

# 日本不妊学会雑誌

第 29 卷

第 3 号

昭和 59 年 7 月 1 日

## — 目 次 —

会 告  
原 著

LH-RH によるマウスの過排卵誘起に関する研究……………金山喜一・他…1  
 PMSG 投与成熟ラットにおけるペントバルビタール  
 処理による LH 放出の抑制……………利部 聡・他…7  
 幼若期停留精巢作成ラットにおける  
 視床下部—下垂体—性腺系の変化 (第 1 報)  
 精巢組織学的所見……………石田規雄…11  
 男子不妊症の内分泌学的研究  
 I. 精子数と血中ホルモンとの関係……………伊藤晴夫・他…22  
 健康成人男子 254 人の精液所見および頻回射精による  
 副睾丸精管吻合術: その臨床的検討……………生垣舜二・他…29  
 Organic Obstructive azoospermia 11 症例に対する  
 精液所見変動に関する検討……………吉田謙一郎・他…38  
 特発性男性不妊に対する hMG-hCG 併用療法の臨床評価……………羽間 稔・他…43  
 AIH によつて妊娠に成功した逆行性射精の 1 例……………鎌田周作・他…52  
 男子不妊症の臨床統計学的検討……………石川博通・他…57  
 着床周辺期における家兔子宮内膜の Prostaglandin F  
 産生, 放出動態……………笠茂光範・他…64  
 着床周辺期における家兔 blastocyst の Prostaglandin F  
 産生, 放出動態……………笠茂光範・他…71  
 遅延排卵症の内分泌学的背景と治療成績……………山下三郎・他…76  
 高プロラクチン血症の臨床的研究—分類と下垂体機能について……………福田 勝・他…82  
 BBT 高温相持続期間と血中 progesterone 値……………宮内文久・他…88  
 Etiology Luteal Insufficiency (Hyposecretion of Progesterone)  
 in Relation with BBT Patterns……………T. KANO・他…92  
 無月経環境時の random sampling による  
 スクリーニング測定値の臨床評価 その 2 血中 setrogen 値……………中居光生・他…97  
 Positive Feedback of Estrogen in Amenorrhoeic  
 Women Without LH Pulse……………T. YAGINUMA・他…104  
 精子・頸管粘液貫通試験モデルを使用した  
 頸管粘液貫通精子と不妊症の関連……………桃野耕太郎・他…110  
 当科における高年不妊患者の実態について……………高橋正明・他…118  
 当科における最近 5 年間の不妊症の臨床統計……………山本 弘・他…122  
 地方部会……………128

## 日本不妊学会役員

理事長	松本清一	
副理事長	佐久間勇次 (編集・渉外)	石神襄次 (組織)
	木下佐 (庶務・会計)	
理事	飯塚理八 (編集・庶務)	石島芳郎 (組織・編集)
	磯島晋三	蘭守龍雄 (渉外・会計)
	黒田一秀	坂元正一 (渉外・組織)
	島崎淳 (渉外・庶務)	鈴木雅洲
	高木繁夫 (庶務・会計)	西田悦郎
	中野仁雄	蜂屋祥一 (会計・組織)
	森崇英	森一郎
	八神喜昭	和久正良 (編集・会計)
監事	高井修道	塩島令儀
	中條誠一	
代表幹事	荒井清 (庶務・渉外)	
幹事	味香勝也 (編集・渉外)	赤祖父一知
	伊藤晴夫 (会計・渉外)	入谷明
	尾上敏一	岡田清巳 (庶務・組織)
	鎌田正晴	楠原浩二 (会計)
	小林俊文 (編集)	玉田太朗 (庶務・組織)
	田中昭一	津端捷夫 (庶務・会計)
	西村隆一 (編集)	百目鬼郁男 (会計・編集)
	平野睦男	水野正彦 (渉外)
	水野金一郎	毛利秀雄 (庶務・渉外)
	百瀬和夫 (編集)	守殿貞夫



## 第29回日本不妊学会総会および 学術講演会予告（第3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致します。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〕

招請講演，特別講演，シンポジウムについての詳細および一般演題の申込み要領は日本不妊学会誌第29巻2号に掲載されております。なお一般演題の申込み締切は昭和59年7月23日（必着）です。

昭和59年7月

第29回日本不妊学会

会 長 高 木 繁 夫

# Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 29, No. 3, 1984)

Japanese Society of Fertility and Sterility

## CONTENTS

- Studies on Superovulation in Mice by Administration of LH-RH Preparations  
.....*K. Kanayama, T. Endo, G. Kobayashi & Y. Sakuma* .... 1
- The Inhibition of LH Discharge by Pentobarbital Administration in Adult  
Rats Priming with PMSG .....*S. Kagabu & M. Umezu* .... 7
- Alterations in the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal function in Cryptorchidism  
Developed in Immature Rats. I. Histological Findings .....*N. Ishida* ....11
- Endocrinological Study on Male Infertility  
I. Relationship between Sperm Density and Serum Bormones  
.....*H. Ito, K. Kawamura, Z. Kataumi, H. Sumiya,*  
*H. Fuse, H. Minagawa & J. Shimazaki* ....22
- Studies on Seminal Characteristics Obtained from 254 Healthy  
Young Adults and Effects of Frequent Ejaculation on Seminal Quality  
.....*S. Ikegaki, H. Maruta, K. Ohno & Y. Kumamoto* ....29
- Clinical Studies of Epididymovasostomy for Eleven Patients Associated with  
Organic Obstructive Azoospermia.....*K. Yoshida,*  
*Y. Nakame, F. Kaneoya, T. Negishi & Y. Uchizima* ....38
- Clinical Evaluation of hMG-hCG Combined Treatment in Idiopathic  
Male Infertility .....*M. Hazama, S. Kamidono,*  
*J. Ishigami, Y. Kumamoto, H. Maruta, K. Ohno,*  
*K. Shida, H. Yamanaka, H. Oshima, T. Negishi,*  
*S. Takeuchi, K. Imamura, H. Yoshida & K. Isurugi* ....43
- A Case of Retrograde Ejaculation Whose Wife Conceived by  
AIH.....*S. Kamata, H. Kitada, T. Yaguchi,*  
*M. Ohara, M. Ichimura, H. Otsuka & M. Kanamura* ....52
- Clinico-statistical Study on Male Infertility .....*H. Ishikawa,*  
*A. Aikawa, H. Takeshima, Y. Koyama & S. Nakamura* ....57
- Synthesis and Release of Prostaglandin F by the Rabbit Uterine Endometrium  
during Periimplantion Period .....*M. Kasamo,*  
*M. Ishikawa, K. Sengoku, K. Yamashita & T. Shimizu* ....64

Synthesis and Release of Prostaglandin F by the Rabbit Blastocyst during Periimplantation Period .....	<i>M. Kasamo, M. Ishikama, K. Sengoku, K. Yamashita &amp; T. Shimizu</i> ....	71
Endocrinological Profile and Treatment for Patients with Delayed Ovulation .....	<i>S. Yamashita, T. Ito, H. Nomiyama, F. Michigami &amp; T. Torigoe</i> ....	76
A Clinical of Hyperprolactinemia —Variety of Causes and Results of Pituitary Function .....	<i>M. Fukuda, H. Hirayama, T. Sagesaka, A. Teida, T. Okuyama &amp; H. Furuya</i> ....	82
The Relationship between the Duration of the Luteal Phase and Serum Progesterone Level .....	<i>F. Miyauchi, K. Ueda, H. Yamashita, T. Mano, H. Tamaru, K. Nanjo, H. Noguchi, A. Akita, T. Kuramoto, A. Yakabe, H. Kato &amp; T. Torigoe</i> ....	88
Etiology of Luteal Insufficiency (Hyposecretion of Progesterone) in Relation with BBT Patterns .....	<i>T. Kano, K. Nishikawa, Y. Kurobe &amp; K. Ishii</i> ....	92
Clinical Evaluation of Single, Random Measurements of Serum Estrogens in Patients with Anovulatory Disturbances .....	<i>M. Nakai, T. Majima, H. Tatsumi &amp; M. Arai</i> ....	97
Positive Feedback of Estrogen in Amenorrhic Woman without LH Pulse .....	<i>T. Yaginuma, T. Takechi, O. Nishii, T. Okamura &amp; T. Kobayashi</i> ....	104
<i>In Vitro</i> Study of Human Spermatozoa after Passage through Cervical Mucus; New Sperm-cervical Mucus Penetration Test .....	<i>K. Momono, K. Hoshi, A. Saito, K. Kyono, A. Tsuiki, H. Hoshiai &amp; M. Suzuki</i> ....	110
Clinical Features of the Elderly Infertile Women in Our Fertility Clinic .....	<i>M. Takahashi, M. Ito &amp; K. Kometani</i> ....	118
Clinic in the Past Five Years Statistical Study of Our Infertile .....	<i>H. Yamamoto, T. Endo, H. Hata, M. Fujii, Y. Shimoya, A. Azumaguchi, T. Sato, S. Tanaka &amp; M. Hashimoto</i> ....	122

# LH-RH によるマウスの過排卵誘起に関する研究

## Studies on Superovulation in Mice by Administration of LH-RH Preparations

日本大学農獣医学部獣医生理学教室

金山喜一 遠藤克 小林軍次郎  
Kiichi KANAYAMA Tuyoshi ENDO Gunjiro KOBAYASHI  
佐久間勇次  
Yuzi SAKUMA

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

LH-RH を用いてマウスの過排卵誘起を試みた。雌性哺乳動物では、LH サージと一致して FSH の大量放出が開始されることが知られている。さらに誘起排卵時の FSH の大量放出が次回発情のための卵胞発育に関与していることを示唆する成績、また、排卵時の下垂体は LH-RH に対して FSH 放出活性が高くなることが報告されている。

上記の知見を参考にして、8週齢のマウスを用い、HCG 5iu を投与し (day 0)、FSH の大量放出を考慮して LH-RH を day 0~day 1 の種々の時間帯に、投与回数を変えて1回あたり 0.025  $\mu$ g を皮下投与した。排卵検査は day 2 または day 3 に HCG 5iu を投与して、翌日に卵管膨大部内の卵子を検索し、その卵子数を排卵数とした。

その結果、LH-RH の1回みの投与では排卵数の増加はほとんど認められなかったが、LH-RH を長時間にわたって3~5回投与した試験区において排卵数の増加を認めた。今回の実験で最も良好な成績の得られた試験区は LH-RH を day 0 の22時、day 1 の2, 6, 10, 14時の5回にわたり投与し、day 2 の17時に排卵誘起のための HCG を投与した場合で22.4個の平均排卵数が得られた。

以上のように、視床下部ホルモンである LH-RH の投与によつて卵胞を発育させ、過排卵を誘起できることをマウスを用いて明らかにした。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 273-278, 1984)

### 緒言

過排卵の誘起には、生体に FSH または FSH 様作用を持つホルモンを投与することによつて卵巣に多数の卵胞を発育させ、さらに LH または LH 様作用を持つホルモンを投与して成熟した卵胞を排卵に導く方法がとられている<sup>1)</sup>。家畜および実験動物における過排卵誘起を目的とした卵胞の発育処理方法には、FSH または入手容易な PMSG が多用されている。また、産婦人科領域で卵胞発育障害の婦人に投与されている HMG が実験動物の過排卵誘起にも応用できることが最近になつて

報告されている<sup>2)</sup>。このように、過排卵誘起を目的とした卵胞の発育処理には FSH あるいは FSH 様作用を持つ PMSG, HMG の投与によりなされており、これらの性腺刺激ホルモン以外の物質の投与によつて多数の卵胞を発育させた報告はまだ見当たらない。そこで、著者らは視床下部ホルモンである LH-RH を用いてマウスの過排卵誘起を試みた。

近年、RIA 法の確立により性周期に伴う血中 FSH の動態が解明できるようになり、雌性哺乳動物では排卵の前後に特異的な大量放出があることが明らかにされた<sup>3)</sup>。この排卵前後の FSH の大量放出は、黄体相を欠

いた不完全性周期を示す動物においては次回の発情における排卵数を決定する要因になっていることを示唆する成績が、ハムスター<sup>4)</sup>・ラット<sup>5)</sup>において報告されている。さらに FSH の大量放出は、自然排卵時のみでなく、誘起排卵時においても認められており<sup>5,6)</sup>、誘起排卵時においては、下垂体は LH-RH によつて FSH 放出活性が著しく高くなる<sup>7)</sup>ことが報告されている。

そこで著者らは以上の知見から、LH-RH を投与することにより過排卵を誘起することが可能であるかも知れないと考え、マウスを用いて試行的実験を行った。その結果、マウスにおいて LH-RH の投与により過排卵を誘起できることが明らかとなつたので、その成績を報告する。

### 実験材料および方法

供試動物は、ddY 系の未経産マウスで 8~9 週齢のものを用いた。飼育条件は人工照明で午前 5 時~午後 7 時までの 14 時間点灯とし、水と固型飼料は不断に給与した。著者ら<sup>7)</sup>は、マウスにおいては性周期を考慮しなくても HCG 5iu を投与することによつて排卵を誘起できることを認めている。そこで本実験では、供試マウスの性周期を特に考慮しないで 17 時に排卵誘起のため HCG 5iu を投与し、この日を day 0 とした。

次いで、排卵前後における FSH の大量放出を考慮して試行的に LH-RH を day 0~day 1 の種々の時間帯に投与回数を変えてマウスに投与した。これらの詳細は Table 1 および Table 2 に示した通りである。LH-RH の投与量は、Okamoto & Nobunaga<sup>8)</sup> の誘起排卵における成績を参考に、今回は 1 回量として 0.025 $\mu$ g とし

た。LH-RH 製剤は、アナログの酢酸フェルチレン製剤、コンセラル (武田薬品工業) を用い、投与方法は皮下注射とした。

排卵検査は day 3 (実験 I) または day 2 (実験 II) の 17 時に 5iu の HCG を皮下注射し、24 時間目にマウスを開腹して顕微鏡下で卵管膨大部内の卵子を算定し、これを排卵数とみなした。

### 実験成績

FSH の大量放出を引き出すことを目的として投与した HCG と、排卵検査のために投与した HCG との投与間隔を 72 時間とした試験群 (実験 I) の成績を Table 1 に示した。この試験群では LH-RH を投与しない対照区の平均排卵数が 12.9 個であつた。LH-RH 投与群では第 1~第 6 試験区のいずれも平均排卵数が対照区よりは多かつたが、最も良好な成績が得られ対照区と有意差 ( $p < 0.01$ ) の認められた第 3 試験区においても平均排卵数は 18.2 個であつた。また、LH-RH の投与回数が 1 回のみ第 5 および第 6 試験区では平均排卵数は対照区とほとんど同様な成績であつた。このように実験 I においては著者らの設定した時間帯に LH-RH を投与した場合、平均排卵数が 20 を越える試験区は認められなかつた。平均卵巣重量においては、対照区と LH-RH 投与区の間に一定の傾向は認められなかつた。一方、平均子宮重量においては、LH-RH 投与区で重量が増加する傾向にあり、特に day 1 の午後におつた LH-RH を投与した試験区においてその傾向が認められた。

HCG の投与間隔を 48 時間と、実験 I より 24 時間短縮した試験群 (実験 II) の成績は Table 2 に示した。こ

Table 1 Ovulation response induced by LH-RH and followed HCG given at 72 hrs. after pre-treatment of HCG

Group No.	Time of LH-RH treatment*	No. of mice examined	No. of mice ovulating	Ave. No. of ova per mice ovulating $\pm$ S.D.	Ave. weight of ovaries $\pm$ S.D. (mg)	Ave. weight of uteri S.D. $\pm$ (mg)
Control		11	11	12.9 $\pm$ 2.5	22.5 $\pm$ 2.4	79.3 $\pm$ 16.0
1	Day 0 22:00 Day 1 0:00, 2:00, 4:00	14	14	14.1 $\pm$ 3.9	20.3 $\pm$ 5.8	82.7 $\pm$ 7.5
2	Day 0 22:00 Day 1 2:00, 6:00	14	14	14.0 $\pm$ 3.9	23.0 $\pm$ 6.2	80.6 $\pm$ 15.5
3	Day 0 22:00 Day 1 2:00, 6:00, 10:00, 14:00	15	15	18.2 $\pm$ 5.6	22.3 $\pm$ 7.4	87.9 $\pm$ 12.3
4	Day 1 4:00, 6:00, 8:00, 10:00	14	14	14.0 $\pm$ 6.4	18.9 $\pm$ 6.7	89.6 $\pm$ 19.5
5	Day 1 0:00	16	15	13.4 $\pm$ 4.2	19.8 $\pm$ 5.6	79.8 $\pm$ 14.1
6	Day 1 6:00	14	14	13.6 $\pm$ 5.0	21.5 $\pm$ 4.7	81.1 $\pm$ 10.5

\* Day 0: The day of pre-treatment of HCG

Table 2 Ovulation response induced by LH-RH and followed HCG given at 48 hrs. after pre-treatment of HCG

Group No.	Time of LH-RH treatment*	No. of mice examined	No. of mice ovulating	Ave. No. of ova per mice ovulating $\pm$ S.D.	Ave. weight of ovaries $\pm$ S.D. (mg)	Ave. weight of uteri $\pm$ S.D. (mg)
Control		25	25	14.2 $\pm$ 6.5	17.8 $\pm$ 4.2	80.0 $\pm$ 17.9
1	Day 1 0:00	14	14	14.9 $\pm$ 7.0	16.6 $\pm$ 4.8	81.1 $\pm$ 16.4
2	Day 1 2:00	14	14	15.4 $\pm$ 5.6	17.9 $\pm$ 5.9	78.5 $\pm$ 15.1
3	Day 1 4:00	14	13	16.8 $\pm$ 7.3	16.8 $\pm$ 5.1	79.4 $\pm$ 24.8
4	Day 1 6:00	12	12	16.4 $\pm$ 6.4	17.2 $\pm$ 6.2	80.3 $\pm$ 18.2
5	Day 0 22:00 Day 1 0:00, 2:00, 4:00, 6:00	18	18	17.2 $\pm$ 6.0	20.7 $\pm$ 5.7	80.7 $\pm$ 16.0
6	Day 1 22:00 Day 1 2:00, 6:00, 10:00, 14:00	18	18	22.4 $\pm$ 6.6	25.6 $\pm$ 7.3	85.4 $\pm$ 16.1

\* Day 0: The day of pre-treatment of HCG

の試験群における対照区の平均排卵数は14.2個であり、LH-RH 投与群の成績は実験 I と同様にいずれの試験区においても対照区の成績を上回っていた。LH-RH の単一投与の第1, 2, 3, 4 試験区においては、平均排卵数が17個以下であったが、LH-RH を長時間にわたって複数回投与することにより排卵数の増加が認められた。特に day 0 の22時から翌日の14時までの16時間にわたって LH-RH を5回投与した第6試験区では平均排卵数が22個を越える良好な成績が得られた。この成績は対照区、第1, 2 試験区と  $p < 0.01$  で、また第3, 4, 5 試験区と  $p < 0.05$  で有意差を認めた。さらに、この第6試験区では、卵巣および子宮の平均重量は実験 II において最も高い値を示した。

以上のように、実験 I および実験 II で試行的に設けた12試験区のなかで、対照区に比べ平均排卵数に有意 ( $p < 0.01$ ) な増加がみられたのは実験 I の第3試験区と実験 II の第6試験区であった。特に実験 II の第6試験区の成績は過排卵が誘起されていると十分にみなすことのできる<sup>1)</sup> 22.4個という良好な成績であった。

### 考 察

下垂体前葉から分泌される LH および FSH は両者とも視床下部ホルモンである LH-RH によつて支配・調節がなされているということがかなり以前から Haris および小林によつて推察されていた<sup>9)</sup>。その後、1971年に LH-RH の構造が明らかにされ<sup>10)</sup>、LH-RH は下垂体に対して LH を放出するばかりではなく、同時に FSH の放出作用をも有していることが明らかとなった<sup>11)</sup>。しかし、FSH-RH の存在が全く否定されたわけではなく、性現象にともなう LH と FSH の変動が必

ずしも一致しないなどの理由により、一部の研究者によつて FSH-RH の存在の追求がなされてきた。Igarashi and McCann<sup>12)</sup>、Johemssor ら<sup>13)</sup>、Currie ら<sup>14)</sup>、Bowers ら<sup>15)</sup> は FSH-RH の存在を報告しているが、現在のところ、その化学構造は不明である。しかし、FSH-RH の存在のいかんにかかわらず、LH-RH が下垂体の FSH 分泌を調節している因子の一つであることは多くの研究者<sup>11, 17-19)</sup>により明らかにされている。

排卵前後の下垂体は LH-RH に対して FSH 放出活性が著しく亢進していることが知られている<sup>6)</sup>。また、黄体相を欠いた不完全性周期を示す動物においては、排卵前後の FSH の大量放出が次の発情における排卵数を決定していることを示唆する成績<sup>4, 5)</sup> が報告されている。

これらのことから、著者らが試みた LH-RH の投与によるマウスの過排卵誘起の作用機序は下垂体前葉からの FSH の分泌亢進に基づくものであると推察される。

家畜および実験動物の過排卵誘起は、その卵胞発育処理に古くはウマ・ヒツジ・ウシなどの下垂体前葉製剤が用いられていたが、現在では PMSG 製剤や FSH 製剤などの GTH が多用されている<sup>1)</sup>。また、ごく最近になつて、マウスに HMG を投与して過排卵が誘起された成績<sup>2)</sup>、およびラットの過排卵を下垂体の腎被膜下移植によつて誘起した報告<sup>16)</sup>がなされている。実験動物における過排卵誘起の方法は歴史的に考察して上述のごときものであつて、これら以外の方法による過排卵誘起の報告はまだ見当たらない。

今回の著者らの成績は、視床下部ホルモンである LH-RH 製剤を用いてマウスの過排卵誘起に初めて成功したものであり、新しい過排卵誘起の方法として意義の

ある成果であると考えられる。すなわち、LH-RH の投与により下垂体から LH を放出させ、排卵を誘起できることは著者らもすでに明らかにしている<sup>17)</sup>が、LH-RH の投与により過排卵を誘起するのに十分な多数の卵胞を发育させ得ることを初めて示した成績である。なお、LH-RH は哺乳動物だけではなく両生類の排精反応にも有効であること<sup>18)</sup>を著者らは明らかにしている。

本実験において、下垂体が LH-RH に対して FSH 放出活性が亢進している排卵時においても Table 1 および Table 2 に示すように、LH-RH の一回だけの投与では排卵数の増加は認められなかった。Arimura ら<sup>19)</sup> および Debeljuk ら<sup>20)</sup>は、未成熟雄ラットを用いて LH-RH に対する血中 FSH の変動を調べた結果、長時間にわたって連続して LH-RH を静脈内に投与すると血中 FSH 量は著しく上昇することを認めている。また、さらに Wise ら<sup>21)</sup>は、成熟雌ラットを用いて発情前期の正午に phenobarbital を投与して GTH サージをブロックしてにおいて、LH-RH を投与しその後の血中 FSH の変動について詳細な検討を行なっている。それによると LH-RH を静脈内に投与する際に、2回に分けて持続的に投与する方法で血中 FSH 量を対照区の約6倍に上昇させることを明らかにしている。

著者らの実験では、LH-RH の一回のみの投与においては、設定したどの時刻に投与した場合でも排卵数の増加はほとんど認められなかった。しかし、LH-RH を長時間にわたって3~5回投与した試験区において排卵数は増加し、良好な過排卵誘起の成績が得られた。このように、すでに報告されている LH-RH の投与方法による血中 FSH 量の変動<sup>19-21)</sup>と著者らの行なった実験成績、すなわち排卵数とはよく一致していると言える。

以上のことから、本実験の成績はマウスの血中 FSH 量を反映して過排卵が誘起されたものと推測することができる。今後、著者らの行なった実験において排卵数と血中 FSH 量との関連性をさらに追求しておく必要があると思われる。

LH-RH の生体内代謝時間については、ラットにアイソトープで標識した LH-RH を静脈内に投与した場合、その血中半減期は5~10分であるとされている<sup>22,23)</sup>。LH-RH を生体に投与して血中 FSH 量の上昇を観察した報告<sup>19-21)</sup>では、いずれも LH-RH を長時間にわたって持続的に投与している。著者らの実験においても下垂体が LH-RH に対して FSH 放出活性が亢進している時期においてさえ、LH-RH の一回のみの投与では排卵数の増加は認められていない。これらの事実の背景には、LH-RH の生体内代謝時間が極めて速やかであることがその理由として推察され、LH-RH の投与により過

排卵を誘起する場合にはそれを持続的に投与するか、あるいは複数回にわたって投与することが必要であると考えられる。

本実験において、実験Ⅰと実験Ⅱの成績を比較すると、排卵検査を24時間早く行なった実験Ⅱのほうが良好な成績が得られている。特に実験Ⅰの第3試験区と実験Ⅱの第6試験区は LH-RH の投与方法(時間帯)が同じであるが、平均排卵数には4個以上もの差があることを認めている。このことは、LH-RH の投与により生理的範囲を越えて发育した卵胞を内因性の FSH 量で維持しきれず、24時間のうちに卵胞の退行・閉鎖をまねき排卵に至らない卵胞が生じたものと著者らは推察している。また、マウスの過排卵誘起に LH-RH を応用した本実験では、发育してきた卵胞からのインヒビンにより FSH 分泌に干渉がおよぶことも考えられ、PMSG のように卵巣に直接に作用する GTH とは異なり、发育卵胞数には限界が存在する可能性もあると推察される。

この LH-RH によるマウスの過排卵誘起の実験を開始した動機は、家畜における過排卵誘起を目的としたものである。産業家畜において広く行なわれている胚移植を目的とした過排卵誘起において優秀な雌畜に反復して過排卵誘起を行なつて胚を採取しているが、GTH に対する抗体の産生、卵巣の疲労などのために過排卵処理を反復すると排卵数の急激な減少をきたす。たとえばウシにおいては PMSG で過排卵を誘起する場合、年に3回程度の処理が限界であるとされており、胚の採取の大きな障害となっている。そこで、著者らが LH-RH を用いてマウスで過排卵誘起に成功した方法を家畜に応用することによって、反復過排卵誘起における排卵数の向上が期待され、優秀な雌から連続して胚を採取できる可能性が示唆されたものと考えられる。

以上のように、視床下部ホルモンである LH-RH を用いて過排卵誘起が可能であることがマウスを用いた著者らの実験により明らかになった。なお、著者らは引き続きマウスの過排卵誘起における LH-RH の投与量、投与時間帯の至適条件、ならびに反復処理した場合の排卵反応などについてさらに検討中である。

## 文 献

- 1) 佐久間勇次, 石島芳郎: 哺乳動物の卵子(7) 畜産の研究, 29(7):1003, 1975.
- 2) 伊藤雅夫, 橋詰良一: HMG 投与によるマウスの過排卵誘起, 日畜会第73回大会要旨, 91, 1982.
- 3) 笹本修司: 排卵前後の FSH 放出について, 卵巣 inhibin との関連, 家畜繁殖誌, 26(5) (別輯19号): 10, 1980.

- 4) Chappel, S. C. and Selker, F.: Relation between the secretion of FSH during the periovulatory period and ovulation during the next cycle. *Biol. Reprod.*, 21 : 347, 1979.
- 5) Sasamoto, S., Harada, S. and Taya, K.: Selective release of follicle-stimulating hormone during the period of ovulation induced by human chorionic gonadotrophin in dioestrous rats. *J. Endocr.*, 75 : 179, 1977.
- 6) Sasamoto, S. and Taya, K.: Mechanism of the selective surge of follicle-stimulating hormone in dioestrus rats during the induction of ovulation by human chorionic gonadotrophin. *J. Endocr.*, 86 : 489, 1980.
- 7) 金山喜一, 遠藤 克, 佐久間勇次: 反復過排卵誘起による排卵反応低下要因の解析—I, マウスの反復誘起排卵における排卵反応, 日大農獣報, 40 : 45, 1983.
- 8) Okamoto, M. T. and Nobunaga, T.: Induction of ovulation by synthetic luteinizing hormone releasing factor (LH-RF) in various stages of 4-day cyclic rats and mice. *Endocrinol. Japon.*, 20(6) : 619, 1973.
- 9) 五十嵐正雄, 矢崎克巳, 長谷川喜久, 宮本 薫, 水沼英樹, 清宮俊春, 矢崎千秋, 峯岸 敬, 谷口雄一, 山田清彦, 安藤昭彦, 松尾寿之, 寒川賢治: 下垂体前葉からの LH, FSH の制御機構, ホと臨床, 28 : 383, 1980.
- 10) Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. M. G., Arimura, A. and Schally, A. V.: Structure of the porcine LH-and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43 : 1334, 1971.
- 11) Schally, A. V., Arimura, A., Kastin, A. J., Matsuo, H., Baba, Y., Redding, T. W., Nair, R. M. G. and Debeljuk, L.: Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *Science.*, 173 : 1036, 1971.
- 12) Igarashi, M. and McCann, S. M.: A hypothalamic follicle stimulating hormone-releasing factor. *Endocrinology*, 74 : 446, 1964.
- 13) Johansson, K. N. G., Currie, B. L. and Folkers, K.: Biosynthesis and evidence for the existence of the follicle stimulating hormone releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 50 : 8, 1973.
- 14) Currie, B. L., Johansson, K. N. G. and Folkers, K.: On the chemical existence and partial purification of the hypothalamic follicle stimulating hormone releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 50 : 14, 1973.
- 15) Bowers, C. Y.: Biological evidence that separate hypothalamic hormones release the follicle stimulating and luteinizing hormones. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 50 : 20, 1973.
- 16) Sameshima, H., Taya, K. and Etoh, T.: Superovulation induced by a single pituitary gland transplanted beneath the kidney capsule in adult rats. *J. Endocr.*, 94 : 339, 1982.
- 17) Sato, K. and Sakuma, Y.: Induction of ovulation in the rabbit by synthetic LH-RH. *J. Tokyo Vet. Zootechn. Sci.*, 28 : 31, 1980.
- 18) 佐久間勇次, 金山喜一, 矢部勝弘, 浜田光磨, 遠藤 克: 雄ガエルの排精反応による PMSG, HCG, LH-RH の簡易生物学的検定, 東京獣畜誌, 31 : 7, 1983.
- 19) Arimura, A., Debeljuk, L. and Schally, A. V.: Stimulation of FSH release in vivo by prolonged infusion of synthetic LH-RH. *Endocrinology.*, 91 (2) : 529, 1972.
- 20) Debeljuk, L., Arimura, A. and Schally, A. V.: Stimulation of release of FSH and LH by infusion of LH-RH and some of its analogues. *Neuroendocrinology.*, 11 : 130, 1973.
- 21) Wise, P. M., Rance, N., Barr, G. D. and Barraclough, C. A.: Further evidence that luteinizing hormone-releasing hormone also is follicle-stimulating hormone-releasing hormone. *Endocrinology.*, 104(4) : 940, 1979.
- 22) Redding, T. W. and Schally, A. V.: The distribution, half-life, and excretion of tritiated luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in rats. *Life Sciences.*, 12 : 23, 1973.
- 23) Miyachi, Y., Mecklenburg, R. S., Hansen, J. W. and Lipsett, M. B.: Metabolism of <sup>125</sup>I-luteinizing hormone-releasing hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37 : 63, 1973.

## Studies on Superovulation in Mice by Administration of LH-RH Preparations

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

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

Superovulation is usually achieved by administration of gonadotropins such as PMSG and HCG. We have been studying superovulation induced by analogs of LH-RH which is thought to mediate FSH release. It is established that in female mammals a large quantity of FSH is released concurrently with LH surge and it



plays a role in the follicular growth for the following estrus. A high FSH releasing activity of the pituitary in response to LH-RH during ovulation has been reported. In view of the results mentioned, we tried to induce superovulation by LH-RH in mice. Primiparous mice of ddY strain aged 8 to 9 weeks were used. 5 IU of HCG were given at 17:00 irrespective of the estrous cycle (day 0) and then, an analog of LH-RH  $0.025\mu\text{g}$  subcutaneously at a different time of day 0 to day 1. 5 IU of HCG was injected again subcutaneously to make sure the ovulation at 17:00 on day 2 or day 3. Number

of ova in the ampulla was counted microscopically 24hrs. after the HCG injection. When LH-RH was given several times concurrently with the abundant release of FSH at the time of ovulation, the number of ova from the following ovulation nearly doubled compared with the control. The best result was obtained by the administration of  $.025\mu\text{g}$  of LH-RH at 22:00 on day 0 and at 2:00, 6:00, 10:00 and 14:00 on day 1 and HCG on day 2 again. An average number of ova shed was 22.4. These results show that superovulation can be induced by LH-RH in mice.

(受付：昭和58年11月28日)

# PMSG 投与成熟ラットにおけるペントバルビタール 処理による LH 放出の抑制

The Inhibition of LH Discharge by Pentobarbital  
Administration in Adult Rats Priming with PMSG

山口大学農学部家畜臨床繁殖学教室

利 部 聡

Satosi KAGABU

Department of veterinary science, Faculty of  
Agriculture, Yamaguchi University

東北大学農学部家畜繁殖学教室

梅 津 元 昭

Motoaki UMEZU

Laboratory of animal reproduction, Department of animal  
science, Faculty of Agriculture, Tohoku University

---

PMSG を投与した成熟ラットの血中 LH 量がペントバルビタール (PB) 処理で、どのように変化するかを経時的に測定し次の結果を得た。

1. PMSG 40iu を発情後期日に投与すると、発情前期日における LH 量は一時的に増加し、低いながらもピークを形成した。
2. PB を PMSG 投与ラットの発情前期日の 13:00 または 14:00 に投与すると、ピークは消失した。一方、無処理ラットにおいても同時刻の PB 投与でピークが消失したので、“臨界期”は PMSG 投与によって影響されないことが認められた。
3. これらの結果から、PB の過排卵処理ラットの排卵数増加には LH 放出抑制が後の hCG 処理効果を最大限に発揮させることが判った。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 279-282, 1984)

---

## 緒 言

4日周期を示す成熟ラットに PMSG を多量投与すると大型卵胞数は処理後3日目の予定発情期日に最高値に達するが、その時期に hCG の投与により排卵数は増加しないこと、およびペントバルビタール前処理後に hCG を投与することにより、排卵数は通常の過排卵卵子数の2倍に増加することを前報において報告した<sup>1)</sup>。そのなかで、ペントバルビタールの LH 放出抑制により内因性 LH に大型卵胞が出会わないことが、hCG 投与効果を最大限に発揮できるものと考えられた。しかしながら

前報では血中の LH の測定を行っていなかったため、PMSG 投与ラットとの血中 LH 量の推移を調べるとともに、ペントバルビタールによつて LH 放出が抑制されるか否かを検索した。

## 材料と方法

### 実験 1. 無処理ラットの血中 LH 量

実験には Wistar-Imamichi 系のラットを使用し、人工昼夜 (07:00~21:00 時点灯) 下で飼育した生後12~13週齢で、正常な4日型発情周期を2回以上繰返した健康なものである。

発情前期の13:00時および15:00時, 17:30時, 19:00時, 21:00時, 24:00時, 発情期日の10:00時に頸動静脈より採血した。冷却遠心機により血清を分離し, LH測定時まで $-20^{\circ}\text{C}$ に保存した。血中のLH量は2抗体法によるラジオイムノアッセイ法により測定した。“NIAMDD Rat Pituitary Hormone Program”から提供されたヨード化ホルモンとしてNIAMDD-Rat-LH-I-5, 標準ホルモンとしてNIAMDD-Rat-LH-RP-1, 抗体としてNIAMDD-anti-Rat-LH-Serum-5からなるキットを用い, 指針に基づき $^{125}\text{I}$ を用いて行つた。なお本測定系では $25\text{ ng/ml} \sim 2500\text{ ng/ml}$ が測定可能な範囲であつた。

**実験 2. 無処理ラットにおけるペントバルビタール投与時期と血中 LH 量との関係**

本実験に用いた無処理ラットの“臨界期”を確定するために, 発情前期日の12:00時および13:00時, 13:30時, 14:00時, 15:00時, 17:00時のいずれかにペントバルビタール・ソディウム (PB,  $4\text{ mg}/100\text{g}$  体重, ネンブタール, アボットラボラトリー) を腹腔内注射後, 17:30時に屠殺し LH 量を測定した。

**実験 3. PMSG 投与ラットの血中 LH 量**

発情後期日の11:00時に $40\text{ iu}$ のPMSG (セロトロピン, 帝国臓器製薬,  $100\text{ iu/ml}$  生理食塩液) を筋肉内注射し, 発情前期日 (PMSG 処理2日目) の17:30時, 19:00時, 20:00時および発情期日 (PMSG 処理3日目) と発情後期日 (PMSG 処理4日目) それぞれの17:30時に屠殺し LH 量を測定した。

**実験 4. PMSG 投与ラットにおける PB 投与時期と血中 LH 量との関係**

$40\text{ iu}$  の PMSG 投与ラットの発情前期日の12:00時, 13:30時, 14:00時に PB を  $4\text{ mg}/100\text{ g}$  体重腹腔内注射し, 同日の17:30時, 19:00時, 20:00時および発情期日の17:30時に採血し LH 量を測定した。

供試ラットの頭数は各観察時期とも5頭である。また, 実験成績の有意差検定はF検定によつた。

**成 績**

**実験 1. 成績を Fig. 1 に示した。**

血中 LH 量は17:30~21:00時には $700 \sim 900\text{ ng/ml}$ の高い値を持続した。17:30時の成績のばらつきは19:00時, 21:00時のものより小さい傾向にあつた。

**実験 2. 成績を Fig. 2 に示した。**

17:30時における LH 量は, PB 投与が12:00時と, 13:30時, 14:00時との間に有意差が認められ, 13:00~15:00時の間では LH の放出が抑制された ( $p < 0.05$ )。

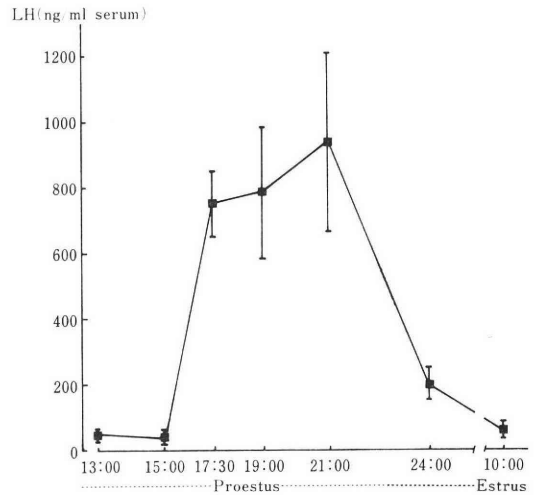


Fig. 1 Serum LH levels during the day of proestrus and estrus in intact cyclic rats. LH were measured by radioimmunoassay. Values are  $M \pm \text{sem}$ .

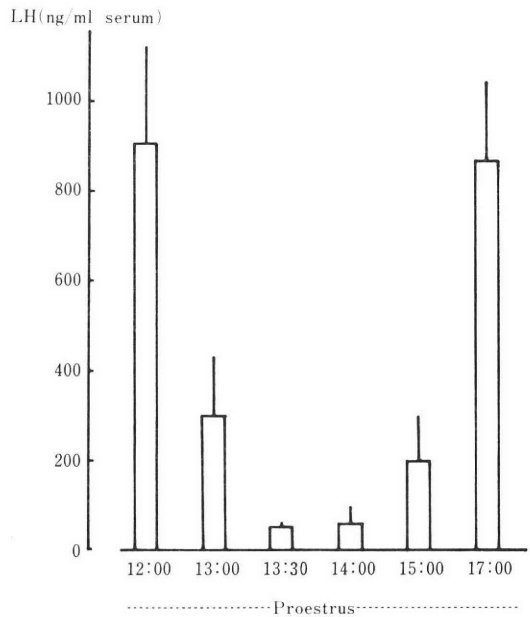


Fig. 2 Serum LH levels after pentobarbital sodium injection in intact cyclic rats. Pentobarbital was injected  $4\text{ mg}/100\text{ g}$  B. W. i. p. on proestrus. Rats were killed to collect blood at 17:30h on the day of proestrus. Values are  $M \pm \text{sem}$ .

**実験 3. 成績を Fig. 3 に示した。**

PMSG  $40\text{ iu}$  投与ラットの発情前期日における LH 量は, 19:00時に高値となり ( $p < 0.05$ ), ピークを示し

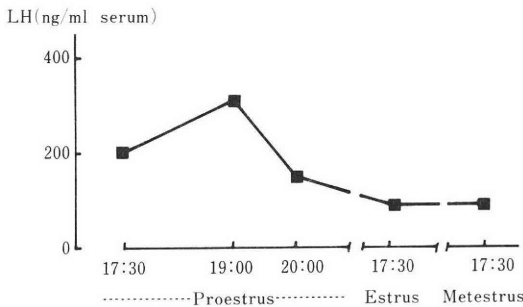


Fig. 3 Serum LH levels in 40 i. u. PMSG-primed rats. PMSG were injected i. m. 11:00h on the day of metestrus.

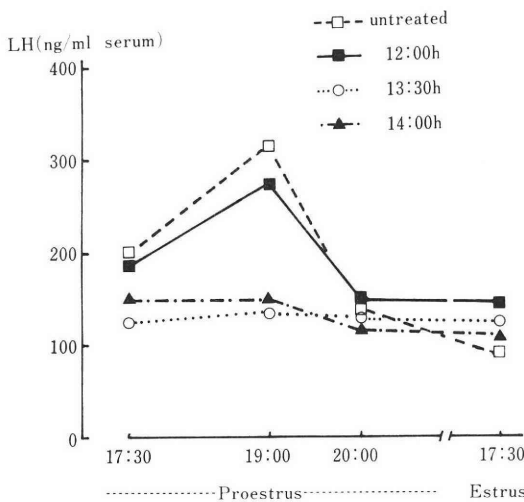


Fig. 4 Relationship between serum LH levels and inhibition of pentobarbital in 40 i. u. PMSG-primed rats.

た。

実験 4. 成績を Fig. 4 に示した。

発情前期予定日 19:00 時の LH 量は、PB 投与が 13:30 時、14:00 時に行われた場合には低下した ( $p < 0.05$ )。

考 察

発情後期日に PMSG 40 iu を投与したラットの発情前期日における血中 LH 量は、19:00 時でピークを認めた。その LH 値自体は無処理ラットのピーク値の 1/2 以下であるが、PMSG 投与ラットにおいても LH の一過性放出が認められた。鮫島ら<sup>2)</sup>は、PMSG 50iu をラットに投与すると LH の大量放出は認められないものの、低いピークが認められ放出は生ずることを報告している。また、Welshen と Rutte<sup>3)</sup>の報告した PMSG

10~35iu 投与ラットにおいて、血中 LH 量は無処理ラットの発情前期の値より低い、放出自体は存在することを推測しているが、著者らの成績はこれらの成績とよく一致した。

PMSG 投与ラットにおいても発情前期予定日の午後血中 LH 量のピークが認められたので、次に PB 投与によりそのピークが消失するかを調べた。PMSG 投与ラットにおいて発情前期予定日の 13:30 時または 14:00 時に PB を投与すると、19:00 時における LH のピークが消失することが明らかとなった。本実験で用いた無処理ラットにおいて、PB 投与で確実に LH 放出を抑制できると考えられるのは 14:00 時投与の場合なので、PB 投与によって“臨界期”<sup>4)</sup>の時間帯は大きく変らないことが判った。これは Geiger と Chateau<sup>5)</sup>の、FSH 投与により“臨界期”を変化させないとの報告と一致する。

従来の過排卵処理法<sup>6)</sup>は発情後期日に PMSG、発情前期日に hCG を投与するものであるが、PB を併用した新しい方法<sup>7)</sup>では、PMSG を同様に投与し、発情前期日に PB、発情期日に hCG を投与する方法がとられ、排卵数が飛躍的に増加し約 2 倍となる。

本来ならば、発情期日に hCG を投与しても排卵数は増加しないが<sup>8)</sup>、PB を処理することにより増加するがその原因は現在のところ不明である。PB の投与時期が適当で LH 放出を抑制すれば、血中 LH 量が増加せず、その結果卵胞は内因性の LH と反応する機会がなくなる。このため、発情期日の hCG 処理直前まで、卵胞の黄体化や変性は生じにくく、卵胞中の LH レセプター<sup>8)</sup>は外因性 hCG に最大限に反応できる程度に活性を保っているのかも知れない。これらの考えを証明するためには、なお今後の研究を待たねばならない。

文 献

- 1) 利部 聰：成熟ラットにおける PMSG 投与後の大型卵胞の消長ならびに過排卵処理後の排卵数におよぼすペンタバルビタールの影響。家畜繁殖誌, 29: 20-23, 1983.
- 2) 鮫島秀暢, 江藤禎一, 笹本修二, 田谷一善：ラットの下垂体単一移植過排卵における移植後の血中 GTH の変化。第 91 回日本獣医学会講演要旨集, 41, 1981.
- 3) Welshen, R. and Rutte M.: Ovulation in adult rats after treatment with pregnant mare serum gonadotrophin during oestrus. Acta Endocrinologica., 68: 41-49, 1971.
- 4) Everett, J. W. and Sawyer, C. H.: A 24-hour periodicity in the "LH-release apparatus" of female rats, disclosed by barbiturate

- sedation. *Endocrinology.*, 47 : 198-218, 1950.
- 5) Geiger, J. M. and Chateau, D. : Modalités chronologiques et quantitatives de la lutéinisation et de la ponte ovulaire chez des rattes exposées à l'action de FSH au début de cycles de 4 jours. *C. R. Soc. Biol.*, 170 : 464-468, 1976.
- 6) 石橋 功 : 過排卵ラット卵子の形態的研究 I. 性腺刺激ホルモン投与後の成熟ラットの排卵数について. *家畜繁殖誌*, 12 : 127-132, 1967.
- 7) 石橋 功, 青木ひかる : 成熟ラットにおける卵子の成熟・排卵に及ぼす性腺刺激ホルモンの影響 I. 投与量と排卵について. *家畜繁殖誌*, 21 : 130-134, 1976.
- 8) Richards, J. S., Ireland, J. J., Rao, M. C., Bernath, G. A., Midgley, A. R. Jr. and Reichert, L. E. Jr. : Ovarian follicular development in the rat : Hormone receptor regulation by estradiol, follicle stimulating hormone and lutenizing hormone. *Endocrinology.*, 99 : 1562-1570, 1976.

### The inhibition of LH discharge by pentobarbital administration in adult rats priming with PMSG

**Satosi Kagabu**

Department of veterinary science, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University

**Motoaki Umezu**

Laboratory of animal reproduction, Department of animal science, Faculty of Agriculture, Tohoku University

It is reported that the number of ova shed dr-

astically increases to 100 ova/rat by the addition of sodium pentobarbital (PB) administration during the superovulation-inducing method with PMSG and hCG in adult rats [1]. PB is suggested to be effective in keeping antral follicles intact until hCG injection at the day of expected estrus after PMSG-priming.

Investigation was carried out whether PB injection could affect blood levels of LH during the day of proestrus in adult rats with or without PMSG priming.

Rats which were kept under 14 hour lighting condition (07 : 00-21 : 00h) were injected intramuscularly with 40 i. u. PMSG at 11 : 00h on metestrus. PB (4mg/100g B. W.) was singly injected on proestrus (2 days later) at various injection time (12 : 00, 13 : 00, 13 : 30, 14 : 00, 15 : 00 or 17 : 00h). Serum LH levels were measured by radioimmunoassay. The results obtained were as follows ;

1) A lower LH peak was shown in the PMSG-primed rats at 19 : 00h on the day of proestrus where the value was less than 1/2 compared with untreated ones.

2) The LH peak disappeared in the rats treated with 40 i. u. PMSG and PB at 13 : 00 or 14 : 00h, while it maintained in the rats with PMSG and PB at 12 : 00 or 17 : 00h. PMSG treatment did not affect the time of "critical period" for LH surge since the time (13 : 00-14 : 00h) was similar as untreated rats.

The results suggest that the absence of endogenous LH by the block of LH release with PB may be remarkably effective for antral follicles to respond 2 days later with exogenous hCG towards superovulation in adult rats.

(受付 : 昭和59年1月17日)

# 幼若期停留精巣作成ラットにおける視床下部 一下垂体—性腺系の変化 (第1報) 精巣組織学的所見

## Alterations in the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Function in Cryptorchidism Developed in Immature Rats.

### I. Histological Findings

帝京大学医学部薬理学教室 (主任: 藤井儔子教授)

石 田 規 雄

Norio ISHIDA

Department of Pharmacology, Teikyo University,  
School of Medicine

(Director: Prof. Tomoko Fujii)

Sertoli 細胞の機能分化と精細胞発達の相互関係、さらに Leydig 細胞との関連を検索する目的で、3週齢ラット、10週齢ラットに停留精巣を作成し比較した。今回は特に、精巣重量、核酸量、組織所見について検討を行った。3週齢ラット停留精巣群において、精巣重量は術後2週まで軽度増加し、組織像では、精子発生が spermatids の段階まで進行した。しかし術後3週以降、精巣重量の増加は止まり、ほぼ一定となった。経時的組織所見では、精細胞の消退は緩徐であり、術後7週に至つても基底膜に接した Sertoli 細胞が目立ち、さらに spermatocytes の一部と spermatogonia は残存し、間質組織面積は増加傾向を示した。対照群に比し、精巣単位重量当りの DNA, RNA 量の有意な経時的変動は認められなかつた。10週齢ラット停留精巣群においては、精巣重量は著しく減少し、精細胞も経時的に著明な減少を示した。術後3週で大多数の精細管は基底膜より遊離した Sertoli 細胞のみとなり、さらに間質組織面積の割合が明らかに増加した。術後3週の時精巣単位重量当りの DNA 量は変わらなかつたが、RNA 量は有意に減少した。

以上、幼若期と成熟期における停留精巣の障害パターンに著明な差が認められた。この成績から、視床下部—一下垂体—性腺系の発達に伴い、精子形成に關与する Sertoli 細胞, peritubular 細胞, spermatogonia の機能に關して、幼若期と成熟期では非生理的環境下での影響の受け方に差のある可能性が示唆された。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 283-293, 1984)

### 緒 言

複雑な精巣機能を解明するのに、人工的停留精巣がしばしば用いられる。しかし研究対象は成熟ラットに関する報告<sup>1-5)</sup>が多く、新生期ラット、幼若ラットに関する報告<sup>6-9)</sup>は散見されるのみである。ラットにおいて、3週齢から精子出現の5~6週齢にかけては、精巣機能発達の過程にあり、性腺支配のホルモン環境が大きく変動する。著者はこの環境を変化させた場合に発現する異常

から、Sertoli, Leydig 細胞、精細胞等機能の異なる細胞間の関連性をより適切に把握できるのではないかと考えた。そこで精巣下降前の3週齢ラットに両側停留精巣を作成し、日齢による変化の過程を検索した。同時に精子形成の盛んな成熟ラットにも両側停留精巣を作成し、両者を比較検討した。第1報では、精巣重量、核酸量、組織所見について報告する。

## 方 法

Wistar-今道系 3 週齢幼若ラット, 10 週齢成熟ラットを使用した。われわれは実験的停留精巣作成にあたり, 開腹せず, また精巣に直接触れることなしに腹腔に精巣を停留させる方法を成熟ラットに試み, 作成方法につき, すでに報告<sup>10)</sup>した。これを幼若ラットにも応用した。エーテル麻酔下で, 鼠径部から陰囊にかけて両側に縦切開をくわえた。外鼠径輪よりまだ下降の始まっていない gubernaculum をほぼ完全に引き出し, これを綿糸によりできるだけ短かく縫合結紮した。両端の綿糸を長めに残し, この一方を用いて十分剝離した上腹部付近の腹壁皮下部位と縫合し, 他端の糸と結紮した。この操作では成熟ラットに比し, まだ下降していない精巣をそのまま腹腔内に停留できる点が異なる。対照として Sham 手術を行った。幼若ラットは術後 3 日, 1, 2, 3, 4, 7 週で断頭, また成熟ラットは 3 日, 1, 3 週で断頭し, 頸動静脈より採血。ただちに精巣を摘出し, 重量測定後, 1 側は 10%ホルマリン液にて固定, 他側は核酸測定用に  $-20^{\circ}\text{C}$  にて保存した。核酸量は, Schmidt-Tanhauser 変法による抽出<sup>11)</sup>, RNA はオルシノール発色<sup>12)</sup>, DNA は Burton 法<sup>13)</sup>で比色定量した。精巣組織は  $5\mu\text{m}$  切片をヘマトキシリン-エオジン染色にて検索した。

また幼若ラット, 成熟ラット固定精巣の断面は, 中心, 両端ともほぼ同じ組織面を示していたため, 固定精巣各 1 検体の最大径部分で切断した。この精巣組織断面を写真撮影にて拡大し, 次の計測値をえた。

① 精細管組織断面100個あたりの spermatids, spermatocytes, spermatogonia の各出現率 (%) :

② 上述の方法における精巣組織断面の精細管総数 :

③ 写真撮影した精巣組織断面の印画紙を精細管部分と間質部分に切り分けた。つぎにあらかじめスケールを写真撮影し, 拡大した印画紙の目盛りに合わせて正方形に切り, この面積を求め, その重量を測定し, 基準値とした。切り分けた印画紙重量を求めて, この基準値と比例計算し, 面積に換算した。この印画紙の重量は均一であった。

## 結 果

## 1) 精巣重量 (図 1)

3 週齢ラットでは, 対照群の精巣重量は術後 2 週すなわち 5 週齢より 10 週齢までほぼ直線的に急激な増加を示した。停留精巣群では, 術後 1 週までほぼ対照群と同じ重量増加を示したが, 術後 2 週以後の増加度は低下し, 術後 7 週の重量は対照群の約  $\frac{1}{4}$  であった。

成熟ラットでは, 対照群精巣重量は観察期間中ほぼ一定であったが, 停留精巣重量はすでに術後 3 日より有意

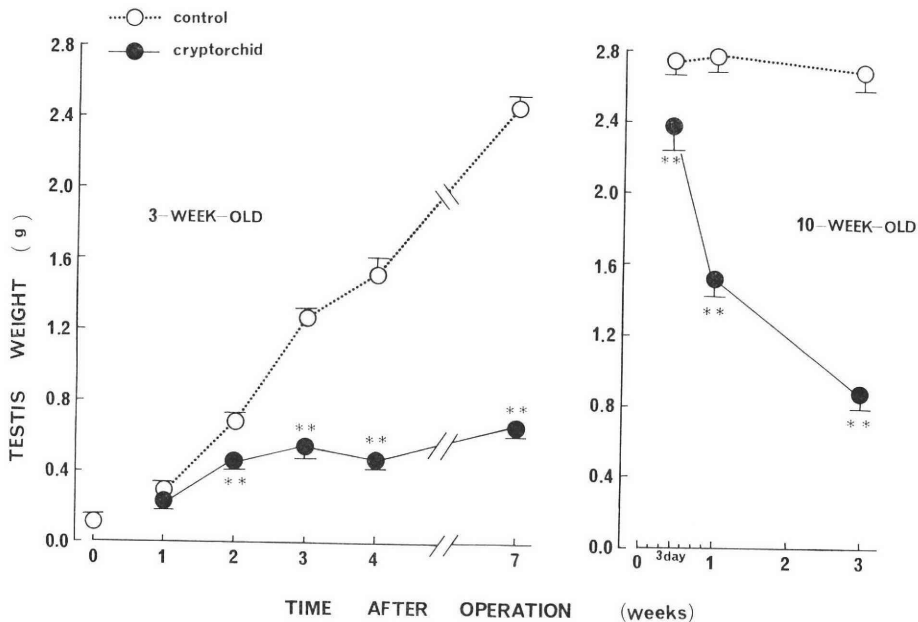


Fig. 1 Time course changes in the testis weights of cryptorchid rats. The animals were operated at 3 weeks or 10 weeks of age. Results are given as mean  $\pm$  s.e.m. Each group consists of 6-12 rats. \*\*,  $p < 0.005$  vs. sham-operated controls by Student's t-test.

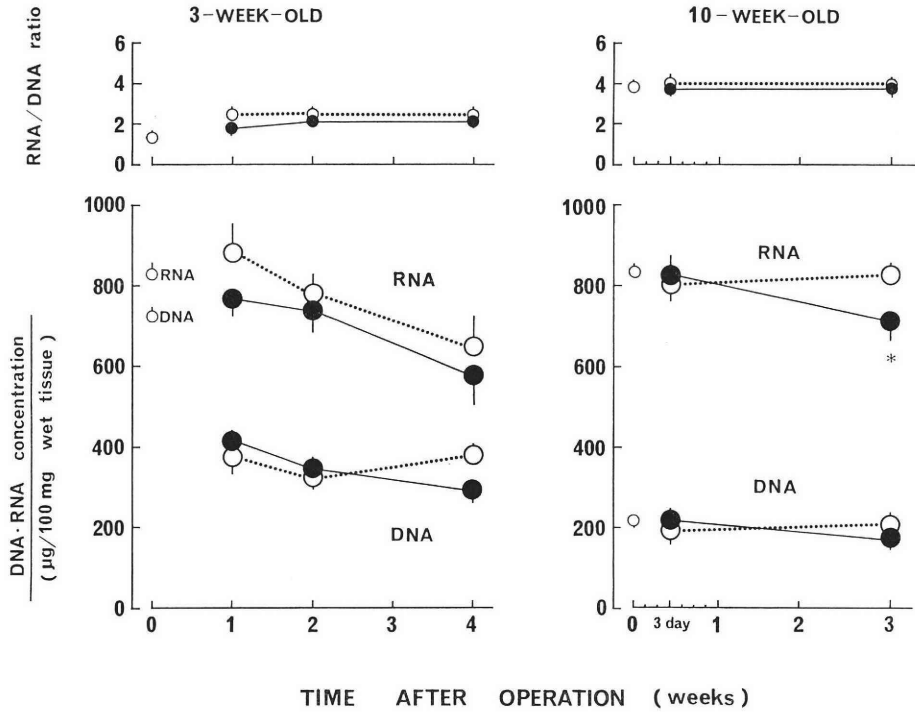


Fig. 2 Time course changes in the DNA and RNA concentrations in the testis of cryptorchid rats. The animals were operated at 3 weeks or 10 weeks of age. Results are given as mean  $\pm$  s.e.m. Each group consists of 4-6 rats. \*,  $p < 0.05$  vs. sham-operated controls by Student's t-test.  
 ...○... : control    —●— : cryptorchid

に減少し、術後3週で対照群の34%まで減少した。その値は、3週齢群術後7週の停留精巣の値に近かった。

2) 核酸量 (図2)

対照群においては、3週齢から4週齢にかけて単位重量当りのDNAは急激に減少したが、その後は精巣重量の著しい増加にもかかわらず、単位重量当りのDNAはほぼ一定であり、RNAのみ減少を示した。3週齢群における停留精巣作成は、その後の精巣単位重量当りのDNA、RNA量に有意な影響を及ぼさなかった。しかしRNA量は減少傾向を示した。成熟群の精巣単位重量当りのDNA、RNA量は術後3日まで、停留精巣群、対照群間に差を認めなかった。術後3週では、DNA量は両群ともほぼ一定に推移したが、RNA量は停留精巣群で有意に減少した。RNA/DNA比に、3週齢群、成熟群とも有意な変動がみられた。

3) 組織所見

3週齢ラットにおいては術後1週で、精細管による差はあるが、停留精巣群の精子発生は対照群と同様であった(図3A, 図3B)。術後2週でも、停留精巣群の精子発生は術後1週の所見より進行していたが、対照群の

精子発生に比較すると、明らかな遅延が認められた(図4A, 4B)。しかし細胞分裂が認められる精細管もあり、なお十分な造精機能の維持が推測された(図5)。術後3週になると停留精巣群では、spermatidsの消退が認められた(図6)。しかし術後7週でも、spermatogoniaはほとんどの精細管に存在し、spermatocytesの一部も散見された(図7A, 7B)。成熟ラットでは、術後3日より停留精巣群で精子の脱落が始まり、精細管内に巨大細胞が認められた。術後1週では精細胞の消退が著しく、術後3週で精細胞はほぼ完全に消失し、Sertoli細胞のみとなった(図8A, 8B, 8C, 8D)。さらに3週齢ラット術後7週の強拡大組織像では、精細管基底膜に接したSertoli細胞が目立ち(図9)、成熟ラット術後3週では、ほとんどの精細管において、Sertoli細胞は基底膜より遊離して存在した(図10)。

4) 経時的組織変化の数量的変動

1. 精細管断面における精細胞分布の割合 (図11)

3週齢ラットの停留精巣群で、spermatidsの増加は術後5週で対照群の約40%にまで減少し、術後3週までにspermatidsはほとんど消失した。spermatocytesは



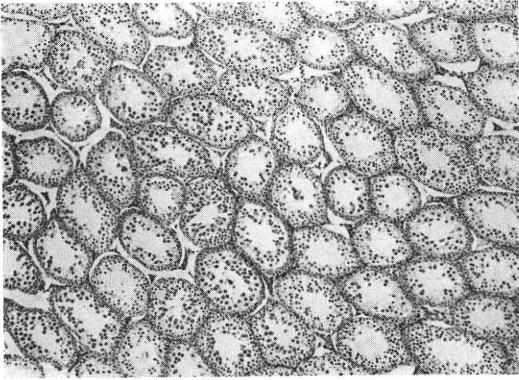


Fig. 3A

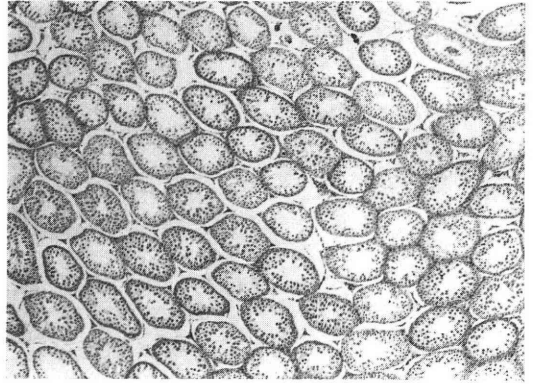


Fig. 3B

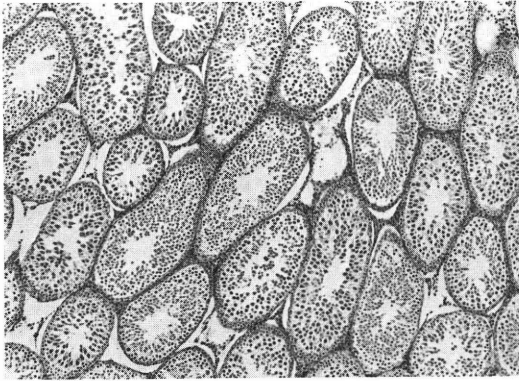


Fig. 4A

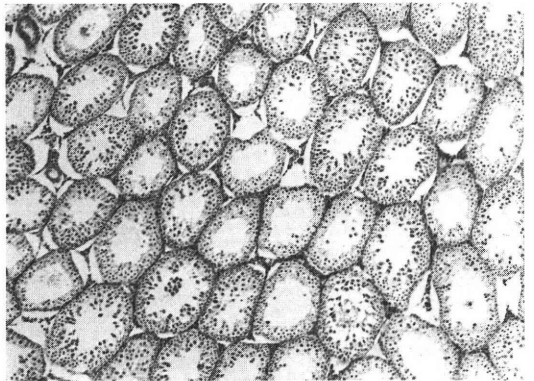


Fig. 4B

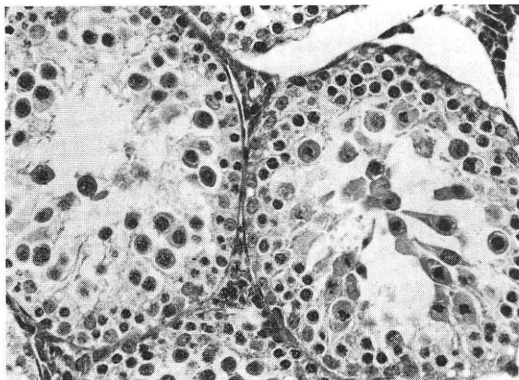


Fig. 5

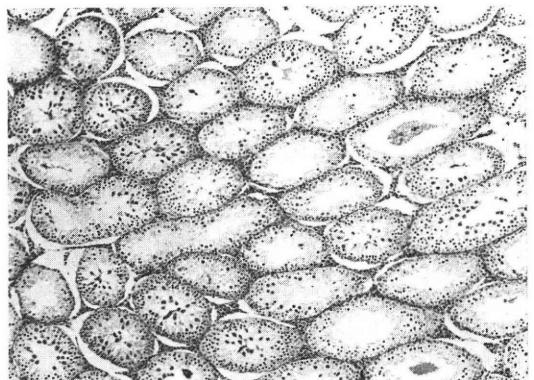


Fig. 6

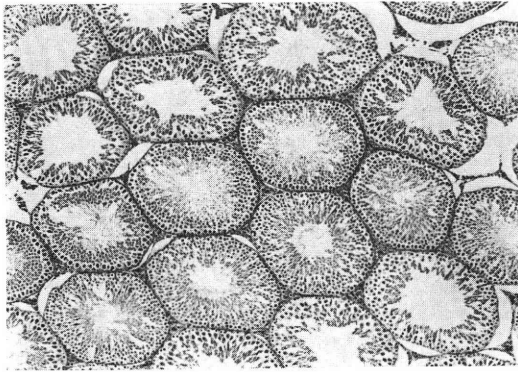


Fig. 7A

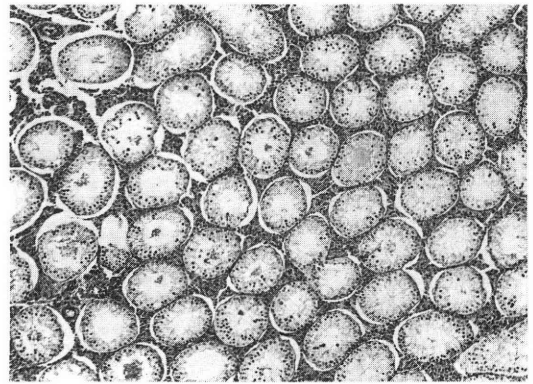


Fig. 7B

Fig. 3A : Testis of a 4-week-old control rat.  $\times 40$

Fig. 3B : Testis at 1 week after cryptorchidism in a 3-week-old rat.  $\times 40$

Note that a differentiation of germ cells is almost as same as that of the control.

Fig. 4A : Testis of a 5-week-old control rat.  $\times 40$

Fig. 4B : Testis at 2 weeks after cryptorchidism in a 3-week-old rat.  $\times 40$

Note that a differentiation of germ cells is still in progress in several seminiferous tubules.

Fig. 5 : Testis at 2 weeks after cryptorchidism in a 3-week-old rat.  $\times 400$

Note that there are a lot of mitotic germ cells in several seminiferous tubules.

Fig. 6 : Testis at 3 weeks after cryptorchidism in a 3-week-old rat.  $\times 40$

Note that the germinal cell depletion is shown at a great extent in a seminiferous tubule.

Fig. 7A : Testis of a 10-week-old control rat.  $\times 40$

Fig. 7B : Testis at 7 weeks after cryptorchidism in a 3-week-old rat.  $\times 40$

Note severe germ cell depletion, but also appearance of spermatocytes and spermatogonia in seminiferous tubules.

術後1週で対照群に比べて約30%減少したが、その後はほぼ一定であった。術後4週より再び減少に転じたが、術後7週になっても spermatocytes は約20%存在していた。さらに spermatogonia は術後7週を経ても、ほぼ完全に存在していた。これに対して、成熟ラットの停留精巣群では、術後1週で spermatids は約70%精細管中から消退し、術後3週で完全に消失した。spermatocytes, spermatogonia とともに、術後1週までは対照群との間に有意の差は認められなかったが、術後3週までの間に大部分消失した。

## 2. 精巣組織断面における総精細管数 (図12)

3週齢ラットから成熟ラットにいたるまで、対照群の各精細管総数はほぼ等しく、停留精巣群も同様の経過で進行し、両群間に有意の差は認められなかった。

## 3. 精巣組織最大径断面における精細管総面積および総間質面積 (図13)

3週齢ラットの対照群精細管総面積は術後3日より増加傾向を示し、停留精巣群でも、術後2週まで対照群とともに増加した。その後鈍化傾向を示し、術後7週まで

ほぼ一定の総面積で経過した。成熟ラットの対照群精細管総面積はほとんど不変であったのに対し、停留精巣群では、術後3日よりその総面積は減少し、その後著明に低下した。このような精細管総面積の経時的変動は精巣重量の経時的変動に一致していた。一方、3週齢ラットの停留精巣群間質総面積は対照群と同様に増加傾向を示し、手術の影響を認めなかった。これに対し、成熟ラットの停留精巣群では、術後3週で総間質面積の有意な増加が認められた。

## 考 察

マウス、ラットにおいては生後20日目頃より、思春期に向って活発な精子発生が始まる。すなわち、生後6日目のマウス精巣では、Sertoli 細胞は84%、A型 spermatogonia は16%であり、その後 Sertoli 細胞は減少し、生後20日目では28%となり、精子発生は spermatocytes, 初期型 spermatids の段階まで進む<sup>14)</sup>。またラット精巣の Leydig 細胞数は生後2日目で、全精巣密度の5.6%とかなり高値となるが、その後減少し、生後約

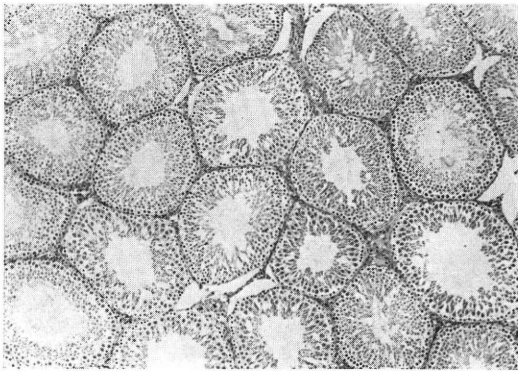


Fig. 8A

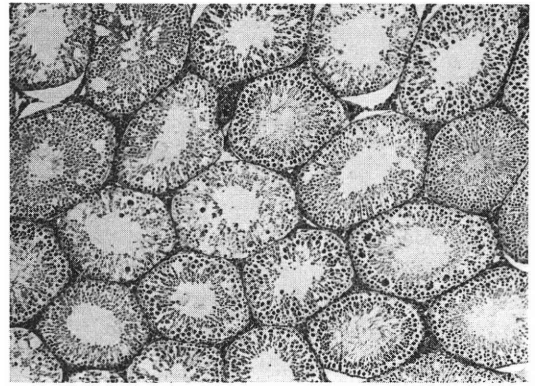


Fig. 8B

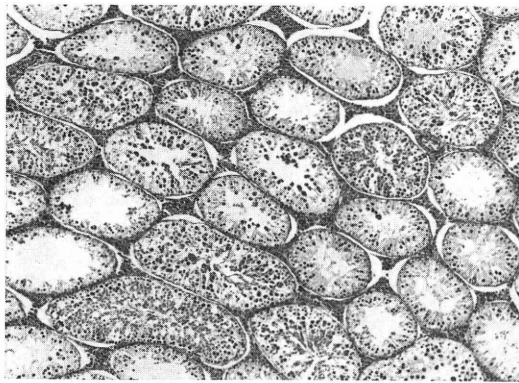


Fig. 8C

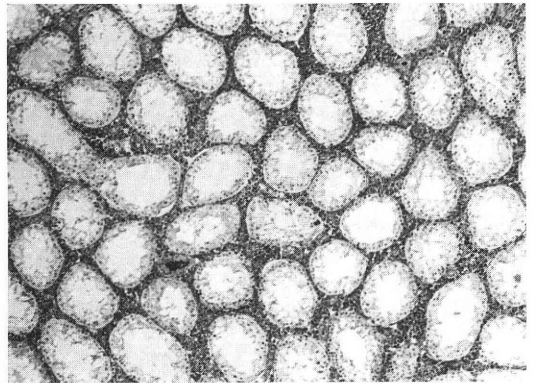


Fig. 8D

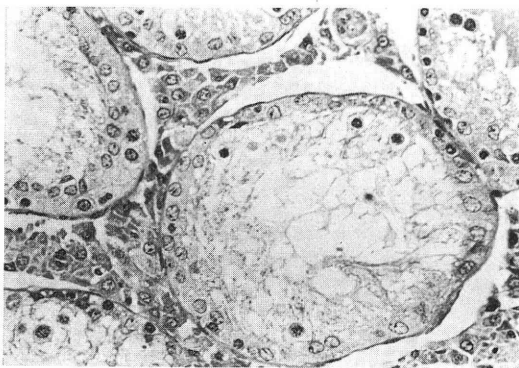


Fig. 9

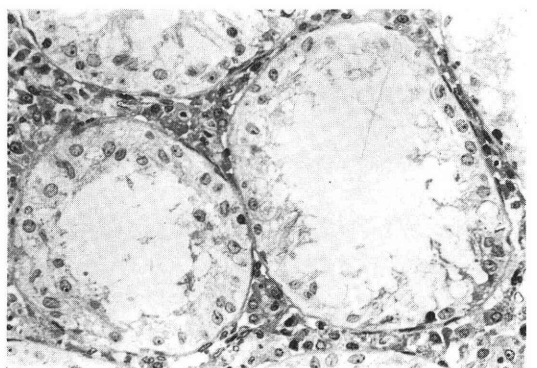


Fig. 10

- Fig. 8A : Testis of an adult control rat.  $\times 40$
- Fig. 8B : Testis of an adult cryptorchid rat at 3 days after cryptorchidism.  $\times 40$   
Note a slight germ cell depletion and giant cells in some seminiferous tubules.
- Fig. 8C : Testis of an adult cryptorchid rat at 1 week after cryptorchidism.  $\times 40$   
Note the germ cell depletion to various degrees in all seminiferous tubules.
- Fig. 8D : Testis of an adult cryptorchid rat at 3 weeks after cryptorchidism.  $\times 40$   
Note complete germinal cell depletion and remaining Sertoli cells.
- Fig. 9 : Testis at 7 weeks after cryptorchidism in a 3-week-old rat.  $\times 400$   
Note that Sertoli cells still form a single row on the adjacent basement membrane of seminiferous tubules.
- Fig. 10 : Testis of an adult cryptorchid rat at 3 weeks after cryptorchidism.  $\times 400$   
Note that Sertoli cells are located irregularly in a basal position near the basement membrane of seminiferous tubules.

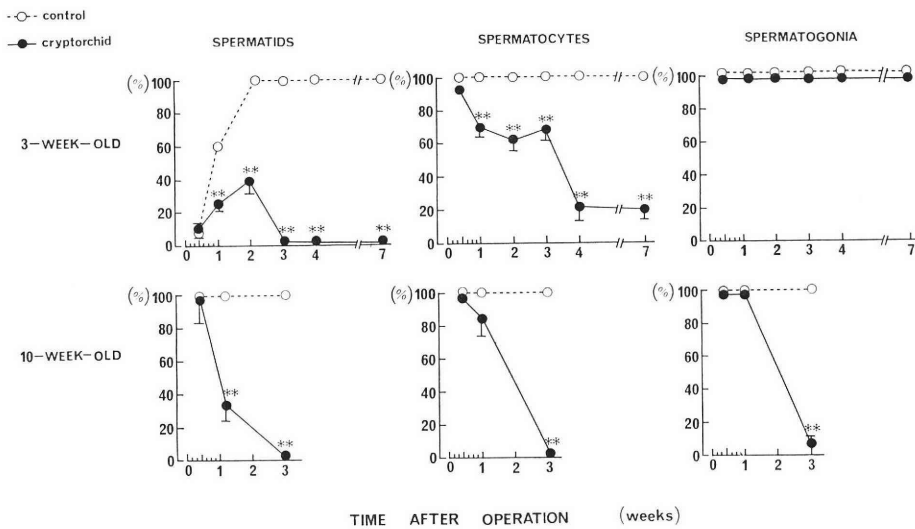


Fig. 11 Time course changes in the ratio of the germ cell population in a cross section of seminiferous tubules of cryptorchid rats. The animals were operated at 3 weeks or 10 weeks of age. Results are given as mean  $\pm$  s.e.m. Each group consists of 3-4 rats. \*\*,  $p < 0.005$  vs. sham-operated controls by Student's t-test.

15日頃最低値を示す。生後20日目頃より再び増加し始め、それとともにテストステロン値も増加<sup>15)</sup>し、この時期に精巣の陰嚢内下降が生じる<sup>16)</sup>。著者はこの時期の精巣下降を防ぎ、精巣を腹腔内に停留させた結果で生じる精巣組織、視床下部-下垂体-性腺系の変化から、細胞の機能発達、その相互関係を経時的に検討することを主眼とした。3週齢ラット停留精巣群における特徴的所見としては、術後2週まで精巣重量は増加し、精子発生が進行したこと、術後3週以降の精細胞の緩やかな段階的減少、術後7週における spermatogonia のほぼ完全な残存である。また成熟ラット停留精巣群における特徴的所見としては、精巣重量の急激な減少、術後3週でほと

んど Sertoli 細胞のみとなつたこと、間質部分の著しい増大である。人工的精巣障害に、幼若期と成熟期でかなりの相違があることはこれらの所見から明らかであり、性腺系の経時的变化から詳細を検討した。

3週齢ラットにおける精巣重量の増加は、精細管の長さの発達、精子発生過程の進行に伴う細胞数の増加等を反映するものと考えられる。片側停留精巣の場合は、spermatocytes まで機能が認められたという報告<sup>9)</sup>もあるが、われわれの精細管断面組織像の結果では、術後2週間少なくとも spermatids まで認められ、精子形成を進行、維持させる因子が働いている可能性が示唆される。核酸量に関する本成績では、3週齢ラット停留精巣

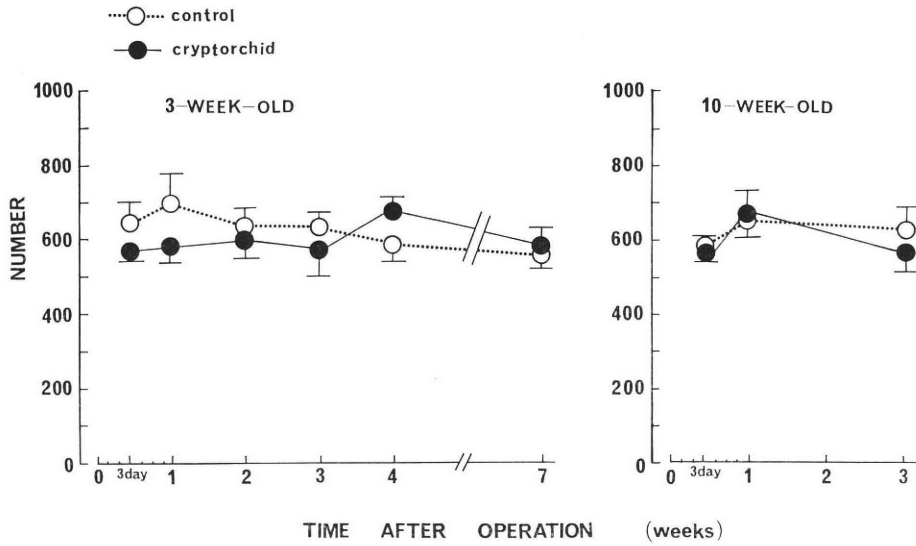


Fig. 12 Time course changes in the number of seminiferous tubules of cryptorchid rats. The animals were operated at 3 weeks and 10 weeks of age. Results are given as mean  $\pm$  s.e.m. Each group consists of 3-4 rats.

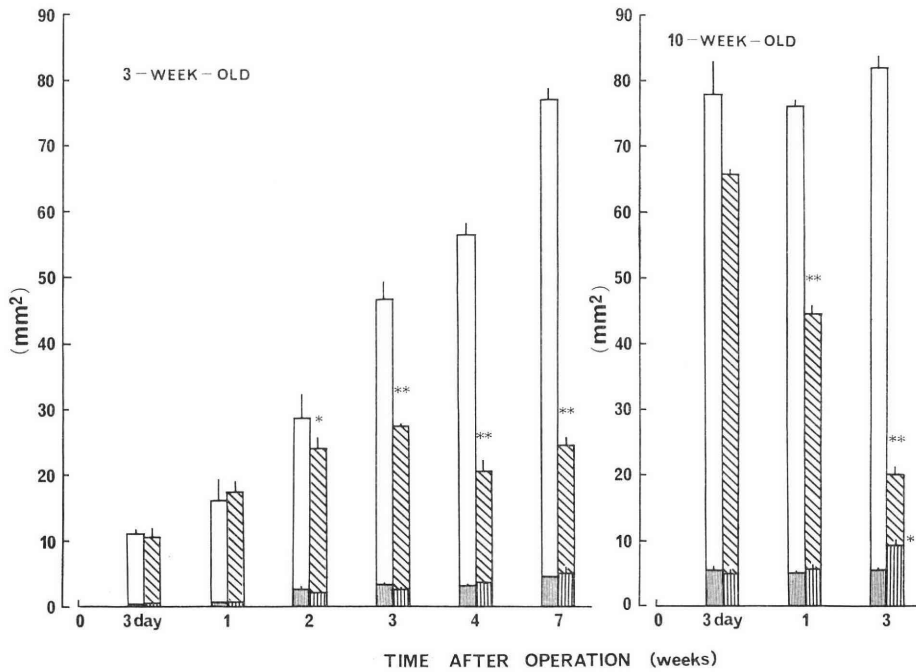


Fig. 13 Time course changes in the calculated area of the seminiferous tubules and interstitial tissues of cryptorchid rats. For details see Materials and Methods. The animals were operated at 3 weeks or 10 weeks of age. Results are given as mean  $\pm$  s.e.m. Each group consists of 3-4 rats. \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.005$  vs. sham-operated controls by Student's t-test.

- : control, the area of the seminiferous tubules
- ▨ : cryptorchid, the area of the seminiferous tubules
- : control, the area of the interstitial tissues
- ▤ : cryptorchid, the area of the interstitial tissues



群で、なお DNA, RNA 合成は活発であることを示しており、精細胞の緩徐な消退、残存を裏付けるものである。さらに成熟ラット停留精巣群で、術後3週の RNA が有意に減少していることは、精細胞の消失が著しいことを裏付けるものである。

3週齢ラット、成熟ラット停留精巣群において、精細胞に経時的な差をもたらすもつとも重要な因子として、幹細胞である Sertoli 細胞機能の変化が考えられる。Sertoli 細胞の生理機能については、Ion flux ( $\text{Ca}^{2+}$  redistribution)<sup>17)</sup>、酵素活性<sup>17)</sup>、蛋白合成<sup>17)</sup>、蛋白分泌(アンドロゲン結合蛋白)<sup>17,21)</sup>、ステロイド合成(エストロゲン)<sup>17,18,21)</sup>、Cell division<sup>17)</sup>、Cell motility<sup>17)</sup>、Cell-Cell communication<sup>17)</sup>、さらに lactate<sup>19)</sup>、plasminogen activator<sup>20)</sup>、inhibin<sup>21)</sup> などの産生、食食能<sup>21)</sup>、精子の放出<sup>21)</sup>、血液-精巣関門の維持<sup>21)</sup>、精細管腔に管腔液とアンドロゲン結合蛋白を分泌する<sup>21)</sup>など多彩であり、Sertoli 細胞は精子形成に対し、その発達、維持、調節をつかさどっていると考えられている。多くの研究者が認めているように、停留精巣においても、Sertoli 細胞は残存することが本実験でも確認された。しかしこのように多様な機能を維持している Sertoli 細胞は形態に異常が認められなくても、その機能に変化をきたすことは十分に考えられる。本実験での幼若期の成熟期の停留精巣における顕著な精巣組織像の差は幼若期と成熟期における Sertoli 細胞が異なった機能を持つことを示唆している。また3週齢ラット停留精巣群術後7週と成熟ラット停留精巣群術後3週の組織像において、両群精細管の平均 Sertoli 細胞数は近似していたが、前者は精細管基底膜に接した Sertoli 細胞が多く、後者はほとんどの Sertoli 細胞が精細管基底膜より遊離していた。Hutson は Sertoli 細胞と peritubular 細胞が密着することにより、Sertoli 細胞の機能を高めるという報告<sup>22)</sup>をしていることから、精細管が Sertoli 細胞の機能に重要な影響を与えており、遊離した Sertoli 細胞の機能は低下している可能性がある。したがってこれらの所見から、両群精細胞の消退の差は Sertoli 細胞と peritubular 細胞に関する本実験での組織像の違いにより、説明できることも考えられる。

3週齢ラット停留精巣群の経時的精細胞変化で注目すべき所見は大部分の精細管に spermatogonia が残存していることである。成熟ラット停留精巣群では一部の精細管にわずかな spermatogonia しか残存していないため、著しい相違を示している。和久はヒトの停留精巣でも、ほぼ完全に spermatogonia が残存していることを報告<sup>23)</sup>しており、3週齢ラット停留精巣の変化が、よりヒトの停留精巣と類似しているといえる。また Haneji

& Nishimune は成熟マウスに停留精巣を作成し、2カ月後にA型 spermatogonia を FSH, インシュリン, トランスフェリンとともに培養した結果、精子形成が起こることを報告<sup>24)</sup>しており、ラットの幼若期と成熟期での停留精巣による残存 spermatogonia は機能を保持していることが考えられる。しかし両時期の spermatogonia 残存数に明らかな差があり、spermatogonia の機能およびそれらの温度感受性などに関して、両時期で異なっている可能性もある。

成熟ラット停留精群における著しい間質部分の増加に関して、成熟ラット停留精巣では Leydig 細胞が増加するという報告<sup>25)</sup>があり、本実験でもおもに Leydig 細胞の増殖による増加が考えられる。一方3週齢ラット停留精巣群においても間質部分の増加は認められたが、成熟ラット停留精巣群ほど顕著ではなかつた。

停留精巣による精細胞障害の原因は、以前より腹腔内の高温によるところが大きい<sup>25-27)</sup>といわれてきた。しかし本成績から、視床下部一下垂体-性腺系の発達に伴い、特に性腺系における Sertoli 細胞、peritubular 細胞、spermatogonia などの精子形成をつかさどる基幹細胞に種々の機能変化を生じることが考えられ、さらに3週齢ラット停留精巣群と成熟ラット停留精巣群のおもに組織所見の著明な差から、これらの細胞機能に、年齢が関係する差異の存在が強く示唆される。精子形成が完成した精巣と、未完成時期の精巣との影響の受け方の差は今後解明すべき問題点である。

稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜わった藤井儔子教授、御校閲を賜わった泌尿器科和久正良教授に深く感謝の意を表わします。また種々御協力いただいた薬理学教室の各位に感謝します。

なお本論文の要旨は第87回日本不妊学会関東地方部会で報告した。

## 文 献

- 1) Amatayakul, K., Ryan, R., Uozumi, T. and Albert, A.: A reinvestigation of testicular-anterior pituitary relationships in the rat: I. Effects of castration and cryptorchidism. *Endocrinology.*, 88 : 872, 1971.
- 2) Hayashi, H. and Cedenho, A. P.: Fertilizing capacity of the cryptorchid rat. *J. Reprod. Fert.*, 59 : 79, 1980.
- 3) Risbridger, G. P., Kerr, J. B., Peake, R., Rich, K. A. and de Kretser, D. M.: Temporal changes in rat Leydig cell function after the induction of bilateral cryptorchidism. *J. Reprod. Fert.*, 63 : 415, 1981.
- 4) Keel, B. A. and Abney, T. O.: Altera-

- tions of testicular function in the unilaterally cryptorchid rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 166 : 489, 1981.
- 5) Turner, T. T., Dáddario, D. A., Forrest, J. B. and Howards, S. S.: The effects of experimental cryptorchidism on the entry of [<sup>3</sup>H]-inulin and [<sup>3</sup>H]-horseradish peroxidase into the lumen of the rat seminiferous tubules. J. Androl., 3 : 178, 1982.
  - 6) Bergh, A. and Helander, H. F.: Testicular development in the unilaterally cryptorchid rat. Intntl. J. Androl., 1 : 440, 1978.
  - 7) Bergh, A. and Damber, J.-E.: Morphological and endocrinological differences between the abdominal testes in bilateral and unilateral cryptorchid rats. Intntl. J. Androl., 2 : 319, 1979.
  - 8) Davis, J. R., Morris, R. N. and Hollinger, M. A.: Comparison of testicular protein labelling in cryptorchidism induced in prepubertal and adult rats. J. Reprod. Fert., 10 : 149, 1965.
  - 9) Davis, J. R. and Firlit, C. F.: The germinal epithelium of cryptorchid testes experimentally induced in prepubertal and adult rats. Fert. Steril., 17 : 187, 1966.
  - 10) 石田規雄, 藤井儔子: ラットにおける停留精巢作成方法の改良. 日不妊誌, 28 : 116, 1983.
  - 11) Schneider, W. C.: Phosphorus compounds in animal tissues; comparison of methods for estimation of nucleic acids. J. Biol. Chem., 164 : 747, 1946.
  - 12) Schneider, W. C.: Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In Methods in Enzymology, 3 : p. 680, New York, Academic press, 1957.
  - 13) Burton, K.: Study of conditions and mechanism of diphenylamine reaction for colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J., 62 : 315, 1956.
  - 14) Bellvé, A. R., Cavicchia, J. C., Millette, C. F., O'Brien, D. A., Bhatnagar, Y. M. and Dym, M.: Spermatogenic cells of the prepubertal mouse: Isolation and morphological characterization. J. Cell. Biol., 74 : 68, 1977.
  - 15) Huhtaniemi, I. T., Nozu, K., Warren, D. W., Dufau, M. L. and Catt, K. J.: Acquisition of regulatory mechanisms for gonadotropin receptors and steroidogenesis in the maturing rat testis. Endocrinology., 111 : 1711, 1982.
  - 16) 山田盛男, 宮地秀樹: 精子形成のホルモン制御. —アンドロゲンとFSHの作用—. 代謝, 16 (4月臨時増刊号) 87, 1979.
  - 17) Means, A. R., Dedman, J. R., Tash, J. S., Tindall, D. J., van Sickle, M. and Welsh, M. J.: Regulation of the testis sertoli cell by follicle stimulating hormone. Ann. Rev. Physiol., 42 : 59, 1980.
  - 18) Boitani, C. and Ritzen E. M.: Inhibition of rat sertoli cell aromatase by factor(s) secreted specifically at spermatogenic stages VII and VIII. Mol. Cell. Endocrinol., 23 : 11, 1981.
  - 19) Mita, M., Price, J. M. and Hall, P. F.: Stimulation by follicle-stimulating hormone of synthesis of lactate by sertoli cells from rat testis. Endocrinology., 110 : 1535, 1982.
  - 20) Lacroix, M. and Fritz, I. B.: The control of the synthesis and secretion of plasminogen activator by rat Sertoli cells in culture. Mol. Cell. Endocrinol., 26 : 247, 1982.
  - 21) 宮地幸隆: Sertoli 細胞とインヒビリン. 代謝, 16 (4月臨時増刊号) 265, 1979.
  - 22) Hutson, J. C.: Metabolic cooperation between Sertoli cells and peritubular cells in culture. Endocrinology., 112 : 1375, 1983.
  - 23) 和久正良: 停留率丸の研究. 日泌尿会誌, 48 : 149, 1957.
  - 24) Haneji, T. and Nishimune, Y.: Hormones and the differentiation of type A spermatogonia in mouse cryptorchid testes incubated *in vitro*. J. Endocr., 94 : 43, 1982.
  - 25) Moore, C. R. and Chase, H. D.: Heat application and testicular degeneration. Anat. Rec., 26 : 344, 1923.
  - 26) Moore, C. R. and Quick, W. J.: The scrotum as a temperature regulator for the testes. Am. J. Physiol., 68 : 70, 1924.
  - 27) Moore C. R.: Heat application and testicular degeneration; the function of the scrotum. Am. J. Anat., 34 : 337, 1924.

### Alterations in the hypothalamic-pituitary-gonadal function in cryptorchidism in immature rats. I. Histological findings

Norio Ishida

Department of Pharmacology, Teikyo University, School of Medicine  
(Director: Prof. Tomoko Fujii)

The cryptorchid animal offers a model for studying the proceeding of spermatogenesis for the functional changes of Sertoli cell and further Leydig cell or the hormonal feedback and the regulation of spermatogenesis.

We examined here the time course changes in the weight, DNA RNA concentrations and histology of the testis in rats made bilateral crypto-

rchid, and the results in 3-week-old rats were compared with changes in adult cryptorchid rats. Three-week-old and 10-week-old Wistar Imamichi rats were used. The animals were killed 3 days, 1, 2, 3, 4, or 7 weeks after operation. Testis weights in the immature cryptorchid rats showed slightly an increase until the 7th week after operation, while a pronounced decline in the testis weight was evident in the adult cryptorchid rats.

Both DNA and RNA concentrations of immature cryptorchid rats decreased gradually as those shown in controls as a function of age, while the testicular RNA concentrations of adult cryptorchid rats decreased significantly 3 weeks after operation.

In the immature cryptorchid rats, the number of germ cells continued to increase until 2 weeks after operation and a marked depletion of spermatids occurred at 3 weeks, but at 7 weeks after operation, a few spermatocytes and many spermatogonia remained. In adult cryptorchid rats, a

few type A spermatogonia and Sertoli cells were left 3 weeks after operation.

In immature cryptorchid rats, Sertoli cells still formed a single row on the adjacent basement membrane even 7 weeks after operation, whereas they were located irregularly in a basal position near the basement membrane in adult cryptorchid testis 3 weeks after operation.

The area of the interstitial tissues of the central cross-section of the testis increased with age in the immature cryptorchid rats as well as in controls, however the area of the interstitial tissues in the adult cryptorchid rats was significantly larger than that in age-matched controls.

The present results showed that experimental cryptorchidism in the immature and adult rats produced the different functional changes in Sertoli cells, peritubular cells and spermatogonia, suggesting the mechanism of alterations in cryptorchid testis between immature and adult.

(受付: 昭和58年11月24日)



# 男子不妊症の内分泌学的研究

## I. 精子数と血中ホルモンとの関係

### Endocrinological Study on Male Infertility

#### I. Relationship between Sperm Density and Serum Hormones

千葉大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 島崎 淳教授)

伊藤 晴夫 川村 健二 片海 善吾  
Haruo ITO Kenji KAWAMURA Zengo KATAUMI  
角谷 秀典 布施 秀樹 皆川 秀夫  
Hidenori SUMIYA Hideki FUSE Hideo MINAGAWA  
島崎 淳  
Jun SHIMAZAKI

From the Department of Urology, School  
of Medicine, Chiba University  
(Director: Jun Shimazaki)

1. 血中 LH, FSH, テストステロン, T/LH 値と精子数との関係をみた. LH, FSH は造精機能障害にともない上昇するが, まず FSH が上昇し, 次いで LH が上昇する. FSH の上昇はすでに  $20\sim 30\times 10^6/\text{ml}$  よりみられる. よって, 妊孕性の期待出来る例でも FSH が代償性に上昇していることが考えられる. LH の上昇は  $10\sim 20\times 10^6/\text{ml}$  よりみられる. テストステロンは造精機能障害の進むにつれて減少する傾向を示すが, その低下は著明ではない.

2. Leydig 細胞機能を表わす敏感な指標として, Steinberger らにより提唱されたテストステロンを LH で除した値 (T/LH) は LH (あるいは FSH) より優れていることはない.

3. 精子数の表わし方として, 精子濃度, 総運動精子数, 総精子数を用いたところ, 総運動精子数が血中 LH および FSH ともつとも良い相関を示した. よって, 総運動精子数として表わすのがもつとも良く造精機能を表わすと考えられる.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 294-300, 1984)

造精機能がホルモンによりコントロールされていることは良く知られている<sup>1)</sup>. 精子形成に必須とされる LH, FSH およびアンドロゲン<sup>2)</sup>は間脳・下垂体・睾丸系の feed back 機構により調節されている<sup>3)</sup>ので, 造精機能が障害されると, 血中ホルモン値が変化する. また, 精子数は精子濃度で表わされることが多いが, 総運動精子数あるいは総精子数を用いる報告もある. そこで, 今回は精子数と血中ホルモン値との関係を調べるとともに, 治療効果または病態ともつとも関連する精子数の表現法についても検討した.

#### 対象ならびに方法

対象は昭和51年より昭和57年までの7年間に不妊を主訴として千葉大学泌尿器科を受診し, 精液検査および血中ホルモン検査の施行された378例である.

精子数は用手法で精液を採取し, 30分~1時間室温放置後, 血球計算盤でかぞえた. 精子濃度は精液1ml中の精子数である. 総運動精子数は精子濃度 $\times$  $\frac{\text{精子運動率}(\%)}{100}$  $\times$ 精液量(ml)で, 総精子数は精子濃度 $\times$ 精液量(ml)で表わした.

LH, FSH の測定は“LH キット第一”, “FSH キット第一”(第一 RI 社)による, また, テストステロン(T)の測定は“テストステロン H3 キット”(CIS社)によるラジオインムノアッセイにより行つた. 正常範囲はそれぞれ 6.5~34.5 mIU/ml, 1.9~21.8 mIU/ml, および 300~850 ng/dl である.

結 果

1) 精子濃度と血中ホルモンとの関係

精子濃度を無精子症 (I 群), 精子数 0~10×10<sup>6</sup>/ml (II 群), 10~20×10<sup>6</sup>/ml (III 群), 20~30×10<sup>6</sup>/ml (IV 群), 30~40×10<sup>6</sup>/ml (V 群), 40~50×10<sup>6</sup>/ml (VI 群), および 50×10<sup>6</sup>/ml 以上 (VII 群)に分けて, これら各群の血中 LH, FSH, T, および T (ng/ml) を LH (mIU/ml) で除した値 (T/LH) をみた.

LH と精子濃度との関係は, I 群では他のすべての群に比し, 有意に上昇している (図 1). VII 群の正常精子数群と比較すると, I 群から III 群まで上昇がみられる.

FSH と精子濃度との関係を図 2 に示した. 精子濃度の減少につれ FSH が上昇している. VII 群と比較すると, I 群より V 群まで血中 FSH が上昇している.

T との関係は I 群および II 群といくつかの群とで有意な差をみるものの, VII 群の正常精子数群と差をみる群はなく, 造精機能障害が進行しても, 血中テストステロン値の低下はそれほど著明ではない (図 3).

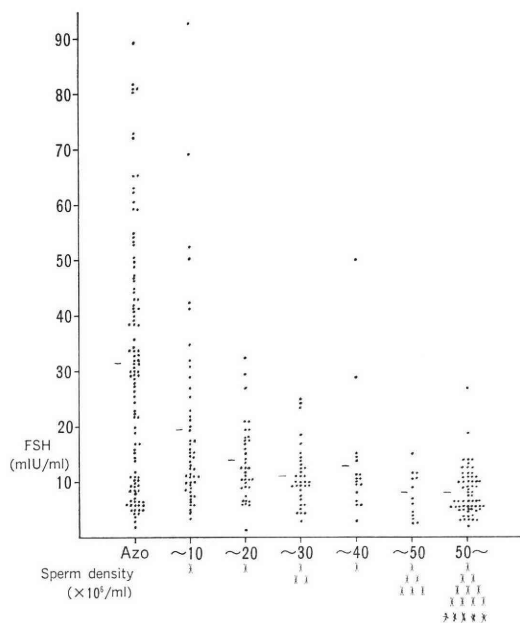


図 2 精子濃度と FSH との関係

- \* Azo 群との間に有意差あり
- \*\* ~10 群との間に有意差あり
- \*\*\* ~20 群との間に有意差あり
- \*\*\*\* ~30 群との間に有意差あり
- \*\*\*\*\* ~40 群との間に有意差あり

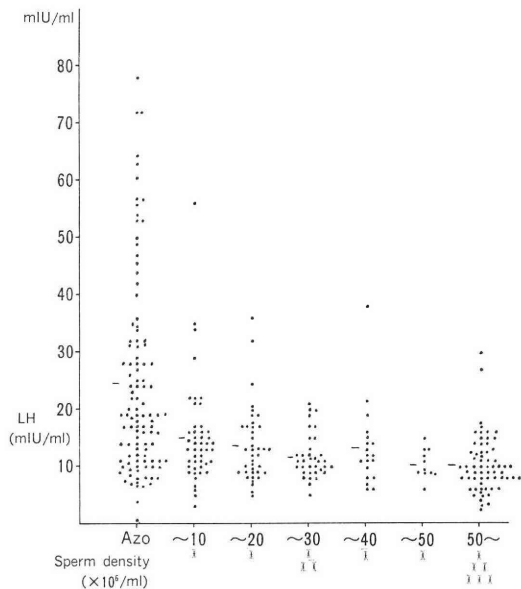


図 1 精子濃度と LH との関係

- \* Azo 群との間に有意差あり
- \*\* ~10 群との間に有意差あり
- \*\*\* ~20 群との間に有意差あり

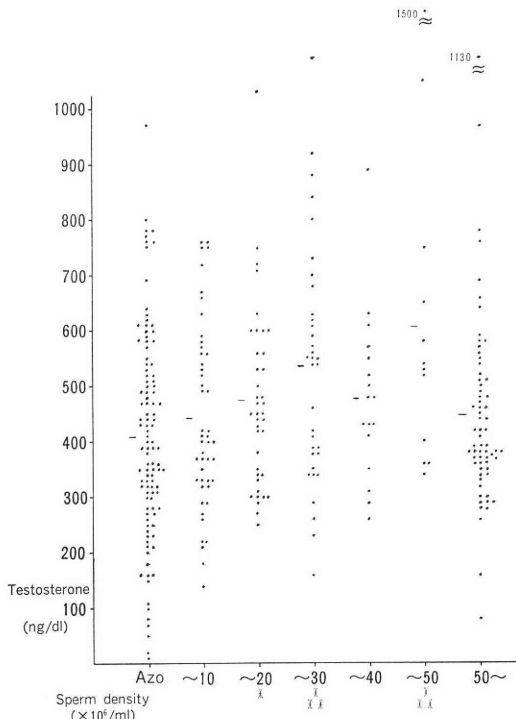


図 3 精子濃度とテストステロンとの関係

- \* Azo 群との間に有意差あり
- \*\* ~10 群との間に有意差あり

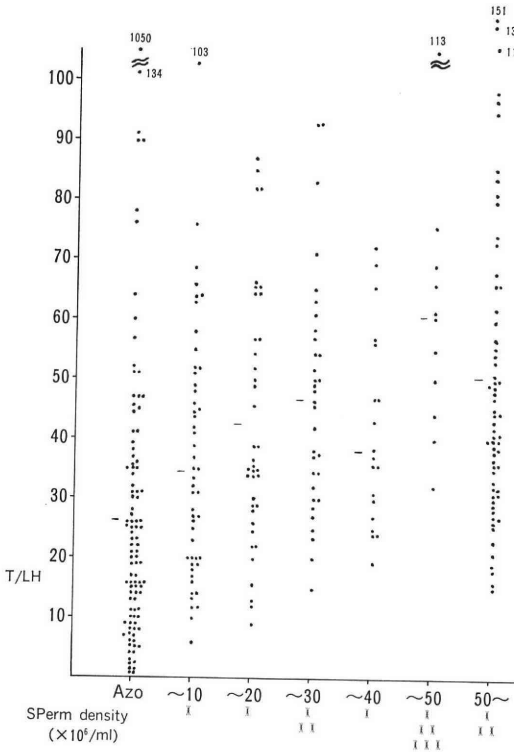


図 4 精子濃度と T/LH との関係  
 \* Azo 群との間に有意差あり  
 \*\* ~10 群との間に有意差あり

T/LH と精子濃度との関係は図 4 に示したごとくで、両者の相関は T に比較すればはるかに良い。しかし、VII 群と有意な差を示すのは I 群と II 群のみであり、精子数との相関は LH の場合よりもむしろ悪い。

2) 総運動精子数と血中ホルモンとの関係

総運動精子数が 0 (I 群), 0~10×10<sup>6</sup> (II 群), 10~20×10<sup>6</sup> (III 群), 20~30×10<sup>6</sup> (IV 群), 30~50×10<sup>6</sup> (V 群), 50~100×10<sup>6</sup> (VI 群), および 100×10<sup>6</sup> 以上 (VII 群) に分けて、これらと LH, FSH, T, T/LH との関係を見た。

LH と総運動精子数との関係を見ると、総運動精子数の減少とともに段階的に LH が上昇してゆく (図 5)。I 群の LH は他のすべての群のそれに比し有意に上昇している。また、VII 群は IV 群までと有意の差を示した。VI 群も III 群までと比較して有意に低い LH 値を示した。このように、LH に関しては精子濃度よりも総運動精子数として表わした方が睾丸機能をより良く表わすといえる。

FSH との関係を見ると、I 群と他のすべての群との間に有意差がある (図 6)。また、VII 群および VI 群は I

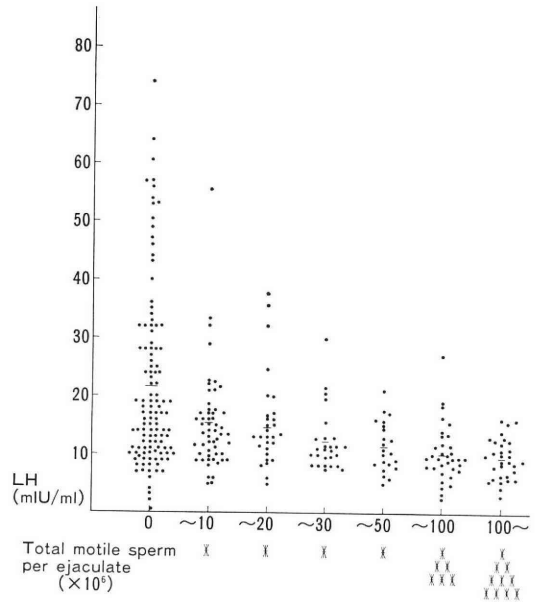


図 5 総運動精子数と LH  
 \* 0 群との間に有意差あり  
 \*\* ~10 群との間に有意差あり  
 \*\*\* ~20 群との間に有意差あり  
 \*\*\*\* ~30 群との間に有意差あり

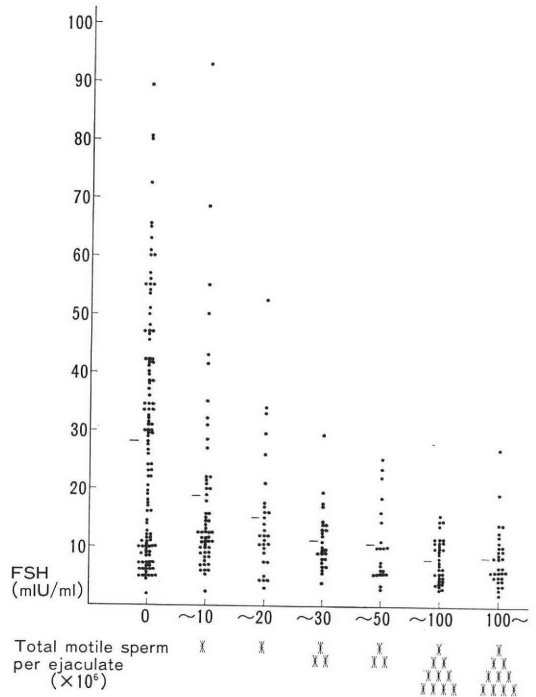


図 6 総運動精子数と FSH  
 \* 0 群との間に有意差あり  
 \*\* ~10 群との間に有意差あり  
 \*\*\* ~20 群との間に有意差あり  
 \*\*\*\* ~30 群との間に有意差あり

群からIVまでのすべてと有意な差を示した。精子濃度別にみたものと比較すると、総運動精子数別にみたものの方が良く睾丸機能を表わしているといえよう。

次に、T との関係を見ると、I 群と差をみるのはIII群とIV群で、II 群と差をみるのはIII群であり、その他の群間には有意差がみられない (図7)。このように、I 群で血中Tが低い傾向がみられるが、総運動精子数で表わしても精子数とのはずりした相関はみられない。

T/LH で表わすと、T の場合よりもよく Leydig 細胞機能を表わすことは、I 群と他のすべての群との間に有意差があり、また、VI群、VII群ではII群とも差をみることでわかる。ただし、精子濃度別にみたものとはほぼ同様である (図8)。

3) 総精子数と血中ホルモンとの関係

総精子数を 0 (I 群), 0~10×10<sup>6</sup> (II群), 10~30×10<sup>6</sup> (III群), 30~60×10<sup>6</sup> (IV群), 60~100×10<sup>6</sup> (V群), 100~200×10<sup>6</sup> (VI群), 200×10<sup>6</sup> 以上 (VII群) に分けて、これと血中ホルモン値との関係をみた。

総精子数の減少につれて LH は上昇し、I 群は他のすべての群と有意な差を示す。VI群、VII群はIII群を除いてI~V群までのすべてと差をみる。しかし、精子数の減少とともに各群の平均値が上昇してゆくカーブは総運動精子数の場合のようにスムーズではない (図9)。

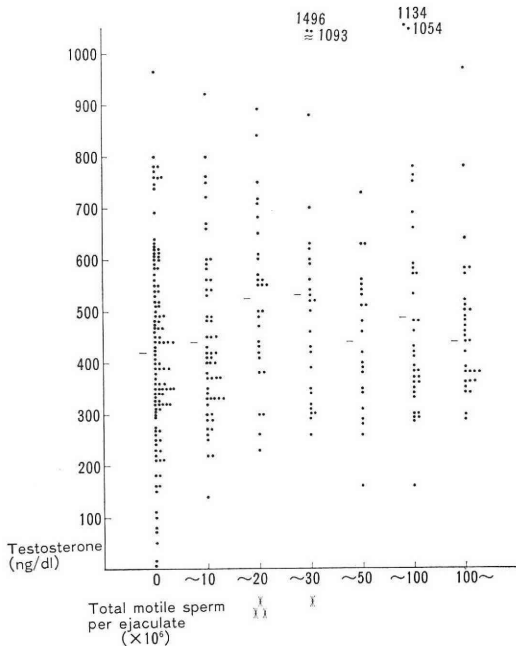


図7 総運動精子数と Testosterone  
 \* 0群との間に有意差あり  
 \*\* ~10群との間に有意差あり

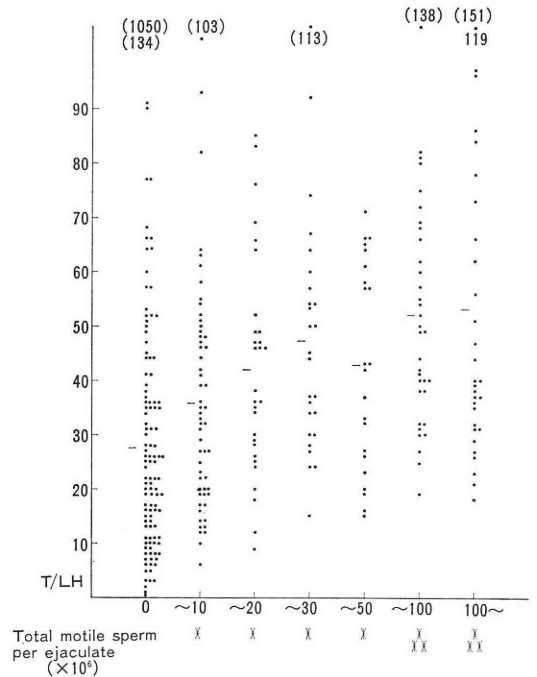


図8 総運動精子数と T/LH  
 \* 0群との間に有意差あり  
 \*\* ~10群との間に有意差あり

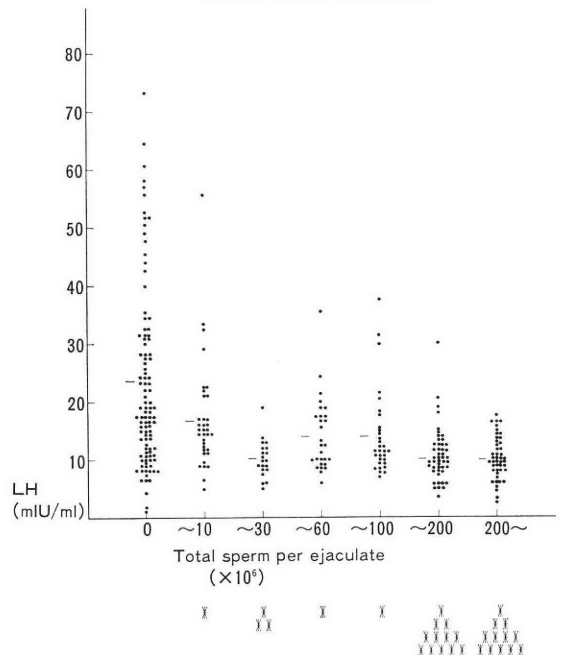


図9 総精子数と LH  
 \* 0群との間に有意差あり  
 \*\* ~10群との間に有意差あり  
 \*\*\*\* ~60群との間に有意差あり  
 \*\*\*\*\* ~100群との間に有意差あり

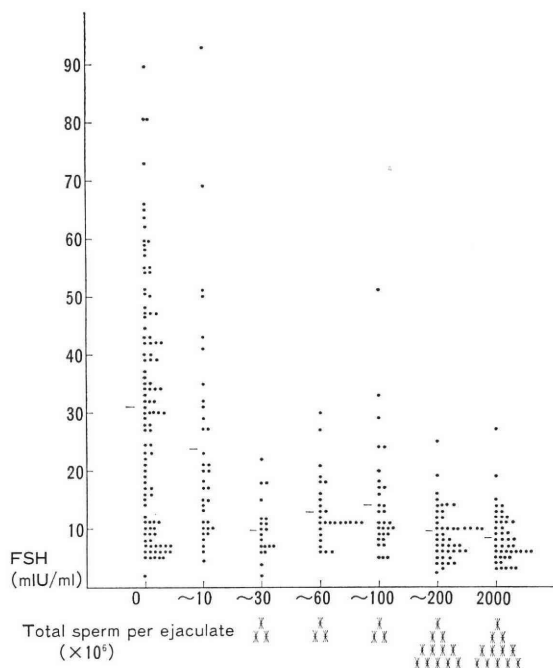


図10 総精子数と FSH

- \* 0 群との間に有意差あり
- \*\* ~10群との間に有意差あり
- \*\*\*\* ~60群との間に有意差あり
- \*\*\*\*\* ~100群との間に有意差あり

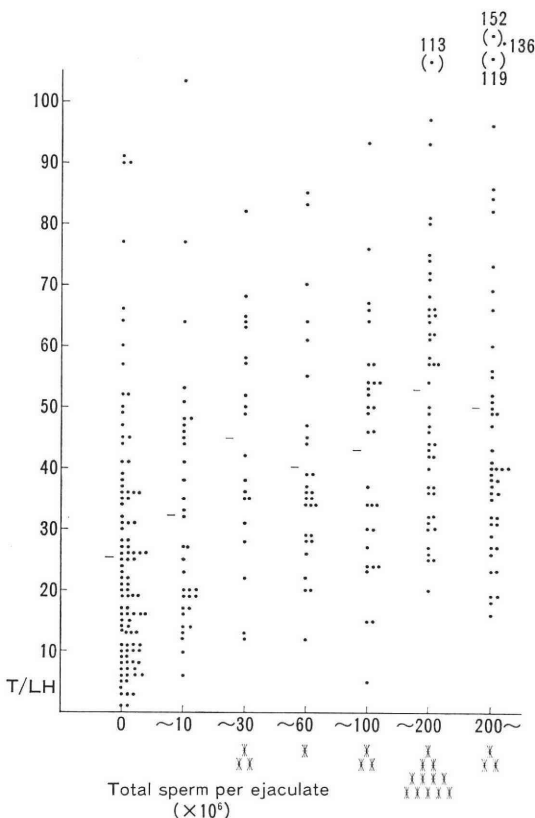


図12 総精子数と T/LH

- \* 0 群との間に有意差あり
- \*\* ~10群との間に有意差あり
- \*\*\*\* ~60群との間に有意差あり
- \*\*\*\*\* ~100群との間に有意差あり

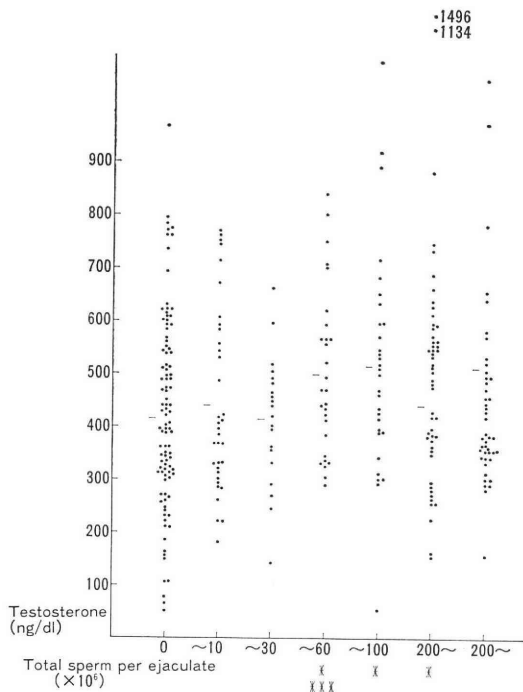


図11 総精子数と Testosterone

- \* 0 群との間に有意差あり
- \*\* ~30群との間に有意差あり

FSH についてみると、VI群、VII群はIII群を除いてV群までと有意な差を示す(図10)。また、III群、IV群、V群はI群およびII群と有意な差を示す。しかし、その平均値のえがくカーブをみると総運動精子数でみた場合のように段階状の上昇を示さない。

T に関してはIV群~VI群がI群に比して血中Tが上昇しており、また、IV群とIII群の間に有意な差をみる以外には差をみない(図11)。総精子数でみても血中Tとの相関はあまり明らかではない。

T/LH の場合は総運動精子数の場合とほぼ同様である(図12)。すなわち、VII群ではI群、II群としか有意の差を示さないが、VI群ではIII群を除いてV群までとの間に差がある。

考 按

精子形成にはT と FSH が必須であるが<sup>4,5)</sup>、この両者はセルトリ細胞に作用し、精細胞に対しては間接的に働らくことが判明してきた。これは、アンドロゲン・レ

セプターは精細胞にはなく、セルトリ細胞にあること<sup>6)</sup>、また、FSH・レセプターもセルトリ細胞膜にあること<sup>7)</sup>より推測される。さらに、セルトリ細胞と精細胞との間にデスモゾーム様結合がみられること<sup>8,9)</sup>、および、精細胞はアンドロゲン不応性で、セルトリ細胞は正常なキメラのマウスでも精子形成が行われる<sup>10)</sup>ことより支持される。

Leydig 細胞で産生される T はゴナドトロピン分泌に関して視床下部、下垂体に抑制的に作用する。エストラジオールも同様の働きを持つが、男子においては主に末梢で T から変換される。精細管のセルトリ細胞より分泌されるインヒピンが FSH 分泌に関して視床下部、下垂体に抑制的に働らく<sup>11)</sup>。T は LH の刺激により産生され、LH と FSH は視床下部よりの Luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) の刺激により分泌される。このような feedback 機構があるために造精機能の障害された者では血中 LH, FSH, T 等が変化する<sup>12)</sup>。Rosen ら<sup>13)</sup> および Franchimond ら<sup>14)</sup>によれば精子濃度の低いものでは血清中 FSH が上昇する。LH には差がなく、T レベルは低下するが有意ではないという。一方、不妊症患者の精液所見は精液量、精子数、精子運動率などで表わされる<sup>15)</sup>。精子数は精子濃度として表わされることが多いが、総運動精子数、総精子数として表わされることもある。

LH については、われわれの結果では、精子数の減少とともに上昇してゆく。これは Rosen ら<sup>13)</sup>の報告と異なる。安川ら<sup>16)</sup>は無精子症では精子濃度  $10 \times 10^6/\text{ml}$  未満の高度乏精子症および  $10 \sim 50 \times 10^6/\text{ml}$  の軽度乏精子症に比して血中 LH が上昇するという。自験例では正常精子数群に比して  $10 \sim 20 \times 10^6/\text{ml}$  群でも LH は有意に増加しており、LH も FSH よりはやや遅れるものの、造精機能障害の進むにつれて、無精子症になる以前より、上昇することが明らかとなった。精子数の表わし方としてどれをとつてもほぼ同様の傾向であるが、段階的にスムーズに上昇するのは総運動精子数の場合のみである。

血中 FSH の上昇はおもに精細管のセルトリ細胞由来の蛋白性因子であるインヒピンの産生減少の反映と考えられる。一般的には血中 FSH の上昇した不妊症患者はホルモン療法その他の治療に反応しないとされるが<sup>17)</sup>、FSH が上昇していて、かつ妊孕性の保たれている例があり<sup>18)</sup>、FSH が代償性に多量分泌されているためという。この観点より血中 FSH をみると、 $50 \times 10^6/\text{ml}$  以上の群に比して、 $20 \sim 30 \times 10^6/\text{ml}$  群、あるいはこれより少ない群では上昇している。最近の研究では精子濃度が  $10 \times 10^6/\text{ml}$  以上では充分妊孕性が期待出来るとされ

る<sup>19)</sup>ので、上記の FSH の代償性上昇はまれな例ではないと考えられる。

T/LH は Leydig 細胞機能のより敏感な指標として報告されたものである<sup>20)</sup>。T と比較すると精子数とはるかによい相関を示す。すなわち、T が軽度に低下し、LH が代償性に上昇するため、造精機能低下にともない T/LH が低下するわけである。これは総運動精子数で表わした場合に、各群の平均値はもつともなめらかなカーブを描く。しかし、精子濃度、総運動精子数、総精子数で表わしてもほぼ同様であり、また、いずれの場合も、この値が LH より良く睾丸機能を表わしているとは言えない。

## 文 献

- 1) Steinberger, E.: Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol. Rev.*, 51: 1-22, 1971.
- 2) 布施秀樹, 伊藤晴夫, 皆川秀夫, 川村健二, 島崎 淳: 造精機能導入に成功した Kallmann 症候群の 1 例. *泌尿紀要* 28: 1167-1172, 1982.
- 3) 島崎 淳, 伊藤晴夫: 男性性機能検査. *臨床検査 Mook*, No. 7, 147-154, 1981.
- 4) Nieschlag, E. and Wickings, E. J.: Immunological neutralization of FSH as an approach to male fertility control. *Int. J. Androl. Suppl.*, 5: 18-26, 1982.
- 5) Raj, H. G. M., Murty, G. S. R. C., Sairam, M. R. and Talbert, L. M.: Control of spermatogenesis in primates: Effects of active immunization against FSH in the monkey. *Int. J. Androl. Suppl.*, 5: 27-33, 1982.
- 6) Tindall, D. J., Miller, D. A. and Means, A. R.: Characterization of androgen receptor in Sertoli cell-enriched testis. *Endocrinology.*, 101: 13-23, 1977.
- 7) Fakunding, J. L., Tindall, D. J., Dedman, J. R., Mena, C. R. and Means, A. R.: Biochemical actions of follicle-stimulating hormone in the sertoli cell of the rat testis. *Endocrinology.*, 98: 392-402, 1976.
- 8) Russel, L.: Desmosome-like junctions between Sertoli and germ cells in the rat testis. *Am. J. Anat.*, 148: 301-312, 1977.
- 9) Kaya, M. and Harrison, R. G.: The ultrastructural relationship between Sertoli cells and spermatogenic cells in the rat. *J. Anat.*, 121: 279-290, 1976.
- 10) Lyon, M. F., Glenister, P. H. and Lamoneux, M. L.: Normal spermatozoa from androgen-resistant germ cells of chimaeric mice and the role of androgen in spermatogenesis. *Nature.*, 258: 620-622, 1975.
- 11) Franchimont, P., Bourguignon, J. P. and

- Demoulin, A.: Follicle-stimulating hormone: Actions on testicular functions and regulation of its secretion in oligozoospermia: Recent progress in andrology. Frajese, G., Hafez, E. S. E., Conti, C. and Fabbrini, A. eds. pp. 121-130, Raven Press, New York, 1981.
- 12) Pierrepoint, C. G., Jenkins, B. M., Wilson, D. W., Phillips, M. J. and Gow, J. G.: An examination of blood steroid and gonadotropin concentrations in relation to fertility status and testicular function in men. *Fertil. Steril.*, 38: 465-470, 1982.
- 13) Rosen, S. W. and Weintraub, B. D.: Mototropic increase of serum FSH correlated with low sperm count in young men with idiopathic oligospermia and aspermia. *J. Clin. Endocr.*, 32: 410-416, 1971.
- 14) Franchimont, P., Millet, D., Vendrely, E., Letawe, J., Legros, J. J. and Netter, A.: Relationship between spermatogenesis and serum gonadotropin levels in azoospermia and oligozoospermia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 1003-1008, 1972.
- 15) Albertsen, P. C., Chang, T. S. K., Vindivich, D., Robinson, J. C. and Smyth, J. W.: A critical method of evaluating tests for male infertility. *J. Urol.*, 130: 467-475, 1983.
- 16) 安川明広, 中原 満, 中野 博, 大江一彦: 男子不妊症の内分泌動態. *泌尿紀要* 29: 485-491, 1983.
- 17) Cunningham, G. R.: Medical treatment of the subfertile male. *Urol. Clin. North Amer.*, 5: 537-548, 1978.
- 18) Karpas, A. E., Matsumoto, A. M., Paulsen, C. A. and Bremner, W. J.: Elevated serum follicle-stimulating hormone levels in men with normal seminal fluid analyses. *Fertil. Steril.*, 39: 333-336, 1983.
- 19) Smith, K. D. and Steinberger, E.: What is oligospermia? In: *The testis in normal and infertile men.* Troen, P., Nankin, H. R. eds. pp. 489-503, Raven Press, New York, 1977.
- 20) Rodriguez-Rigau, L. J., Zuckerman, Z., Weiss, D. B., Smith, K. D. and Steinberger, E.: Hormonal control of spermatogenesis in man: Comparison with the rat. In: *Testicular development, structure and function.* Steinberger, A. and Steinberger, E. eds. pp. 139-146, Raven Press, New York, 1980.

## Endocrinological study on male Infertility

### I. Relationship between sperm density and serum hormones

**Haruo Ito, Kenji Kawamura, Zengo Kataumi, Hidenori Sumiya, Hideki Fuse, Hideo Minagawa, Tatsuo Igarashi, and Jun Shimazaki**

From the Department of Urology, School of Medicine, Chiba University  
(Director: Jun Shimazaki)

1. Relations between serum LH, FSH and testosterone levels and sperm count in semen were studied.
2. Elevation of FSH was seen when sperm density decreased to  $20-30 \times 10^6/\text{ml}$  or less. The compensatory increase of FSH may be present even in cases of fertile men. LH increased when the sperm density was as low as  $10-20 \times 10^6/\text{ml}$ . Although testosterone tended to become lower as the disturbance of spermatogenesis advanced, the decrease was not prominent.
3. Testosterone/LH which was proposed as the sensitive index of Leydig cell function by Steinberger et al. was not superior to LH or FSH judged from the relation to sperm count.
4. Total motile sperm per ejaculate correlated better with serum levels of LH and FSH than sperm density or total sperm count did. The total count of motile sperm seems to represent the state of spermatogenic function best.

(受付: 昭和59年1月13日)

# 健康成人男子 254 人の精液所見および頻回射精による 精液所見変動に関する検討

Studies on Seminal Characteristics Obtained from 254 Healthy Young  
Adults and Effects of Frequent Ejaculation on Seminal Quality

陸上自衛隊札幌地区病院泌尿器科

生 垣 舜 二

Shunji IKEGAKI

(Department of Urology, Sapporo District Hospital, G.S.D.F.)

札幌医科大学附属病院泌尿器科

丸 田 浩 大 野 一 典 熊 本 悦 明

Hiroshi MARUTA Kazunori OHNO Yoshiaki KUMAMOTO

(Department of Urology, Sapporo Medical College)

18歳から36歳までの健康成人男子集団と思われる自衛官254名より精液を採取し、精液量、精子濃度、総精子数、精液中PRL値について検討した。254名中無精子症を1名認めた。また頻回の射精による精液所見の変化も併せて検討し以下の結果を得た。

1. 精液量の平均値は  $2.8 \pm 1.2$  ml (Mean  $\pm$  S.D.) で最低 0.8 ml, 最高 7 ml であった。
2. 精子濃度の平均は  $70.9 \pm 47.3 \times 10^6$ /ml であり、 $20 \times 10^6$ /ml 未満を17例 (6.7%) 認めた。
3. 総精子数の平均は  $192.7 \pm 154.6 \times 10^6$  であり、最低は  $17.6 \times 10^6$ , 最高は  $910 \times 10^6$  であった。
4. 精液中の PRL 値は精子濃度と相関し、精子濃度が低下すると PRL 値も低下する傾向がみられた。
5. 7日間連日射精による、精液量、精子濃度、総精子数は4日目まで漸減し、その後は一定の値を保つた。
6. 6時間毎5回射精による精液量、精子濃度、総精子数はほぼ直線的に下降し、この後3日間の禁欲で妊娠に可能な値までほぼ回復した。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(3), 301-309, 1984)

## 緒 言

近年、不妊を訴え泌尿器科外来を受診する男性は漸増傾向にあり、泌尿器科医にとって男子不妊症の診断治療が臨床上重要な位置を占めつつある。本症では妊娠可能な精子濃度について古くより多くの議論があるが、近年、妊娠可能な精子濃度はかなり低いことが明らかにされつつある。また子供を有する成人男子の精子濃度についてもかなりの幅があり、米国における検討では  $10 \times 10^6$ /ml 台の男子が11%もみられたという報告<sup>1)</sup>もある。そこで

本邦における健康成人男子の精子濃度がどのような分布をしているかという点は、不妊症診断の上で興味ある問題である。

我々は健康成人男子の集団と考えられる自衛官を対象として、精液量、精子濃度、総精子数、精液中 prolactin (PRL) 値などについて検討した。

また頻回の射精により精液量、精子数がどのように変化するかは、精液検査をする上で基本的な問題である。しかしこの点に関する data はほとんどみられないのでこの問題についても詳細に検討したので報告する。



対象と方法

1975年4月から1980年5月までの約5年間にわたり、健康な自衛官を対象として検討した。年齢は18歳~36歳である。

精液は3日間以上の禁欲期間をおき、用手法にてシャーレに採取、約30分間室温に放置した後検査した。

精子数の算出は白血球計算用メランジュールに0.5まで精液を吸引、これを20倍に希釈し Thoma 血球算定板上で赤血球算定法に従い、精子数を count し100万倍して1 ml あたりの精子数とした。また PRL の測定は、採取した精液をそのまま PRL 測定用 kit で測定した。

結 果

I. 健康成人男子の精液所見

254 例の自衛官より精液を採取し以下の分析を行った。

年齢分布は Fig. 1 の如くである。

254 例中 1 例に無精子症を認めた。以下の精液所見の検討はこの 1 例を除いた253例について行った。(Table 1, Fig. 2~7)

A. 精液量

Fig. 2 は精液量の分布を 検討したものである。全体の平均は2.8±1.2ml (平均±S.D.) であり、2~2.9ml 群が約40%と最も多くみられた。1 ml 未満が3例、6 ml 以上が7例に認められ、最低0.8ml、最高7ml で

Table 1

Age	No. case	Volume*	Concentration**	Total count***
18	5	2.1±0.4	63.2±36.6	127.6± 74.2
19	15	2.5±1.5	70.5±39.6	164.9±110.3
20	24	2.8±1.2	71.0±38.8	198.1±137.8
21	31	2.7±1.1	94.3±67.3	229.2±180.9
22	29	2.5±1.0	76.8±50.0	197.2±166.1
23	31	2.8±1.2	67.6±37.0	184.0±123.6
24	24	3.1±1.3	80.4±60.1	250.3±222.2
25	17	2.5±1.0	60.7±31.6	141.9± 76.6
26	12	2.9±1.1	61.5±27.5	178.3±164.8
27	9	3.7±1.6	77.8±45.1	259.2±146.4
28	13	3.3±2.0	39.7±19.8	157.0±128.7
29	10	3.2±1.9	82.4±36.6	277.5±251.2
30	11	2.3±0.9	69.1±54.1	151.5±134.9
31-	22	2.7±1.0	57.0±38.9	141.2± 89.6
Average		2.8±1.2	70.9±47.3	197.7±154.6

\* : ml, \*\* : ×10<sup>6</sup>/ml, \*\*\* : ×10<sup>6</sup>

あつた。一方、年齢による精液量の差は Fig. 3 の如くみられなかつた。

B. 精子濃度

Fig. 4 は精子濃度の分布を 検討したものである。全体の平均は70.9±47.3×10<sup>6</sup>/ml であり、最低は4×10<sup>6</sup>/ml、最高 277×10<sup>6</sup>/ml であつた。著者等が乏精子症の1つの指標としている40×10<sup>6</sup>/ml 未満が79例(31.2%)に認められ、20×10<sup>6</sup>/ml 未満が17例中(6.7%)認められた。また 20×10<sup>6</sup>/ml 未満17例中4例ではすでに子供を有しており興味ある結果であつた。Fig. 5 は年齢による分布をみた結果であるが、年齢による分布の差はなかつた。

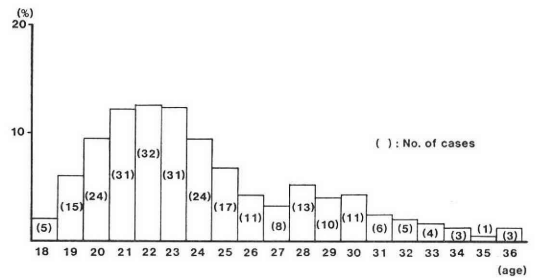


Fig. 1 Age Distribution of 254 Males

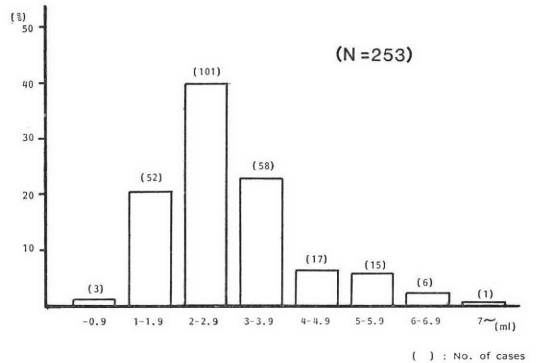


Fig. 2 Distribution of Seminal Volume

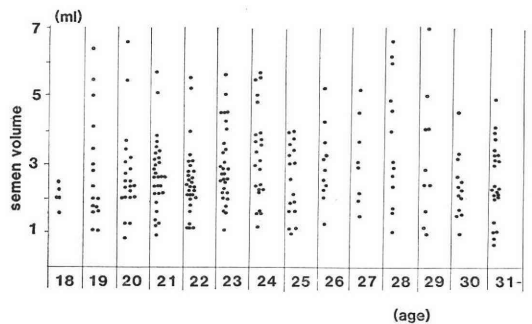


Fig. 3 Distribution of seminal plasma volume in 254 males

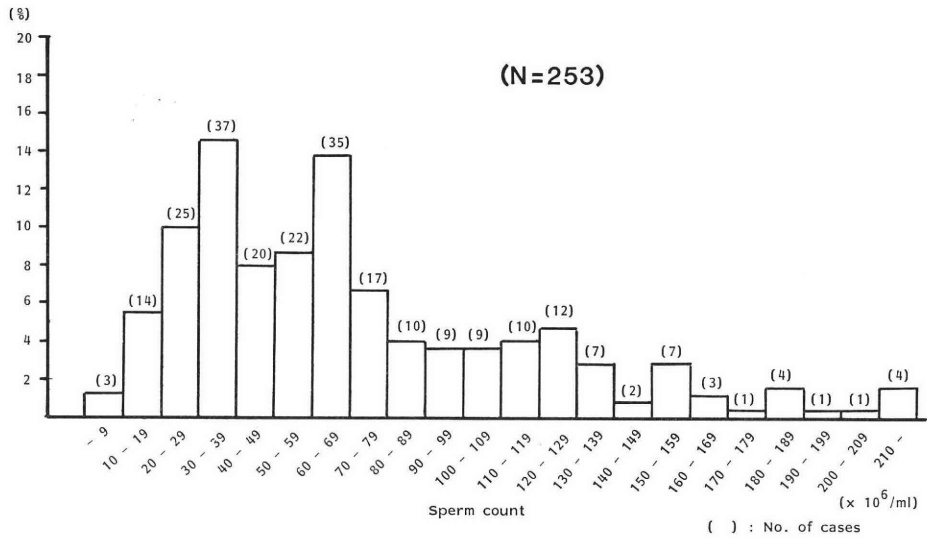


Fig. 4 Distribution of Sperm Density

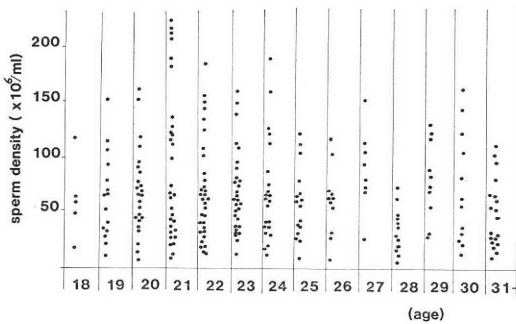


Fig. 5 Distribution of sperm density in 253 males

C. 総精子数

近年、男子不妊症に関する検討に際し精子濃度と精液量の積である総精子数で診断治療効果の判定をしている報告も多くなりつつある。精液採取時に性的興奮の違いで前立腺分泌液量に差が出る可能性があり、これが精子濃度の値を広く分布させている原因とも考えられる。そこで精子濃度と比較する意味で総精子数についても検討した。

Fig. 6 は総精子数の分布である。全体の平均は $192.7 \pm 154.6 \times 10^6$ 、最低 $17.6 \times 10^6$ 、最高 $910 \times 10^6$ であった。分布の peak は $75 \sim 99 \times 10^6$ であったが $50 \times 10^6$ 未満が26例(10.3%)に認めた。

Fig. 7 は年齢による総精子数の分布を検討した結果であるが、年齢による差はなかった。

D. 精液中 PRL

精液中に PRL が存在することはすでに報告されているが、存在意義については一定の見解に至っていない。

精子濃度と PRL は関連性があるとする報告もあるので、この点を検討した。なお比較のため、札幌医大泌尿器科の無精子例の精液中 PRL も検討した。

Fig. 8, Table 2 は精子濃度別に精液中 PRL 値を示したものである。精子濃度が高くなるにしたがい、精液中 PRL 値も上昇する傾向が得られた。

II. 頻回射精による精液所見の変化

射精を繰り返すと精液の各 parameter は当然のことながら低下してゆくと考えられる。この点については対象、方法の問題もありあまり多くの研究報告はない。そこで健康成人男子自衛官の volunteer の協力を得て検討した。

A. 1日1回7日間連続射精の影響

1週間毎日1回という連続射精が精液所見にどのような影響を与えるかを検討した。Fig. 9, 10, 11, Table 3 は5人の男子(22~28歳)に3日間以上の禁欲期間をおいた後、連日7日間早朝1回精液をとり、精液量、精子濃度、総精子数を検討した結果である。

精液量は最初から量の多かつた1例を除き、4例では7日間を通して漸減傾向はみられるが、さほど大きなものではなかった。

一方、精子濃度は5例中4例で4日目まで直線的に下降し、4日目以降はほぼ一定した値であった。これらの結果は総精子数でもほぼ同じであった。

B. 6時間間隔5回連続射精の影響

次に6時間間隔という短時間内の頻回射精による影響と、さらにこの後3日間の禁欲でどの程度回復するかを検討した。

5日間の禁欲期間をおいた後、3人の男子 volunteer

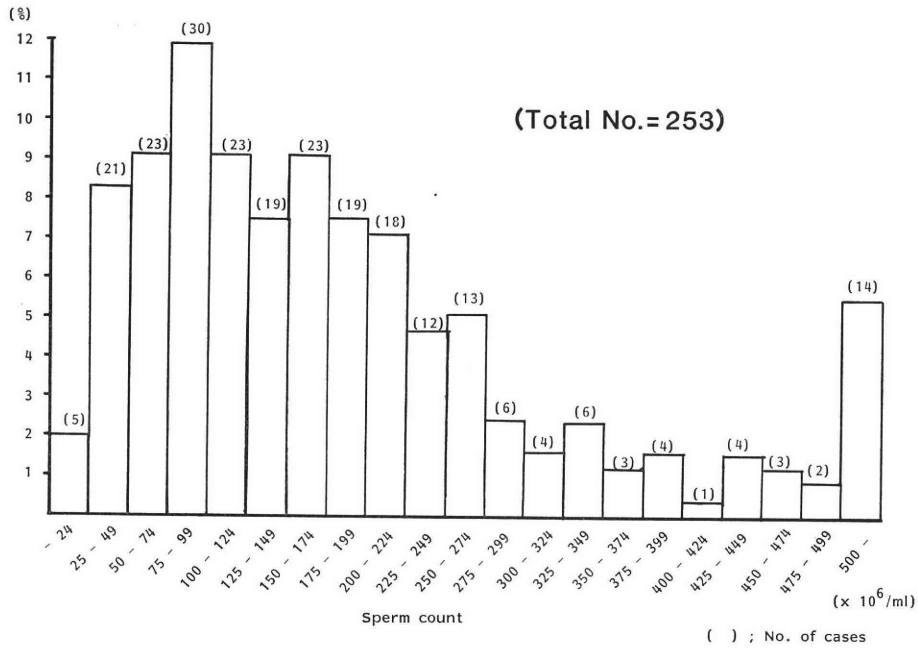


Fig. 6 Distribution of Total Sperm Count

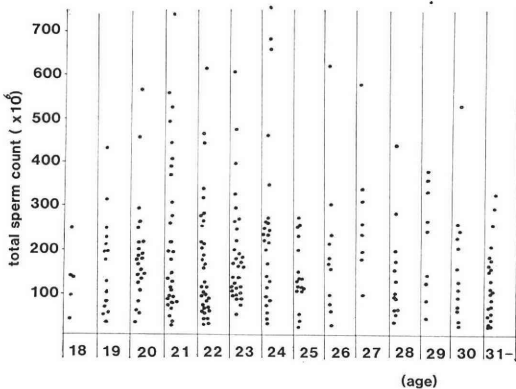


Fig. 7 Distribution of total sperm count in 253 males

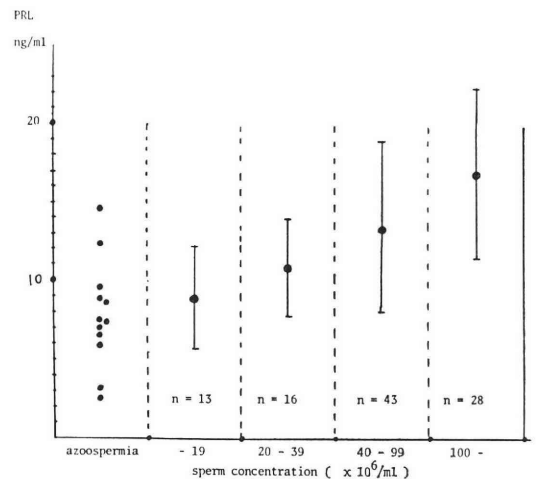


Fig. 8 Relation between prolactin levels in semen and sperm concentration

(28歳) から6時間毎5回精液をとり、所見を検討した。さらに最終射精後3日間の禁欲期間をおいてもう一度精液をとり回復の程度を分析した。

Fig. 12, 13, 14, Table 4はその結果を示している。6時間間隔で連続的に射精すると、精液量、精子濃度、総精子数はほぼ直線的に減少した。また3日間の禁欲期間をおくと、症例Aは完全に、症例 B, C も完全にではないが回復が認められた。

考 案

正常成人男子の精液所見に関する研究は、古くは1946年 MacLeod<sup>2)</sup> により一定の基準が示されている。本邦

Table 2 PRL level in seminal plasma

Sperm density	PRL (ng/ml)
Azoospermia	7.8±3.2
<20×10 <sup>6</sup> /ml	9.0±3.4
20-39×10 <sup>6</sup> /ml	10.9±3.2
40-99×10 <sup>6</sup> /ml	13.4±5.6
100×10 <sup>6</sup> /ml>	16.9±5.5

Table 3 Effect of frequent ejaculation at daily interval on seminal quality

		Days	0	1	2	3	4	5	6
Case A	Volume (ml)		1.5	0.7	0.6	0.5	0.9	0.7	0.7
	Density ( $\times 10^6/ml$ )		207	153	92	58	125	103	99
	Total count ( $\times 10^6$ )		310.5	107.1	55.2	29	112.5	72.1	69.3
Case B	Volume (ml)		1.5	1.2	1.2	1.4	1.3	0.8	0.8
	Density ( $\times 10^6/ml$ )		196	99	75	47	61	60	62
	Total count ( $\times 10^6$ )		294	118.8	90	65.8	79.3	48	49.6
Case C	Volume (ml)		1.3	2.4	2.3	2.2	1.8	1.4	1.5
	Density ( $\times 10^6/ml$ )		91	28	22	22	26	32	30
	Total count ( $\times 10^6$ )		118.3	67.2	50.6	48.4	46.8	44.8	45
Case D	Volume (ml)		8	8	3.5	3.7	2.5	4	3.7
	Density ( $\times 10^6/ml$ )		28	13	4	7	21	3	8
	Total count ( $\times 10^6$ )		224	104	14	25.9	52.5	12	29.6
Case E	Volume (ml)		4	3.5	3.3	2.5	2.3	2.5	3
	Density ( $\times 10^6/ml$ )		25	35	19	47	14	9	14
	Total count ( $\times 10^6$ )		100	122.5	62.7	117.5	32.2	22.5	42

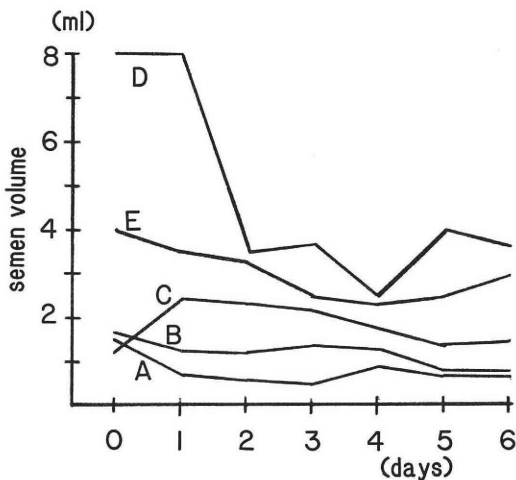


Fig. 9 Change of semen volume following 7 successive ejaculations at daily intervals

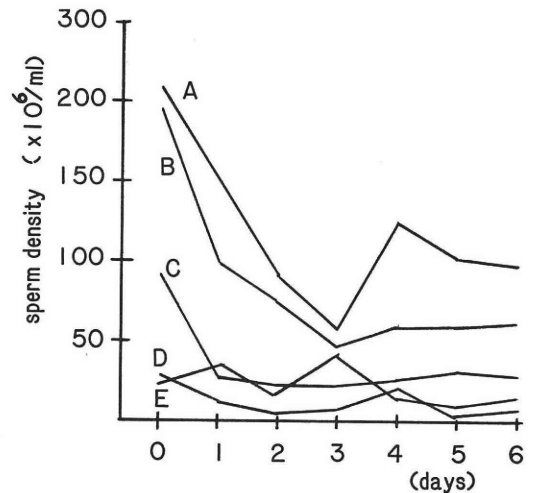


Fig. 10 Change of sperm density following 7 successive ejaculations at daily intervals

では1955年、高島<sup>3)</sup>等による報告がみられ、1957年、清水<sup>4)</sup>は詳細に不妊男子、妊孕男子の精液所見をまとめ検討を加えている。しかし、これらの報告は主に不妊男子や不妊外来を受診して検査の結果、正常と判断した症例を対象としているため、年齢層のかたよりなどが考えられ、母集団として適切か否か、問題があるところである。今回、著者等は健康若年成人男子の集団といえる自衛官の協力を得、年齢、結婚の有無、fertilityなどを考慮せず、無作為に254例の自衛官の所見を総合的に検討し、精液の各種パラメーターの分布について検討した。

1. 精液量、精子濃度、総精子数について  
 精液量と妊孕性については議論のあるところであり、その量に関して一定の見解はない。清水 (1957)<sup>4)</sup> は不妊症男子及び妊孕男子の精液量を比較し、正常成人男子の精液量は2.0ml以上であり1.5ml以下になると妊孕性に問題がでてくると報告している。この点に関する欧米文献では、Nelson (1974)<sup>5)</sup>、2.83ml、Smith (1977)<sup>6)</sup> 2.5ml、MacLeod (1979)<sup>7)</sup>、3.2mlと報告しており、おおむね3ml前後と考えられる。我々の検討結果もこれ

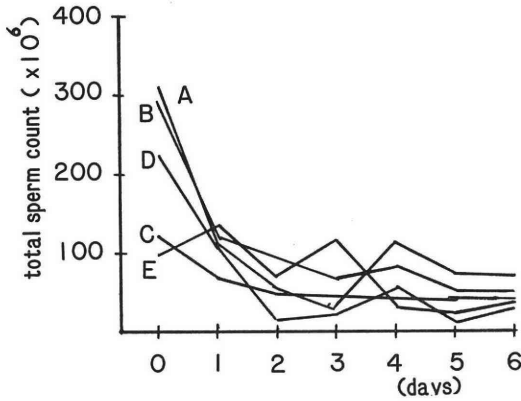


Fig. 11 Change of total sperm count following 7 successive ejaculations at daily intervals

らとほぼ一致する値であった。

今回 254 例中 1 例 (0.4%) に無精子症を認めた。MacLeod (1945)<sup>9)</sup> は 100 人の健康若年男子に 2 人、吉田 (1982)<sup>9)</sup> は健康医学生 125 人に 1 人の無精子症を認めている。原因の明らかでない、いわゆる特発性無精子症が一般の健康成人男子集団にどの程度存在しているかは、類宦官症との関係もあり定かでないが、今回の我々の 0.4% という頻度は他の報告に比してやや少ない結果であった。これは入隊時に身体検査で身体発育や性成熟度などの screening を受けているためと考えられる。

精子濃度と不妊とは密接な関係にあり、精子濃度が不妊症診断の大きな決め手となっている。しかし不妊症と診断する精子濃度については必ずしも明確な根拠がない。今回の我々の検討ではいわゆる乏精子症とされている  $40 \times 10^6/\text{ml}$  未満が 79 例 (31.2%) 認められ、妊孕能

がかなり低いとされている  $20 \times 10^6/\text{ml}$  未満が 17 例 (6.7%) も認められた。一度のみの検査のため判定には慎重を要するが、予想以上に精子濃度の低い例が多いという結果であった。

最近の報告でも Hommonai (1980)<sup>11)</sup> は 627 例の妊孕男子の中で最近 3 ヶ月以内に妻が妊娠した 516 例の夫の精液を検査したところ、精子数  $40 \times 10^6/\text{ml}$  以下が 39.6%、 $20 \times 10^6/\text{ml}$  以下が 20.5% も認められたと報告している。また Zuckerman (1977)<sup>10)</sup> は fertile men 4,000 人、infertile couple の夫 1,000 人の精液を検査した結果から、もし精子の motility, morphology が異常でないならば、精子濃度  $10 \times 10^6/\text{ml}$ 、総精子数で  $25 \times 10^6$  以上あれば精子数は不妊の原因とならないと述べている。今回の著者らの data においても、 $20 \times 10^6/\text{ml}$  未満の 17 例中 4 例はすでに子供を有していた。これらの結果は精子濃度が妊娠の成立に重要な要因ではあるが、精子濃度以外の他の factor (運動、奇形率等) も考慮に入れ、不妊症の診断治療を考えていく必要のあることを示しているものである。

総精子数については、かつて Chang (1946)<sup>11)</sup> の実験により妊孕能に関係するのは総精子数ではなく精子濃度であるとされて以来、不妊症の診断治療の指標として主に精子濃度が用いられている。しかし今回の検討でも精子濃度は低い精液量が多い例、逆に精子濃度は高いが精液量が少ない例も認められた。性的興奮度により前立腺分泌物量に差の出る可能性も考えると、両者の積である総精子数も診断治療の 1 つの指標とすべきと考える。

2. 精液中の PRL

Segal (1976)<sup>12)</sup> は男子不妊症患者の血中 PRL 値が高値であると報告し不妊と PRL の関係が注目された。

Table 4 Effect of frequent ejaculation at intervals of every 6 hours on seminal quality

		Hours					
		0	6	12	18	24	96
Case F	Volume (ml)	2.1	2.1	2.0	1.8	1.0	2.0
	Density ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	105	69	56	34	24	50
	Total count ( $\times 10^6$ )	220.5	144.9	112	61.2	24	100
Case G	Volume (ml)	6.0	3.8	2.8	2.0	1.4	5.0
	Density ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	34	22	18	15	6	46
	Total count ( $\times 10^6$ )	204	83.6	50.4	30	8.4	230
Case H	Volume (ml)	8.0	4.3	3.1	2.3	2.0	3.8
	Density ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	28	7	7	5	5	20
	Total count ( $\times 10^6$ )	224	30.1	21.7	21.5	10	76

↑  
Sexual rest for three days

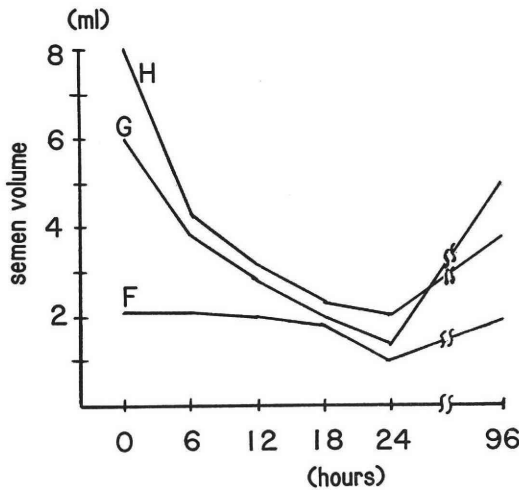


Fig. 12 Change of semen volume following frequent ejaculations at intervals of 6 hours for 24 hours

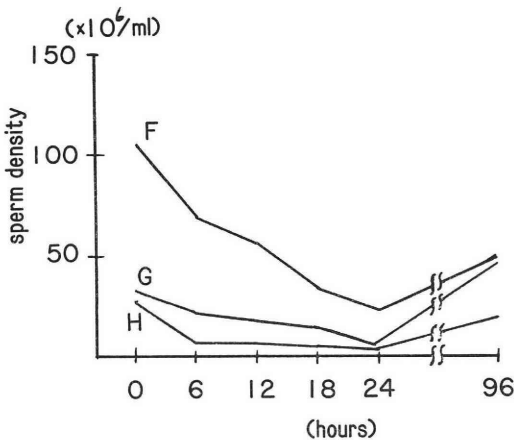


Fig. 13 Change of sperm density following frequent ejaculations at intervals of 6 hours for 24 hours

著者<sup>13)</sup>もこの点について検討したが、不妊患者の血中 PRL 値は正常成人男子と差がみられず、Hargreave (1977)<sup>14)</sup>も 208 例の不妊男子血中 PRL を測定し、同様の結果を報告している。不妊患者の血中 PRL 値についてはまだ議論のあるところである。

一方、精液中 PRL については、Sheth (1976)<sup>15)</sup>は正常成人男子、無精子症、乏精子症患者の精液中 PRL を測定し、無精子症、乏精子症では PRL は低値であること、乏精子症では精子運動率の低い症例ほど PRL 値は低値であると報告している。

また Shah (1976)<sup>16)</sup>は精液中に ovine PRL を添加

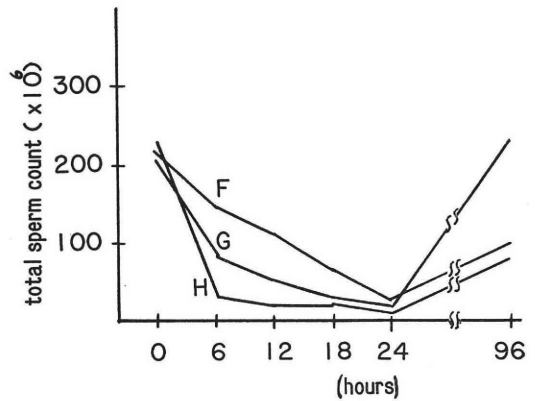


Fig. 14 Change of total sperm count following frequent ejaculations at intervals of 6 hours for 24 hours

すると、精液中 cyclic AMP 活性が上昇することから、PRL は精液中において精子の代謝維持調節に関与していると述べている。

著者等の data も血中 PRL と異なり、精液中 PRL は精子濃度が低下するにしたがい低下するという結果であった。このような精液中 PRL と精子濃度との関連性が、どのような機序によっているのか不明であるが、男子不妊症の発症機序が明らかでない現在、この面からの approach が 1 つの手がかりになる可能性もあり、今後検討を要する問題である。

### 3. 頻回射精による変化

頻回かつ連続的に射精を繰り返すと、精液量、精子濃度が減少することは容易に想像できる。しかし頻回射精の間隔、回数と精液所見が具体的にどのような関係になるのかを検討した報告はきわめて少ない。MacLeod (1945)<sup>2)</sup>は 3 日間連日射精による精液所見の検討から、精液量は徐々に、精子濃度は直線的に下降すると報告している。Lampe (1956)<sup>17)</sup>は 12 時間ごとに射精させ、24 時間まで精子濃度、精液量は減少、48 時間でやや回復すると述べている。Murphy (1962)<sup>18)</sup>も対象は 1 人であるが、1 時間ごとに 4 回精液を採取し、精液量、精子濃度は急激に減少していくと報告している。今回、著者等は 5 人の健康男子の協力を得て 1 日 1 回、連日 7 日間精液を採取し、精液所見の変化を検討した。また、他の 3 例では、6 時間ごと 5 回射精した後、3 日間禁欲期間をおき、精液所見の回復の程度を検討した。その結果、1 日 1 回連日 7 日間射精で、精子数は 4 日目まで漸減し、4 日以降 5 例中 4 例ではほぼ一定の値となつたが、値そのものについては、各人で大きなバラツキがみられた。一方、精液量については、1 日 1 回の射精では漸減傾向はあるが、5 例中 4 例では精子数ほど大きな変化はみられ

なかつた。しかし、6時間ごと5回連続射精すると、精液量は直線的に下降していることから (Fig. 12)、精液量は24時間、間隔をおくとかなり回復するものと考えられた。また、精子濃度がほぼ一定化した4日目以降の総精子数は、各個人の1日産生精子数と考えられるが、Fig. 10 から明らかな様に、この値には各人で大きな差のあることが示された。

また6時間ごと5回連続射精後、3日間、間隔をおくとかなり精液所見に回復がみられた。今回の検討は、6時間ごとに5回というかなり過激な条件下での回復過程であることから、一般不妊外来での精液検査では、3日間、間隔をおくと、精液所見はほぼ回復しているものと想像された。Freund (1963)<sup>19)</sup>は連続射精の研究から3日間連日射精後の精液所見は、副睾丸、精のう腺などいわず extra-gonadal sperm reserve の影響が減り、その後5日間連日射精の精子濃度は睾丸の1日あたりの精子産生能 (daily sperm production rate) を推定でき、不妊症の治療効果判定に適用していると述べている。(因に Freund は正常若年男子の daily sperm production rate は  $50 \sim 60 \times 10^6/\text{day}$  であると報告している。) しかし一般の外来において Freund の述べているスケジュールでの検査は現実的でないし、また禁欲後の最大の精子濃度で妊孕能を判定することの方が理にかなっていると考えられる。

## 文 献

- 1) Homonnai, Z. T., Paz, G., Weiss, J. N. and David, M. P.: Quality of semen obtained from 627 fertile men. *Int. J. Androl.*, 3: 217-228, 1980.
- 2) MacLeod, J. and Hotchkiss, S. R.: Semen analysis in 1,500 cases of sterile marriage. *Am. J. Obst. Gynec.*, 52: 34-41, 1946.
- 3) 高島達夫, 村山 茂, 飯塚理八: 不妊男子の精液所見. *産婦人科の世界*, 5: 1099-1104, 1953.
- 4) 清水博直: 男性不妊因子の研究. *日不妊会誌*, 2: 29-39, 1957.
- 5) Nelson, C. M. K. and Bunge, R. G.: Semen analysis: Evidence for changing parameters of male fertility potential. *Fert. Steril.*, 25: 503-507, 1974.
- 6) Smith, K. D. and Steinberger, E.: What is oligospermia? in *The Testis in Normal and Infertile Men*. p. 489, Raven Press, 1977.
- 7) MacLeod, J. and Wang, Y.: Male fertility potential in terms of semen quality: A review of the past, a study of the present. *Fert. Steril.*, 31: 103-116, 1979.
- 8) MacLeod, J. and Heim, L. M.: Characteristics and variations in semen specimens in 100 normal young men. *J. Urol.*, 54: 474-482, 1945.
- 9) 吉田英機: 健常医学生における精液所見とその季節的変動. *日泌尿会誌*, 73: 1416-1421, 1982.
- 10) Zuckerman, Z., Rodriguez-Rigau, L. J., Smith, K. D. and Steinberger, E.: Frequency distribution of sperm counts in fertile and infertile males. *Fert. Steril.*, 28: 1310-1313, 1977.
- 11) Chang, M. C.: Effect of dilution on fertilizing capacity of rabbit spermatozoa. *Science.*, 104: 361-362, 1946.
- 12) Segal, S., Polishuk, W. Z. and Ben-David, M.: Hyperprolactinemic male infertility. *Fert. Steril.*, 27: 1425-1427, 1976.
- 13) 生垣舜二, 丸田 浩, 熊本悦明: 男子におけるプロラクチンの研究. *日泌尿会誌*, 73: 362-373, 1982.
- 14) Hargreave, T. B., Kyle, K. F., Kelly, A. M. and England, P.: Prolactin and gonadotropins in 208 men presenting with infertility. *Brit. J. Urol.*, 49: 747-750, 1977.
- 15) Sheth, A. R., Mngatwala, P., Shah, G. H. and Ro, S. S.: Occurrence of prolactin in human semen. *Fert. Steril.*, 26: 905-907, 1976.
- 16) Shah, G. V., Desai, R. B. and Sheth, A. R.: Effect of prolactin on metabolism of human spermatozoa. *Fert. Steril.*, 27: 1292-1294, 1976.
- 17) Lampe, E. H. and Masters, W. H.: Problems of male fertility. II. Effect of frequent ejaculation. *Fert. Steril.*, 7: 123-127, 1956.
- 18) Murphy, P. D.: The effect of ejaculation upon the sperm count: Report of a case. *J. Urol.*, 88: 431-432, 1962.
- 19) Freund, M.: Effect of frequency of emission on semen output and an estimate of daily sperm production in man. *J. Reprod. Fert.*, 6: 269-286, 1963.

Studies on seminal characteristics  
obtained from 254 healthy young  
adults and effects of frequent  
ejaculation on seminal quality

**Shunji Ikegaki**

(Department of Urology, Sapporo  
District Hospital, G.S.D.F.)

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

(Department of Urology, Sapporo  
Medical College)

Most studies evaluating semen quality were performed on males who was complaining of infertility. We analyzed semens obtained from 254 healthy male members of Ground Self Defense Force aged from 18 to 36 years old.

Results were as follows.

1. Average seminal plasma volume was  $2.8 \pm$

1.2ml (mean  $\pm$  S. D.).

2. Sperm density, total sperm count except one case with azoospermia were  $70.9 \pm 47.3$  million/ml,  $197.7 \pm 154.6$  million, respectively.

3. In 6.7% (17 cases) of the population sperm density was below 20 million/ml with 4 having children.

4. There was a correlation among sperm density and PRL levels in seminal plasma.

5. Following 7 successive ejaculations at daily intervals, sperm density showed enough decrease in first 3 days and subsequent 4 days, decrease was only fair. Seminal plasma volume decreased gradually for 7 days but not so as much as decrease of sperm density.

6. Following frequent ejaculations at intervals of every 6 hours for 24 hours, sperm density and seminal plasma volume decreased lineally, and after the sexual rest for 3 days sperm density and seminal plasma volume recovered enough for fertility.

(受付：昭和59年1月6日)



# Organic Obstructive Azoospermia 11症例に対する 副睪丸精管吻合術：その臨床的検討

Clinical Studies of Epididymovasostomy for Eleven Patients  
Associated with Organic Obstructive Azoospermia

春日部市立病院泌尿器科

吉田 謙一郎 中目 康彦 金親 史尚  
Ken-Ichiro YOSHIDA Yasuhiko NAKAME Fumihisa KANEOYA  
根岸 壮治  
Takeharu NEGISHI

Department of Urology, Kasukabe City Hospital

埼玉医科大学泌尿器科

内 島 豊  
Yutaka UCHIZIMA

Department of Urology, Saitama Medical School

睪丸内もしくは副睪丸内精路閉塞にもとづく、organic obstructive azoospermia の11症例について副睪丸精管吻合術を行った。このうち両側副睪丸炎後の精路閉塞が2例、Youngs' syndrome が2例あった。睪丸容積は全例とも正常大であった。AM 9:00~AM 10:00 に採血した血中 hormone level は大きな variation を示さず、全例とも正常域内であった。副睪丸体部における精子の出現は約半数にみられたが、術後精液中に精子がみられたのは副睪丸炎後の1症例のみであった。先天性精路閉塞に対する副睪丸精管吻合術の成績の悪さは諸家の報告しているごとくであり、著者らはかかる症例に対して alloplastic spermatocele の使用を検討している。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(3), 310-314, 1984)

精管閉塞による無精子症は閉塞部位や原疾患から、いくつかの分類がなされるが、その治療法は唯一手術療法といえる。

我々は精液検査で無精子を呈した症例のうち、睪丸生検像では精子形成がみられ、精管精囊腺造影にて精管より遠位部精路に閉塞のみられない症例に対し、昭和54年より、一様に副睪丸、精管の by-pass 手術を行っているが、今回これ等11例の症例につき臨床的検討を行ったので報告する。

## 対象症例および検索法

対象症例は男子不妊症を主訴として来院した患者のうち、前述したごとく睪丸生検像では精子形成がみられる

ものの、副睪丸もしくは睪丸内精路の器質的ないし機能的閉塞に基づく無精子症患者の11例を対象とした。これ等症例に対し精路の by-pass 手術として副睪丸精管吻合術を片側もしくは両側に対して計16回行なった。これ等症例につき血中 hormone level の検討、及び睪丸生検像の評価を行うとともに、手術所見についても検討した。

## 検索結果

i) 初診時年齢及び不妊期間について

表1に示すごとく、初診時の年齢は27歳から45歳までで平均32歳であった。全例とも結婚後積極的な避妊期間はなく、従って初診時年齢より、結婚年齢を差し引いたも

表 1

Case	年令 初診時	不妊期間(年)	妻の婦人科的 疾患の有無	既往歴	睾丸容積
1	32	4年3ヶ月	無	無	右:左:13ml
2	30	2年1ヶ月	無	無	右:左:15ml
3	45	5年	排卵障害	両側副睾丸炎(44才)	右:左:15ml
4	27	2年6ヶ月	無	蓄膿症 左精索静脈瘤	右:左:15ml
5	32	3年	無	両側副睾丸炎(右8才,左12才) 気管支炎(小児期より) 肺炎及び中耳炎(29才)	右:左:15ml
6	33	4年	無	無	右:14ml,左:15ml
7	32	1年1ヶ月	無	無	右:左:15ml
8	35	7年	無	左副睾丸炎(19才)にて除睾	右:15ml
9	28	2年2ヶ月	無	無	右:左:15ml
10	33	3年	無	両側鼠径ヘルニア(2才) 肺炎(29才)	右:左:11ml
11	29	2年	無	無	右:左:15ml

表 2

Case	血中hormone level				生検組織の評価	
	LH	FSH	PRL	T	Johnsen's mean score	Leydig cell cluster index
1	10.6	12.0	6.9	469	8.4	0.8
2	10.1	10.7	11.8	578	7.6	1.0
3*	10.1	10.6	21.1	631	—	—
4*	8.0	6.2	4.1	560	—	—
5	9.1	6.5	12.8	270	8.2	1.1
6	8.5	9.0	8.1	600	7.8	1.3
7	8.0	6.8	9.9	358	8.1	1.0
8	20.1	24.1	9.8	393	7.6	1.2
9	15.3	9.0	15.3	573	6.9	1.7
10	7.9	8.8	5.3	790	7.0	1.2
11	7.5	10.4	10.1	580	7.7	1.1

\*精細管のmechanical damageが強く評価が困難

のが不妊期間であり、最短で1年1ヶ月、最長で7年、その平均はおよそ3年であつた。

妻の婦人科的異常については排卵障害を有していた症例3の妻を除けば、他症例の妻には異常を認めなかつた。

ii) 既応症について

精路閉塞と何らかの関係を有すると思われる既往症について検索した(表1)。睾丸炎、睾丸外傷、性病の既応のあるものは、みられなかつた。副睾丸炎の既往は3症例でみられた。症例3及び5は両側性に罹患しており、症例8では左側に、その罹患がみられた。これ等のうち症例3及び5は保存的療法にて、その軽快がみられたが、症例8では罹患側の除睾術を受けている。症例5では、この他に左精索静脈瘤を合併しており副睾丸精管吻合時に高位結紮術を行つた。

蓄膿症と気管支炎の合併は、それぞれ症例4及び6にみられているが、これ等の症例は後述する Young's syndrome<sup>1)</sup> に属する症例と思われる。

二次的に精路閉塞をおこし得る手術既往のあるものは幼児期に両側の鼠径ヘルニアの手術を受けた症例10であるが、精路閉塞部位と手術部位との一致がみられないことから精路閉塞と手術との関連はないものと考えられる。

iii) 睾丸容積について

睾丸容積を表1に示す。幼児期に両側鼠径ヘルニア根治術を受けた症例10では、他症例よりやや小さく両側とも11mlを示したが、他症例では両側とも13ml以上を呈し、ほぼ正常大を示した。

iv) 血中 hormone level

血中 hormone level は日内変動があるため対照群や症例間の比較検討の為には、一定時刻に採血し、これを測定することが望ましい。我々は採血時間を AM 9:00 から AM 10:00 と決め、血中 hormone level を測定した(表2)。血中 testosterone level (血中T値)は症例5、すなわち両側副睾丸炎及び左精索静脈瘤を合併した症例では 270 ng/dl と、やや低値を示したが、他の10

症例では 358~790ng/dl と正常域内にあつた。全症例の血中T値の平均は 527±144 ng/dl (mean±S. D.) であつた。

血中 LH, FSH についてみると症例8では19歳時に片側の除睾術をうけているため、LH 及び FSH はそれぞれ 20.1mIU/ml 及び 24.1mIU/ml と正常域内にはあるものの、他症例のおよそ2倍の値を示した。他の10症例の LH は 7.5~15.3mIU/ml であり、その平均は 9.5±2.3mIU/ml (mean±S. D.) であつた。FSH について症例8を除いた、10症例は 6.2~12.0mIU/ml で、平均は 9.0±2.0mIU/ml (mean±S. D.) であつた。血中 prolactin level (血中 PRL 値)は 5.3~21.1mIU/ml と全症例とも正常域内にあり、平均は 10.5±4.8mIU/ml (mean±S. D.) であつた。

v) 睾丸生検像について

今回ここで検討されている11症例は、あらかじめ行つた生検睾丸組織の鏡見所見より、精子形成が確認されている症例であるが、各精細管断面にみられる spermatozoa は必ずしも多くはない。この点から精子形成能の評価については germ cell の分化より、むしろ spermatozoa の量的所見に重きをおいた Johnsen's score<sup>2)</sup> が妥当と考え、これを用いた。個々の症例の生検組織の鏡検から50個以上の精細管に対し score を与え、その平均値をもつて表わした (Johnsen's mean score count, 表2)。又 Leydig 細胞の量的評価については Leydig 細胞集団数を精細管あたりで表現する Leydig cell cluster index<sup>3)</sup> を用いて表現した(表2)。Johnsen's mean score についてみると 6.9~8.4 までであり、その平均は 7.7 であつた。又 Leydig cell cluster index は 0.8~1.7 までであり、その平均は 1.2 であつた。

vi) 手術法について

表 3

Case	Side	精子の出現		手術法
		副睾丸体部のstamp	術後の精液検査	
1	left	—	—	側々吻合
2	left	+	—	側々吻合
3	left	+	+	側々吻合
	right	—	—	側々吻合
4	left	—	—	側々吻合
	right	—	—	側々吻合
5	left	—	—	端側吻合
	right	—	—	側々吻合
6	left	—	—	端側吻合
	right	+	—	側々吻合
7	left	+	—	側々吻合
	right	+	—	側々吻合
8	right	+	—	側々吻合
9	right	—	—	側々吻合
10	right	—	—	側々吻合
11	left	+	—	側々吻合

精管精囊腺造影の際、精管に穿刺した部分は副睾丸、精管吻合術の際、観察すると管壁の肥厚と硬結が著明であり、この部位で精管の二次的閉塞をおこし得る可能性がある。そこで、この穿刺部より遠位部の精管と、副睾丸体部との吻合術を行った。精管と副睾丸体部との側々吻合を行ったものは14手術例、端側吻合を行ったものは2手術例であった。全例とも腰椎麻酔下に手術を行なった。副睾丸体部の壁を楕円形に切離し、その内に存在するコイル状の副睾丸小管をハサミで切除し、副睾丸体部の切離創と一致する様に精管に縦切開を加え、それぞれの端々部の全層を5-0デキソン糸で固定し、これを支持として7-0ナイロン糸で副睾丸壁及び精管の連続縫合を行った。平均手術時間は37分であった。術後合併症は全例ともみられず、7日目には退院せしめている。

vii) 副睾丸体部小管の stamp 及び術後精液検査における精子の出現について

stamp における精子出現率は症例数でみると11症例中6例(55%)、手術頻度では $7/16$ と44%であった。この7手術例のうち、術後の精液検査にて精子の出現がみられたのは、副睾丸炎の既応をもつ症例3のみであった(表3)。

### 考 按

無精子症を呈する疾患は3つに大別される。

- 1) germ cell aplasia: 睾丸に germ cell が存在しない場合。
- 2) maturation arrest: germ cell の分化が途中で止まり spermatozoa が形成されない場合。
- 3) obstructive azoospermia: 精子形成は、ありながら精路の器質的及び機能的閉塞もしくは精路に部分欠損が存在する場合。

である。

我々の11症例は3)に属するが、この obstructive azoospermia は更に functional と organic とに細分される。前者は後腹膜リンパ節郭清後にみられる様な retrograde ejaculation を言い、後者は更に i) 先天性又は二次的両側精管の閉塞もしくは部分欠損。ii) 副睾丸及び睾丸内精路の先天性閉塞もしくは炎症性閉塞。に分けられる。我々の症例は、この ii) と一致するものであり、azoospermia 症例においては、精索静脈瘤による germ cell maturation arrest に対する睾丸静脈高位結紮<sup>4)</sup>とともに外科的治療の対象になるものである。

男子不妊症における organic obstructive azoospermia の頻度について EL-Bayoumi 等<sup>5)</sup>は男子不妊症385例の統計から25例(6.5%)にみられたとしている。このうち我々の症例のごとく副睾丸もしくは睾丸内精路の閉塞に基づく症例は19例と全体の4.9%を示すと報告しており、同様の報告は Dubin 等<sup>6)</sup>によつてもなされている。

obstructive azoospermia は一般的に正常大の睾丸容積を示し、血中 LH, FSH, T 値は正常域内にあるとされており、我々の症例においても同様の結果が得られた。血中 hormone level は日内変動があり、血中 LH 値にせよ T 値にせよ、その正常値とされているものは幅広い。著者の一人はいわゆる idiopathic oligozoospermia と言われているものの中には採血時刻を一定化する事により hormone level から少なくとも2群の subgroup<sup>7)</sup>が存在する事を報告したが、我々の症例でみると、片側の除睾丸を受けた1症例を除けば正常な male-ness を持ち、睾丸内で精子形成がみられる成人男子では血中 LH, FSH 値は、それぞれ7.5~15.3mIU/ml, 6.2~12.0mIU/ml であり、一定時刻で採血した場合、血中 hormone level は種々の施設で報告されているほど広い正常域は示さない事が判明した。我々は男子不妊症については全例とも一定時刻に採血し、血中 hormone level を測定しているが、正常域が広いため見過がっていた軽度の hypogonadotropin 症例や hypergonadotropin 症例が今回の症例の血中 hormone level と比較する事により、今後発見し得るものと思われる。

精子形成能は Johnsen's mean score でみると6.9~8.4を示し、その平均は7.7と必ずしも高いものではない。Harrison<sup>8)</sup>はラットを用いた実験から精巣近接部の輸出小管を結紮すると germ cell が減少する事を報告しているが、先天性の精路閉塞や、二次的精路閉塞でも、その閉塞期間が長期に渡る場合、精子形成に影響を与える可能性は否定できない。Leydig 細胞の量的評価として、今回 Leydig cell cluster index を用いた。これは睾丸間質部分に数個から十数個、集団をつくり存在

する Leydig 細胞集団数を精細管あたりで表現するもので臨床的に簡便で有用な方法と評価されている<sup>9)</sup>。11症例の値は0.8~1.7までで idiopathic oligozoospermia<sup>7)</sup>の症例とほぼ一致する値を示した。

副睾丸頭部は精子の運動性を獲得するため必要とされており<sup>10)</sup>、副睾丸精管吻合術における副睾丸の吻合部は頭部より遠位部で行われているのが一般的である。しかしながら体部組織の stamp で精子の出現をみたものは、およそ半数の症例であり、この点からみても副睾丸精管吻合術には、ある程度の限界があるものと思われる。1955年 Hanley<sup>11)</sup> は400例の無精子症患者の副睾丸精管吻合術の検討から、術後精液中に精子の出現する頻度は、副睾丸炎後の精路閉塞では65%と高率であるのに対し、先天性の場合は、わずか3%であつたと報告し、我々の症例と同様、先天性閉塞の場合の手術成績の悪さを示した。又 Hendry<sup>12)</sup> は30例の obstructive azoospermia の症例を副睾丸 stamp における精子の出現を参考にして4型に分類し、副睾丸精管吻合術を検討している。このうち type 2 は精管欠損を含め精管に異常のあるもので、我々の症例には含まれていないため、ここでは省き、他の type を我々の症例と比較すると、副睾丸に精子のみられない type 1 では術後精液中に精子が出現した例はなく、精子形成障害も3症例中2症例にみられたとしている。この事は辜丸近位部での精路閉塞は、やはり精子形成障害を伴う可能性を示したものと思われる。type 3 は副睾丸炎後の症例であり、この type では5症例中3症例に術後、精子の出現が確認されている。この type に属する症例は、我々の症例では2症例存在するが、このうち1症例で術後、精子の出現がみられている。type 4 は蓄膿症、気管支炎、もしくは気管支拡張症を合併し、副睾丸頭部に精子の充満がみられる、いわゆる Young's syndrome<sup>1)</sup> の症例であるが、この type では15症例中6症例において術後一時的に精液中に精子の出現がみられたものの、結局全例とも azoospermia を呈したと報告している。我々症例においては前述したごとく症例4、6がこれに属するものと考えられる。Young's syndrome における cilia は電顕的に正常像を示し、鼻粘膜 cilia の運動も正常とされており、この点から immotile-cilia syndrome<sup>13)</sup> とは異なる症候群であるが、精路閉塞の原因は未だ明らかではない。

以上のごとく副睾丸炎後の精路閉塞に基づく obstructive azoospermia を別にすれば、副睾丸内もしくは辜丸内精路閉塞による obstructive azoospermia に対する我々の手術結果は他の報告例<sup>11,12)</sup>と同様不成功であつた。しかしながら今回の症例でみられるごとく、およそ半数例に副睾丸体部において精子の出現がみられている

ことは、手術法によつては運動性のある精子の獲得が可能であることを示唆している。最近 silicone-dacron 製の alloplastic spermatocele が、かかる症例において用いられる様になつており<sup>14)</sup>、今後著者等は、かかる obstructive azoospermia に対し、この方法を検討している。

## 文 献

- 1) Young, D.: Surgical treatment of male infertility. *J. Repr. Fertil.*, 23: 541, 1970.
- 2) Johnsen, S. G.: Testicular biopsy count, a method for registration of spermatogenesis in human testis, normal values and results in 355 hypogonadal males. *Hormone*, 1: 1, 1970.
- 3) Oshima, H., Nankin, H. R., Troen, P., Yoshida, K. and Ochiai, K.: Leydig cell number and function in infertile men. In *The Testis in Normal and Infertile Men*, Edited by P Troen, HR Nankin. New York, Raven Press, 1977, p 445.
- 4) Charny, G. W.: Effect of varicocele on fertility. *Fertil. Steril.*, 13: 47, 1962.
- 5) EL-Bayoumi, M. A., Hamada, T. A. and EL-Mokadden, H. H.: Male Infertility: Etiologic Factors in 385 Consecutive Cases. *andrologia*, 14: 333, 1982.
- 6) Dubin, L. and Amelar, R. D.: Etiologic factors in 1294 consecutive cases of male infertility. *Fertil. Steril.*, 22: 496, 1971.
- 7) Yoshida, K. I., Lanasa, J. A., Takahashi, J., Winter, S. J., Oshima, H. and Troen, P.: Studies of the human testis. XVI. Evaluation of multiple indexes of testicular function in relation to advanced age, idiopathic oligospermia, or varicocele. *Fertil. Steril.*, 36: 712, 1982.
- 8) Harrison, R. G.: The effect of ligation of the vasa efferentia on the rat testis. *Proc. Soc. Stud. Fertil.*, 5: 95, 1953.
- 9) Weis, D. B., Rodriguez-Rigau, L., Smith, K. D., Chowdhury, A. and Steinberger, E.: Leydig cell density and function and their relation to gonadotropins in infertile oligospermic men with varicocele. *Isr. J. Med. Sci.*, 15: 556, 1979.
- 10) Glover, T. D.: Some aspects of function in the epididymis, Experimental occlusion of the epididymis in the rabbit. *Int. J. Fertil.*, 14: 215, 1969.
- 11) Hanley, H. G.: The surgery of male subfertility. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*. 17: 159, 1955.
- 12) Hendry, W. F.: The long-term results of surgery for obstructive azoospermia. *Bri. J.*

Urol, 53 : 664, 1981.

- 13) Eliasson, R., Mossberg, B., Camner, P. and Afzelius, B. A. : The immotile-cilia syndrome. N. Engl. J. Med. 297 : 1, 1977.
- 14) 羽間 稔, 岡 伸, 浜口毅樹, 岡田 弘, 松本修, 守殿貞夫, 石神襄次 : Excretory azoospermia に対する Alloplastic spermatocele の使用経験, 第 17 回日本泌尿器科学会総会集, 1983, p 37.

Clinical studies of epididymovasostomy  
for eleven patients associated with  
organic obstructive azoospermia

**Ken-Ichiro Yoshida, Yasuhiko Nakame  
Fumihisa Kaneoya, Takeharu Negishi**

Department of Urology, Kasukabe  
City Hospital

**Yutaka Uchizima**

Department of Urology, Saitama  
Medical School

Epididymovasostomy was performed for eleven

patients of organic obstructive azoospermia with either intratesticular or intraepididymal canal obstruction. Among them, two cases were caused by bilateral epididymitis and two cases were Young's syndrome. Testicular volume of all the patients was normal. Blood hormone levels in the patients sampled between AM 9 : 00 to AM 10 : 00 were within normal ranges and their values showed small variations. Although in about half of the patients sperm was found in the epididymal body, sperm output in semen analysis after the operation was recognized in only one patient of post-inflammatory canal obstruction. Being the same results of other reports, the operative results in the present cases were unsuccessful. The authors now consider the use of alloplastic spermatocele for congenital canal obstruction.

(受付 : 昭和59年1月13日)

# 特発性男性不妊に対する hMG-hCG 併用療法の臨床評価

Clinical Evaluation of hMG-hCG Combined  
Treatment in Idiopathic Male Infertility

神戸大学医学部泌尿器科学教室

羽間 稔 守殿 貞夫 石神 襄次  
Minoru HAZAMA Sadao KAMIDONO Joji ISHIGAMI

Department of Urology, School of Medicine, Kobe University

札幌医科大学泌尿器科学教室

熊本悦明 丸田 浩 大野 一典  
Yoshiaki KUMAMOTO Hiroshi MARUTA Kazunori OHNO

Department of Urology, Sapporo Medical College

群馬大学医学部泌尿器科学教室

志田 圭三 山中 英寿  
Keizo SHIDA Hidetoshi YAMANAKA

Department of Urology, School of Medicine, Gunma University

東京医科歯科大学泌尿器科学教室

大島 博幸<sup>\*1</sup> 根岸 壮治 竹内 信一  
Hiroyuki OSHIMA Takeharu NEGISHI Shinichi TAKEUCHI

Department of Urology, School of Medicine, Tokyo Medical and Dental University

昭和大学医学部泌尿器科学教室

今村 一男 吉田 英機  
Kazuo IMAMURA Hideki YOSHIDA

Department of Urology, School of Medicine, Showa University

国立病院医療センター泌尿器科

岩動 孝一郎<sup>\*2</sup>  
Koichiro ISURUGI

Department of Urology, National Medical Center Hospital

\*1 現 横浜市立大学医学部泌尿器科学教室

\*2 現 東京大学医学部泌尿器科学教室

大阪大学医学部泌尿器科学教室

園 田 孝 夫 奥 山 明 彦

Takao SONODA Akihiko OKUYAMA

Department of Urology, Osaka University Medical School

山口大学医学部泌尿器科学教室

酒 徳 治 三 郎 清 水 芳 幸 川 井 修 一

Jisaburo SAKATOKU Yoshiyuki SHIMIZU Shuichi KAWAI

Department of Urology, School of Medicine, Yamaguchi University

特発性男性不妊に対する hMG-hCG 療法の有用性を評価するため、全国施設の共同研究により clomiphene citrate を対照薬剤として比較試験を行った。総合有効率は hMG 群 44.6% (56 例中 25 例), clomiphene 群 36.7% (30 例中 11 例), 妊娠率は hMG 群 12.5% (7 例), clomiphene 群 3.3% (1 例) であり、特に精子濃度  $10 \times 10^6/\text{ml}$  を越える症例で clomiphene 群に比べ hMG 群の有効率が高かった。また retrospective にみると投与前精子濃度が高い、投与前血中 FSH 値が低い、あるいは hMG 5,000 単位以上投与されたものなどにおいて本療法の有効性が高かった。副作用は乳腺炎、乳房痛など 5 例に、臨床検査値異常は 3 例に認められたが重篤なものはない。以上、hMG-hCG 療法は現在用いる特発性男性不妊の治療法として有用性が高く、本症の病態が明らかにされるにつれ、さらに適応が明確になるものと考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(3), 315-323, 1984.)

## 緒 言

男性不妊の多くは造精機転障害に起因するものであるが、これらのなかでは基礎疾患を明らかにし得ない、いわゆる特発性男性不妊がその大部分を占めている。こうした症例に対する治療は未だ一般的には体系化されたものではなく、経験的に種々の薬剤が用いられているにすぎず、その治療成績は良好とは言えない。そうした中で gonadotropin 治療は、Steinberger<sup>1)</sup>らの造精機序に関する実験から、最も論理的な治療法の一つとして行われてきたが、その用法および治療成績に関する報告は多様で、一定の見解を得るには至っていない。そこで著者らは全国 8 施設の共同研究により、特発性男性不妊に対する hMG-hCG 併用療法の臨床評価を試み、若干の文献的考察を加えたので報告する。

## 対象および方法

### 1. 対象

1981年8月から1982年6月までの間に、標記共同研究の8施設を受診した男性不妊患者で、検索の結果、下記のような症例を除外した特発性男性不妊患者を対象とした。

- 1) 睾丸生検により線維化を呈する症例。
- 2) 精路通過障害および精索静脈瘤を伴う症例。

- 3) gonadotropin 分泌以外の内分泌障害を合併する症例。

- 4) 性器結核、睾丸炎、副睾丸炎の既往歴のある症例。

- 5) 6カ月以内に clomiphene citrate あるいは hMG-hCG 療法をうけていた症例。

### 2. 使用薬剤および投与方法

hCG 1回1,000~1,500単位と hMG (Humegon®, 日本オルガノン) 1回150~300単位を、週2~3回筋注にて3~16週投与した。また対照薬剤として antiestrogen 剤である clomiphene citrate を1日25~50mg, 23日間連続経口投与し、5日間の休薬期間をおくクールを1回~4回行った。

### 3. 観察項目

精液検査 (精液量, 精子濃度, 精子運動率), 睾丸容積, 血中ホルモン検査 (FSH, LH, testosterone), 肝機能検査 (GOT, GPT, LDH, ALP) および腎機能検査 (血清 creatinine, BUN) を Table 1 に示す各時期に行った。睾丸容積は orchidometer により、血中ホルモンは radioimmunoassay によって測定した。また、精子濃度  $10 \times 10^6/\text{ml}$  以下の症例については可能な限り治療前に睾丸生検を行った。副作用については治療期間中および終了後も含め可能な限り注意深く観察した。

### 4. 効果判定

Table 1 観察項目

項 目	検査日	投与前 1ヵ月	投与前 4週目	投与 4週目	投与 8週目	投与 12週目	投与 16週目	終了後 1ヵ月目
精液検査(量、精子濃度、運動率)		○	○	○	○	○	○	○
睾丸容積								○
血中ホルモン	FSH		○					
	LH		○					
	testosterone	○	○	○	○	○	○	○
臨床検査	GOT		○		○		○	
	GPT		○		○		○	
	LDH		○		○		○	
	Al-P		○		○		○	
	血清ウレアチン		○		○		○	
	BUN		○		○		○	

Table 2 効果判定

乏精子症例

- (1)著 効……精子濃度が $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上に回復したものと並びに治療前値より $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の増加が認められたもの。
- (2)有 効……治療前値より $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の増加が認められたもの。
- (3)やや有効…… $10 \times 10^6/\text{ml}$ までにはいかなかったが治療前値と比較して増加が見られたもの。
- (4)無 効……治療前値と比較して変化がみられないもの。
- (5)悪 化……治療前値より減少したものの。

無精子症例

- (1)著 効…… $15 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の精子が認められたもの。
- (2)有 効…… $5 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の精子が認められたもの。
- (3)やや有効……精子の出現が見られたもの。
- (4)無 効……変化なし。

乏精子症例と無精子症例に分け、Table 2 に示すような基準により、著効、有効、やや有効、無効および悪化の5段階にて効果判定を行った。

5. データの解析

解析方法はデータの性質に応じて、 $\chi^2$  検定あるいは t 検定が用いられた。

成 績

投与総症例数は 86 例で、hMG-hCG 投与群（以下 hMG 群と略す。）56 例および clomiphene citrate 投与群（以下 clomiphene 群と略す。）30 例であった。このうち無精子症は hMG 群 12 例および clomiphene 群 4 例、乏精子症（精子濃度  $45 \times 10^6/\text{ml}$  未満）は hMG 群 44 例および clomiphene 群 26 例であった。

1. 患者背景因子 (Table 3)

背景因子として、治療前の精液所見、年齢、不妊期間、血清 FSH、LH および testosterone 値について検討した結果、睾丸容積が左右とも hMG 群において有意に小さかったが他の項目については両群に偏りは認められなかった。

2. 総合有効率 (Fig. 1)

効果判定基準によるやや有効以上を有効とした場合、hMG 群では 56 例中 25 例（有効率 44.6%）が有効でそのうち著効の 4 例、有効の 2 例およびやや有効の 1 例、計 7 例（12.5%）に妊娠の成立をみている。それに対し、clomiphene 群では 30 例中 11 例（36.7%）が有効で、有

Table 3 患者背景因子

	hMG + hCG	clomiphene	検 定	
症 例 数	56	30		
精 子 濃 度 ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	無 精 子 症	12	$\chi^2=2.97$ (N.S.)	
	$0 < \leq 10 \times 10^6$	26		
	$10 \times 10^6 < \leq 20 \times 10^6$	13		
	$20 \times 10^6 < \leq 45 \times 10^6$	5		
乏精子症 Total	44	26		
年 令	~30才	10	$\chi^2=0.16$ (N.S.)	
	$30 \leq < 35$	28		
	$35 \leq < 40$	15		
	不 明	3		
平均 $\pm$ SD	$32.6 \pm 5.16$	$32.97 \pm 4.88$	$t=0.304$ (N.S.)	
不 妊 期 間	~2年	2	$\chi^2=4.4$ (N.S.)	
	$2 \leq < 3$ 年	7		
	$3 \leq < 5$ 年	14		
	$5 \leq < 10$ 年	20		
	10年 $\leq$ 不 明	3 10		
睾丸容積	右	$14.14 \pm 4.15$	$17.25 \pm 5.70$	$t=2.29$ ( $P < 0.05$ )
	左	$14.11 \pm 4.54$	$16.69 \pm 5.08$	$t=1.87$ ( $P < 0.1$ )
F S H	$16.98 \pm 13.79$	$12.43 \pm 7.43$	$t=1.60$ (N.S.)	
L H	$15.99 \pm 7.02$	$16.04 \pm 12.60$	$t=-0.027$ (N.S.)	
testosterone	$6.96 \pm 3.14$	$7.00 \pm 3.38$	$t=-0.049$ (N.S.)	

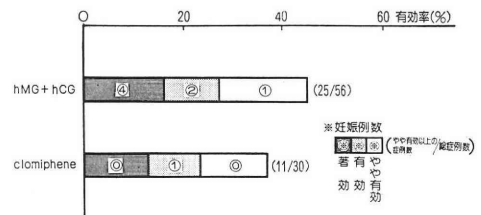


Fig. 1 総合有効率

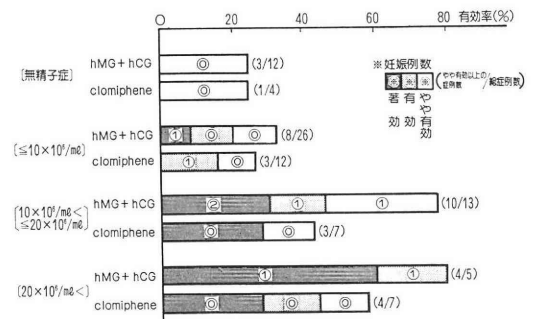


Fig. 2 投与前精子濃度別治療効果

効の 1 例 (3.3%) にのみ妊娠成立がみられた。

3. 層別解析

3-1 投与前精子濃度別治療効果 (Fig. 2)

投与前 2 回の精液検査の結果、精子濃度の高い方を投与前精子濃度として、これにより 4 グループに分け、その有効率を検討した。無精子症例では hMG 群 12 例中 3 例 (25.0%)、clomiphene 群 4 例中 1 例 (25.0%) で、妊娠例は両群とも認められなかった。精子数  $10 \times 10^6/\text{ml}$  以下の乏精子症例の hMG 群では 26 例中 8 例 (30.8%)、clomiphene 群 12 例中 3 例 (25.0%) が有効と有効率に大差なく、妊娠成功例も 1 例ずつであった。精子数  $10 \sim 20 \times 10^6/\text{ml}$  の有効例は hMG 群では 13 例



中10例 (76.9%), clomiphene 群では7例中3例 (42.9%) と hMG 群の有効率が高く, 妊娠成立も hMG 群で4例にみられたのに対し clomiphene 群ではなかつた. 精子数  $20 \times 10^6/ml$  を越える hMG 群では5例中4例 (80.0%), clomiphene 群7例中4例 (57.1%) と hMG 群の有効率が高く, hMG 群にのみ2例の妊娠が成立した. このように hMG および clomiphene 両群ともに精子濃度の高いものほど有効率が高かつたが,  $10 \times 10^6/ml$  をこえると明らかに hMG 群の有効率が clomiphene 群を上まわる結果であつた.

3-2 投与前血中 FSH 値別治療効果 (Fig. 3)

投与前 FSH 値別に乏精子症例を3グループに分けて有効率をみると, 血中 FSH 10mIU/ml 未満の hMG 群では16例中9例 (56.3%), clomiphene 群では10例中5例 (50.0%) が有効で, 妊娠はそれぞれ3例と1例に成立した. 血中 FSH 10~20mIU/ml の hMG 群では21例中11例 (52.4%), clomiphene 群では10例中4例 (40.0%) が有効で, hMG 群の3例に妊娠が認められた. 血中 FSH 20mIU/ml 以上の hMG 群では6例中2例 (33.3%) が有効であつたのに対し, clomiphene 群では3例全例が無効で, 妊娠も hMG 群の1例にみられたのみであつた. これら血中 FSH 値別治療成績は hMG および clomiphene 両群とも治療前血中 FSH 値が低いほど有効率が高い傾向を示している.

3-3 投与前血中 LH 値別治療効果 (Fig. 4)

投与前 LH 値により乏精子症例を3グループに分けて有効率をみると, 血中 LH 10mIU/ml 未満の hMG 群では8例中6例 (75.0%), clomiphene 群では8例中3例 (37.5%) が有効で妊娠はそれぞれ2例と1例に成立した. 血中 LH 10~20mIU/ml の hMG 群では31例中13例 (41.9%), clomiphene 群では12例中6例 (50.0%) が有効で, hMG 群の4例に妊娠が認められた. 血中 LH 20mIU/ml 以上の hMG 群では4例中3例 (75.0%) の有効率で1例に妊娠が成立したのに対し, clomiphene 群では3例全例無効であつた. 血中 LH 値と治療効果との間には一定の関係は認められなかつた.

3-4 投与前血中 testosterone 値別治療効果 (Fig. 5)

投与前 testosterone 値により乏精子症例を3グループに分けて有効率をみると, 血中 testosterone 5ng/ml 以下の hMG 群では11例中3例 (27.3%), clomiphene 群で6例中2例 (33.3%) が有効で, clomiphene 群の1例に妊娠が成立した. 血中 testosterone 5~10ng/ml の hMG 群では25例中14例 (56.0%), clomiphene 群で11例中6例 (54.5%) が有効で, この hMG 群のうちの

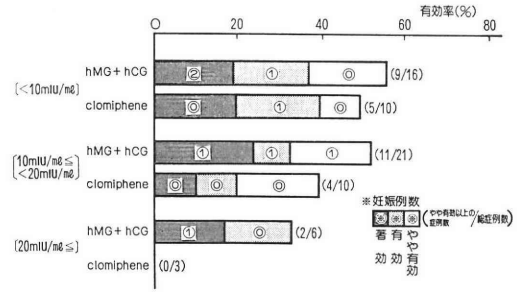


Fig. 3 投与前血中 FSH 値別治療効果

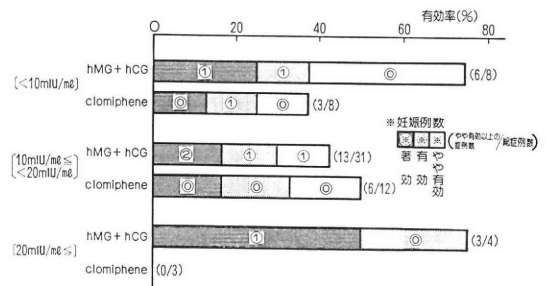


Fig. 4 投与前血中 LH 値別治療効果

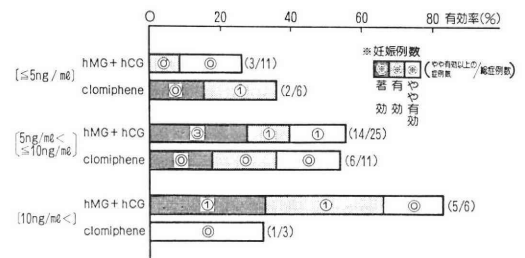


Fig. 5 投与前血中 testosterone 値別治療効果

5例にのみ妊娠が成立した. 血中 testosterone 10ng/ml を越える hMG 群では6例中5例 (83.3%), clomiphene 群では3例中1例 (33.3%) が有効で hMG 群の2例にのみ妊娠が成立した. 血中 testosterone 値と治療効果の関係は, hMG 群については血中 testosterone 値が高いものほどその有効率が高い傾向にあつた.

4. 精子パラメータの変動 (Fig. 6, 7)

乏精子症例における投与前2回, 投与4~8週後, および投与12~16週後の各精子パラメータ (各時期の高値を採用) の変動を比較すると, hMG 群では平均精子濃度, 総精子数, 単位運動精子数および総運動精子数のすべてが, 4~8週後および12~16週後ともに前値に比し有意に増加していたのに対し, clomiphene 群ではすべて有意差が認められなかつた.

5. hMG 総投与量別精子濃度の変動 (Fig. 8)

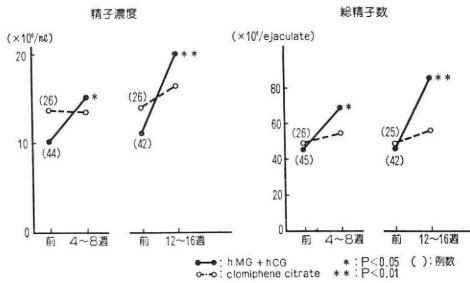


Fig. 6 精子パラメータの変動 (1)

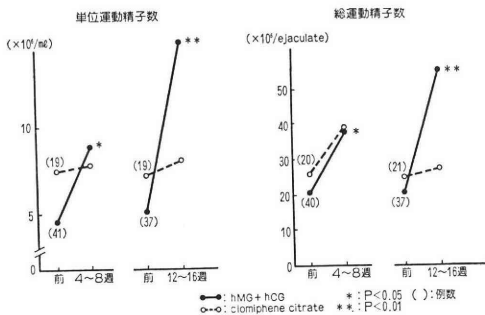


Fig. 7 精子パラメータの変動 (2)

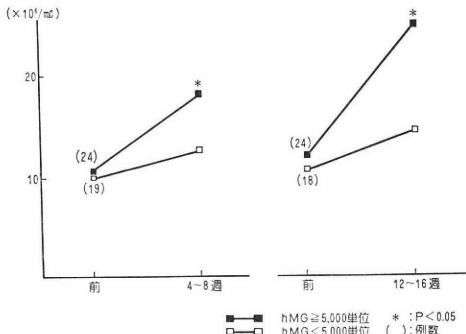


Fig. 8 hMG 総投与量別精子濃度の変動

乏精子症例を hMG 総投与量5,000単位以上と5,000単位未満の2グループに分け、前項と同時期の3期における精子濃度を比較すると、総投与量5,000単位以上群での精子濃度は両時期ともに前値に比して有意の増加が認められたのに対し、5,000単位未満群では増加傾向はみられたが有意ではなかった。

6. 副作用および臨床検査値の異常 (Table 4)

副作用は hMG 群に乳房痛が2例、乳腺炎、女性化乳房および嘔気が各1例認められた。臨床検査値ではリポ蛋白分画異常、GOT の異常および GPT の異常が各1例にみられた。clomiphene 群では副作用および臨床検査値の異常は1例も認められなかった。

Table 4 副作用および臨床検査値の異常

乳房痛	2例
乳腺炎	1例
女性化乳房	1例
嘔気	1例
リポ蛋白分画異常	1例
GOTの異常	1例
GPTの異常	1例

考 按

Steinberger らのラット精細管を用いた精子形成に関する実験的研究によると、脳下垂体から分泌される LH の作用により Leydig 細胞では内因性の testosterone が分泌され、精細管内は末梢血の約100倍の高濃度 testosterone 環境に保たれる。この環境下に、第1次精母細胞の減数分裂が完了し精子細胞が形成される。次に FSH が精子細胞の成熟段階に作用するといわれている。このように精子形成は直接あるいは間接的に gonadotropin の支配下にあるため、LH 作用の強い hCG と FSH 成分の多い hMG の併用によつて造精能を賦活することは論理的で合目的な手段と考えられ、現在まで多くの研究者により両剤を用いた男性不妊の治療が試みられてきた<sup>2-10)</sup>。

hCG 単独投与では、精子数の増加および良好な妊娠成功率を報告する<sup>11,12)</sup>ものがある一方、運動率だけの改善とするもの<sup>13)</sup>、あるいは大量の hCG 投与では tubular sclerosis を起こし<sup>14)</sup>、逆に少量では副作用はなかったが、無効であったとする報告<sup>15)</sup>など種々多様である。

hMG 単独あるいは hMG-hCG 併用療法による男性不妊の治療成績については、Roseberg<sup>16)</sup>、後に Schill<sup>17)</sup>により諸家の成績が総括されている (Table 5, 6)。それによると moderate idiopathic oligozoospermia (精子濃度 11~20x10<sup>6</sup>/ml) では、精子濃度 30x10<sup>6</sup>/ml 以上への改善率 35.5%、妊娠率 16.0%と比較的良好であるのに対し、severe idiopathic oligozoospermia (精子濃度 <10x10<sup>6</sup>/ml) ではそれぞれ 19.8%、8.2%と悪かつたとしており、精液所見のよい群で有効性が高かつたとしている。今回の成績を同様の基準でみると、moderate 群で 30x10<sup>6</sup>/ml 以上への改善率 50.0%、妊娠率 28.6%、severe 群でそれぞれ 0%、3.8%と、severe 群の成績は低かつたが、moderate 群については Schill の報告に比べ好成績であつた。これに對し対照薬の clomiphene citrate のこれまでの報告を総括すると精子濃度の改善率 55.1%、妊娠率 20.7%であるのに対し、著者らの成績ではそれぞれ 38.5%、3.8%と不良で、特に妊娠率が低かつた (Table 7)。

Table 5 軽度乏精子症に対する gonadotropin 療法の治療成績

Authors	No. of patients	Improvement to > 30mill/ml	Pregnancies
Dörner et al., 1960	3	3	n.m.
Schoysman, 1964	4	2	—
Abelli and Falagarlo, 1966	26	9	6
Cittadini and Quartaravo, 1966	2	2	—
Lytton and Mroueh, 1966	9	6	2
Danezis and Batrinos, 1967	1	1	1
Deblasi and Misurale, 1967	7	4	2
Lunenfeld et al., 1967	24	12	4
Mroueh et al., 1967	2	1	—
Polishuk et al., 1967	5	1	—
Makler et al., 1968	2	2	1
Reich and Günther, 1973	18	5	4
Landes and Müller, 1974	15	2	5
Schwarzstein, 1974	3	3	1
Sina et al., 1974	13	6	3
Rosemberg, 1976	4	3	—
Niermann (unpublished)	50	5	2
Schill	12	4	—
	200	71 (=35.5%)	32(=16.0%)
Present study	14	7 (=50.0%)	4(=28.6%)

n.m.=not mentioned

Table 6 重度乏精子症に対する gonadotropin 療法の治療成績

Authors	No. of patients	Improvement to moderate oligo-zoospermia (11-20 million/ml)	Improvement to > 30mill/ml	Pregnancies
Dörner et al., 1960	4	1	1	n.m.
Schoysman, 1964	4	1	1	1
Pasetto, 1965	5	1	3	—
Abelli and Falagarlo, 1966	6	2	1	—
Cittadini and Quartaravo, 1966	12	5	1	1
Heeres, 1966	15	—	15	4
Lytton and Mroueh, 1966	9	1	1	—
Andersson and Parklew, 1967	34	—	6	—
Danezis and Batrinos, 1967	9	2	1	—
Deblasi and Misurale, 1967	8	1	2	1
Lunenfeld et al., 1967	27	6	8	1
Polishuk et al., 1967	9	1	3	1
de Kretser et al., 1968	2	1	—	—
Natoli, 1968	12	—	2	—
Da Rugna, 1968	33	30	3	3
Alvares Rivas, 1969	17	3	6	—
Anton et al., 1969	7	—	—	—
Conti et al., 1969	5	—	1	—
Lavrier, 1969	10	7	—	—
Marchesi et al., 1969	22	9	3	2
Pomerol and Morer, 1969	20	7	7	—
Tronchetti et al., 1969	5	1	3	—
Landes and Müller, 1971	4	—	—	—
Pellegrini et al., 1971	7	2	4	3
Reich and Gunther, 1973	13	—	1	4
Sina et al., 1974	25	7	4	6
Schwarzstein, 1974	3	1	—	1
Rosemberg, 1976	4	1	1	1
Niermann (Unpublished)	50	5	—	1
Schill	14	3	—	2
	395	98(=24.8%)	78(=19.8%)	32(=8.2%)
Present study*	26	5(=19.2%)	0(=0%)	1(=3.8%)

n.m.=not mentioned

Table 7 乏精子症に対する clomiphene citrate の治療成績

Authors	No. of patients	Improvement of sperm count	Pregnancies
Jungck et al., 1964	29	17	n.m.
Mellinger and Thompson, 1966	13	10	0
Palti, 1970	40	15	3
Halim et al., 1973	25	11	n.m.
Kern and Schirren, 1973	43	21	n.m.
Da Rugna et al., 1974	33	5	0
Schellen and Beek, 1974	101	61	19
Check and Rakoff, 1977	10	5	9
Epstein, 1977	16	10	5
Paulson, 1977	57	45	20
	367	200(=55.1%)	56(=20.7%)
Present study	26	10(=38.5%)	1(=3.8%)

n.m.=not mentioned

睾丸容積は造精能をよく反映し、精細管の障害度に比例して睾丸容量（重量）も減少するといわれている<sup>18)</sup>。今回の 2 群の背景因子を比較すると、睾丸容積の両群間に有意差が認められた。つまり hMG 群の方が clomiphene 群より両側とも有意に小さい、すなわち造精能が低いと推測された。これは、hMG 群に不利な条件であるが、それにもかかわらず hMG 群が勝る結果であった。精子濃度、総精子数、単位運動精子数および総運動精子数などのパラメータも hMG 群では治療により有意の増加を示したのに対し、clomiphene 群での増加は明らかではなく、clomiphene citrate 療法に比べ、hMG-hCG 療法は有効性の高い治療法と考えられる成績であった。

しかしながら特発性男性不妊に対する gonadotropin 療法は他のいずれの報告をみても女性の排卵誘発<sup>19)</sup>や男性の hypogonadotropic hypogonadism に対する治療効果<sup>17, 20, 21)</sup>ほどの成績を得ていない。これは本症の内分泌環境を検索した報告<sup>22, 23)</sup>によれば、前述の好成績を得ている疾患と違い血中 gonadotropin の基礎値が正常か軽度上昇を示すものが多く、明らかな gonadotropin の分泌低下を示すものが少ないことが一つの原因と考えられる。

Lunenfeld<sup>24)</sup> らは LH, FSH および testosterone が低値で GnRH (gonadotropin-releasing-hormone) test で FSH が基礎値の 2 倍以上反応しない、あるいは反応値が 3 mIU/ml を越えないものを hMG-hCG 療法の適応とし、FSH が正常で、GnRH test で過剰反応するものは予後不良と述べている。Schill<sup>25)</sup> は LH, FSH の基礎値および GnRH test では有効例と無効例の間に差がなく、投与前精子濃度も効果の予測には役立たない、しいていえば testosterone 基礎値が 4.5 ng/ml を越えない低 testosterone 値のものに有効例が多かったと報告している。Schwarzstein<sup>26)</sup> は睾丸組織所見で本療法の効果を予測し得るとし、spermiogenic stage での障害であれば有効性が高いと述べているが、これを是としない報告<sup>27)</sup> もみうける。最近、睾丸生検標本の *in vitro* 実験により、20 $\alpha$ -dihydroprogesterone と 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone 比の高いものの方が gonadotropin 療法が有効であったとする報告があり、末梢血中の hormone ばかりでなく、睾丸内の steroid 代謝を検討することにより予後を知る試みがなされている。

前述の如く本療法の適応を決定する種々の試みがなされているが、特発性男性不妊の pathogenesis が不明であり、heterogeneous な病態が混在しているためその適応を一概に決めつけることは危険である。特発性男性不妊の pathogenesis が明らかにされない限り、それぞれ

の症例に適応した有効な治療法を前もって選択し、その結果を予測することは不可能であるともいえる。とはいえ解決の一過程として今回のような臨床評価を放棄すべきではなく、さらに綿密な control study を重ねることによって本症の種々の病態が明確になれば、本療法の適応も決定されていくものと考えられる。

## 結 語

1. 特発性男性不妊に対する hMG-hCG 併用療法の有用性を評価する目的で、全国 8 施設の共同研究により clomiphene citrate を対照薬剤として比較試験を行った。

2. 総投与症例数は 86 例で、そのうち hMG 群は 56 例（無精子症 12 例、乏精子症 44 例）、clomiphene 群は 30 例（無精子症 4 例、乏精子症 26 例）であった。

3. 総合有効率は hMG 群 44.6%（56 例中 25 例）、clomiphene 群 36.7%（30 例中 11 例）で、精子数  $10 \times 10^6/\text{ml}$  を越えると明らかに hMG 群の効果が clomiphene 群を上回った。妊娠率は hMG 群 12.5%（7 例）、clomiphene 群 3.3%（1 例）であった。

4. 投与前血中 hormone 値からみると、両群とも FSH 値が低いほど、hMG 群では testosterone 値が高いほど有効率が高かった。

5. 各種精子パラメータは、治療により clomiphene 群では有意の変化を示さなかったのに対し、hMG 群では有意の改善が認められた。特に hMG 総投与量 5,000 単位以上のものにその増加が明らかであった。

6. hMG 群では副作用が 5 例に、臨床検査値異常が 3 例に認められたが、いずれも重篤なものではなかった。

7. 以上、hMG-hCG 療法は現在用いうる特発性男性不妊の治療法のなかでは、その有用性は高く評価されるものであり、本症の病態が明らかにされるにつれ、さらに適応が明確になると考えられた。

## 文 献

- 1) Steinberger, E.: Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol. Rev.*, 51: 1, 1971.
- 2) Lytton, B. and Mroueh, A.: Treatment of oligospermia with urinary human menopausal gonadotropin: a preliminary report. *Fertil. Steril.*, 17: 696, 1966.
- 3) Polishuk, W. Z., Palti, Z. and Laufer, A.: Treatment of defective spermatogenesis with human gonadotropins. *Fertil. Steril.*, 18: 127, 1967.
- 4) Lunenfeld, B., Mor, A. and Mani, M.:

- Treatment of male infertility. 1. Human gonadotropins. *Fertil. Steril.*, 18 : 581, 1967.
- 5) Danezis, J. M. and Batrinos, M. L. : The effect of human postmenopausal gonadotropins on infertile men with severe oligospermia. *Fertil. Steril.*, 18 : 788, 1967.
  - 6) Mroueh, A., Lytton, B. and Kase, N. : Effects of human chorionic gonadotropin and human menopausal gonadotropin (Pergonal) in males with oligospermia. *J. Clin. Endocrinol.*, 27 : 53, 1967.
  - 7) Schellen, T. M. C. M. and Bruinse, H. W. : Evaluation of the treatment with gonadotropic hormones in cases of severe and moderate oligozoospermia. *Andrologia*, 12 : 174, 1980.
  - 8) 奥山明彦, 水谷修太郎 : 男子不妊症の治療経験 第1報 : HCG/HMG 剤の併用について. *泌尿紀要*, 26 : 563, 1980.
  - 9) 奥山明彦, 園田孝夫, 水谷修太郎 : 男子不妊症の治療経験 第2報 : HCG, HMG 各剤の投与量と妊孕性の子後について. *泌尿紀要*, 27 : 355, 1981.
  - 10) Isidori, A. : A modern approach to the gonadotropin treatment in oligozoospermia. *Andrologia*, 13 : 187, 1981.
  - 11) Futterweit, W. and Sobrero, A. J. : Treatment of normogonadotropic oligospermia with large dose of chorionic gonadotropin. *Fertil. Steril.*, 19 : 971, 1968.
  - 12) Chehval, M. J. and Mehan, D. J. : Chorionic gonadotropins in the treatment of the subfertile male. *Fertil. Steril.*, 31 : 666, 1979.
  - 13) Misurale, F., Cagnazzo, G. and Storace, A. : Asthenospermia and its treatment with hCG. *Fertil. Steril.*, 20 : 650, 1969.
  - 14) Maddock, W. O. and Nelson, W. O. : The effects of chorionic gonadotropin in adult men : increased estrogen and 17-ketosteroid excretion, gynecomastia, Leydig cell stimulation and seminiferous tubule damage. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 12 : 985, 1952.
  - 15) Sherins, R. J. : Clinical aspects of treatment of male infertility with gonadotropins : testicular response of some men given hCG with and without Pergonal. In : *Male Fertility and Sterility* edited by Mancini, R. E., and Martini, L., p. 545, London, Academic Press, 1974.
  - 16) Rosemberg, E. : Gonadotropin therapy of male infertility. In : *Human Semen and Fertility Regulation in Men* edited by Hafez, E. S. E., p. 464, St. Louis, C. V. Mosby Co., 1976.
  - 17) Schill, W. B. : Recent progress in pharmacological therapy of male subfertility—a review. *Andrologia*, 11 : 77, 1979.
  - 18) 熊本悦明 : 睾丸機能不全の臨床的研究 (第1編 身体医学の問題). *日泌尿会誌*, 54 : 1063, 1963.
  - 19) 小林 隆 : Human Menopausal Gonadotropin (HMG) による排卵誘発に関する臨床研究会 (1). *産科と婦人科*, 36 : 949, 1969.
  - 20) 吉田謙一郎, 大島博幸, 高木健太郎, 東 四雄, 安藤正夫, 横川正之 : Gonadotropin 療法により造精機能導入に成功した Kallman 症候群の一例. *日不妊誌*, 26 : 115, 1981.
  - 21) 岩動孝一郎 : Gonadotropin deficiency による男子 hypogonadism 症例に対する hCG/hMG 併用療法についての検討. *日不妊誌*, 28 : 189, 1983.
  - 22) 谷風三郎 : 男性不妊にかんする内分泌学的研究. *泌尿紀要*, 26 : 947, 1980.
  - 23) 細井康男 : 男性不妊症の内分泌学的研究, *日泌尿会誌*. 72 : 544, 1981.
  - 24) Lunenfeld, B. and Glezerman, M. : Endocrine evaluation of male fertility disorders. In : *Disturbances of Male Fertility* edited by Bandhauer, K. and Frick, J., p 233, Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1982.
  - 25) Schill, W.-B., Jünger, D., Unterburger, P. and Braun, S. : Combined hMG/hCG treatment in subfertile men with idiopathic normogonadotrophic oligozoospermia. *Int. J. Androl.*, 5 : 467, 1982.
  - 26) Schwarzstein, L. : Human menopausal gonadotropins in the treatment of patients with oligospermia. *Fertil. Steril.*, 25 : 813, 1974.
  - 27) 谷風三郎, 守殿貞夫 : 特発性男性不妊に対するゴナドトロピン治療. *日不妊誌*, 23 : 107, 1978.
  - 28) Berg, A. Å : son, Hammar, M. and Kjessler, B. : Analysis of steroid conversion in vitro by testicular tissue as a means of selection of infertile males for gonadotrophic substitution therapy. *Int. J. Androl.*, 6 : 12, 1983.

Clinical evaluation of hMG-hCG  
combined treatment in idiopathic  
male infertility

**Minoru Hazama, Sadao Kamidono,  
and Joji Ishigami**

Department of Urology, School of  
Medicine, Kobe University

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

Department of Urology, Sapporo  
Medical College

**Keizo Shida, and Hidetoshi Yamanaka**

Department of Urology, School of  
Medicine, Gunma University

**Hiroyuki Oshima, Takeharu Negishi,  
and Shin-ichi Takeuchi**

Department of Urology, School of Medicine,  
Tokyo Medical and Dental University

**Kazuo Imamura, and Hideki Yoshida**

Department of Urology, School of  
Medicine, Showa University

**Koichiro Isurugi**

Department of Urology, National  
Medical Center Hospital

**Takao Sonoda, and Akihiko Okuyama**

Department of Urology, Osaka  
University Medical School

**Jisaburo Sakatoku, Yoshiyuki Shimizu  
and Shuichi Kawai**

Department of Urology, School of  
Medicine, Yamaguchi University

To evaluate the usefulness of hMG/hCG com-

bined treatment in idiopathic male infertility, a comparison study was carried out jointly by eight institutions across the nation, using clomiphene citrate as a control drug. 56 patients received 150-300 IU of hMG (Humegon) and 1000-1500 IU of hCG two or three times a week for 3 to 16 consecutive weeks. And 30 patients received 25-50 mg of clomiphene citrate a day for 23 day-cycles with 5 days of rest for 1-4 months. The overall efficacy rate was 44.6% (25 out of 56 cases) and 36.7% (11 out of 30 cases) in the hMG/hCG group and the clomiphene group respectively. The pregnancy rate was 12.5% (7 cases) and 3.3% (1 case) in the hMG/hCG group and the clomiphene group respectively. Especially in patients with a sperm density of more than  $10 \times 10^6/\text{ml}$ , hMG/hCG treatment proved more effective than clomiphene treatment. Moreover, responsiveness to hMG/hCG treatment tended to be better in cases where the pre-treatment sperm density was high, or basal plasma FSH concentration was low, or where more than 5000 IU hMG was administered. In the hMG/hCG group such side effects as mastitis and mastodynia were observed in 5 cases and there were abnormal laboratory test findings in 3 cases, but none was serious. Consequently, the hMG/hCG combined treatment is highly useful for idiopathic male infertility. As the pathogenesis of the disorder is defined, the application of this treatment will become more accurate.

(受付：昭和59年2月9日特掲)

## AIH によつて妊娠に成功した逆行性射精の1例

A Case of Retrograde Ejaculation whose  
Wife Conceived by AIH

東京都立府中病院産婦人科

鎌田 周作 北田 博大 矢口 輝仁  
Shusaku KAMATA Hiroto KIMOTO Teruhito YAGUCHI  
大原 基弘 市村 三紀男 大塚 晴久  
Motohiro OHARA Mikio ICHIMURA Haruhisa OTSUKA

Department of Obst. and Gynecol., Tokyo Metropolitan Hospital, Fuchu, Tokyo

同 泌尿器科

金村 三樹郎  
Mikio KANAMURA

Department of Urology, Tokyo Metropolitan Hospital, Fuchu, Tokyo

diabetic neuropathy に起因すると思われる逆行性射精による不妊症の患者に、配偶者間人工授精を施行し、一周期目に妊娠、帝王切開にて男児を得た。逆行性射精は治療によつて順行性射精に戻すことがむずかしく、そこで不妊症の治療としては、膀胱内よりの精子回収による AIH が有効になってくる。我々は Hotchkiss 準法により精子を回収した。逆行性射精の原因としては内尿道括約筋の機能異常によるものと器質的障害によるものが考えられるが、diabetic neuropathy も原因になると報告されている。自験例は insulin dependent で retinopathy が存在し、腱反射異常、振動覚異常があり、また DM 発症後の発病であることより、diabetic neuropathy が逆行性射精の原因と推定される。

自験例は、文献上、本邦における妊娠成功例の第9例目にあたる。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 324-328, 1984)

### I. 緒言

逆行性射精は、1862年、Schultz の記載以来、さまざまな報告がなされているが、未だ根治的治療はむずかしく、また拳児希望の夫婦にとっては、男性側不妊因子として、対処の困難な疾患となっている。今回、我々は夫が保存的加療に無効で、diabetic neuropathy に起因すると思われる逆行性射精の夫婦において、AIHを試み、幸いにして、第一周期目に妊娠し、帝王切開術にて男児を得た症例を経験したので報告する。

### II. 症例

患者：[ ] 44歳 内科 Dr.

主訴：不妊、射精障害

家族歴：特記すべきことなし

既往歴：手術既往（-）、尿道の外傷（-）、25歳頃より、口渇、痩せが著明になり、糖尿病の診断を受ける。以後、3年間、経口糖尿病薬にて治療するも control できず、29歳より insulin を使用。現在にいたるまでその使用は続いている。血糖値は、それによりよく control されている。

現病歴：昭和48年、34歳で結婚。性生活は正常であるが、orgasm に達するも精液の射出をみないことに気付く。しばらく放置するも、昭和53年、某大学病院受診。逆行性射精の診断をうけ、抗ヒスタミン剤の服用、また性交直後の膣内排尿法の指導を受けるも、妊娠には至ら



なかつた。

現在：体格小柄，栄養中等度，胸腹部に異常なし，乳房正常。陰茎，辜丸，副辜丸，精管，前立腺はいずれも正常。一般神経学的症状として，膝蓋腱反射，アキレス腱反射消失，下肢振動覚やや低下，瞳孔対光反応正常。知覚異常，脳神経障害，自律神経障害はない。尿失禁，残尿，排尿障害もない。

検査所見：

① 血液性化学検査—空腹時血糖値 100~120 mg/dl (インシュリン定期的使用) 他異常なし

② 尿所見—黄色清澄，pH 7，尿蛋白(-)，尿糖(-) 尿沈渣正常

③ 眼底所見—Scott II a

④ 膀胱鏡所見—膀胱内に腫瘍，炎症像はなく粘膜正常，膀胱頸部，精阜付近に異常は見られなかつた。

Schram 現象 (-)

⑤ 膀胱尿道造影—圧迫像，狭窄像はなく，膀胱底部の下垂，膀胱頸部の開大は見られず正常像であつた。その写真を図 1 に示す。

⑥ 精液検査—

condom 性交では，ほとんど condom 内に精液が見られないため，精子回収法として，Hotchkiss 準法を用い，膀胱内より精子を採取した。即ち，7日間の禁欲，重曹の飲用，当日前夜よりの水分制限を実行させた上，まず導尿により膀胱内を空虚にした後，膀胱内に 5% グルコース液 5ml を注入，直ちに masturbation を施行させ，orgasm を確認後，膀胱内容物を吸引した。吸引物の状態は，量約 2.5ml，精子数 5800 万，運動率 17%，奇型率 34% であつた。この吸引物を 1000 回転，5 分間で遠沈し，その沈渣物を検討したところ，精子数 3 億 100 万，運動率 17%，奇型率 34% であつた。精子採取法の要約を表 1 に示す。

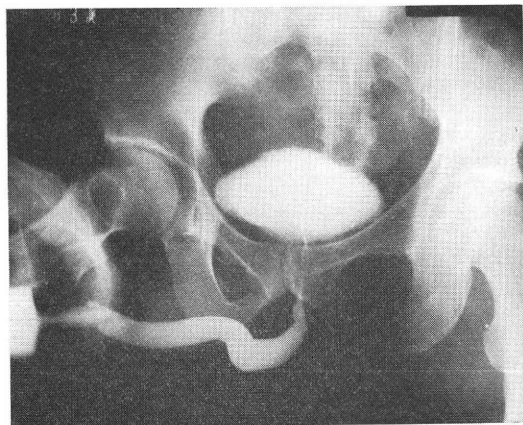


図 1 膀胱尿道造影

表 1 我々が施行した精子回収法

7日間の禁欲  
重曹飲用  
当日前夜よりの水分制限

1. 導尿
2. 膀胱内に 5% glucose 液 5ml 注入
3. masturbation
4. 膀胱内容物吸引
5. 吸引物を 1000 回転，5 分間遠沈
6. 沈渣物 0.3ml にて AIH

(Hotchkiss 準法)

妻側の所見：37 歳，主婦，家族歴，既往歴に特記すべきことはなく，月経歴も，30 日周期で順調，基礎体温，並びに内分泌検査は正常。卵管通過性も異常がなかつたが，手けん大の筋腫が，内診上，Echo 上，確認されている。

AIH の方法と経過：上記の Hotchkiss 準法にて，状態のよい精子が回収されることが確認されたため，妻の筋腫は放置したまま，妻の基礎体温測定と頸管粘液検査から排卵日を推定し，人工授精施行日を決定，前記の精子回収法にて得られた沈渣物 0.3ml にて AIH を施行した。子宮腔内に注入した精子の所見は，精子数約 1100 万，運動率 10~20%，奇型率 30% と前回検査時に比し，きわめて悪い状態であつた。妊娠の可能性は低いと思われたが，基礎体温上 27 日間高温相が続いた段階で，妊娠反応陽性を確認，妊娠 5 週 4 日と診断された。妊娠経過につれ，筋腫の増大傾向が見られたため妊娠 14 週 2 日にて，筋腫核出術を施行した。術後の経過は，きわめて順調。妊娠 37 週 1 日で前期破水したため，valuable baby，筋腫合併の indication で，帝王切開術を施行。2365g の男児を無事出産した。

III. 考 察

逆行性射精は，Emission (後部尿道への精液の排出) 後，内尿道口の閉鎖不全があるため，Ejaculation (外尿道口より精液の射出) がなされず，抵抗の少ない膀胱の方に逆流するものである。

その原因については，内尿道括約筋の機能異常によるものと，器質的な障害によるものに区別される<sup>1)</sup>。後者に属するものとしては，まず，尿道の損傷によるものとして，経尿道的前立腺摘除術，尿道の外傷があげられる。また支配神経の異常をきたすものとして，直腸癌の腹会陰式手術，胸腹部交感神経節切除術，後腹膜リンパ筋廓清術，小骨盤内脈管手術などの外科的操作によるものがあげられ，また脊髄損傷も原因となる。Ellenberg<sup>2)</sup>，Greene<sup>3,4)</sup>，Bourne<sup>5)</sup> らは，diabetic neuropathy による逆行性射精を報告している。また guarethine, recerpine 等の薬物による chemical sympathectomy も原因



となりうる。

本症の治療法としては、小川<sup>6)</sup>の尿道 Bougierung、後部尿道硝酸銀注入法、また白井<sup>7)</sup>、伊勢<sup>23)</sup>らの膀胱頸部縮術などの成功例が報告されている。薬物療法としては、内尿道口の閉鎖には、 $\alpha$ -adrenergic receptor mechanism が関与している<sup>8,9,20)</sup>、という観点から、塩酸 Imipramine<sup>10)</sup>、COMT 阻害剤<sup>11)</sup>、L-DOPA<sup>12)</sup> が投与され、効果をあげている。その他、膀胱を充満させて立位にて射精させる方法<sup>13)</sup>、また妊娠だけを目的とする場合には、性交直後に妻の膣内に排尿する方法<sup>31)</sup>が試みられている。

以上のように、種々の治療法が報告されてはいるが、実際のところ、順行性射精に戻り妊娠に成功する例は少ない。そこで膀胱内に射精された精子を回収して、AIHを試みる方法が注目されている。この場合、尿は精子にとって適当な環境ではないので、いかに状態のよい精子を回収できるかが、keypoint になる。逆行性射精の AIH による妊娠成功例は Hotchkiss<sup>14)</sup>、Calise<sup>15)</sup> の報告などいくつか散見されるが、本邦では、現在までに文献上わずか7例に過ぎず、1983年9月、泌尿器科東部連合総会の三浦の報告を加えると8例になる。表2にその8例並びに自験例を示す。8例のうち、6例目までは、精子回収法として、Hotchkiss 法に準じた方法をとっており、自験例でもそれに準じた。Walters<sup>16)</sup> は、採取した精液の遠沈は、motility を低下させることより、静置後の沈渣使用を勧めているが、遠沈による motility の低下率は5%内外にとどまる<sup>18)</sup>との指摘もあり、自験例では遠沈法を用いた対木<sup>22)</sup>の報告では、Layering

method にて、より運動良好な精子による高濃度精子浮遊液を作製している。三浦の報告では、精子回収に精子培養液(0.3%ヒト血清アルブミン・JMPA medium)を用いている。

このように状態のよい精子回収に工夫を要する当疾患の病態からして、何回かの AIH の try が必要と思われる。事実、今までの本邦での報告例では3~15周期を要している。自験例では AIH 施行時の精子状態が悪かつたにもかかわらず、幸いにして、一周期目に妊娠し、帝切にて男児を得た。

本邦における逆行性射精の妊娠成功例では布施<sup>21)</sup>の報告の椎間板ヘルニア術後例、対木<sup>22)</sup>の報告の先天性重複尿道合併例を除き、その原因の不明なものが多い。自験例は、diabetic neuropathy によるものと推定される。患者は、insulin dependent であり、Scott IIa の diabetic neuropathy が存在、また下肢振動覚の低下、アキレス腱反射、膝蓋腱反射の消失が見られ、いわゆる diabetic neuropathy が存在する。Ellenberg<sup>2)</sup> が報告した diabetic neuropathy による逆行性射精例では5症例ともすべて、insulin dependent で、retinopathy と neuropathy が見られ cystometrogram では、すべて flabby pattern をとっている。自験例では cystometrogram は施行されていないが、尿失禁残尿、排尿障害はなく、膀胱機能は正常と考えられる。また本症に特徴的な所見として、内視鏡的に、精阜肥大、後部尿道の炎症像、Schram 現象陽性。尿道膀胱造影では、膀胱頸部の開大、膀胱底の下垂があげられるが、自験例では全く存在しなかつた。このように他の膀胱機能に異常はない

No.	報告者	年度	年齢	発症時期	AIH 成功周期	精子回収法
1	白石	1971	30	自慰後	4周期	Hotchkiss法
2	勝岡	1973	34	自慰後	5周期	Hotchkiss法+遠沈
3	遠藤	1975	33	不明	7周期	Hotchkiss法+遠沈
4	藤原	1978	28	自慰後	5周期	Hotchkiss法+遠沈
5	布施	1980	30	ヘルニア 手術後	8周期	Hotchkiss法
6	遠藤	1980	31	不明	6周期	Hotchkiss法+遠沈
7	対木	1981	28	自慰後	3周期	精子浮遊液精製(遠沈)後、精液静置法
8	三浦	1983		不明	15周期	精子培養液(0.3%ヒト血清アルブミン・TMPA medium)使用+遠沈
9	自験例	1983	44	DM発症後	1周期	Hotchkiss準法+遠沈

表2 逆行性射精の AIH による妊娠成功例(本邦)

ものの、発症が糖尿病発病後であることからしても、自験例は diabetic neuropathy が原因であると考えてよいと思われる。

#### IV. 結 語

我々は、diabetic neuropathy による逆行性射精例について、Hotchkiss 準法に基づいた精子回収法を用いて AIH を施行し、一周期目に妊娠に成功、男児を得たので、ここに報告した。なお、逆行性射精の AIH 成功例は、文献上、本邦では 8 例報告されており、自験例は、9 例目にあたる。

(本論文の要旨は、第 28 回日本不妊学会総会にて発表した。)

#### 文 献

- 1) Tayler, C. W. and Schotton, D. M.: Studies on fertility, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1955. 白石祐逸より引用。
- 2) Ellenberg, M. and Weber, H.: Retrograde ejaculation in diabetic neuropathy. *Ann. Intern. Med.*, 65: 1237, 1966.
- 3) Greene, L. F., Kelalis P. P., and Weeks, R. E.: Retrograde Ejaculation of Semen due to diabetic neuropathy. *Fertil. and Steril.*, 14: 617, 1963.
- 4) Greene, L. F. and Kelalis, P. P.: Retrograde ejaculation of semen due to diabetic neuropathy. *J. Urol.*, 98: 693, 1968.
- 5) Bourne, R. B., Kretschmar, W. A. and Esser, J. H.: Successful artificial insemination in a diabetic with retrograde ejaculation. *Fertil. and Steril.*, 22: 275, 1971.
- 6) 小川正見, 山本泰秀, 橋本達也: 逆行性射精の 2 例. *日不妊誌*, 11: 67, 1966.
- 7) 白井将文, 松下鉄三郎, 加賀山学, 一条貞敏, 竹内睦男, 佐々木桂一: 射精障害による男子不妊症. *日不妊誌*, 13: 84, 1968.
- 8) 安達国昭: 射精の研究 第 6 報 射精時における内尿道口の閉鎖の末梢機構について. *日泌尿会誌*, 64: 484, 1973.
- 9) Kimura, Y., Miyata, K., Adachi, K. and Mastumura, S.: The role of alpha-adrenergic receptor mechanism in ejaculation. *Tohoku J. exp. Med.*, 108: 337, 1972.
- 10) Brooks, M. E., Berezin, M. and Braf, Z.: Treatment of retrograde ejaculation with imipramine. *Urology.*, 15: 353, 1980.
- 11) 安達国昭, 木村行雄, 木崎 徳, 伊勢和久: trihydroxypropiofenone 投与が著効を示した射精障害の 2 例. *臨泌*, 28: 51, 1974.
- 12) 木村行雄: 射精のメカニズム. *臨泌*, 34: 103, 1980.
- 13) Joan P. crich, A. I. M. L. S. and Anne M. Jeguier, F. R. C. S., M. R. C. O. G.: Infertility in men with retrograde ejaculation: The action of urine on sperm motility. and a simple method for achieving antegrade ejaculation. *Fertil. and Steril.*, 30: 572, 1978.
- 14) Hotchkiss, R. S., Pinto, A. B., Kleegman, S.: Artificial insemination with semen recovered from the bladder. *Fertil. and Steril.*, 6: 37, 1955.
- 15) Calise, M.: Sterility due to retrograde ejaculation. *Int. J. Fertil.*, 3: 320, 1958.
- 16) Walters, D. and Kaufmann, M. S.: Sterility dne to retrograde ejaculation of semen. Report of pregnancy achieved by autoinsemination. *Amer. J. Obstet., and Gynec.*, 78: 274, 1959.
- 17) 白井祐逸, 須藤 進, 高村郁世, 石川登喜治: 逆行性射精の 1 例—配偶者人工授精の成功例一. *臨泌*, 25: 51, 1971.
- 18) 勝岡洋治, 萩原正道, 藤岡俊夫, 東福寺英之, 小林俊文, 飯塚野八: AIH にて男児を得た逆行性射精の 1 例. *日不妊会誌*, 20: 18, 1975.
- 19) 遠藤俊明, 幡 洋, 東口篤司, 福島道夫, 岡部泰樹, 佐藤卓広, 田中昭一, 橋本正淑, 熊本悦明: AIH にて妊娠 1 生児を得た逆行性射精の 2 例. 産と婦, 49: 116, 1982.
- 20) 藤原道久, 中山雅人, 小川重男, 田中啓幹: 人工授精に成功した逆行性射精例. 産と婦, 47: 884, 1980.
- 21) 布施秀樹, 皆川秀夫, 伊藤晴夫, 島崎 淳: AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の 1 例. *日不妊会誌*, 26: 280, 1981.
- 22) 対木 章, 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎, 京野広一, 鈴木雅洲, 光川史郎, 大沼徹太郎: AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の 1 例. *日不妊会誌*, 28: 174, 1983.
- 23) 伊勢和久, 木村行雄, 安達国昭, 木崎 徳: 膀胱頸部形成術により軽快した逆行性射精の 2 例. *臨泌*, 28: 635, 1974.
- 24) Stewart, B. H. and Bergant, J. A.: Correction of retrograde ejaculation by sympathomimetic medication: Preliminary report. *Fertil. and Steril.*, 25: 1073, 1974.
- 25) Glezerman, M., Lunenfeld, B., Potashnik, G., Oelsner, G. and Beer, R.: Retrograde ejaculation: Pathophysiologic aspects and report of two successfully treated cases. *Fertil. and Steril.*, 27: 796, 1976.
- 26) Fischer, I. C. and Coats. E. C.: Sterility and to retrograde ejaculation of semen, *Obstet. and gynecol.*, 4: 352, 1954.
- 27) Kedia, K. and Markland, C.: The effect of pharmacological agents on ejaculation. *J. Urol.*, 114: 569, 1975.
- 28) Rieser, C.: The etiology of retrograde ejaculation and a method for isemination. *Fe-*

- rtil. and Steril., 12 : 488, 1961.
- 29) Stockamp, K., Schreiter, F. and Altwein, J. E. : Adrenergic drugs in retrograde ejaculation. Fertil. and Steril., 25 : 817, 1974.
- 30) Keiserman, W. M., Dubin, L. and Amelar, R. D. : A new type of retrograde ejaculation: Report of three cases. Fertil. and Steril., 25 : 1071, 1974.
- 31) Marmar, J. L., Praiss, D. E. and DeBenedictis, T. J. : Postcoital-voiding insemination: Technique for patients with retrograde ejaculation and infertility. Urol., 9 : 288, 1977.
- 32) Kapetanakis, E., Rao, R., Dmowski, W. P. and Scommegna, A. : Conception following insemination with a freeze-preserved retrograde ejaculate. Fertil. and Steril., 29 : 360, 1978.
- 33) Thiagarajah, S., Vaughan, E. D. Kitchin, J. D. : Retrograde Ejaculation: Successful pregnancy following combined sympathomimetic medication and insemination. Fertil. and Steril., 30 : 96, 1978.

A case of retrograde ejaculation  
whose wife conceived by AIH

**Shusaku Kamata, Hiromoto Kitada,  
Teruhito Yaguchi, Motohiro Ohara,  
Mikio Ichimura and Haruhisa Otsuka**

Department of Obst. and Gynecol., Tokyo  
Metropolitan Hospital, Fuchu, Tokyo

**Mikio Kanamura**

Department of Urology, Tokyo Metropolitan  
Hospital, Fuchu, Tokyo

This 44-year-old male has had diabetes mellitus for the past 19 years with onset at age 25. His diabetes was well controlled with insulin. There was bilateral retinopathy and the neurological examination was abnormal in that ankle jerks and knee jerks were absent and there was diminution of vibratory sensation.

A diagnosis of retrograde ejaculation for him was made ten years ago. But conservative treatment showed no effect. We presumed that the cause of his retrograde ejaculation was diabetic neuropathy.

His wife conceived after the first trial of artificial insemination using the semen obtained by Hotchkiss method and delivered by cesarean section a baby boy weighing 2365g.

In Japanese literature, this case report seems to be the ninth case of retrograde ejaculation successful in pregnancy by artificial insemination.

(受付: 昭和59年2月3日)

# 男子不妊症の臨床統計学的検討

## Clinico-statistical Study on Male Infertility

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

小山 雄三 中村 聡  
Yuzo KOYAMA So NAKAMURA

Department of Urology, National Kasumigaura Hospital

最近2年間の国立霞ヶ浦病院における男子不妊症患者107名の臨床統計学的検討をおこない次のような成績が得られた。

- 1) 初診時年齢は30—35歳が最も多く、結婚期間は2年以上3年未満が最多であった。
- 2) 配偶者の年齢は25—29歳が最も多く、産婦人科的異常は8例(7.5%)に認められた。
- 3) 既往歴では流行性耳下腺炎の21例(19.6%)、理学的所見では、精索静脈瘤の50例(46.7%)がそれぞれ最多であった。
- 4) 第1群(精子濃度正常群)から第5群(無精子症で精子形成未完了群)までの分類とその他の所見を比較すると、睾丸容積は第5群がその他の群より有意に小さく、FSH および LH はともに第1群が最低で第5群が最高値であった。テストステロン値およびプロラクチン値はそれぞれ第2群と第5群、第4群と第2群および第5群の間に有意差があった。また精子運動率は第1群、第2群、第3群の順でよかつた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3) 329-335, 1984)

### 緒 言

社会的背景の変化や泌尿器科医の働きかけにより、男子不妊症患者は年々増加する傾向にある。またアンドロロジーの発展とともに男子不妊症は、重要な研究分野の一つになりつつある。

われわれは最近の男子不妊症患者の臨床統計学的観察をおこない、過去における諸家の成績と比較検討したので報告する。

### 対 象

1981年4月国立霞ヶ浦病院泌尿器科が開設されたが、その時点から1983年3月までの2年間に泌尿器科外来を訪れた男子不妊症患者107名を対象とした。

### 方 法

- 1) 病歴の検討

初診時年齢、結婚期間、妻の年齢と産婦人科的異常の有無および既往歴について検討した。

- 2) 理学的所見の検討

睾丸容積をオーキドメーターを用いて測定し、副睾丸、精管の触診をおこない、精索静脈瘤の有無は患者にValsalvaの手技をとらせて立位で検査した。また経直腸的に前立腺の触診をおこなった。

- 3) 検査所見の検討

- ① 内分泌学的検査

血清 FSH, LH, テストステロンおよびプロラクチン値を午前9時から11時までに採血された検体を用い、ラジオイムノアッセイで測定した。

- ② 病理組織学的検査

無精子症患者については、通常一側の睾丸開放生検をおこない、ただちに Bouin 液で固定し、パラフィン包埋さらに H-E 染色を施した。作製された標本により精子形成の完了の有無を主に検討した。

③ 精液検査

5日間の禁欲期間をおき、広口びんにマスターベーションにより採取させ、それを1時間30分以内に検鏡し、精液量、精子濃度および運動率を検討した。

④ 染色体検査

無精子症患者全例の末梢リンパ球染色体検査を施行した。

4) 症例の分類と各群間の理学的所見および検査所見の比較検討

精液検査および病理組織学的検査の結果により、症例を5群に分類した。即ち第1群—精子濃度が $40 \times 10^6/ml$ 以上の症例、第2群—精子濃度が $10 \times 10^6/ml$ 以上 $40 \times 10^6/ml$ 未満の乏精子症例、第3群—精子濃度 $10 \times 10^6/ml$ 未満の乏精子症例、第4群—無精子症で睾丸生検の結果精子形成過程を完了している症例、第5群—無精子症で精子形成過程の完了していない症例とした。また各群間の睾丸容積、内分泌的検査、精液量および運動率の所見を比較検討した。

結 果

1) 初診時年齢

最低24歳から最高44歳におよび30—34歳が56例と最も多く、25—29歳が27例、35—39歳が21例であった(図1)。

2) 結婚期間

2年以上3年未満が21例と最も多く、5年未満に57.1%が来院した(図2)。

3) 配偶者の年齢および異常

配偶者の年齢は最低23歳から38歳におよび25—29歳が53例と最も多く、30—34歳が40例で25—34歳の間に全体の86.9%が分布した(図3)。また配偶者の産婦人科的異常は8例(7.5%)に認められ、内訳はホルモン異常3例、子宮發育不全および卵管閉塞が各々2例、月経不順が1例であった(表1)。

4) 既往歴

全体で延べ31例を認め、最も多いものが流行性耳下腺炎で21例(19.6%)が罹患しており、不妊症と関連している可能性がある疾患としては、ほかに鼠径ヘルニア2例、淋疾、停留睾丸および下垂体性小人症をそれぞれ1例に認め、その他5疾患がみられた(表2)。

5) 理学的所見

精索静脈瘤が50例(46.7%)で最も多く、慢性副睾丸炎が15例(14.0%)にみられ、精管欠損および精管結紮後の硬結をそれぞれ1例(0.9%)に認めた(表3)。

6) 症例の分類と分布

107症例は、第1群が34例(31.8%)、第2群21例

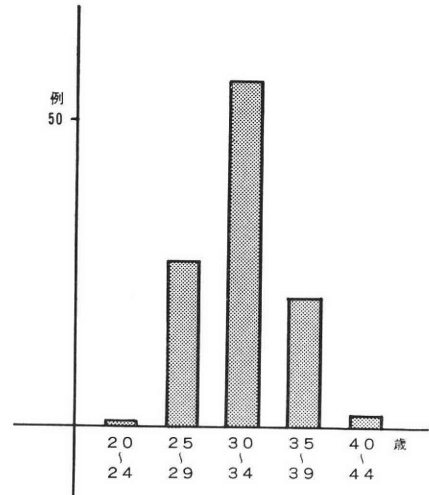


図1 初診時年齢

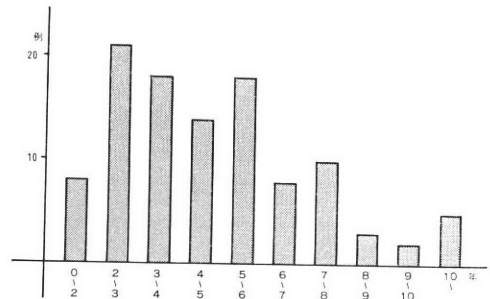


図2 結婚期間

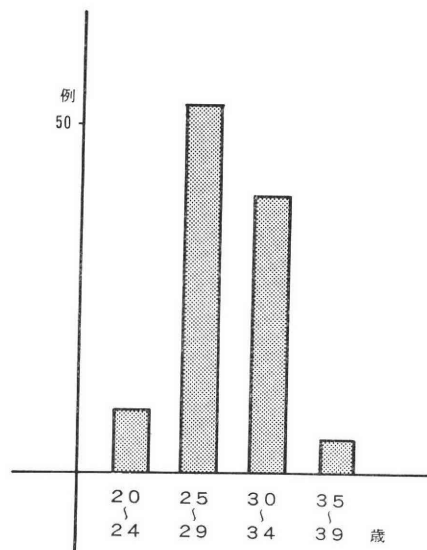


図3 配偶者の年齢

表 1 配偶者の異常

ホルモン異常	3例 (2.8%)
子宮発育不全	2 (1.9)
卵管閉塞	2 (1.9)
月経不順	1 (0.8)
7例	

表 2 既往歴

流行性耳下腺炎	21例 (19.6%)
鼠径ヘルニア	2 (1.9)
淋疾	1 (0.9)
停留睪丸	1 (0.9)
下垂体小人症	1 (0.9)
その他	5 (4.7)
計	31例

表 3 理学的所見

精索静脈瘤	50例 (46.7%)
慢性副睪丸炎	15 (14.0)
精管欠損	1 (0.9)
精管結紮後硬結	1 (0.9)
計	67例

表 4 症例の分類と分布

第1群: 正常 ( $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上)	34例 (31.8%)
第2群: 乏精子症 ( $10-40 \times 10^6/\text{ml}$ )	21 (19.6)
第3群: 乏精子症 ( $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満)	11 (10.3)
第4群: 無精子症 (精子形成完了群)	11 (10.3)
第5群: 無精子症 (精子形成未完了群)	30 (28.0)
計	107 (100.0)

(19.6%), 第3群11例 (10.3%), 第4群11例 (10.3%), 第5群30例 (28.0%) という分布を示した。また第5群の中には8例の Klinefelter 症候群症例が認められた。

精子濃度からみると無精子症が41例と最も多かつた(表4)。

7) 各群における睪丸容積

睪丸容積の平均値および標準偏差は第1群  $15.3 \pm 3.2$  ml, 第2群  $13.4 \pm 3.5$  ml, 第3群  $12.6 \pm 4.7$  ml, 第4群  $13.6 \pm 3.4$  ml, 第5群  $7.6 \pm 4.7$  ml であつた。統計学的に第5群とその他の各群との間に有意差を認めた ( $P < 0.01$ ) (図4)。

8) 各群における内分泌学的検査所見

FSH の平均値および標準偏差は、第1群  $8.2 \pm 5.5$

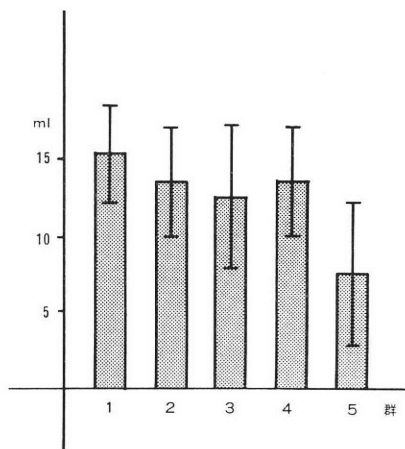


図 4 各群における睪丸容積

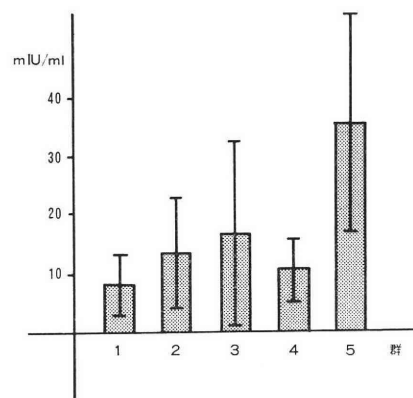


図 5 各群における FSH 値

mIU/ml, 第2群  $13.5 \pm 9.4$  mIU/ml, 第3群  $16.7 \pm 15.8$  mIU/ml, 第4群  $10.7 \pm 5.8$  mIU/ml, 第5群  $35.5 \pm 18.6$  mIU/ml で、第5群が異常高値を示し、その他は正常値であつた。また統計学的に第1群と第2群, 第3群および第5群の間に、第5群と第2群, 第3群および第4群に、第3群と第4群の間にそれぞれ有意差を認めた ( $p < 0.01$ ) (図5)。

LH 値は、第1群  $14.5 \pm 9.9$  mIU/ml, 第2群  $17.0 \pm 13.6$  mIU/ml, 第3群  $20.1 \pm 15.7$  mIU/ml, 第4群  $15.1 \pm 4.0$  mIU/ml, 第5群  $36.6 \pm 23.9$  mIU/ml であつた。第5群が異常高値を示し第3群の値もやや高く、その他は正常値であつた。統計学的には、第4群と第2群および第3群, 第5群と第1群, 第2群および第4群の間に有意差を認めた ( $p < 0.01$ ) (図6)。

テストステロン値は、第1群  $644.1 \pm 206.4$  ng/dl, 第2群  $709.5 \pm 256.4$  ng/dl, 第3群  $640.0 \pm 219.7$  ng/dl, 第4群  $658.9 \pm 264.0$  ng/dl, 第5群  $514.3 \pm 224.3$  ng/dl

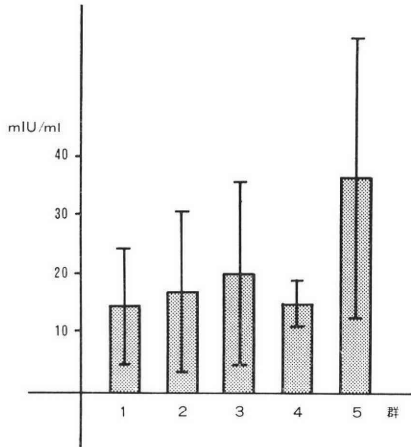


図 6 各群における LH 値

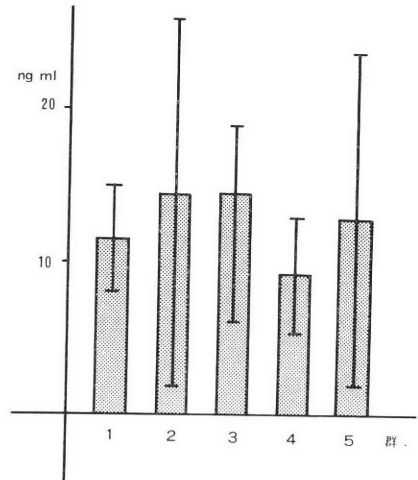


図 8 各群におけるプロラクチン値

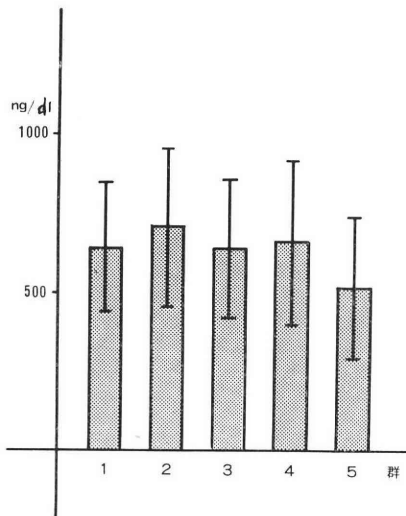


図 7 各群におけるステロステロン値

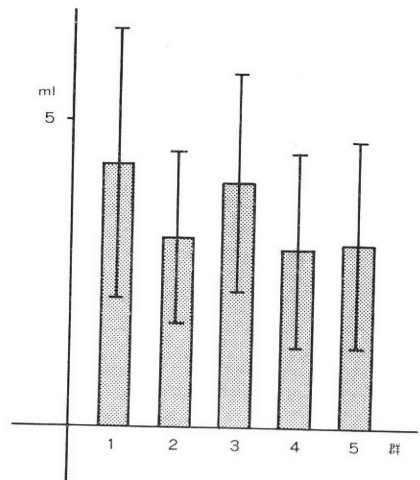


図 9 各群における精液量

であつた。統計学的には第2群と第5群の間に有意差が認められた ( $p < 0.01$ ) (図7)。

プロラクチン値は、第1群  $11.5 \pm 7.9 \text{ ng/ml}$ 、第2群  $14.4 \pm 12.5 \text{ ng/ml}$ 、第3群  $12.5 \pm 6.4 \text{ ng/ml}$ 、第4群  $9.2 \pm 3.8 \text{ ng/ml}$ 、第5群  $12.9 \pm 10.9 \text{ ng/ml}$  であり、統計学的に第4群と第2群および第5群の間に有意差を認めた ( $p < 0.01$ ) (図8)。

9) 各群における精液所見

精液量は第1群  $4.3 \pm 2.2 \text{ ml}$ 、第2群  $3.1 \pm 1.4 \text{ ml}$ 、第3群  $3.9 \pm 1.8 \text{ ml}$ 、第4群  $2.9 \pm 1.6 \text{ ml}$ 、第5群  $3.0 \pm 1.7 \text{ ml}$  という成績で、各群間に統計学的な有意差を認めなかつた (図9)。

精子運動率は第1群  $65.4 \pm 18.6\%$ 、第2群  $58.8 \pm 19.0\%$ 、第3群  $37.3 \pm 16.8\%$  であり、統計学的に第3群と第

1群および第2群の間に有意差を認めた ( $p < 0.01$ ) (図10)。

考 按

1) 初診時年齢と結婚期間

初診時年齢は25—34歳が全体の77.6%を占め、諸家の報告と一致した<sup>2,12)</sup>。

結婚期間は2—3年目が最も多く諸家の報告と一致するが<sup>2,3,5)</sup>、5年目までに70%が受診するという報告<sup>2,6)</sup>と相反し、われわれの成績では57%が受診したにすぎなかつた。この原因としては、長沼<sup>7)</sup>らの言うように産婦人科からの紹介が多く、男性側の来院が遅れること、専門医が少ないことなど予想された。

2) 配偶者の年齢および異常

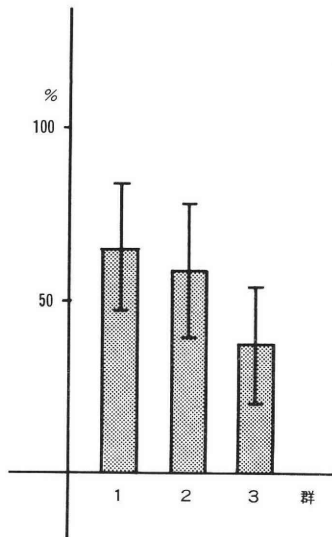


図10 各群における精子運動率

初診時配偶者の年齢が30歳を越えるものが42.1%も占めることは注目し値する。即ち治療が成功しても高年初産となることが多く、今後より強力な啓蒙活動をおこない、配偶者の若いうちに来院させる必要がある。また配偶者の異常は6.5%と桜井ら<sup>4)</sup>の報告と比べて少なかった。これは主に患者の申告のみにより病歴を判定したためと考えられ、配偶者についての詳細な検討には、産婦人科医との密接な協力関係が必要であると思われた。

3) 既往歴と理学的所見

既往歴では諸家の報告のように流行性耳下腺炎が最も多いが<sup>3,4,6,7,9)</sup>、このうち睾丸炎にいたつたものはなく、鼠径ヘルニアや停留睾丸も少ない上にどれほど不妊と関係しているのかは明確でないため、既往歴からは特異性と考えられる症例が圧倒的に多く、これも諸家の報告と一致した<sup>8-10)</sup>。

理学的所見では精索静脈瘤が非常に多く、この疾患と不妊症との関連については完全には解明されていないが、手術による治療成績は他と比べて優れているため、積極的に治療するべきであると考えられた。慢性副睾丸炎は15例に認められたが、そのうち第4群に属しているものについては、不妊の原因として明確であるため、是非とも治療が必要であり、われわれもマイクロサージャリーを導入し副睾丸-精管吻合術をおこなっている。

4) 症例の分類

男子不妊症患者の診断、治療にあたって患者を何らかの型で分類すると便利であり、またこれはいろいろな観点または方法でおこなわれている<sup>13-15)</sup>。しかし臨床的にみれば、患者の負担が少なく、治療上マイナスにならない

い方法を選ばなければならない。

われわれはまず最初に精液検査で、無精子症とそれ以外の症例に分類した。無精子症以外のものに対しては、免疫学的な観点<sup>16)</sup>から睾丸生検をせず、精液検査を中心とした諸検査を指標として治療をおこなった。また無精子症例に対しては、睾丸生検の結果精子形成完了の有無を確認し、完了しているものに対しては、閉塞性病変の除去をおこない、未完了群の治療は断念した。このようにしてなされた分類は、浸襲のある検査をさけながら症例を把握でき、臨床的には有用であると思われた。しかしながら男子不妊症の原因究明という立場からすれば、新しい観点での分類が必要であることは言うまでもない。

5) 症例の分類と睾丸容積および検査所見

各群の睾丸容積を比較すると第5群が7.6mlであり、他の4群より有意に低かった。この成績からすると、無精子症で睾丸容積が10mlを越えるもので、閉塞性病変が明確になれば、睾丸生検をせずに治療に移行した方が治療成績が向上する可能性が考えられた。

FSH および LH をみると、ともに第1群が最低値で、第4群、2群、3群、5群の順で高くなり、第5群は異常高値であつた。大橋ら<sup>17)</sup>の精子濃度とFSH、LHの関係をみた成績では、FSHと精細管機能との相関は、LHのそれと比較して非常に強くなっているが、われわれのように無精子症例を2群に分けた分類を用い、全5群のそれぞれの平均値をとると、確かに各群間の有意差はFSHにおいて多く証明されたものの、FSHとLHの全体的な動向は全く一致していた。これは精細管障害に対してFSHの方が敏感に反応はするが、LHもまた十分に精細管機能を反映することを示唆するものである。よつて精細管機能をみる場合にFSHのみならずLHにも目を向けることが必要であり、かつこの際にFSHとLHの共通の作用点であるLeydig細胞機能の再検討こそが重要であると考えた<sup>18)</sup>。

次に閉塞性無精子症例ではFSH、LH値も正常で第1群に近い値を示しており、これは閉塞機転があつても精細管機能が障害されにくいことを表わしていると言える。このことから、閉塞性無精子症例でFSHとLHが正常で睾丸容積が10ml以上あれば、睾丸生検なしに手術治療をおこなうことが望ましいと考えられた。それよりもこのような症例の治療上の問題点は別のところにある。即ち閉塞部位やIchijoら<sup>19)</sup>の言う機能的閉塞については診断がつくが、精子の成熟に関する内分泌学的または生化学的な副睾丸機能障害、副睾丸全体での器質的障害の進行度等について有効な術前診断をなし得ないことである。この解決には、副睾丸機能のマーカーとな



る物質の発見以外によい方法はないと思われた。

テストステロン値は第5群で低値を示し、これは Klinefelter 症候群症例を含むためと考えられ、その他の各群間には有意差もなく平均値は正常であつた。しかし実験的にはテストステロンは精子形成過程で、FSH とともに重要な役割を果たしていることが証明されているため<sup>20)</sup>、辜丸または Leydig 細胞のレベルでのテストステロンの測定をおこなうことが望ましいが、辜丸生検の浸襲を考えると HCG テスト等の *in vivo* での検査で Leydig 細胞でのテストステロン合成能を評価し<sup>21)</sup>、症例の分類の一方法とし、それを治療に反映させることが必要であると考えられた。

プロラクチンは、第4群と第2群および第5群の間に有意差を認めたが、全体的に各群の平均値は正常範囲であり、他に有意差もなかつたため、この成績からはプロラクチンと精細管機能との関係を検討しえるデータは得られなかつた。

#### 6) 症例の分類と精液量および精子運動率

精液量は全体で各群間に有意差はなかつた。よつてここからは、臨床面で指針となる成績は見い出せなかつた。

精子運動率は、第1群、第2群、第3群の順でよかつた。この成績から精子運動率は間接的に Leydig 細胞機能を反映していると考えられるため、それと精細管機能との間に正の相関があると思われた。これは FSH と LH との関係と同様に、精細管機能を検討する場合に Leydig 細胞機能を念頭に入れることの重要性を示唆するものと考えられた。

## 文 献

- 1) 大島博幸：アンドロロジーの問題点，臨泌，37(10)：863，1983。
- 2) 小松洋輔，友吉唯夫，岡田謙一郎，高山秀則：男子不妊症の臨床統計的観察ならびその追跡調査成績について，日不妊誌，14(4)：72，1969。
- 3) 平野章治，沢木 勝，大川光央，黒田恭一：男子不妊症の臨床統計的検討，日不妊誌，20(1)：11，1975。
- 4) 桜井叢人，平岩三雄，佐藤昭太郎：男性不妊症の臨床的観察，泌尿紀要，21(5)：397，1975。
- 5) 高崎 登，岡野 准，大西真尚，宮崎 重：当教室における3年間の男子不妊症の統計的観察，泌尿紀要，22(3)：281，1976。
- 6) 碓井 亜，林 陸雄，中津 博，石部知行：男子不妊症の臨床的観察，西日泌尿，38(1)：40，1976。
- 7) 長沼弘三郎，後藤俊弘，前山泰典，岡元健一郎：男子不妊症の臨床観察，西日泌尿，39(4)：661，1977。
- 8) 田中啓幹，鈴木 学，山元敏嗣：男子不妊症の臨床的観察ならびに妊娠成立例について，西日泌尿，40(4)：475，1978。
- 9) 西村隆一，岩崎 皓，木下裕三，野口和美，高井修道：男子不妊症の臨床的観察，日不妊誌，24(2)：205，1979。
- 10) 木内弘道，大田修平，田中啓幹：男子不妊症の臨床的観察，日不妊誌，27(2)：44，1982。
- 11) 山本雅憲，三宅弘治，欄 芳郎，笈 英雄，後藤百万，高村真一，蔡 紹謨，三矢英輔：男子不妊症の臨床統計的観察，日不妊誌，27(3)：81，1982。
- 12) 堀 夏樹，山崎義久，有馬公伸，柳川 真，杉村芳樹，田島和洋，柄木宏水，加藤広海，斉藤 薫，多田 茂：男子不妊症の臨床統計的観察，日不妊誌，27(2)：35，1982。
- 13) Amelar, R. D., Dubin, L.: Male infertility: Current diagnosis and treatment. Urology 1(1): 1, 1973.
- 14) Glezerman, M.: Disturbances in male fertility: Etiology of fertility disturbances in man ed. 1: p. 171, Springer-Verlag Berlin Heideberg New York. 1982.
- 15) 志田圭三，浦野悦郎：男子不妊症の臨床：P 36，金原出版，東京，1972。
- 16) 田中啓幹：辜丸免疫に関する実験的研究，西日泌尿，41：19，1979。
- 17) 大橋輝久，森岡政明：男子不妊症の内分泌環境，西日泌尿，44：545，1982。
- 18) Odell, W. D., Swerdoloff, R. S., Jacob, H. S., Hecox, M. A.: FSH induction of sensitivity to LH: One cause of sexual maturation in the male rat. Endocrinology. 92: 160, 1973.
- 19) Ichijo, S., Sigg, C., Nagasawa, M., Siraiwa, Y.: Vasoseminal vesiculography before and after ejaculation. Urol. Int. 36: 35, 1981.
- 20) Steinburger, E: Hormonal control of mammalian spermatogenesis. Physiol. Rev. 51: 1, 1971.
- 21) Weiss, D. B., Rodriguez-Rigau, L. J., Smith, K. D., Steinburger, E.: Leydig cell function in oligospermic men with varicocele. J. Urol. 120: 427, 1978.

## Clinico-statistical study on male infertility

**Hikomichi Ishikawa, Atsushi Aikawa,  
Hitoshi Takeshima, Yuzo Koyama  
and So Nakamura**

Department of Urology, National  
Kasumigaura Hospital

A statistical analysis was performed on 107 patients with male infertility who had visited our urology clinic for 2 years from April 1981 to March 1983.

- 1) The peak of the age distribution was from 30 to 34 years old. The peak of the infertile period was from 2 to 3 years after their marriage.
- 2) The peak of the their spouses' age distribution was from 25 to 29 years old and 7.5% of them revealed to have some gynecological disorders.
- 3) Epidemic parotitis and varicocele were found most frequently in their past history and physical findings, respectively.
- 4) Based on semen analysis and histopathological findings of the testis 107 cases were divided

into 5 groups;

- group 1: normozoospermia (34 cases-31.8%)
- group 2: oligozoospermia with sperm count from 10 to  $40 \times 10^6$ /ml (21 cases-19.6%)
- group 3: oligozoospermia with sperm count less than  $10 \times 10^6$ /ml (11 cases-10.3%)
- group 4: azoospermia with completed spermatogenesis (11 cases-10.3%)
- group 5: azoospermia with arrested spermatogenesis (30 cases-28.0%)

The testicular volume in group 5 was smaller than those of other 4 groups, respectively, with statistically significant differences.

The levels of FSH and LH were the lowest in group 1, the highest in group 5, respectively. The level of testosterone in group 2 was higher than that of group 5 with statistically significant difference. The prolactin level in group 4 was lower than those of group 2 and 5, respectively, with statistically significant differences.

As to the sperm motility, it was the highest in group 1.

(受付: 昭和58年10月28日)

# 着床周辺期における家兎子宮内膜の Prostaglandin F 産生, 放出動態

## Synthesis and Release of Prostaglandin F by the Rabbit Uterine Endometrium during Periimplantation Period.

旭川医科大学産婦人科学教室

笠 茂 光 範 石 川 睦 男 千 石 一 雄  
Mitsunori KASAMO Mutsuo ISHIKAWA Kazuo SENGOKU  
山 下 幸 紀 清 水 哲 也  
Kohki YAMASHITA Tetsuya SHIMIZU

Department of Obstetrics and Gynecology, Asahikawa  
Medical College, Asahikawa

着床機構解明の一環として家兎を用い、着床前期の Day 6, 着床初期の Day 7 において子宮内膜の Prostaglandin F (PGF) の産生, 放出の有無およびその動態に関し検討し、以下の結果を得た。

1) 子宮腔液中の PGF 濃度は、Day 6 妊娠群, Day 6 偽妊娠群, 未交配群の間に有意な差は認めなかつた。

2) 子宮内膜の PGF 値 (Mean/100 mg 子宮内膜) は、Day 6 妊娠群 136 pg, Day 6 偽妊娠群 126 pg, Day 7 妊娠群非着床部位 133 pg, Day 7 偽妊娠群 198 pg でいずれの間にも有意な差は認めなかつたが、Day 7 妊娠群着床部位では 3624 pg と前 4 者に比し有意に高値 ( $p < 0.05$ ) を示した。

3) Day 6 妊娠群子宮内膜は *in vitro* で PGF を加速度的に産生, 放出することが認められた。

以上より、家兎着床前子宮内膜は顕著な PGF 産生, 放出能を有し、さらに、その産生, 放出能は着床初期にはじめて着床部位において特異的に発現するものと考えられた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 336-342, 1984)

### I. 緒 言

生殖生理学上、最も重要な現象の一つである着床の機構は極めて複雑で未解明の点が多いが、近年、電子顕微鏡レベルの形態学、性ステロイドを中心とする内分泌学、移植免疫を主体とする免疫学など種々の方面からのアプローチが精力的になされ、徐々にそのベールがはがされつつある。その中で内分泌学的アプローチにおいては最近、Prostaglandins (以下、PGs) の着床機構への関与が注目されてきている。また、着床は、遺伝学的に異なる母児が拒絶し合うことなく互いに密接に関連するという特殊な現象であるが、その主役は、胚 (Blastocyst) と子宮 (子宮内膜) である。そこで本実験では

両者のうち子宮内膜に着目し、その着床周辺期における Prostaglandin F (PGF) の産生, 放出の有無及び動態に関し家兎を用い検討を加え、着床機構における PGF の意義の解明を試みたので報告する。

### II. 実験方法

#### 1. 検体採取法

実験動物は、最低 4 週間以上、隔離、飼育した体重 3.1~4.8kg の成熟雌家兎 (日本白色種) を用いた。

家兎を double mating した後、直ちに human chorionic gonadotropin (持田製薬、以下 hCG) 75IU を耳静脈より静注し (mating 時を 0 時間、Day 0 とする)、Day 6 (mating 後 144 時間、着床前期<sup>1)</sup>) あるい

は、Day 7 (mating 後 168 時間, 着床初期<sup>1)</sup>) にネンブタール® (Abbott) 麻酔下に子宮を摘出した。Day 6 では、子宮腔を卵管側より indomethacin (sigma) 10 µg/ml 加<sup>2,3)</sup> 生理食塩水 (以下, indomethacin 生食) 10ml にて洗滌し, blastocyst を洗出した後, 新たに indomethacin 生食下で子宮中央部の子宮内膜を 10~20 mg 採取した。Day 7 では、肉眼的に明らかな着床部位子宮<sup>4)</sup> の両端を離断し, indomethacin 生食の緩徐な注入により blastocyst を洗出した後, 肉眼的に明らかに区別される着床部位と非着床部位<sup>4,5)</sup> の子宮内膜を indomethacin 生食下で分離, 採取した。採取した子宮内膜は子宮腔液とともに測定まで -40°C で凍結するか, 以下の培養実験に供した。また, blastocyst の認められなかった例は偽妊娠例とした。

2. 培養方法

培養液は TC-199 (日水製薬) + fetal calf serum (GIBCO) 20% 培養液をベースに sodium pyruvate (和光純薬) 0.12mg/ml, penicillin-streptomycin (GIBCO) 50IU/ml, 50µg/ml, HEPES buffer (Flow) 16mM を添加し pH 7.2 に調整したものを用いた。culture chamber (Lab-Tek) 内に上記培養液を 1ml 入れ, CO<sub>2</sub> incubator (Hotpak, Multimode control system model 351920) を使い, 95% air + 5% CO<sub>2</sub>, 37°C の条件下で培養を行なった。培養実験の対象としては, Day 6 妊娠群の子宮内膜を用い, また採取操作時に用いた indomethacin 生食の影響を除去するため, 培養に先立ち生食にて洗滌操作を行なった。培養終了後は, 子宮内膜と培養液を各々測定まで -40°C で凍結した。なお, この際, 子宮内膜は, indomethacin 生食下で洗滌後凍結した。

3. Prostaglandin F 測定法 (図 1, 2, 3)

各検体を 4°C 下で自然解凍後, Caldwell らの方法<sup>6)</sup> の変法<sup>7)</sup> に準じ, 抽出, 分離操作を行なった後, radioimmunoassay (以下, RIA) にて各検体中の PGF 量を測定した。

1) 抽出法 (図 1)

子宮内膜に対し 0.01N pH 7.4 の phosphate buffer 1 ml を添加後, 0.1N HCl 0.1ml を加え, pH 3.5~4.0 に酸性化した。次に酢酸エチル 5 ml を加え, 4°C 下でホモジナイズし, 酢酸エチル相を snap freeze 法で採取後, 55°C でチッ素ガス下に乾固した。子宮腔液, 培養液はそれぞれ 1 ml, 0.5 ml に 0.1N HCl 0.1 ml を添加し pH 3.5~4.0 とした後, 同様に酢酸エチル 5 ml で PGs を抽出し乾固した。

2) 分離法および RIA 法 (図 2)

抽出, 乾固した各検体の PGs からの PGF の分離は, ベンゼン, メタノール (いずれも残留農薬試験用,

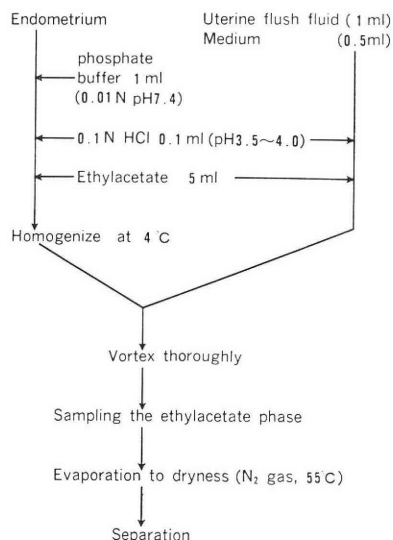


図 1 Assay procedure of PGF (Extraction)

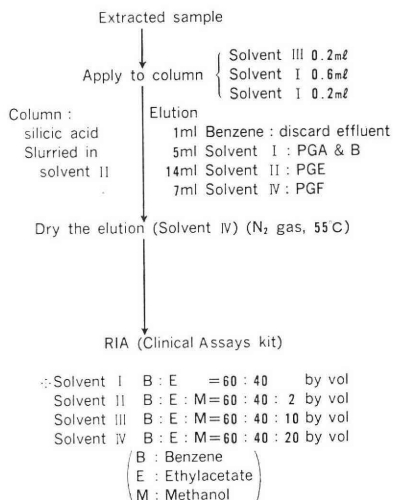


図 2 Assay procedure of PGF (Separation & RIA)

和光純薬), 酢酸エチル (高速液体クロマトグラフィー用, 関東化学) の混合溶媒系を用いたケイ酸カラムクロマトグラフィーにより行なった。ケイ酸カラムは, ケイ酸 (100mesh, Mallinkrodt) 1 g を 10ml の溶媒 II (ベンゼン/酢酸エチル/メタノール, 60 : 40 : 2, v/v) に一昼夜浮遊させたものをガラスカラム管に注入し作製した。次に, 抽出, 乾固した検体に溶媒 III (ベンゼン/酢酸エチル/メタノール, 60 : 40 : 10, v/v) 0.2 ml, 溶媒 I (ベンゼン/酢酸エチル, 60 : 40, v/v) 0.6 ml を加え混和後カラムに注入した。さらに検体 tube を 0.2 ml の溶媒 I で洗い, これもカラムに注入した。カラムの溶出は図 2 の如く行ない, PGA & B, PGE, PGF を分離,

溶出させた。さらに、溶媒Ⅳ（ベンゼン/酢酸エチル/メタノール, 60:40:20, v/v) の PGF 溶出分画を55°C, チッ素ガス下に乾固し, RIA 用検体とした。

ケイ酸カラムによる PGs の溶出 pattern は, [5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 15 (N)-<sup>3</sup>H] Prostaglandin F<sub>2α</sub> (s.a. 150.0 Ci/mmol, 以下, <sup>3</sup>H-PGF<sub>2α</sub>), [5, 6, 8, 11, 12, 14, 15 (N)-<sup>3</sup>H] Prostaglandin E<sub>2</sub> (s.a. 165.0 Ci/mmol, 以下, <sup>3</sup>H-PGE<sub>2</sub>), [5, 6 (N)-<sup>3</sup>H] Prostaglandin B<sub>1</sub> (s.a. 53.0 Ci/mmol, 以下, <sup>3</sup>H-PGB<sub>1</sub>) の3種類の放射性標識化合物(いずれも New England Nuclear 製)を用い検討した。その溶出 pattern は図3の如くで, <sup>3</sup>H-PGE<sub>2</sub> は PGA&B, PGF の分画に一部混入し, PGE の分離は不十分であったが, PGF の分離は良好であり, その回収率は77.7%であった。

PGF の RIA は, [<sup>3</sup>H]-Prostaglandin F<sub>2α</sub> radioimmunoassay Kit (Clinical Assays) を用い duplicate で行なった。anti-PGF<sub>2α</sub> serum は, PGF<sub>1α</sub> と 28.2% の交叉反応を示すため測定結果は PGF とした。PGF の回収率は, 各 assay 毎に RIA 用検体とは別に duplicate で検定し, 子宮内膜, 子宮腔液, 培養液で, それぞれ 49.0±9.0%, 54.6±5.0%, 60.9±9.3% (Mean±S.D. N=6) であった。また, PGF の測定感度は 9.2 pg であり, 測定の intraassay, interassay の変動係数は, それぞれ 11.0%, 13.7% であった。

放射能の測定には, Toluene 2 l (Packard, scintillation grade), PPO 12 g (Packard), POPOP 0.3 g (和光純薬) に対して Triton X-100 1 l (和光純薬) を添加して作製した乳化シンチレーターを用い, Beckmann LS 900 series liquid scintillation systems にて 2 分間測定した。なお, 計数効率は 35~39% であった。

測定結果の推計学的処理は, Student's t test により行ない, F 検定にて比較対象の母分散間に有意差のある場合は, Welch の方法に従った。

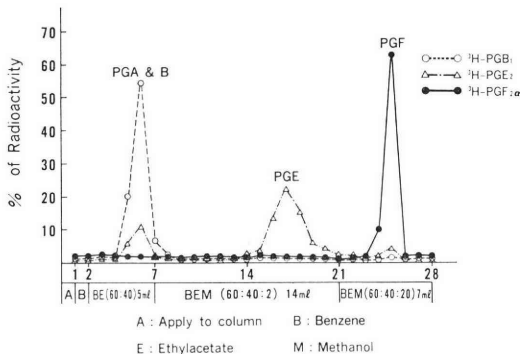


図3 Elution pattern for PGs (silicic acid column chromatography)

### III. 実験成績

#### 1. 着床前期の子宮腔内の PGF 動態 (図4)

子宮腔液中の PGF 濃度 (Mean±S.E./ml) は, Day 6 妊娠群 82.3±7.4pg, Day 6 偽妊娠群 64.5±6.6pg, 非妊娠群 (未交配群) 75.8±12.9 pg で3者間に有意な差は認めず, Day 6 の着床前期には, 子宮腔内における PGF の動態に明らかな変化は認められなかった。

#### 2. 着床周辺期における子宮内膜の in vivo での PGF 産生の有無およびその動態 (図5)

子宮内膜の PGF 値 (Mean±S.E./100mg 子宮内膜) は, Day 6 妊娠群 136±18 pg, Day 6 偽妊娠群 126±17pg, Day 7 妊娠群非着床部位 133±21 pg, Day 7 偽妊娠群 198±31 pg で, いずれの間にも有意な差を認めなかった。一方, Day 7 妊娠群着床部位の子宮内膜の PGF 値 (Mean±S.E./100 mg 子宮内膜) は, 3624±842pg で, 前4者に比し有意に高値を示し (p<0.05), 子宮内膜が in vivo で PGF を産生し, その PGF 産生が着床初期にはじめて着床部位に増大することが判明した。

#### 3. 着床前期の子宮内膜の in vitro での PGF 産生, 放出の有無およびその動態 (図6, 7)

着床前期の Day 6 妊娠群子宮内膜の PGF 値 (Mean±S.E./100 mg 子宮内膜) は, 培養前 136±18 pg に比し, 培養1時間後に 382±60 pg と有意に増加し (p<0.05), 培養2時間後 545±65pg, 3時間後 776±119pg

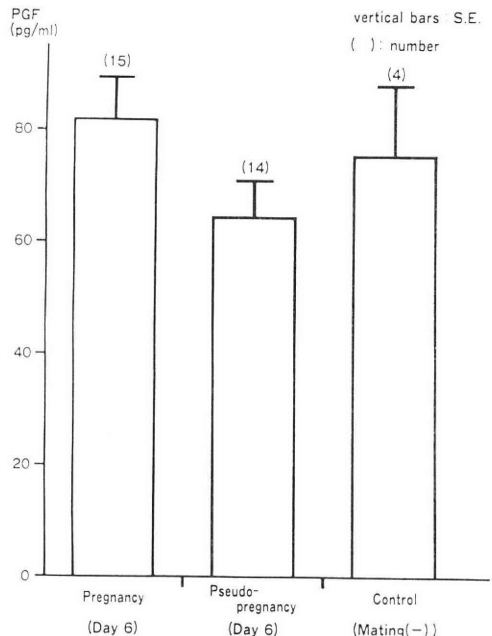


図4 Concentration of PGF in uterine flush fluid

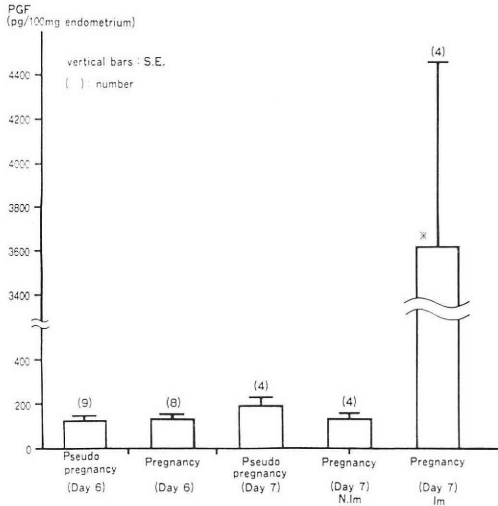


図 5 Content of PGF in uterine endometrium  
N. Im : Nonimplantation site  
Im : Implantation site  
\* significantly different ( $p < 0.005$ ) compared with others

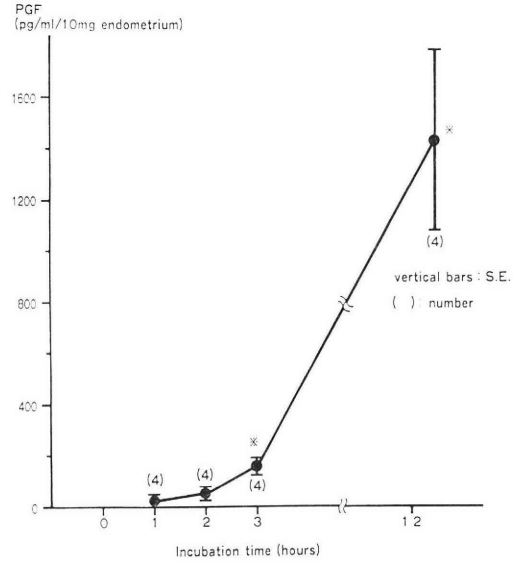


図 7 Release of PGF by Day 6 pregnant endometrium  
\* significantly different ( $p < 0.05$ ) compared with 1 incubation time

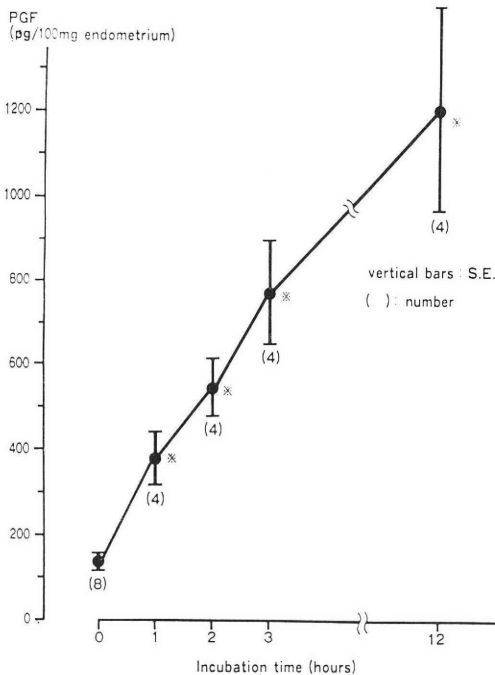


図 6 Production of PGF by Day 6 pregnant endometrium  
\* significantly different ( $p < 0.05$ ) compared with 0 incubation time

と増加し続け、培養12時間後には  $1209 \pm 243$ pg に達した (図6)。

一方、Day 6 妊娠群子宮内膜の培養液中の PGF 濃度 (Mean  $\pm$  S.E./ml/10 mg 子宮内膜) は培養1時間後  $23 \pm 9$  pg に比し、培養2時間後  $55 \pm 26$  pg と増加傾向を示し、培養3時間後には  $158 \pm 33$  pg と有意に高値となり ( $p < 0.05$ )、培養12時間後には、 $1434 \pm 352$ pg に達した (図7)。

これらの成績より、Day 6 の着床前期における子宮内膜は、in vitro で PGF を加速度的に産生し、引き続き同様に放出し続けることが判明した。

#### IV. 考 察

PGs 産生阻害物質である indomethacin の皮下投与による着床遅延<sup>8,9</sup> やその子宮腔内投与による脱落膜反応の阻害<sup>10,11</sup> の報告、逆に  $PGF_{2\alpha}$ <sup>12,13</sup> や  $PGE_2$ 、アラキドン酸<sup>13</sup> の子宮腔内投与による脱落膜反応の誘起の報告、さらには indomethacin の投与による着床阻害現象が histamine と  $PGF_{2\alpha}$  の投与により補整されたとの報告<sup>14</sup> など多数の報告<sup>15</sup> より、PGs は着床機構に欠くべからざる物質であるものと考えられる。さらにその産生母体としては子宮が考えられているが<sup>8,16,17,18</sup>、子宮由来の PGs がどのように着床機構に関与しているのかは明らかではない。そこで、本実験では家兔を用いて着床周辺期における子宮内膜の PGF 産生、放出の有無のみならず、それらの動態についても検討を加えた。

まず、着床現象において子宮内膜と blastocyst の接点

となる子宮腔内の状態を反映すると考えられる子宮腔液中の PGF 濃度に関し検討した. 着床前期の子宮腔液中の PGF 濃度に関しては非妊娠時に比し低いとする馬での報告<sup>19)</sup>, 逆に高いとする羊での報告<sup>20)</sup>があり一定していない. 今回の検討では, 家兎において, 着床前期の Day 6 妊娠群, Day 6 偽妊娠群, 非妊娠群の 3 群の間に有意な差を認めなかった. 従つて着床前期の Day 6 における子宮腔内の PGF の濃度は妊娠, 偽妊娠によらず, また blastocyst の有無に関係なく非妊娠時に比べ著明な変動のないことが明らかとなった.

次に, この様な子宮腔内環境にある子宮内膜の PGF 産生の有無につき検討した. 一般に子宮内膜の PGF は非妊娠時には黄体退縮と関連の深いことが種々の動物で示されており<sup>21)</sup>, このことは家兎においても指摘されている<sup>22, 23)</sup>. 一方, 哺乳動物において妊娠の継続には黄体の存続は必須であり<sup>17)</sup>, 子宮の in vitro での PGF 産生が, 非妊娠時に比し妊娠時に低下するという guinea pig での報告<sup>24)</sup>, 黄体退縮時にみられる子宮静脈血中の PGF 濃度の上昇が妊娠時にはみられないとする家兎での報告<sup>22)</sup>, 子宮卵巣静脈血中の PGF 濃度が黄体退縮時に比し妊娠初期に低いとする羊での報告<sup>25)</sup>がある. しかしながら, これらの報告とは逆に子宮内膜の PGF 含有量が妊娠初期に増加するという羊<sup>20, 26, 27)</sup>, rat<sup>28)</sup> での, PGF の黄体退縮作用から考えると矛盾するような報告もある.

今回の実験結果では, 着床前期の Day 6 妊娠群の子宮内膜の PGF 含有量は 136 pg/100 mg 子宮内膜であり, この時期の子宮腔液中の PGF 濃度が 82.3 pg/ml と低値であることを考えると, 着床前期の Day 6 において子宮内膜が PGF を産生しているものと推察される. また, 子宮内膜の PGF 含有量は, Day 6 妊娠群, Day 6 偽妊娠群, Day 7 妊娠群非着床部位, Day 7 偽妊娠群の間に有意差を認めず, このことは in vivo での子宮内膜の PGF 産生が着床前期の Day 6 においては, 妊娠時と偽妊娠時との間に差がないこと, Day 7 の着床初期においても, 非着床部位ではその産生の増大が認められないことを示した. しかし, 着床初期の Day 7 の子宮内膜の着床部位は, これら 4 者に比し明らかに高い PGF 含有量を示した. 従つて, 着床初期にはじめて子宮内膜の着床部位において特異的に in vivo での PGF 産生が著明に増大することが明らかとなり, 着床現象に子宮内膜由来の PGF が密接に関連していることが強く示唆された. Kennedy<sup>8)</sup> は, rat 子宮において着床部位が非着床部位に比し有意に高濃度の PGE, PGF を含有していることを指摘しており, 本実験の結果と一致している.

一方, 子宮内膜の in vitro での PGF 産生, 放出に関しては, 妊娠初期に非妊娠時に比し高い PGF 産生, 放出を示すことが, それぞれ馬<sup>21)</sup>, 羊<sup>20)</sup>で報告されている. そこで本実験ではさらに, 着床前期の Day 6 妊娠群子宮内膜の in vitro での PGF 産生, 放出に関して経時的に検討した. その結果, PGF 産生, 放出とも認められ, 両者とも経時的に加速度的に増大することが明らかとなった. Hoffman ら<sup>29)</sup> は, 妊娠家兎子宮内膜の homogenate の phospholipase 活性が Day 6 と Day 7 の間で10倍以上増加することを示しており, この結果を裏づけているものと考えられる.

一般に哺乳動物においては着床に先行し子宮内膜の血管透過性が亢進する<sup>30)</sup>. この現象は, Evans blue 反応で検出され<sup>5, 30)</sup>, 家兎では Day 6.5~Day 7 に出現する<sup>5)</sup>ことが知られている. さらに, この着床部位子宮内膜の血管透過性亢進現象の発現には, 血管透過性亢進作用や血管拡張作用をもつ PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub><sup>31)</sup> が密接に関連している可能性が指摘されている. すなわち, Evans blue 反応を用い, 着床前期において着色部位が非着色部位に比し高濃度の PGE を含有することが rat<sup>8)</sup>, hamster<sup>9)</sup> で, 高濃度の PGI<sub>2</sub> 代謝産物である 6-keto PGF<sub>1α</sub> を含有することが rat<sup>32)</sup> で報告されている. さらに着床部位子宮内膜で産生される PGE 群や PGI 群が間質細胞内の cyclic-AMP (以下, c-AMP) 産生を亢進させ, その脱落膜細胞への分化を惹起する可能性も指摘されている<sup>16, 17)</sup>. しかし, c-AMP 産生の亢進は一般に細胞増殖を抑制し<sup>33, 34)</sup>, PGE 群も c-AMP の増量作用により細胞増殖を抑制することが知られている<sup>34)</sup>. 一方, PGF<sub>2α</sub> は, DNA 合成を高め細胞増殖を促進する<sup>35)</sup>ことが知られている. 従つて, Day 7 の着床初期に着床部位子宮内膜で産生が増大する PGF は, PGE 群, PGI 群などの作用により間質細胞から分化した脱落膜細胞の細胞増殖を促進し, 脱落膜反応を進行させるものと考えられる.

以上, 本実験で得られた成績より, Day 6 の着床前期の子宮内膜は in vitro で顕著な PGF 産生, 放出能を有し, in vivo ではそれが, Day 7 の着床初期にはじめて, blastocyst の相対する着床部位子宮内膜において何らかの trigger の作用により発現し, 着床部位子宮内膜の PGF 産生が亢進し脱落膜反応が進行するものと考えられる. その trigger としては, blastocyst の存在による機械的刺激, blastocyst の産生物質などが考えられるが不明であり今後検討すべき問題と考える.

本研究の一部は, 文部省科研費「試験管内受精卵の細胞内呼吸代謝に関する基礎的研究」(No 10107) によつた.

## 文 献

- 1) Dickmann, Z., Dey, S. K. and Gupta, J. S.: Steroidgenesis in rabbit preimplantation embryos. *Prod. Nat. Acad. Sci. USA.* 72 : 298, 1975.
- 2) Dickmann, Z. and Spilman, C. H.: Prostaglandins in rabbit blastocysts. *Science.*, 190: 997, 1975.
- 3) Sharma, S. C.: Temporal changes in PGE, PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , oestradiol 17 $\beta$  and progesterone in uterine venous plasma and endometrium of rabbits during pregnancy. In: *Les Colloques de l'Inserm Prostaglandins et Physiologie de la Reproduction* (A. Crates de Paulet, H. ThalerDao and F. Dray, eds). 243 Inserm, Paris, 1980.
- 4) Pakrasi, P. L. and Dey, S. K.: Blastocyst is the source of prostaglandins in the implantation site in the rabbit. *Prostaglandins.*, 24 : 73, 1982.
- 5) Paula, C. H. and Hoffman, L. H.: Temporal aspects of rabbit uterine vascular and decidual responses to blastocyst stimulation. *Biol. Reprod.*, 23 : 453, 1980.
- 6) Caldwell, B. V., Speroff, L., Brock, W. A., Aurette, F. J., Gordon, J. W., Anderson, G. G. and Hobbins, J. C.: Development and application of a radioimmunoassay for F Prostaglandins. *J. Reprod.*, 9 : 361, 1972.
- 7) Aurette, F. J., Zusman, R. M., Caldwell, B. V., Behrman, H. R., Kirton, K., Levitt, M. J. and Russell, P. T.: Development and standardization of radioimmunoassays for prostaglandins E, F, and A. *Clin. Chem.*, 20 : 1580, 1974.
- 8) Kennedy, T. G.: Evidence for a role for prostaglandins in the initiation of blastocyst implantation in the rat. *Biol. Reprod.*, 16 : 286, 1977.
- 9) Evans, C. A. and Kennedy, T. G.: The importance of prostaglandin synthesis for the initiation of blastocyst implantation in the hamster. *J. Reprod. Fert.*, 54 : 255, 1978.
- 10) Castracane, V. D., Saksena, S. K. and Shaikh, A. A.: Effect of IUD's prostaglandins and indomethacin on decidual cell reaction in the rat. *Prostaglandins.*, 6 : 397, 1974.
- 11) Tobert, J. A.: A study of the possible role of prostaglandins in decidualization using a nonsurgical method for the instillation of fluids into the rat uterine lumen. *J. Reprod. Fert.*, 47 : 391, 1976.
- 12) Sannanes, N., Baulieu, E. E. and Legoascogne, C.: Prostaglandin (s) as inductive factor of decidualization in the rat uterus. *Mol. cell. Endocr.*, 6 : 153, 1976.
- 13) Hoffman, L. H., Strong, G. B., Davenport, G. R. and Frölich, J. C.: Deciduogenic effect of prostaglandins in the pseudopregnant rabbit. *J. Reprod. Fert.*, 50 : 231, 1977.
- 14) Saksena, S. K., Lau, I. F. and Chang, M. C.: Relationship between estrogen, prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  and histamine in delayed implantation in the mouse. *Acta. Endocr.*, 91 : 801, 1976.
- 15) 清水哲也, 笠茂光範: 着床とプロスタグランディン, 産婦人科の世界. 36 : 69, 1984.
- 16) Kennedy, T. G. and Armstrong, D. T.: The role of prostaglandins in endometrial vascular changes at implantation. In: *Cellular and Molecular Aspects of Implantation*. (S. R. Glasser and D. W. Bullock, eds), 356. Plenum press, New York and London, 1981.
- 17) Sauer, M. J.: Hormone involvement in the establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, 56 : 725, 1979.
- 18) Kuel, F. A., Cirillo, V. J., Zanetti, M. E., Beveridge, G. C. & Ham, E. A.: Effect of estrogen on cyclic nucleotide and prostaglandin levels in rat uterus. *Adv. Prostaglandin and Thromboxane Res.*, 1 : 313, 1976.
- 19) Berglund, L. A., Sharp, D. C., Seamens, K. and Bartol, F.: Effect of pregnancy status on prostaglandin F in the uterine lumen of pony mares. *Proceedings 72 nd Annual Meeting American Society Animal Science, Ithaca Abtr.* 377.
- 20) Ellinwood, W. E., Nett, T. M. and Niswender, G. D.: Maintenance of the corpus luteum of early pregnancy in the ewe. II. Prostaglandin secretion by the endometrium in vitro and vivo. *Biol. Reprod.*, 21 : 845, 1979.
- 21) Vernon, M. W., Zavy, M. T., Asquith, R. L. and Sharp, D. C.: Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in the equine endometrium: Steroid modulation and production capacities during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 25 : 581, 1981.
- 22) Lytton, F. D. and Poyser, N. L.: Concentrations of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and PGE<sub>2</sub> in the uterine venous blood of rabbits during pseudopregnancy and pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, 64 : 421, 1982.
- 23) Horton, E. W. and Poyser, N. L.: Uterine luteolytic hormone: a physiological role for prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ , *Physiol. Rev.*, 56 : 595, 1976.
- 24) Walker, F. M. and Poyser, N. L.: Prod-



- uction of prostaglandins by the early pregnant guinea-pig uterus in vitro. : J. Endocr., 61 : 265, 1974.
- 25) Thorburn, G. D., Cox, R. I., Currie, W. B., Restall, B. J. and Schneider, W. : PGF and progesterone in the utero-ovarian venous plasma of the ewe during the oestrous cycle and early pregnancy. : J. Reprod. Fert., Suppl. 18 : 151, 1973.
- 26) Lewis, G. S., Wilson, L., Wilks, J., Pexton, J., Fogwell, R., Ford, S., Butcher, R., Thayne, W. and Inskoop, E. K. : PGF<sub>2α</sub> and its metabolites in uterine and jugular venous plasma and endometrium of ewes during early pregnancy. J. Anim. Sci., 45 : 320, 1977.
- 27) Wilson, L., Butcher, R. L. and Inskoop, E. K. : Prostaglandin F<sub>2α</sub> in the uterus of ewes during early pregnancy. Prostaglandins., 1 : 479, 1972.
- 28) Carminati, P., Luzzani, F., Soffientini, A. and Lerner L. : Influence of day of pregnancy on rat placental, uterine, and ovarian prostaglandin synthesis and metabolism. Endocrinology., 97 : 1071, 1975.
- 29) Hoffman, L. H. and Davenport, G. R. : Effect of dexamethasone on implantation and endometrial phospholipase activity in rabbits. Biol. Reprod., 24 (Suppl.) : 76A, 1981.
- 30) Psychoyos, A. : In: Handbook of Physiology, Section 7, Volume II. (R. O. Greep., E. G. Astwood. and S. R. Geiger. eds.) 187. American Physiological Society, Washington, D. C., 1973.
- 31) Williams, T. J. : Prostaglandin E<sub>2</sub>, Prostaglandin I<sub>2</sub> and the vascular changes of inflammation. Br. J. Pharmacol., 65 : 517, 1979.
- 32) Kennedy, T. G. and Zamecnik, J. : The concentration of 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> is markedly elevated at the site of blastocyst implantation in the rat. Prostaglandins, 16 : 599, 1978.
- 33) Bombik, B. M. and Burger, M. M. : c-AMP and the cell cycle : inhibition of growth stimulation. Expl. Cell. Res., 80 : 88, 1973.
- 34) 森田育男, 室田誠逸 : プロスタグランディンと細胞増殖, 代謝, 19 : 125, 1982.
- 35) Jimenez de Asua, L., Clingnan, D., and

Rudlands, P. S. : Initiation of cell proliferation in cultured mouse blastocysts by prostaglandin F<sub>2α</sub>. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 72 : 2724, 1975.

### Synthesis and release of prostaglandin F by the rabbit uterine endometrium during periimplantation period.

**Mitsunori Kasamo, Mutsuo Ishikawa,  
Kazuo Sengoku, Kohki Yamashita  
and Tetsuya Shimizu.**

Department of Obstetrics and Gynecology  
Asahikawa Medical College,  
Asahikawa, Japan.

(Director : Prof. Tetsuya Shimizu)

The synthesis and release of Prostaglandin F (PGF) by the rabbit uterine endometrium were investigated post coitum 144 hr (Day 6, preimplantation period) and 168hr (Day 7, early implantation period). The results showed as follows.

There was no difference among Day 6 pregnant group, Day 6 pseudopregnant group and non-pregnant group with regard to the concentration of PGF in the uterine flush fluid.

The content of PGF in the endometrium (Mean /100mg endometrium) of Day 6 pregnant group, Day 6 pseudopregnant group, nonimplantation sites of Day 7 pregnant group and Day 7 pseudopregnant group was 136 pg, 126 pg, 133 pg and 198 pg, respectively. There was no difference of PGF content among them, but that of implantation sites of Day 7 pregnant group was 3624 pg, significantly higher (p<0.05) than the others.

The endometrium of Day 6 pregnant group acceleratively synthesized and released PGF in vitro with time.

These results strongly suggest that preimplantation endometrium of the rabbit has the high capacity to synthesize and release PGF and that it occurs specifically at the implantation site on the early implantation period for the first time.

(受付 : 昭和58年12月26日)

# 着床周辺期における家兎 blastocyst の Prostaglandin F 産生, 放出動態

Synthesis and Release of Prostaglandin F by the  
Rabbit Blastocyst during Periimplantation Period

旭川医科大学産婦人科学教室

笠 茂 光 範 石 川 睦 男 千 石 一 雄  
Mitsunori KASAMO Mutsuo ISHIKAWA Kazuo SENGOKU  
山 下 幸 紀 清 水 哲 也  
Kohki YAMASHITA Tetsuya SHIMIZU

Department of Obstetrics and Gynecology  
Asahikawa Medical College, Asahikawa.

家兎を用い、交配144時間後 (Day 6, 着床前期), 168時間後 (Day 7, 着床初期) の着床周辺期における blastocyst の Prostaglandin F (PGF) 産生, 放出の有無およびその動態に関し, *in vivo*, *in vitro* の両面から検討を行ない, 以下の成績を得た。

1) blastocyst は, Day 6において PGF を含有し (平均値, 1.93ng/blastocyst), Day 7にはその含有量 (平均値, 6.92ng/blastocyst) は有意に増加した ( $p < 0.001$ ).

2) *In vitro* において, Day 6の blastocyst の PGF 含有量ならびにその培養液中 PGF 放出量はそれぞれ, 培養1時間後 ( $p < 0.01$ ), 2時間後 ( $p < 0.05$ ) に有意に増加し peak に達した後, いずれも培養時間とともに減少した。

以上の成績より blastocyst は, 着床周辺期において PGF を産生, 放出し, 着床機構に関与する PGs の産生母体であることが強く示唆された。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 29(3), 343-347, 1984)

## I 緒 言

着床は, 生殖過程において母児の密接な関連の確立のための最も重要なプロセスといえることができるが, その機構に関しては種々の観点からの多くの研究にも拘らず, 未だ十分に解明されているとは言えない。

近年, Prostaglandins (以下, PGs) も着床機構に関与していることが指摘され, その産生母体としては子宮内膜が考えられてきた<sup>1-3)</sup>。著者ら<sup>4)</sup>も, 家兎を用いて着床周辺期子宮内膜の PGF 産生, 放出動態に関し検討し, 子宮内膜の PGF 産生が着床初期にはじめて着床部位に特異的に増大することを指摘し, 子宮内膜由来の PGF が脱落膜反応進行過程に関与している可能性を示した。しかし, Dickmann ら<sup>5)</sup>の報告以来, 子宮内膜と

同じく着床の主役をなす blastocyst 自体も着床機構に関与する PGs の産生母体の一つである可能性が示唆されている。そこで, 本研究では, 家兎を用いて着床周辺期 blastocyst の PGF 産生, 放出動態に関し *in vivo*, *in vitro* の両面から検討し, blastocyst 自体が着床機構に関与する PGs の産生母体であるか否かにつき検討した。

## II 方 法

### 1. Blastocyst の採取方法

実験動物は4週間以上, 隔離, 飼育した体重3.1~4.8kg (大部分は3.5kg 前後) の成熟雌家兎 (日本白色種) を使用した。

家兎を double mating した後, 直ちに human

chorionic gonadotropin (持田製薬) 75 IU を耳静脈より静注し (mating 時を 0 時間, Day 0 とする), mating 後 144 時間後の Day 6 (着床前期)<sup>6)</sup>, mating 後 168 時間後の Day 7 (着床初期)<sup>6)</sup> にネンプタール® (Abbott) 麻酔下に子宮を摘出した。

Day 6 では, 子宮腔を卵管側より indomethacin 10 $\mu$ g/ml 加生理食塩水<sup>5)</sup> (以下, indomethacin 生食) 10ml にて洗滌し, blastocyst を採取した。一方, Day 7 では肉眼的に明らかな着床部位子宮の両端を離断し, 子宮腔を indomethacin 生食にて緩徐に洗滌し, blastocyst を採取した。採取した blastocyst はそのまま測定まで -40°C で凍結するか, 以下の培養実験に供した。

## 2. 培養方法

培養方法は既報<sup>4)</sup>の如くである。すなわち, culture chamber (Lab-Tek) 内に TC-199 (日水製薬) + fetal calf serum (GIBCO) 20% 培養液<sup>4)</sup> 1 ml を入れ, 95% air + 5% CO<sub>2</sub>, 37°C の条件下で blastocyst を個々に一定時間培養した。培養終了後, blastocyst は indomethacin 生食で洗滌後, 培養液はそのままで, 各々測定まで -40°C で凍結した。

## 3. Prostaglandin F 測定法

各検体を 4°C 下で自然解凍後, 既報<sup>4)</sup>の如く, Caldwell ら<sup>7)</sup>の方法の変法<sup>8)</sup>に準じ, 抽出, 分離操作を行なった後, radioimmunoassay (以下, RIA) にて各検体中の PGF 量を測定した。

### 1) 抽出法

blastocyst では, 0.01N, pH7.4 の phosphate buffer 1 ml を添加後, 0.1N, HCl 0.1 ml を加え, pH3.5~4.0 に酸性化した。次に, 酢酸エチル 5 ml を加え 4°C 下でホモジナイズし, 酢酸エチル相を snap freeze 法で採取後, 55°C にて窒素ガス下に乾固した。培養液は, 0.5 ml に 0.1N HCl 0.1 ml を添加し pH3.5~4.0 とした後, 同様に酢酸エチル 5 ml で PGs を抽出し, 乾固した。

### 2) 分離法および RIA 法

抽出, 乾固した各検体の PGs からの PGF の分離は, ベンゼン, メタノール (いずれも残留農薬試験用, 和光純薬), 酢酸エチル (高速液体クロマトグラフィー用, 関東化学) の混合溶媒系を用いたケイ酸 (100 mesh Mallinkrodt) カラムクロマトグラフィーにより行ない, 分離, 溶出された PGF 分画<sup>4)</sup>を 55°C, 窒素ガス下に乾固し RIA 用検体とした。

PGF の RIA は [<sup>3</sup>H] Prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  radioimmunoassay kit (Clinical Assays) を用い, duplicate で行なった。測定結果は, anti-PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  serum の PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  に対する 28.2% の交叉反応のため PGF とした。PGF

の回収率は, 各 assay 毎に RIA 用検体とは別に duplicate で検定した結果, blastocyst, 培養液で, それぞれ 50.0 $\pm$ 9.2%, 60.9 $\pm$ 9.3% (Mean $\pm$ S. D. N=6) であった。また, PGF の測定感度は 9.2 pg で, 測定の intraassay, interassay の変動係数は, それぞれ 11.0%, 13.7% であった。

放射能の測定には, 乳化シンチレーター<sup>4)</sup>を用い, Beckmann LS 900 series liquid scintillation systems にて 2 分間測定した。なお, <sup>3</sup>H の計数効率率は 35~39% であった。

測定結果の推計学的処理は Student's t test により行ない, F 検定にて比較対象の母分散間に有意差のある場合は, Welch の方法に従った。

## III 成績

### 1. 着床周辺期 blastocyst の *in vivo* での PGF 産生の有無およびその動態 (図 1)

Day 6 の着床前期, Day 7 の着床初期ともに, blastocyst に PGF の存在を認めた。blastocyst の PGF 値 (Mean $\pm$ S. E./blastocyst) は, Day 6 で 1.93 $\pm$ 0.16 ng であり, それに比して Day 7 では, 6.92 $\pm$ 0.32 ng

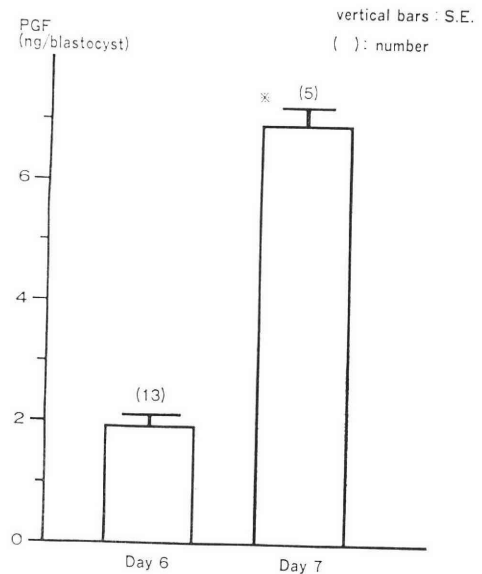


図 1 Content of PGF in blastocyst

\* significantly different ( $p < 0.001$ ) compared with Day 6

と有意に増加を示した ( $p < 0.001$ )。このことから *in vivo* において blastocyst の PGF 産生ならびに着床前期から着床初期にかけての PGF 産生の増大が示された。

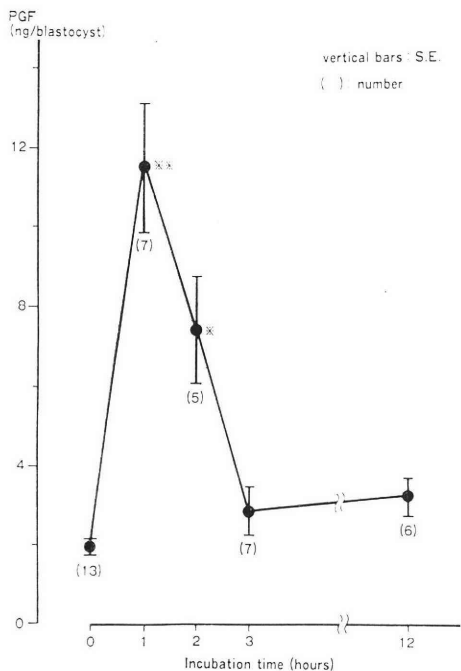


図2 Production of PGF by Day 6 blastocyst  
 \* significantly different ( $p < 0.05$ ) compared with 0 incubation time  
 \*\* significantly different ( $p < 0.01$ ) compared with 0 incubation time

2. 着床前 blastocyst の *in vitro* での PGF 産生, 放出の有無およびその動態 (図2, 3)

Day 6 の着床前 blastocyst の PGF 値 (Mean ± S.E./blastocyst) は, 培養前  $1.93 \pm 0.16$  ng に比し培養 1 時間後  $11.50 \pm 1.62$  ng と有意に増加し ( $p < 0.01$ ) peak に達した. その後, blastocyst の PGF 値 (Mean ± S.E./blastocyst) は減少し, 培養 2 時間後  $7.38 \pm 1.33$  ng, 3 時間後  $2.82 \pm 0.59$  ng となり, 培養 12 時間後には  $3.21 \pm 0.46$  ng となった (図2).

一方, Day 6 の着床前 blastocyst 培養液中の PGF 濃度 (Mean ± S.E./ml) は, 培養前  $237 \pm 29$  pg に比し, 培養 1 時間後に  $873 \pm 286$  pg と増加傾向を示し, 培養 2 時間後には  $1,225 \pm 281$  pg と有意に増加し ( $p < 0.05$ ) peak に達し, その後 blastocyst の PGF 値の場合と同様に減少し, 培養 3 時間後  $865 \pm 71$  pg, 12 時間後  $635 \pm 73$  pg であつた (図3).

これらの結果より, Day 6 の着床前 blastocyst は *in vitro* で急激に PGF を産生し, 引き続き PGF を放出し, その後, 産生, 放出とも急激に減少することが示された.

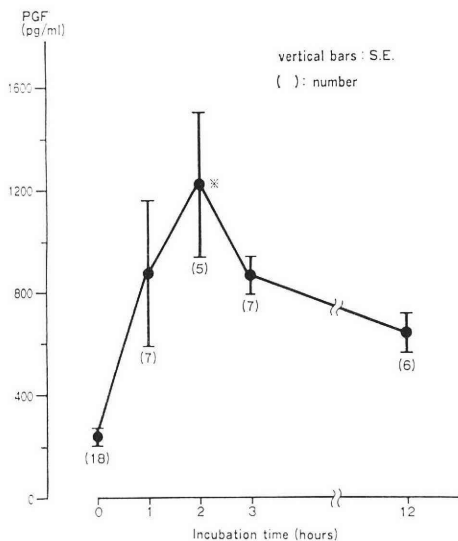


図3 Release of PGF by Day 6 blastocyst  
 \* significantly different ( $p < 0.05$ ) compared with 0 incubation time

IV 考 察

以前の論文<sup>4)</sup>で著者らは, 着床開始前の Day 6 において子宮腔液中の PGF 濃度を測定した結果, Day 6 妊娠群, Day 6 偽妊娠群, 非妊娠群の 3 者間に有意な差を認めなかつた. このことは, 妊娠, 偽妊娠によらず, また blastocyst の有無に関係なく, Day 6 の子宮腔内の PGF の動態は非妊娠時に比べ著明な変化はないことを示している.

まず, このような子宮内環境の中にあつて着床現象の主役をなす blastocyst について検討を加えた結果, 着床前期の Day 6 の段階ですでに PGF を含有していることが明らかとなつた. Dickmann ら<sup>5)</sup>, Dey ら<sup>6)</sup>も同様に家兎で Day 6 の着床前 blastocyst の PGF の含有を報告しているが, それが blastocyst 自体の産生によるものであるか否かについては明らかにしてはいない. しかし, 先に述べた如く, 着床前期の Day 6 では子宮腔内の PGF の動態に変化がなく, またその濃度も低値<sup>4)</sup>で, blastocyst 内に含有される PGF が他からの移行によるものである可能性は少ないと考えられる. 従つて, 今回の実験より blastocyst は着床前期の Day 6 ですでに PGF を産生していることが明らかとなつたと考えられる.

次に Day 6 の着床前 blastocyst の PGF 産生, 放出の有無およびその動態について *in vitro* でも検討を加えた. 着床前 blastocyst の *in vitro* での PGF 産生に関しては, Dey ら<sup>6)</sup>が家兎, Shemesh ら<sup>10)</sup>が牛で検討し,

いずれの報告とも培養前と培養後の比較により *in vitro* での PGF 産生を指摘している。blastocyst の PGF 産生の有無のみにとどまらず, *in vivo* で着床前期から着床初期にかけて起こる blastocyst の PGF 産生動態を解明するには, 着床前 blastocyst の *in vitro* における PGF 産生の経時的推移を検討することが有用と考えられる。しかし, Dey ら<sup>9)</sup>, Shemesh ら<sup>10)</sup> の報告を含めてもそのような検討を行なつた報告は未だ見当たらない。本研究では, このような観点から Day 6 の着床前 blastocyst の *in vitro* での PGF 産生ならびに放出の経時的推移を検討した。その結果, PGF 産生は急激に増加しその後急激に減少するという動態をとり, 放出もまた, 産生より peak が1時間遅れて同様の急増, 急減の動態をとつた。すなわち, Day 6 の着床前 blastocyst は *in vitro* で PGF を急激に産生し, ついで急激に放出した後, 産生, 放出とも急激に減少するという surge とでもいうべき PGF 産生, 放出動態をとることが明らかとなつた。このことより, *in vivo* において, spacing, orientation の終了後 blastocyst が一定部位の子宮内膜に定着する過程で, blastocyst 自体が PGF を急激に産生, 放出する可能性が考えられる。さらに, rat<sup>11), 12)</sup> や偽妊娠家兎<sup>13)</sup> における PGF<sub>2α</sub> の子宮腔内投与による脱落膜反応誘起の報告を考慮すると, blastocyst 由来の PGF が脱落膜反応の誘起因子となつていることが推察される。

一般に, 哺乳動物では脱落膜反応に先行し子宮内膜の血管透過性の亢進が必須と考えられているが<sup>12), 14)</sup>, 家兎では, その亢進状態は Day 6.5-7 にはじめて Evans blue 反応により検出される<sup>15)</sup>ことが知られている。したがつて, Day 6 の着床前 blastocyst が, その定着過程で急激に産生する PGF は対応する着床部位子宮内膜に対し急激に放出され, その部位の子宮内膜の血管透過性亢進を発現させる trigger として作用し, 究極的には脱落膜反応を誘起するものと考えられる。Morita ら<sup>16)</sup> は, rat の fibroblast を用いた培養実験で PGF<sub>2α</sub> の phospholipase A<sub>2</sub> の活性化作用を報告しており, この trigger の機序は次のように考えることができる。

すなわち, blastocyst より放出された PGF が着床部位子宮内膜に作用すると, その血管内皮細胞などの phospholipase A<sub>2</sub> が活性化され, アラキドン酸カスケードが開始し, 一連の PGs 産生が進行する。その結果, PGF のみならず血管透過性亢進作用や血管拡張作用の知られている PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub><sup>17)</sup> が産生され, 着床部位子宮内膜の血管透過性亢進現象が発現すると考えられる。Evans blue 反応を用い, 着床前期において着色部位が非着色部位に比し高濃度の PGE を含有すること

が rat<sup>11)</sup>, hamster<sup>18)</sup> で, 高濃度の PGI<sub>2</sub> 代謝産物である 6-keto PGF<sub>1α</sub> を含有することが rat<sup>19)</sup> で指摘されており, この解釈を裏付けるものと考えられる。

また, Day 6 の着床前 blastocyst において *in vitro* で認められた PGF の産生, 放出の急激な増加は, すみやかに急激な減少へと移行した。この現象は blastocyst 内の PGF の急激な産生に伴い, その内因性 PGs 前駆物質が急激に消費されたためとも考えられる。

一方, *in vivo* では, Day 6 から Day 7 にかけて blastocyst 内の PGF 含有量の増加を認め blastocyst 内の PGF 産生の増大が明らかにされ, blastocyst が, 内因性のみならず外因性の PGs 前駆物質からも PGF を産生することが示唆された。

以上, 家兎を用いて着床周辺期の blastocyst の PGF 産生, 放出の有無およびその動態を, *in vivo* ならびに *in vitro* の両面から検討した結果, 着床前 blastocyst が PGF を産生し, その *in vitro* における特有の PGF 産生, 放出の動態より, blastocyst 由来の PGF が着床現象発現の重要な trigger となつている可能性が示唆された。

なお, 本研究の一部は, 文部省科研費「試験管内受精の細胞内呼吸代謝に関する基礎的研究 (No. 10107) によつた。

## 文 献

- 1) Kennedy, T. G.: Evidence for a role for prostaglandins in the initiation of blastocyst implantation in the rat. *Biol. Reprod.*, 16: 286, 1977.
- 2) Kennedy, T. G. and Armstrong, D. T.: The role of prostaglandins in endometrial vascular changes at implantation. In: *Cellular and Molecular Aspects of Implantation* (S. R. Glasser and D. W. Bullock, eds), 356 Plenum Press, New York and London, 1981.
- 3) Sauer, M. J.: Hormone involvement in the establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, 56: 725, 1979.
- 4) 笠茂光範, 石川睦男, 千石一雄, 山下幸紀, 清水哲也: 着床周辺期における家兎子宮内膜の Prostaglandin F 産生, 放出動態, 日本不妊学会雑誌投稿中。
- 5) Dickmann, Z. and Spilman, C. H.: Prostaglandins in rabbit blastocysts. *Science.*, 190: 997, 1975.
- 6) Dickmann, Z., Dey, S. K. and Gupta, J. S.: Steroidogenesis in rabbit preimplantation embryos. *Prod. Nat. Acad. Sci. USA.*, 72: 298, 1975.

- 7) Caldwell, B. V., Speroff, L., Brok, W. A., Aurette, F. J., Gordon, J. W., Anderson, G. G. and Hobbins, J. C.: Development and application of a radioimmunoassay for F prostaglandins. *J. Reprod. Med.*, 9 : 361, 1972.
- 8) Aurette, F. J., Zusman, R. M., Caldwell, B. V., Behrman, H. R., Kirton, K., Levitt, M. J. and Russell, P. T.: Development and standardization of radioimmunoassays for prostaglandins E. F. and A. *Clin. Chem.*, 20 : 1580, 1974.
- 9) Dey, S. K., Chien, S. M., Cox, C. L. and Crist, R. D.: Prostaglandin synthesis in the rabbit blastocyst. *Prostaglandins*, 19 : 449, 1980.
- 10) Shemesh, M., Milaguir, F., Ayalon, N. and Hansel, W.: Steroidogenesis and prostaglandin synthesis by cultured bovine blastocysts. *J. Reprod. Fert.*, 56 : 181, 1979.
- 11) Sannanes, N., Baulieu, E. E. and Legoascogne, C.: Prostaglandin (s) as inductive factor of decidualization in the rat uterus. *Mol. Cell. Endocr.*, 6 : 153, 1976.
- 12) Kennedy, T. G. and Lukash, L. A.: Induction of decidualization in rats by the intrauterine infusion of prostaglandins. *Biol. Reprod.*, 27 : 253, 1982.
- 13) Hoffman, L. H., Strong, G. B., Davenport, G. R. and Frölich, J. C.: Deciduogenic effect of prostaglandins in the pseudopregnant rabbit. *J. Reprod. Fert.*, 50 : 231, 1977.
- 14) Psychoyos, A.: In: *Handbook of Physiology*, Section 7, Volume II. (R. O. Greep, E. G. Astwood, and S. R. Geiger, eds.) 187. American Physiological Society, Washington, D. C., 1973.
- 15) Paula, C. H. and Hoffman, L. H.: Temporal aspects of rabbit uterine vascular and decidual responses to blastocyst stimulation. *Biol. Reprod.*, 23 : 453, 1980.
- 16) Morita, I., Nakayama, Y., Murota, S.: Characterization of the stimulatory effects of PGF<sub>2α</sub> on the release of arachidonic acid. *Prostaglandins*, 18 : 507, 1979.
- 17) Williams, T. J.: Prostaglandin E<sub>2</sub>, Prostaglandin I<sub>2</sub> and the vascular changes of inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 65 : 517, 1979.
- 18) Evans, C. A. and Kennedy, T. G.: The importance of prostaglandin synthesis for the initiation of blastocyst implantation in the hamster. *J. Reprod. Fert.*, 54 : 255, 1978.
- 19) Kennedy, T. G. and Zamecnik, J.: The concentration of 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> is markedly elevated at the site of blastocyst implantation in the rat. *Prostaglandins*, 16 : 599, 1978.

### Synthesis and release of prostaglandin F by the rabbit blastocyst during periimplantation period

**Mitsunori Kasamo, Mutsuo Ishikawa,  
Kazuo Sengoku, Konki Yamashita  
and Tetsuya Shimizu**

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

We have investigated the synthesis and release of Prostaglandin F (PGF) by the rabbit blastocyst at 144 hr (Day 6, preimplantation period), 168 hr (Day 7, early postimplantation period) post coitum, *in vivo* and *in vitro*, using radioimmunoassay. The results were as follows.

- 1) Blastocyst contained PGF on Day 6 and Day 7. The content of PGF in Day 7 blastocyst (mean, 6.92 ng/blastocyst) was significantly larger ( $p < 0.001$ ) compared with that in Day 6 blastocyst (mean, 1.93 ng/blastocyst).
- 2) The production and release of PGF by Day 6 blastocyst *in vitro* significantly increased to the peak after an hour ( $p < 0.01$ ) and 2 hours ( $p < 0.05$ ) of culture, respectively. Thereafter, both values declined with time.

These results indicated the synthesis and release of PGF by periimplantation blastocyst and suggested that blastocyst might be one of the sources of PGs involved in the process of implantation.

(受付: 昭和58年12月30日特掲)

## 遅延排卵症の内分泌学的背景と治療成績

### Endocrinological Profile and Treatment for Patients with Delayed Ovulation

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

野見山宏寿 道上文和

Hirohisa NOMIYAMA Fumikazu MICHIGAMI

Department of Obstetrics and Gynecology  
Tokuyama Chuo Hospital

山口大学医学部産婦人科学教室

鳥越正

Tadashi TORIGOE

Department of Obstetrics and Gynecology  
Yamaguchi University School of Medicine

遅延排卵症の内分泌学的背景を検索し、本症に対する治療法を確立することを目的とした。基礎体温(BBT)上、卵胞期日数が19日以上排卵症例を遅延排卵症(卵胞期日数 $21.2 \pm 1.5$ , 黄体期日数 $12.2 \pm 1.3$ 日)とし、正常排卵群(卵胞期日数 $16.0 \pm 1.7$  ( $p < 0.05$ ), 黄体期日数 $14.4 \pm 1.7$ 日)と比較検討した。今回遅延排卵症38例につき、可及的連続採血により、血中 Estradiol ( $E_2$ ), LH, FSH, prolactin, progesterone を測定し、着床期子宮内膜日付診を行った。

遅延排卵群では正常排卵群に比して平均約5日間排卵が遅延した。しかし i) 血清  $E_2$  値の立ち上がりから peak 値まで平均5日間を要した事, ii) 黄体期の血清  $E_2$ , progesterone の変動及び iii) 着床期子宮内膜日付診の結果については、両群に差異を認めなかった。Clomiphene (50mg/day) を月経周期第5日目より5日間、HMG (150単位/day) を月経周期第10日目より排卵まで適宜使用し、各々の薬剤による内分泌動態の変動、卵胞期日数の変動及び妊娠率を比較検討した。卵胞期日数の変動については、Clomiphene 使用群では $5.9 \pm 2.2$ 日 ( $M \pm S. D$ ) の短縮が認められたが、これは HMG 使用群の短縮 $2.9 \pm 1.5$ 日 ( $M \pm S. D$ ) に比して、有意の短縮効果といえる ( $p < 0.05$ )。一方、妊娠率は Clomiphene 使用群では32人中10人(31%)、HMG 使用群では10例中6例(60%)と、両側とも良好な成績を示した。

以上をまとめると、1) 遅延排卵症では卵胞発育の start が遅延するのみで、正常排卵群に比して排卵-黄体形成過程には、差異が認められなかった。2) HMG 製剤(FSH 作用優位) 及び Clomiphene 投与により卵胞成熟が順調に行われ、卵胞期日数の短縮、妊娠率の向上が認められた。これらより、本症の原因の一つに Gonadotropine, 特に FSH の分泌異常が示唆された。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(3), 348-353, 1984)

#### はじめに

卵胞発育機構の遅れに伴う排卵の遅延を一般に遅延

排卵症<sup>1-5)</sup>と呼んでいるが、このような遅延排卵の症例では妊娠しにくく、また流産・奇形等の異常妊娠の頻度が高いと報告されている。不妊及び異常妊娠の背景の一

つに、本症では黄体機能不全<sup>4)</sup>の存在が示唆されているが、卵胞発育を中心とした内分泌学的検索はなされていない。そこで今回諸家の報告にならない卵胞期日数が19日以上の不妊症例を遅延排卵症とし、38症例につきその内分泌学的背景の検索および治療法・妊娠率等について検討した。

対象および方法

昭和55年6月より昭和58年6月までの3年間に徳山中央病院産婦人科不妊外来を受診した患者のうち BBT が2相性で卵胞期日数が19日以上の症例を遅延排卵とし、38症例(152周期)につき、以下の如き schedule に従い検討を行なった。即ち、月経周期第5日目頃より可及的連続採血により血清 E<sub>2</sub>, LH, FSH, progesterone, prolactin の測定を行なった。今回排卵日の定義は BBT 上、低温最終日とし、排卵後7日目に着床期子宮内膜日付診を施行した。なお、BBT が高温期を示すも、progesterone 値が5 ng/ml 以下を示す症例や着床期子宮内膜日付診が増殖期を示す症例は除外した。

対照としては、月経周期28-30日型、整の正常排卵周期を有する女性33例を用いた。Table 1 に遅延排卵症及び対照群についてまとめた。

Table 1 Delayed Ovulation Group and Control Group

	Control group	Delayed ovulation group
Length of follicular phase	16.0 ± 1.7 (M ± SD) n=33	21.2 ± 1.5 (M ± SD) n=38
Length of luteal phase	14.4 ± 1.7 (M ± SD) n=33	12.2 ± 1.3 (M ± SD) n=38

( \* P < 0.05 )

結 果

1) 卵胞発育の Monitor (血清 E<sub>2</sub> 値の変動)

Fig 1 は、対照群における血清 E<sub>2</sub> 値の変動を示し、Fig 2 は、遅延排卵群の血清 E<sub>2</sub> 値の変動を示している。両群は前述の如く、卵胞期の長さが有意に異なるため、排卵日をDay0として表記し、各々の値につき比較検討した。両群とも排卵7日前頃より血清 E<sub>2</sub> 値の平均が100 pg/ml を越えた後漸増し、特に5日前頃より、Dynamic に増加して、排卵に到つた。月経第1日目より各々の血清 E<sub>2</sub> 値を比較検討すると遅延排卵群では対照群に比して平均5日間遅れて卵胞発育が開始するが、しかしいつたん卵胞発育が開始すると、両群ともほぼ同じ期

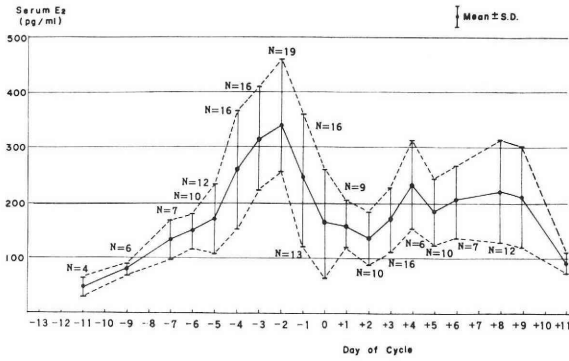


Fig. 1 Serum E<sub>2</sub> Level in Control Group

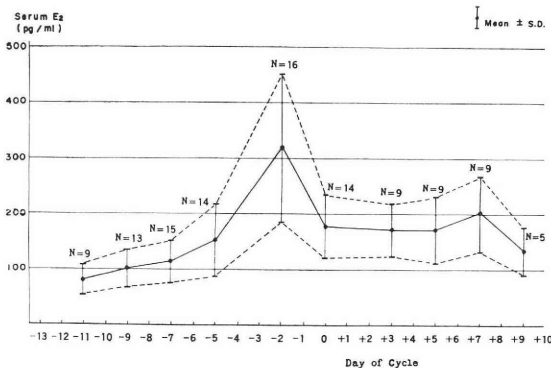


Fig. 2 Serum E<sub>2</sub> Level in Delayed Ovulation Group



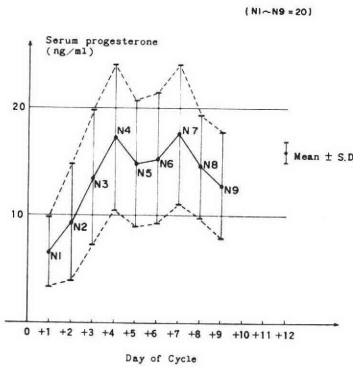


Fig. 3 Serum Progesterone in Control Group

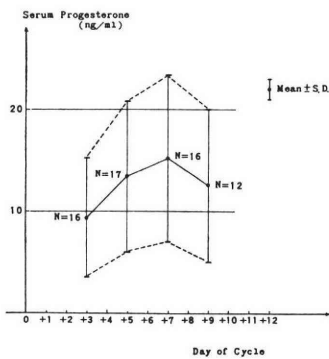


Fig. 4 Serum Progesterone in Delayed Ovulation Group

間・変動パターンで排卵することが示された。

2) 排卵後の血清 progesterone 値の変動について

Fig. 3は、対照群の血清 progesterone 値の変動を、また Fig. 4は、遅延排卵群のそれを示している。対照群では、排卵後3日頃より10ng/mlの level を越え、4日目から、7日目にかけてプラトーを示したが、これは諸家の報告<sup>6,7)</sup>とほぼ同様であった。一方、遅延排卵症でも、対照群のそれと差異を認めなかった。

なお、着床期子宮内膜日付診でも両群間に、特に差は認められなかった。

3) 遅延排卵症の治療法

卵胞期短縮、妊娠率向上の目的にて Clomiphene (Clomid®, シオノギ) 及び HMG 製剤 (Humegon® Organon) を使用し各々の場合の内分泌学的変動、卵胞期短縮の程度及び妊娠率について検討した。Clomiphene は、32症例に対して、月経周期5日目より50mg/day を5日間投与し、また、HMG は10症例に対して月経周期第10日目より排卵に到るまで適宜使用した。

i) 卵胞期短縮効果について：Table 2 に示す如く、

Table 2 Treatment for Delayed Ovulation

	Reduction of follicular period	Pregnancy rate
Clomiphene	5.9±2.2day*(M±SD) n=32	$\frac{10}{32}$ (31%)
H M G	2.9±1.5day*(M±SD) n=11	$\frac{6}{10}$ (60%)

(\* P < 0.05)

Clomiphene, HMG 使用例ともに、短縮効果を示したが、特に Clomiphene 使用例は HMG 使用例に比して有意に卵胞期日数の短縮が認められた (p < 0.05)。

ii) 妊娠率について：Clomiphene 使用32例中10例 (31%)、HMG 使用10例中6例 (60%) と両剤とも良好な成績であり、両者間に、有意の差を認めなかった。

iii) 典型的な症例につき、BBT、頰管粘液 (volume, FLP)、血清 E<sub>2</sub>, progesterone, LH, FSH の変動につき記載した (Fig. 5)。

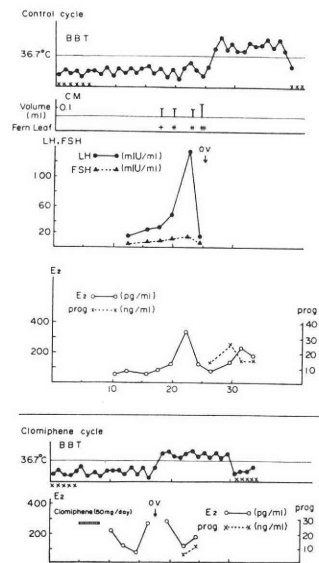


Fig. 5 The Pattern of B.B.T and Hormonal Changes in Control Cycle and Clomiphene Cycle

無治療周期では月経周期第20日目頃より血清 E<sub>2</sub> 値の増加が著明で血清 E<sub>2</sub> surge, LH surge が出現した後、月経周期第25日目に排卵し、以後黄体期へと移行した。一方、Clomiphene 使用周期では排卵日が8日間早くなり月経周期第17日目に排卵が認められた。この症例にみられる如く、遅延排卵症ではほとんどの症例で血清 E<sub>2</sub> の立ち上がりの遅延・血清 E<sub>2</sub> 及び LH surge

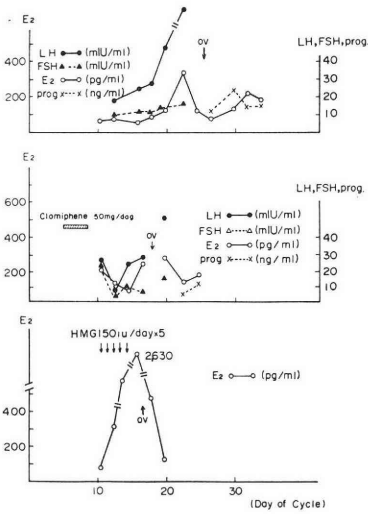


Fig. 6 Treatment for Delayed Ovulation Case with HMG of Clomiphene and Hormomol Change

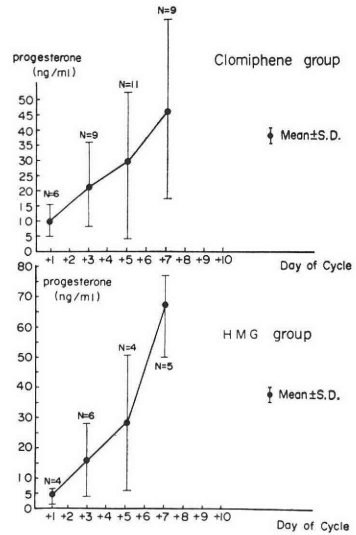


Fig. 8 Changes of Serum Progesterone in Delayed Ovulation Group Treated with HMG or Clomiphene

の遅延が特徴的であつた。

iv) Clomiphene 及び HMG を同一症例に投与した場合の内分泌環境及び排卵日の推移を Fig. 6 に示す。

無投与周期では月経周期第23日目に排卵が認められたが、Clomiphene 投与周期では月経周期第18日目に、HMG 投与周期では月経周期第16日目に排卵が認められた。この症例の如く、遅延排卵症においては Clomiphene 及び HMG に対する卵胞の反応性は良好であつた。

v) 遅延排卵症においては HMG または Clomiphene に対する反応性に差があるか否かを検討する目的で、両剤を投与した場合の血清 E<sub>2</sub>, progesterone の変動を排卵日を Day 0 として比較した。Fig. 7 には血清

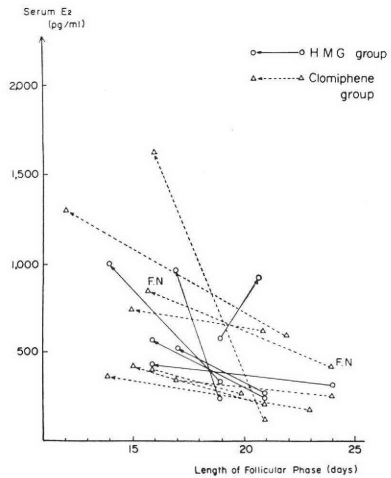


Fig. 9 Changes of Preovulatory Serum E<sub>2</sub> and Length of Follicular Period in Pregnant Cycle Using of HMG or Clomiphene

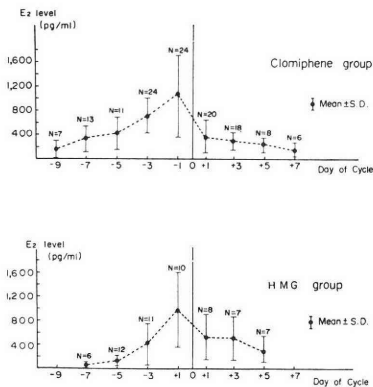


Fig. 7 Changes of Serum E<sub>2</sub> Level in Delayed Ovulation Group Treated with HMG or Clomiphene

E<sub>2</sub> 値の変動を、Fig. 8 には progesterone の変動を示した。血清 E<sub>2</sub>, progesterone の変動に差はなく、両剤とも治療剤として適当といえる。

vi) 妊娠成功症例における Clomiphene または HMG の排卵前期血清 E<sub>2</sub> 頂値及び卵胞期短縮効果について Fig. 9 にまとめた。縦軸に血清 E<sub>2</sub> 値、横軸に卵胞期日数を示す。

Clomiphene 投与周期は、卵胞期日数 21.9 ± 1.4 日 (M ± SD), E<sub>2</sub> 頂値 293 ± 158 pg/ml より 15.8 ± 1.7 日,

717±494pg/ml に改善し、HMG 投与周期では、卵胞期日数 20.2±1.2日、E<sub>2</sub> 頂値 323±119 pg/ml より、17.2±2.4日、986±555pg/ml へと、それぞれ改善が認められた。

### 考 察

遅延排卵症に関しては1963年 Iffy<sup>8)</sup> が、報告した如く排卵の遅れが異常妊娠に関連しているという Report を始め、様々報告されている<sup>1,9,10)</sup>。同様に動物実験でも Fugo & Butcher<sup>11)</sup>、Mikamo & Hamaguchi<sup>12)</sup> 及び佐藤<sup>2)</sup> がラットを用いて、また Witschi & Laguens<sup>13)</sup> 及び Mikamo<sup>14)</sup> は *Xenopus laevis* (蛙) を用いて排卵の遅れや受精の遅延が病的な卵子、異常受精卵の発生・生育を助長し、また増加させると報告している。わが国では品田ら<sup>9)</sup> が妊娠周期の卵胞期の長さが19日以上の場合には18日以内の場合に比して流産率が3倍高くなると報告しており、また佐藤<sup>2)</sup> もゴナドトロピン誘発排卵妊娠に流産率が高いことについて遅延排卵現象が関与している可能性を指摘している。これらは Iffy ら<sup>8-10)</sup> の報告を一部支持している。しかし一方、野口ら<sup>4,5)</sup>、佐伯<sup>3)</sup> の報告の如く遅延排卵と異常分娩とは無関係という報告もなされている。

遅延排卵という概念自体、統一されたものはないが、これについて、佐伯<sup>3)</sup> は排卵日の累積度分布上で75パーセンタイルに当る周期22日を境界線として設定し、22日以後の排卵を遅延排卵症としている。また野口ら<sup>4-5)</sup> は、月経周期18日以降の排卵を遅延排卵と定義し、Iffy ら<sup>1)</sup> は、ovulation less than 14 days before the next expected irrespective of the length of cycle. (another interpretation: an ovulation after the 14 th cycle day) と定義している。松本<sup>15)</sup> によれば成熟婦人で、排卵性周期を示すものの卵胞期の長さは90%以上が18日以内としている点、及び品田ら<sup>9)</sup> の報告にある如く、卵胞期日数が、19日以上の場合で、流産率が高いという指摘、加うるに、Iffy ら<sup>8-10)</sup> が述べているように卵胞期日数が18日以上の場合に異常妊娠が多いという報告などを考慮して、著者らは、卵胞期日数が19日以上の場合を遅延排卵とした。この様に、異常妊娠との関わり合いという方面からの研究は数多く見られるが、これを不妊症としての角度から検討した報告は少ない。我々は日常診療上、卵胞成熟の monitor として血清 E<sub>2</sub> 値を利用することが多く<sup>16)</sup>、routine に検査を行なっている。そこで今回は、血清 E<sub>2</sub> 値の変動より遅延排卵症の卵胞成熟一排卵過程を検討した。Fig. 1, 2 に示す如く、遅延排卵症では対照群に比して卵胞発育の開始が平均5日間ほど遅れるだけで排卵までの日数及び血清 E<sub>2</sub>

値の変動パターンには、両者に有意の差が認められなかった。Fig. 5 に代表して示す如く、血清 LH, FSH の変動をみると、血清 E<sub>2</sub> 値の変動と相応して対照群よりも、それらの peak の出現が遅延していた。しかも peak 値は対照群のそれと、ほぼ一致した値であった。このように遅延排卵症では卵胞発育の遅れ、ひいては排卵の遅延を示しており、ここに異常妊娠に累がる可能性があるわけで、不妊症治療の立場からは卵胞期の短縮をはかり、対照群(正常排卵群)の排卵のパターンに simulate する必要があると思われる。そこで今回我々は Clomiphene 及び HMG 製剤を使用して治療を行った。Clomiphene 使用群では32例中10例(31%)が、また HMG 使用群では10例中6例(60%)が妊娠に到った。卵胞期短縮効果については Clomiphene 使用群の方が有意に秀れていた(p<0.05)。Fig. 7 及び 8 に示す如く、両薬剤間には卵胞成熟一排卵一黄体形成のパターンに差は認められなかった。即ち、遅延排卵症においても適切な時期に卵胞を刺激すると卵胞の反応性は良好で卵胞成熟は smooth に行われることが示唆された。以上をまとめると、①遅延排卵症では卵胞発育の start に遅れがあるだけで卵胞発育一排卵一黄体形成の過程に関しては対照群に比して差異を認めない。② HMG 製剤(FSH 作用優位)及び Clomiphene の投与により卵胞成熟が順調に行われ、卵胞期日数の短縮が認められ、妊娠率が向上した。以上より、おそらく、何らかの機序でゴナドトロピン、とくに FSH の分泌の異常が生じ、遅延排卵症となるのではなからうかと推定される。以後、本症の pathogenesis をさらに究明し、よりよい治療法を確立したいと考えている。

本論の要旨は、第9回アジア・オセアニア産婦人科学会にて発表した。

### 文 献

- 1) Arrata, W. S. and Iffy L: Normal and delayed ovulation in the human. *Obstet. Gynecol. Surv.*, 26: 675, 1971.
- 2) 佐藤孝道: 遅延排卵の卵および妊孕現象に関する基礎的研究, *日産婦誌*, 30: 1647, 1978.
- 3) 佐伯友三: 遅延排卵と妊娠, *日不妊会誌*, 25: 122, 1980.
- 4) 野口邦夫・他: 遅延排卵と妊娠・分娩, *産と婦*, 44: 41, 1977.
- 5) 野口邦夫・他: 遅延排卵に関する臨床的考察, *日不妊会誌*, 23: 35, 1978.
- 6) 品田孝夫・他: 機能性不妊婦人の妊娠と卵胞期卵巣機能, *日不妊会誌*, 24: 127, 1979.
- 7) Chung, H. Wu.: Monitoring of ovulation induction, *Fertil. Steril.*, 30: 617, 1978.

- 8) Iffy, L.: The time of conception in pathological gestation (The scope of the reflux theory) Pro-Royal Society of Med., pp. 1098, 1963.
- 9) Iffy, L.: Embryonic studies of time of conception in ectopic pregnancy and first trimester abortion. *Obstet & Gynecol.*, 26: 490, 1965.
- 10) Iffy, L., and Wingate M. B.: Risks of rhythm method of birth control. *J. Reprod. Med.*, 5: 11, 1970.
- 11) Fugo, N. W. and Butcher R. L.: Over-ripeness and the mammalian ova: I. over-ripeness and early embryonic development, *Fertil. Steril.*, 17: 804, 1966.
- 12) Mikamo, K and Hamaguchi H: Chromosomal disorder caused by preovulatory over-ripeness of oocytes, *Aging Gametes*, Ed. R. J. Blandau. p. 72. S. Karger AG Basel, 1975.
- 13) Witschi E and Laguens. R: Chromosomal aberration in embryos from overripe eggs. *Develop. Biol.*, 7: 605, 1963.
- 14) Mikamo K: Overripeness of the egg in *Xenopus laevis* Daudi, D. Sci. Thesis, Hokkaido Univ. 1961.
- 15) 松本清一: 月経異常に関する研究—第14回日産婦学会宿題報告要旨, p. 54, 1962.
- 16) 山下三郎・他: 基礎体温 (BBT) が高温一相性を示す不妊症例の内分泌学的検討, 日不妊会誌, 28: 59, 1983.

Endocrinological profile and  
treatment for patients with  
delayed ovulation

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

Department of Obstetrics and Gynecology  
Tokuyama Chuo Hospital

**Tadashi Torigoe**

Department of Obstetrics and Gynecology  
Yamaguchi University School of Medicine

The delayed ovulation, which is defined as that the ovulation occurs after the 19th day of the menstrual cycle, has been noted as one of the crucial causes of infertility. This paper describes some endocrine profiles and treatment for those patients with delayed ovulation.

Serial determinations of serum levels of estradiol, progesterone, LH, FSH and prolactin, as well as the daily check of the cervical mucus, were performed in 38 cases (a total of 152 cycles) with delayed ovulation.

Endometrial biopsy was also done on 7th day of the luteal phase.

The time of ovulation was determined by the basal body temperature.

Mean serum estradiol levels in the control group began to rise on 10th day, reaching the maximum levels on 15th day, followed by the ovulation on 16th day.

Patients with delayed ovulation showed the same pattern of serum levels of estradiol as those in the control group, except that it began to rise on 15th day.

There is no significant difference in all parameters examined during the luteal phase between two groups.

Thirty eight cases received clomiphene or HMG-HCG treatment, which caused significant reduction of the length of follicular period.

These results suggested that the delayed ovulation would be due to some disorders in the secretion of gonadotropins, probably FSH.

The usefulness of clomiphene or HMG in the treatment for patients with delayed ovulation was also discussed.

(受付: 昭和58年11月28日)

# 高プロラクチン血症の臨床的研究

—分類と下垂体機能について—

## A Clinical Study of Hyperprolactinemia —Variety of Causes and Results of Pituitary Function—

順天堂大学医学部産婦人科学教室（主任：古谷博教授）

福 田 勝 平 山 博 章 提 坂 敏 昭  
Masaru FUKUDA Hiroaki HIRAYAMA Toshiaki SAGESAKA  
清 田 明 憲 奥 山 輝 明 古 谷 博  
Akinori SEIDA Teruaki OKUYAMA Hiroshi FURUYA

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

高プロラクチン血症患者28例について、その原因ならびに下垂体機能に関して検討を加えた。

- 1) 患者は原因により下垂体腫瘍群，原因不明群および薬剤服用群の3群に大別され，薬剤群が12例（43%）と最も多かつた。
- 2) 下垂体腫瘍の血中 PRL 値は他群に比べ明らかに高値を示した。
- 3) 血中 FSH 値は下垂体腫瘍群において対照群に比べ明らかに低値を示した。
- 4) 腫瘍群，原因不明群では TRH に対する PRL の反応性が低下あるいは欠如していた。
- 5) 種々の下垂体への負荷試験の結果，各群とも下垂体機能はよく保持されていた。

(Jap. J. Fert. Ster., 29(3), 354-359, 1984)

### 緒 言

1971年に血中 prolactin (PRL) の radioimmunoassay が開発され以来<sup>1)</sup>，PRL の生殖生理学における重要な役割が認識され，高プロラクチン血症のスクリーニングは，不妊・内分泌外来において排卵障害の必須な検査項目となつてきて，prolactinoma に対する診断法も進歩をとげている。さらに Bromocriptine の登場により高プロラクチン血症による無排卵症の薬物治療法も一段と進歩してきた。今回我々は，当科を訪れた高プロラクチン血症の症例について原因別に分類し，各群の下垂体機能に関して種々の検討を加えたので報告する。

### 対象および方法

最近3年間に，月経異常あるいは乳汁漏出を主訴として当科不妊・内分泌外来を受診し血中プロラクチン値が

30ng/ml を越えた28名を対象とした。正常対象群は5名である。

#### 1) 下垂体機能検査

##### a) LH-RH test

LH-RH 100 $\mu$ g を静注負荷し，投与前，投与後30分，60分，90分，120分に採血し，血中 LH，FSH を radioimmunoassay (RIA) 法にて測定した。

##### b) TRH test

TRH 500 $\mu$ g を静注負荷し，投与前，投与後30分，60分，90分，120分に採血し，血中 TSH，PRL を RIA 法にて測定した。

##### c) Insulin test

Insulin 0.1 IU/kg を静注負荷し，投与前，投与後30分，60分，90分，120分に採血し，growth hormon (GH) を RIA 法にて測定した。

2) 放射線学的診断方法としては、トルコ鞍単純撮影、トルコ鞍断層撮影、computed tomography (CT) を施行した。

3) 眼科的検査法としては、腫瘍が確認された症例について視力、視野検査を施行した。

成績

1) 分類と排卵障害の程度

高プロラクチン血症28例を原因により、①下垂体腫瘍が認められた群、②原因不明の群および③薬剤服用に起因する群の3群に分けた。以上原因別に分類して排卵障害の程度との関係を見ると (Fig. 1) ①腫瘍群9例のうち第2度無月経が5例 (microadenoma 4例、

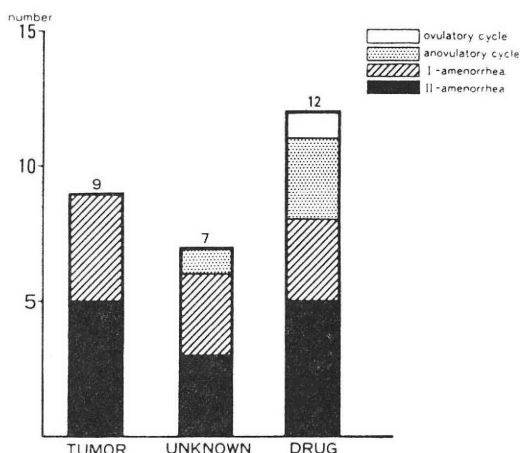


Fig. 1 Classification of hyperprolactinemia

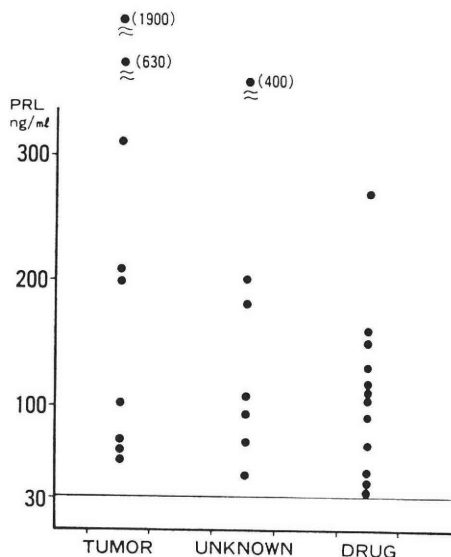


Fig. 2 Basal prolactin levels of each group

macroadenoma 1例)、第1度無月経が4例 (microadenoma 3例、empty sella 1例)であった。次に②原因不明群7例のうち第2度無月経が3例、第1度無月経が3例および無排卵周期症が1例であった。また③薬剤群12例では、3例が phenothiazine 系薬剤、9例が sulphilide 服用例であり、第2度無月経が5例、第1度無月経が3例、無排卵周期症が3例および排卵周期例が1例であった。

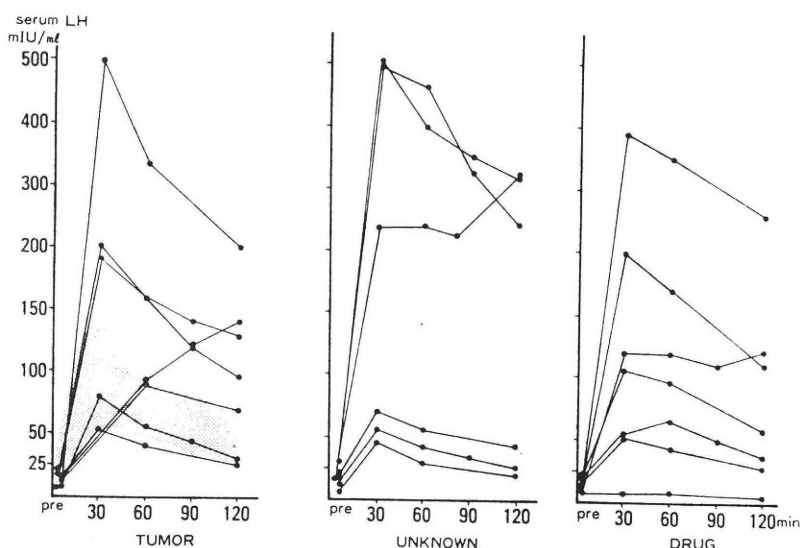


Fig. 3 LH response to LH-RH

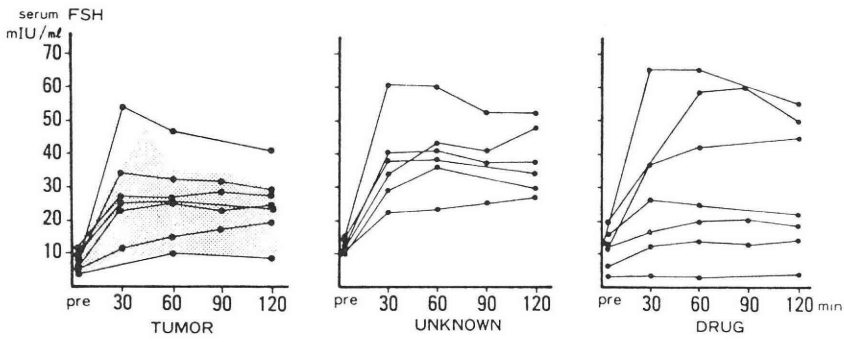


Fig. 4 FSH response to LH-RH

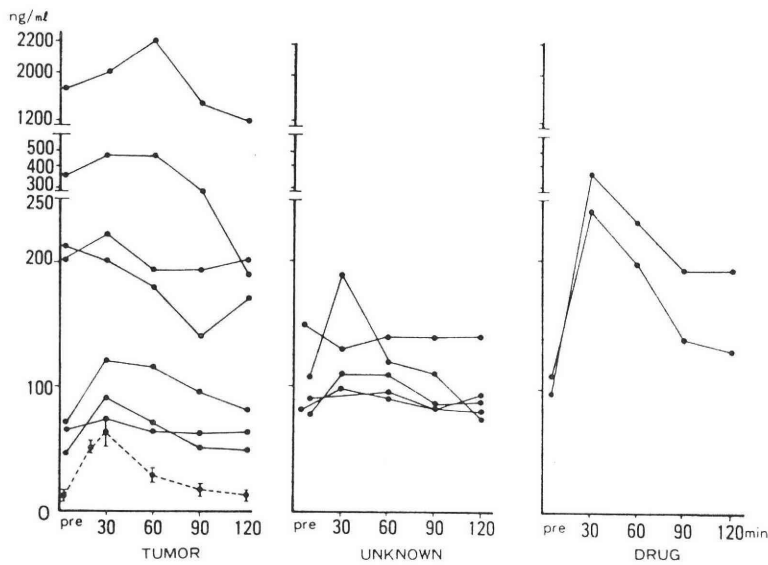


Fig. 5 Prolactin response to TRH

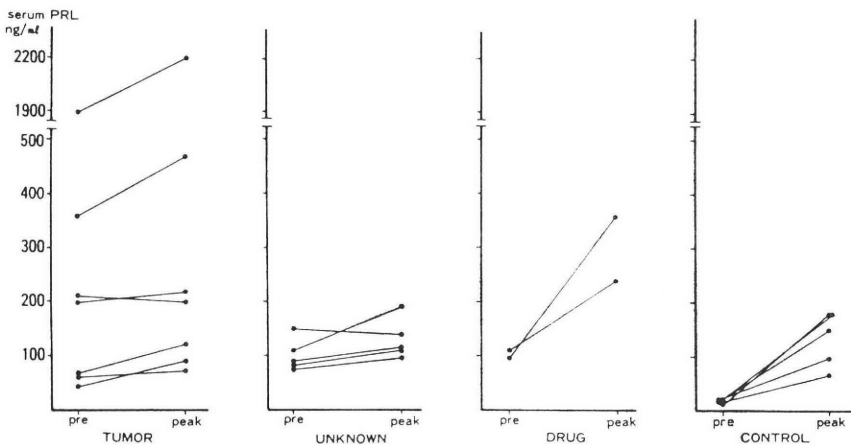


Fig. 6 Prolactin response to TRH

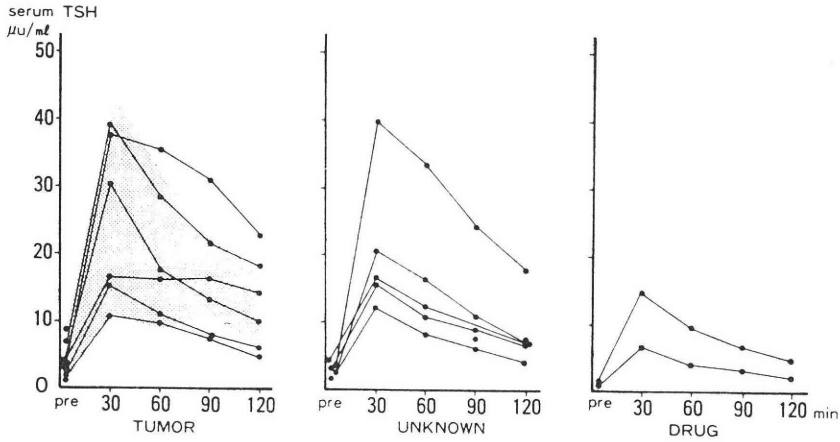


Fig. 7 TSH response to TRH

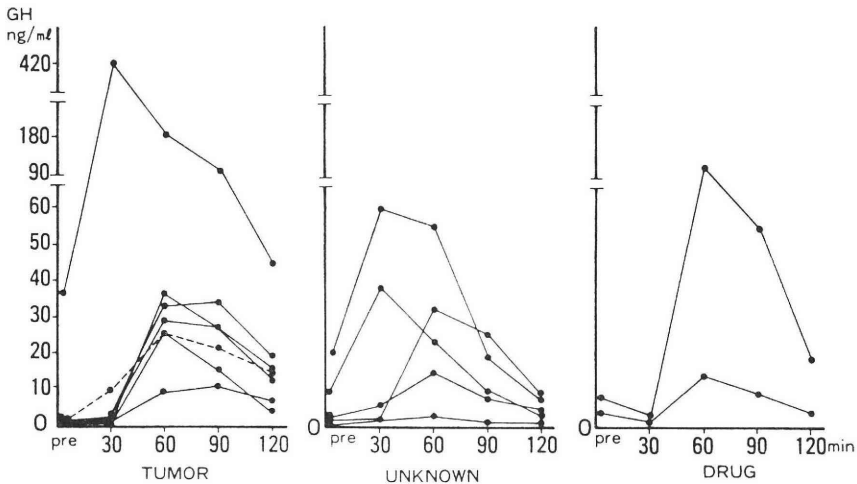


Fig. 8 GH response to insulin

2) 血中ホルモン動態

原因別に血中 PRL 値を示すと (Fig. 2), 腫瘍群 65~1900ng/ml, 原因不明群 43~400ng/ml, 薬剤群 31~270ng/ml で, 腫瘍群 9 例中 6 例が 100ng/ml 以上を示し macroadenoma では 1900ng/ml であった.

LH-RH test の LH の反応性をみると (Fig. 3), LH の基礎値は, 腫瘍群で 11.6±4.4mIU/ml, 原因不明群で 16.8±7.7mIU/ml, 薬剤群で 12.8±6.2mIU/ml で, 正常対照群では 19.2±4.3mIU/ml であった. LH-RH に対する反応性は, 一部に過剰反応を示す例を認めたが各群とも良く保たれていた.

LH-RH test に対する FSH の反応性をみると (Fig. 4), FSH 基礎値は, 腫瘍群で 7.5±2.0mIU/ml, 原因不明群で 12.1±1.9mIU/ml, 薬剤群で 9.6±4.2mIU/

ml で, 対照群では 11.2±1.7mIU/ml であった. 腫瘍群は対照群に比べ明らかに低値を示したが, LH-RH に対する反応性は各群とも良く保たれていた.

TRH に対する PRL の反応性 (Fig. 5) と, PRL の基礎値とピーク値 (Fig. 6) をみると, 腫瘍群と原因不明群に反応性の低下が認められた.

TRH に対する TSH の反応性 (Fig. 7) は各群とも反応性は良く保たれていた.

Insulin に対する GH の反応性 (Fig. 8) は, 原因不明群の 1 例を除き各群とも良く保たれていた.

考 察

排卵障害の原因として高プロラクチン血症が重要な位置を占めていることは, PRL の免疫学的測定法が確立



されるにつれて次第に解明されてきた。我々は高プロラクチン血症患者28例を、下垂体腫瘍群、原因不明群、薬剤起因群の3群に分類し、各群における血中 PRL 値および下垂体機能について検討した。

一般的に血中 PRL 値が100ng/ml 以上の場合には下垂体腫瘍の存在が疑われ<sup>2,3)</sup>、血中 PRL 値が高値を示すほど腫瘍の大きさも大きく<sup>4-6)</sup>、さらに200ng/ml 以上の値を示す場合には下垂体腫瘍が確実であると言われている<sup>6)</sup>。今回の我々の結果でも、下垂体腫瘍群の血中 PRL 値は他群のそれに比べ明らかに高値を示し、9例中6例が100ng/ml 以上で、特に macroadenoma の1例は1900ng/ml の高値であった。しかし microadenoma の3例では100ng/ml 以下を示しており、下垂体腫瘍の有無の診断に際しては、この点に注意を払うとともに、CT など放射線学診断技術の向上が期待される。血中 PRL 値とゴナドトロピンの基礎値について平塚ら<sup>7)</sup>は、下垂体腫瘍群と原因不明群の血中 FSH の基礎値は対照群に比べ低値を示していると報告している。しかし我々の結果では腫瘍群のみが対照群に比べ明らかに低値を示していた。このことは青野<sup>8)</sup>らの FSH の低下が高度の場合、下垂体腫瘍の存在が疑われると述べていることと一致する。

LH-RH に対する LH, FSH の反応性を見ると一部の例で過剰反応の傾向を示したが、他の報告者<sup>6,7,9,10)</sup>と同様に各群とも、よく反応性が保たれていた。TRH に対する PRL の反応性が腫瘍群で低下していることより TRH 負荷が下垂体腫瘍の鑑別に有用であるとの報告は多いが<sup>5,7,11-13)</sup>、我々の結果では木村らの報告<sup>6)</sup>と同様、腫瘍群、原因不明群とも TRH に対する反応性が低下していた。TRH に対する TSH, Insulin に対する GH の反応性は良く保たれており、これは他の報告者<sup>7,9)</sup>と一致する。以上 LH-RH, TRH, Insulin による下垂体予備能の検査結果では、高プロラクチン血症の下垂体機能はよく保持されており、排卵障害を引き起こしている部位は中枢性<sup>9,14)</sup>あるいは卵巢レベル<sup>15,16)</sup>にあると推定される。

次に高プロラクチン血症例を原因別に見ると、薬剤服用に起因する群が12例(43%)と多かつたが、このことはこれまでの報告に比べ増加傾向を示している。したがって高プロラクチン血症患者に対しては、薬剤の服用など注意深い問診が必要である。また血中 PRL が著明に上昇し、FSH が低値を示し、TRH に対する PRL の低下が認められた場合には、下垂体腫瘍が疑われるので、注意深い放射線学的診断がすすめられるべきである。

## 文 献

- 1) Hwang, P., Guyda, H. and Friesen, H.: A radioimmunoassay for human prolactin. Proc. Natl. Acad. Sci (USA), 68: 1902, 1971.
- 2) 青野敏博, 小池浩司, 倉智敬一: Galactorrhea-amenorrhoea syndrome の診断. 総合臨床, 29: 267, 1980.
- 3) Wiebe, R. H., Hammond, C. B. and Borchert, L. G.: Diagnosis of prolactin-secreting pituitary microadenoma, Am. J. Obstet. Gynecol., 126: 993, 1976.
- 4) 森信太郎, 魚住 徹, 青野敏博, 倉智敬一: Prolactinoma の診断と治療—とくに Hardy 手術について. 産科と婦人科, 47: 1603, 1980.
- 5) Chang, R. J., Keye, W. R., Young, J. R., Wilson, C. B. and Jaffe, R. B.: Detection, evaluation and treatment of pituitary microadenomas in patients with galactorrhea and amenorrhea, Am. J. Obstet. Gynecol. 128: 356, 1977.
- 6) 木村 隆, 成田 収, 鈴木正利, 反田 豊, 桑山明夫, 景山直樹: 高プロラクチン血症における内分泌動態とその治療に関する臨床的研究. 日産婦誌, 32: 784, 1980.
- 7) 平塚圭祐, 宮内文久, 豊島博幸, 上田一之, 筒井晴代, 山下裕幸, 真野隆文, 平川 修, 加藤 紘, 鳥越 正: 高プロラクチン血症婦人の下垂体機能と CB-154投与ならびに手術療法の治療成績. 日不妊会誌, 28: 33, 1983.
- 8) Badawy, S. Z. A., Nusbaum, M. L. and Omar, M.: Hypothalamic-pituitary evaluation in patients with galactorrhea-amenorrhea and hyperprolactinemia, Obstet. Gynecol., 55: 1, 1980.
- 9) Aono, T., Miyake, A., Shoji, T., Kinugasa, T., Onishi, T. and Kurachi, K.: Impaired LH release following exogenous estrogen administration in patients with amenorrhea-galactorrhea syndrome, J. Clin. Endocrinol. Metab., 42: 696, 1976.
- 10) Wiebe, R. H., Hammond, C. B. and Handwerker, S.: Treatment of functional amenorrhea-galactorrhea with 2-bromoergocryptine, Fertil. Steril., 28: 426, 1977.
- 11) Turksoy, R. N., Farber, M. and Mitchell, G. W.: Diagnostic and therapeutic modalities in women with galactorrhea, Obstet. Gynecol., 56: 323, 1980.
- 12) Kleinberg, D. L., Noel, G. L. and Frantz, A. G.: Galactorrhea: A study of 235 cases, including 48 with pituitary tumors, N. Eng. J. Med. 296: 589, 1977.
- 13) 石黒隆雄: 乳汁分泌無月経症候群の内分泌学的背景に関する研究. 日不妊会誌, 27: 222,

- 1982.
- 14) Bohnet, H. G., Dahlen, H. G., Wuttke, W. and Schneider, H. P. G.: Hyperprolactinemic anovulatory syndrome, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 42: 132, 1976.
- 15) Zarate, A., Canales, E. S., Soria, J., Ruiz, F. and MacGregor, C.: Ovarian refractoriness during lactation in women: Effect of gonadotropin stimulation, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 112: 1130, 1972.
- 16) Thorner, M. O., McNeilly, A. S., Hagen, C. and Besser, G. M.: Long-term treatment of galactorrhoea and hypogonadism with bromocriptine, *Brit. Med. J.*, 2: 419, 1974.

A clinical study of hyperprolactinemia  
—Variety of causes and results  
of pituitary function—

**Masaru Fukuda, Hiroaki Hirayama,  
Toshiaki Sagesaka, Akinori Seida,  
Teruaki Okuyama,  
and Hiroshi Furuya**

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

The endocrine features of twenty-eight patients with hyperprolactinemia were studied. According to the causes of hyperprolactinemia, the patients were divided into following three groups: the pituitary tumor, the drug-induced, and the unknown cause groups, the majority of patients being the drug-induced group of 12 cases. In the pituitary tumor group, serum prolactin levels were higher than those in other groups and serum FSH levels were lower than those in the control group significantly. Poor prolactin response to TRH was found in both the pituitary tumor and unknown cause groups respectively. Pituitary function of the patients with hyperprolactinemia was observed to be kept well in spite of its different causes.

(受付: 昭和58年12月2日)

# BBT 高温相持続期間と血中 progesterone 値

## The Relationship between the Duration of the Luteal Phase and Serum Progesterone Level

山口大学医学部産科婦人科学教室

宮内文久 上田一之 山下裕幸  
Fumihisa MIYAUCHI Kazuyuki UEDA Hiroyuki YAMASHITA  
真野隆文 田村晴代 南條和也  
Takafumi MANO Haruyo TAMURA Kazuya NANJO  
野口博史 秋田彰一 蔵本武志  
Hiroshi NOGUCHI Ayakazu AKITA Takeshi KURAMOTO  
矢壁昭人 加藤 紘 鳥越 正  
Akito YAKABE Hiroshi KATO Tadashi TORIGOE

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

基礎体温を用いて黄体機能を推測することが可能かどうか、基礎体温高温相の持続期間と血中 progesterone 値を対比させて検討した。検討対象は、規則的な月経周期を示し、二相性の基礎体温を有する18歳から33歳までの婦人22名とした。高温相持続期間が長くなるにつれ、高温相での血中 progesterone 値は上昇した。高温相の持続期間が11日以上であった症例の血中 progesterone 値は正常成熟婦人のそれと同様であった。また、黄体中期の血中 progesterone 値が10ng/ml 以下を示すものを黄体機能不全とすれば、高温相の持続期間が10日以下の症例では黄体機能不全の存在が疑われ、8日以下の症例では黄体機能不全と診断することが可能であった。なお、基礎体温高温相において、低温相からの基礎体温上昇度と血中 progesterone 値との間には一定の関係を見出すことはできなかった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 360-363, 1984)

### はじめに

基礎体温 (BBT) 曲線は、排卵の有無・黄体機能の判定・妊娠の診断など臨床上さまざまに用いられている。BBT による黄体機能の判定には、(1) 高温相の持続期間 (長さ)<sup>1,2)</sup>、(2) 高温相の面積<sup>3)</sup>、(3) 高温相の型分類<sup>1,2)</sup>などが指標として用いられているが、BBT と血中 progesterone (P) 値あるいは尿中 pregnanediol 値との関係を比較検討した報告<sup>1,4,5)</sup>は少ない。そこで、今回は BBT を用いた黄体機能の指標のなかでも高温相の持続期間に注目し、血中 P 値との関連性を検討したので報告する。

### 対象および方法

規則的な月経周期を有する18歳から33歳までの婦人22名を対象とし、全例 BBT を記録させるとともに、原則として連日採血した。BBT 曲線より、まず、低温相の平均体温値 (低温相平均値) および低温相最終日を、五十嵐らの方法<sup>3)</sup>に従って求めた。ついで、高温相持続期間 (D) は低温相最終日から次回月経開始前日までの期間として、BBT 曲線より算出した。対象とした22例は、その D の長さに従って4群に分類した。すなわち、高温相が8日以下を示した3例、高温相が9、10日間持続した5例、11日、12日間持続した7例、および13日以上持続した7例とに分類した。これら4群における、血中 P 値の高温相期間中の推移を観察した。また、D と

血中 P 値との関係を明瞭にするため、血中 P 値の最高値に注目し、各群別に検討した。さらに、高温相での BBT と血中 P 値が対応しているかどうかを検討するため、高温相期間中の各日において、低温相平均値を基線とした BBT の上昇度を求め、それぞれの BBT 上昇度とその時の血中 P 値とを比較した。なお、これら 22 例の BBT はいずれも二相性であり、その高温相は低温相より少なくとも  $0.3^{\circ}\text{C}$  以上上昇し、体温下降とともに月経が発来した。血中 P 値は既に報告したラジオイムノアッセイ法<sup>9)</sup>にて、血中 LH 値は第 1 ラジオアイソトープ社製キットを用いて測定した。

### 結 果

高温相における血中 P 値の推移を図 1 に、また、高温相での血中 P 最高値を図 2 に、D の各群別に分けて示した。高温相の血中 P 値は D が増すにつれて上昇したが、D が 11, 12 日を示した群と D が 13 日以上を示した群との間に有意の差は認められなかった。なお、D が 8 日以下群の全例の血中 P 値は、高温相全期間を通じて  $10\text{ng/ml}$  以下であった。また、高温相における BBT 上昇度と血中 P 値との関係を図 3 に示したが、両者の間に一定した関係は認められなかった。

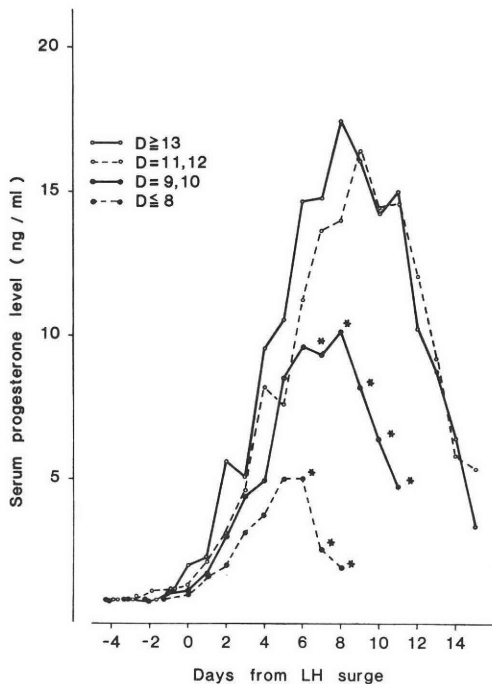


図 1 高温相持続期間 (D) と血中 progesterone 値の推移。\* は、各月経周期日において、 $D \geq 13$  群および  $D = 11, 12$  群との有意差を示す

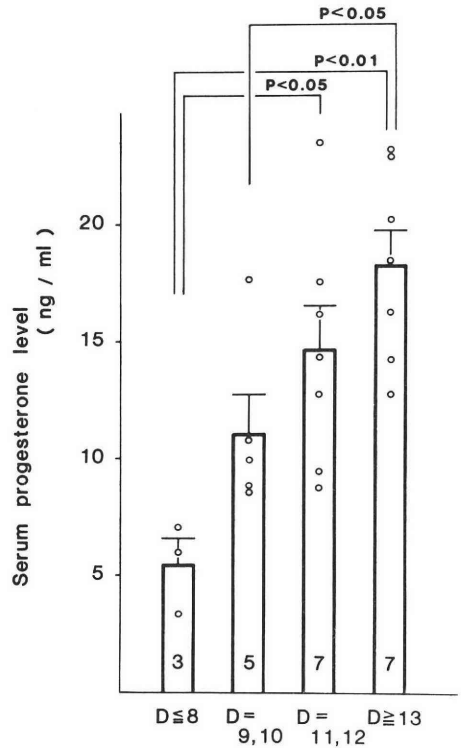


図 2 高温相持続期間 (D) と血中 progesterone 最高値。棒グラフは各群の平均値±標準誤差を、棒グラフ内の数字は症例数を示す。○は各症例の最高値を示す

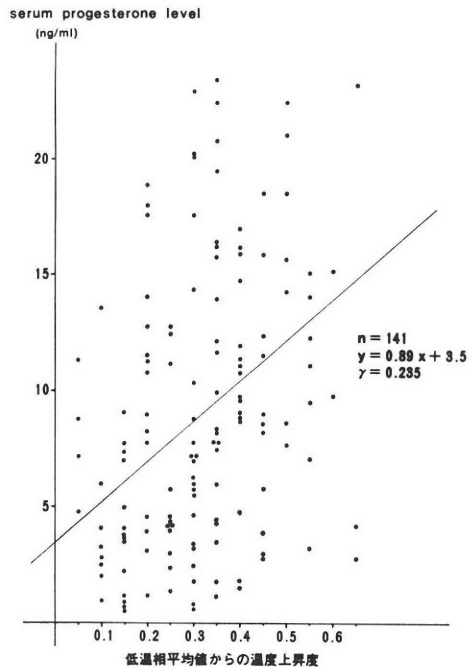


図 3 BBT 低温相平均値からの体温上昇度と血中 progesterone 値

## 考 察

黄体は受精卵の着床、妊娠の維持に無くてはならない機能単位であり、その臨床上の重要性のため、黄体機能の評価にはさまざまな方法が用いられている。すなわち、血中 P 値の測定、尿中 pregnanediol 値の測定、子宮内膜組織検査、BBT の測定などが臨床上汎用されている<sup>7,8)</sup>。すでに我々は、子宮内膜が正常発育を示した不妊婦人と遷延発育を示した不妊婦人との間には血中 P 値に有意の差があり、血中 P 値測定は黄体機能の判定に有用であると報告した<sup>9)</sup>。また、Johansson<sup>9)</sup>、Radwanska ら<sup>10)</sup>の報告と同様に、黄体機能不全の症例では黄体中期の血中 P 値は10ng/ml 以下を示すことを観察した。黄体中期の血中 P 値を診断の基準とすれば、BBT の高温相持続期間が10日以下の症例では黄体機能不全の存在が疑われ、また、持続期間8日以下の症例では血中 P 値を測定するまでもなく黄体機能不全と診断することが可能と思われる。これは、LH surge から次回月経開始前日までの期間が8日以下の症例を、short luteal phase と定義した Strott ら<sup>11)</sup>の報告と一致したものであった。なお、高温相が11日以上持続した症例では、正常成熟婦人と同様の血中 P 値を示した<sup>6)</sup>。

一方、我々の成績では、低温相平均値からの体温上昇度と血中 P 値との間に一定の関係を見出すことはできなかった。山辺ら<sup>12)</sup>も BBT 高温相において、上昇後最大下降度と血中 P 値とを比較検討し、両者には一定の関係が認められなかったと報告している。木下<sup>13)</sup>も同様に BBT 測定により黄体機能がある程度推測し得るとはいえ、P の分泌を数量的に示すことは不可能であると述べている。

以上より、BBT は黄体機能の簡便な指標として有用であり、特に、その高温相持続期間と血中 P 値の間には密接な関係を見出すことができたが、高温相での BBT の変動が血中 P 値の増減を反映しているとは考え難い。

本論文の要旨の一部は、第26回日本不妊学会学術講演会（昭和56年11月、京都市）および第36回日本産科婦人科学会中国四国合同地方部会学術講演会（昭和58年10月、徳島市）にて発表した。

## 文 献

- 1) 松本清一：月経異常に関する研究。日産婦誌，14：523，1962。
- 2) 松本清一，小沢陸男：基礎体温の読み方。産婦実録，12：188，1963。
- 3) 五十嵐正雄：排卵検査法の判定法と信頼度。産

と婦，34：1410，1967。

- 4) 国本恵吉：不妊領域における黄体機能不全に関する研究，日不妊誌，8：123，1963。
- 5) 楠田雅彦，倉野彰比古，中村元一，松隈敬太：黄体機能不全の診断と治療。産婦世界，31：975，1979。
- 6) Miyauchi, F.: A specific <sup>125</sup>I radioimmunoassay method for progesterone, Bull. Yamaguchi Med. Sch., 25: 161, 1978.
- 7) 蜂屋祥一，楠原浩二：黄体機能不全と着床障害。産婦人科 Mook No. 5，不妊の診断と治療，231，金原出版，1979。
- 8) Jones, G. S.: The luteal phase defect, Fertil. Steril., 27: 351, 1976.
- 9) Johansson, E. D. B.: Progesterone levels in peripheral plasma during the luteal phase of the normal human menstrual cycle measured by a rapid competitive protein binding technique, Acta Endocrinol., 61: 592, 1969.
- 10) Radwanska, E. and Swyer, G. I. M.: Plasma progesterone estimation in infertile women and in women under treatment with clomiphene and chorionic gonadotropin, J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw., 81: 107, 1974.
- 11) Strott, C. A., Cargille, C. M., Ross, G. T. and Lipsett, M. B.: The short luteal phase, J. Clin. Endocr., 30: 246, 1970.
- 12) 山辺 徹，石丸忠之，河野前宣：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。
- 13) 木下 佐：基礎体温測定法，現代産科婦人科学大系7A。婦人科診断学I，137，中山書店，1972。

The relationship between the duration of the luteal phase and serum progesterone level.

Fumihisa Miyauchi, Kazuyuki Ueda, Hiroyuki Yamashita, Takafumi Mano, Haruyo Tamura, Kazuya Nanjo, Hiroshi Noguchi, Ayakazu Akita, Takeshi Kuramoto, Akito Yakabe, Hiroshi Kato and Tadashi Torigoe

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

The basal body temperature (BBT) record could be a practical method for the evaluation of the corpus luteum function. Therefore, the relationship between the duration of the luteal phase of BBT chart and serum progesterone

level was studied.

The study subjects were 22 healthy women, ranging from 18 to 33 years of age, who had a regular menstrual cycle and had shown biphasic BBT charts. Blood was taken on every menstrual day, and serum LH and progesterone levels were determined by the radioimmunoassay method. The duration of the luteal phase was calculated with BBT chart from the first day of the high phase of BBT to the last day of the menstrual cycle.

Serum progesterone levels in mid-luteal phase were increased in proportion with the duration of the luteal phase. According to serum pro-

gesterone levels, it was found that women, who showed the luteal phase of more than 11 days, would have adequate corpus luteum function. Furthermore, it was revealed that those, who showed the luteal phase of less than 10 days, was thought to have an inadequate corpus luteum function, and those, who showed the luteal phase of less than 8 days, had an inadequate corpus luteum function. On the other hand, there was no correlation between the elevation of BBT from mean temperature of the follicular phase and serum progesterone level on each day of the luteal phase.

(受付: 昭和59年1月12日)

## Etiology of Luteal Insufficiency (Hyposecretion of Progesterone) in Relation with BBT Patterns

Takashi KANO and Kiyoshi NISHIKAWA

Nishikawa Gynecological Clinic, Osaka.

Yoshiko KUROBE and Kenji ISHII

Department of Pharmacology, Osaka Medical College.

**Abstract:** Luteal insufficiency was categorized into three types according to BBT patterns in patients: Type A—the hyperthermic base lines lay not less than  $0.3^{\circ}\text{C}$  above the hypothermic base lines, and the hyperthermic phase lasted for less than 10 days (25 patients); Type B—the hyperthermic base lines lay not less than  $0.3^{\circ}\text{C}$  above the hypothermic base lines, and the hyperthermic phase lasted for 10 days or more with transient thermal depressions of not less than  $0.1^{\circ}\text{C}$  (36 patients); and Type C—the hyperthermic base lines lay less than  $0.3^{\circ}\text{C}$  above the hypothermic base lines (28 patients). Serum estradiol during BBT Days -3 to 0 (average of two days) and serum progesterone on BBT Days +7 and +8 (average of two days) were determined, and used as indicators of follicular and luteal functions, respectively. These data from patients with luteal insufficiency were compared with those from 57 women with normal menstrual cycles to investigate the causes of hyposecretion of progesterone in the patients of Type A, B, and C. In the women with normal menstrual cycles, progesterone secretion was positively correlated with follicular function. Follicular insufficiency was detected in the patients of all types of BBT patterns, and was considered to be the main cause of decreased progesterone secretion in the patients of Type C. In Type A and B, early luteolysis was suspected to be the main cause. This causal relation was more prominent in Type A. The early luteolysis appeared to take a part in development of decreased progesterone secretion in all cases of so-called short luteal phase. It is suggested that HMG is most favorable means available for treatment of hyposecretion of progesterone which is mainly caused by follicular insufficiency, and that HCG treatment during the luteal phase is the best available for that caused by early luteolysis.

**Key words:** Luteal insufficiency, BBT, Estradiol, Progesterone.

(Jap. J. Fert. Ster., 29(3), 364-368, 1984)

### Introduction

The luteal insufficiency is a term applied to whole course of pathological sequence in which decreased progesterone secretion, a type of hypoovarianism with ovulatory cycle, affects the secretory patterns of the endometrium, leading to implantation failure<sup>1)</sup>. Recently, however, it was demonstrated that progesterone receptors in the endometrium were abnormal in some cases of luteal insufficiency<sup>2)</sup>.

This finding aroused doubts about hyposecretion of progesterone as the only cause of abnormal secretory patterns in the endometrium. For correct understanding of etiology of luteal insufficiency, hyposecretion of progesterone and abnormal secretory patterns in the endometrium should separately be considered. With this background, we made etiological and therapeutical investigations on hyposecretion of progesterone, a type of luteal insufficiency, by categorizing the patients with

decreased progesterone secretion according to their BBT patterns. Their endocrinological characteristics were compared with those in the women with normal menstrual cycles.

**Materials and Methods**

The subject patients were 146 women who visited our clinic from September, 1982 to August, 1983 with the desire of having children. As controls, 57 women with normal menstrual cycles were studied. Luteal insufficiency was categorized into three types according to BBT patterns in the patients: Type A—the hyperthermic base lines lay not less than 0.3°C above the hypothermic base lines, and the hyperthermic phase lasted for less than 10 days (25 patients); Type B—the hyperthermic base lines lay not less than 0.3°C above the hypothermic base lines, and the hyperthermic phase lasted for 10 days or more with transient thermal depressions of not less than 0.1°C (36 patients); and Type C—the hyperthermic base lines lay less than 0.3°C above the hypothermic base lines (28 patients). The patients categorized into Type C was further subgrouped into Ca and Cb: Subtype Ca included

the patients in whom hyperthermic phase lasted for less than 10 days, and Subtype Cb included those in whom the hyperthermic phase lasted for 10 days or more.

Serum estradiol and progesterone were determined by radioimmunoassay. Estradiol was determined on two days during BBT Days -3 to 0, and progesterone, on BBT Days +7 and +8. The average concentrations of each hormone were calculated from these two-day determination, and compared with each other to investigate the presence of correlation between the two hormones. The results are expressed as mean ± S. D. The statistical significance was examined by Student's t-test.

**Results**

**1. Serum estradiol and progesterone levels and BBT patterns**

Serum estradiol determined during BBT Days -3 to 0 was significantly lower in the patients of Type A, B, and C than in the women with normal menstrual cycles ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ , and  $p < 0.01$ , reactively). Among the patients, estradiol in Type C was significantly ( $p < 0.01$ ) lower than that in the

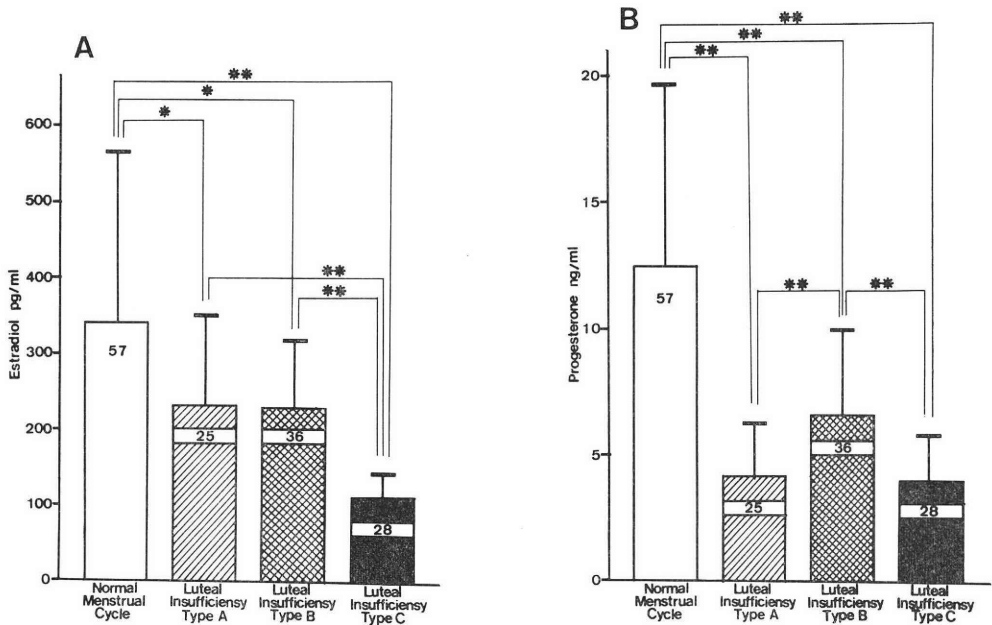


Fig. 1 Serum estradiol levels during BBT Days -3 to 0 (A) and progesterone levels during BBT Days +7 and +8 (B) in women with normal menstrual cycles and in patients with luteal insufficiency of various types. Estradiol and progesterone levels are averages of two days.



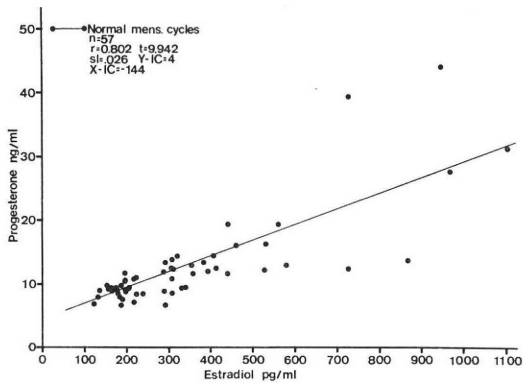


Fig. 2 Relation between serum estradiol during BBT Days -3 to 0 and serum progesterone on Days +7 and +8 in women with normal menstrual cycles. Estradiol and progesterone levels are averages of two days.

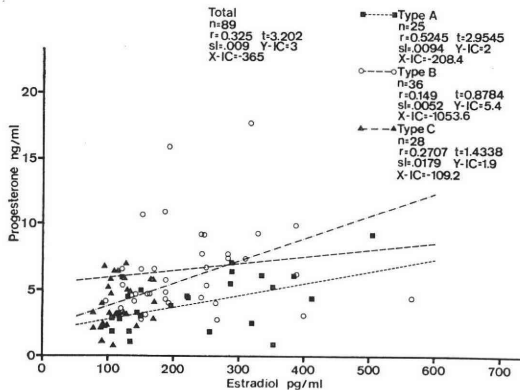


Fig. 3 Relation between serum estradiol during BBT Days -3 to 0 and serum progesterone on Days +7 and +8 in women with various types of BBT patterns. Estradiol and progesterone levels are averages of two days.

other two types. Progesterone determined on BBT Days +7 and +8 in the control women was  $12.5 \pm 7.2$  ng/ml. Only in three cases among them, serum progesterone was 7 ng/ml or lower<sup>3)</sup>. In the patients of Types A, B, and C, progesterone levels were all significantly ( $p < 0.01$ ) lower than that in the control women. The patients of Type B showed an average level significantly ( $p < 0.01$ ) higher than those of the other two types (Fig. 1A and B).

## 2. Correlation between estradiol and progesterone levels in various types of BBT patterns

In the women with normal menstrual cycles, serum levels of the two hormones were significantly ( $p < 0.01$ ) and closely correlated with each other in the positive direction (Fig. 2). When all patients of luteal insufficiency were analyzed as a whole irrespective of their BBT patterns, there was a weak but significant ( $p < 0.01$ ) positive correlation between the two hormones as well. When they were analyzed after subgrouped according to BBT patterns, a significant positive correlation was detected only in Type A (Fig. 3).

## Discussion

The luteal insufficiency takes a no small part in etiology of sterility<sup>4)</sup>. Nevertheless, it has been diagnosed by using BBT patterns as the only indicator, and treated with HCG or gestagen during the luteal phase without definite etiological basis. This is because the identity of luteal insufficiency in a narrow sense (hyposecretion of progesterone) is still obscure although it is said to be a type of hypoovarianism with ovulatory cycles. In the present study, validity of diagnosing luteal insufficiency and suspicion its cause only from BBT patterns was investigated by endocrinological analysis. For this purpose, we categorized the patients with luteal insufficiency into three types according to their BBT patterns, and determined serum estradiol during the ovulation stage (BBT Days -3 to 0: late follicular phase) and serum progesterone on BBT Days +7 and +8 as indicators of follicular maturity and luteal function respectively. Continuous monitoring of serum progesterone<sup>5,6)</sup> is ideal way of testing luteal function, but routine application to all patients is impracticable. Progesterone secretion formed its plateau during Days +5 to +8 when the day of the transient depression of hypothermic phase was designated by Day 0<sup>7)</sup>, and that the plateau appeared on and after Day +7 when the day of LH peak was designated by Day 0<sup>8)</sup>. Based on these findings, Takahashi et al (1975)<sup>9)</sup> concluded that luteal insufficiency would correctly be diagnosed from average serum progesterone levels determined during appropriate three days of the high progesterone phase. We<sup>3)</sup> also demonstrated that in patients showing serum progesterone of

less 7 ng/ml on BBT Days +7 and +8, the luteal insufficiency (hyposecretion of progesterone) may be diagnosed. In the present study, the luteal function was estimated from the average progesterone levels determined on BBT Days +7 and +8. In the women with normal menstrual cycles, estradiol secretion during Days -3 to 0 was significantly and positively correlated with progesterone secretion on Days +7 and +8, indicating a high correlation between progesterone secretion from the corpus luteum and follicular maturity. It suggests the sequential events that the immature follicle which secretes less estrogen makes ovulation, followed by formation of the corpus luteum which secretes less progesterone. From these considerations, hyposecretion of progesterone in Type C was attributed to follicular insufficiency or follicular immaturity. In Types A and B, estradiol levels during BBT Days -3 to 0 were significantly lower than those in the women with normal menstrual cycles, but significantly higher than that in Type C, suggesting an involvement of insufficient follicular function in the decreased progesterone secretion in Type A and B also. However, the main cause of hyposecretion of progesterone in these two types may have been early luteolysis because progesterone decreased more greatly than estradiol did. As compared with the patients of Type A, those categorized into Type B were associated with significantly higher serum progesterone and longer hyperthermic phase. It suggests that in Type B, early luteolysis was less involved in the cause of decreased progesterone than in Type A, and that the importance of early luteolysis in etiology of hyposecretion of progesterone is comparable to that of insufficient follicular function. Early luteolysis may have been involved in development of hyposecretion of progesterone of Subtype Ca. In cases of so-called short luteal phase, early luteolysis may strongly be related to hyposecretion of progesterone. It seems reasonable to consider that hyposecretion of progesterone is produced by both factors of follicular insufficiency (immature follicles) and early luteolysis. Our present attempt to categorize the patients according to BBT patterns will contribute to determination of the dominance of these two factors in inducing hypo-

secretion of progesterone. It has not sufficiently been elucidated what causes pathologically early luteolysis<sup>10)</sup>. LH maintains its constant serum level during the luteal phase<sup>10)</sup>. In the present our estimation, LH levels during BBT Days +5 to +8 did not significantly differ between the women with normal menstrual cycles and those with hyposecretion of progesterone (data not shown). Thus, decreased LH secretion does not seem to be the only cause of the early luteolysis. Further efforts must be exerted to demonstrate the relation of the early luteolysis to other sex-related hormones including prolactin<sup>11,12)</sup>, prostaglandins<sup>13-15)</sup>, and estrogen<sup>16)</sup> as well as to the function of LH receptors<sup>10)</sup> in the ovary.

In the final paragraph of this paper, we would like to discuss the therapeutical approaches to hyposecretion of progesterone. For the patients in whom follicular insufficiency is predominantly responsible for their hyposecretion of progesterone as in Type C, HMG therapy is thought to be most reasonable treatment<sup>17)</sup> although clomiphene which stimulates FSH secretion<sup>18)</sup> may also be effective. In the cases where the follicular immaturity is suspected to be due to hyperprolactinemia<sup>3)</sup>, bromocriptine should be used. For the cases in which early luteolysis is suspected, treatment with luteotropic HCG might be the best choice at the present circumstances. Bromocriptine should be added in the patients with hyperprolactinemia (25 ng/ml or more)<sup>3)</sup> because prolactin has a luteolytic effect<sup>11,12)</sup>.

#### References

- 1) Iizuka, R., Koi, H. and Kobayashi, T.: Funinshogaku. p142. Kanehara Press. Tokyo. 1974.
- 2) Tamaya, T.: Gynecological tumor and steroid receptor. Acta. Obst. Gynaec. Jpn., 35 : 1146, 1983.
- 3) Kano, T. and Nishikawa, K.: Bromocriptine therapy of luteal insufficiency accompanied with hyperprolactinemia in the follicular phase. Acta. Obst. Gynaec. Jpn., 35 : 975, 1983.
- 4) Nishikawa, K. and Kano, T.: Statistical studied on the infertile women in our clinic; I. Analysis of the pregnancy in long-term infertile cases. Jap. J. Fertil. Steril., 29 : 92, 1984.
- 5) Johansson, E. D. B.: Progesterone levels

- in peripheral plasma during the luteal phase of the normal human menstrual cycle measured by a rapid competitive protein binding technique. *Acta. Endocrinol.*, 61 : 582, 1969.
- 6) Strott, C. A., Cargille, C. M., Ross, G. T. and Lipsett, M. B. : The short luteal phase. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 30 : 246, 1970.
  - 7) Ito, K. : Evaluation of luteal function through serial determination of plasma progesterone. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, 26 : 15, 1974.
  - 8) Minagawa, J., Aono, T., Kawamura, K., Tanizawa, O., Kurachi, K. and Matsumoto, K. : The daily determination of LH, FSH and progesterone in the patients with various ovulatory disturbance. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, 26 : 226, 1974.
  - 9) Takahashi, H., Masuda, T., Kato, H., Yoshizaki, K., Mimura, T., Takeuchi, S., Inui, Ym and Matsuda, G. : Evaluation of the luteal function and unexplained infertility. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, 31 : 821, 1979.
  - 10) Nakano, R. : Sexual cycle and gonadotropine receptor. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, 35 : 1807, 1983.
  - 11) Kano, T., Nishikawa, K., Kanda, T., Miyazaki, K. and Sugimoto, O. : Plasma prolactin in luteal insufficiency and treatment with bromocriptine. *Jap. J. Fertil. Steril.*, 28 : 26, 1983.
  - 12) Hirai, M., Masubuchi, Y., Tajima, M. and Kumai, T. : Regulatory effect of prolactin and PG F<sub>2</sub> on lutenized ovary in rat. *Jap. J. Pharmacol.*, 30 : 164, 1980.
  - 13) Jones, G. S. and Wentz, A. C. : The effect of prostaglandin F<sub>2</sub> infusion on corpus luteum function. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 114 : 393, 1972.
  - 14) Arrata, W. S. and Chatterton, R. T. : Effect of prostaglandin F<sub>2</sub> on the luteal phase of the cycle in non pregnant women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 120 : 954, 1974.
  - 15) Goudert, S. P., Winter, J. S. D. and Faiman, C. : Transient decline in serum progesterone levels during prostaglandin F<sub>2</sub> infusion in the midluteal phase of the normal human menstrual cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 119 : 755, 1974.
  - 16) Karoh, F. J. and Sutton, G. P. : An intra ovarian site for the luteolytic action of estrogen in the rhesus monkey. *Endocrinology.*, 98 : 553, 1976.
  - 17) Kano, T. and Nishikawa, K. : Bromocriptine-HMG therapy for hyperprolactinemic luteal insufficiency. *Jap. J. Fertil. Steril.*, 29 : 18, 1984.
  - 18) Dodson, K. S., Macnaughton, M. C. and Coutts, J. S. T. : Infertility in women with apparently ovulatory cycles; II. The effects of clomiphene treatment on the profiles of gonadotropine and sex steroid hormones in peripheral plasma. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.*, 82 : 625, 1975.

### BBT 型からみた黄体機能不全症 (progesterone 分泌不全症) の etiology

西川婦人科クリニック

假野隆司, 西川 潔

大阪医科大学薬理学教室

黒部佳子, 石井権二

黄体機能不全症を BBT から A型 : 高温基線と低温基線の差は 0.3°C 以上であるが, 持続期間が 10 日未満 25例, B型 : 高温基線と低温基線の差は 0.3°C 以上あり 10 日以上高温は持続するが, 0.1°C 以上の温度陥凹を認める (36例), C型 : 高温基線と低温基線の差が 0.3°C 未満 (28例) の 3 型に分類して BBT - 3 ~ 0 Day の血中 estradiol 値を卵胞機能解の, +7, +8 Day の血中 progesterone 値を黄体機能の indicator として正常月経周期 57 例と比較することにより各型の progesterone 分泌不全の原因を検討した。正常月経周期例においては progesterone 分泌は卵胞機能 (成熟) に相関していると考えられた。黄体機能不全症各型に卵胞機能不全が認められ C 型では主因と考えられた。一方 A および B 型の主因は luteolytic effect の早期亢進と考えられ, A 型でより著名であった。いわゆる short luteal phase の症例は全て luteolytic effect 早期亢進が原因に関与していると考えられた。progesterone 分泌不全症の治療は卵胞機能不全が主因の例には HMG 療法が, luteolytic effect 早期亢進が主因の例には黄体期 HCG 療法が現時点では最良の選択と考えられた。

(受付 : 昭和 59 年 1 月 9 日)

# 無月経環境時の random sampling に よるスクリーニング測定値の臨床評価

その2 血中 estrogen 値

## Clinical Evaluation of Single, Random Measurements of Serum Estrogens in Patients with Anovulatory Disturbances

北里大学医学部産婦人科学教室

中 居 光 生 馬 嶋 恒 雄

Mitsuo NAKAI Tsuneo MAJIMA

巽 英 樹 新 井 正 夫

Hideki TATSUMI Masao ARAI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Kitasato University School of Medicine

排卵障害患者の系統的診断の一部として実施された random sample による血中 estrogen の1回測定値の検討から次の結果を得た。

- 1) random sample を用いる estrogen の1回測定値であつても、一般的には無月経の重症度評価の指標となり得る。
- 2) 無月経第1度では無月経期間が長期な症例では E<sub>2</sub> 値が低い。
- 3) gonadotropin が高値でない症例では、progesterone 投与後の消退出血の有無は estrogen 値と必ずしも関連しない。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 369-375, 1984)

### I 緒 言

排卵障害患者の病態把握を目的として実施される random sample を用いたホルモン測定結果のうち、血中 gonadotropin 値の臨床評価については既に報告した<sup>1)</sup>。

本稿では前回報告した血中 gonadotropin 値と同時に測定された血中 estrogen (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>) 値の臨床的意義に後方視的な考察を加えて以下に報告した。

### II 対象と方法

対象は前回の報告<sup>1)</sup>のうち同時に estrogen の測定を実施した102例、108検体である。無月経の分類法、ホルモン測定の採血条件などは前回の報告と同一である。

estrogen 測定法は ether 抽出、Sephadex LH-20 マ

イクロカラム法による3分画法、dextran-coated charcoal 法による CIS Kit の radioimmunoassay である。

### III 成 績

#### 1. 対象婦人 A, B, C, D 4群の内訳

estrogen 測定の対象となつた婦人の平均年齢は無月経第1度40例では A 群が27.2歳、B 群が26.5歳、無月経第2度の62例では C 群が27.2歳、D 群が31.9歳であつて、A, B, C 3群間に著差はなく、C 群と D 群にはおよそ5歳の差があつた。平均無月経期間は A, B, C, D 群の順にそれぞれ55日、128日、261日、347日であつた(表1)。

#### 2. estrogen 濃度と採血時期

##### 1) 無月経第1度

無月経第1度の A 群と B 群における採血時までの

表 1 続発無月経の 4 群の年齢と無月経期間

分類		群	症例数	検体数	年齢(平均)	無月経期間(平均)
無月経第 1 度	60日以下群	A	13	15	21~33 (27.2歳)	44日~60日 (55日)
	61日以上群	B	27	27	20~23 (26.5歳)	66日~1年 (128日)
無月経第 2 度	FSH 非高値群	C	41	43	20~35 (27.2歳)	58日~3年9ヵ月 (261日)
	FSH 高値群	D	21	23	26~38 (31.9歳)	59日~4年 (347日)
計			102	108		

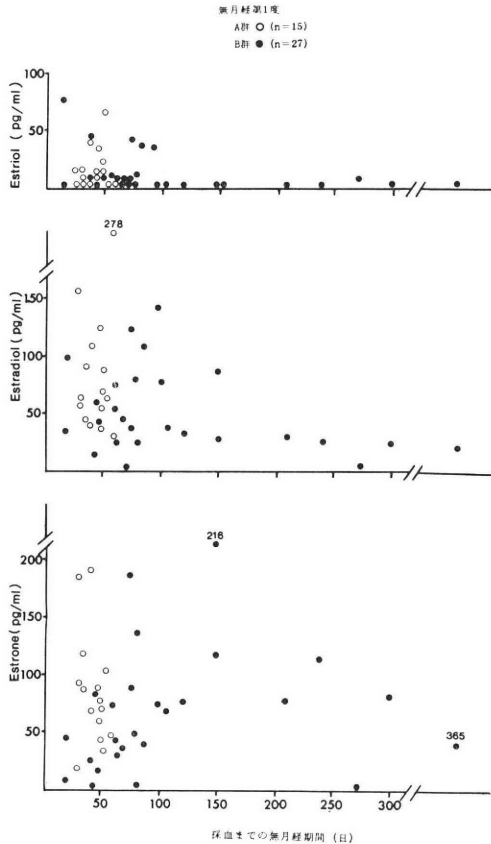


図 1 無月経第 1 度における estrogen 濃度と採血時期 (A 群および B 群)

無月経期間と estrogen 値との関係を図 1 に示した。E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> とも採血時までの無月経期間の影響を受けないと見られるが、長期の症例が少数であるために明らかな傾向を指摘出来なかつた。

2) 無月経第 2 度

無月経第 2 度の C 群と D 群における採血時までの無月経期間と estrogen 値との関係を図 2 に示した。無月経期間の長短と estrogen 値との関係を詳しく調べるために採血時までの無月経期間を 1 年以内、1 年以上の 2 群に大別してその平均値を算出し比較したのが表 2

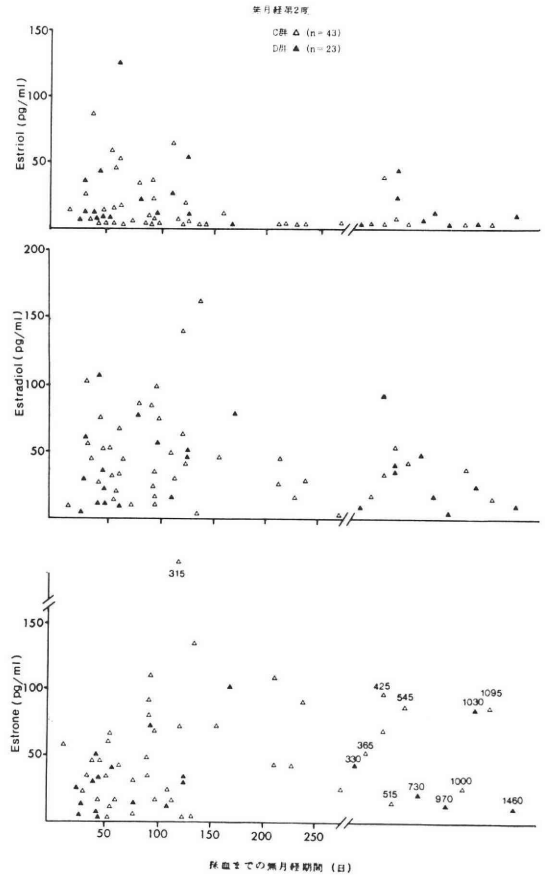


図 2 無月経第 2 度における estrogen 濃度と採血時期 (C 群および D 群)

である。その結果、採血時までの無月経期間の長短と estrogen 値との間にいずれも有意差を認めなかつた。

3. estrogen 濃度と年齢との関係

血中 estrogen 濃度は FSH および LH の濃度に左右されるので、A, B, C, D 4 群のそれぞれの群内で年齢が estrogen 濃度に及ぼす影響の有無を 5 年ごとの年齢層別に区分してその平均値を算出し表 3 に示した。その結果、年齢と estrogen 値との間に一定の傾向を指摘出来なかつた。しかし、B 群の 30~34 歳群での E<sub>2</sub> 値

表 2 採血時までの無月経期間と estrogen 値

	採血時までの 無月経期間	症例数	検体数	E <sub>1</sub> (M±1SD)	E <sub>2</sub> (M±1SD)	E <sub>1</sub> +E <sub>2</sub> (M±1SD)	E <sub>3</sub>
C	1年>	10	10	47.9±38.4	41.0±25.2	88.9±54.4	5.4±11.8
	1年<	32	33	58.6±56.7	48.6±37.7	106.9±82.0	15.4±21.6
D	1年>	6	7	42.6±39.9	25.8±17.7	68.5±41.2	13.5±15.2
	1年<	15	16	32.4±26.3	38.7±30.5	71.1±44.8	21.3±31.1

表 3 年齢層別にみた estrogen 値

群 \ 年齢(歳)		20~24	25~29	30~34	35~39
		M±SD	M±SD	M±SD	M±SD
A		n=2	n=8	n=3	n=0
	E <sub>1</sub>	49.7±37.6	106.1±57.0	74.1±11.7	
	E <sub>2</sub>	61.3± 3.2	108.7±81.5	63.3±22.0	
B		n=9	n=10	n=8	n=0
	E <sub>1</sub>	83.1±42.4	64.9±66.6	51.8±53.2	
	E <sub>2</sub>	60.4±33.7	63.7±42.5	23.6±12.7	
C		n=11	n=17	n=10	n=3
	E <sub>1</sub>	40.8±33.1	72.3±69.5	45.3±30.4	37.9±28.6
	E <sub>2</sub>	49.2±28.8	45.9±40.8	41.8±33.0	61.0±35.7
D		n=0	n=6	n=11	n=4
	E <sub>1</sub>		33.4±30.6	38.6±35.3	26.1±15.8
	E <sub>2</sub>		14.7±13.5	39.2±19.7	51.1±49.3
	E <sub>3</sub>		4.0± 3.5	26.0±33.2	18.1±17.9

が低かったこと、C 群の35~39歳群が B 群の20~24歳群と25~29歳群に匹敵する E<sub>2</sub> 値を示したことが注目された。

4. estrogen 濃度と無月経期間との関係

1) 無月経第1度

無月経第1度では血中 estrogen 値と最長無月経期間との関係は図3に示すようであった。E<sub>1</sub> では最長無月経時間の長短はその値と無関係である。E<sub>2</sub> では A 群, B 群間で無月経期間が長期であるほど低値傾向を認めた。この傾向を比較するのにより妥当な方法として今回 E<sub>1</sub>+E<sub>2</sub> 値を算出したところ、A 群 182.2±94.6 pg/ml (n=13), B 群 117.0±73.1pg/ml (n=25) で、両群間に有意の差 (0.05>p>0.02) があることが示された(図4)。E<sub>3</sub> については A 群, B 群間に差はなかった。

2) 無月経第2度

無月経第2度の症例における測定値の分布を示したの

が図5であり、さらに無月経期間との関係を1年以内と1年以上とに区分して示したのが表4である。C 群では無月経期間1年以下と1年以上の両者間で E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> 値に有意差はなかった。D 群では E<sub>2</sub> 値で1年以下 38.2±31.5pg/ml, 1年以上 23.5±18.3pg/ml と後者が低値を示したが、E<sub>1</sub>+E<sub>2</sub> 値をとると、それぞれ 63.7±34.9pg/ml, 69.2±44.9pg/ml で両者間に有意差はなかった。以上のことから、無月経第2度の C 群, D 群では無月経期間の長短と estrogen 値とは無関係であるという結果を得た。

5. estrogen 濃度からみた A, B, C, D 4群の病態

A, B, C, D 4群における E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> 濃度の平均値とその標準偏差を一括表示し(表5)同時にこれを図示した(図6)。A 群では E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> 値とも他の3群に比べて高値を示した。B 群, C 群では E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> 値ともに両者間に著明な差がないことが注目された。D 群では E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> 値は他の3群に比べて低値を示した。

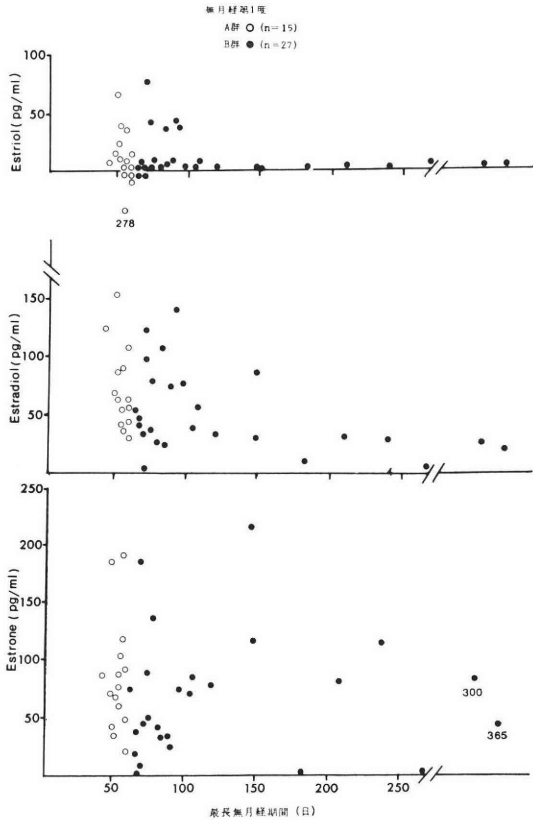


図3 無月経第1度における estrogen 値と無月経期間 (A群およびB群)

次に月経の有無と血中 estrogen 濃度との相関について調べた。子宮内膜に対するホルモン作用は個々の estrogen の発揮する生物活性の総和によって左右されるので, estrogenic potency を Allen-Doisy test<sup>2,3)</sup> に従って,  $E_1:E_2:E_3=100:1200:15$  として total estrogenic activity をとつて, 各群における活性総量を比較したのが図7である。この結果から, A群, B・C群, D群の順に血中 estrogen 値が低く, B群, C群間には差がないことが明らかにされた。

### V 考 案

#### 1. 血中 estrogen 値の正常範囲

当院での血清 estrogen 3分画の正常範囲は高値を示す排卵期を除く卵胞期, 黄体期では  $E_1$  31~143 pg/ml,  $E_2$  34~223pg/ml,  $E_3$  10pg/ml 以下である。

1回測定値の  $E_1$  および  $E_2$  値がそれぞれいわゆる正常範囲内にあつたものの割合を各群について調べたのが表6である。この表からも, 血中  $E_1, E_2$  値は月経障害の程度におよそ反映していると解釈出来る。

#### 2. estrogen 濃度から見た A, B, C, D 4群の病態

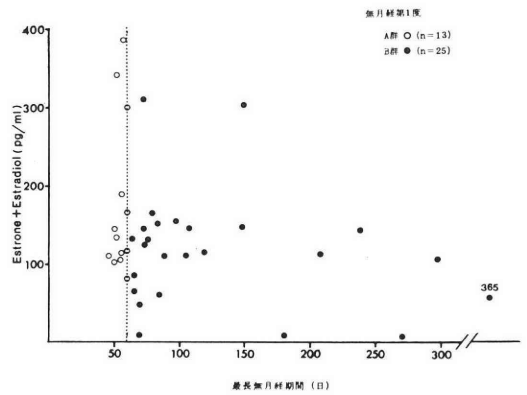


図4 無月経第1度における無月経期間と血中  $E_1+E_2$  値との関係

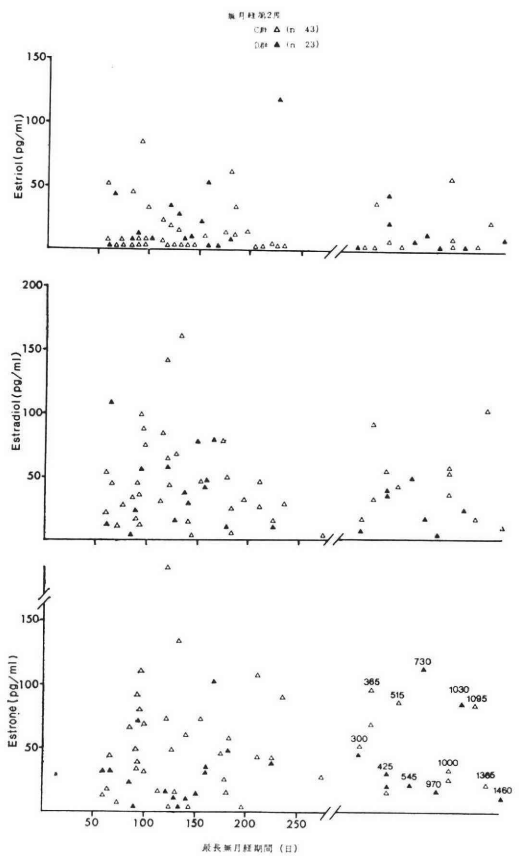


図5 無月経第2度における estrogen 値と無月経期間 (C群およびD群)

の分析

#### 1) 無月経第1度

これらの症例は WHO 分類<sup>4)</sup>の Group II (normogonadotropic, clomiphene-positive amenorrhea) に相当したもので, gonadotropin 値が正常範囲内にあつ

表 4 無月経第 2 度における最長無月経期間と estrogen 値

群	1 年以下			1 年以上		
	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>
C 群	n=36 57.0±55.6	46.9±36.4	12.7±20.3	n=6 49.2±35.4	53.1±28.2	10.8±12.0
D 群	n=15 32.2±27.2	38.8±31.5	21.0±30.8	n=6 45.8±42.6	23.5±18.3	10.3±12.0

群	E <sub>1</sub> +E <sub>2</sub>		E <sub>1</sub> +E <sub>2</sub>	
	C 群	n=36 104.9±82.4		n=6 101.4±27.0
D 群	n=15 63.7±34.9		n=6 69.2±44.9	

表 5 A, B, C, D 4 群の estrogen 値

群	症例数	核体数	E <sub>1</sub> (M±SD)	E <sub>2</sub> (M±SD)	E <sub>3</sub> (M±SD)
A	13	15	90.0±49.7	92.3±66.6	14.9±19.7
B	27	27	67.2±54.3	51.8±36.8	11.1±19.8
C	41	43	57.0±53.5	47.6±35.5	12.5±19.2
D	21	23	36.1±31.8	34.0±28.7	18.0±26.9

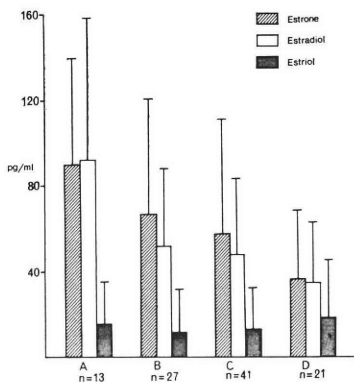


図 6 A, B, C, D 4 群の E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> 値

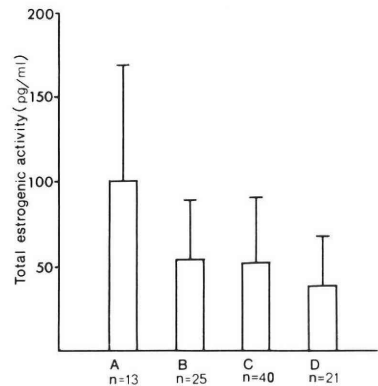


図 7 A, B, C, D 4 群の血中 estrogen 活性

て、その分泌パターンは fluctuating を示す症例である。しかし、前回の報告で検討したように<sup>1)</sup>、無月経が短期の A 群と長期の B 群との間には FSH と LH の濃度についてその差を明らかに認めることが出来なかつたにも拘らず、今回の estrogen 値に関する検討からは、E<sub>1</sub> 値では明らかではないが、E<sub>2</sub> 値については両群間に有意の差 (0.1>p>0.05) が認められたことは特記すべきことと考えたい (図 6)。すなわち、gonadotropin がまだ fluctuating な動態を示す症例において

も、estrogen の低値傾向が窺われる。このことは progesterone に対し陽性の反応性を示す、比較的軽度とされる無月経例においても、無治療下の長期間放置は卵巣からの estrogen 分泌量の低値化となつて重症度を増すのかも知れない。この成績は柳沼ら<sup>2)</sup>の放置による病態の進展に関する見解を支持するものと考えられた。病態のこのような進行については、前述したように採血時までの無月経期間の長短が estrogen 濃度に与える影響も度外視出来ないとは言え、最長無月経期間が長期の症例



表 6 estrogen が正常範囲にあつたものの割合とその百分率

群	A	B	C	D
正常値 (pg/ml)				
E <sub>1</sub> (31~143)	12/15 80.0%	18/26 69.2%	26/42 61.9%	11/23 47.8%
E <sub>2</sub> (34~223)	13/15 86.7%	16/26 61.5%	24/43 55.8%	11/23 47.8%
E <sub>3</sub> (10>)	8/15 53.3%	22/27 81.5%	27/43 62.8%	14/23 60.9%

では E<sub>2</sub> が低値傾向を示したことに表われていると解釈出来る (図 4)。

## 2) 無月経第 2 度 (C 群と D 群)

これらの症例は病因の異なる 2 群を含むので, estrogen 値の差は病因の差を反映している。

まず C 群についてみると, FSH 値<sup>1)</sup>, E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> 値には B 群との相異が明らかではないことが, 特に注目される。私達の得た成績は植村ら<sup>9)</sup> が中枢性障害例の第 2 度無月経では第 1 度無月経よりも E<sub>2</sub> 値が有意に低いとする報告とは異なる結果であつた。すなわち, 今回の調査では中枢性障害による第 2 度無月経である C 群の E<sub>2</sub> 値は無月経期間 60 日以下の A 群との間では有意の差 (0.02 > p > 0.01) を認めているが, 無月経期間が 60 日以上である B 群との間には有意差はなかつた。このことは progesterone 投与後の消退出血を指標とする無月経第 1 度の中には少なくとも無月経期間の長短の差に基づくホルモン環境(とくに estrogen) の差があると見做される。さらに B 群, C 群では E<sub>2</sub> 値は近似で, しかも total estrogenic activity が極似する B, C 2 群間で progesterone 投与後の消退出血の有無の決定因子として estrogen 濃度が最大のものであるとする従来の見解とは異なる結果が出たことは特記すべきことと考えられる。植村ら<sup>9)</sup> は血中 E<sub>2</sub> 値は出血の有無をよく反映するとし, 川越ら<sup>7)</sup> もまた無月経第 2 度 (type-2) では gonadotropin 低値, E<sub>2</sub> 低値であると報告しているが, 平野ら<sup>8)</sup> は第 2 度無月経中, 中枢性無月経の 50% 以上の症例では正常の (尿中) estrogen 値を示したという。このような報告者による相違の理由を十分に説明出来ないで, ホルモン環境の変動様態については対象の選択を始めとして問題点が解決されたとは言えず, 更に多数例についての観察が必要であると考えられた。

さらに C 群 (中枢性), D 群 (卵巣性) との比較では両者の E<sub>2</sub> 値には差があつて D 群で低い。この結果は松本<sup>9)</sup> が尿に発表している。D 群の E<sub>2</sub> 値は 34.0 ± 28.7 pg/ml であつた。この値は自然の排卵過程

で機能する feedback 機構の維持に関与する E<sub>2</sub> の正常下限値はおおよそ 30 pg/ml であるとする見解<sup>4)</sup> を支持するものと考えられる。

臨床的には progesterone test が陰性の無月経第 2 度では clomiphene が無効であるとされており, 著者らの C 群がこれに相当する。しかし, 無月経第一度の一部の症例に見られる clomiphene に対する反応性の欠如の問題を含め薬剤に対する反応性と estrogen 値との関係について不明の点が多い。

## 3) 子宮内膜のホルモンに対する反応性

progesterone test は現在でもなお簡便, 有用な検査として臨床的意義をもつが, 今回の調査では続発性無月経をまず progesterone test に対する反応性の有無によつて陽性群, 陰性群に分け, さらに前者を無月経期間の短期群 (A 群) と長期群 (B 群), 後者を FSH 非高値群 (C 群) と FSH 高値群 (D 群) に分類した。前述したとおり, B 群と C 群とで estrogen 濃度は同水準にあることが判明し, この事実から子宮内膜は同程度に priming されていると推測することが可能であるにも拘らず, progesterone 投与に対する反応を消退出血を【指標として判定した場合, 異なる 2 つの様態があつた。以上のような調査結果から見て消退出血の有無を従来のように estrogen 量の多寡のみによつて説明することには無理があること, 子宮内膜からの出血には他の諸因子の関与を考える必要があることを強調したい。

## 文 献

- 1) 中居光生, 馬恒恒雄, 渥美正典, 新井正夫: 無月経環境時の random sampling によるスクリーニング測定値の臨床評価 その 1 血中 gonadotropin 値。日不妊会誌, 27: 233, 1982.
- 2) Allen, E, and Doisy, E. A.: An ovarian hormone; preliminary report on its localization, extraction and partial purification, and action in test animals. J. Am. Med. Assoc., 81: 819, 1923.
- 3) Fieser, L. F. and Fieser, M: Steroids p. 477, Reinhold Pub. Corp. New York, 1959.

- 4) WHO. Agents stimulating gonadal function in the human. Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser. No 514, 5, 1973.
- 5) 柳沼 恣, 小林拓郎: ストレス性無月経の診療, 日産婦誌, 30: 399, 1978.
- 6) 植村次雄, 高口二郎, 鈴木直行, 塩島令儀: 正常月経周期婦人及び排卵障害婦人における血中 estradiol 値について. 日産婦誌, 29: 707, 1977.
- 7) 川越慎之助, 広井正彦: 正常ならびに各種月経異常における gonadotropin の基礎分泌パターン. 日産婦誌, 31: 1275, 1979.
- 8) 平野睦男, 青葉久夫, 吉田 威: Kupperman 試験と無月経婦人の各種尿中 hormone 排泄量の検討. 日不妊会誌, 17: 159, 1972.
- 9) 松本清一: 月経異常に関する研究, 第 14 回日本産科婦人科学会総会宿題報告, 日産婦誌, 14: 523, 1962.

Clinical evaluation of single, random measurements of serum estrogens in patients with anovulatory disturbances.

**Mitsuo Nakai, Tsuneo Majima,  
Hideki Tatsumi and Masao Arai**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Kitasato University School of Medicine

Retrospective study of the values of serum estrogens obtained by single random measurements revealed the following results:

1. Single value of serum estrogens was found useful as an index of the severity of the disease in evaluating patients with secondary amenorrhea.

2. In patients who responded to progesterone administration with withdrawal bleeding, the longer duration of amenorrhea was accompanied by the lower value of estrogens.

3. In this study, no correlation was found either positive or negative response to progesterone and the estrogen concentration in a group of patients who showed low and/or normal gonadotropin concentration.

(受付: 昭和59年1月18日)

## POSITIVE FEEDBACK OF ESTROGEN IN AMENORRHEIC WOMEN WITHOUT LH PULSE

Tsutomu YAGINUMA, Toru TAKEUCHI, Osamu NISHII,  
Takashi OKAMURA and Takuro KOBAYASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty  
of Medicine, University of Tokyo, Mejirodai

---

**Abstract:** Twenty-five amenorrheic patients aged 18 to 34 yrs were investigated for LH pulse and the positive feedback of estrogen. Blood samples were collected at the 20 min-interval for 2 hrs, and 1 to 2 times daily for 5 days after the intramuscular injection of 5 mg of estradiol valerate in oil. LH pulse was defined as a rise of at least 5 mIU/ml in the 20 min-interval or a fall of 5 mIU/ml or more over the interval of 40 min or more. LH pulse was found to be reflected by mean serum LH levels of 7 samples rather than the coefficient of variation. All of 16 patients with LH pulse were found to show progesterone-induced bleeding and the positive feedback of estrogen. LH pulse was not found in 9 patients. It was noted that 5 of them showed the positive feedback of estrogen. Thus, the possibility of the cyclic center in the brain is proposed to humans as shown in rodents.

(*Jap. J.Fert. Ster.* 29(3), 376-381, 1984)

---

### Introduction

That pituitary release of LH is regulated by two centers in the hypothalamus, a tonic center responsible for the basal level of circulating LH and a cyclic center responsible to the positive feedback of estrogen followed by the surge of LH has been shown in the study of rodents and useful in the interpretation of physiological and pathological states of the reproductive function of women. Recently, Knobil's group<sup>1,2)</sup> has demonstrated that estrogen exerted the positive feedback action at the pituitary and the action was abolished by the lesion of medial basal hypothalamus, reducing blood LH to undetectable levels and re-established by the chronic pulsatile administration of LH-RH in monkeys. These results suggested that the probable pulsatile release of LH-RH was essential for the positive feedback of estrogen in primates. Thus, the cyclic center of the hypothalamus proposed to rodents for the mechanism in the

positive feedback of estrogen seemed to be unnecessary for interpreting the mechanism in primates.

In humans, the chronic intermittent administration of LH-RH to hypothalamic amenorrhea has been demonstrated to cause ovulation<sup>3-7)</sup>. These give a partial support to the demonstrations of Knobil's group, but no negation to the presence of the so-called cyclic center in the hypothalamus. Therefore, the present study was undertaken to ascertain whether estrogen can exert its positive feedback action in women with no pulsatile release of LH, that is, the possibility of the cyclic center.

### Materials and Methods

Twenty-five amenorrheic patients aged 18 to 34 were investigated for pulsatile fluctuations of blood LH levels (LH pulse) and the positive feedback of estrogen. Women with hyperprolactinemia, anorexia nervosa

and primary ovarian hypofunction indicated by mean serum LH levels of 50 mIU/ml or more were excluded. Blood samples were collected at the 20 min-interval for 2 hours from an indwelling heparinized catheter inserted into a cubital vein. Immediately after the last sampling, 100  $\mu$ g of LH-RH was injected through the catheter and a blood sample was taken 30 min later. Then, 5 mg of estradiol valerate in oil was intramuscularly injected and blood samples were collected 1 or 2 times daily during the next 5 days. The sera were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the assay of LH.

LH was measured by specific radioimmunoassay (RIA) using LH Daiichi kit. In our laboratory, the inter- and intraassay coefficient of variation (CV) of LH-RIA were 6.8 and 5.2 %, respectively. Mean serum LH levels (of 7 samples) and the CV were calculated.

LH pulse was preliminarily shown to have a characteristics of a abrupt rise followed by a slow fall and frequency of one every 1.5 to 2 hours in the time-course of serum LH concentrations of the early and mid follicular phase of normal women. Thus, LH pulse was determined by the finding of (1) an abrupt rise in a 20 min-interval or a slow fall over an interval of 40 min or more and (2) an amplitude of 5 mIU/ml or more in the rise or fall. Such definition could detect LH pulse in the follicular phase of all of 10 normal women during the observed period of 2 hours.

The patients were examined for withdrawal bleeding following the intramuscular administration of 125 mg of hydroxyprogesterone caproate in oil before or 4 to 5 weeks after the present investigation.

## Results

All amenorrheic patients responded to LH-RH with great variation. Serum LH levels 30 min after LH-RH seemed to be relatively high in patients with LH pulse as compared to those in patients of the absence of LH pulse with or without the positive feedback of estrogen. But no significant differences were found among these levels after LH-RH.

Fourteen (approximately 93 %) of 15 patients with mean serum LH levels above 13 mIU/ml had LH pulse, while 8 (80 %) of 10 patients with mean serum LH levels below 13 mIU/ml had no LH pulse (Table 1). Sixteen (approximately 84 %) of 19 patients with CV above 10 % had LH pulse, while 5 (approximately 71 %) of 7 patients with CV below 10 % had no LH pulse.

All of 16 patients with LH pulse showed progesterone-induced bleeding and the positive feedback of estrogen, in whom mean serum LH levels were above 13 mIU/ml except 2 patients (means of 8.6 and 10.9 mIU/ml, respectively) (Table 1) (Fig. 1)

LH pulse was not found in 9 patients, in whom mean serum LH levels were less than 13 mIU/ml except a patient (means of 16.2 mIU/ml). Three of them showed progesterone-induced bleeding and the remaining did not. One of the former (Fig. 2) and 4 of the latter (Fig. 3) (approximately 56 % of patients without LH pulse) showed the positive feedback of estrogen and the remaining did not (Fig. 4).

Conversely, the positive feedback of estrogen was found in 21 (84 %) of 25 patients investigated. In 5 (approximately 24 %) of them, LH pulse was not found. Their mean serum LH levels were 8.3 to 16.2 mIU/ml (Table

Table 1 Endocrinological data of patients investigated.

	No. of patients				
	(+)	(-)		(-)	
LH pulse	(+) 16	(-) 9			
Progesterone-induced bleeding	(+) 16	(+) 2	(-) 6		
Positive feedback of estrogen	(+) 16	(+) 1	(-) 2	(+) 4	(-) 2
Mean LH levels(mIU/ml)	8.6	12.4	4.7	8.3	4.2
	10.9		8.6	9.6	9.9
Others 13 to34				12.9	
				16.2	

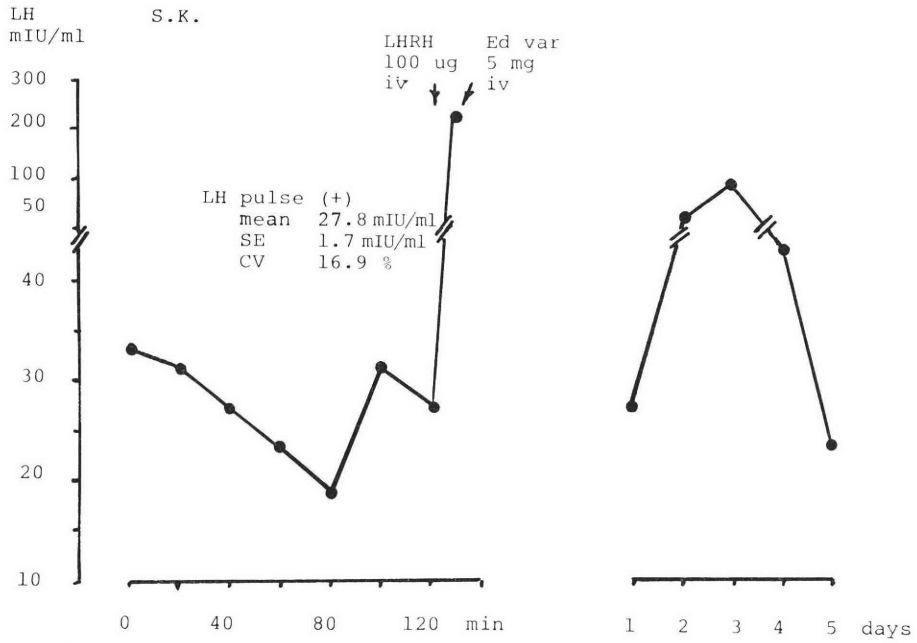


Fig. 1 Time-course of serum LH levels in a patient with LH pulse and the positive feedback of estrogen. An 18-yrs-old, unmarried patient with secondary amenorrhea for 17 months and progesterone-induced bleeding.  
 Ed var : estradiol valerate.

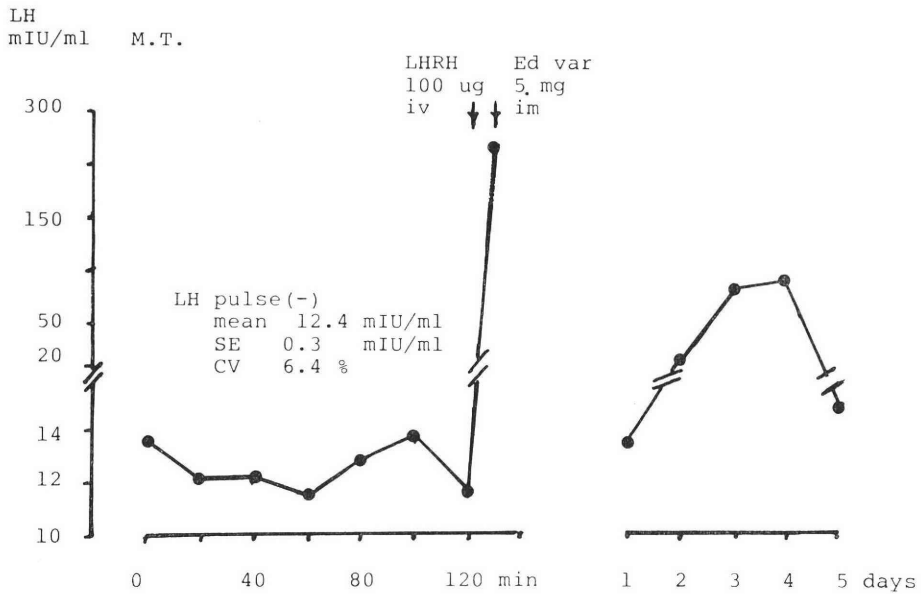


Fig. 2 Time-course of serum LH levels in a patient without LH pulse, but with the positive feedback of estrogen. A 24-yrs-old, unmarried patient with secondary amenorrhea for 5 months and progesterone-induced bleeding.  
 Ed var : estradiol valerate.

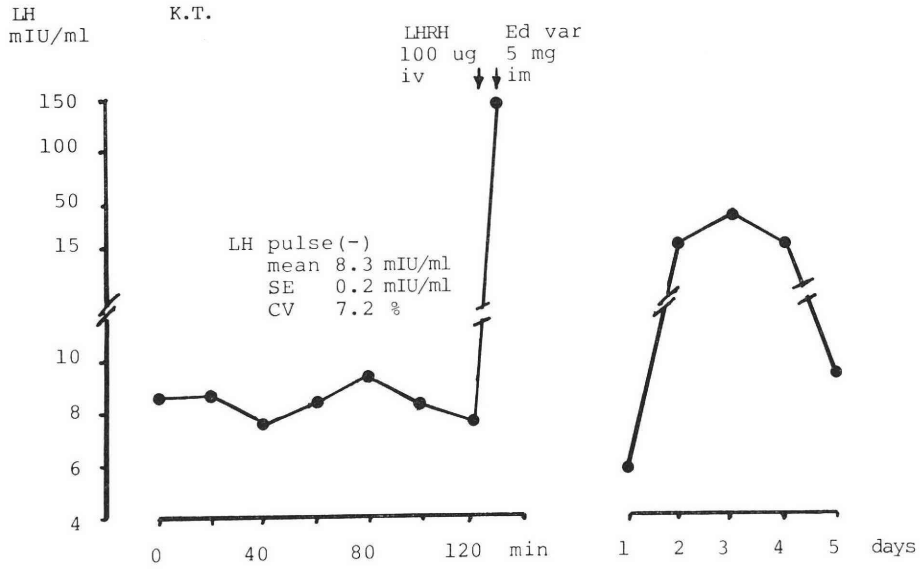


Fig. 3 Time-course of serum LH levels in a patient without LH pulse, but with the positive feedback of estrogen.  
A 21-yrs-old, unmarried patient with secondary amenorrhea for 11 months and no progesterone-induced bleeding.  
Ed var : estradiol valerate.

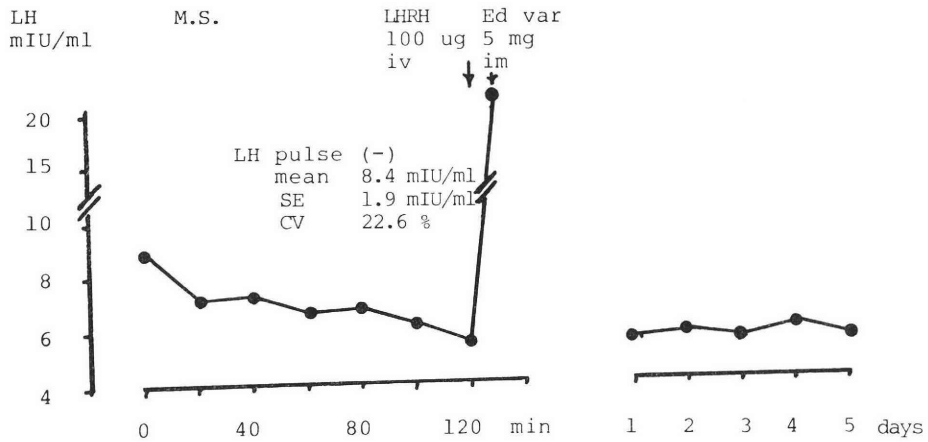


Fig. 4 Time-course of serum LH levels in a patient without LH pulse and the positive feedback of estrogen.  
A 20-yrs-old, unmarried patient with secondary amenorrhea for 12 months and no progesterone-induced bleeding.  
Ed var : estradiol valerate.

1). All of 18 patients with mean serum LH levels above 10 mIU/ml showed the positive feedback of estrogen, while 4 (approximately 57 %) of 7 patients with mean serum LH levels below 10 mIU/ml also did show it.

### Discussion

It was demonstrated that approximately 93% (14/15) of patients with mean serum LH levels above 13 mIU/ml had LH pulse, while 80 %

(8/10) of patients with mean serum LH levels below 13 mIU/ml had no LH pulse. Approximately 84% of patients with CV above 10% were found to have LH pulse, while approximately 71% of patients with CV below 10% no LH pulse. These indicate that LH pulse estimated by the present definition is highly reflected by mean serum LH levels rather than CV. This is accordant with reports of Yen et al<sup>8)</sup>, Wentz et al<sup>9)</sup>, and Strickler et al<sup>10)</sup>, using the different definition of LH pulse, indicating that the present definition is appropriate for finding out LH pulse.

LH pulse was found in 64% (16/25) of the amenorrhic patients investigated. All of patients with LH pulse showed progesterone-induced bleeding and the positive feedback of estrogen (Table 1). This seems to support in humans the hypothesis proposed by Knobil's group to primates that the pulsatile release of LH-RH is essential for the positive feedback of estrogen. Amenorrhea and anovulation in such patients may be interpreted by the inability to cause the increasing secretion of estrogen for LH surge.

However, it was noted in the present study that the positive feedback of estrogen occurred in 5 (approximately 56%) of 9 patients without LH pulse (3 of them were reconfirmed to have no LH pulse by the same method on the other day: these data were not shown in the present paper). Four of these patients had mean serum LH levels below 13 mIU/ml, reflecting the absence of LH pulse. Further, 4 of these patients were found to have no progesterone-induced bleeding, suggesting low levels in circulating estrogen in contrast with patients with both LH pulse and the positive feedback of estrogen. Amenorrhea and anovulation in such patients may be interpreted by the primary ovarian hypofunction in estrogen secretion, resulting in pituitary insensitivity to LH-RH, thus LH pulse being not caused in spite of the probable pulsatile release of LH-RH. The administration of estrogen may have improved the pituitary refractoriness to LH-RH, causing LH pulse and surge. However, the appearance of LH pulse after estrogen in such patients remains undetermined. Another explanation is the action of estrogen probably on the hypothala-

mus to cause LH-RH surge, independently of LH pulse as shown in monkeys by Neill et al<sup>11)</sup>. The site of the action of estrogen may be the cyclic center as in rodents.

### References

- 1) Nakai, Y., Plant, T. M., Hess, D. L., Keogh, E. J. and Knobil, E.: On the sites of the negative and positive feedback actions of estradiol in the control of gonadotropin secretion in the Rhesus Monkey. *Endocrinology* 102: 1008, 1978.
- 2) Knobil, E., Plant, T. M., Wildt, L., Belcheiz, P. E. and Marshall, G.: Control of the Rhesus Monkey menstrual cycle: permissive role of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science* 207: 1371, 1980.
- 3) Leyendecker, G., Struve, T. and Plotz, E. J.: Induction of ovulation with chronic intermittent (pulsatile) administration of LH-RH in women with hypothalamic and hyperprolactinemic amenorrhea. *Arch. Gynaecol.* 229: 177, 1980.
- 4) Crowley, W. F. and McArthur, J. W.: Stimulation of the normal menstrual cycle in Kallman's syndrome by pulsatile administration of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 173, 1980.
- 5) Shoemaker, A., Simons, A. H. M. Van Osnabrugge, G. J. C., Lutenburg, C. and Van Kessel, H.: Pregnancy following prolonged pulsatile administration of luteinizing hormone releasing hormone (LRH) in a patient with clomiphene resistant secondary amenorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 52: 882, 1981.
- 6) Keogh, E. J., Mallal, S. A., Giles, P. F. H. and Evans, D. V.: Ovulation induction with intermittent subcutaneous LH-RH. *Lancet* 1: 147, 1981.
- 7) Reid, R. D., Leopold, G. R. and Yen, S. S. C.: Induction of ovulation and pregnancy with pulsatile luteinizing hormone releasing factor: Dosage and mode of delivery. *Fert. Steril.* 36: 553, 1981.
- 8) Yen, S. S. C., Tsai, C. L., Naftolin, F., Vandenberg, G. and Ajabor, L.: Pulsatile patterns of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34: 671, 1972.
- 9) Wentz, A. C., Jones, G. S. and Sapp, K.: Pulsatile gonadotropin output in menstrual dysfunction. *Obstet. Gynecol.* 47: 309, 1976.
- 10) Strickler, R. C., Borth, R. and Wooever,

C. A.: The pulsatile pattern of gonadotropin release in normal men, normal women, and amenorrheic women. *Obstet. Gynecol.* 50: 340, 1977.

- 11) Neill, J. D., Patton, J. M., Daily, R. A., Tsou, R. C. and Tindall, G. T.: Luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) in pituitary stalk blood of rhesus monkeys: relationship to level of LH release. *Endocrinology* 101: 430, 1977.

### LH pulse の無い無月経婦人における Estrogen positive feedback の存在

柳沼 忍, 竹内 亨, 西井 修

岡村 隆, 小林拓郎

東京大学医学部附属病院分院産婦人科

25人の無月経婦人について, LH pulse と Estrogen

positive feedback (Epf) の有無を検索した. LH pulse のために, 静脈に挿入した留置カテーテルから, 20分毎に7回の採血をした. Epf のためには, 5 mg の Estradiol valerate (油性) を筋注後, 5日間毎日1~2回の採血をした. LH pulse は20分間に5 mIU/ml 以上のLHの上昇又は40分間以上において5 mIU/ml 以上の下降が認められた場合に, 存在するとした. LH pulse が認められた16人の患者の全ては第I度無月経であり, しかもこれら全てに Ept が出現した. 特に今回注目されたのは, LH pulse を有しなかつた9人の患者中5人に Epf が認められたことであつた. 後者の結果は, 猿において最近示された, LH-RH pulse の存在が Epf 存在のために必須であるという見解 (Knobil ら) に反する. すなわち, LH surge の調節機構は, ヒトと猿において異なることが示唆される.

(受付: 昭和59年3月13日特掲)



## 精子・頸管粘液貫通試験モデルを使用した 頸管粘液貫通精子と不妊症の関連

*In Vitro* Study of Human Spermatozoa after Passage  
through Cervical Mucus; New Sperm-cervical  
Mucus Penetration Test

東北大学医学部産科学婦人科学教室

桃野 耕太郎 星 和彦 斉藤 晃  
Kotaro MOMONO Kazuhiko HOSHI Akira SAITO  
京野 広一 対木 章 星合 昊  
Koichi KYONO Akira TSUIKI Hiroshi HOSHIAI  
鈴木 雅洲  
Masakuni SUZUK

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tohoku University School of Medicine

頸管粘液 (CM) を貫通する前及び貫通後の精子動態変化を不妊現象と関連させて検討する目的で *in vitro* 精子・CM 貫通実験モデルを製作して使用してみた。

1) CM 貫通し得た精子は不妊症及び control の如何にかかわらず、90%以上の形態学的正常精子および運動率であった。

2) ヒト生殖には CM 貫通前後で平均 $30.0\mu\text{m}/\text{sec}$  とほぼ不変の精子運動速度を要し、同時に2時間経過で $20\sim 88\times 10^4/\text{ml}$  の CM 貫通精子を必要とする。

3) Kremer test が良好でも CM 貫通精子数が減少している例が不妊 couple に多い。

4) 1時間経過での精液・CM 境界面への精子衝突数が control と同値でも CM 貫通精子数が減少している原因不明不妊 couple があり免疫不妊と考えられた。

以上の事が確認され、この実験モデルの不妊症を検討する上での有効性がうかがえた。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 29(3), 382-389, 1984)

### 緒 言

頸管粘液 (以下 CM と略す)・精子適合試験は不妊症検査の一つとして重要であり、現在この検査法には *in vivo* の性交後検査 (post coital test: PCT, Hühner test<sup>1)</sup>) と *in vitro* での Kremer test<sup>2)</sup>, Miller-Kurzrock test<sup>3)</sup>がある。

腔内に射出された精子は精液中より CM 中に貫入し、頸管を通過し子宮腔内・卵管内と進み成熟卵の待つ卵管膨大部に達する。このようなヒトの受精にいたる過

程を考慮すると、受精にとって意味のあるのは CM 内に入った精子ではなく、CM を貫通していく精子である。従つて Kremer test, Miller-Kurzrock test よりも Hühner test の方が診断的価値が高いと思われる。しかし Hühner test は *in vivo* のため施行法及び判定法に一定の見解がない。そこで我々はより生体に近い方法として *in vitro* で Hühner test に匹敵するモデルを諸家の報告<sup>4,5)</sup>から修正考案し、CM 貫通前・後の精子動態と不妊現象の関連、および不妊症検査法としての有用性を検討してみた。

方法・材料<sup>6)</sup>

直径 60mm の Petri dish 内に約 0.5ml の十分液化された精液と正確に測った 0.25ml の培養液を約 2cm はなして置き、その間を CM で満たした flat capillary tube (Vitro Dynamics, Rockaway, N. J.) で橋わたしをした。Tube は断面が 0.4×0.4mm で長さはヒトの頸管の長さ当たる 2.5cm とした。このセットをすべてミネラルオイルでおおい (図 1), 37°C 5%

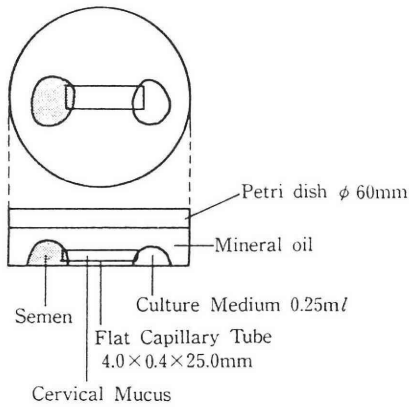


図 1 精子・頸管粘液貫通試験モデル

CO<sub>2</sub> incubator 内で静置し経時的に精液中から CM を貫通し培養液中に移行してきた精子数、精子運動率、精子運動速度及び形態学的精子正常率を求めた。これら精子動態の観察には正確を期するため Makler<sup>7)</sup> の exposer multiplephotomethod (EMP) を modified した写真撮影法 (図 2, 3) を位相差顕微鏡にセットして使用した。なお培養液には我々が受精実験で使用している modified BWW 液 (表 1) を使用した。



図 2 EMP 法写真装置

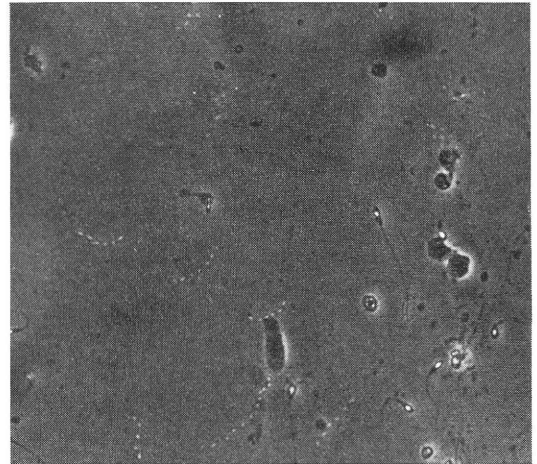


図 3 EMP 法による精子頭部の運動 (×200)

表 1 実験に用いた培養液 (mBWW 液) の組成

	g/l	mM
NaCl	4.910	84.00
KCl	0.356	4.78
CaCl <sub>2</sub>	0.189	1.71
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.162	1.14
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.294	1.19
NaHCO <sub>3</sub>	3.000	35.71
Na-pyruvate	0.028	0.25
Na-lactate	2.416	21.58 <sup>a</sup>
Glucose	1.000	5.56
Human serum albumin <sup>b</sup>	35.000	...
Antibiotics stck soln. <sup>c</sup>	1.0ml	...
mOsmol	308	

a DL-lactic acid, Na-salt (Sigma Chem., St. Louis, MO); 60% syrup, 3.68ml.

b Purified human serum albumin, Noritreated, (Sigma Chem., St. Louis, MO)

c 100,000 iu/ml K-penicillin G and 50mg/ml streptomycin sulfate in distilled water, stored frozen until use.

対象 couple とその精液分析および CM 性状 (表 2)

No. 1~9 が oligospermia, No. 10 が anovulatory cycle, No. 11 が卵管閉塞, No. 12~16 が原因不明不妊症,そして control の No. 17~21 は各々妊孕性のある男女を couple とした。精液は用手法にて採取し、十分液化した後 1 時間以内に分析し、使用した。CM は排卵期に子宮頸管より吸引採取し性状を観察後 4°C に保存、1 時間以内に検査に用いた。

精子の精液中運動速度は control 群の 20.7~31.4μm/

表2 各症例 Couple の精液分析と頸管粘液の性状

Case couple	Semen Analysis			Cervical Mucus	
	Conc. of sperm ×10 <sup>6</sup> /ml	Motility %	Speed of sperm M±SD $\mu$ m/sec	FLP	Spinnbar. mm
1	8	13.5	13.5± 8.2	卅	80
2	40	75.5	17.9± 8.0	卅	100<
3	92	21.0	14.5± 9.0	卅	60
4	65	45.1	12.1± 4.5	卅	100<
5-1	50	32.7	16.4± 8.6	卅	100<
5-2	38	43.0	18.9± 9.3	卅	100<
6	10	17.5	21.4± 7.5	卅	100<
7	8	6.3	15.3± 9.0	卅	100
8	29	43.4	24.7± 7.9	卅	100<
9	127	51.4	18.7±10.4	卅	100
10	65	66.0	23.4± 5.9	卅	100
11	198	60.7	26.4± 9.0	卅	100<
12	46	61.7	29.4± 9.4	卅	100<
13	159	78.4	23.8± 8.9	卅	100
14	104	74.2	18.1± 7.2	卅	100<
15	140	64.0	32.5± 7.8	卅	100<
16-1	40	57.4	28.9±10.9	卅	100<
16-2	55	54.2	30.6±10.4	卅	100<
Control					
17	69	75.4	31.4± 9.4	卅	100<
18	98	78.9	29.1± 4.8	卅	100<
19	95	66.5	24.4±10.7	卅	100<
20	66	61.5	20.7± 9.0	卅	100<
21	350	93.9	29.5± 8.9	卅	100<

1~9: Oligospermia (Motility ↓↓)  
 10: Anovulatory cycle  
 11: Tubal occlusion

12~16: Unexplained sterility  
 17~21: Control (Fertile couple)

sec (平均27.0±4.4 $\mu$ m/sec) に対し, oligospermia 群では12.1~24.7 $\mu$ m/sec. (平均17.3±3.8 $\mu$ m/sec.) と低値であった. 原因不明不妊群は 18.1~32.5 $\mu$ m/sec. (平均27.2±5.3 $\mu$ m/sec.) であり control 群と平均速度で差はなかつたが No. 14の様に数, 運動率とも正常でありながらも速度が遅い症例があつた事は注目された. CM のシダ状現象 (FLP) が排卵期でも (卅) の例は clomiphene 投与例であつた.

成 績

1. CM 貫通前及び貫通後4時間の精子の形態学的正常率比較 (図4)

No2, 3, 6, 8 の oligospermia 例の様に精液中の形態学的精子正常率が低率でも CM を貫通し培養液内に移行し得た精子は90%以上が生殖に意義があると考えら

れる形態的正常精子であつた. すなわち, どんな例でも CM を貫通し得た精子は90%以上形態的に正常である事が示唆された. なお10%は奇形精子であるが, その大部分が microcephalia 及び headless の精子であつた.

2. CM 貫通前及び貫通後4時間の精子運動率の比較 (図5)

同じく精子運動率の変化を CM 貫通前精液中と貫通後培養液中で検討してみると, CM 貫通後では4時間経過しても運動率は No.14の原因不明不妊症例を除きすべて90%以上であり, 主に運動良好精子が CM を貫通し得る事がわかる. control では CM 貫通前平均運動率75.2%で貫通後さらに96.6%と上昇, 不妊症群でも貫通前は47.3%と低率ながらも貫通後は93.5%と高率に改善した. これから運動精子のみが子宮腔内に CM を介して移行することが示唆された.

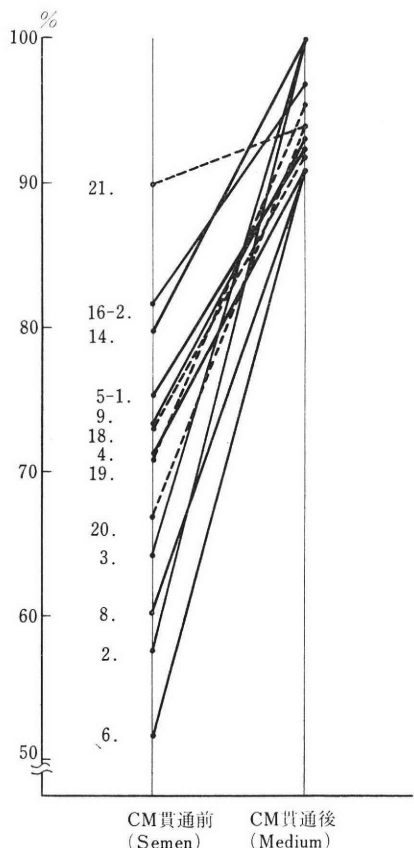


図4 CM 貫通前・後 (4 時間後) の精子形態学的正常率の変化

3. CM 貫通前及び貫通後 4 時間の精子運動速度の比較 (図6)

Control 群で CM 貫通前の精液中での平均精子運動速度は30.0 $\mu$ m/sec. であり, 貫通後 4 時間の培養液中の平均速度は 30.1 $\mu$ m/sec. とほぼ不変だった. これに対し全ての不妊症群では貫通前 26.0 $\mu$ m/sec., 貫通後 4 時間で23.9 $\mu$ m/sec. と低下しており, CM 貫通後における精子運動速度の維持も生殖に関係しているかもしれない. No. 15, 16は原因不明不妊症で免疫性不妊症<sup>23)</sup>と考えられた例であった.

4. 各症例の Kremer test 結果と CM 貫通後の培養液内移行精子数の経時的変化 (図7)

Kremer test の1, 2, 4時間後の経過を細・中・太線の長さで表現し, 各時間経過の培養液内移行 CM 貫通精子数を折れ線グラフで重ねて示した. 症例 No. 17~21 のcontrol では Kremer test で1時間月より100mm 以上の良好成績を示した. またこれらの症例の培養液内移行精子数の変化も Kremer test の結果を反映し, 2時間までは  $6 \sim 22 \times 10^4$  の増加が以後は急激な増加が特徴

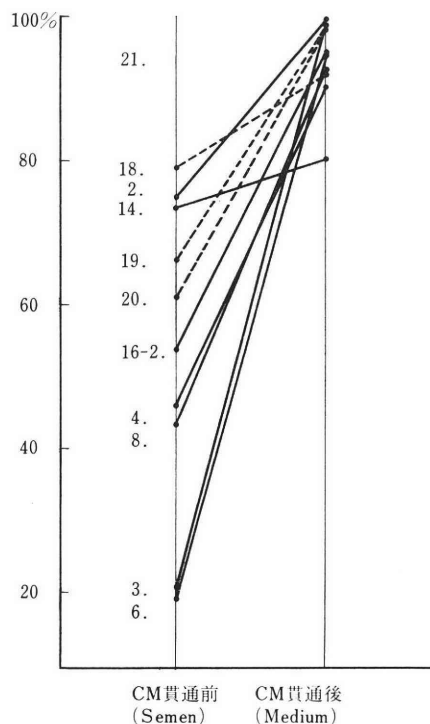


図5 CM 貫通前・後 (4 時間後) の精子運動率の変化

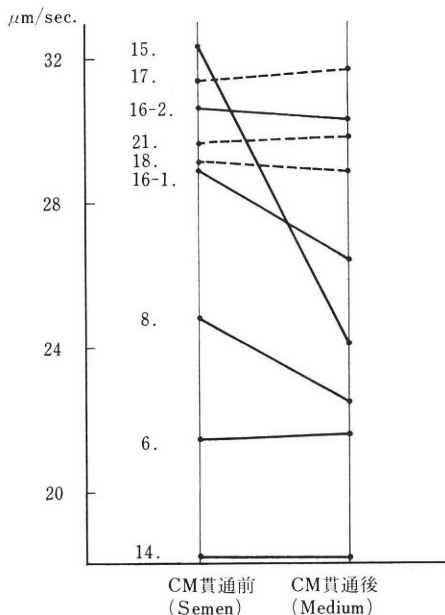


図6 CM 貫通前・後 (4 時間後) の精子運動 speed の変化

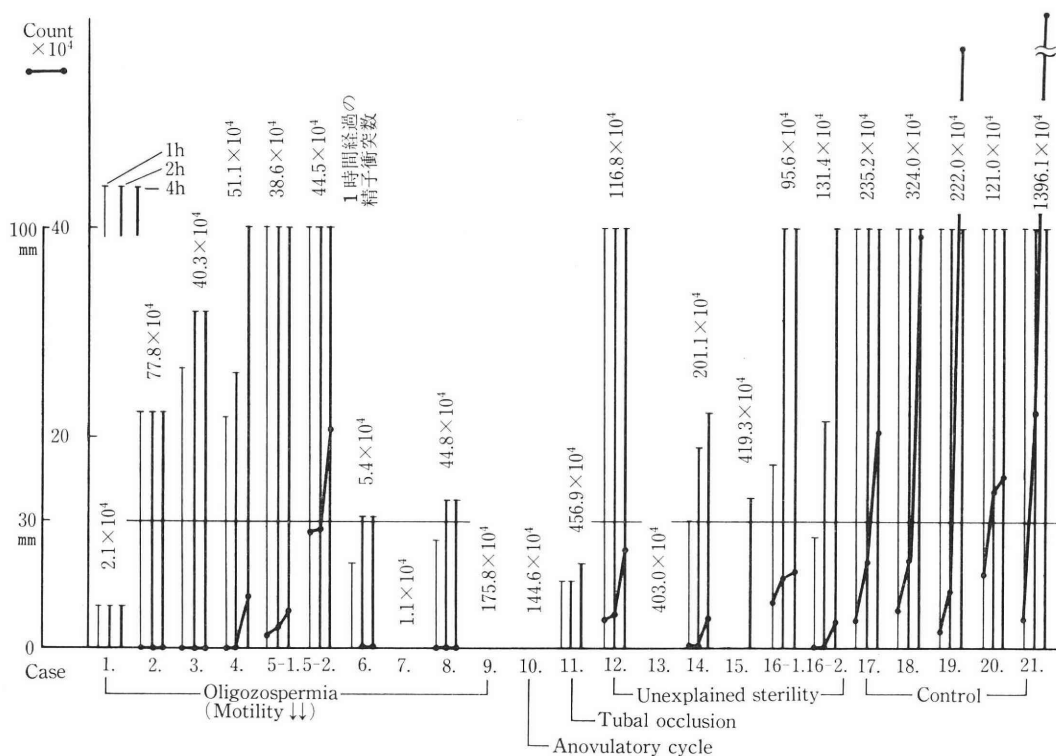


図7 各症例の Kremer test 経過と頸管粘液貫通・Medium 移行精子数の経時的変化および精液・頸管粘液境界面への1時間経過の精子衝突数

と思われた移行精子数変化が5例中症例 No.19を除いた4例に観察された。これに対し不妊症の16例中7例に1時間経過で30mm以上の良好 Kremer test 結果をみたが、移行精子数は control と異なり必ずしもこの結果を反映せずほとんど減少している。唯一、control と同様の成績を示した例は続発不妊症の2回目の検査結果(症例 No.5-2)であった。症例 No.7, 9, 10, 13は clomiphene 服用例であり、Kremer test は全例0mmで不良であった。

精液・頸管粘液境界面への1時間経過の精子衝突数を物理学的に計算上から求め<sup>4)</sup>、その値を図7の Kremer test の結果の上に表示した。No.17~21の control では  $121.0 \sim 1396.1 \times 10^4/h$  (mean  $\pm$  S. D.;  $459.7 \pm 528.4$ ) の精子衝突数に対し、No.1~16の不妊症群では  $1.1 \sim 456.9 \times 10^4/h$  (mean  $\pm$  S. D.;  $136.1 \pm 145.8$ ) であった。clomiphene 服用例を除き No.11, 14, 15は精子衝突数が control の範囲内にあるも CM 貫通培養液内移行精子数がこれに反映しない事がわかった。原因不明不妊症の No.15, 16は精子抗体の関与が考えられる症例で、No.15は血清中精子凝集試験<sup>9)</sup>及び精子不動化試験<sup>10)</sup>が陽性、No.16は精子凝集試験のみ陽性であった<sup>23)</sup>。

### 考 案

CM と精子との適合を検索する方法には、1913年 Hühner<sup>1)</sup> により確立された性交後試験に始まり、Kremer test<sup>2)</sup>、そして Miller-Kurzrok test<sup>3)</sup> 等が代表である。中でも *in vivo* の post coital test = Hühner test (P. C. T.) に臨床的価値があると考えられており、我々も CM を貫通し子宮腔内に移行した精子が生殖学的に意義があるとする。しかしこれまでの検査方法はその手技及び結果判定の不確かさが難点である。そこで今回、我々は比較的容易な *in vivo* P. C. T. モデルを考案し判定に一定の基準を設けてみた。

*In vitro* の CM・精子適合モデルを使用しての精子の受精及び capacitation の報告は Katz ら<sup>4)</sup>、Overstreet ら<sup>11)</sup>、そして伊熊ら<sup>5)</sup> のものがあるが、前二者の方法はテクニクの困難さと CM を貫通した移行精子の採取及び観察がむずかしい。伊熊らの方法は我々のそれと類似しているが、われわれの方法は CM 中の精子運動を観察し易い様にするため flat capillary tube を用いた点、各々精子数を計算上から正確に求めた点、さらに Makler の多重露出写真撮影法<sup>7)</sup> を応用した点が特徴である。この撮影法を利用した精子分析で CM 貫通

前の精液中では control 群と男性不妊症群で精子数はもちろんのこと運動率、精子運動スピードにも差がある事が判明した。Makler ら<sup>12)</sup>は control の精液中の平均運動速度は $30.3 \pm 5.5 \mu\text{m}/\text{sec.}$ 、運動率は肉眼的に検討した感覚より意外に低い事 ( $45 \pm 18\%$ ) が報告されているが、我々の方法では精液中の control 精子運動速度  $27.0 \mu\text{m}/\text{sec.}$ 、運動率  $75.2\%$  であり運動率では Makler の成績よりかなり良好成績であった。男性不妊症は  $17.3 \mu\text{m}/\text{sec.}$ 、 $34.9\%$ 、原因不明不妊症は  $27.2 \mu\text{m}/\text{sec.}$ 、 $65.0\%$  であり、この原因不明の中には精子数、精子運動率とも正常ながら運動速度が  $18.1 \mu\text{m}/\text{sec.}$  とかなり遅い速度の例もある事から、受精には精子数、精子運動率ともに精子運動速度も重要な因子であろう。さらにこれは CM 貫通前後でも特徴が確認された。すなわち control 3 例中 2 例が CM 貫通後が前より速度が増し、1 例は遅くなったが、ほぼ同値であり、原因不明不妊症では 4 例中 3 例が CM 貫通後明らかに速度が遅くなった事には興味があった。

生殖現象には正常精子が必要であり、当然 CM 内には正常形態精子が存在する<sup>13,14)</sup>。CM の形態学的正常精子及び運動精子を選択する作用は Perry ら<sup>15)</sup>、Hanson ら<sup>16)</sup>及び Davajan らの報告<sup>17)</sup>があり Perry らは形態的異常精子は CM 1 cm の位置で  $37.5\%$  に対し CM 3 cm の位置では  $11.1\%$  に減少したと報告した。Hanson らは cervical cup を使った AIH の方法で 1 時間目より 48 時間経過した方に正常精子が増加し、逆に異常精子が減少したと報告している。我々の結果では CM 貫通前の正常精子率がいかなる症例でも CM 貫通後では全て正常形態精子が  $90\%$  以上を示していた。なお CM を貫通し得た異常精子の形態はほとんど small head および headless 精子であった。

次に CM 貫通前後の精子運動率の変化についてみると control では精液中で  $75.2\%$  とさらに改善し、不妊症群でも  $47.3\%$  から  $93.5\%$  と運動率が CM 貫通後に高値になった。この事実は運動能力を持った精子のみが CM を貫通可能である事がわかる。Davajan ら<sup>17)</sup>は分画 post coital test にて外子宮口および内子宮口での運動率の変化を報告し、control 正常精子群は CM 中に進むほど運動率が高くなるが不妊症群では進むにつれて運動率が低下したと述べている。Hanson ら<sup>16)</sup>も精液中より CM 中の方が常に精子運動率が高いと報告しているが、Drake ら<sup>19)</sup>は外子宮口部と内子宮部で運動精子数は不変だったと述べている。我々は CM 中の精子運動率の変化については今回検討しなかったが、いずれにしても CM が運動性良好の精子のみを選択していることは十分考えられる。

Kremer test の時間経過と CM を貫通し培養液内へ移行した精子数を比較すると、control は全例 Kremer test 1 時間後ですでに  $100\text{mm}$  以上の良好成績であり、これを反映してこの群の培養液内への移行精子数は 2 時間経過で  $0.25\text{ml}$  培養液中  $5 \times 10^4$  ( $20 \times 10^4/\text{ml}$ )  $\sim 22 \times 10^4$  ( $88 \times 10^4/\text{ml}$ ) までの増加を、4 時間経過では  $16 \times 10^4$  ( $64 \times 10^4/\text{ml}$ ) 以上の CM 貫通培養液内移行精子数増加が認められた。これに対し不妊症群では、乏精子症の 9 組中 4 組が Kremer test 1 時間で  $30\text{mm}$  上昇以上の良好な結果を示すも CM 貫通培養液内移行精子数では 1 組を除き 3 例全て 4 時間経過後も  $5 \times 10^4$  ( $20 \times 10^4/\text{ml}$ ) 以下であった。また原因不明不妊 couple 5 組中 3 組で Kremer test 良好成績であったが、CM 貫通培養液内移行精子数を観ると 4 時間経過でも  $10 \times 10^4$  以上には達しなかった。これらの結果より Kremer test の成績は不妊症 couple をスクリーニングするには危険であり、我々の方法で CM 貫通培養液移行精子数を検討する方が不妊症の新たな知見が得られるものとする。Overstreet ら<sup>11)</sup>は我々と類似の CM colum を使用した実験系で、ヒト egg 周囲に  $2 \times 10^5/\text{ml}$  以上の CM 貫通ヒト精子濃度があつたとき、19 例中 14 例に精子の透明帯貫通があつたとの報告があり、精子の数で比較すると我々の成績では control 症例で 2 時間経過の CM 貫通培養液内移行精子数が  $20 \sim 88 \times 10^4/\text{ml}$  の成績であり一致する様であった。

1 時間経過までの精液・CM 境界面への精子衝突数と CM 貫通培養液内移行精子数を検討すると control では衝突数  $121.0 \times 10^4/\text{h}$  以上で移行精子数も経時的に増加している。原因不明不妊症では  $200.0 \times 10^4/\text{h}$  以上の衝突数があつて 4 時間の経過でも移行精子数は  $9 \times 10^4$  ( $36 \times 10^4/\text{ml}$ ) 以下であった。これらの原因不明不妊症の中に免疫学的不妊症の関与が血清中の精子抗体の検査よりうかがえた<sup>20)</sup>。CM 中の免疫グロブリンの測定及び CM 中の精子抗体の検査は報告<sup>10,20-22)</sup>されており、これによる精子の CM 貫通障害による不妊症は十分に考えることである。

以上、我々が考案した *in vitro* 精子・CM 貫通実験モデルは、CM を貫通し得た精子の動態を観察するのに有効であり、これらの精子は生殖現象に重要な働きをすることが示唆される。また、この方法を不妊症のスクリーニング検査に用いた場合は他の精子・CM の interaction test にくらべ明らかに不妊症の臨床像を反映していると考えられた。

本論文の一部は第 26 回日本不妊学会総会及び第 34 回日本産婦人科学会にて発表した

文 献

- 1) Hühner, M.: Journal of the American Medical Association., 107 : 1581, 1936.
- 2) Kremer, J.: A simple sperm penetration test. Int. J. Fertil. Steril., 10 : 209, 1965.
- 3) Miller, E. G. and Kurzrock, R.: Biochemical studies of human semen. III. Factor affecting migration of sperm through the cervix. Am. J. Obstet. Gynecol., 24 : 19, 1932.
- 4) Katz, D. F., Overstreet J. W. and Hanson F. W.: A new quantitative test for sperm penetration into cervical mucus. Fertil. Steril., 33 : 179, 1980.
- 5) 伊熊健一郎・他：試験管内受精実験による受精に対するヒト精子頸管粘液内通過の意義。日産婦誌, 32(9)第32回日産婦総会, 抄録集, 1980.
- 6) 桃野耕太郎・他：新しい精子・頸管粘液適合試験方法の試み。産婦人科の世界, 31 : 1417, 1982.
- 7) Makler, A.: A new multiple exposure photography method for objective human spermatozoal motility determination. Fertil. Steril., 30 : 192, 1978.
- 8) Kibrick, S., Belding, D. L. and Merrill, B.: Methods for the detection of antibodies against mammalian spermatozoa. II. A gelatin agglutination test. Fertil. Steril., 3 : 430, 1952.
- 9) Franklin, R. R. and Dukes, C. D.: Further studies on sperm agglutinating antibody and unexplained infertility. J. A. M. A., 190 : 682, 1964.
- 10) 磯島晋三：妊孕現象に関する免疫学的研究。日産婦第32回宿題報告要旨, 1971.
- 11) Overstreet, J. w. et al.: *In vitro* capacitation of human spermatozoa after passage through a colum of cervical mucus. Fertil. Steril., 34 : 604, 1980.
- 12) Makler, A. et al.: Sperm velocity and percentage of motility in 100 normospermic specimens analyzed by the multiple exposure photography method. Fertil. Steril., 31 : 155, 1979.
- 13) Botella-Llusia, J.: Measurement of linear progretion of the human spermatozoon as an index of male fertility. Intern. J. Fertil., 1 : 113, 1956.
- 14) Odeblad, E.: The functional structure of human cervical mucus., Acta Obstet. & Gynec. Scand., 47(suppl) : 58, 1968.
- 15) Perry, G., Glezermann, M. and Insler, V.: Selective filtration of abnormal spermatozoa by the cervical mucus *in vitro*, in Insler, V. and Bettendorf, G., Editor: The uterine cervix in reproduction, Stuttgart, 1977, George Thiem Verlage p. 118.
- 16) Hanson, F. W. and Overstreet, J. W.: The interaction of human spermatozoa with cervical mucus *in vivo*. Am. J. Obstet. Gynecol., 140 : 173, 1981.
- 17) Davajan, V. et al.: Spermatozoan transport in cervical mucus. Obstet. Gynecol. Surv., 25 : 1, 1970.
- 18) Davajan, V. and Kunitake, G. M.: Fractional *in vivo* and *in vitro* examination of postcoital cervical mucus in the human. Fertil. Steril., 20 : 197, 1969.
- 19) Drake, T. S. et al.: A reassessment of fractional postcoital test. Am. J. Obstet. Gynecol., 133 : 382, 1979.
- 20) Parish, W. E. et al.: The detection of antibodies to spermatozoa and to blood group antigens in cervical mucus. J. Reprod. Fertil., 13 : 469, 1967.
- 21) Parish, W. E. and Ward, A.: Studies of cervical mucus and semen from infertile women. J. Obstet. Gynecol. Brit. Cwlth., 75 : 1089, 1968.
- 22) Shulman, S. and Friedman, M. R.: Antibodies to spermatozoa. V. Antibody activity in human cervical mucus. Am. J. Obstet. Gynecol., 122 : 101, 1975.
- 23) 桃野耕太郎：当院の免疫性不妊症, 日本不妊学会東北支部総会抄録, 1980.

*In vitro* study of human spermatozoa after passage through ceavical mucus; New sperm-cervical mucus penetration test

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

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

Studies of human spermatozoa after passage through cervical mucus are important in reproductive phenomenon. The new sperm-cervical mucus penetration system for experiments was produced by us.

Fresh ejaculated semen and culture medium (modified BWW) were connected with flat capillary tube (2.5 cm length) that has been full of fresh crvical mucus. Spermatozoa that transfered to culture medium from seminal plasma were examined; percentage of motility,

mean swimming speed, and sperm morphology. The studies were examined in 16 infertile couples and 5 fertile couples. The number of motile sperm and their swimming speed were determined in the semen and medium by multiple-exposure photo method.

In two groups, the percentage of motile sperm and morphologically normal spermatozoa were always higher in the medium than in the semen. These results indicated cervical mucus has the ability to filter out abnormal sperm

selectively. The mean swimming speed at fertile group was constantly  $30.0\mu\text{m}/\text{sec}$  before and after passage through cervical mucus. Total numbers of spermatozoa from fertile group in medium were more than  $20 \times 10^4/\text{ml}$  at 2 hours. In the study on interaction of sperm with cervical mucus, our new sperm-cervical mucus penetration test seemed to be better than Kremer test.

(受付: 昭和59年1月19日)



# 当科における高年不妊患者の実態について

## Clinical Features of the Elderly Infertile Women in Our Fertility Clinic

藤田学園保健衛生大学第2教育病院産婦人科

高橋 正明 伊藤 誠 米谷 国男  
Masaaki TAKAHASHI Makoto ITO Kunio KOMETANI

Department of Obstetrics & Gynecology Fujita Gakuen  
University Hospital (Second Educational Hospital)  
(Director: Prof. Kunio Kometani)

当大学病院不妊外来における高年不妊患者の実態を把握する目的で病院開設以来約10年間に登録された不妊症患者773例中30歳以上の高年不妊患者236例について検討し次のような結果を得た。1) 高年不妊は全体の30.5%を占め、原発性高年不妊も25.8%と高率であった。2) 高年不妊例ほど受診までの期間が遅延する傾向がみられた。3) 不妊因子別にみると原発性では男性、卵管性、続発性では卵管性、内分泌性が多いことが注目された。4) 高年原発性不妊例の妊娠率は28.3% (対照30.6%) であった。5) 不妊因子別にみた妊娠率は卵管、機能性、頸管腔因子が良く、男性、子宮因子が不良であった。6) 流産率は18.9% (対照14.3%)、早産率は3.8% (対照1.2%) と両者とも高く、満期経産分娩は対照75.8%に比し64.2%と低率であった。7) 帝切率は16.3% (対照10.1%) ときわめて高率であった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 29(3), 390-393, 1984)

### 1. 緒言

厚生省が発表した昭和57年度の人口動態統計によれば、わが国における女性の平均初婚年齢は25.3歳と晩婚化が進んでおり、これ以上初婚年齢が高齢化することはあり得ないであろうと予測されている。結婚年齢の高齢化現象は産婦人科領域においても当然問題視されなければならない。殊に不妊症診療においては高年不妊患者が近時増加の傾向にあり、妊孕力の減衰期における挙児希望というハンディキャップを負ったこれらの高年不妊患者に対しては、その背景を十分考慮に入れて診療にあたる必要があると思われる。今回われわれは当大学病院開設以来10年間の不妊症登録患者における高年不妊婦人の実態について解析、検討を試みた。

### 2. 調査対象および方法

昭和47年6月より昭和57年12月までの約10年間に挙児希望を主訴として来院した患者のうち、何らかの不妊症検査、治療を行ったものを不妊症患者として登録し、そ

のうち初診時30歳以上を高年不妊患者とした。登録患者総数773例のうち30歳以上は236例であった。これを原発性、続発性不妊別にみるとそれぞれ138例、98例であった。これらの高年不妊患者について、(1) 原発性、続発性不妊の占める割合、(2) 年齢分布、(3) 受診に致るまでの不妊期間、(4) 不妊原因、(5) 妊娠頻度および不妊因子別にみた妊娠率、(6) 妊娠後などの項目に関して検討した。

### 3. 成績

1) 高年不妊患者における原発性、続発性不妊の占める割合

不妊症登録患者全例(773例)における高年不妊患者236例は全体の30.5%を占めていた。原発性および続発性不妊の割合は535例対238例(2.2:1)で原発性不妊の占める率が高かったが、高年不妊患者においては前述のように138例対98例(1.4:1)であり、原発性、続発性不妊患者の比率は接近していた。

2) 年齢分布(図1)

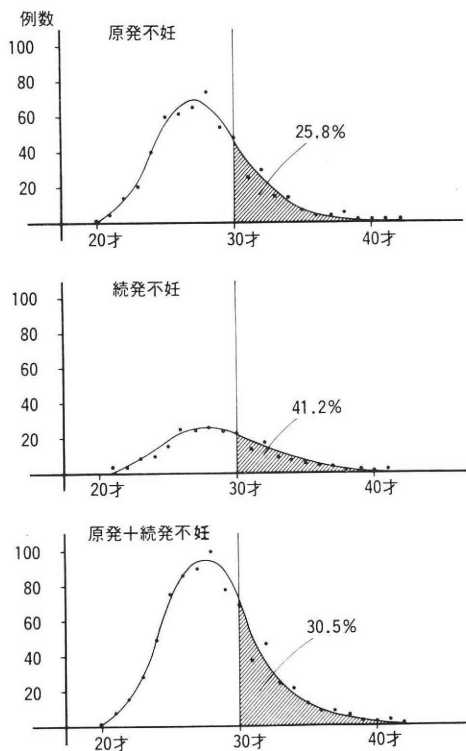


図 1 不妊患者初診時年齢分布

不妊症患者の初診時年齢分布は図 1 に示した通りである。年齢は 21~41 歳に分布し、25~28 歳に peak が見られたが、原発性および続発性不妊の平均年齢はそれぞれ  $27.9 \pm 3.59$  歳、 $28.9 \pm 3.66$  歳であった。30 歳以上の高年不妊患者の占める割合 (図の斜線部分) は原発性不妊では 25.8%、続発性不妊では 41.2% であり全体でみると 30.5% となり、全不妊症患者の約 1/3 が 30 歳以上の高年不妊であることが判明した。

3) 高年不妊患者の不妊期間 (表 1)

当科受診までの不妊期間について 30 歳未満の原発性、続発性不妊患者それぞれ 114 例および 54 例、計 168 例を対照として比較検討してみた。高年不妊患者では受診までの不妊期間が 2 年以上のものは 236 例中 201 例 (85.2%)

表 1 高年不妊婦人の不妊期間 (受診まで)

		~3カ月	~6カ月	~1年	~2年	2年~
高年不妊	原 発	0	1	3	10	130
	続 発	3	3	3	12	71
	原発+続発	3	4	6	22	201
対照 (30歳未満)	原 発	0	4	9	40	61
	続 発	1	2	5	21	25
	原発+続発	1	6	14	61	86

と高率であった。これに対して対照の 30 歳未満の不妊症患者では 2 年以上の不妊期間のものは 168 例中 86 例 (51.2%) であった。

4) 不妊原因 (表 2)

表 2 に示した通り、高年不妊患者の不妊原因中最も多いものは原発性不妊においては男性因子で、138 例中 44 例 (31.9%) を占め、次いで卵管性 138 例中 41 例 (29.7

表 2 不妊因子別にみた高年不妊婦人

不妊因子	高年不妊		対照 (30歳未満)	
	原発	続発	原発	続発
内分泌性	21/138 (15.2%)	21/98 (21.4%)	34/115 (34.8%)	15/55 (27.3%)
卵管性	41/138 (29.7%)	24/98 (24.5%)	28/115 (24.3%)	9/55 (16.4%)
子宮性	13/138 (9.4%)	11/98 (11.2%)	4/115 (3.5%)	1/55 (1.8%)
頸管・腔	22/138 (15.9%)	3/98 (3.0%)	7/115 (6.1%)	6/55 (10.9%)
機能性	28/138 (20.3%)	15/98 (15.2%)	20/115 (17.4%)	10/55 (18.2%)
男性	44/138 (31.9%)	14/98 (14.1%)	24/115 (20.9%)	4/55 (7.3%)
不明	17/138 (12.3%)	17/98 (17.2%)	14/115 (12.2%)	13/55 (23.6%)

%)、機能性 138 例中 28 例 (20.3%) の順であった。続発性不妊における不妊原因の順位は①卵管因子 98 例中 24 例 (24.5%)、②内分泌性 98 例中 21 例 (21.4%)、③機能性 98 例中 15 例 (15.2%) であった。これに対して対照の 30 歳未満の原発性不妊患者における不妊原因は、①内分泌性 115 例中 34 例 (29.6%)、②卵管性 115 例中 28 例 (24.3%)、③男性 115 例中 24 例 (20.9%) という順位であり、続発性不妊患者では、①内分泌性 55 例中 15 例 (27.3%)、②機能性 55 例中 10 例 (18.2%)、③卵管性 55 例中 9 例 (16.4%) であった。

5) 高年不妊患者の妊娠頻度 (表 3)

高年不妊患者 236 例中 72 例 (30.5%) に妊娠の成立をみた。これに対し 30 歳未満の不妊患者の妊娠率は 33.5%

表 3 高年不妊婦人の妊娠頻度

		妊娠数	妊娠率
高年不妊	原 発	39/138	28.3%
	続 発	33/98	33.7%
	原発+続発	72/236	30.5%
対照 (30歳未満)	原 発	120/392	30.6%
	続 発	57/137	41.6%
	原発+続発	177/529	33.5%

表 4 高年不妊婦人の不妊因子別にみた妊娠率

不妊因子	原発不妊	続発不妊	原発+続発
内分泌性	3/21 (14.3%)	6/21 (28.6%)	9/42 (21.4%)
卵管性	13/41 (31.7%)	13/24 (54.2%)	26/65 (40.0%)
子宮性	2/13 (15.4%)	1/11 (9.1%)	3/24 (12.5%)
頸管・腔	8/22 (36.4%)	1/3 (33.3%)	9/25 (36.0%)
機能性	10/28 (35.7%)	6/15 (40.0%)	16/43 (37.2%)
男性	8/44 (18.9%)	3/14 (21.4%)	11/58 (19.0%)
不明	0/17 (0%)	8/17 (47.1%)	8/34 (23.5%)

(529例中177例)であった。高年不妊患者の原発性および続発性不妊別にみた妊娠率はそれぞれ28.3%、33.7%であったのに対し、対照の30歳未満の原発、続発不妊患者の妊娠率はそれぞれ30.6%、41.6%であった。したがって高年不妊における妊娠率は対照に比し原発、続発性不妊ともに低かった。

6) 不妊因子別にみた妊娠率 (表4)

卵管因子65例中26例 (40.0%)、機能性因子43例中16例 (37.2%)、頸管・腔因子25例中9例 (36.0%)とこれらの因子の妊娠率は高かったが、これに対し子宮因子は24例中3例 (12.5%)、男性因子は58例中11例 (19.0%)と低率であった。

一方、原発、続発性不妊別に比較してみると、内分泌性因子における妊娠率は原発性では14.3%、続発性では28.6%と続発性不妊に比較的高く、また卵管因子では原発性が31.7%であったのに対し、続発性では54.2%と高率であったのが特徴であった。頸管・腔、機能性、男性因子における妊娠率は原発、続発性不妊の間にほとんど差はみとめられなかった。

7) 高年不妊患者の妊娠予後 (表5)

高年不妊患者妊娠例72例 (原発39例、続発33例)における流産、早産、満期産および帝切率について、対照の30歳未満の不妊患者妊娠例177例 (原発120例、続発57例)と比較検討した。表5に示した通り、流産率に関し

ては原発、続発性高年不妊は対照に比して両者とも高く、全体として、流産率は対照が14.3%であったのに対し、高年不妊では18.9%であった。早産は原発性不妊においては1例もなかったが、続発性不妊にそれぞれ2例あった。したがって早産率は対照が1.2%であったのに対し、高年不妊では3.8%と高かった。これに対して満期産率 (経腔)は原発、続発性不妊ともに低く、特に続発性不妊の56.5% (対照73.1%)という低率が目立った。全体としては満期産率は64.2% (対照75.8%)であった。帝切率に関しては高年不妊における原発性および続発性不妊例、それぞれ16.0%、16.7%の間にはほとんど差はなかったが対照との間にはそれぞれ16.0% : 10.6%、および16.7% : 9.1%と差がみとめられた。高年不妊の帝切率は全体として16.3% (対照10.1%)ときわめて高率であった。

4. 考 察

近年わが国においては晩婚化が進んでいるという。緒言の中でも述べた通り、昭和57年度の女性の平均初婚年齢は25.3歳となり、これは世界1、2位を争う高齢化であり、これ以上晩婚化が進むことはないであろうと推測されている。

結婚年齢の高齢化現象は産婦人科医療においても当然問題視されなければならないいろいろな要素を含んでおり、不妊症診療においてはまず高年不妊患者の増加が予想される場所である。女性の妊孕力は23歳を peak として以後漸減するといわれており<sup>1)</sup>、したがって妊孕力の減衰期にある高年不妊患者を取扱うとき、これらの患者の実態を正確に把握して診療上の具体策を検討してゆく必要があると考える。

しかしながら、何歳以上を高年不妊と定義するかは現代社会における婚前交渉の現状、職業婦人にみられる結婚後の避妊意識、実行などという社会医学的な背景が複雑に絡み合い安易に結論を出すことは出来ないであろう。池田ら<sup>2,3)</sup>の報告によれば、34歳以上を一応高年不

表 5 高年不妊婦人の妊娠予後

		例数	流産 (%)	早産 (%)*	満期産 (%)*	帝切 (%)†	不明 (%)
高年不妊	原 発	39	5 (16.7)	0 (—)	21 (70.0)	4 (16.0)	9 (23.1)
	続 発	33	5 (21.7)	2 (8.7)	13 (56.5)	3 (16.7)	10 (30.3)
	原発+続発	72	10 (18.9)	2 (3.8)	34 (64.2)	7 (16.3)	19 (26.4)
対照 (30歳未満)	原 発	120	15 (13.8)	0 (—)	84 (77.1)	10 (10.6)	11 (9.2)
	続 発	57	8 (15.4)	2 (3.8)	38 (73.1)	4 (9.1)	5 (8.8)
	原発+続発	177	23 (14.3)	2 (1.2)	122 (75.8)	14 (10.1)	16 (9.0)

\* 経腔分娩 † 帝切率

妊と定義しているが、横山ら<sup>4)</sup>もその妊孕率、挙児率の低下から高年不妊を34歳以上としている。一方、寺田ら<sup>5)</sup>は初診時年齢31歳以上の原発不妊に顕著な妊娠率の低下をみとめている。今回われわれは30歳以上を一応高年不妊と定義して調査を進めた。当科における30歳以上の高年不妊は全体の30.5%であり、原発性不妊における高年不妊は25.8%と高い比率を占めていた。

最近是不妊症診療に対する一般の理解が高まつてはいるものの、高年不妊になるほど受診する機会が遅くなる傾向があり、早期受診への啓蒙を高めてゆく必要がある。

当科における高年不妊の妊娠率を30歳未満と30歳以降の原発性不妊患者の間で比較してみても、30歳未満が30.6%であるのに対し、30歳以降は28.3%と明らかに高齢化とともに妊孕力の低下がうかがわれる成績を得た。池田ら<sup>2,3)</sup>、横山ら<sup>4)</sup>の報告をみても高年不妊(34歳以降)の妊娠率は対照に比して低いと述べている。

不妊原因について考察すると、高年原発性不妊における上位の3不妊因子は①男性、②卵管性、③機能性であり、対照の原発性不妊のそれは①内分泌性、②卵管性、③男性であった。不妊原因が男性因子である高年不妊患者の妊娠率が最も低いことからして、高年不妊患者の検索は男性側を忘れずに行い、女性側に諸検査上問題がなければ、なるべく早期に A. I. H. (A. I. D) などの積極的治療を行なうべきであると考えられる。

高年不妊患者の妊娠子後に関しては、高い流・早産率そして低い満期産率という結果を得ており、このことはその原因解明とともに、より厳重な prenatal care の必要性を痛感させる。帝切率は対照の10.1%に比し16.3%ときわめて高かった。高年不妊患者における帝切の特殊性については今後検討したい。

(本論文の要旨は昭和58年6月4日、日本不妊学会中部支部学術集会、於松本、において発表した)。

## 文 献

- 1) Donald, I: Practical Obstetric problems, Fourth edition 91, LLOYD-LUKE LTD., 1969.
- 2) 池田友信, 中島清子, 丸田茂徳, 森 一郎: 高年不妊症の取扱い, 第23回日本不妊学会総会抄録集.
- 3) 池田友信, 森田明夫, 今村昭一, 森 一郎: 高年不妊症の臨床的観察, 第25回日本不妊学会総会抄録集.
- 4) 横山 敬, 楠原浩二, 松本和紀, 安江育代, 木村英二, 蜂尾祥一: 高年不妊婦人の臨床的検討, 日不妊会誌 28: 77, 1983.
- 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,

日不妊会誌, 28: 69, 1983.

## Clinical features of the elderly infertile women in our fertility clinic

Masaaki Takahashi, Makato Ito and Kunio Kometani.

Department of Obstetrics & Gynecology  
Fujita Gakuen University Hospital  
(Second Educational Hospital)  
(Director: Prof. Kunio Kometani)

A total of 236 infertile women over the age of thirty among 773 patients attending the fertility clinic of Fujita Gakuen University Hospital during the past ten years, were studied to elucidate the clinical features of the elderly infertile women. In this study infertile women over the age of thirty at the time of the first visit were defined as elderly infertile women (EIW). The results were as follow: (1) The overall incidence of EIW was 30.5%. There were 138 EIW among 535 patients with primary infertility (25.8%). (2) EIW were liable to delay their visiting the fertility clinic, as compared with the controls (infertile women under the age of 30). (3) The pregnancy rate of EIW (30.5%) was lower than that of the controls (33.5%). (4) After the intensive treatment, the EIW with tubal & unexplained factors attained the high pregnancy rate (40.0% and 37.2%, respectively). However, the pregnancy rate of the EIW with male or with uterine factor resulted in the lower rates of 19.0% and 12.5%, respectively. (5) The pregnancy rate of the EIW with endocrine factor was higher in secondary (28.6%) than in primary infertility (14.3%). Similarly, the pregnancy rate of the EIW with tubal factor was higher in secondary infertility (54.2%) than in primary infertility (31.7%). (6) The incidence of early pregnancy wastage was apparently higher in EIW (18.9%) than in the controls (14.3%). (7) Fortunately there was no premature labor in the EIW with primary infertility. However, the EIW with secondary infertility encountered two premature deliveries (3.8%). The rate of term deliveries in the EIW with both primary and secondary infertility (64.2%) was less than that of the controls (75.8%). Especially, it is noted that the rate of term deliveries in the EIW with secondary infertility (56.5%) was remarkably less than that of the controls (73.1%). (8) Cesarean section rate for the pregnancies of EIW (16.5%) was considerably high, as compared to that of the controls (10.1%).

(受付: 昭和58年11月9日)

## 当科における最近5年間の不妊症の臨床統計

### Statistical Study of our Infertile Clinic in the Past Five Years

札幌医科大学産婦人科学講座

山本 弘 遠藤 俊明 幡 洋  
Hiroshi YAMAMOTO Toshiaki ENDO Hiroshi HATA  
藤井 美穂 下谷 保治 東口 篤司  
Miho FUJII Yasuharu SHIMOYA Atsushi AZUMAGUCHI  
佐藤 卓廣 田中 昭一 橋本 正淑  
Takuhiko SATO Shoichi TANAKA Masayoshi HASHIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Sapporo Medical College

昭和52年より昭和56年までの5年間に札幌医大産婦人科不妊症外来を受診した不妊期間2年以上の患者を対象に臨床統計を行い、次の結果を得た。

- (1) 不妊患者は新患総数18,564名中1,061名で、その頻度は5.72%であった。
- (2) 原発性不妊は71.0%、続発性不妊は29.0%であった。
- (3) 不妊因子は卵管因子(40.2%)が最も多く、次に排卵因子(19.4%)が多かった。
- (4) 妊娠率は原発性不妊で40.5%、続発性不妊で52.9%、全体で44.0%であった。
- (5) 妊娠例の不妊因子は卵管因子(60.1%)が最も多かった。
- (6) 初診から2年以内に妊娠する例がほとんどで98.1%であった。
- (7) 不妊期間が4年以上のものはその妊娠率は低率であった。
- (8) 妊娠経過の判明している284例中250例(88.0%)が生児を得ており、29例(10.2%)が流産した。

(*Jap. J. Fert. Ster.* 29(3), 394-399, 1984)

#### I はじめに

#### II 対 象

婦人科外来に不妊を主訴として訪れる夫婦は年々増加傾向にある。これら不妊夫婦を診察する場合に大切なことは、不妊原因を系統的・合理的にかつ正確に把握し適切な治療を選択することである。札幌医科大学産婦人科不妊症外来は昭和37年に開設され、それ以後5年間ごとの治療成績を第12・17・24回日本不妊学会で発表した<sup>1,2,3)</sup>。今回は昭和52年より昭和56年までの最近5年間の治療成績ならびに妊娠成功例について統計的観察を行なったので報告する。

対象は昭和52年より昭和56年までの5年間に当科不妊症外来を受診した不妊期間2年以上の挙児希望者とした。

#### III 成 績

##### 1) 不妊頻度

当科外来の新患総数に対する挙児希望者の割合を表1に示した。最近5年間平均の不妊頻度は5.72%である。挙児希望者は1061名であるが、このうち系統的検査終了者は795名で74.9%を占めた。他の25.1%は何らかの理由で検査未終了のまま通院しなくなった。

表 1 挙児希望者の頻度

	新患総数	挙児希望者数	不妊頻度 (%)	検査終了者数	検査終了者頻度 (%)
昭和52	4,320	201	4.7	152	75.6
53	3,818	221	5.8	165	74.7
54	3,536	202	5.7	177	87.6
55	3,566	228	6.4	153	67.1
56	3,324	209	6.3	148	70.8
計	18,564	1,061	5.72	795	74.9
42年群*	27,246	879	3.23	747	84.9
47年群**	25,899	1,269	4.90	1,027	80.9

\* 昭和42年～46年の成績

\*\* 昭和47年～51年の成績

表 2 原発性不妊, 続発性不妊別頻度

	挙児希望者数	原発性不妊 (%)	続発性不妊 (%)
昭和52	201	145 (72.1%)	56 (27.9%)
53	221	156 (70.6%)	65 (29.4%)
54	202	148 (73.3%)	54 (26.7%)
55	228	158 (69.3%)	70 (30.7%)
56	209	146 (69.9%)	63 (30.1%)
計	1,061	753 (71.0%)	308 (29.0%)
47年群*	1,269	856 (67.5%)	413 (32.5%)

\* 昭和47年～51年の成績

表 2 に年度別の原発性および続発性不妊の頻度を示した。5 年間全体では原発性不妊753名 (71.0%), 続発性不妊308名 (29.0%) であった。

2) 初診時年齢

初診時年齢は図 1 のごとく原発性不妊は25～29歳, 続発性不妊は30～34歳にピークを有しており続発性不妊は原発性不妊より初診時年齢は高かった。

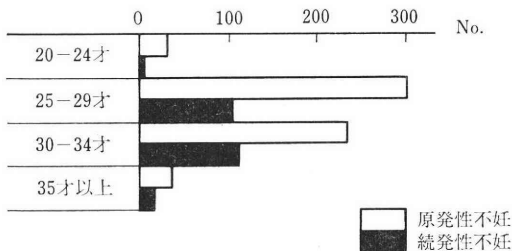


図 1 初診時年齢

3) 不妊期間

不妊期間は図 2 のごとく原発性および続発性不妊とも 2～3 年が最も多く, その後漸減傾向を示した。しか

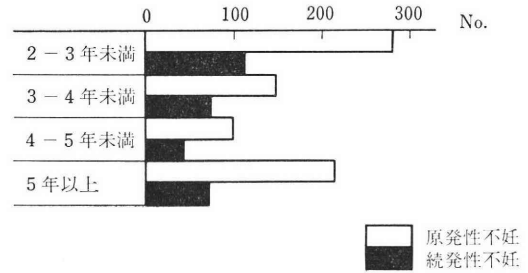


図 2 不妊期間

し, 不妊期間が 5 年以上になって初めて受診する患者もかなり存在した。

4) 不妊原因

当科不妊外来では不妊因子を卵管因子・排卵因子・男性因子・頸管因子・子宮因子および機能性不妊などの項目に分類している。今回, 複数の因子が重複する例はすべての因子を各項目に分類した。また, 機能性不妊は黄体機能不全を含め, また通常の系統的検査で異常をみいだせない原因不明なものとした。結果は表 3 のごとく

表 3 不妊因子

不妊因子	原発性不妊 (%)	続発性不妊 (%)	計 (%)
卵管因子	37.6	46.9	40.2
排卵因子	19.7	18.5	19.4
男性因子	16.4	5.8	13.5
頸管因子	10.1	3.7	8.4
子宮因子	2.0	4.1	2.6
機能性不妊	13.4	18.5	14.8

卵管因子 (40.2%) が最も多く, 次に排卵因子 (19.4%), 機能性不妊 (14.8%), 男性因子 (13.5%), 頸管因子 (8.4%), 子宮因子 (2.6%) の順であった。卵管因子・排卵因子および男性因子のいわゆる三大絶対不妊因子は全体の73.1%を占めている。原発性不妊と続発性不妊とで不妊因子の頻度を比較すると, 卵管因子は続発性不妊に多く, 男性因子は原発性不妊に多かった。排卵因子および機能性不妊は原発性続発性不妊での頻度の差はなかった。

5) 妊娠成功例の検討

a) 妊娠成功率

表 4 に年度別妊娠成功率を示した。5 年間全体で挙児希望者のうち系統的検査終了者は 795 名である。この中の妊娠成功例は 350 名で系統的検査終了者に対する妊娠成功率は44.0%であった。妊娠成功率は年々増加傾向を示し, 特に最近 2 年間において半数近くのもの妊娠している。原発性不妊570名中231名 (40.5%), 続発性不

表 4 妊 娠 率

		検査終了者	妊娠例	妊娠率 (%)	
昭和52年	原発性	113	35	31.0	39.5
	続発性	39	25	64.1	
昭和53年	原発性	121	45	37.2	39.4
	続発性	44	20	45.5	
昭和54年	原発性	130	51	39.8	42.9
	続発性	47	25	53.2	
昭和55年	原発性	107	52	48.6	50.3
	続発性	46	25	54.3	
昭和56年	原発性	99	48	48.5	48.6
	続発性	49	24	49.0	
計	原発性	570	231	40.5	44.0
	続発性	225	119	52.9	

表 5 不妊期間と妊娠率

不妊期間	不妊患者数	妊娠例	妊娠成功率 (%)	
2 ~ 3 年未満	393	154	39.2	39.5
3 ~ 4 年未満	220	88	40.0	
4 ~ 5 年未満	141	40	28.4	26.3
5 年以上	285	72	25.3	

表 6 初診から妊娠成功までの期間

	原発性 (%)	続発性 (%)	計 (%)	
0 ~ 1 年未満	77.5	85.8	80.3	98.1
1 ~ 2 年未満	20.0	13.3	17.8	
2 年以上	2.5	0.8	1.9	

妊225名中119名 (52.9%) が妊娠し続発性不妊の妊娠成功率が原発性不妊より10%以上も良かった。

b) 不妊期間と妊娠率

不妊期間を4年以内と4年以上に分けその妊娠率を比較すると、表5のごとく不妊期間4年以内の妊娠率は39.5%であるのに比べ不妊期間4年以上の妊娠率は26.3%と不妊期間が長いほど妊娠率は低かった。

c) 初診から妊娠するまでの期間

表6に示したように初診から1年以内に妊娠した例は原発性不妊77.5%、続発性不妊85.8%と両者とも最も多かった。続発性不妊は原発性不妊より初診から妊娠するまでの期間が短い傾向があった。また、初診から2年以内に妊娠した例がほとんどで原発性不妊97.5%、続発性不妊99.2%であった。

d) 妊娠成功例の治療内容

表7のごとく HSG 後妊娠が原発性不妊 33.6%、続発性不妊50.5%と両者とも最も多かった。次に、原発性

表 7 妊娠成功例の治療内容

	原発性 (%)	続発性 (%)	計 (%)
HSG 後妊娠	33.6	50.5	39.2
通薬水	24.1	13.4	20.6
卵管形成術	0.0	0.9	0.3
排卵誘発	21.6	15.2	19.5
HCG, Gestagen etc. (機能性不妊)	5.6	8.0	6.4
AIH	2.6	1.8	2.3
Estrogen, AIH (頸管因子)	8.6	4.5	7.3
その他	3.9	5.4	4.4

表 8 治療別妊娠率

	例数	妊娠例	妊娠率 (%)
通薬水	205	73	35.6
卵管形成術	8	1	12.5
排卵誘発	167	68	40.7
HCG, Gestagen	66	23	34.8
AIH	77	20	26.0

表 9 排卵因子に対する治療で妊娠した例の治療内容

治療内容	妊娠例数	%
Clomid	48	70.6
Clomid-HCG	7	10.3
HMG-HCG	6	8.8
Clomid-HMG-HCG	1	1.5
卵巣楔状切除	1	1.5
下腫体腫瘍手術	3	4.4
Bromocriptine	2	2.9
計	68	100

不妊においては通薬水後24.1%・排卵誘発後21.6%の順であり、続発性不妊では排卵誘発後15.2%・通薬水後13.4%の順であった。また、原発性および続発性不妊とも卵管因子に対する治療で妊娠する例が半数以上を占めた。

e) 治療別妊娠率

表8のごとく通薬水療法を205例に施行し73例(35.6%)が妊娠、排卵障害に対する治療を167例に施行し68例(40.7%)が妊娠、黄体機能不全に対するHCG, Gestagen治療を66例に施行し23例(34.8%)が妊娠、男性因子および頸管因子に対してAIHを77例に施行し20例(26.0%)が妊娠した。

f) 排卵因子の治療による妊娠成功例



表 10 妊 娠 経 過

	症例数	%
分 娩	250	88.0
流 産	29	10.2
死 産	2	0.7
子宮外妊娠	1	0.4
人工中絶	2	0.7
計	284	100

表 11 治療別流産率

	妊娠例	流産例	流産率(%)
HSG 後妊娠	148	12	8.1
通薬水	73	6	8.2
排卵誘発	68	3	4.4
機能性不妊	28	3	10.7
AIH	20	1	5.0

この治療により妊娠した例は68例で、その治療内容を表9に示した。Clomid および Clomid-HCG 療法が80.9%と最も多く、Gonadotropin 療法10.3%、高プロラクチン血症に対する下垂体腫瘍手術および Bromocriptine 療法7.3%、PCO に対する卵巣楔状切除術1.5%であった。

g) 妊娠経過

妊娠経過の判明している284例の妊娠経過を表10に示した。250例(88.0%)は分娩し生児を得ている。流産は29例(10.2%)であった。その他、死産2例(0.7%)、子宮外妊娠1例(0.4%)、人工妊娠中絶2例(0.7%)

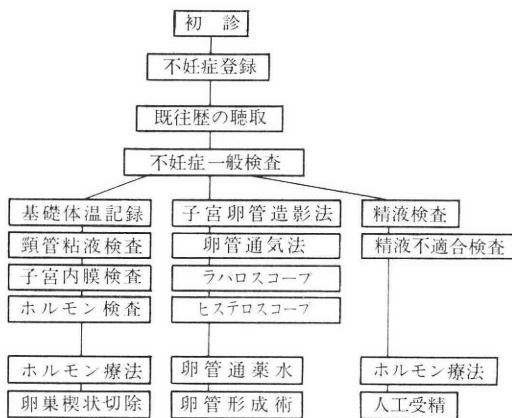


図 3

%)であった。なお、人工妊娠中絶2例は風疹罹患および放射線被曝のためである。

治療別流産率を表11に示した。機能性不妊の流産率が

最も高く10.7%であり、最も低い流産率は排卵障害に対する治療の4.4%であった。

IV 考 察

不妊症の定義として国際産婦人科学会では2年以上の不妊期間をもつもの、アメリカ不妊学会では1年以上の不妊期間をもつものとしている。われわれは従来より不妊期間2年以上の患者についての統計を報告してきた<sup>4,5)</sup>。今回も昭和52年より昭和56年までの5年間に当科不妊症外来を受診した不妊期間2年以上の不妊症患者を対象に臨床統計を行なった。

不妊患者の頻度は以前われわれが報告した昭和42年より5年間の成績<sup>4)</sup>(以上42年群と略)3.23%、昭和47年より5年間の成績<sup>5)</sup>(以下47年群と略)4.90%、今回の成績5.72%と年々増加傾向を示した。不妊頻度は不妊期間の取り方や各病院の性格などにより報告者で差が認められる。最近の大学病院における不妊頻度の報告をみると、三村<sup>6)</sup>は2.5%、中居<sup>7)</sup>は4.3%、寺田<sup>8)</sup>は5.6%、白水<sup>9)</sup>は6.4%、松家<sup>10)</sup>は8.0%、東出<sup>11)</sup>は11.6%と報告しており、当科の5.72%はこれらの報告の中間に位置している。原発性不妊は71.0%、続発性不妊は29.0%であったが、これは諸家の報告とほぼ一致している。原発性不妊の頻度を三村<sup>6)</sup>は72.4%、寺田<sup>8)</sup>は68.4%、松家<sup>10)</sup>は69.1%、東出<sup>11)</sup>は72.7%、上田<sup>12)</sup>は69.0%、松山<sup>13)</sup>は73.2%と報告している。一方、白水<sup>9)</sup>、東出<sup>11)</sup>、藤村<sup>14)</sup>らは近年続発性不妊が増加傾向にあることを報告しているが、当科において47年群の成績(原発性不妊67.5%、続発性不妊32.5%)とくらべても続発性不妊の増加は認められなかった。また、挙児希望者のうち25.1%が何らかの理由で検査未終了のまま通院しなくなった。このdrop outする患者の頻度は42年群<sup>4)</sup>の15.0%、47年群<sup>5)</sup>の19.1%と年々増加していた。この増加傾向を抑えるために患者に対して本症についての正しい知識や治療方針などをよりいつそう理解してもらうとともに、夫の協力の必要性をも理解してもらうことなどが必要と思われる。松家<sup>10)</sup>は確定診断を下し得ないまま途中より治療中断した例が24.1%を占めていたと報告している。

当科不妊症外来では図3の順で一連の系統的な不妊因子の追求を行なっている<sup>15)</sup>。不妊原因は表3のごとく卵管因子(40.2%)が最も多く、排卵因子(19.4%)、機能性不妊(14.8%)、男性因子(13.5%)、頸管因子(8.4%)、子宮因子(2.6%)の順であった。不妊原因の頻度はその定義の決め方や複数の不妊原因を有する場合の分類の仕方、たとえば最大不妊因子を1つだけ挙げる方法や今回われわれが行なったように全ての因子を分類する



方法など、さらに病院の性格や地域性などにより報告者でさまざまである。寺田<sup>8)</sup>は内分泌因子(30%)、松家<sup>10)</sup>は内分泌卵巣因子(29.6%)、上田<sup>12)</sup>は卵巣内分泌因子(50.2%)、松山<sup>13)</sup>は排卵卵巣因子(31.4%)、藤村<sup>14)</sup>は機能性不妊(39.5%)が最も多かつたと報告している。当科において卵管因子の頻度が40.2%と最も多かつたが、他の報告<sup>8)10)12-14)</sup>の卵管因子の頻度は8.2%~17%と当科の成績にくらべ著しく低い。この原因は当科においてHSG後妊娠する例が多く、このような患者の不妊因子を卵管因子に分類しているためと考えられる。また西川<sup>16)</sup>は諸家の報告より推定した男性因子の頻度を約25%であると述べている。当科の男性因子の頻度は13.5%とこの報告にくらべ低い。この理由として当科において不妊原因と考えられるものはすべての因子で分類しているため1因子としては低率となると考えられる。

妊娠率は系統的検査終了者の795名中350名が妊娠し44.0%(原発性不妊40.5%, 続発性不妊52.9%)であつた。他の報告の妊娠率をみると上田<sup>12)</sup>は16.1%, 寺田<sup>8)</sup>は18.4%, 三村<sup>6)</sup>は19.1%, 東出<sup>11)</sup>は19.6%, 松家<sup>10)</sup>は21.5%, 藤村<sup>14)</sup>は21.7%, 白水<sup>9)</sup>は21.9%, 中居<sup>7)</sup>は25.7%, 松山<sup>13)</sup>は29.5%と報告している。これらの報告は挙児希望者に対する妊娠率を示している。当科の挙児希望者に対する妊娠率は1,061名中350名の33.0%(原発性不妊753名中231名30.7%, 続発性不妊308名中119名38.6%)と、これらの報告の中で最も良かつた。また多くの報告<sup>6,8,10,12,14)</sup>と同様に当科の成績も原発性不妊より続発性不妊の妊娠率が高かつた。

初診から妊娠成功までの期間は成功例の98.1%が2年以内に妊娠している。三村<sup>6)</sup>は95.9%, 寺田<sup>8)</sup>は98.8%, 松家<sup>10)</sup>は89.7%, 上田<sup>12)</sup>は92.5%, 西村<sup>17)</sup>は90.5%のものは2年以内に妊娠していると述べている。このことから不妊治療は少なくとも2年間は継続して行なう必要があるとともに、2年以上治療しても妊娠しない場合は不妊原因や治療法の再検討の必要があることを示している。また表6のごとく続発性不妊は原発性不妊より早期に妊娠する傾向が認められた。これは当科において表7のごとくHSG後3-4ヶ月以内に妊娠する例が続発性不妊により多いためと考えられる。

一般に不妊期間が長いほど妊娠率が低下するといわれており、寺田<sup>8)</sup>、東出<sup>11)</sup>は不妊期間5年以上、松家<sup>10)</sup>は不妊期間4年以上では妊娠率が急激に低下することを報告している。当科の成績も表5のごとく不妊期間が長いほど妊娠率は低く、特に不妊期間4年以内の妊娠率は39.5%も良好であるのにくらべ不妊期間4年以上の妊娠率は26.3%と急激に低下している。この理由は不明であるが、不妊期間4~5年以上になるとその妊娠率が低下

することより、不妊症の啓蒙などにより患者が早期に受診するような努力が必要と思われる。

妊娠例の不妊原因をみると卵管因子が最も多く60.1%を占めた。他の報告<sup>8,10,17)</sup>では内分泌因子の妊娠例が最も多いとしている。これは当科ではHSG後妊娠した例を卵管因子に分類しており前述したように他の報告にくらべ不妊因子における卵管因子の占める割合が高いため卵管因子の妊娠例が多いと考えられる。

排卵因子の妊娠成功率は40.7%であり、この成績は東出<sup>11)</sup>43.4%, 藤村<sup>14)</sup>41.5%の成績とほぼ一致した。通薬水による妊娠成功率は35.6%であり、中居<sup>7)</sup>8.2%, 須藤<sup>18)</sup>16.7%の成績にくらべ非常に良かつた。これは通薬水療法の対象の違いによるものと考えられ、須藤<sup>18)</sup>は対象をHSG上で卵管通過障害や拡散不良所見の認められるものとしているが、当科ではHSG所見以外にRubin testで攣縮型、癒着型、狭窄型、閉鎖型、高緊張型が認められるものにも通薬水を施行しているために本治療法での妊娠率が高いと思われる。AIHによる妊娠成功率を中居<sup>7)</sup>は12.1%と報告しているが、当科の成績は26.0%と良かつた。これは当科ではAIHをOligospermia以外に頸管粘液不全やHühner test不良例に対しても施行しているため、このような良い成績がでたと考えられる。以前われわれが報告したOligospermiaに対するAIHの妊娠成功率<sup>19)</sup>は19.6%であつた。

不妊症成功例の流産率は自然妊娠の流産率<sup>19)</sup>10~11%とくれば高いといわれている。西村<sup>17)</sup>は14.4%, 三村<sup>6)</sup>は15.8%, 寺田<sup>8)</sup>は18.1%, 山田<sup>20)</sup>は19.4%, 馬嶋<sup>21)</sup>は20.0%, 松家<sup>10)</sup>は20.3%と報告している。当科の流産率は10.2%とこれらの報告より低く、自然妊娠の流産率と同じであつた。また、当科における流産率の年次的推移をみると42年群<sup>4)</sup>18.3%, 47年群<sup>5)</sup>11.0%, 今回の10.2%と年々低下してきている。機能性不妊の流産率が表11のごとく28妊娠例中3例(10.7%)と最も多かつた。これは黄体機能不全を機能性不妊の中を含めたためと考えられる。しかし、西村<sup>17)</sup>は黄体機能不全を含めない機能性不妊において、その流産率が40妊娠例中9例(22.5%)と意外に高率であつたと報告している。

本論文の要旨は第28回日本不妊学会総会(名古屋, 1983)において発表した。

## 文 献

- 1) 酒井 潔, 水元修治, 美馬一雄, 田中昭一: 当教室, 不妊症センターにおける妊娠成功例の統計的観察, 日不妊会誌, 13: 174, 1968.
- 2) 田中昭一, 郷久敏二, 光部啓一, 金上宜夫, 南

- 邦弘：札幌医大産婦人科不妊症センターの最近 5 年間の成績，日不妊会誌，18：179，1973.
- 3) 岡部泰樹，下谷保治，東口篤司，佐藤卓広，田中昭一，橋本正淑：当科不妊外来における治療成績，日不妊会誌，24：424，1979.
  - 4) 田中昭一，郷久鉦二，光部啓一，金上宜夫，南邦弘，水元修治，足立 昇：札幌医大産婦人科不妊症センターの最近 5 年間の治療成績，産と婦，40：733，1973.
  - 5) 橋本正淑，佐藤卓広：不妊外来の実際（統計的観察），産婦産，34：227，1980.
  - 6) 三村三喜男，小川統久，池内政弘，中村光治，山口賢二，菱田克己，小池皓式：当科における最近 5 年間の不妊症の臨床統計，日不妊会誌，42：508，1979.
  - 7) 中居光生，馬嶋恒雄，西島正博，尾崎周一，前田 徹，新井正夫，長内国臣：当院における不妊外来統計，日不妊会誌，25：506，1980.
  - 8) 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，日不妊会誌，28：69，1983.
  - 9) 白水充典，平井ひろみ，河田文字，藤本 俊，有馬昭夫，下村 宏，加藤 俊：最近 5 年間の当教室不妊外来の臨床統計（昭和41～45年の統計と比較して），日不妊会誌，27：59，1982.
  - 10) 松家五朗，増田歳久，吉崎健一，乾 泰延，三村経夫，竹内 悟，山野修司，高橋久寿：当不妊外来における最近 5 年間の妊娠例の検討，日不妊会誌，25：86，1980.
  - 11) 東出香二，下須賀洋一，万羽 進，成田 収：最近の当教室における不妊外来統計，日不妊会誌，22：208，1977.
  - 12) 上田一之，宮内文久，伊東武久，藤野俊夫，山下三郎，森岡 均：最近 4 年間の当科不妊症クリニックの現況一妊娠成功例の検討一，日不妊会誌，23：373，1978.
  - 13) 松山明美，白須和裕，大森治郎，鈴木直行，植村次雄：当教室における不妊クリニック患者の推移，日不妊会誌，26：313，1981.
  - 14) 藤村健次，相良祐輔，野上一郎，秋本暁久，関場 香：当教室における不妊外来統計，日不妊会誌，24：74，1979.
  - 15) 田中昭一，橋本正淑：不妊外来のあり方，産と婦，94：208，1982.
  - 16) 西川 潔：不妊の臨床統計，産婦人科 MOOK，No. 5, 107，1979.
  - 17) 西村敏雄，岡村 均，藤井信吾，野田洋一，神崎秀陽，伴 千秋，本橋 享，麻生武志，藤田泰彦，木下幹久：不妊外来における妊娠成功例とその予後の検討，日不妊会誌，27：260，1982.
  - 18) 須藤寛人，森田和雄，吉沢浩志，高橋 威，古谷元康，竹内正七：当科不妊外来における通水療法施行症例の統計的検討，日不妊会誌，25：513，1980.
  - 19) 倉智敬一：現代産婦人科学大系17-A「流早産」：21，中山書店，1974.
  - 20) 山田紳介，占部 清，清水健治，関 正明，長川富保，林 伸旨，早田幸司，吉田信隆，秋本暁久，関場 香：不妊症治療後妊娠とその予後，日不妊会誌，27：54，1982.
  - 21) 馬場恒雄，中居光生，西島正博，黒江美知子，尾崎周一，前田 徹：当院不妊外来登録患者の妊娠予後の検討，日不妊会誌，24：185，1979.

### Statistical study of our infertile clinic in the past five years

**Hiroshi Yamamoto, Toshiaki Endo,  
Hiroshi Hata, Miho Fujii,  
Yasuharu Shimoya, Atsushi Azumaguchi,  
Takuhiro Sato, Shoichi Tanaka,  
and Masayoshi Hashimoto**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Sapporo Medical College

Statistical observations on the infertile patients who visited our clinic in the past five years (1977-1981) was examined. The infertile patients had a sterile period of more two years.

(1) Incidence of infertile women to total outpatients in our clinic was 5.72%.

(2) Of 1,061 infertile women, 753 cases (71.0%) were primary infertility and 308 cases (29.0%) were secondary infertility.

(3) On the causes of sterility, the tubal infertility was the highest incidence of the sterility factors.

(4) The pregnancy rate was 40.5% in primary infertility and 52.9% in secondary infertility. 98.1% of the above patients became pregnant in less than two years. In the pregnant cases, the tubal infertility was the highest incidence of the sterility factors. The pregnancy rate of the patients who had a sterile period of more than four years was low.

(5) As clinical outcome of 284 pregnant cases, 250 women (88.0%) had mature infants. There were 29 cases (10.2%) of abortions.

(受付：昭和59年1月11日)

## 地方部会講演抄録

### 第19回日本不妊学会北陸支部総会

期 日：昭和58年12月17日（土）

会 場：金沢大学医学部臨床第2講義室

#### 1. 当科における最近10年間の精路再建術の臨床的検討

平野章治・天野俊康・島村正喜  
久住治男（金沢大泌尿器）

当科では最近10年間に精路再建術を5例経験し、その成績を検討した。

精路再建術の対象は29～37歳、平均32.8歳の無精子症患者5例である。主訴については子供がないための拳子希望3例、結紮術後再婚後の拳子希望1例、精管結紮術後子供を交通事故で失った後の拳子希望1例である。無精子症の基礎疾患は精管結紮後2例、精管の部分的閉塞3例である。精管結紮術後症例の精管結紮から精管精管吻合術までの期間は12カ年と1年7カ月である。手術法は精管精管吻合術3例、副睾丸精管吻合術2例で、ステントは1例のみに施行された。顕微鏡下手術は4例に施行され、使用された手術用顕微鏡はカールツアイス社製 OPMi-7 型である。麻酔方法は全身麻酔2例、腰椎麻酔から全身麻酔1例、腰椎麻酔1例、硬膜外麻酔1例である。手術時間は片側副睾丸精管吻合術1例で90分で、4例の両側精路再建術では2時間10分から4時間、平均3時間1分である。縫合糸はエチコン社製の atraumatic needle 付きの8-0から10-0の monofilament nylon 糸を使用した。術中副睾丸側の精路内に精子を確認したのは2例のみで、他3例は不明である。術後の精子数については3例0/ml、1例2600万/ml、不明1例である。妊娠に成功したのは1例のみで、他の4例は未成功である。術後の合併症として創部の炎症性硬結1例、副睾丸炎1例が認められた。

#### 2. AIH により妊娠した逆行性射精の1例

寺田為義・梅田慶一・片山 喬  
（富山医薬大泌尿器）  
泉 陸一・新居 隆（同、産婦）

逆行性射精は男子不妊の原因としてはまれなものであり、我々の施設でも開設4年間で男子不妊症患者323

例中逆行性射精が原因であつたものは4例にすぎない。

確固たる治療法はなく、治療無効の拳児希望例には AIH を行うことが最後の手段となる。我々も薬物療法に無効であつた糖尿病性 Neuropathy が原因と考えられる逆行性射精症例に AIH を行い妊娠させ得たので報告する。

症例は33歳会社員で、17歳より糖尿病を指摘されインスリン40U/day 投与を受けている。結婚後 ejaculation なきことに気付く。現症には異常なし、理学所見ではアキレス腱反射・睾丸痛覚に若干の減弱を見た。血液生化学・一般には異常なく、FBS も95mg/dl とおさえられていた。尿糖は(卅)、膀胱鏡ではシュラム現象(+)、尿道膀胱撮影では異常なし、膀胱内圧測定では Atonic pattern を呈した。

治療は Trihydroxypropiofenone, Chlorpheniramine maleate 等を使用するもほとんど改善見られず、AIH を行うべくホッチキス法にて精液採取、200回転3分の遠沈を行い沈渣物を子宮腔内へ注入した。

5回目の AIH にて妊娠に成功したが、残念ながら妊娠第10週にて流産となつた。その後も AIH を繰り返しているが今のところ再度の妊娠は見えていない。

#### 3. 不妊を主訴とした46, XYq-の1例

笹川五十次・寺田為義・片山 喬  
（富山医薬大泌尿器）

症例、33歳男子。1980年4月、不妊を主訴として近医受診。無精子症と診断された。1983年9月12日、精査を目的として当科を受診した。初診時、女性化乳房なし。陰茎は正常、睾丸は右6ml、左7ml、副睾丸、精索は正常。前立腺は小くのみ大。精液検査は2回とも無精子症を示し、精液量は1.0～1.5ml で、高倍率下にて赤血球を1～5個混じていた。血漿 LH 42mIU/ml、FSH 25mIU/ml、テストステロン2.1ng/ml、プロラクチン18ng/ml、エストラジオール10pg/ml。LH-RH 試験では、LH、FSH とも反応は低下していた。睾丸生検では、左右の睾丸とも精細管基底膜の硝子化肥厚と精細胞の欠如が認められ、Johnsen score では1-2を示した。染色体検査では性染色質陰性、染色体数46で、Y染色体の長腕の部分欠失が認められた。Y染色体の長腕の欠失は、本邦ではモザイクを含めて9例目であり、

長腕の欠失のみの例として自験例は第5例目と思われる。

#### 4. 不妊患者における血中およびダグラス窩液中ホルモン値の変動について

生水真紀夫・山城 玄・荒木克己  
富田 嘉昌・赤祖父一知・西田悦郎  
(金沢大産婦)

従来“idiopathic”と称されてきた不妊患者の中に Unruptured luteinizing follicle syndrome と考えられるものが相当数含まれていることが明らかになりつつあり、一般不妊外来においてもなるべく早期に排卵の直接的証明を行つておくことが望ましい。現在のところ排卵の直接的証明には Laparoscopy が用いられているが、本法では ovulation stigma を見落す可能性があるため腹腔内液中の $17\beta$ -Estradiol や progesterone 値を測定することが勧められている。

最近、われわれはダグラス窩刺穿液中の Hormone assay と超音波断層法による卵胞の観察とを併用することによって排卵の証明を試みており、今回小数例であるが紹介した。

対象および方法：当科不妊外来通院中の患者を対象とし、月経周期10日目頃より連日超音波断層法を施行し、排卵の直前および直後と思われる時期の2回、あるいはどちらか1回ダグラス窩刺穿を施行した。排卵日は、BBT、血中および尿中各種ホルモン値の変動より推定した。

結果：排卵前のダグラス窩刺穿液中の $17\beta$ -Estradiol 値はほぼ血中濃度に一致していたが、排卵直後と考えられた時期では $704 \pm 188 \text{ pg/ml}$  ( $n=4$ ) と血中濃度の約8倍であった。またダグラス窩液中の progesterone 値は排卵直前にはほとんど検出感度以下であったが、排卵直後に $107 \pm 31 \text{ ng/ml}$  ( $n=3$ ) と血中濃度の約20倍の高値を示した。

考案：排卵直後にダグラス窩液中の $17\beta$ -Estradiol および progesterone 値は急増したが、これは卵胞内の steroid hormone 由来と推察される。排卵直後にダグラス窩刺穿を行うことによってより直接的に排卵を証明することができるものと考えられた。

#### 5. 卵管溜膿腫、子宮内膜筋層炎に罹患し、卵管形成術にて妊娠・分娩に成功した症例

高林晴夫・杉浦幸一・桑原惣隆  
(金沢医大産婦)

我々は、重症の卵管溜膿腫の患者に卵管開口術を施行

し、1年以内に妊娠し、生児を得た症例を経験したので、その経過を報告する。また、当科でのこれまでの卵管形成術の成績も review した。

症例は39歳の女性で、発熱及び下腹部痛を訴え、当科へ紹介され、入院した。今回入院の2カ月前に、妊娠5カ月の時点で、品胎を自然流産した。

入院時の内診所見は、子宮はやや腫大し、子宮、両側付属器、およびダグラス窩に強い圧痛を認めた。検査成績でも、血沈が1時間値60、CRP 6 (+)、白血球数11,300と炎症所見が明らかだった。 $\beta$ -scope で、ダグラス窩に abscess を疑わせる echo 像がみられた。

結局、入院の翌日、手術を施行し、開腹所見は左右の卵管溜膿腫を認め、広範な骨盤腹膜炎の像がみられた。手術は、左側の付属器剔除術と右側の卵管開口術を行い、腹腔内を洗浄後、Drain を装置して終了した。

膿汁の培養所見は、E. coli が多数検出され、起因菌と考えられ、流産後の上行感染が示唆された。嫌気性菌は検出されなかった。

術後は、T-1982を1日6g 8日間点滴静注し、経過は極めて良好で、手術後17日目に退院した。

退院後、月経は順調に発来し、3回の月経の後、妊娠した。妊娠中の経過も良好であり、妊娠38週の時点で、帝王切開にて3,468g の男児を分娩した。

これまで卵管形成術を行つた症例は9例あり、子宮外妊娠2例、卵管閉鎖症2例、卵管水腫2例、卵管溜膿腫2例、卵管憩室1例であり、その疾患により、卵管癒着剥離術、卵管開口術、卵管吻合術が行われ、全体の妊娠率は33.3%であり、諸家の報告と同様であった。卵管形成術は、卵管因子による不妊症の場合、有力な治療法と考えられるが、現状では、IVF の応用も考慮されるべきものと考えられた。

#### 6. 副腎皮質ステロイドによる妊娠例の検討

窪田与志・富松功光・荒谷穰治  
林 恵子・飯田和質  
(福井県立病院産婦)

多嚢胞性卵巣 (PCO) に対する副腎皮質ステロイド療法の有用性については古くからいわれ、近年 PCO 以外の疾患に対しても効果を認められているが、副作用などの問題のために一般的な治療法とは成っていない。私達は通常の5ないし10分の1量の副腎皮質ステロイドの投与により3例の妊娠成功例を得たので検討した。

症例1は28歳の1経産婦で主訴は無月経、testosterone が $132 \text{ ng/ml}$  と高値であった他は内分泌学的には異常はなかった。Clomid は無効であった。プレドニゾロ

ン1.25mg/day の投与を開始したところ、30日後に自然排卵を認め、55日後には胎嚢を認めた。

症例2は30歳の1経産婦で主訴は無月経、24歳でPCOのために卵巣の楔状切除の既往があった。LHRH test はPCO型を示し、E<sub>1</sub> 320pg/ml, E<sub>2</sub> 395pg/ml, testosterone 133ng/ml と高値を示していた。Clomidは無効であった。プレドニゾロン1.25mg/dayを約4カ月投与したが自然排卵は認められず、消退出血第5日目よりClomid 50mg/dayを5日間投与し第15日目に排卵、第45日目に胎嚢を認めた。

症例3は26歳の未産婦で主訴は不妊、既往歴などには問題なく内分泌学的にはすべて正常値であった。基礎体温は黄体機能不全型を示していた。Clomid単独投与では効果なく月経第1日目よりプレドニゾロン 2.5mg/day 10日間、Clomid 100mg/day 5日間により第50日目に胎嚢を確認した。

副腎皮質ステロイド療法の効果については不明な点が多く、1) ACTH の分泌抑制を介して副腎性アンドロゲンの分泌を低下させる、2) positive feed back 機能の改善、3) LH, FSH の基礎分泌量の正常化、4) 卵巣に対する直接作用などが考えられているが更に検討する必要があると思われる。

#### 7. 当科における体外受精のための採卵時期決定法

長阪恒樹・新居 隆・泉 陸一  
(富山医薬大産婦)

従来の治療法では妊娠を期待できない不妊症例に対して体外受精による治療法が確立されつつある。当科においては1983年7月以降、体外受精を目的とした卵採取は、16症例につき延べ25回施行された。その不妊原因は、9例が両側卵管欠損ないし閉塞、4例が乏精子症、3例が原因不明であり、また採卵時平均年齢は、妻32.75±0.57歳、夫34.53±0.81歳で、平均不妊期間は8.63±0.85年であった。

体外受精による妊娠成功率を向上させるために複数の受精卵を子宮腔に戻す試みがなされているが、我々も全症例に対しHMGによる過剰排卵を試みた。この場合、成熟した卵を採取する時期が最も重要となる。月経開始後5日目から連日HMGを150単位筋注し、子宮頸管スコア(Lunenfeld & Insler, 1972年)と、超音波断層法による最大卵胞直径計測を行った。子宮頸管スコアが8点以上、あるいは最大卵胞直径が18mm以上の時点で入院させ、これらの他に毎回尿につきLH濃度測定をHi-Gonavis(持田製薬)で、またエストロゲン濃度測定をMS-8301(持田製薬)で測定した。

内因性LH Surgeは月経開始後10~12日目に起こることが多かったが、Surge開始後31.4±1.4時間目に排卵が起こるといわれている(堤, 1983年)ので、我々はSurge開始後28~30時間目に卵採取した。しかしながら尿中エストロゲンが40ng/ml以上、子宮頸管スコアが10点以上、最大卵胞直径が20mm以上で、なおかつ尿中LHが低値を示している場合は、HCGを1万単位筋注し、その34~36時間後に卵採取した。成熟卵が採取できたのは21例(84%)で、1回あたりに採取した成熟卵は2.24±0.28個であった。内因性LH Surgeから採卵時期を決定した場合よりも、HCG投与による場合の方が卵を確実に回収できることが多く、しかもある程度採卵時期を計画的に選べるという利点があると思われる。

#### 8. 当院外来における高PRL血症について

館野政也・中曾根敬一  
(富山県立中央病院産婦)

近年、RIAによるPRL測定が容易になって以来、無月経、不妊症あるいは乳汁漏出などの症例に対して、routineにPRLが測定される様になり、我々も最近4年間における高PRL血症患者98例を経験したので報告いたします。高PRL血症は30ng/ml以上とした。まず高PRL血症における乳汁漏出の頻度では、下垂体macro及びmicroadenomaでは100%、薬剤性は78%、と高頻度であり、P.C.O.では0%であった。次に高PRL血症の原因別疾患では、薬剤性の症例が37例で、38%を占めていた。また高PRL血症を引き起こす薬剤の種類についてみますと37例中Sulpirideが26例で70%で、次いでHaloperidol, chlorpromazine, metoclopramideの順であった。高PRL血症の症例に対しては、第1に薬剤の服用の有無および種類について入念に調査する必要があると考える。次にPRL値についてみると、下垂体macroadenomaが最も高値で全例500ng/ml以上であり、PCO症例では、わずかな高値であり、他の症例はほとんどが400ng/ml以下であり、PRL値が400ng/ml以上を示す場合は下垂体のmacroadenomaの可能性が高いと思われた。

## 第89回日本不妊学会関東地方部会

期 日 昭和59年1月28日(土)  
会 場 森永プラザビル23F

## 1. 男子不妊術(精管切断術)の統計

川村健二・伊藤晴夫・角谷秀典  
片海善吾・島崎 淳  
(千葉大泌尿器)

昭和55年以降に施行した精管切断術例85例に対し調査した。平均年齢は夫37.3歳, 妻33.4歳, 結婚期間は3年より37年, 平均10.9年, 子供の数は2人が最も多く平均2.43人。来院動機は自分の考え49例, 妻に勧められ34例。副作用その他心配な事ありと答えたもの15例。性欲は12例が変化化すると思うと答えた。他人にこの手術を勧めるかと問に対し勧める勧めない半数づつであった。自然流産なし66例, 1回以上19例, 人工中絶は, なし41例, 1回以上44例で過半数に経験ありであった。今までの避妊法としては, コンドーム, オギノ式およびこれらの併用が多かった。性生活頻度は週1回および2回が大半であり, 夫の職業は, 管理的・事務的の職業が多く工員や農業は比較的少なかった。

## 2. 視床下部におけるカテコールアミン細胞の同定法に関する研究

瀬戸 裕・味香勝也・荒井 清  
沖永荘一 (帝京大産婦)

(目的) 視床下部弓状核のドーパミンニューロンは性機能の発現に重要な役割を果している。従来これらカテコールアミン(CA)ニューロンの組織学的同定にはFalck-Hillarp法が用いられてきた。この方法では顕微鏡的観察までに長時間を要した電顕的観察が不可能である。今回の方法は短時間で顕微鏡的観察ができ, 電顕的観察も可能である。

(方法) 妊娠ラットを固定, 視床下部を20 $\mu$ mの連続切片とし2枚1組とする。1片を急速乾燥し鏡面像とし, もう1片を蛍光および白色光顕微鏡で観察し, CA細胞の同定を行いさらに電顕下で観察した。また免疫組織化学的染色も行い観察した。

(成績) 弓状核のCA細胞は固定液に浸漬したままでも蛍光を発するが急速乾燥するとその蛍光は強く, 安定となる。電顕では細胞の超微構造はよく保たれCA分泌顆粒も観察された。

(独創点) 新しい固定法によりCA細胞の蛍光法による同定が迅速になり同一細胞の通常および免疫組織化

学的電顕観察が可能となった。

## 3. Serotonergic mechanism が関与していると考えられた hyperprolactinemia の1例

榊沼 恣・竹内 享・岡村 隆  
小林拓郎 (東大分院産婦)

23歳未婚女性, 当科受診の約1年半前から無月経。某医を受診し hyperprolactinemia を指摘される(160ng/ml)。なおこの頃体重が5~6kg増加。不安神経症の診断も受ける。しかし精神科の薬剤は服用していない。

当科での検査(CT scan, hypocycloidal tomography-XP)の結果下垂体腫瘍は認められなかった。血中 prolactin (Prl) は, L-DOPA, Bromocryptine の投与により著明に低下し, metoclopramide により著明に上昇した。それはまた nomifensine により paradoxical に上昇した。一方, TRH や domperidone 投与による血中 Prl の上昇は不十分であった。注目されたとは antiserotomunergic 薬剤である。cyprohptadine や methysergide により著明に血中 Prl が低下したことである。これらの結果は, この患者の hyperprolactinemia の一因として hyperserotonergic な状態が関与していることを示唆するものである。

## シンポジウム 卵の採取をめぐる諸問題

## I ヨーロッパにおける現況

長 田 尚 夫(日本大産婦)

1978年, イギリスにおいて初の体外受精児の誕生が報告されて以来, 現在までに既に, 400例以上の出産報告が推定されている。このように *In vitro* fertilization and embryo transfer は, 卵管性不妊症の画期的な治療手段として急速に普及しつつある。このような諸外国の情勢を反映して, 日本でも数大学にて臨床段階に取り組んでおり, 3人目の出産報告がなされ, さらに4~5人の妊娠が報告されるに至っている。そこで IVF & ET の普及が著しいヨーロッパ(イギリス, 西ドイツ, オーストリア)の実態を知る目的で昨年6月及び10月に訪欧する機会を得たのでここに報告する。訪問先は, イギリスでは Bourn Hall, 西ドイツでは Kiel 大学, Erlangen 大学, オーストリアでは, Wien 大学, Feichtinger 診療所の5カ所であった。詳細については紙面の都合上, 省略するが, IVF & ET の将来性は, 疑う余地がなく, 今後いかにその成功率を上げるかが話題の中心になっていたかに思われた。



### III 成熟卵の採取とモニタリング

—特に尿中ホルモンを中心に—

久保 春海 (東邦大第一産婦)

臨床上、発育卵胞のマーカーとして、ホルモンアッセイでは血中  $E_2-17\beta$ 、尿中総エストロゲンの測定、血中、尿中 LH 値などが用いられる。また USG では最大卵胞径測定により、発育卵胞の状態、数、位置などが把握される。今回、尿中エストロゲン半定量法として HAIR による 2 時間法が開発され、感度も  $1\text{ ng/ml}$  と充分なため、卵胞成熟のマーカーとして応用した。また、LH 半定量法との比較、併用による排卵予知の正確さを検討するため、サージ開始後、一定時間毎に内視鏡検査を行い、成熟卵胞、排卵所見などの確認を行った。この結果、E サージの開始から LH サージ迄の間隔は  $22 \pm 6\text{ hrs.}$  であった。また E サージの開始から  $55\text{ hrs.}$  以降で排卵所見が観察された。しかし E、LH とともに排卵期レベルのピークを示し、内視鏡的にも成熟卵胞であったにもかかわらず、未熟卵子 (GV 期) しかなかった例もあり、これ等の問題についても言及したい。

### IV 卵採取とその取り扱い

星合 昊・永沼孝子・星 和彦  
鈴木雅洲 (東北大産婦)

1. 卵管成熟の診断: 超音波断層法では排卵直前の卵胞最大径  $29.3\text{ mm}$  で、最大径と卵胞液量は相関が高く、受精群と非受精群は卵胞最大径に有意差があった。尿中ホルモン測定の結果、4 時間毎に測定した Estrogen 濃度が  $60\text{ ng/ml}$  以下なら 24 時間以内には LH サージは始まらず、それ以上なら 72 時間以内に開始することが多く、サージの開始は  $50\text{ IU/l}$  以上か  $3 \sim 5\text{ IU/h}$  以上であることがわかった。

2. 採卵: clomid/HCG、または clomid/LH サージによる卵胞発育数は患者当たり 1.9 個であった。また卵の Grade 分類は臨床上有用と思われた。卵胞液の増加に伴い液中の Progesterone (P)、Estradiol ( $E_2$ ) は増加し Testosterone (T) は減少、また P と T は負の相関を示した。分割しなかつた卵の卵胞液中の T は分割した卵のそれより高かった。

3. 採卵後: 培養液は  $T_8$ 、Ham's  $F_{10}$  で差はなく、ガスは混合ガスが  $\text{CO}_2 + \text{air}$  より秀れていた。精子処理は layerling 法で、運動率良好の精子  $1 \sim 3 \times 10^5/\text{ml}$  あれば良い。胚移植については検討の余地がある。

### 第26回北海道地方部会総会・学術講演会

期 日: 昭和59年1月31日 (火)

会 場: 札幌医科大学泌尿器科学教室

#### 1. 乳牛の繁殖生理 (発情周期・妊娠・分娩) と体温の変動に関する研究

大崎和榮・金川弘司 (北大獣医学部)

乳牛の繁殖生理、特に発情周期、妊娠および分娩と、体温との関係を調べるため、1 年間継続的に体温を測定した。体温測定にはホルスタイン種雌牛 39 頭を使用し、朝 (8 時 30 分) および夕方 (16 時) に直腸温を測定した。

発情周期に伴って牛の体温は変化し、発情 3 日前より下降をはじめ、発情日に急上昇し、翌日に下降した後、次第に上昇する傾向が見られた。

妊娠期には牛の体温は次第に上昇した。体温上昇は夕方の測定値の方が顕著であり、朝と夕方の体温差は次第に大きくなった。

妊娠末期に次第に高くなった体温は、分娩 2 ~ 3 日前に最高に達し、その後急激に下降して分娩に至った。分娩後は一時的に体温が上昇したが、次第に下降し、分娩後 20 日程度で発情周期時のレベルにもどった。

これら繁殖生理と関連した体温変化に対する季節や気温の影響は明らかではなかつた。

#### 2. リスザル体外受精卵の透過電顕像

萬 豊・清水哲也 (旭川医大産婦)

ヒト体外受精の quality control をたかめるためには、サル体外受精卵に関する研究の有用性は大きい。

今回、演者らはヒトの実験モデルとして、squirrel monkey (リスザル) を用い、体外受精卵の超微構造について検討を加えたのでその概要について報告する。

成熟雌リスザルに FSH-hCG 排卵誘発後、腹腔鏡によつて卵胞卵を採取し、21 時間の maturation culture を行い、また精子は electroejaculation 採取し、その稀釈液の  $0.05\text{ ml}$  を卵子含有培養液に加え、fertilization culture を行つた。

顆粒膜細胞層中の精子の先体反応、表層粒、syngamy を類推させる卵などについて超微構造などについて検討した。

### 3. *In vitro* での未成熟卵の maturation ならびに fertilization に関する検討

浅川竹仁・清水哲也(旭川医大産婦)

ヒトの体外受精ならびに受精卵の移植が不妊症の治療として注目されている。その臨床実現のため、*in vitro* での成熟卵及び受精卵の確保は大切である。今回、リスザルの未成熟卵を使用し、*in vitro* での成熟と受精に関し報告したい。

方法：FSH-HCG にて排卵誘発し、laparoscopy にて卵を採取。採卵時、各 Follicle の size を計測、又、培養卵は cumulus cell との関係を観察後、標本化し分析した。さらに一部の成熟卵に insemination を施行した。

結果：① HCG 注射16時間(採卵直後)では、ova の71.8%が未成熟卵(GV or Pro. I)であったが、21時間培養にて、maturation rate が、peak となった(insemination の optimal time)。② follicle size と maturation rate との関係では follicle が 1mm 以上では有意差はみられない。③ 21時間培養時点にて cumulus cell を有する卵の成熟率が有意に高値であった。④ *in vitro* での受精率は約31.2%であった。

### 4. マウス受精卵の染色体検索に関する基礎的研究とウシ受精卵の性別判定への応用的試み

菱沼 貢・金川弘司(北大獣医学部)  
宇高健二・酒井 実・清家 昇  
寺西正俊 (雪印・ET 研)

ddY 系マウスおよび ddY系 BALB/C 系の雑種マウスから採取した 1,117 個の受精卵を供試材料として、染色体標本作製時の培養条件の検討を行った後に、過排卵卵子の染色体構成の正常性を検討した。

その結果、0.4 $\mu$ g/ml コルヒチンを含む BMOC-3 で 2時間培養することによつて最も鮮明な染色体標本作製することができた。また、過排卵卵子(PMSG と HCG を、5IU または10IU 投与)においては、染色体の数的異常(3倍性、4倍性)とを性比に関して自然排卵卵子との間に有意差が認められなかつたことから、染色体構成には異常がないものと考えられた。

次に、ウシの胚盤胞14個について染色体の検出を試みた。その結果、4個の胚盤胞で性別判定が可能であったが、染色体の収縮が起こるため Y 染色体の識別は困難であった。以上の結果から、ウシの受精卵の染色体検査を行う場合には、さらに培養条件の検討が必要であると考えられた。

### 5. 透明帯除去ハムスター卵を用いたヒト精子染色体分析法の改良

上口勇次郎・美甘和哉(旭川医大生物)

最近、透明帯を除去したゴールデンハムスター卵にヒト精子を体外受精させ、その染色体を直接分析する方法が開発されたが、分析の成功率はかなり低い(用いた卵の5~10%)。我々は、1) ヒト精子の受精能獲得法、2) ハムスター卵への媒精法、3) 受精卵の培養法、4) ヒト精核とハムスター卵核の合核阻止および紡錘糸形成阻止法、5) 受精卵の染色体標本作製法、などの点に改良を加えてより高い成功率(50~60%)を得たので、この新法を紹介する。また、この研究から得られた知見のうち、特に受精能獲得用溶液と精子の間の親和性における個人差に関連して、男性不妊症検査に利用されている、いわゆるハムスターテストの有効性についても言及したい。

### 6. AIH にて妊娠に成功した逆行性射精の 1 例

酒井 潔・神谷博文・山本哲三  
(斗南病院産婦)  
三宅正文・大野一典・熊本悦明  
(札幌医大泌尿器)

逆行性射精による不妊症は、比較的稀な疾患であるが、適確に診断がつけば AIH を施行することにより生児を得ることが可能である。

症例は35歳、男子。妻が6年間の不妊を主訴に斗南病院産婦人科を受診。その際、夫の射精の欠如を訴えた。患者は札幌医大泌尿器科において逆行性射精と診断され、AIH の適応と判断された。

昭和57年10月より AIH を開始し、6回目にて妊娠に成功した。現在、妊娠31週で、経過は順調である。

AIH を施行するにあたり重要なことは、第1に正確に排卵の時期を察知することと、第2に運動性の高い、高濃度の精子をうることにある。後者について、わが国では、Hotchkiss に準拠した各種変法が行われているがここでは、われわれの方法を述べる。

### 7. Premature Ovarian Failure について

田中俊誠・吉田 博・大河内俊洋  
桜木則宏・藤本征一郎・一戸喜兵衛  
(北大産婦)

一般的に FSH が一度でも40mIU/ml を呈した reproductive age にある婦人は premature ovarian fail-



ure (POF) と診断される。

その病態像は不明の点が多い。POF の病態解明と治療方針の確立を本研究の目的とした。10名の POF 例を対象とした。対象婦人をできるだけ安静に保ち、15分間隔で14-16回採血し、LH、FSH、GnRH を測定した。8回採血後に Premarin (20mg) を静注して反応性を観察した。Gonadotropins に反応する POF と反応しない POF のあることが明らかにされた。

#### 8. 原発性無月経患者の内分泌学的検討

林 秀紀・東口篤司・田中昭一  
橋本正淑 (札幌医大産婦)

今回、我々は昭和51年より57年の7年間における原発性無月経患者の内分泌学的検討を試みたので報告する。対象22例の初診時年齢は18歳より33歳であった。原発性無月経患者の中で排卵誘発の可能性を期待しうる中枢性機能性障害と思われる症例が22例中7例(31.8%)と比較的多く、2例に HMG あるいは PMS で排卵妊娠した症例を認めた。また22例中10例(45.5%)と最も多かつた卵巣性無月経患者のうち、5例に染色体異常を認め、全例ターナー症候群であり、LH-RH テストの結果すべて hypergonadotropic, good response であった。さらに子宮性および性管分化の異常による原発性無月経患者は4例認められ Rokitsansky-Hausen-Küstner 症候群が2例、子宮形成不全、上部膈欠損が1例、女性半陰陽が1例であった。

尿中 Estrogen は全例において正常から低値を示し、2次性徴の発達とよく相関していた。血中 PRL は16例に測定し、プロラクチノーマの症例が120ng/ml であった以外はすべて正常範囲であった。

#### 9. Clomiphene-hMG-hCG 療法について

大河内俊洋・佐藤 春美・桜木 則宏  
田中 俊誠・藤本征一郎・一戸喜兵衛  
(北大産婦)

Clomiphene-hMG-hCG 療法 (c-h-h) の特徴を明らかにし、その適応基準を明確にすることを本研究の目的とした。c-h-h を受けた13例(13周期)、hMG 単独療法を受けた20例(23周期)を対象とした。両群における hMG の総授量ならびに注射日数、hMG 注射中の各種 monitoring の成績、および卵巣腫大の発生頻度ならびに黄体期中期の progesterone 値に検討を加えた。c-h-h においては hMG の総授与量が少なく済むこと、および注射日数が短縮されること、hMG 注射開始日の血清 E<sub>2</sub> 値は c-h-h において有意に高いこ

と、hMG 注射日ならびに注射前日において cervical score が有意に低いこと等が示された。c-h-h は経済的負担は少ないが、高頻度に poor cervical mucus を誘起することが明らかにされた。

#### 10. 排卵障害患者における LH-RH test の検討

下谷保治・林 秀紀・山本 弘  
幡 洋・遠藤俊明・藤井美穂  
東口篤司・佐藤卓弘・田中昭一  
橋本正淑 (札幌医大産婦)

現在、日常の不妊外来において、LH-RH test は、間脳一下垂体-卵巣系の内分泌機能の生理を理解するためにはもちろん、その病態を検索する際に不可欠の検査となっている。

昭和55年1月以来、当科不妊外来において種々の排卵障害を認める、または無月経の患者ののべ68例に対して LH-RH test を行ってきた。

LH-RH は100 $\mu$ g 静注とし、月経開始後または消退出血開始後2~3週間後に行つた。採血は投与前、15分、30分、60分、90分、120分に行つた。

LH-RH test により判明した間脳、下垂体、卵巣のそれぞれに障害部位を認める症例に対し、種々の治療を行ってきたが、今回、それらの治療法に対して検討を加え、また個々の症例の経過について検討を加えたので報告する。

#### 11. 機能不全睾丸における Sertoli cell の微細構造の検討

三宅正文・熊本悦明 (札幌医大泌尿器)

前回の当地方会において、障害睾丸における Sertoli 細胞の微細構造上の変化として、脂肪滴や空胞の増加が障害の原因に依らず認められることを報告した。しかし、微細構造の観察を行うのみでは、Sertoli 細胞の機能を推測することが難しかった。そこで、今回は障害睾丸 Sertoli 細胞の微細構造を定量的に比較検討し、その機能について考察を加えた。

障害睾丸として、不妊症睾丸14例、抗癌剤投与2例、老人睾丸24例、Estrogen 投与睾丸6例を対照とした。

方法はそれぞれ睾丸組織の光顕、電顕用試料を作製し、定量的な分析には5,000倍の電顕所見を用い、Sertoli 細胞質内の mitochondria、小胞体、脂肪滴などを計測した。更に stereological な分析も加えた。

Sertoli 細胞内の mitochondria、小胞体、脂肪滴などを比較することにより、Sertoli 細胞の機能を推測し、考察を加えた。

## 12. 当科男子不妊症例の内分泌環境について

榊原尚行・中西正一郎・野々村克也  
小柳知彦 (北大泌尿器)

昭和58年1年間の不妊症例は外来総数3,087名中60名(1.94%)であつた。無精子症16名(Sertoli cell only syndrome 7名, Klinefelter Syndrome 4名), 高度乏精子症(精子数:  $20 \times 10^6/\text{ml}$  以下)17名, 乏精子症(精子数:  $20 \sim 60 \times 10^6/\text{ml}$ )20名, 精子数が正常な例6名の内分泌環境につき検討した。基礎値平均では Sertoli cell only syndrome LH 30.8mIU/ml, FSH 34.7mIU/ml, 高度乏精子症 LH 18.0mIU/ml, FSH 15.0mIU/ml, 乏精子症 LH 11.9IU/ml, FSH 7.0 mIU/ml であつた。Prolactin 25ng/ml 以上を示すものは, Sertoli cell only syndrome 1例, 高度乏精子症4例で, 乏精子症症例にはみられなかつた。

さらに, 高度乏精子症, 乏精子症症例において, Clomiphene citrate 100mg/隔日, 投与前, 4週後の LH-RH, LH, FSH, Testosterone につき検討した。LH-RH 前2.88後3.09 pg/ml (正常値:  $< 8 \text{ pg/ml}$ ), LH 前16.2後43.7mIU/ml, FSH 前11.5後46.1mIU/ml, Testosterone 前338.7後402.7ng/dl であつた。

## 13. 外陰部皮膚のアンドロゲン・リセプターの検討

梅原次男・大野一典・熊本悦明  
(札幌医大泌尿器)

アンドロゲンの標的器官であるヒト外陰部の皮膚組織中にアンドロゲン・リセプターが存在することは既に知られているが, これらの研究に関して, 今までは培養した皮膚の線維芽細胞を用いた報告が多く, 臨床材料を用いたものは少ない。そこで今回, 停留辜丸, 尿道下裂および男子不妊症について陰囊を中心とした外陰部の皮膚のアンドロゲン・リセプターを検討した。

<材料, 方法> 手術時に陰茎包皮および陰囊の皮膚の一部を採取した。リセプター測定は, ホモジナイズ後, Cytosol と Nuclear extract を作製し  $^3\text{H}$ R 1881 を ligand として, DCC 法にて行つた。

<結果> 正常包皮における Cytosol 及び核成分の NBS 値は  $8.3 \pm 1.8 \text{ fmoles/mgprot}$  ( $n=10$ , 7~33歳) であつた。尿道下裂では  $7.3 \pm 0.96$ ,  $5.0 \pm 5.0$  ( $n=4$ ), 停留辜丸では,  $13.3 \pm 6.9$ ,  $12.3 \pm 7.0$  ( $n=6$ , 陰囊), Azoospermia の陰囊は4.4, ND (1例)。

症例が少ないため, 更に症例を増やして報告する予定である。

## 特別講演

## 男子不妊症の基礎と臨床

石 神 襄 次 (神戸大泌尿器)

## 国際学会のお知らせ

### III International Congress Andrology

会 期 1985年4月28日—5月2日

開 催 地 ボストン (アメリカ)

会 場 Westin Hotel

---

### 4th World Conference on In Vitro Fertilization

会 期 1985年11月19日—22日

開 催 地 メルボルン (オーストラリア)

なお, Announcement をご覧になりたいお方は学会事務所にございますのでお  
問合わせ下さい。

# XIth INTERNATIONAL CONGRESS ON ELECTRON MICROSCOPY

AUGUST 31—SEPTEMBER 7

1986

KYOTO, JAPAN

The Japanese Society of Electron Microscopy cordially invites you to the XIth International Congress on Electron Microscopy (XI ICEM)

## **DATE AND PLACE**

The Congress will be held in Kyoto, Japan from August 31 to September 7, 1986.

## **SESSIONS AND PRESENTATIONS**

There will be Plenary Sessions, Symposia, Workshops, Public Lectures and Oral and/or Poster Presentations of Contributed Papers.

Emphasis will be placed on the Poster Sessions.

## **SCIENTIFIC PROGRAMS**

There is no intention to limit the topics or categories for presentation. Any subjects related to electron microscopy will be considered for presentation.

## **LANGUAGE**

The official language of the Congress will be English.

## **SOCIAL EVENTS**

A Welcome Reception is planned for all Congress participants on August 31. A Banquet is scheduled for September 3. Tours and visits are planned for accompanying members during the Congress. There will be an excursion on September 7 for interested members.

## **COMMERCIAL EXHIBITION**

A large-scale exhibition of electron microscopes, auxiliary equipment and other scientific instruments is planned.

## **ACCOMMODATION**

Rooms ranging from luxurious to inexpensive will be available in Kyoto at various price levels.

If you wish to receive further information, please fill in the reply card and mail it to the Secretariat as soon as possible.

For further information please contact:

Congress Secretariat of the XI ICEM  
Department of Anatomy  
Faculty of Medicine  
Kyoto University  
Konoecho, Yoshida, Sakyo-ku,  
Kyoto 606  
Japan

連絡先 〒606 京都市左京区吉田近衛町  
京都大学医学部解剖学教室内

## 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括弧で囲む、すなわち  
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次

- 例 1. Kilbourne, N. J.: Varicose veins of pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynec. 25:104, 1933
2. 足高善雄, 竹村喬, 美並義博: 最近1カ年間の我が教室に於ける外来不妊患者の統計的観察, 日不妊誌, 4:13, 1959
3. 中島精, 中村正六, 角田英昭: 人工妊娠中絶と妊孕性, 日不妊誌, 2(4):38, 1957
  - b. 単行本の場合  
著者名：題名、巻数：頁数、発行所、年次
- 例 1. Rovinsky, J. J., and Guttmacher, A. F.: Medical, Surgical and Gynecological Complications of Pregnancy, ed 2: p 68, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1965
9. 原稿の採否、掲載順位その他編集に関する事項は編集会議で決定する。掲載は、原則として受付順による。
10. 特別掲載を希望する場合は、受付順序によらず、すみやかに論文を掲載する。この際は掲載に要する実費は全額著者負担としかつ特別掲載料を納付する。
11. 掲載の原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。(但し、特に費用を要した場合は、その一部を著者負担とすることがある)  
それ以上を必要とする場合は、原稿に総別刷部数を朱書すること。30部を越す分についての実費は著者負担とする。
12. 投稿先および諸費用の送付先は、東京都中央区日本橋2丁目14番9号加商ビル (株)国際会議事務局内  
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。なお、校正は字句の訂正にとどめる。
5. 受付年月日を論文の末尾に掲載する。

編 集 委 員

飯 塚 理 八 (委員長)

味 香 勝 也	百 目 鬼 郁 男	石 島 芳 郎
小 林 俊 文	百 瀬 和 夫	西 村 隆 一
佐 久 間 勇 次	和 久 正 良	

EDITORIAL BOARD

Rihachi IIZUKA (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA	Ikuo DOMEKI	Yoshiro ISHIJIMA
Toshihumi KOBAYASHI	Kazuo MOMOSE	Ryuichi NISHIMURA
Yuzi SAKUMA	Masayoshi WAKU	

日本不妊学会雑誌 29 卷 3 号

昭和 59 年 6 月 25 日 印 刷  
昭和 59 年 7 月 1 日 発 行

編集兼発行者	飯 塚 理 八
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
	東京都中央区日本橋二丁目 14-9 加商ビル (株)国際会議事務局内
	Tel (03) 272-7077
	振替口座番号 東京 7-93207