

日本不妊学会雑誌

第 29 卷

第 1 号

昭和 59 年 1 月 1 日

— 目 次 —

会 告 原 著

基礎体温よりみた黄体機能判定に関する研究	河野前宣	1
若年婦人の続発無月経に対する臨床的考察	安達知子・他	11
Bromocriptine-HMG Therapy for Hyperprolactinemic Luteal Insufficiency	Takashi KANO	18
多嚢胞性卵巣における Steroidogenesis ——特に副腎皮質関与の有無についての検討——	春日義生・他	22
不妊治療における排卵誘発剤使用の臨床的検討	白河尚子・他	30
ヒト卵胞発育, 排卵現象に関する臨床的研究 ——超音波断層法と内分泌学的相関——	千石一雄	35
Culdoscopy によるヒト卵胞卵採取法の検討	久保春海・他	47
卵子におけるステロイドホルモン合成能について	遠藤芳広	54
モルモット卵の成熟に及ぼす A23187 と W-7 (Calmodulin 阻害剤) の影響	岩城章・他	62
先天性卵管膨大部欠損症 一症例報告ならびに考察	片山進・他	67
卵管妊娠に対する腹腔鏡診断とその保存的手術	後山尚久・他	71
当科不妊外来における妊娠例とその予後の検討	福田勝・他	78
Recording of Uterine Cornua Cauterization Technique and Sterilization Efficacy of Automatically Controlled Cauterization	Fumio ISHIKAWA	83
ヒト精子の受精能獲得時間の個人差	斉藤晃・他	90
ラットにおける実験的精索静脈瘤の睾丸におよぼす影響	柳重行・他	97
停留睾丸の予後	布施秀樹・他	102
尿路性器結核による無精子症の 2 例	岩本晃明・他	107
Effect of Multiple Injections of Porcine Follicular Fluid on Estrus and Ovulation During the Following Cycle	Motoaki UMEZU	112
Effects of Various Sperm Procedures on Fertilization of Bovine Follicular Oocytes in Rabbit Reproductive Tracts after Maturation in Vitro	Yutaka FUKUI	117
過排卵処理をした成熟ラットにおける卵胞発育上の “臨界点” について	利部聰	126
Effect of Prostaglandins and Indomethacin on Ovulation in Japanese Quails	Seiichi NAKAJO	130
地方部会 お知らせ		134

会 告

第29回日本不妊学会総会および学術講演会 (第1回予告)

下記の如く第29回日本不妊学会総会ならびに学術講演会を開催致しますので、多数の方々が奮って御参加下さいますようお願い申し上げます。

記

期 日：昭和59年11月12日（月）役員会
13日（火）～14日（水）学術講演会

会 場：ホテル・センチュリー・ハイアット（東京都新宿区西新宿）

演題募集要領，特別講演，シンポジウム，その他詳細については次号（29巻2号，昭和59年4月発行予定）に掲載致します。なお一般演題募集締切りは7月中旬の予定です。

第29回日本不妊学会会長
高 木 繁 夫

連絡先：東京都板橋区大谷口上町30-1（〒173）
日本大学医学部産科婦人科学教室内
第29回日本不妊学会総会事務局
Tel. 03-972-8111 内線2197

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 29, No. 1, 1984)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

A Study on Luteal Function Assessed in Terms of Basal Body Temperature.....	<i>A. Kohno</i>	1
Clinical Studies on Secondary Amenorrhea of Young Women	<i>T. Adachi,</i> <i>Y. Shimodaira, M. Muraoka, H. Matsumine, Y. Wada,</i> <i>A. Kuroshima, S. Yoshida & H. Ouchi</i>	11
Bromocriptine-HMG Therapy for Hyperprolactinemic Luteal Insufficiency.....	<i>T. Kano & K. Nishikawa</i>	18
Ovarian Steroidogenesis and Adrenal Function in the Patients with Polycystic Ovary Syndrome.....	<i>Y. Kasuga, Y. Nakamura, T. Yoshio,</i> <i>K. Kan, E. Katayama & R. Iizuka</i>	22
Clinical Study of Ovulation Induction on the Infertile Patients	<i>N. Shirakawa,</i> <i>N. Yoshida, Y. Suzuki, K. Urabe, N. Hayashi, K. Hayata,</i> <i>T. Kamada, T. T. Lin, K. Shimzu, S. Kobayashi,</i> <i>T. Akimoto & K. Sekiba</i>	30
Clinical Study on the Human Follicular Development and Ovulation : Correlation of Ultrasound and Endocrinologic Assessment.....	<i>K. Sengoku</i>	35
Culdoscopic Approach for Recovery of Human Follicular Oocytes	<i>H. Kubo,</i> <i>K. Kaneko, K. Shiina, K. Rin, S. Katayama & E. Kojima</i>	47
A Study on Steroidogenesis in Ova	<i>Y. Endo</i>	54
Effects of A 23187 and W-7 (Calmodulin Antagonist) on Maturation of Guinea Pig Oocytes	<i>A. Iwaki, A. Tachibana,</i> <i>T. Nagae, A. Okato & M. Kato</i>	62
A Case Report of a Patient with Segmental Absence of the Fallopian Tube.....	<i>S. Katayama, R. Shinohara, G. Ohmura, H. Kubo,</i> <i>S. Hirakawa & K. Momose</i>	67
A Diagnostic Value of Laparoscopy for Tubal Pregnancy and Conservative Surgery	<i>T. Ushiroyama, K. Okuda & O. Sugimoto</i>	72
Studies of Pregnancies and Clinical Courses on Our Infertile Clinic	<i>M. Fukuda,</i> <i>A. Seida, T. Okuyama & H. Furuyo</i>	78
Recording of Uterine Cornua Cauterization Technique and Sterilization Efficacy of Automatically Controlled Cauterization.....	<i>F. Ishikawa</i>	83

Capacitation Time of Human Spermatozoa	<i>A. Saito, K. Hoshi,</i> <i>M. Suzuki, K. Hayashi & R. Yanagimachi</i>	90
Influence of Surgically Induced Varicocele of Testes in Rats	<i>S. Yanagi,</i> <i>T. Terada & T. Katayama</i>	97
Prognosis of Cryptorchism	<i>H. Fuse, H. Minagawa, H. Ito & J. Shimazaki</i>	102
Azoospermia in Man with Genitourinary Tuberculosis: 2 Cases	<i>T. Iwamoto,</i> <i>A. Iwasaki, M. Hirokawa, K. Matsushita & S. Asakura</i>	107
Effect of Multiple Injections of Porcine Follicular Fluid on Estrus and Ovulation During the Following Cycle	<i>M. Umezumi, T. Watanobe & J. Masaki</i>	112
Effects of Various Sperm Procedures on Fertilization of Bovine Follicular Oocytes in Rabbit Reproductive Tracts After Maturation in Vitro	<i>Y. Fukui,</i> <i>M. Fukushima & H. Ono</i>	117
“Critical Point” on the Ovarian Follicular Development in Superovulation Treated Adult Cyclic Rats	<i>S. Kagabu</i>	126
Effect of Prostaglandins and Indomethacin on Ovulation in Japanese Quails	<i>S. Nakajo & K. Sato</i>	130

基礎体温よりみた黄体機能判定に関する研究

A Study on Luteal Function Assessed in Terms of Basal Body Temperature

長崎大学医学部産婦人科学教室

河野 前 宣

Akinobu KOHNO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagasaki University School of Medicine

排卵の認められる婦人について連続3周期以上の基礎体温 (BBT) の所見を分析するとともに、黄体期の血中 steroids 値および内膜日付け診からみた黄体機能との関係を検討し、次の結果を得た。

1. BBT のパターンが前回の周期と異なる頻度は36.1%、高温相期間が異なるのは66.5%、高温面積指数が異なるのは38.1%、高温相スコアの異なるのは52.1%であった。また short luteal phase がみられた4例中3例では1周期のみの出現であった。

2. steroids 値や内膜日付け診のズレの異常を示す周期が散発的に出現した。これらから、黄体機能は各周期でかなりの変動を示すことが確かめられた。

3. BBT の上昇日数や上昇後最大下降度と黄体機能との関係を検討し、これが黄体機能の prospective な判定に有用であることを認めた。

(*Jap. J. Fert. Strt.*, 29(1), 1-10, 1984)

緒 言

黄体機能不全症では、黄体からの steroids 産生が不十分なために分泌期内膜不全をきたす¹⁾。したがって、黄体機能不全症の診断に当っては、月経黄体の steroids 産生・分泌能と子宮内膜機能の両面から検討する必要がある。

黄体機能検査としては、従来、一般に尿中 pregnanediol 測定^{2,3)}が行われていたが、本症に関する研究の発展にともない estrogen にもその意義が認められるようになった。さらに progesterone および estrogen の基礎値 (resting level) を測定するのみでなく、hCG 負荷によるこれらの動態から黄体機能を判定しようとする動的判定法が提唱された⁴⁾。一方、子宮内膜機能に関しては、内膜日付診の有用性が認められているが^{5,6)}、さらにこれに客観性をもたせるため endometriogram⁷⁾が広く応用されている。また progesterone には体温上昇作用があることから、臨床的に基礎体温 (basal body temperature; BBT) が卵巣機能の判定に用いられている。

松本⁸⁾は progesterone 量あるいはこれと estrogen 量の比によつて、高温相の期間や体温に変化が認められることから、BBT パターンを6型に分類し、黄体機能の screening に活用しうることを提唱した。さらに BBT による高温面積指数および高温相スコア⁹⁾などにより客観的評価がなされるようになった。

黄体機能不全症の診断は一般にこれらの検査結果を総合して行われているのが現状である。しかしいずれの検査も主として retrospective な判定法であり、次回の月経周期にも黄体機能不全症が同程度に発現するという前提のもとに治療計画が立てられることになる。しかしながら、黄体機能は各周期によつて異なることが少なくないので、現在用いられている判定法は必ずしも最良のものとはいえない。

そこで、連続した月経周期における黄体機能を BBT、ホルモン測定および内膜日付診により分析し、同一個体における黄体機能の変動について検討した。そしてこれらの成績をもとに、BBT の上昇過程のパターンによる prospective な黄体機能の判定法の設定を試みた。

対象および方法

I 連続周期における黄体機能

長崎大学産婦人科における外来患者と volunteer 婦人のうち、BBT が 2 相性を示す 30 例について、連続した 3 周期以上 (3~15 周期) にわたり BBT を記録させ、延べ 194 周期について、BBT パターン、高温面積指数、高温相スコア、子宮内膜日付診および血中 steroids 値と黄体機能との関係を検討した。

1. BBT パターン

松本分類⁹⁾は BBT における低温相から高温相への移行状態および高温相の変動状態により分類されたものである。この分類では具体的な基準は示されていないので、BBT の判読にある程度の普遍性をもたせるために、次の基準に従って判定することにした。すなわち、(1) 低温相の変動域を脱した初日を高温相第 1 日とし、その前日を排卵日とみなした。(2) 月経周期第 6 日から排卵日までの各体温の平均値を低温水準と呼び、低温水準より 0.3°C 以上の体温に達するまでに要した期間を上昇日数と定めた。(3) 高温相第 1 日より第 8 日までの変動のうち、体温がいったん上昇後に下降を示す場合を上昇後下降と呼び、そのうち最大の下降温度差を上昇後最大

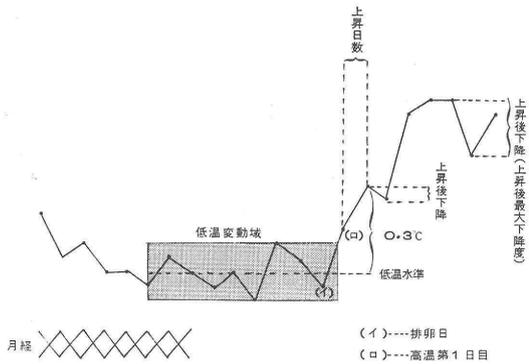


図 1 BBT における上昇日数および上昇後下降の模式図

下降度と定義した。なお体温測定は摂氏において小数点以下 2 位を 2 捨 3 入した (図 1)。

以上を基本とし、本研究では松本分類に準じて BBT パターンを次のように分類、定義した。まず高温相が 6 日以上の場合、高温相パターンにより平坦型と 2 峰型に大別した。平坦型とは高温相における最高体温と最低体温の差が 0.3°C 以内のものであり、2 峰型とは高温相が全体として滑らかな 2 峰性を示し、そこに生じるふたつの谷と峰との温度差が 0.3°C 以上のものとする。以上の基準により、次の 6 型に分類される。すなわち、I 型：上昇日数が 2 日以内で高温相が平坦型を示すもの、II 型：上昇日数が 3 日以上で、高温相が平坦型を示すもの、III 型：高温相が 2 峰性を示し、その温度差が 0.1°C 未満のもの、III' 型：高温相が 2 峰性を示し、その温度差が 0.1°C 以上で、はじめの峰の方が高いもの、IV 型：高温相が 2 峰性を示し、その温度差が 0.1°C 以上で、あとの峰の方が高いもの、V 型：高温相が 5 日以内のもの、なお上記の分類に該当しない BBT は検討対象から除外した。

2. 高温面積指数 planimetric luteal index (PLI) および高温相スコア high phase score (HPS)

PLI は五十嵐⁷⁾の定義に基づき、BBT における高温相の面積を基礎体温表の単位面積 (縦 0.05°C 分 × 横 1 日分) で割った商とした。また HPS の算出法も五十嵐の方法に準じ、点数表 (表 1) から BBT の型と高温相の長さの点数を加算し、これらの温度差および変動の点数を減じて算出した。

3. 子宮内膜日付診

BBT が 2 相性を示した 30 例のうち 20 例について、連続 2 周期における高温相第 7 日または第 8 日に子宮内膜を採取し、五十嵐⁷⁾の endometriogram により内膜日付診を行った。すなわち、被検内膜の日付けと BBT からみた検査日の日付けとの差を求めた。なお内膜診の方が促進している例では +、遅延している例では - を付けて表現した。

表 1 BBT 高温相点数による HPS 採点基準

点数	5	4	3	2	1	0
A: BBT の型	I 型	II 型	III 型	III', IV 型	V 型	
B: 高温相の長さ	14 日以上	12~13 日	10~11 日	8~9 日	6~7 日	5 日以下
C: 高温水準と低温水準の温度差				0.3°C 以下		0.3°C を超えるもの
D: 高温相の変動					変動の強いもの	変動の弱いもの

注 1) 高温相の変動は、体温がいったん上昇後に下降した場合の温度差 (下降体温) で表わし、温度差 0.15°C 以上の変動が 3 つ以上みられる場合、「変動の強いもの」と判定した

注 2) HPS = A + B - C - D

4. 血中 estradiol および progesterone の測定

日付診を行った20例について、さらに連続2周期における高温相第7日～10日に2～3回の採血を行い、血中 estradiol および progesterone を測定し（第1ラジオアイソトープ社の radio immunoassay Kit による）、各平均値について、それぞれの周期における変動を検討した。

以上の BBT の型、PLI および HPS に関して、それぞれ前回の月経周期と異なるパターンをとる場合の出現頻度を算定した。たとえば、BBT の型では、前回の月経周期と異なる BBT の型をとる場合の周期数を A、前回の周期と同一の型をとる場合の周期数を B とすると、A の出現頻度は $(\frac{A}{A+B} \times 100\%)$ の式で求められる。PLI および HPS に関して、同様に A の出現頻度を算出した。

II BBT 上昇過程と黄体機能

BBT が 2 相性を示す外来患者59例（59周期）について、基礎体温の上昇過程と黄体機能との関連性を検討した。各周期における上昇日数と上昇後最大下降度(図1)を算定し、これらと高温相第7日または第8日における子宮内膜日付診および同時期の血中 estradiol と progesterone 値との関係を検討した。さらに妊娠38例について、妊娠の成立した各周期における上昇日数および上昇後最大下降度を retrospective に分析した。

成 績

I 各月経周期における黄体機能

1. BBT の変動

BBT が 2 相性を示す30例、194周期のうち、BBT がひとつ前の周期（第1周期）と同一パターンを示したの

は124周期であつた。すなわち、他の70周期（36.1%）は第1周期とは異なるパターンを示していた（表2）。この30例中のうち、測定されたすべての周期の BBT が I 型を示したのは15例（50%）であつた。残りの15例は少なくとも1周期は I 型を示したが、II～V型を示す周期も認められた。このうちII型を含むものは7例、III～V型しか示さなかつたものは8例（26.7%）であつた。

第2周期における高温相の期間が前の第1周期と同一日数であつたのは194周期のうち65周期、異つていたのは129周期（66.5%）であつた（表3）。また1周期でも高温相が9日以内の short luteal phase を示していたのは30例のうち4例（13.3%）であり、このうち1例は4周期とも、3例は1周期のみが short luteal phase であつた（図2）。なお高温相が10日以内の周期を含むものは16例（53.3%）、31周期であつた。これらのうち13周期は10日以内の高温相が連続して出現していた。

HPS が第1周期と同一であつたのは93周期、異なつていたのは101周期（52.1%）であつた（表4）。HPS 8点以上は何周期も連続することはあるが、7点以下の連続は3周期までであつた。なお6点が連続したのは2周期（症例2）および3周期（症例20）の2例のみであつた（表5）。また6点以下の周期を示したのは12例、22周期であつた。

PLI が50以下、51～100、101～150および150以上の4群に分けると、第1周期と同一群に属したのは120周期、異なる3群であつたのは74周期（38.1%）にみられた。PLI 51～100の群は103周期にみられ、このうち72周期では第1周期においても51～100の群に属していたが、残りの31周期は別の群であつた。また PLI 50以下の群は4例、5周期であり、その1例は PLI 50以下が連続し

表 2 連続周期における BBT パターンの分類

BBT パターン (型) 同一 パターンの 連続出現周期数	I	II	III	IV	合 計 回 数	周 期 数
2	7(回)	2(回)	2(回)	1(回)	12(回)	24
3	9				9	27
4	7				7	28
5	2				2	10
6	1				1	6
8	1				1	8
9	1				1	9
12	1				1	12
合 計 回 数	29	2	2	1	34	124

総周期数：194

BBT パターンが連続して同一とならない周期：194-124=70周期

BBT パターンが連続して同一とならない周期の出現頻度：70/194×100=36.1%

表 3 連続周期における高温日数

同一高温日数の連続出現周期数 \ 高温日数 (日)	9	10	11	12	13	14	合計回数	周期数
2	1(回)	2(回)	2(回)	4(回)	9(回)	5(回)	23(回)	46
3		1		3	1		5	15
4		1					1	4
合計回数	1	4	2	7	10	5	29	65

総周期数：194

高温日数が連続して同一とならない周期：194-65=129周期

高温日数が連続して同一とならない周期の出現頻度：129/194×100=66.5%

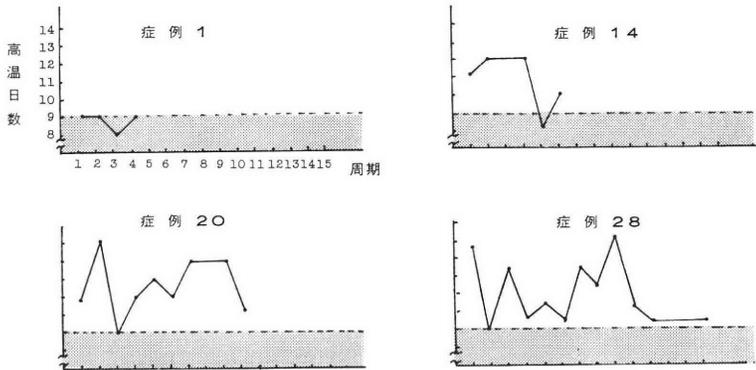


図 2 高温日数の変動 (short luteal phase が認められた症例)

表 4 連続周期における High Phase Score (HPS)

HPS (点) \ 同一スコアの連続出現周期数	6	7	8	9	合計回数	周期数
2	1(回)	6(回)	8(回)	4(回)	19(回)	38
3	1	1	7	2	11	33
4			3	1	4	16
6				1	1	6
合計回数	2	7	18	8	35	93

総周期数：194

HPS が連続して同一とならない周期：194-93=101周期

HPS が連続して同一とならない周期の出現頻度：101/194×100=52.1%

て2周期出現しており、3例は1周期のみであった(表6)。

2. 内膜日付診のズレ

内膜日付診が行われた20例、40周期のうち、1周期でも28日周期に換算した周期日と内膜日付診の間に±3日以上のズレを示したのは13例(65%)であった。このうち9例は1周期のみのズレ、4例は2周期ともズレが認

められた。1周期のみ±3日以上ズレであった9例のうち3例では、血中steroids値にもそれに応じた変化がみられた(図3)。すなわち、第1周期における日付診のズレが+6日から第2周期に0日に変化した例では、これに対応して、高温相第7~10日における血中estradiol値が第1周期90pg/mlから第2周期140pg/mlに上昇した。また日付診のズレが+1日から第2周期には-5日

表 5 HPS の周期別変動 (○は 6 点以下を示す)

周期 症例 番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	④	⑤	7	⑥											
2	⑥	⑥	8	8	9	9	9	8	9	8	8	10	8	⑥	8
10	7	7	7	8	8	④	8	8	7						
11	8	7	④	9	8										
12	7	⑥	7	7	⑥										
13	8	7	⑥	8	10										
14	⑥	8	8	8	7	7									
15	10	9	10	8	8	8	⑥	8	9	8	8	8	8		
18	8	10	8	⑥											
20	7	9	⑥	⑥	⑥	④	⑤	8	9	7					
28	⑤	7	8	7	8	7	9	9	8	7	⑥	7	7	8	
29	9	⑥	8	9	10	8	8	8	8	9					

表 6 連続周期における Planimetric Luteal Index (PLI)

同一 PLI の 連続出現周期数	PLI			合計 回数	周期数
	50以下	51~ 100	101~ 150		
2	1(回)	10(回)	6(回)	17(回)	34
3		5	3	8	24
4		3	3	6	24
5		1		1	5
6		2	1	3	18
7			1	1	7
8		1		1	8
合計回数	1	22	14	37	120

総周期数 : 194

PLI が連続して同一とならない周期 :

$$194 - 120 = 74 \text{ 周期}$$

PLI が連続して同一とならない周期の出現頻度 :

$$74 / 194 \times 100 = 38.1\%$$

に変化した例では、血中 progesterone 値はそれぞれ 19ng/ml から 7ng/ml に減少し、他の 1 例はズレが -5 日から +1 日変化したのに応じて、高温相における血中 progesterone 値も 5.6ng/ml から 16.0ng/ml へ上昇した。

3. 血中 steroids 値

高温相が short luteal phase を示した 4 例の黄体期における血中 estradiol 値のピークは 60~98pg/ml、また progesterone の値のピークは 3.0~6.9ng/ml であった。以上の成績から、それぞれ estradiol 100pg/ml および progesterone 7ng/ml 未満を異常値と仮定して検討した。

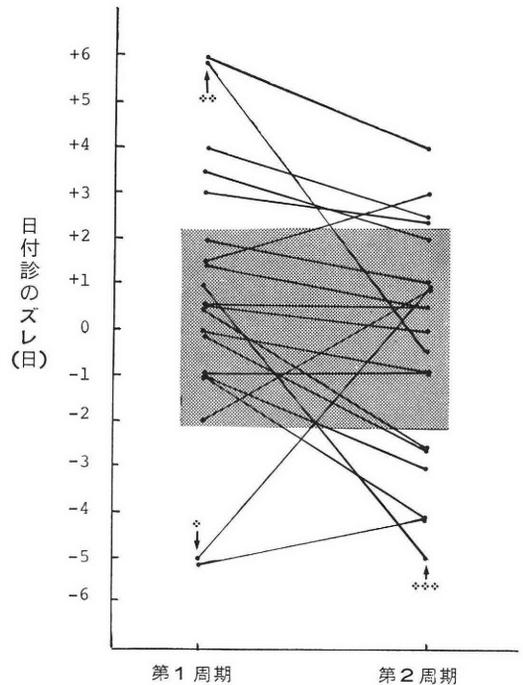


図 3 内膜日付診のズレの変動 (陰影部は正常範囲を示す)

- * 日付診が -5 日から +1 日に変化
図 6 の *印と同一例
- ** 日付診が +6 日から 0 日に変化
図 6 の **印と同一例
- *** 日付診が +1 日から -5 に変化
図 6 の ***印と同一例

estradiol 値が 1 周期でも 100pg/ml 未満の異常値であったものは 20 例のうち 5 例 (25%) にみられた。すなわち、4 例は 1 周期のみそれぞれ 78.9, 86.0, 86.0 および

90.0pg/ml と異常を示し、1例は2周期とも80.0および96.0pg/ml と低値であった。一方、progesterone 値が1周期でも7ng/ml 未満であったものも5例(25%)に認められた。このうち3例は1周期のみそれぞれ5.3, 5.6 および6.8ng/ml であり、いずれも progesterone 値と estrogen 値の変化は並行して減少していた。また残り2例の progesterone 値は2周期とも7ng/ml 未満(1例は4.8および5.4ng/ml, 他の1例は6.0および6.9ng/ml)であったが、この2例の estradiol 値は2周期とも正常であった。なお血中 estradiol 値のピークが100pg/ml 未満あるいは progesterone 値のピークが7ng/ml 未満の周期における内膜日付診のズレは、すべて±3日以上であった(図4)。

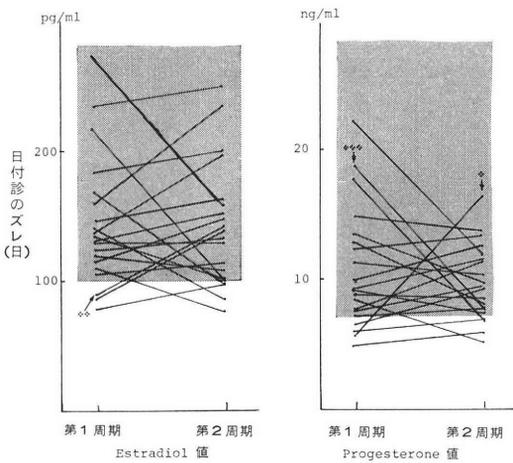


図4 血中 steroids の変動 (陰影部は正常範囲を示す)

- * 血中 progesterone は5.6から16ng/ml に上昇 図5の *印と同一例
- ** 血中 estradiol は90から140pg/ml に上昇 図5の **印と同一例
- *** 血中 progesterone は19から7ng/ml に上昇 図5の ***印と同一例

II BBT の上昇日数および上昇後最大下降度からみた黄体機能

1. 上昇日数と黄体機能の関係

前述の retrospective な基礎的研究から、黄体機能はそれぞれの周期において異なる場合が少なくないことが認識された。そこで、高温相前半において判定可能な BBT の上昇日数および上昇後最大下降度の2因子について、黄体機能との関係を検討した。

BBT が2相性の外来患者59例 (I-1で述べた30例を含む)において、BBT の上昇日数が1日の群 (I群) は22例 (37.4%), 2日の群 (II群) 12例 (20.3%), 3

日の群 (III群) 15例 (25.4%) および4日以上群 (IV群) 10例 (16.9%) であった。

a. 内膜日付診との関係

内膜日付診のズレが±2日以内の正常領域にある例の頻度は、I群では77.3%, II群66.7%, III群73.3%およびIV群50.0%であった。すなわち、上昇日数が3日以内の群 (I~III群) であれば、日付診は正常域の例が多いが、4日以上になると正常域の例は著しく減少し、これら両群の間に明らかな差がみられた。なお日付診のズレが±2.5日までを正常域とみなすと (たとえば、24~25日内膜と診断される場合、その平均値をとつたため)、I群の95.5% (21例) の内膜日付診は正常域に含まれていた (図5)。

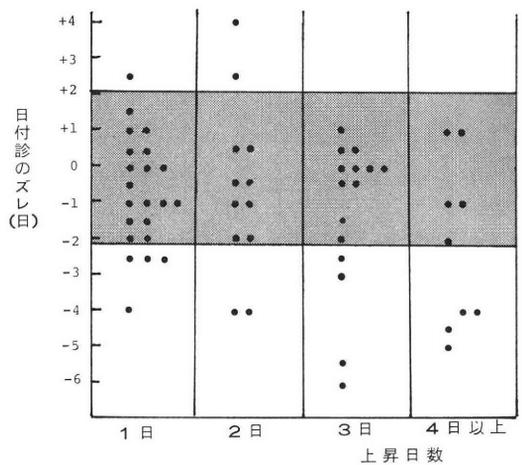


図5 上昇日数と内膜日付診

b. 血中 steroids 値との関係

黄体期における血中 estradiol の平均値は4群とも100pg/ml 以上であった。すなわち、I群 132.8 ± 57.8 , II群 143.9 ± 54.5 , III群 128.2 ± 49.4 およびIV群 119.0 ± 48.7 pg/ml であり、各群間に有意の差は認められなかった。一方、progesterone の平均値はI群では 12.7 ± 6.2 ng/ml であり、II群 (9.5 ± 3.2 ng/ml) およびIII群 (10.8 ± 4.5 ng/ml) に比べて高い傾向がうかがわれたが、推計学的には有意の差は認められなかった。しかしIV群の progesterone 値は 6.8 ± 2.8 ng/ml と低く、I~III群との間に有意の差が認められた ($p < 0.05$) (図6)。

2. 上昇後最大下降度と黄体機能との関係

上昇後最大下降度 (t) の値によって、 $t \leq 0.1^\circ\text{C}$ (A群), $0.1^\circ\text{C} < t \leq 0.2^\circ\text{C}$ (B群) および $t > 0.2^\circ\text{C}$ (C群) に分類し、先の59例を含む61例について BBT を検討すると、A群は25例 (40.9%), B群28例 (46%) およびC群8例 (13.1%) であった。

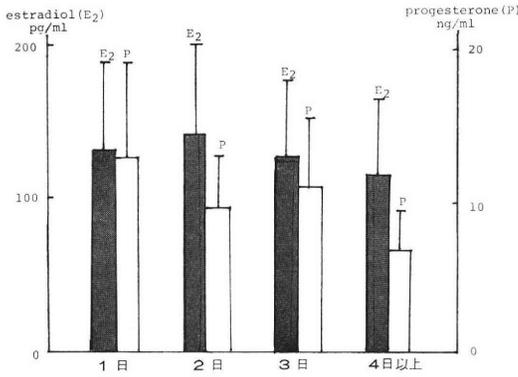


図 6 上昇日数と血中 steroids 値

a. 内膜日付診との関係

正常の内膜日付診 (ズレが± 2日以内) を示し頻度は、上昇後最大下降度別にみると、A群80%、B群71.4%およびC群62.5%であった。すなわち、下降度が大きな群ほど± 3日以上の日付診のズレを示す例が多く、そのズレの程度も著明となる傾向がうかがわれた (図7)。

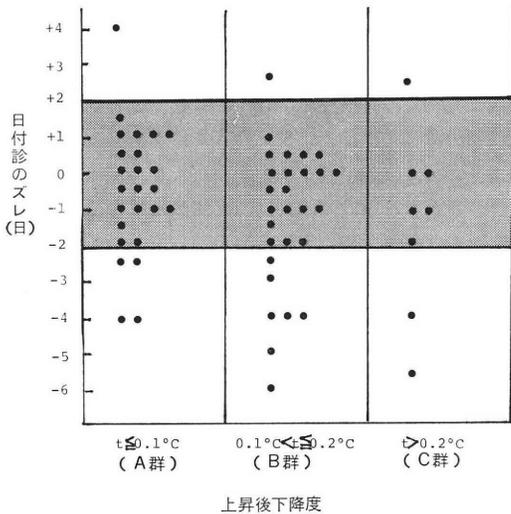


図 7 上昇後最大下降度 (t) と日付診

b. 血中 steroids 値との関係

上昇後最大下降度別に黄体期における estradiol 値をみると、A群12.5±49.0、B群130.0±56.8およびC群147.5±63.5pg/ml であり、各群の間に有意の差は認められなかった。また progesterone 値はA群11.8±6.7、B群8.6±3.4およびC群10.7±3.3ng/ml で、やはり有意の差は認められなかった (図8)。

3. 妊娠成立周期における BBT の上昇日数と上昇後最大下降度

妊娠が成立した38例について、その周期における

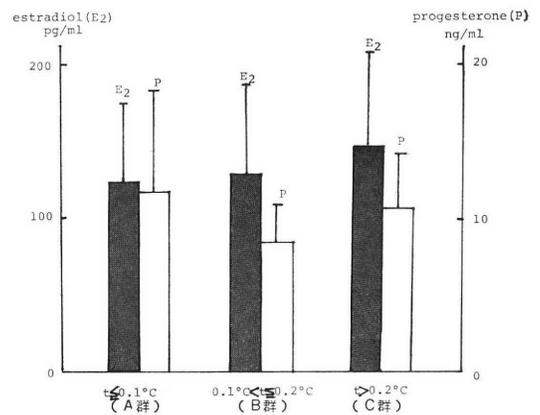


図 4 上昇後最大下降度 (t) と血中 steroids 値

BBT の上昇日数をみると、I群17例、II群16例、計33例 (86.8%) であり、大部分が上昇日数2日以内であった。一方、上昇後最大下降度についてみると、A群16例 (42.4%)、B群14例 (36.8%) およびC群8例 (21%) であった (図9)。

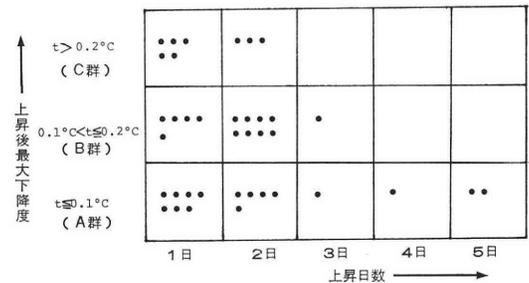


図 9 妊娠成立周期の BBT における上昇日数と上昇後最大下降度 (t)

考 案

黄体機能不全症の診断は一般に BBT、子宮内膜組織像、尿中 pregnandiol 値および膣スミア所見などを総合してなされるが^{6,9)}、さらに動的検査を加えて判定するものもある¹⁰⁾。このように数種類の検査法をくみ合わせることによつて診断されるのが普通である。しかしこれらの検査それ自体の性格あるいは結果の判明までにある程度の期間を要することなどから、その周期の終了まで待たなければ、黄体機能を把握できない。そして黄体機能不全症と診断された場合は、次の周期も同程度の黄体機能不全症が発現するという前提で、治療計画が立てられることになる。

正常月経周期を有すると思われる婦人について、連続した後周期にわたつて、BBT、ホルモン測定および内膜日付診などにより黄体機能を検討すると、各周期でか

なりの変動のあることがわかった。たとえば、今回の検討において、次の第2周期で異なったBBTパターンを示す周期は36.1%に認められた。しかもBBTから黄体機能不全症が疑われるⅢ～Ⅴ型は、正常パターンを示す周期に介在して出現していた。しかし数周期以内には正常パターンに復するのが普通である。また正常の高温相期間を示していた例においても、黄体機能不全症と診断されるshort luteal phaseが出現することがある。すなわち、BBTパターンや高温相期間からみた黄体機能は毎周期一定とはかぎらず、しばしばnormal luteal phaseとinadequate luteal phaseが混在して出現していた。また内膜日付診のズレが±3日以上の変動値を示したものは13例であったが、そのうちの9例(62.9%)は1周期のみの異常であった。

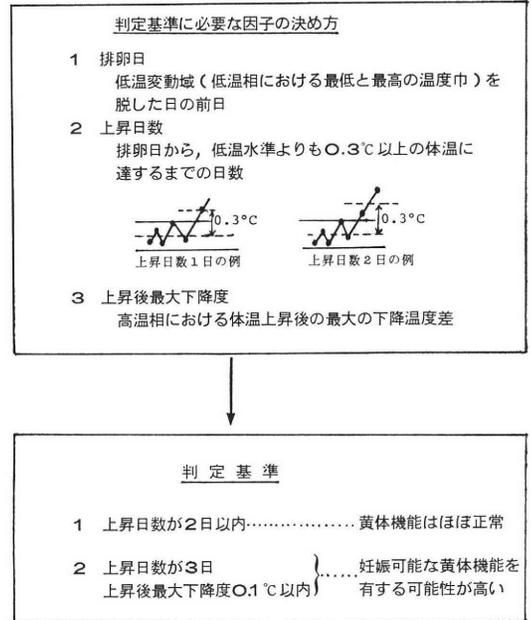
以上の結果を総合すると、現在、黄体機能の診断に最もよく使用されているのはBBT、ホルモン測定および内膜組織診であるが、次周期においても同一の黄体機能を示すとはかぎらない。

黄体機能のprospectiveな判定法のひとつとして、卵胞期ないし排卵期におけるgonadotropin値から推定する試みがなされている。たとえば、南川¹¹⁾は卵胞期のLH/FSH比が低いときは黄体機能不全症を惹起するとし、飯塚ら¹⁰⁾は排卵期のLHピークの不定型例ではprogesterone分泌機能不全をきたす頻度が高いことを指摘し、gonadotropin測定が黄体機能不全症の診断に役立つ可能性を示唆した。一方、楠田ら¹²⁾はLHピークの大きさやLH/FSH比などは黄体期におけるprogesterone値と一定の相関を示さなかつたとしており、今後さらに検討されるべき問題である。

五十嵐⁷⁾によると、卵胞期の頸管粘液量、膣スミア像および尿中ホルモン値(FSH, estrogen)などを用いて卵胞中期機能指数(follicular score)を算定し検討したところ、卵胞機能と黄体機能の程度は必ずしも対応しなかつたという。つまり卵胞期の検査成績をもとに黄体機能の良否を判定するのは困難である。そのため臨床の実際としては、少なくとも黄体期早期にその周期の黄体機能を推定することが望ましいことになる。

BBTを用いたprospectiveな判定法となると、少なくとも黄体開花期以前(BBTでは高温相第7日または8日以前に当る)に診断する必要がある。本研究においてBBTの上昇日数と血中steroids値(とくにprogesterone値)および内膜日付診との間には一定の関係がみいだされた。すなわち、上昇日数は黄体機能をかなりよく反映しており、黄体機能判定の指標になりうると考えられた。これに対して、上昇後変動は黄体機能の表現のひとつであつても、これのみでは判定の指標とする

表7 上昇日数と上昇後最大下降度を指標としたBBTによる黄体機能の判定



ことはできないが、上昇日数と組み合わせることにより、黄体機能判定に有用と思われた。これらを整理すると、高温相第7日または8日までのBBT所見をもとに、次のような黄体機能の判定基準が設定できる(表7)。(1)上昇日数が2日以内であれば、黄体機能はほぼ正常と考えられる。また、(2)上昇日数が3日であつても、上昇後最大下降度が0.1℃以内であれば、妊娠可能な黄体機能を有することが多い。なお以上の基準のほか、黄体機能が良好な場合があることは確かであるが、それらは高温相第8日までのパターンのみでは判定できない。

この基準によれば、高温相第3日までにその周期の黄体機能を判定できるわけであり、外来診療における黄体機能のscreeningにはきわめて有用である。したがつてその周期における適切な治療を施すことが期待できよう。しかしBBTは体温測定という不安定要素を含むものであるから、測定誤差や病的な発熱も考慮しておく必要がある。

結 語

排卵の認められる婦人(30例)における連続3周期以上の基礎体温(BBT)の所見を分析するとともに、黄体期(高温相第7日または8日)における血中steroids測定および内膜日付診からみた黄体機能とBBTとの関係を検討し、次の結果が得られた。

1. BBTパターンが前回の月経周期のパターンと異

なる頻度は36.1%, 高温相期間が異なるのは66.5%, 高温面積指数が異なるのは38.1%, 高温スコアの異なるのは52.1%であった。

2. short luteal phase は 4 例 (13.3%) にみられた。このうち 3 例では short luteal phase の出現は 1 周期のみであり、他の周期は正常であった。

3. 黄体期における内膜日付診において、BBT による周期日と±3日以上の異常なズレを示す周期は65%に認められた。

以上の基礎的検討から、各周期における黄体機能は必ずしも一定なものでなく、かなりの変動を示すことが確かめられた。そこで、先の30例を含む59例において、BBT の上昇日数および上昇後最大下降度の 2 因子について分析し、内膜日付診および血中 steroids 値との関係を検討して、さらに次の成績を得た。

4. BBT の上昇日数が 4 日以上を要する周期では、内膜日付診で±3日以上の異常なズレを示し、しかも大多数の例において血中 progesterone が有意に低値であった。しかし estradiol 値との間には相関は認められなかった。

5. BBT の上昇後最大下降度が大な周期ほど、内膜日付診で異常なズレを示す例が多かったが、血中 estradiol 値および progesterone 値の間には相関はみられなかった。

6. 妊娠成立の38周期においては、BBT の上昇日数は大部分が 2 日以内であった。なお上昇日数 3 日の例もあったが、これらはすべて上昇後最大下降度は 0.1°C 以内であった。

これらの成績から、高温相第 3 日までの BBT 所見によつて、その周期における黄体機能をかなり適確に把握しうるものと結論された。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師山辺 徹教授に深甚なる謝意を捧げます。また直接御指導いただきました石丸助教授に深謝します。

なお本論文の要旨は第23回日本不妊学会学術総会ならびに第33回日本産科婦人科学会学術講演会において発表した。

文 献

- 1) 石丸忠之, 森崎正幸, 河野前宣, 岡本純英, 中野龍夫, 今村定臣, 王 志洪, 中島久良, 山辺徹: 連続周期における黄体機能に関する研究. 日産婦誌, 33(11): 1951-1960, 1981
- 2) 神戸川明: 尿中 pregnanediol の新測定法. ホと臨, 8: 964-970, 1960
- 3) 国本恵吉: 不妊領域における黄体機能不全症に

- 関する研究. 日不妊会誌, 8: 123-134, 1963
- 4) Jayle, M. E., Scholler, R., Mauvais-Jarvis, P. et Szper, M.: Exploration de fonction ovarienne par les gonadotropines chorioniques associées a la dexamethasone. Application au diagnostic des varilismes ovariens. clin. chim. Acta, 7: 322-333, 1961
 - 5) Noyes, R. W., Hertig, A. T. & Rock, J.: Dating the endometrial biopsy. Fertility & Sterility, 1: 3-25, 1950
 - 6) 渡辺輝彦: 子宮内膜の「日付け診断」. 産婦の世界, 4: 189-194, 1952
 - 7) 五十嵐正雄: 脳下垂体性ゴナドトロピン分泌に関する研究. 第19回日産婦総会宿題報告要旨, p. 151-159, 1967
 - 8) 松本清一: 月経とその異常. p. 14-16. 医学の世界社, 東京, 1962
 - 9) 国本恵吉: 黄体機能不全症, 不妊症診断のすべて (飯塚理八編), p. 243-249, 南江堂, 東京, 1975
 - 10) 飯塚理八: 着床の研究. 第23回日産婦総会宿題報告要旨, p. 391-398, p. 383-385, 1971
 - 11) 南川淳之祐, 青野敏博, 河村憲一, 谷沢 修, 倉智敬一: 排卵障害婦人における血清中 LH, FSH および progesterone の経日的変動. 日産婦誌, 26: 226, 1974
 - 12) 楠田雅彦, 倉野彰比古, 中村正彦, 永田行博: ヒト黄体機能に関する研究—排卵性機能性不妊婦人の排卵期下垂体性ゴナドトロピン値と黄体機能. 日産婦誌, 27: 413, 1975

A study on luteal function assessed in terms of basal body temperature

Akinobu Kohno

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagasaki University School of Medicine

Findings of basal body temperature (BBT) over 3 consecutive cycles were analyzed with ovulatory females, and the relationship between the result obtained and luteal function assessed in terms of serum steroids level in luteal phase and of endometrial dating was studied. The results are outlined herein.

1) Frequencies different from those in previous cycle were rated as 36.1% for planimetric luteal index, and 52.1% for highphase score. Only one cycle appeared in 3 of 4 cases in whom short luteal phase was seen.

2) A cycle at which deviations in serum steroids level and/or endometrial dating were observed was sporadically seen. This revealed considerable

variation of luteal function in each cycle.

3) Days required to reach a high phase of BBT and the extent of its post-arrival maximum fall was studied to explore their relationship with

luteal function. The results obtained appeared available for prospective evaluation of luteal function.

(受付：昭和58年9月26日，特掲)

若年婦人の続発無月経に対する臨床的考察

Clinical Studies on Secondary Amenorrhea of Young Women

東京女子医科大学産婦人科学教室

安達 知子 下平由美子 村岡 光恵
Tomoko ADACHI Yumiko SHIMODAIRA Mitsue MURAOKA
松峯 寿美 和田 順子 黒島 淳子
Hisami MATSUMINE Yoriko WADA Atsuko KUROSHIMA
吉田 茂子 大内 広子
Shigeko YOSHIDA Hiroko OUCHI

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

昭和56年1月～57年8月までに当科を初診した10代、20代の続発無月経患者99名に臨床、統計的検討を行なった結果以下の知見を得た。

1. 無月経の原因として、体重減少が重要であり、10代においては過半数を占めた。
2. 体重減少は6～26%平均 $14.1 \pm 5.1\%$ で、第2度無月経が第1度よりも減少は高かった。
3. 体重減少性無月経患者は、10代では第2度無月経を示すものが多く、20代では第1度、第2度無月経間に差はなかった。
4. 体重減少性無月経患者に LH-RH テストを行なうと、第1度無月経の多くはその反応は黒川分類の Normal range を示し、間脳一下垂体系の機能はよく保たれているのに対し、第2度無月経の多くは Low poor 型を示し、間脳不全に基づく二次性下垂体機能低下が認められた。
5. 続発無月経患者42名に LH-RH $100\mu\text{g}$ を1回静注した所、7名に月経発来し、そのうち4名に基礎体温上、排卵を認めた。

(Jap. J. Fert. ster., 29(1), 11-17, 1984)

緒 言

10代、20代の若年婦人が、やせたいがために食事を制限し、急激な体重減少をきたし、排卵障害や無月経となる症例は最近目立って増えている。そこで、当科を訪れた10代、20代の婦人で続発無月経を示した患者に、下垂体、卵巣系の血中ホルモン測定を行ない、内分泌的背景をみながら、無月経の誘因・期間等を統計的に分類したので、若干の考察を加えてここに報告する。

対象および方法

昭和56年1月から昭和57年8月31日までに当科を初診した無月経を主訴とした婦人は、表1のごとく、10代は

14～19歳41名、20代は70名の計111名であった。その内、原発無月経は10代4名、20代8名であり、内、20代8名中3名に明らかな性器奇形、2名に高 prolactin (PRL) 血症を認めた。

続発無月経は無月経期間3カ月以上を有するもので、99名おり、progesterone 25mg 筋注による消退出血の有無により、第1度、第2度無月経に分類した。なお、血中 PRL 値が 20ng/ml 以上のもは高 PRL 群とし、第1度、第2度の分類不明なものは不明群とした。

血中ホルモン測定はすべて Radioimmunoassay (RIA) によつて行ない、LH、FSH は栄研キットを用いて、PRL は NIH から提供された抗体を用いて、又、estradiol、progesterone は栄研にて開発された抗体を用

表 1 無月経分類

	原発	続 発				計
		第1度	第2度	高PRL群	不明群	
10代	4	12	18	2	5	41
20代	8	26	13	7	16	70
計	12	38	31	9	21	111

(名)

いて測定した。

成 績

1. 第1度, 第2度無月経を10代, 20代に分けて, その誘因, 無月経期間等を比較したものを, 表2に示した. 総数は10代は第2度無月経の方が多く合計30名, 20代は第1度無月経の方が多く合計39名であった. 誘因としてはどの群も体重減少——主に, 食事制限による——

表 2 第1度, 第2度続発無月経

	10 代		20 代	
	第1度	第2度	第1度	第2度
総 数 (名)	12	18	26	13
誘 因 (名)	9	12	15	9
①体重減少並び 食事制限	7	10	8	7
②体 重 増 加	0	0	2	0
③ス ト レ ス	1	2	4	1
④そ の 他	1	0	1	1
月経周期順調(名)	7	11	12	7
結 婚 歴・有(名)	0	0	3	1
妊 娠 歴・有(名)	0	0	1	2
平均 無 月 経 期 間 (カ月)	10.8	15.3	5.7	7.8

が多く, 又, 結婚歴, 妊娠歴のあるものは非常に少なく, 分娩歴のあるものは1名のみであった. 平均無月経期間は, 10代第1度10.8±2.5, 第2度15.3±2.6, 20代第1度5.7±0.4, 第2度7.8±1.6カ月と, 第2度無月経は第1度無月経より無月経期間は長く, 又, 20代は10代の約半分の期間であった. なお, 内診所見としては, 子宮の大きさはそのほとんどが正常大よりも小さく, 特に, 10代, 第2度無月経では, 小児様の大きさであった.

2. 10代における無月経期間と血中ゴナドトロピンの関係を図1に示した. 血中 LH と無月経期間を上段に,

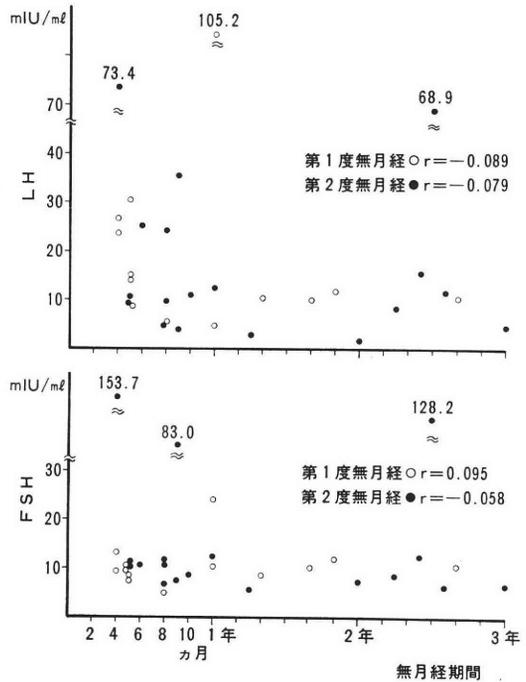


図 1 10代における血中 LH, FSH と無月経期間との関係

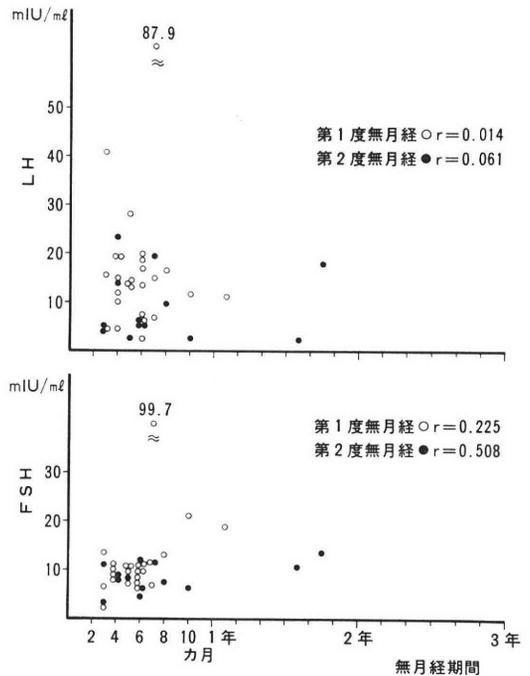


図 2 20代における血中 LH, FSH と無月経期間との関係

FSH と無月経期間の関係を下段に示し, open circle は第1度, closed circle は第2度無月経を示したが, LH,

表 3 LH-RH 反応性のパターン分類 (黒川による)

	10 代			20 代		
	第 1 度	第 2 度	原 発	第 1 度	第 2 度	原 発
High good 型 (LH 前>60, 頂>100)	0	1	0	1	0	1
中間型 高 FSH 群 (LH 前<60, 頂>30, FSH 頂>40)	0	0	0	0	0	1
中間型 低 FSH 群 (FSH 頂<40)	1	2	0	1	0	0
Low poor 型 (LH 前<10, 頂<30)	0	3 (+1)	0	4	4	1
Normal range (LH 前<20, 頂 30-250)	5	4	1	10	5	0
計	6	11	1	16	9	3

(名)

FSH 共, 無月経期間との間に相関はみられなかつた。

3. 20代における無月経期間と血中ゴナドトロピンの関係を図2に示した. 10代と比較して, 当科初診までの無月経期間が短いことは明らかであるが, 10代と同様血中ゴナドトロピンと無月経期間に相関は認めなかつた。

4. 続発無月経患者に対し, 10代 17名, 20代 25名に LH-RH テストを施行し, その反応性を黒川の分類¹⁾に当てはめ, 表3に示した. LH-RH テストは LH-RH 100 μ g 静注法で行ない, 静注前および静注後15, 30, 60分に採血し, FSH, LH 値を測定した。

第1度無月経は Normal range のものが多かつたが, 20代の中には Low poor 型が4名, High good 型が1名あり, やや分散している傾向がみられた. 又, 第2度無月経で10代に Low poor 型にプラス1とあるのは, LH 前値が11mIU/ml であり, この分類には本来含まれないが, 一応 Low poor 型に分類したものである. なお, 20代の第2度無月経は, 今回の LH-RH テストでは High good 型は1例もなかつた。

5. 続発無月経における LH-RH 反応パターンを図3, 図4にさらにわかりやすく様式的に示した. 左に LH, 右に FSH のそれぞれ前値と頂値を結んで反応を示しており, 破線は第1度, 実線は第2度無月経を示した. 10代においては(図3)実線で示した第2度無月経が多く, 破線で示した第1度無月経が Normal range に集中していることが認められた. 又, 20代は(図4)破線で示した第1度無月経の方が多く, Low poor 型~ High good 型まで幅広く分散していた。

6. 体重減少が誘因となつて生じたと考えられる続発無月経(以下, 体重減少性無月経)を, さらに表4に詳細に分類して示した。

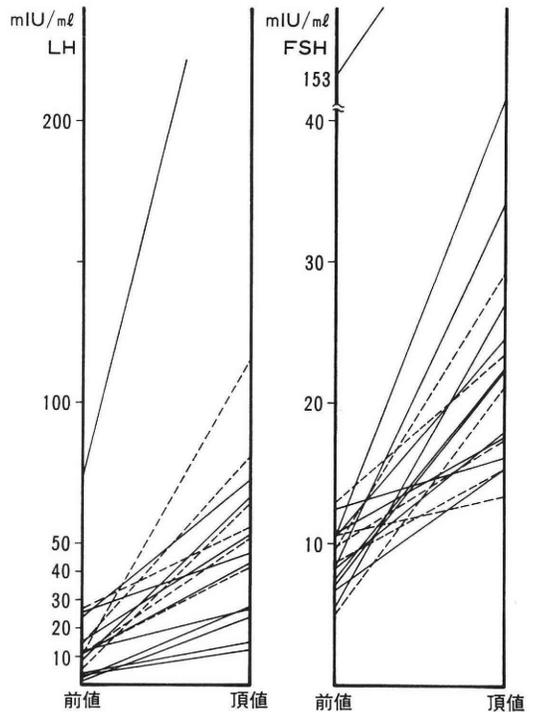


図3 10代続発無月経における LH-RH 反応性 (.....第1度無月経 ——第2度無月経)

総数に対する比率では, 10代では第1度無月経で58.3%, 第2度55.6%, 20代では第1度30.8%, 第2度53.8%であり, なお, 体重減少性無月経患者10代17においては, 第2度無月経の占める割合が大きく, 20代15名においては, 第1度, 第2度無月経数に差は認めなかつた. 又, 平均体重減少は, 10代第1度6.4 \pm 1.4, 第2度8.5 \pm 1.1kg, 20代第1度6.1 \pm 1.3, 第2度8.3 \pm 1.3kg で, 有意差は認めなかつたが, 第2度無月経の方が第1度より

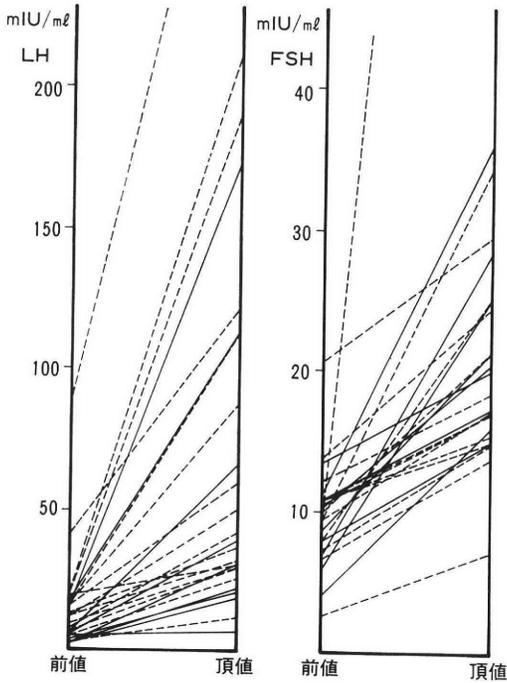


図4 20代続発無月経における LH-RH 反応性 (……第1度無月経 ——第2度無月経)

表4 体重減少性無月経の分類

	10 代		20 代	
	第1度	第2度	第1度	第2度
総 数(名)	12	18	26	13
体重減少例数(名)	7	10	8	7
総数に対する比率 (%)	58.3	55.6	30.8	53.8
平均体重減少(kg)	6.4	8.5	6.1	8.3
体重減少前平均体重(kg)	50.0	53.2	52.9	53.2
平均体重減少率(%)	12.8	16.0	11.5	15.6
平均身長(cm)	155.0	158.4	157.3	156.6
平均無月経期間(カ月)	15.3	15.3	6.5	7.7

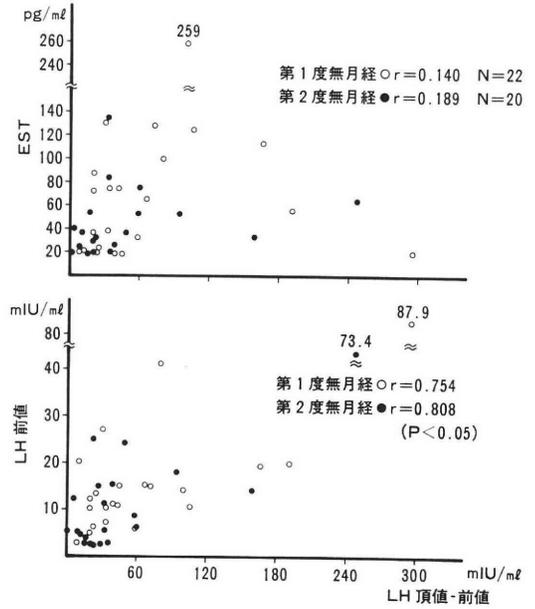


図5 続発無月経における血中 Estrogen, LH 値と LH-RH 反応性

も、体重減少は大きかった。又、体重減少前平均体重との比をみた平均体重減少率も第2度の方が第1度よりも高い傾向がみられたが、平均無月経期間は第1度、第2度間に差は認めなかった。

7. 体重減少性無月経の血中ホルモン値と LH-RH 反応性を表5に示した。

各ホルモン値は第2度の方が第1度無月経よりも低値傾向を示したが、有意差は認めなかった。又、LH-RH テスト施行例では、第1度無月経は Normal range に属するものが多く、第2度無月経では Lowpoor 型に属するものが多く認められた。

8. 続発無月経における LH-RH 反応性と血中 estrogen 値、および LH 前値との関係を図5に示した。

10代、20代を含め、第1度無月経は open circle で示し22名、第2度無月経は closed circle で示し20名で、図のごとく、血中 estrogen レベルと LH-RH 反応は相関

表5 体重減少性無月経の血中ホルモン平均値と LH-RH 反応性

無月経分類	血中ホルモン平均値				LH-RH テスト施行例数	LH-RH 反応性			
	E	P	LH	FSH		Normal range	Low poor	中間型低FSH	
10代	第1度	52.9±14.4	255.5±58.6	23.1±13.7	10.9±2.3	4/7	4	0	0
	第2度	47.2±10.2	311.9±40.3	11.7±3.4	16.1±7.5	6/10	2	3	1
20代	第1度	64.3±28.7	283.0±33.7	11.4±2.7	9.2±0.9	4/8	3	1	0
	第2度	43.0±9.8	249.8±38.3	8.2±3.0	8.5±1.2	5/7	1	4	0

表 6 LH-RH テストにて月経発来した症例

症例	年齢	無月経期間	誘因	LH-RH 投与後月経発来日	血中ホルモン値						反応分類	その他	
					E	P	LH	FSH	LH 頂値	FSH 頂値			
1	17	10カ月	(-)	15日	pg/ml 31	pg/ml 516	mIU/ml 25.2	mIU/ml 10.4	mIU/ml 47.1	mIU/ml 24.5	中間型— 低 FSH	第2度無月経	
2	14	6カ月	(-)	26日	98	575	31.9	9.4	92.7	13.4	中間型— 低 FSH		
3	21	7カ月	(-)	10日	87	365	9.1	4.5	104.2	19.6	Normal range		
4	20	3カ月	(-)	16日	88	400	8.2	14.5	64.5	18.7	Normal range		
5	27	3カ月	脳腫瘍 術後	10日	155	4205	8.8	5.0	33.3	16.4	Normal range		GIPO
6	21	1年4月	(-)	4日	299	860	12.9	6.3	61.2	11.2	Normal range		
7	20	1年6月	(-)	10日	153	920	15.5	6.3	56.0	13.8	Normal range		

が認められず、LH 前値と LH-RH 反応は第1度、第2度無月経とも良好な相関が得られた。

9. LH-RH 100 μ g 1回静注のみで月経発来した7症例を表6に示した。これは LH-RH テストを行なった42名に対し、16.7%を示し、又、反応パターンはすべて Normal range か中間型低 FSH 群であった。症例1, 2, 4は LH-RH 投与後、月経発来までに15日以上を有し、基礎体温はきれいな高温を示さず不規則で、無排卵と考えられた。症例1はその後再び無月経となり、第2度無月経を示した。症例2のように、LH-RH 投与26日目の月経発来は LH-RH 投与と月経発来との間に直接の関係があるか不明である。他の4症例は、LH-RH 投与翌日、基礎体温はきれいに上昇したが、高温相は10日以内であった。

考 按

10代無月経婦人は20代に比し、無月経期間が長期にわたつてから専門医を受診することが多く、無月経パターンも第2度無月経の方が第1度より多数であることから、排卵障害も重症であると考えられた。これら若年婦人の続発無月経においては、特に、10代においては、体重減少はその誘因として大変重要であり、続発無月経患者の過半数を占めた。なお、今回、対象とした無月経患者の中には、末松ら²⁾の診断基準(狭義)に該当する anorexia nervosa は認めなかった。

中村ら³⁾は体重減少性無月経の90%以上は、第2度無月経を示すと述べているが、我々の検討では、表4に示したごとく、10代17名においては、第2度無月経の方が多く10名にみられ、20代15名においては、第1度、第2度無月経数に差は認めず、32名全体では、17名53.1%に

第2度無月経を認めたにすぎなかった。

体重減少率は6~26%の範囲で平均14.1 \pm 5.1%と、他の報告例、18.2%⁴⁾、17.8%⁵⁾に比し、やや軽度であった。又、第2度無月経の方が第1度よりも減少率は高い傾向がみられたが、有意差はなく、中村ら^{3,6)}も第1度18.6 \pm 5.0、第2度17.5 \pm 6.7%で有意差はないと報告している。なお、平均無月経期間も第1度、第2度無月経間に差はなかった。

体重減少性無月経婦人19名に LH-RH テストを行なった結果、第1度無月経は Normal range が多く、間脳性で、下垂体機能はよく保たれているのに対し、第2度無月経では Low poor 型が多く、間脳不全による2次性下垂体機能低下によるものと考えられた。

LH-RH 投与による下垂体の反応には従来より性ステロイドの関与が指摘されており、estrogen にその反応性の亢進があることが明らかにされている^{8,9)}。すなわち、正常性周期で排卵前期における LH-RH 反応の増大は、この estrogen レベルの増加によると考えられている^{9,10)}が、今回、無月経婦人の血中 estrogen レベルと LH-RH 反応性には、特に一定の傾向はみられなかった。又、LH 前値が高いものは LH-RH に対する LH 放出が大きいとされている¹¹⁾が、LH 前値と LH net increase は第1度、第2度無月経とともに正の相関を示した。

LH-RH 単独投与による排卵誘発成功率は大変低いことが知られている。我々の成績では42名中7名に月経発来したが、基礎体温上、高温を示し、排卵もしくは見せかけの排卵=いわゆる luteinized unruptured follicle を認めたものは42名中4名で9.5%であった。また、これら4名すべて高温期は10日以内で黄体機能不全があると

考えられた。続発無月経患者への LH-RH 単独投与による排卵率の報告では、斉藤ら¹²⁾の13名中5名、水口ら¹¹⁾の22名中1名と、かなりバラツキがあるが、卵胞発育が不十分であるため黄体機能不全をきたしやすいことなど、定型的排卵誘発はむずかしいとされている。また、クロミフェンなど他剤との併用で16名中7名が排卵した¹¹⁾との報告や、最近では、より生理的な方法として LH-RH の律動的注入¹³⁻¹⁵⁾による排卵誘発が検討されている。

無月経患者の治療に関しては、その種類により様々で成書にゆずりたいが、若年婦人、特に未婚婦人の無月経治療となると、無月経治療イコール、すぐには不妊治療とはならない。よつて、クロミフェンに反応しない第1度無月経および下垂体無月経、ないしは、間脳不全に基づく二次性下垂体性無月経などに対しても、副作用の大きい、ゴナドトロピン療法などは、すぐには適応とはならない。そのため、排卵誘発に関しては、消極的としかいかない Kaufmann therapy が主体を占めることとなる。そこで、体重減少性無月経などに多い二次性下垂体性無月経の治療の本質とも考えられる下垂体の賦活という点において、LH-RH の適時投与は大変意義深いものと考えられ、今後、これらの治療法も含めて検討していく予定である。

稿を終るに際し、ホルモン測定に御協力下さった当院ラジオアッセイ科の皆様へ深謝致します。

本論文の要旨は第27回日本不妊学会総会学術講演会(昭和57年、大阪)において発表した。

文 献

- 1) 黒川博厚：排卵障害に対する LH-RH test の臨床応用，日産婦誌，26：621，1974
- 2) 末松弘行，久保木富房，青木宏之，江崎正博，黒川順夫，玉井 一：神経性食欲不振症の臨床像，ホと臨床，27：693，1979
- 3) 中村幸雄，塗 百寛，上野 裕，春日義生，小林 徹，福永友明，斉 鍾媛，黒川博厚：体重減少性無月経，ホと臨床，27：747，1979
- 4) 楠原浩二，安江育代，杉田 元，篠塚正一，徳倉昭治，花岡 苗，蜂屋祥一：体重減少による無月経の病態，日不妊誌，26：8，1981
- 5) 中村幸雄：減食性無月経と体重減少性無月経，思春期医学雑誌，4：(別冊特集)2，1981
- 6) Arimura, A. and Schally, A. V.: Augmentation of pituitary responsiveness to LH-releasing hormone (LH-RH) by estrogen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 136：290，1971
- 7) Debeljuk, L., Arimura, A. and Schally, A. V.: Effect of estradiol and progesterone on the LH release induced by LH-releasing hor-

mon (LH-RH) in intact diestrous rats and anestrus ewes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139：774，1972

- 8) Jaffe, R. B. and Keye, W. R. Jr.: Estradiol augmentation of pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone in women. J. Clin. Endocrinol. Metab., 39：850，1974
- 9) Nillius, S. J. and Wide, L.: Variation in LH and FSH response to LH-releasing hormone during menstrual cycle. J. Obstet. Gynecol. Br. Common., 79：865，1972
- 10) Yen, S. S. C., Vandenberg, G., Rebar, R. and Ehara, Y.: Variation of pituitary responsiveness to synthetic LRF during different phases of the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab., 35：931，1972
- 11) 水口弘司，森 宏之，田村 貴，坂元正一：LH-RH による診断と排卵の誘発，ホと臨床，21：365，1973
- 12) 斉藤 幹，熊坂高弘，西 望，加藤広英，矢迫良正，小山嵩夫，大蔵健義，有村 章，Schally, A. V.: LH-RH によるゴナドトロピン放出とその臨床，ホと臨床，21：373，1973.
- 13) Leyendecker, G., Struve, T. and Plotz, E. J.: Induction of ovulation with chronic intermittent (pulsatile) administration of LH-RH in women with hypothalamic and hyperprolactinemic amenorrhea. Arch. Gynecol. 229：177，1980
- 14) Leyendecker, G., Wildt, L. and Hansmann, M.: Pregnancies following chronic intermittent (pulsatile) administration of Gn-RH by means of a portable pump ('Zyklomat')—a new approach to the treatment of infertility in hypothalamic amenorrhea. J. Clin. Endocrinol. Metab., 51：1214，1980
- 15) Schoemaker, J., Simons, A. H., van Osnabrugge, G. J., Lugtenburg, C. and van Kessel, H.: Pregnancy after prolonged pulsatile administration of luteinizing hormone-releasing hormone in a patient with clomiphene-resistant secondary amenorrhea. J. Clin. Endocrinol. Metab., 52：882，1981

Clinical studies on secondary amenorrhea of young women

Tomoko Adachi, Yumiko Shimodaira,
Mitsue Muraoka, Hisami Matsumine,
Yoriko Wada, Atsuko Kuroshima,
Shigeko Yoshida and Hiroko Ouchi

Department of Obstetrics and Gynecology
Tokyo Women's Medical College

Clinical and statistical evaluation was performed on 99 young women with secondary amenorrhea,

of age 14 to 29, visited to our clinic since January, 1981 through August, 1982. The followings were concluded.

1) A weight loss caused secondary amenorrhea, especially in teenagers with significant difference.

2) Weight loss rate was 6.26% (mean \pm S. E. $14.1 \pm 5.1\%$); weight loss rate of 2nd grade amenorrhea was higher than that of 1st grade.

3) Secondary amenorrhea related to weight loss was found more in 2nd grade than in 1st grade amenorrhea patients of teenagers. On the other hand, there were no significant difference in number between 1st grade and 2nd grade amenorrhea patients of twenties.

4) LH-RH test was performed to secondary amenorrhea related to weight loss patients. Most of them showed "normal response" as defined by Kurokawa's Classification in 1st grade amenorrhea patients. On the other hand, "poor response" was found more in 2nd grade amenorrhea patients, which showed secondary pituitary dysfunction related to hypothalamic dysfunction.

5) 100 μ g of LH-RH was administrated to 42 secondary amenorrhea patients intravenously, and seven of these 42 had menstration, four of them had ovulation as recognized on BBT.

(受付: 昭和58年4月22日)

BROMOCRIPTINE-HMG THERAPY FOR HYPERPROLACTINEMIC LUTEAL INSUFFICIENCY

Takashi KANO and Kiyoshi NISHIKAWA

Nishikawa Gynecological Clinic,
4-68-3, Kitakyutaro-machi, Higashi-ku, Osaka, 541, Japan.

Abstract: Effects of bromocriptine-HMG combined therapy on bromocriptine-resistant hyperprolactinemic luteal insufficiency were investigated. In 11 control patients with blood prolactin levels of less than 25ng/ml, HMG significantly increased secretion of estradiol (on Days-3 to 0) and progesterone (on Days +7 and +8). In 6 patients with hyperprolactinemia, however, no significant increases in these hormones were detected, suggesting that the effect of HMG is reduced in hyperprolactinemic condition. Bromocriptine-HMG combined therapy was tried in 7 patients with hyperprolactinemic luteal insufficiency. In the patients where blood prolactin levels were lowered by this treatment, estradiol and progesterone were significantly increased, and the high phase of BBT was prolonged, demonstrating the effectiveness of bromocriptine-HMG combined therapy.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(1), 18-21, 1984)

Introduction

We demonstrated that bromocriptine administered in the follicular phase is effective in treating luteal insufficiency accompanied with hyperprolactinemia in the follicular phase, especially in such patients with lowered blood estradiol in the late stage of follicular phase^{1,2)}. In the case where normal development of follicles is not attained by this treatment, the use of human menopausal gonadotropin (HMG) should be considered. In the present study, the effectiveness of bromocriptine-HMG combined therapy in bromocriptine-resistant hyperprolactinemic luteal insufficiency was investigated by comparing normoprolactinemic and hyperprolactinemic luteal insufficiency in term of the estradiol-secreting response to HMG in the later stage of follicular phase, and in term of the progesterone-secreting response to HMG in the middle stage of luteal phase.

Materials and Methods

Subject patients were 12 women (23-34

years) with luteal insufficiency showing basal body temperature (BBT) profiles corresponding to types IV or V of Iizuka's Classification³⁾. Hormonal profiles confirmed to last for at least 2 menstrual cycles were also included in the criteria for the choice of these patients: blood prolactin levels in the follicular phase were 25ng/ml or more^{1,2)}; estradiol on Days-3 to 0, 150pg/ml or less (average of two days); and progesterone on Days+7 and+8, 7.0ng/ml or less (average of two days)²⁾. Eleven patients (25-36 years) with similar luteal insufficiency but with blood prolactin of less than 25ng/ml were included as controls.

Bromocriptine (CB-154, Parlodel®, Sandoz) was orally administered for 7 consecutive days beginning on day 5 of the menstrual cycle, HMG (Humegon®, Organon) was intramuscularly injected in a dose of 150 i.u. on 4 every other days beginning on day 5 of the menstrual cycle.

Estradiol and progesterone were radioimmunoassayed by using estradiol and progesterone assay Kit (CIS). Prolactin was radioimmunoassayed by using prolactin assay Kit (Dina-

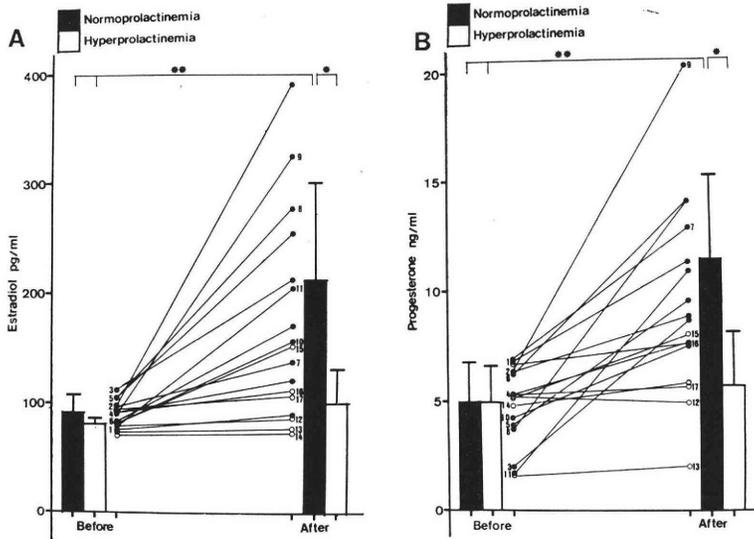


Fig. 1 Blood estradiol (A, Days -3 to 0) and progesterone (B, Days +7 and +8) levels before and after HMG therapy. ● normoprolactinemia. ○ hyperprolactinemia. 1-17: Case No. *P<0.05, **P<0.01: significantly different.

bot).

Results

Among 11 controls, blood estradiol and progesterone were increased by not less than 50% after HMG treatment in 8 and 9 patients, respectively (maximal increases: 348.2 and 533.3% respectively). These hormones of controls were also significantly ($P<0.01$) increased in their mean values. Among 6 patients with hyperprolactinemia, HMG-induced increases in estradiol and progesterone reached more than 50% only in one patient (estradiol, 113.7 and progesterone, 57.7%). There was no significant difference in the mean levels of either hormone between pre- and post-HMG treatment (Fig. 1A and B). In general, the greater the increase in estradiol, the greater the increase in progesterone.

When estradiol did not reach 150pg/ml after bromocriptine, HMG was combined with bromocriptine in the next menstrual cycle. In the patients whose prolactin levels were lowered by this combine treatment, the increases in estradiol and progesterone were enhanced as compared with those obtained with bromocriptine alone. The mean levels of these hormones were significantly ($P<0.01$)

elevated from their predrug levels. In Case Nos 20, 21 and 24 the rate of increase in progesterone was nearly twice as high as that in estradiol (Fig. 2). The BBT profiles were improved and the dip in the high phase disappeared in all cases except Case No 22.

Discussion

Hyperprolactinemia may cause luteal insufficiency^{1,2,4-6}. This type of luteal insufficiency is usually treated by administration of bromocriptine in the follicular phase^{1,2} with the intention of decreasing prolactin-induced inhibition of follicular growth^{2,4}. Bromocriptine therapy, however, does not produce satisfactory results in some cases, suggesting that the inhibition of follicular growth by prolactin acquired chronic or fixed properties in those patients. In such cases, the use of HMG should be considered. Some investigators⁷ states that follicular growth stimulation by HMG remained unchanged even in the hyperprolactinemic condition, whereas others⁸ reported that hyperprolactinemia inhibits follicular growth-stimulating action of HMG. Our data support latter possibility.

In some patients, progesterone in the lu-

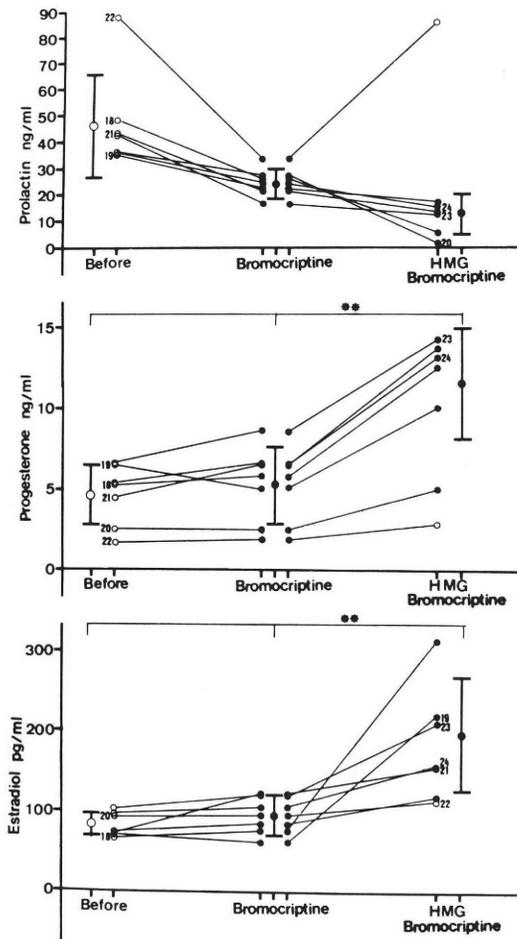


Fig. 2 Blood prolactin (follicular phase), estradiol (Days -3 to 0) and progesterone (Days +7 and +8) before and after bromocriptine alone or bromocriptine-HMG combined therapy. ● decreased prolactin. ○ increased prolactin. 18-24: Case No. **P < 0.01 : significantly different.

teal phase responded to bromocriptine-HMG therapy more sensitively than estradiol in the later stage of follicular phase did. It might be due to bromocriptine-induced inhibition of luteolytic effect of prolactin^{1,9)}.

These results indicate the rationality of bromocriptine-HMG combined therapy in bromocriptine-resistant hyperprolactinemic luteal insufficiency. In this combined therapy, bromocriptine enhances follicular growth-stimulating effect of HMG by decreasing follicular growth-inhibiting effect of prolactin, while bromocriptine reduces luteolytic effect

of prolactin. Thus, combined use of these two drugs enhances progesterone secretion, and improves the high phase of BBT, offering a reasonable treatment for bromocriptine-resistant hyperprolactinemic luteal insufficiency.

References

- 1) 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 : 26, 1983
- 2) Kano, T. and Nishikawa, K.: Bromocriptine therapy of luteal insufficiency accompanied with hyperprolactinemia in the follicular phase. *Acta. Obstet. Gynec. Jpn.* 35 : 975, 1983
- 3) Iizuka, R., Koi, H. and Kobayashi, T.: *Funinshogaku.* (ed by Iizuka, R., Koi, H. and Kobayashi, T.) p34 Kanehara Press Tokyo, Kyoto, 1974
- 4) Aso, T.: The influence of hyperprolactinemia on human and baboon ovarian function. *Acta. Obstet. Gynec. Jpn.* 32 : 1239, 1980
- 5) Delpozo, E., Wyss, G. H., Alcaniz, J., Campano, A. and Naftolin, F.: Prolactin and deficient luteal function. *Obstet. Gynecol.* 53 : 282, 1979
- 6) Mühlenstedt, D., Wuttke, W. and Schneider. HPG: Prolactin and short luteal infertility. *Acta. Endocrinol. Suppl.* 84 : 43, 1977
- 7) Marshall, J. R., Hammond, C. B. and Jacobson, A.: Studies of the dose response relationships of ovulation induction with HMG in developments in the pharmacology and clinical users of human gonadotropine. 17. G. D. Seal. Company, 1970
- 8) Morith, A. M. and Siler-Khodr, T. M.: Ovarian refractoriness to gonadotropine in cases of inappropriate lactation; Restoration of ovarian function with bromocriptine. *J. Clin. Endocrinol.* 43 : 100, 1976
- 9) McNatty, K. P., Sawers, R. S. and McNeilly, A. S.: A possible role for prolactin in control of steroid secretion by the human graafian follicle. *Nature.* 250 : 653, 1974

Hyperprolactinemic luteal insufficiency の bromocriptine-HMG 併用療法

假野隆司, 西川 潔
(西川婦人科クリニック)

<概要>

Bromocriptine resistant hyperprolactinemic luteal insufficiency での bromocriptine-HMG 療法を検討した。

prolactin 25ng/ml 未満の control 症例(11例)では HMG により estradiol (-3-0 day), progesterone (+7, +8 day) 分泌は有意に増加したが, 25ng/ml 以上の症例(6例)では有意な増加は認められなかった. hyperprolactinemia 下では HMG の作用が低下することが判明したので, 7例の hyperprolactinemic luteal insufficie-

ncy に bromocriptine-HMG 療法を行こなうこと, prolactin が低下した症例では estradiol, progesterone は有意に増加し, BBT の高温も改善し, 有効性が実証された.

(受付: 昭和58年6月28日)

多嚢胞性卵巣における Steroidogenesis

—特に副腎皮質関与の有無についての検討—

Ovarian Steroidogenesis and Adrenal Function in the Patients with Polycystic Ovary Syndrome

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

春日 義生 中村 幸雄 吉尾 敬徳
Yoshio KASUGA Yukio NAKAMURA Takanori YOSHIO
簡 邦彦 片山 恵利子 飯塚 理八
Kunihiko KAN Eriko KATAYAMA Rihachi IIZUKA

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

多嚢胞性卵巣症候群 (以下 PCO) の病態を解明し、副腎皮質機能の関与の有無を検討するために、以下の研究を行なった。即ち、末梢血及び卵巣静脈血を同時に採血し、各種ステロイドホルモンの測定値を検討し、さらにゴナドトロピン及びデキサメサゾンの負荷を行なった後、同様の採血を行なった。ゴナドトロピンの測定結果及び LH-RH に対する反応は、従来よりの報告のとおり PCO では高 LH, LH-RH に対する過剰反応が認められた。DHEA は、PCO では卵巣静脈血中において上昇が認められ、副腎皮質由来と考えられる DHEAS は有意な差が認められなかった。楔状切除後 DHEA 及び DHEAS は低下し、外来性ゴナドトロピンにより DHEA は賦活され上昇した。これらの事実は、卵巣由来の DHEA の存在を、正常・PCO とも示唆する事実であり、副腎皮質機能は PCO においても特に異常とは、認められなかった。⁴A-androstenedione 及び testosterone は、PCO において有意に上昇しており、卵巣静脈血中では、その上昇は顕著であった。今回の DHEA 及び DHEAS に注目した測定及びゴナドトロピン負荷、デキサメサゾン負荷による結果は、PCO における副腎皮質の関与及び卵巣内における酵素欠損等の因子を否定するものであった。PCO におけるステロイドホルモンの異常高値は、卵巣におけるステロイドホルモン代謝異常によるものではなく、腫大した卵巣による産生亢進と考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 22-29, 1984)

多嚢胞性卵巣症候群 (Polycystic Ovary Syndrome 以下 PCO) の歴史は、1935年 Stein と Leventhal が、無月経、男性化徴候、肥満を三主徴とし、両側の卵巣の多嚢胞性腫大を認める一連の不妊婦人の症例を、総括発表したことに、はじまっている。その卵巣の形態は、特徴的であり、両側性の腫大を認め、白膜の肥厚及び白膜下に多数の嚢胞を有しており、これらが透見される。このような卵巣を多嚢胞性卵巣と総称している。われわれはこのような多嚢胞性卵巣を有し、不妊、無排卵、無月経を主訴とする一連の症例を、多嚢胞性卵巣症候群と総称している。一方、Stein-Leventhal 症候群は、PCO のな

かの男性化徴候を強く伴う一特殊型であり、本邦においては、典型的な症例は、稀少である。

PCO の病因解明には、種々の試みがなされてきた。近年では、radioimmunoassay (RIA) などのホルモン測定法の進歩により、内分泌学的病態が明らかにされ多数の報告がなされている。PCO の病因に対する仮説としては、高アンドロゲン血症よりその病因をアンドロゲンをエストロゲンに転換する aromatizing enzyme に障害を認めるとする説、⁵Δ系ステロイドホルモンを、⁴Δ系ステロイドホルモンに転換する 3β-hydroxysteroid dehydrogenase に障害を認めるとする説、高 DHEA・高

DHEAS 血症より副腎皮質の男性ホルモン系の異常を指摘する説、卵巣自体の組織変化を病因とする説、自己免疫疾患の可能性を示唆する説、中枢性ゴナドトロピンの異常分泌を病因とする説等、多数の仮説が提出されているものの、未だその病因は解明できていないのが、現状である。

今回、我々は、PCO の病因としての副腎皮質関与の可能性を検索し、*in vivo* における、PCO 卵巣の steroidogenesis を解明するために以下の研究を行った。

PCO 患者の末梢血及び卵巣静脈血を同時に採血を行ない、ゴナドトロピン及びステロイドホルモンを、RIA により測定し、正常卵胞期初期婦人より得られた検体と比較検討を行なった。次に、大量のゴナドトロピンを投与した後、同様の採血を行なってゴナドトロピンに対する卵巣の反応性の相違を検討した。更には、デキサメサゾン投与により、副腎皮質機能を抑制したのち、同様の測定を行ない、多少の新知見を得たので、ここに発表する。

対象・研究方法

PCO の診断基準は、表 1 に示されている飯塚、中村等の楔状切除術の奏功する PCO の診断基準に拠った。

表 1 PCO 診断 criteria

- | | |
|---|--|
| ① | 第 I 度無月経 |
| ② | 自然に頸管粘液 0.2 ml に増量、結晶形成 III 度になるも排卵せず |
| ③ | clomiphene 50~150 mg/日・5 日間(+HCG) にて排卵せず |
| ④ | 血中 PRL 値正常 (30 ng/ml 以下) |
| ⑤ | LH-RH test にて、LH 前値比較的高値 (20 mIU/ml 以上)、反応良好、FSH は前値、反応ともに正常 |

対象は、慶応大学病院産婦人科及び慶応健康相談センター婦人科外来を訪ずれた不妊・排卵障害患者のなかから、表 1 の criteria ①~④を満たす患者を抽出し、消褪出血開始日より 10 日目に、LH-RH test を施行し、criteria ⑤を満たす患者 20 例を、PCO 症例とした。対照としては、子宮筋腫手術目的患者および、子宮奇形のため子宮形成手術を目的のため入院し、正常月経周期を有し、入院手術時、卵胞期初期 (月経周期第 5~7 日) にある婦人 10 例を、正常婦人として選択した。対象例は、いづれも、多毛等の男性化徴候はもたず、副腎皮質機能異常をあらわす高血圧、浮腫、極端な肥満等の症候は示していなかった。また、PCO、正常群とも、本研究の対象となる少なくとも 1 カ月間以内は、何ら特別な投薬治

療をうけることはなかった。PCO の診断は、開腹時の肉眼的所見及び組織学的所見により、典型的な PCO と確認された。

卵巣静脈血採血は、開腹時子宮動脈卵巣枝に、アトム製栄養チューブ 5~6 号を可及的に、卵巣門近くまで挿入し、吸引せずに自然流出にまかせて採血した。同時に、末梢血として、左肘静脈より採血した。検体は、遠心分離により血清を分離した後、 -20°C に凍結保存して、測定に供した。

ゴナドトロピンに対する正常卵巣と PCO 卵巣の反応を比較検討するために、正常婦人 4 例と PCO 患者 8 例に対して、上記採血施行のうち、HMG (ヒュメゴン; オルガノン社製; LH:FSH=1:1) を、300IU 一回静注法にて投与し、10 分後に同様の方法で採血を行なった。さらに、PCO における副腎皮質機能の関与を検討するため、PCO 症例 2 例に対して、術前 5 時間におたりデキサメサゾン (デカドロン; メルク社製) 2.5mg を、生理食塩水 500ml に溶解し点滴静注を行ない、同様の採血を行なった。

ゴナドトロピンの測定は、第 1 ラジオアイソトープ社製 LH・FSH 測定キットを使用して、同一検体を 3 回測定して平均値を測定値とした。

ステロイドホルモンは、帝国臓器社より提供された標準ステロイドホルモン・抗血清、ならびに New England Nuclear Corporation より、入手した放射性ステロイドホルモンにより、RIA にて測定した。

測定結果は、Mean \pm S. E. にて算出し、有意差検定は、Student *t* テストにより行なった。

結 果

(1) LH・FSH

正常卵胞期初期婦人及び PCO 患者の末梢血・卵巣静脈血中のゴナドトロピン値は、表 2 に示しているように、LH は正常婦人末梢血中では、 $12.4\pm 2.64\text{mIU/ml}$ (Mean \pm S. E.) であるのに対して、PCO 患者では、 $33.8\pm 3.41\text{mIU/ml}$ と、危険率 0.001 以下で有意に上昇していた。また、卵巣静脈血においても、正常 $9.95\pm 1.61\text{mIU/ml}$ 、PCO $38.9\pm 4.18\text{mIU/ml}$ と有意に上昇していた。一方、FSH は、正常婦人末梢血 $15.5\pm 1.61\text{mIU/ml}$ 、PCO 患者 $12.4\pm 1.82\text{mIU/ml}$ と有意差は認めることとはできず、同程度の値であった。卵巣静脈血における値も、正常 $14.4\pm 2.35\text{mIU/ml}$ 、PCO $12.6\pm 1.34\text{mIU/ml}$ と、やはり同様の傾向を示していた。

(2) LH-RH テスト

図 1 及び図 2 は、今回研究対象となつた PCO 患者の、LH-RH テストの結果を示したものであり、図 1 は

表 2

Mean±S.E.

		末 梢 血		卵 巢 静 脈 血	
		正 常	PCO	正 常	PCO
LH	(mIU/ml)	12.4±2.64	33.8±3.41*	9.95±1.61	38.9±4.18*
FSH	(mIU/ml)	15.5±1.61	12.4±1.82	14.4±2.35	12.6±1.34
DHEA	(ng/ml)	3.46±0.61	3.94±0.67	7.63±2.34	15.4±3.66
DHEAS	(μ g/ml)	1.47±0.32	1.47±0.51	1.53±0.39	2.04±0.50
4 -A	(ng/ml)	0.37±0.06	0.72±0.05**	1.09±0.21	12.1±2.96**
T	(ng/ml)	0.25±0.06	0.85±0.15**	0.63±0.15	4.96±0.93**

* p<0.001 ** p<0.01

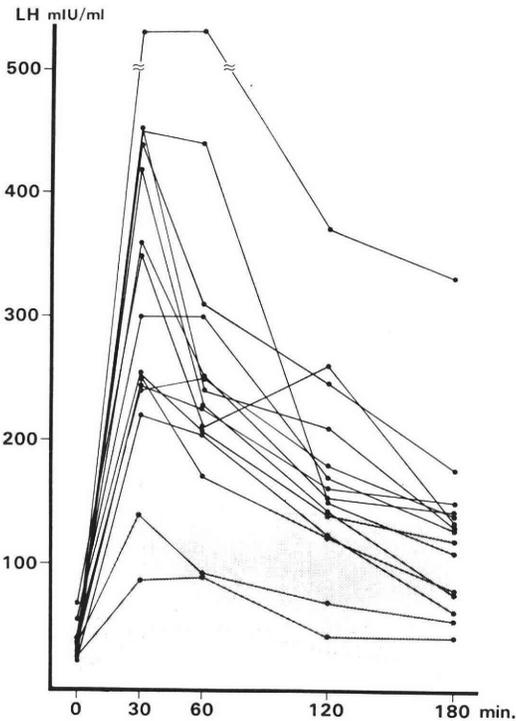


図1 PCO 患者における LH-RH テスト

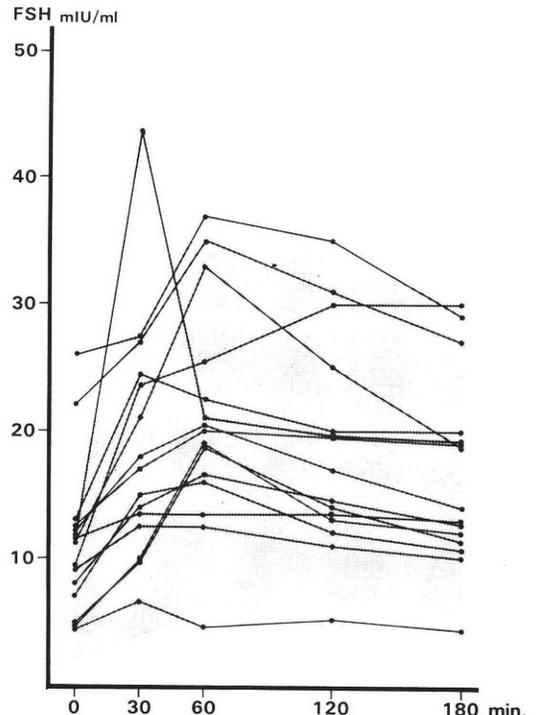


図2 PCO 患者における LH-RH テスト

LH, 図2は FSH の結果である。斜線部分は、正常卵巣期初期婦人に LH-RH テストを施行した場合の測定値を Mean±S. E. で示したものである。図1に示されているように、PCO 患者の LH 値の基礎値は有意に上昇しておりまた外来性の LH-RH に対しては、極めて過剰な反応を示している。また、PCO 患者における FSH 測定値は、図2に示す如く、基礎値及び LH-RH に対する反応とも、卵巣期初期婦人の範囲内に属し、有意差を認めることはできない。

(3) DHEA・DHEAS

PCO 患者における末梢血・卵巣静脈血中の DHEA・DHEAS 値を、表2に示してある。末梢血中の DHEA

値は、正常婦人 3.46±0.61 ng/ml、PCO 患者 3.94±0.67ng/ml と、PCO においてやや上昇は認められるものの、有意差は認められなかった。卵巣静脈血中 DHEA 値は、正常婦人 7.63±2.34ng/ml であるのに対し、PCO 15.39±3.66ng/ml と、はつきりした上昇傾向が認められ、症例数が増加すれば有意差を認めるようになると思われる。一方、DHEAS は末梢血においては、正常婦人 1.47±0.32 μ g/ml、PCO 患者 1.47±0.51 μ g/ml と殆んど同程度であった。また、卵巣静脈血においては、正常婦人 1.53±0.39 μ g/ml、PCO 患者 2.04±0.50 μ g/ml とわずかに PCO において上昇傾向が認められたが、有意差は認めなかった。

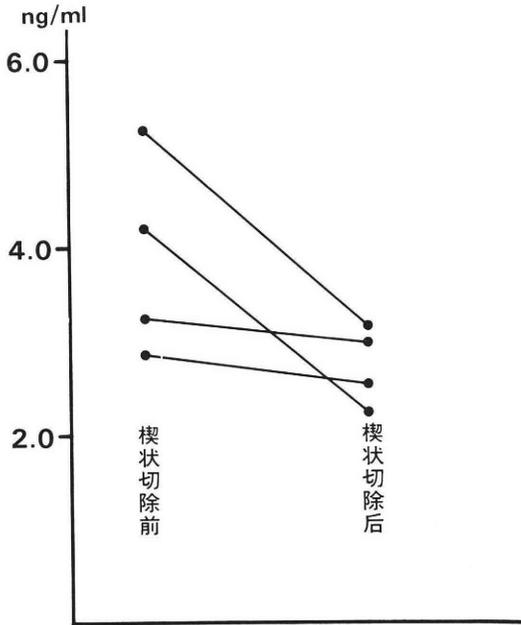


図3 PCO 患者における楔状切除前後の末梢血 DHEA の変動

(4) 楔状切除術前後の DHEA・DHEAS

図3及び図4は、PCO 患者の楔状切除術施行前と、術後7日目の末梢血中 DHEA 及び、DHEAS の値を示したものである。DHEA・DHEAS 値とも、手術施行後には、明らかに低下する傾向が認められた。

(5) ゴナドトロピン投与前後の卵巣静脈血中 DHEA 値

図5は、手術中に、HMG 300単位を静脈内投与（1回静注法）を行ない、その前後10分間の卵巣静脈血中の DHEA 値を比較したものである。正常婦人では、投与前 14.4 ± 3.7 ng/ml より、投与後 16.3 ± 2.3 ng/ml と上昇し、PCO患者においては、 19.9 ± 4.7 ng/ml より、 27.4 ± 5.8 ng/ml と上昇が認められた。これらの上昇は、正常婦人、PCO 患者とも有意差は認められなかった。しかしながら、PCO 患者における上昇の程度が、より強く認められた。

(6) ゴナドトロピン投与前後の卵巣静脈血中 DHEAS 値

図6は、HMG 300単位1回静脈内投与前後の卵巣静脈血中 DHEAS 値を示したものである。各測定値にばらつきが多く、比較が行ない難いが、程度は弱いものの、正常婦人、PCO 患者とも上昇が認められている。

(7) 4-D -androstenedione・testosterone

表1には、末梢血及び卵巣静脈血中の 4-D -androstenedione 及び testosterone 値を示してある。 4-D -androstene-

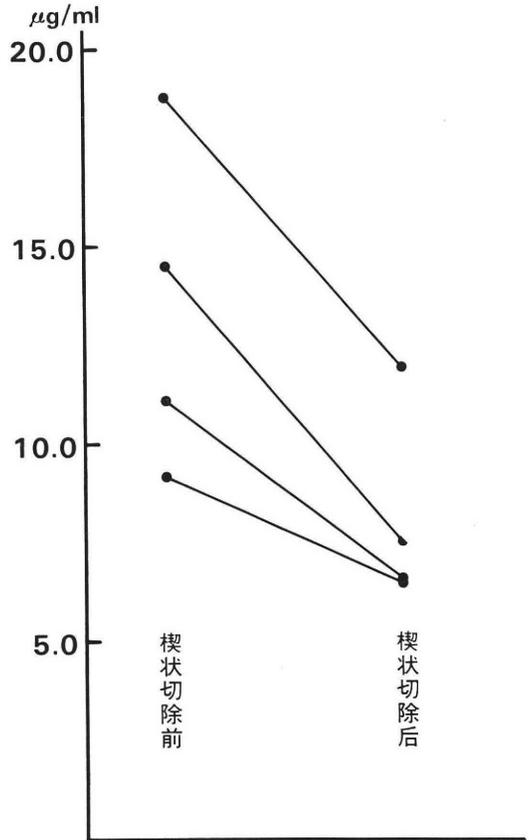


図4 PCO 患者における楔状切除前後の末梢血 DHEAS の変動

dione は、末梢血では、正常婦人 0.37 ± 0.06 ng/ml に対して PCO 患者では、 0.72 ± 0.05 ng/ml と PCO では、有意に（危険率0.01以下）上昇していた。卵巣静脈血中における 4-D -androstenedione 値の結果は、さらに著明で、正常婦人 1.09 ± 0.21 ng/ml であるのに対して、PCO 患者では 12.09 ± 2.96 ng/ml と、PCO では、約12倍の極めて大きな上昇を示していた。

testosterone は、末梢血では正常婦人 0.25 ± 0.06 ng/ml、PCO 患者 0.85 ± 0.01 ng/ml と、PCOにおいて有意な（危険率0.01以下）上昇が認められた。卵巣静脈血中では、正常婦人 0.63 ± 0.15 ng/ml に対し、PCO 患者 4.96 ± 0.93 ng/ml と、PCO で有意に高い値が、認められ、 4-D -androstenedione の場合と同様に、卵巣静脈血において、その差は顕著であった。

(8) デキサメサゾンによる抑制

表3は、PCO 患者にデキサメサゾン25mg を、点滴静注した前後の末梢血中各種ステロイドホルモンを測定した結果である。さらにこれら症例に対して、HMG 300単位を一回静注後10分の末梢血及び卵巣静脈血の

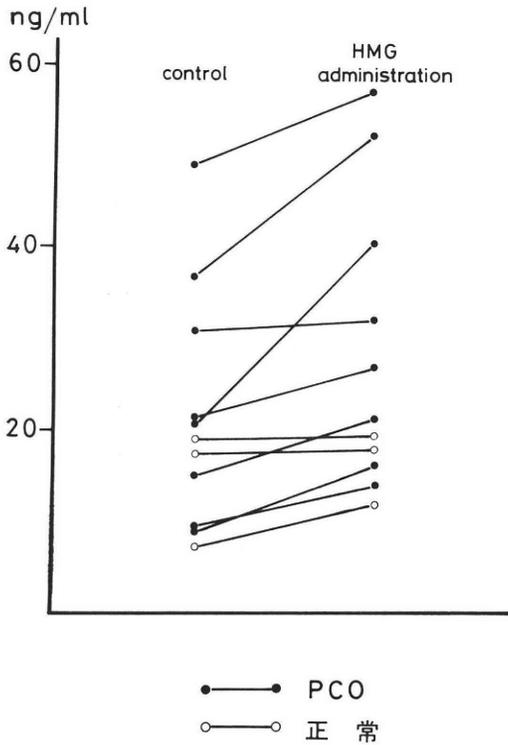


図5 DHEA

テロイドホルモン測定の結果も示してある。DHEA・DHEAS において比較的著明なデキサメサゾンによる抑制効果が認められたのに対して、 4Δ -androstenedione に対する抑制効果は少なかった。HMG 投与後は、DHEA・ 4Δ -androstenedione には、賦活効果が認められたが、DHEAS に対する賦活効果は、わずかであった。またこの賦活効果は、卵巣静脈血において顕著であった。

考 案

多嚢胞性卵巣症候群 (PCO) は、極めて特徴ある内分泌背景をもつにもかかわらず、その病因は未だ不明であるのが現状である。PCO の病因を、卵巣内のステロイドホルモン転換酵素系の異常に求める研究は、従来より多数報告されている。しかしながら、最近では、PCO 卵巣自体の steroidogenesis は、正常卵胞期卵巣と同程度であるという知見が多い。また、PCO において副腎皮質が、その成因に関与しているという報告もあるが、明確な説明はなされていない。今回の我々の研究では、PCO の内分泌的特徴のなかでも最も顕著なアンドロゲン異常を焦点に、副腎皮質の関与も含めて検討した。

PCO 患者のゴナドトロピン測定値は、従来よりの報

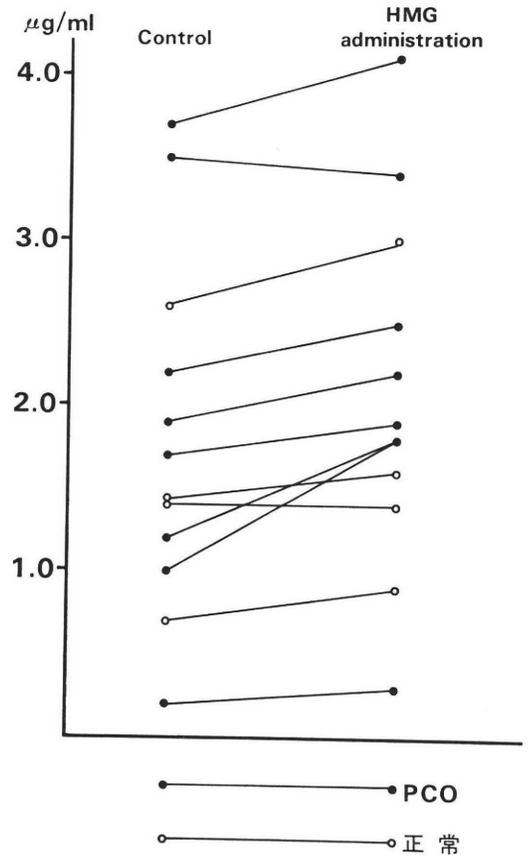


図6 DHEA

表 3

		DMX 投与後				
		末梢血		卵巣静脈血		
		投与前	+ HMG	投与前	+ HMG	
DHEA	case 1	9.6ng/ml	2.5	10.0	15.4	29.7
	case 2	2.8ng/ml	2.0	2.3	4.1	6.2
DHEAS	case 1	2.4μg/ml	0.5	1.4	2.4	4.6
	case 2	4.5μg/ml	1.6	1.8	1.4	1.8
4Δ -A	case 1	0.88ng/ml	0.53	1.24	6.4	27.0
	case 2	0.94ng/ml	0.58	0.59	5.5	10.8

告のとおり、高 LH・正常 FSH 値を示しており、卵巣静脈血中のゴナドトロピン値も、末梢血中のものと差は認められなかった。また、外来性 LH-RH に対する LH の過剰反応および、FSH の正常卵胞期初期とほぼ同等の反応を示す結果も、従来よりの報告と一致するところである。

従来、PCO 卵巣におけるステロイドホルモン動態の

解明に対しては、種々のアプローチがなされてきていたが、*in vivo* におけるホルモン動態を解明するために卵巣静脈血中のステロイドホルモンを測定し検討したのは、McNatty *et al.*・Devane *et al.* に続き、本邦においては、筆者らが最初であり、特に短時間ではあるが、Gonadotropin 投与による生体内 incubation 実験といえる我々の方法は、卵巣静脈血流量の測定が可能になれば、器官培養の困難な今日、最も有効な研究手段となると思われる。

正常卵胞期初期卵巣における steroidogenesis は、pregnenolone 17α hydroxypregnenolone dehydroepiandrosterone (DHEA) を経て、 4Δ -androstenedione が生成される 5Δ 系生成経路と、pregnenolone progesterone 17α hydroxyprogesterone を経過して 4Δ -androstenedione が生成される 4Δ 系生成経路が存在することは定説となつている。また、最近では、卵胞期初期卵巣では、 5Δ 系生成経路が主なステロイドホルモン生成経路であるといわれている。

DHEA は、このような 5Δ 系生成経路中のステロイドホルモンであるにもかかわらず、正常卵胞期初期卵巣から流血中に分泌されることはないとしており、末梢血中 DHEA の由来は、副腎皮質において生成されている dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEAS) が主に末梢血中において desulfatization をうけ、DHEA が生成されているといわれていた。これは末梢血中 DHEA が、コルチゾールと同様の日内変動を示すことや、ACTH の投与によりその分泌動態が変化することが、その根拠とされている。確かに副腎皮質由来の DHEAS よりの DHEA の生成は存在すると思われる。しかしながら、正常卵胞期初期婦人の卵巣静脈中 DHEA 値は、有意に末梢血中 DHEA 値よりも上昇していることが、今回の研究で認められた。更には、外来性のゴナドトロピン投与により、卵巣静脈血中 DHEA 値は、有意差は認めないものの、上昇することが示された。これらの事実は、正常卵胞期初期卵巣においても、ゴナドトロピン依存性の部分よりの DHEA の分泌があることを、強く示唆するものである。また、PCO 卵巣においても同様の事実が示されたことは、PCO における末梢血中の高 DHEA 値の原因は、間質由来のものであるという報告とは、合致しないものであつた。

PCO 成因の仮説の一つである 3β -hydroxysteroid dehydrogenase 障害説は、PCO にみられる末梢血中 DHEA の高値を、その根拠としている。本研究においても、卵巣静脈血中 DHEA 値は、PCO では、正常卵胞期初期よりも上昇していたが、他のアンドロゲン程の差異は、認められず、有意な上昇ではなかつた。さら

に、末梢血中 DHEA 値は、やや PCO では高値を示すものの殆んど差は認められていない。しかも、以前我々が発表したように、 4Δ 系生成経路のステロイドホルモンにおいても、卵巣静脈血中では、progesterone, 17α -hydroxyprogesterone の両者とも、PCO において有意に高値を示している。吉村等は、PCO 卵巣より採取した顆粒膜細胞の単層培養実験において、正常卵胞期卵巣・PCO 卵巣両者の顆粒膜細胞の progesterone, 17α -hydroxyprogesterone 生成能力には差異がないことを、示している。これらの事実は、卵巣中の 3β -hydroxysteroid dehydrogenase の障害を、PCO の原因とする仮説を否定するものと思われる。また PCO 患者における末梢血中の DHEA 値は、正常卵胞期婦人と比較してわずかな上昇程度にとどまつている。これは、他のステロイドホルモンが、PCO においては高いことと反するようにみえるが、これは DHEA の卵巣における分泌量が、副腎皮質の由来の DHEA に比較して少ないことによるものと思われる。

一方、PCO における副腎皮質機能に関しては、DHEAS の測定結果より推定されると思われる。即ち、末梢血中 DHEAS 値が、正常婦人と PCO 患者において、ほとんど差が認められないことより少なくとも、DHEAS 分泌亢進は認められないと推測される。PCO 患者における卵巣静脈血中の DHEAS の高値は、卵巣あるいはその周辺において一部の DHEAS が生成されていることが考えられる。このことは、DHEAS を直接生成する酵素系をもたない卵巣の場合、卵巣において生成された DHEA が、卵巣周辺の流血中において、サルフェート化されて生成されるのではないかと、推測される。DeVane *et al.* は副腎皮質も PCO においては、障害されていることを示唆しているが、今回の我々の研究における諸結果は、これに相反するものであつた。しかしながら、日本人の PCO 患者では、男性化徴候も欧米に比べると軽微であり、人種的な相違については、一考の余地をもつものと考えている。

また、今回の研究においては、ゴナドトロピンを投与することによる、卵巣静脈血中の DHEA 値の上昇は、有意差は認められないものの正常婦人より PCO 患者の場合に大きく認められた。DHEAS 値の上昇は、正常婦人、PCO 患者とも、軽微であつた。PCO 患者において DHEA 値の上昇が、大きいのは、増大した卵巣容積によるものであることが、考えられる。

デキサメサゾン投与による副腎皮質機能抑制試験では、DHEA, DHEAS とともに、その抑制効果が認められているが、その後ゴナドトロピンを负荷した実験では、これまで述べた事実を確認するように、賦活されるのは

主に, DHEA の方であり, 卵巣における DHEA の産生を裏付けている. また, 吉村等の培養実験においても, これらの事実が示されている. また, 4Δ -androstenedione においても, やや抑制効果が, 認められている. これは, 副腎皮質由来の 4Δ -androstenedione あるいは, 副腎皮質由来のステロイドホルモンよりの 4Δ -androstenedione への転換の存在の可能性を示唆している.

以上の事実を総括すると, PCO の病因としての副腎皮質関与の可能性は, ないものと思われ, また従来は, 正常卵胞期卵巣からの, DHEA 分泌は, 存在しないことが定説とされていたが, これも今回の研究により否定された.

従来より, 本邦 PCO 患者における末梢血中のアンドロゲン値は, 欧米の PCO 患者に比して少ないといわれていた. しかしながら, 本研究では, 卵巣静脈血中アンドロゲン値は, 極めて上昇していることが認められた.

4Δ -androstenedione において testosterone よりその傾向が, より強いのも欧米患者と同様の結果であった. また, エストロゲン分泌量も従来よりの研究に反して, 正常婦人より有意に高値であった. これらの事実は, 吉村等の PCO 卵巣顆粒膜細胞のステロイドホルモン産生能の研究にも示されているように, 酵素障害によるものよりはむしろ, PCO における卵巣容積の増大によるものと考えられる.

Yen *et al.* は, 思春期における副腎皮質機能の異常が, 肥満, 男性化徴候, エストロゲン feed back の異常をおこすための二次的なゴナドトロピンの分泌異常を PCO の成因と考え, PCO 卵巣の形態変化は, ゴナドトロピンの異常によるものとしている. 今回, 副腎皮質機能の異常は認められなかったが, 確かに, Yen *et al.* の指摘するように, 卵巣自体の質的な変化の認められないことよりすると, 多嚢胞性卵巣の成因としては, 中枢性の原因が主であり, 卵巣の変化は二次的なものと考えの方が都合がよいようである.

文 献

- 1) 足高善雄, 倉智敬一, 宮崎正敏: 多嚢胞卵巣症例の尿中ステロイド排泄パターン, ホルモンと臨床, 17: 910, 1969
- 2) 中村幸雄, 清水謙一, 黒川博厚, 齊藤 薫, 小林俊文, 飯塚理八: Clomiphene 無効なる多嚢胞性卵巣 (PCO) 症例における LH-RH Test の意義とその治療, 産婦人科の世界, 25: 1095 1973
- 3) 飯塚理八, 中村幸雄, 清水謙一, 川村尚道: PCO (多嚢胞性卵巣症候群) の術前診断, 産婦人科治療, 30: 351, 1975
- 4) 中村幸雄, 清水謙一, 川村尚道: 多嚢胞性卵巣

症候群 (PCO), 産婦人科の世界, 27: 604, 1975

- 5) 青野敏博, 宮崎正敏, 三宅 侃, 衣笠隆之, 倉智敬一: 多嚢胞卵巣症候群の病態生理と治療, 臨床婦人科産科, 30: 393, 1976
- 6) 清水謙一: 多嚢胞性卵巣の診断 criteria 及び臨床内分泌学的研究, 日産婦誌, 27: 1197, 1975
- 7) 中村幸雄, 春日義生, 福永友明, 吉村泰典: 多嚢胞性卵巣症候群 (PCO), 産婦人科 MOOK, 13: 214, 1980
- 8) 吉村泰典: 組織培養法による顆粒膜細胞・夾胞組織の steroidogenesis の研究, 日産婦誌, 7: 1005, 1981
- 9) McArthur, J. W., Ingersoll, F. M. and Worcester, J.: The urinary excretion of interstitialcell and follicle-stimulating hormone activity by women with diseases of the reproductive system. J. Clin Endocrinol Metab. 18: 1202, 1958
- 10) Axelrod, L. R. and Goldzieher, J. W.: The polycystic ovary. III. Steroid biosynthesis in normal and polycystic ovarian tissue. J. Clin Endocrinol Metab. 22: 431, 1962
- 11) Dignam, W. J., Pion, R. J., Lamb, E. J. and Simmer, H. H.: Plasma androgens in women. Acta Endocrinol. 45: 254, 1964
- 12) Bardin, C. W. and Lipsett, M. B.: Testosterone and androstenedione blood production rates in normal women and women with idiopathic hirsutism or polycystic ovaries. J. Clin Invest. 46: 891, 1967
- 13) Horton, R. and Neisler, J.: Plasma androgens in patients with the polycystic ovary syndrome. J. Clin Endocrinol. 28: 497, 1968
- 14) Bardin, C. W., Hembree, W. C. and Lipsett, M. B.: Suppression of testosterone and androstenedione production rates with dexamethasone in women with idiopathic hirsutism and polycystic ovaries. J. Clin Endocrinol Metab. 28: 1300, 1969
- 15) Kirshner, M. A. and Jacobs, J. B.: Combined ovarian and adrenal vein catheterization to determine the site of androgen overproduction in hirsute women. J. Clin Endocrinol. 33: 199, 1971
- 16) Kurachi, K., Miyazaki, M., Mizutani, S. and Matsumoto, K.: Plasma testosterone and urinary steroids in Japanese women with polycystic ovaries. Acta Endocrinol. 68: 293, 1971
- 17) DeVane, G. W., Czekala, N. M., Judd, H. L. and Yen, S. S. C.: Circulating gonadotropins, estrogens, and androgens in polycystic ovarian disease. A. J. O. G. 121: 496, 1975.

- 18) Patton, W. C., Berger, M. J., Thompson, I. E., Chong, A. P., Grimes, E. G. and Taymor, M. L.: Pituitary gonadotropin responses to synthetic luteinizing hormone-releasing hormone in patients with typical and atypical polycystic ovary disease. *A. J. O. G.* 121 : 382, 1975
- 19) Judd, H. L.: Endocrinology of polycystic ovarian disease. *Clin Obstet. Gynec.* 21 : 99, 1978
- 20) Wilson, E. A., Erickson, G. F., Zarutski, P., Fin, A. E., Tulchinsky, D. and Ryan, K. J.: Endocrine studies of normal and polycystic ovarian tissues in vitro. *A. J. O. G.* 134 : 56, 1979
- 21) Yen, S. S. C., Vela, P. and Rankin, J.: Inappropriate secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in polycystic ovarian disease. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 30 : 435, 1970

Ovarian steroidogenesis and adrenal function in the patients with polycystic ovary syndrome

**Yoshio KASUGA, Yukio NAKAMURA,
Takanori YOSHIO, Kunihiko KAN,
Eriko KATAYAMA and
Rihachi IIZUKA**

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

Steroid hormone levels in both peripheral and

ovarian blood obtained from polycystic ovary syndrome (PCO) patients were measured by RIA to clarify the pathogenesis of PCO and to deny the existence of adrenal hyperfunction in PCO. Human menopausal gonadotropin (HMG) and dexamethasone were administered to PCO patients.

Elevated ovarian DHEA levels in PCO were noticed, while DHEAS levels were comparable with both normal and PCO. The concentrations of DHEA and DHEAS were decreased after wedge resections of ovary, thereafter administered HMG elevated the levels of DHEA in PCO. These facts denied the existence of adrenal hyperfunction in PCO.

Markedly elevated $^4\Delta$ -androstenedione and testosterone levels in both peripheral and ovarian blood were noticed in PCO.

According to these data, abnormality of adrenal function in PCO patients and enzymatic defects of PCO ovary were denied. Elevated steroid levels were probably caused by the overproduction of them from polycystic enlarged ovaries.

(受付: 昭和58年8月12日, 特掲)

不妊治療における排卵誘発剤使用の臨床的検討

Clinical Study of Ovulation Induction on the Infertile Patients

岡山大学医学部産科婦人科学教室

白河尚子 吉田信隆 鈴木康之
Naoko SHIRAKAWA Nobutaka YOSHIDA Yasuyuki SUZUKI
占部清林 伸旨 早田幸司
Kiyoshi URABE Nobuyoshi HAYASHI Koji HAYATA
鎌田常子 林泰堂 清水健治
Tsuneko KAMADA Tai Tun LIN Kenji SHIMIZU
小林俊三 秋本脩久 関場香
Shunzo KOBAYASHI Teruhisa AKIMOTO Kaoru SEKIBA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Okayama University Medical School

岡大不妊外来にて昭和55年に治療した不妊症患者342例の内、不妊原因として卵巣因子単独の87例につき詳細な検討を行った。

黄体機能不全28例では経口排卵誘発剤投与により72.9%が正常排卵周期となり4例が妊娠した。さらに休薬期間中54.4%が正常排卵周期を保ち5例が妊娠に至った。無排卵周期症及びI度無月経43例中のCLS投与による正常排卵周期率は51.9%で休薬により15.0%と低下した。妊娠例は各々10例及び1例であった。II度無月経16例では経口排卵誘発剤投与群の排卵周期率は17.5%で妊娠例は1例のみであった。休薬中には排卵周期を全く認めなかった。但しこの群にはHMG投与による6例の妊娠例が認められた。

以上黄体機能不全では休薬も意義があると考えられたが、無排卵周期、I度無月経、II度無月経では休薬中は妊娠に至らず、いずれの周期も経口排卵誘発剤、HMG等の加療を要する事が示唆された。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 30-34, 1984)

緒言

最近、挙児希望にて不妊外来を受診する患者は、年々増加する傾向にあり、岡山大学産婦人科外来においても、外来患者数に占める不妊症患者の割合は増大しつつある。また、一方では、不妊症の原因は多岐にわたっているため、正しい治療法の選択には、種々の臨床検査による正確な病態の把握が重要である。従来、不妊症治療の検討は、妊娠成立周期を中心に行われて来たが、治療効果の判定には、妊娠成立周期を中心とした検討のみでは、不十分である。そこで今回我々は、岡山大学不妊外来において、特に不妊原因として、卵巣因子が考えられ

る症例について、治療した全ての周期の検討を行い、総周期数及び有効排卵周期数及び妊娠率との関係について検討した。

対象および方法

昭和55年1月より12月までの1年間に、岡山大学産婦人科外来を受診した患者総数2334例の内、不妊外来にて治療した342例を対象とし、不妊原因別に分類した。不妊原因の1つとしての卵巣因子については、来院後の全ての周期について、基礎体温及びホルモン検査などより分類し、その障害の程度を、黄体機能不全症、無排卵性周期性、無月経I度、無月経II度の4段階に分類した。

さらに排卵誘発剤の治療効果の判定に際しては、卵巣因子のみが不妊原因と考えられる症例について検討した。

成績

(1) 原発性不妊, 続発性不妊の妊娠率 (表 1, 表 2)

表 1 は, 昭和55年 1 年間の症例である。不妊症患者総数342例中, 原発性不妊症は273例 (79.8%), 続発性不妊症は 69例 (20.2%) であつた。妊娠率の平均は 26.0% で, 原発性不妊症23.8%, 続発性不妊症34.8% であり, 続発性不妊症の方がやや妊娠率が高い傾向が認められた。

表 1 症例数と妊娠率 (S. 55年 1 月~12月)

	症例数	妊娠例数	妊娠率
原発性不妊症	273	65	23.8%
続発性不妊症	69	24	34.8%
計	342	89	26.0%

表 2 症例数と妊娠率 (S. 50年~S. 51年)

	症例数	妊娠例数	妊娠率
原発性不妊症	365	68	18.6%
続発性不妊症	230	61	26.5%
計	595	129	21.7%

表 2 は前回検討した昭和50年~51年 2 年間の症例である。不妊症患者総数 595 例中, 原発性不妊症は 365 例 (61.3%), 続発性不妊症は230例 (38.7%) であり, 昭和55年 1 年間の方が, 原発性不妊症の比率が有意に ($p < 0.05$) 増加していた。また昭和50年度群の妊娠率の平均は21.7%で, 原発性不妊症18.6%, 続発性不妊症26.5% と, 昭和55年 1 年間の症例の方が, 妊娠率が高い傾向にあつた ($0.05 < p < 0.1$)。

(2) 不妊期間 (図 1)

治療開始時の不妊期間の平均は 4.2 ± 2.3 年であつた。原発性不妊症と続発性不妊症との比較をみると, 原発性不妊症 4.4 ± 2.3 年, 続発性不妊症 3.7 ± 2.4 年で, 他施設²⁾とは逆に, 原発性不妊症の方が, 平均不妊期間が長い傾向を認めた。又, 不妊期間別の妊娠率を検討すると, 2年から3年未満の群においては, 100例中43例妊娠 (43.0%), 3年以上の群においては, 242例中26例妊娠 (10.7%) であり, 2年から3年未満の群の方が有意に ($p < 0.05$) 高率であつた。

(3) 不妊原因 (図 2)

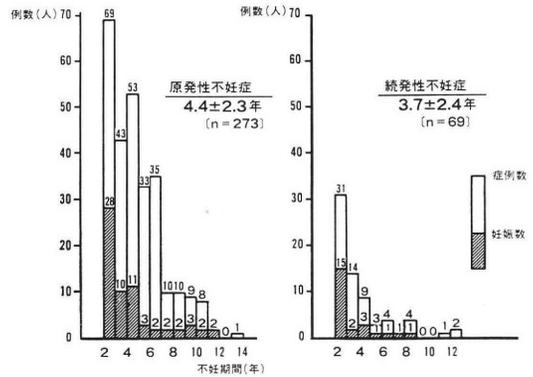


図 1 不妊期間 4.2 ± 2.3 年 [n=342]

不妊原因	単独群	複合群	
妊娠率	60/204 (29.4%)	29/138 (21.0%)	
女性因子	黄体機能不全	3 (32.1%)	16 (22.2%)
	無排卵性周期	9 (33.3%)	3 (12.5%)
	無月経 I 度	5 (16.3%)	3 (11.1%)
	無月経 II 度	7 (16.8%)	6 (16.7%)
	子宮(奇型等)	1 (25.0%)	1 (17.6%)
	子宮(管)	4 (11.1%)	4 (15.4%)
	子宮内膜症	1 (7.1%)	1 (14.3%)
	高プロラクチン血症	1 (33.3%)	2 (33.3%)
	フナーテスト異常	5 (16.1%)	20 (33.9%)
	男性因子	無精子症	2 (33.3%)
乏精子症		8 (23.5%)	3 (10.2%)
機能性不妊	10 (33.3%)	30	

図 2 不妊原因と妊娠率

不妊原因を単独群 (不妊原因が 1 つであるもの) と複合群 (不妊原因が 2 つ以上であるもの) とに分類し各々検討すると, 単独群は342例中204例 (59.6%), 複合群は 342例中138例 (40.4%) であつた。尚, 複合群においては原因が重複しているため, 不妊因子別合計では282例になつた。不妊原因単独群の妊娠率は 204 例中 60 例 (29.4%), 複合群の妊娠率は138例中29例 (21.0%) と, 単独原因群の方が妊娠率が高い傾向 ($0.05 < p < 0.1$) にあつた。

不妊原因各々について妊娠率を検討すると (図 2) フナーテスト異常を除き, 単独群の方が妊娠率が高い傾向にあつた。また全症例342例のうち卵巣因子は単独群 87 例, 複合群113例, 合計200例と症例総数の58.5%をも占めるため, 卵巣因子に着目して詳細に検討を加えた。

(A) 卵巣因子における妊娠率の検討 (表 3)

不妊症患者中, 不妊原因が卵巣因子と考えられる200症例について, 来院後の全ての周期について, 基礎体温表及びホルモン検査表を分析し, 黄体機能不全症, 無排卵性周期症, 無月経 I 度, 無月経 II 度に分類した。

卵巣因子全体における妊娠率は, 200例中53例 (26.5%)

表 3 卵巣因子における妊娠率〔妊娠数/症例数(妊娠率)〕

不妊原因	単 独 群	複 合 群
黄体機能不全	9/ 28(32.1%)	16/ 72(22.2%)
無排卵性周期	9/ 27(33.3%)	3/ 24(12.5%)
無月経Ⅰ度	5/ 16(31.3%)	3/ 11(27.3%)
無月経Ⅱ度	7/ 16(43.8%)	1/ 6(16.7%)
計	30/ 87(34.5%)	23/113(20.4%)*
全 症 例	60/204(29.4%)	29/138(21.0%)**

* p<0.05 ** 0.05<p<0.1

%)であり、全症例の妊娠率342例中89例(26.0%)と、ほぼ一致していた。不妊原因単独群と複合群とを比較すると、卵巣因子単独群の妊娠率は87例中30例(34.5%)、卵巣因子複合群の妊娠率は113例中23例(20.4%)であり、卵巣因子単独群の妊娠率が有意に高率(p<0.05)であった。

(B) 卵巣因子に対する経口排卵誘発剤の効果

排卵誘発剤の治療効果の判定に際しては、他原因を合併しない卵巣因子単独群に限定し、妊娠率や治療効果の判定は治療総周期の基礎体温表を分析して行った。卵巣因子単独群87例における治療総周期数は465周期で、そのうち経口排卵誘発剤投与周期数は292周期(62.8%)、休薬周期数は139周期(29.9%)、又HMG-HCG療法施行周期数は34周期(7.3%)であった。

次に卵巣因子単独群を排卵障害の程度により分類し、その治療効果判定の目的で排卵誘発剤投与例と休薬例を比較検討した(表4~表7)。

尚、総周期とは、治療を行った全ての周期とした。又、有効排卵周期とは、基礎体温上、高低温度差0.3°C以上で2相性となり、高温期が12日以上に改善された周期とした。

i) 黄体機能不全症(表4)

表 4 黄体機能不全症

	経口排卵誘発剤投与	休 薬
有効排卵周期数/総周期数	70/96(72.9%)	37/68(54.4%)
妊 娠/総周期数	4/96(4.2%)	5/68(7.4%)
妊娠/有効排卵周期数	4/70(5.7%)	5/37(13.5%)**
妊 娠/症 例 数	4/28(14.3%)	5/28(17.9%)

* p<0.05 ** 0.05<p<0.1

卵巣因子単独群87例のうち、黄体機能不全症は28例(32.2%)であった。治療総周期数は164周期で、そのうち有効排卵周期数は107周期(65.2%)であった。有効排

卵周期率は、経口排卵誘発剤投与群70/96(72.9%)、休薬群37/67(54.4%)と、経口排卵誘発剤投与群が有意に(p<0.05)高率であった。総周期数に対する妊娠率は、経口排卵誘発剤投与群と休薬群の間に差を認めなかったが、有効な排卵周期を得られた周期については、休薬群の方が経口排卵誘発剤投与群に比較し、妊娠率は良い傾向(0.05<p<0.1)にあった。

ii) 無排卵性周期症(表5)

表 5 無排卵性周期症

	経口排卵誘発剤投与	休 薬
有効排卵周期数/総周期数	45/100(45.0%)	5/42(11.9%)*
妊 娠/総周期数	8/100(8.0%)	0/42(0%)
妊娠/有効排卵周期数	8/ 45(17.8%)	0/ 5(0%)
妊 娠/症 例 数	8/ 27(29.6%)	0/27(0%)

* p<0.05

卵巣因子単独群87例中、無排卵性周期症は27例(31.0%)であった。治療周期数は142周期で、総周期数に対する有効排卵周期率は、経口排卵誘発剤投与群45/100(45.0%)、休薬群5/42(11.9%)と、経口排卵誘発剤投与群が有意に(p<0.05)高率であった。又、無排卵性周期症の休薬群には、妊娠例は1例も認めなかった。

iii) 無月経Ⅰ度(表6)

表 6 無月経Ⅰ度

	経口排卵誘発剤投与	休 薬
有効排卵周期数/総周期数	36/56(64.3%)	4/18(22.2%)*
妊 娠/総周期数	2/56(3.6%)	1/18(5.6%)
妊娠/有効排卵周期数	2/36(5.6%)	1/ 4(25.0%)
妊 娠/症 例 数	2/16(12.5%)	1/16(6.3%)

* p<0.05

卵巣因子単独群87例中、無月経Ⅰ度は16例(18.4%)であった。治療総周期数は74周期で、総周期数に対する有効排卵周期率は、経口排卵誘発剤投与群36/56(64.3%)、休薬群4/18(22.2%)であり、無排卵性周期症と同様に、経口排卵誘発剤投与群が有意に(p<0.05)高率であった。妊娠例は、経口排卵誘発剤投与群2例、休薬群1例と少数であった。

iv) 無月経Ⅱ度(表7)

卵巣因子単独群87例中、無月経Ⅱ度は16例(18.4%)であった。治療総周期数は51周期で、総周期数に対する有効排卵周期率は、経口排卵誘発剤投与群7/40(17.5%)で、休薬すると有効な排卵周期は1周期も認められな

表 7 無月経Ⅱ度

	経口排卵誘発剤投与	休 薬
有効排卵周期数/総周期数	7/40(17.5%)	0/11(0%)
妊 娠/総周期数	1/40(2.5%)	0/11(0%)
妊 娠/有効排卵周期数	1/7(14.3%)	0/0(0%)
妊 娠/症 例 数	1/16(6.3%)	0/16(0%)

表 8 無月経Ⅱ度に対する排卵誘発剤の効果

	経口排卵誘発剤投与	HMG-HCG 投与
有効排卵周期数/総周期数	7/49(17.5%)	15/34(44.1%)
妊 娠/総周期数	1/40(2.5%)	6/34(17.6%)
妊 娠/有効排卵周期数	1/7(14.3%)	6/15(40.0%)
妊 娠/症 例 数	1/16(6.3%)	6/10(60.0%)

つた。妊娠例も、経口排卵誘発剤投与群で1例認めただけであった。

v) 無月経Ⅱ度に対する排卵誘発剤の比較(表8)

次に経口排卵誘発剤の無効な無月経Ⅱ度に対しては、HMG-HCG療法の効果を検討した。無月経Ⅱ度16症例中、HMG-HCG療法施行症例は10例(62.5%)であった。総周期数に対する有効排卵周期率は、経口排卵誘発剤投与群7/40(17.5%)、HMG-HCG療法群15/34(44.1%)と、HMG-HCG療法が有効排卵周期率は有意に(p<0.05)高率であった。又、症例に対する妊娠率も、経口排卵誘発剤投与群1/16(6.3%)に対し、HMG-HCG療法は6/10(60.0%)と有意に(P<0.05)高率であった。

考 案

一般に、不妊外来における原発性不妊と続発性不妊の割合については、原発性不妊が多いとされている³⁻⁷⁾。当科においても昭和50年~51年に比べ今回検討した昭和55年1年間の方が、原発性不妊症の割合が増大していた¹⁾。

不妊期間については報告者により2年以上、あるいは3年以上とする分類があるが、今回我々は、2年以上の症例について検討した。しかしながら、前回の昭和50年~51年の検討に比べ¹⁾、不妊期間が3年未満で不妊外来をおとずれる患者の率の増加を認め、このことは基礎体温測定などにより無排卵を知るなど婦人の近年の医学的知識の向上によるものと示唆された。又、治療の面からも、早期診断、早期治療開始する事が望ましいと考えられた。

不妊原因別の検討の際、原因が1つである単独群と、多岐に渡っている複合群とに分類し比較した。Hühner

test異常を除き、他の全ての原因について、単独群の妊娠率が高率であった。Hühner test異常の例が複合群の方が妊娠率がやや高かった理由については今後検討を要する。

最近の内分泌学の著しい進歩により、不妊原因のうち卵巣因子(黄体機能不全症、無排卵性周期症、無月経Ⅰ度、無月経Ⅱ度)の占める割合は、他機関においても増加して来ている⁴⁾。当科においても前回昭和50年~51年の検討では卵巣因子を含む症例は17.8%に対し¹⁾、今回の検討では58.5%と著しく増加していた。これは従来、機能的な不妊と診断されて来た症例の不妊原因が、ホルモン測定などの進歩と共に徐々に解決されて来たためと考えられる。

不妊原因として卵巣因子を含む症例の妊娠率は26.5%であり、不妊症全体の妊娠率とほぼ同程度であったが、卵巣因子のみが原因と考えられるものの妊娠率は34.5%と有意(p<0.05)に妊娠率の増加を認めた。これは、種々の排卵誘発剤の有効な使用方法に加えて、無月経Ⅱ度に対してHMG-HCG療法が一般化されつつある事に起因すると考えられた。

不妊治療の治療効果の判定には、妊娠に至った周期の治療に着目するだけでなく、治療継続中の総周期の検討が望ましい。従って他の不妊原因を合併しない卵巣因子単独群87例における治療総周期465周期を、基礎体温表に基き、卵巣因子の程度に分類し検討した。

黄体機能不全症においては、経口排卵誘発剤投与により、基礎体温上においては周期の改善をみるが、休薬により妊娠率の向上を認めた。これは、黄体機能不全が排卵障害の程度が比較的軽い事、逆にClomiphene投与では、多発性に卵巣が腫大すること、あるいはそれらが、無排卵性黄体(luteinized unruptured follicle)となる可能性もあり、そのためホルモンバランスのくずれが生じ、結果的には、妊娠に結びつきにくいと考えられる。しかしClomiphene投与の翌周期にはその繰越効果⁸⁾により、有効な自然排卵が発来する可能性が大きくなること、そしてその際Clomipheneによる頸管粘液の悪化作用がなくなり、休薬による妊娠率の向上を認めると考えられた。

無排卵性周期症、無月経Ⅰ度においては、経口排卵誘発剤投与により各々、45.0%、64.3%の有効な排卵周期を得たが、休薬すると排卵率、妊娠率は著しく低下した。この排卵率は、他機関の報告に比し低率である^{8,9)}。これは、少量のClomiphene(50mg)投与では、有効排卵周期を得られないため徐々に段階的に投与量を増量し、多量のClomiphene(150mg)投与で初めて有効排卵周期を得た症例が多いためと考えられた。従って無排

卵性周期症、無月経Ⅰ度においては、その排卵障害の程度により Clomiphene の投与量を増量し、それを維持すべきであり、休薬はあまり有効でないと考えられた。今後は、個々の症例における経口排卵誘発剤の投与量の比較検討が課題になると示唆された。

排卵障害の最も強いとされる無月経Ⅱ度においては、経口排卵誘発剤多量投与により、ただ1例の妊娠例を認めたが、やはり経口排卵誘発剤投与は、長期投与にてもその効果は期待できなかつた。無月経Ⅱ度に対してのみ HMG-HCG 療法についての検討をすると、総周期に対する有効排卵周期率は44.1%、妊娠率は10例中6例(60%)と、経口排卵誘発剤の治療に比し著しく高率であつた。妊娠例6例の内訳としては、全例が hypogonadotropic hypogonadism であり、hypergonadotropic hypogonadism に投与しても無効であつた。

以上の事により、卵巣因子の治療法としては、黄体機能不全症には、Clomiphene 使用後の休薬を、無排卵性周期症、無月経Ⅰ度については、Clomiphene の連続投与を、無月経Ⅱ度(そのうち、hypogonadotropic hypogonadism)については、HMG-HCG 療法が最適であると結論された。他剤併用療法については、十分な効果を挙げるに至らなかつたが、この点については今後さらに検討を行う予定である。

文 献

- 1) 藤村健次, 相良裕輔, 野上一郎, 秋本暁久, 関場 香: 当教室における不妊外来統計, 日不妊会誌, 24: 74, 1979
- 2) 白川光一, 熊本有宏, 丸木陽子, 昇 幹夫: 当科不妊外来における妊娠例の臨床的分析, 日不妊会誌, 23: 361, 1978
- 3) 東出香二, 下須賀洋一, 万羽 進, 成田 収: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊会誌, 22: 208, 1977
- 4) 松山明美, 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, 日不妊会誌, 26: 314, 1981
- 5) 三村三喜男, 小川統久, 池内政弘, 中村光治, 山口賢二, 菱田克己: 当科における最近5年間の不妊症の臨床統計, 日不妊会誌, 24: 508, 1979
- 6) 馬嶋恒雄, 中居光生, 西島正博, 黒江美智子, 尾崎周一, 前田 徹: 当院不妊外来登録患者の妊娠予後の検討, 日不妊会誌, 24: 185,
- 7) 三上正憲, 植村次雄, 鈴木直行, 高口二郎, 塩島会儀: 日不妊会誌, 22: 203, 1977
- 8) 東上秀登: 経口排卵誘発剤の応用法とその限界, 産婦人科の実際, 30: 377, 1981
- 9) 小林俊文: Clomiphene 療法と妊娠: 産婦人科の世界, 29: 1333, 1977
- 10) Koninckx, P. R., Moor, P. De. and Brosens,

I. A.: Diagnosis of the luteinized unruptured follicle syndrome by steroid hormone assays on peritoneal fluid, 87: 929, f1980.

Clinical study of ovulation induction on the infertile patients

Naoko Shirakawa, Nobutaka Yoshida, Yasuyuki Suzuki, Kiyoshi Urabe, Nobuyoshi Hayashi, Koji Hayata, Tsuneko Kamada, Tai Tun Lin, Kenji Shimizu, Shunzo Kobayashi, Teruhisa Akimoto and Kaoru Sekiba

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University Medical School

Analytical study was conducted on ovulatory disturbances of infertile patients who visited Okayama University during a year of 1980.

In this year, 342 patients were treated and 89 of them became successfully pregnant (26.0%). Out of 342 patients, 87 had only ovulatory disturbance, 113 had ovulatory disturbance complicated with other causes of infertility and the remainders had other causes.

Eighty-seven patients were divided into 3 groups and their individual cycles were investigated.

1) Inadequate Luteal Phase: Total number was 28. Normal ovulatory cycles were observed in 72.9% of them during Clomiphene and Cyclofenyl (BLS) administration, and 4 became pregnant. On the successive cycles after administration, 54.4% of 28 cases continued normal cycles and 5 become pregnant.

2) Anovulatory Cycles and 1st Grade Amenorrhea: Total number was 43. Normal cycles were observed in 51.9% of them during CLS treatment, but decreased to 15.0% after interruption of CLS treatment. 10 cases of anovulatory cycles and one of 1st grade amenorrhea turned to be pregnant respectively.

3) Second Grade Amenorrhea: Total number was 16. Only 17.5% of them showed ovulatory cycles during CLS treatment and only one pregnancy was recognized. But 6 patients became pregnant during HMG administration.

From this study, it was confirmed that CLS treatment was effective not only during but also after administration on Inadequate Luteal Phase. But it was not recognized in other groups, therefore further treatments such as HMG were thought to be necessary.

(受付: 昭和58年5月13日)

ヒト卵胞発育, 排卵現象に関する臨床的研究

—超音波断層法と内分泌学的相関—

Clinical Study on the Human Follicular Development and Ovulation: Correlation of Ultrasound and Endocrinologic Assessment

旭川医科大学産科婦人科学教室 (主任: 清水哲也教授)

千 石 一 雄

Kazuo SENGOKU

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

不妊症患者を対象とし, 超音波断層法による卵胞発育と血中 E_2 値の相関ならびに超音波断層上の排卵と E_2 , LH 値との経時的関係について検討を行なった。さらに, 婦人科手術患者を対象とし, 超音波卵胞計測値と開腹時卵胞実測値の比較検討および卵胞液中 steroid 値, 腹腔液 steroid 値の測定を試み, 以下の結果を得た。

(1) 超音波断層法による卵胞検出率は 83.6% であり, また卵胞数と末梢血 E_2 値が相関することが示唆された。

(2) 超音波断層像上の排卵は LH peak 後24時間以内に69.0%, E_2 peak 後48時間以内に65.2%に観察された。

(3) 超音波卵胞計測値と開腹時卵胞実測値との間に高い相関を認め, さらに超音波卵胞計測値16mm 以上の卵胞は E_2 , P. 値とも高値を示した。

(4) 排卵後のダグラス窩液貯留像を41.8%に認め, この時の腹腔液 steroid 値は高値を示した。

以上より超音波断層法により排卵診断, 排卵時刻の予測が可能であることを明らかにし, 超音波診断がヒト排卵現象の解明に寄与することを示唆するものと考えられる。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 35-46, 1984)

I 緒 言

排卵現象を含めた, 卵巣の形態学的, 機能的变化を正確に把握することは, 不妊症治療上のみならず, 生殖生物学上重要な課題である。卵胞の成熟, 排卵時期に関しては, 従来基礎体温, 頸管粘液, 尿中 estrogens の定量などにより推測してきた。また, 最近の radioimmunoassay (RIA) 法の進歩にともない, 血中 LH, estradiol の測定など, 下垂体 gonadotropin の動態, 卵巣の steroidgenesis といった内分泌学的側面から検討がなされてきている。しかし, これら内分泌学的検討は卵巣の

steroidgenesis の間接的指標にすぎず, また, その判定には時間的制約をよぎなくされ, 排卵の有無の確認, 排卵時刻を正確に推定する方法は, 現在のところ確立されていない。1973年 Kratochwil¹⁾らが超音波断層法を用い卵胞発育の状態を画像工学的にとらえることが可能であることを提唱して以来, Hackelöer²⁾らを始め, 超音波断層法による排卵と内分泌学的相関に関する報告^{3,4)}が散見されるようになってきている。しかし, 超音波断層上描出された卵胞は, あくまで音響学的な差異として画像化されているものであり, *in vivo* における真の卵胞を十分に反映しているか否か, また排卵の有無についての

診断, 排卵時刻の予測に関する超音波断層法の有用性を検討した報告は少なく, 未だ明確化されていない。

本研究は, 最初に超音波断層法による排卵診断, 排卵時刻の予測を解明するため, 自然排卵群, 排卵誘発群における卵胞発育, 排卵を超音波断層法により観察し, 下垂体 gonadotropin の動態, 卵巣の steroidgenesis の相関から検討した。次で, 超音波断層法によりえられる卵胞像が実際の卵胞と相関するか否かを, 開腹時の卵胞実測値より比較検討を行なった。さらに, 卵胞成熟の推定, 排卵の有無に関する超音波断層法の有用性を, 排卵周辺期におけるダグラス窩液貯留像の観察, 卵胞液, 腹腔液内 steroid 値の測定から解析した。これらの検討に基づき, ヒト卵胞発育, 排卵現象を形態学的にとらえ現在その予防, 診断が困難とされる, gonadotropin 療法時の卵巣過剰刺激, 多排卵また luteinized unruptured follicle といった排卵機構の異常に起因する諸問題の解明における, 超音波診断法の意義に関し検討を加えた。

II 研究対象および方法

1. 対象

(1) 卵胞発育および排卵と内分泌学的相関

本研究における対象は, 昭和56年1月より昭和57年9月までに旭川医科大学附属病院産婦人科不妊症外来を受診した患者のうち, 69名, 124周期(年齢23~36歳)で, その内訳は, 排卵因子以外が不妊の原因となっている自然排卵症例33名, 52周期, clomiphene citrate による排卵誘発症例25名, 50周期, gonadotropin (HMG-HCG) による排卵誘発症例11名, 22周期である。既往における基礎体温からの予測排卵日の5日前より, 超音波断層上排卵と推定される日まで, 連日超音波断層を施行し, 卵胞発育, 排卵を観察した。また, 同時に肘静脈より採血し, 血中 LH, estradiol (以下 E_2 と略記) progesterone (以下 P. と略記) の測定を行ない, 超音波断層法による卵胞発育と内分泌学的相関を検討した。血清はホルモン測定 まで -20°C にて凍結保存した。超音波断層法による排卵時刻の推定と LH peak, E_2 peak との経時的関係については, 自然排卵群30名, 54周期, clomiphene citrate 排卵誘発群25名, 50周期の計55名, 104周期を対象とした。また, このうちの22周期については, contact compound scan と, real time scan を同時に施行し, 各々の卵胞径および排卵の診断に関し, 両測定法の比較検討を試みた。

(2) 超音波卵胞計測値と開腹時卵胞実測値および卵胞液 steroid 値の検討

超音波断層法により観察される卵胞像が真の卵胞と一致するか否かを検討するため, 婦人科手術患者31名(子

宮頸癌3例, 上皮内癌8例, 子宮筋腫15例, 子宮内膜癌3例, 卵管閉塞2例)を対象とし, 開腹前2~12時間前に超音波断層により卵胞を確認し, 超音波卵胞計測値と開腹時の実際の卵胞径との比較を行なった。さらに卵胞液吸引が可能であった19個の卵胞については, 超音波卵胞計測値, 開腹時卵胞実測値, 卵胞液 E_2 , P. 値の測定を行なった。開腹時卵胞実測値は卵胞突出部を卵巣表面より「ノギス」により計測した。卵胞液の吸引は19ゲージの注射針により行ないホルモン測定まで -20°C にて凍結保存した。

(3) 排卵周辺期のダグラス窩貯留液の検討

超音波断層法による排卵診断の正確性を排卵前後の腹腔液量ならびに腹腔液 steroid 値の推移の点から検討を行なった。45名, 55周期を対象として超音波断層上での排卵前および排卵後のダグラス窩液貯留像を観察し, 貯留像が観察可能であった周期を対象として, ダグラス窩穿刺により腹腔液を採取し, 排卵周辺期の腹腔液 E_2 , P. 値の測定を行なった。

2. 方法

(1) 超音波断層装置

本研究で使用した超音波断層装置は Aloka SSD-120B 型 contact compound scan 装置(使用プローブ周波数2.25MHz) SONOVISTA P-H real time scan 装置(使用プローブ周波数3.5MHz)で, 膀胱充満法により0.5cm 毎の縦断, 横断, および左右斜め縦断走査により子宮, 卵巣を指標として卵胞像の確認を行なった。また real time scan では卵巣動脈の拍動を観察することにより卵巣を同定し, 卵胞を描出した。卵胞径は断層写真上で最大内径とし, 実際には contact compound scan 装置の場合には, ポラロイド写真上で Kontron MOP/AOM3画像解析システムを用いて測定した。real time scan 装置では electric caliper により計測を行なった。なお, Aloka SSD-120B 型および SONOVISTA P-H の分解能は RMI 社の tissue equivalent ultrasound PHANTOM により各々距離分解能2mm 3mm, 方位分解能3mm, 3mm であることを確認した。

(2) ホルモン測定

血清, 卵胞液, 腹腔液の LH は CIS 社の RIA kit により測定を行ない, intraassay の変動係数は7.2%, interassay の変動係数は13.2%であった。 E_2 , P. は ethyl ether で抽出後, CIS 社の RIA kit により測定した。各々の抽出率は平均90.2%および91.5%であり, intraassay の変動係数は E_2 が9.8%, P. は9.5%, interassay の変動係数は E_2 が12.2%, P. は13.4%であった。それぞれの測定下限は LH 1.5mIU/ml, E_2 10pg/ml P. 0.1ng/mlである。

表 1 Diameter & Number of follicles and serum estradiol levels in spontaneous and stimulated cycles

Group	Diameter of follicles	No. of follicles	Serum E ₂ level
	Mean±SD (mm)	Mean±SD	Mean±SD (pg/ml)
Spontaneous cycles	20.6± 2.8	1.0±0.01	309.1±117.6
Clomiphene treated cycles	22.2± 2.7**	1.2±0.4*	473.6±100.4***
Gonadotropin treated cycles	19.8± 2.6	3.1±1.7***	1034.1±739.7***

* p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001

III 研究成績

1. 自然排卵群, 排卵誘発群における卵胞発育

自然排卵群と排卵誘発群の卵胞最大径, 卵胞数, 卵胞最大径時の E₂ 濃度を表 1 に示す. すなわち, 卵胞最大径については clomiphene citrate 使用群 (22.2±2.7mm, 16.5~28.0mm) では自然排卵群 (20.6±2.8mm, 16.0~26.0mm) に比べて有意に増大していた (p<0.01). しかし, gonadotropin 使用群 (19.8±2.6mm, 16.0~25.0mm) では, 自然排卵群との間に有意な差が認められなかった. また超音波断層法で観察可能であった卵胞数については, gonadotropin 使用群で有意な増加を認め (3.1±1.7, p<0.001), clomiphene citrate 群でも 1.2±0.4 と増加傾向が認められた (p<0.05). 各群にお

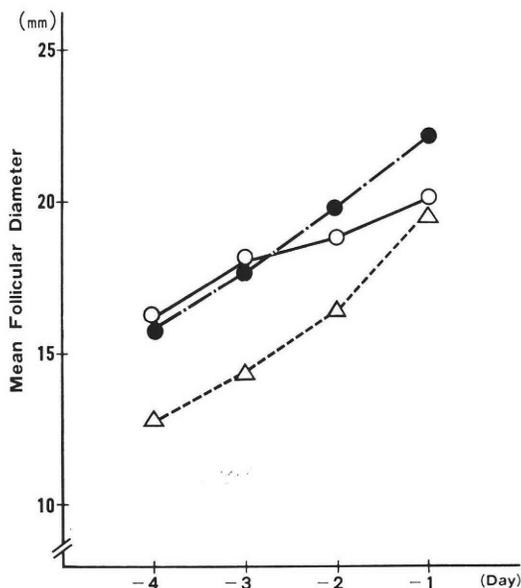


図 1 Comparison of mean follicular diameter values in clomiphene-treated (●), gonadotrophin-treated (△), and spontaneous cycles (○), during the days preceding the day of echographic follicle disappearance (Day 0)

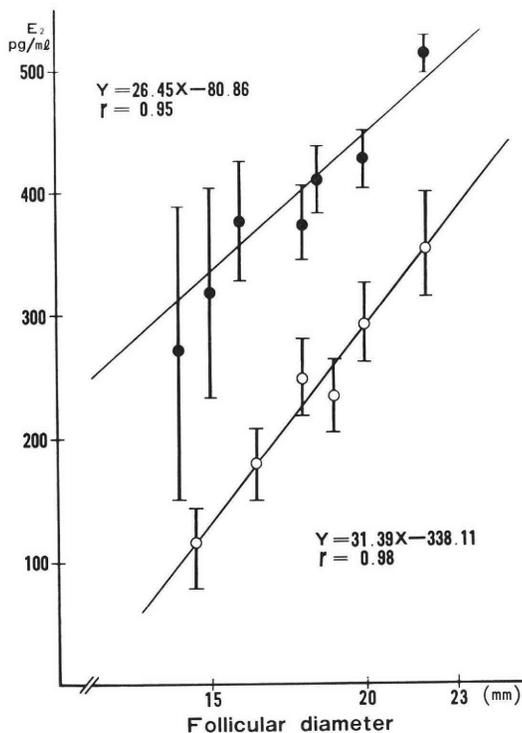


図 2 Linear regression of serum estradiol value and follicular diameter by ultrasound in spontaneous (○) and clomiphene treated cycles (●)

ける卵胞発育曲線を図 1 に示す. 卵胞は排卵にむかい最大径の増大を認めるが, 経日的卵胞増大率からみると, 排卵誘発群とくに gonadotropin 使用群は平均 2.3mm で自然排卵群の平均 1.5mm と比べ卵胞径の急速な増大傾向が認められた.

2. 卵胞発育と血中 E₂ 値との検討

次に卵胞径と血清 E₂ 値の関係を検討した成績を図 2 に示す. 図のごとく, 自然排卵群と clomiphene citrate 使用群では卵胞径と血清 E₂ 値との間に明らかな相関が認められ, 相関係数は各々 r=0.95, r=0.98 であつた.

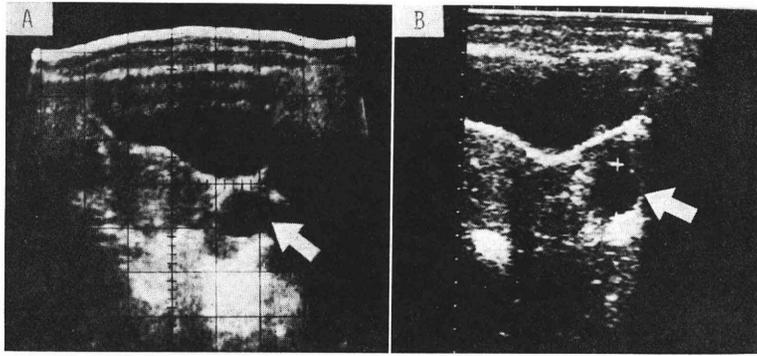


図3 A, Follicle of 22mm visible on left ovary by contact compound scan
B, Follicle of 23mm visible on left ovary by real time scan

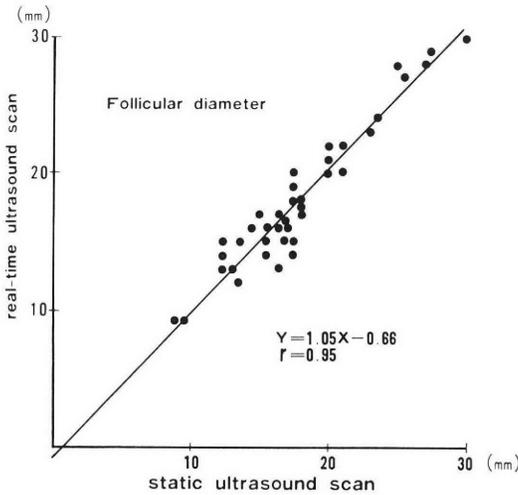


図4 Correlation between real-time ultrasound measurements of follicular diameter and static ultrasound values

しかし clomiphene citrate 群では血中 E_2 値が高く推移する傾向を示した. gonadotropin 群は血中 E_2 値が最大 $1034.1 \pm 739.7 \text{ pg/ml}$ ($M \pm S.D.$) ときわめて高値であり, かつ卵胞径と E_2 値の間には相関が認められなかった. したがって, E_2 値の増加は卵胞径より卵胞数の増加が直接関与することが推察できる.

3. contact compound scan と real time scan による卵胞計測, 排卵診断の比較検討

両装置により観察された代表的卵胞を図3に示す. 本症例の卵胞計測値は contact compound scan では22mm real time scan では23mm であつた. 両測定法による卵胞計測値を比較すると図4に示すように, 両者の差の平均1.2mm であるが, 回帰直線 $Y = 1.05X - 0.66$ ($Y = \text{real time scan}$ による卵胞計測値, $X = \text{static scan}$ による卵胞計測値), 相関係数 $r = 0.95$ と非常に高い相関を示した. したがって, 検査法が簡易で臨床的に普及して

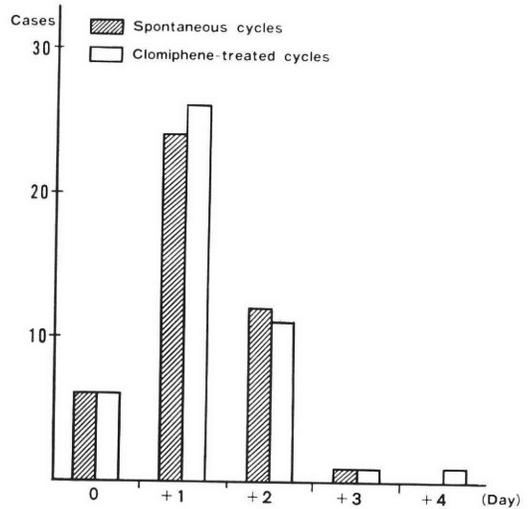


図5 Frequency distribution of the ultrasonic ovulation from LH peak (Day 0) in spontaneous and clomiphene treated cycles

いる real time 装置でも, 卵胞発育・排卵を観察することは実用上何ら問題のないことを示す成績と考えた.

4. 超音波断層により推定された排卵時刻と LH peak, E_2 peak との相関

超音波断層法による排卵時刻と LH peak, E_2 peak との経時的相関の検討において, 卵胞発育, 排卵を超音波断層法で観察可能であつたのは104周期中87周期 (83.6%) であつた. 超音波断層像上認められる (1) 卵胞の消失 ($n = 41$) (2) 内部 echo の増強 ($n = 29$) (3) 囊胞壁の不整化 ($n = 17$) などの形態的特徴を排卵の診断基準とした. また, LH peak, E_2 peak をとらえることができたのは各々84周期 (80.7%), 77周期 (74.0%) であつた. 図5に超音波断層の排卵日と LH peak との関係自然排卵群, clomiphene citrate 群の両群について示す. 両群の間に有意な時間差は認められなかつた. 超音波断

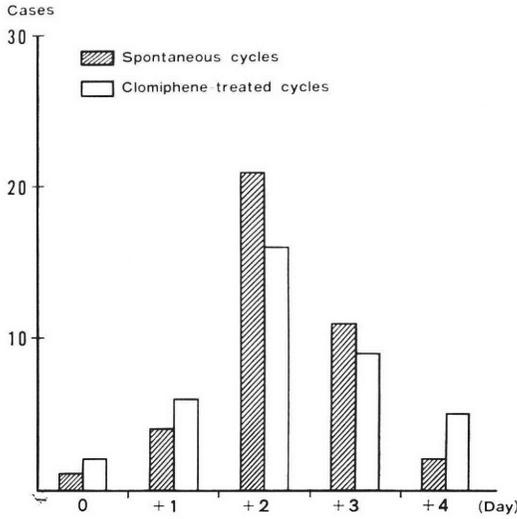


図 6 Frequency distribution of the ultrasonic ovulation from E₂ peak (Day 0) in spontaneous and clomiphene treated cycles

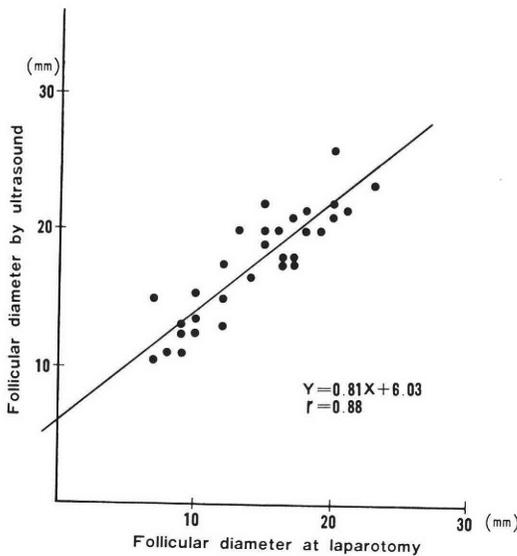


図 7 Correlation between the ultrasound and laparotomy assessment of prevulatory follicles

層像により推定した排卵は、LH peak の翌日に観察されることが最も多く、84例中50例 (59.5%) で LH peak 当日が8例 (9.5%)、2日後が23例 (27.4%)、3日後が2例 (2.4%)、4日後が1例 (1.2%) に排卵が推定され、LH peak 後24時間以内に自然排卵群では41例中28例 (68.3%)、clomiphene citrate 群では43例中30例 (69.8%) に超音波断層で排卵が観察された。

E₂ peak と超音波断層での排卵との関係を図6に示す

が、LH と同様に両群の間に差は認められず、E₂ peak の2日後に排卵が最も多く観察され、77例中37例 (48.1%)、つづいて3日後20例 (26.3%)、1日後10例 (13.2%)、4日後7例 (9.2%)、E₂ peak 当日3例 (3.9%) に超音波断層像上排卵が推定された。したがって E₂ peak の48時間以内に自然排卵群では39例中26例 (66.7%)、clomiphene citrate 群では38例中24例 (63.2%) に排卵を認めた。

5. 超音波卵胞計測と開腹時卵胞実測値、卵胞液 steroid 値との検討

超音波卵胞計測と開腹時卵胞所見との比較において、開腹前の超音波卵胞計測値 (10.5~26.0mm) は31例中、全例、いずれも開腹時実測値 (7.0~23.0mm) よりも大きく、その差は平均で3.2mm であつた。しかし両者の間には図7に示すように回帰直線 $Y = 0.81X + 6.03$ ($Y =$ 超音波計測値, $X =$ 開腹時実測値), $r = 0.88$ と高い相関を認め、超音波卵胞計測値は真の卵胞径と近似または一致することが実証された。

また、卵胞液中の steroid 濃度と超音波断層によつてえられた卵胞径を比較すると、図8に示すように、超音波計測値が16mm 以上の卵胞では1例を除いて、E₂ 値938

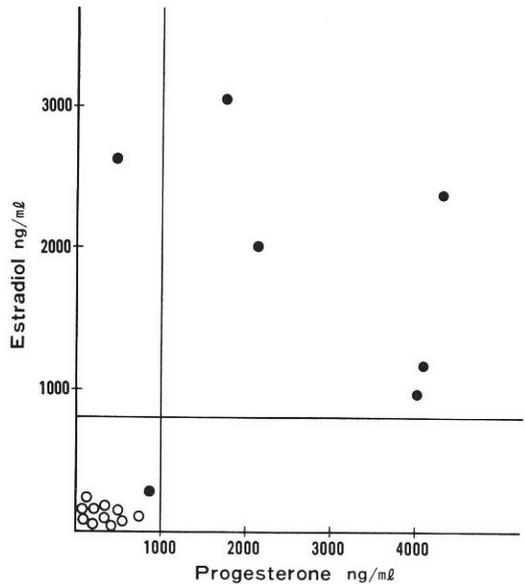


図 8 Correlation between estradiol and progesterone in follicular fluid
 ● follicular diameter > 16mm
 ○ follicular diameter < 16mm

~3054ng/ml, P. 値450~4000ng/ml 以上と高値を示し、これらは成熟卵胞と見なすことができる。これに対して、16mm 以下の卵胞では E₂ 値50~242ng/ml, P. 値

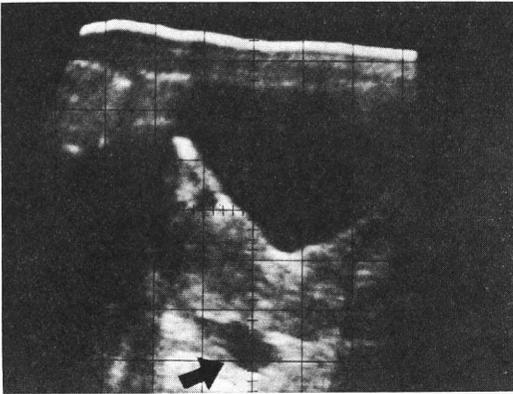


図9 Fluid in cul-de-sac, postovulation

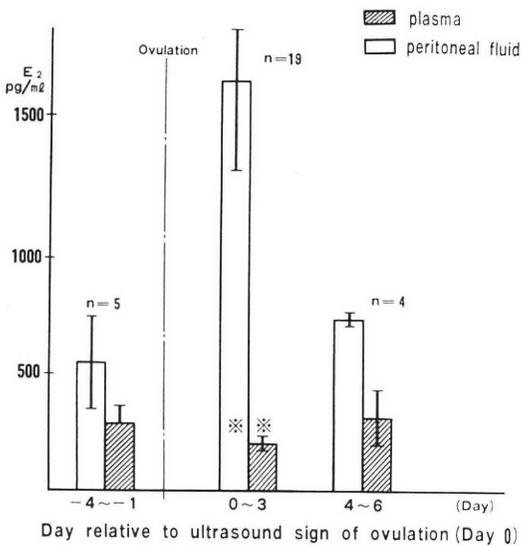


図10 Concentration of E₂ in peritoneal fluid and plasma during periovulatory period ※ p<0.01

30~870ng/ml と明らかに前者に比べて低値を示し、これらは閉鎖過程にある卵胞であると推測された。

6. 排卵周辺期のダグラス窩液貯留像および腹腔液steroid 値の検討

排卵前後のダグラス窩液貯留像は55周期中28周期(50.9%)に観察され、そのうち超音波断層像での排卵後に著明なダグラス窩貯留像が観察されたのは23例(41.8%)であった(図9)。ダグラス窩穿刺により採取された腹腔液の排卵前後のE₂, P. 値および血清E₂, P. 値を図10, 図11に示す。超音波断層像上の排卵前の腹腔液E₂ 値は557.8±198.0pg/ml (M±S. E.)で血清E₂ 値285.3±84.5pg/ml (M±S. E.)に比し、やや高値を示し、排卵後腹腔液E₂ 値は1775.7±382.2pg/ml と急激に増加し (p<0.01), 血清比も8.8倍の高値となり以後漸

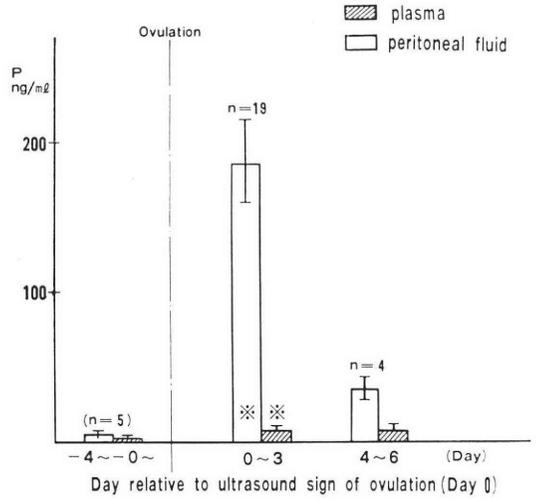


図11 Concentration of P. in peritoneal fluid and plasma during periovulatory period ※ p<0.01

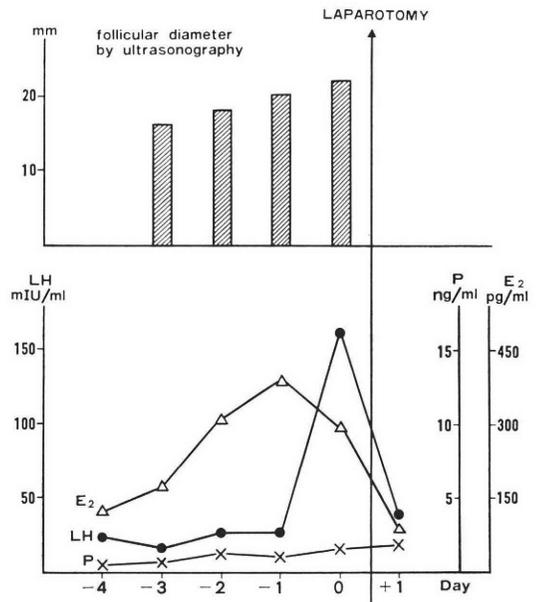


図12 Serial estimations of LH, E₂, and P in serum and follicular diameter by ultrasonography

減した。腹腔液 P. 値は超音波断層像上の排卵前4.4±1.1 ng/ml に比し、排卵後186.0±29.5 ng/ml と高値 (p<0.01) となり、血清比約23.1倍を示し、以後E₂ 同様漸減する傾向を認めた。

超音波断層法による卵胞発育と血中LH, E₂, P. 値の推移に関し1例を図12に示し、その症例の超音波卵胞像、開腹時の卵胞および卵胞の組織所見を図13に示した

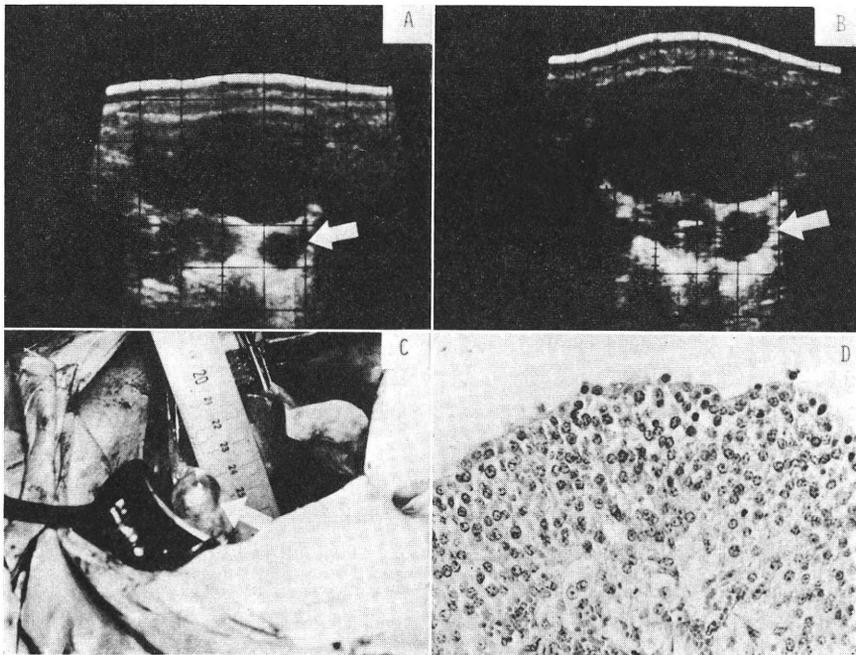


図 13 A & B, Sequential ultrasonograms of a developing follicle
 A, Follicle diameter 16.5mm (Day-3)
 B, Follicle diameter 22mm (Day 0)
 C, At laparotomy, a 21mm follicle in the left ovary
 D, Microscopic appearance of this mature follicle

LH peak 3 日前の超音波卵胞計測値は16.5mm であり、E₂ peak の翌日に LH peak が出現し、この時の卵胞は22mm であつた。LH 測定時より6時間後、超音波卵胞計測より3時間後の開腹時卵胞実測値は21mm であつた。この卵胞の組織像では顆粒膜細胞の重層化、配列の乱れが認められ、莖膜細胞層は細胞質の肥大、出血を認め、初期黄体化を示しており破裂直前の卵胞と考えられる。なお、卵胞液 E₂ 値は937ng/ml、P. 値は4300ng/ml であり、この点からも十分成熟した卵胞であることが推測された。

IV 考 案

1. 卵胞発育および排卵と内分泌学的相関

超音波断層法による卵胞の描出は膀胱充滿法による骨盤内臓器の検索により、子宮を指標として観察できる。さらに、real time scan では卵巣動静脈の拍動より卵巣を同定し卵胞が確認できる。卵胞は low density echo で均一な卵巣組織に囲まれた cystic echo 像として描写され経時的に径の増大を認め、排卵を契機として cystic echo 像の消失、壁の不整化、内部 echo の増強という Queenan⁶⁾らが提唱した、排卵および初期黄体像と考えられる形態を示す。しかし全例に卵胞を観察することは、かならずしも容易ではなく、肥満、骨盤内癒着、卵

巢の位置異常といった対象の条件、また技術的な熟練度などの影響も受けることから、卵胞検出率は30~100%と報告^{3,5)}によつて異なつている。本研究における卵胞の検出率は83.6%である。

超音波装置の面では、静止断層法と実時間断層法の両装置による卵胞発育の観察結果が多数報告^{6,7)}されている。しかし、real time scan は static scan に比べ動態観察には優れているが、分解能、面質の面で劣り、卵胞計測などの静止画像の観察には適さないとされている。また両装置による卵胞径の測定精度についての比較検討は O'herlihy⁷⁾の報告のみである。本研究での検討では両装置による卵胞計測値には $Y=1.05X-0.66$ 、 $r=0.95$ と高い相関を認め、両測定法に有意の差がないことが確かめられ、排卵の形態、時期も両装置で一致し、使用法が簡易で一般的な real time scan でも卵胞を十分観察可能であることを示した。

超音波断層法による卵胞発育の観察では、自然排卵群と排卵誘発群との間に卵胞発育の差異が認められ、排卵誘発群は経目的に急激な卵胞径の増大を示した。最大卵胞径に関しては、自然排卵群 ($20.6 \pm 2.8\text{mm}$) では、これまでの多くの報告と一致した。また clomiphene citrate 群 ($22.2 \pm 2.7\text{mm}$) では卵胞径は有意に大きく ($p < 0.01$)、gonadotropin 群では最大卵胞径は自然排卵群と

の間に差は認められなかつた。これは gonadotropin 群では卵胞径が16mm以上に達すれば、当然のことながら十分排卵可能と推測されるので HCG へ切り換えたためと考えられた。また、各群における卵胞数の検討では、自然排卵群 1.0 ± 0.01 に比し clomiphene citrate 群では 1.2 ± 0.4 ($p < 0.05$)、gonadotropin 群では 3.1 ± 1.7 ($p < 0.001$)と排卵誘発群で著明に卵胞数が増加し、とくに gonadotropin 群では15mm以上の成熟卵胞数も 1.9 ± 1.0 と増加した⁹⁾。卵胞径と血中 E₂値の両者の相関を検討すると、自然排卵群、clomiphene citrate 群で直線的な相関を示し、それぞれ相関係数 $r = 0.98$, $r = 0.95$ で卵胞径の増大にともない血清 E₂値は増加を認めるが、gonadotropin 群では卵胞径が小さいにもかかわらず高い E₂値を示し相関を認めなかつた。現在、血清 E₂の主な産生源は成熟卵胞であるとされている⁹⁾。卵胞の発育にともない、顆粒膜細胞に FSH receptor が出現し、FSH と estrogens により顆粒膜細胞の増殖が促進され、さらに FSH が LH receptor の出現を刺激することにより卵胞は成熟をとげるとされている。卵胞内では内茨膜細胞が LH receptor の存在下に LH の刺激により CAMP の活性が促され、cholesterol より androgens が合成される。合成された androgens は基底膜を通過し顆粒膜細胞に運ばれ、そこで aromatization をうけて estrogens に変換され、また変換された estrogens は再び基底膜を通過し血管系に放出されるとする two cell type theory が estrogens の合成機序を説明する1つと考えられている。さらに排卵が近づくにつれ、LH は FSH の存在下に自ら LH receptor を増加させ、排卵前には100倍以上の増加を示す。このようにして LH surge が起きると、顆粒膜細胞での 3β -hydroxysteroid-dehydrogenase の活性化により pregnenolone から progesterone の合成が促進され、血中 progesterone の増加をきたすとする説が種々の実験結果から卵胞での steroidogenesis の機序として報告¹¹⁾されている。一方、卵胞の閉鎖過程においては、androgens の増加が主要な役割を演じている可能性が示唆されており¹²⁾、この androgens の増加は顆粒膜細胞での LH receptor の減少により androgens から estrogens への変換が不十分なものとなり、生じると考えられている。また、卵胞液中に存在し下垂体レベルに作用して FSH の減少をもたらすとされる inhibin、他に LI (luteinization inhibitor) などの非ステロイド性調節因子が視床下部——下垂体——卵巣系の調節機構および卵巣レベルで直接、卵胞発育、閉鎖過程に関与していることも考えられている。これらの点から考えれば、外因性に投与される gonadotropin、clomiphene citrate が視床下部——下垂体——卵巣系で

の単一卵胞成熟機構に影響をおよぼし、超音波断層像により観察されるように、排卵誘発群では卵胞数の増加をきたす。したがって、このような高い steroid 濃度を有する卵胞数の増加が血中 E₂値に反映したとも考察された。また Haning¹³⁾らの gonadotropin 誘発例で血中 E₂値は卵巣の大きさ、全卵胞量と相関するという報告もあり、gonadotropin 群では血中 E₂値は卵胞最大径よりも卵胞数と相関すると考えられる。しかし、著者らの成績⁹⁾では、全卵胞数と血中 E₂値の間には多少の相関を認めるにすぎなく、超音波断層装置の分解能からも観察可能な卵胞には限界があり、小卵胞においても血中の100倍近い E₂濃度を含んでいることも考え合わせると、この点については、さらに検討が必要であろう。

排卵時刻の推定は現在、下垂体 gonadotropin 卵巣性 steroid hormones の測定が最も正確な指標とされており、200pg/ml以上の高濃度の E₂が36時間前後作用することにより、視床下部の cyclic center に働き positive feedback 機構を介し、LH surge が開始し、引きつづいて peak を形成して排卵に至る。これまで LH peak から排卵までの時間は、黄体の日付診との相関から、Yussman¹⁴⁾らは16時間、Pauerstein¹⁵⁾らは 9 ± 2 時間、Korenman¹⁶⁾は大部分24時間以内と報告している。最近の WHO¹⁷⁾の報告では16.5時間(9.5~23時間)、Seibel¹⁸⁾は LH peak 後13~26時間後に排卵がおきるとしている。一方、E₂ peak との関係では Pauerstein¹⁵⁾は E₂ peak 後 34 ± 3 時間、WHO¹⁷⁾の報告では24.0(16.9~32.1)時間後に排卵が認められると述べている。超音波断層法を用いた検討では、Renaud らは10例中3例が LH peak 当日に、残り7例が翌日に超音波断層像から排卵が観察され、E₂に関しても10例中3例が E₂ peak 当日に残り7例が E₂ peak 後48時間までに排卵が観察されたと報告している。また、Testart¹⁹⁾らは、clomiphene citrate 使用群では排卵が遅延する可能性を示唆しているが、本研究の検討では自然排卵群と clomiphene citrate 群との時間差は認められず、それぞれ LH peak 後24時間以内に68.3%、69.8%に排卵を観察した。E₂ peak と超音波断層像上の排卵は E₂ peak 当日から4日後までに分布しているが、自然排卵群、clomiphene citrate 群において LH 同様、両群に差はみられず48時間以内に66.7%、63.2%と大部分に排卵が推定された。以上の成績より、超音波断層法による排卵診断と血中の hormone 動態とは良く相関し、超音波断層法によっても十分排卵が診断可能であることを示した。また、超音波断層法は生体への非侵襲性、時間的経済性、繰り返し検索が可能であるという特徴を有し、この点からも内分泌学的測定に比べ、超音波断層法により、より正確な排卵時

刻の診断が可能であると考えられる。一方、排卵時刻を pin point で予測するという課題に対しては、Bryce²⁰⁾らの卵胞径が20mm に達した後、 1.4 ± 1.2 日以内に排卵がおこるとする報告はあるが、本研究でも示しているように、最大卵胞径は自然排卵群 (16.0~26.0mm)、clomiphene citrate 群 (16.5~28.0mm) で著明な幅を示し、したがって現状では超音波断層法のみで正確に排卵時刻を予測することは容易ではないと考えられる。しかし頻回の操作の繰り返しにより、排卵時刻の推定が可能になりうることも推測され、この点については今後の課題である。

2. 超音波卵胞計測値、開腹時実測値、卵胞液 steroid 値の比較検討

さて、超音波断層法によつてえられる卵胞計測値については、実際の卵胞をどの程度反映しているのか、その検討は少ない。O'herlihy²¹⁾らは腹腔鏡による卵胞液量と超音波計測の検討で、超音波法により求められる卵胞の体積が吸引卵胞液量より大きく測定される傾向を認め、また Kerin²²⁾らも超音波法による卵胞径が平均1.3 mm、吸引液量との比較においても1.1ml 大きいと報告している。本研究では超音波法による卵胞径と開腹時の実測径の比較を行なつたところ、超音波計測値が開腹時実測値に比し大きく測定され、その差の平均は3.2mm であつた。両者の差異の最大の原因としては、卵胞の大部分が卵巣内に埋没しており、卵巣表面からの計測では正確に卵胞最大径を測定されない可能性があげられる。その他に超音波装置の分解能、electric caliper の精度、また症例によつては、肥満などの条件により卵胞壁の境界をはつきり描写不能であつたことが原因に寄与している可能性がある。しかし、切除可能であつた卵胞においては、卵巣内に埋没していた部位の最大径は超音波計測値と一致する結果をえた。したがって卵巣表面からの測定では卵胞径は小さく測定されるが、実際の卵胞を十分反映していると考えられる。いずれにしても、 $Y = 0.81X + 6.03$, $r = 0.88$ と高い相関を認め、超音波断層法による卵胞が真の卵胞とよく近似または一致していることを示す成績であつた。

卵胞液 steroid の測定が可能であつた19個の卵胞の検討では、超音波計測値16mm 以上の卵胞は1例を除き、 E_2 値938~3054ng/ml、P. 値450~4000ng/ml 以上の高値を示し、庄司²³⁾、Baird²⁴⁾らが述べている十分成熟した後期卵胞期における卵胞と考えられた。このような卵胞内で dictyate 期で停止していた卵子は LH surge 後 germinal vesicle の崩壊に始まる減数分裂が再開し、第2減数分裂中期で排卵に至る。この卵子の成熟過程に対しては、LH の成熟促進作用など下垂体 gonadotropin によ

る調節、また OMI (oocyte maturation inhibitor) などの非ステロイド性調節因子の関与が推定されている。これに対し steroid hormones には成熟抑制作用があると報告²⁴⁾や、正常の卵胎形成に関与するなどの報告²⁵⁾がみられ、その作用は未だ解明されていない。しかし、非常に高濃度の steroid hormones を有する環境内で卵子の成熟が惹起されることから、何らかの重要な役割を果していると推測される。しかも高い E_2 , P. 濃度を含む卵胞から採取した卵子の受精能が高いとする、*in vitro* での報告²⁶⁾もあり、超音波断層法による経時的な卵胞発育の観察は、卵胞、卵子の成熟度の推定、*in vitro* fertilization における卵子の採取時期の決定にも有用であることが示唆された。さらに、本研究から超音波画像上の卵胞径16mm が成熟卵胞を推定する1つの指標になることを明らかにした。

3. 排卵周辺期のダグラス窩液貯留像、腹腔液 steroid 値の検討

腹腔液は卵管分泌物、卵巣、腹腔よりの漏出液、排卵開口部 (stigma) からの卵胞液の漏出によるものと考えられ、Novak²⁷⁾がその存在を提唱して以来数々の報告をみる。Maathuis²⁸⁾、Konincky²⁹⁾らは排卵後の腹腔液量の増加、腹腔液 steroid 値の増加を報告し、腹腔液の高い steroid 濃度は卵の成熟、受精、卵管内輸送に重要な役割をもつ可能性を報告している。また、排卵後の腹腔液の超音波断層法による観察では、Han³⁰⁾らの40% (8/20)、Marinho³¹⁾らの12% (6/46) に排卵後ダグラス窩に液貯留像を観察しえたとする報告が散見される。著者の検討では42% (23/55) に排卵時ダグラス窩に著明な液貯留像が観察可能であつた。ダグラス窩穿刺により採取可能であつた腹腔液の E_2 値は、排卵前 557.8 ± 198.0 pg/ml に比し超音波法による排卵推定後0~3日では 1775.7 ± 383.2 pg/ml と有意な増加を示し ($p < 0.01$)、その後漸減した。P. 値も排卵前 4.4 ± 1.1 ng/ml で、排卵後は 186.0 ± 29.5 ng/ml と高値 ($p < 0.01$) を示し、その後ある程度高値を持続する。排卵後の腹腔液と血清の E_2 , P. 比は、各々9倍、23倍と増加し、Donnez³²⁾らの報告とも一致した。以上のことは、超音波断層法による排卵の推定が排卵後の卵胞液の漏出による腹腔液 steroid 値の増加という、生化学的な事実とも一致し、超音波断層法による排卵の推定が真に排卵をとらえていることを示すものと考えられる。なお、Konincky³³⁾らは排卵後の腹腔液 steroid 濃度が、腹腔鏡下で stigma の確認されるものとされないものとの間に差があり、luteinized unruptured follicle (L. U. F.) の診断に有用であることを示している。本研究の検討では、血中 P. 値の増加、基礎体温の上昇にも関わらず、超音波断層図上で卵胞が存続した症

例を経験した。その症例の腹腔液 E₂ 値は88pg/ml, P. 値は8.2ng/ml と低値で, Coulam⁸⁴⁾, 佐藤⁸⁵⁾らの L. U. F. の超音波断層像とも良く一致し, これまで腹腔鏡以外診断が困難とされている L. U. F. に対しても, 超音波断層法によれば, 容易かつ高精度の診断が可能であることを示唆するものである。

以上, 本研究の開腹時卵胞所見, 卵胞液 steroid 値, ダグラス窩貯留液を含めた自然排卵周期, 排卵誘発周期における, 超音波断層法による卵胞発育, 排卵の診断は, 超音波断層法による卵胞の観察が真の卵胞, 排卵現象を正確に把握可能であることを明らかにしたのといえよう。また, 不妊症治療上において AIH, AID の timing, *in vitro* fertilization 時の成熟卵の採取, 排卵誘発患者における卵巣過剰刺激, 多排卵といった問題などに関し予防できる可能性を示唆し, さらに L. U. F. などの生化学的には確認困難であつた原因不明の不妊症の解明に貢献するものと考えられた。

撰筆するに当り御懇篤な御指導, 御校閲を頂いた清水哲也教授, 御助言, 御協力を賜つた石川睦男, 田中邦雄両講師に深甚の謝意を表します。

本研究の一部は文部省科学研究費(課題番号57490001)によるものである。

文 献

- 1) Kratochwil, A., Orban, G. and Friedrich, F.: Ultrasonic tomography of the ovaries. *Ann. Chir. Gynaecol. Fenn.* 61: 211, 1972
- 2) Hackelöer, B. J., Nitschke, S. and Daume, E.: *Ultraschalluntersuchung von ovarveränderungen bei gonadotropin stimulierung.* *Geburtsch. Frauenzeitschr.* 37: 185, 1978
- 3) Renaud, R. L., Macler, J., Dervain, I., Ehret M. C., Aron, C., Roser, S. P., Spira, A. and Pollack, H.: Echographic study of follicular maturation and ovulation during the normal menstrual cycle. *Fertil. Steril.* 33: 272, 1980
- 4) 石川睦男, 田中邦雄: 超音波断層法による卵胞発育の観察, 産婦人科, *Mook*, 20: 75, 1982
- 5) Queenan, J. T., O'Brien, G. D., Bains, L. M., Simpson, J., Collins, W. P. and Campbell, S.: Ultrasound scanning of ovaries to detect ovulation in women. *Fertil. Steril.* 34: 99, 1980
- 6) 千石一雄, 石川睦男, 山下幸紀, 溝口久富, 笠茂光範, 清水哲也, 田中邦雄: 超音波断層法による卵胞発育, 排卵時刻の推定, *日産婦誌*, 34: 2205, 1982
- 7) O'herlihy, C., Crespigny, L. J. and Robinson, H. P.: Monitoring ovarian follicular development with real-time ultrasound. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 87: 613, 1980
- 8) 千石一雄, 石川睦男, 笠茂光範, 溝口久富, 山下幸紀, 田中邦雄, 清水哲也: 超音波断層法による排卵誘発例の monitoring, *日超医論文集*, 41: 725, 1982
- 9) Baird, P. T. and Fraser, I. S.: Concentration of oestrone and oestradiol in follicular fluid and ovarian venous blood of women. *clin. Endocrinol.* 4: 259, 1975
- 10) Armstrong, D. T.: *Ovarian follicular development and function*, edited by A. R. Midgley and W. A. Sadler, Raven Press, New York, 1979
- 11) Friedrich, R., Breitenacker, G., Salzer, H. and Holzer, J. H.: The progesterone content of the fluid and the activity of the steroid-3 β -ol-dehydrogenase within the wall of ovarian follicles. *Acta. Endocri.* 76: 343, 1974
- 12) Louvet, J. R., Harman, S. M., Schreiber, J. R. and Ross, G. T.: Evidence for a role of androgens in follicular maturation. *Endocrinol.* 97: 366, 1975
- 13) Haning, R. V., Austin, C. W., Kuzma, D. L., Shapiro, S. S. and Zweibel, W. J.: Ultrasound evaluation of estrogen monitoring for induction of ovulation with menotropins. *Fertil. Steril.* 37: 627, 1982
- 14) Yussman, M. A. and Taymor, M. L.: Serum levels of follicle stimulation hormone and luteinizing hormone and of plasma progesterone related to ovulation by corpus luteum biopsy. *J. Clin. Endocr.* 30: 396, 1970
- 15) Pauerstein, C. J., Eddy, C. A., Croxatto, H. D., Hess, R., Siler-Khodr, T. M. and Croxatto, H. B.: Temporal relationships of estrogen, Progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 130: 876, 1978
- 16) Korenman, S. G. and Sherman, B. M.: Further studies of gonadotrophin and estradiol secretion during the preovulatory phase of the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36: 1205, 1973
- 17) World Health Organization Task Force Investigators: Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol-17 β , luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and progesterone. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 138: 383, 1980
- 18) Seibel, M. M., Smith, D. M., Levesques, Borten, M and Teymor, M. L.: The temporal relationship between the luteinizing hormone surge and human oocyte maturation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142: 568, 1982

- 19) Testart, J. and Frydman, R. : Minimum time lapse between luteinizing hormone surge on human chorionic gonadotropin administration and follicular rupture. *Fertil. Steril.* 37 : 50, 1982
- 20) Bryce, R. L., Shuter, B., Sinosich, M. J., Stiel, J. N., Picker, R. H. and Saunders, P. M. : The value of ultrasound, gonadotropin, and estradiol measurements for precise ovulation prediction. *Fertil. Steril.* 37 : 42, 1982
- 21) O'herlihy, C., Crespigny, L. D., Lopata, A., Johnston, I., Houlst, I. and Bobinson, H. : Preovulatory follicular size : A comparison of ultrasound and laparoscopic measurements. *Fertil. Steril.* 34 : 24, 1980
- 22) Kerin, J. F., Edmonds, D. K., Warnes, G. M., Cox, L. W., Seamark, R. F., Matthews, R. F., Matthews, C. D., Young, G. B. and Boird, D. T. : Morphological and functional relations of graafian follicle growth to ovulation in women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 88 : 81, 1981
- 23) 庄司 誠 : 卵胞内 estradiol-17 β および Progesterone 合成機構の解析, 日不妊誌, 25 : 18, 1980
- 24) Smith, O. M. and Tenney, D. Y. : Effects of steroids on mouse oocyte maturation in vitro. *J. Reprod. Fertil.* 60 : 331, 1980
- 25) Moor, R. M. and Trouson : Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes in vitro and their subsequent developmental capacity. *J. Reprod. Fertil.* 49 : 101, 1977
- 26) Wramsby, H., Kullander, S., Liedholm, P., Ranneviku, G., Sundstrom, P. and Thorell, J. : The success rate of in vitro fertilization of human oocytes in relation to the concentrations of different hormones in follicular fluid and peripheral plasma. *Fertil. Steril.* 36 : 448, 1981
- 27) Novak, J. : Über Ursache und Bedeutung des Physiologischen Ascites beim Weibe. *Zentralblatt für Gynäkologie.* 46 : 854, 1922
- 28) Maathuis, J. B., Look, P. V. and Michie, E. A. : Changes in volume, total protein and ovarian steroid concentrations of peritoneal fluid throughout the human menstrual cycle. *J. Endocrinol.* 76 : 123, 1978
- 29) Konincky, P. R., Heyns, W., Verhoeven, G., Baelen, H. V., Lissens, W. D., Moor, P. and Brosens, L. A. : Biochemical characterization of peritoneal fluid in women during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51 : 1239, 1980
- 30) Hann, L. E., Hall, D. A., Black, E. B. and Ferrucci, J. T. : Mittel schmerz sonographic demonstration. *J. A. M. A.* 24 : 2731, 1979
- 31) Marinho, A. O., Sallan, H. N., Goessens, L. K. V., Collins, W. P., Rodeck, C. H. and Campbell, S. : Real time pelvic ultrasonography during the periovulatory period of patients attending an artificial insemination clinic. *Fertil. Steril.* 36 : 633, 1982
- 32) Donnez, J., Langerock, S. and Thomas, K. : Peritoneal fluid volume and 17 β -estradiol and progesterone concentrations in ovulatory, anovulatory and post menopausal women. *Obstet. Gynecol.* 59 : 687, 1982
- 33) Konincky, P. R., Moor, P. D. and Brosens, L. A. : Diagnosis of the luteinized unruptured follicle syndrome by steroid hormone assays on peritoneal fluid. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 87 : 929, 1980
- 34) Coulam, C. B., Hill, L. M. and Breakle, R. : Ultrasonic evidence for luteinization of unruptured preovulatory follicles. *Fertil. Steril.* 37 : 524, 1982
- 35) 佐藤和雄 : 第31回日産婦総会学術講演会シンポジウム, 排卵におけるプロスタグランディンの意義, 日産婦誌, 31 : 975, 1979

Clinical study on the human follicular development and ovulation : Correlation of ultrasound and endocrinologic assessment

Kazuo Sengoku

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

Follicular development and subsequent ovulation were studied in infertile women by the estimation of plasma estradiol levels, luteinizing hormone and by the measurement of follicle size and number by ultrasound. The correlation between the follicular diameter as measured by ultrasound and actual follicular diameter at laparotomy was also determined. The results were as follows.

(1) In 87 of the 104 cycles, growing follicles and follicular rupture could be observed by ultrasound (83.6%), and plasma E₂ levels correlated with number of follicles.

(2) The ultrasonographic signs of ovulation occurred within 24 hours from the day of LH peak in 58 of 84 cycles and within 48 hours from the day of E₂ peak in 50 of 77 cycles.

(3) Follicular diameter measured by ultrasound correlated well actual diameter found during laparotomy, and E₂ and P in follicular fluid aspirated from large follicles (≥ 16 mm) indicated high levels.

(4) In 28 of 55 cycles, ultrasound examinations demonstrated the free peritoneal fluid in the cul-de-sac at ovulation, and concentrations of E₂ and P in peritoneal fluid dramatically increased after ovulation. These results suggested that ultrasou-

nd examinations of follicular growth and ovulation offers a significant technique for the study of the mechanism of human ovulation.

(受付: 昭和58年4月4日)

Culdoscopy によるヒト卵胞卵採取法の検討

Culdoscopic Approach for Recovery of Human Follicular Oocytes

東邦大学医学部第1産婦人科学教室 (主任: 百瀬和夫)

久保春海 金子慶賛 椎名一雄
Harumi KUBO Keisan KANEKO Kazuo SHIINA

林鴻程 片山進 小島栄吉
Kotei RIN Susumu KATAYAMA Eikichi KOJIMA

The 1st Department of Obstetrics & Gynecology,
Toho University School of Medicine

IVF-ET 法への応用のために採卵法を culdoscopy を用いて検討した。症例数240例, そのうち culdoscopy を行った症例は187例 (78%) であった。573卵胞を穿刺し, 206卵を得た。これは1例につき1.1卵であり, 1卵胞につき0.4卵の採卵率であった。laparoscopy を用いて採卵した場合の採卵率 (1.0/症例, 0.4/卵胞) および開腹術時の卵巣からの採卵率 (1.7, 0.3) と比較して差を認めなかった。culdoscopy による採卵時に吸引圧 (N. P.) を検討した結果, 100mm Hg \leq N. P. \leq 150mm Hg の範囲で採卵数, 正常卵子率ともに良好な結果が得られた。採卵直後の卵子の maturity は stimulated cycle で GVBD 発現率51%に比較して, random cycle では11%にすぎなかった。これ等卵子の *in vitro* での maturation を medium (Ham F10+20%自己血清) 中で36hrs. 培養して検討した結果, dictyate 期卵は74%, GVBD 期卵子は98%が第一極体 (FPB) を放出し, 酢酸ラクモイド染色で Metaphase-II spindle を認めた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 47-53, 1984)

緒言

現在, IVF-ET 法のためのヒト卵巣卵の採取法は laparoscopic approach が主流である。

laparoscope は視野が広いため, 容易に腹腔内操作が行い得る利点があるが, 腹壁切開, 縫合, 気腹, 麻酔法など腹部手術に準じた手技が必要である。一方, culdoscopy approach は前記の如き煩雑な手技を必要とせず, 麻酔法も簡易な静脈麻酔などで充分である。IVF-ET 法が不妊症治療の手段として, 一般化するためには採卵法, 培養法, 移植法の手技の簡略化, 装置の簡素化あるいはキット化する事が必要であると思われる。我々はこの観点から culdoscopy を用いて採卵を行った。

この結果, laparoscopy に比較して, 採卵率, 正常卵子, 成熟率などに遜色は認められなかった。それ故, culdoscopy による採卵法も充分有用性があると考え,

IVF-ET 法に応用する可能性を検討して若干の知見を得たので, ここに報告する。

検査方法

検査対象は主に不妊症患者より同意を得, 不妊検査の一環として内視鏡検査施行時に実施した。また婦人科疾患における開腹手術時に採卵を行い対照とした。採卵の timing は可及的排卵直前となるように実施時期を調整したが, 患者の都合により卵胞期早期, 黄体期での採卵になった症例も含まれている。

卵胞成熟の parameters は出来るだけ手技を簡略化する意味で, 血中 E_2 測定, 超音波断層法などは実施せず, 基礎体温 (BBT), 頸管粘液 (C. M.) を2週期以上外来で follow up 後, BBT drop の前日を実施日と決め, 来院時に CM 0.2ml 以上, LH レベル50IU/L 以上 (Higonavis, 希釈倍数4倍以上)を確認出来た群を st-

表 1 前処置

I. 排卵因子不妊群

- ① HCG 5,000-10,000 単位 one shot 筋注
(内視鏡操作 36-42 h 前)
- ② Clomiphene 50-150mg/day 5 日間投与
- ③ Clomiphene + HCG
- ④ HMG + HCG

II. その他の不妊群

- 前処置なし
(月経周期 10-14 日目頃採卵)

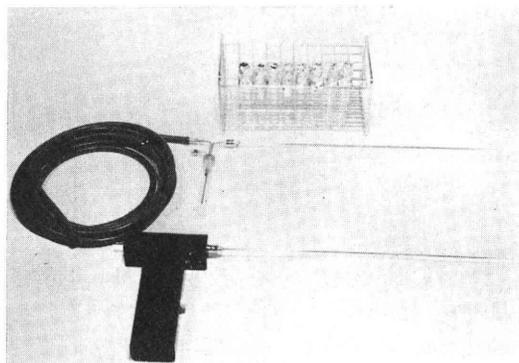


写真 1 採卵器具

imulated cycles, それ以外の群を random cycles とした。排卵因子不妊群では表 1 の如く不妊外来での治療指針に沿った排卵誘発法を実施し、内視鏡操作より 36-42 hrs. 以前に HCG 5,000IU~10,000IU one shot を行った。卵巣卵採取装置は我々の考案した器具を用いた。穿刺針は 20 Gage, 針長 380mm stainless 二段針を使用し、採取管と lock で固定されるようになってい。採取管は外径 15mm の plastic 遠心管を用い、外壁目盛りにより内容量を計測出来る。卵胞吸引には出来るだけ卵胞壁を損傷しないようにして血液の混入をさける。また、刺入時に持続吸引した状態で卵胞頂部を穿刺し、卵胞液の流出を可及的最小にするように注意した。culdoscopy 施行時、患者を胸膝位とし、塩酸ケタミン(ケタラール) 2mg/kg にて静麻を行い、二孔術式 (two puncture method)^{2,3)}により、穿刺針を trocar を通して腹腔内に挿入した。1 卵胞吸引毎に採取管を交換し、個々の卵胞液量を測定後、直ちに培養室にて実体顕微鏡、倍率 40-80× (Olympus SZ-Tr 型)、倒立位相差顕微鏡、倍率 200-400× (Nicon M 型) により卵子の形態、性状を調べた。培養は Ham F10 (Flow Laboratories) に 20% 自己血清 (56°C, 30min, inactivated) 添加 medium を用い、培養条件は 5% CO₂ in air, 38°C, 湿度 100% で行った。成熟判定は培養 36hrs. 後、囲卵腔への FPB



写真 2 広角クルドスコープによる成熟卵胞

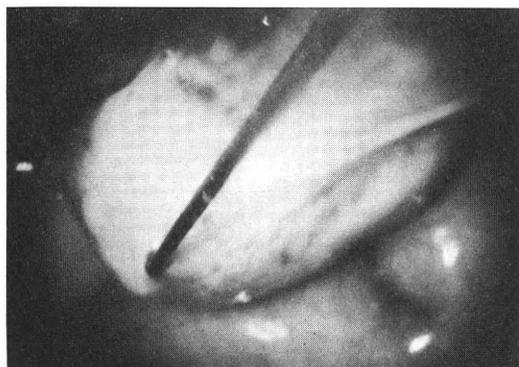


写真 3 穿刺針で吸引中の卵胞

の放出、および 10% 中性ホルマリンで 24hrs. 固定後、0.25% acetic lacmoid 染色⁴⁾を行い、Metaphase-II spindle の存在を確認した。

結 果

検査対象となつた症例の分類は表 2 の如くであつた。総数 240 例中、排卵因子が 94 例 (51%)、卵管因子が 27 例 (14%)、機能性不妊群 34 例 (19%)、その他の因子 29 例 (16%) であつた。また不妊群以外の症例 56 例に対して婦人科疾患の内視鏡検査あるいは開腹時に採卵を行い control として検討したが、特に分類はせず、一括して記載した。approach 別分類では culdoscopy (C. S. A.) を用いた採卵が 187 例 (78%)、laparoscopic approach (L. S. A.) は 7 例 (3%)、laparotomic approach (E. O.) は 46 例 (19%) であつた。各 approach による採卵率の比較は表 3 の如くであつた。即ち、C. S. A. では 573 卵胞を穿刺し 206 卵を得た。これは 1 症例につき ave 1.1 卵 (206/187) であり、1 卵胞につき ave. 0.4 卵 (206/573) であつた。187 例中、7 例は骨盤腔癒着強度のため視野が得られず、culdoscopy を中止して、laparoscopy を施行した。また他の 1 例は套管針挿入時に直腸

表 2 対象者の分類

	例数(%)	I.S.O. ¹⁾		E.O. ²⁾
		C.S.A. ³⁾	L.S.A. ⁴⁾	
(I) 不妊症群	182			
排 卵 因 子	94(51)	90	1	3
卵 管 因 子	27(14)	18	4	5
機 能 性	34(19)	32	2	0
その他の因子	29(16)	20	0	9
(II) 不妊症以外の群	56	27	0	29
総 数	240	187(78)	7(3)	46(19)

1) In Situ Ovary 2) Excised Ovary 3) Culdoscopic Approach
4) Laparoscopic Approach

表 3 各操作法による卵子採取率

	No. of Patients Examined	No. of Aspirated Follicles	Total Yielded Oocytes	Oocytes	Oocytes
				Patients	Follicles
Culdoscopic Approach	187	573	206	1.1	0.4
Laparoscopic Approach	7	20	7	1.0	0.4
Excised Ovary	46	276	79	1.7	0.3
Total	240	869	292		

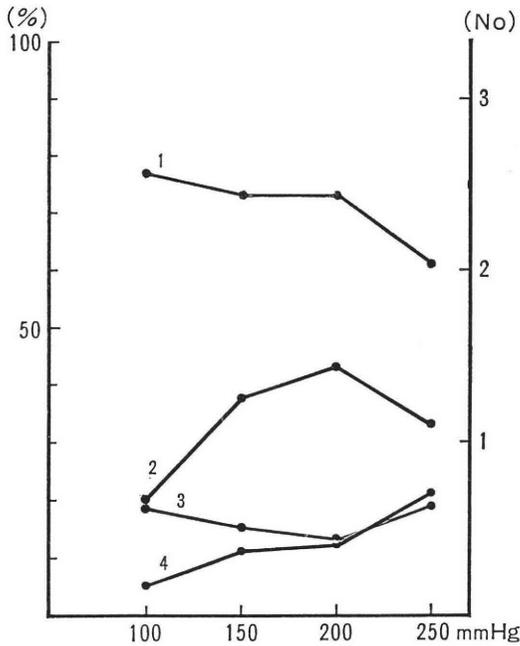
表 4 年齢別による採卵率

Age Group	No. of Patients	No. of Follicles Aspirated	Total No. of Oocytes Recovered	Mean	Mean
				Patients	Follicles
20—25	34	94	34	1.0	0.4
26—30	99	379	116	1.2	0.3
31—35	50	191	77	1.5	0.4
36—40	34	131	51	1.5	0.4
41—49	23	74	14	0.6	0.2
Total	240	869	292		

穿孔を生じ、採卵操作を中止した。従つて、culdосcopyによる採卵不能例は187例中8例(4.3%)であつた。L. S. A. では20卵胞を穿刺し7卵を得た。これは1症例につき ave. 1.0卵(7/7)であり、1卵胞につき ave. 0.4卵(7/20)であつた。一方、E. O. では276卵胞を穿刺して79卵を得た。これは1症例につき ave. 1.7卵(79/46)であり、前二者に比し、最も高い採卵率であつたが、1卵胞につき ave. 0.3卵(79/276)と低値を示した。個々の case の年齢別による採卵率では対象は20-40歳代後半迄分布しており、20代後半から30代前半迄で全例の61%(147/240)を占めていた。採卵率は30歳台迄は年齢別に差異を認めなかつたが、40歳台ではそれ以前に比較

して、明らかに低下し、有意差を認めた($P < 0.05$, t-test)。表5は C. S. A. を用いた時の Vacuum pump 負荷時の negative pressure (N. P.) (mmHg) と採卵数との相関を示したものである。N. P. を4段階に調整し検討した。この結果、1症例あたりの採卵率(2)では $100\text{mmHg} \leq \text{N. P.}$ で ave. 0.7であつたが、N. P. 上昇と共に漸増し、 200mmHg で ave. 1.6と plateau に達したが、 $250\text{mmHg} \leq \text{N. P.}$ では逆に ave. 1.1と低下した。形態的正常卵子の割合(1)では $100\text{mmHg} \leq \text{N. P.}$ でやや良好な成績(78%)を認めたが、150, 200mmHg 迄、各々75, 76%と有意差を認めなかつた。しかし、 $250\text{mmHg} \leq \text{N. P.}$ になると正常形態卵子の割合は62

表5 吸引圧と卵子採取率



- 1. Normal Oocytes (% Of Total)
- 2. Total Yielded Oocytes (No/Patients)
- 3. Degenerated Oocytes (% Of Total)
- 4. Collapsed Oocytes (% Of Total)

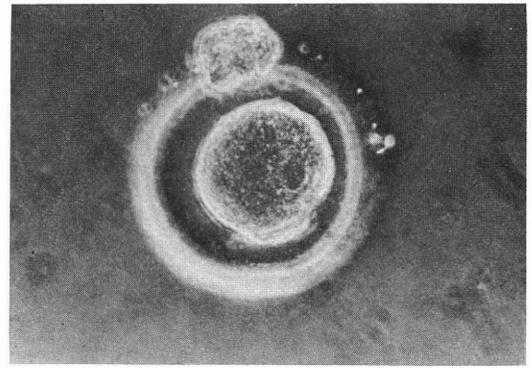


写真5 変性卵子 (採卵直後)

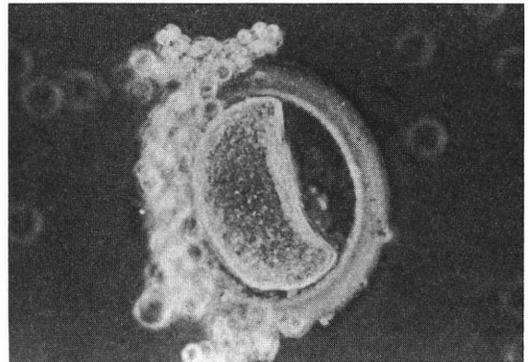


写真6 collapsed oocyte (採卵直後)

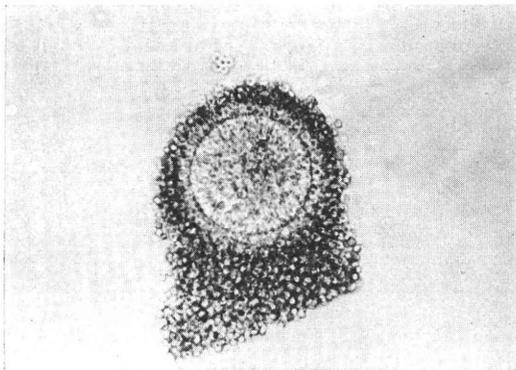


写真4 正常卵子 (採卵直後)

%と低下し、それ以下の吸引圧群に対して明らかな有意差 ($p < 0.01$, χ^2 -test) を認めた。変性卵子の割合 (3) は今回検討した N. P. の範囲では、N. P. に関連した有意差を示さなかった。これに対して collapsed oocytes (4) は N. P. に対し、正常形態卵子と逆相関にある事が認められた。即ち、 $100\text{mmHg} \geq \text{N. P.}$ では5%以下であったが、N. P. の上昇と共に漸増し、 $250\text{mmHg} \leq \text{N. P.}$ では21%に達した。採卵時の卵子の maturity の評価は表6の如くであった。排卵促進剤による stimulated cycle での採卵では51% (28/55) に GVBD もしくは FPB の extrusion が認められた。しかし、GV stage の卵子も24% (13/55) 認められ、degenerated oocytes 9

表6 採卵直後の成熟度

	Total No of Oocytes	Normal Oocytes		Degenerated Oocytes	Collapsed Oocytes
		GV	GVBD		
Stimulated Cycle	55	13(24)	28(51)	5(9)	9(16)
Random Cycle	151	87(58)	17(11)	27(18)	20(13)

Parenthesis=% of total

表 7 Incidences of maturation of human eggs in vitro

Oocyte Maturity	Total No of oocytes	GVBD/FPB
Immature	100	74(74)
Maturing	45	44(98)

Parenthesis=% of Total
Assessment was made 36 hrs.
after incubation

% (5/55), collapsed oocytes 16% (9/55) であつた。これに対して、random cycle の採卵では GV stage 卵が 58% (87/151) と多く、GVBD を認めた卵子は 11% (17/151) と少なかった。また、degenerated oocytes は 18% (27/151), collapsed oocytes は 13% (20/151) であつた。正常形態卵子の発育能を見るために行つた成熟培養では immature 卵の 74% (74/100) が FPB を放出し、maturing 卵では 98% (44/45) に FPB が認められた。FPB 放出卵のうち at random に lacmoid stain を行つたところ、卵実質中に Metaphase-II spindle が認められ、*n vitro* maturation が証明された。

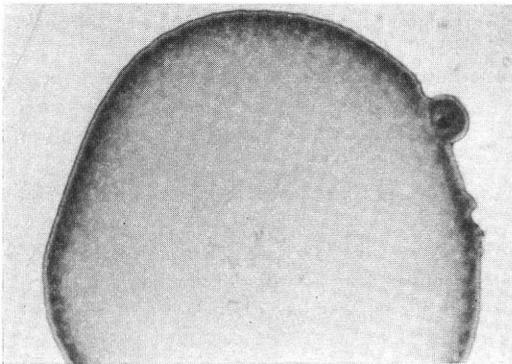


写真 7 *in vitro* 成熟卵 (FPB & Metaphase-II spindle)

考 案

現在、採卵方法は諸家の報告によると全て laparoscopy による採卵を行つている。しかし、laparoscopy は皮膚切開、縫合、気腹などの手技を必要とし、操作が煩雑化し易い。

IUF-ET 法を不妊治療法の一手段として普遍するためには手技を出来るだけ compact に簡素化する必要がある。culdoscopy は後腔円蓋部から Douglas 窩穿刺により腹腔内視野を得るために前記の如き操作を必要としない事は周知の事実である。このような観点から、我々は culdoscopy による採卵法を first choice としてい

る。culdoscopy では laparoscopy と比較して視野が狭い欠点がある。これは対象(内性器)に対して穿刺点の高さの相違のため、視野角度を取り難い事に起因しているが、我々はこの点を cover するため、80-105° 広角鏡を用いている。また骨盤内癒着症は内視鏡操作の難点であり、特に culdoscopy では癒着部位に対して盲目的穿刺になり易い。この対策として、我々は後腔円蓋部小切開後、気腹用鈍針を用いて刺入し、air の腹腔内流入音を確認後、先端鈍な套管針を用いて創を拡大、culdoscope を挿入する方法を行つている。この方法によれば癒着は器の穿孔、癒着部位からの大出血は殆んど避けられる。今回の研究では culdoscopic approach のうち、不能例 8 例 (4.3%) のみであつた。

このうち 7 例は直ちに laparoscopy に切り換え、5 例は視野が得られ、採卵操作を実施したが、2 例は汎骨盤腔癒着のため、やはり視野が得られず、開腹、癒着剝離術に移行した。従つて、本研究における laparoscopic approach 群は全て culdoscopy 不能である。この事に起因して、両群の採卵率に有意差を認めないとも考えられるが、諸家の報告でも laparoscopy で dominant follicle および second follicles 以下を random punctures した場合、1 卵胞あたりの有卵率は Morgenstern et al.⁵⁾ 30.6%, Lopata et al.⁶⁾ 41.0%, Steptoe et al.⁷⁾ 50-66.7%, Berger et al.⁸⁾ 50.0%, であつた。

この成績と比較して、我々の culdoscopy を用いた 1 卵胞あたりの採卵率 36.0% (206/573) はほぼ同一レベルと考える事が出来る。内視鏡操作による *in situ* ovary の punctures に比べて、excised ovary の卵胞あたりの採卵率が低いのは卵巣全表面の小卵胞 (5mm 直径) 迄穿刺数に含めたためと思われる。我々の採卵法による dominant follicle のみの有卵率の比較データは未発表であるが、術者による techniques の差を含め、現在検討中である。採卵率は 200mmHg 吸引圧迄はほぼ圧と parallel である。形態的に normal および collapsed oocytes の増減は 100-200mmHg でやや変化を認めるが有意差は無く、200mmHg を越えると急速に正常卵子は減少し、collapsed oocytes が増加してくる。この事から我々は吸引圧の設定を 100mmHg とし、max. 150mmHg 以下で行つている。natural な LH surge もしくは HCG 投与により stimulate され、meiosis を再開した follicles から採卵した場合、GVBD した卵子の率は random cycles での GVBD 率よりかなり高率である。従つて、BBT, CM, 尿中 LH 測定程度の maturation parameters でもかなり成熟しつつある oocytes を得る事が出来る。しかし、ovulation 直前の採卵を routine に行う事は人的、時間的条件が非常に難しくなってくる。IVF に

用いる卵子としては出来るだけ maturation している事が現在最も効果的であると思われる。だが、この様な臨床的条件を付加すると、必ずしも好都合な timing で採卵操作を行えるとは限らない。やむを得ず immature follicles を穿刺した場合、oocytes の maturation を *in vitro* で行わなければならない。Trounson et al.⁹⁾ は ovulation 直前に採卵された maturing oocytes でも cortical granules の maturation のため、更に5-6 1/2hrs. の成熟培養が必要であるとしている。従来、dictyate stage の未熟卵子は *in vitro* で maturation させても、sperm の penetration と head の膨化は起こるが、pronuclear stage には移行しないと云われている。この前核発達の遅れをもたらす原因として、Thibault et al.¹⁰⁾ は卵母細胞の成熟中に雄性前核成長因子 (male pronucleus growth factor) の生成が不十分である点をあげている。最近、Norfolk の Jones et al.¹¹⁾ は dominant follicle 以下の follicles より穿刺した卵子 (supplementary oocytes) の重要性を強調し、これ等の卵子を *in vitro* で maturation させ、IVF に成功したと報告している。そして、この様な体外成熟卵子に対して immature matured *in vitro* (IM. I. V.) なる概念を提唱している。Edward et al.¹²⁾ もその初期の実験で体外成熟卵子の IVF により two pronuclei の存在を認めており、我々も同様な知見を得ている。いずれにしても時間的な制約を強いられる臨床家にとって、未熟卵を IVF に利用出来る可能性が最も痛切な必要性を感じさせる。豊田¹³⁾ も卵巣内に存在する多数の未熟卵子利用はひとつの夢であり、試験管内受精と不可分の研究課題であると述べている。IVF-ET 法の一般化のためには手技の簡略化が急務であると思われ、これに逆行するような大がかりな装置、複雑な手技¹⁴⁾ は必要とは思えない。今回、我々は culdoscopy 直視下に卵巣卵を採卵する簡略な手技および器具を考案し、その使用成績を従来の laparoscopy による採卵法と比較して検討した結果、有用性を認める事が出来た。

本論文の要旨は第20回内視鏡研究会、シンポジウム「卵採取における諸問題」で発表した。

文 献

- 1) 久保春海：ヒト卵胞卵の体外受精，日不妊誌，22：182，1977
- 2) 柴田直秀，林 基之：産婦人科診療，図譜3巻：p. 149，金原出版，1982
- 3) 柴田直秀：臨床産婦人科手術全書9巻：P. 229，金原出版，1981
- 4) 丹羽皓二，三宅正央，入谷 明，西川義正：レット卵子の体外受精，ホと臨床，24：663，1976

- 5) Morgenstern, L. L. Soupart, P.: Oocyte recovery from the human ovary. Fertil. & Steril., 23 : 751, 1972
- 6) Lopata, A., Johnston, I. W. H., Leeton, J. F., Muchnicki, D. Talbot, J. M., Wood, C.: Collection of human oocytes at laparoscopy and laparotomy. Fertil. & Steril., 25 : 1030, 1974
- 7) Steptoe, P. C., Edwards, R. G.: Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming of ovaries with gonadotropins. Lancet, 1 : 683, 1970
- 8) Berger, M. J., Smith, D. M., Taymor, M. L., Thompson, R. S.: Laparoscopic recovery of mature human oocytes. Fertil. & Steril., 26 : 513, 1975
- 9) Trounson, A. O., Mohr, L. R., Wood, C., Leeton, J. F.: Effect of delayed insemination on *in vitro* fertilization, culture and transfer of human embryos. J. Reprod. Fert., 64 : 285, 1982
- 10) Thibault, C., Gerard, M.: Malformations Congenitales, p. 13, Masson, Paris, 1971
- 11) Jones, J. H. W., Jones, G. S., Andrews, M. C., Acosta, A., Bundren, C., Garcia, J., Sandow, B., Veeck, L., Wilkes, C., Witmyer, J., Wortham, J. E., Wright, G.: The program for *in vitro* fertilization at Norfolk. Fertil. & Steril. 38 : 14, 1982
- 12) Edwards, R. G., Bavister, B. D., Steptoe, P. C.: Early stages of fertilization *in vitro* of human oocytes matured *in vitro*. Nature, 221 : 632, 1969
- 13) 豊田 裕：代謝臨時増刊号「性」，16巻，p.713，1979
- 14) Testart, J., Lassalle, B., Frydman, R.: Apparatus for *in vitro* fertilization and culture of human oocytes. Fertil. & Steril., 38 : 372, 1982

Culdoscopic approach for recovery of huma follicular oocytes

Harumi Kubo, Keisan Kaneko,
Kazuo Shiina, Kotei Rin,
Susumu Katayama, Eikichi Kojima

The 1st Department of Obstetrics & Gynecology Toho University School of Medicine

For the application of IVF-ET, oocytes are collected from follicles with special aspiration units under the culdoscopic approach. Oocytes collections are performed with patient's consent at the endoscopic examinations to the causes of sterility and/or the gynecological operations.

Two hundred forty cases are totally examined, including 187 cases (78%) of culdoscopic approach. Two hundred six eggs are obtained from the punctures of 573 follicles. Recovery rates are 1.1/case and 0.4/follicle by culdoscopy. Comparing with the results of laparoscopy or laparotomy, there is no significant differences of meanings. Negative pressures for the aspiration of follicular fluids are assessed in the range of 100 to 250

mmHg. Most favorable results are obtained between 100 and 150 mmHg. Fifty one per cent of eggs is shown GVBD at stimulated cycles, though 11% at natural cycles. Ninety eight per cent of the eggs at GVBD and 74% at dictyate stage extruded FPB after the 36 hours of culture, and are shown Metaphase-II spindle in the vitellus stained with 0.25% of acetic lacmoid.

(受付: 昭和58年5月26日)

卵子におけるステロイドホルモン合成能について

A Study on Steroidogenesis in Ova

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室（指導：飯塚理八教授）

遠藤芳広

Yoshihiro ENDO

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

間接蛍光抗体法にて、ハムスター、およびヒト未受精卵のステロイド合成能を検討した。

(1) ヒト卵胞卵に内因性 progesterone, 17 β -estradiol, 4 β -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (4 β -3 β -HSD) 活性が認められた。

(2) ハムスター卵胞卵、および排卵卵に内因性17 β -estradiol, 4 β -3 β -HSD 活性が認められたが、progesterone の存在は否定された。

(3) ハムスター卵胞卵、および排卵卵の 4 β -3 β -HSD 活性が hCG により、*in vitro* で抑制された。

(4) ハムスター排卵卵で、4 β -3 β -HSD 阻害剤、trilostane により、4 β -3 β -HSD 活性が量依存性に抑制された。

以上の結果の如く、哺乳類卵子内のステロイド合成能が示唆され、卵子成熟、受精との関連を考察した。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 54-61, 1984)

緒言

卵子の成熟機構の究明は、生殖の調節系の基礎的諸問題の解明につながるだけでなく、臨床的にも、排卵から受精、着床に至る初期発生過程の動態との関連においても非常に重要な問題である。しかし、成熟に関与する諸因子については、従来から、ポリペプチド、ステロイドホルモン、プロスタグランジン、cyclic AMP などが報告されてきたが、その詳細は解明されていない。

その中で、最近、4 β -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (以下、4 β -3 β -HSD とする) をはじめとするステロイド代謝酵素が哺乳動物の受精卵に存在していることが組織化学的に明らかにされ、これらの酵素と受精卵の分割、胞胚形成との関連性が示唆されてきている¹⁻⁴⁾。また、卵子の成熟におけるステロイドホルモンの役割についても、ハムスター卵胞卵で、4 β -3 β -HSD 活性が組織化学的に、adenylate cyclase の存在が電顕組織化学的方法で証明され、その生物学的意義が注目されている⁵⁾。

本研究は、定量的蛍光抗体法を用いて、ヒト、および

ハムスターの未受精卵におけるステロイドホルモン合成能と内因性ステロイドホルモンの存在、さらに、これらとゴナドトロピンとの関連性について検討し、卵子の成熟機構におけるステロイドホルモンの意義を明らかにすることを目的とした。

実験方法

1) 卵子の採取法

ヒトの卵胞卵は種々の婦人科疾患にて開腹手術時に得られた摘出卵巣組織中の卵胞を、23ゲージ針装着1mlのプラスチック注射筒で吸引して得た。20例について44個の卵子を採取し、実験に供した。卵子は直ちに、15%非働化ヒト臍帯血血清を含む Ham F-10⁰にて洗滌後、同培養液中で37°C、5% CO₂、95%空気の気相下で18~24時間培養し、周囲の卵丘細胞を分離するか、或いは、卵胞から採取後、0.1% pronase 溶液中で透明層を除去して用いた。全ての卵は、リン酸緩衝液で洗滌した。

ハムスター（ゴールデンハムスター）は5~8周齢の雌で慶応義塾大学医学部実験動物センターで飼育したも

のを用いた。35匹のハムスターで卵胞卵と排卵後の卵子を採取した。ハムスターに30i. u. の PMSG (セロトロピン, 帝国臓器) を腹腔内に投与し, 正常な中, および大卵胞がみられる72時間後⁷⁾に卵巣を摘出した。卵胞卵の採取は, pH 7.5, 0.1M リン酸緩衝液を含む時計皿上で卵胞を26ゲージ針で破り, 採取した。卵子の透明層は0.1% pronase を含む BWW⁸⁾液中でマイクロピペットを用いて除去した。排卵卵の採取は, PMSG 30i. u. 腹腔内投与72時間後, hCG (ゴナトロピン, 帝国臓器) 40 . u. を腹腔内に投与し, 17時間後に卵管を摘出した。直ちに, 卵管膨大部を26ゲージ針で破り, 卵丘細胞に包まれた卵子群を得た。また, 0.1% hyaluronidase 含有 BWW 液中で卵子と卵丘細胞を分離し, 排卵卵だけをえた。

2) 間接蛍光抗体法

洗滌した卵子を pH 7.4, phosphate buffered saline (PBS) で希釈した2.5%グルタルアルデヒドで4°C で3.5~6時間固定し, PBS で10分間隔で90分間洗滌し, 蛍光抗体法に供した。 4β -3 β -HSD 活性の検出には, nitro-blue tetrazolium を除いた Dickmann & Dey の反応液¹⁾で, ヒト卵子では2時間, ハムスター卵子で1時間, 37°C で培養し, 同様の固定, 洗滌を行った。反応液の組成は, 基質の pregnenolone 1.8mg, 補酵素 nicotinamide-adenine dinucleotide (NAD) 4mg を pH 7.5, 0.1M リン酸緩衝液10ml に溶解したものであり, 基質はあらかじめ, アセトン0.5ml に溶解して用いた。基質を除いたものを対照群とした。progesterone の検出には, rabbit anti-progesterone-11 α -BSA serum (Miles Laboratories, Israel), 17 β -estradiol には, rabbit anti-estradiol-6-BSA serum (Miles Laboratories) をそれぞれ PBS で4倍希釈して, 37°C で60分培養し, PBS 中で3分間隔で30分洗滌し, さらに, PBS で16倍希釈した goat anti-rabbit IgG serum conjugated with FITC (Miles Laboratories) で37°C で40分間培養した。PBS で3分間隔で30分洗滌後, スライドガラス上に静置し, PBS で9倍希釈した無蛍光グリセリンを滴下し, カバーガラスをのせ鏡検した。蛍光測定は, Zeiss microfluorometer を用い, 200倍の視野で卵子よりわずかに広い一定の測定領域を決め, その範囲を測定し, 卵子の蛍光強度とした。第一次抗血清, 第二次抗血清とともに処理しなかつたものを自己蛍光, FITC を抱合した第二次抗血清のみで処理したものを蛍光色素の自然吸着とした。

3) *in vitro* におけるハムスター卵胞卵および排卵卵の 4β -3 β -HSD に対する hCG の影響

ハムスター卵を pH 7.5, 0.1M リン酸緩衝液中に hCG を0, 10i. u., 100i. u., 200i. u. 溶解し, 37°C で

30分培養し, 洗滌後, 前述の 4β -3 β -HSD 活性検出の実験, さらに, 蛍光抗体法の諸処理を実施した。対照群は, まず, hCG を含まないリン酸緩衝液中で培養し, さらに基質のみを除いた反応液で培養した。

4) *in vitro* におけるハムスター排卵卵の 4β -3 β -HSD に対する triostane の影響

ハムスター排卵卵を pH 7.5, 0.1M リン酸緩衝液中に trilostane (持田製薬) を0, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M に溶解し, 37°C で60分培養し, 洗滌後, 4β -3 β -HSD 活性検出の実験, さらに蛍光抗体法を施行した。対照群は, まず, trilostane を含まないリン酸緩衝液で, その後基質のみを除いた反応液で培養した。trilostane は難水溶性のため, 0.1N NaOH で pH 8.5 に調整した脱イオン水で溶解し, 0.1N HCl で中和し, 10^{-8} M 溶液を作成し⁹⁾, pH 7.5, 0.1M リン酸緩衝液で希釈し, 実験に供した。

統計処理は Student's t test を用いた。

実験結果

1) ヒトおよびハムスター卵胞卵の内因性 progesterone と 4β -3 β -HSD 活性

ヒト卵胞卵では, 採取後直ちに固定した群の自己蛍光は, 5.07 ± 1.08 (平均値 \pm 標準誤差, $n=3$), 自然吸着は, 11.73 ± 0.59 ($n=4$), 両抗血清で処理した群は, 33.16 ± 1.44 ($n=5$) と自然吸着に比し有意に高値を示した (図1, $p<0.001$)。図2に FITC の自然吸着, 図3に内因性 progesterone を示すヒト卵胞卵を示す。 4β -3 β -HSD 活性については (図4), 対照群が, 26.33 ± 2.06 ($n=6$), 実験群が, 34.35 ± 0.85 ($n=13$) と有意に高値を示し ($p<0.001$), 4β -3 β -HSD 活性が証明された。ハムスター卵胞卵では, 自己蛍光は, 4.40 ± 0.66 ($n=5$), 自然吸着は, 6.01 ± 0.46 ($n=7$), 両抗血清で処理した群は, 8.39 ± 0.24 ($n=7$) で自然吸着との間に有意の差は認められず, 内因性 progesterone の存在は否定された (図5a)。 4β -3 β -HSD 活性については (図5b), 対照群が 7.80 ± 0.49 ($n=7$), 実験群が, 12.42 ± 1.00 ($n=6$) と有意に上昇し ($p<0.01$), 4β -3 β -HSD 活性が証明された。

2) ハムスター排卵卵の内因性 progesterone と 4β -3 β -HSD 活性

自己蛍光は, 2.64 ± 0.19 ($n=5$), 自然吸着は, 6.24 ± 0.25 ($n=10$), 両抗血清で処理した群は, 7.65 ± 0.30 ($n=11$) と自然吸着と有意の差が認められず, 内因性 progesterone の存在は否定された (図6a)。 4β -3 β -HSD 活性については (図6b), 対照群が, 9.28 ± 0.69 ($n=6$), 実験群が, 12.31 ± 0.33 ($n=7$) と有意の差が認められ

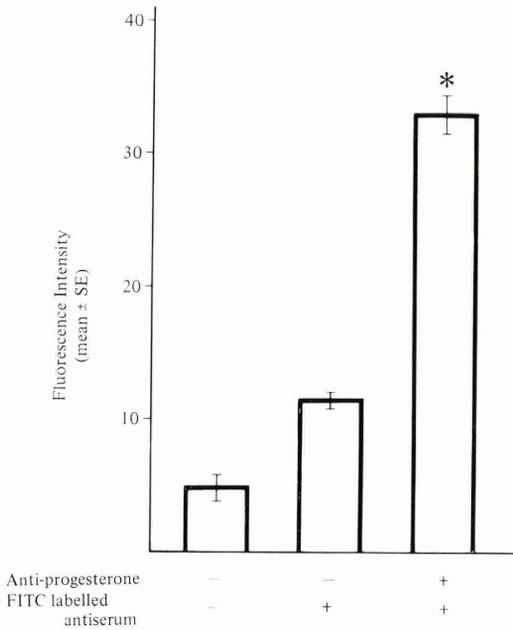


図1 ヒト卵胞卵の内因性 progesterone
* p<0.001, vs. 自然吸着

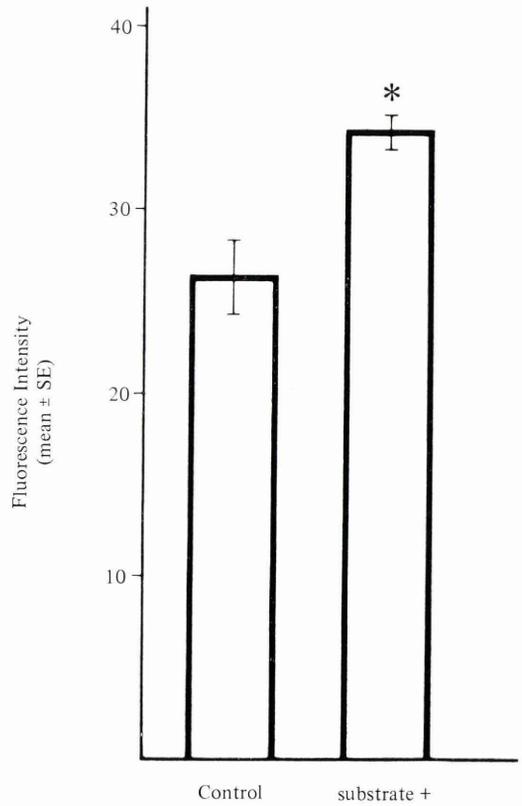


図4 ヒト卵胞卵の Δ^5 -3 β -HSD 活性
* p<0.001, vs. cohtrol

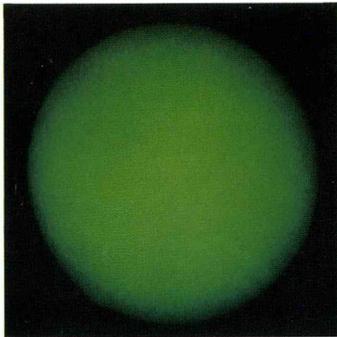


図2 ヒト透明層除去卵胞卵への FITC の自然吸着, 蛍光強度11.9



図3 内因性 progesterone を示すヒト透明層除去卵胞卵, 蛍光強度29.2

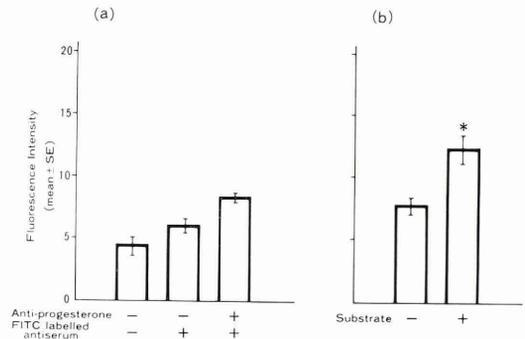


図 5a ハムスター卵胞卵の内因性 progesterone
5b Δ^5 -3 β -HSD 活性
* p<0.01, vs. control

(p<0.01), Δ^5 -3 β -HSD 活性が証明された.

3) ヒト卵胞卵の内因性17 β -estradiol

自己蛍光は, 8.30±0.97 (n=4), 自然吸着は, 9.83±0.50 (n=3), 両抗血清で処理した群は, 37.47±3.10 (n=6) と自然吸着に比し, 有意の差で高く (p<0.001), 内因性17 β -estradiol の存在が示唆された (図7).

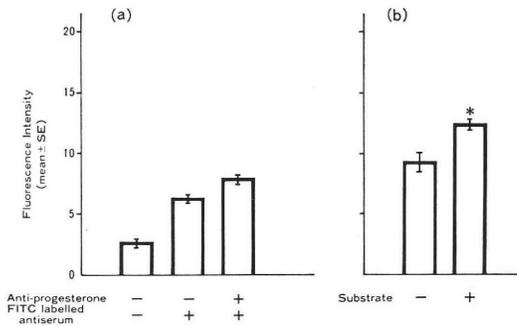


図 6a ハムスター排卵卵の内因性 progesterone
6b Δ^5 - 3β -HSD 活性
* $p < 0.01$, vs. control

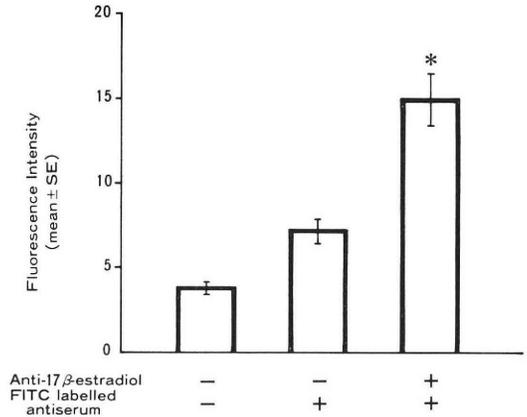


図 9 ハムスター排卵卵の内因性 17β -estradiol
* $p < 0.001$, vs. 自然吸着

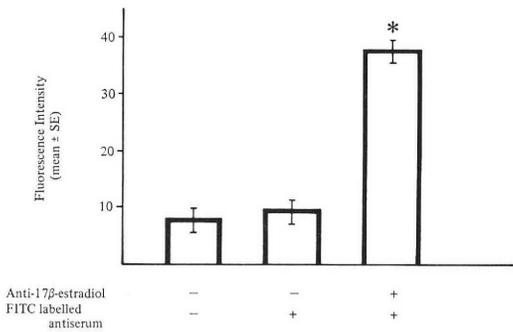


図 7 ヒト卵胞卵の内因性 17β -estradiol
* $p < 0.001$, vs. 自然吸着

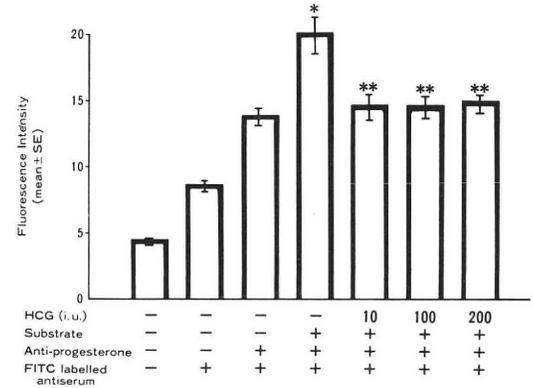


図 10 ハムスター卵胞卵の Δ^5 - 3β -HSD にたいする hCG の影響
* $p < 0.001$, vs. control (hCG ⊖, 基質 ⊖)
** $P < 0.001$, vs. hCG 無処理実験群 (hCG ⊖, 基質 ⊕)

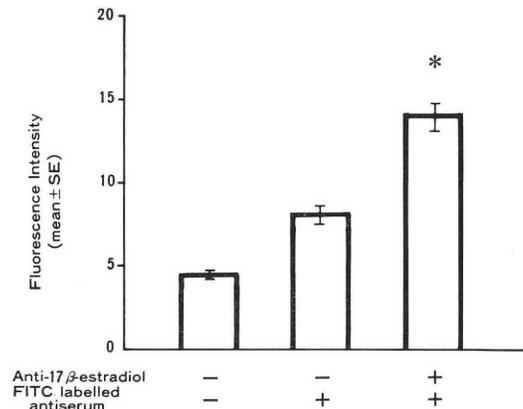


図 8 ハムスター卵胞卵の内因性 17β -estradiol
* $p < 0.001$, vs. 自然吸着

4) ハムスター卵胞卵および排卵卵の内因性 17β -estradiol

卵胞卵の自己蛍光は, 4.47 ± 0.16 ($n = 3$), 自然吸着は, 8.14 ± 0.42 ($n = 5$), 両抗血清で処理した群は, 14.06 ± 0.76 ($n = 11$) で有意に自然吸着より高値を示し

た ($p < 0.001$, 図 8)。さらに, 排卵卵では, 自己蛍光は, 3.83 ± 0.13 ($n = 4$), 自然吸着は, 7.18 ± 0.61 ($n = 17$), 両抗血清処理群は, 15.20 ± 1.38 ($n = 8$) で有意の差をもって自然吸着よりも高く ($p < 0.001$, 図 9), 内因性 17β -estradiol の存在が両者で示唆された。

5) *in vitro* におけるハムスター卵胞卵および排卵卵の Δ^5 - 3β -HSD に対する hCG の影響

卵胞卵では(図10), hCG 無添加で Δ^5 - 3β -HSD の対照群の自己蛍光は, 4.47 ± 0.16 ($n = 3$), 自然吸着は, 8.76 ± 0.28 ($n = 5$), 両抗血清処理群は, 13.93 ± 0.54 ($n = 9$) であり, 基質を加えて培養した実験群は, 20.17 ± 1.28 ($n = 11$) と対照群に比し有意に高値を示し ($p < 0.001$), hCG で前処理したものは, 10i.u., 100i.u., 200i. u./ml の添加により, それぞれ, 14.80 ± 0.78 ($n =$

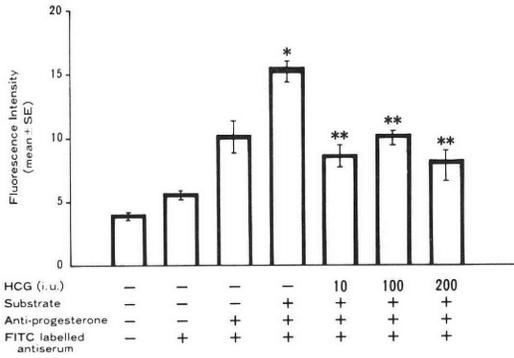


図 11 ハムスター排卵卵の Δ^5 -3 β -HSD にたいする hCG の影響
 * $p < 0.01$, vs. control (hCG \ominus , 基質 \ominus)
 ** $p < 0.001$, vs. hCG 無処理実験群 (hCG \ominus , 基質 \oplus)

11), 14.68 ± 0.71 (n=12), 15.16 ± 0.53 (n=7) と対照群に比し有意の差が認められず, さらに, hCG で前処理していない実験群との間には, それぞれ有意の差が認められた ($p < 0.001$). さらに, 排卵卵では (図11), hCG 無添加で Δ^5 -3 β -HSD の対照群の自己蛍光は, 4.30 ± 0.14 (n=2), 自然吸着は, 5.80 ± 0.14 (n=2), 両抗血清処理群は, 10.35 ± 1.09 (n=4) であり, 基質を加えて反応させた実験群の 15.45 ± 0.68 (n=8) の値とは有意の差が認められた ($p < 0.01$). 一方, hCG で前処理したものは, $10i.u.$, $100i.u.$, $200i.u./ml$ の添加により, それぞれ, 8.80 ± 0.69 (n=8), 10.17 ± 0.43 (n=17), 8.28 ± 1.11 (n=6) と対照群に比し, 有意の差が認められず, さらに hCG で前処理していない実験群との間には, それぞれ有意の差が認められた ($p < 0.001$). 以上のように, ハムスター卵胞卵および排卵卵において, hCG により *in vitro* で Δ^5 -3 β -HSD 活性が抑制されることが証明された.

6) *in vitro* におけるハムスター排卵卵の Δ^5 -3 β -HSD に対する trilostane の影響

trilostane 無添加の対照群の自己蛍光は, 6.20 ± 0.13 (n=4), 自然吸着は, 6.43 ± 0.21 (n=3), 両抗血清処理群は, 11.58 ± 0.38 (n=10) で, 基質を加えて培養した実験群は, 15.79 ± 0.37 (n=22) と対照群に比し有意に上昇した ($p < 0.001$, 図12). 一方, trilostane で前処理したものは, $10^{-8}M$, $10^{-7}M$, $10^{-6}M$ の濃度で, それぞれ, 13.91 ± 0.35 (n=23), 12.91 ± 0.05 (n=15), 12.49 ± 0.27 (n=17) で $10^{-7}M$ と $10^{-6}M$ trilostane 群は, 基質を除外した対照群と有意の差が認められなかったが, $10^{-8}M$ 群は対照群に比し有意に高値を示した ($p < 0.01$). trilostane で培養した三群はすべて, trilostane

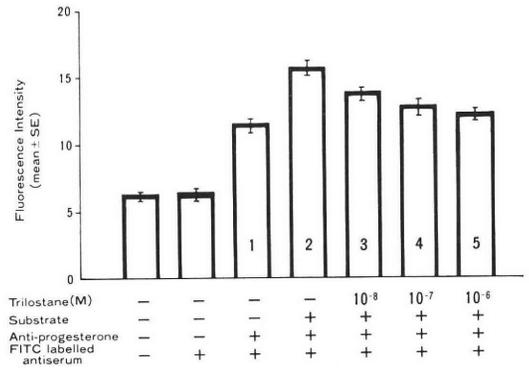


図 12 ハムスター排卵卵の Δ^5 -3 β -HSD にたいする trilostane の影響
 1 vs 2, $p < 0.001$
 2 vs 3, 2 vs 4, 2 vs 5, $p < 0.001$
 1 vs 3, $p < 0.01$
 3 vs 5, $p < 0.01$
 1 vs 4, 1 vs 5, 3 vs 4, 4 vs 5, not significant

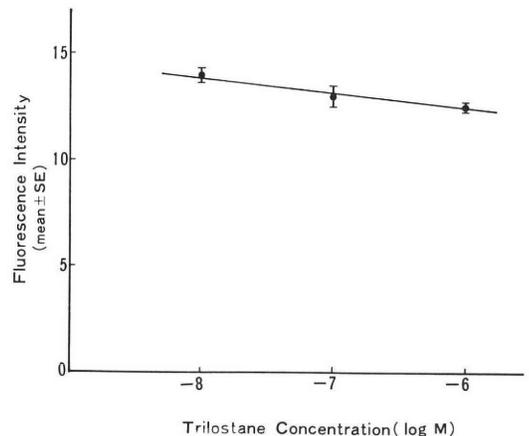


図 13 Trilostane の Δ^5 -3 β -HSD 抑制作用の線形回帰分析
 $Y = -0.71 \times + 8.15$, $r = 0.97$

無添加の実験群に比し有意に低値を示した ($p < 0.001$). さらに, $10^{-7}M$ と $10^{-6}M$, そして, $10^{-8}M$ と $10^{-7}M$ のそれぞれの両群の間に, 有意差は認められなかったが $10^{-8}M$ と $10^{-6}M$ 群の間に有意の差が証明された ($p < 0.01$). trilostane の Δ^5 -3 β -HSD の抑制作用は量依存性であることが線形回帰分析で推定された ($Y = -0.71 \times + 8.15$, $r = 0.97$, 図13).

考 察

哺乳動物卵子における adenylate cyclase-cyclic AMP 系を介するステロイドホルモン合成機構が, 卵子の成熟, 受精あるいは初期発生過程に重要な役割を果たしていることが明らかとされており, 現在まで, ラッ

ト¹⁾、ブタ²⁾、ウサギ³⁾、ハムスター⁴⁾などの受精卵に 4^{β} - 3β -HSD を含む幾つかのステロイドホルモン代謝酵素の存在が、組織化学的方法によつて報告されている。また、ハムスター⁵⁾、ヒト¹⁰⁾などの排卵前の卵胞卵にも、それらの酵素の存在が示唆されている。さらに、adenylate cyclase の活性も電顕組織化学的方法によつて、卵胞卵で明らかにされており^{5,10)}、生化学的にも、胞胚における幾つかのステロイドホルモンの存在が証明されている^{11,12)}。

本研究でも、定量的間接蛍光抗体法により、ヒト卵胞卵の内因性 progesterone, 17β -estradiol, さらに 4^{β} - 3β -HSD 活性、そして、ハムスター卵胞卵と排卵卵の 4^{β} - 3β -HSD 活性と内因性 17β -estradiol の存在が示唆された。 4^{β} - 3β -HSD 活性の検出には、組織化学の Dickmann & Dey の反応液¹⁾から、nitro-blue tetrazolium を除外し、蛍光抗体法を用いたが、この反応液に使用されている基質 pregnenolone の濃度は生理的に卵子が接する状態より高いので、卵子の 4^{β} - 3β -HSD 以外の脱水素酵素により、非特異的に progesterone に変換される可能性がある。さらに、今回使用した抗 progesterone 血清が pregnenolone と交叉反応を起こすことも考慮に入れなければならないが、その比率は0.3%以下と低い。これらの可能性を否定し、 4^{β} - 3β -HSD の存在を証明するには、酵素阻害剤による明らかな抑制作用を示す必要がある。trilostane (4α -5-epoxy- 17β -hydroxy-3-oxo-5 α -androstane-2 α -carbonitril, 分子量329.4) は新しい 4^{β} - 3β -HSD の強力な競合性阻害剤であり、それ自身ステロイドホルモン作用を示さない¹³⁾。ハムスター排卵卵において、量依存在に明らかな抑制作用がみられ、 4^{β} - 3β -HSD 活性が証明されたといえよう。

卵子内のステロイドホルモンの存在については、卵子周囲の卵丘細胞、あるいは卵胞液中のステロイドホルモンが卵実質に浸透して、それを測定している可能性がある。ヒト卵胞卵で、卵胞液の1/100以下の estradiol しか含まない15%ヒト臍帯血清清添加 HamF-10中で18~24時間培養し、周囲の卵胞液、あるいは卵丘細胞の影響を除外して、蛍光測定したところ、卵胞から採取して即座に固定した群と蛍光強度に差がみられず、卵子周囲の影響は無視できるものと思われる。

ゴナドトロピン、とくに hCG の 4^{β} - 3β -HSD 活性に対する影響を *in vivo*, *in vitro* で比較した結果、*in vivo* では、hCG の作用を受けていない卵胞卵と hCG の腹腔内投与後17時間で採取した排卵卵とでは、どちらも対照よりの増加率は変わらないが、*in vitro* では卵胞卵と排卵卵と同様の明らかな抑制がみられた。卵子に対する hCG の直接作用はいまだはつきりしていない。Amsterdam

ら¹⁴⁾は卵子の LH/hCG レセプターを否定しているが、Jagiello ら¹⁵⁾は、オートラジオグラフィと蛍光抗体法により、ヒトをはじめとする哺乳動物卵子の LH/hCG の局在変化を証明し、その卵子に対する直接作用を示唆している。*in vivo* では *in vitro* での hCG の 4^{β} - 3β -HSD の抑制はみられなかったが、hCG が卵丘細胞を介して、卵子への直接作用に影響を与えているとも考えられるが、その詳細は不明である。

哺乳動物の卵子成熟機構はいまだ完全に解明されていない。卵子成熟は減数分裂の核成熟と細胞質成熟の二者で考えられなければならない。核成熟については、減数分裂抑制因子である cyclic AMP¹⁶⁾、あるいはポリペプチドの OMI (oocyte maturation inhibitor)¹⁷⁾が卵丘細胞の卵子への突起構造により、卵子内に流入して核成熟を抑制しているが、LH サージによりその連絡が途絶え、減数分裂が再開するという仮説が示されている。哺乳動物卵子を卵胞から解放し、適当な培養液で培養すると排卵卵と同様の第二減後分裂中期まで進行することが知られている^{18,19)}。鈴木らは、それらの培養成熟卵を Tarkowski 変法で haploid の核型を示し²⁰⁾、さらに、Hoechst 33258染色後の蛍光測定法により核 DNA 量が半減することを証明している²¹⁾。しかし、培養成熟卵を用い、体外受精を施行しても、その受精率、卵割率は極めて低く^{22,23)}、細胞質成熟の重要性が注目されている。

ステロイドホルモンの卵子成熟に関する作用はいろいろ報告されているが統一した見解は未だ確立されていない²⁴⁻²⁶⁾。最近、Moor ら²⁷⁾は卵胞の体外培養でゴナドトロピンにより卵胞内卵子を成熟させる過程において、ステロイド合成阻害剤の aminoglutethimide と SU10603 (17α -hydroxylase の阻害剤) で処理し、卵胞から卵子を採取し、体内で受精させ24時間後に観察したところ、減数分裂の遅延と異常受精、すなわち、多精子受精と単精子受精にもかかわらず雄性前核形成不全の例が有意に増えることを指摘し、卵子成熟のステロイドホルモンの重要性を示唆している。著者ら²⁸⁾も、ハムスターを用いて、trilostane によるステロイド合成抑制の自然成熟、体外受精に対する影響をみた結果、自然成熟には影響を与えないが、体外受精過程では正常の二前核の形成率が低下し、多精子受精の頻度が増加することを認めた。多精子受精拒否機構として、卵子表面に散在する表層顆粒が精子による付活化により、囲卵腔にその内容物である糖蛋白あるいは蛋白分解酵素を放出して、透明層表面の精子レセプター、あるいは透明層の化学的性質に変化を与える透明層反応を誘起して、後続の精子侵入を妨げると考えられている。trilostane による卵子内ステロイド合成抑制が、表層顆粒内容物の放出、透明層反応過程に

影響し、多精子受精を起こすのではないかと考えられる。

本研究により、ハムスター卵子内のステロイドホルモン合成能、および内因性ステロイドホルモンの存在が示唆され、これらが卵子成熟、受精過程に重要な役割を果たしているものと考えられる。現在、卵管性不妊症の治療として体外受精法の臨床応用が進められている。しかし、国内外における成功率は非常に低く、その要因として、成熟卵子の採取のタイミングが最も重要視されており、卵子の成熟、とくに細胞質成熟の関与が問題と考えられる。今後、さらに卵子内ステロイドホルモンと卵子成熟との関連を究明し、ヒトの正常発生の条件に關する諸因子の解明とともに、不妊治療の基礎的な諸問題を明らかにしたい。

稿の終わるに臨み、御指導御校閲を賜った恩師、慶応義塾大学医学部産婦人科学教室飯塚理八教授に深く感謝の意を表します。また、研究を進めるにあたり終始御指示を頂いた鈴木秋悦助教授に深謝致します。さらに、御協力を頂いた産婦人科学教室の諸兄ならびに三菱化成生命科学研究所所長加藤淑裕博士、同発生生物学研究室田中省二博士に厚く御礼申し上げます。

本研究は、昭和57年度文部省科学研究費奨励研究 A No. 57771015 によつた。なお本研究の要旨は、第27回不妊学会総会（東京）および第38回アメリカ不妊学会総会（Las Vegas）にて発表した。

文 献

- Dickmann, Z. and Dey, S. K.: Two theories: the preimplantation embryo is a source of steroid hormones controlling (1) morula-blastocyst transformation, and (2) implantation. *J. Reprod. Fert.* 35: 615, 1973
- Flood, P. F.: Steroid-metabolizing enzymes in the early pig conceptus and in the related endometrium. *J. Endocr.* 63: 414, 1974
- Dickmann, Z., Dey, S. K. and Gupta, J. S.: Steroidogenesis in rabbit preimplantation embryos (hydroxysteroid dehydrogenases/estrogen). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72: 298, 1975
- Dickmann, Z. and Gupta, J. S.: Δ^2 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase and estradiol-17 β hydroxysteroid dehydrogenase activity in preimplantation hamster embryos. *Devl. Biol.* 40: 196, 1974
- 新村末雄, 佐々木博之, 石田一夫: ハムスターにおける卵胞卵子のステロイド代謝に関する組織化学的研究, *日本畜産学会報*, 51: 190, 1980
- Yanagimachi, R. Lopata, A., Odom, C. B., Bronson, R. A., Mahi, C. A. and Nicolson, G. L.: Retention of biologic characteristics of zona pellucida in highly concentrated salt solution: the use of salt stored eggs for assessing the fertilizing capacity of spermatozoa. *Fertil. Steril.* 31: 562, 1979
- Matson, P. L., Tyler, J. P. P. and Collins, W. P.: Follicular steroid content and oocyte meiosis status after PMSG stimulation of immature hamster. *J. Reprod. Fert.* 61: 443, 1981
- Biggers, J. D., Whitten, W. K. and Whittingham, D. G.: *Methods in Mammalian Embryology*, p. 86, Freeman, 1971.
- 小島元子, 笹野伸昭: 新しいステロイド合成酵素阻害剤 trilostane の *in vitro* における酵素阻害作用について, *日内分泌会誌*, 57: 997, 1981
- Sukuzi, S., Endo, Y., Fujiwara, T., Tanaka, S. and Iizuka, R.: Cytochemical study of steroid-producing activities of human oocytes. *Fertil. Steril.* 39: 683, 1983
- Fuchs, A. R. and Beling, C.: Evidence for early ovarian recognition of blastocysts in rabbits. *Endocrinology.* 95: 1054, 1974
- Shemesh, M., Milaguir, F., Ayalon, N. and Hansel, W.: Steroidogenesis and prostaglandin synthesis by cultured bovine blastocysts. *J. Reprod. Fert.* 56: 181, 1979
- Potts, G. O., Creange, J. E., Harding, H. R. and Schane, H. P.: Trilostane, an orally active inhibitor of steroid biosynthesis. *Steroids.* 32: 257, 1978
- Amsterdam, A. and Tsafiriri, A.: *In vitro* binding of 125 I-human chorionic gonadotrophin in the preovulatory follicle: absence of receptor sites on oocyte. *J. Cell. Biol.* 83: 255A, 1979
- Jagiello, G. and Ducayen, M. B.: Preliminary evidence for the intracellular localization of luteinizing hormones in mammalian oocytes. *J. Exp. Zool.* 201: 345, 1977
- Dekel, N. and Beers, W.: Rat oocyte maturation *in vitro*: relief of cyclic AMP inhibition by gonadotropins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 75: 4369, 1978
- Tsafiriri, A., Dekel, N. and Bar-Ami, S.: The role of oocyte maturation inhibitor in follicular regulation of oocyte maturation. *J. Reprod. Fert.* 64: 541, 1982
- Edwards, R. G.: Maturation *in vitro* of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes. *Nature.* 208: 349, 1965
- Suzuki, S. and Iizuka, R.: Maturation of human ovarian follicular oocytes *in vitro*.

Experientia. 26 : 640, 1970

- 20) 鈴木秋悦, 遠藤芳広, 大庭三紀子, 鎌田絃八 :
ヒトの培養卵子の染色体分析, 医学のあゆみ,
118 : 853, 1981
- 21) Suzuki, S., Endo, Y., Kitai, H., Oba, M.
and Iizuka, R. : Non-steroidal Regulators in
Reproductive Biology and Medicine, p. 225,
Pergamon Press, 1982
- 22) Edwards, R. G., Bavister, B. D. and Step-
toe, P. C. : Early stages of fertilization *in*
vitro of human oocytes matured *in vitro*.
Nature. 221 : 631, 1969
- 23) Suzuki, S., Kitai, H., Tojo, K., Oba, M.,
Fujiwara, T. and Iizuka, R. : Ultrastructure
and some biologic properties of human oocytes
and granulosa cells cultured *in vitro*. Fertil.
Steril. 35 : 142, 1981
- 24) McGaughey, R. W. : The culture of pig
oocytes in minimal medium, and the influence
of progesterone and estradiol-17 β on meiotic
maturation. Endocrinology. 100 : 39, 1977
- 25) Eppig, J. J. and Koide, S. L. : Effects of
progesterone and estradiol-17 β on the spon-
taneous meiotic maturation of mouse oocytes.
J. Reprod. Fert. 53 : 99, 1978
- 26) Smith, D. M. and Tenney, D. Y. : Effects
of steroids on mouse oocyte maturation *in*
vitro. J. Reprod. Fert. 60 : 331, 1980
- 27) Moor, R. M., Polge, C. and Willadsen, S.
M. : Effect of follicular steroids on the ma-
turation and fertilization of mammalian oocy-
tes. J. Embryo. Exp. Morph. 56 : 319, 1980
- 28) Suzuki, S., Endo, Y., Miura, R. and Iizuka,
R. : Biological effects of trilostane *in vitro*
on oocyte maturation and fertilization in the
hamster. in preparation

A study on steroidogenesis in ova

Yoshihiro Endo

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

Steroidogenesis in hamster and human ova was investigated by indirect immunofluorescence study.

(1) The presence of endogenous progesterone, 17 β -estradiol and the activity of Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (Δ^5 -3 β -HSD) were demonstrated in human follicular oocytes.

(2) The presence of endogenous 17 β -estradiol and the activity of Δ^5 -3 β -HSD were demonstrated in hamster follicular and ovulated ova, that of endogenous progesterone was not.

(3) The activity of Δ^5 -3 β -HSD in hamster follicular and ovulated ova was inhibited by preincubation with hCG *in vitro*.

(4) The activity of Δ^5 -3 β -HSD in hamster ovulated ova was inhibited in dose-response manner by preincubation with a new potent inhibitor of Δ^5 -3 β -HSD, trilostane.

Following these results, steroidogenesis of mammalian ova was suggested in indirect immunofluorescence study, and the implication of steroidogenesis for oocyte maturation and subsequent fertilization is discussed.

(受付 : 昭和58年6月8日)

モルモット卵の成熟に及ぼす A23187 と W-7 (Calmodulin 阻害剤) の影響

Effects of A 23187 and W-7 (Calmodulin Antagonist)
on Maturation of Guinea Pig Oocytes

東邦大学第2産婦人科学教室 (主任: 木下 佐教授)

岩 城 章 館 花 明 佳 永 江 毅
Akira IWAKI Akiyoshi TACHIBANA Takeshi NAGAE

2nd Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Toho University

東邦大学第2解剖学教室 (主任: 加藤守男教授)

岡 田 詔 子 加 藤 守 男
Akiko OKADA Morio KATO

2nd Department of Anatomy,
School of Medicine, Toho University

下等動物での卵成熟における Ca^{++} の関与は明らかであるが、哺乳動物に関する報告は少なく、はつきりとした定説はない。そこでモルモット卵を用い、 Ca^{++} が作用する際に重要な関係がある Ionophore (A 23187) ならび Calmodulin の阻害剤 (W-7) の成熟に及ぼす影響について検討し、次のごとき結果を得た。

1) Ionophore の培地内への添加は isolated oocyte の場合は成熟に対して抑制効果、follicle-enclosed oocyte の場合は促進効果が認められた。

2) W-7は抑制効果を示した。W-7添加は GV および GVBD にとどまる卵が多いことから、抑制効果は初期に作用していることが分る。また GVBD の時期よりさらに進んだ場合、circularly arranged chromatin stage の卵に比べて spindle formation stage の卵が急減することにより、この両 stage の間での block も考えられる。

以上の成績により哺乳動物卵の成熟にも Ca^{++} が大いに関与しているものと思われる。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 62-66, 1984)

ウニ、ヒトデ、カエルなどの卵母細胞では Mg^{++} 、 Ca^{++} などの陽イオンにより成熟が促進されることが知られている。また Ca^{++} が細胞内に入る際の透過体 A23187による成熟促進効果も認められている。一方、ほ乳動物では卵成熟の first step というべき減数分裂の再開を誘起するのは LH と考えられているが、*in vitro* の培養条件下では LH が存在しなくてもある程度は成熟する¹⁾。しかし陽イオンがほ乳動物卵の成熟に及ぼす影響に関する知見は乏しく、ウニ、カエルほど明らかではない。

Tsafriri らはラット卵を卵胞ごと培養した場合、A23187は成熟促進効果を示すが、卵丘に包まれた卵 (isolated oocyte) の培養の場合には Ca^{++} の影響はほとんど見られなかつたという²⁾。これに対しマウス卵を用いた Jagiello らの実験によれば、isolated oocyte では抑制効果が示されている³⁾。このようにある程度の実験成績の差が出ているが、実験動物または実験方法の相違によつて、このような結果が得られたのか否かははつきりしない。

そこで本実験ではモルモットを用い、A23187の卵成熟に及ぼす影響を検討するとともに、Calmodulinの阻害剤 W-7を付加した場合、成熟が阻害されるか否かを研究し、Ca⁺⁺の成熟に及ぼす影響を追求した。CalmodulinはCa⁺⁺が細胞内で働く場合、これと結合して作用するタンパク質である。

実験材料

実験動物は250~300grのモルモットである。毎朝、膣口の閉鎖状態を検査し、発情間期のものを供した。動物をネンプターで殺した後、卵巣を摘出し、その卵胞を培養液中で穿刺切開し、卵丘に取り囲まれた卵(isolated oocyte)を取り出す。また卵胞壁を傷つけないようにして卵胞を卵巣から取り出し、卵胞の中に存在する卵(follicle-enclosed oocyte)についても同様な実験を行った(図1)。

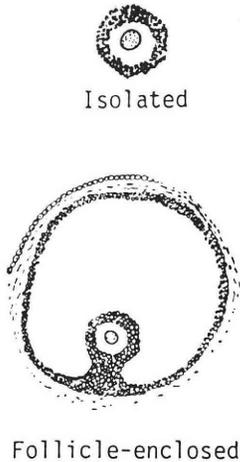


図1 Isolated と Follicle-enclosed Oocytes

実験方法

1. Ionophore の実験

実験①: isolated oocyte を10 μ M の A23187を含んだ修正199液(Yanagimachi¹⁾による)中で3回洗滌した後同様に調整した液を入れた角形培養瓶中に数個入れ、12時間培養した(図2の実験①)。A23187については、その0.5mgを0.05mlのアセトン中に溶解し、1mlのエタノールを加えたものを stock solution としておき、これを培養液に添加して10 μ M に調整する。コントロールは0.05mlのアセトンに1mlのエタノールを加えたものを作り、実験区と同量のアセトン-エタノール液を修正199液に加えた。

実験②: follicle-enclosed oocyte についてもまったく

Methods

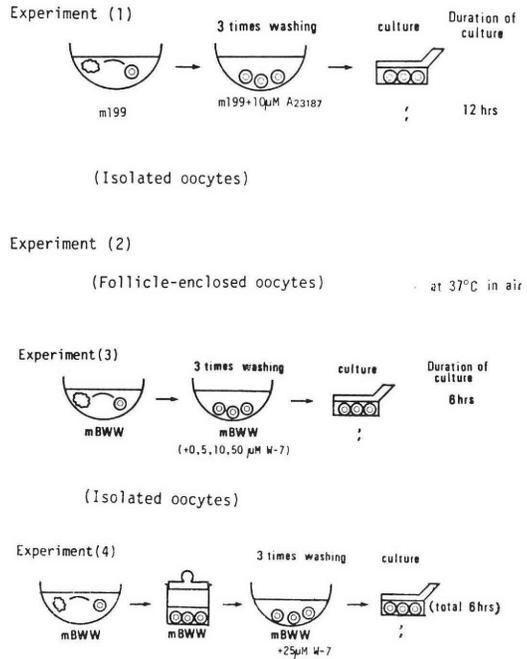


図2 実験方法

同様に培養する。

2. W-7の実験

実験③: 修正 BWW 液中で取り出した isolated oocyte を 5, 10, 50 μ M の W-7を含んだ修正 BWW 液中で3回洗滌したのち、同様に調整した液中で培養する(図2の実験③)。この場合の培養時間は6時間であり、修正 BWW 液は BWW 液に L-glutamine 20ng/ml および牛血清 albumine 3mg/ml を加えて作製した。

実験④: 修正 BWW 液中で isolated oocytes を150分間前培養した後、同液+25 μ M W-7中で3回洗滌してから W-7を含んだ修正 BWW 液の入った培養瓶中で培養し、トータルの培養時間は6時間とした(図2の実験④)。

3. 固定・染色

培養終了後、isolated oocyte はそのまま、follicle-enclosed oocyte は isolated oocyte の状態にしてから、0.1% hyaluronidase で卵丘細胞をある程度除去し、さらにピペッティングにより放線冠細胞をできるだけ取り除く。酢酸アルコール(3:1)で一昼夜固定し、酢酸オルセインで染色する。

4. 成熟度の分類

A23187の実験では一般的な germinal vesicle (GV と略す)、germinal vesicle break down (GVBD)、Pro-

表 1 Isolated oocyte に対する A23187 の影響

stage A23187	No. of oocytes	GV (%)	Pro M (%)	MI (%)	Ana I (%)	Degenerated (%)	Maturing (%)	X (%) (X≥Meta)
0 μM	48	6 (13)	5 (10)	27 (56)	10 (21)	0	42 (87)	37 (77)
10 μM	45	9 (20)	21 (47)	8 (18)	4 (9)	3 (7)	33 (74)	12 (27)

表 2 Follicle-enclosed oocyte に対する A23187 の影響

stage A23187	No. of oocytes	GV (%)	GVBD (%)	Pro M (%)	MI (%)	Ana I (%)	Maturing (%)	X (%) (X≥Meta)
0 μM	13	2 (15)	6 (46)	4 (31)	1 (8)	0	11 (85)	1 (8)
10 μM	14	0	6 (43)	2 (14)	4 (29)	2 (14)	14 (100)	6 (43)

表 3 Isolated oocyte に対する W-7 の影響

stage W-7	No. of oocytes	GV (%)	GVBD (%)	Con Ch-Cir Ch (%)	Spin-Meta I (%)
0 μM	31	2(7)	2(7)	13(42)	14(44)
5 μM	16	3(19)	4(25)	6(36)	3(19)
10 μM	30	6(20)	11(37)	11(36)	2(7)
50 μM	15	3(20)	3(20)	7(47)	2(13)

metaphase (Pro M), Metaphase I (MI) および Anaphase I (Ana I) に分けて記載した。W-7の実験では Donahue²⁾の報告に準じ、GVBD 以後 MI までの stage を condensing chromatin stage (Cond Chr), circularly arranged chromatin stage (Cir Chr), spindle formation (Spin) および Meta I に分けてのべた。

実験成績

1. A23187の影響

(1) Isolated oocyte に対する成績 (表1)

10μM の A23187を添加した修正199液中で遊離卵45個を培養したが、GBの所見を呈した卵は9個、Pro Mは21個、MIは8個、Ana Iは4個、変性したものは3個であった。すなわち MI以上に成熟したものは12個(27%)であった。これに対して A23187無添加のコントロールの実験では MI以上に達したのは48卵中37個(77%)であり、A23187添加により明らかな卵成熟抑制がみられた。

(2) Follicle-enclosed oocyte に対する成績 (表2)

同様に10μM A23187が加わっている培養液中で成熟卵胞14個を培養し、14個の卵の成熟状態を観察した。

GVのものは0、GVBDは6個、Pro Mは2個、MI

は4個、Ana Iは2個である。すなわち MI以上に成熟したものは14個中6個(43%)である。コントロール群では13個中僅か1個(8%)であり、A23187添加による成熟の促進効果が認められた。

2. W-7の影響

W-7を5μMの濃度に添加した培養液中で16個の遊離卵を培養すると GBにとどまったもの3個(19%)、GVBDの所見のもの4個(25%)、Con Chr—Cir Chに進んだもの6個(36%)であり、Spin-Meta Iまで達したのは3個(19%)であった。これと比べてコントロール群では7、7、42、44%を示しており、W-7を加えた場合 GVに留まる率は高く、たとえ成熟を始めたとしても GVBDまでしか達しない率も高い。W-7の濃度を10、50μMとした場合も同様な成績が得られた。すなわち W-7の卵成熟抑制が認められた。ただし W-7の濃度を大とした場合、抑制効果がより強いという結果は得られなかった。(表3)

次に W-7を含まない培地中で150分間培養した後、25 mM の W-7を含んだ mBWW 中で培養した場合の成熟状態をみると GVの状態の卵は17%、GVBDは44%、Cond Chr-Cir Chrは35%、Spin-Meta Iは4%であった。これに比べてコントロールは0、25、25、50%

表 4 培養後の Isolated oocyte に対する W-7 の影響

stage W-7	No. of oocytes	GV (%)	GVBD (%)	Cond Ch-Cir Ch (%)	Spin-Meta I (%)
0→0 μ M	24	0	6(25)	6(25)	12(50)
0→25 μ M	23	4(17)	10(44)	8(35)	1(4)

であり、このような操作を加えた場合も実験 3 と同様な W-7 の成熟抑制効果が認められた。(表 4)

考 案

ほ乳動物卵子培養時における Ca^{++} の必要性については幾つかの報告がみられるが、主として受精時の意義や受精卵の培養時について論じられている⁴⁾。例えば 2 細胞期のマウス卵の培養時には Ca^{++} は不可欠であり、 Ca^{++} を欠いた培地中では胞胚にならないといわれる⁵⁾。ウサギ卵についても Ca^{++} の必要性が報告されている⁷⁾。これらの報告における卵のステージよりもつと前の時期、とくに卵の成熟分裂開始時における Ca^{++} の意義についてはほ乳類卵に関する報告は比較的少ない。Leibfried⁸⁾ は卵丘細胞に包まれたウシ卵を体外培養し、培養液の Mg^{++} 、 Ca^{++} の両者を低濃度にすれば *in vitro* での減数分裂の再開に失敗するが、 Ca^{++} のみの低下では再開および第 1 極体形成に影響はないと報告した。Paleos⁹⁾ はマウスの遊離卵については Ca^{++} free の培地中ではすぐ変性し、高濃度の Ca^{++} の存在下での第 1 極体放出の%は対照よりはるかに大であると発表している⁹⁾。同様にブタについても卵成熟過程における Ca^{++} の必要性がのべられている¹⁰⁾。 Ca -ionophore は Ca^{++} の透過担体であつて、A23187 は Ca^{++} の膜透過性を高めるとされている。したがつて A23187 添加時に成熟が促進されると考えられ易く、下等動物については、そのことが証明されている。ところが哺乳動物においては A23187 添加の影響は必ずしも成熟促進という結果にはなつてない。Tsafiriri は PMS 投与時のラットの isolated oocyte を回収し、これらは Ionophore 添加で成熟に影響を受けなかつたが、follicle enclosed oocyte では加えた Ionophore 濃度が 10^{-9} M 以上の時は 61% 以上に減数分裂の再開がおこり、低濃度の時は対象群に比し Germinal vesicle から Germinal vesicle break down に達する率に変化がなかつたと報告している。これに対しマウスの isolated oocyte を使つた Jagiello の実験では A23187 添加は卵の成熟を抑制し、しかも濃度が増すにつれ成熟抑制度は大なることを示した。

本実験ではモルモットを用いて卵成熟に及ぼす Ionophore の影響を検討した。モルモットは卵巣囊を持た

ず、卵管采の形態や排卵時のホルモン動態もヒトに類似しているからである。すると A23187 の添加は isolated oocyte に対しては Jagiello と同じく成熟抑制効果が認められ、follicle enclosed oo-cyte に対しては、Tsafiriri と同じく成熟促進効果が認められた。本実験は Jagiello の報告より以前に開始したものであり、当初は遊離卵においても A23187 添加により成熟促進効果がみられるもと考えていたが実験結果は予想と相反するものが得られた。isolated oocyte に比して follicle enclosed oocyte の場合は卵胞膜や卵胞液が存在し、また顆粒膜細胞もより多いというような条件の差があるため、異なつた影響を与える結果となつたものであろう。その点の解明は今後の問題である。

細胞内に入つた Ca^{++} は細胞内の蛋白と結合して作用するが、この蛋白が Calmodulin である。これは垣内らによつて発見され、その薬理作用が次第に明らかにされ、現在 Ca^{++} 輸送、筋収縮、細胞分裂、神経性伝達物質の合成と放出などに関連していることが明らかとなつた。Calmodulin は動植物にきわめて広く分布しているといわれ、哺乳動物においては各組織に認められている。卵についてはウニ卵でチュブリンの脱重合に関係のあることが報告されている¹¹⁾。また精子についてはウサギとモルモット精子の先体に濃縮して在存することが直接免疫蛍光法で証明され¹²⁾、先体反応に Calmodulin の関与があるものとされている。卵の成熟に Ca^{++} が関与するならば、当然 Calmodulin が関係していると考えられるが、Calmodulin は細胞膜を通さないでの培養液中に入れても通常は細胞への影響はみられない。したがつて Calmodulin の拮抗剤を培養液中に加えての影響を検討することが多く、卵についても Trifluoperazine Chlorpromazine などについて検討されている³⁾。W-7 はもつとも特異な拮抗剤であるが、ほ乳動物卵に関する実験報告はみられない。本実験ではその添加によりモルモット卵の成熟を抑制することを明らかにし、他の拮抗剤と同様の結果が得られた。W-7 の影響は成熟の初期であることがウニなどでは示されている。本実験では GV または GVBD の時期にとどまつている卵の頻度が高いことから、モルモット卵においても成熟のごく初期に W-7 の抑制作用が働いていることが示された。また GVBD の時期を過

きた卵については circularly arranged chromatin stage の卵に比べて、spindle formation stage の卵が急減することは、この両 stage の間の時期での block もあることが推定される。

A23187の実験では培養時期を12時間、W-7では6時間としたが、最初 A23187の実験を行い、次いで W-7の実験に移り、修正 BWW 液中ではモルモット卵は6時間で充分成熟することが分つたので以後の W-7の実験は6時間とした。また W-7による成熟抑制効果が予測されるので成熟過程の初期における観察が重要という意味でも培養時間を短くした。

以上のごとく Ca^{++} が作用する際に重要な意味を持っている Ionophore と W-7がモルモット卵の成熟に著明な影響を支える実験成績を得、ほ乳動物においても Ca^{++} が卵成熟に大に関与していることが考えられる。

本論文の要旨は第27回日本不妊学会総会および XI World Congress on Fertility and Sterility において発表した。

文 献

- 1) Schuetz, A. W. : Role of hormones in oocyte maturation, Biol. Reprod., 10 : 150, 1974
- 2) Tsafiri, A., Bar-Ami, S. : Role of divalent cations in the resumption of meiosis of rat oocyte, J. Exp. Zool., 205 : 293, 1978
- 3) Jagiello, G., Ducayen, M. B. et al. : Alterations of mammalian oocyte meiosis I with divalent cations and calmodulin, Cell Calcium, 3 : 153, 1982
- 4) Yanagimachi, R. : Calcium requirement for sperm-egg fusion in mammals, Biol. Reprod. 19 : 949, 1978.
- 5) Donahue, R. P. : Maturation of the mouse oocyte *in vitro* I. Sequence and timing of nuclear progression, J. Exp. Zool., 167 : 237, 1968
- 6) Wales, R. G. : Effect of ions on the development of the pre-implantation mouse embryo *in vitro*, Aust. J. Biol. Sci., 23 : 421, 1970
- 7) Daniel, J. C., Millward, J. T. : Ferrous ion requirement for cleavage of the rabbit egg, Exp. Cell. Res., 54 : 135, 1969
- 8) Leibfried, L., First, N. L. : Effect of divalent cations on *in vitro* maturation of bovine oocyte, J. Exp. Zool., 210 : 575, 1979
- 9) Paleos, G., Powers, R. D. : The effect of calcium on the first meiotic division of the mammalian oocytes, J. Exp. Zool., 217 : 409, 1981
- 10) In-Ha Bae. : Role of calcium in resumption of meiosis of cultured porcine cumulus-enclosed oocytes, Biol. Reprod. Supple. No. 1, 92A, 1981
- 11) Nishida, E., Kumagai, H. : Calcium sensitivity of sea urchin tublin *in vitro* assembly and the effects of calcium-dependent regulator (COR) proteins isolated from sea urchin eggs and porcine brains, J. Biochem., 87 : 143, 1980
- 12) Jones, H. P., Lenz, R. W. et al. : Calmodulin localization in mammalian spermatozoa, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 77 : 2772, 1982

Effects of A 23187 and W-7, calmodulin antagonist, on maturation of guinea pig oocytes

Akira Iwaki, Akiyoshi Tachibana,
Takeshi Nagae

2nd Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Toho University

Akiko Okada, Morio Kato

2nd Department of Anatomy,
School of Medicine, Toho University

There are only a few reports of the effects on the maturation of mammalian oocytes which resume meiosis upon exposure to Ca^{++} and Mg^{++} . On the other hand, it is well known that amphibian and echinoderm oocyte maturation is stimulated by calcium ion. In this report, guinea pig oocytes were used. W-7, an antagonist of calmodulin (calcium binding protein), and calcium ionophore A23187 were examined to determine the effects of these on maturation. The results are as follows;

1) When isolated oocytes were incubated in calcium ionophore A23187 medium, the maturation of the oocytes was inhibited, but follicle-enclosed oocytes were stimulated by A23187.

2) The effect of W-7 was inhibition of maturation. The inhibitory effect of W-7 appeared in the early stages of the maturation processes at GV or GVBD stage. If maturation progressed to the germinal vesicle breakage phase or higher, W-7 is active somewhere between the circularly arranged chromatin and spindle formation stage.

These results suggest that Ca^{++} also plays an important role in the maturation processes of mammalian oocytes.

(受付：昭和58年8月5日，特掲)

先天性卵管膨大部欠損症 —症例報告ならびに考察—

A Case Report of a Patient with Segmental Absence of the Fallopian Tube

東邦大学医学部第1産婦人科学教室

片山 進 篠原 礼子 大村 剛
Susumu KATAYAMA Reiko SHINOHARA Go OHMURA

久保 春海 平川 舜 百瀬 和夫
Harumi KUBO Shun HIRAKAWA Kazuo MOMOSE

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

22歳の原発性不妊の婦人に、子宮卵管造影を行い、両側卵管閉塞症の診断で開腹した。卵管采と考えられた閉塞部に卵管采は存在せず、膨大部が盲端を形成していた。卵管峡部よりこの膨大部盲端までは、大きくうねるように屈曲しながら全体が著しく延長し、軽度の溜水腫様変化がみられた。膨大部盲端の外側に約2.5mにわたり膨大部の部分的欠損を認め、この欠損部に卵管間膜のみを認めた。さらにその外側に正常の卵管采を認めた。この欠損は、1. 両側性かつ対称性であること、2. 子宮、卵巢、円靭帯、卵巢固有靭帯、骨盤漏斗靭帯は正常、3. 欠損部周囲に癒着を認めない、4. 卵管に過延長や過屈曲の發育異常が認められる、5. 肉眼的に炎症所見を認めない、6. 病理組織学的に炎症所見を認めないことより、先天性に欠損したものと考えられた。腎尿路系の異常は認めなかつた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 67-70, 1984)

緒 言

女性不妊症の原因として、30~50%を占めるといわれる卵管疎通障害は、卵管炎、子宮内膜炎、骨盤内手術後遺症などの後天的な原因によることが多く、先天性の原因によることはきわめて少ない。今回、私達は卵管膨大部の一部が先天性に欠損したと考えられる症例を経験したので報告する。

症 例

患者：22歳、主婦
主訴：挙児希望
既往歴：虫垂切除術（21歳）
家族歴：父が白血病で死亡（28歳）
月経歴：初経14歳，周期28日型，持続5日間，経血量

中等量，経時障害として軽度の腰・下腹部痛がある。

現病歴：昭和53年4月に結婚し、2年3カ月を経過したが、不妊のため55年7月に近医を受診した。子宮卵管造影により両側の卵管閉塞を指摘され、手術目的で昭和56年6月8日当科へ入院した。

入院時現症：身長156cm，体重48kg，体格中等度，栄養状態普通，血圧110/80mmHg，脈拍72/分，体温37.2°C，眼瞼結膜貧血（-），眼球結膜黄疸（-），甲状腺触知せず，胸部，心肺ともに正常，腹部平坦，肝腎脾いづれも触知せず。

入院時内診所見：子宮後傾後屈，大きさおよび硬度正常，可動性良，両側付属器触知せず，陰部びらん（-），帯下白色少量。

入院時検査所見；血液型A，RhD（+），WBC 7400，RBC 4.36×10^6 ，Hb 12.5g/dl，Ht 37.9%，PLT $249 \times$

10³, ESR 1.5mm (1hr), 5mm (2hr), CRP (-), 出血時間 3 分, 凝固時間 10 分, Total Protein 6.9g/dl, ALB 4.4g/dl, GOT 10.7mU/ml, GPT 5.9mU/ml, Total-CHO 192.6mg/dl, Triglyceride 58.9mg/dl, Urea N 12.0mg/dl, Creatinine 0.7mg/dl, Glucose 94 mg/dl, CPK 38.2IU/L, Merlengracht 3, Total Bilirubin 0.4mg/dl, Direct-Bilirubin 0.1mg/dl, ICG2.8%, PSP 47.5% (15分), 80.9% (120分), Na 136mmol/L, K 3.9mmol/L, Cl 105mmol/L, Ca 4.7mEq/L, P 3.7 mg/dl, Fe 79 μ g/dl, UIBC 237 μ g/dl, TIBC 316 μ g/dl, Wa-R (-), HBsAg·Ab (-), 尿所見; 糖 (-), 蛋白 (-), pH 6, 沈渣異常なし, 腔細胞診 class II, 胸部 X-P 正常, 静脈性腎盂尿管造影に異常を認めず.

子宮卵管造影所見: 入院前に当科で行ったところ, 両側の卵管は強く屈曲しながら, 全体に延長し, 溜水腫状を示し, 腹腔内への造影剤の流出は認めなかった (写真 1). 以上の所見より卵管溜水腫を伴う両側卵管采の閉塞と診断し, 卵管開口術を目的として, 6月15日全身麻酔下で開腹術を行った.



写真 1 術前子宮卵管造影像
両側の卵管は強く屈曲しながら全体に延長し, 溜水腫状を示し, 腹腔内への造影剤の流出は認めない.

開腹時所見: 術前に卵管采と考えられた閉塞部に, 卵管采は存在せず, 膨大部が盲端を形成していた. また卵管峡部より膨大部盲端までは, うねるように大きく屈曲しながら, 全体が延長し, 軽度の溜水腫様変化が認められた. さらに, 膨大部盲端の外側に約 2.5cm にわたり膨大部の部分的欠損を認め, この欠損部に卵管間膜のみを認めた. その外側に肉眼的にまったく正常と思われる卵管采を認めた (写真 2). 反対側もほぼ同様な所見を呈しており, 膨大部の一部欠損は, 両側性であることが確認された (写真 3). 子宮および卵巣はいずれも正常であり, 円靭帯, 卵巣固有靭帯, 骨盤漏斗靭帯も特に異常を認めなかった.

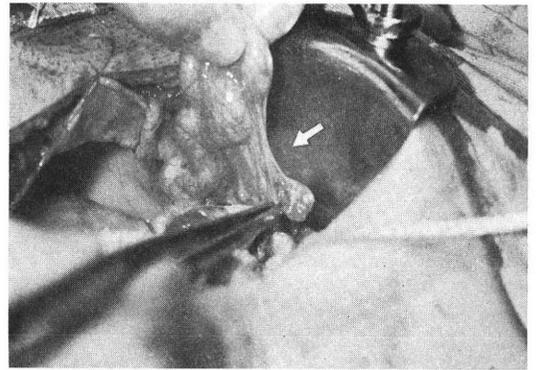


写真 2 右卵管所見, 矢印で示したところが卵管膨大部の部分的欠損部. その外側に正常卵管采が認められる.

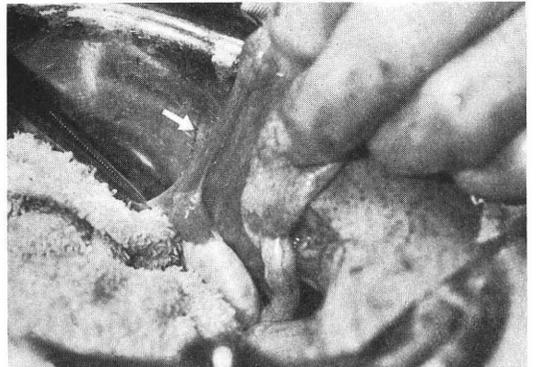


写真 3 左卵管所見, 右卵管と同様に膨大部の部分的欠損を認める. 矢印で示したところが欠損部.

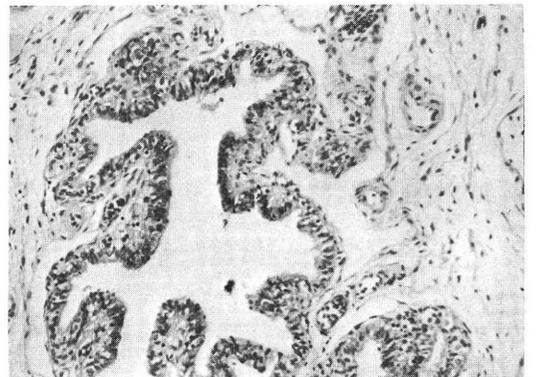


写真 4 右卵管采の組織所見
正常な粘膜上皮細胞と間質とからなり, 炎症所見は認めない.

手術は閉塞部に十字切開を入れ, 4-0 デキソンを使って, 筋層および粘膜をほん転し, 卵管開口術を行った. 右卵管采は病理組織検査のため切除し, 左卵管采はそのまま放置した.



写真5 術後子宮卵管造影像
右卵管の通過性がえられ、腹腔内に造影剤の流入を認める。

病理組織所見：切除した右卵管采の組織検査で、正常な粘膜上皮細胞と間質とからなる管腔がみられた。急性あるいは慢性的炎症を示唆する好中球，単球，組織球，リンパ球の浸潤や，結合織の増殖はみられなかつた（写真4）。

術後経過：術後，月に1～2回の通水療法を行い，6カ月を経過した時点で子宮卵管造影を行ったところ，左卵管は疎通性が不充分であつたが，腹腔内に造影剤の流入がみられ，右は通過性が保たれており，卵管溜水腫も改善されていることが確認された（写真5）。

考 察

女性性器の先天異常は Moor¹⁾の報告によると500から600人に1例の割合で起こるといわれ，それほどまれではない。しかしその多くは子宮や膣の奇形であり，卵管の先天奇形に関する報告はきわめて少ない。当教室においても過去13年間に604例の卵管疎通障害の手術例を経験しているが，先天性と考えられる例は，本症例以外に経験していない。卵管は胎生8週から12週にかけて Müller 管上部より分化発育する。この発育は胎児精巢性アンドロゲンと Müller 管抑制物質が欠如することにより行われるといわれている²⁾。この Müller 管の分化発育異常により，種々の卵管単独または子宮や膣の異常をともなう卵管奇形が発生する。卵管の先天異常としては表1にあげたものが知られている³⁾。すなわち，第1に痕跡的から小児よう，あるいはきわめて軽度の発育異常までの種々の程度の発育不全，第2に卵管の全長にわたり完全に重複したり，膨大部や卵管采のみが重複している卵管重複，第3に正常の卵管口付近に数コの卵管口が存在し，卵管奇形のなかでも最も頻度が多い多発性卵管口，第4に峽部に多くでき，閉塞や狭窄の原因となる卵管憩室，第5に卵管が卵巣とともに鼠径ヘルニア囊のな

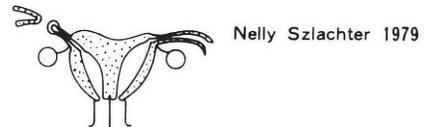
表 1 卵管の先天性異常

1.	卵管発育不全……痕跡的，小児様
2.	重複卵管………完全重複，不完全重複
3.	多発性卵管口……最も多い
4.	卵管憩室………峽部に多く閉塞の原因になる
5.	卵管位置異常……そ径ヘルニア囊に存在
6.	卵管欠損
	i) 完全欠損
	a. 片側欠損 単角子宮に伴う片側卵管
	b. 両側欠損 両側卵管，子宮を欠如
	ii) 不完全欠損 部分的欠損

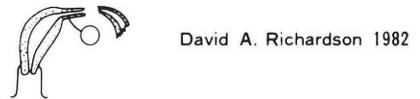
かに存在したり，正常の付着部より下方で付着する卵管の位置異常，第6に卵管の欠損がある。この欠損は完全欠損と不完全欠損（部分的欠損）にわけられ，完全欠損はさらに，単角子宮に続く1本の卵管のみを有し，他側卵管を欠損する片側欠損と，子宮の欠損をともなう両側欠損がある。

先天性と考えられる卵管の部分的欠損例について，Szlachter⁴⁾は，膣中隔をともなう双角双頸子宮の一侧卵管に，幅3cm にわたる部分的欠損を認めた32歳の原発性不妊婦人例について報告している。また Richardson⁵⁾は左単角子宮に続く卵管の中央部に欠損を認め，その先に

1. 膣中隔を伴う双角双頸子宮の一侧卵管の部分的欠損



2. 単角子宮に伴う卵管の部分的欠損



3. 正常子宮に伴う両側性膨大部欠損



図1 卵管の部分的欠損症

正常卵管采をもつ26歳の原発不妊例についてのべ、この例は右側腎が欠損していたと報告している(図1)。Müller 管の発生異常には、腎尿路系の奇形を合併することが多いので、本症例も静脈性腎盂撮影を行ったが、特に異常を認めなかった。一般に卵管の部分欠損は、卵管の炎症や捻転を原因として、二次的に発生することが多い。この卵管の捻転による部分的欠損について Thorek⁶⁾は、右側が左側の3倍の頻度で起こるとし、その原因として、左にはS状結腸が存在するので捻転が起こりにくいと報告している。また Richardson⁵⁾は分娩後に産褥性子宮内膜炎の既往をもつ婦人の右側卵管膨大部に、部分的欠損を認めた例を報告している。一方、Flickinger⁷⁾も卵管欠損部に続く卵管間膜の捻転に、卵管溜水腫を伴う左卵管の部分欠損例と、骨盤腹膜炎の後遺症によると考えられる左側卵管の部分欠損例の1症例について報告している。

以上、本症例の特徴をまとめると、第1に結核の既往がなく、血沈、白血球、CRP等は正常である。第2に卵管や卵管間膜をはじめとして、子宮、卵巣、円靭帯、卵巣固有靭帯、骨盤漏斗靭帯は解剖学的に正常位置にあり、第3に肉眼的にも炎症所見を認めない。第4に膨大部の一部欠損は、両側性かつ対称性である。第5に卵管に過延長や過屈曲の發育異常が認められる。第6に肉眼的に正常の卵管采が認められる。第7に卵管采の病理組織検査で、急性および慢性の炎症所見を認めない。以上の諸点よりみて、本例の卵管膨大部の部分欠損は後天性によるものではなく、先天性によるものと考えられた。

結 論

22歳の原発性不妊の女性に、子宮卵管造影を行い、両側卵管閉塞症の術前診断のもとに開腹したところ、両側卵管膨大部の部分欠損を認め、過延長、過屈曲もあることから、先天性によるものである可能性が強いことを、文献的考察を加えて報告した。

なお本症例は第27回日本不妊学会総会—東京にて発表した。

参 考 文 献

- 1) Moore, O.: Congenital abnormalities of female genitalia. *South M. J.* 34: 610, 1941
- 2) 平野陸男: 図説臨床産婦人科講座 第15巻 性分化の基礎と臨床. p 32, メジカルビュー社, 1978
- 3) 川上 博: 現代産婦人科学大系 第8巻A p 28, 中山書店, 1971

- 4) Szlachter, N.: Distal tubal pregnancy in a patient with a bicornuate uterus and segmental absence of the fallopian tube. *Fertil. Steril.* 32: 602, 1979
- 5) Richardson, D.A., Evans, M.I., Talerman, A., Maroulis, G.B.: Segmental absence of the mid-portion of the fallopian tube. *Fertil. Steril.* 37: 557, 1982
- 6) Thorek, M.: Torsion of fallopian tube in virgin. *M. Rec.* 125: 470, 1927
- 7) Flickinger, F.M., Masson, J.C.: Spontaneous amputation of the fallopian tube. *Am. J. Surg.* 74: 850, 1947

A case report of a patient with segmental absence of the fallopian tube

Susumu Katayama, Reiko Shinohara,
Go Ohmura, Harumi Kubo,
Shun Hirakawa and Kazuo Momose
First Department of Obstetrics and
Gynecology, School of Medicine,
Toho University

A 22-year old nulligravida presented with a 3-year history of infertility. A hysterosalpingogram revealed a normal uterine cavity and bilateral tubal occlusion in the distal portion, which ended in dilatation. An intravenous pyelogram was normal. At laparotomy, uterus, ovaries, round ligaments, uteroovarian ligaments and infundibulopelvic ligaments were normal. Both tubes consisted of proximal segments with marked elongation and bending, ending in a slight dilatation, and distal ends with normal-shaped fimbriae. These segments were separated by 2.5cm of mesosalpinx. Peritubal adhesions were not demonstrated.

Salpingostomies were performed on both obstructed ends. Right fimbria was resected for pathologic examination, which showed no evidence of acute and chronic inflammatory cell infiltration. Left fimbria was remained.

Six months after surgery, a hysterosalpingogram showed a patent lumen of left tube with a normal spillage of dye, although right tube was obstructed.

It was considered that the cause of the segmental absence of the fallopian tube appeared to be congenital from the anatomical and pathological points of view.

(受付: 昭和58年5月27日)

卵管妊娠に対する腹腔鏡診断とその保存的手術

A Diagnostic Value of Laparoscopy for Tubal Pregnancy and Conservative Surgery

大阪医科大学産科婦人科学教室

後山 尚久 奥田 喜代司 杉本 修

Takahisa USHIROYAMA Kiyoji OKUDA Osamu SUGIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Osaka Medical College, Osaka, Japan

卵管妊娠は、遷延経過をたどる卵管流産や破裂前の時期には種々の補助診断法を併用しても診断できないことが多い。われわれは積極的な腹腔鏡検査により卵管妊娠の早期診断をし、若年者や挙児希望例には妊孕性保持のため保存的手術を行った。

過去7年間に大阪医科大学産科婦人科学教室で腹腔鏡検査をうけた252例のうち、子宮外妊娠の診断を目的としたものは51例であった。そのうち腹腔鏡検査で診断したものは31例(61%)であった。子宮外妊娠ではなかつた例と比較すると、臨床症状や超音波検査ではむしろ後者に子宮外妊娠の所見が多く認められた。卵管妊娠の病巣は長径2cm以下が22.6%で、切開術、圧出術などの簡単な保存的手術によりその後27.8%の妊娠率を得た。現在のところ反復外妊例はない。腹腔鏡検査は未破裂卵管妊娠や遷延経過をたどる卵管流産の早期診断に有用であり、不必要な開腹術を回避できる点でも意義があると思われた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 71-77, 1984)

緒 言

初期あるいは遷延経過をたどる子宮外妊娠の診断は問診、外診、内診などの通常の外来診察ではつきかねる場合が多く、種々の補助診断法を併用する必要がある。最近では低単位のHCG定量が簡便となり、超音波検査の精度も高まったため、子宮外妊娠の早期診断率が向上してきた。しかし、これらの検査だけでは診断できない症例も少なくない¹⁻³⁾。

われわれは子宮外妊娠、特に早期あるいは遷延性経過をたどる卵管流産の診断に関して、腹腔鏡検査を積極的に行うことに努めてきた。特に若年者や挙児希望例に対しては卵管の保存手術の適応を拡げるための努力を続けてきた。そこで腹腔鏡検査所見を中心に、その診断的価値について若干の考察を試みた。

対 象

昭和50年から昭和56年までの7年間に子宮外妊娠を疑い、当科に入院した161名中、腹腔鏡検査を施行した51

名を対象として統計的検討を行った。

成 績

1) 子宮外妊娠に対する腹腔鏡検査の頻度

昭和50年から昭和56年までの7年間に当科で腹腔鏡検査をうけた症例は、重複を含めて308例であった。子宮外妊娠の疑いで腹腔鏡検査を行ったのは51例で、全体の16.6%を占めていた。またこれらは子宮外妊娠を疑って入院した症例の31.7%にあたる。

2) 腹腔鏡検査の成績(表1)

腹腔鏡検査により卵管妊娠と診断したのは30例で、卵巣妊娠の1例を加えると、子宮外妊娠は31例(60.8%)であった。子宮外妊娠ではなかつた20例(39.2%)のうち、5例は不全流産でこれらは尿中HCG定量では80-320IU/lであった。その他は骨盤腹膜炎、卵巣出血が各3例、腹腔内癒着、卵管炎、卵巣のう腫、急性肺炎が各1例であった。これらはBBTが高温相であつたり、超音波検査で付属部位に腫瘤像を認めたものが多かつた。小骨盤腔内に特に異常を認めなかつた11例中、上

表 1 “子宮外妊娠の疑い” 症例に対する腹腔鏡検査成績

子宮外妊娠だった例	31
子宮外妊娠でなかった例	20
不全流産	5
骨盤腹膜炎	3
卵巣出血	3
腹腔内癒着	1
卵管炎	1
卵巣嚢腫	1
急性膵炎	1
異常所見なし	5

記の不全流産、急性膵炎を除く 5 例はその他の検査にて正常所見を示し、腹腔鏡検査施行後、徐々に臨床症状も改善した。

3) 子宮外妊娠（主として卵管妊娠）の症状と検査所見（図 1）

腹腔鏡検査で診断した 31 例の子宮外妊娠例の臨床症状は、無月経の他に、出血、腹痛ともに認められた症例が 15 例（48.4%）で、出血のみ、腹痛のみ、または無月経

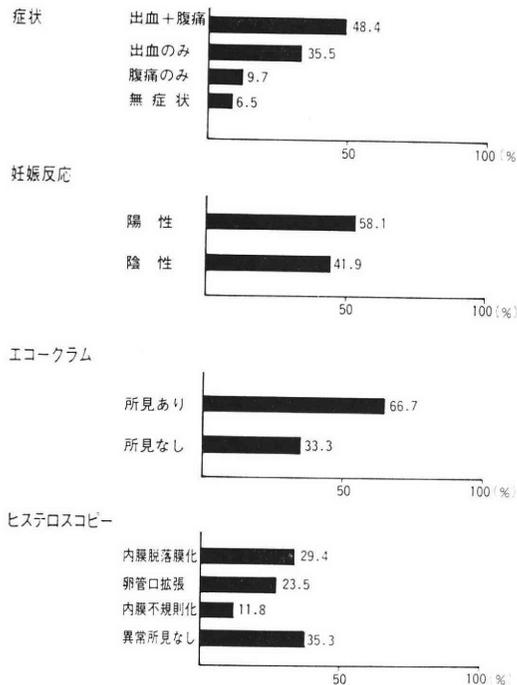


図 1 子宮外妊娠症例の症状と検査所見

以外に臨床症状をみなかったものが過半数であった。妊娠反応は外来検査としてのゴナビスライド（持田）では、陽性 58.1%、陰性 41.9% であった。陰性例は引き続き低単位 HCG 定量を行ったところ、すべての例が

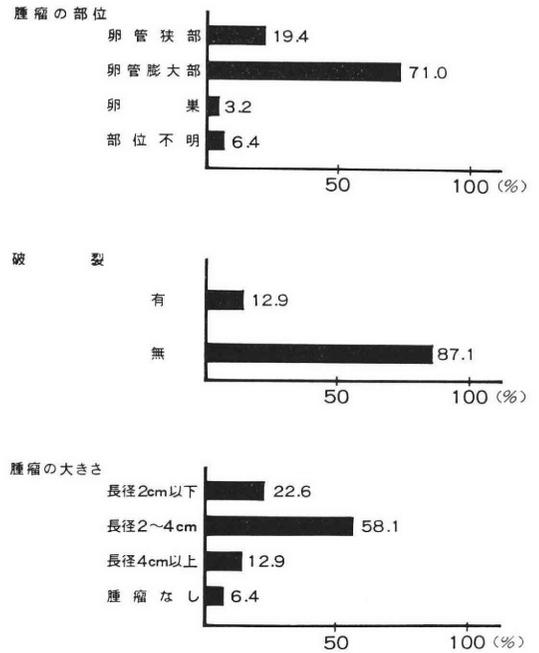


図 2 子宮外妊娠症例の腹腔鏡検査所見

160I. U./l 以上であった。

超音波検査では付属器腫瘍像、echo free space などの所見がみられたものを所見ありとした。所見ありは 66.7%、所見なしは 33.3% であった。

ヒステロスコピーでは妊娠時にみられる内膜脱落膜化の所見、すなわち浮腫の減退、不透明化、腺口の拡大などを認めたものが 29.4% であった。卵管口が一侧でも拡張していたものが 23.5% にみられたが、卵管口より子宮腔への出血を認めたものはなかった。内膜の不規則な例が 11.8% あったが、これらは試験的内膜搔爬によるものと思われた。異常所見のない分泌期内膜のみの所見であったものが 35.3% あった。

4) 卵管妊娠症例の腹腔鏡検査所見（図 2）

腹腔鏡所見としては未破裂の卵管妊娠は、リビドな卵管の局所的腫脹として観察されるものから紡錘状の血腫として認められるものまでである。腫瘍の部位（子宮外妊娠部位）は卵管膨大部が 71.0%、卵管狭部が 19.4% であった。腫瘍を確認できず、卵管采よりの出血と腹腔内の凝血だけが認められたものが 6.4% (2/31) あり、部位不明とした。

腹腔鏡検査時、すでに卵管が破裂していたものはわずかに 12.9% であった。卵管破裂前の症例は部位不明の 2 例を含めて 87.1% であった。

腫瘍の大きさは長径が 2-4cm のものが 58.1% と最も多かったが、2cm 以下の小さい腫瘍の症例も 22.6% を占

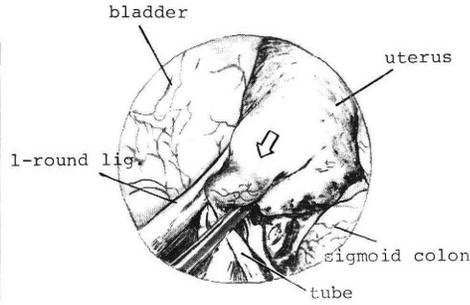
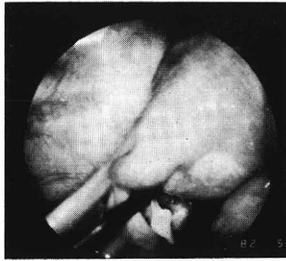


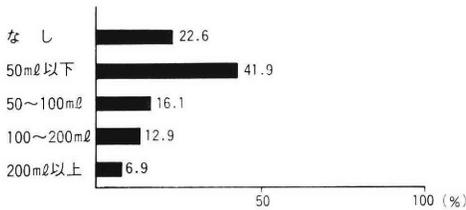
図 3-a

図 3-b

図 3-a, b 未破裂卵管妊娠の腹腔鏡所見

左卵管峡部に軽度の膨隆(矢印)を認め(1×0.5×0.5cm), 卵管表面が変色している。腹腔内に出血, 腹水を認めず, 対側卵管および子宮に異常を認めない。

子宮外妊娠症例の腹腔内出血量



子宮外妊娠症例の施行術式

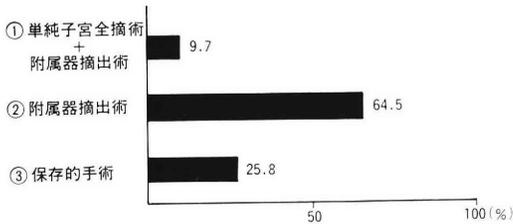


図 4 子宮外妊娠例の腹腔内出血量と施行手術

めていた。それらの中で最も腫瘍の小さかったものは1.0×0.5×0.5cmであった(図3-a, b)。このように腹腔鏡検査により, きわめて早期の卵管妊娠(特に未破裂の症例)の診断が可能であることがわかった。

5) 腹腔内出血量と施行手術(図4)

腹腔鏡検査施行時, 腹腔内出血の全くなかったものは22.6%であった。50ml以下の腹腔内出血例を加えると64.5%が少量の腹腔内出血の時期に診断できたことがわかる。

腹腔鏡検査後の施行手術は, 患側の付属器摘出術(卵管摘出術を含む)が64.5%で最も多かった。保存的手術施行例は25.8%で, 実際の挙児希望例は約50%であった。挙児希望例でも健側卵管が十分な妊孕性を有していると思われたものでは, 卵管摘出術を施行したものがあつた。保存的手術の術式は, 卵管切開術, 圧出術が大多数を占めた(図5, 6, 7, 8)。

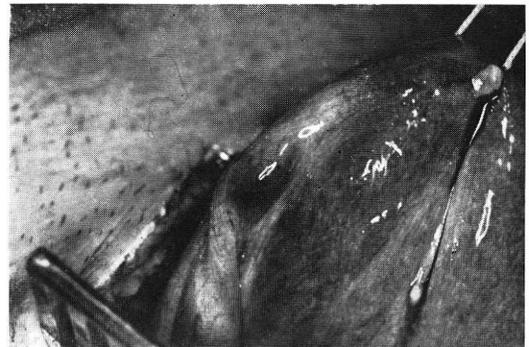


図 5 手術所見, 卵管の膨隆は軽度であり, 卵管表面は充血している。きわめて初期の未破裂卵管妊娠である。



図 6 手術所見, 卵管に切開術を施す。chorionが認められた。積極的な出血は認められない。

6) 非子宮外妊娠例の症状と検査所見(図9)

子宮外妊娠でなかつた例では子宮外妊娠例よりも出血や腹痛の訴えが多く, 65.0%の多きを占めた。無月経だけを訴えた例はなく, 臨床症状だけでは子宮外妊娠と差異はなかつた。外来での妊娠反応(ゴナビスライド, 持田)は半数が陽性であつた。

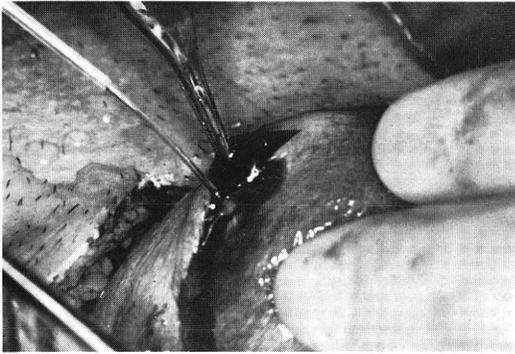


図7 手術所見，胎児成分を圧出し摘出した。出血はほとんどない。頑固な出血をみる場合は電気凝固で慎重に止血する。

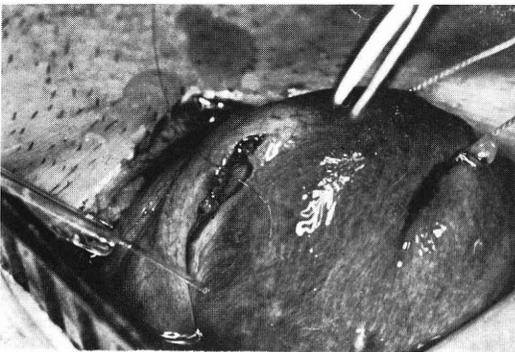


図8 手術所見，6-0 Dexon 糸にて縫合する。この場合，卵管にスプリントカテーテルを入れる必要はない。

また超音波検査では，echo free space や付属器腫瘍像などの子宮外妊娠を疑うに足る所見のみられたものが85.7%で，これを否定できたものは14.3%にすぎなかった。超音波検査で子宮外妊娠を否定できない所見のみられた例は骨盤腹膜炎の腹水貯留例や卵巣出血例，卵巣の腫瘍などであった。

このように子宮外妊娠でなかった例には，臨床症状や補助検査において，子宮外妊娠を否定できないものが多いことがわかり，しかもそれらの症例は手術的治療を必要としないものも多く含まれているように思われた。

ヒステロコピーでは，子宮外妊娠例よりも内膜が不規則な所見を呈していたものが多かった。これは前医で，多くの症例が試験的内膜搔爬をうけていたことによると思われた。

考 案

子宮外妊娠のうちでも，早期の卵管流産や，遷延経過をたどる卵管妊娠で，特に自覚的に疼痛を欠く症例では，診断がきわめて困難な例が多い。症状が少ない例で

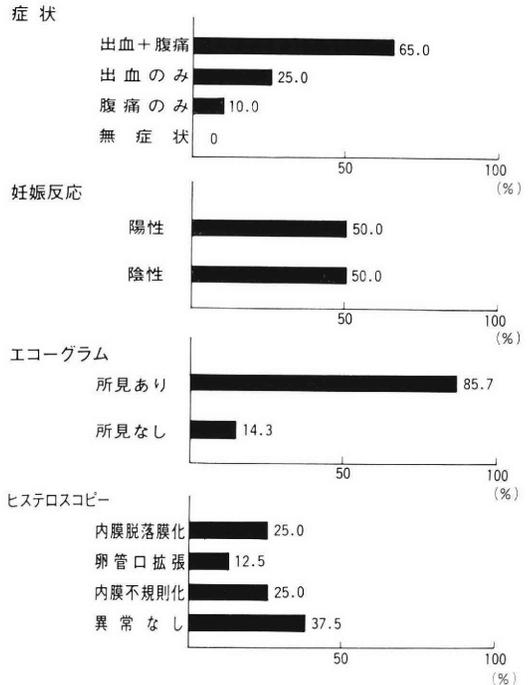


図9 非子宮外妊娠例の症状と検査所見

は，経過観察を行つているうちに破裂を起こし，緊急手術を行う例も少なくない⁴⁾。また子宮外妊娠の発生年齢は若年化しつつあり，不妊患者にも多くみられるようになった^{1,5)}。以前にはほとんどの症例に根治手術(卵管摘出術)が行われていたが⁹⁾，最近では子宮外妊娠の保存的手術が行われるようになってきた^{2,7-11)}。しかし，卵管破裂や腹腔内大量出血を起こすと，卵管の保存的手術が不可能な場合が増え，また卵管の腫瘍が大きな例では，保存的手術を行つても卵管機能の回復が得られないこともしばしばである。そこで，卵管妊娠でも腫瘍が小さいうち，また破裂以前に発見し，卵管を保存的に治療できる状態での診断が必要となつてきた。

最近，子宮外妊娠の早期診断のための腹腔鏡検査の利用率が増加してきている^{1,2,9,10,13,14)}。子宮外妊娠の診断に腹腔鏡検査を行う頻度は腹腔鏡検査を施行した全症例からみると，Frangenheim が18.6%，Samuelsson¹⁵⁾が14.9%に対し，著者らは16.6% (51/308) で，諸外国と大差はなかつた。また，Hughes¹³⁾は10年間で子宮外妊娠に対する腹腔鏡検査施行率が6%から40%に増加したのに伴ない，未破裂の症例の発見率が43%から70%に増加したと報告している。山本ら⁹⁾も腹腔鏡検査の導入により，未破裂の卵管妊娠の発見率が5.9%から30%に増加したと報告している。当科では全子宮外妊娠中の未破裂卵管妊娠例の発見率は20%であつた。

子宮外妊娠で、腹腔鏡検査を必要とする症例は、臨床症状や自覚所見に乏しい例である。Hughes¹³⁾は全子宮外妊娠のうち、無月経のみ、あるいはかつ色帯下のみで、不正性器出血や腹痛を主訴としない症例が30%を占めたと報告している。最近では超音波検査の診断率が向上し、子宮外妊娠の診断にも用いられるが、false positive も多く、非子宮外妊娠例の85.7%に子宮外妊娠を否定できない何らかの所見があつた。したがって超音波検査は、子宮内妊娠を否定する有用な手段ではあるが、確実な子宮外妊娠、特に早期の未破裂卵管妊娠の診断は困難であると思われる。Siegler¹⁴⁾も超音波検査は子宮外妊娠に対して診断の助けにはなるが、確実な診断には腹腔鏡検査がぜひ必要であると述べている。さらに Siegler¹⁴⁾は低単位 HCG 定量も診断の一助となるが、最終的には腹腔鏡検査をすべきであると述べている。当院でも子宮外妊娠例の58.1%は尿中 HCG は1000I. U./l 以上を示したが、41.9%の例は160-320I. U/l であつた。一方、非子宮外妊娠例でも尿中 HCG が1000I. U/l 以上の例が半数にみられた。諸外国では超音波検査と腹腔鏡検査の併用¹⁵⁾、また血中 HCG 定量との三者を併用すること¹⁶⁾で子宮外妊娠の診断率を向上させることができるといふ意見がある。

子宮外妊娠でなかつた例でも、臨床像、検査所見で子宮外妊娠を否定できない例が非常に多かつた。それらは今回、腹腔鏡検査により確実に子宮外妊娠が否定され、適切な処置がとられた。このように腹腔鏡検査は Hughes¹³⁾も述べるように、不必要な開腹術を回避できる点においても有用と思われた。

腹腔鏡検査をうけた子宮外妊娠例のうち、87.1%(27/31)が未破裂または遷延経過をたどつた卵管妊娠であつた。そのうち腫瘍の長径が4cm 以下のものが80.7%を占めていた。また腹腔内出血は50ml 以下のものが41.9%、出血が全く認められなかつたものが22.6%であつた。このように腹腔鏡検査の導入により、腫瘍が小さく、腹腔内出血の少ないうちに確実に診断できるようになった。しかも Taylor, Cumming¹²⁾が述べているように、腹腔内の貯溜血が少ないため、対側(健側)卵管や、周囲腹膜の障害は減少し、卵管周囲癒着の発生が防がれ、保存的手術の効果が十分に期待できるようになる。

子宮外妊娠(主として卵管妊娠)の診断に腹腔鏡検査が用いられ、保存的手術の症例が増えてきた。子宮外妊娠の保存的手術は、1894年に Prochowick が卵管切開術を施行し、その後しだいに行われるようになった。全子宮外妊娠に対する保存的手術の施行率は Isaacs¹⁷⁾ら66.6%、Rosenblum¹⁸⁾ら45.8%とかなり高率な報告もあるが、Halpin¹⁹⁾3.8%、Lim²⁰⁾5.2%と低い報告もある²¹⁾。当科

では保存的手術を施行した例は、腹腔鏡検査施行例の25.8%、全子宮外妊娠例からみると12.8%(18/141)であつた。

保存的手術には、1) 圧出術、2) 切開術、3) 部分切除開口術、4) 移殖術、5) 端々吻合術などがあり^{5,9,11)}、その他の方法も紹介されている^{7,8,16)}。圧出術は病巣が卵管采近くにある場合に行なうものである。切開術は病巣が卵管采近くか膨大部の場合に行い、卵管に縦切開を加え、病巣を除去し、切開部を縫合する方法であり、早期の未破裂の卵管妊娠の場合にはよく行われる。部分切除開口術は病巣部を切除して子宮側卵管の切断端を新たな開口部とする方法である。移殖術は卵管峡部子宮側付近に病巣がある場合に、切除し遠位卵管を直接子宮に移殖する方法である。端々吻合術は卵管峡部や膨大部近位部に病巣がある場合、病巣部を切除し、残存卵管どうしを端々吻合する方法である。

いずれにせよ、これらの方法は外妊部位、腫瘍の大きさ、止血が可能かどうかなどにより選択される。一般に圧出術、切開術のような簡単な手術の方が術後の卵管機能の保持にはよい^{5,9,12)}。とくに端々吻合術などの複雑な手術は、術後癒着の危険が大きいため、後日の second look で卵管形成術を行つたほうがむしろよいように思われる。著者らの経験した症例はほとんどが圧出術と切開術であつた。

Taylor, Cumming¹²⁾は腹腔鏡検査で診断した卵管妊娠に対し、mini-laparotomy により切開術のみを施行し、十分な成績を得たと報告している。また Decherney¹⁴⁾は長径3cm 以下の病巣はすべて腹腔鏡検査にひきつづいて腹腔鏡下に切開術を施行したと報告している。さらに, Bruhat¹⁸⁾も腹腔鏡下に、切開術および tubal aspiration を施行し、良好な成績を報告している。

保存的手術の施行上問題となるのは粘膜面からの出血をいかに確実に止血するかである。この点初期の病巣など処置しやすいことは言うまでもない。腹腔鏡検査を積極的に施行すれば、今回の著者らの成績のように初期の卵管妊娠を多数診断し、適確に保存的手術を行える。特に腫瘍が10mm×5mm というきわめて初期の症例を含めて、長径が4cm 以下の例が相当数を占め70.7%もあつた。したがって腹腔鏡検査による子宮外妊娠(主として卵管妊娠)の早期診断は、保存的手術を容易にさせ、術後の妊孕性の保存に關して大いに意義があると考えられる。

卵管妊娠の保存的手術の妊娠率については諸家の報告がある^{2,5,8-10,14)}。とくに対側(非罹患側)卵管の妊孕性がない症例に關しては、Caffier¹⁹⁾40%、Ploman²⁰⁾26.3%、Jarvinen²²⁾22.0%、野口ら⁵⁾41.7%、山本ら⁹⁾28.6%と報告され、当科では27.8%であつた。手術術式

によつてもかなり差があり、圧出術、切開術では高い妊娠率である^{5,9,17)}。保存的手術後、同部の反復外妊は Ploman ら²⁰⁾ 8.0%, Hallatt ら¹⁷⁾ 9.25%, Decherney ら²¹⁾ 10%, 山本ら⁹⁾ 14%と報告している。これに対し、未破裂卵管妊娠の腹腔鏡下手術例では Bruhat ら¹⁸⁾, Decherney ら¹⁴⁾はいずれも 0%と報告している。著者らも反復外妊は経験していない。

保存的手術は現在なお検討すべき問題はあがあるが、患側の根治手術後の不妊例の報告も多く^{19,20)}, 術後の management のあり方も改善されてきているため^{22,23)}, 今後は腹腔鏡検査を行い、もつと積極的に保存的手術を行うことが望ましいと思われる。

子宮外妊娠(主として卵管妊娠)に対する腹腔鏡検査の有用点は次の点であると思われる。

1. 初期あるいは遷延性経過をたどる未破裂卵管妊娠を確実に診断できる。
2. 初期の卵管妊娠例で保存的手術の可能な例が増え、術後の妊孕性の保持が期待できる。
3. 非卵管妊娠例の不必要な開腹術を回避できる。

加えて、腹腔鏡検査で早期に確実な診断をすることは、患者の全身状態を悪くさせないこと、hospital stay を短縮できる²⁴⁾などの点で非常に有用であると考えられる。

結 語

過去 7 年間に子宮外妊娠の疑いで腹腔鏡検査をうけた 51 例につき、詳細に検討し、保存的手術の可能性、その後の妊孕性などを含め、腹腔鏡検査の臨床的価値について考察を加えた。

尚、本論文の要旨の一部は第 18 回産婦人科内視鏡研究会(1982, 名古屋), および第 27 回日本不妊学会総会(1982, 東京)において発表した。

参 考 文 献

- 1) Bronson, R. A.: Tubal pregnancy and infertility. *Fertil. Steril.* 28 : 221, 1977
- 2) Decherney, A., and Kase, N.: The conservative surgical management of unruptured ectopic pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 54 : 541, 1979
- 3) Siegler, A. M., Wang, C. F., Westoff, C.: Management of unruptured tubal pregnancy. *Obstet. Gynecol. Survey*, 36 : 599, 1981.
- 4) 藤本 昭, 杉本 修: 子宮外妊娠, 治療, 61 : 489, 1979
- 5) 野口昭二, 斉藤真一, 塚本礼子: 子宮外妊娠, 産婦人科の世界, 28 : 637, 1976
- 6) Douglas, C. P.: Tubal ectopic pregnancy. *Brit. Med. J.*, 5 : 838, 1963
- 7) Rosenblum, J. M., Dowling, R. W., Barnes, A. C.: Treatment of tubal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 80 : 274, 1960
- 8) Skulj, V., Pavlic, Z., Stojiljkovic, C., Bacic, G., Drazancic, A.: Conservative operative treatment of tubal pregnancy. *Fertil. Steril.*, 15 : 634, 1966
- 9) 山本 浩, 岩田嘉行, 宮本尚彦: 卵管—ことに子宮外妊娠の保存手術, 産と婦, 44 : 249, 1977
- 10) Bukovsky, I., Langer, R., Herman, A., Capasi, E.: Conservative surgery for tubal pregnancy. *Obstet. & Gynecol.*, 53 : 709, 1979
- 11) Stangel, J. J., and Gomel, V.: Techniques in conservative surgery for tubal gestation. *Clin. Obstet. & Gynecol.*, 23 : 1221, 1980
- 12) Taylor, P. J.- and Cumming, D. C.: Combined laparoscopy and minilaparotomy in the management of unruptured tubal pregnancy, a preliminary report. *Fertil. Steril.* 32 : 521, 1979
- 13) Hughes, G. J.: The early diagnosis of ectopic pregnancy. *Br. J. Surg.*, 66 : 789, 1979
- 14) DeCherney, A. H., Romeo, R., Naftolin, F.: Surgical management of unruptured ectopic pregnancy. *Fertil. Steril.*, 32 : 21, 1981
- 15) Samuelsson, S., Sjovall, A.: Laparoscopy in suspected ectopic pregnancy. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.*, 51 : 31, 1972
- 16) Stangel, J. J., Reyniac, V., Stone, M. L.: Conservative surgical management of tubal pregnancy. *Obstet. & Gynecol.*, 48 : 241, 1976
- 17) Hallatt, J. G.: Repeat ectopic pregnancy: A study of 123 conservative cases. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 122 : 520, 1975
- 18) Bruhat, M. A., Manhes, H., Mage, G., Pouly, J. L.: Treatment of ectopic pregnancy by means of laparoscopy. *Fertil. Steril.*, 33 : 411, 1980
- 19) Caffier, P.: Die Konservative Operation des schwangeren Eileiters (Ein Beitrag zur Sterilitätsverhütung). *Arch. Gynecol.*, 173 : 261, 1941
- 20) Ploman, L., and Wicksell, F.: Fertility after conservative surgery in tubal pregnancy. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.*, 39 : 143, 1960
- 21) Skulj, V.: Significance of tubal pregnancy in the reproductive life in women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 80 : 278, 1960
- 22) Järvinen, P. A., Nummi, S., Pietilä, K.: Conservative operative treatment of tubal pregnancy with postoperative daily hydrotubations. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.*, 51 : 169, 1972

- 23) 吉沢伸二, 百瀬和夫: 卵管形成術の術後療法. 産と婦, 44: 461, 1977
- 24) Gomel, V.: Laparoscopy. CMA Journal, 111: 167, 1974

A diagnostic value of laparoscopy
for tubal pregnancy and
conservative surgery

**Takahisa Ushiroyama, Kiyoji Okuda
and Osamu Sugimoto**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Osaka Medical College, Osaka, Japan

The diagnosis of ectopic pregnancy is one of the most difficult and important diagnoses in gynecology. Especially in the diagnosis of unruptured tubal pregnancy in the early stage, clinical signs, urine-hCG pregnancy test and echography are not useful. Rupture of tubal pregnancy increases the amount of peritoneal soiling by extravasated blood and probably increases the risk of

formation of peritoneal adhesions around the another tube. It is very important to diagnose unruptured tubal pregnancy in the early stage for sterile women.

In a survey of 51 patients who underwent laparoscopic examination for the diagnosis of tubal pregnancy, we found that 61 per cent were tubal pregnancy and 87 per cent of them were unruptured tubal pregnancy. Tubal swelling was less than 20mm in diameter in 22.6 per cent of cases of unruptured tubal pregnancy, and 20-40mm in 58.1 per cent of them.

The diagnosis of doubtful cases of tubal pregnancy, especially unruptured tubal pregnancy, has been shown to be difficult at all levels of medical practice. The efficiency of diagnosis can be improved if laparoscopic examination is freely used in doubtful cases. Furthermore we can carry out a conservative operation using simple techniques on cases of unruptured tubal pregnancy which are detected early.

(受付: 昭和58年4月28日)

当科不妊外来における妊娠例とその予後の検討

Studies of Pregnancies and Clinical Courses on Our Infertile Clinic

順天堂大学医学部産婦人科教室 (主任: 古谷 博教授)

福 田 勝 清 田 明 憲 奥 山 輝 明
Masaru FUKUDA Akinori SEIDA Teruaki OKUYAMA

古 谷 博
Hiroshi FURUYA

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Juntendo University.
(Director: Prof. H. Furuya)

当科不妊症外来において昭和55年1月から昭和56年12月までの2年間に妊娠が成立した104の症例について種々の面から検討をおこなった。まず不妊因子としては、機能的な不妊および卵巣・内分泌因子によるものが多かった。また妊娠に結びついた治療法としては、排卵誘発剤使用例と子宮卵管造影後によるものが多かった。さらに初診から妊娠成立までの期間として72.1%が1年以内であった。当科で経過を知りえた85例における妊娠の転帰は自然流産12例(14.1%)、早産2例(2.4%)で、これは非不妊婦人のそれと比べて差は認められなかった。しかし分娩に至った68例の帝王切開率は23.1%と高かった。この原因として考えられることは高年初産および貴重児という背景である。また分娩時間は非不妊群に比べて不妊群が短い傾向を示したが、児体重、分娩時の出血量および胎盤重量は両者において差が認められなかった。従ってこれらのことから不妊症婦人における妊娠の予後は正常婦人と比べても何ら差がないものと考えられる。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 78-82, 1984)

緒 言

近年、分娩数が低下している反面、挙児を希望して来院する患者が年々増加する傾向がある。また不妊の臨床は、生殖生物学の著しい進歩にもかかわらず、なお未解明の部分が数多く残されており今なお重要な研究分野である。さらに不妊症治療の最終目的は単に妊娠の成立のみにとどまらず、正常な妊娠分娩経過を経て、健康な児を得ることにある。以上の観点より今回我々は当科不妊外来における妊娠例について、妊娠および分娩までの経過を含め併せ検討したので報告する。

研究対象

順天堂大学医学部産婦人科外来における不妊期間1年以上の挙児希望者で昭和55年1月より昭和56年12月ま

での2年間に妊娠が成立した104例を対象とした。また分娩経過、予後については、分娩が確認できた68例を対象とした。なお、比較対照群として昭和56年1月より7月までの当科分娩例300例を用いた。

成 績

1. 初診時年齢について

妊婦104例中、原発不妊は67例(64.4%)であり続発不妊は37例(35.6%)である。図1に示す如く初診時における妊娠例の年齢分布は最低20歳、最高は39歳であった。原発不妊では、25歳以上30歳未満、続発不妊では30歳以上35歳未満が最も多かった。

2. 不妊期間について

不妊期間については表1の如く、1年以上2年未満のものが最も多く47例(45.2%)を占め、また2年以上5

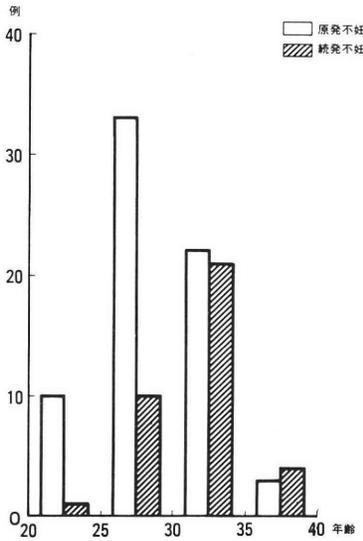


図 1 初診時年齢

表 1 不妊期間

不妊期間(年)	原発不妊(%)	続発不妊(%)	計 (%)
1~2	36(53.7)	11(29.7)	47(45.2)
2~3	14(20.9)	8(21.6)	22(21.2)
3~4	5(7.5)	6(16.2)	11(10.6)
4~5	5(7.5)	8(21.6)	13(12.5)
5~6	5(7.5)	2(5.4)	7(6.7)
6~7	0	1(2.7)	1(1.0)
7~8	0	0	0
8~9	2(3.0)	0	2(1.9)
9~	0	1(2.7)	1(1.0)
	67	37	104

年未満では46例 (44.3%) であり、さらに5年以上が11例 (10.6%) である。1年以上2年未満の47例を不妊因子別で見ると機能性が25例 (53.2%) および、卵巣・内分泌因子が19例 (40.4%) であり、この傾向は原発不妊続発不妊と同じである。

3. 既往症、先行妊娠について

既往症では、虫垂切除術が最も多く16例 (15.3%)、ついで子宮外妊娠3例 (2.9%) などであった。また続発不妊37例の先行妊娠の結果は、自然流産19例 (51.3%)、人工妊娠中絶9例 (24.3%)、満期分娩8例 (21.6%)、さらに子宮内胎児死亡1例 (2.7%) であった。

4. 妊娠成立までの期間について

表2は、妊娠成立までの期間を示したもので、当科不妊外来初診日より妊娠成立に移行した最終月経第1日までの期間を月年数で表わしたものである。6カ月以内の

表 2 妊娠成立までに要した期間

期 間	原発不妊(%)	続発不妊(%)	計 (%)
~ 3カ月	18(26.9)	12(32.4)	30(28.8)
4~ 6カ月	14(20.9)	7(18.9)	21(20.2)
7~ 9カ月	8(11.9)	5(13.5)	13(12.5)
10~12カ月	7(10.4)	4(10.8)	11(10.6)
1~ 2年	11(16.4)	5(13.5)	16(15.4)
2~ 3年	4(6.0)	2(5.4)	6(5.8)
3~ 4年	1(1.5)	2(5.4)	3(2.9)
4~ 5年	2(3.0)	0	2(1.9)
5~ 6年	2(3.0)	0	2(1.9)
	67	37	104

表 3 不妊因子別分類

不 妊 因 子		原発不妊	続発不妊	計 (%)
卵巣・内分泌因子	第一度無月経	8	6	14(13.2)
	第二度無月経	6	0	6(5.7)
	黄体機能不全	4	2	6(5.7)
	高プロラクチン血症	4	3	7(6.6)
	PCO	1	0	1(0.9)
子宮因子	双角子宮	1	1	2(1.9)
	子宮筋腫	4	4	8(7.5)
卵管因子	卵管狭窄	2	3	5(4.7)
	卵管閉鎖	1	0	1(0.9)
頸管因子	Huhner 陰性	2	0	2(1.9)
男性因子	Oligospermia	3	0	3(2.8)
機 能 性		32	19	51(48.1)

(重複含)

ものが51例 (49.0%) と多く さらに1年以内では75例 (72.1%) に妊娠の成立を見ている。とくに3カ月以内の妊娠の52.8%が子宮卵管造影後に成立した妊娠である。また5年以上の長期間を要したものは2例 (1.9%) であり共に第2度無月経の患者である。

5. 不妊因子について

104例の不妊因子別の分類は表3に示す如く機能性が51例 (48.1%) であり、これを除くと卵巣・内分泌因子が34例 (32%) で最も多い。その内容は第1度無月経14例、高プロラクチン血症無排卵症7例、第2度無月経6例、さらに黄体機能不全6例である。また子宮因子は10例 (9.4%)、卵管因子は6例 (5.6%) となっている。

6. 治療内容について

表4は不妊因子別に治療内容を示したもので、排卵誘

表 4 治療内容の因子別分類

治療内容	卵巣・内分泌因子					子宮因子		卵管因子		頸管因子	男性因子	機能性	計
	I 度 無月経	II 度 無月経	黄体機能不全	高プロラクチン血症	PCO	双角子宮	子宮筋腫	卵管狭窄	卵管閉鎖	Huhner 陰性	oligo-spermia		
clomiphene	8	1	3	1	1								14
clomiphene-hCG	5	1		1									7
hMG-hCG	1	4		1								1	7
progesterone			1										1
hCG			1										1
bromocriptine				7									7
HSG			1			1	1					16	19
Rubin Test												1	1
Huhner Test												1	1
通水療法								4	1				5
AIH		1	1							2	2	2	8
無処置		1	1			1	6	1			1	31	42

(重複含)

発剤として clomiphene および clomiphene-hCG 療法, hMG-hCG 療法が多く29例 (25.7%) である. その他では子宮卵管造影後, Rubin Test および 通水療法によつて妊娠に至つたものが25例 (22.1%) と次いでおり, さらに AIH 妊娠は8例 (7.1%) である. 妊娠成立以前の治療で有効であつたと思われるものは楔状切除術2例, 筋腫核出術4例, 卵巣のう腫摘出術2例, Kaufmann 療法1例などがある.

7. 妊娠の転帰について

妊娠の転帰については図2に示す如く, 当科で経過を

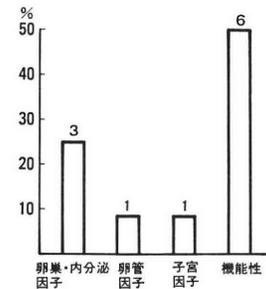


図3 自然流産例の因子別分類

自然流産	12 (14.1%)
人工妊娠中絶	1 (1.2%)
子宮内胎児死亡	2 (2.4%)
早産	2 (2.4%)
正期産	65 (76.5%)
過期産	1 (1.2%)
双胎分娩	2 (2.4%)

(妊娠継続, 転医除く)

図2 妊娠の転帰

知りえた症例85例で, 他医への紹介や妊娠継続中の症例19例は除いた. その内訳は自然流産12例 (14.1%), 人工妊娠中絶1例 (1.2%), 子宮内胎児死亡2例 (2.4%), 早産2例 (2.4%), 正期産65例 (76.5%), 過期産1例 (1.2%), 双胎分娩2例 (2.4%) である. 特に自然流産例について不妊因子別に示したものが図3であり, その内訳は, 機能性が6例, 卵巣・内分泌因子が3例, 子宮と卵管因子が各1例づつであつた. この結果, 機能性の流産率は11.8%, 卵巣・内分泌因子は8.8%, 子宮因子は10.0%, 卵管因子は16.7%で, 卵管因子の流産率が他

表5 分娩様式

	不妊群 (69例)	非不妊群 (300例)
頭位	48 (69.6%)	236 (78.7%)
吸引	4 (5.8%)	13 (4.3%)
鉗子	1 (1.4%)	5 (1.7%)
骨盤位	0	9 (3.0%)
帝王切開	16 (23.1%)	37 (12.3%)

の因子に比べやや高い傾向を示している.

8. 合併症について

妊娠時の合併症については, 卵巣のう腫合併が6例 (8.8%), そのうち3例が hMG-hCG 療法, 1例が clomiphene 後妊娠であり, さらに切迫流産合併は19例 (27.9%) であり, 妊娠中毒症合併は8例 (11.8%) である.

9. 分娩様式について

分娩に至つた69例 (双胎分娩含む) の不妊群の分娩様式を非不妊群と比較示したものが表5である. この結

表 6 分娩時間, 児体重, 出血量, 胎盤重量について

	不 妊 群		非 不 妊 群	
	初 産	経 産	初 産	経 産
分娩時間 I + II (hour)	11.0±7.4	3.9±1.2	15.3±10.3	5.38±3.15
児 体 重 (g)	3234.3±423.6	2879.3±333.8	3216.1±416.7	3236±363.1
経陰分娩時出血量 (ml)	571.2±315.8	409.3±224.6	424.6±199.2	451.3±312.8
胎 盤 重 量 (g)	468.6± 78.3	489.2±109.3	499.6± 95.7	529.1±120.0

果は頭位分娩例は不妊群で69.6%であり, 対照としての非不妊群では78.7%である. 次に吸引・鉗子分娩例では表の如く両群は差は認めなかつたが, 帝王切開例は不妊群23.1%と非不妊群の12.3%と比べて約2倍の高率となっている. さらに双胎分娩例は2.9%と非不妊群の0.67%に比べてかなりの高値を示している.

10. 分娩時間, 児体重, 出血量, 胎盤重量について

不妊群および非不妊群について, 初産, 経産別に分娩時間, 児体重, 分娩時出血量, および胎盤重量を比較検討した結果が表6である. まず分娩時間(分娩第1期+第2期)については, 不妊群が非不妊群に比べて初産, 経産例共, やや短かい傾向を示している. 次に児体重, 分娩時出血, 胎盤重量については, 初産, 経産例共, 両群の間において有意の差は認められない.

考 察

近年医学の進歩は著しいものがあり不妊症の患者もこの医学の進歩を期待して来院することが多い. しかしながら生殖生物学の進歩にもかかわらず, まだ未解明の部分が数多く残されている. そこでその一步として実際の臨床像を把握する目的で統計的に検討考察することが重要であると考えられる. 今回我々は1年以上の不妊を訴えて来院した患者の中から104例の妊娠例について検討を試みてみた. 妊娠例を不妊因子別に分類した結果では野嶽ら(1970)⁴⁾, 小畑ら(1973)⁶⁾は卵管疎通性障害を不妊因子の第1位とし, また他家の多くの報告^{1,3,7,10)}では卵巣・内分泌因子を第1位としている. 今回我々の検討では機能が最も多く, 次いで卵巣・内分泌因子であった. この結果は山田ら(1982)の報告¹¹⁾と同様である. 次に妊娠に結びついた治療法についての結果では, 卵管の通水, 通気および卵管造影法によって妊娠したと考えられる例が25例(全妊娠例の22.1%)と多く, 通気や卵管造影法が不妊症治療上欠く事のできない治療の検査法であることを示しているとともに卵管刺激の有効性を示している. 一般に不妊症婦人が妊娠した場合には諸家の報告によると, 流産率および早産率が高いとする報告^{2,6,7,8,9,11)}が多い. しかし一方には正常妊娠例と差はな

いと報告^{5,10)}もある. 今回我々の正常婦人の流産率および早産率との比較結果では両者間に差は認められなかつた. 多胎妊娠については climphe および climphe—hCG 妊娠の2例(2.4%)であり, 対照例の双胎率に比べ高値を示している. また帝王切開率については23.1%と不妊群において高い. これは不妊症婦人においては高年初産婦が多いことや, 貴重児であるなどの背景によるものと考えられる. また児体重は両群間に差はなく, 不妊症婦人例に特に低体重児が多いという傾向は認められなかつた. しかし分娩時間は非不妊群に比べて初産, 経産例共, 分娩時間の短い傾向が認められた.

おわりに

不妊症婦人の妊娠例の予後について, 流早産率が高くさらに最終分娩過程においても生殖能力が低下しているとの報告¹⁰⁾があるが, 今回我々の検討結果からは, 不妊症婦人の妊娠といえども正常婦人の妊娠と比べその予後に何ら差がないものと考えられる.

文 献

- 1) 伊東武久, 宮内文久, 木戸雄二, 石田満明, 福田 栄: 最近2年間の当科不妊症クリニックの現況, 日不妊会誌, 21:188, 1976
- 2) 楠田雅彦, 立山浩道, 熊本照史, 中村正彦: 教室不妊外来における妊娠成切例の検討, 日不妊会誌, 17:273, 1973
- 3) 金岡 毅, 岡田悦子, 清水潤司, 森 巍, 関場 香: 当院不妊外来における最近2年間の妊娠例についての検討——特に clomid 療法を中心として——, 日不妊会誌, 18:99, 1973
- 4) 野嶽幸雄, 沢田喜彰: 現代産科婦人科学大系, 9, 50, 中山書店, 1970
- 5) 西村敏雄, 岡村 均, 藤井信吾, 野田洋一, 神崎秀陽, 伴 千秋, 本橋 享, 麻生武志, 藤田泰彦, 木下幹久: 不妊外来における妊娠成功例とその予後の検討, 日不妊会誌, 27:260, 1982
- 6) 小畑 義, 石原貞尚, 東山秀声, 村上 旭, 岡田弘二: わが教室における昭和41~45年の外来不妊統計, 日不妊会誌, 18:44, 1973
- 7) 白川光一, 熊本有宏, 丸木陽子, 昇 幹夫: 当科不妊外来における妊娠例の臨床的分析, 日不

- 妊会誌, 23 : 361, 1978
- 8) 白水 功, 鈴木直行, 植村次雄, 塩島令儀: 不妊外来妊娠成功例の妊娠分娩経過の検討, 日不妊会誌, 23 : 193, 1978
- 9) 高野 昇, 清水三郎, 高見沢裕吉: 当科不妊外来における妊娠例の検討, 日不妊会誌, 20 : 383, 1975
- 10) 馬嶋恒雄, 中居光生, 西島正博, 黒江美知子, 尾崎周一, 前田 徹: 当院不妊外来登録患者の妊娠予後の検討; 日不妊会誌, 24 : 185, 1979
- 11) 山田伸介, 占部 清, 清水健治, 関 正明, 長川富保, 林 伸旨, 早田幸司, 吉田信隆, 秋本暁久, 関場 香: 不妊症治療後妊娠とその予後, 日不妊会誌, 27 : 54, 1982

Studies of pregnancies and clinical courses on our infertile clinic

**Masaru Fukuda, Akinori Seida,
Teruaki Okuyama and Hiroshi Furuya**

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Juntendo University
(Director: Prof. H. Furuya)

Pregnancies and these clinical courses of infertile

women were studied. The subjects were 104 infertile women, became pregnant in our clinic, during a period of 2 years from January 1980 to December 1981.

The results were as follows.

- 1) As regarding clinical factor of infertility, ovulatory disturbance were causative in 32.0% and unknown etiology in 48.1%
- 2) Induction of ovulation is the most effective treatment which contributes toward pregnancy.
- 3) 14.1% of pregnant cases resulted in spontaneous abortion and premature delivery in 2.4%.
- 4) On 68 cases of delivery ceserean sections were performed in 23.1%, higher than that of the control groups.
- 5) There were no significant difference in birth weight of newborn, postpartum hemorrhage and placental weight between the infertility and the control groups.
- 6) There was significant difference in duration of delivery between the infertility and the control groups

From the present results, it is revealed that in clinical course of pregnancy there was no difference between the infertile and fertile women.

(受付: 昭和58年3月4日)

RECORDING OF UTERINE CORNUA CAUTERIZATION TECHNIQUE AND STERILIZATION EFFICACY OF AUTOMATICALLY CONTROLLED CAUTERIZATION

Fumio ISHIKAWA

Abstract: Uterine-cornual adhesive swelling (protrusion) provides the best possibility for determination of sterilization, and there has been no pregnancy reported after sterilization by this method.

A high frequency oscillator is used together with a recorder and an automatic controller that graphically registers temperature time and electrical current, so that the swelling occurs easily and correctly.

Using a "regular shape figure" which made swellings will reflect the effect of the cauterization, therefore it is not necessary to confirm this by means of HSG.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(1), 83-89, 1984)

Introduction

Sequential slices of the interstitial part of the Fallopian tubes after the 4th menstruation following cauterization of the uterine cornua using the prescribed methods and instruments show that adhesion of connective tissues was limited to a small area of a few millimeters facing the uterine cavity, while the remaining parts of the tube were patent.

Therefore, the swellings on the unilateral or bilateral uterine cornua seen in hysterosalpingography (H. S. G) of the cauterized uterine cornua are considered to be an important characteristic proving obstruction of the Fallopian tubes.

Since there are naturally individual differences in the results of cauterization in each case, it is necessary to have a fixed framework of standards for cauterization, in order that uniform swellings in the uterine cornua may be formed. We have already reported since III ESCO that the range of values are confined to the following: - viz. temperature 110°C -120°C, current flow 500-540mA, and time 60-90 seconds.

However, despite of years of experience, it is difficult to predict the post-cauterization

effects with this method of meter reading, and therefore, we first recorded the temperature, current flow and cauterization time using a recorder. In addition, in place of manual adjustment, the current flow was adjusted automatically.

In other words, the current flow was automatically adjusted so that a constant depth may be cauterized in the vicinity of 90 seconds, from the normal room temperature up to the boilingpoint of human serum of 104°C (beginning of spark discharge), notwithstanding whether the tissues cauterized with ease, with difficulty, nor the area of cauterization of the uterine cornua.

Cauterization of Pig Flesh and Adipose Tissue

When pig flesh and its fatty tissues were cauterized using the method of forming swellings in the uterine cornua, which has frequently been reported since the 15th General Assembly of the Japan Fertilization and Sterilization Society, 1970 in the following comparisons may be made of the graphs (Fig. 3-9).

Cauterization of the Uterine Cornua

The graphon the left and on the right

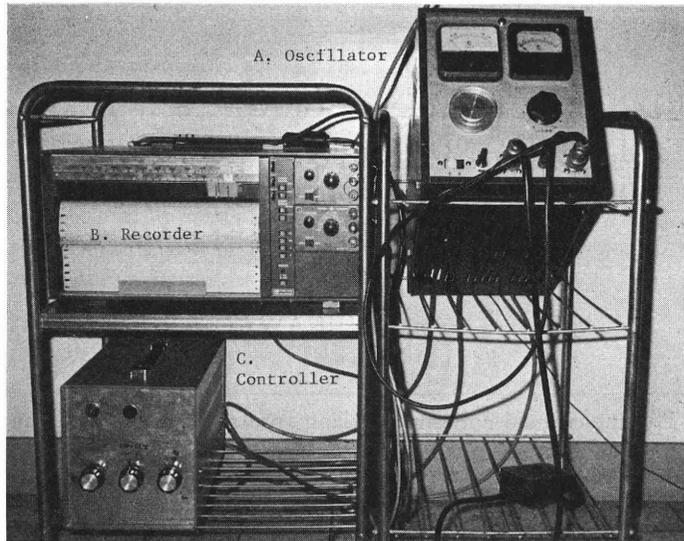


Fig. 1 A) High frequency oscillator, B) Recorder, and C) Controller

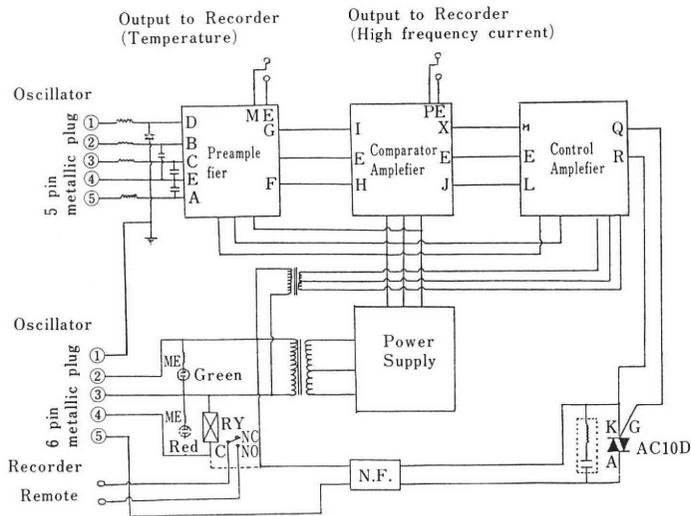


Fig. 2 The electrical circuitry of (C). The AC10D is IC

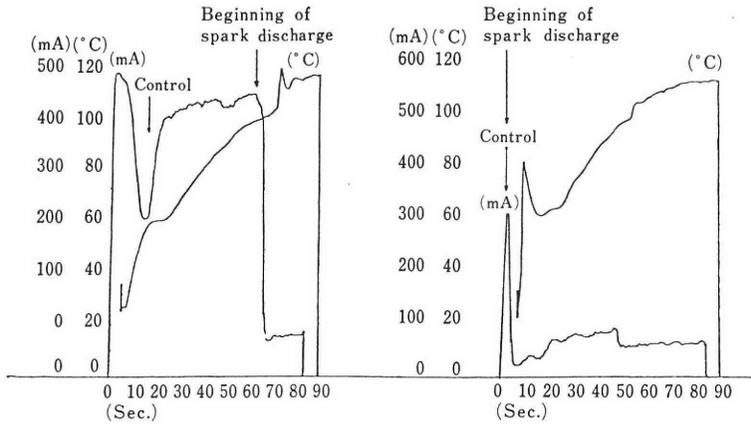
are quite analogous to each other. The zig-zag pattern is an artifact of the repetitive movement of the electrode between the anterior and posterior uterine walls (Fig. 5-6).

The temperature and the current flow in the right uterine cornu fluctuated normally in interlocking agreement with each other. The left side cauterized with difficulty. The current flow showed high values, and time taken until spark discharge was also prolonged. However, the temperatures were 110°C for both the left and right uterine cornua, in-

dicating that the contact between the electrode and the uterine cornua was normal (Fig. 7-8).

(R) and (L) indicate the right and left uterine cornua. The length of the uterine cavity is 10cm and the current flow is 540 mA. The time taken for the right and left cornu to cauterize was 65 and 70 seconds respectively. The temperatures were read as 110°C, 120°C for the right and left cornua respectively (Fig. 9).

The method of meter reading, however, gave statistical deviations, and it is difficult

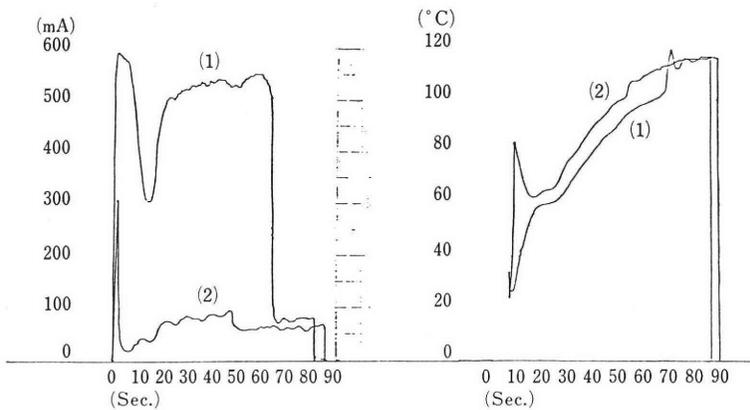


(1.) Typical cauterization pattern of pig muscular tissue (2.) Easy to cauterize pattern of lard cellular tissue

Graphic representations of H. F. current (mA) and temperature (°C) in automatically controlled electric cauterization of pig muscular tissue and lard cellular tissue

Fig. 3 Graph (1) In the case of muscular tissues, the current which rose rapidly at the beginning was controlled by the temperature, and after a drop, the current flow increased again, with spark discharges and simultaneous acute current drops from 60-70-80 seconds. The temperature reaches a peak of 120°C.

Graph (2) In the case of the easily cauterized adipose tissue, there was spark discharge simultaneous with the current flow. The controller is activated and the current flow decreases. The temperature reaches the same temperature as for muscular tissues in roughly the same time.



(3.) H. F. current

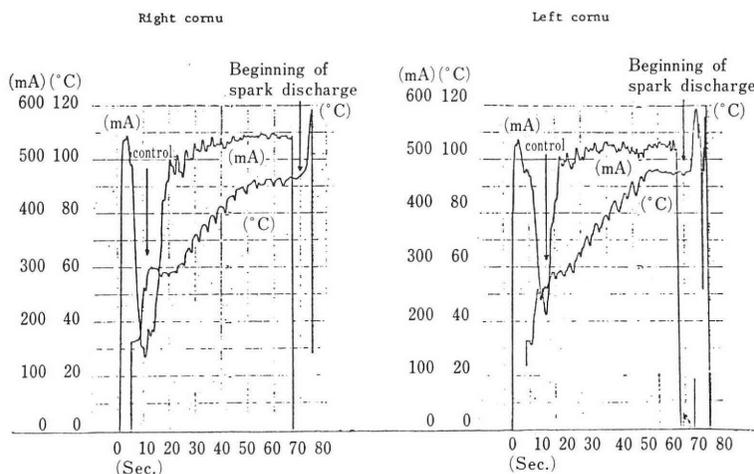
For soft tissue, spark discharge begins early and current drops. Using automatic control soft tissue and hard tissue can be cauterized in the same time frame and at the same temperature.

(4.) Temperature

Temperature limits of Graphs (1) and (2) were nearly the same.

Fig. 4 Graph (3) Accompanying a fixed increase in the temperature, the current flow is automatically controlled, showing individual differences for different objects of cauterization.

Graph (4) Notwithstanding the individual differences, the upper limits of temperature increase, and the time of cauterization are roughly constant.



Right cornu Left cornu
Automatically controlled cauterization of the uterine cornua just after induced abortion

Fig. 5 Cauterization after induced abortion

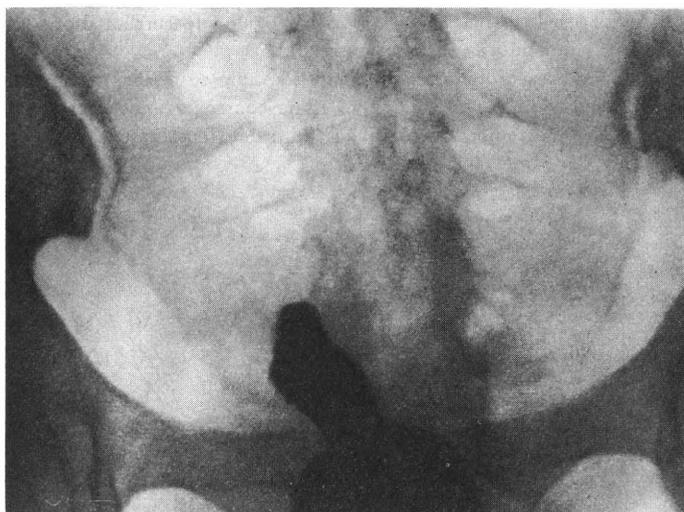


Fig. 6 The hysterosalpingogram of the same case after the 4th menstruation following cauterization. The uterine cornua clearly shows swellings

to expect accurate readings of the cauterization values and its progress. In this case, too, without knowing the cause of the temperature differences between the two uterine cornua, faulty contact of the electrode was discovered for the first time with the H. S. G.

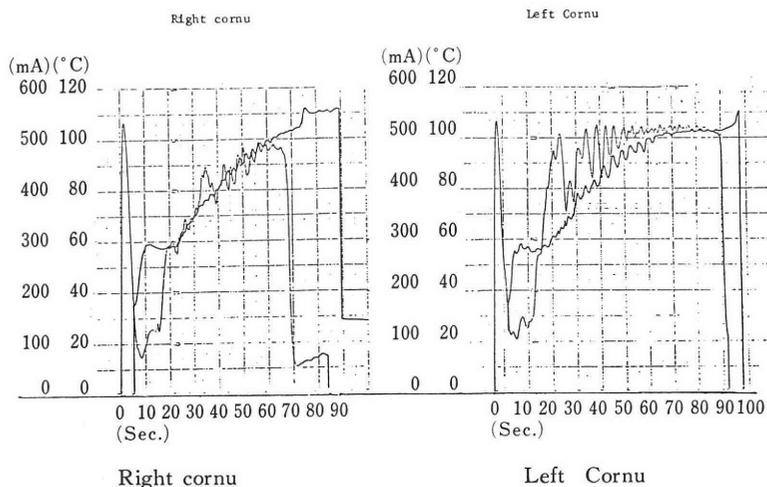
Therefore, H. S. G. is indispensable in such cases, but in the recording method, the balance or imbalance of the left and right graphs can be recognized at a glance. It is possible to predict the results of incomplete cauterization, and as such, it was considered

that postoperative H. S. G. was not necessarily required in cases with classical graphs.

There is little change in the interlocking fluctuations of temperature and current flow. This is a classical graph from which satisfactory results may be anticipated from the cauterization (Fig. 10-11).

Results

A high frequency oscillator is used together with a recorder and an automatic controller



Automatically controlled cauterization of the uterine cornua after induced abortion

Fig. 7 Cauterization after induced abortion

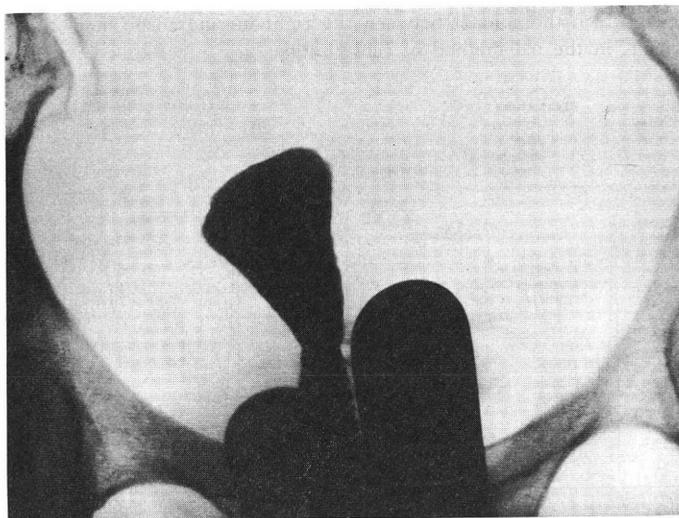


Fig. 8 The H. S. G. of the same case after the 4th menstruation following cauterization

that graphically registers temperature time and electrical current, so that swelling occurs easily and correctly.

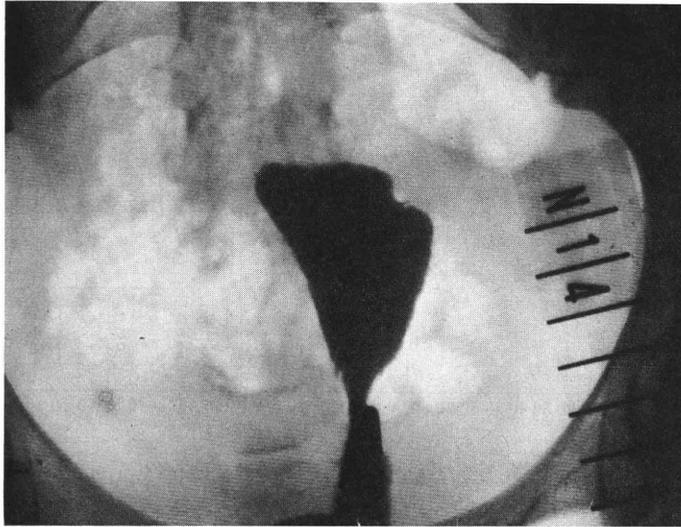
Using a "regular shape figure" will reflect the effect of the cauterization, therefore it is not necessary to confirm this by means of HSG.

Summary and Discussion

The merits of the uterine cornua cauterization method of sterilization are probably that it entails a procedure requiring only a few minutes, which may be carried out immedia-

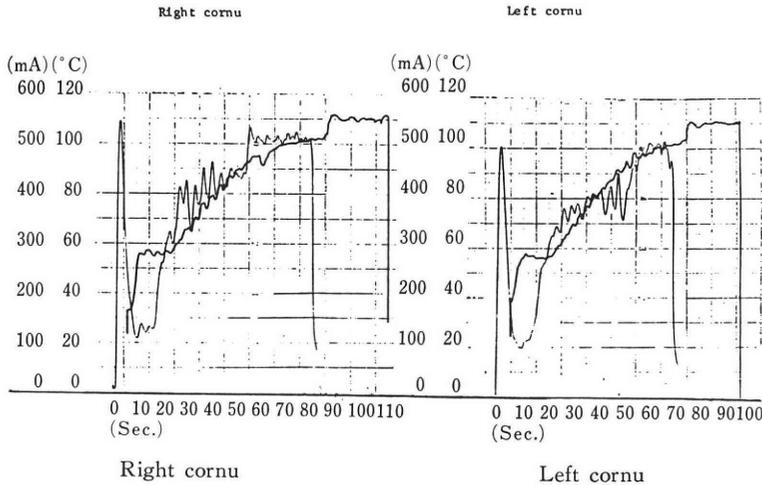
tely after menstruation or following induced abortion, and that the patient may go home on the same day of operation. However, despite the ease of the procedure, it is an inconvenient burden in terms of daily life, to have the patient come again after the 4th menstruation for the evaluation of effects with H. S. G. Furthermore, because it was not easy to control manually the current flow so that cauterization with the prescribed range of temperatures and time may be carried out we attempted automatic control of the current flow.

Needless to say, the suggestion made



(R) 10cm 540mA 65Sec 110°C
 (L) 10cm 540mA 70Sec 120°C

Fig. 9 A case in which the contact between the right uterine cornu and the electrode was not proper, in the old method of cauterization



Right cornu Left cornu
 Automatically cauterization of the uterine cornua after menstruation

Fig. 10 Case of cauterization immediately after menstruation

above is still in the experimental stages, but with the recording technique and automatic control, with the use of a recorder, the proper cauterization for closure of the Fallopian tubes has been made simple. As a result, not only the technique of usage or software, but also the interpretation and prediction of the results from the graphs recorded is no longer difficult as in the case of the meter reading method. Therefore, post-operative H. S. G. is not necessarily important and

indispensable in all cases of cauterization.

Instead, H. S. G. plays an important role before operation.

Furthermore, pre-operative ultrasonographic diagnosis has become the source of information regarding pregnancy, position of uterus, and palpation of the uterine cornua, etc.

Post-operative difficulties with uterine cornua cauterization method of sterilization, such as pregnancy, ectopic pregnancy, and dilata-

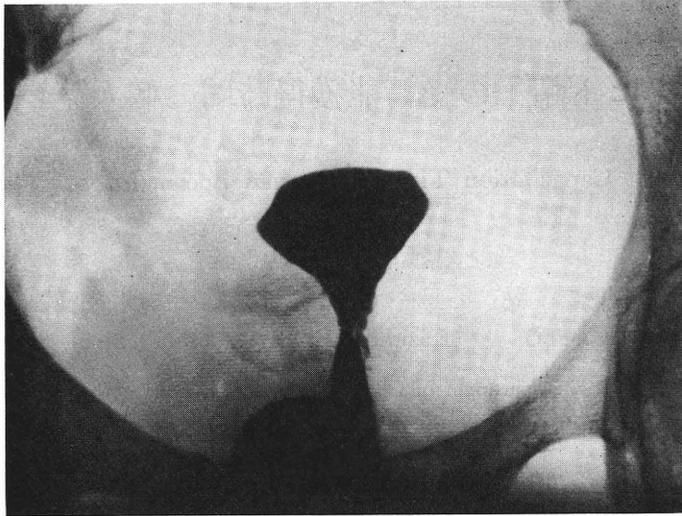


Fig. 11 The H. S. G. of the same case after the 4th menstruation. A distinct swelling may be observed in the uterine cornua

tion of the uterine cornua etc. were, up to the present moment cases of cauterization beyond the framework prescribed and imbalance between the left and right sides.

References

- 1) Dickinson, R. L. : Simple sterilization of women by cauterization of the uterine tubal openings, compared with other methods. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 23 : 203, 1916
- 2) Hyams, M. N. : Sterilization of the female by coagulation of the uterine cornua. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 28 : 96, 1934
- 3) De Vilbiss, L. A. : Preliminary report on sterilization of women by intrauterine coagulation of tubal orifices. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 29 : 563, 1953
- 4) Yamamoto, S. : Two cases of ectopic pregnancies in the interstitial part after cauterization of the uterine cornua. *Sanfujinkanojissai*, 5 : 3, 1956
- 5) Porter, J. Q., Sutherland, C. G. and Brown, W. E. : Transuterine tubal cauterization for sterilization. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 24 : 341, 1957
- 6) Sheares, B. H. : Sterilization of women by intrauterine electrocauterization of the uterine cornua. *J. Obstet. Gynecol. Br. Emp.*, 64 : 419, 1958
- 7) Hashizume, K. : Discussion in No. 53 congress. *The Tokyo District J. of the Jap. Obstet. and Gynecol. Soc.*, 5 : 1, 1956
- 8) Yasui, S. : Sterilization of the female by electrocauterization of the uterine cornua. *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 8 : 63, 1963
- 9) Pasricha, K. : Sterilization by cornual cauterization. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 100 : 877, 1968
- 10) Ishikawa, F. : Improved methods of uterine cornual cauterization. *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 16 : 13, 1971
- 11) Hamano, S. and Moriyama, Y. : Clinical and experimental studies on the tubal sterilization. *The world of Obstet. Gynecol.*, 10 : 7, 1958
- 12) Ishikawa, F. : Present and past state of cauterization method of the uterine cornua. *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 25 : 2, 1980
- 13) Ishikawa, F. : Time-Relation between temperature and current by cauterization of the uterine cornua. *Tobokaishi No.* 14 : 47, 1981

子宮角部焼灼手技の描記と自動制御の不妊効果

石川 文夫

子宮角部焼灼不妊法の効果判定には子宮角部癒着の隆起が最も高い確率を示し、術後の妊娠は全く見当らなかった。従って、隆起形成のために高周波発振器に記録器と自動制御器を併用して焼灼の温度と時間と電流を明示し、一定範囲の枠を求めて焼灼操作を容易にした。また隆起を形成した定型的図形について効果が予想されるから術後の卵管造影法は必ずしも全例について行い、不妊効果を確認する必要はなくなった。

(受付: 昭和58年3月17日)

ヒト精子の受精能獲得時間の個人差

Capacitation Time of Human Spermatozoa

東北大学医学部産科婦人科学教室

齊藤 晃 星 和彦 鈴木 雅洲
Akira SAITO Kazuhiko HOSHI Masakuni SUZUKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

福井県立病院産婦人科

林 恵子
Keiko HAYASHI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Fukui-Kenritsu Hospital

ハワイ大学医学部解剖学・生殖生物学教室

柳 町 隆 造
Ryuzo YANAGIMACHI

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

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、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前培養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、精子のみの前培養を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、精子のみの前培養時間を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、最高値を示す前培養時間は症例により異なった。

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。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(1), 90-96, 1984)

緒 言

in vitro でのヒト受精を成功させるためには、得られた精子・卵子が受精能力を有する事が必要であるが、精子には受精前の準備として受精能獲得 (capacitation) と先体反応 (acrosome reaction) を完了する事が必要である¹⁾。この受精能獲得時間に関しては、ヒトの場合、Lopata ら²⁾は1.5~3時間、Seitz ら³⁾は4~5時間、Bavister ら⁴⁾は7時間と報告しており、一定した見解は

ない。

一方、1976年、透明帯を除去したハムスター卵に、capacitation, acrosome reaction を完了したヒト精子が貫通する事を Yanagimachi ら⁵⁾が報告し、材料採取困難なヒト卵の代用となり得る事が示唆されて以来、数多くの臨床応用報告にて⁶⁻¹⁵⁾、その有効性が確認されている。しかし、各々の検査条件は非常に異っており、特に精子の capacitation を誘起させるための前培養システムにおける時間のとり方は1~22時間と大きな幅がある。

今回我々は、これら受精能獲得時間の差が培養液の違いなどの検査条件の差のみによるものかどうかを透明帯除去ハムスター卵との貫通検査を用いて検討したので、その成績について報告する。

研究方法・材料

I 実験方法

図1に検査（貫通検査）の概要を示した。すなわち、過排卵処理したハムスターより卵を採取、透明帯を除去する。一方、検査対象精液を swim up 法（後述）によ

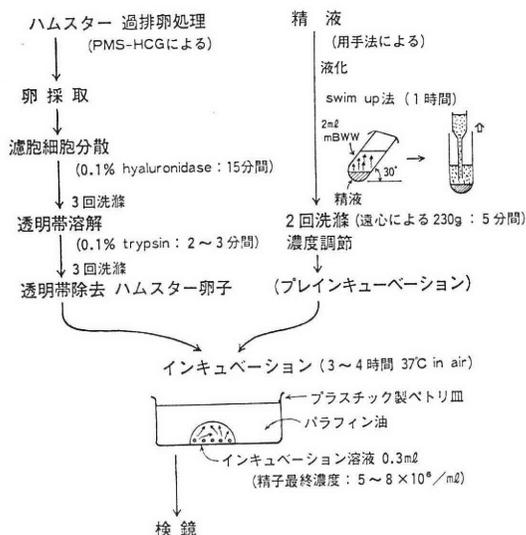


図1 検査の概要

り、運動率が高く、奇形の少ない良好な精子を集め、精子濃度を一定にして、準備した卵と培養し、一定時間後、精子貫通の有無を検査した。

(1) 培養液

基本的に Biggers, Whitten and Whittingham's medium (BWW)¹⁶⁾を幾分変えた modified BWW (mBWW)を用いた。その組成を表1に示す。このうち、精子のみの前培養、卵との培養には3.5%ヒト血清アルブミン(HSA: Fraction V, Sigma Chemical Co.)を、卵の処理、精子の swim up には0.3% HSA を用いた。

(2) 卵の準備

体重100g 前後の成熟メスゴールデンハムスターを用いた。発情周期の第1日目（排卵日・多量の膈分泌物にて識別）に PMS (pregnant mare's serum) 30~50IU, 第3日目に HCG (human chorionic gonadotropin) 30IU を皮下投与することにより過排卵を誘導し、HCG 投与後17時間目に開腹して、卵管中より未受精卵を採取した。

表1 インキュベーション溶液 (mBWW)

	mg/100ml	mM
NaCl	491.0	84.00
KCl	35.6	4.78
CaCl ₂	18.9	1.71
KH ₂ PO ₄	16.2	1.19
MgSO ₄ ·7H ₂ O	29.4	1.19
NaHCO ₃	300.0	35.71
Na-pyruvate	2.8	0.25
Na-lactate	241.6	21.58a
Glucose	100.0	5.56
Human serum albumin	3500.0
Antibiotic stock soln ^b	1.0ml
mOsmol	308	

a: DL-lactic acid, Na-salt (Sigma Chem., St Louis, MO); 60% syrup, 0.368ml/100ml

b: 100,000IU/ml K-penicillin G and 50mg/ml Streptomycin sulfate in distilled water, stored frozen until use

とりだした卵を0.1% hyaluronidase を含む mBWW 液で15分間処理し、濾胞細胞を分散させて卵を分離、mBWW で3度洗滌後0.1% trypsin 中で2~3分間処理し透明帯を溶解した。さらに mBWW で3度洗滌して実験に供した。

(3) 精子の準備

検査対象者の精液は用手法によつて採取し、液化後 mBWW (HSA 0.3%) 2ml を入れた試験管 (15×50mm) の底に静かに 0.5ml づつに等分した。この試験管を 30° に傾け 37°C で1時間培養した (図1)。1時間後、移行した運動良好精子を含む mBWW を、残余精液が混じらぬよう集め、遠心 (230g・5分間) により2度洗滌後、最終濃度 5×10⁶/ml になるように培養液に移した¹⁷⁾。

(4) 培養及び判定

3.5% HSA を含む mBWW 0.3ml を 3.5cm×1.0cm のペトリ皿に入れ、その上をパラフィン油にて包い、この培養液中に準備された精子と卵を入れ、37°C 大気中で培養を行った。なお精子の前培養を行う場合は、一定時間後、卵を前培養液に加えた。さらに一定時間の培養後、卵の入った溶液を少量スライドガラス上に置き、上からカバーガラスで適当な圧力をかけ押しつぶした。精子貫通の判定は、位相差顕微鏡下に観察して行ない。膨隆した精子頭部あるいは精子前核が尾部を伴っている場合、貫通していると認めた (写真1)。貫通率 (penetration rate) は検査に供した卵のうち、何個の卵に貫通がおこっているかで表現し、さらに1個の卵に複数の精

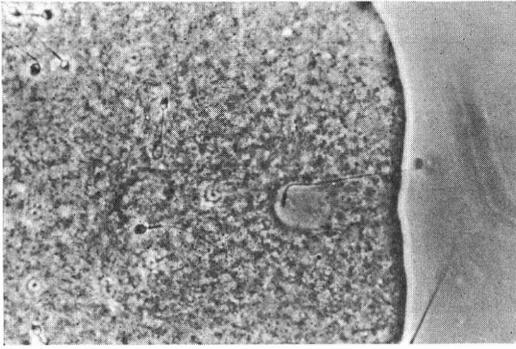


写真 1

を行い、貫通率・多精子率の上昇傾向につき時間を追って検討した。

III 精子前培養の影響

5名の健常男子の精子につき、精子のみの前培養時間を、0、2、5、8時間とり、媒精後3時間目の貫通率・多精子率について検査した。

IV 培養液中の精子運動率の変動

上記5名につき、37°C、大気中で、mBWW 内での精子運動率の変動を、培養開始後1~2時間間隔で検査し、2~3回の平均値から運動率の変動を求めた。

成 績

I 前培養なしの貫通検査

表2、図2に示すごとく、貫通率・多精子率の上昇傾向には大きな個人差が認められた。Case A においては、媒精後1時間目で貫通された卵が認められ、2時間

子を認めた場合はその総数を検査卵総数で割った多精子率 (polyspermy rate) を算出した。

II 前培養なしの貫通検査

16名の健常男子の精子につき、前培養なしで貫通検査

表 2 前培養なしの貫通率

time (h) \ Case	1	2	3	4	5	6	7
A	20.0 ^(19/21) 0.20	90.5 ^(19/21) 2.00	100.0 ^(19/19) 2.47	100.0 ^(31/31) 3.45			
B		0.0 ^(0/35) 0.00	0.0 ^(0/30) 0.00	0.0 ^(0/32) 0.00	2.9 ^(1/34) 0.03	19.4 ^(7/36) 0.19	37.5 ^(12/32) 0.38
C	16.7 ^(10/60) 0.17	48.4 ^(30/62) 0.69	72.7 ^(40/55) 1.54	90.8 ^(59/65) 2.08			
D		15.8 ^(3/19) 0.16	36.7 ^(11/30) 0.43	68.2 ^(15/22) 1.09			
E		4.8 ^(1/21) 0.05	23.3 ^(10/43) 0.35	33.3 ^(12/36) 0.67			
F		17.9 ^(7/39) 0.18	32.7 ^(17/52) 0.38	63.6 ^(35/55) 0.71			
G		0.0 ^(0/23) 0.00	0.0 ^(0/19) 0.00	23.1 ^(6/26) 0.23			32.3 ^(10/31) 0.42
H			14.3 ^(2/14) 0.14	40.0 ^(8/20) 0.40			93.3 ^(28/30) 1.40
I			6.7 ^(1/15) 0.07	10.5 ^(2/19) 0.11		18.2 ^(4/22) 0.18	
J		35.7 ^(10/28) 0.38	62.2 ^(28/45) 0.93	81.0 ^(17/21) 1.38			
K		0.0 ^(0/22) 0.00		15.3 ^(4/26) 0.15	52.8 ^(19/36) 0.67	33.3 ^(10/30) 0.40	
L	8.3 ^(1/12) 0.08		16.7 ^(4/24) 0.17	29.4 ^(5/17) 0.35	34.0 ^(17/50) 0.38		
M		0.0 ^(0/16) 0.00	8.7 ^(2/23) 0.09	26.7 ^(8/30) 0.33	23.5 ^(8/34) 0.24		
N		75.0 ^(12/16) 1.00	77.3 ^(17/22) 1.59	75.0 ^(24/32) 1.22			
O		6.7 ^(1/15) 0.07	18.2 ^(4/22) 0.18	44.1 ^(15/34) 0.59			
P		6.5 ^(2/31) 0.07	15.0 ^(3/20) 0.15	38.3 ^(18/47) 0.55	39.1 ^(18/46) 0.52		

(上段：貫通率(%) 下段：多精子数)

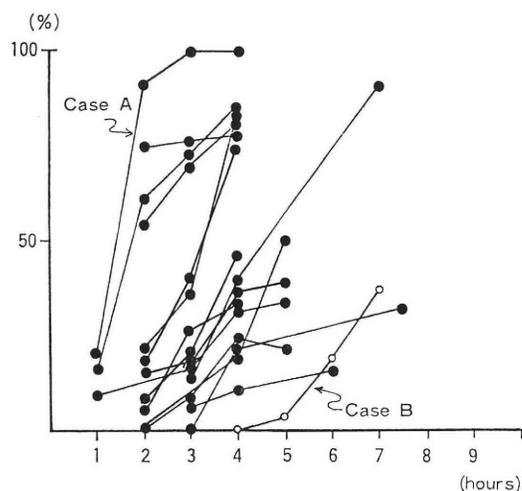


図2 前培養なしの貫通率

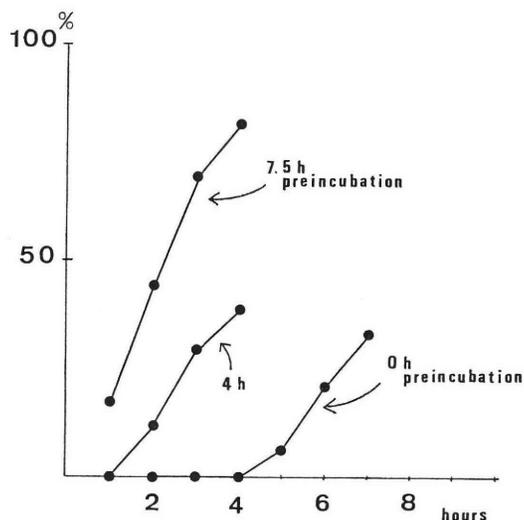


図3 精子前培養による貫通率の変化

表 3 精子前培養による貫通率の変化

Case	preincubation (hours)			
	0	2	5	8
A	72.7 (40/55) 1.54 (86/55)	86.2 (50/58) 2.90 (168/58)	100.0 (48/48) 6.31 (303/48)	100.0 (47/47) 5.85 (275/47)
B	0.0 (0/30) 0.00 (0/30)		29.9 (23/77) 0.42 (32/77)	69.1 (47/68) 1.04 (71/68)
C	32.7 (17/52) 0.38 (20/52)	62.1 (36/58) 0.83 (48/58)	57.4 (27/47) 0.79 (37/47)	29.0 (9/31) 0.42 (13/31)
D	23.3 (10/43) 0.35 (15/43)	42.2 (19/45) 0.56 (25/45)	82.1 (32/39) 1.44 (56/39)	2.4 (1/41) 0.02 (1/41)
E	36.7 (11/30) 0.43 (13/30)	66.7 (28/42) 1.33 (56/42)	100.0 (43/43) 3.74 (161/43)	50.0 (17/34) 0.65 (22/34)

(上段 : 貫通率 (%) 下段 : 多精子数)

目で90%，3時間目ではすべての卵に貫通した精子が認められたのに対し，Case B では4時間目でも全く貫通はおこらず，5時間たつてはじめて2.9%に貫通が認められたにすぎなかった。

II. 精子前培養の影響

I の Case B について，精子のみを4時間，7時間30分，それぞれ前培養し，その後媒精した結果，図3に示すごとく7時間30分の前培養を行った場合は，4時間目に80.7%の貫通率を示した。

5名の前培養の結果は，表3・図4に示すごとく，貫通率・多精子率の最高値を示す前培養時間は症例によって異なり，2時間1例，5時間3例，8時間1例であつ

た。

III. 培養液中の精子運動率の変動

図5に示すごとく，運動率の低下度合には大きな個人差が認められた。

考 案

精子が受精能を獲得するために要する capacitation, acrosome reaction の機構の詳細はいまなおいくつかの仮説¹⁸⁾があるにすぎないが，in vitro でも一定溶液下で受精能を獲得させる事は各種の哺乳動物でも可能となっている¹⁹⁾。しかし，ヒト精子の capacitation に要する時間に関しては一定した説はなく，透明帯除去ハムスター

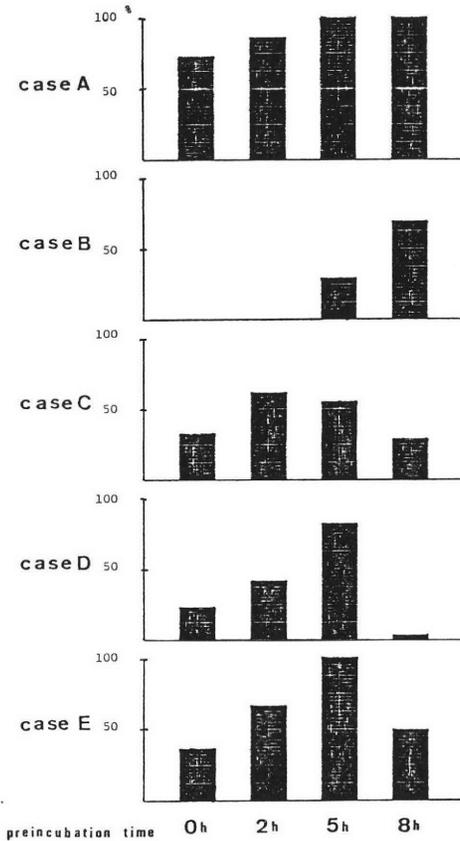


図4 精子前培養による貫通率の変化

卵を用いた貫通検査の臨床応用報告⁵⁻¹⁵⁾でも、表4に示すごとく、精子の受精能獲得時間を考慮したものと考えられる前培養時間は1~22時間と大きな幅がある。今回この貫通検査を用いて実験を行ったが、同一溶液にて同一濃度の運動精子を用いたにもかかわらず、貫通率の差

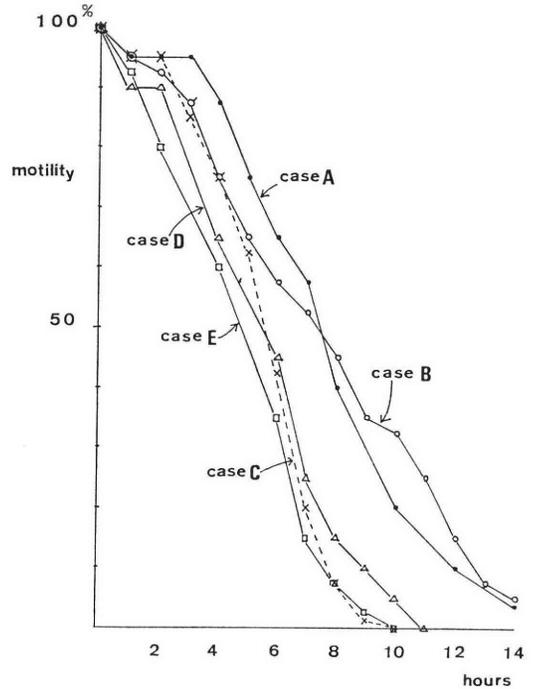


図5 精子培養による運動率の変化

動、特に貫通開始時には大きな個人差のある事が確認された(図2)、さらに、精子のみの前培養システムを導入すると、媒精時、受精能を獲得した精子が多数存在する事により、短時間で貫通率が急上昇する事を確認しているので²⁰⁾、5名にて精子の前培養時間を0、2、5、8時間とつて、媒精後3時間目の貫通率を比較した。その結果、各々の症例で最高値を示す前培養時間は異なるものであつた。これは図5に示すように、精子生存率の低下度合に個人差のある事にも影響されるが、主に capacitation に要する時間に大きな個人差のあるためと考

表4 Hamster test の臨床応用報告

	medium		sperm. conc. ($\times 10^6$)	preincubation	incubation
1 Yanagimachi et al	BWW	0.3% HSA	0.3-0.6	7.5h	3h
2 Barros et al	TMPA	3.5% HSA	?	1h	3h
3 Rogers et al	BWW	0.3% BSA	10	18-20h	2h
4 Overstreet et al	mBWW	3.5% HSA	0.4-18	(1h)	4h
5 Binor et al	BWW	0.3% HSA	3.5	5.5h	6h
6 Karp et al	BWW	0.4% BSA	20	18-20h	3h
7 Hall	mTyrode	1.0% BSA	0.5-1.5	15-18h	3h
8 Tyler et al	BWW	0.3% HSA	1-10	18h	2.5h
9 Guelman et al	BWW	0.3% HSA	4	2-3h	6h
10 Chang et al	BWW	0.3% BSA	10	18-22h	2h
11 Martin et al	BWW	0.5% HSA	10	5h	2-3h

えられた。すなわち、図 4 の前培養システム導入実験の結果で示されるように、Case B では capacitation に時間がかかるために、8 時間の前培養の時が最高値を示し Case C では capacitation 時間は短いが運動率の低下度が激しいために 2 時間の前培養の時が最高値を示していると考えられる。

透明帯除去ハムスター卵は種特異性が薄れているとはいえ、ハムスター精子の受精率に比較すればヒト精子の貫通率は低く、この実験システムの結果から一概に結論を下すことはできないし、絶体的な受精能獲得時間を推定することも困難と考えられる²¹⁾が、今回示した結果からは、ヒト精子の受精能獲得に要する時間には大きな個人差があり、このことはヒトの体外受精を行なう際にも考慮せねばならない点ではないかと考える。

引用文献

- 1) Chang, M. C.: Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into fallopian tubes. *Nature* (London) 168 : 697, 1951
- 2) Lopata, A., McMaster, R., McBain, J. C. and Johnston, W. H. I.; *In vitro* fertilization of preovulatory human eggs. *J. Reprod. Fert.* 52 : 329, 1978
- 3) Seitz, H. M., Rocha, M. D., Brackett, B. G. and Mastroianni, L. Jr.: Cleavage of human ova *in vitro*. *Fertil. Steril.* 22 : 235, 1971
- 4) Bavister, B. D.: Environmental factors important for *in vitro* fertilization in the hamster. *J. Reprod. Fert.* 18 : 544, 1969
- 5) Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. and Rogers, B. J.: The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol. Reprod.* 15 : 471, 1976
- 6) Barros, C. Gonzales, J., Herrera, E. and Bustos-Oregon, E.: Human sperm penetration into zona-free hamster oocytes as a test to evaluate the sperm fertilizing ability. *Andrology* 11 : 197, 1979
- 7) Rogers, B. J., Camper, H. V., Ueno, M., Lambert, H., Bronson, R. and Hale, R.: Analysis of human spermatozoa fertilizing ability using zona-free ova. *Fertil. Steril.* 32 : 664, 1979
- 8) Overstreet, J. W., Yanagimachi, R., Katz, D. F., Hayashi, K. and Hanson, F. W.: Penetration of human spermatozoa into zona pellucida and the zona-free hamster egg: A study of fertile donors and infertile patients. *Fertil. Steril.* 33 : 534, 1980
- 9) Binor, Z., Sokoloski, J. E. and Wolf, D. P.: Penetration of the zona-free hamster egg by human sperm. *Fertil. Steril.* 33 : 321, 1980
- 10) Karp, L. E., Williamson, R. A., Moor, D. E., Shy, K. K., Plymate, S. R. and Smith, W. D.: Sperm penetration assay: Useful test in evaluation of male fertility. *Obstet. Gynecol.* 57 : 620, 1981
- 11) Hall, F. J.: Relationship between semen quality and human sperm penetration of zona-free hamster ova. *Fertil. Steril.* 35 : 457, 1981
- 12) Tyler, J. P. P., Pryor, J. P. and Collins, W. P.: Heterologous ovum penetration by human spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 63 : 499, 1981
- 13) Guelman, B. Z., Blasco, L. and Wolf, D. P.: Zona free hamster eggs and human sperm penetration capacity: a comparative study of proven donors and infertile patient. *Fertil. Steril.* 36 : 771, 1981
- 14) Chang, T. S. K., Smyth, J. W., Vindivich, D., Berry, S. and Binko, D.: Analysis of zona-free hamster egg penetration tests on fertile and infertile men: significance of sperm motility. *J. Androl.* (in press)
- 15) Martin, R. H. and Taylor, P. J.: Application of the zona-free hamster egg assay in the assessment of male infertility. *Fertil. Steril.* (in press)
- 16) Biggers, J. D., Whitten, W. K. and Whittingham, D. G.: The culture of mouse embryos *in vitro*. In "Methods in Mammalian Embryology" Edited by Daniel, J. C. p86, San Francisco, Freeman, 1971
- 17) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎, 京野広一, 対木 章, 齊藤 晃, 鈴木雅洲, 林 恵子, 柳町隆造: おれわれの行っている精液静置法 "layering method" による精液中からの良好精子の分離, *日本不妊誌*, 28 : 101, 1983
- 18) Yanagimachi, R.: Mechanisms of fertilization in mammals. In "Fertilization and embryonic development *in vitro*" Edited by Mastroianni, L. Jr. and Biggers, J. D. p81, New York, Plenum Press, 1981
- 19) 入谷 明: 精子の受精能獲得, "哺乳動物の初期発生 (妹尾左知丸ら編) p. 12, 理工学社, 東京, 1981
- 20) 星 和彦, 齊藤 晃, 鈴木雅洲, 柳町隆造, 林 恵子: *In vitro* 受精システムを用いて検討したヒト受精における精子の preincubation の影響, *日本不妊誌*, 27 : 306, 1982
- 21) 齊藤 晃, 星 和彦, 鈴木雅洲, 柳町隆造, 林 恵子: ハムスター卵子を使用したヒト精子の受精能力検討一方法と利用の現況一, 産と婦, 49 : 1855, 1982

Capacitation time of human spermatozoa

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

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

Keiko Hayashi

Department of Obstetrics and Gynecology,
Fukui-Kenritsu Hospital

Ryuzo Yanagimachi

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

In 1976, Yanagimachi et al. reported that capacitated human spermatozoa were able to penetrate the zona-free hamster eggs. By using this penetration test, following examination was done.

1) The zona-free hamster eggs were incubated with human spermatozoa in modified Biggers, Whitten and Whittinghan's media. Then the

zona-free hamster eggs were examined microscopically from 1 to 7 hours later for evidence of swelling on decondensing sperm heads in the cytoplasm.

When 16 donors were examined, we have observed extreme individual difference between the incubation time required for each ejaculated human spermatozoa to penetrate the zona-free hamster eggs.

On the case required long incubation time, when the spermatozoa were preincubated for 4 or 7.5 hours and were inseminated with eggs, that penetrated into the zona-free hamster eggs more rapidly than no preincubated spermatozoa.

2) When spermatozoa in 5 cases were inseminated with eggs after preincubation for 0, 2, 5, 8 hours and were examined at 3 hours later, the preincubation time showing the highest penetration rate was different in each cases.

These results suggest that there are extreme individual difference on capacitation time of human spermatozoa.

(受付: 昭和58年3月2日)

ラットにおける実験的精索静脈瘤の睾丸 におよぼす影響

Influence of Surgically Induced Varicocele on Testes in Rats

富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 片山 喬教授)

柳 重行 寺田 為義 片山 喬
Shigeyuki YANAGI Tameyoshi TERADA Takashi KATAYAMA

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

ラットに左腎静脈部分結紮を行い、精索静脈瘤モデルを作成し、その際におこる睾丸の生理的変化について検討した。左腎静脈部分結紮1カ月後に、睾丸血流量、睾丸内温度、腹腔内温度を測定した。また測定後、睾丸重量測定、光顕による睾丸の組織学的検討も行なった。睾丸内温度と腹腔内温度との差を検討すると、対照群に比べ、部分結紮を行なった精索静脈瘤群では、左右ともその差は有意に小さく、睾丸温度の上昇が確認された。

睾丸重量100gあたりの睾丸血流量 (ml/min) は、精索静脈瘤群の左睾丸で有意に増加していた。これらの結果から、精索静脈瘤では睾丸血流量の増加が睾丸温度の上昇をもたらす、精子形成能を低下させるものと考えた。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 29(1), 97-101, 1984)

緒 言

精索静脈瘤が男子不妊症の原因の一つであることはよく知られている。しかし睾丸の造精機能におよぼす影響については、その因果関係、メカニズムについて不明の点が多く、いまだ定説をみない。われわれは実験動物に外科的処置にて精索静脈瘤のモデルを作成することを試み、その際におこる睾丸の生理的変化について検討した。

実験材料および方法

Sprague-Dawley 系ラット (300~320g) を用いた。ラットは実験7日前より飼育し、水、飼料、光等同一条件にて飼育した。

(1) 精索静脈瘤モデルの作成 (Fig. 1)

ラット10匹に対して Sodium Pentobarbital 50mg/kg

腹腔内注射により麻酔下に、正中切開にて、左腎および左腎静脈を露出し、左腎静脈を左精索静脈合流部より下大静脈側で部分結紮を施行した。部分結紮は左腎静脈を外径1mmφとなるように絹糸にて行なった。同時に5匹のラットを同一麻酔下に開腹のみを行ない、部分結紮はせずに閉腹し、これらを sham operation 群とした。さらに対照群として6匹のラットを全く無処置のまま飼育した。これらラットを部分結紮施行後4週間の時点まで同一条件に飼育をつづけた。

(2) 睾丸組織内温度の測定

全21匹のラットを部分結紮施行4週後に、Sodium Pentobarbital 50mg/kg 腹腔内注射による麻酔下に睾丸内温度測定を行なった。測定はサーミスタ温度計 MGA-III型 (芝浦電子製) に針型サーミスタをセットし、陰囊より経皮的に睾丸内に刺入、睾丸内温度を左右測定した。次いで同サーミスタを腹腔内に経皮的に刺入、腹腔

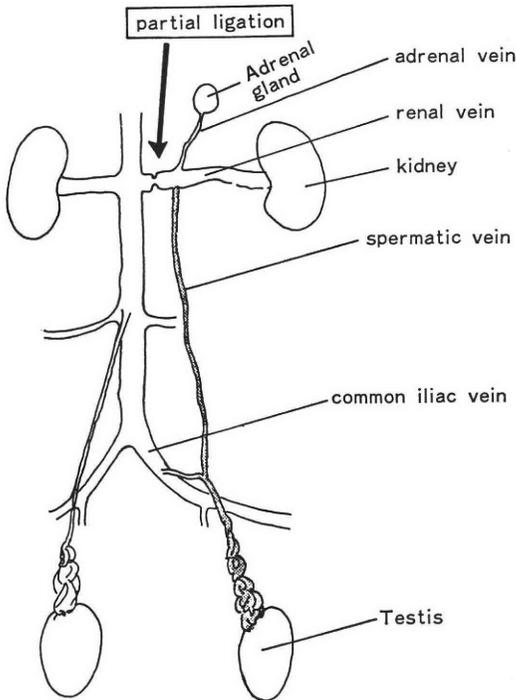


Fig. 1 ラット精系静脈の模式図：左腎静脈部分結紮部位を矢印で示す

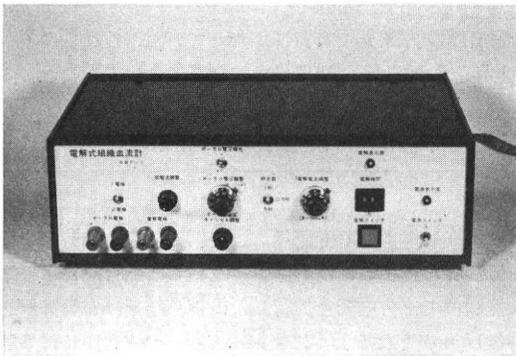


Fig. 2 電解式組織血流量計 (RBF-I 型)

内温度を測定した。測定時、室温は25°C にコントロールした。

(3) 睾丸血流量の測定

睾丸温度測定後、睾丸血流量の測定を行なった。睾丸血流量測定には電解式組織血流量計 RBF-I 型 (バイオメディカルサイエンス製) (Fig. 2) を用いた。針型電極を経皮的に睾丸内に刺入するだけで血流量測定が可能であり、測定原理は、水素クリアランス法と同一であるが、水素ガスを体外より吸入させる必要はなく、生体中に約60%存在する水分を利用し、組織血流を求めようとする部位に特定の構造をもつ電極を用い、電気分解し、水素

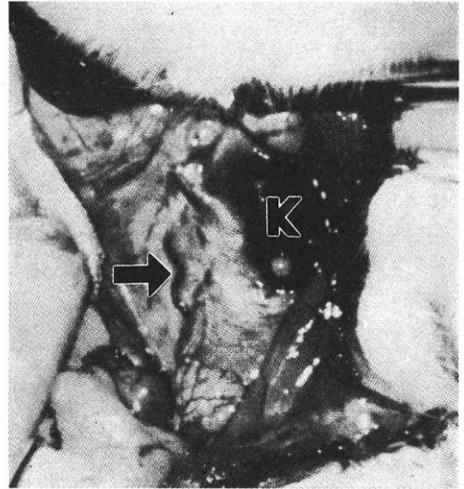


Fig. 3 左腎静脈部分結紮後4週で拡張した左精索静脈 (varicocele 作成に成功した例)：左腎 (K)，左精索静脈 (矢印)

ガスを発生させ、その水素ガスのクリアランスカーブより組織血流量の絶対値を求めるものである。1974年 Stosseck らが発表したものを実用化した装置であり、測定時間が従来の水素クリアランス法に比べ短く、簡便である。

血流量測定後、開腹し、左精索静脈の拡張の有無を確認した。明らかな左精索静脈の拡張は部分結紮施行10匹中7匹に認められた (Fig. 3)。ラットの左精索静脈は睾丸より出て左総腸骨静脈に流入する経路があり、一部が別れて上行し左腎静脈に流入している (Fig. 1)。このことが左腎静脈部分結紮で精索静脈瘤作成に100%成功しない原因と思われる。この精索静脈瘤の作成された7例を精索静脈瘤群 (Varicocele 群) として、Sham 群5, Control 群6との比較検討を行なった。

実験終了後、睾丸を摘出し、睾丸重量の測定、光顕による睾丸の組織学的検討もあわせて行なった。

結果

(1) ラット体重および睾丸重量

Control 群, Sham 群, Varicocele 群の3群間に体重の差はみられず、睾丸重量にも差はなかった。睾丸重量の左右差もなかった (Table 1.)。

(2) 睾丸内温度

室温25°C コントロール下で腹腔内温度と睾丸内温度との差で各群間および左右睾丸で比較すると、Varicocele 群では、左側で Control 群が、 $4.5 \pm 0.6^\circ\text{C}$ に対し $2.9 \pm 0.8^\circ\text{C}$ と、右側で Control 群が $4.7 \pm 1.0^\circ\text{C}$ に対し $3.2 \pm 0.9^\circ\text{C}$ と減少し、睾丸内温度の上昇が認めら

Table 1 実験結果

	Control	Sham	Varicocele
n	6	5	7
体重(g)	413 ± 28	407 ± 21	418 ± 20
睾丸重量(g) L	0.95 ± 0.10	0.96 ± 0.05	0.92 ± 0.06
R	0.92 ± 0.16	0.95 ± 0.10	0.98 ± 0.14
腹腔内温度 L	4.5 ± 0.6	4.1 ± 1.1	2.9 ± 0.8**
一睾丸内温度 R	4.7 ± 1.0	4.6 ± 0.9	3.2 ± 0.9*
<室温25°C>			
睾丸血流量 L	28.4 ± 2.6	26.6 ± 1.8	42.6 ± 4.4***
R	27.5 ± 4.5	29.5 ± 3.3	36.6 ± 9.5
(ml/min/100g tissue Weight)			

*** p<0.001 ** p<0.01 * p<0.05

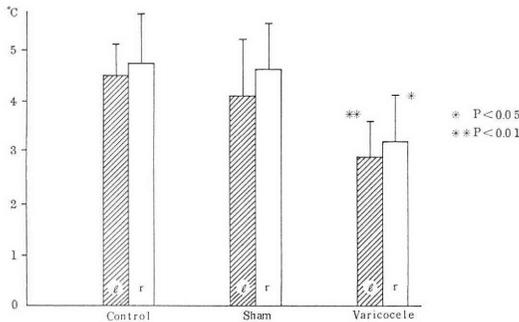


Fig. 4 睾丸温度と腹腔内温度との差の比較: varicocele 群では左. 右とも腹腔内温度との差は Control 群に比べ有意に小さく睾丸温度が上昇していることを示す

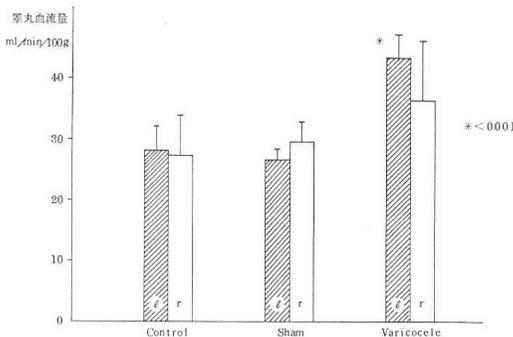


Fig. 5 睾丸血流量の比較: varicocele 群の左で有意の増加がみられる

れた. t 検定では左側は有意水準 1% で, 右側は有意水準 5% で有意であった (Table 1, Fig. 4). Control 群と Sham 群との間には差はなかった.

(3) 睾丸血流量

睾丸血流量は睾丸組織100g 当たり Control 群で左側 28.4 ± 2.6 ml/min に対し, Varicocele 群では 42.6 ± 4.4 ml/min と増加がみられ, t 検定では有意水準 0.1% で有意であった. 右側は, Control 群 27.5 ± 4.5 ml/min に対し, Varicocele 群は 36.6 ± 9.5 ml/min と増加傾向はみられたが, t 検定では有意でなかった (Table 1, Fig. 5). 両群間に睾丸重量の差はないことから, Varicocele 群では睾丸動脈血流量そのものが増加していることを示している. Control 群と Sham 群の間には有意差はなかった.



Fig. 6 varicocele 作成例の睾丸組織像: full spermatogenesis の精細管に混じて荒廃した精細管がみられる

(4) 睾丸組織像

顕鏡による検討で, Johnsen Score count 法¹⁾により各群の睾丸の精子形成能の程度を比較すると, Varicocele 群で左側平均 9.1, 右側平均 9.4 と正常とほとんど差はなかった. しかし, 7 例中 1 例で full spermatogenesis の精細管に混じて荒廃した精細管がみられ, sloughing も散見された (Fig. 6).

考 按

特発性精索静脈瘤の原因として左精索静脈の valve の欠損・不全をあげる者もいるが, この valve の欠損・不全を有する者はかなり高率に存在し, すべてが精索静脈瘤を呈するわけではなく, 必ずしも原因とはなっていないと考えられている. 最近, 腎静脈圧測定で, 精索静脈瘤例では, 左腎静脈圧と下大静脈圧との差が大であり左腎静脈圧上昇があるとする報告²⁾もみられ, 何らかの原因による左腎静脈圧上昇が精索静脈瘤の成因の一つであることは明らかと思われる. そこで, 左腎静脈を外科的に部分結紮することで左腎静脈圧上昇をおこし, 精索静脈瘤の作成を試みた. 左腎静脈結紮による精索静脈瘤作成の実験は, 1979年 Kay ら³⁾が Rhesus monkey を使い, Al-Juburi ら⁴⁾は dog を使つて作成に成功し, 1981

Table 2 辜丸血流測定法

1. 辜丸動脈より直接に血流量を測定
○ Doppler 血流計法
○ 電磁血流計法
○ friction flow meter 法
2. 辜丸より特定物質の拡散により測定
○ Xe ¹⁹⁹ クリアランス法
○ 水素クリアランス法
3. Cardiac output の組織への分配による測定
○ Tracer Microsphere 法
4. その他
○ 交叉熱電対法

年 Saypol ら⁹⁾は Rat を用いて作成に成功している。ラットにおいて左精索静脈は一部左総腸骨静脈に流入するため、左腎静脈部分結紮によつて必ず静脈瘤作成に成功するとは限らない。Saypol らは成功率75%と報告しており、われわれも10例中7例70%であつた。現在、精索静脈瘤が辜丸に及ぼす影響について、特に辜丸障害を惹起する要因として種々の説が提唱されているが、腎静脈血中の辜丸に対する有害物質の逆流をあげるもの⁶⁻¹⁰⁾も多く、この状態を忠実に再現する実験モデルとしてはこの左腎静脈部分結紮法はすぐれている。

辜丸血流量測定法には、辜丸動脈から Direct に血流量を測定するものとして、電磁流量計、Doppler 血流計、friction flow meter による方法や、辜丸よりある種の物質の拡散による減衰より血流量を算出するものとして、RI を用いる Xe¹⁹⁹クリアランス法、水素クリアランス法や、全身投与した RI の各組織への集積をみる Tracer Microsphere 法、その他に交叉熱電対法などが存在 (Table 2) し、動物の種類・目的に応じて用いられている。Tracer Microsphere 法はわれわれも実験動物の血流測定に用い、高精度の測定法であるが、RI を用いる点、取扱いに注意を要し、高価である。水素クリアランス法は、比較的簡便であるが、水素ガス吸入が必要で、水素ガス飽和までに時間がかかり、小動物ではそのための室息や血液ガス成分変化に基づく組織血流量の変化が無視できなかつたが、今回用いた電解組織血流計は水素クリアランス法であるが、水素ガス吸入は不要であり極めて簡便で、動物への侵襲も少ない方法である。

精索静脈瘤と精子形成能障害との因果関係では、従来より Anoxia 説¹¹⁾、温度上昇説^{12,13)}、腎静脈よりの有害物質逆流説(カテコールアミン説^{6,7)}、コーチゾール^{6,8)}、セロトニン説^{4,9)}、プロスタグランディン説¹⁰⁾などがあげられている。われわれの実験では精索静脈瘤群での辜丸温度上昇は明らかであり、実験的停留辜丸作成で

辜丸温度上昇による精子形成能障害が明らかであることより、精索静脈瘤の場合も辜丸温度上昇が精子形成能を低下させているものと考えられる。辜丸血流量測定の結果、左側で明らかな血流量増加がみられ、辜丸重量に対照群と差がないことより辜丸動脈血流量増加を示しているが、この増加が辜丸温度上昇の結果であるか、逆に原因となっているかについては本実験からは結論できない。しかし、Waites ら (1973年)¹⁴⁾の実験のように人工的に辜丸を温めて辜丸温度を上昇させても辜丸血流量は増加しないとの報告もみられること、実験的停留辜丸作成で辜丸温度上昇させた際、組織血流量が増加するが、これは精細管の萎縮した結果であり、辜丸動脈血流量は決して増加しないことなどから、温度上昇が血流増加をもたらしているとは考え難い。とすれば、何らかの機序で辜丸血流量増加が、精索静脈瘤ではおこり、辜丸温度を上昇させ、精子形成能を低下させるものと考えられる。この辜丸血流量を増加させる因子・機序は不明であり、今後解明すべき問題である。

結 語

左腎静脈部分結紮によりラットに実験的精索静脈瘤を作成し、その辜丸に及ぼす影響について検討した。その結果は下記の如くであつた。

(1) 精索静脈瘤群では左右とも辜丸内温度の上昇が著明である。

(2) 電解式組織血流計による辜丸組織血流量は、精索静脈瘤群の左で著明に増加がみられた。辜丸重量は対照群と差はなく、辜丸動脈血流量の増加を意味する。

(3) 光顕による辜丸組織の検討ではほとんど差はみられない。

以上より辜丸血流量の増加が辜丸温度の上昇をもたらす造影機能障害を生ずるものと推論した。

本論文の要旨は、第27回日本不妊学会学術総会 (昭和57年11月 於東京) において発表した。

参 考 文 献

- 1) Johnsen, S. G.: Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and results in 335 hypogonadal males, *Hormones* 1: 1, 1970
- 2) 荻田 卓, 松瀬幸太郎, 岡野 准, 高崎 登: 精索静脈瘤患者における内精静脈圧について, *日不妊会誌* 26: 497, 1981
- 3) Kay, R., Alexander, N. J. and Baugham, W. L.: Induced varicoceles in Rhesus monkeys, *Fertil. Steril.* 31: 195, 1979
- 4) Al-Juburi, A., Pranikoff, K., Dougherty, K.

- A., Urry, R. L. and Cockett, A. T. K.: Alteration of semen quality in dogs after creation of varicocele, *Urology* 13: 535, 1979
- 5) Saypol, D. C., Howards, S. T., Turner, T. T. and Miller, Jr. E. D.: Influence of surgically induced varicocele on testicular blood flow, Temperature, and histology in adult rats and dogs, *J. Clin. Invest.* 68: 39, 1981
- 6) Comhaire, F. and Vermeulen, A.: Varicocele sterility: cortisol and catecholamines, *Fertil. Steril.* 25: 88, 1974
- 7) Cohen, M. S., Plaine, L. and Brown, J. S.: The role of internal spermatic vein plasma catecholamine determinations in subfertile men with varicocele, *Fertil. Steril.* 26: 1243, 1975
- 8) Mobley, D. F.: Left spermatic vein cortisol in subfertile men with varicocele, *Urology* 3: 461, 1974
- 9) Caldamone, A. A., Al-Juburi, A. and Cockett, A. T. K.: The varicocele: elevated serotonin and infertility, *J. Urol.* 123: 683, 1980
- 10) Ito, H., Fuse, H., Minagawa, H., Kawamura, K., Murakami, M. and Shimazaki, J.: Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients, *Fertil. Steril.* 37: 218, 1982
- 11) Brown, J. S., Dubin, L. and Hotchkiss, R. S.: The varicocele as related to fertility, *Fertil. Steril.* 18: 46, 1967
- 12) Nakamura, M. and Hall, P. F.: The mechanism by which body temperature inhibits protein biosynthesis in spermatids of rat testes, *J. Biol. Chem.* 255: 2907, 1980
- 13) Zorziotti, A. W. and Macleod, J.: Studies in temperature, human semen quality, and varicocele, *Fertil. Steril.* 24: 854, 1973
- 14) Waites, G. M. H., Setchell, B. P. and Quinlan, D.: Effect of local heating of the scrotum, testes, and epididymides of rats on cardiac output and regional blood flow, *J. Reprod. Fertil.* 34: 41, 1973

Influence of surgically induced varicocele on testes in rats

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

Department of Urology, Faculty of Medicine,
Toyama Medical and Pharmaceutical
University

Partial obstruction of the left renal vein in rats was undertaken with the aim of creating a model of varicocele and studying the subsequent alterations in testicular physiology.

One month after partial ligation of the left renal vein in rats, testicular blood flow, intratesticular temperature, and intraperitoneal temperature were measured. The mean difference between intratesticular temperature and intraperitoneal temperature in control rats was significantly (l. testis: $p < 0.01$, r. testis: $p < 0.05$) higher than that in varicocele induced rats. Mean testicular blood flow (milliliters per minute per 100g tissue weight) in the left testis of partially ligated rats was significantly ($p < 0.001$) greater than that of control animals.

Based on these findings, the increase in testicular blood flow resulted from partial vein ligation appeared to elevate bilateral testicular temperature and play an important role for the pathogenesis of impaired spermatogenesis.

(受付: 昭和58年2月28日)

停留辜丸の予後

Prognosis of Cryptorchism

千葉大学医学部泌尿器科学教室 (主任：島崎 淳教授)

布施 秀樹 皆川 秀夫

Hideki FUSE Hideo MINAGAWA

伊藤 晴夫 島崎 淳

Haruo ITO Jun SHIMAZAKI

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

19歳以前に固定術を受けたものおよび成人放置例59例を対象とし、以下の成績をえた。固定術を受けた年齢が12歳以下のものを12歳以下群、13~19歳を13歳以上群、成人放置例を成人群とした。

1) 精液所見：片側例で軽度乏精子症および正常例の占める割合は、12歳以下群が最も大きかった。12歳以下群の精子濃度は、13歳以上群および成人群より大きかった。しかし統計学的に有意の差はなかった。両側例では、12歳以下群の1例を除き、他は全例、無精子症であった。

2) 妊孕性：片側例は、3群全体で既婚者20例中5例(25%)、両側例は5例中1例(20%)に子供を認めた。

3) 内分泌学的検査成績：片側例は、血中 LH, FSH および testosterone 値の3者ともに3群間の有意の差を認めなかった。両側例は、LH, FSH 値が12歳以下群に比し、13歳以上群、成人群で高値の傾向にあった。3群全体では、両側例は片側例より LH および FSH 値が高値であった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(1), 102-106, 1984)

緒言

停留辜丸は男子性器奇形のなかで、最も頻度の高い先天性奇形である。しかし辜丸固定術後の予後についての報告は少ない。今回、われわれは、固定術を受けたものおよび成人放置例につき、精液所見、内分泌学的検査成績ならびに妊孕性について検討したので報告する。

対象ならびに方法

1960年より1981年までの22年間に千葉大学医学部泌尿器科において停留辜丸に対する手術は、412例に対して施行された。固定術は索引法¹⁾、最近は、DeNetto 法²⁾にて原則として4~5歳に施行した。

固定術を受けたものは、毎年定期的に血中 LH, FSH, testosterone を測定した。18歳以上に達したものは、精液検査³⁾を施行した。成人放置例についても、血中ホル

モン測定および精液検査を施行した。結婚後3年以上の既婚者について子供の有無を検討した。現在18歳以上で、血中ホルモン値、精液所見、妊孕性のうち、いずれかが判明した59例を対象とした。これらは、熱性疾患あるいは、辜丸の炎症性疾患の既往はなく、性腺以外に異常を認めなかった。なお固定術前に hCG 投与をうけたものは、対象から除外した。

固定術を受けた年齢が12歳以下のもの、13歳~19歳のものおよび成人放置例を、それぞれ12歳以下群、13歳以上群、成人群とした。片側例はそれぞれ15例、11例、21例、両側例は、6例、2例、4例であった。

精液所見は、飯塚⁴⁾らの基準にもとづいて正常精子濃度、($50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上) および軽度 ($30 \sim 50 \times 10^6/\text{ml}$)、中等度 ($10 \sim 30 \times 10^6/\text{ml}$)、高度乏精子症 ($10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満) に分類した。内分泌学的検査は、LH キット「第

表1 片側例の精液所見

	平均精子濃度 (×10 ⁶ /ml) (Mean±S.E.)	正 常	軽 度 精 子 症	中 等 精 子 症	高 度 精 子 症	無 精 子 症	計
12歳以下で固定術を受けた群	55.8±23.7 (n= 5)	2	2	1	0	0	5
13~19歳で固定術を受けた群	28.4± 9.5 (n= 8)	2	2	1	0	3	8
成人放置群	18.2± 5.2 (n=16)	2	4	2	3	5	16
計	28.4± 6.3 (n=29)	6	8	4	3	8	29

1], FSH キット「第1」, テストステロン「栄研」のキットにて測定したが, 最近では, 北里バイオケミカル・ラボラトリーズに依頼している。

結 果

1) 精液所見: 片側例は, 軽度乏精子症および正常のものは, 12歳以下群, 13歳以上群, 成人群おのおの5例中4例 (80%), 8例中4例 (50%), 16例中6例 (38%) と12歳以下群が最も多かつた。精子濃度は3群間に統計学的に有意の差はなかつたが, 12歳以下群, 13歳以下群, 成人群の順に低下する傾向にあつた (表1)。

両側例では, 12歳以下群が高度乏精子症および無精子症各1例であつた。成人群は4例全例, 無精子症であつた (表2)。

表2 両側例の精液所見

	高 度 精 子 症	無 精 子 症	計
12歳以下で固定術を受けた群	1	1	2
13~19歳で固定術を受けた群	0	0	0
成人放置群	0	4	4
計	1	5	6

表3 片側例の妊孕性

	子 供 あ り	子 供 な し	計
12歳以下で固定術を受けた群	0	1	1
13~19歳で固定術を受けた群	2	4	6
成人放置群	3	10	13
計	5	15	20

2) 妊孕性: 片側例で3群全体で既婚者20例中5例 (25%) に子供を認めた。3群間に差はなかつた (表3)。

両側例では, 5例中, 12歳以下群の1例 (20%) にのみ子供があつた (表4)。

3) 内分泌学的検査成績: 片側例の血中 LH 値 (mIU/ml) の平均値±標準誤差 (Mean±S.E.) は, 12

表4 両側例の妊孕性

	子 供 あ り	子 供 な し	計
12歳以下で固定術を受けた群	1	1	2
13~19歳で固定術を受けた群	0	1	1
成人放置群	0	2	2
計	1	4	5

歳以下群, 13歳以上群, 成人群それぞれ, 12.1±1.1(n=13), 13.9±3.8 (n=5), 16.8±3.7 (n=11) であつた (図1)。FSH 値 (mIU/ml) のそれは, 11.1±2.7 (n=13), 9.3±2.9 (n=5), 18.4±4.8 (n=11) であり (図2), testosterone 値 (ng/dl) は503.1±46.8 (n=13), 391.4±31.2 (n=5), 556.3±46.9 (n=11) であつた (図3)。3者とも3群間に統計学的に有意の差は

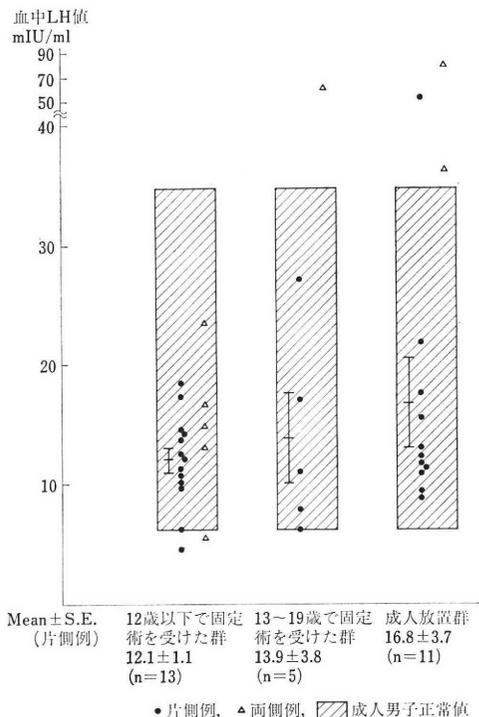


図1 3群の血中 LH 値

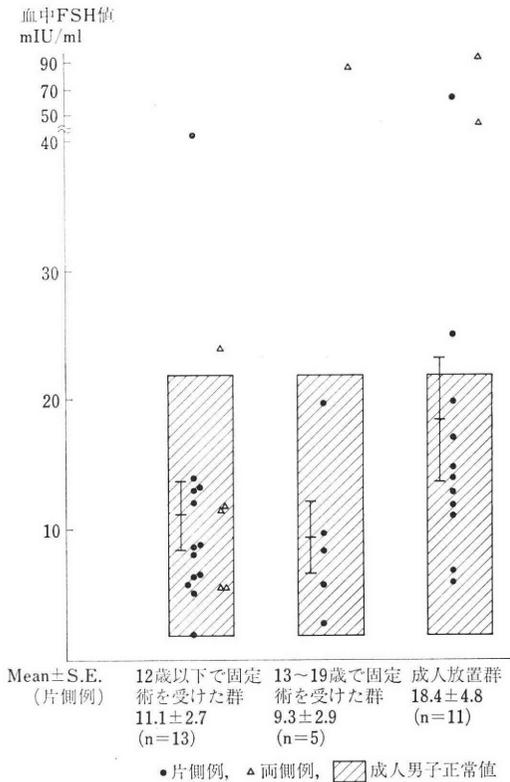


図2 3群の血中 FSH 値

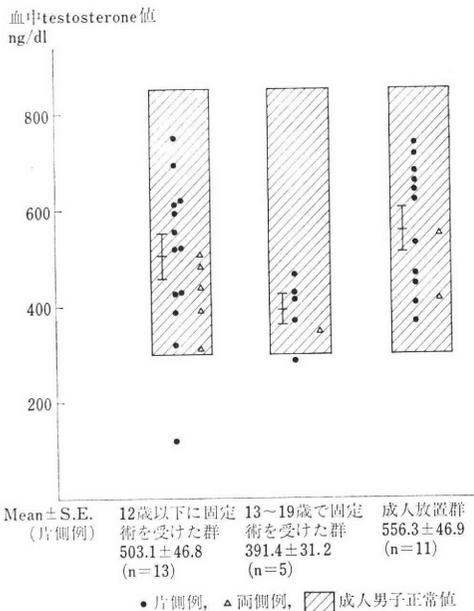


図3 3群の血中 testosterone 値

なかった。

両側例では, LH および FSH 値が12歳以下群に比べ

て他の2群で高値の傾向にあつた. testosterone 値は, 3群とも差がなかつた(図1, 2, 3).

片側および両側例の3群全体の LH 値の Mean ± S. E. は, それぞれ 14.2 ± 1.6 (n=29), 31.1 ± 9.0 (n=8), FSH 値のそれは, 13.6 ± 2.3 (n=29), 35.9 ± 13.1 (n=8), testosterone 値は, 504.0 ± 29.3 (n=29), 430.0 ± 28.6 (n=8) であり, LH, FSH 値は両側例が片側例より高値の傾向にあつたが統計学的な有意の差はなかつた。

考 案

男子における出生時の停留睾丸の頻度は, 満期出産で 3~4%, 未熟児では 30%とされる⁵⁾. 成人では 0.2~0.4%であり, 90%は生後 3~4カ月以内に自然下降する⁶⁾.

停留睾丸を陰嚢内に下降させる目的は, ①正常の造精機能の保持②悪性化予防③外傷の発生防止④精神的負担の軽減の4点であるが, 治療の最大目的は①である。

治療法は内分泌療法と外科的療法とがある。前者のうち hCG 療法は, 1931年, Schapiro⁷⁾によりはじめられた。本症の原因として内分泌機能異常が有力視されていることより, hCG の投与は合目的的であり, 期待されるが, その成績は, 報告者により大きな差がある⁸⁾. 移動性睾丸を対象に含めば, その治療成績は良好となる。最近では, 両側例に対する治療効果を, Attanasio ら⁹⁾は, 40%, Czaplicki ら¹⁰⁾は, 74.4%としている。片側例は, その下降率がよくないことに加え, 公平ら¹¹⁾は, 過剰の hCG により対側睾丸に障害が及ぶとし, 検討すべきとしている。

LH-RH が本症に試みられた¹²⁾. 鼻粘膜に噴霧する方法もあり, Happ ら¹³⁾は, 26人に投与し, 16人で完全下降をみたという。簡便さゆえに試みてよい方法であろうが, 問題は抗体産生という¹⁴⁾.

固定術は索引法と非索引法とに大別されるが, 前者は, 精系血管に緊張を与える等の欠点のため, 後者が主流を占めている。自験例も, 最近では, 後者の DeNetto 法²⁾にて行なつた。固定年齢は, 従来 5歳前後とされ, 自験例もそれに準じたが, 電顕学的には, 2歳で停留睾丸にコラーゲンファイバーが出現し¹⁵⁾, 3歳をすぎると精祖細胞が著減する¹⁶⁾ことより, 手術時期は 2~3歳が妥当とするものもあり, 一般的に若年化する傾向にある。その場合, 技術的な面が問題とならう。

片側例の固定術後の造精機能は, David ら¹⁷⁾によると 247例中, 精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上のものは 79例, 32%で, 無精子症が 52例, 21%を占めたという。自験例では, $30 \times 10^6/\text{ml}$ 以上のものは, 13例中 8例, 62%であつ

たが、正常例は 4 例、31%にすぎなかつた。無精子症は 3 例、23%であつた。妊孕性は、思春期前に固定術をうけたものは、8~100%、平均62%、未治療のものは、18~100%、平均46%とされ¹⁸⁾、前者のほうがやや高率であるが、後者は不妊を主訴とするものもかなり含まれるだろうから、一概に比較はできないだろう。自験例での妊孕性は、子供の有無での判定だが、12歳以下群および13歳以上群で29%、成人群で23%であり、諸家より低率であつた。

以上のことは、片側例において対側にも異常の存在することを示している。陰嚢内にあつても、先天的異常を内在しているのか、あるいは、停留側より対側になんらかの影響が及んだことが考えられる。生後まもなくより、停留側に加えて、対側辜丸も精祖細胞が少ないとする報告は¹⁹⁾、前者を支持しよう。一方、後者は、以下のことより示唆される。犬において一方の辜丸を腹部に固定すると対側の辜丸の造影機能が低下する。ところが、停留させた辜丸をもとにもどすと回復するという¹⁹⁾。辜丸を虚血状態にすると対側に影響が及ぶとする報告もある²⁰⁾。なお公平ら¹⁸⁾は、対側への障害の機序として免疫学的なものを挙げている。自験例で平均精子濃度が、12歳以下群が成人群の3倍であり、これは、停留側の造精機能のちがいでだけによるものとは、思われず対側の差にもよることが考えられる。放置により対側に障害が及んだことが示唆され、後者を支持しよう。Ludwig ら²¹⁾は、妊孕性について検討し、同様の結果をえている。

早期手術により停留側の変化をできるだけ防止できれば、対側への障害も減ずることも考えられ、固定の時期を早めることは、この観点からも必要と思われる。

一方、両側例の固定術後の造精機能は、片側例よりさらに悪く、自験例でも高度乏精子症 1 例、残り 5 例はいずれも無精子症であつた。固定術後の hCG および hMG の投与により改善するとする報告がある²²⁾。

血中 LH, FSH の基礎値は、片側例と両側例では、後者が高値を呈するとされ²³⁾、自験例でも同様であつた。片側例では、対側の間脳下垂体系抑制作用が十分であることを示す。血中 testosterone の基礎値は、両者間に差はなくほぼ正常であつたが、in vitro で停留側に加えて対側辜丸も testosterone 合成能が低下しているという¹⁸⁾。これは、本症で辜丸の内分泌機能低下は微細なものであることを示し、臨床的に他の性器奇形の合併の少ないことに対応している。

両側例で13歳以上群および成人群の LH, FSH 値が高値であつたことは、12歳以下群に比し、精細胞系および間質細胞の障害が強いことを示し、停留が長期にわたると障害がいつそう進行することを裏付けている。

本論文の要旨は第26回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) 小金丸恒夫：停留辜丸の診断と治療，西日泌尿，35：162，1973
- 2) DeNetto, N. O. and Goldberg, H. M.: A method of orchiopexy. Surg. Gynec. & Obstet. 118: 840, 1964
- 3) 布施秀樹，皆川秀夫，伊藤晴夫，島崎 淳：男子不妊症の臨床的観察，日不妊会誌，28：197，1983
- 4) 飯塚理八，己斐秀豊，高橋輝雄，仁科進弘：男性不妊に対する Vitamedin の効果，臨婦産，20：41，1966
- 5) Score, C. G. and Farrington, G. H.: Congenital deformities of the testis and epididymis, Butterworth, London, 1971
- 6) 高安久雄，熊本悦明：男子における Gonadotropin および Androgen の臨床応用，治療，47：466，1965
- 7) Schapiro, B.: Ist der Kryptorchismus Chirurgisch oder hormonell zu behandeln? Dtsch. Med. Wschr. 57: 718, 1931
- 8) Ehrlich, R. M., Dougherty, L. J., Tomashofsky, P. and Lattimer, J. K.: Effect of gonadotropin in cryptorchism. J. Urol. 102: 793, 1969
- 9) Attanasio, A., Jendricke, K., Bierich, J. R. and Gupta, D.: Clinical and hormonal effect of human chorionic gonadotrophin in prepubertal cryptorchid boys. J. Endocrinol. 63: 50, 1974
- 10) Czaplicki, M., Bablok, L. and Janczewski, Z.: Fertility after treatment of bilateral cryptorchidism. Int. Urol. Nephrol. 6: 259, 1974
- 11) 公平昭男，木下裕三，穂坂正彦，西村隆一，高井修道，寺島和光，佐々木紘一：停留辜丸の h. C. G 投与に関する一考察，日不妊会誌，23：247，1978
- 12) Bartsch, G. and Frick, J.: Therapeutic effects of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) in cryptorchidism. Andrologia, 6: 197, 1974
- 13) Happ, J., Kollmann, F., Krawehl, C., Neubauer, M., Krause, U., Demisch, K., Sandow J., Rechenberg, W. and Beyer, J.: Treatment of cryptorchidism with pernasal gonadotropin-releasing hormone therapy. Fertil. & Steril. 29: 546, 1978
- 14) Lindner, J., McNeil, L. W., Marney, S., Conway, M., Rivier, J., Vale, W. and Rabin, D.: Characterization of human anti-luteinizing hormone-releasing hormone (LRH) antibodies in the serum of a patient with

isolated gonadotropin deficiency treated with synthetic LRH. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.* 52 : 267, 1981

- 15) Hadziselimovic, F. und Seguchi, H.: Elektromikroskopische Untersuchungen beim Kryptorchismus. *Z. Kinderchir.* 12 : 376, 1978
- 16) Menglel, W., Hienz, H. A., Sippe, W. G. and Hecker, W. Ch.: Studies on cryptorchidism: A comparison of histological findings in the germinative epithelium before and after the second year of life. *J. Pediat. Surg.* 9 : 455, 1974
- 17) David, G., Bisson, J. -p., Martin-Boyce, A. and Feneux, D.: Sperm characteristics and fertility in previously cryptorchid adults. *Pediat. Adolesc. Endocr.* 6 : 187, Karger, Basel, 1979
- 18) 公平昭男, 穂坂正彦, 西村隆一, 高井修道: 停留率丸, その病態と治療における新しい考え方, *産婦世界*, 31 : 61, 1979
- 19) Shirai, M., Matsushita, S., Kagayama, M., Ichijo, S. and Takeuchi, M.: Histological changes of the scrotal testis in unilateral cryptorchidism. *Tohoku J. exp. Med.* 90 : 363, 1966
- 20) Lewis-Jones, D. I., de Marval, M. M. and Harrison, R. G.: Impairment of rat spermatogenesis following unilateral experimental ischemia. *Fertil. & Steril.* 38 : 482, 1982
- 21) Ludwig, G. und Potempa, J.: Der optimale Zeitpunkt der Behandlung des Kryptorchismus. *Dtsch. Med. Wschr.* 13 : 680, 1975
- 22) 奥山明彦, 小出卓生, 園田孝夫, 伊東 博, 吉岡敏昭, 並木幹夫, 板谷宏彬, 西本直光, 水谷修太郎: 率丸間質機能の検討, 第7報両側停留率丸固定術後における HMG・HCG 剤の投与について, *日泌尿会誌*, 73 : 169, 1982
- 23) Atkinson, P. M., Epstein, M. T. and Cippion, A. E.: Plasma gonadotropins and androgens in surgically treated cryptorchid patients. *J. Pediatr. Surg.* 10 : 27, 1975

Prognosis of cryptorchism

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

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

The cases which underwent orchiopexy under 19 years old and which were over 20 years old without treatment were analysed. The cases were categorized as follows: The group under 12 years—The cases which underwent orchiopexy under 12 years old; The group over 13 years—The ones which underwent orchiopexy between 13 and 19 years old; The adult group—The ones which were over 20 years old without operation. The following results were obtained.

1) The findings in semen analysis: In unilateral cases, the occupancy rate of ones which were found slight oligozoospermia or normozoospermia was the greatest in the group under 12 years. The average sperm concentration in the group under 12 years was larger than that in the one over 13 years or the adult one. In bilateral cases, all the ones except for one case in the group under 12 years showed azoospermia.

2) Fertility: 5 cases in 20 unilateral ones (25 per cent) were fertile and one case in 5 bilateral ones (20 per cent) was fertile.

3) The results of endocrine examinations: The levels of LH, FSH and testosterone in blood showed no difference among three groups of unilateral cases. In bilateral cases, the levels of LH and FSH in the group over 13 years and the adult one were apt to be higher than those in the group under 12 years. The levels of LH and FSH in bilateral cases were higher than those in unilateral ones.

(受付: 昭和58年3月16日)

尿路性器結核による無精子症の2例

Azoospermia in Man with Genitourinary
Tuberculosis: 2 Cases

藤沢市民病院泌尿器科

岩本晃明* 岩崎 皓 広川 信
Teruaki IWAMOTO Akira IWASAKI Makoto HIROKAWA

Department of Urology, Fujisawa City Hospital

藤沢市民病院中央検査科(病理)

松下 和彦
Kazuhiko MATSUSHITA

Department of Pathology, Fujisawa City Hospital

朝倉泌尿器科医院

朝倉 茂夫
Shigeo ASAKURA

Private Practice of Urology

男子不妊症例から性器結核による無精子症と診断された2例について報告する。

症例1 (25歳) 不妊期間は4年である。左副睾丸尾部に硬結を触れる。精液所見は3回とも水様で2.0, 2.2, 2.4ml, 無精子で多数の白血球を認める。諸検査から両腎・前立腺・副睾丸・精管の結核と診断した。

症例2 (34歳) 不妊期間は7年である。精液所見は3回とも水様で0.5, 0.4, 0.2ml, 精子を認めない。右無機能腎の検索から結核と判明した。前立腺・精管の結核性病変も認められた。

精管造影にて2例とも精管の外見は正常に見えるが内腔の閉塞を認めた。2例の睾丸生検像をみると精子形成能が比較的良好に保たれていた。FSH, LH, testosterone 値は2例とも正常範囲であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(1), 107-111, 1984)

緒 言

近年、性器結核に相遇することはまれである。私達は、男子不妊症例から尿路性器結核による無精子症と診断された2症例について報告する。

症 例

症例1 H. Y. 25歳 会社員

初診日: 昭和55年7月23日

主訴: 不妊

既往歴・家族歴: 特記事項なし

現病歴: 昭和51年12月に結婚したが、3年8カ月間妊娠しないために不妊外来を受診している。なお、妻は婦人科的に異常ない。

現症: 身長173cm. 体重60kg. 乳房正常. 恥毛男性型. 睾丸の計測. 右側4.0×2.0×2.3cm 左側3.6×1.9×1.2cm. 左副睾丸尾部に無痛性の硬結を触知した。また左精索静脈瘤(第3度)を認める。陰茎, 精管, 前立腺は、いずれも触診上正常である。

検査所見: 末梢血・血液生化学は正常, 血沈0.5mm/1°, 1mm/2°. 検尿 pH 6.0, 蛋白(±), 沈査赤血球

* 現 横浜市立大学医学部泌尿器科

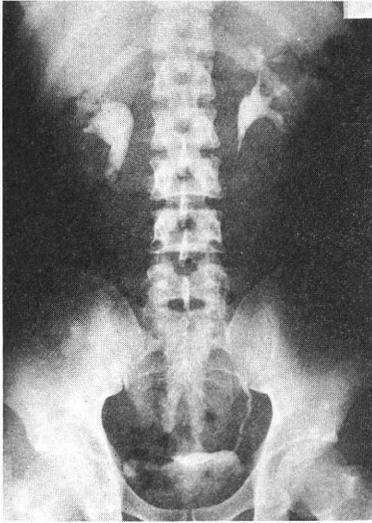


写真1 症例1の排泄性腎盂撮影
両側の腎杯に虫喰い像を認める

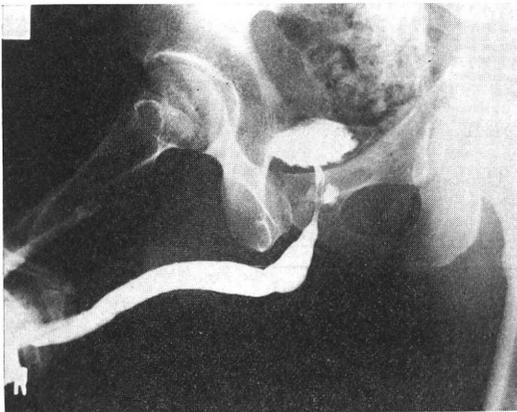


写真2 症例1の尿道撮影
空洞化した前立腺部への溢流像

2~3/每視野, 白血球多数, 一般細菌(-), 結核菌塗沫培養 陽性.

精液検査 (3回施行); 3回とも水様で精液量は2.0, 2.2, 2.4ml. 精子を全く認めない. 白血球を多数認めた.

血中ホルモン値; FSH 8.5mIU/ml, LH 12.5mIU/ml, testosterone 4.87ng/ml.

レ線検査; 腎膀胱部単純撮影, 異常陰影なし. 排泄性腎盂撮影にて両側の腎杯に虫喰い像を認めた(写真1). 尿道撮影にて前立腺への溢流像を認めた(写真2).

以上の検査所見より両腎・前立腺・副睾丸の結核と診断した. 約1年3カ月間 RFP, INH, EB の化学療法を行つた時点で睾丸生検を行い, 同時に精管造影を試みた. 精管の外見は正常に見えるが, 細いカテーテルの挿



写真3 症例1の睾丸生検画像(右側)
一部の精細管で精子形成能の低下をみるが多数の精細管は精子を認める. 中等度の sloughing 現象を認める

入が不可能で内腔の閉塞をみとめた.

睾丸生検像; 精子を認める精細管が多数みられるが, 一部の精細管で精子形成能の低下を認める. 中等度の sloughing 現象を認める. 左右の睾丸像に左右差がみられない(写真3).

症例2 T. S. 34歳 会社員

初診日: 昭和50年5月14日

主訴: 不妊

家族歴: 父親が肺結核で死亡している.

既往歴: 特記事項なし

現病歴: 昭和43年1月結婚したが, 7年4カ月間, 妊娠しないために不妊外来を受診している. 全身状態は良好で何ら自覚症状の訴えはない. なお, 妻は婦人科的に異常ない.

現症: 身長160cm, 体重47kg. 乳房正常. 恥毛男性型. 睾丸の計測, 右側3.9×2.4×2.9cm, 左側4.2×2.4×2.3cm. 陰茎, 精管, 副睾丸, 前立腺は, いずれも触診上正常である.

検査所見: 末梢血・血液生化学は正常. 血沈4mm/1°, 11mm/2°. 検尿 pH 5.5, 蛋白(-), 沈査(-), 結核菌塗沫培養 陰性.

精液検査 (3回施行); 3回とも水様で精液量は0.5, 0.4, 0.2ml. 精子は全く認めず, 白血球も含まれていない.

血中ホルモン値; FSH 3.3mIU/ml, LH 10mIU/ml, testosterone 8.99ng/ml.

レ線検査; 腎膀胱部単純撮影, 右腎部に石灰化像を認める. 排泄性腎盂撮影にて右無機能腎を示し左腎盂腎杯像は正常である(写真4). 尿道撮影にて前立腺への溢流像を認める(写真5).

右腎部の石灰化像と無機能腎とから閉塞性腎結核を疑

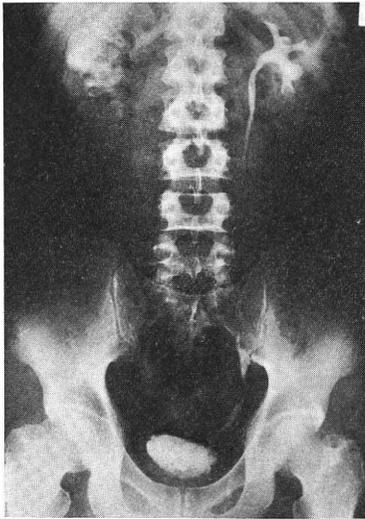


写真4 症例2の排泄性腎盂撮影
右腎部に石灰化像を認め無機能腎を示している

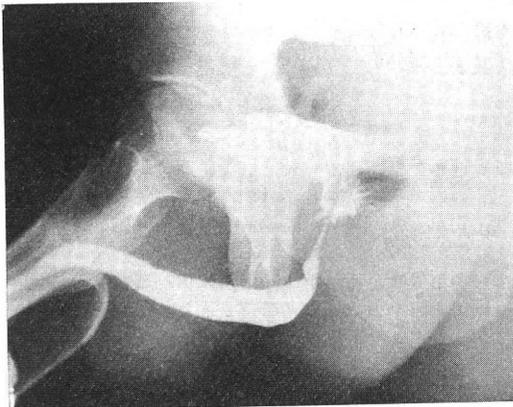


写真5 症例2の尿道撮影
空洞化した前立腺部への溢流像

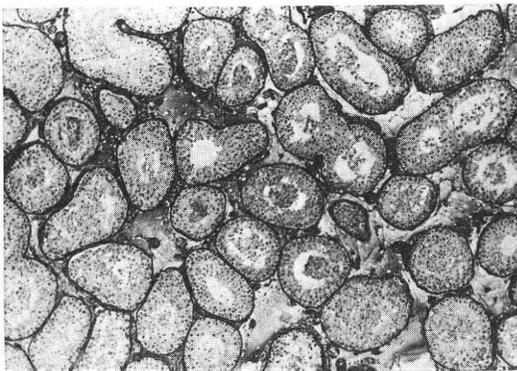


写真6 症例2の睾丸生検像(左側)
精子形成能の低下はごく軽度で、多数の精細管で精子を認め成熟した睾丸像を示している

昭和50年7月1日、腎摘出術を施行した。摘出腎は370gで、その組織像から腎結核の病変が診断された。

無精子症の精査のため、睾丸生検を行い、同時に精管造影を試みた。精管は外見上、異常は認めず、カテーテルの挿入は可能であったが両側とも閉塞像を示した。

睾丸生検像；精子形成能の低下はごく軽度で、多数の精細管で精子を認め、成熟した睾丸像を示している。左右の睾丸像に左右差がみられない(写真6)。

以上の検査所見から、前立腺結核、結核性精管炎による無精子症と臨床的に考えられた。

考 案

性器結核の発生頻度について

抗結核剤の進歩により尿路性器結核はしだいに減少し、とりわけ性器結核に相遇することはまれである。近藤らの全国調査の結果¹⁾によれば、1949年に泌尿器科外来患者総数の6.6%とピークを示し、しだいに減少して1960年頃には2.3%、さらに1970年12月末のデータでは0.5%と下降している。安藤ら²⁾は1965年から1972年までの集計で0.7%~0.6%と報告している。最近、和田ら³⁾の報告によれば、1974年の頻度は0.42%で、1978年には0.22%に減少している。

精液所見について

性器結核における精液所見について本邦では石山ら⁴⁾が詳細な検討を行つている。それによると性器結核に罹患した患者の精液量は平均1.5ml(0.2~6.6ml)と少量である。さらに罹患臓器別に観察すると前立腺に病変のあるものに精液量の減少が目立っている。近藤ら⁵⁾の調査では27.6%に無精液症がみられ、2臓器以上の性器に罹患した場合には53.4%~38.1%が無精液症となっている。Veenemaら⁶⁾によれば、53例中10例(18.8%)が無精液症で精液量2.5mlを越えるものは6例(11%)しかみられていない。自験例では第1例が2~2.4mlであるが、第2例は0.2~0.5mlと減少している。2例とも触診上、前立腺に硬結を触れなかつたが尿道造影で病変を認めている。Veenemaらも述べているように精液量の減少は前立腺結核の特徴的な所見といえる。

精子濃度についてみると、石山らのデータは21例中無精子症6例、 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下4例、 $10 \sim 40 \times 10^6/\text{ml}$ 5例、 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下6例であった。無精子症の6例はすべて両側の副睾丸が侵されたものである。Veenemaらの症例では32%に無精子症、そして20.7%が乏精子症である。石山らによれば精子濃度は副睾丸の病変の程度に比例するとし、一侧の副睾丸が健康であれば前立腺および精囊腺が侵されても精子濃度は割合に変化が少いと述べている。自験例の場合、症例1では一侧の副睾丸

尾部の病変を認め、症例2では触診上、副睾丸の異常を認めなかったが、2例とも無精子症を来している。これは両側の精管閉塞によるためである。従来、結核性精管炎の特徴的な所見として、精管にじゅず状の硬結・結節を来すと言われているが、本症のように一見、正常と思われた精管が検査により精管の閉塞が診断された。このことは臨床上、興味深い所見である。

血中ホルモン値について

特発性不妊症のうちで無精子症例のホルモン値をみると、一般にFSH, LHは高値を示すがテストステロンについては低値を示すという報告⁷⁾あるいは大部分が正常範囲内を示したとする報告⁸⁾がみられる。一方本症のような閉塞性無精子症例をみると、Walsh⁹⁾によればFSH, LHテストステロン値は正常範囲内であると述べている。自験2例の結果も、すべて正常であった。

睾丸生検像について

今まで性器結核において不妊という観点からみるのが少いため、睾丸生検はほとんど行われていないのが現状である。Veenemaら(1957年)は結核性副睾丸膿瘍に隣接した睾丸を組織学的に検索したところ、特徴的な所見を認めなかったが精子形成能の低下した例あるいは精細管の萎縮を来した例を報告している。結核の長期罹患・全身状態の不良などによる二次的な変化であろうと解釈している。

自験例の場合、無精子症の精査の目的で睾丸生検を行った。症例1では精索静脈瘤を合併していたため、一部で精子形成能の低下およびsloughing現象を認めている。症例2は閉塞性腎結核があり、以前より結核に罹患していた症例である。しかしVeenemaらの症例の睾丸生検像と異なり、両側とも精子形成能が比較的良好に保たれていた。睾丸生検像からは2例とも十分な妊孕能をもつ睾丸といえる。

性器結核と不妊について

自験の2例は不妊外来で性器結核と判明したもので、藤沢市民病院が開設されて10年間の男子不妊外来総数(243名)の0.8%にあたる。

性器結核によると不妊率を調べるとBurghelleら¹⁰⁾は60~64%、Sole-Balcellsら¹¹⁾、Veenemaらは90%あるいはそれ以上と高い比率を報告している。一方、Cooperらは¹²⁾16例の性器結核患者のうち14例に子供を得たと述べており、きわめて高い妊娠率の報告がみられる。

抗結核剤を投与し、治療後の不妊率をみるとObrantら¹³⁾は52%に、石川らは¹⁴⁾は55%に不妊を認めている。近藤らは罹患部位による詳細な検討を行っている。副睾丸単独罹患例55例中38例(69%)に、副睾丸と精囊腺罹患例2例とも、副睾丸と前立腺罹患例24例中18例(75%)に、副睾丸・精囊腺・前立腺の3者罹患例12例中10例(83%)に、前立腺単独罹患例13例中9例(69.2%)に不妊をみている。

化学療法により性器結核の病変は改善してくるが、妊孕能の改善はあまり期待できないのが現状である。高安ら¹⁵⁾は絶望的であるとも述べている。自験2例とも化学療法を行っているが無精子症が続いている。睾丸生検像が良好なことから、今後何らかの方法で精路の再建術を予定している。近藤らは24例に再建術を行い、そのうち12例(50%)に精子を認めるようになったが1例も妊娠例をみていない。

化学療法により性器結核の病変は改善してくるが、妊孕能の改善はあまり期待できないのが現状である。高安ら¹⁵⁾は絶望的であるとも述べている。自験2例とも化学療法を行っているが無精子症が続いている。睾丸生検像が良好なことから、今後何らかの方法で精路の再建術を予定している。近藤らは24例に再建術を行い、そのうち12例(50%)に精子を認めるようになったが1例も妊娠例をみていない。

このように、性器結核が男子不妊症例で占める比率は少ないが、男子の妊孕能に大きな影響を与えることから注意されなくてはならない疾患である。

結 語

不妊外来で診断された尿路性器結核による無精子症の2例を報告し、若干の文献的考察を行った。

本論文の要旨は第86回日本不妊学会関東地方部会において発表した。

文 献

- 1) 近藤 厚, 徳永 毅, 石山勝蔵: 男子性器結核の臨床的観察, 日泌会誌, 63: 446, 1972
- 2) 安藤 弘, 三浦一陽: 前立腺結核, 臨泌, 27: 275, 1973
- 3) 和田誠次, 西尾正一, 前川正信, 船井勝七, 辻田正昭: 孤立性睾丸結核と思われる1例, 泌尿紀要, 26: 579, 1980
- 4) 石山勝蔵, 篠田 孝, 尾関信彦: 男子性器結核に於ける精液の変化, 特に不妊症の対策について, 日不妊会誌, 2: 25, 1957
- 5) 近藤 厚: 結核性副性器炎の治療, 臨泌, 26: 特149, 1972
- 6) Veenema, R. J. and Lattimer, J. K.: Genital tuberculosis in the male: Clinical pathology and effect on fertility. J. Urol., 78: 65, 1975
- 7) 細井康男: 男性不妊症の内分泌学的研究, 日泌会誌, 72: 544, 1981
- 8) 山本雅憲, 三宅弘治, 欄 芳郎, 質 英雄, 後藤百万, 高村真一, 蔡 紹謙, 三矢英輔: 男子不妊症の臨床統計的観察, 日不妊会誌, 27: 369, 1982
- 9) Amelar, R. D., Dubin, L. and Walsh, P. C.: Male Infertility p155 Philadelphia Saunders Co., 1977
- 10) 11) より引用
- 11) F. Sole-Balcells, F. Jimenez-Cruz, J. Saenz de Cabezon and A. Soler Rosello: Tuberculosis and Infertility in Men. Eur. Urol. 3:

- 129, 1977
- 12) Cooper, H. G. and Robinson E. G.: Treatment of genitourinary tuberculosis.: Report after 24 years. J. Urol. 108: 136, 1972
 - 13) Obrant K. O. and Lindqvist, S.: Fertility after chemotherapy in male patients with genital tuberculosis. Fertil. Steril. 15: 440, 1964
 - 14) 石川堯夫, 任 成元: 副睾丸結核の研究(第II報) 副睾丸結核観血的療法後の性機能および不妊について, 日不妊会誌, 7: 185, 1962
 - 15) 高安久雄, 小川秋実, 小磯謙吉, 福谷恵子, 松橋 勲, 小峰志訓, 秋間秀一, 東海林文夫, 小松秀樹: 尿路性器結核の治療成績, 日泌尿会誌 69: 1028, 1978

Azoospermia in man with genitourinary tuberculosis: 2 Cases

**Teruaki Iwamoto, Akira Iwasaki,
Makoto Hirokawa**

Department of Urology,
Fujisawa City Hospital

Kazuhiko Matsushita

Department of Pathology, Fujisawa
City Hospital

Shigeo Asakura

Private Practice of Urology

Two cases of azoospermia due to genitourinary

tuberculosis were reported.

Case 1. A 25 year-old man visited us complaining of sterility for 4 years. Examination on palpation revealed a hard nodule at the tail of left epididymis. Three semen analyses were as follows: these volumes of semen fluid were 2.0, 2.2, 2.4ml; semen specimens were azoospermia and many white blood cells were present. Cultures of the urine and the semen were positive for tubercle bacilli and genitourinary studies revealed tuberculous involvement of bilateral kidneys, prostate, epididymis and vas deferens.

Case 2. A 34 year-old man visited us complaining of sterility for 7 years. Physiological examination revealed no abnormalities. Three semen analyses showed very low semen volumes (0.5, 0.4, 0.2ml) with azoospermia. IVP showed non functioning kidney in the right. This right kidney was removed. Histological examination of specimen revealed tuberculosis and genitourinary studies revealed tuberculosis of prostate and vas deferens.

Interesting findings of our two cases consisted of following: vesiculography revealed bilatellary obstruction although the vas deferens appeared normal macroscopically; histological studies of the testis revealed almost normal spermatogenesis; plasma FSH, LH and testosterone level were normal range.

(受付: 昭和58年3月7日)

EFFECT OF MULTIPLE INJECTIONS OF PORCINE FOLLICULAR FLUID ON ESTRUS AND OVULATION DURING THE FOLLOWING CYCLE

Motoaki UMEZU, Takashi WATANOBE and Junji MASAKI
Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agriculture,
Tohoku University, Sendai

Abstract: The effect of multiple injections of porcine follicular fluid (PFF) to rats was examined whether the administration could suppress the recurrence of estrus and ovulation in the following cycle.

A half or 1.0 ml PFF was intraperitoneally injected to rats in proestrus 4-12 times at the interval of 8 hours from 8:00 h.

By checking vaginal smear, most of rats were killed at estrus (E) on the following cycle. Four and six successive injections of 1.0ml or 0.5 ml PFF (1.0 ml×4 and 0.5 ml×6) did not affect the estrous cycle and ovulation at all. One ml×6 and 0.5 ml×9 PFF made the oncoming estrus and ovulation delay for 1 day in most of rats.

Disturbance in estrous cycle was more distinctly observed with increased PFF injections.
(*Jap. J. Fert. ster.*, 29(1), 112-116, 1984)

Introduction

Factors which can suppress peripheral FSH levels of rodents exist in porcine and bovine follicular fluid¹⁻⁴⁾, and they are similar to inhibin originated from testis.

Chappel and Selker⁵⁾ observed a significant reduction in the number of ovulated ova at estrus of the next cycle when bovine follicular fluid (BFF) was injected to proestrous hamsters.

Sato et al⁶⁾ reported inhibition of compensatory increase in ovarian weight with porcine follicular fluid (PFF) in unilaterally ovariectomized mice. Also, the fluid is reported to suppress the increase of uterine weight in HCG-primed mice⁶⁾. All these effects may derive from the suppression of follicular development.

In contrast that the visible suppressive effects with follicular fluid has been known in hamsters and mice, the information in rats is limited. Sasamoto et al⁷⁾ reported that ovulation of the next cycle was delayed 1 day after BFF administration to rats in diestrus-2 treated with HCG, while De Paollo et al⁸⁾

reported that PFF injections from proestrus to estrous morning inhibited FSH secretion during the time in rats but did not exert any effect on estrus and ovulation on the following cycle.

This experiment was designed to examine with further detail whether multiple injections of PFF could suppress follicular development on the following cycle in rats.

Materials and Methods

Follicular fluid:

Porcine ovaries were obtained at a local slaughterhouse, and follicular fluid was aspirated from normal follicles with 2-10mm diameter and stored in a freezer (-60°C).

After approximately 400ml PFF was pooled it was thawed and centrifuged at 5000rpm at 4°C for 20min. The supernatant was stirred with charcoal (100mg/ml) at 4°C for overnight and centrifuged again at 9000rpm at 4°C for 20min to remove charcoal. After the charcoal treatment, the concentration of progesterone estimated by radioimmunoassay (RIA) reduced to about 1% of the original concent-

ration (139.9ng/ml). This supernatant solution was used as PFF. The same treatment was made for porcine serum (PS) and physiological saline solution (Saline) as control.

Animals:

Adult virgin female rats of Wistar strain bred in our laboratory were kept under controlled condition of light (on 6:00-18:00) and temperature (22-24°C) and given dry pellet (Pig Gold: ZEN NO) and water ad libitum. Vaginal smears were daily taken and only rats with two consecutive 4 days cycles before administration were used.

Determination of inhibin activity:

Rats were bilaterally ovariectomized and 14 days after, either PFF or control vehicle was intraperitoneally (i. p.) injected at 8:30h and 12:30h. Animals were killed 4 hours after the 2nd injection by cutting jugular vein under light ether anaesthesia to collect blood. This time interval was referred to the report of Marder et al⁹⁾.

The blood was centrifuged to obtain serum which was stored at -60°C until assayed.

Serum FSH and LH concentrations were estimated by RIA using NIAMDD rat RIA kit (antibody LH-S-5, FSH-S-9). All results were expressed in terms of FSH-RP-1 and LH-RP-1.

Effect of PFF on estrus and ovulation on the next cycle:

A half ml or 1.0ml PFF was i. p. injected 4-12 successive times to rats at proestrus (P) at the interval of 8 hours from 8:00h. Multiple injections of PS or Saline were also given to rats under the same schedule as PFF.

Vaginal smears were daily taken before and after the administration and most of rats given injections were killed at estrus (E) on the following cycle to examine tubal ova under a dissecting microscope.

Statistics:

For statistical analysis of results, Chi squared test or Student's t test was used. A difference was considered as statistically significant when the probability was <0.05.

Results

Inhibin activity in PFF:

PFF treatment clearly suppressed serum FSH values in ovariectomized rats compared

with PS treatment in Exp. 1 and with PS or Saline treatment in Exp. 2. The PFF did not affect LH values in Exp. 1 (Table 1).

Effect of PFF on the next estrous cycle:

i) E in the following cycle

Four successive injections of 1.0ml PFF (1.0ml×4 PFF) or six successive injection of 0.5ml PFF (0.5ml×6 PFF) did not affect the recurrence of E on the next cycle at all.

However, 1.0ml ×6 PFF or 0.5ml×9 PFF made the estimated day of E in the following cycle delay for 1 day in most of rats. The recurrence of E in the following cycle was delayed for 2 and more days in majority of rats when 0.5ml×12, 1.0ml×9 and 1.0ml×12 PFF were given.

By contrast, the PS or Saline treatment rarely affected the oncoming E in spite of the successive injections.

In 0.5ml×9 PFF or PS treatment, the rate of the recurrence of oncoming E at the estimated day was 0/15 in PFF and 10/12 in PS groups (P<0.01), and at the next day of the estimated day it was 13/15 in PFF and 2/12 in PS groups (P<0.01).

ii) Ovulation at E on the next cycle

In all instance of 1.0ml×4 or 0.5ml×4 PFF group, normal number of tubal ova was found at estimated E on the following cycle. In 0.5ml×9 PFF group, ovulation with normal number of ova was observed in 12/13 at the day of delayed E, the remainder showing ballooned uterus of proestrous type.

Ovulation with normal number of ova was seen in 8/10 rats at E in 0.5ml×9 PS group on the estimated day in the following cycle, the remainders showing ballooned uterus.

One ml×12 PS group showed ovulation at the expected E day but number of ova observed was less than normal. In 1.0ml×12 Saline group 3/4 rats ovulated with normal number of ova at the expected E day, the remainder showing ballooned uterus.

Discussion

Of the elevated levels of LH and FSH after ovariectomy, only FSH levels were suppressed with the PFF treatment. As the possibility that steroid may be involved in this effect was neglected because of diminished

Table 1 Serum FSH and LH levels after PFF treatment in ovariectomized rats

				M±S.E.	
Administration		No. of animals	FSH (ng/ml)	LH (ng/ml)	
Exp. 1					
S P	0.5×2	5	760.0± 83.9	438.0±41.0	
PFF	0.5×2	5	101.5±24.5**	437.0± 5.4	
Exp. 2					
Saline	0.25×2	2	905.0±145.0	—	
P S	0.5 ×2	5	1273.0± 66.9	—	
PFF	0.25×2	6	327.5± 59.4**	—	
PFF	0.5 ×2	5	446.0±120.7**	—	

**p<0.01 for PS

Porcine follicular fluid (PFF) or control vehicle (porcine serum : PS or physiological saline solution : Saline) was i.p. injected to rats ovariectomized 14 days in advance at 8:30 and 12:30 varying dose 0.25 ml or 0.5 ml.

Animals were killed 4 hours later to collect blood.

Serum FSH and LH levels were estimated with radioimmunoassay.

Table 2 Effect of PFF or PS on estrus and ovulation on the following cycle in rats.

Administration	Volume (ml)	Number of injection	No. of animals	Daily delay from the expected E on the following cycle (values mean no. of animals)					Rate of ovulation	No. of ova in ovulated rats M±S.E.
				0	1	2	3	other		
PFF	1	4	5	5					5/5	11.0±0.8
	0.5	6	5	5					5/5	10.7±0.3
	1	6	3		3				—	—
	0.5	9	15		13			2 ^a	12/13 ^b	10.4±0.9
	1	9	4		1		2	1 ^c	—	—
	0.5	12	5		2	3			—	—
	1	12	5			3	2		—	—
P S	0.5	9	12	10	2				8 ^b /10	9.5±0.5
	1	12	4	4					4/4	6.3±3.0
Saline	1	12	4	4					3 ^b /4	9.7±1.2

a; proestrous smear

b; the remainders with ballooned proestrous uterus

c; non-recurrence of E

PFF or control vehicle (PS or Saline) was i.p. injected 4-12 times to rats beginning with 8:00 at proestrus at the interval of 8 hours. Daily smears were taken before and after administrations and most of rats were killed at estrus in smear (E) on the following cycle and examined for tubal ova.

level of progesterone after the charcoal treatment, this suppressor of FSH secretion was confirmed to be inhibin-like substance. One ml×4 PFF did not exert any effect on the recurrence of E and ovulation on the following cycle. This schedule of PFF administra-

tion and the results correspond well with those of De Paolillo et al⁸⁾ (1.0ml×3 PFF : P 11:00, 18:00, E 8:00).

A half ml×6 PFF did not affect the day of oncoming E and ovulation either, but 1.0ml ×6 PFF made oncoming E delay for 1 day.

With more number (9-12) of injections of PFF, 1.0ml made the recurrence of E in the next cycle delay more than did 0.5ml.

Campbell & Schwartz⁹⁾ reported that single injection of 1.0ml PFF suppresses FSH secretion more strongly than that of 0.5ml PFF. This dose effect may relate with the retardation in recurrence of oncoming E.

In addition to the report of De Paollo et al⁸⁾, de Jong et al¹⁰⁾ reported that even if daily BFF administration was continued for more than 20 days, sexual cycle of rats was not influenced during the period.

Welschen et al¹¹⁾ and De Paollo et al¹²⁾ reported that number of pre-Graffian follicles which destined to ovulate at E on the next cycle reduced when BFF or PFF was administered to rats at P and killed at E. It is clear that BFF and PFF have suppressed follicular maturation during this time. De Paollo et al reported that the duration of PFF action with single injection was between 10 and 14 hours¹³⁾ and that rebound FSH secretion was observed at diestrus 1, the next day after 1.0ml×3 PFF treatment (P:11:00, t: 18:00, E:800) was made⁸⁾. This rebound increase of FSH may activate follicular maturation to make E and ovulation in time on the next cycle. In our experiment, 1.0ml×6 or 0.5ml×9 PFF made oncoming E and ovulation delay. This fact might show that additional administration of 1.0ml PFF at E (16:00) and E (24:00) or 0.5ml×3 PFF at metestrus (M) is critical for the delay. It is likely that those extra injections could suppress the rebound FSH increase at diestrus 1 and follicular development could not be in time for E and ovulation on the next cycle.

We did not estimate blood FSH levels during estrous cycle in rats. Further examination should be need for the conclusion.

Single injection of antibody against FSH to proestrous rat inhibited ovulation at the expected day on the following cycle¹⁴⁾.

The discrepancy of action mode of PFF and FSH antibody may be due to the strength of neutralization of FSH activity and/or the duration of action. It is reported that in hamster⁴⁾ three successive injections at proestrous morning or night suppressed FSH levels and follicular maturation during the time, resulting in the significant reduction of ova

number at the expected day in the following cycle. In that report, the role of FSH secretion at P for the follicular maturation towards the next cycle was emphasized, but this was, not the case in rat in the present experiment.

More injection of PFF (1.0ml×9, 0.5ml or 1.0ml×12) disturbed further the recurrence of oncoming E. Further suppression of FSH secretion with PFF might result in the failure of follicular development to reveal E in smear.

Most of PS and Saline groups used as control were not affected on the oncoming E and ovulation. However, the delay of oncoming E, the time lag between E and ovulation, and the decreased ova number were observed in a few cases. It is impossible to neglect a stress and/or poisonous effect which leads the disturbance of sexual rhythm in rat by multiple injections of the exogenous materials.

Acknowledgement

The authors acknowledge the supply of rat-FSH and LH radioimmunoassay materials from the Pituitary Hormone Distribution Program of the National Institute of Arthritis, Diabetes and Digestive and Kindney Diseases.

References

- 1) De Jong, F. H. and Sharpe, R. M.: Evidence for inhibin-like activity in bovine follicular fluid. *Nature*, 263: 71, 1976
- 2) Welschen, R., Hermanns, W. P., Dullart, J. and de Jong, F. H.: Effect of an inhibin-like factor present in bovine and porcine follicular fluid on gonadotrophin levels in ovariectomized rats. *J. Reprod. Fert.*, 50: 129, 1977
- 3) Marder, M. L., Channing, C. P. and Schwartz, N. B.: Suppression of serum follicular stimulating hormone in intact and acutely ovariectomized rats by porcine follicular fluid. *Endocrinology*, 101: 1639, 1977
- 4) Chappel, S. C. and Selker, F.: Relation between the secretion of FSH during the periovulatory period and ovulation during the next cycle. *Biol. Reprod.* 21: 347, 1975
- 5) Sato, E., Miyamoto, H., Ishibashi, T. and Iritani, A.: Identification, purification and immunohistochemical detection of the inhibitor from porcine ovarian follicular fluid to compensatory ovarian hypertrophy in mice.

- J. Reprod. Fert., 54 : 263, 1978
- 6) Ramasharma, K., Shashidara Murthy H. M. and Moudgal, N. R. : A rapid bioassay for measuring inhibin activity. Biol. Reprod. 20 : 831, 1979
 - 7) Sasamoto, S., Otani, T. and Shiota, M. : Delay of the selective surge of follicle-stimulating hormone by bovine follicular fluid during the period of ovulation induced by human chorionic gonadotrophin in dioestrous rats. J. Endocr. 89 : 205, 1981
 - 8) De Paollo, L. V., Hirshfield A. N., Anderson L. D., Barraclough, C. V. and Channing, C. P. : Suppression of pituitary secretion of follicle-stimulating hormone by porcine follicular fluid during pro-oestrus and oestrus in the rat : effects on gonadotrophin and steroid secretion, follicular development and ovulation during the following cycle. J. Endocr. 83 : 355, 1979
 - 9) Campbell C. S. and Schwartz, N. B. : Time course of serum FSH suppression in ovariectomized rats injected with porcine follicular fluid (Folliculostatin) : Effect of estradiol treatment. Biol. Reprod. 20 : 1093, 1979
 - 10) De Jong, F. H., Welschen, R., Hermans, W. P., Smith, S. D. and van der Molen, H. J. : Effect of testicular and ovarian inhibin-like activity, using in vitro and in vivo systems. International Journal of Andrology Suppl. 2 : 125, 1978
 - 11) Welschen, P., Herman, W. P. and de Jong, F. H. : Possible involvement of inhibin in the interrelationship between numbers of antral follicles and peripheral FSH concentrations in female rats. J. Reprod. Fert. 60 : 485, 1980
 - 12) De Paollo, L. V., Anderson, L. D. and Hirshfield, A. N. : Possible existence of a long-loop feedback system between FSH and inhibin in female rats. Am. J. Physiol. 240. E544. 1981
 - 13) De Paollo, L. V., Wise, P. M., Anderson, L. D., Barraclough, L. A. and Channing, C. P. : Suppression of the pituitary FSH secretion during proestrus and estrus in rats by porcine follicular fluid : possible site of action. Endocrinology 104 : 402, 1979
 - 14) Welschen, R. and Dullart, J. : Administration of antiserum against ovine follicle-stimulating hormone or ovine luteinizing hormone at pro-oestrus in the rat : effects on follicular development during the oncoming cycle. J. Endocr. 70 301 : 1976

豚卵胞液の多数回投与がラットの次回発情排卵に及ぼす影響

梅津元昭, 渡部 卓, 正木淳二

(東北大学農学部家畜繁殖学教室)

活性炭処理した豚卵胞液 (PFF) をラットに多数回投与した時, 次回性周期のスミア上の発情 (E) と排卵にどのような影響が現れるかを調べた。

PFF, 豚血清 (PS) または食塩水の 0.5 又は 1.0ml をラットに発情前期の 8.00 から 8 時間間隔で 4 ~ 12 回腹腔内に注射し, 以後も毎日, 膣スミアの検査を行い, 多くのラットを翌性周期の E の日に殺した。

PFF (1.0×4) または PFF (1.0×6) 処理では, 次回の E および排卵に全く影響が現れなかった。しかし, PFF (1.0×6) または PFF (0.5×9) では発情がそれぞれ 3/3, 13/15 (この日に 12/13 例で排卵) で予定日より 1 日遅れ, PFF 投与回数をより増やすと性周期がさらに乱れた。一方 PS (0.5×9) では 10/12 に予定通り E が到来した。

(受付: 昭和 58 年 3 月 9 日)

EFFECTS OF VARIOUS SPERM PROCEDURES ON FERTILIZATION OF BOVINE FOLLICULAR OOCYTES IN RABBIT REPRODUCTIVE TRACTS AFTER MATURATION IN VITRO

Yutaka FUKUI, Moriyuki FUKUSHIMA and Hitoshi ONO

Department of Meat Animal Reproduction, Obihiro University
of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro 080, Japan

Abstract: Fertilization of bovine follicular oocytes was attempted in the reproductive tract of rabbits pretreated with 75 i. u. hCG previously. Inseminations were performed in either the oviduct or uterus with frozen-thawed bull spermatozoa treated with one of seven methods for sperm procedures as follows; 1) undiluted, 2) diluted (1:2) with Ham's F-12 based medium and unwashed, 3) washed and diluted with medium, 4) passing through a glass wool column, 5) diluted with bovine follicular fluid (BFF), 6) washed and diluted with BFF, and 7) diluted with medium and BFF (1:1). Fertilization was examined in the oocytes recovered from the oviduct and uterus 24 h later. The criteria of fertilization were the presence of the pronuclei and a sperm tail with its midpiece in the oocyte cytoplasm, and the second polar body.

Totally, of 1163 oocytes transferred, 72% of the oocytes were recovered from the reproductive tract of rabbits. Overall, 62% of the oocytes examined had matured beyond the second metaphase stage. For fertilization rates, there were no significant differences in both between the insemination sites (24.2% and 26.9% for the oviductal and uterine inseminations, respectively), and between the recovery sites (24.1% and 27.3% for the oviduct and uterus, respectively). However, a significant difference was found among the semen treatments ($P < 0.05$); 1) 20.8%, 2) 38.6%, 3) 19.6%, 4) 22.6%, 5) 31.3%, 6) 23.3%, and 7) 18.8%. There was a significant interaction between the semen treatment and the recovery sites ($P < 0.01$). These results indicate that fertilization of bovine follicular oocytes cultured in vitro and transferred into the rabbit oviduct has significantly been affected by the methods of sperm procedures rather than the insemination sites. Factors influencing fertilization and oocyte transport in the rabbit reproductive tract have been discussing.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(1), 117-125, 1984)

Introduction

The pig oviduct can support the penetration of bovine oocytes by bull spermatozoa^{1,2}. The oviductal environment of pseudopregnant rabbit does has been found capable of supporting fertilization of the squirrel monkey and of the golden hamster^{3,4}, of cow^{2,4-6}. The potential utility of the rabbit as a model for xenogenous fertilization and development of practical technologies for animal breeding has been emphasized⁷.

Although sperm survival and capacitation in

vivo is not a species-specific event^{1-3,8}, the nature of the factors affecting capacitation in the uterus or oviduct, and the elucidation is complicated by apparent species variation in timing and in the relative contribution of different regions of the female tract⁹. It has been reported that spermatozoa can be capacitated in either the uterus or oviduct alone¹⁰⁻¹². Viriyapanich and Bedford⁹ have also showed that the time required for capacitation of hamster spermatozoa in the oviduct clearly can be shortened as compared with insemination of uterine spermatozoa after mating. How-

ever, from physiological points of view on fully capacitated spermatozoa *in vivo*, spermatozoa passed through both the uterus and oviduct are capable of penetrating in the egg followed by the normal fertilization and development thereafter. It appears, however, that there are no comparative studies on insemination sites for xenogenous fertilization of bovine oocytes in the reproductive tract of heterologous species. In the present report, we have therefore investigated the effect of insemination sites (the oviduct or uterus) in the rabbit reproductive tract with various sperm procedures on xynogenous fertilization of bovine follicular oocytes matured *in vitro*.

Materials and Methods

Immature bovine follicular oocytes were collected from follicles of 2.5 mm in diameter and only healthy looking oocytes with cumulus cells were cultured *in vitro* for 27h. The medium used was a solution containing Ham's F-12 (Flow Co., Australia), 20% (v/v) bovine fetal serum (Dulbecco Co., U. S. A.), 10 µg/ml ovine luteinizing hormone (LH: NIH, U. S. A.), 1 µg/ml estradiol (Ova-hormone: Teikokuzoki Co., Japan) and antibiotics (pH, 7.1). The culture methods were followed by the previous papers in elsewhere^{13,14}.

Frozen bull semen in 0.5 ml straws were thawed at 37°C and diluted at 3 times by one of the seven methods as follows; 1) undiluted 2) diluted with medium not containing the hormones and unwashed, 3) washed twice at 500g for 10min and diluted with medium, 4) diluted and passed through a glass wool (10-12 µm in diameter) column (12 mm i. d., 50 mm in length) according to the method of Nakagawa et al¹⁵., 5) diluted with bovine follicular fluid (BFF), 6) washed twice and diluted with BFF, and 7) diluted with a mixture solution of medium and BFF (1:1). BFF used in the present study was aspirated from follicles of 10-20 mm in diameter and centrifugated at 500 g for 10 min with the addition of 5 i. u./ml heparin. The supernate was kept in a refrigerator for 24 h and the BFF was heated at 56°C for 30 min immediately before use.

The treated semen was inseminated into either the oviduct or uterus of a female Ja-

panese white rabbit (B. W. 3-4 kg) which had been treated with 75 i. u. human Chorionic Gonadotropin (hCG: Teikoku-zoki Co., Japan) 24 h prior to oocyte transfer. The rabbit was anesthetized by an intramuscular injection of 2% celactal (Bayer Co., West Germany) with a local anesthesia of 2% xylocain (Fujisawa Co., Japan). The sites of semen deposition were the isthmus at 1-2 cm from the utero-oviductal junction using a specialized microsyringe with an end-cutted needle of a 25 gauge for the oviductal insemination, and also into the uterine lumen at about 2 cm from the junction of the two uterine horns using a 1ml size of disposable syringe. The volumes of inseminated semen were 20 µl (for undiluted semen) or 60 µl (for diluted semen) containing $2-3 \times 10^6$ /cells, and 0.1ml (for undiluted) or 0.3 ml (for diluted) containing $10-12 \times 10^6$ cells for the oviductal and uterine inseminations, respectively.

The rabbit was again laparotomized 4-5/h after semen deposition for oocyte transfer. Thirty-40 cultured oocytes in 20-30 µl of medium were transferred into the ampulla at 2-3 cm from the fimbriated end of the oviduct. Twenty-four h later, recovery of the oocytes was achieved by flushing both the oviduct and uterus under the same surgical and anesthetic procedures.

The recovered oocytes were observed under a phasecontrast microscopy before fixation with acetic-alcohol (1:3) and after staining with 1% aceto-orcein. Each oocyte was evaluated for the maturation (oocytes reached to beyond the second metaphase in meiosis) and the incidence of fertilization (the presences of the pronuclei with a sperm tail or its midpiece in the oocyte cytoplasm, and the extrusion of the second polar body) and cleavage with the identification of nucleus in each blastomere.

Each treatment was replicated with at least two different rabbits (Table 1). During the procedures to evaluation, some oocytes were lost and others could be not examined due to unsuitable fixation and staining. To analysis the fertilization rate (no. of fertilized oocytes/no. of matured oocytes), a factorial design ($7 \times 2 \times 2$ for semen treatments, the insemination and recovery sites) was investigated for analysis of variance followed by the Duncan's

Table 1 Results of fertilization of bovine oocytes cultured in vitro and transferred to the rabbit oviduct with various methods of semen treatments

Semen treatments	Sites of insemination	No. of trials	Oocytes		
			Transferred (no.)	Recovered (%)	Fertilized*1 (%)
Diluted	oviduct	6	205	34.6 $\frac{21^{*2}}{79^{*3}}$	11.1 (4/36)
	uterus	3	105	68.6 $\frac{33}{67}$	30.6 (11/36)
Undiluted with medium & unwashed	oviduct	3	66	77.3 $\frac{71}{29}$	28.6 (8/28)
	uterus	2	69	94.2 $\frac{48}{52}$	45.2 (19/42)
Washed & diluted with medium	oviduct	2	77	57.1 $\frac{93}{7}$	25.8 (8/31)
	uterus	2	76	55.3 $\frac{88}{12}$	10.0 (2/20)
Glass wool column	oviduct	2	57	87.7 $\frac{84}{16}$	26.1 (6/23)
	uterus	2	55	87.3 $\frac{96}{4}$	20.0 (6/30)
Diluted with BFF	oviduct	2	75	93.3 $\frac{84}{16}$	37.1 (13/35)
	uterus	2	78	91.0 $\frac{75}{25}$	24.1 (7/29)
Washed & diluted with BFF	oviduct	2	73	82.2 $\frac{43}{57}$	24.4 (20/41)
	uterus	2	71	78.9 $\frac{7}{93}$	21.9 (7/32)
Diluted with medium & BFF(1 : 1)	oviduct	2	78	92.3 $\frac{44}{56}$	16.0 (4/25)
	uterus	2	78	71.8 $\frac{34}{66}$	21.7 (5/23)
Total	oviduct	19	631	66.2 $\frac{60}{40}$	24.2 (53/219)
	uterus	15	532	77.1 $\frac{52}{48}$	26.9 (57/212)

*1 : No. of fertilized/no. of matured oocytes

*2 : Proportions of oocytes recovered from the oviduct

*3 : Proportions of oocytes recovered from the uterus

multiple range test for the difference revealed¹⁶⁾.

Results

The fertilization results of bovine oocytes in the rabbit reproductive tract are summarized in Table 1. The analysis of variance for the data has been shown in Table 2. Totally, of 631 oocytes transferred following the oviductal insemination, 66.2% of the oocytes were recovered from either the oviduct or uterus, whereas 77.1% of 532 oocytes transferred

following the uterine inseminations were recovered from the reproductive tract of rabbits. The proportions of oocytes recovered from either the oviduct or uterus were nearly halved in both the oviductal (60% and 40%) and uterine (52% and 48%) inseminations.

Overall, 62% of oocytes examined had matured beyond the second metaphase stage. As shown in Table 2, there were no significant differences on fertilization rates in both between the sites of insemination (the oviductal and uterine inseminations: 24.2% and 26.9%, respectively), and between the

Table 2 Analysis of variance for the data of Table 1

Source of variation	D. F.	M. S.	F
Semen treatments (A)	6	325.26	2.60*
Sites of insemination (B)	1	18.90	0.15
Recovery sites (C)	1	0.02	0.00
A X B	6	167.59	1.34
A X C	6	373.66	3.06**
B X C	1	286.21	2.29
A X B X C	6	148.66	1.19
Error		125.24	

* : $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 3 Relationships between treatments and the recovery sites on fertilization of bovine oocytes cultured in vitro and transferred to the rabbit oviduct

Semen treatments	Recovery sites	% of fertilization (no. fertilized/no. matured)	Total
Undiluted	oviduct	17.6 ^{a,b} (3/17)	20.8 ^a (15/ 72)
	uterus	21.8 ^{a,b} (12/55)	
Diluted with medium & unwashed	oviduct	26.3 ^{a,b} (10/38)	38.6 ^b (27/ 70)
	uterus	53.1 ^c (17/32)	
Washed & diluted with medium	oviduct	21.7 ^{a,b} (10/46)	19.6 ^a (10/ 51)
	uterus	0.0 ^a (0/ 5)	
Glass wool column	oviduct	25.0 ^{a,b} (12/48)	22.6 ^{a,b} (12/53)
	uterus	0.0 ^a (0/ 5)	
Diluted with BFF	oviduct	29.4 ^b (15/51)	31.3 ^{a,b} (20/64)
	uterus	38.5 ^{b,c} (5/13)	
Washed & diluted with BFF	oviduct	22.7 ^{a,b} (5/22)	23.3 ^{a,b} (17/73)
	uterus	23.7 ^{a,b} (12/51)	
Diluted with medium & BFF (1 : 1)	oviduct	13.3 ^{a,b} (2/15)	18.8 ^a (9/48)
	uterus	21.2 ^{a,b} (7/33)	
Total	oviduct	24.1 (57/237)	25.5 (110/431)
	uterus	27.3 (53/194)	

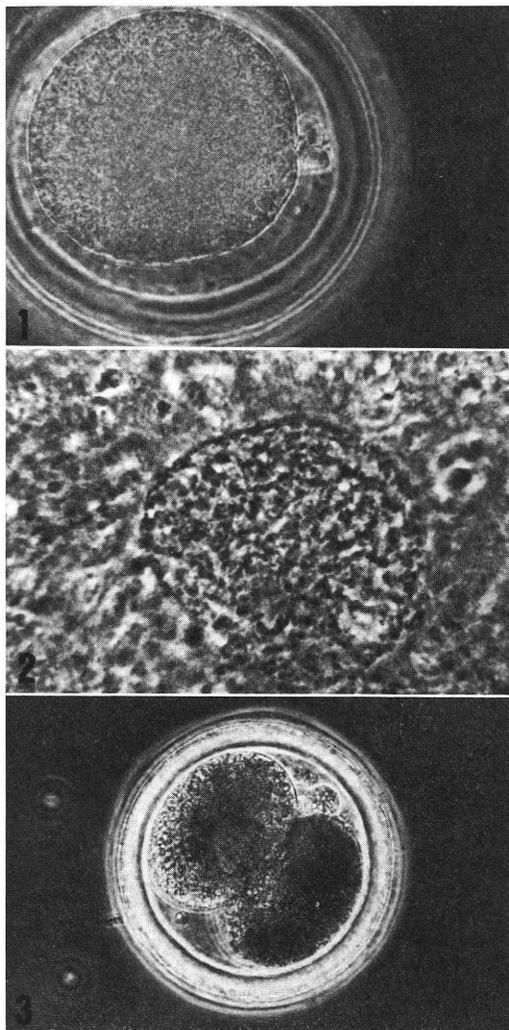
a, b, c : The same superscript are not significantly different ($p < 0.05$)

recovery sites (the oviduct and uterus : 24.1% and 27.3%, respectively, Table 3). However, it was found a significant difference on fertilization rates among the semen treatments ($P < 0.05$). There was also a significant interaction between the semen treatments and the recovery sites ($P < 0.01$), and the detailed relationship of the interaction has been shown in Table 3. The highest rate of fertilization was obtained by the insemination of spermatozoa unwashed and diluted with medium (38.6%), which was not significantly different with the

dilution of BFF (31.3%). Figures 1-3 have shown some oocytes with two polar bodies, enlarged male pronucleus and divided into 2-cells, respectively.

Discussion

The present results have shown that fertilization of bovine oocytes cultured in vitro and transferred into the rabbit oviduct has significantly affected by semen treatments, but not by the insemination sites (the oviduct and



1. Extrusion of the second polar body in an oocyte recovered from the uterus after the uterine insemination of spermatozoa diluted with medium. $\times 400$.
2. The male pronucleus in an oocyte recovered from the oviduct after the oviductal insemination of spermatozoa diluted with medium and BFF (1:1). $\times 1000$.
3. A 2-cell stage oocyte recovered from the oviduct after the oviductal insemination of spermatozoa diluted with BFF only. $\times 200$.

uterus). The recovery sites (the oviduct and uterus) were also involved in the analysis of the data (Table 2), which showed no significant difference on fertilization rates. The overall proportions of oocytes recovered from the oviduct and uterus were 55% and 45%, respectively, which have corresponded to those

in the previous report⁶⁾ (53% and 47%). About half of the oocytes transferred to the ampulla of rabbits were recovered from the uterus only 24 h later, which was likely caused by timing of oocyte transfer after hCG treatment in rabbits, doses of hCG used, and probably surgical procedures⁶⁾. Therefore, it remains unknown whether or not the oocytes recovered from the uterus were fertilized in the oviduct and rapidly declined into the uterus or fertilized in the uterus after hastened oocyte transport through the oviduct. It has apparently considered that fertilization in the uterus is not a physiological event. From the facts that the times of ovulation in the rabbit were 9-13.5h after copulation¹⁷⁾ and 10-14h after a LH injection¹⁸⁾, along that exogenous progesterone significantly suppressed fertilization in hamster⁹⁾ and caused the descent of ova transport into the uterus in pigs¹⁹⁾, oocyte transfer more shortly after the hCG treatment (i. e. 12 h) would provide more physiological environments of the oviduct to support fertilization as well as oocyte transport inside of the oviduct.

Although capacitation and fertilization in a heterologous reproductive tract has been reported in many species^{1-6, 20)}, the mechanisms and determinants involved in the process are still vague⁸⁾. Spermatozoa can be capacitated in either the isolated uterus or oviduct alone rather than the uterus plus oviduct^{10-12, 21-24)}. However, it has been indicated that spermatozoa exposed to both the uterus and oviduct can be functionally capacitated more quickly than in the uterus or oviduct alone at least in rabbits²⁵⁻²⁸⁾, in golden hamster²¹⁾ and pigs^{29, 30)}. Bedford²⁸⁾ has considered that elements from the oviduct may exert an influence on capacitation of spermatozoa in the uterus. Baker and Polge³¹⁾ have also described that the oviduct could provide a specific stimulus for sperm penetration and more suitable environment for fertilization than the uterus does. The finding that capacitation of rabbit spermatozoa can not be complete in the estrus uterus of the rat³²⁾ has suggested that functional capacitation of rabbit spermatozoa may require specific factors²⁸⁾. It is also true in the rabbit that the ability of the uterus to capacitate spermatozoa can be suppressed by progestational steroids³³⁾, whereas the activity in the oviduct

is independent of steroids³⁴). Furthermore, there are evidences that exposure of spermatozoa to the oviductal secretion was essential for capacitation and fertilization of ova^{35,36}). Although Gwatkin et al.³⁷) has concluded that cumulus oophorus cells are essential for sperm capacitation in the hamster oviduct, Moore and Bedford³⁸) have demonstrated that follicular fluid and cumulus cells are not absolutely essential to sperm capacitation or to the occurrence of acrosome reaction either in vivo or in vitro. As Bedford³⁹) has consequently noted that the uterus and oviduct act synergistically in induction of capacitation at least in rabbits and pigs, and also that capacitation in vivo may depend on something more than physical characteristics of the environment allied with simple molecules, it seems that in order to support complete capacitation even of homologous spermatozoa and normal developmental capacity following fertilization, spermatozoa should pass through both the uterus and oviduct.

In the present study, the preincubation time of bovine spermatozoa in both the oviductal and uterine inseminations was 4-5 h prior to oocyte transfer, and it was expected that bull spermatozoa inseminated into the uterus may be capacitated quickly and could provide a higher fertilization rate than those with the oviductal insemination. However, it was failed to reveal clear aspects on fertilization, probably due to variations in oocyte recovery and the enhanced oocyte transport in the rabbit reproductive tract. Furthermore as Barros et al.⁴⁰) have suggested, the loss of penetrating activity may be caused by the loss of sperm-borne zona-lysin during prolonged preincubation of spermatozoa before meeting with oocytes transferred in the oviduct²⁴). Along with the respect, a longer distance of sperm transport for frozen-thawed bull spermatozoa inseminated into the rabbit uterus would greatly loss their motility and fertilizing ability than the spermatozoa deposited into the isthmus. These may be related to a low fertilization with the uterine insemination in the present study.

In the case with mouse and hamster spermatozoa in the female tract of the rabbit, foreign spermatozoa inseminated into the vagina are often not transferred to the site of

fertilization; furthermore the spermatozoa die within a short period in a foreign tract⁴¹). Contrary to this description, it was found in the present study that bull spermatozoa inseminated into the rabbit uterus is capable of passing through to the oviduct, and that fertilized oocytes with spermatozoa on the zona pellucida were also recovered from the oviduct. Especially with bull spermatozoa filtered through a glass wool column and inseminated into the uterus, all of 31 oocytes recovered from the oviduct had many spermatozoa on the zona pellucida. However, the fertilization rate was not improved by the use of the glass wool column. In this study, numbers of spermatozoa attached to the zona pellucida were not recorded, because some oocytes with cumulus and corona radiate cells have been treated with 1% hyaluronidase solution and blended with an automatic mixer in order to denude the oocytes for evaluation of fertilization.

Although the BFF treatment of bull spermatozoa for in vitro fertilization have showed a significantly higher rate of fertilization than the other sperm procedures similarly attempted in the previous study⁴²), the same effect was not observed in the rabbit reproductive tract. This has indicated that the effect of BFF could be clearly revealed in the condition of in vitro fertilization, whereas in the rabbit reproductive tract the oviductal environment with a variety of steroids manipulation⁹) would be more significant factors rather than the dilution with BFF at the semen deposition. In hamster and mouse, follicular fluid obviously is a useful adjunct of fertilization in vitro⁴³⁻⁴⁵). However, follicular fluid may in fact contribute little to the fertilization environment in the ampulla of the rat⁴⁶) and the hamster³⁸). When compared the fertilization rates in the present study with those of in vitro studies⁴²), the former has not always showed higher fertilization rates than those in the latter; for instance, BFF treatment without washing (31.3% and 46.2%), BFF treatment with washing (23.3% and 35.2%), and dilution with medium and BFF (1:1) (18.8% and 31.6%).

As concluded, bull spermatozoa diluted with medium may be utilized for xenogenous fertilization of bovine oocytes matured in vitro and transferred into the rabbit oviduct.

Oocyte transfer shortly after ovulation in the rabbit should be performed to provide suitable environments for fertilization without impaired oocyte transport. Further studies on the developmental capacity of bovine oocytes fertilized in the rabbit reproductive tract are also strongly required.

Acknowledgment

We wish to thank the staff of the Animal Food Center, Obihiro, Japan for the supply of bovine ovaries. The authors would also like to acknowledge Dr. S. Raiti, National Pituitary Agency, U. S. A. for the ovine LH, and Dr. R. M. Moor, Agricultural Research Council, U. K. for reading the manuscript and suggesting valuable comments. This work was partly supported by the Scientific Fund of the Ministry of Education, Japan (no's 536021 and 57760214).

References

- 1) Bedirian, K. N., Shea, B. F. and Baker, R. D.: Fertilization of bovine follicular oocytes in bovine and porcine oviducts. *Can. J. Anim. Sci.* 55 : 251, 1975
- 2) Meinecke, B. and Meinecks-Tillmann, S.: Experimental studies on fertilization of extra-corporal matured oocytes of cattle in heterologous recipients. *Dtsch. tierärztl. Wsch.* 86 : 477, 1979
- 3) DeMayo, F. J., Mizoguchi, H. and Dukelow, W. R.: Fertilization of squirrel monkey and hamster ova in the rabbit oviduct (xynogenous fertilization). *Science* 208 : 1468, 1980
- 4) Hirst, P. J., DeMayo, F. J. and Dukelow, W. R.: Xenogenous fertilization of laboratory and domestic animals in the pseudopregnant rabbit. *Theriogenology*. 15 : 67, 1981
- 5) Trounson, A. O., Willadsen, S. M. and Rowson, L. E. A.: Fertilization and development capacity of bovine follicular oocytes matured in vitro and in vivo and transferred to the oviducts of rabbits and cow. *J. Reprod. Fert.* 51 : 321, 1977
- 6) Fukui, Y., Fukushima, M. and Ono, H.: Fertilization and cleavage of bovine follicular oocytes in rabbit reproductive tracts after maturation in vitro. *J. Exp. Zool.* 226 : 137, 1983
- 7) Brackett, B. G.: Application of in vitro fertilization. In: *New Technologies in Animal Breeding*, ed. B. G. Brackett, G. E. Seidel, Jr. and S. M. Seidel: p. 141, Academic Press, New York, 1981
- 8) Saling, P. M. and Bedford, J. M.: The absence of species specificity for mammalian sperm capacitation in vivo. *J. Reprod. Fert.* 63 : 119, 1981
- 9) Viriyapanich, P. and Bedford, J. M.: Sperm capacitation in the Fallopian tube of the hamster and its suppression by endocrine factors. *J. Exp. Zool.* 217 : 403, 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) Imai, H., Niwa, K. and Iritani, A.: Time requirement for capacitation of boar spermatozoa assessed by their ability to penetrate the zona-free hamster egg. *J. Reprod. Fert.* 56 : 489, 1979
- 12) Kim, C. I., Niwa, K., Imai, H. and Iritani, A.: Penetration of zona-free hamster eggs in vitro by goat spermatozoa preincubated in the reproductive tract isolated from a maturing gilt. *J. Exp. Zool.* 213 : 181, 1980
- 13) Fukui, Y. and Sakuma, Y.: Maturation of bovine oocytes cultured in vitro: Relation to ovarian activity, follicular size and the presence or absence of cumulus cells. *Biol. Reprod.* 22 : 669, 1980
- 14) Fukui, Y., Fukushima, M., Terawaki, Y. and Ono, H.: Effect of gonadotropins, steroids and culture media on bovine oocyte maturation in vitro. *Theriogenology*. 18 : 161, 1982
- 15) Nakagawa, A., Ishihara, S., Okada, S. and Shinomiya, S.: Preparation of bull sperm by the filtration through glass wool column. *Jap. J. Anim. A. I. Res.* 4 : 98, 1982
- 16) Steel, R. G. D. and Torrie, J. H.: *Principles and Procedures of Statistics*. McGraw-Hill Book Co., New York, 1960
- 17) Walton, A. and Hammond, J.: Observations on ovulation in the rabbit. *Brit. J. Exp. Biol.* 6 : 190, 1929
- 18) Harper, M. J. K.: Ovulation in the rabbit: The time of follicular rupture and expulsion of the eggs, in relation to injection of luteinizing hormone. *J. Endocr.* 26 : 307, 1963
- 19) Day, B. N. and Polge, C.: Effects of progesterone on fertilization and egg transport in the pig. *J. Reprod. Fert.* 17 : 227, 1968
- 20) Sreenan, J.: In vitro maturation and attempted fertilization of cattle follicular oocytes. *J. Agric. Sci., Camb.* 75 : 393, 1970
- 21) Hunter, R. H.F.: Capacitation in the golden hamster with special reference to the influence of the uterine environment. *J. Re-*

- prod. Fert. 20 : 223, 1969
- 22) Iritani, A., Satoh, E. and Nishikawa, Y. : The fertilization of pig follicular oocytes in vitro with capacitated spermatozoa. Jap. J. Fert. Ster. 20 : 404, 1975
- 23) Imai, H., Niwa, K. and Iritani, A. : Penetration in vitro of zona-free hamster eggs by ejaculated boar spermatozoa. J. Reprod. Fert. 51 : 495, 1977
- 24) Hanada, A. and Nagase, H. : Effects of sperm preincubation in rabbit uterus and of imidazole on the penetration of zona-free hamster eggs by bull and boar spermatozoa in vitro. Jpn. J. Anim. Reprod. 27 : 113, 1981
- 25) Chang, M. C. : Development of fertilizing capacity of rabbit spermatozoa in the uterus. Nature, Lond. 175 : 1036, 1955
- 26) Adams C. E. and Chang, M. C. : Capacitation of rabbit spermatozoa in the Fallopian tube and in the uterus. J. Exp. Zool. 151 : 159, 1962
- 27) Bedford, J. M. : Limitations of the uterus in the development of the fertilizing ability (capacitation) of spermatozoa. J. Reprod. Fert. Suppl. 8 : 19, 1969
- 28) Bedford, J. M. : Sperm capacitation and fertilization in mammals. Biol. Reprod. Suppl. 2 : 128, 1970
- 29) Hunter, R. H. F. and Hall, J. P. : Capacitation of boar spermatozoa : synergism between uterine and tubal environments. J. Exp. Zool. 188 : 203, 1974
- 30) Hunter, R. H. F. and Hall, J. P. : Capacitation of boar spermatozoa : the influence of post-coital separation of the uterus and Fallopian tubes. Anat. Rec. 180 : 597, 1974
- 31) Baker, R. D. and Polge, C. : Fertilization in swine and cattle. Can. J. Anim. Sci. 56 : 105, 1976
- 32) Bedford, J. M. and Shalchkovsky, S. : Species specificity of sperm capacitation in the rabbit. J. Reprod. Fert. 13 : 361, 1967
- 33) Chang, M. C. : Capacitation of rabbit spermatozoa in the uterus with special reference to the reproductive phase of the female. Endocrinology. 63 : 619, 1958
- 34) Bedford, J. M. : Mechanisms of conception : The maturation and interaction of mammalian gametes. Mead Johnson Symp. Perinat Dev. Med. 16 : 7, 1979
- 35) Baker, R. D. and Polge, C. : Sperm penetration of pig eggs in vitro. J. Reprod. Fert. 33 : 347, 1973
- 36) Esbenshade, K. L. and Clebgg, E. D. : Acrosome reaction of sperm incubated in the uterus of gilts. Amer. J. Vet. Res. 41 : 1137, 1980
- 37) Gwatkin, R. B. L., Anderson, D. F. and Hutchinson, C. R. : Capacitation of hamster sperm in vitro : the role of the cumulus components. J. Reprod. Fert. 30 : 389, 1972
- 38) Moore, H. D. M. and Bedford, J. M. : An in vivo analysis of factors influencing the fertilization of hamster eggs. Biol. Reprod. 19 : 879, 1978
- 39) Bedford, J. M. : Some caveats of mammalian gamete research. In : Animal Models for Research on Contraception and Fertility. ed. N. J. Alexander : p. 269, Harper and Row, Publishing, Cambridge, 1979
- 40) Barros, C., Fujimoto, M. and Yanagimachi, R. : Failure of zona penetration of hamster spermatozoa after prolonged pre-incubation in a blood serum fraction. J. Reprod. Fert. 55 : 89, 1973
- 41) Bedford, J. M. : Sperm transport, capacitation and fertilization. In : Reproductive Biology. ed. H. Balin and S. Glasser : p. 338, Excerpta Medica, Amsterdam, 1972
- 42) Fukui, Y., Fukushima, M. and Ono, H. : Effect of various sperm procedures on fertilization in vitro of bovine follicular oocytes cultured in vitro. Jap. J. Fert. Ster. 27 : 176, 1982 (Abstr.)
- 43) Barros, C. and Austin, C. R. : In vitro fertilization and the sperm acrosome reaction in the hamster. J. Exp. Zool. 166 : 317, 1967
- 44) Iwamatsu, T. and Chang, M. C. : In vitro fertilization of mouse eggs in the presence of bovine follicular fluid. Nature, Lond. 224 : 919, 1969
- 45) Yanagimachi, R. : In vitro acrosome reaction and capacitation of golden hamster spermatozoa in bovine follicular fluid and its fractions. J. Exp. Zool. 170 : 269, 1969
- 46) Shalgi, R., Kaplan, R. and Kraicer, P. F. : Proteins of follicular, bursal and ampullar fluids of rats. Biol. Reprod. 17 : 333, 1977

ウサギ生殖器管内におけるウシ
卵胞卵子の受精能に及ぼす
精子処理法の影響

福井 豊・福島護之・小野 斉
(帯広畜産大学肉畜増殖学教室)

体外で培養されたウシ卵胞卵子の受精能を検討するために、種々の方法により処理されたウシ精子をウサギ生殖器管内に注入し、受精能を比較した。ウシ卵胞卵子は直径2~5mmの卵胞から採取し、Ham's F-12+20%牛胎児血清+LH (10 µg/ml)+E (1 µg/ml: エストラジオール)+抗生物質で27時間体外培養した。ウシ精子は

0.5ml ストロウの凍結融解精液を下記の方法で製生し、ウサギ(体重3~4kg)の子宮角内(0.1~0.3ml, $10 \sim 12 \times 10^6$)または卵管内(60 μ l, $2 \sim 3 \times 10^6$)に注入(授精)した: 1) 無希釈, 2) 培養液(ホルモン不含)で3倍希釈, 3) 洗浄(500g/10分間, 2回)後, 培養液で3倍希釈, 4) 培養液で3倍希釈後, ガラスウール(10~12 μ m)ろ過, 5) ウシ卵胞液(BFF: 直径10~20mmの卵胞から採取し, 56°Cで30分間処理したもので3倍希釈, 6) 洗浄後, BFFで3倍希釈, 7) 培養液とBFF(1:1)の混合液で3倍希釈. 授精後4~5時間目に, 培養終了の卵子(30~40個)を20~30 μ lの培養液と共に, 24時間前に75i.u. hCGで処理されたウサギの卵管膨大的に移植した. 卵子は24時間後に, 卵管および子宮から回収し, 固定し, 染色後位相差顕微鏡下で受精(雌雄前核,

精子中片部・尾部の存在, 第2極体の放出, 分割)の有無を判定した.

検査された卵子の62%が第2成熟分裂の中期以降に達していた(431/696個). 受精率について分散分析法(7 \times 2 \times 2: 精子処理法, 授精部位, 回収部位)で検討した結果, 授精部位(卵管, 子宮: 24.2%, 26.9%)と回収部位(卵管, 子宮: 24.1%, 27.3%)には有意差は認められなかった. しかし, 精子処理法の間には有意差($P < 0.05$)が認められた: 1) 20.8%^a, 2) 38.6%^b, 3) 19.6%^{a4}, 4) 22.6%^{a,b}, 5) 31.3%^{a,b}, 6) 23.3%^{a,b}, 7) 18.8%^a. 以上の結果から, ウサギ生殖管内におけるウシ卵胞卵子の受精能は精子処理法により影響されるものと思われた.

(受付: 昭和58年5月16日)

過排卵処理をした成熟ラットにおける 卵胞発育上の“臨界点”について

“Critical Point” on the Ovarian Follicular Development in Superovulation Treated Adult Cyclic Rats

山口大学農学部臨床繁殖学教室

利 部 聰

Satosi KAGABU

Department of veterinary science, Faculty of
Agriculture, Yamaguchi University

過排卵処理ラットでの排卵に伴う卵胞発育上の“臨界点”の有無を確かめるために健康卵胞、初期閉鎖卵胞の消長および排卵数を調べた。

排卵前における健康卵胞の大きさ別分布は550 μ m (直径の平均値)を境界にして2峰性の分布をした。初期閉鎖卵胞の出現率は450~549 μ m で頂点を示し、約60%であった。

PMSG 投与によつて550 μ m 以上の健康卵胞だけが投与量に比例して増加し、その数は排卵数とほぼ一致した。一方、250~549 μ m の健康卵胞数は影響されなかつた。

排卵が終了した時期では、550 μ m 以上の健康卵胞がほぼ消失した。

排卵前における健康卵胞中での卵母細胞の成熟分裂の再開は約550 μ m 以上の卵胞にだけ認められ、過排卵処理の影響を受けなかつた。

以上から、“臨界点”は過排卵処理ラットにも存在することが明らかとなつた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(1), 126-129, 1984)

緒 言

排卵に伴う卵胞の大型化の過程で、閉鎖の起りやすい“臨界点”があり、そこを通過した卵胞だけが排卵に至ることがラットで明らかにされた。

動物に FSH または PMSG を投与すると大型卵胞が増加すること、および LH または hCG によつて排卵することは良く知られているが、どの大きさの卵胞が増加し排卵に至るのか、また“臨界点”との関連性にふれた報告はみあたらない。本研究は、各種用量の PMSG 投与後の卵胞発育を、健康卵胞ならびに初期閉鎖卵胞について大きさ別に分類し、さらに hCG 投与後の排卵数を調べ、両者間の相互関係を定量形態学的に観察したものである。

材料と方法

1. 動物

実験に用いたラットは Wistar-Imamichi 系である。人工昼夜 (07:00~21:00時点灯) 下で飼育し、正常な4日型発情周期を2回以上繰返した、生後12~13週令の健康なものである。

2. 過排卵処理

発情後期日の11:00時に、20iu あるいは40iu の PMSG (セロトロピン, 帝国臓器製薬) を内股部筋肉内に注射した。ついで発情前期日の17:00時に PMSG と同量の hCG (ゴナトロピン, 帝国臓器製薬) を筋肉内注射した。なお両ホルモンとも200iu/ml になるように生理食塩液で調整したものをを用いた。

3. 観察

実験の計画は図1に示した。観察時期は PMSG 投与区、対照の生理食塩液0.2ml 投与区とも10頭ずつ頸動脈全放血によつて屠殺し、卵巣をラウドウスキー液で固定した後、15 μ m の連続切片としてハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色を行なつた。卵胞の大きさの測定は前

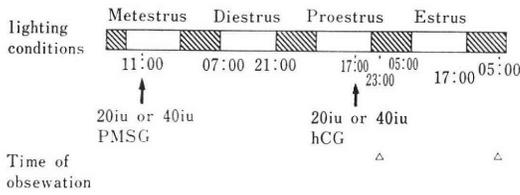


Fig. 1 Experimental schedule

Hatched columns were darkness and open columns were lighting. Δ shows at this time of observation. One group consists of 10 rats.

報¹⁾と同様に、また閉鎖卵胞の判定は BRAW と TSA-FRIRI²⁾の方法に準拠した。閉鎖卵胞は顆粒膜細胞に核濃縮、あるいは卵胞液中に細胞屑があるステージ I²⁾の初期閉鎖卵胞だけを対象とし、段階のすすんだステージ II, III²⁾のものは観察対象から除外した。排卵数は卵管からの採卵数をあてた。

成績の有意差検定は F-検定によった。

結 果

健康卵胞の大きさ別分布を図 2 に示した。

排卵直前である発情前期日の 23:00 時においては、各

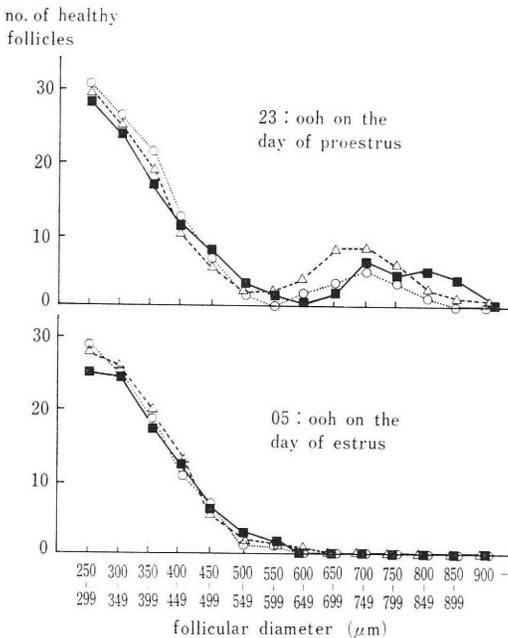


Fig. 2 Effect of superovulation treatment on the number of healthy follicles in adult rats observed at proestrus and metestrus. $\circ \cdots \circ$; saline, $\blacksquare - \blacksquare$; 20 iu PMSG, $\triangle - - - \triangle$; 40 iu PMSG. PMSG injected at 11:00h on the day of metestrus i. m.

Table 1 Relationship between ovarian follicular size and oocytes maturation observed at 23:00h on the day of proestrus in superovulation treated in adult cyclic rats.

Treatment*	Percentage of maturation division of oocytes in healthy follicles					
	follicular diameter (μm)					
	250	450	500	550	600	650+
	449	499	549	599	649	
saline	0	0	0	25.0	74.3	100.0
20 iu PMSG	0	0	0	31.7	83.5	100.0
40 iu PMSG	0	0	14.0	33.9	98.1	100.0

* See Fig. 1.

区とも 550~599 μm を分岐点として 2 峰性に分布した。250~549 μm の卵胞数は各区間に有意差は認められなかったが、550 μm 以上の卵胞数は PMSG の投与により増加し、対照区の 17.0 に対し 20iu 区で 22.0, 40iu 区で 39.3 であった ($p < 0.05$)。また排卵終了後と考えられる発情後期日の 05:00 時において各区とも 550 μm 以上の卵胞がほとんど消失した。

排卵直前の 550 μm 以上の健康卵胞数と排卵数との関係を表 1 に示した。各区とも両者はほぼ一致した。

発情前期日 23:00 時における健康卵胞中での卵母細胞の成熟分裂の再開率を表 2 に示した。分裂は対照区、20iu 区において 550 μm 以上、40iu 区で 500 μm 以上の卵胞に認められ、その率は卵胞の大型化に伴って増大した。

Table 2 Relationship between number of follicles through "critical point" and number of ova shed after superovulation treated adult cyclic rats

Treatment*	No. of follicles through "critical point" at 23:00h on the day of proestrus	No. of ova shed at 05:00h on the day of metestrus
saline	17.0 \pm 0.9	14.4 \pm 1.3
20 iu PMSG	22.0 \pm 2.4	25.0 \pm 3.1
40 iu PMSG	39.3 \pm 3.7	42.2 \pm 4.8

Values are mean \pm sem. * See Fig. 1

初期閉鎖卵胞率 [(初期閉鎖卵胞数 / 健康卵胞数 + 初期閉鎖卵胞数) \times 100] を図 3 に示した。同率は排卵直前の時期では各区とも 450~549 μm で頂点が認められほぼ 60% であった。

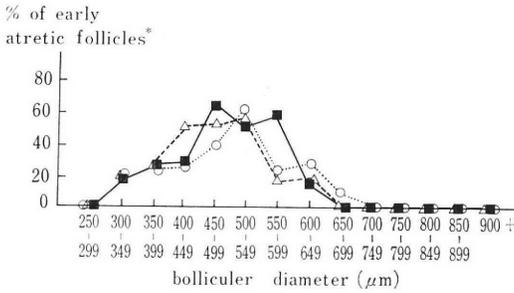


Fig. 3 Effect of superovulation treatment on the percentage of early atretic follicles in adult rats observed at 23:00h on the day of proestrus. ○---○; saline, ■—■; 20 IU PMSG, △--△; 40 IU PMSG.

*; $\frac{\text{early atretic follicles (A)}}{\text{(A)} + \text{healthy follicles}} \times 100$.
 PMSG injected at 11:00h on the day of metestrus i. m.

考 察

HERSHFIELD と MIDGLEY³⁾は卵胞発育上の“critical point” (臨界点) の存在を示唆した。すなわちラットにおいて排卵過程の進行に伴う大型化には、閉鎖の起りやすい大きさがありそこを通過した卵胞だけが LH に反応して排卵に至るとし、閉鎖の生じやすい大きさを“臨界点”と名付けた。

健康な卵胞が閉鎖を開始すると進行に伴い小型化する。そのため閉鎖のすすんだステージ II²⁾以後の閉鎖卵胞を観察しても閉鎖の起りやすい大きさを調べるには適当でないで、本実験では閉鎖後間もないと考えられるステージ I²⁾の閉鎖卵胞だけを対象とした。その結果初期閉鎖卵胞率は各実験区とも 450~549μm が 60%前後でそこを頂点として 1 峰性の分布をし、HERSHFIELD と MIDGLEY³⁾が報告した“臨界点”は 390μm よりもやや小さい大きさであるとの結果と比べわずかに大きいものの近似した成績であった。

一方各種用量の PMSG を投与したラットにおける健康卵胞の大きさ別分布は 550~599μm を境界にして様相が異なった。すなわち排卵前では 550μm 未満の卵胞は、各実験区とも差がなく 549μm まで漸減したが、550μm 以上の卵胞は PMSG 投与量に比例して増加した。そして排卵後の時期では 550μm 以上の卵胞だけが消失しており、これらの卵胞が排卵に至つたものと考えられた。この点を確めるために排卵に伴う卵母細胞の成熟分裂の再開を指標として、排卵に至る卵胞の同定を試みた。

卵母細胞の成熟分裂の再開は閉鎖卵胞にも認められるので、本実験では健康卵胞中のものだけを対象とした。

排卵に伴う卵母細胞の成熟分裂が再開していると考えられる hCG 投与後 6 時間⁴⁾ (発情前期日の 23:00 時) では、一部を除き 550μm 以上の卵胞にだけ分裂が認められ、これらの卵胞が排卵に至つたものと推測された。

550μm 以上の卵胞が消失している点、550μm 以上の卵胞内の卵母細胞が成熟分裂を再開している点、そして 550μm 以上の卵胞数と排卵数がほぼ一致している点から、卵胞は 550μm 以上に発育することが排卵のための条件と考えられる。

以上の結果から、HERSHFIELD と MIDGLEY³⁾が提唱した“臨界点”は無処理ラット同様 PMSG と hCG を用いた過排卵処理ラットにも存在することが明らかになった。

ラットにおける排卵に至る卵胞の大きさは 550μm 以上⁵⁾、518μm 以上⁶⁾、550μm 以上⁷⁻⁹⁾とされているが、これらの卵胞は“臨界点”を通過したのものであるとも考えられる。

文 献

- 1) 利部 聡, 石橋 功: 成熟ラットの卵胞発育に及ぼす PMSG 単一投与の影響, 家畜繁殖誌, 28: 1, 1982
- 2) Braw, R. H. & A. Tsafiriri: Effect of PMSG on follicular atresia in the immature rat ovary, J. Reprod. Fert. 59: 267, 1980
- 3) Hirshfield, A. N. & A. R. Midgley, Jr.: Morphometric analysis of follicular development, Biol. Reprod., 19: 597, 1978
- 4) 石橋 功: 過排卵ラット卵子の形態的研究: I, 性腺刺激ホルモン投与後の成熟ラットの排卵数について, 家畜繁殖誌, 13: 109, 1967
- 5) 梅津元昭, 橋爪一善, 正木淳二: 幼若ラットにおける PMS 誘起排卵時の卵胞及び卵細胞の発育分化について, 家畜繁殖誌, 24: 69, 1987
- 6) Pepler, R. E. & G. S. Greenwald: Influence of unilateral ovariectomy on follicular development in cycling rats: Am. J. Anat., 127: 9, 1970
- 7) Mandl, A. & S. Zuckerman: Cyclic changes in the number of medium and large follicles in the adult rat ovary J. Endocr., 8: 341, 1952
- 8) 橋爪一善, 菅原七郎, 竹内三郎: 後分娩ラットにおける排卵ホルモン放出と卵胞の発育及びその成熟過程について, 家畜繁殖誌, 21: 28, 1975
- 9) 橋爪一善, 菅原七郎, 竹内三郎, 正木淳二: PGF₂α 投与による誘起分娩前後のラット卵胞の発育と卵細胞の成熟分裂について, 家畜繁殖誌, 23: 148, 1977

“Critical point” on the ovarian
follicular development in
superovulation treated
adult cyclic rats

Satosi Kagabu

Department of veterinary science, Faculty of
Agriculture, Yamaguchi University

This experiment were done to clarify “critical point” in superovulation adult rats. Wistar-Imamichi strain, ageing 12-13 weeks, were kept with intervals of 14h light (0.7:00-21:00h) and 10h darkness. Rats were injected 20 iu, 40 iu PMSG or saline at 11:00h on the day of metestrus i. m., then injected same dose of hCG at 17:00h on the day of proestrus. The number and size distribution of healthy and early atretic follicles were determined for proestrus and metestrus. The number of ova shed in oviduct were observed

at metestrus.

(1) The number of healthy follicles before before ovulation (23:00h on the day of proestrus), follicles 250-549 μ m decreased gradually and follicles greater than 549 μ m showed a peak. Healthy follicles greater than 549 μ m increased by PMSG dose dependently, but number of the follicles 250-549 μ m was not effected by PMSG.

(2) The percentage of early atretic follicles before ovulation, the highest values about 60%, occurred at 450-549 μ m in follicular size.

(3) After ovulation (05:00h on the day of metestrus) only the follicles greater than 549 μ m disappeared.

(4) Resumption of maturation division in oocytes in healthy follilces occurred in greater than 549 μ m in saline or PMSG injected rats.

These results suggested that “critical point” exists in superovulation treated adult cyclic rats.

(受付: 昭和58年6月27日)

EFFECT OF PROSTAGLANDINS AND INDOMETHACIN ON OVULATION IN JAPANESE QUAILS

Seiichi NAKAJO and Kahei SATO

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

Abstract: To elucidate the involvement of prostaglandins (PGs) in mechanism of ovulation in quails, effects of $\text{PGF}_{2\alpha}$ and PGE_2 and of indomethacin, an inhibitor of PG synthesis, on ovulation were investigated. In adult female Japanese quails pretreated with PMSG, PGs were injected into follicle wall and indomethacin was administered intraperitoneally with LH. PGE_2 obviously brought about ovulation within about 2 hrs after the treatment, whereas $\text{PGF}_{2\alpha}$ failed to cause it. Indomethacin at higher dose prevented ovulation in response to exogenous LH. It was suggested that PGE_2 has a role in the mechanism of ovulation on follicular level in quails.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(1), 130-133, 1984)

Introduction

Process of ovulation may be recognized as a sequence of events which is initiated at the moment of binding of luteinizing hormone (LH) to ovarian receptor and terminates in follicular rupture followed by discharge of ovum. Though it is strongly suggested that the primary factor involved in the final step of ovulation is proteolytic enzyme(s), which decomposes the follicular connective tissue, in mammals (see Espey, 1974, 1978) and in birds (Nakajo et al., 1973; Nakamura and Nakajo, 1980; Nakajo et al., 1982), detailed processes and factors that intervene during the course of the events are still obscure. In recent years it has been reported that prostaglandins (PGs) participate in the mechanism of ovulation in mammals (see Espey, 1978, 1980; Armstrong, 1981). By contrast, some investigators have shown that in fowls PGs have no relation to ovulation, but they affect oviposition (Hartelendy, 1972; Hartelendy et al., 1974; Day and Nalvandov, 1977; Samsonovitch and Lagne, 1977). The present study was performed to examine whether PGs are involved in the mechanism of ovulation in quails.

Materials and Methods

Female Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*), aged 4 to 7 months, were kept in individual cages under natural day length and ambient temperature with free access to food and water. Birds showing regular laying cycle with one day pause were selected out, and they received daily subcutaneous injection of 10IU PMSG (Serotropin, Teikoku Zoki Co., Tokyo) for 3 to 4 days. After cessation of egg laying, birds were subjected to the following treatments. In experiment 1, in which effect of exogenous PGs was examined, on the next day of cessation of egg laying, lateral abdomen of the bird was incised under anaesthesia with pentobarbital sodium (Nembutal, Abbot lab., Illinois). The ovary was exposed and the largest follicle received $\text{PGF}_{2\alpha}$ or PGE_2 (Ono Pharmaceutical Co., Osaka), which were dissolved in physiological saline at doses of 250, 500 and 1000ng of $\text{PGF}_{2\alpha}$, and 250 and 500ng of PGE_2 per $5\mu\text{l}$ (Table 1). These doses of the drug were injected into follicle wall with a microsyringe inserted at a short distance from stigma, where the tip of the needle was located (Fig. 1). After the injection, the follicle was returned to peritoneal

Table 1 Effect of prostaglandins injected into ovarian follicle wall on ovulation in quails

Treatment	No. of follicles	
	Treated	Ruptured(%)
Saline	8	0 (0)
PGF _{2α} 250 ng	6	0 (0)
PGF _{2α} 500 ng	6	0 (0)
PGF _{2α} 1000 ng	5	0 (0)
PGE ₂ 250 ng	7	4 (57.1)
PGE ₂ 500 ng	6	5 (83.3)

PG ; Prostaglandin

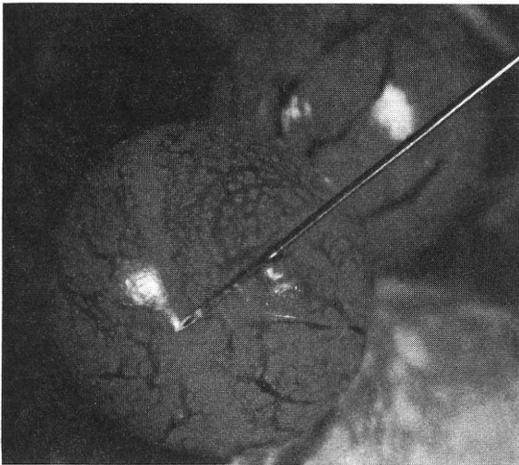


Fig. 1 Procedure of PG injection into ovarian follicle wall.

cavity and the skin of incised part was sutured temporarily. Two hours later the ovary was observed, and when any follicle had not yet ruptured, observation was performed every 10min until 3 hours after the injection.

Experiment 2 dealt with the effect of indomethacin, an inhibitor of PG synthesis, on ovulation. On the next day of cessation of egg laying, PMSG-pretreated birds were injected intraperitoneally with 1mg of LH (NIH o-LH) with or without indomethacin. The drug was suspended in physiological saline and injected intraperitoneally at dosage of 0.01, 0.02, 0.05 and 0.10 mg per bird (Table 2). Ten hours after the injection, laparotomy was performed to observe the ovary. When no rupture had occurred by this time, the observation was repeated every 10min until 3 hours

Table 2 Effect of indomethacin(Ind) injected intraperitoneally on LH-induced ovulation in quails

Treatment	No. of quails	
	Treated	Ovulated (%)
LH 1 mg	7	7 (100)
LH 1 mg+ Ind 0.01 ng	4	4 (100)
LH 1 mg+ Ind 0.02 ng	4	1 (25)
LH 1 mg+ Ind 0.05 ng	4	1 (25)
LH 1 mg+ Ind 0.10 ng	4	1 (25)

later. Ovulation was checked by existence of newly ruptured follicle or of ovum in the oviduct.

Results and Discussion

The results obtained in experiment 1 are shown in Table 1. No ovulation was observed in control and PGF_{2α} treated groups. By contrast, PGE₂ obviously induced follicular rupture and the effectiveness appeared to be somewhat larger in higher dosage group (5/6) than in lower one (4/7). It elapsed approximately 2 hours from PGE₂ administration to follicular rupture.

The results in experiment 2 are shown in Table 2. Both saline control and low dose of indomethacin (0.01/bird) failed to inhibit the LH-induced ovulation, whereas high doses of the drug (0.02, 0.05, and 0.10mg/bird) clearly blocked the ovulation. These results suggest the positive involvement of PGE₂ in the mechanism of ovulation on follicular level in quails conditioned in the present experiment. In mammals many evidences support the participation of PGs in ovulation (see Espey, 1978, 1980; Armstrong, 1981). PGs synthesis in ovarian follicle increases after ovulatory surge of gonadotropin in rats (Tsafriri et al., 1972) and rabbits (LeMaire et al., 1973). Intrafollicular injection of indomethacin or anti-PG serum prevents ovulation in rats (Armstrong and Greenwich, 1972; Mori et al., 1980), and rabbits (Armstrong et al., 1974). On the contrary, some reports in domestic fowls have suggested that PGs are not involved in ovulation. Day and Nalbandov (1977) estimated PGF_{2α}, but not PGE₂, in pre- and postovulatory follicles during normal laying cycle, and

also investigated the effect of indomethacin on ovulation. From their data they concluded that PGs were not involved in ovulation in fowls. Since the direct effect of PGs applied to the follicle wall on ovulation was not determined in their study, the conclusion may be somewhat questionable. Samsonovitch and Lagne (1977) have reported that PGE₁ and E₂ injected into follicle wall of laying hen, have no effect for inducing ovulation. However, they have not described in detail the procedure employed, especially the injecting site of the follicle wall. Since PGs are locally effective, the site of injection is very important to lead to conclusion. Thus the inconsistency between the results in the present study and the previous ones, may be considered as follows; ovarian follicles of PMSG-pretreated quails might be more susceptible to exogenous PGE₂ than those of normal laying fowls, and induction of ovulation in the present study might be favoured by injecting the drug into stigma site. Fujii and Yoshimura (1979) have shown that stigma is mechanically the weakest region of follicle wall in fowls.

Though precise mechanism through which PGE₂ affects ovulation can not accurately be explained at present it may be assumed that PGE₂ mediates in some way the production of enzyme(s) which decomposes follicular connective tissue as suggested previously (Nakajo et al., 1973; Nakamura and Nakajo, 1980; Nakajo et al., 1982). This assumption may be supported by the facts that it elapsed about 1 hour from intrafollicular injection of proteolytic enzyme to rupture (Nakajo et al., 1973), and injection of PGE₂ brought about rupture 2 hours later. The hypothesis presented recently by Espey (1980) may also support the speculation. He considered that PGs might stimulate the synthesis, release and/or activation of collagenase via production of plasminogen activator. Though the involvement of PGE₂ in ovulation of the quail under the conditions employed is suggested, it is still remained unsolved whether the assumption may be applicable to normal ovulation. Further studies are required to elucidate the detailed mechanism of normal ovulation on follicular level, especially the exact role of PGs, in birds including quails.

Acknowledgement

The authors are grateful to NIAMDD for the donation of NIH-oLH, and to Ono Pharmaceutical Co. for prostaglandins. They also deeply appreciate the useful help given by Mr. T. Izawa, Mr. S. Sekiguchi and Miss. M. Ueda in the course of the experiments.

References

- 1) Armstrong, D. T.: Prostaglandins and follicular function. *J. Reprod. Fert.*, 62: 283-291, 1981
- 2) Armstrong, D. T. and Grinwich, D. L.: Blockade of spontaneous and LH-induced ovulation in rats by indomethacin, an inhibitor of prostaglandin synthesis. *Prostaglandins*, 1: 21-36, 1972
- 3) Armstrong, D. T., Griwich, D. L., Moon, Y. S. and Zamecnik, J.: Inhibition of ovulation in rabbits by intrafollicular injection of indomethacin and prostaglandin F antiserum. *Life Sci.*, 14: 129-140, 1974
- 4) Day, S. L. and Nalbandov, A. V.: Presence of prostaglandin F (PGF) in hen follicles and its physiological role in ovulation and oviposition. *Biol. Repro.*, 16: 486-494, 1977
- 5) Espey, L. L.: Ovarian proteolytic enzymes and ovulation. *Biol. Repro.*, 10: 216-235, 1974
- 6) Espey, L. L.: Ovulation. In: *The Vertebrate Ovary* (R. E. Jones. ed.). Plenum Press, New York, pp. 503-532, 1978
- 7) Espey, L. L.: Ovulation as an inflammatory reaction-A hypothesis. *Biol. Repro.*, 22: 73-106, 1980
- 8) Fujii, S. and Yoshimura, Y.: Morphological observations on the stigma of the follicular wall concerning the mechanism of ovulation in hens. *J. Fac. Appl. Biol. Sci., Hiroshima Univ.* 18: 185-196, 1979
- 9) Hertelendy, F.: Prostaglandin-induced premature oviposition in the Coturnix quail. *Prostaglandins*, 2: 269-279, 1972
- 10) Hertelendy, F., Yeh, M., and Biellier, H. V.: Induction of oviposition in the domestic hen by prostaglandins. *Gen. Comp. Endocrinol.* 22: 529-537, 1974
- 11) LeMaire, W. J., Yan, N. S. T., Behrman, H. H. and Marsh, J. M.: preovulatory changes in the concentration of prostaglandins in the rabbit Graafian follicles. *Prostaglandins*. 3: 367-376, 1973
- 12) Mori, T., Kohda, H., Kinoshita, Y., Ezaki,

- Y., Morimoto, N. and Nishimura, T.: Inhibition by indomethacin of ovulation induced by human chorionic gonadotropin in immature rats primed with pregnant mare serum gonadotropin. *J. Endocrinol.* 84 : 333-341, 1980
- 13) Nakajo, S., Zakaria, A. H. and Imai, K.: Effect of the local administration of proteolytic enzymes on the rupture of the ovarian follicle in the domestic fowl, *Gallus domesticus*. *J. Reprod. Fert.* 34 : 235-240, 1973
- 14) Nakajo, S., Sato, K. and Fujima, M.: Effect of enzyme and ascorbic acid on tensile strength of quail ovarian follicles. *Jap. J. Fert. Ster.*, 27 : 118-121, 1982
- 15) Nakamura, A. and Nakajo, S.: Proteolytic activity in the ovarian follicle wall of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during normal and LH-induced ovulation. *Jap. J. Fert. Ster.*, 25 : 198-202, 1980
- 16) Samsonovitch, M. and Lague, P. C.: Effects of prostaglandin E₁, E₂ and indomethacin on ovulation in the domestic fowl. *Poultry Sci.*, 56 : 1754 (Abstr.), 1977
- 17) Tsafiriri, A., Lindner, H. R., Zor, U. and

Lamprecht, A. S.: Physiological role of prostaglandins in the induction of ovulation. *Prostaglandins*, 2 : 1-10, 1972

日本ウズラの排卵に対するプロスタ グランジン及びインドメサ シン投与の影響

中條誠一, 佐藤嘉兵

(日本大学農獣医学部家畜繁殖学研究室)

日本ウズラの排卵機構にプロスタグランジン (PG) が関与するか否かを明らかにする目的を以つて, PGF₂α, PGE₂ 及びインドメサシン (PG 合成の抑制剤) 投与の排卵に対する効果を調べた。PMSG で排卵を抑制したウズラで, PG はスチグマ部位の卵胞壁内に注射し, インドメサシンは LH と共に腹腔内に投与した。PGF₂α は排卵誘起効果を示さなかったが, PGE₂ は注射後ほぼ 2 時間に排卵を誘発した。またインドメサシンは, 高用量で LH による誘起排卵を抑制した。以上の結果から, 本研究で用いた条件下では, ウズラの排卵機構において, PGE₂ が卵胞レベルで何らかの役割を担っている事が示唆された。

(受付: 昭和58年6月16日)

地方部会講演抄録

第93回日本不妊学会関西支部集談会

期日：昭和58年2月5日(土)

会場：兵庫医科大学

1. ネコ卵子の体外受精初期像

○大原 究・丹羽皓二・細井美彦
入谷 明 (京都大・農)

ネコ卵子の体外受精初期像について明確な証拠を得たのでその概要を報告する。100日齢の幼若雌1頭(300i.u.)のPMSGを24時間間隔で5回皮下注射し、最終PMSG注射の48時間後に300 i.u.のHCGを筋肉注射)と約8カ月齢の成熟雌1頭(150 i.u. PMSGと100 i.u. HCGを72時間間隔で注射)に過排卵処理し、HCG注射の約30時間後に修正KRB液で卵管を灌流して排卵卵子をえた。同培地で2回洗浄後、卵子を0.4mlの培地中に移した。約12~18カ月齢の成熟雄の精管および精巢上体尾部から同培地で灌流採取した原精子液10 μ lをそのまま、あるいは一旦希釈後に卵子の入った培地に加えて授精し、培養した(5% CO₂, 95% 空気, 37°C)。その結果、授精後4, 4.5および5時間でそれぞれ5/6, 6/7および11/12の卵子に精子が侵入が認められ、尾部を伴う膨化精子頭部あるいは雌雄両性前核と2個以上の極体が観察できた。

2. 黄体機能不全内膜とステロイドレセプター

村上利樹・玉舎輝彦・岡田弘二
(京都府立医大・産婦)

微量の組織量で迅速簡便にステロイドレセプターを測定できる系を開発し、BBT, 血中ホルモン値(LH, FSH, PRL, E₂, P), 子宮内膜組織日付診, およびレセプター濃度について検討した。BBT, 血中ホルモン値が正常で、内膜日付診とBBTの日付の差が2日以内の正常例の月経周期によるエストロゲンレセプター(ER)常例の月経周期によるエストロゲンレセプター(ER)の分布は、増殖期前期より排卵期にかけて増加し、分泌期前期より着床期まで一定の値を持続し、その後減少した。プロゲステロンレセプター(PR)の分布は、増殖期前期より分泌期前期にかけて増加し、着床期に小さなピークを形成し、その後減少した。着床期において、内膜日

付診とBBTの日付の差が3日以上の場合では、正常群と比べ、血中ホルモン値には統計学的有意差を認めなかったが、ER, PR濃度はともに有意(p<0.001)に低値であった。子宮内膜のER, PR濃度が低いために黄体機能不全内膜を呈する症例があると考えられた。

3. 重症 Rho (D) 既感作妊婦における胎内死亡予防の試み——抗体除去自己血漿を用いた血漿交換

南川義夫・文田裕治・中室嘉郎
倉智敬一 (大阪大・産婦)

重症 Rh 不適合妊娠に起因する胎内死亡の予防的治療法として、今回我々は妊婦血中の抗D抗体を除去した自己血漿を返還する方法を開発した。重症 Rho (D) 感作妊婦の血漿と ABO 同型D抗原陽性赤血球とを、容量比1:1で室温下で60分間混和する至適条件を確立し抗D抗体を吸収し continuous flow type の Blood Cell Separator IBM2997を用いて妊婦に返還した。症例Iは11週で抗D抗体価 $\times 64$, 26週で $\times 1024$ と上昇した為8回の血漿交換を行った所37週で無事生児を得る事が出来た。症例IIは9週で抗体価が $\times 2048$ と高値を示した為5回の血漿交換を行った所27週で胎児仮死を示した為帝王切術を行った。症例IIIは7週で抗D抗体価が既に $\times 4096$ の高値で4回の血漿交換を行ったが20週で胎内死亡に陥った。初期より抗体価の高い症例には十分な効果が得られなかったが、本法は従来の血漿交換に比して、肝炎発症の可能性や凝固因子等の減少もわずかであり、理想的な方法として今後検討改良を行っていくべきである。

4. 男性不妊とマイコプラズマ感染第一部——男性不妊外来における検出頻度について

浜口毅樹・岡 伸俊・岡田 弘
羽間 稔・松本 修・守殿貞夫
石神襄次 (神戸大・泌尿器)

Ureaplasma-Urealyticum (以後 U. U. と略す) と男性不妊の関連性をみる目的で、当科不妊外来患者525名の精液につき、Taylor-Robinson 培地により培養を行ったところ、U. U. 検出率は212名40%であり諸家の報告とほぼ一致した。

また U. U. 感染が精液所見に及ぼす影響を調べたが、

精子濃度、運動率、奇形率、精液量には陰性例と陽性例の間で有意差はなかった。

治療は、男性側のみ、U. U. 陽性患者90名にミノサイクリン100mg/日×28日投与したところ、U. U. 陰性化率は78名87%で、うち陰性化の後に妊娠した症例は33.3%であった。また同検査期間中に妊娠した患者29名のU. U. 検出率は15名52%で不妊患者全体の検出率40%との間で有意差はみられなかった。さらに治療前後でU. U. が陰性化した症例の精子濃度、運動率、奇形率、精液量につき有意な改善は見られなかった。

5. 男子性腺機能低下症の超音波診断による前立腺の所見について

桐山雷夫・真田俊吾・日裏 勝
吉田 修 (京都大・泌尿器)

男子の妊孕能にとって睾丸は不可欠の臓器である。前立腺の分泌液は精子の活性化に重要な役割を持つている。前立腺は男性ホルモン依存性の臓器でもある。治療可能な性腺機能低下症の1つはhypogonadotropic hypogonadismである。二次性徴の観察および血清テストステロンとともに前立腺の発育が、治療成績のマーカーとして役立つと考えた。前立腺の大きさの測定は恥骨上部からの超音波検査法で行った。

Hypogonadotropic hypogonadismでは最も小さく、Klinefelter syndromeでは大きさが一様でなかった。無精子症ではやや小さい傾向があった。Klinefelter syndromeでテストステロンを補充しているもののなかに、前立腺がやや大きく肥大症の傾向にあるものがあつた。両側精嚢腺・精管・副睾丸の欠損の1例では前立腺の形成不全を合併していた。

治療による前立腺の発育が観察された。

6. Microsurgical two-layer anastomosis による vasovasostomy の経験について

桐山雷夫・真田俊吾・蔦巢賢一
吉田 修 (京都大・泌尿器)

Siber や Owen が vasectomy reversal に microsurgery の技法を用いて、従来の成績をはるかに上回る良好な成績を得た。

私共は最近 microsurgical two-layer anastomosis による精管再吻合術を2例経験したので、その手術手技と成績について述べた。

31歳および33歳の男子で精管結紮術8および7年後に本手術を受けた。後者では精管結紮術後に左陰嚢内容が自然に消失したという。症例1では infrapubic incision

で、症例2では左側の陰嚢切開で入った。精管断端の固定は症例1では創部においた手術用手袋の切片に精管を縫着し、症例2では USY clip を使用した。粘膜の縫合には 11-0 nylon を使用し、いずれの症例でも6針行つた。筋層の縫合は、症例1では 9-0 nylon 10針で、症例2では 8-0 nylon 9針で行つた。

症例1では、組織学的に精管周囲の spermatid granuloma が見られたが、症例2では認められなかった。

症例1の術後3カ月の精液検査は正常に復していた。

7. オーバービュー：体外受精

1. 体外受精の現況

角田幸生 (農林水産省畜産試験・繁殖)

2. ヒトに於ける Embryo transfer の現況

香山浩二 (兵庫医大・産婦)

日本不妊学会中部支部学術集会

期日：昭和58年6月4日(土)

会場：信州大学医学部

1. 性器奇形と妊娠

西口富三・小林隆夫・林 賛育
能登裕志・寺尾俊彦・川島吉良
(浜松医大・産婦)

女性不妊・不育症の原因の1つに性器奇形がある。性器奇形の診断は、その頻度が少ないうゑに、種類や症状が多岐にわたるため、必ずしも容易ではない。しかし、適切な診断のもとに適切な治療を行えば、妊孕率・挙児率の改善を期待できる。そこで、われわれの経験した性器奇形症例のうち、興味ある経過をたどつた3例を抜粋し報告するとともに、診断から治療に至る過程について検討した。なお、われわれは現在までの約5年間に、高度子宮奇形例を27例経験しており、それは、不妊外来患者の約2.5%を占めている。

症例IおよびIIは、片側腔閉鎖による子宮腔溜血腫を伴う重複子宮例である。症例IIIは、腔横隔膜症例である。

今回のわれわれの検討の結果、以下の2点が明らかとなった。

I) 性器奇形は、泌尿器系奇形の合併率が高く、診断上の意味も含めて、その検索が不可欠である。

II) 重複子宮は、その妊娠率は60%と、双角双頸子宮および双角単頸子宮のそれに比べ低値である。これは、子宮腔溜血腫の関与で、子宮内膜症および卵管閉塞を併発しているためと考えられる。しかし、重複子宮に

おいては、一度妊娠すると、流産に至る率は低く、両者に比べ挙児率は高い。これは、子宮壁の構造上の差に基づくものと考えられる。

2. 不妊外来における内分泌学的検討

松川良治・木下吉登・松沢克治
梅村鍋三 (大垣市民病院産婦)
風戸貞之 (名古屋第1赤十字)

昭和57年7月より、58年5月までに到る当院の不妊外来に来院した82例の症例について検討した。

妊娠例は17例で、妊娠率は21%であった。(82例のうち18例が数回の来院で、以後来院しなかつたため追跡例の妊娠率は27%)。

系統的に不妊症例を解析し、とくに頸管因子および排卵卵巣因子について内分泌学的検討を行なつた。排卵はあるにもかかわらず頸管粘液が増量せず、FLP も不良な症例があり、P. C. T, E₂ (estradiol) 等により考察した。E₂値は正常例で頸管粘液の不良なものは、頸管腺に問題があることが推察された。一方、排卵卵巣因子では、PRL, LH (LH-RH test) 17KS 等を中心に解析した。高 PRL 血症例は1値のみであったが、P. C. O. D 例および副腎因子と思われる症例が12例あつた。P. C. O. D には積極的に手術療法を、副腎因子には薬物療法(デカドロン等)を試みた。そのうち3例が妊娠に到つた。

今後、17KS の分画測定、KMG 負荷テスト等きめ細かい内分泌学的診断を行なうとともに、腹腔鏡、microsurgery の応用、そして頸管因子の不良例等に A. I. H も積極的に行ないたい。

3. 当院における HMG-HCG 療法の分析

○戸谷良造・三輪 是・黒木尚之
後藤濬二・朝日治郎・鈴置洋三
(国立名古屋病院産婦)

当院不妊外来にて HMG 投与による最初の妊娠例を得てから13年を経、その間に86例、270周期の使用を経験した。

HMG としては Humegon を約10年間用い、最近3年間は Pergonal を用いている。Humegon と Pergonal は同一製剤として販売されているが、両者は臨床効果が若干異なる印象を得たので、差異の有無を検討した。

その結果、Pergonal は Humegon に比し、少量の投与にて排卵を誘発せしめること、且つ過排卵例の多いことが判明した。

Humegon 投与例に比し、Pergonal 投与例では HCG 投与量が少なかつた。これは Pergonal では卵成熟が速く、HCG 投与後早期に BBT の上昇がみられることを反映していると考えられる。

Humegon 投与例と Pergonal 投与例の排卵率は、80.3%、93.3%で、Pergonal にやや高値であつたが、症例数が少なく、有意差は得られなかつた。しかし、排卵例に対する過排卵率は Pergonal に有意に高かつた。妊娠率も Pergonal に高い傾向がみられたが、有意差はなく、妊娠例に対する過排卵率に Pergonal に高値であつた。

排卵周期数での観察では Pergonal は、排卵率、過排卵率ともに有意に高値であつた。挙児率、多胎率の比較では、過排卵を反映して多胎率が Pergonal に高値であつたが、妊娠例に対する挙児率には差がみられなかつた。

4. 多毛婦人における血中 free testosterone 及び sex hormone binding globulin (SHBG) 測定の意義

大沢政巳・呉 明超・菅沼信彦
正橋鉄夫・浅井先興・藤田真苗
成田 収
(名古屋大・分産産婦人科)
鈴木正利・友田 豊
(名古屋大・産婦)

hirsutism は血中 androgen, 特に testosterone の増加によつて発症するものと考えられている。生体内において testosterone は、sex hormone binding globulin (以下 SHBG) および albumine と結合しているために、実際に androgen としての作用を発現するのはその unbound fraction である free testosterone である。従つて、hirsutism 等の androgenicity を評価するためには、free testosterone および SHBG の測定が重要である。

今回われわれは、hirsutism を呈する14例の女性において、total testosterone, free testosterone, SHBG, その他の androgen を測定し、hirsutism におけるこれらの hormone および 結合蛋白の測定の意義について検討したので報告する。

5. 当科における高齢不妊患者の実態について

高橋正明・米谷国男・伊藤 誠
上田 真・福島 穰
(名古屋保健衛生大・産婦)

厚生省が発表した昭和57年の人口動態統計によれば、

わが国における妻の平均初婚年齢は25.3歳と晩婚化が進んでおり、これがほぼ限界であろうと推測されている。不妊症診療においても高齢不妊患者は増加の傾向にあり妊孕力の減衰期における挙児希望という handicap を負ったこれらの高齢不妊患者に対しては、その背景を充分考慮に入れて診療にあたる必要があると思われる。昭和48年当大学病院を開設以来、不妊症患者は772例となり、そのうち30歳以上の高齢原発・続発不妊患者はそれぞれ138例、98例あり、全体の31.5%を占めている。当科におけるこれらの高齢不妊患者の実態の解析を試み、次の結果を得た。

高齢不妊患者の全不妊症患者に対する割合は前述の如く31.5%で、およそ1/3を占めていた。また高齢化にともない受診の機会も遅くなる傾向がみられた。不妊因子に着目すると、内分泌性不妊の頻度は予想外に少なく、男性因子によるものが多かった。妊娠率は高齢になるにしたがい低下する傾向が見られ、特に高齢続発不妊の妊娠率は対照に比し低率であった。妊娠率を不妊因子別に見ると卵管、頸管、機能性因子によるものが多く、子宮性および男性因子によるものが低かった。また妊娠の予後に関しては経産分娩による満期産が対照に比し低率であり、それに伴い帝切率は高率であった。以上の成績より高齢不妊患者の取り扱いに際して診療開始前の問題点として早期受診の啓もうを進める必要があり、また妊娠に成功した際には分娩異常が多に多いという事実にも充分留意すべきである。

6. 当院における clomiphene citrate 投与例 200 症例の検討

野村浩史・朝倉徹夫・一尾卓生
金丸恵子・山脇孝晴・李 哲児
西山幸男・杉山陽一

(三重大・産婦)

近年の排卵誘発剤の進歩とともに不妊治療も徐々に向上しているが、その反面誘発剤使用による多胎妊娠例の増加など問題点も多々残されている。

今回われわれは当院不妊外来にて、昭和51年より57年の7年間に加療した患者のうち、clomiphene citrate (clomiphene) を投与した200例について retrospective な検討を行なったので報告する。その結果、1) clomiphene 投与の適応としては、第2度無月経、第1度無月経、無排卵周期症、黄体機能不全症のうちでは黄体機能不全症に対する投与例が一番多かった。2) 妊娠例は200例中56例(28.0%)で、clomiphene 服用開始後比較的早期に妊娠した例が多かった。3) 妊娠例56例のうち流産徴候を示したものは13例(23.2%)と多く、予後不良であ

つたのは8例(14.3%)であった。4) 多胎妊娠は双胎が1例認められた。5) 生下時体重に特定の傾向は認められなかった。6) 妊娠例と非妊娠例の卵胞中期におけるホルモン値の比較では、LH、FSH、estradiol について妊娠例がやや低値を示す傾向があつたが有意差はなかった。などの成績を得た。

7. 子宮内膜日付診と血中卵巣ホルモン値との比較検討

竹内一郎・花田征治・水野金一郎
八神喜昭 (名古屋市立大・産婦)

黄体期卵巣機能不全(黄体機能不全)および分泌期子宮内膜發育不全は共に着床障害をきたし不妊の原因となり得る。

今回われわれは、諸種検査で異常の認められない機能性不妊症患者の黄体期血中卵巣ホルモン値と着床期子宮内膜日付診との相関を見る目的で、高温相の血中プロゲステロンおよびレストラジオールの3点測定値と、同周期の子宮内膜日付診のずれとを比較検討した。

その結果、血中各ホルモン値と内膜日付診のずれとの間には一定の相関は認められず、内膜日付診遅延例の中には、血中ホルモン値が低値例のもののみならず、血中ホルモン値が正常である例も存在した。このことから、着床期子宮内膜發育不全例を一元的にとらえるべきではなく、血中ホルモン値を加味した個別的な病態の把握と、それぞれに対する治療が検討されるべきであると考えられた。

8. 乳汁漏出症に対する CB 154 の使用成績

○深松義人・富田和彦・舟本 寛
塚原嘉治・塚本降是・福田 透

(信州大・産婦)

乳汁漏あるいは高 PRL 血症を呈し、不妊を主訴とする84例に対し、60例に CB154 を投与し、その有効性について非投与例と比較検討したので、その成績について報告する。

CB 154 投与例の妊娠率は全体で43.3%であつたが、高 PRL 血症を呈する症例の妊娠率は85.7% (28例中24例) で、CB 154 は非常に有効であつた。しかし、高 PRL 血症を認めない場合の妊娠率は6.3% (32例中2例) であつた。また、高 PRL 血症を認めない場合には、clomid 等の投与による妊娠例が多く認められた。

次に、月経の状態における CB 154 の有効性について検討してみると、無月経、無排卵周期症、黄体機能不全等、月経の状態の如何にかかわらず CB 154 は有効であ

つた。また、高 PRL 血症の原因に関係なく CB 154 は有効であった。

CB 154 投与により妊娠した 26 例 (32 回の妊娠) の転帰では、20 例に分娩が終了し、6 回の妊娠で自然流産を認め、流産率は 18.8% であった。また、妊娠中は重篤な合併症はなく、新生児の 3 例は SFD であったが、奇形は全く認められなかった。

以上の成績より、CB 154 は高 PRL 血症に対しては非常に有効であるが、高 PRL 血症が認められない場合には有効でないこと、CB 154 には催奇形性のないことなどの結論が得られた。

9. 当院における高プロラクチン血症の検討

村田修吾・豊木 実・熊田俊夫
(東海中央病院産婦)

56 年 4 月より 58 年 3 月までの間に、不妊外来を訪れた患者の内、血中プロラクチン値が 30ng/ml 以上であったものは計 37 名であったが、このうち 3 名は児を希望しなかった。その年齢分布は 20 代 29 名、30 代 8 名であり、100 ng 以上であったものは不妊患者 34 名中 3 名のみであった。この 34 例の不妊患者中妊娠にいたつたのは 8 例であるが、このうち bromocriptine を投与したものは 6 例である。このうち 1 例は 190ng と比較的高値を示したが clomiphene の投与のみで黄体機能が改善して妊娠分娩した。bromocriptine 投与妊娠 6 例中 4 例は clomiphene を併用した。pituitary microadenoma と思われるものは 2 例あり現在経過観察中である。Chiari-Frommel 症候群は 1 例であった。3 例は比較的軽度のプロラクチン値の上昇をみて、一応散発性無排卵性周期を示していたが bromocriptine 投与により容易に黄体機能が改善して妊娠した。よって今回の検討により、比較的軽度の血中プロラクチン値の上昇をみる黄体機能不全を伴う患者で、しかも clomiphene, hCG などにより改善しない場合には少量の bromocriptine の投与は黄体機能を改善するものと考えられた。この場合 clomiphene の併用はより有効と推定された。最後にこれら 34 名の不妊患者の合併症は子宮内膜症 6 名、男性側原因 6 名、卵管異常 3 名であった。

第94回日本不妊学会関西支部集談会

期日：昭和 58 年 6 月 11 日

会場：関西医科大学

1. 当教室における過去 3 年間の不妊外来の現況

堀越順彦・芦原孝三・中島徳郎
樫木 勇 (関西医大・産婦)

挙児希望を主訴として不妊外来を訪れる婦人が年々増加しており、現在では体外受精等の新しい不妊症治療も報告されている。今回われわれは当院過去 3 年間の不妊外来の現況を分析を加え報告する。

昭和 55 年 1 月から昭和 57 年 12 月迄の 3 年間の不妊症治療患者 365 例について調査を行い、次のような成績を得た。

- 1) 不妊を因子別に分類すると、原発不妊例では卵巢内分泌因子が、続発不妊例では検査中がそれぞれ最大因子であった。
- 2) 妊娠率は原発性不妊例 29.8%、続発性不妊例 29.9% で、因子別ではともに卵巢内分泌因子が最高を示した。
- 3) 妊娠例の転帰は原発性不妊例、続発性不妊例ともに 59% が生児を得たが 41% が早産、流産、もしくは子宮外妊娠に終つた。

2. clomid 投与時の分泌期子宮内膜の形態

河田泰彦・森本義晴・芦原孝三
中島徳郎・樫木 勇
(関西医大・産婦)

われわれは無排卵性周期症の患者に、clomid および sexovid を投与し、排卵後 7～8 日目に子宮内膜を採取し、光顕的観察を行なつた。clomid, sexovid を投与した各 1 例ずつにおいて、排卵後 2～3 日目に相当する所見を得た。光顕において、核下空胞が著名な所見を認め、電顕において、粗面小胞体の拡大、Golgi 野が発達し、腺腔側の細胞は、遊離縁が、軽度膨隆し、空胞構造が認められる細胞が配列していた。なお、ribosome も多数認められた。clomid, sexovid の抗 Estrogen 作用が、Endometrium にも作用し、Estrogen Priming が、不十分となり、ovulation が成立しても着床期不全内膜を形成し、着床不全内膜に陥るのが、clomid, sexovid の排卵誘発率の良好な割に、妊娠成功率の低い原因ではないかと考えられる。

3. 血中ステロイドホルモン濃度と子宮内膜日付診との関連性

矢田守男・奥田喜代司・宮崎和典
石田雅俊・好川 元庸・杉本 修
(大阪医大・産婦)

子宮内膜の組織学的検索は、妊卵着床障害による不妊因子の解明に重要な意義を有し、形態学的異常については多数の報告があるが、卵巣ステロイドとその標的組織である子宮内膜との関連性は、十分明らかにされていない。今回、BBT 高温 7 日目前後の子宮内膜日付診分類と血中ステロイド値とを比較し、また各症例を妊娠例、非妊娠例、クロミッド投与例に分類しそれらの比較検討を行った。

一致型は、血中 progesterone (P) 値, estradiol (E₂) 値が高値を示し、従来の報告に合致した。遅延型では、P 値高値, E₂ 低値を示し、促進型では P 値および E₂ 値もやや低値を示し、従来の報告と異なった結果となった。

妊娠例では、一致型が多く、血中 P 値は 10mg/ml 以上を示す症例が多くみられた。また非妊娠例では、促進型が多くみられた。クロミッド投与例では、血中 P, E₂ 値が高値を示したが、日付診分類では、遅延型、分離型が多く、一致型が少なかった。

4. ウシ射出精子による体外受精

入谷 明・葛西孫三郎・丹羽皓二
H. B. Song (京大・農)

ウシの体外受精については、すでに筆者らが 1977 年に最初の成功例を報告しているが、受精率も低く (20~30%)、精子の受精能獲得環境として雌生殖器官の使用が必要であった。この実験は射出精子を人工培養液中で受精能を獲得させ、しかも安定して高い受精率をあげようような条件を検討するために行なわれた。卵子は屠場採取の卵巣から GV 期のものを採取し、28 時間培養して M-II にまで成熟させたものを用いた。一方人工腔法で採取させたウシ精液は、洗浄せずに 14~18 時間 20°C に保存し、1 回洗浄後に炭酸ガス培養器内で 8 時間 (濃度 2 × 10⁶/ml) 培養して受精に供した (濃度 1 ~ 2 × 10⁶/ml)。その結果 50~60% の高い受精率がえられ、しかもこの受精系では多精子侵入はみられなかった。

5. Mixed gonadal dysgenesis の興味ある 1 例

小西 平・高山秀則・友吉唯夫
(滋賀医大・泌尿)

Mixed gonadal dysgenesis (以下 MGD) に Gonado-

blastoma を合併し、臨床的には停留精巣を伴い短軀、翼状頸、外反肘を認めた興味ある 1 例を経験したので若干の文献的考察を加えて報告した。症例：17 歳男性。主訴：右陰囊内容欠如、短軀。現病歴：満期正常分娩。3 カ月検診時、右停留精巣を指摘されるも放置。1981 年 8 月、短軀を主訴として第 3 内科を受診、右停留精巣のため泌尿器科にて手術を施行。性染色体構成は 46XY で内分泌学的検索において異常を認めない。手術により腹腔内に Gonadoblastoma、卵管および子宮を認めた。左陰囊内には Streak gonad を認めた。以上 MGD に Gonadoblastoma を合併し、Turner 体型を有する 1 例を報告した。本邦において MGD は 34 例報告されているが Gonadoblastoma を合併する例は本邦第 3 例目である。

6. 超音波断層法による卵胞発育過程の観察

山元貴雄・富岡 恵・辻 雅路
大野洋介・岡田弘二
(京都医大・産婦)

排卵障害を有する不妊症の治療を行なう上で、基礎体温測定、頸管粘液の観察、各種ホルモン値の測定とともに、超音波診断による卵胞発育の観察は今や不可欠である。今回われわれは、新しく開発された電子セクタ走査方式による診断装置 (ALOKA FANSONIC 190) を使用し、排卵障害を有する不妊症患者 10 例の計 26 周期に亘り、卵胞の発育過程を連続的に観察した。その結果、全例に超音波上排卵が証明され、うち 4 例が妊娠に致るといふ好成績を得た。又、今回の hMG-hCG およびクロミッド併用例における排卵誘発例での最大卵胞径の計測値は推定排卵日前日で平均 1.91 ± 0.12cm であり、1 日の卵胞発育速度は 0.13cm と計算された。

なお、今回使用した装置は従来のリニア走査装置に比べ、膀胱を通しての自由な角度をつけた走査が可能であり、卵胞の描出に際して多くの利点を有するため極めて鮮明な画像を得ることが可能である。以上同装置は卵胞発育過程の観察に非常に有意義であると判断した。

特別講演

Effect of various anti-inflammatory agents on follicular prostaglandins and ovulation in the rabbit.

Lawrence L. Espey, Ph. D.
Professor of Biology, and Cowles
Professor of Life Scienity Unive-
rsity. U.S.A.

For more than a decade it has been known

that follicular prostaglandins (PG) increase substantially during ovulation. The present report reveals that there are two stages of PG production during the 10-hour ovulatory process in the rabbit. First, there is a slight increase in PG within 2 hours after the process has been initiated by gonadotropin. Then, approximately 6 hours later, there is a much more dramatic increase in PG production which reaches a peak at the time of follicular rupture.

It is also well-known that the non-steroidal anti-inflammatory agent indomethacin is an effective inhibitor of ovulation. The present report shows that the optimum time to administer indomethacin to the rabbit is 7-8 hours after the ovulatory process has been initiated by gonadotropin, i.e., approximately 2-3 hours before the follicles are expected to rupture. At this time, a moderate dose of indomethacin will completely inhibit ovarian PG synthesis within less than 10 minutes after its administration. Likewise, any other potent non-steroidal anti-inflammatory agent will readily inhibit ovulation. Such agents include diclofenac, fenoprofen, niflumate, tolmetin, phenylbutazone, naproxen and meclofenamate.

The report further demonstrates that a cytochrome c, colchicine, and a protein synthesis inhibitor, cycloheximide, can prevent ovulation. Unlike indomethacin, the optimum time to administer these two agents is approximately 10 hours before the ovulatory process has been initiated by gonadotropin. These more toxic drugs have a much slower effect than indomethacin; yet, similar to the non-steroidal anti-inflammatory agents, they cause a significant reduction in PG synthesis by the expected time of ovulation. However, the mechanism by which they block PG synthesis appears to be different from the cyclo-oxygenase inhibitors.

The report concludes with suggestions of additional work that might be conducted in the future to further analyse the theory that an acute inflammatory reaction is the principal cause of follicular rupture in mammals.

第88回日本不妊学会関東地方部会

期日：昭和58年7月23日

会場：森永プラザビル23F

1. IUD 挿入下における着床期子宮内膜の形態学的検討

天野信人・遠武孝育・安江育代
楠原浩二・久慈直志・蜂屋祥一
(慈医大・産婦第1)

IUD の避妊機序は、ほぼ着床障害であろうと言われているが、今なお充分な解明がなされていない。今回われわれは、着床障害の機序を明らかにするために、特に着床期子宮内膜間質に着目し、超微形態的に検討した。検索対象は正常月経周期を有する IUD 挿入婦人で、着床期子宮内膜搔爬を施行し、電顕標本を常法にて作製し、これをウラン・鉛染色およびタンニン酸染色にて観察した。66%の標本において間質細胞中に限界膜に包まれたコラーゲン線維が存在した。間質組織中のコラーゲン線維も密度の増加、走行の方向性の消失が観察され、IUD 挿入内膜においては線維合成が特徴的に亢進し、この事が避妊機序と関連性を有するのではないかと示唆された。

2. オギノ式受胎調節法に関する2, 3の考察

村山 茂 (大田原赤十字病院)

分娩後の1427例に対して「オギノ式受胎調節法」に関する調査を行った。避妊法全般としてはコンドームの使用が最も多く84.6%におよんだ。オギノ式を含めてコンドーム以外の方法を用いたことのある者は51.7%に認められた。この中では基礎体温法が45.6%で最も多く、性交中絶法は22.9%、オギノ式は19.9%の順であった。全症例に対する比率は上述の数値の738/1427即ち約半分で、オギノ式の比率は10%となる。これは最近の全国平均の23%、また過去最高の44.1% (昭和30年) に比して著しく少くなっている。オギノ式の認識に関しては、聞いたことのない者は7.3%と少なかったが、はつきり記憶している者も10.7%と少なかった。理解の内容は、安全に実行し得る程度の者は32.6%と約1/3であった。実施期間は1年以内が多い (83.7%) が、4~6年におよぶ者も認められた。成功率は75.6%であった。今後、本法の教育普及に努めれば現状の Extended-effectiveness が Theoretical effectiveness に近づき、婦人のライフサイクルの変化に応じて長期の実行者がふえてゆくことも考えられる。

3. 糖尿病誘発妊娠ラットにおける死亡胎仔胎盤の観察

○渡辺 博・伊藤敬子・鶴岡信博
田中忠夫・伊藤治英・蜂屋祥一
(慈医大・第2)

Wistar 系ラットの妊娠第4日あるいは6日目に streptozotocin 20~30mg/kg を尾静脈より投与し、血糖測定および GTT で糖尿病の発症を確認し、妊娠第14日から20日目にかけて、ラットを屠殺し、その胎仔胎盤を採取し、検討した。死亡胎仔の胎盤では、Basal zone に比べて、labyrinth layer の破壊が著しく、Trophoblast の変性、間質の線維化、ヒアリン物質の出現、maternal blood sinus の狭小化が高度であつた。また、Trophoblast の細胞数は対照に比べて、軽症糖尿病群では増加し、重症糖尿病群で逆に減少する傾向がみられた。以上より、糖尿病が胎盤におよぼす影響は、Basal zone よりも Labyrinth zone に強く、血管の梗塞等の低酸素状態に対し、Trophoblast の細胞数の増加等により、機能の代償が起こるが、その限界を越えると、特に labyrinth later の変性が進み、仔に重大な影響を与え、ひいては流早死産に致らしめるのではないかと推察された。

4. 当科における高プロラクチン血症例の検討

○福田 勝・淵脇泰介・清田明憲
奥山輝明・古谷 博
(順大・産婦)

5. 妊娠初期脱落膜のプロラクチン産生能に関する研究

○松本和紀・楠原浩二・横山 敬
木村英三・小田原靖・蜂屋祥一
(慈医大・産婦)

目的：妊娠時脱落膜よりプロラクチン（以下 PRL）が産生されることは諸家によりすでに報告がある。しかし、本ホルモンの妊娠週数による産生能の比較や流産例との比較などの詳細な報告はない。そこで今回われわれは、妊娠6週から10週までの人工妊娠中絶例の脱落膜の PRL 産生能を妊娠週別別に比較検討し、さらに流産例についても検討した。

成績：各週数別の脱落膜の5時間の incubation における medium 中への PRL 放出量の総和は lg wet tissue あたり、以下の通りであつた。妊娠6週：1,478±616ng, 7週：2,268±726ng, 8週：5,196±2,630ng, 9週：7,590±1,824ng, 10週：7,516±2,692 ng. 以上の如く、妊娠6週から9週までは妊娠週数とともに

PRL 放出量は増加した。一方、流産例では妊娠10週で 5,180±420ng と同週数人工妊娠中絶例に比し低値の傾向を示した。

結論：妊娠初期脱落膜の PRL 産生能は、妊娠週数とともに増加し、流産例では不良であつた。このことから脱落膜 PRL 産生能は脱落膜の機能の一部を反映するものと考えられた。

6. 卵巣性無月経例の解析

○松浦真彦・中村陽行・長田尚夫
津端捷夫・高木繁夫
(日大・産婦)

今日、卵巣性無月経の診断にはホルモン負荷試験、特に LH-RH 負荷試験が盛んに用いられており、その診断的価値も非常に高い。無月経の中でも続発性無月経の原因には、間脳一下垂体性のものが圧倒的に多く、またその診断も容易であるが、それ以外の確定診断は必ずしも容易ではなく困難を伴うとされている。今回紹介するのは、続発性無月経でいずれも初潮を認め一定期間自然排卵を認めたにもかかわらず早期に卵巣性無月経に移行した3例で、ホルモン学的検索および腹腔鏡下に組織生検を行い、Premature Ovarian failure と診断した症例である。最近腹腔鏡を行った10例のうち、3例が本症例であり、その他2例が Hypoplasia Ovarii, 2例が両側卵巣嚢腫による部分切除後の卵巣機能不全で、原始卵胞を認めず、残りの症例はいずれも卵巣生検後排卵誘発に成功した症例であり、腹腔鏡による卵巣生検が有効であつた。卵巣性無月経の診断には、一般的にホルモン負荷試験を行うことにより、ある程度診断が可能であるが、やはりその確定診断には、組織学的検索によらねばならないことが多く、開腹術を行い生検を行う必要が生じてくる。続発性無月経に対する LH-RH 負荷試験、および卵巣機能検査法としてのゴナドトロピン負荷試験は、臨床的に多く用いているが、われわれが経験した3例中2例では、その前者においては、いわゆる定形的反応パターンを示さず、確定診断が不可能であつたものであり、卵巣性無月経を疑った場合、早期に腹腔鏡をとり入れることにより卵巣性無月経の確定診断を行うことが最良の策と考えられる。

7. E₂ の enzyme immunoassay

寺田夏樹・城武昇一・内藤正文
小堀恒雄・高見沢裕吉
(千葉大・産婦)

(目的) 卵巣機能診断に E₂測定は重要である。従来、

微量 E₂定量は³H-RIA により行なわれてきたが、測定時間と廃棄物処理に問題がある。そこで比色法で簡便な高感度 EIA を開発し、その臨床応用を検索した。

(方法) E₂の6位にスペーサーを介してビオチンを結合した E₂-Biotin (E₂-B) を新合成した。〔I〕アビジン吸着96穴マイクロプレートに E₂-B を結合させ固相化抗原とした。次に標準 E₂あるいは試料と HRP 標準抗体を入れ抗原抗体反応後吸引洗浄し、固相に捕捉された標識抗体による酵素活性を H₂O₂, O-phenylene diamine により比色測定し検体 E₂量を算出した。〔II〕E₂-B, 標準あるいは検体と抗体-HRP を混ぜ競争反応後アビジンプレートにて B/F 分離を行ないプレートに捕捉された複合体の示す酵素活性を比色した。〔III〕抗体をマイクロプレートに吸着させて固相化抗体を用意し、それに標準または検体と E₂-B を入れ反応洗浄後、固相化抗体と結合した E₂-B にアビジン HRP を反応洗浄し、酵素活性を比色した。

8. 卵管粘膜上皮変化と妊孕性について

○長田尚夫・平田善康・中村陽行
津端捷夫・高木繁夫

(日大・産婦)

女性不妊症の30~40%が卵管性不妊症といわれ、今日その解決法の一つとして、in vitro fertilization & embryo transfer が盛んに行われており、先日、Wein で開かれた Recent Progress in Human In Vitro Fertilization Congress (7月22日~24日)においても多くの成功例が報告され、今日までに300例以上の分娩が行なわれている。しかしマイクロサージェリー(以下MSと略す)を行う側からみると、むしろこの卵管性不妊症に対しては、まず最初に、MSを行って卵管機能の回復をはかるべきであり、それでもなお妊孕能が得られないもので始めて体外受精が行なえるものと考えている。いうまでもなく、MSのそれは、妊娠成立過程が生理的であるために、種々の社会的問題が生ずる可能性がなく、より理想的であるといえる。MSにおける問題点は、術後の妊娠率がある種の卵管形成術において低いことである。端々吻合術のそれは、70~80%と非常に良い成績であり問題は無いが、最も低いものに、SaktosalpinxにおけるFimbrioplastikであり、その妊娠率は約25%である。そこでわれわれは、何故にSaktosalpinxにおけるMSの成功率が低いのか、MSにて卵管に行つたFimbrioplastikに際し採取した卵管粘膜上皮の変化と妊孕能について関連性を見出すべく、走査型および透過型電顕を用いて形態学的に検索を行つた。今回の対象は、すべて

ヒト卵管であり、既に家兎を用いて行つた実験的卵管水腫における卵管の粘膜上皮変化と比較し、その妊孕能についても検討した。その結果、非感染群における卵管の粘膜上皮の変化は、感染群のそれとは、その形態的変性を異にしており、特に感染群のそれは、著しい変性が認められ、粘膜上皮は、脱落し、基底膜が管腔に露出し、もはや妊孕性の回復は不可能であつた。したがつてSaktosalpinxに対するFimbrioplastikを行う場合には、その適応を十分に検討し、卵管粘膜病変を十分に観察したうえで、その切除範囲(開口部)を決めることが、術後の妊娠率向上につながるものと考えられる。

9. 男子不妊症患者に対するカリクレインの治療成績

川村健二・角谷秀典・片海善吾
相川英男・伊藤晴夫・島崎 淳

(千葉大・泌尿器)

男子不妊症を主訴とする乏精子症22例においてカリクレイン450KU/日、6カ月間内服し3カ月後および6カ月後の精液所見を検討した。精液量および精子濃度は有効悪化例ほぼ同数であり、効果はないと思われた。運動率では3カ月後で著効し、有効7、悪化2で、有効率は36.4%であり、6カ月後もほぼ同様であることより、精子運動率に対する効果が認められた。なお特に重篤な副作用は認められなかつた。

10. 透明帯除去ハムスター卵を用いたヒト精子の受精現象

(位相差顕微鏡およびノルススキー微分干渉顕微鏡による観察)

永江 毅・岩城 章・木下 佐
(東邦大・第2産婦)

岡田 詔子・加藤守男
(東邦大・第2解剖)

卯月 昌子・有田聖子
(東邦大・大橋病院臨床検査科)

今回われわれは、生体観察に優れている位相差顕微鏡および透過型ノルススキー微分干渉顕微鏡を用い、透明帯除去ハムスター卵とヒト精子の受精現象を観察した。

位相差顕微鏡は、像が明暗コントラストとして表われるため、ヒト精子受精能の判定には有用であるが、立体構造が得られないために詳細な観察には不向きだと思われる。

透過型ノルススキー微分干渉顕微鏡は、ヒト精子受精能の判定に充分有用であるが、さらには、SEMのレリーフ効果に似た像が得られることにより、精子頭部表面

昭和 59 年 1 月 1 日

(143) 143

やその中に認められる特殊構造などが十分に観察可能であつた。

観察したヒト精子膨化頭部中には、位相差顕微鏡において黒い帯状構造を認めたが、ノマルスキー微分干渉顕微鏡では、表面凹凸の隆起性帯状構造であつた。この特

殊構造については、現在、その意義は不明であるが、今後さらに検討を加えてゆきたい。

11. 第11回国際不妊学会より帰って

○荒井 清 (帝京大・産婦)

第12回国際不妊学会のお知らせ

日 時 1986年10月26日～31日

開催地 シンガポール

詳細は決定次第会告でお知らせ致します。

御要望および御意見のある方は下記まで

Dr P C Wong
Deputy Secretary-General
Local Organising Committee
XIIth IFFS World Congress

**Obstetrical & Gynaecological
Society of Singapore**

c/o Kangas Kerbau Hospital For Women
Hampshire Road • Singapore 0821
Tel. 295 2863

御 知 ら せ

日本アンドロロジー学会第3回学術大会

日 時：昭和59年6月15日（金）午後1時～16日（土）午後5時

場 所：神奈川県立県民ホール 会議室（予定）

学術大会：

1. 特別講演

ピッツバーグ大学医学部

P. Troen 教授

2. シンポジウム

精子をめぐる諸問題

司会 毛利 秀雄（東大教養）

3. 一般講演

演題募集要領

1. 官製ハガキ（書留にて）に

1. 演題名（抄録不要）

2. 講演者を筆頭に発表者全員の氏名，所属

3. 演題締切日 昭和59年1月31日必着

4. 各演者には昭和59年2月初旬抄録用紙（1,200字以内）を送付致しますので，後日（昭和59年3月15日締切予定）タイプ原稿として御提出下さい。

演題送付先

〒 232 横浜市南区浦舟町3丁目46番地
横浜市立大学医学部病院
泌尿器科学教室
西 村 隆 一
TEL 045-261-5656, 内線 541

以上のような内容です。奮って御参加下さい。

日本アンドロロジー学会
第3回学術大会

会長 大 島 博 幸
横浜市立大学医学部
泌尿器科学教室

III World Congress In Vitro Fertilization and Embryo Transfer

表記の国際学会が下記の要項で開催されますのでお知らせ致します。

会 期：昭和59年5月14日～17日

開催地：ヘルシンキ市（フィンランド）、フィンランディアホール

登録費：		正会員	同伴者
	昭和59年1月31日まで	FIM 1500	300
	2月1日以降	1800	400

なお、second announcement が学会事務所にございますので御希望の先生はお問合せ下さい。

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

- 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。

編集会議からのお知らせ

1. 超過頁は全文刷り上りで10頁をこえない範囲で認める。
2. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編とする。
3. 内容について著者にアドバイスすることもある。
4. 著者校正は原則として初校のみ1回とする。
5. 受付年月日を論文の末尾に掲載する。

日本不妊学会雑誌 29 巻1号

昭和58年12月25日 印刷
昭和59年1月1日 発行

編集兼 発行者	芦原慶子
印刷者	中村清雄
印刷所	東京都品川区上大崎3-12-15 一ツ橋印刷株式会社
発行所	東京都品川区上大崎3-12-15 社団法人 日本不妊学会 東京都新宿区 市ケ谷砂土原町1丁目1番 保健会館別館内 Tel (03) 267-4635 振替口座番号 東京 7-93207