

日本不妊学会雑誌

第 28 卷

第 3 号

昭和 58 年 7 月 1 日

— 目 次 —

原 著

- Improved Rates of Sperm Penetration *In Vitro* of Pig
Follicular Oocytes Matured in Culture.....T. NAGAI・他..... 1
- In Vitro* Culture of Rat Eggs from Eight-Cell to
Blastocyst in a Modified Dulbecco's Medium.....T. HORIUCHI・他..... 7
- ヒト精漿中 Androgen 濃度について.....森岡政明・他.....11
- 停留睾丸の酵素抗体直接法による免疫学的検討.....公平昭男・他.....16
- Clinical Observations in 100 Cases of Klinefelter's
Syndrome.....Y. KOMATZ・他.....20
- 閉塞性男性不妊症に対するマイクロサージャリーによる
精巣上体-精管吻合の成績.....相川 厚・他.....28
- 高 prolactin 血症を呈した睾丸機能不全の 4 例.....大野一典・他.....33
- hCG 投与により妊孕性を獲得した isolated LH deficiency
(fertile euduchoidism) の一例.....吉田謙一郎・他.....41
- Hühner-test 不良例の解析と AIH.....假野隆司・他.....46
- 時間露光式測定法による精子運動能の研究.....中野眞佐男.....51
- Prolactinoma 患者の術前・術後における性機能と
その予後について.....広橋 武・他.....63
- Effects of Estrogen and Progesterone on Benzodiazepine
—Induced Relaxation of Rat Uterus.....T. KANO・他.....69
- 高 testosterone 血症と高 LH 血症および稀発月経との関連性.....柳 沼 恣・他.....74
- Mechanism of Inhibition of Hypothalamic Pituitary
Ovarian Function in Streptozotocin-Diabetic
Immature Female Rats.....Y. TANIGUCHI・他.....78
- マウス卵細胞の hexokinase 活性とその受精後の変化.....堤 治・他.....87
- 手術用顕微鏡下でのヒト卵胞卵の回収.....岩 城 章・他.....92
- 当院開設以来10年間の排卵障害患者の臨床統計 (第 I 期
(1970~1975) と第 II 期 (1976~1980) の比較).....大塚晴久・他.....98
- 当院における不妊治療成績の推移.....古賀 詔子・他.....106
- 地方部会講演抄録.....111
- お知らせ

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 28, No. 3, 1983)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Improved Rates of Sperm Penetration <i>In Vitro</i> of Pig Follicular Oocytes Matured in Culture.....	T. Nagai, K. Niwa, A. Iritani & W. Leidl	1
<i>In Vitro</i> Culture of Rat Eggs from Eight-Cell to Blastocyst in a Modified Dulbecco's Medium	T. Horiuchi, M. Ohta, M. Kojima, J. Takahashi, S. Sugawara & J. Masaki	7
Androgen Levels in Human Seminal Plasma.....	M. Morioka, K. Takeda, S. Tojho, N. Mitsuhashi, T. Ohashi & H. Ohmori	11
Immunodeposits at Seminiferous Tubular Wall of Adult Cryptorchidism	T. Kohdaira, A. Yamazaki, A. Gotoh & R. Nishimura	16
Clinical Observations in 100 Cases of Klinefelter's Syndrome.....	Y. Komatz, T. Kiriya, T. Tomoyoshi & O. Yoshida	20
Epididymo-vasostomy with Microsurgical Technique: A Study on Eight Obstructive Infertile Men.....	A. Aikawa, H. Ishikawa, F. Nakajima, M. Shinoda & M. Nakazono	28
4 Cases of Male Hyperprolactinemic Hypogonadism	K. Ohno, Y. Kumamoto, T. Umehara, H. Maruta & O. Sato	33
Successful Fertilization by hCG Treatment in a Case of Isolated LH Deficiency (Fertile Eunuchoidism)	K-I. Yoshida & T. Negishi	41
Analysis of the Patients Who are Negative in Huhner Test, and AIH	T. Kano & K. Nishikawa	46
A Study of Human Sperm Velocity using Bulb Exposure Photography Method.....	M. Nakano	51
Sexual Function and Outcome before and after Pituitary Surgery in Patient with Prolactinoma.....	T. Hirohashi, J. Hanaoka, Y. Sudo, K. Tanaka, Y. Sato & S. Takeuchi	63
Effects of Estrogen and Progesterone on Benzodiazepine-Induced Relaxation of Rat Uterus	T. Kano, K. Ishii & Y. Kurobe	69
Relation of Serum Testosterone Levels with Serum LH Levels and Oligomenorrhea	T. Yaginuma	74
Mechanism of Inhibition of Hypothalamic Pituitary Ovarian Function in Streptozotocin-Diabetic Immature Female Rats.....	Y. Taniguchi, K. Miyamoto, Y. Hasegawa, K. Yamada & M. Igarashi	78

Hexokinase Activity in the Mouse Oocyte and Preimplantation Embryo.....	
..... <i>O. Tsutsumi, K. Satoh, T. Yano, K. Kinoshita,</i>	
<i>M. Mizuno, S. Sakamoto & T. Kato</i>	87
Recovery of Human Follicular Oocytes under Operation Microscope.....	
<i>A. Iwaki,</i>	
<i>Y. Kanemaki & M. Endo</i>	92
Statistical Study of Anovulatory Women in Our Clinic for Ten Years.....	
..... <i>H. Otsuka, S. Kamata, H. Kitada,</i>	
<i>H. Miyoshi, T. Yaguchi & M. Ohara</i>	98
Changes in Therapeutical Effects of Infertile Patients in Our Hospital.....	
..... <i>S. Koga & H. Nagai</i>	111

IMPROVED RATES OF SPERM PENETRATION IN VITRO OF PIG FOLLICULAR OOCYTES MATURED IN CULTURE

Taku NAGAI, Koji NIWA and Akira IRITANI*

Department of Animal Science, College of Agriculture
Kyoto University, Kyoto 606, Japan

Werner LEIDL

Gynaekologische und Ambulatorische Tierklinik der
Universitaet Muenchen, D 8000 Muenchen

Abstract: The purpose of this study was to establish an *in vitro* fertilization system in which high proportions of sperm penetration will be obtained. Boar epididymal spermatozoa were preincubated in the isolated uterine horn of an estrous gilt for 4 h at 37°C before introduction into medium containing ovarian oocytes previously cultured for 28 h. At examination 20 h after insemination 48.3 % of the 563 oocytes in total had reached at least the second metaphase. The proportions of the oocytes penetrated were varied with the number of spermatozoa in the fertilization medium containing about 10 oocytes. The proportions of the oocytes penetrated under different sperm concentrations, 200, 100, 10, 5 and 1×10^4 /ml were 75.6, 73.8, 47.9, 46.6 and 5.4 %, respectively. On the other hand, high incidences of polyspermic penetration were also observed; they were 81.4–82.2 % by insemination at the concentration of spermatozoa, 200–100 $\times 10^4$ /ml. Transformation of the heads of the penetrated spermatozoa varied with the maturation stages of the penetrated oocytes. The heads of the penetrated spermatozoa into the oocytes at germinal vesicle stage had been still remained unenlarged, but they transformed to the enlarged heads or to the pronuclei when spermatozoa were penetrated into the oocytes which had been matured to the second metaphase. From the results of the present experiments in which constantly high proportion of sperm penetration, more than 70 % was obtained, it may be suggested that this *in vitro* fertilization system could be used as an assay system of zona pellucida antibody which has cross reaction with porcine zona pellucida.

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 313–318, 1983)

Introduction

The maturation of follicular oocytes in culture followed by sperm penetration *in vitro* has been reported for the mouse^{1,2,3)}, rat^{4,5)}, hamster⁶⁾, guinea pig⁷⁾, rabbit^{8,9)}, cattle¹⁰⁾, pig¹¹⁾, and man^{12,13)}. In our previous paper¹¹⁾, it was suggested that the higher proportion of oocytes penetrated by epididymal than ejaculated spermatozoa could be ob-

tained. The present experiment was to reconfirm easier capacitation of epididymal than ejaculated spermatozoa in reproductive tracts isolated from estrous gilts and to examine the relationship of the penetration rates and sperm concentrations in the fertilization medium.

Materials and Methods

Preparation of oocytes: Ovaries were removed from prepubertal gilts weighing 80–

* Reprint requests to A. Iritani.

100 kg at a local slaughterhouse and returned to the laboratory in saline at 35°C within 1 h. Oocytes at the germinal vesicle stage were collected by puncturing follicles which had diameters of 2–5 mm. The oocytes with cumulus cells were washed twice and each 10–15 oocytes in a spotted medium were cultured for 28 h at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂ in air in 0.4 ml modified Kreb's-Ringer-bicarbonate solution (modified KRB containing 94.6 mM-NaCl, 4.78 mM-KCl, 1.71 mM-CaCl₂, 1.19 mM-KH₂PO₄, 1.19 mM-MgSO₄, 25.07 mM-NaHCO₃, 21.58 mM-sodium lactate, 0.5 mM-sodium pyruvate, 5.56 mM-glucose, 4 mg crystalline bovine serum albumin/ml, 50 µg streptomycin sulphate/ml and 75 µg potassium penicillin/ml) covered with warm paraffin oil.

Capacitation of spermatozoa: Testes with epididymides were removed at a slaughter house and returned to the laboratory. An incision was made at a portion of the cauda epididymidis and epididymal spermatozoa from an opening of the epididymal duct by air pressure from vas deferens using 30–50 ml syringe. The epididymal spermatozoa collected in a 10 ml test tube were kept at room temperature for 3–26 h. About 20 h after collection of spermatozoa, they were washed twice with m-KRB solution and 1 ml of the washed sperm suspension (4×10^8 cells/ml) were preincubated for 4 h in the uteri from a gilt which is in the follicular phase. The preincubation period was based on that known to be required for capacitation of boar spermatozoa (Iritani et al., 1978)⁽¹¹⁾. The volume and the number of spermatozoa incubated were 1 ml and 4×10^8 in a uterine horn. After the introduction of spermatozoa, the cervical end of the uterus was ligated, and the uterus was kept in saline for 4 h at 37°C. After incubation the spermatozoa were recovered by flushing the uteri. Contaminating blood cells and epithelial cell debris were removed by centrifugation at 150 g for 5 min, and then the spermatozoa were washed by centrifugation at 500 g for 10 min. The motility of the spermatozoa was poor when they were recovered from the uteri, but it always improved after washing and was motile 20 h after insemination.

Fertilization and examination of oocytes: The volume and the number of spermatozoa introduced into the 0.4 ml medium containing about 10 oocytes were 5–20 µl and 1, 5, 10, 100 and 200×10^4 . The oocytes and spermatozoa were cultured for 20 h at 37°C and then the oocytes were fixed for 4–5 days in 25% acetic alcohol at room temperature and stained with 1% aceto-orcein by phase contrast microscopy. Those undergoing fertilization according to the criteria shown in Plate 1 were identified.

Results

As shown in Table 1, 273 of the 563 cultured oocytes in total (48.3%) matured to the second metaphase when they were examined 20 h after additional culture with spermatozoa. High penetration rates, 73.8–75.6% were obtained when they were inseminated with spermatozoa at the concentration of $100\text{--}200 \times 10^4$ /ml. The penetration rates significantly decreased with the decreased concentration of spermatozoa in the fertilization medium; they were 46.6 and 47.9% when inseminations were made at the concentrations of 5 and 10×10^4 /ml, respectively. Insemination of spermatozoa at the concentration of 1×10^4 /ml resulted in an extremely low penetration rate, 5.4%. As can be seen in Table 1, generally high proportions of the oocytes of polyspermic penetration were observed although they decreased from 81.4–82.2% to 58.3–63.2% with the decreased penetration rates.

Table 2 shows the detailed conditions of the penetrated oocytes. In most of the penetrated oocytes at the germinal vesicle stage, sperm head had been still remained unenlarged. On the other hand, sperm heads were swollen, enlarged, or transformed to the pronucleus in the oocytes in which normal GVBD had occurred, reaching metaphase of the first or second meiotic division. Formation of male pronucleus was observed in the 74 oocytes (28.5%) of the 260 penetrated oocytes in which condensed female chromatin or female pronucleus was found.

In the oocytes with polyspermic penetration, the number of spermatozoa penetrated into an oocyte varied with the concentration

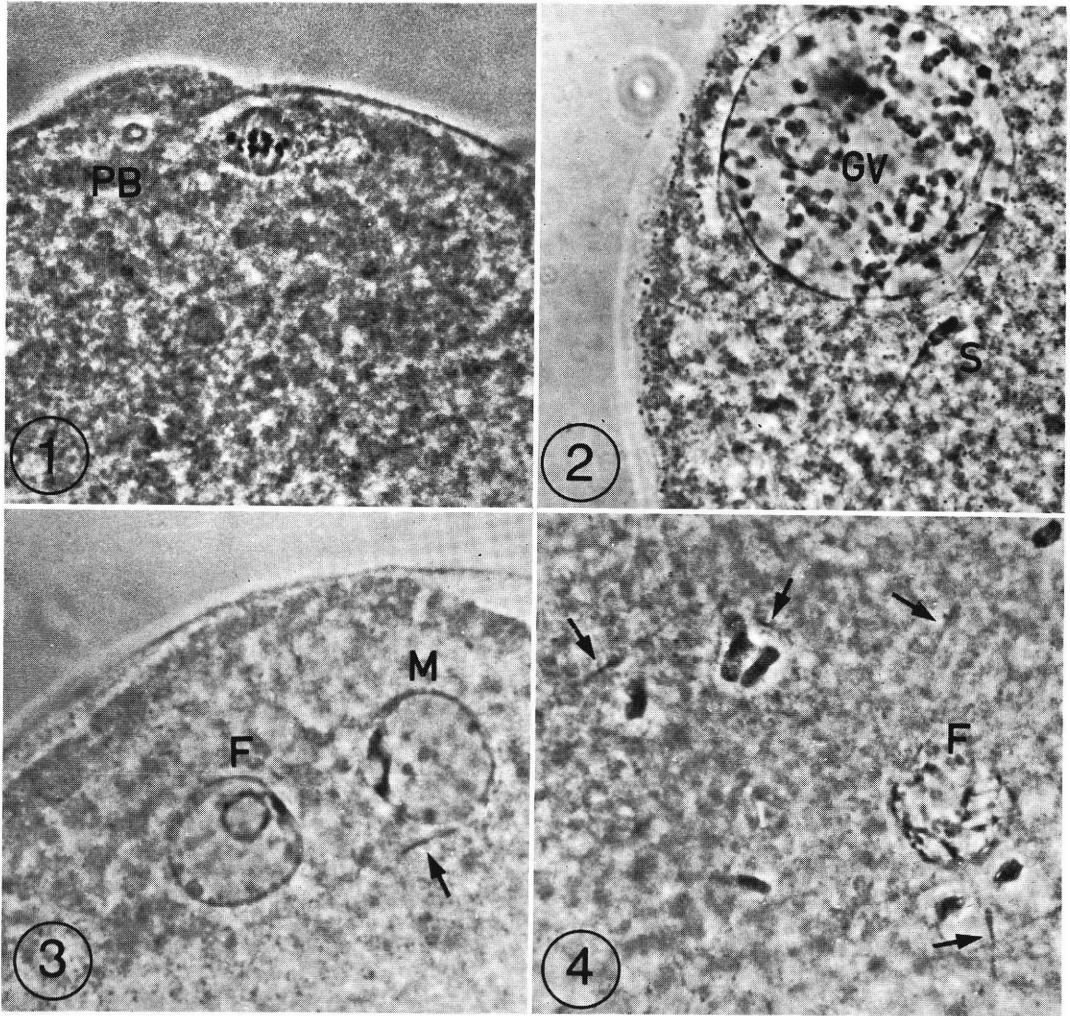


PLATE 1

All eggs were fixed 20 h after the introduction of spermatozoa preincubated in the isolated uterus from an estrous gilt.

Fig. 1 An oocyte at the metaphase of the second meiotic division fixed 28 h after culture, showing first polar body (PB) in association with a metaphase plate of chromosomes. $\times 700$.

Fig. 2 An egg at the germinal vesicle stage (GV): A slightly swollen sperm head (S) is seen in close association with the germinal vesicle. $\times 720$.

Fig. 3 A pronuclear egg in which both the female (F) and male (M) pronuclei and the detached midpiece (arrow) in close association with the male pronucleus are seen. A second polar body was seen in a different focal plane. $\times 720$.

Fig. 4 An egg showing polyspermic fertilization: A female pronucleus (F), 5 swollen sperm heads (asynchronous development with female pronucleus) and 4 detached midpieces are seen. $\times 800$.

Table 1 Sperm penetration *in vitro* of pig follicular oocytes under different concentrations of spermatozoa in the medium

Concentration of spermatozoa ($\times 10^4/\text{ml}$)	No. of trials	No. of oocytes cultured and inseminated	No. (%) of oocytes maturing to metaphase-II at examination	No. of oocytes penetrated	
				Total (%)	Polyspermic (%)*
200	7	135	68(50.4)	102(75.6)	83(81.4)
100	3	61	36(59.0)	45(73.8)	37(82.2)
10	4	119	64(53.8)	57(47.9)	36(63.2)
5	5	103	38(36.9)	48(46.6)	28(58.3)
1	6	147	67(45.6)	8(5.4)	0(0.0)

* Percentage of the number of polyspermic oocytes to the total number of penetrated oocytes.

Table 2 Detailed conditions of penetrated oocytes 20 h after insemination with different concentrations of spermatozoa

Conc. of spermatozoa ($\times 10^4/\text{ml}$)	Total no. of oocytes penet.	No. of oocytes with unenlarged sperm head(s) at stage of		No. (%) of oocytes with enlarged sperm head(s) at stage of				No. (%) of oocytes with male pronucleus(ei) at stage of
		GV	MI-Telo. I	GV	MI-Telo. I	MII	Ana. II-Pro-N	
200	102	29(28.4)	1(1.0)	1(1.0)	8(7.8)	21(20.6)	7(6.9)	35(34.3)
100	45	7(15.6)	2(4.4)	0(0.0)	3(6.6)	7(15.6)	8(17.8)	18(40.0)
10	57	23(40.4)	1(1.8)	0(0.0)	6(10.5)	14(24.6)	2(3.5)	11(19.3)
5	48	14(29.2)	6(12.5)	0(0.0)	5(10.4)	9(18.8)	5(10.4)	9(18.8)
1	8	0(0.0)	1(12.5)	0(0.0)	2(25.0)	1(12.5)	3(37.5)	1(12.5)
1-200	260	73(28.1)	11(4.2)	1(0.4)	24(9.2)	52(20.0)	25(9.6)	74(28.5)

GV: Germinal vesicle, MI: Metaphase-I, Telo. I: Telophase-I, MII: Metaphase-II, Ana. II: Anaphase-II, c.f.c.: Condensed female chromatin, Pro-N: Pronucleus(ei)

of spermatozoa in the fertilization medium. More than 6 spermatozoa were penetrated into 44.6% of the total polyspermic oocytes when sperm concentration was $200 \times 10^4/\text{ml}$, while its percentage decreased to 24.3% with insemination at the concentration of $100 \times 10^4/\text{ml}$.

Discussion

The maturation rate of the oocytes to the second metaphase in culture, 48.3% was comparatively lower than those of 60.0–60.9% which were obtained in the previous experiments in which the medium and period of cultivation were similar to those of the present experiments (Sato, Iritani & Nishikawa, 1978¹⁴; Iritani, Niwa & Imai, 1978)¹¹. The maturation rate of pig oocytes

in culture varies with the environmental temperature at the slaughter house where ovaries were collected; the rate was generally low in winter season because pig ovarian oocytes may be susceptible to lower temperatures than 20°C.

It is suggested that there is a close relationship between maturation of oocytes and transformation of the penetrated sperm head to swollen, enlarged head or male pronucleus. Normal germinal vesicle breakdown (GVBD) may be necessary for the enlargement of sperm head. In only one of the 74 GV oocytes a penetrated sperm head was enlarged, and the sperm head was enlarged but did not transform to the pronucleus in 24 of the 35 oocytes (68.6%) which were at the stage of first meiotic division. Similar findings have been reported for mouse²,

rat⁴⁾ and human¹³⁾.

In our previous experiments¹¹⁾, it has been suggested that epididymal spermatozoa can be more easily capacitated and penetrated than ejaculated spermatozoa; the proportion of the penetrated oocytes was 26.0% with insemination of epididymal spermatozoa at the concentration of $50-100 \times 10^4/\text{ml}$ in the fertilization medium. On the other hand, the penetration rates were much improved in the present experiments; they were 47.9% and 73.8% at the sperm concentrations of 10×10^4 and $100 \times 10^4/\text{ml}$, respectively (Table 1). One of the reasons of the improved penetration rates at the present experiments might be due to that epididymal spermatozoa were preincubated in the uteri isolated from a gilt which is in the follicular phase instead of the use of the uteri from an estrous sow.

As can be seen in Table 2, extremely high proportions of the polyspermic penetration were observed in accordance with the improved penetration rates as is generally found in the *in vitro* fertilization in the rats. Hunter et al.¹⁵⁾ reported that polyspermy was frequently found in the pig oocytes inseminated in the oviduct *in vivo* with large numbers of capacitated spermatozoa. Polyspermy in the pig oocytes may be one of the species specific phenomena since extremely low proportions of polyspermy has been observed in the penetrated cattle oocytes *in vitro* in which about 60% of the penetration rate was obtained (Iritani et al., et al., unpublished).

However, it is suggested that the present *in vitro* fertilization system in the pig oocytes could be useful for the determination of activities of antibodies against zona pellucida which inhibits sperm penetration, even if high frequency of polyspermic penetration occurs in this system.

Acknowledgements

One of us (AI) was a recipient of a grant from Deutsche Forschungsgemeinschaft and a preliminary work was performed at University of Muenchen. A portion of this work was supported by a grant from the Ministry of Education of Japan (No. 60806).

References

- 1) Cross, P. C. and Brinster, R. L.: *In vitro* development of mouse oocytes. *Biol. Reprod.*, 3: 298, 1970.
- 2) Iwamatsu, T. and Chang, M. C.: Sperm penetration *in vitro* of mouse oocytes at various times during maturation. *J. Reprod. Fert.*, 31: 237, 1972.
- 3) Mukherjee, A. B.: Normal progeny from fertilization *in vitro* of mouse oocytes matured in culture and spermatozoa capacitated *in vitro*. *Nature, Lond.*, 237: 397, 1972.
- 4) Niwa, K. and Chang, M. C.: Fertilization of rat eggs *in vitro* at various times before and after ovulation with special reference to fertilization of ovarian oocytes matured in culture. *J. Reprod. Fert.*, 43: 435, 1975.
- 5) Niwa, K., Miyake, M., Iritani, A. and Nishikawa, Y.: Fertilization of rat oocytes cultured *in vitro* from various stages of maturation. *J. Reprod. Fert.*, 47: 105, 1976.
- 6) Barros, C. and Munoz, C.: Sperm penetration through the zona pellucida of immature hamster oocytes. *Acta Physiol. latinoam.*, 24: 612, 1974.
- 7) Yanagimachi, R.: Maturation and fertilization *in vitro* of guinea-pig ovarian oocytes. *J. Reprod. Fert.*, 38: 485, 1974.
- 8) Brackett, B. G., Mills, J. A. and Jeites, G. G.: *In vitro* fertilization of rabbit ova recovered from ovarian follicles. *Fert. Steril.*, 23: 898, 1972.
- 9) Hosoi, Y., Niwa, K., Hatanaka, S. and Iritani, A.: Fertilization *in vitro* of rabbit eggs by epididymal spermatozoa capacitated in a chemically defined medium. *Biol. Reprod.*, 24: 637, 1981.
- 10) Iritani, A. and Niwa, K.: Capacitation of bull spermatozoa and fertilization *in vitro* of cattle follicular oocytes matured in culture. *J. Reprod. Fert.*, 50: 119, 1977.
- 11) Iritani, A., Niwa, K. and Imai, H.: Sperm penetration *in vitro* of pig follicular oocytes matured in culture. *J. Reprod. Fert.*, 54: 379, 1978.
- 12) Edwards, R. G., Bavister, B. D. and Step-toe, P. C.: Early stages of fertilization *in vitro* of human oocytes matured *in vitro*. *Nature, Lond.*, 221: 632, 1969.
- 13) Nishimoto, T., Yamada, I., Niwa, K., Mori, T., Nishimura, T. and Iritani, A.: Sperm penetration *in vitro* of human oocytes matured in a chemically defined medium. *J. Reprod. Fert.*, 64: 115, 1982.
- 14) Sato, E., Iritani, A. and Nishikawa, Y.:

Rate of maturation division of pig follicular oocytes. Jap. J. Zootech. Sci., 49: 400, 1978.

- 15) Hunter, R. H. F. and Hall, J. P.: Synergism between uterine and tubal environments. J. exp. Zool., 188: 203, 1974.

培養豚卵胞卵の体外での高率受精

永井 卓, 丹羽浩二, 入谷 明

(京都大学農学部畜産学教室)

Werner LEIDL

(ミュンヘン大学家畜臨床繁殖学教室)

本研究は豚卵胞卵を用いて安定して高い受精率の得ら

れる体外受精系を確立することを目的として行なわれた。卵核胞期の卵胞卵を卵巣の小卵胞から採集し、28時間修正 KRB 液中で培養して成熟させた。これらの卵子に未経産卵胞期の雌豚の摘出子宮内で4時間 37°C で前培養した精子を加えて授精し、20時間後に固定染色して受精の有無を検査した。その結果、受精の場での精子濃度、200, 100, 10, 5, $1 \times 10^4/\text{ml}$ の場合、それぞれ 75.6, 73.8, 47.9, 46.6, 5.4% の精子侵入率がえられた。一方精子侵入卵率の高い $200 \sim 100 \times 10^4/\text{ml}$ の精子濃度区で、81.4~82.2% の高い多精子侵入卵率がみられた。このように正常受精率は低い、高い精子侵入卵率がえられたので、この受精系は透明帯抗体の力価検定などに応用しうるものと考えられる。

(受付: 昭和 57 年 10 月 1 日)

IN VITRO CULTURE OF RAT EGGS FROM EIGHT-CELL TO BLASTOCYST IN A MODIFIED DULBECCO'S MEDIUM

Toshitaka HORIUCHI, Mariko OHTA, Masaru KOJIMA,
Jutaro TAKAHASHI, Shichiro SUGAWARA
and Junji MASAKI

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
Tohoku University, Sendai 980, Japan

Abstract: Development of rat eggs from eight-cell to blastocyst was studied *in vitro*. As a basal medium, the salt solution of Ca- and Mg-free Dulbecco's medium and energy sources of Whitten's medium were used. This medium is named TMM (-). In TMM(-), supplemented with Ca-lactate, MgCl₂ and MgSO₄, 50 %, 62 %, 0 % and 0 % of early eight-cell eggs developed into morula or blastocyst, respectively. Furthermore, in TMM(-), supplemented with Ca-lactate, Ca-lactate and CaCl₂, Ca-lactate and MgCl₂, 30 %, 87 %, 85 % and 91 % of late eight-cell eggs developed into morula or blastocyst, respectively. From these results, TMM(-) supplemented with Ca-lactate is useful for early and late eight-cell eggs to develop into blastocyst.

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 319-322, 1983)

Introduction

Development of mammalian eggs *in vitro* has been successfully achieved from one-cell to blastocyst in mice, rabbits, ferrets and human beings^{1,2)}. Especially, culture media for mouse eggs have widely been used *in vitro* culture of other animal eggs³⁾. Generally, these media are modified Krebs' Ringer bicarbonate solutions⁴⁻⁶⁾. When these media are used for culture of rat eggs, it is difficult for rat eggs to develop from two-cell to eight-cell *in vitro*.

Furthermore, rates of development from eight-cell to blastocyst in rat eggs are various by researcher. Thus, Whittingham⁷⁾, and Mayer and Fritz⁸⁾ reported that about sixty and eighty % of eggs developed from eight-cell to blastocyst in a modified standard mouse medium supplemented with 10 and 25 % fetal calf serum, respectively. However, Wada et al.⁹⁾ showed that only eight % of eggs developed from eight-cell to blastocyst in Whitten's medium supplemented with 25 % fetal calf serum.

On the other hand, Folsted et al.¹⁰⁾ and Eliot et al.¹¹⁾ reported that about forty to eighty % of eggs developed to blastocyst in Brinster's medium which contained BSA. However, Yamamura and Markert¹²⁾ reported that it is difficult for rat eggs to develop from eight-cell to blastocyst in a standard mouse medium as well as Brinster's medium.

As mentioned above, development rates from eight-cell to blastocyst in rat eggs are various in bicarbonate buffer solutions according to investigator. To investigate a culture medium suitable for the development of rat eggs, we examined whether a phosphate buffer medium could support or not the development of rat eggs from eight-cell to blastocyst.

Materials and Methods

Mature female rats of Wistar strain, bred in our laboratory, were used. They were maintained in a 12-hour light cycle and provided with a basic diet and tap water *ad*

libitum. Before use, vaginal smear was checked daily to confirm the presence of at least two consecutive regular 4 day cycles. Females in proestrus were caged with a fertile male rats of same strain. The next morning when spermatozoa were found in the vaginal smear was taken as Day 1 of gestation. Eggs of early and late eight-cell stage were collected from the female reproductive tract on the morning and afternoon of Day 4 and were washed three times in the culture medium. Eggs were cultured at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ in air under paraffin oil previously equilibrated with 5% CO₂ in air and the medium¹³⁾.

In all experiments, the salt solution of calcium- and magnesium-free Dulbecco's medium¹⁴⁾ and energy sources of Whitten's medium⁶⁾ were used as a basal medium (This medium is named TMM(-), Table 1). As the control, Whitten's medium⁶⁾ was used.

In Exp. 1, early eight-cell eggs were cultured in TMM(-) and supplemented with Ca-lactate (1.71 mM), MgCl₂·6H₂O (0.5 mM) or MgSO₄·7H₂O (0.5 mM).

In Exp. 2, the late eight-cell eggs were cultured in TMM(-) and supplemented with combinations of Ca-lactate (1.17 mM), CaCl₂ (0.9 mM) and MgCl₂·6H₂O (0.5 mM).

Development of the eggs in culture was evaluated by a light microscope as the proportion of eggs which developed into morula and blastocyst after 24-48 hrs culture at 37°C.

Table 1 Chemical composition of a basal medium used for rat eggs culture

Compound	Amount (mg/l)
NaCl	8000
KCl	200
KH ₂ PO ₄	200
Na ₂ HPO ₄	1150
Glucose	1000
Na-Pyruvate	35
Na-Lactate (DL)	2416
Streptomycin	50
Penicillin G	75
BSA	1000

* This medium is named TMM (-).

Results and Discussion

Exp. 1; *In vitro* culture of rat eggs from early eight-cell to blastocyst (Table 2).

When early eight-cell eggs were cultured in TMM(-), the of twenty (50%) developed into morula or blastocyst (15% and 35%, respectively). Furthermore, when calcium lactate was added to TMM(-), thirty-eight of sixty-one (62%) developed into morula or blastocyst (31% and 31%, respectively). On the other hand, when magnesium chloride or magnesium sulfate was added to TMM(-), none of early eight-cell eggs developed into further stages.

In Whitten's medium as control, which is a bicarbonate buffer saline solution, twenty-one of fifty-one (41%) developed into morula

Table 2 *In vitro* culture of rat eggs from early eight-cell to blastocyst

Medium	No. of exp.	No. of eggs	No. of eggs developed to		
			Morula (%)	Blastocyst (%)	Total (%)
TMM(-)	4	20	3(15)	7(35)	10(50)
TMM(-) + Ca-lactate	14	61	19(31)	19(31)	38(62)
TMM(-) + MgCl ₂	5	25	0	0	0
TMM(-) + MgSO ₄	2	10	0	0	0
Whitten's medium	16	51	8(16)	13(25)	21(41)

Table 3 *In vitro* culture of rat eggs from late eight-cell to blastocyst

Medium	No. of exp.	No. of eggs	No. of eggs developed to		
			Morula (%)	Blastocyst (%)	Total (%)
TMM(-)	6	27	0	8(30)	8(30)
TMM(-) + Ca-lactate	13	63	9(14)	46(73)	55(87)
TMM(-) + Ca-lactate + CaCl ₂	6	27	3(11)	20(74)	23(85)
TMM(-) + Ca-lactate + MgCl ₂	2	12	4(33)	7(58)	11(91)
Whitten's medium	10	50	15(30)	18(36)	32(66)

or blastocyst (16 % and 25 %, respectively).

Exp. 2; *In vitro* culture of rat eggs from late eight-cell to blastocyst (Table 3)

When late eight-cell eggs were cultured in TMM(-), eight to twenty-seven (30 %) developed to blastocyst. Furthermore, when calcium lactate was added to TMM(-), fifty-five of sixty-three (84 %) developed to morula or blastocyst (14 % and 73 %, respectively). When calcium lactate and calcium chloride were added to TMM(-), twenty-three of twenty-seven (85 %) developed into morula or blastocyst (11 % and 74 %, respectively). When calcium lactate and magnesium chloride were added to TMM(-), eleven of twelve (91 %) developed into morula or blastocyst (33 % and 58 %, respectively).

In Whitten's medium, on the other hand, thirty-three of fifty (66 %) developed into morula or blastocyst (30 % and 36 %, respectively).

From these results, TMM(-) supplemented with calcium lactate was known to be useful to develop from early and late eight-cell eggs to morula or blastocyst. In the culture of rat eggs, development of eight-cell eggs has not been achieved successfully in a phosphate buffer solution. Furthermore, this report showed that calcium lactate might be more useful to supply calcium ions for eight-cell eggs than inorganic compounds.

TMM(-) as a basal medium is a calcium-

and magnesium-free Dulbecco's phosphate buffer salt solution¹⁴⁾ supplemented with energy source of Whitten's medium⁶⁾. That is, this medium contains no calcium and magnesium ions except the contaminations of other chemical compounds. Concerning the effect of calcium and magnesium ions on blastocyst formation, Wales¹⁵⁾ reported that calcium ions play an important role in the compaction of eight-cell eggs and very low concentrations of this ion inhibit development in mice, but magnesium ions were less important for development into blastocyst. In this experiment, eight-cell eggs developed into blastocyst in a calcium- and magnesium-free medium. However, development rates were not constant at each experiment in this medium. Therefore, the contents of divalent cations in cytoplasm may influence on the blastocyst formation. Eventually, by the addition of calcium lactate in TMM(-), the development rates were recognized as a small variation. If only magnesium ions was added to TMM(-), early eight-cell eggs did not develop into further stages. But when magnesium and calcium ions were added to TMM(-), most of the late eight-cell eggs developed into blastocyst. These results suggest that magnesium ions are harmful for the development of rat eggs, and if they are combined with calcium ions, the effect may become very weak.

This report showed the culture system of eight-cell eggs in rat using a modified Dulbecco's phosphate buffer medium. Generally, the Dulbecco's phosphate buffer saline solution has been used as the medium for freezing and thawing procedures of rat eggs⁷⁾. Therefore, rat eggs may be successfully frozen, thawed and cultured at the eight-cell stage.

However, the culture of rat eggs has still difficult problems at early stage, which need further research.

References

- 1) Biggers, J. D.: Fertilization and blastocyst formation. In: Animal Models for Research on Contraception and Fertility, ed. N. J. Alexander, p. 223, Harper & Row, Hagerstown, 1978.
- 2) Whittingham, D. G.: Fertilization, early development and storage of mammalian ova *in vitro*. In: The Early Development of Mammals, eds. M. Balls & A. E. Wild, p. 1, Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1975.
- 3) Whittingham, D. G.: Culture of mouse ova. J. Reprod. Fert., Suppl. 14: 7, 1971.
- 4) Brinster, R. L.: *In vitro* cultivation of mammalian ova. In: Advances in the Biosciences 4, ed. G. Raspe, p. 198, Pergamon Press, Vieweg, 1969.
- 5) Biggers, J. D., Whitten, W. K. and Whittingham, D. G.: The culture of mouse embryos *in vitro*. In: Methods in Mammalian Embryology, ed. J. C. Deniel, p. 86, Freeman Co., San Francisco, 1971.
- 6) Whitten, W. K.: Nutrient requirements for the culture of preimplantation embryos *in vitro*. In: Advances in the Biosciences, ed. G. Raspe, p. 129, Pergamon Press, Vieweg, 1970.
- 7) Whittingham, D. G.: Survival of rat embryos after freezing and thawing. J. Reprod. Fert. 43: 575, 1975.
- 8) Mayer, J. E. and Fritz, H. I.: The culture of preimplantation rat embryos and the production of allophenic rats. J. Reprod. Fert. 39: 1, 1974.
- 9) Wada, K., Horiuchi, T., Sugawara, S. and Masaki, J.: Culture of rat eggs *in vitro*. Tohoku J. Agri. Res. 32: 101, 1981.
- 10) Folsted, L., Bennett, J. P. and Dorfman, R. I.: The *in vitro* culture of rat ova. J. Reprod. Fert. 18: 145, 1969.
- 11) Elliott, D. S., Maurer, R. R. and Staples, R. E.: Development of mammalian embryos *in vitro* with increased atmospheric pressure. Biol. Reprod. 11: 162, 1974.
- 12) Yamamura, K. and Markert, C. L.: The production of chimeric rats and their use in the hooded pigmentation pattern. Develop. Genetics, 2: 131, 1981.
- 13) Brinster, R. L.: A method for *in vitro* cultivation of mouse ova from two-cell to blastocyst. Exp. Cell Res. 32: 205, 1963.
- 14) Dulbecco, R. and Vogt, M.: One-step growth curve of western equine encephalomyelitis virus on chicken embryo cell growth *in vitro* and analysis of virus yields from single cells. J. Exp. Med. 99: 183, 1954.
- 15) Wales, R. G.: Effects of ions on the development of the preimplantation mouse embryo *in vitro*. Aust. J. Biol. Sci. 23: 421, 1970.

ダルベッコウのリン酸緩衝塩類溶液の 修正培養液における 8 細胞期ラット 卵子の胚盤胞への発生について

堀内俊孝, 太田真理子, 小島 勝,
高橋寿太郎, 菅原七郎, 正木淳二
(東北大学農学部家畜繁殖学教室)

8 細胞期ラット卵子はリン酸緩衝塩類溶液を用いた体外培養で胚盤胞まで発生できるか否かについて検討した。カルシウム、マグネシウムを除去したダルベッコウの培養液の無機塩類溶液に、ホイッテンの培養液の栄養塩類を加え、その培養液を基礎培養液として用いた（以下この培養液は TMM(-) と略す）。初期 8 細胞期卵子では、無添加(TMM(-))、乳酸カルシウム (1.71 mM) 添加、塩化マグネシウム (0.5 mM) 添加、硫酸マグネシウム (0.5 mM) 添加の各培養液で 24-48 時間培養すると各 50 %, 62 %, 0 %, 0 % が桑実胚または胚盤胞に発生した。さらに、後期 8 細胞期卵子では無添加、乳酸カルシウム (1.71 mM) 添加、乳酸カルシウム (1.71 mM) と塩化カルシウム (0.9 mM) 添加、乳酸カルシウム (1.71 mM) と塩化マグネシウム (0.5 mM) 添加の各培養液で培養すると各 30 %, 87 %, 85 %, 91 % の卵子が桑実胚または胚盤胞に発生した。

これらの結果から、乳酸カルシウム添加 TMM(-) の培養液は初期そして後期 8 細胞期ラット卵子の胚盤胞への発生に有効であることが明らかになった。

(受付: 昭和 57 年 10 月 15 日)

ヒト精漿中 Androgen 濃度について

Androgen Levels in Human Seminal Plasma

岡山大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 大森弘之教授)

森 岡 政 明 武 田 克 治 東 條 俊 司
Masaaki MORIOKA Katsuji TAKEDA Shunji TOJHO

光 畑 直 喜 大 橋 輝 久 大 森 弘 之
Naoki MITSUHATA Teruhisa OHASHI Hiroyuki OHMORI

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

男子不妊症患者 40 例を対象に精漿中 androgen (T, DHT, A-diol) を RIA で測定し、精子数及び運動率との関係を検討し、また精漿中 androgen の origin についての考察を行なった。

精漿中 androgen level については、T と A-diol は95%の症例で150pg/ml 以下、DHT も95%の症例で200pg/ml 以下といずれも微量なものであつた。しかし、Tが serum level の $1/20 \sim 1/100$ であるのに対し、DHT と A-diol は $1/2 \sim 1/5$ と精漿中 level が比較的高値であり、これら androgen は intratesticular or epididymis 由来のものと考えられた。

一方、精子数及び運動率と精漿中 T, DHT, A-diol level との間には有意な相関は認められず、精細管内、或いは epididymis での spermatogenesis や sperm maturation に androgen が作用したあとの残余物、代謝物であろうと考えられた。
(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 323-327, 1983)

緒 言

ヒト精漿中には血中と同様に luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) や prolactin (PRL) などの下垂体ホルモンの存在が確認されており、sperm density 或いは sperm motility との関係について様々な報告が見られる^{1,2,3)}。一方、精漿中 androgen については報告も少なく一定の結論は得られていない。今回、当科外来を受診した男子不妊症患者を対象に、精漿中 testosterone (T), 5 α -dihydrotestosterone (DHT) 及びその metabolite である 5 α -androstane 3 α , 17 β diol (A-diol) を測定し、sperm density 及び sperm motility との関連について検討したので報告する。

対象並びに方法

(1) 対象 (Table 1 参照)

当科外来を受診した男子不妊症患者40例について精液検査所見から sperm density 40×10^6 /ml 以上の norm-

ozoospermia (10例), 40×10^6 /ml 未満の oligozoospermia (20例), azoospermia (10例) の3群に分類した。また motility との関連では azoospermia を除く30例について40%未満 (10例), 40~60% (9例), 60%以上 (11例) の3群に分類した。年齢分布, semen volume などについては、ほぼ同様となっていた。なお、精路通過障害の症例は除外した。

(2) 実験方法 (Fig. 1 参照)

5日間禁欲の後に外来で用手法にて採取した精液を、通常の精液検査後に4°C, 10000rpm, 1時間遠沈して seminal plasma を分離し、sperm free である事を確認、測定に供する迄は-70°C deep freezer 内に保存した。

assay には seminal plasma 500 μ l を duplicate で用い既に著者らが報告した radioimmunoassay⁴⁾で測定した。測定法の概要を Fig. 1 に示したが、recovery 補正用に ³H-DHT, T, A-diol 各々1000dpm を加えた後にエーテル抽出し、水洗、乾固の後に benzene: methanol/95: 5 の溶媒系で、ついで hexane: benzene:

Table 1 Clinical Cases

Group	No.	Age	Semen Volume(ml)
I. Normozoospermia $\geq 40 \times 10^6/\text{ml}$	10	22-32	1.1-6.0 (Mean : 3.6)
II. Oligozoospermia $< 40 \times 10^6/\text{ml}$	20	24-36	1.7-6.3 (Mean : 3.7)
III. Azoospermia	10	25-37	0.8-5.3 (Mean : 3.3)

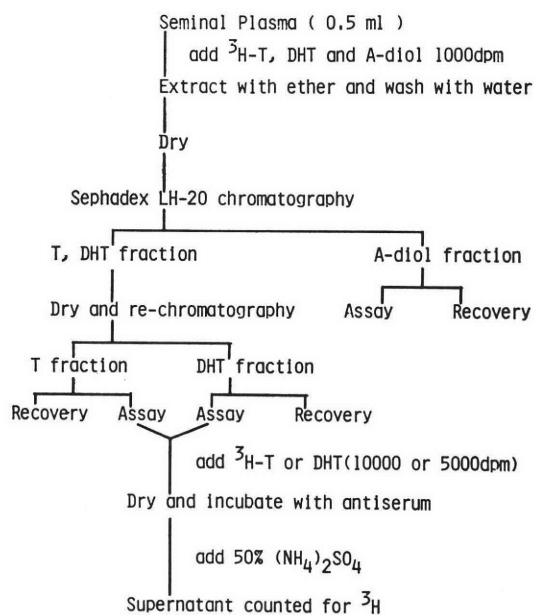


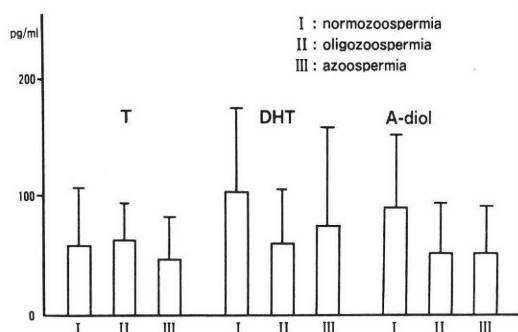
Fig. 1 Procedure for the Measurement of Androgens in Seminal Plasma

methanol/90 : 5 : 5 の溶媒系で sephadex LH-20 の column chromatography で分離し RIA で測定した。用いた抗血清は DHT-11 α succ BSA, T-11 α succ BSA, androsterone 17 CMO BSA を抗原とする家兎血清で帝国臓器製薬のものである。

成 績

1) sperm density と精漿中 androgen (Fig. 2 参照) まず T については normozoospermia 群 (group 1) で $16 \sim 160 \text{ pg/ml}$ ($60.6 \pm 49.4 \text{ pg/ml}$, Mean $\pm$ SD, $n=10$ 以下同様), oligozoospermia 群 (group 2) で $23 \sim 160 \text{ pg/ml}$ ($64.7 \pm 32.2 \text{ pg/ml}$, $n=20$), azoospermia 群 (group 3) では $19 \sim 140 \text{ pg/ml}$ ($49.1 \pm 35.7 \text{ pg/ml}$, $n=10$) と 3 群間に差はなく, 40 例中 38 例 (95%) の症例で 150 pg/ml 以下と血中の $1/20 \sim 1/100$ のレベルであった。

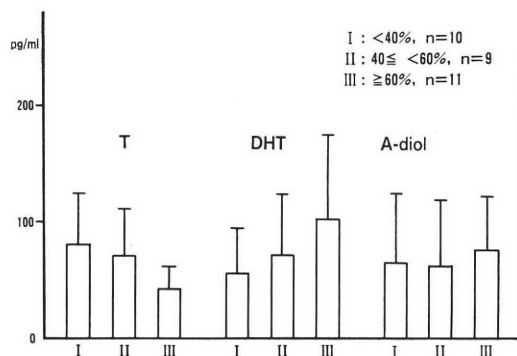
DHT については group 1 で $26 \sim 271 \text{ pg/ml}$ ($107.8 \pm 71.6 \text{ pg/ml}$, $n=10$), group 2 では $15 \sim 150 \text{ pg/ml}$ ($63.3 \pm 45.6 \text{ pg/ml}$, $n=20$), group 3 では $10 \sim 230 \text{ pg/ml}$ ($78.7 \pm 84.4 \text{ pg/ml}$, $n=10$) と group 1 が他と比較して若干



Data were shown by mean $\pm$ standard deviation.

I : $n=10$, II : $n=20$, III : $n=10$

Fig. 2 Seminal Plasma Androgen Levels and Sperm Density



Data were shown by mean $\pm$ standard deviation.

Fig. 3 Seminal Plasma Androgen Levels and Sperm Motility

高値を示したが有意差は認められなかった (t 検定, 以下同様)。また 40 例中 33 例 (95%) が 200 pg/ml 以下であり, 血中レベルの $1/2 \sim 1/5$ と T に比べて血中レベルに近い値を示していた。

A-diol についても group 1 で $16 \sim 211 \text{ pg/ml}$ ($94.2 \pm 63.1 \text{ pg/ml}$, $n=10$), group 2 で $7 \sim 187 \text{ pg/ml}$ ($55.1 \pm 42.9 \text{ pg/ml}$, $n=20$), group 3 では $16 \sim 120 \text{ pg/ml}$ ($54.6 \pm 40.9 \text{ pg/ml}$, $n=10$) と DHT と同様に group 1 がやや

Table 2 Androgen Levels in Seminal Plasma reported in English Literatures

	T (pg/ml)	DHT (pg/ml)	Objects
Purvis et al ^{7,8)} (1976)	100-147 (Mean : 121)	363-563 (Mean : 453)	normal men
Nieshlag et al ⁶⁾ (1978)	576±576* 288± 57	1161±580 1096±576	normospermia azoospermia
Lannou et al ⁹⁾ (1980)	199± 17 198± 17 162± 13	424± 43 127± 16 109± 11	normospermia azoospermia post vasectomy
Present study (1980)	61± 49 49± 35	108± 71 79± 78	normospermia azoospermia

* Mean±SD.

高値を示したが⁸⁾, 有意差は認められなかった。また40例中 38 例 (95%) は 150pg/ml 以下であり血中レベルの $1/2 \sim 1/4$ と同じく血中レベルに近い値を示していた。

2) sperm motility と精漿中 androgen (Fig. 3 参照) azoospermia を除く 30 例において motility 40%未満のもの (group 1, n=10), 40~60% (group 2, n=9), 60%以上 (group 3, n=11) の 3 群に分けて検討した。

T については group 1 で 80.1±43.8pg/ml, group 2 で 71.8±52.1pg/ml, group 3 では 41.5±19.1pg/ml と group 3 の motility 良好な群でやや低値を示したが有意差は認めなかった。

DHT についても group 1 で 56.1±38.9pg/ml, group 2 で 71.8±52.1pg/ml, group 3 では 103.2±71.6 pg/ml と T とは逆に group 3 でやや高値を呈したものの、やはり有意差は認めなかった。

A-diol においては 3 群共に平均値は 60~70pg/ml であって全く差は認められなかった。

考 按

精漿中 androgen 濃度については報告も少なく、しかも報告者によりかなり異なった測定値となつている。著者らも以前に⁹⁾男子不妊症患者の精漿中 T と PRL を測定し, sperm density, motility との関係をみたが、精漿中 T, PRL の平均値は各々 343.2pg/ml, 11.5ng/ml であつた。しかも、各ホルモンと sperm density, motility との間に有意な相関は認めていない。この測定は榮研及び第 1 ラジオアイソトープ製の RIA キットを用いているので T の測定値の違いは sephadex LH-20 による精製のため今回の測定値が低値を示したものと考えられる。他の報告者の測定値をみると、Nieshlag ら⁶⁾は精漿中の T は平均値で 570pg/ml, DHT は 1000pg/ml であつたが sperm density との間には相関は認めなかったとしている。Purvis ら^{7,8)}は normal male で T は 100~147pg/

ml, DHT 363~563pg/ml と報告している。Lannou らは⁹⁾ T 162~198pg/ml, DHT 109~424 pg/ml で normozoospermia group において azoospermia 及び vasectomy 後の患者に比べ DHT が有意に高値であつたと報告している (Table 2 参照)。

著者らの測定値は Lannou らのものに最も近似していたが、normozoospermia と azoospermia とにおける DHT の差については彼らの指摘した様な有意なものは認められなかった。A-diol については比較する報告がなかったが DHT の metabolite であることから精漿と血中レベルの比は DHT と同様であり、T に比べ比較的精漿中濃度は高値であつた。精漿中 androgen は非常に微量であるために assay 系の変動係数そのものが大きい事、分離、精製のプロセス (thin layer chromatography or column chromatography) がある場合には直接法に比べ低値にでること、更には RIA の場合には用いる抗血清の特異性 (cross reactivity) などから測定値が異なってくるものと考えられる。著者らの用いた assay 系では抗 T 血清の DHT との cross reaction は少なく¹⁰⁾, 抗 DHT 血清は T と 50% 程度の cross を有するものの¹⁰⁾, T と DHT は column chromatography で十分に分離されている事から信頼できる RIA と考えられる。それ故に Nieshlag や Purvis らの様に精漿中 DHT レベルが血中レベルに近い値を示すのは分離法や抗血清の特異性に問題があるものと推察される。

一方、これら精漿中 androgen の origin について Nieshlag らは⁶⁾ ① 血中からの simple transfer, ② intratesticular 或いは epididymal fluid 由来, ③ prostate などの副性器からの分泌の 3 つの可能性を挙げている。血中からの simple transfer については blood testis barrier の存在や、T/DHT 比が血中とは異なる事から考え難いと思われる。②については Lannou らが⁹⁾ vasectomy 後の患者で特に DHT が有意に低値で

ある事から推察しており, epididymis が T→DHT conversion を行ない得ることや¹¹⁾, epididymis 頭部や efferent duct 内には androgen binding protein が豊富に存在すること¹²⁾などからも, epididymo-testicular origin の可能性が強いと考えられる。③については, 確かに prostate は androgen target organ であり組織中 DHT level も高いが^{4,13)}, semen 中への androgen 分泌については不明であり, もし prostate からの分泌液に DHT が高濃度に存在するとすれば精漿中 DHT はより高値になるはずであり, また vasectomy 後の DHT 低下の説明がつかない事となる。以上のことから②の可能性が最も強いものと考えられる。

次に, これら精漿中 androgen の生理的意義についてであるが, 非常に微量であり, しかも今回の検討でも sperm density, motility とは相関が認められなかった事, 更には free androgen に比べ非活性型の conjugated androgen (glucuronide or sulfate) がはるかに多量に存在する事などから⁸⁾, それほどの意義はないものと推察される。

精漿中 androgen については精細管内及び epididymis において androgen が spermatogenesis, sperm maturation に関与したあとの残余物或いは代謝物と考えられ, spermatogenesis, sperm maturation などの評価には役立たないものと考えられた。今後は睾丸組織内, 特に精細管内での androgen 濃度の検討が必要であると考えられた。

結 語

40例の男子不妊症患者を対象に精漿中 androgen (T, DHT, A-diol) の測定を行ない以下の如き結果を得た。

1) 精漿中 T と A-diol レベルは95%の症例で150pg/ml 以下, DHT も95%の症例で200pg/ml 以下と微量であり, Tについては血中レベルの $1/20 \sim 1/100$, DHT, A-diol は血中レベルの $1/2 \sim 1/5$ と血中, 精漿中濃度比が異なっていた。

2) 精漿中 T, DHT, A-diol と sperm density 及び sperm motility との間には有意な相関は認められず, これら androgen の生理的意義は少ないものと考えられた。

稿を終えるにあたり, 測定に御協力頂いた当教室, 河原厚己技官に深謝します。また, 本論文の要旨は第27回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Smith, M. L., Lugman, W. A. and Rakoff, J. S.: Correlations between seminal radioim-

munoreactive prolactin, sperm count, and sperm motility in prevasectomy and infertility clinic patients. *Fertil. & Steril.*, 32: 312, 1979.

- 2) Biswas, S., Furguson, K. M., Stedronska, J., Baffoe, G., Mansfield, N. D. and Kosbab, M. H.: Fructose and hormone levels in semen. Their correlations with sperm counts and motility. *Fertil. & Steril.*, 30: 200, 1978.
- 3) 片山 喬: 精漿と妊孕性, 特に精漿中ホルモンについて, 臨泌, 35: 455, 1981.
- 4) 森岡政明, 武田克治, 光畑直喜, 大橋輝久, 大森弘之, 斎藤興興, 神戸川明: ヒト前立腺組織内 androgen 濃度について, 日内分泌会誌, 58: 876, 1982.
- 5) 大橋輝久, 森岡政明, 光畑直喜, 武田克治, 東條俊司, 大森弘之: 男性性腺疾患における内分泌学的検討, 第5報, 男子不妊症における精漿 prolactin, testosterone 測定の意義について, 西日泌尿, 44: 6号掲載予定.
- 6) Nieshlag, E., Wickins, E. J. and Mauss, J.: Endocrine testicular function in infertility. In *Recent Progress in Andrology* edited by Fabbrini, A. and Steinberger, E., P 101, London, New York, San Francisco, Academic Press, 1978.
- 7) Purvis, K., Landgren, B. M., Cekan, Z. and Diczfalusy, E.: Indices of gonadal function in the human male. II. Seminal plasma levels of steroids in normal and pathological conditions. *Clinical Endocrinology* 4: 247, 1975.
- 8) Purvis, K., Saksena, S. K., Landgren, B. M., Cekan, Z. and Dizfalusy, E.: Steroids conjugates in human seminal plasma. *Clinical Endocrinology* 5: 253, 1976.
- 9) Lannou, D. Le., Massart, C., Chambon, Y., Nicol, M. and Allannic, H.: Testosterone and 5 α -dihydrotestosterone concentrations in human seminal plasma. *International Journal of Andrology* 3: 502, 1980.
- 10) 国分知子, 神戸川明: 新規抗原による testosterone, DHT および DHA の radioimmunoassay について, 臨床病理, 23: 補冊, 300, 1975.
- 11) Sulcova, J. and Starka, L.: The metabolism of androgens in normal human testis and epididymis in vitro. *Endocr. Exp.* 7: 113, 1973.
- 12) 大田修平: Androgen binding protein の研究 第1報, 家兎および人睾丸, 副睾丸の androgen binding protein, 日内分泌会誌, 57: 1531, 1981.
- 13) Albert, J., Geller, J., Geller, S. and Lopez, P.: Prostate concentrations of endogenous androgens by radioimmunoassay. *J. Steroid Biochem.* 7: 301, 1976.

Androgen levels in human seminal plasme

**Masaaki Morioka, Katsuji Takeda, Shunji
Tojho, Naoki Mitsuhashi, Teruhisa
Ohashi and Hiroyuki Ohmori**

Department of Urology, Okayama
University Medical School

(Director: Prof. Hiroyuki Ohmori)

Seminal plasma levels of testosterone (T), 5 α -dihydrotestosterone (DHT) and 5 α -androstane 3 α , 17 β diol (A-diol) were measured by radioimmuno-

assay in 40 male infertile patients in our clinic. The relationships of seminal plasma androgens to sperm density and motility were examined.

Seminal plasma levels of T and A-diol were below 150 pg/ml and those of DHT were also below 200 pg/ml in 38 of 40 cases (95 %). DHT and A-diol levels in seminal plasma were half to one fifth of serum levels, however T levels were 1/20 to 1/100. It was considered that seminal plasma DHT and A-diol might be mainly intratesticular and epididymal fluid origin. No significant relations were observed in seminal androgen levels, sperm density and motility.

(受付: 昭和58年1月7日, 特掲)

停留辜丸の酵素抗体直接法による免疫学的検討

Immunodeposits at Seminiferous Tubular Wall of Adult Cryptorchidism

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室 (主任：大島博幸教授)

公平 昭男 山崎 彰

Teruo KOHDAIRA Akira YAMAZAKI

五島 明彦 西村 隆一

Akihiko GOTOH Ryuichi NISHIMURA

Department of Urology, School of Medicine

Yokohama City University, Yokohama, Japan

(Director; Prof. Hiroyuki Oshima)

片側性停留辜丸症例における反対側陰嚢内辜丸の造精機能障害について、免疫学的因子の関与を検討するため、成人及び小児片側性停留辜丸症例及び非停留辜丸症例の対照群における辜丸組織に酵素抗体直接法を施行した。結果は、成人停留辜丸症例の停留側及び反対側辜丸精細管壁に IgG の immunodeposit を認めた。

これにより本症の精細管壁に何らかの immunoreaction が存在することが考えられる。

(Jap. J. Fert., 28(3). 328-331, 1983)

はじめに

一側辜丸の変性が自己免疫反応によつて反対側辜丸に影響を及ぼし、その精細管機能を障害するという関係は、各種の動物実験^{2,3)}あるいは、ヒトの研究の結果¹⁶⁾からその存在が認められているといつてよい。

さて、ヒト片側性停留辜丸症例においてもこのような関係が存在するか否かについては、近年2～3の報告が散見されている。先に共同研究者である山崎は、本誌27巻1号に「停留辜丸における免疫学的研究」¹⁾を報告しているが、今回、同一症例を用い酵素抗体直接法による検索を行つたのでその結果を発表し、あわせて若干の考按を加える。

対 象

山崎論文¹⁾で用いた症例を更に検討したもので当科及び関連病院で手術された片側性停留辜丸症例である。その概要は、表1に示すごとくで、成人停留辜丸症例4例、小児停留辜丸症例3例、対照例3例、計10例、15辜丸について検索した。

方 法

酵素抗体直接法：手術時、採取した辜丸組織は dry

ice 及び n-hexane を用いて急速に凍結し cryostat にて $4\mu\text{m}$ の切片を作成した。乾燥後、95%冷エタノール中で10分間固定。次にリン酸緩衝液 (pH 7.2) (以下 PBS と略す) にて15分間2回洗浄。ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG 血清 (ヤギ) (MBL 製、抗体蛋白濃度 5 mg/dl) の40倍希釈液を作成し、組織上に被覆し室温にて10分間水平振盪したのち、 37°C 、30分間反応させた。その後、PBS による洗浄を3回繰返し、過剰の抗血清を除去した後、カルノフスキー液 (pH 7.6, 0.1M tris 緩衝液49ml, 3,3'-diaminobenzidine 塩酸塩 (DAB) 25mg, 1% H_2O_2 液 1ml) で切片を被覆し室温にて15分間反応させたのち、PBS にて洗浄しバルサムにて封入した。検鏡後、顕微鏡写真撮影を施行した。

対照として隣接切片を用いて上記のペルオキシダーゼ標識血清の代りに非標識抗 IgG 血清を用いて blocking test を施行した。

判定：光顕下で、精細管壁にそつて DAB の発色した褐色の顆粒状の deposit が認められ、かつ blocking test では認められない場合を、immunodeposit 陽性と認めた (図1, 2)。

なお同一組織において最底3回施行し、同一の結果の得られることを確認した。

表 1 被 検 対 象

1) 成人片側性停留辜丸	4例
停留側辜丸	4
反対側辜丸	4
2) 小児片側性停留辜丸	3例
停留側辜丸	3
反対側辜丸	1
3) 比較対照群	3例
陰嚢水腫症例辜丸	1
辜丸腫瘍症例反対側辜丸	1
前立腺癌末治療症例辜丸	1
計 10例, 15辜丸	

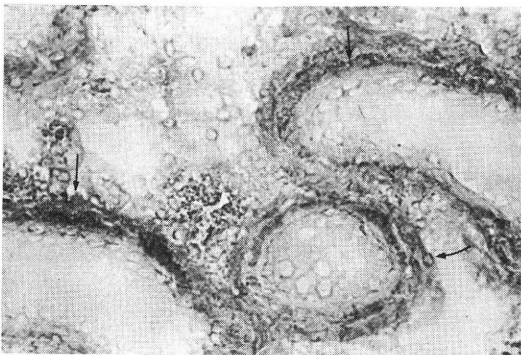


図 1 症例 3 35歳
停留側辜丸, 直接法酵素抗体法により精細管壁
に Immunodeposit が認められる (×200)

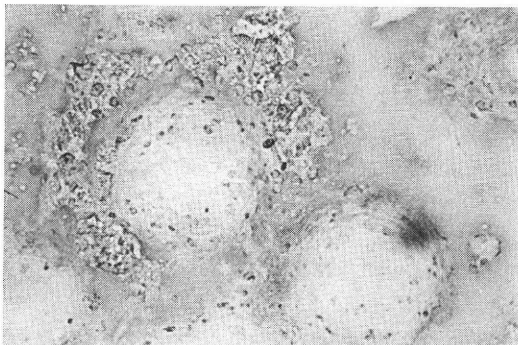


図 2 症例 3 35歳
停留側辜丸 Blocking Test にて Immunodep-
osit は消失する (×200)

成 績

成人片側性停留辜丸症例では, 停留側辜丸 4例中 4例, 反対側辜丸では, 4例中 3例において精細管壁に IgG の immunodeposit を認めた (表 2)。

この停留側辜丸の病理組織学的所見は, 山崎論文で述べた如く全例著明な tubular wall の肥厚を伴う asp-

ermatogenesis の状態であり, また反対側陰嚢内辜丸は 4例共 hypospermatogenesis の状態であるが 3例の immunodeposit 陽性例と 1例の陰性例の間に組織学的に差異は見出しえなかつた。

一方, 小児例では 3例共両側辜丸精細管壁への immunodeposit は, 存在しなかつた。比較対照群では 3例

表 2 精細管壁における immunodeposit

症例	年齢	精細管整	
		停留側	反対側
A. 成人症例			
1.	18	(+)	(+)
2.	27	(+)	(±)
3.	35	(+)	(+)
4.	45	(+)	(+)
B. 小児例			
5.	3	(-)	(-)
6.	3	(-)	/
7.	10	(-)	/
C. 対照例			
8.	50	(-)	
9.	35	(-)	
10.	75	(-)	

とも immunodeposit は認められなかつた。

以上の陽性, 陰性例を図 1, 2 に示す。

考 按

何らかの原因により一側辜丸に与えられた damage により生じた変性につづいて反対側辜丸に障害が生ずる場合がある事は, すでに Boughton ら²⁾や Fainboim ら³⁾の動物実験をはじめ, ヒトにおいても Mancini ら¹⁶⁾が辜丸組織による免疫, あるいは一側辜丸組織の破壊により残存辜丸あるいは反対側辜丸の萎縮変性を生じせしめ得ることを報告している。これらは自己免疫反応による一種の allergic orchitis であると考えられている。一方, Denduchis¹⁸⁾は, Rat の辜丸の精細管基底膜から作成した抗原を用いて immunoorchitis を惹起させたところ, まずその基底膜の細胞浸潤, 肥厚および infolding がおこり続いて精細胞の消失, 精細管の萎縮が生じたと報告している。さらにこの Rat の血清は他の Rat にも同様な変化をおこさしめる事が判明したと報告している。

片側性停留辜丸において停留側辜丸組織の障害により, 対側辜丸にもこのようなメカニズムによる障害が起り得るということは著者らが以前から示唆しているところである (公平, 他⁵⁾ 1974, 公平⁶⁾ 1976)。すなわち片

側性停留率丸においては、停留側率丸に対する率丸固定術を行っても、固定側率丸の造精機能導入は成功しない場合が少なく、したがってこのような場合、妊孕性獲得への希望は、反対側（下降側）率丸にかかっているといてよい。しかしながら、この対側率丸が必ずしも正常でない事が知られている。

そこで、本症の究極的な治療目的すなわち妊孕性獲得のためには、この反対側（下降側）率丸の障害の原因解明が必要であるが、その原因の一つとして自己免疫反応が想定される。

すなわち、1970年、Shirai ら⁴⁾は、犬を用いて実験的停留率丸をおこさしめると、反対側率丸の造精機能低下および succinic dehydrogenase 活性の低下が認められ停留状態を解除すると、このような変化は正常に復したと報告している。また、Hecker & Mengel ら^{7,8)}は犬を用いた実験的片側性停留率丸において反対側率丸の精細管の組織学的萎縮が免疫抑制剤の使用により改善したことをのべ、ヒトにおいても反対側率丸の障害の原因として自己免疫反応の関与の可能性を指摘している。さらに、1975年 Weißbach¹⁷⁾も同様に犬を使用して片側性停留率丸を作成し、反対側率丸の組織学的変化から一側の停留化が反対側の障害を引起しうることを報告している。

一方、ヒトにおいては著者ら^{5,6)}および Ludwig ら⁹⁾も、臨床例の検討成績からやはり停留率丸における反対側（下降側）率丸の障害は、何らかの機序、おそらくは自己免疫反応によっておこりうることを指摘している。

以上の点を検索する目的でわれわれは、ヒト率丸組織に対して、酵素抗体直接法を応用した結果、IgG の immunodeposit が成人の停留率丸症例にのみ、下降側にも存在することを証明した。これは、山崎論文¹⁾における直接法蛍光抗体法の結果と一致する。これらは、停留側率丸の組織障害が反対側（下降側）率丸組織に影響を与えていることの直接的証明ではないが、少なくとも停留率丸における下降側率丸の精細管機能障害に免疫学的な現象が関与しており、これが精細管壁の代謝物質輸送に障害を与え、その結果精細管機能の低下を招くことが示唆される。しかし、著者らの一人である山崎¹⁾が同じ症例群を用いた PHA 及び Con A 添加培養による末梢リンパ球幼若化反応、率丸組織抽出物を抗原としたリンパ球混合培養法などの検索では成人停留率丸症例と他の群との間に差は認められなかった。一方、Molnár ら¹¹⁾も5例の停留率丸症例において本論文と同様に direct immunoperoxidase method を施行し、両側率丸において tubular basement membrane に IgG, IgD, IgM の immunodeposit が認められたことを報告し、本症の治

療に免疫抑制剤の投与の可能性をのべている。しかし Golan¹⁰⁾は、停留側率丸の変化が反対側へ影響することを証明するために生後2ヶ月から13歳までの小児停留率丸症例において、その率丸組織の direct immunoperoxidase method 及び血中抗体検索のため indirect immunoperoxidase method を施行したところ、このような小児例ではやはり両者共に証明されなかった。

一方、以上のべた停留率丸症例以外に特発性不妊症を対象とした場合にも direct immunofluorescent method により同様の所見が認められる場合があることが知られており、注目に値する。(Rabin et al, 1977)¹²⁾, (Taylor et al, 1978)¹³⁾, (Casseye et al, 1980)¹⁴⁾また、Tung ら¹⁵⁾は、免疫の関与する男子不妊症の自然界のモデルとして黒ミンクについて報告しているが、この場合も direct immunofluorescent method で検索すると、精細管壁には IgG などの immunodeposit が認められ、この率丸の凍結切片の免疫グロブリンは、抗原抗体 complex であつて同じ動物の血清 IgG と比較し、約10倍高い抗精子抗体活性を存していたとのべている。

以上の成績よりすると停留率丸のみならず非停留率丸症例をふくめ不妊症の一部にも精細管壁ないし、その基底膜に何らかの immunoreaction が存在するのは確かなようであり、少なくとも非精細胞成分によつても率丸における immunoreaction が起こり最終的に造精機能障害をおこしうる可能性が示唆される。

結 語

1) 片側性停留率丸症例における反対側陰囊内率丸の造精機能障害について、免疫学的因子の関与を検討するため成人及び小児片側性停留率丸症例、及び非停留率丸症例の比較対照群における率丸組織に direct immunoperoxidase method を施行した。

2) その結果、成人片側性停留率丸症例の停留側及び反対側率丸精細管壁に IgG の immunodeposit を認めた。

3) この検索成績は、停留側率丸の変化が反対側率丸へ影響を及ぼしているという直接的な証明ではない。しかし、精細管壁に何らかの Immunoreaction が存在する事が判明した。

4) このような変化は、停留率丸症例において認められるだけでなく特発的的男子不妊症の率丸組織においても認められている事は、興味深く、今後は、その病態生理学的意義についての解明が必要である。

本論文の要旨は、第25回日本不妊学会総会（宇部、1980）及び第67回日本泌尿器科学会総会（1979、東京）

において発表した。

終りに、御校閲いただいた大島博幸教授に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 山崎 彰：停留辜丸における免疫学的研究，日本不妊会誌，27(1)，89，1982.
- 2) Boughton, B. and Spector, W. G.: "Autoimmune", testicular lesions induced by injury to the contralateral testis and intradermal injection of adjuvant, J. Path. Bact., 86: 69, 1963.
- 3) Fainboim, L., Barre, C. and Mancini, R. E.: Immunological and testicular response in guinea pigs after unilateral traumatic orchitis., Andrologia, 8: 243, 1976.
- 4) Shirai, M., Matsushita, S., Kagayama, M., Ichijyo, S. and Takeuchi, M.: Histological changes of the scrotal testis in unilateral cryptorchidism, Tohoku J. Exp. Med., 90: 363, 1966.
- 5) 公平昭男，穂坂正彦，西村隆一，高井修道：停留辜丸の androgen 生合成能，泌尿器科紀要，20: 665, 1974.
- 6) 公平昭男：停留辜丸の内分泌学的研究（第2報），日本泌尿器科学会雑誌，67: 795, 1976.
- 7) Hecker, W. C., Hienz, H. A. und Mengel, W.: Frühbehandlung des Maldescensus testis, Dtsch. med. Wschr., 97: 1325, 1972.
- 8) Mengel, W., Moritt, P., Hüttmann, B. und Hecker, W. C.: Untersuchungen zur Pathogenese der Veränderungen am des Zendierten Hoden beim einseitigen Maldescensus testis, Z. Kinder chir., 22: 369, 1977.
- 9) Ludwig, G. and Potempa, J.: Der optimale Zeitpunkt der Behandlung des Kryptorchismus, Dtsch. med. Wschr., 100: 680, 1975.
- 10) Golan, D. T., Shmuel, S. and Bar-Maor, J. A.: Autoimmune Reaction in Cryptorchidism?, Z. Kinder Chir., 32: 79, 1981.
- 11) Molnár, D., Léb, J., Hidvégi, J. and Papp, G.: Follow-up examination of patients with undescended testicle, Acta paediatrica Academiae, Scientiarum Hungaricae, 32: 177, 1981.
- 12) Rabin, B. S., Nankin, H. R. and Troen, P.: Immunologic Studies of Patients with Idiopathic Oligospermia, The testis in Normal and Infertile Men, edited by Troen, P. and Nankin, H. R., 435, Rasen Press, New York, 1977.
- 13) Taylor, T. A., Scott, D. G., Anderson, C. K., Jones, N. and Stewart, P. H. A.: Immunological studies of testicular tissue in oligospermic and azospermic patients., Brit. J. Urol., 50: 419, 1978.
- 14) Casseye, M. J., de Bled, G., Gepts, W. and

shoysman, R.: An immunohistochemical study for testicular biopsies in cases of male infertility, Andrologia, 12: 122, 1980.

- 15) Tung, K. S. K., Ellis, L., Teuscher, C., Meng, A., Blaustein, J. C., Kohno, S. and Howell, R.: The black Mink (A Natural Model of Immunologic Male Infertility), J. Exp. Med., 154: 1016, 1981.
- 16) Mancini, R. E.: Immunopathology of animal and human testes, Human Semen and fertility regulation in men edited by Hafez, E. S. E., 287, The C. V. Mosby Co., Saint Louis, 1976.
- 17) Weißbach, L. und Ibach, B.: Neue Aspekte zur Bedeutung und Behandlung von Hoden descensusforungen, Klin. Pädiat, 187: 289, 1975.
- 18) Denduchis, B., Lustig, L., Puig, R. P., Gonzalez, N. N. and Mancini, R. E.: Immunologic orchitis induced by seminiferous tubule basement membrane antigens, Recent Progress in Andrology edited by Fainboim, A. and Steinberger, E., 135, Academic Press, London, New York, Sanfrancisco, 1978.

Immunodeposits at seminiferous tubular wall of adult cryptorchidism

Teruo Kohdaira, Akira Yamazaki, Akihiko Gotoh and Ryuichi Nishimura

Department of Urology, School of Medicine
Yokohama City University, Yokohama, Japan
(Director; Prof. Hiroyuki Oshima)

IgG immunodeposits at seminiferous tubular wall were observed by direct immunoperoxidase method using fifteen testis specimens of ten patients including unilateral cryptorchids adults and boys and three control adults.

The testicular specimens used in Yamazaki's report were utilized in the present study. Direct immunoperoxidase reaction revealed that deposits of IgG locating at the seminiferous tubular wall were found in all of 4 undescended testes and in 3 of 4 contralateral intrascrotal testes of 4 adult unilateral cryptorchid patients.

In contrast, immune deposits were not detectable in the testis of cryptorchid children and control subjects.

It appears likely that the above immunochemical findings may involve in immune reactions as seminiferous tubular wall leading to disorder of transportation of materials through tubular wall necessary for spermatogenesis.

(受付：昭和58年2月8日)

CLINICAL OBSERVATIONS IN 100 CASES OF KLINEFELTER'S SYNDROME*

Yosuke KOMATZ, Tadao KIRIYAMA, Tadao TOMOYOSHI
and Osamu YOSHIDA

The Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University

Abstract: Clinical findings in 100 cases of Klinefelter's syndrome were reported. The average age of the patients was 30.5. Eighty-five cases were married. In all cases, infertility present. Physical proportions were those of normal males in most cases and eunuchoidism was found only in exceptional cases. Gynecomastia was found in 20%. Growth of penis was normal, while the size of the testes was always small, making small testes the invariable manifestation of the syndrome. Histological findings of testicular biopsy had considerable variations. Sertoli cells were found in the seminiferous tubules in half of the cases and spermatogenesis in 7% of the cases. With regard to pituitary-testes functions, the plasma testosterone level was within the normal range for males in 60% and low in 40%, while plasma LH and FSH were high in 95%. The authors believe that 250 mg of testosterone enanthate administered every two or three weeks is appropriate treatment for cases of Klinefelter's syndrome with poor virilization.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 28(3), 332-339, 1983)

Introduction

With the exception of idiopathic impaired spermatogenesis, Klinefelter's syndrome (KS) is the most common disorder of male hypogonadism. Recent population studies of new born show that 0.09-0.10% of all new born males are XXY, and it is believed that one of 1000 men in the general population is the incidence of KS¹⁻³. It is also known that the incidence of KS increases in specific population groups, such as the criminal and mentally retarded populations, men measuring more than 180cm in height and infertile males^{2,4}.

Of these, the male infertility group is known to have the highest incidence of KS, with reports its being as high at 3.7-7.1%⁵⁻⁷.

The clinical observations of KS cases reported here are based on patients that the authors experienced primarily for male in-

fertility, and so far the data provided here are based on the greatest number of samples in Japan.

Materials

One hundred patients having the clinical symptoms of KS visited the Department of Urology, Kyoto University Hospital, between April 1971 and October 1979—a period of eight years and seven months. Karyotypes by peripheral blood leukocyte culture revealed the following: 47, XXY, 98 cases; 46, XY/47, XXY, one case; 46, XX/47, XXY, one case. XXY cells were the stem cell line in both of XY/XXY and XX/XXY. The ages of the patients at the time of the first visit ranged from 19 to 43, average 30.5±4.3 (S.D.) (Table 1).

Results and Discussion

1. Chief complaints

Infertility was the chief complaint at time of the first visit in 87 cases, hypogonitalism

* Read at 21th annual meeting of Japan Infertility Association, Kobe, October, 28-29, 1976.

Table 1 Age Distribution

Years	No. of patients
19	2
20—24	6
25—29	29
30—34	46
35—39	15
40—43	2

in seven, impotence in two and phimosis in one. The remaining three cases visited the hospital for complaint with the urinary tract infection.

2. Age of mothers at the birth of the patients.

It is well known fact that the incidence of Down's syndrome increases with maternal age. A similar phenomenon is found in XXY and XXX in abnormalities of sex chromosomes^{8,9)}.

The ages of the mothers of 93 cases at the time of giving birth showed bimodality, with peaks at 28 and 32 years. The average maternal age of these cases was 31.7. This is significantly higher than 29.1 average in control group calculated on the basis of the Annual Vital Statistics Data for All Vital Statistics Data for All Male Births in Japan by Maternal Age (1934—1951) ($t=2.82$, $p<0.01$; Table 2). This corresponded with the results reported in the West^{8,10,11)}.

Table 2 Maternal age distribution of patients with Klinefelter's syndrome and these of all male birth

Maternal age	Patients observed no.	All male birth expected no.	Relative incidence obs./exp.
15—19	2(2.2%)	2.0(2.2%)	1.000
20—24	12(12.9%)	21.2(22.8%)	0.556
25—29	26(25.8%)	29.6(31.6%)	0.812
30—34	25(26.9%)	22.0(23.7%)	1.135
35—39	17(18.3%)	13.2(14.2%)	1.284
40—44	12(12.9%)	4.5(4.8%)	2.662
45—49	1(1.1%)	0.5(0.5%)	2.000
Total	93(100.1%)	93.0(100.0%)	1.000
Mean age	31.7	29.1	
Variance	45.5	33.8	

3. Sexual history

Among 71 of the cases studied here, the average age of appearance of pubic hair was 14.2. Ninety percent (73 out of 81) experienced pollution between the ages of 13 and 17. The age at which puberty commences among KS cases is not different from that of normal males if the appearance of pubic hair and pollution are used as the criteria—14.3 on the average in the U.S. according to a report¹²⁾. The fact that 90 % of patients studied here had experienced ejaculation corresponded well with the report of Becker et al. (1966), which gives the figure of 89 %.

Twenty-four out of 90 (26 %) experienced first intercourse by the age of 20. Five out 90 (5.6 %) did not have any coital experience. Eighty-five out of 100 cases were married and their age at marriage was 27.7. After marriage, 95.3 % (81 out 85) were capable of coitus, 4.7 % were impotent. The average frequency of marital intercourse was 2.1 times per week. Twenty-four out of 85 cases (28.2 %) complained of decreased libido and 23.5 % (20 out of 85 cases) complained of decreased libido and could not achieved satisfactory coitus. All cases were infertile—the period of infertility after marriage ranging one to 15 years. Two were divorced because of infertility.

4. Physical examination

Stature: The results of the 1978 National Nutrition Survey conducted by the Ministry of Health and Welfare in Japan were used as standard heights for each age group. Forty out of 81 cases (49.4 %) of the patients met with the criterion for standard height, while 48.1 % were taller than average, being +1.65 S. D., the maximum being +2.7 S.D. Two out 81 cases (2.5 %) were shorter than the standard, with the shortest being -2.0 S.D. (Fig. 1). There are many reports stating that the average height of patients tend to be higher than normal males¹³⁻¹⁶⁾. However, among the studied here, those who had average or more that average heights were about the same in number and together they accounts for the majority, leaving only very few shorter than average men.

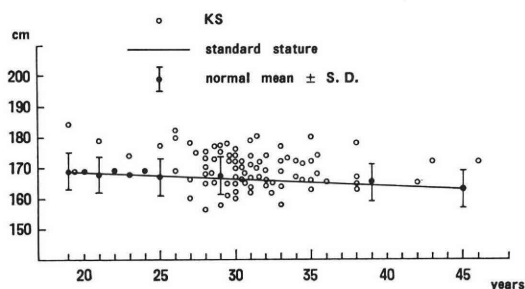


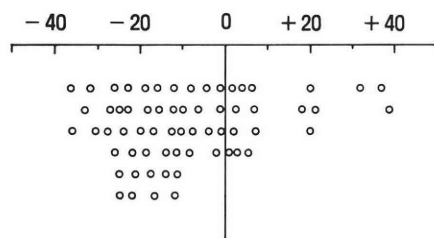
Fig. 1 Stature of the patients with Klinefelter's syndrome.

Weight: When weight is expressed by the index calculated from Broca's formula, obesity with the index of +20 or more was found in 8.5% and maximum weight was +39.5. Low weight with the index of -20 or less was found 27.1%, the minimum being -36.4. The average Broca's index among the remaining 64.3% (45 out of 70 cases) was -12.6, indicating that the patients tended to be rather underweight (Fig. 2, 3).

Becker (1972)¹²⁾ and Hsueh et al. (1978)¹⁷⁾ reported that obesity is frequently found in KS. From this standpoint, the cases studied by authors were different from theirs. Obesity was found in less than one tenth of all the cases and the majority underweight. The typical body proportions of the KS patients studied here were lean and slightly taller than average. Among KS cases, there are very few who have obvious eunuchoidal proportion and, in the majority, deviation from normal is not obvious¹⁸⁾.

Temporal hair recession and balding: The majority of patients had ample scalp hair, and temporal hair recession was noted in only 14.4% (13 out of 90 cases). Spontaneous frontal balding or balding at the back of the head was not found in a single case. Becker (1972)¹²⁾, on the other hand, stated that frontal balding was noted in 20% of the cases he studied.

Facial hair: Facial hair was not found at all in 37.8% (34 out of 90 cases). The remaining cases had facial hair growth over their upper lips and on the chin. In no cases did hair extended to the lower jaw (Fig. 4). Among Occidental cases, 12-18%



$$\text{Broca's formula} = \left(\frac{\text{weight (kg)}}{\text{stature (cm)} - 100} - 1 \right) \times 100$$

Fig. 2 Weight of the patients with Klinefelter's syndrome calculated from Broca's formula.

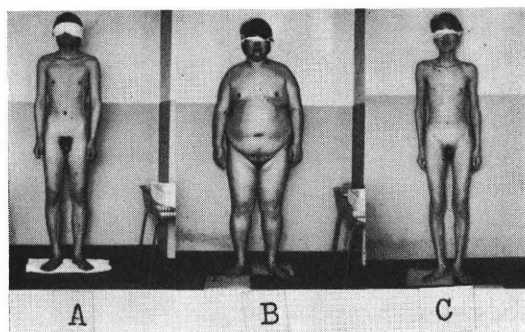


Fig. 3 A. a 19-year-old man (XXY). Height 184.3 cm (+2.7 S.D.)
B. a 26-year-old man (XXY). Weight 112 Kg (Broca index +39.5)
C. a 35-year-old man (XXY). Weight 45 Kg (Broca index -36.4)

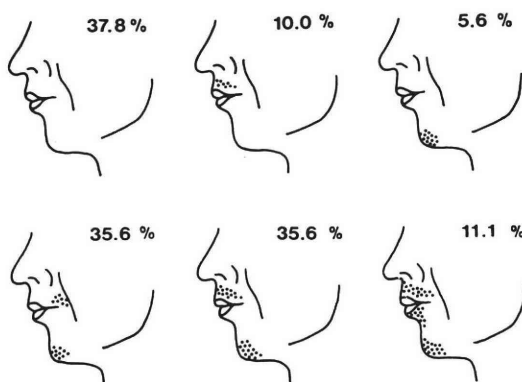


Fig. 4 Facial hair distribution in the patients with Klinefelter's syndrome.

have been reported to have normal facial hair^{14,16)}. It was even stated that a normal beard was not at all unusual¹²⁾. One factor

that has to be taken into consideration regarding body hair is the racial difference. The Japanese tend to have less body hair and to start balding later than the Occidentals.

Gynecomastia: Gynecomastia was found in 19% (19 out of 100 cases), which were bilateral. Thirteen out of these 19 cases (68.4%) were obese, while the remaining 31.4% were normal in body proportion. Two cases underwent reduction mammaplasty at their request. Histologically, there was no formation of true acinar lobules, but proliferation of fibroelastic stroma and ducts. There is a considerable difference in the frequency of gynecomastia depending on the report, with the incidence said to range from 20 to 80%¹⁷⁾. The authors believe that gynecomastia is not so frequently found in KS, if diagnosis performed correctly.

Pubic hair: The pubic hair escutcheon showed female distribution in 67% (63 out of 94 cases), male distribution in 18.1% (17 out of 94 cases) and scarce pubic hair in 7.4% (7 cases). The remaining 7 cases (7.4%) had absolutely no pubic hair (Fig. 5). Regarding the pubic hair distribution, there are some variations in the male-female ratio according to the reports^{14,16)}.

Penis: Penile size was normal in ninety-four out of 100 cases (94%), and under-normal in the remaining 6 cases. However,

they were not the infantile type, as observed in hypogonadotropic male hypogonadism, but had gone through the +3 stage of puberty according to Tanner's classification. Normal growth of the penis second only in importance to the size of testes in diagnosing KS. This differentiates KS from hypogonadotropic hypogonadism, through physical examination. Normal growth of the penis is believed to provide that XXY cases experience a more or less normal puberty.

Testis: Because the screening for KS in this study was performed using the size of testes as criterion, all cases had abnormally small testes. The greatest diameter was around 1.5–2.0 cm, which corresponds to the little finger tip of the patients examined. Their testes were relatively firm and were sensitive to palpation. The testes smaller than those found in hypogonadotropic hypogonadism were not found in these KS cases. It should be noted that greatest care should be taken in differentiating Sertoli only syndrome from KS by the size of testes. The testes in this syndrome are slightly larger than those of KS and also softer.

Biopsy of the testes was performed in 57 cases. Typical atrophy and hyalinization of the seminiferous tubules was found in 75.4% (43 out of 57) histologically. In 47.4% (27 out of 57 cases), seminiferous tubules consisting only of Sertoli cells as well as hyalinized seminiferous tubules were found. In four out of 57 cases (7.0%), some of seminiferous tubules contained spermatogonia, spermatocytes and spermatids. Mosaicism was not proved in the karyotype of the peripheral blood in any of these four cases (Fig. 6). In 45.6% (26 out of 57 cases), Leydig cells were involved in adenomatous formation of cluster in interstitium. In 26.3% (15 out of 57 cases), Leydig cells formed sheets covering the entire surface of the specimen and no seminiferous tubules were found (Fig. 7). In 14% (eight out of 57 cases), Leydig cells were not found in the specimen. Klinefelter et al.¹⁹⁾ reported that, of the nine original cases he studied, spermatogenesis was found histologically in the testes of one. Since then, there have been reports of cases in which the karyotype was XXY and no mosaicism was proven, but

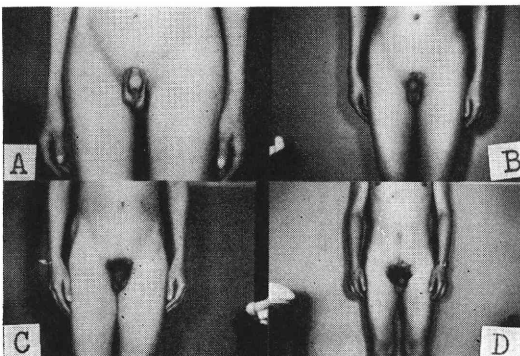


Fig. 5 Pubic hair distribution in the patients with Klinefelter's syndrome.

- A. no pubic hair
- B. scarce pubic hair
- C. female type
- D. male type

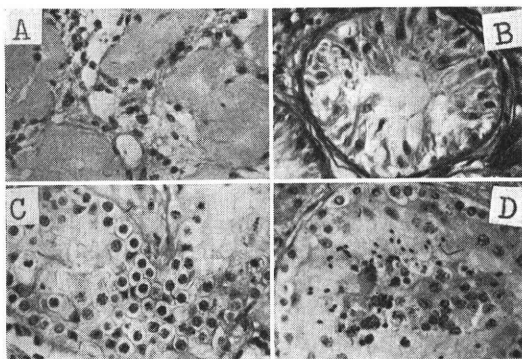


Fig. 6 Various histological findings of the seminiferous tubules of the Klinefelter's syndrome.

A. atrophy and hyalinization of the tubules

B. tubules only consisting of Sertoli cells

C. and D. tubules containing spermatogonia, spermatocyte and spermatid

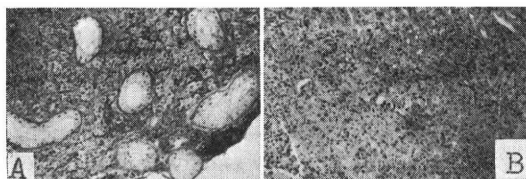


Fig. 7 Finding of Leydig cells.

A. adenomatous cluster formation of Leydig cells

B. Leydig cells formed sheet

spermatogenesis was found^{10,12,20}. In four of the cases studied here (7%), we also found seminiferous tubules in which spermatogenesis was present. Therefore, we can no longer say that spermatogenesis in XXY is a rare finding.

5. Seminal analysis

A semen analysis was conducted on 42 patients after three to four days of abstinence. The amount of ejaculate ranged from 0.1 to 5.0 ml, averaging 2.3 ml. All cases had azoospermia. There was one case of hemospermia. XXY cases in which motile spermatozoa in the ejaculate are present have been reported^{21,22}. These are the cases in which the possibility of mosaicism was eliminated. Therefore, seminal analysis should be conducted carefully in KS.

6. Endocrinological studies

Plasma LH, FSH and testosterone : Plasma LH ranged between 7.9 and 427.3 mIU/ml, averaging 61.7 ± 6.3 (S.E.) mIU/ml. In three out of 76 cases (3.9%), LH was within normal range, which is 3.8–20.5 mIU/ml. Plasma FSH ranged from 8.1–250.0 mIU/ml, averaging 61.4 ± 4.8 (S.E.) mIU/ml. In four out of 72 cases (5.6%), FSH was within the normal range, which is 4.1–18.5 mIU/ml (Fig.8). Total plasma testosterone level (T) ranged 52 to 1021 ng/dl, averaging 357 ± 30.3 (S.E.) ng/dl (Fig. 9). Although 57.8% of the cases (37 out of 64) were within the normal range, which is 275–875 ng/dl, in 42.2% (27 out of 64), the value was low for males. With patients who had T that were below 100 ng/dl, virilization was obviously deficient and decreased libido and coital competence were also found. Even among cases with T of 800 ng/dl or above, plasma LH and FSH were high. T of KS cases overlap with normal male level, making it either normal or low^{17,23}. T varies signi-

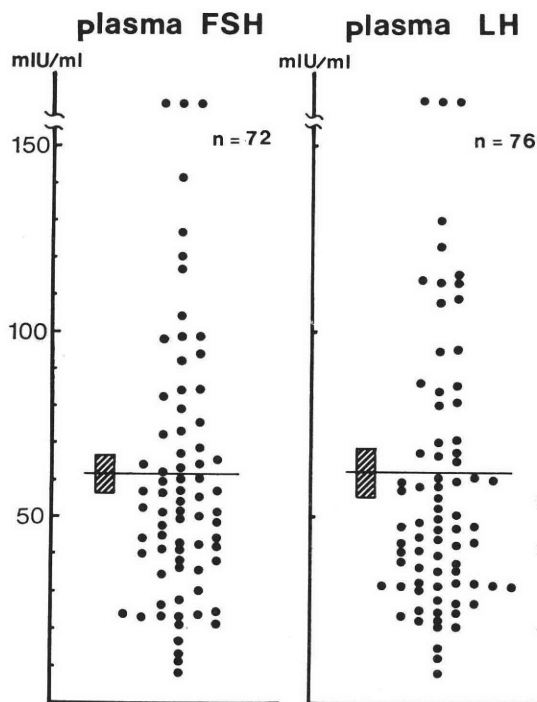


Fig. 8 Plasma FSH and LH values in patients with Klinefelter's syndrome. Horizontal line with rectangular area shows the normal male mean value and standard error.

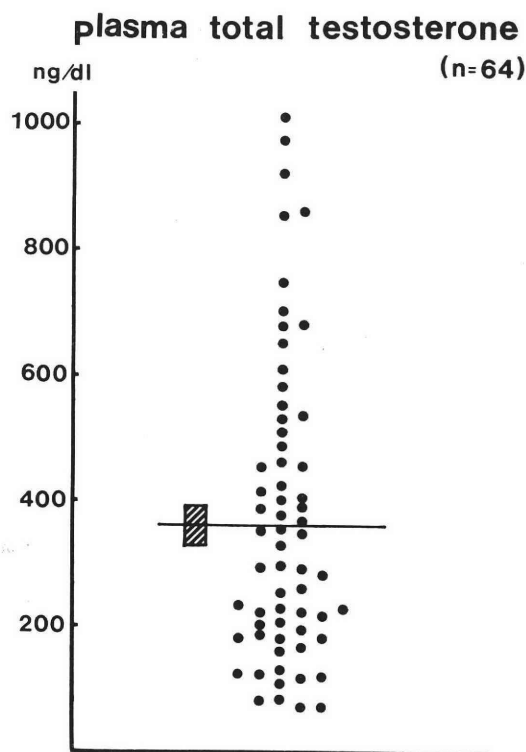


Fig. 9 Plasma testosterone levels in patients with Klinefelter's syndrome. Horizontal line with rectangular area represents normal male mean value and standard error.

fically, which indicates that the degree of Leydig cell insufficiency in KS differs depending on the case. Even when T is within the normal range, it does not necessarily correlate with the virility of the patients. When T is considerably lower than normal, on the other hand, the virility of the patient is obviously poor.

One interesting finding in connection with T is that, even when T is normal, plasma LH and FSH may be high. As reason for lack of correlation between T and plasma LH and FSH, the threshold for suppressing T being set at a higher point in KS case than among normal males has been considered¹⁷⁾. The authors, on the other hand, believe the following to be possible in this regard. In KS, congenital Leydig cell insufficiency is present, and a normal amount of testosterone is synthesized, resulting in the pituitary gland's continually secreting a large

amount of gonadotropins for a prolonged period postpubertally. Instances of pituitary tumor developing in humans with target gland deficiency have been documented^{24,25)}. Data compiled by the authors indicate that sella turcica was radiographically confirmed to have been enlarged by more than 150% or so in KS than is the case among normal males and females, and they assumed that the pituitary gland indirectly hypertrophied. Such findings were believed to suggest that adenomatous hyperplasia of gonadotropin producing cells has become, to a certain extent, autonomous, no longer suppressible by normal T²⁶⁾. As a result, a high plasma gonadotropin value can be an invariable sign of KS.

7. Other clinical manifestation

Two cases with pectus excavatum, one with varicose veins of the leg and one with varicocele of the left spermatic cord were found. Taurodontism, which is an anomaly of the shape of the teeth, was found in 19.4% (six out of 31) of the cases²⁷⁾. There was no instance of a patient's developing malignant disease during the follow up period. However, an increased incidence of malignancies in patients with KS has been reported in the West; especially breast cancer, germ cell tumor, lymphoma and acute leukemia²⁸⁻³¹⁾. Muts-Homsma et al.³¹⁾ stated that KS probably predisposes to the development of malignancy. They suggested that the possible explanation for the causative factors would be the increased susceptibility to virus infection, the abnormal immune competence and endocrine alterations.

8. Therapy

Testosterone replacement was performed in the cases having deficient virilization, lowered libido or poor development of muscle or bones for males. Testosterone enanthate (TE) was administered to 32 patients for a maximum of eight years. The initial dosage of TE was 250 mg every two weeks and, after six months of therapy, the dosage was decreased in accordance with virilization and degree of masculine development. Two hundred and fifty mg of the same hormone was then given every three to four weeks as maintenance therapy. The therapeutic effect was first seen in the improved

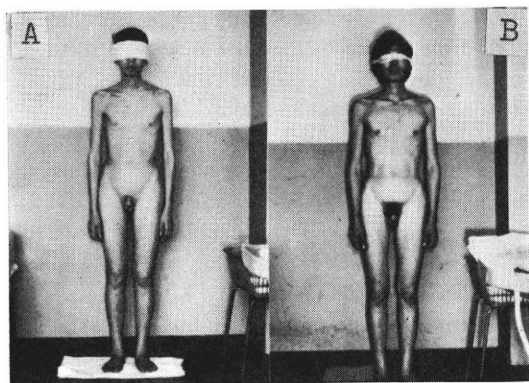


Fig. 10 28-year-old man (XXY).

A. prior to therapy

B. after three years of therapy
with testosterone enanthate.

sexual function, which was followed by increased facial and bodily hair growth, a lower tone of voice and other signs of virilization. A minimum of one year was required before sufficient muscular development and complete virilization was achieved (Fig. 10). As virilization progressed, the patients became more positive and their social activities broadened. The most frequently cited side effect of this treatment was acne, which occurred at an early stage of the treatment in all cases. Hepatic dysfunction developed in one case, and replacement therapy was discontinued.

Replacement therapy is required for cases in which T is below the level of ordinary males. With regard to dosage, Becker¹²⁾ reported that he used 500–1000 mg of TE every two weeks for several months, followed by the same dosage monthly for maintenance. Based on the results of T, plasma LH and FSH measurements after administration of TE in KS, Snyder and Laurence³²⁾ stated that 200 mg of TE administered every two weeks or 300 mg administered every three weeks is the best dosage to suppress LH and FSH while maintaining T at the normal level. The authors agree with Snyder and Laurence method³²⁾ and tend to believe that Becker's¹²⁾ dosage is excessive.

References

- 1) Higurashi, M., Iijima, K., Karasawa, S., Watanabe, N. and Ohsawa, Y.: Chromo-

- some studies on 7158 new born infants in Japan. *Jap. J. Hum. Genet.* 20: 247, 1976.
- 2) Philips, J., Lundsteen, C., Owen, D. and Hirschhorn, K.: The frequency of chromosome aberrations in tall men with special reference to 47, XYY and 47, XXY. *Amer. J. Hum. Genet.* 28: 404, 1976.
- 3) Evans, H. J.: Chromosome anomalies among live birth. *J. Med. Genet.* 14: 309, 1977.
- 4) Asaka, A.: Frequencies of individuals with excess sex chromosomes among mentally retarded, mentally ill, delinquent and criminal populations. *Acta Crim. Japon*: 42: 77, 1976.
- 5) Kjessler, B.: Monographs in Human Genetics. Vol. 2. Karyotype, Meiosis and Spermatogenesis in a Sample of Men Attending an Infertility Clinics.: p. 22, p. 66, New York, S. Karger, 1966.
- 6) Philips, J., Skakkebaek, N. E., Hammen, R., Johnsen, S. G. and Rebbe, H.: Cytogenetic investigations in male infertility. *Acta Obst. Gynec. Scand.* 49: 235, 1970.
- 7) Koulisher, L. and Schoysman, R.: Chromosomes and human infertility. I. Mitotic and meiotic chromosome studies in 202 consecutive male patients. *Clin. Genet.* 5: 116, 1974.
- 8) Court-Brown, W. M., Law, P. and Smith, S. G.: Sex chromosome aneuploidy and parental age. *Ann. Hum. Genet.* 33: 1, 1969.
- 9) Carothers, A. D., Collyer, S., De Mey, R. and Frackiewicz, A.: Parental age and birth order in aetiology of some sex chromosome aneuploidies. *Ann. Hum. Genet.* 41: 277, 1978.
- 10) Frøland, A., Sanger, R. and Race, R. R.: X^s blood groups of 78 patients with Klinefelter's syndrome and some of their parents. *J. Med. Genet.* 5: 161, 1968.
- 11) Soltan, H. C.: Genetic characteristics of families of XO and XXY patients, including evidence of source of X chromosomes in 7 aneuploid patients. *J. Med. Genet.* 5: 173, 1968.
- 12) Becker, K. L.: Clinical and therapeutic experiences with Klinefelter's syndrome. *Fertil. Steril.* 23: 568, 1972.
- 13) Becker, K. L., Hoffman, D. L., Albert, A., Underdahl, L. O. and Mason, H. L.: Clinical and laboratory findings 50 patients. *Arch. Int. Med.* 118: 314, 1966.
- 14) Raboch, J.: Clinical study of 100 chromatin-positive men. *Fertil. Steril.* 15: 330, 1964.
- 15) Zupping, K., Engel, E., Forbes, A. P., Mantooth, L. and Claffey, J.: Klinefelter's

- syndrome. A clinical and cytogenetic study in 24 cases. *Acta Endocrinol.* 54 (Suppl. 113): 5, 1967.
- 16) Frøland, A.: Klinefelter's syndrome. Clinical and cytogenetical studies. *Dan. Med. Bull.* 16 (Suppl. 6): 1, 1969.
- 17) Hsueh, W. A., Hsu, T. H. and Federman, D. D.: Endocrine features of Klinefelter's syndrome. *Medicine* 57: 447, 1978.
- 18) Odell, W. D. and Swerdloff, R. S.: Abnormalities of gonadal function in men. *Clin. Endocrinol.* 8: 149, 1978.
- 19) Klinefelter, H. F. JR., Reifenstein, E. C. and Albright, F.: Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without A-Leydigism and increased excretion of follicle stimulating hormone. *J. Clin. Endocrinol.* 2: 615, 1942.
- 20) Steinberger, E., Smith, K. D. and Perloff, W. H.: Spermatogenesis in Klinefelter's syndrome. *J. Clin. Endocrinol.* 25: 1325, 1965.
- 21) Futterweit, W.: Spermatozoa in seminal fluid of a patient with Klinefelter's syndrome. *Fertil. Steril.* 18: 492, 1967.
- 22) Foss, G. L. and Lewis, F. J. W.: A study of four cases with Klinefelter's syndrome, showing motile spermatozoa in their ejaculates. *J. Reprod. Fertil.* 25: 401, 1971.
- 23) Wang, C., Backer, H. W. G., de Krester, D. M. and Hudson, B.: Hormonal studies in Klinefelter's syndrome. *Clin. Endocrinol.* 4: 399, 1975.
- 24) Danziger, J., Wallace, S., Handel, S. and Samaan, N. B.: The sella turcica in primary and organ failure. *Radiology* 131: 111, 1979.
- 25) Samaan, N. A., Stephanas, A. V., Danziger, J. and Trujillo, J.: Reactive pituitary abnormalities in patients with Klinefelter's and Turner's syndromes. *Arch. Int. Med.* 139: 198, 1979.
- 26) Fukutani, K.: Hypothalamo-pituitary-testicular function in Klinefelter's syndrome. *Jap. J. Urol.* 67, 954, 1976.
- 27) Komatz, Y., Tomoyoshi, T., Yoshida, O., Fujimoto, A. and Yoshitake, K.: Taurodontism and Klinefelter's syndrome. *J. Med. Genet.* 15: 452, 1978.
- 28) Harnden, D. G., MacLean, N. and Langlands, A. O.: Carcinoma of the breast and Klinefelter's syndrome. *J. Med. Genet.* 8: 460, 1971.
- 29) MacSween, R. N. M.: Reticulum cell sarcoma and rheumatoid arthritis in a patients with XY/XXY/XXXY Klinefelter's syndrome and normal intelligence. *Lancet* I: 460, 1965.
- 30) Sogg, M. R., McDonald, S. D. and Cofold, P. B.: The malignant potencial of the dysgenetic germ cell in Klinefelter's syndrome. *Amer. J. Med.* 66: 515, 1979.
- 31) Muts-Homsma, S. J. S., Muller, H. P. and Geraedst, J. P. M.: Klinefelter's syndrome and acute non-lymphocytic leukemia. *Blut* 44: 15, 1981.
- 32) Snyder, P. J. and Lawrence, D. A.: Treatment of male hypogonadism with testosterone enanthate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 1335, 1980.

“Klinefelter 症候群 100 例における 臨床的観察”

小松洋輔, 桐山雷夫, 友吉唯夫, 吉田 修

(京都大学医学部泌尿器科学教室)

京大病院泌尿器科男子不妊外来で8年7カ月間にXXY Klinefelter 症候群の患者100例を経験した。これらの症例について、以下の点を臨床的に観察した。

出生時母年齢, 性発育史, 理学的所見, 睪丸組織学的所見, 内分泌学的検査, 精液検査, 合併奇形, 男性ホルモン補償療法成績がそれらである。

これらの観察結果について、文献的考察を加え、本邦人における Klinefelter 症候群の臨床像を明らかにした。(本論文の要旨は第21回日本不妊学会総会において口演発表した)

(受付: 昭和 58 年 2 月 2 日)

閉塞性男性不妊症に対するマイクロサージャリーによる精巣上体—精管吻合の成績

Epididymo-vasostomy with Microsurgical Technique :
A Study on Eight Obstructive Infertile Men.

国立霞ヶ浦病院泌尿器科

相 川 厚 石 川 博 道
Atsushi AIKAWA Hiromichi ISHIKAWA

Dept. of Urology, National Kasumigaura Hospital

慶応義塾大学医学部泌尿器科 (主任：田崎寛教授)

中 島 史 雄 篠 田 正 幸 中 藺 昌 明
Fumio NAKAJIMA Masayuki SHINODA Masaaki NAKAZONO

Dept. Urol. School Med. Keio Univ. Tokyo
(Director Prof. Hiroshi TAZAKI)

マイクロサージャリーの技法を用いて閉塞性男性不妊症8症例(無精子症7例, 乏精子症1例)に対し, 精巣上体—精管吻合術を施行した. 6症例に対し側々吻合を, 端側吻合, 側端吻合は各1例に施行した.

8症例中4例(50%)に精液所見の改善がみられ, 改善例ではすべて $2.0 \times 10^7/\text{ml}$ の精子を算定し得た. 不完全閉塞性乏精子症で術前精液検査で運動率0%であった症例をのぞいて60%以上の運動率を認めた. 2症例に妊娠の成立を認め, それぞれ術後21週目, 23週目であった. 術前睾丸生検は全症例に施行した. 正常睾丸所見を呈したものの2例, 中等度の萎縮性変化を認めたものの5例, 低精子形成と診断されたものの1例であった. 術前睾丸生検所見と術後の精液所見改善例とに相関関係は, 認められなかった. この結果は精巣上体と精管との交通が再建することによって睾丸組織所見の改善も期待し得ることを示していると同時に術前睾丸組織所見によつて手術適応のすべてを規定し得ないことを示している. マイクロサージャリーによる精巣上体—精管吻合は閉塞性男性不妊症の観血的治療として期待し得るものであると考えられた.

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 340-344, 1983)

緒 言

男子不妊症に対する観血的治療法は, 1) 閉塞性無精子症および乏精子症を対象とするものと, 2) 造精機能障害及び精子運動機能不全を対象とするものの二者に大別されている. 前者は精管及び副睾丸の通過障害によるもので, 精管結紮術後, 先天的精管部分欠損に対しては精管—精管吻合術が行われ, 慢性精巣上体炎等に帰因する精巣上体通過障害に対しては, 精巣上体—精管吻合術が行なわれている. 後者の代表的な手術療法としては, 精索静脈瘤に対する精索静脈高位結紮術があげられ, そ

の成績は注目すべきものがある. 慢性副睾丸炎による精巣上体管の通過障害に対し, 睾丸—精管吻合術が行なわれた時期もあったが, 精巣上体の生理作用が解明されるにつれ, 可能な限り精巣上体の末梢側と精管を吻合することにより, より生理的な環境で精子の成熟を, 期待しえると同時に術後の, 成績の向上につながることが判明してきた.

我々は慢性精巣上体炎による閉塞性無精子症及び乏精子症に microsurgical technique を導入し精巣上体—精管吻合術を施行し, 若干の知見を得たので, 手術方法及びその成績を報告する.

対 象

昭和54年2月より昭和57年1月まで不妊を主訴として慶応義塾大学病院泌尿器科を受診した慢性精巣上体炎症例8例を対象とした。平均年齢は32.6歳、平均結婚期間は5年1ヶ月であった。

方 法

陰嚢に約2cmの縦切開を加え白膜を露出し白膜に縦切開を加え反転し、同時に睾丸、副睾丸を陰嚢外に露出する。精索内の血管系を損傷しないように配慮しながら、精管を約2cm剝離し、吻合部に緊張が加わらないよう配慮する。microsurgeryはカールツアイス社製の機種を用い2～10倍の倍率下に精巣上体—精管吻合術を施行した(図1)。精巣上体は閉塞部位より中枢側で最も尾部に近い位置で約1cmの縦切開を加え、精巣上

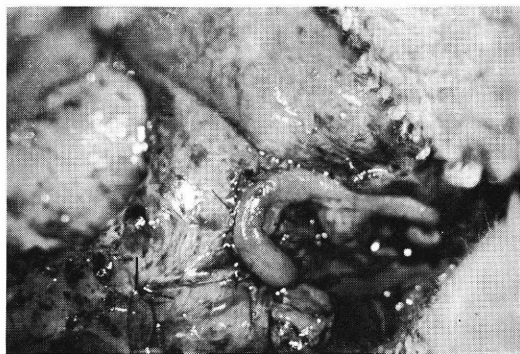


図1 精巣上体と精管を microsurgical technique を用いて吻合した、側—側吻合例の手術終了時を示した

体管内の精液を採取し、精子の存在及び運動能を確認し、吻合部位を決定する。吻合は精管に1cmの縦切開を加え、精巣上体と精管を側々吻合するか、側端吻合としたが精巣上体の断面が充分展開し得た症例では端側吻合を行なった。吻合法は全層—全層の一層縫合が3例、

全層—全層、精巣上体管外膜(epididymal tunic)と精管の筋層(outermuscularis of vas deference)の2層縫合が5例であった。縫合体は8-0から11-0の針付きナイロン糸を使用し、splintは4-0又は5-0ナイロン糸を使用した。

術前精液検査は4日間以上禁欲させ、用手法により採取し、10-20分間放置した後、検査し、少なくとも3回以上施行した。術後の精液検査は4週～8週後に第1回目を行ない以後4週間毎に検査を行なうことを原則とした。術式は表1に一括して示した。

又、すべての症例に対し術前に吻合側の睾丸生検及び精管造影を施行し、閉塞部位を確認した。

成 績

精巣上体—精管吻合術後8例中4例(50%)に精液所見の改善が得られ、4例とも $2.0 \times 10^7/\text{ml}$ 以上の精子濃度が得られた。運動率は症例5以外の3例において60%以上にまで改善した。又、8例中2例(25%)に妊娠が得られた。

考 按

男子不妊症患者における一精管吻合術は、1902年Martinが報告して以来、Hagner, Hotchkiss, O'conorにより報告され^{1,2,3,4)} Michelson⁵⁾は吻合部に wire-splint を使用することを提唱した。Bayle⁷⁾は52例の手術成績をまとめ58%の patency rate 及び40%の pregnancy rate を報告している。しかし、gross technique における成績は、多くの報告が、patency rate 40%前後で、pregnancy rate は、10%前後にとどまっている。我々は今回、microsurgical technique を用い、精巣上体—精管吻合術を施行し、patency rate 50%, pregnancy rate 25%と良好な成績を上げることができた。精巣上体管と精管との吻合は端々吻合が最も理想的な吻合法であるが、実際には、精巣上体管と精管の太さの相違のある事、及び精巣上体に割面を加えると、多数の精巣上体

Table 1 Cases and operative procedures.

Case	Age	Operative procedure	Side	Stent
1 Y.K.	31	end to side, 2 layers	L	+ : 4-0 nylon
2 S.K.	26	side to side, 2 layers	L	—
3 B.K.	28	side to end, 2 layers	L	—
4 F.Y.	39	side to side, 2 layers	L	+ : 5-0 nylon
5 Z.H.	39	side to end, 1 layer	R	—
6 O.Y.	35	side to side, 2 layer	R & L	—
7 O.N.	30	side to side, 1 layer	R	—
8 N.S.	30	side to side, 2 layer	L	+ : 4-0 nylon

Table 2 Pathological findings of testicular biopsy and pre- & postoperative semen analyses.

Case	Age	Pathological finding of testicular biopsy	Preoperative semen analysis	Postoperative semen analysis count & motility
1 Y.K.	31	moderate atrophic change of germinal cell & Leydig cell hyperplasia	azoospermia	azoospermia
2 S.K.	26	moderate atrophic change with sloughing & disorganization of germinal cell	azoospermia	azoospermia
3 B.K.	28	moderate atrophic change of germinal cell	azoospermia	azoospermia
4 F.Y.	39	normal spermatogenesis	azoospermia	$6.52 \times 10^7/\text{ml}$, 60%
5 Z.Y.	39	normal spermatogenesis	1.0×10^3 0%	$2.42 \times 10^7/\text{ml}$, 0%
6* O.Y.	35	moderate atrophic change of germinal cell	azoospermia	$3.50 \times 10^7/\text{ml}$, 80%
7 O.N.	30	hypospermatogenesis & Sertoli cell hyperplasia	azoospermia	azoospermia
8* N.S.	30	moderate atrophic change of germinal cell	azoospermia	$2.00 \times 10^7/\text{ml}$, 80%

* Conception case.

管腔が露出されるか、そのいずれが、中枢と連続しているかの判定が困難な事から、今回の8症例においては、精管と精巣上体と側々吻合したものの6例、端側吻合、側端吻合を各1例に施行し得たとどまつた。又吻合部位に関しては、Bedford と Schoysman⁹⁾は、rate testis より、7 mm と 8 mm 末梢での吻合では、精子の妊孕力に有意の差が有る事を認めていることによつても明らかのように、精巣上体が精子の成熟過程に重大な影響を与えている事は明白であるが、その作用機序の解明は充分なものとはなっていない。我々もこの点を、考慮し得る限り精巣上体管の末梢で精管に吻合するよう努力した。

精液所見が改善した症例について検討すると、症例4では術後10週目、症例8では術後8週目までは azoospermia であり、それぞれ15週目、12週目に精子が確認され、また症例5では術後13週目に術前より精子数が増加している。精子数に関しては、再開通した4例とも術後13~20週目に約 $2.0 \times 10^7/\text{ml}$ となり妊娠可能な状態となつている。運動率に関しては症例5以外精子が出現した後、精子数とともに漸次増加し、60%以上となつている(図2, 3, 4, 5)。

術前の睾丸生検では8例中2例は normal spermatogenesis であり、症例4では、配偶者に問題があり、又症例5では運動率が0%のため、未だ妊娠を見ていない。妊娠に成功した2例は睾丸生検による。組織学的診断はいつれも、germinal cell の中等度の萎縮性変化を示しており、症例6では、基底膜肥厚、又症例8では sloughing & disorganization, Leydig cell hyperplasia

の所見も認められた。この組織学的検討により、必ずしも睾丸生検で normal spermatogenesis が認められない症例においても精巣上体-精管吻合術の適応はあることを示していると同時に閉塞が手術により解除されることにより spermatogenesis が促進され得ること、又症例によつては睾丸生検時に spermatogenesis がみられなくとも、再度 spermatogenesis を期待し得ることを示して

case 4 F.Y. 39 Y.O.

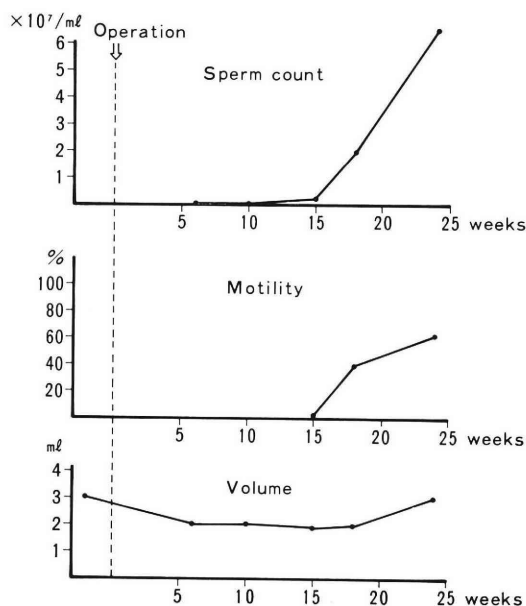


図 2

case 5 Z. Y. 39 Y. O.

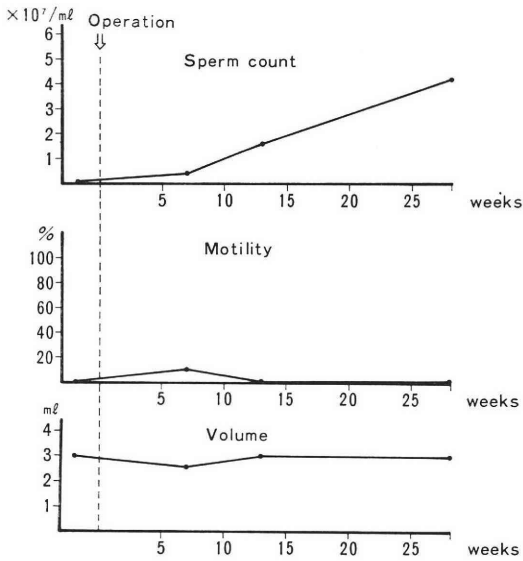


図 3

case 6 O. Y. 35 Y. O.

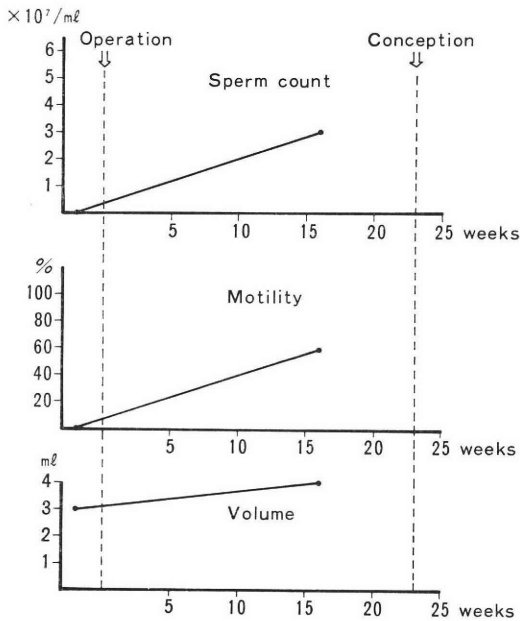


図 4

いる。

今回の結果から、術後、精子が出現するのに要する期間は12週～16週目であり、この時期の精液検査により予後を予測しえると思われたが Smith の報告では術後11ヶ月後にはじめて精子が出現するものもあり、術後少な

case 8 N. S. 30

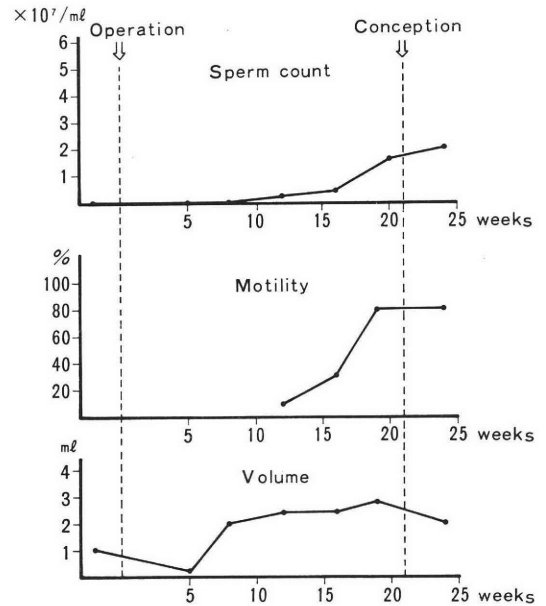


図 5

くとも1年の経過観察が必要であると報告している⁷⁾。症例6及び症例8は術後23週目及び21週目に妊娠に成功している。

最近、精管結紮後の精管—精管吻合術が、microsurgeryにより盛んに行なわれているが、精巣上体管—精管吻合術の成績はまだまだ多くの報告をみていない。

Siber は mirosurgical technique を用いて精巣上体管と精管を端々吻合し patency rate 86%と良好な成績を治めている⁸⁾。

閉塞性無精子症および乏精子症に対する、microsurgical technique による精巣上体管—精管吻合の成績を向上させる一助になりえと考えられた。

文 献

- 1) Martin, E.: Univ. Pennsylvania M. J. 15: 2, 1902.
- 2) Hagner, F. R.: J. A. M. A. 107: 1853, 1936.
- 3) Hotchkiss, R. S.: Fertility in Men, Lippincott. Philadelphia, 1944.
- 4) O'Corner, V. J., Sr.: J. Urol. 85: 352, 1961.
- 5) Michelson, L.: Surg. Gynec. & Obst. 82: 327, 1946.
- 6) Bayle, H.: Urol & Cutaneous Rev. 54: 129, 1950.
- 7) Smith, S. W.: Fertility & Sterility. 14: 515, 1963.

- 8) Silber, S. J.: Fertility & Sterility. 30:565, 1978.
- 9) Harrison, H., Gittes, R. F., Perimutter, A. D., Stamy, T. A., & Walsh, P. C. Urology ed. 4, vol. 1, pp: 724, 1979, W. B. Saunders Co., Philadelphia, U. S. A.

Epididymo-vasostomy with microsurgical technique: A study on eight obstructive infertile men.

**Atsushi Aikawa*, Hiromichi Ishikawa*,
Fumio Nakajima, Masayuki Shinoda
and Masaaki Nakazono**

*National Kasumigaura Hospital, Dept. Urol.
School Med. Keio Univ. Tokyo
(Director: Prof. Hiroshi Tazaki)

Epididymo-vasostomy with microsurgical techni-

que was performed in 8 obstructive infertile men during the period from Feb. '79 to Jan. '82. Six cases underwent side to side anastomoses and in the others, end to side or side to end procedure was utilized. Semen analysis improved in 50 % and more than $2.0 \times 10^7/\text{ml}$ sperms were counted in all the improved cases. The motility rates were over 60 % but one. Conceptions were confirmed in 2 cases in 21 and 23 weeks after the operative treatments respectively. Preoperative testicular biopsies disclosed 2 normal, 5 atrophic and 1 hypospermatogenesis and there was no significant relationship between pathological findings and postoperative semen analyses. The result may suggest the affected spermatogenesis can be improved through reconstruction of epididymo-vas channel.

(受付: 昭和57年11月12日)

高 prolactin 血症を呈した睾丸機能不全の4例

4 Cases of Male Hyperprolactinemic Hypogonadism

札幌医科大学泌尿器科教室 (主任: 熊本悦明教授)

大野 一典 熊本 悦明

Kazunori OHNO Yoshiaki KUMAMOTO

梅原 次男 丸田 浩

Tsugio UMEHARA Hiroshi MARUTA

Dept. of Urology, Sapporo Medical College

(Director: Prof. Yoshiaki KUMAMOTO)

札幌医科大学脳神経外科教室 (主任: 佐藤修教授)

佐藤 修

Osamu SATO

Dept. of Neurosurgery, Sapporo Medical College

(Director: Prof. Osamu SATO)

睾丸機能不全を主徴とする prolactin 産生下垂体腫瘍の3例と Sulpiride 服用により誘発された高 prolactin 血症1例の計4例につき高 prolactin 血症と睾丸機能不全との関係を明らかにする目的にて内分泌学的検討を行った。下垂体腫瘍例ではいずれも血中 testosterone 値が低く、LH-RH test にての反応が障害されており、Sulpiride 服用による高 prolactin 血症例では Sulpiride 服用中止により血中 prolactin 値及び血中 testosterone 値の正常化が認められた。今回の検討により高 prolactin 血症では、prolactin の直接的な testosterone 産生障害、下垂体腫瘍による gonadotropin 分泌障害が睾丸機能不全の発生機序と推定された:

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 345-352, 1983)

緒 言

男子における高 prolactin 血症はその臨床症状として、インポテンス・女性化乳房・乳汁漏出、さらには造精障害等が知られており、いわゆる睾丸機能不全の原因の1つと考えられている¹⁻⁴⁾。女子では高 prolactin 血症の場合、月経異常が最も顕著に出現するため発見が早い⁵⁾が、男子においては臨床症状の発見又は患者の病識が遅れ、女子の場合よりは高 prolactin 血症が発見されにくいという報告もある¹⁾。

今回我々は、4例の高 prolactin 血症男子例を経験、間脳下垂体性腺系および睾丸組織につき検討を加えたので報告する。

症 例

(症例1) ■■■ 33歳 未婚

主訴: 性機能低下 (下垂体腫瘍術後例)

初診: 昭和45年10月14日

家族歴: 特記すべきことなし

既往歴: 特記すべきことなし

現病歴: 昭和38年頃より左眼の視野狭窄出現、眼科的に経過を観察していた。昭和42年12月、タクシーと接触事故をおこし、その時の頭部単純 X-P にてトルコ鞍の異常を認め、札幌医大脳神経外科入院。昭和42年12月25日下垂体腫瘍の診断にて手術施行した。組織は、chromophobe adenoma であり、手術後視野障害は改善したが、昭和43年3月頃より再度視力障害出現、脳神経外科にて精査の結果、前回の下垂体腫瘍の再発が明らかとなり昭和43年5月19日再手術施行した。術後昭和45年10月14日、下垂体術後の性機能低下症の治療目的にて泌尿器科受診した。泌尿器科入院の上、精査し退院後より男性ホルモン剤補充療法を開始した。男性ホルモン剤投与に

より勃起及び射精も認められるようになったが無精子症であった。以後、外来的に男性ホルモン剤投与を行っていたが、昭和56年2月2日に血中 prolactin 値が200ng/ml 以上と高値を示したことにより、prolactin 産生下垂体腫瘍の存在を明らかにする目的にて再度脳神経外科に入院した。

身体所見：昭和45年10月14日、泌尿器科初診時は恥毛(－)、腋毛(－)、睾丸容積右4ml、左3.5ml、前立腺は触診上小さかった。昭和56年高 prolactin 血症判明時の身体所見は男性ホルモン剤投与のため、恥毛正常、腋毛正常であったが、睾丸容積は右4.5ml、左6ml と小さく、前立腺も触診上小さかった。尚、女性化乳房は認められなかった。

検査所見：

<昭和56年時>

○一般検血：正常 ○腎機能：正常

○血液生化学：正常 ○尿所見：正常

○血中ホルモン値：昭和45年の時点では血中ホルモン値の測定は行われていない。昭和56年時男性ホルモン剤療法中、血中 LH 基礎値2.3mIU/ml、血中 FSH 基礎値2.0mIU/ml 以下、血中 prolactin 基礎値200ng/ml 以上であった。血中 testosterone 基礎値296ng/dl (男性ホルモン剤療法中)で、男性ホルモン剤投与中止後の LH 基礎値7.3mIU/ml、FSH 基礎値2.4mIU/ml、血中 prolactin 基礎値200ng/ml 以上、血中 testosterone 基礎値11ng/dl であった。本例の LH-RH test、HCG

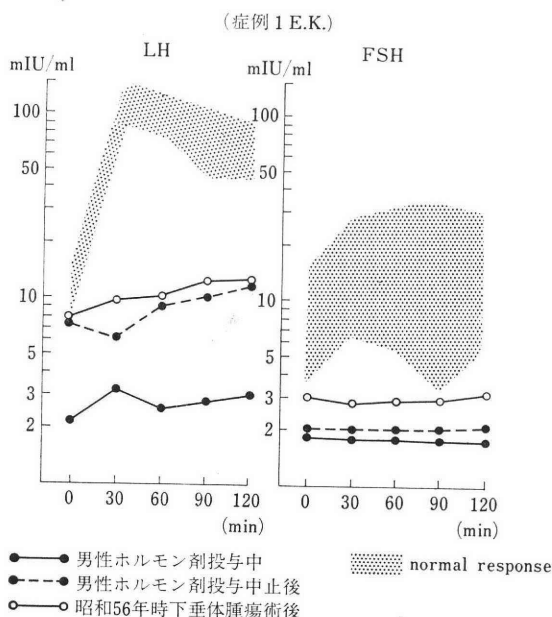


Fig. 1 LH-RH test

test, clomiphene test の結果は、それぞれ Fig. 1, Fig. 4, Fig. 6 に示した。

○睾丸組織所見：昭和45年泌尿器科初診時 (Fig. A) の精細管所見は spermatogonia がわずかに認められるのみである。昭和56年男性ホルモン剤補充療法中 (Fig. A) は初診時と比較し精細管の増大が明かで primary spermatocyte が認められる。

本例は昭和56年9月7日脳神経外科にて下垂体腫瘍摘除を行ったが術後血中 prolactin 基礎値111.7ng/ml と高値であり、Bromocriptine 7.5mg/day 服用にて現在血中 prolactin 3.4ng/ml と正常化している。又、今回の下垂体腫瘍術後の血中 LH 基礎値7.5mIU/ml、FSH 基礎値3.2mIU/ml で、血中 testosterone 基礎値110ng/dl であった。又、下垂体腫瘍術後の LH-RH test は Fig. 1 に示すが、術前と同様に低反応であった。

(症例2) 34歳 既婚

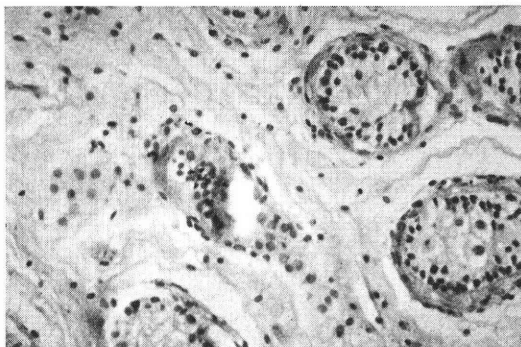
主訴：不妊

初診：昭和53年2月10日

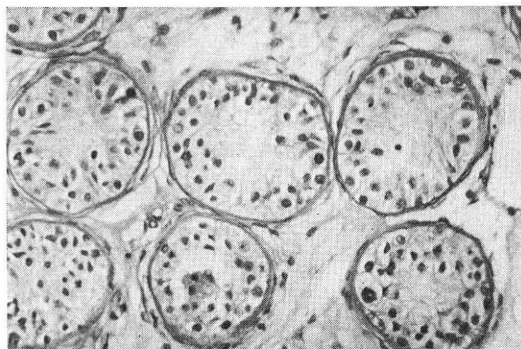
家族歴：特記すべきことなし

既往歴：特記すべきことなし

現病歴：29歳で結婚(妻27歳)、性生活は週3～4回



case 1 昭和45年初診時睾丸組織所見



case 1 昭和56年時男性ホルモン剤補充療法中
睾丸組織所見

Fig. A

であったが、不妊のため昭和53年2月10日泌尿器科初診、精液検査にて、精子数3-4/HPFと高度の乏精子症であった。この時点での血中 prolactin の測定は行なわれておらず、外来的に不妊症に対し HCG 5000 単位週1回、筋注を計12回投与したが精子数は変化なく、clomiphene の投与も行つたが、精子数の増加はなかつた。昭和56年2月に測定した血中 prolactin 基礎値が200ng/ml以上と高値であり、脳神経外科の精査により prolactin 産生下垂体腫瘍が明らかとなった。

身体所見：恥毛女性型、腋毛(+)、陰茎は正常、辜丸容積右5ml、左4mlと小さく、前立腺は触診上平坦であった。女性化乳房は認められなかつた。

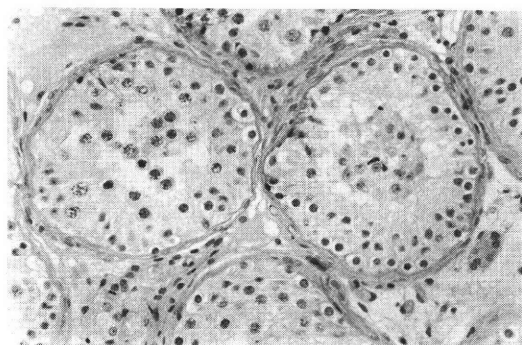
検査所見：

○一般検血：正常 ○腎機能：正常

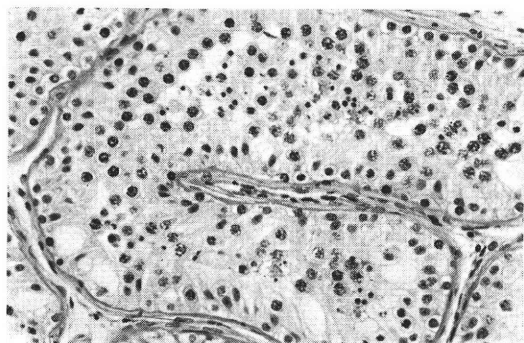
○血液生化学：正常 ○尿所見：正常

血中ホルモン値：昭和53年初診時の血中 LH 基礎値は10mIU/ml, FSH 基礎値は6.3mIU/mlと正常であるが、血中 testosterone 基礎値は65ng/dlと低値であった。昭和56年不妊症に対する HCG, clomiphene 治療中止後約1ヶ月後の血中 LH 基礎値15.5mIU/ml, FSH 基礎値2.6mIU/mlと基礎値の比較では、LH, FSHとも不妊症に対する治療前後で大きな差は認めなかつた。血中 prolactin 値は200ng/ml以上と高値であった。本例の LH-RH test, HCG test の結果は Fig. 2, Fig. 6 に示した。

辜丸組織所見：昭和53年度初診時 (Fig. B) 精細管所見は secondary spermatocyte までの出現を認め、中等



case 2 昭和53年初診時辜丸組織所見



case 2 昭和56年時不妊症に対する治療後
辜丸組織所見

Fig. B

度精子形成不全の所見である。昭和56年度不妊症に対する治療後 (Fig. B) 初診時の組織と比較して大きな改善

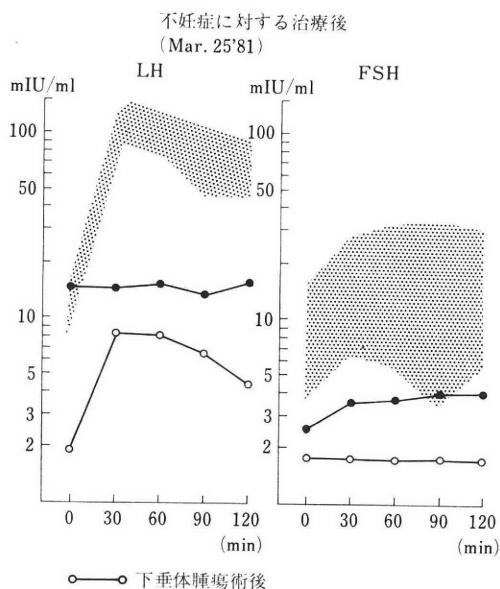
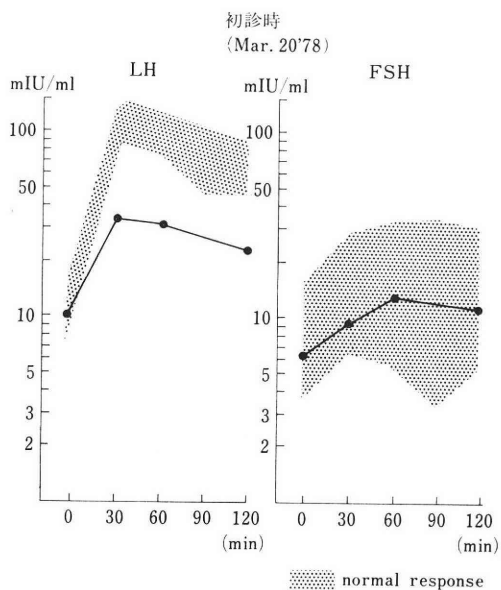


Fig. 2 LH-RH test (症例2 T.K.)

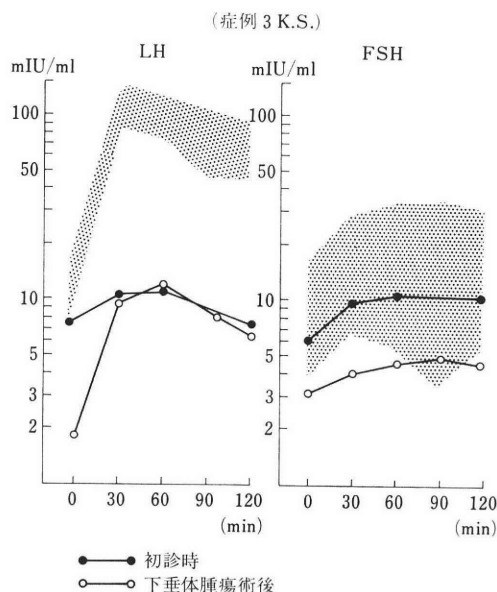
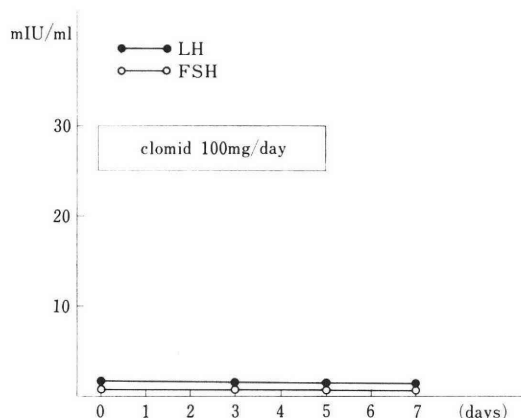


Fig. 3 LH-RH test

Fig. 4 Clomiphene test (case 1 E.K.)
(男性ホルモン剤投与中の結果を示す)

は認められないが, spermatid がわずかに存在する。

本例は, 昭和56年4月23日, 脳神経外科にて下垂体腫瘍摘除を行い, 組織型は chromophobe adenoma であった。術後血中 prolactin 基礎値が 82ng/ml と高く, Bromocriptine 7.5mg/day 投与により, 血中 prolactin 基礎値 7.2ng/ml と正常化している。術後の血中 LH 基礎値は 2.0 mIU/ml, FSH 2.0 mIU/ml 以下と低値で LH-RH test でも Fig. 2 に示すように, 術前より低反応であった。

(症例 3) 19歳 未婚

主訴: 睾丸発達不全

初診: 昭和56年7月31日

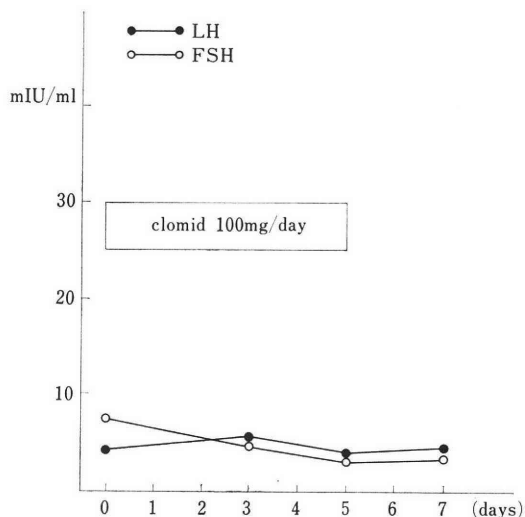


Fig. 5 Clomiphene test (case 3 K.S.)

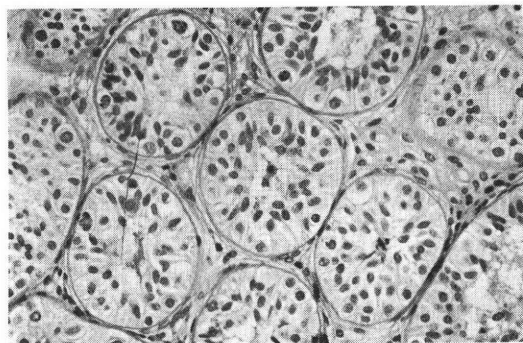


Fig. C case 3 睾丸組織所見

家族歴: 特記すべきことなし

現病歴: 昭和56年6月, 膀胱刺激症状出現にて北見赤十字病院泌尿器科受診, 萎小睾丸等の性腺機能低下症候群を指摘され, 昭和56年7月31日, 札幌医大泌尿器科紹介となる。morning erection 2~3回/週, 声変りなく陰毛は17歳頃よりわずかに認められた。射精の経験なし。初診時の血中ホルモン検査にて, 血中 prolactin 基礎値が 200ng/ml 以上と高値で, 脳神経外科の精査により下垂体腫瘍の診断となった。

身体所見: 恥毛及び腋毛は scanty で, 睾丸容積は左右とも 2 ml 小さく, 前立腺も触診上小さかった。

検査所見: ○一般検血: 正常

○腎機能: 正常, ○血液生化学: 正常

○尿所見: 正常

○血中ホルモン値: 初診時血中 LH 基礎値 7.6 mIU/ml, FSH 基礎値 6.0 mIU/ml, 血中 prolactin 基礎値 200ng/ml 以上, 血中 testosterone 基礎値 240ng/dl であった。本例の LH-RH test, clomiphene test, HCG

test の結果を Fig. 3, Fig. 5, Fig. 6 に示す.

辜丸組織所見 (Fig. C): 精細管経は小さく精細管内には spermatogonia がわずかに認められる程度で、小児様辜丸組織像を呈した.

本例は昭和56年9月17日に脳神経外科にて下垂体腫瘍摘除を行った. 術後血中 prolactin 基礎値が 127.6ng/ml と高値であり本例も Bromocriptine 7.5mg/day 服用により現在, 血中 prolactin 値 3.0ng/ml 以下と正常化している. 本例の下垂体腫瘍術後の LH 基礎値 2.0mIU/ml 以下, FSH 基礎値 3.2mIU/ml , 又 LH-RH test は Fig. 3 に示したように LH の反応はほぼ術前と同時で, FSH の反応は低下している. 血中 testosterone の基礎値は 39ng/dl と低く, HCG 負荷による反応も Fig. 6 に示すごとく術前に比し低下している.

(症例 4) 58歳 既婚

主訴: インポテンス・排尿障害

初診: 昭和53年9月12日

家族歴: 特記すべきことなし. 子供3人

既往歴:

○昭和29年, 47年, 48年に慢性副鼻腔炎にて手術施行.

○昭和50年より慢性胃炎, 昭和52年秋より Sulpiride 150mg/day 服用

現病歴: 昭和51年9月頃より排尿困難あり, 前立腺肥大症の診断により某医にて薬物療法を受けていた. 昭和52年秋頃から以前は月2回程度あつた性行為がまったくなくなり, morning erection も1回/週となつていた. 昭和54年6月頃より性行為はもとより morning erection も消失した. 昭和55年5月30日, インポテンス・排尿困難を主訴とし, 泌尿器科受診, 血中 prolactin が高値であることが判明した.

検査所見:

○一般検血: 正常, ○腎機能: 正常

○血液生化学: 尿酸 7.4ng/dl と高値以外正常

○尿所見: 正常

○血中ホルモン値: Sulpiride 服用時, 血中 LH 基礎値 20.3mIU/ml , FSH 基礎値 7.9mIU/ml , 血中 prolactin 基礎値 80ng/ml , 血中 testosterone 基礎値 365ng/dl と血中 prolactin の上昇が認められた. Sulpiride 服用を中止したところ, 血中 LH 基礎値 13.8mIU/ml , FSH 5.6mIU/ml , prolactin 3.0ng/ml 以下, testosterone 480ng/dl と血中 prolactin の正常化と血中 testosterone の上昇が認められた (Fig. 7). 本例の HCG test, LH-RH test, clomiphene test の結果を Fig. 6, Fig. 8 Fig. 9 に示すが, いずれも Sulpiride 服用中止時の値である.

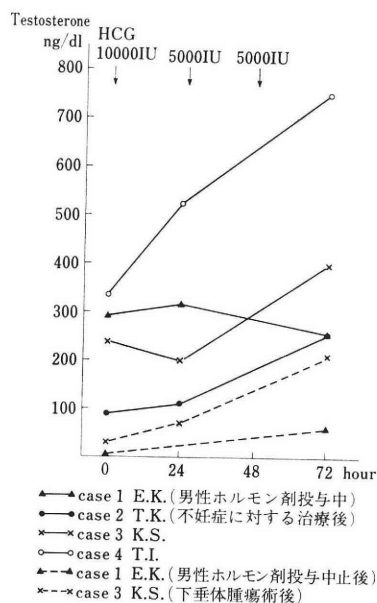


Fig. 6 HCG test

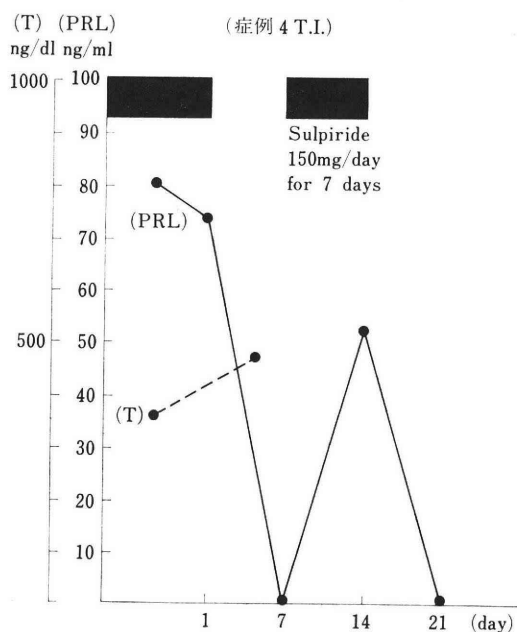


Fig. 7 Change of serum prolactin and testosterone levels affected by sulpiride administration

考 察

高 prolactin 血症は辜丸機能低下症の原因とされており, Hermanns⁵⁾, Perryman⁶⁾らは, 高 prolactin 血症で性機能障害が生ずる機序を以下の如く述べている. す

(症例 4 T.I.)

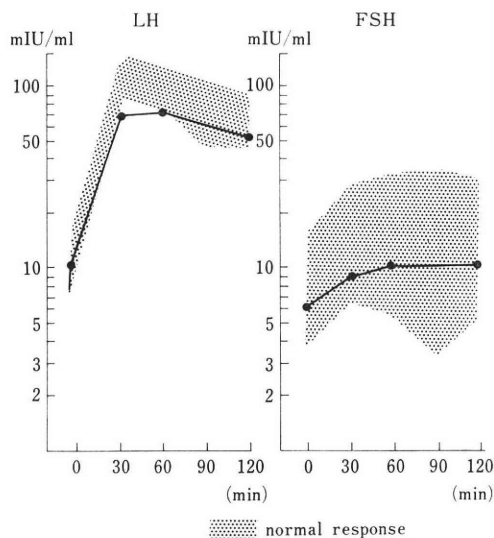


Fig. 8 LH-RH test

(症例 4 T.I.)

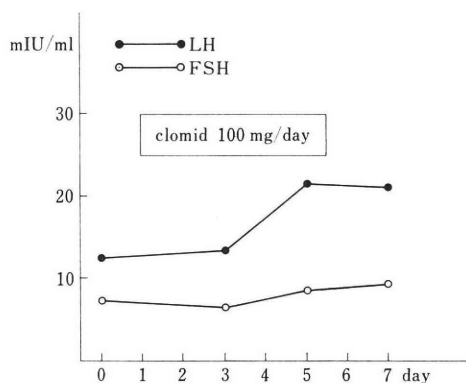


Fig. 9 Clomiphene test

なわちその第1は高 prolactin 血症によって睾丸での testosterone 産生が低下するためであり、第2は prolactin が下垂体での gonadotropin 分泌障害をおこすであろうというものである。しかし、その機序は現在のところ完全に解明されたとは言えない。そこで我々は今回経験した症例について内分泌学的検討を行うことにより、その病態を明らかにすることを目的とした。

症例1は下垂体腫瘍術後症例で LH, FSH の基礎値は低く、男性ホルモン剤補充療法前後とも、LH-RH 負荷で LH, FSH は無反応であった (Fig. 1)。本例における男性ホルモン剤補充療法の効果は、恥毛の發育、射精の出現、睾丸容積のわずかな増大等を認め一応有効であったと考えられるが、睾丸組織では精細管所見に著しい改善はなかった。本例の場合、睾丸機能低下症の主因は高 prolactin 血症のためというよりむしろ下垂体腫瘍術後の低 gonadotropin 状態が原因と考えられる。このような症例では睾丸機能低下症の治療は、血中 prolactin を正常化させると共に男性ホルモン剤等の補充療法を行うことが必要であろう。Nagulesparen⁷⁾らは下垂体腫瘍による高 prolactin 血症で hypogonadism を呈する症例に Bromocriptine 投与、testosterone 投与、又は Bromocriptine と testosterone 併用投与を行つたところ、性欲の出現、potency の改善等が、Bromocriptine 単独、testosterone 単独投与より、両者を併用した場合、最も有効であったと述べている。

症例2は、泌尿器科初診時血中 LH, FSH の基礎値は正常であったが、血中 testosterone 基礎値が65ng/dl

と低値であり、睾丸での testosterone 産生障害が示唆された。本例の LH-RH test (Fig. 2) は、泌尿器科初診時、LH の反応低下を認めるも FSH の反応は正常であった。約1年後の不妊症治療 (HCG, clomiphene 投与) 後の LH-RH test では、LH, FSH とも反応の低下が生じていた。この現象は恐らく下垂体腫瘍の増大による機械的な圧迫のために、下垂体での gonadotropin 分泌予備能の低下をきたしたためと思われた。また精細管所見は、不妊症治療後も著明な改善を認めず、当然 sperm count の上昇も認めなかった。

症例3は19歳の hypogonadism 症状を呈する症例で、症例2と同様 prolactin 産生下垂体腫瘍例である。本例の血中 LH, FSH 基礎値は正常範囲内であるが、症例2と似ており、血中 testosterone 基礎値が240ng/dl と低値であった。LH-RH 負荷でも血中 LH の無反応が特徴的で、FSH は正常の反応を示していた (Fig. 3)。睾丸組織 (Fig. C) は精細管内に spermatogonia を認める程度で著しい睾丸發育不全を呈していた。このように症例2、症例3では血中 LH, FSH の基礎値が正常であるにもかかわらず、gonadotropin 分泌予備能が低下し、血中 testosterone 基礎値も低値であるという結果が得られた。このことは、prolactin 産生下垂体腫瘍例では下垂体レベルでの gonadotropin 分泌異常があり、睾丸機能障害がおこるという可能性もあることを示しているものと考えられた。又、症例2、症例3では gonadotropin 基礎値が正常であったが、これは腫瘍の大きさによると考えられ、下垂体腫瘍がさらに増大すれ

ば, gonadotropin 基礎値の低下もおこるものと推察された。

さらに Faglia⁹⁾らは高 prolactin 血症で hypogonadism を呈する症例は clomiphene 負荷に無反応であると報告しており, 高 prolactin 血症では視床下部の異常があることを示唆している。自験症例 3 の clomiphene test (Fig. 5) でも血中 LH, FSH の上昇は認められていない。今後, この点についても検討が必要と思われるが, 高 prolactin 血症の視床下部レベルでの障害について検討した報告はあまりみられない。

次に睾丸組織と高 prolactin 血症との関係であるが, 自験例でも症例 2, 症例 3 において, 睾丸組織障害を認めているが, 直接的に高 prolactin 血症が原因であるか, 今回の検討では不明である。

症例 4 は Sulpiride 服用により生じた高 prolactin 血症で Fig. 8 に示す様に Sulpiride 服用により血中 prolactin 値が上昇し, この段階での血中 testosterone 値の上昇が認められた。本例の clomiphene test, LH-RH test, HCG test は正常で, 間脳・下垂体性腺系の異常はないと考ええると, インポテンスの原因は Sulpiride 服用により生じた高 prolactin 血症のために testosterone の産生が障害され, インポテンスを生じたと考えられる。

ここで睾丸における testosterone 分泌予備能を知る目的で自験例に HCG test を行い検討してみた (Fig. 6)。その結果症例 4 では正常反応を示したが, 他の 3 例ではいずれも低反応もしくは無反応であった。Carter¹⁾らは prolactin 産生下垂体腫瘍 10 例に HCG 2000 単位/日, 3 日間負荷したところ正常の testosterone 分泌上昇反応が認められたと報告している。一方, Thorner⁹⁾らは HCG に対し 17β -OH-androgen の反応が高 prolactin 血症例では低下していると述べている。自験例でも下垂体腫瘍例では明らかに HCG 負荷による testosterone 分泌障害を示し, Leydig cell の機能低下状態にあるという結果であった。Ambrosi¹⁰⁾らは正常の男性 6 人に Sulpiride を投与し高 prolactin 血症を誘発する前後で HCG 負荷を行つたところ testosterone の反応は Sulpiride を投与して血中 prolactin を高値にした時の方が良かったと報告しており, prolactin には本来 gonadotropin の Leydig cell に対する作用を高める働きがあると推測している。しかし慢性的に生理的レベルを越えた高 prolactin 状態ではむしろ gonadotropin の Leydig cell に対する作用を低下させる機序が働くと考えられる。

先に述べたが, 高 prolactin 血症における男子性腺機能低下症の原因として, 大きく分けて 1 つは血中

testosterone 基礎値の低下, もう 1 つは下垂体よりの gonadotropin 分泌障害が挙げられている。自験下垂体腫瘍例でも血中 testosterone 基礎値が低く, かつ, 血中 LH の反応が LH-RH 負荷により低反応であった。この結果から, ことに症例 2, 症例 3 での睾丸機能不全の主因は, 下垂体レベルでの gonadotropin 分泌予備能の障害がまず考えられる。しかし, gonadotropin 基礎値が正常であったことから, これに加えて高 prolactin による睾丸での testosterone 産生障害も考慮する必要があると思われる。次に症例 4 では, 間脳・下垂体性腺系には異常がなく, Sulpiride 服用による高 prolactin 血症によつて血中 testosterone 基礎値が低下したと考えられ, このことは睾丸での testosterone 産生障害に高 prolactin 血症が関与していることを示す所見と考えられる。

以上をまとめると, 高 prolactin 血症において睾丸機能が低下する機序については①高 prolactin 血症の原因となつている下垂体腫瘍による gonadotropin 分泌の低下② prolactin の直接的な testosterone 産生障害作用, 及び③この両者によるものの 3 つの可能性を想定することができ, 自験症例 2, 3 は③によつて, 症例 4 は②によつて睾丸機能不全が生じたものと考えられた。

結 語

男子における高 prolactin 血症は, その主症状である性腺機能低下症の発現が遅く, 女子に比し早期に発見することは難しいと言われているが, 我々は男子不妊症, 性腺機能低下症例でルチーンに血中 prolactin を測定, 高 prolactin 血症の発見に努めている。

今回報告した 4 例は, いずれも明らかな睾丸組織障害の認められた prolactin 産生下垂体腫瘍 3 例と Sulpiride 服用により誘発されたインポテンスを訴えた 1 例である。下垂体腫瘍例では, 下垂体術後の 1 例を除き, いずれも血中 LH, FSH の基礎値は正常であるにもかかわらず, 血中 testosterone 値が低く, LH-RH test にても LH の反応が特に障害されていた。Sulpiride 服用による高 prolactin 血症例では, Sulpiride 服用中の血中 testosterone 値が正常下界で, Sulpiride 服用中止により, 血中 testosterone 上昇が認められインポテンスも消失している。以上より高 prolactin 血症における睾丸機能低下症の原因は, 主として prolactin 産生下垂体腫瘍による機械的圧迫による gonadotropin 分泌障害や高 prolactin 血症により, 睾丸での Leydig cell 機能障害が原因となる testosterone 産生障害が主因をなすと思われる。

文 献

- 1) Carter, J. N., Tyson, J. E., Tolis, G., Vliet, S. V., Faiman, C. and Friesen, H. G.: Prolactin-secreting tumors and hypogonadism in 22 men. *New Engl. J. Med.*, 299: 847, 1978.
- 2) Thorner, M. O. and Besser, M.: Bromocriptine treatment of hyperprolactinaemic hypogonadism. *Acta Endocr.*, 88, Suppl., 216; 131, 1978.
- 3) Franks, S., Tacobs, H. S., Martin, N. and Nabarro, J. D. N.: Hyperprolactinemia and impotence. *Clin. Endocr.*, 8: 277, 1978.
- 4) 石田 肇, 新島端夫, 岩動孝一郎, 松本恵一, 野村和弘, 広瀬欽次郎: 睾丸機能不全を主徴とするプロラクチン産生下垂体腫瘍の2例, (含, 睾丸腫瘍合併の1例) ホと臨, 29, 増刊: 180, 1981.
- 5) Hermanns, V. and Hafez, S. E.: Prolactin and male reproduction. *Arch. Androl.*, 6: 95, 1981.
- 6) Perryman, R. L. and Thorner, M. O.: The effects of hyperprolactinemia on sexual and reproductive function in men. *J. Androl.*, 5: 233, 1981.
- 7) Nagulesparen, M. V., Ang, V. and Jenkins, J. S.: Bromocriptine treatment of males with pituitary tumors, hyperprolactinemia and hypogonadism. *Clin. Endocr.*, 9: 73, 1978.
- 8) Faglia, G., Tragolini, P., Ambros, B., Peck-Beccoz, P., Paracchi, A., Weber, G., Bara, R., Elli, R. and Spada, P.: Some aspects of prolactin influence on gonadal function in humans. *Prog. Reprod. Biol.*, 12: 256, 1977.
- 9) Thorner, M. O., Edwards, C. R. W., Hanaker, J. P., Abraham, G. and Besser, G. M.: Prolactin and gonadotropin interaction in the male. In: *The Testis in normal and infertile men*. Troen, P., Hankin, H., eds., Raven Press, N. Y., pp. 351-366, 1977.
- 10) Ambrosi, B., Travaglin, P., Beck-Peccoz, P., Bara, R., Elli, R., Paracchi, A. and Faglia, G.: Effects of sulpiride-induced hyperprolactinemia on serum testosterone response to HCG in normal men. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 43: 700, 1976.

4 Cases of male hyperprolactinemic hypogonadism

**Kazunori Ohno, Yoshiaki Kumamoto,
Tsugio Umehara and Hiroshi Maruta**

Dept. of Urology, Sapporo Medical College

Osamu Sato

Dept. of Neurosurgery, Sapporo
Medical College

We studied four cases of hyperprolactinemic men who had impaired gonadal function. Three cases were prolactin-secreting pituitary tumor and one case was Sulpiride-induced hyperprolactinemia. Except one case who had been operated (removal of pituitary tumor), the basal LH and FSH of these cases were within normal range, but the basal testosterone levels of all cases were low.

We evaluated plasma LH, FSH and testosterone levels following LH-RH, HCG administration. The LH responses to LH-RH were impaired in 3 cases of pituitary tumor, but FSH responses to LH-RH were impaired in 2 cases and normal in one case. In the case of Sulpiride-induced hyperprolactinemia, the LH and FSH response to LH-RH was normal. The responses of plasma testosterone to exogenous HCG were impaired in three cases of pituitary tumor, but normal in Sulpiride-induced hyperprolactinemic case.

From these data, we suspected the mechanism by which hyperprolactinemia leads to hypogonadism as follows: In hyperprolactinemia,

#1 Prolactin may decrease testicular steroidogenesis (testosterone production).

#2 Prolactin may alter the gonadotropin secretion or gonadotropin preservation at pituitary level.

We also discussed the histology of testicular biopsies taken from prolactin secreting pituitary tumor cases.

(受付: 昭和57年11月15日)

hCG 投与により妊孕性を獲得した isolated LH deficiency (fertile eunuchoidism)の一例

Successful Fertilization by hCG Treatment in a Case of Isolated LH Deficiency (Fertile Eunuchoidism)

春日部市立病院泌尿器科

吉田 謙一郎 根岸 壮治
Ken-Ichiro YOSHIDA Takeharu NEGISHI

Department of urology, Kasukabe City Hospital

症例は28歳、男子不妊を主訴として来院した。体型は類宦官様であり、外陰部は小児様を呈したが、睾丸容積は両側とも6mlであつた。精液検査では精液量0.1mlで無精子症を呈した。血中ホルモンレベルはLH 4.7mIU/ml, FSH 2.8mIU/ml, テストステロン81ng/dlであり、以上より isolated LH deficiency と診断した。睾丸生検像では leydig 細胞は未熟型を呈したが、精子形成が認められた。この症例に hCG 1,000~1,500IU、週2回の割で投与し、精液所見の改善及び二次性徴の完成を見、その後健康な女兒の誕生をみている。

なおこの症例に LH-RH 負荷テストを行ない、血中 LH, FSH, テストステロンの経時的測定を行った。初回投与後及び5日間連続投与後の LH の経時的曲線が低値のまま同一パターンを示したことから、この疾患は下垂体からの LH 分泌不全である事を推論した。(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 353-357, 1983)

緒 言

低ゴナドトロピン性類宦官症のうち、FSH レベルは正常であるが、選択的に LH レベルの低下を示す疾患を isolated LH deficiency と呼ぶ。この疾患は低 LH レベルの為テストステロンの低下を生じしめ類宦官体型を示すものの、妊孕性を保持している場合もあり、この為 fertile eunuchoidism とも呼ばれる。

著者らは男子不妊症を主訴として来院した本症例を経験し、hCG 投与により男性化の発現維持を行なうとともに無精子状態から精液中に精子の出現を見、その後この夫婦に正常女兒の誕生をみたのでこの一例を報告する。

症 例

症例：28歳、男性、会社員

主訴：不妊

家族歴、既往歴：特記すべき事なし。

現病歴：結婚後4年、避妊期間はないが、子供ができず、精査の為入院した。妻は26歳にて婦人科的に異常はない。

現症：四肢は長く瘦身の典型的類宦官体型を示した。女性化乳房は認めず、恥毛はわずかに認めるが薄く、腋毛、鬚髯はほとんど認めなかつた。前立腺はほとんど触れず、陰茎も小指頭大であり、睾丸は両側とも6mlであつた。精液検査では精液量0.1mlで無精子状態を呈していた。なお嗅覚障害は認めなかつた。

検査成績：血中 LH 4.7mIU (正常値6.5~34.5mIU/ml)、血中 FSH 2.8mIU/ml (正常値1.9~21.8mIU/ml)、血中テストステロン81ng/dl (正常値300~850ng/dl)と血中 FSH は正常値であつたが、血中 LH 及びテストステロンは低値を示した。

治 療 経 過

以上の所見及び検査成績より isolated LH deficiency

と診断した。男性化の発現及び造精機能の改善を目的として hCG 投与を開始した。これ等経過の概要を図1に示す。

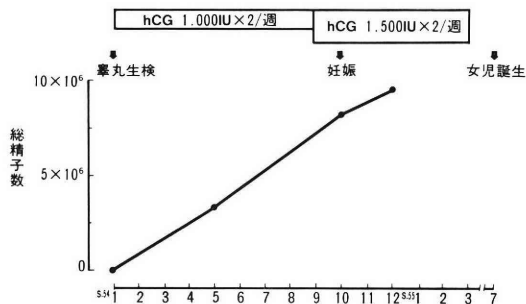


図1 治療経過の概要

hCG 投与に先んじて睾丸生検及び生検側の精囊腺造影を行った。生検組織はブワン氏液で固定後 H.E. 染色にて鏡検に供した。図2で示すごとく精細管管腔は正常成人男子のそれとほぼ同様な拡張を示しており、管壁

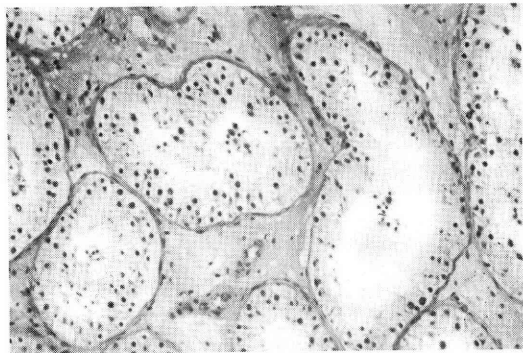


図2 睾丸生検組織 ×80

の肥厚はみられない。精細胞数は全体として少ないが、多くの精細管では精子細胞までの分化がみられ、一部では精子のみられる精細管も存在する。

Sertoli 細胞は管腔周囲よりやや管腔内へ位置し、明瞭な核小体を持った楕円形の核を有する成熟型を呈していた。これに対し間質組織は浮腫状を呈しており、Leydig 細胞の集団は見られず、個々の Leydig 細胞も未熟型を呈していた。精囊腺造影では図3のごとく发育不全な精囊腺像が得られた。

hCG は1回1,000IU、週2回投与とし9ヶ月間続け、その後は1回1,500IUとし週2回の投与を行った。hCG 投与後5ヶ月目の精液検査では精子濃度 $320 \times 10^5/\text{ml}$ 、運動率30%、精液量0.1mlと精液中への精子の出現をみた。投与後10ヶ月目には精子濃度 $272 \times 10^5/\text{ml}$ 、運動率30%、精液量0.3mlと、精液量の増加がみられ、総精子数も明らかな増加がみられた。hCG 投与後12ヶ月目に

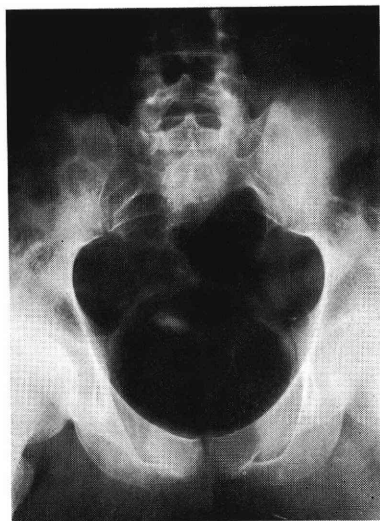


図3 精囊腺造影 (左側のみ)

は妻妊娠3ヶ月目と判明した。この時点での精子濃度は $158 \times 10^5/\text{ml}$ 、精液量0.6mlであり、外陰部は成人男子様となり、腋毛、鬚髯もみられた。睾丸容積は両側とも9mlであり、血中テストステロン値は740ng/dlと正常値を示した。この夫婦はその後昭和55年7月に健康な女児の誕生をみている。

患者は遠方の為この後来院しなかつたが、およそ2年後の昭和57年7月ポテンツの低下を主訴として来院した。この時の精液検査では精液量0.1mlと少ないが精子濃度は $360 \times 10^5/\text{ml}$ を数えた。

この患者に対し LH-RH に対するゴナドトロピンの反応を見るため、血中 LH, FSH 更にテストステロンの値を経時的に測定した。

LH-RH 100 μg 、初回投与後の血中ホルモン値の変動を図4に示す。FSH の投与前値は正常範囲内にあるが、LH の値は正常値以下であった。LH 及び FSH とともに投与後上昇し、1時間から1時間30分をピークとして漸減する。FSH のピーク値はおおよそ10m IU/ml であり正常成人男子の LH-RH テストのピーク値とほぼ同様の値を示した¹⁾。LH のそれは正常成人男子の場合とほぼ

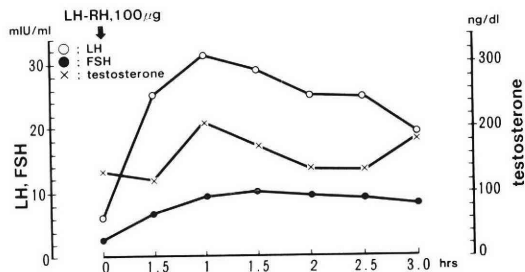


図4 LH-RH 初回投与時

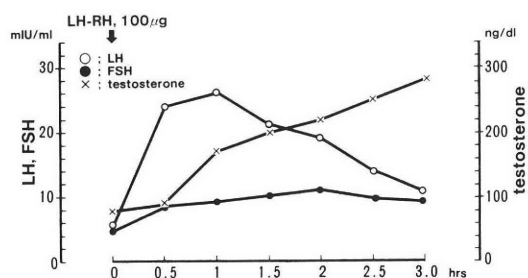


図5 LH-RH 5日間連続投与後

同様の曲線を描いたが、ピーク値は30mIU/mlと正常成人男子の値の $1/3$ 程度であつた⁹⁾。テストステロン値はHLの上昇とともにやや上昇するものの全体としては200ng/dl以下と低値で推移した。LH-RH 100 μ g、5日間連続投与後、最終日の経時的血中ホルモンの変動を図5に示す。LH及びFSHはLH-RH初回投与時のそれとほぼ同様の曲線を描くが、テストステロン値は時間とともに増加傾向を示した。

現在この患者に対し男性化維持を目的とし、エナルモンデポー250mgの投与を考慮中である。

考 案

低ゴナドトロピン性の類宦官症の多くは病変が視床下部もしくは下垂体にあるにせよLH及びFSHの両者が低値を示す。しかしながらisolated LH deficiencyはLHは低値を示すものの、FSHは正常値を示すという稀な疾患であり、その報告例は少ない。

歴史的にみると1950年Pasqualiniら²⁾が第一例目の報告を行つている。彼等は類宦官型を示し、睾丸生検像では明らかなleydig細胞は見られないものの、精子形成のみられる症例を発見した。又これにhCG投与を行なう事により男性化の発現がみられる事を報告し、本症例においては選択的にLHが不足しているのでであろうと推論した。1953年McCullaghら³⁾は5例の本疾患の尿中LH、FSHを測定し、尿中FSH排泄量は全例で正常であるが、尿中LH排泄量は3例では低値を示し、2例では正常である事を報告した。その後Faimanら⁴⁾はラジオイムノアッセイにて本疾患では血中及び尿中LHが選択的に低値を示すこと、更に睾丸生検像では精子形成が保たれている事を報告しfertile eunuchoidismという概念を提唱した。

我々の症例においてもFSH値は正常であるが、LHは低値を示しており、睾丸生検像においても他の報告例と同様、一部の精細管では精子までの分化がみられている。精液所見についてみると、今までの報告例では無精

子状態を呈する場合から正常精子濃度を数える場合まであり一定していないが⁵⁾、テストステロン低下による精液量の低下は共通している。我々の症例でもhCG投与前では精液量は、わずか0.1mlであり、hCG投与により漸次精液量の増加がみられているが、これはhCG投与によるテストステロン値の上昇により前立腺等副性器の成熟がおこつた為と理解される。これに対し睾丸容積は無治療においてもある程度の大きさを示す⁶⁾。この点はFSH値も低く未分化精細胞のみしか有せず、小児様睾丸容積しか示さないKallman症候群⁷⁾とは異なる所である。

本疾患は精子形成とホルモンの関係につき多くの示唆を含んでいる。Steinberger等⁸⁾によればテストステロンはgerm cell renewal、第一次精母細胞分裂期、更にFSHとともに精子細胞の成熟期に必要とされており、この点から精子形成能と睾丸内テストステロン濃度の関係が注目された。しかしながら精子形成障害の強いものほど高い睾丸内テストステロン濃度が得られるという矛盾した結果が得られた⁹⁻¹¹⁾。これは睾丸内テストステロン濃度が間質組織を含む単位重量あたりの濃度であり、精細管内濃度ではないためであろう。例えば睾丸萎縮の強い高ゴナドトロピン性睾丸機能不全では精細管の高度の萎縮により単位重量あたりでみると、Leydig細胞の相対的增加により、むしろ高い睾丸内テストステロン濃度を示す。以上の事から睾丸内テストステロン濃度を測定しても、精細胞への有効なテストステロン供給の指標とは成り難いと思われる。

本疾患に於ける血中テストステロン値は正常成人男子の $1/10$ 程度であり、睾丸内テストステロン濃度も同程度に低下しているものと考えられる。それでも生検組織でみられたごとく、精子形成が保たれているわけで、これはテストステロンが有効に作用したものと考えられる。

本疾患ではFSHは正常値を示すが、このFSHは主としてSertoli細胞に働かし、その機能を発現せしむものであり、精細胞へのlactateの供給¹²⁾ androgen-binding protein (ABPと略す)の産生¹³⁾等を行つている。ABPはヒト睾丸においても、その存在が証明されており興味あることにABP濃度と睾丸内テストステロン濃度とは比例関係を示す¹³⁾。以上の点から本疾患において精子形成が保たれている事はFSHにより成熟したsertoli細胞が精細胞へのlactateの供給を行ない、又産生されたABPが精細管内へテストステロンを効果的に取り込み、精細胞の分化成熟に必要な濃度を維持している為ではないかと思われる。本疾患の選択的LHの低下についてはその病変が上位中枢にある事は言うまで

もないが、この他 Leydig 細胞にも病変があると報告している者⁶⁾もあり、本態は未だ明らかではない。Makler ら⁶⁾は本疾患に対し LH-RH 100 μ g の1回投与を行ない、経時的測定による血中 LH, FSH の反応曲線が正常成人男子のそれと同様のパターンを示すこと、しかし血中テストステロンは上昇しない事を見出した。これに対し hCG 投与では血中テストステロンの上昇がみられる事から、1) この疾患の病変は視床下部にある事、2) この疾患では Leydig 細胞に何らかの異常があり、hCG には反応するが LH には反応しない事を報告している。

我々の LH-RH 投与の成績は前述したごとく、初回投与でも5日連続投与後においても経時的測定による血中 LH, FSH の反応曲線はほぼ同一であり、LH 曲線は正常成人男子と同様のパターンを示すが、ピーク値は成人男子の $1/3$ 程度であつた。これ等の事から本疾患は視床下部よりの LH-RH 分泌不全とは考えられず、LH-RH に対する下垂体での LH 分泌不全と解すべきものとする。又初回投与時には血中テストステロンの上昇はみられなかつたが、5日間連続投与後では血中テストステロンの上昇傾向がみられる事は、LH-RH の連日投与により LH の一過性上昇が、5日目には辜丸の Leydig 細胞を反応せしめ、血中テストステロンの上昇がおきたものと考えられる。以上の事は本疾患における Leydig 細胞は LH に対し反応性を有している事であり、この点においても Makler ら⁶⁾の意見とは異なる結果を得た。彼等は LH-RH 投与により上昇する LH の血中レベルは、せいぜい2時間以内であることと、hCG 投与の場合では、その半減期が30~40時間¹⁴⁾と長期であり、この為 hCG 投与では1回投与でも長期に Leydig 細胞が刺激をうける事の相違を混同した為ではないかと思われる。

以上 hCG 投与により妊孕性を獲得した isolated LH deficiency の一例を報告し考察を行った。

最後に本症例の LH-RH テストに御協力を頂いた土浦協同病院泌尿器科、酒井邦彦、高橋卓、堀内晋の諸先生方に感謝の意を表す。

文 献

- 1) Hashimoto, T., Miyai, K., Izumi, K. and Kumahara, Y.: Gonadotropin Response to synthetic LH-RH in Normal Subjects: Corelation Between LH and FSH. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37: 910, 1973.
- 2) Pasqualini, R. Q., Bur, G. E.: Sindrome hipoadrogénico cogametogénesis consengasa: Clarificación de la insuficiencia testicular. *Rev. Asoc. Med. Argent.* 64: 6, 15, 1950.
- 3) McCullagh, P., Beck, J. C. and Shaffenburg, C. A.: A syndrome of eunuchoidism with spermatogenesis, normal urinary FSH and low or normal ICSH (fertile eunuchs). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 13: 489, 1953.
- 4) Faiman, C., Hoffman, D. L., Dyan, R. J. et al.: The fertile eunuch syndrome: Demonstration of isolated luteinizing hormone deficiency by radioimmunoassay techniques. *Mayo. Clin. Proc.* 43: 661, 1968.
- 5) Paulsen, C. A.: *Textbook of Endocrinology*, sixth Ed. P 332 ed. by R. H. Williams, W. B. Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, Tokyo. 1981.
- 6) Makler, A., Glezerman, M. and Lunenfeld, B.: The Fertile Eunuch Syndrome, An Isolated Leydig-Cell Failure?. *Andrologia* 9: 193, 1977.
- 7) 吉田謙一郎, 大島博幸, 高木健太郎, 東四雄, 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 症候群の一例. *日不妊会誌*, 26: 115, 1981.
- 8) Steinberger, E.: Male reproductive physiology, Male infertility work shop, Treatment and research. ed. by Cochet, A. T. K., Ronald L. U., P. I. Grune and Stratton. 1977.
- 9) Pirke, K. M., Vogt, H. J., Lehnig, W. and Sinterman, R.: Intratesticular testosterone concentration in patient with disturbed fertility. *Andrologia* 11: 320, 1979.
- 10) McCownen, K. D., Smith, M. L., Modarelli, R. O., Faris, B. L. and Reed, J. W.: Tissue testosterone and dihydrotestosterone from bilateral testis biopsies in males with varicocele. *Fertil. Steril.* 32: 439, 1979.
- 11) Yoshida, K-I., Lanasa, J. A., Takahashi, J., Winter, S. J., Oshima, H. and Troen P.: Studies of the Human Testis. Evaluation of multiple indexes of testicular function in related to advanced age, idiopathic oligospermia or varicocele. *Fertil. Steril.* (Accepted)
- 12) Mita, M., Price, J. M. and Hall, P. F.: Stimulation by Follicle-Stimulating Hormone Synthesis of Lactate by Sertoli Cells from Rat Testis. *Endocrinology* 110: 1535, 1982.
- 13) Lee, J. A., Yoshida, K-I., Hosaka, M., Stratico, D., Hsu, A-F., Winter, S. J., Oshima, H. and Troen, P.: Studies of the Human Testis. Antrogen-Binding Protein and Function of Leydig Cells and Tubules in Aged Men with Prostatic Carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 50: 1105, 1980.
- 14) 青野敏博, 宮崎正敏, 南川淳之祐, 三宅 侃, 衣笠隆之, 倉智敬一, 松本圭史: HMG-HCG 療法による排卵誘発時の血中ホルモンの動態, *日内分泌会誌*, 50: 1263, 1971.

Successful fertilization by hCG treatment in a case of isolated LH deficiency (fertile eunuchoidism)

Ken-Ichiro Yoshida and Takeharu Negishi

Department of Urology, Kasukabe
City Hospital

A 28 year-old man visited our hospital with the chief complain of infertility. His stature was eunuch with infantile genital. Each of his testicular volume showed 6 ml. The volume of his semen was 0.1 ml. He was diagnosed as azoospermia by the semen analysis. The basal level of LH, FSH, and testosterone in the blood were 4.7 mIU/ml, 2.8 mIU/ml and 81 ng/dl, respectively. These data showed he was a patient of isolated LH deficiency. The testicular biopsy was per-

formed before the treatment. Leydig cells were immature but spermatozoa was recognized in some of the tubules.

To induce secondary sexual characteristics as well as to improve sperm output, hCG of 1,000-1,500 IU was administered twice a week. After 10 months of the treatment, his wife was diagnosed as pregnant. After then, a healthy female baby was delivered.

LH, FSH, and testosterone level in the blood were measured at every 30 min. after intravenous injection of 100 μ g of LH-RH. The response curve of LH after 5 days injection of LH-RH was identical that of first day. These data suggest the pathological region of isolated LH deficiency locates at the level of pituitary gland.

(受付: 昭和58年1月10日)

Hühner-test 不良例の解析と AIH

Analysis of the Patients Who are Negative in Hühner Test, and AIH

西川婦人科クリニック

假 野 隆 司 西 川 潔

Takashi KANO Kiyoshi NISHIKAWA

Nishikawa Gynecological Clinic

昭和56年に本院に受診した不妊症患者の中で無作為に選択した400例のうち Hühner-test が3回以上連続して不良であったのは138例(34.5%)であった。これ等の症例の精液所見、頸管粘液、血中 estradiol, prolactin を検討することにより、Hühner-test 不良の主原因を考察した。その結果、主たる原因は以下のように分類された。卵胞の estrogen 分泌不全29例(21.0%)、精子減少症27例(19.6%)、頸管粘液22例(15.9%)、頸管の粘液分泌不全18例(13.0%)、卵胞期 hyperprolactinemia 14例(10.3%)、精子減少症と前記諸原因の合併28例(20.2%)。以上の結果と AIH の治療成績が必ずしも芳しくない事実とを合わせ考えると Hühner-test 不良例では原因の正確な把握が重要であり、AIH はそれぞれの原因に応じた治療にもかかわらず Hühner-test がなお不良の症例に行こうべきであると考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 358-362, 1983)

緒 言

不妊症の原因として頸管因子の関与は5~30%と報告¹⁻³⁾されているが、不妊臨床上 Hühner-test (post coital test) 不良の症例は少なくない。従来より Hühner-test 不良は精子減少症を除外すれば頸管粘液(CM)分泌不全に最大の原因があると考えられ、このCM分泌不全は主として卵胞の estrogen 分泌不全に原因があるとの考え^{4,5)}に基づき estrogen 製剤による補充的療法が行われてきた^{4,6,7)}。しかしCMの異常は量的には estrogen 分泌不全だけでなく、頸管の粘液分泌能力に問題がある症例が指摘されている⁸⁾。さらに質的問題としてCM量は正常でも、その物理化学的性状や¹⁾、抗精子抗体などの免疫学的異常⁹⁻¹¹⁾が明らかになつていく現況である。このように Hühner-test 不良の原因は単純なものではなく、精子数、運動率といった男性側因子を加えれば多くの因子が交錯して複雑な様相を呈している。Hühner-test 不良が不妊の主要な原因と考えられた症例には従来より前述の estrogen 療法他に AIH がよく行われてきた。しかし AIH の成功率はそう

高いものではない。そこで Hühner-test 不良例の精液、CM および内分泌学的所見の解析と、Hühner-test 不良の適応にて AIH を施行し妊娠の成立をみた症例の retrospective な検討を行こうことにより Hühner-test 不良例の治療と AIH の適応を再検討する目的で今回の研究を行なった。

対象および方法

昭和56年に本院に通院した不妊期間2年以上の不妊症患者の中から、AID 希望例、無排卵症を除外して無作為に選択した400例中、BBT から retrospective に推測して-3から0 day に行こなつた Hühner-test が3回以上連続して不良であった138例(34.5%)を対象として Hühner-test 施行時のCM量を検討するとともに estradiol (E₂), prolactin (PRL) を radioimmunoassay により測定した。精液所見は検査を2回以上行なった平均値によつた。また精子数と運動率を乗じた数を活動精子数とした。

Hühner-test は前夜性交後のCMを400倍鏡検することにより行かない、結果を以下のように評価した。

Table. 1 Concentration of sperm in Hühner-negative cases.

Total Sperm ($\times 10^4/\text{ml}$)		≥ 8000		7999~4000		3999~2000		<1999	
No. of patients	%	44	31.9%	39	28.3%	48	34.8%	7	5.0%
Active Sperm ($\times 10^4/\text{ml}$)		≥ 6000		5999~3000		2999~1000		<999	
No. of patients	%	40	29.0%	43	31.2%	47	34.0%	8	5.8%

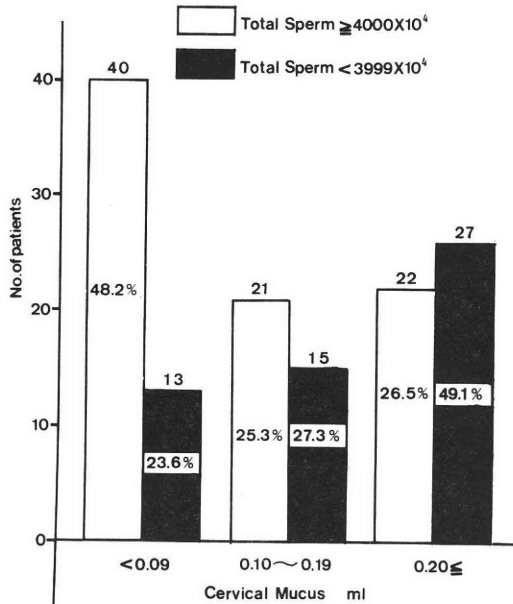


Fig. 1 Volume of cervical mucus in Hühner-negative cases

good: 10匹以上の運動精子を認めるもの, fair: 運動精子を認めるもの, poor: 運動精子を認めないもの.

BBT が飯塚らの分類¹²⁾のIV, V型に該当するか高温7, 8日の血中 progesterone 値が7 ng/ml 以下の症例は黄体機能不全症と診断した.

また昭和53年から56年にかけての不妊期間2年以上の患者の中で, 通常 Hühner-test および estriol 付加 Hühner-test 不良の適応で AIH を施行し, 妊娠の成立をみた症例の総妊娠数, 妊娠率を AID, AIH 妊娠を除く6ヶ月以上定期通院し, 何らかの治療により妊娠した症例の総妊娠数, 妊娠率と比較検討した. AIH 妊娠例については, 精液所見, AIH 施行回数, および不妊期間を考察した.

成 績

Hühner-test が不良であった138例の精液所見(表1)

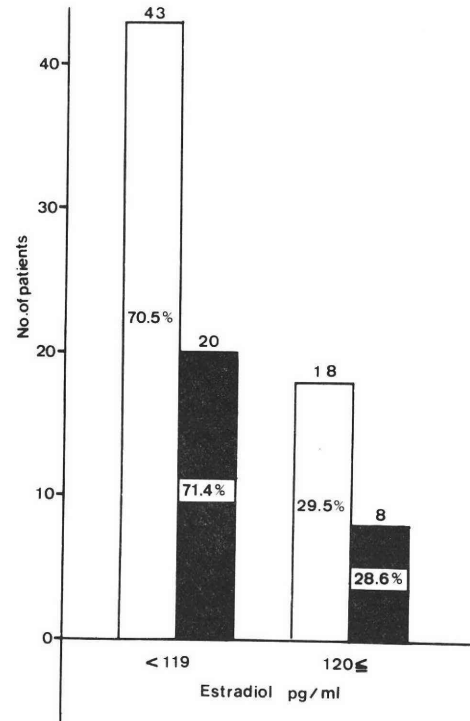


Fig. 2 Estradiol levels in the cases of insufficiency of cervical mucus secretion.

を検討すると, 一般に精子減少症として AIH の適応とされる精子数 $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満の症例¹³⁾は39.8%であった. また活動精子数を $3000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満で区切っても39.8%と同様な数字を示した. $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 以上とそれ未満の群に2分すると, 頸管粘液分泌不良例と考えられる0.2ml 未満の症例⁹⁾は精子 $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 以上では61例(73.5%), 未満では28例(50.8%)であった(図1).

当院において BBT -3~0 day の血中 estradiol 値と頸管粘液量との関係を調べると, 120pg/ml を境にして有意の差を生じる(データ未発表). そこで0.2ml 未満の症例を120pg/ml 以上と未満に分けて検討すると,

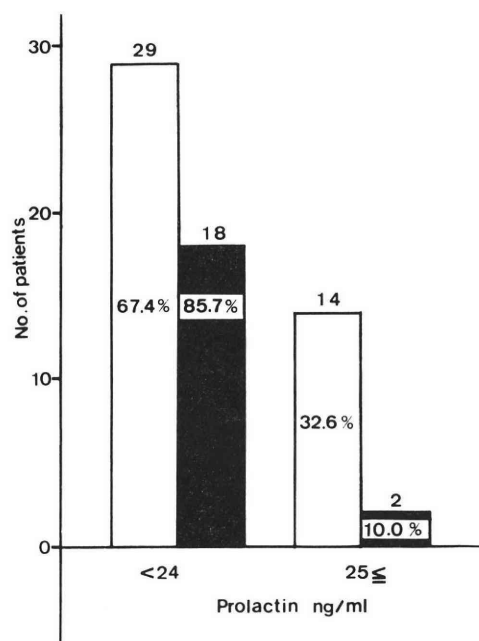


Fig. 3 Prolactin levels in the cases of insufficiency of estradiol secretion.

estradiol 120pg/ml 未満の症例は精子数 $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 以上では43例 (70.5%), 未満では20例 (71.4%) であった (図2)。

我々は卵胞期の prolactin が 25ng/ml 以上の症例では卵胞期の estradiol 分泌が有意に低下し、そのほとんどが黄体機能不全症を伴うことを明らかにした^{14,15)}。この基準にしたがって estradiol 120 pg/ml 未満の症例を

Table. 2 Number of treated patients and pregnancies from 1978 to 1981

	Except AIH	AIH	Total
No. of treated patients	1446	374	1820
No. of pregnancies	541	54	595
percentage	37.4%	14.4%	32.7%

prolactin 25ng/ml 以上と未満の2群に分類すると (図3), prolactin 25ng/ml 以上の症例は精子 $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 以上では14例 (32.6%), 未満では2例 (10.0%) であった。これらの症例の大部分は黄体機能不全症を合併していた。

表2に昭和53年から56年の AID を除く妊娠数と妊娠率を示している。AIH によるものを除いた妊娠率は37.4%であるのに対して、AIH による妊娠率は14.4%と半分以下であった。AIH 妊娠54例の精液所見は精子数 $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満では24.1%であり、 $2000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満では1例 (1.9%) のみであった。活動精子数 $3000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満では12例 (22.2%) であり、 $1000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満での妊娠例は認められなかった (図4)。

妊娠に至るまでの AIH 施行周期は3回までが全体の50%以上を占め、10回以上では極めて少例であり、平均周期は5.4回であった (図5)。また不妊期間は平均6.3年、最長は15年であった。

考 察

以上の結果より Hühner-test 不良の主要原因を考察す

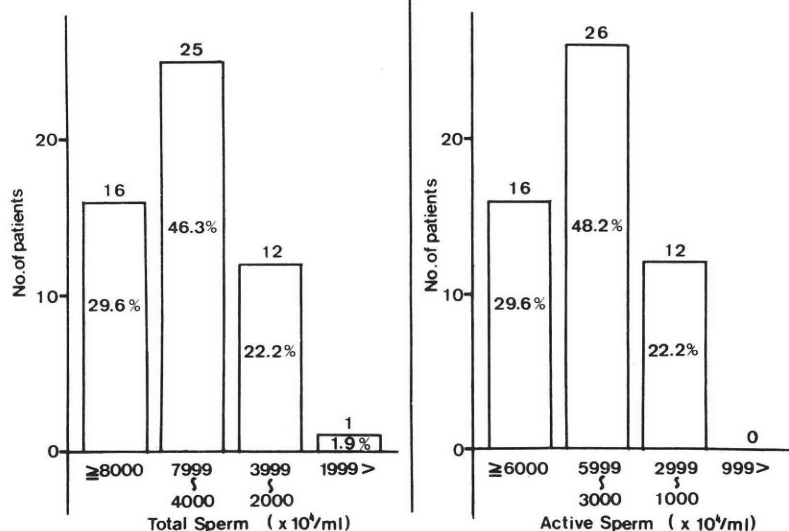


Fig. 4 Concentration of sperm in the pregnant cases treated with AIH.

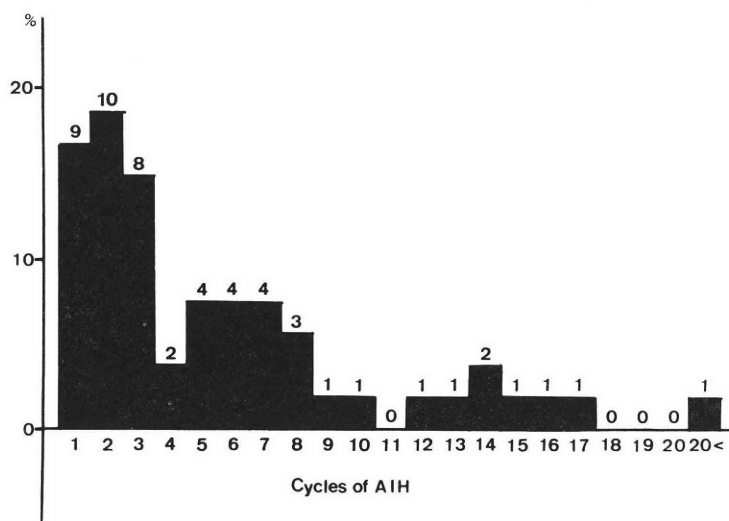


Fig. 5 Treated cycles of AIH before pregnancy.

ると精子数が $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満で CM が 0.2ml 以上の症例では主原因は精子減少症にあると考えられる。これに対し、精子数 $4000 \times 10^4/\text{ml}$ 以上の症例では CM 量、 E_2 値、PRL 値の検討の結果、複数の原因が考えられた。すなわち、CM 量が 0.2ml 以上の症例は量ではなく、問題はその質にあると考えられる。質的問題としては物理的、化学的性状も重要ではあるが、免疫学的原因である抗精子抗体に最も注目すべきである。CM 量が 0.2ml 未満で E_2 120pg/ml 以上の症例では頸管の粘液分泌不全が考えられた。 E_2 120pg/ml 未満の症例では CM 量不足の原因は卵胞の estrogen 分泌不全にあると考えられる。estrogen 分泌不全の卵胞の多くは発育不全の状態にあると推測された。この中で卵胞期 PRL が 25ng/ml 以上の症例での E_2 低値は PRL の卵胞発育抑制作用^{14,15)}のためと考えられた。

以上のような基準で Hühner-test 不良の原因を総括したのが表 3 である。他因子と合併しているものを含め

Table 3 Etiology of Hühner-negative cases

	No.	%
1. Follicular Growth Insufficiency	29	21.0
2. Oligospermia	27	19.6
3. Cervical Mucus	22	15.9
4. Cervix	18	13.0
5. Hyperprolactinemia	14	10.3
6. 1 + 2	18	13.0
7. 2 + 4	8	5.8
8. 2 + 5	2	1.4
Total	138	100.0

ば精子減少症が Hühner-test 不良の原因の 39.8 % と第 1 位を占めるのは当然としても、精子以外の因子が大きな比重を持つことを注目すべきである。

各症例毎の治療を考察すると、精子減少症には精子数、運動率の改善を目的とした積極的な治療を行なう。卵胞の estrogen 分泌不全には estrogen の補充療法より HMG で卵胞発育の促進を計るのが合理的である。CM 自体に問題がある例では抗精子抗体が存在すれば、コンドーム療法^{16,17)}、健康な donor の CM と夫の精液と混合して行なう AIH^{18,19)}などが考えられる。抗精子抗体が存在しない例の中には、妻へのアルギニン投与が有効な場合がある（データ未発表）。卵胞期 hyperprolactinemia には卵胞期 bromocriptine 投与を行こなう^{14,15)}。頸管の CM 分泌不全症には estrogen 製剤による補充療法を行ない効果がなければ早期に AIH に踏み切るべきである。

当院での AIH の妊娠率は全体の妊娠率の半分以下である。これは AIH 施行例では精子減少症の比重が大きいことから予期されたことではあるが、充実した夫婦生活には、固い内診台での医師による機械的操作にはない未知の重要な何か、があるのであろう。Hühner-test 不良例では安易に AIH に踏み切つたり、無原則に AIH を続けることなく、原因に対応した治療をまず行なうべきである。治療にもかかわらず Hühner-test の結果が改善されない場合のみ AIH を施行すべきであると考えられた。

なお本論文の要旨は、第 27 回日本不妊学会総会で報告した。

文 献

- 1) 西川 潔：不妊の臨床統計，産婦人科 MOOK, 5: 107, 1979.
- 2) Blasco, L.: Clinical approach to the evaluation of sperm-cervical interactions. *Fertil. Steril.* 28: 1133, 1977.
- 3) Scott, J. Z., Nakamura, R. M., Mutch, J. and Davajan, V.: The cervical factor in infertility; Diagnosis and treatment. *Fertil. Steril.* 28: 1289, 1977.
- 4) Marcus, S. L. and Marcus, C. C.: Cervical mucus and its relation to infertility. *Obstet. Gynec. Survey.* 18: 749, 1964.
- 5) MacDonald, R. R.: Cyclic changes in cervical mucus. *J. Obstet. Gynec. Brit. Cwith.* 76: 1090, 1969.
- 6) 鈴木政也：不妊婦人の頸管粘液，産婦治療，24: 568, 1977.
- 7) 小林俊文：頸管因子とホルモン療法，産婦世界，28: 1213, 1976.
- 8) 杉田 元：不妊における頸管粘膜液不全の機序に関する研究；とくに頸管腺組織形態と内分泌動態の関連について，日不妊誌，26(1): 36, 1981.
- 9) Franklin, R. R. and Dukes, C. D.: Antispermatozoal antibody and unexplained infertility. *Am. J. Obstet. Gynec.* 89: 6, 1964.
- 10) Reichman, J., Insler, V. and Serr, D. M.: A modified in vitro spermatozoal penetration test. *Int. J. Fertil.* 18: 241, 1973.
- 11) Kremer, J., Jager, S. and Slochteren-Draaiisma, T. V.: The "Unexplained" poor postcoital test. *Fertil. Steril.* 28: 295, 1977.
- 12) 飯塚理八，己斐秀豊，小林俊文：不妊症学，金原出版，p 34, 1974.
- 13) 小林俊文，佐藤博久：人工授精，AIH，産婦人科 MOOK, 5: 296, 1979.
- 14) Kano, T., Nishikawa, K., Kanda, T., Miyazaki, K. and Sugimoto, O.: Plasma prolactin in luteal insufficiency and treatment with bromocriptine. *Jap. J. Fertil. Steril.* 28: 27, 1983.
- 15) Kano, T. and Nishikawa, K.: Bromocriptine therapy of luteal insufficiency accompanied with hyperprolactinemia in the follicular phase. *Acta. Obstet. Gynec. Jpn.* In Press.
- 16) Schwimmer, W. B., Ustay, K. A. and Behrman, S. J.: An evaluation of immunologic factors of infertility. *Fertil. Steril.* 18: 167, 1967.
- 17) Kremer, J. and Jager, S.: Treatment of infertility caused by antisperm antibodies. *Fertil. Steril.* 28: 316, 1977.
- 18) Kremer, J. and Jager, S.: The sperm-cervical mucus contact test: A preliminary report. *Fertil. Steril.* 27: 335, 1976.
- 19) 佐賀正彦：頸管不妊因子の処置，産婦の実際，20: 1171, 1977.

Analysis of the patients who are negative in Hühner test, and AIH

Takashi Kano and Kiyoshi Nishikawa
Nishikawa Gynecological Clinic

Four hundred patients were extracted at random from those who visited our clinic from 1978 to 1981. Hühner test gave negative results at three consecutive occasions in 138 out of the 400 patients (34.5%). Main factors responsible for the negative results of Hühner test in these patients were investigated by examination of seminal fluid cervical mucus as well as by determination of serum estradiol and prolactin levels. The main factors detected were insufficient estradiol secretion from follicles in 29 patients (21.0%), oligospermia in 27 patients (19.6%), some defect in cervical mucus in 22 patients (15.9%), insufficient secretion of cervical mucus in 18 patients (13.0%), hyperprolactinemia in the follicular phase in 14 patients (10.3%), and oligospermia in the presence of some other factors mentioned above in 28 patients (20.2%). These results suggest that the patients who are negative in Hühner test must rationally treated after the exact detection of the factors responsible for the negative results. AIH must be tried only for the patients who are persistently Hühner test-negative even after other rational treatment.

Key Words: Hühner-test, Estrogen, Prolactin, AIH.

(受付：昭和57年12月6日)

時間露光式測定法による精子運動能の研究

A Study of Human Sperm Velocity using Bulb Exposure Photography Method (Comparison of Normal and Infertile Human Semen)

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (主任: 飯塚理八教授)

中 野 眞 佐 男

Masao NAKANO

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Keio University
(Director: Prof. Rihachi IIZUKA)

男性の妊孕性に強く関与する精子の運動能について、より客観的に評価するため、新しく時間露光式測定法 bulb exposure photography method (BEP 法)を開発した。本法は暗視野顕微鏡を用い、100倍で鏡塔上の35mmカメラの1秒露光を行なうもので、前進運動精子は1秒間の精子頭部と尾部の運動軌跡として、振旋運動精子は固定した頭部と1秒間の尾部の運動軌跡として、非運動精子は頭部から尾部まで明瞭な像として投影可能とした。これらにより、精子濃度、精子運動率、精子運動速度、精子運動様式の算出が容易にできた。測定用 chamber の厚さは $25\mu\text{m}$ が最適であり、両面接着テープ ($25\mu\text{m}$) を用いて量産に成功した。本法を用いて以下の成績を得た。

1. 当不妊外来において女性側に特記すべき不妊因子を認め得ない配偶者の精子運動速度は $25.2 \pm 5.9\mu\text{m}/\text{sec}$ であった。これは control ($45.0 \pm 5.0\mu\text{m}/\text{sec}$) と比較して低い。
2. 排卵期の頸管粘液中を貫通し得た精子の運動速度は同液中で平均 $26.2\mu\text{m}/\text{sec}$ を示した。一方、貫通し得なかった精子の同液中における運動速度は平均 $19.2\mu\text{m}/\text{sec}$ であった。
3. 妊娠成立をみた症例の精子運動速度は $20\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で、それ未満では妊娠例を認めていない。
4. 次の諸因子と精子運動速度については相関を認め得なかった。
i) 年齢 ii) 精子濃度 iii) 精子運動率
5. 2分画射精の第1分画と第2分画の間で精子運動速度には差を示さないが、運動精子濃度は第1分画が第2分画の2.7倍であった。
(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 363-374. 1983)

結 言

不妊の主要因が男性側にある頻度は高く、男性の妊孕性検査は不妊診療上不可欠である。男性の妊孕性評価の指標としては、精液の一般性状所見が最も重要である。しかし、従来の精液検査として一般に行なわれている direct observation method¹⁾では精子運動率測定における確実性に乏しく、また、精子運動速度および運動様式の判定は不可能であった。著者は新たに時間露光式測定法 bulb exposure photography method (以下 BEP 法

と略す)を開発し、精子運動率を正確に測定するとともに、精子運動速度およびその運動様式を解析した。精子濃度、精子運動率と妊孕性の関係についてはすでに報告があるが²⁾、精子運動速度についての報告はなく、今回それを中心に BEP 法の臨床応用を以下の条項について検討した。

1. 女性側に特記すべき異常を認め得ない不妊群の精子運動速度と control (非配偶者間人工授精に供した donor 10例) の比較。
2. 頸管粘液を貫通の可、不可別の精子の運動速度。

3. 妊娠例の精子運動速度.
4. 年齢, 精子濃度, 精子運動率と精子運動速度の関連性.
5. 2 分画射精と精子運動速度.

研究対象

昭和55年6月より昭和56年11月までに慶応義塾大学病院産婦人科家族計画相談所を訪れた不妊を主訴とする男子164例と, control として非配偶者間人工授精(以下AIDと略す)に供した donor 10例の精液を対象とした.

研究方法

1. 精液採取

4日間以上の禁欲期間を設け, 当院にて用手法で精液を滅菌広口ビンに採取した. 採取精液を25°Cで液化させ, 採取1時間後の精液を研究に用いた.

2. BEP 法の開発

(1) 精子運動測定用 chamber の作製

精液を封入する chamber の厚さは, 薄いほど解像力が高度になる反面, 精子の運動を物理的に妨害することになる. したがって, 次のような予備実験を行なうことにより chamber の厚さは25 μ m が至適であることを確認した.

すなわち, マイクロピペットを用いて精液(精子濃度 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上, 精子運動率50%以上)を1.6~11.2 μ l 段階的に採取し, カバーガラス(18 $\times$ 18mm²)下に封入することにより, 5~35 μ m の液厚(すなわち chamber の厚さ)を得た. その各々につき BEP 法で精子運動を測定し, chamber の厚さが精子の運動におよぼす影響を検討した. 精子運動率は厚さ10, 5 μ m で低下し, 特に前進運動精子の割合が15 μ m 以上の群の値の $\frac{2}{3}$, $\frac{2}{5}$ と減少した(図1). 精子運動速度については厚さ25 μ m 以上で一定の速度を示すのに対し, 厚さが20, 15, 10, 5 μ m では各々厚さ25 μ m 以上の群の値の95, 92, 87, 47%に減少した(図2). これらの結果より, 精子運動を妨げないようにするには, chamber の厚さが25 μ m 以上必要であり, その中でもより薄い方が解像力が高度となることから, chamber の厚さは25 μ m に設定した.

そこで著者は新たに厚さ25 μ m の精子運動測定用 chamber を次の方法で作製した. すなわち, スライドガラス上に厚さ25 μ m の両面接着テープを15mm 間隔に4例平行させて接着し, さらにその上へカバーガラス(24 $\times$ 60mm²)を接着することにより, スライドガラス1枚で同時に3個の chamber を作製できた(図3).

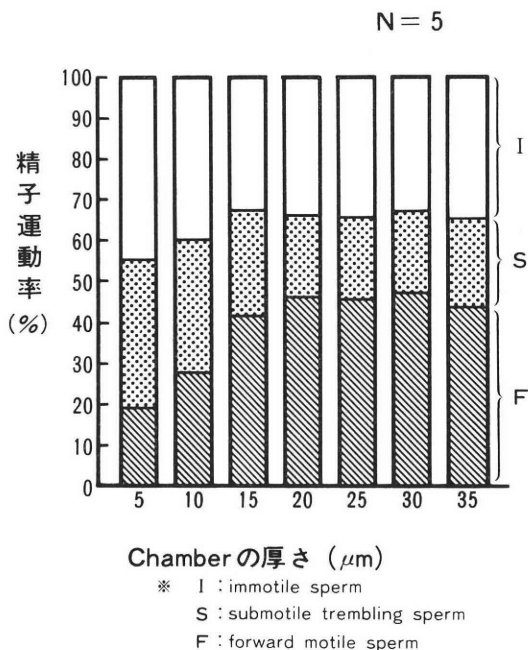


図1 Chamber の厚さが精子運動率におよぼす影響

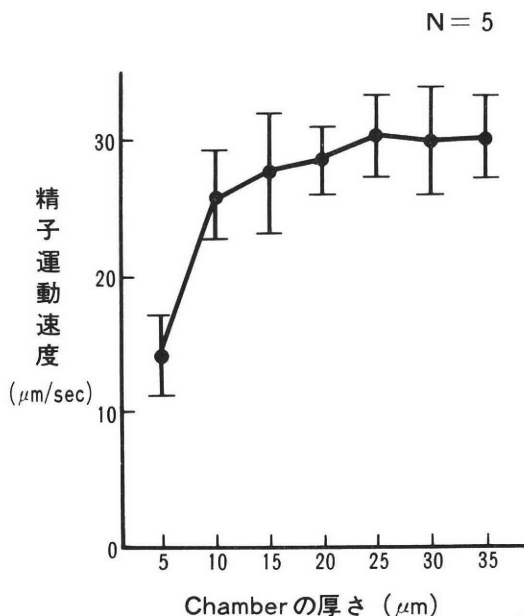


図2 Chamber の厚さが精子運動速度におよぼす影響

これにより chamber 作製を容易化するとともに, 量産も可能とした.

(2) 撮影法の工夫

精子の運動は時間経過, 温度, 希釈等により影響を受

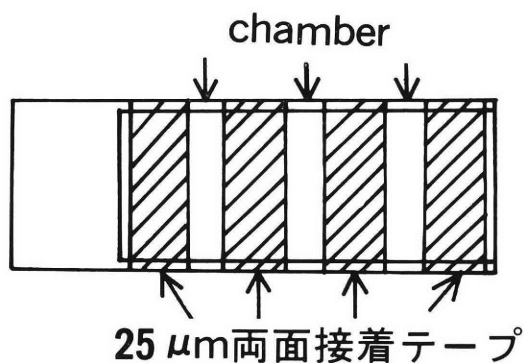
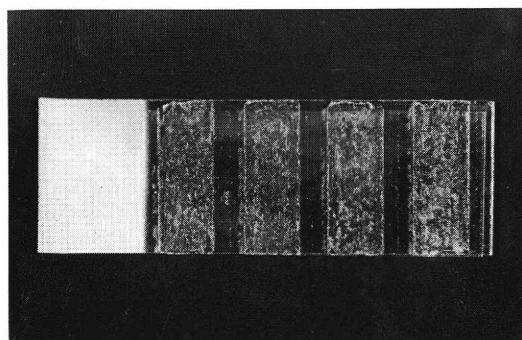
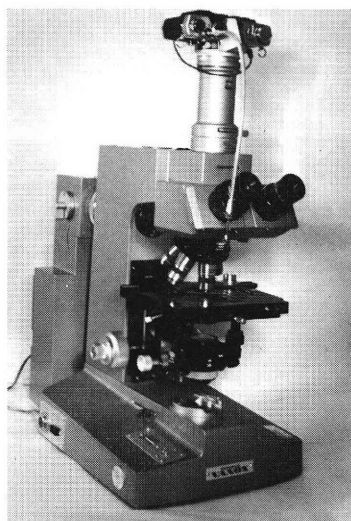


図3 精子運動測定用 chamber

けることが報告されており^{3,6)}、これらの同一条件下に測定する必要が生じる。すなわち、精液の液化後、精子運動率は時間経過とともに低下するのに対し、精子運動速度は採取後4時間で最高値を示し、以後漸減する³⁾ので、著者は精液の液化に必要な時間を含めて採取後1時間の精液を撮影・測定に供した。また、温度と精子運動率⁴⁾、精子運動速度⁵⁾の間には正の相関があり、著者は室内を空調にて25°Cに保った。精液を生食で倍希釈すると、精子運動速度が30%増となり⁶⁾、精子濃度を一定にして測定することには問題がある。著者は生理的条件下で測定する事を目的とし、原液中の精子運動を比較検討した。

撮影には暗視野顕微鏡(オリンパス VANOX)を用い、精子運動測定用 chamber に封入した試料を100倍鏡検し、鏡塔上に装置した35mmカメラ(オリンパス OM1)にて1秒露光撮影した(図4)。撮影時間は長い程、正確な情報を得られるが、実際上は視野の外に出てしまったり、交差して解析しにくくなるので、著者は予備実験により1秒露光が最適と考えた(読影距離がそのまま運動速度となる利点もある)。なお、フィルムは白黒ASA 400(フジ NEOPAN)を使用し、撮影時にデータバック(オリンパスレコーデータバック2)にてフ



コンデンサと対物レンズを暗視野用にして、カメラのシャッターを一秒開放にする

図4 BEP 法用撮影装置



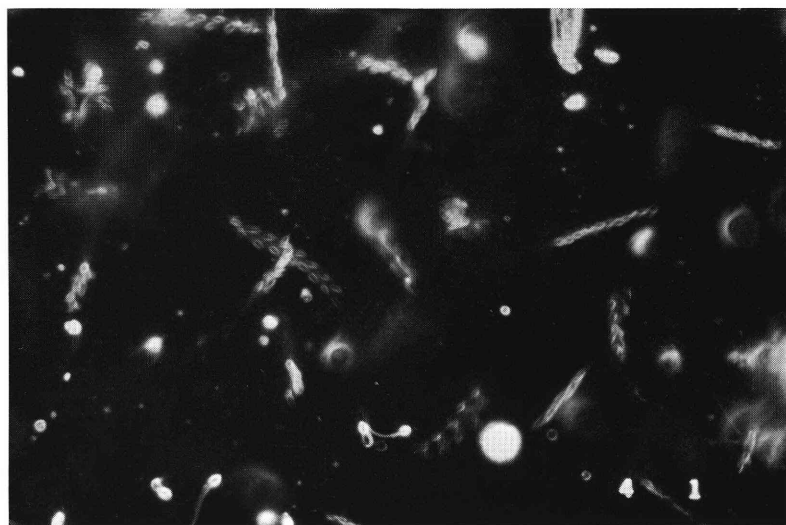
上の方式で撮影したフィルムを拡大し、紙上でトレースする

図5 読影用拡大器

ィルム上に直接検体番号を記録した。試料が精子運動測定用 chamber 内で静止していないと、フィルム上にブレを生じるので、chamber を載せる鏡台を水準器にて水平に保った。

(3) 撮影フィルムの読影法

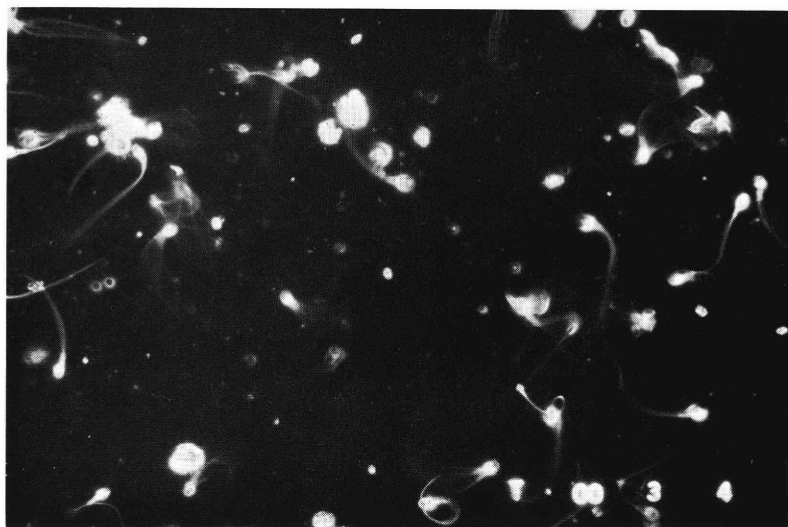
現像したフィルムは長巻きのまま拡大器(フジ enlarger)で投影し(図5)、精子運動を次のように紙上に記録した。



前進運動精子の各型が見られる



図6 BEP 法を用いて撮影したヒト精子の運動 (1)



前進運動精子はわずか4匹で、他は振旋運動精子と非運動精子が占めている

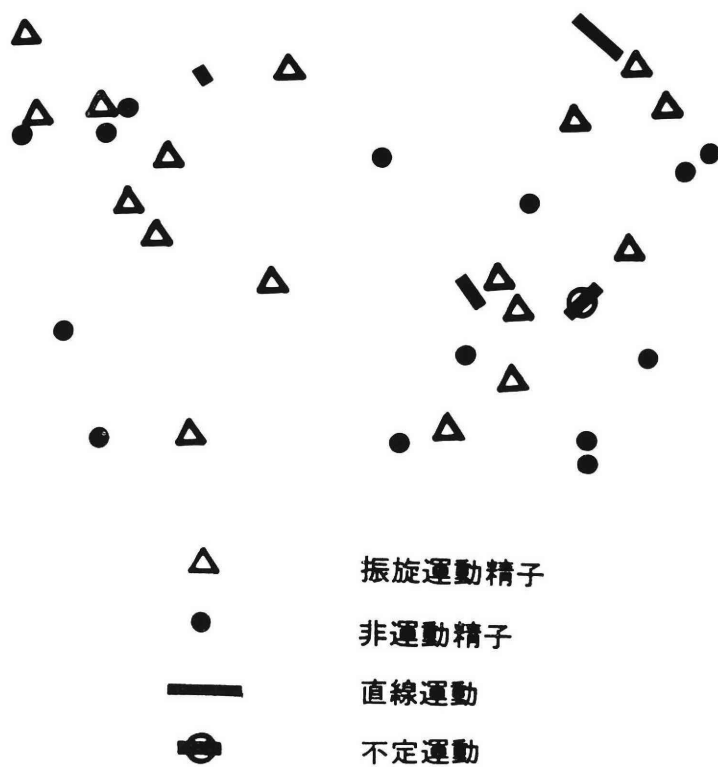


図7 BEP 法を用いて撮影したヒト精子の運動 (2)

i) 前進運動精子 (forward motile sperm)

前進をとまなう運動精子で、その軌跡を線分で示した。

ii) 振旋運動精子 (submotile trembling sperm)

運動はしているが、前進をとまなわない精子で、三角印で示した。

iii) 非運動精子 (immotile sperm)

全く運動していない精子で、点で示した。

(4) 精子運動能の示標計算法

上記により得られた記録紙から、次の計算式によって各示標を算出した。なお、精子の正確な運動距離を測定するため、同一条件下にマイクロメーターを撮影し、運動距離解析を定量化した。

$$i) \text{ 精子濃度} = \frac{N}{8} \times 10^6 / \text{ml}$$

$$ii) \text{ 精子運動率} = \frac{N_F + N_s}{N} \times 100\%$$

$$iii) \text{ 精子運動速度} = \frac{\sum D}{N_F} \mu\text{m/sec}$$

N : 4 視野中の全精子数

(1 視野は $350 \times 230 \mu\text{m}^2$)

N_F : 4 視野中の前進運動精子数

N_s : 4 視野中の振旋運動精子数

D : 1 個の前進運動精子の頭部の軌跡長 (始点から終点までの直線距離)

3. 頸管粘液中の精子運動測定法

Kremer の提唱した capillary penetration test の方法⁷⁾に準じ、排卵期の頸管粘液 (した状結晶Ⅲ度、分泌量 0.3ml 以上、牽糸性 10cm 以上) を毛細管 (直径 0.8 mm) 内に封入後、精液を入れた容器中に垂直に立てた。静置 2 時間後に精液-頸管粘液接着面より 1, 2, 3 cm の部位で毛細管を切断し、移動距離別の精子運動を BEP 法で検討した。

研究成績

1. BEP 法による精子運動の解像度

図 6, 7 に BEP 法で撮影した写真を示した。本法により精子をその運動様式から次の 3 種類に大別した (図 8)。

i) 前進運動精子 (forward motile sperm)

前進をとまなう運動精子で、頭部と尾部の運動軌跡となった。その運動様式はさらに直線運動、ジグザグ運動、円運動、不定運動に細分できた。

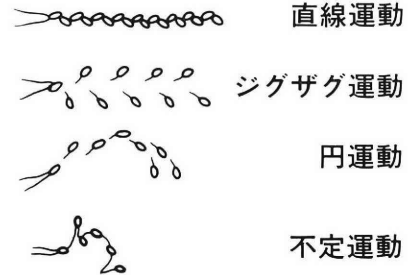
ii) 振旋運動精子 (submotile trembling sperm)

前進をとまなわない運動精子で、固定した頭部と、尾部の運動軌跡がみられた。

iii) 非運動精子 (immotile sperm)

I) 前進運動精子

forward motile sperm



II) 振旋運動精子

submotile trembling sperm



III) 非運動精子

immotile sperm



図 8 精子の運動

運動がみられない精子で、頭部から尾部まで明瞭な像として投影された。

2. 不妊患者の精子運動について

不妊外来において、女性側に特記すべき不妊因子を認め得ない配偶者 142 例の精子運動速度は $25.2 \pm 5.9 \mu\text{m/sec}$ で、さらに以下の知見を得た。

i) 年齢と精子運動速度の関係

今回の研究対象とした不妊患者の年齢分布は 19~57 歳で、各年齢群における精子運動速度の差はなかった (表 1)。

表 1 年齢と精子運動速度との関係

年齢	症例数	精子運動速度 ($\mu\text{m/sec}$)
19~24	6	25.6 ± 7.2
25~29	16	24.3 ± 5.7
30~34	68	25.7 ± 5.5
35~39	37	24.8 ± 5.6
40~44	8	24.9 ± 5.9
45~57	7	24.8 ± 6.3

ii) 精子濃度と精子運動速度の関係

症例を精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満, $10 \times 10^6 \sim 30 \times 10^6/\text{ml}$, $30 \times 10^6 \sim 50 \times 10^6/\text{ml}$, $50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の 4 群に分け、精子運動速度との関係を検討したが、各群間に差は認めなかった (図 9)。

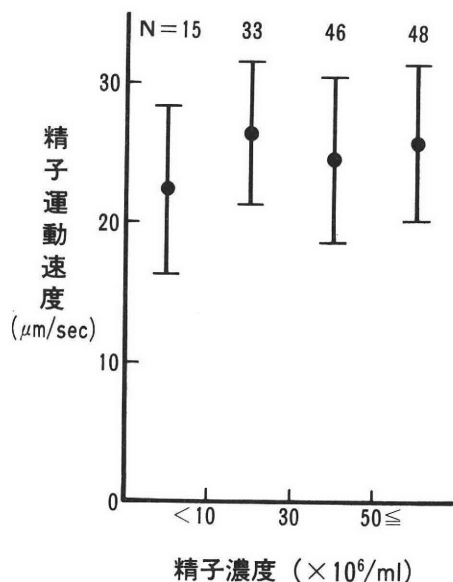


図9 精子濃度と精子運動速度との関係

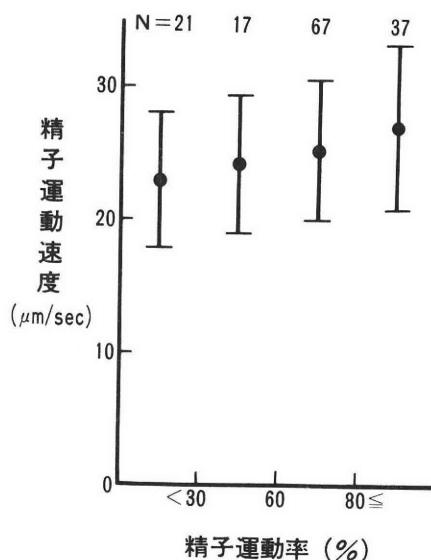


図10 精子運動率と精子運動速度との関係

iii) 精子運動率と精子運動速度の関係

精子運動率30%未満, 30~60%, 60~80%, 80%以上の4群で精子運動速度の比較を行なった。その結果, 精子運動率の上昇にともない精子運動速度が増す傾向を認めたが, 各群間に有意の差はなかった(図10)。

iv) 2分画射精における両分画の比較

精子減少症における配偶者間人工授精(AIH)の妊孕性改善策として, 2分画射精法が良い成績を得ている⁹⁾。今回, 本法を施行した12例について, 第1, 第2分画中

表2 2分画射精における各分画の運動精子濃度と精子運動速度

N=12		
	運動精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	精子運動速度 ($\mu\text{m}/\text{sec}$)
第1分画	32.7 ± 13.2	24.5 ± 2.4
第2分画	12.3 ± 7.9	23.1 ± 6.9

の精子運動を測定した結果, 第1分画は第2分画の2.7倍の運動精子濃度(1ml中の運動精子数)を認めたが($P < 0.001$), 精子運動速度には両分画の間で差はなかった(表2)。

v) 妊娠症例の精子運動能

不妊患者142例中, この期間内において妊娠を確認できたのは21例で(表3), 精子運動速度は20~34 $\mu\text{m}/\text{sec}$ の範囲にあつた。

3. AIDに供したdonorの精子運動について

AIDに供したdonor10例の精子運動速度は $45.0 \pm 5.0 \mu\text{m}/\text{sec}$ で, 不妊患者のそれに比して高値であつた。

4. 頸管粘液中の精子運動について

静置2時間後において, 精液—頸管粘液接着面からより, 遠位にまで前進した精子ほど精子運動率が高く($P < 0.001$)なり(図11), また精子運動速度においても同様の傾向($P < 0.001$)を認めた(図12)。

考 察

1. 従来の精液所見の評価とBEP法の開発の意義について

男性の妊孕性を判定する方法として現在まで最も広く行なわれている精液検査法は, 精液量, 精子濃度, 精子運動率をdirect observation method¹⁾によつて算出しているのが一般的である。しかし, direct observation methodによると, 精子運動率の算出が必ずしも客観的ではなく, 精子運動の質(精子運動速度, 運動様式)を記録, 確認することが不可能であつた。したがつて, 精液量, 精子濃度, 精子運動率の総合判定により従来は精液所見を評価していた。

その中でも, 特にFarrisの受胎係数⁹⁾は代表的な精液所見の評価法で, 私達の教室でも妊孕性との関連において種々の検討を行なつてきた。高島, 村山, 飯塚¹⁰⁾(1953年)は「不妊男子の精液所見」の論文中にてFarrisの受胎係数(射出精液中の全運動精子数 $\times 1/10^6$, 185以上をA群, 80以上185未満をB群, 80未満をC群, 0をD群と分類している)と妊娠率が必ずしも一致しない点を報告している。すなわち, Farrisが受胎低下症としたC群(80未満)の低い値を示す症例でも多数の妊娠例

表 3 妊 娠 症 例

症例	精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	精子運動率 (%)	精子運動速度 ($\mu\text{m}/\text{sec}$)	Post coital test の結果	授精様式	妊娠経過
1	12	49	25 ± 9		⁽¹⁾ N I	⁽³⁾ D
2	53	76	22 ± 13		N I	D
3	30	68	22 ± 11	陰 性	⁽²⁾ AIH	D
4	28	68	23 ± 7	陽 性	N I	D
5	17	62	28 ± 14		AIH	⁽⁴⁾ A
6	13	63	20 ± 9	陰 性	AIH	D
7	26	78	24 ± 11	陽 性	N I	D
8	40	70	25 ± 6	陽 性	N I	A
9	9	48	27 ± 10		AIH	D
10	52	72	23 ± 9	陰 性	AIH	D
11	46	69	26 ± 5		N I	D
12	7	18	20 ± 7		AIH	D
13	85	81	22 ± 13	陽 性	N I	D
14	30	66	22 ± 11	陰 性	AIH	A
15	50	78	20 ± 8		AIH	D
16	47	71	24 ± 12	陽 性	AIH	D
17	13	62	23 ± 14	陰 性	AIH	D
18	45	66	22 ± 13	陰 性	AIH	A
19	62	83	26 ± 17	陰 性	AIH	D
20	30	61	22 ± 9	陽 性	N I	D
21	15	65	34 ± 12		N I	D

(1) natural intercourse

(2) artificial insemination with husband

(3) full term delivery

(4) abortion

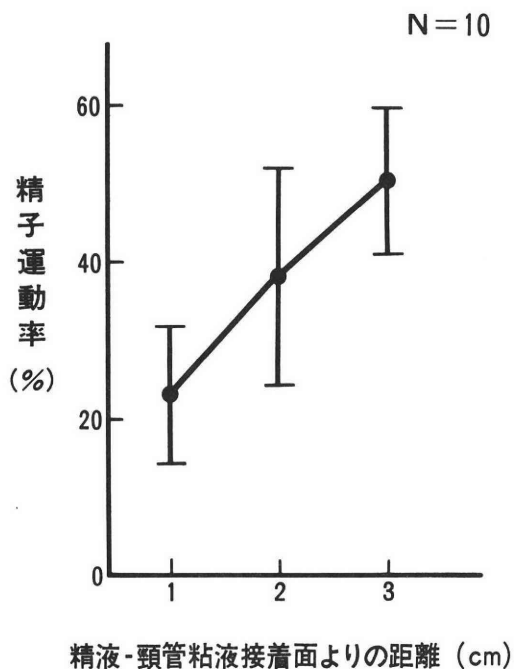


図11 頸管粘液中の精子運動率

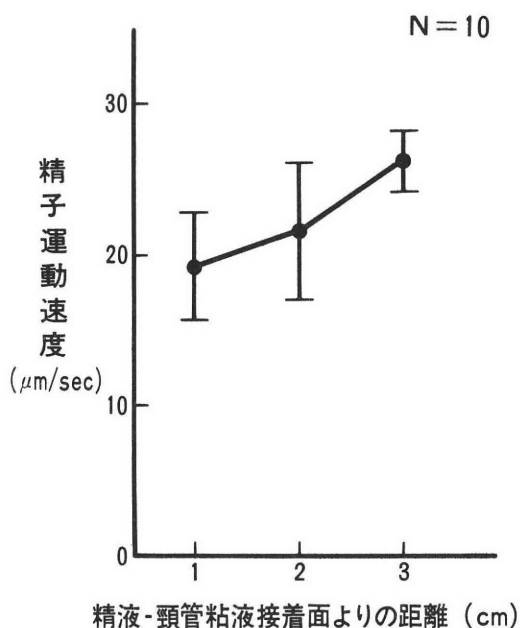


図12 頸管粘液中の精子運動速度

表 4 Farris の受胎係数と著者の受胎係数の同一症例における比較

Farrisの受胎係数	著者の受胎係数
精子濃度(/ml)×精子運動率(%) ×精液量(ml)×10 ⁻⁸	精子濃度(/ml)×全精子中で20μm/ sec以上の運動速度をもつ精子の占め る率(%)×精液量(ml)×10 ⁻⁸
① 185以上	① 80以上
症例1 * 76×10 ⁶ ×80×3.4×10 ⁻⁸ =207	76×10 ⁶ ×41×3.4×10 ⁻⁸ =106 (25μm/sec)
症例2 55×10 ⁶ ×76×6.6×10 ⁻⁸ =276	
② 80以上185未満	② 35以上80未満
症例3 * 62×10 ⁶ ×83×2.0×10 ⁻⁸ =103	62×10 ⁶ ×46×2.0×10 ⁻⁸ =57 (26μm/sec)
症例4 55×10 ⁶ ×79×2.2×10 ⁻⁸ =96	
③ 80未満(0は含まず)	③ 35未満(0は含まず)
	55×10 ⁶ ×5×6.6×10 ⁻⁸ =18 (12μm/sec)
	55×10 ⁶ ×23×2.2×10 ⁻⁸ =28 (18μm/sec)
症例5 * 12×10 ⁶ ×49×2.0×10 ⁻⁸ =12	12×10 ⁶ ×29×2.0×10 ⁻⁸ =7 (25μm/sec)
④ 0	④ 0

* は妊娠例

カッコ内の数字は平均精子運動速度

があり、受胎可能の下限は80ではなく、25が妥当と報告している。また、羽仁¹¹⁾(1960年)は「AIHの限界」の論文の中で、精子濃度 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例において4例の妊娠を報告している。これらから、精液の妊娠性を評価する場合、単なる運動精子の絶対量ではなく、精子の運動の質(速度、運動様式)を検討すべきであると考えられる。

そこで、Farrisの受胎係数と著者の考案した精子運動速度を加味した精液評価、すなわち著者の受胎係数(射出精液中で $20\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の運動速度を持った精子数 $\times 1/10^6$ 、80以上をI群、35以上80未満をII群、35未満を

III群、0をIV群とした)を比較すると、表4のごとく必ずしも一致しない症例が出現する。これは単に動きを示す精子はその運動の質がどうであろうと運動精子として評価されるFarrisの受胎係数に対し、著者は $20\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上の速度を示す精子を運動精子として評価したためである。その理由は今回の著者の追跡調査より妊娠例21例の精子運動速度はすべて $20\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上で、それ未満では1例の妊娠例も認めなかった事実による。したがって、従来の妊娠性について精液を評価する基準に精子の一定時間内の運動量、すなわち運動速度と運動様式を加味することを提唱したい。

この運動の質の測定法についても諸家より報告はあつた¹²⁻²¹⁾。石井ら¹²⁾によるトーマの血球計算盤の小四分画面上を1分間に通過する精子数を測定する方法は、精液を20倍に希釈する必要がある、希釈による精子運動に対する影響が加わる²⁾とともに、個々の精子の運動を記録することができなかつた。Sokoloski ら¹³⁾、Levin ら¹⁴⁾による turbidimetric analysis は精子そのものの運動以外の因子(水流など)が混入してしまう可能性が高く、VanDemark ら¹⁵⁾による electronic method と同様、個々の精子の運動を解析することは不可能であつた。Katz ら¹⁶⁾による video を用いた方法は経済的負担が大きく、またその解析法も複雑である。Makler¹⁷⁾、兼子ら¹⁸⁾、羽間ら¹⁹⁾による multiple exposure photography method は個々の精子の運動を記録できる点ですぐれているが、運動軌跡全体が投影されるのではなく、非連続性の点として表わされるので、正確な運動解析には不十分である。

今回、著者が開発した BEP 法により、個々の精子の運動を連続した軌跡で記録することが可能となつた。飯塚、原、吉田、松本、和光ら²⁰⁾(1950年)は「精液中の微生物の動態」の論文の中で、正常精液中にも各種の細菌およびトリコモナスが存在する症例のあることを報告しており、それら運動微生物と精子との判別も本法では容易である。以前、Rothschild ら²⁰⁾や Overstreet ら²¹⁾が本法に類した方法を報告しているが、その写真は必ずしも鮮明でなく、Makler らにより批判されている¹⁷⁾。著者はその原因を① chamber の厚さ、②フィルム感度および解像度、③顕微鏡の精度、④試料の静止法の4点にあると考え、その改善を行なつた。すなわち、① chamber の厚さを精子運動が物理的に障害されず、かつまた厚すぎて運動軌跡が不明瞭にならないよう設定するため、図1、2に示した予備実験を行なつた。その結果、精子運動を妨げないためには厚さ25 μ m 以上必要であり、解像力の点からより薄い方が好ましく、chamber の厚さは25 μ m に設定した。したがつて、厚さ10 μ m の Makler chamber¹⁷⁾では精子運動率および精子運動速度が低く出てしまうことになる。著者は厚さ25 μ m の両面接着テープを利用してこの chamber の量産に成功した(図3)。②フィルムは白黒 ASA 400を使用することにより、感度および解像度の問題を解決した。③顕微鏡はオリンパス VANOX を用い、暗視野100倍で鏡検、撮影した。④試料は水準器を用いて水平に保つた鏡台上に載せることにより静止させ、フィルム上のブレを防止した。以上の改善により、精子運動軌跡を鮮明に記録することが可能となつた。

本法により、精子濃度、精子運動率、精子運動速度、

精子運動様式の解析が容易となつた。特に、精子の頭部と尾部の運動が鮮明に投影されるので、本論文では前進運動精子、振旋運動精子および非運動精子に分別して論じた。従来、受精に直接関与するのは前進運動精子であると考えられてきたが、図8に示したように前進運動精子の運動様式にもさまざまな種類があり、この解析は今後の課題である。非運動精子の生存性については従来より超生体染色(エオジン・ニグロシン法)で確かめられており²³⁾、中には全く運動していないにもかかわらずエオジンに染まらない(生存している)精子のあることが確認されている。しかし、表3の如く、精子運動速度が20 μ m/sec 未満では妊娠症例を認めておらず、たとえ生存を確認できても非運動精子には妊孕能力がないと考え

る。BEP 法は従来の方法に比べて解像力が高く、写真解析等も容易であり、経済的にも負担がかからないので、ルーチンの精液検査はもちろんのこと、精子の運動に関する基礎的研究にも役立つものと信ずる。

2. 不妊患者の精子運動と妊孕性について

妊孕性の認められる正常男子の精子運動速度は、30.3 μ m/sec (Makler ら²⁴⁾)、29.7 μ m/sec (羽間ら¹⁹⁾)と報告されており、著者の AID donor を測定した値(45.5 μ m/sec)に比べて低値ではあるが、不妊患者142例の精子運動速度(25.2 μ m/sec)より高い。従来、精子濃度、精子運動率と妊孕性の関係については報告されているが²⁾、精子運動速度を考慮したものはなく、今回の知見より精子運動速度が妊孕性の示標の1つになりうると考える。また、不妊患者における妊娠症例の精子運動速度はすべて20 μ m/sec 以上であり、それ未満では妊孕性が低下すると考えられる。

今回著者が対象とした19歳から57歳の範囲内においては、加齢による精子運動速度の低下はみられなかつた。血中テストステロン値は70歳代まで有意な変化がなく、80歳以降において有意に低下する²⁵⁾ことや、70歳代においてもまだ充分精子形成能が保持されている症例がある²⁶⁾ことから、男性の妊孕性は女性のそれと比して加齢による影響を受けにくいと考える。精子濃度と精子運動速度の間には正の相関がある(Makler ら²⁴⁾)、相関はない(羽間ら¹⁹⁾)とされているが、著者は両者に相関を認めず、精子運動は精子自体の運動能力(ミトコンドリア量や精子形態)と精漿成分により決定され、これはあくまでも質の問題であると考えられる。精子運動率と精子運動速度の関連については正の相関があるとされているが^{19,24)}、著者は有意差を認めなかつた。したがつて、いかに精子運動率が悪くとも、運動精子の速度はいわゆる正常精液のそれと大差なく(図10)、この知見からも

AIH の有効性が再確認された。

2 分画射精により AIH の妊娠率が高くなるが⁸⁹⁾、両分画で精子運動速度に差はなく、むしろ運動精子濃度が改善されることが大きな要因と考えられる (表 2)。

3. 頸管粘液中の精子運動について

精子の通路として重要である頸管粘液は、その成分であるムチンによつて柱状構造をとることが明らかにされている。排卵期にこの構造が完成し、精子が子宮腔内へ侵入可能となるが、その数は精液中の精子数に比して少なくなる²⁷⁾。著者は *in vitro* で頸管粘液中の精子運動を精液—頸管粘液接着面よりの距離別 (1, 2, 3cm) に測定し、頸管粘液による精子分別を検討した。精子運動率、精子運動速度ともに接着面より遠ざかるほど (*in vivo* において頸管粘液を貫通し、子宮腔内へ侵入できると考えられる位置) 高値となり、2 時間の時間経過を考慮に入れる ($10\mu\text{m}/\text{sec}$ の速度でも 3.6cm 移動できる) と、精子が頸管粘液 barrier を越えるには、良い運動能を持っていることが必要条件であると考えられる。

結 論

1. 時間露光式精子運動測定法 (BEP 法) を新たに開発し、精子濃度、精子運動率、精子運動速度、精子運動様式の客観的な記録、測定を可能にした。

2. 女性側に特記すべき不妊因子を認め得ない不妊患者 142 例の精漿中精子運動速度は $25.2 \pm 5.9\mu\text{m}/\text{sec}$ で、control (AID に供した donor) の $45.0 \pm 5.0\mu\text{m}/\text{sec}$ に比較して低い。

3. *in vitro* において、排卵期の頸管粘液中 (3cm) を貫通し得た精子の運動速度は同液中で $26.2 \pm 2.0\mu\text{m}/\text{sec}$ を示した。一方、貫通し得なかつた精子の同液中における運動速度は $19.2 \pm 3.6\mu\text{m}/\text{sec}$ で、両者の間には有意の差がある。

4. 対象症例 142 例中、この期間内に妊娠成立をみたものは 21 例で、その精子運動速度は $20\mu\text{m}/\text{sec}$ 以上であり、それ未満では妊娠例を認めていない。

5. 年齢 (19~57 歳)、精子濃度、精子運動率と精子運動速度の間には相関を認め得なかつた。

6. 2 分画射精の第 1 分画と第 2 分画の間で、精子運動速度には差を示さないが、運動精子濃度 (1 ml 中の運動精子数) は第 1 分画が第 2 分画の 2.7 倍あつた。

稿を終わるにあたり、御懇篤なる御指導、御校閲を賜わった恩師飯塚理八教授に謹んで深謝を捧げます。また、終始御指導、御鞭撻を頂いた河上征治講師に深く感謝致します。精子の生殖生理について御指導いただいた小林俊文講師、森定優博士、精子運動測定法について御

協力いただいた兼子智博士をはじめ、当教室家族計画相談所の諸兄姉に感謝いたします。

(なお、本論文の要旨は第 25 回日本不妊学会総会シンポジウムおよび第 26 回日本不妊学会総会において発表された。本研究は日母おぎゃー献金基金の援助を受けた)。

文 献

- 1) Eliasson, R.: Analysis of semen. Progress in infertility. p 691, Boston, Little Brown Co., 1975.
- 2) 河上征治, 小林俊文, 真井徳幸: AIH の適応と効果, 産婦の世界, 28: 723, 1976.
- 3) Makler, A., Zaidise, I., Paldi, E., and Brandes, J. M.: Factors affecting sperm motility. I. *in vitro* change in motility with time after ejaculation. Fertil. Steril. 31: 147, 1979.
- 4) Appell, R. A., and Evans, P. R.: The effect of temperature on sperm motility and viability. Fertil. Steril. 28: 1329, 1977.
- 5) Milligan, M. P., Harris, S. J., and Dennis, K. J.: The effect of temperature on the velocity of human spermatozoa as measured by time-lapse photography. Fertil. Steril. 30: 592, 1978.
- 6) Makler, A., Blumenfeld, Z., Brandes, J. M., and Paldi, E.: Factors affecting sperm motility. II. human sperm velocity and percentage of motility as influenced by semen dilution. Fertil. Steril. 32: 443, 1979.
- 7) Kremer, J.: A simple sperm penetration test. Int. J. Fertil. 10: 209, 1965.
- 8) 小林俊文: 二分画射精に関する研究, 日不妊誌, 15: 7, 1970.
- 9) Farris, E. J.: The number of motile spermatozoa as an index of fertility in man. A study of 406 semen specimens. J. Urol. 61: 1099, 1949.
- 10) 高島達夫, 村山 茂, 飯塚理八: 不妊男子の精液所見, 産婦の世界, 5: 1099, 1953.
- 11) 羽仁宮生: 不妊治療としての配偶者間人工授精 (AIH) の限界, 日不妊誌, 5: 126, 1960.
- 12) 石井延久, 光川史郎, 白井将文: 精子運動率算定法の再検討, 日不妊誌, 21: 196, 1976.
- 13) Sokoloski, J. E., Blasco, L., Storey, B. T., and Wolf, D. P.: Turbidimetric analysis of human sperm motility. Fertil. Steril. 28: 1337, 1977.
- 14) Levin, R. M., Greenberg, S. H., and Wein, A. J.: Clinical use of the turbidimetric analysis of sperm motility: Comparison with visual techniques. Fertil. Steril. 35: 332, 1981.
- 15) VanDemark, N. L., Salisbury, G. W., and Moeller, A. N.: Exploration of electronic methods for evaluating sperm motility. Science 127: 286, 1958.

- 16) Katz, D. F., and Overstreet, J. W.: Sperm motility assessment by videomicrography. *Fertil. Steril.* 35: 188, 1981.
- 17) Makler, A.: A new multiple exposure photography method for objective human spermatozoal motility determination. *Fertil. Steril.* 30: 192, 1978.
- 18) 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 溶液を用いた洗浄精子について, *日不妊誌*, 25: 491, 1980.
- 19) 羽間 稔, 松本 修, 高田健一, 富岡 収, 守殿貞夫, 石神襄次: Multiple exposure photography method を用いた精子運動の研究 第1報, *日不妊誌*, 27: 104, 1982.
- 20) Rothschild, L., and Swann, M. M.: The fertilization reaction in the sea-urchin egg. *J. Exp. Biol.* 26: 164, 1949.
- 21) Overstreet, J. W., Katz, D. F., Hanson, F. W., and Fonseca, J. R.: A simple inexpensive method for objective assessment of human sperm movement characteristics. *Fertil. Steril.* 31: 162, 1979.
- 22) 飯塚理八, 原 晋二, 吉田 豊, 松本裕太郎, 和光寛明, 大村 澁: 冷凍精液中の微生物の動態, *日不妊誌*, 5: 283, 1950.
- 23) Eliasson, R.: Supravital staining of human spermatozoa. *Fertil. Steril.* 28: 1257, 1977.
- 24) Makler, A., Itskovitz, J., Brandes, J. M., and Paldi, E.: Sperm velocity and percentage of motility in 100 normospermic specimens analyzed by the multiple exposure photography (MEP) method. *Fertil. Steril.* 31: 155, 1979.
- 25) 今野 稔, 穂坂正彦, 西村隆一, 高井修道: 正常男子血中 Testosterone の年齢的变化, *ホと臨床*, 23: 1013, 1975.
- 26) 黒土 稔: 睾丸及び前立腺の組織学的研究, *横浜医学*, 22: 55, 1971.
- 27) Odeblad, E.: The functional structure of human cervical mucus. *Acta Obst. Gyn. Scand.* 47: 57, 1968.

A study of human sperm velocity using bulb exposure photography method (Comparison of normal and infertile human semen)

Masao Nakano

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Keio University
(Director: Prof. Rihachi Iizuka)

In order to evaluate more objectively the motility of sperms which participates closely in fertility in males, I have developed a bulb exposure photography method (BEP method). By this method, which employs a dark field microscope with a 35 mm camera mounted on its tube, it is possible to have projections of the track of movement made by the head and tail of forward motile sperms, the track of the tail with the fixed head of submotile trembling sperms and a clear image from the head to the tail of immotile sperms respectively during one second of exposure. Now, based on the above it was easy to calculate the sperm density, motility, velocity as well as its mode of motion. The adequate thickness of the chamber was 25 μm and these chambers were successfully made with use of both-sided adhesive tape (25 μm).

The followings are the results obtained by this method:

1) Sperm velocities obtained from those spouses whose wives did not show any noticeable infertile factors in our outpatient infertile clinic were in the range of $25.2 \pm 5.9 \mu\text{m}/\text{sec}$, which was found lower as compared to control ($45.0 \pm 5.0 \mu\text{m}/\text{sec}$).

2) The average velocity of sperms that passed through cervical mucus was $26.2 \mu\text{m}/\text{sec}$ in mucus, while that of those that failed to pass through cervical mucus was $19.2 \mu\text{m}/\text{sec}$, at ovulatory phase.

3) Sperm velocities found in materialized pregnancy cases were not less than $20 \mu\text{m}/\text{sec}$ and where the velocities were less than that, there was no case of pregnancy.

4) No correlations were recognized between sperm velocity and the followings:

i) age, ii) sperm density and iii) sperm motility

5) In split ejaculations, there was no difference discovered in the sperm velocity between the first and the second fraction, however, the density of motile sperms in the first fraction was 2.7 times higher than that found in the second fraction.

(受付: 昭和58年2月23日, 特掲)

Prolactinoma 患者の術前・術後における 性機能とその予後について

Sexual Function and Outcome before and after
Pituitary Surgery in Patient with Prolactinoma

新潟大学医学部産科婦人科学教室（主任：竹内正七教授）

広 橋 武 花 岡 仁 一 須 藤 祐 悦
Takeshi HIROHASHI Jinichi HANAOKA Yuetsu SUDO

田 中 邦 男 佐 藤 芳 昭 竹 内 正 七
Kunio TANAKA Yoshiaki SATO Shoshichi TAKEUCHI

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

乳汁分泌無月経症候群（GAS）と診断され、craniogram, CT-scan などの脳外科的検索にて下垂体腺腫を認めた27例について術前・術後における性機能とその予後について検討した結果、以下の如き結果を得た。

- 1) 重症排卵障害である第Ⅱ度無月経が26/27例（96.3%）をしめた。
- 2) 術後自然排卵のあつた症例は5/25例（20.0%）で、いずれも術後1～2ヶ月（平均1.4ヶ月）の早期に排卵がおこっている。
- 3) CB-154, clomid, HMG-HCG で排卵はしたが妊娠しない例は11/25例（44.0%）あつたが、これらのうちBBT上黄体機能不全が認められたものが10/11例（90.9%）あり、prolactinomaの手術後のPRLが低下したにもかかわらず妊娠しない症例には黄体機能不全例も存在している可能性があることが示唆された。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 375-380, 1983)

I. 緒 言

近年、prolactin（以下PRLと略）のradioimmunoassay（RIA）の確立¹⁾とともに、無月経婦人の20%にも高プロラクチン血症が発見されるようになってきた²⁾。これらはいわゆる乳汁分泌無月経症候群（galactorrhea amenorrhea syndrome: GASと略）という病態で総括されている。このGASをきたす原因疾患のうち約30%が下垂体からのプロラクチン過剰産生（いわゆるForbes Albright症候群）であるといわれている³⁾。今回、我々はGASと診断されcraniogram, CT-scanなどの脳外科的検索にて下垂体腺腫を認めた27例についてprolactinomaの術前・術後における性機能と妊娠成立を主とした予後についての検討を行った。

II. 研究対象と方法

昭和52年1月より昭和57年8月まで過去5年7ヶ月の間に新潟大学附属病院産婦人科内分泌外来を受診しGASと診断されcraniogram, CT-scanなどにより下垂体腺腫と診断された27例を対象とした。これらの症例はHardyによるⅠ～Ⅳ型に分類した。ホルモン測定用血液の採血は、原則として午前9時より12時の外来診察時に行い、直ちに血清分離し、-25°Cで凍結保存した。血清中PRL, FSH, LH, Estradiolの測定は第一ラジオアイソトープ社のRIA-kitを使用した。

III. 成 績

Table 1に示すごとく検討例における初潮年齢は12～

Table 1 Pituitary PRL producing adenoma

menarche (mean)	13.1 y. (12-15 y.)
amenorrhea I °	1(3.7%)
amenorrhea II °	26(96.3%)
total	27(100%)
duration of lactation (mean)	3.1 y. (0.5-7.0 y.)
duration of amenorrhea (mean)	3.8 y. (0.4-13.0 y.)

Table 2 Pituitary PRL producing adenoma

	ope. (+)		(-)
Hardy I	11	11	0
Hardy II	8	6	2
Hardy III	8	8	0
total	27	25	2
	(100%)	(92.6%)	(7.4%)

15歳(平均13.1歳), 乳汁分泌期間は0.5~7.0年(平均3.1年), 無月経期間は0.4~13.0年(平均3.8年)である。またオオホルモンテウム30mg 筋注による第I度無月経は1例(3.7%), 第II度無月経は26例(96.3%)であった。次に下垂体腺腫を Hardy 分類に従って分類すると, Hardy I型は11例(40.8%), II型は8例(29.6%), III型は8例(29.6%)であり, このうち手術をしなかった症例は, 後述する Hardy II型の2例のみであった((Table 2)。

Table 3は手術後, 自然排卵がみられた症例と CB-154 (bromocriptine), clomid, HMG-HCG 療法などにより排卵を誘発した症例を比較検討したものである。これをみると, 手術前には全例自然排卵はなかったが術後に自然排卵をみたものが Hardy I型で4例, II型で1例, 合計5例(20.0%)認めた。また CB-154のみの内服で排卵を認めたものは Hardy I型で5例, II型で4例, III型で3例, 合計12例(48.0%)認めた。clomid,

Table 4 Cases of spontaneous ovulation (postoperation)

Hardy I	1. 1.3 M
	2. 1.5 M
	3. 2.0 M
	4. 2.5 M
Hardy II	1. 1.0 M
	mean 1.4 M

Table 5 Type of BBT (ovulation (+), pregnancy (-)) (postoperation)

	PRL ng/ml	
Matsumoto I type	1(9.0%)	5.0
II type	2(18.2%)	8.7
III type	4(36.4%)	21.6
IV type	4(36.4%)	78.8
total	11(100%)	38.5(mean)

Table 6 Type of BBT (ovulation (+), pregnancy (+)) (postoperation)

	PRL ng/ml	
Matsumoto I type	8(57.1%)	23.7
II type	4(28.6%)	42.2
III type	2(14.3%)	49.1
IV type	0	
total	14(100%)	38.3(mean)

HMG-HCG などの排卵誘発剤にて排卵を認めたものは, Hardy I型で2例, II型で1例, III型で4例, 同計7例(28.0%)認めた。以上まとめると, Hardy I型で術後排卵を認めたものは11/11例(100%), うち妊娠例は3/11例(27.3%), II型では6/6例(100%), うち妊娠例は6/6例(100%), III型では7/8例(87.5%), うち妊娠例は4/8例(50.0%)であった。Hardy II型で手術しなかった2例のうち1例は CB-154のみで妊娠成立他の1例は CB-154 と HMG-HCG 療法で妊

Table 3 Induction of ovulation (postoperation)

	sp. ov.	CB-154	clomid	CB-154 clomid	HMG-HCG	CB-154 HMG-HCG	ovulation	pregnancy
Hardy I	4	5	1	1	0	0	11/11(100%)	3/11(27.3%)
Hardy II*	1	4	0	0	0	1	6/6(100%)	6/6(100%)
Hardy III	0	3	0	1	0	3	7/8(87.5%)	4/8(50.0%)

* Hardy II ope (-)

CB-154 only→preg.: 1

CB-154+HMG+HCG→preg.: 1

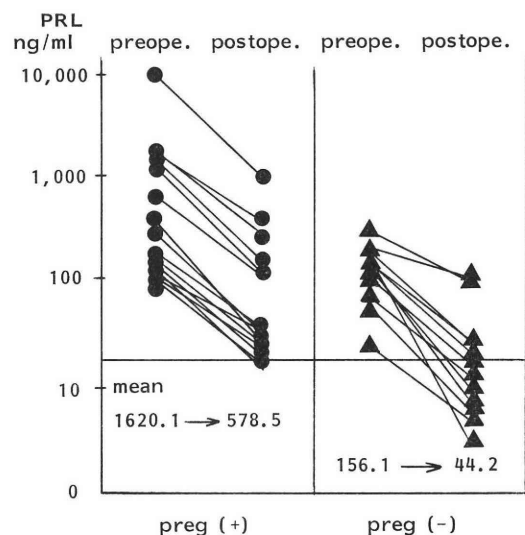


Fig. 1 Serum PRL levels

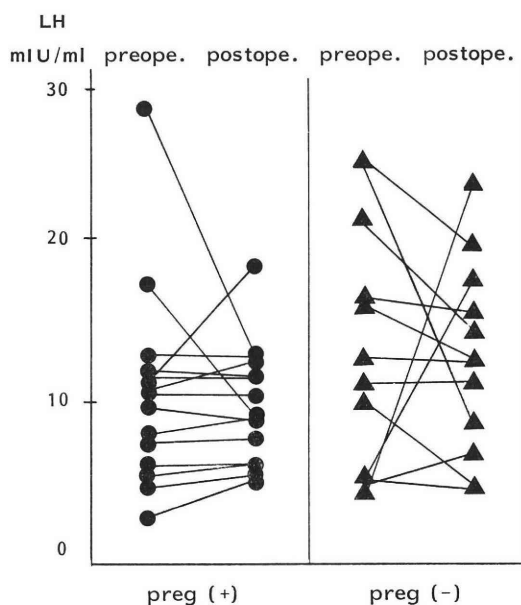


Fig. 3 Serum LH levels

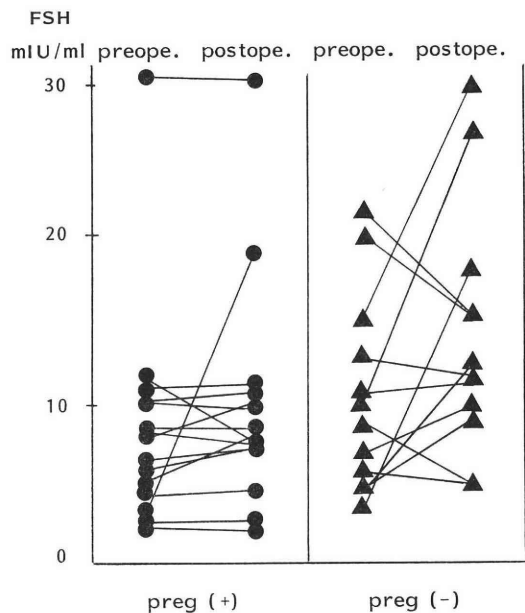


Fig. 2 Serum FSH levels

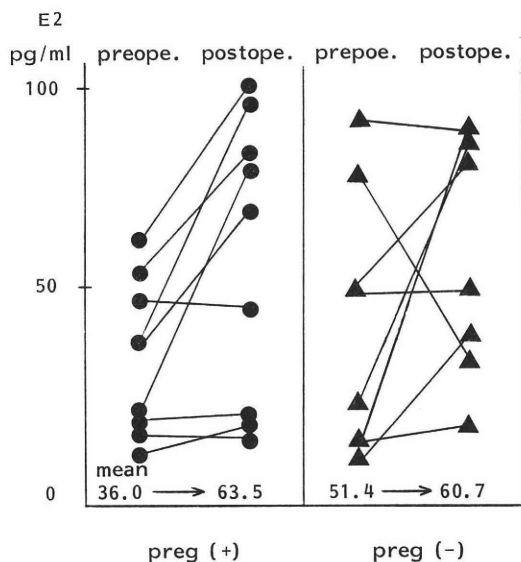


Fig. 4 Serum E2 levels

娠成立した。次に術後自然排卵を認めた5例について術後どれくらいの期間に排卵を認めたかを示したのがTable 4である。これで見ると、平均1.4ヶ月で自然排卵を認めたことになる。Table 5は種々の誘発剤により排卵はあつたが妊娠しない症例11例について黄体機能不全の有無を基礎体温上分類(松本の分類)したものである。これを見ると、II~IV型に属していわゆる基礎体温上黄体機能不全を認められる症例は10/11例(90.9%)あつた。これと比較の意味で、手術後排卵が認められ

つ妊娠が成立した症例14例について同様な検討を行つたところ基礎体温上黄体機能不全が認められた症例は6/14例(42.9%)と前者に比してかなり低かつた(Table 6)。ただし、非妊娠例の中には他の不妊因子、例えば卵管因子、男性因子などの異常は認められなかつた。Fig. 1は術前と術後のPRL値を妊娠した群としない群とで比較したものである。妊娠した群では、血中PRLの平均値が1620.1ng/mlから578.5ng/mlへと約

1/2.8に減少している。一方妊娠しない群では156.1ng/ml から44.2ng/ml へと約1/3.5に減少している。Fig. 2は術前術後の FSH 値を妊娠した群としない群とで比較したものである。両者間で特に有意な差は認められないが妊娠群で1例、非妊娠群で3例、術後 FSH 値が上昇する例が認められた。Fig. 3は術前・術後の LH 値を妊娠群と非妊娠群とで比較したものである。FSH と同様に術後上昇する例が3例認められた。Fig. 4は血中 Estradiol (E2) 値の比較である。妊娠群では、平均血中 E2 値は36.0pg/ml から63.5pg/ml へと約1.8倍の上昇が認められた。一方非妊娠群では51.4pg/ml から60.7pg/ml へと約1.2倍の上昇が認められた。

IV. 考 案

最近まで下垂体腺腫は腫瘍が増大して視力、視野の異常を来してはじめて発見されたが、PRL の RIA の確立や craniogram, CT-scan などの神経放射線学の進歩により直径10mm未満の微小腺腫 (microadenoma) の段階で発見されることが多くなり、かつ発見率が高くなってきた。また経蝶形骨洞的に腫瘍を摘除する Hardy 手術³⁾や dopamin agonist の bromocriptine の出現により、下垂体機能を温存しながら PRL 値を低下させると、無排卵症の回復と妊娠が高率に期待できるようになってきた。今回 GAS と診断されかつ craniogram や CT-scan などにより下垂体腺腫が認められた27例について検討したが、初潮年齢、乳汁分泌期間、無月経期間に関しては、当科石黒が報告⁴⁾しているように器質性 GAS の方が機能性 GAS よりやや長いようだが両者間に著明な有意差は認められなかった。しかし排卵障害の程度では第Ⅱ度無月経が26/27例 (96.3%) 認められ機能性 GAS の7/12例 (58.3%) よりかなり高率を示している。Hardy の手術後、自然排卵をおこした例は5/25例 (20.0%) で、術後平均1.4ヶ月で排卵がおきている。したがって術後排卵誘発を行う場合、約1～2ヶ月間様子をみて自然排卵が認められなかった場合に誘発剤を使用するのが適当と思われる。自然排卵がおきた5例中4例は Hardy I 型であり、macroadenoma よりも当然手術侵襲の少ない microadenoma の方が術後自然排卵をおこしやすい傾向がある。同様に術後 CB-154 投与や clomid, HMG-HCG 療法を行った症例をみても、Hardy I 型、II 型ともに100%排卵がおきている。しかし妊娠率をみると Hardy II 型が6/6例 (100%)、III 型が4/8例 (50.0%) 妊娠しているのに Hardy I 型は3/11 (27.3%) しか妊娠していない。これは黄体機能不全などの他の不妊因子が深く関与しているものと推察される。事実基礎体温上、松本の分類に従って分類してみる

と、排卵があり妊娠しない群は排卵があり妊娠した群に比し約2.1倍の黄体機能不全が認められた。ただし非妊娠例の中には、他の不妊因子、例えば卵管因子、男性因子などの異常は認められなかった。Fig. 1に示した術後における PRL 値の低下率に関してみると非妊娠群の方が妊娠群よりも PRL 値の低下率がやや高いという問題も、黄体機能不全などの他の因子が関与している可能性が示唆される。実際問題として、術後の排卵の有無により PRL の低下率を比較するのが適当と思われるが、今回の調査では術後排卵のなかった症例は1/25例 (4.0%) で比較検討し得るだけの例数がなかった。次に術後の FSH, LH の増減をみると術前値よりも術後の FSH, LH が上昇している例が数例認められた。この原因は明確に解析し得ないが William S. ら⁵⁾も述べているように視床下部と下垂体において dopamine, norepinephrine などが関与している short loop の tuberohypophyseal neuron system や reticulo hypothalamic neuron system が作用しているのかもしれない⁶⁾。次に Fig. 4で示したように妊娠群では、非妊娠群に比べて術後の E2 値は基礎値においても、また上昇率においても高い傾向を示している。これは、手術により下垂体腺腫を摘除することにより feedback mechanism が正常に回復した結果と思える。

GAS の原因が下垂体腺腫であつた場合、特にそれが microadenoma であつた場合の治療法については、未だ一定の方式が確立されていない。すなわち Hardy の経蝶形骨洞的に microadenoma を外科的に除去する方法か、bromocriptin による腫瘍縮小効果を期待する薬物療法⁷⁾をするか、いずれがすぐれているかはまだ不明である。March⁸⁾は43例の microadenoma を長期にわたって follow up した結果、少なくとも4年間は大きな変化を認めず、中には自然に PRL の低下をみて正常周期を得た例もあると述べ、薬物療法により経過を観察すべきで、直ちに手術療法はしない方がよいと述べている。また青野⁹⁾は macroadenoma を含む不妊を主訴とする prolactinoma 婦人の治療方針として、まず macroadenoma の場合は、トルコ鞍の外伸展の著しい jumbo adenoma があれば bromocriptine により腫瘍の縮小を図つたのちに、expansive adenoma ならば直ちに Hardy 手術を行う。一方 microadenoma については、両療法の長所、短所を説明した上で原則として bromocriptine 療法を行うが、希望により Hardy 手術を先行させることがあると述べている。しかし microadenoma はある時期を経て必ず macroadenoma になるのか否か、CB-154のいわゆる抗腫瘍効果は持続的なかどうか、CB-154使用後の手術は、かえって fibrosis

などのため手技を困難にするなどの主張もあつて、現在ではどの方法を先行させるかについては、各施設毎に検討されており、一定した方式と見解は確立されていないと思われる。

高プロラクチン血症が存在すると、なぜ無排卵状態になるのかという点に関しても必ずしもまだ解明されたとは言いがたい。現象的には視床下部への作用と、卵巢そのものに対する直接作用の2つが考えられるであろう。プロラクチン分泌の上位中枢である *tubero infundibular neuron system* を通じての *dopamine*, *norepinephrine* などは、*LH-RH* の分泌中枢とも連絡がある⁵⁾。高プロラクチン血症が持続するために、この *feedback mechanism* の破綻は、当然 *LH* の *positive feedback* を中心とする *mechanism* の異常として現れ無排卵となると考えるものであり¹⁰⁾、もう一方の卵巢に対する高プロラクチン血症の影響については、すでに我々も報告したように¹¹⁾、ある期間高プロラクチン状態に卵巢組織がさらされると、*FSH*, *LH* などのゴナドトロピンに対する感受性は明らかに低下することが判明しており、この2つの原因のどちらか、または2つが複合していわゆる *GAS* の病態が成立すると思われる。いづれにしても *GAS* の症例の多くに不妊症が含まれており、高プロラクチン血症の原因を問わず *bromocriptine* によるプロラクチンレベルの低下がみられることから、今回のように *pituitary adenoma* を有する患者であつても、術後血中プロラクチンレベルの低下が不十分な患者には、その性機能の回復および妊娠を成立させるためには、*bromocriptine* の併用は欠かせない治療法といえる。

妊娠例については、すでに別に報告した¹²⁾ので今回はその詳細については触れない。

V. 結 語

以上 *GAS* と診断され *craniogram*, *CT-scan* などの脳外科的検索にて下垂体腺腫を認めた27例について術前、術後における性機能とその予後について検討した結果をまとめると次に示すごとくであつた。

1) 重症排卵障害である第Ⅱ度無月経が26/27例(96.3%)を占めた。

2) 術後自然排卵のあつた症例は5/25例(20.0%)でいずれも術後1~2ヶ月(平均1.4ヶ月)の早期に排卵がおこっている。

3) *bromocriptine*, *clomid*, *HMG-HCG* 療法で排卵はしたが妊娠しない例は11/25例(44.0%)あつたが、これらのうち *BBT* 上黄体機能不全が認められたものが20/11例(90.9%)あり *prolactinoma* の手術後の *PRL* が低下したにもかかわらず妊娠しない症例には、プロラ

クチンレベルが関与している黄体機能不全例も存在している可能性があることが示唆された。

稿を終るにあたり、協同研究者として種々の御教示を頂いた新潟大学脳研究所脳神経外科の佐藤宏助手、田中隆一教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Hwang, P., Guyda, H., and Friesen. H.: A radioimmunoassay for human prolactin, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 68: 1902, 1971.
- 2) 佐藤芳昭: 乳汁漏出を主徴とする症候群, 臨婦産, 34: 169, 1980.
- 3) Hardy, J.: Transsphenoidal microsurgery of the normal and pathological pituitary, *Clin. Neurosurg.*, 16: 185, 1968.
- 4) 石黒隆雄: 乳汁分泌無月経症候群の内分泌学的背景に関する研究, 日本不妊学会誌, 27: 222, 1982.
- 5) William S. Evans, Michael J. Cronin, and Michael O. Thorner: Hypogonadism in Hyperprolactinemia, *Frontiers in Neuroendocrinology*, 7: 77, 1982.
- 6) Robert, Y. M.: Neuroendocrine regulation of reproduction, *Reproductive Endocrinology*, 3: 3, 1979.
- 7) McGregor, A. M., Scanlon, M. F., Hall, R. and Hall, K.: Effect of bromocriptine on pituitary tumor size, *Br. Med. J.*, 2: 700, 1974.
- 8) March, C. M.: Longitudinal evaluation of patients with untreated prolactin-secreting pituitary tumor size, *Br. Med. J.*, 2: 700, 1974. 139: 835, 1981.
- 9) 青野敏博, 倉智敬一: 無排卵症診察における prolactinoma の意義, 日産婦誌, 34: 1581, 1982.
- 10) Fang, V. S., Refetoff, S., and R. L. Rosenfield: Hypogonadism induced by a transplantable prolactin-producing-tumor in male rats hormonal and morphological studies, *Endocrinology*, 95: 991, 1974.
- 11) 星野明生, 広橋 武, 石黒隆雄, 佐藤芳昭, 竹内正七: プロラクチンの卵巢レセプターに及ぼす影響について, 日本不妊学会誌, (投稿中).
- 12) 佐藤芳昭, 田中邦男, 須藤祐悦, 広橋 武, 竹内正七: 乳汁分泌無月経症候群の妊娠例について, 日本不妊学会誌 (投稿中).

Sexual function and outcome
before and after pituitary
surgery in patient
with prolactinoma

**Takeshi Hirohashi, Jinichi Hanaoka,
Yuetsu Sudo, Kunio Tanaka,
Yoshiaki Sato and Shoshichi Takeuchi**

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

Women with galactorrhea amenorrhea syndrome were evaluated with several dynamic pituitary challenge test.

Twenty seven cases of these patients has positive findings on neurosurgical examinations such as polytomography, Computed Tomography (CT) and had a confirmation of pituitary tumors by surgery.

The results showed as follows.

The patients with negative response to progesterone (Amenorrhea II grade) were twenty six

cases (96.3 %).

Five cases (20.0 %) had spontaneous ovulation after pituitary surgery within one or two months (mean : 1.4 month).

We succeeded in inducing ovulation in eleven cases (44.0 %) but failed in pregnancy.

Ten subjects who had luteal defect were analysed by BBT types and serum PRL levels.

The clinical significance of hyperprolactinemia as a cause of luteal insufficiency is not known and is difficult to assess since the clinical picture is relatively poorly defined, but we confirmed the fact that those with hyperprolactinemic insufficiency of the corpus luteum have in general only slightly raised serum prolactin concentrations.

As a conclusion, the surgical treatment for microadenoma has a effective tool on normalization of PRL levels.

In addition of this, lowering PRL secretion with CB-154 allows resumption of normal gonadal function.

(受付 : 昭和57年10月16日)

EFFECTS OF ESTROGEN AND PROGESTERONE ON BENZODIAZEPINE-INDUCED RELAXATION OF RAT UTERUS

Takashi KANO, Kenji ISHII and Yoshiko KUROBE

Department of Pharmacology, Osaka Medical College, Osaka
(Director: Prof. Joichi Ando)

Abstract: Effects of estrogen and progesterone on relaxant effects of benzodiazepine derivatives, diazepam and flurazepam on isolated rat uterus were investigated in normal or Ca^{2+} -free Tyrode's solution maintained at 37°C . Diazepam and flurazepam inhibited uterine spontaneous motility and K^{+} -induced contracture because of their Ca^{2+} -antagonistic property. Diazepam seems to have an intracellular sites of action. Diazepam- and flurazepam-induced uterine relaxation of the longitudinal direction was enhanced by estrogen, and that of the circular direction by progesterone. Based on the present observation of K^{+} -induced contracture in Ca^{2+} -free solution, an enhancement of Ca^{2+} -dependency by estrogen and an increase in intracellular Ca^{2+} -storage by progesterone in rat uterus were speculated.

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 381-385, 1983)

Introduction

Benzodiazepine are known to show anti-convulsant, antianxiety, and muscle relaxant actions through the central nervous system. It is also known that diazepam inhibits uterine contraction in rat^{1,2)} and human¹⁾ and has tocolytic effect on pregnant human uterus³⁾. This effect has been considered to be centrally produced. We demonstrated that the effect of diazepam and flurazepam were Ca^{2+} -antagonistic, inhibiting the transmembrane influx of Ca^{2+} on K^{+} - and Ca^{2+} -induced contracture in isolated guinea-pig taenia coli and longitudinal muscle⁴⁾ and on K^{+} -, Ca^{2+} - and norepinephrine-induced contraction in isolated canine coronary arteries and thoracic aorta⁵⁾.

Estrogen has an effect on Ca^{2+} metabolism, but its effects on Ca^{2+} in the contractile system is still unknown.

The present experiments using isolated rat uterus preparations were carried out to investigate the peripheral effect of diazepam and flurazepam on the mechanical reactivity of the uterus as well as the effect of estrogen

and progesterone on uterine relaxation caused by these benzodiazepine.

Materials and Methods

1) Animals and hormonal treatments

Wistar female rats (200-250 g) were ovariectomized at diestrus or metestrus. Then the rats were maintained under ordinary environmental conditions for 3 weeks and were divided into 5 groups. "Control" group: sesame oil (0.2 ml) were administered subcutaneously (s.c.) for 4 days. "Estrogen" (E) group: estradiol-benzoate (Sigma, 25 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) dissolved in sesame oil was administered (s.c.) for 4 days. "Progesterone" (P) group: progesterone (Tokyo Kasei, 2 mg/100 g) dissolved in sesame oil was administered (s.c.) for 4 days. "Estrogen→Progesterone" (E→P) group: estradiol-benzoate (25 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) was administered (s.c.) for 4 days followed by progesterone (2 mg/100 g) was administered (s.c.) for 4 days. "Estrogen+Progesterone" (E+P) group: estradiol-benzoate (25 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) and progesterone (2 mg/100 g) were administered (s.c.)

for 4 days simultaneously.

2) Determination of mechanical reactivity

About 1.5 cm of the ovarian side of one uterine horn was used for longitudinal preparation. The other horn was cut helically at an angle of 45° to the longitudinal axis, and a spiral strip of 2.0 cm length was prepared. Both preparations were suspended in normal or Ca^{2+} -free Tyrode's solution maintained at 37°C and aerated with 95% O_2 -5% CO_2 mixture. Contracture was induced by sustained depolarization in the presence of 25 mM KCl. The mechanical reactivity of the uterus was measured isometrically by a force-displacement transducer SB1T-H (Nihon Kohden), and recorded on an ink-writing oscillograph SR-651 (Watanabe). At the end of each series of experiments, 10^{-4} M papaverine was added. The maximum relaxation induced by papaverine was taken as 100%⁷⁾.

Diazepam (Cercine®, Takeda) and Flurazepam hydrochloride (Roche) were cumulatively added to the bath.

Results

The control uteri showed spontaneous motility in normal Tyrode's solution. Disappearance of this spontaneous motility took place when the solution was replaced by Ca^{2+} -free Tyrode's solution. Diazepam inhibited spontaneous motility and relaxed the uterus preparations (Fig. 1). K^+ -contracture was also inhibited by both diazepam and flurazepam. Diazepam was more effective than flurazepam in inhibiting both spontaneous motility (Fig. 2A) and K^+ -induced contracture (Fig. 2B). Longitudinal preparation were more sensitive to these effects of benzodiazepine than spiral preparations. In the uteri treated with E or E+P, spontaneous motility was not observed. Table 1 shows ED_{50} values for inhibition of K^+ -induced contracture by diazepam and flurazepam in the control and experimental group ($n=3$). The effect of diazepam on longitudinal preparations was greatest in the E-treated uteri. Among spiral preparations, P-treated uteri were the most sensitive to diazepam. ED_{50} values for E→P- and E+P-treated uteri were higher than that in the

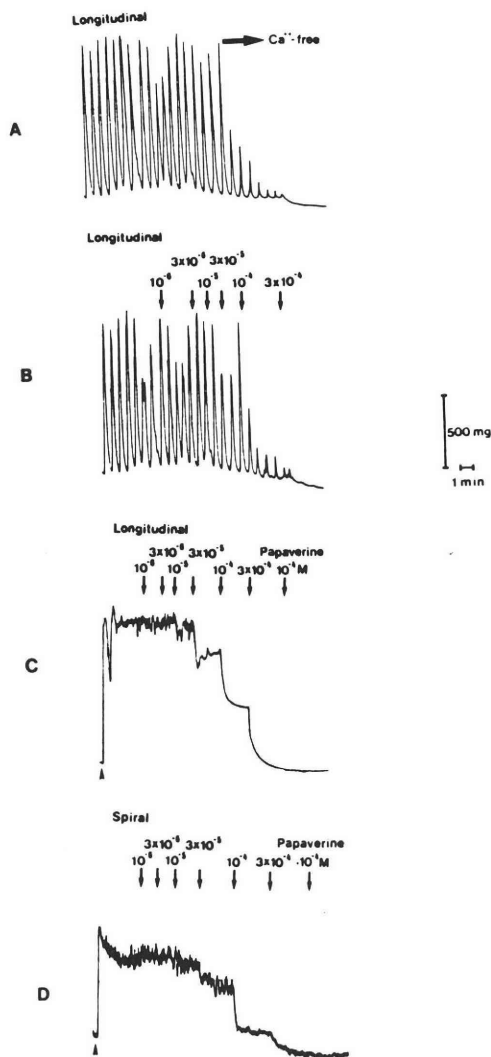


Fig. 1 A: Change in uterine spontaneous motility by replacement of Ca^{2+} -free Tyrode's solution. B: Effect of diazepam (M) on spontaneous motility in rat uterus. C, D: Effects of diazepam (M) on K^+ -induced contracture in rat uterus. ▲: 25 mM KCl.

control preparations. Flurazepam was less effective than diazepam on the E-treated and the P-treated uteri. The tension developed during K^+ -induced contracture was significantly ($P<0.01$) greater in the E+P-E+P-, and E-treated uteri than in the control. Difference in the tension between the control and the P-treated uteri was not significant (Table. 2). No difference in the

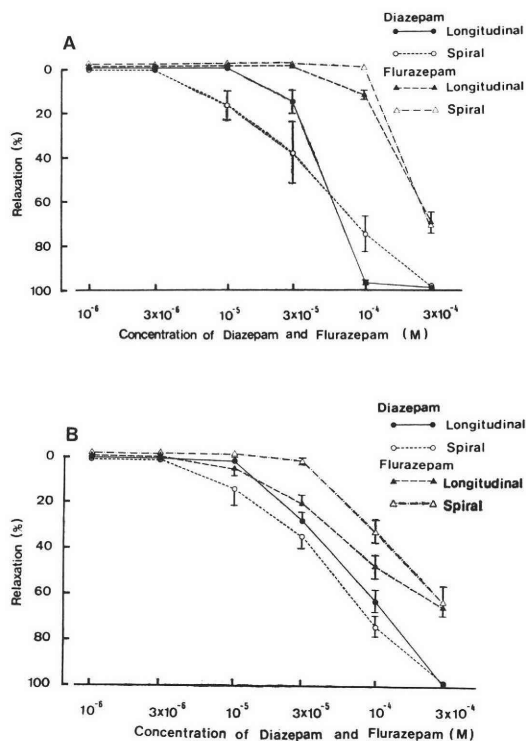


Fig. 2 Effects of diazepam and flurazepam (M) on rat uterus (control uterus). A: spontaneous motility. B: K^+ -induced contracture.

Table 1 ED_{50} values of diazepam and flurazepam on K^+ -induced contracture in rat uterus

Longitudinal

Uterus	Diazepam	Flurazepam	N
Control	$6.6 \times 10^{-5} M$	$1.2 \times 10^{-4} M$	3
Estrogen	$5.4 \times 10^{-5} M$	$8.0 \times 10^{-4} M$	3
Progesterone	$2.7 \times 10^{-6} M$	$1.1 \times 10^{-5} M$	3
Estrogen $\rightarrow$ Progesterone	$5.4 \times 10^{-5} M$	—	3
Estrogen + Progesterone	$3.2 \times 10^{-5} M$	—	3

Spiral

Uterus	Diazepam	Flurazepam	N
Control	$4.8 \times 10^{-5} M$	$1.9 \times 10^{-4} M$	3
Estrogen	$2.4 \times 10^{-5} M$	$1.8 \times 10^{-4} M$	3
Progesterone	$2.0 \times 10^{-5} M$	$8.4 \times 10^{-5} M$	3
Estrogen $\rightarrow$ Progesterone	$6.0 \times 10^{-5} M$	—	3
Estrogen + Progesterone	$6.5 \times 10^{-5} M$	—	3

Table 2 K^+ -induced contracture (mg tension) in rat uterus

Longitudinal

Uterus	Normal Tyrode's Sol.	Ca-free Tyrode's Sol.
Control	1266.7 ± 28.9	642.9
Estrogen	2900.0 ± 173.2	428.6
Progesterone	1456.7 ± 172.1	1357.1
Estrogen $\rightarrow$ Progesterone	2985.4 ± 86.5	1714.3
Estrogen + Progesterone	3600.0 ± 114.4	550.0

N=3

N=3

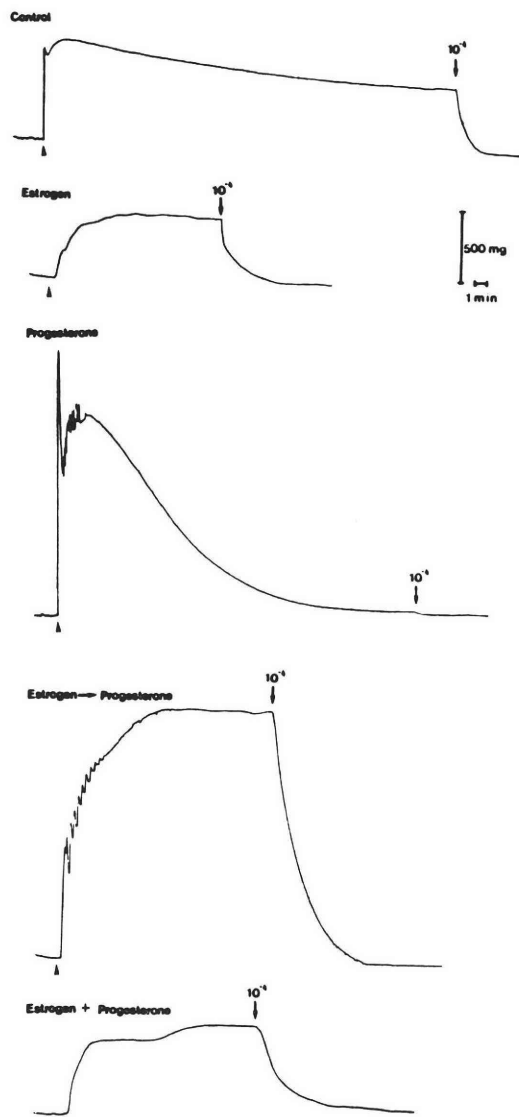


Fig. 3 Effect of diazepam (M) on K^+ -induced contracture in rat uterus in Ca^{2+} -free Tyrode's solution.

tension developed during K^+ -induced contracture in Ca^{2+} -free Tyrode's solution was observed between the E-treated and the control uteri, or between the E+P-treated and the control uteri (Fig. 3). In Ca^{2+} -free Tyrode's solution, the P- and the E→P-treated uteri developed significantly ($P<0.01$) greater tension during K^+ -induced contracture than the controls. Contractions produced by the control, E-treated, E+P-treated and E+P-treated uteri were tonic, whereas that produced by the P-treated uteri was phasic.

Discussion

In this study, the spontaneous motility of isolated rat uterus in normal Tyrode's solution was inhibited by replacement of Ca^{2+} -free Tyrode's solution. Therefore, the uterine spontaneous motility is considered to depend on extracellular Ca^{2+} . Diazepam and flurazepam inhibited not only this spontaneous motility but also K^+ -induced tonic contracture which was evoked by an increased Ca^{2+} influx following activation of Ca^{2+} channels⁷⁻¹⁰. These effects are similar to those of known Ca^{2+} -antagonist, verapamil¹¹, D 600¹², and diltiazem¹³, suggesting that diazepam and flurazepam inhibit transmembrane influx of Ca^{2+} .

Diazepam- and flurazepam-induced uterine relaxation of longitudinal direction was enhanced by estrogen, and that of circular direction by progesterone. Under physiological condition, however, progesterone always acts in the presence of estrogen. The present results obtained from the E→P- and the E+P-treated uteri suggest that progesterone secreted during the luteal phase and pregnancy does not enhance diazepam- or flurazepam-induced uterine relaxation of circular direction. The effect of estrogen and progesterone on uterine mechanical reactivity has been discussed mainly in the aspect of adrenergic mechanism^{14,15}. However, the present our data suggest that estrogen and progesterone have an effect on the Ca^{2+} -dependency and Ca^{2+} -storage in rat uterus. That is to say, estrogen enhances Ca^{2+} -dependency, and progesterone increases Ca^{2+} -storage of rat uterus. Based

on the present results obtained from the E→P- and the E+P- treated uteri, it is speculated that both Ca^{2+} -dependency and Ca^{2+} -storage are increased in the luteal phase, whereas during pregnancy, only Ca^{2+} -dependency is increased because of domination of estrogen in this period.

The inhibitory effect of diazepam, which is lipid soluble, on K^+ -induced contracture in Ca^{2+} -free Tyrode's solution suggests a possibility that diazepam enters uterine cells and act on its intracellular sites of action.

The mechanism by which sex steroid hormones alter the uterus-relaxing effect of benzodiazepine derivatives is unclear. It may be contributable for clarifying this mechanism to investigate the uterine benzodiazepine receptor, the presence of which was demonstrated in the central nervous system¹⁶ for the first time, and later in the heart¹⁷.

References

- 1) Jung, H.: Zur anwendung von relaxantien in der geburtshilfe. Fortschr. Geburtsh. Gynäk. 19: 249, 1964.
- 2) Mosler, K. H.: Pharmakodynamische wirkung älterer und moderner relaxantien auf die menschliche gebärmutter. Fortschr. Geburtsh. Gynäk. 19: 95, 1964.
- 3) Boden, W.: Tokographische untersuchungen über den einfluss von valium in bedrohender frügeburt. Fortschritte. Geburtsh. Gynäk. 19: 356, 1964.
- 4) Ishii, K., Kano, T., Akutagawa, M., Maki-no, M., Tanaka, T. and Ando, J.: Pharmacological effects of flurazepam and diazepam in isolated guinea-pig taenia coli and longitudinal muscle. European. J. Pharmacol. 83: 329, 1982.
- 5) Ishii, K., Kano, T. and Ando, J.: Pharmacological effects of Flurazepam and diazepam on isolated canine arteries. Japan. J. Pharmacol. 33, 65, 1983.
- 6) Toda, N.: The action of vasodilation drugs on isolated basilar, coronary and mesenteric arteries of the dog. J. Pharmacol. Exp. Ther. 191: 139, 1974.
- 7) Urakawa, N. and Holland, W. C.: Ca^{45} uptake and tissue calcium in K^+ -induced phasic and tonic contraction in taenia coli. Am. J. Physiol. 207: 873, 1964.
- 8) Sperelakis, N.: Ca^{45} and Sr^{89} movement with contraction of depolarized smooth

- muscle. *Am. J. Physiol.* 203: 860, 1962.
- 9) Urakawa, N., Karai, H. and Ikeda.: Effect of quabain and metabolic inhibiting factors on Ca^{45} distribution during K^{+} -induced contracture in guinea-pig taenia coli. *Japan. J. Pharmacol.* 20: 360, 1970.
 - 10) Kuriyama, H., Mishima, K. and Suzuki, H.: Some difference in contractile responses of isolated longitudinal and circular muscle from the guinea-pig stomach. *J. Physiol.* 251: 317, 1975.
 - 11) Nakagawa, Y. and Imai, S.: Ca^{2+} -antagonistic effect of vasodilators. *Folia Pharmacol.* 71: 32, 1975.
 - 12) Mayer, C. J., Breemen, C. and Casteels, R.: The action of lanthanum and D 600 on the calcium exchange in the smooth muscle cells of the guinea-pig taenia coli. *Pflügers. Arch.* 337: 333, 1972.
 - 13) Magaribuchi, T., Nakajima, H. and Kiyomoto, A.: Effect of diltiazem and lanthanum ion on the potassium contracture of isolated guineapig smooth muscle. *Japan. J. Pharmacol.* 27: 333, 1977.
 - 14) Ahlquist, R. P.: A study of adrenoceptor. *Am. J. Physiol.* 153: 583, 1948.
 - 15) Kano, T.: Effects of estrogen and progesterone on adrenoceptors and cyclic nucleotides in rat uterus. *Japan. J. Pharmacol.* 32: 535, 1982.
 - 16) Massotti, M. and Guidotti, A.: Endogenous regulators of benzodiazepine recognition sites. *Life. Sci.* 27: 847, 1980.
 - 17) Taniguchi, T., Wang, J. K. T. and Spector, S.: ^3H -Diazepam binding sites on rat heart and kidney. *Biochem. Pharmacol.* 31(4): 589, 1982.

**Benzodiazepine 誘導体の rat 子宮弛緩
作用に対する estrogen および
progesterone の影響**

假野隆司, 石井権二, 黒部佳子
(大阪医科大学, 薬理学教室)

Benzodiazepine 誘導体である diazepam (DZ) および flurazepam (FZ) の rat 子宮弛緩作用に対する estrogen および progesterone の影響を検討した。DZ および FZ は Ca^{2+} -antagonist として作用し、子宮の自発収縮、 K^{+} -収縮を抑制した。estrogen は DZ の縦走筋方向の弛緩作用を増強し、progesterone は輪状筋方向の弛緩作用を増強した。DZ はまた Ca^{2+} -antagonist の他に細胞内にも作用部位を持つと考えられた。 Ca^{2+} -free solution 中での K^{+} -収縮の結果から estrogen は rat 子宮の Ca^{2+} -dependenc を増加させ、progesterone は細胞内の Ca^{2+} の storage を増加させると考えられた。

(受付: 昭和 57 年 10 月 18 日)

高 testosterone 血症と高 LH 血症および 稀発月経との関連性

Relation of Serum Testosterone Levels with Serum LH Levels and Oligomenorrhea

富山医科薬科大学医学部産婦人科学教室

柳 沼 恣
Tsutomu YAGINUMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine,
Toyama Medical and Pharmaceutical University

正常月経周期の健康婦人の血清 testosterone 濃度は、 ^3H -testosterone RIA により測定された時に、 $41.1 \pm 9.8 \text{ ng/dl}$ (平均 $\pm$ SD) であった。血清 testosterone 濃度が 50 ng/dl 以上の婦人の占める割合は、月経周期が 35 日未満の群では 15%、35 日以上では 64%、45 日以上では 78% であり、15% と 64% または 78% との間には有意差が認められた ($P < 0.0001$)、血清 testosterone と LH 濃度との間には、血清 testosterone 濃度が 50 ng/dl 以上の時に有意な正の相関が存在した ($R = 0.50$, $P < 0.01$)。 50 ng/dl 未満の時にはかかる相関は認められなかった。FSH に対しては相関は全く認められなかった。これらの結果は、高 testosterone 血症が高 LH 血症と関連して稀発月経を惹起することを示唆する。

高 testosterone 血症の稀発月経性不妊患者に、芍薬甘草湯の 1 日 5 または 10 g を連日投与して、全例に血清 testosterone 濃度の下降を認め、5 人が妊娠し、3 人が出産を終了した。副作用は認められなかった。

(Jap. J. Fer. Ster., 28(3), 386-389, 1983)

卵巣における testosterone を始めとする androgens の産生が亢進している場合には、おそらくこれが直接作用して卵胞の成熟が遅延しあるいは完全に停止して閉鎖卵胞となり、稀発月経やさらに無月経が発生することがあると考えられている¹⁾。このような時には、testosterone の前駆体である androstenedione の産生も亢進していて、これが末梢で estrone に変換され、これは luteinizing-releasing hormone (LRH) に対する下垂体の感受性を高めて、恒常的に LH の放出亢進状態を惹起せしめる。これがまた無排卵の原因である。

そこで本研究は、第一に正常月経周期の婦人の血中 testosterone 濃度を決定し、第二に稀発月経婦人の中に占める高 testosterone 血症婦人の割合および両者の程度の関係を知り、そして第三に血中 testosterone と LH 濃度との相関関係を調べた。さらにかかる高 testosterone 血症性不妊婦人の治療に漢方薬である芍薬甘草湯が

有効であるかどうかを検討した。

方法と検体

正常月経周期婦人の血清 testosterone の正常濃度を知るために、特に月経周期が 28~30 日の 20 歳代の 7 人の健康婦人の静脈血を採取した。

月経周期日数と血清 testosterone 濃度との関係を調べるために、月経周期が 25 日から 1 年の 41 婦人の卵胞期における静脈血を採取し、採取した周期の周期月数を対象にした。

同時に、これらの血清 FSH と LH 濃度を測定して、これらと testosterone 濃度との相関関係を分析した。

血清 testosterone は ^3H -testosterone RIA kit (ミドリ十字)、血清 FSH と LH は FSH および LH RIA kit 第一(第一ラジオアイソトープ)を使用して測定した。

有意差は Student's *t* test により検定した。

血清 testosterone 濃度が50ng/dl 以上の稀発月経性不妊症患者に月経来た progesterone 投与後の消退出血5日目から、芍薬甘草湯（ツムラ）の1日5または10g を連日投した。血中 testosterone 濃度の変化と妊娠に対する効果を観察した。

結 果

(1) 月経周期が28~30日の7人の健康婦人の血清 testosterone 濃度は、28.8, 29.1, 37.0, 38.1, 47.4, 53.1 および 54.0ng/dl であり、これらの平均±SD は 41.1 ± 9.8 ng/dl であった。

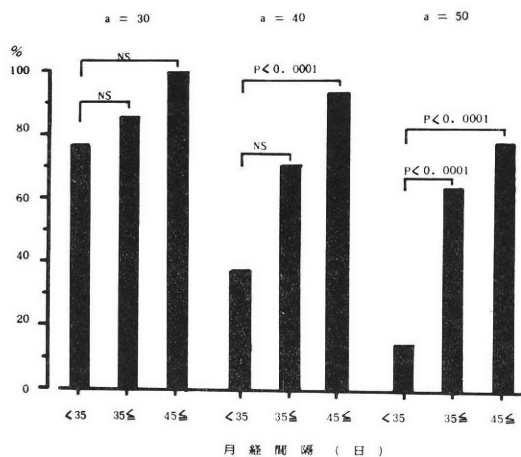


図1 月経間隔が35日未満、35日以上あるいは45日以上の人において、血清 testosterone 濃度が a ng/dl 以上の婦人が占める割合

(2) 図1に示したごとく、ある濃度以上の血清 testosterone を有する婦人が占める割合を、月経周期の長さに関して比較してみた。比較は、月経周期が35日未満の者(a)と、35日以上のあるいは45日以上のある(c)との間で行った。

血清 testosterone 濃度が40ng/dl 以上の者が占める割合は、aにおいて38%, bにおいて71%そしてcにおいて14%であり、aとcとの間には有意差が認められた($P < 0.0001$)。

血清 testosterone 濃度が50ng/dl 以上の者が占める割合は、aにおいて15%, bにおいて64%そしてcにおいて78%であり、aとbあるいはcとの間には有意差が認められた(共に $P < 0.0001$)。

(3) 図2に、血清 testosterone と LH 濃度の関係を示した。血清 testosterone 濃度が50ng/dl 未満の場合の両者間の相関係数は0.10であり、統計学的に有意ではなかった。血清 testosterone 濃度が50ng/dl 以上の場合に

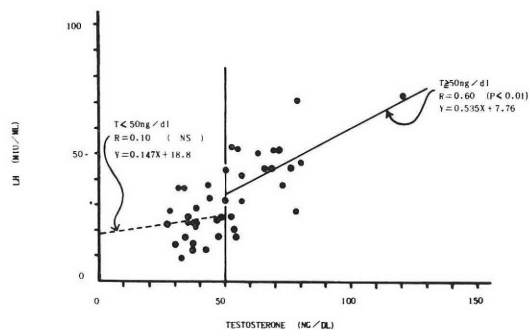


図2 血清 LH とテストステロンとの間の相関

は、両者間の相関係数は0.60となり、統計学的に有意であった($P < 0.01$)。両者の間の関係は $Y = 0.535X + 7.76$ (Y =血清 LHmIU/ml, X =血清 testosterone ng/dl) で表わされる。 $X=50$ ng/dl の時は $Y=34.5$ mIU/ml である。

(4) 血清 testosterone と FSH 濃度との間には全く相関は認められなかった。

(5) 高 testosterone 血症性稀発月経の不妊患者10人に芍薬甘草湯（ツムラ）を1日5または10g 連日投与した。全例に testosterone 濃度の下降を認め、1年半以内に5例が妊娠し、3人は出産を終了し、2例は妊娠継続中である。どんな副作用も今迄に発現していない。

考 案

月経を有する婦人の場合に、 ^3H -testosterone RIA により測定された血清 testosterone 濃度の平均は、調べた14報告中13報告において29から49ng/dl の間にあつた²⁻⁴⁾。今回の結果もこの間に入る。

血清 testosterone 濃度は、排卵期にやや上昇するが、卵胞期と黄体期では有意差はない²⁾。さらにその一日の変動も非常に小さい^{6,7)}。従つて、排卵期を除いては、任意の時の採血により、その個人の血清 testosterone 濃度がおおむね決定されうと考えられる。しかし一月経周期を通して血清 testosterone 濃度を測定した報告²⁾によると、血清 testosterone 濃度は月経周期の初期からゆるやかに上昇する傾向が認められる。従つてその異常高値を判定するためには、月経周期の初期に血清 testosterone 濃度を測定するのがより確実であるように思われる。

最近、 ^{125}I labeled testosterone を使用した RIA により血清 testosterone 濃度を測定することが臨床的に増加しつつある。これはかかる kit が保険適応となつたためである。この方法による値は ^3H -testosterone RIA による値よりも高い。女性レベルの血清 testosterone 濃

度の範囲内では、両者の値の関係を $Y=1.25X+6.34$ ($Y=^{125}\text{I-testosterone RIA 値}$, $X=^3\text{H-testosterone RIA 値}$) ($R=0.80$, $P<0.005$) によつて表わすことができる²⁾。従つて、上述した月経周期が28~30日の健康婦人の血清 testosterone 濃度の平均 $\pm$ SD は、 $^{125}\text{I-testosterone RIA}$ による $57.7\pm 18.6\text{ng/dl}$ に相当する。

松本⁹⁾によると、月経周期が35日未満の婦人は全体の約87%、35日以上は約13%、そして45日以上は約3%にすぎない。月経周期をこれらの三つのグループに分けて、血清 testosterone 濃度がある一定値以上の婦人の占める割合を比較してみた。

血清濃度を低くとり、30ng/dl 以上とすると、この濃度範囲の婦人の占める割合は、月経周期が35日未満の場合と35日以上あるいは45日以上の場合とでは統計学的に有意差は認められない。血清 testosterone 濃度を40ng/dl 以上とすると、月経周期が35日未満の中では38%も占めるが、35日以上の中では71%と高くなり、45日以上の中ではさらに94%となる。血清 testosterone 濃度を50ng/dl とすると、この傾向はさらに著明となる。すなわち、このような婦人の占める割合は、月経周期が35日未満では僅か15%であるが、35日以上の場合には64%、45日以上の場合には78%を占め、15%に対して後二者の%は統計学的に有意な高値である。多くの場合に月経周期の延長は卵胞期の延長である。従つて、これらの結果は、血清 testosterone 濃度の高値が月経周期すなわち卵胞期の延長と関連することを示唆する。これは、外来患者において血中 testosterone 濃度が卵胞期の長さ統計学的に有意な正の相関をするという Smith らの報告⁹⁾を確認するものである。

このような両者の関連性が、どのような機構によつて生ずるのかは現在明確ではない。高 androgens 血症の代表的疾患である polycystic ovary syndrome は多くの場合に高 LH 血症を伴うことがよく知られている。これは卵巣において testosterone と共に産生の亢進した androstenediones が末梢で estrone に転換して、これが下垂体の LRH に対する感受性を高めて LH の放出を亢進するためと考えられている¹⁰⁾。

そこで、血清 testosterone と LH 濃度の関係を検討してみた。図2に示したように、血清 testosterone 濃度が50ng/dl 未満の場合には、血清 testosterone と LH 濃度との間には統計学的に有意な相関はないが、血清 testosterone 濃度が50ng/dl 以上になると、両者の間の相関は統計学的に有意となる ($R=0.60$, $P<0.01$)。よく知られているように血清 LH 濃度は脈動的に変化する。それにもかかわらず、このような相関が成立するのは、このような時に血清 LH の平均濃度が上昇するた

めであると思われる。両者の間の関係式から $T=50\text{ng/dl}$ の時に $LH=34.5\text{mIU/ml}$ である。30mIU/ml 以上の血清 LH の平均濃度は、一般に異常高値であるために示されてきている。この結果は、血清 testosterone 濃度が50ng/dl 以上の時には、testosterone と LH が互に関連しながら連続的に変化することを示唆する。どちらが原因で結果であるかは不明である。Androgens 産生による LH の放出の亢進は、卵巣における androgens 産生を高めるので、両者の間には一つの悪循環が形成されていると思われる。

今回の研究の対象患者の中には、もちろん polycystic ovary syndrome の患者も含まれていると思われる。この疾患の確定診断のためには、開腹して polycystic ovaries を組織学的に確認せねばならないが、治療上始めからこのようにする必要は全くない。従つて、今回夫々の患者について polycystic ovary syndrome の確認はしていない。しかし、診断の確立したこの疾患を含めた高 androgens 血症婦人において、血清 testosterone と LH 濃度の相関を検討することは、polycystic ovary syndrome の発生機構を知る上で有意義であると思われる。

とにかく、本研究は血清 testosterone と LH 濃度の高値と稀発月経との関連性を示した。従つて、稀発月経性の不妊患者の場合には、血清 testosterone あるいは LH 濃度、または両者の値を考慮して診療すべきである。なお生物活性を発揮する血中の free testosterone 濃度がより適確に臨床症状を反映すると考えられるが、この free testosterone 濃度と sex-hormone binding globulin と結合した testosterone 濃度は、ほぼ同様に变化するようであるので^{11,12)}、日常診療上においては、血清の total testosterone 濃度の測定で十分であると考ええる。

かかる目的のための治療には従来副腎皮質ホルモンが使用されてきた。しかし副腎皮質ホルモンの長期使用には種々の副作用が伴う可能性がある。そこで今回は漢方薬である芍薬甘草湯による治療を試みた。初期の段階での治療成績については、以前に報告した¹³⁾。すなわち、高 testosterone 血症性不妊症の8人の患者に、芍薬甘草湯の1日5または10g を連日投与して、全症例に血清 testosterone 濃度の低下を認め、投与の8週目までに2人が妊娠した。その後かかる患者の2人を追加して治療を続け、さらに3人が妊娠した。妊娠した5人のうち3人は既に無事出産を終了した。現在までにどんな副作用も認められていない。この薬剤の高 testosterone 性排卵障害患者に対する効果およびその機構については、さらに現在検討中である。

本研究の要旨は、第 27 回日本不妊学会総会 (1982, 11, 東京) において発表された。

文 献

- 1) Louvet, J. P., Harman, S. M., Schreiber, J. R. and Ross, G. T.: Evidence of a role of androgen in follicular maturation, *Endocrinology*, 97 : 366, 1975.
- 2) 柳沼 恣 : ^{125}I -Testosterone RIA Kit と ^3H -Testosterone RIA Kit による女性の血中 testosterone 濃度の相関, 産婦人科治療, 投稿中. を参照.
- 3) 牧野拓雄 : 性ステロイドホルモンの radioimmunoassay, 日本内分泌誌, 49 : 629, 1973.
- 4) 河野 剛, 吉見輝也 : Steroid hormone の radioimmunoassay, 臨床病理, 20 : 400, 1972.
- 5) 二宮哲博, 石飛和幸, 引田 亭, 山藤靖展, 石川重二郎, 原田美道 : No chromatography method による血中 testosterone の radioimmunoassay の基礎検討. ホルモンと臨床, 25 : 189, 1977.
- 6) Rosenfield, R. L. and Helke, J. C.: Small diurnal and episodic fluctuation of the plasma free testosterone level in normal women. *Amer. J. Obst. Gynecol.* 120 : 461, 1974.
- 7) Strickler, R. C., Wiest, W. G., Borth, R. and Woolever, C. A.: Daily and circadian variations in serum free testosterone levels are not clinically significant. *Amer. J. Obst. Gynecol.* 140 : 317, 1981.
- 8) 松本清一 : 月経異常に関する研究, 第14回日本産婦人科学会宿題報告要旨, 1962.
- 9) Smith, K. D., Rodriguez-Rigau, L. J., Tcholakian, R. K. and Steinberger, E.: The relation between plasma testosterone levels and the lengths of phases of the menstrual cycle. *Fert. Steril.* 32 : 403, 1979.
- 10) Yen, S. S. C.: Chronic anovulation due to inappropriate feedback system, chapter 14 in *Reproductive Endocrinology* ed. by Yen, S. S. C. and Jaffe, R. B., Saunders Comp., Philadelphia, 1978.
- 11) Dupon, C., Rosenfield, R. C. and Cleary, R. E.: Sequential changes in total and free testosterone and androstenedione in plasma during spontaneous and Clomid-induced ovulatory

cycles. *Am. J. Obst. Gynecol.* 115 : 478, 1973.

- 12) Duignan, N. M., Shaw, R. W., Rudd, B. T., Holder, G., Williams, J. W., Butt, W. R., Logan-Edwards, R. and London, N. R.: Sex hormone levels and gonadotrophin release in the polycystic ovary syndrome. *Clin. Endocrinol.* 4 : 287, 1975.
- 13) 柳沼 恣 : 漢方薬による排卵誘発—高アンドロゲン血症性稀発月経性不妊症に対する効果—, 日産婦誌, 34 : 939, 1982.

Relation of serum testosterone levels with serum LH and oligomenorrhea

Tsutomu Yaginuma

Department of Obstetrics and Gynecology,
Faculty of Medicine, Toyama Medical
and Pharmaceutical University

Serum testosterone levels assayed by ^3H -testosterone RIA kit were $41.1 \pm 9.8 \text{ ng/dl}$ (mean $\pm$ SD) in healthy women with menstrual cycle of 28-30 days.

Women with serum testosterone levels of above 50 ng/dl were found in 15 % and 64 % or 78 % of women with menstrual cycle of less than 35 days and above 35 days or 45 days, respectively. The incidence in the last two groups of women was significantly higher than that in the first ($P < 0.0001$).

Correlation between serum testosterone and LH levels was significant in testosterone levels of above 50 ng/dl ($R = 0.60$, $P < 0.01$), but not in those of less than 50 ng/dl.

These results suggest that high serum testosterone levels associating with high serum LH levels cause oligomenorrhea.

Ten infertile women with high serum testosterone levels and oligomenorrhea were treated with Shakuyaku-Kanzo-To, traditional herbal medicine. The serum level decreased during the treatment in all cases and 5 women conceived. No side effects were found.

(受付 : 昭和57年12月15日)

MECHANISM OF INHIBITION OF HYPOTHALAMIC PITUITARY OVARIAN FUNCTION IN STREPTOZOTOCIN-DIABETIC IMMATURE FEMALE RATS

Yuichi TANIGUCHI, Kaoru MIYAMOTO, Yoshihisa HASEGAWA
Kiyohiko YAMADA and Masao IGARASHI

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

Abstract: In order to clarify the mechanism of the failure of reproductive function in diabetic rats, the hypothalamic pituitary ovarian function in streptozotocin-induced diabetic immature female rats was investigated using *in vivo* and *in vitro* experiments.

The pituitary responsiveness to LH-RH was not impaired both *in vivo* and *in vitro*, while loss of preovulatory LH and FSH surge was observed after PMSG treatment.

LH-RH contents in the hypothalamus in diabetic rats were significantly higher than that in control rats both in pre-LH surge and post-LH surge. This finding suggests that the release of LH-RH from the hypothalamus could not occur in diabetic rats.

Ovulation and ovarian growth induced by PMSG were also disturbed both in pituitary intact and hypophysectomized diabetic rats, but it was restored with insulin replacement.

These results conclude that impaired site in streptozotocin diabetes is not pituitary, but hypothalamus and ovary.

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 390-398, 1983)

Introduction

A reproductive failures such as anovulations or infertility associated with diabetes mellitus have been reported both in human and animals^{1,2,3,4}.

However, the mechanism how the reproductive failures are brought has not well been established.

Liu and associates⁵ reported that the ovary in the alloxan-diabetic rat was less sensitive to the exogenous gonadotropins.

On the other hand, the decreased response of the pituitary gland to LH-RH in alloxan-diabetic rats was reported by Kirchick^{6,7,8}.

In this study, the effects of streptozotocin-induced diabetes on hypothalamic-pituitary ovarian function in immature female rats

were investigated.

Materials and Methods

Animals

Immature female rats of the Holtzman strain, weighing 45-55 g, were supplied *ad libitum* with water and oriental MF rat diet.

At 1200 h on day 29 of age, the animals were injected *sc* with either streptozotocin (10 mg/100 gBW in citrate-phosphate pH 4.5 buffer) or with the buffer vehicle only.

On day 32 of age (three days after streptozotocin injection) glycosuria of the animals was checked by uristix (Sankyo Co. Tokyo).

Procedure of several experiments

(Experiment 1) In vivo LH-RH test

In order to test the responsiveness of the pituitary gland to LH-RH in the diabetic rats, synthetic LH-RH (100 ng/100 gBW; Tanabe, Tokyo) was injected into the external jugular vein under light ether anesthesia at 1000 h in the morning on day 32 of age.

Fifteen minutes later, blood was collected by decapitation and centrifuged at 2000 RPM for 15 minutes. Sera was stored at -20°C until assay for LH and FSH.

(Experiment 2) In vitro LH-RH test

The responsiveness of the pituitary glands from the diabetic and control rats was also tested in vitro with the perfusion system of Sawano⁹.

The pituitary glands were removed immediately after decapitation at 1000 h on day 32 of age.

Seven pituitaries were placed in one incubation chamber and perfused with Krebs-Ringer-bicarbonate-2 mg/ml-glucose buffer (KRBG), pH 7.4 at a rate of 133 $\mu\text{l}/\text{min}$. The volume of KRBG in the incubation chamber was adjusted to 0.3 ml. Each effluent was collected every 7.5 min on a fraction collector and stored at -20°C until assay.

LH-RH (0.5 ng/ml), dissolved in KRBG, was infused for 15 min.

(Experiment 3) Changes in serum LH, FSH and pituitary LH, FSH and hypothalamic LH-RH after PMSG injection.

Rats were injected sc with PMSG (10 IU, Teizo Co.) at 1000 h on the morning of day 32 of age. And these rats were decapitated and blood was collected at 1000 h on day 32 before PMSG injection, at 1700 h on day 33 of age, at 1000 h and at 1700 h on day 34 of age (presumed proestrus)⁸⁾, and at 1000 h on day 35 of age (presumed estrus)⁸⁾.

The pituitary and the hypothalamus were removed immediately after decapitation and extracted with saline and acetic acid, respectively.

These extracts were then centrifuged 2000 RPM for 20 min and the supernatants were stored at -20°C until assay for gonadotropins and LH-RH respectively.

(Experiment 4) LH-RH test on day 34

of age

Rats were injected sc with PMSG (10 IU) at 1000 h on the morning of day 32 of age. On day 34 of age (presumed proestrus) these rats were injected iv with LH-RH (100 ng/100 gBW) at 1000 h and 1700 h.

Trunk blood was collected by decapitations before injection and 15 min after injection.

(Experiment 5) The Effects of streptozotocin-induced diabetes on ovulation and other ovarian responses in immature rats treated with PMSG.

After sc injection of PMSG (10 IU) at 1000 h on day 32 of age, rats were sacrificed at 1000 h on day 35 of age (presumed estrus).

Fallopian tubes were taken out and carefully searched for ova under stereomicroscopy. Ovaries were removed and weighed, and homogenized with saline. The homogenates were centrifuged at 2000 RPM for 20 min, then the supernatants were stored at -20°C until assay for estradiol.

(Experiment 6) Effects of hCG on ovarian growth and ovulation of the diabetic animals pretreated with PMSG.

After sc injection of PMSG (10 IU) at 1000 h on day 32 of age and hCG (5 IU) at 1700 h on day 34 of age (presumed proestrus) to induce ovulation, these rats were sacrificed at 1000 h on the following day, and ovarian weight and number of ova were measured.

(Experiment 7) Effects of hypophysectomy on ovarian growth of the diabetic rats treated with PMSG and hCG.

At 1000 h on day 32 of age, rats were hypophysectomized by the modified Smith's¹⁰⁾ parapharyngeal approach under pentobarbital anesthesia and injected sc with PMSG (50 IU), and injected with hCG (20 IU) at 1700 h on day 34 of age.

On day 35 of age ovarian weight and number of ova were measured.

Ovarian estradiol was assayed as same as exp. 5.

At autopsy, the sella turcica was examined with a dissecting microscope for fragments

of pituitary, and animals having any gross remnants were rejected.

(Experiment 8) Effects of insulin replacement on ovarian growth and ovulation of the diabetic rats pretreated with PMSG.

After sc injection of PMSG (10 IU) at 1000 h on day 32 of age, rats received 1 IU/50 gBW (Novolente, Novo Co, Denmark) of insulin sc once daily, from the evening of day 32 to 1800 h on day 34 of age.

Control rats received only vehicle at same time.

On the following day ovarian weight and number of ova were measured.

RIA

Gonadotropins were assayed by a double antibody method using RIA kits supplied by NIAMDD. Gonadotropin concentrations were expressed in terms of the NIAMDD-RP-1 reference preparations.

The RIA for LH-RH was carried out by a double antibody method¹¹⁾.

The LH-RH antibody used for RIA was prepared in our laboratory¹¹⁾. The RIA for estradiol was carried out by a double

antibody method using the estradiol antibody supplied by Crowley¹²⁾ after dichloromethane extraction of the ovarian saline extract.

Statistics

All of the RIAs were analyzed using a computer program based on the assay statistics described by Midgley and Duddleson¹³⁾.

Statistical comparisons between group means were made using Student's t-test.

Results

(Experiment 1)

As shown in Fig. 1, Serum LH and FSH were significantly elevated in both diabetic and control rats 15 min after injection of LH-RH, and there were no significant differences in the magnitude of LH-release between two groups.

On the other hand, FSH-release was significantly larger in diabetic rats than in the control rats. ($p < 0.05$)

(Experiments 2)

As shown in Fig. 2, LH and FSH levels after LH-RH perfusion were elevated, and

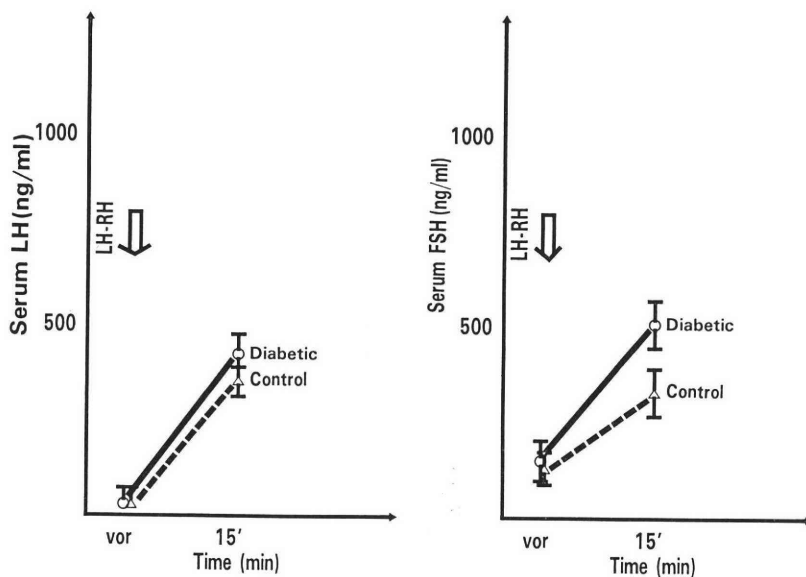


Fig. 1 Serum LH concentrations in response to a single iv injection of LHRH (100 ng/100 g BW) in control and diabetic rats. The animals were injected with STZ on day 28 of age. LHRH was injected from jugular vein at 1000 h on the morning of day 32 and trunk blood was collected 0 and 15 min after injection. Each point depicts mean $\pm$ SEM. There were seven control rats and seven diabetic rats at each time point.

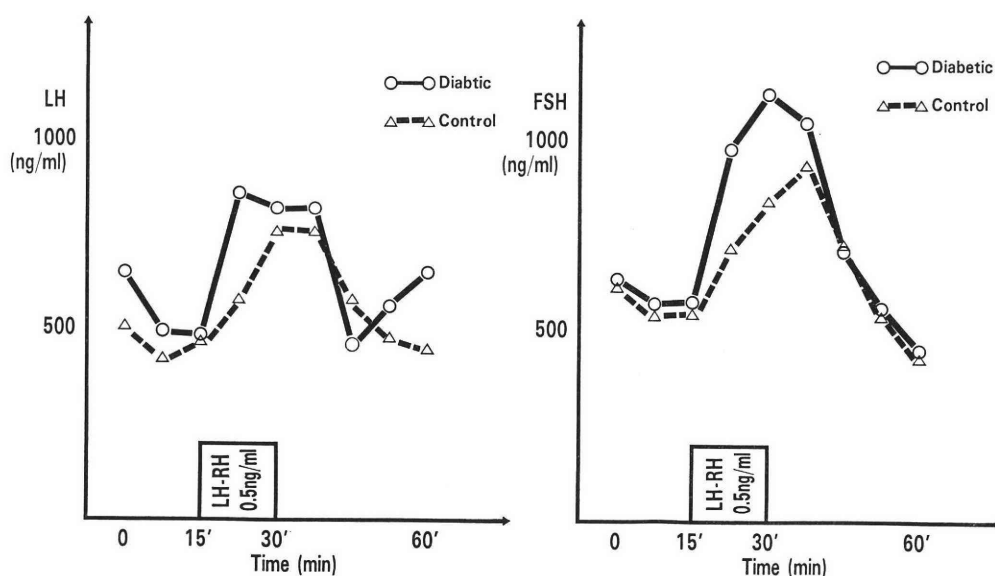


Fig. 2 LH and FSH release stimulated by LHRH (0.5 ng/ml). Diabetic and control rats were decapitated at 1000 h on day 32. The anterior pituitary was perfused using a multi-channel perfusion apparatus. LHRH was dissolved in KRBG and infused for 15 min. Seven pituitaries were used for the diabetic group and seven pituitaries for the control group. A total of 14 pituitaries was perfused simultaneously.

the response of the diabetic rats was not significantly reduced as compared with that of control rats.

(Experiment 3)

As shown in Fig. 3, control rats showed a preovulatory LH and FSH surge at 1700 h on day 34 of age after PMSG injection, whereas no preovulatory LH and FSH surge at that time was observed in the diabetic rats.

Pituitary LH content was significantly lower in diabetic rats than in control rats at 1000 h on day 34 ($p < 0.01$) as well as at 1700 h on day 34 ($p < 0.05$).

On the contrary no significant difference was found between the control and diabetic rats concerning the pituitary level of FSH.

Hypothalamus LH-RH was significantly higher in diabetic rats than in control rats at 1000 h ($p < 0.05$), at 1700 h ($p < 0.001$) on day 34 and at 1000 h on day 35 ($p < 0.001$).

(Experiment 4)

As shown in Fig. 4, serum LH was significantly elevated in both diabetic and control rats 15 min after injection of LH-RH

both in the morning and in the evening, while the increase in serum FSH after injection was not statistically significant.

However, no significant differences in the net increments of serum LH and FSH levels by the LH-RH injection was observed between these control and diabetic groups both in the morning and in the evening.

(Experiment 5)

As shown in Table 1, there were no significant differences in body weight between these two groups.

The blood glucose level of the diabetic rats was 389.0 ± 20.3 (mg/dl), about 5 times higher than that seen in control animals.

The ovarian weight, number of ova and ovary estradiol contents in diabetic rats were all significantly less than those observed in control rats.

(Experiment 6)

As shown in Table 2, there were no significant differences in body weight and number of ova between these two groups.

The blood glucose level of the diabetic rats was 648.3 ± 57.2 (mg/dl) and about 5

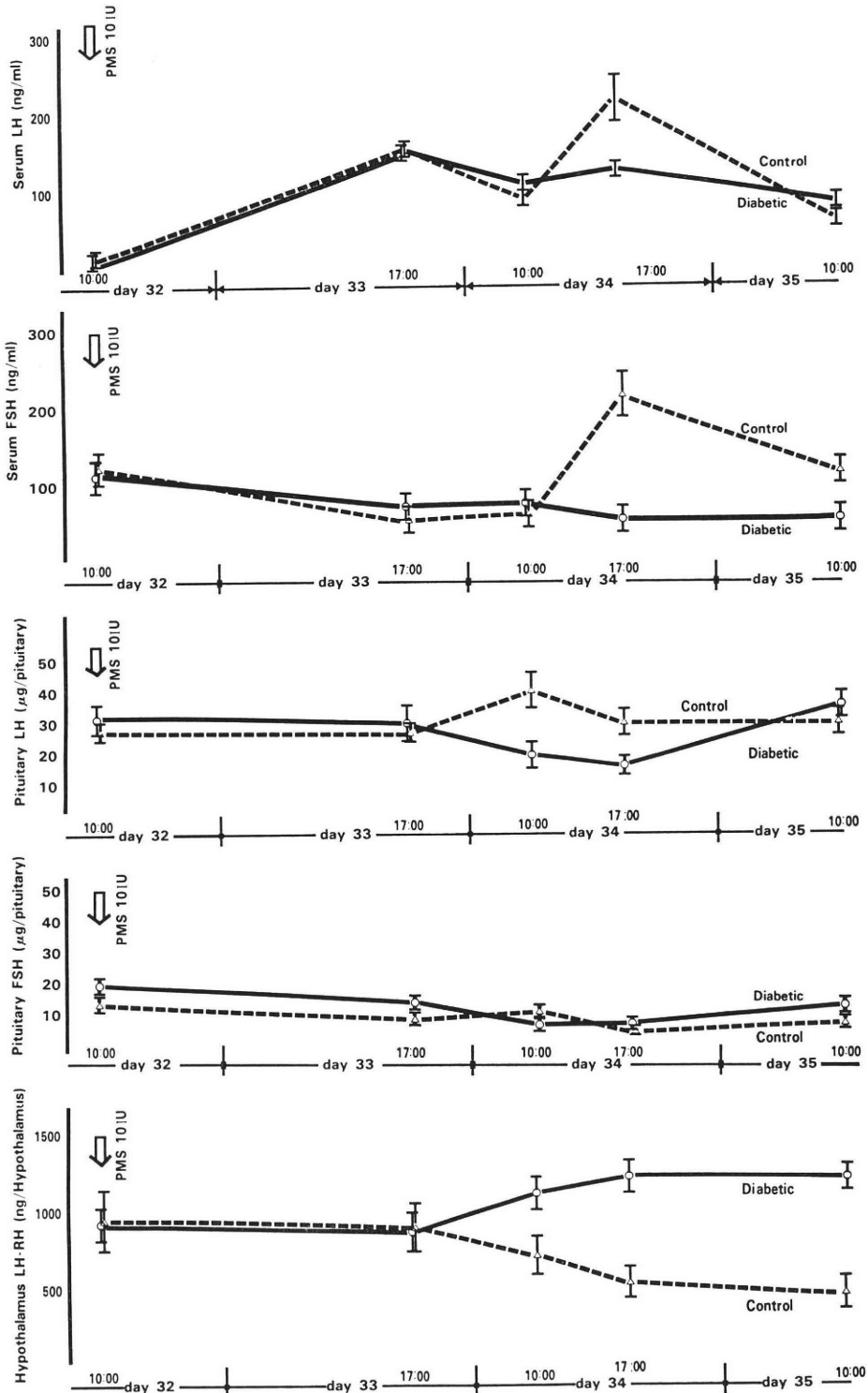


Fig. 3 Rats were injected sc with PMSG (10 IU) at 1000 h on the morning of day 32 of age. Trunk bloods were collected by decapitation and the pituitaries and the hypothalami were removed immediately after decapitation. Each point represents mean $\pm$ SEM. There were eight control rats and eight diabetic rats at each time point.

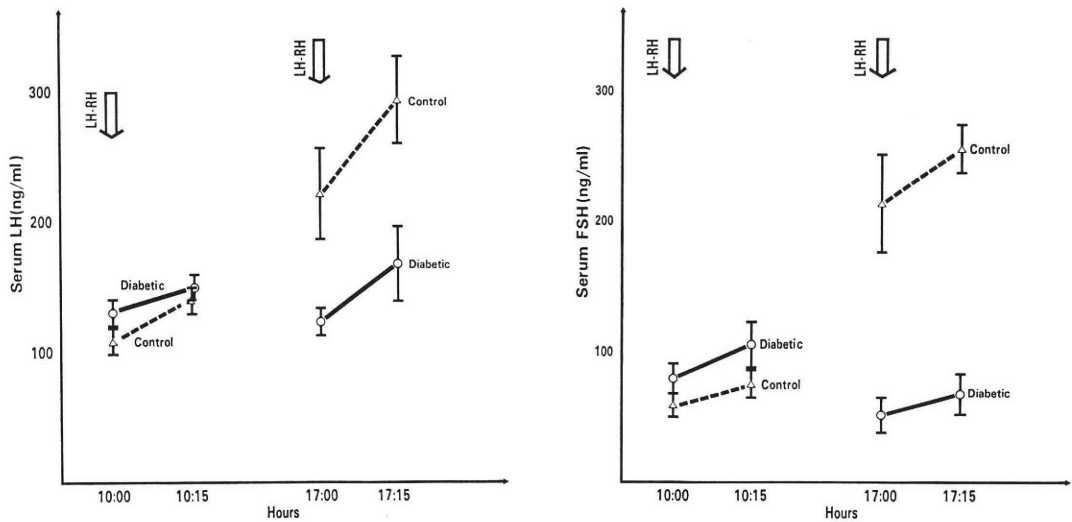


Fig. 4 Serum LH and FSH levels after a single LHRH injection in control (100 ng/100 g BW) and diabetic (100 ng/100 g BW) PMSG-treated rats. The rats were injected with PMSG on day 32 of age, and LHRH was injected at 1000 h or 1700 h on day 34 (presumed proestrus). Trunk blood was collected from jugular vein 0.15 min after injection. Each point represents a group mean $\pm$ SEM. There were seven control rats and seven diabetic rats at each time point.

Table 1 Rats were injected with PMSG at 1000 h on the morning of day 32 of age and were killed at 1000h on the morning of day 35 of age

	Control		Diabetic	
n	7		8	
Body weight (g)	51.8 $\pm$ 2.0		51.8 $\pm$ 4.3	a
Blood glucose (mg/dl)	81.4 $\pm$ 7.2		389.0 $\pm$ 20.3	c
Ovary (mg)	12.4 $\pm$ 0.9		8.5 $\pm$ 0.6	b
No. of ova	13.8 $\pm$ 0.9		2.0 $\pm$ 1.1	c
Ovary Estradiol (pg/ovary)	12075.5 $\pm$ 3700.0		9085.0 $\pm$ 700.2	

Values given are the mean $\pm$ SEM.

The statistical comparisons were made using the student's t-test.

- a. Not significantly different from corresponding control group.
- b. Significantly different ($P<0.01$) from corresponding control group.
- c. Significantly different ($P<0.001$) from corresponding control group.

times higher than that seen in control animals.

The ovarian weight and serum FSH in diabetic rats were significantly less than

Table 2 Rats were injected with PMSG (10 IU) at 1000 h on the morning of day 32 of age and were injected with hCG (5 IU) at 1700 h on day 34 of age

	Control+hCG		Diabetic+hCG	
n	7		7	
Body weight (g)	57.7 $\pm$ 3.6		50.0 $\pm$ 8.7	a
Blood glucose (mg/dl)	130.0 $\pm$ 4.5		648.3 $\pm$ 57.2	d
Ovary (mg)	13.5 $\pm$ 1.2		9.2 $\pm$ 0.8	b
No. of ova	9.8 $\pm$ 0.7		10.3 $\pm$ 1.2	a
Serum LH (ng/ml)	23.9 $\pm$ 2.9		67.7 $\pm$ 16.3	b
Serum FSH (ng/ml)	120.1 $\pm$ 13.9		73.1 $\pm$ 1.4	c

Values given are the mean $\pm$ SEM.

The statistical comparisons were made using the student's t-test.

- a. Not significantly different from corresponding control group.
- b. Significantly different ($P<0.05$) from corresponding control group.
- c. Significantly different ($P<0.01$) from corresponding control group.
- d. Significantly different ($P<0.001$) from corresponding control group.

Table 3 These rats were hypophysectomized by the Smith's parapharyngeal approach under pentobarbital anesthesia

	Control+ hypophysectomy	Diabetic+ hypophysectomy
n	8	8
Body weight (g)	56.3± 3.8	56.0± 1.1 a
Blood glucose (mg/dl)	69.2± 4.8	425.0±20.2 d
Ovary (mg)	29.0± 1.3	23.6± 2.2 b
No. of ovary	13.6± 0.8	0.7± 0.4 d
Ovary E ₂ (pg/ovary)	18648.3±4900	8057.6±1454 b

The rats were injected with PMSG (50 IU) at noon on day 32 of age after hypophysectomy.

And rats were injected with hCG (20 IU) at 1700 h on day 34 of age and killed at 1000 h on day 35 of age.

- Not significantly different from corresponding control group.
- Significantly different ($P<0.05$) from corresponding control group.
- Significantly different ($P<0.01$) from corresponding control group.
- Significantly different ($P<0.001$) from corresponding control group.

those observed in control rats, while Serum LH was significantly higher than that observed in control rats.

(Experiment 7)

As shown in Table 3, there were no significant differences in body weight between these two groups.

The blood glucose level of the diabetic rats was 425.0 ± 20.2 (mg/dl), about 6 times higher than that in control animals.

The ovarian weight, number of ova and ovary estradiol contents in diabetic rats were all significantly less than those observed in control rats.

(Experiment 8)

As shown in Table 4, there were no significant differences in body weight, ovarian weight and number of ova between these two groups.

The blood glucose level in the diabetic rats was 213.4 ± 43.9 (mg/dl), about 2 times

Table 4 Rats were injected with PMSG at 1000 h on the morning of day 32 of age and were killed at 1000 h on day 35 of age

	Control	Diabetic+ Insulin
n	7	8
Body weight (g)	63.0± 4.6	51.1± 4.4 a
Blood glucose (mg/dl)	108.5±22.5	213.4±43.9 b
Ovary (mg)	13.3± 0.6	11.5± 0.7 a
No. of ovary	4.9± 0.5	5.6± 0.6 a

Insulin-treated rats were injected once daily from day 32 until the evening of day 34 of age.

Values given are the mean±SEM.

The statistical comparisons were made using the student's t-test.

- Not significantly different from corresponding control group.
- Significantly different ($P<0.05$) from corresponding control group.

higher than that in control animals.

Discussion

Although failures of reproductive function in diabetic rats were reported^{2,3,4)}, the site of its failure is still contradictory.

Gentry and associates¹⁴⁾ have reported that translocation of the estradiol-receptor complex into the nucleus of the pituitary cells may be abnormal in diabetic rats.

Denari and Rosner¹⁵⁾ found a diminished pituitary sensitivity to estradiol in diabetic rats.

Howard J. Kirchick and associates⁸⁾ insisted that the most likely explanation for anovulation and the loss of the preovulatory LH surge in alloxan diabetic rats is a decreased response of the pituitary to LH-RH on presumed proestrus.

These reports suggest that the pituitary of alloxan induced diabetic rats was impaired.

However, our present studies clearly demonstrate that the response of pituitary gland to LH-RH in diabetic rats was not significantly different in vivo and in vitro from that in control rats. (Exp. 1, Exp. 2, Exp. 4)

The reason why these discrepancies between the ours and the abovementioned three reports occur is not clear.

The one explanation might lie in between streptozotocin and alloxan.

Fig. 3 shows that gonadotropin surges were not found in diabetic rats in the afternoon on day 34 of age.

This finding is consistent with the results reported by Howard J. Kirchick and associates⁶⁾.

On the other hand, Fig. 3 also clearly demonstrates that LH-RH content in hypothalami of diabetic rats was significantly higher than those in control rats on day 34 and day 35.

This finding suggests that the secretion or release of LH-RH from the hypothalamus may not occur in these diabetic animals.

Kirchick et al.¹⁾ claimed that the LH-RH contents in the hypothalamus in diabetic rats were not significantly different from those in control rats both in pre LH surge (between 1000-1200 h) and post LH surge (between 2030-2200).

However, our present data could not support their results.

Regarding the ovarian response to exogenous gonadotropin, the mean number of ova and ovarian growth in diabetic rats were significantly different from those in the control rats. (Exp. 5)

This finding is consistent with that of Foglia, VG and Farina, J.M.S.¹⁶⁾ and that of Howard J. Kirchick⁶⁾, but not consistent with that of Shipley and Danely²⁾.

In experiment 7 the ovarian response to exogenous gonadotropin in the absence of all endogenous pituitary hormones was examined.

The mean number of ova and ovarian estradiol in diabetic rats were significantly lower than those in control rats, and this finding was consistent with that of Frank. T. Y. LIU⁵⁾.

Therefore, it is most likely that the ovary in streptozotocin-induced diabetes was impaired.

And the ovulation function of ovary was restored with hCG treatment (Exp. 6) as reported by other investigators⁶⁾.

Blood glucose level in the diabetic rats

with insulin replacement was significantly less than that in the diabetic rats without insulin replacement.

Improvement of blood glucose in the insulin replacement group restored ovarian weight and the number of the ovulated ova.

These results support that the ovarian changes induced by streptozotocin are not derived from the toxicity of that drug.

To conclude, the present data strongly suggests that the cause of anovulation observed in the streptozotocin-induced diabetic rats primarily lies in diminished release of LH-RH from the hypothalamus, with a consequent loss of the preovulatory LH surge, and secondly in impairment of ovarian response to gonadotropins.

Acknowledgements

The author wish to thank Dr. A. F. Parlow, Rat Pituitary Hormone Program, NIAMDD, NIH, for the kind supply of radioimmunoassay kits for rat FSH and LH, and Dr. T. Miura of the Animal Center at Gunma University for the kind supply of hypophysectomized rats.

References

- 1) Distiller, L. A., J. E. Morley, B. I. Joffe and H. C. Seftel.: Pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing hormone in insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes*. 24: 378, 1975.
- 2) Shipley, EG., Daneley, KS.: Pituitary and ovarian dysfunction in experimental diabetes. *Am. J. Physiol.* 150: 84, 1947.
- 3) Davis, ME., Fugo, NW., Lawrence, KG.: Effect of alloxan diabetes on reproduction in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 66: 638, 1947.
- 4) Sinden, JA., Longwell, BB.: Effect of alloxan diabetes on fertility and gestation in rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 70: 607, 1949.
- 5) Liu, FTY., Lin, HS., Johnson, DC.: Serum FSH, LH and the ovarian response to exogenous gonadotropins in alloxan diabetic immature female rats. *Endocrinology*. 91: 1172, 1972.
- 6) Kirchick, H. J., P. L. Keyes and B. E. Frye.: Etiology of anovulation in the immature alloxan-diabetic rat treated with pregnant mare's serum gonadotropin; absence of the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology*. 102: 1867, 1978.

- 7) Kirchick, H. J.: Etiology of anovulation in the immature alloxan diabetic rat treated with pregnant mare's serum gonadotropin; decreased response of the pituitary to gonadotropin-releasing hormone. Doctoral Dissertation. The University of Michigan. Ann. Arbor. 1978.
- 8) Kirchick, H. J., Keyes, P. L., Frye, B. E.: An explanation for anovulation in immature alloxan-diabetic rats treated with pregnant mare's serum gonadotropin; reduced pituitary response to gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology*. 105: 1343, 1979.
- 9) Sawano, S. and Kokubu, T.: A single multichannel perfusion apparatus of rat adenohypophysis and growth hormone and prolactin response to pituitary purified bovine hypothalamic extracts. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 156: 72, 1977.
- 10) Smith, P. E.: Hypophysectomy and a replacement therapy in the rat. *Am. J. Anat.* 45: 205, 1930.
- 11) Hasegawa, Y. and Igarashi, M.: Regulation of the second surge of follicle-stimulating hormone; effects of antiluteinizing hormone-releasing hormone serum and pentobarbital. *Endocrinology*. 109: 130, 1981.
- 12) Crowley, W. F.: The biologic activity of a potent analogue of gonadotropin-releasing hormone in normal and hypogonadotropic men. *New. Eng. J. Med.* 302: 1052, 1980.
- 13) Duddleson, W. G., A. R. Midgley, Jr. and G. D. Niswender.: Computer program sequence for analysis and summary of radioimmunoassay data. *Comput. Biomed. Res.* 5: 205, 1972.
- 14) Gentry, R. T., C. N. Wade and J. D. Blau-stein.: Binding of (³H) estradiol by brain cell nuclei and female rat sexual behavior; inhibition by experimental diabetes. *Brain. Res.* 135: 135, 1977.
- 15) Denari, J. H. and J. M. Rosner.: Sexual steroid uptake in the alloxanized diabetic rat. *Steroid. Lipids. Res.* 3: 151, 1972.
- 16) Farina, J. M. S., R. A. Chieri, J. C. Basabe and V. G. Foglia.: Response to gonadotropins in mature and immature diabetic female rats. *Fertil. Steril.* 22: 704, 1971.

ストレプトゾトシン糖尿病における 視床下部—下垂体—卵巣系機能

谷口雄一, 宮本 薫, 長谷川喜久,
山田清彦, 五十嵐正雄

(群馬大学産科婦人科学教室)

糖尿病ラットにおける生殖機能障害のメカニズムを明らかにするために、幼若雌ラットを利用してストレプトゾトシン人工糖尿病状態での視床下部、下垂体、卵巣機能を検索した。糖尿病ラットではPMS投与によるLH-surge, FSH-surgeは認められなかったが、この時の下垂体のLH-RHに対する反応性は対照群と差がなかった。一方、糖尿病ラットでは視床下部中のLH-RH含量がLH-surgeの前後において対照群よりも有意に高く、LH-RH放出に障害のあることが示唆された。

PMS投与後の排卵数と卵巣重量の増加は、糖尿病ラットのほうが対照群よりも有意に低く、これは下垂体摘出ラットを使った実験でも同じ結果であった。

これらの結果からストレプトゾトシン糖尿病ラットでは視床下部と卵巣の障害は明らかに認められるが、下垂体の障害は認められないことが判明した。

(受付: 昭和58年1月20日)

マウス卵細胞の hexokinase 活性と その受精後の変化

Hexokinase Activity in the Mouse
Oocyte and Preimplantation Embryo

東京大学医学部産科婦人科学教室

堤 治 佐藤 和雄 矢野 哲
Osamu TSUTSUMI Kazuo SATOH Tetsu YANO

木下 勝之 水野 正彦 坂元 正一
Katsuyuki KINOSHITA Masahiko MIZUNO Shoichi SAKAMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology
Faculty of Medicine University of Tokyo

東京大学医学部脳研究所生化学

加藤 尚彦
Takahiko KATO

Department of Biochemistry, Institute of Brain Research
Faculty of Medicine, University of Tokyo

特殊なエネルギー代謝を営むとされる卵および初期胚の glucose 代謝能を解析するため酵素的サイクリングを利用し解糖系の律速酵素 hexokinase 活性の超微量定量法を開発した。これによりマウス未成熟卵から着床前の blastocyst までの卵および胚を凍結乾燥後秤量、試料として解析し以下の成績を得た。

1. マウス卵および胚の乾燥重量は約24ng で、初期発生の過程では重量の変化はなかった。
2. 卵細胞の hexokinase 活性は $21.7 \pm 10.8 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$ ($520 \times 10^{-15} \text{ mol/oocyte/hr}$) と低値で glucose 利用性が不良である。
3. 排卵受精後 hexokinase は上昇するが2細胞期では変化がなかった。
4. 8~16細胞期で hexokinase 活性は通常組織レベルに達し glucose 利用性がよくなる。
5. blastocyst 期で hexokinase 活性は $709 \pm 88 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$ と peak に達し, glucose 利用が極めて活発となる。
(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 399-403, 1983)

緒言

卵の培養法は近年著しい進歩を示しているが、1912年 Brachet¹⁾ が、初めて受精卵の培養をおこなったのが最初の報告で、1950年代 Witten²⁾ が化学的に合成された chemically defined medium を用い培養に成功してから、各種培養液の開発がすすんだ。現在では、培養技術

の進歩はヒト卵の体外受精という臨床応用をも可能としている。技術的にはここまで進みながら、卵が微小試料でありかつ同時に多数の卵を得がたいなどの方法論的制約によつて卵自身を直接生化学的に分析する方法は乏しかった。

培養液の組成による実験から^{3,4)}、未熟な卵は pyruvate 依存型で他の細胞と異なり glucose はエネルギー

基質とならないことがわかった。ところが、8細胞をすぎた卵は glucose が利用可能となることが注目され、卵が分化する過程でエネルギー代謝上大きな変化があることが示唆された。これに対して Brinster^{6,7}らは多数個の卵を集めて酵素活性の測定を試みるなど、一連の先験的研究をおこなったが方法論の壁により十分な発展は得られなかった。

我々は、酵素的サイクリング⁸⁻¹⁰による卵細胞1個の物質代謝を測定する微量定量法を確立し報告した¹¹。今回はこれを用いて、卵成熟から着床に至るまで解糖系の律速酵素、hexokinase の特異的活性を測定し、初期発生の過程における卵のエネルギー代謝の特殊性を解析した。

方 法

1. 実験材料

1) 動物実験法

性周期を有する ICR 系成熟雌マウス (8~9 週齢) に垢腔検査をおこない発生期像を示す日を Day 0 とし、その日の夕方に成熟雄と同居させ、翌朝腔栓を認めた場合 Day 1 とした。屠殺は Day 0 より Day 4 まで毎日午後2時に、頸椎脱臼法にて殺し、卵巣または子宮及び卵管を切除し以下にのべる方法で卵細胞を採取した。

2) 卵胞内卵細胞の採取

Day 0 マウスの卵巣を培養シャーレの Buffer A (hyaluronidase 0.03% を含む phosphate buffer pH 7.5) 0.5ml に加え、実体顕微鏡下で成熟した卵胞を26ゲージ針にて穿刺し卵細胞を Buffer 中に浮遊せしめた。内径を卵の直径に合わせて作製したマイクロピペットに卵および付着する卵丘細胞を数回吸引排出し、卵丘細胞を剥離し、卵を単一の細胞とした。この卵細胞はただちに他のシャーレにとつた Buffer B (hyaluronidase を含まない PBS pH 7.5) に移し hyaluronidase を洗浄し、形態観察をおこない germinal vesicle の存在を確認したうえで、ガラス板上に移し凍結した。これら卵は耐圧ガラス管内で -30°C 、 10^{-2}mmHg の状態に一晩保ち、凍結乾燥した。

3) 受精卵の採取

Day 1 から Day 3 までのマウスについては、卵管を Buffer B 中にとり、30ゲージ針 (先端を鈍にしたもの) を卵管采より挿入し、Buffer B を注入し卵を流出せしめた。Day 4 では、子宮を Buffer B 中にとり、26ゲージ針をもちいて flushing した。いずれの場合も形態観察後ただちにガラス板上に移し卵胞卵と同様に凍結乾燥した。

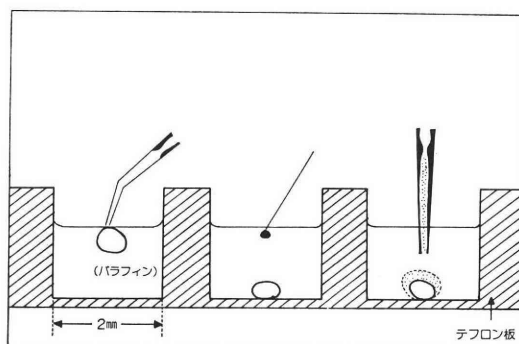
2. 実験法

1) 卵細胞の重量測定法

Day 0 より Day 4 までの卵、おのおの5個をマイクロ天秤により測定した。マイクロ天秤とは、水晶糸をシリンダー内に封入固定し、自由端に卵細胞を付着させ、重量によるたわみを顕微鏡的におこなうものである。マウス卵については、感度0.1ng のものを、温度 20°C 湿度50%の条件下で使用した。

2) hexokinase 活性測定法

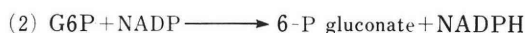
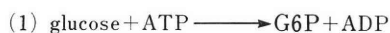
反応液組成は100mM tris-HCl buffer pH 7.5に5mM glucose, 6mM ATP, 0.6mM NADP, 5mM MgCl_2 , 0.5% (v/v) Triton X-100, $0.9\mu\text{g/ml}$ glucose 6-phosphate dehydrogenase (Boehringer, Mannheim, Germany) および0.05% (w/v) bovine serum albumin よりなる。反応液量は $1.0\mu\text{l}$ と微量であるため、oil-well 法を用いた。Oil-well とはテフロン板に小さな井戸を掘りパラフィンオイルを満たしたもので、反応液はオイル中の水滴となり蒸発が防がれる。実体顕微鏡下で卵細胞が反応液に到達し溶解するをもつて反応開始とし、1~2時間後0.2M NaOH $1.0\mu\text{l}$ を加え pH をアルカリ化して反応を停止した (図1)。



左: $1.0\mu\text{l}$ の反応液を oil-well 中にとる
 中: 卵細胞を加え反応を開始する
 右: NaOH (0.2M ; $1.0\mu\text{l}$) を加え、反応を停止する。NADPH をサイクリング反応へまわす

図1 Oil-well 法

以上の反応により hexokinase の活性に応じて NADPH が生成される。スタンダードには 10^{-13} ~ 10^{-12}mol の NADPH を含む反応液5種を用いた。これらを NADP サイクリングにより10,000 倍に増幅定量した。サイクリング液は、100mM Tris-HCl pH 8.0 に5mM α -Ketoglutarate, 1mM glucose 6-phosphate, 0.1mM ADP, 25mM ammonium acetate および0.02% bovine serum albumin を含むサイクリング反応液に、glutamate dehydrogenase (Boehringer, Mannheim, Germany), G6P dehydrogenase を各々 $100\mu\text{g/ml}$, 7.5



(1) (2) の反応で生成した NADPH を選択的に (3) の NADP サイクリング増幅する。最終的には、6-P gluconate* を指示反応により蛍光測定する

図2 サイクリング法による hexokinase 活性測定

$\mu\text{g/ml}$ 加え、 $50\mu\text{l}$ づつに分注し、先の反応液とスタンダードを同量 ($1.6\mu\text{l}$) 加えサイクリング反応をおこなった。サイクリングで増幅された反応生成物 6-phospho gluconate は指示反応により蛍光々度計 (Farand Ratio II, U.S.A) を用いて定量した (図2)。

試薬はすべて特級を用い、補酵素類は、Boehringer のものを用いた。

成 績

1. 卵細胞乾燥重量

Day 0 の卵細胞から Day 4 の blastocyst までの乾燥重量を表1に示した。2細胞で最小値を示し以後増加する傾向があるが、t-検定により有意差は認められなかった。

2. hexokinase 活性

Day 0 卵細胞の hexokinase 活性は、 $0.52 \pm 10^{-12} \text{ mol/oocyte/hr}$ すなわち $21.7 \pm 10.8 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$ (mean $\pm$ S.D. 以下同様) であり同一条件で測定した卵巣や子宮組織の活性 (それぞれ $246 \pm 16, 327 \pm 33.0 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$) の10%以下の値であった。Day 1 の受精卵では Day 0 に比較して有意の活性上昇 (t 検定にて $P < 0.01$) を示し、 $86.5 \pm 23.9 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$ となった。Day 2 の2細胞は、Day 1 と変化なく、 $93.1 \pm 24.4 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$ であった。Day 3 の8~16細胞では上昇 ($P < 0.01$) し、 $246 \pm 106 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$ で、

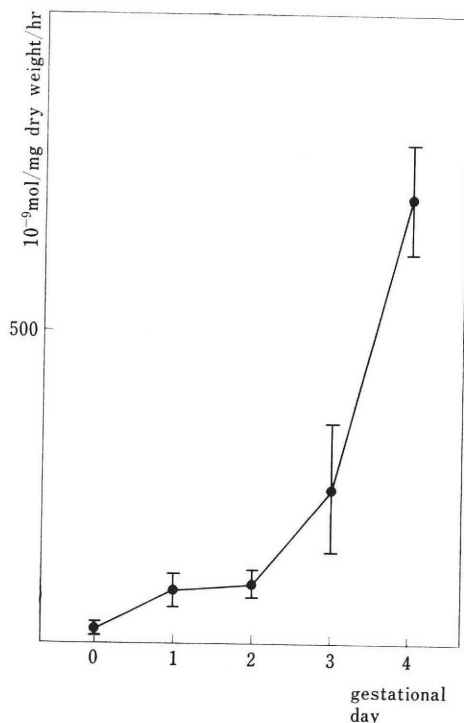


図3 Hexokinase activity in the mouse oocyte

他の組織と同じレベルになった。Day 4 の blastocyst ではさらに高い活性を示し、 $709 \pm 88 \times 10^{-9} \text{ mol/mg dry weight/hr}$ となった。この活性上昇は Day 3 に比較し有意 ($P < 0.01$) である。

考 察

哺乳動物卵はいずれも微小、微量であり、ラット卵の乾燥重量は約 $50 \text{ ng}^{11)}$ であるが、マウスでは約 24 ng とさらに軽量で、 1 mg の試料を得るには4万個以上の卵を必要とし、卵自身を直接生化学的に分析することは困難であった。酵素的サイクリングは二つの酵素反応を組合わせて 10^{-15} mol 以下の物質を測定し細胞レベルの物質代謝分析を可能とする超微量定量法で産婦人科領域における応用については既に報告したが¹⁰⁾、卵はよい研究対象である。

卵の重量は着床に至るまで大きな変化はない。これは

表1 Dry weight of the mouse oocyte

(ng)

Day	0	1	2	3	4
Stage	follicular oocyte	fertilized oocyte	2 cell	8~16 cell	blastocyst
mean $\pm$ S.D. (n=5)	23.9 $\pm$ 1.4	24.1 $\pm$ 1.9	23.6 $\pm$ 1.9	24.3 $\pm$ 2.3	25.2 $\pm$ 3.3

卵割がすすむたびに卵(胚)の個々の細胞は重量すなわち大きさが半減しつづけることを意味する。透明帯に包まれているという物理的制約にもよると考えられるが、活発な物質代謝を営む胚の細胞の大きさを制御するメカニズムも興味深い問題である。乾燥重量の測定は代謝活性測定にあたり specific activity を求める上で必須であり、これにより各時期あるいは、他組織、他種の卵との比較が可能となった。

哺乳動物卵は内在性のエネルギー源に乏しく着床に至るまで絶えず外部よりエネルギー基質の供給を受けなければならない¹²⁾。そのエネルギー基質は培養実験から卵胞卵および初期の受精卵ともに pyruvate で、glucose は卵をやしなうエネルギー源とはならないことがわかっている^{8,4)}。glucose をリン酸化して解糖系へとりこむ役割をもつ hexokinase 活性が他組織における活性の10%以下と極めて低いことは、卵が glucose をエネルギー源として利用できないという事実を生化学的に証明したことにある。

活性変化をみると、Day 0 と Day 1 および Day 2 から Day 3, Day 4 にかけて活性上昇がみられる。前の活性上昇の要因としては、LH 刺激、排卵受精等が考えられるが、我々のラット卵の成績では、in vivo に hCG を投与したところ hexokinase 活性が上昇した¹¹⁾こと、受精前後で O₂ 消費率が変わらないこと⁷⁾より、LH 刺激により卵が成熟することに関連しているものと考えられる。また LH (hCG 投与) により卵のステロイド産生能の増加が認められる¹³⁾ため、内因性のステロイドを介する hexokinase の induction の可能性も示唆される。しかし、Day 1, Day 2 の hexokinase 活性は組織レベルに達せず、glucose はまだ十分に利用されないと理解される。

Day 3 以降 hexokinase 活性は急激に上昇し Day 4 で peak に達する。Day 3 の8細胞卵は、培養実験からも glucose 依存性になる時期であり、hexokinase 活性が他組織同様に glucose 利用の域値に達したためと解釈できる。blastocyst は他組織レベルの2~3倍、卵胞卵の30倍以上の活性を有することになる。酸素消費率から見ても、blastocyst は高い呼吸能があることが報告されており、着床前の胚は極めて活発なエネルギー代謝をおこなっていることがわかる。合目的に理解すれば、着床における細胞接着に備えて胚が高いエネルギーを蓄えていると考えられる。

卵および初期胚は、短期間に形態ばかりでなく、物質代謝動態も急激な変化を示す。この過程を究明することには、単に生殖生理の原点にせまるといふ学問的興味にとどまらず、昨今の体外受精の臨床においては、特殊な代

謝を営む卵を子宮にもどす時期あるいはあるべき子宮内環境の検討に役立てることが可能であり、さらには artificial な修飾をより natural なものに近づける手段になるものと考ええる。

文 献

- 1) Brachet, A.: Developement in vitro de blastomeres et jeunes embryons de mammiferes. C. r. hebd. Seanc. Acad. Sci., Paris. 1191: 155, 1912.
- 2) Witten, W. K.: Culture of tubal mouse ova. Nature, Lond. 177: 96, 1956.
- 3) Biggers, J. D., Whittingham, D. G. and Donahue, R. P.: The pattern of energy metabolism in the mouse oocyte and zygote. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 58: 560, 1967.
- 4) Brinster, R. L.: Studies on the development of mouse embryos in vitro. II. The effect of energy source. J. Exptl. Zool. 158: 59, 1965.
- 5) Brinster, R. L. and Thomson, J. L.: Development of eight cell mouse embryo in vitro. Exptl. Cell Res. 42: 308, 1966.
- 6) Brinster, R. L.: Hexokinase activity in the preimplantation mouse embryo. Enzymologia. 34L 304, 1968.
- 7) Mills R. and Brinster, R. L.: Oxygen consumption of preimplantation mouse embryos. Exptl. Cell Res. 47: 337, 1967.
- 8) Lowry, O. H., Passonneau, J. V. and Schulz, D. W.: The measurement of pyridine nucleotides by enzymatic cycling. J. Biol. Chem. 236: 2746, 1961.
- 9) Kato, T. and Lowry, O. H.: An Enzymatic Cycling Method for Nicotinamide-Adenine Dinucleotide with Malic and Alcohol Dehydrogenase. Anal. Biochem. 53: 86, 1973.
- 10) 堤 治, 佐藤和雄, 坂元正一, 加藤尚彦: 酵素のサイクリングによる超微量分析法の産婦人科領域における応用, 臨婦産, 34: 653, 1980.
- 11) 堤 治, 佐藤和雄, 坂元正一: サイクリング法による卵細胞エネルギー代謝動態に関する研究 日産婦誌, 34: 1755, 1982.
- 12) 堤 治, 佐藤和雄, 木下勝之, 坂元正一: エネルギー代謝からみた卵細胞の物質代謝, 臨婦産, 36: 627, 1982.
- 13) 堤 治, 佐藤和雄, 坂元正一: 卵細胞のステロイド代謝動態に関する研究, 日内分泌会誌, 58: 1321, 1982.

Hexokinase activity in the mouse oocyte and preimplantation embryo

**Osamu Tsutsumi, Kazuo Satoh, Tetsu Yano,
Katsuyuki Kinoshita, Masahiko Mizuno,
Shoichi Sakamoto
and Takahiko Kato***

Department of Obstetrics and Gynecology
Faculty of Medicine University of Tokyo

*Department of Biochemistry, Institute of
Brain Research Faculty of Medicine,
University of Tokyo

Mouse follicular oocytes and embryos at various

stage of development were obtained and freeze-dried. They were weighed on a quartz fiber fish-pole balance and applied for hexokinase assay. The NADPH formed was measured by NADP cycling (10000 fold amplification). The dry weight of the sample was about 24 ng. Hexokinase activity was quite low in the immature oocyte in the follicle ($21.7 \pm 10.8 \times 10^{-9}$ mol/mg dry weight/hr). It was gradually increased especially at the time of oocyte maturation and 8 to 16 cell stage. Finally it reached the peak value in the preimplantation blastocyst ($709 \pm 88 \times 10^{-9}$ mol/mg dry weight/hr).

(受付: 昭和57年12月10日)

手術用顕微鏡下でのヒト卵胞卵の回収

Recovery of Human Follicular Oocytes
under Operation Microscope

東邦大学第2産婦人科学教室 (主任: 木下佐教授)

岩 城 章

Akira IWAKI

2nd, Department of Obstetrics and Gynecology,

School of Medicine, Toho University

(Director: Prof. Tasuku KINOSHITA)

カーネギー医院

印 牧 義 孝 遠 藤 誠

Yoshitaka KANEMAKI Makoto ENDO

Carnegie Obstet. and Gynecol. Hospital, Numazu

microsurgery による卵管形成術を実施する際手術用顕微鏡下で卵胞卵の回収を試みた。対象は61名であり、その他の開腹手術患者112名と比較検討し、次のごとく結果を得た。

- 1) 手術用顕微鏡下での採卵率は71%、一般開腹術のそれは60%で、前者がやや高値を示した。しかし、不妊患者のみでは、まったく差を認めない。
- 2) 変性卵の頻度にも差を認めなかった。
- 3) 全回収卵を年齢別に検討すると、年齢が増加するにつれ採卵率、個体当りの採卵数が減少することを認めた。
- 4) 手術用顕微鏡下での卵観察は不可能ではないが、手術中にヒト卵を認めることは困難である。

本手術は月経周期に関係なく実施したので予期したより低い採卵率、変性卵の存在の高率という結果を得たが、IVF 実施に準じて preovulatory の時期に実施すればもつと高い卵回収率を得るであろう。microsurgery 施行の患者は IVF-ET 適応の予備軍ともいえるのであるから、できたら両者を同時に試みれば妊娠率の向上が期待されると考える。

(Jap. J. Fert. Ster. 28(3), 404-409, 1983)

結 言

卵管性不妊症に対しては卵管形成術が行われていたが、治療の成功率はきわめて低く、たとえ妊娠したとしても、子宮外妊娠や流産などに到る例が少なくなく、生児を得るのは稀であつた。そのため術式の改良、術後治療の改善などをうたつた方法が発表されたが、実際にはそれほど効果を認められていないのが大部分である。すなわち従来の形成術では偶然性による治療効果を期待

する程度であつて、産婦人科手術の成功率を論ずる場合、極端に低率な術式といえる。形成術以外の手術療法として古くから時々行われていた卵巣移植術(子宮卵巣吻合術)や約20数年前に試作された人工卵管は現在のところ臨床的治療法とはいえない。

その他の方法としては体外受精卵移植が1960年代より、Idea として発表されており、ようやく1978年に Steptoe & Edwards の成功第1号を見、以後数ヶ国での成功が相次いで報道されている。しかし、わが国にお

いては一般的な臨床的治療法として、ある程度以上の設備を備えた病院での実施可能はおろか、大学病院もしくはそれに準ずる大病院での実施→成功もなかなか難しいのが現状である。他の方法としては microsurgery を用いての卵管形成術である。カーネギー産婦人科医院では数年前よりマイクロによる形成術を実施し、ある程度マクロよりマイクロが優れていることを示す成績を得ている¹¹⁻¹⁵⁾。しかし最初から形成術の適応外の症例や、開腹してみても microsurgery も不能と判定せざるを得ない症例がある。これらは前述の体外受精卵移植 IVF-ET (in vitro fertilization-embryo transfer) を実施すべき症例である。そのためにはまず卵胞卵の回収が第1に行う操作である。そこで microsurgery 実施の症例について手術用顕微鏡下で卵胞卵の回収を行ってみたので、その成績を報告する。

実験方法

実験対象：昭和55年4月から56年9月までの18ヶ月間においてカーネギー産婦人科医院において実施したマイクロ手術患者61名と同期間に行つた他の開腹手術患者のうちの112名を対照とし、総計173名である。

実験方法：一般開腹患者については通常の方法で卵胞液を吸引する⁶⁾。マイクロ手術については手術用顕微鏡 Zeiss-OPMI 7D で卵巣を見ながら同様に卵胞液を吸引する。実体顕微鏡で卵胞液中の卵の有無を検査し、卵があれば、場合によつては実体顕微鏡下で写真撮影をし、次いでスライドガラス上に卵を移す。続いて通常の顕微鏡で観察、撮影するか、大体の形態を模写した。

成 績

1. 年齢分布

卵胞液吸引患者 173 名を年齢別に分けると表 1 のごとくであり、() 内はマイクロ手術の患者数である。すなわち20代の後半47名、30代の前半77名であり、この両

表 1 年 齢 分 布

年齢 (歳)	患者数
20 ~ 24	6 (1)
25 ~ 29	47 (20)
30 ~ 34	77 (31)
35 ~ 39	19 (5)
40 ~ 44	16 (4)
45 ~ 51	8 (0)
計	173 (61)

() 内はマイクロ手術患者数

表 2 採卵率と平均採卵数

年齢	総人数	採卵(+)人数	採卵率 (%)	採卵総数	平均採卵数
20-24	6	6	100	20	3.3
25-29	47	33	70	72	2.2
30-34	77	51	67	100	2.0
35-39	19	10	53	15	1.5
40-44	16	10	63	9	0.9
45-51	8	2	25	2	1.0
計	173	112	65	228	2.0

表 3 疾患別の採卵率

疾 患	患者数	卵(+)人数	採卵率
マイクロ	61	43	70%
P.C.O.	41	29	71%
内 膜 症	32	22	69%
P.C.O. + 内膜症	5	4	80%
筋腫核出術	21	12	57%
そ の 他	13	2	15%
計	173	112	65%

群で124名となり、全体の72%を占めている。マイクロの手術患者のみにについては $56/61=84\%$ となり、大部分が25~34歳の患者である。これは、われわれが先に発表したアンケート調査における25~34歳の不妊婦人の比率(83, 85%)とよく一致する^{5,7)}。

2. 採卵率と平均採卵数

(1) 年齢別 (表 2)

採卵率(採卵できた症例数/採卵操作を行つた症例数)をみると、20~24歳の6症例ではすべての症例において卵を回収できた。すなわち回収率は100%であつたが、20歳代の後半では70%となり、以後年齢が増すにつれて回収率は低下する傾向がみられる。45歳から51歳までの8例においては卵が回収できたのは2例、採卵率はわずか25%に過ぎなかつた。平均採卵数も同ような傾向を示し、20歳代前半の3.3から、漸次減少し、40~44歳の0.9および45~51歳の1.0になる。

(2) 疾患別の採卵率 (表 3)

疾患別での採卵率は PCO + 内膜症の例で80%とやや高く、筋腫核出術では57%とやや低い。実施症例数が30を越したマイクロ、PCO、内膜症では70, 71, 69%とほぼ同じ採卵率であつた。その他は13例中2例、15%と極端に低いが、その内容は帝切1例、子宮外妊娠の他側穿刺1例、単純子宮全摘11例である。妊娠時の2例はいずれも卵を回収できなかつた。子宮全摘例での回収率は18%

であり、不妊症手術時よりは明らかに低い。この11例には20歳代は1人もおらず、年齢層が不妊症より明らかに高齢に属しており、年齢的な因子のための低率と思われる。

PCO, 内膜症, PCO+内膜症, 筋腫核出術の患者総数99名すなわちマイクロ以外の開腹不妊手術患者においては卵回収のみられたのは67名であり、回収率は68%となり、不妊患者全体からみるとマイクロもマクロも差がみられなかった。

3. 年齢と1個体当りの採卵数 (表4)

本実験での173症例においては、採卵数をもつとも多かつたのは6個であつた。それで、回収卵数0から6個

表4 年齢と採卵数

採卵数 年 齡	0	1	2	3	4	5	6	計
20-24			2		4			6
25-29	14	12	8	9	3	1		47
30-34	26	24	13	9	3	1	1	77
35-39	9	6	3	1				19
40-44	6	5	2	2	1			16
44-51	6	2						8
計	61	49	28	21	11	2	1	173

表5 回収卵の形態

(回収卵228個)

G.C. の 付着状態	卵黄膜の状態		計
	透明帯に 接し円形	その他	
完 全	94(47%)	43	137
部 分 的	22	14	36
無 し	18	9	27
計	134	66(33%)	200

回収卵は228個

G.C.: 顆粒膜細胞

までの症例数が幾つあつたかを年齢別に分けてみると、表4のごとくである。20歳代の後半、30歳代の前半では採卵数が5~6個と比較的多かつた症例をみるが、45~51歳の間では6例中2例が僅かに1個回収できたのみである。

4. 回収卵の形態学的検討

回収した卵を顆粒膜細胞の付着状態と卵黄膜の状態で分類した。すなわち卵黄膜の状態は透明帯に接し円形(卵黄膜が透明帯のすぐ内側に接して存在するもの)とその他(卵黄が萎縮したり、いびつになつており、透明帯内側と卵黄との間に明瞭な卵黄周囲腔が存在する)に分けた。一方、顆粒膜細胞の付着状態は全周(全周にわ

表6 変性卵の頻度(年齢別)

年齢	採取卵数	検討卵数	変性卵数	頻度
20-24	20	19	13	68%
25-29	72	62	28	45%
30-34	100	90	50	56%
35-39	15	14	6	43%
40-44	19	13	7	54%
45-51	2	2	2	100%
計	228	200	106	53%

表7 変性卵の頻度(疾患別)

疾 患	回収検討 卵数	変性卵数	頻度
マ イ ロ ク	77	39	51%
P. C. O.	61	31	51%
内 膜 症	26	13	50%
P.C.O.+内膜症	9	6	67%
筋腫核出術	26	17	65%
そ の 他	1	0	0%
計	200	106	53%

たつて数層以上)、部分的、無しの3つに分けた。回収卵は228個であつたが観察し記載したのは200個、80%である。すなわち、約10%の卵が他の時計皿やスライドグラスに移し変えなどの操作中に紛失してしまった。この200卵を前述の Criteria で分類してみると、顆粒膜細胞の付着状態および卵黄膜の状態が完全といえるのは94個(47%)にすぎない。この94個以外のすべてを変性卵とした。

5. 変性卵の頻度

(1) 年齢別(表6)

41~51歳代で得られた2個の卵はいずれも変性卵であつた。20~24歳では68%とやや高い頻度であるが、その他の年代では43~56%と著差を認めない。

(2) 疾患別(表7)

疾患別に変性卵の頻度をみると、マイクロ、PCO、内膜症でそれぞれ51、51、50%とほとんど同じである。PCO+内膜症では67%、筋腫核出術では65%であり、やや高かつた。

6. 回収卵数と変性卵数の関係(表8)

回収検討卵数1、2、3、4、5の場合、変性卵数が0、1、2、3であつた症例は何例であるかを表示したのが表8である。すなわち、回収卵数1個の場合、変性卵数がみられない症例は22(47%)であり、25例では変性卵であつたということを示している。同様に2卵を

表 8 回収卵(検討卵)数と変性卵数の関係

変性卵数 検討卵数	0	1	2	3	計(人)
1	22(47%)	25			47
2	6(21%)	12<64%>	10		28
3	3(18%)	10	1<82%>	3	17
4	2(22%)	1	3	3<100%>	9
5	(0%)		1	1<100%>	2

< >内は無変性卵を認めた症例の累計%

回収した28人について、どちらも発育卵で変性卵を回収しなかったのは6例、12例では1個が変性卵で1個が発育卵であり、10例では2個のどちらも変性卵であったことを示している。したがって変性卵でない卵を1つでも認めた症例は $6+12/28=64\%$ になる。同様に3卵の時は82%となり、4卵、5卵を回収した場合は、いずれにしろ少くとも1個は無変性卵が認められた。

考 案

microsurgery による卵管形成術施行の際に手術用顕微鏡下で卵胞卵の採取を行ったところ、採卵率は45人/61人、70%であった。これは他の開腹術における採卵率68人/121人、61%よりやや高かったが、著差は認められず、特に不妊患者の手術においてはマイクロもマクロも差はみられなかった。1940年代から1970年代にかけて腹式手術時における卵回収の報告があり、その値は拙著にまとめてあるが^{4,6)}、これらの値とほぼ同じであった。顕微鏡下で発育卵胞を確認した後に卵胞液を吸引することによって、採卵率の向上をはかろうとの考えがあつて、本実験を行ったが、予期した程の成績向上はみられなかった。本法では主たる卵胞を定め、それからの卵回収率をみたのではなく、マクロの場合は勿論、手術用顕微鏡下でも、1つの卵巣に対し、何回かの穿刺吸引を行ったので、顕微鏡を使う利点が薄れ、マクロとマイクロの差が出ない結果となつたのであろう。もし最優位の卵胞を顕微鏡で観察し、その卵胞からの卵回収率を比較したら、もつと明瞭な差が出たかもしれない。

1970年の Steptoe と Edwards の IVF-ET の第1号成功以来、各国で不妊治療の一法としての利用を目指し、既にいくつかの国での成功がみられる。この間、卵回収時期の検討³⁾、回収法や培養法の改善^{10,20,21)}、移植技術の改良^{1,16,18)}および成績^{2,22,24)}に関して多くの報告がある。現在、IVF-ET を臨床的に実際に実施する場合、卵回収は大部分 laparoscopy によつている。Laparoscopy による卵回収率より開腹時のそれが優れてい

ることは理論的にうなづけるが、事実1970年代の報告でも、その通りである。最近の laparoscopy による成績では Mettler¹⁹⁾は自然周期例で45%、無処置群で61%、Johnston⁸⁾は卵胞刺激群で86%、無処置群で58%と報告し、Wood²³⁾は卵胞刺激群と自然周期群において卵胞からの卵回収率に差はなく、卵胞からの成熟卵の回収率は85%と述べている。また Jones⁹⁾は1980年の46%から81年の88%に向上したことをいつている。さらに Wramsky²⁵⁾の17例では全員より卵回収があつたと記されているので、laparoscopy 実施患者に対しての卵回収率は100%となる。これらの成績はかつての開腹時での回収率よりはるかに優れている。これには採卵器具の進歩が関与していることは勿論であるが、IVF-ET の採卵の場合は preovulatory の卵を回収することが必要であるから、採卵時期を十分検討の後、排卵に近い時期で卵胞液を吸引しやすい卵胞に実施したことが高い採卵率を得た理由であろう。これに反し、今回のわれわれの実験では月経期以外の時期では周期を考慮せず手術を予定し、採卵したため、卵胞液の吸引が十分でなかつたり、排卵後の症例もあつたため、高い採卵率を得られなかったものと考ええる。このことは変性卵の回収が多かつたことにも関連するのであろう。

ごく最近では laparoscopy にもよらないで、腹壁穿刺による卵回収成績が報じられている。すなわち Lenz¹⁷⁾は30人の患者に超音波断層を実施しながら、50の卵胞より卵胞液を吸引し、26個の卵を得たと述べている。もし、この方法が多くの機関で採用されて、上記のような成績を得るならば、最初に腹壁穿刺法を実施し、不成功なら laparoscopy を実施という方向になろう。

採取卵胞液中での卵の観察が術中に可能かという点、理論的には可能であり、筆者も手術とは関係なしに家兎卵管卵を手術用顕微鏡下で観察したが、写真撮影は不可能であつた。この場合に比べて、実際の術中の観察は卵以外の細胞成分が混入していることと、卵胞液を入れた容器の保持も不安定なので卵の観察は容易でなく現在ま

でのところ認めることはできない。

マイクロによる卵管形成術と IVF-ET は、もし両者のどちらかの成功率がきわめて高率になれば一方の実施が少くなる関係にあると考えられる。しかし現在においてはたとえ IVF-ET 以外に妊娠の可能性がないと診断されても不妊婦人の $\frac{1}{8}$ は IVF-ET を欲していない^{5,7)}。したがって卵管形成術の重要性があるのであるが、他面卵管形成術の患者こそ IVF-ET の適応である。形成術を受ける患者は、その点をよく承知しており体外受精卵移植の拒否率は10%と低下する⁷⁾。

現在、microsurgery と IVF-ET の両法を行いうる機関は少ないが、卵管形成術を予定する患者であつて、体外受精卵移植を許容する者に対しては排卵前に開腹し、IVF-ET も試みるのが体外受精に適した preovulatory の卵をうるもつとも容易な方法といえ両法を同時に行うなら、妊娠率の向上を期待できよう。

文 献

- 1) Edwards, R. G., Steptoe, P. C., Purdy, J. M.: Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro, *Brit. J. Obstet. Gynec.*, 87: 737, 1980.
- 2) Edwards, R. G.: Test-tube babies, 1981, *Nature*: 293, 253, 1981.
- 3) Garcia, J. E., Jones, G. S., Wright, G. L.: Prediction of the time of ovulation, *Fertil. Steril.*, 36: 308, 1981.
- 4) 岩城 章: 体外受精卵移植による不妊治療, 産婦実録, 28: 447, 1979.
- 5) 岩城 章, 百瀬和夫, 斉藤真一, 印収義孝: 体外受精卵移植に対する不妊患者の意識調査, 産婦実録, 28: 273, 1979.
- 6) 岩城 章: 卵の採取法とその問題点, 臨床産婦人科手術全書(鈴木雅州ほか編) p 183, 金原出版, 1981.
- 7) 岩城 章, 館花明佳, 小倉久男, 麻野次男, 持田福重, 永江 毅, 百瀬和夫, 斉藤真一, 印収義孝: 体外受精卵移植に対する不妊患者の意識調査—第2回目調査成績, 産婦実録, 32: 561, 1983.
- 8) Johnston, I., Lopata, A. et al: In vitro fertilization: The challenge of the eighties, *Fertil. Steril.*, 36: 699, 1981.
- 9) Jones, H. W., Jones, G. S. et al: The program for in vitro fertilization at Norfolk, *Fertil. Steril.* 38: 14, 1982.
- 10) Jones, H. W., Acosta, A., Garcia, J.: A technique for the aspiration of oocytes from human ovarian follicles, *Fertil. Steril.*, 37: 26, 1982.
- 11) 印収義孝, 土屋栄一: 卵管不妊に対する microsurgery の応用. 第II報, 産と婦, 46: 917, 1979.
- 12) 印収義孝: 卵管不妊に対する Microsurgery の応用 (第II報), 産と婦, 46: 1441, 1979.
- 13) 印収義孝: 卵管形成におけるマイクロサージャリーの実際, 産と婦, 31: 1091, 1979.
- 14) 印収義孝: 卵管不妊のマイクロサージャリー, 臨床婦産, 34: 215, 1980.
- 15) 印収義孝, 土屋栄一: 微小血管吻合 2 針法, 3 針法の 卵管端々吻合への応用, 産と婦, 49: 101, 1982.
- 16) Kerin, J. F. P. et al: A simple technique for human embryo transfer into the uterus, *Lancet*, ii: 726, 1981.
- 17) Lenz, S., Lauristen, J. G.: Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia: a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization, *Fertil. Steril.*, 38: 673, 1982.
- 18) Lopata, A., Johnston, I. W. H. et al: Pregnancy following intrauterine implantation of an embryo obtained by in vitro fertilization of a preovulatory egg, *Fertil. Steril.*, 33: 117, 1980.
- 19) Mettler, L., Seki, M. et al: Human ovum recovery via operative laparoscopy and in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 38: 30, 1982.
- 20) Renou, P., Trounson, A., Wood, C., Leeton, J. F.: The collection of human oocytes for in vitro fertilization I. an instrument for maximizing oocyte recovery rate, *Fertil. Steril.*, 35: 409, 1981.
- 21) Testart, J. et al: Apparatus for in vitro fertilization and culture of human oocytes, *Fertil. Steril.*, 38: 372, 1982.
- 22) Trounson, A., Mohr, L., Wood, C., Leeton, J.: Effect of delayed insemination on in-vitro fertilization, culture and transfer of human embryos, *J. Reprod. Fertil.*, 64: 285, 1982.
- 23) Wood, C., Leeton, J., Talbot, J. Mc.: Technique for collecting mature human oocytes for in vitro fertilization, *Brit. J. Obstet. Gynec.*, 88: 756, 1981.
- 24) Wood, C., Trounson, A., Leeton, J., Talbot, J.: A clinical assessment of nine pregnancies obtained by in vitro fertilization, and embryo transfer *Fertil. Steril.*, 35: 502, 1981.
- 25) Wramsby H. et al: The success rate of in vitro fertilization of human oocytes in relation to the concentrations of different hormones in follicular ar fluid and peripheral plasma, *Fertil. Steril.*, 36: 448, 1981.

Recovery of human follicular oocytes under operation microscope

Akira Iwaki

2nd. Department of Obstet. and Gynecol.,
School of Medicine, Toho University

Yoshitaka Kanemaki and Makoto Endo

Carnegie Obstet. and Gynecol.
Hospital, Numazu

Salpingoplasty by microsurgery and IVF-ET are presently regarded as the best treatments for tubal obstruction. ET is usually used when salpingoplasty is ineffective. If the pregnancy rate is increased by ET, ET will be tried in the first treatment. As for the technique to use ET, recovery of the follicular oocytes is the first procedure. In this experiment, follicular oocytes were recovered by using operation microscope in salpingoplasty. We observed 61 cases of tuboplasty

and 112 cases of other abdominal operation. The result of the experiment was as follows.

1. The higher the average age of the patient group was the lower the recovery rate and the average number of recovered oocytes were.

2. No difference in recovery rate was obtained between salpingoplasty and other operations.

3. Also, no difference in incidence of degenerated ova was found between salpingoplasty and other operations.

To sum up, we could not come to a conclusion in this experiment that oocyte recovery was more remarkable under operation microscope. Also, it could not be said that the recovery rate was higher. The reason for these seems to lie in the fact that the operations were performed without regard to menstrual cycle. Therefore, if salpingoplasty is performed during preovulatory and if ova are recovered, the recovery rate will be improved to the degree that ET can be performed on the patient.

(受付：昭和58年2月14日，特掲)

当院開設以来 10 年間の排卵障害患者の臨 床統計 (第 I 期 (1970~1975) と第 II 期 (1976~1980) の比較)

Statistical Study of Anovulatory Women in
Our Clinic for Ten Years

東京都立府中病院産婦人科

大塚 晴久 鎌田 周作 北田 博大
Haruhisa OTSUKA Shusaku KAMATA Hiroto KOTADA

三好 秀憲 矢口 輝仁 大原 基弘
Hidenori MIYOSHI Teruhito YAGUCHI Motohiro OHARA

Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo
Metropolitan Hospital, Fuchu, Tokyo

当院開設 (昭和45年7月) より55年12月までに当科外来を受診し、一応基準の不妊検査を終了した 挙児希望患者総数884名中、排卵障害を有する症例は309 (35.0%) 例であつた。これを開設より昭和50年12月と51年1月より55年12月までの第 I 期, 第 II 期にわけ比較検討した。

1) 症例内訳: 第 I 期, 合計 140 例。第 1 度無月経症 56 例 40%, 第 2 度無月経症 7 例 5%, 無排卵性周期症 68 例 48.6%, 稀発排卵症 9 例 6.4%, 第 II 期合計 169 例, 内訳はそれぞれ 64 例 37.9%, 11 例 6.5%, 72 例 42.6%, 22 例 13.0% であつた。

2) 治療内容: 第 I 期, 第 II 期ともに Clomiphene 単独で治療されたものが最も多く, 第 I 期 70 例 50%, うち 42 例 60% に妊娠成立, 第 II 期では 93 例 55% に投与され 45 例 48.4% に妊娠成立をみた。次いで Clomiphene + HCG 療法が多く, それぞれ 29 例 20.7%, 妊娠 18 例 62.0%, 28 例 16.6%, 妊娠 18 例 64.3% とやはり高い妊娠率であつた。その他 HMG・HCG 療法, CB-154 療法が主たるものであつた。なお妊娠率は第 I 期 140 例中 80 例 57.1%, 第 II 期 169 例中 89 例 52.7% であつた。これは極めて高い妊娠率である。

3) Clomiphene 排卵率: 第 I 期で 106 例に投与され 81 例 76.4% に, 第 II 期では 135 例に投与され 104 例 77% に排卵に成功した。周期別では第 I 期 486 周期中 284 周期 58.4% に, 第 II 期では 630 周期中 426 周期 67.6% に排卵した。

4) 第 II 期での妊娠率の向上は認められなかったが, 妊娠に至る治療期間は明らかに短縮されていた。第 I 期, 第 II 期間における治療の変遷は LH・RH・test の導入による症例の個別化, Prolactin 定量, Bromocriptine 療法の導入であつた。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 410-417, 1983)

緒 言

近年新しい各種ホルモン測定法, 排卵誘発法の開発により不妊症患者の妊娠率の向上が得られるようになったと考えられ, そのような報告が数多く見られる。

今回我々は当院開設以来10年を経過したので, その間の不妊症患者の治療成績についての統計調査を行った。その中で特に排卵障害を有する症例の治療成績を整理することによって今後排卵障害症例の治療方針を一層確かなるものにし得ることを期待した。

そこでいまだ LH-RH test, Prolactin 定量が殆んど導入されていなかった昭和45年7月より昭和50年12月までと、それらが我々市中病院においても行い得るようになった昭和51年1月より昭和55年12月までの2期に分け、それぞれを第Ⅰ期、第Ⅱ期として、その治療内容、妊娠率および LH-RH test 施行例について比較検討した。

症例および方法

当院開設昭和45年7月以来、昭和55年12月に至る10年6ヶ月間に、当院産婦人科外来を受診し、H.S.G., P.C.T., BBT 記載1ヶ月以上を終了した挙児希望患者総数は884例であった。そのうち排卵障害を有する、いわゆる内分泌性不妊症例は総計309例(35.0%)であった。その内訳は第Ⅰ期で第Ⅰ度無月経76例、第Ⅱ度無月経7例、無排卵性周期症68例、稀発排卵症9例の合計140例であり、第Ⅱ期ではそれぞれ64例、11例、72例、22例の合計169例であった。以上の症例を対象として比較検討した。なお不妊症基準については本統計が排卵障害症例を対象としたため、不妊期間が1年未満のもので挙児希望者の場合は症例に加えた。

第Ⅰ度無月経症、第Ⅱ度無月経症の臨床分類は、我々は従来から chlormadinone acetate (lutoral) を1日6mg, 5日間投与法によって行っている。

Clomiphene test (以下 C.T と略) は月経または消退性出血開始後第5日目より最初1日50mg, 5日間投与より開始(少数には2段法も行っている)し、無効な場合は次周期より1日50mg 増量し最大150 μ m までとし、150mg にても無効な場合を C.T 陰性とした。

Cloniphene-HCG 治療は Clomiphene 投与にても黄体機能不全症の認められるもの、または C.T 陰性者に行い、HCG は1日5000IU を Clomiphene 投与終了後第5日および高温期第3日より隔日3回投与した。

HMG-HCG 療法は C.T 陰性者で LH-RH test にて、いわゆる low poor の症例を対象とした。その投与法は HMG 75~150IU/日筋注法により頸管粘液が0.2ml, 羊歯状結晶形成Ⅲ度以上になった時点で HCG に変更し、3000IU~5000IU/日 連続3~5回投与した。

機能的な高プロラクチン血症に対しては Bromocriptine 2.5~7.5mg/日連続投与を原則とした。

LH-RH test 実施方法は LH-RH (DB-2521) 100 μ g 静注法、投与条件100 μ g/20% TZ 20ml/60sec とし、投与前、投与後15', 30', 60', 120' の5回採血し、LH, FSH の測定に供し、なお投与前には Prolactin をも同時に測定した。LH, FSH の測定は都立臨床研究所内分泌研究室(室長: 齊藤寿一博士)にて RI によって行

った。

なお本統計の集計はマイクロコンピュータ PC 8001 を使用し、ソフトとして IRIS 80を用いた。

成 績

1) 症例内容

臨床診断別では患者分布状態に第Ⅰ期、第Ⅱ期間に有意差を認めず、無排卵性周期症が最も多く、それぞれ68例48.6%, 72例42.6%とほぼ半数をしめた。次いで第Ⅰ度無月経症がそれぞれ56例40.0%, 64例37.9%と無排卵性周期症と合せて症例の大半をしめた。原発性不妊症、続発性不妊症の比率では第Ⅰ期では明らかに原発性が多く(81例57.9%), 第Ⅱ期では原発性が多いのであるが、続発性不妊症の増加が顕著であった(表1)。

表1 症 例 内 訳

		am I	am II	anov	olig	total
第Ⅰ期	P	35	3	40	3	81
	S	21	4	28	6	59
	sub total	56	7	68	9	140
	%	40.0	5.0	48.6	6.4	
第Ⅱ期	P	31	7	37	14	89
	S	33	4	35	8	80
	sub total	64	11	72	22	169
	%	37.9	6.5	42.6	13.0	

P: 原発不妊 S: 続発不妊

AM I: 第Ⅰ度無月経

AM II: 第Ⅱ度無月経

ANOV: 無排卵周期症

OLIG: 続発排卵症

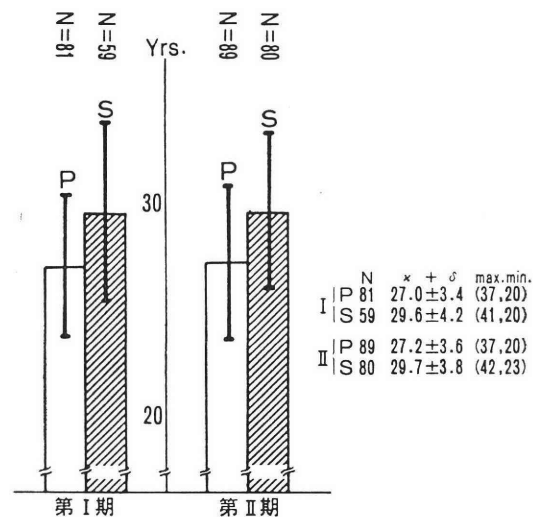


図1 初診時年齢

表 2 初診時年齢

		am I	am II	anov	olig
I 期	P	25.7±3.0	31.3±5.5	27.9±3.3	25.7±0.6
	S	29.6±4.7	31.0±5.7	29.3±4.1	29.5±2.3
II 期	P	26.8±4.1	26.7±4.6	27.5±3.2	27.7±2.9
	S	30.0±4.4	34.8±5.7	29.1±3.0	28.5±1.9

表 3 不妊年数

		am I	am II	anov	olig
I 期	P	3.1±2.1	5.7±7.2	3.8±2.3	2.3±1.5
	S	3.0±1.5	4.8±2.5	3.2±1.6	4.0±1.7
II 期	P	2.2±1.4	2.9±1.6	3.1±1.6	2.9±1.4
	S	3.0±1.8	6.0±6.7	2.7±1.2	2.6±1.2

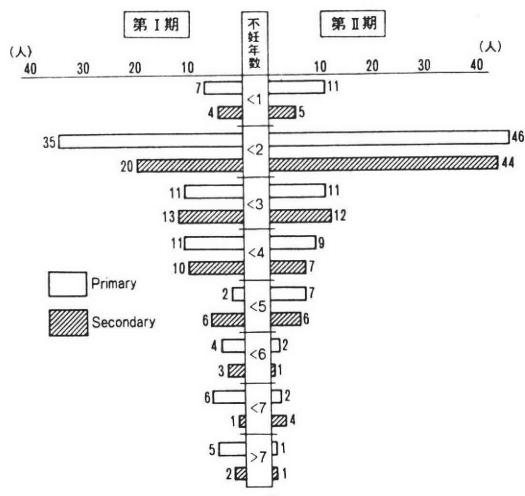


図 2 不妊年数

2. 初診時年齢

両期間における原発性、続発性の比較では明らかに続発性が高年齢であり、約2歳高い結果が得られたが、第I期、II期間の比較では全く有意差を認めなかった(図1)。また臨床診断別では第2度無月経が第I期、II期ともに高年齢の傾向を示した(表2)。

3. 不妊年数

不妊期間1~2年の症例に peak を認めるが、2年以内合計では、第I期原発性81例中42例51.9%、続発性59例中24例40.7%、第II期ではそれぞれ89例中57例64.0%、80例中49例61.3%であり、受診が早くなっていることが認められる。これを4年以内に拡大してみると第I期原発性79.0%、続発性79.7%、第II期はそれぞれ86.5%、85.0%となり、それは一層明瞭となる(図2)。

臨床診断別にみると、第II期における原発性を除く第2度無月経症で有意に長く、その他の症例間では全く有意差を認めなかった(表3)。なお7年以上の長期不妊例は第I期7例、第II期2例を認めたがその中では第2度無月経症例が最も多く、また合併不妊因子を有したものが5例認められた。

4. 妊娠に至るまでの期間

(図3)に各症例の妊娠総数に対して、その期間以内

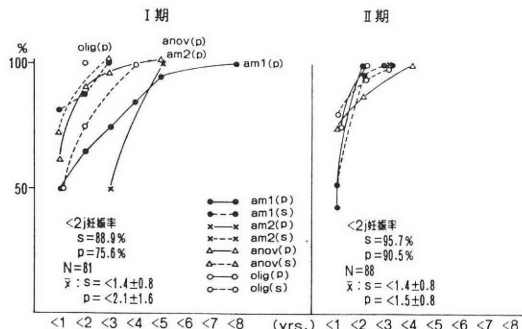


図 3 初診より妊娠成立までの年数

までの妊娠率を示してある。すなわち平均は第I期では原発性2.1年以内、続発性1.4年以内、第II期ではそれぞれ1.5年以内、1.4年以内であった。2年以内妊娠率を見ると(図3)のように、第II期に至つてその短縮が著明であった。

5. 治療内容

a. Clomiphene 投与について

通常臨床診断確定後、Clomiphene を投与することから開始するが、LH-RH test, Prolactin 値によつて更に Clomiphene 投与対象を選択している。したがつて治療内容を詳述する前に C.T について検討した。方法で詳述したような基準で Clomiphene を投与するが、その症例別排卵率(C.T)についてみると、第I期で140例中106例に投与され、そのうち81例76.4%に排卵成功、第II期では169例中135例に投与され104例77.0%に排卵成功している。ただし第I期、第II期間に有意差はなかった。臨床診断別に検討すると、第I期では第1度無月経症の陽性率(原発性65.4%、続発性57.1%)が低いのが目立っている。第2度無月経は症例が少ないが、当然ながらも1例に排卵しているのみであった。周期別排卵率では第I期486周期に投与され284周期排卵58.4%、第II期630周期投与に対して426周期排卵67.6%とやや排卵率の向上をみている(表4)。

6. 治療内容とその妊娠率

治療スケジュールによつて治療方針は決定されるが、その内訳は(表5)および(表6)に示されるように

表 4 Clomiphene test および Clomiphene 投与周期に対する排卵率

		第 I 期						第 II 期					
		No. of pts.	CT (+)	%	No. of C-W	No. of OV	%	No. of pts.	CT (+)	%	No. of C-W	No. of OV	%
am I	P	26	17	65.4	132	60	45.5	26	18	69.2	147	72	49.0
	S	14	8	57.1	51	17	33.3	22	17	77.3	110	63	57.3
am II	P	2	1	50.0	29	5	17.2	4	0	0.0	25	2	8.0
	S	3	0	0.0	9	0	0.0	2	0	0.0	6	0	0.0
anov	P	23	28	84.8	161	113	70.2	32	24	75.0	196	125	63.8
	S	22	21	95.5	84	73	86.9	33	30	90.0	132	100	75.8
olig	P	2	2	100.0	8	6	75.0	10	10	100.0	50	44	88.0
	S	4	4	100.0	12	10	83.3	6	5	83.3	24	20	83.3
total		106	81	76.4	486	284	58.4	135	104	77.0	630	426	67.6

CT : Clomiphene test C-W : Clomiphene 投与周期

表 5 治 療 内 容

	第 I 期							第 II 期						
	P			S			total	P			S			total
	A	B	A	B	A	B		A	B	A	B	A	B	
CL 単独	39	23	31	19	70	42	60.0	49	21	44	24	93	45	48.4
CL+HCG	20	13	9	5	29	18	62.1	13	7	15	11	28	18	64.3
SXV 単独	4	2	0	0	4	2	50.0	3	2	4	4	7	5	71.4
HMG・HCG	5	2	4	2	9	4	44.4	10	6	3	3	13	9	67.2
CB-154	0	0	1	0	1	0	0.0	3	3	2	1	5	4	80.0
Kaufmann	4	3	6	4	10	7	70.0	1	0	2	1	3	1	33.3
無 治 療	9	2	8	5	17	7	41.2	10	3	10	3	20	6	30.0
total	81	45	59	35	140	80	57.1	89	43	80	47	169	89	52.7

A : No. of pts. B : No. of pregnancy
P : 原発不妊 S : 続発不妊

Clomiphene 単独によつて治療されたものが最も多く、第 I 期において140例中70例50%をしめ、そのうち妊娠に成功したもの42例60%と諸家の報告に比較し高率であつた。第 II 期でも同様で169例中93例55%をしめ、妊娠成功45例48.4%であつた。次いで Clomiphene-HCG 療法が多く、第 I 期で29例20.7%、妊娠18例62.0%、第 II 期28例16.6%、妊娠18例64.3%と高い妊娠率を示した。以上の如く Clomiphene を主体に治療を行つた症例は第 I 期、II 期ともに合計70%強であり有意差を認めなかつた。

RIA の進歩によつて Prolactin の定量が行い得るようになって hyperprolactinemia が的確に診断し得るようになった。したがつて第 II 期に至つて、そのような症

例が見られるようになり、我々もいわゆる機能性高 Prolactin 血症に対して Bromcriptine 療法を行つた。その症例は第 II 期で5例認め、うち4例に排卵成功し、全例妊娠に成功した。

MMG-HCG 療法は第 II 期でやや増加しているが、第 I 期の症例も後期のもので治療期間の長期間にわたつたものであつた。その妊娠率は高 Prolactin 血症を除けば最高であつた。この治療内容の変遷は、Bromcriptin 療法の導入と HMG-HCG 療法の増加であろう。

c. Clomiphene を主体とした治療の内容

後述する LH-RH test を行つて参考とするが、第 1 度無月経症、無排卵性周期症、稀発排卵症に対しては Clomiphene 投与が第 1 選択である。(表 6) に示した

表 6 Clomiphene を主体とした治療の妊娠率

			am I		am II		anov		olig		total		
			A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	
第 I 期	CL单独	P	15	11	0	0	22	11	2	2	39	24	
		S	8	3	1	0	18	13	4	2	31	18	
	CL+HCG	P	9	6	0	0	11	7	0	0	20	13	
		S	4	1	1	0	3	3	1	1	9	5	%
sub total			36	21	2	0	54	34	7	5	99	60	60.6
第 II 期	CL 单独	P	17	8	1	0	23	9	8	4	49	21	
		S	15	10	2	0	22	12	5	2	44	24	
	CL+HCG	P	4	2	1	0	6	4	2	1	13	7	
		S	4	3	0	0	10	7	1	1	15	11	%
sub total			40	23	4	0	61	32	16	8	121	63	52.1
total			76	44	6	0	115	66	23	13	220	123	55.9

表 7 合併不妊因子

	第 I 期		第 II 期		total	
	A	B	A	B	A	B
子宮發育不全	11	3	5	2	16	5
子宮奇形	1	0	0	0	1	0
卵管因子	8	0	13	4	21	4
乏精子症	14	4	10	4	24	8
total	34	7	28	10	62	17
%	20.6		35.7		27.4	

ように第2度無月経の一部にも投与されているが、第II期における続発性症例に妊娠の向上が認められ、原発性ではむしろ低下している。全体的には第I期の妊娠率がやや高いが、この差は第II期の症例はこの調査を集計した時点でなお治療進行中の症例を認めるための差と考えられ、第I期、II期間の妊娠率の有意差はないものと考えられる。

5. 合併不妊因子について

各症例の不妊因子は、主たるものと考えられた因子に

よって分類したが、全ての症例が単一の因子で不妊になっているとは考えられない。そこで複数以上の不妊因子をもっている症例について検討した。(表7)の如く第I期、II期合計では乏精子症が24例39.3%と最も多く、ついで卵管因子が21例34.4%、子宮發育不全16例26.2%であり、これらで62例のほぼ100%をしめた。第I期、II期間では順位の差は認められるがほぼ同様の内容であった。その妊娠率は全体で27.4%と合併不妊因子を持たない症例に比較し極端に低下していた。特に卵管因子を合併した症例では妊娠成功例を認めなかった。

6. 第1度無月経症中 C.T 陰性であった症例の検討

第I期第1度無月経40例中、C.T 陰性15例37.5%、第II期48例中13例27.1%であったが、これらのうち第I期では15例中9例60.6%、第II期13例中8例61.5%は楔状切開術で確認し得た PCO 症例であった(表8)。楔状切開術後の妊娠成功例は第I期7例77.8%、第II期4例50%であった。なお楔状切開術後再び無排卵となり HMG-HCG 療法によつて妊娠に成功した症例を第II期において1例認めた。これら PCO 症例の LH-RH test 分類では、その殆んどは後述する LH 前値10以上60以

表 8 am I 中 CL-T(-)中 PCO であった症例

	第 I 期			第 II 期			total		%
	No. of CT (-) pts.	A	B	No. of CT (-) pts.	A	B	A	B	
P	9	8	6	8	6	3	14	9	64.3
S	6	1	1	5	2	1	3	2	66.7
total	15	9	7	13	8	4	17	11	64.7

表 9 LH-RH test 施行例の検討

	LH		FSH	Clomiphene 排卵率					妊娠症例の治療内容			
	前値	頂値	頂値	am I	am II	anov	total	%	Cl	HMG-HCG	CB-154	total
a	10 ↓	60 ↓		1/4	0/8	0/2	1/14	7.1	1	5	0	6
b	10 ↓	60 ↑		1/1	0/1	0/0	1/2	50.0	0	0	0	0
c ₁	10 ↑ 60 ↓	60 ↑	40 ↓	16/24	0/0	8/15	24/39	61.5	18	6	2	26
c ₂	10 ↑ 60 ↓	60 ↑	40 ↑	2/4	0/4	3/4	2/12	16.7	2	2	1	5
d	60 ↑	60 ↑		0/6	0/1	0/1	0/8	0.0	0	0	0	0
				20/39	0/14	11/22	31/75	41.3	21	13	3	37

下、頂値60以上、FSH 頂値40以下の群（C群）にあった。C.T 陰性例中 PCO でなかった症例で LH-RH test を行っていた症例の全てはいわゆる low poor であり下垂体性無月経症と考えられた。

7. LH-RH test 施行例の検討

既に報告したように我々は LH・RH test の結果を、基本的に LH 前値、頂値および FSH 頂値より分類している。すなわち、1) a 群 LH 前値 10miu/ml (以下単位略) 以下 (以下 ↓) 頂値 60 ↓, 2) b 群 LH 前値 10 ↓ 頂値 60 以上 (以下 ↑), 3) c 群 LH 前値 10 ↑ 60 ↓, 頂値 60 ↑, 4) d 群 LH 前値 60 ↑, 頂値 60 ↑ とし、c 群にては FSH 頂値 40 ↓ の群と 40 ↑ の群に細分類した。以上の分類によって、C.T 陽性率および各群の妊娠に至った症例の治療を比較検討した。

a. C.T 陽性率について

LH-RH test 施行例 75 例中、C.T 陽性例は 31 例 41.3 % であるが、そのうち 29 例 93.5 % は c 群にあり、FSH 頂値が 40 ↓ であるものが 24 例 82.8 % をしめた。臨床分類別にみると第 1 度無月経 38 例中 20 例 52.6 %, 第 2 度無月経では陽性例を認めず、無排卵性周期症では 23 例中 11 例 47.8 % であり、Clomiphene 投与基準は LH-RH test より判定することが有利であることが再認識された (表 9)。

b. 妊娠症例の治療内容

LH-RH test を行っていた症例中 Clomiphene 単独で妊娠に成功した症例の合計 21 例中 20 例は LH 前値 10 ↑ 60 ↓ 頂値 60 ↑ の群であり、そのほぼ 85 % は FSH 頂値 40 ↓ であった。

HMG-HCG 療法を行った症例は合計 20 例であるが、うち 13 例 65 % に妊娠成立している。13 例中 6 例は c 群に属するが、全て C.T 陰性であった。残る 5 例は a 群に属し、やはり全て C.T 陰性であった。

Bromcriptine によつて排卵誘発に成功し、妊娠した症例は 3 例認めたが、LH-RH test 分類で全て c 群にあり、1 例は FSH 頂値 40 ↑ の症例であった (表 9)。

考 案

当院開設より 10 年を経過したので、その間の不妊症患者の整理を行った。およそ、その半期にあたる昭和 50 年を区切りとしたのは、LH-RH test の導入、Prolactin の RI による定量が routine に我々市中病院においても行い得るようになったのがその頃からであったからである。しかし結果に示した如く、妊娠率の向上は得られていない。ただ図 3 に示したように妊娠に至る時間は明らかに短縮されており、これは LH-RH test の導入、Prolactin の定量と相まって、不妊症治療水準の向上の結果であろうと考えられる。

症例内訳については無排卵周期症が第 I 期、第 II 期を通じて、それぞれ 48.9 %, 42.6 % と最も多く、次いで第 1 度無月経症が 40.0 %, 37.9 % であった。第 II 度無月経症はそれぞれ 5.0 %, 6.5 % であり最も少なかった。これに関して己斐²¹⁾は無排卵性周期症 41.5 %, 第 1 度無月経症 52.9 %, 第 II 度無月経症 6.5 % で最も近似し、伊東²²⁾はそれぞれ 45.2 %, 27.4 %, 27.4 %, 大嶋²³⁾はそれぞれ 8.7 %, 73.9 %, 17.4 % と報告しており、我々の成績に比し、第 II 度無月経症が多い。第 II 度無月経が少ないのは大学と我々市中病院の差であろう。

妊娠率については、全体として第 I 期 57.1 %, 第 II 期 52.7 % と諸家の報告に比べ極めて高いものであった。藤村²⁴⁾は 41.5 %, 馬場²⁵⁾は 41.5 %, 伊東²²⁾は 23.8 %, 高島²⁶⁾は 43.9 % (著者計算), 大嶋²³⁾は 34.8 % と報告しており、我々の成績は極めて高い妊娠率を示した。妊娠率に関しては母集団のとり方によつて大いに異ってくるものと考えられるが、我々の成績は前述した如く、一応不妊検査を終了したものを対象としたためとも考えられるが、忍耐強く、検査、治療に通院する症例の妊娠率の高さを示したものと云える。

最近、我々は排卵障害と診断された患者には出来る限り早期に LH-RH test および Prolactin 定量を行つて分類し、適応のある症例には Clomiphene 投与より

治療を開始している。LH-RH test を可能な限り早期に行う理由は第1度無月経、無排卵性周期症であつても、Clomiphene 無効例を認めることから、我々が既に報告した如く、また表(9)の如く LH-RH test を施行して LH 前値60以下、LH 頂値60以上の群にあるものは Clomiphene 投与から開始している。この Clomiphene 投与による絶対的排卵率は第I期76.4%、第II期77.0%であつた。松家⁹⁾は83.9%、東山⁹⁾は82.3%、小林¹⁰⁾は75.9%と報告しており、これら報告に比べて我々の成績はやや低い方に属すると考えられるが、C.T 陽性者の妊娠率は第I期原発性不妊症で61.5%、続発性不妊症で47.4%、第II期では、それぞれ42.9%、54.5%と東山⁹⁾の46.5%に大差なく極めて高率であつた。双胎はわずか2例(1.2%)に認めるだけであつた。

C.T 陰性者のうち、PCO 症例を除き、LH-RH test で LH 前値 60 以下頂値 60 以上の症例に対しては、東山⁹⁾も報告しているように、Clomiphene 投与と同時に Clomiphene 投与後5日目および高温期に隔日3回 HCG を投与して高い排卵率及び妊娠率を得ている(表6)。

さらに LH-RH test により LH 前値 60 以下、頂値 60 以下の low poor の症例に対しては HMG-HCG 療法を行うが、第I期で9例施行妊娠4例44.4%、第II期13例中9例妊娠67.2%であつた。多胎は認めなかつた。

昭和50年頃より Prolactin 定量が RIA により簡単に言い得ようになり、我々市中病院にも導入され、排卵障害症例の中より高 Prolactin 血症が発見されるようになった。我々の成績でも第II期に入つて合計5例の機能性高 Prolactin 血症を認め Bromcriptine により4例妊娠に成功した。

第1度無月経症、無排卵性周期症、稀発排卵症で Clomiphene に無効である例については、頸管粘液が常に 0.2ml 以上、シダ状結晶(卅)、LH-RH test で LH 前値60以下頂値60以上の症例は PCO と考え Wedge resection を行うを方針としている。今回報告の成績では無排卵性周期症、稀発排卵症には PCO 症例を認めず、第1度無月経症のみで、Clomiphene test 陰性例のうち、第I期15例中9例、第II期13例中8例が Wedge resection で確認された PCO であり Wedge resection 後第I期7例77.8%、第II期4例、50%に妊娠成功した。第II期で1例術後再び無排卵性となり、また LH-RH test で LH 前値 60 以下、頂値 60 ↓ となつたため、HMG-HCG 治療を行い妊娠に成功した症例を経験した。なお伊東¹¹⁾らは PCO は排卵障害症例の 2.3% と報告しているが、我々の成績では 5.5% であつた。楠田¹¹⁾は続発性排卵障害の進展過程の中では PCO を経過す

るものが最も多く、したがつて PCO は独立的内分泌疾患でなく、卵巢機能障害の進展過程の一つが示す形態的断面像であり初期型から硬化嚢胞型、硬化嚢胞萎縮型に至る連続した諸形態を示すとし、臨床的には稀発排卵症、無排卵症、第1度無月経、第2度無月経の過程を経るとし、その楔状切開術の有用性を強調している。したがつて稀発排卵症、無排卵性周期においても、積極的にその内分泌背景を検索し、早期に楔状切開術に踏み切るべきだと考えられる。

最後に、一般に諸家の報告では最大の不妊因子によつて成績を出しているが、全例がただ一つの因子によつて不妊になつているとは考えられず、いずれが主たる不妊因子と云えない場合も存在するはずである。したがつて我々の排卵障害例のうち、他に不妊因子を有しているものについて検討してみた。合併因子を有する症例は第I期で34例24.3%、第II期で28例16.6%であり、乏精子症、卵管因子、子宮發育不全でその殆んどをしめた。これら合併因子を有するものの妊娠率は合併因子を有さないものの妊娠率に比較して極端に低下した。

文 献

- 1) 己斐秀豊：内分泌、産婦の世界、30：10、1978。
- 2) 伊東武久、宮内文久、木戸雄一、右田満明、福田 栄：最近2年間の当科不妊症外来の現況、日不妊誌、21：2、1976。
- 3) 大嶋 勉、真野哲郎、万歳 稔、生田克夫、奥村 豊、今泉克英、水野全一郎：排卵誘発についての臨床的考察、日不妊誌、26：1、1981。
- 4) 藤村健次、相良祐輔、野上一郎、秋本晁久、関場 香：当教室における不妊統計、24：1、1979。
- 5) 馬場恒雄、中居光生、西島正博、黒江美智子、尾崎周一、弓田 徹：当科不妊外来患者の妊娠予後の検討、日不妊誌、24：2、1979。
- 6) 高島陽子、服部 浩、吉田 誠、鈴木宏志、野田起一郎：内分泌不妊症の治療成績、日不妊誌、27：4、1982。
- 7) 大塚晴久、高田邦明、北田博大、高岡茂樹、園信義：LH・RH test によるクロミフェンの有効性に関する検討、日不妊誌、26：2、1981。
- 8) 松家五郎、増田歳久、吉崎健一、乾 泰延、三村経夫、竹田 悟、山野修司、高橋 泰：当科不妊外来における最近5年間の妊娠例の検討、日不妊誌、25：1、1980。
- 9) 東山秀聲、藤井正博、山田俊夫、大野洋介、玉舎輝彦、岡田弘二：Clomiphene とそのパリエーション療法による排卵の誘発ならびに妊娠の成立、日不妊誌、27：3、1982。
- 10) 小林俊文、田中秀美：Clomiphene 療法と妊娠、産婦の世界、29：12、1977。
- 11) 楠田雅彦：排卵障害の進展：、産婦の世界、31：8、1979。

Statistical study of anovulatory
women in our clinic
for ten years

**Haruhisa Otsuka, Shusaku Kamata,
Hirotomo Kitada, Hidenori Miyoshi,
Teruhito Yaguchi and Motohiro Ohara**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tokyo Metropolitan Hospital,
Fuchu, Tokyo

We tried statistical study on 309 anovulatory women who visited our out-patient clinic from July 1970 to December 1980. They were divided into two groups according to the year of first visit; Group-I (July 1970-Dec. 1975, 140 patients) and Group-II (Jan. 1976-Dec. 1980, 169 patients) and compared its change in the rate of pregnancy, period of treatment and methods between two groups. The incidence of anovulatory women to total infertile patients of our clinic was 35.0 % (309/884).

The results were as follows:

1) The pregnancy rate was 57.1 % (80/140) and 52.7 % (82/169) respectively.

2) The average period to become pregnant was shortened about half a year in Group-II (2.1 years-1.5 year).

3) Clomiphene test were performed to the most of the patients without amenorrhea-II. The rate of ovulation induction by clomiphene were 76.5 % (81/106), 77.0 % (109/135) for the patient and 58.4 % (286/486), 57.6 % (426/630) for the treated cycle respectively. In these ovulated women, 42 (66.0%) and 45 (48.4%) patients became pregnant by clomiphene therapy alone.

4) In patients in which ovulation was not induced by clomiphene, clomiphene-hcG, HMG-hcG therapy in the case of low poor by LH-RH test and bromocriptine therapy for hyperprolactinaemia were used in turn. The pregnancy rate were each 62.0 % (18/29), 64.3 % (18/28) in clomiphene-hcG, 44.4 % (4/9), 67.2 % (9/13) in HMG-hcG and none, 80.0 % (4/5) in bromocriptine therapy.

(受付: 昭和57年12月27日)

当院における不妊治療成績の推移

Changes in Therapeutical Effects of Infertile Patients in Our Hospital

向仁会永井病院

古賀 詔子 永井 宏
Shoko KOGA Hiroshi NAGAI

Nagai Hospital, Sendai, Japan

昭和45年から昭和50年までの6年間（A群）と昭和51年から昭和55年（B群）までの5年間の当院における不妊統計について比較検討を行った。1) 新患総数に対する不妊患者の割合は、2.2%から3.1%と有意に増加した。原発性対続発性不妊の割合は両群に変化がなかった。2) 不妊患者の年齢分布では26～30歳に両群の患者のピークが認められた。さらに21～25歳の減少、31～35歳の増加がB群にみられた。不妊期間では2年未満及び6～13年の患者の増加がみられた。即ち、早期受診傾向及び初診高齢化傾向がみられた。3) 不妊因子別分類では卵管因子の増加、機能性因子の減少があり、妊娠率も同様の傾向を示した。4) 不妊患者における手術療法は12.7%から22.6%と増加し、臓器別では子宮及び卵管に対する手術の増加が著明であつた。5) 妊娠率は27.0%から36.8%と著明に増加した。妊娠例の予後では流産率が6.2%から11.9%と増加した。

(Jap. J. Fert. Ster., 28(3), 418-422, 1983)

I 緒 言

不妊症の治療において妊娠成功を左右するものとして医学的要因と社会的要因の双方に関して検討を加える必要がある。医学的要因は診断や治療法の進歩に影響をうけ、社会的要因は結婚年齢や受診までの不妊期間等との関連が考えられるが、それぞれが、それを造り出す時代の背景と密なかかわり合いがある。我々は昭和45年4月から昭和51年3月までの6年間¹⁾と昭和51年4月から昭和56年3月までの5年間の不妊統計の両者を比較し、その成績と時代背景因子との関係を整理し、これからの不妊症治療診断に対し、若干の知見を得たので報告する。

II 対象及び検査・治療

1. 対象

昭和45年4月から昭和51年3月までの6年間（以下A群）と昭和51年4月から昭和56年3月までの5年間（以下B群）に挙児希望の訴えをもつて当院に来院した婦人すべてを対象とした。

2. 検査・治療の変遷

当院においては不妊症に対するルーチン検査として問診・全身検査・内診・基礎体温の指導・HSGの施行・子宮頸管粘液検査・ホルモン定量・ホルモン負荷試験等を行っていたが、昭和53年より、Laparoscopyの導入、HSGの透視下の診断を加えた。

治療法としては黄体機能不全に対する排卵後のHCG負荷療法、メサルモン療法を従来のホルモン療法に加え、積極的に実施している。卵管異常に対しては通水を主とする姑息的療法に変わり、昭和53年よりMicrosurgeryによる積極的治療を行い²⁾、術後の後療法としては従来の通水療法が通気療法に変わった。

III 当院におけるLaparoscopyの適応（図1）

世界的傾向より考察すると不妊診断におけるLaparoscopy施行はルーチン検査と云つても異論はなからう。しかし本邦においては一般的臨床の場でのLaparoscopy普及はいまだ一般的になつていないと云えず、その施行にあつては一応の基準を決定し、患者に同意をもとめるのが現実的といえよう。当院においては下記の如き基準で施行している。

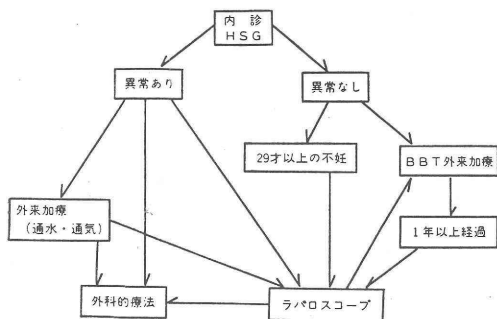


図1 当院における腹腔鏡施行の適応

1. 内診・HSG 所見の異常例, 特に卵管や拡散の異常
2. 内診・HSG 所見上異常は認められず, 一年以上にわたり外来通院でなおかつ妊娠成立しない症例
3. 29歳以上の不妊症
4. Microsurgery の術前検査

最近においては, 適応の拡大, ルーチン化に近づける努力をしている。

IV 結果及び考察

1. 不妊症患者の頻度

A 群の新患総数に対する不妊患者の割合 (図2) は年々増加の傾向にあり, 平均2.2%であった。B 群 (図3) では年度ごとの増加傾向はなかつたが, 平均3.1%であ

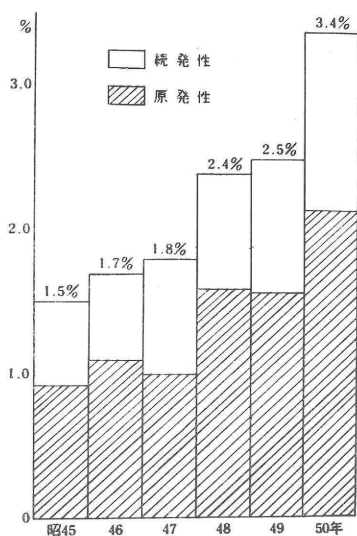


図2 年度別にみた不妊患者の新患総数に対する割合 (A群)

つた。即ちB群ではA群との対比において統計学的に有意の不妊患者の増加をみていることになる。内外の文献³⁻⁸⁾によると外来新患総数に対する不妊患者の割合は

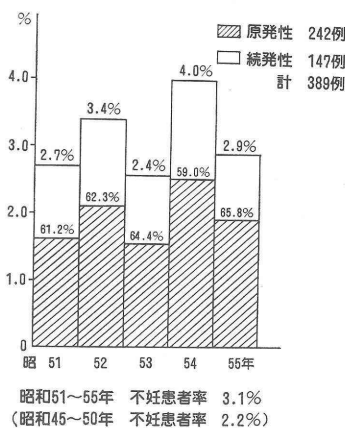


図3 年度別にみた不妊患者の新患総数に対する割合 (B群)

各施設により異なり, 0.9~4.3%の幅がみられる。この頻度はさらに不妊期間の定義によっても左右されるため単純比較は困難である。例えば不妊症の定義として, 国際産婦人科連合では結婚または前回妊娠後2年以内, アメリカ合衆国学会では1年以内に妊娠しないものを不妊としている。我々は臨床の見地より1年未満でも不妊を主訴として来院せる患者全てを対象とする品田ら³⁾, 権ら⁷⁾と同じ立場をとっている。当院ではA群2.2%, B群3.1%と有意の増加をみている。白水ら¹¹⁾もほぼ同率の報告をしているが当院における増加傾向は不妊治療の多様性を伴う高度化による施設格差が増長されたものを反映したと考えられる。

また, 原発性不妊と続発性不妊の割合は両群ともおよそ3:2の割合で, 原発性不妊が多かった。これは諸家の報告とも一致する。藤村ら⁹⁾は近年, 不妊外来の続発性不妊患者の増加傾向を指摘しているが, 我々の比較では変化がみられなかつた。

2. 初診時年齢 (図4)

初診時年齢に関してはA群48.2%, B群51.9%と両群共に26~30歳にピークが認められた。B群においては

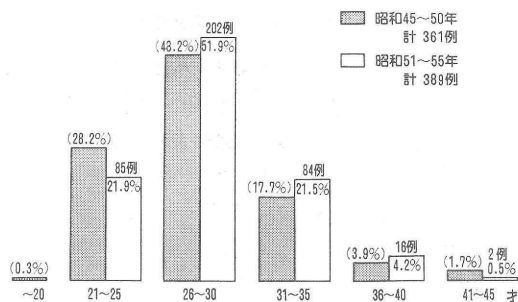


図4 年齢別にみた不妊患者数

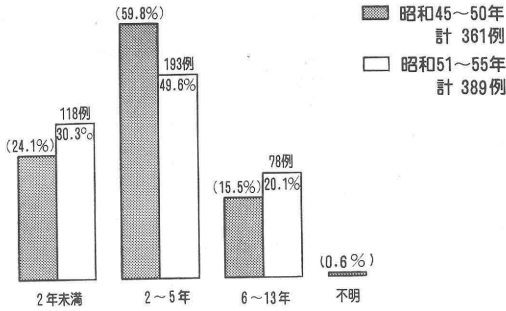


図5 初診時不妊期間別にみた不妊患者数

21～25歳の減少, 31～35歳の増加の傾向が認められた。これは白水らの報告¹¹⁾でも指摘されているが, 女子の結婚年齢の高齢化の影響が最も考えられる。

3. 初診時不妊期間 (図5)

初診時の不妊期間に関する比較では, A群では2～5年のものが59.8%を示し, B群では49.6%と両群共にピークが認められた。しかし両群の対比ではB群は約10%の減少の傾向を示した。一方B群は不妊期間2年未満及び6～13年の患者の増加が認められた。B群において早期受診傾向がみられたことは, 不妊症に対する一般婦人の認識の向上も考えられる。さらに初診時年齢の高齢化傾向ともよく一致する。

4. 不妊因子別分類と妊娠率 (図6)

不妊一般検査範囲の検査及び昭和53年より Laparoscopy も加味した検査で不妊患者を原因別に分類した。従来からいわれている内分泌因子, 卵管因子, 男性因子

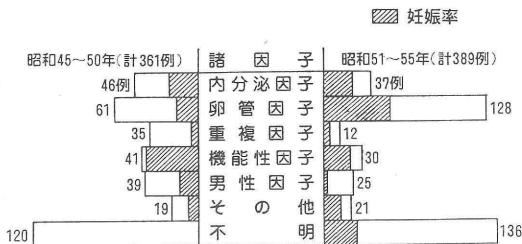


図6 不妊因子別分類と妊娠

に加えて複数の因子のある重複因子や原因不明のものは「いわゆる機能性因子」とし, さらに子宮, 膈隔壁, 処女膜強靱などはその他とした。諸検査を終了せずに来院を中止せるもの又は妊娠成立したものは不明として扱った。両群の比較ではB群の卵管因子の増加が著明であり, 「いわゆる機能性因子」は減少がみられるが, Laparoscopy の導入結果 HSG では発見不能の卵管周囲癒着や外性子宮内膜症の初期像が診断されるためと考えられている。この事実は機能性因子の言葉を使わず, 「原因

不明の不妊症」と表現することの適切さを示唆し, さらには分類より除外されるべきと考えている¹⁰⁾。

妊娠率の比較ではB群の卵管因子の妊娠率の増加と機能性因子の妊娠率がやや減少したが, 両群共に機能性因子の妊娠率が最も高率であった。これは諸家の報告とも一致する^{3,7,8)}。卵管因子の妊娠率はB群48%と諸家の報告^{3,7,9)}に比し, 高率であり, これは卵管性不妊に対する早期診断と手術による積極的な癒着剝離さらに Microsurgery の導入がその一因であろう。

5. 不妊患者における手術療法

1) 当院における不妊症の外科的療法の適応決定について (図7)

不妊症に対する手術療法は Microsurgery の導入により適応拡大がみられるが当院においても同様な傾向をたどっている。当院の適応決定に対し, retrospective に検討を加えた。外科的療法に至った症例は88例であり, 50%が Laparoscopy の診断決定によっている。HSG の段階で手術を決定した例は47.7%, 内診のみが2.3%であった。

2) 不妊患者における各種手術例と妊娠率 (図8)

不妊症に対する外科的療法はB群は88例22.6%であり, A群の46例12.7%に比し, 増加の傾向を示している

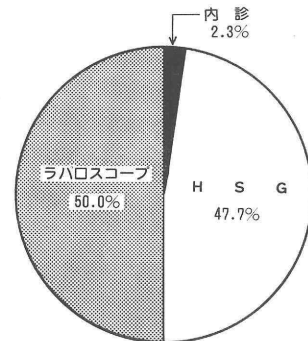


図7 当院における不妊の外科的療法に至る最終診断法

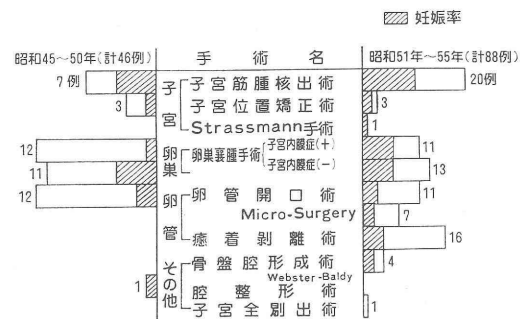


図8 不妊患者に対する各種手術例と妊娠率

た。

臓器別ではB群は子宮と卵管に対する手術が減少した。この傾向も Laparoscopy 導入による検査法の改善による診断の拡大に基因するものと考えている。

妊娠率はA群は子宮に対する手術による妊娠率が高かったがB群は卵管に対する妊娠率の上昇がみられた。

6. 不妊患者の妊娠成功率 (図9)

B群の妊娠率は36.8%とA群27.0%に比し、著明に上昇した。この増加傾向は諸家の報告^{9,11)}とも一致する。

しかし諸検査終了者はA群66.8%に比べてB群76.9%とやや上昇しており、これら諸検査を終了した例のみの

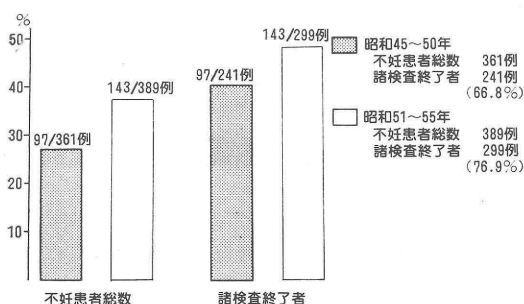


図9 不妊患者の妊娠成功率

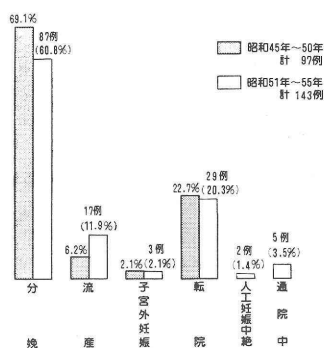


図10 妊娠例の予後

対比では、B群47.8%, A群40.1%と高率を示している。

不妊症患者は最終診断結果、治療方針決定、治療結果を待たず、複数医師をまわる傾向があり、これは第一線治療機関において著明である。当院での諸検査終了者はB群において76.9%と増加したが、大学病院等機関病院に比し、いまだ中断例が多い。

7. 妊娠例の予後 (図10)

流産率はA群では6.2%と低率を示したが、B群では11.9%と増加している。最近の報告^{8,5,7)}では品田ら16.9%, 三村ら29.3%, 権ら14.7%, 中居ら19.4%であり、これら報告に比し、低率を示した。

さらにB群における流産例を妊娠初期安静群と外来観察群にわけた対比の結果では、前者5.8%であるのに対し、後者は19.3%と高率を示していた。このことから、妊娠の継続は初期安静指導の差によるとも考えられる。B群の流産率の上昇は早期治療と過剰治療を混同しかねない世相に反応し、やや入院指導の積極性を欠いたためと思われる。

分娩例はA群69.1%, B群60.8%と減少し、転院例もB群がやや減少した。分娩例の減少は流産率の上昇に因するところが大きであるが、転院率の減少は第一線医療機関としては好ましい傾向である。

V ま と め

昭和51年から55年までの不妊統計を昭和45年から昭和50年までの統計と比較した。

1. 早期受診傾向、初妊高年傾向がみられた。
2. 確定診のための Laparoscopy の導入、卵管手術のための Microsurgery は不妊症臨床成績の向上につながった。
3. 妊娠率の上昇を分娩につなげるためにも、妊娠初期入院安静が流産の予防のために重要であることも再認識された。

(本論文の概要は、第26回日本不妊学会総会において発表した)。

文 献

- 1) 古賀詔子, 永井 泰, 永井 宏: 最近六年間の当院不妊症クリニックの現況, 日不妊誌, 23(3): 367, 1978.
- 2) 永井 宏, 古賀詔子: 不妊の外科的療法, 臨産産, 34(3): 211, 1980.
- 3) 品田孝夫, 竹中恒久, 横田佳昌: 不妊外来における臨床統計的観察, 日不妊誌, 24(1): 80, 1979.
- 4) 三村三喜男, 小川純久, 池内政弘: 当科における最近5年間の不妊症の臨床統計, 日不妊誌, 24(4): 508, 1979.
- 5) 中居光生, 馬嶋恒雄, 西島正博, 尾崎周一, 前田 徹, 新井正夫, 長内国臣: 当院における不妊統計, 日不妊誌, 25(4): 506, 1980.
- 6) 中村元一, 寺島 博: 社会保険佐賀病院における不妊外来統計, 日不妊誌, 25(1): 79, 1980.
- 7) 権 慶子, 森田互重, 布施養善: 小川赤十字病院における不妊外来統計, 日不妊誌, 26(1): 48, 1981.
- 8) 黄 宏駿, 田川博之, 吉田京子, 森 廣康: 最近五年間の不妊症の臨床統計, 日不妊誌, 27(1): 68, 1982.
- 9) 藤村健次, 相良祐輔, 野上一郎, 秋本晁久, 関場 香: 当教室における不妊外来統計, 日不妊

誌, 24(1): 74, 1979.

- 10) 松本明美, 白須和裕, 大森治郎, 鈴木直行, 植村次雄: 当教室における不妊クリニック患者の推移, 日不妊誌, 26(3): 313, 1981.
- 11) 白水充典, 平井ひろみ, 河田文子, 藤本 俊, 有馬昭夫, 下村 宏, 加藤 俊: 最近5年間の当教室不妊症外来の臨床統計 (昭和41-45年の統計と比較して), 日不妊誌, 27(1): 59, 1982.

Changes in therapeutical effects of infertile patients in our hospital

Shoko Koga and Hiroshi Nagai

Nagai Hospital, Sendai, Japan

The infertile patients treated from 1976 to 1980 (group B) in our hospital were investigated and statistically compared with those treated from 1970 to 1975 (group A).

1) The rate of infertile patients in our outpatients significantly increased from 2.2% (group A) to 3.1% (group B). There were no differences in the rates of the primary and secondary sterility between the two groups.

2) With regard to the age of the patients at their first visit to us, the peak of the distribution was observed in 26-30 years old in both groups.

Decrease in the patients aged from 21-25 years and increase in those aged from 31-35 years were observed in group B compared with group A. In respect of the infertile period at the first admission, both patients within 2 years infertility and those of 6-13 years increased in group B. We noticed in group B the tendency that the patients admitted the hospital at the shorter period of infertility and that the age at the first admission became older.

3) When we analysed infertile factors, there demonstrated an increase in the infertility of tubal factor and a decrease in that of functional factor in group B compared with group A. The pregnancy rate increased in the tubal factor group but decreased in the functional factor group.

4) The rate of conservative surgeries for infertile patients increased from 12.7% to 22.6%. Especially, the operations for the uterus and the tubes increased remarkably.

5) The pregnancy rate of the infertile patients conspicuously increased from 27.0% to 36.8%, and the high pregnancy rates were observed in both patients of tubal factor and of functional factor. However, the abortion rates increased from 6.2% to 11.9% as well.

(受付: 昭和58年1月28日)

地方部会講演抄録

第87回日本不妊学会関東地方部会

期日：昭和57年6月5日

会場：森永プラザビル23階

1. 子宮卵管造影法における造影剤の選択

○百瀬和夫・酒井隆慈・善方正一
(東邦大第1産婦)

HSG がおこなわれるようになってから、すでに70年余になり、この間にさまざまな造影剤が導入されてきた。ここ20年ほどは、水溶性剤として Endografin、油性剤として ethyl-alcohol ester 化されたヨード油 (Lipiodol UF, ポピオドール) に評価が固定している。前者は局所の刺激が強く、術後の発熱や腹痛をみることが多く、吸収が速やかなため、卵管疎通性の判定に難がある。油性剤は吸性され難く、閉塞卵管内に数カ月～数年にわたって停滞し、異物肉芽腫を形成することがある。このような変質した造影剤はその後の micro 手術の妨げになるので、既往歴、卵管通気、通水法などから疎通障害が予想される例には、吸収性の良好な水溶性造影剤を選択すべきである。

2. 子宮内膜症におけるダナゾールの臨床治験

加藤順三*・落合和徳**・滝田研司***
八木憲一郎・岩瀬一・荻野雅弘
沖永莊一・荒井清
(*山梨医大産婦)
(**慈恵医大産婦)
(***帝京大産婦)

子宮内膜症のホルモン療法としては、近時、ethisterone 誘導体である DANAZOL による偽閉経療法が本邦でも治験検討されつつあり、その有効性が報告されてきている。

さらに、我々は、帝京大学産婦人科外来患者で、内診所見と過去の治療でステロイドホルモンに反応性を示し CEEclinically, suspected endometriosis の症例または、開腹所見で確認した子宮内膜症に対するダナゾール投与例において、著明な薬疹をきたした2例について報告したが、今回は少数例ではあるが、臨床治験成績について報告する。

投与スケジュールは、用量200～800mg/日、投与方法は月経周期の5日目から投与開始した。初回投与量は200～800mg/日、投与期間は原則として3ヶ月以上を意図した。投与量は患者の状態(性器出血等)を考慮しつつ適宜変更した。ダナゾール投与の子宮内膜症の自覚的、他覚的臨床症状に対する効果を、下腹痛、腰痛、性交痛、排便痛、月経痛、子宮可動性、硬結圧痛等についてみると、投与後まで充分にフォローできた全症例で、改善が明らかであつたしなお、ダナゾール投与中の子宮出血発生は5/8例に、投与完了後の月経発来までの日数は、20～66日で平均33.7日(N=7)であり、最初の排卵の日数は36～45日で平均47.2日(N=6)であつた。又、正常月経回復はいずれもすみやかであつた。尚、ダナゾール投与による臨床的副作用について Spooner の分類に分けて、通覧すると、各々の症例を詳細にみると、軽度のものまでいれると、相当の頻度でみられた。

3. 当科における子宮内膜症と妊孕性との関係について

西田正人・笠原国武・岩崎寛和
(筑波大産婦)

筑波大学病院開院以来5年2カ月間に産婦人科でおこなわれた622例の開腹手術中、組織学的に診断された子宮内膜症152例(24.4%)につき、同時期に経験された子宮筋腫206例(33.1%)と比較しつつ、その月経痛頻度、妊孕性との関係及び妊娠、分娩、流産との関係を retrospective に調査した。項目によつては、25歳以下の初妊婦100例、子宮腔部ビラン群220例を対照として調査した。すべての項目は内性子宮内膜症、外性子宮内膜症、子宮筋腫の単独発生、合併例別に分けて調査した。

平均年齢は内性子宮内膜症と子宮筋腫がほぼ同じで42歳、外性子宮内膜症は32歳、最も高いのは内性子宮内膜症と筋腫との合併例で45歳であつた。また、内性子宮内膜症は筋腫との合併例が多く、123例中70例56.9%が筋腫と合併した。月経痛は初妊婦群、子宮腔部ビラン群共に約25%に認められ、3～5%が月経困難症を訴えた。筋腫単独群では月経痛26%、月経困難症3%と対照と全く変わらなかつたのに対し、内性子宮内膜症では約65%、外性子宮内膜症では約50%が月経痛を訴え、月経困難症は双方共約30%と対照に比し明らかに高かつた。Huffman 分類でのI期の外性子宮内膜症は月経痛の原

因とはならなかつた。経妊、経産率に関しては、内性子官内膜症単独群は経妊100%、経産97.7%。外性子官内膜症単独群は経妊80.0%、経産67.7%。子宮腔部ビラン群は経妊93.6%、経産87.3%となり内性子官内膜症は経産婦に多く、外性子官内膜症は未産婦に多いという結果となった。流産既応率に関しては、子宮腔部ビラン群が56.8%であつたのに対し、内性子官内膜症は72.7%と高く、外性子官内膜症では16.7%と低かつた。

以上の結果から、子宮筋腫単独発生例では月経痛の原因とはならないこと、また内性子官内膜症は妊娠、分娩、流産によりその発生が助長される可能性が示唆された。

4. Pure gonadal dysgenesis と思われる1例

内藤正文・寺田夏樹・小堀恒雄
(千葉大産婦)

性の分化は受精の瞬間に決定される遺伝的な性が性腺の性を決定し、次いで分化した性腺すなわち精巣または卵巣の働きによつて内性器および外性器が誘導され、最終的に雌雄の間にみられる身体の性の分化が導かれていく。この過程が様々な原因によつて障害されることにより、臨床上多様な性分化異常ないし半陰陽が生じると考えられている。今回、我々は原発性無月経で子宮卵管造影、ホルモン検査所見、染色体検査などから pure gonadal dysgenesis と推定された1例を経験したので報告する。

現在この患者は未婚で無月経以外の訴えが無く、病識が乏しいため laparoscopy や試験開腹はまだ行なっていないので組織診断は得られていないが、今後 Streak gonad の腫瘍化の問題も含めて十分な follow up をしていく所存である。

5. わが国の人工妊娠中絶の実情

松山栄吉 (東京厚生年金病院産婦)

わが国の人工妊娠中絶届出数は、厚生省優生保護統計によれば、昭和30年の117万件の最盛期以後は毎年次第に減少し、最近では年間60万件前後となつている。しかし一方において、その実情は統計よりはるかに大きく、この2~3倍であるとしばしばマスコミなどで報道されている。

その実態を知る方法の一つとして、われわれは昭和43年に東京厚生年金病院の外来患者1050名について、既往妊娠とその転帰について詳細な調査を行つた。その結果総妊娠のうち満期産49.9%、流産15.6%、人工中絶34.5%で、満期産対人工中絶の比は1:0.69であつた。昭和

30年代の出生数対人工妊娠中絶届出数の比は1:0.5~0.7であり、人工中絶の実数は届出数よりもそれほど大きな差がないことがわかる。

最近(昭和56年7月)、神奈川県予防医学協会が子宮癌検診受診者について妊娠歴の調査を行い、厚生省の人工中絶統計は実態の2.8分の1であると発表した。しかしその数値を改めて分析してみると、結論はかなり異なってくる。すなわち対象3339名の妊娠総数9590件中、分娩6374(66.5%)、人工中絶2302(24.0%)で、両者の比は1:0.36である。これは厚生省の統計で昭和40年代が1:0.33~0.45であるのとよく一致している。

毎日新聞社が昭和56年に行つた家族計画世論調査の結果を、同じような観点から分析してみると、対象3078名の分娩総数6057件、人工中絶総数2185件と推定され、両者の比は1:0.36となり、やはり前述の数値とよく一致する。これらの数値からみると、優生保護統計は実態とほとんど差異がないということがいえる。

われわれは東京厚生年金病院外来患者について、最近再び同じような統計調査を開始しているが、人工中絶の割合は前回の数値を下回っており、いずれにせよ優生保護統計は実態と極端に相違しているものではない。

6. 卵管移植の基礎的研究—特に微細血管吻合術および家兎卵管移植について—

長田尚夫・津端捷夫・高木繁夫
(日本大産婦)

Stephoe による in vitro fertilization は、その後多くの成功例が報告されに致つたが、これには、染色体異常や奇形の発生が危惧されるとともに倫理的、社会的な面での問題がないとはいえない。我々は、この点をふまえ卵管移植による生理的妊娠の成立を目標に、1979年より卵管移植の基礎的研究を始めてきた。他の臓器移植に比べ卵管移植の難かしい点は、吻合血管が非常に細いことにあり、この点から問題を解決すべく微細血管吻合術の改良を進めてきた。その結果、生理学的組織接着剤すなわち Fibrinogen-Thrombin-Ca⁺⁺-Aprotinin System (Fibrin の組織接着効果を応用した方法)を開発し、家兎卵管移植を行つたその結果、我々の作成した Fibrinogen-Thrombin-Ca⁺⁺-Aprotinin System は、家兎より抽出した材料によつて組成されている為免疫学的異物反応は起らず、組織接着効果においては、卵管の無縫合法による端々吻合術、卵巣動静脈および子宮動脈卵管支のいずれも最小縫合(2針縫合)による血管の端々吻合が可能であることが明らかになつた。従来の血管吻合には多くの縫合糸が必要であつたが我々の接着剤を

用いる方法では、血管の adaptation の為の縫合すなわち 2~3 針のみで端々吻合術は可能であり、これによって 2 次的に生ずる血流障害は取り除かれるために、より確実な卵管移植が行なえるようになった。我々は既にこの方法を用いて家兎卵管移植術を成功させ妊娠の成立を認めている。

7. 実験的卵管水腫の形態学的観察

○長田尚夫・横田知夫・津端捷夫
高木繁夫 (日本大産婦)

最近の産婦人科におけるマイクロサージェリー（以下 MS と略す）の進歩には、目ざましいものがある。女性不妊症の 30~40% を占めるといわれる卵管性不妊症は、MS によりその多くが復元可能となつてきている。しかし、endosalpingitis によつて起る sactosalpinx は、たとえ MS によつて疎通性を回復することができたとしても、その卵管の妊孕性を回復し妊娠が成立する可能性は低い。我々は、sactosalpinx の卵管に及ぼす影響について検討を加えるために、実験的卵管水腫を作り、形態学的に光学顕微鏡および走査型、透過型電顕を用いて卵管壁および卵管粘膜の sactosalpinx による経時的变化を観察した。その結果、sactosalpinx による卵管粘膜上皮の変化は、ciliated cell の cilia が、早くも 2 カ月目には、減少を始め、6 カ月目には、ciliated cell および secretory cell は、基底膜を残し卵管壁より脱落することを認めた。これらの変化は、粘膜上皮の表面の変化すなわち cilia の減少、消失より先に、粘膜上皮細胞は基底膜上にて分離が始まり、結果として cilia の変化が生ずるものと考えられた。これら sactosalpinx の成立過程より、臨床的に sactosalpinx が診断されたならば可及的速やかに MS による卵管の疎通術を実施する必要があるものと考えられる。何如ならば、sactosalpinx は、時間が経過するとともに卵管粘膜に悪影響を及ぼすことが考えられるためである。

8. マウス卵巣卵の受精能獲得過程について

香山文美・佐藤孝道・水野正彦
坂元正一 (東京大産婦)

マウス卵巣卵の体外受精法を用いて、卵の減数分裂再開及び、受精能獲得過程について検討を加え、知見を得たので報告する。

(1) 卵巣卵は HCG 投与後時間を追つて受精能を獲得する。(2) 受精能獲得に伴う変化は、卵実質表面よりも透明層で早く起き、それぞれ時間的には第 1 極体の放出、germinal vesicle breakdown (GVB) に一致する。

(3) in vivo では、HCG 投与後 2~7 時間で GVB が起こり、9 時間以後に第 1 極体が放出される。(4) in vitro で、GVB は in vivo と同様に起こるが、第 1 極体の放出される率は低く、時間も 14 時間以上かかる。(5) in vitro での受精能獲得は、現在の modified Krebs-Ringer 液では無理があり、何らかの別の物質の関与も考えられる。(6) in vitro で、顆粒膜細胞の有無は GVB の率に影響しない。つまり顆粒膜細胞の有無にかかわらず、GVB は進行する。

以上の点が明らかになった。

9. ラット精子細胞における乳酸の利用と温度の影響

中村正久・荒井 清・沖永荘一
(帝京大産婦)

温度高感受性のラット精子細胞での乳酸の利用と温度について検討した。ロテノン高感受性の乳酸由来 CO_2 放出量は 34°C より、 37°C 、更に 40°C で増加した。酸素消費量も同傾向を示した。代謝される乳酸の 96% 以上は CO_2 と細胞の可溶性分画に回収された。乳酸 (20mM) の存在下で細胞内 ATP 量は増加するが、 37°C で低下した。しかし、 37°C での細胞内 ATP 量の低下は 34°C に細胞をもどすと増加した。更に 34°C での酸素消費量と CO_2 放出量はジニトロフェノールによつて増加し、オリゴマイシンによつて低下した。しかし 37°C ではジニトロフェノールとオリゴマイシンは無効果であった。この結果は精子細胞の乳酸の利用は精巣の正常温度下では、酸化リン酸化と共役し、体温下では脱共役することを示している。この現象は高温下における精子形成障害の一因になると思われる。

10. 幼若ラットにおける停留精巣の組織学的変化の特性

石田規雄・藤井儔子 (帝京大薬理)

精子形成前で思春期に向つてホルモン環境の変動の大きい幼若ラットに停留精巣を作成し、その機能変化の過程を組織変化を中心に検索した。方法：Wistar- 今道系 3 週齢ラットを使用。停留精巣作成にあたっては、精巣に触れず、腹腔内に留める点に留意した。結果：停留精巣群において、精巣重量は術後 7 週まで軽度の増加を続けた。血清 FSH は増加傾向、血清 LH が術後 7 週で有意に上昇した。血清 testosterone は有意の変動を示さなかつた。術後 3 週で、精細管の組織変化が著明となつた。しかし術後 7 週でも、spermatocytes を多少認めた。成熟ラットにおいては術後 3 週で spermatocytes は完全に消失した。精巣横断面で、間質面積が徐々に増

加した。結語：以上の精巣障害パターンは温度以外に、精細管精細胞機能と上位中枢との相互関係の変化が、成熟ラットと異なることを反映すると考えられる。

11. Ficoll を用いた精子洗滌、濃縮法

真田利男・小林俊文・兼子 智
小嶋 清 (慶応大産婦)

密度勾配遠沈用坦体 Ficoll を用いた精子洗滌濃縮法を人工授精に供する精液の性状改善、特に精子濃度向上を目的として AIH に応用し、妊娠例を得たので報告する。

まず、洗滌濃縮の至適条件は、9.0% Ficoll に充分液化した精液を層積し300×g にて10ないし15分間遠沈する方法であることを確認した。

本法を精子減少症者の AIH (113例) に適用し、洗滌濃縮前後の精液所見を精子濃度、運動率、飯塚の妊孕係数を指標として比較した。精子濃度は洗滌濃縮後に平均2.0倍に増加し、特に精子濃度の低い症例では顕著な改善が認められた。また運動率はむしろ上昇する傾向にあり妊孕係数は2.6倍に上昇した。

得られた妊娠例6例においては洗滌濃縮後に精子濃度は2.3倍、妊孕係数は2.5倍に改善されており、新生児の異常は認められなかった。

以上より本法は、精子の洗滌濃縮に好適であり、AIHに供する精子減少症者の精液性状改善の一施策として臨床応用可能である。

12. 副睾丸の機能に関する研究(第2報)一家兔副睾丸における Xe^{133} 吸収能—

中山 孝一・松橋 求・牧 昭夫
高波真佐治・村上憲彦・三浦一陽
白井 将文 安藤 弘
(東邦大泌尿器)

副睾丸の物質吸収能について検討した。

方法： Xe^{133} を用い、成熟雄家兔の副睾丸尾部近くの精管に2～4 μ ci 注入し、LFO V型シンチカメラにて、関心領域を副睾丸尾部に定め、得られた image を島津製 scintipac 1200型コンピューターにてデータ処理を行つた。求められた clearance curve の半減期より、Ingvar-Lassen の式を用い、副睾丸1g 当りの分時流量を求め、これを副睾丸尾部の Xe^{133} 吸収量とした。

対象：1. control 群・成熟雄家兔、2. 精管結紮群・精管結紮3日後、7日後、1ヶ月後、3. 急性副睾丸炎群・Ps. aeruginosa A14を用い、実験的副睾丸炎作成後3日。

結果：control 群では、分時 Xe 吸収量は $0.364 \pm 0.151\text{ml/gr/min}$ 。精管結紮3日後では $0.360 \pm 0.166\text{ml/gr/min}$ と control 群と差がないが、7日後では $0.219 \pm 0.103\text{ml/gr/min}$ 、1ヶ月後では $0.213 \pm 0.117\text{ml/gr/min}$ と有意に減少、更に急性副睾丸炎では $0.049 \pm 0.021\text{ml/gr/min}$ と著明に減少した。

13. 両側精管欠損を伴ったクラインフェルター症候群

片海善吾・川村健二・布施秀樹
皆川秀夫・伊藤晴夫・島崎 淳
(千葉大泌尿器)

症例 40歳独身男性。既往歴、18歳及び26歳時急性腎炎、現病歴、昭和56年2月より全身倦怠感を訴え来院。現症、胸腹部理学的所見に異常なし。身長167cm、体重67kg、比指極103.9、ひげはうすく、恥毛は男性型。女性化乳房は無し、陰茎は正常、睾丸は右12×16×27mm、左12×13×20mm で小さく硬い。両側精管は触れず、検査成績、血液一般、生化学に異常なし、LH 56.0mIU/ml、FSH 49.7mIU/ml テストステロン285 ng/dl、染色体は47XXY。精液所見、量1.0ml、精子なし。LH-RH テスト、LH 5倍、FSH 2倍、HCG テスト、反応は悪い。試験手術にて副睾丸正常、両側精管欠損と判明。クラインフェルター症候群に、外性器奇形合併はめずらしく、発生学的考案を加え報告した。

14. Sertoli 細胞の機能分化とインヒビリン

藤井儔子 (帝京大薬理)

胎児(仔)期の精巣において gonocytes になる primordial germ cells とは別に、Leydig および Sertoli 細胞は testicular somatic cells から分化する。このうち、Sertoli 細胞のみは思春期前まで増殖を続けラットにおいては25～30日齢頃に成熟形となる。この Sertoli 細胞は①インヒビリン (McCallagh, 1932), ②アンドロゲン結合蛋白 (Hansson 1972), ③ cyclic AMP 依存性 protein kinase inhibitor (Tash, 1977), ④ mitogenic polypeptide (a growth factor) (Feig, 1980), ⑤ プラスミノゲン活性化物質, ⑥ トランスフェリン等を産生し、しかも③④の活性は幼若期に大で Sertoli 細胞機能分化の1指標となる可能性を有する。インヒビリンは血流を介して下垂体における FSH 分泌を抑制する生物活性を有するポリペプチドで、その活性は in vitro, in vivo 系で証明されている。現在の問題点は、その精製と、より良いアッセイ系の開発にある。ラットの Sertoli 細胞のインヒビリン活性はすでに18日齢で成熟ラットのそれに近いが、精巣インヒビリンに対する下垂体感受性は60

日齢頃より急激に増加する。よく用いられる in vitro 下垂体細胞アッセイ系ではインヒビン様物質添加後 3 日目の放出 FSH 量を示標にする。この点、生体内の生理的役割を正確に反映するか、一つの疑問が残されるので、演者らは去勢後血中 FSH 上昇が速やかである 21 日齢雄ラットの精巣摘除と同時に検体を 2 時間おき 5 回注射する方法を検討中である。目下はこの系により、インヒビン活性の年齢差は成熟 > 7 週齢 > 4 週齢の成績をえている。近年はインヒビンの脳室内投与の結果から GnRH 分泌抑制作用も示唆されており、新しい役割、特に性成熟過程における Sertoli 細胞の役割と平行して解明されるべき多くの点が残されている。

昭和57年度日本不妊学会東北支部総会

期日：昭和57年11月13日

会場：良陵会館

1. 排卵期の血中 LH, FSH, E₂, 尿中 LH の変動

長池 文康・星 和彦・今泉英明
森 良一郎・星合 昊・鈴木雅洲
(東北大産婦)

排卵時期を正確に知ること是不妊症治療上極めて重要である。今回正常月経周期を有する不妊婦人 7 名より、排卵期に 3 時間毎に採血しホルモンの変動につき検討を行なった。また同時刻に採尿した尿中 LH を半定量法にて測定し簡便なこの検査法が排卵時刻の推定に有用であるか否かの検討も行なった。

血中 LH は peak の 12~15 時間前より上昇し peak 後 9 時間までに急速に下降した。FSH は LH peak の 12 時間前より上昇し LH と同時に peak を形成した。E₂ は測定時間内では全域にわたり高値を示し、急峻な peak は認められなかった。尿中 LH は LH peak の 15 時間前より 100mIU/ml 以上の値を示す例があらわれ、3 時間前からは全例が 100mIU/ml 以上の値を示した。尿中 LH が 100mIU/ml となるのは LH peak の 8.6 ± 4.7 時間前、血中 LH の上昇開始との時間差は、0.9 ± 2.9 時間であり、有意差はなく、ほぼ同時におこることが示唆された。

2. PG 変動分泌よりみた黄体機能不全

伊東 邦郎 (岩手医大産婦)

プロスタグランディン (以下 PG) の黄体機能への関与については動物実験の成績に比して人体に関する報告は現在なお少ない。

われわれは臨床的に基礎体温曲線上から黄体機能不

全と診断された例について、同一試料について LH, FSH, 17-OH-progesterone, progesterone と PGF_{2α} を測定し、病型分類を試みた。

血中 PGF_{2α} を中心にゴナドトロピンおよびステロイドホルモンとの関連性から 4 型に分けられた。PGF_{2α} の濃度変化とゴナドトロピンの異常がステロイドホルモン分泌に密接な関連性を有し、その変化が黄体機能の異常の病態であると推定された。

われわれの成績は人間でも PGF_{2α} は黄体機能との関連性を示唆するものと考えられ今後更に詳細な検討を加えてみたい。

3. Clomid 療法への Estrogen 負荷の妊孕性に及ぼす影響

小宮 雄一・森崎伸之・小田隆晴
川越慎之助・広井正彦

(山形大産婦)

Clomid は排卵誘発率は高いが抗 Estrogen 作用を有するため頸管粘液分泌不全に陥りやすく、妊娠率は必ずしも高くない。

頸管粘液の産生分泌が Estrogen に依存していることより Clomid に Estrogen 剤を負荷することは、Clomid 本来の排卵誘発効果を保ちながら頸管粘液の状態を改善し、妊娠率が上昇するものと推測される。今回 Clomid 投与例で頸管粘液分泌不良症例に対して Premarin 錠、Premarin 静注、Estril 錠などの種々の Estrogen を用いて頸管粘液の変化、排卵率、排卵の遅延状態、また一部について血中ホルモンの動態について検討した。Clomid に Estrogen 製剤を併用することにより多くの症例に cervical score の改善が見られたが、特に Premarin 1,875mg/day 5 日間投与の場合が最高で cervical score は 2.3 ± 0.98 より 7.3 ± 0.27 と上昇が認められた。また、排卵率は Premarin 投与群では投与前に比べて低下は認められなかったが、Premarin の投与量に比例して低温相の延長が認められた。

4. 無月経症婦人に対する LHRH 反復負荷試験の意義

木村和彦・金子 尚仁・高橋秀幸
金杉 浩・川越慎之助・広井正彦

(山形大産婦)

目的：LH-RH 反復負荷試験は、下垂体 gonadotropin 合成・放出の両者を観察するのに有用といわれている。今回我々は、性周期障害婦人に対し LH-RH 反復負荷を行ない、間脳-下垂体機能障害について検討し

た。

方法：21～35歳の性周期障害婦人29例を対象とし、合成 LH-RH を100 μ g 投与し0, 60, 90, 120 分後に採血、さらに再度100 μ g を負荷し、同様に採血し、血清 LH, FSH を RIA で測定した。

成績：control (3例)では LH 分泌が0分18.5mIU/ml→30分126.5mIU/ml で、2回目では63.5→216.7 mIU/ml と反応の亢進がみられた。I 度無月経では、4例を除き反応は良好。反応不良例でも2回目負荷で26.6→83.7と上昇した。II度無月経では反応が不良で4例/7例は2回目に17.6→66.8と上昇したが、残りは無反応であった。また PCO や高 PRL 血症では特有な反応を示した。

結論：1回目の負荷ではわからない下垂体間脳系の反応が、反復負荷で顕性化し、無月経の原因が、より明確になってきた。

5. 最近2年間の当科不妊外来統計

森 良一郎・対 木 章・京野広一
上原 茂樹・桃野耕太郎・長池文康
今泉 英明・斉 藤 晃・星 和彦
星 合 晃・平野 睦男・鈴木雅洲
(東北大産婦)

昭和55年、56年の2年間に、当科外来を受診した総新患外来数5857名のうち、挙児希望を主訴として受診し、かつ不妊期間1年以上の不妊症患者382名(6.5%)につき統計的に検討したので報告する。

原発・続発に分けると、その割合は約2:1であった。初診時年齢を見ると続発不妊において初診時年齢が高いことを示した。初診時までの不妊期間を見ると、原発不妊で不妊期間が長いことを示した。既往疾患では、虫垂炎が第1位で21.7%であった。不妊因子別に見ると、卵管因子群での虫垂炎の既往が高値であった。不妊因子では、第1位が内分泌因子46.3%、第2位が男性因子32.4%、第3位卵管因子32.0%であった。妊娠成功例は、全不妊患者の20.7%であった。原発・続発別に見ると続発例35.1%、原発例13.1%であった。妊娠成功例の治療内容では、第1位が clomid 使用例32.9%、第2位 HSG 後妊娠、他には CB-154、漢方薬使用例の妊娠も見られた。

6. 子宮外妊娠に対する保存手術の経験

古賀詔子・松田義雄・永井 宏
(仙台永井病院)

近年、hCG 定量法の進歩、超音波診断法の発達、

Laparoscopy の普及など各種診断技術の向上に伴い、子宮外妊娠を破裂前に診断することが可能となり、当院においても Laparoscopy による早期診、さらに Microsurgery 下による積極的保存手術の結果、HSG 上完全復原を認めた2例を経験したので報告する。症例Ⅰ：26歳、O-Op、性器出血以外特変なく、子宮内容除去術施行の後、経過より、外妊を疑い入院。Hi-gonavis 陽性、Douglas 窩穿刺・Laparoscopy で左卵管狭部妊娠を確認、卵管端々吻合術を成功裏に施行した。症例Ⅱ：19歳、O-Op、現病歴及び内診と Douglas 窩穿刺により、外妊と診断、右卵管膨大部妊娠であり、端々吻合術を施行した。当院における子宮外妊娠は昭和54年以来、19例あり、その確定診は Laparoscopy、内診+Douglas 窩穿刺がそれぞれ36.8%と同率で、組織診が15.8%となっている。保存手術の術式はその着床部位で決定され、Microsurgery の普及と共にこれらの妊娠成功率の一層の向上が期待される。

7. hCG 及び testosterone 投与による実験的多嚢胞卵巣の組織学的特徴について

太田博孝・福島峰子・小川英式
(秋田大産婦)

多嚢胞卵巣症候群(PCOS)の発症機序並びにその病態を明らかにする目的でラットに testosterone および hCG を投与し、その結果惹起される内分泌学的・組織学的変化について検討した。

5日齢のウイスター今道系雌ラットに testosterone propionate 1.25mg を投与し、その経日的内分泌動態および卵巣組織像につき検討した。さらに約90日齢の雌ラットに hCG 10 iu を連日80日間投与し、81日目に採血、血中 prolactin, gonadotropin, steroid hormones を測定した。

testosterone 投与群では全例 PCO を形成し、高 prolactin 血症を認めた。hCG 投与群では6匹(24.0%)に黄体の欠如と PCO の形成をみ、高 prolactin 血症を合併した。血中 LH・estradiol は両群共有意に高く、progesterone は低値であった。組織学的に両群に間質および莖膜層の黄体化を認めたが、皮膜の肥厚はなかつた。

以上から testosterone, hCG 誘導による実験的多嚢胞卵巣ラットは内分泌学的・組織学的に多嚢胞卵巣症候群とよく一致し、その病態を明らかにした。

8. 不妊を主訴とした精索静脈瘤患者の手術効果

光川史郎・石川博夫・木村正一
折笠精一 (東北大泌尿器)

不妊を主訴として来科し、精索静脈瘤のみ見つかった患者に手術療法(内精静脈の高位結紮術)を施行したので、その手術の効果について報告する。内訳は無精子症 8 例を含む 46 例(全例左精索群脈瘤)で 2000 万/ml 以下の症例は 27 例(58.7%)と多くを占めた。結果、術前に比して術後精子濃度が上昇した症例は 27 例(58.7%)、運動率に関しては 32 例(69.6%)が術後改善を示した。中でも術前無精子症であった 8 例中 5 例に術後精子の出現をみたのが特徴的であった。妊娠成立例は 11 例(23.9%)で、うち術前 1000 万/ml 以下の症例 24 例中 6 例(1 例は無精子症)に妊娠の成立をみた。手術効果が術前に予測出来ないかを検討する目的で血中ホルモン(LH, FSH, T, PRL)を調べたが改善例、不変例で有意差はみられなかった。手術時の左右の睪丸を生検し、左右差を検討をしたが、左精索静脈瘤にもかかわらず、組織学的には左右差はみられなかった。

9. 男性血液透析症例の血中プロラクチン動態

石井 延久(福島労災病院泌尿器科)

我々は 21 例の男子慢性腎不全症例の血中 LH, FSH, テストステロン, プロラクチンについて測定し、同時に尿路結石等性機能に問題のない泌尿器科に入院している男性症例 13 例, 前立腺肥大症 28 例, 脊髄損傷 10 例についても同様に比較検討した。

血中 LH はコントロール以外の症例群で高値を示したが FSH については慢性腎不全群では余り高値の症例はみられなかった。テストステロンは慢性腎不全症例に低い症例が多くみられ他の症例群では殆ど正常範囲が多かった。プロラクチンについては慢性腎不全症例に年齢とは関係なく高い症例が多くみられた。TRH 注射によるプロラクチンの動態は注射後約 30 分位で血中濃度のピークを示し、2 時間後に前値に近い値にもどることが判ったが慢性腎不全症例ではいずれもプロラクチンは TRH に対する反応が大幅に遅延する症例が多くみられた。

10. 精漿内前立腺性酸性フォスファターゼとプロラクチン

木村正一・石川博夫・光川史郎
折笠精一 (東北大泌尿器)

83 症例について精漿内の前立腺性酸性フォスファターゼ(PAP), プロラクチン, 亜鉛, 果糖濃度を測定した。PAP は RIA 法(Travenol 社製, GammaDab® PAP キットを使用)と酵素法で測定した。症例の精子濃度は 20×10^6 /ml 未満 28 例, $20 \sim 40 \times 10^6$ /ml 20 例, 40×10^6 /ml 以上 35 例であった。その結果、① PAP (RIA) は亜鉛と正の相関があり、プロラクチンと果糖とは負の相関が認められたが、PAP (酵素法)はいずれとも相関を示さなかった。②精子運動率 55% 以上の症例(24 例)の PAP は RIA と酵素法のいずれも 55% 未満症例(59 例)の PAP よりも高い傾向を示した。③ PAP と精子濃度との間の相関は認められなかった。

11. ヒトの受精に及ぼす Ca^{++} と Mg^{++} の影響

星 和彦・斉藤 晃・桃野耕太郎
対木 章・星合 晃・鈴木 雅洲
(東北大産婦)

ヒト精子を Ca^{++} -free あるいは Ca^{++} & Mg^{++} free の培養液中で一定時間培養したあとに Ca^{++} もしくは Ca^{++} & Mg^{++} を添加したときの先体反応の起こり方について、透明帯除去ハムスター卵との in vitro 受精システムを用いて検討した。

卵と精子を Ca^{++} free mBWW 液中で 3 時間培養したときの受精率は 4% であつたが、 Ca^{++} を加えてさらに 1 時間培養したときは 95% に急増した。 Ca^{++} & Mg^{++} free mBWW で培養したあとに Ca^{++} & Mg^{++} を加えたときも 0% から 61% へと急激な受精率上昇をみた。

この成績は、 Ca^{++} free もしくは Ca^{++} & Mg^{++} free の状態で capacitation をおこしていたヒト精子が Ca^{++} あるいは Ca^{++} & Mg^{++} を加えられることにより一斉に先体反応を生じたためと考えられる。

12. in vitro における Ca 濃度の精子運動能に及ぼす影響

平山寿雄・井上公俊・小田隆晴
広川正彦 (山形大産婦)

目的: 頸管粘液 (CM) の pH 及び Ca 濃度が精子の運動能及び頸管粘液貫通性にいかなる影響を与えるかを in vitro で検討した。

方法：健常婦人の新鮮な CM を採取し、pH 及び Ca 濃度を測定し、その月経周期による変動について検討した。in vitro で種々の Ca 濃度の生食内でインキュベーションした精子につきその運動を検討し、CM を充滿した毛細管内に貫通させ、螢光顕微鏡にて Y 精子の分布を測定した。

成績：① CM に含まれる Ca 濃度は排卵期が近くにつれ徐々に上昇し、排卵日に $4.1 \pm 0.8 \text{ mg/dl}$ (MIS-EM) と高い値を示し、排卵日を過ぎると急速に低下した。

② 精子と種々の Ca 濃度の生食とのインキュベーションでは Ca 濃度が 2 mg/dl 以上では 3 mg/dl 以上と比較し、有意に運動能の低下を示した。

③ CM を貫通した抽出精子数は、Ca 濃度が 3 mg/dl 以上では多く、Y 精子比率の増加が認められた。

13. ヒト精子の capacitation 時間の個人差

斉藤 晃・星 和彦・京野広一
対木 章・星合 晃・鈴木雅洲
(東北大産婦)

透明帯除去ハムスター卵に、capacitation acrosome reaction を完了したヒト精子が貫通できる事を利用して、ヒト精子の受精能獲得に要する時間に関し検討し、以下の結果を得た。

1) 16名の健常男子よりの精子を preincubation なしに貫通検査に供すると、その貫通率の上昇開始には大きな個人差が認められた。又、上昇開始の最も遅かった例につき、精子のみの preincubation を 7 時間 30 分行い、その後媒精すると、短時間で貫通率の急上昇を認めた。

2) 5 名につき、精子のみの preincubation を 0・2・5・8 時間とり、媒精後 3 時間目の貫通率を調べたところ、最高値を示す preincubation 時間は症例により異なり、2 時間 1 例、5 時間 3 例、8 時間 1 例であった。又、精子の運動低下率にも大きな個人差が認められた。

以上より、ヒト精子の受精能獲得に要する時間には大きな個人差のある事が確認された。

14. カリクレインの受精能獲得促進について

京野広一・星 和彦・星合 晃
斉藤 晃・対木 章・鈴木雅洲
(東北大産婦)

カリクレインが精子数の増加、運動性の増進を促すことが確認されているが受精現象にいかなる影響を与えるかは未だ検討されていない。我々は透明帯除去ハムスタ

ー卵とヒトの運動良好精子の受精実験系を用い、カリクレインの受精能獲得促進について検討した。また精子の受精能獲得時間に個人差があることよりプレインキュベーション時間を 2 時間、4 時間とり、各々、カリクレインを 1 KU/ml 、 4 KU/ml 添加して受精率・受精精子数をみた。その結果、mBWW 液 (コントロール群) に比しカリクレイン添加群が受精率・受精精子数とも高値を示した。また mBWW 液からグルコースを除いたものについてはコントロール群に比し、低値を示した。この結果よりカリクレインが受精能獲得を促進することが示唆された。またその効果はグルコースの存在下で著明であることがわかった。

15. 透明帯除去ハムスター卵へのヒト精子の侵入機序

対木 章・星 和彦・斉藤 晃
長池文康・星合 晃・鈴木雅洲
(東北大産婦)

透明帯除去ハムスター卵へのヒト精子の侵入を利用して、受精能の検討、受精至適条件の検討などの臨床応用の可能性が論議されている。このシステムを用い、受精初期過程のうち、精子の卵細胞内侵入について走査型電子顕微鏡で観察を行なった。その結果、①卵細胞表面は均一な長さの微絨毛が密生し、付着していた精子はほとんど Acrosome cap が取れ、acrosome reaction を完了していた。②精子頭部に微絨毛が長くのびてまきついで、いわゆる microvillitrap の状態で付着していた。③精子の後帽域の形質膜上に微絨毛の細胞成分が見られ、この部より精子頭部の Incorporation が開始し、最後に精子頭部先端が Incorporation した。④精子頭部が侵入した付近の微絨毛は形態、大きさについて著明な変化を認めなかった。以上よりこの heterologous gametes interaction においても卵細胞表面の微絨毛が受精初期過程に大きな役割を演じていることが示唆された。

16. ラットにおける体外受精法の改良、とくに媒精法と精子濃度の関係について

堀内俊孝・浜野光市・菅原七郎
正木淳二
(東北大農)

哺乳動物の受精に関する研究は、体外受精の成功以来急速に発展しているが、体外受精は必ずしも体内受精のモデルとしてまだ十分に再現されていない。本研究はその要因のひとつである精子濃度について媒精法の関連で検討を加えた。

体外受精法は豊田らに従って行つた。ラット精子は修

正クレブス液 (0.4ml) で約 5 時間インキュベーションし、受精能を獲得させた。媒精法としては、あらかじめ培養液を満した内径 0.5mm のキャピラリー・チューブを周囲の受精用培養液 (0.1ml) にブリッジをかけることで行った。一定時間静置し、精子がチューブを通過した後チューブは除去した。

卵子当たり 1-8 精子、18-66 精子で媒精し、各 13、7 回の受精実験のうち 3、6 回受精に成功し、検査卵子 144、67 個のうち受精途上卵子は 6 個 4%、23 個 34% であった。受精に成功した 9 回の受精率の範囲は 9-88% であった。卵子当たり 6-30 精子では卵丘細胞層は放散せずに精子が侵入した。

本研究で用いた媒精法をさらに検討することで体内の精子数に近い条件での体外受精が可能であることが示唆された。

17. ヤギ精子の体外受精に関する研究

1. 前培養したヤギ精子のハムスター裸化卵子への侵入能について

浜野光市・堀内俊孝・菅原七郎
正木淳二 (東北大農)

ヤギの体外受精における精子の受精能獲得条件をしらべる目的から、精子の運動性と形態の変化、およびハムスター裸化卵子とヤギ卵子への侵入能について、とくに培養液と精子の前処理を中心に前培養条件を検討した。

精子の運動性の変化については hyperactivation 様の運動性型の変化が、各前培養の後認められた。運動性と形態を指標とした精子の受精能獲得条件としては、0.3% BSA を添加し、Ca 濃度を調整した MEM で非洗浄および分離の各処理後の前培養が良好であった。

ハムスター裸化卵子への侵入率は各処理区で低かったが、Hyamine、高張液、分離の各処理で 5~8% の侵入率が得られた。

精子の生存性、運動性型の変化および先体反応の誘起とハムスター裸化卵子への侵入率との相関は明らかではなかった。また、ヤギ卵子に対する体外受精では、透明帯表面に多数付着する精子が認められたが、受精の判定については、結論が得られなかった。

特別講演

オーストラリアにおける牛の胚移植の現状と問題点

小林軍次郎 (日本大農獣医学部)

オーストラリアでは、動・植物の輸入に関して非常にきびしい防疫態勢をしいている。1973年以来、この検疫所の難関をくぐりぬけてきた数少ない輸入雌牛を一度に数

多くふやしたいという考えから、牛の増産は主に胚移植を利用した企業の努力によつて、技術が開発されていった。胚移植技術開発の中で非外科的の採卵・移植は“on farm collection & Transfer”と呼ばれているように特別な設備を必要としないで高い採卵率・妊娠率が得られるようになった。

今後の技術的な課題としては、胚の長期保存方法の確立、および胚の雌雄鑑別、親子鑑別方法の簡易化などがあるが、改良増殖の最良の技術である胚移植を、今後、より一般的に普及してゆくためには、これらをつずつ解決してゆかなければならないと考える。

第18回日本不妊学会北陸支部総会

期日：昭和57年12月18日

会場：金沢大学医学部

1. 超音波断層法による排卵周辺期における卵胞の観察—血中ゴナドトロピンとの関連性について—

窪田与志・生水真紀夫・三輪 正彦
細野 泰・荒木 克己・赤祖父一知
(金沢大産婦)

女性不妊症患者の治療を行う上で排卵日の推定という作業はもつとも基礎となるものであるが、従来の頸管粘液、腔細胞診、B.B.T の推移、あるいは尿中 hCG の半定量などの間接的な方法に加え、ここ数年来、超音波断層法を用いた卵巣内卵胞の発育の観察が応用され、実用上大きな成果をあげつつある。

われわれは正常な排卵周期を有する健康婦人及び主として排卵遅延のある不妊症患者に超音波断層法による卵胞の観察を行なっているが今回は正常性周期を有する健康婦人 3 名について毎日卵胞直径を観察し、また同時に血中ゴナドトロピン値を測定した。また 1 名の無排卵卵胞を示した婦人についても同様の観察を行なつた。使用機種はアロカ SSD-250 3.5MHz を用いた。

健康婦人においては卵胞の直径の最大となつた日と血中 LH ピークとはほぼ一致した。またその時の最大径は約 21mm であった。

無排卵卵胞を示した婦人では最終月経開始日より 16 日目に弱い LH ピークを示しその翌日より B.B.T の上昇を認めた。しかし、16 日目に約 25mm あつた卵胞は、23 日目に約 35mm の径を有する卵胞様のエコーとして認められ、その 7 日後消失した。

超音波断層法を用いた卵巣内卵胞の観察による排卵日推定は健康者についてはかなり有力な手段であると考えられた。また、不妊症患者においては B.B.T あるいは

血中 LH ピークと実際の排卵との関係を推定する手段として有意義な方法であると考えられた。

2. 若年婦人の妊娠、分娩について

吉沢 久・村田 均・富田哲夫
杉浦幸一・桑原惣隆

(金沢医大産婦)

近年本邦においても女子の成長ならびに性成熟の加速現象が著しく、若年の妊娠及び分娩が問題となつてゐる。又、若年妊娠の定義も一定しておらず高齢初産婦に比べて明らかにされていない事が多いのも事実である。

今回我々は重症妊娠中毒症合併による子癇症例を含め 3 例の 20 歳未満の若年の妊娠、分娩を経験したのでここに報告する。

若年の妊娠、分娩において諸家の報告では妊娠中毒症、妊婦貧血、未熟児出生率、早産率、帝王切開率が問題になると言われているが、我々の症例では特に妊娠中毒症が問題となつた。全例において認められ、1 例は子癇発作も出現し、妊娠 7 ヶ月にて子宮内胎児死亡をおこした。その他軽度の妊婦貧血が 1 例に認められた以外、特記すべき所見はなかつた。

今回我々の経験した 3 例について考えてみると、正式に結婚している 2 例は定期検診も受けており特に問題はなかつたが、未婚の 1 例において 17 歳の時に人工妊娠中絶を施行しており、しかも今回の妊娠では重症妊娠中毒症を合併し内科受診時まで本人及び家族が全く妊娠を気づかず経過していることより、身体發育は充分でも性知識の乏しいこと、家庭内での問題が注目される。以上の事をふまえて考えると、今後性教育の充実特に避妊の教育、環境の改善、妊娠経過の注意深い観察及び管理がより必要であると思われる。

3. Prolactinoma 術後妊娠の興味ある一症例について

川原領一・松山 毅・長柄一夫
丹後正紘・岡部三郎

(国立金沢病院産婦)

石倉 彰 (脳外科)

最近、Prolactinoma が妊娠負荷により、産後、その病状を改善せしめられるような症例がわずかに報告されている。当科において、これに類した症例を経験したので報告する。

患者は 23 歳、未婚で、昭和 53 年 10 月 31 日当科を初診。主訴は無月経で、13 歳に初経あり、以後頻発月経様出血を来していたが、15 歳より無月経となつた。19 歳より

近医にてホルモン治療を受けていたという。内診所見では、子宮はやや小で、それ以外著変は見られなかつたが、両側乳房より乳汁漏出を少量認め、PRL 値は 760 ng/ml を示した。LH, FSH, HGH, ACTH, TSH 系には著変なく、昭和 54 年 7 月 23 日当院脳外科紹介し、Prolactinoma (microadenoma) と診断され、9 月 18 日 Hurdy 手術を受けた。術後も PRL 値は 200 ng/ml 以上を呈したため、12 月 10 日より CB-154 投与し、昭和 55 年 2 月に月経発来した。以後 CB-154 3.75 mg/day で PRL 10~20 ng/ml 程度に control され、10 月 29 日より当科へ転科す。CB-154 を副作用(嘔気)のため 2.5 mg/day に減量したが、PRL 値 14.8 ng/ml, BBT 二相性を示していた。昭和 56 年 3 月結婚し、最終月経 5 月 23 日で妊娠した。妊娠中著変なく、57 年 3 月 3 日妊娠 40 週で 4060 g の男児を正常分娩す。産後、パーロデル投与することなく、5 月より月経が自然発来し、以後毎月 25~30 日の周期で月経を見、8 月 10 日の PRL 測定では 76.2 ng/ml であつた。11 月 11 日当科を受診し、最終月経 9 月 12 日で妊娠を診断された。

産後、Prolactinoma の症状が軽快する原因としては、tumor 内の bleeding, necrosis などが考えられているが、当症例では PRL 値の極端な低下を認めておらず、PRL に対する視床下部、下垂体のゴナドトロピン系の反応性の妊娠、分娩による変化ということも無視できない原因の一つではないかと考える。

4. HMG-HCG 療法中にみられた 卵巣過剰刺激症候群の 6 例について

中曾根敬一・舘野政也
(富山県立中央病院産婦)

重症無排卵周期症の治療としてさかんに用いられている HMG は、その強力な作用によつて、しばしば多胎妊娠や卵巣の過剰刺激を起こし、副作用あるいは合併症とでも言うべき卵巣過剰刺激症候群をひき起こすことが多く、それに関する報告がすでに多数なされている。我々は昭和 54 年から約 4 年間に、当院における HMG-HCG 療法によると思われる卵巣過剰刺激症候群 6 例を経験したので報告する。HMG-HCG 療法は原則として、LH-RH test で無反応、又は低反応の症例としているが、稀には他の排卵誘発剤無効例にも使用している。卵巣過剰刺激症候群の発生率は、17%で、第 1 度無月経 33%、第 2 度無月経 7%と、第 1 度無月経における発生が多かつた。重症例 2 例をみると、他の症例に比べ HMG 投与期間が長期であつた。又、排卵誘発剤使用によるとと思われる多胎妊娠は全例が Clomiphene によ

るもので HMG-HCG 療法では認めていない。我々は重症例において輸液療法で効果なく、胸腹水貯留が著明となり、最終的に手術療法にふみ切った症例を経験した。この症例は、その後排卵誘発剤を使用せずに妊娠している。卵巢過剰刺激症候群の治療法は、輸液療法中心の保存療法のみで十分治療されるが、時として手術療法が必要な場合もあると考える。

5. 処女膜閉鎖による月経モリミナ症例

村上弘一・生水真紀夫・飯田和質
(福井県立病院産婦)

処女膜閉鎖症は、比較的稀な疾患であり、臨床においては、所謂、月経モリミナを呈して来院する事が多い。今回、われわれは、処女膜閉鎖症の一例を経験したので報告する。症例、11歳女性、下腹部痛と排尿困難をみとめたものの、放置していた所、排尿困難が悪化し、当科受診。腹部触診、直腸診にて腔部腫瘍をみとめた。外陰部にて、処女膜は閉鎖し、暗紫赤色を呈して膨隆していた。超音波断層法にて、腔溜血腫、子宮溜血腫を認めた。処女膜部分切除術を施行し、術後経過良好にて退院した。処女膜閉鎖症は、尿生殖洞の發育異常により生じる先天奇形であるが、他の腔閉鎖を生じる先天性疾患との関連を考察すると、Wolff 管の發育異常も影響するのではないかと考えられ、興味深い。

6. Rokitsanski-Küster-Hauser 症候群と考えられた 1 例

生水真紀夫・村上弘一・飯田和質
(福井県立病院産婦)

先天性の腔欠損があり、試験開腹により Rokitsanski-Küster-Hauser 症候群と確診した 1 例について報告する。

患者は20歳の未婚女性で、原発性無月経を主訴として当科を訪れた。周期的下腹部痛などの既症はなく、学業成績普通。家族歴に特記すべきことはない。

身長164cm、体重66kg と体格大で栄養良。乳房發育良好で、外観上奇形および身体的異常はみとめなかった。局所所見では、陰毛正常女性型。大・小陰唇、外尿道口、陰核には異常なし。腔入口は完全に閉鎖し膨隆を認めない。直腸診で、膀胱後面を縦走する成人母指頭大の抵抗として子宮を触れたが、両側卵巢ともに触知しなかった。

一般検査では異常なし。内分泌学的検査では、BBT は一相性で、エストロゲン値は軽度低下し、LH-RH テストではやや低値ながらほぼ正常反応を示した。染色体

は46XX。DIP, ECG, 胸腹部 X-P 等では骨格、心、腎に奇形や異常は認められなかった。

開腹所見では、両側卵巢はほぼ正常、卵管も正常形態であつたが子宮は母指頭大の肉塊で割面にて内腔を認めなかった。腔痕跡と思われる組織は見当らなかった。卵巢の組織学的検査では、原始卵巢が主体であつたが發育卵胞、白体も認められた。

以上より本例は腎等の合併症と併わない Rokitsanski-Küster-Hauser 症候群と考えられ、McIndoe 手術を施行した。本症の病態は性腺には異常のない Müllerian dysplasia であると考えられていたが、診断や治療に当つては各種の合併症に十分注意しておく必要がある。

7. LH Pulse と Estrogen positive feedback

柳沼 恣・長阪恒樹・泉 陸一
(富山医薬大産婦)

Knobil 一派は、猿の視床下部の弓状核を破壊して血中 LH の pulse を消失せしめた後、この猿に LHRH を間欠的に投与して血中 LH の pulse を作り、このような状態を持続せしめたところ、排卵性 LH surge が起り、排卵を惹起したことを示した。これは、猿のような霊長類においては、従来主にラットにおいて存在が主唱されていた LH surge のための視床下部における cyclic center は存在しない、あるいはその存在を考える必要はないことを示唆した。この考えをもとにして、ヒトにおいても、無月経婦人に LHRH を間欠的に投与し続けて排卵を惹起せしめたことが報告されてきている。

そこで本研究では、LH pulse が本当に排卵性 LH surge のために必須のものであるかどうかを検討するために、LH pulse が認められない婦人に estrogen (E_2 benzoate 5mg 筋注) を投与して LH の surge が起るかどうかを検索した。

一例の Danazol 投与中の無排卵婦人と、一例の二度無月経婦人には共に、血中 LH の pulse は認められなかった。LHRH に対する反応は良好で、中枢性の無排卵性と考えられる。かかる婦人に estrogen を投与した所、共に LH surge が認められた。

この結果は estrogen positive feedback に LH pulse の存在が必ずしも必要でないことを示す。かくして排卵性 LH surge に LHRH の pulse が必ずしも必要でないことが推測される。

8. 停留睾丸と不妊を主訴とした XYY 症例

寺田為義・柳 重行・中田瑛浩
片山 喬 (富山医薬大泌尿器)

症例は29歳男性、結婚後1年半を経過しても妊娠を見ぬ為来院した。両親同様に身体的異常を認めず、妻にも不妊を来す原因は認められなかった。身長は小学生時代から高い方、学業成績は中等度、非行歴・犯罪歴はなく、特に粗暴な性格でもない。

現症では身長181cm、体重70kg、左睾丸正常大、右睾丸は小さく鼠径部に触れる。

精液検査では無精子症、知能検査では全 IQ68 で精神薄弱、内分泌的検査では LH・FSH の基礎値は高く、テストステロンはやや低め、プロラクチンは正常であった。LH-RH test では、LH・FSH と前値は高く、LH は反応するものの FSH の反応性がかなり低下している。HCG テストでは正常下限の反応を示した。

睾丸固定術と同時に両側睾丸生検を施行したが、精細管基底膜の肥厚・ヒアリン化と spermatogenic arrest の所見が得られた。これは左右とも同じ所見であった。47XYY 症候群に停留睾丸を合併した例は本邦で4例しか報告されていないが、守屋らの見解及び自験例より、過剰な Y 染色体が何らかの機転で造精機能の低下をもたらすと考えられる。

9. MEP 法による精子運動能の測定

柳 重行・寺田為義・中田瑛浩
片山 喬 (富山医薬大泌尿器)

男子不妊主訴患者82例に MEP (Multiple Exposure Photography) 法にて精子運動能を検査した。MEP 法には、位相差顕微鏡、間歇撮影装置 (オリンパス製)、0.1mm Bürker-Türk 型血球計算盤を用い、Interval Time 1.0Sec で同一フィルム上に10回の多重撮影を行なった。本法による精子運動率は従来の Direct observation method に比べ約60%の低値であった。また個々の精子の運動速度の測定は容易であり、精子運動率と平均精子運動速度との間には正の相関がみられた。精子濃度と精子運動率、奇形率と平均精子運動速度の間にも低い相関がみられた。本法は精子運動能を客観的に把握するために極めて有用な検査法と考えられる。

10. 両側精管欠損症の1例

上木 修・三崎俊光・久住治男
(金沢大泌尿器)

我々は、両側副睾丸が正常で尿路異常を伴わない両側精管欠損症の1例を経験したので、報告する。

症例は、27歳男子。結婚後1年9カ月経過するも挙子なく、精査を求め当科受診した。性生活は正常で、妻は婦人科的に異常なかった。現症では、体格中等、栄養良好。顔面、胸部、四肢、軀幹に異常はなく、女性化乳房は認めない。外陰部は視診上特に異常なく、腋毛、陰毛は正常。触診上睾丸は大きさ、硬度とも正常、副睾丸も正常であったが、精管は両側とも触知困難であった。前立腺は触診上正常であった。血液生化学検査、内分泌学的検査、尿検査では異常なかった。精液検査では、射精量1.2ml、粘稠度は低下し、精子は認めなかった。KUB、IVP では両腎とも機能・形態に異常はなかった。経直腸の超音波断層法では、扁平でやや小さな精囊を見るだけで、前立腺は正常であった。睾丸生検および精管精囊撮影の目的で手術を施行した。手術所見では両側睾丸、副睾丸は正常であったが、精索を外そ径輪まで検索したが、精管は両側とも認めなかった。睾丸生検では両側とも正常な精子形成を認めた。

精管欠損症は、男子不妊症患者の約1%、無精子症の3~5%程度に認められ、かなりの頻度に存すると考えられている。発生学的に、Wolff 管の發育異常あるいは一定の成熟をとげた Wolff 管の退行性変化によると考えられているが、その詳細は不明である。その発生から考え、精管欠損症には精系と尿路系の先天異常がたびたび重複しておこり、種々の所見を呈すると言われている。自験例では、経直腸の超音波断層法により精囊の發育不全が疑われたが、副睾丸も尿路系も正常であり、Wolff 管の退行性変化によるものと考えられた。

第25回日本不妊学会北海道地方 部会総会・学術講演会

期日：昭和58年1月22日

会場：共済ビル

1. 昭和55年当科不妊症外来統計

遠藤俊明・浜松美穂・東口篤司
岡部泰樹・佐藤卓広・田中昭一
橋本正淑 (札幌医大産婦)

昭和55年に当科不妊症外来を初診した不妊期間2年以上の患者について follow up し臨床統計をおこなった

ので報告する。昭和55年の婦人科新患総数は3566名で、うち満2年以上の不妊外来新患は228名で6.8%であった。また、原発性不妊症は158名で69.3%、続発性不妊症は70名で30.7%であった。これらのうち系統的検査終了者は153名で67.1%であった。

妊娠成功率は、不妊症新患総数に対して、原発性が36.7、続発性37.1%、又系統的検査終了者に対しては原発性が48.6%、続発性が54.3%であった。初診時年齢は、20歳以上を5歳毎に分類したが、原発性、続発性とも30~34歳に peak があつた。不妊期間は原発性、続発性とも3年以上4年未満が最も多かつた。不妊原因は、卵管因子が39.6%と最も多く、以下排卵因子、男性因子、機能性不妊、黄体機能不全、頸管因子、子宮因子の順であつた。又妊娠成功率が一番高かつたのは、卵管因子であつた。

2. 臨床統計よりみた尿道下裂について

榊原尚行・野々村克也・松野 正
小柳知彦 (北海道大泌尿器)

当教室では1969年から1982年までの14年間に139名の尿道下裂の患児が入院、形成手術をうけている。うち最近5年間の患児60名を対象に、合併奇形、妊娠中経過、家族歴などを検討した。患児の年齢分布は1歳から13歳までであつたが、形成手術の時期との関係から3歳から5歳の年齢層が多かつた。程度別では glandular 22例、penile 16例、penoscrotal 11例、perineal 5例、chordee without hypospadias 6例であつた。合併奇形を有する症例は60例中30例(50%)と高率にみられた。妊娠中の Progestrone 製剤の服用に関しては、57例中18例(31.5%)に服用の既応があり、妊娠3ヶ月以内9例、妊娠4ヶ月以降9例であつた。妊娠中期以降の Progesterone 製剤の既応を有する症例が予想以上に多く、この点についても若干の考察を加える予定である。

3. 当科における腹腔鏡子宮鏡の現況

東口篤司・水内英充・田中昭一
橋本正淑 (札幌医大産婦)

婦人科領域における内視鏡の発達が目ざましく、特に不妊症分野での腹腔鏡、子宮鏡は現在必要不可欠な検査手技として、一般的に定着しつつある。これらの検査法の当科における現況について報告する。

札幌医大婦人科では昭和50年12月より現在までに103例の腹腔鏡検査をおこなつたが最近1~2年間急速に症例数が増加している。その対象のほとんどは不妊症患者で、現在では、HSG、Rubin test と並んで、卵管疎通

性検査法としてほとんど、ルーチンの手技といつて良い状況である。他に卵巣腫瘍、子宮内膜症、陈旧性子宮外妊娠など多くの疾患が対象となつている。一方子宮鏡検査は昭和54年2月より現在までに46例に対して施行した。対象はやはり不妊症患者が多く HSG に陰影欠損を認めた場合、全例適応としている。また子宮体癌の症例が少なくなく、発生頻度の増加にともなつて、更にその需要の増加が予想される。

4. インポテンツに関する臨床的検討

—器質的インポテンツの診断、治療について—

青木正治・熊本悦明 (札幌医大泌尿器)

器質的インポテンツと機能的インポテンツの鑑別のため睡眠時勃起現象(NPT)を Mercury strain gage を用いて測定した。

正常者及び機能的インポテンツと考えられた症例では夜間2回以上のNPTを認め、それぞれの症例の陰茎周径最大変化は11mm以上であつた。一方、器質的インポテンツと考えられた症例ではNPTの回数は少なく陰茎周径最大変化も10mm以下であり、器質的インポテンツと機能的インポテンツの鑑別にNPT測定は非常に有用であると考えられる。

また器質的インポテンツ患者に対して Penile prosthesis の implantation を行なつてゐるが、特に術後合併症はなく良好な結果を得ているので合わせて報告する。

5. 卵管妊娠における非観血的妊孕性保存の試み

宮崎 幸雄・椎名美博・和氣徳夫
岡田 雄一・山崎秀博・竹田和市
一戸喜兵衛 (北海道大産婦)
木脇 祐普 (市立小樽病院産婦)
岩崎 寛治 (聖母会天使病院産婦)
土門 洋哉 (札幌厚生病院産婦)
守谷 修而

(社会保険中央病院産婦)

中絶症状の発現前、および発現後において全身状態の良好な卵管妊娠の早期診断11症例に対し、過去に絨毛機能中絶の目的で腹腔妊娠や頸管妊娠に使用された報告のある amethopterin (methotrexate, 以下 MTX) を総量60~300mg 授与し、9症例に非観血的卵管保存治療の目的を達した。又、治療量において重篤な副作用は認めなかつた。

治療後 HSG を行いえた8症例中6症例に卵管疎通性を確認し、その内2症例は次回に子宮内妊娠し、1症例は正期産にて健児を得た。

2 症例に開腹術が行われ、1 症例は MTX 授与中に卵管流産が進行し卵管摘除術の対象となつたが、他の 1 症例は MTX 治療後に増大した卵管周囲血腫除去のみで卵管保存が可能で、術中の通色素法により卵管疎通性も確認された。

6. 血中 estrone sulfate の enzyme immunoassay とその豚の早期妊娠診断への応用

玉村 太・杉山定寛・中尾 敏彦
嵯峨伸彦・角田修男・河田啓一郎
(酪農学園大学獣医学科)

血中 estrone sulfate (E1S) の enzyme immunoassay (EIA) を確立し、これを豚の早期妊娠診断に応用した。

材料：交配後22～27日目の豚 111 頭の耳静脈または前大静脈から採血し、血清を E1S の EIA に供した。妊娠の確認は流産または分娩によつた。

E1S の EIA：まず、血清 (0.1ml) 中の free の E1 を ether で抽出、除去した後、E1S を tetrahydrofuran-ethylacetate (1:1) で抽出し、乾涸。これに 1,000 単位の sulfatase (Helix Pomatica 由来) を加えて、E1S を加水分解。この反応液中の E1 を EIA で測定した。測定感度は 38pg/tube。測定内および測定間変動係数は、それぞれ、5.8% (n=5, 平均 672pg/ml) および 12.6% (n=5, 平均 654pg/ml)。回収率は 73%。

妊娠診断の精度：血中 E1S 値が 0.8ng/ml 以上を妊娠、0.4ng/ml 未満を非妊娠とした。血中 E1S 値による妊娠診断の適中率は、妊娠例で 93% (97/104)、非妊娠例では 100% (7/7) であつた。

従つて、血中 E1S の EIA は豚の早期妊娠診断法としての実用性が高いと考えられる。

現在、EIA による血中 E1S の直接測定法を検討中である。

7. 着床前 blastocyst の prostaglandin 産生、放出能に関する検討

笠茂光範・石川陸男・千石一雄
溝口久富・山下幸紀・清水哲也
(旭川医大産婦)

Prostaglandin (以下、PG) は、着床機構に深く関与しており、その産生母体としては、従来、子宮内膜が考えられてきた。しかし、近年、blastocyst もその一つとしての可能性が考えられてきている。そこで、今回、着床前 blastocyst 自体が、PG を産生、放出するか否かにつき、in vitro で検討した。方法：家兎を用い、交配

144時間後に子宮腔を flushout し、blastocyst を採取した。次に、採取した blastocyst を、TC-199+FCS 培養液中で 95% air+5% CO₂, 37°C 下に一定時間培養し、blastocyst、培養液中の PGF 量を測定した。

PGF の測定は、Caldwell らの方法に準じ、抽出、分離後、RIA により行なつた。

成績：blastocyst の PGF 含有量は、培養前 1.93ng より、培養 1 時間後 11.50ng と増加し、また、培養液中 PGF 濃度も、培養前 237pg/ml より、培養 2 時間後 1225pg/ml と増加し、in vitro で blastocyst の PGF 産生および、放出が認められた。

8. マウス人工キメラ胚の体外培養について

吉田光敏・平子 誠・金川弘司
(北海道大獣医学部家畜臨床繁殖学)

ddY 系幼若雌マウス (25～27 日齢) を使用して、過剰排卵処理後 (PMSG 5 IU と HCG 5IU) 雄と一晚同居させた。HCG 投与後 66～70 時間に卵管と子宮をかん流し、8～12 細胞期の受精卵を回収して実験に使用した。受精卵は 0.5% ブロナーゼ溶液 (室温; 5～10 分間処理) で透明帯を除去し、PHA-P (5μl/ml) あるいは PHA-M (250μl/ml) を含む溶液中で 2 個を集合 (37°C; 15～20 分間処理) させた。集合した受精卵の培養は BMOC-3 液を使用して、パラフィンオイル下に 0.2ml の微小を作り、炭酸ガス培養装置内で 48 時間行つた。また、対照として透明帯を除去したが集合させなかつた受精卵についても培養を行つた。

集合させた受精卵は培養 24 時間後には桑実期～初期胚盤胞期の人工キメラ胚に発育し、48 時間後には PHA-P 区では 81.8% (9/11) および PHA-P 区では 81.8% (9/11) および PHA-M 区では 90.0% (9/10) の胚が後期胚盤胞に達した。また、対照区の受精卵も 48 時間後に 95.0% (19/20) が後期胚盤胞に発育した。

9. HMG-HCG 治療中における排卵前 estradiol 値と排卵後 progesterone 値の相関について

桜木範明・宇野 洋一・佐藤 春美
田中 俊誠・藤本征一郎・一戸喜兵衛
(北海道大産婦)

当科不妊症外来において、可及的に連日血中 estradiol (E₂) 値、progesterone (P) 値を RIA にて測定しモニタリングしながら HMG-HCG 療法を行ない排卵を誘発しえた 10 症例につき、排卵前の最高血中 E₂ (E₂ max) 値と、排卵後 7—8 日目の血中 P 値との相関をみた。E₂ max 値は 200—790 (455.6±175.5 M±SD)

pg/ml, 排卵後 7—8 日目の P 値は 7.9—36.5 (21.7±9.0) ng/ml であった。両者の間には正の相関を認め、Y 軸に P 値, X 軸に E₂ max 値をとつたとき、回帰直線は $y = 0.037x + 4.69$, $r = 0.723$ で表わされた。家兎の過排卵実験の結果によると、過排卵後の血中 P 値は黄体数に依存し、黄体 1 ケ当りの P 産生量は自然排卵、過排卵群で差はなかった。これらのことから、HMG-HCG 治療中に血中 E₂ 値を測定し、モニターすることにより、排卵後の P 値さらには排卵数ある程度推定することが可能と考えられた。HMG-HCG 治療中の OHSS を予防するのに E₂ のモニタリングが有用なことは認められているが、多胎妊娠を予防できるかどうかについてはまだ意見の一致をみていない。今回のデータは E₂ のモニタリングが多胎妊娠の予防に有用であることを示唆したものであると考えられる。

10. 子宮内膜日付診と血中ホルモンの相関について

田中昭一・藤村保文・橋本正淑
(札幌医大産婦)

子宮内膜は卵巣ステロイドの target organ であり、周期性変化を起こし、受精卵の着床、着床卵の栄養に関与している。従つて内膜の形態学的、機能的検査は大きい意義を有している。

今回、子宮内膜と血中 progesterone (P), Estradiol (E₂), prolactin (PRL) を同時に検査し、その相関を検討した。

対象は当科不妊症外来に通院している 42 例である。内膜採取は BBT, CM より推定した排卵日より 7 日目の黄体期に行なつた。日付診は Noyes の方法によつた。

内膜診で腺と間質の日付けが一致したもの 33 例 (78.6%) (P : 15.6ng/ml, E₂ : 199.2pg/ml, PRL : 19.2ng/ml) 不一致例 6 例 (14.3%) (P : 22.0ng/ml, E₂ : 279pg/ml, PRL : 17.9ng/ml), 腺が間質より促進しているもの 3 例 (7.1%) (P : 14.5ng/ml, E₂ : 172pg/ml, PRL : 20.9ng/ml) であった。また日付診が推定排卵日と一致したもの 26 例 (61.9%) (P : 16.9ng/ml, E₂ : 212.4pg/ml, PRL : 17.3ng/ml), 不一致例 10 例 (23.8

%) (P : 17.5ng/ml, E₂ : 209.3pg/ml, PRL : 17.0ng/ml), 日付診が促進しているもの 6 例 (14.3%) (P : 15.0ng/ml, E₂ : 206.3pg/ml, PRL : 14.8ng/ml) であった。

以上より子宮内膜は血中ホルモン値よりも target organ である内膜のホルモン感受性が関係している可能性が示された。

11. 抗癌剤によるマウス睾丸セルトリ細胞微細構造の変化

三宅正文・熊本悦明(札幌医大泌尿器)

抗癌剤による造精能障害はよく知られたところであり、著しい場合無精子症となる。抗癌剤投与による障害睾丸において、Germ cell を保持、栄養しているとされる Sertoli cell がいかなる変化をなしているのか、必ずしも十分解明されているとは言えない。そこで、マウスを用い、抗癌剤投与後の sertoli cell の構造上の変化を経時的に追求した。

方法 C3H 系マウスに Adriamycin, Cisplatin, Vinblastin を腹腔内投与し、3, 6, 12, 24 時間後、2 日、3 日、5 日後、1 週、4 週、8 週後に睾丸組織を得た。これら組織を光顕、電顕にて観察した。

結果 光顕での観察では、抗癌剤投与後早期には白膜に近い精細管の変化が著明である。しかし、時間の経過と共に変化は睾丸中央部にも及ぶ。電顕による Sertoli cell の変化は空胞、脂肪滴の増加、変性細胞を phagocyte する所見、ミトコンドリアなどに認められる。又、Sertoli cell と Germ cell の interaction 消失を観察した。

考察 Sertoli cell の微細構造の変化が、抗癌剤投与により、いかなる機序で生ずるのか、考察を加える。

特別講演

不妊症領域のマイクロサージェリー

藤井 明和 (東海大産婦)

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）午前9時～午後5時

場 所：神戸国際会議場・メインホール（神戸市・ポートアイランド）

登 録：当日会場受付で行ないます（登録費3,000円）。

なお、第2回国際生殖免疫学会に登録されている方は、本会の登録費は免除となりますので国際生殖免疫学会のレジストレーションカードを受付で御提示下さい。

プログラム：

シンポジウム

- | | |
|-----------|-----------------------|
| I. 着床 | 司会 富 永 敏 朗（福井医大・産婦） |
| II. 受精 | 司会 佐 久 間 勇 次（日本大・農獣医） |
| III. 精子関連 | 司会 和 久 正 良（帝京大・泌 尿） |
| IV. 私共の工夫 | 司会 清 水 哲 也（旭川医大・産婦） |

特別講演

- | | |
|-----------------------------|----------------------|
| I. L.Mettler（西ドイツ） | 司会 入谷 明（京都大・農） |
| II. W.D. Billington（イギリス） | 司会 竹内正七（新潟大・産婦） |
| III. W.R. Jones（オーストラリア） | 司会 磯島晋三（兵庫医大・産婦） |
| IV. 鈴木雅洲（日本） | 司会 浜田 宏（聖マリアンナ医大・産婦） |
| V. Edward. E. Wallach（アメリカ） | 司会 坂元正一（東京大・産婦） |

総懇親会

午後5時30分頃よりポートピアホテル地下1階「和楽の間」で行ないます（会費5,000円）。

以上のような内容です。奮って御参加下さい。

第1回日本受精着床学会

会長 飯 塚 理 八

〒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

Tel 03-353-1211 内線 2382, 2393

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) 午後1時～20日(土) 午後6時30分

場 所：国立京都国際会議場

登 録：当日も会場で受付けます。

登録費	国際生殖免疫学会正会員	25,000 円
	非会員 (学会のみ出席)	30,000 円
	同 伴 者	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

9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33回泌尿器科中部連合総会

第1回会告

会 期：昭和58年11月12日（土）、13日（日）

会 場：浜松市民会館（浜松市利町69）

招請講演：アメリカ泌尿器科における最近の進歩

クリーブランド病院 B. Stewart

特別講演：抗生物質の腎細胞分画内濃度

浜松医科大学助教授 藤 田 公 生

シンポジウム 1：副甲状腺機能亢進症の外科

（司会）和歌山医科大学教授 大 川 順 正

シンポジウム 2：自家腎移植の適応とその手術成績

（司会）奈良県立医科大学教授 岡 島 英 五 郎

一般演題：締切昭和58年7月31日

申込用紙は5月中に中部連合に所属する会員に郵送する予定です。

5月末日までに申込用紙一式が届かない中部連合会員および参加を希望する他地区会員は事務局まで御連絡ください。

シネ・ビデオ：16mm シネ・ビデオ セッションを計画しております。特にこのセッションには全国的な参加を期待しています。

参加御希望の方は7月31日までに題名・シネおよびビデオの別・所要時間・氏名・所属を御連絡ください。

事務局 〒431-31 浜松市半田町 3600

浜松医科大学泌尿器科学教室内 第33回泌尿器科中部連合総会

田 島 惇 Tel 0534-35-2306

第33回泌尿器科中部連合総会

会長 阿 曾 佳 郎

第6回産婦人科マイクロサージェリー研究会御案内

下記の要領により第6回研究会を開催致したいと存じます。皆様の御参会をお待ちしております。

日 時 昭和58年8月6日(土) 午前9時～4時

場 所 愛知県医師会館 9階ホール

〒460 名古屋市中区栄四丁目14番28号

電話 052-241-4136

参加費 4000円

(I) 一般演題

(II) 教育ビデオ

日本大学
カーネギー病院
東海大学

高 木 繁 夫・長 田 尚 夫
印 牧 義 孝
藤 井 明 和

(III) シンポジウム

Tubal Microsurgery の適応をめぐって

座長 藤 井 明 和
八 神 喜 昭

(1) HSG からみた適応

慶応大学 河 上 征 治

(2) 腹腔鏡からみた適応不適応

東海大学 井 上 正 人

(3) 腹腔鏡による適応決定の限界

愛知医大 野 口 昌 良

(4) マイクロサージェリーと I.V.F・ET の
適応と境界

東北大学 星 合 昊

第6回産婦人科マイクロサージェリー研究会

世話人 八 神 喜 昭

改革要綱を可決、新執行部選出—日本学術会議第86回総会報告—

緊迫した雰囲気のもとで、第86回総会は、10月20、21、22日の3日間にわたり開催された。第12期開始とともに発足した日本学術会議改革委員会は、精力的な活動を続けてきた。前総会で改革試案が採択されるや、直に会員、有権者、学会・協会、学識経験者などの討議に付され、それらをまとめた改革要綱案が、今総会に提出された。活発な審議に基づく若干の修正ののち、独立して職務を果たす国の機関としての現学術会議の基本的性格を保持し、その役割の一層の発展を目指す改革要綱案は圧倒的多数の賛成のもとに要望・声明などとともに可決された。

その直後、伏見会長、岡倉・塚田両副会長は、採択された要綱をもつて政府との交渉に入るにあたって、これまでの経緯を拭い、執行部の陣容を一新して当たることが必要であるとの判断を示し、辞意を表明した。会員は事態の厳しさを改めて認識するとともにその辞任を諒承し、決意を新たに直ちに新執行部を選出、久保亮五（第4部）会長、安藤良雄（第3部）、八十島義之助（第5部）両副会長が決定された。

なお改革要綱案策定と並んで、学術会議が本来、日本の学術の進展のために常時果たすべき多くの仕事は各種委員会の活動として続けられており、それらは口頭もしくは文書報告として173件に及んで紹介された。

会長挨拶及び諸報告（第1日）

学術会議関係者故者に黙とうを捧げたのち、伏見会長は挨拶の中で、学術会議をめぐる状況にふれるとともに、改革の遂行、さらには日本の学術の振興のための一層の奮起を会員に要請した。諸報告にうつり、まず岡倉副会長から、会長の諮問組織として設置された「日本学術会議改革問題懇談会」（座長、永井道雄氏）の答申が報告され、この答申の内容は今回審議される改革要綱案に十分盛り込まれているとの判断が示された。続いて、1983年度我が国で開催される国際会議、特定研究領域決定の経緯、科学技術振興のための機構試案、教科書検定問題への見解（学問・思想の自由委員会見解）表明などを含む各種委員会の報告紹介がなされた。

改革要綱案審議（第2・3日）

審議に先立つて、伏見会長は提案採択後に予測される事態を説明し、総理府において進められている学術会議の改革検討に、どの程度本会議の理念が取り入れられるか懸念を述べた。そして重大な事態が起こった場合には、臨時総会を開いて学術会議としての意志を固めねばならないこと、また今期総会において改革要綱策定への会員の結束した努力を再び要請した。

つづいて要綱案各項目毎に逐次審議に入り、

I. 「改革の基本的前提」として、(1) 独特に性格の国の機関であること、(2) 政府から独立して職務を行う国の機関であること、(3) 日本の科学者の内外に対する代表機関であること、(4) 公選制を基盤とする重層構造制を備えていること、(5) 組織・運営上総合性を有していること、(6) 実質上、科学者の自主的組織として機能していることなど6点の内容

II. 「改革の重点」として、職務の明確化、会員のあり方、会員選挙は直接選挙を原則とするが定数のおよそ $\frac{1}{3}$ については、推薦制（コオプション制を加味する）を導入、任期3年通算4選禁止、部制・専門別制、内部諸機関の組織運営、研究連絡委員会、国際交流、予算・事務局、科学者との結びつきの強化、他の学術関係機関等との関係など10項目にわたる内容について審議採択した。

さらに要綱採択に付随して、要綱の基本的方向の尊重と細目についての連絡・協議を求めるための政府に対する要望「日本学術会議の改革について」、科学者、学会・協会をはじめ、政府、国会などの一層の理解と協力を求める声明「日本学術会議改革要綱の決定にさいして」、及び、今後外部との対応を含む諸措置及び実施方について、運営審議会に授権するための申し合せ「日本学術会議改革要綱の実現をめざす諸措置について」を採択した。

なお、現行法の枠内で直ちに実施可能な、科学者・研究者と一層の緊密化を図るための内規「学協会との連絡のための登録について」の一部改正を承認した。

新会長の決意表明

久保新会長は就任に当たって、「会員や全国の科学者の支援で、将来の日本のために、憂いのないよう、学術会議を改革するため、精一杯尽したい。」と述べ、会員、科学者の協力を要請した。（日本学術会議広報委員会）

改革を巡り政府に対して再び要望—日本学術会議第87回総会報告—

第87回総会は、前日の連合部会を受けて2月16日に開催された。議事は、①会長経過報告、②改革委員会報告及びこれに対する質疑、③提案審議であり、改革問題を焦点として熱心な討議が続けられた。

前総会以後の物故会員に黙とうをささげた後、久保会長は、昨年10月の第86回総会以後の経過報告を行い、まず、学術会議創設以来の34年間の歴史を要約し、学術会議の多年にわたる自主改革の歩み、特に1981年（昭和56年）の第12期発足直後からの状況を総括する所見を述べた。

1. 会長経過報告

次いで、久保会長は、昨年10月、学術会議が自主的に「日本学術会議改革要綱」（以下「総綱」という。）を決定して内閣総理大臣に提出し、久保会長、安藤・八十島両副会長の選任直後の11月24日、田邊総理府総務長官（当時）から「日本学術会議の改革についての総務長官試案」（以下「試案」という。）を手交され、会長は持ち帰って検討することを約したこと、運営審議会での報告と「拡大部長会」の議を経て、会長が「試案」の検討を改革委員会に要請し、改革委員会が検討に応じて問題点を整理した経過を報告して承された。

質疑は、「試案」の検討と「要綱」の具体案作りとの関係、「試案」における公選制否定の論拠、野党に対する執行部からの説明の有無、運営審議会での審議状況、最新の「科学技術立国論」との関連からみた公選制と全面的推薦制との優劣についての国際比較、全会員による「試案」評価の必要性、など多方面にわたった。

2. 改革委員会報告と質疑討論

改革委員会報告には、①経過報告、②同委員会の「選挙制度一般に関する分科会」の報告書、③「試案」の理解と評価に関する問題点の指摘が含まれていた。①は会長経過報告のとおりである。②では、公選制を排して学・協会の推薦に基づき全会員を選出しようとする「試案」について一般的問題点と具体的方策を巡る問題点を技術的に詳しく検討している。③では、「試案」評価において、第一、「要綱」を採択した本会議の立場からみて「試案」も許容範囲に入り得るとする意見、第二、「要綱」と「試案」を調整する意見、第三、公選制をとる意見の三種があるとしている。

質疑討論では、本会議の論議の結果が尊重される保証の有無、「要綱」と「試案」の優先順位、部制・専門別制との関係、学・協会との懇談会の状況、5月の総会までの「要綱」具体化の予定計画、政府による早急な改正法案提出の可能性、日本の科学技術の展望抜きに選出問題に深入りする姿勢に対する批判、時間をかけた改革案検討の必要性、「試案」にのめり込む危険性と「要綱」の重要性の強調、「試案」と「要綱」の比較検討の必要性、推薦制の欠陥の指摘、許容範囲論への関心、「試案」の作成の論拠についての説明の有無、学・協会による全会員推薦制を採用すれば現在の学術会議とは異質のものとなること、公選制と推薦制を手段視することの誤り、「学会連合会議」となる危険性などについて、多様な論議が交わされた。

3. 会長対政府要望案・採択

以上の各報告と質疑討論を重要な前提として、改革問題に関する政府への要望案が会長から提案された。提案を巡って会員から、提案内容と改革委員会報告との矛盾の有無、「要綱」と公選制の重要性の再確認、科学者と有権者との異同、有権者の権利と意向の重視、実質的任命制の内容などについて、修正意見・疑問や「試案」を評価すべきだとする意見が出された。それらの意見を受けて、休憩後、会長が修正案を提出、更に論議が交わされ、「日本学術会議の改革について」（要望）が圧倒的多数で可決された。その全文は次のとおりである。

昭和57年11月24日提示の日本学術会議の改革についての総務長官試案（以下「試案」という。）は、本会議を国の機関として存続することを明らかにしている。「試案」は、また本会議の目的、職務遂行の独立性、権限を現行法通りとすること及び実質的任命制をとらぬこと等を前提としていると理解する。上述の諸点は、日本学術会議改革要綱（以下「要綱」という。）と一致するが、有権者による直接選挙を排し、全会員を学・協会を基礎として推薦する点において「要綱」と異なるものである。

日本学術会議は、「要綱」に提示されている公選制を基盤とする選出方式が理念的にも、現実的にも最善であることを確認し、重ねて政府に対しその理解を強く要望する。

他方、本会議は「試案」に基づく推薦制についても検討を重ねてきたが、日本学術会議改革委員会・選挙制度一般

に関する分科会報告書に指摘されているとおり、なお重要な論点が残されている。また改革の細目の決定と実施の準備のため、相当な検討期間が必要であると考え、さらに有権者、学・協会の意見をも広く聴取しなければならない。

以上の二点を踏まえて、本会議は政府が今後の法改正の取扱いについて、いつそう慎重に配慮されるよう要望する。

この際、「要綱」が提示している諸改革の実現、特に研究連絡委員会の法制化とその拡充、強化を実現することを可能ならしめるよう十分に配慮されたい。

政府が、やむを得ず早急に改正法案を取りまとめなければならない事情がある場合にも、本会議と十分協議を尽くされるよう要望する。

以上の「要望」の実現のため、第87回総会以後の対応についての申合せが採択され、会長から決意表明があり、重要な意味を持った臨時総会を終了した。会員出席率は87.6%であつた。（日本学術会議広報委員会）

投稿規定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
2. 原稿は、本会の目的に関連のある綜説、原著、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
3. 1 論文は、原則として印刷 6 頁（図表を含む）以内とし、超過頁並びに特に費用を要する図表および写真に対しては実費を著者負担とする。
4. 綜説、原著、論説、臨床報告等には必ず 400 字以内の和文抄録並びに、ダブルスペース 2 枚以内の欧文抄録（題名、著者名、所属を含む）を添付すること。
5. 図表並びに写真は稿末に一括して纏め、符号を記入しかつ本文中に挿入すべき位置を明示すること。
6. 記述は、和文又は欧文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
 - a. 雑誌の場合
著者名：題名、誌名、巻数：頁数、年次
原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげる。
誌名は規定または慣用の略字に従うこと。特に号数を必要とする場合は、巻数と頁数との間に入れて括弧で囲む、すなわち
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次

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 3 号

昭和 58 年 6 月 25 日 印刷
昭和 58 年 7 月 1 日 発行

編集兼 発行 印刷 印刷者 印刷所 発行者	芦原慶子 中村清雄 東京都品川区上大崎 3-12-15 一ツ橋印刷株式会社 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
--------------------------------------	---