

日本不妊学会雑誌

第 29 卷

第 2 号

昭和 59 年 4 月 1 日

— 目 次 —

会 告
原 著

男子不妊症における精索静脈瘤
——術前各種ホルモン値と手術成績との関連について——……………石川博通・他…1

ラットにおけるマストセル刺激による血中セロトニン,
ヒスタミン, プロラクチンの変動……………中 藺 昌 明・他…6

Studies on Boar Sperm Lectin Purification
and Partial Characterization……………S. KANEKO・他…10

下垂体小人症に合併した停留辜丸, 症例
およびその病態生理と治療について……………公 平 昭 男・他…17

大腿骨頭迂り症にみられた Hypogonadism の 1 例……………小 寺 重 行・他…24

ヒト精子の Capacitation に対する Kallikrein の影響……………齊 藤 晃・他…29

In Vitro Capacitation of Ejaculated
Rabbit Sperm Cells……………K. SATO…35

卵胞発育・基礎体温からみた体外受
精時の採卵時期の検討……………京 野 広 一・他…42

Successful Induction of Ovulation with Pulsatile
Administration of Luteinizing Hormone-Releasing
Hormone in Hypothalamic Amenorrhea……………K. MASAOKA・他…47

Clomiphene citrate 療法時の内分泌動態
——とくに黄体期投与の影響について——……………中 谷 正 巳…50

哺乳動物卵子 Vitamin E 定量法
——簡易前処理によるマスクロ定量の開発——……………可 世 木 久 幸・他…58

AIH による妊娠成功例の検討……………山 下 三 郎・他…65

レセプターレベルよりみた子宮筋腫
組織のホルモン感受性について……………星 野 明 生…69

子宮頸管粘液分泌能の評価法……………小 沼 誠 一・他…79

超音波断層所見と母体血中内分泌動態
よりみた流産の検討……………野 崎 誠・他…85

当院における不妊症の臨床統計
(第 1 報: 長期不妊症妊娠例の分析)……………西 川 潔・他…92

過去 9 年間ににおける不妊症および排卵
障害患者の臨床統計……………宮 越 洋 二・他…98

地方部会……………105

お知らせ

第29回日本不妊学会総会および

学術講演会予告(第2回)

第29回日本不妊学会総会および学術講演会を、下記の要領にて開催いたします。多数御参加下さいますようお願い申し上げます。

日時

学術講演会 昭和59年11月13日(火), 14日(水)

理事会・幹事会 昭和59年11月12日(月)

総会・評議員会 昭和59年11月13日(火)

会場

ホテル センチュリー HYATT (東京, 新宿)

学術講演会

つぎの如く、特別講演、シンポジウム、一般講演を予定しております。一般講演に御応募の方は、申込要項に従い締切期日を厳守して下さい。なお特別講演、シンポジウムの演題名、順序などは多少変更になることもあります。

I. 招請講演

1. Mechanism of Action of Gonadotropins Robert J. Ryan (Mayo Clinic)

2. New Hormonal Stimulations of the Ovarian/Menstrual Cycle for Ovulation Induction and In Vitro Fertilization Therapy

Gary D. Hodgen (NIH)

3. The Importance of Pelviscopic Surgery for Tubal Repair and In Vitro Fertilization

Kurt Semm (University of Kiel)

4. Current Trends in the Management of Side Effects of Medicated Copper IUD's
Willem A. A. Van Os (Haarlem, The Netherlands)

II. 特別講演

1. 卵の発育と淘汰

東京大学産婦人科教授 水野正彦

2. 精子パラメータに関する臨床的研究
——とくに運動能とその評価——

神戸大学泌尿器科助教授 守殿貞夫

3. 実験動物における誘起排卵の諸問題

東京農業大学畜産学科教授 石島芳郎

III. シンポジウム

1. 雄性副性器と不妊

座長 千葉大学泌尿器科教授 島崎 淳

日本大学泌尿器科助教授 岡田 清巳

雄性副性器の構造	日本大・泌	岡田清巳
家畜の雄性副性器液と精子の成熟	日本大・農獣	吉田重雄
副性器疾患の画像診断	富山医薬大・泌	片山 喬
副性器感染症	神戸大・泌	杉本 修
副睾丸機能と不妊	東邦大・泌	中山孝一
副性器の奇形	山口大・泌	滝原博史
精管精管再吻合術	千葉大・泌	伊藤晴夫

2. ヒトにおける排卵誘発の進歩
——その現状と展望——

座長	東京医科歯科大学産婦人科教授	斉藤 幹
	独協医科大学産婦人科教授	熊坂高弘
Clomiphene 療法	熊本大・産	水元 淳一
Prolactinoma に対する Bromocriptine 療法	大阪大・産	青野 敏博
HMG 療法	東京大・産	木下 勝之
HMG の隔日投与方法	長崎大・産	石丸 忠之
LH-RH およびアナログによる性腺機能の 賦活と抑制	東京医歯大・産	西 望
追加発言		
Clomiphene, HMG の併用による排卵誘発 ——適応・投与方法を中心として——	東京医歯大・産	小山 嵩夫
問題点についての討論		
Clomiphene および Bromocriptine	東北大・産	鈴木 雅洲
HMG	群馬大・産	五十嵐 正雄
多嚢胞卵巣	川崎医大・産	田中 良憲

IV. 一般講演

演題申込資格

講演者（共同発表者を含む）は、本会会員に限ります。会員以外の方は演題申込みと同時に、昭和59年度会費（8,000円）を納入のうえ会員となって下さい。

演題申込要領

1. 抄録を同封所定の抄録用紙にタイプでうち、書留郵便で下記にお送り下さい。

〒173 東京都板橋区大谷口上町30-1

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

（担当：津端 捷夫，早川 篤正）

Tel (03) 972-8111 内線 2198

2. 抄録は820字以内、図、表はつけないで下さい。
3. 一施設より2題以上の出題のときは、順位をつけて下さい。
4. 別紙申込書、受取書、採用通知書に所定事項を記入し、切手を貼り、抄録用紙および抄録用紙コピー3部とともに送って下さい。
5. 申込締切 昭和59年7月23日（必着）

演題発表方法

講演時間は7分、討論時間は3分の子定です。スライドプロジェクターは各会場とも1台と

します。スライド枚数は10枚以内とし、出来るだけ大きい字でわかり易くして下さいようお願い致します。

参加申込方法

学会当日、会場にて受付けます。

学会参加費 7,000円

総懇親会費 7,000円

総懇親会は学会第1日の講演会終了後、同ホテル内にて行なう予定です。

昭和59年4月

第29回 日本不妊学会

会長 高木 繁夫

日本不妊学会事務所移転のお知らせ

第28回総会の決定に基づき、この度社団法人日本不妊学会は、事務局業務を株式会社 国際会議事務局に委託することになりました。それに伴い、事務所を下記に移転いたしましたのでお知らせ申し上げます。

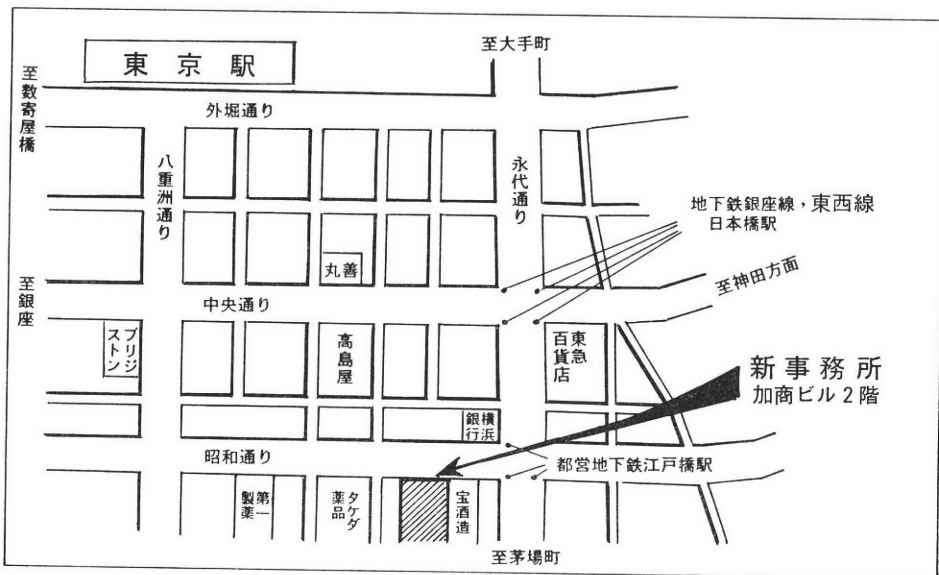
昭和 59 年 4 月

社団法人 日本不妊学会

理事長 松本清一

記

新所在地 〒103 東京都中央区日本橋 2-14-9 加商ビル
株式会社 国際会議事務局内
電話番号 03-272-7077



Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 29, No. 2, 1984)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

- An Evaluation of Varicocele in Male Infertility —Comparative study of Hormonal Levels and Operative Results—.....*H. Ishikawa, A. Aikawa, H. Takeshima, M. Shinoda, M. Nakazono & K. Ieda* 1
- A Study on Changes of Blood Serotonin, Histamine and Prolactin Levels through Stimulating Mast Cell in Rats*M. Nakazono, M. Shinoda, F. Nakajima, A. Aikawa, H. Ishikawa & H. Tazaki* 6
- Studies on Boar Sperm Lectin Purification and Partial Characterization.....*S. Kaneko, K. Kobanawa, T. Kobayashi, R. Iizuka & S. Oshio*10
- Cryptorchidism in Pituitary Dwarfism: Case Presentation and its Pathophysiology and Treatment.....*T. Kodaira, K. Noguchi, H. Oshima & S. Okubo*17
- A Case of Hypogonadism Complicated by Slipping of the Proximal Femoral Epiphysis*S. Kotera, Y. Hozumi & I. Ikemoto*24
- The Effect of Kallikrein on Capacitation of Human Spermatozoa*A. Saito, K. Hoshi, K. Kyono, A. Tsuiki, K. Momono, M. Suzuki & R. Yanagimachi*29
- In Vitro* Capacitation of Ejaculated Rabbit Sperm Cells.....*K. Sato*35
- Follicular Development and BBT: Determinant Factors for Egg Collection.....*K. Kyono, K. Hoshi, A. Saito, A. Tsuiki, K. Momono, R. Mori, H. Imaizumi, H. Hoshiai & M. Suzuki*42
- Successful Induction of Ovulation with Pulsatile Administration of Luteinizing Hormone-Releasing Hormone in Hypothalamic Amenorrhea*K. Masaoka, M. Kitazawa, H. Watanabe & T. Kumasaka*47
- Endocrine Status during the Clomiphene Citrate Treatment with Special Reference to the Effect Caused by its Administration during the Luteal Phase.....*M. Nakaya*50
- Measurement of Vitamin E in Mammalian Eggs —Mass-chromatographic determination with simple clean-up—.....*H. Kaseki, Y. Yoshino, T. Takeshima, M. Tanaka, K. Sugahara & N. Nakagata*58
- Study of Pregnant Cases with AIH in Our Infertility Clinic*S. Yamashita, T. Ito, F. Michigami & H. Nomiyama*65
- The Sensitivity of Myoma to Sex Steroid Hormones in the Study of Hormone Receptor Levels*A. Hoshino*69

Clinical Assesment Method of the Capacity of the Cervix	<i>S. Konuma,</i> <i>N. Inoda, T. Sato & T. Tamada</i>	79
Study of Abortion Evaluated by Ultra Sound Scanning and Hormonal Profile in Serum	<i>M. Nozaki & M. Suzuki</i>	85
Statistical Studies on the Infertie Women in Our Clinic (I. Analysis of the pregnancy in long-term infertile cases).....	<i>K. Nishikawa & T. Kano</i>	92
Clinical Study of Infertility ond Ovulatory Failure	<i>Y. Miyakoshi,</i> <i>H. Kawabata, K. Shiroshita & K. Iwasaku</i>	98

男子不妊症における精索静脈瘤

—術前各種ホルモン値と手術成績との関連について—

An Evaluation of Varicocele in Male Infertility
—Comparative Study of Hormonal Levels and Operative Results—

国立霞ヶ浦病院泌尿器科

石川博通 相川厚 武島仁
Hiromichi ISHIKAWA Atsushi AIKAWA Hitoshi TAKESHIMA

Department of Urology, National Kasmigaura Hospital

慶応義塾大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 田崎 寛教授)

篠田正幸 中藺昌明
Masayuki SHINODA Masaaki NAKAZONO

Department of Urology, School of Medicine, Keio University

(Director: Prof. Hiroshi TAZAKI)

済生会中央病院泌尿器科

家田和夫
Kazuo IEDA

Department of Urology, Saiseikai-chuo Hospital

精索静脈瘤のある乏精子症患者54例を精液所見から無効群 (A群) と有効群 (B群) に、さらに有効群を、妊娠不成立群 (C群) と妊娠成立群 (D群) に分類し、これと術前末梢血ホルモン値との関連について検討を加えた。

FSH および LH 値はD群がC群より ($p < 0.01$)、D群がA群+C群より ($p < 0.05$)、それぞれ有意に高かった。セロトニン値はB群がA群より、A群+C群がD群より有意に高かった ($p < 0.05$)。またプロラクチン値もC群がD群より、A群+C群がD群より高値を示した ($p < 0.05$)。さらにテストステロン値は、各群間で有意差を認めなかった。

FSH および LH の所見は Leydig 細胞機能から精索静脈瘤患者を分類した場合と同様であり、その機能が手術成績と強い相関関係を持つ可能性が示された。またプロラクチンは FSH, LH とともに精索静脈瘤の病態生理解明の過程として Leydig 細胞機能を検討する際の重要な要素であると考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29 (2), 145-149, 1984)

緒言

精索静脈瘤に対する高位結紮術は、男子不妊症の治療の中で成績のよいものの一つであるが、現時点では手術の結果を術前に予測しえる指標となるものは、明確にされていない。いいかえれば、根本的には精索静脈瘤の存

在が、いかにして不妊または睾丸機能不全を引き起こすか、合理的な解答がなされていないことを示している。

このような観点に立ち、われわれは選択的精索静脈造影所見と手術成績との関連についての知見を報告したが¹⁾、今回は術前の各種ホルモン値と手術成績との関連について検討を加えた。

対 象

昭和53年8月から昭和57年8までの間に男性不妊を主訴として来院した精索静脈瘤をもつ乏精子症の患者で、高位結紮術をうけ術後6か月以上経過観察ができ、さらに各種のホルモン値を測定していた54例を対象とした。精索静脈瘤の診断は、立位で Valsalva の手技をとらせておこなった。またこれらの症例の配偶者は、産婦人科科学的に異常のないことが証明されている。

方 法

1) 精子濃度およびホルモン値の測定

精子濃度は術前術後それぞれ3回以上の検査をおこない、それらの値のうち最もよいものを採用した。各種ホルモン値は外来において、午前9時から午前11時までの間に採血されたものを用い、FSH, LH, テストステロンおよびプロラクチンは、ラジオイムノアッセイで、セロトニンは液体クロマトグラフィー法にて測定した。

2) 症例の分類

術後の精子濃度が、術前値と比較して50%以上改善したものおよび妊娠が成立した症例を有効例とし、それ以外の症例は無効例とした。そして無効群（以下A群）、有効群（以下B群）に分類し、さらにB群を妊娠の成立しなかつた群（以下C群）と、成立した群（以下D群）に分類して検討を加えた。

3) 各種ホルモン値と手術成績との関連についての検討

FSH, LH, テストステロン, プロラクチンおよびセロトニンの平均値および標準偏差について算定し、下記の2群間での有意差をそれぞれ検定した。①A群とB群, ②C群とD群（有効群における妊娠不成立群と成立群の比較）および③A群+C群とD群（全体での妊娠不成立群と成立群の比較）とした。

結 果

1) 症例の分類と症例数およびホルモン値

54例中A群は22例、B群は32例であった。よつて高位結紮術の有効率は59.3%であった。またC群19例、D群13例であり、妊娠成立率は全体で24.1%であった（表1）。

各群におけるそれぞれの症例の各種ホルモンの測定値をみると、FSHはA群で1例、B群では2例（ともにD群）が、LHはA群で1例（D群）が、プロラクチンはB群のうちでC群に属するもの1例が高値を示し、その他は正常値であった。またセロトニンはA群で9例、B群でも9例（C群5例、D群4例）が低値を示し、そ

表1 症例の分類

A群（無効群）	22例(40.7%)
B群（有効群）	32例(59.3%)
計	54例(100%)
B群 { C群（妊娠不成立群）	19例(35.2%)
{ D群（妊娠成立群）	13例(24.1%)
小計	32例(59.3%)

の他は正常範囲であった。さらにテストステロンは、54例全例が正常値であった。

2) ホルモンの平均値の各群間の比較

① A群とB群

セロトニンのみが、A群 $99.5 \pm 53.6 \text{ ng/ml}$ 、B群は $102.2 \pm 33.7 \text{ ng/ml}$ であり、B群の値が有意に高かったが ($p < 0.05$)、その他のホルモン値は、2群間で有意差は認められなかつた（表2）。

表2 A群とB群間の術前各種ホルモンの平均値の比較

	A群	B群
FSH(mIU/ml)	10.8 ± 6.0	11.5 ± 6.4
LH(mIU/ml)	12.2 ± 6.9	12.9 ± 5.0
テストステロン(ng/dl)	722.7 ± 271.1	708.7 ± 287.6
セロトニン(ng/ml)	99.5 ± 53.6	102.2 ± 33.7 ($p < 0.05$)
プロラクチン(ng/ml)	10.0 ± 5.7	11.6 ± 9.2

② C群とD群

FSH値はC群が $10.3 \pm 4.1 \text{ mIU/ml}$ 、D群が $13.5 \pm 9.0 \text{ mIU/ml}$ で、LH値はC群が $11.2 \pm 2.9 \text{ mIU/ml}$ 、D群が $15.7 \pm 6.6 \text{ mIU/ml}$ であり、FSH, LH値ともにD群で有意に高かった（ともに $p < 0.01$ ）。またプロラクチン値は、C群は $13.5 \pm 11.8 \text{ ng/ml}$ でD群は $9.2 \pm 3.3 \text{ ng/ml}$ であり、C群が有意に高かった ($p < 0.05$)。しかしながらセロトニン値およびテストステロン値はともにこの2群間で有意差は認められなかつた（表3）。

③ A群+C群とD群

FSH値はA群+C群が $10.6 \pm 5.1 \text{ mIU/ml}$ 、D群は $13.5 \pm 9.0 \text{ mIU/ml}$ で、LH値はA群+C群が $11.8 \pm 5.4 \text{ mIU/ml}$ 、D群は $15.7 \pm 6.6 \text{ mIU/ml}$ であり、FSH, LH値ともにD群が有意に高かった ($p < 0.05$)。セロトニン値およびプロラクチン値は、それぞれA群+C群は $104.3 \pm 48.0 \text{ ng/ml}$ 、 $11.3 \pm 8.3 \text{ ng/ml}$ であり、ともにA群+C群の値が有意に高かった ($p < 0.05$)。またテスト

表 3 C 群と D 群間の術前各種ホルモンの平均値の比較

	C 群	D 群	
FSH (mIU/ml)	10.3 ±4.1	13.5 ±9.0	(p<0.01)
LH (mIU/ml)	11.2 ±2.9	15.7 ±6.6	(p<0.01)
テストステロン (ng/dl)	741.1 ±298.5	657.5 ±274.0	
セロトニン (ng/ml)	111.6 ±38.8	90.7 ±23.3	
プロラクチン (ng/ml)	13.5 ±11.8	9.2 ±3.3	(p<0.05)

表 4 A 群+C 群と D 群間の術前各種ホルモンの平均値の比較

	A 群+C 群	D 群	
FSH (mIU/ml)	10.6 ±5.1	13.5 ±9.0	(p<0.05)
LH (mIU/ml)	11.8 ±5.4	15.7 ±6.6	(p<0.05)
テストステロン (ng/dl)	731.2 ±280.7	657.5 ±279.0	
セロトニン (ng/ml)	104. ±48.0	90.7 ±23.3	(p<0.05)
プロラクチン (ng/ml)	11.3 ±8.3	9.2 ±3.3	(p<0.05)

A 群+C 群：全体の妊娠不成立群

ステロン値は、両群間で有意差を認めなかつた (表 4)。

考 按

精索静脈瘤における各種ホルモン値の検討は、テストステロンについては Raboch⁹⁾, Compaire⁹⁾らによつて、FSH および LH についても比較的多くの報告がなされている⁴⁻⁶⁾。またセロトニンに関しても Cockett⁹⁾らによつて言及されている。しかしながらこれらの報告では、いずれも精索静脈瘤症例と正常者または男子不妊症患者で精索静脈瘤のないものを対象として、術前術後のホルモン値の変化についての検討がなされているが、手術成績とホルモン値の関連を基盤に検討を加えたものはわれわれが調査しえた文献上は認められず、このような観点からの精索静脈瘤の病態生理の追究は興味深いものがあると考えた。

FSH および LH 値の各群間の比較をみると、有効群中の妊娠成立群の平均値が妊娠不成立群に比べて有意に高く (p<0.01)、全体における妊娠成立群と不成立群との比較でも前者が高値を示している (p<0.05)。また全群において、FSH および LH の平均値は正常範囲にあ

つた。Weiss ら¹⁰⁾が精索静脈瘤患者において、Leydig 細胞におけるテストステロンの合成能が高い群ほど、FSH および LH は高値であり、しかもそれぞれの群での平均値は、正常範囲にあつたことを報告しており、これはわれわれの手術成績と FSH および LH 値との関連を検討した結果と全く同様の傾向を示した。さらに正常者に比べ精索静脈瘤患者の血清テストステロン値が低いとする報告もあり²⁾、かつ Weiss ら¹⁰⁾は Leydig 細胞でのテストステロンの合成能と血清テストステロン値が相関することを示している。これらの事実は、精索静脈瘤患者では Leydig 細胞の機能障害が存在することを示唆していると考えられ、その障害の程度またはその障害が可逆的か否かによつて、手術成績が左右される可能性があると考えられた。また、われわれは精子濃度の改善を基準にして有効、無効を判定したが、FSH および LH 値は、有効群と無効群との間に有意差はなく、妊娠成立群と不成立群との間ではじめて有意差の存在することが判明した。この成績より考えると、有効性の判定を精子濃度以外の 2~3 の因子を加味しておこなつていたらどのような分類がなされたかという疑問が生まれてくる。まず第 1 義的に考慮されなければならないのは精子の運動率である。精子の運動機能は副睾丸において規定されるものであり¹¹⁾、さらに副睾丸の機能は Leydig 細胞で合成されるテストステロンによつて主に支配されていることを念頭に入れれば¹²⁾、精子運動率は Leydig 細胞の機能を間接的に反映していると考えられるからである。これらの概念を総合すると HCG テスト¹⁰⁾による Leydig 細胞機能の評価も精索静脈瘤という病態を解明するためには合理的な方法の一つであると思われる。また高位結紮術により、Leydig 細胞の機能が改善するかどうかという問題に関しては、直接的な所見ではないが手術後に精子運動率が改善することは古くから知られており¹³⁾、これも肯定的見解を与えうるものと思われる。今回のわれわれの検討した結果は、再び HCG テストなどによる術前術後の Leydig 細胞機能の判定と手術成績を合わせて考えることの重要性を示すと同時に、Leydig 細胞機能と男子不妊症との関連を明確にしえる方法論が存在することを推定させるものであつた。

次に FSH 値が LH に同調して変化しえることに関しては、Leydig 細胞機能を根本におき、FSH も Leydig 細胞において LH のレセプターを刺激するとともにテストステロンの合成を促進する作用があるとすれば¹³⁾、これを説明しやすくなる。しかしながら Leydig 細胞の機能の相違により、なぜ FSH および LH がこのような変化をするかという問題については、フィードバック作用との関連は当然考慮に入れるべきであるが、

いまだに明確な解答は得られていない。さらに FSH が異常高値を示す精索静脈瘤症例の辜丸組織は、精細胞を中心に強く障害されているという事実⁹⁾は、古典的な見解からすれば精細胞障害がフィードバック作用により FSH 上昇をひきおこすとも考えられるが、Leydig 細胞の機能も併わせて考慮に入れると前述のごとき簡明な機序のみでは説明しえずもつと入り組んだ複雑な機序の存在が予想され再検討すべき問題であると考えている。

テストステロンに関してのわれわれの成績では、各群間に有意差は認められなかつたが、Swerdloff¹⁾らはわれわれと同様な成績を報告している一方、前述した Raboch²⁾、Weiss¹⁰⁾らの成績も示されており、不明な点が多い。しかしテストステロンは、当然 Leydig 細胞の機能を考える上で最も重要な要素であり、合成の場を中心としてのより精密な分析が必要であることは言うまでもない。

プロラクチンは妊娠成立群が有意に低かつたが ($p < 0.05$)、この機序を明確に説明しえる論拠をみいだすことは困難である。即ちプロラクチンのレセプターは Leydig 細胞に存在し⁴⁾、LH とレセプターの結合を促進させ、さらにテストステロンの合成を促し¹⁵⁾辜丸機能を増強させる作用があることが認められているが、他方高プロラクチン血症と男子不妊症との関連も報告されており¹⁶⁾、抑制的な作用も合わせ持っている可能性も考えられ一元的にはプロラクチンの辜丸機能に対する作用を説明しえないからである。したがってプロラクチンと精索静脈瘤の関係を追究していくに際して、Leydig 細胞という場での分析が重要な課題にはなるが、プロラクチンのその他の作用も念頭に入れ、総合的な検討をおこなわなければならない。

セロトニン値は、精子濃度の分類による有効群が無効群より、また妊娠不成立群が成立群より有意に高かつた ($p < 0.05$)。今回の結果をどのように理解するか、さらにセロトニンの辜丸機能に対する関連については、あらたな検討を加えなければならないと思われる。一方、文献的にみると、精索静脈瘤患者の内精静脈血のセロトニン値がコントロール群と比較して高値を示し⁹⁾、またセロトニンはテストステロン合成を抑制するという報告もある¹⁷⁾ことから、精索静脈瘤症例においてセロトニンの動向を分析することは、従来からある精索静脈瘤における内分泌物質逆流説¹²⁾と Leydig 細胞機能の変化という現象との関連性を見い出させる可能性を持つているとも考えられ、今後の研究のまたれるところである。

一般的に精索静脈瘤が男子不妊症を引きおこす機序として、前述の腎・副腎からの内分泌物質の逆流¹⁸⁾をはじめとして、辜丸の温度調節異常¹⁹⁾および辜丸組織の酸素

分圧の低下²⁰⁾がいわれてきたが、これらの因子が辜丸機能不全に結びつく過程の証明はいまだになされていない。ここで重要な問題となつてきた Leydig 細胞機能障害とそれぞれの因子との関係について探究することは興味深いことであり、かつ精索静脈瘤と男子不妊症との関連を明らかにする過程を一步進めるものになるであろう。

文 献

- 1) 石川博通, 長倉和彦, 篠田正幸, 佐々木光信, 小山雄三, 中藪昌明, 古寺研一: 男子不妊症における精索静脈瘤—選択的精巢静脈造影所見と手術成績の関連について, 日不妊誌, 27(3): 393, 1982.
- 2) Raboch, J. and Starka, L.: Hormonal testicular activity in men with a varicocele. *Fertil. Steril.* 22: 152, 1971.
- 3) Comhaire, F. and Vermeulen, A.: Plasma testosterone in patients with varicocele and sexual inadequacy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40: 824, 1975.
- 4) Swerdloff, R. S. and Waish, P. C.: Pituitary and gonadal hormones in patients with varicocele. *Fertil. Steril.* 26: 1006, 1975.
- 5) Schiff, I., Wilson, E., Newton, R., Shane, J., Kates, R., Ryan, K. J. and Naftolin, F.: Serum luteinizing hormone, follicular-stimulating hormone and testosterone responses to gonadotropin-releasing factor in males with varicocele. *Fertil. Steril.* 27: 1059, 1976.
- 6) Rege, N., Phadke, A., Bhatt, J., Khatri, N., Sheth, A., Joshi, U. and Vaidya, R.: Serum gonadotropins and testosterone in infertile patients with varicocele. *Fertil. Steril.* 31: 413, 1979.
- 7) Pujol, R., Tolra, J. R., Navarro, M. A., Bonnin, R., Pladellourens, M. and Bernat, R.: The hormonal pattern in varicocele and its relationship with the findings of testicular biopsy: Preliminary results. *Brit. J. Urol.* 54: 300, 1982.
- 8) Micic, S., Illic, V. and Isvaneski, M.: Correlation of hormone and histologic parameters in infertile men with varicocele. *Urol. int.* 38: 47, 1979.
- 9) Cockett, A. T. K., Al-Juburi, A., Aiterbar-makin, V., Vergamini, R. F. and Caldameo, A. A.: The varicocele: A critical analysis of experimental and clinical data. *Trans. Am. Ass. G. U. Surg.* 71: 47, 1979.
- 10) Weiss, D. B., Rodriguez-Rigau, L. J., Smith, K. D. and Steinberger, E.: Leydig cell function in oligospermic men with varicocele. *J. Urol.* 120: 427, 1978.
- 11) Macleod, J.: Further observation on the

- role of varicocele in human male infertility. *Fertil. Steril.* 20 : 545, 1969.
- 12) Hamilton, D. W. and Greep, R. O. : *Handbook of physiology sec. 7 Endocrinology. vol. 5 Male reproductive system. : p 259, Washington, D. C. American Physiological Society, 1975.*
 - 13) Odell, W. D., Swerdloff, R. S., Jacob, H. S. and Hescocx, M. A. : FSH induction of sensitivity to LH : One cause of sexual maturation in the male rat. *Endocrinology.* 92 : 160, 1973.
 - 14) Charreau, K., Calandra, R. and Hansson, V. : Prolactin binding in rat testis : Specific receptors in interstitial cell. *Mol. Cell. Endocrinol.* 6 : 303, 1977.
 - 15) Bartke, A. : Effects of prolactin on spermatogenesis in hypophysectomized mice. *J. Endocrinol.* 49 : 311, 1971.
 - 16) Abbassy, A. A. and Saikali, W. A. : Hyperprolactinemia and male infertility. *Brit. J. Urol.* 54 : 305, 1982.
 - 17) Ellis, L. C. : Inhibition of rat testicular androgen synthesis in vitro by melatonin and serotonin. *Endocrinology.* 90 : 17, 1972.
 - 18) Comhaire, F. and Vermeulen, A. : Varicocele sterility : Cortisol and catecholamines. *Fertil. Steril.* 25 : 88, 1974.
 - 19) Zorogniotti, A. W. and Macleod, J. : Studies in temperature, human semen quality, and varicocele. *Fertil. Steril.* 24 : 854, 1973.
 - 20) Donohue, R. E. and Brown, J. S. : PH determination in the internal spermatic veins of subfertile men with varicocele. *Fertil. Steril.* 25 : 365, 1969.

An evaluation of varicocele in male infertility

—Comparative study of hormonal levels and operative results—

**Hiromichi Ishikawa, Atsushi Aikawa
and Hitoshi Takeshima**

Department of Urology, National
Kasumigaura Hospital

Masayuki Shinoda, Masaaki Nakazono

Department of Urology, School of
Medicine, Keio University

Kazuo Ieda

Department of Urology,
Saiseikai-chuo Hospital

Varicocele in male infertility was evaluated

based on hormonal levels of the peripheral blood and the results of operative treatment. Fifty-four oligospermic patients with varicocele were submitted to the study. The patients were divided into two groups according to the results of operative treatment; A group (no improvement in sperm count) and B group (improvement in sperm count), and B group was divided into C and D groups which represented non-conception group and conception group, respectively.

FSH and LH levels in D group were higher than those of C group with statistically significant differences ($p < 0.01$), and also the levels of these hormones in D group were higher than those of A & C group (overall non-conception group). The differences were proved to be significant statistically ($p < 0.05$). As to the serotonin level, it was higher in B and A & C group compared with those of A and D group, respectively, with statistically significant differences ($p < 0.05$). The prolactin levels in C and A & C group were higher than that of D group, respectively, with statistically significant difference ($p < 0.05$). And as to the testosterone levels, no statistically significant differences were obtained between in any group studied.

The differences of the FSH and LH levels between individual groups were the same as those in case the varicocele patients were grouped based on their Leydig cell function and it showed the possibility that the results of operative treatment for varicocele were estimated by Leydig cell function. The serotonin and prolactin levels showed differences between individual group and the findings of the prolactin levels with those of the FSH and LH suggested the importance of the precise investigation on Leydig cell function in order to elucidate pathophysiology of the varicocele in infertile men.

(受付 : 昭和58年10月4日)

ラットにおけるマストセル刺激による血中セロトニン、 ヒスタミン、プロラクチンの変動

A Study on Changes of Blood Serotonin, Histamine and Prolactin Levels through Stimulating Mast Cell in Rats

慶応義塾大学医学部泌尿器科

中 藺 昌 明 篠 田 正 幸 中 島 史 雄
Masaaki NAKAZONO Masayuki SHINODA Fumio NAKAJIMA
相 川 厚 石 川 博 通 田 崎 寛
Atsushi AIKAWA Hiromichi ISHIKAWA Hiroshi TAZAKI

Department of Urology, School of Medicine
Keio University, Tokyo

セロトニン (5-hydroxytryptamine) の辜丸重量の減少および精細管の組織学的変化については多くの報告をみているが、内因性のセロトニン分泌を高めることによつて同様な変化がみられるか否かを検討する目的で成熟ラット腸間膜、消化管壁に分布しているマストセル (mast cell) を低分子デキストランおよびポリミキシンBを腹腔内投与し、血中セロトニン、ヒスタミン、プロラクチンの経時的変化を測定すると同時に辜丸組織の変化について観察した。低分子デキストランおよびポリミキシンB投与により血中セロトニンは投与後15分後より有意な上昇を示し、その変化は90分後迄認められたが、240分後には投与前値に復した。ヒスタミンは240分値でも高値を示したが、プロラクチンは全経過を通してまったく変化がみられなかった。辜丸の組織学的変化を実験開始後90日目迄検討したが、精子形成過程に特記すべき所見を認めることはできなかった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 150-153, 1984)

セロトニン (5-hydroxytryptamine) 投与により精子形成不全、辜丸重量の減少をはじめとする辜丸機能および組織構築に異常が認められることは、Boccabella等¹⁾、Kormano等²⁾、Lui C-C等³⁾およびO'Steen等⁴⁾の報告で明らかにされている。セロトニンの辜丸の発育、および辜丸機能阻害に対する作用機序に関して2つの説が報告されている。その一つはセロトニンの血管収縮作用により spermatozoa の成熟過程が阻害されるとするものであり⁵⁾、もう一つはセロトニンのアンドロゲン代謝阻害作用に基づくものであるとされるものである^{6,7)}。我々はマストセル等の細胞に蓄えられているセロトニンを血流中に分泌させることによつて、体外より投与された場合との作用機序に相違がみられるか否かを検討することは有意義なものと考えた。ラット腸間膜および消化管壁に分布するマストセルが低分子デキストラン、アミノグ

リコシド系抗生剤によつて刺激されることに着目し⁸⁾、マストセル刺激による血中セロトニン、ヒスタミン、およびプロラクチンの変動を測定すると同時に辜丸組織について検討を加えた。

実験方法

体重 230g~250g のウィスター系ラットの雄を用いて実験した。マストセルの刺激として低分子デキストラン 0.1mg/ml、ブドウ糖 0.05g/ml、ポリミキシン B 3.0×10⁸ 単位/ml を含む溶液を体重あたり 0.012ml/g を腹腔内に投与した。

急性実験群：低分子デキストラン等を含む溶液を腹腔内に投与後、15分、30分、90分、240分後に腹部大動脈を穿刺し全採血を行った。

慢性実験群：前記溶液を 0.012ml/g 体重/日の割合で

はじめの45日間は連日腹腔内に投与し、その後の45日間は隔日投与とした。

セロトニンは全血2.5mlをEDTA加試験管に採血し、高速液体クロマトグラフィー VMD法により測定した。

ヒスタミンは Shore⁹⁾の方法の方法に準じて蛍光法にて測定した。プロラクチンはRIA法によつた。

結 果

無処置群 (N=6) のセロトニン値は1,041±237ng/ml ヒスタミン値, 3.84μg/dl およびプロラクチン値は5.5 ng/ml であつた。

Serotonin

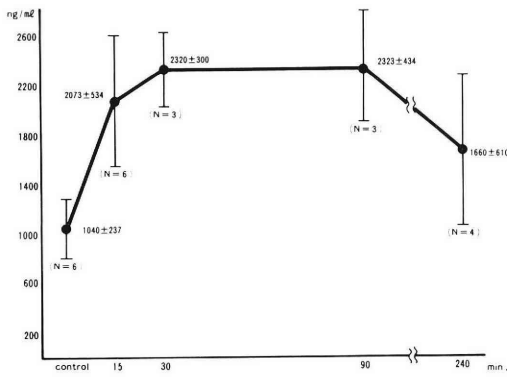


図 1 Serotonin の経時的変化

セロトニンの血中濃度の変化を図1に示した。15分群 (N=6) の値は2,073±534ng/ml と上昇しこの傾向は90分群 (N=3) まで認められたが240分群 (N=4) では、ほぼ無処置群と同様の値を示した。ヒスタミンに関しては15分, 30分, 90分群の3群では測定に足る充分量の血清を採取し得なかつた。しかし240分群では10.54μg/dl と有意に上昇していた。図2, 一方プロラクチンは15分, 30分, 90分, 240分群のそれぞれで, 5.3, 5.3,

Histamine

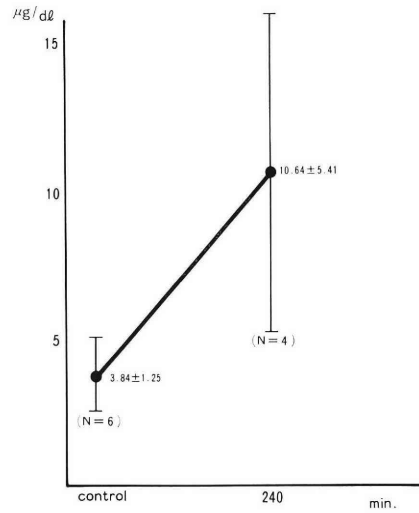


図 2 Histamine の経時的変化

Prolactin

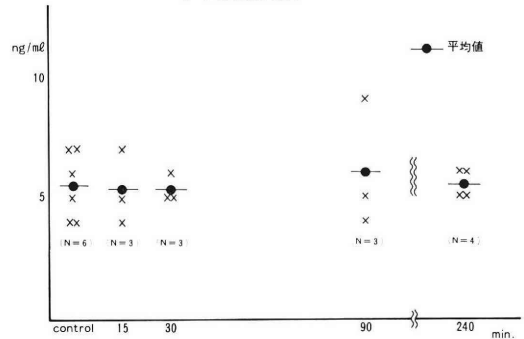


図 3 Prolactin の経時的変化

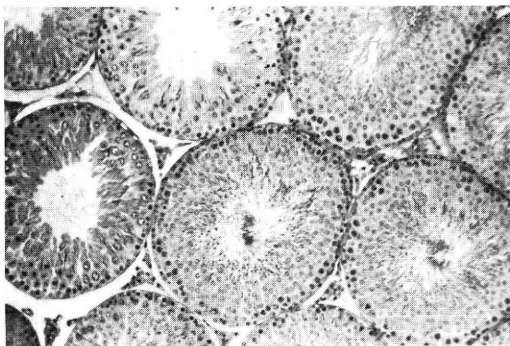


図 4A Dextran, Polymyxin B 投与後30日目の睾丸組織所見

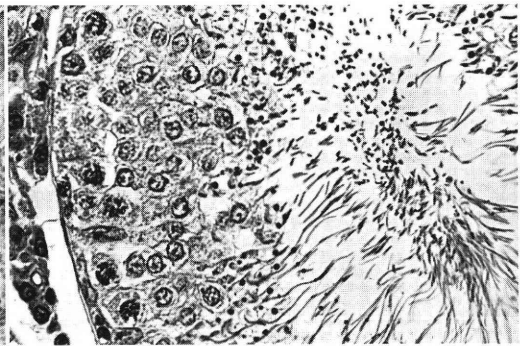


図 4B 図 4A の拡大像 Spermatogenesis の過程に特記すべき変化を認めない

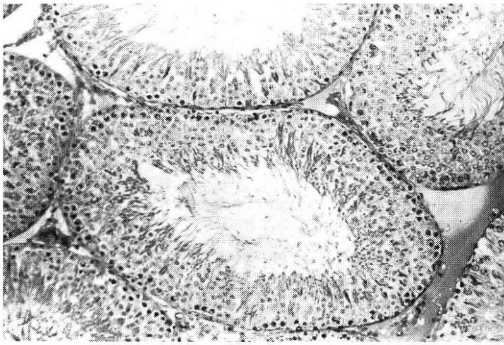


図 5A 実験開始後90日目の睪丸所見

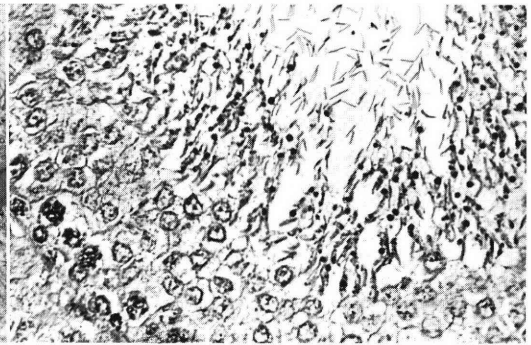


図 5B 図 4 A の拡大像. 90日目の組織所見においても Sloughing pattern を認めず, spermatogenesis の過程は保たれている

6.0, 5.5ng/ml とまったく変化がみられなかった。

慢性実験群: 投与開始後 30日, (N=4), 45日 (N=3), 90日 (N=3) の 3群に区分し組織学的変化を中心に検討した. 図 4, 5に30日群と90日群の睪丸組織所見を対比したものであるが, 組織学的変化は認められず, 90日群においても spermatozoa の成熟障害を示す明らかな所見は得られなかった。

考 察

セロトニンをはじめとして種々のアミン類 (カテコラミン, エピネフリン等), の睪丸機能阻害作用の機構について多くの研究がなされている. 特にセロトニンについては Boccabella 等¹⁾はラットに投与されたセロトニンは睪丸組織に蓄積され, その結果睪丸重量の減少を招くとしている. Lui C-C 等²⁾は成熟ラットにおいてもセロトニン投与により睪丸重量の減少さらに胚上皮の進行的破壊を伴う精細管の萎縮を認めている. 今回の実験結果では低分子デキストランおよびポリミキシンの投与によりラットは一過性のショック状態を示すと同時に15分群において正常値と比較し有意な血中セロトニン値の上昇を認め, さらに90分群迄高値が維持されているにもかかわらず, すべての慢性実験群において精子形成過程において本質的な形態学的変化を示さなかつたことは体外より投与された場合と本質的相違があるのか, また単に血中濃度およびその持続時間の長さの違いによるのかを判断とさせることができなかつた. しかし Boccabella 等の主張するようにセロトニンが睪丸組織に蓄積されるとすれば内因性セロトニンも外因性セロトニン同様睪丸組織に蓄積され睪丸機能の阻害を起すと考えられる. ここで問題になるのは睪丸組織におけるセロトニンの代謝経路である. 睪丸組織は monoamine oxidase (以下 MAO と略す) を持っていると同時にセロトニンを貯留してい

ることが知られており^{10,11,12,13)}, 幼若ラットではその活性は低く逆にセロトニン濃度が高く, 成熟するに従つてこの関係が反転し, アンドロゲン産生が活発化し, 睪丸組織が成熟すると考えられている. この結果よりこの実験結果を考えてみると, 内因性セロトニンの放出量は, その個体の持っている MAO によりすみやかに代謝される量を超えていないため, 睪丸組織内濃度は一過性に上昇するものの即座に正常範囲に復帰しえるとも考えられた. 今回睪丸重量の変化について記載しなかつたのは, 図 4, 5に示したごとく組織間にデキストランの貯留によると思われる浮腫を認めたため睪丸湿重量は必ずしも睪丸重量を示さないと考えたためである. 最近の報告⁴⁾によればセロトニンの精子形成過程におよぼす影響は直接的なものではなくプロスタグランディンの産生を介して間接的に作用していると考えられ, 精索静脈瘤を持つ男性不妊症患者においては精索静脈血中のプロスタグランジン F_{2α} 濃度は大腿静脈血中のそれよりも有意に高く, 男性不妊の治療面においてもプロスタグランジンの分泌抑制作用を持つインドメサシン (indomethacin) やアスピリンの適応の有無が検討されるに至っている. さらにセロトニンが, アンギオテンシン II の作用によりマストセルより選択的に遊離され, その遊離したセロトニンがトリプトファン水酸化酵素 (Tryptophan hydroxylase) 活性を調節すると同時に視床下部および脳幹におけるセロトニン合成過程を調整する. またアンギオテンシン II の視床下部, 脳幹刺激作用を阻害すると考えられている¹⁵⁾. セロトニンとレニン-アンギオテンシンの互に依存した2つの調節機構が, 腎-睪丸系においても作用するとすれば, 精索静脈瘤患者では, レニン-アンギオテンシン系が精索静脈への逆流を介して精索静脈血中のセロトニン濃度を上昇させ, その結果, 睪丸機能が阻害されるのではないかと考えられている¹⁶⁾. プ

ロラクチンについてはこの実験においては全実験系において変動はみられず、5~6 ng/ml と低値を示したことはすくなくともラットにおいてはプロラクチン分泌と血中セロトニン、ヒスタミン濃度とは独立した関係にあると考えられる。ヒスタミンの睾丸機能におよぼす影響についてはカテコラミン、エピネフリン等の他の生体アミンの作用を勘案しつつ今後の問題として検討する予定である。

文 献

- 1) Broccabella, A. V., Salgado, E. D. and Alger, E. A.: Testicular function and histology following serotonin administration. *Endocrinology*, 71 : 827, 1962.
- 2) Korman, M., Karhunen, P. and Kahanpaa, K.: Effect of long term 5-hydroxytryptamine treatment on the rat testis. *Ann. Med. Exp. Fenn.*, 46 : 474, 1968.
- 3) Lui C-C. and Kinson, G. A.: Testicular gametogenic and endocrine responses to melatonin and serotonin peripherally administered to mature rats. *Conception*, 7 : 153, 1973.
- 4) O'Steen, W. K.: Serotonin and histamine. Effects of a single injection on the mouse testis and prostate gland. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 113 : 161, 1975.
- 5) Chalmers, J. P.: Brain amines and models of experimental hypertension. *Circ. Res.*, 36 : 469, 1975.
- 6) Ellis, L. C.: Inhibition of rat testicular androgen synthesis in vitro by melatonin and serotonin. *Endocrinology*, 90 : 17, 1972.
- 7) Ellis, L. C. and Urry, R. L.: Direct in vivo effects of melatonin on steroid biotransformation by rat testicular tissue. *Physiologist*, 15 : 125, 1972.
- 8) West, G. B. and Harris, J. M.: Pharmacogenetics—A fresh approach to the problem of allergy. *Ann. New York Acad. Sci.*, 118 : 441, 1964.
- 9) Shore, P. A., Burkhalter, A. and Cohn, V. H. JR.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 127 : 182, 1959.
- 10) Assaykeen, T. A. and Thomas, J. A.: Endogenous histamin in male organs of reproduction. *Endocrinology*, 76 : 839, 1965.
- 11) Zieher, L. M., Debeijuk, I., Itarriza, F. et al: Biogenic amine concentrations in testes of rats at different ages. *Endocrinology*, 88 : 351, 1971.
- 12) Bhagvat, K., Blaschko, H. K. and Richten, D.: Amine oxidase. *Biochem.*, 33 : 1338,

1939.

- 13) Urry, R. L., Jaussi, A. W. and Ellis, L. C.: Simple microradiometric technique for the rapid measurement of monoamine oxidase activity in rat testicular minced and teased-tubular preparations in vitro. *Endocrinology*, 90 : 1610, 1972.
- 14) Desai, S. B., Cohen, M. S. and Orkin, L. A.: Left spermatic vein prostaglandin F₂ and levels in subfertile men with varicoceles. *Infertility*, 1 : 59, 1978.
- 15) Nahmod, V. E., Finbielman, S., Benarroch, E. E. and Pirola, C. J.: Angiotensin regulates release and synthesis of serotonin in brain. *Science*, 202 : 1091, 1978.
- 16) Caldamone, A. A., Al-Juburi, A. and Cockett, A. T. K.: The varicocele: elevated serotonin and infertility. *J. Urol.*, 124 : 683, 1980.

A study on changes of blood serotonin, histamine and prolactin levels through stimulating mast cell in rats

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

Department of Urology, School of
medicine Keio University, Tokyo

It has been proved that exogenously administered serotonin (5-hydroxy tryptamine) could decrease the testicular weight and change configuration of the seminiferous tubules in matured rats.

To evaluate whether or not endogenous serotonin could affect testicular functions of matured rats through stimulating the mast cell distributed in the mesenterium and intestinal wall by administering low molecular dextran and polymixin B into the peritoneal cavity.

Blood serotonin, histamine and prolactin levels were determined with time at 15, 30, 90, and 240 min. after the injection. The serotonin level increased up to statistically significant levels which have been kept until 90 min. At 240 min., the level went down to the normal range again. Histamine level had been kept significantly high levels until 240 min. On the other hand, no significant changes could be observed in Prolactin levels. No morphological changes of spermatogenesis could be observed in the 3 chronic study groups and the longest group was 90 days.

(受付: 昭和58年10月7日)

STUDIES ON BOAR SPERM LECTIN PURIFICATION AND PARTIAL CHARACTERIZATION

Satoru KANEKO, Kiyoshi KOBANAWA,
Toshifumi KOBAYASHI and Rihashi IIZUKA

Department Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Keio University

Shigeru OSHIO

Department of Biology, University of Tokyo

Abstract: Potent sheep erythrocyte agglutination activity was found in the acetic acid or Triton X-100 extracts of boar sperm. The frozen sperm pellet prepared from 45 ml of semen was extracted with 2% (v/v) acetic acid, pH 2.6, then purified by Sephadex G-150 gel filtration and following by SP Sephadex C-50 chromatography. The purified boar sperm lectin (BSL) gave the specific activity, which was defined as the minimum protein concentration for hemagglutination, of 0.0017 A 280/ml with the recovery of 40%.

Disc gel electrophoretogram (pH 4.3) had a staining band with relatively slow mobility, and the densitometric analysis indicated that this band consisted of 3 peaks. The apparent molecular weight (MW) was estimated to be 7.0×10^4 by Sephadex G-150 gel filtration, and the pore gradient SDS slab gel (5-20% (w/v) polyacrylamide) electrophoretogram gave 3 bands of which MW were 1.6, 1.5 and 1.3×10^4 . These results indicated that BSL might be composed of 4 subunits (tetramer).

The effect of metal ions, chelating agent and carbohydrates on the hemagglutination activity of BSL were examined, and it was found that xylose, glucosamine and galactosamine inhibited weakly, whereas the other substances had no influence.

Keywords: boar sperm, lectin, hemagglutinin, sheep erythrocyte, acid extract, subunit.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 154-160, 1984)

Introduction

Many hemagglutinins (lectins) have been isolated from plants, invertebrates and lower vertebrates, and their properties have been studied in detail. In contrast, relatively little information is available concerning mammalian lectin or carbohydrate binding factor. Lectins were found in rabbit hepatic cells^{1,2)} and in calf heart and lung³⁾, and the former was considered to relate to the pynocytosis of circulating asialoglycoproteins by the liver⁴⁾. It is suggested that these lectins play important roles in mammalian tissues.

In the fertilization processes, mammalian sperm must firmly bind to the external surface

of the zona pellucida (ZP), a glycoprotein envelope of the ovum⁵⁾. The biochemical mechanism of this process remains obscure, although it is presumed that binding of the sperm to the ZP may be mediated by some components located on the sperm and ovum surfaces⁶⁾. This was supported logically by the facts that any conditions or reagents which might alter the chemical properties of these components would either promote or block the sperm binding to the ZP⁶⁾.

The authors attempted to ascertain the sperm binding factor from mammalian sperm, assuming that this binding also might be mediated through the carbohydrate binding factor (lectin) of sperm. Thus, as the first step in

the screening of this factor, the hemagglutination activities were examined in boar sperm extracts. A potent activity of sheep erythrocyte agglutination was found in acid or detergent extracts of boar sperm. The present paper deals with the purification and partial characterization of boar sperm lectin (BSL).

Experimental

Boar semen

Fresh ejaculated boar semen was obtained from the Kanagawa Life Stock Improvement Association (Kanagawa, Japan). Semen was centrifuged ($11,000 \times g$ for 20 min at 4°C) and the sperm pellet was stored at -20°C .

Determination of protein concentration

Protein concentration was estimated spectrophotometrically from absorbance at 280 nm (A 280, Hitachi spectrophotometer Type 220).

Preparation of glutaraldehyde-fixed sheep erythrocytes

Washed sheep erythrocytes were suspended in phosphate buffered saline (PBS) to make up to 10% (v/v) solution, and were treated with 1.0% (v/v) glutaraldehyde for 1 hr with gentle stirring. The fixed erythrocytes were washed several times with 1.0 mM glycine in PBS, and then with 0.01% (v/v) NaN_3 in PBS. The glutaraldehyde-fixed sheep erythrocytes were used for the following assay unless otherwise mentioned.

Determination of hemagglutination activity

Hemagglutination activity was determined by serial 2-fold dilution of the sample in microtiter U-plates. In this investigation, samples were always dissolved in 2% (v/v) acetic acid pH 2.6, so the first dilution was performed with 1.0 M Tris-HCl, pH 7.5, for neutralization, and then followed by PBS. The dilution was performed immediately before assay. The well of the microtiter U-plate contained equal volumes of sample and 2% (v/v) erythrocytes suspension, and the test mixture was allowed to stand at room temperature for 1 hr. The hemagglutination activity was recorded as titer.

Effect of various substances on hemagglutination

Metal ions, chelating agent and carbohydrates were dissolved in 0.05 M Tris-HCl,

0.15 M NaCl, pH 7.5, and purified BSL was diluted with the same buffer to give a 4-fold concentration as compared with the minimum concentration for hemagglutination. Sample and diluted BSL ($50 \mu\text{l}$ each) were preincubated for 30 min in the well, then $100 \mu\text{l}$ of 2% (v/v) erythrocytes suspension resuspended in the above buffer was further added in the mixture. The hemagglutination was observed after 1 hr.

Gel electrophoresis

Disc gel electrophoresis was performed with 7.5% (w/v) polyacrylamide gel at pH 4.3. One gel was stained with Coomassie Brilliant Blue (CBB) and the electrophoretogram was analyzed with Shimazu dual densitometer CS 901. Another gel was sliced into 2 mm widths to determine the hemagglutination activity. Each sliced gel piece was shaken in 0.2 ml of 1 mM HCl overnight at 4°C , and estimated for activity.

Purified BSL was denaturated in 0.1% (w/v) SDS, 0.01 M phosphate buffer, pH 7.0, with or without 0.1% (v/v) 2-mercaptoethanol, by boiling for 5 min. SDS disc gel electrophoresis⁷⁾ and the pore gradient SDS slab gel electrophoresis⁸⁾ were performed with 10% (w/v) and 5-20% (w/v) polyacrylamide gel, respectively. The gels were stained with CBB.

Chemicals

Sephadex G-150 and SP Sephadex C-50 were the products of Pharmacia Fine Chem. (Uppsala, Sweden). Chemicals used in the course of study were the reagent grade.

Results

Preliminary experiment for purification of boar sperm lectin

To determine the extraction coefficients of various solvents, the frozen sperm pellets prepared from 5.0 ml of boar semen were extracted once with 8.0 ml of the solvents shown in Table I, centrifuged at $35,000 \times g$ for 20 min at 4°C , and then estimated for the hemagglutination activities of their supernatants. As shown in Table I, Triton X-100 gave the highest titer among the examined solvents. On the other hand, PBS containing glycerin or n-ButOH saturated PBS were ineffective.

Although the extraction coefficient of Triton

Table I The extraction coefficients of various solvents for boar sperm lectin

	A 280/ml	I/titer	S.A. ²⁾
2% (V/V) acetic acid	7.12	256	0.028
2% (V/V) acetic acid+10% (V/V) glycerin	7.64	256	0.030
Phosphate buffered saline(PBS)	4.85	32	0.150
PBS+10% (V/V) glycerin	5.64	32	0.180
PBS+1.0% (V/V) Triton X-100	— ¹⁾	512	— ¹⁾
n-ButOH saturated PBS	5.40	16	0.340

1) Absorbance at 280 nm could not be determined by the presence of Triton X-100

2) S.A. : specific activity was defined as the minimum amount of protein concentration causing hemagglutination (A 280/ml×titer)

X-100 was superior, this agent was found unsuitable for the purification procedure. This is because it interfered with the protein concentration monitoring due to absorbance at 280 nm, and the elimination of Triton X-100 caused autoagglutination of BSL and diminished the hemagglutination activity in the supernatant. Thus the extraction of BSL was performed with 2% (v/v) acetic acid. Even extracted with this solvent, neutralization, change of pH or dialysis also induced autoagglutination of BSL. Therefore, all purification processes were carried out as soon as possible in 2% (v/v) acetic acid at 4 °C.

When the hemagglutination activities of BSL against native and glutaraldehyde-fixed sheep erythrocytes were compared each other, glutaraldehyde treatment gave no influence on the titer. Therefore, purification and characterization of BSL were performed using glutaraldehyde-fixed sheep erythrocytes.

Purification of boar sperm lectin

The frozen sperm pellet prepared from 45 ml of fresh ejaculated boar semen was thawed and extracted 3 times with 6.0 ml of 2% (v/v) acetic acid. Insoluble materials were removed by centrifugation (35,000×g, 30 min at 4 °C). The combined extract (17.5 ml) was applied on Sephadex G-150 column (2.5×90 cm) equilibrated with 2% (v/v) acetic acid and eluted with the same solution (Fig. 1). Hemagglutination activity was found in the fractions 38-58 as a single peak, and the fractions 43-54 were pooled.

The pooled active fraction (47.5 ml) was made up to 0.5 M NaCl solution by addition of solid NaCl, and then applied on SP Sephadex C-50 column (1.5×30 cm) which was equi-

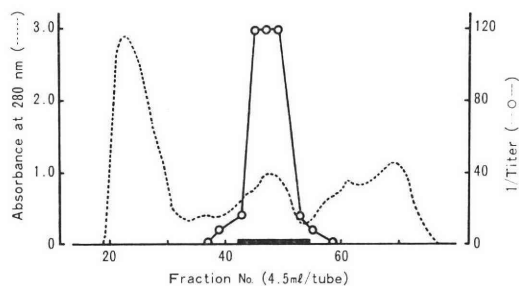


Fig. 1 Sephadex G-150 gel filtration of acid extract from boar sperm

■ : Pooled fractions

librated with 0.5 M NaCl, 2% (v/v) acetic acid, pH 2.6. Non-adsorbed materials were washed out with 0.6 M NaCl, 2% (v/v) acetic acid. The elution of the activity was performed by linear gradient with 0.6 to 1.2 M NaCl in 2% (v/v) acetic acid. It was found in the fractions 64-101 (67-90 m mho/cm), and the fractions 71-97 were pooled (Fig. 2).

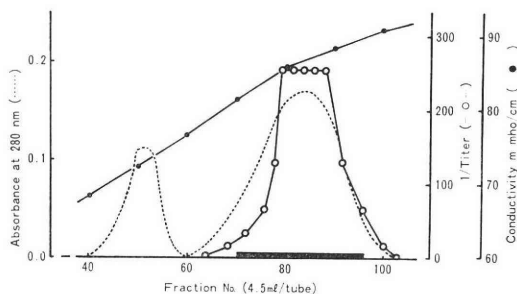


Fig. 2 SP Sephadex C-50 chromatography of boar sperm lectin following Sephadex G-150 gel filtration

■ : Pooled fractions

The purity of the pooled fraction from SP Sephadex C-50 was examined by disc and SDS disc gel electrophoresis. A portion of the pooled fraction was dialyzed against 1 mM HCl at 4 °C overnight. The disc gel electrophoretogram gave a protein staining band with a relatively slow mobility, and the densitometric analysis demonstrated that the band consisted of 3 peaks (Fig. 3, a). The profile of hemagglutination activity extracted from the sliced gels coincided with the staining band. From these results, it was considered

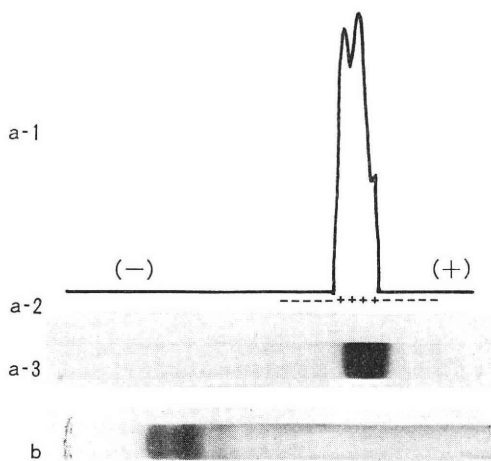


Fig. 3 Disc and SDS disc gel electrophoresis of purified boar sperm lectin

- a-1 Densitometric tracing profile
Scanning was performed with dual wave length densitometer at 750 nm (sample) and 550 nm (reference).
- a-2 Hemagglutination activities in the sliced gels.
+ : agglutination
- : not agglutination
- a-3 Coomassie Brilliant Blue stained gel
- b SDS disc gel electrophoretogram

that BSL was purified to a homogeneous state by 2 steps of chromatography.

Although the purified BSL was denaturated without 2-mercaptoethanol, their SDS disc gel electrophoretogram gave the similar profiles with 3 bands located near the front dye. Fig. 3, b showed only the profile of BSL denaturated without 2-mercaptoethanol.

The purification processes were summarized in Table II. The specific activity of BSL was defined as the minimum amount of protein concentration causing hemagglutination. After 2 steps of chromatography, BSL gave the specific activity of 0.0017 A 280/ml and was purified 9.4 fold from the original extract. The total titer in each step was defined as $1/\text{titer} \times \text{total A 280}$, and the recovery was approximately 40%.

Estimation of the molecular weight of purified boar sperm lectin

The MW of purified BSL was estimated by gel filtration according to the method of Andrews⁹⁾ and the pore gradient SDS polyacrylamide slab gel electrophoresis⁸⁾. The mixture of MW standards were applied on Sephadex G-150 column (1.0×90 cm) equilibrated with 0.2 M NaCl, 0.05 M Tris-HCl, pH 8.0, and eluted with the equilibrium buffer. Then the purified BSL was applied on the same column, which was re-equilibrated and eluted with 2% (v/v) acetic acid. The MW of BSL was analyzed from the elution profiles of the MW standards, and estimated to be 7.0×10^4 (Fig. 4, a).

Fig. 3, b showed the 3 bands of low MW's and they were determined to be 1.6, 1.5 and 1.3×10^4 by the pore gradient SDS slab gel electrophoresis (Fig. 4, b). These results suggested that BSL was composed of the subunits and they might relate to the multiple forms of BSL shown on the disc gel electro-

Table II Summary of purification of boar sperm lectin

	Volume (ml)	A280/ml	Total A280	1/Titer	S.A.	P.F.	Total 1/Titer	Yield (%)
Acid Extract	17.5	15.9	287	1024	0.016	1	17920	100
Sephadex G-150	47.5	0.688	32.7	256	0.0027	5.8	12160	68
SP Sephadex C-50	110	0.106	11.7	64	0.0017	9.4	7040	40

a) S.A.: see Table I

b) P.F.: Purification Factor

c) Total 1/Titer: Total A 280×1/Titer

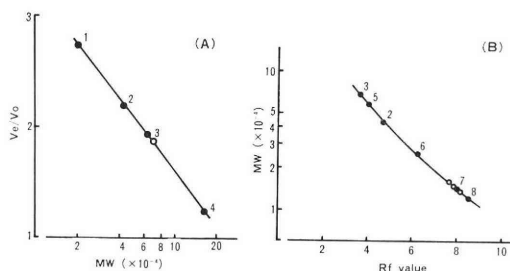


Fig. 4 Estimation of the molecular weight of boar sperm lectin by Sephadex G-150 gel filtration and pore gradient SDS slab gel electrophoresis

(A) Sephadex G-150 gel filtration

(B) Pore gradient SDS slab gel electrophoresis

Molecular weight standards: 1. Soybean trypsin inhibitor, 2. Ovalbumin, 3. Bovine Serum albumin, 4. Rabbit immunoglobulin G, 5. Catalase, 6. Chymotrypsinogen, 7. Lysozyme, 8. Cytochrome C

phoretogram (Fig. 3, a).

Effects of metal ions and chelating agent on hemagglutination of boar sperm lectin

Metal ions (CaCl_2 , MgCl_2 , MnSO_4 , ZnCl_2 and FeCl_3), their combinations ($\text{CaCl}_2 + \text{MgCl}_2$, $\text{CaCl}_2 + \text{MnSO}_4$) and EDTA were adjusted to 4.0 mM, and their effects were examined. All the metal ions and their combinations examined gave no influence on hemagglutination titer of BSL, although the effects of ZnCl_2 and FeCl_3 could not be observed because of their own agglutination activities. EDTA also had no effect.

Inhibition of hemagglutination by carbohydrates and their derivatives

Various carbohydrates listed in Table III were adjusted to 40 mM, and examined the inhibitory activities. BSL was inhibited weakly by xylose, glucosamine and galactosamine, but not by others. Glucose, galactose and their N-acetyl amino derivatives had no influence on the titer, whereas those of amino derivatives inhibited BSL.

Amino acid composition of purified boar sperm lectin

Amino acid composition was analyzed by Hitachi Amino Acid Analyzer Type 835. Total amino acids of BSL was estimated to be 487, which value was calculated from the apparent MW 7.0×10^4 by Sephadex G-150

Table III Effects of various carbohydrates on hemagglutination of boar sperm lectin

Carbohydrates	
Glucose	—
Mannose	—
Galactose	—
Fructose	—
Sucrose	—
Maltose	—
Fucose	—
Xylose	+
Galactosamine	+
Gulcosamine	+
N-acetyl-galactosamine	—
N-acetyl-gulcosamine	—
Methyl-mannose	—

gel filtration, and MW based on the amino acids composition was 60, 932 (Table IV). It was expected from the chromatographic attitude of BSL on SP Sephadex C-50 that the acidic amino acids were relatively poor in composition, whereas Aspartic acid and Glutamic acid were found to be rich.

Table IV Amino acid composition of boar sperm lectin

Asp	45
Thr	18
Ser	54
Glu	37
Gly	69
Ala	33
Val	8
Cys	4
Met	2
Ile	11
Leu	24
Tyr	20
Phe	19
Lys	29
His	12
Arg	24
Asn	41
Pro	37
Trp	n.d.

n.d.: not determined

Discussion

Aketa et al.¹⁰⁾ isolated an acid soluble fraction from sea urchin sperm which reduced the fertilizability of homologous, but not heterologous, eggs by preventing sperm binding to the eggs. Vacquier et al.¹¹⁾ extracted sea urchin sperm with Triton X-100, and obtained a granular material from acrosomal vesicle. After purification, it was found that this material, bindin, play an important role in the binding of sperm to eggs, which was suggested by species specific agglutination of unfertilized eggs^{12), 13)}.

Although little is known about the biochemistry of mammalian sperm-ovum binding, sperm interacts with ZP in a species specific manner^{14, 15)}. A heterologous sperm neither binds to ZP nor fertilizes the intact ovum¹⁵⁾, but after removal of the ZP, penetration by the heterologous sperm occurs in some species¹⁶⁾. The solubilized ZP preparation inhibited the binding of capacitated sperm to the ovum and blocked fertilization *in vitro*¹⁷⁾. Moreover, treatment of the unfertilized hamster ovum with wheat germ agglutinin, which was specific towards N-acetyl D-glucosamine, caused a significant decrease in the fertilizability, and this was also due to the prevention of the sperm binding to the ovum¹⁸⁾. These facts suggested that the ovum contained the sperm receptor on the ZP, and specific recognition between sperm and ovum might be involved in the fertilization processes.

The present authors considered that sperm binding factor interacted with the surface glycoproteins on the ZP, and might possess hemagglutination activity. For the extraction of sperm, various solvents shown in Table I were adopted on the basis of the information concerning sea urchin bindin. Potent activity of sheep erythrocytes agglutination was found in the extract of boar sperm. The examined solvents except acetic acid and Triton X-100 gave low extraction coefficients (Table I), and the requirement of the detergent for the extraction suggested, but did not prove, that BSL was a component of sperm membrane. Acrosin, a membrane bound sperm acrosomal proteinase, was also extracted with Triton X-100¹⁹⁾ or 2% (v/v) acetic acid²⁰⁾, and the extraction coefficient was increased by addi-

tion of 10% (v/v) glycerin in 2% (v/v) acetic acid.²¹⁾ A similar effect, however, was not observed with BSL.

BSL was solubilized in a stable form MW of 7.0×10^4 below pH 3. When Sephadex G-150 gel filtration was performed under a neutral conditions, the activity was distributed from void volume to MW 7.0×10^4 fraction because of autoagglutination. Even sample was neutralized immediately before assay, it might polymerize during incubation. Therefore, it remained obscure whether MW 7.0×10^4 form of BSL was mono or multi-valent for hemagglutination.

The results shown in Fig. 4 indicated that the native form BSL might be composed of a tetramer. Although the apparent MW of BSL was estimated to be 7.0×10^4 by Sephadex G-150 gel filtration, this value might have decreased accuracy because the gel filtration of BSL and the MW standards could not be performed in the same equilibrium buffer. MW 60,932 calculated from the total amino acids gave good agreement towards the expected MW of the tetramer of 5.2 to 6.4×10^4 by the pore gradient SDS slab gel electrophoresis.

Although the other animal lectins so far studied, such as rabbit hepatic asialoglycoprotein binding factor^{1, 2)} and the major cell surface glycoprotein of chick embryo fibroblast²²⁾, were shown to require the presence of Ca^{2+} for activation, such requirement could not be demonstrated with BSL. The lectins isolated from calf heart and lung were also active in the absence of Ca^{2+} ³⁾. Since the examined metal ions and their combinations did not affect the titer of BSL, it might not require the metal ion for activation.

In the course of screening of sperm-ovum binding factor, the potent activity of hemagglutination was found in boar sperm, and the physiological role of BSL in the fertilization processes should be studied in the further reports using this purified materials.

Acknowledgement

We wish thanks to Professor H. Mohri, University of Tokyo, and Professor S. Akihama, Meiji College of Pharmacy, for their valuable advice given throughout this study.

References

- 1) Hudgin, R. L., Pricer, W. E., Ashwell, G., Stockert, R. J. and Morell, A. G.: The isolation and properties of a rabbit liver binding protein specific for asialoglycoproteins. *J. Biol. Chem.*, 249 : 5536, 1974.
- 2) Kawasaki, T. and Ashwell, G.: Chemical and physical properties of hepatic membrane protein that specifically binds asialoglycoproteins. *J. Biol. Chem.*, 251 : 1296, 1976.
- 3) Waard, A., Hickman, S. and Kornfield, S.: Isolation and properties of β -galactoside binding lectins of calf heart and lung. *J. Biol. Chem.*, 251 : 7581, 1976.
- 4) Tulkens, P., Schneider, Y. J. and Trouet, A.: Protein Turnover and Lysozyme Function, ed. by Segal, H. L., Doyle, D. J., p 719, Academic Press, New York, 1978.
- 5) Riko, L.: Fertilization, ed. by Metz, B. C., Monroy, A., p 325, Academic Press, New York, 1969.
- 6) Yanagimachi, R.: Fertilization and Embryonic Development, ed. by Mastroianni, L., Biggers J. D., p 123, Plenum, New York, 1981.
- 7) Weber, K., Pringle, J. R. and Osborn M.: Measurement of molecular weight by electrophoresis on SDS acrylamide gel. *Methods Enzymol.*, 26 : 3, 1969.
- 8) Foissy H.: An apparatus for the direct preparation of four gradient gels in slab gel electrophoretic cells. *J. Chromatog.*, 106 : 51, 1975.
- 9) Andrews, P.: Estimation of molecular weights of proteins by sephadex gel filtration. *Biochem. J.*, 91 : 222, 1964.
- 10) Aketa, K., Miyazaki, S., Yoshida, M. and Tsuzuki, H.: A sperm factor as the counter part to sperm binding factor of the homologous eggs. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 80 : 917, 1978.
- 11) Vacquier, V. D. and Moy, G. W.: Isolation of bindin: the protein responsible for adhesion of sperm to sea urchin eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 74 : 2456, 1977.
- 12) Glabe, G. C. and Vacquier, V. D.: Species specific agglutination of eggs by bindin isolated from sea urchin eggs. *Nature.*, 267 : 836, 1977.
- 13) Glabe, G. C. and Lennarz, W. J.: Species specific sperm adhesion in sea urchins. A quantitative investigation of bindin mediated egg agglutination. *J. Cell. Biol.*, 83 : 595, 1979.
- 14) Bedford, J. M.: Sperm-egg interaction: the specificity of human spermatozoa. *Anat. Res.*, 188 : 477, 1977.
- 15) Hartmann, J. F., Gwatkin, R. B. L. and Hutchinson, C. F.: Early contact interactions between mammalian gametes in vitro: Evidence that the vitellus influences adherence between sperm and zona pellucida. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 69 : 2767, 1972.
- 16) Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. and Rogers, B. J.: The use of zona free animal ova as a test system for assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 15 : 471, 1976.
- 17) Gwatkin, R. B. L. and Williams, D. T.: Receptor activity of hamster and mouse solubilized zona pellucida before and after the zona reaction. *J. Reprod. Fert.*, 49 : 55, 1976.
- 18) Oikawa, T., Yanagimachi, R. and Nicolson, G. L.: Wheat germ agglutinin blocks mammalian fertilization. *Nature.*, 241 : 256, 1973.
- 19) Stambaugh, R. and Buckley, J.: Studies on acrosomal proteinase of rabbit spermatozoa. *Biochim. Biophys. Acta.*, 248 : 473, 1972.
- 20) Kaneko, S. and Moriwaki, C.: Studies on acrosin I. Purification and characterization of boar acrosin. *J. Pharm. Dyn.*, 4 : 20, 1981.
- 21) Schill, W. B.: The influence of glycerol on the extra-ability of acrosin from spermatozoa. *Z. Physiol. Chem.*, 355 : 225, 1974.
- 22) Yamada, K. M., Yamada, S. and Pastan, I.: The major cell surface glycoprotein of chick embryo fibroblasts is an agglutinin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 72 : 3158, 1975.

ブタ精子レクチンの精製とその性質

兼子 智, 小林俊文, 小埜 清, 飯塚理八

慶応義塾大学医学部産婦人科

押尾 茂

東京大学教養学部生物

哺乳類における卵-精子接着, 種認識には卵膜, zona pellucida の糖蛋白成分が深く関与していると考えられている。赤血球凝集活性を指標として精子中の糖蛋白結合因子を検索した結果, ブタ精子酸抽出液中に強力なヒツジ赤血球凝集活性を見出したものでこれを精製し, 性質の一部を検討した。

ブタ精子 2% 酢酸抽出液を酸性条件下 (pH 2.6) にゲル濾過, SP セフアデックスイオン交換クロマトグラフィを行ない, ディスク電気泳動的に均一な標品を得た。ゲル濾過法により得た分子量は約 7 万, また SDS ゲル電気泳動法により 1.6, 1.5, 1.3 万の分子量を得, ブタ精子レクチンはサブユニット構造を有することを認めた。赤血球凝集活性はグルコサミン, ガラクトサミン, キシロースにより阻害されたが, 金属イオン, EDTA などは無効であった。

(受付: 昭和58年10月8日)

下垂体小人症に合併した停留辜丸，症例 およびその病態生理と治療について

Cryptorchidism in Pituitary Dwarfism : Case Presentation and its Pathophysiology and Treatment

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室

公平 昭男 野口 和美 大島 博幸
Teruo KODAIRA Kazumi NOGUCHI Hiroyuki OSHIMA

Department of Urology, School of Medicine
Yokohama City University

横浜市立大学医学部小児科学教室

大久保 慎一
Shin-ichi OKUBO

Department of Pediatrics, School of Medicine
Yokohama City University

下垂体小人症に合併した2例の停留辜丸症例を報告し、その成立及び治療について考按した。第1例は15歳、GH 分泌不全に二次性の甲状腺、性腺、副腎機能不全を合併、障害部位は視床下部と思われた。右側ソケイ部停留辜丸に対し辜丸固定術が施行された。辜丸組織像は未熟像を示した。第2例は13歳、GH 分泌不全に二次性の甲状腺、性腺および副腎機能不全を合併、障害部位は下垂体と思われた。両側ソケイ部停留辜丸に対し辜丸固定術を施行した。

複合型障害を合併した下垂体小人症に停留辜丸の合併例が多いことをのべ、Gonadotropin 分泌不全にその成立は基因していると想定した。

本症の治療方針については、まず、辜丸固定術を施行。しかるのちに、適切な時期に外因性 androgen にて二次性徴を導入発現させ、成人にいたるまで辜丸を未分化の状態に保持し、必要な時期にゴナドトロピン治療による妊孕性獲得を計るのが実際的であるとのべた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 161-167, 1984)

はじめに

下垂体小人症に合併した停留辜丸の成立および治療に関してのディスカッションは、ほとんどみられない。このたび下垂体小人症に合併した停留辜丸の2例を経験したので、報告すると共に、その成立および治療についての考え方、さらに下垂体小人症における二次性徴発現、妊孕性獲得の問題についても若干の考按をおこなった。

症 例

症例 1 ■■■ 15歳、男性 S 51.8 (8歳2か月) に低身長を主訴として当小児科受診。当時身長は107cm 結(標準身長の-3SD)、骨年齢は3歳(Grunlich-Pyle アトラス)であつた。諸検査の果、Growth Hormone (GH) 分泌低下、甲状腺機能低下が認められた。S54.6 (11歳)には身長117.7cm と依然として低いためヒト成長ホルモンの投与を開始した。S57.4 (14歳)では、身長137cm、骨年齢は10歳に達するもこの時点では二次性

徴の発現がみられないため、当泌尿器科へ紹介された。外陰部は、Marshall-Tanner の分類で1度であり、右ソケイ部停留辜丸を認めた。右停留側辜丸は16×10mm、反対側辜丸も16×10mm であった。S57.7、右辜丸固定術施行(図1)。

術前の検査所見では、末梢血、血液生化学検査、検

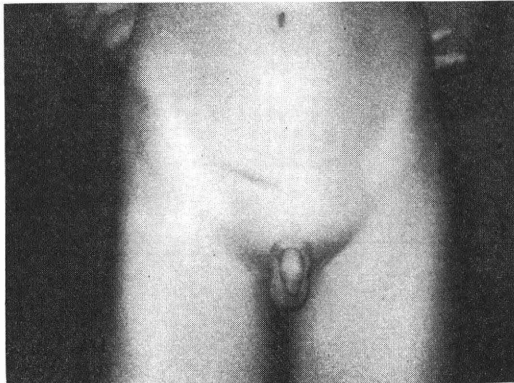


図1 症例1 15歳の外陰部 (右辜丸固定術後)

尿、腎盂撮影像、トルコ鞍 X-P 像ともすべて正常範囲であった。

内分泌的検査(8歳2カ月、小児科入院時)では、アルギニン及びビインシュリン負荷にてGHの上昇反応なく、GH分泌低下と判定した。甲状腺機能に関しては、レゾマット T₃U、T₄Ria、I¹³¹uptake]では共に低値であり機能低下が認められた。Thyroid Stimulating Hormone (TSH) 負荷により I¹³¹uptake は明らかに増加を示し、これから甲状腺原発性の機能低下ではないことが判明した。さらに Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) 負荷により TSH の反応をみたところ、明らかな増加を示したため甲状腺機能の低下は視床下部性の障害と判定した。ACTH 系の検査では、インシュリン負荷後の血中 cortisol の上昇が見られず、ACTH に軽度反応があることより ACTH 分泌不全が示唆された。

(表-1)。

性腺系については、(11歳、泌尿器科入院時) human Chorionic Gonadotropin (hCG) 2,000 IU 一回投与、72時間後に末梢血中テストステロン濃度は基礎値20

表1 内分泌的検査 (症例1 その1)

・ GH	前値	ピーク値		
(arginine 負荷)	2.45	2.5 (ng/ml)		
(Insulin 負荷)	2.90	2.8		
・ RT ₃ U 18.4%	T ₄ Ria	4.8 (μg/dl)		
I ¹³¹ up-take (24時間値)	前	後		
(TSH 負荷)	8.3	37.2 (%)		
・ TSH	前	30'	60'	120'
(TRH 500 μg/m ² 負荷)	9.0	35.0	32.0	52.0 (μu/ml)
・ Cortisol	前	60'	120'	
(Insulin 負荷)	98	92	79 (ng/ml)	
(ACTH 負荷)	92	120		

表2 内分泌的検査 (症例1 その2)

・ Testosterone	前	後				
(HCG 2000 IU 負荷)	20↓	131 (ng/dl)				
・ LH, FSH	前	15'	30'	60'	60'	120'
(LH-RH 負荷)	前	15'	30'	60'	60'	120'
(第1回)	LH : 1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓ (mlU/ml)
	FSH : 1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓
(連続負荷後)	前	15'	30'	60'	90'	120'
	LH : 1.0↓	4.4	3.3	1.0↓	1.0↓	2.8
	FSH : 1.8	4.1	2.8	2.4	2.2	3.4

ng/dl 以下から131ng/dl へ上昇を示し、睾丸内分泌機能の反応性は、正常と考えられた。下垂体よりの Luteinizing Hormone (LH) 及び Follicle Stimulating Hormone (FSH) に関しては、第一回の LH-Releasing Hormone (LH-RH) 刺激試験で末梢血中 LH, FSH 濃度は前値および反応値共に低く、測定不能で無反応と判定されたが LH-RH $150\mu\text{g}/\text{m}^2$ 3日間連続刺激後の LH-RH 試験では、ピークは低いものの明らかな反応を示した。この結果から性腺系についても視床下部の障害と考えられた(表2)。睾丸固定術時、試験採取した睾丸組織では、図の如く精細管は閉塞しており、その中に未熟なセルトリー細胞と少数のいわゆる gonocyte が存在し、ライディッヒ細胞は認められず典型的な未熟な睾丸組織像を示し、二次性睾丸機能不全像を示した(図2, 3)。

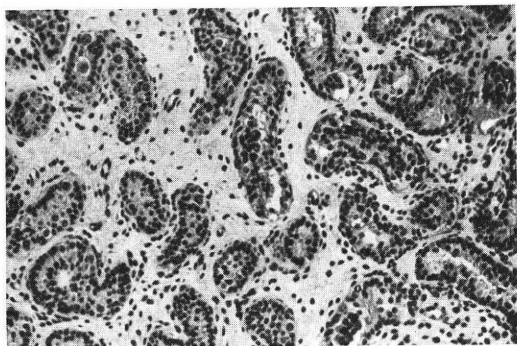


図2 症例1 15歳の停留側睾丸 生検組織：精細管は未熟で管腔は開いておらず、未熟なセルトリー細胞と少数の gonocyte が存在する。ライディッヒ細胞は認められない。(×40)

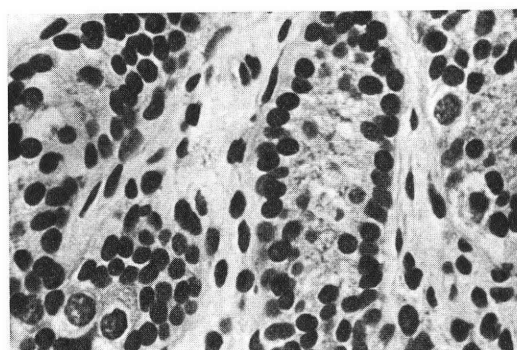


図3 症例1 15歳の停留側睾丸 生検組織：精細管は未熟で管腔は開いておらず、未熟なセルトリー細胞と少数の gonocyte が存在する。ライディッヒ細胞は認められない。(×200)

以上から、本例は、視床下部性の障害による二次性甲状腺機能低下、二次性性腺機能不全が存在している状態

であり、二次性副腎不全と GH 分泌不全も同じ機構によるとすれば、これらも視床下部性のものと想定された。

症例2 13歳、男 S51.8 (7歳)低身長を主訴として当小児科受診。当時身長は97cm、(標準身長より-4.5 SD) 骨年齢は2.6歳であった。第1例同様、この症例もGH分泌低下、甲状腺機能低下が認められた。本症例では、甲状腺製剤の投与により enthyroid の状態を保ったが S54.6 (9歳8か月)の時点で身長 109cm、骨年齢3歳のためヒト成長ホルモン投与を開始した。S57.6 (12歳8か月)身長116.9cm、骨年齢7歳であったが、外陰部は Tanner の分類で1度、両側ソケイ部停留睾丸を認めた。右睾丸 8×5 mm、左睾丸 7×5 mm であった。S57.8 両側睾丸固定術施行。

術前の諸検査所見としては、末梢血、血液生化学検査、検尿、腎盂撮影像、トルコ鞍 X-P 像ともに、すべて正常範囲であった。内分泌検査では、(7歳、小児科入院時)まず GH は、アルギニンおよびインシュリン負荷にても、上昇なく GH 分泌低下と判定した。甲状腺系については、レゾマット T_3 , T_4 Ria, I^{131} uptake の低下が認められた。TRH 負荷による TSH の反応がみられないため本症の甲状腺機能低下は下垂体性障害と判定した。副腎系については、コーチゾールの基礎値、および反応値から障害部位の決定はできないが、二次性副腎機能不全とみなした(表3)。性腺系については、hCG 2,000IU 一回投与、72時間後では負荷前後共に末梢血テストステロン濃度は $20\text{ng}/\text{dl}$ 以下と反応を示さなかった。LH, FSH については、第一回の LH-RH 刺激試験では、LH, FSH 共に、ほとんど測定不能で無反応であり、3日間連続刺激の後の LH-RH 試験でも第一回の試験と同時であった。この結果からは、性腺系は下垂体性障害と考えられた(表4)。また、睾丸の原発性障害の存在も否定はできないが、甲状腺、性腺系共に下垂体に障害部位があると考えられ、GH 分泌不全の原発部位も下垂体に求められるものと想定された。本症例の睾丸は小さいため生検は施行していない。

考 按

下垂体小人症に合併した停留睾丸の成立、治療に関して若干の考按をおこなった。

(1) 下垂体小人症に合併する他の内分泌系障害の原発部位診断について

GH 分泌低下による下垂体小人症には下垂体性のものと、視床下部性のものが含まれており、下垂体性小人症の各称は必ずしも適切ではない。しかし、GH の障害部位を検査する方法が確立されていない現在、慣用的に使

表 3 内分泌的検査 (症例 2 その 1)

・ GH					
		前	30'	60'	120'
(arginine 負荷)		2.6	2.20	2.25	2.30 (ng/ml)
(Insulin 負荷)		2.1	2.60	1.75	2.05
・ RT ₃ U 21.6% T ₄ Ria 4.3 μg/ml					
I ¹³¹ up take		7.2% (24時間値)			
TSH		前	30'	60'	120'
(TRH 250 μg 負荷)		4.5	3.3	4.2	5.4 (μg/ml)
・ Cortisol					
(ACTH 負荷)		前	30'	60'	
		77	98	105 (ng/ml)	

表 4 内分泌的検査 (症例 2 その 2)

・ Testosterone		前	後				
(HCG 2000 IU 負荷)		20↓	20↓ (ng/dl)				
・ LH, FSH							
(LH-RH 負荷)	前	15'	30'	60'	90'	120'	
(第 1 回)	LH :	1.1	1.1	1.1	1.6	2.1	1.0↓ (mIU/ml)
	FSH :	1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓	1.0↓
(連続負荷後)							
	LH :	1.2	2.1	1.0↓	1.0↓	1.3	1.0↓
	FSH :	1.0↓	1.6	1.3	1.4	1.8	1.0↓

われているこの名称を使用せざるをえない。

さて、自験例の第 1 例は、甲状腺、性腺共に視床下部性障害、第 2 例は、下垂体性障害であると判定された。また、第 1 例は反応のパターンから障害部位は判定できないにしても副腎系も二次性機能不全の状態であると思われる¹⁾ (Speckurt, et al)。この際、甲状腺系は比較的明確に障害部位の判定がなされるのに対し性腺系はむずかしいとされている。特に自験例のごとき小児例では、LH-RH 試験の評価が困難である。つまり、LH-RH の基礎値そのものが低値であり、LH-RH に対する反応性は正常小児でも必ずしもよくはないからである。したがって LH-RH 刺激試験により、LH-FSH が上昇しないからといって、直ちに下垂体に障害が存在すると断定してはならない。その理由は、長期間 LH-RH の刺激が存在しない場合、たとえ下垂体が本来は正常であつても下垂体での LH, FSH 分泌の準備状態が成立していないことが考えられるという (Odell)²⁾、(Tomita)³⁾。

そこで、諸家により各種の LH-RH 連続刺激が試みられている。著者は Tomita の方法²⁾に準じて、3日間連続刺激をおこなつたのち、再度 LH-RH 試験をおこなうことにより、最終的に評価した。Tomita は下垂体小人症を対象として LH-RH 連続刺激を施行し、その

効果について検討しているが、3日間の連続刺激後も反応のみられない場合、2週間の連続刺激をしてもやはり反応はなく3日間の連続刺激のあとの LH-RH 試験で障害部位の判定をしてよいと述べている。また、第 2 例では 1 回の hCG 負荷試験ではテストステロンの上昇反応がなく、無反応であるのも、長い間にわたつて LH の刺激がないため、辜丸ライティッヒ細胞が未分化の状態でテストステロンの血中濃度上昇へ至らなかつたと解される。

(2) 下垂体小人症と停留辜丸の合併について

下垂体小人症に合併する停留辜丸の頻度は調べた範囲では、表のごとく下垂体小人症 81 例中 11 例 (13.6%) である (表 5)。

表 5 下垂体小人症における停留辜丸の合併頻度

Goodman ⁴⁾	(1968)	4/35	(11.4%)
Sizonenko ¹²⁾	(1977)	1/17	(5.8)
松浦ら ⁵⁾	(1978)	4/24	(16.6)
自験例	(1983)	2/5	(40.0)
		11/81	(13.6)

停留辜丸の一般的頻度が 1 歳 2%、思春期 1%、成人 0.3% とすると下垂体小人症との合併頻度は、およそ 10

倍以上の高率であるといえよう。合併例を検討すると、Goodman⁴⁾ (1968) の 4 例中 3 例、松浦ら⁵⁾ (1978) の 4 例すべて、自験例の 2 例など判明する範囲でも複合型障害、すなわち GH 分泌不全以外に他の分泌系においてもそのすべて、あるいは一部の中枢性の障害を合併している場合が多い。一方、Kallman 症候群をふくむ Hypogonadotropic Hypogonadism にも停留辜丸の合併する報告は少ない⁶⁾ (Santen, R. J., (1973)⁷⁾ (Turner, R. C., 1974) のように、下垂体小人症、あるいは Hypogonadotropic Hypogonadism などの中枢性の障害に停留辜丸が合併する頻度が高いことは、辜丸の下降には胎児自身の下垂体性ゴナドトロピン分泌が必要を示しているといえる。

すなわち、妊娠後期において胎盤性ゴナドトロピンの胎児内濃度が低下して来ると、胎児自身の下垂体ゴナドトロピンにより辜丸機能が維持され、これにより一次性徴の完全な発現がおこるものと想定される。その発現の一部に辜丸の陰嚢内下降は含まれることになる。このような二次性の辜丸機能不全においては、よく知られているように辜丸組織はライディッヒ細胞、精細管ともに未分化の状態にとどまる。これらの辜丸の精細管は未熟で、造精機能は未分化の状態にあるが、変性はなく、これらの未分化な造精細胞は潜在的な分化増殖機能を有すると考えられる。

(3) 下垂体小人症に合併した停留辜丸の治療

一般に Hypogonadotropic Hypogonadism に合併した辜丸は未熟ではあるものの、変性は存在しない、自験例の下垂体小人症における合併例においてもそうであった。

Turner は gonadotropin 上昇という条件下でのみ辜丸は障害を起すたと述べている。実際、第一次精母細胞 primary spermatocyte、精子細胞 spermatid における糖代謝、蛋白代謝は 37°C で、すでに障害をうけるという報告もある⁸⁾ (Nakamura)。したがって造精細胞が未分化のままにとどまっている Hypogonadism における停留辜丸の精細管は年齢が進んでも変性に至らないことが理解される。

結局、下垂体小人症に合併した停留辜丸については、年齢的要因をあまり考慮する必要はないわけで、その治療方針としては、とにかく辜丸固定術により温度上昇の環境を取り除いた後に、gonadotropin 治療を行い、辜丸の分化成熟をはかることにより妊孕性を獲得することが期待できる。

(4) 下垂体小人症の妊孕性獲得

下垂体小人症の辜丸機能不全は、視床下部性の場合には、時には思春期遅発との鑑別が困難であるが、いずれ

にしても二次性辜丸機能障害であり、下記のごとく適切な治療により二次性徴の発現のみならず妊孕性の獲得が期待できる。

現在、Kallman 症候群のような Hypogonadotropic Hypogonadism に対しては、これらの多くが、成人に達してから診断がなされるので、その時点から hCG による補充療法を開始し、次いで human Menopausal gonadotropin (hMG) を使用することにより辜丸の分化成熟をはかり、二次性徴を発現させ、さらには精子形成能の獲得をはかる方法が最も理論的で合理的であると考えられている。実際、すでに上記のゴナドトロピン療法により 30 例以上の成功例が報告されている⁹⁾ (吉田ら)。この方法の実用面の問題点は、頻回の注射 (少くとも週 2 回) を長期間、妊娠成立まで続けなければならないことである。それ故、診断時の年齢が 10 歳前後である場合が多い下垂体小人症には適用し難い。

まず、二次性徴の発現をはかるにしても、身長が発育が遅れている本症における第 1 の問題点は、いつ補充療法を開始するかということであり、第 2 にこの補充療法を外因性の androgen によるか、あるいは gonadotropin の投与により内因性の androgen によるのかという 2 つの問題がある。

この第 1 の二次性徴導入時期の問題であるが、これには、さらに 2 つの問題が関与する。その 1 つは androgen が、身長の成長を促進する反面、骨端線の閉鎖を早めてしまい GH 治療による身長の伸びに障害を与える可能性があることであり、もう 1 つは、思春期遅発症との鑑別がこの時期では困難であることである。この点について Tanner ら¹⁰⁾ は、思春期遅発症における思春期発現時の骨年齢を検討したところ、14 歳が、その critical point であつたと報告している。つまり骨年齢が、14 歳を過ぎても思春期が発来しなければ遅発症ではないと判断して補充療法を開始してよいことである。このように、補充療法を早期に開始すれば、二次性徴の発現が早くみられると共に骨端線の閉鎖という本症にとつて、最も恐れる状態が出現する可能性がある一方、遅すぎた場合には、この年齢になつても低身長、思春期の不発現が、患者に与える心理的影響という二律背反の問題がある。

次に、第 2 の補充療法は、何によつてするかという問題は、換言すれば Kallman 症候群のような Hypogonadotropic Hypogonadism と同様に gonadotropin によつて二次性徴を発現させてよいかという問題になる。先にのべたごとく、下垂体小人症の多くは、診断時 10 歳前後であり、通常の二次性徴を発現させるべき年齢を考慮しても Hypogonadotropic Hypogonadism とはこと

なり、結婚し、妊娠、挙子を必要とするまで20年近くの長時間が存在する。このような青少年に対しても最初から、gonadotropin による内因性 androgen の効果を期待して治療をスタートした場合、二次性徴の発現、完成そのものはよいとしても、一旦開始された辜丸の分化成熟を逆行変性させることなく維持することは、理論的には可能であつても、社会的にみると、非常に困難であろうと思われる。幸い、テストステロンによる補充療法を行つた後にゴナドトロピン療法を行つても、精子形成能の導入が可能であつた症例が少数例ながら認められており¹¹⁾ (Burger, et al.), 著者らは、二次性徴の発現を外因性 androgen の投与により行い、妊孕性の獲得については、その必要が生じてから hCG 及び hMG の combination により治療する方法が適切であると考えている。テストステロン補充療法を行つても妊孕性を必要とする時期まで辜丸は未分化な状態にとどまり、その後のゴナドトロピン治療に対する反応性は保たれることが想定されるからである。この外因性 androgen で治療する場合、先にのべた骨端線の問題も存在するが、正常の場合、二次性徴発現前に急速に身長が伸び骨端線の閉鎖はその後に徐々に起こる。GH の作用発現には、anabolic steroid として働く androgen の作用も必要と考えられるので、骨年齢がある程度、進行したら、身長伸びに注意しつつ外因性 androgen の少量投与を開始してよいものと想定される。しかし下垂体小人症の症例のなかには、骨年齢14歳を過ぎる頃には、歴年齢が進みすぎていて心理的な問題が残ることも考えられ、本症においていつ androgen の補給を開始すべきかという問題は症例毎に検討し、判断しなければならないと考えられる。

近年の遺伝子学的手法の進歩により、細菌を利用したヒト成長ホルモンの大量生成が、可能となることも遠い将来ではない。したがって、下垂体小人症の治療の最大の難点であつた身長伸びについては、さらに期待がもたれるようになってくるであろう。これに対応して性腺系をふくむ全身の系統的発育を獲得するという見地から理論的かつ総合的な本症の治療を積極的に行う必要がある。

結 語

1. 下垂体小人症に合併した停留辜丸の2例を報告した。
2. その合併頻度が高いことをのべ、その成立については、gonadotropin 分泌不全による androgen 分泌不全に基因するのではないかと推測した。
3. 本症の辜丸精細管は、変性がなく、未成熟であるので、適切な治療により、妊孕性獲得が期待できる。

4. その治療法としては、まず、辜丸固定術を施行し、しかるのちに適切な時期に外因性 androgen にて二次性徴を導入・発現させ、成人にいたるまで、辜丸を未分化の状態で保持し、必要な時期にゴナドトロピン治療による妊孕性獲得を計るのが実際的な方針であると想定された。

なお、この論文の要旨は第2回日本思春期学会総会(1983. 8東京)にて講演した。

文 献

- 1) Speckurt, P. F. et al.: Arch Intern. Med., 128: 761, 1971.
- 2) Odell, W. P. and Swerdloff, R. S.: Recent. Prog. Horm. Res., 32: 245, 1976.
- 3) Tomita, M.: Acta Endocrinologica, 94: 289, 1980.
- 4) Goodman, H. G. et al.: New Eng. J. Med., 278: 57, 1968.
- 5) 松浦ら: ホと臨, 26: 1110, 1978.
- 6) Santen, K. J. et al.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 36: 47, 1973.
- 7) Turner, R. C. et al.: Proc. Roy. Soc. Med., 67: 33, 1974.
- 8) Nakamura, M. et al.: J. Biol. Chem., 257: 13945, 1982.
- 9) 吉田ら: 日本不妊会誌, 26: 115, 1981
- 10) Tanner, J. M. et al.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 41: 788, 1975.
- 11) Burger, H. et al.: Fertil. steril., 35: 64, 1981.
- 12) Sizonenko, P. C. et al.: Acta. Endocr., 84: 390, 1977.

Cryptorchidism in pituitary dwarfism : Case presentation and its pathophysiology and treatment

Teruo Kohdaira, Kazumi Noguchi, Shin-ichi Okubo and Hiroyuki Oshima

Department of Urology and Pediatrics,
Yokohama City University School of
Medicine, Yokohama

Two patients aged 13 and 15 years with cryptorchidism and pituitary dwarfism were presented. The patients had secondary disorders of thyroid glands, adrenals and gonads as well as GH deficiency. The results of TRH and LH-RH tests indicated that the primary lesion of hypothyroidism and hypogonadism localized in hypothalamus in a 15 year-old patient and in pituitary in the other, suggesting that GH deficiency is of hypothalamic origin in the former and of pituitary origin in the

latter. Hypogonadism associated with pituitary dwarfism is usually of secondary nature as observed in the present and reported cases, and cryptorchidism is not uncommon in these hypogonadisms. Their testes are immature but not atrophied or degenerated. Therefore, an adequate treatment should be able to induce fertility as well as virilization to these patients. The treatment includes orchiopexy and replacement therapy with androgen and gonadotropin. Since it has been

suggested that androgen itself induces virilization without testicular maturation and does not interfere to induce testicular functions by gonadotropins in future, a recommendable supplement therapy is to start with androgen administration to initiate and complete virilization until fertilizing ability is required, which then should be followed by gonadotropin therapy with hCG and hMG to induce spermatogenesis in the testis.

(受付：昭和58年9月26日)

大腿骨頭沁り症にみられた Hypogonadism の1例

A Case of Hypogonadism Complicated by Slipping of the Proximal Femoral Epiphysis

町田市民病院泌尿器科
小 寺 重 行
Shigeyuki KOTERA

Department of Urology, Machida City Hospital

町田市民病院整形外科
宝 積 豊
Yutaka HOZUMI

Department of Orthopaedic Surgery, Machida City Hospital

東京慈恵会医科大学泌尿器科学教室 (主任: 町田豊平教授)

池 本 庸
Isao IKEMOTO

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

大腿骨頭沁り症に hypogonadism を合併した症例を経験した。症例は14歳男子で、主訴は左股関節痛および性器発育不全。間脳一下垂体-睾丸系検査のうち、特に HCG テストで睾丸間質細胞は反応不全を示した。この結果より本症例の hypogonadism の原因は Leydig 細胞自体の機能低下によるもので、臨床的診断は特発性思春期遅発症と考えられた。さらに、大腿骨頭沁り症に関しては、テストステロン分泌低下により、骨端線の閉鎖作用が遅延し、そこに自らの体重が過重となり、大腿骨頭の離開と沁り症が生じたものと考えられた。
(*Jap. J. Fert. Ster.* 29(2), 168-172, 1984)

緒 言

特発性思春期遅発症のためテストステロン分泌低下が認められ、そのため骨端線閉鎖の遅延が起り、大腿骨頭沁りが発症したと考えられる症例を経験した。本症例の内分泌学的所見、睾丸組織像および治療について若干の考察を加え報告する。

症 例

患者: [] (No. 58-4940), 14歳, 男子
初診: []
主訴: 左股関節痛および性器発育不全
現病歴: 1981年11月, 特に誘因なく左股関節痛が出現

し、町田市民病院整形外科で受診した。その結果左大腿骨頭沁り症と診断され、1982年4月入院治療となつたが、同時に性器発育不全が認められたため当泌尿器科に精査を依頼された。

既往歴: 妊娠時、母体には特に異常は認められず、生下時にも外性器には特に異常は認められなかつた。その後、特記すべき疾患の罹患はない。

家族歴: 妹1人。両親家族関係には性腺機能異常などは認められない。

現症: 身長157cm, 体重59.5kg。体型は皮下脂肪に富み、やや中心性肥満型であつた。声は高調で、嗅覚は正常であつた。陰毛は欠除しており、陰茎も小児様短小、

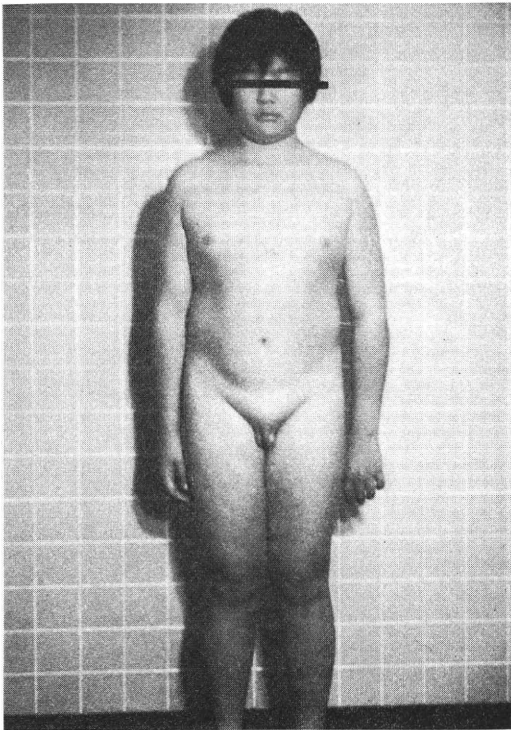


図1 入院時全身像 (1982年4月)

表1 入院時検査成績

1. 血液所見		3. 内分泌検査	
RBC	530×10 ⁴ /mm ³	a) 下垂体ホルモン	
WBC	7,600/mm ³	GH	0.3ng/ml
Hb	15.8g/dl	LH	11.5mIU/ml
Ht	46.5%	FSH	9.8mIU/ml
T.P.	7.7g/dl	ACTH	19.9pg/ml
Na	142mEq/l	TSH	6.0μU/ml
K	4.8mEq/l	PRL	5.6ng/ml
Cl	101mEq/l	b) 副腎機能検査	
Al-P	75IU (K-K)	尿中17-KS	5.4mg/day
GOT	33 IU	尿中17-OHCS	10.2mg/day
GPT	50 IU	尿中プレグナントリオール	0.5mg/day
LDH	409 IU	尿中プレグナンジオール	37.3mg/day
BUN	14.2mg/dl	c) 辜丸機能	
Cr	0.7mg/dl	血中テストステロン	0.48ng/ml
2. 尿所見		4. 染色体検査	
蛋白	(-)	46, XY 正常男性型	
糖	(-)		
ビリルビン	(-)		
ウロビリノーゲン	(-)		

両側辜丸はともに2.0×2.0×1.5cm の大きさで, Tanner 分類で GI, PHI であった (図1). 歩容について

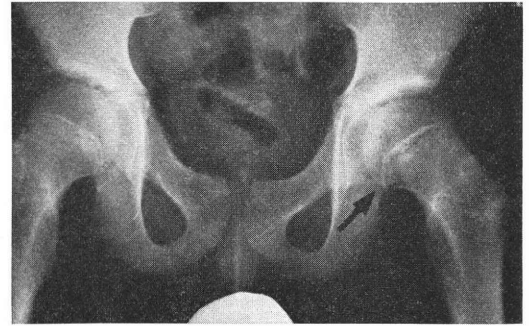


図2 股関節正面X線像: 左大腿骨頭の骨端がやや下方に偏位し, 骨端線部には脱灰像がみられる (矢印)

は, 跛行を呈したが, Trendelenburg 徴候はなかった.

入院時検査成績: 検尿一般では異常がなく, 血清検査ではアルカリフォスファターゼが, 751U/ml (Kind-King 法) と正常値の約3倍の高値を示した以外は異常は認められなかった (表1). X線検査では股関節正面X線像で, 左側大腿骨頭の骨端部の下方への迂りが認められ, 骨端線の骨幹端部側の脱灰像があり, 骨端線は凹凸不整であった. 右大腿骨頭部は正常であった (図2).

内分泌的検査: 下垂体前葉ホルモンのうち, ACTH, GH, PRL, TSH はいずれも正常範囲内であったが, LH は11.5mIU/ml FSH は9.8mIU/ml とわずかに高

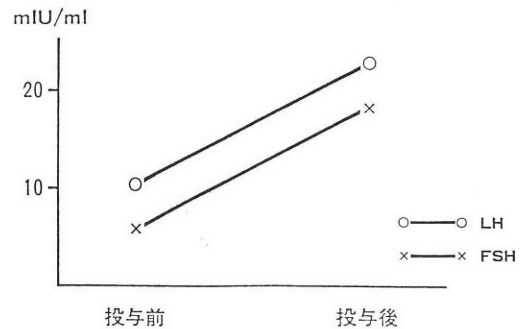


図3 Clomiphene テスト (25mg/day)

値を示していた. 尿中17-KS は5.4mg/day と低値であったが, 尿中17-OHCS, 尿中プレグナントリオール, 尿中プレグナンジオールは正常範囲内であった. 血中テストステロンは0.48ng/ml と低値であった (表1). 間脳-下垂体-辜丸系検査のうち, クロミフェンテスト (25mg/day, 10日間内服) では反応は正常で (図3), LH-RH テスト (100μg) は血中 LH が30分値で, 基礎値の約3.5倍, FSH は約3倍と高値を示し正常であった (図4). HCG テスト (5000IU) では血中テストステロンの上昇はみとめられず, 反応は不全であった (図

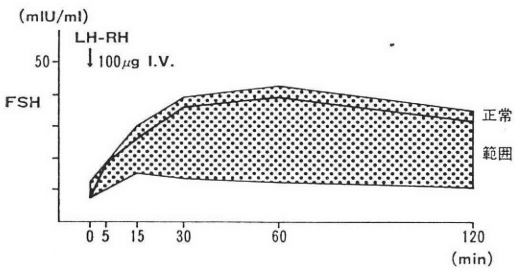
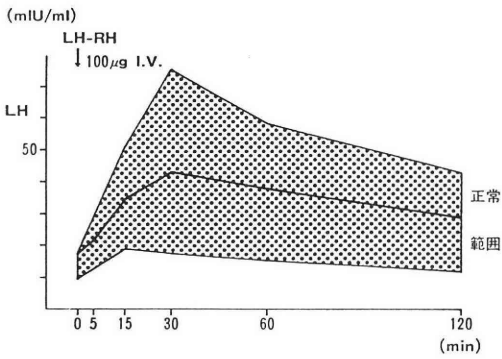


図4 LH-RH テスト

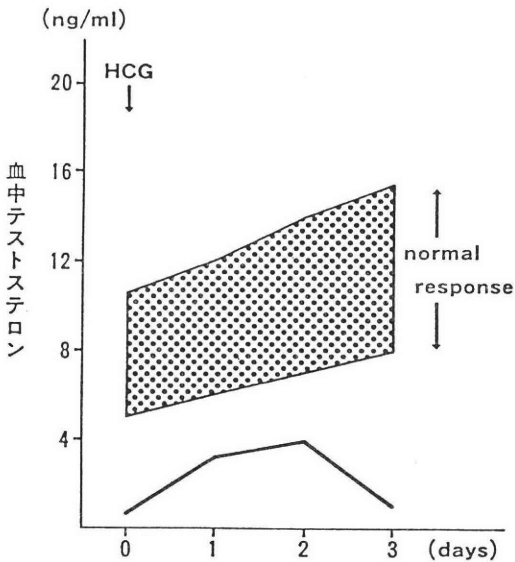


図5 HCG テスト (5,000IU)

5). 染色体検査では46XY と正常男性型であった。

睾丸病理組織学的所見：間質細胞の数は少なく、一部集落する傾向を認めた(図6)。電顕的には、間質細胞の核は不正形で、直径平均約 4 μ m と小さく、細胞質の organella では、ミトコンドリアには異常は認められないが、脂肪滴はきわめて少ない。また sER は開大しているものの貧弱で、細胞質全体は狭く萎縮傾向を示し

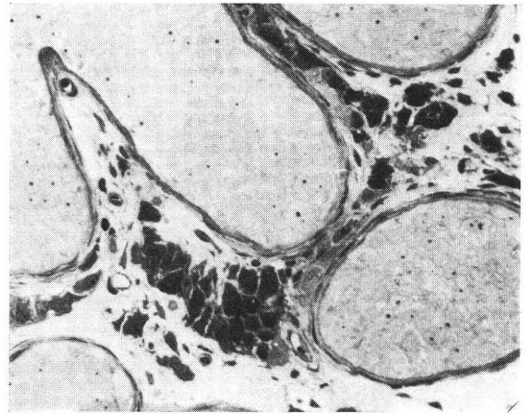


図6 睾丸光顕像 (×200)
間質細胞は一部集落していた

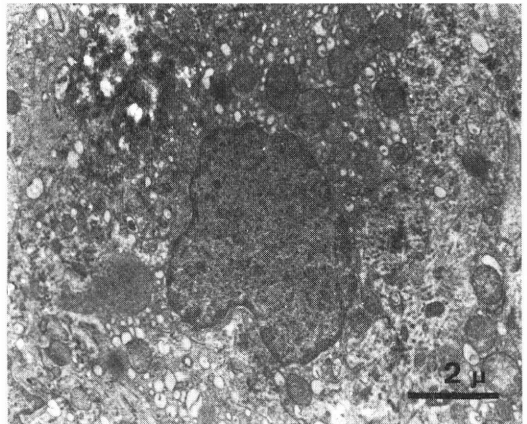


図7 間質細胞電顕像：細胞質はせまく核も直径約 4 μ m と萎縮傾向を示している

ていた(図7)。造精能については一部精子細胞まで認められた。

以上の結果より hypogonadism の原因は Leydig 細胞自体の機能低下によるもので、臨床診断は特発性思春期遅発症と考えられた。さらにテストステロン分泌低下により、骨端線閉鎖が遅延しているところに、体重が過重となり大腿骨頭泣り症が発生したのと考えられた。治療および経過は左股関節痛および泣り症に対して整形外科的観血治療を行った。すなわち左大腿骨頭泣りに対して三次元骨切り術を、右側は予防の意味で骨端線固定術をおこなった。一方、内分泌治療として、一時クエン酸クロミフェン投与をおこなったが、反応がみられないため、テストステロン投与も考慮したが14歳という年齢のこともあり、現在は内分泌治療を行わず経過観察中である。

表 2 hypogonadism を合併した骨端線離開の本邦報告例

報告者	骨端線離開の部位	性	年齢	身長	体重	内分泌異常部位	知能
1. 大塚(1954)	両側大腿骨近位	男	18歳	143	26.5	不明	正常
2. 横関(1955)	右大腿骨近位	男	30歳	170	45	不明	正常
3. 宝積(1972)	左大腿骨近位	男	22歳	161	49	下垂体	正常
4. 岡(1976)	両大腿骨近位	男	36歳	162	55	下垂体	正常
5. 若林(1976)	右大腿骨遠位左踵骨	男	19歳	167	56	睾丸	IQ64
6. " "	左大腿骨近位	女	25歳	156	43	下垂体	正常
7. 伊藤(1982)	左大腿骨近位	男	20歳	167	56	下垂体	IQ25
8. 山本(1983)	左大腿骨近位	男	22歳	177	62	Kallmann	正常
9. 自験例(1983)	左大腿骨近位	男	14歳	157	59.5	睾丸	正常

考 按

骨の成長は、出生直後では、おもに甲状腺ホルモンが、幼児期では成長ホルモンや Somatomedin¹⁾ が促進的に作用し、思春期以降になると、男子ではテストステロンが、女子ではエストロゲンの分泌が活発となり、これらの性ホルモンが骨端線を閉鎖することによつて骨成長は停止し、成人としてバランスのとれた体型となるものと考えられている。したがつてテストステロンの分泌不足は骨端線の閉鎖不全をきたす結果となる。これまで骨端線離開の発症原因については諸説があり、クル病²⁾、外傷³⁾などもあげられていたが、Harris⁴⁾らによりはじめて実験的にホルモンバランス異常であることが証明された。

しかしながら臨床的に骨端線離開にホルモン異常を合併したという症例は少く、本邦において自験例も含め9例にすぎない⁵⁻¹¹⁾(表2)。本邦におけるこの9症例をみると、いずれの症例にも共通する点は骨端線離開部位が大腿骨頭であるという点である。これは体重が最もかかりやすい部位であるためと考えられる。性別では男性が8例、女性が1例と男女差が著しく、男性に多く発生する。これは骨端線閉鎖に関する性ホルモンの反応程度に差があることが考えられるが、その機序については不明である。発症年齢については当然、思春期以降が多いわけ、自験例の14歳が最年少であつた。内分泌異常部位は近年の内分泌学的診断法の進歩により適確な部位診断が可能になってきているが、視床下部障害である Kallmann 症候群が1例、下垂体が原因であるいわゆる hypogonadotropic hypogonadism が3例、睾丸性のものが2例と判明している。

自験例でのテストステロン分泌低下の原因については、Leydig 細胞自体の機能低下によるものと考えられ、臨床診断としては、特発性思春期遅発症であつた。しかし LH、FSH はすでに成人レベルまで上昇しているに

もかわらず、なぜテストステロンの分泌がおこらないのか、疑問点がある。この理由として、① Leydig 細胞の LH receptor の完全もしくは低反応、② テストステロン合成段階での何らかの酵素欠損、もしくは酵素活性低下が考えられる。しかし前述の①の LH receptor 完全欠損の場合は胎児期にもテストステロンの低下が存在したわけで、このような場合は一般に尿道下裂や停留睾丸などのいわゆる男性仮性半陰陽をとまなうことが多い¹²⁻¹³⁾。自験例では男性仮性半陰陽の体型は認められず、したがつて胎生期にはある程度、外性器を男性化するだけのアンドロゲンは分泌されていたものと思われる。②の場合は、自験例では副腎機能検査および睾丸組織所見から酵素欠損は考えにくい。すなわち他のステロイドホルモン代謝物質には異常がないこと、さらに Leydig 細胞は形態的には hypertrophy を示さず、電顕的にはむしろ萎縮傾向が認められていることなどより、酵素完全欠損とは考え難い。したがつて自験例での Leydig 細胞の機能低下は LH receptor の一時的応、もしくは酵素活性の一部低下が、生下後より思春期までの期間に起つたものと考えられる。

大腿骨頭¹⁴⁾症の治療法については、おもに観血的療法と保存的療法にわけられる。これらのいずれの治療法を選ぶかについては病態により異なる。例えば疼痛や歩行困難などの急性症状を呈する場合は、整形外科的に骨端固定術や三次元骨切り術などがおこなわれる。さらに本症例のような hypogonadism を合併した症例では、予防の意味で健側に対しても観血的骨端固定術を施行する必要があるとされている⁷⁾。一方、保存的療法としては内分泌的治療がおこなわれるが、この治療の対象は、X線検査上骨頭¹⁴⁾が軽度で、症状も軽微な慢性型の症例や、観血的治療に対する補充療法としておこなわれていることが多い。内分泌治療に際しては、原因が視床下部性の場合は LH-RH 療法を、下垂体性では HCG、HMG 療法を、性腺性では性ホルモン投与をおこなうの

が合理的であろう。一般に内分泌治療を施行する際、問題となるのは治療を開始する時期とその副作用である。正常人では性ホルモンおよび下垂体 gonadotropin が上昇し始めるのは 12, 3 歳頃とされており¹⁴⁾、この時期より以前に内分泌治療を行う場合は、体型のバランス、声変り、陰毛、外性器の状態などの性徴を十分経過観察しながら行うべきである。自験例では性腺性、Leydig 細胞機能障害でありテストステロンの使用も考えられたが、14歳と若年であつたため、今しばらく経過観察を行うこととした。また思春期以後の治療に際しては、身体所見の観察のみならず造精機能への影響も十分考慮されなければならない。

結 語

特発性思春期遅発症のためにテストステロン分泌低下がみとめられ、骨端線閉鎖が遅延しているところに、自らの体重が過重となり、左大腿骨頭沁り症が発生したと思われる症例を報告した。これに関連してテストステロンの骨端線閉鎖作用、テストステロン分泌低下の原因、治療などについて若干の考察を加えた。

本症例は第 2 回日本アンドロロジー学会にて発表した。

文 献

- 1) Canalis, E. M., Hintz, R. L., Dietrich, J. W., Maina, D. M., and Raisz, L. G.: Effect of Somatomedin and Growth Hormone on Bone Collagen Synthesis In Vitro. *Metabolism*, 26: 1079-1087, 1977.
- 2) Müller, E.: Über die Verbiegung des schenkelhalses im Wachstumsalter. *Beit. z. klin. chir.*, 4: 137-148, 1889.
- 3) Maydl, K.: Coxa Vara und Arthritis Deformans Coxae. *Wien. Klin. Rundschau*, 11: 171-187, 1897.
- 4) Harris, W. R.: The endocrine basis for slipping of the upper femoral epiphysis. *J. Bone Joint. Surg.*, 32-B: 5-11, 1950.
- 5) 大塚四郎, 平松敏男: 類宦官症に見たる骨端線離解の 1 例, 整形外科, 5: 114-118, 1954.
- 6) 横関嘉伸: 大腿骨近位骨端線離開, 整形外科, 6: 19-26, 1955.
- 7) 宝積 豊, 山田勝久, 永田覚三, 山野内忠雄, 林 輝明, 大野正師: 大腿骨近位骨端線離開の 3 例, 関東整災誌, 3: 15-19, 1972.
- 8) 岡 正典, 山室隆夫, 吉見輝地, 石田勝正: 大腿骨頭骨端線離開に認められる内分泌学的所見について, 中部整災誌, 19: 230-232, 1976.
- 9) 若林 詔, 佐藤愛二, 浜田 勲, 丹羽権平, 辻哲雄, 八幡三喜男, 中村浩淑: 性腺機能低下に

伴う骨端線離開の 2 例, 北野病院紀要, 20: 152-159, 1976.

- 10) 伊藤公一, 三浦幸雄, 南郷俊明, 呉 盛光: 大腿骨頭沁りを合併した類宦官症の 1 例, 関東整災誌, 13: 165-170, 1982.
- 11) 山本恵央, 玉井 昭, 大根田 豊, 山下正道, 藤原 博, 三井宣夫, 増原建二, 上野良三, 岡本新悟, 西田節子, 塚本 昇, 辻井 正: 大腿骨頭すべり症を合併した Kallmann 症候群の 1 例, 臨整外, 18: 557-563, 1983.
- 12) Schwartz, M., Imperato-Mcginiey, J., Peterson, R. E., Cooper, G., Morris, P. L., Macgillivray, M. and Hensle, T.: Male Pseudohermaphroditism Secondary to an Abnormality in Leydig Cell Differentiation. *J. Clin. Endo. Meta.*, 53: 123-127, 1981.
- 13) 小島元子: Leydig 細胞の分化異常によると思われる男性仮性半陰陽について, 医学のあゆみ, 119: 583-584, 1981.
- 14) Swerdloff, R. S. and Odell, W. D.: Hormonal mechanisms in the onset of puberty. *Postgrad. Med. J.*, 51: 220, 1975.

A case of hypogonadism complicated by slipping of the proximal femoral epiphysis

Shigeyuki Kotera

Department of Urology, Machida City Hospital

Yutaka Hozumi

Department of Orthopedic Surgery, Machida City Hospital

Isao Ikemoto

Department of Urology, Jikei University School of Medicine

(Director: Prof. Toyohi Machida)

A 14-year-old boy was admitted to our hospital complaining of pain in the left hip joint and delayed sexual maturation. Hypothalamic-pituitary-gonadal examinations revealed that testicular interstitial cells showed low plasma testosterone response to administration of HCG and that the cause of hypogonadism was the hypofunction of Leydig cells. Therefore, the patient was diagnosed as having idiopathic delayed puberty.

It was concluded that the slipping of the proximal femoral epiphysis in this case was most likely due to the delayed closure of the growth plate associated with hypogonadism.

(受付: 昭和58年10月31日)

ヒト精子の Capacitation に対する Kallikrein の影響

The Effect of Kallikrein on Capacitation of Human Spermatozoa

東北大学医学部産科学婦人科学教室

斉藤 晃 星 和彦 京野 広一
Akira SAITO Kazuhiko HOSHI Koichi KYONO
対木 章 桃野 耕太郎 鈴木 雅洲
Akira TSUIKI Kotaro MOMONO Masakuni SUZUKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

ハワイ大学医学部解剖学・生殖生物学教室

柳 町 隆 造
Ryuzo YANAGIMACHI

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

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ことを利用し、ヒト精子の受精能に対する Kallikrein の影響につき検討し、以下の結果を得た。

1) 各種濃度の Kallikrein を含む培養液にて2時間前培養した同一ヒト精子を洗浄後、透明帯除去ハムスター卵に媒精したところ、control に比し、Kallikrein 0.5KU/ml 以上の群で、2時間後の精子貫通率、多精子率の上昇を認めた。

2) 上記システムを利用し、5名の健康男子よりの精子について Kallikrein の影響を検査したところ、control の貫通率の低い2名においては、Kallikrein の効果を認めなかつた。しかし、Kallikrein 含有培養液での前培養時間を4時間に延長した場合には、control に比し明らかな精子貫通率、多精子率の上昇を認めた。

以上より、Kallikrein にはヒト精子 capacitation の時間を短縮させる効果のあることが確認された。

(Jap. J. Fert. Ster. 29(2), 173-178, 1984)

緒 言

精子が卵子と受精するためには、受精前の準備として、受精能獲得 (capacitation) と先体反応 (acrosome reaction) が必要である¹⁾。しかし現在、*in vitro* でも、一定溶液下で capacitation を起こさせることは可能となったが、その機構の詳細についてはいまなおいくつかの仮説があるにすぎない²⁾。この capacitation の機構解明

のために各種のアプローチがなされているが、透明帯除去ハムスター卵へのヒト精子の貫通検査も有用な手段の一つである。これは capacitation, acrosome reaction を完了したヒト精子が、透明帯除去ハムスター卵を貫通する³⁾ことを利用したもので、光顕下では先体の変化を確認することのできないヒト精子が capacitation をおこしたことの間接的証明となる。この方法により、ヒト精子の capacitation 時間には大きな個人差のあることも示唆

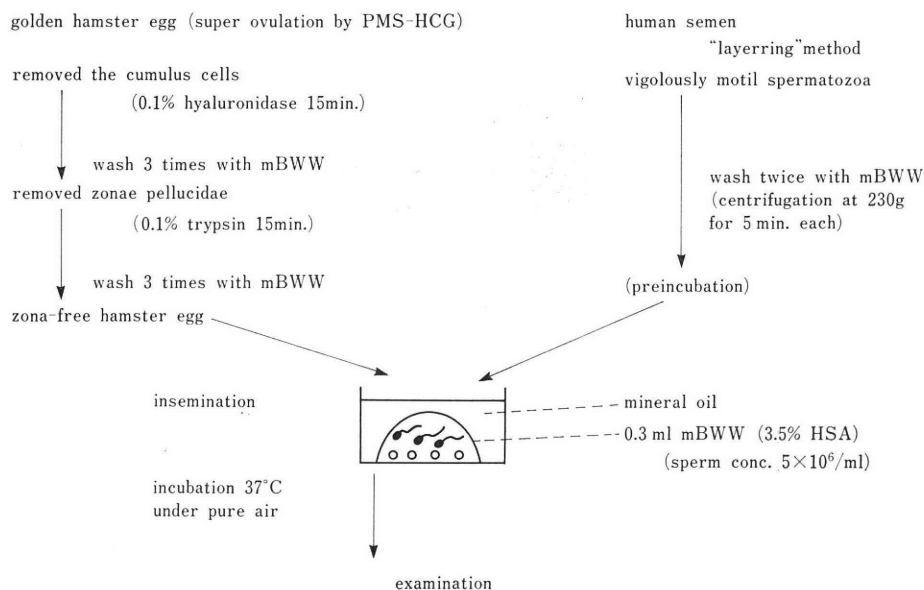


図1 検査の概要

されている。

一方、男性不妊症に対する新しい薬物療法として、kallikrein の使用が Stüttgen⁵⁾、Schill ら⁶⁾によつて提唱され、造精能の向上、精子運動率の増加が報告されて以来、数多くの臨床応用報告がなされ、その効果が認められている⁷⁻¹⁰⁾。Kallikrein は広く生体内に分布する蛋白分解酵素であり、kininogen に作用して kinin を遊離し、この kinin が精子の代謝を促進することにより精子運動率の上昇を促すものと考えられている。

今回は、透明帯除去ハムスター卵との貫通検査を用い、*in vitro* で、ヒト精子の capacitation に対する kallikrein の影響について検討したので報告する。

研究方法・材料

I. 実験方法の概略

透明帯除去ハムスター卵を用いての貫通検査はすでに報告した方法にもとずき施行した⁴⁻¹¹⁾。図1にその検査の基本的概要を示す。すなわち、過排卵処理したハムスターより卵を採取、0.1% hyaluronidase、0.1% trypsin にて濾胞細胞、透明帯を除去する。一方、検査対象精液を“精液静置法”¹²⁾を行つて運動良好精子を集め、一定時間前培養を行つた後、準備した卵と培養し、位相差顕微鏡下に精子貫通の有無を観察する方法である。判定は、膨潤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)。さらに、貫通精子総数を検査卵総数で割つた多精子率も算出した。培養液としては Biggers, Whitten and Whittin-

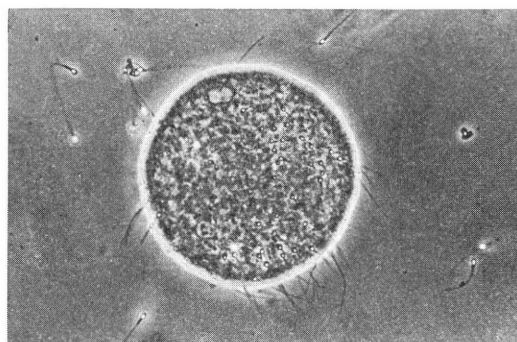


写真1 12時の位置に貫通精子を認める

ghan's medium (BWW)¹³⁾を幾分変えた modified BWW (mBWW) を用いている。その組成を表1に示す。今回は、精子の前培養液に各種濃度の kallikrein を投与することにより、その効果を検討した。

II. 各種濃度 kallikrein の貫通率に与える影響

上記システムに従い、種々の濃度の kallikrein (Sigma Chem., St. Louis, MO) <0, 0.1, 0.5, 1, 4KU/ml> を含む mBWW 溶液にて2時間前培養した同一ヒト精子を2回洗浄 (kallikrein を含まぬ mBWW 溶液で 230g 5分間遠心) した後、準備した透明帯除去ハムスター卵に媒精し、2時間の培養後、精子貫通率、多精子率を検査した(図2)。

III. Kallikrein 効果の個人差

① 5名の健常男子の精子につき、上記システムに従い、kallikrein (4KU/ml 又は7KU/ml) を含む mB-

表 1 培養液 (mBWW) の組成

	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	21.58 ^a
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

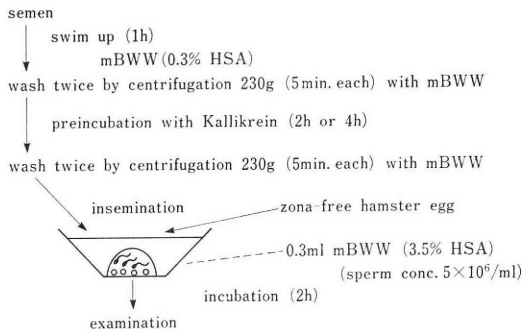


図 2 Kallikrein 実験システム

WW 溶液にて 2 時間前培養した精子を洗浄後媒精, 2 時間の培養後, 精子貫通率, 多精子率を検査し, mBWW 溶液で前培養した control と比較した。

② 上記実験で効果の認められなかった 2 名につき, kallikrein (4 KU/ml) 含有 mBWW 溶液中での前培養時間を 2 時間から 4 時間に延長し, 洗浄後媒精, 2 時間の培養後, 精子貫通率, 多精子率を検査し, mBWW

溶液で 4 時間前培養した control と比較した (図 2)。

成 績

I. 各種濃度 kallikrein の貫通率に与える影響

表 2, 図 3 に示すごとく, kallikrein 0.1KU/ml では効果は認められなかったが, 0.5KU/ml 以上の濃度では明らかに貫通率, 多精子率の上昇を認めた。

II. Kallikrein 効果の個人差

表 3, 図 4 に示すごとく, 前培養時間を 2 時間とした場合, 5 名中 control の貫通率の高い 3 名では, kallikrein の付加により, 明らかな貫通率あるいは多精子率の上昇を認めたのに対し, control の貫通率の低い 2 名ではその効果はみられなかった。この 2 時間の前培養では効果のなかった 2 名について, kallikrein 含有 mBWW 溶液中で 4 時間の前培養を行った場合, 2 名共に control に比し貫通率, 多精子率の上昇が認められた。

考 察

Kallikrein-kinin 系は生殖機構, 特に雄性生殖機能に大きく関与していることが報告され, すでに臨床的にも使用されて評価を得ている¹⁴⁾。Kallikrein-kinin 系を構成する因子を図 5 に示したが, 血液あるいは脾臓, 顎下腺に含まれる kininogen が kallikrein により kinin を遊離し, この活性化された kinin が効果を発現すると考えられている。

さて, kinin の作用は造精機能の向上¹⁵⁾, あるいは精子運動率の増加¹⁶⁻¹⁷⁾などが報告されているが, *in vitro* での受精能への直接効果の検討はなされていなかった。ただヒト射精精液中や排卵期の頸管粘液内に kininogen が含まれているとの報告¹⁸⁾から, 精子が雌性生殖器官内へ進入した後も大きな役割をはたしていると考えられる。今回, *in vitro* で透明帯除去ハムスター卵を用いた貫通検査を応用してみたところ, 0.5KU/ml 以上の kallikrein を含む培養液で前培養されたヒト精子の貫通率, 多精子率は control をはるかに凌駕し, これは capacitation, acrosome reaction が急速に起こった結果であろうと考えられた。ただ, ヒト精子の capacitation 時間には大きな個人差があり⁴⁾, kallikrein の効果は,

表 2 各種濃度 Kallikrein の貫通率に与える影響

	penetration rate		polyspermy	
control	9/38	23.7 %	10/38	0.26
Kallikrein 0.1 KU/ml	11/59	18.6 %	12/59	0.20
Kallikrein 0.5 KU/ml	55/75	73.3 %	110/75	1.47
Kallikrein 1.0 KU/ml	56/59	94.9 %	136/59	2.30
Kallikrein 4.0 KU/ml	65/66	98.5 %	206/66	3.12

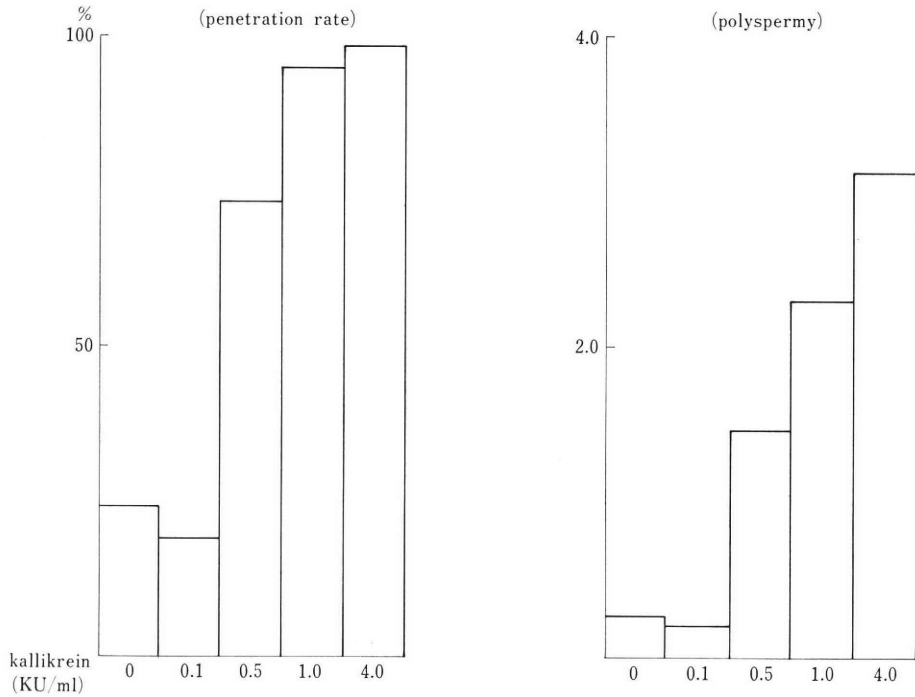


図3 各種濃度 Kallikrein の貫通率に与える影響

表3 Kallikrein 効果の個人差
1. 2 h-preincubation

	control		Kallikrein 4KU/ml		Kallikrein 7KU/ml		2. 4h-preincubation			
							control		Kallikrein 4KU/ml	
case A	9/38 (10/38)	23.7% 0.26)	5/66 (206/66)	98.5% 3.12)						
case B	25/25 (77/25)	100.0% 3.08)	34/34 (235/34)	100.0% 6.91)						
case C	16/21 (28/21)	76.2% 1.33)			25/25 (112/25)	100.0% 4.48)				
case D	3/51 (3/51)	5.9% 0.06)	4/46 (4/46)	8.7% 0.09)	3/42 (3/42)	7.1% 0.07)	7/49 (7/49)	14.3% 0.14)	23/45 (37/45)	51.1% 0.82)
case E	4/42 4/42	9.5% 0.10)	2/36 (2/36)	5.6% 0.06)			4/25 (5/25)	16.0% 0.20)	11/21 (13/21)	52.4% 0.62)

上段：貫通率，下段：多精子率

精子それ自体の持っている capacitation 時間に関係し、本来長い capacitation 時間の例では2時間の前培養では control に比し効果を認めることはできなかつた。しかし、このような例でも kallikrein 含有溶液内で4時間前培養すると、control 値の約3倍の貫通率を示した。このことは、kallikrein により capacitation 時間が短縮さ

れ、次いで acrosome reaction が早く発現した結果と考えることができる。

kinin による capacitation 時間の短縮の作用機序については、まだ不明な点が多いが、kinin が phospholipase を活性化させる事¹⁹⁾、phospholipase の活性化が acrosome reaction 発現の一過程であるとの報告²⁰⁾などが

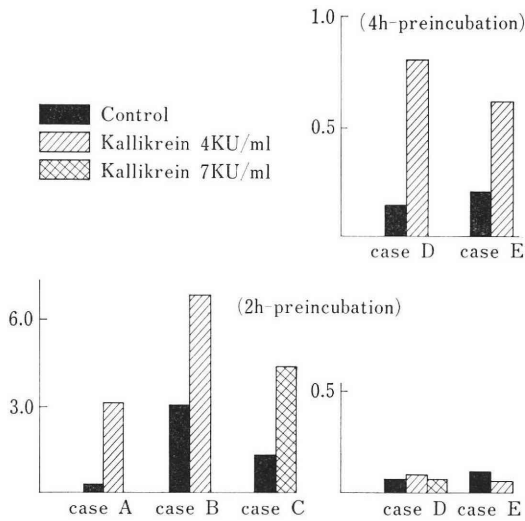


図 4 Kallikrein 効果の個人差 (多精子率)

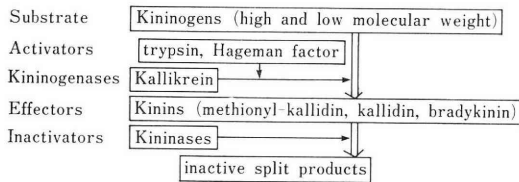


図 5 Kallikrein-Kinin system (文献24より)

ら、この段階での反応促進化とも考えられる。さらに、acrosome reaction をおこしたハムスター精子で観察される hyperactivation の現象²¹⁾が、ヒト精子にも存在し、kallikrein により acrosome reaction をおこした精子の増加が、精子運動率の増加現象とみなされるのではないかと推測される。

ただし、すでに報告した²²⁾ごとく、kallikrein の透明帯除去ハムスター卵へのヒト精子貫通率上昇の効果はグルコースの存在下でのみ認められる。このことは、Schill²³⁾が kallikrein はフルクトース代謝を介して精子運動のエネルギー増加に作用しているとの報告に一致し、今回の kallikrein の効果発現機序に関しては、今後さらに検討を要するものと思われる。

文 献

- 1) Chang, M. C. : Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into fallopian tubes. *Nature (London)*, 168 : 697, 1951.
- 2) Yanagimachi, R. : Mechanism of fertilization in mammals. In "Fertilization and embryonic development *in vitro*" Edited by Mastroianni, L. Jr. and Biggers, J. D. p 81, New York, Plenum Press, 1981.

- 3) 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.
- 4) 齊藤 晃, 星 和彦, 鈴木雅洲, 林 恵子, 柳町隆造 : ヒト精子の受精能獲得時間の個人差, *日本不妊誌*, 29 : 90, 1984.
- 5) Stüttgen, G. : Clinical substantiation of the effects of Kallikrein. In "Kininogenases-Kallikrein 1" p 189, Schattauer, Stuttgart-New York, 1973.
- 6) Schill, W. B. and Haberland, G. L. : Kinin-induced enhancement of sperm motility. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 355 : 229, 1974.
- 7) Schill, W. B. : Kallikrein as a therapeutical means in the treatment of male infertility. In "Kininogenases-Kallikrein 4" p 251, Schattauer, Stuttgart New York, 1977.
- 8) Lunglmayr, G. : Kallikrein treatment of male subfertility. Clinical results. In "Kininogenases-Kallikrein 5" p 81, Schattauer, Stuttgart-New York, 1980.
- 9) 松本 修, 羽間 稔, 高田健一, 富岡 取, 守殿貞夫, 石神 襄次 : 男性不妊とカリクレイン—高単位カリクレイン錠の有用性について—, *日本不妊誌*, 25 : 531, 1980.
- 10) 甲斐祥生, 井口 宏, 山田隆一 : 男性不妊症に対する Kallikrein 製剤 (TKT 100) の精液所見におよぼす効果について, *日本不妊誌*, 26 : 398, 1981.
- 11) 齊藤 晃, 星 和彦, 鈴木雅洲, 柳町隆造, 林 恵子 : ハムスター卵子を使用したヒト精子の受精力検討—方法と利用の現況—, *産と婦*, 49 : 1855, 1982.
- 12) 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 : われわれの行っている精液静置法 "layering method" による精液中からの良好精子の分離, *日本不妊誌*, 28 : 101, 1983.
- 13) 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. p 86, San Francisco, Freeman, 1971.
- 14) Schill, W. B. : Recent progress in pharmacological therapy of male subfertility- a review. *Andrologia*, 11 : 77, 1978.
- 15) Rohen, J. W. and Stuttman, R. : The early postnatal development of the germinative epithelium of the testis in the albino rat under the influence of Kallikrein. In "Kininogenases-Kallikrein 4" p 217, Schattauer, Stuttgart-New York, 1977.
- 16) 光川史郎, 石井延久, 白井将文 : 精子運動と Kallikrein, *日本不妊誌*, 21 : 61, 1976.

- 17) Milligan, M. P., Skene, A. T., Harris, S. J. and Dennis, K. J.: The stimulation in sperm velocity measured by timelapse photography of human spermatozoa with kallikrein. In "Kininogenases-Kallikrein 5" p 41, Schattauer, Stuttgart-New York, 1980.
- 18) Palm, S. and Fritz, H.: Components of the Kallikrein-Kinin-System in human midcycle cervical mucus and seminal plasma. In "Kininogenases-Kallikrein 2" p 17, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.
- 19) Haberland, G. L.: Interrelationships of the Kallikrein-Kinin System with the Renin-Angiotensin System and the Prostaglandins. In "Kininogenases-Kallikrein 5" p 1, Schattauer, Stuttgart-New York, 1980.
- 20) Meizel, S.: The mammalian sperm acrosome reaction; A biochemical approach. In "Development in mammals 3" Edited by Johnson, M. H. p 1, North-Holland, Amsterdam, 1978.
- 21) Yanagimachi, R. and Noda, Y. D.: Physiological changes in the post-nuclear cap region of mammalian spermatozoa; A necessary preliminary to the membrane fusion between sperm and egg cells. *J. Ultrastruct. Res.*, 31: 486, 1970.
- 22) 星 和彦, 齊藤 晃, 京野広一, 対木 章, 桃野耕太郎, 長池文康, 鈴木雅洲, 柳町隆造: カリフレインのヒト受精に与える効果, 産婦の実験, 32: 767. 1983.
- 23) Schill, W. B.: Increased fructolysis of Kallikrein-stimulated human spermatozoa. *Andrologia.*, 7: 105, 1975.
- 24) Fritz, H.: The Kallikrein-Kinin System in reproduction biochemical aspects. In "Kininogenases-Kallikrein 2" p 9, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.

The effect of kallikrein on capacitation of human spermatozoa

Akira Saito, Kazuhiko Hoshi, Koichi Kyono, Akira Tsuiki, Kotaro Momono and Masakuni Suzuki

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

Ryuzo Yanagimachi

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

The effect of kallikrein on capacitation of human spermatozoa was investigated. Penetration test using the zona-free hamster eggs was employed for the estimation on capacitation time.

1) Human spermatozoa were preincubated for 2 hours in kallikrein containing medium prior to the addition of the zona-free hamster eggs and whether penetration occurred or not was examined at 2 h after insemination. When kallikrein concentration was higher than 0.5 KU/ml, kallikrein group showed higher penetration rate than control group.

2) Next, spermatozoa of 5 cases were inseminated with eggs after 2 h-preincubation with kallikrein (4 or 7 KU/ml). 3 cases showed higher penetration rate than control, but another 2 cases did not show the difference between kallikrein group and control. These 2 cases had originally long capacitation time. Then on these cases, preincubation time was prolonged to 4 hours. After 2 h-incubation with eggs, these penetration rate exceeded the control.

These results suggest that kallikrein has the effect of shortening the capacitation time of human spermatozoa.

(受付: 昭和58年4月28日)

IN VITRO CAPACITATION OF EJACULATED RABBIT SPERM CELLS

Kahei SATO

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

Abstract: To capacitate ejaculated rabbit sperm in chemically defined media and to document this achievement by *in vitro* fertilization and term development after transfer of the embryos to recipient does, ejaculated rabbit sperm cells were incubated in chemically defined media containing bovine serum albumin, calf serum, or bovine fetal serum (FBS). Sperm cells were used from pooled ejaculates collected from bucks of proven fertility since sperm collected from individual bucks showed variation in fertilization rates.

Conditions favoring *in vitro* capacitation were: (1) sperm incubation time of 3 and 5 hours, and (2) addition of 10 or 15% FBS to incubation media. Sperm capacitated *in vitro* under these conditions resulted in ranging from 60.0% to 76.9% fertilization.

Six-teen 2- and 4-cell stage embryos fertilized by sperm cells treated in BSA-free IDM with 10 or 15% FBS were transferred to 2 recipient does. Two embryos implanted in a recipient and 1 normal young was delivered from the recipient.

(Jap. J. Fert. Ster., 29(2), 179-185, 1984)

Introduction

Sperm of mammals must undergo the functional changes of capacitation before they display the final ability to penetrate an egg¹. Capacitation is required for the sperm acrosome reaction and fertilization of the eggs. Generally, capacitation appears to be mediated by secretions of the uterus and/or oviducts according to species and may be involved in the change of the pattern of sperm motility, of the sperm plasma membrane or of the state of acrosomal enzymes (see a review²). However, at the present time the nature of capacitation and even its biological significance are still unclear. *In vitro* capacitation is well known to be induced by bovine and hamster follicular fluid³, and blood sera⁴. In the rabbit, natural capacitation time is longer than that for rodents and other mammalia⁵. And attempts to get *in vitro* capacitation in trypsin⁶, uterine fluid⁷ or human follicular fluid⁸ have either resulted in partial capacitation or

have not adequately demonstrated that sperm so treated could fertilize eggs both *in vivo* and *in vitro*. Brackett and Oliphant (1975)⁹ have reported the evidence for the *in vitro* capacitation of ejaculated sperm in high ionic strength medium (HIS medium). However, recently, two experiments have reported that HIS-treated sperm cells for tubal insemination *in vivo* resulted in poor success^{10,11}. However, since rabbit sperm cells are relatively difficult to capacitate *in vitro*, the result of Brackett and Oliphant (1975)⁹ is very of interest. The purpose of this study is to develop a useful procedure for *in vitro* capacitation of ejaculated rabbit sperm cells in a chemically defined medium.

Materials and Methods

Mature New Zealand White female and male rabbits were used in the present study. The females were caged individually for at least 17 days before used to eliminate the

chance of pseudopregnancy. The ovum donors were superovulated by pregnant mare serum gonadotropin (PMSG). The donors were injected intravenously with 100IU of PMSG followed by an intravenous injection of 75 IU of HCG 72 hours later. The donors were anesthetized with intravenous injection of sodium pentobarbital (Nembutal, Abbott.) 10 hours following HCG. Oviducts were removed and then were flushed with defined media (DM) containing 10% calf serum (Givco Co.) to obtain ovulated ova. The ova recovered were transferred through two sterile media to block any possible contaminations. After examining ova all ova were washed by transferring the cumulus clots containing them through 3 different 1 ml of media.

The medium for fertilization of ova was Brackett's medium⁹⁾ (isotonic medium (IDM) 302 mOsm/kg), 112.00 mM NaCl, 4.02 mM KCl, 2.25 mM CaCl₂·2H₂O, 0.83 mM NaH₂PO₄, 0.52 mM MgCl₂·6H₂O, 37 mM NaHCO₃, 13.9 mM glucose, 3.00 mg/ml of crystalline bovine albumin, 50 IU/ml of K-penicillin G. The Ph of the medium was adjusted 7.6. The media were filtrated with millipore filter (Millipore filter. size 0.25) prior to use for experiments. The fertilization medium and Paraffin oil used to cover it were equilibrated with 5% CO₂ in air before use. When FBS or calf serum was added to above medium, crystalline bovine albumin was removed from the medium. The osmolarity of a medium was adjusted by increasment of addition of NaCl into the IDM.

Semen was collected by using an artificial vagina. The artificial vagina was constructed with a water-jacketed soft rubber tube and into one of the vagina a test tube was placed to collect the ejaculates and other end was open for intromission of the penis. Individual ejaculates were suspended in 2 ml of IDM and were held at 37 °C. Sperm suspensions were examined under an microscope. Only 75% or more progressive motile sperm were used. Excess seminal plasma was removed by centrifugation at 800 rpm for 8 min at 35 °C. And spernatant solutions were discarded and sperm pellets were resuspended in 2 ml of fresh IDM, and sperm suspensions again were centrifuged 800 rpm for 8 min to wash sperm cells. For *in vitro* caapcipation,

sperm pellets were suspended in IDM or 2 ml of HISM and sperm suspensions were incubated for 20 min under 5% CO₂ in air at 37 °C. After incubation the sperm suspensions were centrifuged for 8 min at 800 rpm and the sperm pellets were resuspended in the IDM to a final concentration of 2×10^6 /ml.

In a series of experiments pooled ejaculates from 4 bucks were used for *in vitro* fertilization. Pooled samples were treated as described above. And the sperm suspensions were kept at 37 °C under 5% CO₂ in air until the time of insemination (about 30-40 min).

In some experiments washed sperm cells were suspended in IDM containing 10 and 15% bovine fetal serum (BFS), calf serum or bovine serum albumin (3 g/l) and the sperm suspensions were incubated for 1-5 hours at 37 °C under 5% CO₂ in air.

In a series of experiment, epididymal sperm were collected by the mince of the cauda epididymides in IDM. The cells were washed and resuspended in IDM and HISM medium as described above.

The ability of sperm cells treated under various experimental conditions to penetrate and fertilize ova was examined *in vitro*. The procedure for *in vitro* fertilization was similar to that previously reported (Sato, 1981). Briefly, superovulated ova were transferred into IDM media containing sperm cells and were incubated for 180 min under paraffin oil and a mist 5% CO₂ in air (insemination). After insemination, the gamets-containing dishes were incubated under a moist 5% CO₂ in air at 37 °C (Ikemoto Rika CO₂ incubator); then all ova were transferred into the culture medium containing 20% FBS and the incubation was continued for 48 hours, usually which allowed subsequent development. At varying intervals following the incubation, incubated ova were observed by a phase contrast microscope (Nikon Co.). The criteria for fertilization used in the present study was as following: 1) presence of Sperm head in the egg plasm. 2) male and female pronucleus formation. 3) the presence of sperm in the zona pellucida or periviteline space. These morphological examinations were performed in the fresh state in most cases, in some cases, ova were fixed 5% acetic acid and

then stained with 0.5% lacmoid solution for more detailed morphological examination.

Embryo transfers were performed according to method previously reported by Mills et al.(1973)¹²⁾. Recipient does were injected with 75 IU of HCG intravenously approximately 24 hours prior to the transfer of 4-cell 8 cell stage embryos into thier oviducts. Laparotomy was performed on each recipient doe 2 weeks after the transfer, and the ability of transferred embryos to develop further *in vivo* was assessed at that time. Implantations, sites of resorption, and complete failures to implant were noted. A few animals with normally developing were retained for final assessment of fetal development at term.

Results

Results of the fertilization ability of sperm cells collected from individual bucks and capacitated *in vitro* in HISM medium were shown in Table 1. In this series, the achievement of *in vitro* fertilization rates was in ranging from 22.1 to 41.8% (average 31.6%). This re-

sult clearly indicated that sperm cells recovered from individual bucks resulted in different fertilization rates.

Results for *in vitro* capacitation of sperm recovered from the same bucks by sperm treatment with IDM were shown in Table 2. Fertilization by the sperm cells was seen in 35.9% of 92 ova and its fertilization rates were in ranging from 30 to 47.1%. The cleaved ova observed in this experiment series were 42.4% of 33 ova fertilized *in vitro*.

Therefore, sperm cell pooled from the ejaculates of the 4 bucks (F-3, F-4, F-1 and F-7) were examined for the fertilizing capacity (Table 3). The comprable levels of *in vitro* fertilization of the ova were 35.3% of 17 ova by HISM-treated sperm and 38.5% of 26 ova by IDM-treated sperm. While, sperm cells capacitated in BSA-free IDM or HISM medium containing 10% (v/v) FBS clearly showed the highest rate of fertilization of the ova than that of BSA-containing IDM or HISM.

Results of *in vitro* capacitation of sperm cells collected from the cauda epididymides were shown in Table 4. Fertilization rate of

Table 1 *In Vitro* Fertilization of Rabbit Ova by Elaculated Sperm from 4 Bucks after Sperm Treatment with HIS Medium (380mOsm/kg)

Bucks No.	No. of ova inseminated	No. of ova fertilized (%)	No. of ova cleaved
F-1	27	6(22.2)	4
F-3	16	7(41.2)	5
F-4	25	10(40.0)	1
F-7	26	7(26.9)	3
Total	95	30(31.6)	13

HIS medium ; High ionic strength medium (380mOsm/kg)

Table 2 *In Vitro* Fertilization of rabbit Ova by Ejaculated Sperm from 4 Bucks after Sperm Treatment with ID Medium (302mOsm/kg)

Buck No.	No. of ova inseminated	No. of ova fertilized (%)	No. of ova cleaved
F-1	30	9(30.0)	8
F-3	25	10(40.0)	3
F-4	20	6(30.0)	2
F-7	17	8(47.1)	4
Total	92	33(35.9)	17

ID medium ; Isotonic defined medium (302 mOsm/kg)

Table 3 *In Vitro* Fertilization of Rabbit Ova by Ejaculated Sperm from Bucks after Sperm Treatment with 302 mOsm/kg or 380 mOsm/kg Defind Medium

Sper treatment	No. of ova inseminated	No. of ova fertilized(%)	No. of ova cleaved
Sperm cells pooled in IDM	17	6(35.3)	2
Sperm cells pooled in HISM	26	10(38.5)	3

IDM; Isotonic defien medium (302 mOsm/kg)

HISM; High inoic strength medium (380 mOsm/kg)

Sperm cells used were pooled from 4 bucks (see Table 1 and 2)

Table 4 *In Vitro* Fertilization by Epididymal Sperm Treated with ID or HIS Medium

Sperm treatment	No. of ova inseminated	No. of ova fertilized(%)	No. of ova cleaved
Epididymal sperm in IDM	32	20(62.5)	12
Epididymal sperm in HISM	25	17(68.8)	9

rabbit ova by sperm cells treated with IDM was 62.5% of 32 ova and by sperm cells treated with HISM fertilization rate of the ova was 68.8% of 25 ova. Twelve of 20 ova fertilized by IDM-treated sperm cells developed to 2- and 4- cell stages. Of 17 ova fertilized by HISM-treated sperm cells 9 developed also to 2-, 4-, and 8-cell stages.

In the next, experiment series, the achievement of the capacity to fertilize ova *in vitro* by treatment of ejaculated sperm from bucks (F-3, F-4, F-1 and F-7) with IDM containing various sera and BSA was examined (Table 5). Date in Table 5 were obtained aporoximately 24 hours after *in vitro* insemination. When sperm cells were incubated in IDM for 5 hours, obviously the fertilization rate was highdr than those 1- or 3-hour-preincubated sperm cells. On the other hand, when ejaculated sperm cells were incubated in 10% FBS in BSA-free IDM for 3 or 5 hours, the fertilization rates were 76.9% and 75.7%, respectively. And when sperm cells were treated with 15% FBS in BSA-free IDM, similar results were observed. While, the fertilization rates were in raging from 30.0 to 38.5% when sperm cells were incubated in 10 or 15% CF in BSA-free IDM for 5 hous.

In these experiments various stages of ferti-

lization and clevage were seen. These included the presence of motile sperm cells within the perivitelline space, pronuclear stage, and 2- to 4-cell stages. The overall was that fertilization process was delayed. And much variability in development after insemination in the experiments was observed. Fro example, 24 hours after insemination an ovum observed showed active motile sperm cells within the perivitelline space, however, other ovum showed late pronuclear stage in same incubation dish.

For good evidence of fertilization of the ova, an effort was made to assess subsequent *in vivo* derelopment of 2- and 4- stage ova resulting from insemination with capacitaed sperm cells in 10% FBS-contained IDM. The fertilized ova were transferred via midline incision into the oviducts of 2 pseudopregnant recipients. From 8 fertilized ova 2 implantations were observed and 1 normal young was delivered from one recipient.

Disucussion

The present study showed that rabbit ejaculated sperm cells incubated in 10 or 15% FBS in BSA free-IDM could obtain the ability to fertilize the ova. Brackett and Oliphant

Table 5 Effect of BSA, FBS, CC, and RS and Incubation Time on *In Vitro* Fertilization of Rabbit Ova

Sperm incubation medium condition	Time(hours) of sperm incubation	No. of ova examined	No. of ova fertilized(%)	No. of ova cleaved
Control in IDM	5	68	17(25.0)	0
Control in HISM	5	64	18(28.1)	0
BSA in IDM	1	15	3(20.0)	0
BSA in IDM	3	22	7(31.8)	2
BSA in IDM	5	20	8(40.0)	3
10% FBS in IDM	1	25	4(16.0)	0
10% FBS in IDM	3	37	28(76.9)	8
10% FBS in IDM	5	35	27(75.7)	10
15% FBS in IDM	1	21	4(19.0)	1
15% FBS in IDM	3	20	12(60.0)	8
15% FBS in IDM	5	24	16(66.7)	5
10% CS in IDM	1	30	8(26.7)	3
10% CS in IDM	5	13	5(38.5)	1
15% CS in IDM	1	16	6(37.5)	2
15% CS in IDM	5	21	5(23.8)	2

FBS; Fetal Bovine Serum

BSA; Bovine Serum Albumin

CS; Calf Serum

RS; Rabbit Serum

(1975)⁹⁾ have observed that fertilization rates *in vitro* by using sperm treated with IDM were in ranging from 0 to 73.9 (average of 52.3%) and fertilization rates by sperm cells treated with HISM were in ranging from 8.1 to 72.2% (average of 37.1%). These board range of fertilization rates obtained by Brackett and Oliphant⁴⁾ is due to variations between individual bucks. In the present study sperm cells from individual bucks treated with HISM achieved *in vitro* fertilization rates ranging form 22.2 to 41.2% (average of 31.6%) and by sperm cells treated with IDM the fertilization rates were in ranging from 30.0 to 47.1% (average of 35.9%). Also, sperm pooled showed similar results (Table 3). these results in the present study indicate that variations between individual bucks for *in vitro* capacitation of the sperm cells were clearly narrower range.

The present results revealed the presence of effective factor(s) in FBS for *in vitro* capacitation of rabbit ejaculated sperm cells. Akruk et al.¹⁰⁾ also have shown similar effects in rabbit serum. In thier studies, when rabbit ova were mixed with the sperm cells incu-

bated for 12 hours in 20% rabbit serum in BSA-free DM (Brackett's isotonic medium) and cultured *in vitro*, sperm cells penetrated to the zona 3 hours later and 12 hours later most of the ova showed development of male and female pronuclei. Similar results were observed in the present study. However, sperm preincubation time that obtained good results for *in vitro* fertilization was 3-5 hours. The discrepancy of the sperm preincubation time perhaps may be due to the nature of rabbit serum and FBS. At the present time, the effective factor(s) in sera for *in vitro* capacitation of sperm cells are unclear. Further studies for the chemistry of the effective factor(s) are expected.

Some studies reported that although ova fertilized by *in vitro* capacitated sperm were able to undergo implantation in uteri of recipients, only a few completed gestational development to term^{12,13,14)}. Brackett and Oliphant (1975)⁹⁾ observed that when 52 2-cell stage and 22 4-cell stage ova, resulting from fertilization experiments by using rabbit ejaculated sperm cells capacitated in HISM were transfered into 5 recipient dose, 2 recipients

became pregnant and the 2 recipients with normal developed embryos succeeded the completion of gestation. In the present study ova obtained from *in vitro* fertilization experiments by sperm cells capacitated in 10% FBS in BSA free-IDM developed to the normal offspring following the transfer. This results indicates that ova fertilized by sperm treated had the ability of normal development to the young. However, answers for low implantation rates of *in vitro* fertilized ova (after transfer) to recipients could not get enough from this study.

Many ova fertilized by *in vitro* capacitated sperm in several studies^{13,14)} were able to undergo implantation in recipients, but a few completed gestational development to term. According to Fraser and Dandekar (1973)¹³⁾, rabbit ova recovered within about 3 hours after ovulation and fertilized *in vitro* have been reported to show low implantation rates; and none of the implants developed to full term fetuses. While, when the ova were recovered within 2 hours after ovulation, about 21% of ova developed. From their results, a striking decrease in embryonic viability due to even a brief time of ageing of ova prior to sperm penetration was pointed out. In the present result, however, the cause for the embryonic wastage could not clearly be explained.

References

- 1) Brackett, B. G.: *In vitro* fertilization and its assessment with embryo culture. In Beltsville Symposia in agriculture research (3), Animal Reproduction., Alanheld Osmum & Co., pp. 171, 1978.
- 2) Yanagimachi, R.: Mechanisms of fertilization in mammals. In Fertilization and embryonic development *in vitro*. Mastroianni, L., & Biggers, J. D., eds. Plenum Press. pp. 81, 1981.
- 3) Barros, C. and Austin, C. R.: *In vitro* fertilization and sperm acrosome reaction in the hamster. J. Exp. Zool., 166: 317, 1967.
- 4) Yanagimachi, R.: *In vitro* capacitation of golden hamster spermatozoa by homologous and heterologous blood sera. Biol. Reprod., 3: 147, 1970.
- 5) Bedford, J. M.: Sperm capacitation and fertilization in mammals. Biol. Reprod., 2: Spl., 128, 1970.

- 6) Stambaugh, R. and Buckely, J.: Identification and subcellular localization of the enzyme effecting penetration of the zona pellucida by rabbit spermatozoa. J. Reprod. Fertil., 19: 423, 1969.
- 7) Brackett, B. G., Mills, J. A., Oliphant, G., Seitz, H. M. Jr., Jeitles, G. and Mastroianni, L.: Preliminary efforts to capacitate rabbit sperm *in vitro*. Intern. J. Fertility, 17: 89, 1972.
- 8) Rosado, A., Hicks, J. J., Reyes, A. and Blanco, I.: Capacitation *in vitro* of rabbit spermatozoa with cyclic adenosine monophosphate and human follicular fluid. Fert. Steril., 25: 821, 1974.
- 9) Brackett, B. G. and Oliphant, G.: Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. Biol. Reprod., 12: 260, 1975.
- 10) Akruk, S. R., Humphreys, W. J. and Williams, W.: *In vitro* capacitation of ejaculated rabbit spermatozoa. Differentiation., 13: 125, 1979.
- 11) Viriyapanich, P. and Bedford, J. M.: The fertilization performance *in vivo* of rabbit spermatozoa capacitated *in vitro*. J. Exp. Zool., 216: 169, 1981.
- 12) Mills, J. A., Jeitles, G. G. Jr. and Brackett, B. G.: Embryo transfer following *in vitro* and *in vivo* fertilization of rabbit ova. Fert. Steril., 24: 602, 1973.
- 13) Fraser, L. Y. and Dandekar, P. V.: The effect of aging on *in vitro* fertilization of rabbit eggs and subsequent embryonic development. J. Exp. Zool., 184: 303, 1973.
- 14) Seidel, G. E., Brown, R. A. and Kane, M. T.: *In vitro* fertilization, culture, and transfer of rabbit ova. Fert. Steril., 27: 861, 1976.

ウサギ射精精子の体外条件下における capacitation 誘起について

佐藤 嘉兵

日本大学農獣医学部家畜繁殖学教室

家兎 (New Zealand White 種) 射精精子の体外条件下における capacitation 誘起法について検討を加えた。

人工腔で採取した射精精子を、胎仔牛血清 (FBS)、仔牛血清 (CS)、牛血清アルブミンを添加した等調圧塩類溶液 (IDM, 302mosm) 中で 1~5 時間の培養を行ない、これを用いて体外受精を行なった結果、次の結果を得た。

1) 実験に使用した培養液うち 10% 及び 15% FBS 添加 IDM が射精精子の capacitation 誘起に最も有効であった。特に 3 または 5 時間の精子培養が 1 時間培養に比らべて高い受精率を示めた。

(2) FBS 添加 IDM で培養した 射精精子による体外受精卵子の体外培養の結果得られた 2 あるいは 4 細胞期胚を為妊娠雌ウサギ卵管に移植したところ、正常産子を得ることができた。

精子による受精率と有意な差はみられず、HISM 処理による射精精子の capacitation に対する有効性は確認することができなかった。

(受付：昭和58年7月18日)

(3) HISM 処理精子による体外受精率は IDM 処理

卵胞発育・基礎体温からみた体外受精時の採卵時期の検討

Follicular Development and BBT : Determinant Factors for Egg Collection

東北大学医学部産科学婦人科学教室

京野 広一 星 和彦 斉藤 晃
Koichi KYONO Kazuhiko HOSHI Akira SAITO

対木 章 桃野 耕太郎 森 良一郎
Akira TSUIKI Kotaro MOMONO Ryoichiro MORI

今泉 英明 星 合 昊 鈴木 雅洲
Hideaki IMAIZUMI Hiroshi HOSHIAI Masakuni SUZUKI

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

体外受精・胚移植においていかに排卵直前の成熟卵を得るかが最も重要な課題である。今回 prospective には超音波断層法による卵胞最大径, retrospective には基礎体温をパラメーターとして, 28例53周期について採卵の時期を検討し, 以下の結果を得た。

- 1) 排卵直前の卵胞最大径は 29.3 ± 4.0 mm (mean \pm S.D.) であり, 1日約2.6mm の増加をみた。
- 2) 卵胞最大径と腹腔鏡下で吸引した卵胞液量には相関係数 $R=0.437$; $p < 0.001$ と比較的高い相関が得られた。
- 3) 受精群の卵胞最大径は 26.0 ± 2.5 mm (mean \pm S.D.) で非受精群の 18.4 ± 5.4 mm に比較して有意に大きい結果が得られた。
- 4) 基礎体温の上昇期から高温相初期に採卵可能であった。

以上より超音波断層法は排卵時期の予測に有用であり, 卵胞最大径が26mm 以上, 基礎体温が最終低温日以降であることを確認して採卵するのが重要と考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(2), 186-190, 1984)

緒 言

1976年から1978年にかけて Renaud et al.¹⁾や Harkelöer et al.²⁻³⁾が超音波断層法による卵胞描写について報告して以来, 継時的な卵胞径の測定が排卵時期の予測にきわめて有用性のあることが明らかになってきた。今回, 我々は体外受精・胚移植を行っている症例について卵胞の発育, 基礎体温の変化, 卵胞液量, 体外での受精状態を調べ, いかにして排卵直前の成熟卵を得るかについて検討してみた。

研究対象

1983年1月より6月にかけて東北大学医学部附属病院産婦人科で体外受精・胚移植を受け, 超音波断層法および腹腔鏡下で卵胞を確認できた28症例53周期を対象とした。

研究方法

超音波断層装置は横河 RT-2000 (transducer 3.5 MHz) を使用した。検査3時間前より排尿を禁じ, 充

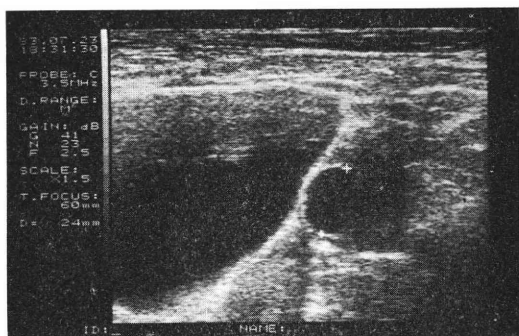


図1 超音波断層法による卵胞最大径

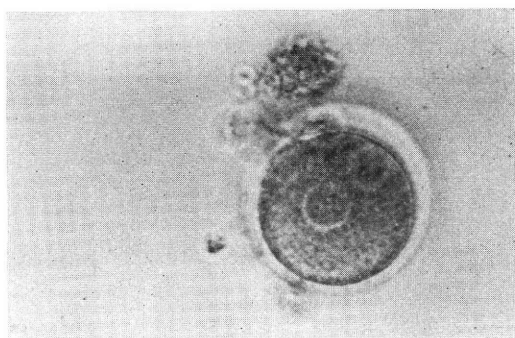


図2 受精卵

満した膀胱と子宮を目安として卵胞を確認した(図1)。卵胞液は内径1.0mm のTeflon Protected Needle⁴⁾を用い、100mmHg^{4,5)}で吸引して液量を測定した。培養液はWhittingham's T-6を使用し、採卵後5~6時間に授精させ、16時間培養液に受精の有無を検討した(図2)。

研究成績

1) 超音波断層法による卵胞発育

クロミッド排卵誘発による31周期クロミッド-HCG 排卵誘発による22周期計53周期について採卵5日前より卵胞最大径を連日測定し、下記のような回帰直線が得られた(図3)。 $Y=30.1-2.6X$ (Y =卵胞最大径, X =採卵日を0とし、それよりさかのぼる日数) 相関係数 $R=0.748$, $n=186$, $p<0.001$ で卵胞最大径は1日約2.6mm ずつ増加する結果が得られた。

2) 超音波断層法による卵胞最大径

採卵前12時間以内の卵胞最大径を測定し、クロミッド排卵誘発の場合とクロミッド-HCG 排卵誘発の場合を比較すると、クロミッドのみの場合は 28.9 ± 2.5 mm (mean \pm S.D.) クロミッド-HCG の場合は 29.3 ± 4.0 mm (mean \pm S.D.) と有意差を認めなかった。両群あわせた排卵前卵胞最大径は 29.1 ± 3.2 mm (mean \pm S.D.) を示した。なおこの卵胞最大径はいわゆる dominant follicle

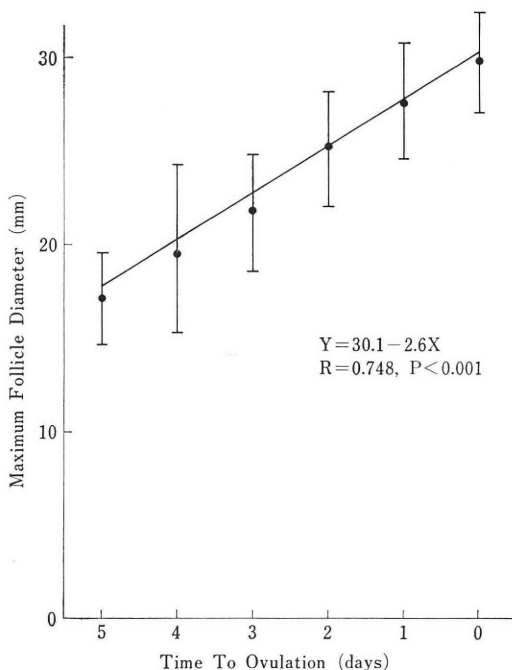


図3 The Relationship of Follicle Diameter on Ultrasound to Time

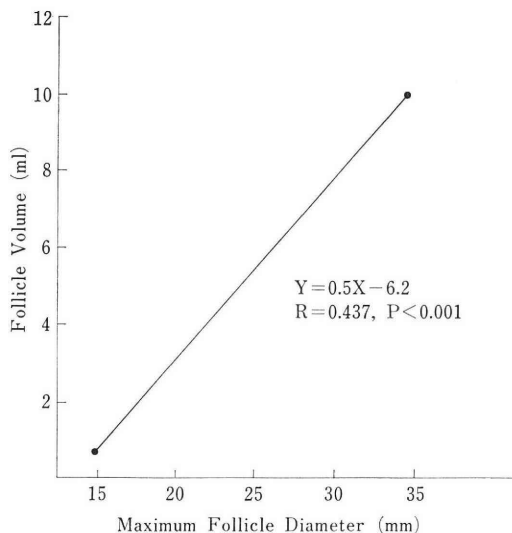


図4 The Relationship of Follicle Diameter on Ultrasound to Follicle Volume

の maximum follicular diameter を測定したもので second, third の follicular diameter は除外した。

3) 超音波断層法による卵胞最大径と卵胞液量

超音波断層法で認めた卵胞を腹腔鏡で確認し、吸引した卵胞液量と卵胞最大径との間には、 $Y=0.5X-6.2$ (Y =卵胞液量 (ml), X =卵胞最大径 (mm)) の回帰直線が得られ、相関係数 $R=0.437$, $p<0.001$ と比較的高

い相関が得られた (図 4)。

4) 卵胞最大径と受精状態の検討

53例のうち採卵できたのは43例で得られた卵子数は59個であつた。この59個の卵子について、授精16時間後に受精の確認できた群 (受精群・n=52) と受精の認められなかつた群 (非受精群・n=7) とに分けて卵胞最大径を検討すると、受精群の卵胞最大径は $26.6 \pm 4.0\text{mm}$ (mean±S.D.), 非受精群の $18.4 \pm 5.4\text{mm}$ (mean±S.D.) で、0.1%以下の危険率で受精群の方が有意に大きな卵胞最大径を示す結果が得られた。

5) 基礎体温の検討

基礎体温を検討することのできたクロミッド排卵誘発例19周期、クロミッド-HCG 排卵誘発例14周期について最終低温日と採卵日の関係について調べた。採卵日を 0 day としてその前を (-) で示すと、クロミッドのみの場合は最終低温日は -4 day に1例、-3 day に1例、-2 day に6例、-1 day に8例、0 day に3例であつた (表1)。クロミッド-HCG の場合は最終低温日は2 day に7例、-1 day に3例、0 day に4例であつた (表2)。

また採卵時すでに卵胞破裂をしていたものが3例あ

表 1 The Relationship of The Lst Low Day on BBT to The Time of Egg Collection in Clomid Induced Cycles

cycles	the last low day on BBT	the time of egg collection
1	-2	23 : 00
2	-1	14 : 30
3	-1	23 : 00
4	-1	19 : 00
5	0	11 : 00
6	-2	6 : 00 collapse
7	-2	7 : 00
8	-2	7 : 00
9	-4	7 : 00
10	-1	11 : 00
11	-2	21 : 20
12	-2	11 : 30
13	-1	10 : 30
14	0	23 : 00
15	-1	23 : 00
16	-1	17 : 00
17	-1	11 : 00
18	-3	11 : 00
19	0	19 : 00

* 0 day means the time of egg collection

表 2 The Relationship of The Last Low Day on BBT to The Time of Egg Collection in Clomid-HCG Induced Cycles

cycle	the last low day on BBT	the time of egg collection
1	0	9 : 00
2	-2	11 : 00
3	0	8 : 00
4	-1	9 : 00
5	-2	7 : 30
6	-1	8 : 00 collapse
7	0	19 : 00
8	-2	17 : 00 collapse
9	-2	13 : 00
10	-2	13 : 00
11	-2	9 : 00
12	0	21 : 00
13	-2	13 : 00
14	-1	7 : 00

* 0 day means the time of egg collection

り、クロミッド誘発例に1例、クロミッド-HCG 誘発例に2例であつた。クロミッド誘発例は-2 day に最終低温日、0 day の6 : 00a.m. に腹腔鏡で卵胞破裂を確認し、ダグラス窩より卵を得ることができた。クロミッド-HCG 誘発例の場合の2例は各々、-1 day -2 day に最終低温日を示し、0 day の8 : 30 a.m., 17 : 00に腹腔鏡で卵胞破裂を確認しており、当日の朝にすでに36.7°C 以上の高温相を示していた。

以上の結果より排卵直前の成熟卵を得るには、超音波断層法による卵胞最大径が26mm以上、基礎体温が最終低温日より上昇した時期ないし高温相初期であることを確かめて採卵するのが良いと思われた。

考 案

体外受精・胚移植が不妊症の治療法として広く行なわれるようになりつつあるが、この場合、排卵の時期にできるだけ近い成熟卵を如何にして採卵するかが重要な因子としてあげられており、そのひとつのパラメーターとして超音波断層法による卵胞最大径の測定が注目されている。

卵胞径を計測する方法としては、maximum follicular diameter (卵胞最大径) を測定する場合と、3方向からみてそれを平均した mean follicular diameter を測定する場合がある。maximum follicular diameter を測定したものは Bryce et al.⁶⁾による $24.6 \pm 2.3\text{mm}$ (排卵当日)、Robertson et al.⁷⁾による 2.5 cm (排卵前日)、

表④ Maximum Follicular Diameter and Fertilization

Fertilized n=52	26.6±4.0mm (mean±S.D.)
Unfertilized n=7	18.4±5.4mm (mean±S.D.)

Renaud et al.⁹⁾による2.7±0.3cm (排卵前日)で1日0.3cm ずつ増加するとの報告があり、日本では干石等⁹⁾の22.4+2.7mm (排卵前日)、京野等¹⁰⁾の24.0±3.1mm (排卵前日)の報告がなされている。mean follicular diameter を測定したものは Queenan et al.¹¹⁾による21.1mm (排卵前日)、O'herlihy et al.¹²⁾の報告では spontaneous cycles で21.1mm, stimulated cycles で18.4mm, Lemay et al.¹³⁾は21.6±0.7mm (推定排卵1~15時間以内)と報告している。今回の我々の報告は、dominant と思われる卵胞の maximum follicular diameter を測定したものがあがるが、従来の報告よりやや大きい29.1±3.2mm の結果をみた。また1日に増加する卵胞径は従来の報告と同様に約2.6mm であつた。次に卵胞液量であるが、O'herlihy は spontaneous cycles と stimulated cycles に分け、各々、超音波断層法による mean follicular diameter は21.0±2.0mm, 18.4±2.8 mm とし、実際に吸引した卵胞液量からわり出した卵細径とよく相関する ($\gamma=0.847$; $P<0.001$)と報告している。卵胞の形は ellipsoid であり、Maximum follicular diameter に比し、Mean follicular diameter の方が卵胞液とよく相関すると考えられる。しかし、Mean follicular diameter は測定が、むずかしく、熟練を要する。

次に卵胞最大径と受精状態の検討であるが、Quigley, et al.¹⁴⁾の報告では mean follicular diameter が20mm 未満のときの受精率は29%であるのに対し、20mm 以上のときは75%の受精率を示している。また Edwards et al.¹⁵⁾も卵胞径が17.5mm 未満のときは20%の受精率であるのに対し、それより大きいものでは46%の受精率を示している。今回我々の報告でも受精群の卵胞最大径が266mm を示しているのに対し、非受精群では18.4mm と有意な差を認めた。また Garcia et al.¹⁶⁾は卵採取の際、卵胞を吸引すると黄体変化に異常をきたす可能性を示唆し、Quigley も20mm 以上の卵胞のみを吸引すべきだと主張している。また卵胞が小さいと卵採取率も低いことも考慮すると、卵胞径が20mm 以上のものからのみ吸引し、できるだけ正常な卵巣機能を維持する努力が

必要であることを主張したい。

基礎体温と排卵について検討すると、従来、排卵は基礎体温の最終低温日とされていたが、京野等は超音波断層法で卵胞破裂を確認し、その時期が基礎体温の最終低温日から2日後にかけてあることを報告している。今回の結果では clomid cycle で採卵当日の基礎体温が最終低温日から上昇しつつある時期(19例中9例)ないしはすでに高温相になつた時期(19例中10例)であり、その時点ですでに排卵後の stigma を確認したのが1例のみであることを考えると、基礎体温の排卵日は上昇しつつある時期から高温初期になつた時期と考えられる。

Clomid-HCG cycle では14例中10例が基礎体温の上昇期に採卵されている。残りの14例中4例は採卵当日すでに高温相を示しており、うち2例に排卵後の stigma を確認した。

今回は卵胞最大径と基礎体温から採卵の時期を検討したが、今後 Estradiol, LH, Progesterone などのホルモン検査も含めて総合的に体外受精に最適な採卵の時期を検討していきたい。

文 献

- 1) Renaud, R., Macler, J., Ehret, C., Jacquetin, B. and Schumacher, J. C.: Apport l'échographie dans la surveillance de l'induction de l'ovulation. In IVeme Colloque de la Societe Francaise pour l'Application des Ultrasons a la Medecine et a la Biologie, Paris 8-10 December 1977, SFAUMB Abstracts, 42, 1977.
- 2) Hackelöer, B. J., Nitschke, S., Daume, E., Sturm, G. and Buchholtz, R.: Ultraschall-darstellung von Ovareränderungen bei Gonadotropinstimulierung. Geburtshilfe Frauenheilkd., 37: 185, 1977.
- 3) Hackelöer, B. J. and Robinson, H. P.: Ultraschall-darstellung des wachsenden Follikels und Corpus luteum im normalen physiologischen Zyklus. Geburtshilfe Fraueuheilkd., 38: 163, 1978.
- 4) Renou, P., Trounson, A. O., Wood, C. and Leeton, J. F.: The Collection Of Human Oocytes For In Vitro Fertilization. I. An Instrument For Maximizing Oocyte Recovery Rate. Fertil. Steril., 35: 409, 1981.
- 5) Jones, H. W., Acosta, A. A. and Garcia, J.: A technique for the aspiration of oocytes from human ovarian follicles. Fertil Steril., 37: 26, 1982.
- 6) Bryce, R. L., Shuter, B., Sinosich, M. J., Stiel, J. N., Picker, R. H. and Saunders, D. M.: The value of Ultrasound, gonadotropin, and estradiol measurements for precise ovulation prediction Fertil Steril., 37: 42, 1982

- 7) Robertson, R. D., Picker, R. H., Wilson, P. C. and Saunders, D. M.: Assessment of Ovulation By Ultrasound and Plasma Estradiol Determinations. *Obstet Gynecol.*, 54: 686, 1979.
- 8) Renaud, R. L., Macler, J., Dervain, I., Ehret, M., Aron, C., Plas-Roser, S., Spira, A. and Pollack, H.: Echographic Study Of Follicular Maturation And Ovulation During the Normal Menstrual Cycle. *Fertil. Steril.*, 33: 272, 1980.
- 9) 千石一雄, 石川睦男, 山下幸紀, 溝口久富, 笠茂光範, 清水哲也: 超音波断層法による卵胞発育モニタリングならびに排卵時期予測, *日産婦誌*, 34: 2205, 1982.
- 10) 京野広一, 対木章, 森良一郎, 桃野耕太郎, 長池文康, 今泉英明, 齊藤晃, 星和彦, 星合昊, 鈴木雅洲: 排卵時期予測と人工授精のタイミングについて, *日産婦誌*36巻4号に掲載予定 (1984).
- 11) 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.
- 12) O'herlihy, C., De crespigny, LCh., Lopata, A., Johnston, I., Hoult, I. and Robinson, H.: Preovulatory Follicular Size: A Comparison Of Ultrasound And laparoscopic Measurements. *Fertil. Steril.*, 34: 24, 1980.
- 13) Lemay, A., Bastide, A., Lambert, R. and Rioux, J. E.: Prediction of human ovulation by rapid luteinizing hormone (LH) radioimmunoassay and ovarian Ultrasonography. *Fertil. Steril.*, 38: 194, 1982.
- 14) Quigley, M. M., Wolf, D. P., Maklad, N. F., Dandekar, P. V. and Sokoloski, J. E.: Follicular size and number in human In Vitro Fertilization. *Fertil. Steril.*, 38: 678, 1982.
- 15) Ednardo, R. G.: Conception in Human Female. New York, Academic Press: 343, 1980.
- 16) Garcia, J., Jones, G. S., Acosta, A. A. and Wright, G. L.: Corpus Luteum Function

After Follicle Aspiration For Oocyte Retrieval. *Fertil. Steril.*, 36: 565, 1981.

Follicular development and BBT : Determinant factors for egg collection

Koichi Kyono, Kazuhiko Hoshi, Akira Saito, Akira Tsuiki, Kotaro Momono, Ryoichiro Mori, Hideaki Imaizumi, Hiroshi Hoshiai and Masakuni Suzuki

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

It is important to collect preovulatory mature egg in In Vitro Fertilization program. We have examined the follicular diameter by Ultrasonography prospectively and BBT charts retrospectively to detect the time of ovulation.

Ultrasound examinations were performed in 58 menstrual cycles of 28 patients and BBT charts were studied in 33 menstrual cycles of 17 patients.

1) Maximum follicular diameter within 12 hours before laparoscopic egg collection was 29.32 ± 4.02 mm (mean \pm S.D.) and the average follicular growth was 2.6 mm/day.

2) Follicular fluid volume correlated well with the follicular diameter by Ultrasonography, which suggests that Ultrasound is a useful technique for examining preovulatory follicular development.

3) Maximum follicular diameter (26.60 ± 2.51 mm) in fertilization groups was larger than 18.43 ± 5.44 mm in non fertilized groups. ($p < 0.001$)

4) We could usually collect mature eggs from the last low day to the hyperthermic plateau on BBT curve.

These data suggest that ovulation occurs when maximum follicular diameter is more than 26 mm and BBT is after the last low day.

(受付: 昭和58年8月8日)

SUCCESSFUL INDUCTION OF OVULATION WITH PULSATILE ADMINISTRATION OF LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE IN HYPOTHALAMIC AMENORRHEA

Kaoru MASAOKA, Masafumi KITAZAWA, Hiroshi WATANABE
and Takahiro KUMASAKA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Dokkyo University School of Medicine

Abstract: The chronic intermittent administration of a small dose of LHRH, 5 μ g iv every 90 min for 42 days, was successful in the induction of two consecutive ovulatory menstrual cycles in a patient with secondary hypothalamic amenorrhea. We here report the detail of this new mode of treatment for anovulation.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 191-193, 1984)

Introduction

Although luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) has been used previously for the induction of ovulation in patients with anorexia nervosa (Nillius et al., 1975)¹⁾ and with hypothalamic amenorrhea (Hammond et al., 1979)²⁾, only a small number of patients have ovulated or conceived. The main reason for these disappointing results appears to have been an unphysiological mode of administration of LHRH, such as the treatment with pharmacological doses of LHRH or its long-acting analogues. The facts that endogenous gonadotropin is released in a pulsatile fashion in women (Yen et al., 1972)³⁾ and that chronic intermittent administration of LHRH induces ovulatory menstrual cycles in rhesus monkeys with a hypothalamic lesion that has abolished endogenous LHRH production (Knobil et al., 1980)⁴⁾, suggest that the pulsatile administration of LHRH may be prerequisite to follicular maturation and ovulation. In this report we describe the successful induction of ovulation in a patient with secondary hypothalamic amenorrhea by chronic intermittent administration of LHRH.

Materials and Methods

Patient, N. M. was a 25 yr-old unmarried woman with secondary hypothalamic amenorrhea of about one year duration. Menarche took place at 13 yr of age. Spontaneous irregular menstrual cycles followed until 24 yr of age. On physical examination, the patient's height was 162 cm and her weight was 44 kg. No other abnormalities were found. Initial endocrine evaluation revealed relative hypogonadotropic, hypoestrogenic amenorrhea: plasma LH 6.2 mIU/ml, FSH 5.2 mIU/ml, PRL 6.1 ng/ml, and estradiol (E_2) 33.7 pg/ml. A LHRH test with 100 μ g iv in a bolus revealed low normal responses (LH, from 7.2 to 64 mIU/ml; FSH, from 6.8 to 27 mIU/ml). Twenty mg of conjugated estrogens (Premarin, Ayerst Laboratories) provoked no rebound increase in plasma LH levels. Thyroid function and tomograms of the sella turcica were normal. Induction of ovulation with clomiphene citrate 100 mg/day for 5 days, was unsuccessful. All treatments were suspended for 3 months prior to the initiation of therapeutic trial with LHRH. The chronic intermittent administration of LHRH was performed by means of a portable computerized infusion pump (Zyklomat; Ferring GmbH,

Kiel, FRG). The pump is activated once every 90 min for one min duration to deliver 50 μ l of a LHRH solution via a chronic indwelling ante-cubital catheter into the circulation. LHRH (Ferring) was dissolved in normal saline to a concentration of 5 μ g of LHRH per 50 μ l. During the treatment, blood samples were drawn daily or every other day in the morning, just before a pulse of LHRH. Plasma LH, FSH, E₂ and progesterone (P) were measured by commercially available RIA kits (Daiichi Radioisotope Labs. Tokyo).

ml, and then rose gradually to a peak of 12 ng/ml during the mid-luteal phase. On the 22nd day of the treatment (day 16 of the luteal phase), with the decrease of the E₂ and P levels, a uterine bleeding ensued. In the second cycle, follicular maturation and ovulation were induced presumably in a more orderly manner, since the pattern of E₂ and P variations were close similar to that of normal cycles. On the 42th day of the treatment (day 10 of the luteal phase), the pulsatile LHRH administration was discontinued, followed by a rapid fall of the E₂ and P levels, and then menstrual bleeding occurred.

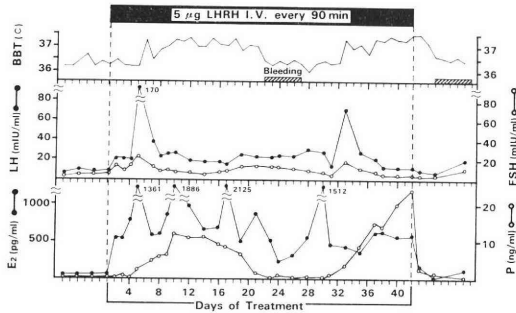


Fig. 1 BBT chart and plasma levels of LH, FSH, estradiol (E₂) and progesterone (P) in a 25 yr-old woman with secondary hypothalamic amenorrhea during the chronic intermittent administration of LHRH.

Results

Fig. 1 depicts the sequential changes of gonadotropins, gonadal steroids and the basal body temperature (BBT). During 42 days of the pulsatile administration of LHRH, the patient exhibited two consecutive ovulatory menstrual cycles. Plasma LH and FSH levels showed only minor differences from the pattern of normal menstrual cycles during the LHRH treatment. In the first cycle, plasma E₂ levels increased rapidly 24h after the start of the treatment. Subsequently, the E₂ rose progressively, reaching a preovulatory peak, followed by a remarkable LH surge at the 5th day of the treatment. During the luteal phase, two peaks of the E₂ level were observed, suggesting that ovarian hyperstimulation occurred in the first cycle. Plasma P levels remained below 0.2 ng/ml until the day of the LH surge, when it increased to 2.2 ng/

Discussion

In the previous studies, several investigators attempted to produce a sustained increase of gonadotropin from the pituitary by the administration of large doses of LHRH two or three times per day (Nillius et al., 1975; Hammond et al., 1979)^{1,2)} and long-acting analogues of the decapeptide (Katzorke et al., 1980)⁵⁾. These treatment modes, however, did not simulate the physiological pattern of hypothalamic LHRH secretion, because the pituitary gonadotropin is released essentially in a pulsatile fashion with an approximate frequency of once per 60-120 minutes (Yen et al., 1972)³⁾, reflecting the pulsatile discharge of LHRH from the hypothalamus (Carmel et al., 1976)⁶⁾. The physiological significance of the pulsatile LHRH secretion has been clearly demonstrated recently by the observation that only pulsatile, but not continuous, administration of LHRH could reestablish gonadotropin secretion (Belchetz et al., 1978)⁷⁾ and restore ovulatory menstrual cycle (Knobil et al. 1980)⁴⁾ in rhesus monkeys with a hypothalamic lesion that had abolished endogenous LHRH production.

The present study showed that chronic intermittent administration of a small dose of LHRH can induce ovulatory menstrual cycle in a woman with hypothalamic amenorrhea. Leyendecker et al. (1980)⁸⁾ have reported the successful induction of ovulation and pregnancy in patients with hypothalamic amenorrhea by means of the same infusion pump and a larger dose of LHRH. However, they interrupted the pulsatile LHRH treatment soon after ovu-

lation, and corpus luteum function was then supported by repeated injections of human chorionic gonadotropin. In our study, corpus luteum function could be maintained relatively normal solely by the pulsatile LHRH administration, and luteolysis was induced by discontinuing this treatment. It should, therefore, be noted that the intermittent administration of LHRH is indispensable not only for follicular maturation, but also for maintenance of corpus luteum function. It is also of great interest that all of the events observed in two consecutive ovulatory cycles occurred under a constant input of the hypothalamic decapeptide. This finding may be in accord with the hypothesis of Knobil et al. (1980)⁴⁾ that ovarian E₂ modulates gonadotropin secretion by acting directly on the pituitary and the hypothalamic LHRH has merely a permissive, but necessary, role in the pituitary-ovarian interaction.

Anyway, the mode of chronic intermittent administration of LHRH should promise an advance in more physiological induction of ovulation.

References

- 1) Nillius, S. J., Fries, H. and Wide, L.: Successful induction of follicular maturation and ovulation by prolonged treatment with LH-releasing hormone in women with anorexia nervosa. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 122 : 921, 1975.
- 2) Hammond, C. B., Wiebe, R. H., Haney, A. F. and Yancy, S. G.: Ovulation induction with luteinizing hormone-releasing hormone in amenorrheic, infertile women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135 : 924, 1979.
- 3) Yen, S. S. C., Tsai, C. C., Naftolin, F., Vandenberg, G. and Ajabor, L.: Pulsatile pattern of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34 : 671, 1972.
- 4) Knobil, E., Plant, T. M., Wildt, L., Belchetz, P. E. and Marshall, G.: Control of the rhesus monkey menstrual cycle: permissive role of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science.*, 207 : 1371, 1980.

- 5) Katzorke, T., Propping, D., von der Ohe, M. and Tauber, P. F.: Clinical evaluation of the effects of a new long-acting superactive luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) analog, D-Ser (TBU)⁶-des-Gly-10-Ethylamide-LH-RH, in women with secondary amenorrhea. *Fertil. Steril.*, 33 : 35, 1980.
- 6) Carmel, P. W., Araki, S. and Ferin, M.: Pituitary stalk portal blood collection in rhesus monkeys: evidence for pulsatile release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Endocrinology.*, 99 : 243, 1976.
- 7) Belchetz, P. E., Plant, T. M., Nakai, Y., Keogh, E. J. and Knobil, E.: Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science.*, 202 : 631, 1978.
- 8) Leyendecker, G., Wildt, L. and Hansman, 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.

LHRH の Pulsatile な投与による排卵誘発

正岡 薫・北澤正文・渡辺 博・熊坂高弘

獨協医科大学産科婦人科学教室

従来の LHRH による排卵誘発の成績は必ずしも満足すべきものではなく、この原因はその投与方法が LHRH 本来の pulsatile な分泌パターンで行われなかったためと考えられる。今回、著者らは少量の LHRH を90分に1回間歇的に投与し卵胞成熟、排卵への効果を検討した。25歳の視床下部性無月経患者に90分に1回5 μ g の LHRH を静注しうる小型輸液ポンプを42日間装着させ、2周期にわたり排卵が誘発された。第1周期は投与開始後24時間で約500pg/ml の estradiol (E₂) の上昇がみられ、5日目には1000pg/ml をこえるピークと同時に LH surge が出現した。黄体期には10ng/ml をこえる progesterone (P) の上昇と E₂ の高値が持続したが、16日間の黄体期の後、月経が発来した。第2周期は13週目に排卵しPのレベルは20ng/ml をこえたが、黄体期の10日目に LHRH 投与を中止すると急激に E₂ と P は低下し月経が発来した。以上の成績から LHRH の pulsatile な投与は卵胞成熟、排卵のみでなく黄体機能をも維持することが示唆され、新しい排卵誘発法として注目される。

(受付: 昭和58年8月22日)

Clomiphene citrate 療法時の内分泌動態

——とくに黄体期投与の影響について——

Endocrine Status during Clomiphene Citrate Treatment with Special Reference to the Effect Caused by its Administration during Luteal Phase

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室（指導：蜂屋祥一教授）

中 谷 正 巳
Masami NAKAYA

Department of Obstetrics and Gynecology
Jikei University School of Medicine
(Director: Prof. Dr. Shoichi Hachiya)

第1度無月経ならびに無排卵性周期症は比較的若年者に多く、排卵誘発には数多くの治療法があるが clomiphene 投与による方法が用いられてきた。しかし、これまで黄体期の機能不全は黄体に対し直接的な機能を持つ HCG 療法が用いられてきたが、本剤は蛋白ホルモンという性状から若年者には決して好ましい薬剤とは言えず、近時、clomiphene が黄体期にどのような作用を持つか話題となつてきている。

そこで clomiphene citrate の黄体機能に対する影響を検討する目的で、clomiphene 100mg/day 5日間による排卵誘発後の黄体期に再度 clomiphene 投与を加えた症例の経日的血中ホルモン値の推移を正常排卵周期例や通常の clomiphene 投与例の内分泌動態と比較検討した。

黄体期の LH 値は通常の clomiphene 投与例は正常値から低値を示したのに対し、黄体期 clomiphene 投与例では正常値から高値で推移した。FSH 値も通常投与例では低値を示したが、黄体期投与例では高値で変動した。

黄体期の 17β -estradiol (E_2) 値、Progesterone (P) 値、17-hydroxyprogesterone (17-OHP) 値は通常投与例では正常値で変動したが、黄体期投与例では高値で推移した。Testosterone (T) 値は通常投与例及び黄体期投与例で全周期を通じて高値を示した。

以上の結果から黄体期 clomiphene 投与は clomiphene-HCG 療法と同様に黄体機能に対して促進的に作用している可能性が示唆された。
(Jap. J. Fert. Ster., 29(2), 194-201, 1984)

緒 言

近年、視床下部——下垂体——卵巢系を中心とする排卵機構のダイナミックな解析の進歩にともない、無排卵症の原因部位の診断や排卵誘発法の適応もより明確化された。1961年 Greenblatt et al.¹⁾により臨床効果が認められた clomiphene citrate について数多くの報告がなされているが、内因性 estrogen level が保持された状態で LH, FSH の分泌を促進し排卵を誘発する作用を有する点から、現在主として視床下部性無排卵症の治療に

用いられている。

通常 clomiphene の投与スケジュールは、月経あるいは消退性出血の5日目より 50~150mg/day を5日間投与する方法が試みられているが、その効果については排卵誘発率が高率であるにもかかわらず妊娠率が低率であることが知られている。この clomiphene の排卵率と妊娠率の解離には諸説あるが、本剤による排卵誘発後に黄体機能不全例が高頻度に認められることも要因の一つである²⁾。

そこで、著者は clomiphene による排卵誘発後の黄体

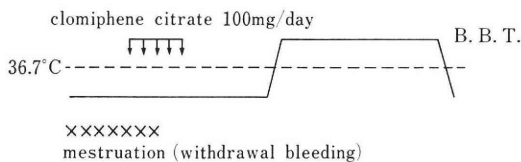
機能を改善する目的で、通常の clomiphene 投与にて排卵誘発後、黄体期に再度 clomiphene 投与を加えた症例の経日的血中ホルモン値の推移を正常排卵周期例及び通常の clomiphene 投与例の内分泌動態と比較検討した結果、黄体期 clomiphene 投与が黄体機能維持に促進的に作用する成績を得たので報告する。

研究対象および方法

年齢平均26.3±1.9 (S.D.) 歳の無排卵周期症、第1度無月経を示した不妊婦人12症例を対象とした。対象例のうち6例については clomiphene 100mg/day を月経あるいは消退性出血の5日目より5日間投与する通常の投与方法を行い(以下卵胞期 clomiphene 投与例と略す)6例については通常の clomiphene 投与により排卵後、基礎体温高温1日より clomiphene 150 mg/day 7日間投与を加えた(以下黄体期 clomiphene 投与例と略す)(Fig. 1)。尚、全対象例の Prolactin 値は25ng/ml 以下を示し、卵胞期 clomiphene 投与例については無排卵を示した症例や黄体期短縮例を除外してあり、黄体期 clomiphene 投与例では内分泌動態の分析から基礎体温高温1日目が LH peak 後2日目を示した症例のみを採用した。

採血は clomiphene 投与周期を通じて連日、午前9時から午前11時の間に肘静脈より行い、全血20ml 採血後直ちに血清分離して測定まで-20°C 以下に凍結保存し

1. Administration during follicular phase (regular regimen)



2. Administration during follicular and luteal phase. (double step regimen)

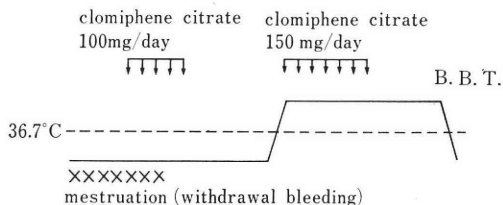


Fig. 1 Administration schedule of clomiphene citrate

た。シリーズをなす同一人からの血清は、同一測定系でそれぞれ duplicate で測定した。血清中 LH, FSH は 2 抗体法による RIA kit (第1ラジオアイソトープ社製)を使用し、2nd-IRP-HMG を標準とし、測定値は mIU/ml で表わした。血清中 17β-estradiol (E₂), Progesterone (P), 17-hydroxyprogesterone (17-OHP), Testosterone (T) の測定は RIA kit (CEA-IRE-SORIN Association 製)を使用して測定した。

正常対照として用いた正常排卵周期の正常範囲は、小幡⁹⁾の報告に基づき、測定値の推計学的検定は Student's t test にて行つた。

研究成績

対象例の Gonadotropin 及び Gonadal steroid の血清中濃度の経日的動態は LH の midcycle peak 日を 0 日とし、その前後日に従つて合成し、日々の平均値とその標準誤差を共に各図に示した。

1. LH (Fig. 2, 3)

まず卵胞期前半に当たる、排卵前-15~-9日における LH 値をみると卵胞期 clomiphene 投与例では平均 15.0±1.0 (S.E.) mIU/ml、黄体期 clomiphene 投与例では 14.0±2.0mIU/ml といずれも正常排卵周期と同様の推移を示した。ついで、後半期に当たる-8~-2日には卵胞期 clomiphene 投与例では 18.0±2.0mIU/ml と正常範囲内で変動したが、黄体期 clomiphene 投与例では 21.6±1.9mIU/ml と正常排卵周期に比べて有意に (p<0.01) 高値を示した。

排卵周辺期の-1~+1日において、卵胞期 clomiphene 投与例は 78.0±34.0mIU/ml と正常排卵周期と同一レベルで推移したが、黄体期 clomiphene 投与例では 60.0±25.0mIU/ml と正常排卵周期に比して有意に (p<0.01) 低値を示した。しかし、LH peak は、卵胞期 clomiphene 投与例では 145.7±10.2mIU/ml、黄体期 clomiphene 投与例では 107.6±15.9 mIU/ml と正常範囲内の変動を示した。

排卵後 LH 値は、卵胞期 clomiphene 投与例では、黄体期前半にあたる+2~+9日に 9.0±2.0mIU/ml と正常範囲を示したが、+9~+16日には 4.0±1.0mIU/ml と正常排卵周期に比べて有意に (p<0.01) 低値を示した。しかし黄体期 clomiphene 投与例では、+2~+8日では 15.0±1.0mIU/ml と正常範囲で変動したが、+9~+16日には 13.0±1.0mIU/ml と正常排卵周期に比べて有意に (p<0.001) 高値を示した。

2. FSH (Fig. 2, 3)

排卵前 FSH 値は、卵胞期 clomiphene 投与例では -15~-9日に 11.0±1.0mIU/ml、-8~-2日に 12.0

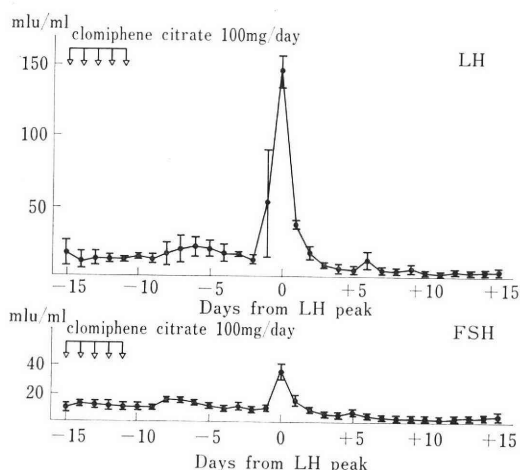


Fig. 2 Serum LH and FSH levels throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration during follicular phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhea.

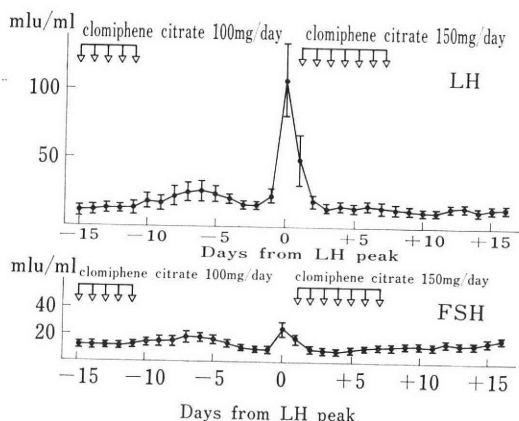


Fig. 3 Serum LH and FSH levels throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration during follicular and luteal phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhea.

$\pm 1.0\text{mIU/ml}$, 黄体期 clomiphene 投与例では, $-15 \sim -9$ 日に $13.0 \pm 1.0\text{mIU/ml}$, $-8 \sim -2$ 日に $14.6 \pm 1.1\text{mIU/ml}$ と正常排卵周期例の FSH 値の変動と同一レベルで推移した。

排卵周辺期の $-1 \sim +1$ 日においても卵胞期 clomiphene 投与例では $20.0 \pm 7.0\text{mIU/ml}$, 黄体期 clomiphene 投与例では $17.0 \pm 4.0\text{mIU/ml}$ を示したが, 各測定値は正常排卵周期と有意差を認めなかった。

FSH 値は排卵後, 卵胞期 clomiphene 投与例では,

$+2 \sim +8$ 日に $6.0 \pm 1.0\text{mIU/ml}$, $+9 \sim +16$ 日に $4.0 \pm 1.0\text{mIU/ml}$ と正常排卵周期に比べて有意に ($p < 0.01$) 低値を示した。しかし, 黄体期 clomiphene 投与例では, $+2 \sim +8$ 日に $9.9 \pm 0.5\text{mIU/ml}$, $+9 \sim +16$ 日に $14.0 \pm 1.0\text{mIU/ml}$ と正常範囲に比べて有意に ($p < 0.001$) 高値を示した。

3. 17β -estradiol (E_2) (Fig. 4)

E_2 値は, $-15 \sim -9$ 日に卵胞期 clomiphene 投与例では, $46.0 \pm 8.0\text{pg/ml}$, 黄体期 clomiphene 投与例では $43.0 \pm 4.0\text{pg/ml}$ と正常排卵周期と同様に低値で推移した。 $-8 \sim -2$ 日には, 卵胞期 clomiphene 投与例は

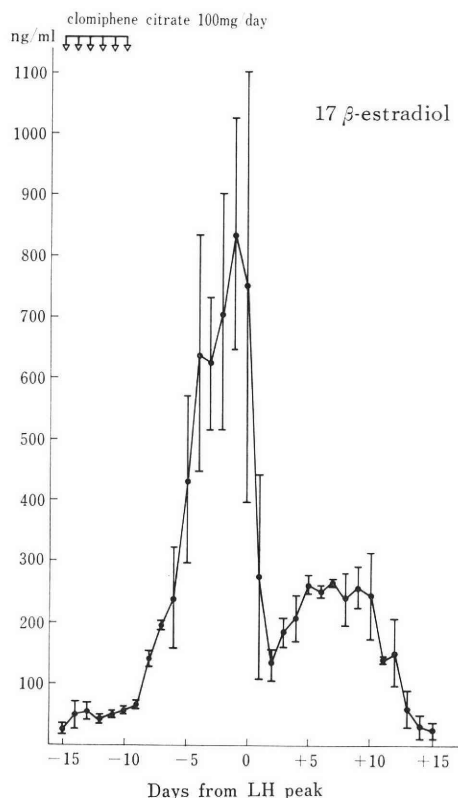


Fig. 4 Serum 17β -estradiol level throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration during follicular phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhea.

$427.0 \pm 89.0\text{pg/ml}$ と正常排卵周期に比べて有意に ($p < 0.01$) 高値を示したが, 黄体期 clomiphene 投与例では $280.0 \pm 67.0\text{pg/ml}$ と正常範囲に比してやや高値を示したが両者の間に有意差は認めなかった。

排卵周辺期には E_2 値は漸増し, 卵胞期 clomiphene 投与例は $620.0 \pm 174\text{pg/ml}$, 黄体期 clomiphene 投与例

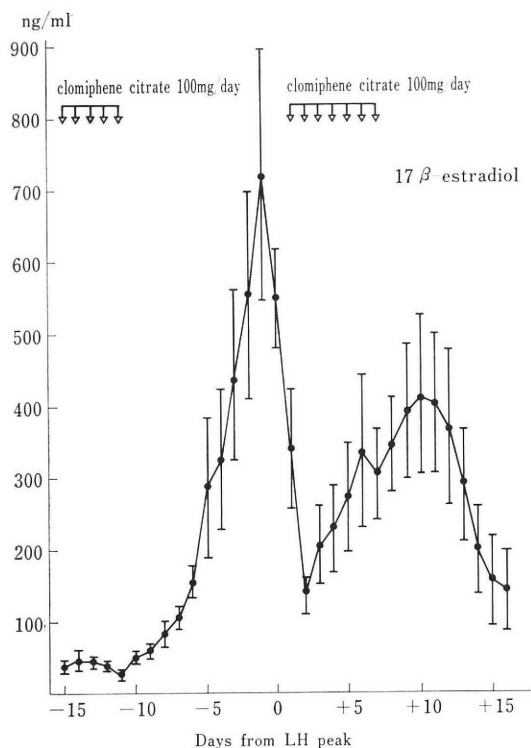


Fig. 5 Serum 17β-estradiol level throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration during follicular and luteal phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhea.

は $540.0 \pm 109 \text{pg/ml}$ と正常排卵周期に比べて有意 ($p < 0.001$) に高値を示した。

排卵後、卵胞期 clomiphene 投与例は、+2 ~ +8 日に $221.0 \pm 19.0 \text{pg/ml}$ 、+9 ~ +16 日に $129.0 \pm 37.0 \text{pg/ml}$ と正常排卵周期と同一レベルで変動した。しかし、黄体期 clomiphene 投与例では、+2 ~ +8 日に $263.0 \pm 29.0 \text{pg/ml}$ 、+9 ~ +16 日には $295.0 \pm 39.0 \text{pg/ml}$ と正常排卵周期に比して有意に高値を示した (Fig. 3, 4)。

4. Progesterone (P) (Fig. 6, 7)

排卵前 P 値は、卵胞期 clomiphene 投与例では -15 ~ -9 日に $0.17 \pm 0.02 \text{ng/ml}$ 、-8 ~ -2 日に $0.17 \pm 0.03 \text{ng/ml}$ を、黄体期 clomiphene 投与例は、-15 ~ -9 日に $0.28 \pm 0.04 \text{ng/ml}$ 、-8 ~ -2 日に $0.33 \pm 0.03 \text{ng/ml}$ と正常排卵周期と同様に低値で推移した。

排卵周辺期では、卵胞期 clomiphene 投与例、黄体期 clomiphene 投与例はそれぞれ $2.0 \pm 1.0 \text{ng/ml}$ を示した。この推移は正常排卵周期の P 値の変動に比べて有意に ($p < 0.01$) 高値を示した。

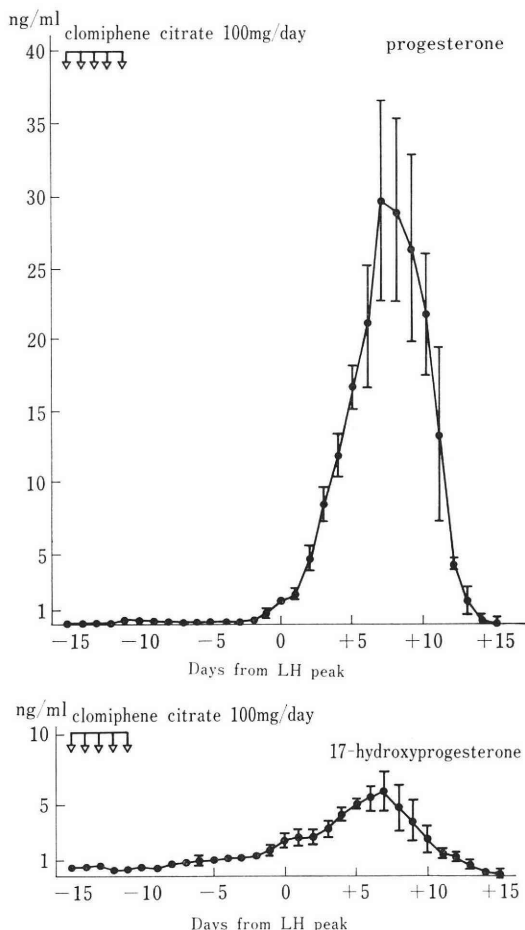


Fig. 6 Serum progesterone and 17-hydroxyprogesterone levels throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration follicular phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhea.

排卵後 P 値は、卵胞期 clomiphene 投与例では正常排卵周期と同一レベルで変動したが、黄体期 clomiphene 投与例では、+2 ~ +8 日に $25.0 \pm 4.0 \text{ng/ml}$ と正常排卵周期に比して有意に ($p < 0.01$) 高値を示したが、+9 ~ +16 日には有意差は認めないがやや高値を示した。

5. 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) (Fig. 6, 7)

17-OHP 値は、-15 ~ -9 日には卵胞期 clomiphene 投与例、黄体期 clomiphene 投与例では、それぞれ $0.43 \pm 0.04 \text{ng/ml}$ 、 $0.48 \pm 0.03 \text{ng/ml}$ と正常排卵周期と同様に低値で推移した。-8 ~ -2 日には、卵胞期 clomiphene 投与例では $1.00 \pm 0.07 \text{ng/ml}$ と正常排卵周期に比べて有意に ($p < 0.01$) 高値を示したが、黄体期 clomiphene 投与例は $0.67 \pm 0.08 \text{ng/ml}$ と正常排卵周期と

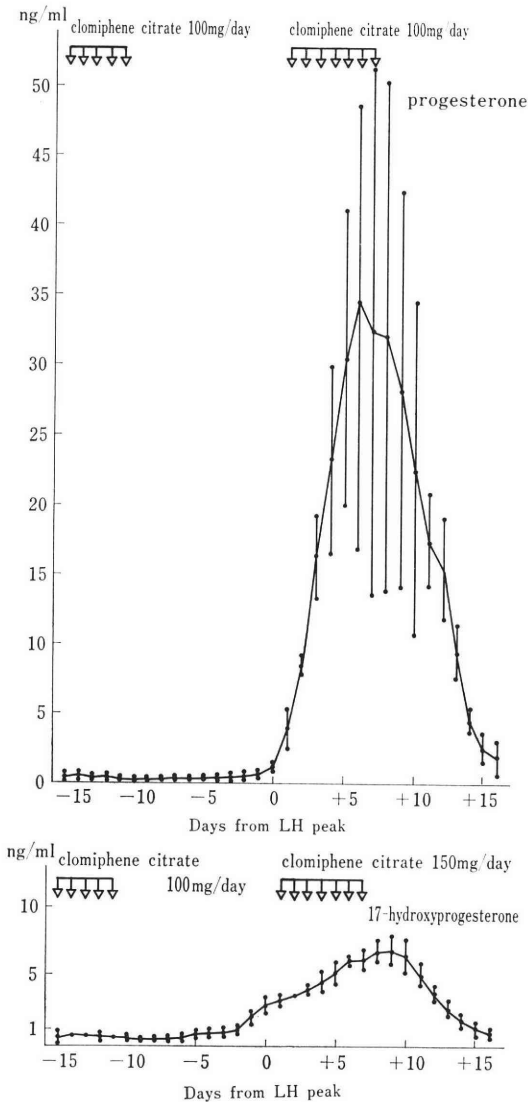


Fig. 7 Serum progesterone and 17-hydroxyprogesterone levels throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration during follicular and luteal phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhoea.

同一レベルで変動した。

排卵周辺期では、卵胞期 clomiphene 投与例は正常排卵周期と同様の推移を示したが、黄体期 clomiphene 投与例は、 $3.0 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$ と正常範囲に比べて有意に ($p < 0.001$) 高値を示した。

排卵後 17-OHP 値は剩増し、卵胞期 clomiphene 投与例では正常排卵周期と同様の動態を示したが、黄体期 clomiphene 投与例は +2 ~ +8 日に $5.0 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$,

+9 ~ +16 日には $4.0 \pm 1.0 \text{ ng/ml}$ と正常範囲に比して有意に ($p < 0.01$) 高値を示した (Fig. 5, 6)。

6. Testosterone (T) (Fig. 8, 9)

T 値は、排卵前 -15 ~ -9 日に卵胞期 clomiphene 投与例、黄体期 clomiphene 投与例では $39.0 \pm 4.0 \text{ ng/100 ml}$, $43.0 \pm 3.0 \text{ ng/100 ml}$ と正常排卵周期に比べて有意に ($p < 0.001$) 高値を示した。-8 ~ -2 日も卵胞期 clomiphene 投与例、黄体期 clomiphene 投与例では $62.0 \pm 4.0 \text{ ng/100 ml}$, $52.0 \pm 1.0 \text{ ng/100 ml}$ と正常範囲に比べて有意に ($p < 0.001$) 高値を示した。

排卵周辺期においても卵胞期 clomiphene 投与例、黄体期 clomiphene 投与例では、 $67.0 \pm 6.0 \text{ ng/100 ml}$, $62.0 \pm 3.0 \text{ ng/100 ml}$ と正常排卵周期に比して有意に ($p < 0.01$) 高値を示した。

排卵後卵胞期 clomiphene 投与例では、+2 ~ +8 日に $56.0 \pm 3.0 \text{ ng/100 ml}$, +9 ~ +16 日に $44.1 \pm 2.0 \text{ ng/100 ml}$ と正常排卵周期に比べて有意に ($p < 0.001$) 高値を示した。黄体期 clomiphene 投与例にても +2 ~ +8 日に $56.0 \pm 2.0 \text{ ng/100 ml}$, +9 ~ +16 日に $56.0 \pm 3.0 \text{ ng/100 ml}$ と正常範囲に比べて有意に ($p < 0.001$) 高値を示したが、卵胞期 clomiphene 投与例と黄体期 clomiphene 投与例の T 値には有意差は認められなかった。

考 按

Clomiphene citrate の臨床効果に関する報告は、これまで多数あるが、軽度排卵障害例 505 症例を対象とした東山ら⁴⁾の報告によると排卵誘発率は 87.7% と高率であるにもかかわらず妊娠率は 38.8% と低率を示した。このような clomiphene の排卵誘発率と妊娠率の解離の原因については、1) 頸管粘液の性状の変化、2) 本剤排卵誘発後に黄体機能不全例が多い²⁾、3) luteinized unruptured follicle が存在する^{5,6)}、4) 卵管運動性の変化などがあげられる。このため、clomiphene 排卵誘発後の黄体機能不全を改善する目的として、現在、clomiphene-HCG 療法が広く用いられている。

そこで、著者は clomiphene-HCG 療法と同様に黄体機能を改善する目的で、clomiphene による排卵誘発後の黄体期に再度 clomiphene 投与を加えた症例の Gonadotropin や多種類の Gonadal Steroid を経目的に分析し、正常排卵周期例や通常の clomiphene 投与例の内分泌動態と比較検討するとともに、clomiphene の黄体機能に対する作用機構について考察した。

LH 値の分泌動態は、排卵前には clomiphene 投与例は正常値から高値で推移したが、排卵周辺期では低値から正常値を示した。しかし、排卵後の黄体期には卵胞期 clomiphene 投与例では正常値から低値で推移したのに

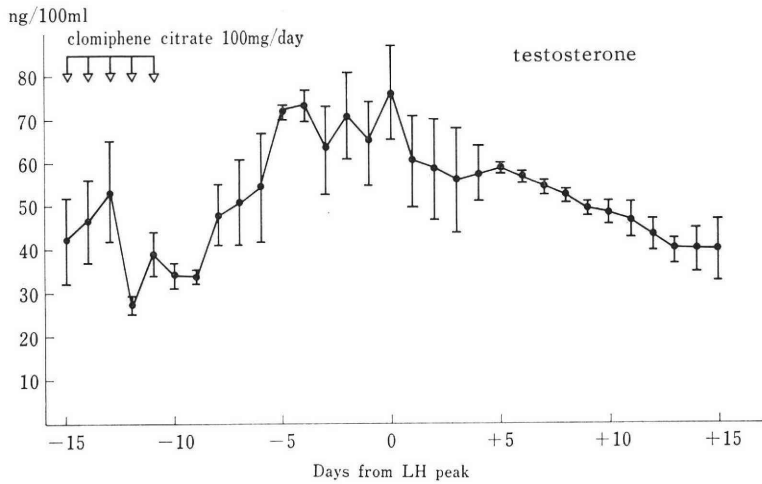


Fig. 8 Serum testosterone level throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration during follicular phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhea.

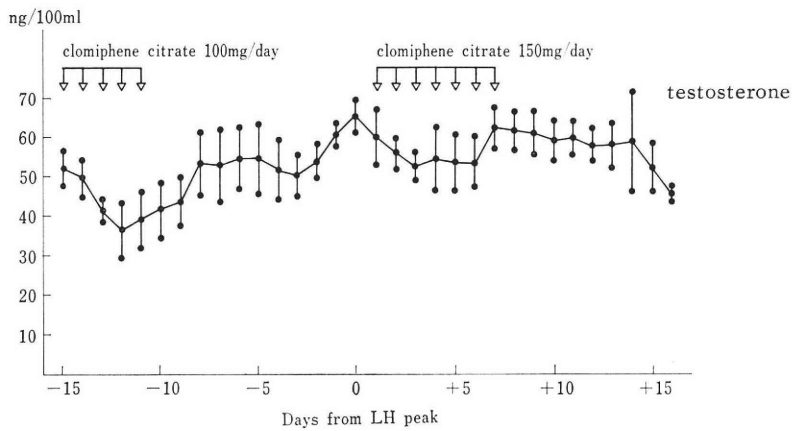


Fig. 9 Serum testosterone level throughout the clomiphene citrate-induced ovulatory cycle (administration during follicular and luteal phase) in six patients with anovulatory cycle and 1st grade amenorrhea.

対し、黄体期 clomiphene 投与例は正常値から高値を示した。

FSH 値の推移は、clomiphene 投与例は排卵前から排卵周辺期では正常値を示したが、排卵後は卵胞期 clomiphene 投与例では低値で変動したのに対し、黄体期 clomiphene 投与例では高値を示した。著者の成績を諸家の報告と比較すると卵胞期 clomiphene 投与例は Dodson et al.⁷⁾、上野⁹⁾の報告と一部において異なる点が認められたが、これは症例の clomiphene に対する反応性の差によると推定された。また黄体期 clomiphene

投与例の内分泌動態は Vandenberg et al.⁹⁾、大野ら¹⁰⁾の報告と一致した。この成績は LH-RH に対する反応性を正常排卵周期例の黄体期と黄体期 clomiphene 投与例を比較して黄体期 clomiphene 投与例に反応性の有意な増加を認めた成績¹¹⁾と同様に黄体期 clomiphene 投与は視床下部-下垂体系に作用して内因性 Gonadotropin の分泌を促進し、黄体機能に対して賦活的に作用する可能性が示唆された。

E₂ 値は、clomiphene 投与例では排卵前にはやや高値から有意に高値を示し、排卵周辺期では高値で変動した

が、排卵後は卵胞期 clomiphene 投与例では正常値を示したのに対し、黄体期 clomiphene 投与例では高値で推移した。

P 値は、clomiphene 投与例は排卵周辺期には高値を示したが、排卵後は卵胞期 clomiphene 投与例では正常値を示したのに対し、黄体期 clomiphene 投与例は高値で変動した。E₂ 値、P 値の分泌動態は、卵胞期 clomiphene 投与例について検討した Dodson et al.⁷⁾、上野⁸⁾、Taubert et al.¹²⁾、梶原ら¹³⁾の報告と一致したが、黄体期 clomiphene 投与例については大野ら¹⁰⁾の成績とは一致しなかった。この測定値の差は、著者の成績が卵胞期 clomiphene 投与にて排卵後黄体期に clomiphene 投与を加えた症例を対象としたのに対し、大野ら¹⁰⁾の成績は単に黄体期のみ clomiphene を投与した症例について検討した点にあると推察された。

17-OHP 値の推移は、clomiphene 投与例では排卵前から排卵周辺期には正常値から高値を示したが、排卵後は卵胞期 clomiphene 投与例が正常値を示したのに対し、黄体期 clomiphene 投与例では高値を示した。この成績は卵胞期 clomiphene 投与例について検討した Dodson et al.⁷⁾の報告とほぼ一致した。

T 値の分泌動態は、卵胞期 clomiphene 投与例、黄体期 clomiphene 投与例では正常排卵周期例と同様の推移を示したが、測定値は排卵前、排卵周辺期、排卵後を通じて高値を示した。clomiphene 投与例の T 値の推移について検討した報告は認められないが、HMG-HCG 療法例の T 値の動態について分析した Schumert et al.¹⁴⁾の成績では多嚢胞性卵巣症候群例以外においても卵巣過剰刺激症候群を示した例に T 値の上昇が認められた点から clomiphene 投与例の T 値の上昇は、外因性 Gonadotropin と内因性 Gonadotropin の差はあるが、Gonadotropin の卵巣に対する過剰な反応によるものと推察された。

以上の Gonadotropin や Gonadal Steroid の分泌動態から、黄体期 clomiphene 投与は、視床下部-下垂体系に作用して LH、FSH の分泌の増加を促すと共に卵巣の Gonadotropin に対する感受性の上昇¹⁵⁾や卵巣に対する直接作用¹⁶⁾によつて clomiphene-HCG 療法と同様に黄体機能に対して促進的に作用する可能性が明らかにされたと考える。

稿を終るに際し、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜った恩師蜂屋祥一教授に深甚なる謝意を捧げると共に直接の御教示をいただいた東京慈恵会医科大学産婦人科学教室の小幡功講師に感謝いたします。

なお、本論文の要旨は第26回日本不妊学会総会で発表

した。

文 献

- 1) Greenblatt, R. B., Barfield, W., Jungck, E. C. and Roy, A. W.: Induction of Ovulation with MRL/41, JAMA., 178: 101, 1961.
- 2) Murray, M. and Osmond-Clarke, F.: Pregnancy results following treatment with clomiphene citrate, J. Obstet. Gynec. Brit. Comms., 78: 1108, 1971.
- 3) 小幡 功: 正常成熟期婦人の月経周期における Estradiol-17 β , progesterone, 17-hydroxyprogesterone 及び Testosterone の動態について, 慈恵誌, 95: 1121, 1980.
- 4) 東山秀聲, 藤井正博, 山田俊夫, 大野洋介, 玉舎輝彦, 岡田弘二: clomiphene とそのパリエーション療法による排卵の誘発ならびに妊娠の成立, 日不妊会誌, 27: 324, 1982.
- 5) Jewelewicy, R.: Management of infertility resulting from anovulation, J. Obstet. Gynecol. 122: 909, 1975.
- 6) Mari, K. J. and Hulka, J.: Luteinized unruptured follicle syndrom. A subtle cause of infertility, Fertil. Steril., 29: 270, 1978.
- 7) Dodson, K. S. and Macnaughton, M. C.: Infertility in women with apparently ovulatory cycles, Br. J. Obstet. Gynecol., 82: 625, 1975.
- 8) 上野 裕: Clomiphene citrate による排卵周期の黄体機能, 日産婦誌, 31: 1335, 1979.
- 9) Vandenberg, G. and Yen, S. S. C.: Effect of Anti-estrogenic action of clomiphene during the menstrual cycle: Evidence for a change in the feedback sensitivity. J. Clin. Endocrinol. Metab., 37: 356, 1973.
- 10) 大野洋介, 玉舎輝彦, 岡田弘二, 卜部 宏: 黄体機能不全症に対するクロミフェン黄体期投与療法, 日不妊会誌, 27: 341, 1982.
- 11) 小幡 功: 未発表
- 12) Taubert, H. D. and Dericks-tan, J. S. E.: High doses of estrogens do not interfere with the ovulation-inducing effect of clomiphene citrate. Fertil. Steril., 27: 375, 1976.
- 13) 梶原健伯, 立山浩道, 宇津宮隆史, 山口省之, 村上利樹, 門田 徹: clomid 排卵後の黄体機能-血中 progesterone, estradiol-17 β を中心に一, 日産婦誌, 28: 667, 1976.
- 14) Schumert, Z., Spitz, I., Dlamant, Y., Polishuk, W. Z. and Rabinowitz, D.: Elevation of serum testosterone in ovarian hyperstimulation syndrom. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40: 889, 1975.
- 15) 小林文彦, 三宅 有: clomiphene citrate のラット下垂体卵巣系に対する作用, 日内分泌誌, 43: 858, 1967.
- 16) Smith, O. W., Smith, G. V. and Kistner, R. W.: Action of MER-25 and of clomi-

phene on the human Ovary, J. A. M. A.,
184 : 878, 1963.

Endocrine status during
clomiphene citrate treatment with
special reference to the effect
caused by its administration
during luteal phase

Masami Nakaya

Department of Obstetrics and
Gynecology Jikei University
School of Medicine

(Director : Prof. Dr. Shoichi Hachiya)

Patients of first grade of amenorrhea and anovulatory cycle are often seen in young women. There are several means to induce ovulation and recently clomiphene citrate has been used for this purpose.

Although human chorionic gonadotrophin (hCG) has been widely used for the treatment of luteal insufficiency, this is not appropriate for young women because of its nature of peptide hormone.

However, little is known about the effect of

clomiphene citrate on the luteal function. In order to elucidate this effect, 12 patients of first grade of amenorrhea and anovulatory cycle were divided into two groups.

In the first group, 6 patients were treated with 100 mg/day of clomiphene citrate from 5th day of menstrual cycle for 5 days. In second group, 6 patients were administered 150 mg/day of clomiphene citrate from first day of high BBT for 7 days after the same treatment during follicular phase as first group. Serial blood samples were collected and serum level of luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), 17β -estradiol (E_2), progesterone (P), 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) and testosterone (T) were analyzed by RIA and compared with normal cycling women.

In second group, LH level remained at or higher than normal, whereas in first group both LH and FSH level remained lower than normal. Furthermore in the second group, E, P and 17-OHP were higher than normal, whereas in the first group they were in normal range. T levels were higher than normal throughout the menstrual cycle in both group. These results indicate that the administration of clomiphene citrate during luteal phase can be used for the treatment of luteal insufficiency.

(受付 : 昭和58年12月5日, 特掲)

哺乳動物卵子 Vitamin E 定量法

—簡易前処理によるマスクロ定量の開発—

Measurement of Vitamin E in Mammalian Eggs

—Mass-chromatographic determination with simple clean-up—

日本医科大学第2生化学教室

可世木久幸 吉野芳夫

Hisayuki KASEKI Yoshio YOSHINO

Department of Biochemistry, Nippon Medical School

財団法人動物繁殖研究所

竹島 勉

Tsutomu TAKESHIMA

Imamichi Institute for Animal Reproduction

日本医科大学化学教室

田中幹夫 菅原理二

Mikio TANAKA Kotoji SUGAHARA

Department of Chemistry, Nippon Medical School

順天堂大学医学部共同病理研究室

中 瀉 直 己

Naomi NAKAGATA

Department of Central Laboratory of Medical Sciences ;
Division of Pathology, Juntendo University School of Medicine

Vitamin E (α -tocopherol; M/Z 430) の妊娠維持機構を生殖生理化学的に解析する第1歩として、哺乳動物卵子 α -tocopherol 含量を質量分析計を用いて測定する方法を開発した。哺乳動物卵子を水-エタノール系にて均一化した後ヘキサン抽出し、抽出物を直接、質量分析計に導入し、M/Z 430のマスクロマトグラム・ピーク（マスクロピーク）面積を求め α -tocopherol 標品より作成した検量線を用いて卵子 α -tocopherol を測定する（簡易前処理によるマスクロ定量）。本測定法にてマウス未受精卵 α -tocopherol は230pg/egg と算定された。本法の α -tocopherol 最低検出限界は100pg 以下であり、抽出効率は100%、変動係数は約10%であった。本法の精度を精密質量分析にて検討した結果、マスクロピーク面積値の約85%は α -tocopherol によると推定された。85%を補正係数として、上記数値を補正するとマウス未受精卵 α -tocopherol は200pg/egg と推定された。本測定法が高感度である理由は、従来は行なわれて来た抽出済み試料のクロマト分離操作を省略したからである。
(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 202-208, 1984)

緒 言

Evans 等が、後に Vitamin E (VE) と呼ばれる様に

なる抗不妊因子を見いだしたのは1922年のことであつた¹⁾。その後も彼等は実験動物を使用して母体の VE 欠乏による胎児死亡、及び胎児吸収の実験を続けたが、

VE の妊娠維持作用メカニズムの分析に至るまで研究は進まなかった²⁾。VE 研究はその後右迂曲折を経て、現在では VE の機能として生体内抗酸化剤あるいは生体膜安定化剤としての性質が重視され、臨床的にも老化防止効果に興味が移ってしまつた³⁾。したがって、発見後 60 年以上経過した現在、VE に関する生殖生理または生殖生化学的研究は前半 30 年程活発になされていると思われぬ。

ところで、著者等はラット全身組織中の VE 分布を、VE のうち生理活性最強の α -tocopherol について検討した結果、卵巣は副腎と共に VE 濃度が著しく高い臓器であることが判明した⁴⁾。この結果が VE の妊娠維持機構の解明に迫る一つの引き金になり得ると考え、今回は哺乳動物未受精卵 α -tocopherol 測定を試みた。なお、生物学遺伝学的に種が確立されており、誘起排卵が容易であり、生殖生理がよくわかっている、等の理由で実験動物としてマウスを使用した。

α -tocopherol 定量法は時代の変遷に連れ、比色法、蛍光法、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法といくつかの方法が紹介されて来た⁵⁾。近年では HPLC 法が主導的役割を果しており、我々も最初は HPLC 法による α -tocopherol 定量を試みたが、低感度のため測定困難であつた。そこで、質量分析計を用いてマスクロ定量 (Mass-chromatographic determination) を行なつたところ、非常に感度よく α -tocopherol の定量を成し得た。今回は、我々の開発した哺乳動物卵子 α -tocopherol 測定法について報告する。なお、Fig. 1 に α -tocopherol の構造式、組成式、質量数 (M/Z) 及び精密質量数を示した。

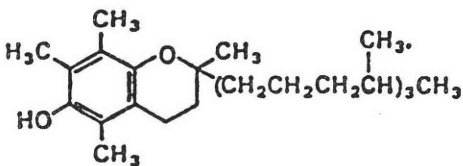


Fig. 1 α -tocopherol, $C_{29}H_{50}O_2$, M/Z=430, Accurate mass=430.3808

方 法

1) 誘起排卵処置

生後 9 週齢の JCL-ICR 系雌マウスを使用した。誘起排卵処置は豊田の方法に準じ、PMSG 5 I.U. 皮下注射、及び hCG 5 I.U. 腹腔注射をした⁶⁾。

2) 採卵操作

上記処置を済ませたマウス 5 匹を、採卵日の午前 9 : 00 から 10 : 00 にかけて頸椎脱臼せしめ、卵管膨大部よ

り未受精卵を採取した。300I.U./ml 濃度の Hyaluronidase (シグマ) を含む PBS にて、卵丘細胞を除去した卵子を洗浄した後、倒立顕微鏡にて正常と判断し得る卵子のみを実験に使用した。この方法で得られた卵子総数は 131 個であり、これらの卵子を 40 個ずつの 3 群に分け、2 群を α -tocopherol 測定用、1 群を抽出効率算定用とした。また、一部の卵子より左扁標本を作製した (Fig. 2)。

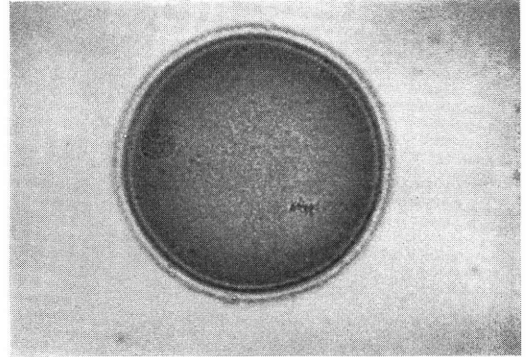


Fig. 2 Unfertilized egg (mouse)

3) 抽出操作

HPLC 用蒸留水 100 μ l に各群の卵子を加え、ホモジナイザーにて手動的に均一にした後、試薬特級ピロガロールを 1% (W/V) 含有する残留農薬測定用エタノール 200 μ l を添加した。次いで、上記試料より脂質成分をヘキサン抽出した。すなわち、残留農薬測定用 n-ヘキサン 400 μ l を加え、ボルテックスミキサーによる振盪を 30 秒間施行した後、3000rpm 5 分間 4°C にて遠心分離し、ヘキサン層 300 μ l を reactitube (ピアス) に移し、窒素ガスにてヘキサンを蒸発させた。上記のヘキサン抽出を 3 回くり返した後、最終的に抽出を終えた試料を 1% ピロガロール含有エタノール 20 μ l に溶解した。なお、抽出操作に使用した薬品類は全て和光純薬より購入した。

5) 抽出効率の算定

抽出効率の算定は以下の如くに行なつた。放射活性 (cpm) 既知の D- α -[5-methyl-³H] tocopherol (アマシヤム, ジャパン) を抽出前の一群の卵子に添加後、上記の抽出操作を施行した。次いで、抽出済み試料の放射活性 (cpm) の測定を行ない、下記の式に基づいて抽出効率を計算した。

$$\text{抽出効率(\%)} = \frac{\text{抽出済み試料の放射活性} \times 100}{\text{抽出前試料に添加した放射活性}}$$

4) 定量操作 (マスクロ定量; Mass-chromatographic determination)

i) 機械: 日立二重収束質量分析計 (M-80) 及びデータ処理装置 (M-003) を用いた。

ii) データ収集条件: インビーム・ピペットの先端に試料を塗付した後, M-80 に直接導入し, 電子衝撃イオン化を施行した (EI-IB 法). スキャン範囲は M/Z 300-500 とし, 187.5 M/Z/秒の速度にて, 数分間に渡りくり返しスキャンを行こない, M-003 にデータを収集した.

iii) α -tocopherol 検量線: d-l- α -tocopherol (和光純薬) を標品として検量線を次の要領で作成した. 100pg, 300pg, 600pg, 1,000pg, 3,000pg の標品に対して上記条件にてデータを取り込んだ後, M/Z 430 (α -tocopherol 分子イオンピーク) のマスクロマトグラムを描出し, ピーク面積を算出した (マスクロピーク面積値). 次いで, X 軸に α -tocopherol 重量を, Y 軸にマスクロピーク面積値をとり検量線を作成した. Fig. 3 に α -tocopherol 標品のマスクロマトグラム及びマススペクトルを Fig. 4 に検量線を示した.

iv) マウス未受精卵 α -tocopherol 定量: 抽出済み試料 (20 μ l) のうち 4 μ l に対して, 上記条件にてデータ収集を行こない, マスクロピーク面積値を算出し, 検量線より試料中の α -tocopherol 含量を求めた. なお, 各試料につき定量を 3 回ずつ試みた. Fig. 5 にマウス卵子より抽出した試料のマスクロマトグラム及びマススペクトルを示した.

5) 精密質量分析

従来, 生体成分質量分析の前処理操作 (clean-up) 手順は, i) 目的物の抽出, ii) クロマトグラフィー (TLC, GC, HPLC) による分離, の 2 つ以上のステップがな

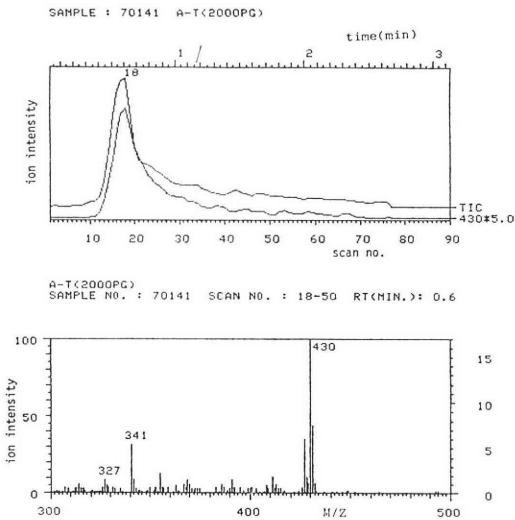


Fig. 3 Mass-chromatogram (top) and mass-spectrum (bottom) of α -tocopherol standard.
TIC : total ion current

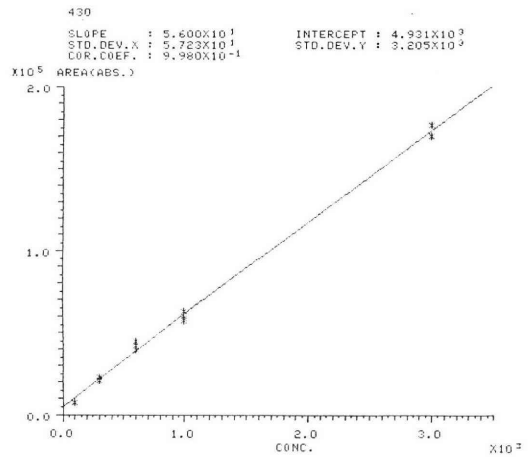


Fig. 4 Calibration curve of α -tocopherol. X-axis: the amount of α -tocopherol (pg) Y-axis: the area of mass-chromatographic peak at M/Z 430

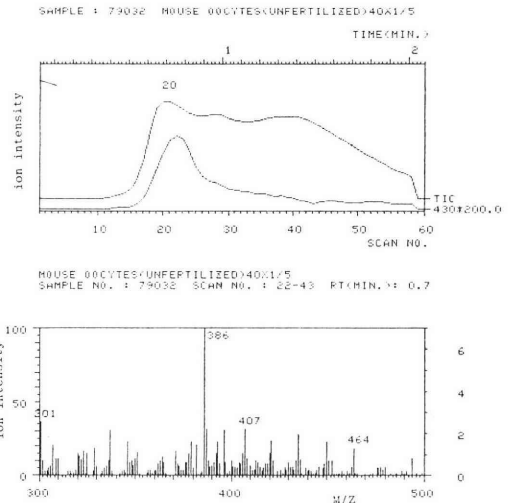


Fig. 5 Mass-chromatogram (top) and mass-spectrum (bottom) of unfertilized eggs of mice.
TIC : total ion current

されて来た. 上記の卵子 α -tocopherol 測定方法に於ては, 分離操作を省略した. 何故なら, 卵子内に存在する α -tocopherol が超微量であるために, 分離操作途上にて目的物 (α -tocopherol) の分解及びカラムへの吸着を生じ, 定量性の低下を来たしたからである. しかし, この方法では前処理後の試料に共雑物が混入していることは, 抽出済み試料の質量分析結果 (Fig. 5 下図) より明らかである. すなわち, α -tocopherol 標品の分析結果

(Fig. 3 下図) に比し, 抽出済み試料のそれは, M/Z 430 以外にも M/Z 386 (コレステロールの分子イオンピーク) を始め, 様々なイオンピークが認められる。したがって, 抽出済み試料のイオン化により, 分子イオンあるいはフラグメントイオンの M/Z が 430 を示す様な共雑物が試料中に存在するならば, 上記の卵子 α -tocopherol 測定法は不正確であろう。

そこで, 上記の卵子 α -tocopherol 測定法の精度を確認するために, 卵子の精密質量分析を試みた。精密質量分析とは, イオン化により生じたイオンの M/Z を 10^{-4} の単位まで分析する方法である。5 匹の雌マウス誘起排卵処置後採取した未受精卵, 計 175 個を一括して抽出し, 精密質量分析用の試料とした。精密質量分析は内部標準物質として, Perfluorokerosene (high boiling), Triazine (いずれも東京化成) を用いて行なつた。

結 果

1) 抽出効率

上記の方法による抽出効率は 100% と算定された。

2) α -tocopherol 検量線 (Fig. 4)

α -tocopherol 標品 100pg ~ 3000pg の範囲では検量線は $Y = 56X + 4931$ の式で示される直線となり, X 軸と Y 軸間の相関係数は 0.998 と高い相関を示した。また, α -tocopherol 標品 100pg のマスクロピーク面積値は検量線上にあることから, 本定量法の最低検出限界は 100pg 以下であることが確認された。

3) マウス未受精卵 α -tocopherol 測定値 (Table 1) 2 群の卵子に於ける α -tocopherol 測定結果を Table

Table 1 α -tocopherol content in unfertilized eggs of mice.

A : α -tocopherol values by the mass-chromatographic determination with simple clean-up. These values were obtained from $4 \mu\text{l}$ of the extract. Total volume of the extract was $20 \mu\text{l}$.

B : α -tocopherol values of each group. These values were calculated from the value of A (A-value $\times 5$)

C : α -tocopherol content/egg.

	A	B	C
group 1	1510 pg	7500 pg	210 pg
	1720 pg	8600 pg	
	1850 pg	9250 pg	
group 2	2150 pg	10750 pg	250 pg
	2050 pg	10250 pg	
	1690 pg	8450 pg	

1 に示した。くり返し測定 (3 回) により得られた変動係数は第 1 群 : 10.1%, 第 2 群 : 12.3% であつた。また, 卵子 1 個あたりの α -tocopherol 含量は 210pg (第 1 群), 250pg (第 2 群) であつた。以上の結果から, マスクロ定量法により求められたマウス未受精卵 1 個当りの α -tocopherol は約 230pg と算定された。

4) マウス未受精卵子の精密質量分析 (Table 2)

通常のマスクロマトグラムないしはマススペクトル (Fig. 3 及び Fig. 5) に於ける M/Z 430 の範囲は M/Z 429.5-430.4 なので, 精密質量分析による上記範囲のイオンピークにつき検討した。Table 2 に示したマウス未受精卵子の精密質量分析結果によると, M/Z 429.5-430.4 の範囲にはピークナンバー (PKNO) 2631 及び 2632 の 2 本のピークが認められた。このうち, PKNO. 2632 の M/Z (Obs.) は 430, 3831 であり, Fig. 1 に示した α -tocopherol 精密質量数との誤差が 2.3×10^{-3} と小さく α -tocopherol そのものと考えられる。

また, PKNO. 2631 及び 2632 のイオン強度の和は 8718 であり, そのうち PKNO. 2632 (α -tocopherol) の強度が 85% 以上を占めた。マスクロマトグラムとは, X 軸にスキャン回数を, Y 軸に各スキャン毎のイオン強度を示したグラフであるので, 以上の結果より卵子抽出試料から算定される M/Z 430 のマスクロピーク面積値の約 85% は α -tocopherol が占めると考え測定値の補正を行なうと, マウス未受精卵 1 個あたりに含まれる α -tocopherol は約 200pg と推定される。以上の結果より, 次の考察を行なつた。

考 察

著者等は既に, i) ラット卵巣は他の組織に比し, 著しく α -tocopherol が高いこと⁴⁾, ii) ヒト妊娠初期に於いては, 胎児の発育に反比例して胎児自らの総 α -tocopherol 濃度が減少すること⁷⁾, を見出ししている。これらの結果を哺乳動物の発生過程に関連づけて考えると, 哺乳動物の排卵卵子は極めて豊富に α -tocopherol を含有しており, 受精, 卵割, 着床, 細胞分化に伴つて卵子及び胎芽の α -tocopherol は消耗され減少する可能性が考えられる。一方, 現在 α -tocopherol の機能として考えられているのは, i) 生体膜安定化作用⁸⁾, ii) 生体膜を構成する多価不飽和脂肪酸の過酸化抑制作用⁹⁾, である。したがって, 受精から着床に至る, ダイナミックな生理化学変化が要求される哺乳動物初期発生過程の卵子生体膜にて α -tocopherol が消耗され減少するとの考え方は妥当なものと思われる。上述の仮説を証明する第 1 歩として, 哺乳動物としては比較的均一な卵子を多数得られるマウスを利用して, 未受精卵 α -tocopherol 測定

Table 2 Accurate mass-spectrometry of unfertilized eggs of mice.

PKNO.: peak number

INT.: ion intensity

M/Z (obs): observed M/Z

ER (MU): slippage against accurate M/Z

Sample: Mous Unfertilized Eggs-175 (HR-MS) 9.8 collect							
Sample No.: 79020		SCAN No.: 7					
No.	PKNO	Int.	M/Z(OBS.)	ER(MU)	Elements		
20	2626	3225	429.2753				
21	2631	1101	430.0790				
22	2632	7617	430.3831	2.3	C 29	H50	02
23	2634	293	430.6192				
24	2635	241	430.7496				
25	2640	2529	431.3995	10.8	C 29	H51	02
26	2641	245	431.6299				
27	2643	262	431.8899				
28	2647	4097	432.4311	- 1.6	C 30	H56	01
29	2652	4537	433.4368	- 3.8	C 30	H57	01
30	2656	223	434.0921				
31	2657	395	434.1758				
32	2658	8641	434.4553	6.8	C 30	H58	01
33	2664	20193	435.4654	9.1	C 30	H59	01
34	2666	257	435.7665				
35	2667	10329	436.4316	3.9	C 29	H56	02
36	2669	239	436.7507				
37	2674	219	437.2403				
38	2675	3977	437.4378	2.2	C 29	H57	02
				6.7	C 28	C ★1	H56 02

Hitachi data processing system M-003

法を開発した。

我々は質量分析計を用いる α -tocopherol 定量を行ってきたが、現在までは α -tocopherol 定量法に関しては HPLC 法が主導的役割を果たしているため⁹⁾、質量分析計による定量法を紹介した文献は未だ数多くはみられていない⁹⁾。今回、我々の開発した測定法は最低検出限界が 100pg 以下であることが示され、 α -tocopherol 定量法としては最も感度の良い方法に属すると思われる⁹⁾。本測定法の定量感度の高い理由は、従来の前処理操作 (clean-up) ではなされていた試料抽出後のクロマトグラフィーによる分離操作を省略したことによる。なぜならば、微量の α -tocopherol はクロマト分離操作中に酸化ないし分解を来したり、あるいはカラムへの吸着等を来してしまうからである。すなわち、本測定法では簡易な前処理 (Simple clean-up) を高感度のマスクロ定量 (Mass-chromatographic determination) に直結させたために、卵子内に存在する超微量の α -tocopherol 測定

が可能となったと考えられる (簡易前処理によるマスクロ定量法: Mass-chromatographic determination with simple clean-up)。但し、本測定法では分離操作を省略したために、卵抽出試料には α -tocopherol 以外の共雑物によるイオンピークが数多く認められたが (Fig. 6)、精密質量分析の結果から試料の M/Z 430 マスクロピーク面積値の約 85% は α -tocopherol が占めると考えられるので、本測定法を施行した。なお、約 85% という数値は、別の ICR 系雌マウスより得られた卵子の精密質量分析でも同様の値を得たので、再現性ある数値と考えられる。

今回の報告では、材料をマウス未受精卵に限定して α -tocopherol の測定をしたが、受精卵を材料とする場合には、誘起排卵処置後に mating を行かない、翌朝に採卵すれば *in vivo* に於ける測定が、また採卵後に体外受精を行えば *in vitro* に於ける測定が可能であり、目下実施中である。また、 α -tocopherol の卵子内に於け

る局在を検討するために、卵子を透明帯と細胞質に分離して、各々の α -tocopherol 定量を行こなう予定である。更に、動物種による卵子内 α -tocopherol 含量の差異については今後の課題となろう。なお、今回の論旨とは若干異なるが、本測定法を血漿 α -tocopherol 測定に利用すると、測定に要する血漿はわずか $1 \mu\text{l}$ で充分である⁹⁾。したがって、被検者に負担を与えないという観点から、本測定法は新生児の VE 欠乏症診断のスクリーニングテストとして有用な手段になり得ると思われる。

α -tocopherol は非常に酸化を受けやすい物質のため、採卵及び抽出途上における分解も著明であると思われる。本測定法では抗酸化剤キャリアーとしてピロガロールを使用し、抽出効率率は 100% と算定された。しかし、本測定法に於てもなお、抽出過程等にて α -tocopherol 分解が完全に抑制されているか否かは不明であり、今回のマウス未受精卵 α -tocopherol 測定値 (230 pg/egg) が絶対的な数値である保証はない。今後更に、完全な測定値を求めて行くために、i) 採卵時間の短縮、ii) 採取した卵子を収容する培地の考慮、及び卵子の保護、iii) 抽出操作を無酸素の窒素気流下にて施行する等の改良を加え再度詳細な報告をする予定である。また、生体内 α -tocopherol の超微量測定法に関する総括的、かつ基礎的課題として、目的物 (α -tocopherol) の分解あるいはカラム吸着を来たさない α -tocopherol クロマト分離条件の探索も忘れてはならないと思われる。

謝 辞

質量分析装置 (M-80, M-003) の取り扱い全般に渡り、(株) 日立製作所・那珂工場 理学博士・菱田真三郎氏に並々ならぬ御世話になりました。また、本論文の記載にあたり、意義深い御指示を賜りました名城大学薬学部機器分析学教室、鈴木真言教授、並びに原田健一講師に深く感謝致します。なお、本研究は文部省科学研究費及びエーザイ製薬からの寄付により行なわれた。

文 献

- 1) Masson, K. E.: The first two decades of vitamin E history. In "vitamin E". Edited by Machlin, L. J. New York, Marcel Dekker: p 1, 1980.
- 2) Nelson, J.S.: Pathology of vitamin E deficiency. In "vitamin E". Edited by Machlin, L. J. New York, Marcel Dekker: p 398, 1980.
- 3) 野沢義則, 香川靖雄: 生体膜と疾患, 講談社サイエンティフィック, 東京, 講談社: p 260, 1979.
- 4) 可世木久幸, 竹島 勉, 田中幹夫, 菅原理二, 佐藤久美子, 吉野芳夫: 哺乳動物卵の VE 定量に

関する研究, 日不妊会誌, 28: 559, 1983

- 5) 勝井五一郎: ビタミン学実験法 [1], ビタミン E 及び関連化合物の定量法. p 197, 東京, 東京化学同人, 1983.
- 6) 豊田 裕: 実験生殖生理学の展開, 鈴木善祐編, 卵への進入機序, p 29, 東京, ソフトサイエンス社, 1983.
- 7) 可世木久幸, 佐藤久美子, 平井幸彦, 吉野芳夫, 根本 将: Vitamin E の妊娠維持機構の解析—ヒト正常妊娠子宮内組織の VE 定量—, 産婦世界, 35: 1083, 1983.
- 8) Thomas, D. W., Parkhurst, R. M., Negi, D. S., Lunan, K. D., Wen, A. C., Brandt, A. E. and Stephens, R. J.: Improved assay for α -tocopherol in the picogram range, using gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr., 225: 433, 1981.
- 9) 可世木久幸, 佐藤久美子, 吉野芳夫, 田中幹夫, 菅原理二, 竹島 勉: 生体内超微量 Vitamin E の定量—内部標準物質として D₄ 体を使用するインビーム法によるマスクロ定量, 医用マス研究会講演集, 8: 151, 1983.

Measurement of vitamin E in mammalian eggs

—Mass-chromatographic determination with simple clean-up—

Hisayuki Kaseki and Yoshio Yoshino

Department of Biochemistry, Nippon Medical School

Tsutomu Takeshima

Imamichi Institute for Animal Reproduction

Mikio Tanaka and Kotoji Sugahara

Department of Chemistry, Nippon Medical School

Naomi Nakagata

Department of Central Laboratory of Medical Sciences; Division of Pathology, Juntendo University School of Medicine

Our final aim is to analyse the mechanism that vitamin E (α -tocopherol; $M/Z=430$) preserve normal pregnancy and fetal well being. Present paper introduces the highly sensitive measuring method of α -tocopherol in mammalian eggs. The assay procedure was as follows: A specimen (40 unfertilized eggs from 5 mice) was first homogenized in distilled water, diluted by ethanol with pyrogallol (1% w/v conc.) as anti-oxidant, and extracted by n-hexane. The extract was directly introduced to a mass-spectrometer (M-80, Hitachi) using an in-beam pipette, electron-ionization was then

performed (EI-IB method). Scanning was carried out from M/Z 300 to 500 during few minutes. Quantitative analysis adopted a mass-chromatographic determination by data processing system (M-003, Hitachi); i.e., an area of mass-chromatographic peak at M/Z 430 was measured and fitted to a calibration curve that was made from d-l- α -tocopherol standard. The results showed one of the unfertilized eggs of the mice contained approximately 230 pg of α -tocopherol. Minimum quantitative sensitivity in this assay method was lower than 100 pg of α -tocopherol, recovery rate of tritiated α -tocopherol was estimated as 100 %, and coefficient of variation was about 10 %. In order to estimate an accuracy of the mass-chromatographic determination, we analysed accurate mass-

spectrometry of mice eggs. The result showed 85 % of ion intensity at M/Z 430 was from α -tocopherol; i.e., approximately 85 % of the peak area by mass-chromatography at M/Z 430 was considered to be α -tocopherol. Therefore, the corrected α -tocopherol level by above adjustment was about 200 pg/egg. The advantage of this assay method is highly quantitative sensitivity of α -tocopherol. The reason why this method shows the advantage is considered to be mainly using a simple clean-up that skips over usual chromatographic purification (TLC, HPLC, GC, etc); i.e., the extract was directly introduced to a mass-spectrometer.

(受付：昭和58年12月13日，特掲)

AIH による妊娠成功例の検討

Study of Pregnant Cases with AIH in Our Infertility Clinic

社会保険総合病院徳山中央病院産婦人科

山下三郎 伊東武久

Saburo YAMASHITA Takehisa ITO

道上文和 野見山宏寿

Fumikazu MICHIGAMI Hirohisa NOMIYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology
Tokuyama Chuo General Hospital

血清 Estradiol (E_2) を可及的連続採血により測定し、排卵誘発法別に排卵誘発可能な E_2 レベルを設定し、prospective に ovulation を推定した上、AIH (配偶者間人工授精) を行なった。このようにして昭和55年5月から58年5月までの3年間に22例の妊娠例を得た。これらの妊娠例の検討により以下の成績を得た。

1) 排卵時期の決定について

AIH の指標として、以下の如き血清 E_2 レベルを設定した。No treatment 群 $200 \leq E_2 < 400 \text{ pg/ml}$; clomid 群, $400 \leq E_2 < 600 \text{ pg/ml}$; HMG 群, $200 \leq E_2 < 400 \text{ pg/ml}$; clomid-HMG 群, $400 \leq E_2 < 600 \text{ pg/ml}$ 。

2) 授精日と排卵日との関係

基礎体温 (BBT) より、低温最終日を排卵日と仮定すると、授精日は、排卵2日前から排卵後1日目までに全例分布していた。

4) 授精日と卵胞期日数およびその予後について；異常妊娠5例中4例に卵胞期日数17日以上症例が含まれていた。

5) Clomid 群, clomid-HMG 群, HMG 群, No treatment 群のうち clomid 群で流産が最も多く認められた。

6) 妊娠周期の精液所見をみると、 $3000 \times 10^4/\text{ml}$ 以下の oligospermia の症例で流産が多く認められた。

以上より、妊娠率向上のためには、夫婦ともども積極的治療が必要と思われる。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 209-212, 1984)

はじめに

日常、不妊症治療の一環として、AIH を行なっているが、当面する夫婦にとっては多大の労力を必要とする治療法である。AIH の適用となるカップルでは大多数が Oligospermia の症例であり、一部、Hüner test 陰性例が含まれる。それだけに一回一回の授精をできる限り大切に、しかも効果的に行ない、できるだけ早期に妊娠成立をみるよう努力することが必要である。このことは究極的には“授精のタイミング”という問題に凝集さ

れるものと思われる。そのため我々は血清 E_2 値のレベルより prospective に排卵日を推定した上で AIH を行なっている。今回、妊娠成功例につき、特に排卵誘発法別に種々検討し若干の知見を得た。

対象及び方法

昭和55年5月より昭和58年5月までの3年間に当科を受診した挙児希望の患者のうち、夫が Oligospermia であるもの、または Hüner test 陰性のカップルに AIH を行ない、妊娠に成功した22症例を研究対象とした。

表 1 基礎疾患のうちわけ

Normal	8 名
Anovulatory cycle	8 名
Amenorrhea (1st grade)	2 名
Delayed ovulation	3 名
Cervical mucus insufficiency	1 名

採血は可及的に連続採血で行ない、血清 E₂ 値を測定した。妻の基礎疾患のうちわけは、表 1 の如くである。即ち無治療例 8 名、無排卵周期症 8 名、第 1 度無月経 2 名、遅延排卵 3 名、頸管粘液分泌不全 1 名である。

AIH の時期決定については、共同研究者の伊東⁴が第 27 回日本不妊学会に於いて発表した如く、各種治療法に対し、AIH 施行 2~3 日前の血清 E₂ 値が表 2 の値になった時 AIH を施行し、同時に排卵誘発を行なった。

表 2 AIH のタイミング

	E ₂ range (pg/ml)	誘発後 2 日以内に排卵 する率
No Treatment 群	200 ≤ E ₂ < 400	18/27 (67%)
Clomid 群	400 ≤ E ₂ < 600	11/13 (85%)
HMG (M10) 群	200 ≤ E ₂ < 400	8/12 (67%)
Clomid+HMG 群	400 ≤ E ₂ < 600	13/17 (77%)

結果および考察

1) 妊娠成立までの人工授精周期数 (表 3)

第 1 周期目の受精にて、妊娠したものが 22 例中 8 例 (36%) と多く認められた。3 周期までに 15 例 (68%)、6 周期までに 20 例 (91%) が含まれる。飯塚²⁾の報告でも 6 周期目までに、全例の 88.8% が含まれているので、6 周期というのを、一つの実施目標としてよかろうと思われる。諸家の指摘の如く^{2,3)}、これ以上 AIH を施行しても妊娠成功例とならない場合は、他の不妊因子の再検討が必要と思われる。

表 3 人工授精周期数 (妊娠成立までの)

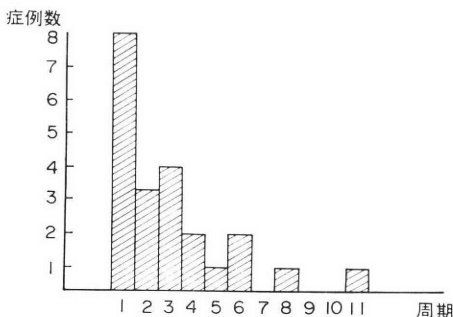
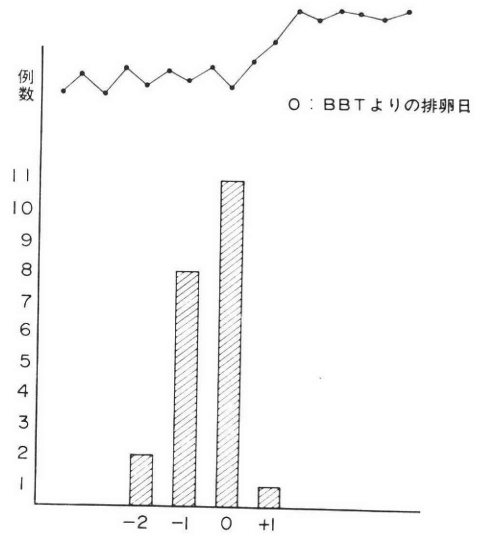


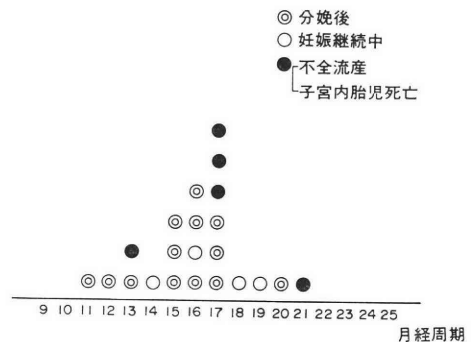
表 4 人工授精日と排卵日との関係



2) 人工授精日と排卵日との関係 (表 4)

BBT の低温最終日を排卵日と設定し^{4,5)}、これを (0) とし、その前日を (-1)、その後日を (+) として表現すると、(-2)~(+1) の間で妊娠成立をみた。この結果は、(-2)~(+2) の間で 87% が集中的に妊娠したという飯塚²⁾の報告とほぼ同様の傾向を示している。

表 5 卵胞期日数と妊娠予後



5) 卵胞期日数と妊娠予後 (表 5)

(⊙) を正常分娩例、(○) を妊娠 5 カ月以後の妊娠継続例、(●) を不全流産または子宮内胎児死亡などの異常妊娠症例として表現すると、異常妊娠症例 5 例中 4 例が 17 日目以降に分布していることが特徴的であった。

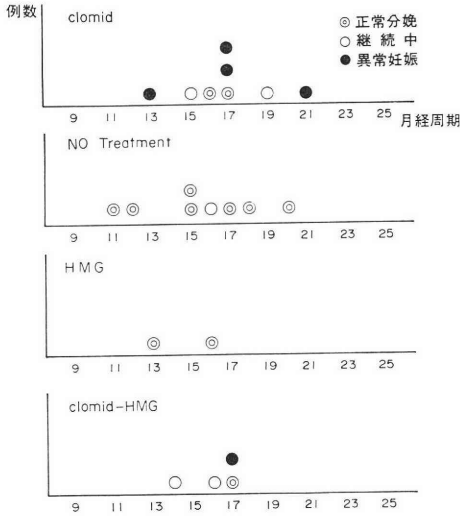
Iffy⁶⁻⁹⁾らの報告では、排卵が月経周期第 18 日目以降に起こる症例では、流産、子宮外妊娠等の異常妊娠が多く認められるとされている。

今回の我々の報告では、例数も少なく、これからの問題と思われるが、卵胞期日数が 17 日を越える症例に異常妊娠が多く認められたことは Iffy⁶⁻⁹⁾らの報告と関連し

表 6 妊娠成立周期の治療法とその転帰

	例数	分娩	経過中	流産等
Clomid+AIH	(8 例)	2	2	4
Clomid+HMG+AIH	(4 例)	1	2	1
HMG+AIH	(2 例)	2	0	0
No Treatment+AIH	(8 例)	8	0	0

表 7 治療別妊娠予後と卵胞期日数



て興味もたれる。

4) 治療法別にみた卵胞期日数および妊娠の転帰
 妊娠成立周期の治療法とその転帰を表6に示す。即ち、Clomid 群 8 例、Clomid-HMG 群 4 例、HMG 群 2 例、No treatment 群 8 例である。これら各治療法につき卵胞期日数および妊娠予後について表7に示した。表5にて卵胞期日数が17日以上症例に異常妊娠例が多いと述べたが、表6、7からみると、主に Clomid 群にその傾向が強いことがうかがわれる。

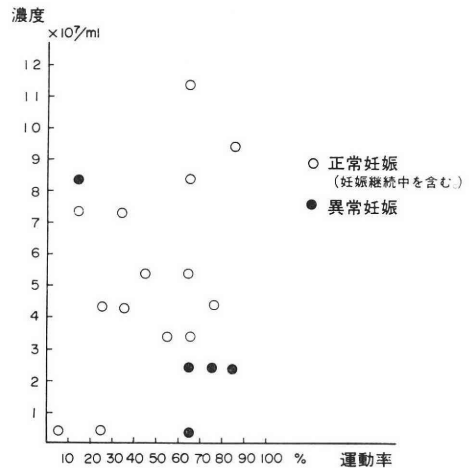
Clomid 使用例に流産率が高いことは、諸家の指摘の如くである¹⁰⁻¹¹⁾。

5) 妊娠周期の精子濃度および運動率 (表8)

異常妊娠例は、その5症例中、4症例が $3,000 \times 10^4/ml$ 以下の oligospermia の症例である。

渡辺ら¹²⁾、森田ら¹³⁾の報告にある如く、妊娠成功例を増加させるためには、運動精子数を増加させることが重要と思われる。良好精子を得る方法には Ficol 法¹⁴⁾、Glass fiber 法^{15,17)}、Nylon Fiber column¹⁶⁾法などが報告されているが、今回報告した22症例のうち7症例が Glass fiber column¹⁷⁾を用いて得られた妊娠例である。

表 8 妊娠周期の精子濃度及び運動率



おわりに

以上の如く、妊娠率向上のためには、積極的に排卵誘発を行ない、prospective に排卵日の推定を行なうと同時に、oligospermia 等の男性側因子に対しては、精液所見の向上をはかるべく積極的治療を行なうべきであると思われる。

なお、本論文の要旨は、昭和58年度日産婦山口地方部会 (於、小野田市) にて発表した。

男性側不妊因子について、多大の御教示をいただいた当院泌尿器科医長、那須誉人博士に深謝します。

文 献

- 1) 伊東武久・他：血清 E₂ モニターによる排卵誘発の検討。日不妊会誌, 27: 589, 1982.
- 2) 飯塚理八, 吉田 豊: Single Insemination より見たる二, 三の問題点について。産婦人科の実際, 11: 429, 1962.
- 3) 中村幸雄: 慶応健康相談センター婦人科開設以来の AID 妊娠統計。日不妊会誌, 27: 351, 1982.
- 4) 尾上敏一, 楠田雅彦: 基礎体温表による簡易な排卵日推定法に関する一考察。日産婦誌, 32: 886, 1980.
- 5) 山辺 徹・他: BBT よりみた黄体機能——とくに基礎体温上昇過程を中心として。産と婦, 46: 865, 1979.
- 6) Iffy, L.: The time of conception in pathological gestation: Proc. Royal Society of Med. p.p. 1098, 1963.
- 7) Arrata, W.S. and Iffy. L.: Normal and delayed ovulation in the human, Obstet & Gynecol. Survey., 26: 675, 1971.
- 8) Iffy, L.: Embryonic studies of time of con-

- ception in ectopic pregnancy and first trimester abortion, *Obstet & Gynecol.*, 29 : 490, 1965.
- 9) Iffy, L., and Wingate, M.B. : Risks of rhythm method of birth control, *J. Reprod.Med.*, 5 : 11, 1970.
 - 10) 青野敏博 : Clomiphene 療法の基礎と単独療法. 産婦人科の進歩, 28(5) : 407, 1976.
 - 11) 三宅 侃・他 : Clomiphene 治療後の妊娠経過と新生児. 日産婦誌, 29(4) : 467, 1977.
 - 12) 渡辺忠義・他 : 不妊カップルにおける男性側因子についての検討. 日不妊会誌, 24 : 442, 1979.
 - 13) 森田和雄・他 : 当科 AIH 施行例の臨床的分析. 日不妊会誌, 24 : 446, 1979.
 - 14) 小林俊文 : 人工授精周辺の精子妊孕性の評価. 第25回日不妊学会講演要旨, p. 100, 1980.
 - 15) Paulson and Polakoski : A glass wool column procedure for removing extraneous material from the human ejaculate, *Fertil Steril.*, 28 : 178, 1977.
 - 16) 須藤寛人・他 : ナイロンファイバーによる精液濾過. 日不妊会誌, 26 : 284, 1981.
 - 17) 山下三郎・他 : Glassfiber 濾過による精液所見向上のための試み. 日産婦中四合同地方部会誌, 30(2) : 215, 1982.

Study of pregnant cases with AIH in our infertility clinic

**Saburo Yamashita, Takehisa Ito,
Fumikazu Michigami and
Hirohisa Nomiyama**

Department of Obstetrics and Gynecology
Tokuyama Chuo General Hospital

A follow-up study was made of the course of

pregnancy in 22 pregnant cases who had been treated with AIH in our infertile clinic from May 1979 to May 1983.

The following results were obtained.

1) The day of AIH was decided according to the serum estradiol (E_2) level. Successful serum E_2 level for induction of ovulation were below. (No treatment, $200 \leq E_2 < 400$ pg/ml; Clomid case, $400 \leq E_2 < 600$ pg/ml; HMG case, $200 \leq E_2 < 400$ pg/ml; Clomid-HMG case, $400 \leq E_2 < 800$ pg/ml).

2) 8 cases (36%) were pregnant at the first cycle treated with AIH and 20 cases (91%) were pregnant within 6 cycles. This results suggested that 6 cycles were limit of AIH in our clinic.

3) The day of AIH were distributed between 2 days before ovulation and 1 day after ovulation. (The ovulation was decided as the last day of low temperature phase in BBT.)

4) The cases with more than 17 days of follicular phase were inclined to have abnormal pregnant course.

5) The highest incidence of abnormal pregnant courses was seen in the group treated with clomid.

6) The abnormal pregnant courses were also observed in the group which were treated with AIH using the semen of less than 3000×10^4 /ml.

These results suggested the necessity of active treatment for infertile couple.

(受付 : 昭和58年10月17日)

レセプターレベルよりみた子宮筋腫 組織のホルモン感受性について

The Sensitivity of Myoma to Sex Steroid Hormones in the Study of Hormone Receptor Levels

新潟大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 竹内正七教授)

星野明生

Akio HOSHINO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Niigata University School of Medicine.
(Director: Prof. Shoshichi TAKEUCHI)

46例の摘出子宮を用い、正常子宮筋層と筋腫組織の細胞質及び核のエストロゲン、プロゲステロンレセプター (EcR) (EnR) (PcR) (RnR) を測定し、レセプターレベルよりこの両者を比較検討し、次の結果を得た。

同一症例の正常子宮筋層と筋腫組織の EcR レベルは分泌期で後者に高く、EnR も増殖期に於いて後者が高かった。

PcR レベルは、ほぼ1:1の対応を示すのに対し、PnR は、全周期を通じて後者が低く、特に増殖期に著明であつた。

PnR/PcR は、全周期で筋腫組織に低かつた。

以上のように、筋腫組織では、分泌期に EcR が高く、それにつづいて核における移行した EnR complex が、通常より貯留現象 (retention) をおこして、核内に長くとどまり、一方、PnR が全周期を通じて低く、相対的に ER が優位となり、それが筋腫組織の増大の一因と考えられた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 213-222, 1984)

緒言

子宮筋層は子宮内膜と同様、性ステロイドの影響を受けていると考えられている。

子宮筋層から発生する良性腫瘍の一つである子宮筋腫は特にエストロゲンにより増大することが知られている¹⁾。

一方、ホルモン作用は、それぞれの持つ特異的なレセプターを介して発現されることがわかってきた^{2,3)}。ペプチドホルモンのレセプターは細胞膜に^{4,5)}、ステロイドホルモンは細胞質、核にそれぞれ存在することが明らかにされている^{6,7)}。ステロイドホルモンの場合、細胞質レセプターと binding し、次に温度依存性に receptor transformation がおこり、さらに receptor が

activate され、核内へ転移、receptor complex が形成される。その後、クロマチン accepter と結合し、遺伝子を活性化し、mRNA 合成を経て、ホルモン作用発来をおこすと考えられている^{8,9)}。子宮筋腫の発生腫大という面からみると、外因性および内因性のエストロゲンだけでなく、いわゆる抗エストロゲン作用を持つプロゲステロンも重要な役割をになつている可能性を有すると思われる。そこで、ヒトの摘出子宮を用いて、エストロゲン、プロゲステロンの血中濃度と両レセプターを細胞質内、核内、共に分析比較し、これらの正常子宮筋層および子宮筋腫における動態を検討し、その発生、増大に対するホルモン作用について、レセプターレベルからみた考察を行った。

実験材料と方法

1) ほぼ正常月経周期を有する32~43歳までの子宮筋腫患者(筋腫組織の短径4~10cm)より、肉眼的に正常筋層と筋腫と思われる部分を同時に摘出し、15分以内に-80°Cに保存し、一部は組織学的検査に提出して、正常筋層および筋腫組織であることを確認した。なおこの際、同時に月経周期をみるために子宮内膜も採取して、日附診を行って月経周期の決定の参考にした。

2) 血中のホルモン濃度を測定するため、術前に血液を採取し、直ちに血清を分離し、-20°Cに保存し、その後測定に供した。

3) 放射性ステロイドは[6,7-³H] Estradiol (以下³H-E₂) 比放射能52Ci/mmol, [1,2-³H (N)] Progesterone (以下³H-P) 比放射能55Ci/mmol (共に New England Nuclear 社) のものを用いた。非放射性ステロイドは diethyl stilbestrol (以下 DES) norethindron (以下 NET) (帝国臓器) を用いた。

4) 遠心器は Hitachi 20 PR-5 65 P-7 を用いた。実験方法は以下の手順にて行つた。

① 細胞質分画の調製

-8.°C に凍結保存した組織を徐々に解凍し、湿重量の約4倍量の buffer A (0.01M Tris, 1.5mM EDTA, 10% glycerol pH 7.4) を加えて、polytron homogenizer にて水中で homogenize し、4°C 800×g にて10分遠心した。この上清に2倍量の buffer A を加え、

4°C で200,000×g で1時間遠心した後、上清を採取し、内因性ステロイドを除く目的で上清と同量の dextrane coated charcoal (DCC) を加えて、充分攪拌し、4°C 800×g で10分遠心、この上清を細胞質分画とした。この上清の一部を用いて、ビューレット反応¹⁰⁾を用いて蛋白測定を行つた。

② 核分画の調製

核分画の調製は、Buller の方法¹¹⁾にもとづいて先に得られた800×g pellet に湿重量の約4倍の0.5M sucrose を含む buffer B (0.05M Tris HCl, 0.025M KCl, 0.02M MgCl₂ pH 7.5) を加えて homogenate し、4°C, 800×g, 10分遠心し、その pellet に1.75M sucrose を含む buffer B を湿重量の4倍加えて homogenize し、4枚のガーゼでろ過した。このろ液を25,000×g で20分遠心し、その pellet に buffer B を加え核液とした。この核液の一部を用いて、Burton 法¹²⁾により DNA 量を測定した。

③ 細胞質及び核内のエストロゲンレセプター

プロゲステロンレセプター assay, 細胞質レセプター assay は DCC 法を用いた。蛋白濃度1~3 mg/ml に調製した細胞質分画を0.5ml 使用し、ラベルした³H-E₂ or ³H-P に200倍の DES or NET を加えたものと、加えないものを4°C, 2時間 incubate した。その後 DCC を同量加え、30分 incubate した。これを800×g 10分遠心し、その上清に3ml のメタノールと10ml の

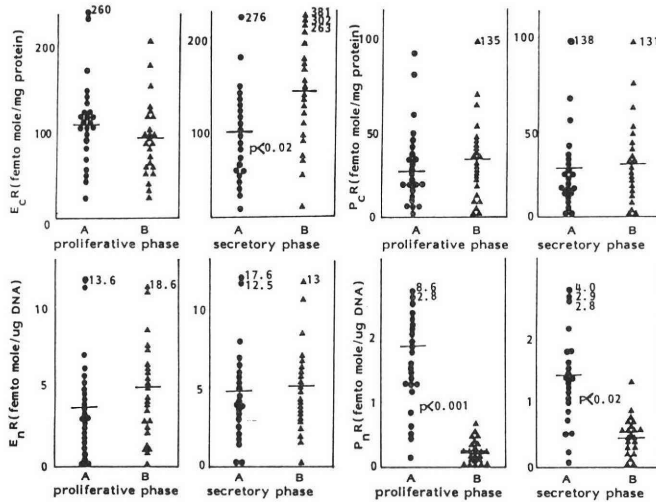


図1 Estrogen and progesterone receptor concentration in the myoma (closed triangles) and normal myometrium (closed circles) in proliferative phase and secretory phase of menstrual cycle A: myometrium B: myoma EcR=estrogen cytosol receptor EnR=estrogen nuclear receptor PcR=progesterone cytosol receptor PnR=progesterone nuclear receptor

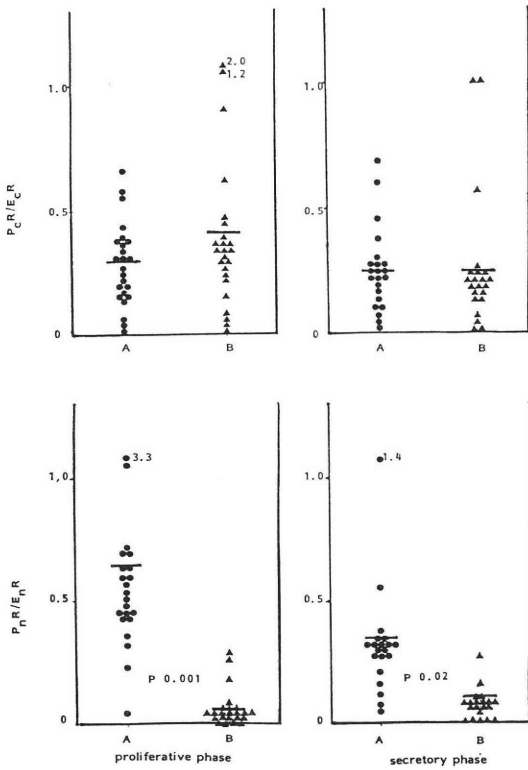


図 2 The ratio of PR in the normal myometrium (closed circles) and myoma (closed triangles) in proliferative phase (left) and secretory phase (right) of menstrual cycle
 A : myometrium B : myoma
 PcR/EcR = progesterone cytosol receptor/estrogen cytosol receptor
 PnR/EnR = progesterone nuclear receptor/estrogen nuclear receptor

toluene scintillator (PPD 4g/l, POPOP 0.1g/l in toluene)を加えて、液体シンチレーションカウンターで測定した。これらの操作はすべて Triplicate で行つた。

結合部位数は mg 蛋白単位あたりの mole 数 (Femto mole/mg rotein) で表わした。核 receptor の assay は、Anderson^{13,14}の変法を用いた。核液0.5ml に ³H-E₂ or ³H-P に200倍の DES or NET を加えたものと、加えないものを 20°C で1時間 incubate し、その後 4°C, 10分静置した後、NaCl buffer (NaCl 0.15M. Tris 0.01M pH 7.4) を加え3回洗い、その pellet に methanol 3ml を加え攪拌後、toluene scintillator を加え connt した。

これらの操作も triplicate した。

結合部位数は μg DNA 単位あたりの mole 数 (Femto mole/μg DNA) で表わした。

④ 血中のホルモン濃度の測定

第一アイソトープ研究所の E₂ or progesteron の radioimmunoassey kit を用いて行つた。

⑤ 月経周期は、採取時の組織より子宮内膜日付診に従つて、増殖期と分泌期にわけた。

実験結果

① 細胞質エストロゲンレセプター (EcR)

EcR は正常子宮筋層、筋腫組織共ほぼ 0 ~ 300f mole/mg protein の間にあり、平均値としてみると、それぞれ 108.6 ± 58.2f mole/mg protein, 128.6 ± 75.0f mole/mg protein でこれを増殖期、分泌期と分けてみると、増殖期では、正常子宮筋層 113.9 ± 55.9f mole/mg protein, 筋腫組織 97.1 ± 48.0f mole/mg protein で、分泌期では 102.8 ± 61.4f mole/mg protein と 162.9 ± 84.7f mole/mg protein と正常子宮筋層では周期による変動はなく、子宮筋腫組織では分泌期に高い傾向 (P < 0.01) がみられ、これは正常子宮筋層に比し、有意に高かつた (P < 0.02) (図 1)。

② 細胞質プロゲステロンレセプター (RcR)

正常子宮筋層では PcR は増殖期で平均 31.3 ± 24.9f mole/mg protein, 分泌期で 28.3 ± 30.3f mole/mg protein で、これも周期による変動はなく、ほぼ一定傾向であり、筋腫組織ではそれぞれ 35.3 ± 29.1f mole/mg protein, 35.8 ± 30.0f mole/mg protein と正常子宮筋層同様、変化を認めなかつた。

なお、PcR の場合、正常子宮筋層、筋腫組織の間に有意の差はなかつた (図 2 参照)。

③ EcR/PcR 比

相対的な EcR, PcR 量をみるため、PcR/EcR 比を取つてみると、正常子宮筋層では、増殖期における比は 0.29 ± 0.17, 分泌期で 0.25 ± 0.17 とやや減少傾向がみられ、筋腫組織も同様に 0.42 ± 0.43, 0.26 ± 0.27 と分泌期で減少傾向がみられた。しかし PcR/EcR 比は両者の間に特に有意な差はみられなかつた (図 2)。

④ 核エストロゲンレセプター (EnR)

正常子宮筋層と筋腫組織の EnR は、それぞれ 4.26 ± 3.62f mole/μg DNA, 5.02 ± 3.58f mole/μg DNA で差はなく、それぞれ増殖期は 3.76 ± 3.26f mole/μg DNA, 5.02 ± 3.94f mole/μg DNA, 分泌期のそれは、4.80 ± 3.98f mole/μg DNA, 5.08 ± 3.18f mole/μg DNA であり、正常子宮筋層は増殖期より分泌期に高い傾向があり、筋腫組織では変化がみられず、EnR は増殖期、分泌期と分けても両者の間に差はなかつた (図 1)。

⑤ 核プロゲステロンレセプター (RnR)

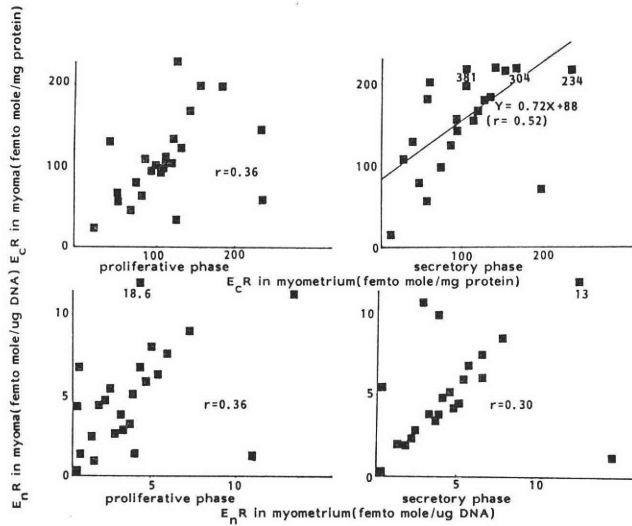


図 3 Relation of the estrogen receptor level in myoma to the corresponding level in normal myometrium of the same patient in proiliferative phases (left) and secretory phase (right) of menstrual cycle

EcR=estrogen cytosol receptor EnR=estrogen nuclear receptor

しかし PnR については、正常子宮筋層は増殖期 1.91 ± 1.60 f mole/ μ g DNA, 分泌期 1.45 ± 0.92 f mole/ μ g DNA, それに対して筋腫組織の PnR は増殖期 0.23 ± 0.19 f mole/ μ g DNA, 分泌期 0.46 ± 0.31 f mole/ μ g DNA と分泌期に高いが ($P < 0.01$), いずれの時期共正常子宮筋層より有意に低かつた (図 1).

⑥ PnR/EnR 比

PnR/EnR 比を取つてみると、筋腫組織は増殖期 0.06 ± 0.08 , 分泌期 0.12 ± 0.20 で分泌期に高く正常子宮筋層は増殖期 0.65 ± 0.62 , 分泌期 0.33 ± 0.27 と、筋層では増殖期に高かつた ($P < 0.05$). いずれも筋腫組織が有意に低かつた (図 2).

⑦ 同一症例ごとに、横軸に正常子宮筋層、縦軸に子宮筋腫組織を取つて、それぞれの EcR, EnR, PcR, PnR を plot した。

EcR; 増殖期では EcR myoma/EcR myometrium の比が 0.96 ± 0.52 でほぼ 1 前後であり、正常子宮筋層の EcR の値と筋腫組織の EcR がほぼ同じ値であつた。分泌期では回帰直線 $y = 0.72x + 88.67$ ($r = 0.52$, $P < 0.02$) でその比は 1.86 ± 1.00 で、やや筋腫組織が正常子宮筋層より高い傾向がみられた。

EnR; 増殖期では EnR myoma/EnR myometrium 比が 1 以上のものが多く、筋腫組織が正常子宮筋層より EnR が大きいものが多く、EcR とは異なつた態度を示した。分泌期、EnR myoma/EnR myometrium 比が 1.21 ± 0.68 と 1.0 に近く、ほぼ平行関係にあつた。

このように個々の症例ごとの正常子宮筋層、筋腫組織の EcR, EnR をみると、増殖期と分泌期で逆転がみられた。

PcR; 増殖期、回帰直線 $y = 0.75x + 12.02$ ($r = 0.64$, $P < 0.01$) で PcR myoma/PcR myometrium 比は 1 前後のものが多く、正常子宮筋層と筋腫組織の PcR は 1 : 1 の対応をしていた。分泌期は 2.22 ± 2.58 とバラツキがみられるが、若干、筋腫組織が高かつた。

PnR; 増殖期、回帰直線 $y = 0.051x + 0.130$ ($r = 0.43$, $P < 0.05$) で、PnR myoma/PnR myometrium 比は 0.22 ± 0.44 で 1.0 をかなり下回り、筋腫組織の PnR が正常子宮筋層より有意に低かつた ($P < 0.01$). 分泌期も同様に PnR myoma/PnR myometrium は 0.46 ± 0.60 で 1.0 を下回つており、筋腫組織では正常子宮筋層に比し、有意に低かつた ($P < 0.02$) (図 3).

⑧ 次に同一例に於いて、その細胞質レセプターレベルに対する核レセプターレベルをみるため、横軸にエストロゲン or プロゲステロンの細胞質レセプターレベルを、縦軸に同一例の核レセプターレベルを取つて、正常子宮筋層と筋腫組織を比較すると、

ER; 増殖期、EnR/EcR 比は正常子宮筋層 0.0387 ± 0.0515 , 筋腫組織 0.0734 ± 0.1252 で筋腫組織が正常子宮筋層より高いものが多かつた。分泌期は筋腫組織に高い相関がみられ (回帰直線 $y = 0.0151x + 2.6220$ $r = 0.40$, $P < 0.05$), EnR/EcR 比は正常子宮筋層 0.1227 ± 0.3449 , 筋腫組織 0.0374 ± 0.0229 で、筋腫組織に低い傾向があつた。

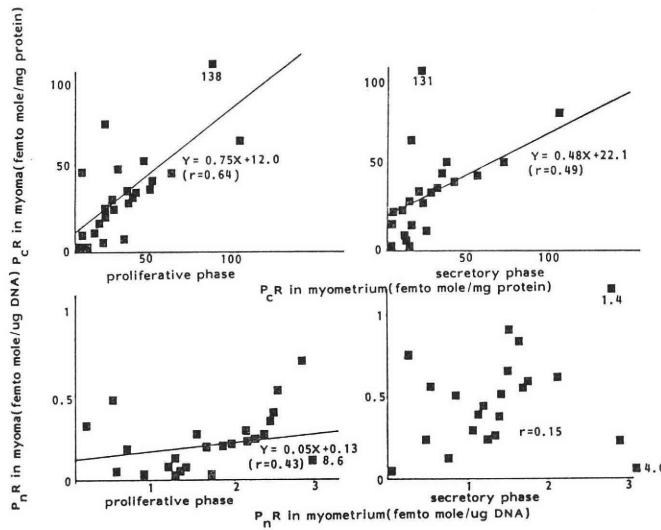


図 4 Relation of the progesterone receptor level in myoma to the corresponding level in normal myometrium of the same patient in proliferative phase (left) and secretory phase (right) of menstrual cycle
PcR=progesterone cytosol receptor
PnR=progesterone nuclear receptor

		Myometrium	Myoma	Statistical analysis
E R/E R n c	proliferative phase	0.0387±0.0515	0.0734±0.1252	N.S
	secretory phase	0.1227±0.3449	0.0374±0.0229	N.S
P R/P R n c	proliferative phase	0.109±0.114	0.013±0.021	P<0.01
	secretory phase	0.357±1.263	0.083±0.320	N.S

The ratio of nuclear receptor level to cytosol receptor level for myoma and myometrium in proliferative phase and secretory phase of menstrual cycle

E R/E R=estrogen nuclear receptor/estrogen receptor
n c

P R/P R=progesterone nuclear receptor/progesterone cytosol receptor
n c

n=24 (in proliferative phase) n=22 (in secretory phase)

図 5

た.

PR; 増殖期, 正常子宮筋層0.109±0.114, 筋腫組織0.013±0.021, 2例を除いて正常子宮筋層は PnR/PcR比1/50以上で, それに比して筋腫組織は1例を除き1/50以下であり, 明らかに筋腫組織では PcR に比し, PnR が少ないことがみられた (P<0.01). 分泌期に於いても, 正常子宮筋層では0.357±1.263と, 1/50以上のものが多く, 筋腫組織は0.083±0.320と, 1/50以下のものが多くみられ, 増殖期と同様に筋腫組織は PcR に比し, PnR が少ない傾向にあった.

⑨ 血中のエストロゲン, プロゲステロン値に対する

ER, PR を正常子宮筋層と筋腫組織で分けて比較してみた.

EcR/serum E₂; 増殖期, 血清 E₂ の平均は, 109.86±145.76pg/ml, EcR/serum E₂ は高い相関を示し, (回帰直線 y=0.16x+96.2 r=0.55, P<0.05) 正常子宮筋層で2.17±2.66, 筋腫組織2.00±1.91で両者の間にはみられなかった. 分泌期, 血清 E₂ の平均は80.94±26.94pg/ml 正常子宮筋層, 筋腫組織共に高い相関を示し, EcR/serum E₂ は正常子宮筋層で1.23±0.49, 筋腫組織2.07±1.08と筋腫組織が正常子宮筋層より高い傾向があった(P<0.01).

EnR/serum E₂; 増殖期, 正常子宮筋層0.071±0.117, 筋腫組織0.081±0.083とほぼ同一レベルを示した. 分泌期, 正常子宮筋層0.112±0.300, 筋腫組織0.070±0.042と差はみられなかつた.

RcR/serum P; 増殖期, 血清Pの平均は0.50±0.12でPcR/serum Pは筋腫組織は相関がみられ, 正常子宮筋層62.10±46.9, 筋腫組織68.10±55.16でほぼparallelな傾向がみられた. 分泌期, 血清Pの平均は9.18±5.30, PcR/serum Pは正常子宮筋層6.32±10.16, 筋腫組織6.37±16.93と大きな差はみられなかつた.

PnR/serum P; 増殖期, 血清Pの平均は9.19±5.30で筋腫組織は相関がみられた. 正常子宮筋層3.88±2.67, 筋腫組織0.43±0.33と全例筋腫組織が正常子宮筋層より下回っていた. しかもこの差も大きく有意であつた(P<0.01). 分泌期, 正常子宮筋層0.33±0.82, 筋腫組織0.06±0.05と増殖期ほどではないが筋腫組織が正常子宮筋層より下回っていた.

考 案

ER や PR は, 女性性生殖器(子宮内膜¹⁵⁻¹⁹), 子宮筋層^{20,21}, 卵管^{18-20,22-23}, 子宮頸部²⁵)など, 良性腫瘍である子宮筋腫^{19-20,23,26-28}, 悪性腫瘍では子宮内膜癌^{15,17,19,29}, 更に最近では卵巣癌や子宮肉腫などにも存在しており, 性生殖器以外では乳癌^{30,31})などに存在することが知られている.

子宮内膜のER や PR は, その血中ホルモンの動態に応じて, 増殖期, 分泌期と周期性をもつと考えられている. そしてその動態については, EcR は増殖期が分泌期より高いとする報告が多く^{16,19}, EnR でも増殖期に高く, 分泌期では減少しているようである^{15,16,19}. しかも, PcR についても, EcR と同様増殖期では高く, 分泌期は低いとされている^{15,17,21}. PnR は分泌期に高いという報告がある³². しかしこれら Receptor の動態も細胞質と核内におけるそのみではなく, occupied receptor と unoccupied receptor にわけてみるとよりその動態は複雑となる.

子宮筋層も子宮内膜同様, エストロゲンやプロゲステロンなどの性ステロイドの target organ の一つなので, その ER, PR も血中ホルモン動態に伴って周期的変動が十分考えられる. 又一方, 子宮筋層から発生する子宮筋腫組織に於いても ER や PR が存在し, しかも, この筋腫組織での ER, PR は, 正常の子宮筋層のそれと質的な相違がないとされている¹⁹. 従つてレセプターの質的な差が正常子宮筋層と筋腫組織の間に存在しなければ, ER と抗エストロゲン作用をもつ PR の細胞質内及び核内の量的なレベルの差が十分考えられ, 月経周

期を増殖期と分泌期にわけて検討した. 正常子宮筋層における EcR は増殖期に高く¹⁹, PcR は増殖期²⁰, あるいは中間期に高い¹⁹との報告がみられるが, 今回の成績でも図1に示したように EcR は増殖期に, PcR も増殖期にやや高い傾向を示したが, 従来の報告と同様にいずれも有意ではなく, 正常子宮筋においては, ほぼ周期性を示さないとされた.

一方, 筋腫組織の EcR は増殖期に比し, 分泌期に高く, しかも有意に正常筋層より高かつた. PcR はむしろ分泌期に減少する傾向があつたが, 正常子宮筋層と有意の差はなかつた.

正常子宮筋層と筋腫組織における細胞質 receptor については, 筋腫組織のEcR は高く, PcR は逆に低いとするものが多い¹⁹. Tamaya et al.¹⁹は, 正常子宮筋層と筋腫組織のEcR, PcR は共に差はみられなかつたが, EcR を DNA 単位当りで表わすと正常子宮筋層が筋腫組織より有意に高いことを報告している. また核内でのレセプターについては正常子宮筋層の EnR は分泌期にやや高く, これはEnR complex が核内に長時間貯留するためとおもわれ, 東口らの子宮内膜における分泌後期の E₂ occupied receptor の peak と一致することからもうらづけられる.

PnR は, PcR と同様に増殖期に高い傾向がみられ, EnR とは違つて, PnR は短時間で代謝されると報告されている^{34,35}. さらには, エストロゲンにより induce された RcR は, 核内に入ると, 排卵後には内因性プロゲステロンによつて occupy されるために減少し, 分泌期に低い可能性もある.

一方, 筋腫組織の EnR は EcR とは異なり, 周期性はなく, しかも, 量的にも正常子宮筋層との差もみられなかつた.

PnR については分泌期に高く, しかも, 全周期を通じて正常子宮筋層より低かつた.

これらのことをまとめてみると, 筋腫組織では正常子宮筋層に比し, EcR は分泌期で高いが, EnR では差がなく, PcR は同じ level であるが, PnR は周期を問わず低かつた.

相対的な ER, PR をみるため PcR/EcR ratio を求めた場合は, 正常子宮筋層, 筋腫組織の間に差は見い出せなかつた.

PnR/EnR 比は, PnR が筋腫組織に於いて低いため, この ratio も筋腫組織に有意に低かつた.

正常子宮筋層, 筋腫組織の ER, PR を個々の症例ごとに検討してみると, EcR は増殖期では両者ほぼ parallel であり 1:1 の対応を示し, 分泌期では筋腫組織においてのみ高かつた.

EnR では増殖期に於いてかなりの症例が筋腫組織に高い傾向があり、分泌期では筋腫組織と正常子宮筋層はほぼ parallel のものが多かった。

一方、PR については、細胞質レベルでは増殖期でほぼ parallel、分泌期で筋腫組織に高い傾向があり、核レベルでは増殖期に有意に筋腫組織が低く、又、分泌期でも低い傾向がみられた。

さらに細胞質レベルに対する、核レベルの ER, PR, を正常子宮筋層、筋腫組織に分けてみると、増殖期では筋腫組織が正常子宮筋層より EnR/EcR が高く、分泌期では逆に低くなっていた。即ち、組織学的にみて、正常と考えられる組織と子宮筋腫組織を比較すると、筋腫においては、EcR は増殖期では低く、分泌期では高く、EnR は増殖期では高く、分泌期では低い傾向がみられた。

この事実から筋腫組織の増殖期では正常子宮筋組織にくらべて EnR complex は、核内では長時間にわたって貯留する傾向があると言える。次に増殖期の PnR/

PcR 比をみると、筋腫組織は正常子宮筋層に比し、明らかにこの比は、低く、又、分泌期にも低かった。このように筋腫組織では増殖期に於いて多くの EnR complex が核内で長時間とどまり、かつ、PnR が低いために、相対的にエストロゲン優位の状態にあることが十分に推測される。

分泌期では EnR も低いが、PnR も低く、かつ内因性のプロゲステロンで occupy されるために、結果的に EnR が優位であり、かつ正常より核内貯留が長びくことが筋腫発育という gene expression に結びつくのであろう。

すでに Brenner³⁷⁾や Hsueh³⁸⁾らによつて ER は血中エストロゲンによつて影響を受け、PR 合成もエストロゲンによつて induce^{37,39)}され、プロゲステロンは ER を reduce^{37,38,40)}すると報告されており、図 6、図 7 に示すように、正常子宮筋層と筋腫組織に於ける血中のエストロゲン、プロゲステロン濃度に対する ER, PR を比較検討した。

		Myometrium	Myoma	statistical analysis
E R/serum E ₂ c	proliferative phase	2.17±2.66	2.00±1.91	N.S
	secretory phase	1.23±0.49	2.07±1.08	P<0.01
E R/serum E ₂ n	proliferative phase	0.071±0.117	0.081±0.083	N.S
	secretory phase	0.112±0.300	0.070±0.042	N.S

The ratio of myometrial and myoma estrogen seceptor level to serum estrogen level in proliferative phase and secretory phase of menstrual cycle

E R/serum E₂=estrogen cytosol receptor/serum E₂

c

E R/serum E₂=estrogen nuclear receptor/serum E₂

n

n=24 (in proliferative phase) n=22 (in secretory phase)

図 6

		Myometrium	Myoma	Statistical analysis
P R/serum P c	proliferative phase	62.10±46.90	68.19±55.16	N.S
	secretory phase	6.32±10.16	6.37±16.93	N.S
P R/serum P n	proliferative phase	3.88±2.67	0.43±0.33	P<0.01
	secretory phase	0.33±0.82	0.06±0.05	N.S

The ratio of myometrial and myoma progesterone receptor level to serum progesterone level in proliferative phase and secretory phase of menstrual cycle

P R/serum P=progesterone cytosol receptor/serum progesterone

c

P R/serum P= progesterone nuclear receptor/serum progesterone

n

n=24 (in proliferative phase) n=22 (in secretory phase)

図 7

正常子宮筋層に比し筋腫組織では、分泌期で血中 E₂ レベルに対する EcR が高く、逆に全周期を通じて血中 progesterone level に対する PnR は低かった。

これらのことをまとめて考えてみると、子宮筋腫はエストロゲンによりその組織が増大するといわれているが、receptor level よりみると、増殖期ではエストロゲン優位であり、分泌期でもエストロゲン優位の傾向があり、又、PcR が正常子宮筋層と差がなく PnR が低いことから、PcR の核への移行が筋腫組織では正常組織と比して time lag を有する可能性が示された。その結果、ER が優位を占め、筋腫組織の増大と結びつくものと思われる。何故この time lag が発生するかについては、今回の実験からは明らかにし得なかつたが、浅井らはいわゆるプロゲステロンの抗 estrogen 効果の発現機序を検討し、必ずしもプロゲステロンによる直接的な核内 ER の合成阻害のみではなく、細胞質内で、組織特異的、熱不安定性の masking protein 様物質の存在を認めており、このような物質の筋腫組織細胞質での減少が、筋腫増大に結びつく可能性もあろう。

本論文の要旨は、第33回日本産婦人科学会総会（新潟）で発表した。本実験にあたり、御指導と論文の御校閲をいただいた恩師竹内正七教授に深謝するとともに、直接御指導いただいた佐藤芳昭講師および教室の内分泌グループの諸先生方にも深く感謝いたします。また数々の実験上の御教示をいただいた京都府立医大岡田弘二産婦人科学教室教授、玉舎輝彦講師に心より感謝を捧げます。

文 献

- 1) Novak, E. R. and Woodruff, J. D.: Myoma and other benign tumors of the uterus. Novak's Gynecologic and Obstetric Pathology. Saunders, Philadelphia., 7th ed, 243, 1974.
- 2) Jensen, E. V. and DeSomber, E. R.: Mechanism of action of the female sex hormones. Ann. Rev. Biochem., 41 : 203, 1972.
- 3) McCarty, D. S., Jr. and McCarty, K. S., Sr.: Steroid hormone receptors in the regulation of differentiation. Am. J. Pathol., 86 : 705, 1977.
- 4) Lefkowitz, R.J., Roth, J., Pricer, W. and Pastan, I.: ACTH receptors in the adrenal. Specific binding of ACTH-¹²⁵I and its relation to adenylyl cyclase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 45 : 745, 1970.
- 5) Sutherland, B. W. and Robinson, G. A.: The role of cyclic 3'5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev., 18 : 145, 1966.
- 6) Jensen, B.V., Numata, M., Brecher, P. I. and Desombre, E. R.: Hormone-receptor interaction as a guide to biochemical mechanism. The biochemistry of steroid hormone action. Biochem. Soc. Symp., 32 : 133, 1971.
- 7) McGuire, W. L., Huff, K. and Chamness, G. L.: Temperature-dependent binding of estrogen receptor to chromatin. Biochem., 11 : 4562, 1972.
- 8) 加藤順三: プロゲステロン・レセプター. ホト臨床, 21 : 821, 1973.
- 9) O'Malley, B. W. and Schrader, W. T.: The receptors of steroid hormones. Sci. Am., 234 : 32, 1976.
- 10) Mehl, J. W.: The biuret reaction of proteins in the presence of ethylene glycol. J. Biol. Chem., 157 : 173, 1944.
- 11) Buller, R. E., Toft, D. O., Schrader, W. T. and O'Malley, S. W.: Progesterone-binding components of chick oviduct. Receptor action and hormone-dependent binding to purified nuclei. J. Biol. Chem., 250 : 801, 1975.
- 12) Burton, K.: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J., 62 : 316, 1956.
- 13) Anderson, J. N., Clark, J. H. and Peck, Jr., E. J.: Oestrogen and nuclear binding sites determination of specific sites by (³H) oestradiol exchange. Biochem. J., 126 : 561, 1972.
- 14) Anderson, J.N., Peck, Jr., E. J. and Clark, J. H.: Nuclear receptor estrogen complex: accumulation, retention and localization in the hypothalamus and pituitary. Endocrinol., 93 : 711, 1973.
- 15) 二岡清昇: 人子宮内膜および内膜癌における性ステロイドホルモンレセプターに関する研究, 日内分泌会誌, 54 : 158, 1978.
- 16) Crocker, S. C., Milton, P. J. D. and King, R. J. B.: Uptake of (6, 7-³H) oestradiol-17 β by normal and abnormal human endometrium. J. Endocrinol., 62 : 145, 1974.
- 17) Maclaughlin, D. T. and Richardson, G. S.: Progesterone binding by normal and abnormal human endometrium. J. Clin. Endocrinol. Metab., 42 : 667, 1976.
- 18) Philibert, D. and Raynaud, J. P.: Binding of progesterone and R5020 a highly potent progestin to human endometrium and myometrium. Contraception., 10 : 457, 1974.
- 19) Pollow, K., Lubbert, H., Boguoi, E., Kreuzer, G. and Pollow, B.: Characterization and comparison of receptors for 17 β -estradiol and progesterone in human proliferative endometrium and endometrial carcinoma. Endocrinol., 96 : 319, 1975.
- 20) Verma, U. and Laumas, K. R.: In vitro

- binding of progesterone to receptors in the human endometrium and the myometrium. *Biochem. Biophys. Acta.*, 317 : 403, 1973.
- 21) Young, P. C. M. and Cleary, P. E. : Characterization and properties of progesterone binding components in human endometrium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39 : 425, 1974.
- 22) Farbar, M., Conrad, S., Heinrichs, W. L. and Herrmann, W. L. : Estradiol binding by fibroid tumors and normal myometrium. *Obstet. Gynecol.*, 40 : 479, 1972.
- 23) Pukka, M. J., Kontula, K. K., Kauppila, A. J. I., Janne, O. A. and Vihko, R. K. : Estrogen receptor in human myoma tissue. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 6 : 35, 1976.
- 24) Fickinger, G. L., Muechler, E. K. and Mikhail, G. : Estradiol receptor in the human fallopian tube. *Fertil. Steril.*, 25 : 900, 1974.
- 25) Sanborn, B. M., Kuo, H. S. and Helk, B. : Estrogen and progesterone binding site concentrations in human endometrium and cervix throughout the menstural cycle and in tissue from women taking oral contraceptives. *J. Steroid. Biochem.*, 9 : 951, 1978.
- 26) Illingworth, D. V., Wood., G. P., Flickinger, G. L. and Midhail, G. : Progesterone receptor of the human myometrium. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 40 : 1001, 1975.
- 27) Ochiai, K. : Cyclic variation and distribution in the concentration of cytosol estrogen and progesterone receptors in the normal human uterus and myoma. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, 32 : 945, 1980.
- 28) Tamaya, T., Motoyama, T., Ohono, Y., Ide, N., Tsurusaki, T. and Okada, H. : Estradiol- 17β -progesterone and 5α -dihydrotestosterone receptors of uterine myometrium and myoma in the human subject. *J. Steroid Biochem.*, 10 : 615, 1979.
- 29) Young, P. C. M., Ehrlich, C. E. and Cleary, R. E. : Progesterone binding in human endometrial carcinomas. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 125 : 353, 1976.
- 30) Horwitz, K. B. and McGuire, W. L. : Specific progesterone receptors in human breast cancer. *Steroids.*, 25 : 497, 1975.
- 31) McGuire, W. L., Carbone, P. P. and Vollmer, E. P. (eds) : Estrogen receptors in human breast cancer. New York, Raven Press, 1975.
- 32) Levy, C., Robel, P., Gautray, J. P., De Brux, J., Verma, U., Descomas, B. and Baulieu, E. E. : Estradiol and progesterone receptors in human endometrium : Normal and abnormal menstrual cycles and early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136 : 646, 1980.
- 33) 東口篤司, 田中昭一 : ヒト子宮内膜細胞質・核における Estradiol Occupied および Unoccupied Receptor に関する研究—正常月経周期経口避妊薬投与時における Steroid Receptor の変動—*日産婦誌*, 33 : 951, 1981.
- 34) 玉舎輝彦, 石原貞尚, 志村達興, 二岡清昇, 吉田典夫, 岡田弘二 : ウサギ子宮における progesterone receptor 特に核内移行とクロマチン結合について, *日内泌誌*, 51 : 1034, 1975.
- 35) Milgrom, E., Thi, L., Atger, M. and Baulieu, E. E. : Mechanisms regulating the concentration and the conformation of progesterone receptor in the uterus. *J. Biol. Chem.*, 248 : 6366, 1973.
- 36) 浅井政房, 伊藤将史, 岡田弘二 : Progesterone の抗 estrogen 作用発現機構について. 第34回日産婦総会学術講演会抄録 (神戸), p 172, 1982
- 37) Brenner, R. M., Resko, J. A., and West, N. B. : Cyclic changes in oviductal morphology and residual cytoplasmia estradiol binding capacity induced by sequential estradiol progesterone treatment of spayed rhesus monkey. *Endocrinol.*, 95 : 1094, 1974.
- 38) Hsueh, A. J., Peck, E. J., and Clark, J. H. : Progesterone antagonism of the oestrogen receptor and oestrogen-induced uterine growth. *Nature (London)*, 254 : 337, 1975.
- 39) Pollow, K., GeilfuB, J., Boquioi, E. and Pollow, B. : Estrogen and progesterone binding proteins in normal human myometrium and leiomyoma tissue. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 16 : 503, 1978.
- 40) Elsner, C. W., Illingworth, D. V., De La Cruz, K., Fickinger, G. L. and Mikhail, G. : Estradiol receptors in the genital tract of rhesus monkeys. *Abs. 22nd Meet. Soc. Gynecol. Invest.*, 6 : 22, 1975.

The sensitivity of myoma to sex steroid hormones in the study of hormone receptor levels

Akio Hoshino

Department of Obstetrics and Gynecology,
Niigata University School of Medicine
[Director : Prof. Shoshichi Takeuchi]

The concentrations of cytosol estrogen receptor [EcR], nuclear estrogen receptor [EnR], cytosol progesterone receptor [PcR] and nuclear progesterone receptor [PnR] in uterine myoma and corresponding myometrium from 46 patients were investigated by employing dextran-coated charcoal and modified Anderson's method. Concentrations of EcR of normal myometrium in proliferative phase were slightly higher than those in secre-

tory phase, whereas concentrations of EnR of myometrium in secretory phase were slightly higher than those of proliferative phase.

Concentrations of progesterone receptor in normal myometrium had influence on the menstrual cycle as well as those of estrogen receptor in it. There was no difference in EcR, EnR and PcR levels between myoma and the corresponding myometrium. PnR levels in myoma were, however, statistically lower than those in normal myometrium.

There was no difference in the ratio of EcR/

serum E_2 , EnR/serum E_2 and PcR/serum P between myoma and normal myometrium, but the ratio of PnR/serum P in myoma was statistically lower than that in normal myometrium. PnR levels of myoma throughout the menstrual cycle were lower than those of normal myometrium.

In conclusion, estrogen receptor levels in myoma were relatively higher than in normal myometrium, suggesting a possible relation to growth of myoma.

(受付: 昭和58年11月10日, 特掲)

子宮頸管粘液分泌能の評価法

Clinical Assesment Method of the Capacity of the Cervix

自治医科大学産科婦人科学教室 (主任: 玉田太朗教授)

小沼 誠 一 伊野田 法子
Seiichi KONUMA Noriko INODA

佐藤 泰 一 玉田 太朗
Taiichi SATO Taro TAMADA

Department of Obstetrics and Gynecology
Jichi Medical School
(Director: Taro TAMADA)

子宮頸管粘液分泌能の評価法の確立を目的に、まず頸管粘液分泌に最も効果的で生理的な estrogen の投与方法を検討し、これを用いて頸管粘液分泌能不全を診断し、不妊症頸管因子の治療方針の確立をも試みた。その結果、

1. 頸管粘液分泌に最も効果的な estrogen の投与方法は estradiol benzoate ($E_2 \cdot B$) 1 mg を3日間、筋注投与方法であり、頸管粘液量は $E_2 \cdot B$ 投与開始5日目には最大値の 0.35 ± 0.05 ml を示した。
2. この方法は血中 E_2 値を $200 \sim 500$ pg/ml に4日間維持して、これは排卵前期の生理的状态にほぼ一致した。
3. この方法を頸管粘液分泌不全が疑われる婦人に試みると、粘液量の最大値は 0.09 ± 0.01 であつた。
4. この評価法で頸管粘液分泌能不全と診断された不妊症婦人15名に AIH を試みて8名 (53.3%) に妊娠成立を認めた。妊娠成立までの期間は平均3.0周期であつた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(2), 223-228, 1984)

はじめに

子宮頸部の解剖や頸管粘液の周期的な生化学的性状の変化等に関して現在までに多くの報告がなされ、受精現象に対する子宮頸部の重要性が明らかにされてきている^{1,2)}。また女性不妊の原因の中での子宮頸管因子の占める割合は約15~50%と報告されているが、この中には頸管の器質的異常、頸管粘液の性状異常および精子通過性障害などが含まれる³⁾。この中でも頸管粘液の性状異常の占める割合が最も多いと考えられている。さらに頸管粘液の性状異常を伴う不妊婦人においては、その卵巣機能の判定や排卵の予測に際して超音波診断法や血中および尿中ホルモン測定が必要とされる。

以上の理由から、我々は女性不妊症の治療に先立ち、

卵管因子、卵巣因子などと同じく頸管因子も診断しておく事は病態の把握と適格な治療法の選択及び治療期間の短縮に必要な事と考え、理想的な子宮頸管粘液分泌能の評価法を検討して頸管粘液分泌能不全の診断を試みた。またこの頸管粘液分泌能不全症に対しては不妊症の治療を目的に AIH を行い、良好な結果を得たので報告する。

研究対象および研究方法

〔I〕 頸管粘液分泌に対する効果的な estrogen 投与方法の検討

過去2年以上の不妊病歴により頸管粘液分泌能正常と判断された不妊婦人22名を3群に分類し、各群に対して次の如く estrogen を投与し子宮頸管粘液分泌に及ぼす

影響を調べた。

- 1) 第1群 (8例) : 月経周期5日目に estradiol benzoate suspension 2mg を1回筋注投与する。
- 2) 第2群 (9例) : 月経周期5, 6, 7日目に estradiol benzoate suspension 1mg を連日3回筋注投与する。
- 3) 第3群 (5例) : 月経周期5日目より結合型 estrogen (premarin) 0.625mg を1日3錠, 7日間経口投与する。

以上の3群, 22名の対象婦人の月経周期10日目までの頸管粘液量, 牽糸性, 結晶形成を調べた。さらにこの期間に対象婦人から採血を行い, 血清を分離してホルモンの測定まで -20°C にて冷凍保存した。

〔II〕 Estrogen 負荷による血中 estradiol 値の変動

〔I〕において頸管粘液分泌能に対し効果的と判断された群の婦人の血中 estradiol を radioimmunoassay にて測定し, estrogen 投与方法の違いによる血中 estradiol 値の差を検討するとともに, その生理的な意味づけを行ない, 理想的な頸管粘液分泌能評価法を検索した。

〔III〕 頸管粘液分泌能評価法の臨床応用

我々の提唱する頸管粘液分泌能評価法が粘液分泌能不全の診断に有用か否かを知る目的で, 過去2年以上の不妊病歴の頸管粘液検査と排卵前期の血中 estradiol 値の測定などから頸管粘液分泌能不全が強く疑われる不妊婦人10名を対象に選び, これ等に対して我々の頸管粘液分泌能評価法を試み, その結果と〔I〕における正常婦人の結果とを比較し検討を加えた。

〔IV〕 頸管粘液分泌能不全症に対する AIH の効果

我々の頸管粘液分泌能評価法により, 頸管粘液分泌能不全症と診断された不妊婦人において, 卵巣因子, 子宮卵管因子に異常を認めず, 夫の精液検査において精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上, 精子運動率60%以上の者を選び, これ等15名を対象に不妊治療の目的で AIH を試みた。AIH の実施は基礎体温および超音波診断法を参考に排卵日を推定し, 排卵日の前後に2回 AIH を行う方法をとった。その結果の妊娠率, 妊娠までに要した期間, 不妊期間などを調べて, 頸管粘液分泌能不全症に対する AIH の効果を検討した。

研究成績

〔I〕 頸管粘液分泌に対する効果的な estrogen 投与方法の検討

先に述べた3群の estrogen の投与方法による頸管粘液分泌量を図1に示し, 牽糸性及び結晶形成における影響を図2に示した。図1において, 粘液分泌量に対し最も効果的な方法は第2群による estrogen の投与方法で

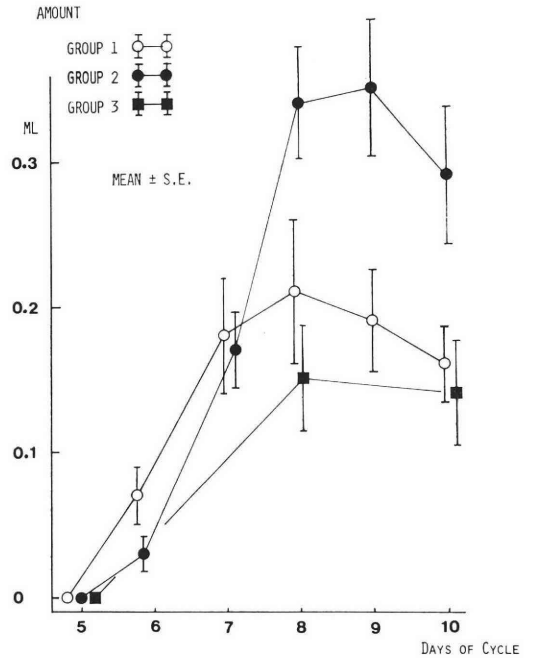


図1 Cervical Mucus

あつた。この方法によると粘液分泌量は月経周期8日目 ($\text{E}_2 \cdot \text{B}$ 投与開始4日目) に $0.34 \pm 0.04\text{ml}$ を示し, 月経周期9日目 ($\text{E}_2 \cdot \text{B}$ 投与開始5日目) には $0.35 \pm 0.05\text{ml}$ の最高値を示した。第1群においては月経周期8日目に最高値 $0.21 \pm 0.05\text{ml}$ を示し, 月経周期9日目の値 $0.19 \pm 0.04\text{ml}$ がそれに続いた。第3群の方法は前2者に比べその影響が劣っていた。以上の事により頸管粘液分泌量に対しては第2群の estrogen 投与方法が最も効果的であることが判明した。

図2において, 各群の牽糸性に対する影響を見ると, 月経周期6日目には第1群の影響(0.75)が他の2群の影響より明らかに優るが, 月経周期8日目には第2, 第3群の影響(2.4および2.5)が第1群のそれ(1.8)に

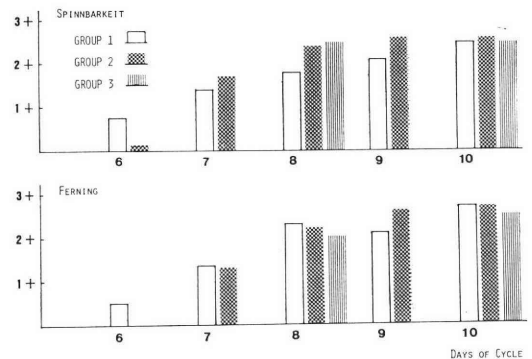


図2 Cervical Mucus

優る。しかし月経周期10日目には第1, 2, 3群の牽糸性はそれぞれ2.5, 2.6, 2.5とその差がほとんど認められなくなりかつ牽糸性はこの期間中で最も良好な状態を示した。結晶形成に関しては牽糸性と同じく月経周期6日目において第1群の影響が著しいが、月経周期8, 10日目には各群の間の差が明らかでなく、月経周期10日目においてこの期間中の最も良好な結晶形成の状態が認められた。

これ等の事から、estrogenの投与によりまず粘液量の増加に著しい変化が出現し、粘液量の増加に伴い牽糸性、結晶形成の順に影響が現われ、粘液量が減少傾向を示す時期においても牽糸性および結晶形成の改善は進行している事が認められた。

なお牽糸性、結晶形成のスコアはWHOの分類に従った。

さらに第1, 2, 3群のestrogen投与により、基礎体温から判断して、排卵は20日以上遅れを示し、特に第2群においては全て排卵は抑制される結果を得た。

〔II〕 Estrogen 負荷による血中 estradiol 値の変動

〔I〕の結果により第1, 2群のestrogen投与方法が粘液分泌量およびその性状の改善に対して優れた効果を示すことが明らかとなつたので、第1群および第2群の婦人のこの研究期間中の血中 estradiol (E₂) 値を測定し図3に示した。測定には radioimmunoassay kit (エストラジオール・H-3 キット: ミドリ十字) を用いた。この intra-および inter-assay C.V. は9.3%および20%であつた。

第1, 2群ともに月経周期5日目の前値はそれぞれ 51.9 ± 5.1 および 47.3 ± 9.6 pg/ml とその間に有意差は認められなかつた。第1群では月経周期6日目にはこの群における最高値 444.8 ± 45.2 pg/ml を示した。以後その値は漸次下降して月経周期9日目には血中 E₂ 値は 200pg/ml 以下となつた。第2群における血中 E₂ 値は月経周期6日目に 243.3 ± 36.4 pg/ml の値を示し、その後も上昇を続けて月経周期8日目には血中 E₂ 値は 447.8 ± 69.5 pg/ml の最高値を示した。血中 E₂ 値はその後に下降をしたが、月経周期10日目にはまだ 200pg/ml 以上の値を保つていた。さらに図1と図3から頸管粘液量の最大値は血中 E₂ の最高値より1~2日間遅れて出現する事実が認められ、頸管内膜に対する E₂ の作用発現にはかなりの時間を要する事が示唆された。

第1群および第2群のestrogen投与方法の差は血中 E₂ 値の差に現われ、第1, 2群ともにestrogen投与終了後1日目に血中 E₂ の値は最高値を示すことが明らかとなつた。また第2群において、血中 E₂ 値は200pg/ml 以上の値を4日間持続し、その最高値は300~500pg/

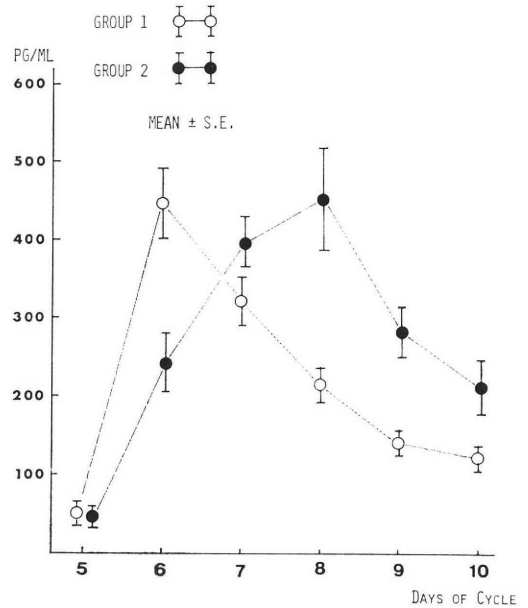


図3 Serum Estradiol

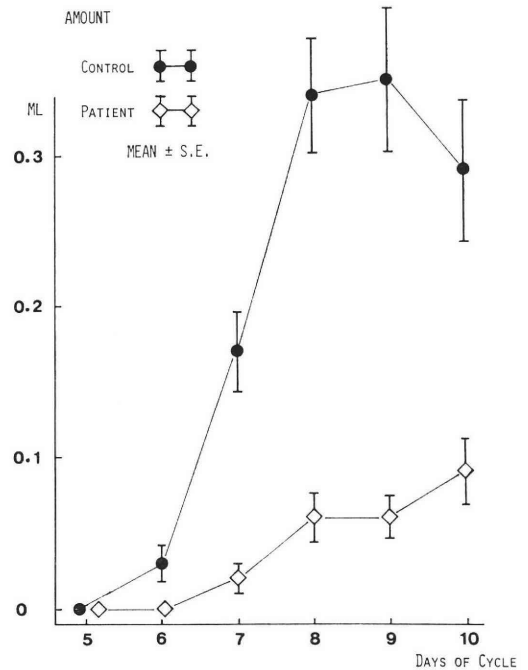


図4 Cervical Mucus

mlの範囲内にあるなど、正常月経周期の排卵前期の血中 E₂ 値の変動に類似しているために第2群のestrogen投与方法は頸管粘液分泌能評価法として排卵前期の頸管粘液分泌能を知る目的に適切な方法であり、生理的な負荷試験であると判断できる。

表 1 The result of A.I.H treatment to the patients with insufficient secretion of cervical mucus.

success cases									mean
patient No.	1	2	3	4	5	6	7	8	
duration of sterility (yrs)	2	2	4	6	3	8	4	6	4.4
cycles of A.I.H	1	3	2	1	1	6	6	4	3.0
unsuccess cases									mean
patient No.	9	10	11	12	13	14	15		
duration of sterility (yrs)	5	5	5	3	7	6	5		5.1
cycles of A.I.H	4	6	4	6	8	5	7		5.7

success (pregnancy) rate=8/15=53.3%

〔Ⅲ〕 頸管粘液分泌能検査法の臨床応用

我々の提唱する頸管粘液分泌能評価法を頸管粘液分泌能不全が強く疑われる不妊婦人に対して試みて正常群〔Ⅰ〕の第2群の結果と粘液分泌量を比較したものが図4である。これによると両群との間には明らかな差が認められ、粘液分泌能不全患者群ではこの期間中に粘液量の持続的な増加を示したが、粘液量が最も増加した月経周期10日目でも $0.09 \pm 0.02 \text{ml}$ であつた。この事は粘液分泌能患者の子宮頸部は estrogen 刺激に対する反応が弱く、作用発現にも比較的長時間を要することを示唆している。

図4に示すごとく、両群の間に明らかな差を認めた事は、この estrogen 投与方法による頸管粘液の反応を検査することで頸管粘液分泌能の良否を診断することが可能であると言える。我々はこの頸管粘液分泌能評価法により月経周期10日目まで頸管粘液量を観察して粘液量が 0.1ml 以下であれば頸管粘液分泌能不全症と診断した。

〔Ⅳ〕 頸管粘液分泌能不全症に対する AIH の効果

我々の提唱する頸管粘液分泌能評価法により頸管粘液分泌能不全症と診断され、他に明らかな不妊原因の認められない原発不妊症患者15名に対して AIH を試み、その結果を表1に示した。妊娠成功例は8名(53.3%)となり、他の適応による AIH の妊娠成功率に比べて高率であり、妊娠成功までには平均3.0周期と比較的短期間で成功している。妊娠不成功例では AIH を平均5.7周期行なつても妊娠に成功しなかつた。不妊期間は成功例、不成功例それぞれ4.4年と5.1年であり大きな差は存在しなかつたが、比較的の不妊期間の短い者に妊娠例が多い傾向にあり、例外として8年間の不妊期間を有する者が AIH を6周期受けて妊娠した例を認めた。

考 察

頸管粘液は妊娠成立のための精子の頸管内通過の媒体としての役割⁵⁻⁸⁾や精子の capacitation 獲得のための役

割^{10,11)}を持つているが、排卵時期の予測または卵胞発育の程度を知るための臨床診断的価値も持つている¹²⁾。女性不妊患者で頸管粘液分泌能不全が認められる者は通常の頸管粘液検査法では排卵時期の予測は不可能であり、他の検査法の導入が必要となるとともに、頸管内精子通過障害が不妊の重大な原因ともなり得るため、不妊症患者の原因の検索の際には、男性因子、卵巣因子、子宮卵管因子とともに積極的に頸管因子の検索も望まれる¹³⁾。

今回、我々が提唱した頸管粘液分泌能評価法は生理的な範囲内での estrogen の負荷試験として特にその意義がある。この評価法により頸管粘液分泌能良好と診断された群では全て自然排卵周期の排卵前期に 0.3ml 以上の粘液量を示し、牽糸性および結晶形成も良好な結果を示した。粘液分泌能良好例では頸管粘液の反応はまず粘液量の増加に現われ、次いで牽糸性、結晶形成の順に現われた。血中 estradiol の最高値は estrogen 投与終了後1日目に認められ、それから1~2日後に粘液量の増加は最高値を示して以後減少の傾向を示した。しかし牽糸性および結晶形成の改善は血中 estradiol 値が下降している時期にも進行しているが認められて、牽糸性、結晶形成の改善には血中 estradiol 値が 100pg/ml 以上で、粘液量増加の場合に比べかなりの長期間の estrogen の作用が必要であることが示唆された。

この評価法により頸管粘液分泌能不全と診断された群では排卵時期の予測には尿中ホルモン(LH, estrogen)の測定¹⁴⁻¹⁶⁾や超音波診断法による卵胞発育の経過観察^{17,18)}が重要となり、特にこの群に対する HMG 療法実施に際しては十分な注意と観察が要求される¹⁹⁻²¹⁾。

頸管粘液分泌能不全と診断された不妊患者に対する治療法としては現在までに①少量の estrogen 投与方法^{22,23)}、②大量の estrogen 投与方法に加えて HMG 使用による排卵誘発法²⁴⁾、③ AIH を実施する方法²⁵⁾、などが試みられているが必ずしも良い結果を得るには至っていない。その理由の一つに診断、治療のための適切

な頸管粘液分泌能評価法が現在までに試みられていなかったことが挙げられる。今回、我々の診断した頸管粘液分泌能不全の不妊婦人に対して多量の estrogen を投与しても頸管粘液の性状の改善をほとんど認めず、我々は不妊治療の目的に AIH を選択し、方法としては既に述べた様に排卵日を推定し、その前後で2回の AIH (double insemination) を行つた。その結果は15例のうち8例 (53.3%) の妊娠に成功し、しかも妊娠までに要した周期は平均3.0周期と短く、それまでの不妊期間の平均4.4年を考慮に入れて十分に評価出来る結果と我々は考えている。このことは頸管粘液分泌能不全を正確に診断することがこの治療法としての AIH による妊娠率の向上の重要な要素であり、このような症例には1周期に2回の AIH を行なうことが効果的であることを示している。

我々の評価法により頸管粘液分泌能不全と診断された者のうち AIH で妊娠した53.3%の者が単に頸管粘液分泌不全による精子の頸管内通過障害で不妊に陥っていたとしても、その他の46.7%の者はこの方法で妊娠しなかったことから、この者の不妊の原因は精子の頸管内通過障害以外にも存在することが考えられる。子宮頸管粘液分泌能不全の病態は頸管内膜の先天的發育不全や後天的な粘液分泌細胞の喪失以外にも分泌細胞の estrogen 刺激に対する感受性、反応性の低下などが考えられ、今後 estrogen receptor の研究²⁶⁻²⁸⁾の進歩により、このような頸管粘液分泌不全の病態の解明が進み、さらにこれ等の病変と他の estrogen 感受性細胞 (卵管内膜、子宮内膜) の病変との関係の有無などが明らかにされるとともに、いわゆる機能性不妊症としてあつかわれていたものの病因が一つ一つ解明されて、その治療法が確立され、不妊症患者の妊娠率が向上することが期待される。

結 語

我々の提唱する子宮頸管粘液分泌能の評価法とその診断の実際およびこれの治療を要約すると以下の如くなる。

1) 子宮頸管粘液分泌能の評価法として最適な方法は月経周期5日目から毎日 estradiol benzoate suspension 1mg を3日間筋注投与して、月経周期8、9日目に頸管粘液の性状 (粘液量、牽糸性、結晶形成) を検査する方法である。

2) この estrogen 投与方法によると血中 estradiol 濃度の変動は正常月経周期の排卵前期の血中 estradiol の動態に良く似ているため、この方法は生理的な estrogen の負荷試験であると言える。

3) 上述の粘液分泌能の評価法にて頸管粘液量が

0.3ml 以上、牽糸性および結晶形成の良好な者は頸管粘液分泌能良好と診断し、粘液量が0.1ml 以下で牽糸性および結晶形成で不良な者は頸管粘液分泌能不全と診断することが出来る。

4) この評価法にて診断された頸管粘液分泌能不全の不妊患者に対して、1周期に2回の AIH を試みて15例中8例 (53.3%) の妊娠に成功し、妊娠成功までの期間 は平均3.0周期であった。

文 献

- 1) Davajan, V. and Nakamura, R. M.: The cervical factor, Progress in Infertility. Edited by S. T. Hehrman and Kistner. R. W: p 17, Littele, Brown and Company, Boston, 1975.
- 2) Moghissi, K. S.: The Cervix in Infertility. Clinical Obstetrics and Gynecology., 22(1) : 27, 1979.
- 3) Moghissi, K. S.: Cyclic changes of cervical mucus in normal and progestin-treated women. Fertil Steril., 17(5) : 663, 1966.
- 4) 香山浩二: 頸管の機能異常. 臨産婦, 34(3) : 205, 1980.
- 5) Perloff, W. H. and Steinberger, E.: In vivo survival of spermatozoa in cervical mucus. Am. J. Obst. Gynecol., 88(4) : 439, 1964.
- 6) Davajan, V. and Kunitake, G. M.: Fractional in-vivo and in-vitro examination of postcoital cervical mucus in the human. Fertil. Steril., 20(2) : 197, 1969.
- 7) Danezis, J., Suján, S. and Sobnero, A. J.: Evaluation of the postcoital test. Fertil. Steril., 13(6) : 559, 1962.
- 8) Tredway, D. R. et al.: Significance of timing for the postcoital evaluation of cervical mucus. Am. J. Obstet. Gynecol., 121(3) : 387, 1975.
- 9) 入谷 明: 精子の雌性器内移送と受精能獲得. 代謝, 16(4) : 299, 中山書店.
- 10) Shettees, L. B.: Human blasts grown in vitro in ovulation cervical mucus. Nature., 229 : 343, 1971.
- 11) Williams, W. L.: Biochemistry of capacitation of spermatozoa. The biology of mammalian fertilization and implantation, Eds: K. S. Moghissi and E. S. E Hafez. Thomas. Springfield. 1972.
- 12) 五十嵐正雄: 子宮頸管性周期の診断法. 産婦人科の実際, 22(6) : 443, 1973.
- 13) Moghissi, K. S. and Wallach, E. E.: Unexplained infertility. Fertil. Suteril., 39(1) : 5, 1983.
- 14) Tamada, T.: LH determination in unconcentrated urine by a haemagglutination test. Acta Obst et Gynaec. Jap., 23(1) : 27, 1976.
- 15) 玉田太朗, 小沼誠一: 排卵時刻の推定 [1], ホ

ルモン測定による, 産科と婦人科, 69(9): 45, 1982.

- 16) Kerin, J. F. et al.: 3-hour urinary radioimmunoassay for luteinizing hormone to detect onset of preovulatory LH surge, *Lancet.*, 2: 430, 1980.
- 17) 玉田太朗, 大草 尚: 排卵時刻の推定 [2], 超音波造影法による. 産科と婦人科, 49(10): 53, 1982.
- 18) Bryce, R. L. et al.: The value of ultrasound, gonadotropin, and estradiol measurements for precise ovulation prediction. *Fertil. Steril.*, 37: 42, 1982.
- 19) 平野睦男・他: HMG 投与時の血中 estradiol と頸管粘液所見との相関, 産科と婦人科, 45(11): 57, 1978.
- 20) 高口二郎・他: HMG-HCG 療法反復施行例の経日的ホルモン動態と投与方法の検討. *日産婦誌*, 33(6): 777, 1981.
- 21) 萩野瑠美・他: Estrogen の迅速 radioimmunoassay による HMG-HCG 療法の monitoring, *日産婦誌*, 32(2): 153, 1980.
- 22) Sharf, M., Graff, G. and T. Kuzminsky: Quinestrol therapy in hypomucorrhea due to clomiphene. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 110: 423, 1971.
- 23) 館野政也: 精子の性器内遊走と頸管因子 (第3報), 産科と婦人科, 42(12): 50, 1974.
- 24) Check, J. H.: Treatment of cervical factor with combined high-dose estrogen and human menopausal gonadotropins. *Fertil. Steril.*, 33(5): 562, 1980.
- 25) 飯塚理八, 林 方也: 人工授精. 現代産科婦人科学大系, 9: 227, 中山書店.
- 26) Robertson, D. M. et al.: The measurement of high-affinity oestradiol receptor in human uterine endometrium and myometrium. *Acta endocrinol.*, 68: 534, 1971.
- 27) Brush, M. G. et al.: The uptake of [6, 7-³H] oestradiol by the normal human female reproductive tract, *J. endocrinol.*, 39: 599, 1967.
- 28) Sar, M. and Stump, W. E.: Cellular and Subcellular localization of [³H] progesterone or its metabolites in Guinea Pig cervix. *Biol. Reprod.*, 11: 297, 1974.

Clinical assesment method of the capacity of the cervix

**Seiichi Konuma, Noriko Inoda,
Taiichi Sato and Taro Tamada**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Jichi Medical School
(Director: Taro Tamada)

In order to establish a clinical assesment method of the capacity of the cervix for mucus secretion, we have compared the effects of various types of estrogen administration on cervical mucus secretion during the early follicular phase in normally menstruating women. The result was applied to infertile patients, especially of the functional group, to find deficiency in the cervical mucus secretions. In such cases, artificial insemination of husband was performed with satisfactory results.

1. Routes and dosages of estrogens studied: the 1st group was given with estradiol benzoate suspension (EB) 2 mg on the day 5, 2nd group with EB 1 mg×3 days during 5th, 6th, 7th cycle day, and the 3rd group with conjugated estrogens 0.625 mg×3 T/day for 7 days from 5th cycle day. Changes of serum estradiol were most resembled to the ones in normal preovulatory period in the group 2, where 200 to 500 pg/ml for 4 days were maintained. The amounts of cervical mucus, also, most increased in the group 2, reaching 0.34 ± 0.04 ml at 5th day of estrogen treatment. Since our purpose is find a proper amount of estrogen stimulation which causes the increase of mucus in the normal cervix, administration of EB as in the 2nd group was identified most physiologic.

2. If the amounts of cervical mucus were less than 0.1 ml at the 5th day of EB treatment, diagnosis of insufficiency in the cervical mucus secretion was made. 15 patients, diagnosed based on this method were treated with AIH and 8 pregnancies (53.3%) were achieved. It was required for about 3 cycles to be pregnant in those patients. From the results, our method seemed to be useful to find the insufficiency in the cervical mucus secretion in the strility patients for relatively short period.

(受付: 昭和58年8月31日)

超音波断層所見と母体血中内分泌動態 よりみた流産の検討

Study of Abortion Evaluated by Ultra Sound Scanning and Hormonal Profile in Serum

名古屋大学医学部産婦人科学教室

野 崎 誠 鈴木 正 利

Makoto NOZAKI Masatoshi SUZUKI

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

流産患者108名に対して超音波検査および内分泌動態の両面より同時に比較検討し流産の病態の解明を試みた。超音波検査は GS_{max} の計測と胎児心拍動の検出をおこなった。血中ホルモンは hPL, hCG, progesterone, estradiol を妊娠週数および GS_{max} との関連より検討した。

i) GS_{max} は妊娠継続群65名では、ほぼ正常妊娠と等しい直線的増大を示した。流産群43名でも GS 増大を示す症例が46%もみられた。

ii) 胎児心拍検出率は妊娠10週および GS_{max} 50mm以上で100%となった。

iii) 胎児心拍を検出した95.6%は予後良好であった。

iv) hPL は GS_{max} に比例して分泌され予後を反映しなかつた。hCG は流産群の30%で高値を示し、さらに live abortion や empty anembryonic GS の症例では全く予後判別不可能であり hCG の限界がみられた。estradiol は live embryo の有無で明らかに分泌に差がみられ fetal well-being の指標として有用であった。
(Jap. J. Fert. Ster., 29(2), 229-235, 1984)

結 言

妊娠初期に性器出血をきたす疾患は多いが、これらの疾患の鑑別、予後判定は臨床的に重要である。従来より性器出血、腹痛などの臨床症状はあるが、妊娠継続可能な病態を切迫流産と定義されている。とりわけ流産の予後を適確にかつ早期に判定することは非常に大切で従来より臨床所見と各種尿中、血中ホルモン測定より予後を判定する試みがなされていた。一方、1965年 Donald¹⁾により超音波断層法で妊娠初期妊卵が胎嚢像 (gestational sac 以下 GS) として描写されることが報告され、1969年 Hellman²⁾らにより GS 計測により妊卵の発育の指標とする応用がなされた。それ以後初期妊娠子宮の GS 、胎児、胎盤などの内部構造の観察を可能とした超音波診断装置は産科領域で非常に有用な情報を提供するようになってきた。さらに近年電子スキャンリニア型 B

モード超音波断層装置の登場で胎児心拍動や胎動も妊娠早期より観察可能となり流産の診断と管理に飛躍的な進歩をもたらした。しかしながら以前よりホルモン動態のみでとか、超音波所見のみで流産症例の検討がなされていることが多く、同時に両者を比較検討した報告は少なかった。今回流産症例の母体血中ホルモン動態と超音波検査による妊卵発育の重要な指標とされる GS の成長および胎児生命同定の指標である胎児心拍の検出を同時に経時的に比較検討し、両面よりみた流産の病態の解明を試みた。

対象および方法

A) 対 象

名古屋大学医学部附属病院および関連病院で妊娠5週より15週までに性器出血を認めた流産患者 108 名を対象とした。108 名中分娩に至った65例を妊娠継続群とし流

産に至った43例を流産群とした。妊娠週数は最終月経および基礎体温より算定した。治療は原則として安静療法と止血剤、鎮痙剤の投与のみを行ない、hCG、黄体ホルモンは使用しなかった。

B) 超音波検査

超音波検査は膀胱充滿下で、GS 最大径の計測と胎児心拍動の検出をおこなった。使用装置はリニア電子スキャン超音波断層装置（東芝 SAL 20A, 東芝 SSL 53H, ソノビスタ P MEU-1572）を使用した。

C) 血中ホルモン測定

血中ホルモン測定は hPL, hCG, progesterone, estradiol の各ホルモンを超音波検査時に採血遠心分離後測定まで -20°C に凍結保存された血清を用い duplicate にておこなった。

a) 血中 hPL

血中 hPL の測定には HPL キット第1（第1ラジオアイソトープ研究所）を用いた。本測定キットは抗 hPL 血清と標準 hPL 溶液を希釈することにより25ng/ml から16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の血中濃度が測定可能であるが今回の測定は低濃度測定域（25~400ng/ml）を用いた。

b) 血中 hCG

血中 hCG の測定には HCG Radioimmunoassay Kit (CIS)（ミドリ十字取扱）を使用した。今回の測定は2nd International Standard hCG による標準曲線より被検血清の hCG 値を求めた。

c) 血中 estradiol

血中 estradiol の測定には E_2 キット第1（第1ラジオアイソトープ研究所）を使用した。

d) 血中 progesterone

血中 progesterone の測定はプロゲステロン I-125 キット (CIS-Sorin)（ミドリ十字取扱）を使用した。本キットはリン酸緩衝液で希釈した妊婦血清を用いて直接測定が可能である。

成 績

A) 初発出血時期

初発性器出血の妊娠週数を表1に示した。流産群43名の初回出血時期が各週数にわたって見られるのに対して妊娠継続群65名では早期に出血する傾向がみられ、妊娠5~8週までと妊娠9週以降の2群に分けてみると、妊娠継続群では妊娠5~8週に64/65例（98.5%）であり流産群では20/43例（46.5%）であつた。又妊娠9週以降の初回出血時期はそれぞれ1/65例（1.5%）と23/43例（53.5%）でありこの両群には有意の差（ $p < 0.0001$ ）を認めた。

表1 初発性器出血の妊娠週数

妊娠週数	症例数	妊娠継続群	流産群
5	20	16(24.6%)	4(9.3%)
6	27	23(35.4%)	4(9.3%)
7	23	16(24.6%)	7(16.3%)
8	14	9(13.9%)	5(11.6%)
9	8	1(1.5%)	7(16.3%)
10	5	0(0%)	5(11.6%)
11	4	0(0%)	4(9.3%)
12<	7	0(0%)	7(16.3%)
total	108	65	43

B) GS 最大径と妊娠週数

GS 最大径（以下GS_{max}）と妊娠週数の関係は、妊娠継続群178回超音波検査より GS_{max} (y) は妊娠週数(x) とともに直線的に増大し回帰直線 $y = 7.65x - 21.1$, 相関係数 $r = 0.85$ と良い相関が得られた。また流産群43名の GS_{max} と妊娠週数の関係を図1に示した。流産群では妊娠継続群に比較して GS_{max} は小径のものが多く、特に妊娠経過とともにその差が明らかとなつた。胎児心拍動を検出したのち流産に至った2/3例は妊娠継続群とほぼ同様の GS 増大傾向を示した。さらに流産群にもかかわらず GS 径の増大を認めたものが6/13例（46.2%）あつた。このように妊娠継続群の GS 増大はほぼ正常妊娠と等しい直線的増大を示し、又、流産群でも GS 増大を示す症例が46%もあることが明らかとなつた。

C) 胎児心拍検出率

妊娠継続群63名の胎児心拍検出率を妊娠週数とGS_{max}より検討し、図2、3に示した。胎児心拍検出率は妊娠7週とGS_{max} 30~39mm で検出率が70%以上と急上昇を示したが100%検出可能となるのはそれぞれ妊娠10週およびGS_{max} 50mm 以上であつた。

D) 胎児心拍と予後

対象108例中68例に胎児心拍を検出し、65/68例（95.6%）は予後良好であつた。しかし3/68例（4.4%）は胎児心拍を検出したにもかかわらず胎児死亡に至り予後不良であつた。この胎児心拍を認めた予後良好群と不良群の間には有意の差（ $P < 0.002$ ）を認め胎児心拍が予後判定の指標として非常に優れていることが判明した。

E) 血中ホルモン

ホルモンレベルと妊娠週数の関係では、妊娠継続群より得た各妊娠週数における血中ホルモンレベルの平均と標準偏差を示し、流産群より得たホルモンレベルを図示した。又GS_{max} に対するホルモンレベルを同様に図示

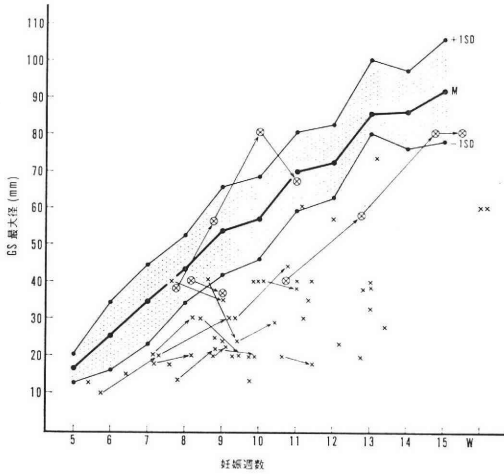


図 1 GS 最大径と妊娠週数

スクリーン領域は妊娠継続群の平均値±標準偏差を示す. ×印は流産例. ⊙印は胎児心拍証明後の流産例を示す

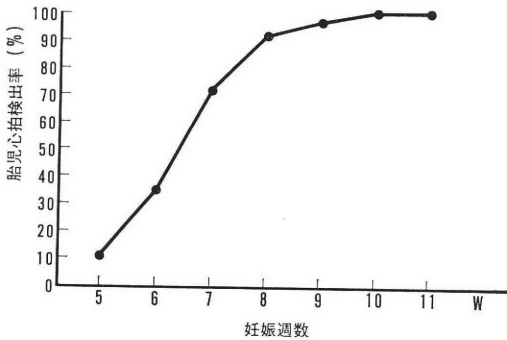


図 2 胎児心拍検出率と妊娠週数

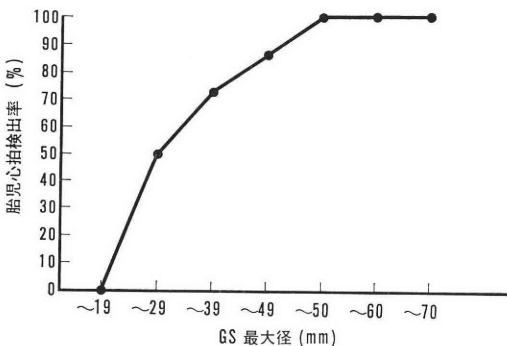


図 3 胎児心拍検出率と GS 最大径

した.

a) 血中 hPL 値

妊娠継続群64名230検体を測定した(図4). 妊娠早期

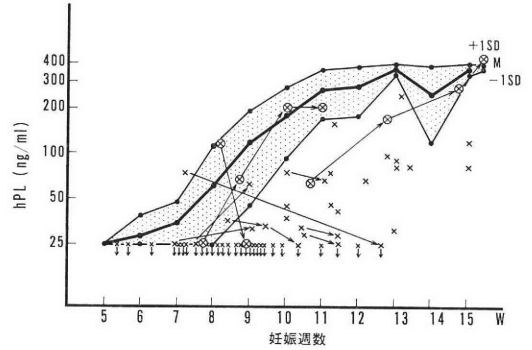


図 4 hPL 値と妊娠週数

スクリーン領域は妊娠継続群の平均値±標準偏差を示す. ×印は流産例. ⊙印は胎児心拍証明後の流産例を示す

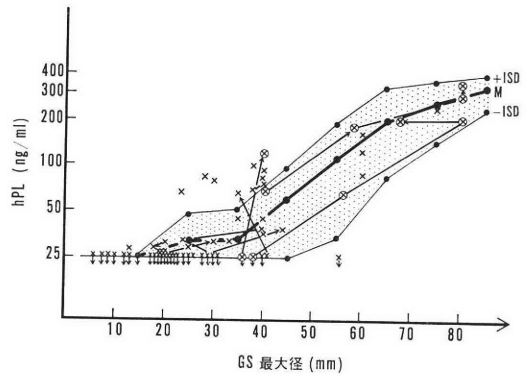


図 5 hPL 値と GS 最大径

スクリーン領域は妊娠継続群の平均値±標準偏差を示す. ×印は流産例. ⊙印は胎児心拍証明後の流産例を示す

5~7週は測定感度以下を示すものが46/67例(68.7%)と多くみられた. 経過につれ急速に上昇し妊娠10週以降では60/65例(92.3%)が100ng/ml以上を示した. 流産群43名66検体を測定した. 経過とともに明らかな低値を示す傾向があり, 妊娠10週以降でも9/32例(28.1%)だけが100ng/ml以上を示したが, 逆に3/7例(42.9%)はレベルの上昇がみられた. GS_{max}との関係では図5に示すように妊娠継続群はGS_{max}の増大につれ急速にhPL値の上昇がみられた. しかし流産群でも同様にGS_{max}の増大とともにレベルの上昇が認められた. この様に胎児の有無にかかわらず両群に差がみられないことが判明した. さらに一部のempty anembryonic GSを呈する症例では高い分泌レベルを示し, 胎児とは関係なく胎盤のhPL分泌機能が保たれていることが明らかとなった.

b) 血中 hCG 値

妊娠継続群64名217検体を測定した(図6). 妊娠7週

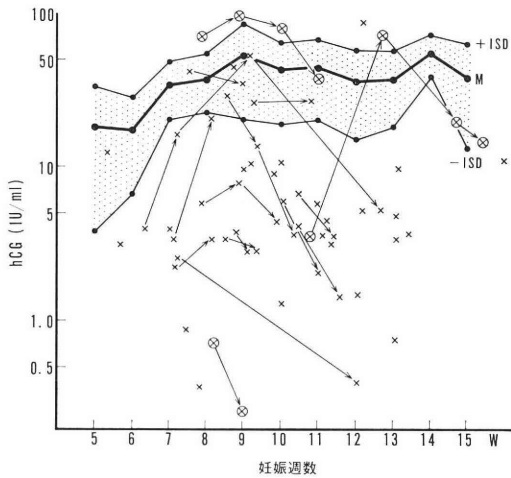


図 6 hCG 値と妊娠週数

スクリーン領域は妊娠継続群の平均値±標準偏差を示す。×印は流産例。⊗印は胎児心拍証明後の流産例を示す

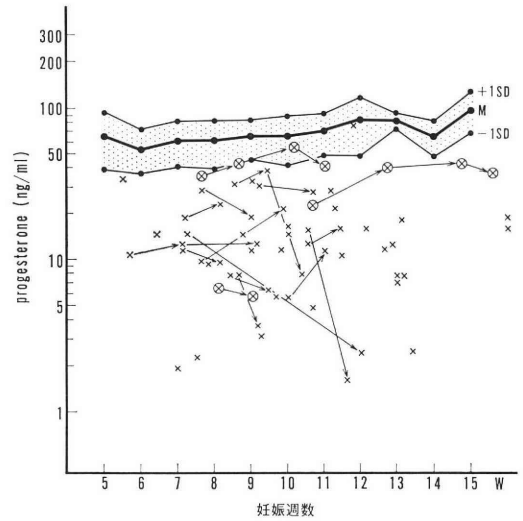


図 7 progesterone 値と妊娠週数

スクリーン領域は妊娠継続群の平均値±標準偏差を示す。×印は流産例。⊗印は胎児心拍証明後の流産例を示す

以前は6/29例 (20.7%) が10IU/ml 以上を示したが、妊娠7週以降では186/187例 (99.5%) が10IU/ml 以上を示した。流産群43名66検体を測定した。図の様に低値を示すものが多く、22/66例 (33.3%) が10IU/ml 以上を示した。又、流産例でも経時的測定で5/14例 (35.7%) にレベルの上昇がみられた。又 GS_{max} との検討では、妊娠週数との関係とほぼ同様な分布を示した。しかし流産群の中で blighted ovum を呈する症例では妊娠継続群と同様な分泌レベルを示す症例もみられた。

c) 血中 progesterone 値

妊娠継続群64名218検体を測定した (図7)。経過とともにレベルの上昇が認められた。妊娠9週以前で4/98例 (4.1%) と少例が30ng/ml 以下を示したが妊娠9週以後は全例 (119/119例) が30ng/ml 以上を示した。流産群43名66検体を測定した。図の様に妊娠継続群に比較して明らかな低値を示した。11/66例 (16.7%) だけが30ng/ml 以上を示した。又、経時的測定した8/15例 (53.3%) にレベルの上昇を認めた。さらに GS_{max} との関係は妊娠週数のそれとほぼ同様な分布を示した。

d) 血中 estradiol 値

妊娠継続群64名220検体を測定した (図8)。妊娠経過とともにレベルの急速な上昇がみられた。妊娠8週以前で5/65例 (7.7%) は0.5ng/ml 以下であったが妊娠8週以降では全例 (155/155例) がそれ以上であった。さらに妊娠9週以降では全例 (119/119例) が1.0ng/ml 以上の値を示した。流産群43名66検体を測定すると図の様に明らかな低値を示した。すなわち1.0ng/ml 以上を示し

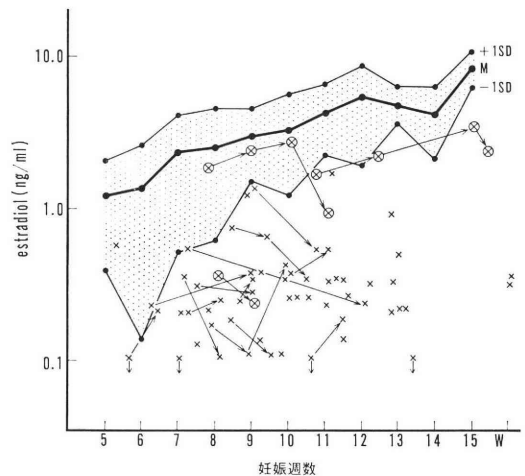


図 8 estradiol 値と妊娠週数

スクリーン領域は妊娠継続群の平均値±標準偏差を示す。×印は流産例。⊗印は胎児心拍証明後の流産例を示す

たものは10/66例 (15.2%) のみにみられた。 GS_{max} との関係では、妊娠継続群は、妊娠週数との関係と同様な分布を示した (図9)。しかし流産群では明らかに低値をとる傾向が認められ、さらに GS_{max} の増大につれて分泌レベルの上昇する傾向はみられなかった。この様に GS_{max} より見た estradiol 値は両群で明らかに差が認められた。又、胎児心拍を確認した後流産に至つたいわゆる live abortion の2症例では胎児生存中は妊娠継続群

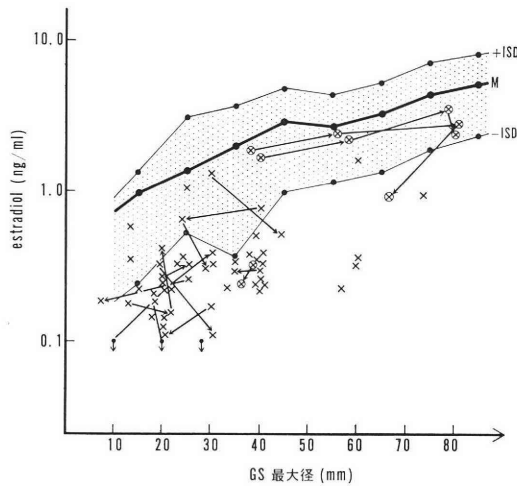


図 9 estradiol 値と GS 最大径
スクリーン領域は妊娠継続群の平均値±標準偏差を示す。×印は流産例。⊗印は胎児心拍証明後の流産例を示す

と等しい内分泌動態を示した。さらに胎児死亡後は progesterone および estradiol はよりすみやかに分泌レベルの低下がみられるのに対し、hPL および hCG はその分泌能がしばらく維持されていることがみられた。

考 案

A) 初発出血時期

流産の初発出血時期に関して、森ら (1973)⁹⁾及び竹内ら (1976)⁴⁾は、流産群に初発出血の遅れる傾向を述べている。今回我々の検討からも両群に初回出血時期の差が明らかにあり統計学的に有意であった。これは流産群の出血は胎児死亡の結果胎児胎盤機能の破綻として出血がみられる。それに対して妊娠継続群の出血は、いわゆる着床時出血、前置絨毛、胎児胎盤機能の一時的低下などが考えられ、両群の出血はその原因を異にするのではないと思われる。

B) GS

GS に関してその径と増大又形態の面から様々の検討が加えられている⁵⁻⁷⁾。Kohornら (1974)⁸⁾、朴 (1977)⁹⁾は GS_{max} を測定することが最も有用であり、平均 6-8 mm/週増大する経日的変化をみるのが重要であると述べている。GS の性状に関して Hellmanら (1973)¹⁰⁾の示した流産の超音波所見の六項目、1) 不明瞭 GS、2) 小 GS、3) 異常子宮内エコー、4) 成長停止、5) 複数 GS、6) 低位着床、は流産群に多くみられる所見であるが判定上客観性に問題がある場合もある。我々は流産の超音波所見として GS_{max} を計測するのが最も客観性が

ありかつ簡単で望ましいと考えて検討した。妊娠継続群の GS_{max} は直線的増加を示し、ほぼ正常妊娠と等しい増加を示すことを、さらに流産群でも GS 増大を示す症例が46%と約半数近くにみられ GS 計測の限界を明らかにした。

C) 胎児心拍検出率

正常妊娠における胎児心拍検出率は、妊娠 8 週で 100% となるといわれている。今回我々の対象、妊娠継続群の胎児心拍検出率は 10 週で初めて 100% であった。さらに GS_{max} と胎児心拍検出率を検討した結果では 50mm 以上で初めて 100% であった。流産の超音波による最終予後判定は妊娠 10 週及び GS_{max} 50mm 以上になるまでは慎重を要する必要があると思われる。

D) 胎児心拍と予後

胎児心拍の確認された症例は90%以上予後良好であると報告されている¹¹⁻¹³⁾。今回我々の検討でも胎児心拍を証明した95.6%は予後良好であり、4.4%の症例だけが流産に至ったことを明らかにし、胎児心拍の予後判定の指標として重要な意義を確認した。

E) 母体血中ホルモン

今回我々は超音波検査とホルモン測定を同時に比較検討した。従来より hCG は広く用いられている優れた指標とされてきた。しかしながら近年超音波断層装置の登場により、empty anembryonic GS や blighted ovum が早期に診断され、さらに live abortion の存在が知られるようになった。我々は hCG と GS_{max} との検討より流産群の約 30% の症例では高い分泌レベルを示し又 live abortion の 2 症例では全く妊娠継続群と判別できないことを示し、Jouppila ら (1979)¹⁴⁾ も同様に empty anembryonic GS の症例中 34% は正常 hCG レベルにあり、さらに live abortion では全く正常レベルにあると述べている。我々は hPL は胎児の生死に関係なく GS_{max} にほぼ比例して分泌される事実を明らかにし、流産の予後判定の指標には有用ではないと考えている。progesterone は比較的良好に予後を反映するといわれている。今回我々の妊娠週数および GS_{max} との検討でも両群に差がみられることを明らかにした。しかしながら Jauppila ら (1980)¹⁵⁾ は半数近くの empty anembryonic GS の症例では trophoblastic hCG と progesterone の産生は妊娠 11 週まではほぼ正常に保たれ hCG および progesterone による予後判定の限界を指摘している。hPL、hCG の分泌に関して今回我々は胎児死亡後もその分泌能が保たれている事実を認めたが、他の報告者も同様な結果を報告している^{16,17)}。estradiol に関しては、hCG、hPL、progesterone に比較して最もよく流産の予後を反映すると報告されてい

る¹⁸⁻²⁰⁾。今回我々も estradiol は、妊娠早期より両群に明らかな差が認められ、また GS_{max} との検討でも同様に違いがみられ、有用な流産予後判定の内分泌指標であることを明らかにした。又、他の報告でも、妊娠10週以前では estradiol 分泌は live embryo の存在によつており、fetal well-being の指標であるとされており^{21,22)} 我々と同様に estradiol の有用性を述べている。おわりに、今回我々は、超音波診断装置の使用により流産症例における確実な予後判定がより早期から可能になることを示した。empty anembryonic GS, blighted ovum, live abortion などの超音波診断による新しい概念をとり入れて流産の経過を見ていくことが重要である。従来からの hCG, hPL, progesterone などのホルモン測定は問題があり予後判定の指標として限界があることを今回明らかにした。estradiol については超音波診断装置による確診が得られない妊娠早期においても流産予後判定の指標になりうることを明らかにした。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜りました友田 豊教授に深甚なる謝意を表します。また稲沼市民病院の阿部 満先生、愛知県総合保健センターの青木孝允先生に感謝致します。

なお本論文の一部は、第26回不妊学会総会および第71回東海産婦人科学会シンポジウムにて発表した。

文 献

- 1) Donald, I.: Ultrasonic echo sounding in obstetrical and gynecological diagnosis. *Am. J. Obstet. & Gynec.*, 93: 935, 1965.
- 2) Hellman, L. M. and Kobayashi, M.: Growth and development of the human fetus prior to the twentieth week of gestation. *Am. J. Obstet. & Gynec.*, 103: 789, 1969.
- 3) 森 憲正, 藤崎俊一, 水元淳一, 池田 功, 木下和雄, 三森寛幸, 田山親行: 妊娠初期の出血. *産婦人科治療*, 32: 254, 1976.
- 4) 竹内正七, 高橋 威, 新井 繁, 広井正彦: 切迫流産の予後判定スコアと切迫流産患者の管理方式について. *産婦人科治療*, 32: 239, 1976.
- 5) 福岡啓造, 鏡 輝雄: 超音波断層法(電子スキャン)による妊娠初期の胎囊発育度の検討. *産婦人科治療*, 40: 223, 1980.
- 6) 徳垣正嶋, 箕浦茂樹, 森田良子, 坂元正一: 超音波高速電子スキャン装置による切迫流産の予後判定. *産婦人科治療*, 37: 601, 1978.
- 7) 山本善嗣: 正常初期妊娠超音波断層像の解折(特に所謂 G. S について). *日産婦誌*, 31: 469, 1979.
- 8) Kohorn, E. I. & Kaufman, M.: Sonar in the first trimester of pregnancy. *Obstet. & Gynec.* 44: 473, 1974.
- 9) 朴 美子: 超音波断層法による妊娠初期羊膜腔計測の臨床的意義に関する研究. *日産婦誌*, 29: 555, 1977.
- 10) Hellman, L. H., Kobayashi, M. & Cromb, E.: Ultrasonic diagnosis of embryonic malformations. *Am. J. Obstet. & Gynec.* 115: 615, 1973.
- 11) Jouppila, P. and Piironen, O.: Ultrasonic diagnosis of fetal life in early pregnancy. *Obstet. & Gynec.* 46: 616, 1975.
- 12) Anderson, S. G.: Management of threatened abortion with real-time sonography. *Obstet. & Gynec.* 55: 259, 1980.
- 13) Eriksen, P. S. and Philipsen, T.: Prognosis in threatened abortion evaluated by hormone assays and ultrasound scanning. *Obstet. & Gynec.* 55: 435, 1981.
- 14) Jouppila, P., Tapanainen, J. & Huhtaniemi, I.: Plasma hCG levels in patients with bleeding in the first and second trimesters of pregnancy. *Brit. J. Obstet. & Gynec.* 86: 343, 1979.
- 15) Jouppila, P., Huhtaniemi, I. & Tapanainen, J.: Early pregnancy failure; study by ultrasonic and hormonal methods. *Obstet. & Gynec.* 55: 42, 1980.
- 16) 千葉喜英, 今井史郎, 藤田正和, 杉田長敏, 山地建二, 三宅 馨, 谷沢 修, 倉智敬一, 黒川記久子: 流産の超音波断層所見と初期胎盤機能の関係および多変量解析診断. *日産婦誌*, 31: 1897, 1979.
- 17) 杉田長敏, 山地建二, 藤田正和, 千葉喜英, 大槻芳郎, 高木 哲, 谷沢 修, 倉智敬一, 佐々木記久子: 妊娠初期母体血中ホルモン動態から見た切迫流産の病態に関する研究. *日産婦誌*, 32: 851, 1980.
- 18) 余語郁夫: 内分泌学的立場よりみた初期流産に関する基礎的検討. *日産婦誌*, 29: 1236, 1977.
- 19) Kunz, J. & Keller, P. S.: HCG, HPL, oestradiol, progesterone and AFP in serum in patients with threatened abortion. *Brit. J. Obstet. & Gynec.* 83: 640, 1976.
- 20) Hertz, J. B., Mantoni, M. & Svenstrup, B.: Threatend abortion studied by estradiol-17 β in serum and ultrasound. *Obstet. & Gynec.* 55: 324, 1980.
- 21) Duff, G. B. and Legge, M.: A study of investigations used to predict outcome of pregnancy after threatened abortion, *British J. Obstet. & Gynec.* 87: 194, 1980.
- 22) Yuen, B. H., Livingston, J. E., Poland, B. J., Wittman, B. K. & Cannon, W.: Human chorionic gonadotropin, estradiol, progesterone, prolactin, and B-scan ultrasound monitoring of complications in early pregnancy. *Obstet. & Gynec.* 57: 207, 1981.

Study of abortion evaluated by
ultrasound scanning and
hormonal profile in serum

Makoto Nozaki and Masatoshi Suzuki

Department of obstetrics and Gynecology
Nagoya University, School of Medicine

In an attempt to clarify the pathology of abortions, a comparative study based on ultrasound scanning and endocrinological analysis was performed on 108 threatened abortion cases, 65 of whom continued an uninterrupted pregnancy and 43 terminating in complete abortion. In all the cases, GS_{max}. (maximum diameter of gestational sac) and detection of fetal heart beat were confirmed by ultrasound scanning. Four kinds of hormone, namely, hPL, hCG, progesterone and estradiol were measured and the relationship between each hormone and the gestational weeks or maximum diameter of GS was studied.

1. An increase in the size of GS_{max}, comparable to that of normal pregnancy, was seen in the uninterrupted-pregnancy group while 46 % of the completely-aborted group also revealed a somewhat increase in the size of GS_{max}.

2. A 100 % detection rate of fetal heart beat could be achieved at 10th gestational week or when GS_{max} reached up to 50 mm in diameter.

3. 95.6 % of cases with detected positive heart beat showed a good prognosis.

4. Levels of hPL, although well correlated with the size of GS_{max}., did not reflect prognosis. High levels of hCG were seen in 30 % of the completely-aborted cases. As an indicator of prognosis, however, hCG levels were of limited value in discriminating cases of live abortion and empty anembryonic GS from the uninterrupted pregnancy group. Fluctuations in the level of estradiol proved to be significant in that they are strongly indicative whether a live embryo exists or not. Thus, levels of estradiol may be a useful diagnostic indicator of fetal well-being.

(受付: 昭和58年9月16日)

当院における不妊症の臨床統計

(第1報：長期不妊症妊娠例の分析)

Statistical Studies on the Infertile Women in Our Clinic
(I. Analysis of the pregnancy in long-term infertile cases)

西川婦人科クリニック

西川 潔 假野 隆 司

Kiyoshi NISHIKAWA Takashi KANO

Nishikawa Gynecological Clinic

昭和54年より57年にかけて当院不妊外来で治療妊娠したなかで初診時不妊期間が8年以上(長期群)の症例のうちAIDによるものを除く70例を同時期の妊娠例のうち無作為に選択した初診時不妊期間2~5年(短期群)の100例と比較しながら各種の因子分析を行なった。長期群では原発不妊48例(68.6%)、続発不妊22例(31.4%)であり、短期群より原発不妊が高率であった。長期群で高率な不妊原因は、内分泌因子(特に黄体機能不全症)、卵管因子、子宮因子、頸管因子(Hühner-test不良)であった。男性因子は両群で差はなかつた。原因の重複は長期群は2.7で短期群の2.4より多かつた。また長期群に高率な治療は通水、手術療法(筋腫核出術、卵管開口術、癒着剝離術、卵巣楔状切除術)、AIHであった。内分泌治療全体では両群に差はなかつたが、Clomid療法は長期群で高率であり、HMG-HCG療法は低率であった。1人当りの治療数平均は長期群3.5、短期群3.0であった。治療期間は短期群では2年以内が93.6%と高率であったのに対し長期群では65.2%であり、平均は前者が1.2年、後者は2.1年であった。その後の妊娠経過は満期成熟分娩は短期群43例(72.0%)、長期群30例(61.4%)であった。長期群では早産率には差はないものの、流産率は短期群の2倍以上であった。以上より長期不妊症では複合した原因が特徴であるため各原因に正確に対応した複数の治療をきめ細かく長期間行なうことが肝要と考えられた。また妊娠後の管理も厳重に行なう必要がある。
(*Jap. J. Fert. Ster.* 29(2), 236-241, 1984)

緒 言

不妊症の診断、治療が著しく進歩した現況においても高年不妊症および長期不妊症に関しては解決すべき未知らぬ問題が多く、治療成績も芳しくない。長期不妊症は必然的に高年不妊症と臨床像が類似するが、加齢による妊孕性の低下に加え、長期間の結婚生活がもたらす各種の因子が重要な背景をなしているため、より複雑な臨床像を呈すると考えられる。そこで長期不妊症を検討する一環として、同症に対する適切な診断、治療のあり方を探る目的で、長期不妊婦人の妊娠例を検討することにより、長期不妊症の臨床像の特徴の一端を明きらかにすることを試みた。

対象および研究方法

昭和54年1月より57年10月までに当院不妊外来にて妊娠した患者のなかで初診時不妊期間が8年以上のものは90例であった。このうちAIDによる20例を除外した70例について各種因子の分析をretrospectiveに行なつた。この70名のうち61名は他院においてすでに何らかの不妊症の検査あるいは治療を受けている。

Control(短期不妊群)として、同時期の妊娠例のうち無作為に選択した初診時不妊期間2~5年の100例について同じ分析を行なった。

結 果

1. 初診時不妊期間 (Fig. 1) および年齢

長期不妊群の分布は不妊期間が長期になるにしたがつて漸減している。最長不妊期間は原発不妊の14年であった。原発、続発別では長期不妊群では短期不妊群と比べ

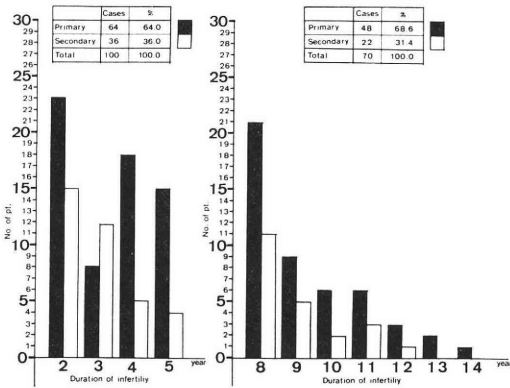


Fig. 1 Duration of infertility

ると原発不妊が高率であった。初診時平均年齢は短期不妊群27.8歳(原発:28.1歳, 続発:27.2歳), 長期不妊群32.3歳(原発:32.1歳, 続発32.8歳)であった。

2. 結婚年齢 (Fig. 2)

短期不妊群の平均は24.7歳(原発:24.7歳, 続発:24.5歳)であり原発不妊と続発不妊の間に差はなかった。長期不妊群の平均は24.2歳(原発:23.1歳, 続発:26.5歳)であり短期不妊群と差はなかったが, 続発不妊の方が年齢が高かった。

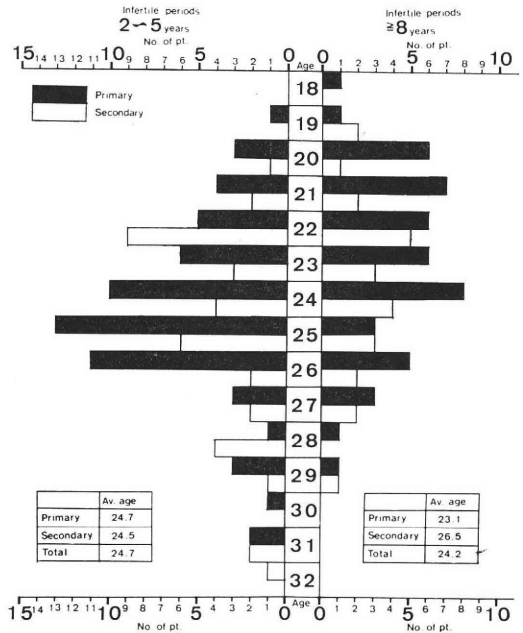


Fig. 2 Distribution of the age at marriage

3. 不妊原因 (Fig. 3)

男性因子の精子減少症(総精子数 $4,000 \times 10^4/ml$ 未満,あるいは運動精子数 $3,000 \times 10^4/ml$ 未満¹⁾)は全体では両群に差はない,しかし短期群では原発不妊に高率であるのに対し,長期群では原発不妊, 続発不妊間に差はなかった。

内分泌因子に原因があつた症例は両群共70.0%以上の高率で, 長期群により高率であった。無排卵症は短期

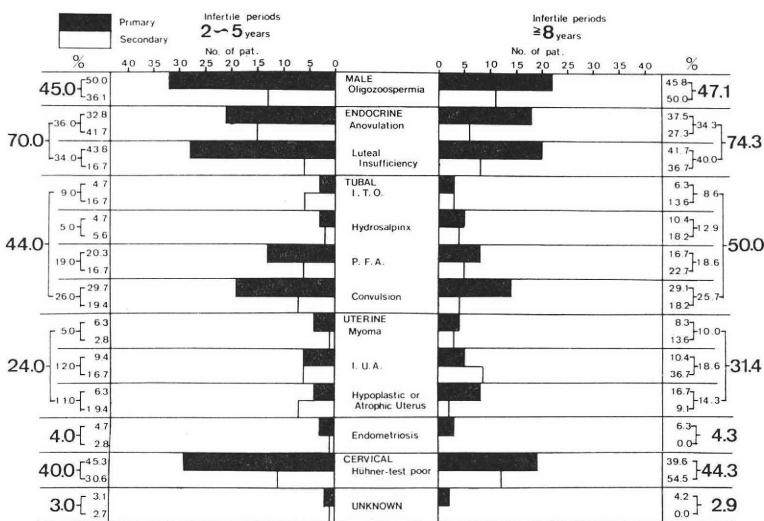


Fig. 3 Causal factor

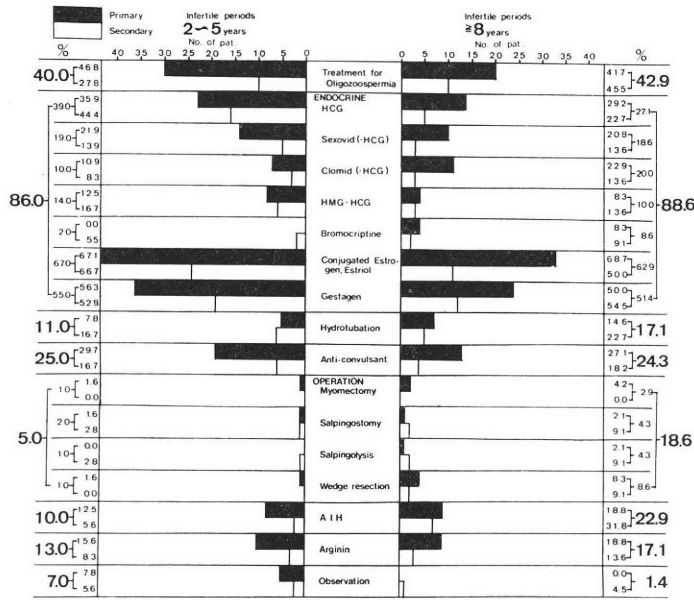


Fig. 4 Treatment

群、なかでも続発不妊、に高率であるが、黄体機能不全症は逆に長期群、なかでも原発不妊、に高率であった。

卵管因子では、卵管閉塞 (intratubal occlusion, I.T.O.), 卵管采部癒着 (perifimbrial adhesion, P.E.A.), 卵管痙攣では両群に差はなかったが、卵管溜水腫 (hydrosalpinx) は長期群、なかでも続発不妊、に高率であった。なお卵管痙攣は Rubin-test の閉鎖が、Tiemonium iodide (Visceralgine®) あるいは Vaethamate bromide (Epidosin®) の前処置 (15分前筋注) により改善された症例である。

子宮因子は長期群に高率であった。内訳では筋腫、腔内癒着 (intrauterine adhesion, I.U.A.) は続発不妊に高率であり、発育不全は原発不妊に高率であった。

Endometriosis については開腹、あるいは腹腔鏡により確定診断されたものに限ったが、両群に差のない低率であった。

我々の診断基準による Hühner-test 不良例は両群共、40.0%以上の高率であり、長期群、なかでも続発不妊、でその傾向は著名であった。

以上の分析によつて原因の特定が不可能な、機能性不妊と考えられる症例は両群共に3.0%以下の低率であった。各原因の重複は長期群では最高分布3、平均2.7であり、短期群の最高分布2、平均2.4より重複率は高かった。

4. 治療 (Fig. 4)

当院では、精子減少症、運動率の低下に対しては症例により、酢酸ヒドロキシコパラミン、ATP、カリクレ

イン、アルギニン等の内服療法、HCG、HMG-HCG、testosterone 等の注射療法を行こなつている。これ等の治療率は短期群と長期群では差はない。しかし続発不妊に關すれば長期群に高い。

内分泌治療全体では両群に大差ないが、治療内容別では、HCG および Sexovid 療法は短期群で高率であるのに対し、Clomid 療法は長期群、なかでも原発不妊、で高率であった。HMG-HCG 療法は両群共に続発不妊に高率であり、全体では短期群に高率であった。Bromocriptine 療法は両群共に低率であるが、これは今回の症例の検査、治療時期が prolactin の radioimmunoassay、Bromocriptine の臨床応用が lutine 化された時期と完全に一致していないためと考えられるが長期群で治療率が高かつた。結合型 estrogen (Premaline®), estril あるいは gestagen (Duphaston®) の投与が高率であるのは、当院では頸管粘液分泌増加、内膜増殖の促進、過短卵胞期の予防あるいは、内膜の分泌期の正常化を目的として routine に近く投与しているためである。

通水は I.T.O., P.F.A. あるいは I.U.A. に対して行こなつているが両群共に続発不妊に高率であり、全体では長期群に高率であった。卵管痙攣には症例に応じて Tiemonium iodide あるいは Valthamate bromide を経口投与しているが、両群に差は認めないものの、おおよそ25%の症例で前記薬剤を投与していた。両群共に原発不妊に高率であった。

妊娠につながつた手術療法の筋腫核出術、卵管開口術、癒着剝離術、卵巣楔状切除術いずれも長期群に高率

であり、特に卵巣楔状切除術は長期群で短期群より 8.0 倍以上高率であり、原発不妊、続発不妊の間に差はなかつた。

AIH の施行率は長期群では短期群の 2 倍以上であり、なかでも続発不妊でより高く 31.8% におよんだ。

アルギニン は精子所見正常、頸管粘液量正常¹⁾で Hühner-test 不良の couple の妻に 1~3 か月投与しているが、服用中に妊娠が成立したのは短期群 13.0%、長期群 17.1% で、後者、特に原発不妊、に高率であつた。

無治療、経過観察で妊娠の成立をみたのは短期群は 8 例 (7.0%) であつたが、長期群では続発不妊のわずか 1 例 (1.4%) のみであつた。

一症例あたりの治療数は両群共に最高分布は 4 であるが、平均では短期群 3.0、長期群 3.5 で、後者が多かつた。

5. 治療期間 (Fig. 5)

2 年以内に妊娠が成立したのは、短期群では 93.6% の高率であるが、長期群では 65.2% であつた。平均は前者が 1.2 年であるのに対し、後者は 2.1 年と長期間を要し、最長は 10 年 (1 例) であつた。なお平均妊娠年齢は短期

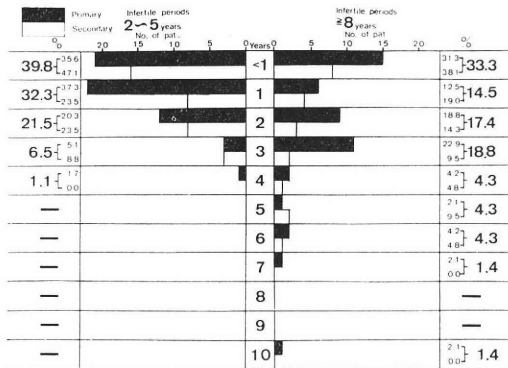


Fig. 5 Period from first visit to pregnancy

群 28.9 歳 (原発: 28.9 歳, 続発: 29.0 歳), 長期群 34.4 歳 (原発: 34.4 歳, 続発: 34.3 歳) であり、結婚より妊娠までの平均期間は短期群 4.4 年 (原発: 4.7 年, 続発: 3.9 年), 長期群 11.5 年 (原発: 11.7 年, 続発: 11.0 年) であつた。

6. 妊娠の予後 (Fig. 6)

満期成熟分娩は、長期群は 30 例 (61.4%) であり、短期群の 43 例 (72.0%) より低率であつた。長期群の早産率は短期群と差はないが、流産率は 2 倍以上であつた。

7. 基礎体温の低温最終日 (Fig. 7)

妊娠周期の低温最終日の平均は短期群 18.4 日, 長期群 19.4 日であり、後者が約 1 日遅かつた。両群共に原発不妊、続発不妊の間に差はなかつた。

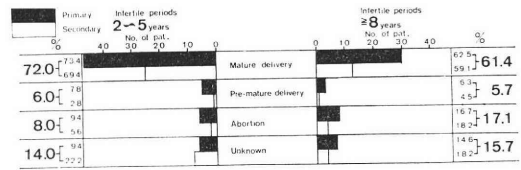


Fig. 6 Outcome of pregnancy

Infertile periods	2~5 years (No.)	≥8 years (No.)
Primary	18.3 (52)	19.3 (41)
Secondary	18.5 (33)	19.5 (18)
Total	18.4 (85)	19.4 (59)

Fig. 7 The mean values on BBT 0 day

考 察

不妊期間が 5 年以上におよぶと、妊娠率が急激に低下するといわれる²⁾。また長期不妊は必然的に高年不妊になるで、この面でも妊娠率、挙児率は低下する³⁾。したがって長期不妊症は不妊症のなかでも最も治療困難な症例群といえる。また近年、都会の不妊診療機関では高年あるいは長期不妊症の占める割合が年々増加する傾向にある³⁾。したがって、長期不妊症の貴重な妊娠例の各種因子分析を行こなつて、その特徴を明らかにすることは、同症における検査、治療の正しいあり方を探るうえで意義深いと考えられる。

一般に原発不妊、続発不妊の頻度は 2 : 1 と考えられているが^{4,5)}、今回の妊娠例でも殆んど同率であつたが、長期群では control の短期群より原発不妊の比率が高かつた事実と、高年不妊では続発不妊の比率が増加すること³⁾とを考へ併せれば、長期不妊で比較的前後の良好な症例は原発不妊に多いといえる。本来、男性因子、卵管因子の障害は治療成績が不良のため長期化し、高年にもちこされる例が多い³⁾。このなかで男性因子に関しては、無精子症や $1,000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満の乏精子症の予後は確かに不良ではあるが、総精子数 $4,000 \times 10^4/\text{ml}$ 、あるいは運動精子数 $3,000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満の症例では治療が必要と考えられる¹⁾。今回の妊娠例では 40% 以上が治療を受けたが、そのなかでもつとも多かつたのは、運動率の低下のために運動精子数が低値であつたのが、前述の治療によつて精子所見が改善した結果、妊娠が成立した例であつた。長期続発不妊での男性因子の意外な高率は男性の加齢による妊孕力の低下が背景になつていゝと思われ、長期不妊症では定期的な精子の検査が必要と考えられた。一方、卵管因子では器質化の進行した例では予後は良くないが、今回の結果は長期不妊のなかにも適応を誤らずに積極的に通水や手術療法を行こなえば妊娠可能

な例が存在することを示している。子宮因子についても同じことが言える。

内分泌因子に関しては、排卵障害の妊娠例が短期群に多いのは各種の排卵誘発法の近年での進歩が早期の妊娠成功に結びついているためと考えられる。長期群の HMG-HCG 療法による妊娠が意外に少ないのもこの反映であろう。黄体機能不全症の妊娠例が長期群で高率であったことは、同症がさほど重要視されないまま放置されるか、慢然と黄体期の HCG 療法、あるいは Gestagen 投与のみで済ませやすかつたためと考えられる。同症のなかには卵胞の発育不全が原因となっている例もあり¹⁾、卵胞期の mildhyperprolactinemia もその原因の 1 つとなり得る^{6,7)}。したがって同症では原因に応じた治療^{1,7,9)}が行こななければならぬ。いずれにしても、黄体機能不全症は長期不妊症の主要な原因の 1 つであることは間違いない。

Prolactin の radioimmunoassay と bromocriptine 療法が現在では lutine 化したため、これからは排卵障害、黄体機能不全症において bromocriptine 療法による妊娠が長期不妊症で増加すると推察される。

卵巣楔状切除術後の妊娠が長期群で高率であった。この際、多嚢胞性卵巣のような高 estrogen 産生卵巣のみならず、低 estrogen 産生卵巣においても有効であったため、同術は加齢により機能低下に陥った卵巣の機能回復に何らかの意義があると考えられる。したがって長期不妊症においては同術の効用を見直す必要があると考えられる。

Hühner-test 不良例の原因は単純なものではなく、安易な estrogen 療法や AIH は好成績につながらない¹⁾。反面、厳格な適応による AIH は効果的治療の 1 つであることを今回の成績は示している。この AIH 妊娠のなかには長期の結婚生活のためか、性交回数極端に少ないものや、夫の仮性 impotence のために性交不能な症例が含まれている。我々は適応と考えた症例では、精子所見によつて 1 周期に 1、あるいは 2 日間隔で 2 回行こなうようにしており、さらに患者の「折角 AIH までしてもらつたのに排卵が遅れたら、また妊娠しない」との不安によりよく認められる排卵遅延をさけるために、症例によつては 5 日間の BBT 測定禁止を命じている。加えて最近では超音波断層装置で測定した卵胞径により AIH の日を決定することで確実を期している。

長期不妊症に特徴的なことではないが、卵管癒癒のある症例では治療は絶対に必要であり、我々は月経周期 5 日目から高温 5 日目まで原因に応じた抗癒癒劑を妊娠成立周期まで経口投与している。

Endometriosis の不妊症の原因に占める割合は 8~15

%といわれるが⁹⁾、薬物療法および手術療法が進歩した現時点でも依然として難治性であり、同症へのより効果的な治療の確立が長期不妊症の成績向上につながるであろう。

高年不妊には視床下部一下垂体一性腺系の老化徴候としての LH 反応の亢進の結果起きる早期排卵による過短卵胞周期¹⁰⁾に由来する内膜異常^{10,11)}が着床障害をまねく例が多い¹²⁾といわれるが、今回の長期不妊妊娠例では短期不妊に比べ妊娠周期の排卵が遅かつた。この結果は卵胞初期に投与した結合型 estrogen が過短卵胞期の子防¹⁰⁾に有効であったことを示している。

アルギニンが精子および頸管粘液量正常な Hühner-test 不良例に有効な理由は不明であるが、我々は頸管粘液の物理化学的性状の改善にあると推測している。

高年不妊の原因では機能性不妊が最も多い¹³⁾と考えられており、長期不妊においても同様な傾向があると推察される。しかし今回の研究では機能性不妊と過去に診断された症例で何らかの原因が発見された例が少なくなかつた。したがってすでに機能性不妊と診断された長期不妊症例では以上に述べてきた系統的検査により見直す必要があると言えよう。

以上より、長期不妊症では原因が複合的なことが特徴であるので、系統的、広範な検査の結果に正確に対応した複数の治療を患者の信頼を基板として、粘り強く、マンネリに陥ることに注意しながら長期間に渡つて行こなうことが肝要と考えられた。また流産率が高いことから妊娠後も厳重な管理が必要である。なお本論文の要旨は第 28 回日本不妊学会総会で発表した。

文 献

- 1) 假野隆司, 西川 潔: Hühner-test 不良例の解析と AIH, 日不妊誌, 28: 358, 1983.
- 2) 東出香二, 下須賀洋一, 万羽 進, 成田 収: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊誌, 28: 208, 1977.
- 3) 横山 敬, 楠原浩二, 松本和紀, 安江育代, 木村英三, 蜂屋祥一: 高年不妊婦人の臨床的検討, 日不妊誌, 28: 76, 1983.
- 4) 松家五朗, 増田歳久, 吉崎健一, 乾 奏延, 三村経夫, 竹内 悟, 山野修司, 高橋久寿: 当不妊外来における最近 5 年間の妊娠例の検討. 日不妊誌, 25: 85, 1980.
- 5) 寺田夏樹, 前川岩夫, 内藤正文, 小堀恒雄, 高見沢裕吉: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊誌, 28: 71, 1983.
- 6) Kano, T., Nishikawa, K., Miyazaki, K., Kanda, T. and Sugimoto, O.: Plasma prolactin in luteal insufficiency and treatment with bromocriptine. *Jap. J. Fertil. Steril.*, 28: 26, 1983.

- 7) Kano, T. and Nishikawa, K. : Bromocriptine therapy of luteal insufficiency accompanied with hyperprolactinemia in the follicular phase. *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 35 : 975, 1983.
- 8) Kano, T. and Nishikawa, K. : Bromocriptine-HMG therapy for hyperprolactinemic luteal insufficiency. *Jap. J. Fertil. Steril.* In press.
- 9) 杉本 修 : 子宮内膜症のすべて. p 78, 南江堂, 東京, 1976.
- 10) 池田友信, 森 一郎 : 高年不妊婦人の処置, 産と婦, 46 : 899, 1979.
- 11) 細田 肇 : 機能性不妊に子宮内膜因子の研究, 日不妊誌, 22 : 191, 1977.
- 12) 杉本 修, 中堀 等, 林 章子, 石黒達也 : 不妊診断の問題点, 産婦治療. 16 : 320, 1968.

Statistical studies on the infertile women in our clinic

(I. Analysis of the pregnancy in long-term infertile cases)

Kiyoshi Nishikawa and Takashi Kano

Nishikawa Gynecological Clinic

Statistical comparison of various factors was made between 70 successfully treated women who had been infertile for 8 years or more at the time of the first visit (long-term group) and 100 successfully treated women who were randomly selected from among those who had been infertile for 2 to 5 years (short-term group). They all became pregnant after the treatment at our clinic in 1979 to 1982. The patients who underwent AID were excluded. The long-term group consisted of 48 (68.6 %) primary infertile and 22 (31.4 %) secondary infertile cases, the rate of primary infertility being higher than that in the short-term group. Important causes of infertility in the long-term

group involved endocrine factors, especially, luteal insufficiency, tubal factors, uterine factors and responsible for unfavorable results of Hühner-test. The importance of male factors was comparable between the two groups. Frequently, the cause was a combination of some of those factors. The number of combinedly detected factors was larger in the long-term group than in the short-term group; 2.7 factors per patients in the former group and 2.4 in the latter. The treatment which effectively led the patients in the long-term group to pregnancy were hydrotubation, sergical operation (myomectomy, salpingostomy, salpingolysis, and wedge resection of ovary), and AIH. Endocrine treatment as a whole was comparably effective in the two groups, but clomid was more effective and HMG-HCG was less effective in the long-term group. The mean number of different treatments tried was 3.5 per patients in the long-term group, and 3.0 in the short-term group. Pregnancy was obtained within 2 years of treatment in 93.6 % of the patients in the short-term group, but in 65.2 % in the long-term group. The mean period of time required for pregnancy was 1.2 and 2.1 years in the short-term and long-term groups, respectively. The followup investigation revealed that full-term mature delivery was attained in 43 women (72.0 %) in the short-term group, and 30 women (61.4 %) in the other group. The rate of premature delivery in the long-term group was comparable to that in the short-term group, but the rate of abortion in the former group was twice as high as that in the latter. Our study demonstrated that the multiplicity of causal factors is a characteristic of the long-term infertility. It must be important that an appropriate treatment for each of the combined causal factors is continued for a long term. Due care after the prognacy is also important.

(受付 : 昭和58年 9 月10日)

過去9年間における不妊症および排卵 障害患者の臨床統計

Clinical Study of Infertility and Ovulatory Failure

福井愛育病院産婦人科

宮越洋二 川端寛

Yoji MIYAKOSHI Hiroshi KAWABATA

城下耕平 岩破一博

Kohei SHIROSHITA Kazuhiro IWASAKU

Department of Obstetrics and Gynecology,
Fukui Aiku Hospital, Fukui

当院開設以来過去9年間（昭和47年12月より昭和56年11月まで）における2年以上の不妊症427例と排卵障害例184例につき検討した。不妊症427例中妊娠例は138例で妊娠率は32.3%であった。不妊因子としては卵巣因子が最も多く34.2%で男性因子は20.6%、卵管因子は15.6%であった。卵巣因子の改善による妊娠例が最も多く妊娠率は33.9%であった。男性因子による妊娠率は最も悪く3.7%であった。不妊期間と妊娠率を検討したところ原発性、続発性不妊症共に3年未満の症例が最も多く妊娠しそれぞれ51.1%、40.7%の妊娠率であった。排卵障害例184例中、114例にLH-RHテストを施行したところ、間脳障害型、下垂体障害型、卵巣障害型は各々85.9%、5.2%、8.7%であった。第1度無月経、無排卵に対するclomiphene療法では妊娠率は43.5%、流産率は12.2%、第2度無月経に対するHMG-HCG療法では妊娠率は60%、流産率は66.6%であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(2), 242-248, 1984)

緒言

近年、不妊症領域の検査、治療の進歩はHMG-HCG療法やIVFに代表されるように目ざましいものがあるが、いまだ多くの挙児希望者に高率に妊娠成功が可能となつてゐるわけではない。今回、われわれは当病院開設以来過去9年間にわたつてとり扱つた不妊症および排卵障害患者について統計学的検討を加え、今後の治療方針の資料とすべくここに報告する。

対象および方法

昭和47年12月から昭和56年11月までに当院を訪れた不妊症患者427例と排卵障害患者184例を対象とした。不妊症の期間は結婚後1年以上（米国産婦人科学会）と2年以上（FIGO）の2通りがあり、一般には1年以上を採用している機関が多いが、われわれは2年以上不妊であ

る症例を対象とした。また、排卵障害の患者は、たとえ結婚後2年あるいは1年未満であろうとBBTその他より無排卵と考えられた症例は全て対象とした。

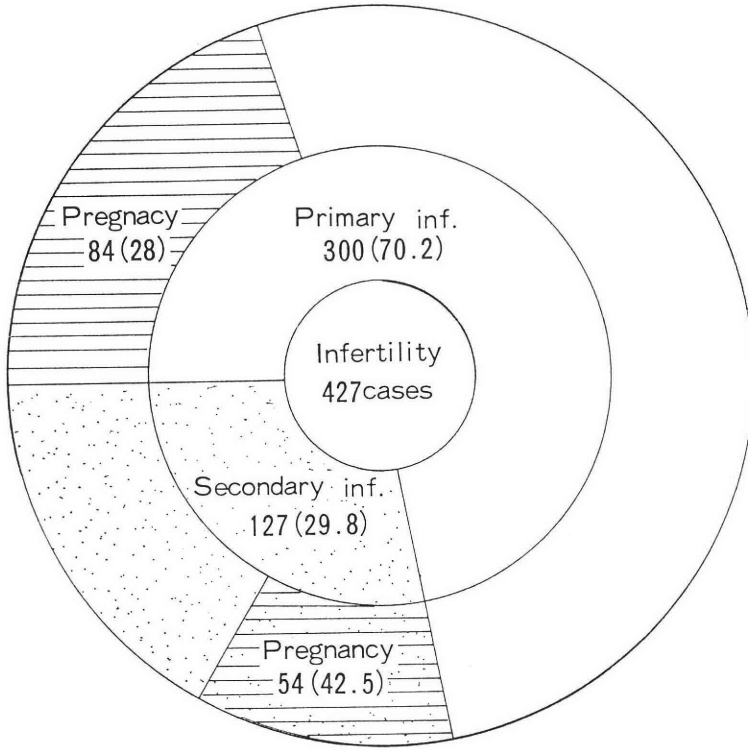
成績

1. 不妊患者全体の妊娠率

2年以上の全不妊患者427例中原発性不妊は300例（70.2%）で、続発性不妊は127例（29.8%）であった。427例中妊娠例は138例（32.3%）であり、その中原発性不妊の中の妊娠例は84例（28%）で続発性不妊の中の妊娠例は54例（42.5%）と後者の方の妊娠率が高かつた（図1）。また、全妊娠例138例中何らかの治療によつて妊娠した例は85例で残り53例は検査中あるいは検査終了後数か月から数年後に自然に妊娠した症例であつた。

2. 初診時の年齢と妊娠率

まず原発性不妊の妊娠例は初診時年齢24歳から27歳に



() %

図 1 Pregnancy rate in primary and secondary infertility

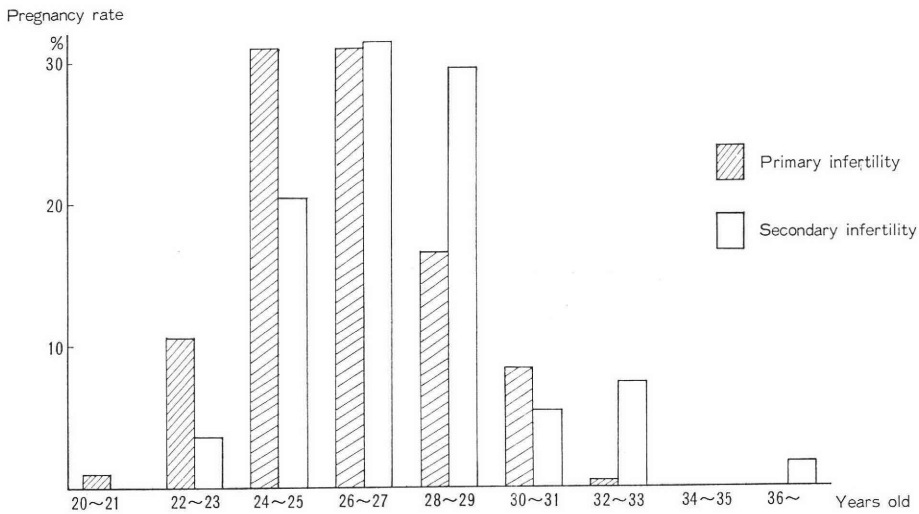


図 2 Age on first visit and pregnancy rate

かけてが最も妊娠例が多く、28歳以後は次第に妊娠例が少なくなってきた。また続発性不妊では原発性不妊に比べて、その peak は 2 ~ 3 歳ずれ、26 ~ 29 歳にかけて最

も妊娠例が多く認められた (図 2)。

3. 不妊期間と妊娠率

全妊娠例における初診時の不妊期間と妊娠率を原発性

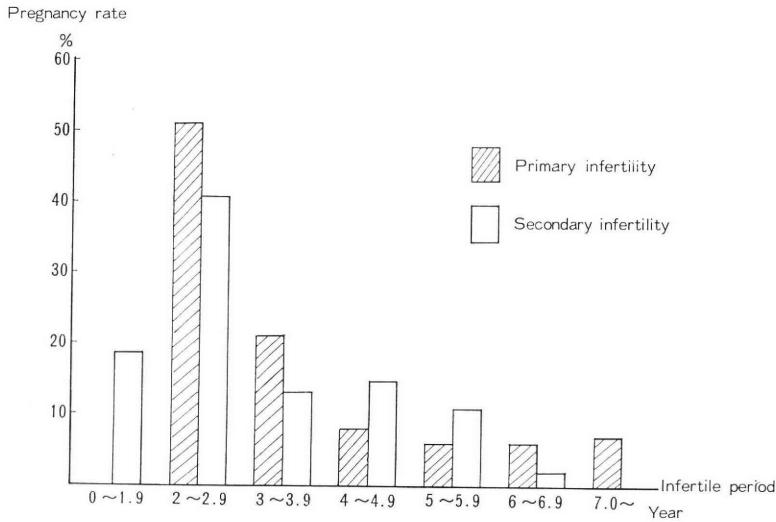


図3 Infertile period on first visit and pregnancy rate

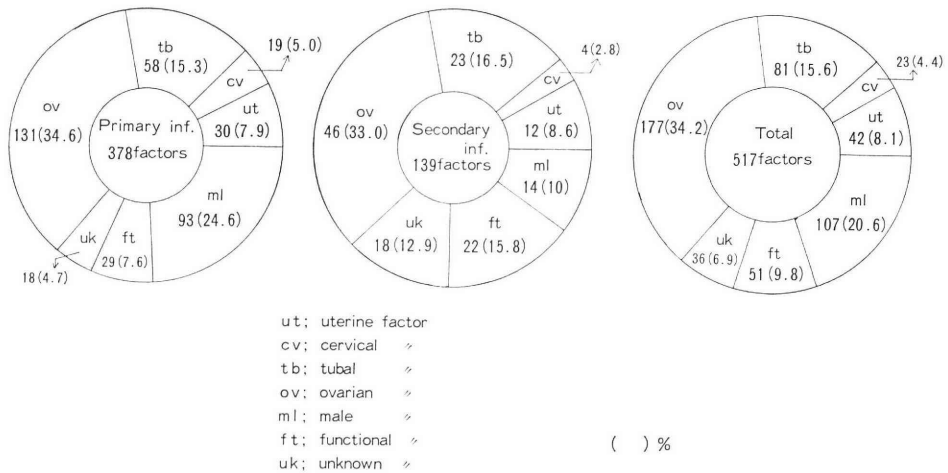


図4 Incidence of the causal factor in infertility

および続発性不妊について検討したところ、両者とも不妊期間2年から2.9年までが最も妊娠率が高く3年以上になるにつれて次第に妊娠率は低下してきた(図3)。

4. 不妊因子の割合

不妊因子を子宮、卵管、卵巣(無排卵、黄体機能不全など)、機能性(系統的検査は異常の認められないいわゆる機能性不妊)、不明(系統的検査の1~2項目が患者の都合により施行されていないため明確な不妊因子が不明)および男性因子の7項目に分類した。1症例につき2因子以上不妊因子が合併している場合も多々認められた。全不妊患者427例において517の不妊因子が認められ、その中卵巣因子が最も多く177因子(34.2%)でついで男性因子107因子(20.6%)、卵管因子81因子(15.6%)、機能性因子51因子(9.8%)、子宮因子42因子(8.1%)、不明因子36因子(6.9%)、頸管因子23例(4.4%)であった(図4)。

つぎに原発性不妊と続発性不妊に分類して不妊因子を検討したところ、両者とも最も多い不妊因子は卵巣因子であり、それぞれ131因子(34.6%)、46因子(33.0%)をしめ、最も少ない不妊因子は頸管因子でそれぞれ19因子(5.0%)、4因子(2.8%)であった。

5. 不妊因子と妊娠率

おのおのの不妊因子とその妊娠率を検討したところ最も妊娠率の高かつたのは卵巣因子で177例中76例(42.9%)で、ついで頸管因子が30.4%、機能性因子が25.4%、子宮因子が14.2%、卵管因子が12.3%で最も妊娠率

表 1 Causal factor and pregnancy rate

	Primary inf.		Secondary inf.		Total	
	Case	Pregnant case () %	Case	Pregnant case () %	Case	Pregnant case () %
Uterus	30	3(10.0)	12	2(25.0)	42	6(14.2)
Cervix	19	5(26.3)	4	2(50.0)	23	7(30.4)
Tube	58	7(12.0)	23	3(13.0)	81	10(12.3)
Ovarian	131	48(36.6)	46	28(60.8)	177	76(42.9)
Male	93	8(8.6)	14	1(7.1)	107	9(8.4)
Functional	29	6(20.6)	22	7(31.8)	51	13(25.4)
Unknown	18	7	18	9	36	16

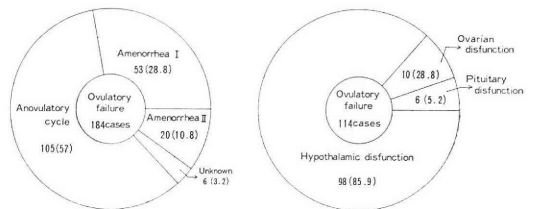
表 2 Successful treatments in pregnancy

		Primary inf.	Secondary inf.	Total (%)
Induction of ovulation		29	23	52(61.7)
Hormonal treatment in luteal insufficiency	HCG on luteal phase	3	0	8(9.4)
	Clomiphene	1	0	
	Dydrogesterone on luteal phase	1	0	
	Clmiphene-HCG on luteal phase	2	1	
AIH		2	1	3(3.5)
Induction of ovulation+AIH		3	0	3(3.5)
IUI		4	2	6(7.0)
IUI + Other treatment	Clomiphene	2	0	5(5.8)
	Dydrogesterone on luteal phase	2	0	
	AIH, dydrogesterone on luteal phase	1	0	
After HSG		2	3	5(5.8)
Others		3	0	3(3.5)
		55	30	85(100)

が低かったのは男性因子で107例中9例のわずか8.4%であった。ついでこれらを原発性、続発性不妊に分類して検討したところ、両者とも最も妊娠率の高いのは、やはり卵巣因子で、それぞれ131例中48例(36.6%)、46例中28例(60.8%)であり、最も妊娠率の低いのは男性因子で、それぞれ93例中8例(8.6%)、14例中1例(7.1%)であった(表1)。

6. 妊娠成功例の治療内容

妊娠成功例85例について、その治療内容を分析した。その結果、排卵誘発による妊娠例が最も多く52例(61.7%)であり、黄体機能不全における種々のホルモン治療では妊娠例は8例(9.4%)であった。AIHの関与した妊娠例は6例で、その中AIHのみによる妊娠例は3例(3.5%)であった。IUI(卵管通水)による妊娠例は11例で、その中IUIのみによる妊娠例は6例(7.0%)、



Amenorrhea I : Amenrhea with sufficient endogenous estrogen
Amenorrhea II : Amenorrhea with insufficient endogenous estrogen () %

図 5 Classification and LH-RH test in ovulatory failure

IUIと種々のホルモン療法による妊娠例は5例(5.8%)であった(表2)。

7. 排卵障害例と LH-RH テスト

過去9年間における排卵異常例は184例で、その中無排卵周期症が最も多く105例(57%)、ついで第1度無月

表3 Rate of ovulation and pregnancy in clomiphene treatment

	Treated cases	Ovulatory cases	Treated cycles	Ovulatory cases	Rate of ovulation (%)	Pregnant cases	Pregnancy rate (%)	Abortion rate
Amenorrhea I	46	38	135	95	70.3	19	41.3	12.2%
Amenorrhea II	7	1	14	1	7.1	1	14.2	
Anovulatory cycle	80	72	276	231	83.6	37	46.2	

Rate of ovulation and pregnancy in HMG-HCG Treatment								
	Treated cases	Ovulatory cases	Treated cycles	Ovulatory cases	Rate of ovulation (%)	Pregnant cases	Pregnancy rate (%)	Abortion rate
Amenorrhea I	6	4	15	10	66.6	0	0	66.6%
Amenorrhea II	10	9	41	33	80.4	6	60.0	
Anovulatory cycle	11	11	46	43	93.4	3	27.2	

Amenorrhea I: Amerrheatwith sufficient endogenous estrogen

Ameonrrhea II: Amenorrhea with insufficient endogenous estrogen

表4 Rate of ovulation and pregnancy in several ovulation induced medicines

		Treated cases	Ovulatory cases	Treated cycles	Ovulatory cycles	Rate of ovulation (%)	Pregnat cases	Pregnancy rate (%)
Clomiphene -HCG	Amenorrhea I	13	8	28	10	35.7	1	7.6
	Amenorrhea II	4	1	10	4	40.0	0	0
	Anovulatory cycle	8	6	26	18	69.2	0	0
Cyclophenyl	Amenorrhea I	4	1	8	2	25.0	1	25.0
	Amenorrhea II	2	1	3	2	66.6	1	50.0
	Anovulatory cycle	11	4	23	10	43.4	1	9.0
Clomiphene-estrogen		12	/	/	/	/	3	25.0
Clomiphene-HMG-HCG		6	5	26	19	73.6	3	50.0
Clomiphene-predonine		4	2	12	5	41.6	0	0
Bromocriptine		10	10	52	43	82.6	4	40.0

Amenorrhea I: Amerrhea with sufficient endogenous estrogen

Amenorrhea II: Amenorrhea withinsufficient endogenous estrogen

経53例 (28.8%), 第2度無月経20例 (10.8%) であった (図5).

これら184例中 LH-RH テストを施行したのは114例で, そのテストは100 μ g の LH-RH の筋注法によつた. その結果, 間脳障害型が最も多く98例 (85.9%) に認められ, ついで卵巣障害型が10例 (28.8%), 下垂体障害型が6例 (5.2%) に認められた.

8. 種々の薬剤による排卵誘発率および妊娠率の検討
排卵誘発率は投与周期数に対する排卵周期数, 妊娠率は投与例数に対する妊娠例数で算出した. まず, clomiphene 50mg \times 5日間について検討したところ, 第1度無月経, 無排卵周期症に対する排卵率はそれぞれ70.3

%, 83.6%で妊娠率はおのおの41.3%, 46.2%であった. 一方, 第2度無月経に対しては排卵率は7.1%, 妊娠率は14.2%であった. HMG-HCG 療法では第2度無月経に対する排卵率, 妊娠率はそれぞれ80.4%, 60.0%であった. 一方, 第1度無月経, 無排卵周期症に対しては排卵率は66.6%, 93.3%であり妊娠率は0%, 27.2%であった. また clomiphene および HMG-HCG によつて妊娠した例の流産率はそれぞれ12.2%, 66.6%であった (表3). 次に例数は少ないが, clomiphene 単独, HMG-HCG 単独療法以外による種々の排卵率, 妊娠率の検討を行なつた (表4). われわれは clomiphene 無効例には clomiphene 50mg \times 5日間投与後, 月経周期

の12日目と14日目にそれぞれ HCG 5000IU を筋注する clomiphene-HCG 療法を施行しているが、その排卵率は第1度無月経では35.7%、第2度無月経では40.0%、無排卵周期症では69.2%であり、妊娠率はそれぞれ7.6%、0%、0%であった。cyclophenyl 600mg×7日間の第1度無月経と無排卵周期症に対する排卵率はそれぞれ25.0%、43.4%で、一方、妊娠率は25.0%、50.0%であった。

頸管粘液増量のために clomiphene 服用後、estriol 3~4mg/日あるいは結合型 estrogen (0.625mg/錠) 2~4錠/日を7~10日間投与する clomiphene-estrogen 療法では、その妊娠率は25%であった。HMG-HCG 療法で排卵しにくい場合 clomiphene 服用終了翌日より HMG-HCG を併用する clomiphene-HMG-HCG 療法を施行したところ、その排卵率は73.6%、妊娠率は50.0%であった。PCO に対する clomiphene-predonine 療法、すなわち D₁₋₂ より predonine 5mg×10日間、D₅ より clomiphene 150mg×5日間投与する方法では、その排卵率は41.6%であったが妊娠例はなかった。

高プロラクチン血症に対する bromocriptine 療法(1日5.0~7.5mg)を10例に施行したところその排卵率は82.6%で妊娠率は40.0%であった。

考 察

われわれの病院における原発性、続発性を含めた全体の妊娠率32.3%は諸家の報告と比較するとおよそ中程度の妊娠率であった。

すなわち高野⁹⁾14.1%、上田¹⁰⁾16.1%、寺田¹¹⁾24.8%、林¹²⁾29.2%、それにかなり良好な成績としては中村¹³⁾の報告で2年間113例の不妊症において49.6%とかなり高率な妊娠率が報告されている。

われわれの妊娠例138例中検査中あるいは都合により通院中止後数か月ないしは数年後に妊娠した自然妊娠例が53例(38%)とかなり高率であった。三村¹⁴⁾の報告では無治療妊娠が原発性の49.4%、続発性の54.8%をしめている。これら自然妊娠例には、いわゆる黄体機能不全や原因不明の機能性不妊の診断例が多く認められるので、これらの疾患が考えられる場合、ホルモン剤などによる積極的治療のみに頼るのではなく、逆に BBT の記録をも時にはしばらく中止させて、挙児熱望のあせりを静めて排卵時期と性交の timing の指導のみを行ない数か月から1年位は気楽に自然経過にまかせるよう指導することも必要であることを痛感した。一般に続発性不妊の妊娠率の方が原発性不妊のそれに比べて高いといわれているが、われわれの data でも続発不妊の妊娠率は42.5%と原発不妊の28%に比べてかなり高かった。不妊

期間が長くなればなるほどその妊娠率は低下し、特に5年以上の不妊症はかなり予後不良といわれているが、われわれの data でも原発性、続発性共に初診時の不妊期間が長いほど妊娠率が著明に低下していることが認められた。不妊因子の中で最も多く認められたのは卵巣因子で34.2%であったが諸家の報告^{7,8)}でも同様な傾向があるが、報告によつては卵管因子⁹⁾や男性因子¹⁰⁾が最も多く認められている施設もある。われわれはこの卵巣因子の中に無排卵周期症や無月経以外に血中 progesterone、子宮内膜日付診、BBT 型より診断した黄体機能不全をも含めて機能性不妊の中には含めなかった。

また、男性因子のしめる割合は全体で24.6%と比較的少なかった。次に各不妊因子別の妊娠率を検討したところ、卵巣因子の妊娠率が42.9%と最も高く、逆に男性因子の妊娠率が8.4%と最も低かったが、これらもほぼ諸家の報告^{2,7)}、すなわち卵巣因子の妊娠率は23~48%、男性因子のそれは11%とほぼ一致した。われわれは乏精子症に対しては clomiphene 25mg を25日間投与後、5日間休薬して3か月間で1クールとする方法を行なっているが、あまり良好な結果をえていないのが現状である。種々の治療によつて妊娠した85症例の中でも排卵誘発による妊娠率が最も高く61.7%をしめていたが、AIH のみによる妊娠例はわずか3例(3.5%)にすぎなかった。われわれは卵管通水療法を卵管ゆ着、閉塞例のみならず機能性不妊にも積極的に施行しているが、通水が関与した妊娠例は11例あり、かなり良好な結果をえた。次に排卵障害患者における各種排卵誘発剤の成績を検討した。まず clomiphene の第1度無月経、無排卵周期症に対する排卵率70.3%、86.3%は大島¹⁵⁾の56.3%、76%、倉智¹²⁾59.5%、野口¹³⁾70.4%とほぼ一致した。

clomiphene の妊娠率は排卵率に比べるとかなり不良であることは、すでによく知られているが、われわれの data では第1度無月経41.3%、無排卵周期症46.2%と諸家の報告^{12,13)}、18.8%、12.1%、33.3%に比べるとかなり良好であった。第2度無月経に対する HMG-HCG 療法の排卵率は諸家の報告¹⁴⁾では57%、49%、63.1%が報告され、われわれの data 80.4%、妊娠率60.0%はかなり良好な成績であるが、これは例数が少ないため確定的なことはいえない。clomiphene-HCG 療法の第1度無月経、無排卵周期症に対する排卵率は35.7%、69.2%とまずまずの成績であったが妊娠例は少なかった。その他、頸管粘液増量のために clomiphene 服用に引き続いて estrogen 剤を内服する clomiphene-estrogen 療法では例数が少ないため確定的なことはいえないが、その妊娠率は25.0%と低値で clomiphene 単独療法に比べて良

好な成績をえるまでにいたっていない。

以上、われわれは過去9年間における不妊症、排卵障害患者について種々検討した結果その妊娠率はいまだ約30%と、さほど良好な成績とはいえないが、今後さらに1人でも多くの妊娠例をえるため種々の治療法を検討していくつもりである。

文 献

- 1) 高野 昇・他：当科不妊外来における妊娠例の検討。日不妊会誌，20：383，1975。
- 2) 上田一之・他：最近4年間の当科不妊症クリニックの現況。日不妊会誌，23：373，1978。
- 3) 寺田夏樹・他：最近の当教室における不妊外来統計。日不妊会誌，28：373，1978。
- 4) 林 茂興・他：当大病院家族計画外来開設後の臨床統計。日不妊会誌，25：92，1980。
- 5) 中村元一・他：社会保険佐賀病院における不妊外来統計。日不妊会誌，25：78，1980。
- 6) 三村三喜男・他：当科における最近5年間の不妊症の臨床統計。日本不妊会誌，24：48，1979。
- 7) 金岡 毅・他：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。日不妊会誌，18：99，1973。
- 8) 東出香二・他：最近の不妊外来における妊娠成功例の検討。日不妊会誌，23：354，1978。
- 9) 古賀詔子・他：最近6年間の当院不妊症クリニックの現況。日不妊会誌，23：367，1978。
- 10) 三上正憲・他：当教室における不妊クリニックの統計。日不妊会誌，22：203，1977。
- 11) 大嶋 勉・他：排卵誘発についての臨床統計的考察。日不妊会誌，26：16，1981。
- 12) 倉智敬一：現代産婦人科学大系4C「内分泌症候学」P135，中山書店，1971。
- 13) 野口昌良・他：クロミフェンサイトレート（クロミッド）による排卵誘発効果。日不妊会誌，16：183，1971。
- 14) 高木繁夫・他：排卵誘発と多胎妊娠，産婦治療，33：504，1976。

Clinical study of infertility and ovulatory failure

Yoji Miyakoshi, Hiroshi Kawabata,
Kohei Shiroshita and Kazuhiro Iwasaku

Fukui Aiku Hospital, Fukui

Our clinical study was carried out from 1973 to 1981 and included 427 infertile women and 184 women with ovulatory failure. Eighty-four cases (28%) with primary infertility and 54 cases (42.5%) with secondary infertility conceived successfully. Overall pregnancy rate was 32.3%. It was found that ovulatory failure was the most common factor (34%) for all causes of infertility and male infertility the second most common factor (20%). The highest rate of successful pregnancy was observed in 33.9% of cases with ovulatory failure.

In the 184 women with ovulatory failure, amenorrhea with sufficient endogenous estrogen, amenorrhea with insufficient endogenous estrogen, and anovulatory cycle were seen in 53 (28.8%), 20 (10.8%), and 105 cases (57%), respectively.

Luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) tests in 114 of the women with ovulatory failure most frequently detected hypothalamic dysfunction (in 98 cases, or 85.9%). When these women were treated with clomiphene, clomiphene and prednisolone, cyclofenil, human menopausal gonadotropin-human chorionic gonadotropin (HMG-HCG), and bromocriptine, a rather high incidence of pregnancy was achieved, as compared with reports of other women treated with clomiphene (43%) and with HMG-HCG (60%).

Several cases of multiple pregnancy with HMG-HCG treatment occurred.

(受付：昭和58年9月24日)

地方部会講演抄録

第21回日本不妊学会中国・四国支部総会

期日：昭和58年8月27日

会場：高知医科大学医学部臨床講義棟

1. アイソトープを用いない血中 LH 迅速測定法の開発

○山野修司・鎌田正晴・奈賀 脩
森 崇英 (徳島大学・産婦)

血中 LH の測定は一般的には Radioimmunoassay のキットが用いられる。しかし、その測定時間は4日間を要し、さらに放射性同位元素を使用するため特殊な施設を必要とする。今回われわれは尿中hCG, LH 測定キットである Hi-gonavis を利用した血中 LH 測定法を開発した。本測定法は操作が簡便であり、かつ測定値判読までに要する時間は短く5時間で全行程が終了する。また本測定法の測定感度は、 $27.2\sim 31.9\text{ng/ml}$ と高く、RIA との相関は0.917と良好であつた。本測定法で不妊患者血清中 LH を測定した結果、LH サージ開始時点の立ち上がりをとらえることが可能で、排卵予想時間の推定に極めて有用であることが判つた。

2. 黄体機能不全の診断と Progesterone 測定

○新谷恵司・清水健治・林 伸旨
占部 清・吉田信隆・関場 香
(岡山大学・産婦)

黄体機能不全の診断を下す際に従来より基礎体温(BBT)の測定が重要視されて来た。しかし、BBTの高温が12日以上持続する不妊症の婦人に clomiphene 等投与することにより妊娠の成立をみる事が、しばしばある。そこで我々は、妊娠の成立した41例(46周期)について黄体期に Progesterone を測定し BBT 上の高温期の長さ、さらには妊娠との関係について調べた。

S56.9～S58.5までに当科不妊内分泌外来にて BBT 上黄体期4～11日目に血中 Progesterone を一点測定した。妊娠に至つたのは41例(46周期)であり、その内妊娠成立周期に測定したのは11周期であつた。

血中 Progesterone 値は妊娠成立した周期では、 $23.9\pm 6.9\text{ng/ml}$ であり、mean-2SD 値をとると約 10ng/ml 以下であつた。BBT 上黄体期が12日以上を示す28周期

では値は $16.7\pm 7.7\text{ng/ml}$ で、 10ng/ml 以下を示すものは、28例中7例(25%)存在した。BBT 上黄体期が11日以下の場合には値が $11.0\pm 4.6\text{ng/ml}$ で7例中2例(28.5%)であつた。

即ち BBT 上黄体期が短いものは、一般に認められている如く Progesterone 値が低い傾向がみられ、黄体機能不全が示唆された。

しかし、BBT 上正常黄体機能と判定されても、Progesterone 値が 10ng/ml 以下のものもかなり存在することより BBT 測定と同時に Progesterone の測定も黄体機能不全の診断には不可欠のものと考えられる。

3. 黄体期における HCG 負荷時の血中 progesterone, estrogen 動態と子宮内膜日付診

○田村成一郎・森岡信之・浅井政房
山中 恵・相良祐輔・武田佳彦
(高知医科大学・産婦)

黄体機能不全の診断については、理論的には明らかにされているが、実地臨床の場合しばしば、BBTの高温相において判断される場合が多い。従来は岡山大学の吉田らが発表した黄体機能判定法を用いていたが、尿中の progesterone の測定は必ずしも臨床容易とはいえず、今回 HCG 負荷時の血中 progesterone, estrogen の動態から黄体機能を判定する方法を検討したので報告する。HCG は 3000IU/日 、又 5000IU/日 を排卵後7日目以後に3日間投与し、その前後の血中 progesterone, estrogen レベル及び子宮内膜の変化について検討した。血中 progesterone による黄体機能判定法として正常 progesterone レベルとの比較あるいは負荷前値との比較のいずれが有用であるかを検討した。BBT との比較検討では BBT で明らかに黄体機能不全と診断できない症例に、progesterone の反応良好なものとの不良のものが混在していることが明らかとなり、progesterone の測定の重要性が示された。estrogen の反応は progesterone の成績とは相関性が認められなかつた。

子宮内膜診については、progesterone の反応と日付診断との相関性を検討した。

4. 紫外線照射によるラット受精卵核除去について

○昇 公一・内海恭三・湯原正高
(岡山大学・農)

ラット受精卵の核移植技術において、ガラス微細ピペットによる雌雄両前核の除去操作は技術的困難を伴い、しかも卵細胞質にかなりの物理的損傷を与えるので更なる改良の余地を残す。253.7nm 紫外線 (UV) は核酸に対して可逆的あるいは不可逆的变化を誘起することが知られている。本研究において演者らは UV 照射により卵核が不活化されるかどうか、またその不活化が前述の除核操作に代用されるかどうかを検討した。

核のみを不活化し、細胞質に対する UV の影響を最小にするために、前核期卵の発育能に障害を与える最小の UV 線量が調べられた。Wistar 系ラットの前期卵は 5ml の時計皿上 2 : 1 生食血清に入れられて、253.7nm UV を発生する殺菌灯下に様々な時間の間さらされた。UV 照射卵は偽妊娠 1 日目のラット卵巣嚢に移植され、その後 4 日目に回収され、その発育性が検定された。その結果、20分照射では67%の卵が、30分照射では29%の卵が、回収直後あるいは回収・培養後に胚盤胞まで発育した。このことから20分照射では卵の発育障害は不十分であり、十分な発育障害のためには少なくとも30分以上の照射が必要であると考えられる。

続いて、UV による卵の発育障害が卵核の不活化によって起こり、細胞質の異常によるものでないことを確認するために、30分 UV 照射卵に DA 系ラットの無傷胚盤胞の ICM 細胞核が顕微注入され、その発育性が現在調べられている。

5. 急速凍結におけるラット胚と比較したマウス胚の種特異性について

○保地真一・内海恭三・湯原正高
(岡山大学・農)

(目的)

これまで演者らはラット胚の凍結保存のための保護物質として Adonitol などの糖アルコールが、簡易急速凍結融解法では一般に用いられるグリセリンや DMSO とは異なり、高張条件のみならず等張に近い条件下でも保護効果があり、それによつて凍結前後の保護物質の添加及び希釈の煩雑な操作を軽減できることを報告した。本研究では同様な条件下でのマウス胚の凍結保存法を検討した。

(方法)

RF 系または ICR 系マウス及び Wistar 系ラットを

自然交配し後期桑実期胚から初期胚盤胞を卵管灌流法により得た。凍結保護物質には DMSO, Ethylen Glycol, Adonitol を用い、KRP: 血清 (5 : 1) に最終濃度 0.3M, 1.0M, 1.5M で添加したものを凍結用媒液とした。既報の如く簡易急速凍結融解法により、凍結融解胚の 24hr. 後の発育を観察した。この方法による自然植氷の影響に対して、プログラムオートフリーザーによる強制植氷の影響も検討した。

(結果)

ラット胚ではすべての保護物質で強制植氷の有無に関わらず高張条件下でよりよい生存性が得られ、Adonitol は等張に近い条件下でも高い生存性を示した。一方マウス胚ではすべての保護物質で高張条件下でのみ強制植氷によつて良好な生存性が得られた。また Adonitol で強制植氷の有無に関わらず等張に近い条件下で、融解後の胚の形態は良好であつたが発育せずに退行した。

6. ブタ透明帯に対する単クローン性抗体の作製とその受精阻止作用

○鎌田正晴・大頭敏文・長谷部宏
苛原 稔・山野修司・木下恒夫
奈賀 脩・森 崇英

(徳島大学・産婦)

透明帯は、受精から着床のプロセスにおいて重要な役割を担っている。透明帯表面に存在する精子レセプターは同種の精子のみを認識し、結合させることが出来る。その他多精子受精の阻止、受精卵の保護などの機能を持つ。その透明帯に対する抗体は、それ等の機能を損うことにより不妊をもたらすことが動物実験では明らかになつており、ヒトにおいても不妊症患者血中には抗透明帯自己抗体の存在が知られ、不妊症発生の重要な因子と考えられている。抗透明帯抗体による不妊症の発症機序の解明あるいは透明帯による免疫的避妊法の開発のためには、透明帯抗原の詳細な分析が必要であるが、従来の抗体および生化学的手法だけでは不十分であつた。今回我々は、ヒト透明帯と共通抗原を持つブタ透明帯を BALB/C マウスに免疫し、その脾細胞とマウス由来の骨髓腫細胞 (IVS-I 株) とを 50% polyethyleneglycol を用いて細胞融合させることにより、単クローン性抗体産生 hybridoma を 6 株得ることに成功した。その 6 種の単クローン性抗体につき、間接蛍光抗体法により対応抗原を分析するとともに、ヒト体外受精系を用いて、精子の透明帯貫通性におよぼす影響を検討した。

7. 排卵過程における rat 卵巣内 plasminogen activator の動態

— 3β hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor (Cyanoketone) との関連について—

○大野義雄・東敬次郎・森 佳彦
山野修司・竹内 悟・乾 泰延
森 崇英 (徳島大学・産婦)

(目的)

最近排卵酵素の1つとして plasminogen activator (PA) が注目されている。一方、 3β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor である Cyanoketone (CK) により排卵が抑制されることが知られている。そこで CK により排卵を抑制した場合の血中 Progesterone (P), 卵巣 PA への影響を検討した。

(方法)

22日齢幼若 rat に PMS10IU を皮下注射し、56h 後① HCG10IU 単独投与(静注) 排卵誘発群の血中Pと卵巣 PA の経時変化と排卵数を検討した。卵巣 PA 測定は島田らの方法を一部 modification して測定した。② HCG10IU と同時に CK を投与し(皮下注) 排卵を完全に抑制する量を求め、同時投与後8hの血中P, 16hの卵巣 PA を測定し①と比較した。

(結果)

HCG 単独投与排卵誘発群では血中Pは投与後8hで、卵巣 PA は16h でピークを示し、その値は各々 45ng/ml, 3.30mu/mg wet wt. であり排卵数は40個以上であった。排卵を完全に抑制する CK 2mg を HCG と同時投与した場合、投与後8hの血中Pは9.5ng/ml, 16hの卵巣 PA は1.61mu/mg wet wt. であった。

(結論)

3β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor である CK で排卵を完全に抑制した場合血中Pのみならず、卵巣 PA も減少した。このことよりPが卵巣 PA 活性に関与する可能性が示唆された。

8. 精管欠損症の2例

○武田克治・東條俊司・大橋輝久
大森弘之 (岡山大学・泌尿)

症例1: 29歳, 主訴は不妊。精液所見は azoospermia. 血中 T, LH, FSH 濃度は正常であり, LH-RH テストも正常反応を呈した。手術により, 両側精管欠損症と判明し, 同時に施行した辜丸生検は市川・熊本の分類で, 両側とも IIIc であった。

症例2: 29歳, 主訴は不妊。精液所見は azoospermia.

血中 T, LH, FSH 濃度は正常範囲であり, LH-RH テスト, HCG テストは両者とも, 正常反応であった。近位側精管は両側とも, 拡張, 蛇行しており, 副辜丸尾部より数 cm の部から, 糸状構造物に移行していた。この糸状構造物は組織学的に, 平滑筋線維のみから構成されており, 本症例は精管欠損症(不完全型)と診断した。辜丸生検では, 両側とも IIIc であった。

以上, 精管欠損症の2例を報告し, 若干の文献的考察を加える予定である。

9. 過去2年間のインポテンツ61症例の検討

○川西泰夫・山下利幸・玉置俊晃
橋本寛文・今川章夫
(高松赤十字病院・泌尿)

昭和50年から昭和55年の5年間のインポテンツ (IMP) 症例は62例で, その詳細はすでに報告(西日泌尿44: 919, 1982)した。今回はその後2年間に高松赤十字病院泌尿器科を受診した IMP 患者61例について報告する。

年齢は10歳代2名, 20歳代14名, 30歳代19名, 40歳代10名, 50歳代12名, 60歳代4名で前年までと同じ傾向であった。射精障害は8例で, 勃起不全53例中 primary は36%, secondary が64%であった。

IMP の原因もしくは誘因は, 新婚などの acute onset case が27%, 外傷・手術などが20%, 中高年 IMP などの insidious onset case が16%, 糖尿病などの慢性疾患が8%, その他14%であった。

診断は, 夜間陰茎勃起現象を記録する REM-penogram, 内分泌検査, 脳幹機能検査などで器質的 IMP と機能的 IMP を鑑別した。

これらの診断と治療成績との相関についても検討を加える。

10. 血尿および射精障害を訴えた尿路性器奇形の1例

○福田和夫・宮川征男・後藤 甫
(鳥取大・泌尿)

患者は20歳, 独身男性。健康診断で血尿を指摘され当科に受診した。問診で性欲, 勃起はあるが, これまで一度も射精の経験がないことが判明し, 尿路性器の検査が行なわれた。陰茎異常なく, 左陰囊内容には特記すべきことなし。右陰囊内容は欠損し, 前立腺は小さく触知された。尿路造影では, 右上部尿路は造影されず, 膀胱の変形を認めた。左側の射精管は精囊腺造影で嚢胞様変形を認めた。精液は採取できなかった。最終的には手術により, 右腎無形成, 右尿管瘤, 右停留辜丸および右精管

膨大部拡張と判明した。射精障害は、射精管部の閉塞性病変のためと思われた。以上の如く、尿路、性器奇形にもなった射精障害の1例について報告する。

11. 当科ホルモン外来の過去7年間における排卵障害患者の臨床的検討

○和田 省・長田直樹・菊川章仁
見尾保幸・前田一雄
(鳥取大学・産婦)

過去7年間にわたる当科ホルモン外来の実態を調査し、このうち、特に排卵障害が不妊原因と考えられる患者について、その年度別実数、排卵誘発方法とその有効率、妊娠率などについて臨床的検討を行ない、若干の成績を得たので報告する。

12. 島根医科大学産科婦人科不妊外来における妊娠成功例の retrospective な検討

○吉野 和男・永原 裕・秦 利之
高橋健太郎・北尾 学
(島根医科大学・産婦)

昭和54年10月より昭和58年3月末までに島根医科大学産科婦人科不妊外来を受診した181例中、妊娠した36例を retrospective に検討し、若干の知見を得たので報告する。

妊娠例における初診時不妊期間は、原発性不妊では、不妊期間3年以内の例が60.0%で、続発性不妊では72.2%であった。両者を合わせると、5年以内の例が84.8%を占めていた。初診時不妊期間と妊娠率の関係では、原発、続発性不妊とも初診時不妊期間が短いほど妊娠率が良好であり、両者を合わせると、不妊期間が5年以内では23.9%であるが、不妊期間5年以上の例では8.3%であった。初診時年齢を30歳以下及び31歳以上の2群に分けてみると、原発、続発性不妊合わせて、30歳以下の群の妊娠率は20.0%であり、31歳以上の妊娠率は16.7%であった。妊娠に至るまでの治療期間は、原発性不妊では、1年以内が73.3%、続発性不妊では94.7%であり、両者とも2年以内に100%が妊娠している。妊娠例の不妊原因では、排卵障害を主とした内分泌因子が41.2%と最も多く、次いで、卵管因子が23.5%であった。妊娠例について直接妊娠につながったと考えられる治療法をみると、排卵誘発例が29.4%と最も多く、次いで、経過観察中に妊娠したものが26.4%であった。

13. 妊娠初期胎内死亡における C₁₉-C₂₁ ステロイドのパターン分析

○山縣猛日・新宅俊昭
(新宅産婦人科(岡山))
○相良祐輔・武田佳彦
(高知医科大学・産婦)

妊娠初期胎内死亡の内分泌動態の解析を目的に、児の生存を確認した後胎内死亡にいたつた症例につき、継時的に測定した C₁₉-C₂₁ 活性ステロイドの retrospective なパターン分析を試みた。対象は妊娠5週～7週時、切迫流産治療の目的で入院した8症例で、児の生存は超音波診断による心搏動の有無で判定した。検討したステロイドは Progesterone (Prog), 17OH-progesterone (17OHP), Δ^4 androstenedione (Δ^4 A), Cortisol, Cortisone で、高速液体クロマトグラフを用いた同時測定によつた。また HCG の推移についても検討した。

結果：8例中5例が9週時に心搏動が消失し、他は8週時2例、11週時1例であつた。ステロイドの推移で最も特徴的であつたのは Prog. で8例中6例はいずれの測定時期にても低値を示し、うち4例は測定期間中5 ng/ml 以下の極端な低値で推移した。残りの2例は7週以降漸減するパターンを示した。また Corticoids は Cortisol, Cortisone とともに低値傾向を示し、Cortisol は8例中4例が、Cortisone は8例中5例が同時期の正常妊娠例の-1 SD 以下を推移した。17HP および Δ^4 A は正常域内にあるものが多かつた。一方尿中 HCG は8例中4例が測定期間中低値傾向で推移した。

結論：以上の結果より、妊娠初期胎内死亡の中で、8週以降の死亡例では少くとも母児の内分泌相関に異常のあることが示唆された。

14. 切迫流産における黄体ホルモン療法時の血中 Progesterone, cortisol の動態

○森岡信之・田村成一郎・岡谷裕二
相良祐輔・武田佳彦
(高知医科大学・産婦)

切迫流産に関しては黄体ホルモン療法の可否につき未だ議論の多い所であるが、その意義を解明するため種々の検討を行つている。今回は、切迫流産の診断決定時に血中 C₁₉-C₂₁ 活性ステロイドレベルを HPLC にて測定し、既に相良らが報告している妊娠初期の血中プロゲステロン・レベルを示標とし、正常例の Mean-SD レベルに達するように黄体ホルモン療法を行い、プロゲステロン・レベル等の動態を検討した。

妊娠5～6週の切迫流産群の血中プロゲステロン・レベルについては、10ng/ml以上群と10ng/ml以下群に大別でき、且つプロゲステロン動態が異なっていることを既に発表しているが、GESTANON療法においても、その2群に分け黄体ホルモン投与時の血中プロゲステロン・レベルを検討した。

対象とした切迫流産例15例のうち、10ng/ml以上群7例は正常群のMean-SD以下になることなく経過した。10ng/ml以下群8例中、予後良好であった5例では治療開始後極めて緩やかな増量傾向を示し、妊娠10週に10ng/ml以上となった。

コルチゾールについてみると10ng/ml以上群は正常群のMean+SD前後を推移し、正常群と著変のない経過を示した。10ng/ml以下、予後良好例は黄体ホルモン療法開始後より急増し、10週以降、正常域を推移した。今回の検討の対象となった切迫流産15例に、黄体ホルモン療法としてGESTANONを投与したが、診断時血中プロゲステロン10ng/ml以上群は全例、経過良好で分娩終了、あるいは現在妊娠中、末期の管理中である。10ng/ml以下群は8例中5例が、同様に分娩終了、あるいは妊娠継続中である。

15. 男子不妊症に対する methylcobalamin (CH₃-B₁₂) の使用経験

○磯山理一郎・清水芳幸・川井修一
原田宏行・酒徳治三郎

(山口大学・泌尿)

男子不妊症の原因として、造精機能障害が多いと言われるにもかかわらず、現在、適格な薬物療法剤は、非常に少ない。そこで、われわれは、核酸蛋白代謝や脂質代謝を促進させる methylcobalamin (以下 CH₃-B₁₂ と略す) を男子不妊症患者に使用して若干の知見を得たので報告する。CH₃-B₁₂ を連日1500μg/day, 4～24週間経口投与し、その前後で精液検査をおこなうとともに、一部症例で末梢血中 LH, FSH, Testosterone を RIA 法にて測定した。

症例は、昭和57年1月から同年12月まで当科を受診した男子不妊症患者26例で、年齢は25歳から40歳、平均31.4歳で、精子数10×10⁶/ml未満の高度乏精子症11例、10×10⁶/ml以上40×10⁶/ml未満の軽度乏精子症11例、4×10⁶/ml以上の精子数正常例4例であった。精子数正常例は全例運動率60%以下であった。精子数では投与前値の50%以上増加したものを、精子運動率では10%以上増加したものを有効とした。総合判定で有効11例、不変11例、悪化4例であった。投与期間を通じて、特に副

作用は認めなかった。LH, FSH, Testosterone については特に有意の変化を認めなかった。

16. 特発性男子不妊症における HCG, HMG 剤の併用について

○安川明広・松岡則良・国富公人
中津 博・竹中生昌

(香川医科大学・泌尿)

特発性男子不妊症に対して HCG 1,000IU, HMG 75IU ないし150IU を週一回筋注、12回連続投与した。治療前、投与後4, 8, 12週目に血中 testosterone, LH, FSH, PRL の測定を行った。睾丸容積と精子数濃度は治療前と投与12週後に測定を行った。

testosterone, LH, FSH および PRL 基礎値については、HCG/HMG 剤投与で有意な変動はみられなかった。精子数濃度1,000万/ml以上の改善を有効とすると、HMG 75IU 治療群30%, HMG 150IU 治療群24%であった。妊娠成立は HMG 75IU の27例中4例(14.8%)に認められた。精子数濃度の改善がみられたものは改善のみられなかったものに比較して、睾丸容積が正常で、LH, FSH が低く testosterone が高い傾向がみられた。

17. 男子不妊症における精索静脈瘤症例

○河原弘之・曾根淳史・木内弘道
田中啓幹 (川崎医科大学・泌尿)

昭和56年1月より昭和58年6月までに当科外来を受診した男子不妊症例中精索静脈瘤と診断された26例について精液所見、内分泌学的所見を検討し、その薬物療法および外科的療法における変化をみた。

(方法)

用手的に得られた精液より volume, sperm density, motility を算出、内分泌学的検査は血中 LH, FSH および testosterone を RIA 法で測定し、精索静脈瘤診断時および薬物療法として clomid 25 mg 投与6例、carnaculin 300mg 投与8例と Olson-Stones 法による高位結紮術施行例4例の治療経過3か月毎の測定値を比較した。

(結果・考按)

精索静脈瘤症例の治療前における sperm density = 24.6×10⁶/ml, motility = 40.9%, LH = 13.6mIU/ml, FSH = 11.5mIU/ml, testosterone = 6.5ng/ml であった。clomid 投与群では治療開始3か月後より、LH, FSH の上昇をみたが精液所見の改善はなかった。carnaculin 投与群は精液所見、内分泌学的所見ともに変化を認めな

かつた。高位結紮術施行群では spermdensity および motility に改善傾向をみるが内分泌学的所見に変化を認めなかつた。高位結紮術施行例 4 例の内、1 例に術後 22 か月目に妊娠成立をみた。

18. 逆行性射精に対し AIH を施行し妊娠に成功した一例

○兼松豊和・山野修司・奈賀 脩
森 崇英 (徳島大学・産婦)
横関秀明・黒川一男
(徳島大学・泌尿)

男性不妊の原因として、最近、逆行性射精によるものが注目されている。その病態は、射精時の内尿道口の反射的閉鎖の機能的、器質的不全であるが、これを来す原因としては、経尿道的前立腺切除術、膀胱頸部切除術、胸腰部交感神経節切除術、後腹膜リンパ節切除術、直腸癌の腹会陰式手術等の骨盤内手術、および diabetic neuropathy、降圧剤使用、交通事故によるもの等が挙げられる。

逆行性射精の男性不妊のうちに占める割合は、高いものではないが、若年で挙児希望の当事者にとっては、深刻な問題である。これに対する治療法として、塩酸イミプラミン、COMT 阻害剤によるものが報告されているが、いずれも根治的療法とはいえず、無効例に対して、AIH が、1955年の Hotchkiss の報告以来、行なわれてきているが、本邦においては、現在までに 6 例の成功例が報告されているにすぎない。このたび我々は、交通事故による骨盤骨折後に生じた逆行性射精に対し、膀胱内より採取した精液を用いて AIH を施行し、妊娠に成功、さらに母体の妊娠中毒症に対して帝王切開術を施行し、健児を得た症例を経験したので報告する。

19. 超音波断層法による排卵日推定を行い妊娠しえた不妊症患者 4 例の超音波断層図所見について

○秦 利之・永原 裕・吉野和男
北尾 学 (島根医科大学・産婦)

超音波診断装置、特に real-time 電子スキャンの発達により、不妊症外来に於ける排卵日の推定、内性器の観察に超音波断層法は必要欠くべからざるものとなってきた。われわれの教室に於ても、現在超音波断層法を用い、日常診療に役立てている。

今回、超音波断層法による排卵日推定を行い妊娠しえた不妊症患者 4 例の超音波断層図所見について報告する。

症例 1 : HMG-HCG 療法により妊娠した症例であ

る。2 つの卵胞が発育し、最大径はそれぞれ 24 mm, 21mm であつた。妊娠経過は不全流産に終つた。

症例 2 : 自然排卵により妊娠した症例である。最大卵胞径は 26mm であつた。40 週 5 日で、3040g の正常男児を経産分娩した。

症例 3 : 夫が無精子症の為 AID を希望した症例である。自然排卵で、卵胞最大径は 24mm であつた。現在、妊娠続行中である。

症例 4 : HMG-HCG 療法で妊娠した症例である。3 つの卵胞が発育し、主席卵胞が 21 mm に達したとき HCG 5,000IU が投与された。現在、妊娠経過は良好である。

今回、不妊症外来に電子スキャンを用い、排卵日推定を行い、4 例の妊娠例を経験することができた。今後、さらに有効な手段となりうるものと思われる。

20. 超音波断層法による卵胞発育の観察

○菊川章仁・和田 省・岩本好吉
見尾保幸・前田一雄
(鳥取大学・産婦)

ヒトの生殖生理学上、排卵の時期を正確に把握することは極めて重要であるにかかわらず、従来からの BBT や頸管粘液や膣スメアで、プロスペクティブに排卵の時期を診断することは不可能であり、又、本当に排卵したかどうかは確実ではない。今回当科における超音波断層法を用いた卵胞の発育に関して報告する。

自然排卵婦人および排卵誘発婦人において BBT、頸管粘液、尿中 LH を参考に、膀胱充満後卵胞の発育・消退をリニア式電子走査型超音波断層装置で経目的に観察すると同時に、血中 Gonadotropin, Estradiol (E₂), Progesterone (P) を測定した。

卵胞径と E₂ の関係、LH Peak と卵胞最大径、排卵誘発例と自然排卵例における卵胞最大径と卵胞数などに若干の知見を得たので報告する。

21. 卵胞発育に伴う下垂体一卵巣系機能の変化

○竹内 悟・板東律雄・大野義雄
乾 泰延・森 崇英
(徳島大学・産婦)

(目的)

下垂体一卵巣系機能が、卵胞の発育、成熟とともにどのように変化するか詳しい内分泌分析は行われていない。本研究では LH-RH 投与に対するゴナドトロピンの反応のみならず性ステロイドの同時測定によりこの点を明らかにすることを目的とした。

(方法)

正常月経周期婦人の卵胞期を前期(月経周期1~7日),後期(同8~12日),排卵前期(同13日以後)に分け,各時期に LH-RH 100あるいは300 μ gを投与し,血中 FSH, LH estradiol (E_2), androstenedione (A), testosterone (T)と progesterone (P)をRIAにて投与後6時間まで経時的に測定した。

(結果)

まず FSH, LH, とともに前期,後期,排卵前期の順に反応が増加した。 E_2 も同様の傾向を示し,特に後期,排卵前期では投与後4時間目より著明な増加を示した。AとTは前期では,漸減傾向を示したのに対し,後期では不変,さらに排卵前期には,2時間目まで一過性の増加を示した。Pは前期,後期では著明な変動は示さなかったが,排卵前期には3時間目より著増が認められた。

(結論)

卵胞期前期では主として FSH-estrogen 系が作動しているのに対し,後期ならびに排卵前期になると FSH-estrogen 系のみならず, LH-androgen 系も活発に作動していることがうかがえた。これらの機能的変化は主卵胞の選択とその後の成熟を反映するものと考えられた。

昭和58年度日本不妊学会東北支部総会 第4回仙台国際産婦人科シンポジウム

日時:昭和58年8月22日(月)

場所:仙台市大町一丁目1-30 新仙台ビル精養軒

1. 不妊症患者における子宮卵管造影法と腹腔鏡検査の診断能力の比較

今泉英明・森良一郎・八日市谷隆
星 和彦・星合 昊・鈴木 雅洲
(東北大・産婦)

1982年1月より1983年5月までの間に,東北大学附属病院を訪れた不妊症患者のうち,子宮卵管造影と腹腔鏡を施行した62例に対し,それぞれの部位別の所見について比較検討を行った。

子宮体部所見では, HSG 下で正常と判断した症例のうち腹腔鏡でも正常例は64.9%,逆に腹腔鏡下正常例中, HSG 正常例は68.6%であった。

右卵管所見で HSG 正常例中腹腔鏡正常例は36.8%,腹腔鏡正常例中 HSG 正常例は87.5%であった。左卵管所見でも同様であった。

このことより子宮体部では一方が内側,一方が外側より所見を得ている為,片方の検査では1/3程度に異常所見を見逃すこととなる。しかし卵管部では腹腔鏡の精診

率が高い。

卵管の通過性に対する検討でも一方の検査のみでは不確かであろうと思われた。

2. ヒステロスコピー下手術後の妊娠例

福 島 峰 子 (秋田大・産婦)

産婦人科学領域の診断,治療の進歩の中に内視鏡の応用があるが,今回はヒステロスコピーの応用結果,とくにスコープ下に手術を行い妊娠に至った症例を報告する。昭和54年7月から4年間224例中不妊症に応用したのは132例(58.9%)で,所見としては内膜ポリープ,内膜癒着が非常に高頻度であった。私共は直视下に手術操作が行える様に鉗子内臓のスコープ及びそれに合う鉤,把持,生検鉗子などを作製した。

実施時期は出来るだけ月経終了後を選び,頸管周囲浸潤麻酔で手術を行い,翌月また翌々月妊娠例を直接効果と考えた。内膜ポリープでポリープ除去術を行ったものの8例が妊娠し,内膜癒着で剝離術を行ったものは4例が翌月妊娠,剝離術後リング挿入と同時に kaufmann 療法を行い,2週後リング抜去後妊娠したもの2例,剝離術後 Kaufmann 療法終了翌月妊娠1例に認めた。帝切時の縫合糸の除去後妊娠例,生検後の妊娠例合計19例について妊娠経過,分娩,予後を含めて検討結果を報告した。

3. 人工流産後,胎状奇胎娩出後の血中プロラクチン動態

新川 尹・古橋信晃・星合 昊
和田裕一・鈴木雅洲

(東北大・産婦)

人工流産20例と胎状奇胎10例を対象とし,子宮内容除去術後の血中プロラクチン(PRL)値を検討し,以下の結果を得た。

① 人工流産後では,中絶前値27.4ng/ml(平均)に対し,中絶後4~7日で64.5ng/mlと増加し,13~15日で31.9ng/mlまで減少するという変動がみられた。

② 奇胎除去後では一定の変動は認められなかったが,人工流産後に比し高値を示すものが多く,高PRL血症が遷延する傾向がみられた。

③ 血中PRLとhCGの間に相関は認められなかった。また薬物投与との関係も認められなかった。

④ BBT上,奇胎除去後の初回排卵は血中hCGよりむしろ血中PRLの正常化に伴いみられた。

4. 薬剤による cervical factor の改善, とくに guaifenesin 投与の効果

酒井安子・関口裕子・小田隆晴
 広井正彦 (山形大・産婦)

妊娠現象における頸管粘液 (CM) の役割, とくに精子の性器内遊走におよぼす CM の役割は極めて大きい。頸管因子をもつ不妊症婦人に種々の estrogen 製剤を投与することにより, cervical factor を改善しようとする試みが多くされており, 我々も既に種々の estrogen 製剤投与による CM の改善効果を発表してきた。

今回は鎮咳去痰剤の一種である guaifenesin を頸管分泌不良症例, PCT 陰性症例に投与し次の結果を得た。

1. 頸管分泌不良症例の cervical score は 3.33 ± 0.67 (N=9) であったが guaifenesin の投与で 6.44 ± 1.04 と CM の著明な改善効果が認められた。
2. PCT 陰性症例 (N=4) で guaifenesin を投与すると 3 例が陽性化した。
3. guaifenesin 投与で排卵抑制は全く認められず, BBT の低温相の延長も認められなかった。

5. チンパンジーの性周期にともなう尿中 Estradiol と Progesterone の変遷

信永利馬・大庭 清・松崎祥昭
 (東北大・動物実験施設)

演者らはチンパンジーのケージ内飼育における性周期日数は平均 39~40 日であり, 性周期中の Estrogen の尿中排泄は, ほぼ人のそれと同様に中間期と後期の 2 峰性を示す個体と人の卵巣疾患患者に見られる月経直前に 1 回のピークを示す 2 型が一般周期に現れる事を報告した。また progesterone 代謝物の尿中排出についても検討し, 月経前 5 日で最高値を示す事を報告した。今回はこれらの尿中ホルモンが雄の接近によつてどのように変化するかを検討した。すなわち雄の接近により Estradiol のピークは月経後 10 日前後に認められ雄接近前と全く異なるパターンを示した。しかし progesterone のピークは雄接近前と同様であった。この Estrogen のピークと排卵時期の関係が極めて興味深い。この雄接近時の Estrogen の尿中排泄のパターンはマカカ属の正常周期のそれに類似している様に思われるので今後さらに検討を進めたい。本研究は文部省科学研究助成金により実施した。

6. Diethylstilbesterol の受精卵初期胚への影響

楊 美貴・斉藤英和・小川哲司
 広井正彦 (山形大・産婦)

〔目的〕 Diethylstilbesterol (DES) が, 受精卵初期発生に, いかなる影響を及ぼすかマウスの卵を用いて検討した。

〔方法〕 二細胞後期の卵を卵管より採取培養し, 24 時間後にコルセミドを加え, 二時間後固定した。培養液には DES が $10 \mu\text{g}/\text{mg}$ から $1 \text{ pg}/\text{ml}$ の濃度で含まれており, また姉妹染色分体交換 (SCE) を観察するために, bromodeoxyuridine が含まれている。固定染色後, 卵割球数, SCE, 小核, 染色体異常を観察した。

〔成績〕 卵割球数では, $300 \text{ ng}/\text{ml}$ の濃度で減少 ($p < 0.001$) し, $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で卵は変性した。小核, 染色体異常でも, $300 \text{ ng}/\text{ml}$ で有意に上昇した。SCE 数は DES の濃度が高くなるにつれ上昇した。 ($10, 100 \text{ ng}/\text{ml}$: $P < 0.005$, $300 \text{ ng}/\text{ml}$: $P < 0.001$)

〔結語〕 DES は, 24 時間暴露すると, $300 \text{ ng}/\text{ml}$ の濃度で, 小核数上昇や染色体異常を起こし卵の発育を抑制するが, SCE から見ると $10 \text{ ng}/\text{ml}$ ですでに染色体に影響を与えている。

7. 精子発生不全辜丸における Sertoli 細胞の微細構造について

佐藤和宏・木村正一・石川博夫
 光川史郎・折笠精一
 (東北大・泌)

10 名の azoospermia を呈した患者の辜丸生検を施行しその微細構造を観察した。従来報告されている精細管壁の変化に加え, Sertoli 細胞の微細構造に特徴的所見がみられた。核は概ね円形~卵円形で辺縁は円滑であり, 正常成人 Sertoli 細胞の核が深い陥凹をもち辺縁不整なのと対照的である。こうした核の状態は自験例での小児辜丸 Sertoli 細胞の核の状態と近似しており, immature state を表現しているものと思われた。核小体は発達が悪く spherical body と irregular projection より成る典型的像はみられない。細胞質では microfilament, annulate lamellae, lipid droplet, osmiophilic droplet などがしばしば認められ機能不全 Sertoli 細胞の 1 つの特徴と思われた。今後, 症例を重ね Sertoli 細胞機能との関連も検討する予定である。

8. 制癌剤投与ラットの spermatogenesis に対する Mecobalamin (MBL) の効果

木村正一・佐藤和宏・石川博夫
光川史郎・折笠精一

(東北大・泌)

癌化学療法に伴い本剤の睾丸組織に対する影響が今後の重要な問題になっている。前に乏精子症患者の治療に MBL を投与し、精子数の増加と精子運動率が改善することを報告した。そこで MBL が制癌剤を投与された睾丸にどのような作用を及ぼすのかを検討した。MBL の癌細胞に対する影響は別に検索中である。10週齢 Wistar 系雄ラットの腹腔内に 0.6mg/kg Amethopterin (MTX) または 1.0mg/kg Doxorubicin hydrochloride (ADR) を週 2 回 7 週間投与した。他に生食または 0.5mg/kg MBL を上記ラットに連日皮注射した。MTX 単独投では 35% の精細管で late spermatids が消失したのに対し、MBL との併用では 13% のみであった。ADR 単独投与の障害はさらに高度であった。MBL との併用で MTX 投与実験と同様に精細胞数の減少がかなり抑制された。

9. 不妊婦人における体外受精・胚移植に対する意識調査

八日市谷隆・京野広一・桃野耕太郎
星 和彦・星合 昊・鈴木 雅洲

(東北大・産婦)

本邦における最初の体外受精胚移植成功の報告がなされて以来、以前にも増して体外受精胚移植に対する議論が盛んになっている。医師患者間の理解を深め、この分野の研究をいかに推し進めるべきかを考える一助とすべく、東北大学産婦人科学教室では昭和 58 年 3 月より 7 月まで当科外来に通院する不妊婦人 400 名にアンケートを行った。

IVF-ET を不妊症の治療として認める者 92%、その立場におかれたら IVF-ET をうけたい人 74%、同様に AID、借腹法では 12.5%、4.5% であり、染色体異常児・奇型児が生まれるかもしれないことを心配するのは 68%、医師が他人の卵・精子を使うのではないかと心配する者 15.8% であった。

全体の不妊期間は平均 5.3 年、原発性不妊 72%、子宮卵管因子 30%、内分泌因子 35.8%、男性因子 33% などであった。

10. Cook 社製 Ovum Pick up Set を用いた卵液吸引法

小川哲司・斉藤英和・金杉 浩
広井正彦 (山形大・産婦)

Cook 社製 Ovum Pick up Set を用い、吸引圧の卵に及ぼす影響と回収率について検討した。

HMG-HCG にて過排卵させたマウス未受精卵をヒアルロニダーゼで顆粒膜細胞を除去後、25, 50, 100, 200, 400mmHg の吸引圧で各々 30 個の形態正常卵を吸引した。吸引後の形態異常卵出現率は 25mmHg で 3.6%、50mmHg で 8.0%、100mmHg で 21.4%、200mmHg で 48.0%、400mmHg で 68.2% と圧の上昇に伴って増加した。特に 200mmHg 以上では有意 ($P < 0.05$) に増加し、吸引圧は 100mmHg までが安全と思われた。

IVF-ET の患者の 14 周期に 1 周期あたり 2.86 ± 0.05 (M \pm SEM) 個、計 40 個の卵液を同吸引セットで 100mmHg にて吸引したところ、成熟卵 14 個、未熟卵 17 個、計 31 個 (77.5%) の卵が吸引され、1 周期あたり 2.21 ± 0.45 個であった。卵が吸引された卵液の卵液量が 4.15 ± 0.34 (M \pm SEM) ml であるのに対し、卵の吸引されなかつた卵液の卵液量は 3.56 ± 0.44 ml とやや少ないが、有意差は認めなかつた。

11. 卵液発育・基礎体温からみた体外受精時の採卵時期の検討

京野 広一・星 和彦・桃野耕太郎
森 良一郎・星合 昊・鈴木 雅洲

(東北大・産婦)

体外受精・胚移植においていかにして排卵直前の成熟卵を得るかが最も重要な課題である。今回 prospective には超音波断層法による卵液大径、retrospective には基礎体温をパラメーターとして 28 例 53 周期について採卵の時期を検討し、以下の結果を得た。

1) 排卵直前の卵液最大径は 29.3 ± 4.0 mm (mean \pm S.D.) であり、1 日約 2.6 mm の増加をみた。

2) 卵液最大径と腹腔下で吸引した卵液量には相関係数 $R = 0.437$; $P < 0.01$ と高い相関が得られた。

3) 受精群の卵液最大径は 26.0 ± 2.5 mm (mean \pm S.D.) で、非受精群の 18.4 ± 5.4 mm に比較して有意に大きい結果が得られた。

4) 基礎体温の上昇期から高温相初期に採卵可能であった。

以上より、超音波断層法は排卵時期の予測に有用であり、卵液最大径が 26 mm 以上で、その日が前回の基礎体

温の最終低温日以降であることを確認して採卵することが大切である。

12. 体外受精における腹腔鏡下の採卵成績

森 良一郎・今泉英明・対木 章
星 和彦・星合 昊・鈴木雅洲
(東北大・産婦)

1978年 Steptoe & Edwards らが、体外受精・胚移植によるいわゆる試験管ベビーを誕生させて以来、体外受精の技術は世界的に普及しつつある。今回採卵法について我々の方法及び成績について報告する。

腹腔鏡下に卵胞最大径が15mm以上あると思われ、卵採取のための穿刺を試みた卵胞数の患者あたりの平均数を患者1人あたりの卵胞発育率とした。対象患者延べ76人から148個の卵胞を穿刺した。この卵胞数は患者1人あたり1982年には2.6個であったが、1983年には1.8個であった。また患者1人あたりの採卵数は1982年には平均1.3個、1983年には1.2個であった。採卵率を穿刺を試みた卵胞あたりの採卵率と、1人の患者から少なくとも1個の卵が採取できた率とに分けて検討した。穿刺卵胞数あたりの採卵率は1982年で46.8%、1983年で67.3%であり、患者数あたりの採卵率は1982年で80.0%、1983年で83.9%であった。

13. 体外受精・胚移植法における採取卵の成熟度分類

星 和彦・齊藤 晃・対木 章
京野広一・星合 昊・鈴木雅洲
(東北大・産婦)

体外受精・胚移植時に採取されたヒト卵子を成熟度の高いと思われる順に卵子の外観と付着している卵丘細胞の状態から5型に分類した(Grade I~V)。

この卵子の Grade と体外受精における受精・初期発生状態との関連性を検討して以下のような成績を得た。

胚移植時2~8細胞期と正常に発育した卵子の割合は、Grade I~IIの卵子では76%でIII~Vの場合の22%に比べ明らかに高率であり、われわれの作製した分類法成熟度をよく反映していた。

Grade I~II卵子の採取率は、自然 LH サージ後約26時間で64%、HCG 注射後36時間の場合では88%であり、採卵時期として上記の設定時間はほぼ適切と思われる。

得られた卵子の Grade と卵胞直径・卵胞液量との間に相関はみられなかった。

14. 体外受精・胚移植法により妊娠した3症例

対木 章・今泉英明・齊藤 晃
星 和彦・星合 昊・鈴木雅洲
(東北大・産科)

卵管形成術では妊娠の望めない重症の卵管性不妊症の治療として体外受精・胚移植法を施行した。月経周期第5日目よりクロミフェン100mgを5日間投与し、超音波断層法で卵胞発育のモニターをし、卵胞最大直径が18mm以上になった時点で入院。その後4時間ごとに尿中 LH を半定量法で測定し、LH サージ開始後24時間目に腹腔鏡下に採卵を行なった。患者非働化血清を加えた Whittingham's T₆ で6時間の追加成熟培養を行ない、精子濃度を約 5×10^8 /ml で媒精し、37°C、5% CO₂、5% O₂ 90% N₂ 下で16時間培養・受精の有無を確認し、培養液交換後36時間目にテフロン製カテーテルで20~35μlの培養液とともに胚移植を行なった。この方法により58年6月まで計3例の妊娠に成功した。この着床に成功した3例とも移植時の卵子が4細胞期であり、この時期における受精卵の発育状態は4細胞期が最も適切であると考えられた。

第95回日本不妊学会関西支部集談会

期日：昭和58年10月8日

場所：大阪市立大学文化交流センター

1. 家兎卵管吻合術後における卵管上皮の形態的・機能的検討

○岡本吉夫・恩田 博・迫 久男
浜田和孝・須川 侑
(大阪市大・産婦)

卵管形成術の卵管粘膜上皮に与える影響を卵管粘膜上皮線毛細胞につき、その形態および機能面より検討したので報告する。

成熟日本白色家兎の左側卵管膨大部をマイクロ剪刀にて切断後、10-0ナイロン糸にて再縫合した。術後1, 2, 4週間後に再開腹し、縫合部、縫合部近傍の膨大部および対照として右側卵管膨大部を採取し、走査型電子顕微鏡にて形態学的変化を観察するとともに、分時線毛運動数を測定した。

縫合部では、形態的には、術後2週間で正常の形態となった。

分時線毛運動数は、縫合部では同側の非縫合部に比し明らかに減少し、かつ、非縫合部でも対照側に比し減少

していたが、術後 4 週間で正常値に回復した。

以上のことから、正常な卵管粘膜上皮においては、卵管形成術後の形態的、機能的回復は十分に期待できる。

2. 早発閉経症例の免疫学的検討

迫 久男・梅咲直彦・浜田和孝
恩田 博・岡本吉夫・川端政実
大鹿幸信・須川 侑

(大阪市大・産婦)

“早発閉経症”の原因に関しては種々唱えられているが、今だ不明な点が多い。最近、Irvine, 西塚らは本症病因論の一つとして、自己免疫説を提唱している。そこで我々は本症患者において、T・B cell 数、PHA 反応性のほかに、胸腺機能との関連性について検討を行なった。まず、suppressor T cell (Ts) 数は IgG FcR 陽性細胞を算定し、Ts activity は被検 T cell に Con A を添加し Ts を誘導したのち、これをリンパ球混合培養系に添加することにより、その抑制効果を検討した。胸腺機能は胸腺ホルモン添加培養系において前駆 T cell 量を測定することにより検討した。その結果、T・B cell 数、PHA 反応性、Ts 数は同年代の正常月経周期婦人と大差はなかつたが、Ts activity と胸腺機能の低下を示す症例を認めた。本症の病因は単一のものではないと思われるが、その一つに胸腺内における Ts の成熟不全が関与している可能性が示唆された。

3. 染色体転座をともなつた乏精子症（無精子症）の 4 例

松田公志・大森孝平・堀井泰樹
河村裕憲・高橋陽一

(大阪赤十字病院・泌尿)

枝村節子・小池莊一

(同・検査部)

昭和54年9月より昭和58年9月までの4年間に、当院泌尿器科外来を受診した男性不妊症95人のうち、無精子症19人、乏精子症26人に染色体検査（末梢血リンパ球、G-bandrg）を行つた。その結果、47, XXY 5例、46, XY 15p+1例、46, X del Y (q12) 1例、及び4例の均衡型常染色体相互転座を認めた。

症例1, 32歳, 無精子症, 血清テストステロン381ng/dl, FSH 11.3 mIU/ml, LH 9.0 mIU/ml, 46, XY, t (3; 30; 21), 睪丸生検で、精母細胞での Spermatogenesis arrest.

症例2, 31歳, 乏精子症 (100万/ml), 血清 T 854 ng/dl, FSH 9.5 mIU/ml LH 8.5 mIU/ml, 46, XY, t

(14; 21) (q22; p12).

症例3, 37歳, 無精子症, 血清 T 598ng/dl, FSH 10.2 mIU/ml, LH 12.1 mIU/ml, 46, XY, t (1; 19) (p13; porq 13) 1qht.

症例4, 31歳, 乏精子症 (3000万/ml), 血清 T 427 ng/dl, USH 7.7 mIU/ml, LH 15.0 mIU/ml, 46, XY, t (3; 16) (q 27; q 24). 4例とも先天異常を認めなかつた。

4. 家兔卵巣における prolyl hydroxylase 活性の hCG 反応性

姫野憲雄・川村直行・岡村 均
森 崇英 (京都市大・産婦)
福本 学 (同・病理)

排卵と卵巣のコラーゲン線維の代謝との間には密接な関連があることが示唆されている。そこで今回 hCG 投与により排卵を誘発した成熟家兔の卵胞を用い、排卵におけるコラーゲン線維の生合成活性を検索するために、protocollagen の proline の水酸化に関与する酵素である prolyl hydroxylase (PH) 活性と、同時にコラーゲン量の変化を検討するため hydroxy proline 量も経時的に測定した。

〔結果と考察〕 卵巣組織においてはその活性が低いものの、明らかに PH 酵素活性が存在することが観察された。しかもこの活性は排卵期と考えられる hCG 投与12時間前後には著明な活性上昇を示した。しかし卵巣以外の組織では hCG 投与に由来する有意の活性変動は示さなかつた。従つてこの活性上昇は hCG 投与によつて卵巣のみにみられる固有な変化であることが明らかとなつた。また hydroxyproline 量は排卵前後に変動は示すものの有意ではなく、コラーゲン分解活性の亢進による影響と考えられた。

5. 高感度尿中エストロゲンキットを用いた卵巣成熟のモニタリング

田坂慶一・大塚志郎・三宅 侃
青野敏博・倉智敬一

(大阪大・産婦)

産婦人科領域において種々のエストロゲン測定は、正常周期及び排卵誘発周期における卵巣成熟の指標として、また妊婦の胎盤機能検査として重要な役割をもっている。しかし血中 E₂ 測定は抽出操作が複雑で RIA 設備を必要とし、また現在の尿中 E₃ 測定キットは感度が低く、胎盤機能検査に使用されているにすぎない。今回我々が検討した高感度尿中エストロゲン測定試薬キット

(持田) は感度 1 ng/ml と高く、卵胞成熟の指標として応用し得る可能性があり、これを検討した。対象は正常周期 1 周期、HMG-HCG 治療周期 6 周期で、正常周期については血中 E₂, LH, FSH を RIA にて、尿中 E を同キットにて測定し、HMG-HCG 周期は血中 E₂, 尿中 E 卵胞径計測を行なった。その結果尿中 E は血中 E₂ と平行して変動し、血中 E₂ と尿中 E は $r=0.796$ の相関関係を示した。今後さらに症例を増やすつもりであるが、同キットは卵胞成熟のモニタリング化使用できる可能性を得た。

6. hMG 療法における卵胞成熟の指標としての超音波断層法の意義について

前田洋一・宮崎 和典・好川元庸
矢田守男・奥田喜代司・杉本 修
(大阪医大・産婦)

HMG 療法における卵胞成熟のモニタリングには、現在、主に頸管粘液所見、estrogen の定量、超音波断層法等が用いられている。しかし単一の方法だけでは不備な点も多く、これら各パラメーターの相互関係を知る事は、適切な排卵誘発を行なう上で有意義な事と思われる。そこで HMG 療法案 9 例の CM 所見、血中 E₂ 値、超音波断層像 (長径、短径、平均径、および円、球として計算した面積、体積の総和) の三者間の相関関係を検討したところ、CM 量と E₂ 値、総平均径面積と E₂ 値の間に最も高い相関が得られた。後者の関係をみると、総面積が 3.5cm² 未満では、E₂ 値が 1,000pg/ml を越えるものはなかった。逆に 3.5cm² 以上で、E₂ 値が 1,000pg/ml 以上では一例を除き、すべて multiple であつたのに対し、1,000pg/ml 以下では single が多く、発育卵胞数の分布に異なつた傾向を認めた。以上より、超音波断層法の併用は、HMG 療法における投与法の個別化に有用な補助診断法となる可能性が示唆された。

7. 超音波観察下における黄体の消長

富岡 恵・辻 雅路・大野洋介
山元貴雄・岡田弘二
(京都府立医大・産婦)

不妊症治療時の超音波診断において、卵胞の発育過程及び排卵の観察だけでなく今回は黄体の変化について形態的、継時的に観察し、検討した。正常婦人において黄体は排卵後 1 週間目で cystic な変化をとるもの (cystic)、及び内部エコーの増強の強いもの (echogenic)、壁の不整、硬化の強いもの (solid) などの変化がみられた。この cystic なものと echogenic or solid なものはほぼ同頻度であり、血中プロゲステロン値は cystic type の方

が低かつた。同様に黄体期 HCG 投与を行なつている不妊症患者においては全体的なプロゲステロン高値に加え cystic type の方がより高値となつた。継時的観察時の黄体径の推移は排卵後 1~3 日にピークをとり以後漸減傾向を示した。又、HCG の黄体賦活効果の検討において、黄体径を計測したところ、妊娠例の黄体径の漸増に比べ、月経黄体は排卵後 7~9 日目以降は HCG 負荷によつてもその径の増加は望めなかつた。

第83回九州医師会医学会

(第28回日本不妊学会九州支部総会)

期日：昭和58年11月20日 (日)

会場：長崎市茂里町 3-21

長崎県医師会館大会議室

1. 正常ゴナドトロピン血症を示した視床下部性原発無月経の 1 例

○水元淳一・荘田恭仁・福岡啓造
松浦講平・藤崎俊一・前山昌男
(熊本大・産婦)

視床下部障害による原発無月経の多くは、低ゴナドトロピン性であるが、今回、われわれは血中ゴナドトロピン値が正常値を示した原発無月経の 1 例を経験したので報告する。症例は 32 歳の主婦。無月経、挙児希望を主訴として来院。家族歴に性腺機能障害を示すものはなく、幼・小児期も健康に過ごし、中学時代には、乳房の肥大や恥毛の発生、急速な身長伸びなど初潮以外の二次性徴が発現した。昭和 54 年 9 月、結婚したが、無月経が持続し、妊娠しないので紹介されて当科を訪れた。臨床検査所見として染色体分析では、46XX、骨年齢は歴年齢に相当する化骨がみられ、骨端線は既に閉鎖。血中 FSH, LH 値は正常で、LH-RH テストも正常反応を示した。ゲスターゲンテストは陽性であつた。他の下垂体機能も正常であつた。以上の成績から、この症例は、視床下部性無月経であり、LH の周期的分泌、つまり midcycle LH-surge に必要な、trigger LH-RH が分泌不全が示唆される。

2. 第 2 度無月経患者の病態とその臨床内分泌学的分析

○詠田由美・穴井恵子・吉武英憲
熊本有宏・白川光一
(福岡大・産婦)

第 2 度無月経という症候論的立場より、その臨床像を

分析し、成績を示した。

昭和53年1月より昭和58年7月末までの、当科新患数14,609例中、不妊内分泌外来に登録された病的無月経患者は、1%, 147例であった。その42%, 62例が、第2度無月経と診断されるものでこれを今回の研究対象とした。

原発無月経と診断されたものは、62例中17例で、全例に染色体分析を行った結果、5例に染色体異常を認め、5例中4例が、いわゆる Turner phenotype を示すもので、45X monosomy は2例、他3例は、X染色体の構造異常を持つものであった。原発無月経を病態別に分類すると、中枢性原発無月経は、4例24%にすぎず、残り13例76%は、卵巣性と考えられた。

続発無月経と診断されたものは、62例中45例で、高プロラクチン血症9例(20%)、卵巣性11例(24%)、残り25例(56%)は視床下部下垂体障害と考えられるもので、25例中16例は、体重減少に伴って無月経が発症していた。続発無月経を月経歴より検討すると、卵巣性および、体重減少を伴わない中枢障害では、約半数に無月経発症前より、月経周期異常がみられ、潜在性の障害因子の存在が疑われた。

62例中31例に、ゴナドトロピン投与を行ったが、何らかの卵胞成熟徴候を認めたものは、17例であった。そのうちわけは、中枢性原発無月経2例と、続発無月経の中枢性13例、卵巣性の2例であった。高プロラクチン血症では、外因性ゴナドトロピンに対する反応はみられなかったが、プロモクリプチン投与により、6例全例に卵巣機能の回復が得られ、3例に妊娠が成立した。その他の挙児希望者では、妊娠例はなく、高プロラクチン血症以外の第2度無月経患者での、妊娠率はきわめて不良と考えられる。

3. GH 産生下垂体腺腫に合併した高 PRL 血症の1例

友尾 靖・宮原 英二・平井ひろみ
白水充典・哲翁 正博・畑瀬 哲郎
網脇 現・薬師寺道明・加藤 俊
(久留米大学・産婦)

中村康寛 (同・第2病理)

下垂体腫瘍は全脳腫瘍の約10%を占めており、過半数は内分泌学的活性を有している。特に女性に発生する場合は、無月経、乳汁分泌、不妊等の産婦人科的訴えを主としている場合が少なくない。又、最近、不妊の一因として注目を集めている高 PRL 血症においては、常に下垂体腫瘍の存在の有無を考慮しなければならない。

今回、我々が経験した症例は妊娠中より、左眼視力低下、体重の異常な増加、体毛の増加及び四肢末端の肥大

を認め、更に分娩後3年間に及ぶ持続的な無月経を主訴とし当科受診。内分泌学的所見においては GH 236.5 ng/ml, PRL 146.0ng/ml, TRH 負荷試験による GH の“不当な反応”を示した。入院後精査にて、GH 産生下垂体腺腫に合併した高 PRL 血症との診断のもとに外科的摘出術を行った。組織学的には mixed type の adenoma で、酵素抗体法(PAP法)にて GH 及び PRL 分泌細胞の存在が認められた。術前高値を示した両ホルモンは術後一時低下を示したが、その後、再上昇を認めた為 Bromocriptine 療法を開始、現在 PRL は正常値まで低下し、GH も減少傾向にある。

倉智らの全国集計によれば、末端肥大症に伴う高 PRL 血症は女性高 PRL 血症例の4%を占めるにすぎず、比較的まれな症例と考えられたので、ここに報告した。尚、今回の症例における高 PRL 血症の原因としては、腺腫の鞍上部伸展による視床下部の機能障害も否定できないが、組織診その他の所見より腺腫そのものからの PRL 産生によるものであることが強く推察された。

4. Prolactinoma 摘出後、高 PRL 血症状態で妊娠した2例について

黄 宏駿・梶村秀雄・中野龍夫
今道節夫・岡本純英・増崎英明
山下隆則・石丸忠之・山辺 徹
(長崎大・産婦)

高プロラクチン血症無排卵症において、排卵誘発効果を高めるためには、PRL 値を減少せしめることが必要である。しかし、私どもは prolactinoma の術後で、なお高プロラクチン血症状態が持続していたにもかかわらず、妊娠した2例を経験したので報告する。

症例は2例ともに血中 prolactin が高く、microadenoma の症例は245ng/ml を示し、macroadenoma の症例は1113.1ng/ml であった。術前の LH 値はそれぞれ 8.8, 10.4 mIU/ml で、FSH は 7.9, 5.1 mIU/ml と低かったが、LH-RH 投与に対し、gonadotropin の反応性は比較的良く保たれていた。しかし TRH 投与に対しては TSH は正常の反応を示したが、prolactin は高値のまま無反応であった。Insulin に対する血糖値、GH の反応は正常であった。腺腫摘出後 prolactin はいつたん正常域まで下降したが、再び上昇し無排卵状態が持続したため、Bromocriptine と Clomiphene を投与した。薬剤投与中の prolactin 値は microadenoma 術後患者では平均76ng/ml (70~83ng/ml)、一方、macroadenoma では、263ng/ml (258~331ng/ml) と高値を示したが妊娠した。2例ともに妊娠の診断確定とともに Bromocip-

tine 投与を中止したが、妊娠経過中にて腫瘍増大、視野狭窄、頭痛などは認められなかった。また産科的異常もなく microadenoma の症例は 40W 3D の正期産にて 3450g の男児を得た。macroadenoma の症例では胎胎妊娠で 40WOD で帝王切開にて 3 児を得たが、ともに奇形は認められなかった。また macroadenoma の症例は妊娠中、Prolactin は 7 W 頃で 756ng/ml まで一過性に上昇したが、その後下降し 300~400ng/ml の間を上下していた。

下垂体腫瘍の大きさと Prolactin との間に正の相関が認められたが、排卵障害と PRL との間に著明な個体差が存在するようである。即ち PRL には size heterogeneity, あるいは間脳下垂体一性腺の感受性に違いがあることなどが示唆された。

5. 臍帯血中 β -Endorphin, β -Lipotropin について —その Radioimmunoassay の基礎的検討—

角沖久夫・中村元一・尾上敏一
中野仁雄 (九州大・産婦)

内在性モルヒネ物質の β -Endorphin (以下 β -E と略)、 β -Lipotropin (以下 β -LPH と略) の Radioimmunoassay の確立を目的として、ヒト臍帯血中 β -E, β -LPE の RIA を試み、その基礎的検討を加えた。まず、血漿よりこれらペプチドの抽出法として、従来の珪酸抽出法より簡易な Sep-Pak C₁₈ ミニカラムを用いたところ、回収率が向上した (β -E: 珪酸抽出法 66%, Sep-Pak C₁₈ 抽出法 84%, β -LPH: 珪酸抽出法 60.7%, Sep-Pak C₁₈ 抽出法 64.6%)。次に RIA に用いた抗体に関して β -E 抗体は β -LPH と 100% 交差するものを、 β -LPH 抗体は β -E と交差しないものを用いた。従つて β -E は β -Endorphin like immunoreactivity (β -ELI) で表わした。標識ホルモンは、クロラミン T 法により ¹²⁵I で放射性標識を行ない、Sephadex G-50 カラムにてゲル濾過して精製した。各々の比放射活性は、 β -E: 169~196 μ Ci/ μ g, β -LPH: 72~82 μ Ci/ μ g であつた。スタンダードもしくはサンプルと抗体を 2 日間 Preincubation したのち、¹²⁵I 標識ホルモンを加えて抗体と競合させる。いわゆる Delayed assay 法により感度上昇を試みた。B と F の分離は二抗体法を用いた。本法により良好な標準曲線が得られ、その最小検出感度は、 β -ELI: 15.6pg/tube, β -LPH: 30pg/tube であつた。本 RIA 法の再現性については、測定内変動係数が β -E, β -LPH とともに 7% 以下で: 測定間変動係数は β -ELI: 8.3%, β -LPH: 22.4% であつた。以上の RIA を用いて、臍帯静脈血 15 例、正常成人女性末梢血 9 例を測定したところ、臍帯血 β -ELI: 215.6 \pm 45.5pg/ml, β -LPH:

1850 \pm 592 pg/ml であり、成人女性 β -ELI: 109.6 \pm 22.8pg/ml, β -LPH: 648.4 \pm 103.9pg/ml (mean \pm S.E.) であつた。なお、帝王切開 2 例における臍帯血 β -ELI は、189.8, 170.3pg/ml で、上記平均より低かつた。

6. ヒト培養顆粒膜細胞の Steroidogenesis に及ぼす LH-RH の影響に関する究

一瀬俊介・岡本純英・山口敦巳
重松 潤・石丸忠之・山辺 徹
(長崎大・産婦)

最近 LH-RH の脈動性投与による排卵誘発法が報告され注目されている。exogenous に投与された LH-RH は下垂体へ作用し、gonadotropine の放出を促すことは勿論のこと、性腺へ直接作用することが考えられる。今回、我々はヒト培養顆粒膜細胞に対する LH-RH の作用について検討した。

〔方法〕手術で得られた卵巣より、McNatty の方法に準じて顆粒膜細胞を得、細胞数を 5.0×10^5 cells/ml に調整し、20% fetal bovine serum を含む、TC-Medium 199 中で、5% CO₂ 95% air の条件下に 10 日間の培養を行った。培養 2 日目より LH-RH 10^{-8} mol/dish, HMG 7.5IU/dish および両者を添加し、産生される progesterone を RIA で測定した。

〔結果〕Control 群において、培養液中の総 progesterone 産生量は経目的に増加し、10 日目で 1629 \pm 141 ng/dish となり、2 日目の 2.88 倍に達した。一方、HMG 添加群では、10 日目で 2,798 \pm 683 ng/dish となり、2 日目の 4.48 倍に達した。また LH-RH 単独添加群では、10 日目で 1,679 \pm 118 ng/dish となり、2 日目の 6.67 倍に、HMG, LH-RH 同時添加群では、10 日目で 2,948 \pm 804 ng/dish となり、2 日目の 4.69 倍に達した。以上より、今回の実験結果からは、LH-RH の性腺に対する抑制作用は、直接的にも、また HMG を介しても認められなかった。その後同様な実験をヒト培養黄体細胞について行った。黄体細胞においては LH-RH は HMG と同時に投与した場合に、HMG の progesterone 産生促進作用を抑制する結果が得られた。

LH-RH の卵巣抑制作用については、Hsueh らの、Rat における実験から、顆粒膜細胞、および黄体細胞に対しても存在すると言われている。ヒトでは、培養顆粒膜細胞を用いた実験で、LH-RH の抑制作用について、肯定的報告と否定的報告が見られるようである。今回、私どもの実験では、ヒト培養顆粒膜細胞とヒト培養黄体細胞とでは、LH-RH の作用に discrepancy を生じた。今後 luteal regression の問題、各卵胞期における差異などについて検討する必要があると思われる。

7. 研当科不妊外来の臨床統計 (1978~1982年)

宇津宮隆史・松岡幸一郎・吉田耕治
是永 迪夫・門田 徹

(九州大・体防御研・産婦人科)

1971年から1982年までの12年間の当科不妊外来について集計したので報告する。12年間の外来総数30,645例中3,137例10.2%が拳児を希望して来院し、習慣性流産等を除いた2943例が不妊症であった。そのうち757例25.7%が妊娠に成功した。初診時年齢は原発、続発ともに26~30歳が最も多く、次に25歳までに来院する例が多かった。41歳以上も18例みられた。初診時不妊期間は4年未満が75%を占めており、妊娠率も不妊期間が短いほど高い傾向があつた。10年以上不妊は107例にみられ、そのうち5例が妊娠に成功した。BBTを検討し得た2170例のBBT型を古賀の分類に基いて分けてみると、I、II型の正常型が最も多く、次にV、VI型の無排卵症が多かった。とくに続発不妊でもV、VI型が23.9%あり、注意を要すると思われた。そのV、VI型をさらに臨床症型別に分類してみると持続性無排卵周期症と第I度無月経症が最も多く、次に散発性無排卵周期症で、第II度無月経症が最も少なかった。妊娠率は散発性無排卵周期症が47.1%で最も高く、第II度無月経症は11.1%で最も低かった。男性因子が分析できたのは1658例中531例で乏精子症が半数を占めていた。全体の妊娠率は12.2%と低率であつた。フナーテストは1633例に行い、そのうち581例35.6%が(-)~(±)であつた。そのうち98例16.1%が妊娠に至つた。卵管因子では1,644例中500例に何らかの疎通性異常が認められ、そのうち107例21.4%が妊娠に成功した。外来ルーチン検査でとくに異常の認められなかつたのは2,170例中222例10.2%であり、そのうち92例41.4%が妊娠に至つた。

以上をまとめると、フナーテスト異常35.6% (妊娠率15.7%)、卵管疎通性異常30.7% (同21.2%)、男性因子23.3% (同12.3%)、排卵障害26.0% (同36.5%)となり、卵管因子、男性因子、卵巣因子ほぼ1/3づつの割合となり、妊娠率は排卵障害で一番高かつた。

8. 当教室不妊症外来の臨床統計

赤木 隆博・白水充典・平井ひろみ
畑瀬 哲朗・矢野禎男・小林 洋
光武 和彦・葉 清泉・綱脇 現
薬師寺道明・加藤 俊

(久留米大・産婦)

近年不妊症に対する診断技術の発達や治療法の進歩に依り妊娠率の向上が見られる様になつた。一方、不妊症

の原因は多岐にわたり、治療する際にその年次の推移を統計的に検討することは不妊症の病態把握、さらには治療に関して重要な情報を与えてくれるものと考えられる。

我々は過去に昭和41年より5年間(以下41年群)と昭和50年より5年間(以下50年群)の臨床統計について発表した。今回さらに昭和55年より3年間の症例(以下55年群)を追加し、比較検討した。

初診時年齢と不妊期間により近年早期受診傾向がうかがえた。当教室における妊娠率は約20%であつた。妊娠までの治療期間は、2年以内に約90%であつた。従つて2年以上たつても、尚、妊娠成立しない場合は再度検査、治療方法の検討を行うべきと思われた。又、3年以上の治療の結果妊娠する例がある様に、常に医師は患者さらに夫との連帯感を深め、辛抱強く、治療意欲を失なわない様、努力すべきだと思われた。又、50年群、55年群において併用療法群に妊娠率の向上が認められる様に、不妊症の原因は多岐にわたっている為に、当然の如く、治療に際し系統的診断と共に、個別的治療の重要性が痛感された。

9. 女性アルコール中毒者の心理特性と内分泌所見

石 明寛・富永良喜・岡村 靖
(産業医大・産婦)

後藤 晃・野中鶴松

(大分友愛病院)

〔目的〕 近年日本において、アルコール消費量は急激に増加しており、女性アルコール依存症の患者も漸増傾向が見られる。本発表は女性アルコール依存症に関する内分泌、及び心理状態について検討したものである。

〔方法〕 アルコール依存の心理的特性をCMI, MASによつて測定し、またアルコール依存行動をMASTによつて測定した。内分泌面については、BBT, Plasma PRL, Estradiol, Progesteroneを測定した。

〔成績〕 心理面;自殺傾向,易怒性,抑うつ感情がアルコール依存症患者の特徴としてみられ、一般的不安がやや高い傾向にあると言える。内分泌面;BBTには一相性が認められ、Plasma PRL値は正常者に比して高い値を示した。

〔考按と結論〕 心理面では、抑うつ状態が特徴的であり、内分泌面ではPlasma PRL値に特色がみられた。まだLH-RH負荷前のLH値は30未満で、投与後反応が良好であることを示した。女性群の自覚症状の特徴はまず性冷感が100%を占め、次に無月経が93%を占め、その次に食欲不振が83.3%であつた。

会員各位殿

日本不妊学会

理事長 松 本 清 一

通 信 総 会

法人規定により前年度決算ならびに当年度予算は、5月末日までに文部省に提出しなければならないため、例年と同様に昭和58年度決算および昭和59年度予算について本通信総会での御審議をお願いしたいと存じます。

下記決算ならびに予算案につきよろしく御検討の上、同封の葉書にて5月15日までに賛否をお知らせ下さい。期日までに御回答のない場合は御承認を得ましたものとさせていただきます。なお御不審の点につきましては事務局までお問い合わせ下さい。

議案ならびに説明書

I. 昭和58年度収支決算の件

昭和58年度収支計算書(案)は122~124頁に示すごとくである。ただしこれは昭和58年4月1日より59年1月末日までの収支による決算見込であるため、年度末における多少の変更は了承されたい。

収支合計では6,446,005円が余剰金として次年度へ繰越される。これは予算に比べれば約320万円の増であるが、57年度からの繰越金は6,599,163円であつたので、58年度内収支は153,158円の支出超ということになる。

a. 収入：収入総額は49,204,926円(前年度からの繰越金を除いた年度内収入は42,605,763円)で予算に対し3,717,763円の増である。

(1) 予算より収入減となつたのは機関誌購読料約16万円、賛助会員会費30万円であるが、とくに賛助会員会費は厳しい社会情勢を反映して今後とも減少の傾向がつづくことが予想される。

(2) 正会員会費は、58年度分については会員数の増加により約71万円の増、過年度会費についても徴収に努めた結果約25万円の増となつた。

(3) 特別掲載料は希望者増のため約160万円の増収となつた。

(4) 雑収入の増は名簿の広告掲載料1,280,000円を含むためである。

b. 支出：支出総額(次年度繰越金を除く)は42,758,921円で、予算(予備費を除く)に対し487,101円の増となる。

(1) 委員会経費は、今年度は学会事務の業者委託に関する臨時理事会開催などのため約21万円の支出超となつた。

(2) 名簿作製費は100万円の支出超となつたが、これは広告掲載料(雑費収入)128万円と相殺されるもので実質上は赤字と考える必要はない。

(3) その他の項目については、多少の増減は見られるがほぼ予算内の支出で納まつた。

II. 昭和59年度収支予算の件

昭和59年度収支予算(案)は125~127頁に示すごとくである。ただし58年度よりの繰越金、59年度当初会員数などがなお確定的でないため、多少の変更があり得ること、および今年度よりの学会事務業者委託にともない一部予算項目に変更のあることを了承されたい。

a. 収入：収入総額は38,571,005円であるが、前年度よりの繰越金6,446,005円を除く年度内収入は32,125,

000円となる。これは前年度予算の年度内収入38,888,000円に比し6,763,000円の減であるが、前年度予算は名簿作製積立金戻入2,000,000円および退職積立金戻入7,268,000円、本年度予算は退職積立金戻入2,263,000円を含んでいる。これらを差引いて比較すると本年度は前年度予算に比し242,000円の増収見込である。前年度決算に比しては約347万円の減収見込となっているが、これは主として正会員会費収入、特別掲載料を内輪に見積つてあること、名簿広告料収入のないことおよび賛助会員会費の減収を予定せざるを得ないことなどによる。

- (1) 購読料、広告料はほぼ前年度予算に準じたが、広告料は決算見込を参考にしてやや増額した。
 - (2) 正会員会費は、59年度会費については年度当初会員数2,652人、年度内徴収率80%、58年度会費については未納者494人、徴収率30%、57年度以前の会費は納入予定100人として算定した。
 - (3) 賛助会員会費については、日本シェーリング社の250,000円減額が決定しており、その他の姿勢も樂觀を許さないで前年度決算額より350,000円の減とした。
 - (4) 特別掲載料は前年度予算、決算を参照して4,000,000円とした。
 - (5) 受取利息は退職積立金がほぼ全額取崩されるのに応じて前年度決算額より減額した。
 - (6) 雑収入は前年度決算は名簿広告料収入で約130万円の増収見込となっているが、本年度は特別の収入見込はないので前年度予算に準じた。
- b. 支出：支出総額（予備費を除く）は30,968,520円であるが、退職金を除く経常費支出は28,705,520円となり、58年度予算（予備費、名簿作製費および退職金を除く）に対し4,298,300円、58年度決算見込（次年度繰越金、名簿作製費および退職金を除く）に対し3,785,401円の減である。また59年度の年度内収支では1,156,480円の黒字となる。これらはもちろん職員の退職および事務の業者委託に伴う諸経費の増減の結果である。
- (1) 機関誌印刷費は昨年度実績を参照し、昨年度予算の通り、4号分で一般原著48編、288頁、1頁当たり平均6.4円、各号3,000部発行予定で約800万円、それに特別掲載、超過頁、総会抄録、別刷代などの自己負担分350万円を加えて11,500,000円とした。
 - (2) 給与手当は、職員1名の6カ月分とし、本給155,500円×8.5カ月（賞与を含む）+残業手当約7万円に物価上昇に対する特別手当月額19,000円を加え、1,500,000円を計上した。福利厚生費もこれに準じ昨年度より減額した。
 - (3) 臨時雇賃金は事務委託費に含まれるものとして計上しなかつた。
 - (4) 事務委託費は国際会議事務局への業務委託に要する費用で、名簿の原簿作成入力費（399,000円）、人件費見合分（2,520,000円）、会報発送、会費徴収、新入会員登録、原簿訂正などに関するコンピューター出入力費および手数料（429,400円）、事務局員交通費、通信費、消耗品費、コピー代など（252,000円）、計3,600,400円を計上してあるが、これらに関しては今年度は正確な算定は困難であり決算時にある程度の増減を生ずる可能性があることは了承されたい。
 - (5) 事務所費については一応現事務所の今年度末までの賃借料を計上してあるが、事務所移転の完了を待つて出来るだけ早く解約の手続をする予定である。
 - (6) 旅費交通費は職員1名の減および本年度総会が東京であることから大幅に減額した。
 - (7) 管理費雑費は500,000円と前年度に比し大幅な増額になっているが、これは事務所移転に伴う諸経費を含むものである。
 - (8) 退職金は規定に従い算出して2,263,000円を計上し、今年度よりは退職積立金の支出は取止めとした。
 - (9) 以上本年度予算がこの予算書通りに執行され予備費が明年度への繰越金となった場合は、58年度までの運営基金積立金1,200万円を加えた約2,000万円が昭和60年度以降の年度内収支赤字に対する準備金となる。さらに明年度においては給与手当および事務所費で約300万の支出減が可能となることなどを考慮すると、今回の学会事務業者委託が順調に経過すれば今後少なくとも4～5年は会費値上げを避けられるのではないかと思われる。

収 支 計 算 書 (案)
(一 般 会 計)

(昭和58年4月1日から昭和59年3月31日まで)

1) 収入の部

単位：円

勘 定 科 目			決 算 額	予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
I 基本財産運用収入			366,600	380,000	△ 13,400
	基本財産利息収入	利 息	366,600	380,000	△ 13,400
II 事業収入			2,148,800	2,010,000	138,800
	機関誌購読料収入	購 読 料	648,000	810,000	△ 162,000
	〃 広告料収入	広 告 料	1,500,800	1,200,000	300,800
III 会費収入			22,019,000	21,350,000	669,000
	正会員会費収入	正 会 員 会 費	19,369,000	18,400,000	969,000
	賛助会員会費収入	賛 助 会 員 会 費	2,650,000	2,950,000	△ 300,000
IV 助成金収入			100,000	100,000	0
	日本医学会助成金収入	医 学 会 助 成 金	100,000	100,000	0
V 負担金収入			5,096,890	3,500,000	1,596,890
	負担金収入	特 別 掲 載 料	5,096,890	3,500,000	1,596,890
VI 雑収入			3,606,473	2,280,000	1,326,473
	受 取 利 息	利 息	2,264,709	2,250,000	14,709
	雑 収 入	雑 収 入	1,341,764	30,000	1,311,764
VII 積立預金取崩収入			9,268,000	9,268,000	0
	名簿作製積立預金取崩	名 簿 積 立 取 崩	2,000,000	2,000,000	0
	退職積立金取崩	退 職 積 立 金 取 崩	7,268,000	7,268,000	0
VIII 前期繰越収支差額			6,599,163	6,599,163	0
	前期繰越収支差額	前 期 繰 越 金	6,599,163	6,599,163	6
収 入 合 計			49,204,926	45,487,163	3,717,763

注：年度内収入（I～VII）

58年度決算額 42,605,763円

58年度予算額 38,888,000円

会費収入の内訳

(1) 正会員会費 計 19,369,000円

58年度会費 17,193,000円 (2,149人分, 会員数2,643人, 徴収率81%)

過年度会費 2,176,000円

57年度会費 1,432,000円 (179人, 57年度分未納者468人, 徴収率38%)

56年度以前会費 744,000円 (93人分)

(2) 賛助会員会費 計 2,650,000円 (1口, 100,000円)

15口 1社 (日本シエリング) 1,500,000円

1口 10社 (第一製薬, 大日本製薬, 山之内, サンド薬品, ミドリ十字, 藤沢薬品, 三共, 帝国臓器, 塩野義, 武田薬品) 1,100,000円

注：武田薬品は協賛金として56年度分, 57年度分各1口

1/2口 1社 (エーザイ) 50,000円

2) 支出の部

単位：円

勘 定 科 目			決 算 額	予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
I 事 業 費			20,886,887	20,116,000	770,887
	総 会 委 託 費		1,505,956	1,630,000	△ 124,044
		総 会 補 助 金	1,000,000	1,000,000	0
		〃 諸 経 費	505,956	630,000	△ 124,044
	会 誌 発 行 費		13,211,468	13,340,000	△ 128,532
		印 刷 費	11,362,013	11,500,000	△ 137,987
		発 送 費	1,699,455	1,700,000	△ 545
		編 集 費	150,000	140,000	10,000
	負 担 費		72,420	80,000	△ 7,580
		I.F.F.S会費	72,420	80,000	△ 7,580
	助 成 金 支 出		429,800	416,000	13,800
		支 部 運 営 費	429,800	416,000	13,800
	会 議 費		1,215,963	1,000,000	215,963
		委 員 会 経 費	1,215,963	1,000,000	215,963
	名 簿 作 製 費		3,000,000	2,000,000	1,000,000
		名 簿 作 製 費	3,000,000	2,000,000	1,000,000
	渉 外 費		1,000,000	1,000,000	0
		渉 外 費	1,000,000	1,000,000	0
	雑 費		451,280	650,000	△ 198,720
		雑 費	451,280	650,000	△ 198,720
II 管 理 費			19,872,034	20,155,820	△ 283,786
	給 与 手 当		6,955,500	6,955,500	0
		給 与 手 当	6,955,500	6,955,500	0
	臨 時 雇 賃 金		630,000	630,000	0
		臨 時 雇 賃 金	630,000	630,000	0
	福 利 厚 生 費		630,000	630,000	0
		法 定 福 利 厚 生 費	550,000	550,000	0
		福 利 厚 生 費	80,000	80,000	0
	器 具 備 品 費		0	50,000	△ 50,000
		器 具 備 品 費	0	50,000	△ 50,000
	退 職 給 与 金		7,268,000	7,268,000	0
		退 職 給 与 金	7,268,000	7,268,000	0
	賃 借 料		2,024,040	2,017,320	6,720
		事 務 所 費	1,796,040	1,789,320	6,720
		器 具 賃 借 料	228,000	228,000	0
	旅 費 交 通 費		797,110	800,000	△ 2,890
		旅 費 交 通 費	797,110	800,000	△ 2,890
	通 信 運 搬 費		731,355	750,000	△ 18,645
		通 信 費	731,355	750,000	△ 18,645
	印 刷 費		24,000	50,000	△ 26,000
		印 刷 費	24,000	50,000	△ 26,000
	消 耗 品 費		525,864	650,000	△ 124,136
		消 耗 品 費	525,864	650,000	△ 124,136

勘 定 科 目			決 算 額	予 算 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
Ⅲ 積立預金支出	修繕費	修繕費	35,400	65,000	△ 29,600
			35,400	65,000	△ 29,600
	会議費	会議費	13,800	30,000	△ 16,200
			13,800	30,000	△ 16,200
	諸謝金	會計指導費	175,000	175,000	0
			175,000	175,000	0
	租税公課	公租公課	2,000	5,000	△ 3,000
			2,000	5,000	△ 3,000
	慶弔費	慶弔費	10,000	30,000	△ 20,000
			10,000	30,000	△ 20,000
	雜費	雜費	49,965	50,000	△ 35
			49,965	50,000	△ 35
			2,000,000	2,000,000	0
	退職給与積立預金支出	退職積立金	1,000,000	1,000,000	0
諸事業積立預金支出	諸事業 "	0	0	0	
名簿作製積立預金支出	名簿作製 "	1,000,000	1,000,000	0	
運営基金積立預金支出	運営基金 "	0	0	0	
Ⅳ 次期繰越収支差額	次期繰越収支差額	6,446,005	3,215,343	3,230,662	
		6,446,005	3,215,343	3,230,662	
	当期余剰金	6,446,005	3,215,343	3,230,662	
支 出 合 計			49,204,926	45,487,163	3,717,763

注：年度内支出（Ⅰ＋Ⅱ＋Ⅲ）58年度決算額 42,758,921円

58年度予算額 42,271,820円

予 算 書 (案)
(一 般 会 計)

(昭和59年4月1日から昭和60年3月31日まで)

1) 収入の部

単位：円

勘 定 科 目			予 算 額	前 年 度 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
I 基本財産運用収入			370,000	380,000	△ 10,000
	基本財産利息収入	利 息	370,000	380,000	△ 10,000
II 事業収入			2,210,000	2,010,000	200,000
	機関誌購読料収入	購 読 料	810,000	810,000	0
	“ 広告料収入	広 告 料	1,400,000	1,200,000	200,000
III 会費収入			21,252,000	21,350,000	△ 98,000
	正会員会費収入	正 会 員 会 費	18,952,000	18,400,000	552,000
	賛助会員会費収入	賛 助 会 員 会 費	2,300,000	2,950,000	△ 650,000
IV 助成金収入			100,000	100,000	0
	日本医学会助成金収入	医 学 会 助 成 金	100,000	100,000	0
V 負担金収入			4,000,000	3,500,000	500,000
	負担金収入	特 別 掲 載 料	4,000,000	3,500,000	500,000
VI 雑収入			1,930,000	2,280,000	△ 350,000
	受 取 利 息	利 息	1,900,000	2,250,000	△ 350,000
	雑 収 入	雑 収 入	30,000	30,000	0
VII 積立預金取崩収入			2,263,000	9,268,000	△7,005,000
	名簿作製積立預金取崩	名簿積立取崩	0	2,000,000	△2,000,000
	退職積立金取崩	退職積立金取崩	2,263,000	7,268,000	△5,005,000
VIII 前期繰越収支差額			6,446,005	6,599,163	△ 153,158
	前期繰越収支差額	前 期 繰 越 金	6,446,005	6,599,163	△ 153,158
収 入 合 計			38,571,005	45,487,163	△6,916,158

注：年度内収入（I～VII）

59年度予算額 32,125,000円

58年度予算額 38,888,000円

58年度決算額 42,605,763円

会費収入の内訳

(1) 正会員会費 計 18,952,000円

59年度会費 8,000円×2,121人=16,968,000円（会員数 2,652人，徴収率80%）

過年度会費 1,984,000円

58年度会費 8,000円×148人=1,184,000円（未納者 494人，徴収率30%）

57年度以前会費 800,000円（100人分）

(2) 賛助会員会費 計 2,300,000円（1口 100,000円）

12½口 1社（日本シエリング）1,250,000円

1口 10社（第一製薬，大日本製薬，山之内，サンド薬品，ミドリ十字，藤沢薬品，三共，
帝国臓器，塩野義，武田薬品）1,000,000円

½口 1社（エーザイ）50,000円

2) 支出の部

単位：円

勘定科目			予算額	前年度額	増減△
大科目	中科目	小科目			
I 事業費			18,052,800	20,116,000	△2,063,200
	総会委託費		1,550,000	1,630,000	△ 80,000
		総会補助金	1,000,000	1,000,000	0
		〃 諸経費	550,000	630,000	△ 80,000
	会誌発行費		13,350,000	13,340,000	10,000
		印刷費	11,500,000	11,500,000	0
		発送費	1,700,000	1,700,000	0
		編集費	150,000	140,000	10,000
	負担費		80,000	80,000	0
		I.F.F.S会費	80,000	80,000	0
	助成金支出		422,800	416,000	6,800
		支部運営費	422,800	416,000	6,800
	会議費		1,000,000	1,000,000	0
		委員会経費	1,000,000	1,000,000	0
	名簿作製費		0	2,000,000	△2,000,000
		名簿作製費	0	2,000,000	△2,000,000
	渉外費		1,000,000	1,000,000	0
		渉外費	1,000,000	1,000,000	0
	雑費		650,000	650,000	0
		雑費	650,000	650,000	0
II 管理費			11,915,720	20,155,820	△8,240,100
	給与手当		1,500,000	6,955,500	△5,455,500
		給与手当	1,500,000	6,955,500	△5,455,500
	臨時雇賃金		0	630,000	△ 630,000
		臨時雇賃金	0	630,000	△ 630,000
	福利厚生費		190,000	630,000	△ 440,000
		法定福利厚生費	150,000	550,000	△ 400,000
		福利厚生費	40,000	80,000	△ 40,000
	退職給与金		2,263,000	7,268,000	△5,005,000
		退職給与金	2,263,000	7,268,000	△5,005,000
	委託費		3,600,400	0	3,600,400
		業務委託費	3,600,400	0	3,600,400
	器具備品費		50,000	50,000	0
		器具備品費	50,000	50,000	0
	賃借料		2,017,320	2,017,320	0
		事務所費	1,789,320	1,789,320	0
		器具賃借料	228,000	228,000	0
	旅費交通費		100,000	800,000	△ 700,000
		旅費交通費	100,000	800,000	△ 700,000
	通信運搬費		750,000	750,000	0
		通信費	750,000	750,000	0
	印刷費		50,000	50,000	0
		印刷費	50,000	50,000	0

勘 定 科 目			予 算 額	前 年 度 額	増 減△
大 科 目	中 科 目	小 科 目			
Ⅲ 積立預金支出	消 耗 品 費		600,000	650,000	△ 50,000
		消 耗 品 費	600,000	650,000	△ 50,000
	修 繕 費		50,000	65,000	△ 15,000
		修 繕 費	50,000	65,000	△ 15,000
	会 議 費		30,000	30,000	0
		会 議 費	30,000	30,000	0
	諸 謝 金		175,000	175,000	0
		会 計 指 導 費	175,000	175,000	0
	租 税 公 課		10,000	5,000	5,000
		公 租 公 課	10,000	5,000	5,000
	慶 弔 費		30,000	30,000	0
		慶 弔 費	30,000	30,000	0
	雑 費		500,000	50,000	450,000
		雑 費	500,000	50,000	450,000
		1,000,000	2,000,000	△1,000,000	
	退職給与積立預金支出	退 職 積 立 金	0	1,000,000	△1,000,000
	諸事業積立預金支出	諸 事 業 積 立 金	0	0	0
	名簿作製積立預金支出	名 簿 作 製 "	1,000,000	1,000,000	0
	運営基金積立預金支出	運 営 基 金 "	0	0	0
Ⅳ 予 備 費			7,602,485	3,215,343	4,387,142
	予 備 費		7,602,485	3,215,343	4,387,142
		予 備 費	7,602,485	3,215,343	4,387,142
支 出 合 計			38,571,005	45,487,163	△6,916,158

注：年度内支出（Ⅰ＋Ⅱ＋Ⅲ）59年度予算額 30,968,520円

58年度予算額 42,271,820円

58年度決算額 42,758,921円

第29回日本不妊学会総会

..... 宿泊予約ご案内

この度の東京において開催されます総会にご出席の皆様方のご便宜をはかるため、(株)国際会議事務局が宿泊のお手伝いをさせていただくことになりました。

本学会が開催されます時期は都内のホテルが大変混雑しておりますのでお早目にお申込をお願い申し上げます。

(株)国際会議事務局
 第29回日本不妊学会総会係
 TEL 03 (272) 7077
 (担当 近藤・芦原)

○宿泊ホテル及び宿泊料金

センチュリー ハイアットホテル	シングル	1泊室料・税サービス料込	17,950円	大会会場
	ツイン	〃	※11,100円	
新宿 ワシントンホテル	シングル	1泊室料・税サービス料込	7,900円	大会会場より徒歩5分

※お一人当りの料金です。

○お申込み方法、締切期限及びお申込み送金先

下記宿泊申込み書にご記入のうえ、10月15日までにご送付下さい。

お申し込み金は、お手数でございますが同封振込用紙にて東京銀行丸の内支店、株式会社国際会議事務局普通預金口座（口座番号 0292591）宛お振込下さいますようお願い申し上げます。

<お申込み送付先>

〒103 東京都中央区日本橋 2-14-9 加商ビル 2F (株)国際会議事務局内 第29回日本不妊学会総会係宛（ご入金確認次第、ホテル予約確認票をご送付申し上げます）

○取 消 料

当日	前日	2日前	3日前	4日以前
80%	30%	10%	10%	事務費実費

※なお、11月15日（木）には、受精着床学会が開催されます。

..... き り と り 線

申込者	氏名		住 所	(〒)	TEL				
No.	宿 泊 者 氏 名 <small>ふりがな</small>	年齢	性別	希望(○で囲む)	宿 泊 日 (○を記入)				
					11/11	11/12	11/13	11/14	11/15
				シングル・ツイン					
				シングル・ツイン					
				シングル・ツイン					
				シングル・ツイン					
				シングル・ツイン					

第24回日本先天異常学会

期 日：昭和59年7月6日（金）・7日（土）

会 場：日本都市センター（東京都千代田区平河町2-4-1）

特別講演：「The Genetics of Hand Malformations Updated」

S. A. Temtamy 教授（エジプト）

シンポジウム：

1. 生殖毒性学の展望—とくに受精前から着床までの時期の処置による発生障害
2. 先天異常のモニタリング：現状と問題点
3. 外表奇形治療の現況

一般演題抄録用紙申込締切日：昭和59年3月31日（土）

一般演題申込締切日：昭和59年4月30日（月）

事務連絡先：〒105，東京都港区西新橋3-25-8，東京慈恵会医科大学形成外科学教室内，第24回日本先天異常学会総会準備室

Tel. 03-433-1111（内線3481，3487）

会長 丸 毛 英 二

（東京慈恵会医科大学 形成外科教授）

第2回日本受精着床学会の予告 (演題募集)

日 時：昭和59年11月15日 (木)

場 所：ホテルセンチュリー HYATT

〒160 東京都新宿区西新宿 2-7-2

TEL. 03 (349) 0111 (代表)

演題募集要領：

1. 官製ハガキ (書留郵便) でお送り下さい
 1. 演題名 (抄録不要)
 2. 講演者を筆頭に発表者の氏名, 所属
 3. 演題締切日 昭和59年6月30日必着
 4. 各演者には昭和59年7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7月31日締切予定) タイプ原稿として御提出下さい。
 5. 演題の採否については会長に一任させていただきます。

演題送付先：

〒173 東京都板橋区大谷口上町 30-1

日本大学医学部産科婦人科学教室内

第2回日本受精着床学会

高 木 繁 夫 宛

以上のような内容です。奮って御参加下さい。

第2回日本受精着床学会

会長 高 木 繁 夫

電話 03 (972) 8111 内線 2197~8

(担当：津端，長田)

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

Queen Charlotte 産院に於けるシンポジウム 開催のお知らせ

主 題： 不妊夫妻の治療

主 宰： ロンドン大学産婦人科

時： 1984年6月7日

参加費： £ 30

申込先： The Secretary, Institute of Obstetrics &
Gynaecology, Queen Charlotte's Maternity
Hospital, Goldhawk Road, London, W 6
OXG
ENGLAND

The American Association of
Gynecologic Laparoscopists will present :

THIRTEENTH ANNUAL MEETING
CLINICAL SYMPOSIUM ON GYNECOLOGIC ENDOSCOPY

November 7-11, 1984

MGM Grand Hotel

Las Vegas, Nevada

Practical, clinical, gynecologic endoscopy will be discussed by many of the world leaders.

Special Postgraduate Courses on the following subjects will be presented :

HYSTEROSCOPY
REPRODUCTIVE SURGERY
FRONTIERS OF STERILIZATION
LASERS

The latest, newest techniques and instrumentantation in gynecologic endoscopy and microsurgery will be discussed.

For informtion, call or write :

Jordan M. Phillips, M. D.

General Chairman

American Association of Gynecologic Laparoscopists

11239 South Lakewood Boulevard

Downey, California 90241

Phone : (213) 862-8181

COURSES & SYMPOSIA 1984

Institute of Obstetrics and Gynaecology : University of London

A	Clinical Study Day for Part II MRCOG	12th January 1984
B	Course for Part I MRCOG	23rd Jan-17 Feb 1984
C	Workshop : Neonatal Care in Developing Countries	9th March 1984
D	Symposium for Nurses : Modern Obstetrics for Midwives	15th March 1984
E	Symposium for Nurses : Aspects of Modern Neonatal Care	16th March 1984
F	Course in Neonatal Medicine	28th-30th March 1984
G	Symposium : Use of Computers in Cbstetrics (Joint meeting with British Obstetric Computer Soc)	6th April 1984
H	Course in real time ultrasound in obstetrics	9th-11th April 1984
I	Symposium : Aspects of Gynaecological Surgery	4th May 1984
J	Advanced Revision Course for Part II MRCOG	14th-25th May 1984
K	Symposium : The Management of the Infertile Couple: In- duction of ovulation, Endometriosis, Cervical factors, Tubal factors, Male factors, In-vitro fertilisation	7th June 1984
L	Symposium : Surgical Problems in the Newborn	8th June 1984
M	Course for Part I MRCOG	11th June-6th July 1984
N	Clinical Study Day for Part II MRCOG	12th July 1984
O	Symposium : Gynaecological Malignancy	21st September 1984
P	Symposium : (Reproductive Endocrinology)	17th September 1984
Q	Course in Real-time Ultrasound in Obstetrics	1st-3rd October 1984
R	Symposium : The Management of Haematological Problems in Obstetrics	5th October 1984
S	Teach-in for Senior Registrars (O & G)	8th-12th October 1984
T	Symposium : Update on Prostaglandins	2nd November 1984
U	Advanced Revision course for Part II MRCOG	5th-16th November 1984
V	Course in Obstetric Anaesthesia and Analgesia	21st-23rd November 1984
W	Symposium for Nurses : Modern Obtetrics for Midwives	29th November 1984
X	Symposium for nurses : Aspects of Modern Neonatal Care	30th November 1984
Y	Symposium : The Baby under 1000g	14th December 1984

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は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2号

昭和59年3月25日印刷
昭和59年4月1日発行

編集兼 発行者	芦原慶子
印刷者	中村清雄
印刷所	東京都品川区上大崎3-12-15 一ツ橋印刷株式会社
発行所	東京都品川区上大崎3-12-15 社団法人 日本不妊学会 東京都新宿区 市ケ谷砂土原町1丁目1番 保健会館別館内 Tel (03) 267-4635 振替口座番号 東京 7-93207