |
| AIH+HCG              | 2.9%  |
| HMG                  | 1.0%  |
| HMG+AIH              | 1.0%  |
| HMG+HCG              | 2.9%  |
| CB154                | 1.0%  |
| 当帰芍薬散                | 1.0%  |
| 子宮卵管造影               | 2.0%  |
| 通水                   | 11.8% |
| 通気                   | 1.0%  |
| 子宮筋腫核出術後*            | 2.9%  |
| Strassmann 手術後*      | 1.0%  |

\* 妊娠成立周期以前の治療

### 4. 妊娠経過

妊娠中の異常を表 3 に示した。後期妊娠中毒症は不妊群にやや多い傾向がみられたが、対照群と比較して有意差はなかった。

投薬以上の治療を行った切迫流産、早産例はともに不妊群に有意に多かった ( $P < 0.005$ )。不妊群、対照群の

表 3 妊娠中の異常

|         | 不妊群<br>(102例) | 対照群<br>(200例) |
|---------|---------------|---------------|
| 後期妊娠中毒症 | 36.3%         | 30.0%         |
| 切迫流産    | 21.6%*        | 8.5%          |
| 切迫早産    | 32.4%*        | 10.0%         |
| 貧血      | 52.0%         | 63.5%         |

$p < 0.005$  (対照群と比較)

表 4 切迫流産、早産例の年齢 (歳)

|      | 不妊群          | 対照群        |
|------|--------------|------------|
| 切迫流産 | 28.68±0.84*  | 26.41±1.22 |
| 切迫早産 | 28.42±0.48   | 25.95±1.10 |
| 全症例  | 28.11±0.35** | 25.99±0.26 |

\* 平均値±標準誤差

\*\*  $p < 0.001$  (対照群と比較)

切迫流産、早産例の平均年齢を表 4 に示した。不妊群、対照群ともに切迫流産、早産例の平均年齢はそれぞれの群の全症例の平均年齢と比較して有意差はみられなかった。これに対し不妊群と対照群の間に全症例では平均年齢で有意差がみられたが、切迫流産、早産例では両群の間に平均年齢で有意差はみられなかった。切迫流産、早産例と年齢との関係をさらに詳しく検討するため、対照群の 25 歳以上の症例と不妊群を比較した (表 5)。対照群の 25 歳

表 5 不妊群および対照群の 25 歳以上の切迫流産、早産

|        | 不妊群         | 対照群の 25 歳以上 |
|--------|-------------|-------------|
| 症例数    | 102         | 123         |
| 年齢 (歳) | 28.11±0.35* | 28.03±0.29  |
| 切迫流産   | 21.6%**     | 8.1%        |
| 切迫早産   | 32.3%**     | 8.9%        |

\* 平均値±標準誤差

\*\*  $p < 0.005$  (対照群と比較)

以上の症例では平均年齢は 28.03 歳となり不妊群の平均年齢とほぼ同じになったが、切迫流産 ( $P < 0.005$ )、切迫早産 ( $P < 0.005$ ) とともに不妊群と比較して有意に少なかった。不妊群の切迫流産、早産例の不妊因子を表 6 に示したが、不妊群全症例の不妊因子の分析結果とほぼ同様であった。

### 5. 妊娠の転帰

妊娠の転帰に関しては不妊群、対照群の間に有意差は認められなかったが、不妊群で早期産が多い傾向がみられた (表 7)。

### 6. 分娩経過



表 6 切迫流産、早産例の不妊因子

| 不妊因子     | 切迫流産  | 切迫早産  |
|----------|-------|-------|
| 卵巣・内分泌因子 | 54.6% | 57.6% |
| 卵管因子     | 9.1%  | 9.1%  |
| 子宮因子     | 4.5%  | 6.1%  |
| 男性因子     | 4.5%  | 3.0%  |
| 機能性不妊    | 27.3% | 24.2% |

表 7 初産婦の転帰

|     | 不妊群<br>(102例) | 対照群<br>(200例) |
|-----|---------------|---------------|
| 早期産 | 8.8%          | 4.0%          |
| 正期産 | 89.2%         | 93.0%         |
| 過期産 | 2.0%          | 3.0%          |

表 8 分娩経過および新生児

|           | 不妊群          | 対照群          |
|-----------|--------------|--------------|
| 妊娠週数      | 39.25±0.20*  | 39.34±0.15   |
| 分娩所要時間(分) | 680.44±56.87 | 785.94±37.55 |
| 分娩時出血量(g) | 331.33±27.25 | 277.05±15.03 |
| 分娩時異常出血   | 14.7%        | 10%          |
| 陣痛微弱      | 29.4%        | 37.5%        |
| 骨盤位       | 4.9%         | 3.5%         |
| 会陰裂傷・側切開  | 73.6%        | 66.5%        |
| 頸管裂傷      | 8.8%         | 4.0%         |
| 吸引分娩      | 27.5%**      | 15.0%        |
| 帝王切開      | 13.7%        | 8.0%         |
| 胎児切迫仮死    | 11.8%        | 11.0%        |
| 児体重(g)    | 3155.0±45.7  | 3083.3±32.6  |
| Apgar・スコア | 9.1±0.1      | 9.3±0.1      |
| 多胎        | 3.9%         | 2.5%         |

\* 平均値±標準誤差

\*\* p&lt;0.01 (対照群と比較)

分娩経過を表 8 に示した。妊娠週数は不妊群、対照群ともほぼ同じであった。分娩所要時間は不妊群が対照群に比してやや短く、陣痛微弱も少なかったが有意差はなかった。分娩時出血量、分娩時異常出血、頸管裂傷、会陰裂傷・側切開は不妊群にやや多い傾向がみられたが、これも有意差はなかった。骨盤位、胎児切迫仮死も両群に差異はなかった。

吸引分娩例は不妊群では 27.5% で、対照群の 15% と比較して有意に高率であった (P<0.01)。吸引分娩の適応としては不妊群、対照群とも胎児切迫仮死、陣痛微弱が上位を占め、ほぼ同じ傾向を示したが、不妊群でやや陣痛微弱が多かった (表 9)。不妊群、対照群ともに吸引

表 9 吸引分娩の適応 (重複適応を含む)

|           | 不妊群   | 対照群   |
|-----------|-------|-------|
| 胎児切迫仮死    | 51.9% | 60.0% |
| 陣痛微弱      | 55.6% | 36.7% |
| 回旋異常      | 18.5% | 13.3% |
| 分娩第 2 期遅延 | 14.8% | 16.7% |
| 努責不全      | 3.7%  | 0%    |

分娩例の平均年齢はそれぞれの群の全症例の平均年齢と比較して有意差はみられなかったが、不妊群の吸引分娩例の平均年齢は対照群と比較して有意に高かった (P<0.05) (表 10)。吸引分娩と年齢との関係を検討するため、対照群を 25 歳以上および 25 歳未満にわけ、不妊群と比較した (表 11)。対照群の 25 歳以上では吸引分娩は 19.5% にみられ、不妊群との間に有意差はなかった。対照群の 25 歳以上と 25 歳未満を比較すると、25 歳以上では有意に吸引分娩が多かった (P<0.025)。不妊群の吸引分娩例の不妊因子を表 12 に示したが、卵巣・内分泌因子が不妊群全症例のそれと比較してやや多い傾向を示した

表 10 吸引分娩例および帝王切開例の年齢 (歳)

|      | 不妊群           | 対照群           |
|------|---------------|---------------|
| 吸引分娩 | 28.21±0.51*   | 26.40±0.54**  |
| 帝王切開 | 31.71±1.45*** | 29.25±1.21*** |
| 全症例  | 28.11±0.35    | 25.99±0.26    |

\* 平均値±標準誤差

\*\* p&lt;0.05 (不妊群と比較)

\*\*\* p&lt;0.01 (それぞれの群の全症例と比較)

表 11 不妊群および対照群の吸引分娩

|      | 不妊群         | 対照群        |            |
|------|-------------|------------|------------|
|      |             | 25歳未満      | 25歳以上      |
| 症例数  | 102         | 77         | 123        |
| 年齢   | 28.11±0.35* | 22.71±0.16 | 28.03±0.29 |
| 吸引分娩 | 27.5%       | 7.8%       | 19.5%**    |

\* 平均値±標準誤差

\*\* p&lt;0.025 (25歳未満と比較)

表 12 吸引分娩例の不妊因子

| 不妊因子     | 頻度    |
|----------|-------|
| 卵巣・内分泌因子 | 74.9% |
| 卵管因子     | 3.6%  |
| 子宮因子     | 0%    |
| 男性因子     | 3.6%  |
| 機能性不妊    | 17.9% |

が、有意差はなかった。

帝王切開は対照群に比して不妊群に多くみられたが有意差はなかった。なお帝王切開例の平均年齢は不妊群、対照群ともそれぞれの全症例の平均年齢と比して有意に高かった ( $P < 0.01$ ) (表10)。帝王切開と吸引分娩を合わせると、不妊群では41.2%となり、対照群の23.5%と比較して有意に高率であった ( $P < 0.003$ )。

#### 6. 新生児

児体重、Apgar・スコア、多胎率は不妊群と対照群の間に差異はみられなかった (表8)。

### IV. 考 案

不妊期間の定義に関しては種々の意見があるが、今回われわれは不妊期間が1年以上で、当科不妊外来で治療を受け、妊娠し、当科で分娩した初産婦の妊娠、分娩経過を対照群と比較検討した結果、切迫流、早産率および吸引分娩率が有意に高いという事実が判明した。不妊群に切迫流、早産率が高い原因としては不妊群の平均年齢が対照群と比較して有意に高いことより、まず年齢の因子が考えられる。しかしながら不妊群および対照群の切迫流、早産例の平均年齢はそれぞれの群の全症例の平均年齢とほぼ同じであり、また対照群を25歳以上と25歳未満の2群に分けると、25歳以上の群では平均年齢が28.02歳となり、不妊群の平均年齢とほぼ同じとなり age-matched control と一応は考えてよいが、しかしやはりこの群よりも不妊群で切迫流、早産率が有意に高いことより年齢の因子は除外されよう。ついで特別な因子と切迫流、早産との関係が考えられるが、切迫流、早産例の不妊因子は不妊群全症例の不妊因子とほぼ同じ傾向を示し、切迫流、早産と特定の不妊因子との間に特別な関係を見出し得なかった。また不妊群では貴重な妊娠であるがため overdiagnosis の傾向なきにしもあらずで、そのため切迫流、早産率が実際以上に高くなることも考えられるが、山田ら (1982)<sup>1)</sup>も切迫流産が不妊群で高頻度であることを認めており、また不妊群で、楠田ら (1972)<sup>2)</sup>、小畑ら (1973)<sup>3)</sup>、高野ら (1975)<sup>4)</sup>、森ら (1979)<sup>5)</sup>、松家ら (1980)<sup>6)</sup>は流産率が、白水ら (1978)<sup>7)</sup>は早期産率が高いことを報告しており、今回の検討でも有意差はないものの不妊群の早期産率は対照群の2倍あり、overdiagnosis のみはその原因とは考えられず、不妊群での切迫流、早産率が高いことの原因解明には今後の検討が必要である。

不妊群での吸引分娩率が高い原因として、まず軟産道の問題が考えられよう。そこで吸引分娩と年齢の関係を検討した結果、不妊群、対照群の吸引分娩例の平均年齢はそれぞれの群の全症例の平均年齢と有意差はなかった

が、対照群を25歳以上の群と25歳未満の群に分けると、25歳以上の群では平均年齢は不妊群のそれとほぼ同じとなるので一応 age-matched control と考えてよく、この群の吸引分娩率は25歳未満の群と比較すると有意に高く、不妊群とは有意差はなくなった。このことより不妊群での吸引分娩の高率は軟産道と直接関連づけられないまでも高年齢に起因しているように思われる。なお不妊群での吸引分娩例の不妊因子は不妊群全症例のそれとほぼ同じ傾向を示した。

帝王切開率に関しては馬嶋ら (1979)<sup>8)</sup>は不妊群で高く、しかも計画分娩からの帝王切開移行率が高いことを報告している。今回の検討では不妊群に帝王切開が多くみられたが、有意差はなかった。なお不妊群では帝王切開例と吸引分娩例を合わせると41.2%となり約2.5人に1人が吸引分娩か帝王切開を受けていた。

分娩所要時間については不妊群では馬嶋ら (1979)<sup>8)</sup>は分娩が遅延する傾向がみられると報告しているが、一方白水ら (1978)<sup>7)</sup>は短時間分娩が多いことを認めている。今回の検討では分娩所要時間は不妊群と対照群の間に有意差はみられなかったが、やや不妊群が短かった。

不妊症治療での多胎妊娠が話題となつていますが、今回の検討では不妊群と対照群の間に有意差はみられなかった。この点に関しては今後症例数を増やして検討する必要がある。

稿を終わるにあたり、坂出回生病院吉本忠弘博士、麻植協同病院高橋久寿博士、当教室奈賀脩講師、松家五朗助手および教室員各位に感謝致します。

### 文 献

- 1) 山田紳介, 占部 清, 清水健治, 関 正明, 長川富保, 林 伸旨, 早田幸司, 古田信隆, 秋本暁久, 関場 香: 不妊症治療後妊娠とその予後, 日不妊誌, 27: 54, 1982.
- 2) 楠田雅彦, 立山浩道, 熊本照史, 中村正彦: 教室不妊外来における妊娠成功例の検討, 日不妊誌, 17: 273, 1972.
- 3) 小畑 義, 石原貞尚, 東山秀声, 村上 旭, 岡田弘二: わが教室における昭和41-45年の外来不妊統計, 日不妊誌, 18: 44, 1973.
- 4) 高野 昇, 清水三郎, 高見沢裕吉: 当科不妊外来における妊娠例の検討, 日不妊誌, 20: 383, 1975.
- 5) 森 崇英, 高井一郎, 新居延健二, 森本紀彦: 排卵誘発妊娠による心身障害児発生の防止対策に関する研究, 厚生省心身障害研究母体外因研究班報告書, 31, 1979.
- 6) 松家五朗, 増田歳久, 吉崎健一, 乾 泰延, 三村経夫, 竹内 悟, 山野修司, 高橋久寿: 当不妊外来における最近5年間の妊娠例の検討, 日

不妊誌, 25 : 85, 1980.

- 7) 白水 功, 鈴木直行, 植村次雄, 塩島令儀 : 不妊外来妊娠成功例の妊娠, 分娩経過の検討, 日不妊誌, 23 : 193, 1978.
- 8) 馬嶋恒雄, 中居光生, 西島正博, 黒江美知子, 尾崎周一, 前田 徹 : 当院不妊外来登録者の妊娠予後の検討, 日不妊誌, 24 : 185, 1979.

## Outcome of pregnancy and delivery in infertile women with established pregnancies after treatment

**Hajime Morishita and Takahide Mori**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
School of Medicine, The University  
of Tokushima

**Hiroko Shimakawa**

Midwives Training School annexed  
to the School of Medicine, The  
University of Tokushima

A retrospective study was made of the course  
of pregnancies and deliveries in 102 primiparae

who had been treated for sterility in our out-patient clinic and had been delivered in our hospital from January 1972 to September 1981.

Incidences of threatened abortion, threatened premature labor and vacuum extraction on delivery were significantly higher in the infertility group than in the control group. Increased incidences of threatened abortion and threatened premature labor in the infertility group were presumed to be caused by some unknown factors other than advancing age, but it is suggested that the increased rate of vacuum extraction on delivery in the infertility group may be caused by its advanced maternal age.

There was no significant difference in the rates of toxemia of pregnancy, premature delivery, breech delivery, postpartum hemorrhage, cervical laceration, perineal laceration plus episiotomy, and cesarean section between the infertility and the control groups. Also, no significant difference was observed in duration of labor, amount of bleeding at delivery, and birth weight and the condition of the infant between both the groups.

(受付 : 昭和57年 2 月22日)

## 当教室における最近5年間の不妊症に 関する統計的考察

Evaluation of Etiologic Factors and Treatment  
on the Infertile Patients During Past 5 years

金沢医科大学産科婦人科学教室

富田 哲夫 桑原 惣隆 杉浦 幸一  
Tetsuo TOMITA Soryu KUWABARA Koichi SUGIURA

石間 友明 松井 一成  
Tomoaki ISHIMA Kazunari MATSUI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Kanazawa Medical University

金沢医科大学病院において1975年1月より1979年12月までに来院した不妊患者の臨床統計を行い、下記の成績を得た。

1. 不妊患者数144人のうち、原発不妊は99人(68.8%)、続発不妊は45人(31.2%)であった。
2. 初診時の平均年齢は原発不妊では27.5歳 $\pm$ 3.8歳(mean $\pm$ S.D.)、続発不妊では28.8歳 $\pm$ 2.9歳で、両者の間で有意差が認められた( $P<0.05$ )。
3. 不妊の原因は原発不妊では卵管因子21/99(21.2%)、排卵障害18/99(18.2%)、卵巣機能不全17/99(17.2%)、機能性不妊14/99(14.1%)、男性因子13/99(13.1%)の順に多く、続発不妊では機能性不妊16/45(35.6%)、卵管因子10/45(22.2%)、排卵障害7/45(15.6%)、卵巣機能不全6/45(13.3%)の順であり、機能性不妊の割合が高かった。また男性因子の割合は原発不妊が13.1%、続発不妊が2.2%であった。
4. 不妊原因の重複度は原発不妊で38/99(38.4%)、続発不妊で5/45(11.1%)が認められ、治療上注意が必要とされた。
5. 妊娠成功率は原発不妊が30.3%、続発不妊が37.8%を示した。原因別の妊娠成功率では、原発不妊において、卵巣機能不全が52.9%、排卵障害が27.8%、機能性不妊が28.6%を示し、続発不妊では機能性不妊が50%であり、比較的妊娠率が高いことを認めた。
6. 妊娠成功例は不妊期間3年で66%、4年で78.7%が妊娠した。6年以後では1例のみが妊娠したに過ぎず、早期受診、早期治療が必要であることを示唆するものと思われた。
7. 妊娠例での治療内容は、治療休止期15/47(31.9%)、HSG 13/47(27.7%)、AIH 4/47(8.5%)、黄体ホルモン補充療法4/47(8.5%)、クロミフェン療法3/47(6.4%)などであり、治療休止期とHSGが高い割合を占めていた。
8. 妊娠例における予後は5%が流産し、2.5%が早産し、92.5%が満期産であった。概して生児の獲得は高かった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 94-100, 1983)

### I. 緒 言

最近、不妊症に対する検査法および治療法は著しい進

歩を遂げている。しかし終極の目的である生児を得るということに関してはいまだ満足すべき成績とは言えず、今後更に進歩が望まれるところである。

今回金沢医科大学病院産科婦人科における昭和50年1月より昭和54年12月までの5年間の不妊症患者について臨床統計を行ったので、考察を加えて報告する。

II. 研究対象および方法

金沢医科大学病院産科婦人科に1975年1月より1979年12月までに来院した挙児希望患者206例のうち十分に検査を行い得た144例のみを対象として調査した。不妊原因検索のために行った一般的検査は、BBT・頸管粘液検査・Rubin test・HSG・LHRH テスト・月経血結核菌培養・精液検査・Huhner test・子宮内膜組織診であった。その他、適応により血中エストロゲン3分画・プロゲステロン・テストテロン・プロラクチンなどのホルモン測定を行った。妊娠成功例は、その妊娠に有効であった治療内容を調べ、また妊娠の予後についても調査した。

III. 結 果

1) 原発不妊と続発不妊の割合

不妊患者144例の原発不妊・続発不妊の内容は99例(68.8%)が原発不妊であり、45例(31.2%)が続発不妊であった。

2) 初診時の平均年齢と平均不妊期間

初診時の平均年齢は原発不妊が27.5±3.8歳(mean±S.D.)、続発不妊が28.8±2.9歳であり、有意差が認められた(P<0.05)。また初診時の平均不妊期間は原発不妊が4.2±3.5年(mean±S.D.)、続発不妊が3.5±3.0年であったが、両者間に有意差は認められなかった。

3) 不妊原因に関する成績

不妊原因が複数存在している場合は主原因のみを統計に加えて集計した。原発不妊では卵管因子21例(21.2%)、排卵障害18例(18.2%)、卵巢機能不全17例(17.2%)、機能性不妊14例(14.1%)、男性因子13例(13.1%)の順であり、続発不妊では機能性不妊が16例(35.6%)、卵管因子10例(22.2%)、排卵障害7例(15.6%)、卵巢機能不全6例(13.3%)の順であった。また、男性

表 1 当科を受診した不妊患者数

|       | 原 発 不 妊   | 続 発 不 妊   | 計   |
|-------|-----------|-----------|-----|
| 1975年 | 17人       | 7人        | 24人 |
| 1976年 | 21        | 12        | 33  |
| 1977年 | 21        | 9         | 30  |
| 1978年 | 22        | 4         | 26  |
| 1979年 | 18        | 13        | 31  |
| 計     | 99(68.8%) | 45(31.2%) | 144 |

表 2 初診時の平均年齢

|       | 原 発 不 妊   | 続 発 不 妊   | 全 体       |
|-------|-----------|-----------|-----------|
| 1975年 | 27.6±3.6歳 | 28.9±3.0歳 | 28.0±3.4歳 |
| 1976年 | 26.3±3.4  | 30.3±3.0  | 27.8±3.8  |
| 1977年 | 28.6±5.2  | 27.4±2.3  | 28.4±4.5  |
| 1978年 | 27.2±2.8  | 28.8±2.2  | 27.4±2.7  |
| 1979年 | 27.6±3.3  | 28.3±3.0  | 27.9±3.2  |
| 全 体   | 27.5±3.8  | 28.8±3.0  | 27.9±3.6  |

\* mean±S.D.

表 3 初診時の不妊期間

|       | 原 発 不 妊  | 続 発 不 妊  | 全 体      |
|-------|----------|----------|----------|
| 1975年 | 5.1±3.7* | 2.6±2.5年 | 4.3±3.5年 |
| 1976年 | 3.3±2.1  | 3.8±1.1  | 4.0±3.0  |
| 1977年 | 5.3±5.3  | 2.1±1.3  | 4.4±4.7  |
| 1978年 | 3.6±2.7  | 3.6±3.3  | 3.6±2.7  |
| 1979年 | 3.9±2.5  | 2.9±2.7  | 3.5±2.6  |
| 全 体   | 4.2±3.5  | 3.5±3.0  | 4.0±3.4  |

\* mean±S.D.

表 4 不妊症の原因(主原因)

|               | 原 発 不 妊       | 続 発 不 妊      |
|---------------|---------------|--------------|
| A 排 卵 障 害     | 18人 ( 18.2% ) | 7人 ( 15.6% ) |
| B 卵 巢 機 能 不 全 | 17 ( 17.2 )   | 6 ( 13.3 )   |
| C 卵 巢 腫 瘍     | 6 ( 6.1 )     | 2 ( 4.4 )    |
| D 卵 管 因 子     | 21 ( 21.2 )   | 10 ( 22.2 )  |
| E 子 宮 因 子     | 6 ( 6.1 )     | 1 ( 2.2 )    |
| F 頸 管 因 子     | 4 ( 4.0 )     | 2 ( 4.4 )    |
| G 男 性 因 子     | 13 ( 13.1 )   | 1 ( 2.2 )    |
| H 機 能 性 不 妊   | 14 ( 14.1 )   | 16 ( 35.6 )  |
| 計             | 99 (100.0 )   | 45 (100.0 )  |

因子は原発不妊では13.1%、続発不妊では2.2%で前者に高い傾向を認めた。

4) 不妊原因の重複割合

表5のとおり、不妊原因の2因子以上の重複割合は原発不妊99例中38人(38.4%)、続発不妊45例中5人(11.1%)であった。

表 5 複数の原因が認められる頻度

|       | 原 発 不 妊        | 続 発 不 妊        |
|-------|----------------|----------------|
| 2 因 子 | 31人/99人(31.3%) | 4人/45人( 8.9% ) |
| 3 因 子 | 7 /99 ( 7.1 )  | 1 /45 ( 2.2 )  |
| 計     | 38 /99 (38.4 ) | 5 /45 (11.1 )  |

## 5) 妊娠成功率 (表6)

妊娠数 (妊娠率) は原発不妊が30例 (30.3%), 続発不妊が17例 (37.8%) であり, やや続発不妊の方が高い割合を示したが, 両者間に有意差は認められなかった. 原因別にみると, 原発不妊では卵巣機能不全が52.9%, 機能性不妊が28.6%, 排卵障害が27.8%, 卵管因子が23.8%の妊娠率を示し, 続発不妊では機能性不妊が50%, 卵巣機能不全が50%, 排卵障害が28.6%の妊娠率を示した.

表 6 原因別妊娠率

|               | 原 発 不 妊         | 続 発 不 妊         |
|---------------|-----------------|-----------------|
| A 排 卵 障 害     | 27.8% ( 5人/18人) | 28.6% ( 2人/ 7人) |
| B 卵 巣 機 能 不 全 | 52.9 ( 9 / 17 ) | 50.0 ( 3 / 6 )  |
| C 卵 巣 腫 瘍     | 33.3 ( 2 / 6 )  | ( 0 / 2 )       |
| D 卵 管 因 子     | 23.8 ( 5 / 21 ) | 20.0 ( 2 / 10 ) |
| E 子 宮 因 子     | 16.7 ( 1 / 6 )  | ( 0 / 1 )       |
| F 頸 管 因 子     | 50 ( 2 / 4 )    | ( 1 / 2 )       |
| G 男 性 因 子     | 15.4 ( 2 / 13 ) | ( 1 / 1 )       |
| H 機 能 性 不 妊   | 28.6 ( 4 / 14 ) | 50.0 ( 8 / 16 ) |
| 計             | 30.3 (30 / 99)  | 37.8 (17 / 45)  |

## 6) 妊娠成功例の不妊期間 (表8)

妊娠成功例での不妊期間は4年以内に妊娠する割合が高く, 不妊期間3年で66.0%, 4年では78.7%が妊娠した.

## 7) 妊娠成功例の治療内容

妊娠成功例において妊娠に有効と思われた治療内容は表7に示すとおりであり, 治療休止期の妊娠が15例 (31.9%), HSG 後の妊娠が13例 (27.7%) と多く認められ, 以下, AIH が4例 (8.5%), 黄体ホルモン補充

表 7 妊娠例の治療内容

| 治 療 内 容           | 妊 娠 数         |
|-------------------|---------------|
| 1. 治療休止期          | 15人 ( 31.9% ) |
| 2. HSG            | 13 ( 27.7 )   |
| 3. AIH            | 4 ( 8.5 )     |
| 4. 黄体ホルモン補充療法     | 4 ( 8.5 )     |
| 5. クロミフェン         | 3 ( 6.4 )     |
| 6. クロミフェン+AIH     | 2 ( 4.3 )     |
| 7. 卵巣楔状切除術        | 2 ( 4.3 )     |
| 8. 卵巣楔状切除術+クロミフェン | 2 ( 4.3 )     |
| 9. 卵巣腫瘍摘出術+筋腫核摘術  | 1 ( 2.1 )     |
| 10. Kaufmann 療法   | 1 ( 2.1 )     |
| 計                 | 47 (100.0 )   |

表 8 妊娠例の不妊期間

| 不 妊 期 間  | 原 発 不 妊 | 続 発 不 妊 |
|----------|---------|---------|
| ～ 2 年    | 8人      | 10人     |
| 2 年～ 3 年 | 10      | 3       |
| 3 年～ 4 年 | 5       | 1       |
| 4 年～ 5 年 | 2       | 2       |
| 5 年～ 6 年 | 4       | 1       |
| 6 年～     | 1       | 0       |
| 計        | 30      | 17      |

療法が4例 (8.5%), クロミフェン療法が3例 (6.4%), クロミフェン療法+AIH が2例 (4.3%), 卵巣楔状切除術が2例 (4.3%), 卵巣楔状切除術+クロミフェン療法が2例 (4.3%) などの内容であった.

## 8) 妊娠の予後

47例の妊娠成功例のうち40例について追跡が可能であり, 表9に示すような結果であった. 12例 (30%) が切迫流産を経過し, 妊娠中毒症は6例 (15%) に発症した. 双胎妊娠は1例 (2.5%) のみ存在し, クロミフェン療法によつて妊娠した症例であった. 最終的に40例のうち37例 (92.5%) が満期産, 2例 (5%) が自然流産, 1例 (2.5%) が早産となつた. 早産となつた1例は双胎妊娠の症例であった. 37人の満期産児については, 34児が正常成熟児であり, 巨大児, 未熟児, Down 症候群児が各々1例ずつであった.

表 9 妊娠例の妊娠予後 (40例)

|                                                                     |                  |
|---------------------------------------------------------------------|------------------|
| 〔妊娠経過〕                                                              |                  |
| 1. 切 迫 流 産                                                          | 12人 (30%)        |
| 2. 貧 血 症                                                            | 14 (35 )         |
| 3. 妊 娠 中 毒 症                                                        | 6 (15 )          |
| 4. 双 胎 妊 娠                                                          | 1 ( 2.5)         |
| 〔結 果〕                                                               |                  |
| 1. 自 然 流 産                                                          | 2人 ( 5%)         |
| 2. 早 産                                                              | 1 ( 2.5) (双胎妊娠例) |
| 3. 満 期 産                                                            | 37 (92.5)        |
| ( 経膈分娩35人 (正常児33人, SFD 児1人<br>ダウ症候群児1人)<br>帝王切開術2人 (正常児1人, 巨大児1人) ) |                  |

## IV. 考 察

当大学病院での1975年1月より1979年12月までの不妊患者について臨床統計を行った. 国際産科婦人科学会用語委員会では2年以上の不妊期間をもつものを不妊症と定義しているが, 近年, 不妊を主訴として来院する患者は早期受診の傾向にあるので, 不妊期間が2年未満であ

つても、BBT、HSG、頸管粘液検査、LHRH テスト、PRL・E<sub>2</sub>・Progesteron RIA、精液検査などのルーチンの検査を行った者についてはこの統計に加えた。1975年1月より1979年12月までに来院した挙児希望総数は206人であつたが、そのうち検査を十分に行い得た144例についての今回の統計調査の対象とした。

144例の不妊患者について原発不妊と続発不妊の割合は68.8%と31.2%であつた。この原発不妊の割合68.8%は、植村<sup>1)</sup>の66.3%、伊藤<sup>2)</sup>の66%、三上<sup>3)</sup>の66.4%よりは大きく、東出<sup>4)</sup>の72.7%、三村<sup>5)</sup>の72.4%、飯田<sup>6)</sup>の71.8%、上田<sup>7)</sup>の69%よりは小さく、諸報告のほぼ平均の割合を示した。

初診時の平均年齢は原発不妊では27.5±3.8歳(mean±S.D.)、続発不妊では28.8±2.9歳で両者間に有意差がみられた(P<0.05)。品田<sup>8)</sup>は原発不妊27.4±3.6歳、続発不妊29.1±4.1歳とし、東出<sup>4)</sup>は原発不妊27.0歳、続発不妊29.4歳と、それぞれ両者間の年齢差を報告しており、我々の統計でも有意差が認められた。

初診時の平均不妊期間は原発不妊で4.2±3.5年(mean±S.D.)、続発不妊で3.5±3.0年であり、前者の方が平均不妊期間としては長い有意差は認められなかった。三村<sup>5)</sup>も原発不妊が4年0月、続発不妊が3年11月と両者間にあまり差がないことを報告している。われわれの成績は図1のように初診時の不妊期間分布を示し、他の諸報告<sup>2,3,4,8)</sup>とほぼ同様の分布を示していた。

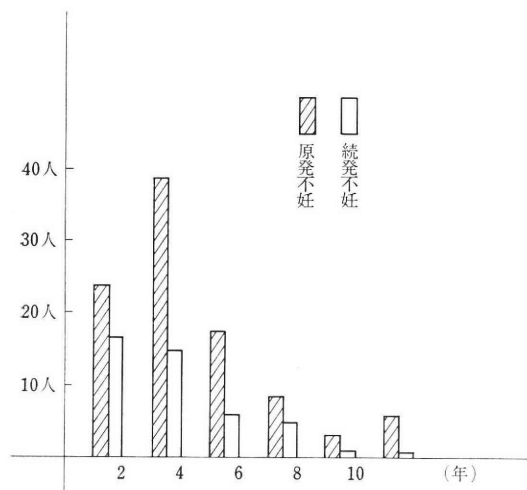


図1 初診時の不妊期間

不妊の原因についての統計において、原発不妊では卵管因子(21.2%)、排卵障害(18.2%)、卵巣機能不全(14.1%)、男性因子(13.1%)の順に多く、続発不妊では機能性不妊の割合が高く35.6%を占め、以下卵管因子

(22.2%)、排卵障害(15.6%)、卵巣機能不全(13.3%)の順であつた。原発不妊と続発不妊を総括すると、卵管因子(21.5%)、機能性不妊(20.8%)、排卵障害(17.4%)、卵巣機能不全(13.3%)の順であつた。他の報告と大体同様の傾向を示しているが、幾分差がみられ、伊藤<sup>2)</sup>は原発不妊・続発不妊を合わせた242人の原因について、無排卵周期症19.7%、卵管因子16.1%、黄体機能不全17.1%、第I度無月経11.9%、第II度無月経11.9%、男性因子7.3%、原因不明13.5%と報告している。

Dor<sup>9)</sup>は不妊患者665カップルの統計的調査にて、原発不妊では排卵障害35.1%、男性因子34.6%、卵管因子14.5%、原因不明12.4%の順に多く、また続発不妊では、排卵障害30.3%、原因不明23.1%、卵管因子19.5%、男性因子15.2%、子宮因子8%の順で多いことを報告している。各報告者によつて病因頻度に若干の差が認められるのは、各診療機関の性格上の差による患者層の違い、あるいは分類の仕方の差異によると思われる。

男性因子と機能性不妊の頻度については報告者によつてかなりの差異が認められている。われわれの統計では男性因子によるものは原発不妊が13.1%、続発不妊が2.2%であつた。三上<sup>3)</sup>の報告では原発不妊で25.6%、続発不妊で20.6%が男性因子によるものと報告しており、また、Dor<sup>9)</sup>は原発不妊で34.6%、続発不妊で15.2%の男性因子が報告されており、続発不妊においても高い頻度を示すことが注目される。以上の点より、たとえ続発不妊でも精液の検査で再確認する必要性のあることが示唆される。しかし、われわれの結果からは続発不妊についての男性因子の頻度は極めて低い値を示した。

機能性不妊に関しては近年、増加傾向が認められるが、定義の仕方に若干の差が認められる。報告者によつては黄体機能不全なども含めている場合もあるが、今回のわれわれの調査ではこれを除外し、種々のルーチン検査において全く異常を認めなかつた原因不明のもののみを機能性不妊とした。われわれの統計では機能性不妊は原発不妊で14.1%、続発不妊で35.6%の割合を示したが、他の報告でも大体同様の数値が示されている。Jones and Pourmand<sup>10)</sup>は555例の原発不妊において原因不明を90例(16.2%)報告しており、また、Cox<sup>11)</sup>は900例について、158例(17.6%)の原因不明例を報告している。関場<sup>12)</sup>は昭和36年~42年と昭和50年~51年の不妊統計を比較し、後者では機能性不妊の割合が有意に増加していることを報告している。さらに後者では、機能性不妊が39.5%、排卵障害が17.8%、男性因子が13.3%、卵管因子が8.2%、子宮因子が4.0%であつたと述べている。

不妊原因の重複度については、原発不妊で38.4%、続発不妊で11.1%が重複の原因を保持していた。このこと



は治療を行う上で注意が必要とされる。伊藤<sup>2)</sup>、成田<sup>13)</sup>は10%前後の重複率を示しており、われわれの成績では幾分割合が大きくなっているが、それは偶然そういう症例が多かったのであろうと思われる。

表 10 各報告者による妊娠率

| 報告者                         | 妊 娠 率   |         |
|-----------------------------|---------|---------|
|                             | 原 発 不 妊 | 続 発 不 妊 |
| 上 田 <sup>7)</sup> (1978)    | 13.5%   | 21.9%   |
| 成 田 <sup>13)</sup> (1979)   | 16.9%   | 24.0%   |
| 伊 藤 <sup>2)</sup> (1976)    | 21.8%   | 33.3%   |
| 三 上 <sup>3)</sup> (1977)    | 24.7%   | 29.6%   |
| 東 出 <sup>4)</sup> (1977)    | 15.2%   | 22.0%   |
| 三 村 <sup>5)</sup> (1979)    | 17.2%   | 24.0%   |
| 品 田 <sup>8)</sup> (1979)    | 31.0%   | 39.9%   |
| 林 <sup>15)</sup> (1975)     | 62.5%   | 30.0%   |
| Stone <sup>14)</sup> (1956) | 27.3%   |         |
| Jones <sup>10)</sup> (1962) | 37.4%   | —       |
| Dor <sup>9)</sup> (1977)    | 50.4%   |         |

妊娠成功率については表10の如く報告されているが、我々の統計では原発不妊が30.3%、続発不妊が37.8%を示した。患者の質的差異、follow up の期間の長さの差などにより、一概に妊娠率の比較は出来ないが、われわれの成績はほぼ平均的な値であると思われる。前述のように一般的には原発不妊よりも続発不妊の方が妊娠成功率が高い。われわれの統計でもそのような傾向は認められたが、その両者の間で統計学的な有意差はみられなかった。また、逆に、林<sup>15)</sup>は原発不妊で62.5%、続発不妊で30%と、原発不妊の方に高い妊娠成功率を報告しており、また、小畑<sup>16)</sup>は不妊期間2年までは原発不妊の方が、2年以後は続発不妊の方に妊娠率が良いことを報告しており、全体として、原発不妊と続発不妊との間に妊娠率の有意な差はないものと思われる。

原因別の妊娠率では、原発不妊では卵巣機能不全が52.9%、排卵障害が27.8%、機能性不妊が28.6%、続発不妊では機能性不妊が50%の妊娠率を示し、それらにおいて妊娠率が高い傾向がみられ、同様に、品田<sup>8)</sup>は排卵障害が45%、機能性不妊が45.3%で、それらにおいて妊娠率の高いことを報告している。関場<sup>12)</sup>は昭和36年～42年と昭和50年～51年を比較して後者で排卵障害、機能性不妊の妊娠率が上昇していることを報告しており、これらの因子に関しての治療が良くなってきたことが考えられる。

妊娠成功例の不妊期間については表8のとおりであるが、不妊期間3年以内で全妊娠例の66%が妊娠し、4年

では78.7%が妊娠した。6年以後では原発不妊で1例のみが妊娠成立をみたにすぎず、不妊期間が4年以上になると極めて妊娠が成立しにくくなることが示された。同様の報告は多くみられており、上田<sup>7)</sup>は4年で88%が妊娠成立したと報告しており、館野<sup>17)</sup>は2年で41.9%、3年で75.8%、5年で88.7%の妊娠成立を報告している。Dor<sup>9)</sup>は258人の妊娠成功例で、その84%が治療開始後1年以内に妊娠に至っていることを、また治療開始前の不妊期間については、妊娠成功例では平均2.8年であるのに対し、妊娠不成功例は平均4.3年であったことを報告し、治療開始前に長年月を経過させないことが重要であることを述べている。したがって最近の挙児希望にて来院する患者の早期受診の傾向にあるということは、その予後との関連から良い傾向と思われる。Whitelaw<sup>18)</sup>は正常健康婦人に関し、自然の妊娠率を観察し、その結果、正常婦人は86.5%の者が1年以内に妊娠に至っていることを述べている。このことから不妊期間が1年を過ぎている時は、その予後を考慮し早期受診が望まれるところである。また不妊症患者の治療において、不妊期間の初期のうちに集中的に検査ならびに治療を行う必要性のあることも示唆される。

妊娠成功例での治療内容を分析すると、われわれの統計では治療休止期群とHSG後群に高率であつた。HSGが妊娠成立に有効という報告はよく見られるが<sup>6,8,19,20)</sup>、われわれも同様の結果を得、診断以外に治療としての意義が確認された。館野<sup>19)</sup>は更に通水療法の有効性も強調している。Speroff<sup>21)</sup>はHSGの治療効果について、①mechanical lavage, ②卵管屈曲の矯正、腹膜の癒着剝離、③卵管内膜のciliaの機能改善、④頸管粘液性状の改善、⑤ヨードによる殺菌効果などをあげている。

治療休止期間中の妊娠については、それまでの治療からの解放と精神的解放およびそれまでの治療の集積効果などによる総合的な作用の結果と考えられる。機能性不妊のものがこの妊娠成功例の中に多く含まれている。不妊症の治療はとく長期にわたる傾向にあるので、時々息抜きの治療休止期を設け、薬物的あるいは精神的解放を行うことも必要と思われる。

妊娠例の予後については、追跡不能例を除くと、5%が流産し、92.5%が満期産となつた。他の報告と比べて、流産率が低く、満期産率が高い結果となつた。成田<sup>13)</sup>は原発不妊が19.4%、続発不妊が12.2%、全体で15.3%の自然流産率を報告している。小畑<sup>16)</sup>は流産率は原発不妊が1/8、続発不妊が1/4と報告し、上田<sup>7)</sup>は満期産率を82.5%と報告している。また白水<sup>22)</sup>は正常排卵群では15.2%、排卵障害群では18.2%の流産率を報告している。われわれの統計での流産率が他のこれまでの報告よ



りも低値であつたという理由の 1 つに、排卵誘発剤やホルモン療法によらない自然の状態での妊娠成立が比較的多かつたことが一因と考えられ、さらに切迫流産を妊娠初期に経験している者が 30% と高率であることより、妊娠初期からの経過観察が徹底していたためとも考えられる。不妊患者の妊娠に対しては、流産させないよう厳重な注意ならびに観察を行う必要性がある。

本論文の要旨は第 25 回日本不妊学会学術講演会ならびに総会において発表した。

## 文 献

- 植村次雄, 鴻崎次夫, 塩島令儀, 鈴木直行, 吉川絹子: 不妊患者の結婚年齢, 既往妊娠に関する統計学的考察. 日不妊会誌, 18: 188, 1973.
- 伊藤武久, 宮内文久, 木戸雄一, 右田満明, 福田 栄: 最近 2 年間の当科不妊症クリニックの現況. 日不妊会誌, 21: 188, 1976.
- 三上正憲, 植村次雄, 鈴木直行, 高口二郎, 塩島令儀: 当教室における不妊クリニック統計. 日不妊会誌, 22: 203, 1977.
- 東出香二, 下須賀洋一, 万羽 進, 成田 収: 最近の当教室における不妊外来統計. 日不妊会誌, 22: 208, 1977.
- 三村三喜男, 小川純久, 池内政弘, 中村光治, 山口賢二, 菱田克己, 小池皓二: 当科における最近 5 年間の不妊症の臨床統計. 日不妊会誌, 24: 508, 1979.
- 飯田和質, 栗野利春, 荒木克己: 過去 3 年間における不妊外来の臨床統計. 産婦実録, 24: 65, 1975.
- 上田一之, 宮内文久, 伊藤武久, 藤野俊夫, 山下三郎, 森岡 均: 最近 4 年間の当科不妊症クリニックの現況. 日不妊会誌, 23: 373, 1978.
- 品田孝夫, 竹中恒久, 横田佳昌, 大和田信夫, 阿美邦栄: 不妊外来における臨床統計的観察. 日不妊会誌, 24: 80, 1979.
- Dor, J., Homburg, R., Rabau, E.: An evaluation of etiologic factors and therapy in 665 infertile couples. *Fertil. Steril.*, 28: 718, 1977.
- Jones, G. S., Pourmand, K.: An evaluation of etiologic factors and therapy in 555 private patients with primary infertility. *Fertil. Steril.*, 13: 398, 1962.
- Cox, L. W.: Infertility: A comprehensive programme. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 82: 2, 1975.
- 関場 香, 相良祐輔: 教室の不妊外来とくに妊娠成功例を中心に. 産婦治療, 38: 72, 1979.
- 成田 収, 東出香二, 下須賀洋一, 木村 隆, 友田 豊: 教室の不妊外来とくに妊娠成功例を中心に. 産婦治療, 38: 78, 1979.
- Stone, A., Ward, M.E.: Factors responsible for pregnancy in 500 infertility cases. *Fertil. Steril.*, 7: 1, 1956.
- 林 敬平, 大森亮英, 北村進司, 野井信夫: 不妊患者の原因疾患及び男性因子の診断と治療 (第 1 報). 日不妊会誌, 20: 307, 1975.
- 小畑 義, 石原貞尚, 東山秀声, 村上 旭, 岡田弘二: わが教室における昭和 41~45 年の外来不妊統計. 日不妊会誌, 18: 44, 1973.
- 館野政也, 北川義彦, 林 義則, 舌野 徹, 朝本明弘, 松井 亮, 中曾根敬一: 最近の不妊婦人における妊娠例の retrospective observational study. 産婦治療, 40: 750, 1980.
- Whitelaw, M. J.: Statistical evaluation of female fertility. *Fertil. Steril.*, 11: 428, 1960.
- 館野政也, 森田明人: 不妊患者における診断的治療法としての 卵管疎通性検査の意義 (第 1 報). 産婦世界, 26: 457, 1974.
- 高野 昇, 清水三郎, 高見沢裕吉: 当科不妊外来における妊娠例の検討. 日不妊会誌, 20: 383, 1975.
- Speroff, L., Grass, R. H., Kase, N. G.: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1973.
- 白水 功, 鈴木直行, 植村次雄, 塩島令儀: 不妊外来妊娠成功例の妊娠, 分娩経過の検討. 日不妊会誌, 23: 193, 1978.

## Evaluation of etiologic factors and treatment on the infertile patients during past 5 years

Tetsuo Tomita, Soryu Kuwabara, Koichi SUGIURA  
Tomoaki Ishima and Kazunari Matsui

Department of Obstetrics & Gynecology  
Kanazawa Medical University

Etiologic factors and therapy was analysed on the infertile patients visited to Kanazawa Medical University Fertility Clinic from January 1975 to December 1979.

Of 144 infertile patients 68.9 % was primary and 31.2 % secondary. The primary infertile women showed average  $27.5 \pm 3.8$  years of age while that of the secondary  $28.8 \pm 2.9$  years and both differences is significant ( $p < 0.05$ ).

On the primary infertility, tubal factors were causative in 21.2 %, ovulatory disturbance in 18.2 % and ovarian dysfunction in 14.1 %. Whereas, on the secondary, no obvious factors was found in 35.5 %, tubal factor in 22.2 %, ovulatory disturbance in 15.6 % and ovarian dysfunction in 13.3 % respectively.

Causative factor of male origin was 13.1 % in the primary and 2.2 % in the secondary.

More than two causative factors were found in 38.4 % of the primary infertile and in 11.1 % of the secondary.

Chances of successful treatment on the primary infertile and the secondary were 30.3 % and 37.8 % respectively.

Pregnancy rate of primary infertile was 52.9 % in ovarian dysfunction, 27.8 % in ovulatory disturbances and 28.6 % in no obvious etiology while 50 % in that of the secondary infertile.

Chances of successful treatment were 66 % in 3 years exposure time before treatment was began and 78.7 % in 4 years.

Only one case was succeeded with more than 6 years exposure time. Therefore it may be suggested that earlier starting examination and treatment is crucial.

In the pregnant cases, 31.9 % was succeeded by suspending therapy, 77.7 % by hysterosalpingography, 8.5 % by AIH, 8.5 % by supplement therapy with progesterone and 6.4 % by clomid.

Most pregnant cases, 92.5 %, were delivered at full term, but early pregnancy loss occurred in 5 % and premature delivery in 2.5 %.

(受付：昭和57年4月23日)

# われわれの行っている精液静置法 “layering method” による 精液中からの良好精子の分離

A “Layering Method” to Separate a Population  
of Good Spermatozoa from Semen Sample

東北大学医学部産科学婦人科学教室

星 和 彦 長 池 文 康 桃 野 耕 太 郎  
Kazuhiko HOSHI Fumiyasu NAGAIKE Kotaro MOMONO

京 野 広 一 対 木 章 斉 藤 晃  
Koichi KYONO Akira TSUIKI Akira SAITO

鈴木 雅 洲  
Masakuni SUZUKI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tohoku University 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

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

---

精液中から運動良好精子を分離回収するために用いられている“精液静置法”の有用性を、運動良好精子の回収成績から検討した。

精液中の精子運動率は57.2~86.1%，形態学的に正常な精子の割合は68.3~92.5%であったが，“精液静置法”開始1時間後に回収された精子では、それぞれ95.9~100.0%，82.0~93.2%といずれも精液中より上昇していた。

本法による、運動性が良好でかつ形態学的にも正常な精子の1時間後の回収率は59.3~97.6%と良好であった。

1時間後、2時間後、3時間後に回収されたものについて比較したが、回収率・運動性・形態学的正常性

とも1時間後に回収された精子で高く、本法による回収時間は1時間後が最も適当と思われた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 28(1), 101-105, 1983)

## 緒 言

精液中より運動性良好の精子を分離して効率よく回収することは、*in vitro* での受精現象を研究するうえで必要である。精液静置法 (layering method) は磯島ら<sup>1)</sup>によつてこの目的のため考案された方法であるが、われわれは磯島原法を多少修正した精液静置法を採用して研究に用いている。今回のその方法で回収された精子を分析したので、その成績について述べ、この方法の有用性について考察を加えたいと思う。

## 方法・材料

われわれの用いている方法の概略を図1に示した。

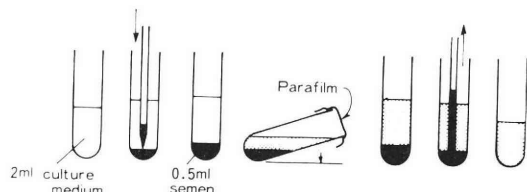


図1 A “layering method” to separate a population of vigorously motile spermatozoa from semen sample.

直径15mmの小試験管を用意し、中に2.0mlのculture medium (今回はTyrode's液を使用)を分注する。Tyrode's液の組成は表1に示した。

用手法にて得られた精液を20分間室温に置いて十分液化させたのち、culture mediumの入った小試験管の管底に0.5mlずつ静かに注入する。できるだけ混ざらない

表1 Composition of standard medium used.

| Component                                         | Tyrode       |  |
|---------------------------------------------------|--------------|--|
|                                                   | g/l          |  |
| NaCl                                              | 8.000        |  |
| KCl                                               | 0.200        |  |
| CaCl <sub>2</sub>                                 | 0.200        |  |
| MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O               | 0.100        |  |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O | 0.050        |  |
| NaHCO <sub>3</sub>                                | 1.000        |  |
| Glucose                                           | 1.000        |  |
| Human serum albumin                               | 3.000( 0.3%) |  |

ようにし、精液と culture medium の2つの層ができるようにする。

試験管口をParafilmでシールし、精液とmediumとの接触面が大きくなるように30°の傾斜をつけて37°Cのincubator内に静置する。

運動性良好精子は、この間に精液中より culture medium中に“swim up”して来る。

静置後、1・2・3時間目に1本ずつ試験管を取り出し、culture medium中に移行して来た精子について分析を加え、精液中での所見と比較検討した。

精子の運動率は、正確さを期すためMakler<sup>2)</sup>のmultiple exposure photography methodを用いて測定した。

## 成 績

表2は、今回検討した4例の精液所見を示したもので

表2 Semen analysis

|                                      | Case A-1     | A-2          | B            | C            |
|--------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Sperm density ( $\times 10^6$ /ml)   | 70           | 95           | 210          | 147          |
| Motility (% motile spermatozoa)      | 57.2         | 65.7         | 86.1         | 57.8         |
| Morphology (% normal spermatozoa)    | 83.0         | 88.2         | 92.5         | 68.3         |
| Vitality (% alive spermatozoa)       | 85.5         | 79.5         | 93.9         | 95.5         |
| Volume (ml)                          | 4.5          | 1.9          | 1.8          | 2.0          |
| Color                                | Whitish gray | Whitish gray | Whitish gray | Whitish gray |
| Odor                                 | Normal       | Normal       | Normal       | Normal       |
| Degree of liquefaction (37°C, 20min) | Complete     | Complete     | Complete     | Complete     |
| Viscosity                            | High         | High         | Normal       | Normal       |
| pH                                   | 8.0          | 7.2-7.6      | 7.2-7.6      | 7.2-7.6      |
| Coagulation                          | Absent       | Absent       | Absent       | Present      |

表 3 Analysis of spermatozoa collected by the “layering method”

| Case A-1        |      | Sperm density<br>( $\times 10^6/\text{ml}$ ) | Motility<br>(% motile<br>spermatozoa) | Morphology<br>(% normal<br>spermatozoa) | Vitality<br>(% alive<br>spermatozoa) |
|-----------------|------|----------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|
| Semen           |      | 70                                           | 57.2                                  | 83.0                                    | 85.5                                 |
| Collection time | 1hr  | 7.2                                          | 97.2                                  | 90.2                                    |                                      |
|                 | 2hrs | 5.9                                          | 85.2                                  | 90.2                                    |                                      |
|                 | 3hrs | 7.6                                          | 52.6                                  | 87.9                                    |                                      |
| Case A-2        |      |                                              |                                       |                                         |                                      |
| Semen           |      | 95                                           | 65.7                                  | 88.2                                    | 79.8                                 |
| Collection time | 1hr  | 9.3                                          | 96.6                                  | 90.9                                    |                                      |
|                 | 2hrs | 9.3                                          | 85.5                                  | 90.4                                    |                                      |
|                 | 3hrs | 9.1                                          | 95.9                                  | 95.7                                    |                                      |
| Case B          |      |                                              |                                       |                                         |                                      |
| Semen           |      | 210                                          | 86.1                                  | 92.5                                    | 93.9                                 |
| Collection time | 1hr  | 38.7                                         | 95.9                                  | 93.2                                    |                                      |
|                 | 2hrs | 34.8                                         | 95.5                                  | 92.0                                    |                                      |
|                 | 3hrs | 29.7                                         | 93.2                                  | 92.5                                    |                                      |
| Case C          |      |                                              |                                       |                                         |                                      |
| Semen           |      | 147                                          | 57.8                                  | 68.3                                    | 95.5                                 |
| Collection time | 1hr  | 17.3                                         | 100.0                                 | 82.0                                    |                                      |
|                 | 2hrs | 16.3                                         | 97.5                                  | 81.1                                    |                                      |
|                 | 3hrs | 12.9                                         | 88.0                                  | 76.8                                    |                                      |

ある。精子濃度は  $70 \sim 210 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率は  $57.2 \sim 86.1\%$ 、形態学的に正常な精子の割合は  $68.3 \sim 92.5\%$ 、生存精子の割合は  $79.8 \sim 95.5\%$  と正常範囲であり、精液（精漿）の性状もほぼ正常なものであった。

表 3 は、各例の静置法開始 1 時間・2 時間・3 時間後における culture medium 中の精子濃度・運動率・形態学的正常性を精液中のものと比較したものである。精子濃度は精液中にくらべ  $1/10$  くらいに減少しているが、運動率はほとんどが  $90\%$  以上を示し、形態学的に正常な精子の割合も culture medium 中のものは  $90\%$  前後を示している。運動率・正常性とも明らかに精液中より上昇している。回収時間別にみると、いずれも静置 1 時間後の

ものが最も良好で、時間の経過とともに低下するのが明らかである。

表 4 は、実精子数で比較したものである。1 本の試験管には、正確に精液が  $0.5\text{ml}$ 、culture medium が  $2.0\text{ml}$  入っているので、計算上の精子数は表 4 のようになる。カッコ内の数字は回収率を示したものである。回収率は良好なもので  $70\%$ 、大体が  $30 \sim 40\%$  で、やはり 1 時間後における回収率が最良である。

射出精子で、最低限の受精能力を有していると考えられるものは、運動性がありしかも形態学的に正常な精子であろうと思われる。そこでこの“良好精子” (good sperm) がいかに回収できたかを計算して示したのが表

表 4 No. of spermatozoa in  $0.5\text{ml}$  semen and in  $2.0\text{ml}$  culture medium

|                | Case A-1           | A-2                | B                   | C                  |
|----------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Semen          | $35.0 \times 10^6$ | $47.5 \times 10^6$ | $105.0 \times 10^6$ | $73.5 \times 10^6$ |
| Culture medium |                    |                    |                     |                    |
| 1hr            | 14.4 (41.1%)       | 18.6 (39.2%)       | 77.4 (73.7%)        | 34.6 (33.0%)       |
| 2hrs           | 11.8 (33.7%)       | 18.6 (39.2%)       | 69.6 (66.3%)        | 32.6 (31.0%)       |
| 3hrs           | 15.2 (43.4%)       | 18.2 (38.3%)       | 59.4 (56.6%)        | 25.8 (24.6%)       |

表 5 No. of motile and normal spermatozoa in 0.5ml semen and in 2.0ml culture medium

|                | Case A-1           | A-2                | B                  | C                  |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Semen          | $16.6 \times 10^6$ | $27.5 \times 10^6$ | $83.6 \times 10^6$ | $29.0 \times 10^6$ |
| Culture medium |                    |                    |                    |                    |
| 1hr            | 12.7 (76.5%)       | 16.3 (59.3%)       | 69.0 (82.5%)       | 28.3 (97.6%)       |
| 2hrs           | 9.1 (54.8 )        | 14.4 (52.4 )       | 61.2 (73.2 )       | 25.8 (89.0 )       |
| 3hrs           | 7.0 (42.2 )        | 16.7 (60.7 )       | 51.2 (61.2 )       | 17.4 (60.0 )       |

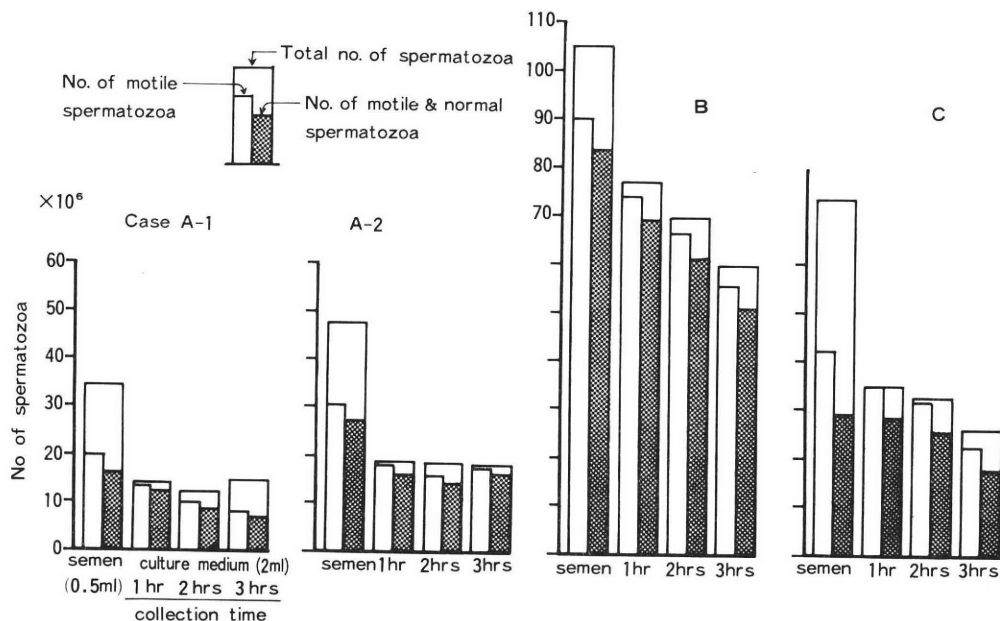


図 2 No. of spermatozoa in 0.5 ml semen and no. of spermatozoa swimming up into 2.0 ml culture solution

5である。実数とカッコ内に回収率を示した。計算法は下記の通りである。

$$\text{良好精子数} = \left\{ \frac{\text{精液内精子総数 (0.5ml)}}{\text{回収精子総数 (2.0ml)}} \right\} \times \text{運動率} \times \text{形態学的正常精子率}$$

良好精子の回収率は、60%から最も良好なもので98%であった。

以上の成績をグラフにしてまとめたのが、図2である。太いバーが精子総数を、細い左側のバーが運動精子総数を、右側のが良好精子総数を示している。良好精子の回収率が良好なことが明らかであり、時間別では1時間後回収のものが最も良好である。

### 考 案

in vitro での受精研究を行う際には、良好精子 (good sperm) を効率よく収集することが必要であり、個々の

精液中の精子の受精能を比較検討するうえでも、良好精子の濃度をほぼ同様に実験・比較することが重要である。この点からもわれわれの用いている“精液静置法”は良好精子の回収率に優れ、有用性の高い方法と思われる。

今回の検討では、culture medium として比較的組成の単純な Tyrode's 液を用いたが、実際の in vitro 受精実験の場合は、そのとき培養に用いるのと同じ culture medium を使用している。

回収の時間は、今回の研究からも明らかなように静置後1時間が最も成績が良いので、1時間後としている。静置1時間後、管底に残った精液(精漿)を注意深く pipet にて吸引排除し、残った上清 (culture medium) を各試験管より遠心管に集め、遠心法にて2回 culture medium で洗浄 ( $230 \times g$ , 5分間) し、残った sperm pellet に少量の culture medium を加えて、必要とする濃度の精子浮遊液を作製している。

AIH (artificial insemination with husband's semen, 配偶者間人工授精) などの人工授精を行う際、現在ではほとんどの施設で精液をそのまま子宮内に入れる方法がとられている。子宮内に注入可能な精液量は限られているうえ、精漿中には精子の capacitation を阻害する物質が含まれていることも推測されている。受精能を有している良好精子だけを精液中から効率よくとり出し、確実に子宮内に入れることが出来れば、従来式の人工授精法よりは有効性が高いと考え、“精液静置法”で得られた精子での人工授精を検討してみた。外来で簡単に作製できる culture medium として市販の Ringer 液に 0.1% の glucose を加え、7% 重ソウ液 (メイロン) にて pH を 7.5 前後に調製した modified Ringer 液を使用している。表 6 はこの modified Ringer 液で回収された精子と、in vitro 受精実験でわれわれがよく用いている culture medium の modified Biggers, Whitten and Whittingham 液<sup>3)</sup> (mBWW 液) にて回収された精子について、受精能力に差が生じるか否かを、Yanagimachi ら<sup>4)</sup>によつて確立された透明帯除去ハムスター卵とヒト精子との in vitro 受精実験系を用いて比較検討したものである。静置時間はいずれも 1 時間としたが、受精率に差は認められない。

現在までこの方法で 10 数例の AIH を施行し、3 例が妊娠に成功している。1 例は性交中射精不能症で、従来式では 9 度失敗していたが、10 度目に本法による AIH で妊娠に成功、3400gr の男児を帝王切開にて無事分娩した。1 例は逆行性射精の couple に対して行われたもので、本法による 3 回目の AIH で妊娠に成功し、現在妊娠 10 週である。もう 1 例は乏精子症であつたが、流産に終わっている。今後、症例を増やしてさらに検討したいと考えている。

## 文 献

- 1) Isojima, S. and Koyama, K.: Microtechnique of sperm immobilization test. *Immunology of Reproduction*. 215, 1978 (ed. K. Bratanov. Bulgarian Academy of Science.).
- 2) Makler, A.: A new multiple exposure photography method for objective human spermatozoal motility determination. *Fertil. Steril.*,

30 : 192, 1978.

- 3) 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.
- 4) 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.

A “layering method” to separate a population of good spermatozoa from semen sample

**Kazuhiko Hoshi, Fumiyasu Nagaike,  
Kotaro Momono, Koichi Kyono,  
Akira Tsuiki, Akira Saito  
and Masakuni Suzuki**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tohoku University School of Medicine

**Keiko Hayashi**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Fukui-kenritsu Hospital

**Ryuzo Yanagimachi**

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

Usefulness of a layering method used for separation of “good” (with regard to vigorous motility and normal morphology) spermatozoa from semen samples was investigated.

Percent motility of spermatozoa in semen samples were 57.2 to 86.1%, and percent normal morphology were 68.3 to 92.5%. While, percent motility and percent normal morphology of spermatozoa collected by a layering method indicated 95.9 to 100.0% and 82.0 to 93.2%. The collection rate of good spermatozoa obtained by this method from semen samples were 59.3 to 97.6%.

These data suggest that a layering method is very useful to collect good spermatozoa from semen samples.

(受付: 昭和 57 年 2 月 12 日)

## 男子不妊症の外科的治療

### Operative Treatment for Male Infertility

国立霞ヶ浦病院泌尿器科

石川 博通 根本 真一

Hiromichi ISHIKAWA Shinichi NEMOTO

Department of Urology, Kasumigaura

National Hospital

慶応義塾大学医学部泌尿器科

相川 厚 篠田 正幸 長倉 和彦

Atsushi AIKAWA Masayuki SHINODA Kazuhiko NAGAKURA

中 藺 昌 明 田 崎 寛

Masaaki NAKAZONO Hiroshi TAZAKI

Department of Urology, School of Medicine,

Keio University

男子不妊症56例に対し、外科的治療をおこない、その成績について検討した。

造精機能回復を目的として、精索静脈瘤36例に高位結紮術をおこない、両側停留辜丸5例に辜丸固定術を、片側停留辜丸2例に除辜術を施行した。また、閉塞性無精子症例においては、精管精管吻合術を4例に、精管副辜丸吻合術を9例におこなった。

(1) 高位結紮術の成績は、有効率58.4%で妊娠率16.7%であった。(2) 辜丸固定術では、精液内の精子の出現および妊娠は認めず、除辜術では有効率100%で、妊娠率50%であった。(3) 精管精管吻合術においては、精子出現率は75%であったが、妊娠の成立はなかった。(4) 精管副辜丸吻合術の精子出現率は55.6%で、妊娠率22.2%であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 106-109, 1983)

#### 緒 言

男子不妊症の治療には、薬物治療と外科的治療がある。前者では各種ホルモン療法を中心に多くの薬剤が試みられているが、決して満足のいく成績は得られず、外科的治療に委ねられる症例も少なくない。

外科的治療は、造精機能の回復をはかるものと、精子輸送路の器質的閉塞を除去するものとに大別して考えられ、前者では精索静脈瘤に対する手術、停留辜丸に対する手術をおこない、後者では精管精管吻合術および精管副辜丸吻合術をおこなった。

これらの手術術式および成績の検討をするとともに、

外科的治療の意義について考察を加えたので報告する。

#### 対象および方法

過去2年間に慶応義塾大学医学部泌尿器科において73例の男子不妊症例に外科的治療をおこなったが、そのうち術後6カ月以上経過観察が可能であった56例を対象とした。

精索静脈瘤36例は全例乏精子症であり、これらに対し高位結紮術を施行した。さらに両側停留辜丸で無精子症の5例に辜丸固定術を、片側停留辜丸で乏精子症の2例には除辜術をおこなった。

また閉塞性無精子症例は13例で、精管結紮後の4例に



表 1 男子不妊症の外科的治療

|                 |     |
|-----------------|-----|
| 造精機能回復を目的とするもの  |     |
| 1. 精索静脈瘤高位結紮術   | 36例 |
| 2. 両側辜丸固定術      | 5   |
| 3. 片側除辜術        | 2   |
| 器質的閉塞除去を目的とするもの |     |
| 1. 精管精管吻合術      | 4例  |
| 2. 精管副辜丸吻合術     | 9   |

精管精管吻合術を、慢性副辜丸炎の 9 例に精管副辜丸吻合術を、ともに microscopic technique を用いておこなった (表 1)。

それぞれの術式の妊娠成立率を検討し、乏精子症例では、術後精子濃度が術前の 50% 以上増加したものを有効とし、有効率を算定した。また無精子症例では、精液内の精子出現率を算定した。

### 成 績

精索静脈瘤 36 例の高位結紮術の成績は、有効 21 例で有効率は 58.4% であった。また 6 例に妊娠を認め、妊娠成立率は 16.7% であった (図 1)。

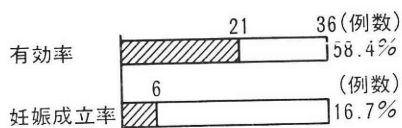


図 1 高位結紮術の成績  
斜線部分が有効率、  
妊娠成立率を示す。

両側停留辜丸 5 例に対する辜丸固定術では精液内の精子の出現および妊娠の成立を認めず片側停留辜丸 2 例に対する除辜術の成績は有効率 100% で 1 例 (50%) に妊娠が成立した (図 2)。

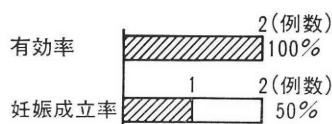


図 2 除辜術の成績  
斜線部分が有効率、  
妊娠成立率を示す。

精管精管吻合術 4 例中の精液内精子出現は 3 例 (75%) に認められたが、妊娠の成立はなかった (図 3)。

精管副辜丸吻合術は 9 例とも側々吻合をおこなったが、精子の出現は 5 例 (55.6%) に認められ、2 例 (22.2%) の妊娠が成立した (図 4)。



図 3 精管精管吻合術の成績  
斜線部分が精子出現率を示す。  
妊娠成立率はみられなかった。

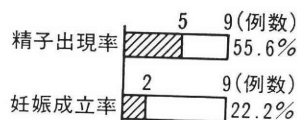


図 4 精管副辜丸吻合術の成績  
精子出現率は 50% 以上に  
みられたが、妊娠成立は  
9 例中 2 例にみられた。

### 考 察

男子不妊症の外科的治療を考えるにあたり手術の性質で 2 つに大別するのが妥当であろう。第 1 は造精機能の回復を目的とするものであり、精索静脈瘤に対する手術、停留辜丸に対する手術、またソケイヘルニアおよび陰嚢水腫に対する手術等があげられる。第 2 は閉塞性無精子症例の器質的閉塞除去を目的とするもので、精管精管吻合術、精管副辜丸吻合術、精管辜丸吻合術等があげられる。

前者では、基礎疾患の存在により造精機能がどのような機序で障害されるかを解明することが、後者では、如何に精子の疎通性を恒常的に得られるかが、まず第一の問題となってくる。

精索静脈瘤の発生機序は静脈血の逆流<sup>1-3)</sup>と考えてよいが、それによりなぜ造精機能が障害されるかは、不明な点が多い。現在までに主に 3 つの説が考えられており、1 つは陰嚢内温度の上昇であり<sup>3)</sup>、次に酸素分圧低下説<sup>4)</sup>があり、最後に、内分泌物質の逆流が考えられている。最近では内分泌物質の逆流という説に関して多くの知見が示されており、内分泌物質として、カテコールアミン<sup>5)</sup>やゴナドトロピン<sup>6)</sup>の他にプロスタグランディン<sup>7)</sup>、セロトニン<sup>8)</sup>等も注目されている。

高位結紮術の妊娠率は、われわれの成績では、16.7% であったが、諸家の長期経過観察により 30~55%<sup>9,10)</sup>と非常に高い成績が示されており、男子不妊症の治療として最良の手段の一つと言えよう。今後は、造精機能障害の発生機序の解明とともに、腸骨静脈からの逆流に対する処置などについて再考し<sup>11)</sup>、術式を検討すべきであろう。

停留睾丸の場合は、両側例はいずれも無精子症で、睾丸固定術の効果は皆無であつたのに対し、片側性の乏精子症2例では、患側の除睾丸によりともに精液所見が正常化し、うち1例に妊娠が成立したことは注目に値する。即ち両側性では、先天的な側面からの追求が不可欠であり、男子不妊症という疾患に対する治療法として考えることは非常に困難であるが、片側性で対側睾丸の造精機能の保たれている場合には、この治療法が有意義であることがわれわれの成績により示された。またこの際の治癒機転の一つとしては、現在のところでは、停留睾丸の持つ免疫学的異常の解決が考えやすい<sup>12)</sup>。

閉塞性無精子症に対しては、精管精管吻合術および精管副睾丸吻合術をおこない、その成績では、いずれも精子疎通率は高率であつた。このことは microscopic technique に負うところが大きい<sup>13)</sup>、妊娠成立率は低く精子の質が問題となると考えられた。この理由としては、本来閉鎖システムであるべき精子輸送路が障害され、免疫学的異常が生ずること、炎症の存在およびその治癒機転において組織が変性し、精子の成熟障害さらには栄養障害を来すことが考えられる。また精管副睾丸吻合術においては、その吻合部位も、精子の質と関連してくると思われるが、副睾丸各部における機能の相異を、特に各種ホルモンに対する反応性の変化等を考慮し、解明しなければならない。

#### 参考文献

- 1) 前川正信, 新 武三: 精索静脈瘤, 臨泌, 28: 497, 1974.
- 2) Brown, J. S., Dubin, L. and Hotchkiss, R. S.: The varicocele as related to fertility. *Fertil. Steril.* 18: 46, 1967.
- 3) Comphaire, F., Montegue, R. and Kunnen, M.: The value of scrotal thermography as compared with selective retrograde venography of the internal spermatic vein for the diagnosis of subclinical varicocele. *Fertil. Steril.* 27: 694, 1976.
- 4) Donohue, R. E. and Pnown, J. S.: Blood gases and PH determination in the internal spermatic veins. *Fertil. Steril.* 20: 365, 1969.
- 5) Cohen, M. S., Plaine, L. and Brown, J. S.: The role of internal spermatic vein plasma catecholamine determination in subfertile men with varicocele. *Fertil. Steril.* 26: 1243, 1975.
- 6) Swerdloff, R. S. and Walsh, P. C.: Pituitary and gonadal hormone in patients with varicocele. *Fertil. Steril.* 26: 1006, 1975.
- 7) 島崎 淳: 男子不妊症の最近の問題, 第26回日本不妊学会総会, 特別講演, 1981.

- 8) Cockett, A. T. K.: Recent developments in the treatment of male infertility: Emphasis of the varicocele and asymptomatic infection.
- 9) Hanly, H. G. and Harrison, R. G.: Nature and surgical treatment of varicocele. *Br. J. Surg.* 50: 64, 1962.
- 10) Dubin, L. and Amelar, R. D.: Varicocelectomy as therapy in male infertility: A study of 504 cases. *Fertil. Steril.* 26: 217, 1975.
- 11) Coolsalt, B. L. R. A.: The varicocele syndrome: venography determining the optimal level for surgical management. *J. Urol.* 124: 833, 1980.
- 12) 山崎 彰: 停留睾丸における免疫学的研究, 日不妊誌, 27: 89, 1982.
- 13) Belker, A. M., Acland, R. D., Sexter, M. S. and Roberts, T. L.: Microsurgical two-layer vaso-vasostomy: Laboratory use of vasectomized segments. *Fertil. Steril.* 29: 48, 1978.
- 14) Witkin, S. S. and Higgins, P. J.: Effects of vasectomy and antisperm antibodies on human seminal fluid deoxyribonucleic acid polymerase activity. *Fertil. Steril.* 29: 314, 1978.

#### Operative treatment for male infertility

Hiromichi Ishikawa and Shinichi Nemoto

Department of Urology, Kasumigaura National Hosp.

Atsushi Aikawa, Masayuki Shinoda, Kazuhiko Nagakura, Masaaki Nakazono and Hiroshi Tazaki

Department of Urology, School of Medicine, Keio Univ.

The result of surgical treatment in 56 infertile men was evaluated. In 36 cases with 1t. varicocele, high ligation of the central testicular veins was performed for improvement of spermatogenesis. In 5 cases with bilateral undescending testis, bilateral orchiopexies were done and in 2 cases with undescending testis, orchiectomies were carried out. In obstructive azoospermia cases, either vaso-vaso or epididymo-vaso anastomosis was performed in 4 and 9 cases respectively. The effective rate of high ligation procedure was 58.4 % and the conception rate of this group was 16.7 %. In bilateral orchiopexy group, neither improvement in sperm count nor conception was observed. The effective rate of orchiectomy group was 100 %, and its conception rate was

50 %. In the vaso-vaso anastomosis group, sperm appearance rate was 75 % after the operative treatment, but no conception was obtained. In the epididymo-vaso anastomosis group, the sperm

appearance rate was 55.6 % and its conception rate was 22.2%.

(受付：昭和57年3月5日)

# 無睾丸症の臨床的検討

—興味ある小児例の経験—

Clinical Studies of Congenital Anorchia  
—A report of three interesting prepubertal cases—

北海道大学医学部泌尿器科（主任：辻 一郎教授）

野々村 克也 永 森 聡 佐々木 絹子  
Katsuya NONOMURA Satoshi NAGAMORI Kinuko SASAKI

平野 哲夫 小柳 知彦  
Tetsuo HIRANO Tomohiko KOYANAGI

Department of Urology (Director: Prof. I. Tsuji)  
Hokkaido University School of Medicine

北海道大学医学部小児科（主任：松本脩三教授）

藤枝 憲二 松浦 信夫  
Kenji FUJIEDA Nobuo MATSUURA

Department of Pediatrics (Director: Prof. S. Matsumoto)  
Hokkaido University School of Medicine

旭川市立病院泌尿器科

本村 勝 昭  
Katsuaki MOTOMURA

Department of Urology, Asahikawa City Hospital

---

小児の無睾丸症3例を報告した。そのうち2例は先天性心疾患その他の合併奇形を有していた。他の1例は、尿道下裂を伴い、術前 HCG 刺激による血清テストステロン値の上昇が認められ、術後はその反応が低下した。

当教室254例の停留睾丸手術で、無睾丸症は4例（1.5%）であり、これに単睾丸症をも含め、手術時睾丸の発見されない率は9.4%となり、従来の報告に比べ高率であった。

無睾丸症を Testicular Regression Syndrome の1つとして文献的考察を行い、本症は胎生後期の血行障害などによつて起こることが多く、他の睾丸発生障害の病因とは趣を異にしているように思われた。また文献上、無睾丸症で出産後もT産生能を保有し、しかも外性器が ambiguous なものが散見され、このような例の説明として、外性器の形態は、胎生睾丸の消失時期のみならず、その時期のアンドロジェンの質と量により支配されると考えたいことを述べた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 110-117, 1983)

---

## はじめに

潜伏睾丸は尿道下裂と共に、男子性分化異常の中で最

も数多く経験されるものであり、その中には、広義の Intersex や間脳一下垂体系の異常をもつ例があることはよく指摘されている。しかし、これらの疾患を有する

小児は、3歳から6歳頃に手術が行われており、その時点で、将来十分な男性機能、妊孕力をもつか否かを判定することは、親の強い希望にもかかわらず困難なことが多い。

これら小児の睾丸機能を予測する目的で、われわれは LHRH、HCG 負荷による血中 Gonadotropin (以下 GnH と略す)、テストステロン (以下 T. と略す.) の動態を調べ診断の一助としているが、最近、HCG の刺激により有意の T. の上昇が認められたのにもかかわらず、試験開腹にて睾丸組織を見い出せなかつた、いわゆる無睾丸症の1例を経験した。よつて、先天性疾患を有する他の2例と共に報告し、併せて無睾丸症に関し若干の考察を加え、更に、最近25年間に北大泌尿器科教室で行われた停留睾丸手術で睾丸の発見出来なかつた症例についての検討した。

## 症 例

### 症例 1 4 歳

再発性尿路感染と両側陰嚢内容欠如を主訴として受診。生後6カ月で室室中隔欠損症を指摘されている。

現症：身体発育は良好で、外陰部も両側陰嚢内容を感じない以外は正常であつた。

検査成績：一般血液、生化学検査正常。総腎機能は正常範囲であつたが、IVP で右尿管の拡張をみると、排尿時膀胱撮影にて、両側の膀胱尿管逆流がみられた。

手術所見：精管は、左右ともに存在し、細い精索動静脈とともに鼠径管に入っているが、外鼠径輪近くで、左側は精管の先端が線維状となつて終わり、右側はその先に小豆大の構造物を認めたのでこれを試切したが、睾丸組織は発見できなかった。

組織学的には、右精管先端構造物は副睾丸組織であり、睾丸組織はみられなかつた (写真1)。(昭和48年不妊学会北海道地方会本村勝昭報告)<sup>1)</sup>

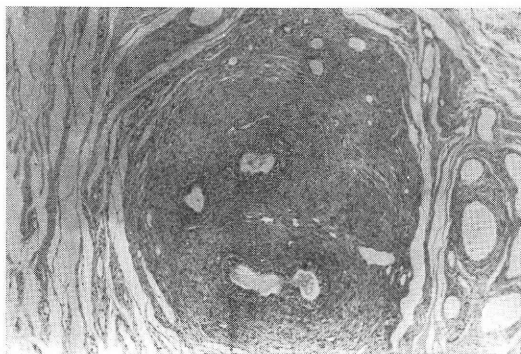


写真 1 症例 1 右精管先端部の発育不全な副睾丸組織

### 症例 2 5 歳

両側陰嚢内容欠如を主訴として受診、生後11カ月で肺動脈弁狭窄を指摘されている。

現症：知能低下 (IQ 51) がみられ、低身長である。外陰部は、陰茎は年齢に比し小さく、両側陰嚢内容を感じしない。

検査成績：身長93cm (-3.6SD)、体重15kg (-1.4SD)、骨年齢2歳相当。一般血液、生化学検査正常。IVP 正常。染色体検査46XY。

内分泌学的検査 (表1) では、成長ホルモン、下垂体一甲状腺系、副腎皮質ホルモンに異常を認めなかつた。LH-RH (2 $\mu$ g/kg) に対する GnH の反応は正常、HCG (4000IU/m<sup>2</sup>) 刺激に対して、T は、基礎値24.5、最高値35.5ng/dl と有意の上昇が認められなかつた。

表 1 Case 2. Hormonal Findings

|                         |            |      |      |      |      |      |
|-------------------------|------------|------|------|------|------|------|
| 1) u. 17-KS             | 1.1 mg/day |      |      |      |      |      |
| 17-OHCS                 | 2.1 mg/day |      |      |      |      |      |
| 2) LHRH & TRH Test      |            |      |      |      |      |      |
|                         | basal      | 15'  | 30'  | 60'  | 90'  | 120' |
| LH(mIU/ml)              | 8.6        | 9.1  | 13.1 | 8.1  | 6.5  | 2.6  |
| FSH(mIU/ml)             | 3.8        | 7.9  | 8.4  | 8.6  | 8.6  | 5.8  |
| TSH( $\mu$ U/ml)        | 5.2        | 17.0 | 17.0 | 12.0 | 8.3  | 5.2  |
| 3) Insulin Test         |            |      |      |      |      |      |
|                         | basal      | 15'  | 30'  | 60'  | 90'  | 120' |
| GH(ng/ml)               | 1.0        | 0.6  | 2.3  | 26.5 | 10.2 | 5.7  |
| CS( $\mu$ g/dl)         | 26         | 19   | 36   | 40   | 26   | 38   |
| BS(mg/dl)               | 67         | 33   | 43   | 46   | 58   | 62   |
| 4) HCG Stimulation Test |            |      |      |      |      |      |
|                         | basal      | 24°  | 48°  | 72°  |      |      |
| Testosterone (ng/dl)    | 24.5       | N.D. | 24.3 | 35.5 |      |      |

他の合併異常も考慮し、家族と相談の上、試験開膜は行わなかつたが、無睾丸症と判断し、経過観察とした。

### 症例 3 6 歳

生後1カ月で外性器異常を主訴として受診。両側潜伏睾丸および尿道下裂と診断、この度、手術のため入院した。

現症：体格は、肥満傾向であるが、年齢相当と思われた。陰茎の大きさは年齢相当で、陰茎陰嚢部尿道下裂を示す。陰嚢は発育不良で内容物を感知しない。

検査成績：身長121cm、体重28kg。一般血液、生化学検査正常。IVP 正常。尿道造影で後部尿道に男性陰は

表 2 Case 3. Hormonal Findings

## 《Pre-operative Data》

1) u. 17-KS 1.6 mg/day  
17-OHCS 4.8 mg/day

## 2) LH-RH &amp; TRH Test

|                  | basal | 15' | 30' | 60' | 90' | 120' |
|------------------|-------|-----|-----|-----|-----|------|
| LH(mIU/ml)       | 4.9   | 22  | 27  | 24  | 20  | 19   |
| FSH(mIU/ml)      | 6     | 17  | 31  | 29  | 31  | 30   |
| PRL(ng/ml)       | 19    | 50  | 43  | 28  | 21  | 24   |
| TSH( $\mu$ U/ml) | 2.2   | 9.4 | 7.4 | 3.8 | 2.5 | 3.0  |

## 3) HCG Stimulation Test

|                      | basal | 24°  | 48° | 72° |
|----------------------|-------|------|-----|-----|
| Testosterone (ng/dl) | 9.6   | 21.2 | 71  | 117 |

## 《Post-operative Data》

## 1) ACTH Test

|                      | basal | 30' | 60' | 90' | 120' |
|----------------------|-------|-----|-----|-----|------|
| Testosterone (ng/dl) | 4.8   | 6.2 | 6.9 | 4.9 | 4.3  |

## 2) DXM-HCG Test

|                      | basal | 24° | 48° | 72° | 96°  | 120° |
|----------------------|-------|-----|-----|-----|------|------|
| Testosterone (ng/dl) | 4.6   | 3.6 | 7.1 | 7.2 | 18.4 | 32.4 |

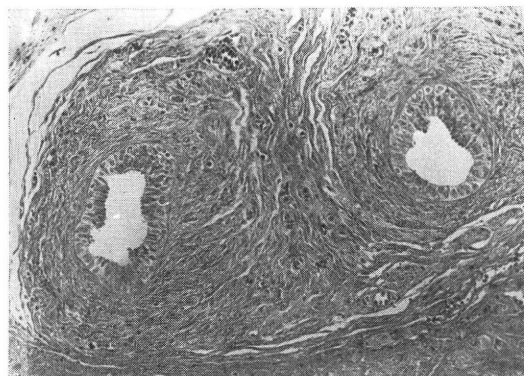


写真 2 症例 3 左副睾丸組織, Leydig 細胞の存在は証明できなかった。

証明されない。染色体検査 46XY。内分泌学的検査(表 2)では、尿中 17-KS, 17-OHCS 正常。TRH (5 $\mu$ g/kg) に対する Prolactin, TSH の反応正常。LH-RH (2 $\mu$ g/kg) に対する GnH の反応は、基礎値は LH 4.9 (mIU/ml), FSH 6.0 mIU/ml であり、最高値は、LH 27 (mIU/ml), FSH 31 (mIU/ml) を示し、high nor-

mal と判断した。HCG (4000 IU/m<sup>2</sup>) 刺激に対して、T は、基礎値 9.6 ng/dl から 3 日目 117 ng/dl と有意の上昇が認められた。

手術所見：精管は左右ともに存在するが、鼠径管内で、左側は精管先端に副睾丸と思われる蛇行した大豆大の構造物があり、ここに精索血管と思われる索状物が入っている。右側精管は盲端に終わり、ここに精索血管様索状物が入っていた。

組織学的には左精管に続く構造物は、副睾丸組織で、辜丸組織はみられなかった。明らかな T 分泌が認められたことから、更に検索をすすめたが、Leydig 細胞と断定できる細胞集団は証明し得なかった(写真 2)。

手術後、HCG 刺激試験で T は術前に比して明らかに低下してきた。引続き尿道下裂に対し、一次的尿道形成術を施行し、現在経過観察中である。

## 考 按

## 〔辜丸発生障害の分類と病因〕

染色体が 46XY で、先天性に両側性腺を欠く疾患は、内性器の有無と外性器の状態により、イ) pure gonadal dysgenesis, ロ) agonadism, ハ) congenital anorchia with pseudohermaphroditism, ニ) congenital anorchia with or without eunuchoidism 等に区別されている<sup>2)</sup>。辜丸欠損症は、右のうちのハ) とニ) を指すものとして、従来、ロ) の agonadism とは本質的に異なるものと理解されていた。

一方、Jost, Josso らの研究に始まり、胎生期の性器分化に胎児辜丸発生が主たる役割を演じていることがわかってきた<sup>3,4)</sup>。すなわち、胎生期辜丸は、1) ミュラー氏管抑制因子により、ミュラー氏管の退化をもたらし、2) テストステロン分泌により、ウオルフ氏管が分化発育し、3) さらに、5 $\alpha$ -reduced アンドロジェンにより、外性器の男性化を起こすことが知られている。この考えに基づき、辜丸発生障害による内外性器の異常は、その分化する時期と辜丸機能消失の時期との関連より分類されるようになってきた<sup>5,6)</sup>。ウオルフ氏管を欠き、外性器は scrotal fusion はみられるが女性型に近い agonadism の phenotype は、胎生期辜丸が 10 週以前で消失することにより起こり、一方、両側辜丸は欠如しているが、ウオルフ氏管がよく分化しており、外性器が男性型を示す anorchism の phenotype は、16 週以前まで辜丸が健在であったことを示している。

しかし、臨床的には agonadism と anorchia の間に種々の中間型が存在しており、特に、内性器を全く欠き、外性器が ambiguous な Federman のいう agonadism は辜丸消失の時期だけで説明するのは困難であつ

表 3 Correlation of Proposed Nomenclature, Previous Nomenclature, and Clinical Manifestations with the Temporal Events of Testicular Embryogenesis

| Proposed nomenclature                 | Previous nomenclature           | Müllerian duct | Wolffian duct | External genitalia | Days after fertilization |
|---------------------------------------|---------------------------------|----------------|---------------|--------------------|--------------------------|
| Early embryonic testicular regression | Pure gonadal dysgenesis         | Absent         | Absent        | Female             | Before 43                |
| Late embryonic testicular regression  | Swyer syndrome                  | Present        | Absent        | Female             | 43-59                    |
| Early fetal testicular regression     | True agonadism                  | Present        | Absent        | Ambiguous          | 60-69                    |
|                                       | Testicular dysgenesis           | Present        | Present       | Ambiguous          | 70-75                    |
|                                       | Embryonic testicular regression | Absent         | Absent        | Ambiguous          | 75-84                    |
| Midfetal testicular regression        | Rudimentary testis              | Absent         | Present       | Ambiguous<br>→male | 90-120                   |
| Late fetal testicular regression      | Vanishing testis                | Absent         | Present       | Male               | After 140                |
|                                       | Complete bilateral anorchia     |                |               |                    |                          |

by Coulam, C. B. (1979)<sup>9)</sup>

た<sup>7)</sup>。その後、Jirásek の男性性器の発生過程の詳細な検討により、1) ミュラー氏管の退化が61日目より始まり、2) 65～70日目より外性器の男性化が起こり、3) 75日目にテストステロンがなければウオルフ氏管が退化し始め、84日目に終了する等のことがわかり<sup>8)</sup>、もし11週前後で睾丸が消失すればミュラー氏管とウオルフ氏管の両方が共に消失することもあり得ると言われるようになってきた。最近、C. S. Coulam は、これら睾丸発生障害をもつ諸疾患を一連のものとしてとらえ、Testicular Regression Syndrome と総称し、従来の個々の名称と睾丸消失時期とを対比させており理解しやすい(表3)<sup>9)</sup>。また、N. Josso らは、兄が anorchia、弟が agonadism という例を報告し、双方の疾患の連続性を裏付けている<sup>10)</sup>。以上の睾丸発生障害の疾患群は、胎生期に一時的にはあるが、睾丸が存在したという考えであり、現在では、性分化異常の分類上、男性仮性半陰陽の範疇に属するものという考えが有力となっている<sup>11)</sup>(図1)。

何故、睾丸発生障害が起こるのかについては、pure gonadal dysgenesis, Swyer Syndrome 等早期に消失した(あるいは発生しなかった)ものは、H-Y 抗原(一)例であるなど、遺伝的要因を強く示唆する報告が多いが<sup>11)</sup>、agonadism や anorchia では少数の兄弟例が報告されてはいるが、ほとんどの例は家族歴に問題をもっていない<sup>10)</sup>。

anorchia では、単睾丸症と同様に、睾丸下降時の機械的障害や精索血管の血行不全なども原因として考えられている。Green, A. A. らは、睾丸下降の起こる胎生

最後の1カ月に、精索捻転、睾丸出血が生じやすく、しかも出生時や出生直後の睾丸障害は見逃されやすいと述べている<sup>12)</sup>。Simpson らも、精索血管の異常自体が血管の閉塞を来しやすいことを指摘している<sup>13)</sup>。われわれの症例1, 2は、ともに先天性心疾患を合併しており、出生前後の血行不全が一因となっている可能性も考えられる。

以上、睾丸発生障害の原因についてはいまだ不明であるが、anorchia は胎児病としての性格が強く、胎芽期に問題がある gonadal dysgenesis 等とはその発生機序に明らかな違いがあると考えられる。

#### 〔睾丸欠損症の報告および頻度〕

1564年 Cabrol, B. が rape のため処刑された剖検例で両側睾丸がないことを発表し、これが無睾丸症の最初の報告例とされている<sup>14,15)</sup>。以後、1960年代より報告が相次ぎ、Green, A. A. (1976) によれば、文献上100例以上の記載があるという。

本邦では、市川らが1961年に第1例目を先天性両側睾丸欠損症として紹介して以来<sup>2)</sup>、表4のように9例の報告があり<sup>16-22)</sup>、当教室では、未報告例も含め4例経験している。

発生頻度は、停留睾丸手術の際の発見率として、Gross, R. E. ら0.6%<sup>23)</sup>、Abeyaratne, M. R. ら1.3%<sup>24)</sup>、Green, A. A. ら0.56%<sup>12)</sup>と報告し、本邦では、落合らが0.5%<sup>25)</sup>と報告している。当教室では、表5のように、症例2は手術をしていないが、停留睾丸手術254例中、単睾丸症20例の他に、4例(1.5%)の無睾丸症を経験しており、他の報告に比較し高率であり、両側潜伏睾丸

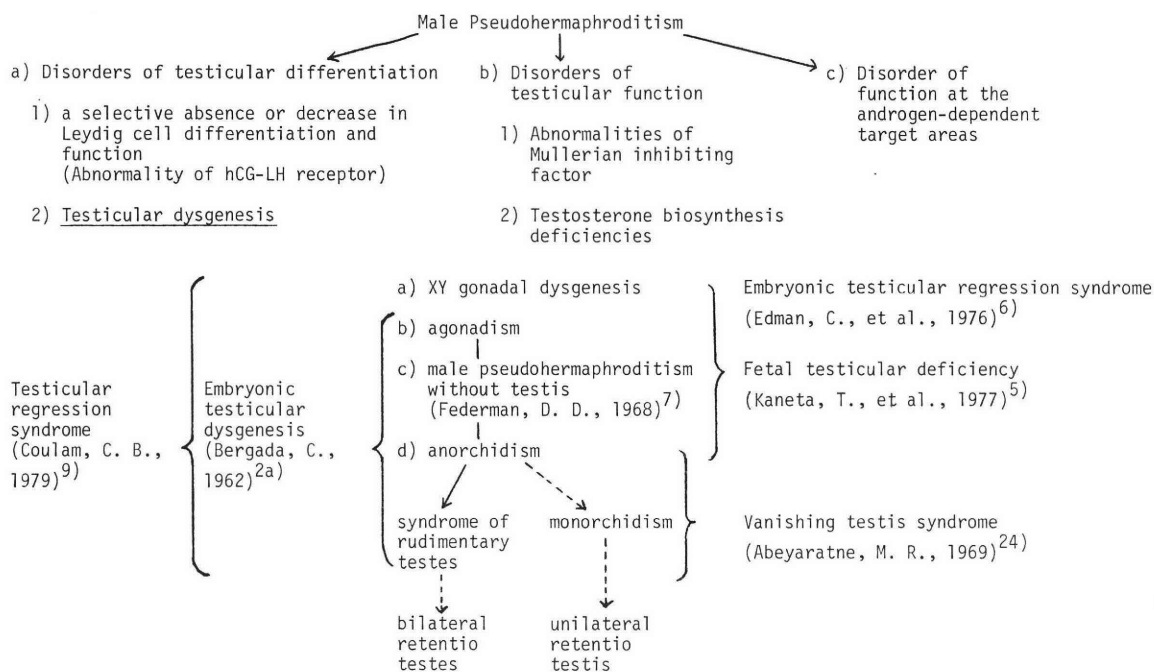


図 1 Schema of Male Pseudohermaphroditism

表 4 無睾丸症本邦報告例

| 報告者                                 | 年齢(歳) | (参考)                    | 年齢(歳) |
|-------------------------------------|-------|-------------------------|-------|
| 1. 市川, 熊本(1959) <sup>2)</sup>       | 26    | Agonadism <sup>5)</sup> |       |
| 2. 志田 (1960) <sup>16)</sup>         | 6     | 1. 金井 (1958)            | 7     |
| 3. 菅原, 丹田(1968) <sup>17)</sup>      | 31    | 2. 児玉 (1959)            | 21    |
| 4. 苗沢, 喜田(1968) <sup>18)</sup>      | 8     | 3. 児玉 (1959)            | 18    |
| 5. 西, 森久 (1973) <sup>19)</sup>      | 19    | 4. 鶴田* (1961)           | 1/3   |
| 6. 松浦, 田苗, 日比 (1977) <sup>20)</sup> | 6     | 5. 田中他(1973)            | 22    |
| 7. 松浦, 田苗, 日比 (1977) <sup>20)</sup> | 11    | 6. 兼田他(1977)*           | 1/6   |
| 8. 広川他 (1979) <sup>21)</sup>        | 20    | * 当教室報告例                |       |
| 9. 丸田, 熊本(1981) <sup>22)</sup>      | 3     |                         |       |
| 10. Present cases                   | 4     |                         |       |
|                                     | 5     |                         |       |
|                                     | 6     |                         |       |

表 5 当教室における潜伏辜丸手術例

|    |      |   |      | (%)      |
|----|------|---|------|----------|
| 両側 | 74名  | — | 無辜丸症 | 4名 5.4   |
| 左側 | 93名  | — | 右単丸症 | 13名 14.0 |
| 右側 | 87名  | — | 左単丸症 | 7名 8.0   |
| 合計 | 254名 |   |      | 24名 9.4  |

\* 合併症  
尿道下裂 43名 (17%)  
尿路奈形 6名 (2.4%)

例に限ると5.4%となる。また、停留辜丸手術にて、両側、片側を問わず辜丸の発見されない確率が、われわれの教室では9.4%にものぼることがわかった。この理由の1つとしては、大学病院としての性格上、触診にて辜丸が全く触知されない例や他の合併奇形を有する例を多く扱っていることも考えられる。ちなみに、われわれの停留辜丸手術症例の17.1%に尿道下裂、2.4%に尿路奇形が合併していた。

#### 〔無辜丸症の臨床像と診断〕

無辜丸症例としては、理学的に外性器が男性型で、陰囊の縫線形成もみられるが、両側陰囊内容が触れないため、潜伏辜丸として小児期に手術され、辜丸組織が見出されなかつたものが多い。思春期を過ぎた例では、アンドロゲン分泌がみられないことから、陰茎の発育をみず、類宦官様体型となつてくるが、最終診断は性腺の手術的検索によらねばならない<sup>23)</sup>。一方、女子の先天性副腎過形成でも、Phallusが陰茎とほぼ変らない例があること<sup>26)</sup>や症例3のように尿道下裂をともなっている例があり、他の半陰陽との鑑別のため、手術前に、染色体検査、ホルモン検査をすることが望ましい。

染色体検査では、ほとんどの例が46XYであるが、XY/XXYのモザイク例も報告されている<sup>11)</sup>。また、できればH-Y抗原の検索も行いたい。

ホルモン検査は、一般に性腺系のホルモン以外は正常



表 6 Cases without Eunuchism or with Testosterone Production

|                                                     |         |                                         |
|-----------------------------------------------------|---------|-----------------------------------------|
| 1) Cabrol, B. (1564) <sup>14)</sup>                 |         | rape?                                   |
| 2) Amelar, R. D. (1956) <sup>15)</sup>              |         | islands of Leydig cells                 |
| 3) Bergada, C., et al. (1962) <sup>29)</sup>        |         | normal penile growth                    |
| 4)* } Teter, J., et al. (1962) <sup>30)</sup>       | 2 cases | presence of Leydig cells                |
| 5)* }                                               |         |                                         |
| 6) } Kirschner, M. A., et al. (1970) <sup>21)</sup> | 2 cases | sampling of the spermatic vein          |
| 7) }                                                |         |                                         |
| 8)* Parks, G. A., et al. (1974) <sup>32)</sup>      |         | significant serum T. secretion with HCG |
| 9) } Green, A. A., et al. (1976) <sup>12)</sup>     | 2 cases | significant serum T. secretion with HCG |
| 10) }                                               |         |                                         |
| 11)* Present case (1982)                            |         | significant serum T. secretion with HCG |

\* Cases with anomalous external genitalia

とされている<sup>11)</sup>。GnH は、症例 2、3 のように、思春期前では、基礎値、LH-RH 負荷による反応値ともに正常な事が多いが、思春期が始まるとともに上昇し<sup>22)</sup>、成人では、LH、FSH とも高値となる。T は一般に HCG を負荷しても上昇せず、両側停留辜丸との鑑別に有用である<sup>27)</sup>。すなわち、無辜丸症は後天的に去勢した男子と同じホルモン動態を示しており、間脳一下垂体系の異常はみられないと想像される。したがって、これら血中 GnH と T を組み合わせて測定することにより、無辜丸症を診断し、症例 2 のように手術をひかえる試みも可能と考えられている<sup>28)</sup>。

しかし、これら定型的な例の他に、症例 3 のように HCG に T が反応を示したり、あるいは何らかのアンドロジェン分泌徴候を示す例がきわめて稀に存在する。主な報告を表 6 にまとめたが、その中で、外性器が ambiguous で、T の分泌が認められたり、Leydig Cell の存在が確認された例は、Teter, J. ら<sup>30)</sup>、Parks, G. A.<sup>32)</sup>およびわれわれの Case 3 の計 4 例あつた。このような特殊な臨床例の存在は、先に述べた如く、胎生期辜丸から T が分泌され、5 $\alpha$ -reductase の異常がない限り外性器の男性化が起こるという一元的説明では十分に説明出来ないように思われる。逆に言えば、外性器構造の決定には、辜丸消失の時期のみでなく、その時のアンドロジェン分泌の質と量とが深く関与していることが示唆される。

分類の項で述べたように、anorchia の手術所見としては、ウオルフ氏管の発達した後に辜丸が消失したと考えられ、その結果として、片側あるいは両側に精管と副辜丸組織の遺残が通常認められる。また、鼠径部附近に辜丸がない場合は、腹腔内や腎莖部附近などを十分探索することが必要とされているが、Pearman は、鼠径部に精索血管と共に精管が発見され、その先端が盲端で終わっている場合は、転移辜丸等よりも辜丸欠損症である

ことの方が多いとしており<sup>33)</sup>、手術侵襲を少なくするためにも参考となる意見と考えられる。

#### 〔無辜丸症の治療・予後〕

小児期に診断された場合は、思春期より適切な男性ホルモンを補うことにより、類宦官体型を予防し、陰茎の発育を促すことができる。Green, A. A. らは、monozygous twin で一方が anorchia、他方が正常な例を掲げ、T の補充療法により正常男子と全く変わらない体型、外陰部の発育が得られることを示している<sup>12)</sup>。成人でも、男性ホルモン投与により、体型の改善、libido の出現、勃起、射精が可能とされている<sup>21)</sup>。尿道下裂を伴うものは適当な時期に形成術を行う必要がある。要するに、治療の最終目標は、男性として心身の正常な発達をうながすことであり、このことは事実可能なことが多い。

#### ま と め

1) 小児無辜丸症 3 例を報告した。そのうち 2 例は先天性心疾患を合併していた。1 例は尿道下裂を伴い、HCG に T が有意の上昇を示した例であつた。

2) 当教室、停留辜丸の手術 254 例において、無辜丸症は 4 例 (1.5%) であり、単辜丸症 20 例も加えると、辜丸の発見されない確率は 24 名 (9.4%) と、他の報告と比較し高率であつた。これは大学病院の特殊性として、合併症をもつ例を多く扱っているためかもしれない。

3) 無辜丸を Testicular Regression Syndrome の 1 つとして文献的考察を行い、その発生機序が胎生期の血行不全等に起因することが多く、他の辜丸発生障害とは区別される可能性を示唆した。

4) 臨床的に、HCG 刺激によつて T が上昇しなければ無辜丸症と診断し、この場合は手術を行わなくてもよ

いという意見が有力となつているが、一方、無辜丸症でありながら HCG 負荷により T の上昇が認められる例がある。しかも、このような例が必ずしも外性器の男性化をみない事より、無辜丸症例の胎生期の外陰部の男性化は、胎生期辜丸の消失時期のみでなく、その時点のアンドロジェンの質と量も関与することをのべた。

(稿を終わるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師辻一郎教授に深謝致します。)

## 文 献

- 1) 本村勝昭：辜丸欠損症，日不妊会誌，19：77，1974.
- 2) 市川篤二，熊本悦明：先天性辜丸欠損症，性器の先天性異常（1），日泌尿会誌，52：453，1961.
- 3) Jost, A.: In Hermaphroditism. Genital anomalies and related endocrine disorders. 2nd ed., p.15, Jones, H. W. & Scott, W. W. (eds.), Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1971.
- 4) Josso, N.: Müllerian-inhibiting activity of human fetal testicular tissue derived of germ cells by in vitro irradiation. *Pediat. Res.*, 8：758, 1975.
- 5) 兼田達夫，松野 正，稲田文衛，小柳知彦，佐藤昭策：Agonadism の1症例，西日泌尿，39：376，1977.
- 6) Edman, C. D., Winter, A. J., Porter, J. C., Wilson, J. and Macdonald, P. C.: Embryonic testicular regression. A clinical spectrum of XY gonadal individuals. *Obstet. Gynecol.*, 49：208, 1977.
- 7) Federman, D. D.: Abnormal Sexual Development. p. 84, Philadelphia, Saunders Co., 1968.
- 8) Jirásek, J. E.: Development of the Genital System and Male Pseudohermaphroditism. p. 10, Baltimore, Johns Hopkins Press, 1971.
- 9) Coulam, C. B.: Testicular regression syndrome. *Obstet. Gynecol.*, 53：44, 1979.
- 10) Josso, N. and Briard, M. L.: Embryonic testicular regression syndrome: Variable phenotype expression in siblings. *J. Pediatr.*, 97：200, 1980.
- 11) Williams, R. H.: In Textbook of Endocrinology, Male Pseudohermaphroditism. p. 485, Philadelphia, Saunders Co., 1981.
- 12) Aynsley-Green, A., Zachmann, M., Illig, R., Rampini, S. and Prader, A.: Congenital bilateral anorchia in childhood; A clinical endocrine and therapeutic evaluation of twenty-one cases. *Clin. Endocrinol.*, 5：381, 1976.
- 13) Simpson, J. L., Horworth, M., Morilo-Cucci, G., Levine, M. I. and German, J.: In Birth Defects, Original Article Series Bilateral Anorchia: discordance in monozygotic twins. 6：196, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1971.
- 14) Cabrol, B.: Quoted by Amelar, R. D.
- 15) Amelar, R. D.: Anorchism without eunuchism, *J. Urol.*, 76：174, 1956.
- 16) 志田圭三：1) 先天性辜丸欠損2) 男性仮性半陰陽，日不妊会誌，6：185，1961.
- 17) 菅原剛太郎，丹田 均：Anorchism 症例，日泌尿会誌，59：76，1968.
- 18) 熊沢浄一，喜田 浩：両側辜丸欠損症の1例，皮膚と泌尿，30：647，1968.
- 19) 西 正夫，森久清志：類官官症の2例，日泌尿会誌，64：1007，1973.
- 20) 松浦幹夫，田苗綾子，日比逸郎：男子性腺機能不全症の診断における HCG テストの意義，ホと臨床，25：997，1977.
- 21) 広川 信，佐々木紘一，藤井 浩，岩本晃明，朝倉茂夫，鈴木一太，金子善彦：泌尿紀要，25：795，1979.
- 22) 丸田 浩，熊本悦明：思春期前に去勢した男児の gonadotropin 分泌動態に関する検討，日不妊会誌，26：494，1981.
- 23) Gross, R. E. and Jewett, T. C.: Surgical experiences from 1222 operations for undescended testis. *J. A. M. A.*, 160：634，1956.
- 24) Abeyaratne, M. R., Aherne, W. A. and Scott, J. E. S.: The vanishing testis, *Lancet*, 2：882，1969.
- 25) 落合京一郎，駒瀬元治，武田裕寿，大島博幸：辜丸欠損症の5例，先天異常，5：237，1965.
- 26) 野々村克也，兼田達夫：完全男性型外性器所見を示した女子 21-Hydroxylase 欠損症の1例，西日泌尿，41：117，1979.
- 27) Grant, D. B., Laurance, B. M., Atherden, S. M. and Ryness, J.: HCG stimulation test in children with abnormal sexual development, *Arch. Dis. Childh.*, 51：596，1976.
- 28) Tosi, S. E. and Morin, L. J.: The vanishing testis syndrome: Indications for conservative therapy, *J. Urol.*, 115：758，1976.
- 29) Bergada, C., Cleveland, W. W., Jones, H. W. and Wilkins, L.: Variants of embryonic testicular dysgenesis: bilateral anorchia and the syndrome of rudimentary testis, *Acta Endocri.*, 40：521，1962.
- 30) Teter, J., Janozewski, Z., Wigura, A. and Melicow, M. M.: Congenital anorchism with anomalous external genitalia: A report of two cases, *J. Urol.*, 87：964，1962.
- 31) Kirschner, M. A., Jacobs, J. B. and Fraley, E. E.: Bilateral anorchia with persistent testosterone production. *New Engl. J. Med.*,

282 : 240, 1970.

- 32) Parks, G. A. A., Dumars, K. W., Limbeck, G. A., Quinlivan, W. L. and New, M. I.: "True agonadism": A misnomer?, J. Pediatr., 84 : 375, 1974.
- 33) Pearman, R. O.: Congenital absence of the testicle: monorchism, J. Urol., 85 : 599, 1961.

## Clinical studies of congenital anorchia

### — A report of three interesting prepubertal cases —

**Katsuya Nonomura, Satoshi Nagamori,  
Kinuko Sasaki, Tetsuo Hirano  
and Tomohiko Koyanagi**

Department of Urology  
(Director : Prof. I. Tsuji)

**Kenji Fujieda and Nobuo Matsuura**

Department of Pediatrics  
(Director : Prof. S. Matsumoto)  
Hokkaido University School of Medicine

**Katsuaki Motomura**

Department of Urology, Asahikawa  
City Hospital

Three patients with 46XY karyotype and so-called "congenital anorchia" have been reported.  
Case 1; aged 4, associated with ventricular

septal defect and vesicoureteral reflux. In laparotomy the wolffian anlage was present bilaterally but the gonads could not be found.

Case 2; aged 5, associated with pulmonary stenosis, mental retardation, short stature, and bilateral cryptorchism. Serum testosterone (T.) did not respond to human chorionic gonadotropin (HCG), but other endocrinological study was almost normal. Surgical exploration has not been done.

Case 3; aged 6, associated with bilateral cryptorchism and ambiguous genitalia. Serum T. responded significantly to HCG, although surgically the gonad was not found. Microscopic examination revealed only the remnants of wolffian ducts.

After operation, response of serum T. to HCG was abolished.

In our clinic 254 operation for undescended testis were performed for last 25 years. Four cases were anorchia and twenty cases were monorchism.

Recently the anorchia is classified as one of "Testicular Regression Syndrome" (TRS) but we postulated that anorchia was late fetal disorder different from other embryonic testicular dysgenesis etiologically, and that the external genitalia was not only determined by the stage of testicular regression but also by the quality and quantity of testicular androgen at this stage.

(受付 : 昭和57年4月8日)

## ハムスター顆粒層細胞の黄体化に関する 酵素組織化学的研究

### Enzyme-histochemical Studies on Luteinization of Hamster Granulosa Cells

新潟大学農学部畜産学科

新村 末雄 石田 一夫  
Sueo NIIMURA Kazuo ISHIDA

Department of Animal Husbandry, Faculty  
of Agriculture, Niigata University

排卵前36時間から2時間までのハムスター大型胞状卵胞の卵周辺と基底膜周辺の顆粒層について  $\Delta^5$ - $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD) 活性を組織化学的に検出し、顆粒層細胞の黄体化の開始時期を調べた。(1) DHA を基質にした  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性。卵周辺の顆粒層細胞においては、酵素活性は排卵前26時間に、排卵が予想される卵胞の5.3%に出現し、その割合は徐々に上昇して排卵前4時間に100%となった。基底膜周辺の顆粒層細胞においては、酵素活性は排卵前18時間に、排卵が予想される卵胞の19.0%に出現し、その割合は排卵前10時間に100%となった。(2) pregnenolone を基質にした  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性。卵周辺の顆粒層細胞においては、酵素活性はいずれの時期においてもみられなかった。基底膜周辺の顆粒層細胞においては、酵素活性は排卵前8時間に、排卵が予想される卵胞の88.9%に出現し、その割合は排卵前6時間に100%となった。これらのことから、ハムスター顆粒層細胞の progesterone 合成は卵周辺の細胞では全く行われないが、基底膜周辺の細胞では排卵前8時間から始まることが明らかとなった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 118-123, 1983)

#### 緒 言

哺乳動物において、成熟卵胞の顆粒層細胞は排卵に先立って形態的に黄体化を示すことが知られている<sup>1)</sup>。すなわち、マウス<sup>2)</sup>では排卵前30分、ハムスター<sup>3)</sup>では排卵前7時間、ラット<sup>4)</sup>では発情期、ウサギ<sup>5)</sup>では排卵前数時間、ウシ<sup>6)</sup>では発情期、ヒト<sup>7)</sup>では排卵前36時間から24時間にかけて、滑面小胞体、管状クリステを持つミトコンドリアなどが出現するといわれている。

$\Delta^5$ - $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD) は pregnenolone を progesterone に転換する酵素で、この酵素の活性の存在は progesterone の生合成を示唆するものである。従つて、顆粒層細胞におけるこの酵素活性の出現は機能的な黄体化の指標となる。哺乳動物の顆粒層細胞の  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性については、マウス、ハムスター、ラット、リス、イヌ、ウシ、ブタ、ヒトなどで

組織化学的に調べられており<sup>8-21)</sup>、酵素活性は発育期や性周期(月経周期)に出現するといわれている。しかし、顆粒層細胞の黄体化という観点から、 $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性の出現時期を経時的に観察した報告はみられない。

本研究は、排卵前36時間 (Day 3, 14:00) から2時間 (Day 1, 0:00) までのハムスター大型胞状卵胞の顆粒層細胞について  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性を組織化学的に検出し、この細胞の黄体化の開始時期を調べたものである。

#### 材料および方法

供試動物として成熟ゴールデンハムスター (*Mesocricetus auratus*) 120匹を使用した。飼育はコイトロン (EA-8HW) 内で行い、室内の温度は常時24°C とした。点灯は午前4時から午後6時までの14時間である。

まず、post-estrous discharge<sup>22)</sup> を検査して性周期を

調べ、正常な 4 日周期を 3 回以上繰り返したハムスターのなかから、午後 6 時に発情の開始をみたものを使用した。なお、post-estrous discharge のみられた日を Day 1 とした。ハムスターは発情開始後 8 時間で排卵することが報告されているので<sup>23)</sup>、卵胞の時齢は発情開始時間から排卵時間を推定し、これを基準にした。

顆粒層細胞は排卵前 36 時間 (Day 3, 14:00) から 2 時間 (Day 1, 0:00) まで 2 時間おきにそれぞれ 6 ~ 12 匹のハムスターから、排卵が予想される大型胞状卵胞をかき破つて採取した。酵素活性の検出は卵周辺 (卵丘) および卵胞基底膜周辺の顆粒層細胞に分けて行つた。なお、卵周辺の顆粒層細胞については排卵後 2 時間

(Day 1, 4:00) のものも観察した。

検出した酵素は dehydroepiandrosterone (DHA) および pregnenolone を基質にした  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD で、基質液は Dickmann and Dey の使用した処方<sup>24)</sup>に準じて作成した。すなわち、基質 1.8mg, NAD 4.0mg, nitro-BT 2.0mg, 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.5) 10.0ml で、基質はあらかじめ 0.5ml のアセトンに溶解して使用した。浸漬は 37°C で 60 分間行つた。なお、基質を含まない液を対照として使用した。

処理した顆粒層細胞は 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.5) で洗浄した後、10%ホルマリン水溶液で固定した。顆粒層細胞はグリセリンゼリーで封入し、顕微鏡下で観察し

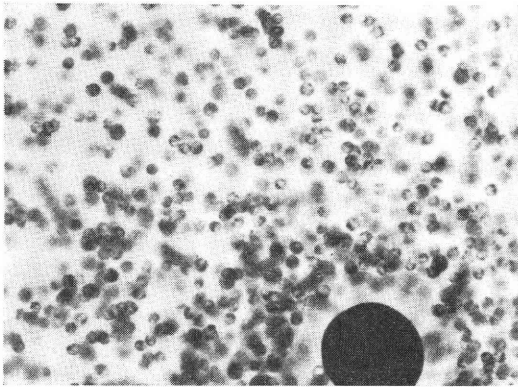


Fig. 1 A strong  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD activity (DHA as the substrate) seen in hamster granulosa cells surrounding an egg, 26 hrs. before ovulation (Day 4, 0:00). Dickmann and Dey method.  $\times 150$ .

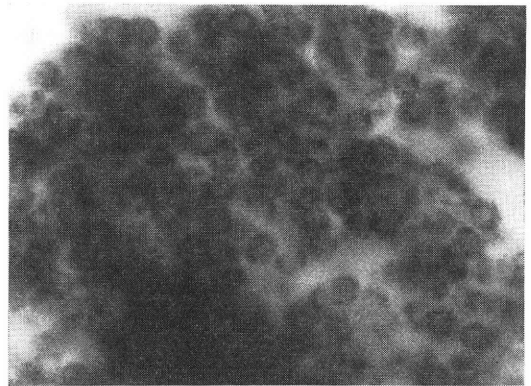


Fig. 3 A strong  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD activity (pregnenolone as the substrate) seen in hamster granulosa cells near the basement membrane, 8 hrs. before ovulation (Day 4, 18:00). Dickmann and Dey method.  $\times 400$ .

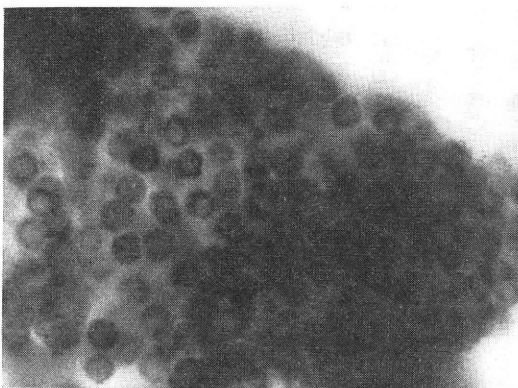


Fig. 2 A strong  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD activity (DHA as the substrate) observed in hamster granulosa cells near the basement membrane, 18 hrs. before ovulation (Day 4, 8:00). Dickmann and Dey method.  $\times 400$ .

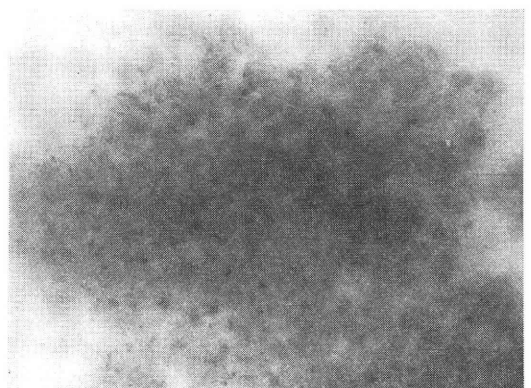


Fig. 4 Hamster granulosa cells near the basement membrane, 2 hrs. before ovulation (Day 1, 0:00), showing no  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD activity (without the substrate). Dickmann and Dey method.  $\times 400$ .

Table 1 Periods when  $\Delta^5$ - $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity with DHA as the substrate appeared in hamster granulosa cells before ovulation

|              | Hours before ovulation | No. of animals used | No. of follicles from which ovulation is predicted | No. of follicles whose granulosa cells near the egg showed enzyme activity | No. of follicles whose granulosa cells near the basement membrane showed enzyme activity |
|--------------|------------------------|---------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Day 3, 14:00 | 36                     | 3                   | 28                                                 | 0                                                                          | 0                                                                                        |
| 16:00        | 34                     | 3                   | 31                                                 | 0                                                                          | 0                                                                                        |
| 18:00        | 32                     | 3                   | 29                                                 | 0                                                                          | 0                                                                                        |
| 20:00        | 30                     | 3                   | 35                                                 | 0                                                                          | 0                                                                                        |
| 22:00        | 28                     | 3                   | 35                                                 | 0                                                                          | 0                                                                                        |
| Day 4, 0:00  | 26                     | 3                   | 38                                                 | 2( 5.3)                                                                    | 0                                                                                        |
| 2:00         | 24                     | 3                   | 29                                                 | 2( 6.9)                                                                    | 0                                                                                        |
| 4:00         | 22                     | 3                   | 32                                                 | 2( 6.3)                                                                    | 0                                                                                        |
| 6:00         | 20                     | 3                   | 35                                                 | 5( 14.3)                                                                   | 0                                                                                        |
| 8:00         | 18                     | 4                   | 42                                                 | 8( 19.0)                                                                   | 8( 19.0)                                                                                 |
| 10:00        | 16                     | 3                   | 29                                                 | 5( 17.2)                                                                   | 5( 17.2)                                                                                 |
| 12:00        | 14                     | 3                   | 25                                                 | 15( 60.0)                                                                  | 15( 60.0)                                                                                |
| 14:00        | 12                     | 3                   | 35                                                 | 27( 77.1)                                                                  | 27( 77.1)                                                                                |
| 16:00        | 10                     | 3                   | 33                                                 | 31( 94.0)                                                                  | 33(100.0)                                                                                |
| 18:00        | 8                      | 3                   | 32                                                 | 30( 93.8)                                                                  | 32(100.0)                                                                                |
| 20:00        | 6                      | 3                   | 34                                                 | 32( 94.1)                                                                  | 34(100.0)                                                                                |
| 22:00        | 4                      | 3                   | 33                                                 | 33(100.0)                                                                  | 33(100.0)                                                                                |
| Day 1, 0:00  | 2                      | 6                   | 67                                                 | 67(100.0)                                                                  | 67(100.0)                                                                                |
| 4:00         | 2*                     | 3                   | 32                                                 | 32(100.0)                                                                  | —                                                                                        |

\* — Hours after ovulation.

Numerals in parentheses indicate percentage.

た.

## 結 果

顆粒層細胞において、 $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD(基質 DHA, pregnenolone) 活性はジホルムザン顆粒の細胞質内沈着によつて組織化学的に認められた(図1, 2, 3). なお, この顆粒は基質を含まない液に浸漬した顆粒層細胞には出現しなかった(図4).

1. DHA を基質にした  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性

卵周辺および基底膜周辺の顆粒層細胞に DHA を基質にした  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性のみられる卵胞の数について経時的変化を調べた. 得られた結果は表1に示す通りである.

卵周辺の顆粒層細胞において, 酵素活性は排卵前28時間 (Day 3, 22:00) までの卵胞にはみられなかったが, 排卵前26時間 (Day 4, 0:00) に至り, 排卵が予想される卵胞の5.3%に出現した. その割合は徐々に高まって排卵前4時間 (Day 4, 22:00) では100%となり, 排卵後2時間 (Day 1, 4:00) まで変らなかった.

一方, 基底膜周辺の顆粒層細胞において, 酵素活性は排卵前20時間 (Day 4, 6:00) までの卵胞には観察されなかったが, 排卵前18時間 (Day 4, 8:00) に排卵が予想される卵胞の19.0%に出現した. その後, 酵素活性をもつ卵胞の割合は上昇し, 排卵前10時間 (Day 4, 16:00) で100%となった.

2. pregnenolone を基質にした  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性

卵周辺および基底膜周辺の顆粒層細胞に pregnenolone を基質にした  $\Delta^5$ - $3\beta$ -HSD 活性のみられる卵胞の数について経時的変化を調べ, 表2に示すような結果を得た.

卵周辺の顆粒層細胞において, 酵素活性はいずれの時期の卵胞にもみられなかった. 一方, 基底膜周辺の顆粒層細胞において, 酵素活性は排卵前8時間 (Day 4, 18:00) に, 排卵が予想される卵胞の88.9%にはじめて出現し, 排卵前6時間 (Day 4, 20:00) ではすべての卵胞が酵素活性をもっていた.

## 考 察

Day 4におけるハムスターの血中または卵巣中の pro-

Table 2 Periods when  $\Delta^5$ -3  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity with pregnenolone as the substrate appeared in hamster granulosa cells before ovulation

|        |       | Hours<br>before<br>ovulation | No. of<br>animals<br>used | No. of<br>follicles<br>from which<br>ovulation is<br>predicted | No. of follicles<br>whose granulosa<br>cells near the<br>egg showed<br>enzyme activity | No. of follicles<br>whose granulosa<br>cells near the<br>basement mem-<br>brane showed<br>enzyme activity |
|--------|-------|------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Day 3, | 14:00 | 36                           | 3                         | 29                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 16:00 | 34                           | 3                         | 35                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 18:00 | 32                           | 3                         | 30                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 20:00 | 30                           | 3                         | 30                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 22:00 | 28                           | 3                         | 30                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
| Day 4, | 0:00  | 26                           | 3                         | 32                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 2:00  | 24                           | 3                         | 35                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 4:00  | 22                           | 3                         | 32                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 6:00  | 20                           | 3                         | 31                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 8:00  | 18                           | 3                         | 33                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 10:00 | 16                           | 3                         | 25                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 12:00 | 14                           | 3                         | 29                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 14:00 | 12                           | 3                         | 32                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 16:00 | 10                           | 3                         | 27                                                             | 0                                                                                      | 0                                                                                                         |
|        | 18:00 | 8                            | 4                         | 36                                                             | 0                                                                                      | 32( 88.9)                                                                                                 |
|        | 20:00 | 6                            | 3                         | 28                                                             | 0                                                                                      | 28(100.0)                                                                                                 |
|        | 22:00 | 4                            | 3                         | 30                                                             | 0                                                                                      | 30(100.0)                                                                                                 |
|        |       |                              |                           |                                                                |                                                                                        |                                                                                                           |
| Day 1, | 0:00  | 2                            | 3                         | 24                                                             | 0                                                                                      | 24(100.0)                                                                                                 |
|        | 4:00  | 2*                           | 4                         | 35                                                             | 0                                                                                      | —                                                                                                         |

\* — Hours after ovulation.

Numerals in parentheses indicate percentage.

gesterone 含量は LH サージ後に上昇し始め、18:00 から 20:00 にかけてピークに達するといわれており、この場合、progesterone の分泌源は主として間質腺であると考えられている<sup>25-27)</sup>。一方、Day 4 の胞状卵胞に含まれる progesterone 含量は 18:00 にピークに達し、胞状卵胞以外の部位に含まれている量よりも多いという<sup>29)</sup>。

また、ヒト卵胞液の progesterone 含量は卵胞期後期の大型胞状卵胞では他の時期のものより 20 倍も多く、LH サージ後卵胞は progesterone を分泌するが、その分泌源は顆粒層細胞であるといわれている<sup>30)</sup>。これらのことから、ハムスターにおいても、排卵前の大型胞状卵胞は間質腺とともに LH サージの刺激によつて progesterone を合成・分泌していることが推察される。本実験において、pregnenolone を基質にした  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -HSD の活性を組織化学的に検出したところ、酵素活性は排卵前 8 時間 (Day 4, 18:00) のハムスター卵胞の基底膜周辺の顆粒層細胞に出現し、排卵前 6 時間 (Day 4, 20:00) から 2 時間 (Day 1, 0:00) まではすべての卵胞に認められた。このことから、卵胞基底膜周辺のハムスター

顆粒層細胞は Day 4 の 13:00 から 19:00 にかけて起こる LH サージ<sup>31)</sup>の刺激によつて Day 4 の 18:00 から progesterone の合成を開始することがうかがわれた。なお、この時期は、顆粒層細胞が微細構造の面で黄体化を示す時期 (排卵前 7 時間, Day 4, 19:00)<sup>32)</sup>ともほぼ一致している。

性周期中のハムスターにおける胞状卵胞の顆粒層細胞について  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -HSD (基質 pregnenolone) の組織化学的検出を試みた従来の報告によると、酵素活性は Day 2~4 の胞状卵胞<sup>14)</sup>または Day 4 (発情前期) の胞状卵胞<sup>12)</sup>にみられるといわれている。一方、Baillie<sup>33)</sup>らは、退行卵胞では顆粒層細胞に HSD 活性を示すジホルマゼン顆粒がみられると述べている。このことから、休止期 (Day 2, 3) から発情前期 (Day 4) にかけて顆粒層細胞に酵素活性をもつ胞状卵胞は退行過程にあるものと推察される。

発情前期のラット胞状卵胞の顆粒層細胞において、 $\Delta^5$ -3 $\beta$ -HSD 活性は基底膜周辺のものでは強く、卵胞腔に面しているものや卵丘では弱いといわれている<sup>18,19)</sup>。



また、マウスにおいては、排卵直前の大型胞状卵胞の顆粒層細胞で  $\Delta^5-3\beta$ -HSD 活性が存在するのは基底膜周辺のもののみであると報告されている<sup>10)</sup>。微細構造の面でもラット顆粒層細胞において黄体化を示すのは基底膜周辺のものであるという<sup>4)</sup>。本実験において、ハムスター顆粒層細胞を卵周辺と基底膜周辺のものに分けて調べたところ、pregnenolone を基質にした  $\Delta^5-3\beta$ -HSD 活性は基底膜周辺のものに限られていた。従つて、ハムスターにおいても、progesterone の合成は卵周辺の顆粒層細胞では全く行われず、基底膜周辺の細胞で行われることが推察された。

## 文 献

- 1) Baird, D. T.: Synthesis and secretion of steroid hormones by the ovary in vivo. In *The Ovary*. (Zuckerman, L. & Weir, B. T. eds), ed 2, vol. 3: p. 305, New York, San Francisco & London, Academic Press, 1977.
- 2) Byskov, A. G. S.: Ultrastructural studies on the preovulatory follicle in the mouse ovary. *Z. Zellforsch.* 100: 285, 1969.
- 3) 高坂哲也, 新村末雄, 石田一夫: In vivo 及び in vitro におけるハムスター顆粒層細胞の黄体化に関する電子顕微鏡学的研究. 新大農研報, 34: 79, 1982.
- 4) Björkman, N.: A study of the ultrastructure of the granulosa cells of the rat ovary. *Acta Anat.* 51: 125, 1962.
- 5) Blanchette, E. J.: Ovarian steroid cells. I. Differentiation of the lutein cell from the granulosa follicle cell during the preovulatory stage and under the influence of exogenous gonadotrophins. *J. Cell Biol.* 31: 501, 1966.
- 6) Friedkalns, J. & Weber, A. F.: Ultrastructural studies of the bovine Graafian follicle and corpus luteum. *Z. Zellforsch.* 91: 554, 1968.
- 7) Mestwerdt, W., Müller, O. & Brandau, H.: Structural analysis of granulosa cells from human ovaries in correlation with function. In *Ovarian Follicular and Corpus Luteum Function*. (Channing, E. P., Marsh, J. M. & Sadler, W. A. eds): p. 123, New York, Plenum Press, 1979.
- 8) Baillie, A. H., Ferguson, M. M. & Hart, D. McK.: *Developments in Steroid Histochemistry*: p. 72, London & New York, Academic Press, 1966.
- 9) Bjersing, L.: Ovarian histochemistry. In *The Ovary*. (Zuckerman, L. & Weir, B. J. eds), ed 2, vol. 1: p. 303, New York, San Francisco & London, Academic Press, 1977.
- 10) Hadjioloff, A. I., Bourneva, V. & Motta, P.: Histochemical demonstration of  $\Delta^5-3\beta$ -OHD activity in the granulosa cells of ovarian follicles of immature and mature mice correlated with some ultrastructural observations. *Z. Zellforsch.* 136: 215, 1973.
- 11) Wingate, A. L.: A histochemical study of the hamster ovary. *Anat. Rec.* 166: 399, 1970.
- 12) Blaha, G. C. & Leavitt, W. W.: The distribution of ovarian  $\Delta^5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in the golden hamster during the estrous cycle, pregnancy and lactation. *Biol. Reprod.* 3: 362, 1970.
- 13) Blaha, G. C. & Leavitt, W. W.: Ovarian steroid dehydrogenase histochemistry and circulating progesterone in aged golden hamsters during the estrous cycle and pregnancy. *Biol. Reprod.* 11: 153, 1974.
- 14) Saidapur, S. K. & Greenwald, G. S.: Sites of steroid synthesis in the ovary of the cyclic hamster: A histochemical study. *Am. J. Anat.* 151: 71, 1978.
- 15) Rubin, B. L., Deane, H. W., Hamilton, J. A. & Driks, E. C.: Changes in  $\Delta^5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in the ovaries of maturing rats. *Endocrinology* 72: 924, 1963.
- 16) Rubin, B. L. & Deane, H. W.: Effects of superovulation on ovarian  $\Delta^5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in rats of different ages. *Endocrinology* 76: 382, 1965.
- 17) Pupkin, M., Bratt, H., Weisz, J., Lloyd, C. W. & Balogh, K. Jr.: Dehydrogenases in the rat ovary. I. A histochemical study of  $\Delta^5-3\beta$ - and  $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenases and enzymes of carbohydrate oxidation during the estrous cycle. *Endocrinology* 79: 316, 1966.
- 18) Zoller, L. C. & Weisz, J.: Structure and acid phosphatase activity in granulosa cells of preovulatory follicles in rat ovary. *Anat. Rec.* 190: 592, 1978.
- 19) Zoller, L. C. & Weisz, J.: A quantitative cytochemical study of glucose-6-phosphate dehydrogenase and  $\Delta^5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in the membrana granulosa of the ovulable type of follicle of the rat. *Histochemistry* 62: 125, 1979.
- 20) Bjersing, L.: Histochemical demonstration of  $\Delta^5-3\beta$ - and  $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activities in porcine ovary. *Histochemie* 10: 295, 1967.
- 21) Ikonen, M., Niemi, M., Pesonen, S. & Tiimonen, S.: Histochemical localization of four dehydrogenase systems in human ovary during the menstrual cycle. *Acta Endocr.*



- 38 : 293, 1961.
- 22) Orsini, M. W. : The experimental vaginal phenomena characterizing the stages of the estrous cycle pregnancy, pseudopregnancy, lactation, and the anestrous hamster, *Mesocricetus auratus* Water house. *Proc. Anim. Care Panel* 11 : 193, 1961.
  - 23) Harvey, E. B., Yanagimachi, R. & Chang, M. C. : Onset of estrus and ovulation in the golden hamster. *J. Exp. Zool.* 146 : 231, 1966.
  - 24) Dickmann, Z. & Dey, S. K. : Two theories : the preimplantation embryo is a source of steroid hormones controlling (1) morula-blastocyst transformation, and (2) implantation. *J. Reprod. Fert.* 35 : 615, 1973.
  - 25) Lukaszewska, J. H. & Greenwald, G. S. : Progesterone levels in the cyclic and pregnant hamster. *Endocrinology* 86 : 1, 1970.
  - 26) Norman, R. L. & Greenwald, G. S. : Effect of phenobarbital, hypophysectomy and x-irradiation on preovulatory progesterone levels in the cyclic hamster. *Endocrinology* 89 : 598, 1971.
  - 27) Ridley, K. & Greenwald, G. S. : Progesterone levels measured every two hours in the cyclic hamster. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 149 : 10, 1975.
  - 28) Saidapur, S. K. & Greenwald, G. S. : Peripheral blood and ovarian levels of sex steroids in the cyclic hamster. *Biol. Reprod.* 18 : 401, 1978.
  - 29) Saidapur, S. K. & Greenwald, G. S. : Ovarian steroidogenesis in the proestrous hamster. *Biol. Reprod.* 20 : 226, 1979.
  - 30) McNatty, K. P., Hunter, W. M., McNeilly, A. S. & Sawers, R. S. : Changes in the concentration of pituitary and steroid hormones in the follicular fluid of human Graafian follicles throughout the menstrual cycle. *J. Endocr.* 64 : 555, 1975.
  - 31) Bast, J. D. & Greenwald, G. S. : Serum profiles of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and prolactin during the estrous cycle of the hamster. *Endocrinology* 94 : 1295, 1974.

## Enzyme-histochemical studies on luteinization of hamster granulosa cells

**Sueo Niimura and Kazuo Ishida**

Department of Animal Husbandry, Faculty  
of Agriculture, Niigata University

The onset time of luteinization of granulosa cells in hamster antral follicles was checked through histochemical examination of the activity of  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $\Delta^5$ -3 $\beta$ -HSD) (DHA and pregnenolone as the substrates) in granulosa cells of 120 hamsters 36 to 2 hrs. before ovulation (Day 3, 14:00–Day 1, 0:00). The results obtained were as follows.

1.  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -HSD using DHA as the substrate. In the granulosa cells surrounding the egg (cumulus cells), the enzyme activity firstly appeared 26 hrs. before ovulation (Day 4, 0:00) in 5.3 % of the follicles from which ovulation was predicted. The ratio rose gradually to reach 100 % by the period 4 hrs. before ovulation (Day 4, 22:00). In the granulosa cells near the basement membrane, the enzyme activity firstly appeared 18 hrs. before ovulation (Day 4, 8:00) in 19.0 % of the follicles, the ratio rising sharply to reach 100 % 10 hrs. before ovulation (Day 4, 16:00).

2.  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -HSD using pregnenolone as the substrate. In the granulosa cells surrounding the egg, the enzyme activity never appeared at any time in the follicles from which ovulation was expected. In the granulosa cells near the basement membrane, the enzyme activity suddenly appeared 8 hrs. before ovulation (Day 4, 18:00) in 88.9 % of the follicles, the ratio rising to 100 % 6 hrs. before ovulation (Day 4, 20:00).

From these results, it may be said that progesterone synthesis starts 8 hrs. before ovulation (Day 4, 18:00) in the granulosa cells near the basement membrane in antral follicles from which ovulation will occur, though this synthesis does not take place in the cumulus cells in such follicles.

(受付 : 昭和57年3月8日)

## チャイニーズハムスター真性糖尿病母体環境の 催奇性作用に関する未着床期および胎仔期の研究

A Study on Teratogenic Effects of Maternal Diabetes  
during Pre- and Postimplantation Stages in a Diabetic  
Strain of the Chinese Hamster

旭川医科大学生物学教室

舟 木 賢 治    美 甘 和 哉  
Kenji FUNAKI    Kazuya MIKAMO

Department of Biological Sciences,  
Asahikawa Medical College

糖尿病母体環境が卵子形成、初期卵割および着床後の発生に如何なる影響を与えるかを検討するために、旭川医大生物学教室保有のチャイニーズハムスター真性糖尿病頻発家系の重症母獣を用い、妊娠2.5日、4.5日および18.5日で発生学的調査を行った（母獣数：23, 14, 67）。また、妊娠2.5日と4.5日では糖尿病と染色体異常との関係も検討した（母獣数：23, 14）。結果を要約すると以下の通りである。

- 1) 排卵数、採卵率および着床率の低下はみられなかった。
- 2) 着床前の胚における発生異常の増加や細胞分裂能の低下は認められなかった。
- 3) 着床後死亡、外表奇形および発育不全が有意に ( $P < 0.001$ ) 増加した。
- 4) 染色体異常は増加しなかった。

結論として、少なくとも正常4日性周期で妊娠した動物の糖尿病母体環境は卵子形成、排卵、受精、初期卵割および着床には影響しないが、器官形成期の初期から強い影響を及ぼし、さらに胎仔の成長を抑制するものといえる。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 124-132, 1983)

### 緒 言

近年、我国では糖尿病合併妊娠の頻度が高まり、欧米のそれに近い0.55%に達している<sup>1)</sup>。また、欧米諸国と同様の増加傾向がみられることから、今後、産科領域ではますます深刻な問題となるものと考えられている。

糖尿病妊婦では、周産期死亡や奇形児出産の頻度が高いことがよく知られているが<sup>2,3)</sup>、最近では、治療法の改良により、周産期の胎児死亡は減少してきている<sup>4,5,6)</sup>。しかし、先天奇形発生頻度は依然として高く、正常妊娠における頻度の2～4倍といわれ<sup>7)</sup>、特に、20歳前の若い妊婦では著しく高いとの報告がある<sup>8)</sup>。アロキササンやストレプトゾトシンによる人為的糖尿病マウス・ラットを用いたモデル実験でも、胎仔死亡や奇形が高頻度に誘

発されている<sup>9-15)</sup>。ヒトでは妊娠初期のコントロールが不良である場合、奇形児出産の頻度が高いといわれている<sup>16,17)</sup>。また、薬剤誘発糖尿病動物でも、インシュリン投与により胎仔死亡や奇形の発生が抑制されることが解っている<sup>12,14,15)</sup>。これらのことから、先天奇形の増加は、主として糖代謝失調を中心とした母体環境における恒常性の乱れによるものであることが示唆されてきた。しかし、このことが具体的に何を指しているのか、また、胎仔発生の如何なる段階でどのように影響を及ぼしているのかはよく解っていない。特に、卵子形成・初期発生に与える影響については殆んど知られていないのが現状である<sup>18)</sup>。これまで、薬剤誘発糖尿病マウス・ラットにおける発生異常の研究は相当数報告されているが、卵子形成期から妊娠後期までの発生過程を一貫して調べ

た研究はほとんどない。また、薬剤誘発糖尿病動物による研究の場合、薬剤の胎仔への直接的影響など、不明な点が多い。その上、人為的糖尿病と自然発症糖尿病とはその病態は必ずしも同じではないので、胎仔への影響も異なる可能性がある。従つて、自然発症動物を用いた研究が必要なことは言うまでもないが、これまでそのような研究は全く報告されていない。

最近、著者らは、80～90%の高頻度で発症がみられるチャイニーズハムスター真性糖尿病頻発家系を確立し、その病態や発症状態を報告してきた<sup>19,20,21)</sup>。本研究では、この家系の母獣を用い、糖尿病母体環境が排卵、受精、初期卵割、着床、胎仔発生に及ぼす影響を調査した。また、糖尿病婦人の児に、ある種の染色体異常が多発するという報告もあるので<sup>22,23)</sup>、この関係を正確に検討するために、染色体異常胚の殆んどが淘汰されていない2細胞期と胚盤胞期で染色体分析を行った。

### 材料と方法

供試動物は、当教室保有の真性糖尿病頻発家系(CH-AD)の重症雌と旭川コロニー(CHA)で散発した重症糖尿病雌である。この家系は、昭和49年に開始された純系化の途中、F10で糖尿病発症を認めたものを兄妹交配により固定したもので、現在F18に達している。F11からF17までの発症頻度は表1に示す通りである。本研究ではF13～F17の動物を使用した。発症は早いものでは生後1.5カ月、遅いものでは10.5カ月であり、早期発症の個体ほど重症になる傾向が強い。一般に、発症動物の膵臓ではinsulinitisが高頻度にみられ、重症例ではinsulinitisに替わつてラ氏島偽腔形成が観察される<sup>20)</sup>。重症の場合、肥満を伴わず、多食、多飲、多尿であり、ケトーシスを示すものもある。また、飽食状態では肝重量/体重・比の増加、肝臓におけるグリコーゲンおよびG-6-P含量の減少、糖新生系酵素の活性上昇、解糖系酵素の活性

低下がみられる。さらに、血中および膵インシュリンの低下もみられる<sup>21)</sup>。使用した重症雌は上述の一般的症状を示す定型的糖尿病期のものである。重症動物では症状が極度に進行すると、性周期の停止や延長がみられる。このような動物では、発生異常・染色体異常生成原である遅延排卵が生じる可能性がある。従つて、本実験では、糖尿病の直接的な影響だけを調べるために、重症ではあるけれども正常性周期を保持している雌あるいは正常性周期が時々回帰し得る雌の正常4日性周期で交尾させたものだけを用いた。一方、対照群の動物は、CHAコロニーで繁殖・育成した正常雌で、実験群の雌と同年齢(5～8カ月齢)のものである。動物は全て単独飼育により温度 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度50～60%、照明時間5:00～19:00の安定した条件下で維持し、固型飼料MF(オリエンタル酵母社製)と水を常時給与した。このような条件下で雌は正常4日の性周期をよく保持し、排卵は発情期の日の3:30～4:30に起こる。雌は陰垢検査により交配適期を調べ、発情前期の日の夜から発情期の日の朝にかけて約12時間正常雄と同居させ、交尾確認後再び単独飼育した。交尾の成否は陰腔あるいは腔内精子の有無によつて確認し、その日を妊娠0日とした。

妊娠2.5日胚は輸卵管を、また4.5日胚は子宮を貫流することによつて回収し、実体解剖顕微鏡下で外部形態を観察した。卵巣も検鏡して排卵した濾胞数を数えた。妊娠18.5日の調査では黄体数、着床数を確認した後、胎仔、胎盤の形態を剖検した。着床前死亡胚の数は、黄体数から着床数を差し引くことにより算出した。着床後死亡胚については、胎仔の発達状態およびconceptusの大きさ(small, medium, large)を指標にして、発生停止時期または死亡時期を推定した。一方、生存胎仔については、体重測定後、実体解剖顕微鏡下で外表奇形の有無を調べた。

染色体分析のために回収された受精後2.5日胚(2細胞

Table 1 Incidence of diabetics in generations of brother-sister inbreeding

| Generation | No. of litter | No. of progeny |        | Incidence of diabetics (%) |          |           |
|------------|---------------|----------------|--------|----------------------------|----------|-----------|
|            |               | Male           | Female | Male                       | Famale   | Total     |
| F 11       | 1             | 2              | 4      | 2(100)                     | 1(25.0)  | 3(50.0)   |
| F 12       | 4             | 12             | 13     | 8(66.7)                    | 6(46.2)  | 14(56.0)  |
| F 13       | 5             | 6              | 13     | 5(83.3)                    | 10(76.9) | 15(78.9)  |
| F 14       | 2             | 5              | 3      | 5(100)                     | 1(33.3)  | 6(75.0)   |
| F 15       | 3             | 3              | 9      | 3(100)                     | 7(77.8)  | 10(83.3)  |
| F 16       | 7             | 13             | 15     | 13(100)                    | 12(80.0) | 25(89.3)  |
| F 17       | 10            | 26             | 16     | 21(80.8)                   | 16(100)  | 37(88.1)  |
| Total      | 32            | 67             | 73     | 57(85.1)                   | 53(72.6) | 110(78.6) |

Table 2 Incidence of developmental anomalies in embryos from diabetic females on day 2.5 of gestation

|           | No. of females | No. of ruptured follicle<br>(mean) | No. of embryos collected<br>(% C.L.) | No. of dead embryos<br>(%) | No. of live embryos      |                        |
|-----------|----------------|------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------|
|           |                |                                    |                                      |                            | abnormal cleavage<br>(%) | normal cleavage<br>(%) |
| Controls  | 103            | 782<br>( 7.6)                      | 778<br>(99.5)                        | 22<br>( 2.8)               | 10<br>( 1.3)             | 746<br>(95.9)          |
| Diabetics | 23             | 181<br>( 7.9)                      | 179<br>(98.9)                        | 7<br>( 3.9)                | 3<br>( 1.7)              | 169<br>(94.4)          |

Table 3 Incidence of developmental anomalies and developmental activity in embryos from diabetic females on day 4.5 of gestation

|           | No. of females | No. of corpora lutea<br>(mean) | No. of embryos collected<br>(% C.L.) | No. of dead embryos<br>(%) | No. of live embryos      |                        | Developmental activity             |                                         |
|-----------|----------------|--------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|
|           |                |                                |                                      |                            | Abnormal cleavage<br>(%) | Normal cleavage<br>(%) | Mean No. of blastomeres per embryo | Mean No. of metaphasic cells per embryo |
| Controls  | 21             | 176<br>( 8.4)                  | 173<br>(98.3)                        | 4<br>( 2.3)                | 5<br>( 2.9)              | 164<br>(94.8)          | 20.76±5.35                         | 5.87±2.80                               |
| Diabetics | 14             | 116<br>( 8.3)                  | 113<br>(97.4)                        | 4<br>( 3.5)                | 6<br>( 5.3)              | 103<br>(91.2)          | 22.81±6.61                         | 5.88±2.87                               |

Table 4 Incidence of pre- and postimplantation death in diabetic females on day 18.5 of gestation

|                | No. of females | No. of corpora lutea<br>(mean) | No. of implantation sites<br>(% C.L.) | Preimplantation* death<br>(%) | Postimplantation death<br>(%) | Total<br>(%)  |
|----------------|----------------|--------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------|
| Controls       | 96             | 768<br>( 8.0)                  | 714<br>(93.0)                         | 54<br>( 7.0)                  | 59<br>( 7.7)                  | 113<br>(14.7) |
| Diabetics      | 67             | 541<br>( 8.1)                  | 497<br>(91.9)                         | 44<br>( 8.1)                  | 103<br>(19.0)                 | 147<br>(27.2) |
| $\chi^2$ -test |                |                                |                                       | P<0.3                         | P<0.001                       |               |

\* The number of preimplantation death was calculated by subtracting the number of implantation sites from the number of corpora lutea.

胞胚)と4.5日胚(胚盤胞)は外部形態を観察した後、コルセミドを含む培養液中で培養し、分裂中期割球の蓄積を計った。但し、2.5日胚については、回収5時間前に母獣の腹腔内にコルヒチンを注射したので、大多数の胚は上述の培養なしに、直ちに染色体標本とした。卵割胚の染色体標本作製には、著者らが特別に開発した成功率・信頼度の高い方法を用いた<sup>24-27)</sup>。

## 結 果

### 1) 発生の推移と発生異常出現率

a) 妊娠2.5日：表2に示すように、排卵濾胞数平均は対照群7.6、糖尿病群7.9であり、糖尿病による排卵数の減少は全くみられなかった。また、胚の回収率および

死亡胚、形態異常胚の出現率についても両群間に全く差は認められなかった。

b) 妊娠4.5日：表3に示すように、平均黄体数は両群ともほぼ同じであつた。また、胚の回収率および死亡胚、形態異常胚の出現率も両群間に有意差は認められなかった。さらに、生存胚の発生能の検討結果も表3に示したが、生存胚1個当りの総割球数および分裂中期割球数が、糖尿病群で減少する傾向は全くなかった。

以上、a)、b)の結果をまとめると、少なくとも正常4日性周期で妊娠した母獣の糖尿病母体環境が卵子形成、排卵、受精および着床前発生に影響している証拠は得られなかった。

c) 妊娠18.5日：表4に示すように、黄体数は両群と

Table 5 Incidence of classified postimplantation death and developmental anomaly in diabetic females on day 18.5 of gestation

|                | No. of<br>implan-<br>tation<br>sites | Postimplantation death    |                            |                           | Developmental anomaly   |                         |                           | Total<br>(%)  |
|----------------|--------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------|
|                |                                      | Small<br>conceptus<br>(%) | Medium<br>conceptus<br>(%) | Large<br>conceptus<br>(%) | Major<br>anomaly<br>(%) | Minor<br>anomaly<br>(%) | Under-<br>develop.<br>(%) |               |
| Controls       | 714                                  | 40<br>( 5.6)              | 8<br>( 1.1)                | 11<br>( 1.5)              | 3<br>( 0.4)             | 1<br>( 0.1)             | 2<br>( 0.3)               | 65<br>( 9.1)  |
| Diabetics      | 497                                  | 68<br>(13.7)              | 18<br>( 3.6)               | 17<br>( 3.4)              | 19<br>( 3.8)            | 7<br>( 1.4)             | 70<br>(14.1)              | 199<br>(40.0) |
| $\chi^2$ -test |                                      | p<0.001                   | p<0.01                     | p<0.05                    | p<0.001                 | p<0.05                  | p<0.001                   |               |

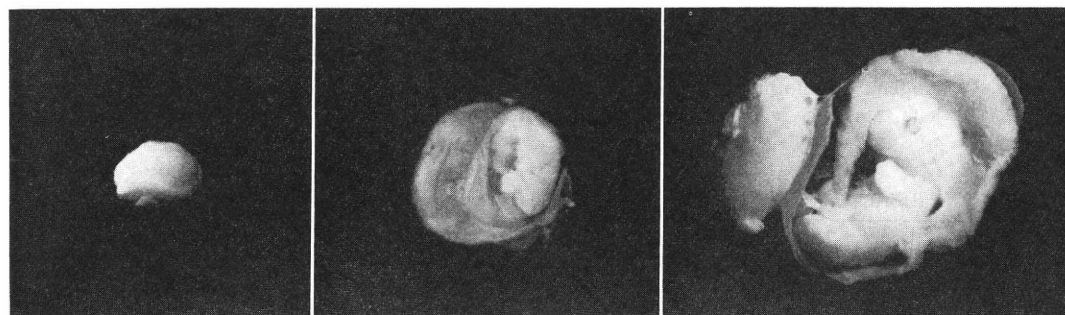


Fig. 1 Dead conceptuses seen in diabetic females on day 18.5 of gestation: a small conceptus with no embryo(left), medium conceptus with an amorphous embryo (center), a large conceptus with a macerated fetus (right).

もほぼ同じであつたが，死亡胎仔は対照群で黄体数の14.7%であつたのに比べ，糖尿病群では27.2%と有意に( $P<0.001$ )増加していた。胎仔死亡のうち着床前死亡は，両群で有意差が認められず，a)，b)の観察結果をよく裏付ける結果を示したが，着床後死亡は，糖尿病群で有意に( $P<0.001$ )増加していた。表5に示すように，糖尿病群で有意に増加した死亡胎仔は，着床直後から器官形成期までの比較的早期に死亡したと考えられるsmall conceptus ( $P<0.001$ )，胎盤がかなり発達し無定形胚を含む，medium conceptus ( $P<0.01$ )，妊娠後期に死亡した浸軟胎仔を含む large conceptus ( $P<0.05$ )であつた(図1)。一方，生存胎仔では major anomalyとして分類した外表奇形が糖尿病群で有意に( $P<0.001$ )増加した。臍帯脱腸が最も多かつたが，外脳症や無顎症(図2)など重度のものから曲尾のような軽度のものまで多種多様であり(表6)，影響が広範囲に及んでいることを示している。また，体の一部に浮腫や内出血など minor anomalyをもつ胎仔も有意に( $P<0.05$ )増加した。さらに，糖尿病群では正常平均体重の69%以下を示す發育不全の胎仔が著しく増加していることから( $P<0.001$ )，胎仔栄養の悪化を引き起こしていることが示唆

された。着床後の発生における影響の度合を各異常別に比較した結果(図3)，どの異常も有意に増加しているが，特に，small conceptusと發育不全の増加が著しいことから，糖尿病母体環境は着床直後から器官形成期に最も強い影響を及ぼし，かつ胎仔の發育を著しく抑制することが明らかであつた。

## 2) 染色体異常出現率

妊娠2.5日(表7)，4.5日(表8)の生存胚における染色体異常の増加は認められなかつた。異数体，モザイク，倍数性異常，構造異常それぞれについても，有意な増加はみられなかつた。4.5日胚の構造的染色体異常の中には，分析された割球のうち全ての割球に染色体異常がみられるものと，1～2個の割球にのみ異常をもつものがみられた。そこで，分析された全割球に対して構造的染色体異常をもつ割球がどの位の割合で出現するかを調べたところ，対照群(3.7%)と糖尿病群(3.2%)の間で全く差はなかつた。以上の結果は，少なくとも正常4日性周期で妊娠した母獣の糖尿病母体環境が成熟分裂，受精あるいは初期卵割の染色体行動に影響を与えなかつたことを示すものであり，同時に，上述の着床前の発生に関する結果を支持するものである。

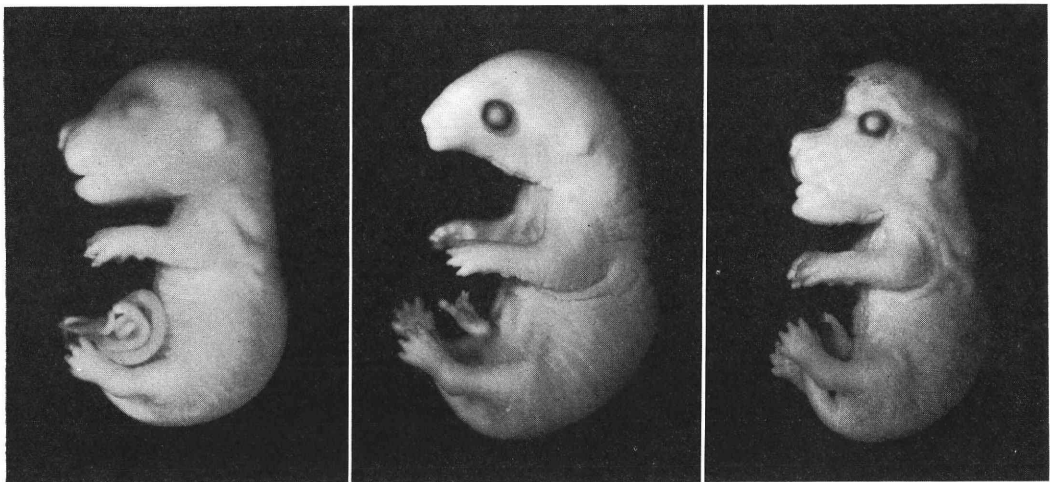


Fig. 2 Congenital malformations found in diabetic females on day 18.5 of gestation : omphalocele (left), agnathia (center), exencephaly (right).

Table 6 Malformations found in fetuses from diabetic females on day 18.5 of gestation

|                     | Controls | Diabetics |
|---------------------|----------|-----------|
| No. of live fetuses | 655      | 394       |
| Malformations       |          |           |
| Exencephaly         | 0        | 2         |
| Plagiocephaly       | 0        | 1         |
| Spina bifida        | 1        | 0         |
| Cleft palate        | 0        | 1         |
| Cleft lip           | 0        | 2*        |
| Agnathia            | 0        | 2         |
| Brachygnathia       | 0        | 1         |
| Single nostril      | 0        | 1         |
| Omphalocele         | 2        | 6         |
| Oligodactyly        | 0        | 2         |
| Kinky tail          | 0        | 1         |
| Total               | 3        | 19        |
| (%)                 | (0.46)   | (4.82)    |

\* With oligodactyly in one fetus

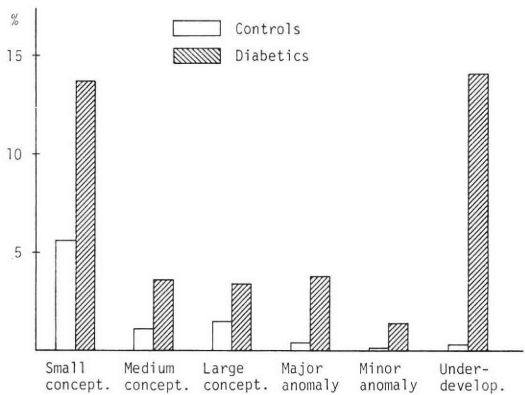


Fig. 3 Incidences of classified developmental anomalies which were found in diabetic females on day 18.5 of gestation.

Table 7 Incidence of chromosome anomalies in 2.5-day embryos from diabetic females

|           | No. of embryos analyzed | Aneuploidy |           | Mosaic  | Ploidy anomaly |          | Structural anomaly | Total    |
|-----------|-------------------------|------------|-----------|---------|----------------|----------|--------------------|----------|
|           |                         | Hyper- (%) | Hypo- (%) |         | n (%)          | 3n (%)   |                    |          |
| Controls  | 733                     | 9 (1.2)    | 6 (0.8)   | 3 (0.4) | 3 (0.4)        | 12 (1.6) | 27 (3.7)           | 60 (8.2) |
| Diabetics | 154                     | 1 (0.6)    | 2 (1.3)   | 1 (0.6) | 1 (0.6)        | 2 (1.3)  | 7 (4.5)            | 14 (9.1) |

Table 8 Incidence of chromosome anomalies in 4.5-day embryos from diabetic females

|           | No. of<br>embryos<br>analyzed | Aneuploidy<br>(%) | Mosaic<br>(%) | Triploidy<br>(%) | Structural<br>anomaly<br>(%) | Total<br>(%) |
|-----------|-------------------------------|-------------------|---------------|------------------|------------------------------|--------------|
| Controls  | 160                           | 2<br>(1.3)        | 2<br>(1.3)    | 0<br>(0.0)       | 11<br>(6.9)                  | 15<br>(9.4)  |
| Diabetics | 100                           | 0<br>(0.0)        | 1<br>(1.0)    | 1<br>(1.0)       | 9<br>(9.0)                   | 11<br>(11.0) |

## 考 察

チャイニーズハムスターではかなり以前から真性糖尿病の発症が認められ、広範な糖尿病研究が行われてきた<sup>28)</sup>。にもかかわらず、糖尿病妊娠と発生異常の関係についてはこれまで全く報告がない。われわれの糖尿病頻発家系の発症動物は、明らかな膵インシュリン低下と *insulinitis* を経てラ氏島偽腔形成に至る病変とを示し、さらに肥満を伴わないことから<sup>20,21)</sup>、ヒトの若年型糖尿病に類似するところが少なくない。従つて、このモデル動物を用いて糖尿病妊娠と発生異常の関係を明らかにしたことは、ヒトの糖尿病妊娠の問題を考える上で大いに役立つものと思われる。

本研究の末着床胚の発生学的、細胞遺伝学的調査の結果では、少なくとも正常 4 日性周期で妊娠した母獣の糖尿病母体環境が卵子の成熟、排卵、受精、卵割のいずれにも影響を及ぼしていないと結論される。Yamamoto ら<sup>29)</sup>は、アロキサンにより誘発した糖尿病マウスの妊娠 3.5 日胚で発生異常と染色体異常について検討した結果、糖尿病群では回収された胚と生存胚の数が有意に減少し、さらに染色体異常が有意に増加すると報告した。一方、Deuchar<sup>14)</sup>は、ストレプトゾトシンあるいはアロキサンにより誘発した糖尿病ラットの妊娠 4 日胚を検討した結果、いずれの場合も発生異常の増加を認めなかった。ラットの結果は、われわれのそれとよく一致している。一方、Yamamoto ら<sup>29)</sup>のマウスの結果は、発生異常についても染色体異常についてもわれわれの結果と甚しく異なる。このような相違を生ずる原因のひとつに、使用した動物の生殖生理学的特性の違いがあげられる。一般によく認められているように、マウスは注射などの実験処置によつて性周期が乱れ易い。従つて、遅延排卵<sup>30,31,32)</sup>や遅延受精<sup>33,34,35)</sup>など、他の発生異常・染色体異常誘発因子が混入する可能性が高い。これに対し、チャイニーズハムスターは性周期が極めて安定であるうえ、本研究では特にこのことを考慮して正常 4 日周期に妊娠した動物のみを使用している点、実験系そのものが Yamamoto ら<sup>29)</sup>のものとは大いに異なるものである。遅延排卵の間接的影響については、ヒトの糖尿病妊娠でもその

可能性が指摘されているところである。糖尿病婦人では無月経や月経周期の乱れが一般的であり、このような生理状態下では遅延排卵が生じ易く、糖尿病妊娠における発生異常や染色体異常の原因になつていることが指摘された<sup>36)</sup>。実際、薬剤誘発糖尿病母獣でも性周期が異常になることが報告されている<sup>37,38)</sup>。また、材料と方法の項でも述べたようにわれわれのチャイニーズハムスターでも極度の重症母獣では、性周期の停止や発情期の延長が観察された。今回、正常な性周期で交尾した母獣だけを用いることにより、母体が糖尿病であつても正常な性周期で妊娠した場合には、減数分裂期や初期卵割期での発生異常・染色体異常を誘発しないことが明らかとなつた。

糖尿病母体環境が着床後の発生に与える影響に関しては、本研究においても薬剤誘発糖尿病妊娠と同様、胎仔死亡や奇形仔の著しい増加が観察されたが、奇形の種類については両者の間に相違が認められる。チャイニーズハムスターで観察された奇形では臍帯脱腸がやや多かったが、多種多様の異常が観察されている(表 6)。一方、マウスのアロキサン誘発糖尿病妊娠では、投与時期の違いによつて奇形の種類や頻度がかなり異なっている。妊娠 3 日前から妊娠 11 日に投与された場合には、頭蓋脊椎破裂、口蓋裂、無顎症が多く、他にも多種の奇形が観察されている<sup>10,11,12)</sup>。妊娠 14 日で投与された場合には、全てが肋骨の彎曲のような minor な異常であつた<sup>10)</sup>。しかし、アロキサンのラットへの交尾直後投与では、若干投与量は少ないものの外表奇形は全くみられず、仙骨部脊椎の骨化不全が多発した<sup>14)</sup>。同様に、ストレプトゾトシンのラットへの投与でも仙骨部脊椎の骨化不全が多発しているが、アロキサン投与ではみられなかつた臍帯脱腸や下顎短小奇形もかなり誘発されている<sup>13,14,15)</sup>。すなわち、奇形の種類やその発生頻度は、使用する薬剤の種類や投与量、投与時期あるいは実験動物の種によつてかなり違ってくるものと考えられる。ヒトの糖尿病妊娠でみられる奇形は多種多様であり<sup>7)</sup>、この点では、われわれのチャイニーズハムスターの結果も同様であつた。奇形が多種多様であることは、糖尿病母体環境の発生に及ぼす影響がヒトでもチャイニーズハムスターでも器官形成



の初期からかなり長期間に亘るものであることを示唆している。しかし、一方、ヒトの糖尿病妊娠では巨大児が16~17%も発生しているが<sup>1)</sup>、チャイニーズハムスターで全くみられなかったことは、両者における大きな相違である。

チャイニーズハムスターの糖尿病妊娠では、胎仔死亡や外表奇形の他に発育不全の胎仔が著しく増加する。ヒトでも糖尿病母体に血管系の合併症が認められる場合では、慢性低酸素状態に伴う SFD 児の分娩をみる事が多い<sup>39)</sup>。最近、糖尿病合併症である細小血管症の原因として、グリコヘモグロビン(Hb A<sub>1</sub>)の増加と 2,3-Bisphosphoglycerate (2,3-DPG)の低下による組織内低酸素症が考えられているが<sup>40)</sup>、低酸素症は、また発生異常誘発因子としてよく知られている<sup>41,42)</sup>。従つて、糖尿病妊娠における発生異常が、母体組織での低酸素症に起因するものである可能性も考えられる。

今後の課題として、糖尿病妊娠における異常発生の機序の解明には低酸素症との関係の検討がある。また、今回の研究で調査の及ばなかった骨格異常、内臓奇形についても当然検討されるべきものと考えている。

## 謝 辞

旭川医科大学産婦人科学教室清水哲也教授の御好意で「日本産婦人科学会栄養代謝問題委員会報告—我国における糖尿病合併妊娠の最近の傾向と管理」を参照する機会を得たことを感謝します。

なお、本研究に使用された真性糖尿病頻発家系の純系化は、文部省科学研究費特定研究「実験動物の純化と開発」および試験研究(2)によって行われた。

## 文 献

- 1) 日本産婦人科学会栄養代謝問題委員会報告、我国における糖尿病合併妊娠の最近の傾向と管理、1981.
- 2) Pedersen, J., Mølsted-Pedersen, L., and Andersen, B.: Assessors of fetal perinatal mortality in diabetic pregnancy. Analysis of 1,332 pregnancies in the Copenhagen series 1946-72. *Diabetes* 23 : 302, 1974.
- 3) Gabbe, S. G.: Congenital malformations in infants of diabetic mothers. *Obstet. Gynecol. Surv.* 32 : 125, 1977.
- 4) Essex, N. L., Pyke, D. A., Watkins, P. J., Bradenell, J. M., and Gamsu, H. R.: Diabetic pregnancy. *Br. Med. J.* iv : 89, 1973.
- 5) Hare, J. W., and White, P.: Pregnancy in diabetics complicated by vascular disease. *Diabetes* 26 : 953, 1977.
- 6) Drury, M. I., Greene, A. T., and Stronge,

- J. M.: Pregnancy complicated by clinical diabetes mellitus, a study of 600 pregnancies. *Obstet. Gynecol.* 49, 519, 1978.
- 7) Bennet, P. H., Webner, C., and Miller, M.: Congenital anomalies and the prediabetic pregnancy. In pregnancy metabolism, diabetes and the fetus (Ciba Found. Symp. 63) : p. 207, Amsterdam, Excerpta Medica, 1979.
- 8) Soler, N. G., Walsh, C. H., and Malins, J. M.: Congenital malformations in infants of diabetic mothers. *Quart. J. Med.* 45 : 303, 1976.
- 9) Ross, O. A., and Spector, S.: Production of congenital abnormalities in mice by alloxan. *Am. J. Dis. Child.* 84 : 647, 1952.
- 10) Watanabe, G., and Ingalls, T. H.: Congenital malformations in the offspring of alloxan-diabetic mice. *Diabetes* 12 : 66, 1963.
- 11) Endo, A.: Teratogenesis in diabetic mice treated with alloxan prior to conception. *Arch. Environ. Health* 12 : 492, 1966.
- 12) Horii, K., Watanabe, G., and Ingalls T. H.: Experimental diabetes in pregnant mice. *Diabetes* 15 : 194, 1966.
- 13) Deuchar, E. M.: Embryonic malformations in rats, resulting from maternal diabetes: preliminary observations. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 41 : 93, 1977.
- 14) Deuchar, E. M.: Experimental evidence relating fetal anomalies to diabetes. In carbohydrate metabolism in pregnancy and the newborn : p. 247, Berlin, Springer, 1979.
- 15) Eriksson, U., Dahlström, E., Larsson, K. S., and Hellerström, C.: Increased incidence of congenital malformations in the offspring of diabetic rats and their prevention by maternal insulin therapy. *Diabetes* 31 : 1, 1982.
- 16) Pedersen, J.: The pregnant diabetic and her newborn. In management of diabetic pregnancy and the newborn infant, ed. 2; p. 221, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1977.
- 17) 大森安恵：糖尿病合併妊娠の対策，産婦人科の世界，32 : 52, 1980.
- 18) Editorial: Abnormal infants of diabetic mothers. *Lancet* i : 633, 1980.
- 19) 舟木賢治，渡辺 清，建部高明，美甘和哉：チャイニーズハムスターにおける糖尿病頻発家系の確立，糖尿病，23 : 407, 1980.
- 20) 渡辺 清，酒井芳紀，建部高明，吉田征子，堀米 賢，石井兼央：自然発症糖尿病チャイニーズハムスター(旭川コロニー)の病態(第1報)，糖尿病，23 : 408, 1980.
- 21) 酒井芳紀，渡辺 清，建部高明，加賀谷寿孝，舟木賢治，石井兼央：自然発症糖尿病チャイニーズハムスター(旭川コロニー)の病態(第2



- 報), 糖尿病, 23 : 408, 1980.
- 22) Nielsen, J.: Diabetes mellitus in parents of patients with Klinefelter's syndrome. *Lancet* ii : 1376, 1967.
  - 23) Navarrete, V. N., Torres, I. H., Rivera, I. R., Shor, V. P., and Gracia, P. M.: Maternal carbohydrate disorder and congenital malformations. *Diabetes* 16 : 127, 1967.
  - 24) Kamiguchi, Y., Funaki, K., and Mikamo, K.: A new technique for chromosome study of murine oocytes. *Proc. Japan Acad.* 52 : 316, 1976.
  - 25) 上口勇次郎, 舟木賢治, 美甘和哉: 齧齒類卵子および未着床胚の染色体標本作製法, 先天異常, 18 : 41, 1978.
  - 26) 美甘和哉: 哺乳類卵子および未着床胚の染色体観察と分析, 臨産, 31 : 1137, 1977.
  - 27) 美甘和哉: 染色体研究法, 哺乳類の初期発生: p. 307, 理工学社, 1981.
  - 28) Gerritsen, G. C., Blanks, M. C., Schmidt, F. L., and Dulin, W. E.: Environmental influences on the manifestation of diabetes mellitus in Chinese hamsters. In the genetics of diabetes mellitus: p. 165, Berlin, Springer, 1976.
  - 29) Yamamoto, M., Endo, A., Watanabe, G., and Ingalls, T. H.: Chromosomal aneuploidies and polyploidies in embryos of diabetic mice. *Arch. Environ. Health* 22 : 468, 1971.
  - 30) Mikamo, K.: Intrafollicular overripeness and teratologic development. *Cytogenetics* 7 : 212, 1968.
  - 31) Mikamo, K., and Hamaguchi, H.: Chromosomal disorder caused by preovulatory overripeness of oocytes. In aging gametes: p. 72, Basel, Karger, 1975.
  - 32) Kamiguchi, Y., Funaki, K., and Mikamo, K.: Chromosomal anomalies caused by preovulatory overripeness of the primary oocyte. *Proc. Japan Acad.* 55 : 398, 1979.
  - 33) Blandau, R. J., and Young, W. C.: The effects of delayed fertilization on the development of the guinea-pig ovum. *Am. J. Anat.* 64 : 303, 1939.
  - 34) Chang, M. C.: Effects of delayed fertilization on segmenting ova, blastocysts and fetuses in rabbit. *Fedn Proc.* 11 : 24, 1952.
  - 35) Shaver, E. L., and Carr, D. H.: Chromosome abnormalities in rabbit blastocysts following delayed fertilization. *J. Reprod. Fert.* 14 : 415, 1967.
  - 36) Jongbloet, P. H.: Abnormal infants and diabetic mothers. *Lancet* i : 984, 1980.
  - 37) Davis, M. E., Fugo, N. V., and Lawrence, K. G.: Effects of alloxan diabetes on reproduction in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 66 : 638, 1947.
  - 38) Ferret, P., Linden, C., and Morgans, M. E.: Pregnancy in insulin-treated alloxan diabetic rats. *J. Endocrinol.* 7 : 100, 1950.
  - 39) 松浦俊平: 妊娠合併症とハイリスクベビー, 臨産, 13 : 1125, 1977.
  - 40) Ditzel, J.: The problems of tissue oxygenation in diabetes mellitus. III The "three-in-one concept" for the development of diabetic microangiopathy and a rational approach to its prophylaxis. *Acta. Med. Scand. (Suppl)* 578 : 69, 1975.
  - 41) Ingalls, T. H., Curley, F. J., and Prindle, R. A.: Anoxia as a cause of fetal death and congenital defect in the mouse. *Am. J. Dis. Child.* 80 : 34, 1950.
  - 42) Murakami, U., and Kameyama, Y.: Vertebral malformation in the mouse foetus caused by maternal hypoxia during early stage of pregnancy. *J. Embryol. Exp. Morph.* 11 : 107, 1963.

# A study on teratogenic effects of maternal diabetes during pre- and postimplantation stages in a diabetic strain of the Chinese hamster

Kenji Funaki and Kazuya Mikamo

Department of Biological Sciences,  
Asahikawa Medical College

Teratogenic effects of maternal diabetes on oogenesis, fertilization and pre- and postimplantation development were examined by using spontaneous diabetic females of the Chinese hamster. The females with typical diabetic symptoms, 5-8 months of age, were chosen from F13-F17 of the brother and sister mating generations of a diabetic strain which has been raised in the Department of Biological Sciences, Asahikawa Medical College. The symptoms seen in this strain show many similarities to those of human diabetes mellitus, such as decreased plasma and pancreatic insulin, increased hepatic gluconeogenic enzyme, decreased hepatic glycolytic enzyme, insulinitis, and non-obesity. Moreover, diabetic animals exhibit more or less declined reproductive activity, such as irregularity in the estrous cycle, failure in the mating, and reduction in the litter size. However, all the females actually dealt with in this study were mated and impregnated during a normal 4-day estrous cycle. The males used for mating were normal and nondiabetic, and were selected from our general colony (CHA). Control

females were also 5-8 months of age, the age range being the best for reproduction in this species. They were also mated with normal males during a regular 4-day cycle.

Embryological studies on day 2.5, 4.5 and 18.5 of gestation were performed with 23, 14 and 67 diabetic females, respectively. Numbers of corpora lutea, embryos, and implantation sites were counted. External morphology of embryos, fetuses, and placentae was examined under a dissecting microscope. Furthermore, preimplantation embryos were karyotyped on day 2.5 and 4.5 of gestation with 23 and 14 diabetic females, respectively, in order to elucidate the relation between diabetic pregnancy and chromosomal aberrations.

The following results were obtained: 1) There was no decrease in the number of corpora lutea, collected embryos, or implantation sites in the diabetic females. 2) As far as the preimplantation stages were concerned, there was no decrease

in the cleavage activity and no increase in the incidence of developmental anomalies. 3) With respect to the postimplantation development, however, there were significant increases in embryonic death ( $P < 0.001$ ), gross malformation ( $P < 0.001$ ), and fetal hypoplasia ( $P < 0.001$ ) in the diabetic pregnancies. 4) There was no increase of chromosomal aberrations in the preimplantation embryos from the diabetic females.

The results 1), 2) and 4) indicated that in those diabetic females which were capable of conceiving during a normal estrous cycle, maternal diabetic milieu did not affect oogenesis, ovulation, fertilization, cleavage division, or implantation. In contrast to those, the result 3) showed definitely that the maternal diabetes exerted deleterious effects on the embryonic development during the stage of organogenesis and also reduced remarkably the fetal growth during the later developmental stages.

(受付: 昭和57年4月23日)

## 過排卵処理家兎の胚または胎子の形態的観察

### Morphological Observation of Embryos or Fetuses in Superovulated Rabbits

東京農業大学畜産学科

富 樫 守 石 島 芳 郎

Mamoru TOGASHI Yoshiro ISHIJIMA

Department of Zootechnical Science, Tokyo

University of Agriculture, Tokyo 156

過排卵処理家兎における着床後の胚死亡の原因を探る目的で、交配後4, 6, 11および20日目の胚ならびに胎子を対象に形態的観察を行い、自然交配家兎（対照区）の場合と比較した。なお、過排卵処理後交配家兎（過排卵区）においては、交配の翌日から prolactin を投与する区（過排卵+pro. 区）も設けた。

1) 4日目胚は各区ともすべて blastocyst 以上に達しており、そのうち expanding blastocyst への移行率は、対照区37.5%, 過排卵区60.6%, 過排卵+pro. 区 52.7%であった。また、6日目胚はすべて expanding blastocyst であった。

2) 胚計測の結果、4日目胚は expanding blastocyst のムチン層値が対照区、過排卵区および過排卵+pro.区で、それぞれ38.5, 10.4および16.7 $\mu$ m と過排卵両区が薄く、6日目胚では直径値2406.6, 3231.1および3684.7 $\mu$ m, 形質部値2380.1, 3202.9および3620.1 $\mu$ m と、いずれも過排卵両区が対照区の約1.5倍の大きさに達していた。

3) 11日目における妊娠成績は対照区、過排卵区および過排卵+pro.区でそれぞれ、妊娠率100, 40.0および78.0%, 平均着床数8.6, 14.5および12.8, 平均生存胎子数（胎子生存率）7.8 (90.7%), 10.3 (70.7%)および10.8 (78.4%)であった。また、20日目の成績は11日目とほぼ同様であったが、胎子生存率は、それぞれ90.4, 46.8および62.7%と11日目に比べ過排卵両区で低下がみられた。

4) 胎子、胎盤計測の結果、対照区、過排卵区および過排卵+pro. 区において、11日目では胎子重量20.4, 15.3および19.0mg, 胎盤重量86.8, 64.2および81.2mg, 20日目では胎盤重量1428.8, 1171.0および1255.1mg, 胎盤体積1.19, 1.04および1.19cm<sup>3</sup> といずれも過排卵区が低い値を示した。

以上のことから、過排卵処理によって着床前の胚の発育速度が若干遅くなること、ならびに着床後の胎子の発育が相対的に不良であることが示唆された。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(1), 133-139, 1983)

過排卵処理家兎を妊娠させ一腹の産子数を増加させる試みが、これまで Parkes<sup>1)</sup>をはじめとしていくつか行われてきている<sup>2-7)</sup>。しかしながら、現状では処理後の妊娠成績が芳しくなく、たとえ多数の胚が着床しても、その後の胚死亡率が高いために、いまだ期待通りの成績は得られていない。

この原因としては、これまでの研究からホルモンのアンバランス<sup>4,8)</sup>、母体からの栄養供給の欠陥<sup>9,10)</sup>、over-

crowding<sup>2,5,10)</sup>など種々の要因が指摘されてきたが、はっきりとした決め手にはなっていない。

一方、近年過排卵処理動物から得られた卵子は、みかけ上正常であっても、染色体レベルでは異常の割合が高い<sup>11,12)</sup>、体外培養の発生率が低い<sup>13-15)</sup>、体外受精における異常受精<sup>16)</sup>や染色体異常<sup>17)</sup>の割合が高いなどと、欠陥をもつものが含まれていることが示唆されている。このことは、形態上正常に発育した胚においても何らかの影

響が現われることが懸念される。

そこで本実験では、過排卵処理後交配した家兎より得られた着床前後の胚を対象に、自然交配家兎の場合と形態的比較を行った。

#### 実験材料および方法

この実験に用いた家兎は、日本白色種の成熟未産雌(体重2.5kg以上)である。これらは業者より購入し、最低1カ月の予備飼育を行った後、供試した。交配には当研究室で自家繁殖した同種の成熟雄を用いた。飼育は、1頭ずつラビットケージに収容して行い、飼料としてオカラと青草あるいは野菜くずを給与した。

過排卵処理の方法は、PMS(セロトロピン、帝国臓器)を日量40IUずつ5日間、計200IU皮下注射し、PMS注射の最終日に0.1mgのestradiol(オバホルモンベンツェート、帝国臓器)を筋肉注射して、その48時間後に雄と交配させ、交配直後にHCG(HCGモチダ、持田製薬)100IUを静脈注射する方法を用いた<sup>18,19)</sup>。なお、過排卵処理家兎においては、交配の翌日から日量20IUのprolactin(プロラクチン、帝国臓器)を5日間、計100IU(交配後4日目に、と殺した個体は3日間、計60IU)投与する区も設けた<sup>6,7)</sup>。

これらの家兎は、交配後4、6、11および20日目にそれぞれ、と殺開腹して、4および6日目においては子宮灌流によつて胚を回収した後、胚の形態を分類し、その直径、形質部、ムチン層および透明帯を各部位ごとにマイクロメーターを用いて計測した。また、11および20日目においては着床数ならびに生存胎子数を記録するとともに、胎子、胎盤の重量、体積などを測定し、自然交配家

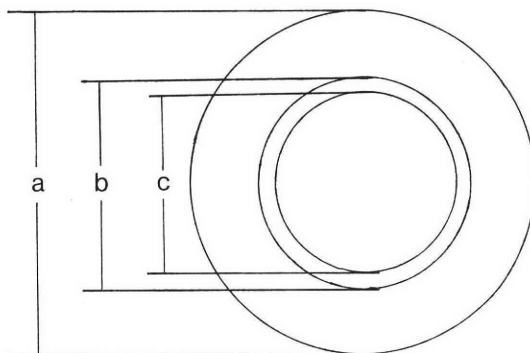
兎の場合と比較検討を行った。

なお、着床前胚の計測方法はFig. 1に示すとおりである。すなわち、blastocystにおける直径値はムチン層の外径から反対側の外径までの距離、形質部値は透明帯の内径から反対側の内径までの距離とした。また、ムチン層の厚さは直径値から透明帯の外径値を減じ、その $\frac{1}{2}$ をもつてムチン層値とし、透明帯の厚さは透明帯の外径値から形質部値を減じ、その $\frac{1}{2}$ をもつて透明帯値とした。expanding blastocystについては、透明帯の厚さを計測することは不可能であつたため、計測部位は直径、形質部およびムチン層に限定し、それぞれについてblastocystの場合と同様の要領で行つた。計測した胚はほとんどが正円形を呈していたが、楕円形のものはその長径をそれぞれの部位計測値とした。

#### 実験成績

交配後4および6日目における胚計測結果はTable 1に示すとおりである。すなわち、4日目では計測した胚は各区ともすべてblastocyst以上に達しており、そのうちexpanding blastocystへの移行率は、対照区37.5%、過排卵区60.6%、過排卵+prolactin区52.7%と過排卵両区が対照区に比べ高い値を示した。

blastocystにおける各部位の計測値は、対照区、過排卵区および過排卵+prolactin区でそれぞれ、直径値373.5、383.5および320.4 $\mu$ m、形質部値218.8、227.8および222.8 $\mu$ m、ムチン層値63.7、63.2および37.7 $\mu$ m、透明帯値12.6、15.0および12.7 $\mu$ mと過排卵+prolactin区のムチン層が他区と比較して有意に低い値であつた( $P < 0.05$ )以外は、いずれも顕著な差ではなかつた。ま



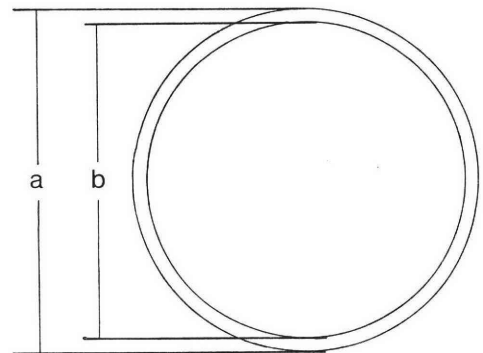
Blastocyst

a : Diameter

c : Ovoplasma

$\frac{1}{2}(a-b)$  : Mucin layer

$\frac{1}{2}(b-c)$  : Zona pellucida



Expanding Blastocyst

a : Diameter

b : Ovoplasma

$\frac{1}{2}(a-b)$  : Mucin layer

Fig. 1 Measurement sites of blastocyst and expanding blastocyst

Table 1 Measurements of embryos at 4 and 6 days post coitum in superovulated rabbits

| Mean $\pm$ S.E. |                                      |                               |                      |                     |                     |                     |                        |                      |                      |                      |                     | Unit : $\mu$ m                          |
|-----------------|--------------------------------------|-------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|-----------------------------------------|
| Days<br>P.C.    | Group                                | Total<br>no.<br>of<br>embryos | Blastocyst           |                     |                     |                     |                        | Expanding Blastocyst |                      |                      |                     | %<br>of<br>Expanding<br>Blasto-<br>cyst |
|                 |                                      |                               | No.<br>of<br>embryos | Dia-<br>meter       | Ovo-<br>plasma      | Mucin<br>layer      | Zona<br>pellu-<br>cida | No.<br>of<br>embryos | Diame-<br>ter        | Ovo-<br>plasma       | Mucin<br>layer      |                                         |
| 4               | Control                              | 40                            | 25                   | 375.3<br>$\pm$ 8.8  | 218.8<br>$\pm$ 14.9 | 63.7<br>$\pm$ 4.33  | 12.6<br>$\pm$ 1.05     | 15                   | 469.3<br>$\pm$ 7.5   | 392.4<br>$\pm$ 12.7  | 38.5<br>$\pm$ 4.10  | 37.5                                    |
|                 | Super<br>ovulation                   | 71                            | 28                   | 383.5<br>$\pm$ 9.0  | 227.8<br>$\pm$ 14.8 | 63.2<br>$\pm$ 4.31  | 15.0<br>$\pm$ 1.46     | 43                   | 491.8<br>$\pm$ 12.4  | 471.4*<br>$\pm$ 12.5 | 10.4*<br>$\pm$ 0.97 | 60.6                                    |
|                 | Super<br>ovulation<br>+<br>Prolactin | 91                            | 43                   | 320.4<br>$\pm$ 11.1 | 222.8<br>$\pm$ 12.8 | 37.7*<br>$\pm$ 2.13 | 12.7<br>$\pm$ 0.90     | 48                   | 466.7<br>$\pm$ 13.7  | 442.2*<br>$\pm$ 11.1 | 16.7*<br>$\pm$ 1.14 | 52.7                                    |
| 6               | Control                              | 32                            |                      |                     |                     |                     |                        | 32                   | 2406.6<br>$\pm$ 235  | 2380.1<br>$\pm$ 234  | 13.3<br>$\pm$ 0.89  | 100                                     |
|                 | Super<br>ovulation                   | 38                            |                      |                     |                     |                     |                        | 38                   | 3231.1*<br>$\pm$ 117 | 3202.9*<br>$\pm$ 117 | 14.2<br>$\pm$ 0.84  | 100                                     |
|                 | Super<br>ovulation<br>+<br>Prolactin | 113                           |                      |                     |                     |                     |                        | 113                  | 3684.7*<br>$\pm$ 138 | 2620.1*<br>$\pm$ 137 | 14.5<br>$\pm$ 0.62  | 100                                     |

\* 5 % level

Significantly different from control group

た, expanding blastocyst においては, 直径値 469.3, 491.8 および 466.7 $\mu$ m, 形質部値 392.4, 471.4 および 442.2 $\mu$ m, ムチン層値 38.5, 10.4 および 16.7 $\mu$ m で直径値には差がなかったものの, 形質部値ならびにムチン層値では, 対照区と過排卵両区の間有意な差が認められた ( $P < 0.05$ ).

つぎに, 6 日目胚は各区ともすべて expanding blastocyst であったが, 胚の大きさにはかなりの違いがみられた. すなわち, 直径値が対照区 2406.6 $\mu$ m であったのに対し, 過排卵区 3231.1 $\mu$ m, 過排卵 + prolactin 区 3684.7 $\mu$ m, また, それにともない形質部値もそれぞれ 2380.1, 3202.9 および 3620.1 $\mu$ m といずれも過排卵両区が対照区の約 1.5 倍の大きさに達していた. ムチン層値については区による差はなかった.

なお, 4 日目から 6 日目にかけ, 胚は直径値において対照区が約 6 倍, 過排卵両区では約 7 ~ 9 倍の膨化がみられた.

一方, 交配後 11 および 20 日目における妊娠成績は Table 2 に示すとおりである. Table 2 から明らかなように, 11 日目の対照区では 5 例中 5 例 (100 %) が妊娠し, 平均着床数 8.6, うち平均生存胎子数 7.8 (胎子生存率 90.7 %) であった. これに対し, 過排卵区では 10 例中 4 例 (40.0 %) が妊娠し, 平均着床数 14.5, うち平均生存胎子数 10.3 (胎子生存率 70.7 %) と平均着床数および平均生存胎子数とも対照区に比べ増加がみられたが,

妊娠率および胎子生存率は劣っていた. また, 過排卵 + prolactin 区では 9 例中 7 例 (77.8 %) に着床がみられたが, 生存胎子を有していた個体は 4 例のみで, その平均着床数は 12.8, うち平均生存胎子数 10.8 (胎子生存率 78.4 %) と過排卵区と比べて着床率で若干の向上がみられた以外は, ほぼ同様の成績であった.

20 日目においては, 対照区で 5 例中 5 例 (100 %) が妊娠し, 平均着床数 8.4, うち平均生存胎子数 7.6 (胎子生存率 90.4 %), 過排卵区で 8 例中 3 例 (37.5 %) が妊娠し, 平均着床数 15.7, うち平均生存胎子数 7.3 (胎子生存率 46.8 %) であった. 過排卵 + prolactin 区では 8 例中 6 例 (75.0 %) に着床がみられたが, 11 日目と同様に生存胎子を有していた個体は 4 例のみで, その平均着床数は 14.8, うち平均生存胎子数 9.3 (胎子生存率 62.7 %) であった. なお, 11 日目から 20 日目にかけて胎子の生存率が対照区ではほとんど変わらなかったのに対し, 過排卵両区では低下がみられ, とくに過排卵区が顕著であった.

さらに, これらの時期における胎子, 胎盤の計測の結果, Table 3 に示すような結果が得られた. すなわち, 11 日目の対照区, 過排卵区および過排卵 + prolactin 区の胎子重量は, それぞれ 20.4, 15.3 および 19.0 mg, 胎盤重量は 86.8, 64.2 および 81.2 mg と対照区に比べて過排卵区はいずれも有意に低い値を示した ( $P < 0.05$ ). また, 20 日目では胎子重量がそれぞれ 3031.1, 3084.4 およ

Table 2 Pregnancy rate, number of implantation site and percent of living fetuses at 11 and 20 days post coitum in superovulated rabbits

| Days P.C. | Group                       | No. of females | No. of pregnant females (%) | Mean no. of corpora lutea (Range) | Mean no. of implantation site (Range) | Mean no. of living fetuses (Range) | % of living fetuses |
|-----------|-----------------------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------|
| 11        | Control                     | 5              | 5 (100)                     | 9.8 (8~13)                        | 8.6 (6~10)                            | 7.8 (4~9)                          | 90.7                |
|           | Super ovulation             | 10             | 4 (40.0)                    | 29.0 (22~38)                      | 14.5 (12~16)                          | 10.3 (7~15)                        | 70.7                |
|           | Super ovulation + Prolactin | 9              | 7* (77.8)                   | 25.5 (17~33)                      | 12.8 (8~17)                           | 10.0 (2~16)                        | 78.4                |
| 20        | Control                     | 5              | 5 (100)                     | 9.0 (7~10)                        | 8.4 (6~10)                            | 7.6 (5~10)                         | 90.4                |
|           | Super ovulation             | 8              | 3 (37.5)                    | 39.3 (36~45)                      | 15.7 (7~25)                           | 7.3 (2~11)                         | 46.8                |
|           | Super ovulation + Prolactin | 8              | 6** (75.0)                  | 41.0 (13~83)                      | 14.8 (7~24)                           | 9.3 (2~19)                         | 62.7                |

\* Three rabbits had dead fetuses only      \*\* Two rabbits had dead fetuses only

Table 3 Measurements of fetus and placenta at 11 and 20 days post coitum in superovulated rabbits

| Mean $\pm$ S.E.             |                       |                  |                     |                       |                  |                      |                 |                          |                  |                          |
|-----------------------------|-----------------------|------------------|---------------------|-----------------------|------------------|----------------------|-----------------|--------------------------|------------------|--------------------------|
| Group                       | 11 days P.C.          |                  |                     | 20 days P.C.          |                  |                      |                 |                          |                  |                          |
|                             | No. of living fetuses | Fetal weight mg  | Placental weight mg | No. of living fetuses | Fetus            |                      |                 | Placenta                 |                  |                          |
|                             |                       |                  |                     |                       | Weight mg        | Crown-rump length cm | Girth cm        | Capacity cm <sup>3</sup> | Weight mg        | Capacity cm <sup>3</sup> |
| Control                     | 39                    | 20.4 $\pm$ 1.06  | 86.8 $\pm$ 3.88     | 38                    | 3031.1 $\pm$ 77  | 3.91 $\pm$ 0.03      | 3.54 $\pm$ 0.05 | 2.87 $\pm$ 0.07          | 1428.8 $\pm$ 91  | 1.19 $\pm$ 0.04          |
| Super ovulation             | 41                    | 15.3* $\pm$ 0.97 | 64.2* $\pm$ 3.22    | 22                    | 3084.4 $\pm$ 174 | 3.91 $\pm$ 0.09      | 3.49 $\pm$ 0.08 | 2.82 $\pm$ 0.14          | 1171.0 $\pm$ 73  | 1.04 $\pm$ 0.06          |
| Super ovulation + Prolactin | 40                    | 19.0 $\pm$ 1.19  | 81.2 $\pm$ 4.54     | 37                    | 3282.5 $\pm$ 111 | 3.95 $\pm$ 0.05      | 3.60 $\pm$ 0.05 | 3.08 $\pm$ 0.12          | 1255.1 $\pm$ 105 | 1.19 $\pm$ 0.11          |

\* 5 % level

Significantly different from control group

び3282.5mg, 胎子体長3.91, 3.91および3.95cm, 胎子腹囲3.54, 3.49および3.60cm, 胎子体積2.87, 2.82および3.08cm<sup>3</sup>と胎子に関しては区による差はみられなかった。胎盤重量は1428.8, 1171.0および1255.1mg, 胎盤体積は1.19, 1.04および1.19cm<sup>3</sup>で、ともに過排卵区が低い値であつたが有意なものではなかった。

### 考 察

家兎における着床前の胚計測については、これまで武石ら<sup>20)</sup>, Hafez and Rajakoski<sup>21)</sup>, 野沢<sup>22)</sup>によつて報告されており、いずれも着床が近づくとつれ、胚形質部は著しく膨化し、それにともなつてムチン層および透明帯

は漸次非薄化していくことをみている。本実験の結果もこれらの報告とほぼ一致するものであつたが、対照区と過排卵両区の計測値を比較した場合、過排卵両区のムチン層が対照区よりも薄くなる傾向が認められた。このことは、卵管内でのムチンの蓄積が不十分であつたことに起因するものと思われる。この理由としては、過排卵処理によつて、胚の卵管内通過が若干速くなること<sup>23,24)</sup>, あるいはホルモン投与によつて卵管内からのムチン分泌が抑制されること<sup>25-27)</sup>などが考えられるが、本実験だけでは判然としなない。

しかしながら、いずれにしても家兎においては、ムチン層の存在が胚の成長および生存に極めて密接に関係し

ていることはいうまでもなく、Greenwald<sup>27)</sup>が交配直後に estrogen を注射することによつてムチン層の薄くなった胚を回収し、これらを移植した結果、着床率が極端に低く、その後の胚死亡率も高かったと報告していることからもうなずける。また、これに関連するものとして、Krishnan and Daniel<sup>28)</sup>は、家兎子宮内粘液に交配後3日目頃から出現し、9日目には消失してしまうという蛋白質 (blastokinin) の存在を明らかにし、この蛋白が着床前の胚の発育に不可欠であること、さらに菅原<sup>29)</sup>は、胚の成長には progesterone と estrogen の比率が重要で、とくに estrogen は胚の成長を急激に促進することなどを指摘している。このようなことを考え合わせると、過排卵処理家兎の卵巣には多数の肥大血球および未破裂卵胞が存在するために卵胞ホルモン優位にあると指摘されている点<sup>30,31)</sup>が一つの要因と考えられる。

つぎに、着床後の妊娠成績は、相対的にはこれまでの報告<sup>1,7)</sup>と類似するものであつた。なお、Ishijima et al.<sup>6)</sup>、石島・平林<sup>7)</sup>は過排卵処理後の妊娠維持に prolactin 投与が有効であつたと述べていることから、本実験でもその追試を行つた。その結果、交配後11日目における妊娠率、着床数および生存胎子数は、氏らの成績とほぼ一致するものであつた。しかしながら、本実験の過排卵区との比較では着床率は向上したものの、着床数ならびに生存胎子数についてはほとんど差がみられなかつた。また、妊娠経過にともなう胎子死亡率については、Adams<sup>3)</sup>が妊娠10~28日目の間で対照区が23%に対し、過排卵処理区では79%と非常に高かつたこと、Polidoro and Black<sup>5)</sup>は過排卵処理後、妊娠10~20日目の間に高率の胚死亡が起こることをみている。今回の場合は、これらの報告と処理法の違いや着床数にかなりの差があることから直接比較することはできないにしても、妊娠11日目と20日目の胎子生存率は、対照区では全く変わらなかつたが、過排卵区では20日目にかなりの低下がみられ、過排卵処理家兎の胎子死亡率が高いことでは一致するものであつた。しかしながら、prolactin 投与により胎子死亡をある程度防ぐことができたことは、前述の着床率の改善と考え合わせて極めて興味深い。

一方、胎子ならびに胎盤計測の結果、11日目の胎子、胎盤重量、20日目の胎盤重量、体積において過排卵区が対照区に比べ低い値を示した。妊娠中の胎子発育に関しては、これまで家兎ではほとんど調べられておらず、わずかに Hafez<sup>10)</sup>が胚移植によつて人為的に overcrowding の状態をつくつた上で、胎子の発育状態を観察した結果、胎子数が増加するにしたがい胎子重量が減少する傾向にあつたと述べている。また、このような傾向はマウスでは Edwards and Fowler<sup>32)</sup>、McLaren and

Michie<sup>33)</sup>、佐藤・石橋<sup>34)</sup>、ハムスターでは Fleming and Yanagimachi<sup>35)</sup>がすでに指摘しており、とくに佐藤・石橋<sup>34)</sup>は、胎子体重と胎子数との関係を詳細に検討したところ、胎子数が極端に少ないか、あるいは多い場合、または変性胎子を多く含む場合の胎子発育が不良であつたと述べている。さらに Hashima<sup>36)</sup>が自然交配マウスではあるが、胎子発育は、胎子同志の相互的影響が強いこと、Healy et al.<sup>37)</sup>は胎盤を通しての栄養量および母体の血圧に影響されることなどを示唆している。このように胎子発育には、子宮の容量、胎子同志の競合、母体から胎子への栄養量ならびに血液量など種々の要因が複雑にからみあつて影響しているように思われる。したがつて、過排卵処理動物の胎子発育が一般に不良であることが、いかなる形で胎子死亡と結びついているのかは、今後より一層の検討が必要であらう。

## 文 献

- 1) Parkes, A. S.: Induction of superovulation and superfecundation in rabbits. *J. Endocrin.*, 3: 268, 1942.
- 2) Warwick, E. J., Murphree, R. L., Casida, L. E. and Meyer, R. K.: Maintenance of the pregnancy induced in the female rabbit following treatment with pituitary gonadotrophin. *Anat. Rec.*, 87: 279, 1943.
- 3) Adams, C. E.: Prenatal mortality in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *J. Reprod. Fert.*, 1: 36, 1960.
- 4) 佐久間勇次, 石島芳郎, 石田一夫: PMS による家兎の過胎分娩に関する研究. *日不妊会誌*, 9: 5, 1964.
- 5) Polidoro, J. P. and Black, D. L.: Peripheral plasma progesterone and the number of foetuses in normal and superovulated rabbits. *J. Reprod. Fert.*, 22: 493, 1970.
- 6) Ishijima, Y., Ito, M., Hirabayashi, T. and Sakuma, Y.: Effect of administration of prolactin on pregnancy in rabbits after superovulation. *Jap. J. Fert. & Ster.*, 16: 1, 1971.
- 7) 石島芳郎, 平林 忠: 過排卵処理家兎の妊娠と分娩. *家畜繁殖誌*, 18: 29, 1972.
- 8) Hafez, E. S. E.: Physiological mechanisms of implantation. *Cornell Vet.*, 53: 348, 1963.
- 9) Adams, C. E.: Studies on prenatal mortality in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*: The amount and distribution of loss before and after mplantation. *J. Endocrin.*, 19: 325, 1960.
- 10) Hafez, E. S. E.: Effect of over-crowding in utero on implantation and fetal development in the rabbit. *J. Exp. Zool.*, 156: 269,



- 1964.
- 11) Fujimoto, S., Pahlavan, N. and Dukelow, W. R.: Chromosome abnormalities in rabbit preimplantation blastocysts induced by superovulation. *J. Reprod. Fert.*, 40: 177, 1974.
  - 12) Fujimoto, S., Passantino, T. and Koenczoel, I.: A preliminary note on chromosome abnormalities of intratubal rabbit embryos. *Proc. Japan Acad.*, 51: 51, 1975.
  - 13) Kaufman, M. H. and Whitingham, D. G.: Viability of mouse oocytes ovulated within 14 hours of an injection of pregnant mare's serum gonadotrophin. *J. Reprod. Fert.*, 28: 465, 1972.
  - 14) 湊 芳明, 笠井健吉, 豊田 裕: 誘起排卵マウス胚の培養成績について. 第18回哺乳動物卵子談話会要旨, 13, 1977.
  - 15) 伊藤雅夫: 誘起排卵の異常, 産婦人科 Mook No. 19. 着床, 234, 1982.
  - 16) 福田芳詔, 土田 薫, 細井俊江, 笠井健吉, 豊田 裕: マウスにおける排卵数および排卵卵子の受精能に及ぼす PMSG 投与量の影響について. *日不妊会誌*, 23: 600, 1978.
  - 17) Maudlin, I. and Fraser, L. R.: The effect of chromosomal anomalies in mouse embryos fertilized *n vitro*. *J. Reprod. Fert.*, 50: 275, 1977.
  - 18) 石島芳郎, 伊藤雅夫, 平林 忠, 佐久間勇次: PMS による家兎の過排卵誘起における Estrogen 併用の効果. *家畜繁殖誌*, 14: 43, 1968.
  - 19) 石島芳郎, 伊藤雅夫, 田 暢洪: PMS による家兎の過排卵誘起における Estrogen 併用の効果 (その 2). *家畜繁殖誌*, 15: 109, 1969.
  - 20) 武石昌敬, 亀水弘英, 須川章夫: 家兎受精卵子着床前期における経時的形態変化の観察. *日農獣報*, 16: 19, 1963.
  - 21) Hafez, E. S. E. and Rajakoski, E.: Growth and survival of blastocysts in the domestic rabbit. *J. Reprod. Fert.*, 7: 229, 1964.
  - 22) 野沢あき子: 家兎胞胚の被膜に関する研究. *日不妊会誌*, 21: 359, 1976.
  - 23) 石島芳郎, 伊藤雅夫, 平林 忠, 佐久間勇次: 家兎の過排卵誘起における Estrogen 前処置の効果. II. 卵子の生殖器官道下降速度および卵分割速度の検討. *家畜繁殖誌*, 13: 71, 1967.
  - 24) 石島芳郎: 家兎の過排卵誘起に及ぼす Estradiol 注射の影響. とくに卵子の移動および分割について. *農学集報*, 16: 44, 1971.
  - 25) Greenwald, G. S.: Interruption of pregnancy in the rabbit by the administration of estrogen. *J. Exp. Zool.*, 135: 461, 1957.
  - 26) Greenwald, G. S.: The comparative effectiveness of estrogens in interrupting pregnancy in the rabbit. *Fertil. & Steril.*, 10: 155, 1959.
  - 27) Greenwald, G. S.: The role of the mucin layer in development of the rabbit blastocyst. *Anat. Rec.*, 142: 407, 1962.
  - 28) Krishnan, R. S. and Daniel, J. C.: "Blastokinin": Inducer and regulator of blastocyst development in the rabbit uterus. *Science*, 158: 490, 1967.
  - 29) 菅原七郎: 哺乳動物卵子について. 特に着床界面における胚盤腔液の化学組成の変化. *家畜繁殖誌 (別輯)*, 15: XII-XVIII, 1970.
  - 30) 石島芳郎, 石田一夫: 過排卵処理による家兎卵巣の組織学的研究. *日不妊会誌*, 15: 194, 1970.
  - 31) 石島芳郎, 石田一夫: 過排卵処理によつて誘起された家兎血胞の日数経過にともなう形態変化. *家畜繁殖誌*, 16: 126, 1971.
  - 32) Edwards, R. G. and Fowler, R. E.: Fetal mortality in adult mice after superovulation with gonadotrophin. *J. Exp. Zool.*, 141: 299, 1959.
  - 33) McLaren, A. and Michie, D.: Superpregnancy in the mouse. 2. Weight gain during pregnancy. *J. Exp. Biol.*, 36: 301, 1959.
  - 34) 佐藤英明, 石橋武彦: 誘起排卵マウス (JCL-ICR) における胎児重量と胎児数の関係. *家畜繁殖誌*, 25: 136, 1979.
  - 35) Fleming, A. D. and Yanagimachi, R.: Superovulation and superpregnancy in the golden hamster. *Develop., Growth and Differ.*, 22: 103, 1980.
  - 36) Hashima, H.: Studies on the prenatal growth of the mouse with special reference to the site of implantation of the embryo. *Tohoku J. Agr. Res.*, 6: 307, 1956.
  - 37) Healy, M. J. R., McLaren, A. and Michie, D.: Foetal growth in the mouse. *Proc. roy. Soc. B.*, 153: 367, 1960.

### Morphological observation of embryos or fetuses in superovulated rabbits

Mamoru Togashi and Yoshiro Ishijima

Department of Zootechnical Science, Tokyo University of Agriculture, Tokyo 156

Morphological observation was carried out on embryos or fetuses at 4, 6, 11 and 20 days post coitum in superovulated rabbits. Experimental groups were divided into three as follow. One group received only superovulation treatment, a second group received superovulation treatment plus prolactin injection after mating and the third group served as control.

The results were as follows.



1) Embryos recovered 4 days post coitum in three groups were showed the blastocyst and expanding blastocyst stage. The proportion of expanding blastocyst in the control group, superovulation group and superovulation plus prolactin group were 37.5, 60.6 and 52.7 %, respectively. Embryos recovered 6 days post coitum were showed the expanding blastocyst stage in all groups.

2) As results of measurement of embryos 4 days post coitum, mucin layer of expanding blastocyst in both of superovulation groups were thinner than the control group. At 6 days post coitum, diameter of embryo and their ovoplasma in both of superovulation groups were about 1.5 times as long as the control group.

3) The proportion of females with implantation as determined at 11 days post coitum was 100 % in the control group, while superovulation groups and superovulation plus prolactin groups were 40 and 78 %. The mean number of implantation sites and living fetuses (living rate)

counted 11 days post coitum were 8.6 and 7.8 (90.7 %) in the control group, 14.5 and 10.3 (70.0 %) in the superovulation group, and 12.8 and 10.8 (78.4 %) in the superovulation plus prolactin group. At 20 days post coitum, pregnancy rate and mean number of implantation sites were similar to 11 days in each group. However, rate of living fetuses in both of superovulation groups were lower than the control group and results at 11 days post coitum.

4) As results of measurement at 11 days post coitum, in the superovulation group, the fetal and placental weight were significantly low value compared with control groups. However, no significant differences were found between superovulation plus prolactin groups and control groups. At 20 days post coitum, concerning to fetus were not different between three groups. However, the placental weight and volume in the superovulation group were lower than the control group.

(受付：昭和57年6月18日)

# 地方部会講演抄録

## 第91回日本不妊学会関西支部集談会

期日：昭和57年3月6日

場所：京 大 会 館

### 1. Noonan 症候群様表現型を呈した 49XXXXY/48XXXXY Mosaicism の1例

上田 眞・眞田俊吾・桐山雪夫  
吉田 修 (京都市大泌尿器)

症例は6歳男子で、外性器異常を主訴として来院した。症状は、尿道下裂、陰囊・陰茎の低形成、楕状胸、知能発育遅延、Down 症候群様顔貌などを示し、Noonan 症候群様表現型を呈していた。染色体の分析によって、49XXXXY を80%に48XXXXY を20%に認めた mosaicism 1症例を報告した。

### 2. 各種治療における精漿中亜鉛量の変化

眞田俊吾・桐山雪夫・吉田 修  
(京都市大泌尿器)  
田中陽一 (京都市大泌尿器)

前立腺組織および精漿中の亜鉛濃度が高いことはよく知られており、妊孕性と重要な関係があると思われる。第26回日本不妊学会総会にて、精漿中亜鉛濃度200~250 PPM のものが精液検査において運動率、精子濃度ともに最も秀れた値を示したことを述べたが、今回、男子不妊症の各種治療における精漿中亜鉛の変化と、運動率、精子濃度について検討した。

亜鉛製剤の投与により、精漿中亜鉛は増加したが、精液検査所見に改善を認めなかった。また、ゴナドトロピン療法によっても精漿中亜鉛濃度は上昇の傾向をみた。

クロミフェン、ビタミン B<sub>1</sub>、B<sub>12</sub>、ATP 製剤、男性ホルモン剤(フルオキシメステロン)の投与例では、著明な変化を認めなかった。

現在、症例が少ないため、更に検討を要すると思われるが、精漿中亜鉛濃度の変化が、治療法の適否を知る index になり得る可能性があると思われる。

### 3. Persistent testicular exfoliation における精子と精巢の超微構造(補遺)

野々村光生・桐山雪夫・吉田 修  
(京都市大泌尿器)  
星野一正 (解剖学Ⅲ講座)  
山科正平 (北里大解剖)

近年、男子不妊症の研究では、Immotile cilia syndrome のように、超微細構造の研究によつて疾患の詳細が明らかになってきたものがあり、我国でも、最近、数例の報告がなされている。このたび、われわれも、精子数正常、精子運動率0%のいわゆる死滅精子症の所見を呈し、特記すべき既往症がないにもかかわらず、現在まで2年以上もの間、成熟不十分な精子および精上皮細胞らなる精液所見を持ち、しかも精子数の減少を認めなのみかい、idiopathic eozoospermic persistent testicular exfoliation とでも言うべき、極めて稀な疾患を経験するとともに、この症例の精液、精巢組織についての超微細構造の研究の結果、精上皮を構成する細胞間の細胞質間橋の異常など、本症の原因の一端を把握しえたので、報告ならびに考察を行った。

### 4. 精管結紮術後に発生した精巢上体囊腫様拡張症の1例

池田達夫・高山秀則・友吉唯夫  
(滋賀医大泌尿器)

症例は51歳男性。2年前に精管結紮術を受け、約1年後より右陰囊内に無痛性腫瘍を生じてきた。前立腺炎症状と右陰囊内腫瘍の増大を主訴として来院、陰囊内腫瘍の穿刺液より精子を証明し、精液瘤の診断のもとに手術を施行した。精液瘤を形成する囊腫壁は、精巢上体頭部と連なり、精液瘤の単純剔除が不可能であり、精巢上体を含めて切除した。組織学的に、ductus epididymis の著明な拡張と融合が認められ、その中に多数の精子の鬱滞を証明した。

精液瘤の発生機序が、精路の通過障害と精子の停滞、漏出を生じる解剖学的脆弱部位の併存によるものと考えられるならば、本症例は精巢上体囊腫を形成する過程での精巢上体囊腫様拡張症と考えるのが妥当として報告した。

## 5. 抗卵黄膜血清の受精に及ぼす影響

高岸聖彦・蔵本健二・宮野 隆  
入谷 明 (京都大畜産)

哺乳動物卵子の透明帯以外の卵構成要素の抗原性に関しては、ほとんど研究がなされておらず、本実験では、マウス卵黄および卵黄膜に対する抗体を作製し、卵黄膜特異抗原を検出するとともに、抗卵黄膜血清の受精に及ぼす影響を受動免疫法を用いて検討した。過排卵を誘起した ICR 雌マウスより回収した未受精卵子をプロナーゼで処理して透明帯除去卵子を得、そのうち約半数を機械的に破壊して卵黄膜のみを回収した。この卵黄および卵黄膜をウサギに免疫注射して抗血清を作製し、肝臓および腎臓で吸収した後、実験に用いた。寒天ゲル内二重拡散法および間接蛍光抗体法により、マウス卵黄膜表面に特異抗原が存在することが明らかになった。また、細胞障害性試験では、胚発生が進むとともにこの抗原が卵黄膜表面より消失することが、受動免疫試験では、作製した抗血清が体内での受精を阻害しないことが判明した。

6. Zona free ハムスター卵を用いた *in vitro* 受精実験系による凍結保存する精子受精能の検定

窪田耕三・松田孝之・高田喜嗣  
長谷川昭子・香山浩二・磯島晋三  
(兵庫医大産婦)

不妊症の治療法の1つとして人工授精をおこなう場合、症例により凍結保存精子を必要とする場合がある。しかし精子を凍結保存すると運動率の低下、および妊娠率の低下をきたすとの報告もあり、今回われわれは凍結融解後の精子を用いて zona free ハムスター卵の *in vitro* 受精実験を行い、人工授精の妊娠率の低下が単に運動率の低下を反映しているものか、あるいは精子そのものに変化が生じ受精能の低下をおこしているかどうか

検討した。正常男子精液を Behrman の medium を用い液体窒素にて保存したあと、37°C にて融解し受精実験に用いた。その結果、運動率は平均80%の回復率、受精率も回復率75%であり、当科の行っている精子保存法を用いた場合、凍結融解にても精子は受精能力を充分保持していることが判明した。又、合わせて乏精子症患者精液を洗滌濃縮後、ついで原因不明不妊の男性精液を用いても *in vitro* 受精実験を行い、興味ある結果を得たので報告する。

## 7. 高プロラクチン血症妊娠と視野変化について

高橋 晃・堀江克行  
(京都大婦産)  
本田孔士 (眼科)  
武内重二 (脳外科)  
麻生武志 (福井医大産婦)

高プロラクチン (Prl) 血症性不妊症の妊娠の際に問題となるのは妊娠中、分娩後の下垂体腫瘍の増大であり、それに伴う症状の発現には充分留意する必要がある。本院で妊娠、分娩に至った18例の高 Prl 血症の中の5例でその妊娠経過中に視野障害の出現、あるいは増悪をみており、この5例はいずれも妊娠前の放射線学的検査で下垂体腺腫もしくは microadenoma の診断を受けていた。この中の1例は同時に網膜色素変性症を伴っており、同症例の視野変化が下垂体腫瘍によるものとの断定はし難いと考えられた。残りの4例は妊娠中期以後に障害の出現、増悪をみており、障害の種類は主として視野耳側欠損と中心 isopter の沈下であった。分娩後は検査のできなかった1例を除き3例で視野障害の軽快をみたが、1例では下垂体腫瘍の増大を認め腫瘍摘除術を受けた。視野障害と放射線学的な所見は必ずしも一致しないため、眼科的、脳外科的検索を併行して行う必要があると考えられる。

## 第1回日本受精着床学会のお知らせ

日 時 昭和58年8月16日(火)  
場 所 神戸国際会議場(神戸ポートアイランド)  
演題申込 400字詰原稿用紙 B5版1枚に所属、氏名、要旨を書込むこと  
演題締切 昭和58年4月末日  
宛 先 東京都新宿区信濃町35  
慶応義塾大学医学部産婦人科教室

第1回日本受精着床学会長

飯塚理八

(註) 他に外国からの招請講演などを準備しています。

## 2nd International Reproductive Immunology (2nd Congress of International Society for Immunology of Reproduction: ISIR)

日 時: 昭和58年8月17日(水)―20日(土)  
場 所: 京都国立国際会館および京都ホテル  
プログラム: 招請講演5. シンポジウム3. ラウンドテーブル1.  
ワークショップ(ポスターおよび討論)6. ポスターセッション  
演題受付: ワークショップおよびポスターセッションのみ募集  
演題締切: 昭和58年2月15日  
登録費: ISIR 会 員 \$ 80―(5月31日迄) 以後 \$100―  
" 非会員 \$100―( " ) 以後 \$120―  
" 同伴者 \$ 50―( " ) 以後 \$ 60―

Second (Final) Announcement および、演題申込用紙は、〒662 西宮市武庫川町  
1-1, 兵庫医科大学産婦人科学教室 磯島晋三宛 御請求下さい

# IFFS 世界大会 (XIth World Congress on Fertility and Sterility) 開催のお知らせ (第2回)

期 間：1983 年 6 月 26 日 (日)～7 月 1 日 (金)

場 所：Dublin, Ireland

演題締切り：1983 年 2 月 1 日

登録費：

| 1983 年 1 月 31 日迄 | 1983 年 2 月 1 日～4 月 14 日 | 1983 年 4 月 15 日以降 |
|------------------|-------------------------|-------------------|
| 会 員 IR£ 110      | IR£ 135                 | IR£ 160           |
| 同 伴 者 IR£ 40     | IR£ 45                  | IR£ 50            |
| バンケット IR£ 25     | IR£ 25                  | IR£ 25            |
| 昼 食 券 IR£ 8      | IR£ 8                   | IR£ 8             |

IR£＝アイルランドポンド≒365 円

日 程：

|          |                 |               |
|----------|-----------------|---------------|
| 6 月 26 日 | 12 : 00—20 : 00 | 登録            |
|          | 20 : 00—22 : 00 | 歓迎レセプション      |
| 27 日     | 9 : 00          | 開会式           |
|          | 10 : 30—17 : 00 | 排卵・免疫         |
|          | 20 : 00         | レセプション        |
| 28 日     | 8 : 15—16 : 00  | 生殖生理, 男性不妊    |
|          | 20 : 00         | アイルランドの夕      |
| 29 日     | 8 : 15—17 : 00  | 黄体不全, 避妊      |
|          | 20 : 00         | レセプション        |
| 30 日     | 8 : 15—16 : 00  | 内視鏡, 遺伝       |
|          | 20 : 00         | 晩さん会 (有料)     |
| 7 月 1 日  | 8 : 15—13 : 00  | 性病, 体外受精      |
|          | 13 : 00         | 閉会式           |
|          | 20 : 00         | “ダブリンの夜” (有料) |

登 録：各旅行社にて取り扱い中

## 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。特に号数が必要とする場合は、巻数と頁数との間に入れて括弧で囲む、すなわち  
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次

### 編集会議からのお知らせ

1. 超過頁は全文刷り上りで 10 頁をこえない範囲で認める。
2. 同一著者による論文の掲載は同一号に 1 編とする。
3. 内容について著者にアドバイスすることもある。
4. 著者校正は原則として初校のみ 1 回とする。
5. 受付年月日を論文の末尾に掲載する。

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

### 日本不妊学会雑誌 28 巻 1 号

昭和 57 年 12 月 25 日 印刷  
昭和 58 年 1 月 1 日 発行

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