

日本不妊学会雑誌

第 28 卷

第 2 号

昭和 58 年 4 月 1 日

— 目 次 —

告 告
原 著

- ヒト分離精細管における testosterone の代謝……………穂坂正彦・他…1
 精液の粘性に関する研究 (その2)……………岡野 准…9
 Dibutyl Phthalate および Monobutyl Phthalate による
 実験的睾丸障害……………池本 庸・他…17
 ラットにおける停留精巣作成方法の改良……………石田規雄・他…24
 AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の1例……………対木 章・他…30
 特発性男子不妊症に対するクエン酸クロミフェン
 少量長期投与の治療成績……………小寺重行・他…35
 男子不妊症患者の精液所見に及ぼすカリクレイン
 (BAYd 7687) の効果……………寺田為義・他…42
 Gonadotropin deficiency による男子 hypogonadism
 症例に対する hCG/hMG 併用療法についての検討……………岩動孝一郎…47
 男子不妊症の臨床的観察……………布施秀樹・他…55
 ウサギを用いての子宮内感染モデルの作成……………鎌田洋一・他…63
 Enzyme Histochemistry on the Ovaries of
 Domestic Animals……………S. NAKAMA・他…69
 PMSG の静脈注射による家兎の過排卵誘起に関する研究
 I. 有効投与量の検討……………佐久間勇次・他…79
 家兎の gonadotropin 放出機構における catecholestrogen の
 意義に関する研究……………村井一郎…83
 人為的, 生理的排卵抑制後の生殖生理に関する実験的研究
 一排卵抑制後における排卵, 妊孕性, 黄体および胎仔の検討……………芳賀宏光・他…92
 HMG (Humegon®)-HCG 療法による排卵, 妊娠,
 新生児の成績と副作用の要因分析……………倉智敬一・他…99
 体重減少の性機能への影響……………永田行博・他…108
 頸管粘液不全に関する内分泌及び組織学的研究……………檜垣敬二…116
 密度勾配遠心用蔗糖重合体を用いた精子洗滌濃縮法の
 AIH への応用……………眞田利男・他…125
 子宮内膜症に対する Danazol 投与の効果と内分泌学的変動……………福島峰子・他…131
 妊婦血中セロプラスミン, α_2 グリコプロテイン (SP₃) と
 妊娠貧血について……………道 舩 敏 弘…140
 地方部会講演抄録……………147
 お知らせ

第28回日本不妊学会総会および

学術講演会予告（第2回）

第28回日本不妊学会総会および学術講演会を、下記の要領にて開催いたします。多数御参加下さるよう御願い申し上げます。

日時・会場

学術講演会 昭和58年11月16日（水）、17日（木）
於 愛知厚生年金会館
理事会・幹事会 昭和58年11月15日（火）
於 愛知厚生年金会館
総会・評議員会 昭和58年11月16日（水）
於 愛知厚生年金会館

学術講演会

次の如く、特別講演、シンポジウム、一般講演を予定しております。

一般講演にご応募の方は、申込要項に従い、切期日を厳守して下さい、なお特別講演シンポジウムの演題名、順序などは多少変更になることもあります。

I. 招請講演

セルトリ細胞の形態、特にその結合装置について

千葉大学解剖学教授 永野俊雄

II. 特別講演

男子不妊の原因としての性機能障害

東邦大学泌尿器科助教授 白井将文

Hyperandrogenism の成因とその治療

名古屋大学産婦人科分院助教授 成田収

男子の性成熟と間脳・下垂体機能

札幌医科大学泌尿器科助教授 丸田浩

III. シンポジウム

着床をめぐる

座長 慶応義塾大学産婦人科教授 飯塚理八

名古屋市長立大学産婦人科教授 八神喜昭

着床をめぐる免疫学的研究

新潟大・産 大野雅弘

形態学よりみた着床の免疫

日大・産 津端捷夫

家畜における着床初期の形態

大阪府大・農・獣 山内昭二

細胞生物学的見地からみた着床の諸問題

東大・理・動物 館 鄰

着床環境としての子宮内膜の妊娠維持機構

東医歯大・産 矢追良正

IV. 一般講演

演題申込資格

講演者（共同発表者を含む）は、本会々員に限ります。会員以外の方は演題申込みと同時に、昭和58年度会費（8,000円）を納入の上会員となつて下さい。

演題申込要項

1. 抄録を同封所定の抄録用紙にタイプでうち、書留郵便で下記にお送り下さい。
〒466 名古屋市昭和区鶴舞町65 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
（担当：三宅弘治、下地敏雄）Tel. (052) 741-2111 内 2270
2. 抄録は820字以内、図、表はつけないで下さい。
3. 一施設より2題以上出題のときは、順位をつけて下さい。
4. 別紙申込書、受取書、採用通知書に所定事項を記入し、抄録用紙および抄録用紙コピー3部とともに送つて下さい。
5. 申込〆切 昭和58年7月31日（必着）

演題発表方法

講演時間は7分、討論時間2分の予定です。スライドプロジェクターは各会場とも1台とします。スライド枚数は10枚以内とし、出来るだけ大きい字でわかり易くして下さるよう特にお願ひ致します。

参加申込方法

学会当日に会場において受付けます。

学会参加費 7,000円

総懇親会費 5,000円

総懇親会は学会第1日の講演終了後愛知厚生年金会館にて行なう予定です。

昭和58年4月

第28回 日本不妊学会

会長 三 矢 英 輔

会場案内

○愛知厚生年金会館

名古屋市千種区池下町 2-63 (052) 761-4181

○交 通

地下鉄：東山線池下駅下車駅北東隣接

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 28, No. 2, 1983)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Testosterone Metabolism in Human Isolated Seminiferous Tubules.....	<i>M. Hosaka,</i> <i>R. Nishimura, S. Takai & M. Harada</i>	1
Study on the Viscosity of Human Semen (Part 2).....	<i>H. Okano</i>	9
Experimental Testicular Damage Induced by Dibutyl Phthalate and Monobutyl Phthalate	<i>I. Ikemoto, S. Kotera, K. Katsurai,</i> <i>Y. Inaba, T. Machida & A. Tanaka</i>	17
A Newly Developed Method for Cryptorchidism in the Rat.....	<i>N. Ishida & T. Fujii</i>	24
A Case of Retrograde Ejaculation whose Wife conceived by AIH.....	<i>A. Tsuiki, K. Hoshi, F. Nagaike, K. Momono, K. Kyono,</i> <i>M. Suzuki, S. Mitsukawa & T. Oonuma</i>	30
Long-term Therapy with Low-dose Clomiphene Citrate in Idiopathic Male Infertility	<i>S. Kotera, I. Ikemoto, K. Katsurai, Y. Inaba & T. Machida</i>	35
The Effect of Kallikrein (BAYd 7687) on the Semen Analysis of Male Infertility ..	<i>T. Terada, S. Yanagi & T. Katayama</i>	42
Effects of hCG/hMG Combination Therapy in Patients with Male Hypogonadism due to Gonadotropin Deficiency.....	<i>K. Isurugi</i>	47
Clinical Observations on Male Infertility	<i>H. Fuse,</i> <i>H. Minagawa, H. Ito & J. Shimazaki</i>	55
Production of an Experimental Model of Intra-Uterine Infection Using Rabbit.....	<i>Y. Kamata, H. Matsuda & T. Imori</i>	63
Enzyme Histochemistry on the Ovaries of Domestic Animals.....	<i>S. Nakama,</i> <i>T. Imori & M. Mori</i>	69
A Study on Superovulation in Rabbits by Intravenous Injection of PMSG — I. Estimatisation of Effective Dose of PMSG —.....	<i>Y. Sakuma, K. Kanayama,</i> <i>T. Endo, G. Kobayashi & K. Sato</i>	79
Effect of Catecholestrogen on Gonadotropin Secretion in the Hypothalamo-Hypophyseal Tract	<i>I. Murai</i>	83
Reproduction after Anovulatory Periods caused by Contraceptives and Pregnancies. I. Experimental Studies on Ovulation, Fertility, Luteinization and Embryonic Development.....	<i>H. Haga, H. Hayashi & R. Yamada</i>	92

A Summary of Ovulation, Pregnancy and Newborn Infant with HMG (Humegon®)- HCG Treatment and Analysis of Factors Influencing Complication Rate	
.....K. Kurachi, M. Suzuki, T. Kobayashi, T. Tanaka, M. Fukushima, M. Hirano, Y. Sato, M. Igarashi, T. Tamada, M. Maruyama, R. Iizuka, T. Okamura, H. Furuya, H. Minakuchi, T. Takehisa, M. Seki, T. Uemura, T. Kenjo, M. Nakai, M. Hamasaki, K. Kometani, O. Narita, Y. Yamada, H. Fujimaki, Y. Tomita, A. Takahashi, S. Higashiyama, T. Aono, K. Okuda, I. Yogo, K. Katayama, T. Akimoto, E. Okada, T. Ito, S. Yamashita, T. Mori, T. Utsunomiya, T. Ishimaru & M. Nakamura	99
Secondary Amenorrhea Associated with Weight Loss.....	Y. Nagata, T. Dochi, T. Tsuda, M. Nakamura & T. Onoue
Endocrinological and Morphological Study on the Mechanism of Insufficient Cervical Mucus Secretion.....	K. Higaki
The Clinical Application of the Density Gradient Centrifugation in the Polymerized Sucrose for Concentration and Washing of Human Sperm Using AIH	
.....T. Sanada, T. Kobayashi, S. Kaneko, K. Kobanawa & R. Iizuka	125
Endocrinological and Clinical Effect of Danazol in the Treatment of Endometriosis	M. Fukushima, H. Ota & M. Maki
Serum Ceruloplasmin and Alpha ₂ Glycoprotein (SP ₃) during Pregnancy (Correlation with the Pregnancy Anemia)	T. Dohtai
	140

ヒト分離精細管における testosterone の代謝

Testosterone Metabolism in Human Isolated Seminiferous Tubules

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室

穂坂正彦 西村隆一 高井修道
Masahiko HOSAKA Ryuichi NISHIMURA Shudo TAKAI

帝京大学医学部第一病理学教室

原田昌興*
Masaaki HARADA

Department of Urology, Yokohama City University
School of Medicine

* Department of Pathology, Teikyo University
School of Medicine

65歳の前立腺癌患者の睾丸を用いて、collagenaseにより精細管を分離し、精細管における testosterone の取り込み、および取り込まれた testosterone の dihydrotestosterone, 3α (β)-androstanediol, 4-androstenedione への代謝について検討した。

1) 精細管の分離度を組織学的に分析した結果、完全分離された比率は約92%、分離精細管のうち約52%は正常の組織像を示し、約40%は老化による変化を伴っていた。

2) 添加した testosterone-1, 2- 3 H は分離精細管にすみやかに取り込まれ、incubation 時間30分で、添加量の7.12%に達した。

3) 精細管組織内の testosterone の dihydrotestosterone, 3α (β)-androstanediol への代謝率は極めて低く、精細管組織重量、incubation 時間、温度の変化に伴う変動を示さなかった。一方、4-androstenedione への代謝率は組織重量、incubation 時間との間に正の相関を認め、その最適温度は約44°Cであつた。

以上の結果より、老人睾丸の精細管には、17 β -hydroxysteroid dehydrogenase は存在するが、5 α -reductase, 3α (β)-hydroxysteroid dehydrogenase の存在は否定的であると推定され、老人睾丸の精子形成能は、testosterone の直接作用により維持されるものと考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 143-150, 1983)

緒言

精細管の精子形成能の発現と維持に testosterone が関与しているとする、精細管は男性ホルモン標的臓器の一つと解釈される。この場合、前立腺、精囊腺、あるいは副睾丸等と同様、testosterone の active form は dihydrotestosterone (DHT) か、または、 3α (β)-androstanediol (A-diol) か、あるいは、これらの臓器における androgen の作用機序とは異り、testosterone の直接作

用により精子形成が発現し維持されるものなのか、いまだ解決をみず議論の多いところである。

われわれは、老人睾丸から collagenase により分離した精細管を用いて、testosterone の精細管組織への取り込み状態、および取り込まれた testosterone の DHT, A-diol, 4-androstenedione (A-dione) への代謝を検討した。

材料および装置

- 1) testosterone-1,2-³H (55 Ci/m mol): The Radiochemical Center. authentic testosterone, 4-androstenedione, 3 α -androstenediol: Sigma Chemical.
- 2) collagenase: type IV, No. C-5138, Sigma Chemical.
- 3) Slica gel G. Slica gel GF₂₅₄: E. Merk.
- 4) 各種有機溶媒: 和光純薬 (特級).
- 5) Liquid scintillation spectrometer: Packard Model 544 absolute activity analyser.

実験方法

1. 精細管の分離

前立腫瘍の治療の目的で除率した睾丸組織を用い、精細管分離の基礎的検討を試みた。

約300mgの睾丸組織をとり、Krebs ringer bicarbonate glucose buffer (KRBG, pH 7.4) にて、氷上で軽く洗浄し、さらに鋭利な鉗を用いて、室温で mince した。ついで collagenase 3mg を含む 3ml の KRBG 中で、mince した組織を、33°C、5 分間、95%O₂: 5% CO₂ の気流中でゆるやかに振盪しつつ incubation した。その後、ただちに mesh (NO 100) の上で、組織とともに incubation medium を濾過し、KRBG にて組織を十分に洗浄した。洗浄された組織は、再び collagenase 溶液中で、初回と同一条件で10分間 incubation した。ひきつづき incubation medium の濾過と組織の洗浄を行つた。すなわち、本法は、collagenase を用いた two step incubation system と mesh 上での組織の洗浄により、精細管と間質組織の分離を試みたものである。分離された精細管組織は実験に供すると同時に、その一部を用いて、精細管の分離状況を組織学的に検討した。

2. testosterone の分離精管への取り込み

liquid scintillation counter に用いる counting vial を incubation tube として使用した。incubation tube に約 1.5-9.0×10⁵dpm の testosterone-1,2-³H をとり乾固し、プロピレングリコール一滴を添加しこれに radioactive steroid を溶解した。ついで 3 ml の Eagle's minimum essential medium (MEM, pH 7.4) を入れ、良く振盪した後、この溶液中で精細管組織を各種の実験条件下で incubation した。組織重量は、30, 50, 100, 200mg, 300mg, incubation time は1, 3, 5, 10, 20, 30分, incubation temperature は33, 37, 39, 44, 49°C である。incubation 終了後、ただちに mesh を使用して incubation medium の濾過と KRBG による組織の洗浄を行い、精細管外壁の radioactive steroid を除去した。その後、glass

homogenizer に洗浄された精細管をとり、5ml の KRBG を加え氷上で homogenize した。得られた homogenize から steroid の抽出には、CH₂Cl₂ (10ml, 3 回) を用いた。この CH₂Cl₂ は Na₂SO₄ で脱水し、低温陰圧下で乾固し、2ml ether にて 3 回抽出を行い conical tube にうつし、さらに 40°C water bath にて乾固した。なお、incubation medium と組織洗浄濾液の混合液からも、同一の操作により steroid を抽出した。

3. steroid の分離、精製

精細管に取り込まれた testosterone, および精細管内で testosterone より代謝されると予想された steroid, 5 α -dihydrotestosterone (DHT), 3 α (β)-androstenediol (A-diol), 4-androstenedione (A-dione) の4種の steroid の分離、精製には、thin layer chromatography (TLC; silica gel G: GF₂₅₄, 4:1 wt/wt; solvent system, benzene: acetone 4:1 v/v) を用いた。また4種の authentic steroid 100 μ g を TLC 分離の carrier として添加した。分離スポットは UV-lamp (2536 Å) と odine gas により顕出した。ついで、それぞれの steroid の分離位置に合致した部分の silica gel をかき取り ether (2ml, 3回) にて抽出した。なお本実験での steroid の TLC 上の分離位置はすでに再結晶法により確認されている。このようにして抽出された steroid は、再度同一の solvent system を用いた TLC により精製した。一方、incubation medium および組織洗浄濾液中の steroid の分離、精製は、同様に上記の操作により施行した。算定方法は下記の通りである。

$$1) \text{ 回収率 (R): } R = \frac{a+b+c+d}{S}$$

$$2) \text{ 分離精細管への testosterone の取り込み率 (Up): } Up = \frac{R(a+b)}{S}$$

$$3) \text{ 各種代謝物の conversion rate (CR):}$$

$$CR = \frac{X}{a+b}$$

S: 添加した testosterone-1,2-³H の radioactivity (dpm), X: 分離精製された steroid の dpm, a: 精細管内より抽出、分離された各種 steroid dpm の総和, b: 精細管内各種 steroid の分離に用いた TLC の残存 silica gel に含まれる radioactive substance (undetermined) の dpm の総和, C: incubation medium と組織洗浄液中より抽出分離された steroid の dpm の総和, d: incubation medium と組織洗浄濾液における各種 steroid 分離に用いた TLC の残存 silica gel に含まれる radioactive substance (undetermined) の dpm の総和。本実験法の回収率は 73.7±3.7 (SD)% (n=9) である。

結 果

1. 精細管の分離

Collagenase を用いての two step incubation system と組織洗浄とによる精細管の分離状態を、走査電顕、光顕とにより分析した。本実験に用いた睾丸組織は、65歳の前立腺癌患者から得たものであるが、全精細管のうち、精細管と間質組織が完全に分離された比率は約92%

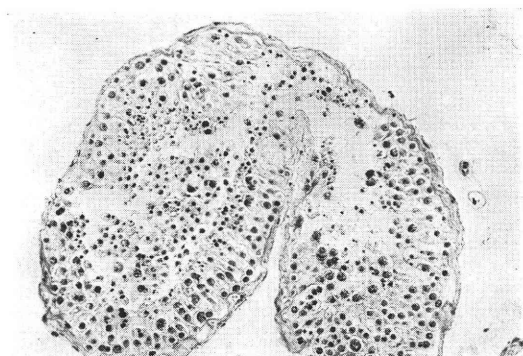


Fig. 1 Histological findings in human isolated seminiferous tubules

であつた。さらに、この分離精細管のうち、正常精細管と判定されたものは52%，また、老化によると思われる何人らかの変化を来しているものは、40%であつた。正常部分の分離精細管の光顕所見は Fig. 1 のごとく、分離操作中の損傷は、ほとんど認められず、精細管の内部構造は良く保存されている。

2. testosterone の分離精細管への取り込み

testosterone の分離精細管への取り込みの経時的変動について、testosterone-1, 2- ^3H , 1.5×10^5 dpm, 分離精細管100mg, incubation 温度 33°C の条件で検討した。testosterone はすみやかに精細管組織内に取り込まれ、1分で incubation medium に加えた testosterone の3.98%，3分4.14%，5分4.77%，と増加し、10分では

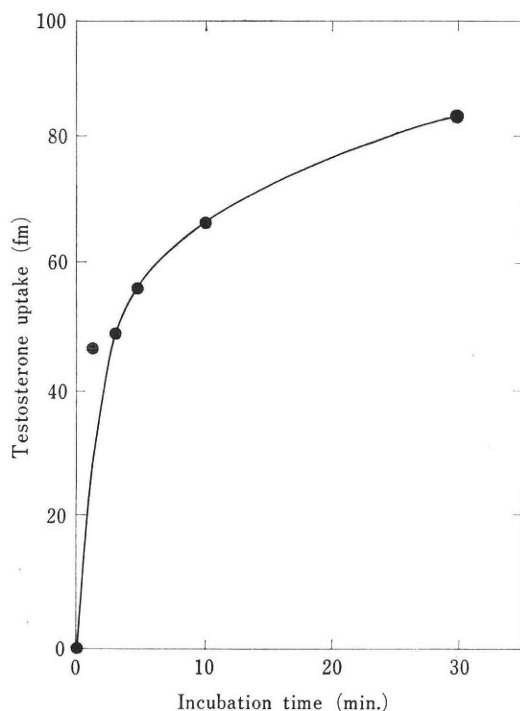


Fig. 2 Time course of testosterone uptake into isolated human seminiferous tubules

100mg of isolated tubules obtained from aged man with prostatic carcinoma was incubated with 1.4×10^5 dpm testosterone-1, 2- H^3 at 33°C .

5.38%，30分で取り込み率は最高値に達し7.12%であつた。本実験における回収率は 71.6 ± 3.6 (SD)% ($n=10$) であつた。なお Fig. 2 は100mg の精細管組織に対する取り込まれた testosterone の量を f mol で現わした (Fig. 2)。

3. 精細管組織内における testosterone の代謝

testosterone の精細管組織内への取り込み比率と、取

Table 1 Correlation between incubation time and metabolism of testosterone uptake into isolated human seminiferous tubules

Incubation time (time)	Uptake into tubules (%)	T remained (%)	Conversion rate (%)			Undetermined (%)
			DHT	A-diol	A-dione	
10	8.2	94.3	1.0	0.7	2.3	1.7
20	5.0	92.0	1.1	1.1	4.1	1.7
30	6.4	92.0	0.5	0.6	5.7	1.2

T: testosterone, DHT: dihydrotestosterone, A-diol: 3α (β)-androstenediol, and A-dione: 4-androstenedione.

100 mg of isolated tubules was incubated with 1.6×10^5 dpm testosterone-1, 2 H^3 at 37°C .

Table 2 Correlation between weight of isolated human seminiferous tubules and metabolism of testosterone uptaken into the tubules

Weight of tubules (mg)	Uptake into tubules (%)	T remained (%)	Conversion rate (%)			Undetermined (%)
			DHT	A-diol	A-dione	
30	1.3	93.2	1.0	0.7	4.1	1.0
50	1.7	94.1	0.5	0.6	3.6	1.2
100	3.9	94.7	0.3	0.2	3.2	1.5
200	7.3	94.4	0.2	0.1	3.2	1.3
300	16.0	95.0	0.07	0.05	2.5	2.5

Various amount of isolated tubules as indicated was incubated with 7.8×10^5 dpm testosterone-1, 2- H^3 for 20 min. at 33 C.

Table 3 Effect of temperature on metabolism of testosterone uptaken into isolated human seminiferous tubules

Incubation temperature (C)	Uptake into tubules (%)	T remained (%)	Conversion rate (%)			Undetermined (%)
			DHT	A-diol	A-dione	
33	6.9	94.7	0.8	0.4	2.7	1.4
37	5.1	92.5	1.1	1.2	3.3	1.9
39	6.4	92.0	0.5	0.7	5.7	1.2
44	4.0	89.0	1.4	1.0	7.9	0.6
49	4.9	92.0	1.1	1.2	4.2	1.5

100mg of isolated tubules was incubated with 1.6×10^5 dpm testosterone-1, 2- H^3 for 20 min.

り込まれた testosterone の dihydrotestosterone (DHT), 3α (β)-androstenediol (A-diol), および 4-androstenedione (A-dione) への代謝について, incubation 時間, 精細管組織重量, incubation 温度の変動による代謝状態を検討した. 本実験では, 補酵素は使用していない.

1) incubation 時間 (Table 1)

100mg の精細管と 1.6×10^5 dpm testosterone-1, 2- H^3 とを, 37°C で, 0—30 分間 incubation した. 代謝されず精細管組織内に残存する testosterone は 92.8 ± 1.1 (SD) % ($n=3$) であった. DHT, A-diol の conversion rate は incubation 時間に併う増加を示さず, DHT 0.87 ± 0.26 (SD) % ($n=3$), A-diol 0.80 ± 0.22 (SD) % ($n=3$) であり, その値は極めて低い. これに対し, A-dione は経時的に直線状増加が認められ, 3 検体の conversion rate は 4.0 ± 1.4 (SD) % ($n=3$) であった. また同定しなかつた他の代謝物の conversion rate は 1.5 ± 0.2 (SD) % ($n=3$) であった.

2) 精細管組織量 (Table 2)

7.8×10^5 dpm testosterone-1, 2- H^3 , 0—300mg 精細管を 37°C, 20 分間 incubation した. 取り込まれた testoste-

rone の比率と組織重量とは, 正の相関々係にある. testosterone の精細管残存率は, 組織量とは無関係な値を示し, 平均 94.3 ± 0.6 (SD) % ($n=5$) であった. DHT, A-diol の conversion rate は組織重量の増加に伴い漸減した. この現象は, DHT, A-diol として得られた radioactivity が, 全検体で極めて微量で, かつその値がほぼ一定であるのに対し, testosterone の取り込み量が組織増加量にしたがつて増加したためである. 他方, A-dione は, 有意の conversion rate を維持し, testosterone より A-dione の生成を f mol で現わすと, 組織増量に保い A-dione 代謝量は直線状に上昇した (図 3).

3) incubation 温度 (Table 3)

1.6×10^5 dpm testosterone-1, 2- H^3 と 100mg 精細管組織とを 33°—49°C の温度条件で 20 分間 incubation した. testosterone の精細管組織内残存率は 44°C やや低い値を示し, 平均 92.0 ± 0.8 (SD) % ($n=5$) であった (Table 3). DHT, A-diol の conversion rate は温度の影響を受けず, それぞれ 0.8 ± 0.5 (SD) % ($n=5$), 0.9 ± 0.3 (SD) % ($n=5$) であった. 一方, A-dione は 33°—44°C にかけて増加し 44°C を頂点として 49°C では下降を示した. すなわち, testosterone より A-dione 生成の, この

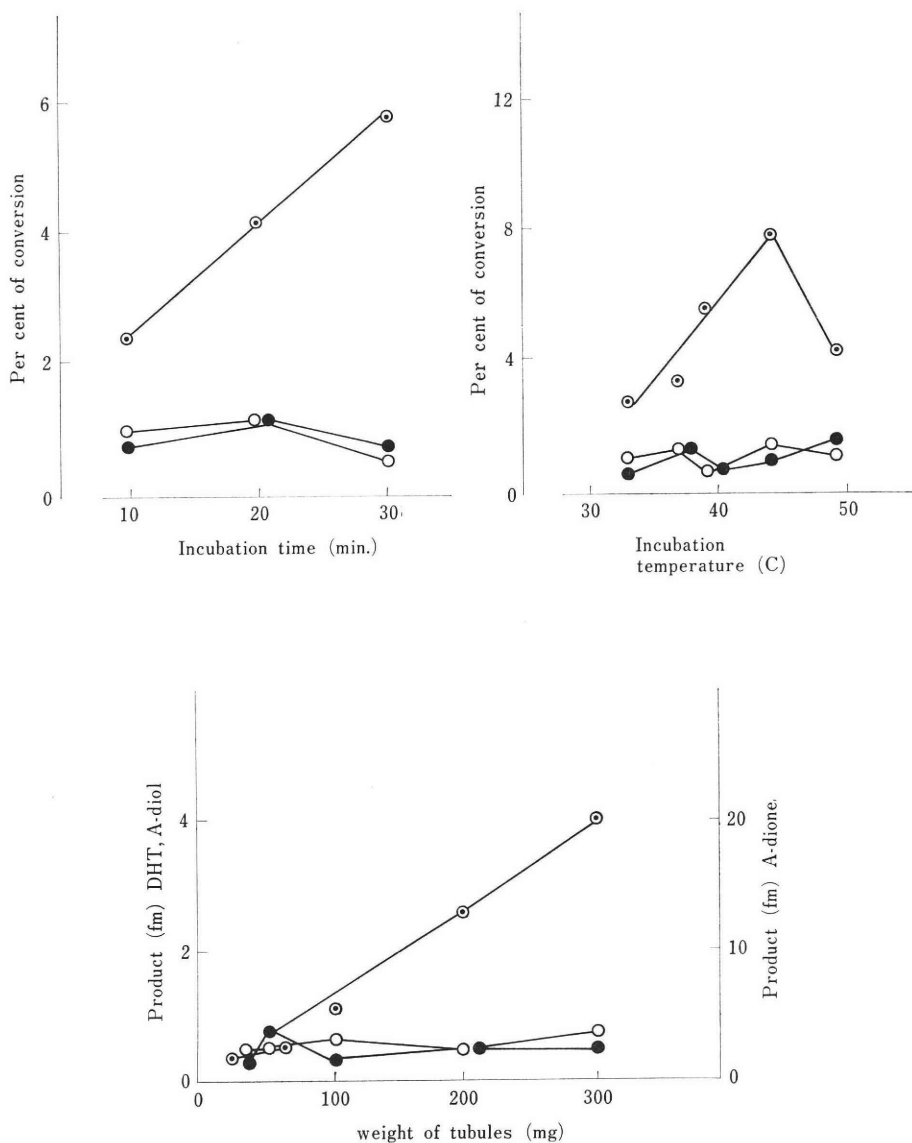


Fig. 3 Conversion of dihydrotestosterone, $3\alpha(\beta)$ -androstenediol and 4-androstenedione from testosterone in isolated human seminiferous tubules under various experimental conditions

○—○ : dihydrotestosterone (DHT), ●—● : $3\alpha(\beta)$ -androstenediol (A-diol), and ●—● : 4-androstenedione (A-dione)

実験条件における至適温度は 44°C 前後にあるものと推定された。なお、全体の A-dione の conversion rate は 4.8 ± 1.9 (SD)% ($n=5$) であった。また、他の radioactive substance の conversion rate は 1.3 ± 0.4 (SD)% ($n=5$) であった。

考 察

精細管の間質組織の分離には、ヒトの場合、多くは

collagenase が用いられている。しかし、ヒトの精細管に間質組織との結合は、ラットに比してより複雑なため、完全分離することは困難とされている。本実験では、65歳の前立腺癌患者の睾丸を用い、collagenase により精細管を分離したものであるが、その分離率は約92%である。また、分離された精細管のうち正常の精子形成の認められたものは約52%で、他は何んらかの老化による組織学的変化を伴っている。一般的に、collagenase

を用いてのヒト精細管の分離度合は、睾丸の組織学的状態に影響され、未熟睾丸、老人睾丸、あるいは病的障害を受けている睾丸においては、完全分離の比率は低下するものと云える。本実験で用いた精細管は、その分離比率が90%以上であることから、testosterone の精細管への取り込み、取り込まれた testosterone の代謝を検索するうえでの実験条件としては、満足したものと考えられる。しかし、得られた結果は全て老人睾丸での現象であり、ヒト精細管全般の現象としての解釈は成り立たない。

Sertoli cell は FSH の支配を受け、androgen binding protein (ABP) を生成し、この ABP が Leydig cell で生成分泌された testosterone と結合、testosterone-ABP complex を形成して、精細管の germ cell、あるいは副睾丸に testosterone を送り込むと考えられている¹⁾。これに対して、Comhair, Vermeulen²⁾ (1975) は、ラットの interstitial fluid (IF), seminiferous tubule fluid (STF), rete testis fluid (RTF) の testosterone 濃度を測定し、その basal level の濃度差は $IF > STF > RTF$ の順であるとし、さらに hCG の刺激下では IF と STF との testosterone 濃度は等しくなると述べている。このことから、testosterone の精細管組織への到達は、ABP の関与によるものではなく、濃度差により、精細管壁を通じて自由に透過するものであるとしている。われわれの結果では、100mg の分離精細管に対し、testosterone はすみやかに取り込まれ、30分で投与量の約7%に達する (Fig. 2)。この取り込みもまた、濃度差による遊離 testosterone の精細管への透過であつて、精細管組織内における ABP ないしは receptor、または他の機序による積極的な取り込み作用とは考えられない。しかし、透過した testosterone の精細管組織内での蓄積、濃度の維持には、これら結合蛋白が関与していると云えよう。

従来、男性ホルモン標的臓器においては、testosterone は前駆物質であり、5 α -reductase により代謝された DHT が active androgen と云われ³⁾、精細管もまた、前立腺、精囊腺、副睾丸等と同様、男性ホルモン標的臓器の一種であるとの解釈から、精細管における testosterone の代謝について研究されて来た。現在までの報告によると、ラット精細管では testosterone は、DHT, 3 α (β)-androstenediol (A-diol) に代謝され、ラット精細管には、5 α -reductase, 3 α (β)-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) が存在することは、ほぼ一致した見解⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾である。しかし、精細管での精子形成の発現維持が testosterone の直接作用によるものなのか、あるいは、testosterone の代謝物が精細管機能に関与しているのか、この場合、その作用型は DHT か、A-diol か、

いまだ解決されていない。

Rivarola ら⁸⁾ (1975) は、ラット精細管における testosterone 代謝の加齢変化を求めている。これによると、3 α -A-diol は、20-26日齢に他の代謝物に比して優位に増加することから、testosterone と 3 α -A-diol は、精子形成の減数分裂を惹起するものと推定し、さらにそれ以後、testosterone と DHT が精子形成を維持するものと考えられている。しかし、Campo ら⁹⁾ (1979) は、subcellular fraction での各種 androgen 濃度を測定した結果、26日齢のラットでは 3 α -A-diol は精細管の cytosol には認められるが、核には検出されないとしている。また、cytosol では testosterone 濃度が高値であるのに比して、DHT とくに A-diol の濃度は極めて低値であるが、核内では DHT 濃度は testosterone 濃度より優位となると報告している。この報告によると、かつて Rivarola⁸⁾らにより提唱された A-diol が germ cell の減数分裂を発現すること考え方は否定され、むしろ、DHT が androgen の作用型と云え、A-diol は DHT の作用を抹消する排泄系の一環として存在するとは考えられない。一方、Wilson ら¹⁰⁾ (1976) は、精細管の androgen receptor は、testosterone と DHT とに、同等の親和性を有しているが、精細管組織の 3 α (β)-HSD の活性が高く、DHT をすみやかに A-diol に代謝してしまうため、精細管組織の androgen receptor のほとんどは、testosterone と結合していると述べている。もし、germ cell での receptor が testosterone のみに専有されているとすれば、精細管に作用する androgen は testosterone であると考えられる。

一方、ヒト精細管における testosterone の代謝については、Payne ら¹¹⁾ (1973) は、collagenase にて精細管を分離し、4-androstenedione (A-dione) から DHT, A-diol が代謝されることを認めている。また、Rivarola ら (1973¹²⁾, 1975¹³⁾) は、ラットとヒト精細管での testosterone の代謝を比較検討し、その共通点として、1) いずれの精細管組織にも、5 α -reductase, 3 α (β)-HSD は存在する、2) 減数分裂の完成期に一致して、これら 5 α -reduced metabolite は増加し、以後加齢により減少する、また、異なる点として、1) ヒトでは testosterone は精細管では代謝されにくい、2) ラット精細管の主な代謝物は A-diol であるが、ヒトでは、DHT, A-diol の代謝率は同等である、等の見解を上げている。いずれにしても、ヒト精細管での androgen 作用についての報告は少なく、5 α -reductase, 3 α (β)-HSD が存在するにしても、この存在が他の男性ホルモン標的臓器、例えば前立腺における DHT 作用の重要性と同等の意味を持つものかどうかは不明である。

われわれの得た結果では, testosterone の DHT, A-diol への代謝率は極めて低く, いずれの実験条件下でも, testosterone は90%以上残存し, DHT, A-diol への代謝率 (conversion rate) は1%以下であり, 代謝物として得られた radioactivity は全て100dpm 以下で background との区別が困難であった。さらに, incubation 時間, 温度, 精細管組織重量の変化に伴う DHT, A-diol の conversion rate の変動が認められていない (Fig. 1, 2, 3)。これに比して, A-dione は incubation 時間, 組織重量との間に正の相関々係があり, その至適温度は 44°C 前後にあると考えられる (Fig. 3)。すなわち, われわれの用いた分離精細管には, 17 β -HSD は存在するが, 5 α -reductase, 3 α (β)-HSD の存在は否定的である。これらの結果は, あくまで限定された実験条件下ではあるが, 老人睾丸における精子形成能の維持には, DHT, A-diol は関与せず, testosterone の直接作用であろうと推定される。

本研究は文部省科学研究費補助によるものである。

文 献

- 1) Hassson, V., Trygstad, French, F. S., McLean, W. S., Smith, A. a., Tindall, D. J., Weddington, S. C., Perstrusz, P., Nayfeh, S. N., and Ritzen, E. M.: Androgen transport, and receptor mechanisms in the testis and epididymis, *Nature*, 250 : 387, 1974.
- 2) Comhaire, F. H., and Vermeulen, A.: Testosterone concentration in the fluids of seminiferous tubules, the interstitium and the rete testis. *J Endocr*, 70 : 229, 1976.
- 3) Wilson, J. D.: Recent studies on the mechanism of action of testosterone. *New Engl J Med*, 21 : 1284, 1972.
- 4) Tence, M., and Drosowsky, M.: Biosynthesis and metabolism of testosterone by Sertoli cell-enriched seminiferous tubules. *Biochem Biophys Res Comm*, 73 : 47, 1976.
- 5) Cigorrage, S., Podesta, J., and Chemes, H. E.: Metabolism of testosterone in subcellular fractions of seminiferous tubules at the time of initiation of the meiotic division. *J Steroid Biochem*, 8 : 747, 1977.
- 6) Kao, L. W. L., Lloret, A. P., and Weisz, J.: Metabolism in vitro of dihydrotestosterone, 5 α -androstane 3 α 17 β -diol and its 3 β -epimer, three metabolites of testosterone by three of its target tissues, the anterior pituitary, the medial basal hypothalamus and the seminiferous. *J Steroid Biochem*, 8 : 1109, 1977.
- 7) Nimmen, D., Eechaute, W., Lacroix, E., De-meester, G., and Leusen, I. [4-¹⁴C]-Testosterone metabolism and steroid production by incubated whole testes, seminiferous tubules and interstitial tissue from rats. *J Steroid Biochem*, 10 : 505, 1979.
- 8) Rivarola, M. A., Podesta, E. J., Chemes, H. E., and Calandra, R. S.: Androgen metabolism and concentration in the seminiferous tubules at different stage of development. *J Steroid Biochem*, 6 : 365, 1975.
- 9) Campo, S., Nicolau, G., Pellizari, E., and Rivarola, M. A.: Concentrations of androgens in nuclei of seminiferous tubules in developing and mature rats. *J Steroid Biochem*, 10 : 195, 1979.
- 10) Wilson, E. M., and French, F. S.: Binding properties of androgen receptors. *J Biol Chem*, 251 : 5620, 1976.
- 11) Payne, P. H., Kawano, A., and Jaffe, R. B.: Formation of dihydrotestosterone and other 5 α -reduced metabolites by isolated seminiferous tubules and suspension of interstitial cells in a human testis. *J Clin Endocrinol Metab*, 37 : 448, 1973.
- 12) Rivalora, M. A., Podesta, E. J., Chemes, H. E., and Aguilar, D.: In vitro metabolism of testosterone by whole human testis, isolated seminiferous tubules and interstitial tissue. *J Clin Endocrinol Medab*, 37 : 454, 1973.

Testosterone metabolism in human isolated seminiferous tubules

**Masahiko Hosaka, Ryuichi Nishimura
and Shudo Takai**

Department of Urology, Yokohama City
University School of Medicine

Masaoki Harada

Department of Pathology, Teikyo University
School of Medicine

Metabolism of testosterone to 5 α -dihydrotestosterone, 3 α (β)-androstenediol and 4-androstenedione by isolated seminiferous tubules from 65 year old patient with prostatic carcinoma was evaluated. The seminiferous tubules was separated with collagenase using a specific two step incubation method. The ratio of complete isolation of the tubules determined by light microscopic examination and scanning electron microscopic photograph was approximately 92 per cent. The conversion rate of 5 α -dihydrotestosterone, 3 α (β)-androstenediol from testosterone in the tubules was trivial. There was no increase in the formation of 5 α -dihydrotestosterone and 3 α (β)-androstenediol under experimental variation in incubation time, the amount of tubules and incubation tempera-

ture. On the other hand, the formation of 4-androstenedione demonstrated a gradual increase with incubation time from 0 to 30 min. and the amount of the tubules from 30 to 300 mg. The optimal temperature of 4-androstenedione formation showed about 44°C.

It was likely suggested that the seminiferous tubules in aged man may not have 5 α -reductase

and 3 α (β)-hydroxysteroid dehydrogenase, while 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase is recognized in the tubules. Furthermore, it was postulated that testosterone may directly act on the seminiferous tubules in aged man for the maintenance of spermatogenesis.

(受付：昭和57年12月6日，特掲)

精液の粘性に関する研究 (その2)

Study on the Viscosity of Human Semen (Part 2)

大阪医科大学泌尿器科教室 (主任: 宮崎 重教授)

岡 野 准

Hitoshi OKANO

Department of Urology, Osaka Medical School

(Director: Prof. Shigeru MIYAZAKI)

前報では精液粘性と精子運動性とは関係があること、すなわち精液の粘度が高い精子の運動性が低下することなどを報告した。本報では精液粘性の原因物質の究明とその作用機序を知ることを目的とし、加えてホルモンの粘度などに対する影響を検討した。結果は以下の如くであった。1) 膀胱全摘により得た精のうを穿刺して採取した精のう液粘度は非常に高値 (600cp 以上) を示し、採取後室温下に1時間放置しても粘度は変化しなかった。精液成分中約 2/3 を占めることとその粘度が非常に高いことから精のう液が精液粘性の主原因物質と思われる。2) 精液中果糖は精液粘度とは関係がなかった。3) 精液中アミラーゼ値は不妊男性では平均が23.7u であり正常男性のそれと差がなかった。4) 精液中アミラーゼ値は血清 LH 値と逆相関した。5) 精液中アミラーゼ値と血中アミラーゼ、血清 FSH 値、血清テストステロン値とは関係がなかった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 151-157, 1983)

I. 緒 言

精液の粘性に関する研究 (その1) では、精液の粘度と精子の運動性との間に密接な関係があること、すなわち精液粘度が高いと精子運動率は低く、精子運動速度も低下する傾向がみられ、また asthenozoospermia 症例では精液の residual viscosity が高値を示したこと、および Bunge ら¹⁾の報告で知られている non liquefacted semen の症例では、射精後長時間を経ても精子運動速度が増加しないことなどを報告し、精液粘度が高いことに起因する男性不妊の存在について示唆した。

射精直後高粘度を示すヒト精液が、時間の経過とともに、その粘性が低下していく過程 (liquefaction) は liquefaction factor あるいは seminin と呼ばれる蛋白分解酵素によるもの²⁾³⁾⁴⁾とされているが、Bunge ら¹⁾は non liquefacted semen に起因すると考えられる男性不妊症例に対して、含水炭素分解酵素である α -アミラーゼを用いて liquefaction を促進させ妊娠が成立したことを報告している。このことより、精液粘度は単に蛋白分解酵素のみによつて規定されているのではなく、含水炭素や含水炭素分解酵素とも関連している可能性があ

る。そこで、著者は精液粘度と精液中の含水炭素 (果糖)、アミラーゼとの関連について検討するとともに、精液中に存在する各種の酵素がホルモンの支配をうけている可能性があるため、精液中アミラーゼと血中ホルモン (LH, FSH, テストステロン) との関係についても検討した。

II. 研究対象ならびに方法

研究対象は1975年8月より1980年6月までに、大阪医科大学付属病院泌尿器科男性不妊外来を訪ずれた822名の患者から無作意に抽出した239名である。精液の採取は用手法によつて行ない、禁欲期間は4日間以上を原則とした。

採取した精液は1.0ml 以上を残してただちに凍結保存し、精液中果糖含有量、精液中アミラーゼ値測定のための検体とした。残りの精液について精子濃度、精子運動率を測定し、さらに射精後60分間室温下に放置して、25°C のもとで円錐回転円盤形粘度計 (東京計器社、Visconic ELD 型) を用いてローター回転数を20r.p.m. として粘度の測定を行なつた。精液粘度測定の手技の実際については前報「精液の粘性に関する研究 (その1)」

に示したので省略する。精液中果糖含有量の測定は酵素法⁶⁾により、精液中アミラーゼ値測定は Van Loon 法⁶⁾に準じて行なった。精子濃度の分類は前報と同様である。

精液採取時に肘静脈より採血し、ただちに血清を遠心分離して凍結保存し、血清 LH 値、血清 FSH 値、血清テストステロン値、血清アミラーゼ値などを測定するための検体とした。LH 値、FSH 値、テストステロン値の測定は Radioimmunoassay 法によつて行なった。

III. 結 果

a) 精のう液の粘度について

精液成分のそれぞれの粘度を測定すれば、精液に粘性をもたらす原因となつてゐる物質を知る有力な手段になると考えられるが、計測可能な量 (1.0ml) を得ることが困難であるため、比較的多量の採取が可能である精のう液の粘度を測定した。膀胱腫瘍のため膀胱全摘除術を施行した2名の男性患者の摘除標本の精のう部分を穿刺して精のう液を採取し、穿刺後ただちに粘度を測定した。その値はそれぞれ600cp と1200cp 以上とであり、いずれも非常に高値を示した。穿刺後室温下に60分間放置して再度測定した値も、穿刺直後に測定した値と同値であり、粘度の低下はみられなかった。

b) 精液粘度と精液中果糖含有量との関係

男性不妊患者57名を対象として、精液粘度と精液中果糖含有量との関係について検討した (図1)。精液粘度の平均値は $9.6 \pm 4.2\text{cp}$ であり、精液中果糖含有量の平均値は $388.8 \pm 177.7\text{mg/dl}$ であったが、有意の相関はみ

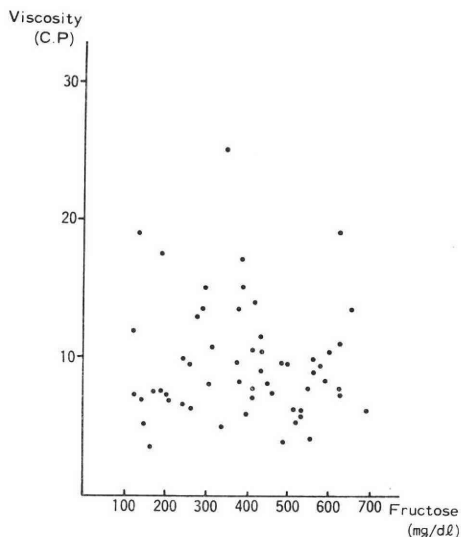


図1 不妊男性における精液中果糖含有量と射精後60分における精液粘度との関係 (n=57)

られなかった (相関係数: -0.13)。また図には示さなかったが、果糖は精子のエネルギー源として利用されることから、精子濃度の差が精液中果糖含有量に影響する可能性があり、精子濃度の状態によつては精液中果糖含有量と精液粘度との間に有意の相関はみられるのではないかとの推察のもとに、図1の症例について、これを normozoospermia, oligozoospermia fair, oligozoospermia poor, azoospermia の4群に分けて検討したが、精液粘度と精液中果糖含有量との間には相関がみられなかった。

次に、精液中のアミラーゼ値について検討した。まず、2子以上を有する男性 volunteer 5名の control 群では、精液中アミラーゼ値 (Smith-Roe 単位) はそれぞれ52.8u, 12u, 5.3u, 36u であり、平均値は29.1u であった。

c) 精液中アミラーゼ値と精子濃度との関係

不妊男性35名の精液中アミラーゼ値は3.6~52.8u の範囲にあり、平均値は $18.9 \pm 10.5\text{u}$ であった。図2は精

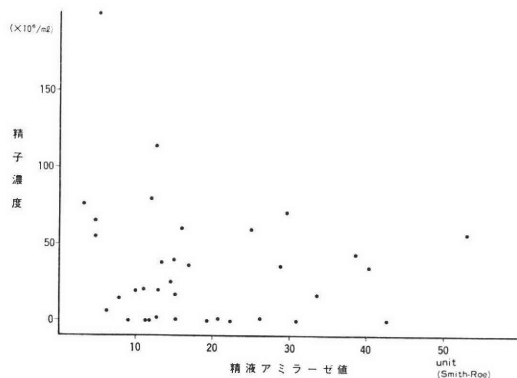


図2 精液中アミラーゼ値と精子濃度との関係 (n=35)

液中アミラーゼ値と精子濃度との関係を示したものである。精子の有無とは関係なく精液にはアミラーゼ活性がみられ、少なくとも精漿中にはアミラーゼが存在することを示しているが、精液中アミラーゼ値と精子濃度との間には相関がみられなかった (相関係数: -0.16)。

d) 精液中アミラーゼ値と血中アミラーゼ値との関係

図3は、図2と同じ症例について精液採取と同時に採血して得た血清のアミラーゼ活性値と精液のアミラーゼ活性値とを比較したものである。血中アミラーゼ値は132~304u の範囲にあり、平均値は $223.6 \pm 56.5\text{u}$ であったが、両者間に有意の相関はみられなかった (相関係数: -0.30)。

e) 精液中アミラーゼ値と精液粘度との関係

図4は不妊患者109名における精液中アミラーゼ値と

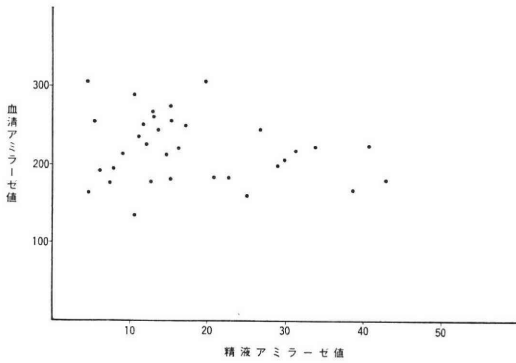


図 3 不妊男性における精液中アミラーゼ値と血清アミラーゼ値との関係 (n=35)

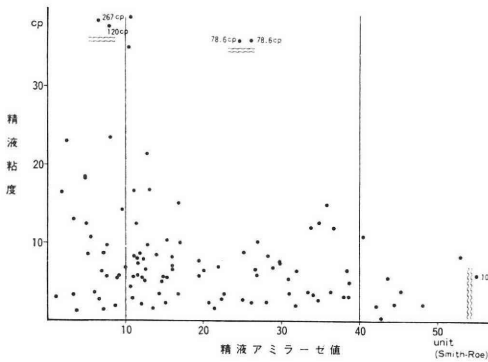


図 4 不妊男性における精液中アミラーゼ値と精液粘度との関係 (n=109)

精液粘度との関係を示したものである。精液中アミラーゼ値は1.2~138u の範囲にあり平均値は $23.7 \pm 19.4u$ であった。また精液粘度は $1.8 \pm 272cp$ の範囲にあり平均値は $7.1 \pm 3.5cp$ であつたが、精液中アミラーゼ値と精液粘度との間に有意の相関はみられなかつた(相関係数: -0.14)。しかし、図4に示した如く、精液中アミラーゼ値が10u 以下の症例では、26例中12例(46.2%)に精液粘度が10cp 以上の高粘度を示す症例がみられたのに対し、精液中アミラーゼ値が40u 以上の比較的高い値を示す症例では、12例中1例(8%)のみが10cp 以上の精液粘度であつた。また、精液中アミラーゼ値が100u 以上を示した症例はすべて精液粘度が10cp 以下であつた。

次に、精液中に含まれる各種酵素はホルモンによつて支配されている可能性が考えられるため、精液中アミラーゼ値と血清中の LH 値, FSH 値, テストステロン値との関係についてしらべた。

f) 精液中アミラーゼ値と血清 LH 値との関係

図5に不妊患者36名についての精液中アミラーゼ値と

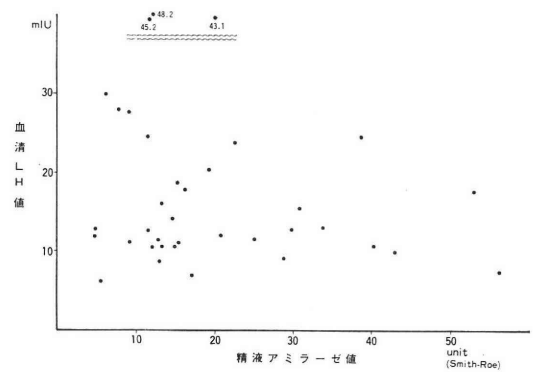


図 5 不妊男性における精液中アミラーゼ値と血清 LH 値との関係 (n=36)

精液採取時に採血した血清の LH 値との関係を示した。精液中アミラーゼ値は4.6~57.2u の範囲にあり、平均値は $18.2 \pm 9.8u$ であつた。血清 LH 値は5.3~48.2 mIU/ml の範囲にあり、平均値は $18.9 \pm 11.1mIU/ml$ であつた。精液中アミラーゼ値と血清 LH 値の間には著明ではないが負の相関関係(相関係数: -0.38)がみられた。すなわち血清 LH 値が高くなるにつれて精液中アミラーゼ値が低下する傾向にあつた。

g) 精液中アミラーゼ値と血清 FSH 値との関係

図5と同じ症例について、血清 FSH 値と精液中アミラーゼとの関係をしらべたのが図6である。血清 FSH

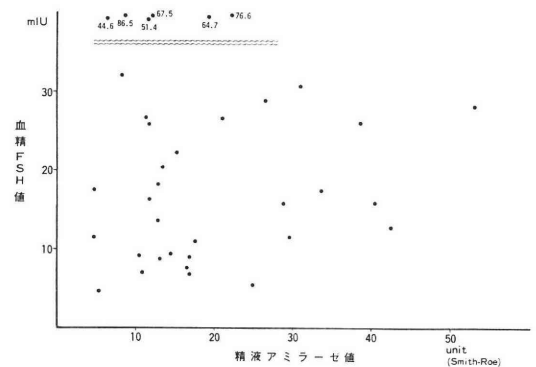


図 6 不妊男性における精液中アミラーゼ値と血清 FSH 値との関係 (n=36)

値は4.3~76.6 mIU/ml の範囲にあり平均値は $17.9 \pm 9.3mIU/ml$ であつた。精液中アミラーゼ値と血清 FSH 値との間に相関はみられなかつた(相関係数: -0.089)。

h) 精液中アミラーゼ値と血清テストステロン値との関係

図7は図5、図6と同じ症例に2名を追加した38症例の不妊患者における血清テストステロン値と精液中アミラーゼ値との関係を示したものである。血清テストステ

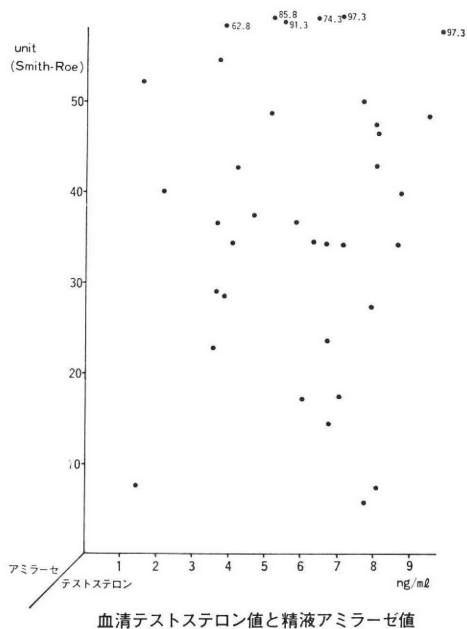


図7 不妊男性における血清テストステロン値と精液中アミラーゼ値との関係 (n=38)

ロン値は1.3~10.8ng/mlの範囲にあり, 平均値は 6.14 ± 2.8 ng/mlであった。精液中アミラーゼ値は5.2~97.3uの範囲にあり, 平均値は 41.6 ± 18.2 uであり, 両者間に有意の相関はみられなかった (相関係数: -0.00007)。

i) 血清 LH 値および FSH 値と血清テストステロン値との関係

先に血清 LH 値と精液中アミラーゼ値との間に負の相関がみられることを示したが, 血清 LH 値と関係深いと思われる血清 FSH 値および血清テストステロン値はともに精液中アミラーゼ値と相関がみられなかった。

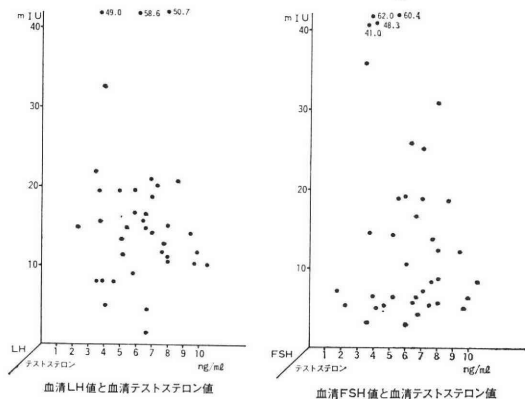


図8 不妊男性における血清 LH 値および血清 FSH 値と血清テストステロン値との関係 (n=38)

そこで同じ症例について血清 LH 値, FSH 値および血清テストステロン値の関係について検討した (図8)。図8の右は血清 LH 値と血清テストステロン値, 図8の左は血清 FSH 値と血清テストステロン値との関係を示したものであるが, いずれも有意の相関はみられなかった (相関係数: LH とテストステロン -0.14 , FSH とテストステロン -0.24)。

j) 血清テストステロン値と精液粘度との関係

精液粘度は精子の有無あるいは精子濃度と関係がないことを前報「精液の粘性に関する研究 (その1)」で報告したが, この事実から精液粘度の変化は精漿の状態の

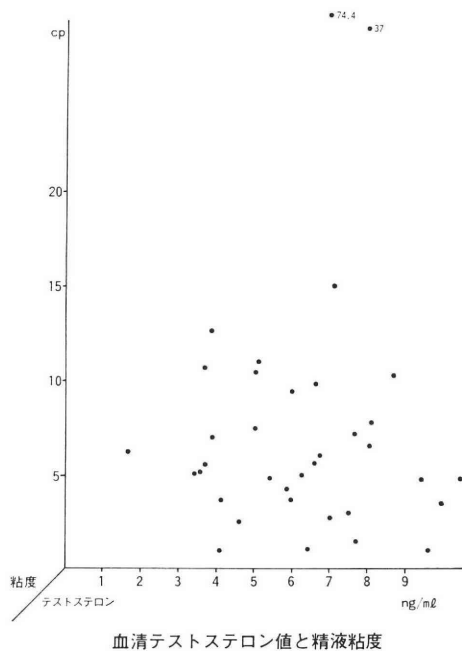


図9 不妊男性における血清テストステロン値と精液粘度との関係 (n=36)

変化に由来することが推測される。精漿成分の大半は副性器に由来するものであり, その副性器はテストステロン支配下にあることからテストステロンが精液粘度に対してなんらかの影響を与えている可能性があるものと考えられる。そこで, 血清テストステロン値と精液粘度との関係を図5と同じ症例 (36例) について検討した (図9)。しかし, 血清テストステロン値と精液粘度との間に有意の相関はみられなかった (相関係数: 0.02)。

IV. 考 案

精液にかぎらず生物材料の粘液はムコ蛋白あるいはムコ多糖とよばれる複合糖質が主成分であり, 粘性を保つ

原因物質であると考えられている。複合糖質はひろく生体内に分布しているが、粘液などの高粘性の物質では糖質と蛋白がくり返し結合して非常に大きな分子を形成しており、その複合糖質を溶かしている溶媒中に占める体積の大きさが粘性を保つ原因となっている⁷⁾。また松村⁸⁾は、酸性ムコ多糖を例にとつて多糖溶液の粘性について説明しているが、これによると溶液中の酸化ムコ多糖は長い直鎖の分子にランダムコイル状を呈していると述べ、無機塩添加により粘度が低下し、また pH が 4 以下になると急激に粘度が低下することを指摘している。この粘性変化は、酸性ムコ多糖の酸性基解離が無機塩、pH 低下により抑制された結果によるものであると説明している。また、高粘性は酸性ムコ多糖の分子間の相互作用によるものであるが、分子自体が長い構造をもつていることにも起因するであろうと述べている。以上のような生物材料の粘液の一般的特徴からみて、精液粘性の原因物質も、大きな分子をもつ複合糖質であろうと考えられる。小松ら⁹⁾は精液中の糖蛋白を、シアル酸を指標として測定し、また精漿中酸性ムコ多糖の分画について報告しているが、それによると、精漿中のシアル酸含量は 80~100mg/dl 位であり、正常精子濃度群が乏精子症および無精子症群に比べて有意に高い値を示したことが、および、精漿中酸性ムコ多糖含量は 59.4~200.2 γ /m であり正常群でやや低い傾向が認められたと報告している。また、精漿中酸性ムコ多糖の分画の詳細についても報告している。この成績は精液中に糖蛋白、酸性ムコ多糖の存在を証明したものであり、量的には精漿中果糖含有量の平均値程度であるが、精液の粘性原因物質は複合糖質であることをうらづけるものである。

精液粘性の原因物質がどの臓器に由来するかについては、精漿成分の構成比から考えると前立腺および精のうがあげられる。実際に精漿成分の粘度を測定することが出来れば、精液粘性の原因物質を究明する有力な手段となるが、粘度計の関係上、検体が 1.0ml 以上でなければ粘度を測定することが出来ないため、著者が測定したのは精のう液についてのみである。精のう液は膀胱全摘をうけた男性患者の摘出標本の精のうを穿刺して採取したものであり、射精の過程を経ないものであるが、その粘度は非常に高い値を示しており、前報で報告した射精直後の高粘性状態の精液粘度をも上回るものであった。精のう液が非常に高粘度であること、人間においては精液中の半量以上を精のう液が占めることから考えると、精液粘性の原因物質は主として精のうに由来するものと考えてよいであろう。

前立腺マッサージによつて得られる前立腺分泌液は流動性の高い漿液であり、量が少いためにその粘度を測定

することができなかったが、ヒト正常精液の liquefaction 後と同程度かあるいはそれ以下の粘度であると推測される。尿道球腺由来の分泌液は透明で粘稠であることから、その粘度はかなり高いものと推察されるが、量としては少いため精液粘性の原因物質としての役割は精のう由来の分泌液に比し小さいと考えられる。

膀胱全摘によつて得られた精のうの内容物の粘度は非常に高値であつたが、肉眼的には均質であり、空気にふれても塊状とはならない。ヒト精液の射精直後に観察されるゼリー状の塊 (coagulum) と精のう内容物とはあきらかに肉眼的に性状が異なっており、精液中の精のう成分は射精時になんらかの変化をうけているものと考えられる。前報でも述べたが、ヒト精液における coagulum 形成に関してはその現象はよく知られているが、機序については充分解明されていない²⁾¹⁰⁾。哺乳類の中で射精液に coagulum がみられるものでは coagulating gland の存在が知られており、この腺より分泌される酵素 coagulase により coagulum が形成されるといわれているが、人間では coagulating gland あるいはその類似器管は見い出されていない。しかし、人間における coagulum 形成もおそらくは他の動物における coagulum 形成と同様に酵素反応によるものであろう。

以上のように、ヒト精液の coagulation に関しては未だ充分解明されていないが、精液粘性が coagulation につづいて低下していく過程 (liquefaction) に関して、Huggins と Neal²⁾, Syner と Moghiss³⁾⁴⁾ にはある種の蛋白分解酵素が liquefaction に重要な役割を果たしていると述べ、これを分離純化している。また久住ら¹¹⁾¹²⁾ は、精液中の遊離アミノ酸量は射精後経時的に増加すると報告し、この結果は精液中に存在する蛋白分解酵素と関係が深いと述べている。吉田¹³⁾も自動分析機を用いて精漿中の遊離アミノ酸を測定し、射精後の経時変化については久住らと同様に遊離アミノ酸の種類と量が増加すると報告している。一方、Bunge ら¹⁾の報告から、少なくとも α -アミラーゼは liquefaction に促進的に作用するものと考えられる。また、 α -アミラーゼを含めて精漿中の各種酵素は前立腺に由来すると考えられている¹⁴⁾。以上を総合すると、ヒト精液における liquefaction は主として精のうに由来する粘性原因物質 (複合糖質であると考えられる) が前立腺分泌物の酵素によつて分解されて行く過程であると考えられる。

著者は精液中の糖質として果糖の含有量を測定したが、精液粘度との間に有意の相関はみられなかつた。精液中果糖は精のうに由来すると考えられており、その濃度は 300mg/dl 前後であつて、精液中の含水炭素成分中最も多量に含まれている。果糖以外の含水炭素としては

イノシトール、アスコルビン酸、ソルビット、ブドウ糖などが含まれているが、いずれも少量である。したがって、精液中の含水炭素で精液粘性に影響をおよぼすものがあるとするれば、果糖が最もその可能性が高いと思われるが、今回の成績では果糖と精液粘度との間に相関関係はみられず、精漿中の溶質として精液粘度に多少の影響をおよぼすとしても、精液粘性の主原因とは考えられなかった。また、果糖は射精直後から多量に精漿中に含まれており、精子のエネルギー源として利用されるために経時的に減少するといわれている¹⁵⁾。したがって、精液中に含まれている果糖の大部分は、著者が先に述べた粘性原因物質の糖質分解酵素による分解産物ではない。

精液の粘性原因物質が複合糖質であるとするれば、精液中の糖質分解酵素が liquefaction に関与して精液中の各種糖質が経時的に変化する可能性があり、射精後の精漿中の糖質の変化を観察することが liquefaction の機序解明に役立つと考えられる。今後その点についての検索が必要であると思われる。

精液中の α -アミラーゼは Bunge らによれば, liquefaction を推進される方向に働らくといわれており、また精子が存在しなくても精液中にアミラーゼが存在することは図2からも明らかである。しかし、図4の結果では精液中アミラーゼ値と精液粘度との間には相関がみられなかった。したがって、精液に多量の α -アミラーゼを加えた場合のように、元来精液中に含まれている α -アミラーゼが精液中で liquefaction を促進するかどうかについては疑問がある。図4の結果をそのまま解釈すると、精液の α -アミラーゼが liquefaction に重要な役割を果たしているとは考え難い。しかし、精液中アミラーゼ値が10u 以下と比較的低値の症例では、その46.2%が精液粘度10cp 以上の高値を示したのに対して、精液中アミラーゼ値が40u 以上の比較的高値の症例では、精液粘度10cp 以上の症例はわずかに8%にすぎず、殊に、精液中アミラーゼ値が100u 以上の症例では精液粘度は全例10cp 以下であつた。精液粘度と精液中アミラーゼ値との間に統計学的に相関がみられなくても、特殊な状態すなわち精液中アミラーゼ値が非常に低値の場合には精液粘度が高値を示す症例が多く、精液中アミラーゼ値が高値の場合には精液粘度が正常の症例が多くみられた。このことは精液中のアミラーゼが精液粘度を低下させる方向に作用していることを示唆するものであろう。

精漿中のアミラーゼが前立腺に由来することは前述したが、血中アミラーゼ値と精液中アミラーゼ値との間に有意の相関がみられなかった(図3)ことから、精液中のアミラーゼは単に血中から移行したのではなく、何らかの control をうけて前立腺から分泌されていることが

うかがわれる。生殖器に由来する酵素が何らかの control をうけているとすれば先ずホルモンによる影響が考えられる。そこで著者は血清 LH 値と精液中アミラーゼ値、血清 FSH 値と精液中アミラーゼ値、血清テストステロン値と精液中アミラーゼ値のそれぞれの関係について検討したが、その結果は血清 LH 値が高い程精液中アミラーゼ値が低値となる傾向がみられたが、後2者については相関関係はみられなかった。

LH は LH-releasing hormone によつて、また FSH は FSH-releasing hormone によつて、下垂体前葉からそれぞれ分泌されており、LH は睾丸の Leydig 細胞に働いてテストステロンの産生をうながし、また FSH は Sertoli 細胞、精細管に働かし、前立腺、精のうなどの副性器はテストステロン支配下にある¹⁶⁾¹⁷⁾。そこで血清 LH 値と精液中アミラーゼ値とが逆相関することから、精液中アミラーゼ値と血清テストステロン値との間に相関があるのではないかと考えたが、両者の間に有意の関係を証明することができなかった。精液中アミラーゼの供給源と考えられている前立腺は、テストステロンの標的臓器であり、テストステロンの分泌に重要な役割を果たす LH が精液中のアミラーゼと有意の関係にあるにもかかわらず、血清テストステロン値と精液中アミラーゼ値とが相関しなかった。

細井¹⁷⁾は男性不妊患者であつても、末梢血テストステロン値は正常男性と同程度で有意の差がなく、精子濃度満少するにしたがつて血中ゴナドトロピンが増加する傾向にあるが、個々の症例では必ずしもこのような傾向はみられず、Leydig 細胞の機能には個人差が強いと思われると述べている。また内島¹⁸⁾は男性不妊患者の血中ホルモン動態についてしらべ、その中で血清 LH 値と血清テストステロン値との関係については両者間に相関がみられなかったと述べ、充分な説明はし得ないが、血中 LH 値の変動の Peak にやや遅れて血中テストステロン値が上昇することをクロミフェンとゴナドトロピンとの関係について検討した約 1/3 の例で認めたとする Naftolin¹⁹⁾らの報告を根拠として、各ホルモン測定における採血時間に問題があるのではないかと述べている。今回の著者の測定でも、血中テストステロン値と血中ゴナドトロピン値との間には相関性がみられなかったが、血清 LH 値と精液中アミラーゼ値とが逆相関することから、精液中アミラーゼ値はホルモンによる影響で変動すると思われ、前立腺がテストステロンの標的臓器であることから、血清 LH 値と血清テストステロン値、また血清テストステロン値と精液中アミラーゼ値との間に相関性があると推察されるにもかかわらず、実際にはその相関性が証明できなかったのは、細井が述べているよう

に, Leydig 細胞の機能に個人差があつて血清 LH 値と血清テストステロン値が相関しないか, または, 内島が指摘している如く, 血清ゴナドトロピンの変動と血清テストステロンの変動に時間差がみられるために 1 回だけの採血では意味をなさないのかもしれない。また, 変動の相関差はテストステロンが副性器に作用する場合も同様なことが考えられる。すなわち, 前立腺分泌物がテストステロンに影響されて変化する場合に時間的なズレがあるとすれば, 時間的に経過を追つて血清テストステロン値および精液中アミラーゼ値を測定する必要があると考えられる。いずれにせよ, 副性器の役割や, その分泌物の調節の機序については, 未だ判然としないところが多く, 今後の更に検討を要する課題の 1 つであると考えられる。

V. 結 語

精液の coagulation, liquefaction の機序を知ることが目的として, 精のう液の粘度, 精液中果糖含有量, 精液中アミラーゼ値, 血中ゴナドトロピン値, 血中テストステロン値などについて, 男性不妊症患者 239 名を対象として検討し次の結果を得た。

1) 膀胱全摘を受けた患者の摘出精のうを穿刺して得た精のう液の粘度は非常に高値 (600cp 以上) を示し, 採取後長時間を経過しても粘度の低下をきたさなかった。精のう液は精液成分中に多量に存在することと, その粘度が非常に高いことから, 精液粘性の主体をなすものであると推察される。また, 精のう液は射精時に何らかの変化 (おそらくは酵素による影響) を受けていることが推察された。

2) 精液中果糖は精漿中に比較的多量に存在する糖質であるが, 精液粘度に大きな影響をおよぼす成分であるとは考えられなかった。

3) 精液中アミラーゼ値は正常者では 5.3~52.8u (平均値 29.1u) であり, 不妊男性では 1.2~138u (平均値 23.7u) であつて両者の間に有意の差はみられなかった。

4) 精液中アミラーゼ値と精子濃度および血中アミラーゼ値との間には相関がみられなかった。

5) 精液中アミラーゼ値と血清 LH 値との間には負の相関がみられたが, 精液中アミラーゼ値と血清 FSH 値および血清テストステロン値との間には相関がみられなかった。

6) 血清テストステロン値と精液粘度との間には相関がみられなかった。また血清 LH 値および血清 FSH 値と血清テストステロン値との間にも相関がみられなかった。

(本論文の要旨は第 22 回および第 24 回の日本不妊学会総会で発表した)。

稿を終るにあたり, 御指導をたまつた高崎登助教授に深く感謝の意を表します。また多大な御助力をいただいた教室員および volunteer の皆様方に感謝致します。

文 献

- 1) Wilson, V. B. and Bunge, R. G.: Infertility and men non-liquefaction. *J. Urol.*, 113: 509, 1975.
- 2) Huggins, C. B. and Neal, W.: Coagulation and liquefaction of semen. *J. Exp. Med.*, 76: 527, 1942.
- 3) Syner, F. N. and Moghissi, K. S.: Purification and proteinase. *Biochem. J.*, 126: 1135, 1972.
- 4) Syner, F. N. and Moghissi, K. S.: Isolation of a factor from normal human semen that accelerates dissolution of abnormally liquefying semen. *Fertil. Steril.*, 26: 1064, 1975.
- 5) Klotzsch, H. and Bergmeyer, H. U.: *Methods of Enzymatic Analysis* (ed. by Bergmeyer, H. U.), Academic Press, New York, p 156, 1963.
- 6) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要: XIII-13, 金原出版, 1968.
- 7) Nathan Sharon (訳 大沢利昭): 複合糖質—構造・生合成・機能: p 157, 学会出版センター, 1971.
- 8) 松村 剛, 鈴木 旺, 山科郁男 (編集) 江上不二夫 (監修): 多糖生化学 (化学編): p 101, 共立出版, 1969.
- 9) 小松洋輔, 友吉唯夫, 高橋陽一, 岡田謙一郎: 男性不妊症患者精液の糖蛋白および酸性ムコ多糖について. *日不妊会誌*, 16: 107, 1971.
- 10) Tauber, P. F. and Zaneveld, L. J.: Coagulation and liquefaction of human semen. In Hafez, E. S. E. (ed.): *Human and Fertility Regulation in Men*. p 153, St. Louis, C. V. Mosby Co., 1976.
- 11) Hisazumi, H.: Studies on the fibrinolytic activity of semen in patients with sterility by filtration. *日不妊会誌*, 14: 80, 1969.
- 12) 久住治男, 宮崎公臣, 中務 紀: 精液の遊離アミノ酸と蛋白分解酵素について: *日不妊会誌*, 14: 46, 1969.
- 13) 吉田英機: 男性不妊症における精漿中遊離アミノ酸の研究: *日泌尿会誌*, 65: 467, 1974.
- 14) Coffey, D. S.: The biochemistry and physiology of the prostate and seminal vesicles. *Cambell's Urology*, p 161, W. B. Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, 1978.
- 15) Phadake, A. M., Samant, N. R. and Dewal, S. D.: Seminal fructose content in necrospemia. *Fertil. Steril.*, 26: 1021, 1975.
- 16) 北島清彰: 睾丸におけるゴナドトロピンの作用

機序に関する免疫組織学的研究：日泌尿会誌，68：115，1977.

- 17) 細井康男：男性不妊症の内分泌学的研究：日泌尿会誌，72：544，1981.
- 18) 内島 豊，平賀聖悟，駒瀬元治，根岸壮治：男性不妊症の血中ホルモン動態と造精機能に関する検討：日不妊会誌，27：1，1982.
- 19) Naftolin, F., Judd, H. L., and Yen, S. S. C.: Pulsatile patterns of gonadotropins and testosterone in man: The effects of clomiphene with and without testosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36: 285, 1973.

Study on the viscosity of human semen (Part 2)

Hitoshi Okano

Department of Urology, Osaka Medical School
(Director: Prof. Shigeru Miyazaki)

The relationship between seminal viscosity and activity of spermatozoon was discussed in the previous report (part 1). This report is concerned with the study to find out the origine of viscogenic substances in semen in addition to hormonal influences on the seminal viscosity.

The results are summarized as follows:

1) Viscosity of the fresh seminal vesicle fluid collected by the puncture from total cystectomized specimen had a very high value (>600 cp) and did not decrease after one hour at room temperature. Therefore, it is likely that seminal vesicle fluid contains the major viscogenic sub-

stances since it constituted nearly two-thirds of the composition of semen. Furthermore, it seems that the fluid of the seminal vesicle is affected at the time of ejaculation (e. g. enzymatic).

2) There was no correlation of the concentration of fructose, a major part of saccharide in semen, to seminal viscosity.

3) There was no significant difference between the mean activities of alpha amylase in semen obtained from normal and infertile men, 29.1 u (range, 5.3~52.8 u) and 23.7 u (range, 1.2~138 u), respectively.

4) The activity of seminal amylase did not correlate with either sperm density or the activity of serum amylase.

5) There was no relationship between the activity of seminal amylase and the value of serum FSH or testosterone. However, a inverse relation was observed between the activity of seminal amylase and the value of serum LH.

6) The value of serum testosterone was not related to seminal viscosity.

7) In infertile patients, no relationship was seen between the value of serum testosterone and that of LH or FSH.

8) In semen samples of high viscosity (>10 cp) the majority had low activity of seminal amylase and semen samples of low viscosity had high seminal amylase activity. This suggests that amylase may have a function in reducing the viscosity of semen.

(受付：昭和57年11月11日，特掲)

Dibutyl Phthalate および Monobutyl Phthalate による実験的睾丸障害

Experimental Testicular Damage Induced by
Dibutyl Phthalate and Monobutyl Phthalate

東京慈恵会医科大学泌尿器科学教室（主任：町田豊平教授）

池 本 庸 小 寺 重 行 桂 井 清 人
Isao IKEMOTO Shigeyuki KOTERA Kiyoto KATSURAI

稲 葉 善 雄 町 田 豊 平
Yoshio INABA Toyohei MACHIDA

Department of Urology
JIKEI University School of Medicine
(Director: Prof. Toyohei MACHIDA)

国立衛生試験所 医化学部
田 中 彰
Akira TANAKA

Division of Medical Chemistry
National Institute of Hygienic Science

現在軟質塩化ビニール樹脂の可塑剤として広く使用されているフタル酸エステル類による睾丸障害を検討する目的で、35日齢雄ラットに dibutyl phthalate (DBP) とその生体内主代謝物である monobutyl phthalate (MBP) を1週間経口投与し、雄性性腺への影響を検討した。その結果、DBP、MBP 投与群とも睾丸組織は精細管を主体とする著明な萎縮がみられた。すなわち、精細管内はほとんど精細胞が消失し、Sertoli 細胞にも空胞化や脂肪顆粒の増大がみられ、さらに間質組織にも軽度の Leydig 細胞の萎縮や細胞質内オルガネラの減少がみられた。精囊腺、前立腺は萎縮し、肝、腎、下垂体には変化を認めなかった。また、同時に測定された血清テストステロン値は低下していた。以上、可塑剤としての DBP の2.4g/kg day、MBP の0.8g/kg・day 7日間経口投与は、肝、腎にほとんど障害を与えないにもかかわらず、睾丸を中心とする雄性性腺障害を起こすことが動物実験で認められた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 159-165, 1983)

緒 言

睾丸障害は種々の原因によつて起こるが、金属カドミウムなどの化学物質による睾丸障害もよく知られている。

最近睾丸障害を起こす化学物質の1つとして、フタル酸エステル類が報告¹⁻³⁾され、注目されている。フター

ル酸エステルは軟質塩化ビニール樹脂の可塑剤として、工業用のみならず日常生活用品にまで広く環境中に存在する物質である。したがつて、フタル酸エステル類の生体内での動態、とくに、睾丸障害の程度や内容を知ることが公衆衛生学的にも大きな問題と思われる。

そこで、本薬剤による睾丸障害の特徴を実験組織学的に検討した。

実験方法

実験動物は生後5週(体重約100g)のウイスター系雄ラットを使用した。これらのラットを対照群, DBP 投与群, MBP 投与群の3群に分け, 各種おのおの5匹とした。飼育条件は室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $50 \pm 5\%$ で, 飼料および水は自由に摂取させた。なお動物室内の照明は12時間明, 12時間暗である。

投与したフタル酸エステル類は dibutyl phthalate (DBP と略す) と, その生体内主代謝物と考えられる monobutyl phthalate (MBP と略す) の2種類の薬物である。DBP は市販品(東京化成試薬特級)を使用し, MBP は Goggans らの方法⁹⁾に準じてわれわれが新たに化学合成したものである (Fig. 1)。投与量は DBP



Fig. 1 Chemical structures of DBP and MBP

2.4g/kg·day (9.31mg 当量/kg·day), MBP 0.8g/kg·day (3.6mg 当量/kg·day) とし, 連続7日間毎日午前中に経口的に投与した。対照群には同様の操作で生理食塩水を投与した。投与期間中, 体重測定を毎日行ない, 各群とも投与終了の翌日(8日目)に屠殺した。エーテル麻酔下で開腹の後, まず大動脈より採血し, 下垂体, 両側率丸のほか, 精囊腺, 前立腺, 肝, 腎を摘出した。また, 率丸, 前立腺, 精囊腺は摘出重量も測定した。

組織学的検索は光顕および一部電顕によっておこなった。光顕材料は各摘出臓器を Bouin 固定し, パラフィン包埋後 hematoxylen-eosin 染色をおこなって観察した。下垂体は2%昇汞ホルマリン固定し, PAS 染色で観察した。さらに, 率丸および下垂体の一部は電顕的観察をおこなった。電顕用切片は2.5%グルタルアルデハイド (0.2MPB) と1%オスミウム酸 (millonig buffers) による2重固定をおこなった後, エタノール系列で脱水, mollenhauer の処方によりエポン包埋し, 超薄切後, 酢酸ウラニールとクエン酸鉛による電子染色をおこない観察した。

一方, 率丸組織障害に伴う内分泌学的変動をみるため, 血清テストステロン値を測定した。測定はテストステロン RIA キット(榮研化学)を用いて2抗体法でおこなった。

Table 1 Weight of reproductive organs treated with DBP and MBP at sacrifice

organ rat	Testis (g)	Seminal vesicle (g)	Prostate (g)
Control	0.97 ± 0.11	0.23 ± 0.02	0.17 ± 0.01
DBP treated	0.59 ± 0.19	0.18 ± 0.02	0.08 ± 0.01
MBP treated	0.55 ± 0.17	0.14 ± 0.04	0.09 ± 0.01

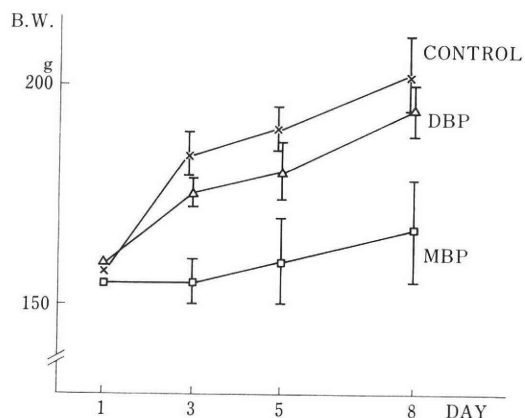
(Each value shows Mean $\pm$ S D)

Fig. 2 Rat body weight gain treated with DBP and MBP

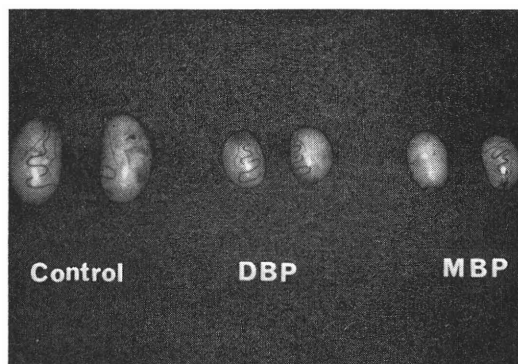


Fig. 3 Gross appearance of testis from rats treated with DBP and MBP

結果

1) 体重, 率丸, 前立腺, 精囊腺の組織重量変化

体重の変化および摘出率丸, 前立腺, 精囊腺の各重量を Table 1 および Fig. 2 に示した。体重増加率をみると対照群にくらべ, MBP 投与群の体重増加はやや悪かった。摘出率丸は肉眼的にも萎縮が著明で (Fig. 3), 摘出重量は対照群の約 $\frac{1}{2}$ に減少し, とくに MBP 投与群で萎縮が著明であつた。前立腺, 精囊腺も同様に DBP, MBP 投与群では対照群にくらべて萎縮しており, 重量

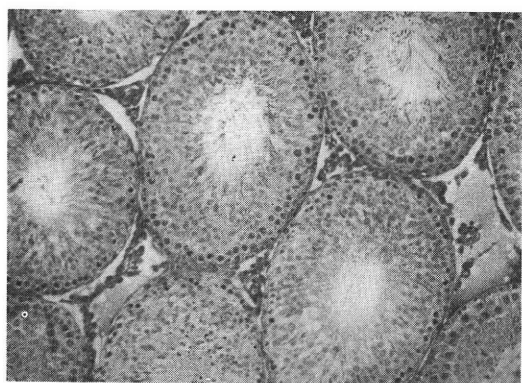


Fig. 4 Microscopic sections of the testis in the control rat

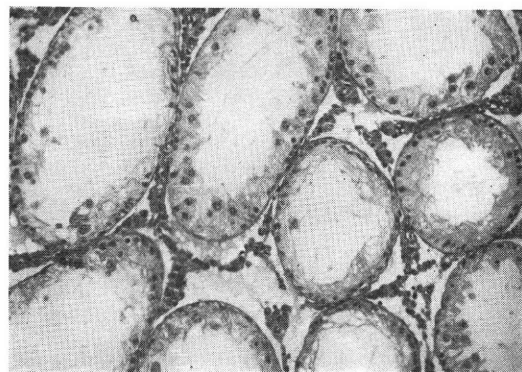


Fig. 6 Microscopic sections of the testis in the rat treated with MBP

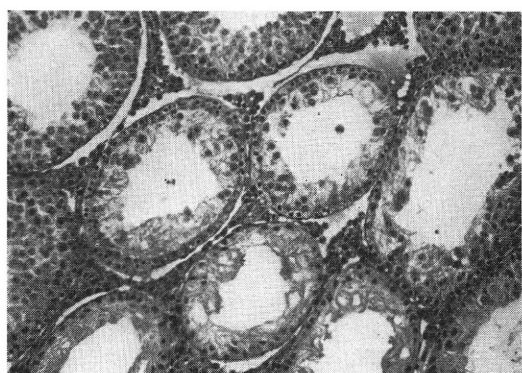


Fig. 5 Microscopic sections of the testis in the rat treated with DBP

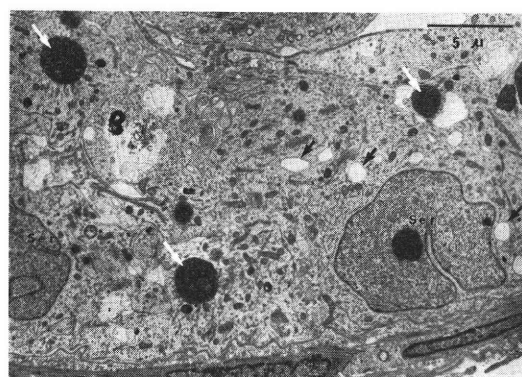


Fig. 7 Seminiferous tubules in the rat treated with MBP (2,000×)
Note vacuolar formation (arrows) and enlargement of lipid droplets (white arrows) in the cytoplasm of Sertoli cell.

で約 $\frac{2}{3}$ の減少を示した。

2) 各臓器の組織学的変化

①辜丸：DBP 投与群の摘出辜丸の光顕像を Fig. 4 に、MBP 投与群のそれを Fig. 5 に示した。DBP 投与群の辜丸の精細管は著明に萎縮し、精細管内は Sertoli 細胞で占められ、精細胞はほとんど認められなかった。MBP 投与群でもその障害は DBP によるものと基本的に同じであつた。すなわち、精細胞はほとんど認められず、さらに Sertoli 細胞の細胞質が DBP 投与群にくらべ狭小化し、精細管内腔が一段と拡大してみられた。したがって、辜丸組織障害は DBP 投与群よりより強く起こっていると思われた。しかしながら DBP、MBP 投与群とも、精細管壁の硝子化、炎症所見、出血壊死などの所見は認められず、また間質細胞は光顕でみる限りとくに変化は認められなかった。辜丸組織の微細構造の変化を電顕像からみると、DBP、MBP 群ともに精細管は、一部精粗細胞を認めるが、それ以上に成熟した段階の精細胞は認められなかった。Sertoli 細胞はオスミウムに濃染する径 $3 \sim 6 \mu$ の大きな脂肪顆粒が多数認められ、また Ser-

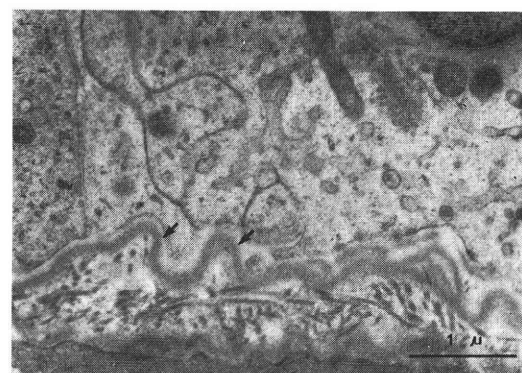


Fig. 8 Irregularity of basement membrane (arrows) in seminiferous tubules treated with MBP (20,000×)

oli 細胞の空胞化が認められた (Fig. 6)。ゴルジ体、ミトコンドリア、小胞体などにはとくに異常は認められず、Sertoli-Sertoli junctional complex にもとくに大き

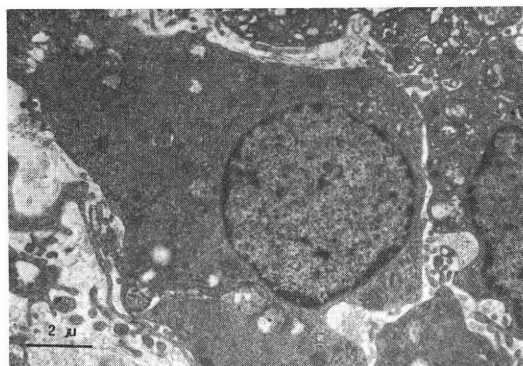


Fig. 9 Atrophied Leydig cell (dark cell type) in the rat treated with MBP (5,000×)

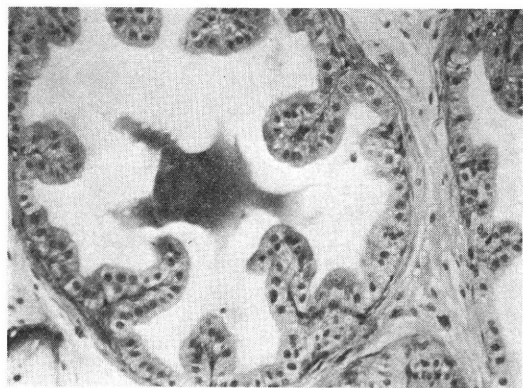


Fig. 10 Microscopic sections of the seminal vesicle in the rat treated with MBP

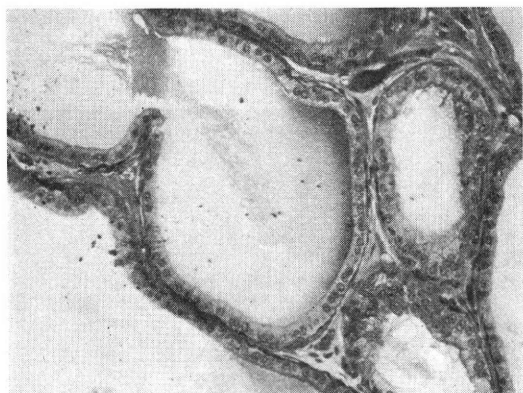


Fig. 11 Microscopic sections of the prostate in the rat treated with MBP

な変化は認められなかった。ただ、精細管基底膜には対照群にみられない著しい蛇行が認められた (Fig. 7)。間質細胞では DBP, MBP 投与群ラットとも多くが dark cell で占められ、細胞質および核は萎縮し、小胞体は閉鎖的で、ゴルジ体、脂肪滴、ライソゾームは減少していた。また一部のミトコンドリアに封入体が散見さ

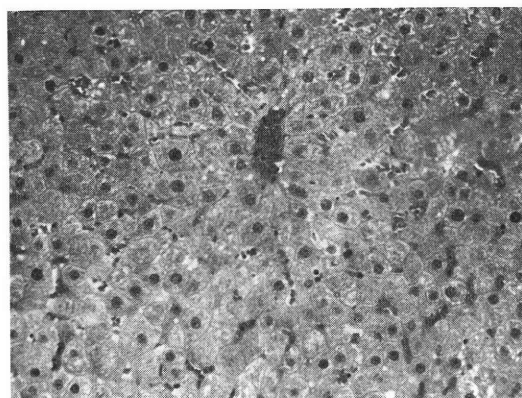


Fig. 12 Microscopic sections of the liver in the rat treated with DBP

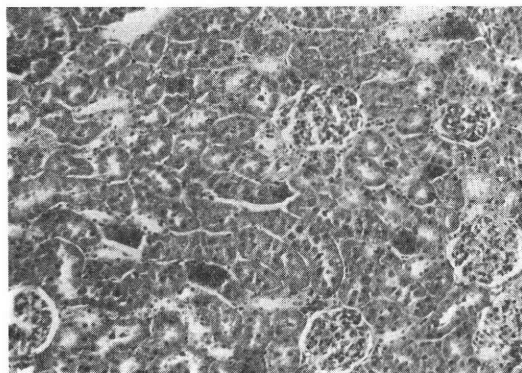


Fig. 13 Microscopic sections of the kidney in the rat treated with DBP

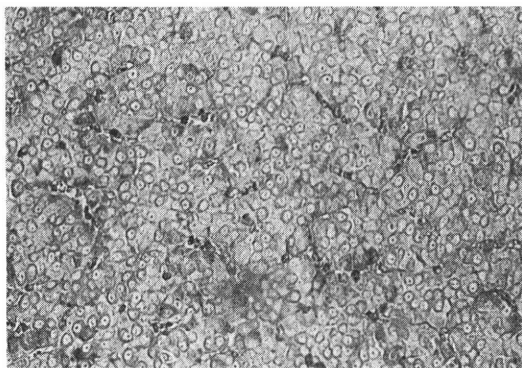


Fig. 14 Microscopic sections of the pituitary gland in the rat treated with DBP

れた (Fig. 8)。

⑧精囊腺、前立腺：精囊腺の光顕像を Fig. 9 に、前立腺のそれを Fig. 10 に示した。いずれも円柱上皮の丈高が低く、間腔はやや狭くなっており、精囊腺のヒダは減少しており、間質の平滑筋層も薄く、機能低下を示す

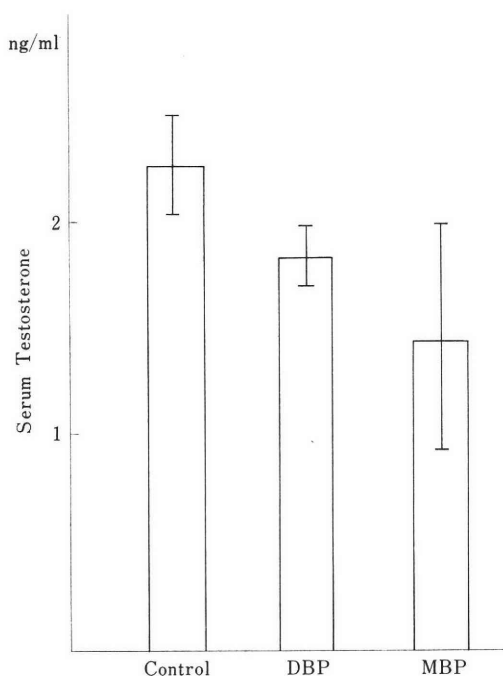


Fig. 15 Effect of DBP and MBP on serum testosterone levels

所見であつた。

④肝臓：肝の光顕像を Fig. 11 に示した。小葉構造もよく保たれ、炎症細胞浸潤も認められなかつた。

⑤腎臓：腎の光顕像を Fig. 12 に示した。糸球体、尿管構築はよく保たれていた。

⑥下垂体：下垂体前葉細胞では光顕的、電顕的にも対照群にくらべ、DBP、MBP 投与群とも著明な変化は認められなかつた (Fig. 13)。

3) 血清テストステロン値

DBP、MBP 投与群とも対照群にくらべ低値であり、MBP 群でとくに低値であつた (Fig. 14)。

考 案

睾丸障害物質としてわれわれの注目したフタル酸エステルは広く軟質塩化ビニール樹脂の可塑剤として使用されている物質である。今日、フタル酸エステル類はその15種類が使用されており、この中で DBP は約30年前には防蚊剤として使われたこともあり、現在でも可塑剤などの工業薬品としては、diethylhexyl phthalate (DEHP と略す) について第2の使用量を示す物質である。

フタル酸エステルの有害性については、かつて「実用上ほとんど無害」⁶⁾とされていたが、1970年、Jaeger と Rubin⁷⁾ により DEHP を可塑剤として使用したポリ

塩化ビニール製血液バックに貯蔵された血液の輸血を受けた後、死亡した患者の組織中に DEHP が証明され、それ以来、再び注目されるようになった。これらの再検討の中で、大石ら^{1,2)}は (1975, 1980)、はじめてフタル酸エステルがラット睾丸に特異的に障害を起こすことを指摘した。

このような背景の中でわれわれは公衆衛生学的にフタル酸エステル類の有害性、とくに雄性性腺系への特異的障害を検討し、臨床的問題との関連に追求した。

大石らによれば²⁾、DBP はフタル酸エステル類の中でも睾丸障害作用がとくに強いという。DBP と同時に MBP の投与実験もおこなつたが、それはラットにおいて経口投与された DBP の90%以上が MBP として尿中に排泄され、24時間後では睾丸も含め各臓器への蓄積はほとんどなく、MBP が DBP の主代謝物である⁸⁾と考えられているためである。

DBP、MBP の投与量に関しては、ラットにおける DBP の LD₅₀ が約 8 g/kg⁹⁾とされているため、DBP はその約1/3の投与量すなわち 2.4g/kg・day とした。MBP の LD₅₀ は未だ報告はみられず、先に述べたように DBP として投与されたもののほとんどが MBP に代謝されることから、当初 DBP と同量の 2.4g/kg・day の MBP を投与した。ところが、ラットに対する毒性は強度で、ほとんどのラットが1週間以内に死亡したため、今回はその 1/3 の 0.8g/kg・day を MBP の投与量とした。

その結果、DBP、MBP 投与群ではともに著しい睾丸萎縮が認められた。とくに MBP 群では DBP の約 1/3 の投与量で、DBP 以上の強い睾丸障害を起こした。そして、この投与量では組織学的に肝、腎に対する障害を認めなかつた。

MBP 投与群では睾丸萎縮と同時に体重増加率も低下しているのであるが (Fig. 2)、体重補正をしても、DBP、MBP 投与群の摘出睾丸重量は有意差をもつて対照群よりも低下しており、睾丸萎縮が実験ラットの亜急性飢餓でもたらされたとは考え難いと思われる。佐二本¹⁰⁾もマウスに DBP を 50mg/kg・day 30日間投与したところ、体重減少にもかかわらず、肝、腎、脾の臓器重量の減少なしに、睾丸重量のみが有意に減少したと報告している。

睾丸障害の組織学的所見は DBP、MBP の障害とも基本的に同一であつた。両群とも光顕的には精細管内は精細胞のほぼ完全な消失として示された。ただ電顕的に微細構造を観察すると、一部には明らかに精粗細胞が同定できた。さらに Sertoli 細胞の細胞質内には空胞変性や脂肪顆粒の増大といった変化が生じ、また、精細管基

底膜にも著しい蛇行が生じていた。一方、間質組織も電顕的に観察すると、Leydig 細胞の細胞質内オルガネラが減少し、間質機能低下を疑わせる所見であつた。したがって、DBP, MBP による睾丸障害は光顕的、電顕的に観察すると睾丸組織の構成細胞のほぼすべてに及んでいると考えられる。しかし、カドミウム塩投与による睾丸障害の特徴とされる間質血管の浮腫、出血、壊死などの所見¹¹⁾は認められず、カドミウムによる睾丸障害の組織所見とは明らかに異なるものであつた。

これらの実験結果より、ラットにおいて DBP の 2.4g/kg・day, MBP の 0.8g/kg・day 7 日間投与は肝、腎にほとんど変化をきたさないにもかかわらず、睾丸のみに特異的障害をきたすことが明らかとなつた。その障害は DBP, MBP とも基本的に同一であるが、MBP は DBP の約 $\frac{1}{3}$ の投与量で DBP 以上の強い睾丸障害を起こすことも証明された。組織学的には精細管内では精細胞のみでなく、Sertoli 細胞や精細管基底膜にも著しい変化が認められ、さらに間質組織にも機能低下を示す所見が認められた。こうした結果は血清テストステロン値の低下を物語るものであり、その結果、精囊腺、前立腺は萎縮したと考えられた。

以上、軟質塩化ビニール樹脂の可塑剤である DBP, その代謝物 MBP はいずれも睾丸組織に特異的に障害を起こす物質であり、その取り扱い、使用に際して十分な留意が必要であらう。

参 照 文 献

- 1) 大石真之, 平賀興吾: ジ-2-エチルヘキシルフタレート (DEHP) の毒性学的, 内分泌学的研究 (1) DEHP 腹腔投与時のラット雄性性腺系におよぼす影響, 東京衛研年報, 26(2): 127, 1975.
- 2) 大石真之, 平賀興吾: ジ-2-エチルヘキシルフタレート (DEHP) の毒性学的, 内分泌学的研究 (2) 飼料中 DEHP の雄ラットにおよぼす影響, 東京衛研年報, 26(2): 131, 1975.
- 3) Oishi, S. and Hiraga, K.: Testicular Atrophy induced by phthalic acid esters: Effect on testosterone and Zn concentrations. Toxicol. Appl. Pharmacol. 53: 35, 1980.
- 4) Goggans, Jr, J. F., and Copenhaver, J. E.: Monoalkyl phthalate from normal aliphatic alcohols. J. Am. Chem. Soc. 61: 2909, 1939.
- 5) 大場琢磨, 鈴木康雄, 大森義仁, 桑村 司, 山羽 力, 田中 彰, 小田嶋成和, 石館 基, 前川昭彦: 医療用塩化ビニール樹脂の可塑剤フタル酸エステル—主に DEHP—の安全性, 衛生試験所報告, 第93号: 1, 1975.
- 6) Gleason, M. N., Gosselin, R. E., Hodge, H. C., and Smith, R. P.: Clinical Toxicology of Commercial Products, 3rd Ed., 4, 1969,

The William and Wilkins Co., Baltimore.

- 7) Jaeger, R. J. and Rubin, R. J.: Plasticizers from Plastic devices: extraction, metabolism, and accumulation by biological systems. Science, 179: 460, 1970.
- 8) Tanaka, A., Matsumoto, A. and Yamaha, T.: Biological studies on phthalic esters. III. metabolism of dibutyl phthalate (DBP) in animals. Toxicol. 9: 109, 1978.
- 9) Carl C. Smith: Toxicity of Butyl Stearate, Dibutyl Sebacate, Dibutyl Phthalate and Methoxy ethyl Oleate. Archives of Industrial Hygiene and Occupational Medicine 7: 150, 1953.
- 10) 佐々木順子: フタル酸エステル (Di-n-Butyl Phthalate) のマウスにおよぼす生物学的影響, 日本公衛誌, 24: 7, 1977.
- 11) Parizek, J.: The destructive effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc. J. Endocrinol. 15: 56, 1975.

Experimental testicular damage induced by dibutyl phthalate and monobutyl phthalate

Isao Ikemoto, Shigeyuki Kotera,
Kiyoto Katsurai, Yoshio Inaba
and Toyohei Machida

Department of Urology Jikei University
School of Medicine

Akira Tanaka

Division of Medical Chemistry National
Institute of Hygienic Science

Dibutyl phthalate (DBP), one of the phthalate esters plasticizers and its major metabolite, monobutyl phthalate (MBP) were orally administered to 35 day male rats for one week. On 8th day, after sacrifice, testis, pituitary gland, prostate, seminal vesicle, liver, and kidney were examined histologically, and serum testosterone levels were also measured.

In the group treated with DBP and MBP, the testis was clearly atrophied. Histologically in seminiferous tubules, germ cells were almost disappeared and while, in Sertoli cells, vacuolar formation and enlargement with increase of lipid droplets were found. In addition, in interstitial tissue, organella in the cytoplasm of Leydig cells were decreased in numbers. These findings were reflected in the lower levels of serum testosterone measured. So, it is conceivable that atrophies of these prostate and seminal vesicle were induced. Histologically, no particular change was found in liver, kidney and pituitary gland.

DBP and MBP gave severe damage to the rat testis even with the dose in which no injury was seen in liver and kidney. Especially, the effects of MBP were more remarkable than DBP. The authors concluded that the damage was included

in both seminiferous tubules and interstitial tissue in the rat testis, then hypogonadism caused by these damage was proved.

(受付：昭和57年8月25日)

ラットにおける停留精巣作成方法の改良

A Newly Developed Method for Cryptorchidism in the Rat

帝京大学医学部薬理学教室

石 田 規 雄 藤 井 儔 子
Norio ISHIDA Tomoko FUJII

Department of Pharmacology, Teikyo University,
School of Medicine

ラットにおける新しい停留精巣作成方法を考案した。本法の利点は、精巣に全くふれないこと、手術時間の短縮、手術侵襲の軽減（非開腹）である。従来多く用いられている作成方法（CRT-II），すなわち精巣被膜に糸をかけて腹壁に固定する方法と，本法による停留精巣（CRT-I）につき比較した結果，2，3の相違をみ出した。1）精巣重量の減少はほぼ同じパターンを示した。2）術後3週で，CRT-Iの精巣単位重量当りのRNA量が，CRT-IIでは，DNA，RNA量ともに有意に減少した。3）CRT-Iによる停留精巣に比し，CRT-IIによる停留精巣は，術後3日で，巨大細胞の出現する精細管が多く，精細胞の脱落も著明であった。術後1週で，CRT-Iにはかなりの精細胞が認められるのに対し，CRT-IIの精細胞はほぼ消失し，セルトリ細胞のみの精細管が多かった。これらの所見より，われわれが考案した停留精巣作成方法では，精巣の変化がゆるやかに進行するとともに，炎症像等の影響のない変化を観察しうることが明らかとなった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 28(2), 166-171, 1983)

緒 言

精巣機能を研究するための実験モデルとして，ラットに停留精巣を作成し，種々の検索をおこなっている報告例は多い。しかし従来の停留精巣作成方法では，そのほとんどが開腹を行なう（表1）。さらに，かなりの例において精巣そのものを固定する手術法¹⁾³⁾⁵⁾⁷⁾¹⁰⁾がとられており，精巣および生体への影響の大きいことが考えられる。今回，われわれはこれらの影響を避けることを目的として，開腹せず，また精巣に直接ふれることなしに，腹腔に精巣を停留させる方法をラットに試みた。この方法により経時的検索をおこなったが，精巣の下降もなく良好に経過した。そこで従来の方法と，精巣重量，核酸量，組織所見について比較検討をおこなった。

方 法

Wistar-今道系10週齢ラットを使用した。エーテル麻醉下で，鼠径部から陰嚢にかけて，両側に縦切開をくわえた。精巣を腹腔内に押し上げ，gubernaculumを鼠径輪

に近いところで，綿糸によりできるだけ短かく縫合結紮した後，切断した。両端の綿糸を長めに残し，この一方を用いて，十分剝離した臍部付近の腹壁皮下部位と縫合し，他端の糸と結紮した（以下 CRT-I）。この操作で gubernaculum を垂直につり上げ，精巣の脱出を防いで，腹腔内に停留させることができた（図1）。従来の方法（CRT-II）としては，Vera Cruz らの方法¹⁾を用いて停留精巣を作成した。対照として，両方法とも同様の sham 手術をおこなったが，両 sham 手術群間には，重量，核酸量，組織所見に差をみい出さなかつたので，あわせて対照群とした。これらのラットを手術後，3日，1週，3週で屠殺し，精巣重量，核酸量（Schmidt-Tanhauser 変法¹³⁾による抽出，RNA はオルシノール発色¹⁴⁾，DNA は Burton 法¹⁵⁾で比色定量），組織所見（精巣を10%ホルマリンにて固定後，5 μ m 切片をヘマトキシリン—エオジン染色）につき比較した。

結 果

1) 精巣重量は，CRI-I，CRT-IIとも，対照群に比

Table 1 Methods for experimental cryptorchidism reported by various investigators

Reported by	Methods for Experimental Cryptorchidism
1 N. C. Vera Cruz <i>et al.</i> (1970) ¹⁾	Abdominal incision. Both testes were pushed into the body cavity and anchored by suturing the tunica albuginea to the peritoneum.
2 K. Amatayakul <i>et al.</i> (1971) ²⁾	Midline abdominal incision. The purse-string sutures of the inguinal canals and the scrotal sac.
3 B. D. Schanbacher <i>et al.</i> (1974) ³⁾	Midline abdominal incision. A loose ligature of the testes on the abdominal wall.
4 L. Hagenas and E. M. Ritzen (1976) ⁴⁾	Abdominal incision. Cut the gubernaculum and the gonad was fixed with a suture through the connective tissue close to cauda epididymis and the lateral abdominal wall.
5 W. R. Gomes and S. K. Jain (1976) ⁵⁾	The same as for No. 1
6 A. Bergh <i>et al.</i> (1978) ⁶⁾	Transversal abdominal incision. Distal gubernaculotomy.
7 B. D. Schanbacher (1980) ⁷⁾	The same as for No. 3.
8 H. Hayashi and A. P. Cedenho (1980) ⁸⁾	Abdominal incision. The testes were attached to the dorsolateral abdominal musculature by a stitch through the gubernaculum testis.
9 G. P. Risbridger <i>et al.</i> (1981) ⁹⁾	The inguinal canal was closed by a suture.
10 T. Jahnsen <i>et al.</i> (1981) ¹⁰⁾	Midline abdominal incision. The testes were fixed to the lateral abdominal wall with a suture through the tunica albuginea.
11 B. A. Keel and T. O. Abney (1981) ¹¹⁾	Midline abdominal incision. The testes were sutured to the abdominal wall after severing the gubernaculum.
12 T. T. Turner <i>et al.</i> (1982) ¹²⁾	Abdominal incision. The purse-string sutures of the inguinal canals.

べ、ほぼ同様のパターンで経時的に減少した。CRT-I の精巣重量は、術後3日目で対照群との間に有意の差を示したが、術後3週目で、CRT-I、CRT-II 群の精巣重量はほぼ同程度に対照群の34%まで減少した(図2)。

2) 精巣単位重量当りの DNA, RNA 量とも、術後3日目では、CRT-I、CRT-II 群に差を示さなかった。しかし術後3週で、CRT-I では RNA が、CRT-II では DNA, RNA ともに有意に減少した。RNA/DNA 比の変動は両群とも有意ではなかった(表2)。

3) 組織所見

CRT-I、CRT-II とも、術後3日目で、精細管径の縮小、精細胞の脱落が認められた。しかし CRT-II における脱落がやや大であった。また一部の精細管内に、主に round spermatid を取り込んだ巨大多核細胞が点在していた。このような巨大細胞の存在する精細管は CRT-II に多く認められた(図3)。また術後3日目の CRT-II では精巣縫合部に細胞浸潤を認めた。術後1週目では、CRT-II の方が CRT-I に比べると、さらに組

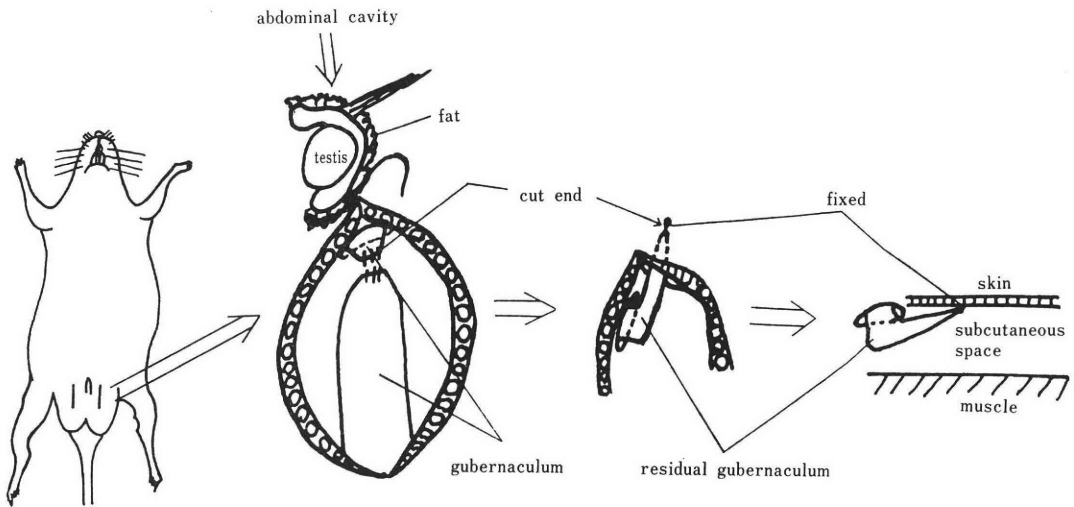


Fig. 1 Schematic presentation of the newly developed method for cryptorchidism in adult rats.

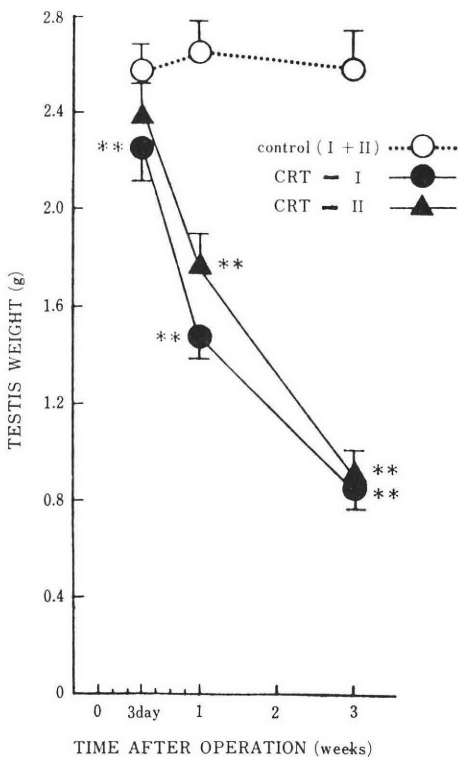


Fig. 2 Time course changes in the testis weights of cryptorchid rats.

CRT-I: Cryptorchidism was developed by the new method without making abdominal incision as described in the text.

CRT-II: Cryptorchidism was developed using the method by VERA CRUZ *et al.*¹⁾

**, $P < 0.005$ vs controls.

織変化が強く、精細胞がほとんど消失した精細管も認められた (図4, 図5). また上述した巨大細胞の出現する精細管も増加した. さらに CRT-II では, 精巣縫合部近くに, 細胞浸潤, 肉芽形成, 精細管の変性などが認められた (図6). 術後3週目では, CRT-I, CRT-IIともに精細胞はほぼ完全に消失し, セルトリ細胞のみとなった. また精細管径は著しく縮小し, 精巣断面積に対する比率を測定した結果からも, 間質細胞の増加が認められた (詳細は別に発表予定). 以上, 術後3週に至るまでの精巣の変化の過程に両群の相違が明らかとなった.

考 察

われわれは従来多くの研究者が用いている開腹, ついで精巣を何らかのかたちで固定する方法を避け, 直接精巣にふれずに停留精巣を作成するにあたり, 下記の点を検討しつつ改良した. 第1に, gubernaculum の結紮を当初, 絹糸, ナイロン糸でおこなっていたが, 絹糸は時間の経過とともに溶けやすくなり, 長期間の腹腔内精巣保持に問題がある. またナイロン糸はすべりやすく柔軟性にかけるため, 細部の操作が困難で時間がかかる. このような理由から, 市販の綿糸を使用したところ, 局所炎症, 異物反応もなく順調に経過した. 第2に, 精巣にふれずに腹腔内に停留させるためには, gubernaculum をできるだけ鼠径輪の近くで短かく結紮することが必要であるとともに, 皮下を十分剝離して, 断端を臍部付近の皮下に固定し, gubernaculum をできるだけ垂直につり上げることが重要である. 第3に, 腹壁筋層への固定を避けたのは, 筋層がもろく裂けやすいため, 長期間の

Table 2 DNA and RNA concentrations ($\mu\text{g}/100 \text{ mg}$ wet tissue) in the testicular tissues of sham-operated (control) and cryptorchid (CRT) rats

Time after operation (days)	0		3		21		
	basal	control	CRT-I	CRT-II	control	CRT-I	CRT-II
No. of animals	(4)	(8)	(4)	(3)	(8)	(4)	(5)
DNA	217 $\pm$ 1.9	198 $\pm$ 19.1	222 $\pm$ 4.4	201 $\pm$ 6.1	212 $\pm$ 10.5	203 $\pm$ 14.1	176 $\pm$ 10.8*
RNA	833 $\pm$ 4.4	813 $\pm$ 28.4	825 $\pm$ 29.4	860 $\pm$ 28.2	821 $\pm$ 21.0	719 $\pm$ 43.6*	632 $\pm$ 32.7**
RNA/DNA ratio	3.85 $\pm$ 0.05	4.12 $\pm$ 0.11	3.85 $\pm$ 0.13	4.30 $\pm$ 0.01	3.89 $\pm$ 0.08	3.76 $\pm$ 0.16	3.70 $\pm$ 0.11

CRT-I : Cryptorchidism was developed by the new method without making abdominal incision as described in the text.

CRT-II : Cryptorchidism was developed using the method by VERA CRUZ *et al.*¹⁾

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.005$ vs. controls

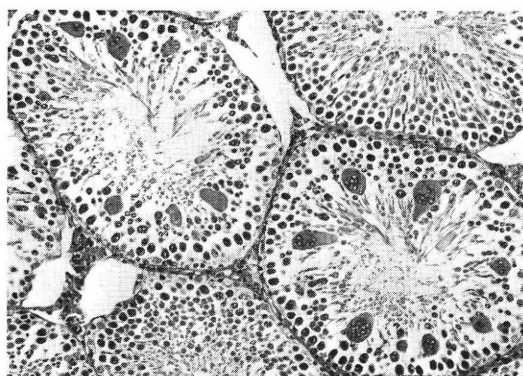


Fig. 3 A transverse section of the testis from an adult cryptorchid rat of CRT-II (see the legend for Fig. 2) group 3 days after operation. ($\times 400$)
Note giant cells formed of round spermatids in seminiferous tubules.

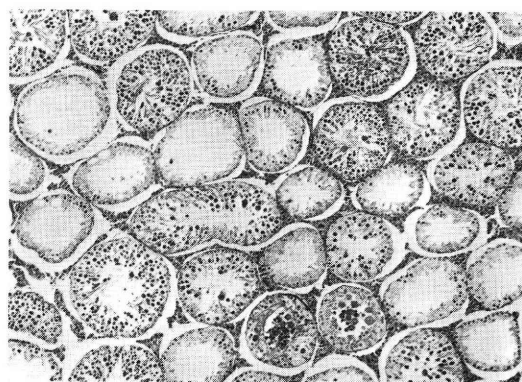


Fig. 5 A transverse section of the testis from an adult cryptorchid rat of CRT-II (see the legend for Fig. 2) group 1 week after operation. ($\times 40$)
Note that the germinal cell depletion was shown at a greater extent in all seminiferous tubules than that in Fig. 4.

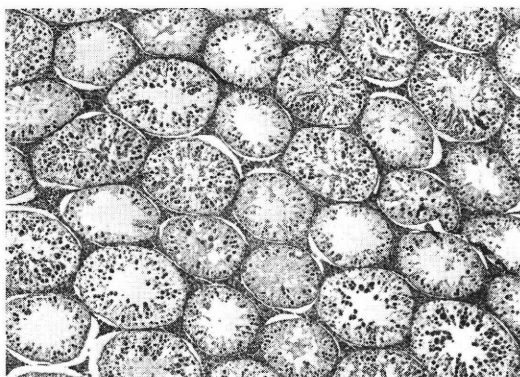


Fig. 4 A transverse section of the testis from an adult cryptorchid rat of CRT-I (see the legend for Fig. 2) group 1 week after operation. ($\times 40$)
Note the germinal cell depletion to various degrees in all seminiferous tubules.

縫合維持固定に不安があったからである。上述の操作で、精巣に影響をおよぼすことなしに、長期間腹腔内に精巣を保持することが容易となった。また鼠径管の糸による閉鎖は、しばしば精巣が鼠径部に近く降下し、重量の変動が大きくなるため、この方法のみによる長期間の観察は不適當であることをみ出した。従来の方法に比べると、この操作方法上の利点は、1) 精巣にふれないこと、2) 手術時間の短縮、3) 手術侵襲の軽減(開腹しないこと)などである。またこの方法で精巣の下降を防ぎ、腹腔内に精巣の停留維持が可能であることは、従来の方法の精巣重量を比較したデータで、ほぼ同様の重量減少パターンを示すことから明らかである。精巣中の核酸は、藤井ら¹⁰⁾によると、正常ラットは成熟とともに単位精巣重量当りの DNA, RNA 量が減少傾向を示

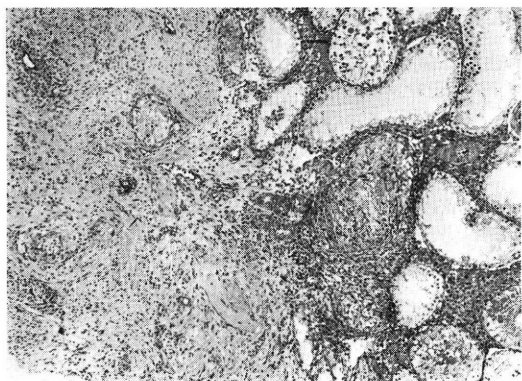


Fig. 6 A transverse section of the testis from an adult cryptorchid rat of CRT II (see the legend for Fig. 2) group 1 week after operation. ($\times 40$) Note cell infiltration, granulation and the degeneration of seminiferous tubules of the sutured testis.

し、同時に RNA/DNA 比が大となる。本実験においても対照群は同様の傾向を示した。対照群と比べ、術後3週で、CRI-I 群においては、RNA 量のみに有意に減少したのに対し、CRT-II 群は RNA, DNA 量ともに減少したことは、組織学的所見にも明らかなように、CRT-II 群における精細胞消失が大きいことを裏づけるものである。組織学的変化として、術後3日目、1週目に両群とも一部の精細管内に円型の spermatid により形成された、あるいは spermatid をとりこんだと考えられる巨大細胞が出現した。特にその出現率は CRT-II 群に多く認められた。この細胞は精細管変性が急速に進む際の一過程として認められるものと考えられるが、その形成機序は不明であり、これに関する報告はほとんどみられない。さらに組織所見で両方法を比較すると、精巣自体に操作をくわえた方が、早い時期での精巣組織変化が著しいことが特徴であり、また精巣縫合部に炎症所見を認めることから、炎症が誘因で変化の進み方が速いことも考えられる。以上の成績から、われわれが考案した停留精巣作成方法によると、精巣の変化がゆるやかに進行するとともに、炎症像等の影響のない変化を観察しうることが明らかとなった。

文 献

- 1) Vera Cruz, N. C., Gomes, W. R. and Vandemark, N. L.: The effects of steroid and gonadotrophic hormones in vitro on the metabolic activity of normal and cryptorchid rat testicular tissues. *Biol. Reprod.*, 2 : 376, 1970.
- 2) Amatayakul, K., Ryan, R., Uozumi, T. and Albert, A.: A reinvestigation of testicular-

- anterior pituitary relationships in the rat: I, Effects of castration and cryptorchidism. *Endocrinology*, 88 : 872, 1971.
- 3) Schanbacher, B. D., Gomes, W. R. and Vandemark, N. L.: Testicular carnitine acetyltransferase activity and serum testosterone levels in developing and cryptorchid rats. *J. Reprod. Fert.*, 41 : 435, 1974.
- 4) Hagenas, L. and Ritzen, E. M.: Impaired Sertoli cell function in experimental cryptorchidism in the rat. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 4 : 25, 1976.
- 5) Gomes, W. R. and Jain, S. K.: Effect of unilateral and bilateral castration and cryptorchidism on serum gonadotrophins in the rat. *J. Endocr.*, 68 : 191, 1976.
- 6) Bergh, A., Helander, H. F. and Wahlqvist, L.: Studies on factors governing testicular descent in the rat-particularly the role of gubernaculum testis. *Intntl. J. Androl.*, 1 : 342, 1978.
- 7) Schanbacher, B. D.: Androgen secretion and characteristics of testicular hCG binding in cryptorchid rats. *J. Reprod. Fert.*, 59 : 145, 1980.
- 8) Hayashi, H. and Cedenho, A. P.: Fertilizing capacity of the cryptorchid rat. *J. Reprod. Fert.*, 59 : 79, 1980.
- 9) Risbridger, G. P., Kerr, J. B., Peake, R., Rich, K. A. and de Kretser, D. M.: Temporal changes in rat Leydig cell function after the induction of bilateral cryptorchidism. *J. Reprod. Fert.*, 63 : 415, 1981.
- 10) Jahnsen, T., Gordeladze, J. O., Haug, E. and Hansson, V.: Changes in rat testicular adenylate cyclase activities and gonadotrophin binding during unilateral experimental cryptorchidism. *J. Reprod. Fert.*, 63 : 381, 1981.
- 11) Keel, B. A. and Abney, T. O.: Alterations of testicular function in the unilaterally cryptorchid rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 166 : 489, 1981.
- 12) Turner, T. T., Daddario, D. A., Forrest, J. B. and Howards, S. S.: The effects of experimental cryptorchidism on the entry of [3 H]-inulin and [3 H]-horseradish peroxidase into the lumen of the rat seminiferous tubules. *J. Androl.* 3 : 178, 1982.
- 13) Schneider, W. C.: Phosphorus compounds in animal tissues: comparison of methods for estimation of nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, 164 : 747, 1946.
- 14) Schneider, W. C.: Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In *Methods in Enzymology*, 3 : p 680, New York, Academic press, 1957.
- 15) Burton, K.: Study of conditions and mecha-

nism of diphenylamine reaction for colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J., 62 : 315, 1956.

- 16) Fujii, T. and Koyama, R. : Nucleic acid contents of various organs in rats during postnatal growth. Endocrinol. Japon., 9 : 66, 1962.
- 17) Sullivan, J. L., Smith, F. A. and Garman, R. H. : Effects of fluoroacetate on the testis of the rat. J. Reprod. Fert., 56 : 201, 1979.

A newly developed method for cryptorchidism in the rat

Norio Ishida and Tomoko Fujii

Department of Pharmacology, Teikyo University, School of Medicine

An improved method for experimental cryptorchidism was developed. The testis of adult rats was maintained in the abdominal cavity by fixing the cut-end of the gubernaculum at the outside of the abdominal cavity on the wall of the skin in an upper region from the inguinal canal. No abdominal incision is necessary in this method. Time course changes in the cryptorchid testes made by the newly developed method (CRT-I) and by an ordinary method (CRT-II) reported by Vera Cruz *et al.* in which the testis

was fixed on the abdominal wall with a suture through the tunica albuginea after an abdominal incision, were compared. The testis weight in both CRT-I and CRT-II continued to decrease until the 3rd week of operation examined, the weight reached one-third of the control value. At 3 weeks after operation, the testicular RNA concentration in the CRT-I rats decreased, whereas both DNA and RNA concentrations in the testis of the CRT-II rats showed a significant decrease, suggesting the loss of the cells in the CRT-II testis. Histological findings of the CRT-II testis showed severe germ cell depletion in some of the seminiferous tubules already 3 days after operation and a marked increase in the number of giant cells formed of round spermatids. Furthermore, inflammatory appearance was shown in the seminiferous tubules located in the region of the suture in the CRT-II. There was no marked difference in the atrophic changes in the testis between the CRT-I and CRT-II rats at 3 weeks. The present results show that a mild progress of degenerative changes occurs without inflammatory alterations in the cryptorchid testis made by the newly developed method. This method can reduce stressful stimuli of operation because of the lack of abdominal incision.

(受付：昭和57年11月6日，特掲)

AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の1例

A Case of Retrograde Ejaculation whose
Wife conceived by AIH

東北大学医学部附属病院産婦人科

対 木 章 星 和 彦 長 池 文 康
Akira TSUIKI Kazuhiko HOSHI Fumiyasu NAGAIKE

桃 野 耕 太 郎 京 野 広 一 鈴 木 雅 洲
Kotaro MOMONO Koichi KYONO Masakuni SUZUKI

Department of Obstetrics and Gynecology, School of
Medicine, Tohoku University,
(Director: Prof. Masakuni SUZUKI)

東北大学医学部附属病院泌尿器科

光 川 史 郎 大 沼 徹 太 郎
Shiro MITSUKAWA Tetsutaro OONUMA

Department of Urology, School of Medicine,
Tohoku University.
(Director: Prof. Seiichi ORIKASA)

先天性重複尿道を合併する逆行性射精による不妊症の治療に配偶者間人工授精を施行し、妊娠、分娩に成功した。逆行性射精では尿の性状(pH, 浸透圧, 尿素窒素など)が精子運動性に影響を与えるため、精液採取法ではいかに運動性良好の精子を回収できるかという事が問題である。また AIH では子宮腔内に注入可能な精液量も限られるうえ、精漿中には精液の capacitation を阻害する物質が含まれるとも推測されているため、我々の症例では磯島らによつて考案された精液静置法“Layering method”にて精液中より運動能さらに受精能を有している良好精子だけを回収し、それを AIH に応用した。精液静置法の応用は逆行性射精の AIH に有用と思われる。これは本邦における妊娠成功例の第7例目と考えられる。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 172-176, 1983)

緒 言

症 例

男性不妊因子として、睪丸の造精障害、精子成熟障害、精路通過障害及び射精障害などがあるが、射精障害のひとつに逆行性射精がある。今回我々は“精液静置法”を用いて運動良好精子を効率よく回収して、配偶者間人工授精を行ない、妊娠、分娩に成功した先天性重複尿道を合併する逆行性射精の1例を経験したので若干の考察を加えて報告する。

A. 患者: 〇〇〇, 28歳, 会社員

初診: 〇〇〇〇〇〇〇〇

主訴: 射精障害。不妊。

家族歴: 特記すべき事なし。

既往歴: 特記すべき事なし。

現病歴: 生来健康で、25歳で結婚。性生活は正常で orgasm はあるが、精液量が極めて少ないのに気づき、

射精障害ならびに約 2 年間の不妊を主訴に東北大学医学部附属病院泌尿器科を受診した。

現症：体格中等度。栄養可良。胸腹部に異常なし。外性器には正常尿道口の背面にもうひとつの尿道口を認め、先天性重複尿道と診断された。正常尿道は亀頭の下面にある。その他、睪丸、副睪丸、精管、前立腺には異常は認められなかった。一般神経学的検査にも異常はなかった。

検査所見：①血液生化学検査—正常範囲で血糖値も 94mg/dl と正常であった。

②尿所見—黄色清澄。pH 7, 蛋白 (+), 糖 (-), 沈渣も異常なし。

③レ線所見—排尿時膀胱尿道撮影で膀胱頸部の軽度開大を認め、また後部尿通に重複尿道の交通が認められた(図 1)。

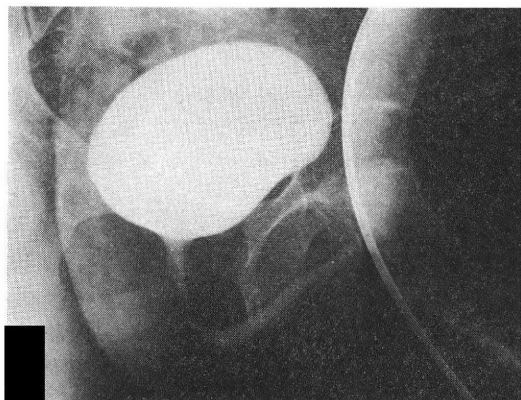


図 1 排尿時膀胱尿道撮影

④膀胱内圧曲線及び urethral pressure profile—特に異常所見を認めなかった。

⑤精液検査—masturbation 時の精液量は 0.1ml と極めて少量で、その直後排尿させた尿中に運動性良好な精子が数多く含まれていた。

尚、妻は子宮卵管造影法で異常を認めず、基礎体温は 2 相性で月経周期も 28 日型で正常。その他、頸管粘液検査、内分泌検査 (LH, FSH, Prolactin) に異常は認めなかった。

以上より逆行性射精による不妊と診断し、夫には COMT 阻害剤、ビタミン B₁ 製剤、L-DOPA, Imipramine による保存的療法を行ない、順行性射精となるように治療を開始したが、効果は不十分であったため、昭和 56 年 5 月より配偶者間人工授精 (AIH) を開始した。

B. AIH の方法と経過

まず妻の基礎体温、頸管粘液検査と陰細胞診 (エオジ

ン好性細胞指数)、さらに内分泌検査 (E₂, Progesteron, LH) から排卵日を推定し、人工授精施行日を決定した。夫に対しては AIH 施行前に 5 日間の禁欲を命じ、精液を採取した。その精液を後述する“精液静置法”にて運動良好精子を回収し、AIH を施行した。

①精子回収方法：排尿後、masturbation させ、orgasm があつた直後に導尿し、精液を含む約 20ml の尿を採取した。それを 1500rpm で 10 分間遠心し、上清の尿成分を除去した。さらに約 10ml の生理食塩水を加え遠心し、上清を捨て、生理食塩水を 2.5ml 加え、精子浮遊液とした(図 2)。その際の精子浮遊液は精子数 34×

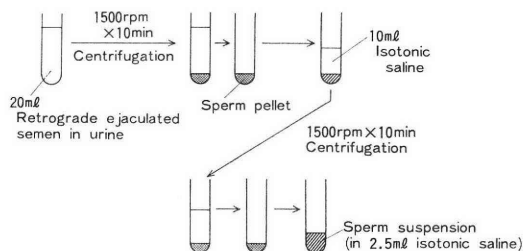


図 2 精子回収法

10⁶/ml, pH 7.267, 運動率 58%, 精子運動能 66.7ME/min. であった。

②精液静置法 (“Layering method”)：市販の Ringer 液に 0.1% glucose を加え、7% 重炭酸ソーダにて pH 7.5 に調整した modified Ringer 液を 2ml ずつ 5 本の小試験管に分注し、その試験管底に前述の精子浮遊液を 0.5ml ずつ注入した。modified Ringer 液との境界面が大きくなるよう試験管を 30° 傾け、試験管口を parafilm でシールして、37°C のインキュベーター中に 1 時間静置した。(精液静置法) (図 3)。運動良好精子は

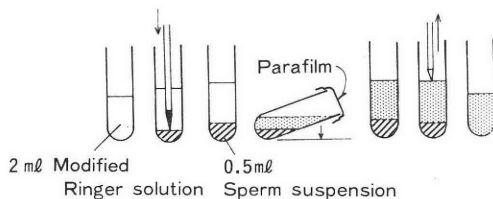


図 3 精液静置法 “Layering method”

この間に、管底から modified Ringer 液中に “swim up” してくるので、1 時間後に modified Ringer 液を回収し、1200rpm で 5 分間遠心してその中の精子を集めた。さらに新しい modified Ringer 液 10ml を加えて振盪後、再度同様に遠心して洗滌し、最終的に 0.5ml の高濃度精子浮遊液を作製した。この精子浮遊液を子宮腔内注入法にて AIH に使用した。1 回目は遅延性排卵

表 1 逆行性射精の AIH による妊娠成功例 (本邦)

報告者	年度	年齢	発症時期	尿道膀胱鏡所見	尿道膀胱撮影	AIH 成功周期
1 白石 ²³⁾	1971	30	自慰後	シュラーム現象 精阜発赤浮腫	膀胱頸部の開大	4 周期目で妊娠
2 勝岡 ³⁰⁾	1973	34	自慰後	シュラーム現象 精阜肥大 後部尿道発赤浮腫	膀胱頸部の開大	5 周期目で妊娠
3 遠藤 ³¹⁾	1975	33	不明	精阜浮腫 静脈拡張	異常なし	7 周期目で妊娠
4 藤原 ³²⁾	1978	28	自慰後	施行せず	膀胱頸部の開大	5 周期目で妊娠
5 布施 ³³⁾	1980	30	ヘルニア手術後	不明	異常なし	8 周期目で妊娠
6 遠藤 ³¹⁾	1980	31	不明	施行せず	精阜肥大 後部尿道拡大	6 周期目で妊娠
7 対木	1981	28	自慰後	施行せず	膀胱頸部の開大 重複尿道	3 周期目で妊娠

のため失敗. 2 回目は timing は合致したものの妊娠せず, 3 回目に妊娠に成功した. 最終月経, 昭和56年9月30日から4日間. AIH 施行10月17日. 昭和57年5月14日, 妊娠32週で自然早産となり 1720 gr の女児を得た. 児はその後順調な経過をたどっている.

考 察

逆行性射精とは“後部尿道に排出された (emission) 精液が, 内尿道口に閉鎖不全があるため, 外尿道口より射出 (ejaculation) されず, 膀胱内に精液が逆流する疾患”である. 本疾患は 1947 年 Swaab の報告が最初であり, 従来 まれな 疾患とされたが, 近年骨盤内悪性腫瘍手術, 脊髄外傷, 糖尿病性神経症の増加, 新しい薬剤の導入につれて, その頻度は増加している. 原因としては Tayler¹⁾, Riser²⁾, Kragt³⁾らの報告によれば, ① 前立腺摘除術 (特に 経尿道の前立腺切除術²⁾), ② 糖尿病性神経障害⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾, ③ 大腸癌の手術⁸⁾, ④ 胸腹部交感神経節切除術⁹⁾¹⁰⁾ (手術による場合とグアナジジン等の薬物による chemical sympathectomy の場合), ⑤ 尿道外傷, ⑥ 後腹膜リンパ節郭清術¹¹⁾, ⑦ 脊髄の横断病変などがあげられる. 本症例は先天性重複尿道という奇形を合併しており, 後部尿道の器質的障害も考えられ, その因果関係も検討が必要と思われる.

本疾患の治療法であるが, ブジー法, 硝酸銀注入法, 膀胱頸部縫縮術などによるものが報告されている. 薬物療法としては, seminal emission, ejaculation, および射精時における内尿道口の閉鎖は交感神経系, 特に α -Adrenergic receptor mechanism を介して起こっているという実験¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾や, 射精は脳内 catecholamin 系と serotonin 系によりコントロールされ, dopamin 系は賦活の中心をなし, serotonin 系は抑制の中心をなすという実験¹⁶⁾に基づき, 交感神経系の感受性を高めるといわ

れる α -Adrenergic drug¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾, 塩酸イミプラミン²⁰⁾, COMT 阻害剤²¹⁾, さらに L-DOPA¹⁶⁾ などが使用される. また full bladder 時の性交により, 順行性射精が得られるという報告²²⁾もある.

次の方法としては配偶者間人工授精が施行される. 本邦では AIH 成功例として白石²³⁾らが最初に報告して以来, 自験例で7例目であった (表1). 全例, Hotchkiss 法に準じた精液採取を行なっている. その他に, 精液採取法として, Mahendran らの水分摂取により尿浸透圧を正常精漿のレベル (366 ± 16 mOsmoles/kg) に近づけて masturbation 後に排尿させた尿より精液採取する方法²⁵⁾や Emanuel らの Freeze preserved sperm にて都合の良い日に AIH に使用した報告²⁶⁾などがある. 逆行性射精においては尿の性状 (pH, 浸透圧, 尿素窒素濃度など) が精子運動性に影響を与えるため²²⁾²⁴⁾²⁵⁾²⁷⁾, 精液採取法で問題となるのはいかに運動性良好の精子を回収できるかという事である. AIH では子宮腔内に注入可能な精液量は限られるうえ, 精漿中には精子の capacitation を阻害する物質が含まれるとも推測されているため, 我々の症例では精液採取後, 磯島²⁸⁾らによつて考案された精液静置法 “Layering method”²⁹⁾にて精液中より運動能, さらに受精能を有している良好精子だけを回収し, それを AIH に応用した. この方法では精子数は精液中にくらべ, 1/10 くらいに減少するが, 運動率, 形態的正常性は精液中より明らかに上昇し, いわゆる “good sperm” が回収されることが確認されている. 精液静置法の応用は逆行性射精の AIH に有用と思われる. 排尿後といえども, 少量の尿は膀胱に存在する. 尿は精子にとっては適当な環境ではないので, 精子を膀胱より採取したあとは速やかに適切な環境に移し, 運動能, 受精能を損わないようにする必要がある. 今回妊娠に成功した因子としては, 精子濃度が比較的高かつ

たこともあるが、精子を尿中から速やかに modified Ringer 液に移したことを精液静置法により運動良好精子を効率よく回収できたことが挙げられると思われる。

結 語

我々は先天性重複尿道を合併する逆行性射精による不妊症の治療に“Layering method”を応用して AIH を施行し、妊娠、分娩に成功したので報告し、若干の文献的考察を加えた。

文 献

- 1) Tayler, C. W. and Schotten, D. M.: Studies on fertility, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1955. 白石祐逸より引用。
- 2) Rieser, C.: The etiology of retrograde ejaculation and a method for insemination. *Fertil. & Steril.* 12 : 488, 1961.
- 3) Kragt, F. and Schellen, A.: Clinical report about some cases with retrograde ejaculation. *Andrologia*, 10 : 381, 1978.
- 4) Greene, L. F., Kelalis, P. P. and Weeks, R. E.: Retrograde ejaculation of semen due to diabetic neuropathy. *Fertil. & Steril.* 14 : 617, 1963.
- 5) Greene, L. F. and Kelalis, P. P.: Retrograde ejaculation of semen due to diabetic neuropathy. *J. Urol.* 98 : 693, 1968.
- 6) Ellenberg, M. and Weber, H.: Retrograde ejaculation in diabetic neuropathy. *Ann. Intern. Med.* 65 : 1237, 1966.
- 7) Bourne, R. B., Kretzschmar, W. A. and Esser, J. H.: Successful artificial insemination in a diabetic with retrograde ejaculation. *Fertil. & Steril.* 22 : 275, 1971.
- 8) Schellen, T. M. C. M.: A case of retrograde ejaculation caused by a colon operation. *Fertil. & Steril.* 11 : 187, 1960.
- 9) Rose, S. S.: An investigation into sterility after lumbar ganglionectomy. *Brit. Med. J.* 31 : 247, 1953.
- 10) Whitelaw, G. P. and Smith Wick, R. H.: Some secondary effects of sympathectomy with particular reference to disturbance of sexual function. *New Eng. J. Med.* 245 : 121, 1951.
- 11) Elliot, L. and Herbert, B.: Loss of ejaculation following bilateral retroperitoneal lymphadenectomy. *J. Urol.* 98 : 375, 1967.
- 12) 小川正見, 山本泰秀, 橋本達也: 逆行性射精の 2 例, 日不妊誌, 11 : 67, 1966.
- 13) 白井将文, 松下鉄三郎, 加賀山学, 一条貞敏, 竹内睦男, 佐々木桂一: 射精障害による男子不妊症, 日不妊誌, 13 : 84, 1968.
- 14) Kimura, Y., Miyata, K., Adachi, K. and Matsumura, S.: The role of alpha-adrenergic receptor mechanism in ejaculation. *Tohoku J. exp. Med.* 108 : 337, 1972.
- 15) 安達国昭: 射精の研究, 第 6 報 射精時における内尿道口の閉鎖の末梢機構について, 日泌尿会誌, 64 : 484, 1973.
- 16) 木村行雄: 射精のメカニズム, 臨泌. 34 : 103, 1980.
- 17) Stockamp, K., Schreiter, F. and Altwein, J. E.: Adrenergic drugs in retrograde ejaculation. *Fertil. & Steril.*, 25 : 817, 1974.
- 18) Stewart, B. H. and Bergnant, J. A.: Correction of retrograde ejaculation by sympathomimetic medication. *Fertil. & Steril.* 25 : 1073, 1974.
- 19) Thiagarajah, S., Vaughan, E. D. and Kitchen, J. D.: Retrograde ejaculation: successful pregnancy following combined sympathomimetic medication and insemination. *Fertil. & Steril.* 32 : 96, 1978.
- 20) Brooks, M. E., Berezin, M. and Braf, Z.: Treatment of retrograde ejaculation with imipramine. *Urology*, 15 : 353, 1980.
- 21) 安達国昭, 木村行雄, 木崎 徳, 伊勢和久: T-rihydroxypropiofenone 投与が著効を示した射精障害の 2 例, 臨泌., 28 : 51, 1974.
- 22) Crich, J. P. and Jequier, A. M.: Infertility in men with antegrade ejaculation: The action of urine on sperm motility, and a simple method for achieving antegrade ejaculation. *Fertil. & Steril.*, 30 : 572, 1978.
- 23) 白石祐逸, 須藤 進, 高村郁世, 石川登喜治: 逆行性射精の 1 例—配偶者間人工授精の成功例, 臨泌. 25 : 823, 1971.
- 24) Hotchkiss, R. S., Pinto, A. B. and Kleegman, S.: Artificial insemination with semen recovered from the bladder. *Fertil. & Steril.* 6 : 37, 1955.
- 25) Mahadevan, M., Leeton, J. F. and Traunson, A. O.: Noninvasive method of semen collection for successful artificial insemination in a case of retrograde ejaculation. *Fertil. & Steril.* 36 : 243, 1981.
- 26) Kapetanakis, E., Rao, R., Dmowski, W. P. and Scommegna, A.: Conception following insemination with a freeze-preserved retrograde ejaculate. *Fertil. & Steril.* 29 : 360, 1978.
- 27) Schram, J. D.: Retrograde ejaculation; a new approach to therapy. *Fertil. & Steril.*, 27 : 1261, 1976.
- 28) Isojima, S. and Koyama, K.: Microtechnique of sperm immobilization test. *Immunology of Reproduction*. 215, 1978 (ed. K. Bratanov. Bulgarian Academy of Science).
- 29) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎, 京野広一, 対木 章, 齊藤 晃, 鈴木雅洲, 柳町隆造: われわれの行な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,
日不妊誌, 28 : 101, 1983

- 30) 勝岡洋治, 萩原正道, 藤岡俊夫, 東福寺英之,
小林俊文, 飯塚理八 : AIH にて男児を得た逆
行性射精の1例, 日不妊誌, 20 : 18, 1975.
- 31) 遠藤俊明, 幡 洋, 東口篤司, 福島道夫, 岡
部泰樹, 佐藤卓広, 田中昭一, 橋本正淑, 熊本
悦明 : AIH にて妊娠し, 生児を得た逆行性射
精の2例. 産と婦, 49 : 116, 1982.
- 32) 藤原道久, 中山雅人, 小川重男, 田中啓幹 : 人
工受精に成功した逆行性射精例, 産と婦, 47 :
884, 1980.
- 33) 布施秀樹, 皆川秀夫, 伊藤晴夫, 島崎 淳 :
AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の1例,
日不妊誌, 26 : 280, 1981.

A case of retrograde ejaculation
whose wife conceived by AIH.

**Akira Tsuiki, Kazuhiko Hoshi,
Fumiyasu Nagaike, Kotaro Momono,
Koichi Kyono and Masakuni Suzuki**

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Tohoku University
(Director : Prof. Masakuni Suzuki)

Shiro Mitsukawa and Tetsutaro Oonuma

Department of Urology, School of Medicine,
Tohoku University
(Director : Prof. Seiichi Orikasa)

Retrograde ejaculation is an infrequent cause

of male sterility, but has increased in incidence
recently.

A 28-year-old male complained of sterility for
2 years. His urologic evaluation revealed retro-
grade ejaculation complicated congenital redupli-
cation of the urethra. The semen was obtained
by bladder contents after manually induced ejacu-
lation, but sperm motility appears to decrease in
urine. (especially exposure to the excessively high
osmolarity of urine.) Therefore, “A Layering
method” to separate a population of vigorously
motile spermatozoa was made from this bladder
contents. This method is feasible for collection
of good sperm.

His wife conceived after third trial of artificial
insemination using high concentrated sperm
suspension which obtained by “A Layering
method”.

In Japanese literature, this case report seems
to be the 7th case which was successful artificial
insemination with retrograde ejaculation.

(受付 : 昭和57年2月15日)

特発性男子不妊症に対するクエン酸クロ ミフェン少量長期投与の治療成績

Long-term Therapy with Low-dose Clomiphene
Citrate in Idiopathic Male Infertility

東京慈恵会医科大学泌尿器科教室 (主任：町田豊平教授)

小 寺 重 行 池 本 庸 桂 井 清 人
Shigeyuki KOTERA Isao IKEMOTO Kiyoto KATSURAI

稲 葉 善 雄 町 田 豊 平
Yoshio INABA Toyohei MACHIDA

Department of Urology, The JIKEI University School of Medicine.
(Director: Prof. Toyohei MACHIDA)

特発性男子不妊症 54 例に対するクエン酸クロミフェン少量、長期投与の治療成績を検討した。クエン酸クロミフェンの投与方法は 1 日 1 回朝食後の内服で、5mg を 12 週間連日投与した。治療成績は乏精子症患者の 45 例中 28 例 (62.2%) に精子数の増加が認められ、異常運動率を示した 46 例中 22 例 (47.8%) に精子運動率の改善がみられた。さらに Eliasson 三浦らの score による総合判定で、54 例中 29 例 (53.7%) が有効と判定された (このうち著効例は 9 例)。また治療した 54 例中妊娠に至った症例は 4 例であった。クエン酸クロミフェン投与による血中 gonadotropin 値は投与後 LH, FSH とも軽度の上昇を示した。副作用は投与中、投与後いずれも認められなかった。以上の成績よりクエン酸クロミフェン少量長期投与法は特発性男子不妊症に対して安全で、かつ比較的有效な治療法と考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 177-183, 1983)

緒 言

近年、睾丸造精機能に関する基礎的研究はめざましい進歩がみられる。しかし、特発性男子不妊症の原因は依然解明されておらず、その治療法として適切、かつ有効な方法はないのが現状である。最近、特発性男子不妊症に対し排卵誘発剤であるクエン酸クロミフェンの有効性についての報告がしばしばみられるようになってきているが、われわれも内分泌的治療として本治療に注目した。ただ一般にクエン酸クロミフェンの投与方法については、Paulson⁹⁾らの提唱した 25mg/day、25 日間連日内服、その後 5 日間休薬とする方法が多く用いられているが、われわれは Ansari¹³⁾、Reyes¹⁴⁾らの報告にしたがつて少量投与量、長期間投与として治療を行った。すなわち、投与量は 5 mg、投与期間は 12 週間とし、特発性男子不

妊症の精液所見の変動と gonadotropin の反応性を観察し、その治療成績を検討した。

対象ならびに方法

対象とした症例は 1979 年 1 月より 1980 年 12 月までに東京慈恵会医科大学泌尿器科で受診した男子不妊症患者のうち、精路通過障害、染色体異常、明らかな内分泌的障害などの基疾患を認めないいわゆる特発性男子不妊症 54 例である。対象症例の年齢は 20 歳より 41 歳、平均 33.0 歳である。クエン酸クロミフェンの投与は 1 日 1 回朝食後内服で、5 mg の少量を 12 週間連日投与した。なおクエン酸クロミフェン 5 mg の調剤はクロミッド 50mg の錠剤を粉砕し、乳糖 5 g を加え散剤とした。治療効果は、精液検査所見のうち治療前後の精子数および精子運動率によつて判定した。精液検査は 4～5 日間の禁欲の後、

用手法で精液を採取させ、採取後30分以上120分以内で一様に液化したものを試料に供した。精子数の算定は MaComber-Saunders 液で希釈混和後、赤血球算定法にしたがい計算した。運動率はいわゆる direct observation method で行った。さらに治療効果の判定基準として精子数および運動率の変動を総合判定する Eliasson, 三浦らの判定法を用い、点数での評価判定も行った。総合判定の score 配分は表1に示したが、精子数、運動率の2項目の score を加算し、score の和が、クエン酸クロミフェン投与前より投与後に減少したものを有効、その減少が7以上のものを著効とした。score の変

表 1 精液所見の Score

Score	精子数(×10 ⁶ /ml)	Score	運動率(%)
0	60<(正常)	0	60<
1	40~59(軽度乏精子症)	1	40~59
3	20~39(中等度乏精子症)	3	20~39
7	1~19(高度乏精子症)	7	1~19
10	0(無精子症)	10	0

(Eliasson, 三浦らの score を参考にし作成した)

動がないか、もしくは増加した症例を無効とした。また8症例については、クエン酸クロミフェン、5mg 投与による血清 gonadotropin の変動を観察した。gonadotropin 測定は治療前と治療終了直後とし、採血は午後1時より3時までの間に行ないヒト LH, FSH RIA キットを用い測定した。

成 績

特発性男子不妊症54例の精子数によるわけは、無精子症4例、高度乏精子症18例、中等度乏精子症10例、軽度乏精子症13例であり、正常精子数症例も9例あった。運動率は0%の症例が9例、1~19%が6例、20~39%が10例、40~59%21例、60%以上が8例であった(表2)。これら54例のうち正常精子数の9例をのぞく45

表 3 精子数の変動

症 例	増加例	無効例
無精子症 : 4	0	4
高度乏精子症 : 18	12	6
中度乏精子症 : 10	5	5
軽度乏精子症 : 13	11	2
計 45	28(62.2%)	17(37.8%)

表 4 運動率の変動

症 例	改善例	無効例
0% : 9	4	5
1~19% : 6	5	1
20~39% : 10	7	3
40~59% : 21	6	14
計 46	22(47.8%)	24(52.2%)

例について、クエン酸クロミフェン5mg 投与による精子数の変動を観察した。無精子症4例については精子の出現した症例はなく、高度乏精子症18例では21例に精子数の増加が認められた。中等度乏精子症10例では5例が、軽度乏精子症では13例中11例が精子数の増加を示した。すなわち45例中28例(62.2%)に精子数の増加が認められた(表3)。正常精子数症例9例のうち、さらに精子数の増加が認められた症例は5例であった。

運動率については、治療前に60%以上の運動率を示した8例をのぞいた46例について検討した。結果は治療前0%の運動率であった9例のうち4例に改善がみられ、1~19%の6例中5例、20~29%10例のうち7例、40~59%21例中6例にそれぞれ改善が認められた。すなわち計46例中22例(47.8%)に運動率の改善がみとめられた(表4)。なお60%以上の正常運動率を示した8例中さらに運動率が増加した症例は1例であった。

Eliasson, 三浦の score による総合判定では、54例中29例に score の減少が認められ、これらすべて有効と

表 2 治療前の精液所見 (54例)

精子数(×10 ⁶ /ml)	0	1~19	20~39	40~59	60<	計
運動率(%)	無精子症	高度乏精子症	中等度乏精子症	軽度乏精子症	正 常	
0	4	3	2	—	—	9
1~19	—	4	1	1	—	6
20~39	—	5	1	3	1	10
40~59	—	4	3	6	8	21
60<	—	2	3	3	—	8
計	4	18	10	13	9	54

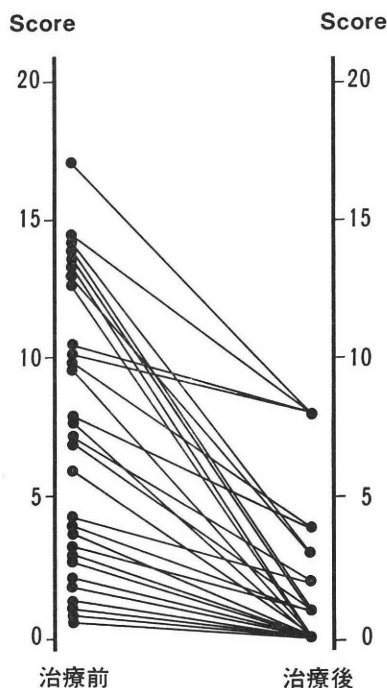


図1 有効29例の Score の変動

判定すると有効率は 53.7 % であつた (図1). 有効例のうち score の減少が 7 以上を示した著効例は 9 例 (16.7 %) であつた. score の変動が認められない症例は 13 例で, 逆に score が増加した症例は 12 例, 計 25 例が無効であつた (図2).

クエン酸クロミフェン少量投与時の gonadotropin の反応性については, 54 例中任意に選んだ 8 症例で検討した. 治療前の LH 値は 5.6 から 19.0 mIU/ml (平均 12.2 ± 4.1 mIU/ml), FSH 値は 7.9 から 18.0 mIU/ml (平均 11.9 ± 2.9 mIU/ml) であつたが, 治療後は LH 値 12.0 から 22.0 mIU/ml (平均 18.8 ± 3.0 mIU/ml) FSH 値 13.0 から 24.0 mIU/ml (平均 17.4 ± 2.8 mIU/ml) に上昇傾向を示した (図3). すなわち 8 症例いずれにおいてもクエン酸クロミフェン 5 mg 連日投与で gonadotropin 値は上昇したが 50 mIU/ml 以上と極度に高値を示した症例はなかつた.

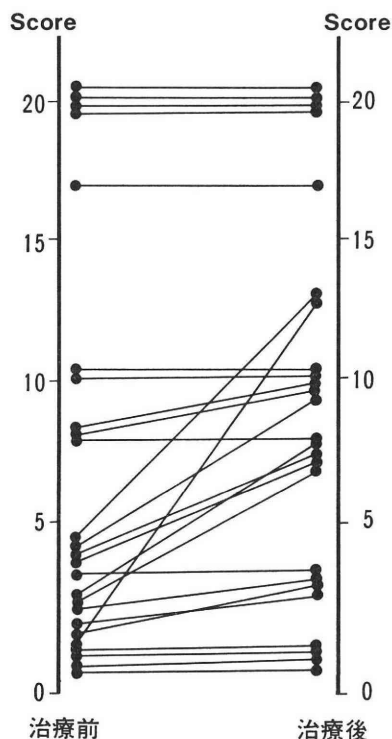


図2 無効25例の Score の変動

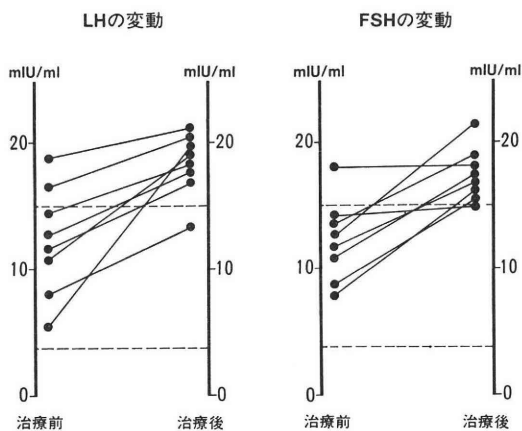


図 3

表 5 妊 娠 例

	症例	年齢	結婚より来院までの期間	既往歴	来院時精液所見 精子数/運動率	妊娠時精液所見 精子数/運動率	来院より妊娠までの期間	出生児
1	T. Y.	27	1 年	—	3×10^6 /ml/10%	93×10^6 /ml/70%	16 週	男
2	S. D.	31	5 年	—	35×10^6 /ml/50%	58×10^6 /ml/70%	14 週	女
3	N. T.	29	1 年	Pinealoma	48×10^6 /ml/50%	98×10^6 /ml/80%	12 週	女
4	S. O.	29	2 年	—	50×10^6 /ml/80%	72×10^6 /ml/80%	20 週	女

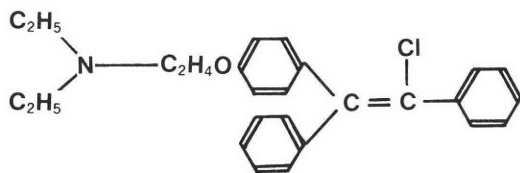
クエン酸クロミフェンによる治療で妊娠に至った症例は54例中4例であった(表5)。妊娠症例を検討すると、第1例は初診時年齢27歳、結婚より来院までの期間は1年で精子数 $3 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率1%、score 14と高度乏精子症であった。クエン酸クロミフェン5mg投与により12週後には精子数 $93 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率70%、score 0と改善が著明で、投与開始16週後に妊娠と診断された。なお投与前のLH 10.0mIU/ml、FSH 8.0mIU/mlで投与終了時LH 15mIU/ml、FSH 10.0mIU/mlであった。第2例は年齢31歳、結婚より来院までの期間は5年で精子数 $35 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率50%、score 4であり、中等度乏精子症と診断した。投与開始12週間後には精子数 $58 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率70%、score 0に改善し、投与開始4週目に妊娠と診断された。第3例目は年齢29歳、結婚より来院までの期間は1年で、当科を受診する以前に脳外科にて pinealoma と診断され手術を受けている。初診時の精子数は $48 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率50%、score 2で軽度乏精子症であった。クエン酸クロミフェンによる治療が終了した時の精子数は $98 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率80%、score 0に改善し、投与開始12週後に妊娠成立となった。この時のLHは8.4mIU/ml、FSH 4.0mIU/mlであった。第4例目は年齢29歳、結婚より来院までの期間は2年、初診時の精子数 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率80%、score 1であり、ほぼ正常範囲であったが一応クエン酸クロミフェン5mg投与を行った。12週間投与後精子数は $72 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率80%と改善し、投与開始20週後に妊娠と診断された。

クエン酸クロミフェン5mg投与による副作用については、治療中および治療後に肝障害やリビドーの低下を示した症例はなく、また4例の出産児にも奇形などの異常は認められなかった。

考 按

クエン酸クロミフェンは1961年 Greenblatt らにより排卵誘発剤として開発された非ステロイド系エストロゲンである(表6)。この薬剤は視床下部に作用し、est-

表 6



Clomiphene Citrate

radiol に対する拮抗作用により LH-RH の分泌を亢進させ、その結果下垂体 gonadotropin の分泌が亢進すると考えられている²⁾。したがって男性に投与した場合も gonadotropin の分泌亢進により、その造精機能は促進されることが期待される。しかし、婦人科領域でのクエン酸クロミフェンの高い評価³⁾とは別に、泌尿器科領域では、その評価はまだ確定していない。婦人科と同様に100~200mgの5日間投与では造精機能は改善せず⁴⁾、また25mg/day という比較的小量投与で有効である⁵⁾と

表 7 クエン酸クロミフェンの治療成績

	報告者	投与量	投与期間	症例数	有効例	妊娠例
A : 50mg/day 以上の投与群	Palti (1970)	100mg/day	20~60days	16	4(25%)	5
	Jungck (1964)	50mg/day	4~5weeks	20	13(65%)	—
	守殿 (1972)	50mg/day	4~8weeks	26	10(38%)	—
	Schellen (1974)	50mg/day	40~90days	101	33(32.6%)	19
	計			163	60(36.8%)	24
B : 25mg/day の投与群	Paulson (1975)	25mg/day	6months	22	18(82%)	—
	(1976)	25mg/day	2~5months	35	31(88%)	8
	(1977)	25mg/day	6months	57	45(79%)	20
	Jones (1980)	25mg/day	6months	20	15(75%)	8
	計			134	109(81.3%)	36
C : 5mg/day 以下の投与群	Ansari (1972)	5mg/day	3~12weeks	6	6(100%)	2
	Reyes (1974)	1mg/day	3~9months	16	14(88%)	3
	著者 (1982)	5mg/day	12weeks	54	29(53.7%)	4
	計			76	49(64.5%)	9

も報告されており、特発性男子不妊症の治療におけるクエン酸クロミフェンの有効性に一致した見解がない。

諸家のクエン酸クロミフェンによる治療成績を投与量で群別にしたものが表 7 である。Palti⁹⁾らの 50~100 mg の多量投与群で 163 例中有効例は 60 例 (36.8%)、Paulson⁹⁾⁻¹²⁾ らに代表される 25mg 投与群では 134 例中 109 例 (81.3%) と高い有効率である。これに対し、Ansari¹³⁾⁻¹⁴⁾ らの 1~5 mg と少量投与群では 76 例中 49 例 (64.5%) の有効率であった。以上の報告からみると特発性男子不妊症の治療におけるクエン酸クロミフェンの効果は 25mg/day が最もよく、また 5 mg 以下の少量投与でも 50mg/day 以上群より優れた成績で比較的良好な結果が得られている。著者らの成績も 5 mg の少量投与で 53.7% の有効率で Jungck⁶⁾ の成績とほぼ同じ成績であった。

しかし、特発性男子不妊症の治療成績については、報告者によつてその有効率や妊娠数に大きな差がみられるとの指摘もある¹⁵⁾⁻¹⁶⁾。これは治療対象症例の妊娠限界や、乏精子症の程度、さらに治療判定基準に一定のものがないということに影響されている。たとえば妊娠可能限界についてみると、精子数に関しては Steinberger¹⁷⁾ らは $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上、白井¹⁸⁾、志田¹⁹⁾ らは $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上、石神²⁰⁾ らは $45 \times 10^6/\text{ml}$ 以上、高崎²¹⁾ らは $60 \times 10^6/\text{ml}$ 以上としており、諸家により意見が異なる。今回われわれは $60 \times 10^6/\text{ml}$ 以上を正常とし、これ以下を治療対象症例とした。この理由は、妊娠可能限界を厳しく設定し、ごく軽度の乏精子症と考えられる症例でも、不妊を訴えれば放置することなく可及的に治療対象とする必要があると考えたためである。さらに妊娠成立時の精子数より検討すると、われわれの妊娠成立 4 例では精子数が $58 \sim 93 \times 10^6/\text{ml}$ であり、ほぼ $60 \times 10^6/\text{ml}$ 以上ならば妊娠可能性がきわめて高くなると考えたからである。勿論、白井²²⁾、田中²³⁾ らも指摘しているように、高度乏精子数の状態でも妊娠に至った症例は当然認められると思う。したがって精子数 $60 \times 10^6/\text{ml}$ 以上という条件は妊娠可能限界に対する絶対必要条件ではなく、十分条件と考える。

特発性男子不妊症の治療における効果判定の基準を設定する場合、精液中の精子数や精子運動率、奇形率、その他の項目について、おのおの評価を作ることは当然必要である。そのため各項目を含めた総合的判定法が合理的であるが、われわれは三浦¹⁾ らの報告を参考に、精子数と運動率を主とした Eliasson の score による総合判定法を利用した。われわれの治療結果についてみると、精子数の増加は 28 例にみられたがそのうち 3 例は運動率に変動がみられず、運動率が改善した 22 例中 4 例は精子

数の増加がごくわずかであった。そこで個々の改善所見でなく score による総合判定を用いると 54 例中 29 例が有効となり、この方法がより客観的に評価でき治療判定基準として有用と考えられた。

一般に特発性男子不妊症のうち軽度、中等度乏精子症例の多くは gonadotropin 値は正常範囲内で、高度乏精子症もしくは無精子症例で有意に高 gonadotropin を示すといわれている²⁴⁾⁻²⁵⁾。したがって、初めから高 gonadotropin を示している特発性男子不妊症例はすでに睾丸機能が極度に低下していると推測され、これらの症例に対するクエン酸クロミフェンの投与は、その効果は期待できないと考えられる。今回われわれの結果からみても、無精子症 4 例はクエン酸クロミフェンは無効であった。中等度までの乏精子症ではクエン酸クロミフェン投与によつて gonadotropin が上昇し造精機能への賦活が起り、精子数の上昇、運動率の増加がみられ妊孕能の上昇につながつたものと考えられる。

副作用については、25mg 以上の投与方法では一部の症例に極度の高 gonadotropin 血症、リビドーの低下、めまい、腹部不快感などが認められるとの報告がみられる⁹⁾⁻¹⁵⁾⁻²⁶⁾。しかし 5 mg 少量で長期間の投与では LH は平均 $18.3 \pm 3.0 \text{ mIU/ml}$ 、FSH は平均 $17.4 \pm 2.8 \text{ mIU/ml}$ と gonadotropin の軽度上昇を示しており、gonadotropin が 50 mIU/ml 以上と極度に高 gonadotropin 血症となるような症例は認められなかつた。またリビドーの低下やその他の副作用も認められなかつた。

以上に述べた諸種の観点からクエン酸クロミフェン 5 mg 少量長期投与方法は、特発性男子不妊症の治療として安全で、比較的有效な治療法と考えられた。

ま と め

1. 特発性男子不妊症 54 例に対し、クエン酸クロミフェン 5 mg、12 週間連日投与による治療を行った。治療成績は乏精子症例 45 例中精子数増加のみられたもの 62.2%、運動率の改善は運動率 60% 以下の 46 症例中 47.8% にみられた。

2. Eliasson、三浦らの score による総合判定では 54 例中 29 例 (53.7%) に有効で、著効は 9 例 (16.7%) であった。

3. 妊娠に至った症例は 4 例で、副作用は特に認められなかつた。

4. クエン酸クロミフェン 5 mg の投与で、gonadotropin は軽度上昇傾向を示し、8 症例についての投与終了後の LH は平均 $18.3 \pm 3.0 \text{ mIU/ml}$ FSH は平均 $17.4 \pm 2.8 \text{ mIU/ml}$ であった。

5. 以上の成績より特発性男子不妊症に対するクエン

酸クロミフェン 5mg 長期投与法は安全で、比較的有効な治療法と考えられる。

(本論文の要旨は第 83 回日本不妊学会関東支部例会において発表した)。

文 献

- 1) 三浦一陽：ヒト精液の評価。臨泌，35：452，1981。
- 2) Kato, J., Kobayashi, T., and Vilee, L. M.: Effect of clomiphene in the uptake of estradiol by the active hypothalamus and hypophysis. *Endocrinology* 82: 1049, 1968.
- 3) 三宅 侃，青野敏博：クロミフェンの作用機序と単独療法・増量療法，産婦人科 MOOK No. 13: 111, 金原出版，1980。
- 4) Tyler, E. T., Winer, J., Gotlib, M., Olson, H. J., and Nakabayashi, N.: Effects of MRL-41 in human male and female fertility studies. *Clin. Res.* 10: 119, 1962.
- 5) Palti, Z.: Clomiphene therapy in defective spermatogenesis. *Fertil. Steril.* 21: 838, 1970.
- 6) Jungck, E. C., Somnath Roy, M. B. B. S., Greenblatt, R. B., and Mahesh, V. B.: Effect of clomiphene citrate on spermatogenesis in the human. *Fertil. Steril.* 15: 40, 1964.
- 7) 守殿貞夫，田中紀彦，石神襄次：Clomiphene citrate による男性不妊の治療。第17回日本不妊学会講演集，103，1972。
- 8) Schellen, T. M. C. M., and Beek, J. J. H. M. J.: The use of clomiphene treatment for male sterility. *Fertil. Steril.* 25: 407, 1974.
- 9) Paulson, D. F., Wacksman, J., Hammond, C. B., and Wiebe, H. R.: Hypofertility and clomiphene citrate therapy. *Fertil. Steril.* 26: 982, 1975.
- 10) Paulson, D. F., and Wacksman, J.: Clomiphene citrate in the management of male infertility. *J. Urol.* 115: 73, 1976.
- 11) Paulson, D. F.: Clomiphene citrate in the management of male hypofertility: predictors for treatment selection. *Fertil. Steril.* 28: 1266, 1977.
- 12) Jones, T. M., Fang, V. S., Rosenfield, R. L., and Schoenberg, H. W.: Parameters of response to clomiphene citrate in oligospermic men. *J. Urol.* 124: 53, 1980.
- 13) Ansari, a. H., Wieland, R. G., and Klein, D. E.: Cislomiphene citrate in the management of oligospermia. *J. Urol.* 108: 131, 1972.
- 14) Reyes, F. I., and Faiman, C.: Long-term therapy with low-dose cislomiphene in male infertility: effects on semen, serum FSH, LH, testosterone and estradiol, and carbohydrate tolerance. *Int. J. Fertil.* 19: 49, 1974.
- 15) Charny, C. W.: Clomiphene therapy in male infertility: a negative report. *Fertil. Steril.* 32: 551, 1979.
- 16) 大野洋介，玉舎輝彦，岡田弘二：クロミフェンによる乏精子症の治療，産と婦，46: 1337，1979。
- 17) Steinberger, E.: Medical treatment of infertility. *Andrologia* 1: 77, 1976.
- 18) 白井将文：精子形成障害，特に男子不妊症について。臨泌，26: 281，1972。
- 19) 志田圭三，島崎 淳，浦野悦郎：男子不妊症治療（第2報），日不妊会誌，15: 113，1970。
- 20) 石神襄次：男子不妊の治療。臨泌，31: 475，1977。
- 21) 高崎 登，岡野 准，大西真尚，宮崎 重：当教室における3年間の男性不妊症の統計的観察，泌尿紀要，22: 281，1976。
- 22) 白井将文，松下鉦三郎，一条貞敏，竹門睦男，佐々木桂一：男子不妊症の妊娠成功例の検討，日不妊会誌，14: 24，1969。
- 23) 田中啓幹，鈴木 学，山元敏嗣：男子不妊症の臨床的観察ならびに妊娠成立症例について。西日泌尿，40: 475，1978。
- 24) Wu, F. C. W., Raab, G., and Hunter, W. M.: Endocrine assessment of the subfertile male. *Clinical Endocrinology* 14: 493, 1981.
- 25) 内島 豊，平賀聖悟，駒瀬元治，根岸壮治：男子不妊症の血中ホルモン動態と造精機能に関する検討，日不妊会誌，27: 1，1982。
- 26) Foss, G. L., Tindall, V. R., and Birkett, J. P.: The treatment of subfertile men with clomiphene citrate. *J. Reprod. Fert.* 32: 167, 1973.

Long-term therapy with low-dose clomiphene citrate in idiopathic male infertility

Shigeyuki Kotera, Isao Ikemoto,
Kiyoto Katsurai, Yoshio Inaba
and Toyohei Machida

Department of Urology, The JIKEI
University School of Medicine
(Director: Prof. Toyohei Machida)

Results of experiments of clomiphene citrate therapy for 54 cases of idiopathic male infertility were studied.

Clomiphene citrate was administered orally for 12 weeks at a dose of 5mg per day. Out of the 45 oligospermic patients, 28 cases (62.2%) showed elevations in sperm counts. Out of the 46 patients abnormal in sperm motility, 22 cases showed improvement. 29 cases (53.7%) out of the 54 patients showed decrease in Eliasson and Miura's

score count after clomiphene citrate therapy. The wives of 4 patients became pregnant by this therapy. In 8 cases, serum levels of LH and FSH were 18.8 ± 3.0 mIU/ml and 17.4 ± 2.8 mIU/ml after this therapy. The change of serum

levels of gonadotropin was slight elevated.

These findings indicate that long-term, low-dose clomiphene citrate therapy is effective for idiopathic male infertility.

(受付：昭和57年 8 月 2 日)

男子不妊症患者の精液所見に及ぼす カリクレイン (BAYd 7687) の効果

The Effect of Kallikrein (BAYd 7687) on the Semen Analysis of Male Infertility

富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室 (主任：片山 喬教授)

寺 田 為 義 柳 重 行 片 山 喬

Tameyoshi TERADA Shigeyuki YANAGI Takashi KATAYAMA

Department of Urology, Faculty of Medicine, Toyama Medical &

Pharmaceutical University, Toyama, Japan

(Director: Prof. Takashi KATAYAMA)

oligozoospermia または asthenospermia の患者28名に Kallikrein 大量療法を行なった。

投与前と12週投与後の精液所見(精液量, 精子濃度, 精子運動率, 総運動精子数)の比較検討を行なった結果, (1) 精液量に変化は認められなかった, (2) 精子濃度・精子運動率・総運動精子数に関してそれぞれ14.3%・21.4%・25%の症例で有効な改善が認められた。また問題となりうる副作用は認められなかった。

以上より Kallikrein は男子不妊症に対し有用な薬剤と考えられる。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 184-188, 1983)

緒 言

Stüttgen¹⁾ (1973) が Kallikrein の造精機能亢進作用を初めて指摘して以来, その臨床応用や in vitro で添加して精子運動性を高める試みなど多くの研究がある。一方造精機能障害, 特に idiopathic oligozoospermia の治療法には種々の薬剤が用いられてきたが未だ充分満足できるものはないのが現状である。

Kallikrein 大量療法については本邦でも2~3の報告があり有用とされてきた。我々も本療法を行ないその精液所見に対する影響を調べたので報告する。

対象ならびに方法

昭和54年10月の富山医科薬科大学附属病院開設以後2年間に不妊を主訴として泌尿器科外来を訪れた患者は92名, そのうちいわゆる特発性男子不妊症例は74名で, そのうち28例に Kallikrein の投与を行なった。

対象はすべて oligozoospermia ないし asthenospermia で, 精子濃度により表1の如く分類し, それぞれ A, B, C, D 群とした。

表 1 精子濃度による対象の分類

群	精子濃度 個/ml	例数
A: 正常	$40 \times 10^6 \sim$	6
B: 軽度乏精子症	$20 \sim 40 \times 10^6$	7
C: 中度乏精子症	$10 \sim 20 \times 10^6$	5
D: 高度乏精子症	$0 \sim 10 \times 10^6$	10

患者の既往歴・職業歴には特記すべきものはなく, 年齢は26歳~41歳, 平均31.5歳, 平均不妊期間は3年6ヶ月であつた。

薬剤はバイエルより提供された BAYd 7687を使用した。この1錠中には Kallikrein 100KE が含まれている。本剤を1日3錠, 3回分服させた。

精液検査は原則として最低5日間の禁欲期間をおいたのち用手法にて精液を採取させ, 30分放置後検査(精液量, 精子濃度, 精子運動率, 総運動精子数)を行なった。投与前と12週投与後の精液所見を比較検討した。

精子濃度と運動率に関する判定規準は西村ら²⁾の基準を若干変更し表2の如き基準を設けた。また総運動精子数に関する判定基準は, 飯塚・中村ら³⁾の妊孕係数の判

表 2 精子濃度と運動率に関する判定基準

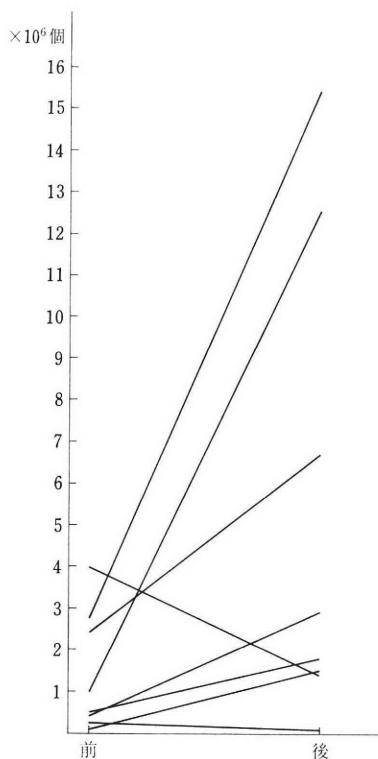
判定	精子濃度		運動率
	20×10^6 個/ml以下	20×10^6 個/ml以上	
有効	10×10^6 以上増加	20×10^6 以上増加	20%以上増加
不変	10×10^6 以内増減	20×10^6 以内増減	20%以内増減
悪化	10×10^6 以上減少	20×10^6 以上減少	20%以上減少

表 3 総運動精子数に関する判定基準

判 定		総運動精子数
著 効	効 効	50×10^6 個以上増加
有 効	効 効	$25 \sim 50 \times 10^6$ 個増加
不 変	変 化	25×10^6 個以内増減
悪 化	変 化	25×10^6 個以上減少

表 4 各項目毎の治療成績

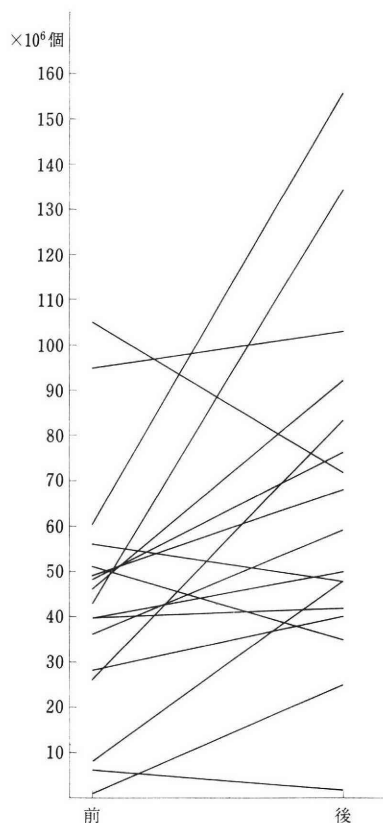
	精子濃度				運動率				総運動精子数				
	有効	不変	悪化	有効%	有効	不変	悪化	有効%	著効	有効	不変	悪化	著有%
A：正 常		5	1		1	5				1	4	1	
B：軽度乏精子症		6			2	4			2	2	3		
C：中等度乏精子症	3	3			1	4	1		1	1	3		
D：高度乏精子症	1	9			2	5	3				10		
計	4	23	1	14.3	6	18	4	21.4	3	4	20	1	25

図 1 精子濃度 10×10^6 個以下の症例の総運動精子数の変化（投与前と12週投与後の変化）

定基準に基き表 3 の如き基準を設けた。

成 績

- (1) 精液量：投与前に比して 12 週投与後の値が増加

図 2 精子濃度 10×10^6 個以上の症例の総運動精子数の変化（投与前と12週投与後の変化）

していたのが11例，減少していたものが14例，不変が2例であつた。精液量の平均も投与前3.84ml, 12週投与後

3.75ml で有意な変化は認められなかった。

(2) 精子濃度：表 4 に示す通り有効と判定されたものは 4 例，14.3% にすぎなかった。

(3) 精子運動率：表 4 のように有効と判定されたものは 6 例 21.4% であったが A～D 群のいずれよりも有効例があることが注目される。

(4) 総運動精子数：これは精液量・精子濃度及び精子運動率の 3 項目の数字を乗じて得られた値で、飯塚・中村ら⁹⁾の妊孕係数と同じ意義を有する。表 4 のように著効 3 例・有効 4 例で、有効率 25% であった。図 1・2 は精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下 (D 群) と以上 (A-C 群) に分け、投薬前と 12 週投与後の総運動精子数の変化を示したものであるが、図 1 の精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例は表 3 の基準では全例不変となるが、こうしてみると改善傾向にあるように思われる。D 群を除いた A-C 群だけの有効率をみると 38.9% となる。

考 按

Kallikrein は細動脈・毛細血管の拡張や血管壁の透過性の亢進をもたらし、末梢循環の改善をはかる循環ホルモン剤として古くから使われてきている。長沼ら¹⁴⁾によれば、造精機能障害のある睾丸間質の血管系において壁の肥厚・血流の停滞が見られ、また精細管基底膜の線維化も血流障害の存在を示唆しているという。よって末梢血管を拡張させ血流を増加させる薬剤—即ち Kallikrein—が造精機能改善に効果があるのではないかと考えられるようになった。Schill⁹⁾によれば、精子の増加が Kallikrein 投与 2～3 ヶ月後にあらわれてくることをもって Kallikrein が spermatogenesis へ作用していると推定している。

また Kallikrein の血流改善以外の作用として、Rixon⁸⁾は細胞増殖作用のあることをラットの実験にて推定し、Moriwaki¹⁾らは腸からの栄養吸収促進の可能性ありと報告し、光川ら⁸⁾は精子の膜の透過性が亢進し、栄養物の吸収が促進され、また細胞内の代謝を促進させる作用もあると推定している。Rohen⁹⁾は blood-testis-barrier の透過性亢進により Sertoli cell の機能に好影響を与えていると推定している。また Schirren¹⁰⁾は Kallikrein 注射後 4 週で精子数増加を認めたことより、射精機構 (副睾丸・輸精管) への直接的な作用も考えうるという。

その他に in vitro にて精液に Kallikrein を加え精子運動率や運動能の向上が見られたという報告⁸⁾¹¹⁾¹²⁾や、頸管粘液通過性の改善が見られたという報告¹³⁾¹⁴⁾もある。こうした効果は Kallikrein が精漿中にある Kininogen から Kinin を分離させ、Kinin が精子の代謝を

亢進させるから、と説明されている¹⁵⁾。また Maier¹⁶⁾は凍結精液に Kallikrein を添加する実験を行ない、凍結前投与は無効だが、解凍後の投与は運動率の低下を有意に防ぐとの結論を得ている。Schill¹⁷⁾は AIH 施行時、Kallikrein 添加群と非添加群を比較し oligozoospermia の場合は妊娠率において両者に差はないが、asthenospermia の場合は添加群の方が有意に妊娠率が高かったと報告している。

以上より造精機能、特に精子運動率向上に対する効果が期待され臨床的に用いられるようになってきた。最初に用いたのは冒頭にも記した通り 1973 年 Stüttgen¹⁾で、デボ剤注射にて精子濃度・運動率ともに上昇を認め、根岸ら¹⁸⁾もデボ剤にて運動率の改善を見、Schirren¹⁰⁾、Schill¹⁹⁾は経口剤とデボ剤の両方を使用し、いずれも精子濃度・運動率・正常形態精子の増加を報告している。また守殿ら²⁰⁾も同じく経口剤とデボ剤の両方を使用し、デボ剤の方が有効な結果が得られたという。

守殿ら²⁰⁾の報告によればデボ剤使用の方が良いとの結論になるが、実際問題として継続の容易な経口剤を投与している施設がほとんどであろう。ただ投与量に関しては各人各様で一致していない。Schirren¹⁰⁾は 100 KE・300 KE・600 KE を比較し、投与量に比例して効果も大きく、100 KE ではむしろ悪化したと報告しており、Sato²¹⁾も 200 KE・400 KE・600 KE を比較して 200 KE では効果なしと報告している。我々は前述の如く 300 KE 分 3 投与を行なった。

投与期間に関しては Schill²²⁾は 1 日 600 KE で 7 週間投与し、以後は与えないとしている。Schill の 4 ヶ月目以降の精液検査のデータは得られなかったが 6 ヶ月目、7 ヶ月目に妊娠成功例が多くあることから効果はかなり持続的なものと考えられる。しかし我々は後述するように副作用がほとんど見られぬという観点から長期連日投与を行なっている。

我々の成績は表 4 の如く、精子濃度に関しては有効率 14.3%，運動率に関しては有効率 21.4%，総運動精子数に関しては有効率 25% であり、運動能を改善するという Kallikrein の性質を裏付ける結果となつた。しかし実際に妊娠が成立したものはわずか 1 例 3.6% にすぎなかった。その症例は不妊期間 6 年・精子濃度 1000 万台の中等度 oligozoospermia、運動率は 50% であった。治療開始後 12 週の検査で精子濃度のみに有効変化、運動率・総運動精子数是不変の範疇であったが、その検査の 1 ヶ月後に妊娠した。Schill²²⁾によれば、Kallikrein による精子濃度増加のピークは投薬開始後 2～3 ヶ月の間にあり、1 年以内の妊娠率は対照 16%，Kallikrein 投与群 38% で、妊娠成立例のうち 70% は 6 ヶ月以内であったといい、我

々の症例もこれに属する。

さて今回我々は奇形率に関するデータは集計しなかったが、奇形率減少の報告も多い¹⁰⁾¹⁵⁾¹⁹⁾²³⁾。松本ら¹⁵⁾は奇形率の減少は Kallikrein が spermatogenesis 又は spermiogenesis に作用していることを示唆するものであるとしている。

以上のような Kallikrein の効果を支持する見解のみならず、中には Kallikrein 投与で精子濃度が低下した例²³⁾²⁴⁾や、oligozoospermia に投与して奇形率が悪化した報告²⁵⁾や、凍結精液に添加して添加量に比例して運動率が低下したという報告²⁶⁾等も散見される。今回の我々のデータで悪化率を算出してみると、精子濃度と総運動精子数に関して各 3.6%，運動率に関しては 14%であった。かように本療法には若干の悪化例もあり、また作用機転に関しても不明な点があるが、総じて好影響をもたらし得る薬剤と考えてよいと思われる。

副作用に関しては、Hofmann ら²⁷⁾が副性器に炎症のある場合それが悪化し精液所見も悪くなると報告している。甲斐ら²⁵⁾は約 15%の症例に胃部不快感・頭痛等の軽度のものが見られたと報告している。その他悪心・発熱・皮疹等があげられるがいずれも稀なものであり、我々も特記すべき副作用は認めず、この点からも長期連用可能と考える。

結 語

男子不妊症例 28 例に対し Kallikrein 1 日 300KE 投与し、12 週後の精液所見を投与前と比較し報告した。実際の妊娠例こそわずかに 1 例であるが、精液所見特に総運動精子数は改善しており、また副作用もなく有用な薬剤と考えられる。

文 献

- 1) Stüttgen, G.: Clinical substantiation of the effects of Kallikrein In: Kininogenases-Kallikrein, 1st symposium on physiological properties and pharmacological rational: P. 189, Schattauer, Stuttgart-New York, 1973.
- 2) 西村隆一, 岩崎 皓, 木下裕三, 野口和美, 高井修道: 男子不妊症の臨床的観察, 日不妊会誌, 24: 205, 1979.
- 3) 中村幸雄, 浅岡 健, 黒川博道, 飯塚理八: 男子不妊に対するミオアクチン C 注の効果. 日不妊会誌, 18: 61, 1973.
- 4) 長沼弘三郎, 後藤俊弘, 前山泰典, 岡元健一郎: 男子不妊症の臨床的観察, 西日泌尿, 39: 611, 1978.
- 5) Schill, W. B.: Kallikrein as a therapeutical means in the treatment of male infertility. In: Kininogenases-Kallikrein 4: P. 251, Schatta-

- uer, Stuttgart-New York, 1977.
- 6) Rixon, R. H., Whitfield, J. F., and Baliss, J.: The stimulation of mitotic activity in the thymus and bone marrow of rats by Kallikrein, Horn. Metb. Res., 3: 279, 1971.
- 7) Moriwaki, C.: In: Intestinal absorption of pancreatic Kallikrein and some aspect of its physiological role. In: Kininogenases-Kallikrein, : P. 57, 1973.
- 8) 光川史郎, 石井延久, 白井将文: 精子運動と Kallikrein, 日不妊会誌, 21: 195, 1976.
- 9) Rohen, J. W., and Buschhüter, H.: Karyometric measurements on the Sertoli cell nuclei in Kallikrein-treated albino rats. In: Kininogenases-Kallikrein 2: P. 85, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.
- 10) Schirren, C., Schill, W. B., and Hofmann, N.: The influence of Kallikrein on semen parameters of subfertile patients. In: Kininogenases-Kallikrein 2: P. 112, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.
- 11) Schill, W. B., and Haberland, G. L.: Wirkungen von verschiedenen Komponenten des Kallikrein-Kinin-Systems auf die Spermatozoen-Motilität in vitro. Klin. Wschr. 53: 73, 1975.
- 12) Steiner, R., Hofmann, N. Hartmann, R., and Kaufmann, R.: The influence of Kallikrein on the velocity of human spermatozoa measured by laser-doppler-spectroscopy. In: Kininogenases-Kallikrein 4: P. 229, Schattauer, Stuttgart-New York, 1977.
- 13) Schill, W. B., Wallner, O., Palm, S., and Fritz, H.: Kinin stimulation of spermatozoa motility and migration in cervical mucus. In: Human semen and fertility regulation in men: P. 442, Mosby, Saint Louis, 1976.
- 14) Wallmer, O., Schill, W. B., Grosser, A., and Fritz, H.: Participation of the Kallikrein-Kinin-System in sperm penetration through cervical mucus-in vitro studies. In: Kininogenases-Kallikrein 2: P. 63, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.
- 15) 松本 修, 羽間 稔, 高田健一, 富岡 収, 守殿貞夫, 石神襄次: 男子不妊とカリクレイン. 日不妊会誌, 25: 531, 1980.
- 16) Maier, U., and Lungmayer, G.: Einfluss von hochgereinigtem Schweinepankreas-Kallikrein auf die Spermienmotilität nach Gefriekonservierung, Z. Urol. u. Nephrol., 74: 271, 1981.
- 17) Schill, W. B., and Littich, M.: Split ejaculation insemination with and without the addition of Kallikrein, Andrologia, 13: 121, 1981.
- 18) 根岸壮治, 高木健太郎, 吉田謙一郎: Kallikrein による精子無力症の治療, 日不妊会誌, 21: 607, 1976.
- 19) Schill, W. B.: Improvement of sperm moti-

- lity in patients with asthenozoospermia by Kallikrein treatment, *Int. J. Fertil.* 20 : 61, 1975.
- 20) 守殿貞夫, 谷風三郎, 石神襄次 : 造精機能障害に対する Kallikrein の応用, *日不妊会誌*, 21 : 112, 1976.
- 21) Sato, H., Mochimura, F., Kobayashi, T. Iizuka, R., Kaneko, S., and Moriwaki, C. : Kallikrein treatment of male infertility, *Advance in experimental medicine and biology*, 120A : 529, 1979.
- 22) Schill, W. B. : Kallikrein im Doppelblindversuch bei idiopathischer Oligozoospermia, *Der Hautarzt*, 29 : 319, 1978.
- 23) Schill, W. B. : Influence of Kallikrein on sperm count and sperm motility in patients with infertility problems, Preliminary results during parenteral and oral application with special reference to asthnozoospermia and oligozoospermia, In : *Kininogenases-Kallikrein* 2 : P. 129, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.
- 24) Stüttgen, G. : Clinical substantiation of the effect of Kallikrein In : *Kininogenases-Kallikrein*, Ist. Symposium on physiological properties and pharmacological rational : P. 189, Schattauer, Stuttgart-New York, 1973.
- 25) 甲斐祥生, 井口 宏, 山田隆一 : 男性不妊症に対する Kallikrein 製剤の精液所見におよぼす効果について, *日不妊会誌*, 26 : 398, 1981.
- 26) Chong, A. P., Cappiello, W., and Weinrieb, S. : The effect of kinin (Kallikrein) on recovery of motility of frozen human spermatozoa, *Fertil. and Sterility*, 34 : 396, 1980.
- 27) Hofmann, N., and Hornstein, O. P. : The

influence of Kallikrein on the semen of subfertile men, with particular regard to sperm morphology, In : *Kininogenases-Kallikrein* 2 : P. 147, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.

The effect of kallikrein (BAYd 7687) on the semen analysis of male infertility

**Tameyoshi Terada, Shigeyuki Yanagi
and Takashi Katayama**

Department of Urology, Faculty of Medicine,
Toyama Medical & Pharmaceutical
University, Toyama, Japan
(Director : Prof. Takashi Katayama)

Kallikrein was administered 28 patients with male infertility involving oligozoospermia and asthenospermia, 300 KE daily for consecutive 12 weeks. Semen findings were compared before and after the medication.

Evidence has been presented : (1) that no significant difference is observed in volume of semen, (2) that concentration of sperm, the motility rate of it, or the total number of motile sperm is improved in 14.3 %, 21.4 % or 25 % of treated patients, respectively, (3) that no remarkable side effect is noted.

Subsequently, Kallikrein appears to be effective for the treatment of male infertility.

(受付 : 昭和57年 8 月 9 日)

Gonadotropin deficiency による男子 hypogonadism 症例に対する hCG/hMG 併用療法についての検討

Effects of hCG/hMG Combination Therapy in Patients
with Male Hypogonadism due to Gonadotropin Deficiency

国立病院医療センター泌尿器科

岩 動 孝 一 郎*

Koichiro ISURUGI

Department of Urology, National Medical
Center Hospital, Tokyo, Japan.

ゴナドトロピン分泌不全による睾丸機能不全症例7名(10~34歳)に hCG/hMG 併用療法を試み、身体所見、精液所見、内分泌検査等について経時的に検討した。投与は hCG 5000単位と hMG 150単位を同時筋注とし、原則として週2回にて13~45週にわたり継続した。

思春期前の10歳で micropenis を呈する1症例は短期間に外性器の発育促進をみた。また他の6例についても外性器の発育増進、睾丸容積の増大をみ、さらには遺精現象の発現、二次性徴の増強および血中テストステロン値の上昇等が観察された。その内の1例は高プロラクチン血症をともなった症例でプロモクリプチンにては精子形成能の回復がみられなかった症例であるが、本療法にて精液所見は著明に改善し、妊娠の成立をみた。

以上より、本療法は続発性睾丸機能障害例に対し、内分泌機能面と同時に造精機能面での改善効果が得られるという点で、現在応用できる最善の治療法であると考えられる。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 189-196, 1983)

はじめに

ゴナドトロピン分泌障害にともなう睾丸機能不全症は臨床的に男性ホルモン分泌不全症を徴候とする類宦官症が典型的な疾患である。またこの場合精子形成過程の障害も必発であり、その治療上種々の問題を含んでいる。すなわち、このいわゆる低ゴナドトロピン性類宦官症 hypogonadotropic eunuchoidism の治療は理論的には分泌不全を示すゴナドトロピン (LH および FSH) による補充療法を行うべきであるが、従来治療上入手可能な製剤は主として LH 作用を持ち FSH 作用に欠ける胎盤絨毛上皮由来の human chorionic gonadotropin (以下 hCG と略す) であり、その使用により睾丸間質細胞機

能である男性ホルモン分泌能を著明に改善することはできても、主として FSH による調節を受けている精子形成機能に対する効果は望み得ないという実情にあった。

最近 LH のほかに FSH を多量に含むゴナドトロピン製剤が更年期女性の尿中から抽出精製され human menopausal gonadotropin (以下 hMG と略す) として臨床応用が可能となり、実際に婦人科領域ではその有用性が認められている¹⁾。

泌尿器科領域でも FSH を豊富に含有する hMG が精子形成過程に障害をもつ男性不妊症の治療にいち早く応用され、その効果についての報告も散見されるようになった²⁾。また低ゴナドトロピン性類宦官症に対しても比較的早くから本剤の使用が有効であることが示唆されていたが³⁾、本格的にその治療が行われたのは hMG 製

* 現東京大学医学部泌尿器科

剤の入手が容易となった比較的最近のことである。

われわれは国立病院医療センター泌尿器科において hCG/hMG 併用による低ゴナドトロピン分泌障害にとまう睾丸機能不全症の治療を行う機会を得たのでその経験について報告する。

対象および方法

hCG/hMG 併用療法の対象となつたゴナドトロピン分泌障害を示した症例は7名である。その内訳は低ゴナドトロピン性類宦官症5名(16~28歳)、プロラクチン(PRL)産生下垂体腺腫術後のゴナドトロピン分泌障害による睾丸機能不全症1名(34歳)、および肥満および性器発育不全症を示した10歳の男子1名である。なお、低ゴナドトロピン性類宦官症5名のうち2名は嗅覚障害を伴った Kallman 症候群の兄弟例である。

hCG/hMG 併用療法は hCG (ゴナトロピン, 帝国臓器) 5000単位および hMG (ヒュメゴン, 日本オルガノン) 150 単位を同時筋注を週2回施行した。治療期間は最短13週(25回)、最長45週(90回)であつた。

治療効果判定の基準のための検査項目としては性器および二次性徴を中心とした身体所見の診断、精液所見(可能な場合のみ)、血中ホルモン測定成績〔LH, FSH, PRL, およびテストステロン(T)〕等を経時的に検討した。

性器発育状態の判定としては陰茎および陰毛の発育に関する Tanner の思春期分類⁴⁾および酒徳らの考案による orchidometer⁵⁾を用いた睾丸容量の測定を行った。また症例によつては勃起能を中心とする性機能についての問診を行った。

全症例について染色体分析を施行したがいずれも46, XY の正常男性核型を示した。

また思春期年齢前の男児の1例を除く全症例に睾丸生検による睾丸の病理組織学的検索を行い、ゴナドトロピン分泌低下による睾丸成熟障害の形態学的裏付けが得られている。

血中 LH, FSH および PRL の測定はキットによるラジオイムノアッセイにより行い、血中T値の測定は SRL 社に依頼し同じくラジオイムノアッセイにより施行した。

以下に各症例についての要約を述べる。

症例1 (057858-5) 昭和28年8月生, 28歳, 初診昭和57年6月。

生来性器の発育不全を呈し陰茎は小指大で包茎状態、Tanner 分類では P stage 2, 睾丸容量は両側とも2g相当, 血中 LH: 6.8mU/ml, FSH: 3.2mU/ml, T: 0.7ng/ml。

57年6月30日より hCG/hMG 併用療法開始し6週後(11回終了)にはそれまで射精がなかつた状態からはじめて精液の排出を認め、また勃起も頻回に起こるようになった。この時点での睾丸容積は両側3g, 血中T値は5.8ng/mlと正常範囲にまで増加した。13週後における性器の発育状況は Stage 4にまで達した。しかし睾丸容量は両側3gにとどまつた。精液検査にて精液量1.5mlで無精子症であつた。

症例2 (038931-0) 昭和20年4月生, 34歳, 初診昭和55年2月。

昭和44年下垂体腺腫の診断で当院脳外科において前後2回の手術を受けた。術前より高PRL血症が持続していたが当科初診前約1年頃より性機能減退、性器の萎縮を訴えていた。結婚していたが子供はない。両側睾丸は10g相当、陰茎は包茎で陰毛の発生は疎であつた。前立腺は触診上小さく発育不良の状態であつた。睾丸生検により hypospermatogenesis の像がみられた(図1)。

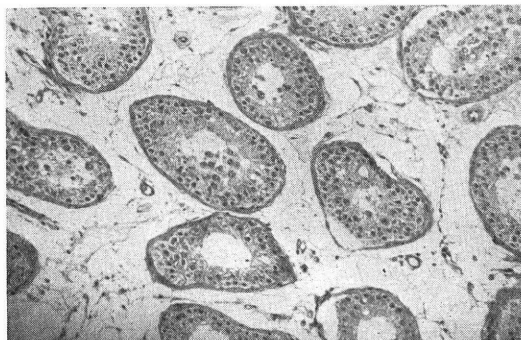


図1 症例2の睾丸組織像(100×より)

血中 LH: 0.3mU/ml, FSH: 2.2mU/ml, T: 0.4ng/ml といずれも著明低下, 血中 PRLは 76.4ng/ml と増加していた。

昭和55年10月よりプロモクリプチン1日5mgの内服を開始, 11月より1日7.5mgに増量した。プロモクリプチンの投与により PRL は漸次低下し, 血中 LH, FSH の増加と性機能の改善が徐々に観察された。

昭和56年8月に血中 LH: 6.1mU/ml, FSH: 4.7mU/ml, PRL: 23.1ng/ml, 睾丸容量は両側15gであつた。精液量は少なく0.5ml, 精子濃度 600×10^4 /ml, 運動率も低下していた。挙子を希望していたため昭和57年3月より hCG/hMG の併用療法を開始した。なおアドホス1日1錠およびメチコパール3錠の内服併用を同時に開始した。治療開始後6週間(12回)で精液量1ml, 精子濃度 2000×10^4 /ml, 8週間(15回)で2.5ml, 4000×10^4 /ml と精液所見の改善をみた。15週後における精液量2ml, 精子濃度 5000×10^4 /ml, 血中T値は1.02ng/

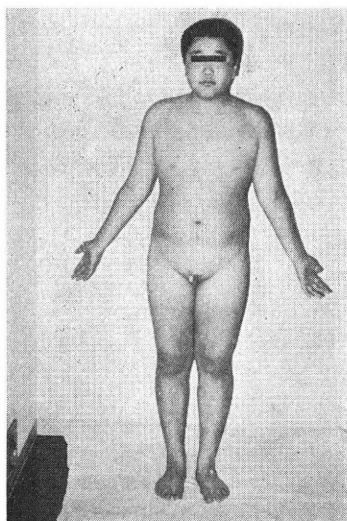


図 2 症例 3 治療前全身像
(昭和56年 6 月)

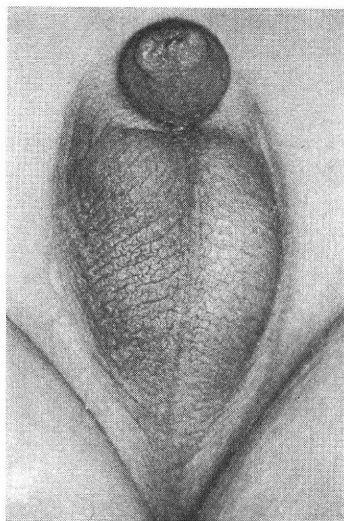


図 4 症例 3 hCG/hMG 治療前
(昭和56年 9 月)

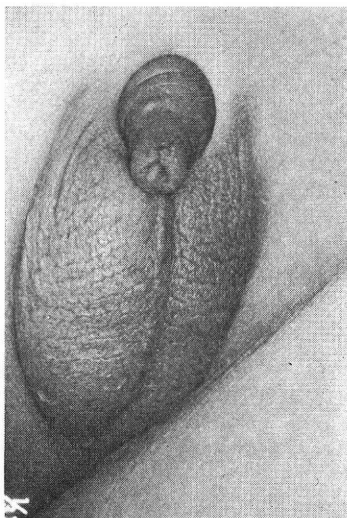


図 3 症例 3 治療前外性器
(昭和56年 6 月)

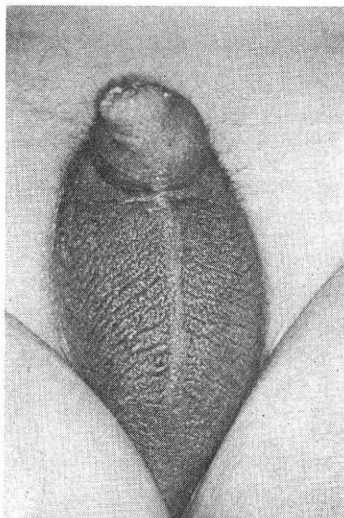


図 5 症例 3 hCG/hMG 治療開始10週後
(昭和56年12月)

ml でこの間勃起力、陰毛の発生状態も大幅に改善された。23週後(46回)の時点で両側睾丸容量は16g, 血中 T. 値7.6ng/ml であった。

この時妻の妊娠が判明し治療を中止した。現在妊娠6カ月で経過は順調である。

症例 3 (013944-9) 昭和 39 年 7 月生, 16 歳, 初診昭和56年 4 月。

性器發育不全, 男性二次性徴の発現遅延, および肥満を主訴として当科に紹介された。陰茎は真性包茎で陰毛はなく P stage 1 の状態であった(図 2, 3)。睾丸容量は両側 1 g 相当, 血中 LH: 3.1mU/ml, FSH: 2.7

mU/ml, T: 0.4ng/ml.

昭和 56 年 7 月より 9 月まで LH-RH 点鼻剤による噴霧治療を行い, 血中 LH: 7.0mU/m, FSH: 3.9mU/ml T: 0.8ng/ml とやや上昇したが外性器の發育促進には著明な効果はみられなかつたため(図 4), 10 月 7 日より hCG/hMG 併用療法を開始したところ, 10 週間後(20回)には陰毛の発生と陰囊の色素沈着の増強がみられた(図 5)。睾丸容量は右側 5 g, 左側 4 g と増加, 血中 T は 0.9ng/ml であった。30 週後(60 回)では血中 T: 5.4ng/ml と正常範囲に上昇し, 外性器の成熟度は P₄ の段階まで進行した(図 6), 睾丸容量は右

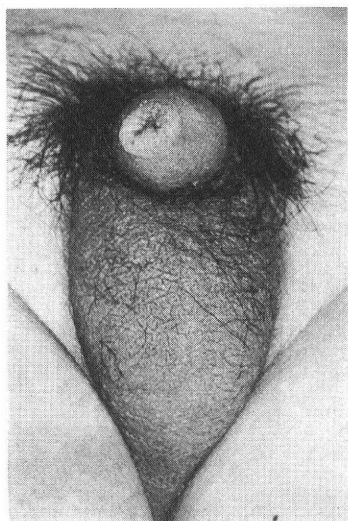


図6 症例3 hCG/hMG 治療30週後
(昭和57年4月)

8g, 左6gであった。遺精もみられるようになった。

この時点で hCG/hMG 療法を中断したところ、3ヵ月後に性器の状態は不変であったが、血中 LH: 2.1 mU/ml, FSH: 2.8mU/ml, T: 0.9ng/ml と再び低下傾向を示している。

症例4 (016665-8), 昭和32年10月生, 23歳, 初診昭和56年6月。

低ゴナドトロピン性類宦官症の診断にて某大学病院にて hCG による治療を受けたが中断していた。初診時性器発育は P₂ の状態で 睾丸容量両側 2g, 前立腺は触れ得ない。二次性徴の発現も不良で小児様顔貌, 声変りも未発の状態であった。遺精の発現も見えない。血中 LH: 2.5mU/ml, FSH: 3.6mU/ml, T: 0.6ng/ml。

6月11日より hCG/hMG 併用療法を開始, 14週(28回)で勃起頻度の増加, 遺精の発現をみた。睾丸容量は両側 4g とやや増加した。28週(56回)後の57年2月血中 T 値は10.5ng/ml と著増し, 二次性徴も正常化と著明な効果発現が得られ, その後治療を中断した。精液検査で液量 4ml であったが無精子症であった。中断後2ヵ月で血中 LH: 4.5mU/ml, FSH: 1.2mU/ml, T: 0.7ng/ml と再び低下の傾向にあり, 勃起および射精の減退を認めるが性器および二次性徴の状態には変化がみられず安定した状態にある。

症例5 (012450-2), 昭和46年1月生, 10歳, 初診昭和56年4月。

肥満, 陰茎発育不全(micropenis), 偽性女性化乳房を主訴として来院した。P₁ の状態で 睾丸容量は両側 1g 相当, 血中 LH: 5.3mU/ml, FSH: 2.9mU/ml T: 0.15ng/ml であった。

昭和56年7月から10月まで LH-RH 点鼻剤1日3回の噴霧により血中 T: 1.17ng/ml と上昇, 睾丸容量もやや増加の傾向をみたが LH-RH による治療は中止し, 11月から hCG/hMG 併用療法に切り替えた。4週後(8回)に陰茎の発育の促進と睾丸容積の増大が観察され, 20週後(40回)に 睾丸容積両側 5g, P₂ の状態と外見上年齢相当の外性器の発育が得られたため治療を中止した。

症例6 (009257-1) 昭和34年7月生, 19歳, 初診昭和54年7月。

性器発育不全症, 二次性徴の発現欠如を主訴として初診, 問診により嗅覚の欠損があり弟も同様の症状を訴えていることが判明した(症例7)。同胞は2人のみ。Kallman 症候群の診断で入院精査した。初診時外陰部は P₂ の状態で 睾丸容積両側 2g 相当であった(図7)。遺

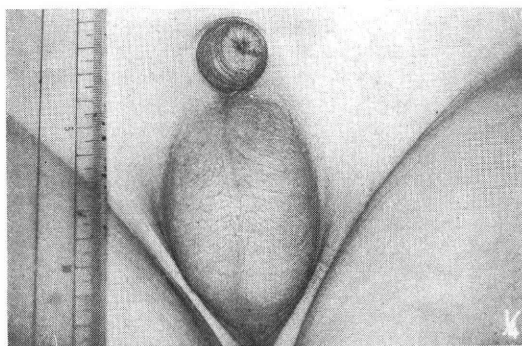


図7 症例6 治療前外性器
(昭和54年7月)



図8 症例6 治療前睾丸組織像(100×より)

精は認められていない。血中 LH: 2.1mU/ml, FSH: 1.3mU/ml, T: 0.4ng/ml と低下, 睾丸生検による組織像では高度の未熟型睾丸を呈した(図8)。

昭和54年9月から hCG 5000単位週2回の治療を継続, 1年半後の56年3月までに外性器と二次性徴は著明に発達し包茎ではあるが P₄ の状態に達したが 睾丸容積の増加は著明でなく両側 4~5g 相当であった。遺精は

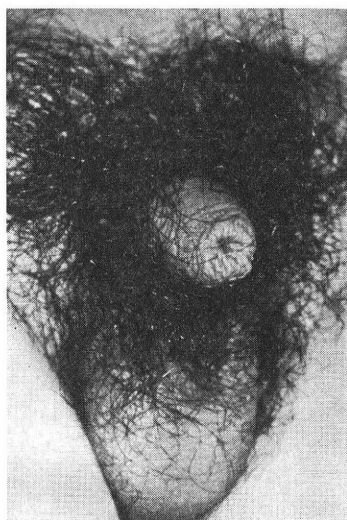


図9 症例 6 hCG/hMG 治療後
(昭和56年 9 月)

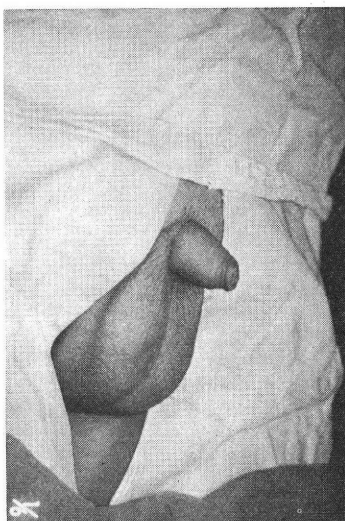


図10 症例 7 治療前外性器
(昭和55年 3 月)

まだみられていない。

56年3月より hCG/hMG 併用療法に切りかえたところ、6カ月後(24週、40回)には遺精がみられ、血中 T: 2.3ng/ml と上昇した。採取した精液量は 0.5ml と少なく無精子症であつた。睪丸容積は両側 5g と今のところ増加傾向を見せていない(図9)。

症例7 (036622-1)、昭和38年1月生、16歳、初診昭和54年11月。

症例6の弟で初診時外陰部 P₂ の状態(図10)、睪丸容積両側 2g。血中 LH: 2.6mU/ml, FSH: 2.1mU/ml, T: 1.1ng/ml であつた。睪丸生検にて未熟型精細

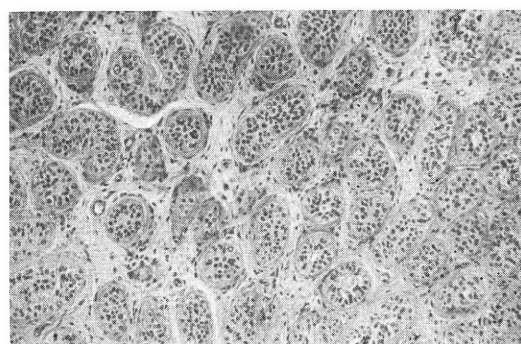


図11 症例 7 治療前睪丸組織像 (100×より)

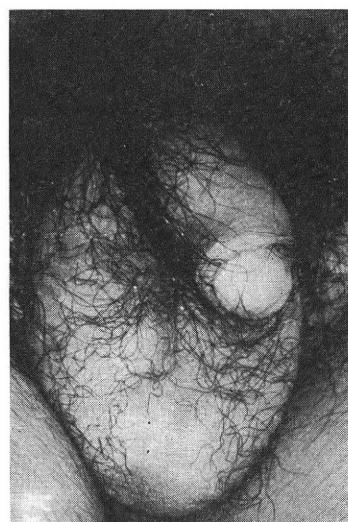


図12 症例 7 hCG/hMG 治療後
(昭和57年 7 月)

管を示したが精粗細胞に多少の分化が認められる程度で精母細胞への分化は見出し得なかつた(図11)。

55年7月より hCG 5,000単位週2回筋注による治療を開始した。55年12月までに陰茎の増大、勃起力の増加、二次性徴の発現、睪丸容積の増加(両側 5g 相当)、血中 T 値の増加(2.4ng/ml)が見られたが遺精の発現はなかつた。

その後 hCG/hMG 併用療法に切り替えたところ遺精も発現し、陰茎も正常大となり(図12) 57年3月には左右睪丸ともに 8g 相当の大きさに達した。血中 T 値は 6.0ng/ml と正常成人男子の値を示している。

臨床成績の要約(表1)

hCG/hMG 併用療法を7名の症例に13週から45週、平均25.4週にわたり施行した成績をまとめると表のごとくである。

思春期前で micropenis を呈した症例5(10歳)をのぞく6例について全例外性器の発育増進、睪丸容積の増

表 1 hCG/hMG 併用療法の対象症例と成績の要約

No.	症例	年齢	主訴	hCG/hMG 治療期間		外性 器	睾丸 容積	遺精	精液所見	二次 性徴	血中 T, (ng/ml)	特記事項
1		28	性器發育不全 (類宦官症)	13週	治療前 後	P ₂ P ₄	2g 3g	(-) (+)	1.5ml 無精子症	P ₂ P ₃	0.7 5.8	前治療なし
2		34	インポテンス 乏精子症	23週	治療前 後	P ₄ P ₅	15g 16g	(+) (+)	0.5ml 600×10 ⁴ /ml 2.0ml 5000×10 ⁴ /ml	P ₄ P ₄₋₅	0.8 1.02	高 PRL 血症, プロモクリプチ ン併用 妊娠成立
3		16	性器および二次 性徴発現不全	30週	治療前 後	P ₁ P ₄	1g 6~8g	(-) (+)		P ₁ P ₄	0.8 5.4	LH-RH 点鼻薬 による前治療
4		23	性器發育不全 (類宦官症)	28週	治療前 後	P ₂ P ₄	2g 4~5g	(-) (+)	4ml 無精子症	P ₁ P ₅	0.6 10.5	hCG 単独によ る前治療
5		10	肥満及び陰茎発 育不全 (micropenis)	20週	治療前 後	P ₁ P ₂	2g 5g	(-) (-)		P ₁ P ₁	1.2 1.5	LH-RH 点鼻薬 による前治療
6		20	類宦官症 (Kallman 症候 群)	24週	治療前 後	P ₄ P ₅	4~5g 5g	(-) (+)	0.5ml 無精子症	P ₄ P ₅	2.3	hCG 単独によ る前治療
7		16	類宦官症 (Kallman 症候 群)	45週	治療前 後	P ₄ P ₅	5g 8g	(-) (+)		P ₄ P ₅	2.4 6.0	hCG 単独によ る前治療

大、遺精現象の発現(症例2は治療前に射精能力があつた)、二次性徴の増強、そして血中 T 値の上昇(症例6では hCG/hMG 併用療法直前の血中 T 値は測定もれ)が観察された。

症例1, 3, 4, 6および7は典型的な低ゴナドトロピン性類宦官症であり、そのうち何例かは前に hCG 単独療法を受けており、外性器、二次性徴および血中 T 値の上昇などの面での効果が十分みられていたが、睾丸容積、遺精などの面すなわち主として造精機能面での効果は著明ではなかつた。hCG/hMG 併用療法によつてこれらの面での効果も得られたと判定される。

症例2の高 PRL 血症による睾丸機能障害の場合、プロモクリプチン投与によつて血中 PRL 値の低下と性機能の改善が得られていたが、妊孕性の条件となる乏精子症の改善が十分ではなかつた。さらに hCG/hMG 併用療法を追加することによつて精液所見の著明改善が認められ、結果的に妊娠が成立したという注目すべき成績が得られた。

症例5の10歳小児例は LH-RH 試験その他によつてゴナドトロピン分泌障害の存在が示唆されたケースであり、このような思春期前の症例でも hCG-hMG 併用療法の有効性がとくに睾丸容積の正常化という点で立証されたと考えられる。

副 作 用

今回の検討の対象となつた症例に関する限り、臨床所

見、血液および生化学検査成績、腎および肝機能検査等の面で本療法に起因すると考えられる副作用は認められていない。

考 案

低ゴナドトロピン性類宦官症をはじめとする下垂体前葉のゴナドトロピン分泌障害にともなう睾丸機能不全症の病態生理は LH および FSH による睾丸の成熟ないし刺激過程の欠陥が生じ思春期現象の主体となる種々の睾丸機能が発現され得ないといういわゆる続発性睾丸機能障害にある⁹⁾。このためゴナドトロピン分泌低下が思春期前の幼小児期から存続する場合には、思春期現象の発現不全を呈する低ゴナドトロピン性類宦官症となり、またゴナドトロピンの障害が思春期発現後に生じた場合には男性ホルモン分泌低下のため性機能の減退を示し、またとくに造精機能障害が顕著となり男性不妊の状態となる。

このような続発性機能障害に対する治療法として従来 hCG 単独療法を行うことが多かったが FSH 作用を欠くことから十分な効果が得られず、結果的には男性ホルモン製剤の投与に切りかえるケースが少なくなかつた。しかし男性ホルモン剤の投与はゴナドトロピン分泌能を更に低下させ睾丸機能を高度に抑制し萎縮させることから、このような場合の投与は望ましくないことは明らかである。

分泌低下をきたしている内因性の LH および FSH の障害をのぞき、その分泌を正常化できるような治療がもつとも望ましいことはいうまでもないが、分泌障害の原因が明らかにされていない疾患が大部分である現在の段階では困難な課題であるといえよう。この点で Kallman 症候群などのゴナドトロピン単独欠損症では障害の発生機転が視床下部のゴナドトロピン放出因子 LH-RH の産生ないし分泌中枢に存在することが明らかにされており、下垂体前葉のゴナドトロピン分泌細胞は外因性の LH-RH の刺激に反応して LH および FSH の産生分泌を高めることが知られている⁷⁾。したがって LH-RH 製剤の投与による下垂体の刺激療法が本疾患に対してもつとも有効な方法と考えられ、実際に今回の検討の対象となった症例の一部に LH-RH 点鼻剤による刺激療法を試みている⁸⁾。しかし LH-RH の投与方法や製剤の種類とくに体内で長期間その作用を持続するタイプの製剤の開発等になお問題を残しており、したがってその臨床効果も満足すべき成績が得られるにいたつておらず、なお今後の検討に待つことになるう。

ゴナドトロピン分泌障害による睾丸機能不全症の治療法として現段階では LH 作用と FSH 用の両者をもつとも生理的なたちで投与し、睾丸機能を成熟させる方法が最上と考えられる。hMG 製剤はこの意味でヒトの FSH を豊富に含んでいるため、これまで単独または hCG との併用により治療が試みられ良好な成績が得られている。同じく FSH 作用を有していることから過去に用いられることが多かった妊馬血清ゴナドトロピン(PMS)は異種タンパクでもあり長期投与を必要とする男性への治療応用は抗体産生その他の面で問題があり、実質的な効果は得られないことから、ヒトから抽出した hMG の使用は多くの問題点を解決できると期待されている。

一方の hCG は古くから睾丸の間質細胞を刺激し男性ホルモン分泌を高める LH 作用を有することが証明され、続発性睾丸機能不全症に臨床応用されてある程度の効果が得られているが、FSH 効果に欠けることから造精機能面での改善が得られないことは前述したとおりである。hMG と併用することによつてはじめて hCG は本症に対して内分泌機能および造精機能の両面において成熟促進効果が得られることが明らかである。

しかしある程度以上の長期間たとえば 1 年以上にわたつて hCG/hMG 併用療法を継続した場合、最終的に達成し得る性成熟の完成度は疾患によつて多少異なるとの印象を受けている。たとえばゴナドトロピン単独欠損症の場合、我々の経験では治療を年余にわたつて継続しても睾丸容積および精液所見がある程度以上は改善されな

いという症例を経験している。しかし同じ Kallman 症候群でも hCG/hMG 併用療法によつて造精能が著明に促進され、ついには妊娠の成立を見たとの報告もあり、同一疾患についても一律には論じ得ない個体差があるのかも知れない⁹⁾。

文献上報告された hCG/hMG 併用療法の多くは hCG 1000ないし1500単位に対して hMG 150単位を併用する方法をとっているが¹⁰⁾、我々の今回の検討では hMG は同じ150単位を用いたのに対し hCG は5000単位と比較的大量を使用してみたが、hCG と hMG との量的な比率の影響の検討も今後試みる予定である。

高 PRL 血症に伴う続発性睾丸機能障害でプロモクリプチン使用により性機能障害が改善されたにもかかわらず乏精子症の改善が得られなかった症例に対し hCG/hMG 併用療法を施行して精子濃度の増加が観察され妊娠の成立をみた。この成績から考えてみると、高 PRL 血症にともなう睾丸機能不全症はゴナドトロピンの分泌抑制を介して生じている可能性が示唆される。

思春期前の症例に対する hCG/hMG 併用療法の適応の是非については若干論議があるが、年齢を考慮して著しい性器の發育不全がある場合に直ちに男性ホルモンの使用にふみ切るとは種々の点で問題があり、やはりゴナドトロピン製剤の使用をまず考えるべきであろう。我々の 10 歳の症例の場合、micropenis に対し本療法を用いた結果所期の目的である陰茎の増大効果は得られたが、予想以上に著明な睾丸容積の増加が観察された。ゴナドトロピン単独欠損症の場合に比較して、FSH 効果が十分に作用し得たものと解釈してよいであろう。正常男児の場合思春期発現の過程で下垂体性 LH の増加に先立つて FSH の増加が起こることが報告されており¹¹⁾、おそらく睾丸の LH レセプターの発現よりも FSH レセプターの発現がやはり先行していることを示す現象である可能性もある。

最後に hCG/hMG 併用療法にもなお多くの問題点が残されており、とくに我々の経験にもとづいて指摘し得ることは、その作用持続期間が比較的短いことである。そのため治療の実施にあつては週 2 回ないし 3 回の筋注を必要とし、また治療中止後はその作用が持続し得ず、とくに Kallman 症候群などゴナドトロピン単独欠損症の場合には治療効果の継続が期待し得ないケースが少なくない。今後製剤面での改良を含め更に検討されるべき余地が残されていると考える。

結 語

ゴナドトロピン分泌障害にともなう続発性睾丸機能障害の 7 例に対し hCG/hMG 併用療法を施行し、臨床

面、精液所見および内分泌機能面での効果について検討を加えた。その結果本療法は睾丸機能障害例に対し男性ホルモン分泌能という内分泌機能面と同時に造精機能面での改善効果が得られるという点で現時点で応用できる最善の治療法であると判定された。

文 献

- 1) 小林 隆他: Human Menopausal Gonadotropin (HMG) による排卵誘発に関する臨床研究会 (1), 産科と婦人科, 36: 949, 1969.
- 2) 奥山明彦, 水谷修太郎: 男子不妊症の治療経験, 第1報: HCG/HMG 剤の併用について, 泌尿紀要, 26: 563-566, 1980.
- 3) Lytton, B., Mroueh, A.: Treatment of oligospermia with urinary human menopausal gonadotropin: a preliminary report. Fertil. Steril. 17: 698-700, 1966.
- 4) Tanner, J. M.: Growth at adolescence. 2nd ed., Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1962.
- 5) 那須誉人, 滝原博史, 平山 嗣, 越戸克和, 酒徳治三郎: 新しい睾丸測定器 (Orchidometer) について, 日不妊誌, 24(1): 12, 1979.
- 6) Bardin, C. W., Ross, G. T., Rifkind, A. B., Cargille, C. M., Lipsett, M. P.: Studies of the Pituitary-Leydig cell axis in young men with hypogonadotropic hypogonadism and hypospmia: Comparison with normal men, pubertal boys and hypopituitary patients. J. Clin. Invest. 48: 2046-2056, 1969.
- 7) Oettinger, M., Bruneteau, D. W., Psaroudakis, A., Greenblatt, R. B.: FSH and LH response to LHRF in Kallman's Syndrome. Obst. Gynec. 47: 233-236, 1976.
- 8) 大田黒和生, 岩動孝一郎他: LH-RH 経鼻粘膜剤 (Hoe 471) の停留精巣に対する治療効果に

ついて, 発表準備中.

- 9) 吉田謙一郎, 大島博幸, 高木健太郎, 東 四郎, 安藤正夫, 横川正之: Gonadotropin 療法により造精機能導入に成功した Kallman 症候群の1例, 日不妊誌, 26(2): 115, 1981.
- 10) 石原睦夫: HCG-HMG 併用療法により造精機能導入に成功した Kallman 症候群の1例, 医学と薬学 6: 1371-1376, 1981.
- 11) Winter, J. S. D., Faiman, C.: Pituitary gonadal relations. Pediatr. Res. 6: 126-135, 1972.

Effects of hCG/hMG combination therapy in patients with male hypogonadism due to gonadotropin deficiency

Koichiro Isurugi

Department of Urology, National Medical Center Hospital, Tokyo, Japan

Seven patients with hypogonadism due to gonadotropin deficiency were treated with hCG/hMG combination therapy and clinical, spermological and endocrine effects were evaluated. The treatment consisted of simultaneous im injections of 5000 U of hCG and 150 U of hMG twice weekly for periods ranging from 13 weeks to 45 weeks. Considerable effects of virilization of the external genitalia, semen quality, and endocrine parameters represented by serum testosterone levels were observed and it was concluded that the hCG/hMG combination therapy is the most effective modality of treatment for hypogonadotropic hypogonadism presently available.

(受付: 昭和57年11月11日, 特掲)

男子不妊症の臨床的観察

Clinical Observations on Male Infertility

千葉大学医学部泌尿器科学教室（主任：島崎 淳教授）

布 施 秀 樹 皆 川 秀 夫 伊 藤 晴 夫
Hideki FUSE Hideo MINAGAWA Haruo ITO

島 崎 淳
Jun SHIMAZAKI

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

1975年より1980年までの6年間に千葉大学附属病院泌尿器科に不妊を主訴に来院した患者894人について臨床的検討を加えた。

不妊主訴患者は、男子新患総数の9.4%を占めた。初診時年齢は、25歳から34歳までが最も多かった。不妊期間は、2～3年のものが最多であった。既往歴は、流行性耳下腺炎が全体の20%を占めた。

精液検査では、精子濃度が低いほど、精子運動率が不良となる傾向にあった。

睾丸組織所見では、germinal aplasia が43例と最も多かった。

ビタメジン®による治療で、精子濃度、精子運動率がそれぞれ31%、24%の例に改善をみた。ユベラ®は、同様に32%、23%、クロミッド®は、22%、20%であった。

894例にアンケート方式による追跡予後調査を行なった。回答を得た294例の治療群および未治療群の妊娠率は、それぞれ27.9%、45.6%であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 197-204, 1983)

緒 言

最近、泌尿器科外来における男子不妊症患者は、増加の傾向にあるといわれる。我々は、1975年より1980年までの6年間に千葉大学医学部泌尿器科外来に不妊を主訴として来院した患者について臨床統計的観察を行ない、またその治療成績について検討したので報告する。

対象ならびに方法

1975年より1980年までの6年間に千葉大学医学部泌尿器科外来に不妊を主訴として来院した患者について、初診時年齢、既往歴、結婚より来院までの期間等について臨床的観察を行なうとともに、その治療成績についても検討した。精液は、5日間以上禁欲させた後、用手法で採取させ、室温に30分間、放置後、鏡検した。精子濃度により、精子数0の無精子症、 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の高度乏精子症、 $10 \times 10^6 \sim 30 \times 10^6/\text{ml}$ の中等度乏精子症、 $30 \times$

$10^6 \sim 50 \times 10^6/\text{ml}$ の軽度乏精子症に分類した。

睾丸生検¹⁾は、主として無精子症に対して施行した。採取した睾丸組織は、Bouin液にて固定後、ヘマトキシリン・エオジンにて染色した。組織所見は、Nelsonの分類²⁾に準じた。なお、いくつかの所見が混在する場合は、主病変によった。

治療は、無精子症例以外に対しては、まず非内分泌療法剤投与よりはじめた。1975、1976年の2年間は、ビタメジン®（ビタミンB₁、B₆、B₁₂合剤）150mg、1977～1980年の4年間は、ユベラ®（ビタミンE剤）300mgを投与した。次に、上記2剤にて効果の認められなかった症例および無精子症例に対しては、クロミッド®（クエン酸クロミフェン）50mgを投与した。いずれも、3ヶ月間の投与を1クールとし、その前後に精液検査を施行し、飯塚ら³⁾に準じて、治療効果を判定した（表1）。なお、精液所見に改善のみられたものに対しては、投与を

表 1 飯塚らによる治療効果判定基準

効果判定		精 子 濃 度		運動率
		30×10 ⁶ /ml 以上の症例	30×10 ⁶ /ml 未満の症例	
著	効	20×10 ⁶ 以上の増加	10×10 ⁶ 以上の増加	20%以上の増加
有	効	10×10 ⁶ 以上の増加	5×10 ⁶ 以上の増加	10%以上の増加
不	変	10×10 ⁶ 未満の増減	5×10 ⁶ 未満の増減	10%未満の増減
悪	化	10×10 ⁶ 以上の減少	5×10 ⁶ 以上の減少	10%以上の減少

表 2 男子新患総数に対する不妊主訴患者数

年度	新患総数	男子患者総数	不妊主訴患者	(%)
1975	2683	1712	194	11.3
1976	2555	1633	195	11.9
1977	2378	1623	143	8.8
1978	2134	1394	132	9.5
1979	2247	1395	98	7.0
1980	2223	1427	132	9.3
計	14220	9184	894	9.7

表 3 初診時年齢

年 度	年 齢						計
	20-24	25-29	30-34	35-39	40以上		
1975	3	72	83	32	4		194
1976	6	64	92	31	2		195
1977	1	66	49	23	4		143
1978	5	49	51	24	3		132
1979	4	28	46	18	2		98
1980	5	41	62	21	3		132
計	24	320	383	149	18		894

表 4 結婚から来院までの期間

年 度 期 間	1975	1976	1977	1978	1979	1980	計
1 年 未 満	4	7	3	6	3	6	29
1 ~ 2	26	35	14	14	13	22	124
2 ~ 3	53	43	42	29	25	28	220
3 ~ 4	34	31	21	33	15	20	154
4 ~ 5	22	23	19	16	10	19	109
5 ~ 6	20	22	14	9	7	9	81
6 ~ 7	14	5	5	6	8	8	46
7 ~ 8	8	8	9	5	2	5	37
8 ~ 9	2	7	5	2	3	0	19
9 ~ 10	3	3	2	3	1	3	15
10 年 以 上	5	6	5	4	3	1	24
不 明	3	5	4	5	8	11	36
計	194	195	143	132	98	132	894

継続した。1981年7月、治療の有無にかかわらず、全員にアンケート方式による追跡予後調査を実施し、294例(32.9%)の返答を得た。それらを、治療群および未治療群に分け、精子濃度別の妊娠率について検討した。また上記3剤による妊娠は、薬物投与中のそのみを治療によるものとした。

成 績

1). 患者数：1975年より1980年までの6年間の男子新

患総数は、9184人で、そのうち不妊主訴患者は、894人と全体の9.4%を占めた(表2)。

2) 初診時年齢：初診時の年齢は、30~34歳が最も多く、25~29歳が、それに続く。両者を合わせると、全体の約80%を占めた(表3)。

3) 結婚より来院までの期間：2~3年が最も多かった。5年以内のものは、全体の70%を占めた(表4)。

4) 既往歴：流行性耳下腺炎が187例と全体の20%を占め、最も多く、高熱疾患、結核とつづいた(表5)。

表 5 既 往 歴

年 度 疾 患	1975	1976	1977	1978	1979	1980	計
流行性耳下腺炎	41	41	38	33	23	11	187
高 熱 疾 患	11	12	9	13	16	3	64
結 核	9	10	3	8	3	3	36
虫 垂 炎	7	2	2	6	5	12	34
淋 疾	4	4	7	2	2	1	20
ヘルニア手術	5	4	3	2	2	5	21
打 撲	3	1	1	2	2	2	11
副 辜 丸 炎	1	1	0	0	0	0	2
辜 丸 炎	0	1	0	1	2	0	4
停留辜丸手術	0	1	0	1	0	1	3
そ の 他	3	0	0	2	5	11	21
計	84	77	63	70	60	49	403

表 6 男子不妊症の原因

	例数	%
精索静脈瘤	139	21.1
Klinefelter 症候群	26	3.9
XX-male 症候群	1	0.2
精路閉塞	9	1.4
間脳下垂体異常	5	0.8
逆行性射精	5	0.8
停留辜丸	4	0.6
immotile-cilia syndrome	2	0.3
特発性男子不妊症	469	71.1
計	660	100%

表 7 不妊症患者の精液所見

	精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	例数	%
無精子症	0	135	16.5
高度乏精子症	0~10	114	14.0
中等度乏精子症	10~30	133	16.3
軽度乏精子症	30~50	153	18.7
正 常	50以上	282	34.5
計		817	100.0

5) 原因：原因の明らかなもののうち、精索静脈瘤が 139 例、21.1%と最も多かつた。間脳下垂体異常 5 例のなかには、Kallmann 症候群が 2 例あり、そのうちの 1 例は、造精機能導入に成功している⁴⁾。そのほか、逆行性射精が 5 例⁵⁾、immotile-cilia syndrome が 2 例⁶⁾、XX-male 症候群が 1 例⁷⁾あつた。しかし、原因不明の、いわゆる特発性男子不妊症が大部分であり、全体の 70%

表 8 精子濃度と精液量の関係

精液量(ml)	2 以下	2 ~ 5	5 以上	計
精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)				
0	41	74	20	135
0 ~ 10	28	62	24	114
10 ~ 30	27	80	26	133
30 ~ 50	23	92	38	153
50 以上	49	193	40	282
計	168	501	148	817

表 9 精子濃度と精子運動率との関係

運動率(%)	0	1 ~ 24	25 ~ 49	50 ~ 74	75 ~ 100	計
精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)						
0 ~ 10	20	52	33	8	1	114
10 ~ 30	5	43	72	12	1	133
30 ~ 50	2	33	82	28	8	153
50 以上	2	15	103	126	36	282
計	29	143	290	174	46	682

表 10 辜丸組織分類

	例数 (%)	精管欠損症		
		右側	左側	両側
normal	13(13.7)	1	1	4
hypospermatogenesis	10(10.5)			1
spermatogenic arrest	12(12.6)			1
germinal aplasia	43(45.3)			
peritubular fibrosis	17(17.9)			
計	95(100)	1	1	6

表 11 ビ タ メ ジ ン®

治療前精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	精子濃度				運動率				妊 娠	
	著効	有効	不変	悪化	著効	有効	不変	悪化	有	無
0 ~ 10	2	0	18	2	2	2	6	12	1	3
10 ~ 30	11	2	10	5	3	4	10	11	2	5
30 ~ 50	3	3	5	4	4	0	4	7	0	4
50 以 上	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計	16 (24.6%)	5 (7.7%)	33	11	9 (13.8%)	6 (9.2%)	20	30	3 (20%)	12

表 12 ユ ベ ラ®

治療前精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	精子濃度				運動率				妊 娠	
	著効	有効	不変	悪化	著効	有効	不変	悪化	有	無
0 ~ 10	2	2	23	0	2	4	18	3	0	9
10 ~ 30	8	5	18	5	4	8	16	8	1	13
30 ~ 50	6	7	4	5	1	2	13	6	3	11
50 以 上	2	1	6	5	0	1	11	2	0	7
計	18 (18.2%)	15 (15.2%)	51	15	7 (7.1%)	15 (15.2%)	58	19	4 (11.1%)	32

表 13 ク ロ ミ ッ ド®

治療前精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	精子濃度				運動率				妊 娠	
	著効	有効	不変	悪化	著効	有効	不変	悪化	有	無
0	1	0	23	—	3	1	20	—	0	5
0 ~ 10	6	7	44	3	6	10	29	15	0	19
10 ~ 30	6	5	15	6	0	4	19	9	0	16
30 ~ 50	2	1	4	4	1	1	8	1	0	4
50 以 上	0	1	0	4	1	0	4	0	1	3
計	15 (11.4%)	14 (10.6%)	86	17	11 (8.3%)	16 (12.1%)	80	25	1 (2.1%)	47

表 14 治療群, 未治療群の精子濃度別妊娠率

妊娠の有無 精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	治 療 群		未治療群	
	有	無	有	無
0	0(0%)	7	1(3.7%)	26
0 ~ 10	6(18.8%)	26	0(0 %)]	2
10 ~ 30	12(27.9%)	31	0(0 %)] (29.4%)	4
30 ~ 50	13(40.6%)	19	5(45.5%)]	6
50 以 上	7(31.8%)	15	66(57.9%)	48
計	38(27.9%)	98	72(45.6%)	86

以上を占めた(表6)。

6) 精液所見:無精子症 135 例, 高度乏精子症 114 例と, 両者で30%をこえた(表7)。精液量は, 2~5ml が過半数を占め, また精子濃度による差はなかつた(表8)。一方, 精子運動率は, 精子濃度が低いほど不良となっていた(表9)。

7) 睪丸組織所見:睪丸生検を施行した95例のうち, 正常組織所見のものが13例あり, そのうちの4例は, 両側精管欠損症であつた。germinal aplasia は, 45例と最も多く, peritubular fibrosis が17例とつづいた(表10)。

8) 治療成績:ビタメジン®は, 精子濃度および運動率で, それぞれ31%, 24%の例に改善をみた(表11)。ユベラ®は, 同様に32%, 23%の改善率で, ビタメジン®のそれと大差がなかつた(表12)。一方, クロミッド®は, 22%, 20%と前2者と比較して改善率が低かつた(表13)。

9) 追跡予後調査:アンケートで回答をよこした294例の治療群と未治療群の妊娠率は, 前者が27.9%, 後者が45.6%と後者が優っていたが, 無精子症および精子濃度 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上のものを除くと, それぞれ29.0%, 29.4%と大差がなかつた(表14)。

ビタメジン®, ユベラ®およびクロミッド®による妊娠率は, それぞれ20%, 11.1%, 2.1%であつた(表11, 12, 13)。

考 案

不妊主訴患者が, 泌尿器科男子外来患者総数に占める割合は, 小松ら⁸⁾, 9.9% (1963~1967), 白井⁹⁾ 5.9% (1959~1971), 熊本ら¹⁰⁾ 6.1% (1964~1974), 石神¹¹⁾ 12.5% (1956~1976) などの報告があり, 自験例も9.7%と10%前後であつた。

受診年齢は, 25歳から34歳までで, 全体の80%を占めており, 諸家の報告¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾と一致した。結婚から来院までの期間は, 2~3年が最も多く, 70%は, 5年以内であり, これも諸家の報告と同様の傾向を示した。最近, 不妊症に対する認識の高まりとともに, 早く受診する傾向にあるといわれる¹⁴⁾。

既往歴は, 流行性耳下腺炎が多いとされ, 自験例でも, 約20%と最多であつた。しかし睪丸炎⁵⁾を併発したものは, 少なく, また unilateral mumps orchitis では, 一定期間経過すれば, その影響がみられなくなるとする報告¹⁶⁾もあり, 不妊との因果関係は, 明らかではない。石神¹⁷⁾は, 不妊症患者は, 対照群と比較して, 本症に罹患したことが多いことより, その造精機能への影響を推定している。

精液所見上, 自然性交にて妊娠可能な限界は, 諸家に

より, さまざままで一定していない⁹⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。我々は, 表7の如く, 精子濃度の限界を, $50 \times 10^6/\text{ml}$ とした。しかし, 最近では, より低い精子濃度でも, 十分妊孕性があるとして, $10 \times 10^6/\text{ml}$ に限界をおくものもある²⁰⁾。ちなみに, $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の例に, 内分泌学的に異常のある例が多いという²¹⁾。

睪丸生検は, 治療方針および予後の決定に重要であり, 広く行なわれているが Gordon²²⁾は, 生検後, 約半数例に, 有意の精子数の減少をみたとしている。動物実験では, その影響を無視できるとする報告もある²³⁾。一方, 小松ら⁸⁾は, 運動精子数 $11 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の例では, 組織像が, 正常ないし, ほぼ正常に近いので, 生検を必要としないとしている。自験例でも, その副作用も考えて, 主として無精子症に対して施行した。

睪丸組織像の分類には, Nelson²⁾, 市川²⁴⁾, Hotchkissら²⁵⁾のそれがある。自験例は, Nelson のそれに準じたが, 無精子症例に germinal aplasia が最も多く, 諸家の報告と一致した⁸⁾。なお, 同一標本中に, さまざまの程度の異常が混在していることが多いため, これらの分類では, 全体としての評価が困難である。そこで組織像全体を, 定量的に評価しようとする試みがあり, Johnsen の score count 法²⁶⁾は, そのひとつである。精索静脈瘤で, 左右差を検討する場合などにも応用できる。

治療法は, 薬物療法と手術療法が主体であり, 前者は, 非内分泌および内分泌療法とにわけられる。後者は, 精索静脈瘤に対する高位結紮術, 精路復元術等がある。その他, 逆行性射精に対して, AIH を利用する方法もあり, 自験5例のうち1例は, それにより妊娠に成功している²⁷⁾。

薬物療法は, 石神¹¹⁾は, ほとんど副作用のみられない非内分泌療法剤より開始し, 内分泌療法剤に移行する方法をとっている。我々も, この方法に従ったが, 無精子症例に対しては, 内分泌療法を主体とした。

非内分泌療法剤としては, ビタミン E, ビタミン B₁₂, CoA, ATP, カリクレイン等がある。これらは, 造精のどの段階で, あるいは, どのように作用するかは不明であるが, 諸家により, その有効性が報告されている²⁸⁾²⁹⁾。今回, 我々の使用した前2者は, 精子濃度の改善をみたものが30%, 妊娠したものが, 10~20%と, かならずしも満足すべきものとはいえなかつた。Amelar³⁰⁾は, 薬物療法で効果が期待できるのは, 後述の外因性ゴナドトロピンのみとしている。

HCG, HMG および PMSG 等のゴナドトロピンが, 内分泌療法剤として使用されるが, これらのうちPMSG は, 有効とするものもあるが³¹⁾, 抗体を産生しやすいことより, おもに, 前2者が用いられる。HCG および

HMG は、それぞれ単独に、あるいは、併用して投与されるが、精子形成過程には、FSH および testosterone の両者が必要とされる³²⁾ことより、睾丸内 testosterone 濃度を高める HCG と、FSH 作用を有する HMG とを併用することは合目的と思われる。ちなみに、両者併用のほうが、おのおの単独投与より治療成績で優るとする報告もある³³⁾。しかし、その投与量については、諸家により³⁴⁾、さまざまであり、適正量については、今後、検討を要しよう。

クロミッド®は、内因性ゴナドトロピンの分泌をたかめ、造精機能を亢進させるが、投与量によつては、逆に、造精機能を抑制するとされ³⁵⁾、1日投与量を、25mg から 50mg とするものが多く、自験例でも 50mg とした。その成績は、ビタメジン®あるいは、ユベラ®と比較して良好とはいえなかつたが、対象の多くが、高度乏精子症ないしは、無精子症であつたことにもよろう。すでに、高ゴナドトロピン状態にあるものを除外する等³⁶⁾、投与対象の選択も必要かもしれない。なお、同じ排卵誘発剤の tamoxifen を、エストロゲン作用が、より弱いとして試みているものもある³⁷⁾。

LH-RH を不妊症の治療に用いることは、まだ一般的とはいえないが、投与方法に工夫が必要で、最近その analogue の鼻粘膜噴霧法³⁸⁾が行なわれ、今後に期待されよう。しかし成熟ラットへの LH-RH analogue の投与が、睾丸重量低下をきたしたとする報告もあり、注意を要しよう³⁹⁾。

その他、testosterone 投与後のはねかえり現象を応用したもの⁴⁰⁾や、中枢作用の少ないアンドロゲン⁴¹⁾あるいは、甲状腺製剤⁴²⁾が用いられる。

精液所見を投薬前後で比較して、治療効果を判定する場合、その基準は、諸家により、さまざまであるが⁴³⁾、自験例は、飯塚ら³⁾のそれに準じた、一方、精子濃度は、同一個人でも、常に一定したものではなく、採取した時期により、かなり差があり⁴⁴⁾、精子濃度が増加しても、かならずしも、薬物による真の効果とは、いいきれないだろう。したがって薬物の有効性を論ずる場合、投薬前後に、それぞれ数回の精液検査を施行し、その平均値で効果をみたり、placebo の使用⁴⁵⁾等を考慮する必要がある。

治療効果は、治療の究極の目的である自然妊娠達成という点からも判定される。自験例では、治療群および未治療群の妊娠率は、前者のほうが低く、無精子症および精子濃度が $50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上のものを除いても、前者のそれが優るという結果はえられず、諸家の報告¹⁾と一致するところとなつた。このことは、薬物療法が、前述の目的に対して必ずしも効果をあげていないことを示唆

し、今後、検討する余地があるといえよう。

結 語

1975年より1980年までの6年間に千葉大学医学部泌尿器科外来を不妊を主訴に受診した患者 894 人について臨床的検討を加え、以下の結果をえた。

1) 不妊主訴患者は、男子新患総数の9.4%を占めた。初診時年齢は、25歳から34歳までで全体の約80%を占めた。結婚から来院までの期間は、2～3年のものが最多であつた。既往歴は、流行性耳下腺炎が、全体の20%を占め、最も多かつた。

2) 精液検査では、精子濃度が低いほど精子運動率が不良となる傾向にあつた。精液量は、2～5 ml が過半数を占めた。

3) 睾丸生検では、germinal aplasia が、43例と最も多く、全体の45%を占めた。

4) ビタメジン®による治療で、精子濃度および精子運動率が、それぞれ31%、24%の例に改善をみた。ユベラ®は、同様に32%、23%、クロミッド®は、22%、20%であつた。

5) アンケート方式による追跡予後調査で回答をえた294例の治療群および未治療群の妊娠率は、それぞれ27.9%、45.6%であつた。

本論文の要旨は、第24回日本不妊学会総会において発表した。

稿を終えるにあたり終始御協力、御援助いただいた富山医科薬科大学医学部泌尿器科、片山喬教授ならびに柳重行講師に深謝する。

文 献

- 1) 百瀬剛一、片山 喬：男性不妊、現代産科婦人科学大系、p 201 中山書店、1970。
- 2) Nelson, W. O.: Interpretation of testicular biopsy. JAMA. 151: 449, 1953.
- 3) 飯塚理八、己斐秀豊、高橋輝雄、仁科進弘：男性不妊に対する Vitamedin の効果、臨婦、20: 41, 1966。
- 4) 布施秀樹、伊藤晴夫、皆川秀夫、川村健二、島崎 淳：造精機能導入に成功した Kallmann 症候群の1例、泌尿紀要、28: 1167, 1982。
- 5) 布施秀樹、伊藤晴夫、安田耕作、島崎 淳：逆行性射精の5例、西日泌尿、44: 1031, 1982。
- 6) 伊藤晴夫、皆川秀夫、布施秀樹、川村健二、内藤 仁、島崎 淳、永野俊雄、鈴木二美枝、夜久有滋、石川堯夫、山口邦雄：Immotile cilia syndrome、日泌尿会誌、73: 206, 1982。
- 7) 布施秀樹、伊藤晴夫、皆川秀夫、島崎 淳：XX-male 症候群の1例、日不妊会誌、27: 77, 1982。

- 8) 小松洋輔, 友吉唯夫, 岡田謙一郎, 高山秀則: 男子不妊症の臨床統計的観察ならびその追跡調査成績について, 日不妊会誌, 14: 346, 1969.
- 9) 白井将文: 精子形成障害, 特に男子不妊症について, 臨泌, 26: 281, 1972.
- 10) 熊本悦明, 寺田雅生: 男子不妊症の原因, 臨婦産, 29: 381, 1975.
- 11) 石神襄次: 男子不妊の治療, 臨泌, 31: 475, 1977.
- 12) 長沼弘三郎, 後藤俊弘, 前山泰典, 岡元健一郎: 男子不妊症の臨床的観察, 西日泌尿, 39: 611, 1977.
- 13) 碓井 亜, 林 睦雄, 中津 博, 石部知行: 男子不妊症の臨床的観察, 西日泌尿, 38: 40, 1976.
- 14) 桜井叢人, 関根昭一: 男子不妊症の臨床的観察, 西日泌尿, 43: 725, 1981.
- 15) 白井将文, 竹内睦男, 佐々木桂一: 流行性耳下腺炎性睾丸炎後の造精機能障害について, 日不妊会誌, 16: 14, 1971.
- 16) Barták, V.: Sperm count, morphology and motility after unilateral mumps orchitis. J. Reprod. Fert. 32: 491, 1973.
- 17) 石神襄次: 男性不妊, 代謝, 臨時増刊号「性」, 16: 1425, 1979.
- 18) Cockett, A. T. K., Netto, I. C. V., Dougherty, K. A. and Urry, R. L.: Semen analysis: A review of samples from 225 men seen at an infertility clinic. J. Urol. 114: 560, 1975.
- 19) Macleod, J., Gold, R. Z. and McLane, C. M.: Correlation of the male and female factors in human infertility. Fertil. & Steril. 6: 112, 1955.
- 20) Smith, K. D. and Steinberger, E.: The testis in normal and infertile men. p 489, Raven Press, New York, 1977.
- 21) 谷風三郎: 男性不妊にかんする内分泌学的研究, 泌尿紀要, 26: 947, 1980.
- 22) Gordon, D. L., Barr, A. B., Herrigel, J. E. and Paulsen, C. A.: Testicular biopsy in man I. Effect upon sperm concentration. Fertil. & Steril. 16: 522, 1965.
- 23) Paufler, S. K. and Foote, R. H.: Semen quality and testicular function in rabbits following repeated testicular biopsy and unilateral castration. Fertil. & Steril. 20: 618, 1969.
- 24) 市川篤二, 熊本悦明, 小野田廉雄: 無精子症の研究, 最新医学, 15: 1549, 1960.
- 25) Hotchkiss, R. S.: Etiology and diagnosis in the treatment of infertility in men. Charles C. Publisher, Springfield, 1952.
- 26) Johnsen, S. G.: Testicular biopsy count, A method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones. 1: 2, 1970.
- 27) 布施秀樹, 皆川秀夫, 伊藤晴夫, 島崎 淳: AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の 1 例, 日不妊会誌, 26: 44, 1981.
- 28) Schill, W. B.: Improvement of sperm motility in patients with asthenozoospermia by Kallikrein treatment. Int. J. Fertil. 20: 61, 1975.
- 29) 浜崎千秋, 柳沢洋二, 吉川光夫, 久保田実良: Vitamin E 剤ユベラの不妊夫精子所見に及ぼす影響, 日不妊会誌, 10: 38, 1965.
- 30) Amelar, R. D. and Dubin, L.: Male infertility. Urology, 1: 1, 1973.
- 31) 長田尚夫, 井上武夫, 平野昭彦, 田中一成: PMSG 療法が有効であったと思われる男子不妊症の 1 例, 日不妊会誌, 31: 165, 1977.
- 32) Steinberger, E.: Hormonal control of mammalian spermatogenesis. Physiol. Rev. 51: 1, 1971.
- 33) 奥山明彦, 園田孝夫, 水谷修太郎: 男子不妊症の治療経験, 第 2 報: HCG, HMG 各剤の投与量と妊孕性の予後について, 泌尿紀要, 27: 355, 1981.
- 34) Schill, W. B.: Recent progress in pharmacological therapy of male subfertility-a review. Andrologia. 11: 77, 1979.
- 35) Paulson, D. F. and Wacksman, J.: Clomiphene citrate in the management of male infertility. J. Urol. 115: 73, 1976.
- 36) Jones, T. M., Fang, V. S., Rosenfield, R. L. and Schoenberg, H. W.: Parameters of response to clomiphene citrate in oligospermic men. J. Urol. 124: 53, 1980.
- 37) Vermeulen, A. and Comhaire, F.: Hormonal effects of an antiestrogen, tamoxifen, in normal and oligospermic men. Fertil. & Steril. 29: 320, 1978.
- 38) Potaahnik, G., Ben-Adereth, N., Lunenfeld, B. and Roife, C.: Assessment of pituitary response to nasal application of synthetic gonadotropin-releasing hormone in men. Fertil. & Steril. 28: 650, 1977.
- 39) Hsueh, A. J. W. and Erickson, G. F.: Extra-pituitary inhibition of testicular function by luteinising hormone releasing hormone. Nature. 281: 66, 1979.
- 40) Heckel, N. J., Rosso, W. A. and Kestel, L.: Spermatogenic rebound phenomenon after administration of testosterone propionate. J. Clin. Endocrinol. 11: 235, 1951.
- 41) 白井将文, 竹内睦男, 佐々木桂一: 男子不妊症に対する経口男性ホルモン剤 Mesterolone の効果について, 泌尿紀要, 18: 442, 1972.
- 42) 原 信二: 男性不妊と甲状腺, ホと臨床, 10: 850, 1962.
- 43) 五十嵐正雄, 藤間幸道, 野上保治, 佐藤恒治: 男性不妊症のホルモン療法 (94 例での検討), ホと臨床, 9: 884, 1961.

- 44) Paulsen, C. A.: Collection and examination of human semen In: Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. p 8 Press Concern, Singapore, 1980.
- 45) 石部知行, 中野 博, 碓井 亜, 広本宣彦: 男性不妊症の治療, IV. 男性不妊症患者精液所見に及ぼす Pantethine の影響, 日不妊会誌, 20: 27, 1975.
- 46) 酒徳治三郎, 蛭多量令, 北山太一, 吉田 修: 男子不妊症の統計的観察 (附妊娠に関する予後調査結果), 泌尿紀要, 11: 109, 1965.

Clinical observations on male infertility

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

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

Clinical observations were made on 894 male patients who visited the Chiba University Hospital with chief complaints of infertility from January

1975 to December 1980.

An incidence of infertile male was 9.4 per cent as compared to the total male patients. Age distribution of the patients ranged mostly from 25 to 34 years old. Infertile period after marriage was most commonly distributed between two and three years. Mumps occupied 20 per cent of their past histories.

Relation between sperm count and motility was observed in semen analysis. On testicular biopsy germinal aplasia was observed in 45 per cent of the patients.

Drug therapy with Vitamedin® resulted in improvement of sperm count in 31 per cent of the patients and of motility in 24 per cent of ones. Juvella® obtained improvement of sperm count and motility in 32 and 23 per cent of the patients, respectively and Clomid® did also in 22 and 20 per cent, respectively.

The follow-up study was performed on 894 cases and 294 ones gave certified answers. In the treated group, the rate of pregnancy was 27.9 per cent, while the pregnancy rate in the untreated one was 45.6 per cent.

(受付: 昭和57年9月16日)

ウサギを用いての子宮内感染モデルの作成

Production of an Experimental Model of Intra-Uterine Infection Using Rabbit

大阪府立大学農学部家畜外科学教室

鎌田 洋一 松田 浩珍 蘭 守龍雄
Yohichi KAMATA Hiroshi MATSUDA Tatsuo IMORI

Department of Veterinary Science, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka, Japan

ウサギを用いて、子宮内感染モデルの作成を試みた。2種の性腺刺激ホルモン処置、すなわち、HCG 単独、または、PMSG・HCG の併用投与と、大腸菌の接種を4つの様式で実施した。すなわち、滅菌生理食塩水に懸濁した 10^8 、 10^{10} 個の生菌、あるいは、滅菌5%ムチン生理食塩水液に懸濁した 10^8 、 10^9 個の菌を1側の結紮子宮角内に接種して、できうる限り長期間感染の状態が持続する条件を求めた。その結果、形成黄体の平均数が15個（HCG 単独投与の場合の3倍）を示した PMSG・HCG 併用投与の場合、大腸菌 10^9 個をムチン液に懸濁してウサギの結紮子宮内に接種した時に、菌接種後10日目まで、感染が100%持続するのが確認できた。

以上のようにして誘起された子宮内の感染状態は、中等度～重度の「化膿性子宮内膜炎」または「子宮蓄膿症」と呼ぶにふさわしい病状を呈したが、菌接種後14日目には子宮腔内から接種大腸菌の消失が起こるものが現われた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 205-210, 1983)

緒 言

子宮内感染症は、イヌ¹⁾・ネコ²⁾・ウシ³⁾・ウマ⁴⁾・ウサギ⁵⁾などに発生が認められているが、ヒトにおける発生は多くはない模様である。ただ、子宮頸癌摘除手術を受けた婦人の半数が本症に罹患していたとする報告が注目される⁶⁾。

上記各種の動物の中で、とくにイヌでは子宮内感染症はきわめて多く、「子宮蓄膿症」と呼ばれる慢性型のものの中には、300ml以上の膿が子宮腔内に貯留する例も稀ではない。このようなものは敗血症や、悪疫質となり死に至る場合が多い⁷⁾。また、抗生物質による治療においても、一応治癒した後に再発する例が大部分で、従つて本症の治療法としては専ら子宮全摘出が選ばれている。

このような各種動物の子宮内感染症に共通する点として、その主な起炎菌が腸内細菌であること、しかも、そのうち大腸菌が主役となるのがきわめて多いことがあげられる¹⁾³⁾⁴⁾⁶⁾⁸⁾。

実験動物について、子宮内感染が estrogen 優位の環境下にある発情前期（卵胞期）から発情期には発症せず、progesterone 優位の黄体期に発症しやすいことが今までに明らかにされたが⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾、これはイヌやウシの子宮蓄膿症が常に黄体の存在下に起こっていることと一致する所見である。

しかしながら、細菌感染に対する子宮の反応性が性ホルモンによつてどのように変化するかなどの詳しい機構については未だ説明されていない。このような状況のもとで、「実験的・子宮内感染症」の作成は決して無意義ではないと考える。たとえば、受精卵移植時や IUD 装

着時の感染予防の詳細を検討する応用的研究にも利用できるであろう。

今回、われわれは実験動物としてウサギを選んだ。その主な理由は、簡単な性腺刺激処置によつて排卵し、黄体形成を行なわせること、またこのように誘導した偽妊娠期間が20日間くらいまで持続が期待できる可能性があるからである。

材料と方法

(1) 実験動物

New Zealand white 種、3～4カ月齢、体重3.5kg前後の雌ウサギ合計104羽を実験に用いた。実験期間中は1ケージに1羽ずつウサギを入れ、専用の動物室内で飼育した。ウサギは、導入後10日以上で馴致期間をおいて実験に供した。

(2) 接種細菌

大阪府立大学農学部付属家畜病院において、イヌ子宮蓄膿症から分離した溶血性大腸菌 PYO-252 株を接種に用いた。本大腸菌の血清型は、[O: 25, H: -] で、その毒力は、Mouse i.p. LD₅₀=2.5×10⁷ organisms であった。

(3) 実験デザイン

i) 黄体期への導入と実験群

ウサギに性腺刺激ホルモンを注射して排卵させ黄体を形成させた。実験は、Human chorionic gonadotropin (HCG: プペローゲン®, 三共ゾーキ) 100IU を静脈内注射した群 (HCG 群) と、HCG 100IU 投与の2日前に、Pregnant mare serum gonadotropin (PMSG: セロトロピン®, 帝国臓器) 50IU を筋肉内注射した群 (PMSG+HCG 群) の2群を設けて行なった。

ii) 接種菌液の調製

大腸菌をトリプトソヤ・ブイヨン培地 (日水製薬) で37°C, 18時間培養した。この培養液を5,500rpm, 40分間遠心分離し、上清を捨て、滅菌生理食塩水、あるいは、5%の割合に Gastric mucin (半井化学) を加えた滅菌生理食塩水 (ムチン液, 10% NaOH で pH を7.2に修正した) を用いて、沈渣の大腸菌を懸濁し、接種菌液とした。この際、接種菌液1.0mlの中に所要の大腸菌数を含むように菌液の調製を行なった。

iii) 菌接種方法

HCG 群、PMSG+HCG 群ともに HCG 注射後8日目に黄体群が最大径を示すことが確認できたので、その日に菌接種を行なうことにした。ペントバルビタール・ナトリウム (Nembutal®, Abbott Laboratories) による全身麻酔下で、正中切開法によりウサギを開腹し、開花期黄体の数をかぞえた後、1子宮角あたり1.0mlの

菌液を子宮腔内に注入した。菌液の注入は、22G 針を接続した注射器を用いて行なった。子宮角の卵管付着部の手前で針を刺入し、菌液の漏出を防ぐため、注入後ただちに刺入部位の漿膜を巾着縫合した。また、注入した菌液ならびに菌接種により生成される膿汁が腔へ流出しないように、子宮内口から5mmの位置で子宮角を結紮した。

iv) 剖検

菌接種後6, 10, 14日目に各々ウサギを殺し、卵巣・卵管・子宮および腔の一部を一括して取り出した。子宮と卵巣を肉眼的に観察した後、子宮腔内の菌検査を以下のように実施した。1ループ (約5mg) の子宮腔内貯留物を遠藤培地 (日水製薬) に塗抹し、37°C 24時間培養した。培養後の大腸菌コロニー数をかぞえ、0個、<10個、<100個、≥100個のコロニー数を示したものを、各々、菌陽性 (-), (+), (++)、(+++) として表示した。また、接種大腸菌 PYO-252 株に対するウサギ抗血清を作製し、これを用いてスライド凝集反応を行ない、剖検時に検出された大腸菌と接種細菌とが血清学的に一致することを確認した。

菌検査の後、子宮腔内に貯留した膿汁の量と性状を調べて記録し、さらに、子宮の組織標本を作つて病理学的検索を行なった。

以上の検索の結果、大腸菌が (++) 以上の陽性を示し、かつ、膿汁の貯留が認められるものを「感染陽性」と規定した。

v) 統計処理

各実験成績は、6～17羽のウサギを用いてえた。有意差の検定は、 χ^2 法により行なった。

結 果

(1) 形成された黄体の数について

ウサギに2種の性腺刺激処置を行なった結果、HCG 処置前に PMSG を投与した場合、形成黄体数の著しい増加が認められた。すなわち、菌接種時の開花期黄体数は、HCG 群では1～7個、平均5個であったのに対し、PMSG+HCG 群は12～18個、平均15個を示し、HCG 群に比べて著しい増加を示した (Table 1)。

(2) 接種条件について

まず、菌接種後10日目を基準として、この期間子宮の感染状態が続く条件を求めた。Table 2 にその結果を示す。HCG 群においては、大腸菌10⁶個、10¹⁰個、いずれの接種によつても接種後10日目の感染率は20%以下にとどまった。感染を増強させる試みとして5%ムチン液に大腸菌を懸濁して接種したが、感染陽性率の上昇はみられなかった。一方、形成黄体数が HCG 群の約3倍増

Table 1 Effect of the gonadotropic treatment on corpus luteum formation

Gonadotropic ¹ treatment	Numbers of corpus luteum ²	
	Mean	Range
HCG	5	1-7
PMSG+HCG	15	12-18

1 The method of the gonadotropic treatment was shown in the text.

2 Numbers of corpus luteum were counted on 45 rabbits in HCG group, and on 30 rabbits in PMSG+HCG group.

Table 2 Effects of the gonadotropic treatment and the inoculating ways of *E. coli* on the experimentally induced intra-uterine infection in rabbits

Rate (%) of infection positive horn on the 10th days

Gonadotropic treatment	Inoculating ways of <i>E. coli</i>			
	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ⁸ +mucin	10 ⁹ +mucin
HCG	0	20	18	10
PMSG+HCG	43	70	83	100

加した PMSG+HCG 群では、大腸菌の接種条件を変えても、各々 HCG 群より有意に感染率が上昇し ($P < 0.05$)、ムチン液に大腸菌10⁹個を懸濁して接種した場合には100%の感染陽性率を示すに至った。なお、滅菌ムチン液のみを子宮内に注入した対照角では感染状態は認められなかった (Fig. 2, 3)。

(3) 子宮内感染の持続性について

Table 1 と 2 に示した実験成績から、菌接種後10日目まで感染を持続させる条件が明らかとなった。すなわち、a) ウサギに PMSG と HCG の併用投与を行ない、多数の黄体を形成させる、b) 5%ムチン液で懸濁した大腸菌10⁹個を1側の結紮子宮角内に接種する、の2点である。次に、これら2条件を与えた時の感染の持続性を詳しく検討するため、改めて菌接種後6、10、14日目に子宮を検索し、その結果を比較検討した。

上記のようにして誘起した子宮内感染は、Fig. 1 に示すように、菌接種後10日目まで100%持続したが、14日になると、感染陽性率は16%を示し、著しい低下が認められた。剖検時に子宮腔内から検出される大腸菌数に関して、菌接種後6日の6例全例、および10日の7例中の6例は大腸菌陽性(++)を示し、10日の残り1例のみが(+)を示した。次に、各剖検日における臨床症状につ

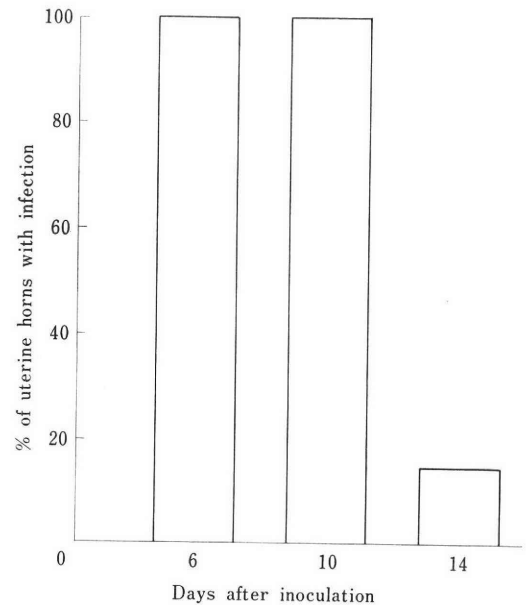
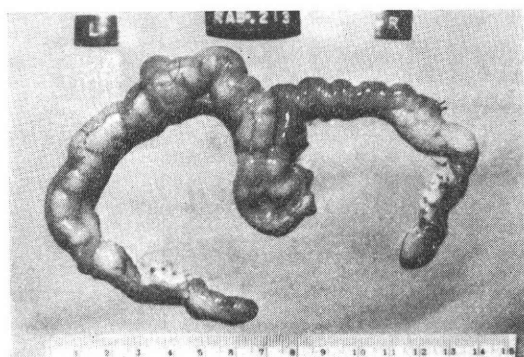


Fig. 1 Continuity of the experimentally induced intra-uterine infection of rabbits treated PMSG+HCG.

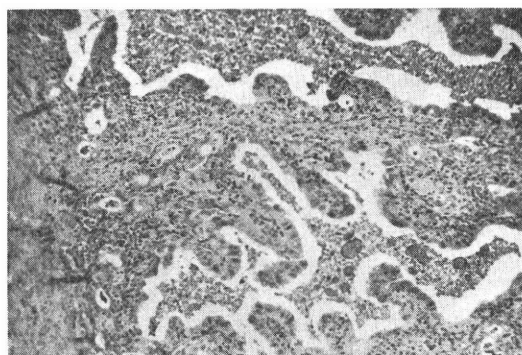
いて以下に記す。大腸菌接種後6日においては、子宮腔内に白色をおびた膿汁が、1子宮角あたり平均10ml貯留し、子宮角は接種直前の3倍程度にまで拡張していた。組織学的には、多核白血球の浸潤、内膜上皮の変性・脱落、などの所見が観察された (Fig. 2)。菌接種後10日では、膿汁の貯留量が増加し、平均20ml程度、著しい例では60mlに及ぶ白色をおびた粘稠な膿汁の貯留が認められた。組織学的には、子宮内膜への多核および単核性白血球の浸潤、膿汁の貯留による子宮壁の菲薄化が観察され、重度の化膿性子宮内膜炎が誘起されていることが明らかとなった (Fig. 3)。接種後14日の検索では、膿汁の貯留や子宮内膜組織における化膿性炎症像は10日と同様に認められたが、菌生存率が20%に達しないことは上述した。

別に、HCG 単独処置群を用いて、同様にムチン液に懸濁した10⁹個の大腸菌を接種して感染の持続性を調べたが、菌接種後6日から感染陽性率の低下が起こり、10日には10%以下を示した。

形成された黄体の存続性と子宮内感染の持続性との関係については以下に示すようである。PMSG+HCG、HCG、両群の各剖検日に行なった卵巣の検索から、HCG 群においては菌接種後6日から10日にかけて、PMSG+HCG 群では10日から14日にかけて、一部の黄体の退行による機能的黄体数の減少が起こったことが明らかとなった。すなわち、実験的に誘起した子宮内感染



A



B

Fig. 2 Pathological finding on the 6th day after inoculation. *E. coli* (10^9 +mucin) were inoculated into the left uterine horn and 5 % mucin solution as control was injected into the right horn.

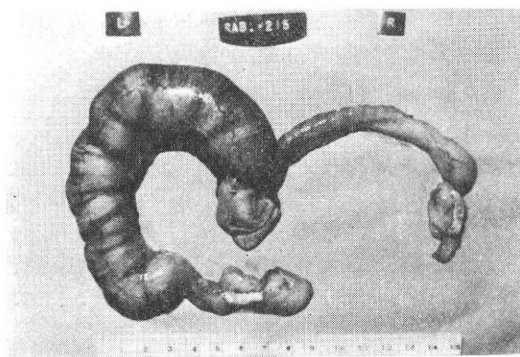
A: Macroscopic view. The inoculated horn was enlarged and 10ml of *E. coli* positive pus was accumulated. The right horn (control) didn't show the pathological finding.

B: Microscopic view on the inoculated horn (hematoxyline and eosin staining, $\times 13$). The accumulation of pus in the lumen was prominent. Mild cell infiltration was recognized.

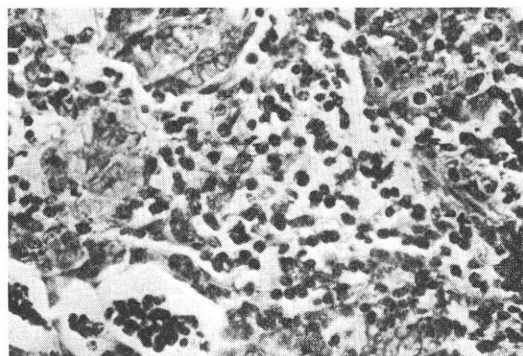
症状の消退と、黄体の退化化とが一致して起こる現象が明らかに観察された。

考 察

ウサギにおける子宮内感染モデルの作成を試みた結果、菌接種後10日間は感染状態が存続するモデルの作成が可能となった。最近、館野ら¹³⁾によって作成されたラット子宮内感染モデルの感染期間は5日間であり、誘起された感染状態が5日以降も存続するか否かについて検



A



B

Fig. 3 Pathological finding on the 10th day after inoculation. The inoculating way was as same as in Fig. 2.

A: Macroscopic view. The enlargement of the inoculated uterine horn (left) was most prominent, and 25ml *E. coli* positive pus was accumulated.

B: Microscopic view on the inoculated horn (hematoxyline and eosin staining, $\times 67$). Poly- and mono-nuclear leukocytes severely infiltrated in lamina propria. The structure of endometrium was destroyed.

討はされていない。また、彼らのモデル作成方法では、ラットに1mg/headのprogesteroneを1日2回6日間連日投与する必要がある。今回、われわれが作成したウサギ子宮内感染モデルは、性腺刺激ホルモンを2回注射するだけで10日間感染状態が持続する。また、われわれの実験方法で感染を誘起した場合、内因性の性ホルモン変動の追求が可能となり、子宮内感染と性ホルモンとの関連性を調べる研究には便宜を与えることになる。

ウサギを用いて子宮内感染モデルを作成しえた要因として、1) PMSGとHCGの併用投与により、形成黄体数を確実に増加させ、かつまた黄体の存続期間をも延

長ささせたこと、2) 大腸菌 10^8 個を 5% ムチン液に懸濁し、結紮を施した子宮に接種したこと、があげられる。これらの処置によつて、10日間感染状態が 100% 持続するモデルの作成が可能となつたが、作成に寄与した主な要因は、PMSG と HCG との併用投与であると考えている。細菌感染を助長させるムチンの効果については、細菌の増殖促進、細菌をコートし保護することや、白血球の遊走抑制・食能阻害¹⁴⁾、抗補体作用¹⁵⁾などが報告されている。今回、以上のような作用があると言われているムチンを子宮内感染誘起実験に応用した結果、Table 2 に示されたように、ムチンの効果は PMSG + HCG 群においてのみ認められ、HCG 群についてはほとんど認められなかつた。このことから、10日間感染を持続しえたのは、主として存続期間の長い黄体が数多く存在したことによると考えられ、ムチンの作用は、おそらく補助的なものにすぎなかつたと推測している。

過去、子宮内感染の発病については幾つかの研究報告が成されているが、一旦成立した感染の持続性について検討したものは少ない。僅かに、越智と内田¹⁶⁾が、黄体期のウサギ子宮内に大腸菌を接種したとき、3 日間は感染が存続したが、その後、子宮腔内の膿様物の消失、接種菌の消失が起こつたと報告している程度である。子宮内感染症は、自然病例では慢性経過をとりやすい疾患として認識されている。今回作成した子宮内感染モデルを用いることにより、将来、子宮内感染の持続性、とくに黄体との関係についての知見が新しく得られるものと期待している。

文 献

- 1) Hardy, R. M. and Osborne, C. A.: Canine pyometra: pathophysiology, diagnosis, and treatment of uterine and extra-uterine lesions, J. Am. Anim. Hosp. Assoc., 10: 246, 1974.
- 2) Bloom, F.: Pathology of the dog and cat, p 353, American veterinary publications, Inc., 1954.
- 3) 越智勇一, 尾形 学, 内田和夫, 小西信一郎, 滝沢隆安, 石崎良太郎: 家畜の繁殖障害の治療及び予防法に関する研究 II. 不妊牛の膣及び子宮の細菌叢について. 日獣誌, 18: 21, 1956
- 4) 久米常夫, 佐々木昇: 動物由来の *Escherichia* の病原性に関する研究 第 2 編 ウマの産科領域から検出された *Escherichia* によるウサギの子宮感染試験. 日細誌, 15: 902, 1960.
- 5) Flatt, R. F.: Pyometra and uterine adenocarcinoma in a rabbit, Laboratory Animal Care, 19: 398, 1969.
- 6) 高瀬善次郎: 産婦人科領域におけるグラム陰性桿菌感染症, 日本臨床, 35: 1483, 1977.
- 7) 河田啓一郎: 犬の子宮蓄膿症について. 日獣会

誌, 32: 541, 1979.

- 8) 石橋祥男: 腸管内常在菌としての大腸菌の婦人性器内汚染に関する衛生学的研究, 民族衛生, 41: 258, 1975.
- 9) Black, W. G., Simon, J., McNutt, S. H. and Casida, L. E.: Investigations on physiological basis for the differential response of estrous cycle and pseudopregnant rabbit uteri to induced infection, Am. J. Vet. Res., 14: 318, 1953.
- 10) Hawk, H. W., Turner, G. D. and Sykes, J. F.: Variation in the inflammatory response and bactericidal activity of the sheep uterus during the estrous cycle, Am. J. Vet. Res., 22: 689, 1961.
- 11) Hawk, H. W., Brinsfield, T. H., Turner, G. D., Whitmore, G. W. and Norcross, M. A.: Effect of ovarian status on induced acute inflammatory responses in cattle uteri, Am. J. Vet. Res., 25: 105, 1964.
- 12) Wira, C. R. and Meritt, K.: Effect of the estrous cycle, castration and pseudopregnancy on *E. coli* in the uterus and uterine secretions of the rat, Biol. Reprod., 17: 519, 1977.
- 13) 館野政也, 西田享子, 黒津幸雄, 保田 隆, 大川 勇: 実験的子宫内感染症ラットの作製とセファロスポリン系薬剤による治療効果について, Chemotherapy, 29: 68, 1981.
- 14) Olitzki, L.: Mucin as a resistance-lowering substance, Bacteriological review, 12: 149, 1948.
- 15) Lambert, H. P. and Richley, J.: The action of mucin in promoting infections: the anti-complementary effect on mucin extracts and certain other substances, Brit. J. exp. Path., 33: 327, 1952.
- 16) 越智勇一, 内田和夫: 家畜の繁殖障害の治療および予防法に関する研究 III. 子宮内膜炎の病因について. 日獣誌, 25: 21, 1963.
- 17) Hertig, A. H. and Gore, H.: Female genitalia. In Pathology, 5th ed. The C. V. Mosby company, 1966.

Production of an experimental model of intra-uterine infection using rabbit

Yohichi Kamata, Hiroshi Matsuda, and Tatsuo Imori

Department of Veterinary Science, College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka, Japan 591

An experimental model of intra-uterine infection was produced using rabbit. A haemolytic *Escherichia coli* (O: 25, H: —) was inoculated

into the lumen of one uterine horn of rabbit, which was ligated at 5 mm anterior of the inner orifice of cervix.

Inoculations were made by syringes in the following 4 different ways.

- | | |
|--------------|--|
| 1) 10^9 | } of <i>E. coli</i> organism, suspended in 1.0 |
| 2) 10^{10} | |
| 3) 10^8 | } of <i>E. coli</i> organism, suspended in 1.0 |
| 4) 10^9 | |

The rabbits injected Human Chorionic Gonadotropin (HCG) showed average 5 corpora lutea (range, 1-7) on the 8th day after HCG injection. Those showed less than 20% infection

positive rate on the 10th day post-inoculation. However, on rabbits injected 50 IU of Pregnant Mare Serum Gonadotropin before HCG 100 IU injection, average 15 corpora lutea (range, 12-18) were found on the 8th day after HCG treatment and the infection positive rate on the 10th day post-inoculation increased significantly, especially in the way of 4), the rate reached to 100%.

On the pathological feature, severe pyometras were often observed; accumulated volume of pus was sometimes over than 20 ml in the inoculated horn, and poly- and mononuclear leukocyte infiltrations were prominent in the endometrium.

(受付: 昭和57年8月9日)

ENZYME HISTOCHEMISTRY ON THE OVARIES OF DOMESTIC ANIMALS

Sanenori NAKAMA

Department of Veterinary Surgery, Faculty of Agriculture,
Yamaguchi University, Yamaguchi City 753

Tatsuo IMORI

Department of Veterinary Surgery and Obstetrics, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture, Sakai City, Osaka 591

Masahiko MORI

Department of Oral Surgery, Gifu Dental College, Hozumi, Gifu 501-02

Abstract: The ovaries of cow, mare, sow, ewe, bitch, cat, and rabbit were examined enzyme-histochemically, and the following findings were obtained.

1) In normal follicles, primordial follicles had almost negative activities in the enzymatic reactions performed. As growing of follicle, the activities of alkaline and acid phosphatases, glucose-6-phosphatase, and ATPase were intense in theca interna of Graafian follicles in these animals except in rabbit which showed high activities in granulosa layer. High activities of glucose-6-phosphate and NADP-isocitrate dehydrogenases and lactate dehydrogenase were also recognized in Graafian follicles of all these animals. The activities of steroid 3β -ol dehydrogenase were more dominant in theca interna than granulosa layer in cow, mare, and sow, and especially in matured follicles of the cat in estrus.

2) In corpora lutea, variable activities were obtained in alkaline phosphatase reaction depending upon the species and the stage of corpus luteum; intense activities were in ewe and sow, trace in cow, and negative in mare, bitch, and cat. Furthermore, corpora lutea of these animals except rabbit showed intense activities of several enzymes including of glucose-6-phosphate dehydrogenase.

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 211-220, 1983)

Introduction

There have been many reports of enzyme-histochemical studies on the ovaries of human and experimental small animals, however only a few works in some restricted species of domestic animals have been reported (Corner, 1948⁴⁾; Foley et al., 1954⁹⁾; Moss et al., 1954¹⁸⁾; Kurata, 1958¹³⁾; Lobel et al., 1968¹⁵⁾; Nakama, 1969²⁰⁾; 1976²¹⁾.

The present study was carried out to clarify the enzyme-histochemical difference in ovarian components of several domestic animals including cow, mare, sow, bitch, cat, and rabbit. The enzymes examined were expediently classified into six groups as fol-

lows, according to each known action of them.

Group I Enzyme localized mainly in mitochondria and concerned with cellular respiration and energy production.

- a) Succinate dehydrogenase (E.C. 1.3.99.1, SDH)
- b) Malate dehydrogenase (E.C. 1.1.1.37, MDH)
- c) NAD-Isocitrate dehydrogenase (E.C. 1.1.1.41, NAD-IDH)
- d) Glutamate dehydrogenase (E.C. 1.4.1.2, GDH)
- e) β -Hydroxybutyrate dehydrogenase (E.C. 1.1.1.30, β -HBDH)

- f) Lipoamide dehydrogenase (E.C. 1. 6. 4. 3, Lipo. DH)
- g) ATPase (E.C. 3. 6. 1. 3, ATPase)
- Group II Enzymes concerned with cellular digestion and catabolism.
 - h) Acid phosphatase (E.C. 3. 1. 3. 2, ACP)
 - i) β -Glucuronidase (E.C. 3. 2. 1. 31, β -Glu-curo.)
- Group III An enzyme whose physiological meaning is unknown, though perhaps being concerned with production of steroid hormones in ovary as well as with cellular multiplication and differentiation.
 - j) Alkaline phosphatase (E.C. 3. 1. 3. 1, ALP)
- Group IV Enzymes concerned with gluco-genesis or glycolysis.
 - k) Glucose-6-phosphatase (E.C. 3. 1. 3. 9, G6Pase)
 - l) α -Glycerophosphate dehydrogenase (E. C. 1. 1. 1. 8, α -GDH)
 - m) Lactate dehydrogenase (E.C. 1. 1. 1. 27, LDH)
- Group V Enzymes concerned with produc-ing NADPH essentially needed for hydroxylation of steroids.
 - n) Glucose-6-phosphate dehydrogenase (E. C. 1. 1. 1. 49, G6PDH)
 - o) NADP-Isocitrate dehydrogenase (E.C. 1. 1. 1. 42, NADP-IDH)
- Group VI An enzyme essential in produc-tion of sex steroid hormones.
 - p) Steroid 3β -ol dehydrogenase (E.C. 1. 1. 1. 51, 3β -ol DH)

For this enzyme reaction, 7 steroids were taken up.

Materials and Methods

The ovaries used in this study were obtained as follows; 22 ovaries of cow (including 2 cases of luteal phase from ovariectomy in clinical field and 18 cases of pregnancy from slaughter house), 16 ovaries of mare (including 3 cases of pregnancy), 16 ovaries of sow (including 2 cases of pregnancy), 4 ovaries of ewe (luteal phase), 18 ovaries of bitch (including 1 case of estrus and 2 cases of pregnancy) and 14 ovaries of rabbit (including 1 case of pregnancy). These ovaries were frozen in a dry ice-jar immediately

after taking out, transported, and then stored in a deep freezer. The materials were cut in 12–18 μ thickness with a sliding microtome in a cryostat at about -18°C . Steroid 3β -ol dehydrogenase reaction was carried out on the ovaries of cow, mare, sow, and cat in this work.

Methods of histochemical demonstration :

The demonstration methods of hydrolytic enzymes and dehydrogenases excluding steroid 3β -ol dehydrogenase were described in previous report (Nakama, 1969²⁰), 1976²¹). The incubation procedures for steroid 3β -ol dehydrogenases were carried out by the Wattenberg's method (1958)³⁰). Steroids used as substrate for steroid 3β -ol dehydrogenase reaction were selected as follows by referring to the report of Goldberg et al. (1964)¹¹).

Steroids: (1) Δ^5 -Androstene- 3β , 17 β -diol, (2) Androstane- 3β , 17 β -diol, (3) Δ^5 -Androstene- 3β -ol, 17-one (DHEA), (4) Androstane- 3β -ol, 17-one (Epiandrosterone), (5) Δ^5 -Pregnen- 3β -ol, 20-one (Pregnenolone), (6) Δ^5 -Androstene- 3β , 17 β -dipropionate, (7) Δ^5 -Androstene- 3β -ol, 17-one-acetate.

The grades of enzyme activity in each preparation were divided into six degree according to Mori's report (1966)¹⁷); negative (–), trace ($\pm$), low (+), moderate ($++$), high ($+++$), and the highest ($++++$). The localization of these enzymes was determined by the color reaction referring to the preparation stained with hematoxylin-eosin solution.

Results

(1) Growing follicle

In the present study, a growing follicle was defined to about 1mm in diameter of the follicle to be able to clarify the granulosa and theca interna layers. The high enzymatic activities were obtained in the theca interna of growing follicles of these animals except in rabbit with alkaline and acid phosphatases and ATPase reactions. On the contrary, in the rabbit, the activities of alkaline and acid phosphatases were strong in the granulosa in spite weak in the theca interna.

The activities of steroid 3β -ol dehydrogenase in growing follicle were relatively low yet in this stage.

Table 1. Enzymatic Activities of Graafian Follicles in Domestic Animals.

Enzymes	Species		Cow		Mare		Sow		Ewe		Bitch		Cat		Rabbit	
	Components		Gr	T.	Gr	Ti	Gr	Ti	Gr	Ti	Gr	Ti	Gr	Ti	Gr	Ti
I	(a)	SDH	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(b)	MDH	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(c)	NAD-IDH	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(d)	GDH	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(e)	β-HBDH	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(f)	Lipo. DH	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(g)	ATP ase	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II	(h)	ACP	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(i)	β-Glucuro	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III	(j)	ALP	-	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
IV	(k)	C 6 Pase	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(l)	α-GDH	-	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	(m)	LDH	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
V	(n)	G 6 PDH	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(o)	NADP-IDH	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VI	Steroid 3β-ol DH															
	(1)	Δ ⁵ -A'stenediol	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(2)	A'stenediol	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(3)	DHEA	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(4)	Epia'sterone	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(5)	Pregnenolone	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(6)	Δ ⁵ -A'stene d.p.	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(7)	Δ ⁵ -A'stene o.a.	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Gr: Granulosa cells, Ti: Theca interna, Grade of activity: -; negative, ±; trace, +; low, ++; moderate, #; high, ##; the highest

(2) Graafian follicle (Table 1)

The activities of alkaline and acid phosphatases in the matured Graafian follicle were high in the theca interna of these animals except rabbit which showed high activity in granulosa but trace in activity in theca interna. The highest activity of alkaline phosphatase also recognized in matured follicles of the cat in estrus. The activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase and NADP-isocitrate dehydrogenase were relatively intense in both granulosa and theca of cow, mare, sow, ewe, and rabbit. In steroid 3β -ol dehydrogenase, high activities in Graafian follicle were recognized in cow where DHEA was used as substrate, while in mare and sow more intense activities were obtained in pregnenolone than DHEA used as substrate.

(3) Atretic follicle

In the atretic follicle, the decline of activities of most enzymes was recognized in these animals. The activities of alkaline and acid phosphatases diminished according to the grade of atresia.

(4) Corpus luteum (Table 2)

The activity of alkaline phosphatase in corpora lutea of these animals varied by species, i. e., in ewe, sow, and pregnant rabbit it was strong, though in other animals, weak or negative. In acid phosphatase reaction, cow showed moderate to strong activities in functional corpus luteum differed from alkaline phosphatase reaction. The activity of β -glucuronidase was strong in functional corpora lutea of all of these species, except rabbit. Glucose-6-phosphatase activity in corpora lutea of these animals was strong, especially in bitch and ewe. The activities of lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase were very high in all these species, and the latter's activities in the pregnant cow and ewe were rather weak than that in the cyclic ones. NADP-IDH activities in the cyclic corpora lutea of cow and mare were strong, but the activities in pregnant ones of these animals were low. The activities of steroid 3β -ol dehydrogenase were varied by the substrates used in these animals, i. e., in cow, when dehydroepiandrosterone, epiandrosterone, and Δ^5 -androstene- 3β -ol, 17-

one-acetate used, they were strong, and in sow pregnenolone and epiandrosterone, in mare and cat Δ^5 -androstenediol, epiandrosterone, and pregnenolone were strong.

(5) Ovarian stroma

Alkaline phosphatase activities in ovarian stroma in the most species were weak except in mare and pregnant rabbit in which they were relatively high. The ovarian stroma of cow showed moderate activity in β -glucuronidase reaction, but in other animals, they were low or trace. The activities of the other enzymes in ovarian stroma of these animals were generally low in both cyclic and pregnant stages except in pregnant rabbit where stroma showed high activities of alkaline phosphatase, lactate, glucose-6-phosphatase, NAD-isocitrate and succinate dehydrogenases.

Discussion

The authors intend to discuss about the enzymatic activity and its meaning in the ovary according to the groups classified in the introduction. In the group I enzymes concerned with cellular respiration and energy production, succinate, malate, and lipoamide dehydrogenases showed high activity in theca interna of Graafian follicles and corpora lutea in these animals. This may reflect the high activation of these cell functions.

Foraker (1953)¹⁰⁾ reported intense activity of succinate dehydrogenase in human lutein cells. Lobel et al. (1968)¹⁵⁾ recognized high activity of succinate dehydrogenase in bovine lutein cell. Velardo et al. (1963)²⁹⁾ suggested the relation between the activity of succinate dehydrogenase and function of corpus luteum.

For group II enzymes concerned with cellular digestion and catabolism, the authors provided two enzymes in this experiment, i. e., acid phosphatase and β -glucuronidase. The activity of acid phosphatase in ovarian follicle was recognized higher in normal follicles than in atretic ones and its localization was very similar to alkaline phosphatase. Deane et al. (1962)⁷⁾ reported high activity of acid phosphatase in atretic follicles than normal follicles of the women. In corpus

luteum, the distribution of acid phosphatase activities in these animals were alike to alkaline phosphatase. Stafford et al. (1947)²⁷⁾ described an increase of acid phosphatase activity in the corpora lutea at mid-term pregnancy of the rat. The present authors consider that acid phosphatase in the ovary may have some roles to cellular function, since a high activity was recognized in mature follicles and functional corpora lutea. Lobel et al. (1968)¹⁵⁾ also described that high acid phosphatase in mature corpus luteum of the bovine could not be interpreted as a sign of incipient degeneration and was more likely to be concerned with the secretory process. The localization of β -glucuronidase was recognized diffusely in these ovaries except rabbit, especially high activity was shown in corpora lutea of bovine, mare, sow, ewe, bitch, and cat. Bulmer (1964)³⁾ reported the activity of β -glucuronidase in germinal epithelium, young corpus luteum and granulosa of follicle in rat, guinea pig, and rabbit. The action of β -glucuronidase is originally a hydrolysis of glucuronides, and the authors consider that the meaning of this enzyme in ovary may be related to metabolism of steroid glucuronides.

Alkaline phosphatase in the group III has been examined in many species of animals by a lot of workers, and concerned with ovary there are many reports since the establishment of the histochemical methods. As well as the present paper, the high activities of alkaline phosphatase have been obtained from theca interna of Graafian follicle in most animals, and from granulosa of the follicle in rabbit and hamster (Jacoby, 1962)¹²⁾. As to the meaning of alkaline phosphatase in ovarian follicle, Corner (1948)⁴⁾ described the relation of this enzyme to lipid metabolism. Nishizuka (1954)²²⁾ considered that this enzyme seemed to be related to endocrine function. Danielli (1958)⁵⁾ proposed that the role of alkaline phosphatase might be concerned with transport of substances acrossing the cell membranes. Pinkerton (1959)²⁴⁾ suggested that alkaline phosphatase might have some roles for estrogen production in the follicle. Malone (1960)¹⁶⁾ reported the relation of alkaline phosphatase to cellular differentiation. The present au-

thors also consider that alkaline phosphatase may have some relations to estrogen production, because the intensity of this enzyme activity was very concomitant with follicular development.

Group IV enzymes (glucose-6-phosphatase, α -glycerophosphate and lactate dehydrogenases) are concerned with glucogenesis or glycolysis. The activities of glucose-6-phosphatase and lactate dehydrogenase were fairly strong in theca interna of Graafian follicle in all animals except rabbit, and in functional corpus luteum. Deane et al. (1962)⁷⁾ and Taki et al. (1966)²⁸⁾ also reported the high activities of lactate dehydrogenase in these tissues of human ovaries. From these findings, the present authors consider that theca interna of Graafian follicle and functional corpus luteum may be in active state of glucogenesis or glycolysis.

In group V enzymes which concerned with producing NADPH to be needed in hydroxylation of steroids, glucose-6-phosphate dehydrogenase and NADP-isocitrate dehydrogenase were taken up in this work. These two enzymes are considered to be important in steroid producing tissues. The activities of glucose-6-phosphate and isocitrate dehydrogenases were particularly strong in corpora lutea in all these species. In Graafian follicle, the activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase varied from species: In Graafian follicle of the cow and rabbit, granulosa had much higher activity than theca interna; in mare, sow, and ewe, both of granulosa and theca interna had intense activity; in bitch and cat, theca interna had predominantly high activity. The authors consider that the species difference of the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in Graafian follicle may be related to the difference of the site of steroid hydroxylation in the follicle. The activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in ovaries has been demonstrated by many workers and the high activities were recognized in corpora lutea, theca interna and granulosa of Graafian follicle in human and several mammals (Deane et al., 1962⁷⁾; Fienberg et al., 1965⁸⁾; Okano et al., 1966²³⁾; Taki et al., 1966²⁸⁾; Pupkin et al., 1966²⁵⁾). The positive sites of the reaction have seemed to correspond well to

those of steroidogenesis in the endocrine organs from the previous reports. Lobel et al. (1968)¹⁵⁾ showed high activities in the theca interna of the bovine follicles which may be considered to relate with estrogen synthesis.

The activity of steroid 3β -ol dehydrogenase, group VI enzyme, was determined by use of seven steroids as substrates. When pregnenolone, which is in Δ^4 -pathway, was used as substrate, the reaction was stronger than that of DHEA in the ovarian tissue of sow, mare, and rabbit. On the contrary, in cow the reaction with DHEA was stronger than that of pregnenolone as substrate. These differences in species may reflect the main pathway of steroidogenesis respectively (Table 1 & 2). Rubin et al. (1963)²⁶⁾ reported the different activities among the species by steroid 3β -ol dehydrogenase reaction. Davies et al. (1966)⁶⁾ studied the activities in the several components of the ovary of different mammals and described the theca interna of the follicle, stroma and corpus luteum as positive sites. Bjersing et al. (1967)²⁾ demonstrated chemically the high activities of steroid 3β -ol dehydrogenase in granulosa of porcine ovarian follicles using biosynthesis techniques *in vitro*. Nakama et al. (1968)¹⁹⁾ have already showed the species differences in steroid 3β -ol dehydrogenase demonstration; i. e., pregnenolone in Δ^4 -pathway was preferred for sow, mare, and cat, however dehydroepiandrosterone in Δ^5 -pathway was preferred for cow as substrate. Aakvaag (1970)¹⁾ clarified the Δ^4 -pathway of steroid formation in porcine ovarian tissues *in vitro*. Lacroix et al. (1974)¹⁴⁾ reported the pathway of steroid formation in cow follicles where the Δ^5 -pathway was predominant route from pregnenolone to androstenedione *in vitro*. The present histochemical findings in the cow and sow seemed to be similar to above the data of biosynthesis *in vitro* experiments.

References

- 1) Aakvaag, A.: Steroid formation in porcine ovarian tissue *in vitro*. Kinetic studies on the 3β -hydroxysteroid dehydrogenase. Acta endocr. (Kbh.) 65, 261, 1970.
- 2) Bjersing, L.: On the morphology and endocrine function of granulosa cells in ovarian follicles and corpora lutea. Acta endocr. Suppl. 125, 1, 1967.
- 3) Bulmer, D.: The histochemical distribution of certain enzymes. J. Anat. (Lond.) 98, 27, 1964.
- 4) Corner, G. W.: Alkaline phosphatase in the ovarian follicle and in the corpus luteum. Carnegie Inst. Washington, Contrib. to Embryol. 32, 1, 1948.
- 5) Danielli, J. F.: General Cytochemical Methods. Vol. 1. ed. by Danielli, J. P. Chap. 8. Academic Press. New York, 1958.
- 6) Davies, J., Davenport, G. R., Norris, J. L. and Rennie, P. I. C.: Histochemical studies of hydroxysteroid dehydrogenase activity in mammalian reproductive tissues. Endocrinology. 78, 667, 1966.
- 7) Deane, H. W., Lobel, B. L. and Romney, S. L.: Enzymic histochemistry of normal human ovaries of the menstrual cycle, pregnancy, and the early puerperium. Amer. J. Obst. Gynec. 83, 281, 1962.
- 8) Fienberg, R., Cohen, R. B.: A comparative histochemical study of the ovarian stromal lipid band, stromal theca cell, and normal ovarian follicular apparatus. Amer. J. Obst. Gynec. 92, 958, 1965.
- 9) Foley, R. C., Reece, R. P. and leathem, J. H.: Histochemical observations of the bovine uterus, placenta, and corpus luteum during early pregnancy. J. Animal Sci. 13, 131, 1954.
- 10) Foraker, A. G., Aguilar-Celi, P. and Denhen, S. W.: Localization of sites of dehydrogenase activity in human ovaries. J. Histochem. Cytochem. 1, 376, 1953.
- 11) Goldberg, B., Jones, G. E. S. and Borkowf, H. I.: A histochemical study of substrate specificity for the steroid 3β -ol dehydrogenase and isomerase system in human ovary and testis. J. Histochem. Cytochem. 12, 880, 1964.
- 12) Jacoby, F.: The Ovary ed. by Zuckerman, S. Vol. 1, Chap. 3. Ovarian histochemistry. Academic Press. London & New York, 1962.
- 13) Kurata, K.: Histochemical study on the animal genital organs. 3. Histochemical observation on the normal animal ovaries. (in Japanese). Shikoku Igaku Zasshi, 12, 323, 1958.
- 14) Lacroix, W. E. and I. Leusen: The biosynthesis of estrogens by cow follicles. Steroids. 23, 337, 1974.
- 15) Lobel, B. L. and Levy, E.: Enzymic correlates of development, secretory function

- and regression of follicle and corpora lutea in the bovine ovary. *Acta endocr.* 59, Suppl. 132, 1968.
- 16) Malone, T. E.: Observations on the histochemical localization of alkaline glycerophosphatase in developing corpora lutea of albino rats. *Amer. J. Anat.* 106, 41, 1960.
 - 17) Mori, M.: Enzyme histochemistry in the Tumors. (in Japanese). Igakushoin Co. (Tokyo), 1960.
 - 18) Moss, S., Wrenn, T. R. and Sykes, J. F.: Some histological and histochemical observations of the bovine ovary during the estrous cycle. *Anat. Rec.* 120, 409, 1954.
 - 19) Nakama, S. and Mori, M.: Histochemical studies of the steroid 3β -ol dehydrogenase in the ovaries of the domestic animals. *Acta histochem. cytochem. (Japan)* 1, 235, 1968.
 - 20) Nakama, S.: Enzyme histochemistry of the bovine ovaries in normal and cystic conditions. *Acta histochem. (East Germany)* 32, 157, 1969.
 - 21) Nakama, S.: Enzyme-histochemical studies on normal and cystic ovaries in the cow and sow., *Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B.* 28, 19, 1976.
 - 22) Nishizuka, Y.: Histological studies on ovaries. Mainly histochemical observations on the ovarian endocrine function. *Acta Scholae Medicinalis Universitatis in Kyoto.* 31, 215, 1954.
 - 23) Okano, K., Matsumoto, K., Koizumi, T., Mizushima, T. and Mori, M.: Histochemical alternations of oxidative enzymes in rodent ovaries under non-pregnancy, pregnancy, through lactation and hormone treated conditions. *Acta histochem.* 25, 12, 1966.
 - 24) Pinkerton, J. H. M.: Oestrogen production in the immature human ovary. *J. Obstet. Gynec.* 66, 820, 1959.
 - 25) Pupkin, M., Bratt, H., Weisz, J., Lloyd, C. W. and Balogh, K.: Dehydrogenases in the rat ovary. I. A histochemical study of Δ^5 - 3β - and 20α -hydroxysteroid dehydrogenases and enzymes of carbohydrate oxidation during the estrous cycle. *Endocrinology.* 79, 316, 1966.
 - 26) Rubin, B. L., Deane, H. W. and Hamilton, J. A.: Biochemical and histochemical studies on Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenases activity in the adrenal glands and ovaries of diverse mammals. *Endocrinology.* 73, 748, 1963.
 - 27) Stafford, R. O., McShan, W. H. and Meyer, R. K.: Acid and alkaline phosphatases in ovarian tissue of the rat during pregnancy and lactation. *Endocrinology.* 41, 45, 1947.
 - 28) Taki, I., Hamanaka, N. and Mori, M.: Histochemical observations of enzymatic patterns in human ovaries. *Amer. J. Obst. Gynec.* 96, 388, 1966.
 - 29) Velardo, J. T. and Rosa, C. G.: *Handbuch der Histochemie* ed by Graumann, W. und Neumann, K., Band 7, Enzyme, 3. Female genital system. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, 1963.
 - 30) Watterberg, L. M.: Microscopic histochemical demonstration of steroid 3β -ol dehydrogenase in tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.* 6, 225, 1958.

家畜の卵巢の酵素組織化学的検索

中間 實 徳

(山口大学農学部家畜外科学教室)

蘭 守 龍 雄

(大阪府立大学農学部家畜外科学教室)

森 昌 彦

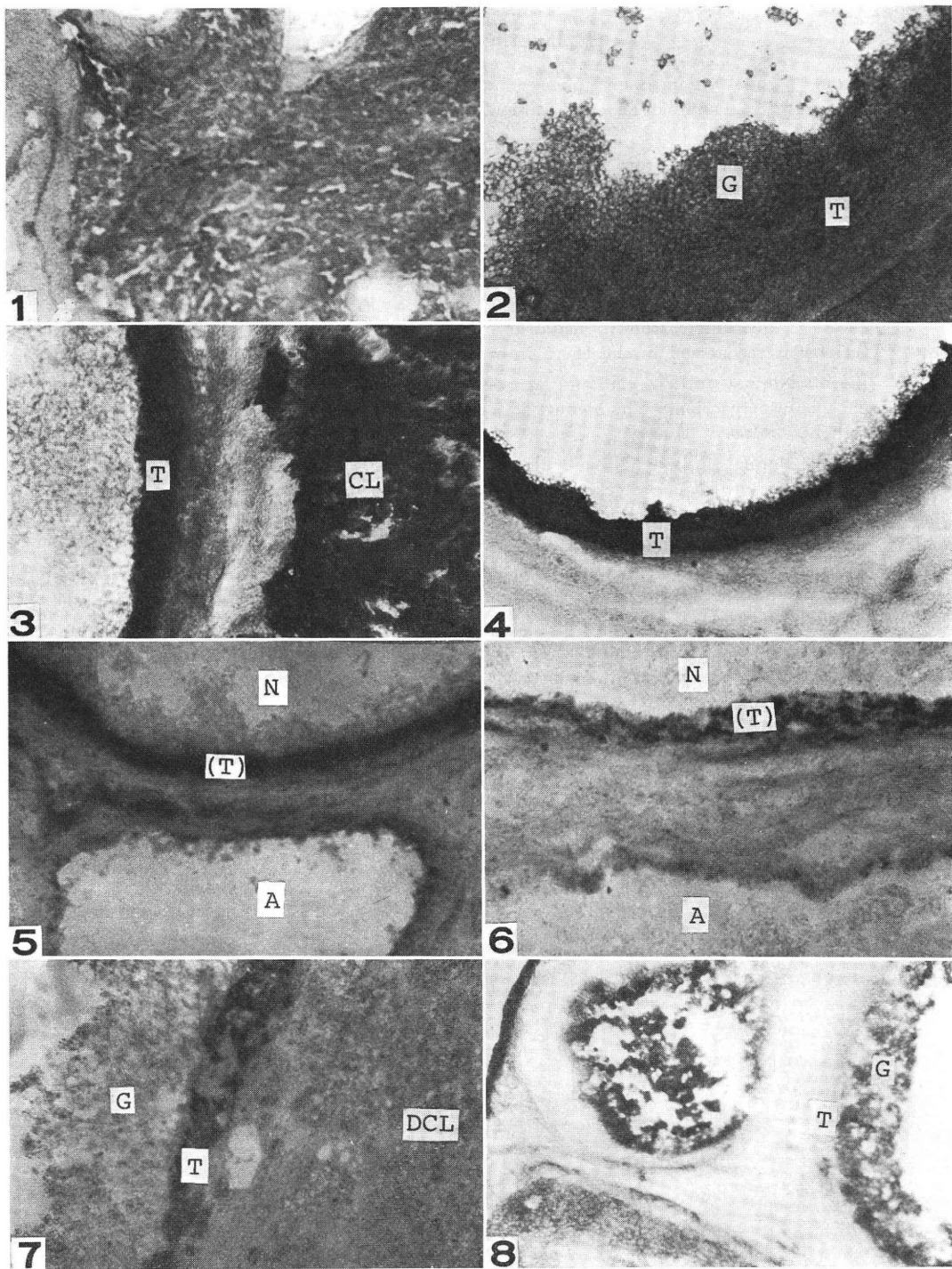
(岐阜歯科大学口腔外科学教室)

牛, 馬, 豚, 羊, 犬, 猫, および家兎の卵巢を酵素組織化学的に検索し, 次のような所見を得た.

1) 正常卵胞: 原始卵胞では用いた組織化学的反応にほとんど陰性であつた. 卵胞が発育するにつれて, アルカリ性フォスファターゼ, 酸性フォスファターゼ, グルコース-6-フォスファターゼおよびアデノシントリフォスファターゼの活性は, グラフ卵胞の顆粒層に強い活性がみられた家兎を除き, ほかの動物では卵胞膜内層に強い活性が認められた. グルコース-6-フォスファターゼと NADP 依存性の脱水素酵素ならびに LDH は, これらすべての動物のグラフ卵胞で強い活性がみられた. Steroid 3β -ol dehydrogenase の活性は, 牛, 馬, および豚では顆粒層よりも卵胞膜内層に強く, とくに発情期の猫の成熟卵胞では顕著であつた.

2) 黄体: 動物種や黄体のステージによつて, アルカリ性フォスファターゼの活性には差異が認められた. すなわち, 羊と豚では強く, 牛では痕跡程で, 馬, 犬, および猫では陰性であつた. さらに, 家兎を除くこれらの動物の黄体では, グルコース-6-フォスファターゼを含むいくつかの酵素の強い活性がみられた.

(受付: 昭和 57 年 9 月 9 日)



Explanation of Figures

- 1) Mare. corpus luteum of pregnancy (about 3 months). Steroid 3β -ol dehydrogenase (substrate: Δ^5 -androstenediol) reaction. High activity is recognized in the lutein cells. $\times 70$.
- 2) Cow. Large follicle from normal ovary. Steroid 3β -ol dehydrogenase (substrate: dehydroepiandrosterone) reaction. Moderate activity is recognized in the granulosa layer (G), and high activity in the theca interna (T). $\times 100$.
- 3) Sow. Large follicle and corpus luteum from normal ovary. Glucose-6-phosphate dehydrogenase reaction. The highest activity is obtained in both the theca interna (T) and corpus luteum (CL). $\times 70$.
- 4) Ewe. Large follicle from normal ovary. Alkaline phosphatase reaction. The highest activity is recognized in the theca interna (T). $\times 70$.
- 5) Bitch. Normal follicle (N) and atretic follicle (A) from normal ovary. Alkaline phosphatase reaction. The highest activity is seen in the theca interna (T) of normal follicle. $\times 100$.
- 6) Bitch. Normal follicle (N) and atretic follicle (A) from normal ovary. Glucose-6-phosphate dehydrogenase reaction. The highest activity is recognized in the theca interna (T) of normal follicle. $\times 100$.
- 7) Cat. Large follicle and degenerated corpus luteum from ovary in estrus. Steroid 3β -ol dehydrogenase (substrate: epiandrosterone) reaction. The highest activity is seen in the theca interna (T) of normal follicle, and low activity in the granulosa (G) and degenerated corpus luteum (DCL). $\times 100$.
- 8) Rabbit. Follicles from normal ovary. Alkaline phosphatase reaction. High activity is recognized in the granulosa layer (G) of normal follicle, but trace activity in the theca interna (T). $\times 70$.

PMSG の静脈注射による家兎の過排卵誘起に関する研究-I.

有効投与量の検討

A Study on Superovulation in Rabbits by
Intravenous Injection of PMSG-I
Estimatation of Effective Dose of PMSG

日本大学農獣医学部獣医生理学教室

佐久間 勇次 金山 喜一
Yuzi SAKUMA Kiichi KANAYAMA

遠藤 克 小林 軍次郎
Tuyoshi ENDO Gunjiro KOBAYASHI

Department of Veterinary Physiology, College of Agriculture
and Veterinary Medicine, Nihon University

日本大学農獣医学部家畜繁殖学教室

佐藤 嘉兵
Kahei SATO

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

交尾排卵動物である家兎の過排卵誘起は、ネズミ、家畜、ヒトなどの自然排卵動物における GTH の一回投与よりも、3～5日間の連続皮下注射が最も有効な方法として行われてきた。PMSG の静脈注射はその LH 様作用により、HCG の静脈注射と同様に排卵を誘起してしまうため過排卵は誘起できないとされてきた。著者らは PMSG の静脈注射後における卵巣の動態を観察しているうちに、一回の静脈注射で過排卵を誘起できることを知ったので、さらに有効確実な投与方法、投与量などについて検討した。

PMSG は、10, 25, 50, 75および100 IU の5試験区、各区5例で静脈内に単一投与し、72時間後に雄と交配した。交配の直後に HCG 75 IU を静脈注射し、48時間後に開腹して、卵巣を観察し、卵管、子宮から卵子を採取した。

その結果、排卵数が15個以上の過排卵とみなす個体は25～75 IU の投与区全例に認められ、25～100 IU の排卵数は34.8, 29.2, 30.4および37.4個であった。従来の過排卵誘起方法では多数の血様濾胞が出現するが、静脈内単一注射法では血様濾胞は10～50 IU 区で2～3個、75～100 IU 区でも6～9個であった。各区の受精率は40～80%であった。

以上のように、家兎の過排卵誘起は PMSG 一回の静脈内注射で可能であることを知った。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 221-224, 1983)

緒 言

性腺刺激ホルモン (GTH) による過排卵誘起は、こ

れまで多くの実験動物、家畜およびヒトなどで試みられており、過排卵処理によつて採卵した卵子は、その多くは正常な卵子であり、体外受精をはじめ卵子に関する

多くの基礎的研究用として供試されている。家畜では過排卵の卵子が家畜の画期的な改良増殖法である受精卵子、すなわち胚移植に用いられており、またヒトにおいても体外受精に用いる卵子は誘起排卵により採取した卵子が用いられている。

交尾排卵動物である家兎の過排卵誘起は、自然排卵動物であるネズミ、家畜およびヒトなどにおける GTH の一回皮下注射による方法よりも、3～5日間連続して GTH を投与する方法が最も排卵数が多い¹⁾⁵⁾、また、交尾排卵動物であるネコにおける過排卵誘起も同様であることを著者(1982)らは報告した⁶⁾。

PMSG の静脈注射は、HCG の静脈注射と同様にその LH 作用によつて排卵を誘起してしまうため過排卵は誘起できないとされてきた。著者らは家兎の耳静脈に PMSG を投与してその後の卵巣の経時的動態について観察しているうちに、PMSG 一回の静脈注射によつて成熟卵胞は排卵してしまうが、その後2～3日を経過した卵巣に排卵可能な多数の卵胞が発育しているのを観察した。投与した PMSG は血中からの消失速度がおそいといわれているように、静脈注射した PMSG が消失するまで、卵巣に持続的に作用したことによるものか、あるいは一過性に Trigger として卵胞を刺激しただけで、その後も卵胞が発育を続け成熟したものであろうと推測される。そこでこれらの多数の成熟卵胞を排卵させることによつて過排卵が誘起できるのではないかと考え、PMSG の静脈注射後、3日目に雄と交配を試みたところ、充分な発情徴候を示し、いづれも雄を許容し交尾したので、さらに HCG を静脈注射したところ期待した過排卵を誘起することができた。この PMSG の静脈内単一注射による新しい過排卵誘起方法として最も有効な投与方法、投与量などについて検討したので、その成績を報告する。

実験材料および方法

供試家兎は、成熟した3.0～3.5kg の日本白色種の雌25頭である。家兎は1頭ずつケージに収容し、飼料は牧草および固型飼料を充分に給与した。

過排卵の処置方法は、PMSG (帝国臓器 KK) を10, 25, 50, 75 および100 IU (各1 ml 中に所定量を含有) を耳静脈より投与し、72時間後に複数の雄と交配し、さらに HCG (帝国臓器) 75 IU (1 ml 中に含有) を静脈注射した。HCG 投与の48時間後に開腹して卵巣を観察し、前回の PMSG 静脈注射の翌日に排卵した古い排卵点数、その後新しく成熟した卵胞が交尾、HCG 静脈注射により排卵した新しい排卵点数、血様濾胞数について観察した。さらに卵管、子宮を灌流して採取した古い未受精卵子数、新しい卵子数、受精率などについて観察した。

実験成績

家兎の PMSG の静脈注射による排卵成績は Table 1 に示すように、卵巣に認められた新しい排卵数15個以上の過排卵とみなす個体は、10 IU 区は5例中2例、25～75 IU 区は全例、100 IU 区は5例中4例に認められた。排卵数は10 IU 区5例の平均は16.4、25 IU 区は34.8、50 IU 区は29.2、75 IU 区は30.4および100 IU 区は37.4個であつた。なお、PMSG の静脈注射の翌日に排卵した古い排卵点は正常排卵数以下の0～8個であり、過排卵とみなす新しい排卵数に加えてはいない。

卵巣の血様濾胞数は、10 IU 区は平均2.4、25 IU 区は2.2、50 IU 区は3.2、75 IU 区は6.2および100 IU 区は8.8個であり、従来の過排卵方法に比べて血様濾胞数は極めて少なかった。

受精率は、受精卵子が認められた個体と全く認められ

Table 1 Ovulatory response by administration of intravenous injection of PMSG in rabbits

PMSG doses (IU)	No. of Anim. examined	No. of Anim. superovulated (%) [*]	No. of ovulation points	No. of blood follicles	No. of Anim. obtained fertilized ova (%)
10	5	2(40.0)	16.4±13.30	2.4±2.51	3/5(60.0)
25	5	5(100.0)	34.8±14.31	2.2±1.48	3/5(60.0)
50	5	5(100.0)	29.2±13.14	3.2±3.56	4/5(80.0)
75	5	5(100.0)	30.4±10.78	6.2±5.60	4/5(80.0)
100	5	4(80.0)	37.4±23.88	8.8±8.35	2/5(40.0)

HCG 75 IU

^{*} ovulated more than 15 ova

なかつた個体の割合を算出すると、10 IU 区は 5 例中 3 例 (60%)、25 IU 区は 5 例中 4 例 (80%)、50 IU 区は 5 例中 4 例 (80%)、75 IU 区は 5 例中 4 例 (80%)、100 IU 区は 5 例中 2 例 (40%) であり、25 例中 16 例に受精が認められたが 9 例からは受精卵子が得られなかつた。

なお、PMSG 静脈注射の翌日に排卵した古い卵子は未分割のまま子宮内に下降しており子宮を灌流して採取した古い卵子数は古い排卵点数と同様に正常排卵の範囲以下の 0 ~ 8 個であつた。なお、この卵子数は交尾刺激・HCG 投与により排卵した新しい卵子数に加えてはいない。PMSG の静脈内単一注射によつて新しく成熟し、排卵した卵子は卵管を灌流して採取したもので、受精卵子と認められる。それらの分割像は 4 ~ 16 分割期の卵子であつた。

これらの成績から、PMSG の静脈内単一注射による家兎の新しい過排卵誘起方法は、過排卵誘起例数、平均排卵数、血様濾胞数などから検討すると、PMSG 50 IU の静脈注射と 72 時間後の交配、HCG 75 IU の静脈注射が有効な方法であるといえよう。

考 察

従来、家兎の過排卵誘起に関する研究は、主に PMSG を用いて検討されてきた。著者 (1956) ら¹⁾は PMSG 40 IU を 5 日間、計 200 IU を皮下注射する方法が有効であり、平均 20 個の排卵が認められることを報告し、その後、石島・佐久間 (1968) ら²⁾は、上記の方法に、PMSG の最終投与日に estradiol 0.1mg を併用する方法により平均 37 個の排卵を認め、排卵数が最も多い方法として広く一般に行われている。しかし、これらの方法では多数の血様濾胞が認められ、また排卵完了時間の遅延、排卵数の個体差、卵子の下降促進など、過排卵誘起に伴ういくつかの問題点が指摘されている。

著者らの、PMSG の静脈内単一注射による新しい過排卵誘起方法によつて、従来の 3 ~ 5 日間の連続投与方法と同様な平均排卵数が得られた。この試験の 25 ~ 75 IU 区の全例に過排卵を認め、また、排卵数の個体差も少なくなり、血様濾胞も 50 IU 区では 2 ~ 3 個にすぎないという良好な成績が得られた。PMSG 静脈注射の翌日に排卵した卵子はすべて未分割卵子であるが、新しい卵胞が成熟して排卵した 25 例中 16 例から得られた卵子はすべて正常な分割像を示す受精卵子であつた。しかし 25 例とも複数の雄と交配していても、9 例から正常な分割像を示す受精卵子は得られなかつた。このように約 1/3 の個体に受精が起こらなかつたことは、卵巣に排卵後の新しい黄体がある場合には受精は阻害されるといわれている

ように、PMSG の静脈注射によつて翌日排卵した排卵点が静脈注射後 3 日目、72 時間後に交配した時期には黄体化を始める時期であつて、その新しい黄体の影響、すなわち黄体ホルモンによつて受精が阻害されたのではないかと推測される。従つて 72 時間以前の交配、あるいは交配の前日に estradiol を投与することなどによつて受精率を高められるかどうか、また、受精を阻害する他の要因などについても十分に検討する必要がある。

従来方法では、当然、排卵してもよいと思われる大きな卵胞が血様濾胞として排卵後の卵巣に多数認められる。この血様濾胞について石島 (1970) ら³⁾は、血液に満たされた卵胞内には赤血球由来の遊離鉄が認められ、顆粒層の損失した囊様血胞と顆粒層が黄体化している黄体化血胞があり、また過排卵処置によつてできた血様濾胞は約一ヶ月後には消失すると述べている³⁾。従来方法では多数の血様濾胞ができるため、排卵後の卵巣機能の正常性が失われ、過排卵処置した家兎は、そのまま飼育しても殆んどが妊娠しないか、また、妊娠しても過剰妊娠は期待できない³⁾。PMSG 静脈注射による過排卵誘起方法では血様濾胞が極めて少なく、従つて、排卵後の卵巣機能の正常性も失なわれていないものと推測されるので、過排卵処置後の妊娠、過剰妊娠の可能性を期待できるといえよう。

以上のように、PMSG の一回の静脈注射という簡便な処置によつて過排卵が誘起できたので、今後さらに、受精卵子が得られない個体が約 1/3 に認められたこと、また受精卵子の培養あるいは移植によるその正常性、PMSG 静脈注射後の交配迄の経過日数、estrogen の併用、HCG の投与量とその必要性、過剰妊娠、反復過排卵、さらに交尾排卵動物のネコ、あるいは実験動物、一般家畜などにおける PMSG 静脈注射の応用性などについて検討を続けてゆきたい。

本研究を遂行するあたり実験に御協力いただいた百瀬正人君に感謝いたします。また、ホルモン製剤を提供くださった帝国臓器製薬株式会社に深謝いたします。

文 献

- 1) 佐久間勇次、安藤三郎、相沢源三郎：家兎の過排卵とその卵子の移植、日本畜産学会東北支部会報、6: 5, 1956.
- 2) Ishida, K. and Sakuma, Y.: Histchemical studies on Blood Follicles of the Rabbit, Jap. J. Fert. & Ster. 7: 151, 1962.
- 3) 石島芳郎、佐久間勇次：家兎の過排卵誘起における Estrogen 前処置の効果、家畜繁殖誌、12: 113, 1967.
- 4) 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 Estro-

- gen 併用の効果, 家畜殖誌, 14: 43, 1968.
- 5) 石島芳郎, 伊藤雅夫, 田 暢洪: PMS による家兎の過排卵誘起による Estrogen 併用の効果 (その2), 家畜繁殖誌, 15: 109, 1969.
 - 6) 佐久間勇次, 山田 均, 矢部勝弘, 金山喜一, 村杉栄治, 斉藤利和, 佐藤嘉兵: 成熟雌ネコの過排卵誘起に関する研究, 東京獣畜誌, 30: 1, 1982.
 - 7) 石島芳郎, 石田一夫: 過排処理による家兎卵巣の組織学的研究, 日不妊会誌, 15: 10, 1970.
 - 8) 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.
 - 9) 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, 日本不妊会誌, 9: 5, 1964.

A study on superovulation in rabbits
by intravenous
injection of PMSG -I
Estimation of effective dose of PMSG

**Yuzi Sakuma, Kiichi Kanayama,
Tuyoshi Endo and Gunjiro Kobayashi**

Department of Veterinary Physiology, College
of Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University

Kahei Sato

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

To induce superovulation in rabbits consecutive
subcutaneous injections of GTH for three to five

days are considered to be more effective than its
single administration as practiced in other animals.

While the changes in the ovary following an
intravenous injection of PMSG were followed up,
it came to our notice that a single intravenous
injection could induce superovulation. So a more
effective and reliable method was explored.

PMSG was intravenously injected into rabbits
as a single dose of either 10, 25, 50, 75 or 100
IU. After 72 hours the rabbits were mated and
intravenously injected with 75 IU of HCG. Then
48 hours later the animals were laparotomized
and the ovaries were examined and ova obtained
from the oviducts and uterus.

As a result, superovulation, or production of
15 ova or more, was noted in all the rabbits
given 25 to 75 IU of PMSG. The mean number
of ova ovulated was 34.8 for the 25 IU group,
29.2 for 50 IU, 30.4 for 75 IU and 37.4 for 100
IU. While the conventional method yields a lot
of blood follicles, they were few in this intraven-
ous injection method; the number of blood fol-
licles was 2 to 3 in the groups given 10 to 50 IU,
and 6 to 9 in the groups given 75 to 100 IU.
The fertilization rate was 40 to 80%.

Thus it was revealed that such a simple method
as a single intravenous injection of PMSG could
induce superovulation in rabbits.

(受付: 昭和57年9月27日)

家兎の gonadotropin 放出機構における catecholestrogen の意義に関する研究

Effect of Catecholestrogen on Gonadotropin Secretion in the Hypothalamo-Hypophyseal Tract

日本大学医学部産婦人科学教室（主任：高木繁夫教授）

村 井 一 郎

Ichiro MURAI

Department of Obstetrics and Gynecology, School
of Medicine, Nihon University
(Chairman; Professor Shigeo TAKAGI)

Estradiol benzoate にて前処置した成熟雌家兎を実験対象に、1) 膣刺激あるいは第3脳室への2-hydroxy-estrone (2-OHE₁): 200, 500, 800 μ g をそれぞれ投与し、LH 分泌に与える影響をみるため、血中 LH 濃度を2抗体 radioimmunoassay により測定し、投与後360分までの推移をそれぞれ比較検討した。

膣刺激排卵群の血中 LH は2つのピークを形成し、30分後に 76.0 ± 18.9 ng/ml, 120分後に 79.0 ± 17.0 ng/ml となり、卵巣の組織学的検索で corpora hemorrhagica を認めた。2-OHE₁ 投与群では血中 LH の上昇を認めるが、500 μ g 負荷で最高となり、30分値: 21.8 ± 7.9 ng/ml, 120分値: 41.0 ± 15.6 ng/ml の2峰性増加を認めたが、前者の膣刺激排卵群と比べてその上昇は少なく排卵の誘発には至らなかった。

2) 第3脳室内への indomethacin 投与が果して上述した2-OHE₁: 500 μ g でみる LH 分泌刺激作用を抑制しうるか否かを検討し、2-OHE₁ 投与後60分まで血中 LH の上昇を抑制した。

したがって以上の成績より、(1) 本実験系で用いた catecholestrogen, すなわち2-OHE₁ はその中枢作用によって gonadotropin 分泌を刺激するが、これらの単独投与によつては排卵を誘発しがたく、また (2) 2-OHE₁ は内因性 prostaglandin (PG) を介して作動する可能性があることを示唆しているものと受取れる。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 225-233, 1983)

結 言

周知のとおり Fishman-派¹⁰⁾によつて始めて分離された catecholestrogen は estrogen のA環の2あるいは4位の水酸化によつて生成される2-hydroxy, 4-hydroxyestrogen (2-OHE, 4-OHE) であり、その後ヒト胎児やラットの中樞神経系でもこの水酸化が起つて catecholestrogen が生成されるとする報告^{11,12)}をみて以来、俄かに注目されるに至つたが、さらにこの物質の内分泌学的興味はむしろ Naftolin ら²⁷⁾による2-OHE₁ (2, 3 dihydroxy-1, 3, 5, (10) estratrien-17-one) の gonadotropin (G) 分泌刺激作用の報告以来のものと思われる。例えば相反する estrogen 作用、すなわち

catecholestrogen の視床下部一下垂体系における estrogen の positive あるいは negative feedback 機構に占める役割り、あるいはGの分泌調節における catecholamine, LH-RH などに関連した estrogen 作用のあり方、あるいは大脳辺縁系における catecholamine と estrogen との媒介体としての意義その他が注目されて来ている。

すなわち最近では catecholestrogen の G 分泌刺激作用^{14,25)}の他Gの分泌抑制作用²²⁾についても検討され、さらに in vitro における脳内水酸化についても多くの研究^{2,3,4,34,35)}をみるに至つたが、依然なお一定の見解が得られるに至っていない。例えば catecholestrogen の G 分泌作用をみた負荷実験においても、G を誘発するとす

るもの、あるいは否定するものなどその報告は区々であり、その理由の一つとして、この estrogen は生化学的に不安定であり、ひいては投与方法においての考慮や blood-brain barrier の通過性の有無などについて考慮もなく行われているためのものと思われる。したがって catecholestrogen がその構造を変えることなく排卵の中枢機構に到達するかなお明らかなり、また性中枢への直接負荷実験^{32,33)}においても 2-OHE₁ についての検討を全く認めがたい状況にある。さらに catecholestrogen 作用の機序を解明するための in vitro 実験、例えば catechol-O-methyltransferase (COMT) による代謝^{1,6,23)}、あるいは estrogen receptor との結合性を求めたものでも^{8,18,23,24)}、その作用の主体が 2-OHE₁ より 4-hydroxyestradiol (4-OHE₂)、2-hydroxyestradiol (2-OHE₂) にある傾向が否定しがたい。よつて著者は 2-OHE₁ を第 3 脳室内へ投与する実験系を計画して、中枢の脳室内直接投与が LH 分泌に与える影響を観察し、次に家兎の腔刺激による排卵誘発作用³⁷⁾を応用して家兎の排卵誘発を試み、その際の血中 LH 分泌パターンと 2-OHE₁ 負荷群でのそれとを比較して、この物質の排卵機構に占める役割りを検討した。

他方 prostaglandin (PG) も亦この機構内で作動^{16,39)}するとされている。例えば PGE₂ は成熟ラットの第 3 脳室内へ投与されると LH-RH 分泌を刺激し^{9,29)}、去勢ラットの G 分泌は indomethacin の前処置によつて抑制²⁸⁾されるとされている。また近年、G 分泌と catecholamine との関連³¹⁾も明らかになり、排卵機構のあり方はますます複雑する一方、catecholamine-PG-G の 3 者間にみる相互関係が漸次明らかにされて来ている。そこで著者は第 2 の目的として、catecholestrogen による G 分泌刺激に及ぼす indomethacin の効果より内因性 PG との関連をみた上、catecholestrogen の作用機序を検討して、若干の知見を得たので報告する。

実験材料と方法

1. 実験動物

実験には体重 2.5~3.5kg の成熟雌家兎 (New Zealand White) を使用し、日照時間は 6:00 AM より 6:00 PM までの 12 時間、室温はほぼ 24°C、湿度 50~65% とし、実験前少くとも 3 週間個々のケージ内で雄家兎と分離飼育した。

2. 実験方法

1) 予備実験 (対照—その 1 群)

周知の如く家兎は交尾による反射性排卵動物であり、また視床下部、海馬に対する電気刺激、LH-RH の下垂体注入、静脈投与、銅塩注射あるいは腔刺激によつても

交尾同様の排卵誘発をみるとされている。さらにその場合の血中 LH レベルは明らかであり、排卵に要する G-surge は概ね 1~2 時間以内に起こるとされている。よつて estradiol benzoate 50 μ g を 3 日間投与した後、交尾排卵類似の腔刺激による排卵誘発を Sawyer ら³⁷⁾の方法を改良して試み、その場合の血中 LH 動態を求めて以下の実験の対照とするため実施した (対照—その 1 群)。すなわちホーリーカテテル (14FR) の先端で最低 5 分間連続的に腔刺激を加えた後、15, 30, 60, 120, 240, 360 分毎にそれぞれ後述する大腿動脈に挿入したカテテルより持続的に採血し、その血清を -20°C にて凍結保存し測定に供した。また排卵の有無については 24~48 時間後に開腹し、卵巢の肉眼的かつ組織学的検索により鑑別した。

2) 実験

(1) 前処置

2-OHE₁ 負荷群では先の腔刺激による排卵群同様、負荷試験前 3 日間一定の時刻 (1:00 PM) に estradiol benzoate の 50 μ g を sesame oil に溶解し投与した。

(2) 第 3 脳室への catheterization 法

第 3 脳室への catheterization はまずステンレスチール製のパイプ (23G) を Sawyer ら³⁸⁾の家兎脳地図に従い、脳定位固定装置により実施した。なお、このチューブは頭蓋骨に埋め込んだビスと共に歯科用セメント (Shofu, Pile B) にて固定し、一端を閉鎖したシリコンチューブにて脳脊髄液の流出を防止した、また以上の操作は atropin sulfate 1.5mg 注射後、sodium pentobarbital (25mg/kg) の麻酔下にて施行し、2-OHE₁ その他の負荷実験はその 4 日後の 1:00 PM より開始した。後述する 2-OHE₁, indomethacin, 生食等の注入にあつては、シリコンチューブからの脳脊髄液の逆流によつて、このチューブの先端が第 3 脳室に到達していることを確認した後、いずれも実施し、実験終了時、すなわち開腹時このチューブよりインジゴカルミンを注入し、開腹して第 3 脳室内壁が青変することを以つて確認した。

(3) 採血法

採血は大腿動脈に挿入したカテテル (先端をカットした栄養カテテル, 5FR, Atom) より行い、投与前、投与後 15, 60, 120, 180, 240, 360 分とした。なおこの操作は Thiamylol sodium 麻酔下で行い、2-OHE₁ 等の投与は麻酔覚醒後施行した。

(4) 本実験

a. 2-OHE₁ 負荷実験群

i) 対照—その 2 群

後述する 2-OHE₁ 投与群と全く同一条件のもとに、第 3 脳室への catheterization を実施した estradiol be-

nzoate 前処置家兎に 2-OHE₁ の溶解に使用した 25 % dimethyl sulfoxide (DMSO) 生食溶液 50 μ l, あるいは生食溶液 50 μ l を 10 μ l/min (Truth infusion pump A-II, Nakagawa) の速度で注入した. また注入時刻は 1:00PM と定め, 注入後の採血, 排卵の有無については, 腔刺激排卵群と同様に処理した.

ii) 2-OHE₁ 負荷群

第 3 脳室への catheterization を実施し, 併せて estradiol benzoate で前処置した雌成熟家兎 (体重: 2.5 ~ 3.5kg) を使用し, 2-OHE₁ (Steraloid inc, USA) の 200, 500, 800 μ g をそれぞれ対照群と同時に catheter より脳室内に投与した. なお 2-OHE₁ は 25% DMSO 生食溶液に溶解し, 全量は 50 μ l, 速度は i) の対照群と同様 infusion pump により 10 μ l/min とし, 投与後の採血, 排卵についても同様に検索した.

b. Indomethacin および 2-OHE₁ 負荷実験

この実験は前述した catecholestrogen の G 分泌誘発が内因性 PG と関連して作用するか否かを追求するためのものである. 従つて先の実験 a-i), ii) の成績を検討した上, 次の如く実施した.

i) 対照—その 3 群

対照群として, indomethacin (Nihon Merch Banyu Co.): 300 μ g/100 μ l を 10 μ l/min の速度で実験 a と同様に処理した雌成熟家兎の第 3 脳室に投与し, 開始 2 時間後同一部位に 25% DMSO 生食溶液 50 μ l を注入した. また同様に生食 100 μ l とその 2 時間後に生食 50 μ l とをそれぞれ投与した. なお 25% DMSO 生食溶液 50 μ l あるいは生食 50 μ l の注入時刻は 1:00 PM とし, 採血その他は実験 a と同様に処理した.

ii) Indomethacin + 2-OHE₁ 負荷群

対照その 3 群と同様な処置を施した雌成熟家兎の第 3 脳室に indomethacin: 300 μ g を注入し, その開始 2 時間後に 2-OHE₁: 500 μ g を実験 a と同様にその同一部位に投与し, 採血した.

3) 家兎の血中 LH 測定法

家兎の血中 LH 濃度の測定は Scaramuzzi ら³⁸⁾の方法を基本とする 2 抗体法 radioimmunoassay で行つた. すなわち標準 LH には家兎標準 LH (Papkoff EX 130 GB, Dr. H. Papkoff, California 大学より提供) を使用し, 被検血清 100 ~ 400 μ l に 0.1% NaN₃, 0.1% bovine serum albumin (BSA) 含有 0.01M phosphate buffer (PH: 7.4) で 25,000 倍に希釈した特異的抗家兎 LH モルモット血清 (NIH, LHS-18 を抗原とし, Dr. 兼松, 岩手大学より提供) を加え, 全量を 900 μ l とし 4°C 24 時間 incubate した. 次に iodination により作製した ¹²⁵I-labeled ovine LH (LER-1056, C₂, Dr. Leo Reichert Jr., Emory 大学より提供) は 2% 正常モルモット血清を添加して上記の phosphate buffer 中に溶解し, その 100 μ l (12,000cpm) を加えて 4°C 72 時間 incubation 後, 第 2 抗体として抗モルモット γ -グロブリン山羊血清 (E, Y laboratories inc, USA): 100 μ l を加え, さらに 4°C 12 時間 incubate した後, 2.0ml の cold phosphate buffer を加え, 3,000rpm 30 分間遠心して上清を吸引後, オートウェルガンマカウンターにてカウントした. また血中 LH 分泌パターンの分析は T 検定により, それぞれその有意差の有無を検討した.

実験成績

1) 予備実験

本予備実験では前述した対照その 1 群, 腔刺激排卵群を含むが, まず対照その 1 群中卵巣に corpora hemorrhagica を認めた家兎 (n=5) ではその血中 LH 濃度は腔刺激 15 分後有意に上昇し, 15 分値: 40.1 $\pm$ 10.8ng/ml (以下同様), 30 分値: 76.0 $\pm$ 18.9 (P<0.01) となるピークを形成し, 120 分後 79.0 $\pm$ 17.0 となり再び上昇する 2 峰性パターンを示した (表 1, 図 1).

2) 本実験—a

本実験成績は前述した如く 2-OHE₁ 負荷群 (実験 a 群) より構成されるが, まず対照—その 2 群では血中 LH 濃度に変動を認めることなく (n=6, 図 2), 2-

Table 1 Sequential serum LH levels (mean $\pm$ SD.) after vaginal stimulation or administrations of 2-OHE₁ in estrogen primed female rabbits

	Control	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min	360 min
Vaginal stimulation	8.8 $\pm$ 0.9	40.1 $\pm$ 10.8*	76.0 $\pm$ 18.9**	33.3 $\pm$ 8.0*	79.0 $\pm$ 17.0**	42.3 $\pm$ 9.0*	25.0 $\pm$ 7.2*	10.0 $\pm$ 2.2
2-OHE ₁ ; 200 μ g	9.4 $\pm$ 1.6	22.6 $\pm$ 8.5*	25.8 $\pm$ 7.3*	16.1 $\pm$ 4.9*	28.3 $\pm$ 10.3*	22.4 $\pm$ 11.7	20.5 $\pm$ 9.8	18.1 $\pm$ 7.6
500 μ g	9.5 $\pm$ 2.1	18.5 $\pm$ 8.2	21.8 $\pm$ 7.9*	16.8 $\pm$ 8.0	41.0 $\pm$ 15.6*	33.0 $\pm$ 9.8*	13.2 $\pm$ 8.5	14.5 $\pm$ 8.7
800 μ g	9.0 $\pm$ 1.1	8.8 $\pm$ 3.3	16.5 $\pm$ 2.5*	10.6 $\pm$ 3.4	7.3 $\pm$ 1.3	10.5 $\pm$ 5.5	5.4 $\pm$ 3.6	9.4 $\pm$ 2.1

Significant increase, *: p<0.05, **: p<0.01

(ng/ml)

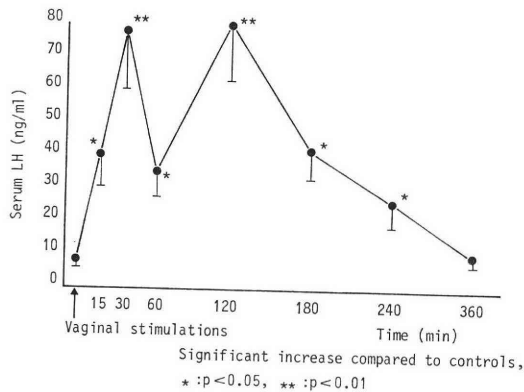


Fig. 1 Effects of vaginal stimulations on serum LH levels in estrogen primed female rabbits (Control-1)

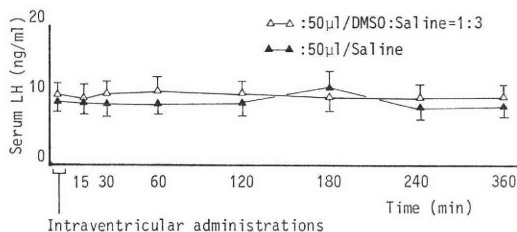


Fig. 2 Effects of administrations of saline or DMSO into the third ventricles on serum LH levels (Control-2)

OHE₁ 投与群のそれでは対照—その2群のそれと比較すると、200 μ g 投与群では7例中4例、500 μ g では7例中5例、800 μ g では7例中3例にそれぞれ対照—その2群の LH 濃度の平均値+標準偏差値以上に LH の上昇を認めた。したがってその動態を分析すると、2-OHE₁: 200 μ g 投与群では血中 LH 濃度が30分後 25.8 ± 7.3 ($P < 0.05$) となり投与前値の約2.7倍に増加し、最初のピークを作り、120分後 28.3 ± 10.3 ($P < 0.05$) となり再び上昇する2峰性パターンを呈したことになる。次に2-OHE₁: 500 μ g 投与群では血中 LH 濃度は30分で 21.8 ± 7.9 ($P < 0.05$) となり軽度上昇し、120分で 41.0 ± 15.6 ($P < 0.05$)、180分で 33.0 ± 9.8 ($P < 0.05$) となり再び増加し、200 μ g 投与群のそれと同一分泌パターンを示した。これに反して800 μ g 投与群のそれでは30分後 16.5 ± 2.5 ($P < 0.05$) となり、投与前値の約1.8倍の増加を示すにすぎなかった。すなわち2-OHE₁: 200, 500 μ g 投与の各群でその血中 LH 動態を求めると投与後30分で第1ピークを示し、120分後再度上昇する2峰性型を示すが、800 μ g 投与群ではその変化に乏しく、また LH 濃度も低値であつた(表1, 図3)。しかし腔刺

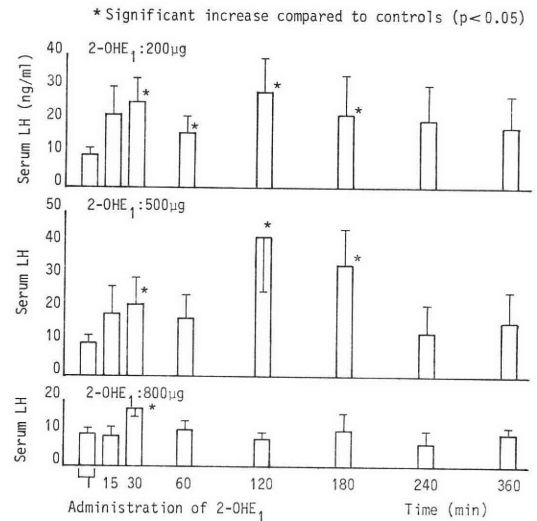


Fig. 3 Comparison of effects of various doses of 2-OHE₁ (200, 500 or 800 μ g) on serum LH levels

激による排卵群のそれと比較すると、2-OHE₁ 投与群ではいずれも血中 LH 濃度の上昇率は少く、また卵巣の組織学的検索所見においても corpora hemorrhagica を認めることができなかった。

3) 本実験-b

この実験成績は indomethacin+2-OHE₁ 投与群よりなるが、まず2-OHE₁ の単独投与群と indomethacin+2-OHE₁ 投与群との LH 動態を比較するにあつては次の如き方法により行つた。すなわち2-OHE₁ を500 μ g 投与した家兎ではそのすべての血中 LH 値よりそれぞれ平均値と標準偏差値とを算出し ($n=7$)、さらに相対する両群の有意差を検定した。その結果 indomethacin+2-OHE₁ 投与群 ($n=8$) の血中 LH 濃度は2-OHE₁

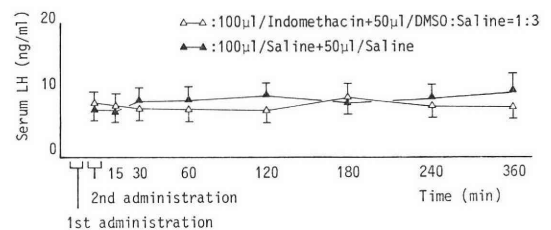


Fig. 4 Effects of administrations of saline, DMSO or indomethacin into the third ventricles on serum LH levels (Control-3)

投与後60分まで低値を持続し、120分後 15.0 ± 10.5 となり軽度上昇するのみであり、2-OHE₁ 単独投与群でみる第1ピークが消失したが ($P < 0.05$)、その他の各時間

Table 2 Time course of serum LH levels (mean±SD.) in estrogen primed female rabbits, administered 2-OHE₁ intraventricularly or without pretreatment with indomethacin

	Control	15min	30min	60min	120min	180min	240min	360min
2-OHE ₁ : 500μg without indomethacin (n=7)	9.5 ±2.3	16.4 ±9.2	19.7 ±8.6	15.3 ±7.2	33.2 ±18.7	27.7 ±13.2	12.4 ±9.6	13.6 ±9.0
2-OHE ₁ : 500 μg with indomethacin (n=8)	9.2 ±1.9	9.4 ±3.7	8.9 ±2.2*	8.2 ±3.6	15.0 ±10.5	11.3 ±9.0	7.5 ±4.1	6.5 ±2.5

(ng/ml)

* Significant suppression, p<0.05, n=15

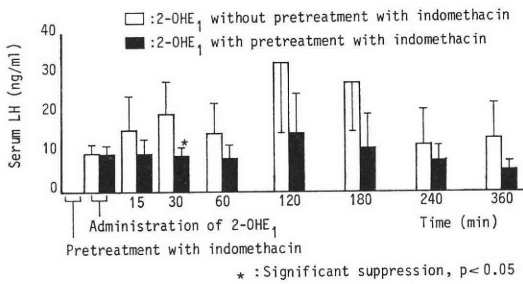


Fig. 5 Comparative effects of administrations of 2-OHE₁: 500μg with and without pretreatment with indomethacin on serum LH levels

群での測定値間においては有意の相違を明らかにすることができなかった(表2, 図5). また以上の対照として実施した対照一その3群(n=6)でも血中 LH 値に変動を認めることができなかった(図4).

考 案

既述の如く, 1975 年 Naftolin ら²⁷⁾は catecholesterol の生理作用について初めて報告したが, 氏は雄ラットへの 2-OHE₁ 皮下投与によつて 6 時間後血中 LH 量の増加をみるとし, また 2-OHE₂ のそれについてもほぼ同様の作用を認める²⁵⁾としている. 以来 catecholesterol のこの作用は 卵巣摘出後 estradiol で前処置した雌ラットにおいても確認され, Gethmann ら¹⁵⁾は LH 分泌に対する estrogen の positive feedback 作用はその主体が catecholesterol による可能性があることを示唆する一方, negative feedback 作用についての可能性に否定的見解を示している. またこの物質の G 分泌刺激作用については下垂体細胞の in vitro 実験¹⁸⁾でも明らかになり, LH-RH 刺激による LH 分泌能は estradiol に比し 2-OHE₁, 2-OHE₂ 添加によつて有意に亢進するとしている. すなわち今日 catecholesterol に関する研究は, その焦点の一つに果して estrogen のもつ positive あるいは negative feedback 機序を解明するための手掛りとなりうるか否かにある. しかし前述した如

く, catecholesterol は多種類あり, また実験の方法論にも隘路が伴い, なお一定の見解を見るに至らぬものの, 現在 pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) による排卵誘発作用に及ぼす catecholesterol, 特に 4-OHE₂, 2-OHE₂ の作用¹⁴⁾については検討されつつある.

次に catecholesterol の産生部位に関して, Fishman ら^{11,12)}, Paul ら^{34,35)}, その他^{2,3)}は視床下部, 下垂体における estrogen の水酸化, すなわち estradiol から catecholesterol への転換があるとし, またその濃度比較においても大脳皮質に比べて下垂体及び視床下部でいずれも高値を示す³⁴⁾としている. したがってこれらの報告より, ヒトを含めて性周期を持つ動物では, 排卵前期に増加する血中 estradiol が中枢神経系に到達した後水酸化を受け, catecholesterol に転換した上, 間脳一下垂体系でその作用を示す可能性がある. しかし従来の G 分泌刺激作用をみるとした多くの実験は catecholesterol を皮下投与としたものであり, そのため果してこれが blood-brarrier を通過するか否か, あるいは構造上の変化を受けることなく中枢に到達し得るか否かが問題である. よつて著者は前述した如き実験系を企画し, 特に性周期を持たない交尾排卵動物の家兎を対象に, 2-OHE₁ でその中枢への作用のあり方を把握するために前述した如き実験を行った.

したがって前述した実験-1), 4)-a の成績より, その成績を解析すると, 交尾刺激に近似する腔刺激の排卵誘発群では, いずれも血中 LH 動態が 2 峰性パターンを示しており, Kanematsu ら¹⁹⁾の交尾排卵時みる血中 LH 動態と全く同一パターンを示している. 因みに氏によるとこの際みられる LH の 2 峰性型上昇は, その第 1 ピークが内因性 LH-RH の作動によるものであるとし, また第 2 ピークは中枢神経系における G 分泌機構の活動によるものとした上, これには中枢神経系に対する各種の刺激, 例えば交尾反射, 化学物質, 電気的刺激に加えて, LH の feedback 作用あるいは卵巣からの progesterin 作用もまた係るものとしている. しかし性周期がなく腔あるいは交尾刺激によつて誘発される家兎排卵

では依然その中枢機構の詳細がなお明らかでない。

次に2-OHE₁の第3脳室内投与実験群で認めた LH 分泌でそのパターンを可及的に明らかにするため、陰刺激排卵群でのそれと比較すると、(1) 2-OHE₁: 200, 500 μ g 投与群と陰刺激排卵群 とにみる LH 分泌はいずれも2峰性パターンを呈するものの、(2) 陰刺激群の LH 分泌パターンでみるその増加率に比べて2-OHE₁ 投与群でのそれは低く、(3) 2-OHE₁: 200, 500 μ g 投与群のみ血中 LH 濃度が近似し、800 μ g 投与のそれでは却って単一ピークを認めることになり、またその値も低下した。したがって2-OHE₁はその投与量を増加することによって却って LH の分泌態様とその比率が異なることになる。また従来の自然排卵動物の皮下投与実験^{15,25,27)}でみる LH 分泌と LH の上昇率及び上昇経過が異なることになる。しかし著者の成績でも従来の報告例と同様2-OHE₁に中枢神経系刺激作用があることを示したそれと受け取れる。他方陰刺激排卵群と2-OHE₁投与群との間にみる LH 分泌のうち、LH 分泌の増加率での相違が、家兎の中枢性排卵機構において、2-OHE₁がたとえG分泌刺激に係わる因子の一つであったとしても、そのみによって必要な排卵有効閾値が得がたいことを示したものと受け取れる。したがって中枢機構における2-OHE₁の LH 分泌作用はその他の排卵誘導関連物質、例えば noradrenalin, PG 等と同様関連因子としての作用を示したもののか、あるいは中枢神経系を介する排卵刺激の感受性の亢進に与っていることになる。さらに2-OHE₁投与後みる LH の2峰性 LH 分泌機序は現在なおその詳細について明らかにしえなかつたが、2-OHE₁投与後30分までにみる LH 上昇の第1ピークは、家兎に LH-RH 投与をした場合の投与後30分までのそれと近似し¹⁷⁾、一方視床下部を介する銅塩刺激においてのそれは投与後30分まで LH 上昇が認めがたく、2時間後最高値に達する²⁶⁾ので、この第1ピークが内因性 LH-RH に係る作動によるものか、あるいは2-OHE₁の直接的下垂体刺激作用によるものであり、また第2の LH ピークについては、2-OHE₁の間脳一下垂体を含めた中枢性排卵機構で一定の LH 誘発作用を示したものと受け取れる。因みに直接中枢神経機構に対する catecholesterogen 作用をみた実験は、現在僅かに Parvizi ら^{32,33)}の報告をみるにすぎないが、氏は去勢雄ミニ豚を対象に、catecholamine が高濃度に存在する扁桃核に2-OHE₂を microinject すると、120~240分後に血中 LH が下降し、一方視床下部内側底部に対するそれでは、120分以内に LH は変動し、個体によっては増加と減少との全く異つた反応をみたとし、2-OHE₂が catecholamine の作用に影響したための結果によるもの

と推定している。

ところで、現在 catecholesterogen 作用については、(1) catecholamine 系を介するとする説、たとえば (a) catecholesterogen は catecholamine と同様 COMT によつて代謝^{1,6,23)}されるため、その存在によつて COMT の減少を引き起こし、そのため catecholamine 代謝が遅延し、その作用の増強と持続が起こるとするもの、(b) catecholesterogen が直接 tyrosine hydroxylase 活性を阻害²¹⁾とする説、また一方では (2) clomiphene 等の anti-estrogen 作用物質と同様、estrogen receptor を介して estrogen と競合作用が起^{8,18,23,24)}るためのものとする説がある。殊に in vitro の実験系で estrogen receptor との競合作用をみたものでは、2-OHE₁より2-OHE₂あるいは4-OHE₂がその作用が遙かに強いとしており、また家兎の視床下部、下垂体ではそのいずれの組織においても、estrogen receptor に対する結合性は2-OHE₂でのそれが2-OHE₁のそれに比し著しい¹⁹⁾。したがって2-OHE₁の LH 分泌刺激作用はこの estrogen receptor を介することなく作働する可能性を示唆することになる。ただ問題は前述した実験で800 μ gの大量投与群でみる成績が少量投与のそれと異なることであり、この場合 LH の分泌刺激作用は却って減弱し、その動態も亦その他のそれと異っている。

次に PG 殊に PGE₂の中枢性作用は、例えばラットその他の第3脳室や視床下部への直接投与実験で、いずれも LH-RH 分泌が促進され、LH の分泌^{9,16,29,39)}が起こるが、逆に抗 LH-RH 血清によつて前処置すると、PGE₂の LH 分泌刺激作用が認めがたいとされており⁷⁾、PGE₂が中枢性排卵機構のなかでは極めて重要な役割りを演ずるものと理解されている。他方 indomethacin は steroid や去勢によつて起こる LH の分泌上昇を抑制するとされる²⁸⁾ので、indomethacin が2-OHE₁の LH 分泌刺激作用を阻害するか否かという問題は、さらに2-OHE₁が内因性 PG を介して作用するか否か、あるいは直接 LH-RH を介したそれであるか否かを段階的に考察するための手段となり、またその成績を解明するためのものである。

よつて著者は実験-b)の実施に際して、始めに Ojeda ら²⁹⁾のラットの第3脳室内への indomethacin 直接投与が、1時間を経た後去勢による LH 分泌を抑制し始めるとすることより、本実験では2-OHE₁投与の2時間前に indomethacin を家兎の第3脳室内に投与し、またその投与量を実験動物の体重比を算出した上、対照一その3群で LH 分泌の変動が起らぬことを前提に比較的多量の300 μ gとした。また2-OHE₁投与量では実験-a)の成績を検討した上、500 μ g を critical dose と定めた。

よつて以上の如く設定した実験-b)の成績を考察すると, indomethacin の投与によつて 2-OHE₁ の LH 分泌刺激作用が抑制を受けたとする成績は, 見方をかえると 2-OHE₁ 作用に内因性 PG が関連していること, またその抑制が 2-OHE₁ 投与後 60 分までが著明であつたので, 2-OHE₁ 単独投与群でみる LH の第 1 ピークは恐らく LH-RH を介したそれであり, LH-RH の作動も亦内因性 PG の関連があることを示したものと受け取れる. さらにまた下垂体からの LH 放出に 2-OHE₁ と内因性 PG とが共軛して作動し, そのため予め前投与した indomethacin によつて LH 分泌が抑制されたものとも考えられる. しかし脳組織の PG 濃度をみると一般に正中隆起で最も高く³⁰⁾, また LH-RH 投与による下垂体での LH 分泌反応が indomethacin によつては阻害しがたい²⁸⁾とするものもあり, さらに発情前期ラットにおける排卵は PG-antagonist によつて抑えられる⁶⁾とするものなど, いずれも実験動物における種属の相違も亦考慮の対象とはなるものの, PG が視床下部領域で LH-RH を介することにより下垂体の G 分泌調節に与かる可能性を示している.

次に indomethacin と 2-OHE₁ 作用との関連については, 従来 indomethacin は PG 生合成の阻害の他, phosphodiesterase 活性を阻害する⁴⁰⁾が, これの作用とは受け取りがたい. さらに indomethacin は従来の報告中に estrogen receptor への抑制効果が認めがたいので, 2-OHE₁ が catecholamine 系を介して内因性 PG と係わり作用をすることになる. さらに Ojeda ら³¹⁾は Catecholamine によつてラットの視床下部正中隆起より PGE₂ が分泌され, またこの PGE₂ によつて LH-RH が分泌されるところとしている. また近年 Kelly ら²⁰⁾は *in vitro* の実験でラット子宮内の PGF_{2α} 産生能は 2-OHE₂ 投与によつて亢進するともしている. 従つてヒトを含めて周期性の排卵動物では, いずれも中枢機構で estradiol より catecholesterogen へ転換し, catecholamine を介してあるいは直接 PG の産生を促進して, cyclic AMP の産生亢進, ひいては LH-RH 分泌を招き, G の分泌を誘発するか,あるいは catecholesterogen が estrogen receptor を介して LH-RH を分泌させる可能性があるものと思われる. 因みに catecholamine あるいは catecholesterogen による PG 産生については, Ojeda らは biogenicamine が非酵素的に PGG₂, PGH₂ などの PG endoperoxide を還元するとし, また Kelly らも 2-OHE₂ は adrenalin と同様それ自身の酸化によつて, PGG から PGH 転換を亢進させるとしている.

稿を終わるに臨み, 御懇切なる御指導, 御校閲を賜りました高木繁夫教授に深甚なる謝意を捧げます. また本研究に御協力下さった田根培講師, 第 5 研究室各員, 帝国臓器神戸川明博士, 早川秀学士, さらに家兎標準 LH, ovine LH, 抗家兎 LH モルモット血清を提供して下さいました Dr. H. Papkoff (California 大学), Dr. Leo E. Reichert Jr. (Emory 大学), 兼松重任博士 (岩手大学, 家畜解剖) に感謝いたします.

文 献

- 1) Ball, P., Knuppen, R., Haupt, M. and Breuer, H.: Interactions between estrogens and catecholamines III. Studies on the methylation of catecholestrogens, catecholamines and other catechol by the catechol-O-methyl-transferase of human liver. *J. Clin. Endocr. Metab.* 34, 736, 1972.
- 2) Ball, P., Haupt, M. and Knuppen, R.: Comparative studies on the metabolism of oestradiol in the brain, the pituitary and the liver of the rat. *Acta Endocr. Copenh.* 87: 1, 1978.
- 3) Ball, P. and Knuppen, R.: Formation of 2- and 4-hydroxyestrogens by brain, pituitary and liver of the human fetus. *J. Clin. Endocr. Metab.* 47: 732, 1978.
- 4) Barbieri, R. L., Canick, J. A. and Ryan, K. J.: Estrogen 2-hydroxylase activity in rat tissues. *Steroids* 32: 529, 1978.
- 5) Botting, J. H., Linton, E. T. and Whitehead, S. A.: Blockade of ovulation in the rat by a prostaglandin antagonist (N-0164). *J. Endocrinol.* 75: 335, 1977.
- 6) Breuer, H. and Köster, G.: Interaction between estrogens and neurotransmitters at the hypophysial-hypothalamic level. *J. Steroid Biochem.* 5, 961, 1974.
- 7) Chobsieng, P., Naor, Z., Koch, Y., Zor, U. and Lindner H. R.: Stimulatory effect of prostaglandin E₂ on LH release in the rat: Evidence for hypothalamic site of action. *Neuroendocrinology* 17: 12, 1975.
- 8) Davies, I. J., Naftolin, F., Ryan, K. J., Fishman, J. and Siu, J.: The affinity of catecholestrogens for estrogen receptors in the pituitary and anterior hypothalamus of the rat. *Endocrinology* 97: 554, 1975.
- 9) Eskay, R. L., Warberg, J., Mical, R. S. and Porter, J. C.: Prostaglandin E₂-induced release of LHRH into hypophysial portal blood. *Endocrinology* 97: 816, 1975.
- 10) Fishman, J., Cox, R. J. and Gallagher, T. F.: 2-Hydroxyestrone: a new metabolite of estradiol in man. *Arch. Biochem. Biophys.* 90: 318, 1960.

- 11) Fishman, J. and Norton, B.: Catecholesterogen formation in the central nervous system of the rat. *Endocrinology* 96: 1054, 1975.
- 12) Fishman, J., Naftolin, F., Davies, I. J., Rayan, K. J. and Petro, Z.: Catecholesterogen formation by the human fetal brain and pituitary. *J. Clin. Endocr. Metab.* 42: 177, 1976.
- 13) Franks, S., Merriam, G., Goodyer, C. G. and Naftolin, F.: Catecholesterogens stimulate LH secretion by dispersed rat pituitary cells in culture. Abstract book, The Endocrine Society 61 Annual Meeting, USA, 302, 1979.
- 14) Franks, S., Ball, P., Naftolin, F. and Ruf, K. B.: Effect of catechol oestrogens on induced ovulation in the immature rat. *J. Endocr.* 86, 263, 1980.
- 15) Gethmann, U., Ball, P. and Knuppen, R.: Effect of 2-hydroxyestrone on gonadotropin secretion in the ovariectomized rat. *Acta Endocrinol. Suppl.* 215: 102, 1978.
- 16) Harms, P. G., Ojeda, S. R. and McCann, S. M.: Prostaglandin involvement in hypothalamic control of gonadotropin and prolactin release. *Science* 181: 170, 1973.
- 17) 加藤秀男, 村井一郎, 田根培, 高木繁夫, 神戸川明, 兼松重任, 他: Gonadotropin 分泌刺激物質に及ぼす indomethacin の影響. *日不妊誌* 25: 361, 1980.
- 18) 加藤秀男, 村井一郎, 田根培, 高木繁夫, 神戸川明他: 間脳・下垂体における receptor level よりみた catecholesterogen の動態. *日内分泌誌*, 57: 576, 1981.
- 19) Kanematsu, S., Scaramuzzi, R. J., Hilliard, J. and Sawyer, C. H.: Patterns of ovulation-inducing LH release following coitus, electrical stimulation and exogenous LH-RH in the rabbit. *Endocrinology* 95: 247, 1974.
- 20) Kelly, R. K. and Abel, M. H.: Catecholesterogens stimulate and direct prostaglandin synthesis. *Prostaglandins* 20: 613, 1980.
- 21) Lloyd, T. and Weisz, J.: Direct inhibition of tyrosine hydroxylase activity by catecholesterogens. *J. Biol. Chem.* 253: 4841, 1978.
- 22) Martucci, C. P. and Fishman, J.: Impact of continuously administered catechol estrogens on uterine growth and luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 105: 1288, 1979.
- 23) Merriam, G. R., MacLusky, N. J., Picard, M. K. and Naftolin, F.: Comparative properties of the catechol estrogens, I: Methylation by catechol-O-methyltransferase and binding to cytosol estrogen receptors. *Steroids* 36: 1, 1980.
- 24) Merriam, G. R., MacLusky, N. J., Johnson, L. A. and Naftolin, F.: 2-hydroxyestradiol-17 α and 4-hydroxyestradiol-17 α , catechol estrogen analogs with reduced estrogen receptor affinity. *Steroids* 36: 13, 1980.
- 25) Morishita, H., Adachi, H., Naftolin, F., Ryan, K. J. and Fishman, J.: Elevation of serum gonadotropins in male rats by catechol estrogens. *Acta Obstet. Gynec. col. Jpn. (Engl. Ed)* 23: 325, 1976.
- 26) 村井一郎, 加藤秀男, 萩原 寛, 小野隆房, 田根培, 高木繁夫, 神戸川明, 兼松重任: 家兎の銅塩排卵における catecholesterogen と prostaglandin との血中動態. *産婦人科治療*, 45: 240, 1982.
- 27) Naftolin, F., Morishita, H., Davies, I. J., Todd, R., Ryan, K. J. and Fishman, J.: 2-hydroxyestrone induced rise in serum luteinizing hormone in the immature male rat. *Biophys. Res. Commun.* 64: 905, 1975.
- 28) Ojeda, S. R., Harms, P. G. and McCann, S. M.: Effect of inhibitors of prostaglandin synthesis on gonadotropin release in the rat. *Endocrinology* 97: 843, 1975.
- 29) Ojeda, S. R., Wheaton, J. E. and McCann, S. M.: Prostaglandin E₂-induced release of luteinizing-hormone releasing factor (LRF). *Neuroendocrinology* 17: 283, 1975.
- 30) Ojeda, S. R., Naor, Z. and McCann, S. M.: Prostaglandin E levels in hypothalamus, median eminence and anterior pituitary of rats of both sexes. *Brain Res.* 149: 274, 1978.
- 31) Ojeda, S. R., Negro-Vilar, A. and McCann, S. M.: Release of prostaglandin Es by hypothalamic tissue: Evidence for their involvement in catecholamine-induced luteinizing hormone-releasing hormone release. *Endocrinology* 104: 617, 1979.
- 32) Parvizi, N., Ellendorff, F.: 2-hydroxy-oestradiol-17 β as a possible link in steroid brain interaction. *Nature* 256: 59, 1975.
- 33) Parvizi, N. and Ellendorff, F.: Recent views on endocrine effects of catecholesterogens. *J. Steroid Biochem.* 12: 331, 1980.
- 34) Paul, S. M. and Axelrod, J.: Catecholesterogens: Prevalence in brain and endocrine tissues. *Science* 197: 657, 1977.
- 35) Paul, S. M., Axelrod, J. and Diliberto, E. J.: Catechol estrogen-forming enzyme of brain: demonstration of a cytochrome p 450 mono-oxygenase. *Endocrinology* 101: 1604, 1977.
- 36) Sawyer, C. H., Everett, J. W. and Green, J. D.: The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J. Comp. Neurol.* 101: 801, 1954.
- 37) Sawyer, C. H. and Markee, J. E.: Estrogen facilitation of release of pituitary ovulating hormone in the rabbit in response to vaginal stimulation. *Endocrinology* 65: 614, 1959.

- 38) Scramuzzi, R. J., Blake, C. A., Papkoff, H., Hilliard, J and Sawyer, C. H. : Radioimmunoassay of rabbit luteinizing hormone : Serum levels during various reproductive states. *Endocrinology* 90 : 1285, 1972.
- 39) Spies, H. G. and Norman, R. L. : Luteinizing hormone release and ovulation induced by the intraventricular infusion of prostaglandin E_1 into pentobarbital-blocked rats. *Prostaglandins* 4 : 131, 1973.
- 40) Whiteous, M. W. : Uncoupling of oxidative phosphorylation by some arylacetic acids (anti-inflammatory or hypocholesterolemic drugs). *Nature (Lond.)* 201 : 629, 1964.

Effect of catecholesterogen on
gonadotropin secretion in
the hypothalamo-hypophyseal tract

Ichiro Murai

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Nihon University
(Chairman ; Professor Shigeo Takagi)

This study was performed to evaluate the effect of 2-hydroxyestrone (2-OHE₁) and the interaction with endogenous prostaglandins (PGs) on luteinizing hormone (LH) secretion in the hypothalamo-hypophyseal axis. Mature female rabbits primed

with estradiol benzoate were divided into 3 groups, group-1) ovulated rabbits induced by vaginal stimulation, group-2) varying doses of 2-OHE₁ were injected directly into the third ventricles stereotactically, group-3) 500 μ g of 2-OHE₁ was administered with or without pretreatment with indomethacin using the same model. Blood samples were serially collected from the femoral artery at pre-selected intervals after each injection and serum LH concentrations were radioimmunoassayed.

Results showed that serum LH levels in group-1 increased significantly at 30 min and 120 min, showing a characteristic double peak pattern. And at the administration of 500 μ g of 2-OHE₁, mean serum LH levels increased significantly at 30 min to 19.7 ± 8.6 ng/ml and 120 min to 41.0 ± 15.6 ng/ml (5/7 rabbits reacted) showing the same pattern as group-1. However, no corpora hemorrhagica were identified microscopically in these rabbits' ovaries.

On the other hand, the stimulatory effect of 2-OHE₁ was suppressed by pretreatment with intraventricular administration of indomethacin.

These results suggest that 2-OHE₁ has a potent effect on LH secretion but less than vaginal stimulation, and may act through the interaction with endogenous PGs in the hypothalamo-hypophyseal tract.

(受付 : 昭和57年11月12日, 特掲)

人為的、生理的排卵抑制後の生殖生理に関する 実験的研究—排卵抑制後における排卵、 妊孕性、黄体および胎仔の検討

Reproduction after Anovulatory Periods caused by
Contraceptives and Pregnancies. I. Experimental
Studies on Ovulation, Fertility, Luteinization
and Embryonic Development.

旭川医科大学産科婦人科学教室（主任：清水哲也教授）

芳賀 宏 光* 林 博 章 山 田 隆 一
Hiromitsu HAGA Hiroaki HAYASHI Ryuichi YAMADA

Department of Obstetrics and Gynecology, Asahikawa
Medical College, Asahikawa
(Director: Prof. Tetsuya Shimizu)

旭川コロニー（CHA）のチャイニーズハムスターを使用し、生理的排卵抑制群（妊娠、分娩、授乳による約40日間排卵抑制）および経口避妊薬投与群（40日間排卵抑制）の第1、第2回復周期の排卵数、未排卵成熟卵胞数、妊娠18.5日における黄体数、着床数、異常胎仔などの観察を行った。避妊薬は Sophia C（帝国臓器）を使用し、最少排卵抑制量200 μ g/dayを経口投与した。

（1）経口避妊薬投与後、第2周期までに正常周期を回復した個体の出現率は生理的排卵抑制群のものより有意に低かった。

（2）両群の第1回復周期では妊娠不成立例が増加し、避妊薬群では特に流産率が高かった。

（3）両群の第1回復周期では排卵時の未排卵成熟卵胞が増加しており、妊娠18.5日の観察では排卵数に比し黄体数が増加していた。これは未排卵成熟卵胞の黄体化によるものと推定される。

（4）両群の第1、第2回復周期における異常胎仔は対照に比し増加していない。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 234-240, 1983)

結 言

妊娠、分娩による生理的排卵抑制後および経口避妊薬などによる人為的排卵抑制後の初回排卵においては、正常周期における排卵とは異なり、卵子の成熟、排卵、黄体形成、妊孕性などに何らかの変化または異常をきたしていることは否定できない。

経口避妊薬中止後6カ月以内に妊娠し、自然流産した胎児の染色体異常に関して、D.H. Carr¹⁾が triploid の

増加を報告しているが、A. Boué²⁾、P. K. Dhadi³⁾らは異常の増加を確認していない。T. Kajii⁴⁾らは人工流産胎児の染色体を検討した結果、経口避妊薬中止後の妊娠における染色体異常の増加は否定できないとしている。

一方、高ら⁵⁾は産褥期における LH-RH テストの反応性の異常を、河上ら⁶⁾は産褥期初発排卵後の高温相短縮を報告しており、生理的排卵抑制後においても排卵機序に何らかの異常をきたしている可能性がある。

そこで、排卵抑制直後の生殖生理を解明するために、

* 旭川赤十字病院 産婦人科

動物実験による排卵抑制モデルを作り、排卵、妊孕性、胎仔その他の異常の有無を検討した。

研究方法

旭川医大生物学教室で飼育している closed colony のチャイニーズハムスター (CHA) を使用したが、実験に用いた動物は生後 5～8 か月で、少なくとも 3 周期以上にわたり 4 日周期であることを確認した処女雌および妊孕性が確認されていた成熟雄である。飼育条件は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 50～60%，14 時間照明（午前 5 時～午後 7 時）である。

4 日周期を保持する無処置群を対照として、妊娠、分娩、授乳による生理的排卵抑制後の第 1、第 2 周期および経口避妊薬中止後の第 1、第 2 周期における排卵数、未排卵成熟卵胞数、黄体数、着床数、正常および異常胎仔数などについて比較検討を行った。

本動物の妊娠期間は 20 日間であり、授乳期間も 20 日間である。分娩後、授乳させておくと平均 22 日で初回排卵をみとめる、本コロニーでは通常、後分娩排卵が起こらないことが確認されている⁷⁾。したがって、妊娠、分娩、授乳による生理的排卵抑制期間は平均 42 日間である。

経口避妊薬は sophia C (norethisterone 20 : mest-ranol 1) を用いた。予備実験により、 $2 \mu\text{g}/\text{day}$ 以下では周期に全く影響をおよぼさず、排卵を完全に抑制させる最少量は $200 \mu\text{g}/\text{day}$ と判明したので、本実験では本動物における最少排卵抑制量 $200 \mu\text{g}/0.05\text{ml}/\text{day}$ の水懸濁液を 1 日 1 回経口投与した。投与期間は生理的排卵抑制期間と同一にするために 40 日間とし、投与開始は estrum の翌日からとした。

なお、妊娠群では分娩後 15 日目から、経口避妊薬群では投与中止翌日から毎日腔垢を観察して性周期の回復率を調査したが、離乳後および経口避妊薬中止後の周期回復までの日数が 11 日を超過した動物は、妊娠および経口避妊薬による排卵抑制以外の要因が入る可能性があるため、今回の実験から除外した。

排卵抑制後の周期における排卵数および未排卵成熟卵胞

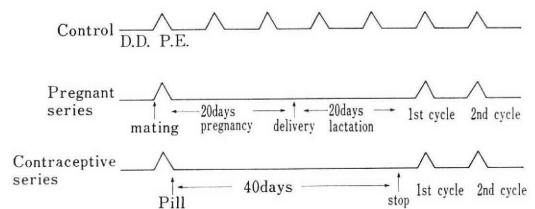


図 1 Two types of the anovulatory period

数は estrum の正午前後に実体顕微鏡下で、卵管膨大部内の卵をとり出し、かつ、卵巢表面に明らかに突出した未排卵成熟卵胞を穿刺して確認した。

妊孕性の調査では、腔垢で proestrus と確認しえた雌を夕方から翌朝まで雄と同居させ、腔栓または精子を確認したものを交尾成功とした。妊娠成功例については妊娠 18.5 日に開腹して、黄体数、着床数、正常および異常胎仔数について検討した。

研究成績

(1) 排卵抑制後の周期の回復

表 1 に示したごとく、妊娠、分娩、授乳による生理的排卵抑制後の初回排卵は分娩後 30 日以内が 92.4%，31 日以上を要したものは 7.6% であったが、第 2 周期においては 98.5% が 4 日周期に回復し、1.5% は 5 日周期であった。一方、経口避妊薬中止後、7 日以内（平均 4 日）に初回排卵をみたものは 88.1%，8 日以上を要したものは 11.9% であったが、第 2 周期が正常 4 日周期に回復したものは 66.4% にすぎず、残り 33.6% は 5 日以上の不整周期であった。第 3 周期において 93.1% がようやく 4 日周期に回復した。つまり、経口避妊薬群は妊娠群に比して正常周期への回復が遅れることが判明した。

(2) 排卵抑制後の妊孕性

すでに述べたごとく、腔垢によって proestrus と確認しえた各群の雌を夕方から翌朝まで雄と同居させ、翌朝、精子または腔栓を認めたものを交尾成功としたが、妊娠群第 1 周期では交尾成功率は 77.8%，経口避妊薬群第 1 周期では 88.9% と、他群に比し、交尾成功率が低下

表 1 Recovery rates of estrous cycle after the anovulatory periods

	pregnant series		contraceptive series	
duration from delivery or stop of administration of pill to 1st ovulation	within 30days	92.4%	within 7days	88.1%
	over 31days	7.6%	over 8days	11.9%
2nd cycle	4 day cycle	98.5%	4 day cycle	66.4%
	5 day cycle	1.5%	over 5day cycle	33.6%
3rd cycle	4 day cycle	100%	4 day cycle	93.1%
			over 5 day cycle	6.9%

表 2 Comparison of fertility after the anovulatory periods

		successful mating	successful pregnancy	abortion
		mating tried	successful mating	successful pregnancy
Control		56/58 (96.6%)	56/56 (100%)	0/56 (0%)
pregnant series	1st cycle	21/27 (77.8%)	21/21 (100%)	1/21 (4.8%)
	2nd cycle	35/35 (100%)	35/35 (100%)	0/35 (0%)
contraceptive series	1st cycle	56/63 (88.9%)	52/56 (92.9%)	5/52 (9.6%)
	2nd cycle	36/39 (92.3%)	36/36 (100%)	0/36 (0%)

表 3 Ovulatory activity after the anovulatory periods

	No. of dams	No. of C. L. (mean)	No. of oocytes recovered (mean)	No. of unruptured mature follicles (%) (mean)
control	164	1212 (7.4)	1209 (7.4)	21 (1.7) (0.13)
pregnant series 1st cycle	44	334 (7.6)	334 (7.6)	47 (12.3) (1.07)
2nd cycle	28	217 (7.8)	217 (7.8)	3 (1.4) (0.11)
contraceptive series				
1st cycle	34	224 (6.6)	224 (6.6)	27 (10.8) (0.79)
2nd cycle	32	235 (7.3)	233 (7.3)	12 (4.9) (0.38)

$$* \frac{\text{No. of unruptured mature follicles}}{\text{No. of C. L.} + \text{No. of unruptured mature follicles}} \times 100$$

する傾向がみられた。

交尾成功例のうち妊娠が成立しなかった例は経口避妊薬群第1周期のみにみられたが(4/56, 7.1%), 他群では交尾成功例は100%妊娠が成立した。妊娠成立後に流産したと確認できたものは、妊娠群第1周期4.8%(1/21), 経口避妊薬群第1周期9.6%(5/52)であり、他群では流産はみとめられない。以上のことから、排卵抑制後の初回周期では妊孕性の異常があると推定される。

(3) 回復周期における排卵と未排卵成熟卵胞の形成
各群における排卵数および未排卵成熟卵胞数は表3に示した。平均排卵数は経口避妊薬群第1周期において6.6とやや減少しているが、残りの各群は7.3~7.8であった。未排卵成熟卵胞数は妊娠群第1周期および経口避妊薬群第1周期において、それぞれ平均1.07, 0.79, 未排卵成熟卵胞率もそれぞれ12.3%, 10.8%と対照および両排卵抑制群第2周期に比し、有意に増加しており、排卵抑制後の初回周期においては未排卵成熟卵胞が増加することが判明した。

(4) 回復周期における妊娠成績

各群の妊娠成績を比較する目的で、黄体数、着床数、正常および異常胎仔、早期吸収卵を調査し、表4に示した。妊娠群と経口避妊薬群の第1周期は以下の各点で対照および両排卵抑制群の第2周期と異なっている。

①妊娠時の黄体数は排卵時開腹における黄体数より増加している(表3, 表4)。つまり、妊娠群第1周期では前者が9.4に対し後者は7.6, 経口避妊薬群第1周期では前者8.0に対し後者は6.6で、ともに有意差をみとめている。残りの各群においては、両者の間に有意差をみとめない。

②着床率(着床数/黄体数×100)は妊娠群第1周期82.5%, 第2周期90.3%, 経口避妊薬群第1周期81.5%, 第2周期91.3%, 対照92.8%であり、両排卵抑制群の第1周期は対照および両群第2周期に比し約10%減少している。

③早期吸収卵率 preimplantation loss $\left(\frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100 \right)$ は対照7.3%に対し、妊娠群第1周期17.6%, 第2周期9.7%, 経口避妊薬群第1周期18.5%, 第2周期8.8%であり、両排卵抑制群第1周期では他群に比し著明に増加している。

なお、平均正常胎仔数および平均異常胎仔数は各々、対照6.1, 0.52, 妊娠群第1周期7.1, 0.75, 第2周期6.6, 0.60, 経口避妊薬群第1周期6.1, 0.40, 第2周期6.2, 0.69であり、各群間に差をみとめない。異常胎仔には早期および中期以降の死亡胎仔、外表奇形胎仔、発育障害胎仔(平均体重の70%以下)などが含まれる。

(5) 早期吸収卵の検討

表 4 Reproductive performance immediately after the anovulatory period, studied on 18.5 day of gestation

	No. of dams	No. of C. L. (mean)	No. of implantationites (mean) (%)	No. of normal fetuses (mean) (%)	No. of abnormalities		
					abnormal conceptuses (mean) (%)	preimplantation loss* (%)	total (%)
Control	56	400 (7.1)	271 (6.6) (92.8)	342 (6.1) (85.5)	29 (0.52) (7.3)	29 (7.3)	58 (14.5)
Pregnant series							
1 st cycle	20	188 (9.4)	155 (7.8) (82.5)	140 (7.1) (74.5)	15 (0.75) (8.0)	33 (17.6)	48 (25.6)
2 nd cycle	35	279 (8.0)	252 (7.2) (90.3)	231 (6.6) (82.8)	21 (0.60) (7.5)	27 (9.7)	38 (17.2)
Contraceptive series							
1 st cycle	48	383 (8.0)	312 (6.5) (81.5)	293 (6.1) (76.5)	19 (0.40) (5.0)	71 (18.5)	43 (17.9)
2 nd cycle	32	240 (7.5)	219 (6.8) (91.3)	197 (6.2) (82.1)	22 (0.69) (9.2)	21 (8.8)	43 (17.9)

* No. of preimplantation loss : No. of C. L. - No. of implantationites

表 5 Comparison of preimplantation loss and unruptured mature follicle

		A : preimplantation loss (%)	B : unruptured mature follicles (%)	A - B (%)
Control		7.3	1.7	5.6
Pregnat series	1st cycle	17.6	12.3	5.3
	2nd cycle	9.7	1.4	8.3
Contraceptive series				
	1st cycle	18.5	10.8	7.7
	2nd cycle	8.8	4.9	3.9

A : preimplantation loss (%) = $\frac{\text{no. of C. L.} - \text{no. of implantationites}}{\text{no. of C. L.}} \times 100$ (表 4 より)

B : unruptured mature follicles (表 3)

A - B = corrected preimplantation loss (%)

妊娠18.5日開腹時における黄体数と着床確認数の差を早期吸収卵 preimplantation loss と仮称することにしたが、これには排卵せず黄体化した卵胞、未受精卵、卵割初期の死亡卵、着床初期に死亡して妊娠18.5日の開腹時には着床を証明しえなかつた卵が含まれているはずである。

各群の排卵時に観察した平均排卵数、未排卵成熟卵胞率、妊娠18.5日における平均黄体数、早期吸収卵率を再検討してみると、すでに述べたごとく、両排卵抑制群の第1周期においては、①排卵時の未排卵成熟卵胞率の増加、②排卵時の平均排卵数に比して妊娠時の平均黄体数の増加、③早期吸収卵率の増加の3点が他群に比し明ら

かに異なっている。

著者らの観察によれば、成熟卵胞のうち、排卵に至らず残された卵胞は妊娠により黄体化する。したがって、先に算出した早期吸収卵率と未排卵成熟卵胞率の差が、実際に排卵後早期に死亡した卵の頻度と考えることができる。そこで、各群における排卵後早期に死亡したと推定される卵の頻度は表5のA-Bのごとく補正される。この補正值では各群間にほとんど差をみとめない。以上のことから、表4において両排卵抑制群第1周期の早期吸収卵が顕著に増加したかのように示された理由は、未排卵成熟卵胞の黄体化によるものであり、妊娠黄体数は必ずしも正しい排卵数を反映するものではないと考えられる。排卵抑制後の初回周期において、排卵に至らずに終わる成熟卵胞が著明に増加する事実、性腺刺激ホルモン、とくに LH 動態の異常を示唆するものとして興味深い。

考 案

著者らの使用したチャイニーズハムスターは、きわめて安定した4日周期を保持し、頻回の腔垢採取によってもその周期を乱すことはなく、腔垢検査によって周期を正確に把握することができる。また、排卵抑制後においても、腔垢検査によって周期の回復状態を正確に観察することが可能である。この点はマウスあるいはラットに代えてチャイニーズハムスターを本実験に用いた理由であり、本実験の特徴ともいべきものである。

成熟雌チャイニーズハムスターに対して、一定期間、排卵を抑制させる方法には vasectomy を行つた雄との交尾による偽妊娠(平均10日間排卵抑制)、妊娠、分娩、授乳による生理的排卵抑制(平均42日間)、および経口避妊薬投与による人為的排卵抑制などがあるが、本実験では後2者による排卵抑制方法を用い、両者を比較することができるように経口避妊薬の投与期間を40日間として、経口避妊薬群と妊娠群の排卵抑制期を同一にした。予備実験では、これらの排卵抑制期間中に、数頭づつを3~4日目ごとに開腹して排卵のないことを確認した。

本動物における経口避妊薬(sophia C)の最少排卵抑制量は200 μ g/day であることはすでに述べたとおりである。成熟雌チャイニーズハムスターの体重は30g 前後であり、200 μ g/day はヒトの体重と比較すれば、ヒトの投与量の100~200倍に相当する。本動物においては、経口避妊薬投与中止後は平均3日間 diestrus が続き、4日目に proestrus、5日目に estrus となる。しかし、腔垢検査では、proestrus が2~3日間持続した後に排卵する例や、7~14日間もしくはそれ以上にわたって周期が回復しない例もあり、経口避妊薬中止後の周期には何

らかの異常を生じていることは明らかである。

経口ステロイド投与中止後の妊娠性に関しては、G. Pincus ら⁹⁾が合成グスターゲンをラットに1回または2週に4回投与した実験で、交尾までに要する日数の増加と、70日間排卵抑制後における交尾成功—妊娠不成立例の増加を報告している。P. Beaconsfield ら¹⁰⁾はラットに norethynodrel 0.25mg/day を120日間投与した後に30日間不妊であつたとしている。岡田ら¹⁰⁾はラット、マウスに ethinodiol diacetate, mestranol を60日間投与し、中止後の妊娠性を観察しており、ラットでは妊娠性の低下と、0.3mg/kg, 1.2mg/kg 投与後における着床数の減少をみとめているが、マウスでは妊娠性、着床数において対照との差をみとめなかつたという。ヒトにおいては、経口避妊薬中止後の月経周期の延長、とくに卵胞期の延長は周知のとおりであり、布川ら¹¹⁾によれば経口避妊薬中止後の初回周期の排卵率は約40%にすぎなかつたという。

著者らのチャイニーズハムスターを用いた実験では、経口避妊薬中止後の初回周期における交尾成功—妊娠不成立の増加、流産の増加、第2周期の正常周期への回復遅延をみとめたが、これらについてはすでに述べたとおりであり、経口避妊薬がもたらす最も顕著な影響といえることができる。一方、経口避妊薬群および妊娠群の初回周期では、他群に比して未排卵成熟卵胞が著しく増加するが、妊娠性低下を含めたこれらの現象から、排卵抑制による卵の成熟過程の異常、LH-surge の異常などが考えられる。P. Beaconsfield ら¹⁰⁾はラットに経口ステロイドを120日間投与し、投与中止後15日目に卵巣から卵を採取して培養した結果、対照では90%が成熟分裂を行い haploid へ移行したのに対し、投与群では50%しか haploid へ移行しなかつたと報告しており、G. Pincus ら⁹⁾のラットを用いた合成グスターゲン投与実験で、妊娠時に黄体数の増加をみた群があつたと報告している。著者らの成績では、妊娠群第1周期では排卵数の増加と未排卵成熟卵胞の増加をみたのに対し、経口避妊薬第1周期では排卵数の増加はみとめず、未排卵成熟卵胞の増加のみが生じていた。これらの原因や妊娠性低下の原因の解明には内分泌学的検討、卵成熟、排卵、受精、卵輸送、着床などに関する詳細な検討が必要であり、著者らは現在、排卵抑制中および抑制後の回復周期における卵胞の動態、LH、FSH、とくに LH-surge の異常の有無について検討を行つている。

排卵抑制後、とくに経口避妊薬中止後の妊娠における胎児または胎仔の異常の増加の有無については緒言でもすでに述べたとく、未解決である。著者らのチャイニーズハムスターによる実験では、妊娠が後期まで継続し

えたものについてだけみれば、少なくとも外表奇形、中期以降の死亡胎仔など異常胎仔の増加はみとめなかった。しかし、流産胎仔の異常の有無については不明である。ヒトの経口避妊薬中止後の妊娠における染色体異常の増加は D. H. Carr¹⁾が報告したとおりであり、T. Kajii⁴⁾も染色体異常の増加は否定しえないとしているが、これを否定する報告も多い。岡田ら¹²⁾は経口避妊薬中止後3か月以内に妊娠した例における新生児奇形は5.1%、4か月以上経過した後に妊娠した例では2.9%、対照1.1%で、中止後3か月以内に妊娠した例の新生児奇形は対照に比し有意に増加していたと報告しているが、結論をだすにはさらに多くの症例数が必要であろう。館野ら¹³⁾は norethisterone acetate 3mg, ethinylestradiol 0.05mg 含有の錠剤を妊娠8日目のマウスに3/40錠、7日間経口投与して、生後5日目に胎仔の観察を行い、胎仔数の減少やその他の異常を報告しているが、これは妊娠中のステロイド投与であり、著者らの成績と比較することはできない。

ヒトにおける分娩後周期の LH-RH テストの反応性の異常および高温期短縮は高ら³⁾、河上ら⁶⁾によつて指摘されており、正常周期とは異つた状態であることは明らかである。チャイニーズハムスターにおいては、妊娠、分娩、授乳による生理的排卵抑制後の初回周期妊娠時の着床数および胎仔数は他群に比しやや増加しているが、異常胎仔数は経口ステロイド投与後の初回周期妊娠時と同様に、対照および両排卵抑制後第2周期との差をみとめない。妊娠群第1周期の未排卵成熟卵胞数および妊娠時の黄体数の増加は経口避妊薬群第1周期と共通した現象である。広井¹⁴⁾はヒトにおいて月経不順周期の妊娠例の奇形発生率を正常周期の妊娠例と比較したが、新生児奇形はそれぞれ2.6%、1.6%であり、有意差はなかったと報告している。

今回の著者らの実験では経口避妊薬の投与量が最少排卵抑制量であり、大量投与による実験では異つた結果をうる可能性もある。いずれにしても、排卵抑制後の回復周期、不整周期における生殖生理に関しては未解決の点が多く、今後の検討を必要とするとはいうまでもない。

(旭川医科大学産婦人科学教室清水哲也教授、同大学生物学教室美甘和哉教授の御指導および同大学生物学教室上口勇次郎助教授、舟木賢治氏の御協力に心から感謝する。本研究成績の一部は厚生省心身障害研究母体外因子研究班報告書(昭和52~54)に報告した。なお、本研究の一部は上記研究班助成金および文部省科学研究費によつた)。

文 献

- 1) Carr, D. H.: Chromosome studies in selected spontaneous abortions, I. Conception after oral contraceptives, *Canad. Med. Ass. J.*, 103: 343, 1970.
- 2) Boué, A. & Boué, J.: Action of steroid contraceptives on gametic material, *Geburtshilfe u. Frauenheilkunde*, 33: 77, 1973.
- 3) Dhadi, P. K., Machin, A. M. & Tait, S. M.: Chromosomal anomalies in spontaneously aborted human fetuses, *Lancet*, II. No. 7662: 21, 1970.
- 4) Kajii, T., Mikamo, K. & de Wattville, H.: Effect of contraceptive pills on human development. A cytogenetic and anatomic study of surgically interrupted abortions, 4th International Congress of Human Genetics, Paris, 1971.
- 5) 高 俊昭: 産褥初発排卵に関する研究, *日本不妊会誌*, 19: 388, 1974.
- 6) 河上征治, 高 俊昭, 松本 茂: 産褥経過とその初発排卵の検討, *産婦世界*, 20: 1029, 1973.
- 7) Kamiguchi, Y. & Mikamo, K.: Induction of postpartum ovulation in the chinese hamster, 第51回日本動物学会(静岡, 1980, 10).
- 8) Pincus, G., Chang, M. C., Zarrow, M. X., Hafez, E. S. & Merrill, Anne: Studies of the biological activity of certain 19-nor-steroids in the female animals, *Endocrinol.*, 59: 695, 1956.
- 9) Beaconsfield, P. & Ginsburg, J.: *Lancet*, March 16: 592, 1968.
- 10) 岡田引二, 東山秀聲: Ethinodiol acetate と mestranol 合剤投与中止後の妊娠と胎仔に及ぼす影響, 母体および胎児に対する外的因子に関する研究, 厚生省心身障害研究母体外因子研究班報告書(昭和54年度, 80ページ)
- 11) 布川 修: 経口避妊薬に関する基礎的並びに臨床的研究, 第23回日産婦北日本連合地方部会特別講演要旨, 1975.
- 12) 岡田引二, 東山秀聲: 経口避妊薬服用後の妊娠に関する研究, 厚生省心身障害研究母体外因子研究報告書(昭和54年度, 28ページ).
- 13) 館野政也, 嶋田久徳: Gestagen-Estrogen 混合剤が妊孕現象, 特に胎仔に及ぼす影響に関する実験的研究, *日不妊学会雑誌*, 15: 376, 1970.
- 14) 広井正彦, 高橋秀幸: 月経不順妊娠に関する疫学的調査, 母体および胎児に対する外的因子に関する研究, 厚生省心身障害研究母体外因子研究班報告書(昭和54年度, 23ページ).

Reproduction after anovulatory periods caused by contraceptives and pregnancies

I. Experimental studies on ovulation, fretility, luteinization and embryonic development

**Hiromitsu Haga, Hiroaki Hayashi
and Ryuichi Yamada**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Asahikawa Medical College, Asahikawa
(Director: Prof. Tetsuya Shimizu)

Prolongation of menstrual cycle, especially of the follicular phase, is known to take place frequently after discontinuing oral contraceptives and also after physiological anovulatory periods (pregnancy-delivery-lactation). It is said that reproductive performance may be affected by altered endocrine activities during such prolonged cycles. As far as we know, however, no work has been done to systematically examine reproductive activities such as ovulation, fertilization, luteinization, implantation and embryonic development, immediately following the artificial and physiological anovulatory periods.

In an attempt to clarify this problem, we studied the reproductive activities of a total of 493 Chinese hamsters, 5-8 months of age, raised in the Asahikawa Colony (CHA). Aqueous suspension of Sophia-C, of which each tablet contains 2.0 mg norethisterone and 0.1 mg mestranol, was administered *per os* as contraceptives to 146 females. The minimum dose of the drug to induce a complete anovulatory period was confirmed to

be 200 μ g/day in our preliminary study. This dose was given to each animal for 40 days to arrest ovulation, the duration of time being the same as that of the anovulatory period in the pregnancy-lactation series (127 females). Mature females of the same age which maintained regular 4-day cycles were used as controls (220 females). Numbers of oocytes in oviducts and ovulation sites in ovaries, as well as that of unruptured mature follicles missing ovulation, were counted in the 1st and 2nd cycles following the anovulatory periods of both series. Surface morphology of corpora lutea, placentae and fetuses on day 18 of gestation were also studied with females mated in the 1st and 2nd cycles.

The results and interpretations of our observations are summarized as follows:

(1) The number of females which recovered a normal 4-day cycle by the 2nd cycle after the anovulatory period was significantly smaller in the contraceptive series than in the pregnancy-lactation series.

(2) The incidence of failure of pregnancy was much higher than usual in the 1st recovery cycle of both series, and that of abortions was increased especially in the contraceptive series.

(3) The number of mature follicles which missed ovulation was increased in the 1st cycle of both series, and an increase of number of corpora lutea was also found on day 18 of gestation. Luteinization of the unruptured mature follicles was thought to be the cause of the latter phenomenon.

(4) There was no significant increase of abnormal fetuses in females mated during the 1st and the 2nd cycles in both series.

(受付: 昭和57年8月5日)

HMG (Humegon®)-HCG 療法による排卵, 妊娠, 新生児の成績と副作用の要因分析

A Summary of Ovulation, Pregnancy and Newborn
Infant with HMG (Humegon®)-HCG Treatment
and Analysis of Factors Influencing
Complication Rate.

大阪大学
倉 智 敬 一*
Keiichi KURACHI

Osaka University

東北大学
鈴 木 雅 洲*
Masakuni SUZUKI

Tohoku University

東京大学分院
小 林 拓 郎*
Takuro KOBAYASHI

Tokyo University Branch Hospital

北海道大学
田 中 俊 誠
Toshinobu TANAKA

Hokkaido University

秋田大学
福 島 峰 子
Mineko FUKUSHIMA

Akita University

東北大学
平 野 睦 男
Mutsuo HIRANO

Tohoku University

新潟大学
佐 藤 芳 昭
Yoshiaki SATO

Niigata University

群馬大学
五 十 嵐 正 雄
Masao IGARASHI

Gunma University

自治医科大学
玉 田 太 朗
Taro TAMADA

Jichi Medical School

丸山記念総合
丸 山 正 義
Masayoshi MARUYAMA

Maruyama Memorial Hospital

慶応義塾大学
飯 塚 理 八
Rihachi IIZUKA

Keio University

東京大学分院
岡 村 隆
Takashi OKAMURA

Tokyo University Branch Hospital

順天堂大学
古 谷 博
Hiroshi FURUYA

Juntendo University

東京大学
水 口 弘 司
Hiroshi MINAKUCHI

University of Tokyo

国立千葉
武 久 徹
Toru TAKEHISA

National Chiba Hospital

関
関 光 倫
Mitsunori SEKI

Seki Clinic

横浜市立大学
植 村 次 雄
Tsuguo UEMURA

Yokohama City University

東海大学
見 常 多 喜 子
Takiko KENJO

Tokai University

北里大学 中 居 光 生 Mitsuo NAKAI Kitazato University	清水厚生 浜 崎 睦 Mutsumi HAMASAKI Shimizu Kosei Hospital	名古屋保健衛生大学 米 谷 国 男 Kunio KOMETANI Fujita-Gakuen University
名古屋大学 成 田 収 Osamu NARITA Nagoya University	一宮市立市民 山 田 幸 生 Yukio YAMADA Ichinomiya City Hospital	市立四日市 藤 牧 秀 隆 Hidetaka FUJIMAKI Yokkaichi City Hospital
金沢大学 富 田 嘉 昌 Yoshimasa TOMITA Kanazawa University	京都大学 高 橋 晃 Akira TAKAHASHI Kyoto University	京都府立医科大学 東 山 秀 聲 Shusei HIGASHIYAMA Kyoto Prefectural University
大阪大学 青 野 敏 博 Toshihiro AONO Osaka University	大阪医科大学 奥 田 喜 代 司 Kiyoshi OKUDA Osaka Medical College	関西医科大学 余 語 郁 夫 Ikuo YOGO Kansai Medical University
神戸大学 片 山 和 明 Kazuaki KATAYAMA Kobe University	岡山大学 秋 本 暁 久 Teruhisa AKIMOTO Okayama University	国立福山 岡 田 悦 子 Etsuko OKADA Fukuyama National Hospital
徳山中央 伊 東 武 久 Takehisa ITO Tokuyama Central Hospital	山口大学 山 下 三 郎 Saburo YAMASHITA Yamaguchi University	徳島大学 森 崇 英 Takahide MORI Tokushima University
九州大学温泉治療学研究所 宇 津 宮 隆 史 Takafumi UTSUNOMIYA Institute of Balneotherapeutics, Kyushu University	長崎大学 石 丸 忠 之 Tadayuki ISHIMARU Nagasaki University	鹿児島市立 中 村 雅 弘 Masahiro NAKAMURA Kagoshima City Hospital

総括 全国の36病院において昭和54年1月から12月までに799例の2,100周期に対して HMG (Humegon®)-HCG 療法を行ない, 排卵, 妊娠および新生児の成績を集計し, とくに166例の妊娠例については各症例の病歴と治療経過を分析した.

症例別および周期別の排卵率はそれぞれ75.0%および68.8%で, 月経異常の程度が軽度なほど高率を示した. 症例別および周期別の妊娠率は排卵成功群の27.7%および11.6%であり, 月経異常の程度が高度なほど妊娠率が高いという成績が得られた. 鶯卵大以上の卵巣腫大を伴う卵巣過剰刺激症候群の発生率は症例別で11.6%, 周期別では5.9%であり, 第1度無月経例に多くみられた.

妊娠例の転帰については流産率が22.3%, 早産率が10.2%と高率であつたが, いずれも多胎妊娠例に多く

認められた。多胎率は21.2%で、3胎以上がその34.5%を占めていた。新生児173例の男女比は101:100であり、生後1週間までに発見された外表奇形率は1.73%であった。

妊娠例の分析から第2度無月経例は第1度無月経例より HMG の使用量が多く、使用期間が長かった。多胎の有無と母体の病歴、治療のスケジュールの間には有意な関係は見られなかった。なお卵巣過剰刺激症候群は単胎妊娠より多胎妊娠に発生しやすい傾向が認められた。

(Jap. J. Fert. Ster. 28(2), 241-251, 1983)

はじめに

我々は先に昭和50年より53年迄の4年間の HMG-HCG 療法による排卵、妊娠成績と妊娠の転帰について報告した⁴⁾、これによれば本療法は高率に排卵、妊娠をもたらすことができる反面、副作用として卵巣腫大などの卵巣過剰刺激症候群が9.6%に認められ、妊娠例の20.2%に多胎が発生することが明らかになった。

卵巣過剰刺激症候群が高度になれば入院加療を要し、多胎妊娠は流産に終る率が高く、妊娠中毒症や貧血などの母体合併症の増加の原因となることが知られており¹⁾、これらの排卵誘発に伴う副作用の軽減は日常臨床の場から強く望まれるところであるが、今日までのところこれに対する確実な方策は見出されていない。

今回全国の36病院の産婦人科が共同で prospective study を行い、昭和54年1月から12月までの1年間の HMG (Humegon®)-HCG 療法による排卵、妊娠および新生児の成績を集計し、とくに妊娠例については病歴、治療スケジュール、治療に対する反応などを記録することができた。この資料をもとにして HMG-HCG 療法による排卵の誘発、妊娠の成立、新生児の所見などを整理するとともに、多胎妊娠と卵巣過剰刺激症候群の発生要因を分析し、副作用の防止策が発見できるかどうかを検討したので、若干の考察を加えて報告する。

対象および方法

1. 対象患者

排卵障害による不妊の治療に HMG (Humegon®)-

HCG 療法をよく実施している表記の36病院が共同で調査を行った。病院の内訳は大学病院が27施設(75%)、官公立病院などが9施設(25%)で、地域的には北海道から鹿児島まで全国的に分布している。

調査の対象は昭和54年1月から12月までの1年間に上記の病院で HMG-HCG 療法を受けその記録が正確に保存されている症例で、合計799例の延べ2,100治療周期が集計され、妊娠例は166例であった。月経異常の種類別にみると第2度月経が341例(42.7%)と最も多く、次いで第1度無月経の214例(26.8%)、希発月経が126例(15.8%)、無排卵周期症が118例(14.8%)である。

2. 調査方法

排卵、妊娠に関する調査としては月経異常の種類別に HMG-HCG 療法の施行症例数(周期数)、排卵症例数(周期数)、妊娠症例数(周期数)、卵巣過剰刺激症候群の発生病例数(周期数)などについて調査した。一方妊娠例については個人票を作製し、流産数、早産数、胎児数、出生児の性別、体重、奇形の有無などを記録した。また多胎妊娠や卵巣過剰刺激症候群の発生と関連して患者の病歴、治療のスケジュール、治療時の卵巣の反応などについても調査、分析した。

成 績

A. 排卵、妊娠成績、および新生児所見

1. 排卵、妊娠成績

月経異常の種類別に HMG-HCG 療法を行った例数(周期数)、排卵成功例数(周期数)、妊娠成功例数(周期数)とそれぞれの百分率を表1に示した。799例の症

表1 月経異常の種類別の HMG-HCG 療法による排卵率および妊娠率

月経異常	治療数		排卵成功数		妊娠成功数	
	症例数	周期数	症例数(%)	周期数(%)	症例数(%)	周期数(%)
第2度無月経	341	889	200(58.7)	495(55.7)	77(38.5)	77(15.6)
第1度無月経	214	645	182(85.0)	466(72.2)	56(30.8)	56(12.0)
無排卵周期症	118	274	97(82.2)	209(76.3)	19(19.6)	19(9.1)
希発月経・その他	126	292	120(95.2)	265(90.6)	14(11.7)	14(5.3)
合 計	799	2,100	599(75.0)	1,435(68.3)	166(27.7)	166(11.6)

() 内は排卵率および妊娠率

表 2 月経異常の種類別の卵巣過剰刺激症候群の発生率

月経異常	治療数		卵巣過剰刺激症候群発生数			
	症例数	周期数	症例数 (%)	χ^2	周期数 (%)	χ^2
第2度無月経	341	889	21 (6.2)	$\chi^2=26.3$ ($p<0.001$)	28 (3.1)	$\chi^2=33.6$ ($p<0.001$)
第1度無月経	214	645	45 (21.0)		68 (10.5)	
無排卵周期症	118	274	16 (13.6)	—	17 (6.2)	—
希発月経・その他	126	292	11 (8.7)	—	11 (3.8)	—
合 計	799	2,100	93 (11.6)	—	124 (5.9)	—

() 内は発生率

表 3 月経異常の種類別にみた妊娠の転帰

月経異常	妊娠例数	流産例数 (%)	分娩例数			
			早産数 (%)	正・過期産数 (%)	不明 (%)	合計 (%)
第2度無月経	77	13 (16.9)	9 (11.7)	55 (71.4)	—	64 (83.1)
第1度無月経	56	18 (32.1)	8 (14.3)	30 (53.6)	—	38 (67.9)
無排卵周期症	19	4 (21.1)	—	15 (78.9)	—	15 (78.9)
希発月経・その他	14	2 (14.3)	—	11 (78.6)	1	12 (85.7)
合 計	166	37 (22.3)	17 (10.2)	111 (66.9)	1 (0.6)	129 (77.7)

() 内は妊娠例数に占める割合

表 4 単胎および多胎妊娠別の妊娠の転帰

胎児数	流産例数	分娩例数				合計 (総症例数に) 対する %
		早産数	正・過期産数	不明	分娩数計	
単 胎	4 (3.7)	6 (5.6)	97 (89.8)	1 (0.9)	104 (96.3)	108 (78.8)
多 胎 計	4 (13.8)	11 (37.9)	14 (48.3)	—	25 (86.2)	29 (21.2)
双 胎	0	6	13	—	19	19 (13.9)
3 胎	4	1	1	—	2	6 (4.4)
4 胎	0	3	0	—	3	3 (2.2)
5 胎	0	1	0	—	1	1 (0.7)

() 内は妊娠例数に占める割合

例に対して2,100周期の治療を行っており、1症例あたり平均2.6周期の治療を受けたことになる。

症例別の排卵率は第2度無月経の58.7%から希発月経の95.2%に向つて、ほぼ月経異常の程度と平行して上昇しており、全体としては799例中599例 (75.0%) が排卵した。周期別の排卵率は各群とも症例別の排卵率よりやや低く、全体として2,100治療周期中1,435周期 (68.3%) に排卵が認められた。

妊娠率は妊娠数を排卵成功数で除して算出したが、症例別の妊娠率は希発月経の11.7%から第2度無月経の38.5%と月経異常の程度に逆比例して高率となり、全体として599例中166例 (27.7%) であった。総治療例799例に対する妊娠率は20.8%となる。周期別の妊娠率も同

様の傾向が認められ、全体として11.6%であったが、総治療周期数に対しては7.9%となる。

2. 卵巣過剰刺激症候群

HMG-HCG 療法により卵巣が鶯卵大以上に腫大したものを過剰刺激症候群として集計し表2に示した。月経異常の種類別では第1度無月経が症例別21.0%、周期別10.5%ともつとも高率に発生しており、第2度無月経がそれぞれ6.2%および3.1%ともつとも低率であった。両群の差は0.1%以下の危険率で有意であった。全体として症例別では11.6%、周期別では5.9%に発生したことになる。

3. 妊娠の転帰

a) 出産の時期

表 5 単胎および多胎妊娠別の新生児の性比

胎児数	男児	女児	合計	男女比
単 胎	57	46	103	124 : 100
多 胎	30	40	70	75 : 100
合 計	87	86	173	101 : 100

妊娠の成立をみた 166 例につき月経異常の種類別に転帰を表 3 に示した。妊娠満 24 週未満で流産に終わったものが 37 例 (22.3%) あり、なかでも第 1 度無月経では 32.1% と高率であつた。早産は 17 例 (10.2%) に認められ、正期または過期出産が 111 例 (66.9%) あつた。

b) 胎児数

137 例について胎児数が確認できたが、単胎妊娠が 108 例 (78.8%) を占め、多胎妊娠が 29 例 (21.2%) あつた (表 4)。多胎妊娠のうちでは双胎が 19 例 (65.5%) ともっとも多かったが、3 胎以上が 10 例 (34.5%) もみられたのが注目された。なお胎児数と流産率の関係を調べてみると、単胎妊娠では流産率が 3.7%、早産率が 5.6% と低いが、多胎妊娠では流産率が 13.8%、早産率が 37.9% と高率であつた。

4. 新生児の所見

a) 性比

173 例の新生児について単胎、多胎別の性比を表 5 に示した。単胎児では男女の比が 124 : 100 とやや男児が多かつたが、多胎児ではこの比が 75 : 100 と女児が多く、両者を合わせると性比は 101 : 100 とほぼ均衡していた。

b) 出生時体重

出生時の児体重を確認しえた 164 例について、妊娠週数と単胎または多胎の別に図 1 に体重をプロットした。単胎児の体重は大部分が 10~90 パーセントイルに含まれていたが、多胎児は 10 パーセントイル以下のものが 18 例中 15 例 (83.3%) もあることが注目された。児の出生時期および胎児数別に平均体重を算出し、表 6 に示した。早産および正・過期産とも単胎児の体重が多胎児の体重より有意に ($P < 0.001$) 重く、単胎および多胎はともに正・過期産児の体重が早産児に比し、当然のことながら有意に ($P < 0.001$) 重かつた。正・過期に出生した単胎

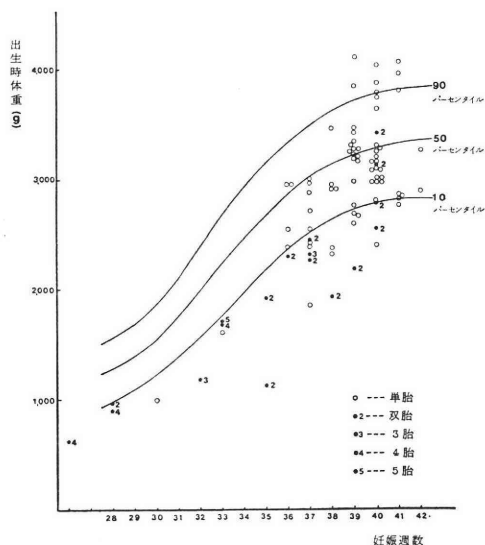


図 1 出生児の妊娠週数別および胎数別の体重の分布

本曲線は、昭和 56 年度厚生省妊婦管理研究班の研究による。研究者：鈴木雅洲・佐藤 章・山辺紘猷・赤間正弘

児の平均体重を厚生省のまとめた平均体重と比較すると、男児の $3,069 \pm 484\text{g}$ は $3,230\text{g}$ に比しやや低かつたが、女児の $3,175 \pm 388\text{g}$ は $3,160$ と殆んど差がなかつた。

c) 奇形

出生後 1 週間までの観察により新生児の外表面奇形の有無とその種類を調査したところ、173 例中 3 例 (1.73%) に奇形が発見された。その内訳は兔唇、臍帯ヘルニアおよび先天性股関節脱臼が各 1 例であつた。これらの奇形は大浦の分類に従うといずれも大奇形に分類される。この 3 例はすべて単胎妊娠により出生した児であつた。

B. 妊娠例の分析

妊娠例 166 例については個人別の記録が得られているので、その成績を項目別に分析した。

1. 病歴

妊娠した婦人の年齢分布は 25~29 歳が 57.8% ともつと

表 6 出生の時期別および胎数別の出生児の平均体重

分娩時期	単 胎		多 胎		合 計	
	体重 (g)	児数	体重 (g)	児数	体重 (g)	児数
早 産	$2,236.7 \pm 784.5$	6	$1,348.1 \pm 535.7$	32	$1,488.4 \pm 656.9$	38
正・過 期 産	$3,115.8 \pm 445.1$	97	$2,559.5 \pm 471.2$	29	$2,987.8 \pm 507.1$	126
合 計	$3,064.6 \pm 509.4$	103	$1,924.0 \pm 789.9$	61	$2,640.4 \pm 835.4$	164

表 7 月経異常の種類別の HMG の平均投与量および投与日数

月経異常	HMG 療法			不明	妊娠例合計
	症例数	平均投与量 (IU)	平均投与日数		
第2度無月経	76	2,007.2±934.4	10.2±3.4	1	77
第1度無月経	56	1,400.4±770.3	8.5±3.3	—	56
無排卵周期症	18	1,091.7±571.3	7.1±3.3	1	19
希発月経, その他	14	873.2±535.7	6.2±3.3	—	14
合 計	164	1,602.7±907.6	8.9±3.6	2	166

も多く, 次いで30~34歳の27.7%が続き, 20~24歳はわずかに6.5%しかいなかった。不妊期間は1年未満が4.4%と少なく, 1~2年が17.6%, 2~3年が19.5%, 3~4年が11.9%, 4~5年が15.7%とほぼ平等に分布し, 5年以上のものが30.8%も認められた。

過去の治療歴としては97例が HMG-HCG 療法, 78例が clomiphene citrate (Clomid®) 療法を受けており, 前者は1~3周期, 後者は3~5周期治療を受けたものが多かった。

2. 治療スケジュール

月経異常の種類別に妊娠に至った周期の HMG の平均投与量と投与日数を表7に示した。月経異常が高度なほど HMG の投与量, 投与日数とも増加する傾向があり, とくに第2度無月経は第1度無月経に比し有意に ($P<0.001$) HMG の投与量が多いことが分った。全体の平均 HMG 投与量 ($\pm$ SD) は1,602.7±907.6IU であった。

排卵を誘発するための HCG の平均投与量 ($\pm$ SD) は15,672±9,642IU を2.6±1.6日間に投与しており, 各月経異常の間には有意な差はみられなかった。なお HMG-HCG 療法の併用薬として, clomiphene citrate が42例に, bromocriptine が4例に, 副腎皮質ホルモンが3例に, cyclofenil と LH-RH が各1例に使用されていた。

3. 卵巣の反応性

HMG により卵巣を成熟させ HCG に切替える際の頸管粘液量の分布を図2に示した。300~399mm³ のものが36.2%と最も多く, 次いで400~499mm³ のものが17.4%であった。300mm³ 未満のものも28.2%に認められた。牽糸性は10~18cm のものが68%と多く, 20~50cm のものが21.3%にみられた。羊歯状結晶形成度は3度が76.9%, 2度が13.3%あり, 両方で90%以上を占めていた。

C. 多胎妊娠例の分析

胎児数の確認された妊娠例について retrospective に多胎妊娠の要因を見出すために, 病歴, 治療スケジュー

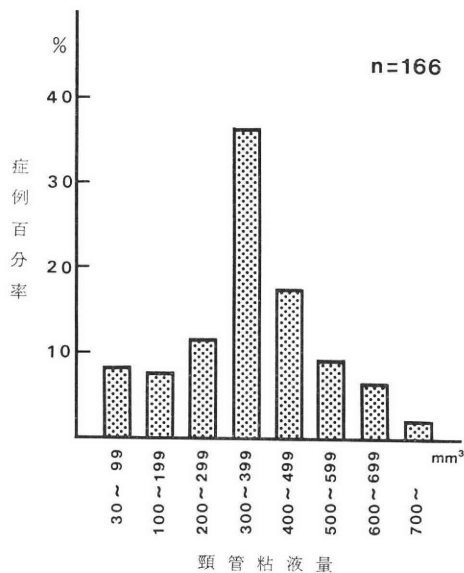


図2 妊娠に至った症例の HMG から HCG に切替えた際の頸管粘液量の分布

ルおよび治療に対する卵巣の反応性を検討した。

1. 病歴

妊娠時の母親の年齢が多胎の発生と関係するかどうかを137例について調査した。単胎妊娠であった108例の平均年齢28.7±3.4歳は, 多胎妊娠であった29例の28.6±3.2歳と差がなかった。20歳から39歳まで5歳毎に区切った各年代と多胎率の間にも有意な関連はみられなかった。

月経異常の種類別に多胎率をみると, 第2度無月経および第1度無月経はそれぞれ23.5%および25.0%であったのに対し, 無排卵周期症および希発月経は6.2%および15.4%とやや低率であった。しかし両群間の差は有意ではなかった。

2. 治療スケジュール

HMG の投与量と多胎妊娠の関係を探るために, 平均投与量と平均投与日数を算出した。単胎群の108例は1,532±819IU を8.5±3.4日間に投与されたのに対し,

多胎群の29例は $1,831 \pm 1,179\text{IU}$ を 9.8 ± 4.1 日間に投与されており単胎群に比し投与量がやや多かったが有意の差ではなかった。総投与量を $1,500\text{IU}$ 以下と $1,501\text{IU}$ 以上に分けて多胎率をみると、前者の18.9%に対し後者は24.2%で、有意差はなかった。また HMG の投与日数が10日以下の18.8%と11日以上27.5%の間にも統計的な差はみられなかった。HMG の初期1日投与量別に多胎率の変動を調べたが、 75IU から 300IU までの各量で殆んど変りがなかった。

排卵誘発のための HCG の平均総投与量と平均投与日数は単胎群では $15,916 \pm 10,153\text{IU}$ が 2.5 ± 1.3 日間にわたって投与されたのに対し、多胎群では $15,310 \pm 7,036\text{IU}$ が 2.6 ± 2.1 日間にわたって投与されており、両者間には差がみられなかった。投与日数が2日以下の多胎率24.0%と3日以上18.0%の間にも有意差がみられなかった。

3. 卵巣の反応性

HMG から HCG に切替える際に採取した平均頸管粘液量を妊娠胎児数別にみると、単胎群が $321 \pm 155\text{mm}^3$ に対し、多胎群が $373 \pm 180\text{mm}^3$ で両者間に有意差はなかった。同時期の血中 estrogen 値が21例で測定されていたが、その平均値は単胎群が $622.8 \pm 320.5\text{pg/ml}$ 、多

表 8 卵巣過剰刺激症候群の発生の有無と多胎妊娠の発生率

卵巣過剰刺激症候群	単胎数(%)	多胎数(%)	合計(%)
有	19(67.9)	9(32.1)	28(100)
無	89(81.7)	20(18.3)	109(100)
合計	108	29	137

胎群が $803.3 \pm 360.3\text{pg/ml}$ であり、後者がやや高いようであるが有意差はなかった。

治療により卵巣過剰刺激症候群を起こした28例と起こさなかった109例について多胎妊娠の発生率を比較したところ、過剰刺激症候群を起こした群の32.1%は、起こさなかった群の18.3%より高い傾向を示したが有意差はみられなかった(表8)。

D. 卵巣過剰刺激症候群発生例の分析

妊娠の成立した166例中卵巣過剰刺激症候群が38例(22.9%)と高率に認められたので、その発生に関与すると思われる各種の要因を分析した。

1. 病歴

まず年齢と本症候群の発生率の関係を調べたところ、発生した群の平均年齢 27.7 ± 2.7 歳は発生しなかった群の 29.1 ± 3.5 歳より有意に($P < 0.05$)低かった。年代別

表 9 妊娠例における月経異常の種類別の卵巣過剰刺激症候群の発生率

月経異常	妊娠例数	卵巣過剰刺激症候群例数(%)
第2度無月経	77	14 (18.2)
第1度無月経	56	20 (35.7)
無排卵周期症	19	2 (10.5)
希発月経	14	2 (14.3)
合 計	166	38 (22.9)

にみても20歳代の107例の発生率28.0%は30歳代の59例の13.6%より高い傾向が認められた。

月経異常の種類と卵巣過剰刺激症候群の発生率の関係を表9に示した。第1度無月経の35.7%が他の3群の10.5~18.2%に比し高率で、第2度無月経に比べて有意($P < 0.05$)に発生率が高いといえる。

2. 治療スケジュール

まず HMG の総投与量との関係をみると、本症候群を引き起こした38例の平均投与量 $1,532.9 \pm 880.5\text{IU}$ に対して、起こさなかった128例の平均投与量は $1,623.8 \pm 918.0\text{IU}$ で両者間に有意差がなかった。また $1,500\text{IU}$ 以下の58例の発生率29.3%と $1,501\text{IU}$ 以上の75例の21.0%の差も有意ではなかった。HMG の投与日数別では10日以下の115例の23.5%と11以上の49例の22.4%の間には差がなかった。

HCG の平均投与量は過剰刺激症状を発生した群の $14,342 \pm 6,536\text{IU}$ に対し、発生しなかった群は $16,048 \pm 10,388\text{IU}$ と有意差はなく、平均投与日数もそれぞれ 2.5 ± 1.7 日対 2.6 ± 1.6 日と差がみられなかった。

併用薬を用いた55例の発生率27.3%は用いなかった109例の発生率21.1%に比し有意な差ではなかった。

3. 卵巣の反応性

卵巣過剰刺激症状を起こした33例と起こさなかった116例について、HMG から HCG に切替えた際の平均頸管粘液量を調べると、前者は $293.6 \pm 164.6\text{mm}^3$ 、後者は $331.6 \pm 158.5\text{mm}^3$ であり、両者間に有意差がなかった。

同様に HCG に切替えた際の血中 estrogen 値は、過剰刺激症状を起こした4例の平均値が $741.0 \pm 388.7\text{pg/ml}$ であるのに対して起こさなかった17例の平均値は $684.1 \pm 324.7\text{pg/ml}$ で有意差がみられなかった。

胎児数と本症候群発生との関係を検討したが、表8に示すごとく単胎群の発生率が108例中19例(17.6%)であるのに、多胎群のそれが29例中9例(31.0%)と高くなる傾向がみられたが有意な差ではなかった。

表 10 全国的共同研究による昭和54年度と昭和50~53年度の HMG-HCG 療法の成績の比較

調査期間	昭和54年 (%)	昭和50年~53年 (%)
投与症例数	799	1,367
投与周期数	2,100	3,996
排卵成功症例数	599 (75.0)	987 (72.2)
排卵成功周期数	1,435 (68.3)	2,499 (62.5)
妊娠成功症例数	166 (27.7)	332 (33.6)
妊娠成功周期数	166 (11.6)	357 (14.3)
分娩例数	129 (77.7)	262 (73.4)
流産例数	37 (22.3)	78 (21.8)
胎児数注 1.)		
単胎	108 (78.8)	253 (79.8)
双胎	19 (13.9)	40 (12.6)
3 胎	6 (4.4)	14 (4.4)
4 胎	3 (2.2)	5 (1.6)
5 胎	1 (0.7)	4 (1.3)
6 胎	0 (0)	1 (0.3)
胎児数不明 (流産)	29 (—)	23 (—)
多胎妊娠例数	29 (21.2)	64 (20.2)
妊娠転帰不明	0 (0)	17 (4.8)
児の奇形	3 (1.73)	注 2.) 7 (1.66)
卵巢過剰刺激症候群		
症 例 数	93 (11.6)	131 (9.6)
周 期 数	124 (5.9)	198 (5.0)

注 1.) : 胎児数の確認できた症例で流産例を含む。

注 2.) : 報告された奇形例中, 内臓奇形例 (2 例) を除いて算出した。

考 案

1. 排卵, 妊娠成績について

我々が先に報告した昭和50年から53年迄の4年間の成績⁴⁾と今回の昭和54年1年間の成績を対比して表10に示した。後者の1年間の症例数, 周期数は4年間の半数以上であり, 症例数が増加しているのが分かる。両者を比較すると54年の排卵率がやや高いが妊娠率は少し低くなっている。流産率, 多胎妊娠率, 新生児の奇形率, 卵巢過剰刺激症候群の発生率などはほぼ一致した成績であった。症例別および周期別の排卵率は Thompson & Hansen¹²⁾の Pergonal による排卵誘発成績の74.8%および64.5%にほぼ一致していた。今回の症例別および周期別の妊娠率は33.6%および14.3%でこの値は Thompson & Hansen¹²⁾の報告の25.1%および11.9%に比しやや高率であった。

月経異常の種類別では前回と同じく排卵率は軽症例ほど高くなるが, 妊娠率はかえって低くなるとの成績が得られた。その理由としては軽症例では卵巢過剰刺激症候

群の発生を恐れて相対的に HMG の使用量が不足している可能性や, 不妊の要因として排卵障害以外の因子が存在する可能性などが考えられる。卵巢過剰刺激症候群の発生は第1度無月経が第2度無月経より有意に高率で, その治療にあたってはより慎重な管理が必要であることが分った。

2. 新生児所見

HMG-HCG 療法により出生した新生児の男女比は単胎で124:100と男児が多かったが, 多胎では75:100と女児が多く, 全体としては101:100とほぼ等しかつた。Hack³⁾ らは115例の新生児の性比は69:100と女児が多く, 内訳は単胎88:100, 多胎58:100と, 多胎児にその傾向が強いとしている。Caspi ら²²⁾も152例の新生児の性比は83:100と女児が多く, 単胎では64:100と女児が, 多胎は112:100と男児が多かった。

他の排卵誘発剤として clomiphene citrate による妊娠後の出生児の男女比は130:100であり⁵⁾, また bromocriptine による妊娠後の性比も127:100と男児が多い⁶⁾のに比して, HMG-HCG では女児が相対的に多いのは興味深い。

出生時の体重は単胎児についてはほぼ週数相当であったが, 多胎児については明らかに低体重児が多く (図1), この傾向は Caspi ら²²⁾の指摘と一致している。また多胎妊娠は早産に終る率が高いので, 低体重出生児を減少させるためには, 多胎妊娠率を低下させることが重要であることが明らかになった。

今回の調査により173例中3例 (1.73%) に外表奇形が認められたが, 奇形率は調査の密度により大きく異なる。倉智ら⁹⁾が今回の集計とほぼ同じ規準で調査した報告によると, 自然排卵後の妊娠群で300,033例中1.7%に, clomiphene citrate 投与による妊娠例935例中2.2%に外表奇形が認められている。また bromocriptine による妊娠例134例中2.2%に外表奇形が認められており⁶⁾, これらの成績に比し HMG-HCG 療法による妊娠例の奇形率は有意な差ではなかった。

3. 妊娠例について

妊娠例の分析から月経異常の程度が重いほど HMG の必要投与量と投与期間が有意に増加することが分ったが, 平均すると第2度無月経では1日量2.6vial (195IU) を10.2日間, 第1度無月経では1日量2.2vial (165IU) を8.5日間投与していた。この数字は治療スケジュールを組む際の一応の参考となろう。

HMG により妊娠した166例中 clomiphene citrate を併用した症例が42例 (25.3%) に認められたのが注目された。Clomiphene citrate の前投与は gonadotropin に対する卵巢の反応性を充めることが知られており, 排

卵率、妊娠率を向上させる目的で用いられている¹³⁾。

4. 多胎妊娠の要因分析について

多胎妊娠は今回の成績でも21.2%に認められたが、その率を低下させることが急務である。今回はその要因を探るべく各種の条件と多胎の関係を検討した。しかし母体の年齢、月経異常の種類など治療前の状態や HMG や HCG の投与量、投与期間などの投与スケジュールおよび HCG に切替えた際の頸管粘液量、血中 estrogen 値などの卵巣の反応性とはいずれも関係が認められなかった。これらの成績は青野¹⁾の報告とも一致しており、現在のところ多胎妊娠防止の有効な対策は今回の検討成績からは見出せなかった。

近年 HMG による治療中の卵巣を超音波断層法により検査し、発育しつつある卵胞の大きさと数をモニターしようとする試みがあり^{9,11)}、この方法により数個以上の成熟卵胞が認められたなら HCG の注射をさし控えるといった消極的ながら多胎の予防策も考えられている。しかしまだ多数例に関する統計的な報告はみられておらず、今後の課題といえよう。

5. 卵巣過剰刺激症候群の要因分析

今回の調査により卵巣過剰刺激症候群を起しやすい条件としては20歳代と比較的若年の婦人および軽症の第1度無月経例が挙げられた。したがってこのような症例を対象として HMG-HCG 療法を実施するに当っては特別な配慮が必要である。しかし治療スケジュールについては特に過剰刺激症候群を起こした群と起こさなかった群との間に差が認められなかった。HMG 投与中の血中 estrogen を測定した症例が21例と少数例含まれており、過剰刺激症候群を示した群がやや高値を示した。荻野⁸⁾の多数例の報告によれば HCG に切替える際の血中 estrogen が301~800pg/ml では過剰刺激症候群がみられなかったのに比し、801pg/ml 以上では13.9%と急増している。Schwartz¹⁰⁾は尿中 estrogen が $150\mu\text{g/day}$ 以下では卵巣腫大が1.6%に認められたのみであるが $250\mu\text{g/day}$ 以上になると卵巣腫大が17.9%に増加し、腹水を伴う重症例も5%に認められたと報告している。したがって卵巣過剰刺激症候群の防止には血中または尿中の estrogen 値を迅速に測定し、卵巣の反応度をモニターすることが有用であると思われる。

文 献

- 1) 青野敏博：排卵の誘発—多胎妊娠の予防は可能か、大阪府医師会医学雑誌, 14: 159, 1980.
- 2) Caspi, E., Ronen, J., Schreyer, P. and Goldberg, M. D.: The outcome of pregnancy after gonadotrophin therapy, Br. J. Obstet. Gynaec., 83: 967, 1976.

- 3) Hack, M., Brish, M., Serr, D. M., Insler, V. and Lunenfeld, B.: Outcome of pregnancy after induced ovulation, JAMA, 211: 791, 1970.
- 4) 倉智敬一, 鈴木雅洲, 小林拓郎, 他: HMG (Humegon®)-HCG 療法による排卵誘発効果と妊娠の転帰—全国集計による1,367例の成績, 産と婦, 47: 1146, 1980.
- 5) 倉智敬一, 青野敏博, 南川淳之祐, 他: Clomiphene 療法により出生した新生児の奇形に関する全国調査成績, 日不妊会誌, 27: 454, 1982.
- 6) 倉智敬一, 青野敏博, 小池浩司, 他: Bromocriptine 治療により出生した児の追跡調査, 産と婦, 50: 126, 1983.
- 7) 大浦敏明: 外観観察により把握する新生児の異常について—とくに小奇形について. 産婦進歩, 23: 434, 1971.
- 8) 荻野瑠美, 青野敏博, 安田 基, 宮崎正敏, 南川淳之祐, 三宅 侃, 塩路武徳, 近藤国男, 倉智敬一, 松本圭史: Estrogen の迅速 radioimmunoassay による HMG-HCG 療法の monitoring, 日産婦会誌, 32: 153, 1980.
- 9) Queenan, J. T., O'Brien, G. D., Banis, L. M., Simpson, J., Collins, W. P. and Campbell, S.: Ultrasound scanning of ovaries to detect ovulation in women., Fertil. Steril., 34: 99, 1980.
- 10) Schwartz, M., Jewelewicz, R., Dyrenfurth, I., Tropper, P., Vande Wiele, R. L.: The use of human menopausal and chorionic gonadotropin for induction of ovulation., Am. J. Obstet. Gynecol., 138: 801, 1980.
- 11) Smith, D. H., Picker, R. H., Sinosich, M. and Saunders, D. M.: Assessment of ovulation by ultrasound and estradiol levels during spontaneous and induced cycles., Fertil. Steril. 33: 387, 1980.
- 12) Thompson, C. R. and Hansen, L. M.: Pergonal (Menotropins): A summary of clinical experience in the induction of ovulation and pregnancy., Fertil. Steril., 21: 844, 1970.
- 13) 安田 基, 青野敏博, 正田常雄, 衣笠隆之, 三宅 侃, 倉智敬一, 松本圭史: Clomiphene-HMG-HCG 療法による排卵誘発妊娠成績とその作用機序に関する研究, 日産婦会誌, 30: 445, 1978.

A summary of ovulation, pregnancy
and newborn infant with HMG
(Humegon®)-HCG treatment and
analysis of factors influencing
complication rate

Keiichi Kurachi*
Osaka University
Masakuni Suzuki*
Tohoku University
Takuro Kobayashi*
Tokyo University Branch Hospital
Toshinobu Tanaka
Hokkaido University
Mineko Fukushima
Akita University
Mutsuo Hirano
Tohoku University
Yoshiaki Sato
Niigata University
Masao Igarashi
Gunma University
Taro Tamada
Jichi Medical School
Masayoshi Maruyama
Maruyama Memorial Hospital
Rihachi Iizuka
Keio University
Takashi Okamura
Tokyo University Branch Hospital
Hiroshi Furuya
Juntendo University
Hiroshi Minakuchi
University of Tokyo
Toru Takehisa
National Chiba Hospital
Mitsunori Seki
Seki Clinic
Tsuguo Uemura
Yokohama City University
Takiko Kenjo
Tokai University
Mitsuo Nakai
Kitazato University
Mutsumi Hamasaki
Shimizu Kosei Hospital

Kunio Kometani
Fujita-Gakuen University
Osamu Narita
Nagoya University
Yukio Yamada
Ichinomiya City Hospital
Hidetaka Fujimaki
Yokkaichi City Hospital
Yoshimasa Tomita
Kanazawa University
Akira Takahashi
Kyoto University
Shusei Higashiyama
Kyoto Prefectural University
Toshihiro Aono
Osaka University
Kiyoshi Okuda
Osaka Medical College
Ikuo Yogo
Kansai Medical University
Kazuaki Katayama
Kobe University
Teruhisa Akimoto
Okayama University
Etsuko Okada
Fukuyama National Hospital
Takehisa Ito
Tokuyama Central Hospital
Saburo Yamashita
Yamaguchi University
Takahide Mori
Tokushima University
Takefumi Utsunomiya
Institute of Balneotherapeutics,
Kyushu University
Tadayuki Ishimaru
Nagasaki University
Masahiro Nakamura
Kagoshima City Hospital

(Department of Obstetrics and Gynecology.
*: Chiefs of study group)

HMG (Humegon®)-HCG treatment was per-
formed in 2100 cycles of 799 anovulatory women
from 36 major hospitals in the year of 1979.
Rates of ovulation and pregnancy as well as out-
come of pregnancy were summarised. Individual

data on patients' pretreatment condition and course of treatment were obtained in 166 pregnant women and these results were analyzed.

Ovulation occurred in 75.0% of cases and 68.3% of treatment cycles, and these rates were proportional to the severity of menstrual disorder. Pregnancy was achieved in 27.7% of cases and 11.6% of cycles among the ovulated patients. The higher rate of pregnancy was obtained in the patients with more severe menstrual disorders. The ovarian enlargement over gooseegg-size was observed in 11.6% of cases and 5.9% of cycles, and the rate was significantly higher in amenorrheic patients who respond to progestin with bleeding.

Rates of abortion and premature delivery were 22.3% and 10.2%, respectively and multiple

pregnancy was responsible for these high rates. Multiple pregnancy was found in 21.2% of cases, and 34.5% of them was more than triplets. The sex ratio (M:F) was 101:100 in 173 newborns and the rate of external malformations found in the first week was 1.73%.

Analyses of pregnant cases revealed that the dose of HMG was larger and duration of treatment was longer in amenorrheic patients who showed bleeding only after estrogen-progestin treatment. There found no correlation between multiple pregnancy and pretreatment condition of mother or treatment schedule. Ovarian hyperstimulation syndrome was more frequently found in cases with multiple pregnancy than in women with singleton pregnancy.

(受付:昭和57年11月11日, 特掲)

体重減少の性機能への影響

Secondary Amenorrhea Associated with Weight Loss

九州大学医学部産婦人科学教室（主任：中野仁雄教授）

永田 行博 堂 地 勉 津田 知輝
Yukihiro NAGATA Tsutomu DOCHI Tomoteru TSUDA

中村 正彦 尾上 敏一
Masahiko NAKAMURA Toshikazu ONOUE

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

神経性食思不振症による無月経とともに、美容のための減食などによる体重減少によつて起こる無月経について検討し、次の結果を得た。

- 1) 体重減少性無月経の中では、美容のための減食による無月経がもつとも多くを占めた。
- 2) 原体重の50～91%，平均79%まで体重減少したが、最低体重になる以前の平均13%減で無月経が発来した。
- 3) 無月経を訴えて来院するのは平均22.5歳であつたが、体重減少によつて無月経になつたのは平均19.3歳であつた。
- 4) 血中 LH 値は体重減少率とよく相関し、体重が減少する程低値を示した。しかし FSH ははつきりした相関を示さなかつた。
- 5) 下垂体ゴナドトロピン分泌予備能は20%以上の体重減少では低下しており、10～20%減では種々の反応を示した。
- 6) 体重の回復によつて神経性食思不振症以外では性機能の改善が認められたが、自然排卵は見られなかつた。

(Jap. J. Fert. Ster. 28(2), 252-257, 1983)

緒 言

無月経を来す原因は多岐にわたる。種々のストレスや環境の変化によつて容易に無月経に陥ることがある。体重が減少することによつて無月経になることも以前より知られていた。その代表的なものには食思不振、体重減少、無月経を主徴とする神経性食思不振症 (Anorexia Nervosa) がある。

しかし最近美容のための減食による体重減少で起こる無月経が注目されるようになった。また jogging などの運動の負荷によつて性機能の障害が現われるという報告もあるが、これも運動によるストレスのみではなく、体重の減少と関係があるのではないかととも言われてい

る¹⁰⁾。

今回われわれは体重減少によつて無月経を来した症例について臨床的に検討を加え、考察したので報告する。

研究対象と方法

昭和48年から昭和55年の8年間に九州大学医学部産婦人科不妊内分泌外来で治療した続発性無月経患者のうち、体重減少によつて無月経（体重減少性無月経とする）になつたと考えられる48例を対象とした。6か月以内の短期間で5kg以上の体重減少を来した無月経となつた38例（神経性食思不振症を除く、単純性体重減少性無月経とする）と当院心療内科で神経性食思不振症と診

断された10例である。

これらについて発生頻度，年齢分布，原因などについて調査し，さらに体重の回復に伴う性機能の変化について内分泌学的に検討した。

成 績

1. 続発性無月経の原因と体重減少性無月経の頻度 (表1)

続発性無月経のためになんらかの検査，治療をうけたものは399例である。

表 1 続発性無月経の原因

原 因	症例数 (%)
中枢性	242(60.7)
多嚢胞卵巣 (いわゆる PCO タイプも含む)	67(16.7)
体重減少性	48(12.0)
高プロラクチン血症	25(6.2)
早発閉経	10(2.5)
Asherman 症候群	5(1.2)
Sheehan 症候群	2(0.5)
計	399

原因は判然としないが，間脳下垂体機能低下を来しているものが61%と最も多くを占めている。同じ範疇にはいると考えられる体重減少性無月経は12.0%で，多嚢胞卵巣の16.7%に次いで高い頻度である。高プロラクチン血症は6.2%であるが，プロラクチン測定がルーチン化し診断が容易になった最近に限れば14.5%である。

2. 発生年齢 (図1)

外来初診時の年齢分布を見ると続発性無月経は27歳を

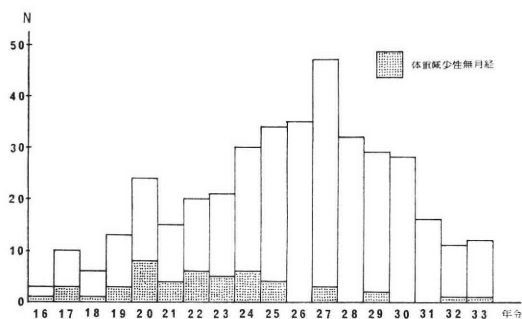


図 1 続発性無月経の発生年齢分布

ピークに広く分布しているが，体重減少性無月経は若年者に多く見られ，25歳以下が41例85.4%を占めている。平均年齢は 22.5 ± 3.7 歳 ($M \pm SD$) である。しかしさら

にその発生時期を見ると初診時年齢とかなりズレが見られ，20歳以前に発生しているものが32例66.7%であり，その平均年齢は 19.3 ± 3.2 歳である。

3. 体重減少の原因 (表2)

体重減少の原因は神経性食思不振症の10例を除くと，美容上の目的で自分の意志によって減食した結果による

表 2 体重減少の原因

原 因	症例数
美容上の節食	20
入 学	3
環境の変化	3
手 術	2
家族の病氣	2
就 職	1
スポーツ	1
急性肺炎	1
不 明	5
神経性食思不振症	10
計	48

ものが20例で52.6%を占めている。そのほかの原因は入学，就職を契機とし，あるいはなんらかの環境の変化を伴う精神的ストレスや病氣などの肉体的ストレスによって体重減少を来したものである。

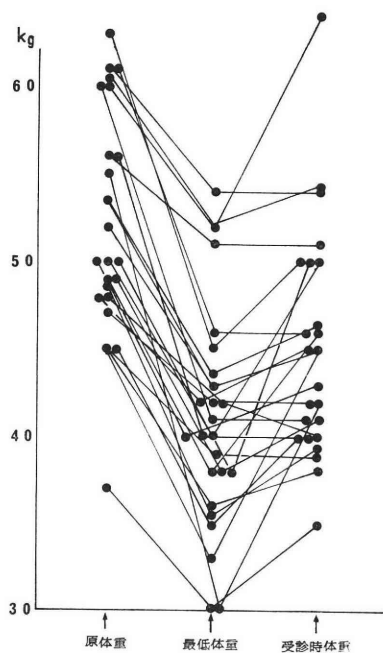


図 2 体重の変化

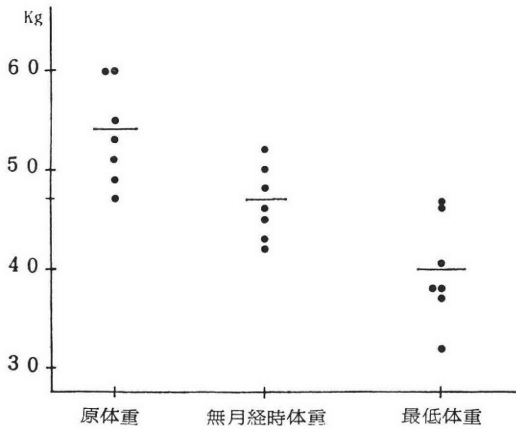


図3 体重減少と無月経発来

4. 体重減少の程度と無月経発来時期

体重減少の程度は神経性食思不振症を含めて最低体重が原体重の50%から91%を示し、平均 $79.4 \pm 7.9\%$ であった。しかし無月経を訴えて来院するのは最低体重よりもむしろ体重が回復しつつある時期のものが $\frac{2}{3}$ を占めており、来院時体重は原体重の平均 $86.9 \pm 8.9\%$ であった(図2)。

体重減少がどの程度のときに無月経が起こったかを見ると(図3)、原体重の8%減から17%減、平均13%減(平均体重47kg)で起こっている。これらの症例の最低体重は平均40kgで26%減であるから、体重が減少しつつある途中で無月経に陥ったことになる。

5. 無月経の程度(表3, 図4)

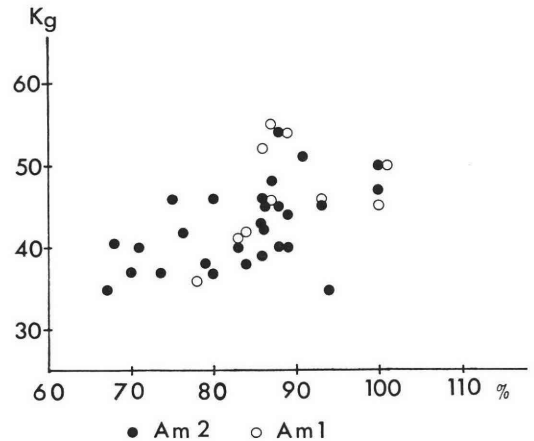
Duphaston (Dydrogesterone) 10mg/日 $\times$ 5日間投与後の消退出血の有無によって無月経の程度を分類した。

48例中13例(27.1%)が第1度無月経、35例(72.9%)が第2度無月経であった。神経性食思不振症を除く単純性体重減少性無月経38例では第1度無月経10例(26.3%)、第2度無月経28例(73.7%)であり、無月経の程度は神経性食思不振症との間に差は見られなかった。

これら38例について体重および体重減少率で無月経の程度をみると、第2度無月経は10%未満で7例中4例(57.1%)、10~20%減で20例中14例(70%)、20%以上

表3 無月経の程度

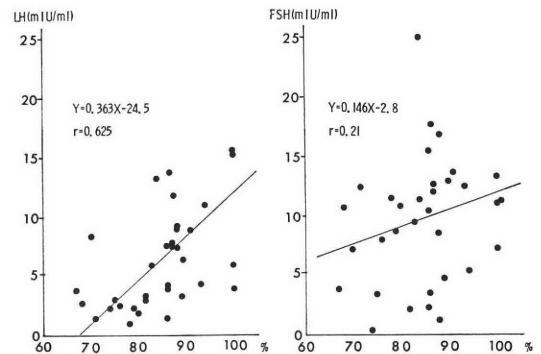
	第1度無月経	第2度無月経
単純性体重減少性無月経	10	28
神経性食思不振症	3	7
	13(27.1%)	35(72.9%)

図4 体重減少と無月経の程度
(100%を原体重とする)

の体重減少で11例中10例(90.9%)に見られ、体重減少率が大であるほど重症の第2度無月経が多くなる傾向がみられた。

6. LH, FSH 基礎値と下垂体予備能

体重減少の程度と血中ゴナドトロピン値の関係をみると(図5)、LH値は体重減少率とよく相関し($r=0.625$)、体重が減少するほどLH値は低値を示した。

図5 体重減少と血中ゴナドトロピン基礎値
(100%を原体重とする)

しかしFSH値と体重減少率との間にははつきりした相関はみられなかった($r=0.21$)。

LH-RH 100 μ g 負荷による下垂体のLH, FSH分泌予備能を体重の減少率別にみると(図6)、体重が原体重の20%以上減少した場合、LH-RHに反応せずLH分泌がほとんど見られないものが9例中6例あり、反応を示した3例中全く正常な反応を示したものは1例にすぎなかった。

10%から20%減の症例では種々な反応を示している。

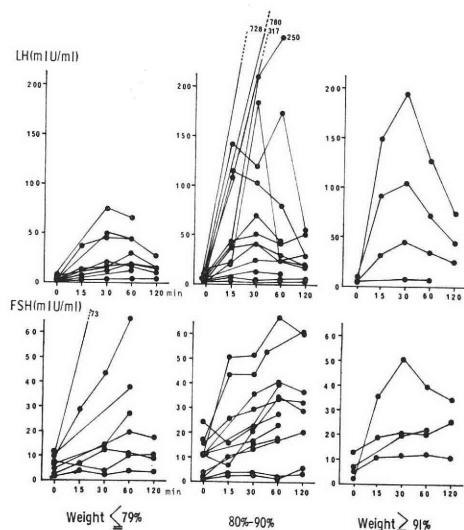


図6 体重減少と下垂体ゴナドトロピン分泌予備能(100%を原体重とする)

反応なし3例, 反応はあるがやや弱い反応4例, 正常反応4例であるが, さらにむしろ過剰な反応を示す症例が4例見られたのが特徴的である。

10%以内の体重減少を示す症例では4例中3例に反応が見られたが, 1例はやや弱い反応であった。

一方 FSH の反応は体重減少率の大きなものに反応のない症例もあるが20%以上減でも正常な反応や過剰な反応を示す症例もあり, FSH 基礎値の場合と同様に体重減少率との間にはつきりした相関は見られなかった。

また単純性体重減少性無月経と神経性食思不振症との間に LH-RH に対する反応の差を見出すことはできなかった。

7. 体重の回復と性機能の回復

無月経の治療を行った単純性体重減少性無月経32例と神経性食思不振症10例の体重回復に伴う予後を観察した(表4)。原体重の90%以上になったものを体重が回復したとして性機能の改善の程度を見た。体重の回復に伴い, 自然排卵周期を回復したものは単純性体重減少性無月経, 神経性食思不振症のいずれにも1例もなかった。しかし単純性体重減少性無月経では体重の回復に伴い, 17例中12例(70.5%)が治療によく反応するようになり性機能の改善傾向が見られた。すなわち無月経2度が1度になったり, Clomid に反応して排卵するようになった。体重の回復していない症例では治療によって13.3%の改善率であるから, 体重の回復が性機能の改善に必要であると言える。また神経性食思不振症では体重が回復しても性機能の改善傾向は全く見られなかった。

表4 体重の回復と性機能改善率*

体重回復	単純性体重減少性無月経	神経性食思不振症
あり	12/17 (70.5)	0/3 (0)
なし	2/15 (13.3)	0/7 (0)
計	14/32 (43.8%)	0/10 (0)

* 無月経2度から1度への移行
Clomid で排卵あり
Clomid 投与量の減少 } を改善ありとした。

考 案

食行動の異常を伴う神経性食思不振症によるい痩のほか, 美容上の目的などのために体重減少を来し無月経になる症例が見られる。田中⁶⁾は美容上スマートになりたい目的で減食し体重減少を来し無月経になる症例を現代病の1つとし, 減食性無月経としている。中村⁷⁾は神経性食思不振症を含めて体重の減少に起因する無月経を体重減少性無月経とし, とくに神経性食思不振症と他とを区別しなかった。Vigersky et al.¹³⁾は体重減少によって起こる無月経を神経性食思不振症とそれ以外のもの, すなわち Secondary amenorrhea associated with simple weight loss に分けている。われわれは一応 Vigersky et al. のように体重減少性無月経を神経性食思不振症と単純性体重減少性無月経に分類した。たしかに神経性食思不振症は減食性無月経などとは区別されるべきものではあろうが, しかし一方, 神経性食思不振症の定義⁴⁾から見れば他の体重減少性無月経と必ずしも判然と区別しえない点もある。

体重減少の原因としては, 神経性食思不振症を除けば, 美容上の目的で減食したものがもつとも多くを占め53%であった。楠原²⁾は45%, 中村⁷⁾は36%と, いずれも減食性無月経がもつとも高い割合を占めている。

続発性無月経の中に占める割合は12%であり, 11.3%⁶⁾, 13.2%²⁾などの報告とほぼ同様な発生頻度である。しかし美容のための減食は必ずしも本人が肥満体であるとは限らない。むしろ標準体重内のものが多い。このことは, どの婦人も美しくなりたいという願望は持っているはずであるから, 体重減少だけが無月経の原因とするなら, とりもなおさず, どの婦人も減食性無月経になりうるチャンスはあると言え, 体重減少による無月経は今後さらに増えていくものと予想される。

発生年齢を見ると, 当然若年者に多く, 受診時平均年齢22.5歳, 発生時平均年齢19.3歳である。中村⁷⁾は22.2歳とし, 減食性無月経のみでは楠原²⁾22.6歳, 黒川³⁾20.9歳と報告している。

体重減少による無月経の程度について見ると、Dydrogesterone 投与で消退出血が見られない第2度無月経の症例が多く、神経性食思不振症を除いても74%が第2度無月経であった。これは今までの80%²⁾, 85.3%⁶⁾, 100%³⁾などの報告より若干低い割合ではあるが、体重減少に由来する無月経のほとんどの症例が重症の無月経に陥っていることがわかる。

このような結果は血中ゴナドトロピン基礎値や LH-RH 負荷による下垂体予備能からもうかがえる。すなわち、血中 LH 値は体重減少の程度とかなり相関し、体重減少が高度になるほど低値を示した。諸家の報告^{2,3,6,11,13)}も LH 分泌に関しては大体一致して低値を示すとしている。しかし FSH 分泌に関してはさまざまな報告があり、その見解は一致していない。ほぼ正常な FSH 値であるという報告^{6,11,12)}や体重減少に伴って低下しているという報告^{8,9)}がある。われわれの結果は体重減少が高度になると LH と同様に低 FSH 値を示すものが多かったが、LH ほど体重減少との間にはつきりした相関は認められなかった。このような、LH、FSH 分泌の解離は LH 分泌がより抑制され、またその回復も FSH よりも遅れて回復しはじめるから LH gonadotrophs が FSH gonadotrophs よりも体重減少に敏感に影響されやすいと考えることから説明される¹⁴⁾。

下垂体の LH-RH に対する反応を見ると、は体重の減少が20%以上に及ぶと LH 分泌予備能は明らかに低下しており、基礎値の結果からも当然うかがえる¹⁾。しかし10~20%減のものでは、反応なしから hyperresponse までの種々の反応が見られた。これは体重減少の時期、すなわち体重減少が進行中か、逆に回復中かに伴う下垂体のさまざまな状況を反映しているもの⁷⁾と考えられる。Sherman et al.¹²⁾によれば、標準体重の53~64%では LH の分泌は全く障害されているが体重の回復につれて徐々に反応するようになり、正常に近づくにつれて hyperresponse の時期があるという。Beumont et al.⁹⁾は70%になるとFSHの反応が正常より大になり、さらに80%以上になりLHの反応が増してくるとし、Warren et al.¹⁴⁾によると85%にまで回復すると指数関数的に反応して述べてなるという。森本ら⁸⁾も hyperresponse について述べているが、やがて正常化し月経の見られるようになるものもあるという。

以上のような成績から、体重の回復が80%以上になると下垂体からのゴナドトロピン分泌も徐々に回復しはじめ、一時的に hyperresponse になるが、これはむしろ間脳・下垂体機能回復の過程を示すものと考えられ、さらに回復が進むと正常反応に復帰すると総括される。

しかしこのような体重の回復に伴って間脳・下垂体機

能が徐々に回復し正常になるパターンをすべての体重減少性無月経がとるとは考えにくい。神経性食思不振症では体重の回復が見られても性機能、とくに間脳下垂体機能の回復ははかばかしくないものもある。また神経性食思不振症以外の単純性体重減少性無月経でも長期間放置されていたらいかがであらうか。

Knuth et al.¹¹⁾の報告では39例中14例が体重回復で排卵したが、無月経にとどまったものは体重回復がなかったものであるという。中村ら⁶⁾は13例中5例に自然排卵周期が再獲得されたが、無月経になつて3年以内に治療を開始したものが予後が良いと報告している。われわれの症例では体重の回復、未回復にかかわらず、神経性食思不振症では全く無月経の改善傾向は見られなかった。神経性食思不振症以外の無月経では、体重回復により70.5%になんらかの性機能の改善が見られたが、体重減少前の自然排卵月経周期に復帰したものは1例もなかった。これは無月経に陥ってから受診、治療開始までに平均3.2年間のズレがあることと関連しているのかもしれない。しかし神経性食思不振症以外の単なる美容上の減食による無月経などでも、性機能がほとんど回復しない症例があるということは重要なことである。すなわち、急激な無理な体重減少は性機能とくに性中枢への影響が強いので、このような場合にはすみやかに検査、治療を開始する必要があるといえる。

参考文献

- 1) 楠田雅彦, 永田行博, 中村正彦, 倉野影比古, 尾上敏一: 合成 LH-RH の無月経症の病態診断上の意義—特に無月経の grading と関連して。ホと臨床, 23: 463, 1975.
- 2) 楠原浩二, 安江育代, 杉田 元, 篠塚正一, 徳倉昭治, 花岡 苗, 蜂屋祥一: 体重減少による無月経の病態, 日不妊会誌, 26: 7, 1981.
- 3) 黒川博厚, 松本 茂, 中村幸雄, 飯塚理八, 島袋嘉修, 土屋雅春: 神経性食思不振症と減食性無月経症における LH-RH test と LH-RH 賦活療法, ホと臨床, 22: 1139, 1974.
- 4) 末松弘行, 久木 房, 青木宏之, 江崎正博, 黒川順夫, 玉井 一: 神経性食思不振症の臨床像。ホと臨床, 27: 693, 1979.
- 5) 田中良憲: 減食性無月経症, ホと臨床, 20: 1107, 1972.
- 6) 中村幸雄, 塗 百寛, 上野 裕, 春日義生, 小林 徹, 福永友明, 斉 鈴媛, 黒川博厚: 体重減少性無月経。ホと臨床, 27: 747, 1979.
- 7) 中村正彦: 排卵障害婦人の下垂体 gonadotropin 分泌に関する研究, II 排卵障害婦人の gonadotropin 分泌, 日不妊会誌, 22: 172, 1977.
- 8) 森本清彦, 加藤弘己: 下垂体性腺系: 神経性食思不振症における体重減少と下垂体性腺機能との関係について。ホと臨床, 27: 761, 1979.

- 9) Beumont, P. J. V., George, G. C. W., Pimstone, B. L. and Vinik, A. I.: Body weight and the pituitary response to hypothalamic releasing hormones in patients with anorexia nervosa, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43 : 487, 1976.
- 10) Dale, E., Gerlach, D. H. and Wilhite, A. L.: Menstrual dysfunction in distance runners, *Obstet. Gynecol.*, 54 : 47, 1979.
- 11) Knuth, U. A., Hull, M. G. R. and Jacobs, H. S.: Amenorrhea and loss of weight, *Brit. J. Obstet. Gynecol.*, 84 : 801, 1977.
- 12) Sherman, B. M., Halmi, K. A. and Zamudio, R.: LH and FSH response to gonadotropin-releasing hormone in anorexia nervosa: Effect of nutritional rehabilitation, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41 : 135, 1975.
- 13) Vigersky, R. A., Loriaux, D. L., Andersen, A. E., Mecklenburg, R. S. and Vaitukaitus, J. L.: Delayed pituitary response to LRF and TRF in patients with anorexia nervosa and with secondary amenorrhea associated with simple weight loss, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43 : 893, 1976.
- 14) Warren, M. P., Jewelewicz, R., Dyrenfurth, I., Ans, R., Khalaf, S. and Vande Wiele, R. L.: The significance of weight loss in the evaluation of pituitary response to LH-RH in women with secondary amenorrhea, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40 : 601, 1975.

Secondary amenorrhea associated with weight loss

Yukihiro Nagata, Tsutomu Dochi,
Tomoteru Tsuda, Masahiko Nakamura,
and Toshikazu Onoue

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

Of 399 secondary amenorrhea patients, 48 were diagnosed secondary amenorrhea associated with weight loss; 38 patients were simple weight loss amenorrhea and the remaining 10 patients were anorexia nervosa.

Maximum weight loss was 50%-91% of original body weight with a mean of 79%, but amenorrhea occurred at 87% of original body weight.

Basal LH levels were significantly lower than normal mid-follicular phase values and correlated well with body weight loss ($r=0.625$). FSH values could not be found the correlation with body weight loss. LH response to LH-RH was strikingly impaired at under 79% of original body weight and was improved at 80-90% of original body weight with normal or low normal response in 8 and hyperresponse in 4 out of 15 patients.

After recovery of body weight, hypothalamo-pituitary function was improved however, spontaneous ovulatory menstrual cycles could not be resumed in not only anorexia nervosa patients, but also simple weight loss amenorrhea patients.

(受付: 昭和57年7月27日)

頸管粘液不全に関する内分泌及び

組織学的研究

Endocrinological and Morphological Study on the Mechanism of Insufficient Cervical Mucus Secretion

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室（指導：飯塚理八教授）

檜 垣 敬 二

Keiji HIGAKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Keio

University, School of Medicine, Tokyo

(Director: Prof. Rihachi IIZUKA)

不妊因子としての頸管粘液（Cervical Mucus, CM）不全の病態を解明すべく、CM 分泌能、内分泌動態、及び新たに考案した頸管腺組織発達指標（「腺細胞高」、「腺腔比」）を用い、正常排卵周期、Clomiphene citrate（Clomiphene）排卵周期の CM 不全例を分析、検討を行い、以下の結論を得た。

(1) 血中 Estrone (E_1)、Estradiol (E_2) 値と CM 量は正の相関を示すが、血中 Estriol (E_3)、Progesterone (P) 値と CM 量とは相関は全くみられない。

(2) 頸管の各部位において、腺組織の変化は一定であり、採取部位による差異はみられず、1ヶ所の punch biopsy によって頸管腺全体を推定できる。

(3) 頸管腺組織発達指標である「腺細胞高」「腺腔比」は排卵期に最高値を示し、卵胞期、黄体期では低値を示す。また血中 E_1 、 E_2 値、CM 量と正の相関を示すが、血中 E_3 、P 値とは相関を示さない。

(4) Clomiphene 投与により、血中 E_1 、 E_2 、 E_3 値は有意の増加を示すが、CM 量、「腺細胞高」、「腺腔比」は逆に低値の傾向を示した。

(5) CM 不全例に対し、排卵前に HMG を投与し、内因性 Estrogen を増加させ、CM 量、「腺細胞高」、「腺腔比」の変化により CM 不全例を3つのタイプに分類した。

- ① Estrogen (E) 不足群
- ② 頸管腺組織のEに対する感受性低下群
- ③ 頸管腺組織のEに対する反応性低下群

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 258-266, 1983)

結 言

不妊症において CM は、精子通過性の問題、排卵日の推定、卵胞の発育状態の指標等として重要であり、不妊原因における頸管因子の占める割合は報告により5～20%とまちまちであるが、一般に10%前後との報告が多く、CM 不全は不妊症临床上重要な意義を持つ。CM 分泌に関しては、従来より主として内分泌的な研究がなされ、Estrogen (E) は分泌を促進し、Progesterone

(P) は分泌を抑制する事が知られている。しかし hormone の作用部位である頸管腺組織に関しては、過去に月経周期による変化についての報告があるのみで、CM 分泌能、内分泌動態との関係についての報告は少ない。著者は、CM 不全の病態を解明すべく CM 量、羊歯状結晶形成 (ELP)、血中 Estrone (E_1)、Estradiol (E_2)、Estriol (E_3)、Progesterone (P)、及び新たに考案した頸管腺組織発達指標（「腺細胞高」、「腺腔比」）を相互に分析、検討した。

検索対象ならびに方法

慶応病院婦人科不妊外来症例のうち、正常排卵周期を有し、子宮頸管に炎症、悪性像を呈さない延 182 例の排卵期（-2 日～±0 日）に、①頸管粘液を採取し、量及び FLP の観察、②血中 E_1 , E_2 , E_3 , P 値測定、③子宮頸管腺 biopsy を行い、H-E 染色にて組織学的に観察するとともに、PAS, ムチカルミン染色を行い、以下に述べる頸管腺組織発達指標の算定等を行った。なお、排卵期の推定は基礎体温によった。

また一部の症例では、月経周期 5 日目より Clomiphene 50mg 5 日間投与、または排卵前に HMG 150iu 3 日間筋注投与を行い、同様の観察を行った。

1) 血中ホルモン測定法

血中 E_1 , E_2 , E_3 , P 値は RIA 法²⁾にて行った。

2) 頸管腺組織発達指標の算定法

頸管腺組織採取後、直ちにホルマリン固定、ムチカルミン、PAS 染色せる頸管腺組織の全腺細胞の高さの平均を 5 μ m 単位にて算出し、「腺細胞高」とした。また組織標本全体の 10×10 倍顕微鏡写真像において、腺細胞+腺腔と全頸管粘膜層（上皮より筋層に至るまで）との面積比を、組織標本写真の重量比にて算出し、「腺腔比」とした。

尚文中頸管粘液良好例（CM 良好例）とは CM 量が最大 0.1ml 以上の症例、CM 不全例とは、CM 量が最大 0.05ml 以下の症例を云う。有意差計算は Student t test によった。

成 績

1. CM 分泌能と内分泌動態

① CM 量と血中 E_1 , E_2 値との関係（図 1, 図 2）

CM 良好例 48 例について、排卵期（-2～±0 日）の CM 量と血中 E_1 , E_2 値との相関を求めると、図 1, 図 2 の如く、CM 量と血中 E_1 値は $r=0.56$, E_2 値は $r=0.62$ ともに有意な正の相関を示した（ $P<0.001$ ）。

② CM 量と血中 E_3 , P 値との関係（図 3）

CM 良好例 48 例について、排卵期の CM 量と血中 E_3 値との相関は、図 3 の如く、 $r=0.03$ で全く相関がみられなかった。同様に CM 量と血中 P 値とも、 $r=0.11$ で相関がみられなかった。

③ FLP と血中 E_2 値との関係

CM 良好例に対して、FLP と血中 E_2 値との関係をみると、FLP (+) 群の血中 E_2 値 ($M \pm SE$): 180.7 ± 17.1 pg/ml, ($N=28$), FLP (++) 群: 223.6 ± 32.5 pg/ml ($N=15$), FLP (+++) 群: 220.3 ± 19.0 pg/ml ($N=19$)

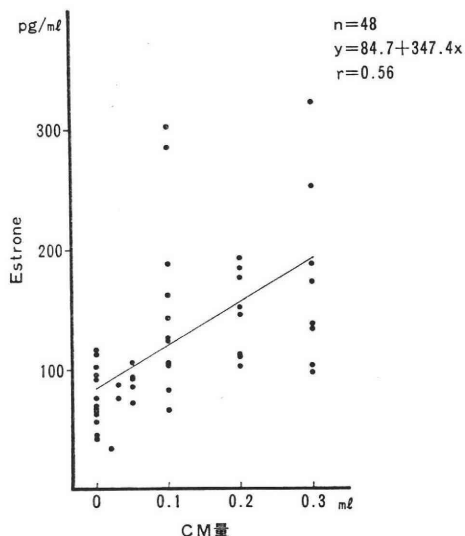


図 1 CM 量と血中 Estrone 値

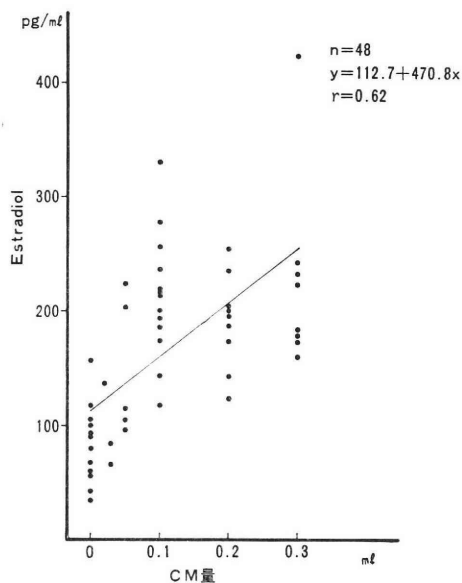


図 2 CM 量と血中 Estradiol 値

で、FLP (+), (++) 群は FLP (+) 群に対し、高値の傾向を示すが（ $P<0.05$ ），FLP (++) 群と (+++) 群の間には差はみられなかった。

2. 頸管腺組織の部位による差異（図 4, 写真 1）

頸管腺組織の検索として用いる頸管腺組織の biopsy 採取部位による差異を検討するため正常月経周期を有する CM 良好例の炎症、悪性像を示さない摘出子宮より、子宮頸管の縦切り標本作製し、PAS, ムチカルミン染色を行い（写真 1）14 例について squamo-columnar

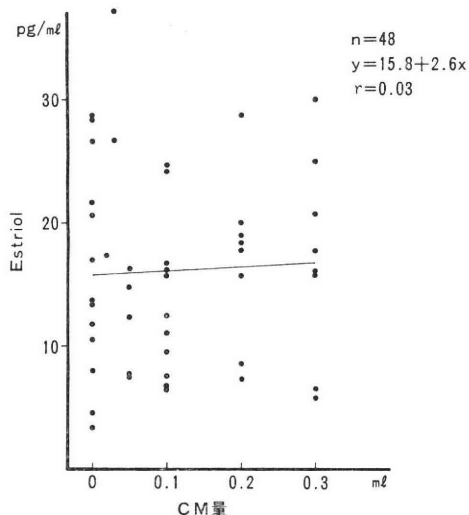


図3 CM量と血中 Estriol 値

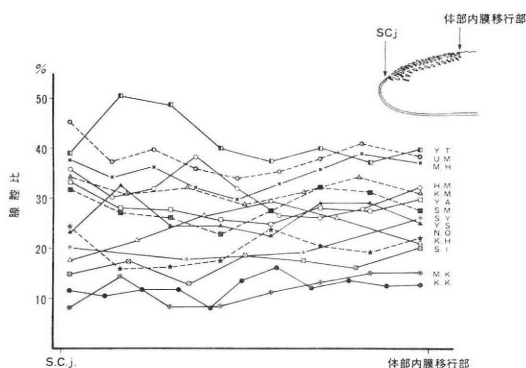
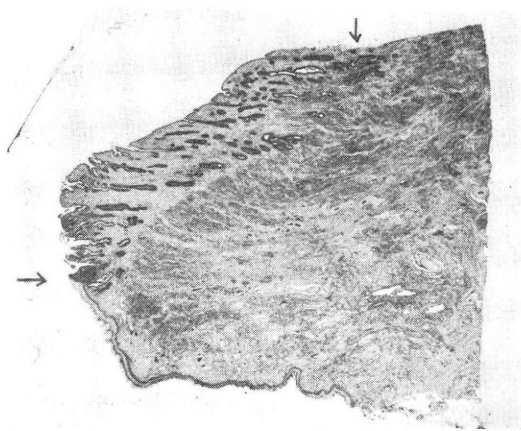


図4 子宮頸管腺組織の各部位による変化

写真1 子宮頸管の縦切り組織像 (PAS 6×)
(図4のシェーマは当写真を示す)

junction (scj) より体部内膜移行部まで、 10×10 倍顕微鏡像の連続写真撮影を行い「腺腔比」を求め、各部位の差異をみた。

図4に示す如く、「腺腔比」は各部位に於て一定であり、採取部位による差異はみられなかった。また「腺細胞高」でも同様の傾向を認めた。したがって頸管腺1ヶ所の punch biopsy によつて、頸管腺全体の組織発達を把握できると思われる。

3. 月経周期における頸管腺組織発達指標の変化 (図5)

CM 良好例に於て排卵期 (−2日〜±0日) 卵胞期中期 (−6日〜−4日), 黄体期中期 (+6日〜+8日) の「腺細胞高」, 「腺腔比」を比較した。図5に示す如

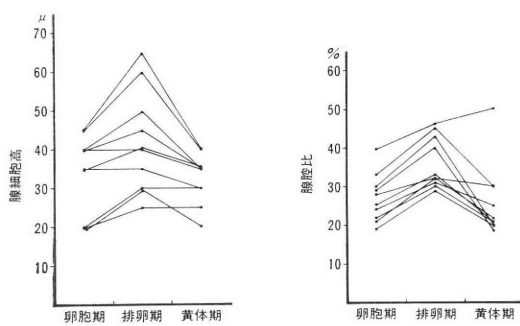


図5 月経周期における頸管腺組織の変化

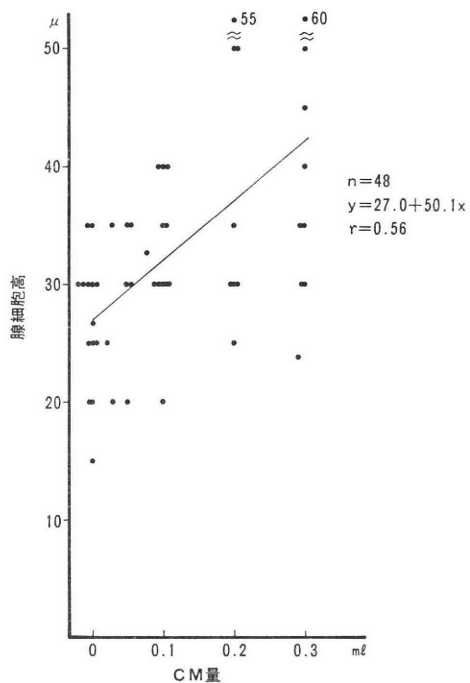


図6 CM量と腺細胞高

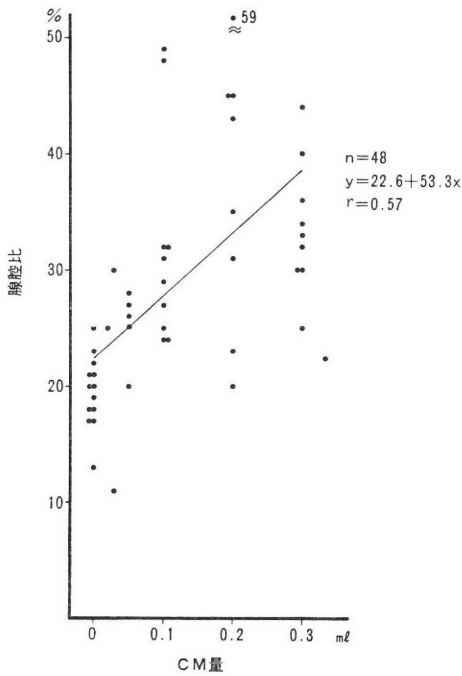


図7 CM 量と腺腔比

く、両指標とも CM 分泌能が最高となる排卵期に最高値を示した。

4. CM量と頸管腺組織発達指標との関係(図6, 図7)

CM 良好例48例に於て、CM 量と「腺細胞高」, 「腺腔比」との関係を見ると、図6, 図7に示す如く、CM 量と「腺細胞高」とは $r=0.56$, 「腺腔比」とは $r=0.57$ と共に有意($P<0.01$)の正の相関を示した。

5. 内分泌動態と頸管腺組織発達指標の関係(図8, 図9)

CM 分泌良好例48例に於て、血中 E_1 , E_2 , E_3 値と「腺細胞高」, 「腺腔比」との相関を求めた。血中 E_2 値に於ては図8, 図9の如く「腺細胞高」とは $r=0.55$, 「腺腔比」とは $r=0.63$ で共に有意($P<0.01$)の正の相関を示した。また、血中 E_1 値と「腺細胞高」とは $r=0.52$, 血中 E_1 値と「腺腔比」とは $r=0.54$ で共に有意($P<0.01$)の正の相関を示した。一方、血中 E_3 値と「腺細胞高」, 「腺腔比」とはそれぞれ $r=0.02$, $r=0.00$ で全く相関はみられなかった。

6. Clomiphene 投与時における CM 分泌能, 内分泌動態, 頸管腺組織発達指標(図10)

CM 良好例20例に Clomiphene 50mg を月経周期5日目より5日間投与し、排卵期の CM 量, 血中 E_1 , E_2 , E_3 値「腺細胞高」, 「腺腔比」を Clomiphene 非投与周期と比較した。

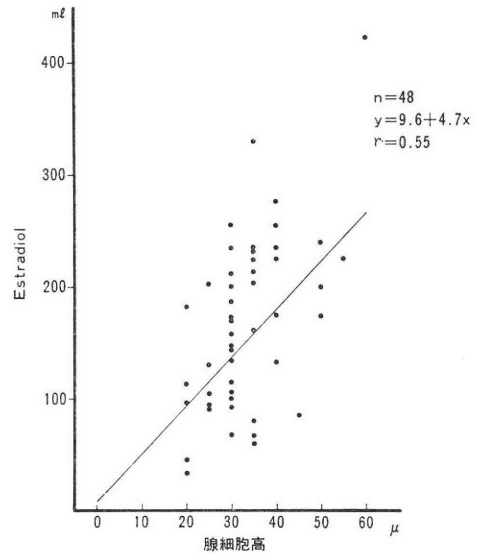


図8 腺細胞高と血中 Estradiol 値

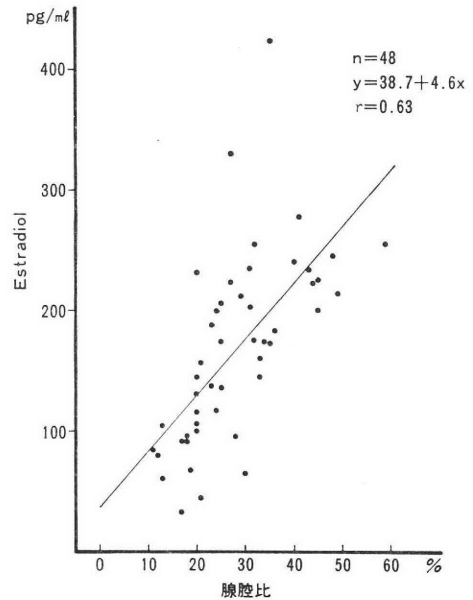


図9 腺腔比と血中 Estradiol 値

図10の如く、血中 E_1 値 ($M \pm SE$) は、非投与周期 133.5 ± 11.3 pg/ml, 投与周期 255.8 ± 34.3 pg/ml, 血中 E_2 値は非投与周期 196.8 ± 13.8 pg/ml, 投与周期 421.2 ± 54.3 pg/ml, 血中 E_3 値は非投与周期 14.2 ± 1.4 pg/ml, 投与周期 23.9 ± 1.7 pg/ml と、Clomiphene 投与周期では有意($P<0.01$)に高値を示した。一方、CM 量は非投与周期 0.21 ± 0.02 ml, 投与周期 0.06 ± 0.02 ml と有意($P<0.01$)に低下し、「腺細胞高」は非投与周期 $33.6 \pm$

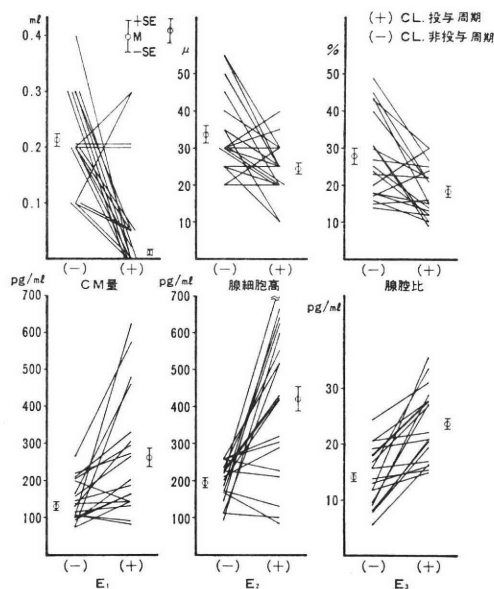


図10 Clomiphene 投与による CM 量, 血中 Estrone Estradiol, Estriol, 腺細胞高, 腺腔比の変化



写真2 T.K. Clomiphene 非投与周期の頸管腺組織像

CM 0.3ml, FLP 卅, (PAS 100×)
E₁ 99.8pg/ml 腺細胞高45μm
E₂ 224.0pg/ml
E₃ 20.8pg/ml 腺腔比33%

2.2μm, 投与周期 $24.5 \pm 1.5\mu\text{m}$, 「腺腔比」は非投与周期 $27.8 \pm 2.3\%$, 投与周期 $18.2 \pm 1.7\%$ と共に Clomiphene 投与周期に低下傾向を示した ($P < 0.1$).

写真2は Clomiphene 非投与周期, 写真3は Clo-

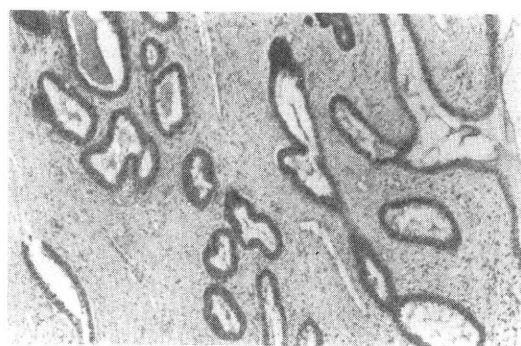


写真3 T.K. Clomiphene 投与周期の頸管腺組織像

CM 0.05ml, FLP+ (PAS 100×)
E₁ 201.9pg/ml 腺細胞高20μm
E₂ 425.0pg/ml
E₃ 28.5pg/ml 腺腔比27%

miphene 投与周期の PAS 染色腺組織標本写真を示す。本症例では血中 E₁ 値 $99.8\text{pg/ml} \rightarrow 201.9\text{pg/ml}$, 血中 E₂ 値 $224.0\text{pg/ml} \rightarrow 425.0\text{pg/ml}$, 血中 E₃ 値 $20.8\text{pg/ml} \rightarrow 28.5\text{pg/ml}$ と, Estrogen は Clomiphene 投与により上昇を示したが, CM 量は $0.3\text{ml} \rightarrow 0.05\text{ml}$, 「腺細胞高」 $45\mu\text{m} \rightarrow 20\mu\text{m}$ 「腺腔比」 $33\% \rightarrow 27\%$ と Clomiphene 投与により低下を示した。

7. CM 不全例の検討

① CM 良好例, CM 不全例の内分泌動態, 頸管腺組織の比較 (表1)

CM 良好例, CM 不全例の CM 最大分泌量を示した日の, 血中 E₁, E₂, E₃ 値, 「腺細胞高」, 「腺腔比」を比較した。

表1の如く, 血中 E₃ 値を除きいずれも, CM 良好例が CM 不全例より有意 ($P < 0.001$) に高値を示した。

② CM 不全例に対する HMG 投与の影響 (図11, 図12, 写真4, 写真5)

CM 不全例のうち血中 E₂ 値 100pg/ml 以下の E₂ 低値群 ($N=15$) と, 血中 E₂ 値 200pg/ml 以上の E₂ 正常群 ($N=12$) に対し, 過去3周期の平均推定排卵日4日前より, HMG 150iu 3日間投与し, 内因性 Estrogen を増加せしめ, HMG 投与周期と非投与周期の排卵期の CM 量, 血中 E₂ 値「腺細胞高」, 「腺腔比」を比較した。

表1 CM 良好例及び CM 不全例の内分泌動態, 頸管腺組織の比較

	E ₁ pg/ml (M±SE)	E ₂ gp/ml	E ₃ pg/ml	腺細胞高 μ	腺腔比 %
良好例 (N=24)	164.1 ± 13.9	220.2 ± 13.0	14.5 ± 1.3	36.6 ± 2.1	34.6 ± 2.1
不全例 (N=56)	106.4 ± 2.0	151.9 ± 9.1	15.1 ± 1.0	27.5 ± 1.0	20.2 ± 1.3

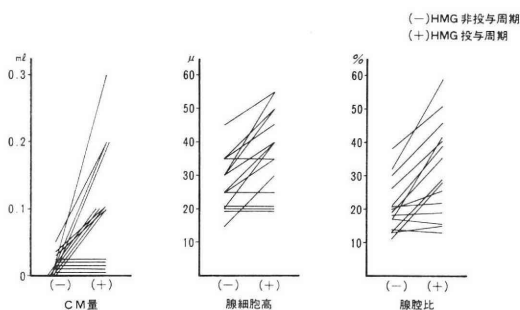


図11 CM 不全例 (E₂ 低値群) に対する HMG の影響

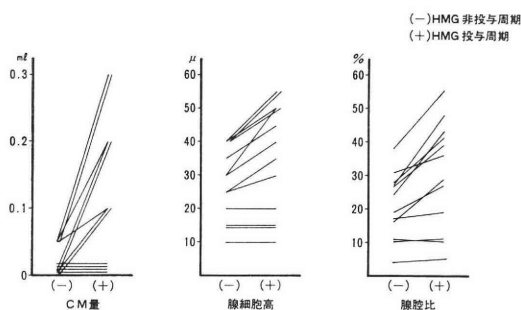


図12 CM不全例 (E₂ 正常群) に対する HMG の影響

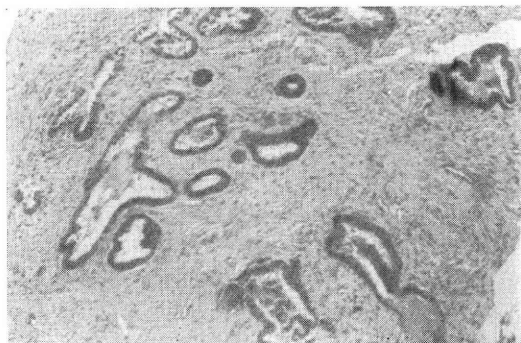


写真4 K.K. HMG 非投与周期の頸管腺組織像

CM 0ml (PAS 100×)

E₁ 64.4pg/ml

腺細胞高15μm

E₂ 92.0pg/ml

E₃ 10.5pg/ml

腺腔比21%

E₂ 低値群 (N=15) では、血中 E₂ 値は全例増加し、平均 (M±SE) は75.2±7.0pg/ml→520.0±70.5pg/ml であった。図11に示す如く、CM 量、「腺細胞高」、「腺腔比」の増加をみたのは15例中11例で、増加をみないもの5例であった。

E₂ 正常群 (N=12) では、血中 E₂ 値は全例増加し、平均値239.0±10.0pg/ml→632.7±79.2pg/ml であった。



写真5 K.K. HMG 投与周期の頸管腺組織像

(M 0.1ml FLP, ++ (PAS 100×))

E₁ 396.2pg/ml

腺細胞高30μm

E₂ 436.4pg/ml

E₃ 47.2pg/ml

腺腔比41%

図12の如く、CM 量「腺細胞高」「腺腔比」のいずれも増加したもの8例、増加をみないもの4例であった。写真4、5は CM 不全例の HMG 非投与周期 HMG 投与周期の一例であり、HMG 投与により、CM 分泌の改善をみた例である。

③ CM 不全例の分類 (表2)

CM 不全例を HMG 投与による内因性 E₂ 増加に基づく、CM 量、「腺細胞高」、「腺腔比」の増加の有無によって表2の如く分類した。

表2 CM 不全の分類

		血中 E ₂ 値	HMG 投与後
①	E 不足群	低値	CM 量
			「腺細胞高」
②	E に対する感受性低下群	正常	CM 量
			「腺細胞高」
③	E に対する反応性低下群	低値～正常	CM 量
			「腺細胞高」

E 不足群は、血中 E₂ 値が低値の為に、CM 不全をきたす群で、HMG 投与により内因性 E₂ を増加させると、頸管腺組織は反応して、より発達し、CM 量は増加する。E に対する頸管腺組織の感受性低下群では、血中 E₂ 値が正常を示すにもかかわらず、E₂ に反応して CM 量は増加しないが、さらに高値の E₂ によって、頸管腺組織が反応して、より発達し、CM 量が増加する。E に対する頸管腺組織の反応性低下群は、腺組織自体が未発達な腺不全群 (写真6) 又は E receptor の欠如を思

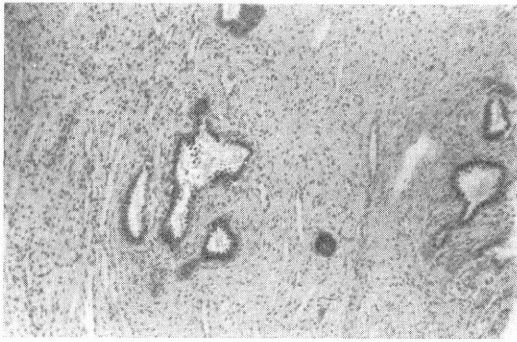


写真6 K.S. 腺不全例(頸管腺組織が未発達な例)の頸管腺組織像(PAS 100×)

CM 0ml

E₁ 130.6pg/ml

腺細胞高10μm

E₂ 228.6pg/ml

E₃ 17.2pg/ml

腺腔比9%

せる群で、内因性 E₂ を増加させても変化がみられない。写真6は、腺不全の例で、血中 E₂ 値は正常であるが、腺組織は未発達で、内因性 E₂ 増加に反応しない。

考 案

CM は排卵日が近づくにつれ水様透明となり、索糸性は増加し、粘稠度は低下する。その変化は血中 E level の上昇とともに進み、排卵後血中 P の上昇とともに、速かに消失すると云われる。今日では E が CM 分泌を促進し、P が抑制することは周知の事実であり、臨床的にも CM 分泌能は排卵日の推定、妊娠の否定診断、E 活性の指標として広く利用されている。

しかし血中 E を E₁, E₂, E₃ に分け、各々と CM 分泌能とを比較した報告はない。図1, 2, 3の如く、血中 E₁, E₂ 値と CM 量とは正の相関を示し、CM 量は、E₁, E₂ 活性とよく相関することを示す。しかし従来 E₃ は他に E 活性をおよぼすことなく、頸管腺に選択的に作用し CM 量を増加させるとされてきたが、そのメカニズムに関した報告はみられない。今回の著者のデータでは、血中 E₃ 値と CM 量とは全く相関がなく、CM 不全例と良好例で血中 E₃ 値に差がないことから、E₃ の CM 増加作用に対し再検討が必要と思われる。

Fluhmann³⁾によると、頸管粘液分泌腺は単層円柱上皮である腺上皮細胞が複雑なひだとなつて頸管壁内に陥ち込んで、嚢道形成、裂孔、盲嚢を含んだ複合裂孔“crypts”より成り、分泌細胞は H-E 染色でほとんど無色、PAS 陽性の細胞質顆粒を多数含み、細胞膜の破裂により分泌顆粒を腺腔内に放出すると云う。

頸管腺組織に関する報告は少く、わずかにその月経周期による変化についての報告があるが、Novak⁴⁾, Topkins⁵⁾らは光顕的には形態学的周期性変化は認められな

いとし、一方、原田⁶⁾は、体部内膜の変化の如き明確さはないが光顕的に周期性変化がみられたとし、小森⁷⁾は、電顕により分泌細胞の周期性変化を報告しているが定説はまだない。CM 分泌能との関係や、ホルモン剤による変化の報告は稀で、わずかに、Insler⁸⁾が E 及び gestagen 付加後に子宮を摘出して crypt の大きさを比較し、E による刺激は、gestagen によるものに比して、crypt の大きさを増すとし、Mingeot⁹⁾らは、E 投与周期では非投与周期に比し、腺細胞の高さが増すと報告したにすぎない。

頸管腺組織の分析に当つては、頸管組織採取部位により、変化に差異があるかどうかが問題になるが、図4に示す如く、頸管腺組織はどの部位でもほぼ一定の変化を示し、どの部位からの punch biopsy でも十分に頸管腺全体の変化を把握できると思われる。また、頸管腺組織発達状態の指標として「腺細胞高」「腺腔比」を用いたが、両者は、CM 量、血中 E₁, E₂ 値とよく相関し、しかも月経周期によつて変動し、排卵期に最も高値となり、CM 量、FLP と並んで、CM 分泌能を検討するのに有用であることが判明した。

Clomiphene は排卵誘発剤として、きわめてすぐれた薬剤であるが、その排卵率に比して妊娠率は低く¹⁰⁾、その原因として、Clomiphene 投与による黄体期の E₂ 値異常高値による E/P 比の不均衡¹¹⁾と並んで、CM 分泌不全が挙げられている。しかし、Clomiphene 排卵周期の CM 量、頸管腺組織、内分泌動態の関係についての報告はみられない。著者の成績では図10の如く、Clomiphene 投与周期に血中 E₁, E₂, E₃ 値は有意に上昇するが、CM 量、「腺細胞高」「腺腔比」は逆に低下する。この現象は Clomiphene 投与によつて、Clomiphene が間脳の E receptor に競合的に働く¹²⁾のと同様の現象が、頸管腺の E receptor でも生じており、これが CM 不全を生む原因と推定される。すでに著者の教室¹³⁾では、Clomiphene 投与によつて、ヒト子宮内膜の E₂ receptor が減少するとのデータを得ており、この仮説をうらづけている。

CM 不全は従来 E 分泌不全に基づくと解釈されてきたが、著者の成績では CM 不全は必ずしも E 低値とはかぎらない。杉田¹⁴⁾は CM 不全例を、E に対する頸管腺の反応性の異常に基づくものと、形態学的に異常を示す2つのタイプを推定している。CM 不全例の E level は、E₂ 低値群と正常群とに分れ、E₂ 低値群がもし E₂ 低値の為 CM 不全を生じているとすれば、E を上昇させればよいことになる。E 上昇の手段として、外来性に E を投与すれば容易であるが、外来性 E により、排卵の遅延、抑制を生ずる可能性があり、内因性の E 上昇

が望ましい。著者の用いた量の HMG 投与では、過剰刺激もなく、内因性 E 上昇の目的にふさわしく、HMG 投与により E level は有意に上昇した。

E₂ 低値群 15 例中 10 例は E₂ 増加によつて CM 量、「腺腔比」「腺細胞高」は上昇し、これらは E 低下による CM 不全と解釈される。E₂ 正常群 12 例中 8 例は、HMG 投与により CM 量、「腺細胞高」「腺腔比」が上昇したがこれらは頸管腺の E₂ に対する感受性が低下している為で E₂ level をさらに上昇させることにより、CM が増加したと解釈される。

E₂ 低値群、正常群のうち、HMG 投与による E₂ 増加によつても、CM 分泌が回復しない群は、頸管腺自体が E に対して反応性を欠如するか、極めて低下した群と考えられ、頸管腺組織自体の未発達は、いわゆる腺不全、又は頸管腺組織 E receptor の異常が考えられる群である。

この様に CM 不全は HMG 投与によつて

- ① E 不足群
- ② 頸管腺の E に対する感受性低下群
- ③ 頸管腺の E に対する反応性低下群

の 3 つに分類できた。

①、②に対しては、何らかの方法で E を上昇させれば、CM 量増加が期待できる。その一例として、排卵前の少量の HMG 投与も一つの方法と考えられる。従来行われてきた E₃ 剤投与は前述の如く、CM 分泌能との関連がなく、再検討が必要である。③に対しては頸管腺自体に問題があり、現在の所 CM 改善は期待できない。

結 語

頸管粘液不全を内分泌学的、及び新たに考案した頸管腺組織発達指標（「腺細胞高」、「腺腔比」）を用いて分析・検討を行い、以下の結論を得た。

- (1) 血中 E₁, E₂ 値と CM 量は正の相関を示すが、血中 E₃, P 値と CM 量とは相関は全くみられない。
- (2) 頸管の各部位において、腺組織の変化は一定であり、採取部位による差異はみられず、1 ケ所の punch biopsy によつて頸管腺全体を推定できる。
- (3) 頸管腺組織発達指標である「腺細胞高」「腺腔比」は排卵期に最高値を示し、卵胞期黄体期では低値を示す。また血中 E₁, E₂ 値, CM 量と正の相関を示し、CM 量, FLP と並んで CM 分泌能を検討するのに有用である。しかし、血中 E₃, P 値とは相関を示さない。
- (4) Clomiphene 投与により、血中 E₁, E₂, E₃ 値は有意の増加を示すが、CM 量、「腺細胞高」、「腺腔比」

は逆に低値の傾向を示しこれは Clomiphene が頸管腺の E receptor に競合的に働く為と推定される。

(5) CM 不全例に対し、排卵前に HMG を投与し、内因性 Estrogen を増加させ、CM 量、「腺細胞高」、「腺腔比」の変化により、CM 不全例を 3 つのタイプに分類した。

- ① Estrogen 不足群
- ② 頸管腺組織の E に対する感受性低下群
- ③ 頸管腺組織の E に対する反応性低下群

謝 辞

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師飯塚理八教授、ならびに終始御指導下さいました中村幸雄講師に深謝致します。また御指導、御助言を頂いた病理学教室影山圭三教授、同三方淳男助教授、慶応義塾大学産婦人科学教室家族計画相談所の諸兄姉、済生会神奈川県病院産婦人科医長仁科進弘博士、ならびに慶応健康相談センター婦人科研究室橋川絹代嬢に感謝致します。

本論文の要旨は第 53 回日本内分泌学会総会ならびに第 25 回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) 飯塚理八：不妊症学，金原出版，1979。
- 2) 松本 茂，中村幸雄，川村尚道，田辺清男，飯塚理八：RIA によるステロイドホルモンの測定法について。ホと臨床，24：29，1976。
- 3) Fluhmann, C. F.: The cervix uteri and its diseases. p. 79, Philadelphia, W. B. Saunders Co. 1961.
- 4) Novak, and Woodruff: Gynecologic and Obstetric Pathology. p. 70, Philadelphia, W. B. Saunders Co. 1974.
- 5) Topkins, P: The histologic appearance of the endocervix during the menstrual cycle. Amer. J. Obstet. Gynec. 80: 654, 1949.
- 6) 原田輝武：人子宮頸管内膜の周期性変化。臨婦産，5：54，1951。
- 7) 小森 昭：人子宮頸管内膜上皮細胞の周期性変化に関する電子顕微鏡的研究。日産婦誌，15：1345，1963。
- 8) Insler: The Uterine Cergix in Reproduction, P. 14, Georg Thieme Publishers Stuttgart, 1977.
- 9) Mingot and Fievez: Endocervical changes with the use of synthetic steroids. Amer. J. Obstet. Gynec. 44: 53, 1974.
- 10) 田中秀美：排卵誘発剤 Clomiphene citrate による臨床成績とその内分泌動態。日不妊会誌，25：139，1980。
- 11) 上野 裕：Clomiphene citrate による排卵周期の黄体機能，日産婦誌，31：1335，1979。

- 12) Kato, J. et al: Effect of Clomiphene on the uptake of estradiol by the anterior hypothalamus and hypophysis. *Endocrinology*, 82: 1049, 1968.
- 13) 齊藤和明: 正常月経周期および Clomid 投与によるヒト子宮内膜における estradiol receptor の変動, 第55回日内分泌学会秋季大会抄録集.
- 14) 杉田 元: 不妊における頸管粘液分泌不全の機序に関する研究. *日不妊誌*, 26: 36, 1981.

Endocrinological and morphological study on the mechanism of insufficient cervical mucus secretion

Keiji Higaki

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

(Director: Prof. Rihachi Iizuka)

In order to clarify the mechanism of insufficiency of cervical mucus (CM) secretion as a factor of infertility, women with normal ovulatory cycle but with CM insufficiency were examined on CM secretion, FLP, serum levels of estrone (E_1), estradiol (E_2), estriol (E_3), progesterone (P) and newly devised growth indices for cervical gland. Moreover, this study was undertaken to

determine the effect of clomiphene citrate on CM secretion.

1) There was a correlation between serum E_1 , E_2 and CM secretion, but no correlation between serum E_3 , P and CM secretion.

2) Since cervical gland have a constant growth appearance at any site in cervix, the whole of cervical gland can be assumed by punch biopsy from a single site.

3) The growth indices reached a peak at period of ovulation, and showed low values at follicular and luteal phase. There was a correlation between the indices and serum E_1 , E_2 and CM secretion, but no correlation between the indices and serum E_3 and P.

4) The levels of serum E_1 , E_2 and E_3 increased significantly, while CM secretion and the indices decreased by clomiphene administration.

5) Women with CM insufficiency received HMG therapy before ovulation to increase endogenous estrogen (E) and CM secretion. And the cases were divided into three types according to changes in CM secretion and the indices.

1. a group with low E levels.
2. a group with low sensitivity of cervical gland to E.
3. a group with low reactivity of cervical gland to E.

(受付: 昭和57年9月29日)

密度勾配遠心用蔗糖重合体を用いた精子 洗滌濃縮法の AIH への応用

The Clinical Application of the Dencity Gradient
Centrifugation in the Polymerized Sucrose for Concentration
and Washing of Human Sperm Using AIH

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

眞 田 利 男 小 林 俊 文 兼 子 智

Toshio SANADA Toshifumi KOBAYASHI Satoru KANEKO

小 埜 清 飯 塚 理 八

Kiyoshi KOBANAWA Rihachi IIZUKA

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

密度勾配遠心用蔗糖重合体 (Ficoll) を用いた精子の洗滌濃縮法を AIH に施行した。洗滌濃縮法の至適条件検討実験の結果、充分に液化した精液を10% (w/v) Ficoll 溶液4.0ml に層積し、回転速度 $300 \times g$ にて15分間遠心分離の条件の下で精子回収率は最も高率であった。

洗滌濃縮精子の形態を走査電子顕微鏡を用いて観察した結果とくに損傷を認めなかった。また精漿中のLDH, Acid Phosphatase を指標とし、精漿の除去率を計算した結果、98%の精漿が除去されていた。

本法を精子減少症を中心とした113標本で検討したが、精子濃度は平均2.2倍、精子運動率は平均1.2倍の改善を認め、妊娠係数は平均2.6倍の向上を示した。とくに精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の例の改善が顕著であった。

現在までに本法による妊娠例は、洗滌濃縮前に精子濃度 $5.0 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動率40%で妊娠した症例も含めて7例存在し、新生児にもとくに異常は認められていない。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(2), 267-272, 1983)

緒 言

配偶者間人工授精 (Artificial insemination with husbands semen, AIH) は、精子減少症、精子運動率低下例や、性交後試験 (Post coital test) 陰性例などに対する治療法として応用されている。しかし、AIH の妊娠率は AID に比し低く、ことに精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下、精子運動率30%以下の症例での妊娠率は極端に低い¹⁾。これら低妊孕性の精液所見を呈する症例の AIH 妊娠率の向上のためには AIH に供する精液所見の改善が重要である。

現在まで精液性状改善のための方策として精液を2分

画に採取し、精子濃度、精子運動率のより良好な第1分画を AIH に供する方法²⁾や、ビタミン、各種のホルモン療法³⁾、酵素製剤⁴⁾などの投与による治療が試みられてきた。

しかし、これらの方法も必ずしも満足の成果を得ていない。また人工授精にさいして、子宮腔内に注入する精液量は0.5ml で充分であるので、精液を遠心分離して精子を沈殿させ、これを少量の生食などに再懸濁して授精に用いる精液の精子濃度の改善をはかる試みもなされていたが、遠心分離のさいに受ける機械的損傷などにより精子運動率が低下し期待されたほど妊孕性の向上の目的を達し得なかった。

我々は密度勾配遠心用蔗糖重合体(以下 Ficoll と略)⁵⁾を用いた遠心分離法による精子の洗滌を行ない、この洗滌精子を用いて種々の物質が精子運動能に及ぼす影響の基礎的検討を行なってきた⁶⁾。本法は精子運動能を損うことなく精漿を除き得るとともに、再懸濁を行なう培養液の量を調節することにより、任意の精子濃度を有する精子懸濁液を調整し得る。そこでこの点に着目し、これを AIH に供する精液の性状改善、とくに精子減少症の精子濃度改善の目的で種々検討し、実際に AIH に応用可能であることを確認した。

研究方法

1. 培養液の組成

精子培養液は Modified Harrison 液を用いた⁷⁾。これは HEPES とグルコースとその他の電解質(表1)を蒸留水に溶解したものを 1N-KOH および 1N-NaOH を用いて pH 7.4 に調整した。浸透圧は 290~300 mOsmole となっている。

表 1 精子培養液組成

	M.W.	mM	g/l
HEPES	238.3	20	4.77
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	358.0	2	0.72
MgCl ₂ · 6H ₂ O	203.3	2	0.41
CaCl ₂ · 2H ₂ O	147.0	2	0.30
NaCl	58.5	138	3.01
N-NaOH	40.0	—	7.5 ml
N-KOH	56.0	—	2.5 ml(ab)
Glucose	180.0	10	1.8

Finally adjusted to pH 7.4 by N-KOH and N-NaOH

2. Ficoll 溶液

上記培養液に、密度勾配遠心用担体である蔗糖重合体(Ficoll)を溶解し、Ficoll 溶液を作製した。

3. 精子洗滌濃縮法

Ficoll 溶液 4.0 ml を遠心用試験管に入れ、十分に液化した精液を層積した。これをスイングアウトローターを用いて低速遠心分離を行ない、上層に残る精漿および Ficoll 溶液を除去し、沈殿した精子を少量の培養液に再懸濁することにより精子洗滌濃縮を行なった。人工授精のさいにはこの再懸濁液を人工授精用注射筒に装填し授精を行なった(図1)。

4. 精子濃度の算定

精液または精子懸濁液中の精子濃度は 5% (v/v) ホルマリンを用いて希釈した後、トーマス氏血球算定盤を用いて測定した。

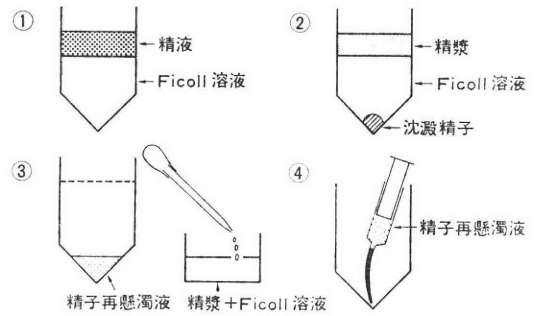


図1 Ficoll を用いた精子洗滌、濃縮法

5. 精子運動率の算定

ストロボ多重露光撮影法⁸⁾を用いて行なった。この装置は暗条件下に 1 秒間隔にストロボを 3 回発光させ、3 回の精子頭部の運動の軌跡を撮影する。前進運動精子は連なった 3 点として、非運動精子は明瞭な 1 点として記録される。運動精子数を視野中の全精子数で除して精子運動率を算定した。

6. 精漿除去率の検討

精漿中に含まれる LDH, Acid Phosphatase 活性を指標として精子洗滌濃縮前後の精漿除去率を検討した。LDH, Acid Phosphatase の測定用 kit (Boehringer Mannheim 社) を用いて原精液、洗滌濃縮精子懸濁液中の両酵素の活性を比較して精漿除去率を求めた。

研究成績

1. 精子洗滌濃縮の至適条件の検討

1) Ficoll 濃度の検討

Ficoll 濃度 7.5, 10.0, 12.5% (w/v) に調整した Ficoll 溶液に精液を層積し、回転速度 300×g にて 15 分間遠心分離を行ない、沈殿した精子の回収率を測定した(図2)。

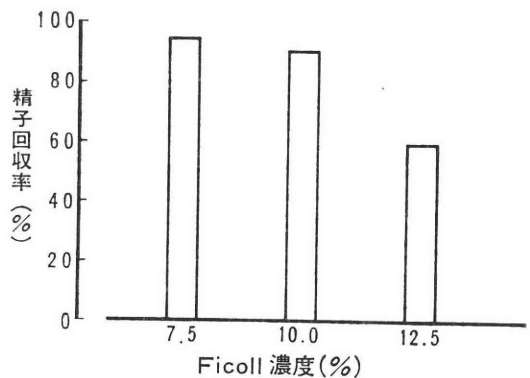


図2 精子回収率の Ficoll 濃度による変化 (遠沈時間15分, 遠沈速度300×G)

7.5, 10.0% (w/v) Ficoll 溶液を用いた場合にはそれぞれ 94.7%, 91.0% の精子が沈殿中に回収されたが, 12.5% (w/v) Ficoll 溶液では精子回収率が 60.0% に低下した. また 7.5% (w/v) Ficoll 溶液は精液との密度差が小さく, 層積が困難な場合もある. したがって Ficoll 濃度は 10% 前後が洗滌濃縮に至適である.

2) 遠心分離速度の検討

10% (w/v) Ficoll 溶液に精液を層積し 200, 300, 500×g にて 15 分間遠心分離を行ない, 精子回収率および精子運動率を測定した (図 3).

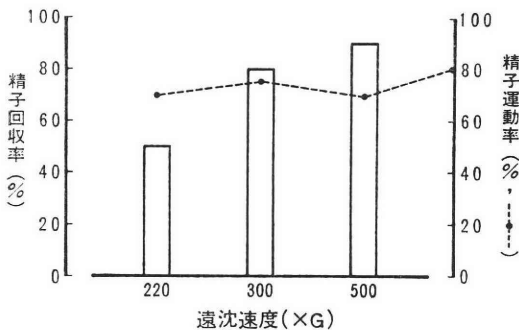


図 3 精子回収率および運動率の遠心速度による変化

(遠心時間 15 分, Ficoll 濃度 10%)

300, 500×g にて遠心分離を行なった場合ともに良好な精子回収率であったが, 200×g では精子回収率が低下した. 用いた精液の精子運動率は 80% であったが, 検討した遠心分離速度ではいずれも精子運動率の低下は認められなかった. 遠心分離速度は可及的低速であるべきであり, したがって上記の成績より 300×g を至適遠心分離速度と設定した.

3) 遠心分離時間の検討

10% (w/v) Ficoll 溶液に精液を層積し 300×g にて

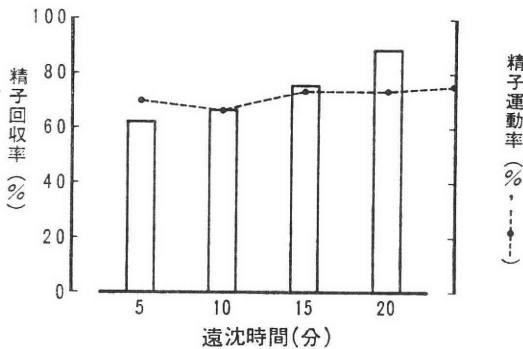


図 4 精子回収率および運動率の遠心時間による変化

(Ficoll 濃度 10%, 遠心速度 300×g)

5, 10, 15 および 20 分間遠心分離を行ない, 沈殿した精子の回収率と精子運動率を測定した (図 4).

遠心時間を長くするほど精子回収率が向上することを認め, また 20 分間遠心分離した後も精子運動率の低下は認められなかった. 臨床応用を行なうさいには時間的制約もあり, 上記の成績より遠心分離時間は 15 分間が適当である.

以上行なった基礎検討結果から, Ficoll による精子洗滌濃縮法は 10% (w/v) Ficoll 溶液に充分液化した精液を層積し, 300×g にて 15 分間遠心分離する方法が最良であると結論できる.

2. 洗滌濃縮精子の評価

1) 走査電子顕微鏡による観察

洗滌濃縮後の精子形態を走査電子顕微鏡を用いて観察した. 試料の作製は常法に従い行なった. 図 5-(a) は精液を単に遠心分離して沈殿させた精子の走査電子顕微鏡写真であり, 図 5-(b) は Ficoll 洗滌濃縮を行なった精子の同写真である. 洗滌濃縮後も精子形態に損傷は認められず, 単に遠心分離を行ない沈殿せしめた精子と比較し, 精子周囲から精漿成分の残渣が取り除かれているこ

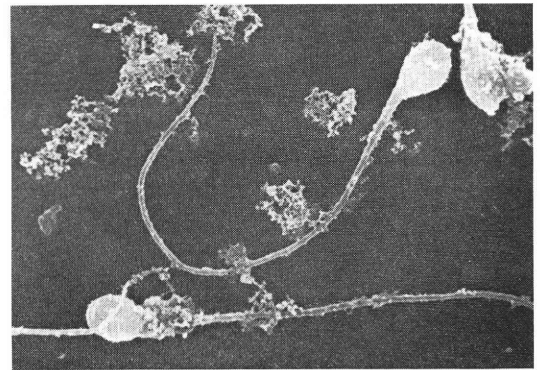


図 5-(a) 精液を単に遠心分離して沈殿させた精子の走査電子顕微鏡写真

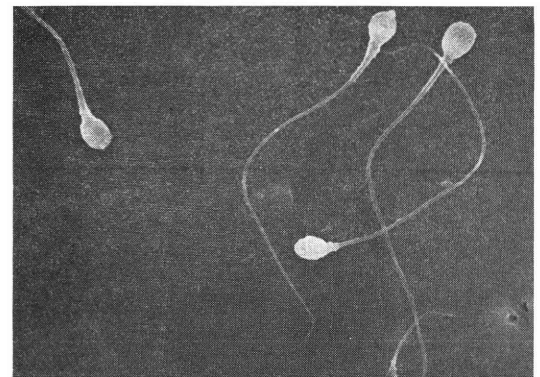


図 5-(b) Ficoll 洗滌濃縮法を行なった精子の走査電子顕微鏡写真

とを認める。

2) 精漿除去率

洗滌濃縮前後の LDH, Acid Phosphatase 活性を測定した結果, 洗滌濃縮精子再懸濁液中の両酵素活性は原精液中の 2% に過ぎず, 98% の精漿が除去されたと推定される。

3. Ficoll を用いた精子洗滌濃縮法による精液性状の変化

精子減少症者を主とした 113 標本に Ficoll を用いた精子洗滌濃縮法を行ない, 精子妊孕性に深く関与する精子濃度, 精子運動率の洗滌濃縮前後の比較検討を行なった。

図 6 は精子濃度の洗滌濃縮前後における変化を示した。傾き 1 の斜線は洗滌濃縮前後で精子濃度に変化のないことを, 傾き 2 の斜線は精子濃度が 2 倍に改善されたことを示す。

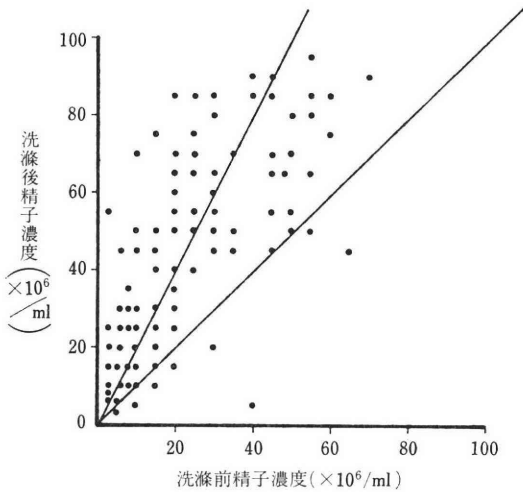


図 6 洗滌濃縮前後の精子濃度

大部分の標本において洗滌濃縮後に精子濃度が上昇しており, 平均 2.2 倍に改善されている。とくに精子濃度

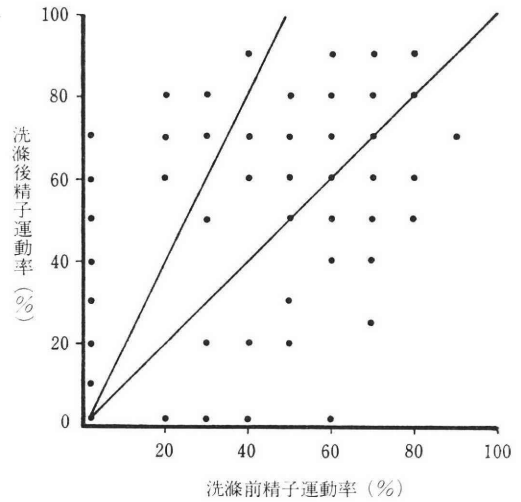


図 7 洗滌濃縮前後の精子運動率

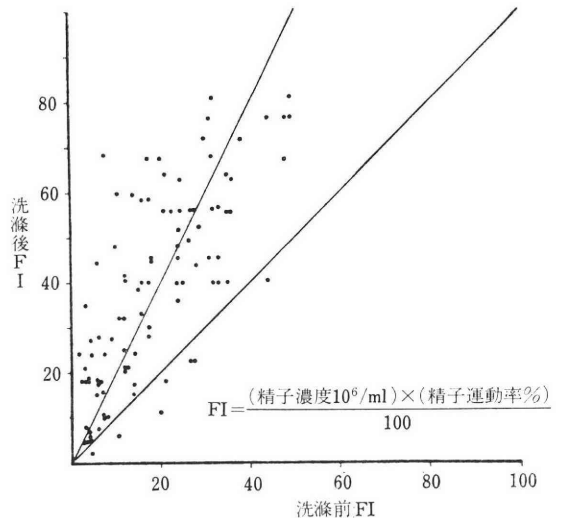


図 8 洗滌濃縮前後の Fertility Index (FI)

の低い標本 (20×10⁶/ml 以下) では改善が顕著である。洗滌濃縮前後の精子運動率の比較検討結果では, 半数

表 2 Ficoll を用いた精子洗滌濃縮法にて妊娠した例 (AIH)

	症例	洗滌前精液所見				洗滌後精液所見		
		精液量 (ml)	精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	精子運動率 (%)	妊孕係数	精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	精子運動率 (%)	妊孕係数
1	M. T.	1.0	25	70	17.5	40	60	24
2	K. I.	2.0	40	80	32	90	90	81
3	M. K.	6.8	25	80	20	50	50	25
4	M. M.	3.0	30	80	24	85	90	76.5
5	E. K.	3.0	25	70	17.5	50	80	40
6	Y. H.	3.0	40	70	28	55	80	44
7	E. S.	1.2	5	40	2	10	70	7

表 3 洗滌精子による AIH 妊娠例

症例 竹〇ま〇子 女 27歳 不妊期間 3年 28歳				
初診 S54年 5月11日				
女性側諸検査成績				
月経周期40~50日型以外、特に不妊要因となる 所見認めず				
精液検査成績				
	精液量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	精子運動率 (%)	FI
55. 2.22	0.8	15	50	7.5
" 3. 8	0.8	20	70	14
S55年 6月26日 AIH 施行するも妊娠せず 7月26日 洗滌精子による AIH で妊娠し、S56年 4月23日正 常分娩する				
洗滌前	1.0	25	70	17.5
洗滌後	0.5	40	60	24
新生児 女児 生下時体重 3130 gr 身長 50 cm				

表 4 洗滌精子による AIH 妊娠例

症例 白〇恵〇子 女 29歳 不妊期間 2年 36歳				
初診 S56年 4月13日				
女性側因子 諸検査にて特に異常認めず				
精液検査所見 (S56年 9月21日)				
	精液量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	精子運動率 (%)	妊娠係 数
	1.6	8	50	4
精液所見不良のため S56年11月21日洗滌精子による AIH で妊娠する。				
洗滌前	1.2	5	40	2
洗滌後	0.5	10	70	7

以上の標本において洗滌濃縮後に精子運動率が高くなる傾向を認め、平均1.2倍に改善されている(図7)。

また極度に運化精子の少ない、いわゆる精子無力症精液に本法を施行すると、運動率が30~70%へと顕著に改善した標本も存在した。

われわれは1mlあたりの運動精子数(精子濃度 $\times$ 精子運動率)を 10^6 で除した値を飯塚の妊孕係数(Fertility Index, FI)として精子妊孕性評価の指標としている。洗滌濃縮前後の FI を比較した結果、FI は 2.6 倍に改

善されている(図8)。

4. 本法による AIH での妊娠例の検討

われわれは現在までに7例の妊娠を経験した。妊娠例の精液所見はいずれも洗滌濃縮後に精子濃度が増加している(表2)。精子運動率は1例目と3例目が若干低下を認めるが他は改善している。FI はいずれの例でも増加しており、平均2.1倍になっている。個々の例を検討してみる。表3の症例は本法にて最初に妊娠にいたった症例である。女性側因子は特に異常を認めず精子減少症のみが不妊の原因と考えられる。洗滌濃縮精子を用いた AIH にて妊娠し、正常分娩にて女兒を得たが新生児はとくに異常を認めなかった。表4の症例は最も精子所見の良くない例であるが、女性側因子はとくに異常を認めず極度の精子減少症が不妊因子である。洗滌濃度により精子濃度が2倍に、FI が3.5倍に改善し妊娠にいたった。

現在までに4例の分娩例が確認されているが分娩形式は正常分娩2例、帝王切開2例であり男女比は1対3である。児の平均生下時体重は3592g で外見的異常はすべての例で認められていない。なお1例の流産が確認されている。

考 察

Ficoll は蔗糖の重合体であり、血漿増量剤などに用いるデキストランと類似な構造を有している。従来、細胞や細胞内顆粒の密度勾配遠心用担体として蔗糖が繁用されてきたが、高濃度の蔗糖溶液は浸透圧、粘度が高く、細胞の生存性を損うことなく分離し難かつた。Ficoll は平均分子量 4×10^5 の高分子であり、浸透圧、粘度が低く、等張の高密度溶液を調整し得るので細胞を生きのまま分離できる利点を持っている^{8,9)}。

本法を精子洗滌濃縮に応用することにより精子濃度は平均2.2倍、FI は平均2.6倍に改善された。特に精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の例では改善が顕著であり、精子濃度が数百万/mlの例でもこの方法により $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上に濃縮改善される例も多く、図10に示したように精子濃度 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動率40%の症例が本法で妊娠成立したことは、本法の有用性を示している。

Ficoll を用いた精子洗滌濃縮法の臨床応用は濃縮が主な目的であるが、本法により精漿の除去が可能であることも AIH 施行上利点となっている。すなわち

- ① 人工授精のさいにおこることのある子宮痛の原因と思われるプロスタグランディンの除去
- ② 精子無力症において本法により精子運動能が向上することから、精漿中に存在すると思われる精子運動能を抑制する因子の除去

の2点であり、このことから AIH に供する精液を洗滌濃縮する意義があると考えらる。

本法は操作も簡便であり、また小型遠心器以外の装置を必要としないなど充分日常診療に応用し得ると考えられるが、施行するにあたり最も重要なポイントは射精後30分間以上精液を静置して十分に液化させることである。液化が充分でない精液は遠心分離後も精子の沈降が悪く精子濃度の向上は望めない。

Ficoll 精子洗滌濃縮法にて7例の妊娠を認め、4例の生児を確認しているが、いずれも異常を認めていない。このように Ficoll を用いた精子洗滌濃縮法は AIH に供する精子の妊孕性改善の1施策として臨床応用できると考える。

文 献

- 1) 小林俊文, 高橋茂雄, 山口 順, 中野真佐男, 真田利男: 人工授精周辺の精子妊孕性の評価. 臨 泌, 35: 461, 1981.
- 2) 小林俊文: 二分画射精に関する研究. 日不妊誌, 15: 7, 1970.
- 3) 飯塚理八, 己斐秀豊, 小林俊文: 不妊症学: p 258, 金原出版, 1974.
- 4) Sato, H.: Studies on the components of Kalikrein kinin system and treatment of male infertility, Keio J. Med., 29: 19, 1980.
- 5) Biggers J. D., McFeely R. A.: A Simple method for the density of chromosomes from cultures of white blood cells with special reference to the ox, Nature, 199: 718, 1963.
- 6) 兼子 智, 森脇千秋, 佐藤博久, 小林俊文, 飯塚理八: ヒト精子の客観的運動能解析法の開発—とくに Ficoll を用いた精子洗滌法について. 日不妊誌, 25: 491, 1980.
- 7) Harrison R. A. P.: A highly efficient method for washing mammalian spermatozoa, J. Reprod. Fert., 48: 347, 1976.
- 8) Abdel Latif A.: A simple method for isolation of nerve-binding particles from rat brain, Biochem. Biophys. Acta, 121: 403, 1966.
- 9) Boyd E. M. Thomas D. R., Horton E. F.: Quantities of various minor hemoglobin components in old and young human red blood cells, Clinica. Chemi. Acta, 16: 331, 1967.

The clinical application of the density gradient centrifugation in the polymerized sucrose for concentration and washing of human sperm using AIH

**Toshio Sanada, Toshifumi Kobayashi,
Satoru Kaneko, Kiyoshi Kobanawa
and Rihachi Iizuka**

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

The authors performed the clinical application of the density gradient centrifugation in the polymerized sucrose, Ficoll, for concentration and washing of human sperm using AIH.

To obtain the suitable conditions for centrifugation, the concentration of Ficoll, the gravity and time for centrifugation were examined, and decided as follows; the liquified semen was layered on 4.0 ml of 10% (W/V) Ficoll in the culture medium and centrifuged at 300×g for 15 min with swing out rotor. After centrifugation, the loose pellet of sperm was resuspended into 0.5 ml of the culture medium, and inseminated.

The concentrated and washed sperm was estimated morphologically by scanning electron microscopy, and no particular damage was observed. Then the elimination of the seminal plasma was examined by measuring the residual activities of seminal plasma enzymes, and found it was removed approximately 98%.

This method was applied clinically for 113 cases of AIH. The improvement of sperm density and motility after treatment were compared with those of the original semen, and they were increased 2.2 and 1.2 folds, respectively. Thus, the fertility index (sperm density × percentage of motility) was improved to 2.6 folds. Especially, it was very effective for the semen of which quality was less than $20 \times 10^6/\text{ml}$. Seven cases, including the semen qualities before treatment were $5 \times 10^6/\text{ml}$ and 40% motility, were achieved pregnant following AIH with the concentrated and washed sperm by Ficoll, and no abnormality was found in the new borns.

(受付: 昭和57年12月6日, 特掲)

子宮内膜症に対する Danazol 投与の効果と 内分泌学的変動

Endocrinological and Clinical Effect of Danazol in the Treatment of Endometriosis

秋田大学医学部産婦人科学教室

福島 峰子 太田 博孝 真木 正博
Mineko FUKUSHIMA Hirotaka OTA Masahiro MAKI

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

不妊症を主訴として来院し、臨床所見で疑診をおき、ラパロスコピー及び組織診で確定診断をした子宮内膜症の40例に Danazol 療法を行い、その効果を検討した。

自覚症状は3周期までに殆ど全例消失し、他覚的所見で腫瘍、硬結の縮小には限界があつたが子宮の可動性や疼痛の改善率は70~80%に認められた。排卵は投与中全例抑制され、無排卵周期になつたが、投与中止後早期に回復した。内分泌学的には約30%に高 PRL 血症が認められたが Danazol 療法後低下した。子宮内膜症含有卵巣組織中にも PRL を検出し Danazol 投与後低下した。Danazol 投与により LH の surge は抑制された。LH-RH 負荷試験では治療後 FSH に於てむしろ反応は亢進した。血中 estrogen は高値を示したが、治療後低下し、この傾向は estrone より estradiol の方が強かつた。

妊娠率は35.9%と良い成績であつた。

(Jap. J. Fert., Ster., 28(2), 273-281, 1983)

最近、子宮内膜症は増加の傾向にあるといわれている。本症は異所性に増殖した子宮内膜組織が卵巣ステロイドの影響を受け、月経周期に一致して変化をし、月経時には病巣中で出血を繰り返す、多くは強い月経困難症を来す。性成熟期婦人では不妊の大きな原因となる。従つて不妊症診療において本症の早期発見並びに治療は重要である。しかし子宮内膜症の診断は必ずしも容易ではない。従来開腹してはじめて診断されたものもかなりあつたと考えられる。

今回私共は不妊症例の中で病歴、内診所見、子宮卵管造影、超音波診断などで疑診をおき、ラパロスコピー及び組織診で確定診断を行った40例を選んで Danazol 療法を行い、自覚症状、臨床所見、ラパロスコピーまた再開腹による骨盤腔内所見、内分泌学的検討を行った。

1. 投与対象の検討

私共が臨床的に疑診をおきラパロスコピーで確認した

不妊を主訴とする子宮内膜症例の初診時所見は表1の如くであつた。自覚症状として90%に月経痛を訴え、内診所見で子宮は後屈で可動性が制限され、ダグラス窩に硬結を触れ、強い圧痛を訴えるものが70~90%に認められた。卵巣腫瘍は22.5%、子宮肥大は17.5%にあつた(表1)。

子宮卵管造影所見では卵管采周囲癒着、卵管周囲癒着、骨盤腔拡散不良など癒着所見を示すものが多く、卵管延長像、腫瘍像の様にチョコレート嚢胞腫を示す像、子宮腔鋸歯状辺縁像など腺筋症を考えさせる所見が各々25%にあり、卵管通過障害像は比較的少なかった(表2)。

ラパロスコピーで内膜症の病巣部を検討すると頻度の高い順では卵巣、子宮後壁漿膜面、卵管漿膜面、ダグラス窩、そして広間膜の順であつた(表3)。

対象年齢は24歳から36歳、原発不妊27例、続発不妊13例、内性、外性子宮内膜症以外の不妊原因を合併してい

表 1 ラパロスコピーで確診した不妊を主訴とする子宮内膜症 (40例) の初診時所見

	症例	%
自覚症状		
月経痛 (下腹痛・腰痛)	36	90.0
性交痛	11	27.5
排便痛	12	30.0
内診所見		
子宮可動性制限	32	80.0
子宮後屈	31	77.5
ダグラス窩硬結	28	70.0
内診時疼痛	38	95.0
仙骨子宮靱帯の硬結	10	25.0
卵巣腫瘍	9	22.5
子宮肥大	7	17.5

表 2 ラパロスコピーで確診した子宮内膜症の子宮卵管造影所見 (27例)

子宮腔鋸歯状辺縁像	7	25.9
棘状壁内侵入像	5	18.5
卵管通過性不良	2	7.4
卵管采周囲癒着	11	40.7
卵管周囲癒着	18	66.7
卵管溜水腫	2	7.4
骨盤腔拡散不良	20	74.1
卵管延長像	7	25.9
卵巣腫大像	7	25.9

表 3 外性子宮内膜症の発生部位別頻度 (ラパロスコピー所見) (40例)

卵巣	片側 12 両側 19	31
骨盤内びまん性		2
子宮漿膜面		22
卵管漿膜面		13
ダグラス窩		10
膀胱子宮窩		2
広間膜		11
直腸・S字結腸		9
卵管		1
frozen pelvis		6

るものとしては抗精子抗体の存在が8例あった。無排卵症例はないが黄体機能不全を示すものは24例中17例 (58.6%) にあった。とくにラパロスコピー所見でチョコレート嚢胞腫の存在する杉本分類Ⅱ期だけとつてみると17例中12例 (70.6%) と高率に黄体機能不全が認められた (表4)。

表 4 ラパロスコピー所見と黄体機能不全

杉本の臨床分類	症例	黄体機能不全
第Ⅰ期	8	3
第Ⅱ期	17	12(70.6%)
第Ⅲ期	4	2
計	29	17(58.6%)

2. 投与方法

Danazol は下垂体性 gonadotropin 抑制作用を現す合成 ethisterone 誘導体である (図1)。

17 α -pregna-2,4-dien-20-yno (2,3-d)
isoxazol-17-ol

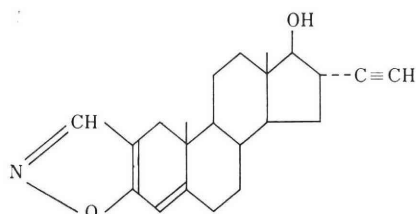


図1 Danazol の化学構造

1日投与量200mg 2分服4カ月連日服用させた。4週毎に来院させ、基礎体温を調べ、自覚症状、他覚所見の改善度や副作用などを評価し、体重測定、血圧測定、末梢血 (赤血球、白血球、血小板、ヘモグロビン、ヘマトクリット)、肝機能検査などを行った。

投与前後に内分泌学的検査 (LH-RH 負荷テスト、血中 LH, FSH, PRL, E₁, E₂, progesterone 測定、甲状腺機能検査、尿中 17KS, 17OHCS) を実施した。また Danazol 服用終了後も定期的 (1カ月1回) に来院させ、症状、所見の再発および妊娠の成立などを追跡した。6カ月も妊娠徴候がなければラパロスコピーで所見の検討、そして組織学的検討を行い、必要な場合開腹して保存手術を行った。その中5例につき子宮内膜組織含有卵巣組織中 PRL 濃度を測定した。血中 LH, FSH, PRL, E₁, E₂ progesterone は radioimmunoassay (RIA) 法で、尿中 17KS は Zimmermann 法で、また尿中 17 OHCS は Porter-Silber 法で測定した。

妊娠したものは分娩まで予後追跡を行なった。

3. 成績

1) 自覚症状、他覚所見に対する効果:

表5に示す如く下腹痛、腰痛を代表とする月経痛は、それを認めたもののうち下腹痛は88.9%、腰痛は83.9%に消失した。残りのものも完全消失ではなかったが軽快

表 5 Danazol 200 mg 投与による効果

	症例数	消失	軽快	不変	悪化	再発 6 カ月以内
月経困難症						
下腹痛	36	32(88.9%)	4(11.1%)	0	0	1(2.8%)
腰痛	31	26(83.9%)	5(16.1%)	0	0	1(3.2%)
排便痛	12	12(100.0%)	0	0	0	0
性交痛	11	9(81.8%)	1(9.1%)	1(9.1%)	0	0
内診時疼痛	38	17(44.7%)	13(34.2%)	8(21.0%)	0	3(7.9%)
ダグラス窩硬結	28	12(42.8%)	6(21.4%)	10(35.7%)	0	2(7.1%)
子宮可動性制限	32	10(31.2%)	13(40.6%)	9(28.1%)	0	3(9.3%)
腫瘤縮小	13	3(23.1%)	3(23.1%)	7(53.8%)	0	2(15.4%)

表 6 Danazol 200 mg 投与による効果

	症例数	消失または改善率 (%)			
		1 周期	2 周期	3 周期	4 周期
月経困難症					
下 腹 痛	36	66.7	85.2	92.6	100.0
腰 痛	31	56.5	91.3	95.7	100.0
排 便 痛	12	100.0	100.0	100.0	100.0
性 交 痛	11	72.7	90.9	90.9	90.9
内診時疼痛	38	21.1	37.9	55.2	78.9
ダグラス窩硬結	28	14.3	26.3	36.8	64.2
子宮可動性の制限	32	21.8	37.5	54.2	71.8
腫 瘍 縮 小	13	33.4	41.7	41.7	46.2

表 7 エンドメトリオーシスの内診所見による臨床的進行度分類

第 I 期	骨盤内臓器・漿膜面に散在する 1 ~ 2 mm の病変，開腹時にのみ発見される。
第 II 期	仙骨子宮靱帯，広靱帯，子宮頸部後壁あるいは卵巣に限局性の硬結をふれ，癒着のないもの。
第 III 期	卵巣が少なくとも正常の 2 倍以上に腫大し，仙骨子宮靱帯，子宮後壁，直腸，付属器に癒着が存在し，子宮の移動性が制限されているもの。
第 IV 期	ダグラス窩が閉鎖し，骨盤内臓器が癒着のため一塊となり，個々の臓器を区別できないもの。 Frozen pelvis の例。

(Beecham, 1966)

し，不変また悪化したものは 1 例もなかった。

内診時疼痛は治療後約半数は消失したが 20% は投与終了時も症状が残存した。ダグラス窩硬結が存在した症例の約半数は治療後消失したが 35% はそのまま残存，子宮可動性は 30% に回復，30% は不変であった。腫瘤縮小は主としてチョコレート嚢胞腫に対するものであるが 53.8% はその大きさに変化を認めなかった (表 5)。

それら症状の変化を投与周期毎に検討すると月経痛は 1 周期で約 60%，3 周期までに殆んど全例消失した。他覚的所見も表 6 にみる如く周期を重ねる毎に改善率が高くなつたが 4 カ月投与後チョコレート嚢胞腫の縮小は 46.2%，ダグラス窩硬結の縮小は 64.2%，内診時疼痛の改善

は 80%，子宮可動性は 71.8% の改善率であつた (表 6)。

2) 進行期分類からみた効果：

病変の蔓延度による進行期分類は多くの案が試みられている。例えば表 7 に示す Beecham の分類にしたがつて Stage I から Stage IV に分けると Danazol 投与前 stage II であつたものの 42.8% が stage I に改善され，stage III であつたものの 80.9% は病変が退縮効果を示した。投与前後で stage II→II また III→III と変化がなかったのはそれぞれ 4 例のみであつた (表 8)。

ラパロスコピー所見について表 9 の杉本分類にしたがつて同様に治療前後で比較すると，治療前 stage II から I への改善は 64.3%，stage III から I または II への

表 8 Danazol 200 mg 投与による効果

内診所見進行期分類 (BEECHAM)			
stage I	→	I (3)	(42.8%)
stage II (7)	→	II (4)	
stage III (21)	→	I (9)	(80.9%)
	→	II (8)	
	→	III (4)	
stage IV (1)	→	III (1)	
ラパロスコピー所見進行期分類 (杉本)			
stage I (5)	→	I (5)	
stage II (14)	→	I (9)	(64.3%)
	→	II (5)	
stage III (6)	→	I (2)	(66.6%)
	→	II (2)	
	→	III (2)	

例 (87.5%), 3 周期で40例中36例 (90.0%), 4 周期で40例中33例 (82.5%) と大半は存続し, 結局無排卵周期を示した。

それら抑制された排卵が Danazol 投与中止後どの位で回復するかという点は, 1 周期目で19例 (65.5%), 3 周期までにはほぼ全例回復した (図2)。

4) 内分泌学的検討:

外性子宮内膜症40例中12例 (30%) に26~70ng/ml の高 PRL 血症を認めた。

それら高 PRL 血症は Danazol 療法後不変2例, 上昇1例の他9例 (75%) は正常化した。

そこで25ng/ml を境として血中 PRL 正常値群と高値群に分けて内分泌変動を比較した。

i) 血中 prolactin 値

血中 PRL 正常値群の平均値は 14.4 ± 5.5 ng/ml, 血中

表 9 ラパロスコピーによるエンドメトリオーシスの臨床分類

第 I 期	癒着がまったくなく, 軽度で, 病巣は主に付属器部分に局限しており, ダグラス窩が健全なもの。
第 II 期	癒着を伴った卵巣腫大とダグラス窩閉塞があり, 癒着性子宮後転症を伴うもの。
第 III 期	内性器上方全体が膜様癒着で被われ, 子宮後壁や付属器の状態が表面からわからないもの。

(杉本, 1974)

表 10 Danazol 200 mg 投与の排卵, 月経に及ぼす影響

	排 卵		月 経			
	有	無	増加また延長	不 変	減 少	無
第 1 周 期	7	33 (82.5%)	2	21	14	3 (7.5%)
第 2 周 期	0	40 (100%)	3	15	17	5 (12.5%)
第 3 周 期	0	40 (100%)	3	17	16	4 (10.0%)
第 4 周 期	0	40 (100%)	2	14	17	7 (17.5%)

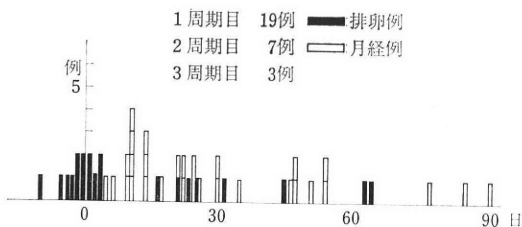


図 2 投与終了から排卵惹起までの期間

改善は66.6%に認められた (表8)。とくに stage II→I となった9例中3例は病巣が消失した。

3) 排卵, 月経に及ぼす影響:

表10に Danazol 200mg 投与の排卵, 月経に及ぼす影響を示した。すなわち排卵は第1周期で82.5%が無排卵となり, 2 周期以後は全例排卵が抑制された。しかし月経は1 周期で40例中37例 (92.5%), 2 周期で40例中35

PRL 高値群の平均値は 43.9 ± 15.6 ng/ml で Danazol 投与後それぞれ 12.0 ± 4.2 ng/ml, 17.3 ± 8.6 ng/ml と共に減少したが, 高値群でとくに著明に減少した (図3)。

ii) LH-RH 負荷試験

血中 LH 値に関しては PRL 正常値群と高値群の前値はそれぞれ 22.4 ± 16.2 miu/ml, 23.1 ± 22.7 miu/ml であった。LH-RH 静注30分後にそれぞれ 221.7 ± 34.3 miu/ml, 151.5 ± 54.2 miu/ml と増加し, 両群間で有意差があった ($P < 0.001$)。

すなわち PRL 正常値群でより反応が強く, Danazol 投与後その反応は共に抑制された (図4)。

血中 FSH 値は PRL 正常値群, PRL 高値群で前値はそれぞれ 10.0 ± 4.0 miu/ml, 7.5 ± 2.9 miu/ml であった。LH 負荷後両群間で有意な差はみられなかったが Danazol 投与後その反応はやや増強の傾向にあり, 120

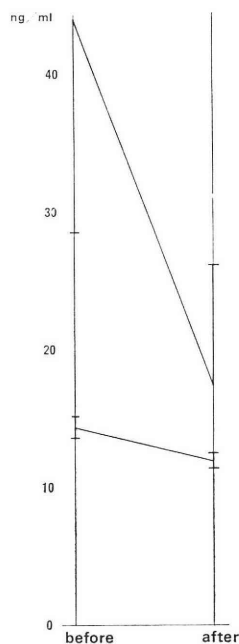


Fig. 3 Serum Prolactin before and after Danazol

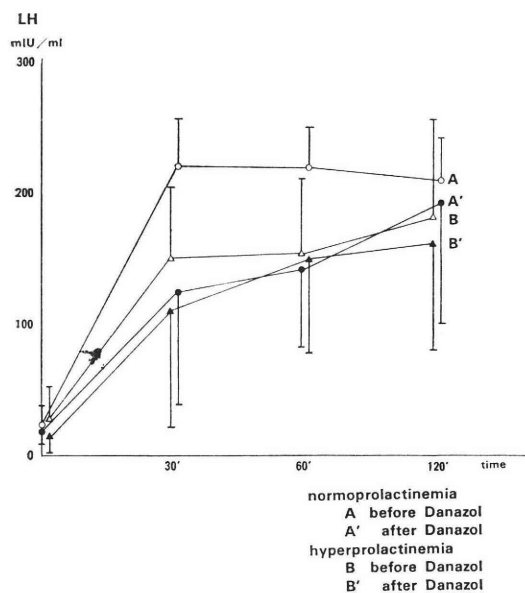


Fig. 4 Serum LH before and after Danazol on LH-RH test

分後 PRL 高値群で Danazol 投与前と投与後の値に有意差を認めた ($0.05 < P < 0.1$) (図 5)。

iii) 血中 estrogen 値

血中 estrogen は卵胞期と黄体期に分けて検討した。PRL 正常値群, PRL 高値群は卵胞期で血中 estradiol

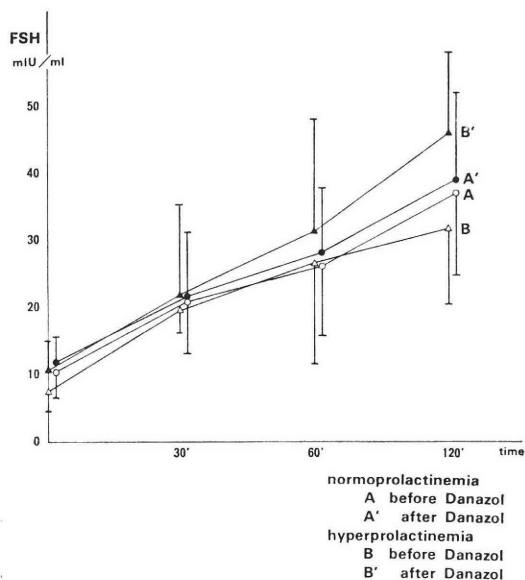


Fig. 5 Serum FSH before and after Danazol on LH-RH test

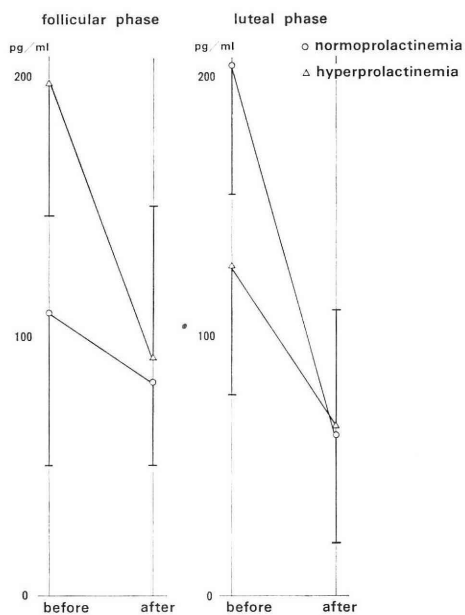


Fig. 6 Serum Estradiol level before and after Danazol

値 $109.7 \pm 59.1 \text{ pg/ml}$, $198.8 \pm 51.2 \text{ pg/ml}$ で Danazol 投与後 $82.2 \pm 31.9 \text{ pg/ml}$, $91.5 \pm 59.0 \text{ pg/ml}$ と共に減少した。黄体期では PRL 正常値群で estradiol 値が $204.9 \pm 47.8 \text{ pg/ml}$ と PRL 高値群より高値を示したが Danazol 投与後 $62.5 \pm 45.0 \text{ pg/ml}$ と著明に減少した。PRL 高値群で投与前後の値はそれぞれ $128.6 \pm 49.1 \text{ pg/ml}$,

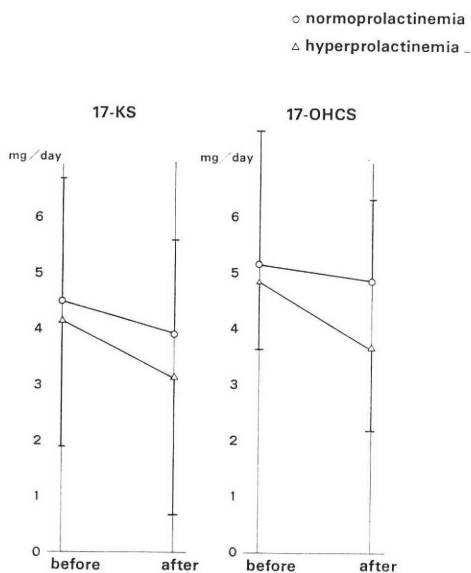


Fig. 7 Urinary 17-KS, 17-OHCS before and after Danazol

65.4±41.8pg/mlであった。このように子宮内膜症では血中 estradiol は高値を示した(図6)。

血中 estrone についても全く同様の傾向がみられた。

iv) 尿中17KS, 17OHCS 値

尿中17KS は PRL 正常値群, 高値群でそれぞれ4.49±2.24mg/day, 4.16±2.31mg/day で Danazol 投与後共に減少した。

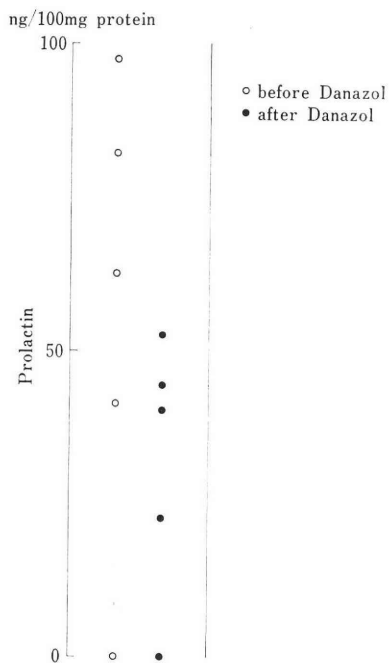


Fig. 8 Prolactin level of Ovarian Endometriosis

尿中17OHCS も PRL 正常値群, 高値群で5.15±2.24mg/day, 4.90±1.21mg/day で Danazol 投与後共に減少した。しかしこれらの変化は有意差ではない(図7)。

表 11 妊娠成功例とその転帰

症例	年齢	投与中止後妊娠までの期間(月)	併用療法	妊娠転帰	新生児所見	合併症他
1 Y. S.	31	5	Clomid 療法 Clomid AIH+HCG	妊40週・自娩	2610g (女) Ap9	血中 PRL62→10.8 妊娠中毒症(h) 血中 PRL27→22
2 N. S.	29	6		妊39週・自娩	3100g (男) Ap8	
3 T. K.	29	3		妊40週・自娩	2850g (男) Ap8	
4 S. S.	33	1		妊40週・自娩	3050g (男) Ap9	
5 W. K.	33	10		妊40週・自娩	3150g (女) Ap8	
6 H. T.	33	投与開始16日目で妊娠確認	Hühner Test HCG	妊42週・吸引	3500g (女) Ap9	血中 PRL45→13 血中 PRL33→33
7 I. E.	29	3		妊39週・自娩	3000g (男) Ap8	
8 F. M.	29	4		妊37週・自娩	2924g (女) Ap9	
9 K. M.	28	18		妊16週・進行中		
10 T. K.	29	12		妊41週・吸引	3760g (男) Ap9	
11 K. K.	29	14	AIH+HCG+Gestagen 通水 3 回 Clomid	妊36週・自娩	2870g (男) Ap8	血中 PRL26→8.6
12 C. Y.	33	10		妊40週・自娩	2760g (男) Ap8	
13 S. Y.	31	12日目		妊41週・自娩	3340g (女) Ap9	
14 S. T.	24	1	Clomid+VC	妊39週・自娩	3000g (女) Ap9	血中 PRL37→29
15 S. M.	29	7		妊37週・自娩	2160g (男) Ap7 2020g (女) Ap8	

v) 子宮内膜症含有卵巣組織中 PRL 濃度

子宮内膜症含有卵巣組織中の PRL 濃度を 5 例について検討した (図 8)。

これは開腹により得られた組織を生理食塩水で 2 回洗浄し homogenize し 3000 回/分で遠沈し得られた上清中の PRL 濃度を RIA で測定した。蛋白定量は Lowley 法¹⁾によった。

PRL 含量は投与前平均 $56.7 \pm 38.0 \text{ ng/100mg protein}$ で Danazol 投与後 $31.8 \pm 20.9 \text{ ng/100mg protein}$ と低下が認められた。これに対し内膜症組織を含まない漿液性嚢胞腫では PRL 含量は検出出来なかった。

5) 妊娠成功例の検討 (表 11) :

妊娠を希望している 40 例中 15 例 (37.5%) に妊娠した。しかしその中 1 例 (No. 6) は 16 日間内服した時点で妊娠を確認したので Danazol の効果は疑問で結局 14 例の Danazol による妊娠成功例 (35.9%) であった。

Danazol 内服終了周期の排卵でそのまま妊娠に至った例、翌周期の排卵で妊娠した例など極めて早期に妊娠成立したものもある。1 年以内の妊娠は 11 例 (78.6%) であった。ただ治療後のラパロまた開腹所見で子宮内膜症組織は消失している奏効例でも癒着がそのまま残存したり、黄体機能不全による着床不全などが Danazol 治療後の妊娠成立を阻止していることも多く、通水療法や Clomiphene, hCG, Gestagen 療法を附加した例もある。また子宮内膜症の他に抗精子抗体が不妊の原因と考えられる症例には排卵期に人工授精を行った。

妊娠成功例の中に治療前血中 PRL 値が軽度高値を示した 6 例は Danazol 療法後不変の 1 例を除いて総て正常範囲に低下し妊娠している。

妊娠経過はいづれも順調で現在進行中が 1 例、既に分娩を終了したもの 14 例である。それら 14 例中吸引分娩 2 例、残りは自然分娩で二卵性双胎例以外はすべて成熟児を娩出した。児の奇形も認めていない。

6) 副作用の検討 :

表 12 に示した様に肩こり以外は androgen 系薬物に基因すると考えられる訴えであった。

同一症例が数種の訴えをした場合もそれぞれ副作用の症例数に加算したことを考えると投与量 200mg では副作用の発現は低い。そしてそのため投与を中止する必要があった症例はなかった。一般検査所見で、末梢血、尿所見、血液凝固線溶系、腎機能、血清電解質、血圧等変動はなかったが食欲亢進のためやや体重増加傾向がみられ、肝機能で GOT 軽度亢進 1 例 (2.5%), GPT 軽度亢進 3 例 (7.5%) 認められた。これも中止後無処置で正常に復した。

表 12 副作用の検討 (40 例)

症状	症例	出現率 (%)
肩こり	8	20.0
座 瘡	6	15.0
いらいら	5	12.5
皮脂分泌増加	4	10.0
浮 腫	2	5.0
多 毛	1	2.5
乳房縮小感	1	2.5
GOT, GPT 上昇*	3	7.5
平均体重増加 (Kg)		2.0

*	GOT u/l	GPT u/l
K.K	24→34	15→43
K.H	20→58	19→87
H.A	35→34	25→56

(正常値 GOT 0—37, GPT 1—33)

4. 考 案

子宮内膜症は女性の不孕原因として最近とくに注目されているが、異所性に子宮内膜組織が発生する機序については種々な説があり定説はない。子宮筋層内、卵巣内、骨盤腔各臓器表面、横隔膜、肺といった遠隔臓器など発生部位により異なつた機序が関与するとも考えられる。内膜症の臨床上の問題点の 1 つに診断が必ずしも容易でないことがあげられる。結局はラパロスコピーで直视下に観察することが確診のポイントであるので、そのようにして得られたものの自覚症状、内診所見、子宮卵管造影所見、内分泌所見を分析して内膜症の特徴をつかみ Danazol 治療の効果をそれらの変化から検討した。

私共は従来より内膜症症例に黄体機能不全や乳汁漏出を認めるものが高頻度にあるとの考えをもっていたが、血中 PRL 値を検討すると 25 ng/ml 以上を示したものが 30% に認められた。従つて血中 PRL 正常値群と高値群に分けて各種内分泌変動を比較した。興味あることに血中 PRL 値は Danazol 治療後両群共に低下したが、とくに高値群では全例著明に低下した。文献上は PRL は Danazol 投与により変化しない²⁾、あるいは低下する³⁾との報告がみられるが不変の例でも直後は若干の低下をみているようである。ヒト分泌期子宮内膜より PRL が産生されるという報告がある⁴⁾。私共の検討で漿液性卵巣嚢胞腫では PRL を検出出来なかったのに子宮内膜症含有卵巣組織中に PRL が認められ Danazol 投与により低下したという事実、また妊娠成功例の中に 5 例も血中高 PRL 血症例が Danazol 療法で正常化し妊娠に至ったことなどは子宮内膜症組織中で PRL が産生され Danazol 療法により組織の変性と共にその値が

低下するという効果も推定できる。

一方子宮内膜症の惹起因子として estrogen が注目されている。子宮内膜症では estrogen は分泌亢進しているとする報告が多い^{5,6,7)}。植木⁸⁾は高 estrogen 状態にある結果子宮内圧が上昇し、またリンパ管拡張などのため子宮内膜片がリンパ管内へ流入し、異所性に子宮内膜片が生着しその結果内膜症を惹起すると考えている。いずれにせよ子宮内膜症の病態には estrogen が高く、progesterone が低く、従って E/P が高いことが重要な因子であろう。

今回の症例も estrogen は高値を示し Danazol 投与により著明に減少した。また30%の症例に認められた高 PRL 血症も estrogen による PRL 分泌亢進の可能性も考えられる。しかし PRL 値と子宮内膜症の重症度とは一致せず、また estrogen 値と PRL 値との相関関係は明らかでなかった。

Danazol は1日200mg 以上では LH の cyclic surge を抑制し、結果として排卵が起らない^{9,10)}。

今回の成績でも全例に排卵が抑制された。子宮内膜症では Danazol 投与後の LH-RH 負荷試験で LH, FSH の反応は比較的保たれているが、血中 PRL 高値群では正常群より明らかに反応の低下を認めた。しかし FSH は逆に反応がやや増強した。

子宮内膜症は不妊の原因になる頻度が70%と高い。これは卵管周辺を主とする骨盤腔内の癒着など物理的障害の他に黄体機能不全による着床不全がある。今回の症例では黄体機能不全の合併は58.6%に認められとくにチョコレート嚢胞腫の合併する症例では70.6%と多かつた。一方、黄体機能不全は血中 PRL 値とも密接な関係があり、高過ぎでは勿論 LH surge が抑制されて無排卵無月経になるが境界値では黄体機能不全になる¹¹⁾。Danazol は結果としてこれら 内分泌環境を正常化することに非常に有効であつた。

今回試みた200mg/日 4 周期という投与方法は量的に少な過ぎるとの考え方もあるが自覚症状、他覚所見の改善率、ラパロスコピーで観察出来た進行期分類の改善率、妊娠成功率などから判断すると副作用が少なく効果が得られる最小有効量と考えることが出来るのではないだろうか。

治療後ラパロスコピーで子宮内膜症組織の消失を確認した3例は奏効例ではあるがそのままでは妊娠しないと思われた。それは内膜症組織は消失しても卵巣表面が透明な膜で被れるなどの膜状癒着が残存していたからである。従つて症例により薬物療法と手術療法の合併は考慮されなければならない。

Danazol 療法の総合判定を表13にまとめたが自覚症状

表 13 総合判定

極めて有効 (自覚症状消失, 病巣消失, 妊娠成功例)	18例
かなり有効 (自覚症状消失, ラパロ所見改善, 組織所見改善)	15例
やや有効 (自覚症状軽減, 進行期分類不変)	7例
無効	0

が消失し病巣が消失した妊娠成功例を「極めて有効」とすると40例中18例 (45%), 自覚症状が消失しラパロ所見および組織所見が改善したものを「かなり有効」とすると40例中15例 (37.5%), これらを合すと82.5%の良い成績であつた。他覚的所見はそれ程変化なくとも自覚症状の改善を認めた「やや有効」は残り7例で無効はなかつた。

終りに Danazol の御提供いただいた東京田辺製薬株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. chem.* 193: 265, 1951.
- 2) Franchimont, P., and Cranilion, C. L.: The effect of Danazol on anterior pituitary function. *Fertil. Steril.* 28; 814, 1977.
- 3) Rannevik, G.: Hormonal, metabolic and clinical effects of danazol in the treatment of endometriosis. *Postgraduate Med. J.* 55 (suppl. 5): 14, 1979.
- 4) Masler, I. A., and Riddick, D. H.: Prolactin production by human endometrium during the normal menstrual cycle. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 135, 751; 1979.
- 5) Turunen, A., Timonen, S., and Procopé, B.: On the aetiology of endometriosis. *Acta Obst. et Gynec. Scandinav.* 40: 206, 1961.
- 6) 石川正臣: 子宮内膜症 Endometriose に就て, *日産婦誌*, 4: 760, 1952.
- 7) 蜂屋祥一: 子宮内膜症の病態, シンポジウム「子宮内膜症をめぐる諸問題」要旨, *日産婦東京地方部会会報*, 23: 121, 1974.
- 8) 植木 実, 佐野 隆: エンドメトリオーシス (endometriosis) と不妊, *産婦人科 Mook*, 5: 239, 1979.
- 9) Greenblatt, R. B., Borenstein, R., and Hernandez-Ayup, S.: Experiences with Danazol (an antigonadotropin) in the treatment of infertility. *Amer. J. Obst. Gynec.* 118: 783, 1974.

- 10) Greenblatt, R. B., Oettinger, M., Borenstein, R., and Bohler, C.: Influence of Danazol (100mg) on conception and contraception. J. Reprod. Med. 13 : 201, 1974.
- 11) Corenblum, B., Pairaudau, N., and Shewchuk, A. B.: Prolactin hypersecretion and short luteal defects. Obstet. and Gynec. 47 : 486, 1976.

Endocrinological and clinical effect
of Danazol in the treatment
of endometriosis

**Mineko Fukushima, Hirotaka Ota
and Masahiro Maki**

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

Danazol therapy was performed on those 40 out-patients who had a chief complaint of sterility and were first been suspicious of endometriosis

from clinical findings and lastly were been diagnosed by laparoscopy and histopathological findings. Subjective symptoms were found disappeared in almost all cases until 3rd cycle, and improving rate in objective observation came up to 70-80% especially both in uterine mobility and pelvic pain, though remission of tumor or induration remained improved to some extents. Ovulation was inhibited in all the cases with the anovulatory cycle during the administration, but was resumed rapidly after discontinuation of the treatment. Endocrinologically hyperprolactinemia was observed in 30% of the cases but was decreased after Danazol treatment. Prolactin was detected in tissue of ovarian endometriosis and was decreased after Danazol administration. LH surge was suppressed by Danazol treatment. FSH response was rather accelerated after treatment in LH-RH test. Serum estrogen rose high and fell down after treatment. This tendency was stronger in estradiol than in estrone. Fertility revealed as fine as 35.9%.

(受付: 昭和57年11月26日, 特掲)

妊婦血中セルロプラスミン, α_2 グリコプロ テイン(SP₃) と妊娠貧血について

Serum Ceruloplasmin and Alpha₂ Glycoprotein (SP₃) during
Pregnancy (Correlation with the Pregnancy Anemia)

東京慈恵会医科大学第一産婦人科学教室

道 舩 敏 弘

Toshihiro DOHTAI

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

妊婦血中のセルロプラスミン (Ceruloplasmin: CP と略す) 値を3種の異なった測定方法 1. p-phenylenediamine (PPD と略す) oxidase assay, 2. ゲル内免疫拡散法, 3. 血清銅値で測定するといずれも妊娠によつて上昇を示すことは従来の報告と異ならないが, 非妊時には極めて高い相関を示す3つの値は妊娠によつて乖離を示す。血清銅値と免疫拡散法で得られた値はまだ相関が高いが, PPD 法による値は妊娠中に限つて前2者から得られた値より常に高値を示す。

この過剰の PPD oxidase activity は血清鉄値と関連し, しかも或る一定値を越えた症例は殆どが治療に抵抗性の強い鉄欠乏性貧血であつた。

その理由を追求するために妊婦血清を免疫電気泳動し, これに PPD 染色を加えると通常の CP 沈降線と異なった部分に PPD 染色陽性の沈降線少くとも3本があり PPD oxidase activity を持ち CP と泳動速度, おそらく免疫的構造も異にする蛋白が存在し, その蛋白は妊婦の鉄代謝と密接に関係することが推定され, その1つを pregnancy associated α_2 glycoprotein (SP₃) と同定した。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 28(2), 282-288, 1983)

緒 言

セルロプラスミン ceruloplasmin (CP と略す) は血清蛋白泳動上 α_2 グロブリン分画に存在し分子量151,000ないし162,000で1分子につき8原子の銅を結合しており, 逆に血清銅の96%が CP と結合している。CP の生理学的作用としては serum ferroxidase として Fe^{III}-transferrin の形成を促進し, 全身の鉄代謝, 赤血球形成に関与していることは特定の貧血に際して連動変化することから広く信じられて来たことである。妊娠時の変化については, 妊娠中または経口避妊薬の長期投与によつても CP 値が上昇すると報告され, 同時に血清銅値が高くなる点では諸家の見解は一致しているが報告者によつて妊娠時にトランスフェリンの上昇はあるが CP の上昇は殆どないとする者もある。

一方妊娠貧血といわれるものの大部分は, 従来妊娠に伴う循環血液量の増加に際して血漿量の増加と血球数の増加が平行しないために起きる生理的なものとみなされて来たが, 最近では血清鉄の減少, トランスフェリンの増加, 赤血球内遊離プロトポルフィリンの増加などを伴うため鉄欠乏性貧血の一形態と考えられる様になつて来ている。従つて妊娠時に貧血と判定すべき基準値についてすら混乱があり, 更に鉄剤投与によつても容易に回復し得ない症例がある反面, 産褥で自然に治癒していくものが多いことも事実である。この研究はそれらの変化をセルロプラスミンの面から追求することを目標とした。

I. 実験材料

200例の正常妊婦について妊娠中, 産褥期のいずれか1回ないし各時期数回の採血を行つた。対照として同様

の生産年齢にある非妊婦12例, ステロイド環境として類似しているものとしてエストロゲン, ゲスターゲン合剤である経口避妊薬を偽妊娠療法として長期服用中の子宮内膜症例, そのほか実験動物として家兎血清を用いた。

これらのヒト及び動物から採取した血液は直ちに遠沈, 血清を分離し次に述べる測定まで -20°C で凍結保存したが, この保存は途中で触解, 再凍結を繰り返さない限り測定値に誤差を生ずることはなかった。

測定方法

A. CP の測定

CP の測定には次に述べる3つの方法を使用した。一つは CP が p-phenylenediamine (以下 PPD と略す) を 37°C , pH 5.45 の条件下で酸化する特性に依る活性値, 他は免疫的な通常の蛋白定量, もう一つは前記96%の銅が CP と結合していることから血清銅の値を測定した。

これらの方法について次に要点を述べる。

a) p-phenylenediamine oxidase assay (PPD 法)
Sunderman, Nomoto 法²⁾によつた。手順は次の通りである。

1. 小試験管2本(R及びBと名付ける)を用意し各々に acetate buffer (pH 5.45) 2.0ml, 被験血清0.1ml を加える。

2. 以後双方の試験管及び PPD buffer (27.6mmol/l, pH 5.45) を入れたフラスコは共に 37°C の水浴中で保温する。

3. 加温済みの PPD buffer 1ml をフラスコより双方の試験管に注ぐと共に全ての反応系を遮光する。

4. 5分後 NaN_3 水溶液 (1.5mol/l) 50 μl を B 管に,

5. 30分後 NaN_3 水溶液50 μl を同様に R 管に加え反応を停止させる。

6. 各試験管の内容を cuvet に移し, 530nm で吸光度を測定する。 A_R, A_B をそれぞれ R, B の 530nm での吸光度とすると CP 値は

$$\text{CP (g/l)} = 0.752(A_R - A_B)$$

であらわされる。

b) 寒天ゲル免疫拡散法

Behringwerke, A. G. の M Partigen を用い, 所定量の血清を well に注入, 24時間室温で反応の後, リンゲの直径から CP を算定した。

c) 血清銅値

通常の臨床で用いられる測定方法である原子吸光によつた。

B. トランスフェリンの測定

同様に Behringwerke, A. G. の M Partigen による

一元免疫拡散法で測定した。

C. 寒天ゲル免疫電気泳動法

1. 通常に血清蛋白に対して行われる電気泳動を行い, 各種アンチゲンに対する沈降線を作製し, 更に PPD 染色(下記)を行った。

2. PPD 染色

上記の泳動沈降を終った寒天ゲルを酢酸酸性にした 37°C の PPD buffer 中で遮光下で反応せしめる。

緩衝染色液の組成は下記の通りである。

$1/10$ N 酢酸ソーダ	100ml
$1/10$ N 酢酸	10ml, (pH 5.7)
PPD	0.06g

D. その他

血清鉄, 鉄結合能ほか一般の検査は当大学中央検査室の測定値である。

実験結果

1. PPD 法, 免疫法, 血清銅値の比較

(それぞれ PPD-CP, Immuno-CP Copper-CP と略す)

a. 非妊時血清 CP 値

上記3法による血清 CP 値は非妊時には極めてよい相関を示し, 時に PPD 値が他の2法による値より低いことはあるが, その逆の場合は貧血, 特に鉄欠乏性貧血の場合でも認められなかった。

b. 妊娠による CP 値の変化

妊婦血清では妊娠の極めて早期から前記3種の測定値はいずれも非妊時より上昇する傾向があり, 28~32週で最高値となり以降平衡を保ち, 分娩後約1週は依然高値であるが一般に数週で非妊時の値に復帰する (Fig. 1)。

この高値を示す妊娠, 産褥期間, PPD-CP は Immuno-CP, Copper-CP より殆ど常に高く (Fig. 9), 従つて PPD-CP と Copper-CP との相関は Immuno-CP と Copper-CP の相関より極めて低くなる。つまり Immuno-CP と Copper-Cp は同じ動きを示すが PPD-CP は一定しないより高い値を示すため相関度は低下する (Fig. 2, 3)。

c. CP 値と貧血

非妊時には CP 値と血色素量との相関はみられないが, 妊娠すると CP 値の上昇と共に小球性貧血がみられる様になり, この傾向は妊娠後期にもつと明らかになる傾向があるが, その相関は決して高いものではない (Fig. 4)。産褥でこの相関は逆転して CP 値の高いほど妊娠中の貧血が改善されていく様に見える。この相関度もやはり極めて低い (Fig. 5)。

2. 過剰 CP oxidase 活性 (NP 値)

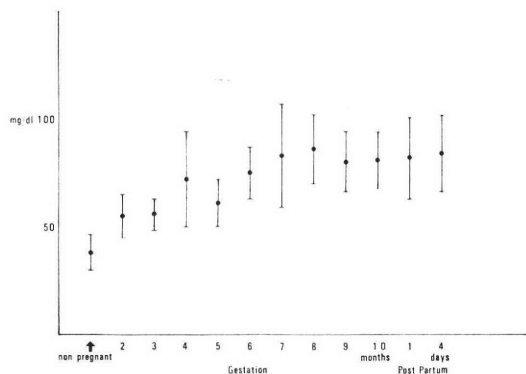


Fig. 1 PPD Oxidase Activity during Pregnancy, Puerperium

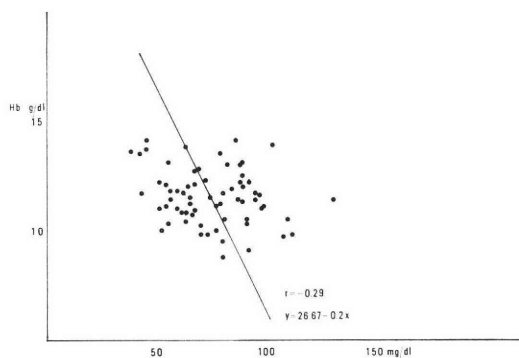


Fig. 4 PPD Oxidase Activity-Hb during Pregnancy

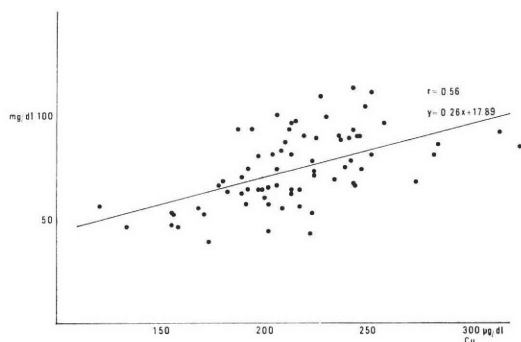


Fig. 2 PPD Oxidase Activity-Cu during Pregnancy

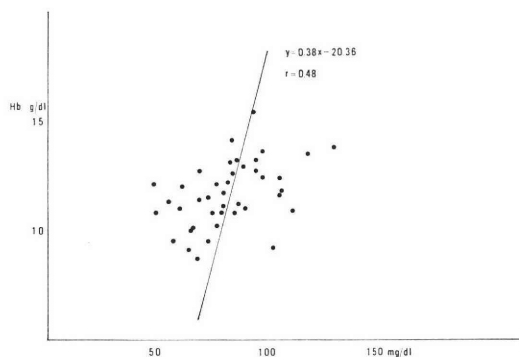


Fig. 5 PPD Oxidase Activity-Hb during Puerperium

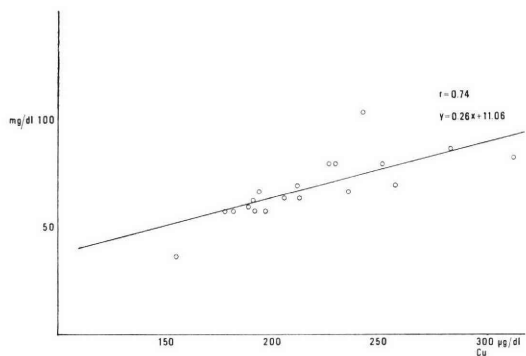


Fig. 3 Cp-Cu during Pregnancy

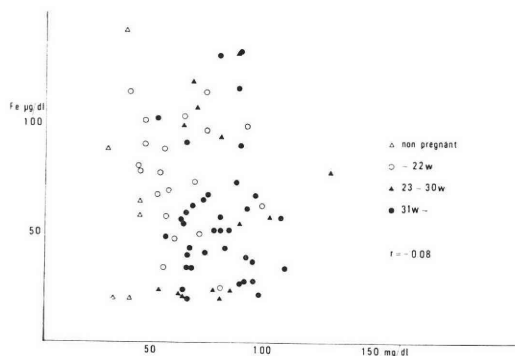


Fig. 6 PPD Oxidase Activity-Fe during Pregnancy

b に述べた様に妊娠中 PPD 値は殆ど常に Immuno-CP, Copper-CP より高目となるので PPD 値と Immuno-CP の比をとり、その値を Non-CP oxidase activity: NP 値と呼ぶことにすると、この値は妊娠中は殆ど常に1.0を越える (Fig. 9).

この NP 値と血清鉄との関係を Fig. 10 に示した。血清鉄が50以下なら貧血が多発するのは当然といえるが、血清鉄と NP 値の関係は図の斜線によつて2つの

群に分けられる様に見え上方をA群下方をB群と仮称するとAの貧血頻度は40%, Bのそれは73%, Aに大球性貧血が40%あるのにBでは14%に過ぎず、B群は小球性貧血になる傾向が高いことがうかがえる。

また NP 値1.2以下、つまり PPD 値と Immuno-CP の差が殆どない群での貧血頻度40%, 平均血清鉄は約75 μ g/dl, NP 値1.2以上では貧血頻度は64%に上昇血

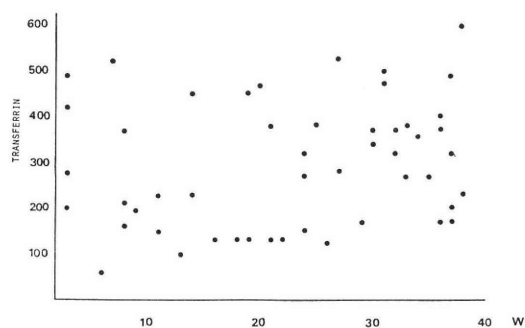


Fig. 7 Correlation between Transferrin and Gestational Age

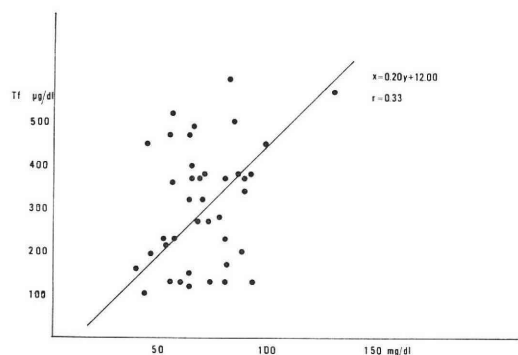


Fig. 8 PPD Oxidase Activity-Transferrin during Pregnancy

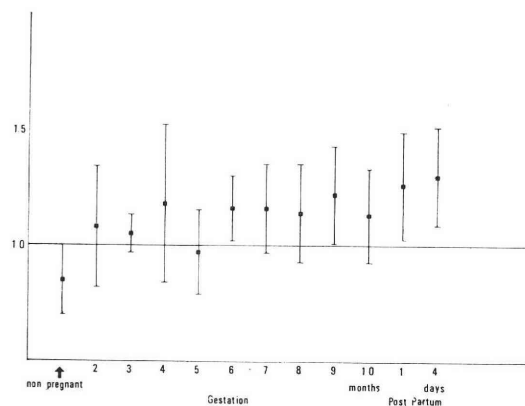


Fig. 9 Non Cp Oxidase Activity (PPD Oxidase Activity/Cp Level estimated from Cu in serum)

清鉄も約 50 $\mu\text{g}/\text{dl}$ に低下する。つまり CP 値そのものより NP 値が貧血に関係していることが明らかである。

図の斜線で区分した AB 両群の貧血例についての鉄剤治療に対する反応では、B 群は網状赤血球の増加と貧

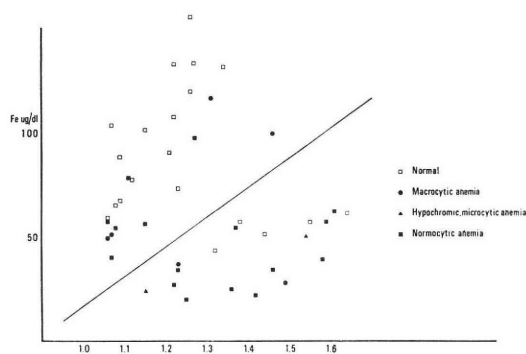


Fig. 10 Non Cp Oxidase Activity-Fe during Pregnancy

血の回復が極めて遅い、或るいは殆どみられない場合が多く治療抵抗性が高いといえる。

3. 妊娠中のトランスフェリン (Taransferrin: Tf と略す) 値

一般に妊娠に伴って Tf は上昇するとされているが今回の研究ではその傾向は認めたが個体差が著明で、また妊娠の進行、従って妊娠30週頃に頂点に達する循環血液量増加と貧血等との間に明瞭な関係を推定し得ず (Fig. 7), また PPD 値と Tf の間に高い相関を認めることは出来なかった。

また貧血例に於いても Tf と血清鉄の相関はみられず、2 に述べた AB 両群の間で TF 値に一定の変化はなく、妊娠貧血の成立に Tf の関連する程度は低い。

4. CP とホルモンの関係: 去勢家兎へのホルモン投与実験

CP 値は各種ホルモンによつて影響を受けるといわれ

Table 1

Effects of estrogen, progesterone on serum PPD oxidase activity in castrated rabbit

Drug	Before	After	Change
estradiol depot 1mg/kg	20.7	32.8	+59%
progesterone depot 13mg/kg	28.4	23.0	-3%

Effects of gonadotropin on serum PPD oxidase activity in castrated rabbit

Drug	Days of inj	Before	After	Change
HCG 25i.u./kg	2	43.4	53.8	+20%
		16.2	17.2	+5%
HMG 7.5i.u./kg	4	16.3	18.2	+12%
		58.3	56.0	-4%

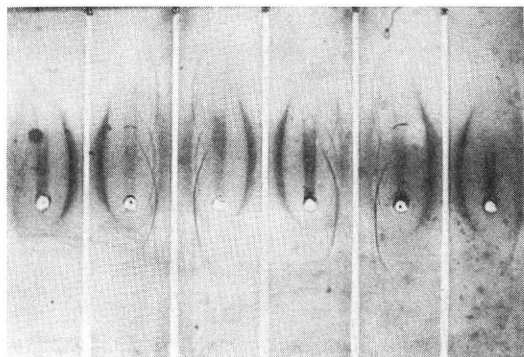


Photo 1

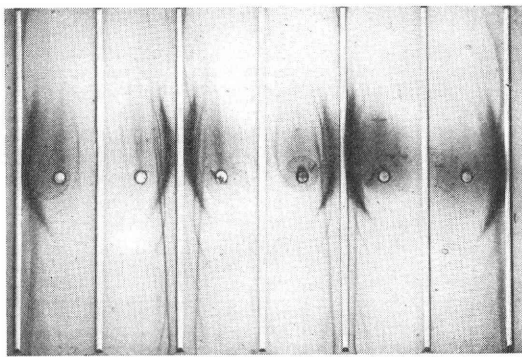


Photo 3

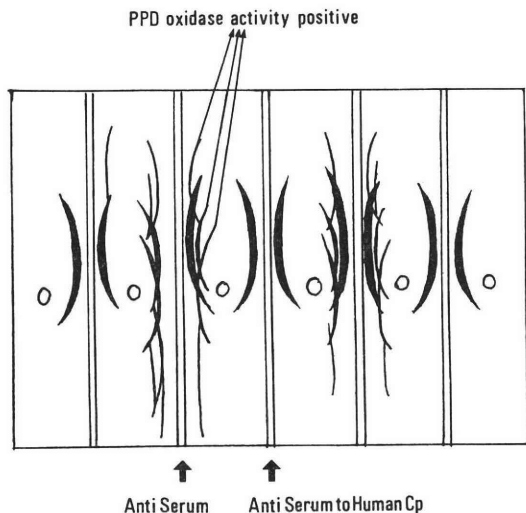


Photo 2

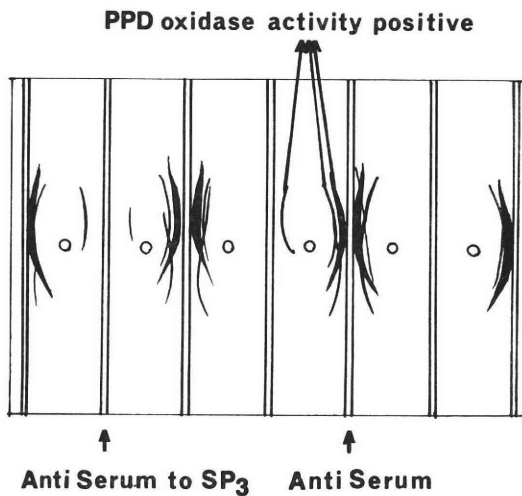


Photo 4

るが、自己卵巣からのホルモンの影響を除外するため去勢家兎を用いて行つた実験を Table 1 に示す。

血清 CP 値は estradiol の投与で顕著に上昇するが同じステロイドホルモンであり妊娠で増加する progesterone では変化をみない。HCG, HMG では不定であるが上昇する例もみられ、これは種族差のあるヒト蛋白ホルモンを家兎に投与したことが最も大きい原因ではないかと考えられるが、卵巣を除去された動物で LH, FSH がどのような作用機序であるかは不明であるが estrogen を介さずに CP 値を変動させる可能性を示した。また家兎の CP はヒト CP の抗血清に対する反応が不安定であつたので CP についての測定方法による差を明白に知り得なかつた。免疫電気泳動についても同様である。

5. 寒天免疫電気泳動

上記の実験から妊娠時に CP について PPD 値と免疫、血清銅値の差が生ずる理由として妊婦血清中には

PPD oxidase activity を上昇させる因子が存在、または非妊時に抑制していた因子の減少、或るいは他の PPD を oxidation する能力を持った因子の存在等の理由が予想されるため、寒天上で妊婦血清を泳動、免疫拡散を行つた上で PPD 染色を行つたところ、非妊時には CP 沈降線のみが発色するのに妊婦血清では CP 以外に少なくとも 3 本の PPD 染色陽性の沈降線が検出可能であつた (Photo. 1 及び 2)。

即ち CP と全く同じ α_2 位に拡散速度のやや遅いもの、泳動速度を異にし α_1 から α_2 に及ぶもの、 α_2 から β に達するものである。この三種の血清蛋白のうち一つは pregnancy associated α_2 glycoprotein (SP₃) であることが泳動速度、沈降線、PPD 活性から推定された。

6. 妊婦年齢、分娩回数、貧血発現時期と CP

25 歳以上と以下の妊婦群に CP 値、NP 値の差を認めず、経産回数によつても CP, NP 値の変化はなかつた。

NP 値の上昇は妊娠の極めて初期から始まるが CP 値の上昇と同様に 28 週以後は明白なピークを示さず、貧血の頻度が最も高い 30~32 週とそれ以前、以後との差は明白ではなかった。

考 案

1. 妊娠中の CP の PPD 活性、特に SP_3 について
妊婦血清中には CP 以外に PPD 活性を有する蛋白が存在し、それらが妊婦の鉄代謝に関係する可能性のあることがこの研究から明らかとなった。

PPD oxidase activity を抑制する因子が存在することは清水等がウイルソン病患者の血清について指摘したところであるが⁶⁾、CP 以外にこの活性を持つ血清蛋白の存在が報告されたことはない。本研究の非妊婦のうち数例の NP 値が 1 以下、つまり PPD 活性抑制因子の存在を想像させる症例があつたがその他の症例では 3 つの測定法は極めてよく相関し、抑制因子が常に CP 量と対応して存在するという極めて非現実的仮定がない限り一般的、正常に近い妊婦にこの様な因子の存在を考える根拠は乏しいと考えられる。

同じく清水によれば本態性低色素性貧血では血清 CP 値の高いものほど予後は良好であり貧血の寛解と共に CP 値の上昇をみるというが本研究に於いても同様の傾向は産褥期については認められたが妊娠中は PPD 値、特に NP 値が高いものでは全く逆の関係となつていることがわかる。

そして妊婦血中に PPD 活性を持つ別の蛋白としてそのうち最も大きい沈降線と PPD 活性を持つものは SP_3 であることが判明した。

Bohn によれば SP_3 は妊婦血清のみならず経口避妊薬投与によつても出現するので胎盤性のものではなく、estrogen によつて肝から誘導生産されるものと述べている。しかし今回経口避妊薬使用中の症例の CP を測定したところ PPD 値、免疫値、血清銅値のいずれも互いによく相関し、血清蛋白の泳動上 SP_3 と思われる沈降線を得られなかった。これは投与薬の estrogen 量が発癌防止のための Bohn の頃の半量以下になつているためか、投与期間が少いためか、肝障害のためかは不明であつた。なお経口避妊薬の他の主成分、gestagen は Bohn 及び今回の家兎実験から PPD 活性を上昇させることはなく、 SP_3 を誘導することはないと考えられる。また家兎で泳動を行なわなかつたのは家兎の抗血清に家兎 SP_3 がなく CP も構造的にヒトと異つていと推定されたからである。

2. NP 値及び SP_3 値と貧血の関係について

NP 値の高い、つまり CP 以外の PPD 活性の高い

例に貧血を多発することは既に述べた。しかし NP 値は既に妊娠 12 週頃から上昇し、妊婦貧血の頻度の最も高い 30 週に先立つて plateau を形成する。また産褥で急速に NP 値の低下がみられないのに貧血は一般に改善の傾向が著明である。従つて NP 値が直接貧血に関与している、或いは SP_3 が造血機能を抑制することを証明することは困難で、この現象は間接的相関と思われる。少くとも妊娠中の SP_3 の定量とその逐月的変化、またその貧血との関係を追求する必要があるが SP_3 の定量は現在まだ確立された手段がないため行い得なかつた。

3. 総 括

以上の様に SP_3 を主とする CP によらない PPD 活性の増加は妊娠時特異的に近く発現し、血清鉄の低下と治療抵抗性の貧血とを随伴し易いことが明らかとなった。

しかし造血機能との因果関係については全く不明であるし、他の沈降線についても検索し得なかつた。現在他のキットによる CP の免疫拡散法による測定を行つてゐるが、妊娠中の CP 値は正常上限にあり血清銅値と全く乖離するので、本研究に於ける CP と同じ泳動速度を持ち CP と拡散速度の異なる他の一本の沈降線は多分構造の多少異なつた妊娠特異性の CP で、キットにより認識抗原部分が異なるために現在使用中のキットでは妊娠時にのみ異常低値を示している可能性がある。他の一本については現在まで該当する蛋白を同定出来なかつた。

また transferrin についても妊婦の総鉄結合能は殆ど常に高値を示すのに本研究では著しい増加を示していない。そのため他のキットを用いて測定中であるが現在妊婦での Tf はやはり高い値を示し、Tf も CP と同様に妊娠による修飾を受け抗原部分を適当にとらないと妊婦では低値を示す可能性が考えられた。

貧血に関与する因子は多いのでこれらのデータから一方的な結論を導き出すのは困難であるが、 SP_3 を主とする PPD 活性の増加が妊婦の治療抵抗性の貧血と相關々係があることが明白となつたので、今後は貧血の進行、または治療中の SP_3 の定量値が早急の課題となると思われる。

稿を終るに臨み御指導御校閲を賜りました蜂谷祥一教授に深甚なる謝意を表します。また研究にあつて終始御指導をいただいた久慈直志助教授に厚く御礼申し上げます。

なお本稿の要旨は第 27 回日本産科婦人科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Holmberg, C. G., and Laurell, C. B.: Investigations in serum copper. III. Ceruloplasmin as an enzyme. *Acta Chem. Scand.* 5: 476, 1951.
- 2) F. William Sunderman, Jr. and Shozo Nomoto: Measurement of Human Serum Ceruloplasmin by p-Phenylenediamine Oxidase Activity, *Clinical Chemistry*, 16: 903, 1970.
- 3) M. E. Carruthers, C. B. Hobbs, and R. L. Warren: Raised serum copper and caeruloplasmin levels in subjects taking oral contraceptives, *J. clin. Pathol.* 19: 498, 1966.
- 4) H. Bohn: Nachweis und Charakterisierung von Schwangerschafts-proteinen in der menschlichen Placenta, sowie ihre quantitative immunologische Bestimmung im Serum schwangerer Frauen, *Arch. Gynak.* 210: 440, 1971.
- 5) Bohn, H., Winckler, W.: Isolierung und Charakterisierung des schwangerschaftsassozierten α_2 -Glykoproteins (α_2 PAG). *Blut*, 33: 337, 1976.
- 6) 清水盈行, 八田善夫, 丸山善啓, 藤崎 裕, 今井史規: 血清 ceruloplasmin 測定法について, *日本臨床*, 27(1): 177, 1969.
- 7) 今井史規: Ceruloplasmin の免疫電気泳動学的研究, *昭和医学会雑誌*, 30(4): 254, 1970.
- 8) 清水盈行: 赤血球代謝と ceruloplasmin, *臨床血液*. 14(4): 502, 1973.
- 9) 小鶴三男: トランスフェリンの機能と病態. *臨床血液*, 14(4): 480, 1973.
- 10) 菊地吾郎, 曹 準承: transferrin, 代謝, 9(7), 518, 1972.
- 11) 高山雅臣, 多田正毅, 菊地威史, 他: 妊娠中の Pregnancy specific protein の動態, *産婦の世界*, 28: 945, 1976.
- 12) 西山幸男, 能勢義正, 山口博司, 他: 妊娠血清および尿中の SP₁ (β_1 -SP₁-glycoprotein), SP₃ (α_2 AP-glycoprotein) および HPL の消長と胎盤機能に関する研究, *日産婦誌*, 29: 593, 1977.
- 13) 春名宣之: Pregnancy zone protein に関する基礎的臨床的研究, *日産婦誌*, 29: 1559, 1977.

Serum ceruloplasmin and α_2 glycoprotein (SP₃) during pregnancy
(Correlation with the pregnancy anemia)

Toshihiro Dohtai

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

Ceruloplasmin levels in human pregnant sera were determined by three different methods, p-phenylenediamine (PPD) oxidase assay, determination through serum copper level and single radial immunodiffusion. CP levels thus obtained elevated from mid trimester to term. The values through immunodiffusion and serum copper level were closely related to each other and PPD oxidase activities were always higher than those obtained by other two methods only in gestation.

Immunoelectrophoresis was made. Three precipitation lines positive to PPD staining other than ceruloplasmin were detected in sera from pregnant women. One of them was identified with pregnancy associated α_2 glycoprotein (SP₃), which is supposed to correlate with hemodynamics and the iron metabolism in the pregnant women and may be a cause for the pregnancy anemia.

(受付: 昭和57年11月18日, 特掲)

地方部会講演抄録

日本不妊学会中部支部学術集会

期日：昭和57年6月12日

会場：浜松医科大学

1. Hyperandrogenism における血中テストステロンの動態と各種負荷試験の診断的意義

菅沼信彦・呉 明超・稲垣克久
藤田真苗・真野紀雄・浅井豊彦
成田 収・友田 豊

(名大医分院・産婦)

早川律子 (名大医分院・皮膚)

女性における Hyperandrogenism は、多毛、瘡瘡などの美容上の精神的ハンディキャップを与えると共に、月経不順、不妊などの、産婦人科的にも大きな問題となる。androgen 産生臓器は、婦人において主に卵巢と副腎であり、過剰 androgen の由来を検索することは、病因および治療の選定において重要である。今回我々は、血中テストステロンが高値を示した当疾患患者27例に対し、ACTH, hCG による刺激試験、デキサメサゾンによる抑制試験などを施行し、由来臓器の検討を行った。

症例の内訳は、多のう性卵巢：10例、高プロラクチン血症によるもの：2例、先天性副腎過形成：5例、Arrhenoblastoma：1例で、他に病因不明例が9例であった。

多のう性卵巢の患者に対しては wedge resection 等を行い、排卵誘発を試みた。Arrhenoblastoma は、腫瘍摘出により、血中テストステロンの正常化をみた。先天性副腎過形成においては、ACTH 負荷にて血中ステロイド・レベルの上昇、デキサメサゾンによる抑制など、当疾患特有のパターンを示した。また病因不明の症例に対しては、各種の負荷試験の結果により、卵巢性あるいは副腎性 Hyperandrogenism と鑑別診断し、各々治療法を選択した。

Hyperandrogenism の病因診断は、このような各種負荷試験による系統的検索が必要であり、排卵障害の治療選定の上にも欠くことができないものであると思われる。

2. 習慣性流産患者と染色体異常

鈴木 薫・今泉克英・小石多紀子

久岡孝子・八神喜昭

(名大・産婦)

染色体異常が自然流産の主要な原因の一つであるならば、自然流産を繰り返す個体あるいはその配偶者に染色体異常の原因、すなわち染色体異常の保因者があるであろうと考えることは極く自然である。今日迄数多くの研究者がこの点に着目し、所謂習慣性流産患者夫婦に対する染色体検索を行ない、4-14%に転座保因者を認めている。しかしその報告の中には当然不均衡個体として先天異常児が出生されるべきロバートソン型の保因者迄認められ、習慣性流産患者と染色体異常の関係を明らかにするのに充分とは言えない。

そこで私達は過去5年間の70組の習慣性流産患者夫婦に対し、染色体分析を行ないあらためて習慣性流産と染色体異常との関連性を明らかにした。染色体分析は末梢血培養法を用い、全例に原則として G-バンド法、あるいは一部症例に対しては Q-バンド法、R-バンド法による分染法を行ない解析した。

結果は70組の夫婦のうち2名の夫に染色体異常を認めた。それらの転座様式、核型は1名は46. XY, -4, -4, -6, -10, +t (4p; 6g), +t (4p; 10g), +t (4g; 6g), +t (4g; 10p) でありもう1名は46, XY, t (8; 13) (q23; q21) であった。これらの2名の配偶子形成過程についても述べ、理論的にも重篤な不均衡個体が発生し易く、習慣性流産に至ることを解説した。

3. A.I.H. による重複子宮妊娠・分娩例の経験について

千原 啓・作井久孝・多田 伸
伊藤 誠・広田 穰・上田 真
金子享一・馬島秀泰・米谷国男
福島 穰

(名古屋保健大・産婦)

不妊期間3年4ヵ月、27歳の原発不妊患者が Uterus didelphys であることが判明し、不妊原因としては子宮因子というより膣円蓋形成不全による頸管膣因子（フナー試験不良）であると考えられたため、比較的發育良

好の左側子宮に A.I.H. を反復続行し 7 回目に妊娠に成功した。妊娠経過中は常に切迫流早産状態であつたため 2 回にわたる入院治療を必要とした。分娩経過は軽度の微弱陣痛がみとめられ、腔中隔による児頭下降障害が起つたため、これを切除し吸引分娩にて 2860g の男児を生産した。胎盤剝離は正常で後出血は 200ml であつた。分娩直後の右側子宮は著しく挙上し子宮頸部を発見することはできなかった。

百瀬によれば原発不妊 3398 例に対して行なつた H.S.G. のなかで双角双頸～重複子宮は 17 例 (0.50%) あつたと報告している。一般に重複子宮の妊産率は 60～70% と決して悪くなく、むしろ妊娠・分娩経過中に問題が生じやすい。すなわち流早産、胎位異常、微弱陣痛、頸管開大不全、非妊子宮による児頭下降障害、さらに胎盤剝離異常や遺残が著しく多いといわれている。しかし Uterus didelphys は他に比し妊娠分娩予後は比較的良好とされ本症例においても腔中隔による児頭下降障害以外は大きな産科的異常はみとめなかつた。以上、不妊症診療に際し時として遭遇する子宮奇形に対する取扱いは不妊因子や妊娠分娩予後を十分検討の上慎重を期す必要があると考える。

4. 卵管不妊のマイクロサージャリー

印牧義孝 (沼津市カーネギー産婦人科)

卵管不妊には、軽度の癒着から、強度の卵管閉塞 (幼少時の性器結核後遺症) まで種々あり、不妊原因の¹⁾は、卵管因子によるものである。

卵管不妊性には、マイクロ手術が今日では当然行ふ可き手術であることは、今更申すまでもないが、残念乍ら未だそれ程普及していない。

又マイクロ手術は、常に日頃の微小血管吻合の練習こそ大切であると言うことも、私は既に誌上で何回となく強調して来た。そこで今回は rat の腹部大動静脈の吻合練習より、卵管端々吻合への応用を試み、諸家の御批判を迎ぐ次第である。

5. 血中プロラクチン値予知指標としての圧乳テストの意義

石川正文・安江弘之・黒木尚之
三輪 是・鈴置洋三・戸谷良造
(国立名古屋病院)

高 PRL 血症の主要臨床症状として、乳汁分泌があげられ、さらに、乳汁分泌と高 PRL 血症との相関はきわめて高いとの報告もあります。今回、我々は、不妊・排卵障害患者における乳汁分泌陽性者及び、高 PRL 血症患者の頻度を比較検討すると共に、血中 PRL 値予知指

標としての圧乳テストの意義について検討を加えたので報告する。

対象は、過去約 3 年間に、当院不妊外来を受診した 287 例であり、その内、112 例 39.0% に乳汁分泌がみられ、高 PRL 血症患者は、65 例 22.6% であつた。しかし、圧乳テスト陰性例における高 PRL 血症患者は 21.5% にみられ、正常 PRL 値例における圧乳テスト陽性者は、35.1% であつたことより、乳汁分泌の程度と血中 PRL 値との関連性は、あまり強いものとは判定しえなかつた。ただ、血中 PRL 値が 80mg/ml をこえる比較的高い例や、Prolactinoma が強く疑われる例では、圧乳テストは、ほとんど陽性であつた。

つまり、圧乳テストは、高 PRL 血症患者における補助診断法としての有用性を認めるが、高 PRL 血症の Screening 法としては、不適と思われる。

また、妊娠、年齢、全身麻酔歴、BBT 異常率と乳汁分泌との関連をみてみると、妊娠及び加齢に伴い乳汁分泌陽性者の頻度には増加がみられた。しかし、BBT 異常率と乳汁分泌とは関連性は少く、全身麻酔歴との関連はみられなかつた。

6. 乳汁漏出患者 96 例に関する臨床的検討

深松義人・富田和彦・舟木 寛
平林稔之・福田 透
(信大・産婦)

塚本隆是 (信大・医療技術短大)

高プロラクチン (PRL) 血症による乳汁漏出無月経症候群が近年注目されているが、乳汁漏出は高 PRL 血症以外の状態でも認められ、その成因についてはなお不明な点が多く残されている。

今回、我々は乳汁漏出を認めた 96 例を月経の状況により正常周期、無月経、稀発月経、黄体機能不全、無排卵性周期症の 5 群に大別し、① 各群の頻度、PRL 基礎値、治療成績、② CB 154 投与例については妊娠率、流産率、新生児の奇形の有無などにつき検討した。

各群の頻度は、正常周期を有する例が 41 例と最も多く、次いで無月経 39 例の順であつた。PRL 基礎値は、正常周期群では 1 例を除いて PRL は正常域内であつたが、無月経群では 39 例中 31 例が高 PRL 血症であつた。また、他の群でも高 PRL 血症が認められたが、無月経群と異なり非常に高値を示す例のないことが注目された。48 例の CB 154 投与例についてみると、23 例に計 27 回の妊娠成立を認めた。高 PRL 血症の有無別では、高値例の妊娠率は 84.6% と高率であるのに対し正常例では 4.5% にすぎなかつた。なお、流産率は 18.5% とやや高

率であつたが、新生児には外表奇形を認めなかつた。

また、今回の成績をふまえて、乳汁漏出患者に対する我々の治療方針の一端についても言及する。

7. 当院における下垂体手術後の妊娠症例について

林 賛育・渥美正典・小林隆夫
能登裕志・寺尾俊彦・川島吉良
(浜松医大・産婦)

下垂体腫瘍摘出術 Hardy's operation の方法によつて、術後自然排卵、妊娠、分娩までに達することが可能であります。しかし、妊娠中の管理、および産婦母乳分泌の状態等については、解明されていない点があります。今回、我々は10例下垂体腫瘍術後、8例が妊娠を希望し、その内6例が8回妊娠しました。この6例について、検討した結果を報告いたします。

① LH-RH test について：術前 FSH, LH は低値になっています。LH-RH 刺激後は normal response あるいは hyper-response が認められ、術後は術前より鈍くなつてきました。術後自然排卵群と術後 Bromocriptine 投与により排卵群との間では、明らかな差は認められませんでした。② TRH test について：高 PRL の状態、TRH 刺激による、血中 PRL 値はほぼ高値のまま、変動はしなかつた。③ 妊娠中の管理について：頭痛、視野欠損、視力低下等に注意します。最低月に一度は、PRL を測定します。視野の検査は定期的に行います。④ 妊娠直前、PRL を正常範囲に維持することは、妊娠成立の必要条件だと思います。妊娠が成立したあと、PRL の変動は、二つの group に分けられます。一つは、妊娠、産褥期を通じて、PRL は低値で変動する group。もう一つは、妊娠後 PRL が急激に上昇し、Bromocriptine を増量して、下降した group です。⑤ 産褥期母乳分泌について：PRL 分泌状態によつて、hypo-secretion type と hyper-secretion type に分けられます。

第20回日本不妊学会中国・四国支部総会

時日：昭和57年8月21日

会場：島根厚生年金会館

1. 不妊患者におけるヒト卵細胞透明帯抗体の Passive hemagglutination 法による定量

苛原 稔・長谷部宏・木下恒夫
野田保人・鎌田正晴・櫛木範夫
奈賀 脩・森 崇英
(徳島大・産婦)

近年、原因不明の不妊症患者中に、卵細胞透明帯に対

する自己抗体の存在が注目されている。また、透明帯には、ヒト・サル・ブタに共通する臓器特異抗体が存在する。今回我々は、ヒトとも共通抗体を有する純化ブタ透明帯抗体を用いて、感度、簡便さに優れた受身赤血球凝集反応系を開発し、この系を用いて各種不妊症患者血中の抗透明帯抗体を検討した。ウシ赤血球をグルタルアルデハイドで固定し、タンニン酸処理後、純化ブタ透明帯抗原を10 μ g/ml の濃度で感作した場合に、最適な感作赤血球が得られた。この感作赤血球を用いた受身赤血球凝集反応系は、ほぼ間接蛍光抗体法の感度に匹敵した。この系を用いて、不妊症患者を検討すると、35例中4例(11.4%)が陽性であつた。内訳は、4倍稀釈陽性1例、8倍稀釈陽性3例であつた。不妊症の原因を究明する上で、今後免疫学的検索が必要と思われ、その意味からも、我々が開発したこの系は有用な手段である。

2. RIA 系における純化ブタ 卵細胞透明帯抗原の組織特異性について

長谷川宏・苛原 稔・木下恒夫
鎌田正晴・櫛木範夫・奈賀 脩
森 崇英 (徳島大・産婦)

卵細胞透明帯は、reproductive specific antigen であるといわれ、免疫学的避妊の標的として注目されている。今回我々は、精製純化した透明帯抗原を¹²⁵I で標識した RIA 系を確立し、透明帯抗原の組織特異性を詳しく検討した。透明帯抗原をオス家兎に免疫し、40,000倍希釈までブタ 卵細胞透明帯に明らかな蛍光像を認める、高力価の抗透明帯抗体を作製した。そこで、ブタ51種、カニクイガール40種の組織および体液を用い、蛋白量10⁵mg/ml までの交叉反応の有無を検討した。ブタ透明帯の反応阻止曲線は、2 ng/ml から125 ng/ml の間で直線関係が得られ、アッセイ内変動係数は4.9%、アッセイ間変動係数は11.8%であつた。ブタ卵巣のみ若干の交叉反応性が認められ、他のブタ組織およびカニクイガールの組織には、交叉反応性は認められなかつた。よつて、抗透明帯抗体は、透明帯に高い組織特異性を示すものであるとわかつた。

3. 間接蛍光抗体法を用いた各種疾患における抗卵巣抗体の検出

木下恒夫・長谷部宏・櫛木範夫
奈賀 修・森 崇英
(徳島大・産婦)
大頭敏文・井川 昭
(徳島中央病院・産婦)

原因不明不妊症患者の血清中に抗卵透明帯抗体の存在する事が知られているが、卵細胞質あるいはステロイド産生細胞に対する抗体の存在について、また十分な検討はなされていない。一方、卵細胞質、ステロイド産生細胞に対する抗体が存在し、自己免疫性卵巣炎を発症するマウスの実験モデルの報告がある。

今回、我々はラット卵巣を標的とした間接蛍光抗体法により、甲状腺疾患を主とした103症例について、抗卵巣抗体の存在を検討した。

甲状腺機能亢進症に比べ、甲状腺機能低下症および橋本病は、高頻度に抗卵透明帯抗体が存在した。またある症例は、卵細胞質に対する抗体が存在し、これは自己免疫性卵巣炎の所見と一致し、卵巣炎の発症する可能性がある。

4. 受精卵の性判別に関する研究、とくにラット抗HY-抗体の細胞毒性試験

佐藤英介・秋山 靖・内海恭二
湯原正高 (岡大農・家畜繁殖)

哺乳類では、H-Y 抗原が性を決定するという観点から、演者は受精卵を免疫学的に XX 受精卵と XY 受精卵とに判定可能かどうかを検討し、その際に用いた抗血清がとくに H-Y 抗血清であることを確認するため細胞毒性試験を行なった。Wistar 系或いは DA 系の雄脾或いは新生児精巣で数回に分けて同系の雌を免疫し追加免疫後採用された血清を抗血清とした。抗血清により桑実胚のまま発育を停止させられた胚と胚盤胞へと発育した胚が分別されて偽妊娠雌の両子宮角へ移植して、発育児の性別を判定した。抗血清の H-Y 抗原に対する力価は、Wistar 系雄尾上皮を用いた細胞毒性試験によつて決定された。抗血清により500例中ほぼ半数が胚盤胞へ発育し、胚盤胞の87%が雌に、停止桑実胚からは70%が雌に発育した産仔が得られた。細胞毒性は、雄脾吸収後は減少したが、雌脾吸収後は減少しなかった。このことよりこの抗血清が抗 H-Y 抗血清であることが確認された。

5. ラット受精卵の体外培養について一血清を中心とした培養液要素についての検討

保地真一・舟橋弘晃・先田守仁
内海恭三・湯原正高 (岡大農)
山田雅保 (重井医学研)

目的、ラット初期胚の体外培養において、マウスやニワトリの繊維芽細胞に対する影響が報告されている細胞分裂促進剤の効果を調べるとともに、血清の種類並びに分画血清の効果について報告する。方法、Wistar 系雌ラットの 2 cell 胚及び 4 cell 胚の発育に対する Oxytosin と PHA の効果を検定した。また 8 cell 胚から初期胚盤胞の発育に対する FCS, NBCS, γ -globulin-free NBCS の各血清による効果並びに血清の透析画分、非透析画分添加の効果を調べた。培養液は m-KRB を用い、37°C 5% CO₂ in air のもとで行なった。結果、Oxytosin を 1.5i.u./ml 加えたとき、2cell 胚の培養でわずかに発育の効果がみられたが4cell 胚の培養では差がなかった。PHA の場合、糖 free の条件下で 2 cell 胚で 1.2 μ g/ml, 4cell 胚で 2.5 μ g/ml 加えたとき最もよく胚盤胞への発育を観察した。血清の種類による差は見られず、非透析画分並びに BSA を含んだ培養液でのみに発育が認められた。

6. Necrozoospermia に対する臨床的検討

河原弘之・木内弘道・大田修平
田中啓幹 (川崎医大・泌尿)

今回我々は不妊を主訴に訪れた患者のうち、精液検査で運動率の低下がみられた症例のうち13例に Eosin test をおこなった。運動率 0% の 4 症例中 3 例は精子死亡率 100% で Necrozoospermia と考えられ他の 1 例は 93.1% であった。同年齢の Control 5 例は 7.6~36%, 平均 22.3% であり、Burgos & Paola らの 0~5% に対しかなり高値であった。なお、精子運動率と死亡率の間には $y = -0.83x + 94.5$, $r = -0.96$ と負の相関関係がみられた。Necrozoospermia 3 例を含む運動率 0% の 4 例において Hormone 検査、免疫検査、病理組織検査等を施行したが異常はみられなかった。このうち 28 歳の 1 例、精液所見: 4.5ml 86 $\times 10^6$ /ml, 0% (死亡率 100%) が Kallikrein 内服中に妊娠の成立をみた。

7. 睪丸固定術後の予後調査

原田宏行・川井修一・清水芳幸
酒徳治三郎 (山口大・泌尿)
滝原博史
(Rochester Univ. Medical Center)
藤井光正 (小倉記念病院・泌尿)
越戸克和 (山口労災病院・泌尿)

1968年から1977年まで10年間に DeNetto 法で睪丸固定術を施行した停留睪丸126例中 follow up できた44例56睪丸についての予後調査をおこなった。陰嚢内に存在するもの44睪丸 (78.6%)、陰嚢内にあるが、底部に達していないもの5睪丸 (8.9%) 触知できないもの7睪丸 (12.5%) であった。大きさについては正常大のもの36睪丸 (64.3%)、atrophic と触知できないもの18睪丸 (29%) であった。血中 LH, FSH および Testosterone は片側性のは全例正常で、両側性12例中3例が低T値を示した。5歳以下で固定術を施行したものでは、生検所見も正常でその後の睪丸発育の良好なものが多かった。手術時期については3-4歳頃施行するのがよいと思われる。AFP および HCG は全例正常であった。

8. 下垂体梗塞による性腺発育不全に対する HCG-HMG 併用療法

清水芳幸・原田宏行・川井修一
酒徳治三郎 (山口大・泌尿)
滝原博史
(Rochester Univ. Medical Center)
藤井光正 (小倉記念病院・泌尿)
越戸克和 (山口労災病院・泌尿)

思春期前に下垂体腫瘍の梗塞の為と思われる原因で低下下垂体不全に陥り、二次的に性腺機能不全、性器発育不全を呈した29歳の独身男性に対して HCG-HMG 併用療法を試みた。まず HCG を5000国際単位、週2回、これを4週続けた後に HCG 1000国際単位を週1回、HMG 75国際単位を週3回投与した。治療開始前は陰茎は小さく、睪丸は両側とも2ml 弱、他の第二性徴も全く認めなかったが、治療開始後6週目には両側睪丸とも4mlに増大し、4カ月後には両側とも10ml になっていた。また陰毛、陰茎の増大、変声、射精などの第二性徴もみられる様になった。HCG テストにも反応がみられる様になり、睪丸組織像にも改善が認められた。

9. 精子不動化抗体保有不妊症男子のステロイド療法による妊娠例における諸検査値の変動

鎌田敏雄 (愛媛今治病院・産婦)

精子不動化抗体有不妊症男子に対してステロイド療法を行い、配偶者の妊娠に成功した。その際のステロイド療法前後における各種検査結果の変動について報告する。(1) 血中及び精漿中の抗精子抗体価 (精子不動化抗体価、精子凝集抗体価) はステロイド療法により低下した。(2) 頸管粘液内精子貫通性は著しい改善を見た。(3) 血清中の IgG 値は著しく低下し、IgA 値もわずかに低下したが、IgM 値は不変であった。精漿中の IgG 値も著しく低下したが、IgA 値は不変であり、IgM は検出されなかった。以上のことより、ステロイド療法は精子不動化抗体の産生を抑制し、精子不動化抗体非結合精子の増加を招来することが判明し、精子不動化抗体保有不妊症男子に極めて有効な治療法であると確信した。

10. 鳥取大学泌尿器科での過去17年間の男性不妊の検討

井上明道・竹中生昌・西田秀樹
嶋本 司、後藤 甫
(鳥取大・泌尿)

鳥取大学泌尿器科外来に1965年より1981年迄に受診した不妊主訴患者は269人で、外来患者総数の2%、男子外来患者総数の3.4%であり、その統計的検討を行なった。

11. 過去6年間における当科ホルモン外来の成績

見尾保幸・宮本直隆・菊川章仁
前田一雄 (鳥取大・産婦)

過去6年間における当科ホルモン外来の実態調査を施行し、若干の成績を得たので報告する。患者総数は253名で、そのうち妊娠成立が40例で妊娠率は15.8%であった。不妊症の原因別分類では、内分泌因子が38.7%と最も多かった。器質的原因を有する症例に対しては、AIH、通水、腹腔鏡、開腹術などの治療を施行し、それぞれに33.3%~66.6%の妊娠成立を認めた。内分泌因子による不妊患者に対し、各種排卵誘発法を施行し、クロミフェン療法で76.5~94.6%の排卵率を認め、ミクロフェニール療法でも、クロミフェン療法と変わらない排卵率を示した。ゴナドトロピン療法では、70.5~91.6%の排卵率であった。またそれらについて妊娠率は、クロミフェン療法で0~17.6%であり、ミクロフェニール療法では、8.5~25%であった。またゴナドトロピン療法で

は5.9~25%であり、諸家の報告より若干低い値となった。

12. 高知医大内分泌外来における月経異常例の検討

森岡信之・田村成一郎・久保隆彦
橋本 雅・秋山 実男・山中 恵
相良祐輔・武田 佳彦

(高知医大・産婦)

Kupperman test, B. B. T により、第Ⅰ度無月経、第Ⅱ度無月経、無排卵周期症に分類された10例に、より個別的な排卵誘発法を開発する目的で、各種負荷テストを行い、その性腺系障害部位の病態解析を行った。第Ⅰ度無月経4例中2例に視床下部障害が疑われ、うち1例は chiari-frommel type を示し、他2例は下垂体及び卵巣機能障害が、各々疑われた。第Ⅱ度無月経3例では、視床下部、下垂体、卵巣機能障害がそれぞれ疑われた。無排卵周期症では、視床下部障害が疑われるとともに、またプロラクチンの影響も示唆された。

これらの月経異常群に、V. E. cyclic estrogen progesterone 療法を行ったところ、B. B. T が2相性に変化する率は高かったが、それに要した治療期間は、第Ⅰ度無月経と無排卵周期症では2~3周期と比較的短期であったのに対し、第Ⅱ度無月経では5~10周期と明らかに長期間を要した。

13. 下垂体卵巣系機能検査としての LH-RH テスト

竹内 悟・山野修司・大野義雄
森 崇英 (徳島大・産婦)

目的：LH-RH テストを、下垂体-卵巣系の総括的な機能検査法として用い得るか否かを検討することを目的とした。方法：正常月経周期を有する婦人の卵胞期に LH-RH 100 μ g を静注、血中 LH, FSH, progesterone (P), testosterone (T), androstenedione (A) および estradiol (E₂) を投与後6時間目に至るまで経時的に測定した。結果：性ステロイドとゴナドトロピンの反応パターンから、4つの反応型に分類することが可能であった。Type I では FSH, LH とも正常反応を示し、LH の一過性の上昇と同時に、またはこれより遅れて P あるいは androgen の上昇を認め、これに引き続いて E₂ が4~6時間後に上昇した。Type II では FSH と LH は良好な反応を示し、LH の一過性上昇に引き続き P, T または A の明瞭な上昇を示すことなく E₂ が4~6時間後に上昇した。Type III では FSH, LH とも良好な反応を示し、LH の上昇を追うように P または androgen の上昇は認められたものの、E₂ の上昇はおこさ

なかつた。Type IV では FSH の反応は不良であつたが、LH の反応は良好でこれにつづいて P または androgen の一過性上昇を認めたにもかかわらず、E₂ が無反応であつた。結論：卵胞期における LH-RH 投与に対する下垂体-卵巣系の反応は、LH-androgen 系と FSH-estrogen 系の両者が複雑に作用していることが示唆された。

14. XXmale の一例

東條俊司・武田克治・光畑直喜
森岡政明・大橋輝久・大森弘之
(岡山大・泌尿)

症例 28歳男性、既婚。初診 昭和54年6月8日。主訴 不妊。既往歴・家族歴 特記事項なし。現症 身長163cm、体重69kg、女性化乳房陰性、陰茎正常大、睾丸両側1mlで陰嚢内に触知、前立腺触診上雀卵大。精液検査 Azoospermia。染色体検査 46XX。内分泌学的検査 高ゴナドトロピン性性腺機能不全症を呈した。睾丸生検組織像 精細管腔内には細胞を欠きヒアリン化、間質増殖著明で Leydig cell nest を形成。精管精囊腺造影正常。(H-Y 抗原の検索はなされていない)

XXmale は臨床像が Klinefelter 症候群と類似した稀な染色体異常症で、成人例では不妊を主訴とし来院することが多く、染色体検査が重要である。成因についての若干の考察とともに報告した。

15. 当科ホルモン外来における高プロラクチン血症について

野間 純・占部 清・秋本暁久
関場 香 (岡山大・産婦)

今回、我々は、当科ホルモン外来を昭和54年より昭和57年までの3年間に受診した患者のうち血中 PRL 値が30ng/ml 以上であつた24症例について検討した。年齢は19歳より42歳までにわたり、治療前血中 PRL 値は30ng/ml より1400ng/ml の間に分布しており、病態別にみると、下垂体腺腫4例、Chiari Frommel 症候群2例、Argonz-del Castillo 症候群7例、特発性高 PRL 血症11例であつた。またプロモクリプチン、手術等で血中 PRL 値が正常化すれば、排卵障害の多くは改善されており、積極的に高 PRL 血症を診断する必要がある。無月経、乳汁漏出などはその診断のきつかけとなるが、血中 PRL 値が200ng/ml 以下の症例では、そういう症状を示さないこともあり、注意が必要である。流産率については、一般よりやや高値を示したが、分娩に至つた

3 症例については、新生児に奇形等の異常を認めなかつた。

16. 不妊症における漢方薬の使用経験について

熊谷典子・吉田信隆・秋本暁久
関場 香

(岡山大・産婦)

近代医学の発達に押されて余り用いられなくなつていた漢方薬が最近再び脚光を浴びてきており、その効果について多方面から検討されつつある。そこで我々は不妊治療によく用いられる当帰芍薬散及び桂枝茯苓丸を当科不妊外来に受診した患者に使用し、その効果について検討した。

結果は、漢方薬投与の妊娠率が27.0%で非投与例の妊娠率は27.6%と差は認められなかつた。しかし不妊期間についてみると、全体の不妊時間は4.2年であつたのに対し、漢方薬投与例の不妊時間は5.1年と約1年延長していた。以上より排卵誘発剤だけでは妊娠の成立が難しく、不妊時間が長かつた症例において漢方薬を併用することにより対照例と同程度の妊娠率を上げたということは、漢方薬には体のバランスを整えより妊娠しやすい状態をつくり出すのではないかと推察された。また投与期間は約半年、長くても1年をめやすに投与するのがよいと思われた。

17. 不妊領域における漢方療法の経験

平位 剛・井原俊彦・小松正伸
(広島市立安佐市民病院・産婦)

対象は2年以上の不妊期間があり、卵管因子、男性因子のないと思われる20名で、年齢は22~31歳で、原発性不妊症8名、続発性不妊症12名である。BBT 異常を示すもの16例、稀発月経・無排卵2例、第1度無月経と第2度卵巣性無月経各1例である。

処方当帰芍薬散、桂枝茯苓丸、桂枝茯苓丸+桃核承気湯(ツムラ・エキス剤、各5g/日)を、概よその体型・腹証などから、適宜定め、妊娠成立まで連続服用を原則として経過観察中である。

妊娠成立は20名中第2度卵巣性無月経を除いた16名で、他に1名が流産した。妊娠例における最短処方日数は2週間で、最長は15週間であり、第1度無月経、無排卵症にも有効性が示唆される。

BBT, CM, CMI, 血中 FSH/LH/E₂, 自覚症状などの追跡では、BBT に改善例が多く、血中ゴナドトロピン異常高値の正常域化(1例中1例)以外のものには、余り変化が認められないようであつた。

18. 超音波断層法による卵胞发育の検討

秦 利之・渋川敏彦・申 恵子
高宮 収・山本和彦・北尾 学
(島根医大・産婦)

近年、超音波断層法の発達により、産婦人科不妊症領域に於てさまざまな臨床応用が試みられている。今回、当科に於ける超音波断層法を用いた卵胞の发育に関して報告する。

対象は、昭和56年2月より島根医科大学附属病院産科婦人科不妊外来を訪れた19例、のべ40周期であり、そのうち30周期が排卵を確認できた。19例中2例で妊娠が成立した。

今回、自然排卵群および誘発群の両者に於て、卵胞径はほぼ直線的に増加することがわかつた。また、卵胞最大径は、自然排卵群では $24.0 \pm 1.3\text{mm}$ 、誘発群では $30.1 \pm 5.9\text{mm}$ であり、それぞれのグループに於ける排卵日の推定に役立つものと思われる。さらに、卵胞最大径はLH ピークとほぼ同時期であり、連日の細胞径計測が排卵日推定に有効であるように思われる。

今後、さらに症例数を増し、より正確な排卵日推定に役立てるつもりである。

19. 超音波断層法による卵胞发育の観察

高柳 真・吉田篤司・中山孝善
森 崇英 (徳島大・産婦)

従来卵胞の観察は方法論的な問題からヒトの場合不可能であつたが、超音波機器の著しい発達により卵胞の観察が或る程度可能となつて来た。

卵胞の发育ならびに排卵の観察は、① 排卵誘発法としてHMG, HCG 療法を行う場合、HMG の効果判定、投与量の決定、HCG 投与期間の判定、排卵時期の確認、② AIH, AID の時期決定、③ in vitro fertilization を行なうに当つて卵胞成立の確認、などに重要である。

今回、10症例について超音波断層ならびに各種ホルモン値計測を行ない以下の結果を得た。

① Dominant follicle の排卵時の大きさは $28\text{mm} \pm 5\text{mm}$ であつた。

② 排卵時期は+1~+3、即ちLH surgeより1~3日後で、血中 progesterone 値がやや上昇した時期に排卵が確認された。

③ 今回の症例では follicle 数と estradiol との比例関係は特にみとめられなかつた。

20. 超音波断層法による卵胞の形態診断

岩本好吉・太田 誠・宮本直隆
竹内 薫・津崎恒明・前田一雄
(鳥取大・産婦)

近年、超音波断層法は不妊症の分野にも応用され、卵胞の観察により、排卵の診断、卵胞の発育異常の診断などが行われている。

卵胞は cystic echo として描写され、排卵期頃には最大径が平均21.5mm になる。排卵によつて急激に縮小し、卵巣実質内に小さな echo free space として認められるか、又は消失する。このとき子宮内にリング状の echo が認められることがあり、リング内は低輝度である。これは子宮内膜の変化により echo の透過性が変化するためと思われる。

また、ダグラス窩に卵胞液の貯溜が認められることもある。

OHSS (卵巣過剰刺激症候群) の超音波断層像の特徴は、両側に腫大した卵巣を認め、内部は多房性で、中隔及び卵巣壁は比較的厚く、中隔及び壁の一部に島状に肥厚した部分が認められることである。

第92回日本不妊学会関西支部集談会

期日：1982年9月18日 (土)

会場：兵庫県民会館

1. Varicocele の診断について

岡 伸俊・浜口毅樹・岡田 弘
小川隆義・羽間 稔・守殿貞夫
石神囊次

(神戸大・泌尿器)

男子不妊症の基礎疾患として重要な位置を占める varicocele は、視・触診、contact thermography、Doppler flow study、retrograde venography 等の種々の方法の組合せによつて、よりの確に診断し得ることを報告した。

視・触診のみでは鑑別できない subclinical varicocele を含めて、contact thermography では陰囊温度の左右差および静脈瘤に一致した高温域が色調により明瞭に鑑別された。

Doppler flow study は、何らの侵襲なく内精静脈の逆流が波形によつて明瞭に示され、診断上有用であるばかりでなく、内精動静脈の同定にも利用し得た。

選択的腎静脈造影により、腎静脈から内精静脈への逆流の程度が判定され、選択的内精静脈造影によつて、副

血行路の有無と静脈瘤の部位と大きさが確定された。

このような種々の診断法の組合せにより、clinical に明瞭なものばかりでなく、small varicocele, subclinical varicocele の診断も可能となった。

2. 不妊男子精子の受精能について

松田 孝之・小笠原利忠・高田喜嗣
伊熊健一郎・長谷川昭子・香山浩二
磯島普三 (兵庫医大・産婦)

女性側に明らかな不妊原因が見い出されない不妊夫婦の男性精子について、透明帯除去ハムスター卵を用いた in vitro 受精実験系により精子受精能を検討した。

透明帯除去卵は PMS と HCG 注射により過剰排卵を誘起したハムスター卵を卵管より採取し、0.1% ヒアルロニダーゼと0.1%トリプシン処理を行うことにより調製した。ヒト精子受精能の検査は射精精液を液化後 BWB 液で2回洗浄し、37°C、5%CO₂ のパラフィン・オイル下で5時間前培養した後、精子濃度 $2 \sim 3 \times 10^6/\text{ml}$ に調製し、これに透明帯除去卵を加えて、さらに18時間培養した後、位相差顕微鏡下で卵細胞質内の膨化精子頭部の有無を判定することによつて行つた。正常健康男子精子の受精率が平均73.3%であつたのに対し、精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ の以下乏精子症症例ではすべて10%以下の受精率であつた。正常精子所見を示す不妊男性群では受精率10%以下～80%以上まで広いばらつきを示した。

3. 当科における HMG-HCG 療法の成績

片山和男・赤堀泰一郎・藤原卓夫
望月真人 (神戸大・産婦)

昭和51年より6年間の教室における MHG-HCG 療法の成績を報告する。

対象となつた症例は60例で、その内訳は第1度無月経29例、第2無月経31例である。

排卵は hypergondotropic hypogonadism の患者6例を除いた54例中49例、91%にみられた。また妊娠は54例中51例、57.4%に成立した。妊娠例中多胎妊娠は5例で、胎児数の確認された中での比率は19.2%であつた。その内訳は双胎2例、三胎1例、四胎1例、六胎1例である。

卵巣過剰刺激症候群の発生は54例中32例、59.3%で、第1度無月経例でやや高率であつた。これを卵巣腫大と HMG や HCG の投与時期との関係でみると、卵巣腫大は HMG より HCG へ切り替えた後5～6日目に始まり、10日目前後で最大となり、月経と同時に消滅するというパターンを示した。しかし、妊娠が成立した場合

には、卵巢過剰刺激症候群の症状はかなり重症化、長期化することが判明した。

4. ネコの過排卵誘起と卵胞卵の体外培養に関する予備実験

○大原 究・丹羽皓二・細井美彦
入谷 明 (京大・農)

ネコの体外受精に供用しうる卵子を大量に得る方法を見出すために、過排卵誘起と卵胞卵の体外培養の可能性を検討した。5か月齢未満または7～18か月齢の雌ネコを供試した。前者には1回につき200～300iuのPMSGを24時間おきに5回皮下注射し、最終のPMSG注射の48時間後に300 μ のHCGを筋注した。後者にはPMSG 150iuを1回皮下注射し、72時間後にHCG 100～150iuを筋注した。HCG注射の約30時間後に雌ネコを屠殺または開腹手術し、卵巢～卵管を摘出し、卵巢に排卵点を認めた場合には卵管を灌流して採卵し、簡単な形態検査後に固定・染色した。性周期不詳の成熟雌ネコ卵巢の未成熟卵胞から卵胞卵を採取し、その一部を32時間培養して体外成熟の可能性を調べた。その結果、1) 過排卵処理した7頭の幼若ネコのうち4頭から計117個の卵子が回収されたが、M-II期にまで成熟した卵子は少なかった(32%)。2) 過排卵処理した3頭の成熟ネコのうち1頭の卵巢に15回の排卵点が認められ、4個の卵子が回収されたが、全てM-II期であった。3) 摘出卵巢の未成

熟卵胞から得た7個の卵胞卵を培養した常果、3個がM-II期にまで成熟した。

5. インドメサシン投与家兎におけるPGF_{2 α} の排卵回復効果

川村直行・姫野憲雄・岡村 均
東條伸平 (京大・産婦)
福本 学 (京大・病理)

hCGにより排卵を誘発した家兎にインドメサシン(IM)を同期投与することにより、排卵が抑制されることはよく知られているが、これが外因性PGにより回復されるか否かについては、in vivoでは検討されていない。今回われわれは、IM投与により排卵を抑制した家兎において、PGF_{2 α} を用いて排卵を回復させることを観察したので報告する。雌性成熟家兎にhCG 100iu, indacin 4mg/kgを耳静脈より投与し、さらにhCG投与後3時間目にPGF_{2 α} 1.5mg/kgを30分にわたって微量ずつ注入した。hCG投与後、経時的に回復し、排卵卵胞数を算定した。hCG投与後12時間目以後の家兎16羽に排卵が認められ、平均排卵数は7.3 $\pm$ 1.2であった。

家兎において比較的少量のインドメサシンによつて抑制された排卵現象は、PGF_{2 α} により、回復が可能であり、家兎でもインドメサシンの排卵抑制効果はそのPG生成阻害作用によるものと判断される。

昭和57年度第2回通常総会

昭和57年度第2回通常総会は下記の如く開催され、各議案につき慎重審議の上、採決を行った。

日 時 昭和57年11月17日（水）13時～13時25分

場 所 東京都 全共連ビル

開会当時の会員数 2593名

当日の出席者数 1766名（含委任状937）

議 事

第1号議案：名誉会員推薦に関する件

理事会および評議員会より推薦の下記三氏につき審議の結果、全員一致にて名誉会員とすることを承認した。

黒田恭一（北陸支部）、落合京一郎（関東支部）、大内広子（関東支部）

第2号議案：役員改選に関する件

評議員会の推薦した候補者につき審議の上、全員一致にて別記の如く次期理事（20名）、監事（3名）を選出した。

第3号議案：評議員改選に関する件

次期評議員は各支部の推薦をまち、理事会にて選任されるが、各支部別評議員数については理事会および評議員会の提案通り下記の如く定めることを承認した。

北海道支部 5名、東北支部 4名、関東支部 16名、中部支部 5名、北陸支部 4名、関西支部 8名、中国・四国支部 5名、九州支部 8名

第4号議案：次々期（昭和59年度）会長ならびに学術講演会・総会開催地に関する件

理事会および評議員会提案の通り、下記の如く決定した。

担当支部 関東支部

会 長 高木繁夫（日本大学教授、産婦人科）

開 催 地 東京都

開催期日 昭和59年秋

協議・報告事項

1. 各部報告

各部（庶務、会計、編集、渉外、組織）担当理事より会務執行状況についての報告が行われた。

2. 国際不妊学会会費について

理事会決定の如く、明年の国際不妊学会（IFFS）総会にて会費を2ドルにする提案がなされた場合には賛意を表することおよび IFFS 会員を400名とすることを了承した。

3. 第11回国際不妊学会について

国際不妊学会会長より提案のあつた日本語のみのセクションを設けることについて協議したが、不必要であるとの意見が大半を占めた。

新名誉会員および役員

11月17日開催された昭和57年度第2回総会において、次の如く名誉会員の推薦ならびに役員（理事、監事）の改選が行われた。

また11月18日開催された新理事会において、互選により理事長、副理事長、常任理事を選出し、かつ常任理事の職務分担を決定した。

名誉会員

黒田恭一（北陸支部）、落合京一郎（関東支部）、大内広子（関東支部）

理 事

理 事 長	松 本 清 一		関東支部（再任）
副 理 事 長	石 神 襄 次	組 織	関西支部（再任）
副 理 事 長	木 下 佐	庶務・会計	関東支部（再任）
副 理 事 長	佐 久 間 勇 次	編集・渉外	関東支部（再任）
理事(常任)	飯 塚 理 八	編集・庶務	関東支部（再任）
理事(常任)	石 島 芳 郎	組織・編集	関東支部（新任）
理事(常任)	蘭 守 龍 雄	会計・渉外	関西支部（再任）
理事(常任)	坂 元 正 一	渉外・組織	関東支部（再任）
理事(常任)	島 崎 淳	庶務・渉外	関東支部（新任）
理事(常任)	高 木 繁 夫	庶務・会計	関東支部（再任）
理事(常任)	蜂 屋 祥 一	会計・組織	関東支部（再任）
理事(常任)	和 久 正 良	編集	関東支部（再任）
理事	黒 田 一 秀		北海道支部（新任）
理事	鈴 木 雅 洲		東北支部（再任）
理事	八 神 喜 昭		中部支部（再任）
理事	西 田 悦 郎		北陸支部（新任）
理事	磯 島 晋 三		関西支部（新任）
理事	森 崇 英		中国・四国支部（新任）
理事	中 野 仁 雄		九州支部（新任）
理事	森 一 郎		九州支部（再任）

監 事

塩島令儀（関東支部）、高井修道（関東支部）、中條誠一（関東支部）

会 員 各 位 殿

日 本 不 妊 学 会

理事長 松 本 清 一

通 信 総 会

法人規定により前年度決算ならびに当年度予算は、5月末日までに文部省に提出しなければならないため、例年と同様に昭和57年度決算および昭和58年度予算について本通信総会での御審議をお願いしたいと存じます。

下記決算ならびに予算案につきよろしく御検討の上、同封の葉書にて5月15日までに賛否をお知らせ下さい。期日までに御回答のない場合は御承認を得ましたものとさせていただきます。なお御不審の点につきましては事務局までお問い合わせ下さい。

議案ならびに説明書

I. 昭和57年度収支決算の件

昭和57年度収支計算書（案）は160～162頁に示すごとくである。ただしこれは昭和57年4月1日より58年1月末日までの収支による決算見込であるため、年度末における多少の変更は了承されたい。

収支合計では5,805,093円が余剰金として次年度へ繰越されるが、さらに将来の運営基金として4,000,000円を積立金にまわしており、実質的には9,805,093円の繰越金が出たものと考えてよい。ただし56年度からの繰越金10,694,677円を除いた本年度内だけの収入と次年度繰越金および運営基金積立金を除いた本年度内支出を見ると889,584円の支出超となる。これは57年度予算における3,185,220円の年度内収支赤字予想に対してはやや良好な成績ではあるが、昭和51年度における会費値上以来はじめて年度内収支が赤字となつたわけで、憂慮すべき事態である。

a. 収入：収入総額は43,349,124円（前年度からの繰越金を除いた年度内収入は32,654,447円）で、予算に対し3,658,447円の増である。

- (1) 予算より収入減となつたのは機関誌購読料8万円、賛助会員費20万円である。これは厳しい社会情勢を反映するものであろうが、今後対策を考えねばならない問題と思われる。
- (2) 正会員会費は、57年度分については会員数の増加により約20万円の増、過年度会費についても徴集に努めた結果約70万円の増となつた。
- (3) 特別掲載料は希望者増のため約250万円の増収となつているが、これにほぼ見合う金額が機関誌印刷費および発送費において支出増となつている。
- (4) 利息は積立金および年度内収入増により約50万円の増収となつた。

b. 支出：支出総額（次年度繰越金を除く）は37,544,031円で、予算（予備費を除く）に対し1,362,811円の増である。

- (1) 機関誌印刷費および発送費で約220万円の支出増となつているが、これは前記特別掲載料の増収に対応するもので、実質的には赤字と考える必要はない。
- (2) 委員会経費は、今年度は役員改選に伴う臨時理事会の開催などのため約9万円の支出増となつた。
- (3) 渉外費は、今年度は国際不妊学会理事会1回分の支出のみで、50万円の支出減となつた。
- (4) 器具備品費、旅費交通費、通信運搬費、消耗品費は節減に努めたことと、今年度総会が東京であつたため、いずれも支出減となつた。

(5) その他の項目については、多少の増減は見られるが、ほぼ予算通りの支出であった。

II. 昭和58年度収支予算の件

昭和58年度収支予算(案)は163~165頁に示すごとくである。ただし57年度よりの繰越金、58年度当初会員数などがなお確定的でないため、多少の変更があり得ることは了承されたい。

a. 収入：収入総額は44,901,093円であるが、前年度よりの繰越金を余く年度内収入は39,096,000円となる。ただし今年度は名簿作製積立金および退職積立金の一部取崩収入があるので、これを除くと経常の年度内収入は29,828,000円となり、57年度予算に比し832,000円の増収見込である。

- (1) 講読料、広告料収入は前年度決算額に準じた。
- (2) 正会員会費は、58年度会費については年度当初会員数2600人、年度内徴収率80%、57年度会費については未納者518人、徴集率30%、56年度以前の会費は納入予定100人として算定した。
- (3) 賛助会員会費は極力増収に努めるつもりであるが、必ずしも楽観を許さない情勢にあるので一応前年度決算に準じた。
- (4) 特別掲載料は350万円を計上したが、決算時におけるこの項の増減は機関誌発行費の増減と見合うもので、全体の収支バランスとはほぼ無関係と考えてよい。
- (5) 今年度は名簿発行の予定であり、また事務職員が1名定年退職の予定となつているので、名簿作製費200万円、退職金約726万円をそれぞれの積立金より繰入れた。

b. 支出：支出総額(予備費および運営基金積立金を除く)は42,271,820円であるが、名簿作製費および退職金を除く経常費支出は33,003,820円となり、これは57年度予算(予備費および運営基金積立金を除く)に対し822,600円の増、57年度決算(次年度繰越金および運営基金積立金を除く)に対し、540,211円の減である。また58年の年度内収入(前年度よりの繰越金および積立金取崩収入を除く)に対しては、3,175,820円の支出超過となる。

- (1) 機関誌印刷費は、4号分で一般原著48編、288頁、1頁当たり平均6.4円、各号3000部発行予定で約800万、それに特別掲載、超過頁、総会抄録などの自己負担分350万円を加えて1150万円とした。
- (2) 機関誌送費、会議費は前年度決算額を参考にして各10万円の増とした。
- (3) 給与手当は、職員2名分、本給月額(206000円+151000円)×17.5カ月(賞与を含む)+残業手当30万円に、物価上昇に対する特別手当として1人月額17,000円(前年度より2000円増)を加え6,955,500円とした。
- (4) 名簿作製費はほぼ前年に準じ200万円、退職金は規定により算出し7,268,000円を計上した。
- (5) その他の経費はほぼ前年度並みか、僅かの増額にとどめた。
- (6) 退職積立金は本年度大部分を取崩すため、明年度以降に備えて前年度より30万円増の100万円を繰入れた。
- (7) 諸事業積立金、運営基金積立金は今年度は積立ての余裕がない。
- (8) 本年度予算がこの予算書通りに執行され予備費が明年度への繰越金となつた場合は、57年度までの運営基金積立金1200万円を加えた約1460万円が昭和59年度以降の年度内収支赤字に対する準備金となる。

収 支 計 算 書 (案)
(一 般 会 計)

(昭和57年4月1日から昭和58年3月31日まで)

1) 収 入 の 部

単位: 円

勘 定 科 目			決 算 額	予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
I 基本財産運用収入			383,000	370,000	13,000
	基本財産利息収入	利 息	383,000	370,000	13,000
II 事業収入			1,929,200	2,010,000	△ 80,800
	機関誌購読料収入	購 読 料	730,000	810,000	△ 80,000
	機関誌広告料収入	広 告 料	1,199,200	1,200,000	△ 800
III 会費収入			22,196,000	21,486,000	710,000
	正会員会費収入	正 会 員 会 費	19,246,000	18,336,000	910,000
	賛助会員会費収入	賛助会員会費	2,950,000	3,150,000	△ 200,000
IV 助成金収入			100,000	100,000	0
	日本医学会助成金収入	医学会助成金	100,000	100,000	0
V 負担金収入			5,510,380	3,000,000	2,510,380
	負担金収入	特別換載料	5,510,380	3,000,000	2,510,380
VI 雑収入			2,535,867	2,030,000	505,867
	受取利息	利 息	2,510,117	2,000,000	510,117
	雑収入	雑 収 入	25,750	30,000	△ 4,250
VII 積立金取崩収入			0	0	0
	名簿作製積立金取崩収入	名簿積立取崩	0	0	0
VIII 前期繰越収支差額			10,694,677	10,694,677	0
	前期繰越収支差額	前 期 繰 越 金	10,694,677	10,694,677	0
収 入 合 計			43,349,124	39,690,677	3,658,447

注: 年度内収入 (I ~ VII)

57年度決算額 32,654,447円

57年度予算額 28,996,000円

会費収入の内訳

(1) 正会員会費 計 19,246,000円

57年度会費 16,656,500円 (2,082人分, 会員数2600人, 徴収率80.0%)

過年度会費

56年度会費 1,624,000円 (203人分, 56年度分未納者454人, 徴収率44.7%)

55年度以前会費 965,500円 (120人分)

(2) 賛助会員会費 計 2,950,000円

18口 1社 (日本シエリング) 1,800,000円

1口 11社 (大日本製薬, 山之内, サンド薬品, ミドリ十字, 塩野義, 三共, 第一製薬, 持田製薬, 帝国臓器, 藤沢薬品, 日本オルガノン) 1,100,000円

1/2口 1社 (エーザイ) 50,000円

2) 支出の部

勘 定 科 目			決 算 額	予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
I 事 業 費	総 会 委 託 費		18,618,212	16,876,400	1,741,812
			1,594,180	1,600,000	△ 5,820
	機 関 誌 発 行 費	総 会 補 助 金	1,000,000	1,000,000	0
		総 会 諸 経 費	594,180	600,000	△ 5,820
	負 担 金	印 刷 費	14,421,683	12,220,000	2,201,683
		発 送 費	12,450,340	10,500,000	1,950,340
		編 集 費	1,851,343	1,600,000	251,343
			120,000	120,000	0
	助 成 金 支 出		70,920	80,000	△ 9,080
		I.F.F.S 会 費	70,920	80,000	△ 9,080
	会 議 費		416,400	426,400	△ 10,000
		支 部 運 営 費	416,400	426,400	△ 10,000
	渉 外 費		993,660	900,000	93,660
		委 員 会 経 費	993,660	900,000	93,660
	名 簿 作 製 費		500,000	1,000,000	△ 500,000
		渉 外 費	500,000	1,000,000	△ 500,000
	雑 費		0	0	0
		名 簿 作 製 費	0	0	0
II 管 理 費	給 与 手 当		621,369	650,000	△ 28,631
		雑 費	621,369	650,000	△ 28,631
			12,225,819	12,604,820	△ 379,001
	給 与 手 当		6,731,822	6,732,500	△ 678
		給 与 手 当	6,731,822	6,732,500	△ 678
	臨 時 雇 賃 金		600,000	600,000	0
		臨 時 雇 賃 金	600,000	600,000	0
	福 利 厚 生 費		625,551	600,000	25,551
		法 定 福 利 厚 生 費	545,551	520,000	25,551
	器 具 備 品 費	福 利 厚 生 費	80,000	80,000	0
			0	50,000	△ 50,000
	賃 借 料	器 具 備 品 費	0	50,000	△ 50,000
			2,017,320	2,017,320	0
	旅 費 交 通 費	事 務 所 費	1,789,320	1,789,320	0
		器 具 賃 借 料	228,000	228,000	0
	通 信 運 搬 費	旅 費 交 通 費	703,870	750,000	△ 46,130
			703,870	750,000	△ 46,130
	印 刷 費	通 信 費	657,070	800,000	△ 142,930
			657,070	800,000	△ 142,930
	消 耗 品 費	印 刷 費	0	50,000	△ 50,000
			0	50,000	△ 50,000
	修 繕 費	消 耗 品 費	563,396	650,000	△ 86,604
			563,396	650,000	△ 86,604
	金 議 費	修 繕 費	65,000	65,000	0
			65,000	65,000	0
			1,000	30,000	△ 29,000
		会 議 費	1,000	30,000	△ 29,000

勘 定 科 目			決 算 額	予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
Ⅲ 積 立 金 支 出	諸 謝 金		175,000	175,000	0
		会 計 指 導 費	175,000	175,000	0
	租 税 公 課		9,000	5,000	4,000
		公 租 公 課	9,000	5,000	4,000
	慶 弔 費		25,800	30,000	△ 4,200
		慶 弔 費	25,800	30,000	△ 4,200
	雑 費		50,990	50,000	990
		雑 費	50,990	50,000	990
			6,700,000	6,700,000	0
	退職給与積立金支出	退 職 積 立 金	700,000	700,000	0
Ⅳ 次期繰越収支差額	諸事業積立年支出	諸事業積立金	1,000,000	1,000,000	0
	名簿作製積立金支出	名簿作製積立金	1,000,000	1,000,000	0
	運営基金積立金支出	運営基金積立金	4,000,000	4,000,000	0
			5,805,093	3,509,457	2,295,636
	次期繰越収支差額		5,805,093	3,509,457	2,295,636
		当 期 余 剩 金	5,805,093	3,509,457	2,295,636
支 出 合 計			43,349,124	39,690,677	3,658,447

注：年度内支出（Ⅰ＋Ⅱ＋Ⅲ）57年度決算額 37,544,031円

57年度予算額 36,181,220円

予 算 書 (案)

(一 般 会 計)

(昭和58年4月1日から昭和59年3月31日まで)

I) 収 入 の 部

単位：円

勘 定 科 目			予 算 額	前 予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
I 基本財産運用収入			380,000	370,000	10,000
	基本財産利息収入	利 息	380,000	370,000	10,000
II 事業収入			1,938,000	2,011,000	△ 72,000
	機関誌購読料収入	購 読 料	738,000	810,000	△ 72,000
	機関誌広告料収入	広 告 料	1,200,000	1,200,000	0
III 会費収入			21,630,000	21,486,000	144,000
	正会員会費収入	正 会 員 会 費	18,680,000	18,336,000	344,000
	賛助会員会費収入	賛助会員会費	2,950,000	3,150,000	△ 200,000
IV 助成金収入			100,000	100,000	0
	日本医学会助成金収入	医学会助成金	100,000	100,000	0
V 負担金収入			3,500,000	3,000,000	500,000
	負担金収入	特別掲載料	3,500,000	3,000,000	500,000
VI 雑収入			2,280,000	2,030,000	250,000
	受取利息	利 息	2,250,000	2,000,000	250,000
	雑収入	雑 収 入	30,000	30,000	0
VII 積立金取崩収入			9,268,000	0	9,268,000
	名簿作製積立金取崩収入	名簿積立取崩	2,000,000	0	2,000,000
	退職積立金取崩収入	退職積立取崩	7,268,000	0	7,268,000
VIII 前期繰越収支差額			5,805,093	10,694,677	△ 4,889,584
	前期繰越収支差額	前 期 繰 越 金	5,805,093	10,694,677	△ 4,889,584
収 入 合 計			44,901,093	39,690,677	5,210,416

注：年度内収入（I～VII）

58年度予算額 39,096,000円

57年度予算額 28,996,000円

57年度決算額 32,654,447円

会費収入の内訳

(1) 正会員会費 計 18,680,000円

57年度会費 8,000円×2,080人=16,640,000円

(会員数 2,600人, 徴収率80%)

過年度会費

57年度会費 8,000円×155人=1,240,000円

(未納者 518人, 徴収率30%)

56年度以前会費 8,000円×100人=800,000円

(2) 賛助会員会費 計 2,950,000円

18口 1社 (日本シエリング) 1,800,000円

1口 11社 (藤沢薬品, 大日本製薬, 山之内, サンド薬品, ミドリ十字, 三共, 塩野義, 第一製薬, 持田製薬, 帝国臓器, 日本オルガノン) 1,100,000円

1/2口 1社 (エーザイ) 50,000円

2) 支出の部

勘 定 科 目			予 算 額	前 年 度 予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
I 事 業 費	総 会 委 託 費		20,116,000	16,876,400	3,239,600
			1,630,000	1,600,000	30,000
		総 会 補 助 金	1,000,000	1,000,000	0
	機 関 誌 発 行 費	総 会 諸 経 費	630,000	600,000	30,000
			13,340,000	12,220,000	1,120,000
		印 刷 費	11,500,000	10,500,000	1,000,000
	負 担 金	発 送 費	1,700,000	1,600,000	100,000
		編 集 費	140,000	120,000	20,000
			80,000	80,000	0
	助 成 金 支 出	I.F.F.S 会 費	80,000	80,000	0
			416,000	426,400	△ 10,400
		支 部 運 営 費	416,000	426,400	△ 10,400
	会 議 費		1,000,000	900,000	100,000
		委 員 会 経 費	1,000,000	900,000	100,000
	渉 外 費		1,000,000	1,000,000	0
		渉 外 費	1,000,000	1,000,000	0
	名 簿 作 製 費		2,000,000	0	2,000,000
		名 簿 作 製 費	2,000,000	0	2,000,000
	雑 費		650,000	650,000	0
		雑 費	650,000	650,000	0
II 管 理 費	給 与 手 当		20,155,820	12,604,820	7,551,000
			6,955,500	6,732,500	223,000
	臨 時 雇 賃 金	給 与 手 当	6,955,500	6,732,500	223,000
			630,000	600,000	30,000
	福 利 厚 生 費	臨 時 雇 賃 金	630,000	600,000	30,000
			630,000	600,000	30,000
	退 職 給 与 金	福 利 厚 生 費	630,000	600,000	30,000
		法 定 福 利 厚 生 費	550,000	520,000	30,000
	器 具 備 品 費	福 利 厚 生 費	80,000	80,000	0
			7,268,000	0	7,268,000
	賃 借 料	退 職 給 与 金	7,268,000	0	7,268,000
			50,000	50,000	0
	旅 費 交 通 費	器 具 備 品 費	50,000	50,000	0
			2,017,320	2,017,320	0
	通 信 運 搬 費	事 務 所 費	1,789,320	1,789,320	0
		器 具 賃 借 料	228,000	228,000	0
	印 刷 費	旅 費 交 通 費	800,000	750,000	50,000
			800,000	750,000	50,000
	消 耗 品 費	通 信 費	750,000	800,000	△ 50,000
			750,000	800,000	△ 50,000
	修 繕 費	印 刷 費	50,000	50,000	0
			50,000	50,000	0
	修 繕 費	消 耗 品 費	650,000	650,000	0
			650,000	650,000	0
	修 繕 費	消 耗 品 費	65,000	65,000	0
			65,000	65,000	0

勘 定 科 目			予 算 額	前 予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
Ⅲ 積 立 金 支 出	会 議 費	会 議 費	30,000	30,000	0
	諸 謝 金	諸 謝 金	175,000	175,000	0
	租 税 公 課	租 税 公 課	5,000	5,000	0
	慶 弔 費	慶 弔 費	30,000	30,000	0
	雑 費	雑 費	50,000	50,000	0
			2,000,000	6,700,000	△4,700,000
	退職給与積立金支出	退 職 積 立 金	1,000,000	700,000	300,000
	諸事業積立金支出	諸事業積立金	0	1,000,000	△1,000,000
	名簿作成積立金支出	名簿作製積立金	1,000,000	1,000,000	0
	運営基金積立金支出	運営基金積立金	0	4,000,000	△4,000,000
Ⅳ 予 備 費			2,629,273	3,509,457	880,184
	予 備 費	予 備 費	2,629,293	3,509,457	880,184
支 出 合 計			44,901,093	39,690,677	5,210,416

注：年度内支出（Ⅰ＋Ⅱ＋Ⅲ） 58年度予算額 42,271,820円
57年度予算額 36,181,220円
57年度決算額 37,544,031円

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30日

宛 先：〒160 東京都新宿区信濃町35

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

第1回日本受精着床学会長

飯 塚 理 八

なお Prof. Edward E. Wallach (Pennsylvania University) 他 2 名の外国からの
招請講演を予定しています。

登録は当日会場で行ないます。（登録費 3000円）

第2回 国際生殖免疫学会の予告

日 時：昭和58年8月17日（水）—20日（土）

場 所：国立京都国際会議場および京都ホテル

登 録：当日迄受付けますが，登録費は変更になります。

	登 録 料	
	昭和58年 5月31日迄	6月1日以降
国際生殖免疫学会正会員	20,000円	25,000円
非会員（学会出席のみ）	25,000円	30,000円
同 伴 者	12,500円	15,000円

登録者は学会参加の他，発表演題の抄録集配布およびカクテルパーティー，懇親会，京都市内観光に招かれます。

主なプログラム

会長講演：K. Bratanov (Bulgaria)：生殖免疫学の歴史的考察

招請講演

1. R. Edwards (U. K.)：人における体外受精
2. A. Lopata (Australia)：受精卵の移植
3. W. Faulk (France)：胎盤境界面の形態と機能
4. R. Billingham (USA)：自然および人工的キメラと生殖免疫
5. M. Edidin (USA)：遺伝因子産生物の役割と発生における膜とその機能

シンポジウム

1. 生殖免疫に関係した抗原分析(単クローン抗体(Moab)を用いて)
2. 妊娠時における免疫学的調整機構について
3. 生殖免疫における臨床的諸問題

ラウンド・テーブル（京都ホテル 8月18日夜）

免疫学的避妊法の臨床応用への試み

ワークショップ

6 題，各 2～2 時間30分

ポスターセッション

連絡先：〒663 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 TEL (0798) 45—6481

第4回 Human Reproduction 世界大会 (Fourth World Congress on Human Reproduction) 開催の御知らせ

期 間 : 1983 年 11 月 27 日 ~ 12 月 2 日

場 所 : Bombay, India

MAIN TOPICS :

1. Demographic aspects of fertility control in man
2. Ethical problems in regulation of human fertility
3. Religious aspects in fertility control
4. Sex education and reproduction
5. Psychosexual and emotional problems in reproduction
6. Medical education in reproduction
7. Prospective studies in control of human reproduction
8. Age of marriage as a method of population control
9. Role of WHO in fertility control
10. Role of IPPF in fertility control
11. Perinatal care and population
12. Methods of regulation in human reproduction
 12. 1...by breast feeding
 12. 2...by natural methods
 12. 3...by drugs
 - a) in male
 - b) in female
 12. 4...by Surgical sterilization
 - a) in male
 - b) in female
 12. 5 by abortions
 12. 6 by active or passive immunization
13. Legal aspects of surgical sterilization
14. Restoration of fertility after fertility control
 14. 1...in male after drugs
 14. 2...in female after drugs
 14. 3...in male after surgical sterilization
 14. 4...in female after surgical sterilization
15. Audiovisual documentation of reproduction control
16. Diagnosis and treatment of human infertility

In males :

1. Sexual problems
2. Hormonal dyscrasias
3. Role of micro surgery
4. Artificial insemination and semen banks

In female :

1. Disorders of ovulation
 2. Induction of ovulation
 3. Cervical factor
 4. Tubal factor
 5. Tubal microsurgery
 6. In Vitro fertilization
17. Reproduction and veterinary science
 18. FREE COMMUNICATIONS

連絡先 :

Dr. Mahendra N. Parikh
Secretary-General
Fourth World Congress on Human Reproduction
Dr. Jhaveri's Hospital for Women
Jayadeep
224, Lady Hardinge Road
Bombay 400 016
INDIA

FIRST WORLD CONGRESS OF GYNECOLOGIC
ENDOSCOPY
and
TWELFTH ANNUAL MEETING
INTERNATIONAL CONGRESS ON GYNECOLOGIC
ENDOSCOPY AND MICROSURGERY

期 間： 1983 年 11 月 15 日～20 日

場 所： Sheraton Washington

Washington, D.C., U.S.A.

連 絡 先：

Jordan M. Phillips, M.D.

General Chairman

American Association of Gynecologic Laparoscopists

11239 South Lakewood Boulevard

Downey, California 90241, U.S.A.

Phone : (213) 862-8181

投稿規定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
2. 原稿は、本会の目的に関連のある綜説、原著、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
3. 1論文は、原則として印刷6頁（図表を含む）以内とし、超過頁並びに特に費用を要する図表および写真に対しては実費を著者負担とする。
4. 綜説、原著、論説、臨床報告等には必ず400字以内の和文抄録並びに、ダブルスペース2枚以内の欧文抄録（題名、著者名、所属を含む）を添付すること。
5. 図表並びに写真は稿末に一括して纏め、符号を記入しかつ本文中に挿入すべき位置を明示すること。
6. 記述は、和文又は欧文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
 - a. 雑誌の場合
著者名：題名、誌名、巻数：頁数、年次
原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげる。
誌名は規定または慣用の略字に従うこと。特に号数を必要とする場合は、巻数と頁数との間に入れて括弧で囲む、すなわち
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次

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、東京都新宿区市ケ谷砂土原町1丁目1番 保健会館別館内
社団法人 日本不妊学会 事務所宛とする。

日本不妊学会雑誌 28 巻 2 号

昭和58年3月25日 印刷
昭和58年4月1日 発行

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