

日本不妊学会雑誌

第 31 卷

第 1 号

昭和 61 年 1 月 1 日

— 目 次 —

原 著

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…… 1	
Dopaminergic ergot compound, Lisuride hydrogen maleate の高 prolactin 血症, 乳汁漏出症および黄体機能不全症に対する至適用量の決定……………柳沼恣・他……18	
運動性無月経 (Exercise Associated Amenorrhoea) の検討: (第 1 報) 女子運動選手の月経異常の分析……………小田原靖・他……29	
Inhibition of Premature Labor by Ritodrine……………Minoru MANZAI・他……34	
超音波断層法による卵胞発育の観察……………有馬直見・他……38	
ヒト黄体の単層細胞培養を用いた LH-RH Agonist の卵巣 Steroidogenesis に関する研究……………簡邦彦……43	
多嚢胞性卵巣に於ける超音波画像形態と内分泌動態との関連性に関する検討……………高橋健太郎・他……51	
正常男子を双胎同胞にもつ XY 性腺形成不全症の一例……………堤治・他……58	
卵管峡部平滑筋の収縮特性から見た子宮外妊娠の検討……………清水良明・他……64	
卵管妊娠の保存手術の適応に関する研究……………星合昊・他……69	
受精卵着床時の家兔子宮内膜におけるアラキドン酸代謝の変化について……………石原理・他……75	
子宮内膜症不妊例の内分泌動態, 特にその黄体機能の検討……………楠原浩二・他……80	
骨盤子宮内膜症治療へ Buserelin の試み……………玉舎輝彦・他……86	
子宮内膜症の内視鏡下レーザー療法……………小島栄吉・他……91	
頸管粘液内カルシウムの精子運動性および頸管粘液貫通性に及ぼす影響……………小田隆晴・他……96	
当科不妊外来における妊娠成功例の妊娠分娩経過の検討……………田中昭一・他……101	
抗精子抗体に関する臨床的研究—男子不妊症240例および精管切断術後症例25例における検討—……………藤澤章二……106	
Goatex vascular graft を用いた人工精液瘤造設術の試み……………岩崎皓・他……116	
男子不妊症における八味地黄丸の臨床効果……………小林幹男・他……122	
男子不妊症の臨床統計的観察 (II)……………堀夏樹・他……127	
Immotile-cilia syndrome の 1 例……………角谷秀典・他……132	
Effects of Acrosin, Acrosin Inhibitors and Anti-acrosin Antibody on the Motility of Human Sperm……………KANEKO・他……136	
マウスの過剰妊娠に及ぼす PMSG の投与時期の影響……………小野寺政一・他……143	
地方部会講演抄録……………147	

会 告

第31回日本不妊学会総会および学術講演会

(第1回予告)

下記により第31回日本不妊学会総会ならびに学術講演会を開催いたしますので、多数の方々が奮って御参加下さいますようお願い申し上げます。

記

期 日：昭和61年10月15日（水）役員会
16日（木）、17日（金）学術講演会

会 場：仙台市民会館
（仙台市桜が丘公園4番1号
学会期間中は学会専用の電話を設置致します。）

なお演題募集要項、特別講演、シンポジウム、その他詳細については次号（31巻2号、昭和61年4月発刊予定）に掲載いたします。

一般演題の締切りは6月中旬の予定です。

第31回日本不妊学会会長

折 笠 精 一

連絡先：仙台市星陵町 1-1（〒980）

東北大学医学部泌尿器科学教室内

第31回日本不妊学会総会事務局

☎ 0222-74-1111 内線 2645, 2646

お 知 ら せ

第 6 回 World Congress on Human Reproduction

日 時 昭和62年10月25日 (日)~30日 (金)

場 所 笹川記念館

東京都港区三田 3-12-12

Congress President

飯 塚 理 八

Vice President

水 野 正 彦

森 崇 英

入 谷 明

毛 利 秀 雄

和 久 正 良

Secretary General

大 野 虎 之 進

Deputy Secretary General

高 橋 輝 雄

牧 野 恒 久

Treasurer

浜 田 宏

Deputy Treasurer

小 林 俊 文

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 31, No. 1, 1986)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

- Simultaneous Identification of Catecholamine Neuron in the Rat
Hypothalamus by Fluorescence and Electron Microscopy.....*H. Seto* 1
- Determination of Optimal dose of Dopaminergic Ergot Compound,
Lisuride Hydrogen Maleate for Hyperprolactinemia,
Galactorrhea and Short Luteal Phase.....*T. Yaginuma, T. Okamura,*
T. Kobayashi, H. Osada, T. Uemura, K. Minaguchi,
A. Matsuyama, K. Sato, K. Koizumi, T. Aono,
K. Kurachi, H. Sumioki, T. Onoue, H. Nakano,
M. Kusuda & Y. Nagata18
- Analysis of Exercise Associated Amenorrhea: Menstrual
Disorder in Athletes Women.....*Y. Odawara, K. Kusuhara, K. Yokoyama,*
K. Matsumoto, N. Watanabe & S. Hachiya29
- Inhibition of Premature Labor by Ritodrine.....*M. Manzai, Y. Suzuki, K. Ikuta,*
K. Nakamura, K. Mizuno, & Y. Yagami34
- The Observation of Ovarian Follicular Developmet by
Ultrasound.....*N. Arima, R. Shipmura, & Y. Nagata*28
- The effect of LH-RH Agonist on the Ovarian Steroidogenesis by
Monolayer Culture of Human Luteal Cells.....*Bang-Yann Jean*43
- Study on the Relation between Ultrasonographic Forms and
Endocrinic Change of Polycystic Ovary (PCO).....*K. Takahashi, K. Yoshino,*
T. Shibukawa, T. Hata, K. Sawada & M. Kitao51
- A Case Report of XY Pure Gonadal Dysgenesis
with a Twin Brother.....*O. Tsutsumi, O. Ishihara, M. Mizuno,*
M. Nakagawa & M. Sugase58
- Etiological Study of Ectopic Pregnancy from the View
Point of Contractile Properties in Isthmic Smooth
Muscle of Human Oviduct.....*Y. Shimizu, K. Ochiai & S. Hachiya*64
- Indications of the Conservative Surgical Treatment
of the Tubal Pregnancy.....*H. Hoshiai, R. Mori, S. Uehara K. Kyono*
A. Tsuiki & M. Onodera69
- Arachidonic Acid Metabolism in Rabbit Endometrium
around Implantation period of Blastocysts.....*O. Ishihara, K. Kinoshita,*
O. Tsutsumi, K. Satoh & M. Mizuno75
- Luteal Function of Infertile Patients with Endometriosis.....*K. Kusuhara,*

	<i>Y. Odawara, N. Watanabe, M. Shinozuka & S. Hachiya</i> ···	80
Treatment of Pelvic Endometriosis by Intranasal Insufflation		
of Buserelin·····	<i>T. Tamaya, J. Fujimoto & H. Okada</i> ···	86
Endoscopic Laser Surgery for Endometriosis·····	<i>E. Kojima, S. Kobayashi,</i> <i>M. Morita, S. Takei K. Yuda K. Shiina,</i> <i>M. Tanaka & S. Hirakawa</i> ···	91
Influence of Calcium in Cervical Mucus on Sperm Motility		
and Penetrability into Cervical Mucus·····	<i>T. Oda, T. Hirayama,</i> <i>T. Hasegawa & M. Hiroi</i> ···	96
Outcome of Pregnancy and Delivery in Infertile Women		
with Established Pregnancies·····	<i>S. Tanaka, H. Yamamoto, M. Fujii,</i> <i>T. Endo, Y. Shimoya A. Azumaguchi, T. Sato,</i> <i>E. Satohisa & M. Hashimoto</i> ···	101
Clinical Study of Anti-sperm Antibodies in 240 Infertile		
Males and 25 Vasectomized Males·····	<i>S. Fujisawa</i> ···	106
“A Method of Artificial Spermatocoele with Expanded		
Polytetrafluoroethylene (Goatex Vascular Graft)”·····	<i>A. Iwasaki, M. Hosaka,</i> <i>Y. Kinoshita, T. Iwamoto, H. Osada & M. Hirokawa</i> ···	116
Clinical Experience of Hachimijiogan for Patients Male		
Infertility·····	<i>M. Kobayashi, Y. Ito, T. Makino,</i> <i>F. Kumasaka, T. Suzuki & H. Yamanaka</i> ···	122
The Statistical Analysis of Male Infertility (II)·····	<i>N. Hori, I. Yamamoto,</i> <i>K. Arima, N. Hayashi, M. Kato & S. Tada</i> ···	127
A Case of Immotile-cilia Syndrome·····	<i>H. Sumiya, H. Ito, Z. Kataumi,</i> <i>K. Kawamura, H. Fuse, J. Shimazaki, T. Nagano & Y. Toyama</i> ···	132
Effects of Acrosin, Acrosin Inhibitors and Anti-acrosin		
Antibody on the Motility of Human Sperm·····	<i>S. Kaneko, S. Oshio,</i> <i>T. Kobayashi, H. Mohri & R. Iizuka</i> ···	136
Effect of Timing of PMSG Administration on		
Superpregnancy in Mice·····	<i>M. Onodera, M. Fukuda & Y. Ishijima</i> ···	143

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

Simultaneous Identification of Catecholamine Neuron in the Rat Hypothalamus by Fluorescence and Electron Microscopy

帝京大学医学部産科婦人科学教室（主任：沖永莊一，荒井清）

瀬戸裕

Hiroshi SETO

Department of Obstetrics and Gynecology,

Teikyo University School of Medicine

(Director: Prof. Shoichi Okinaga & Prof. Kiyoshi Arai)

カテコールアミンニューロンの組織学的同定には、従来 Falck-Hillarp 法が用いられてきた。この方法は特異性が高く鋭敏度の点でも十分汎用に耐えるものであるが凍結乾燥装置が必要であり、顕微鏡による観察までに長時間を要し、また電子顕微鏡的观察が不可能なことなどの難点がある。今回の実験は検鏡までの操作が簡単で短時間にでき蛍光顕微鏡での観察結果が鋭敏で特異性が高いこと蛍光顕微鏡で観察した同一の組織標本を引き続き電顕でも観察できること従って光学顕微鏡的に観察し、同定された同一細胞を電子顕微鏡的にも観察できることなどの条件を満足させるカテコールアミン同定法の開発を目的として行なわれた。

パラフォルムアルデヒドとグルタルの混合液で灌流固定をした妊娠ラットの脳をビプラトームで15 μ mの連続切片とし、これをヘアードライヤーで急速に乾燥させ蛍光顕微鏡下で観察し写真撮影を行なうという方法により組織切片の検鏡までの時間を大幅に短縮させることができた。連続切片の1片は固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下で写真撮影を行なった後、クレシールブルーで染色し再び写真撮影を行なう。これを緩衝液で洗い、脱水、包埋後超薄切片を作成し電子顕微鏡下に観察するという方法により蛍光顕微鏡で固定したのと同じカテコールアミン細胞を電子顕微鏡下で観察し写真撮影することが可能となった。また組織片をカテコールアミンの合成酵素の一つである tyrosine-hydroxylase (TH) の抗体を用いて Sternberger の PAP 酵素抗体法により染色すると視床下部弓状核のドーパミン細胞を染色する事ができる。白色光顕微鏡下で免疫組織学的同定を行なった同一組織片を、電子顕微鏡用標本にし超薄切片を作成して観察することが可能である。このカテコールアミンニューロン同定法を応用することにより三つの実験条件下、即ちコルヒチンあるいはカテコールアミンの異性体6-hydroxydopamine の側脳室内注入と、monosodium glutamate の皮下注射後の視床下部弓状核におけるカテコールアミン細胞の組織学的な変化を観察した。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 1-17, 1986)

緒言

視床下部弓状核のドーパミンニューロンは、生殖機能の発現維持に重要な役割を果たしていることが知られている^{1,2)}。このニューロンから分泌されるドーパミンは、下垂体レベルでプロラクチン抑制ホルモン (PIH) として作用しており、また一方視床下部レベルでは、LHRH

の分泌調節に関与しているとも言われている³⁾。1954年 Vogt⁴⁾は、生化学的研究により視床下部に高濃度のノルアドレナリンが存在することを発見し、中枢神経系におけるカテコールアミンの役割の重要性を示唆した。同年、Eränkö⁵⁾は、ホルマリン液で固定した後強い蛍光を発する細胞群が、ノルアドレナリンを含みその含量と蛍光の強さに相関性のあることを発見し組織学的アプロ

チの第一歩を記した。しかし、この固定法では、組織の破壊がひどく、カテコールアミン局在の観察や鋭敏度の点でも十分なものではなかった。1962年 Carlsson ら¹⁾は、ホルムアルデヒドガスに凍結組織片を作用させるという Falck-Hillarp 法を新たに開発した。この方法は、ホルマリンガスの作用でドーパミンやノルアドレナリンなどの primary catecholamine がイソキノリンにセロトニンや 6-ヒドロキシトリプタミンなどのトリプタミンが β -カルボリンに変化しこれらが強い蛍光を発するという原理に基づいている。この方法を用いると、組織の保存性が良く特異性が高くモノアミンの細胞レベルでの局在性の研究に十分耐えそのうえ極めて鋭敏で、蛍光顕微鏡下にノルアドレナリンを蛍光として認めるのに $4 \times 10^{-6}g$ のノルアドレナリンが存在すれば十分である。したがって、従来カテコールアミンニューロンの組織学的同定には、専らこの Falck-Hillarp 法が用いられてきた。しかしこの方法には、凍結乾燥装置が必要なうえ顕微鏡による観察までに一週間もの長期間を要すること、また電子顕微鏡の観察が不可能なことなどの難点がある。その後、pseudotransmitter である 5-hydroxydopamine (5-OH-DA) や 6-hydroxydopamine (6-OH-DA) などを使用方法が研究され、モノアミンニューロンの同定法として蛍光顕微鏡の観察だけでなく、電子顕微鏡の観察も行なわれる様になった⁶⁻⁸⁾。最近では、免疫組織化学的方法⁹⁾が研究されカテコールアミンの合成酵素である tyrosine-hydroxylase などの抗血清が実用化され、カテコールアミンの同定が行なわれるようになった^{3,10)}。これらの方法は、鋭敏度や特異性等の点では十分高い水準にあると考えられているがモノアミンの同定法としてはいわば間接法である。今回の研究はカテコールアミン自体の局在を示す蛍光法を用いながら凍結乾燥装置を要せず極く短時間の処理で組織片を蛍光顕微鏡下で観察でき、蛍光法で同定した同一細胞を電子顕微鏡下でも観察することが可能であるカテコールアミンの同定法の開発を目的とした。またこの方法を応用して三つの実験の条件下、即ち、コルヒチンあるいはドーパミンの異性体 6-hydroxydopamine の側脳室内注入と、monosodium glutamate の皮下注射後の視床下部弓状核におけるカテコールアミン細胞の組織学的変化を検討した。

実験方法

カテコールアミン細胞の光顕・電顕同時同定法の研究には、体重 350~450g の妊娠 16 日ラット (Wistar-Imamichi) を総計 150 匹使用した。ペントバルビタール麻酔下に (50~60mg/kg, ip.) ヘパリン (4000U/kg,

- ラット及びマウスの灌流固定
固定液：4% paraformaldehyde + 1% glutaraldehyde
- Microslicer で視床下部の連続切片作成 (15 μ m)

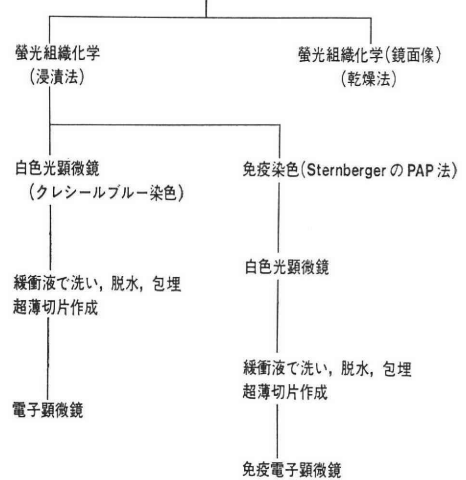


図 1 実験手順を示した模式図

ip.) を腹腔内投与し、人工呼吸を行ない、開腹開胸し、左心室よりガラミン (0.1ml of a 40mg/ml solution) を注入、さらに左心室経由で大動脈に 15 ゲージカニューレを挿入し、右心室上縁に切開を加え、1% 亜硝酸ナトリウム溶液 (0.01M 磷酸緩衝液, pH 7.4) で、約 1 分間灌流を行ない血液を流出させた。つづいて、4% パラフォルムアルデヒドと、0.5%~1.0% グルタルアルデヒドを含む混合液 (0.075M 磷酸緩衝液, pH 7.4) で 10 分間灌流固定をした後、脳を採取した。図 1 に示した実験手順に従って、脳組織片をさらに、固定液中に 12 時間浸漬し、弓状核を含む視床下部を Microslicer で 15 μ m の連続切片とし、2 枚 1 組にした。この 1 片をヘアードライヤーで 5 分間急速に乾燥させ、パラフィンオイルで封入、Olympus Vanox 蛍光顕微鏡で観察し、写真撮影を行ない鏡面像とした。対の 1 片は、固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下で写真撮影を行なった後、0.05% クレシールブルー溶液 (0.075M 磷酸緩衝液, pH 7.4) で 3 分間染色し、再び写真撮影をしてカテコールアミン細胞の同定を行なった。この切片をさらに、電顕用組織片とし、磷酸緩衝液 (pH 7.4) にて水洗し、スライドガラス上にのせて平らにし、これを 8% 寒天で固め、1% オスミウム酸 (0.14M ペロナル酢酸緩衝液, pH, 7.4) で 60 分間固定し、エチルアルコール系列で脱水後、Epon 812 で包埋し、Porter MT 2 型あるいは Reichert 型超ミクロームにて 50nm 前後の超薄切片を作成した。また切片は、酢酸ウラニールとクエン酸鉛の

2重染色を行ない、HS-9あるいはHU 12As型電子顕微鏡で直接倍率500~20000倍にて観察した。

免疫組織化学的染色では、Sternberger⁹⁾のPAP酵素抗体法で染色を行ない、これを白色光顕微鏡下で観察し、写真撮影を行なった。また、この切片をさらに磷酸緩衝液にて水洗し、スライドガラス上で平らにした組織片を8%寒天で固め、さらに1%オスミウム酸(0.14Mペロナール酢酸緩衝液、pH 7.4)で固定し、脱水後エポンに包埋し、50nm前後の超薄切片を作成して電子顕微鏡下に観察した。免疫組織学的染色法は、組織片を順次、正常ヤギ血清(normal goat serum, NGS)、カテコールアミン合成酵素である tyrosine-hydroxylase (TH)の抗血清、抗家兎ヤギ IgG、次に PAP とインキュベートした。発色は、ジアミノベンチジン過酸化水素溶液(DAB-H₂O₂)で行なつた。

ラットの側脳室にコルヒチン及び6-OH-DAを注入する方法は、脳定位固定器を使用し、ペントバルビタール麻酔下(50~60mg/kg, ip,)にブレッグマより後方2.3mm,各左右3mmの位置より、深さ4.5mmの側脳室にマイクロカニューレを挿入し、ツルース微量注入器(Type-B3)を用い注入した。

コルヒチン脳室注入の実験には、妊娠後期(妊娠16日以後)のラット20匹を使用した。コルヒチンの投与量は、50 μ g(生食20 μ l)とし投与後、24時間で灌流固定を行ない、脳を採取し、同様に弓状核のカテコールアミン細胞の観察を行なつた。

6-OH-DA 脳室注入の実験には、250~300gの雄ラット(Wistar-Imamichi)40匹を使用した。投与量は、6-OH-DA 200 μ g(生食20 μ l)とした。灌流固定は、投与後1日、2日、3日、~10日と、1日おきに行ない、経時的な弓状核のカテコールアミン細胞の観察を行なつた。

その他、monosodium glutamate (MSG)の投与実験には、30~40gの妊娠16日マウス(C57BL/6)50匹を使用した。6mg/gのMSGを皮下注射した実験群と、生理食塩水を皮下注射した対照群について、投与後、1時間30分と3時間でそれぞれ灌流固定し、視床下部組織片を採取し、蛍光顕微鏡下で観察した。

実験結果

1) 蛍光顕微鏡的固定法

Microslicerにより15 μ mとした連続切片の対の一片を、ヘアードライヤーで5分間急速に乾燥させ蛍光顕微鏡下に観察した。弓状核のカテコールアミン細胞は、強い蛍光を発して観察された(Fig. 1c)。この乾燥法と、室温自然乾燥法、凍結乾燥装置を使用する方法とを比較検討すると、ヘアードライヤーによる急速な乾燥法が、

迅速かつ容易でしかも蛍光が最も強く長期安定しており、1カ月後も蛍光の強さは変わらず、さらに他の方法で生じた切片の亀裂も生じないなどの利点があった。乾燥法で用いた対の一片を、固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下で観察すると、弓状核のカテコールアミン細胞は、中等度の蛍光を発して観察された(Fig. 1a)。次に、この同じ組織片を、緩衝液で洗い、クレシールブルーで染色し、白色光顕微鏡下で観察すると(図, 1),細胞、脳室、血管、などの位置関係が明らかとなり、カテコールアミン細胞の同定は、非常に容易であつた(Fig. 1b)。固定液に浸漬したまま撮影した弓状核カテコールアミン細胞の蛍光顕微鏡写真はヘアードライヤーによる迅速法に比べ蛍光は弱い、電子顕微鏡下でのカテコールアミン細胞の同定の予備段階として重要である。

2) 電子顕微鏡的固定法

電子顕微鏡用の資料作成に関して、種々の固定液を比較検討した結果、4%パラフォルムアルデヒドと1%グルタルアルデヒドの水溶液が最も組織の保存性が良いことがわかつた。4%パラフォルムアルデヒドと0.5%グルタルアルデヒドの水溶液で行なうと、細胞外膜に細かい亀裂が生じることがわかつた。カテコールアミン細胞の電子顕微鏡的固定は、図1に示した手順に従つて、まず、固定液に浸漬したまま、弓状核を蛍光顕微鏡下で写真撮影した。カテコールアミン細胞は、中等度の蛍光を発して観察される(Fig. 2a)。次に、同一切片をクレシールブルーで染色し、再び写真撮影を行ない、さらに緩衝液で洗い、脱水、包埋後超薄切片を作成し電子顕微鏡下で観察した。既にプリントされた蛍光顕微鏡写真とクレシールブルーで染色した白色光顕微鏡写真を参照しながら低倍で電子顕微鏡的観察を進めた。周囲の血管や第3脳室と細胞の位置関係等から、固定液に浸漬したまま観察をしたと同一のカテコールアミン細胞を電子顕微鏡下で同定することが可能であつた(Fig. 2b, c)。同定されたカテコールアミン細胞を観察すると、大きな円形の核の周りの細胞質にはミトコンドリアが認められ粗面小胞体が良く発達しており小空胞も認められた(Fig. 2c)。

3) 免疫組織化学的固定法

視床下部組織片を固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡で、弓状核のドーパミン細胞群を観察し写真撮影をした(Fig. 3a)後、同一の組織片を緩衝液で洗つた後、カテコールアミン合成酵素である tyrosine-hydroxylase (TH)の抗体を用いて免疫染色を行なつた(Fig. 3b)。蛍光顕微鏡下で中等度の蛍光を発していたカテコールアミン細胞は(Fig. 3a, cell 1, 2, 3), TH抗血清による免疫組織化学的染色により白色光顕微鏡下で特異的に強く染色されていることが観察された(Fig. 3b)。免疫

組織化学による弓状核カテコールアミン細胞の同定は、ヘアードライヤーによる迅速法とクレシールブルー染色による顕微鏡写真を参照しながら行なう方法より、容易で確実な方法であることがわかった。

次に同一組織片を、脱水、包埋して、超薄切片を作成し電子顕微鏡下で観察した (Fig. 3c). 蛍光顕微鏡下で蛍光を発したドーパミン細胞は、抗 TH によって電子顕微鏡下でも特異的に染色されており、容易に同定された。核、及びミトコンドリアは染色されず、粗面小胞体やリソソーム、分泌顆粒などが特異的に強く染色された (Fig. 3d).

4) コルヒチン投与による弓状核ドーパミンニューロンの変化

妊娠ラットの側脳室にコルヒチン50 μ g を注入し24時間後、弓状核でのカテコールアミン細胞のドーパミンニューロンを観察した (Fig. 4a~f). カテコールアミン細胞の同定は、次のごとく行なった。ラットを灌流固定した後、脳を採取し、Microslicer により15 μ m の連続切片とし2枚1組とした。1片を固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下で観察した (Fig. 4a). 対照群に比べコルヒチン投与によりドーパミンニューロンの蛍光は、著明に増強しているのが観察された。またヘアードライヤーによる連続切片の対の1片を急速に乾燥させ蛍光顕微鏡下に観察したのも、同様に蛍光の著大な増強が観察された。さらに、先に固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下に観察した切片を、脱水、包埋し、超薄切片を作成し電子顕微鏡下に観察した (Fig. 4b~f). コルヒチンの投与により蛍光が増強し、弓状核でのカテコールアミン細胞の同定が容易となった。またさらに、蛍光顕微鏡下で同定されたカテコールアミン細胞を、電子顕微鏡下で観察した。対照群と比較してゴルジ装置及び粗面小胞体が、著明に発達しており、直径50nm の小空胞が多数観察された (Fig. 4e, f).

5) 6-OH-DA 投与による弓状核ドーパミンニューロンの変化

モノアミン (MA) 線維が、外因性アミンを take up する作用が強いことを利用して pseudotransmitter である 6-hydroxydopamine (6-OH-DA) を投与し、前述の同定法により弓状核のカテコールアミン細胞の変化を時間的経過をおって観察した。250~300g の雄ラットの側脳室に6-OH-DA 200 μ g (生食20 μ l) を注入し24時間後、弓状核でのカテコールアミン細胞の変化を観察した (Fig. 5). 固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下で観察するとカテコールアミン細胞は、中等度の蛍光を発して観察された (Fig. 5a). 同一組織片を緩衝液で洗った後、TH の抗体を用いて、免疫組織化学的染色を行なった。

蛍光顕微鏡下で同定されたカテコールアミン細胞と、抗 TH 陽性細胞とは良く一致していた (Fig. 5b). さらに、同一組織片を、脱水、包埋後、超薄切片を作成し、電子顕微鏡下に低倍で観察した (Fig. 5c). 免疫組織化学的染色で、強く染色されたカテコールアミン細胞は電子顕微鏡による同定が容易であった (Fig. 5a, b, c, cell 1). さらに電子顕微鏡でこの細胞を、直接倍率7000倍で観察した (Fig. 5d). 細胞内には lysosomal dense body の出現を認め、細胞は変性の過程にあることを示していた (Fig. 5e, f). 6-OH-DA 注入し、48時間後、弓状核でのカテコールアミン細胞の変性を観察した (Fig. 6). 固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下で観察すると、投与後24時間のものより蛍光が減弱しているのが観察された (Fig. 6a). 同じ組織片を、脱水、包埋後、超薄切片を作成し、電子顕微鏡で直接倍率1000倍で観察した (Fig. 6b). 既に撮影した蛍光顕微鏡写真を参照し、低倍の電子顕微鏡像との比較を行なつて、細胞の位置関係から求める弓状核のカテコールアミン細胞の同定を行なった (Fig. 6a, b, c, cell 1). この細胞は核が著明に変形し変性過程にあることが明らかに認められた (Fig. 6d). 次に、ラットの側脳室に6-OH-DA を注入し、その後3日目から、10日目迄24時間ごとに灌流固定を行ない、弓状核カテコールアミン細胞の経日的変化を蛍光顕微鏡下で観察した。3日及び4日目では、ヘアードライヤーによる急速乾燥法で観察すると、蛍光を発する弓状核カテコールアミン細胞は減少し、一切片あたり5~7個観察されるのみであった。正中隆起外層の神経終末は、強い蛍光を発し変化はみられなかった。5日及び6日目では、カテコールアミン細胞の蛍光はさらに減弱し一切片あたり2~3個の強い蛍光を発する細胞のみが観察された。正中隆起外層の神経終末の蛍光も減弱しているのが観察された。7日から10日目では、カテコールアミン細胞の蛍光は全く消失した。正中隆起の神経終末は弱い蛍光が残存していた。

6) Monosodium Glutamate 投与による弓状核の変化

30~40g の妊娠16日マウス (C57BL/6) に、monosodium glutamate (MSG) 6mg/g を皮下注射した実験群と対照群 (生理食塩水を皮下注射した) の2群を、1時間30分と3時間後に灌流固定し、脳を採取し、弓状核カテコールアミン細胞の比較検討を行なった (Fig. 7). 対照群では、弓状核カテコールアミン細胞群は、蛍光顕微鏡下で強い蛍光を発し観察された (Fig. 7a, b). MSG 投与後1時間30分では、弓状核の DA 細胞や DA 軸索の蛍光が消失し MSG による障害範囲が一見明瞭に観察される (Fig. 7c). また、弓状核の障害部位

Fig. 1.

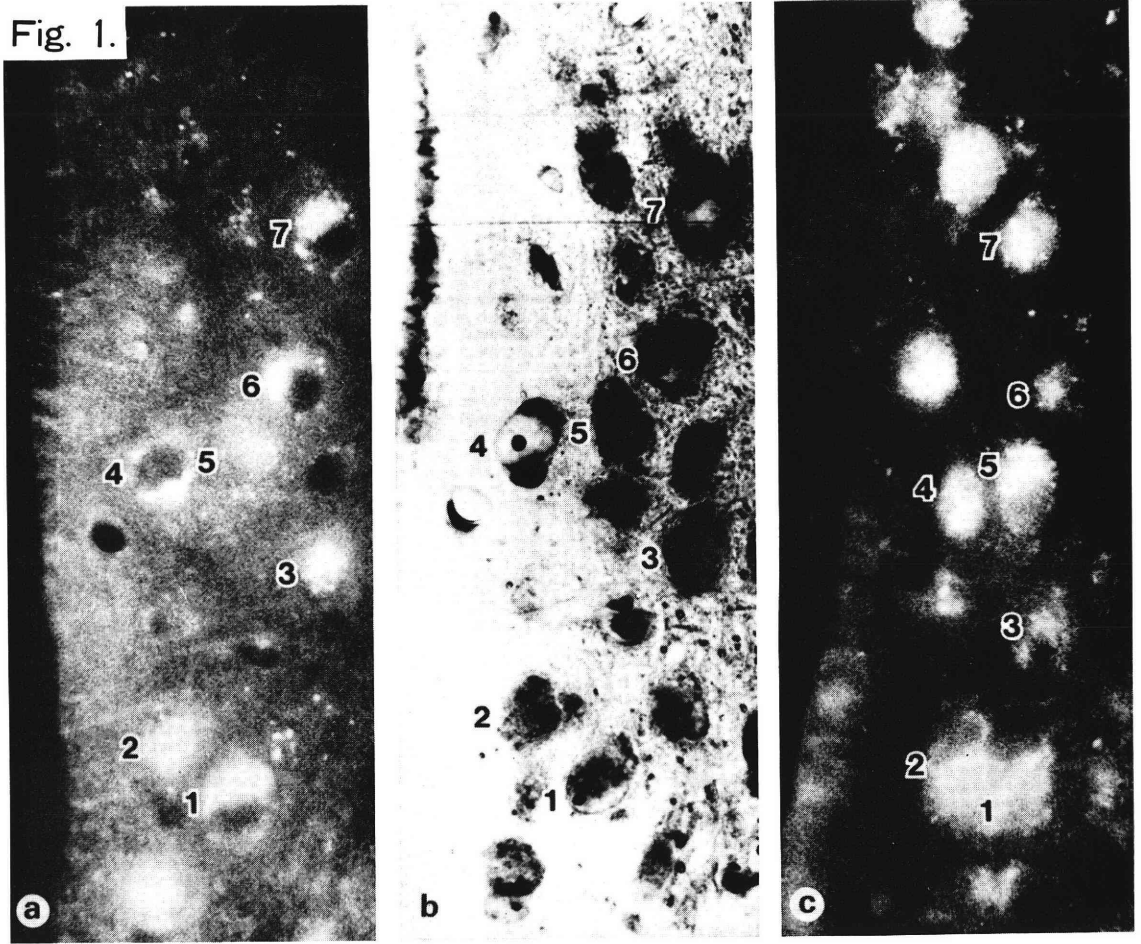


Fig. 1. Fluorescence (a and c) and white light (b) micrographies of the catecholamine (CA) cells in the arcuate nucleus.
(a) Fluorescent CA cells (numbered from 1 to 7) were observable in the vibratome section which was maintained in the fixative. ($\times 660$)
(b) The same section as in figure (a) was stained with cresyl blue. ($\times 660$)
(c) The intensity of the fluorescence in the CA cells identical to those in figure (a) and (b) was enhanced when the serial section was rapidly dried with hair drier. ($\times 660$)

Fig. 2.

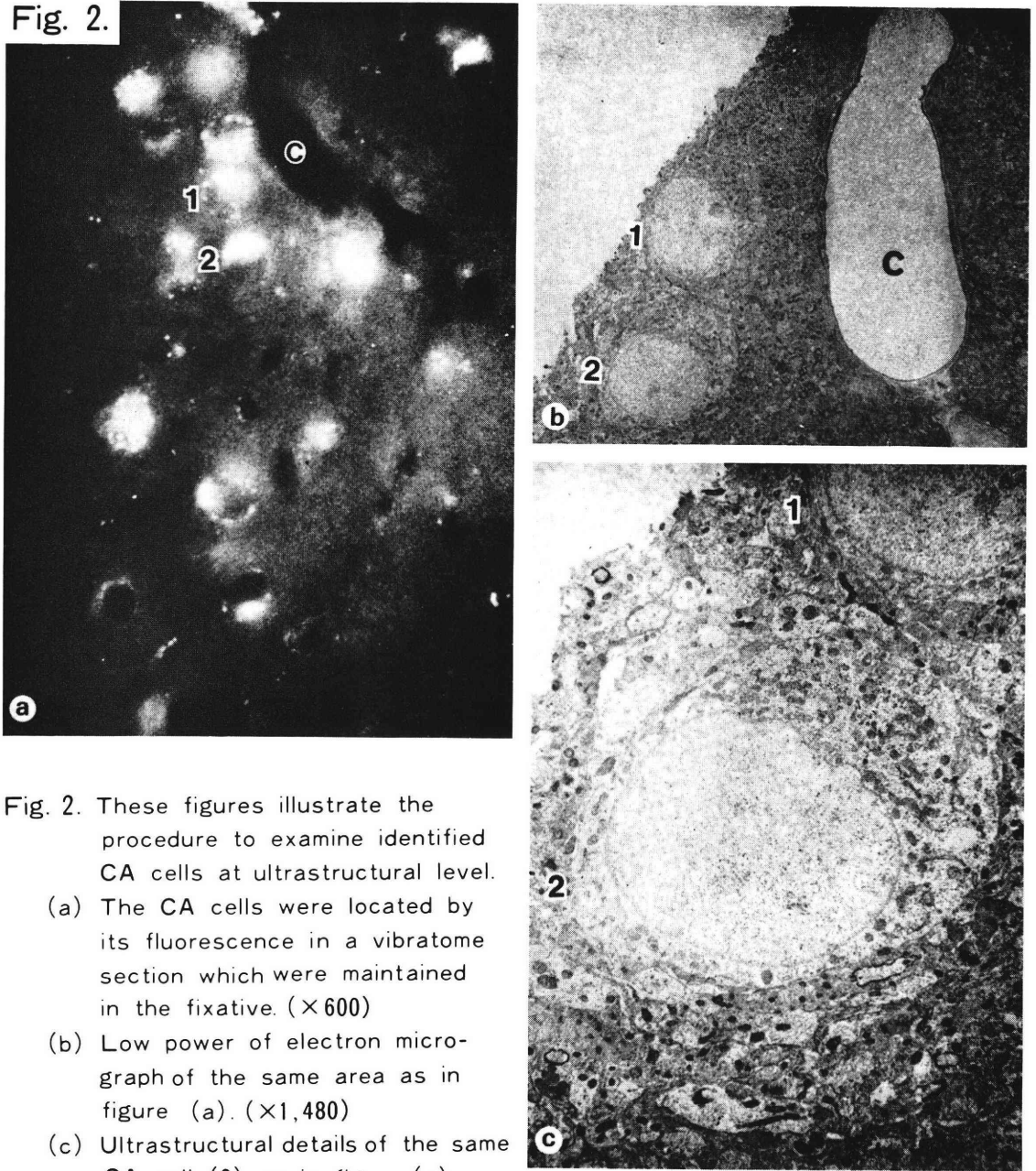


Fig. 2. These figures illustrate the procedure to examine identified CA cells at ultrastructural level.

(a) The CA cells were located by its fluorescence in a vibratome section which were maintained in the fixative. ($\times 600$)

(b) Low power of electron micrograph of the same area as in figure (a). ($\times 1,480$)

(c) Ultrastructural details of the same CA cell (2) as in figure (a) and (b) ($\times 4,000$)

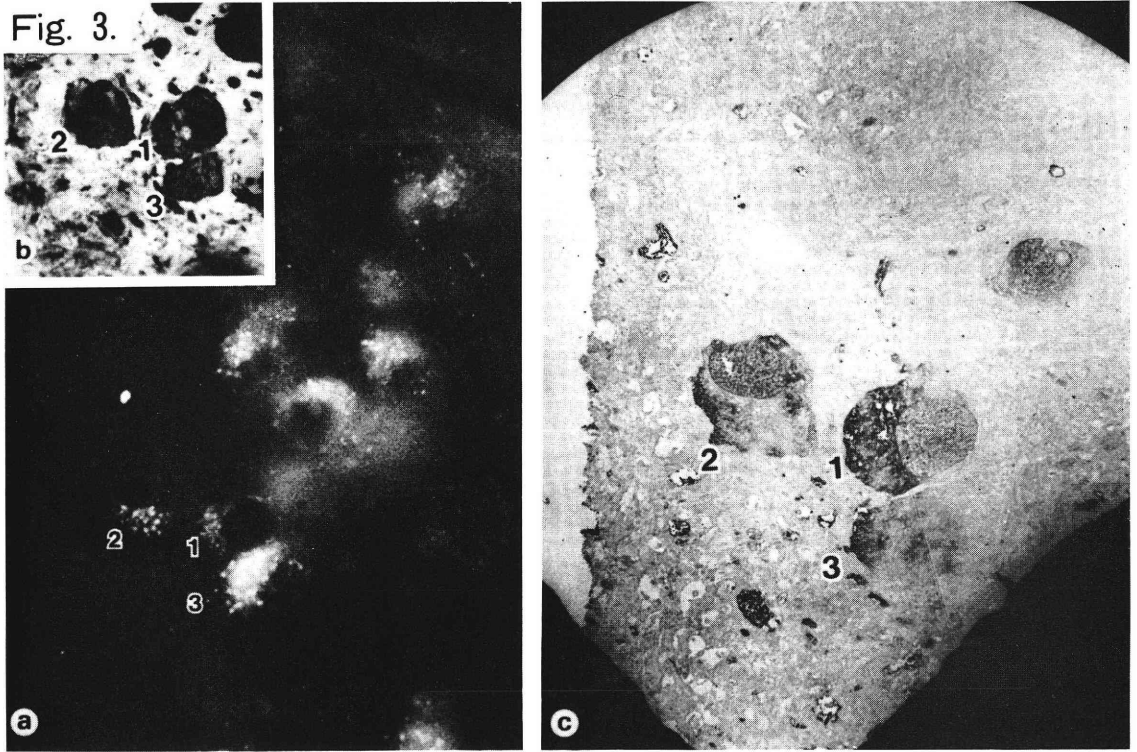


Fig. 3. The identified CA cells were examined by immunohistochemistry. (a) CA cell bodies (numbered 1, 2 and 3) were identified in the vibratome section which were maintained in the fixative. ($\times 570$)

- (b) The same section was rinsed in phosphate buffer and immunohistochemically stained with tyrosine hydroxylase (TH) antiserum according to Sternberger's technique. ($\times 570$)

- (c) Low power of electron micrograph from the same section which had been immunohistochemically stained with TH antiserum.

The identified CA cells (1, 2 and 3) were easily located by cross reference to photographs (a) and (b) ($\times 1,270$)

- (d) Ultrastructure of the CA cell which were stained with TH antiserum. ($\times 6,000$)

Fig. 4.

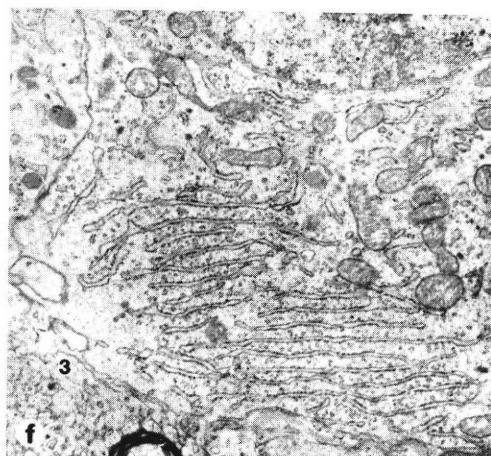
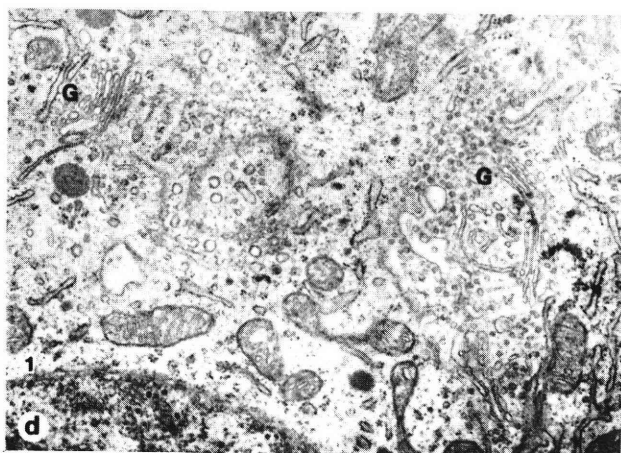
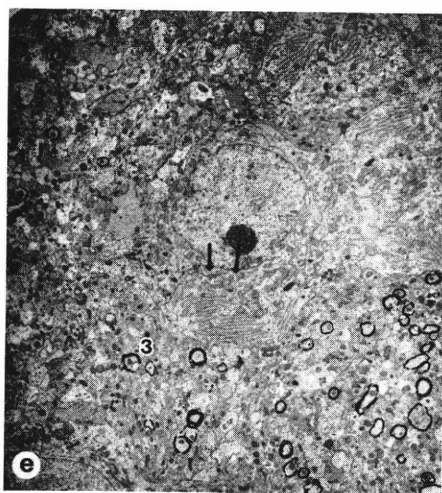
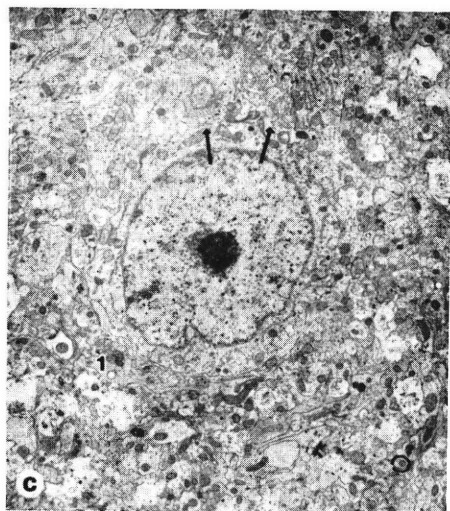
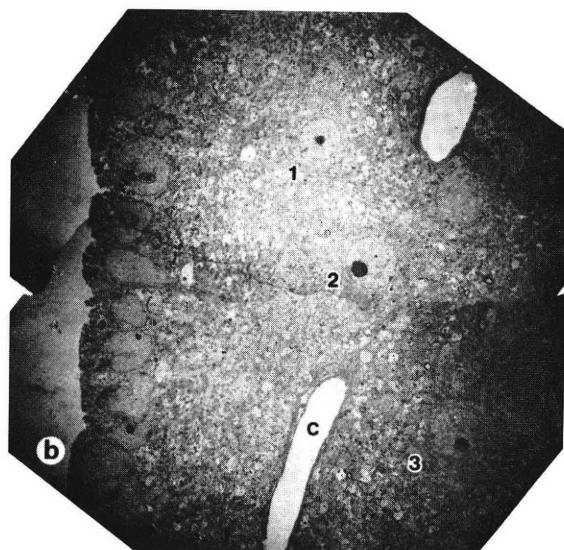
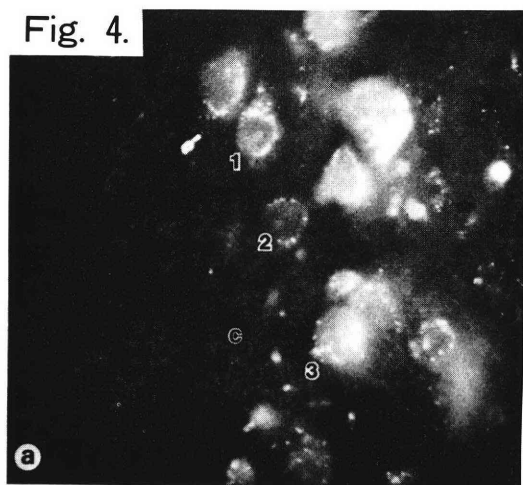


Fig. 5.

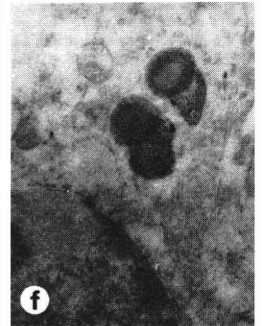
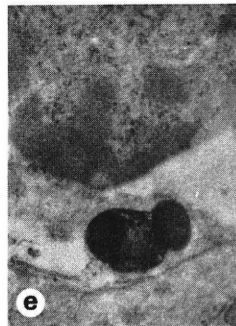
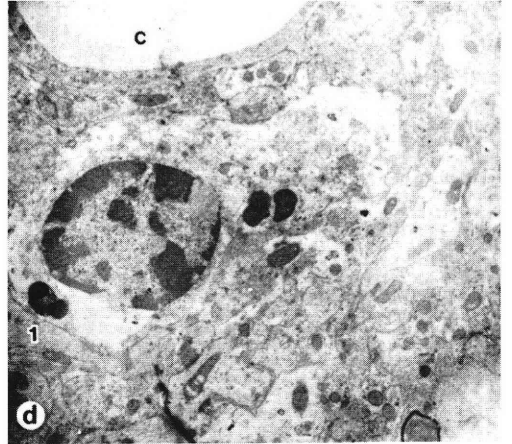
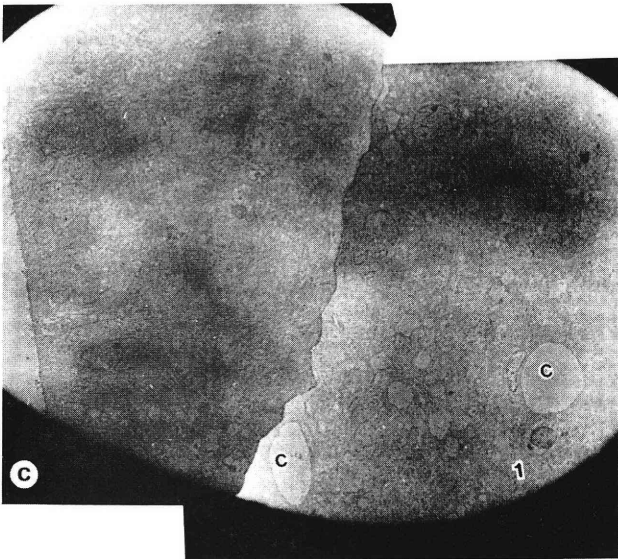
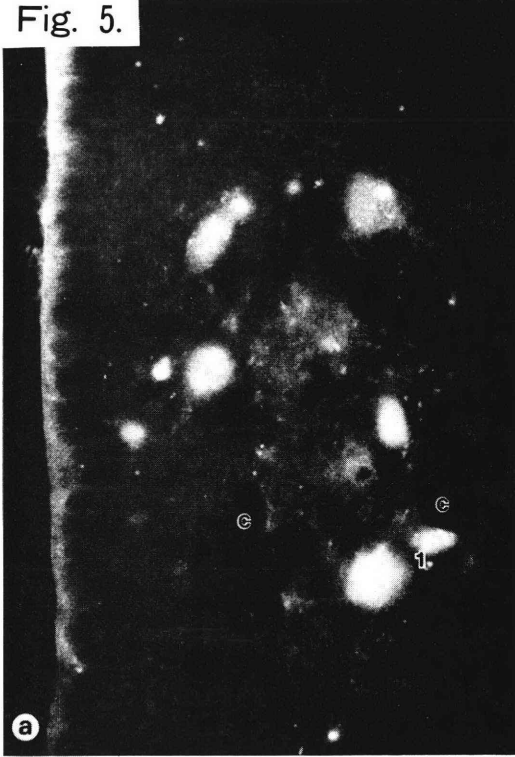


Fig. 6.

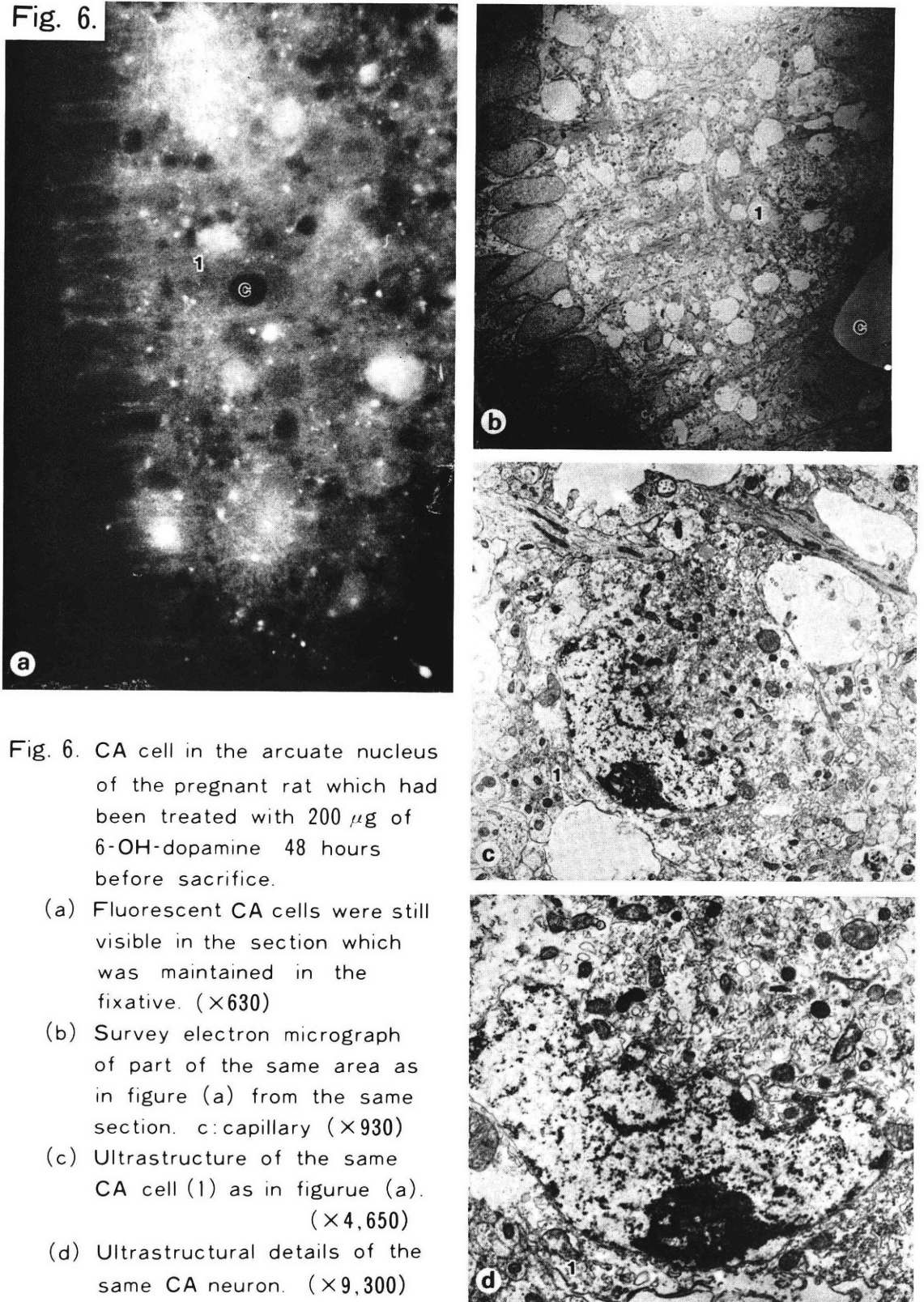
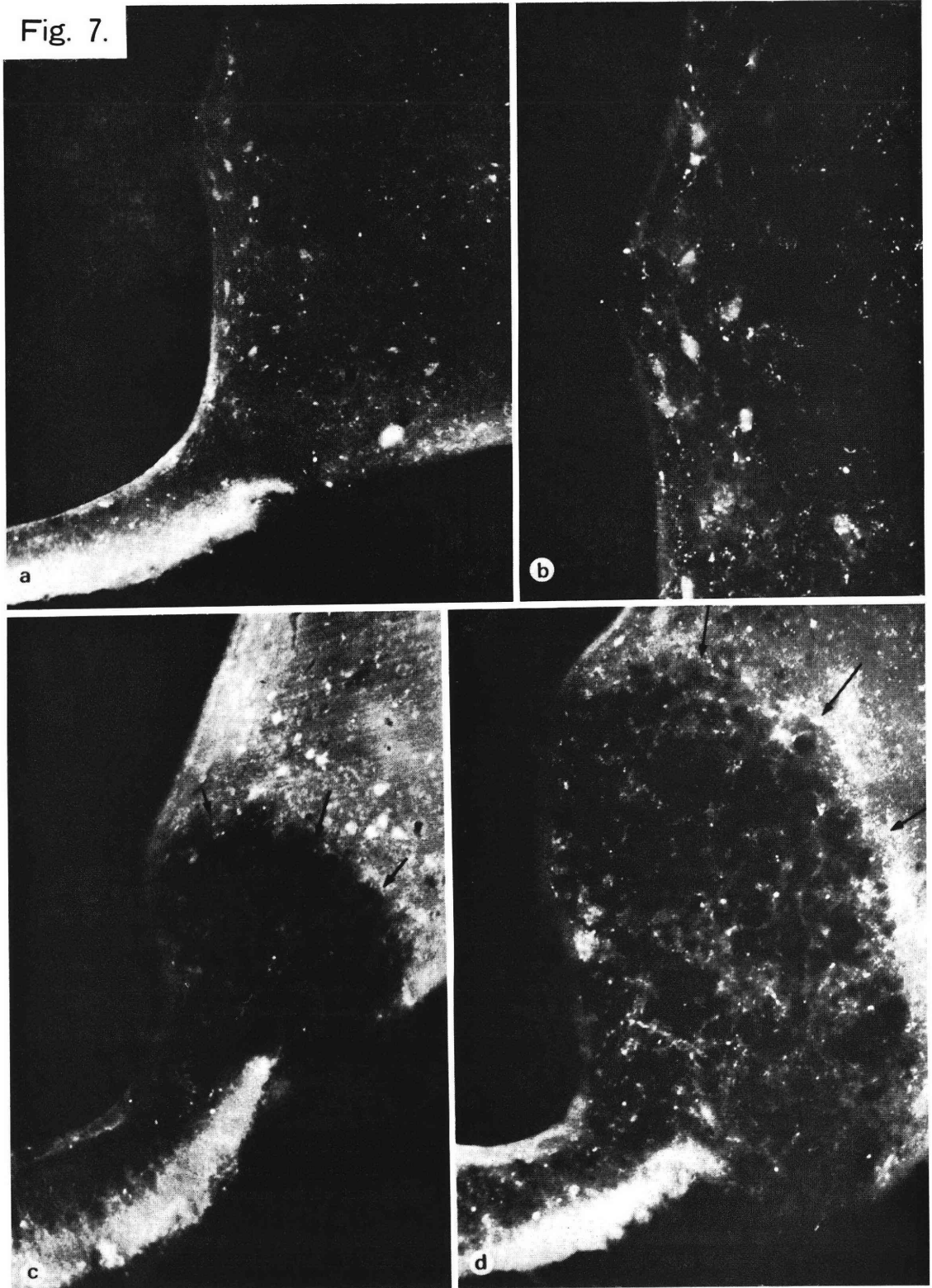


Fig. 6. CA cell in the arcuate nucleus of the pregnant rat which had been treated with $200 \mu\text{g}$ of 6-OH-dopamine 48 hours before sacrifice.

- (a) Fluorescent CA cells were still visible in the section which was maintained in the fixative. ($\times 630$)
- (b) Survey electron micrograph of part of the same area as in figure (a) from the same section. c: capillary ($\times 930$)
- (c) Ultrastructure of the same CA cell (1) as in figure (a). ($\times 4,650$)
- (d) Ultrastructural details of the same CA neuron. ($\times 9,300$)

Fig. 7.



の背側部に近接して存在する DA 細胞は、かえって蛍光の著明な増強がみられた。正中隆起外層の神経終末の蛍光には、著明な変化はみられなかつた (Fig. 7c)。MSG 投与後 3 時間では、弓状核 DA 細胞は、蛍光がまったく消失しているのが観察された。正中隆起外層の神経終末の蛍光に、著明な変化はみられなかつた (Fig. 7d)。

考 案

弓状核で観察されるドーパミン (DA) が下垂体の機能調節にどの様に関与するかについては、種々の研究が報告されている。1969年 McCann ら^{11,12)}は、DA の脳室内投与および *in vitro* で視床下部組織片と共にインキュベートした下垂体メディウム中に DA を加えることにより DA が LHRH の放出を促進することを認めた。また、DA は下垂体でプロラクチン抑制ホルモンと

して作用していることが知られている。弓状核 DA ニューロンは生殖活動の中枢調節に於いて極めて重要な役割を演じている。

1) 蛍光顕微鏡的同定法

カテコールアミン (CA) の組織学的同定法は、Falck-Hillarp 法の開発以来、その改良が種々試みられてきた^{13,14)}。モノアミン (MA) は、主として varicosities (boutons) と呼ばれる直径 1.0~1.5 μ の神経線維の膨らみに小顆粒の形で蓄積されていると考えられている。正常動物の組織では、bouton や神経終末以外の線維部位では Falck-Hillarp 法でも極めて蛍光が弱いので、線維の分布や走行を観察するためには種々の実験条件や薬物による蛍光の増強が行なわれている。弓状核の DA 細胞は、正常非妊娠動物では蛍光も弱く数も少ない。これに反し、妊娠ラットでは著しく蛍光も強く多数観察される。また、内因性アミン (endogenous amine) を増強

Fig. 4 CA cell in the arcuate nucleus from the pregnant rat which had been treated with 50 μ g of colchicine in the lateral ventricle 24 hours before sacrifice.

- (a) The intensity of fluorescense in the CA cells was enhanced by the colchicine treatment. The section was maintained in the fixative. The section was then washed in buffer and processed for electron microscopy. ($\times 560$)
- (b) Low power of elecrtion micrograph of the same area as in figure (a). The identified CA cells (1, 2 and 3) were relocatable without difficulties. ($\times 830$)
- (c) Ultrastructure of the identified CA cell (1). ($\times 2,500$)
- (d) Ultrastructural details of the area marked by arrows in figure (c). Well developed Golgi apparatus and a number of CA vesicles were observed. ($\times 16,670$)
- (e) Ultrastructure of the CA cell (2). ($\times 2,500$)
- (f) Ultrastructural details of the CA cell (2). Well developed rough endoplasmic reticulum were observed. ($\times 12,500$)

Fig. 5 Degenerating CA cells in the arcuate nucleus of the pregnant rat which had been treated with 200 μ g of 6-OH-dopamine in the lateral ventricle 24 hours before sacrifice.

- (a) Several fluorescent CA cells were observed in the section which was maintained in the fixative. c: capillary. ($\times 580$)
- (b) The same section as in figure (a) was immunohistochemically stained with TH anti-serum. Most fluorescent cells in figure (a) are also positive for anti-TH staining. ($\times 580$)
- (c) Survey electron micrograph of the same are as in figure (a) from the same section. ($\times 860$)
- (d) The cell (l) is identical to the CA cell body as in figure (a) and (b) ($\times 6,010$)
- (e) And (f) ultrastructural details of the same CA cell. Lysosomal dense bodies and irregularity of cytoplasmic configuration indicate a degeneration process in the cell. ($\times 17,170$)

Fig. 7 Fluorescence micrographies of the catecholamine (CA) cells in the arcuate nucleus and CA terminals in the median eminence of the control (physiological saline treated) (a, b) and MSG treated (c, d) mouse.

- (a) Fluorescent CA cells and terminals were prominent. ($\times 160$)
- (b) High magnification of an area in Fig. (a) Many fluorescent CA cells were observable in the arcuate nucleus. ($\times 320$)
- (c) Lesioned area was sharply demarcated by loss of fluorescent CA cells and axons in the arcuate nucleus of the mouse treated with MSG 1.5 hours before sacrifice. Fluorescence of some of the CA cells located in the dorsal part of the arcuate nucleus were rather enhanced. ($\times 160$)
- (d) Almost complete loss of fluorescent CA cells was prominent in the arcuate nucleus of the mouse treated with MSG 3 hours before sacrifice, while CA terminals in the median eminence remained unchanged. ($\times 160$)

させるために、モノアミン・オキシダーゼ(MAO) inhibitor の nialamide と l-dopa の併用投与が行なわれ、カテコールアミン細胞の蛍光を増強させるためには、軸索流を抑制するコルヒチンの投与が行われる。モノアミン線維が外因性アミン (exogenous amine) を take up する作用が強いことを利用して、pseudotransmitter である 6-OH-DA や 5-OH-DA, 6-hydroxytryptamine などを投与すると MA 線維は、これらの薬物を高濃度に蓄積して、神経線維全体にわたって強い蛍光を発する^{15,16)}。これら、生理学的、薬理学的的方法による蛍光の増強による組織反応の鋭敏度の向上の他に、CA の組織学的同定法の改良で重要なのは、組織片の採取から蛍光顕微鏡下での観察迄の時間を短縮することと、電子顕微鏡下での観察を可能にすることの二点であった。これらの改良に最も重要な役割を果たしたのは、未固定の或は固定済の組織片を包埋する以前に薄切することを可能にした Vibratome の開発であった。Hökfelt & Ljungdahl (1972)¹⁷⁾は、Falck-Hillarp 法の改良に初めて Vibratome を導入した。彼等は、未固定の脳組織片を Vibratome で薄切しスライドガラス上に採集しフォルムアルデヒドガスによる反応時間を大幅に短縮しカテコールアミンの流出による損失を最小にし極めて優れた蛍光像を得ることに成功した。Furness ら(1978)¹⁸⁾は、Vibratome で薄切した脳の組織片を固定液に浸漬したまま蛍光顕微鏡下で CA 細胞の観察を行ない、同一組織片を電子顕微鏡用標本として用いて同一細胞の超微構造も同時に観察できる方法を報告した。彼等はこの方法でラットの室旁核 (nucleus paraventricularis) や 青斑核 (locus caeruleus) のカテコールアミンニューロンを観察した。

本実験では、ラットの弓状核と正中隆起部の組織片を Microslicer (Vibratome) により 15 μ m の連続切片として二枚一組とする方法を採用した。その理由は、固定液に浸漬したままの組織片では Falck-Hillarp の原法やその Hökfelt¹⁷⁾変法ほど強く明瞭な蛍光像が得られないため、その対の一片を乾燥法にして蛍光の増強を計るためである。この急速乾燥法により固定液で浸漬したまま観察される CA 細胞と同一の細胞の鏡面像の、十分良好な蛍光を得る事が出来る。この方法は、他の方法に比べ迅速且つ容易でしかも蛍光が最も強く長期間安定しており 1 カ月後も蛍光の強さは変わらずさらに、他の方法で生じた切片の亀裂も生じないなどの利点があることがわかった。

2) 電子顕微鏡的同定法

これまで、グルタルアルデヒドとオスミウム酸慣用固定法による視床下部の電子顕微鏡的観察は多数報告されている¹⁹⁻²³⁾。この固定法で正中隆起外層を観察する

と、多数の神経終末が上衣細胞終末とともに、門脈血管に沿って配列しているのがわかる。神経終末には、一見区別の明瞭な直径100nm 前後の電子密度の高い分泌顆粒と、直径約50nm の小空胞 (synaptic vesicle 型空胞) が観察される。これらの分泌顆粒や空胞は、下垂体門脈に放出され前葉機能調節にあずかる多種のペプチドホルモンや、モノアミン、アセチルコリン等の担体であると考えられている。

Richardson (1966)²⁴⁾は、ラット虹彩 (iris) を過マンガン酸カリで固定して観察すると、ノルアドレナリン (NA) 神経終末中の直径50nm の小空胞が有芯顆粒となることを発見し、CA 線維が電子顕微鏡レベルで初めて同定された。しかし、ドーパミンやセロトニン線維中の小空胞は、この固定法によっても有芯顆粒とはならない。Hökfelt¹⁷⁾は、視床下部組織片を α -methyl-NA, 5-OH-DA, 或は 6-OH-DA などのいわゆる pseudotransmitter と、in vitro で incubate し DA 神経線維がこれらの物質を take up した後、過マンガン酸カリ固定すると直径50nm の小空胞が有芯顆粒となることを見出した。その後、5-OH-DA を脳室内に大量に注入した後では、グルタルアルデヒドとオスミウム酸固定法でも CA の有芯顆粒が得られることがわかった⁹⁾。こうした、CA ニューロンの電子顕微鏡的同定の報告は神経線維もしくは神経終末に限られてきたが、最近、抗 TH 血清を用いた免疫組織化学的方法が用いられ CA ニューロンの細胞体の電顕像も報告されるようになった⁹⁾。しかし、その方法的制約から一般組織像は、必ずしも十分満足すべきものではない。

本実験に於いて、CA 細胞の細胞体を蛍光顕微鏡下で観察した後、同一切片から電顕用超薄切片を作成して同一 CA 細胞の超微構造の観察が可能であることを示した。組織の固定には、グルタルアルデヒドとオスミウム酸を使用しているため、細胞の微細構造の保存性が優れているので CA 細胞の一般的組織像の観察には十分である。CA 細胞内では、細胞体でドーパミンが産生されるとただちに軸索流につれて神経終末に向かって輸送されここで蓄積される。或は、神経軸索や神経終末でドーパミンが産生されるといわれ、このため細胞体 (perikaryon) のドーパミン濃度は終末に比べ低いと考えられている。蛍光顕微鏡下では、妊娠ラットの弓状核ドーパミン細胞の蛍光は非妊ラットの細胞と比べ著明に増強しているのが観察され、細胞体におけるドーパミンの蓄積を窺わせるが、電顕像で見ると先に述べた直径50nm の小空胞は、必ずしも著明な増加は見られない。後述するように、コルヒチン投与による軸索流の阻害実験から、これら小空胞が細胞体に蓄積するのと平行して細胞体の蛍光

が増強することからも、これら小空胞がドーパミンの一つの担体であることは、ほぼ間違いないと思われるが、原形質内には別の形で多量のドーパミンが存在することが推定される。

3) 免疫組織化学的同定法

近年、カテコールアミン線維の同定に、カテコールアミン合成酵素を用いた免疫組織化学的な方法が登場した。カテコールアミンは、TH により tyrosine から DOPA がまず合成される。DOPA decarboxylase (DDC) により DOPA は、ドーパミン (DA) となり、さらに dopamine β -hydroxylase (DBH) によりノルアドレナリン (NA) が合成される。さらに NA からフェニルエタノールアミン-N-メチルトランスフェラーゼ (PNMT) よりアドレナリンが合成される。これらの酵素を抗原として、家兎を免疫して抗体を作成し、この抗体を用いて組織中のカテコールアミン合成酵素が免疫染色される。合成経路から明らかな様に、ドーパミンニューロンはノルアドレナリンニューロンと異なつて DBH を持たないことが知られているので、抗 DBH 血清で染色されるものはノルアドレナリンニューロン、染色されないものはドーパミンニューロンである。中枢神経系に於いて、ドーパミンニューロンと TH、ノルアドレナリンニューロンと DBH の局在が良く一致することが報告されている²⁵⁾。

本実験に於いて、家兎の抗 TH 血清を用い、Sternberger の酵素抗体法に従つて染色してベンチジンまたはナフトールで発色させる。妊娠ラットの弓状核のドーパミン産生細胞と正中隆起のそれらの神経終末を観察すると両者とも正常動物と比較して TH に対する染色性の著しい増強がみられた。また、抗 TH 血清で染色される細胞数も著明に増加しているのがみられた。妊娠ラットの弓状核ドーパミンニューロンは、蛍光顕微鏡下でも正常ラットと比較して蛍光が著明に増強し、蛍光の強い細胞が増加しているのが観察された。この事実は、ドーパミンニューロン中のドーパミン濃度と TH 濃度が良い相関にあることを示している²⁶⁾。本実験に於いて、カテコールアミンニューロンの同定に蛍光顕微鏡写真を参照する方法は既に述べたが、免疫組織学的染色を用いることにより電子顕微鏡用の組織標本上に、TH 抗血清によつて染色されたカテコールアミン細胞を直ちに同定することが可能である。この TH 陽性細胞は、固定液中に浸漬したまま観察した組織片及び、迅速法によつた組織片の両者に於いて、観察される蛍光を発する細胞と良く一致する。カテコールアミン細胞の免疫電顕像を見ると、TH の細胞内分布は原形質内でほぼ均等に分布しており、核やミトコンドリアは染色されない。

4) コルヒチン投与による弓状核ドーパミンニューロンの変化

1905年 Scott²⁷⁾は、神経細胞体から軸索を通り終末に向かう物質の輸送を軸索流 (axonal flow) という概念で初めて明確にした。交感神経における軸索流の研究では光学顕微鏡のレベルで Falck-Hillarp 法の導入によりカテコールアミンニューロンの蛍光顕微鏡的同定法が確立されたためその詳細が明らかにされた。Dahlström²⁸⁾は、ラットの坐骨神経結紮実験で結紮の近位端に CA の蛍光が増強することを認めた。また遠位端でも弱い蛍光の増強を認めた。さらに彼女は、ラットにコルヒチンを投与し交感神経のアミン顆粒の輸送が阻止され、その効果は微小管の破壊によるものであると報告した²⁹⁾。コルヒチンは、細胞分裂阻止物質であり微小管を破壊することが電顕的にも明らかにされ^{30,31)}、顆粒や酵素の軸索内輸送は微小管と関係があると考えられている。輸送率は微小管を経由して輸送される物質によつて非常に異なるが、輸送される細胞内器官について、その形態或は微小管の壁と反応する数が輸送率に影響を与えると考えられる³²⁾。Norstrom ら³³⁾はラットのクモ膜下にコルヒチンを投与し視床下部一神経下垂体系でプロテインの軸索流を抑制したと報告している。また、Karlsson ら³⁴⁾はラットの眼球にコルヒチンを投与し網膜神経細胞のプロテインの軸索流の抑制を報告している。

本実験では、コルヒチンを側脳室内に50 μ g 注入することにより弓状核のドーパミン細胞体の蛍光は投与後24時間で著明に増強するのが認められた。この時、正中隆起外層の神経終末の蛍光には特に変化を認めなかったのは、終末に大量に蓄積されたドーパミンは軸索流が阻止されても、24時間以内では変化を認めるほどの減少を示さなかつたためと思われる。電子顕微鏡による観察では、直径50nm の小空胞が多数細胞体に蓄積しているのが観察された。CA 顆粒は、pseudotransmitter による実験^{7,8)}や免疫組織化学的方法⁷⁾で直径50nm 前後の小顆粒であることが推定されている。これらの実験では、神経終末に多数蓄積した小顆粒が報告されているが、今回の実験で、産生されたばかりの新しい (de nouveau) 直径50nm 前後の空胞が軸索流の阻害によつて細胞体に多数観察されたこと、またこれら小空胞の蓄積が細胞体の蛍光の増強と平行していることなどから、これら小空胞がカテコールアミンの担体であることが推定され、従来の報告と良く一致している。

5) 6-OH-DA 投与による弓状核ドーパミンニューロンの変化

Porter (1963) ら³⁵⁾や Laverty & Sharman (1965)³⁶⁾は、6-ハイドロキシドーパミン (6-OH-DA) の投与

により末梢交感神経のノルアドレナリン (NA) が長期間にわたって減少することを示唆した。Tnazer & Thoenen (1968)³⁷⁾ により 6-OH-DA が末梢のアドレナリン神経終末の破壊を引き起こすことが電子顕微鏡のレベルで明らかになった。彼等はさらに、生化学と形態学での研究を進め、脳あるいは脳脊髄液に直接 6-OH-DA を投与する方法を研究した。さらに、Ungerstedt (1968)³⁸⁾ は、脳室内に注入した 6-OH-DA が中枢のカテコールアミンの蛍光を特異的に消失させドーパミン (DA) と NA のニューロンを変性させることを報告した。6-OH-DA の脳内投与は、NA の濃度を減少させ、また *in vitro* では、brain slice の NA の取り込み (take up) を抑制することがわかった³⁹⁾。Richards (1971)⁴⁰⁾ や Bloom⁴¹⁾ は、6-OH-DA がラットの中樞神経系のニューロンに変性を引き起こすのを電顕により明らかにした。

本実験では、6-OH-DA をラットの側脳室に投与後 24 時間では弓状核の DA ニューロンの蛍光は一時的に増強するのが観察された。これは、DA ニューロンによって take up され高濃度に蓄積された 6-OH-DA 自身による蛍光の増強と考えられる。投与後 3 日目より徐々に蛍光は減弱し、7 日目以後ではその蛍光は消失した。電子顕微鏡的観察では、6-OH-DA 投与後 24 時間で DA 細胞内に lysosomal dense body の出現を認め、さらに投与後 48 時間では核が著明に変形しているのが認められドーパミンニューロンは変性過程にあることが観察された。

6) Monosodium Glutamate 投与による弓状核の変化

Olney (1969, 1971)^{42,43)} は monosodium glutamate (MSG) を投与し弓状核ニューロンの変性を観察した。MSG の大量投与が視床下部ニューロンを障害し rat あるいは mouse などで肥満や不妊を惹起することが知られ漏斗部ドーパミンニューロンにも変性がおよぶことが報告された⁴⁴⁾。Mestres & Rascher⁴⁵⁾ は、弓状核由来の脳室内神経線維が MSG 投与により障害されることを走査型電子顕微鏡を用いて明かにした。Jennes ら⁴⁶⁾ は、MSG の視床下部ニューロンに対する影響を免疫組織学的に分析した。彼等は新生児期に MSG を投与したラットを用いて、MSG によって障害されるのは漏斗部 DA (tuberoinfundibular dopamine) ニューロンだけでなく漏斗部のニューロテンシンや GABA ニューロンさらにこの部位の estrogen sensitive ニューロンも障害されることを明らかにした。一方、視床前野に起始核を持つ LHRH ニューロンは障害を受けないことから、MSG による生殖機能への障害は LHRH ニューロンそのものへの障害ではなく、LHRH の放出に関与する多種類のニ

ューロンが漏斗部に障害されることによると推論した。

本実験では、MSG 投与後 1 時間半で既に弓状核の DA ニューロンの蛍光の著明な減弱が観察された。弓状核の背側部では逆に蛍光の著明な増強を示す DA 細胞が多数観察されるが、これは弓状核腹側部および正中隆起部でのこれらニューロンの軸索流の阻害によることが推定される。3 時間後には、これらの DA 細胞も全くその蛍光を消失することから弓状核 DA ニューロンの広汎な障害は、短時間に惹起されることが推定される。

稿を終わるに当たり、御指導・御校閲をいただいた帝京大学医学部産科婦人科学講座主任荒井清教授、帝京大学総長沖永荘一教授に深謝いたします。また、直接御指導・御援助いただいた帝京大学医学部産科婦人科学教室味香勝也助教授、ならびに御協力いただいた高野栄子助手、深沢みゆき助手、および教室員の皆様方に心より深謝いたします。なお、本論文の一部は、第 89 回日本不妊学会関東地方部会および第 57 回日本内分泌学会総会および第 7 回国際内分泌学会 (1984 年 7 月、カナダ、ケベック市) において発表した。

文 献

- 1) Carlsson, A., Falck, B. and Hillarp, N. -Å.: Cellular localization of brain monoamines. *Acta Physiol. Scand.*, 56, Suppl., 196 : 1, 1962.
- 2) Fuxe, K.: Cellular localization of monoamines in the median eminence and infundibular system of some mammals, *Acta Physiol. Scand.*, 58 : 383, 1963.
- 3) Ajika, K.: Relationship between catecholaminergic neurons and hypothalamic hormone-containing neurons in the hypothalamus. *In: Frontiers in Neuroendocrinology*. L. Martini & W. F. Ganong (eds.), vol. pp. 1-32, Raven press, New York, 1980.
- 4) Vogt, M.: The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after the administration of drugs, *J. Physiol. (Lond.)*, 123 : 451, 1954.
- 5) Eränko, O.: Histological sampling, chromatographic separation, and determination of adrenaline and noradrenaline in the adrenal medulla, *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.*, 32 : 392, 1954.
- 6) Richards, J. G. and Tranzer, J. P.: The ultrastructural localization of amine storage sites in the central nervous system with the aid of a specific marker, 5-hydroxydopamine. *Brain Research*, 17 : 463, 1970.
- 7) Hökfelt, T.: *In vitro* studies on central and peripheral monoamine neurons at the ultra-

- structural level, *Z. Zellforsch.* 91 : 1-74, 1968.
- 8) Ajika, K. and Hökfelt, T. : Ultrastructural identification of catecholamine neurons in the hypothalamic periventricular-arcuate nucleus median eminence complex with special reference to quantitative aspects, *Brain Research*, 57 : 97, 1973.
 - 9) Sternberger, L. A. : The unlabelled antibody-peroxidase and the quantitative immunouranium methods in light and electron immunohistochemistry. *In* : Techniques of biochemical and biophysical morphology. D. Glick and R. M. Rosenbaum (eds.), vol. 1, pp. 67-88. Wiley, New York, 1972.
 - 10) Hökfelt, T. et al. : Aminergic and peptidergic pathways in the nervous system with special reference to the hypothalamus. *In* : The Hypothalamus. S. Reichlin, R. J. Baldessarini & J. B. Martin (eds.), pp. 69-135, Raven Press, New York, 1978.
 - 11) Schneider, H. P. G. and McCann, S. M. : Possible role of dopamine as transmitter to promote discharge of LH-releasing factor, *Endocrinology*, 85 : 121, 1969.
 - 12) Kamberi, I. A. and McCann, S. M. : Effect of biogenic amines, FSH-releasing factor (FRF) and other substances on the release of FSH by pituitaries incubated in vitro. *Endocrinology*, 85 : 815, 1969.
 - 13) Olson, L. : Intact and regenerating sympathetic noradrenaline axons in the rat sciatic nerve. *Histochemie.*, 17 : 349-367, 1969.
 - 14) Lidbrink, P. and Jonsson, G. : Semiquantitative estimation of formaldehyde induced fluorescence of noradrenaline in central noradrenaline nerve terminals, *J. Histochem. Cytochem.*, 19, 747-757 (1971) .
 - 15) 味香勝也 : 視床下部のモノアミン性神経線維, *日本臨床*, 33 : 497-508, 1975.
 - 16) 味香勝也 : 視床下部モノアミン神経線維と性機能調節. *ホルモンと臨床*, 22 (3) : 381-389, 1974.
 - 17) Hökfelt, T. and Ljungdahl, A. : Modification of the Falck-Hillarp formaldehyde fluorescence method using the vibratome. *Histochemie.*, 29 : 325-339, 1972.
 - 18) Furness J. B., Heath J. W. and Costa M. : Aqueous aldehyde (Faglu) methods for the fluorescence histochemical localization of catecholamines and for ultrastructural studies of central nervous tissue, *Histochemistry*, 57 : 285-295, 1978.
 - 19) Hökfelt, T. : The possible ultrastructural identification of tubero-infundibular dopamine containing nerve endings in the median eminence of the rat. *Brain Research*, 5 : 121-123, 1967.
 - 20) Mazzuca, M. : Structure fine des cellules du noyau [infundibulaire et de leurs afférences chez le cobaye, *J. Microscopie*, 7 : 135-144, 1968.
 - 21) Monroe, B. G., Newman, B. L. and Schapiro, S. : Ultrastructure of the median eminence of neonatal and adult rats. *In* : Brain Endocrine Interaction. Median Eminence : Structure and Function, K. M. Kingge, D. E. Scott and A. Weindl (eds.), pp. 7-26, Karger, Basel, 1972.
 - 22) Réthelyi, M. and Halasz, B. : Origin of the nerve endings in the surface zone of the median eminence of the rat hypothalamus, *Exp. Brain Res.*, 11 : 145-158, 1970.
 - 23) Scott, D. E., Krobisch Dudley, G., Gibbs, F. P. and Brown, G. M. : The mammalian median eminence. *In* : Brain Endocrine Interaction. Median eminence : Structure and Function, K. M. Kingge, D. E. Scott and A. Weindl (eds.), vol. 1, pp. 35-49, Karger, Basel, 1972.
 - 24) Richardson, K. C. : Electron microscopic identification of autonomic nerve endings. *Nature (Lond)*, 210 : 756, 1966.
 - 25) Hökfelt, T., Johansson, O., Fuxe, K., Goldstein, M. and Park, D. : Immunohistochemical studies on the localization and distribution of monoamine neuron systems in the rat brain. III. Three catecholamine synthesizing enzymes in the rhinencephalon. *In* : Fourth Bel Air Symposium, Geneva. : 79-113, 1976.
 - 26) Fuxe, K. and Hökfelt, T. : Central monoaminergic systems and hypothalamic function. *In* : The Hypothalamus. L. Martini, M. Motta, and F. Fraschini (eds.), 123, Academic Press, New York, 1970.
 - 27) Scott, F. H. : On the relation of nerve cells to fatigue of their nerve fibres. : *J. Physiol. Lond.*, 34 : 145, 1906.
 - 28) Dahlström, A. : Electron microscope study of human foetal peripheral nerves, *J. Anat.*, 99 : 577, 1965.
 - 29) Dahlström, A. : Effect of colchicine on transport of amine storage granules in sympathetic nerves of rat, *European J. of Pharmacology*, 5 : 111-113, 1968.
 - 30) Jarlfors, U. and Smith, D. S. : Association between synaptic vesicles and neurotubules, *Nature*, 224 : 710, 1969.
 - 31) Smith, D. S. : On the signification of cross-bridges between microtubules and vesicles, *Phil. Trans. Roy. Soc.*, 261 : 395, 1971.
 - 32) 永津郁子 : 軸索流, *神経進歩*, 18 : 308-321, 1974.

- 33) Norström, A., Hansson, H. A. and Sjöstrand, J. : Effect of colchicine on axonal transport and ultrastructure of the hypothalamo-neurohypophyseal system of the rat, *Z. Zellforsch.*, 113 : 271-293, 1971.
- 34) Karlsson, J. O., Hansson, H. A. and Sjöstrand, J. : Effect of colchicine on axonal transport and morphology of retinal ganglion cells, *Z. Zellforsch.*, 115 : 265-283, 1971.
- 35) Porter, C. C., Totaro, J. A. and Stone, C. A. : Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in the hearts of mice, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 140 : 308-316, 1963.
- 36) Laverty, R., Sharman D. F. and Vogt M. : Action of 2, 4, 5-trihydroxyphenylethylamine on the storage and release of noradrenaline, *Brit. J. Pharmacol.*, 24 : 549-560, 1965.
- 37) Tranzer, J. P., and Thoenen, H. : An electron microscopic study of selective acute degeneration of sympathetic nerve terminals after administration of 6-hydroxydopamine, *Experientia*, 24 : 155-156, 1968.
- 38) Ungerstedt, U. : 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons, *European J. Pharmacol.*, 5 : 107-110, 1968.
- 39) Uretsky, N. J. and Iversen, L. L. : Effects of 6-hydroxydopamine on noradrenaline containing neurones in the rat brain, *Nature*, 221 : 557-559, 1969.
- 40) Richards, J. G. : Ultrastructural effect of 6-hydroxydopamine on catecholamine containing neurons in the rat brain, 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons : 151-161, 1971.
- 41) Bloom, F. E. : Fine structural changes in rat brain after intracisternal injection of 6-hydroxydopamine, 6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons, : 135-150, 1971.
- 42) Olney, J. W. : Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate, *Science*, 164 : 719-721, 1969.
- 43) Olney, J. W. : Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 30 : 75-90, 1971.
- 44) Mizukawa, K., Shimizu, K., Matsuura, T., Ibata Y. and Sano Y. : The influence of Kainic acid on the tuberoinfundibular dopaminergic tract of the rat: Fluorescence histochemistry and electron microscopic investigation, *Acta Histochem. Cytochem.*, 9 : 315-322, 1976.
- 45) Mestres, P. and Rascher, K. : Effect of monosodium glutamate on the development of intraventricular axons in the rat hypothalamus, *Anat Embryol.*, 168 : 433-444, 1983.
- 46) Jennes, L., Stumpf, W., Bisette, G. and Nemeroff, C. : Monosodium glutamate lesions in rat hypothalamus studied by immunohistochemistry for gonadotropin releasing hormone, neurotensin, tyrosine hydroxylase and glutamic acid decarboxylase and by autoradiography for [3 H] estradiol, *Brain Res.* 308 : 245-253, 1984.

Simultaneous identification of catecholamine neuron in the rat hypothalamus by fluorescence and electron microscopy

Hiroshi Seto

Department of Obstetrics and Gynecology,
Teikyo University School of Medicine
(Director: Prof. Shoichi Okinaga &
Prof. Kiyoshi Arai)

Aqueous solution containing 4 % paraformaldehyde and 1 % glutaraldehyde was used to simultaneously localize catecholamine neuron by the formation of fluorescent products and to fix hypothalamic tissue for electron microscopy. Pregnant rats were subjected to cardiac perfusion by the above mentioned solution. Vibratome sections of about 15 μ m thickness were maintained in the fixative and observed under fluorescence microscope. Many fluorescent cells were observed in the arcuate nucleus region. When vibratome sections were rapidly dried with a hair drier, the intensity of the fluorescence was enhanced. The same areas were rephotographed under white illumination to locate non-fluorescent structures close to the fluorescent cells. The same section was then washed in buffer, osmified and processed for electron microscopy. The chosen cell was positively identified by its shape and relation to other structures. In the immuno-electron microscopical experiment, the section which had been observed under fluorescence microscope was washed and processed for immunostaining of catecholamine synthesizing enzyme, tyrosine hydroxylase (TH), according to the Sternberger's PAP method. The morphological alteration of catecholamine neuron after intraventricular injection of colchicine and 6-hydroxy-dopamine, or subcutaneous injection of monosodium glutamate, was also examined under fluorescence and electron microscope.

(受付: 昭和60年10月2日・特掲)

Dopaminergic ergot compound, Lisuride hydrogen maleate の高 prolactin 血症, 乳汁漏出症および黄体機能不全症に対する至適用量の決定

Determination of Optimal dose of Dopaminergic Ergot Compound,
Lisuride Hydrogen Maleate for Hyperprolactinemia,
Galactorrhea and Short Luteal Phase

東京大学医学部分院産婦人科

柳 沼 恣 岡 村 隆 小林 拓 郎
Tsutomu YAGINUMA Takashi OKAMURA Takuro KOBAYASHI
Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine,
University of Tokyo at Mejirodai

横浜市立大学医学部産婦人科

長 田 久 文 植 村 次 雄 水 口 弘 司
Hisafumi OSADA Tsugio UEMURA Kohji MINAGUCHI
Department of Obstetrics and Gynecology,
Yokohama City University, School of Medicine

小田原市立病院産婦人科

松 山 明 美 佐 藤 啓 治
Akemi MATSUYAMA Keiji SATO
Department of Obstetrics and Gynecology, Odawara Citizen's Hospital
大阪大学医学部産婦人科

小 泉 清 青 野 敏 博 倉 智 敬 一
Kiyoshi KOIZUMI Toshihiro AONO Keiichi KURACHI
Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka University, Medical School
九州大学医学部産婦人科

角 沖 久 夫 尾 上 敏 一 中 野 仁 雄
Hisao SUMIOKI Toshikazu ONOUE Hitoo NAKANO
Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Kyushu University
佐世保共済病院産婦人科

楠 田 雅 彦
Masahiko KUSUDA

Department of Gynecology and Obstetrics, Sasebo Kyosai Hospital
鹿児島大学医学部産婦人科

永 田 行 博
Yukihiro NAGATA

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Kagoshima University

高 prolactin 血症、乳汁漏出症および黄体機能不全症に対する Lisuride hydrogen maleate (Lisuride) の至適用量決定のために、1 日 75 μ g, 150 μ g, 300 μ g と 600 μ g が経口的に原則として 12 週間投与された。

124 例の高 prolactin (PRL) 血症 (血清 PRL 濃度 31ng/ml 以上) における Lisuride による血清 PRL 濃度の正常化率は、用量依存的に高くなる傾向が認められ、600 μ g 群における正常化率 (83%) は 75 μ g 群 (50%) よりも有意に高率となった ($p < 0.05$)。投与前の血清 PRL 濃度が高い程、その正常化率は低くなる傾向があった。

高 PRL 血症 113 例、正 PRL 血症 13 例と血清 PRL 濃度不明 1 例の無排卵症 127 例において、Lisuride による排卵率は用量依存的に有意に上昇した ($p < 0.01$)。600 μ g 群の排卵率 (79%) は 75 μ g 群 (28%) と 150 μ g (41%) よりも有意に高値であった (共に $p < 0.01$)。投与前の血清 PRL 濃度別 (30 以下, 31~100, 101~200 と 201ng/ml 以上) では 101~200 と 201ng/ml 以上の場合に有意な用量依存性の排卵率の上昇が認められた。

これら高 PRL 血症性無排卵症 113 例において挙児希望の 67 例中 19 例 (28%) が妊娠した。

120 例の乳漏症の Lisuride による改善率 (75~97%) には、用量依存性の傾向が認められた。

黄体機能不全症 21 例中 17 例 (1 例の高 PRL 血症, 1 例の血清 PRL 濃度不明を含む) に Lisuride を 75 μ g 投与し、残りの 4 例 (すべて正 PRL 血症) に 150 μ g を投与した。前者のうち 3 例 (正 PRL 血症) (挙児希望 16 例) と後者のうち 1 例 (4 例ともに挙児希望) が妊娠した。

副作用としては、悪心 (31%) と嘔吐 (12%) が最も高頻度に認められた。全体では 34% の婦人が症状を訴えたが、これは用量依存的に増加する傾向が認められた。600 μ g 群の副作用発現率 (57%) は、75 と 150 μ g 群 (夫々 20 と 17%) よりも有意に高値であった ($p < 0.01$)。

Lisuride 投与量と排卵率あるいは副作用発現率との間の関係を logistic 型重回帰分析により検討した。投与前の血清 PRL 濃度別にみた Lisuride の投与量と、排卵確率および副作用発現確率の関係は次の通りである。すなわち、1) 血清 PRL 30ng/ml 以下の場合、投与量 231 μ g で排卵確率および副作用発現確率は夫々 70 と 30%、2) 血清 PRL 31~100ng/ml の場合は、投与量 297 μ g で夫々 65 と 35%、3) 血清 PRL 101~200 ng/ml の場合は、投与量 364 μ g で夫々 60 と 40%、そして 4) 血清 PRL 201ng/ml 以上の場合、投与量 431 μ g で夫々 54 と 46% である。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 18-28, 1986)

緒 言

Lisuride hydrogen maleate (Lisuride) は isolysergic acid の半合成麦角アルカロイド誘導体であり (図 1)、中枢性 dopamine 作用を有し、比較的低用量で、prolactin (PRL) の分泌を抑制し、これらの薬剤に共通する悪心、嘔吐等の副作用の発現が少ないことが報告されている^{1,2)}。今回我々は、6 施設が共同して、Lisuride の高 PRL 血症における PRL 分泌抑制効果と排卵誘発効果、乳汁漏出 (乳漏) 抑制効果および黄体機能不全の改善効果および副作用の発現頻度を検索し、Lisuride の至適投与量を決定しようと試みた。

研究対象と方法

高 PRL 血症は、血清 PRL 濃度 31ng/ml 以上とした。

Lisuride の 25 μ g あるいは 100 μ g 錠 (西ドイツ・シェーリング社提供) を使用し、原則として 1 日 3 回毎食後に 12 週間服用せしめた。Lisuride の 1 日投与用量により、

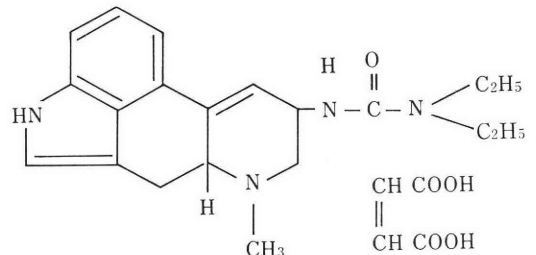


図 1 Lisuride Hydrogen Maleate の化学構造

75 μ g, 100 μ g, 300 μ g および 600 μ g 群の 4 群とした。投与中基礎体温 (BBT) と副作用を記録せしめた。なお、併用薬の投与は原則として禁止した。対象症例の内訳を表 1 に示した。124 例の高 PRL 血症婦人に 4 用量の Lisuride を投与して、PRL の放出抑制効果を検討した。

13 例の正 PRL 血症性無排卵症婦人と 113 例の高 PRL 血症性無排卵症婦人に 4 用量の Lisuride が投与され、排卵に対する誘発効果を検討した。排卵は BBT あるいは

表 1 対象症例

項目	高 PRL 血症	正 PRL 血症	血清 PRL 濃度 不明	計
症 例 数	124	40	2	166
下 垂 体 腫 瘍	55	0	0	55
下 垂 体 非 腫 瘍	69	40	2	111
無 排 卵 症	113	13	1	127
乳 汁 漏 出 症	99	21	0	120
黄 体 機 能 不 全 症	1	19	1	21

表 2 PRL 正常化率

用 量 ($\mu\text{g}/\text{day}$)	症例数	投与後 PRL ¹⁾ (ng/ml)			正常化率 (%)	Fisher-test
		~30	31~	不 明		
75	22	10	10	2	50	$\chi^2_3 = 7.299^+$ Df=3 NS 150 NS NS 300 < * < + NS 600
150	25	15	10		60	
300	41	27	12	2	69	
600	36	29	6	1	83	

1) 投与中の最低値で判定 * : $p < 0.05$ + : $p < 0.10$

血中 progetserone 濃度 (5 ng/ml 以上)により判定した。

120例の乳漏症婦人 (21例の正 PRL 血症婦人を含む)に前述の4用量の Lisuride が投与され、乳漏抑止に對する効果を検討した。

21例の黄体機能不全症 (1例の高 PLR 血症を含む、1例の血清 PRL 濃度は不明)。(BBT により松本の分類³⁾に準じ診断)に1日 75 μg あるいは150 μg の Lisuride を投与して、その改善効果を BBT を参考にして検討した。

166例 [124例の高 PRL 血症と40例の正 PRL 血症 (19例の黄体機能不全症、21例の無排卵 and/or 乳漏症)、2例の血清 PRL 濃度は不明]について Lisuride の各投与量別の副作用発現率を検討した。

上述の各疾患に対する Lisuride の投与用量と排卵率あるいは副作用発現率との関係を logistic 型重回帰分析⁴⁾により検討し、さらに挙児希望の103例 (高 PRL 血症69例を含む)における妊娠率と分娩例の児の奇形の有無についても検討を加えた。

結 果

1) 高 PRL 血症の血清 PRL 濃度低下効果。

Lisuride の投与用量別の血清 PRL 濃度の正常化率を表 2 に示す。この表から分かるように Lisuride による血

清 PRL 濃度の正常化率は用量を増加すると高くなる傾向にある ($p < 0.10$)。600 μg 群の正常化率は75 μg 群よりも有意に高い ($p < 0.05$)。

Lisuride 投与前の血清 PRL 濃度を 31~100ng/ml, 101~200と200ng/ml 以上の3群に分けた時、夫々の群において用量を増加すると PRL 濃度の正常化率が上昇する傾向が認められた。しかし投与前の血清 PRL 濃度が高くなるにつれて、その正常化率は低くなるようである (表 3)。

血清 PRL 濃度の平均値は、Lisuride 投与後各投与群共に有意に低下し ($p < 0.01$)、75 μg を除く3群における夫々の平均値は30ng/ml 以下となつた (図 2)。

2) 排卵誘発効果。高 PRL 血症にもとづく無排卵症 113例に対する Lisuride の用量別排卵誘発効果を表 4 に示す。排卵率は用量を増加するにつれて上昇し ($p < 0.01$)、600 μg 群の排卵率は75 μg および150 μg 群よりも有意に高値であつた (共に $p < 0.01$)。全症例に対する総合排卵率は58%であつた。

127例 (13例の正 PRL 血症および投与前血清 PRL 濃度不明 1例を含む)の無排卵症における各投与量別の12週迄の累積排卵率を図 3 に示した。75 μg と150 μg 群の累積排卵率は投与 6 週でプラトーになるのに対して、300 μg と600 μg 群では投与10週でプラトーになつた。

表 3 投与前値別 PRL 正常化率

投与前 PRL (ng/ml)	用 量 (μ g/day)	症例数	投与後 PRL (ng/ml)					正常化率 (%)	Fisher-test											
			~30	31~100	101~200	201~	不 明													
31~100	75	9	6	3			67	$\chi^2_0=16.643^{**}$ Df=3 <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr><td>75</td><td>150</td></tr> <tr><td>NS</td><td>< **</td></tr> <tr><td>NS</td><td>< **</td></tr> <tr><td>< +</td><td>NS</td></tr> </table>	75	150	NS	< **	NS	< **	< +	NS				
	75	150																		
	NS	< **																		
	NS	< **																		
< +	NS																			
150	17	2	5			71														
300	16	14	1		1	93														
600	12	12				100														
101~200	75	6	2	2	1		40	$\chi^2_0=10.787^+$ Df=6 <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr><td>75</td><td>150</td><td>300</td></tr> <tr><td>NS</td><td>NS</td><td>NS</td></tr> <tr><td>NS</td><td>NS</td><td>NS</td></tr> <tr><td>NS</td><td>NS</td><td>NS</td></tr> </table>	75	150	300	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	75	150	300																	
	NS	NS	NS																	
	NS	NS	NS																	
NS	NS	NS																		
150	6	2	4			33														
300	17	9	7		1	56														
600	14	10	3		1	77														
201~	75	7	2	3	1		33	$\chi^2_0=3.389^{NS}$ Df=6 <p style="text-align: center;">—</p>												
	150	2	1	1			50													
	300	8	4	2	2		50													
	600	10	7	2	1		70													

** : p<0.01 + : p<0.10

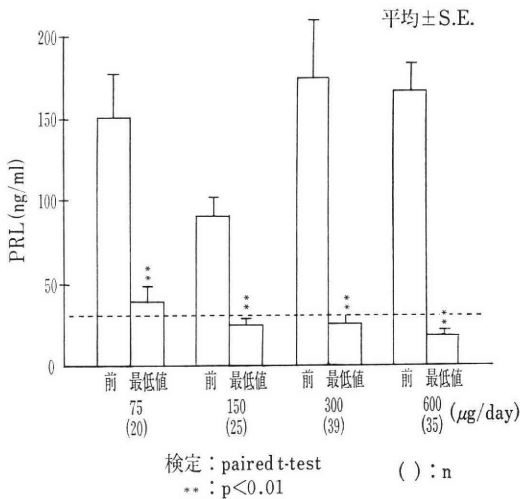


図 2 Lisuride 各用量投与による PRL 値の正常化率

投与前の血清 PRL 濃度別 (30以下, 30~100, 101~200 と 201ng/ml 以上) に排卵率と用量との関係を検討すると (表 5), 101~200ng/ml および 201ng/ml 以上の 2 群において排卵率には有意な用量依存性が認められた (夫々 $p < 0.05$ と $p < 0.01$).

排卵症例における血清 PRL 濃度の正常化率は 76% (47/62) であり, 一方, 非排卵症例におけるそれは 58%

(26/45) で, 前者の方が高い傾向を示した ($p < 0.10$).

血清 PRL 濃度が正常化した例の排卵率は 64% (47/73), 一方, 正常化しなかった症例の排卵率は 44% (15/34) で, 両者間に有意差は認められなかった.

3) 乳漏に対する効果. Lisuride の用量別の乳漏に対する効果を表 6 に示す. 乳漏の停止率および「停止+減少」率は共に用量を増加すると上昇する傾向がみられたが有意ではなかった.

乳漏が停止, 減少および不変であった各群の血清 PRL 濃度の正常化率は夫々 74% (32/43), 68% (19/28) および 29% (4/14) であった. 乳漏停止群の PRL 濃度の正常化率は不変群よりも有意に高率であり ($p < 0.01$), 減少群もまた不変群に比較し有意に高率であった ($p < 0.05$).

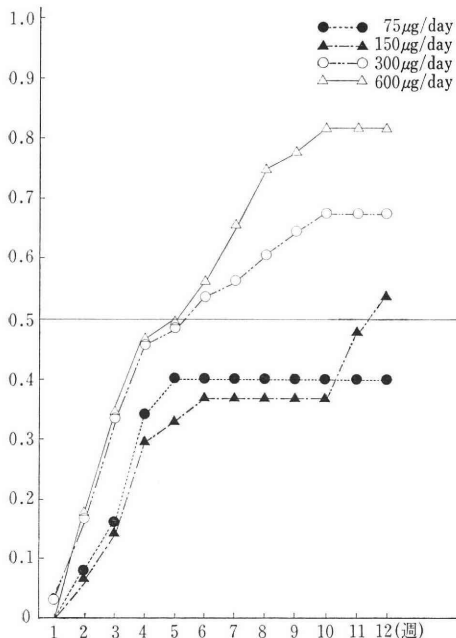
4) 黄体機能不全の改善効果. 21例の黄体機能不全症患者のうち 17例 (1例の高 PRL 血症, 15例の正 PRL 血症と 1例の血清 PRL 濃度不明例を含む) に 75 μ g を投与し, 4例 (全て正 PRL 血症) に 150 μ g を投与した. 表 7 に示すごとく, 黄体機能の改善効果は 75 μ g 群が 150 μ g 群より高い傾向を示したが, 後者の例数が少ないので比較は困難である. 75 μ g 群の挙児希望 16例中 3例 および 150 μ g 群の挙児希望 4例中 1例が妊娠した.

5) 副作用 (表 8). Lisuride 投与中に訴えた症状で最も多いのは, 悪心 (全ての訴えの 31%), 次いで嘔吐 (全

表 4 高 PRL 血症における排卵率

用量 ($\mu\text{g/day}$)	症例数	排 卵 ¹⁾			排卵率 (%)	χ^2 test
		あ り	な し	評 価 不 能		
75	20	5	13	2	28	75 $\chi^2_0 = 16.4455^{**}$ Df=3 p=0.0009
150	23	9	13	1	41	
300	35	22	12	1	65	$\chi^2_0 = 0.284$ 150 $\chi^2_0 = 5.035^*$ $\chi^2_0 = 2.174$ NS
600	35	27	7	1	79	300 $\chi^2_0 = 11.165^{**}$ $\chi^2_0 = 7.024^{**}$ $\chi^2_0 = 1.168$
計	113	63	45	5	58	600 ** : p<0.01 * : p<0.05

用量変更あるものはその時点までの評価を採用



$\chi^2_0 = .045^{NS}$ RR = .838	150 μg
$\chi^2_0 = 2.709^+$ RR = .509	300 μg
$\chi^2_0 = 5.855^*$ RR = .397	600 μg
$\chi^2_0 = 1.844^{NS}$ RR = .593	
$\chi^2_0 = 5.290^*$ RR = .446	
$\chi^2_0 = .470^{NS}$ RR = .791	

Life table analysis (actuarial method)
 χ^2_0 : observed χ^2 on logrank test
 RR : relative risk
 * : p<0.05 + : p<0.10

図 3 Lisuride の各用量投与による累積排卵率

ての訴えの12%)であった。しかし高度のものは僅か2例のみであった。他に比較的多く認められた訴えは、便秘と頭痛であった。悪心と嘔吐以外の訴えで高度なものは胃痛の1例のみであった。

56例(34%)の患者が何らかの症状を訴えたが、その率は用量依存的に上昇する傾向が認められた。

1症例当りの症状の件数は用量と無関係にほぼ2件であった。

6) Logistic型重回帰分析による投与量と排卵率および副作用発現率との関係

(a) 排卵率:投与量,投与前血清PRL濃度,乳漏の程度,投与期間および排卵に関するすべての情報が明らかな119例について検討した結果,排卵に有意な影響を及ぼす因子は,投与用量と投与前血清PRL濃度であった(表9)。これらから,排卵率と投与用量および投与前血清PRL濃度との関係を示す回帰式を求めた(図4)。

(b) 副作用発現率:投与量,投与前血清PRL濃度および副作用の有無の明らかな164例について検討した。投与量と投与前PRL濃度について副作用発現に関係する要因分析をしたところ,投与量のみが,要因として有意であった(表10)ので,この因子と副作用発現率との間の回帰式を求めた(図4)。

投与前の血清PRL濃度別の排卵率と投与用量間の回帰式と,副作用発現率と投与用量間の回帰式の交点の投与用量が,夫々の投与前血清PRL濃度における推定的な至適投与用量(最大の効果と最少の副作用を目的として)である(表11)。

一方,排卵率70%を得るための投与前血清PRL濃度別の推定投与量と,これらの投与量における推定副作用発現率を表12に示した。

表 5 投与前 PRL 値別排卵率

投与前 PRL (ng/ml)	用 量 (μ g/day)	症例数	排 卵			排卵率 (%)	Fisher-test	
			あり	なし	評価 不能			
~ 30	75	7	5	2		71	$\chi^2_0 = 2.538^{NS}$ Df=2	$\chi^2_0 = 5.137^{NS}$ Df=3
	150	5	4	1		40		
	300	1	0	1		0		
	600	0	—	—		—		
31~100	75	8	5	3		63	$\chi^2_0 = 6.162^{NS}$ Df=2	—
	150	15	6	8	1	43		
	300	13	7	5	1	58		
	600	11	10	1		91		
101~200	75	5	0	4	1	0	$\chi^2_0 = 8.828^*$ Df=3	$\chi^2_0 = 18.116^*$ Df=3
	150	6	3	3		50		
	300	14	11	3		79		
	600	14	9	4	1	64		
201~	75	7	0	6	1	0	$\chi^2_0 = 11.514^{**}$ Df=3	600
	150	2	0	2		0		
	300	8	4	4		50		
	600	10	8	2		80		
不 明	75	1	0	1		0	—	—

** : p<0.01, * : p<0.05, + : p<0.10

表 6 乳漏に対する効果

用 量 (μ g/day)	症例数	乳 汁 漏 出 (%)				Fisher-test
		停 止	減 少	不 変	評 価 不 能	
75	27	19 (42)	9 (38)	5	3	$\chi^2_0 = 8.450^{NS}$ Df=9
		19 (79)				
150	29	12 (43)	9 (32)	7	1	
		21 (75)				
300	32	14 (56)	8 (32)	3	7	
		22 (88)				
600	32	18 (62)	10 (35)	1	3	
		28 (97)				




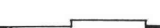


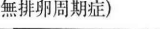
表 7 黄体機能不全症に対する有効性評価

用量 ($\mu\text{g/day}$)	症例 数	評価週																改善率* やや有効以上 (%)	妊娠例			
		~ 4 週					5 ~ 8 週					9 ~ 12 週					総 合					
		著効	有効	やや有効	無効	評価なし	著効	有効	やや有効	無効	評価なし	著効	有効	やや有効	無効	評価なし	著効			有効	やや有効	無効
75	17	3	1	3	8	2	3	1	4	3	6	5	1	4	1	6	7	0	7	3	82	3
150	4	2	0	1	0	1	2	0	0	2	0	1	0	2	0	1	2	0	0	2	50	1

*: 検定できず

- 著効: 治療前の程度にかかわらず程度** 1(正常)となつたか、又は妊娠した。
- 有効: 程度が2段階軽減した。
- やや有効: 程度が1段階軽減した。
- 無効: 程度が全く変わらなかつた。

**

程度	基礎体温型分類(松本の分類に準ずる)	高温相持続日数
1	I 型  (正常)	13日以上(正常)
2	II 型 	9 ~ 12日
3	III 型  III' 型 	9 ~ 12日
4	IV 型 	5 ~ 8日
5	V 型  VI 型  (無排卵周期症)	4日以下

7) 妊娠率(無排期と黄体機能不全以外の不妊因子のあるものを除いたもの)と児の奇形。

投与後12週以内に高 PRL 血症性無排卵症の挙児希望者の67例中19例(28%)が妊娠し、正 PRL 血症性非排卵症の挙児希望婦人の14例(前 PRL 値不明の1例を含む)中3例(21%)が妊娠した。黄体機能不全症の挙児希望婦人20例(1例の高 PRL 血症および1例の血清 PRL 不明を含む)中では4例(20%)が妊娠した。すなわち Lisuride 投与により挙児を希望した101例中26例(26%)が妊娠したことになる。さらに投与を続けた最長46週までの妊娠率は32% [33/103(2例が12週以後に挙児を希望)] となつた。これらのうち5例は投与12週以後に Clomiphene citrate 等の薬剤が併用された。その時までの Lisuride の75 μg 、150 μg 、300 μg と600 μg 群の妊娠率は、夫々23、26、32と46%であつた。

追跡し得た32例の妊娠例中、6例が自然流産、1例が卵管妊娠、1例が人工妊娠中絶(無脳児のため)そして24例が満期経産分娩をした。この24例の児には生下時奇形は認められなかつた。これらの排卵日以後の Lisuride

の投与日数は3~77日、投与総量は1.125~61.6mg であつた。6例の自然流産では、投与日数が16~49日、投与総量は7.35~16.8mg、1例の無脳児では、それぞれ13日と7.8mg であつた。

考 察

従来¹⁾の報告と同様²⁾、著者らの成績でも Lisuride が高 PRL 血症婦人の血清 PRL 濃度を明らかに低下せしめることが認められた。すなわち、Lisuride の1日75 μg 、150 μg 、300 μg と600 μg のいずれにおいても、血清 PRL 濃度は有意に低下し、特に150 μg 、300 μg と600 μg 群においては、その平均値は30ng/ml 以下となつた(図2)。この Lisuride の血清 PRL 濃度正常化作用は、投与前の血清 PRL 濃度が低い程、そして1日の投与量が多いほど高い傾向が認められた(表1、2)。

高 PRL 血症の婦人は多くは、無排卵症を伴い、これらが不妊症の原因となつていることはよく知られているが、なぜ無排卵になるのかの機序については現在十分に解明されていない。高 PRL 血症の一因は、下垂体前葉

表 8 副作用の種類と発現頻度

種 類		用量 (μg/day)		75		150		300		600		計						
		症例数		50		35		44		37		166						
		重症度		高度	中等度	軽度	計	高度	中等度	軽度	計	高度	中等度	軽度	計	計 (%)		
消化器系	悪心		2	2	4			3	3	1	2	9	12			35(31)		
	嘔吐		1	1	2			1	1		1	2	3	1	1	14(12)		
	便秘			3	3						1	4	5			12(11)		
	食思不振			1	1							1	3	4	2	1	8(7)	
	胃痛			1	1				1				1		1	3(3)		
	口内の荒れ			1	1		1	1				1	1			3(3)		
	心窩部痛			1	1											1(0.9)		
	嘔気												1	1		1(0.9)		
下痢												1	1		1(0.9)			
中 枢 系	頭痛		2		2			1	1			2	2			10(9)		
	めまい・ふらつき			1	1			1	1			3	3	1	2	3	8(7)	
	倦怠感			2	2							4	4		2	2	8(7)	
	頭重感											1	1		2	2	3(3)	
	耳鳴											1	1			1(0.9)		
皮 膚	発疹											1	1			1(0.9)		
	座瘡			1	1											1(0.9)		
そ の 他	脱毛														1	1	1(0.9)	
	顔のむくみ														1	1	1(0.9)	
	肩こり														1	1	1(0.9)	
計 (%)			5 (26)	14 (74)	19 (100)			7 (100)	7 (100)	2 (5)	5 (12)	34 (83)	41 (100)	1 (2)	8 (17)	38 (81)	47 (100)	114
副作用を訴えた例数 (%)			10 (20)					6 (17)				19 (43)			21 (57)		56 (34)	
1例当りの副作用発現件数			1.9					1.2				2.2			2.3		2.0	

高 度：副作用が高度で、継続投与が困難かまたは減量を必要とした場合。
 中 等 度：副作用のため、日常生活に支障がある程度。
 軽 度：副作用はあるが、日常生活には支支えない
 無：副作用なし。

の PRL 産生細胞の dopamine 感受性の低下であり、一方、血中 PRL 濃度の増加は、視床下部における dopamine 活性を上昇せしめるといわれる。この視床下部における dopamine 活性の上昇が、おそらくその部位において LH-RH の放出を抑制し、下垂体からの LH 放出を低下せしめるものと考えられ、これが、高 PRL 血症における無排卵の大きな原因と推定される。すなわち、高 PRL 血症における無排卵症の治療のためには、血中 PRL 濃度を先ず低下せしめる必要がある。

高 PRL 血症における無排卵症113例の Lisuride による排卵率は58%であつた(表4)。その排卵率は Lisuride

の75μg 150μg 300μg と600μg 群において、夫々28、41、65と79%であり、推計学的に有意な用量依存性が認められた (P<0.01) (表4)。Lisuride 投与前の血清 PRL 濃度別 (30以下, 31~100, 101~200と201ng/ml 以上) に、その用量依存性を検討すると 101~200と201 ng/ml 以上の群において、その有意性が認められた (夫々 P<0.05と P<0.01) (表5)。

排卵症例における血清 PRL 濃度の正常化率と無排卵症例におけるそれ (夫々76と58%) との間に有意差は認められなかつた。一方、血清 PRL 濃度の正常化症例における排卵率 (64%) と非正常化症例における排卵率

表 9 Logistic 型重回帰分析による検討 (排卵)
排卵に影響した要因の探索

要 因	カテゴリー	
投 与 量 ($\mu\text{g/day}$)	75	1
	150	2
	300	4
	600	8
投与前 PRL 値 (ng/ml)	~ 30	1
	31~100	2
	101~200	3
	201~	4
年 齢	30 歳 未 満	0
	30 歳 以 上	1
投与前の乳汁 漏出の程度	—	0
	±	1
	+	2
	++	3
投 与 期 間 (週)	1~ 4	1
	5~ 8	2
	9~12	3
排 卵 に 対 する 効 果	排 卵 あ り	1
	排 卵 な し	0

変 数	係 数	t ₀
定 数 項	-1.62	
用 量	0.32	3.54**
P R L 値	-0.58	-2.34
年 齢	0.70	1.64 ^{NS}
乳 漏 程 度	0.33	1.77 ^{NS}
投 与 期 間	0.21	0.57 ^{NS}

n=119 $\phi=113$ ** : p<0.01
Pearson $\chi^2_0=118.81$ * : p<0.05

(44%) との間にも有意差はなかつた。これらの事實は、排卵するためには、血清 PRL 濃度が必ずしも30ng/ml 以下になる必要のないこと、また血清 PRL 濃度が30ng/ml 以上でも排卵する婦人は、血清 PRL 濃度のセットポイントが高い所にある可能性を示唆するものである。

Lisuride の各投与群別の投与12週間における累積排卵率を図3に示した。すなわち、75 μg と150 μg 群では、排卵率は約6週においてプラトーになるのに対して、300 μg と600 μg 群では、その後も排卵率は上昇し10週でプラトーに達した。さらに、約6週までの妊娠率も、後者の方がより高い傾向にあることがわかる。

これらの結果は、排卵の効果のみに限るならば、Lisuride の投与用量が多い程、排卵に対する効果は大きいことを示す。

乳漏症の大部分は高 PRL 血症による。従つて、血清 PRL 濃度の低下作用を有する Lisuride が乳漏症に有効であることは当然である。すなわち、Lisuride による乳漏の停止症例の血清 PRL 濃度の正常化率 (74%) は、乳漏の不変症例のもの (29%) より有意に高値であり (P<0.01)、減少症例の正常化率 (68%) も、不変症例のものよりも有意に高かつた (P<0.05)。Lisuride の 75 μg , 150 μg , 300 μg と 600 μg 群の乳漏停止率は、夫々 42, 43, 56 と 62% であり、「停止+減少」率は、各々 79, 75, 88 と 97% であり、有意ではないがほぼ用量依存性が存在した。

黄体機能不全の原因は十分に解明されていないが、その一因に高 PRL 血症の存在が推定されている¹⁾。黄体機能不全の Lisuride による改善効果をみるために、その17例 (1例の高 PRL 血症と1例の血清 PRL 濃度不明を含む) に75 μg を、4例 (全例正 PRL 血症) に150 μg を投与した。前者における改善率は82%であり、後者は50%であつた。後者の例数が少ないので比較は困難であるが、黄体機能不全症例に対しては Lisuride の

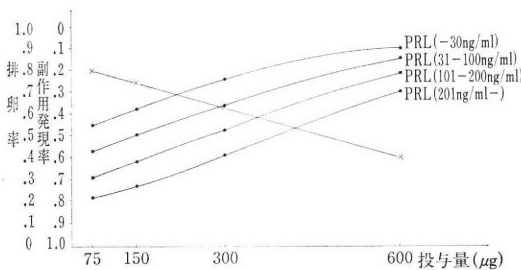


図 4 無排卵例における投与前血清 PRL 値別排卵率 (●—●) および全症例における副作用発現率 (×—×)

$$\text{排卵率 } P_1 = [1 + \exp \{ -(-0.08 + 0.30X_1 - 0.49X_2) \}]^{-1} \quad n=119 \quad \phi=116$$

$$\text{Pearson } \chi^2_0=120.17$$

$$\text{副作用発現率 } P_2 = [1 + \exp \{ -(-1.62 + 0.25X_1) \}]^{-1}$$

$$n=164 \quad \phi=162$$

$$\text{Pearson } \chi^2_0=163.19$$

用量 (X ₁)	プロラクチン (X ₂)
75 μg (1)	~30 ng (0)
150 μg (2)	31~100 ng (1)
300 μg (4)	101~200 ng (2)
600 μg (8)	201~ (3)

表10 Logistic 型重回帰分析による検討 (副作用)

副作用の発現に影響した要因の探索

要 因	カテゴリー	
投 与 量 ($\mu\text{g/day}$)	75	1
	150	2
	300	4
	600	8
投与前 PRL 値 (ng/ml)	~ 30	0
	31~100	1
	101~200	2
	201~	3
副 作 用	あ り	1
	な し	0

変 数	係 数	t ₀
定 数 項	-1.42	
用 量	0.27	3.76**
P R L 値	-0.11	-0.58 ^{NS}

n=164 $\phi=161$
 Pearson $\chi^2_0=163.71$
 **: p<0.01

表11 投与前血清 PRL 濃度別の至適投与量における排卵率と副作用発現率

投与前血清 PRL (ng/ml)	至適投与量 ($\mu\text{g/day}$)	排 卵 率 (%)	副 作 用 率 (%)
~ 30	231	70	30
31~100	297	65	35
101~200	364	60	40
201~	431	54	46

表12 投与前 PRL 値別の排卵率70%を得る為の用量とその際の副作用発現率

投与前血清 PRL (ng/ml)	投 与 量 ($\mu\text{g/day}$)	副作用発現率 (%)
~ 30	231.8	30.0
31~100	354.0	39.2
101~200	477.0	49.2
201~	599.3	59.3

1日75 μg 投与がより適切であると思われる。

Lisuride 投与中、副作用と思われる何らかの症例を訴えた婦人は、166例中56例 (34%) であった。

Lisuride の75 μg , 150 μg , 300 μg と600 μg 群別では、副作用症状の発現率は、夫々20, 17, 43と57%であり、ほぼ用量依存性が増加する傾向が認められた(表8)。1症例あたりの症状の件数は用量に無関係にほぼ2件であった(表8)。最も高頻度に訴えられた症状は悪心と嘔吐であり、症状の総件数の夫々31と12%を占めた。

しかし、高度な症状を示し薬剤の継続が困難になったものは2例のみであった。他に比較的多くみられた症状は便秘と頭痛であったが、いずれも高度な症状ではな

つた。

さて、Lisuride を投与する主な目的である排卵誘発に対する効果は、1日投与量が多い程、排卵率が高くなり、一方その投与量が多くなる程、副作用の発現率が高くなることが分かった。そこで、投与量と排卵率との間の投与前の血清 PRL 濃度別の回帰式を求め、一方投与量と副作用発現率との間の回帰式を求めた(図4)。図4に示したこれらの回帰式の交点は、Lisuride の投与前の血清 PRL 各濃度における Lisuride の最大の効果を発揮し最少の副作用となる至適1日投与量であると考えられる。これらの投与量は投与前血清 PRL 濃度が30以下、31~100, 101~200と201ng/ml 以上の時に、夫々231 μg , 297 μg , 364 μg , 431 μg となる(表11)。ただし、これはおおよその目安とすべきことは当然なことである。Lisuride の投与にあたっては個人個人について注意深く、その効果と副作用の発現を観察して投与量を決定すべきであることはいうまでもない。一方、排卵率70%を得ようとする時の推定投与量と推定副作用発現率は表12のごとくなる。これらの投与量は、現在高 PRL 血症の治療のために使用されている Bromocriptine の投与量のほぼ10分の1である。DeCecco ら¹⁾は、高 PRL 血症において Lisuride の0.2mg と Bromocriptine の2.5mg の1回経口投与がほぼ同程度に血中 PRL 濃度を低下せしめることを報告している。高 PRL 血症性無月経において、月経あるいは排卵を生ぜしめるための Lisuride の1日投与量は200-800 μg であることが諸外国の文献²⁾において示されている。

現在迄の成績では、症例数が十分でないため高 PRL 血症性不妊症に対する Lisuride の妊娠効果について決定的な結論は言えないが、投与12週迄の妊娠率は28% (19/67) であり、一方、正 PRL 血症性無排卵症の妊娠率は21% (3/14)、黄体機能不全症例の妊娠率は20% (4/20) であった。また、Lisuride 投与をつづけた最長46週までの追跡での妊娠率は32% (33/103) (5例は clo-miphene 等を併用した) であり、これを用量別にみると

75 μ g, 150 μ g, 300 μ g, と600 μ g 群の妊娠率は, 夫々23, 26, 32と46%であり, 用量依存性に増加する傾向が認められた.

追跡し得た32例の妊娠のうち6例が自然流産, 1例が卵管妊娠, 1例が無脳児のための人工妊娠中絶で, 24例が満期経膈分娩であった. 24例の新生児にはなんらの奇形も認められなかった. これらの妊娠・出産例の排卵日以後の Lisuride 投与日数は3-77日間, 総投与量は1.125~61.6mg であった. 自然流産例と無脳児例においてこの投与期間と投与総量が特別に長かつたり多いことはなかった. Lisuride の催奇形性についてはさらに症例数を増加して検討したいと考える.

以上, Lisuride は高 PRL 血症性排卵障害の治療に比較的低用量で有効であり, 一方重篤な副作用の発生はなく, 一般的な副作用発現率も比較的 low, 臨床的に価値ある薬剤と考えられる.

文 献

- 1) Calne, D. B., Horowski, R., McDonald, R. J. and Wuttke, W. ed. Lisuride and other dopamine agonists, Raven Press, N. Y., 1983.
- 2) 竹内 亭, 岡村 隆, 西井 修, 小林拓郎: Lisuride の産婦人科における応用 産婦治療274: 48, 1984.
- 3) 松本清一: 第14回日本産婦人科学会宿題報告要旨, 月経異常に関する報告, 1962.
- 4) Cox, D. R.: The analysis of binary data (二値データの解析; 後藤昌司, 畠中駿逸, 田崎武信 翻訳, 朝倉書店, 1980.

Determination of optimal dose of dopaminergic ergot compound, Lisuride hydrogen maleate for hyperprolactinemia, galactorrhea and short luteal phase

Takuro Kobayashi et al.

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

Daily dose of 75, 150, 300 and 600 μ g of Lisuride was orally administered for 12 weeks to patients with normo- or hyperprolactinemic anovulation (127 cases), galactorrhea (120 cases) and short luteal phase (21 cases). In anovulatory patients, the rate of ovulation during the treatment rose significantly ($p < 0.01$) with the increase of dose. Thus, the rate in 600 μ g group (79%) was significantly higher than in 75 μ g (28%) and 150 μ g (41%) groups (vs. both groups, $p < 0.01$).

When Pretreatment serum prolactin levels (below 30, 31-100, 101-200 and 201 ng/ml or more) were considered, the rate of ovulation was dose-dependently increased in patients with 101-200 and with 201 ng/ml or more ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively).

The improvement rate of galactorrhea by Lisuride increased in dose-dependent manner (75-97%) but these changes were not significant. Even Lower dose of Lisuride seemed to be more effective for the treatment of short luteal phase.

The incidence of adverse effects tended to increase in the higher dose.

Logistic multiple regression analysis for the rate of ovulation and incidence of adverse effects in relation to dose of Lisuride indicated that the optimal daily dose of Lisuride were 231, 297, 364 and 431 μ g in patients with pretreatment serum prolactin levels of below 30, 31-100, 101-200 and 210 ng/ml or more, respectively.

(受付: 昭和60年6月17日・特掲)

運動性無月経 (Exercise Associated Amenorrhoea) の検討：(第1報) 女子運動選手の月経異常の分析

Analysis of Exercise Associated Amenorrhoea: Menstrual
Disorder in Athletes Women

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室

小田原 靖 楠原 浩二 横山 敬
Yasushi ODAWARA Koji KUSUHARA Kei YOKOYAMA
松本 和紀 渡辺 直生 蜂屋 祥一
Kazunori MATSUMOTO Naoiku WATANABE Shoichi HACHIYA
Department of Obstetrics & Gynecology, The Jikei
University School of Medicine

最近スポーツに伴う月経異常、すなわち運動性無月経 (exercise associated amenorrhoea (E, A, A)) が注目されている。今回その本態を明らかにすべく、体育学部の女子運動選手を対象に、その性機能を月経の面より分析した。

その結果、

- 1) 初経発来以前より比較的ハードな運動を開始した群の初経は、初経以前に運動を開始していなかった群に比較し、初経の発来が有意に遅延した。
- 2) 恒常的にハードな練習を行なう運動選手の月経は、一般学生に比較し、無月経、稀発月経の頻度が有意に多く、逆に月経整順例は有意に少なかった。
- 3) BBT の分析の結果、女子運動選手には持続的無排卵周期症を示す例が多く、その他種々の排卵障害例が存在した。

以上の結果より、女子運動選手には性機能が障害される例が少なからず存在する事が明らかとなった。今後その機序を明らかにするため内分泌学的検討を行なう予定である。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 29-33, 1986)

I. 緒言

近年、我が国のスポーツ人口の増加は著しく、さらにマラソン等、従来女性の参加がとも考えられなかった一部の種目にまで積極的に女性が進出しはじめている。

また、英才教育の必要性などから、一部の種目では比較的ハードな練習を開始する年齢が年々早まる傾向にある。

このような状況は健康増進のためには好ましいものと一見考えられてきた。

しかし、スポーツ先進国ともいえる欧米では、女子のマラソン選手や長距離ランナーに少なくない頻度で月経

異常が発症するとの報告¹⁻³⁾がある。また幼少時からの激しいスポーツにより初経の発来が遅延するとの報告⁴⁻⁶⁾もみられるようになり我国でも注目されはじめた。このような事実はスポーツが健康におよぼす“巧罪”のうち“罪”に相当するものであり一部から警告が発せられている。

このようにハードなスポーツトレーニングが女子の性機能におよぼす影響は決して少なくないものと思われるがその機序の詳細は不明である。

そこで今回我々は運動負荷と女子の性機能との関連を明らかにする事を目的に、その第一段階として女子運動選手の性機能を月経の面より検討した。

II. 対象および方法

検索対象は18歳から20歳までの某体育系女子大学の学生488名である。その内訳は『児童科』に属し軽いレクリエーション以外全くハードな運動をしない一般学生267名(A群)と、同じ大学、年齢でバレーボール、ハンドボール、陸上競技、体操等の運動部に所属し、日頃ハードな練習を恒常的に行なっている『体育科』の学生221名(B群)である。

方法はこれらの両群に対し、アンケート方式にて過去および現在の月経歴、運動開始と月経の変化などについて解答を求め、さらに両群の中から無作為に100名をピックアップし、約4カ月間にわたり BBT を測定せしめ、そのパターンを分析した。

III. 結果

1. 運動の開始年齢と初経発来時期

まずA、B両群の初経発来年齢を比較した。その結果は図1に示すごとくA、B両群ともにそのピークは13歳にみられる。初経発来年齢の平均はA群が11.88±1.07(M±SD)歳、B群のそれは12.16±1.23歳で両者に有意な差はみられなかった。さらにその前後の分布を比較するとA群に比較しB群は各年齢ともやや遅延するように見えるが有意な差ではなかった。

ついでB群の中で運動を開始した年齢と初経発来時期との関係を検討した。

すなわち初経発来以前の幼少時から比較的ハードな運動を行なっていた群(B-I群)52名と、初経以前には殆んど運動を行なっていなかった群(B-II群)169名の両群の初経発来時期を比較した。

各群の初経発来の平均年齢は表1のようにB-I群は平均12.61±1.22歳であるのに対し、B-II群が12.09±1.29歳と有意に(P<0.01)早く前者は初経の発来が遅延する結果であった。

さらにその分布を比較したものが図2である。B-I、B-II群ともそのピークは12歳にあるが、前者は全体に右方にシフトし各年齢を通じ、B-I群の初経の開始が遅延する傾向がみられた。

2. 女子運動選手の月経

1) 月経周期

A、B両群の現在の月経の周期性を比較した。その結果は図3に示すように、B群では、無月経あるいは稀発月経の例は14.3%であり、A群の3.0%に比較し有意(P<0.01)に高頻度の割合を示した。

逆に月経が整順なものは57.0%で、A群の70.4%に比較し有意に(P<0.01)低率を示した。しかし不整であ

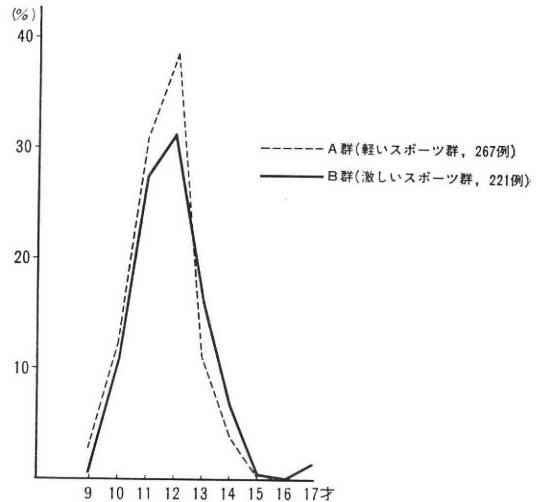


図1 運動選手の初経発来時期(1)

表1 運動の開始時期と初経の発来

	初経年齢(M±SD)
A群(軽いスポーツ群)	11.88±1.07(n=267)
B群(激しいスポーツ群)	12.16±1.23(n=221)
B-I (初経以前から激しいスポーツを行なっていた群)	12.61±1.22*(n=52)
B-II (初経以前には激しいスポーツを行なっていなかった群)	12.09±1.29(n=169)

* 0.001<p<0.01

ると答えたものはA群26.6%、B群28.7%で両群に差がみられなかった。すなわちB群の整順例が減少した分だけ無月経、稀発月経、に移行したものと考えられた。

さらにB群の月経状態を観察すべく、この中から無作為に100名をピックアップし、4カ月にわたり BBT を測定せしめこれを分析した。

まず各例を周期毎に判定した結果を図4に示した。その結果は無月経で測定期間中低温相が持続した例は5名であった。これを除外した95名、415周期の分析結果は、正常な排卵性周期を有する周期はわずか29周期・7.0%にすぎなかった。また66周期・16.0%は BBT が2相性である事より排卵の存在は推定されるものの、黄体期間が11日以下と黄体期短縮を示した。また4周期・1.0%は過長な卵胞期間を有し、遅延排卵が推定された。また8周期・1.9%は過長卵胞期かつ黄体期間の短縮を示した。

以上は一応排卵性と推定された周期であるが、BBT が低温一相性を示し、無排卵性周期と考えられたものは

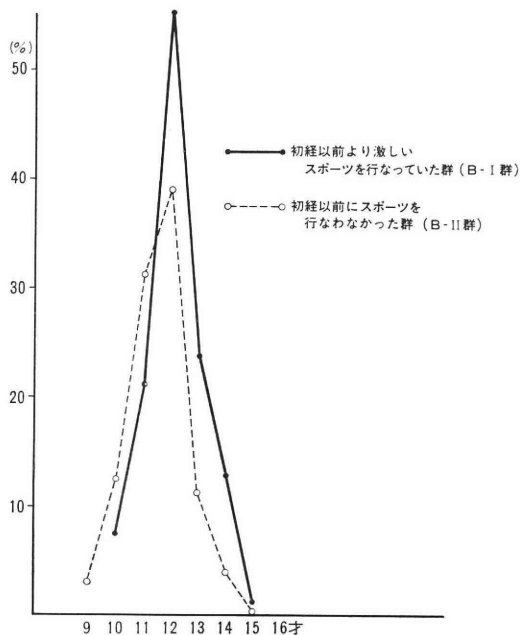


図 2 運動選手の初経発来時期 (2)

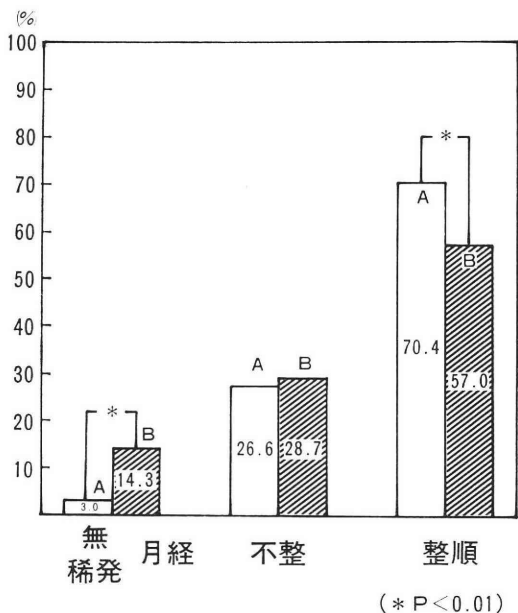


図 3 運動選手と一般学生の月経周期の比較

307周期・74.0%であった。しかしこれらの無排卵性出血は比較的整順に繰り返すものが少なくなく、一見順調な月経と思わせるものが多数存在した。

これらの BBT を一周期ごとの解析した結果をもとに個々の例の BBT の全体を判定したものが図 5 である。すなわち測定期間中、常に排卵性周期を繰り返した

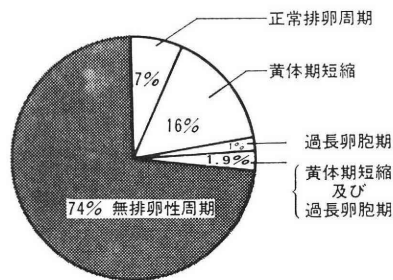


図 4 女子運動選手における基礎体温の分析 (①延べ415周期の BBT パターン)

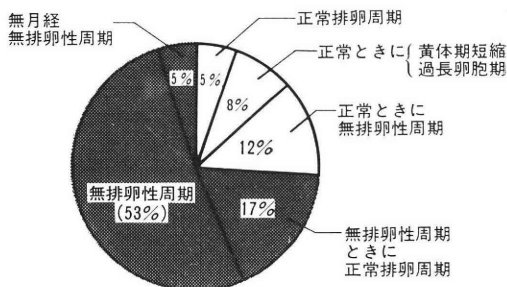


図 5 女子運動選手における基礎体温の分析 (②100例のタイプ別分類)

ものは5例・5%にすぎなかった。さらにおおむね正常な排卵性周期を有し、時に黄体期間短縮や卵胞期延長がみられる例は8例・8%であった。またおおむね正常排卵周期を有しながら時に無排卵性周期が混入する例は12例・12%であった。

以上の25例・25%は異常を示すもののおおむね排卵を有するグループである。

一方、時に、あるいは常に排卵障害を示したものは残り75例・75%であった。

その内訳は、無排卵性周期に時に正常な排卵性周期が混入するものは17例・17%であり、終始、無排卵性周期を繰り返すものは53例・53%であった。

さらに無月経で、時に無排卵性の出血が出現する例は5例・5%であった。

2) 月経随伴症状

現在の月経随伴症状についてアンケートにより検討した。月経随伴症状はその程度が客観的にとらえにくく、また種類も多様なため強い月経困難を有するもののみを陽性として判定した。その結果は図 6 に示すごとく A 群の陽性率は26.4%、B 群は同じく34.2%であり、両者に有意の差はみられなかった。すなわち、運動を行なう事により月経困難がより出現するようになったとも、また逆に減少したともいえない結果であった。

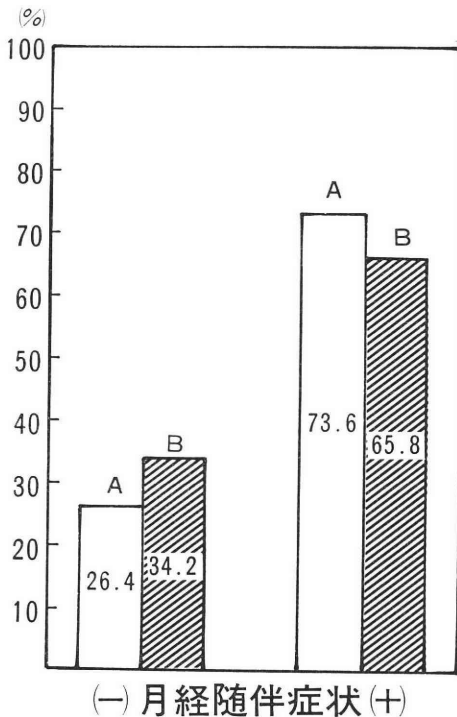


図 6 運動選手，一般学生の月経随伴症状の比較

IV. 考 察

近年，従来男子のスポーツと考えられていたマラソンや長距離ランニング等のハードなスポーツに女子が盛んに進出している。

また英才教育の一環として，比較的ハードなトレーニングが一部の種目では幼少時から開始されている。このような最近のスポーツの動向に伴って種々の問題が提起されはじめている。すなわちその一つは，主にバレリーナや体操選手等にみられるもので，初経発来前からのハードな練習の開始により初経の発来が遅延するという問題である。

いま一つは主に長距離ランナーやマラソン選手等(long distance runner)にみられる月経異常，特に無月経の発症が少なくないという問題である。

このような初経発来の遅延や月経異常の発症がその後の性機能に長期にわたり影響をおよぼすならば，あるいは非可逆的なものであるならば決して無視し得ない問題である。

そこで今回，我々は運動負荷と性機能との関連を特に初経発来と月経異常の2点にしぼり検討した。

まず運動の開始時期と初経発来との関連である。今回の著者の調査結果では運動選手(B群)のうち，比較的幼少時から既に運動を開始した群(B-I群)は，それ以

外の群，すなわち初経発来以前にはそれ程運動を行なっていない群(B-II)に比較し初経の発来年齢が有意に遅延するという結果を得た。この結果は今回の著者らと同様の大学生を対象とした目崎⁹⁾の報告とほぼ一致するものである。

しかし全ての運動種目がこのような現象を引き起こすか否かは疑問のある所である。Warren⁹⁾，Frisch⁶⁾はバレダンサーで，また Baker³⁾はランナーで，それぞれ初経発来前の比較的幼少時からの練習開始により初経が有意に遅延すると報告している。今回著者らが調査対象とした大学生が初経発来前に行なっていた運動種目はさまざまであるが，初経発来前から運動を開始している事は共通しており，先にあげたような特殊な種目にこのような現象がみられるものではないと思われる。

ではいかなる機序で初経発来の遅延がおこるのであろうか。Fisch⁶⁾は先にのべたバレダンサーを対象とし，初経未発来のグループと既発来のグループの身長あたりの体重を比較した。その結果，前グループは後グループに比較し有意に低体重であり，かつ初経が初来するに必要な身長にみあつた体重に達していなかつたという。この事より特に体内脂肪の相対的不足が初経発来遅延の大きな要因であると指摘している。

しかしこのような体脂肪の減少ないしは相対的不足のみで初経発来遅延の機序の全てを説明し得るものであろうか。

Warren⁹⁾は単に体脂肪の減少のみではなく，ハードな練習に伴うエネルギーの消費が初経発来の重大なポイントである間脳一下垂体系に何らかの系路を通じ障害を与えていると推定している。

さらにこれらの体脂肪，エネルギー代謝に加え，ハードなトレーニングに伴うストレスによる間脳一下垂体系への内分泌学的影響も無視し得ないものと思われる。事実，Shangold¹⁰⁾らによれば運動負荷に伴ない日中 Prolactin が増量するという。これらの高 Prolactin 状態が視床下部一下垂体系に抑制的な影響を与へず事は充分推定し得る事である。

つぎに恒常的な運動負荷と性機能との関連についてである。

今回著者らの調査では日常殆んど運動練習を行なわない一般学生(A群)に比較し，体育学科で恒常的にかなりハードな練習を行なう群(B群)の無月経，稀発月経の頻度は14.3%と有意に高く，また月経整順例は57.0%と有意に低率の結果であつた。このように運動群は月経周期からみると明らかに性機能が障害例が増加する事がうかがわれた。

従来報告より運動性無月経の頻度をみてもみると，ク

ロスカントリーの42% (Foreman¹¹⁾), マラソン・ランナーの50% (Sanborn¹²⁾), ランニングの39% (Baker³⁾) などがあげられ, かなりの高頻度にもみられるといえる. この割合は, 今回著者の成績が14.3%であった事と比較するとかなりの高率といえるが, この原因の一つは, 今回著者らが調査対象とした例の競技種目がバレーボール, ハンドボールなどでいわば集団種目であり, 先ののべた種目に比べ比較的運動の負荷が少なかったためかと思われる.

このような無月経, 稀発月経という極端な例に加え, 月経の不整例も少なくない. では月経の不整はどのような形をとっているのであろうか, BBT を用いて分析した. BBT を測定した期間はわずか4カ月間であるが, その間, B群では終始正常な卵胞期と正常な高温相期間を有する例はわずか5%にすぎなかった. またおおむね正常排卵周期であるが, 時に黄体期間が短縮したり, あるいは卵胞期間が延長し, 遅延排卵の例は両者あわせて8%であった. また排卵周期に無排卵周期が混入する例は12%であった. 以上の例を一応排卵性周期とみなしても, 排卵性周期を有するものは合計25%にすぎなかった.

逆に無排卵性周期を繰り返すものは53%の高率に達した.

これらの無排卵性周期症例の中には, 無排卵性出血が月経に繰り返すため, 一見, 月経が整順であるかのように本人が自覚している例も少なくない.

いずれにせよ運動群には無月経, 稀月経に加え無排卵周期症も多数みられ, 排卵障害が少なからず存在する事が明らかとなった.

今回の検討からその機序はなお明らかにし得なかつたが, 今後その内分泌学的検索を行なう予定である.

文 献

- 1) Erydelyi, G.: Gynecologic survey of female athletes, *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 2: 174, 1962.
- 2) Erydelyi, G.: Effects of exercise on the menstrual cycle, *Physician Sports Med.* 4: 791, 1976.
- 3) Baker, E., Mathur, R., Kirk, R. and Williams, H. D.: Female runner and secondary amenorrhea; correlation with age, parity, mileage, and plasma hormone and sex-hormone-binding globulin concentrations, *Fertil. Steril.*, 36: 183, 1981.
- 4) Abraham, S., Beumont, P. J. V., Fraser, I. S. and Llewellyn Jones, D.: Body weight, exercise and menstrual status among ballet dancers in training, *Brit. J. of Obstet. Gynecol.*, 89: 507, 1982.
- 5) Warren, M. P.: The effects of exercise on

pubertal progression and reproductive function in girls, *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 51: 1156, 1980.

- 6) Frisch, R. E., Wyshak, G. and Vincent, L.: Delayed menarche and amenorrhea in ballet dancers, *N. Eng. J. Med.* 17: 303, 1980.
- 7) Shangold, M.: Gynecological and Obstetrical Aspects of exercise, from "Exercise Medicine; Physiological Principles and Clinical Application", ed. by Albred, A Bove and David T. Lowenthal, Academic Press, New York, 1983.
- 8) 目崎 登, 佐々木純一, 庄司 誠, 岩崎寛和, 江田昌佑: スポーツトレーニングと初経発来, *日産婦誌*, 36: 49, 1984.
- 9) Frisch, R. E.: Height and weight at menarche and a hypothesis of menarche, *Arch. Dis. Child.* 46: 695, 1971.
- 10) Shangold, M. M., Gatz, M. L. and Thysen, B.: Acute effects of exercise on plasma concentrations of prolactin and testosterone in recreational women runners, *Fertil. Steril.* 35: 699, 1981.
- 11) Dale, E., Gerlach, D. H. and Willite, A. L.: Menstrual dysfunction in distance runner, *Obstet. Gynec.* 54: 47, 1979.
- 12) Sanbarn, C. F., Martin, B. and Wagner, W.: Is athletic amenorrhea specific to runners?, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 143: 859, 1982.

Analysis of exercise associated amenorrhea: menstrual disorder in athletes women

Yasushi Odawara, Koji Kusuhara,
Kei Yokoyama, Kazunori Matsumoto,
Naoiku Watanabe, Shoichi Hachiya

Department of Obstetrics & Gynecology, The
Jikei University School of Medicine

Menstrual function in athlete students were investigated comparing with non athletes.

1) The 52 premenarche-trained athletes had a mean menarche age of 12.6 ± 1.2 years, whereas the 169 postmenarche-trained athletes had a mean menarche age of 12.1 ± 1.3 years.

2) Increased incidence (14.3%) of amenorrhea and oligomenorrhea presented in athletes students with strenuous exercise.

3) By BBT chart, many students showed anovulatory cycle habitually.

The results suggested that prolonged strenuous exercise is one of the numerous factors that can interfere with normal human menstrual cycle.

(受付: 昭和60年5月1日)

INHIBITION OF PREMATURE LABOR BY RITODRINE

Minoru MANZAI, Yayoi SUZUKI, Katsuo IKUTA,
Kouji NAKAMURA, Kinichiro MIZUNO and Yoshiaki YAGAMI

Department of Obstetrics and Gynecology, Nagoya City
University Medical School

Abstract: Ritodrine was administered to 28 patients with intact or ruptured membranes who admitted for premature labor. Their gestational ages ranged from 20 th to 35-th week. Ritodrine was administered intravenously by the infusion rate from 50 mcg/min to 200 mcg/min until labor stopped. After infusion therapy, oral ritodrine (15 mg/day) was administered for 5 days.

The mean prolonged gestational days were 25.7 days. However, those of patients with intact membranes were 36.6 days. The high failure rate of labor inhibition was found in the cases with ruptured membranes and cervical dilatation of over 2 cm. Maternal tachycardia was frequently observed but there was no serious side effects. There were no intrauterine fetal death and no neonatal death due to ritodrine therapy. These results indicate that ritodrine was effective on inhibition of premature labor.

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 34-37, 1986)

Introduction

Premature delivery frequently results in perinatal mortality and morbidity due to the complication arising out of their own prematurity^{1,2)}. It is clear that if premature delivery rates are reduced, neonatal mortality would be significantly decreased. However, the exact mechanism of the initiation of premature labor is still unknown. The most effective way to reduce this mortality and morbidity is to prevent premature delivery by arresting uterine activities when premature labor begins.

Alcohol³⁾, prostaglandin inhibitors⁴⁾ and beta-agonist⁵⁾ agents were first used for preventing premature delivery, but these agents had undesirable side effects. Recently beta2-stimulants which selectively stimulate beta2-receptors, have been investigated for preventing premature labor⁶⁻⁸⁾. However, in Japan, beta2-stimulants have not yet been approved by the Ministry of Welfare for this purpose.

This study was undertaken to evaluate the inhibitory effects of ritodrine on premature labor.

Materials and Methods

Ritodrine was given to 28 patients with intact or ruptured membranes who were admitted to Nagoya City University for premature labor. Their ages ranged from 20 to 42 years. Their gestational ages ranged from 20 th to 35 th week (mean 29.8) upon admission. These admissions included 18 nullipara, 8 primipara and 2 multipara categories, 19 of which had intact membranes and 9 with ruptured membranes. Among the 28 patients there were; four patients with breech presentation, one with twin pregnancy, one with placenta previa, one with pre-eclampsia, one with bicornis bicollis, and seven with histories of previous spontaneous abortion and premature delivery. Patients with heart disease, diabetes mellitus, severe pre-eclampsia, abruptio placenta, fetal anomaly, chorioamnionitis, and fetal distress were excluded from this study.

Diagnosis of premature labor were made by external tocography when regular uterine contractions were observed at least 6 times per hour. Maternal pulse rate and blood pressure were measured and recorded hourly during intravenous therapy. Fetal heart rate and

uterine contractions were also recorded continuously by tocography during intravenous therapy.

Ritodrine (50 mg) was diluted in 10 % mar-
tose solution in a concentration of 100 mcg/
ml. This solution was administered to the
patients via their forearm by drip infusion
pump. The initial rate of ritodrine infusion
was 50 mcg/min, and was increased by 50
mcg/min every 15 min to a maximum of
200 mcg/min until labor stopped, maternal
pulse rate exceeded 120/min, or unacceptable
side effects occurred.

Once uterine contractions were arrested,
the infusion rate was maintained for 1 hr
and then decreased gradually to the lowest
infusion rate that maintained adequate uterine
arrest. After at least 4 hours' infusion at this
maintenance rate, oral ritodrine (15 mg/day)
followed for 5 days. If premature labor
resumed after this treatment, ritodrine therapy
was restarted as started before. Ritodrine
therapy was discontinued when there were
the signs of fetal distress, or when chorio-
amnionitis or maturity of fetal lung were
diagnosed.

Results

Uterine contractions ceased completely in
14 % of these patients 1 hr after the start of
this infusion therapy, 68 % after 4 hrs, and
84 % after 8 hrs. The mean infusion rate
at peak was 168.2 ± 51.4 mcg/min. The mean
prolonged gestational days were 25.7 days.
Most of the patients with intact membranes
had successfully delayed their deliveries ex-
ceeding 7 days, but 6 out of 9 cases with
ruptured membranes delivered within 2 days
of this infusion therapy (Table 1).

When the cervical os was almost closed,
most cases had prolonged pregnancies exceed-
ing 7 days. On the other hand all of 5
cases delivered within 2 days when their
cervical os dilated more than 4 cm (Table 2).

Premature labor recurred in 11 out of 16
cases with intact membranes (treatment was
discontinued in 3 cases because of fetal dis-
tress), and required repeated courses of in-
travenous therapy. Maternal systolic and
diastolic pressure (mmHg), pulse rate (bpm)
and fetal heart rate (bpm) were (before treat-
ment vs. during treatment; mean \pm SD);

Table 1 Effects of ritodrine on the
prolongation of Pregnancy

Prolongation (days)	No	Membranes	
		Intact	Reptured
< 2	12	6	6
2-6	2	1	1
7 \leq	14	12	2
Total	28	19	9

Table 2 Results of treatment according to
cervical dilatation

Prolongation (days)	Cervical dilation (cm)		
	≤ 1	2-3	4 \leq
<2	0(0)	7(4)	5(2)
2-6	1(0)	1(1)	0(0)
7 \leq	11(2)	3(0)	0(0)
Total	12(2)	11(5)	5(2)

* The numbers in the parenthesis denote
patients with ruptured membranes.

116 ± 16 vs. 109 ± 13 ($p > 0.05$), 64 ± 14 vs. 51 ± 15 ($p < 0.01$), 82 ± 13 vs. 121 ± 15 ($p < 0.001$), 148 ± 12 vs. 163 ± 14 ($p < 0.001$), respectively.

Table 3 shows the side effects of ritodrine
during infusion therapy. Twenty-six cases
had tachycardia, and 16 cases complained
of heart palpitations. There were no serious
side effects.

Table 4 indicates the relationships between
the babies birth weights and perinatal mor-
talities. There were 3 neonatal deaths, but
the serious side effects which cause these

Table 3 Complications during ritodrine
infusion

Complications	No
Tachycardia	26
Palpitation	16
Shortness of breath	5
Headache	3
Vomitting	3
Numbness	2
Flashing	2
Pains of extremity	1
Diarrhea	1
Vascular pain	1

Table 4 Neonatal outcome in different birth weight groups

Birth weight (g)	No	Neonatal death
—1000	3	2
1001—1500	7	1
1501—2000	4	0
2001—2500	4	0
2501—	11	0
Total	29	3

neonatal deaths were not observed. Furthermore, there were no intrauterine fetal deaths.

Discussion

The mean prolonged gestational days resulting from the use of ritodrine in this study was slightly shorter when compared with other investigations^{7,9}. Our cases included 9 patients with ruptured membranes. We stopped the infusion therapy when chorioamnionitis, fetal distress, and fetal lung maturation were diagnosed. The mean prolonged gestational days of patients with intact membranes was 36.6 days. This result is similar to those reported by other investigators^{7,9}. Furthermore eighty-six per cent of these cases gained complete arrest of uterine contractions 8 hours after the start of ritodrine infusion.

Our results suggest that the presence of ruptured membranes and cervical dilatation of over 2 cm resulted in a high failure rate of labor inhibition. This result is similar to other investigations⁹⁻¹¹.

Previously we used indomethacin which has an inhibitory effect on prostaglandin synthesis, but this drug has the potencies to close the ductus arteriosus of the fetus¹². One fetus who died in utero had a closure of the ductus arteriosus⁴. In this study no fetuses died during this infusion therapy, and there were no serious side effects after delivery. Pulmonary edema has been reported as a maternal complication of beta₂-stimulants treatment for premature labor^{13,14}. There were no cases with this serious side effect in this study. Ritodrine was administered from 50 to 200 mcg/min. This infusion rate is almost same as that reported by others^{8,9,11}.

J. Finley¹⁵ reported that the pulmonary edema is not the result of systolic cardiac dysfunction, and it is most likely to occur when glucocorticoids are used with beta-mimetics¹⁶. We carefully watched the patient's fluid balance, and used 10 % martose solution instead of normal saline. We also did not administer the glucocorticoid with the infusion therapy.

Recurrent therapy of ritodrine infusion was needed in 11 out of 16 patients (69 %) with intact membranes. The rate of recurrent labor requiring infusion therapy (69 %) was slightly higher than the other studies^{8,17}. This may due to the lower daily dosage of oral ritodrine.

Although ritodrine still has cardiovascular side effects such as tachycardia and hypotension, there were no serious side effects, and the tachycardia improved when the infusion rate was slowed. Furthermore, there were also no detrimental effects of ritodrine treatment in newborn infants^{6,18}.

In conclusion, this study demonstrated that ritodrine is useful for the prevention of premature delivery in cases with either intact or ruptured membranes with minimal side effects. Furthermore, treating premature labor patients at the hospital with neonatal intensive care units is preferred.

References

- 1) Fuchs, F.: Prevention of prematurity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 126 : 809, 1976.
- 2) Rush, R. W., Keirse, M. J. N. C., Howat, P., Baum, J. C., Anderson, A. B. M. and Turnbull, A. C.: Contribution of preterm delivery to perinatal mortality. *Brit. Med. J.* 2 : 965, 1976.
- 3) Lauersen, N. H., Merkatz, I. R., Tejani, N., Wilson, K. H., Robertson, A., Mann, L. I. and Fuchs, F.: Inhibition of premature labor: a multicenter comparison of ritodrine and ethanol. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 127 : 837, 1977.
- 4) Mizuno, K., Okumura, Y., Ikuta, K., Kaseki, H. and Yagami, Y.: Inhibition of premature labor by indomethacin. *Jpn. J. Fert. Ster.* 25 : 486, 1980.
- 5) Hendricks, C. H., Cibils, L. A., Pose, S. V. and Eskes, T. K. A. B.: The pharmacologic control of excessive uterine activity with isoxsuprine. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 82 :

- 1064, 1961.
- 6) Barden, T. P., Peter, J. B. and Merkatz, I. R.: Ritodrine hydrochloride: a beta-mimetic agent for use in preterm labor. *Obstet. Gynecol.* 56 : 1, 1980.
 - 7) Merkatz, I. R., Peter, J. B. and Barden, T. P.: Ritodrine hydrochloride: a beta-mimetic agent for use in preterm labor. *Obstet. Gynecol.* 56 : 7, 1980.
 - 8) Caritis, S. N., Toig, G., Hedding, L. A. and Ashmead, G.: A double blind study comparing ritodrine and terbutaline in the treatment of preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 150 : 7, 1984.
 - 9) Renaud, R., Irrmann, M., Gandar, R. and Flynn, M. J.: The use of ritodrine in the treatment of premature labour. *J. Obstet. Gynecol. Brit. Commonw.* 81 : 182, 1974.
 - 10) Liggins, G. C. and Vaughan, G. S.: Intravenous infusion of salbutamol in the management of premature labor. *J. Obstet. Gynecol. Brit. Commonw.* 80 : 29, 1973.
 - 11) Casparis, A. W., Thiery, M., Sian, A., Baumgarten, K., Brosens, I., Gamsans, O., Stolk, J. G. and Viver, W.: Results of double-blind, Multicenter study with ritodrine in premature labour. *Brit. Med. J.* 3 : 144, 1971.
 - 12) Coceani, F., Olley, P. M. and Bodach, E.: Prostaglandins, a possible regulator of muscle tone in the ductus arteriosus, Advance of prostaglandin and thromboxane research (Samuelson, B., and Paoletti, R. eds) Vol. 1. p. 417 Raven Press New York, 1976.
 - 13) Stubblefield, P. G.: Pulmonary edema occurring after therapy with dexamethasone and terbutaline for premature labor: A case report. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 132 : 341, 1978.
 - 14) Katz, M., Robertson, P. A. and Creasy, R. K.: Cardiovascular complications associated with terbutaline treatment for preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 139 : 605, 1981.
 - 15) Finley, J., Katz, M., Rojas-Perez, M., Roberts, J. M., Creasy, R. K. and Schiller, N. B.: Cardiovascular consequences of beta-agonist tocolysis: an echocardiographic study. *Obstet. Gynecol.* 64 : 787, 1984.
 - 16) Elliott, H. R., Abdulla, U. and Hayes, P. J.: Pulmonary edema associated with ritodrine infusion and betamethasone administration in premature labour. *Brit. Med. J.* 2 : 799, 1978.
 - 17) Creasy, R. K., Golbus, M. S., Laros, R. K., Paper, J. T. and Roberts, J. M.: Oral ritodrine maintenance in the treatment of preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 137 : 212, 1980.
 - 18) Polowczyk, D., Tejani, N., Lauersen, N., and Siddig, F.: Evaluation of seven- to nine-year-old children exposed to ritodrine in utero. *Obstet. Gynecol.* 64 : 485, 1984.

流早産に対するリトドリン治療について

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

万歳 稔, 鈴木弥生, 生田克夫,

中村光治, 水野金一郎, 八神喜昭

今回我々は妊娠20週より35週の間、流早産の徴候を示した28例（9例の前期破水例を含む）にリトドリンの点滴投与、経口投与による治療を行った。治療開始より分娩に至った平均日数は25.7日間であったが、未破水例のみでは36.6日間であった。又治療開始時に子宮口が4 cm 以上開大していた症例は全例2日以内に分娩にいたった。29例の新生児（1例の双胎を含む）の内3例は早期新生児期に死亡したが、リトドリンによると思われる致命的な副作用は認められなかった。母体も26例に頻脈を認めた以外は重篤な副作用は認められなかった。

（受付：昭和60年3月20日）

超音波断層法による卵胞発育の観察

The Observation of Ovarian Follicular Developmet by Ultrasound

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室

有馬 直見 新村 亮二 永田 行博
Naomi ARIMA Ryoji SHINMURA Yukihiko NAGATA

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine,
Kagoshima University, Kagoshima, Japan

超音波断層法によつて卵胞の観察を行ない、その発育成熟過程から排卵を予知しようと試みた。自然排卵周期群23周期、Clomid 排卵誘発症例群12周期、hMG-hCG 排卵誘発症例群6周期を対象とし、また自然排卵周期群の7例では、連日血中 E_2 , LH, FSH 値を測定し、以下の結果を得た。

- 1) 卵胞は排卵前約3日より発見されることが多く、その後1日に約1.9~2.7mm の発育が認められた。
- 2) 排卵直前の成熟卵胞は、薄い境界面を伴つた小円形の Cyst として卵巣内の辺縁に観察された。卵胞内に卵丘を推定させる部分を観察できたものは少なく、現状では成熟卵胞一般的な指標とはなり得ないと考えられた。
- 3) 自然排卵周期群での排卵前の最大卵胞径は平均18.6mm であり、排卵誘発群はこれに比べ7~10mm 有意に大であつた。
- 4) 血中 E_2 値と卵胞径には相関係数 $r=0.957$ の強い相関が認められた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 38-42, 1986)

I. 緒言

従来、排卵の確認は困難であり、基礎体温測定、頸管粘液検査、血中・尿中ゴナドトロピンやステロイドホルモンの測定、あるいは子宮内膜組織検査等により retrospective に試みられ、直接的には腹腔鏡検査により確認されてきた。しかし最近では超音波断層法の応用により、卵胞の発育を観察し¹⁻⁴⁾ prospective にある程度正確な排卵時期を予期することが⁵⁻⁷⁾可能となり、さらに排卵そのものの観察も行なわれるようになった。それに伴つて最近の体外受精における成熟卵胞の有効な診断手段⁸⁾として必須の検査法として評価されている。また卵胞の観察は無排卵黄体化症候群やゴナドトロピン抵抗性卵巣などの診断にも有用と考えられる。我々も不妊内分外来における超音波断層法の応用を重視し、とくに排卵前後の卵胞の観察を行ない、その結果について検討を試みた。

II. 研究対象および方法

自然排卵周期23例23周期、clomiphene citrate 排卵誘

発症例 (clomid 症例群) 9例12周期、hMG-hCG 排卵誘発症例 (hMG-hCG 症例群) 3例6周期の計35例41周期を対象とした。

基礎体温を参考に予定排卵日6日前より超音波検査を連日行ない、卵胞を確認し卵胞の大きさや内部構造の変化を観察した。周波数3.5MHZ の超音波断層装置は東芝 SAC-12A および横河 RT-3000 を使用し、膀胱充滿下に下腹部恥骨上縁を中心に横断、縦断走査を連日繰り返し、子宮を確認後、付属器領域に相当する部位での Cystic pattern を見出し、それを卵胞とした。しかし卵胞期での連日の観察により大きさに変化のないものは症例より除去した。卵胞の測定にはその最大内径を測定したが、real time scan と static scan の差異については、両者の相関係数 $r=0.95$ と高い相関があるという千石による報告⁹⁾を参考にし考慮に入れなかつた。記録にはポラロイドフィルム、35mm フィルムを使用した。

また自然排卵期の7例では、血中 LH, FSH, estradiol (E_2) を RIA で測定し、超音波断層法による卵胞発育状況との関連を検討した。

III. 成 績

卵胞は超音波断層法により図1、図2のように子宮の近くで cystic pattern として認識される。図2は図1の症例の2日後であり排卵前日の所見である。卵胞径は17mmより23mmと明らかに増大しており、連日の観察による径の変化から、卵胞と推定することができる。また図3は、hMG-hCG 投与による多卵胞の例であるが、本症例のように複数で観察できるものは確認はより容易である。

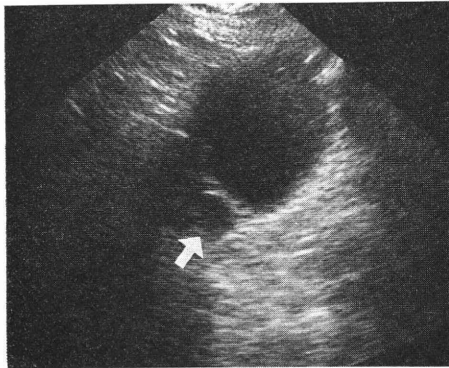


図 1 卵胞 (最大径17mm)

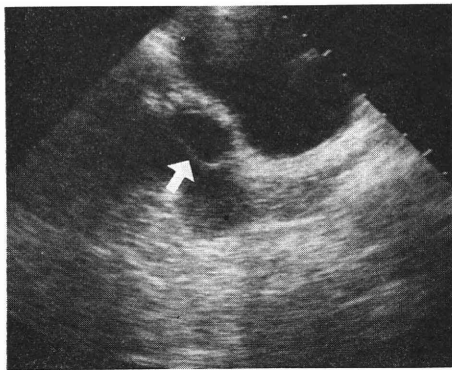


図 2 卵胞 (最大径23mm)

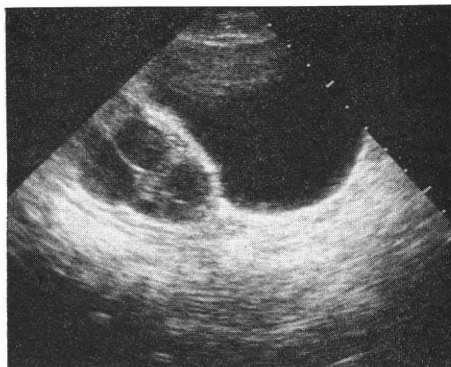


図 3 多卵胞 (hMG-hCG 投与例)

排卵直前の成熟卵胞はほぼ円～長円形の cystic pattern を示し、周囲とは薄い境界面をもった構造として観察される。卵巣の辺縁部にみられ、あたかも膀胱内に突出したように見られることも少なくない。図4のように排卵直前の卵胞には、内部に突質部分を認めるものが41周期中2周期に認められた。この部分は卵丘(cumulus)との関連が強く示唆されるが、組織学的検討は行なっていない。

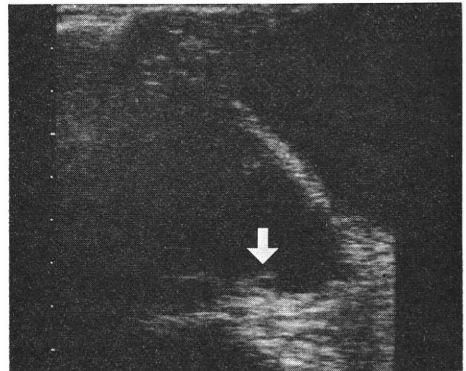


図 4 排卵直前の卵胞 (矢印: 卵丘?)

自然排卵群についての卵胞径の変化、および発見数を表1、図5に示す。卵胞径が最大となった日を超音波断層法上排卵日とした。観察可能な卵胞はもつとも早いもので排卵前5日から認められたが、発見数が増加するのは排卵前3日からであり、症例の73.9%に認められ、ほぼ卵胞径が10mmを越えるものであつた。排卵前1日には全例に認められた。卵胞の最大径は排卵前3日より1日あたり平均1.9~2.7mm 増加しており、その最大径は自然排卵群で18.6mm±4.5mm であつた(表2)。Clomid 症例群では最大径は27.5±4.9mm, hMG-hCG 症例群では最大径25.8±3.5mm であり、自然排卵群に比

表 1 卵胞の確認ならびに発育 (23周期)

日	卵 胞 数	平均卵胞最大径 M±SD (mm)
-6	0	
-5	1	6
-4	6	11.0±3.3
-3	17	11.4±3.1
-2	21	13.3±3.8
-1	23	16.0±3.9
0	23	18.6±4.5
+1	13	15.1±3.0
+2	10	13.0±2.1

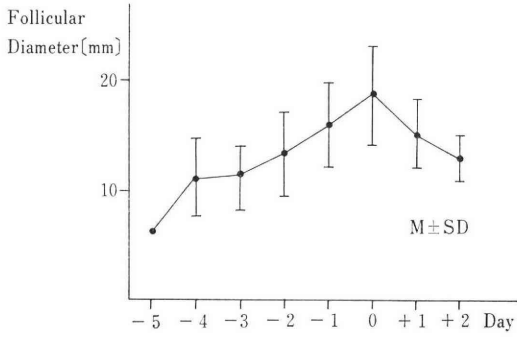


図 5 卵胞径の変化 (自然排卵群)

表 2 排卵前の最大卵胞径と卵胞数

	周期数	平均最大卵胞径 M±SD (mm)	平均卵胞数 (1周期あたり)
自然排卵群	23	18.6±4.5	1
Clomid 排卵誘発群	12	27.5±4.9	1.7
hMG-hCG 排卵誘発群	6	25.8±3.5	2.3

べ Clomid 症例群および hMG-hCG 症例群の最大卵胞径は有意に大であった。なお卵胞が複数見られる場合は最大卵胞のみを計測した。

確認できた卵胞の数は自然排卵周期群ではすべて 1 周期あたり 1 個であったが、Clomid 症例群では平均 1.7 個、hMG-hCG 症例群では平均 2.3 個であり、卵胞数についても排卵誘発群が自然排卵周期群に比べ有意に多かった。なお Clomid 症例群と hMG-hCG 症例群とでは卵胞最大径、卵胞数に有意差は認められなかった。

血中 LH, FSH, E₂ を測定した自然排卵周期群の 7 例の平均値を表 3 に示した。血中 LH 値と卵胞径をみると LH peak 日に一致して卵胞径は最大となった。血中 FSH 値も同様であった。血中 E₂ 値と卵胞径との関係を排卵前 4 日から排卵前 1 日まで連続してみると図 6 のようによく相関しており、その相関係数は $r=0.957$ であった。

排卵後の卵胞は一般に形状が不明瞭化するが次の 3 群に分けられる。自然排卵周期群の 23 例で卵胞の消失したもの 9 例、消失は認めないが不規則に大きさの減少を認

表 3 卵胞径ならびに血中 E₂, LH, FSH 値の変動

	日	-4	-3	-2	-1	0
卵胞径 (mm)		9.3	11.7	13.4	18.0	20.0
血中 E ₂ (pg/ml)		107	136	163	192	128
血中 LH (ng/ml)		3.37	3.27	3.94	8.65	21.1
血中 FSH (ng/ml)		2.88	2.55	2.04	2.63	4.13

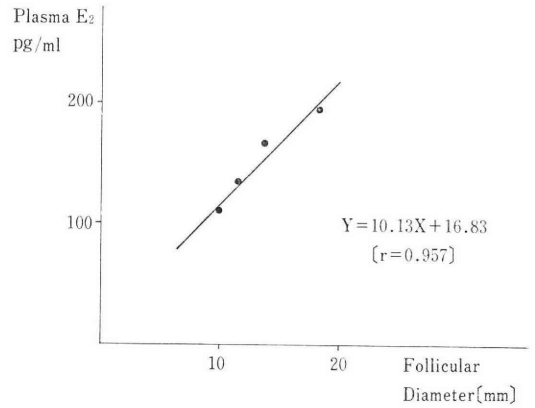


図 6 卵胞径と血中 E₂ 値の相関

めたもの 13 例、内部構造の増加しているもの 1 例であった。

IV. 考 察

超音波断層法による卵胞そのものの形態的な特徴として確定的なものは少なく、Hackelöer¹⁰⁾は Small cystic structure として表現し、Renaud⁴⁾は円形の sonolucent な卵巣よりの突出として認識されると述べている。本研究でも同様に円、長円形の cystic な構造の所見が得られ、腫瘍性病変などの区別には経日的な変化を追跡することが必要である。また手技上の問題として O' Herlihy³⁾は子宮を指標として縦断面での卵胞の観察をすすめている。たしかに横断像よりも確実に判定される場合もあり、われわれは横断、縦断の両方を駆使して観察すべきであると考えている。被検者に肥満、ゆ着、手術痕などがあれば卵胞の観察は困難なことが多いが static scan を使用したり、あるいは sector scan の採用で観察しやすいことが多い。しかし一般には汎用される real time scan でも十分に使用できるようである^{3,4)}。

自然排卵周期であれば、卵胞は排卵前ほぼ 5 日より発見される可能性があり、さらに排卵前 3 日より発見率が上昇するが、この時点で 10mm 以上の卵胞であることが多い。報告されたものでも 10mm 以上で発見されるとするものが多い^{3,4,10)}。卵胞はそれ以後長円形状に経日的に発育増大する。Renaud⁴⁾らは 1 日約 3mm の発育があると述べているが、本研究でも 1 日 1.9~2.7mm の発育が認められている。ただし卵胞の発育は排卵まで必ずしも一律でなく、排卵直前の発育速度がそれ以前の発育に比べて急速な傾向のものが多い。Garcia¹¹⁾らは卵胞発育には各自の個体差があるとも述べており、本研究でも最大卵胞径が 12~34mm と範囲の大きいことからみ

ると、その差には排卵直前の急速な卵胞発育と個体差との両方の影響が考えられる。このことから排卵直前の卵胞の観察にはむしろ経時的な間隔の短い観察が必要であり、経日的な観察では排卵の時期を失ってしまう恐れがある。

成熟卵胞については、超音波断層法上の所見で成熟度のもつとも重要な指標は卵胞径であるが、その他に成熟卵胞の特徴として、内部構造の変化とくに卵丘の存在を指摘するものがある。すなわち Hackelöer ら¹⁰⁾は卵丘とされる solid part の卵胞内での出現を排卵直前の成熟卵胞の特徴としている。しかし我々の研究では卵丘様構造を証明できる卵胞は必ずしも多数は観察できず、今後の画像解析の向上に期待せざるをえない。また Crespigny ら¹²⁾は卵巣表層への卵胞の移動がその特徴であると主張し証明しようと超音波断層法上試みているが成功していない。我々の観察では膀胱内に突出するように存在する卵胞像を排卵直前に散見することから、彼らの述べるように卵胞の移動する現象を卵胞の発育の指標にできるのではないかと考えている。

以上のことを考慮すると成熟卵胞の特徴は①cystic とくに内部構造は認められない、②卵胞形状は円形ないし長円形、③最大卵胞径は18mm 以上、④卵胞の壁構造は比較的薄く整、⑤卵巣に表在性に存在する、ことなどが指摘される。卵丘に関しては今後の課題と考えている。

排卵予知については最大卵胞径のばらつきからみて現在の超音波断層法ではやはり困難であると言わざるを得ず、排卵をおこしうる卵胞の発見に限定した方がよいと思われる。しかし Crespigny ら¹²⁾は実際に4例の排卵を超音波断層法下に観察しており、排卵後の卵胞の大きさの減少、卵胞液の流出を認め、さらに排卵後1時間以内の血体の出現を確認している。棕棒¹³⁾も同様に排卵を観察しており、排卵は2~3分以内に終了すること、排卵後1日目にはすでに corpus luteum cyst を認めうることを報告している。我々の観察でも超音波断層法上排卵により卵胞の消失したと考えるものは自然排卵周期群23例中の9例に認められたが、他は縮小、ないしは内部構造の増加したものであり corpus luteum や corpus luteum cyst の存在をうかがわせる。なお1例のみは卵胞径の縮小は認められず、内部構造の増加している例があり、Liukkonen ら¹⁴⁾が報告している超音波断層法下の無排卵黄体化を推定することができそうである。

次に自然卵周期群での血中 E₂値と卵胞径の相関についてみると、明らかな相関が認められるとする Hackelöer らの報告¹⁰⁾があるが、相関は低いとする報告もみられる^{2,7)}。本研究では相関係数 $r=0.957$ と高い相関を

示し、単一卵胞であれば卵胞径は血中 E₂ 値をある程度反映するものと考えられる。しかし排卵誘発した場合の卵胞径と血中 E₂ 値の相関は乏しいことが知られており、血中 E₂ の産生に関与する大小多数の卵胞の存在が大きい原因であろうと考えられる。本研究での症例数が少なく卵胞径より血中 E₂ 値を予測するのは困難かと思われるが、自然排卵例に限定してみれば卵胞径の増加は血中 E₂ 値の増加をかなり正確に示すものと考えてよいと思われる。血中 LH 値、FSH 値の peak はいづれも卵胞径の最大時と一致していたが、これは LH peak 後16.5時間で排卵がおこる¹⁵⁾ことを考えればこの一致は当然と言える。

排卵誘発群 (Clomid 症例群, hMG-hCG 症例群) では自然排卵群に比べ卵胞径は有意に高い値を示しているが、これは hCG 使用の時期を卵胞径で20mm を越えた時点としているために生じた差であると考えている。確認される卵胞数を見ると排卵誘発群に有意に多く認められており、hMG 症例群にもつとも多く、Clomid 症例群が次いで多い。このことを応用し hMG を積極的に使用し、体外受精時の採卵数の増加を期待する試みが行なわれている^{16,17)}。

本研究の一部は、文部省科学研究費 (課題番号59570715) による。

参考文献

- 1) Hackelöer, B. J., Robinson, H. P.: Ultrashalldarsellung des wachsenden Follikels und Corpus Luteum im normalen physiologischen Zyklus. Geburtsh und Frauenheilk. 38: 163, 1978.
- 2) Ylöstalo, P., Rönberg, L., Jouppila, P.: Measurement of the ovarian follicle by ultrasound in ovulation induction. Fertil. Steril. 31: 651, 1979.
- 3) O'Herlihy, C., Crespigny, L. C.: Monitoring ovarian follicular development with real-time ultrasound. Brit. J. Obstet. Gynec. 87: 613, 1980.
- 4) Renaud, R. L., Macler, J., Dervain, I., et al.: Echographic study of follicular maturation and ovulation during the normal menstrual cycle. Fertil. Steril. 33: 272, 1980.
- 5) O'Herlihy, C., Crespigny, L. C., Lopata, A., Johnston, I., Hoult, I., Robinson, H.: Preovulatory follicular size, A comparison of ultrasound and laparoscopic measurements. Fertil. Steril. 34: 24, 1980.
- 6) Kerin, J. F., Cox, L. W., Baird, D. T., et al.: Morphological and functional relations of graafian follicle growth to ovulation in

- women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements. *Brit. J. Obstet. Gynec.* 88 : 81, 1981.
- 7) Bryce, R. L., Shuter, B., Sinosich, M. J., Stiel, J. N., Picker, R. H., Saunders, D. M. : The value of ultrasound, gonadotropin, and estradiol measurements for precise ovulation prediction. *Fertil. Steril.* 37 : 42, 1982.
- 8) American Fertility Society. : Minimal standards for programs of in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 41 : 13, 1984.
- 9) 千石一雄 : ヒト卵胞発育, 排卵現象に関する臨床的研究, 日不妊誌, 29 : 35, 1984.
- 10) Hackelöer, B. J., Fleming, R., Robinson, H. P., Adam, A. H., Coutts, J. R. T. : Correlation of ultrasonic and endocrinologic assessment of human follicular development. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 135 : 122, 1979.
- 11) Garcia, J. E., Jones, G. S., Wrights, G. L. : Prediction of the time of ovulation. *Fertil. Steril.* 36 : 308, 1981.
- 12) Crespigny, L. C., O'Herlihy, C., Robinson, H. P. : Ultrasonic observation of the mechanism of human ovulation. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 139 : 636, 1981.
- 13) 椋棒正昌, 岡井 崇, 上妻志郎, 馬場一憲, 水野正彦, 坂元正一 : 自然排卵過程の超音波断層法による観察. 日超医論文集 43 : 745, 1983.
- 14) Liukkonen, S., Koskimies, A. I., Tenhunen, A., Ylöstalo, P. : Diagnosis of luteinized unruptured follicle (LUF) syndrome by ultrasound *Fertil. Steril.* 41 : 26, 1984.
- 15) WHO. : Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol-17 β , luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and progesterone. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 138 : 383, 1980.
- 16) Jones, H. W., Jones, G. S., Andrews, M. C., Acosta, A., et al. : The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil. Steril.* 38 : 14, 1982.
- 17) Laufer, N., Dlugi, A. M., DeCherney, A.

H., et al. : The use of high dose human menopausal gonadotropin in an in vitro fertilization program. *Fertil. Steril.* 40 : 734, 1983.

The observation of ovarian follicular development by ultrasound

**Naomi Arima, Ryoji Shinmura
and Yukihiro Nagata**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Faculty of Medicine, Kagoshima
University, Kagoshima, Japan

Preovulatory follicular development was examined by ultrasound for the prediction of ovulation.

Monitoring of ovarian follicles was carried out in 23 spontaneous cycles, 12 cycles treated with clomiphen citrate and 6 cycles treated with hMG-hCG. Daily samples of peripheral venous blood were obtained for estimation of plasma LH, FSH and estradiol in 7 spontaneous cycles. The following results were obtained ;

1. Ovarian follicles could be identified from 5 days before ovulation and detected 3 days before ovulation in 74 % of cycles. Follicular growth rate was 1.9 to 2.7 mm/day.

2. Follicles in the immediate preovulatory period were observed as small cystic round structure with thin smooth outline and located near the surface of ovary. The solid part suggested cumulus oophorus in follicle were found in 2 cycles.

3. The mean maximum follicular diameter were 18.6 mm in spontaneous cycles, 27.5 mm in clomiphen treated cycles and 25.8 mm in hMG-hCG treated cycles.

4. The linear correlation between plasma estradiol and the follicular diameter with $r=0.957$ was obtained for 4 days before ovulation in spontaneous cycles.

(受付 : 昭和60年4月12日)

ヒト黄体の単層細胞培養を用いた LH-RH Agonist の卵巣 Steroidogenesis に関する研究

The Effect of LH-RH Agonist on the Ovarian Steroidogenesis by Monolayer Culture of Human Luteal Cells

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (指導: 飯塚理八教授)

簡 邦 彦

Bang-yann Jean

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

Luteinizing hormone-releasing hormone Agonist (LH-RH A) のヒト卵巣直接作用を解明する為、ヒト月経黄体の単層細胞培養を用いて、*in vitro* における LH-RH A の黄体細胞への直接作用の有無について主に培養液中のステロイド濃度より検討した。(1) 細胞増殖は培養10日目において非添加群 (Control 群) 約 2.6×10^5 cells/dish, human chorionic gonadotropin (HCG) 添加群では約 2.1×10^5 cells/dish, HCG+LH-RH A 添加群では約 2.3×10^5 cells/dish で、三群の間に有意差はなかつた。(2) Progesterone (P) 産生よりみた LH-RH A の卵巣直接作用は LH-RH A の単独添加では軽度抑制傾向がみられるが有意差はなかつた。HCG 添加による P 産生刺激効果は LH-RH A の添加により有意に抑制され、その最大濃度は LH-RH A 1000ng/ml であつた。(3) Estradiol (E₂) 産生は非添加群と HCG 添加群, HCG+LH-RH A 添加群の間に有意差はなかつた。(4) Adenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP) 産生よりみた LH-RH A の卵巣直接作用は細胞内と細胞外ともに、HCG による cAMP の産生刺激効果が LH-RH A を同時添加することにより有意に抑制された。

以上より LH-RH A は単独では黄体細胞に軽度の抑制傾向をみとめるにすぎないが HCG による P 産生及び cAMP 産生に対して有意に抑制した。このことから LH-RH A は卵巣黄体細胞に直接抑制作用を有することが推測された。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 43-50, 1986)

緒 言

LH-RH またはその誘導体は本来、LH, FSH の放出作用を有し、LH-RH 作用薬として無月経の診断と治療、排卵誘発、性機能不全症などに使用されつつある^{6,24}。近年、大量の高活性の LH-RH Agonist を投与すると逆に LH, FSH 放出が低下する、LH-RH 拮抗薬様の作用が注目され、その卵胞発育遅延²⁰、排卵抑制⁷、黄体期短縮^{10,11}、着床抑制²²などの作用を利用して、子宮内膜症⁸、子宮筋腫⁹、避妊^{5,7,10}、人工中絶²⁶の臨床実験に供され始めている、詳細な作用機序は過剰刺激による下垂体あるいは生殖腺の desensitization と

下垂体の LH-RH receptor あるいは生殖腺の gonadotropin receptor の減少である down regulation が考えられている^{9,25,27,28}。また近年、LH-RH あるいはその誘導体は性腺系に直接作用を有するとの報告^{5,12,21,23,29,30} もしばしばみられている。卵巣に対する LH-RH A の直接作用に関する報告はラット、その他の動物の顆粒膜細胞及び黄体細胞においてみられるものの^{19,20,23}、ヒト顆粒膜細胞または黄体細胞における報告は極めて少なく、その報告も一定していない^{12,13,14}。今回、我々は既に十分に *in vivo* のモデル化として使用し得ることを確認した³ ヒト月経黄体の単層細胞培養系を用いて、LH-RH A (des-Gly¹⁰ [D-Leu⁶]-LH-RH-ethylamide)

の黄体細胞への直接作用を検討した。

実験材料ならびに方法

1. 対象

22歳より39歳までの婦人で正常月経周期を有する子宮筋腫、卵巣嚢腫等の手術患者34例を対象として、手術時得られた分泌期中期黄体を用いた。これらの黄体組織は摘出後、直ちに抗生物質を含む TCM 199 (阪大微生物病研究会) 中で無菌的に4°C にて保存し、3時間以内に実験に供した。

月経周期は基礎体温表、子宮内膜日付診、血清P値等により決定した。

尚黄体組織には個人差がある為、以下の実験は各項目毎に1個の黄体により行なつたが cAMP の実験は2個の黄体から行なつた。

2. 培養方法

黄体細胞の培養方法は従来の教室の方法に準じた⁹⁾、即ち培養器具は乾熱滅菌処理し、必要な無菌操作はすべて Clean Bench 内にて行なつた。プラスチックシャーレ上で眼科小鉢にて黄体のみを en block に摘出、Phosphate Buffered Saline without Ca²⁺, Mg²⁺ (PBS) の中で約1~2mm³ の小片に細切後、PBS で数回洗浄し、次に0.25% Trypsin 溶液にて15分間 incubation す、さらに0.2% Collagenase (Type I, Sigma), 0.2% Hyaluronidase (Type 1-S, Sigma) を含む PBS 溶液にて30分間、37°C で振盪消化し、これを105μm のナイロンメッシュにて濾過し、濾過細胞浮遊液を120g、5分間遠沈、上清除去後、沈澱細胞に TCM 199 を加え、均等拡散させ、Thoma の血球計算盤で細胞数を算定し、再度120g、5分間遠沈後、20% fetal calf serum (FCS) (GIBCO) 添加 TCM 199にて生存細胞1.0×10⁵個/ml の割合で Falcon の tissue culture dish (35×10mm, #3001) に植え込んだ。尚、細胞生存率は0.4% trypan blue で生体染色を行なつたところ実験期間を通じて、常に80%以上であつた。

培養液として20% FCS 添加 TCM 199にはpenicillin 100U/ml, streptomycin 100μg/ml (GIBCO) の割合で加えたものを使用した。pH は培養液中の phenol red の色調を指標とし、適宜 NaHCO₃ で調整し、pH を7.0-7.2 に保つた。培養液の量は1dish あたり1.5ml とし、特に示さない限り、2日間毎に全量を交換して10日目まで培養した。培養条件は37°C, 95% air, 5% CO₂, 湿度100%とした。

添加ホルモンとして用いた LH-RH Agonist (LH-RH A) (TAP 144)(des-Gly¹⁰-[D-Leu⁶]-LH-RH-ethylamide) (lot No 129, 830×10⁻⁹M/mg) は武田薬品工業

株式会社より、HCG (lot No 36H-2-H, 13676 IU/mg) は帝国臓器より提供された。添加ホルモンは培養2日目より培養液中に加えた。尚、本実験にもちいた LH-RH A は藤野らによつて合成された LH-RH の Agonist で9つのアミノ酸からなるオリゴペプチドであり、native LH-RH の約3~15倍の LH 及び FSH 放出作用を有す⁹⁾。

3. 培養液中のホルモン測定

交換した培養液は直ちに-20°C にて凍結保存し、培養液中に放出された P, Estradiol (E₂) の濃度は RIA にて測定した^{1,2)}、Free と Bound の分離については P は dextran coated charcoal 法により、E₂は硫酸塩析法を用いて行なつた。

4. 細胞内及び細胞外 (培養液中) の Adenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP) 測定

(A). 細胞外 cAMP の抽出

0.9ml 培養液の中に0.1ml の10mM theophylline (Sigma) を添加後、直ちに10分間 water boiling し、次に60°C の温浴中で N₂ gas spray 下に乾固後、-20°C にて測定まで凍結保存した。

(B). 細胞内 cAMP の抽出

シャーレ内の培養液を除去後、直ちに rubber policeman で細胞を dish より剥離、これに冷却した1.0ml の6% (W/V) Trichloroacetic acid (TCA) を添加、すみやかに homogenization し、2000g, 15分間遠心分離し、上清を約10倍量の水飽和エチルエーテルで3回繰り返し抽出して TCA を除去した後、水層を60°C の温浴中で N₂ gas spray 下に乾固後、-20°C にて測定まで凍結保存した。

(C) cAMP の測定方法

測定時1ml 蒸留水を加え、続いてサクシール化した後、YAMASA cyclic AMP assay kit を用いて測定した。Free と Bound の分離は dextran coated charcoal を用いて行なつた。

5. 統計処理は Student の T test により行ない、P < 0.05 を有意差ありとした。

実験成績

1. 培養黄体細胞の増殖率

Culture dish 当たり、1.5×10⁵個の割合で植え込んだ黄体細胞の初代培養における非添加群 (Control 群)、HCG 添加群、HCG+LH-RH A 添加群の細胞数は各々培養日数の経過とともに増加し、培養10日目には非添加群2.6×10⁵ cells/dish, HCG 添加群2.1×10⁵ cells/dish, HCG+LH-RH A 添加群2.3×10⁵ cells/dish であつた。非添加群と比べ、HCG 添加群、HCG+LH-RH A 添

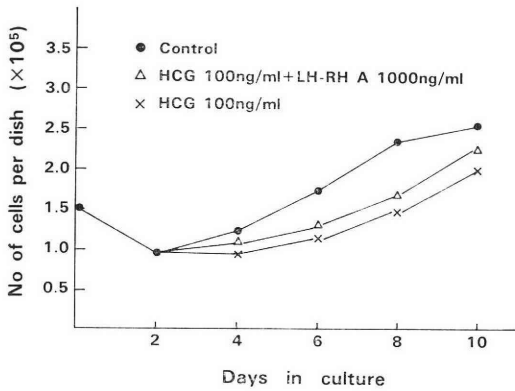


図 1 Growth curve of luteal cells

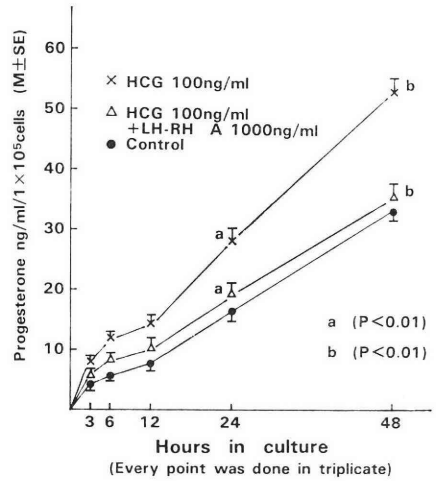


図 3 Time course of progesterone production in luteal cells

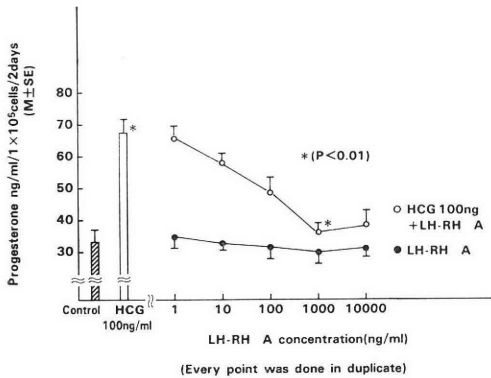


図 2 Dose-response between LH-RH A and progesterone production by luteal cells

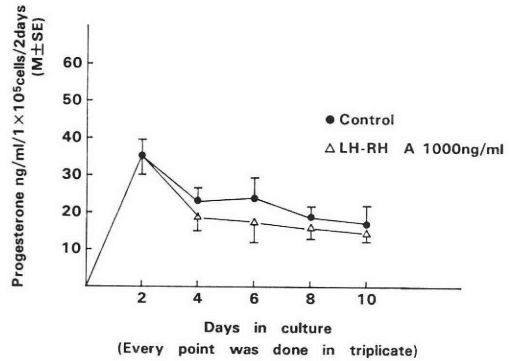


図 4 Effect of LH-RH A on progesterone production in luteal cells

加群はともに増殖抑制傾向を認めたが三群の間に有意の差はなかつた (図 1)。

2. 培養黄体細胞の形態学的観察

細胞浮遊液を位相差顕微鏡で見ると黄体細胞は球状で、多数の細胞質内顆粒を有し、その直径は15~30μであつた。培養4時間頃より culture dish 底面に付着始め、一部上皮細胞様増殖も見受けられたが大部分は線維芽細胞様の発育形態を示した。形態的に非添加群、HCG 添加群、HCG+LH-RH A 添加群による特別な変化は認められなかつた。細胞は培養6日目より colony を形成し始めるがこれらの細胞は細長くなり、やや無秩序に発育していく傾向を示す。Sudan Black 染色では HCG 添加、LH-RH A 添加の有無にかかわらず細胞質中に多数の脂肪顆粒が認められた。

3. LH-RH A 添加による steroidogenesis の変化

- 1) LH-RH A に対する P 産生の dose-response (図 2)

培養2日目の黄体細胞に種々濃度の LH-RH A と

100ng/ml HCG を添加し、48時間培養における P 産生能 (培養液中の P 濃度) をみた。LH-RH A 単独添加群ではその量を増加すると軽度の抑制傾向がみられた (1000ng/ml ではほぼ最大) が Control の非添加群との間には差を認めなかつた。HCG 添加群は非添加群に比して約 2 倍の P 産生刺激効果を示し、この刺激作用は種々濃度の LH-RH A を同時に添加すると dose-dependent に抑制傾向がみられ、最大抑制効果は LH-RH A 1000ng であつた (P < 0.01)。

2) P 産生の経時的变化 (図 3)

培養開始2日目の培養細胞を使用し、非添加群、HCG 添加群、HCG+LH-RH A 添加群における P 産生の変化を経時的にみた。培養48時間後では Control の非添加群の 32ng/ml/1 x 10^5 cells に比して HCG 添加群は 53ng/ml と約 1.5 倍強の P 産生の増加が認められた。しかし HCG+LH-RH A 添加群においては P 産生は培

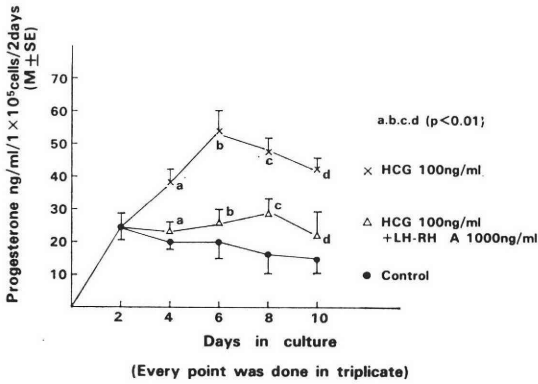


図5 Effect of LH-RH A on progesterone production in luteal cells

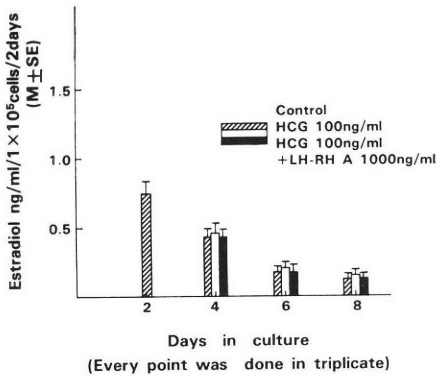


図6 Effect of LH-RH A on estradiol production in luteal cells

養24時間及び48時間で有意差をもって HCG 添加群より抑制された。

3) P 産生の経日的変化 (図4) (図5)

培養4日目以降の LH-RH A 単独添加群は10日目まですべての time point で Control 群のP産生を下廻るが有意差は認められなかった(図4)。HCG 添加群は10日目まですべての time point で非添加群に比してP産生が約2倍の値を示し、これらの刺激効果は LH-RH A の添加により有意に抑制された (図5)。HCG+LH-RH A 添加群の培養6日目におけるP産生値は25±5ng/ml/1×10⁵ cells/2 days であり、HCG 添加群の54±6ng に比して約1/2強の減少がみられた。

4) E₂ 産生の経日的変化 (図6)

非添加群, HCG 添加群, HCG+LH-RH A 添加群の E₂ 産生はほぼ同様の推移をとり、培養2日目以降8日目まで順次減少していき、三群の間に有意の差は存在しなかった。

4. 細胞外 (培養液中) 及び細胞内 cAMP の変化

表1 Effect of HCG and LH-RH A on extracellular and intracellular cAMP levels

a,b(p<0.01)

Treatment	cAMP (M±SE) fmol/ml/1×10 ⁵ cells/48hrs	
	Extracellular	Intracellular
Contral	273±16	2310±151
HCG	486±27 _a	3788±114 _b
HCG plus LH-RH A	369±21 _a	2256±176 _b

Data are presented from 2 separate experiments in which there were triplicate cultures.

(表1)

培養2日目の黄体細胞に HCG 100 ng 及び HCG 100ng+LH-RH A 1000ng をそれぞれ添加し、48時間培養における培養液中と細胞内 cAMP の濃度を測定した。

1) 細胞外 cAMP の濃度

非添加群の273fmol/ml/1×10⁵ cells に比して HCG 添加群は486fmol と約1.8倍の増加が認められた。その刺激効果は LH-RH A の添加により有意差をもって369fmol まで抑制された。

2) 細胞内 cAMP の濃度

非添加群, HCG 添加群, HCG+LH-RH A 添加群の細胞内 cAMP 濃度は細胞外 cAMP に比してそれぞれ約6~8倍ほど高値を示す。非添加群の2310fmol/ml/1×10⁵cells に比して HCG 添加群は3788 fmol と約1.5倍強の有意な cAMP 産生の増加が認められた。HCG +LH-RH A 添加群においては cAMP 産生におよぼす HCG の刺激効果を LH-RH A が有意差をもって2256 fmol まで抑制した。

以上の成績から、細胞外、細胞内ともに非添加群の cAMP は HCG の添加により約1.5倍強の増加が認められるがその刺激効果は LH-RH A の添加により抑制された。

考 案

1971年 Shally らは LH-RH の構造を明らかにして以来、数百種類の superactive LH-RH Analogs が合成された。LH-RH またはその Agonist は LH, FSH の放出作用あるいは排卵誘発作用を示す⁶⁾一方、大量の反復長期間投与により卵胞発育遅延⁹⁾、排卵抑制⁷⁾、黄体期短縮^{10,11)}などをきたす、すなわち抗 LH-RH 作用を示すことが判明したがその機序はまだ不明の点が多い。

下垂体の desensitization あるいは LH-RH receptor の減少である down regulation 等の中樞作用により LH, FSH の gonadotropin 分泌低下が生じ、二次的に卵巣よりの steroidogenesis 低下を引き起すとの報告^{4,25,28)}がある。また、LH, FSH の大量放出による卵巣の desensitization あるいは gonadotropin receptor, prolactin receptor の down regulation を引き起すという報告^{25,27)}もある。しかし下垂体の LH-RH receptor は大量の反復投与によつては減少しない³²⁾、あるいは receptor の数の変化を下垂体の desensitization は必ずしも比例していない報告もみられる³¹⁾。下垂体摘出後のラットの *in vivo* と *in vitro* の実験で LH-RH A は子宮、卵巣の重量を減少、P, E₂ の低下をきたすことなどから^{21,23,30)} LH-RH A の作用は中樞を介する経路のみならず、卵巣へ直接作用している可能性が示唆される。この LH-RH A の卵巣直接作用を証明するには *in vitro* における培養実験が非常に有効であると考えられる。

In vitro において、ラット、ブタ等の顆粒膜細胞、黄体細胞を用いて LH-RH A の作用をみた実験は short term incubation 法、長期培養法、receptor 測定法などにより多くの報告がみられる。しかしヒトの卵巣細胞を用いた実験報告は極めて少ない、*In vitro* における実験成績の検討に際は実験の対象、培養条件、培養方法による相違を考慮すべきである、黄体単層培養法は short term incubation 法と違い、系は均一単純で添加ホルモンに対する感度に優れ、長期培養された黄体細胞は十分に *in vivo* の model 化となり得ることが証明されている³⁾。さらに培養液中での gonadotropin³⁾、LH-RH A 等の濃度は全く影響を無視し得る値である。以上のことからこの単層細胞培養系は培養液中に添加されたホルモンの細胞への直接的反応を十分定量的に反映し得ると考えられる。

培養細胞の形態学と LH-RH A の関連について位相差顕微鏡下では培養ラット顆粒膜細胞に加えた LH-RH A が FSH による細胞の cellular aggregation などの morphological maturation を抑制する作用を示す報告がある¹⁸⁾。本実験系における位相差顕微鏡でみた黄体細胞にはホルモン添加による形態的变化が認められなかった。光顕レベルでみた Sudan Black 脂肪染色標本の培養細胞は細胞質に活発な steroid 合成活動を思わせる脂肪顆粒を多数認めたが添加ホルモン等による特別な差異は観察されず、培養期間中はほぼ様な発育を示し、細胞変性、異質とみられる所見は特に見出し得なかつた。

黄体細胞機能をみるには P の産生能を把握することが極めて重要である。LH-RH A 単独添加の *in vitro* に

おける P 産生への影響はラット等の顆粒膜細胞及び黄体細胞に対して P 産生を刺激させるという報告が多い³³⁾、本実験では LH-RH A 単独添加群は非添加群に対して P 産生はやや抑制傾向があるが有意差はなく、はつきりした LH-RH A の卵巣ステロイド産生能に対する直接作用がみとめられなかつた(図 2)(図 4)。ラット、ブタ等の顆粒膜細胞の培養系において FSH による P 産生の刺激効果は LH-RH A の投与で抑制されるとする報告が多い。その作用機序は FSH, LH, prolactin などの receptor の減少^{23,29)}、3 β Hydroxysteroid dehydrogenase activity の抑制と 20 α Hydroxysteroid dehydrogenase activity の促進^{16,17)}、cAMP の減少¹⁹⁾、LH-RH receptor の存在^{34,35)}などと関係があるとされている。ヒト顆粒膜細胞に関する報告は極めて少なく、FSH による P 産生の刺激効果は LH-RH A の添加で低下するとする報告¹²⁾があるが逆に否定的報告¹³⁾もみられる。一方黄体細胞に関してはラット黄体細胞培養で LH-RH A が HCG による P 産生の刺激効果を抑制するという報告が多く、その作用機序は LH/HCG receptor の減少^{23,29)}、cAMP の減少²⁰⁾、黄体細胞膜の high affinity LH-RH receptor の存在^{29,36)}などと関連があるとされている。しかしヒト黄体細胞に対する LH-RH A の作用に関する報告にはヒト黄体組織の short term incubation 及び黄体細胞長期培養系の実験において LH-RH A が HCG による P 産生の刺激効果を抑制しないという報告¹⁴⁾、またヒト黄体には LH-RH に対する receptor は存在せず¹⁵⁾、LH-RH A の直接作用を否定する報告のみである。ヒト黄体細胞を用いた本実験においては LH-RH A 単独添加群は非添加群に比し、P 産生に軽度の抑制傾向を示すのみであつたが HCG 添加による P 産生刺激効果に対して、LH-RH A 添加により、経時的、経目的ともに有意に抑制効果を示し、LH-RH A は卵巣ステロイド産生能に対して、明らかな卵巣直接作用を示した(図 3)(図 5)。以上 LH-RH A の卵巣直接作用が報告者によつて異なるのは無論、人と動物の違い、顆粒膜細胞、黄体細胞というように対象細胞が異なるということの他に、主に培養条件の違いに起因するものと推定される。ヒト黄体細胞の長期培養において HCG の刺激効果に対する LH-RH A の抑制傾向がみられないとする Casper et al.¹⁴⁾の報告では HCG の P 産生刺激効果が漸減しており、この点でもそれが比較的良好に保たれるとするわれわれの結果と異なつている(図 5)、しかし彼等の実験では分泌期初期黄体を使用し、培養液は McCoy's 5a、添加 HCG の量も 50ng/ml と少なく、また LH-RH A 使用量も 10⁻⁷M であり、薬理学ないし生物学的活性と異なる。また LH-RH A を planting 時から加え

ているというような種々の培養条件の相違がみられる。また Casper 等のデータでは全ての測定値について換算細胞数に関する記載がなく、そのデータに信頼性はうすい。

E₂ 産生に及ぼす LH-RH A の作用に関してはラット等の顆粒膜細胞における LH-RH A は FSH による E₂ の刺激作用を抑制するとの報告が多い。その抑制作用機序は LH-RH A は FSH による androgen から estrogen に変換の aromatization 促進作用を抑制するためであると推測されている^{23,30}。本実験においては培養2日目以後10日目までわずかに E₂ 産生低下をみるのみで三群の間に有意の変動が認められなかつた(図6)。恐らくヒト黄体細胞における E₂ 産生は P 産生に比べ、極めて少ないことが今回の結果の一役を担っている可能性もある。

Cyclic AMP の産生に関してはラット等の顆粒膜細胞、黄体細胞において、FSH, HCG による cAMP の産生が LH-RH A の投与で抑制されるという報告がある^{18,19,20}。本実験において、培養48時間後の細胞内と細胞外の cAMP の濃度を検討した結果は培養液中に放出された cAMP は細胞内の cAMP 産生能ともに HCG 添加群に比して HCG+LH-RH A 添加群では抑制された(表1)。その作用機序はまだ明らかではないが顆粒膜細胞と黄体細胞膜に specific high affinity の LH-RH receptor が存在し^{35,36}、LH-RH A はこの receptor に作用し、adenylate cyclase activity を抑制、または phosphodiesterase activity を促進し、cAMP の合成低下あるいは degradation 増加を通じて cAMP の減少を導き、卵巣機能抑制効果を示すと考えられる^{18,19,20}。そのほかにも LH-RH A は FSH, LH receptor を減少し、そのため cAMP の産生を減少すると推測される。

以上 LH-RH A の卵巣直接作用は動物種によつて異なるもののヒト黄体細胞単層培養を用いた *in vitro* 実験においては LH-RH A は HCG の P 産生刺激作用、cAMP accumulation を抑制することにより、卵巣黄体細胞に直接作用を示すことが証明された。この LH-RH A の卵巣直接作用は中枢に対する LH, FSH 分泌抑制作用と並んで LH-RH A の LH-RH 拮抗作用を示すものと考えられる。

稿を終るに際し、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師飯塚理八教授に深甚なる謝意を捧げます。また身近に御指導、御鞭撻をいただきました中村幸雄講師に深謝致します。更に貴重な御助言を載きました亀井清博士、吉村泰典博士に感謝致します。また検体採取に快く御協力下さいました済生会中央病院、国立埼玉病院、川崎市立病院、立川共済病院、荻窪病院の産婦人

科の諸兄姉に深謝致します。

本論文の要旨は第27回日本不妊学会、第9回アジアオセアニア産婦人科学会(ソウル)にて発表した。

文 献

- 1) 牧野拓雄：性ステロイドホルモンの Radio-immunoassay. 日本内分泌誌, 49: 629, 1973.
- 2) 松本 茂, 中村幸雄, 川村尚道, 田辺靖男, 飯塚理八：RIA によるステロイドホルモンの測定法について. ホと臨床, 24: 29, 1976.
- 3) 亀井 清, ヒト月経黄体の単層細胞培養による Steroidogenesis の研究. 日産婦誌, 34: 261, 1982.
- 4) 岡田弘晃：黄体形成ホルモン放出ホルモン誘導体 (Leuprolide) の腔内投与に関する研究. 武田研究所報, 42(1/2): 150, 1983.
- 5) Zatuchi, G. I., Shelton, J. D. and Sciarra, J. J.: LH-RH Peptides as Female and Male Contraceptives. Harper & Row, Publishers. 1981.
- 6) Katzorke, T., Propping, D., Ohe, M. V. D. and Tauber, P. F.: Clinical evaluation of the effects of a new long-acting supra-active luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) analog, D-Ser (TBU)⁶-des-Gly-10-Ethylamide-LH-RH, in women with secondary amenorrhea. Fertil. Steril., 33: 35, 1980.
- 7) Bergquist, C., Nillius, S. J. and Wide, L.: Long-term intranasal luteinizing hormone-releasing hormone agonist treatment for contraception in women. Fertil. Steril., 38: 190, 1982.
- 8) Lemay, A. and Quesnel, G.: Potential new treatment of endometriosis: reversible inhibition of pituitary-ovarian function by chronic intranasal administration of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) agonist. Fertil. Steril., 38: 376, 1982.
- 9) Filicori, M., Hall, D. A., Loughlin, J. S., Rivier, V., Vale, W. and Crowley, W. F.: A conservative approach to the management of uterine leiomyoma: Pituitary desensitization by a luteinizing hormone-releasing hormone analogue. Amer. J. Obstet. Gynec. 147: 726, 1983.
- 10) Lemay, A., Faure, N., Labrie, F. and Fazekas, A. T. A.: Gonadotroph and corpus luteum responses to two successive intranasal doses of a luteinizing hormone-releasing hormone agonist at different days after the mid-cycle luteinizing hormone surge. Fertil. Steril. 39: 661, 1983.
- 11) Sheehan, K. L., Casper, R. F. and Yen, S. S. C.: Induction of luteolysis by luteinizing hormone-releasing factor (LRF) agoni-

- st : sensitivity, reproducibility, and reversibility. *Fertil. Steril.*, 37 : 209, 1982.
- 12) Tureck, R. W., Mastroianni, L., Blasco, L. and Strauss, J. F. : Inhibition of human granulosa cell progesterone secretion by a gonadotropin-releasing hormone agonist. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54 : 1078, 1982.
 - 13) Casper, R. F., Erickson, G. F., Rebar, R. W. and Yen, S. S. C. : The effect of luteinizing hormone-releasing factor and its agonist on cultured human granulosa cells. *Fertil. Steril.*, 37 : 406, 1982.
 - 14) Casper, R. F., Erickson, G. F. and Yen, S. S. C. : Studies on the effect of gonadotropin-releasing hormone and its agonist on human luteal steroidogenesis in vitro. *Fertil. Steril.*, 42 : 39, 1984.
 - 15) Clayton, R. N. : Absence of gonadotropin-releasing hormone receptors in human gonadal tissue. *Nature.*, 299 : 56, 1982.
 - 16) Jones, P. S. C. and Hsueh, A. J. W. : Regulation of ovarian 3β -Hydroxysteroid Dehydrogenase activity by gonadotropin-releasing hormone and follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology.*, 110 : 1663, 1982.
 - 17) Jones, P. S. C. and Hsueh, A. J. W. : Direct stimulation of ovarian progesterone-metabolizing enzyme by gonadotropin-releasing hormone in cultured granulosa cells. *J. Biol. Chem.*, 256 : 1248, 1981.
 - 18) Knecht, M., Amsterdam, A. and Catt, K. J. : Inhibition of granulosa cell differentiation by gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology.*, 110 : 865, 1982.
 - 19) Knecht, M. and Catt, K. J. : Gonadotropin-releasing hormone : Regulation of adenosine 3', 5'-monophosphate in ovarian granulosa cells. *Science.*, 214 : 1346, 1981.
 - 20) Massicotte, J., Borgus, J. P., Lachance, R. and Labrie, F. : Inhibition of HCG-induced cyclic AMP accumulation and steroidogenesis in rat luteal cells by an LH-RH agonist. *J. Steroid. Biochem.*, 14 : 239, 1981.
 - 21) Rippel, R. H. and Johnson, E. S. : Inhibition of HCG-induced ovarian and uterine weight augmentation in the immature rat by analogs of Gn RH (39413). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 152 : 432, 1976.
 - 22) Arimura, A., Pedroza, E., Vilchez-Martinez, J. and Schally, A. V. : Prevention of implantation by [D-Trp⁶]-LH-RH in the rat : Comparative study with the effects of large doses of HCG on pregnancy. *Endo. Res. Commun.*, 4(6) : 357, 1977.
 - 23) Jones, P. B. C. and Hsueh, A. J. W. : Direct effects of gonadotropin releasing hormone and its antagonist upon ovarian functions stimulated by FSH, prolactin, and LH. *Biol. Reprod.*, 24 : 747, 1981.
 - 24) Kelnar, C. J. H. and Brook, C. G. D. : Experience with the use of an intranasal LH-RH analogue for the induction of puberty. *Hormone. Res.*, 18 : 168, 1983.
 - 25) Rabin, D. and Mcnell, L. W. : Pituitary and gonadal desensitization after continuous luteinizing hormone-releasing hormone infusion in normal females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51 : 873, 1980.
 - 26) Bex, F. J. and Corbin, A. : Luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) and LH-RH agonist termination of pregnancy in hypophysectomized rats : extrapituitary site of action. *Endocrinology*, 108 : 273, 1981.
 - 27) Kledzik, G. S. Cusan, Lionel., Auclair, C., Kelly, P. A., and Labrie, F. : Inhibition of ovarian luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone receptor levels with an LH-releasing hormone agonist during the estrous cycle in the rat. *Ferti. Steril.*, 30 : 348, 1978.
 - 28) Heber, D., Dason, R., Stoskopt, C., Peteron, M., and Swerdloff, R. S. : Pituitary desensitization and the regulation of pituitary gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptors following chronic administration of a superactive GnRH analog and testosterone. *Life Science.*, 30 : 2301, 1982.
 - 29) Harwood, J. P., Clayton, R. N., Chen, T. T., Knox, G. and Catt, K. J. : Ovarian gonadotropin-releasing hormone receptors. II. Regulation and effects on ovarian development. *Endocrinology.*, 107 : 414, 1980.
 - 30) Hsueh, A. J. W. and Erickson, G. F. : Extrapituitary action of gonadotropin-releasing hormone : direct inhibition of ovarian steroidogenesis. *Science.*, 204 : 854, 1979.
 - 31) Duello, T. M. and Nett, T. M. : Uptake, Localization, and Retention of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone analogs in rat gonadotrophs. *Mole. Cell. Endocrinology.*, 19 : 101, 1980.
 - 32) Sandow, T., Rechenberg, W. V., Jerzabek, G., Engelbart, K., Kuhl, H. and Fraser, H. : Hypothalamic-pituitary-testicular function in rats after supraphysiological doses of a highly active LRH analogue (buserelin). *Acta, Endocrinol.*, 94 : 489, 1980.
 - 33) Clark, M. R. : Stimulation of progesterone and prostaglandin E accumulation by luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) and LHRH analogue in rat granulosa cells. *Endocrinology.*, 110 : 146, 1982.
 - 34) Pieper, D. R., Richards, J. S. and Marsha-

- ll, J. S.: Ovarian gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptors: characterization, distribution, and induction by GnRH. *Endocrinology.*, 108: 1148, 1981.
- 35) Jones, P. B. C., Conn, P. M., Marian. J. and Hsueh. A. J. W.: Binding of gonadotropin releasing hormone agonist to rat ovarian granulosa cells. *Life. Science.*, 27: 2125, 1980.
- 36) Clayton, R. N., Harwood, J. P. and Catt, K. J.: Gonadotropin-releasing hormone analogue binds to luteal cells and inhibits progesterone production. *Nature.*, 282: 90, 1979.

The effect of LH-RH Agonist on the ovarian steroidogenesis by monolayer culture of human luteal cells

Bang-Yann Jean

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

LH-RH and its agonistic analogs were origi-

nally developed for induction of ovulation. However, currently there were found to have paradoxical antifertility effect and were used in contraception.

In order to elucidate the mechanism of the antifertility effect, the direct action of LH-RH agonist on the ovary in vitro was investigated using human luteal cells in monolayer cell culture.

The results obtained were as follows.

1. There was a dose-dependent inhibitory action of a LH-RH A on HCG induced stimulation of progesterone production.
2. There was no significant difference in estradiol production among the control group, the HCG group and the HCG plus LH-RH A group.
3. There was a significant difference in cAMP in both the extracellular and intracellular compartments between the HCG group and the HCG plus LH-RH A group.

In conclusion, it was evident that the LH-RH A can directly inhibit HCG induced stimulation of progesterone production and cAMP accumulation in human luteal cells. These facts suggested that the direct inhibitory effect of LH-RH A on the ovary is one of the course of antifertility of LH-RH and its agonists.

(受付: 昭和60年8月30日・特掲)

多嚢胞性卵巣に於ける超音波画像形態と 内分泌動態との関連性に関する検討

Study on the Relation between Ultrasonographic Forms and
Endocrinic Change of Polycystic Ovary (PCO)

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 (主任北尾学教授)

高橋 健太郎 吉野 和男 渋川 敏彦
Kentaro TAKAHASHI Kazuo YOSHINO Toshihiko SHIBUKAWA
秦 利之 沢田 康治 北尾 学
Toshiyuki HATA Koji SAWADA Manabu KITAO

Department of Obstetrics and Gynecology, Shimane Medical
University, Izumo (Director: Prof. M. Kitao)

多嚢胞性卵巣 (PCO) 症候群の15症例について、PCO の形態を超音波断層図により general cystic pattern (GCP) 5例と peripheral cystic pattern (PCP) 9例および両パターンの混在1例に分類し、それぞれの臨床症状および内分泌動態について比較検討し、以下の結果を得た。

- 1) 臨床症状では、稀発月経、男化徴候の出現は PCP 症例が高頻度であり、逆に肥満症例は GCP 症例に多く認められた。
- 2) 血中 LH, FSH の基礎値においては差は認められなかったが、LH-RH test において GCP 症例は遅延型が多い傾向があり、プレマリンテストにおける LH の反応パターンも GCP と PCP とで相異が認められた。
- 3) 血中 Testosterone, E₁, E₂ の基礎値には差は認められなかったが、E₁/E₂比、尿中17-OHCS 17-KS およびその分画においては GCP 症例が有意に高値であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 51-57, 1986)

緒 言

多嚢胞性卵巣症候群(polycystic ovary syndrome 以下 PCOS) は1935年に Stein and Leventhal¹⁾が無月経の婦人に両側の卵巣が子宮の大きさの1/2以上に腫大し、その表面は平滑、真珠様の色と光沢を有する病態で、その50%は男性型多毛を有し、肥満、不妊症などの臨床症状を呈し、卵巣の楔状切除により排卵性周期が回復する症例を報告したことにはじまる。それ以来、PCOS の病態に関して多くの研究がなされており、特に、近年では Radioimmunoassay (RIA) などのホルモン測定法の進歩により、内分泌学的病態が明らかにされつつある。しかし、PCOS の確定診断はその形態学的特徴からして、内分泌動態からのみでは不十分で卵巣の形態学的な検索

によつてなされるべきであることは言うまでもない。Berger ら²⁾は typical PCO (type I) と atypical PCO (type II) に区別して検討しており、本邦においても、形態学的、組織学的に検討した報告がある^{3,4,5)}が、これらは全て内視鏡および開腹期の病理組織をもとにした検討である。

近年、超音波断層法が発達し、PCOS の短時間かつ無侵襲な診断法が報告されるようになってきた^{6,7,8)}。そして、教室の秦ら⁹⁾は、PCOS の超音波断層図をその卵巣内部所見より、general cystic pattern と peripheral cystic pattern の2つのタイプにわけ報告している。

そこで、今回、われわれは PCOS の超音波画像形態を上記の2つのタイプに分類し臨床症状および内分泌動態との関連性について検討し、若干の知見を得たので報

告する。

研究対象および方法

対象は島根医科大学医学部附属病院産科婦人科不妊外来を受診し、PCOS と診断された患者15名であり、その診断は内視鏡および開腹後の卵巣の組織検索によつて確定したものを用いた。

超音波検査は膀胱充満法を用い、transverse scan あるいは longitudinal scan にて行なつた。使用した超音波診断装置は、Sonovista P MODEL MEU-1572および Sonovista PH である。

臨床像のパラメータとして、月経異常、男化徴候（男性型多毛、痤瘡、陰核肥大）、肥満度を用い、内分泌動態のパラメータとしては下垂体機能検索に LH、FSH、PRL、LH-RH test (LH-RH 200 μ g 静注法)、Premarin test (Premarin 20mg 静注法)、末梢血中ステロイドホルモン (testosterone, estron, estradiol) および尿中ステロイドホルモン (17-OHCS, 17-KS, 11-deoxy-17KS, 11-oxy-17KS) を RIA 法にて測定し、これらを general cystic pattern と peripheral cystic pattern とで比較検討した。

統計的な平均値の有意差検定には Student's t-test を使用した。

研究成績

1. PCOS の超音波断層図

図1は general cystic pattern を示す超音波断層図であり、microcyst が卵巣全体に存在し、卵巣実質がほとんど認められないタイプであり、本研究においては5例(33%)に認められた。図2は peripheral cystic pattern を示す超音波断層図であり、microcyst が卵巣辺縁に存在し、中心部に実質が認められるタイプであり、9例(60%)に認められた。また、右卵巣が general cystic pattern を示し、左卵巣が peripheral cystic pattern を示す症例(図3)が1例(0.7%)に認められた。本症例では Stein-Leventhal Syndrome と診断した症例で、臨床像および内分泌動態はほぼ general cystic pattern に類似していたが、以下に述べるような general cystic pattern と peripheral cystic pattern との比較研究においては除外した。

2. 超音波断層法による卵巣の各計測値

超音波画像上の正常および PCOS 卵巣の最大長径、周囲径、面積の各平均値(±S.D.)は表1に示すようであり、各パラメータともに有意に ($P < 0.001$) PCOS 症例の方が正常卵巣に比し大きかつた。

3. PCOS の超音波画像上の各計測値

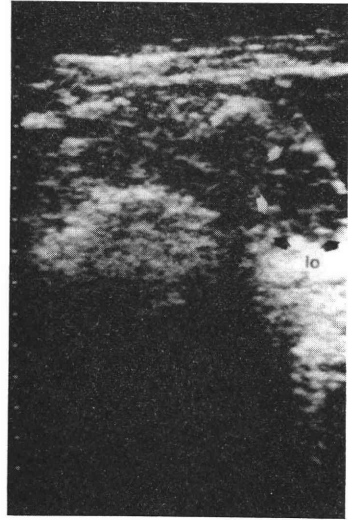


図1 general cystic pattern を示す超音波断層図

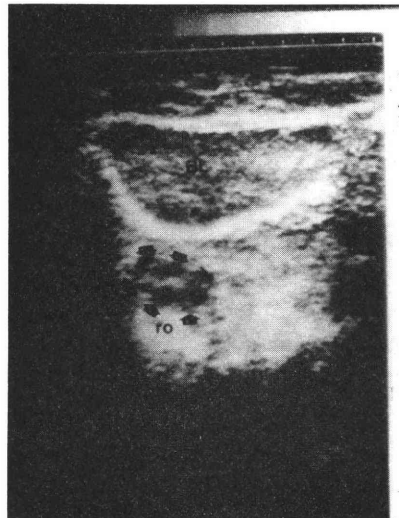


図2 peripheral cystic pattern を示す超音波断層図

最大長径、周囲径、面積ともに peripheral cystic pattern の方が general cystic pattern に比し若干小さい傾向にあるが、統計的な差は全く認められなかつた(表2)。

4. PCOS の臨床像

PCOS における両パターン臨床像の比較を表3に示す。月経異常では peripheral cystic pattern の方が general cystic pattern よりも稀発月経の割合が多く、男化徴候も peripheral cystic pattern の方が高率に出現している。Broca の肥満度+20%以上の肥満症例は、

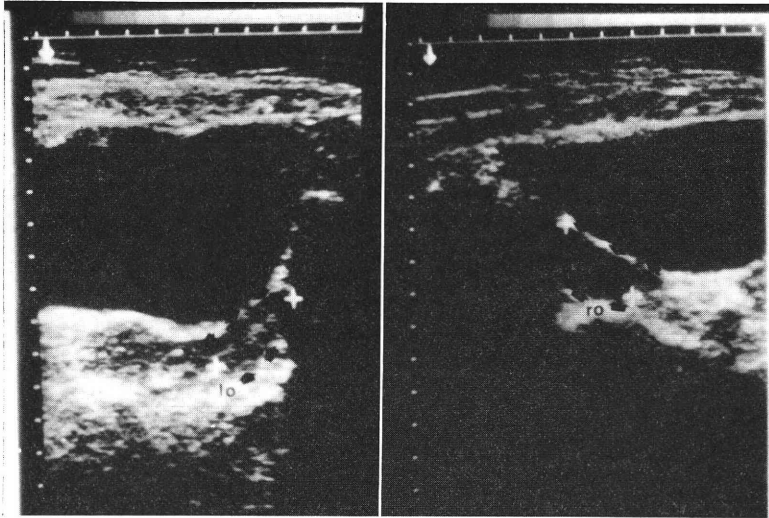


図 3 PCOS 症例 (写真右: 右卵巢, 写真左: 左卵巢)
 右卵巢は general cystic pattern を示し 左卵巢は peripheral cystic pattern を示す

表 1 超音波画像上の卵巢の各計測値

	最大長径 (mm)	周囲径 (mm)	面積 (mm ²)
正 常	18±5	50±10	184± 66
PCOS	32±9*	87±17*	499±171*

* p<0.001 有意差あり

表 2 PCOS の超音波画像上の各計測値

	最大長径 (mm)	周囲径 (mm)	面積 (mm ²)
general cystic pattern	33±12	99±19	613±197
peripheral cystic pattern	31± 6	82±13	438±116

全体で3例にすぎず、標準体が9例(64%)を占めていた。しかし、肥満症の例数は general cystic pattern の方が多い傾向にある。

5. PCOS の下垂体機能

表4は下垂体機能の両パターンの比較であるが、LHは両者ともに中等度高値であり、FSHは正常域であった。LH/FSH比は両者ともに高率であり、LHとFSHの解離現象が認められた。LH-RH testにおいては、LHの増量は general cystic pattern で233mIU/ml、peripheral cystic pattern で169mIU/mlと gonadotropin の過剰反応を示している。プロラクチン値の平均は両者ともに正常域であるが、general cyseic pattern を

示す症例に81ng/ml と高プロラクチン血症を示す例が1例あり、PCOS と高プロラクチン血症との関連も興味ある問題である。しかし、下垂体機能に関しての全てのパラメータにおいて general cystic pattern と peripheral cystic pattern の相異は認められなかった。

6. PCOS の LH-RH test パターン分類

PCOS の LH-RH test における反応パターンを黒川¹⁰⁾の分類にしたがって表5に示す。大部分の症例がLHの前値が20mIU/ml以上、60mIU/ml以下、頂値が30mIU/ml以上、FSHの頂値が40mIU/ml以下である中間型低FSH群に属しているが、LHの頂値が90分以降のものをその遅延型とすると general cystic pattern には peripheral cystic pattern に比し、遅延型が高率に認められた。

7. PCOS のプレマリンテスト

プレマリンテストにおけるLHの反応の general cystic pattern と peripheral cystic pattern の比較を図4に示す。両者ともにLH値の反跳的増量は200%以上で positive feedback 機構がよく保たれていると思われるが、反応パターンは general cystic pattern と peripheral cystic pattern で相異があり、general cystic pattern では24時間後に一度LHの抑制があり、その後反跳的に増加を示しており、peripheral cystic pattern では24時間後、48時間後と順次増加を示し、72時間後に下降するパターンを示している。

8. PCOS の末梢血中および尿中ステロイドホルモン

PCOS の末梢血中および尿中ステロイドホルモン値

表 3 PCOS の臨床像

	月 経 異 常			男 化 徴 候		肥 満 度			
	稀発月経	続発性無月経		有	無	-20~ -10%	-10~ +10%	+10~ +20%	+20% 以上
		第1度	第2度						
general cystic pattern	2	2	1	1	4	0	3	0	2
peripheral cystic pattern	6	3	0	4	5	1	6	1	1

表 4 PCOS の下垂体機能

	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	LH/FSH	LH-RH test		PRL (ng/ml)
				pLH-LH	pLH/LH	
general cystic pattern	45±10	11±2	4.0±1.0	233±153	6.9±2.2	28±27
peripheral cystic pattern	47±11	10±2	4.5±0.9	169± 68	6.6±3.3	17± 6

表 5 LH-RH test パターン分類

	high good 群	中間型高 FSH 群	中間型低 FSH 群	
				遅延型
general cystic pattern	0	1	1	3
peripheral cystic pattern	1	1	6	1

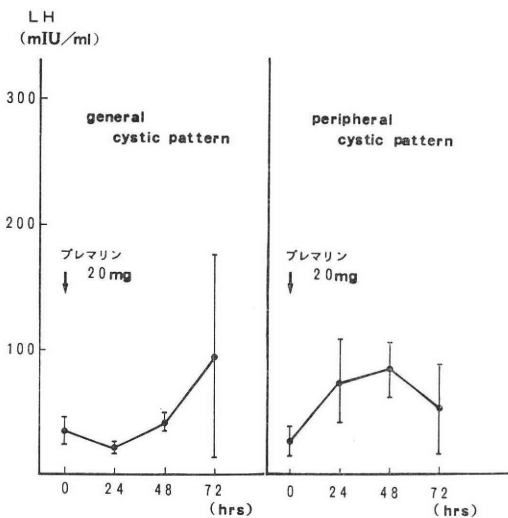


図 4 プレマリンテストにおける LH の変化

の general cystic pattern peripheral cystic pattern の比較を表 6 に示す。testosterone, estrone (E₁), estradiol (E₂) は両者間に差は認められなかつたが、E₁/E₂ 比では有意に general cystic pattern が高値であり、また尿中ステロイドも 17-OHCS, 17-KS その分画の 11-deoxy-17KS と 11-oxy-17KS も全て general cystic pattern が peripheral cystic pattern に比し高値を示した。

考 察

超音波断層法を用いた PCOS 卵巣の計測報告は比較的新しく、Swanson ら⁶⁾は PCO の容積は最小で 6 ml (3×2×2 cm), 最大で 30ml (5×4×3 cm), 平均 12.5ml (4×2.6×2.4cm) であると報告し、Parisi ら⁷⁾は PCO の面積は 9.5cm²~17.3cm², 平均で 12.9±2.6cm²と報告している。今回の研究では卵巣計測のパラメータとして最大長径, 周囲径, 面積の 3 項目で PCO

表 6 PCOS の末梢血中及び尿中ステロイドホルモン

	Testosterone (ng/ml)	Estrogen (pg/ml)			17-OHCS (mg/day)	17-KS (mg/day)	11-deoxy- -17KS (mg/day)	11-oxy- -17KS (mg/day)
		E ₁	E ₂	E ₁ /E ₂				
general cystic pattern	1.5±0.4	158±86	69±46	2.7±0.8*	9.1±3.4*	13.2±6.9*	12.2±4.1*	3.8±0.5*
peripheral cystic pattern	1.7±0.7	95±56	78±49	1.3±0.4	5.5±1.6	6.6±3.0	6.7±1.4	1.6±0.5

* p<0.05 有意差あり

と正常卵巣とを比較してみたが、全てで十分な有意差が認められ、簡便的には最大長径のみのパラメータで十分に PCOS は正常卵巣と区別する事が可能であると推測される。

Swanson ら⁹⁾は PCO の超音波断層図上の像を 2 つのタイプに別け報告している。すなわち、一定サイズの小嚢胞が、卵巣の周辺に並んでいるタイプと、いろいろな大きさの小嚢胞が卵巣実質内に分布しているタイプである。この 2 つのタイプは我々の general cystic pattern と peripheral cystic pattern の 2 つのタイプに非常に類似している。PCOS は通常、両卵巣が対象的に 2 ~ 5 倍に大きくなると言われており¹¹⁾、本研究においても、ほぼ類似の事が認められた。しかし、左右の卵巣の超音波画像上のタイプは必ずしも一致するものではなく、1 例において、相異のエコーパターンが認められ、同一症例における PCO の進行程度、あるいは発生機序の違いなどが推測出来、興味ある所見である。

PCOS における臨床症状の出現頻度に関する報告で Goldzieher¹²⁾ は 108 の文献集計から肥満 16-49%、多毛 17-83%、無月経 15-77% と述べており、本邦における報告^{13,14)} は肥満 25-38%、多毛 17-61%、続発性第 1 度無月経 33-97% である。このように各種症状の出現頻度はそれぞれの報告者で大きな違いが存在している。森ら¹⁵⁾も、卵巣の形態的所見の発現程度により定型的 PCO と非定型的 PCO に区別し、その形態的所見と臨床症状の対比を報告しているが、定型的 PCO は顕性の男性化徴候を示すようである。この事は PCOS は同一疾患であっても、卵巣閉鎖の進行程度あるいは発生機序において、かなり違った様相を呈するものである事が推測される。本研究において、稀発月経と男性化徴候は peripheral cystic pattern の方が多く出現し、肥満は general cystic pattern の方が多い傾向にあった。上記報告者における臨床症状の出現頻度の大きな違いは、このような観点から説明出来るかもしれない。

PCOS のゴナドトロピン分泌能に関しては、血中

LH, FSH の基礎分泌値において、LH は正常周期の卵胞期より高く、排卵期よりも低く、FSH は正常範囲内か少し低下している事が知られており¹⁶⁻¹⁹⁾、今回の研究においても同様な結果であった。そして、血中 LH, FSH 基礎分泌値において、general cystic pattern と peripheral cystic pattern との間に差異は認められなかった。また、general cystic pattern を示すものの中に 1 例のみ 81ng/ml と高プロラクチン血症を示す症例があった。PCOS 中の 40% 前後に高プロラクチン血症があり、高プロラクチン血症合併の PCOS は OHSS 発生頻度が高いとの報告²⁰⁾もあり、general cystic pattern と高プロラクチン血症あるいは OHSS の発生頻度について今後の詳細な検討が必要かと推測された。LH-RH test においては、general cystic pattern を示す症例の方が、peripheral cystic pattern を示す症例よりも、やや過剰反応を示す傾向がみられたが、統計的な有意差は症例数が少なく認められなかった。しかし、LH-RH test の LH の反応パターン分類において、general cystic pattern 症例には遅延型が高率に認められた。LH-RH test の遅延型に関する報告は黒川¹⁰⁾の間脳下垂体周辺の器質的病変を伴う症例に認められるとの報告や金田ら²¹⁾の脳波異常との関連性の問題があり、これらの疾患と general cystic pattern を示す PCOS との関連性も興味ある点である。次に estrogen による LH の放出機構、すなわち positive feed back 機構の検索のために行なったプレマリンテストで general cystic pattern 症例と peripheral cystic pattern 症例とでは LH の反応パターンが異なっていた。すなわち、general cystic pattern を示す症例は青野ら¹⁶⁾の PCOS 患者におけるプレマリンテストの LH の反応性と非常に類似しており、24 時間後に下降し、その後上昇をしているパターンであるが、peripheral cystic pattern を示す症例では倉智ら²²⁾の視床下部性排卵障害あるいは正常婦人のプレマリンテストにおける LH の反応パターンに類似しており、PCOS の general cystic pattern と peripheral

cystic pattern 症例では、排卵障害の程度あるいは部位の違いが示唆されるが、両者ともに、48-72時間後にみられる LH の反跳的増量は200%以上であり、三宅ら²³⁾の判定基準を参考にすると間脳の positive feed back 機構は両者ともによく保たれている事がわかる。

PCOS の卵巣には種々の段階に发育した卵胞と多数の閉鎖卵胞を認める事が特徴的であり、PCO の原因となる小嚢胞はこの閉鎖卵胞によるものであり、内夾膜層の増生と内夾膜細胞の著明なルテイン化および顆粒膜細胞の増生不良などが特徴的な所見である²⁴⁾。卵巣での estrogen の生合成に関する最近の知見では、莖膜細胞は主として androgen を生合成し、この androgen が顆粒膜層に運ばれて、ここで芳香化が起こり、estrogen が生合成されるといふ説が有力になりつつある²⁵⁾。また、androstenedione の末梢転換によって生じた estrone (E₁)は顆粒膜層で estradiol-17β (E₂)に転換されるわけであるが、顆粒膜細胞が全体として減少しているとされている PCOS は卵巣内 estrogen 産生は低下し、かつ E₂ への転換不全を伴うので E₁/E₂ 比が相対的に増加する。そこで E₁/E₂ 比は卵胞閉鎖の進行程度を大まかに知り得る指標となるかもしれないと森¹⁷⁾は述べている。われわれはこの点に注目し、general cystic pattern と periheral cystic pattern 症例の E₁/E₂ 比を比較してみると、明らかな差が生じた。すなわち、general cystic pattern を示す症例の方が peripheral cystic pattern を示す症例よりも E₁/E₂ 比が大であり、卵胞閉鎖の程度が進行しているものと推測される。また、尿中ステロイドホルモン (17-OHCS, 17-KS) においても有意差があり、general cystic pattern を示す症例と peripheral cystic pattern 症例とでは、やはり卵巣性のアンドロゲン分泌能の違いも示唆された。

本研究の要旨は第29回日本不妊学会学術講演会にて発表した。

文 献

- Stein, I. F. and Leventhal, M. L.: Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 29: 181, 1935.
- Berger, M. J., Taymor, M. J. and Patlon, W. C.: Gonadotrophin levels and secretory patterns in patients with typical and atypical polycystic ovarian disease. *Fertil. Steril.* 26: 619, 1975.
- 田中良憲: 人卵巣の機能と形態, 産婦治療, 21: 357, 1970.
- 楠田雅彦: 排卵障害の進展に関する研究—排卵障害症の病態とその治療を中心に—, 日産婦誌, 31: 965, 1979.
- 鈴木敬吾: 無排卵症婦人における卵巣の病理組織学的研究, 日産婦誌, 28: 453, 1976.
- Swanson, M., Sauerbrei, E. E. and Cooperberg, P. L.: Medical implications of ultrasonically detected polycystic ovaries. *J. Clin. Ultrasound.* 9: 219, 1981.
- Parisi, L., Tramonti, M., Derchi, L. E., Casciano, S., Zurli, A. and Rocchi, P.: Polycystic ovarian disease: Ultrasonic evaluation and correlations with clinical and hormonal data. *J. Clin. Ultrasound.* 12: 21, 1984.
- Parsi, L., Tramonti, M., Casciano, S., Zurli, A. and Gazzarrini, O.: The role of ultrasound in the study of polycystic ovarian disease. *J. Clin. Ultrasound.* 10: 167, 1982.
- 泰利之, 泰幸吉, 申恵子, 山本和彦, 村尾文規, 北尾学: 多嚢胞性卵巣の超音波断層図について, 日超医講演論文集, 721, 1984.
- 黒川博厚: 排卵障害に対する LH-RH test の臨床応用, 日産婦誌, 26: 621, 1974.
- Ginsburg, J. and Havard, C. W. H.: Polycystic ovary syndrome. *Br. Med. J.* 2: 737, 1976.
- Goldzieher, J. W. and Green, J. A.: The polycystic ovary. I. Clinical and histologic features. *J. Clin. Endocr.* 22: 325, 1962.
- 成田 収, 万羽 進, 東出香二, 後藤濬二, 小林 巖, 下須賀洋一, 木村 隆, 友田 豊: 多嚢胞性卵巣症候群患者に対する卵巣楔状切除の効果とその内分泌学的考察, 日不妊会誌, 23: 163, 1978.
- 花岡仁一, 佐藤芳昭: 当科における多嚢胞卵巣症候群の臨床的検討, 産と婦, 50: 1497, 1983.
- Mori, T., Fujita, R., Nihnobu, K., Aso, T., Sakamoto, Y. and Nishimura, T.: Significance of atretic follicles as the site of androgen production in polycystic ovaries. *J. Endocrinol. Invest.* 5: 209, 1982.
- 青野敏博, 三宅 侃, 倉智敬一: PCO 症候群—中樞からみた病態と治療対策—, 臨産婦, 37: 185, 1983.
- 森 崇英: 多嚢胞性卵巣症候群の診断基準, 日産婦誌, 36: 637, 1984.
- 楠田雅彦, 津田知輝: 多嚢胞卵巣, 産婦治療, 40: 429, 1980.
- 青野敏博: 多嚢胞性卵巣症候群と不妊, 産婦人科 MOOK No5, (杉本修編), 218, 金原出版, 東京, 1979.
- 福島峰子, 大田博孝: 多嚢胞卵巣症候群に関する研究, 産婦治療, 44: 522, 1982.
- 金田健一, 吉賀 峻, 沢原光信, 田頭稔弘, 井庭信幸: 無排卵婦人の LH-RH test と脳波異

- 常に関する研究, 日不妊会誌, 22: 251, 1977.
- 22) 倉智敬一, 青野敏博, 三宅 侃: 間脳機能検査, 図説臨床産科婦人科講座18巻, 90, メディカルビュー社, 東京, 1978.
- 23) 三宅 侃, 青野敏博, 衣笠隆之, 南川淳之祐, 河村憲一, 宮崎正敏, 谷沢 修, 倉智敬一: Premarin の静注内投与試験法による LH の変動, 日産婦誌, 26: 206, 1974.
- 24) 蜂屋祥一, 楠原浩二: 多嚢胞性卵巣の病理, 日産婦誌, 36: 632, 1984.
- 25) 五十嵐正雄: 内分泌婦人科学, 103, 南山堂, 東京, 1978.

Study on the relation between ultrasonographic forms and endocrinic change of polycystic ovary (PCO)

**Kentaro Takahashi, Kazuo Yoshino,
Toshihiko Shibukawa, Toshiyuki Hata,
Koji Sawada and Manabu Kitao**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Shimane Medical University, Izumo
(Director: Prof. M. Kitao)

In this study, we examined fifteen patients with

polycystic ovary syndrome (PCOS).

Polycystic ovary (PCO) could be recognized as 5 of general cystic patterns (GCP), 9 of peripheral cystic patterns (PCP) and one of general and peripleral cystic mixed pattern on ultrasonograms.

A comparative study of the two patterns for the clinical symptoms and the endocrinological changes was done. The results were as follow es.

(1) Oligomenorrhea and masculinization in patients with PCP were observed with considerable frequency. On the contrary, PCOS with obesity were oftener observed in patients with GCP than in these with PCP.

(2) In basal levels of plasma LH and FSH, there was no significant difference between GCP and PCP. In LH-RH test, delayed types of LH reaction were more observed in patients with GCP compared with these with PCP. The difference of LH reactive pattern in Premarin test in the two groups was observed.

(3) In basal levels of plasma testosterone, estrone (E₁) and estradiol (E₂), a significant difference between the two groups was not observed.

But, plasma E₁/E₂ ratio, urinary 17-OHCS and urinary 17-KS in patients with GCP were higher values than that in patients with PCP.

(受付: 昭和60年3月11日)

正常男子を双胎同胞にもつ XY 性腺形 成不全症の一例

A Case Report of XY Pure Gonadal Dysgenesis with a Twin Brother

東京大学医学部産科婦人科学教室

堤 治 石 原 理 水 野 正 彦

Osamu TSUTSUMI Osamu ISHIHARA Masahiko MIZUNO

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

長野赤十字病院産婦人科

中 川 真 菅 生 元 康

Makoto NAKAGAWA Motoyasu SUGASE

Department of Obstetrics and Gynecology, Nagano Red
Cross Hospital, Nagano, Japan

不妊と原発性無月経を主訴とした XY 性腺形成不全症 (Swyer 症候群) の 1 例を報告する。

症例は30歳主婦, 身長147cm, 体重42kg. 原発性無月経および不妊を主訴として来院した。患者は2卵性双胎の第2子として出生, 第1子は正常男子であった。表現型は女性型で, 外陰, 膣および子宮はほぼ正常であった。LH, FSH の基礎値は, それぞれ77, 130mIU/ml, LH-RH 負荷試験の反応良好で卵巣性無月経と診断した。染色体検査では46XY の男性型であった。試験開腹で, 子宮・卵管の正常な形成を確認, 性腺は索状の痕跡的な組織塊で組織学的には fibroadipose tissue から成り, 卵巣, 精巣組織は認められなかった。以上により本例は XY 性腺形成不全症と診断された。

本例では, 性染色体が XY でありながら胎児期初期に性腺原期の分化が障害され, 性腺形成不全と女性型の表現型を示すようになったものと考えられるが, 同じ母体環境で発育した兄が正常発育を示した点が興味深い。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 58-63, 1986)

はじめに

表現型が女性型で性腺が streak gonads を示すが, ターナー症候群に見られるような特徴的な身体的異常を欠く疾患を pure gonadal dysgenesis と称する。この中で染色体が46XY と正常男子型を示すものは XY 性腺形成不全症 (Swyer 症候群) と呼ばれる¹⁾。我々は正常男子を双胎同胞にもち, 不妊と原発性無月経を主訴とした上記疾患の1例を経験したので報告し, 性分化の異常について考察したい。

症 例

症例: 30歳 主婦
主訴: 原発性異月経 不妊
家族歴: 家系図を図1に示すが, 特記すべきことなく, 原発性無月経患者は他にはみられない。
発育の経過: 患者は双胎の第2子である。患者を妊娠中母親には中毒症等の合併なく, 特殊な薬剤の投与も受けていない。分娩経過に異常なく, また出生時にも異常はみられなかった。出生体重は2,000g であった。双胎

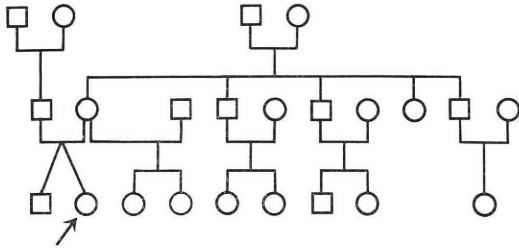


図 1 患者の家系図

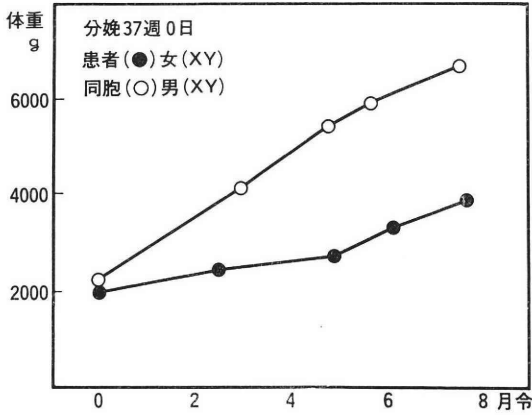


図 2 患者および同胞の身体発育

の同朋は男子で出生体重は2,200g であった。新生児期から乳児期にかけての体重増加を、同胞の男子と比較して図2に示すが、患者の方に有意の発育遅延を認める。以後の身体的発育も兄に比較して不良で、成人に達した時身長147cm、体重42kg であった。知能および運動の発達に関しては両者ともに正常であった。無月経のため25歳より Kaufmann 療法を受けていた。28歳で結婚し、上記主訴にて長野赤十字病院産婦人科を受診した。

現症：体格は小柄、体型はほぼ女性型であった。乳腺の発育は不良で、腋毛は僅かに認められた。外陰は女性型であるが、発育はやや不良、陰毛は僅かであった。陰核の肥大はなかった。内診にて異常を認めず、子宮はやや小で前傾前屈し、付属器は触知しなかった。翼状頸、外反肘はなかった。兄は身長165cm、体重55kg で体格は男性型、二次性徴は正常であった。

内分泌検査：LH、FSH の基礎値は、それぞれ、77.130mIU/ml と高値で、LH・RH 100 μ g 負荷で30分後 LH 400mIU/ml、FSH 260mIU/ml と良好な反応を示した。血中エストラジオール値は10pg/ml 以下（感度以下）、尿中総エストロゲン4.84 μ g/day と低値で、ゴナドトロピン負荷試験にも反応を示さなかった。これらのことから患者は hypergonadotropic hypogonadism の状

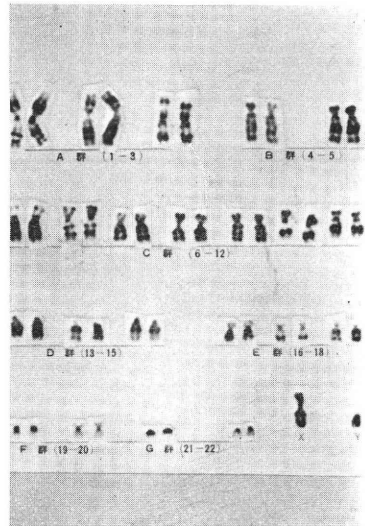


写真 1 患者の染色性 (G-band 法) 46 XY

態にあり、いわゆる卵巣性無月経と考えられた。

テストステロン値は、1.50ng/ml で女性正常値の上限であった。プロゲステロン負荷に反応なく、エストロゲン・プロゲステロン負荷で消退出血を認める第2度無月経を確認した。

甲状腺機能、副腎皮質機能には異常を認めなかった。また同胞のゴナドトロピンおよびテストステロン値は男性の正常範囲であった。

染色体検査：染色体検査の結果は46 XY で男性型であった（写真1）。Y-body も認められた。母親は46XX、兄は46XY で正常核型を示した。

その他の検査：一般血液生化学検査では、ヘモグロビン15.3g/dl、ヘマトクリット48.0%、赤血球472万/mm³とやや高値を示す以外に異常なし、子宮卵管造影では、子宮腔はやや小であるが位置、形状に異常なく、両側卵管は正常像を示し、腹腔内に造影剤の流出を認めた。DIP（腎盂撮影法）で腎盂、尿管、膀胱は正常像を示し、尿路系の奇形は認められなかった。マルウチスの骨盤撮影では anthropoid 型と判定した。Kaufmann 療法でノアルテン D₁ を内服している時の子宮内膜組織診は、分泌期像を示し、性ステロイドに内膜が反応性を有していることがわかった。

試験開腹：性腺および内性器を精査する目的で試験開腹をおこなった。開腹所見では子宮はやや小だが形状は正常であった。両側卵管も正常な外見を示した。広間膜後葉には、長さ3cm、幅mm の索状の組織塊があり、streak gonad であることを確認した（写真2）。組織所見では、表層線維と紡錘形細胞が細かなうねりを示しつ

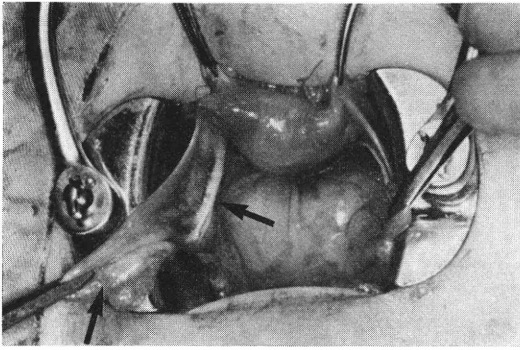


写真 2 開腹所見

子宮と卵管および streak gonad (矢印で示す)を認める

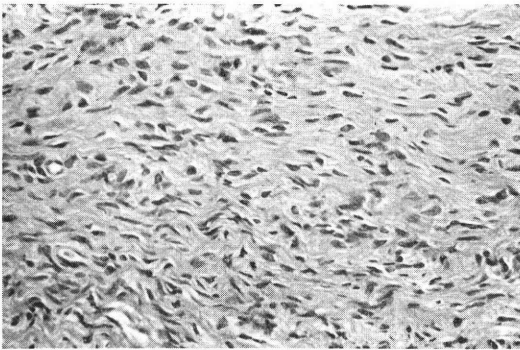


写真 3 streak gonad の組織所見 (×100)

つ密に増生している層が見られ、卵巣間質に似た所見を呈した(写真3)。卵細胞卵胞は全く認められなかった。

診断: XY 性腺形成不全症 (Swyer 症候群)

治療: 形成不全性腺の悪性腫瘍化の報告があるため、開腹時索状組織塊は切除した。術後はメストラノール(デボシン) 0.08mg/日10日間、メストラノール0.05mg/日およびノルエチステロン1mg/日の併用(ノアルテロン D1錠/日)11日間の sequential な投与による Kaufmann 療法をおこなっている。

考 察

患者は、原発性無月経を主訴とし、染色体が46XY と男性型でありながら表現型は女性という稀らしい症例である。ここでは、原発性無月経の原因診断、XY 性腺形成不全症および性分化とその異常について症例に基づいて考察を行なう。

原発性無月経には表1に示すように各種のものがあ。その原因によってそれぞれ治療方針が異なるため、正確な診断が要求される。病歴および局所所見が極めて

表 1 原発性無月経の種類

卵巣性	Turner 症候群 (XO) pure gonadal dysgenesis (XX, XY)
中枢性	視床下部性 下垂体性
子宮性	子宮欠損
副腎性	副腎性器症候群
リセプター異常 (潜在月経)	睾丸性女性症候群 腔閉鎖症

重要なことは言うまでもないが、鑑別には内分泌検査と染色体検査が不可欠である。症例は、ゴナドトロピンの基礎値が LH 77mIU/ml, FSH 130mIU/ml と高値であり、LH-RH 負荷試験で良好な反応を示し、卵巣性の無月経であった。エストロゲンの分泌は低下し、いわゆる hypergonadotropic hypogonadism の状態であった。卵巣性無月経の原因の一つには卵巣形成不全 gonadal dysgenesis があり、その多くは性染色体の異常によることが知られるようになった。その典型的なものは、45X0の Turner 症候群である。ところが症例では、低身長、翼状頸、外反肘などの Turner 症候群の身体的異常を認めず、pure gonadal dysgenesis が疑われた。末梢白血球を用いた染色体分析では、数回の再検で数百個の検体すべてが46XYを示し、モザイクの可能性は否定的であった。キナクリン染色により Y-body も確認された。染色体所見からは、XY female の診断が下される。XY female の典型は、睾丸性女性化症候群 testicular feminization syndrome であるが、症例ではそれとは、局所所見および内分泌検査所見から鑑別される。以上より XY 性腺形成不全症いわゆる Swyer 症候群と診断した。試験開腹による子宮卵管の存在、性腺の形成不全の確認は、その診断を裏づけるものである。性腺の組織所見は、fibroadipose tissue で卵巣および精巣成分は認めなかった。性腺形成不全症では、gonadoblastoma や dysgerminoma の発生が報告されている²⁾ため、索状性腺は切除することが望ましいとされている。

XY 性腺形成不全症は、pure gonadal dysgenesis のうち、染色体が46XY と正常男子型を示すものである(表1)。ただし、染色体 XX のものは、ovarian agenesis とし、XY のもののみを pure gonadal dysgenesis という場合もある。1955年 Swyer は、原発性無月経を主訴とし、外性器がほぼ正、女性型でありながら二次性徴の発達が不良で、染色体が男性型を示す2症例を報告した¹⁾。その後このような症例では性腺が発見できないことから、pure gonadal dysgenesis と命名された³⁾。最初の報告者の名をとり Swyer 症候群と呼ばれることもあ

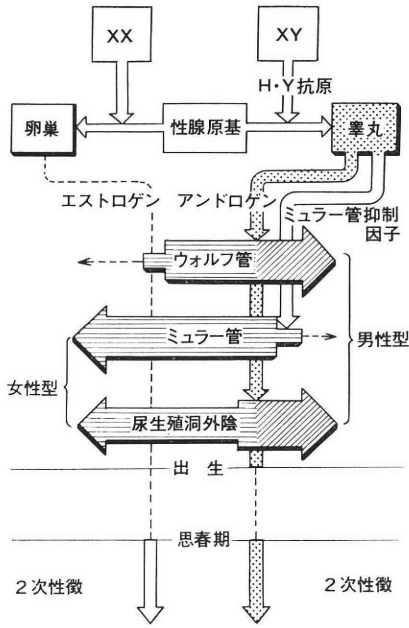


図 3 性分化のメカニズム (水野¹¹⁾改変)

る。本症は、gonadal dysgenesis 全体の2.8%を占め、発生頻度は女性10万につき1例程度であろうといわれている⁴⁾。多発家系の報告があることから^{5,6)}、X連鎖性劣性遺伝の可能性が示唆されているが、散发例も多い。臨床所見の特徴は本症例の如く表現型がほぼ完全な女性型であることで、子宮卵管等のミュラー管由来の内性器は形成され、ウォルフ管の発育を認めない。性腺は streak gonad で卵巣ホルモンの産生能を欠き、二次性徴の発育は不良である。この点は Turner 症候群に似るが、先に述べた Turner 症候群の身体的特徴を認めず、身長も正常範囲である。現在本症では H-Y 抗原との関連が注目をあびている。H-Y 抗原は Y 染色体上の遺伝子に支配され、未分化性腺を精巣に分化させる⁷⁾。Swyer 症候群では、H-Y 抗原検索の結果、陽性とするもの⁸⁾、陰性とするもの⁹⁾があつたが、Wolt は12例を集めて検討し、陽性9例、陰性3例と報告した¹⁰⁾。これより、Swyer 症候群には H-Y 抗原陽性のものと陰性のものがあり、genetical には heterogenous な疾患と考えられるようになった。本症を臨床モデルとして、性分化の異常および本症の病態を次に考察したい。

性分化は遺伝的性すなわち性染色体により一定の方向に規定される。図3にそのメカニズムを示したが、その第一段階は性腺原基の精巣あるいは卵巣への分化である。すなわち、性腺原基は精巣および卵巣のいずれにも分化発育するポテンシャルを持っているが、その鍵を握

っているのが Y 染色体であり、より具体的には H-Y 抗原である。H-Y 抗原が性腺を精巣に誘導する。これが存在しない時、性腺は卵巣へと分化する。既に述べたように、Swyer 症候群の場合、H-Y 抗原陽性と陰性の場合がある。陽性の場合、何故精巣が形成されないかについては、患者では H-Y 抗原に対するリセプターが欠如している可能性が示唆されている。また陰性例では、遺伝子発現機構になんらかの障害があると説明される¹²⁾。いずれにしても、Swyer 症候群では Y 染色体がありながら、性腺は精巣に分化しない。それでは何故卵巣への分化が起きないのであろうか。それは、卵巣の分化発達には2つの X 染色体が必須なため、XO の Turner 症候群と同様、性腺は streak gonad に終わる¹³⁾。

性分化の第二段階は、性管、外陰の分化である。これには精巣がもつとも重要な役割を果している。Jost がウサギの実験で明らかにしたように¹⁴⁾、胎生期初期に性腺を除去すると雌雄に関係なくウォルフ管は退化消失し、ミュラー管が残存し、女性型となる。すなわちウォルフ管の分化には精巣が必要であるが、ミュラー管は卵巣なしにも残存する。ヒトでも、性染色体の XX, XY にかかわらず、胎生期初期に性腺分化が障害されれば、表現型は女性型となる。これが、いわゆる pure gonadal dysgenesis である。本症例のように Swyer 症候群では、性染色体が XY でありながら精巣が分化せず、ミュラー管が発達して女性型となることがよく理解される。

以上考察したように本症例では胎生期のきわめて早期に発生した何らかの障害により、性腺形成不全が起こり Swyer 症候群を呈したものである。その発生要因は明らかではないが、症例は双胎妊娠であることが注目し値する。両者は XY という男性型の性染色体を持ち、まったく同じ母体環境で発育しながら、片方は患児となり、片方は正常男子として成長したのである。両者の X 染色体は母親由来のものであるが、必ずしも同一のものとは言えない。したがって同胞が正常であるからといって必ずしも遺伝性である可能性を否定することはできないが、家系(図4参照)に異常を認めないことから、その可能性は低いと考える。それ故、患者側に胎生期のごく初期に何らかの異常が発生し、性腺形成不全がおこつたと推測される。その発生要因としては母体環境の関与は少なく、恐らく患者そのものに偶発的に生じたものであろうと言うことができる。ただ出生時の体重は両者間に大差はなかつたが、その後の発育は患者の側に著しい遅延があつた。この発育の遅延と性腺形成不全を結びつけるような遺伝子レベルでの異常が存在する可能性はあるが、現在では推論の域を出ず、今後の研究に持たざるを得ない。

む す び

Swyer 症候群は、性分化のメカニズムを解明するための臨床モデルとして興味あるばかりか、H-Y 抗原の働きを解明する上でも重要である。まれにしか経験できない症例ではあるが、我々の日常臨症において1例1例を正確に診断し記載していくことの大切さを教える1例であると考えられる。

稿を終るに臨み、染色体分析等について御協力いただいた信州大学医学部法医学教室支倉逸人教授、同輸血部緒方洪之部長に深謝いたします。

なお本論文の要旨は第27回日本不妊学会において発表した。

文 献

- 1) Swyer, G. I. M.: Male pseudohermaphrodisism: A hitherto undescribed form. *Brit. Med. J.* 2: 709, 1955.
- 2) Amarose, A. P., Kyriazis, A. A., Dorus, E. D. and Azizi, F.: Clinical, pathologic, and genetic findings in a case of 46, XY pure gonadal dysgenesis (Swyer syndrome) I. *Obstet. Gynecol.* 127: 824, 1977.
- 3) Hoffenberg, R.: Gonadal dysgenesis in normal looking females. *Brit. Med. J.* 1: 1281, 1957.
- 4) Polani, P. E.: Abnormal sex development in Man. in *Mechanisms of sex differentiation in animals and Man*. Eds. by Austin, C. A. et al., Academic Press, New York. p. 465, 1981.
- 5) Sternberg, W. H., Barclay, D. L. and Klopfer, H. W.: Familial XY gonadal dysgenesis. *N. Engl. J. Med.* 278: 695, 1968.
- 6) Espiner, E. A., Veale, A. M. O., Sands, V. E. and Fitzgerald, P. H.: Familial syndrome of streak gonads and normal male karyotype in five phenotypic females. *N. Engl. J. Med.* 283: 6, 1970.
- 7) 木川源則: 生殖腺分化機構(2) H-Y 抗原をめぐって. *医学のあゆみ* 116: 16, 1981.
- 8) Dorus, E., Amarose, A. P., Koo, G. C. and Wachtel, S. S.: Clinical, pathologic, and genetic findings in a case of 46, XY pure gonadal dysgenesis (Swyer syndrome). II. Presence of H-Y antigen. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 127: 829, 1977.
- 9) Ghosh, S. H., Shah, P. N. and Charpure, H. M.: Absence of H-Y antigen in XY females with dysgenetic gonads. *Nature* 276: 180, 1978.
- 10) Wolf, U.: XY gonadal dysgenesis and the

H-Y antigen: Report on 12 cases. *Hum. Genet.*, 49: 269, 1979.

- 11) 水野正彦: 性分化のメカニズム, 総合産科婦人科学. p. 24, 医学書院, 東京, 1979.
- 12) Goldberg, K. A.: H-Y antigen and disorders of sexual differentiation. *Urology.* 13: 139, 1979.
- 13) Bishop, P. M. F.: Clinical manifestations of disorders of the human ovary. in *The Ovary*. Vol. 2 eds Zuckerman, L. and Weir, B. J. Academic Press New York p. 185 1977.
- 14) Jost, A.: Problems of fetal endocrinology. The gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Prog. Hormone Res.* 8: 379, 1953.

A case report of XY pure gonadal dysgenesis with a twin brother

Osamu Tsutsumi, Osamu Ishihara,
Masahiko Mizuno

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

Makoto Nakagawa, Motoyasu Sugase

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagano Red Cross Hospital,
Nagano, Japan

A case of XY pure gonadal dysgenesis (Swyer syndrome) is reported. The patient, aged 30 was referred because of primary amenorrhea and infertility. Her mother was normal and the pregnancy was uneventful except for twin pregnancy. Her twin brother was normal male. Her height was 147 cm and weighed 42 kg. The breasts were poorly developed and there was a little hair in the axillae and on the pubis. The external genitalia was of female type. The vagina was also normal and the cervix was present. The uterus was rather small but normal shape and position. Her gonadotropin level was high (LH 77 mIU/ml, FSH 130 mIU/ml) and responded well to LH-RH stimulation. Estrogen secretion was extremely low and showed no response to HMG-hCG treatment. There were no other abnormal findings in laboratory investigations. Chromosomal analysis by peripheral leucocytes revealed that her karyotypes were 46, XY. Then she was diagnosed as XY pure gonadal dysgenesis which was first reported by Swyer in 1955. At exploratory laparotomy, normal appearing uterus

and bilateral fallopian tubes were found. On the posterior of the broad ligament on each side, a streak of white fibrous tissue was present. Microscopic examination showed that it was a fibroadipose tissue and the absence of ovarian or testicular component was proven. She is now treated by cyclic administration of ovarian hormones.

The diagnosis of XY pure gonadal dysgenesis in this patient is documented by female phenotype, normal stature, absence of the somatic signs

of Turner's syndrome, presence of a uterus, fallopian tubes and bilateral streak gonads and a normal 46 XY karyotype. In this case it is of special interest that she had a normal twin brother who had the same karyotype as hers and developed in the same maternal condition. Normal sex differentiation and the abnormal one in this patient are discussed.

(受付: 昭和60年5月8日)

卵管峡部平滑筋の収縮特性から見た子宮外妊娠の検討

Etiological Study of Ectopic Pregnancy from the View Point of Contractile Properties in Isthmic Smooth Muscle of Human Oviduct

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室

清水良明 落合和彦 蜂屋祥一
Yoshiaki SHIMIZU Kazuhiko OCHIAI Shoichi HACHIYA
The Jikei University School of Medicine Department
of Obstetrics and Gynecology

子宮外妊娠の発生要因のひとつとして、峡部平滑筋の収縮性が関与しているかを知る目的で、子宮外妊娠症例14例について、峡部平滑筋（縦走筋）skinned fiber を作製し、その Ca^{2+} 感受性を検索した。

峡部平滑筋の収縮特性は、同時に検討を行なった正常妊娠群と類似し、収縮閾値及び最大張力の50%を發揮する Ca^{2+} は、それぞれ 6.56 ± 0.34 , 5.70 ± 0.33 (pCa) であった。しかし、14例のうち6例の標本において正常妊娠時のそれにくらべ、はるかに収縮性が低下していた。以上の結果から、子宮外妊娠の発生要因のひとつとして、峡部平滑筋の機能的な障害が関与する可能性が示唆された。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 64-68, 1986)

緒言

子宮外妊娠は、全妊娠の約1~2%に発生し、時に重大な合併症をきたし、緊急手術の対象ともなるものであり、産婦人科医にとつて、避けて通ることのできない疾患のひとつである。しかしながら、その発生機転に対する言及は、卵管炎により惹起された不完全な卵管閉塞状況に基く説¹⁾や、受精卵の過成熟による受精卵の子宮移送不全²⁾などが散見されるに留り、卵管の機能的な障害についての報告は、ほとんど見られない。今回、我々は卵管の機能的な面に立脚し、卵管運動、つまり、受精卵輸送の原動力となる卵管平滑筋に着目し、この平滑筋 skinned fiber を作製、この基本的な収縮特性について検討を行つた。skinned fiber は、筋収縮を研究する上で、非常に秀れた筋モデルである。Natori³⁾は、筋形質膜を機械的に剝離し、細胞内環境を、外液の条件で自由にコントロールする事ができる筋モデルとして、骨格筋において、skinned fiber を発表し、筋収縮メカニズムの研究に大きな寄与を与えた。一方、平滑筋においては、その形態学的な特異性から、骨格筋と同様の skinned fiber の作製が困難であつたが、Endo⁴⁾らは、両面界面活

性剤である saponin を用い、化学的に skinned fiber をつくる試みを行ない、これを、chemically skinned fiber (化学的形質膜剝離標本) と名付けた。我々は、この chemically skinned fiber を、卵管平滑筋に應用し、卵管峡部平滑筋、特に縦走筋における筋細胞の収縮特性についての検索を行ない、子宮外妊娠の発生との関連性についての検討した。

検索対象ならびに実験方法

検索対象

当院産婦人科および他関連施設において、子宮外妊娠と診断され、開腹手術をうけた14例を対象とした。対象の年齢分布、妊娠歴、妊娠週数、妊娠部位等については、Table 1 に示した。今回の対象は全て、卵管膨大部妊娠であつた。開腹後、できるだけ速やかに、卵管峡部を摘出し、生理学的食塩水にて十分に血液成分を洗浄し、Locke's solution に移し直ちに実験に供した。卵管の他部位については、絨毛成分の侵入や、出血等の病理学的な影響を否定し得ないため、今回は峡部平滑筋のみについての検討を行なつた。

Table 1 Clinical summary in 14 cases of ectopic pregnancy

		para	age	gest weeks	site	course
1	T. Y.	1g1p	28	8	AMP	RUP
2	Y. O.	2g1p	30	9	AMP	AB
3	K. Y.	1g0p	29	7	AMP	RUP
4	K. K.	0g0p	26	8	AMP	RUP
5	E. A.	2g2p	31	9	AMP	AB
6	F. S.	3g1p	30	6	AMP	RUP
7	T. M.	3g1p	25	7	AMP	RUP
8	M. N.	0g0p	22	6	AMP	AB
9	K. N.	1g1p	24	9	AMP	RUP
10	Y. Y.	2g1p	26	7	AMP	RUP
11	Y. T.	2g1p	29	7	AMP	AB
12	K. M.	1g0p	31	8	AMP	RUP
13	M. M.	0g0p	24	7	AMP	AB
14	K. N.	1g0p	30	9	AMP	RUP

AMP : ampulla RUP : rupture AB : abortion

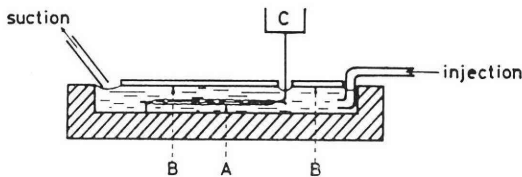


Fig. 1 Schematic illustration of experimental equipment. A : muscle preparation, B : slide glass, C : force transducer

実験方法

1. 装置 (Fig. 1)

容量約0.5mlの液槽を、アクリル樹脂にて作製した。液槽両端には、溶液交換のための灌流装置を設けると共に、標本固定用のフックを設定した。液槽の上部は、ガラス板でおおい、表面張力を利用して、溶液交換に際し、常に液面が一定となる様に工夫した。摘出した卵管峡部は、実体顕微鏡下で卵管間膜を除去し、注意深く、6~7×0.4~0.5mmの縦走筋束として採取した。採取した標本は、液槽中で片側を固定、片側を force transducer (Shinko, U-guage) に接続し、等尺性の張力について検索を行なった。

2. 溶液 (Table 2)

- (1) Locke's solution
- (2) High-K solution
- (3) relaxing solution
- (4) contracting solution
- (5) saponin relaxing solution

Table 2 Composition of used solution (mM)

(1) Locke's solution	
NaCl	154
KCl	5.6
NaHCO ₃	1.8
CaCl ₂	2.2
Glucose	5.6 pH 7.4 at 20°C
(2) High-K solution	
KCl	159.6
NaHCO ₃	1.8
CaCl ₂	2.2
Glucose	5.6 pH 7.4 at 20°C
(3) Relaxing solution	
KCl	160
EGTA	4
MOPS	10
MgCl ₂	4
ATP	4 pH 7.0 at 20°C
(4) Contracting solution	
KCl	160
EGTA	4
MOPS	10
MgCl ₂	4
ATP	4
CaCl ₂	4 pH 7.0 at 20°C
(5) Saponin-relaxing solution	
Relaxing solution but contained 0.6% of saponin	

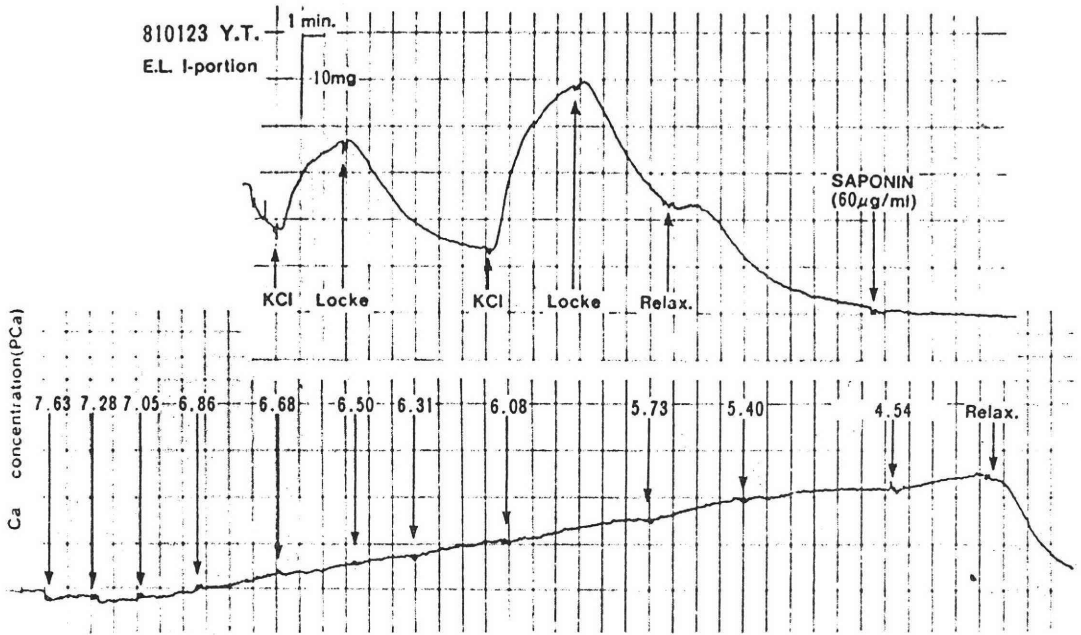


Fig. 2 General experimental course recorded from an example

Table 3 Total calcium VS. pCa

Relax (ml)	Cont. (ml)	pCa
4.0	0.0	9.0
3.5	0.5	7.53
3.0	1.0	7.16
2.5	1.5	6.90
2.0	2.0	6.68
1.5	2.5	6.46
1.0	3.0	6.20
0.5	3.5	5.84
0.0	4.0	4.54

Total E.G.T.A. 4.0 mM

Ca-EGTA Binding Const. $10^{6.68}M^{-1}$

3. 実験手順 (Fig. 2)

標本を、液槽の中で固定し、Locke's solution の中で、張力が安定したところで、溶液を、High-K solution と交換した。High-K solution に含まれる159.6mM のKにより標本は脱分極をおこし、いわゆるK拘縮が発生する。このようにして、標本が生筋である事を確認し、溶液を Ca²⁺ free の, Relaxing solution と交換、標本を十分に弛緩させた。次に、saponin 60µg/ml を含む saponin relaxing solution に交換すると、標本は、Chemically skinned fiber となる。その後、relaxing solution と、contracting solution を適宜配合する事で、

Table 4 Ca⁺⁺ concentration of threshold and at 0.5 relative tension

Ca ⁺⁺ concentration of threshold (pCa+S.D.)			
	FIMB	AMP	ISTH
nomal	6.62±0.16	6.92±0.21	6.54±0.12(N= 6)
ectopic	6.56±0.34(N=14)		
Ca ⁺⁺ concentration of 0.5 relative tension (pCa±S.D.)			
	FIMB	AMP	ISTH
normal	5.90±0.12	5.92±0.14	5.82±0.11(N= 6)
ectopic	5.70±0.33(N=14)		

漸次、外液の Ca²⁺ を増加させ (Table 3) 発生する張力について検討を行なった。

結 果

Ca²⁺ 濃度を指標として、収縮のはじまる Ca²⁺ 濃度 (収縮閾値) 及び最大張力の50%を発揮するのに必要な Ca²⁺ 濃度について検討を行なうと (Table 4), それぞれ6.56±0.34, 5.70±0.33 pCa であり、この値は、同時に検索を行なった正常妊娠群の峡部平滑筋の値と同様の傾向であった。しかしながら、今回の検索症例の中で、6例の標本において、著しく収縮性の減弱したものが存在した。そこで、正常妊娠群と類似した収縮性を示すも

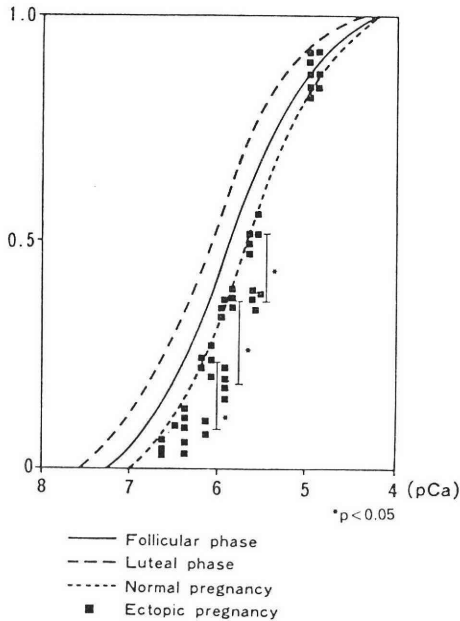


Fig. 3 Relation between relative tension and Ca^{2+} concentration in ectopic pregnancy group

のを group I, 収縮性の低下した群を group II と仮に分類し, 更に統計学的検討をすすめたところ, 収縮閾値では group I で 6.58 ± 0.04 , group II 6.54 ± 0.11 , 最大張力の50%を発揮する Ca^{2+} 濃度は, それぞれ 5.81 ± 0.14 , 5.42 ± 0.16 であった。pCa 4.54から pCa 9の間で7点について group I と group IIの間の検定を行なうと, 3点において有意差が認められ, group IIの Ca^{2+} 一張力曲線は, group Iにくらべ右方へシフトする事が判明した。つまり, 明らかに収縮性の異なる二種類の峡部平滑筋が存在する事が確認され, 子宮外妊娠としての臨床病理学的な事項に差異がない点を考慮すると, 大変興味ある結果と云えよう。

考 察

卵管峡部を, ひとつの平滑筋と考えたとき, 妊娠によってその収縮性が減ずることは, 内分泌学的な影響による収縮性の変化として容易に想像される。子宮平滑筋においては, 妊娠の進行にともなう, 収縮性が減ずることが, 多数報告されている^{5,6)}。これは, 妊娠による内分泌学的な影響, 特に progesterone が膜電位を低下させるため⁷⁾と, 一般には理解されているが, 我々は, skinned fiber の検索の結果から^{8,9)}, 筋細胞内の収縮, 調節タンパク, あるいはその三次元的な配列にも変化が及んでいる事を示唆している。事実, 今回の検索においても, 正

常性周期の卵管峡部に比し^{10,11)}はるかに収縮性が減弱している事が確認され, これは, skinned fiber という, 筋形質膜の存在を無視し得る実験系である事を考慮すれば, 筋細胞内の何らかの変化を, 容易に想像し得る。子宮外妊娠症例のうち, 6例に, 著しい収縮性の低下を認め (group II) た事は, 収縮系の内部変化が存在する事を意味し, 収縮特性の観点からは, 明らかに機能不全と考えられる。

一般に, 受精卵の子宮内への輸送には, 卵管上皮の繊毛運動だけでなく, 卵管の蠕動等の卵管運動も大きな影響を持つていると考えられており, 卵管の収縮性と, 子宮外妊娠の発生を結びつけて考えてみると, 正常妊娠時と同様な収縮性をもつもの (group I) では, 炎症等, 卵管の器質的な要因に基づく子宮外妊娠であり, 収縮性の減じたもの (group II) では, 卵管の機能的障害に基づく子宮外妊娠と, 推論することも可能であろう。しかしながら, 卵管機能は, 複雑多岐である事は言うまでもなく, 峡部平滑筋, それも縦走筋のみの収縮性だけで結論するのは早計と言わざるを得ない。

今後, 他の卵管機能や, 輪状筋の収縮性についても検索をすすめていきたいと考えている。

本研究を行なうにあたり, 終始有益な御助言をいただいた, 東京慈恵会医科大学第一生理学教室, 馬詰良樹教授に, 深謝する。尚, 本研究の一部は, 第26回不妊学会学術講演会 (京都) において発表した。

文 献

- 1) 佐川節夫: 卵管妊娠の成因に関する組織学的研究. 日不妊誌 12: 179, 1967.
- 2) Williams, P. F.: An analysis of 101 fatalities from ectopic pregnancy Am. J. Obst. and Gynec. 48: 841, 1944.
- 3) Natori, R.: The property and contraction process of isolated myofibrils. Jikeikai Med. J. 1: 119, 1954.
- 4) Endo, M., Kitazawa, S., Yagi, M., Iino, M. and Kakuta, Y.: Some properties of chemically skinned smooth muscle fibers. In: Excitation-Contraction Coupling in smooth muscle, Ed. by R. Casteels, T. God-friends and J. C. Ruegg. Amsterdam, Elsevier, 1977. pp 199.
- 5) 加藤宏一, 東 恭彦: 子宮筋収縮弛緩に関する Ca, Mg の動態 日産婦誌 20: 385, 1968.
- 6) Huszar, G. and Roberts, J. M.: Biochemistry and Pharmacology of the myometrium and labor: Regulation at the cellular and molecular levels. Am. J. Obst. and Gynecol., 142: 225, 1982.
- 7) 栗山 照: 内臓平滑筋の臓器特異性に関する研

- 究 日本医師会雑誌 81(6) : 625, 1979.
- 8) 落合和彦, 蜂屋祥一, 丸山六三 : ラット子宮平滑筋 skinned fiber 収縮系におけるステロイドホルモンの影響 日本平滑筋学会誌 19(3) : 146, 1983.
- 9) 落合和彦, 蜂屋祥一, 馬詰良樹, 増田 允, 丸山六三 : 妊娠ラット子宮平滑筋 skinned fiber における Ca^{++} 受容タンパク (calmodulin) の影響について 日本平滑筋学会誌 18(3) : 141, 1982.
- 10) Ochiai, K. : On the contractile properties of chemically skinned fibers of human oviduct smooth muscle. Jikeikai Med. J., 29(4) : 401, 1982.
- 11) 蜂屋祥一, 落合和彦, 中谷正巳 : 卵管の収縮機構. 産と婦 50(4) : 508, 1983.

human, especially contractile properties of isthmic smooth muscle, we examined 14 cases of ectopic pregnancy in regard to Ca^{++} sensitivity of chemically skinned fibers isolated from isthmic longitudinal smooth muscle of the oviduct.

Results obtained were as follows. In ectopic pregnancy group, Ca^{++} sensitivity of isthmic smooth muscle were same contractile properties compared with normal pregnancy group. 6 of 14 cases of ectopic pregnancy, however, Ca^{++} sensitivity were extremely reduced compared with others with significance in 3 points of pCa.

These results suggested that the contractile disorder of isthmic portion of the oviduct may induce the ectopic pregnancy in human, requiring further study.

(受付 : 昭和60年4月24日)

Etiological study of ectopic pregnancy
from the view point of contractile
properties in isthmic smooth
muscle of human oviduct

**Yoshiaki Shimizu, Kazuhiko Ochiai
and Shoichi Hachiya**

The Jikei University School of medicine De-
partment of obseterics and Gynecology

To know the etiology of ectopic pregnancy in

卵管妊娠の保存手術の適応に関する研究

Indications of the Conservative Surgical Treatment of the Tubal Pregnancy

東北大学医学部産科学婦人科学教室

星 合 昊 森 良 一 郎 上 原 茂 樹
Hiroshi HOSHIAI Ryoichiro MORI Shigeki UEHARA
京 野 広 一 対 木 章 小 野 寺 正 行
Koichi KYONO Akira TSUIKI Masayuki ONODERA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

近年卵管妊娠は破裂，または流産前に診断されることが多くなっている。一方，産婦人科領域にマイクロサージェリーが導入され，卵管妊娠の保存的治療法が勧められている。今回私達は卵管妊娠の3例に保存的治療法を施行した後，卵管妊娠を反復した症例を3例経験した。2例は他側卵管が既に前回卵管妊娠で摘除されており，そのうち1例は着床部を切除しての峡部一膨大部吻合術，1例は卵管切開後に再縫合し，術後MTXを15mg×6日投与したが，両者とも卵管妊娠を繰り返した。他の1例は非罹患側卵管が健常であったため着床部部分切除を施行したがその残存卵管に卵管妊娠を来した。これらの経験から卵管妊娠の保存的治療法の適応について検討した。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 69-74, 1986)

緒 言

子宮外妊娠，とりわけ卵管妊娠の保存的治療については古くから試みられている。しかし保存的治療を念頭においても卵管妊娠は卵管流産（内胎囊破裂）にせよ，卵管破裂（外胎囊破裂）にせよ，急性腹腔内出血によるショック様症状を呈することが多く，母体死亡率が0.38%以下²⁾とはいえ，保存的治療の可否よりも先ず，母体の生命確保が基本的治療であることには変わりがない。子宮外妊娠の発生機序，Risk Factorについては種々の可能性が古くから考えられており，特に最近は人工妊娠中絶術の増加，IUDの普及，骨盤内感染症（Pelvic Inflammation）の増加および治療，ミニピルの臨床応用，更にはマイクロサージェリーによる卵管形成手術症例の増加に伴い，子宮外妊娠の頻度は増加していると言われている³⁻⁵⁾。一方子宮外妊娠の診断についても高感度尿中HCG定量法の開発，超音波断層装置の進歩により卵管妊娠が破裂する前に診断の確定する頻度が増加しており，従来の破裂後の治療法とは自ずと変化している。と

りわけマイクロサージェリーによる卵管形成術が導入されてから，本邦においても破裂前の卵管妊娠に保存的治療を目的とすることが多くなり，このことが更に子宮外妊娠の原因ともなっていると思われる。今回私達は卵管妊娠に積極的に保存手術を実施するようになってから，3回目の卵管妊娠となった症例を2例，片側に2回目の卵管妊娠となった症例を1例経験したので，その臨床経過とともに卵管妊娠の保存的治療について文献的に考察を加え報告する。

症 例

症例1 26歳，会社員

家族歴・既往歴：特記すべきことなし。月経歴：初経14歳。25日周期。持続4日間。結婚・妊娠歴：21歳結婚。23歳左卵管妊娠→左卵管摘出術。

現病歴：23歳，某医にて卵管妊娠手術後1年頃より続発性不妊症として排卵誘発剤の投与，通水治療を受けている。26歳（昭57），妊娠10週不全流産で子宮内容清掃術施行後に子宮外妊娠を疑い当科紹介される。

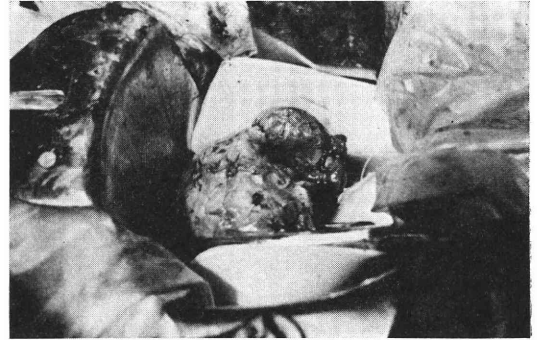
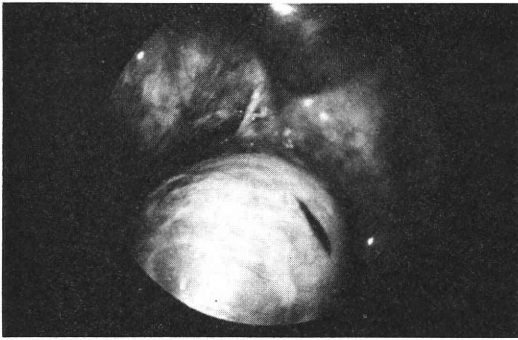


図 2 症例 1：卵管峡部一膨大部吻合術後

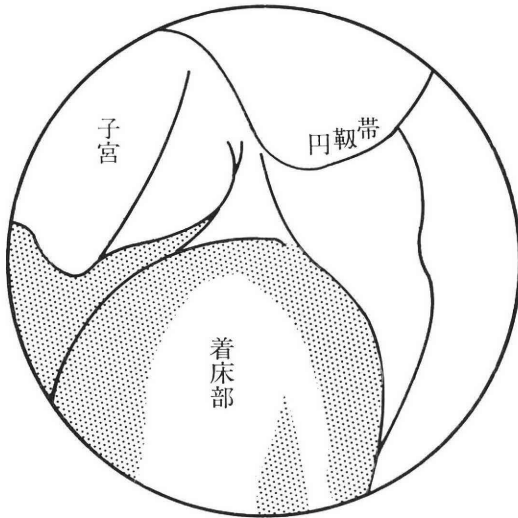


図 1 症例 1：腹腔鏡所見 右卵管妊娠

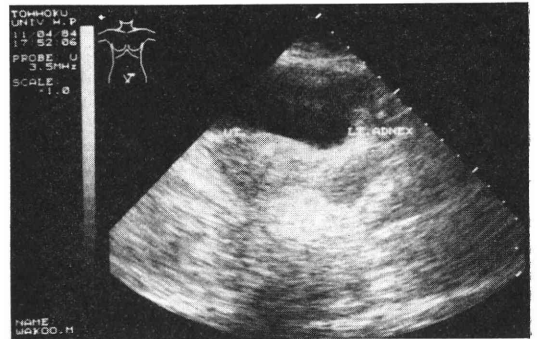


図 3 症例 2：超音波断層所見

現症および経過：初診時子宮正常大で右付属器に圧痛を伴う腫瘤を触れるが、その他異常所見なし、超音波断層所見にて子宮腔内に胎嚢はなく、右付属器に嚢胞状腫瘤を認める。妊娠反応陽性であり、子宮外妊娠の疑いの診断で入院、腹腔鏡を施行した。

腹腔鏡所見（図 1）：子宮は正常よりやや大、左卵管は子宮卵管結合部（Utero Tubal Junction：UTJ）より切除されている。右卵管には峡部から膨大部にかけ $3 \times 2 \times 2$ cm の卵管妊娠を思わせる腫瘤あり、卵管采は正常、腹腔内には少量の血性腹水あり。

手術術式および術後経過：右卵管妊娠着床部切除後、卵管峡部膨大部吻合術施行（図 2）。術後経過は順調にて術後 16 日目退院となる。

反復子宮外妊娠の経過：手術後 10 カ月目。前医により右卵管妊娠の診断にて右卵管切除術を施行した。現在、体外受精・胚移植を目的とし、当院通院中である。

症例 2 23 歳、会社員

家族歴・既往歴：特記すべきことなし。月経歴：初経

13 歳。28 日周期。持続 7 日間。月経困難症強。結婚・妊娠歴：18 歳妊娠 2 カ月人工妊娠中絶術、20 歳右卵管妊娠→右卵管摘除術。

現病歴：21 歳、子宮外妊娠手術後。不妊症・月経困難症を主訴として当科受診。漢方薬治療を受けていた。22 歳、月経困難症・腰痛著しく、子宮内膜症の診断にて腹腔鏡施行、右付属器周囲癒着以外特記すべき所見なく、腹腔鏡後は対症療法を受けていた。

現症：23 歳（昭 58・3 月）、下腹部痛を主訴として来院、妊娠 5 週超音波診断にて子宮腔内に胎嚢を認めず、左付属器部分に腫瘤像あり（図 3）妊娠反応（-）、尿中 HCG 160IU/l であつた。腹腔鏡にて左卵管膨大部妊娠を確認し、手術を施行した。

手術術式および術後経過：左卵管膨大部の上側に縦切開を加え卵管内容圧出を行ない、更に肉眼下および顕微鏡下で止血術を施行した（図 4）。術後卵管の疎通性を確認した。術後第 1 日目より MTX 15mg を 3 日間、側管静注、更に 3 日間筋注を行ない、術後 11 日目に退院した。

反復子宮外妊娠の経過：前回手術後 1 年 8 カ月後に左下腹部痛を主訴として来院、月経は予定日より約 2 週間遅れていた。HCG 640IU/l、超音波診断にて子宮内に胎嚢を認めず、左付属器部分に腫瘤像を認めた。開腹術に

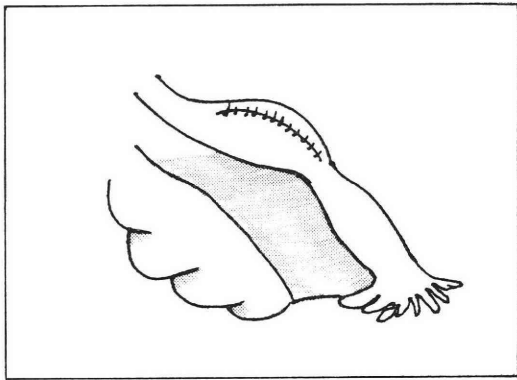


図 4 症例 2 : 術式のシェーマ

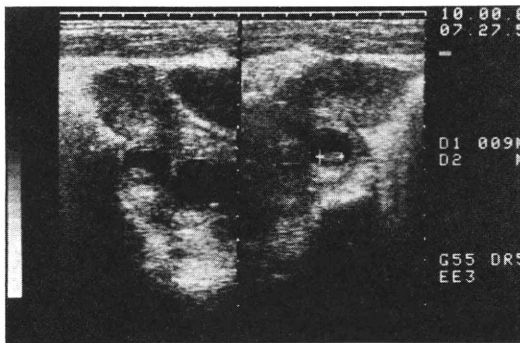


図 5 症例 3 : 超音波断層所見

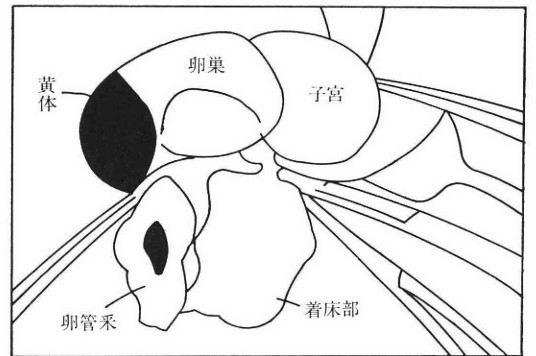
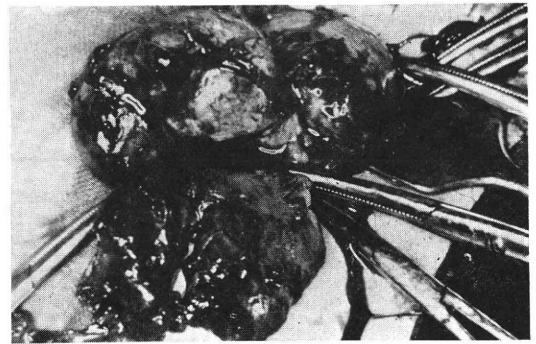


図 6 症例 3 : 開腹時所見

より左卵管膨大部妊娠であったが、患者の希望により左卵管摘出術を施行した。

症例 3 28歳, 主婦

家族歴・既往歴: 特記すべきことなし。月経歴: 初経 12歳。28日周期。持続 6 日間。月経困難症あり。25歳結婚。

現病歴: 28歳某医にて右卵管妊娠の診断にて開腹, 右卵管部分切除術を受けた。同時に子宮内膜症を指摘され術後 3 カ月目より 3 カ月間 Danazol 400mg/day の投与を受けた。28歳, 前回子宮外妊娠後 7 カ月目。Danazol 服用終了後, 次周期に同医にて妊娠 7 週子宮外妊娠の診断を受け, 当科紹介される。

現症: 28歳 (昭和 60・1 月), 初診時子宮はやや大, 右付属器部分に圧痛のある腫瘤を触れる。少量性器出血あり。超音波断層所見にて右付属器部分に胎嚢, 胎児部分, 胎児心拍動を確認した (図 5)。

手術所見: 開腹時 Douglas 窩に中等量の血性腹水を認めた。子宮は驚卵大で, 右卵管は前回手術により切断され, 卵管采と卵管峡部がある。残存卵管峡部に 4 × 3 × 3 cm 程の卵管妊娠を確認し, 右卵管切除術を施行した。術後 13 日目に軽快退院した (図 6)。

考 察

子宮外妊娠の発生機序については不明な点が多いが、本邦では沢崎がこの領域に卓越した論文を多数発表している^{4,9)}。それによれば卵管妊娠の発生機序については、①妊卵の卵管輸送障害および通過遅延、②妊卵の発育異常とくに急速発育、③妊卵の着床に対する受容力の亢進の 3 種の可能性を挙げている。また Edwards⁶⁾ は受精遅延の見られた妊卵が着床準備状態が不充分的のまま子宮腔内に到達し再度卵管内に戻る可能性も示唆している。②、③の可能性については、具体的には不詳であるが、①の卵管輸送障害、通過遅延の原因疾患は、近年、人工妊娠中絶後や Sexual Transmitted Disease (STD) の増加に伴う骨盤内感染症 (PID) の増加に加えて、抗生物質の改良に伴い、従来であれば卵管閉塞となるような症例が、軽度の卵管炎による通過障害で治癒する可能性が増してきている⁷⁾。更にマイクロサージェリーの導入により卵管形成術の頻度が増加⁸⁾しており、卵管輸送障害による卵管妊娠の頻度は増加してきている。ちなみに卵管形成術後の子宮外妊娠率は私共の少ない症例数でも妊娠数の 1/3 で、文献的にも 10%~30%^{8,9,10)} と、通常の妊娠の 10 倍以上の頻度である。また近年普及しはじめた子宮内避妊器具 (Intra Uterine Device : IUD) は主

たる作用機序が受精卵の着床障害であり、大部分の受精卵は死滅すると考えられるが、一部は再度卵管内に入り卵管妊娠になるとも言われている。また近年開発されているミニピル（プロゲステロン・ピル）は、症例によっては排卵を抑制せず、子宮内膜は着床準備状態不全のために卵管妊娠の原因となると言われている¹²⁾。以上述べたように子宮外妊娠の原因となる可能性は種々増加しているが、果して実際に増加しているか否かの統計的報告は少ない。

子宮外妊娠の診断法は近年著しく進歩した。そのひとつは高感度尿中 HCG/LH 試薬の開発である。従来、子宮外妊娠例の妊娠反応陽性率は66~85%と報告¹³⁾されており、陰性例もしばしばであった。しかし高感度 HCG/LH 試薬を使用すると、吉田ら¹³⁾は妊娠反応陰性例9例のうち尿中 HCG 160IU/l 以上のもの7例、80IU/l のものと40IU/l のもの各1例であったと報告している。本法は LH とも交叉反応を呈するが、HCG にして40IU/l は LH にすると100IU/l であり、通常は排卵期でなければ HCG 40IU/l=LH 100IU/l 以上の値を示すことはない。言い換えれば吉田らの報告¹³⁾では子宮外妊娠の全例が高感度 HCG/LH 試薬で検出できたことである。子宮外妊娠の診断法で著しく進歩したもう一つは超音波断層法の進歩である。子宮外妊娠、主として卵管妊娠の超音波診断の主な所見は、子宮内所見と子宮外所見に分けられる。子宮内所見として重要なものは、①びまん性均質な子宮エコー、②子宮の肥大、③子宮内妊娠像のないことであり、子宮外所見として重要なものは、①胎嚢または胎児像が見られる、②内部エコーを有する嚢胞状の不整形腫瘍、③腹腔内出血を示す Douglus 窩の嚢胞状腫瘍、などと言われている¹⁴⁻¹⁶⁾。子宮外妊娠の診断上における超音波診断の意義は単に子宮外妊娠を疑った時に有力な補助診断法であるのみではない。最近では正常と思われる妊娠の診断に超音波断層法が利用され、子宮内胎嚢の確認測定、胎児心拍動の確認、CRL（胎児頭臀長）の測定が一般診療としてなされていることが多い。すなわち一般診療で既に子宮外妊娠のスクリーニングを実施しているのと同義であり、必然的に破裂または流産する以前の子宮外妊娠が早期に疑診→確診のなされることが多くなっている。更に加えて、最近では産婦人科領域でも腹腔鏡が普及しており、従来の診断法に前述の高感度 HCG 試薬、超音波診断を実施しても確定診断の困難な症例には、腹腔鏡→確診→手術療法の過程も見られるため、一層保存手術の可能な時期の卵管妊娠の診断が得られるようになった。

卵管妊娠の保存手術についての歴史は古く、浜田¹⁷⁾によれば1953年 Stromme の報告¹⁾から数多く見られる。

卵管妊娠の保存手術の意義は妊孕能の保持であることは言うまでもないが、その適応が問題となる。まず卵管妊娠の非罹患側が健常である場合、根治術後も保存術後も子宮内妊娠率、子宮外妊娠率とも差のない報告が多い¹⁸⁾。しかし根治術後であつても反復子宮外妊娠率は報告者により差はあつても、0~28%¹⁷⁾と少なくとも10%程度はあるようである。更に根治術後にせよ保存術後にせよ不妊症になる可能性も含めると「少なくとも卵管再建の可能性は残すべき」と考えられた。野口ら¹⁸⁾も卵管妊娠に対してすべて根治術を施行するというのではなく、非罹患側卵管に妊孕性のない時はもとより、妊孕性ありと思われる症例に対しても整復・保存可能であれば保存手術を施行することにより卵管妊娠の分娩率の増加を期待できると述べている。しかし、非罹患側卵管が健常な時は保存的手術施行側の卵管への卵管妊娠の反復の可能性を常に考慮しなくてはならない。一方非罹患側が既に先行卵管妊娠その他の手術により妊孕性がない場合、根治術を施行することは絶対不妊を意味し、患者にとってその後の妊娠は体外受精・胚移植法以外には期待できない。

体外受精・胚移植法は1978年 Steptoe & Edwards ら¹⁹⁾が世界初の成功例を報告し、日本でも1983年われわれの報告²⁰⁾があり、その出生児数は1984年末までに既に1000人に及んでいると思われる²¹⁾。しかしながら体外受精・胚移植による妊娠成功率は世界の特定の施設では20~30%との報告²²⁻²⁵⁾があるが、日本、その他の施設では5~10%程度ではないかと思つている。その点、非罹患側卵管の妊孕性のない卵管妊娠の保存術式によれば25.2%近い子宮内妊娠率を得られることから、たとえ10.4%の反復子宮外妊娠の可能性¹⁷⁾があつても、現時点では保存術式を施行するべきと思われる。もつとも、この問題は体外受精・胚移植の成功率が上昇し技術を供給する施設の増加を見た時には、反復子宮外妊娠の恐れのある保存術式よりは根治手術→体外受精・胚移植とするべき時代になることは予想される。

卵管妊娠の保存術式は卵管内の着床部位により異なる。卵管采または采に近い膨大部の時には、卵管内容圧出+顕微鏡下止血法、または着床部切除術+卵管采形成術が行なわれる。卵管峡部または膨大部妊娠では本報告の症例2のように卵管縦切開により内容圧出と顕微鏡下止血術を行なうか、または症例1のように着床部切除後端々吻合術を実施する方法がある。卵管間質部妊娠においては保存手術が困難であるが、卵管移植術は施行できる。また保存的手術ではないが、症例3のように卵管峡部または膨大部妊娠の際、将来必要があれば卵管吻合術が可能のように着床部位のみを切除し残存卵管を盲端に

しておく術式もある。本術式は本来一側卵管が健康な場合患側に保存術式による反復卵管妊娠の可能性を防ぎ、将来健康側が何らかの理由で妊孕性を失う時に卵管再健術を施行する目的の術式であるが、症例 3 のように右側卵巣から排卵されたと思われる卵が外遊走し、子宮腔内に到達した後に更に内遊走のごとく反対側の盲端となっている卵管に着床した極めて希有な症例と思われる。しかし例え希有とはいえ類似の症例の報告もあり、このような症例が発症したことは今後本術式の適応を再検討する必要があると考えている。

一方手術療法による保存術式と異なり、非観血的治療法として、卵管破裂または流産前に診断のついた卵管妊娠に対して葉酸代謝拮抗剤で抗悪性腫瘍薬として絨毛性疾患に使用される Methotrexate (MTX) を投与する方法がある。子宮外妊娠に対する MTX 療法は従来でも腹腔妊娠時に使用されていたが、宮崎ら²⁰⁾は卵管妊娠 15 例に本治療法を施行し、急激に卵管流産を起こした 1 例を除き、14 例に有効であり、術後 HSG により卵管疎通性の検査をし得た 7 例のうち 6 例に再疎通性を確認したと報告している。またそのうち 2 例は治療後再妊娠したとのことであり、観血的保存療法との成績と比較しても非常に興味深い方法である。また症例 2 のように峽部に縦切開を加え、止血操作後に残存する絨毛細胞を目的として MTX を使用する方法もある。

おわりに

子宮外妊娠の保存的手術療法を施行し、2 例に患者にとつて 3 回目の卵管妊娠、1 例に片側 2 回の卵管妊娠を経験したので、保存的治療法の適応と限界について文献的考察を加えて報告した。

文 献

- 1) Stromme, W. B.: Salpingotomy for tubal pregnancy: Report of a successful case. *Obstet. Gynecol.*, 1 : 472, 1953.
- 2) 沢崎千秋: 子宮外妊娠に関する最近の問題点. *産婦治療*, 2 : 291, 1967.
- 3) Gregory, S.: Tubal conservation with ectopic gestations: A reappraisal. *The American Surgeon*, 50 : 222, 1984.
- 4) 沢崎千秋, 柳沢洋二: 子宮外妊娠. 金芳堂, 京都, 1972.
- 5) 沢崎千秋, 柳沢洋二: 着床部位の異常. *現代産科婦人科学大系*, 17A : p. 211-400, 中山書店, 1974.
- 6) Edwards, R. G.: Ectopic implantation in conception in the human female, p. 801-804, Academic Press, 1980.
- 7) Bronson, R. A.: Tubal pregnancy and infer-

- tility. *Fertil. Steril.*, 28 : 221, 1977.
- 8) Grant, A.: Infertility surgery of the oviduct. *Fertil. Steril.*, 22 : 496, 1971.
- 9) Hallatt, J. G.: Ectopic pregnancy associated with the intrauterine device: a study of seven cases. *Am. J. Obstet. & Gynecol.*, 125 : 754, 1976.
- 10) Scott, J. S., Lynch, E. M. and Anderson, J. A.: Surgical treatment of female infertility: value of paradoxical oophorectomy. *Br. Med. J.*, I : 631, 1976.
- 11) Hefnawi, F. and Segel, S. J. (Eds): *Analysis of Intrauterine Conception*. North-Holland, Amsterdam, 1975.
- 12) Rinehart, W.: Minipill—a limited alternative for certain women. *Population Report Series A. No. 3*. George Washington University Medical Center Washington, 1975.
- 13) 吉田 威, 佐藤博信, 服部 浩, 星合 昊: 卵管妊娠例の HMG. 産と婦, 43 : 106, 1975.
- 14) 関場 香, 赤松信雄: 子宮外妊娠. *臨床超音波シリーズ*, 坂元正一編: p. 122-132, 南江堂, 1984.
- 15) 島 功, 池野暢子, 渡辺正昭, 遠藤 紘, 高橋克幸, 丹野 修: 子宮外妊娠における超音波断層所見の検討. *産婦治療* 48 : 141, 1984.
- 16) 島 功, 池野暢子, 渡辺正昭, 遠藤 紘, 高橋克幸: 超音波断層装置による子宮外妊娠の早期診断. *産婦治療*, 46 : 399, 1983.
- 17) 浜田和孝, 迫 久男, 岡本吉夫: 子宮外(卵管)妊娠の保存的手術. *産婦の世界*, 34 : 573, 1982.
- 18) 野口昭二, 室井克夫, 前田光士, 渡辺 肇, 向井治文: 卵管妊娠の保存的手術—その適応と限界—. *産婦の実際*, 29 : 1303-1310, 1980.
- 19) Steptoe, D. C. and Edwards, R. G.: Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 8 : 336, 1978.
- 20) 鈴木雅洲, 星 和彦, 星合 昊, 齊藤 晃, 桃野耕太郎, 森良一郎, 京野広一, 対木 章, 今泉英明, 長池文康, 上原茂樹, 永沼孝子, 広瀬洋子: 体外受精・胚移植により受精・着床に成功した卵管性不妊症の 1 例. *日不妊誌*, 28 : 439, 1983.
- 21) 鈴木雅洲, 八日市谷隆, 上原茂樹, 星 合昊: 体外受精の現状と展望. 「ヘルシンキにおける国際会議を中心として. 受精・着床 '84, 学会誌刊行センター, p. 213, 1985.
- 22) Edwards, R. G., Fishel, S. B., Cohen, J., Fehilly, C. D., Purdy, J. M., Slater, J. M., Steptoe, P. C. and Webster, J. M.: Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. *J. IVF & ET*, 1 : 3, 1984.
- 23) Garcia, J., Acosta, A., Andrews, M. C., Jones, G. S., Jones, H. W. Jr., Mantzavinou, T., Mayer, J., McDowell, J., Sandow,

- B., Veeck, L., Whibley, T., Wilkers, C. and Wright, G. Jr.: In vitro fertilization in Norfolk, Virginia, 1980-1983. *J. IVF & ET*, 1: 24: 1984.
- 24) Trounson, A. and Wood, C.: In vitro fertilization results, 1979-1982, at Monash University, Queen Victoria, and Epworth Medical Centres. *J. IVF & ET*, 1: 42, 1984.
- 25) Suzuki, M., Hoshiai, H., Hoshi, K., Saito, A., Uehara, S. and Tsuiki, A.: In vitro fertilization and embryo transfer at Tohoku University, Sendai, Japan. *J. IVF & ET*, 1: 82, 1984.
- 26) 星合 昊, 上原茂樹, 対木 章, 京野広一, 永沼孝子, 鈴木雅洲: 卵採取とその取り扱い. 産婦の世界, 36: 375, 1984.
- 27) Gomel, V.: Conservative Surgical Treatment of Tubal Pregnancy in Microsurgery in Female Infertility. p. 111-124, Little, Brown and Company, Boston, Tronto, 1983.
- 28) Cartwright, P. S. and Entman, S. S.: Repeat ipsilateral tubal pregnancy following partial salpingectomy: a case report. *Fertil. Steril.*, 42: 647, 1984.
- 29) 宮崎幸雄, 椎名美博, 一戸喜兵衛: 子宮外妊娠における卵管保存療法. 産婦の世界, 36: 919, 1984.

Indications of the conservative surgical treatment of the tubal pregnancy

**Hiroshi Hoshiai, Ryoichiro Mori,
Shigeki Uehara, Koichi Kyono,**

Akira Tsuiki and Masayuki Onodera

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University School of Medicine

Recently conservative surgical treatments of the tubal pregnancy using microsurgical techniques has become common for the patients diagnosed before the tubal abortion or the tubal rupture.

In this study we discussed the indications of the conservative treatment which were treated by different operative methods. The first case of the isthmic pregnancy, which previously experienced tubal pregnancy in opposite side, underwent end-to-end anastomosis with the resection of the implantation site. The second tubal pregnancy case at the isthmic-ampullary junction, which also had a previous tubal pregnancy in opposite side, underwent salpingotomy to remove the content and then received MTX administration. Both patients experienced the third tubal pregnancy on the operated tube. The third case had segmental excision in another hospital at the previous tubal pregnancy. The opposite tube was healthy. She came to our hospital for the tubal pregnancy on the proximal portion of the residual tube.

According to our experiences, conservative surgical treatment is not always necessary but we must consider the indication for each case individually.

(受付: 昭和60年3月18日)

受精卵着床時の家兎子宮内膜における アラキドン酸代謝の変化について

Arachidonic Acid Metabolism in Rabbit Endometrium around Implantation period of Blastocysts

東京大学医学部産科婦人科学教室

石原 理 木下 勝之 堤 治
Osamu ISHIHARA Katsuyuki KINOSHITA Osamu TSUTSUMI

佐藤 和雄 水野 正彦
Kazuo SATOH Masahiko MIZUNO

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

受精卵着床へのプロスタグランジン (PG) の関与を明らかにするため、妊娠家兎の着床前後子宮内膜を採取し、 ^{14}C 標識アラキドン酸 (AA) を加えた培養液で培養した。着床部及び非着床部内膜における AA の取り込みと PG の産生を検討し、以下の結果を得た。

(1) 子宮内膜組織脂質中への AA 取り込みはリン脂質及び中性脂質に認められた。(2) 着床前子宮内膜の PG 生合成能は、day 6, day 7 と次第に増大する。(3) 着床直後の day 8 では、非着床部における生合成はさらに著しく亢進するが、着床部は一転して抑制される。(4) 脱落膜化の進行した day 8.5 では、PG 生合成の抑制は非着床部にまで及ぶ。(5) 脱落膜における PG 産生抑制は、初期妊娠維持機構のひとつと考えられる。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 75-79, 1986)

緒 言

受精卵の着床がプロスタグランジン (PG) 合成阻害剤インドメサシンにより阻止され、PG の投与により回復することから、着床に PG が関与していることが示唆されている。一方、子宮内膜は豊富な PG 産生能を有しており、家兎等の動物では、内膜由来の PG が黄体退縮に関与していることが明らかとなっている¹⁾。しかし、受精卵着床前後の子宮内膜における PG 産生動態の詳細は不明である。そこで、妊娠家兎を用い、着床直前、着床直後の着床部及び非着床部の子宮内膜におけるアラキドン酸代謝について、 ^{14}C 標識アラキドン酸を用いて検討し、アラキドン酸のリン脂質、中性脂質への取り込みと PG 産生の着床における意義につき考察した。

実験方法

1. 家兎子宮内膜の採取

体重 3~4 kg の成熟雌家兎 (ニュージーランド白色種) を交配し、交配日を day 1 とした day 6 (交配後 120 時間後) (n=3), day 7 (144 時間後) (n=4), day 8 (168 時間後) (n=4), day 8.5 (180 時間後) (n=2) に、ネンプタール (Abott) 麻酔下で開腹し、子宮を摘出した。

着床前の day 6, 7 では、子宮腔内を Medium 199 HEPES buffer (pH 7.4) で flush して胞胚を除去した後、子宮内膜を採取した。着床後の day 8, 8.5 では、子宮を間膜側で切開後、内膜内より胞胚を掘り出して除去し、肉眼的に明らかな着床部と非着床部の子宮内膜を採取した。検体は Medium 199 中で洗浄し、血液成分等を十分に除去後、秤量し湿重量 100 mg を実験に用いた。

2. 培養法

転換基質とした ^{14}C 標識アラキドン酸 (Amersham) は、あらかじめ薄層クロマトグラフィー (TLC) により純化した。このアラキドン酸 $0.5\mu\text{Ci}$ ($8.4 \times 10^{-9}\text{M}$) を含

む10% FBS (GIBCO) 添加 Medium 199 Hepes buffer (pH 7.4) 2 ml を入れた culture dish (Falcon 3001) 中で、細切した検体を、37°C 24時間、95% air+5% CO₂の条件下で培養した。氷冷により反応停止後、試験管に移し、3000rpm 5分間の遠心で、組織と上清に分離した。組織は、さらに培養液0.5ml で2回洗浄し、上清に加えた。

3. アラキドン酸代謝産物の抽出と分離同定

上清は1N 塩酸により pH 3.0とし、5倍量の酢酸エチルを用いて、アラキドン酸代謝産物を3回抽出した。抽出液に10分の1量の蒸留水を加え洗浄する操作を2回行ない不純物を除去後、濾過し窒素ガス下乾固し、酢酸エチルにて、TLC プレート (MERCK 5715) にのせ、酢酸エチル：イソオクタン：酢酸：水=130：30：20：100 (V/V)の溶媒系で展開した。TLC スキャナー (Aloka) 及びベータカメラ (Aloka) により、ピーク及びスポットを確認後、同時に展開した PGE₂、PGF_{2α}、6keto PG F_{1α} の標準品 (フナコシ) に相当する部位を削り、クロロホルム：メタノール=1：1 (V/V) 混合液で溶出した。一部を ACS II 液体シンチレーター (Amersham) 5 ml と混合し、シンチレーションカウンター (Aloka LSC 700) により、生成された代謝産物を定量した。

分離したアラキドン酸代謝産物は、高速液体クロマトグラフィー (Chromatic P321) を用い、³H 標識 PGE₂、PGF_{2α}、6keto PG F_{1α} (Amersham) との double isotope dilution method により同定した (carrier は26%アセトニトリル+酢酸, pH 3.5)。

4. 子宮内膜組織脂質の抽出と分離同定

組織に Medium 199 buffer 1 ml を加えた後、sonication (40W, 20秒) し、標識アラキドン酸を取り込んだ中性脂質及びリン脂質を、Bligh-Dyer 法⁴⁾により抽出した。リン脂質及び中性脂質は、TLC により、クロロホルム：メタノール：水=130：50：8 (V/V) の溶媒系を用いて展開分離した。次いで、リン脂質及び中性脂質のピークに相当する部位を削り、クロロホルム：メタノール=1：1 (V/V) 混合液で溶出し、リン脂質はそれぞれ、クロロホルム：メタノール：水=130：50：8 (V/V)とクロロホルム：メタノール：酢酸：水=85：15：10：4 (V/V) の2種の溶媒系を用いた二次元 TLC により、標準品と共に展開し同定した。中性脂質は、石油エーテル：エーテル：酢酸=80：20：1 (V/V) の溶媒系で TLC を展開し、標準品と同定した。

5. 推計学的処理

実験成績の推計学的処理は、Student's t test によつた。

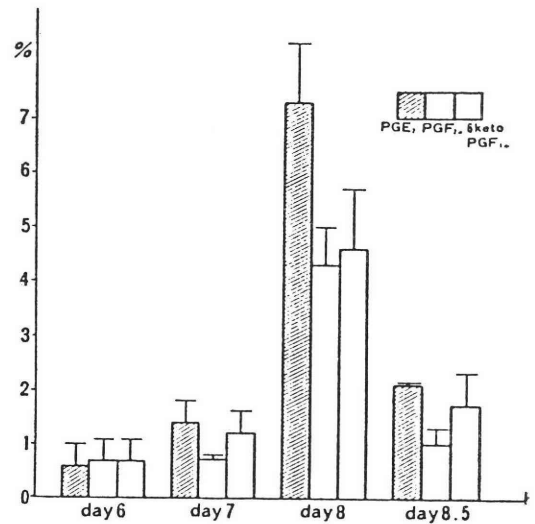


図1 Conversion rate of ¹⁴C arachidonic acid to PGs in non-implantation site of rabbit endometrium

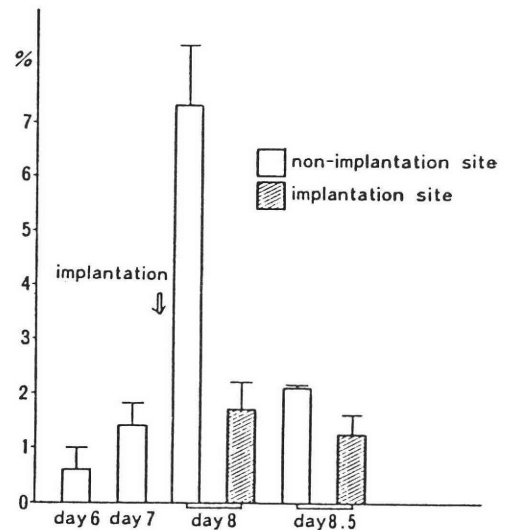


図2 Conversion rate of ¹⁴C arachidonic acid to PGE₂ in rabbit endometrium around implantation

成績

1. 家兎子宮内膜非着床部の PG 生合成能 (図1) 着床前の day 6 (n=3) では、アラキドン酸よりの PGE₂への転換率は0.6±0.4% (mean±S. D.: 以下同様)、PGF_{2α} 0.7±0.4%, 6keto PG F_{1α} 0.7±0.4%, day 7 (n=4) では、PGE₂ 1.4±0.4%, PGF_{2α} 0.7±0.1%, 6keto PG F_{1α} 1.2±0.4%であつた。着床直後の

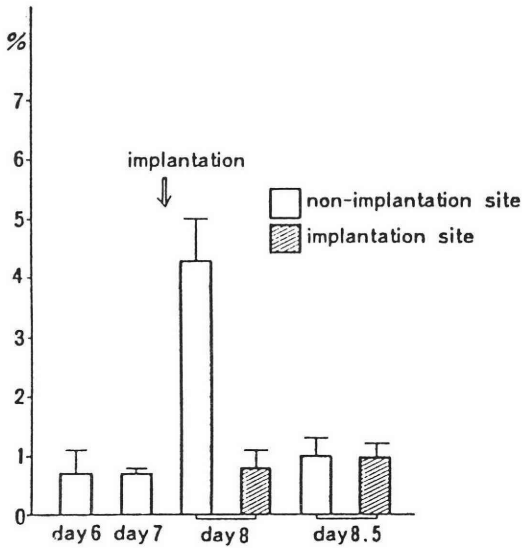


図 3 Conversion rate of ¹⁴C arachidonic acid to PGF₂α in rabbit endometrium around implantation

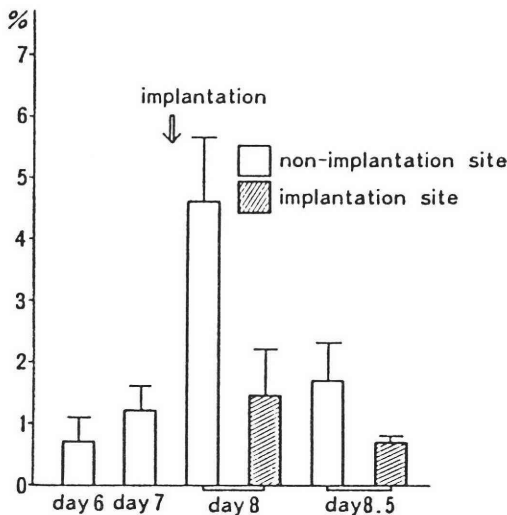


図 4 Conversion rate of ¹⁴C arachidonic acid to 6keto PGF₁α in rabbit endometrium around implantation

day 8 (n=4) の非着床部子宮内膜では、PGE₂ 7.3±1.1%, PGF₂α 4.3±0.7%, 6keto PGF₁α 4.6±1.1%と著しく増大し、胞胚を intact なまま除去することが不可能となる day 8.5 (n=2) では、PGE₂ 2.1±0.1%, PGF₂α 1.0±0.3%, 6keto PGF₁α 1.7±0.6%と減少した。

2. 非着床部及び着床部子宮内膜における PG 生合

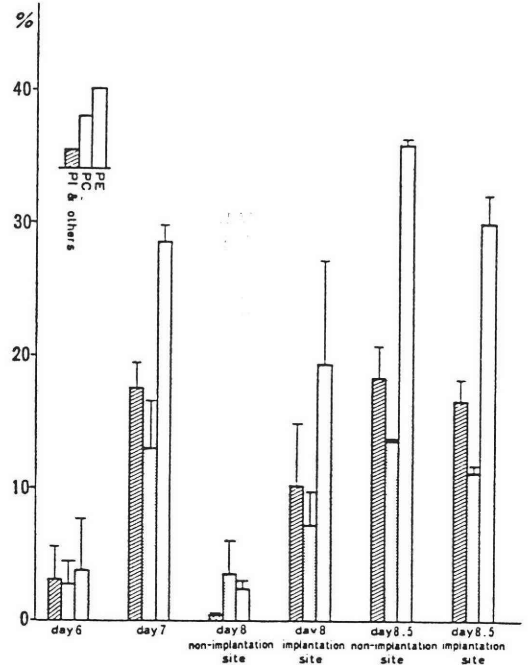


図 5 Incorporation of ¹⁴C arachidonic acid to phospholipids in rabbit endometrium around implantation

成能の比較 (図 2, 3, 4)

着床直後の day 8 の着床部では、PGE₂ 1.7±0.5%, PGF₂α 0.8±0.3%, 6keto PGF₁α 1.4±0.8%が、アラキドン酸から生合成された。これらは、いずれも day 7 と有意差が無く、day 8 非着床部に比較すると、有意に (P<0.05) 抑制された。一方、脱落膜化の進行した day 8.5 の着床部では、PGE₂ 1.2±0.4%, PGF₂α 0.9±0.3%, 6keto PGF₁α 0.7±0.1%と、さらに抑制されたが、非着床部にも PG 生合成能の抑制が及び、有意差は認められなかった。

3. アラキドン酸の子宮内膜組織脂質への取り込み (図 5)

組織リン脂質中へのアラキドン酸の取り込みは、day 6 で phosphatidylethanolamine (PE) 3.8±4.0%, phosphatidylcholine (PC) 2.8±1.7%, phosphatidylinositol (PI) およびその他のリン脂質 3.2±1.3%, day 7 でそれぞれ 28.5±1.3%, 12.8±3.8%, 17.6±1.9%であつた。day 8 では着床部で PE 19.4±7.8%, PC 7.2±1.6%, PI およびその他 10.2±4.7% であるのに対し、著しい PG 生合成の行なわれた非着床部では、それぞれ 2.4±0.7%, 3.6±2.3%, 0.5±0.1%と PE は有意に少なかった (P<0.05)。day 8.5 では、着床部で PE 30.0±2.2%, PC 11.2±0.5%, PI およびその他 16.6±1.6%,

非着床部でも、それぞれ、 $36.0 \pm 0.2\%$ 、 $13.6 \pm 0.2\%$ 、 $18.6 \pm 2.2\%$ と差が認められなかった。

また、中性脂質への取り込みは、monoglycerides, diglycerides, triglycerides, cholesterol ester に認められたが、検体によるばらつきが大きく、着床部、非着床部による差異を検討することはできなかった。

考 察

本研究では、PG が哺乳動物受精卵の着床に関与していることに着目し、妊娠家兎の着床前後の子宮内膜組織のアラキドン酸取り込みと PG 生合成能について検討、着床時のアラキドン酸代謝の変化を明らかにした。その結果をまとめると、以下のようである。(1) 家兎子宮内膜は、 PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、6keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ を産生する。(2) 受精卵着床前後に、内膜の PG 生合成能は増大し、ことに着床直後の非着床部子宮内膜は、多量の PG 生合成能を有する。(3) 一方、受精卵着床部周辺の子宮内膜では、むしろ PG 生合成能は抑制される。(4) 家兎子宮内膜組織脂質へのアラキドン酸取り込みは、phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine 等のリン脂質及び中性脂質に認められる。

Kennedy らは、ラットを用いて、Evans blue 反応により子宮内膜着床部を判別し、RIA により内膜中の PG を計測すると、本実験とは逆に、非着床部よりも PGE 、 PGF が高値であると報告している⁹⁾。そして、着床局所の透過性亢進や炎症細胞の出現等は、PG による内膜の変化である可能性を指摘している⁹⁾。一方、Pakrasi & Dey は、着床前後の家兎子宮内膜から、胞胚を除去すると、着床部の PGF 、 PGE は著しく減少すると報告⁷⁾しており、着床局所の子宮内膜に存在する PG は、胞胚由来である可能性を示唆している。

我々や Racowsky & Biggers 等は、家兎胞胚が着床前に著しい PG 産生能を有することを報告しているが^{8,9,10)}、着床直後に着床局所に存在する PG の産生組織は、子宮内膜のみでなく胞胚でもあり、着床部子宮内膜の PG が、30~50%程高値であるとする RIA による報告は、胞胚由来の PG を測定している可能性がある。一方、着床直前に著しい PG 生合成能を示した子宮内膜は、着床後脱落膜化が進むと共に、PG 生合成は低下するものと考えられる。

我々は既に、ヒト妊娠初期脱落膜やマウス着床前後の子宮内膜を用いて、脱落膜化した子宮内膜での PG 生合成能は低下することを明らかにした¹¹⁾。家兎、マウスのように、妊娠維持に黄体を必要とする種において、luteolytic な作用を持つ PG の子宮内膜における生合成能の低下は、妊娠維持機構のひとつとも考えられる。

Abell らは、ヒトの子宮外妊娠時の脱落膜化した子宮内膜を採取し、PG 生合成能を検討すると、正常妊娠の際の脱落膜と同様、非娠時より PG 生合成能が低下していることを示した¹²⁾。その結果、初期胚からの何らかの液性因子が影響を与えるている可能性が示唆されるが、詳細は明らかではない。

着床前後の子宮内膜 PG 生合成能の大きな変動を調節する因子を明らかにするためには、PG 産生の調節機構を解明する必要がある。マクロファージや血小板等の細胞で詳細に検討された PG 産生の調節機構の律速段階は、膜成分であるリン脂質に含まれるアラキドン酸の遊離機構にあると考えられているが、結論は出ていない¹³⁾。本実験では、¹⁴C 標識アラキドン酸のリン脂質及び中性脂質への取り込みを検討したが、活発な PG 産生を開始する day 7 から、リン脂質へのアラキドン酸取り込みも増大し、その後も維持されることが判明した。子宮内膜における着床前後のリン脂質代謝回転の活発化は、リン脂質のアラキドン酸が、PG 生合成の基質として、また他のリン脂質への acylation のための脂肪酸として重要であることを意味していると思われる。しかし、着床後、リン脂質代謝回転の増大にもかかわらず、脱落膜で PG 生合成能が低下することは、アラキドン酸の動員機構ではなく PG 生合成機構における変化による可能性を意味すると思われ、脱落膜での PG 生合成抑制機構は、今後の研究課題と思われる。

稿を終るに臨み、研究にあたり御指導、御助言賜りました坂元正一東京女子医科大学母子総合医療センター所長に深謝致します。

文 献

- 1) Hoffman, L. H.: Antifertility effect of indomethacine during early pregnancy in the rabbits. *Biol. Reprod.*, 18: 148, 1977.
- 2) 堤 治, 佐藤和雄, 木下勝之, 石原 理, 矢野哲, 水野正彦, 坂元正一: インドメサシンによるプロスタグランディン産生阻害の着床への影響 *日本臨床代謝学会記録* 21: 186, 1984.
- 3) Satoh, K., Kawai, Y., Ozaki, A., Kinoshita, K. and Sakamoto, S.: In-vitro production of prostaglandin E, F and 6-oxoprostaglandin F1 by the uterine and ovarian tissues of pseudopregnant rabbits. *Prostaglandins Leukotrienes Med.*, 11: 401, 1983.
- 4) Bligh, E. G. and Dyer, W. J.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911, 1959.
- 5) Kennedy, T. G.: Evidence for a role for prostaglandins in the initiation of blastocyst implantation in the rat. *Biol. Reprod.*, 16: 286, 1977.

- 6) Kennedy, T. G. : Prostaglandins and the endometrial vascular permeability changes preceding blastocyst implantation and decidualization. *Prog. Reprod. Biol.*, vol. 7, 234, Karger, Basel, 1980.
- 7) Pakrasi, P. L. and Dey, S. K. : Blastocyst is the source of prostaglandins in the implantation site in the rabbit. *Prostaglandins*, 24 : 73, 1982.
- 8) 石原 理, 木下勝之, 堤 治, 佐藤和雄, 水野正彦 : 家兎胞胚のアラキドン酸代謝. 受精着床 '84 : 108, 1985.
- 9) Racowsky, C. and Biggers, J. D. : Are blastocyst prostaglandins produced endogenously? *Biol. Reprod.*, 29 : 379, 1983.
- 10) Harper, M. J. K., Norris, C. J. and Rajkumar, K. : Prostaglandin release by zygotes and endometria of pregnant rabbits. *Biol. Reprod.*, 28 : 350, 1983.
- 11) 木下勝之, 石原 理, 堤 治, 矢野 哲, 佐藤和雄, 水野正彦, 坂元正一 : 着床とプロスタグランジン. *産婦の世界* 35 : 707, 1984.
- 12) Abell, M. H., Smith, S. K. and Baird, D. T. : Suppression of concentration of endometrial prostaglandin in early intra-uterine and ectopic pregnancy in women. *J. Endocr.*, 85 : 379, 1980.
- 13) Vogt, W. : Role of phospholipase A2 in prostaglandin formation. *Adv. Prostaglandins Thromboxane Res.*, vol. 3 : 89, Raven press, New York, 1978.
- 14) Hoffman, L. H., Davenport, G. R. and Brash, A. R. : Endometrial prostaglandins and phospholipase activity related to implantation in rabbits: Effects of dexamethasone. *Biol. Reprod.*, 30 : 544, 1984.

Arachidonic acid metabolism in rabbit endometrium around implantation period of blastocysts

**Osamu Ishihara, Katsuyuki Kinoshita,
Osamu Tsutsumi, Kazuo Satoh and
Masahiko Mizuno**

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

To elucidate the roles of prostaglandins (PG) in implantation of blastocysts, rabbit endometrium around implantation were obtained and cultured in Medium 199 with ^{14}C arachidonic acid (AA). Incorporation of AA into lipids in endometrial tissues and bioconversion of AA to PGs were investigated.

AA was mainly incorporated into neutral lipids and phospholipids such as phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. Conversion rate of AA to PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ and 6keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ in endometrium of preimplantation period increased from day 6 to day 7. And the bioconversion rate was markedly increased just after implantation (168 hours post coitum) at non-implantation site of endometrium (PGE_2 : 7.3 ± 1.1 , $\text{PGF}_{2\alpha}$: 4.3 ± 0.7 , 6 keto $\text{PGF}_{1\alpha}$: 4.6 ± 1.1 %), whereas, the rate at implantation site was significantly suppressed (PGE_2 : 1.7 ± 0.5 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ 0.8 ± 0.3 , 6 Keto $\text{PGF}_{1\alpha}$: 1.4 ± 0.8 %). Then the Conversion rate at non-implantation site was significantly suppressed (PGE_2 : 1.7 ± 0.5 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ 0.8 ± 0.3 , 6 Keto $\text{PGF}_{1\alpha}$: 1.4 ± 0.8 %). Then the conversion rate at non-implantation site became as low as that of implantation site at 180 hours post coitum. Therefore it is very likely that the blastocysts might play an important role on the control mechanism of production of PGs in endometrium around implantation and that the suppression of PG biosynthesis in decidua in early pregnancy takes part in maintenance of early pregnancy.

(受付: 昭和60年3月22日)

子宮内膜症不妊例の内分泌動態, 特にその黄体機能の検討

Luteal Function of Infertile Patients with Endometriosis

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室

楠原 浩二 小田原 靖 渡辺 直生
Koji KUSUHARA Yasushi ODAWARA Naoiku WATANABE
篠塚 正一 蜂屋 祥一
Masakazu SHINOZUKA Shoichi HACHIYA
Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University
School of Medicine, Tokyo

子宮内膜症を有する不妊患者18例に対し、一周期にわたり LH, FSH, estradiol (E_2), Progesterone (P), prolactin (PRL) を測定した。またその周期の着床期に内膜診を行ない、本症の内分泌動態、特に黄体機能について分析した。

1) 本症の LH, FSH は各日の tonic なレベルおよび midcycle surge とともにコントロールとの間に差がなかった。

2) 黄体期間は平均 13.9 ± 1.0 日(12-15日)で short luteal phase の例はみられなかった。

3) P レベルは Day 1, 2が低値の傾向を示したが、それ以降の黄体期には良好な分泌レベルを推移した。 E_2 もほぼ同様であった。

4) 高 PRL の例は存在しなかった。

5) 内膜診は8例中7例が日付診一致を示した。

以上の結果より、内膜症を有する不妊患者は排卵直後にPが低値を示すもののおおむね正常黄体機能を有する事が明らかであった。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 80-85, 1986)

結 言

外性子宮内膜症(以下内膜症と略)が重大な不妊原因である事は今日もはや疑う余地のないところである。

その不妊機序は、進行した内膜症の場合、内性器および腹膜の強い癒着により、卵管、卵巣の器質的、機能的障害をもたらし、不妊にいたらしめる事は明らかである。

しかし、本症が比較的軽症で、卵管、卵巣に著明な器質的異常のない場合や、あるいは本症が片側付属器に限局し、他側付属器が全く intact な例でもなお頑固な不妊に悩まされる例が少なくない。

このように軽一中等症の内膜症の真の不妊原因はなお

今日十分に解明されたとはいいがたい

近年、内膜症の不妊原因の一つに、本症には微妙なホルモン分泌の異常が合併するとの報告^{1,2)}がみられる。そこで今回、著者らは内膜症が主な不妊原因と考えられる不妊例の内分泌動態を、特に黄体機能の面より検討した。

検索対象および方法

検索対象は当科不妊外来を受診し、ルーチンの不妊検査にて内膜症を有する事以外に不妊原因がない不妊患者18例である。

検索方法の概要を図1に示した。すなわち卵胞期中期から、次回月経開始直前までの一周期を通し、可及的経

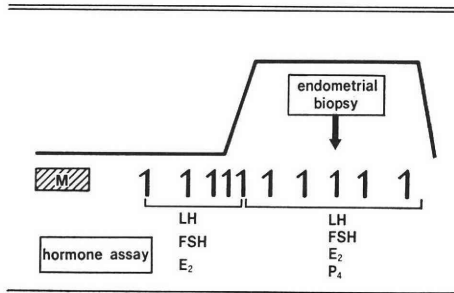


図 1 方法

目的に採血し、血清中 LH, FSH, estradiol-17β (E₂), progesterone (P), prolactin (PRL) を radioimmuno-assay にて定量し、さらにこの周期の LH surge の 6-9 日目に子宮内膜搔爬術をし日付診断を行なった。

内膜症の確定診断は腹腔鏡のみによるもの 9 例、腹腔鏡の後、直ちに開腹手術したもの 6 例、および当初から開腹し診断したものが 3 例、計 18 例である。

なお正常月経周期を有し、かつ問診、内診により内膜症を有しないと思われる非不妊成熟婦人に対し、前記のホルモン定量を行ない、その値をコントロールとした。

結 果

1. 内膜症不妊 18 例のプロフィール

対象とした 18 例のプロフィールを表 1 に示した。年齢は平均 30.7 ± 4.3 歳 (24-43 歳)、不妊期間は平均 4.3 ± 3.2 年 (1.0-11.0 年) である。

不妊の種類は 18 例全例が原発性不妊であった。内膜症の確定診断法は先に述べた通りである。

この 18 例の内膜症の進行度を American Fertility Society (AFS) の分類⁹⁾に従い分類し表 2 に示した。すなわち stage I は 2 例・11.1%, II は 10 例・55.6%, III は 6 例・33.3% であり、stage IV は今回の対象例には見られなかった。

2. 内膜症不妊例のホルモン分泌動態

1) 月経周期

各例の検索時における月経周期の長さを、卵胞期 (月経第 1 日から LH surge 前日までの期間) と黄体期 (LH surge の次の日から次回月経開始前日までの期間) に別け分析した。その結果は表 3 のごとく、卵胞期は平均 13.9 ± 3.6 日 (10-20 日)、黄体期は平均 13.9 ± 1.0 日 (12-15 日) であった。

2) gonadotropin の分泌動態

内膜症 18 例 (open circle) の血中 LH, FSH の経日の分泌動態をコントロール (shadow) と比較し図 2 に示した。

表 1 対象例のプロフィール

年 齢	30.7 ± 4.3 歳 (24~43 歳)
不妊期間	4.3 ± 3.2 (1.0~11.0 年)
不妊の内訳	原発性不妊 18 例 続発性不妊 0 例
内膜症の確定診断	腹腔鏡 9 例 開腹術 9 例 (腹腔鏡→開腹術の例も含む)

表 2 子宮内膜症の進行度

I	2 例
II	10
III	6
IV	0

(AFS 分類による)

表 3 内膜症不妊例の月経周期

卵胞期	13.9 ± 3.6 日 (10-20 日)
黄体期	13.9 ± 1.0 日 (12-15 日)

(M ± SD)

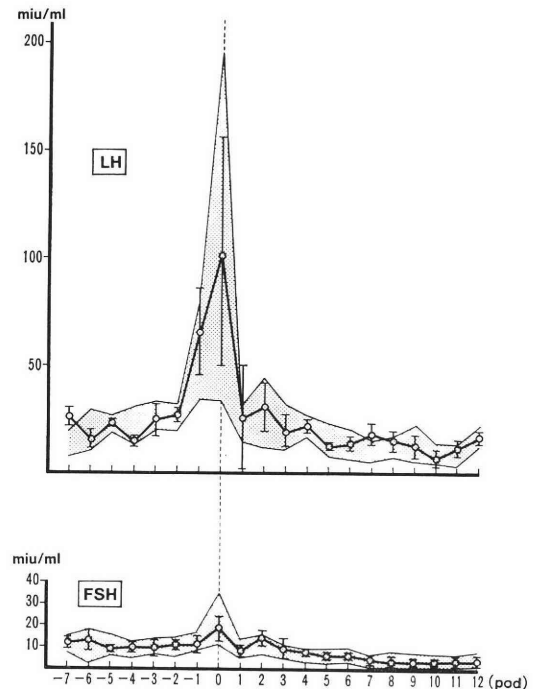


図 2 内膜症合併不妊例のホルモン分泌動態 (1) LH, FSH (M ± SD)

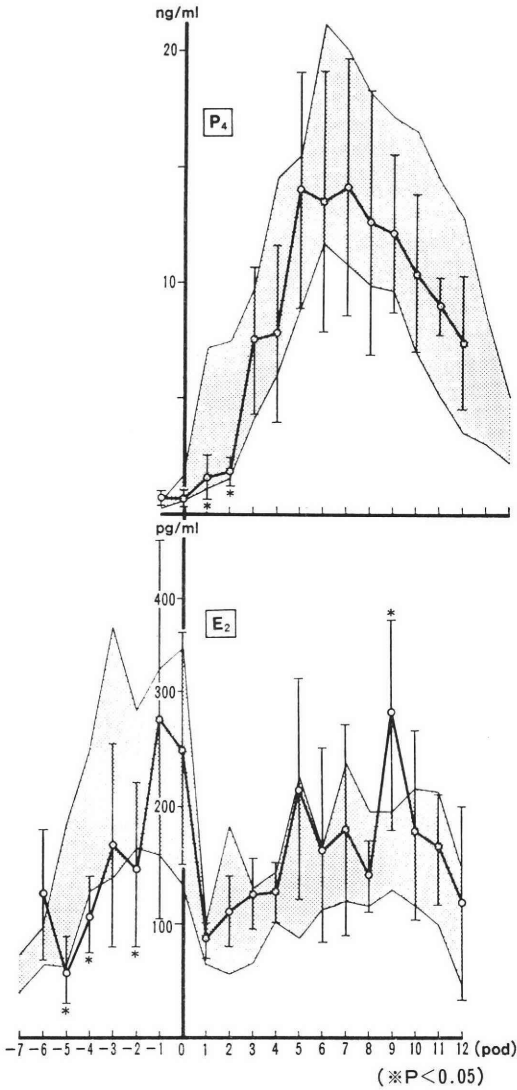


図 3 内膜症合併不妊例のホルモ分泌動態 (2) Progesterone, estradiol (M±SD)

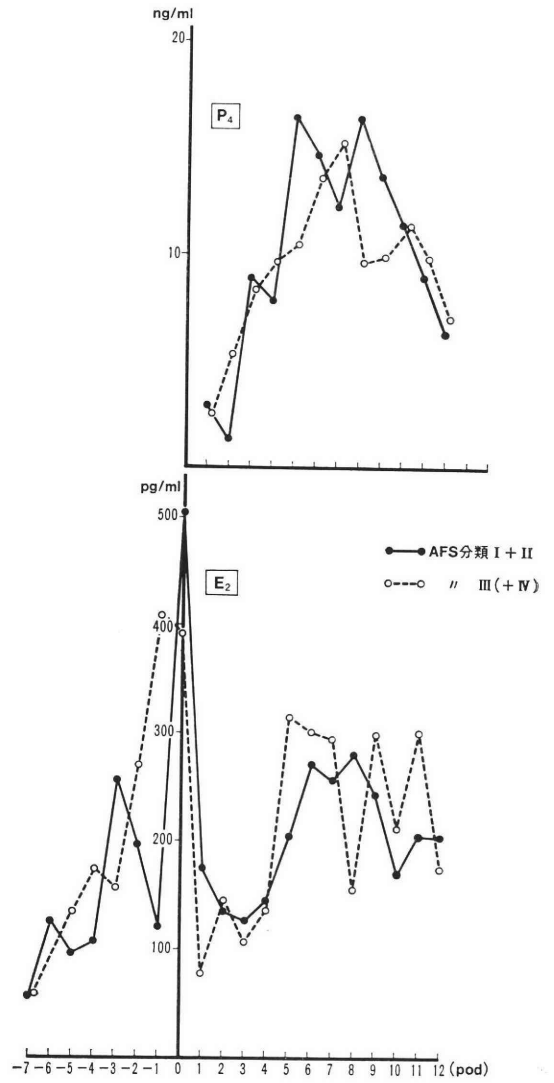


図 4 内膜症の進行度による progesterone, estradiol 分泌の比較

すなわち LH, FSH の tonic なレベルは卵胞期, 黄体期の各日ともコントロールと比較し, 有意差がみられなかった。

また LH の mid cycle surge もコントロールと比較し有意差がみられなかった。

3) progesterone (P), estradiol-17β (E₂) の分泌動態

内膜症18例の P, E₂の平均値 (M±SD, open circle) をコントロール (shadow) と比較したものが図3である。

すなわち内膜症例のPは LH surge 後, 第1, 第2日目 (Day 1, 2) にコントロールと比較し低値の傾向を

示したが, Day 3以降はコントロールと極めて類似した分泌動態を示し, Day 7に14.1±5.5ng/ml の surge を形成した。これはコントロールが Day 6に16.3±4.7ng/ml の surge を形成するのに比べ1日の遅延を示したが, surge の値には有意差がみられなかった。また黄体期後期の各日とも内膜症例とコントロールの間には有意差がみられなかった。

一方, E₂は, 内膜症例はコントロールに比較し, Day -5, -4, -2にそれぞれ低値の傾向 (P<0.05) を示した。

黄体期では Day 9の1日のみ逆に高値を示した。しかし, それ以外の黄体期各日の E₂ はコントロールとの

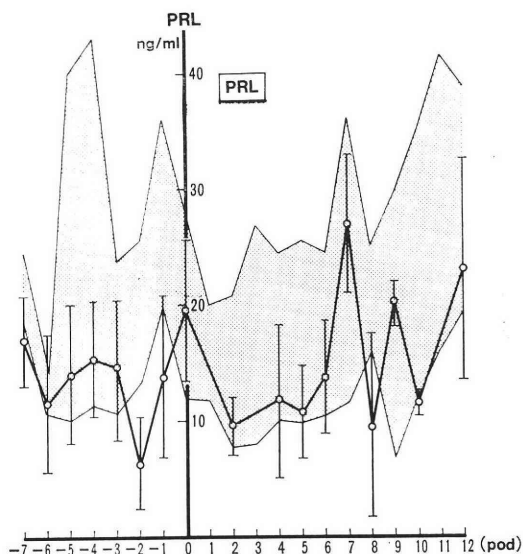


図 5 内膜症合併不妊例の Prolactin 分泌動態

表 4 内膜症合併不妊例の着床期内膜診の結果

in phase	7 例
out of phase	1 例
	8 例

間に有意差がみられなかつた。

さらに内膜症の進行度により P, E₂ 分泌に差があるか否かを検討するため, ASF 分類 stage (I + II) の 12 例と, stage (III) の 9 例に別け両群の P, E₂ 分泌を比較した。

図 4 に両群の P, E₂ の平均値をプロットして表わした。P では stage(III)の進行例は一時的(Day 5, 8, 9)に低値の傾向を示すものの, stage (I + II) との間に有意差がなく, またその他の日も両群はほぼ同様の分泌レベルを推移した。

E₂ は両群は全期間を通し決めて類似した分泌動態を示し, 差がみられなかつた。

4) prolactin (PRL) 分泌動態

コントロールの PRL の値は平均 $20.8 \pm 4.8 \text{ ng/ml}$, 内膜症例のそれは平均 $14.5 \pm 5.3 \text{ ng/ml}$ であり, 両群間に有意差はみられなかつた。

さらに内膜症例の PRL (open circle) を各日毎にコントロール (shadow) と比較し示したものが図 5 である。内膜症例の PRL は各日ともコントロールと比較し有意差がみられなかつた。また個々の症例の経日的観察でも持続的高 PRL を示す例はみられなかつた。

3. 内膜症不妊例の着床期内膜診

ホルモン測定を行なつた 18 例のうち, 内膜診を行なつた例は 8 例である。

その結果を表 4 に示した。日付診が内膜採取日と ± 2 日の範囲内で一致する一致例 (in phase) は 7 例・87.5% であり, 不一致例 (out of phase) はわずか 1 例・12.5% であつた。

考 察

内膜症が不妊の原因となる理由は現在までのところ先に述べたような, 内膜症に伴う癒着, そしてこれによる内性器の機能的, 器質的障害が主なものと考えられてきた。

しかし内膜症の病変が初期あるいは軽症の場合, あるいは病変が一側の付属器に局限している場合はこれらの事は必ずしもあてはまらない。

その解答として近年, 本症に伴う腹水中の Prostaglandin が注目されてきた。Shenken⁴⁾, Drake⁵⁾, Meldum⁶⁾ らは, 本症の腹水中に存在する高濃度の Prostaglandin が卵管の運動性に変調をきたし, 卵の輸送を障害し, これが直接的な不妊の原因であると指摘している。

しかし内膜症例の腹水中の Prostaglandin は, 非内膜症に比較し有意に増加してはいないとの見解 (Rock⁷⁾) もある。また小林⁸⁾らによれば, 内膜症が進行するに従い腹水量は増加するものの, 腹水量, 腹水中 Prostanoid と retrospective な妊娠率との間には有意な相関はないという。

このように近年注目されている腹水中の Prostaglandin でもなお十分にその不妊機序を説明し得ていないのが現状かと思われる。

一方, 本症の不妊原因を卵巣機能の面から検討した報告も少なくない。

Brosens⁹⁾らによれば, 内膜症では排卵を伴わない黄体化 (luteinization in situ, luteinized unruptured follicle syndrome) がしばしば出現し, これが本症の重大な不妊原因であるとの指摘もある。

また排卵はするものの, 黄体機能不全が発症しやすいとの報告 (Pittway⁹⁾, Cheesman¹⁰⁾) もみられる。しかし, これも Prostaglandin と同様, 本症での P 分泌は非内膜症例と比較し, 殆んど有意差がないとする Radwanska¹¹⁾らの意見もありまだ見解の一致をみていない。

そこで今回, 著者らは先に述べた方法にて内膜症不妊例を, 一つは BBT により黄体期間を分析し, いま一つは連続的に P を測定し, さらには内膜診を行ない本症の黄体機能の判定を試みた。

対象とした 18 例の年齢は平均 30.7 ± 4.3 歳 (24-43 歳) と高齢で, また不妊期間も平均 4.3 ± 3.2 歳 (1.0-11.0

年)と比較的長期な不妊例が多かつた。また18例全例とも原発性不妊である事より、今回の検索例は比較的頑固な不妊である事が推察される。

これらのホルモン分泌動態は、gonadotropin に関しては LH, FSH とともにコントロールと極めて類似した分泌動態を示し、Brosens²⁾の報告と一致し、本症の gonadotropin 分泌は極めて良好であると考えられた。

つぎに本題のP分泌であるが、先に述べたように、今回の検討では内膜不妊例のPは排卵後1、2日目のみ低値の傾向を示し、他の日は黄体期間を通し、コントロールと極めて類似の分泌パターンを示した。E₂もほぼ同様である。

このように本症のP分泌を経目的に追跡した報告は多くはない。著者とほぼ同様の症例(mild 6例, moderate 9例, severe 9例)を対象にした Brosens²⁾の報告も全く著者と一致し、LH surge 後の第1、第2日目のPが有意に低値である事より本症におけるP分泌の立ち上がりの悪さを指摘している。また、黄体中期でのPレベルが良好に維持される事も著者の結果と同様である。

また Cheesman¹⁰⁾は本症の尿中 pregnandiol を経目的に定量し、Day 0 から Day 6 でのそれは、コントロールと比較し有意に低値であり、黄体期中期一後期ではコントロール(男性不妊、卵管閉鎖等の絶対的不妊因子を有するが内膜症が存在しない事が確認し得た例)と同一のレベルを推移するとの結果を得ている。

このような点より本症のP分泌動態は黄体期間初期におけるP分泌の立ち上がりは不良であるがそれ以降は良好な分泌レベルを推移する事が本症のP分泌パターンの特徴であると考えられた。

従来の文献より本症に黄体機能が合併するとの報告を詳細に分析してみると必ずしもその根拠は明白ではない。Pittway⁹⁾は内膜症患者の内膜診に遅延例が多いとの点より本症での黄体機能不全の存在を指摘している。

しかし内膜の形態がP分泌の正否を全て正確に反映しないばかりか、両者にしばしば discrepancy が存在する事は既に多くの報告(Gravinis¹²⁾, 楠原¹³⁾)がある。したがって内膜診の結果のみから内膜症不妊には黄体機能不全が併発すると結論を下すのは早計であろう。

また Hargrove¹⁴⁾は黄体期中期での3 points のP測定値が低値である事から、黄体機能不全の存在を結論している。しかし検索対象例が乳汁漏と月経前症候群を有している特殊な例である事、さらに測定の時期が実際 LH surge から何日目であるか不明である点など、問題がなしとはしない。著者と殆んど同様の対象例で検索した Radwanska¹¹⁾は、内膜症例のP surge はコントロールと全く差がないと報告している。

これらの事は、今回、AFS (I + II) 群と AFS (III) とでそのPの推移を比較し、両群に差異がない事実からも裏づけられるものと思われる。また内膜診の面から本症を検討すると、今回は18例中内膜診を実施したものはわずか8例にすぎないが、日付診が遅延する例はわずか1例・12.5%にすぎず、残り7例、87.5%は全く正常であつた。

この点からも本症の黄体機能には問題がない事がうかがわれる。

最後に本症の PRL 分泌について考察してみたい。今回、の検索対象には乳汁漏を有する例はなく、また持続的な高 PRL 血症例も存在しなかつた。また各日の PRL レベルをコントロールと比較すると、内膜症はむしろ低値を推移するといつてもいい結果であつた。

Hirschowitz¹⁵⁾は検索した内膜症9例のうち8例が乳汁漏をしめし、かつそのうちの2例が高 PRL 血症であつた事より、このような例を“galactorrhoea-endometriosis syndrome”とよんでいる。

また Muse¹⁶⁾は14例の内膜症不妊例と13例の非内膜症不妊例の PRL を比較した結果、基礎値では両群に有意差がみられないものの、TRH 負荷にて前者は後者に比較し有意な上昇を示したという。

このように PRL と内膜症不妊との関連性を否定は出来ないが、その詳細についてはなお今後検討の余地があると思われる。

おわりに

内膜症を有する不妊婦人18名に経目的ホルモン測定を行ない、その内分泌動態、特に黄体機能を検討した。

文 献

- 1) Kistner, R. W.: Management of endometriosis in the infertile patient, *Fertil. Steril.*, 26 : 1151, 1975.
- 2) Brosens, I. A., Koninckx, P. R. and Corveleyn, P. A.: A study of plasma progesterone, estradiol-17 β , prolactin and LH levels, and of the luteal phase appearance of the ovaries in patients with endometriosis and infertility, *Brit. J. of Obstet. and Gynecol.* 85 : 246, 1978.
- 3) The American Fertility Society: Classification of endometriosis, *Fertil. Steril.* 32 : 633, 1979.
- 4) Schenken, R. S., Asch, R. H., Williams, R. F. and Hodgen, R. D.: Etiology of infertility in monkeys with endometriosis: Measurement of peritoneal fluid prostaglandins, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 15 :

- 349, 1984.
- 5) Drake, T. S., O'Brien, W. f., Ramwell, P. W. and Metz, S. A.: Peritoneal fluid thromboxane B₂ and 6-Keto-prostaglandin F_{2α} in endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 140 : 401, 1981.
 - 6) Meldum, D. R., Shamonki, I. M., Clark, T. E., Rubinstein, L. M. and Lebherz, T. B.: Prostaglandin content of ascitis fluid in endometriosis; a preliminary report: Presented at the Twenty-Fifth annual meeting of the Pacific Fertility Society, Oct. 1977.
 - 7) Rock, J. A., Dubin, N. H., Ghodgaonkar, R. B., Bergquist, C. A., Erozan, Y. S. and Kimball, A. W.: Cul-de-sac fluid in women with endometriosis; fluid volume and prostanoid concentration during the proliferative phase of the cycle-day 8-12, *Fertil. Steril.*, 37 : 747, 1982.
 - 8) 小林善宗, 井上正人, 本田育子, 金子みつ恵, 藤井明和: 軽症子宮内膜症と不妊の関連について—腹水量および Prostanoid 濃度の分析—, 第 5 回エンドメトリオシス研究会講演集, 109, 1984.
 - 9) Pittway, D. E., Maxon, W., Daniell, J., Herbert, C. and Wentz, A. C.: Luteal phase defects in infertility patients with endometriosis, *Fertil. Steril.*, 39 : 712, 1983.
 - 10) Cheesman, K. L., Cheesman, S. D., Chatterton, R. t. and Cohen, M. R.: Alterations in progesterone metabolism and luteal function in infertile women with endometriosis, *Fertil. Steril.*, 40 : 590, 1983.
 - 11) Radwanska, E. and Dmowski, W. P.: Luteal function in infertile women with endometriosis, *Infertility*, 4 : 269, 1981.
 - 12) Gravinis, A., Zorn, J-R., Tanguy, G., Neumann, C., Cedard, L. and Robel, P.: The "dysharmonic luteal phase.": endometrial progesterone receptor and estradiol dehydrogenase, *Fertil. Steril.*, 42 : 730, 1984.
 - 13) 楠原浩二: 不妊婦人における着床期子宮内膜形態と卵巣ステロイドホルモンとの関連について, *産婦の世界*, 36 : 713, 1984.
 - 14) Hargrove, J. T. and Abraham, A. G.: Abnormal luteal function in endometriosis, *Fertil. Steril.*, 17 : 514, 1979.
 - 15) Hirschowitz, J. S., Soler, N. G. and Wortsman, J.: The galactorrhea-endometriosis syndrome, *Lancet*, 1 : 896, 1978.
 - 16) Muse, K., Wilson, E. A. and Jawad, M. J.: Prolactin hyperstimulation in response to thyrotropin-releasing hormone in patients with endometriosis, *Fertil. Steril.*, 38 : 419, 1982.

Luteal function of infertile patients with endometriosis

**Koji Kushihara, Yasushi Odawara,
Naouku Watanabe, Masakazu Shinozuka
and Shoichi Hachiya**

Department of Obstetrics and Gynecology, The
Jikei University School of Medicine

Hormonal assay were carried out to investigate the luteal function of infertile patients with endometriosis.

In 18 infertile patients with endometriosis, serum LH, FSH, estradiol (E₂), progesterone (P), and prolactin (PRL) were measured daily throughout the menstrual cycle.

In addition, endometrial biopsies were done at nidatory phase.

1) LH and FSH levels were similar comparing patients with to without endometriosis during the follicular and luteal phase.

2) P levels of infertile patients with endometriosis were less than that without endometriosis at the early luteal phase (Day 1, Day 2), however became similar to that without endometriosis throughout mid and late luteal phase.

3) Concerning P secretory pattern, advanced endometriosis (AFS I + II) was not different from early endometriosis (AFS I + II).

4) Hyperprolactinemia was not demonstrated in infertile patients with endometriosis.

In conclusion, this proved that there was no luteal insufficiency in infertile patients with endometriosis.

(受付: 昭和60年4月22日)

骨盤子宮内膜症治療へ Buserelin の試み

Treatment of Pelvic Endometriosis by Intranasal Insufflation of Buserelin

京都府立医科大学産婦人科学教室

玉 舎 輝 彦 藤 本 次 良 岡 田 弘 二
Teruhiko TAMAYA Jiro FUJIMOTO Hiroji OKADA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyoto Prefectural University of Medicine

LH-RH アナログである Buserelin を長期経鼻腔内噴霧投与により、down-regulation の結果、特に卵巣 estrogen 産生の低下から得る、骨盤内子宮内膜症の治療効果を検討し、あわせてこの治療効果のための Buserelin 至適用量を検索した。8例に初回投与量を300 μ g/日、600 μ g/日、900 μ g/日に分け、血中 estradiol-17 β (E₂) が30pg/ml 以上の時は300 μ g/日の増量を行った。投与した症例ではどの群でも血中 E₂ 値を基準にするなら増量せざるを得なかったが、内診所見からは内膜症改善が投与1カ月以後に多かれ少なかれ認められた。また初回投与量に無関係に、初期の頃のみには排卵があるものや、全くないものも認められた。また無排卵性の出血が散発的に投与中を通しある場合も全くない場合もあり、このことと投与量とは無関係であった。Buserelin 投与中の血中 E₂ 値は投与量の増量にかかわらず、治療中は、目標値に低下しにくいようであるが、6カ月投与し測定し得た症例では血中 E₂ 値は目標に達して、多くは Buserelin 900 μ g/日以上投与を必要としているようだ。投与中を通し、低 estrogen 状態からくる hot flush は、認められなかった。投与終了後の排卵回復日は最終投与量と無関係、[29.5 \pm 4.8 (SE)] で早くて投与終了後9日目遅くて50日目であった。

以上投与量のいかんにかかわらず、Buserelin 投与により無排卵になり血中 E₂ 値の変動の割には Buserelin は骨盤子宮内膜症の治療に有効であった。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 86-90, 1986)

緒 言

子宮内膜症に内分泌療法がなされ、特に近年は danazol¹⁻³⁾のような合成 steroid 剤が著効を示すことが認められてきた。これらによる治療効果の発現機構は主に抗 estrogen 作用によると考えられている。子宮内膜は estrogen によって増殖し、異所性に発育した内膜、つまり内膜症も estrogen によって増殖しうる可能性が考えられてきた。したがって薬剤が抗 estrogen 作用をもつのなら異所性内膜の増殖を抑制しうる。したがって内因性の estrogen のない状態に置くことも内膜症治療に有効となるはずである。つまり本研究で用いた Buserelin がこれにあたる。これは合成の LH-RH アナログで、この持続長期投与により下垂体で LH, FSH 分泌に対する LH-RH の脱感作がおこり LH, FSH の合成低下⁴⁾ならびに、卵巣機能の gonadotropin down-regulation などの結果から卵巣で steroid 産生抑制がもたらされ

る。この結果、血中 estrogen が低下し、治療効果となる。今までに骨盤子宮内膜症に Buserelin が用いられた報告が諸外国であるが⁵⁾、今回日本で Buserelin を内膜症患者に鼻腔内噴霧投与したときの至適用量を検索し、臨床効果および安全性が検討されている。ここではわれわれが経験した8例を報告する。

対象および研究方法

京都府立医科大学付属病院産婦人科を訪れた患者が対象となり、試験期間は昭和59年7月1日より昭和60年5月31日までとした。子宮内膜症の診断は典型的な徴候と症状により行なつた。病変の重症度は Beecham⁶⁾の分類に従つておこなつた。その年齢構成は32歳より42歳にわたり、平均年齢は38.1 \pm 1.3歳であつた。勿論対象患者は原発性癌、転移性癌を除外し得るものとした。使用薬剤は Buserelin (D-Ser [TBU]⁶-des-Gly-NH¹⁰, Hoechst 社製)を用いた。Buserelin は1回鼻腔内に150 μ g を両

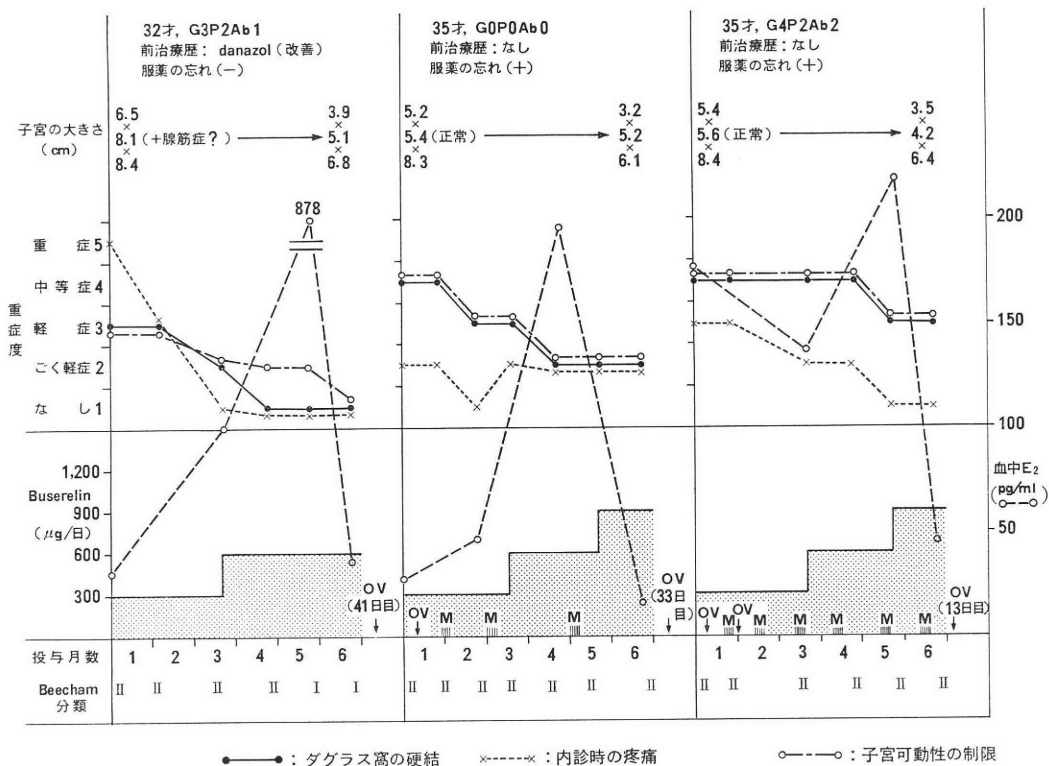


図 1 初回 Buserelin 300 μ g/日で鼻腔内投与した症例 (1回1噴霧150 μ gを両鼻腔に投与する.)
 OV は ovulation (排卵) であり, M は menses (月経) である。

鼻腔に噴霧し, 初回投与量を 300 μ g/日, 600 μ g/日, 900 μ g/日に分け, 血中 estradiol-17 β (E₂) 濃度が30pg/ml 以上のときは (ただし約2カ月毎にしか測定していない) 300 μ g/日の増量を行なうことにし, 増量は1200 μ g/日を限度とした。

結 果

初回投与量を3つの群に分けて Buserelin 投与を始めた。

まず1日 Buserelin 300 μ g で始めた場合 (図1), 血中 E₂ 値は十分に低下せず Buserelin を増加せざるを得なかった。ところが服薬の忘れがあるうとなかろうと, 排卵は300 μ g/日で, おそくとも2カ月以内になかった。血中 E₂ 値や Buserelin の増量と無関係に内診所見が改善されることから何らかの形で Buserelin による内膜症への治療効果はあるようだ。Buserelin 投与によつて, down-regulation が起こるのであろうが, 服薬忘れ, 服薬後の採血時間が関係してか, LH-RH アナログの刺激によつて血中 E₂ が高値を示しているように思える。本質的に血中 E₂ を下げることが Buserelin による治療に結びつくのであるから, この群で検討された300 μ g/日の

初回投与量は一部内診所見が良くなつてはいるが, 有効量とはいえないと考えられる。

Buserelin 600 μ g/日で治療を始めた2例 (図2) から得られた結果から, すべて無排卵になり, 一例の患者は無排卵性の出血を経験している。治療1カ月後なんらかの程度に治療効果が認められる。血中 E₂ 値を測定しえた症例 (図2右) からは Buserelin 900 μ g/日に増量した時は, 確実に血中 E₂ 値は50pg/ml 以下に低下し治療効果もあつた。

次に Buserelin 900 μ g/日で投与を始めた3症例の内, 初期に1度排卵を経験している2症例があつた。投与1カ月以後にある程度以上, 内診所見の改善が認められる。血中 E₂ 値をみるとかなりまちまちの値をとつている場合もあつた。このことから, Buserelin の高投与量でも, 前に述べたように服用の忘れや (風邪をひくなどして服用しにくい場合もあり), たまたま血中 E₂ を測定した時が LH-RH アナログによる刺激を受けうる状態であつたと考えられる。

初回投与量が変わつても, いずれの症例でも増量したのものも含め, 6カ月間以上 Buserelin を投与した時, 測定しえた血中 E₂ 値は30pg/ml 付近まで低下し, 希望目

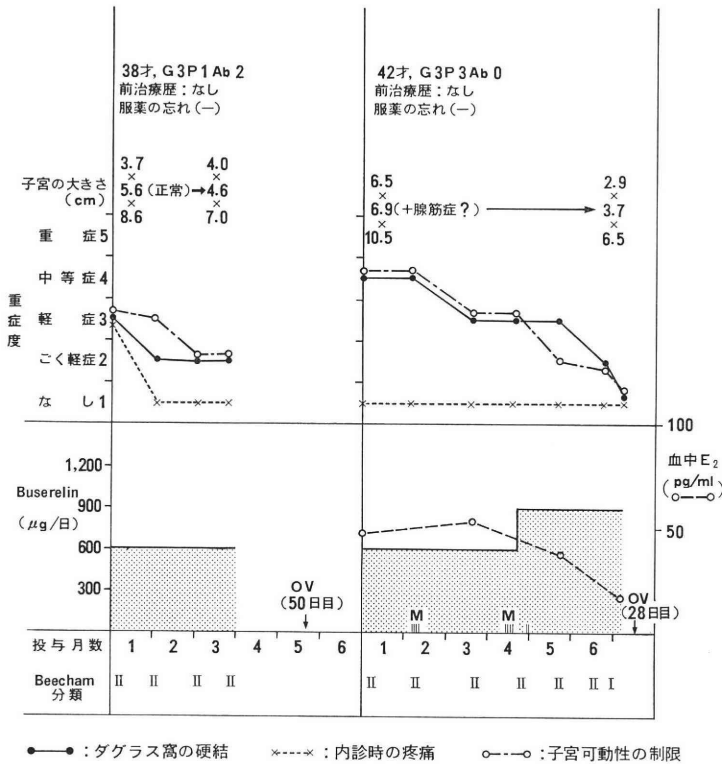


図 2 初回 Buserelin 600μg/日で鼻腔内投与した症例

的の血中 E₂ 低下が得られている。8例中1例は3カ月で中断しているが残り、7例は6カ月間 Buserelin で治療し得たが、内診所見上は、8例とも改善が認められた。

投与終了後の排卵回復までは、最終投与量が1日600μgでは40日、50日、900μg投与では13日、27日、28日、33日、1200μg投与では9日、35日で、それぞれ排卵している。したがって1日投与量と投与中止後の排卵回復の日数との関連性は少ないようだ。8例の平均投与終了後の排卵日は29.5±4.8日 (SE) となる。

考 案

子宮内膜症における Buserelin の治療目標は内因性の E₂ を低下させることである。Buserelin 投与中の血中 E₂ 値は Buserelin の1日投与量にかかわらず、50pg/ml 以上になる場合がある、これは患者の服薬の忘れ、一過性の鼻炎、風邪により服用しにくく十分量の血中 Buserelin 濃度に至らないか、投与後の血液採取時間や個人差などでおこると考えられる。そのことは Buserelin の一定しない血中 E₂ 値低下は急速な生体での Buserelin の代謝による⁷⁾ こととも関係していると考えられる。その結果 LH-RH アナログは刺激作用する事となり、血中 E₂ 値が上昇する可能性も考えられる。この時に血中 E₂ を測

定すると高値を示したと考えられる。しかし、服薬の忘れがあろうともひき続き服用するため down-regulation の結果、血中 E₂ 値はかなりの程度に減少している場合が多いのではないかと考えられる。

Lemay らの報告⁵⁾ からすると1日1200μg の Buserelin を子宮内膜症治療に用いた症例から、血中 E₂ 値の変動はかなり変動があるようであるが、投与3カ月の平均からすると25±6 pg/ml、投与6カ月の平均からすると8±2 pg/ml の血中 E₂ 値を示している。また他の報告からしても⁸⁾ Buserelin 800~1200μg を9人に投与した内の1例は1200μg 投与しても gonadotropin 分泌抑制がされないことが報告されている。このことから E₂ 抑制を得るべく、ゆつくり放出する投与方法が必要であるとされている⁵⁾。

このように血中 E₂ 値の変動する症例があるにもかかわらず、内診所見の改善が報告されている⁵⁾。著者らも初回投与量は別として増量され6カ月目には内診所見の改善が、血中 E₂ の変動はともかく、6カ月観察し得た7例すべてに認められた。しかも投与終了時には測定し得た症例では血中 E₂ 値も50pg/ml 以下にまで低下していた。

先にものべたように Buserelin の場合、血中の E₂

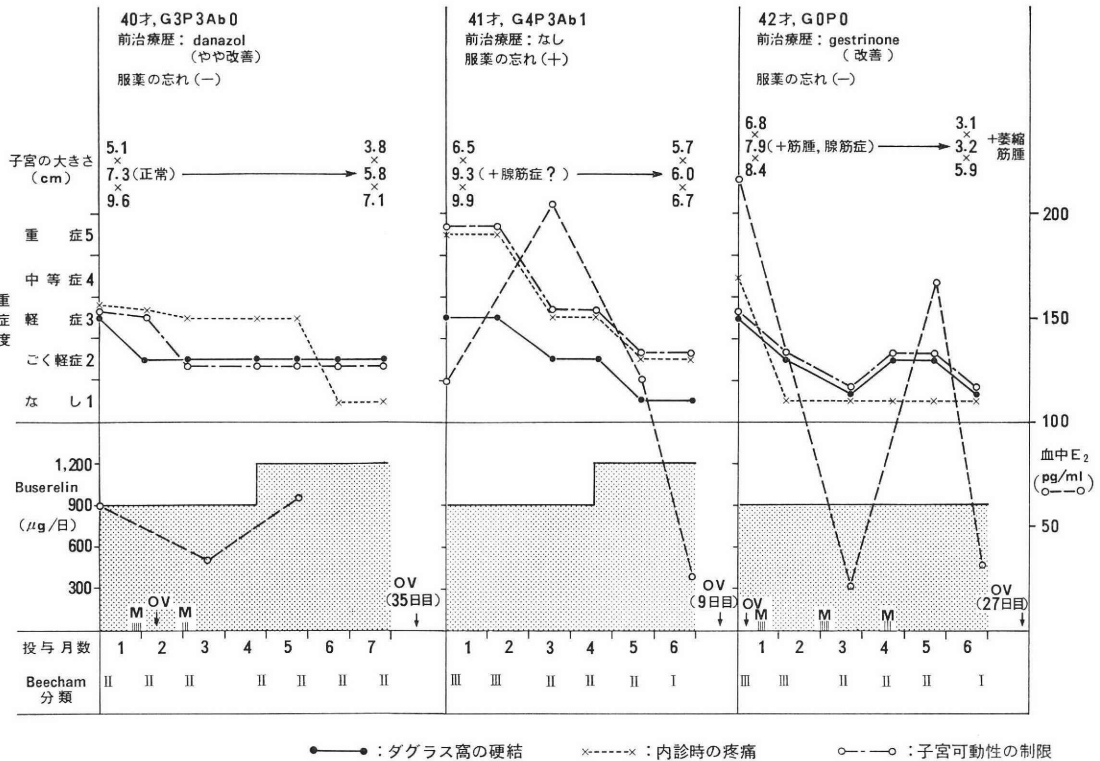


図 3 初回 Buserelin 900µg/日で鼻腔内投与した症例

値の変動はまちまちであるが排卵は抑制され、これがなんらかの治療効果をもたらしていると考えられる。この事実からすると生理的濃度の progesterone も子宮内膜症発生に関与している可能性も考えられる。

Buserelin 1日1200µgを投与し、4週後にE₂が25pg/ml以下に低下し、それにあつた症状として hot flush が約80%ぐらい出現している⁹⁾。我々が Buserelin を投与した患者では hot flush を訴えたものはなく、血中 E₂ 値からすると、hot flush が出現してもよさそうな症例もあり、Buserelin 1200µg/日投与し数カ月になつた症例でも、hot flush は出現していない。その理由は明らかでない。

先にも述べたように投与中止後の排卵の回復は投与量と関係なく、中止後29.5±4.8(9~50日)でこれは個人差があり、比較的早いと考えられる。

日本人に対して至適 Buserelin 濃度を決めるのはむずかしく、血中 E₂ 値を低下させるには 900~1200µg/日、こまめに分割して服薬の忘れのないように投与する必要がありそうだ。

Buserelin を用いて子宮内膜症の治療に用いる場合、何故か血中 E₂ 値の低下しない場合があり、これは投与方法に問題があるのか、つまりもつと頻回に用いる方が

よいのか、患者側の問題による服薬方法の悪さや Buserelin の生体内での代謝の早さなのかなどがあげられる。そこで長く作用する Buserelin と類似化合物を合成することも今後の問題となる。

また従来の steroid 剤と異なつてその作用機構が異なり、内因性 E₂ 値を低下させることが Buserelin の治療効果目標であるが、今回の血中 E₂ 値からすると、排卵を抑制させることでも効果が出るといふようだ。

Buserelin そのものは直接内膜組織への治療効果をもたないと考えられるので、すでに述べた条件を出来るだけ満たすように努力すると従来の合成 steroid 剤より優れた治療薬である可能性が考えられる。

また現在、子宮内膜症の治療に広く用いられている合成 steroid 剤のうち、steroid としては大量投与される danazol や steroid としては少量投与される gestrinone でも肝障害をおこす場合があり、この時に Buserelin が有用となる可能性があるような感がある。

内分泌検査として血中 E₂ 値は治療指針として必要なため結果として図に示したが、血中 T₄, cortisol および prolactin 値や体重、血圧、臨床検査の値も2カ月毎に測定したが、異常所見を認めず、臨床的意義が少ないので結果として報告しなかつた。

文 献

- 1) Audebert, A. J. M., Bernard, I., Empeiraire, J. C.: Treatment of endometriosis with Danazol. *Gynecologie*, 1: 29, 1977.
- 2) Lauersen, N. H., Wilson, K. H., Birnbaum, S.: Danazol, an anti-gonadotropic agent, in the treatment of pelvic endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 123: 742, 1975.
- 3) Dmowski, W. P.: Endocrine properties and clinical application of danazol. *Fertil. Steril.* 31: 237, 1979.
- 4) Rabin, D. McNeill, L. W.: Pituitary and gonadal desensitization after continuous luteinizing hormone-releasing hormone infusion in normal females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 873, 1980.
- 5) Lemay, A., Maheux, R., Faure, N., Jean, C. and Fazekas, A. T. A.: Reversible hypogonadism induced by a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) agonist (Buserelin) as a new therapeutic approach for endometriosis. *Fertil. Steril.*, 41: 863, 1984.
- 6) Beecham, C. T.: Classification of endometriosis. *Obstet. Gynecol.*, 28: 437, 1966 (letter).
- 7) Sandow, J.: Gonadotropic and antigonadotropic actions of LH-RH analogues. In *Neuroendocrine Perspectives Vol. 1* (eds. E. E. Müller & R. M. McLeod) pp. 339-395, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- 8) Sandow, J.: Review Clinical applications of LHRH and its analogues. *Clin. Endocrinol.*, 18: 1, 1983.

Treatment of pelvic endometriosis by
Buserelin — 8 cases report—

**Teruhiko Tamaya, Jiro Fujimoto
and Hiroji Okada**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyoto Prefectural University of Medicine

The effectiveness of intranasal insufflation of Buserelin (LH-RH analogue) was investigated in the eight patients having pelvic endometriosis. Buserelin started in administration of 300 μ g, 600 μ g or 900 μ g per day. When serum estradiol-17 β (E_2) level did not decrease down to 30 pg/ml, the dosage increased to additional 300 μ g Buserelin per day.

During the administration of Buserelin, some patients experienced ovulation initially, some patients were completely amenorrheal, and some patients had sporadically anovulatory bleeding several times throughout the therapy. Serum E_2 level was not always decreased to 30 pg/ml throughout the treatment in patients given different doses of Buserelin. However pelvic examination showed some or effective improvement in all patients after one month of the therapy. Including patients in whom serum E_2 level was down to 30 pg/ml, all patients did not complain of hot flushes. The changes of clinical finding and serum E_2 level during the therapy seemed to give some informations, in which Buserelin is needed to be over 900 μ g per day in dose for treatment of endometriosis.

After discontinuation of Buserelin, ovulation returned in 29.5 ± 4.8 (SE) days (range 9 to 50 days).

(受付: 昭和60年6月14日・特掲)

子宮内膜症の内視鏡下レーザー療法

Endoscopic Laser Surgery for Endometriosis

東邦大学医学部第1産婦人科学教室

小島 栄吉 小林 信一 森田 峰人
Eikichi KOJIMA Shinichi KOBAYASHI Mineto MORITA

武井 成夫 油田 啓一 椎名 一雄
Shigeo TAKEI Keiichi YUDA Kazuo SHIINA

田中 政信 平川 舜
Masanobu TANAKA Shun HIRAKAWA

1st Department of Obstetrics and Gynecology, Toho
University, School of Medicine

不妊検査の目的で内視鏡検査を行ない、軽症子宮内膜症と診断された15名を対象に、腹腔鏡直視下に YAG レーザーを使用し、内膜症組織を焼灼した。レーザー出力は家兎腹膜での検討より30W, 1秒あるいは50~70 W, 0.5秒間照射で実施した。

レーザー照射により内膜症組織は、はじめ白色に変性し、ついで気化蒸散した。術後、下腹痛、腰痛などの自覚症状は著明に改善し、6名に妊娠が成立した。

YAG レーザーによる内視鏡手術は周囲組織に対する影響が少なく、不必要な組織損傷が回避され、細かな処置を的確に行なうことが可能であり、軽症子宮内膜症の治療には適した方法である。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 91-95, 1986)

はじめに

子宮内膜の異所性増殖により発生する子宮内膜症は、生殖年齢婦人に特有な疾患である。異所性移植病巣は子宮筋層内の他に、卵巣、ダグラス窩、卵管、膀胱、腸管壁など、骨盤内諸臓器漿膜面に形成される。その進行度に比例して頑強な癒着を生じ、月経困難症、下腹部痛、性交痛などの特徴的な臨床症状が増悪する。近年子宮内膜症は増加傾向にあり、しばしば不妊の一因となることより諸家の関心を集めてきた。しかしながらその診断は必ずしも容易ではなく、とくに軽症例では開腹あるいは内視鏡検査によらなければ、診断の確定は困難とされている。著者らも子宮内膜症の診断に内視鏡検査を用いており、今日、子宮内膜症の早期診断に内視鏡検査は不可欠な手段となつている。

子宮内膜症の治療法としては、本症が不妊を合併しやすいことより妊孕能を温存した治療が必要とされ、保存的手術療法あるいは各種ホルモン療法が行なわれてい

る。

今回、著者らは腹腔鏡検査により軽症子宮内膜症と診断された症例を対象に、内視鏡直視下に YAG レーザーによる移植内膜症組織の焼灼を行ない、処理後の月経痛、腰痛の改善に満足すべき除痛効果を得るとともに、6例の妊娠成立を経験したので紹介する。

I. 対 象

昭和58年6月より59年12月までに腹腔鏡検査を行なつた患者で、外性子宮内膜症と診断された15例に内視鏡直視下に YAG レーザーにより内膜症組織を焼灼した。対象例はいずれも軽症子宮内膜症であり、卵巣、ダグラス窩、子宮壁などに発症したものである。膀胱壁に implant した症例では YAG レーザーによる穿孔の危険があるため、とくに慎重を期した。

II. 方 法

1) 装置の概要

表 1 Medilas YAG レーザーの仕様

レーザー媒質	: Nd-YAG
波長	: 1.06 μm
出力	: 100 W
照射時間	: 0.1~9.9 秒 (0.1 秒間隔で可変)
ガイド光	: He-Ne レーザー (赤色)
電源	: 200 V, 30 A, 3 相
冷却方式	: 水 冷

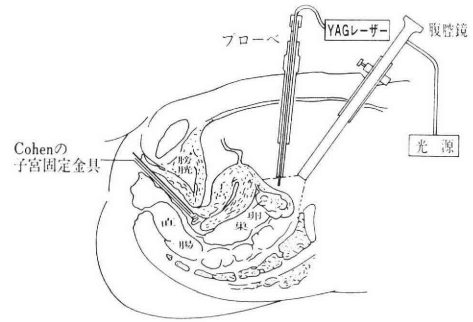


図 1 レーザー腹壁療法

YAG レーザー装置は MBB 社の Medilas を使用した。レーザー光はレーザーヘッドに内蔵されている Nd:YAG により発振、増幅され、石英ファイバーにより導光され、ファイバー先端より正円に照射される。レーザービームはファイバー先端より $8\sim 10^\circ$ のデフォーカスビームで照射される。

Medilas の仕様 (表 1) は、波長が $1.06\mu\text{m}$ と短く、石英ファイバー内を導光できるので操作性に優れており、内視鏡の手術チャンネルにも挿入可能である。YAG レーザーは不可視光のため、ガイド光として赤色のヘリウムネオンレーザーを使用しており、レーザー照射部位は赤いスポットとして確認できるので誤照射を防止できる。Medilas は最大出力が 100W と高く、処置が効率良く短時間に済み、レーザー照射時間は 0.1 秒より 9.9 秒まで、0.1 秒間隔で自由に選択できる。YAG レーザーの欠点としては、装置が大きく重く、200V, 30A の電源と冷却用の水道が必要な点である。

内視鏡下での使用には、ファイバーを直接内視鏡の手術チャンネルより挿入して用いる方法と、ファイバーをプローベにより固定して、セカンドパンクチャーより挿入する方法とがあり、後者が操作性、安全性の点で優れている。

2) 家兎腹膜への照射

臨床使用に先立ち、家兎腹膜を YAG レーザー照射し、照射部位の組織学的な検討によりレーザー照射条件を決定した。3~5 kg の家兎をラボナル麻酔下に開腹し、腹膜表面に YAG レーザー照射を行なった。照射条件は、出力 20W, 30W, 40W の 3 群で行ない、照射距離 2 cm の 1 秒間照射とした。

3) 手術手技

腹腔鏡は気管内挿管全身麻酔下²⁾で行ない、体位は骨盤内観察をより良くするため砕石位の骨盤高位とする。気腹針の穿入は、モンロー、リヒター線外側より行ない、腹腔内に気腹ガスとして炭酸ガスを毎分 1 l の速度で約 3 l 注入する³⁾。腹腔鏡は臍輪下縁より刺入した外套管より挿入し、腹腔内を観察した。外套管の穿入後、気腹ガス注入は、外套管の側管より行ない、気腹針を抜

去する。同部より腹腔内操作用の第 2 穿刺を行ない、鉗子を挿入し、卵管、卵巣などを反転させ、骨盤内臓器を注意深く観察する。

発見された子宮内膜症へのレーザー照射は、プローベに固定した導光ファイバーを第 2 穿刺より挿入し、ファイバー先端および内膜症組織の位置関係を同一視野下に確認し、さらにガイド光であるヘリウムネオンレーザーの赤いスポットが標的組織上に照射されていることを確認した後に行なう (図 1)。レーザー照射は内膜症組織が変性あるいは組織蒸散するまで繰り返した。

III. 成績

1) 家兎腹膜への照射

レーザー照射により家兎腹膜は照射中心に放射状に収縮した。照射後、同部は白色に変性し、浮腫状の膨隆を認めた。組織学的には間質の浮腫と筋線維の膨化により、照射部位は肥厚し、筋線維は好酸性、顆粒状変化を示し、横紋が消失した。出力 20W では組織変化に之しく、40W では変性部位が深層に、また広範囲に及ぶ傾向がみられた。

以上の結果より、子宮内膜症の焼灼を 30W 1 秒間照射で行なうことにした。

2) 子宮内膜症への照射

昭和 58 年 6 月より 59 年 12 月までに、子宮内膜症のため内視鏡下に YAG レーザー療法を行なった症例は 15 例である。対象者の年齢は 25~35 歳、平均 31 歳であり、不妊期間は 2~8 年、平均 4 年である。

内膜症の進行度分類ではいずれも軽症で、症例 K. N. の II 期以外はすべて進行度 I 期の surface implant type である (表 2)。

レーザー照射条件は、家兎の実験より、出力 30W の 1 秒間照射としたが、8 例は高出力短時間照射した。レーザー照射部位は組織変性により白色となり、次いで気化蒸散した。気化消滅した組織欠損は U 字型となり、そ

表 2 子宮内膜症の治療効果

症 例	年 齢	不妊 期間	G・P	発 症 部 位	進 行 期 類	合 併 症	照 射 条 件	病 状	経 過
R. T.	32	3	1.0	ダグラス窩	第 I 期		30 w, 1秒, 30回	下 腹 痛 腰 痛	消 失 失 娠 娩
K. T.	35	4	0.0	仙骨子宮靱帯	〃	PCO	〃 〃 11回	腰 痛	消 失
M. N.	30	3	0.0	子 宮 後 壁	〃		〃 〃 10回	下 腹 痛 腰 痛	軽 減 減 減 妊
Y. K.	25	2	0.0	仙骨子宮靱帯 子 宮 後 壁	〃		〃 〃 21回	下 腹 痛	消 失 失 娠 娩
M. Y.	29	4	0.0	子 宮 後 壁 ダグラス窩	〃		〃 〃 46回	下 腹 痛	軽 減
I. K.	25	2	2.0	ダグラス窩	〃	外傷性子 宮腔癒着 症	50 w, 0.5秒, 58回	下 腹 痛	消 失 失 娠
T. S.	31	3	0.0	ダグラス窩 仙骨子宮靱帯	〃	夫 射 精 不 能	30 w, 1秒, 31回	下 腹 痛 腰 痛	消 失 失 失
T. G.	31	4	0.0	仙骨子宮靱帯 左 卵 巢	〃		70 w, 0.5秒, 27回	下 腹 痛	消 失 失 娠 娩
Y. T.	32	4	0.0	左 卵 巢	〃	筋 腫	60 w, 0.5秒, 54回	下 腹 痛	消 失 失 娠
T. Y.	34	3	0.0	右 卵 巢	〃		70 w, 0.5秒, 9回	下 腹 痛	消 失
T. S.	31	7	0.0	ダグラス窩 仙骨子宮靱帯 左 卵 巢	〃	中 隔 子 宮 PCO	60 w, 0.5秒, 104回	腰 痛	消 失
K. A.	29	2	0.0	両 側 卵 巢 子 宮 後 壁 ダグラス窩	〃		70 w, 0.5秒, 41回	下 腹 痛	軽 減
T. T.	32	6	0.0	仙骨子宮靱帯	〃		30 w, 1 秒, 42回	下 腹 痛	消 失
K. N.	30	8	0.0	膀 胱 右 卵 巢 ダグラス窩	第 II 期		70 w, 0.5秒, 68回	腰 痛	軽 減
R. K.	32	4	0.0	右 卵 巢 ダグラス窩	第 I 期	筋 腫 PCO	70 w, 0.5秒, 32回	下 腹 痛	軽 減

の表面は炭化黒変した。照射回数は病巣の広さにより異なり、8回より104回に及んだ。

術前の自覚症状として、全例、下腹痛、腰痛を訴えていたが、処置後、疼痛は一樣に軽減した。妊娠成立は6例にみられ、3例はすでに生児を分娩し、他の3例は妊娠経過観察中である。

IV. 考 察

子宮内膜症は異所性内膜組織が増殖する良性非腫瘍性疾患であり、成熟婦人にも認められる。近年、子宮内膜症は増加傾向にあり、しばしば不妊の原因となることよ

り、その治療法は妊孕性を高めることを目的とした保存療法が主体となってきた。子宮内膜症が妊孕性を低下させる機序については、いまだ不明な点が多いが、チョコレート嚢胞などの腫大により卵管が延長し、浮腫状となり、卵管、卵巣周囲の癒着により卵管の可動性が制限され、卵の排出や卵管内とり込みと卵輸送機能が障害されることなどがその原因といわれている⁴⁾。しかしながら、軽症子宮内膜症では、上記のように、器質的病変が存在しないにもかかわらず、妊孕性は低下している。このような症例の説明として、子宮内膜症は軽症例でも黄体機能不全⁵⁾や luteinized unruptured follicle syndro-

me⁶⁾ になりやすいことが不妊原因の一つとして指摘されている。また最近内膜症と Prostaglandin の関係が注目を集めており、Drak ら⁷⁾、小林ら⁸⁾は、内膜症では腹水が増加し、Thromboxane B₂ や Prostacyclin の代謝産物の増加を報告している。これらの物質は卵管の運動性に関与しているといわれ、その量的異常が卵管の機能を障害すると考えられている。子宮内膜症患者における腹水中の Macrophage が著増することは、Muscato ら⁹⁾により報告されており、Macrophage による精子の貪食作用が受精障害の原因とも考えられている。

これら不妊原因は子宮内膜症の進行とともに顕著となり、早期発見早期治療の重要性は諸家の指摘するところである。しかしながら、子宮内膜症の診断は必ずしも容易ではなく、滝ら¹⁰⁾によると、内膜症の術前診断率は軽症で30.8%、中等症で34.8%、重症でも50.9%と低率である。したがって、不妊患者を診断する際には、常に本症を念頭におき、詳細な問診、双合診をするとともに、本症が疑われる症例は積極的な内視鏡検査の必要性が指摘されている。

近年、子宮内膜症の治療はダナゾール療法の開発、保存的手術々式の改良により一段と進歩した。しかしながら重症例の妊娠率は依然として低く、できるだけ早期に、軽症のうちに発見し治療することが治療効果を向上させるポイントとなつている。内膜症軽症例ではホルモン療法を行ない、進行例ではホルモン療法のみでは妊娠率が低いので、保存的手術療法の併用が必要とされている⁴⁾。このように内膜症は進行度により治療法が異なることから、早期診断や、進行度に応じた効果的な治療法を選択する上で、内視鏡検査は最も有力な手段となる。内視鏡検査は施行時間が短く、切開創も小さく、被検査に与える侵襲が少ない特徴をもつ。内膜症組織をスコープ直視下に観察し、同時に内視鏡下に手術操作を行なうことも可能であり、内膜症が疑われる症例には積極的に施行し、本症の早期診断に努める必要がある。腹腔鏡下に診断された子宮内腹症の内視鏡治療として、電気焼灼^{11,12)}、レーザー焼灼^{13,14)}が行なわれており、いずれも軽症例がその適応となつている。Sulewski ら¹²⁾は腹腔鏡下に子宮内膜症を電気焼灼し、良好な治療成績を報告している。しかしながら、電気焼灼は周辺組織に与える損傷がやや大きく、思わぬ合併症を生ずる場合もある¹⁵⁾。一方、レーザー光線による治療はモノポーラやバイポーラ凝固法に比べ、周囲組織に対する影響が少なく、子宮内膜症の治療には適した方法である。

アメリカの Maiman¹⁶⁾が1960年に最初にルビーレーザーの発振に成功して以来、多種類のレーザー光が実用化されており、婦人科領域では、固体を発生媒体とする

YAG レーザーと気体の炭酸ガスレーザー、アルゴンレーザーの3種類が、主に子宮腔部¹⁷⁾、外陰部疾患¹⁸⁾の治療に使用されている。レーザー光線は発振されたレーザー媒質により、その波長、性格が異なる。婦人科内視鏡領域でも、それぞれレーザー光の特徴を生かし活用している^{13,14,19)}。著者らも YAG レーザーを使用し、筋腫分娩の切除²⁰⁾、卵巣生検後の止血処置²¹⁾、子宮外妊娠卵管部分切除術²²⁾などを内視鏡下に行ない、報告してきた。

YAGレーザーは止血効果に優れており、切除に際し出血の予想される子宮外妊娠の内視鏡手術や内視鏡操作による出血に対する止血法として適した方法といえる。さらに容易なファイバー操作により細かな処置を的確に行なうことが可能となり、不必要な組織損傷を回避し、手術侵襲が少なくてすむ。以上のような YAG レーザーの特徴は、子宮内膜症のうち、軽症の blue berry spots や blood bulbos の焼灼療法としてきわめて有効な治療手段となる。軽症子宮内膜症では病巣が漿膜表面に限局しているため、レーザー治療の深達度を深める必要がなく、ガイド光の赤いスポットを確認してレーザー照射すれば、操作は安全、容易であり、短時間に終了する。今回対象となつた15名は、いずれも内膜症軽症例であり、仙骨子宮靭帯、ダグラス窩、子宮壁、卵巣に限局して発生したものである。膀胱や腸管壁に発症した内膜症に対しても本操作は可能であるが、このような症例は少なく、穿孔の危険を避け、偽妊娠療法やダナゾール療法を選択するのが賢明である。

(稿を終わるに当たり、ご指導、ご校閲をいただいた百瀬和夫教授に深謝いたします。なお本論文の要旨は第29回日本不妊学会総会—東京において発表した。)

文 献

- 1) 平川 舜, 小島栄吉, 西田修二, 大村 剛: Danazol 療法による子宮内膜症の内視鏡的管理, 産婦の世界, 33: 168, 1981.
- 2) 山本 浩, 落合 寛, 岩田嘉行: 腹腔鏡 (Laparoscopy) とその手術手技, 臨床産婦人科手術全書 IX (鈴木雅洲ら編). 201. 金原出版, 東京, 1981.
- 3) 小島栄吉, 油田啓一, 向井治文, 金子慶賛, 椎名一雄, 武井成夫, 西田修二, 平川 舜, 鈴木靖彦, 竹内光吉, 古田島笑子, 川田典子: ラパロスコピー施行時の呼吸循環動態, 日不妊会誌, 27: 47, 1982.
- 4) 川島吉良: 子宮内膜症の保存療法, 日産婦誌, 35: 2019, 1983.
- 5) Grant, A.: Additional sterility factors in endometriosis. Fertil. Steril., 17: 514, 1966.
- 6) Koninckx, P. R.: New aspects of physiopathology of endometriosis, 9th World Con-

- gress of Gynecology and Obstetrics, Tokyo, 1979.
- 7) Drake, T. S., O'Brien, W. F., Ramwell, P. W. and Metz, S. A.: Peritoneal fluid thromboxane B₂ and 6-keto-prostaglandin F_{1α} in endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 140: 401, 1981.
 - 8) 小林善宗, 井上正人, 本田育子, 金子みつ恵, 藤井明和: 軽症子宮内膜症と不妊の関連について—腹水量および Prostanoid 濃度の分析—, 第 5 回エンドメトリオージス研究会講演集, p 109, 1984.
 - 9) Muscato, J. J., Haney, A. F. and Weinberg, J. B.: Sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages: A possible cause of infertility in endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 144: 503, 1982.
 - 10) 滝 一郎, 永田行博: 子宮内膜症の診断, 産婦治療, 41: 637, 1980.
 - 11) Hasson, H. M.: Electrocoagulation of pelvic endometriotic lesions with laparoscopic control. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135: 115, 1979.
 - 12) Sulewski, J. M., Curcio, F. D., Bronitsky, C. and Sterger, V. G.: The treatment of endometriosis at laparoscopy for infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138: 128, 1980.
 - 13) Daniell, J. F. and Brown, D. H.: Carbon dioxide laser laparoscopy: Initial experience in experimental animals and humans. *Obstet. Gynecol.*, 59: 761, 1981.
 - 14) Keye, W. R. and Dixon, J.: Photocoagulation of endometriosis by the argon laser through the laparoscope. *Obstet. Gynecol.* 62: 383, 1983.
 - 15) Cheng, Y. S.: Urethral injury resulting from laparoscopic fulguration of endometriotic implant. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 126: 1045, 1976.
 - 16) Maiman, T. H.: Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, 187: 493, 1960.
 - 17) 新井正夫, 蔵本博行, 脇田邦夫, 下田隆夫: YAG レーザーを用いた子宮頸部病変の治療, 産婦治療, 45: 657, 1982.
 - 18) 関本昭治, 坂本旦一, 佐藤正典, 本多静香, 柳田 薫, 荒木 壮, 高橋亨平, 小野 聡: 婦人科領域での CO₂ レーザー療法応用の実際, 産婦治療, 50: 868, 1985.
 - 19) Goldrath, M. H., Fuller, T. A. and Segal, S.: Laser photovaporization of endometrium for the treatment of menorrhagia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 140: 14, 1981.
 - 20) 小島栄吉, 武井成夫, 金子慶賛, 大村 剛, 平川 舜, 百瀬和夫: YAG レーザーによる子宮頸部有茎腫瘍の切除, 産婦治療, 49: 647, 1984.
 - 21) 平川 舜, 小島栄吉: 婦人科領域における内視鏡下レーザー療法, 日医新報, 3203: 13, 1985.
 - 22) 武井成夫, 小島栄吉, 油田啓一, 金子慶賛, 平川 舜, 野中博子: レーザー内視鏡法による子宮外妊娠の手術, 日レーザー医学会誌, 5: 315, 1985.

Endoscopic laser surgery for endometriosis

Eikichi Kojima, Shinichi Kobayashi,

Mineto Morita, Shigeo Takei,

Keichi Yuda, Kazuo Shiina,

Masanobu Tanaka and Shun Hirakawa

1st Department of Obstetrics and Gynecology,
Toho University, School of Medicine

Fifteen patients presented with initial complaints of infertility were found to have pelvic mild endometriosis at laparoscopy. Destruction of the endometriosis by the photovaporization was performed via laparoscopy using YAG laser. Postoperatively, every patients with chronic pain experienced much relief from their symptom, and six of fifteen patients with infertility became pregnant. The photovaporization of pelvic endometriosis under laparoscopy appears to be a satisfactory method for the management of patients with the mild endometriosis of infertility.

(受付: 昭和60年10月7日・特掲)

頸管粘液内カルシウムの精子運動性および 頸管粘液貫通性に及ぼす影響

Influence of Calcium in Cervical Mucus on Sperm Motility
and Penetrability into Cervical Mucus

山形大学医学部産科婦人科学教室

小田 隆 晴 平 山 寿 雄

Takahare ODA Toshio HIRAYAMA

長谷川 剛 志 広 井 正 彦

Takeshi HASEGAWA Masahiko HIROI

Department of Obstetrics and Gynecology, Yamagata

University School of Medicine

正常排卵周期を示す婦人で、排卵前後の頸管粘液 (CM) 内のカルシウム (Ca) 濃度を OCPC 法で測定し、その周期変動を検討するとともに、In vitro, in vivo において CM 内 Ca が精子の運動性、CM 内貫通性および Y 精子比率に及ぼす影響を検討し次の結果を得た。

1) CM 内 Ca 濃度は排卵日に近づくにつれて上昇し排卵日には $4.1 \pm 0.8 \text{ mg/dl}$ と有意にピークを作り、排卵後は下降する周期的変動パターンを示した。

2) Ca 濃度が $4 \sim 5 \text{ mg/dl}$ と高値を示した CM を通過した精子は、他の低濃度の CM のそれに比して、in vitro, in vivo の両実験でも、CM を貫通した精子数も多く、運動性も良好であった。

3) Ca 濃度が高くなるほど、CM 通過後の Y 精子比率も有意に増加した。

以上の成績により、CM 内 Ca は CM での精子貫通率、精子運動性、性選択に重大な影響を及ぼしていることが示唆された。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 96-100, 1986)

緒 言

カルシウム (Ca) は、生体内で細胞膜や細胞内に作用し、種々の機能に重要な役割を果たしているが、精子の運動能¹⁾や受精能の獲得²⁾、先体反応³⁾、精子と卵子との結合³⁾、などの生殖現象においても Ca が重要な役割を果たしていることが報告されている。

一方、妊孕現象を決定する因子として頸管粘液 (CM) と精子運動能との関連は重要な意義を持つ。CM の性状は、卵巣周期に従って変動し、精子の CM 内貫通性や子宮腔内への侵入に影響を及ぼしている。

われわれは排卵期前後における CM 内 Ca 濃度を経目的に測定し、その周期変動を検討するとともに、in vitro, in vivo における CM 内 Ca 濃度と精子運動能、CM 貫通性、Y 精子比率との関連性について検討したの

で報告する。

研究対象および方法

1. CM 内 Ca 濃度の測定

当科外来患者より正常排卵周期を有する27名に BBT および血中 estradiol, progesterone, LH, FSH, 尿中 pregnanediol⁴⁾を測定して排卵日を決定し、その前後に旦り CM をツベルクリン・シリンジまたはポリエチレン・カテーテルで採取した。CM は直ちに容量を測定し、OCPC (orthocresolphthalein complexone) 発色法を応用した Calcium C-Test Wako (和光純薬) キットにて Ca 濃度を測定した。図1に CM 内 Ca 濃度測定の概略を示す。すなわち、CM を乾燥させたあと、蒸留水にて suspension を作り、その0.05ml に OCPC buffer を5ml 加え、充分混和した。そこに OCPC 発

Measurement of Calcium Concentration
in Human Cervical Mucus

(OCPC Method)

measure the exact volume of cervical mucus
↓
dry cervical mucus
↓
resuspend cervical mucus
|| in distilled water (sample)
CM suspension (0.05 ml)
↓
mix CM suspension with 5 ml of OCPC-buffer
(pH: 11.0)
↓
add 0.5 ml of OCPC
↓
read the OD at 570 nm
with the spectrophotometer
(BECKMANN ACTA CII)

図 1

表 1 Semen Analysis (N=8)

Volume	2.83±0.35 (ml)
Sperm Count	98.9±28.9 (×10 ⁶ /ml)
% Motility	66.9±9.9 (%)
Quality of Motility	+3.07±0.29
pH	7.80±0.16 (M±SD)

色試液を0.5ml 加え、5分間放置後2時間以内に、分光光度計(Beckmann Acta C II型)にて570nm の吸光度を測定し、標準曲線より Ca 含有量を求めた。

2. 精液一般検査, Y精子比率の算出

精液は妊孕性の証明された健康成人男子8名より用手法にて採取し、一般精液検査を行った。表1に8名の精液検査の平均値を示す。精子数の計算は、37°C で30分おいて液化を待ち、精液が均一化したところで hemocytometer を用いて duplicate で行なった。精子の運動率は400倍で10視野を観察しその平均率で計算した。運動の quality は0~+4で表現し⁵⁾、数量化するため便宜上+2aを2.0、+2bを2.5とし100運動精子の平均値を算出した(表2)。

X精子, Y精子の鑑別法は、現在 routine に行われている quinacrine mustard 染色法を用い、F-body の有無を蛍光顕微鏡で判定し、Y精子比率を算出した。

3. In vitro での精子 CM 内貫通テスト(図2)

Ca 濃度の測定用と同時に採取した CM を Ca 濃度 1~2, 2~3, 3~4, 4~5 mg/dl の4群に分け、各群の CM を直径1mm 毛細ガラス管の下層に25mm, 上層に CM と同じ Ca 濃度を有する生食水を25mm 注入し、前述の8名より採取した精液中に立て、37°C で

表 2 Quality of Motility

4+	very rapid PROGRESSIVE motility
3+	rapid PROGRESSIVE motility (average)
2b+	sluggish PROGRESSIVE motility
2a+	rapid NON-PROGRESSIVE motility
1+	sluggish NON-PROGRESSIVE motility
<1	occasional spastic motion

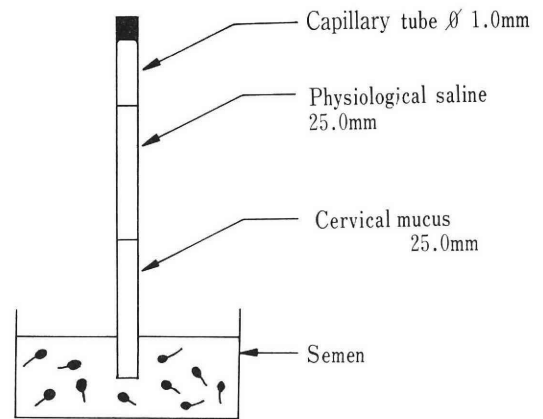


図 2 In vitro Spermatozoal Penetration Test

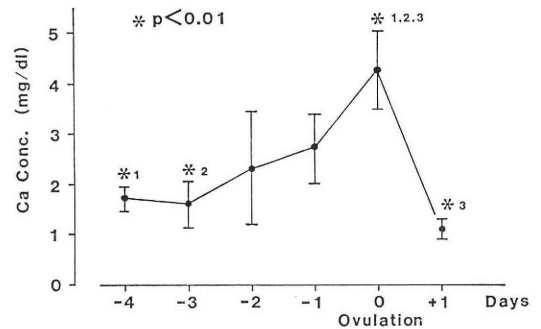


図 3 Calcium Changes of Cervical Mucus (M±S. E. M.)

2時間インキュベートし、上層へ貫通してくる精子の運動能、精子数、Y精子比率を測定した。

4. In vivo での精子 CM 内貫通テスト

正常排卵周期を有する6名の婦人を対象とし、排卵日または排卵前日に postcoital test を施行し、CM 内 Ca 濃度の測定と、外子宮口部、内子宮口部、子宮腔内に存在する精子につきY精子比率を算出した。

研究成績

1. CM 内 Ca 濃度

排卵期前後における27名の CM 内平均 Ca 濃度の推

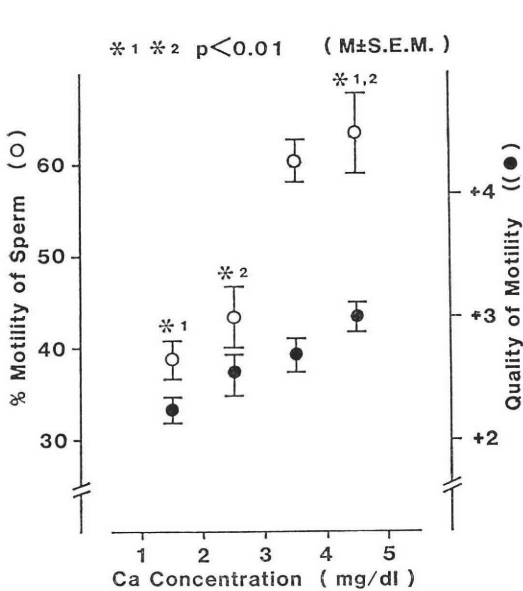


図 4 Effect of Ca in Cervical Mucus on the Motility of Sperm Incubated for 2 Hours with Semen

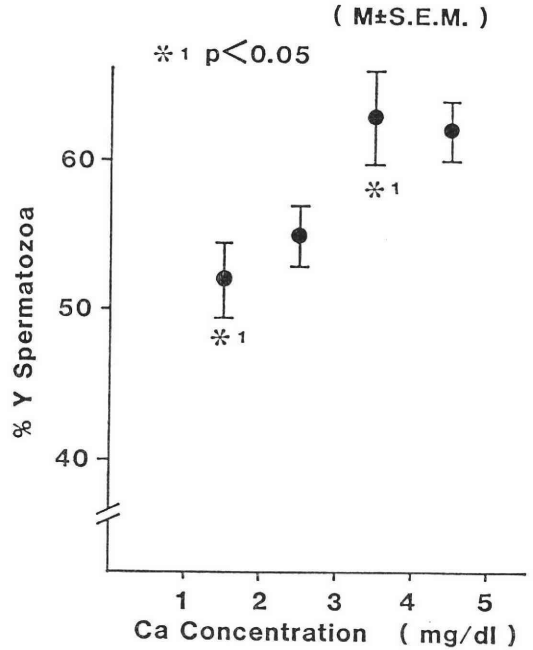


図 6 Effect of Ca on the Selective Migration of Y Human Spermatozoa

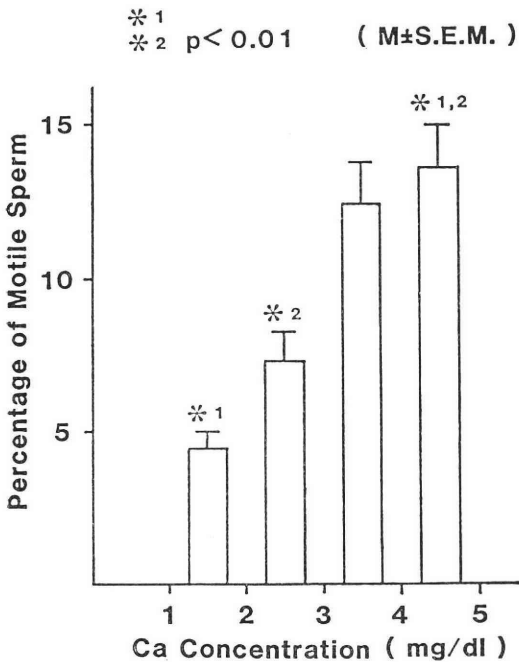


図 5 Effect of Ca in Cervical Mucus on the Motility of Sperm after 2 Hours in vitro Penetration through Cervical Mucus

移を図3に示す。Ca 濃度は排卵日が近づくと徐々に増加し、排卵日に $4.1 \pm 0.8 \text{ mg/dl}$ と有意に上昇し ($P < 0.01$)、排卵後は速やかに減少する周期的変動をとった。

2. CM 内 Ca 濃度の精子運動能および CM 内精子貫通性に及ぼす影響

In vitro にて、各種 Ca 濃度をもつ CM から上層の生食水に貫通してきた精子の運動率と、運動精子の運動の quality を図4に示す。Ca 濃度 4~5 mg/dl の CM を通過した精子は、Ca 濃度 1~2, 2~3 mg/dl の CM を通過した精子に比して有意差 ($P < 0.01$) をもって高い運動率が認められた。しかし運動の quality では Ca が高濃度になるほど、前進運動を示し精子比率も高い傾向が認められたが、有意差は認められなかった。

図5は精液中から CM を貫通してきた運動精子の貫通率を示す。Ca 濃度 4~5 mg/dl の CM を貫通した運動精子の割合は、精液内運動精子の $13.7 \pm 0.71\%$ と Ca 濃度 1~2, 2~3 mg/dl の低濃度 CM 群に比し有意の ($P < 0.01$) 貫通率の上昇が認められた。

3. CM 内 Ca 濃度と Y 精子比率との関係

In vitro において各 Ca 濃度の CM を通過し上層の生食水に移動した精子の Y 精子比率を図6に示す。Ca 濃度 3~4 mg/dl の CM を通過した精子群では Y 精子比率 $63.0 \pm 3.4\%$ と Ca 濃度 1~2 mg/dl に比し有意の

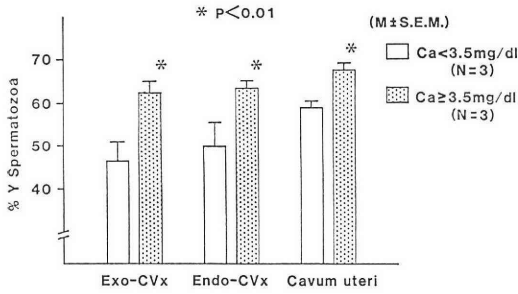


図 7 Percentage of Y Spermatozoa in dependence of Ca in Cervical mucus and Cavum uteri (Postcoital test)

($P < 0.05$) 増加を示している。

4. Postcoital test での CM 内 Ca 濃度と Y 精子比率との関係

In vivo で postcoital test 施行時、外子宮口、内子宮口、子宮腔内で得られた精子の Y 精子比率を、CM 内 Ca 濃度 3.5mg/dl 未満と 3.5mg/dl 以上の群に分類し比較した結果を図 7 に示す。両群とも外子宮口より子宮腔内へ進むに従い Y 精子比率は増加する傾向を示した。また Ca 濃度 3.5mg/dl 以上の CM の群では、外子宮口で $62.5 \pm 2.5\%$ 、内子宮口で $63.6 \pm 1.7\%$ 、子宮腔内で $67.7 \pm 1.9\%$ と低 Ca 濃度の CM 群のものよりいずれも有意差をもって Y 精子比率が高値を示した。

考 案

CM は多数の異なる種類の成分より構成され、精子の保持と移動に適した媒体を提供し、一方では細菌や不良精子をふるいにかける生理的 filter として働いている。CM の物理生化学的性状は卵巣より分泌される性ホルモン支配により変動しており、排卵期には水分含有量も 96~98% と最大となり、pH もアルカリ性に傾き、mucoprotein、種々のアミノ酸、多糖類も増えてくるが、脂肪成分は減ってくる。CM 内無機成分の周期的変化に関しては種々の報告がみられ⁶⁻⁹⁾ Na や Cl 濃度は排卵日に上昇し、これらが CM の結晶形成と密接な関係があるのは周知の事実である。しかし Ca については、Kopito ら⁷⁾ 以外には詳細な報告はない。Kopito らは 2 例であるが、spectroscopy で CM 内 Ca を測定し、排卵期に Ca 濃度は乾燥 CM で 1~2 mg/gram に上昇すると報告している。今回のわれわれの成績でも 27 名の婦人の CM 内 Ca 濃度は周期変動をもち、排卵期にピークを示すことが認められた。すでに Ca は哺乳動物において精子の運動¹⁾、capacitation²⁾、acrosome reaction³⁾、受精や卵割過程³⁾の生殖現象において重要な働きをしており、この CM 内の Ca

濃度の変動も生体内において重要な意義をもつことが推測される。

今回のわれわれの研究で、in vitro において CM 内 Ca 濃度が 4~5 mg/dl と高い場合、そこを貫通する精子数は増え、運動能も低下しない成績を得たが、この結果は Heffner ら¹⁾のマウス精子での報告と一致する。また Gould ら^{9,10)}は CM 内の Na, Cl, K の変動により CM の特性の変化、精子貫通性の改善がみられたと報告し、pH や性ステロイド濃度の変化により精子運動能の変化をみた報告もある^{11,12)}。いずれにせよ、CM 内 Ca が他の成分と同様に排卵期に増加する周期的変動をとっていることは確実であり、高 Ca 状態が精子にとって好ましい環境を作っていることが示唆される。

Ca が精子のどの部分にどの様に作用し精子の運動を高めているのかは、はなはだ興味ある問題であるが、この点はまだ明らかにされてはいない。生体内で Ca はサイクリック AMP、カルモジュリンやホスホリラーゼ等と関連して細胞内のさまざまな代謝系を活性化することが判明しているが、多分精子においても、Ca が細胞膜の脱分極に伴い、Ca チャンネルを通して精子内に流入し、ATPase が活性化され、精子の遊泳速度や精子尾部の運動のビート頻度が増すものと推測される。

精子が CM を通過し内性器へ進むにつれて Y 精子比率が増加する傾向があることは多くの報告にみられるが¹³⁻¹⁵⁾ CM 内のいかなる成分が影響を及ぼしているかについての明確な報告はない¹⁶⁾。CM 内の pH や性ステロイド等の factor も、精子運動能、貫通性の上で上昇は認められているが、Y 精子比率の上昇はないと報告されている^{11,12,17)}。今回のわれわれの成績では、postcoital test で外子宮口、内子宮口、子宮腔内へ進む程 Y 精子比率が増加することが再確認された。また CM 内 Ca 濃度と Y 精子比率に関しては in vitro, in vivo の両方の実験で、高 Ca 濃度の CM を通過して抽出された精子群には有意に Y 精子比率が増加したことは注目されることである。CM 内の高 Ca 環境が Y 精子の選択的移動に関していかなる作用機序で行なわれているかは不明であるが、近年、性の事前選択 sex selection において、男児生み分け法に関して大量の Ca 製剤 (マイカル、リンカル) が投与され、また性交日を排卵日に指導する方法が行なわれている。この際の CM 内 Ca 濃度はより高値になっていることが推測され、より高率の Y 精子の選択的移動が行なわれる可能性もあろう。

以上、ヒト CM 内の Ca 濃度は周期的変動をもち、その Ca 濃度により精子の運動能、CM 内貫通性および Y 精子の選択的移動が調節されている可能性が推測され、生殖現象の第 1 段階である CM と精子の interac-

tion において Ca が重要な役割を果たしていることが示唆された。

本論文の要旨は、第35回日本産婦人科学会総会ならびに第27回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Heffner, L. J. and Storey, B. T.: The role of calcium in maintaining motility in mouse spermatozoa. *J. Exp. Zool.*, 218: 427, 1981.
- 2) Reyes, A., Goicoechea, B. and Rosado, A.: Calcium ion requirement for rabbit spermatozoal capacitation and enhancement of fertilizing ability by ionophore A 23187 and cyclic adenosine 3':5'-monophosphate. *Fertil. Steril.* 29: 451, 1979.
- 3) Yanagimachi, R.: Requirement of extracellular calcium ions for various stages of fertilization and fertilization-related phenomena in the hamster. *Gamete Res.* 5: 323, 1982.
- 4) 小田隆晴, 広井広彦: 尿中 Pregnanediol の Radioimmunoassay とその臨床応用. *日産婦誌*, 31: 25, 1979.
- 5) Bernstein, G. S.: Male factor. In *Mischell, D. R., Jr. and Davajan, V. (EDS): Reproductive Endocrinology, Infertility and Contraception*, 351. F. A. Davis Company, Philadelphia, 1979.
- 6) Herzberg, M.: The cyclic variation of sodium chloride content in the mucus cervix uteri. *Fertil. Steril.* 15: 684, 1964.
- 7) Kopito, L. E., Kosalsky, J. H., Sturgis, S. H., Lieberman, B. L. and Shwachman, H.: Water and electrolytes in human cervical mucus. *Fertil. Steril.* 24: 499, 1973.
- 8) Chowdhury, A. R., Singh, S., Kutty, D. and Kamboj, V. P.: Metallic ions in cervical mucus. *Indian J. Med. Res.* 73: 277, 1981.
- 9) Gould, K. G. and Ansari, A. H.: Chemical alteration of cervical mucus by electrolytes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 145: 92, 1983.
- 10) Ansari, A. H., Gould, K. G. and Ansari, V. M.: Sodium bicarbonate douching for improvement of the postcoital test. *Fertil. Steril.* 33: 608, 1980.
- 11) Zavos, P. M. and Cohen, M. R.: The pH of cervical mucus and the postcoital test. *Fertil. Steril.* 34: 234, 1980.
- 12) Beck, K. J., Herschel, S., Hungershofer, R. and Schwinger, E.: The effect of steroid hormones on motility and selective migration of X- and Y-bearing human spermatozoa. *Fertil. Steril.* 27: 407, 1976.

- 13) Broer, K. H., Winkhaus, I., Sombroer, H. and Kaiser, R.: Frequency of Y-chromatin bearing spermatozoa in intracervical and intrauterine postcoital tests. *Int. J. Fertil.* 21: 181, 1976.
- 14) Kaisen, R., Citoler, P. and Broer, K. H.: Relative increase in Y-chromatin bearing spermatozoa after in vitro penetrations into human cervical mucus. *IRCS* 2: 1100, 1974.
- 15) Ronde, W. and Porstmann, T.: Migration of Y-bearing human spermatozoa in cervical mucus. *J. Reprod. Fertil.* 33: 167, 1973.
- 16) Gould, K. G. and Graham, C. E.: Influence of CM composition on sperm penetrability. *Scan. Electron. Microsc.* 2: 603, 1978.
- 17) Diasio, R. B. and Glass, R. H.: Effects of pH on the migration of X and Y sperm. *Fertil. Steril.* 22: 308, 1971.

Influence of calcium in cervical mucus on sperm motility and penetrability into cervical mucus

Takahare Oda, Toshio Hirayama,

Takeshi Hasegawa and Masahiko Hiroi

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yamagata University School of Medicine

Cervical mucus was obtained from ovulating women and calcium in cervical mucus was analyzed during the cycle by using orthochresolphthalein complexone method.

The effects of calcium in cervical mucus on the motility of human spermatozoa, on sperm migration and on the selective migration of X- and Y-bearing spermatozoa were studied in vitro and in vivo test.

The results were as follows;

1) The concentration of calcium in cervical mucus varied cyclically and reached peak values (4.1 ± 0.8 mg/dl, $M \pm S. E. M.$) at ovulation.

2) Physiologically high concentration (4-5 mg/dl) of calcium in cervical mucus significantly accelerated spermatozoal motility and sperm migration.

3) Calcium in cervical mucus had significant effects on the differential migration pattern of X- and Y-bearing spermatozoa in vitro and in vivo test. The increase in the percentage of Y-bearing spermatozoa was pronounced with increasing the concentration of calcium in cervical mucus.

These results suggest that calcium in cervical mucus may play an important role in sperm motility and the processes of selective migration

(受付: 昭和60年3月5日)

当科不妊症外来における妊娠成功例の 妊娠分娩経過の検討

Outcome of Pregnancy and Delivery in Infertile Women
with Established Pregnancies

札幌医科大学産婦人科学講座

田中昭一 山本弘 藤井美穂
Shoichi TANAKA Hiroshi YAMAMOTO Miho FUJII
遠藤俊明 下谷保治 東口篤司
Toshiaki ENDO Yasuharu SHIMOYA Atsushi AZUMAGUCHI
佐藤卓広 郷久鉞二 橋本正淑
Takuhiro SATO Etsuji SATOHISA Masayoshi HASHIMOTO
Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Medical College

昭和50年1月より58年6月までに当科不妊患者で妊娠に成功し当科で分娩した370例の妊娠経過、分娩経過について検討した。

高年初産婦、吸引分娩、切迫流早産が対照群に比べ不妊群に有意に多く、妊娠中毒症発症率は不妊群に有意に低かった。

帝王切開術、早産、前期破水、分娩時異常出血、骨盤症、多胎、fetal distressなどは両群に有意差は認められなかった。

高年初産婦のみを不妊群と対照群と比較すると切迫流早産がやはり不妊群で有意に多くまた妊娠中毒症発症率は不妊群に有意に低かった。

新生児 Apgar score 4~7点、SFDの率が不妊群で有意に高かった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 101-105, 1986)

緒言

不妊症治療は満期分娩により健康な児を得ることで終了する。いままでの不妊症統計は不妊因子、不妊期間、不妊症成功例の治療などの報告がほとんどで、妊娠成功後の妊娠経過や分娩経過についての報告は少ない。

しかし不妊症治療の最終目的が生児を得ることであれば、妊娠、分娩経過が順調でなければならない。不妊症成功例の妊娠分娩経過が対照にくらべ、なんらかの異常が多ければ、今後不妊症妊娠例の妊婦管理にどのような注意が必要かを知ることが出来る。

これらの目的として今回我々は当科不妊症外来を受診し、妊娠に成功し、当科で妊娠経過、分娩経過を観察した不妊症患者についてその経過を検討したので報告す

る。

対象

当科不妊症外来を受診した不妊期間満2年以上の不妊患者で、妊娠に成功し昭和50年1月より昭和58年6月まで当科で分娩した370例（原発性不妊314例、続発性不妊56例）を対象とした。また対照群として昭和57年1月より12月までに当科で妊娠・分娩を経過した不妊症のない産婦594例を選んだ。

成績

1. 全分娩例に対する不妊患者分娩例の割合
表1に示すごとく全分娩例に対する不妊患者の割合は3.5~8.5%を占めており最近多少の増加傾向を示す。し

表 1 当院産科における不妊患者分娩例

	全分娩数	不妊患者分娩数	頻度 (%)
昭和50年	907	37	4.1
51	890	49	5.5
52	911	45	4.9
53	794	28	3.5
54	780	42	5.4
55	723	46	6.4
56	673	57	8.5
57	643	50	7.8
58 (6月末)	245	16	6.5
計	6566	370	5.6

表 2 分娩例の因子別頻度

	例数	%
排卵因子	74	20.0
黄体機能不全	21	5.7
卵管因子	170	45.9
男性因子	22	5.9
頸管因子	20	5.4
子宮因子	5	1.4
機能性不妊	58	15.7
計	370	100

かし不妊患者の絶対数にあまり変化がなく、全分娩数が漸減しているため不妊患者の割合が高くなってきている。

2. 分娩例の不妊因子

不妊患者分娩例の因子別頻度は表2に示した。370例中卵管因子が170例(45.9%)とほぼ半数を占め、排卵因子20.0%、機能性不妊15.7%の順であった。

3. 妊娠経過および分娩経過

不妊患者群(以下不妊群)と対照群をくらべると高年初産、吸引分娩、切迫流早産などが不妊群に有意(P<0.01)に高く、反対に妊娠中毒症合併は対照群に有意(P<0.05)に多かった。

その他帝王切開術、早産、前期破水、分娩時異常出血、骨盤位、多胎、fetal distress などには両群に有意差は認められなかった。(表3)。

4. 帝王切開術の適応

不妊群のうち帝王切開術を受けた40例の適応は表4のごとくであり、CPD が最も多く、fetal distress、妊娠中毒症などの順であり、いずれも産科学的適応であった。

表 3 妊娠経過および分娩経過

	不妊群 (370例)		対照群 (594例)	
	例数	%	例数	%
高年初産婦**	163	44.1	74	12.5
帝王切開	40	10.8	50	8.4
吸引分娩**	61	16.5	54	9.1
遷延分娩*	11	3.0	7	1.2
切迫流・早産**	52	14.1	22	3.7
早産*	20	5.4	30	5.1
妊娠中毒症	20	5.4	55	9.3
前期破水	67	18.1	71	12.0
分娩時異常出血	46	12.4	70	11.8
骨盤位	18	4.9	29	4.9
多胎	3	0.8	4	0.7
Fetal distress	68	18.4	107	18.0

* P<0.05 ** P<0.01

表 4 帝王切開術の適応

適 応	例 数
CPD	17
Fetal distress	6
妊娠中毒症	4
筋腫核出術後	3
子宮筋腫合併	2
前置胎盤	2
骨盤位	2
前回帝王切	1
常位胎盤早期剝離	1
高年初産のみ	2
計	40

5. 高年初産婦の妊娠分娩経過

不妊群、対照群の高年初産婦はそれぞれ163例、74例であった。これら高年初産婦の妊娠分娩経過を示したのが表5である。

切迫流早産が不妊群で有意(P<0.05)に高く、反対に妊娠中毒症合併は対照群に多かった。(P<0.05)。その他は両群に有意差は認められなかった。

6. 各因子別にみた妊娠・分娩経過

表6に示すごとく吸引分娩は排卵因子で24.3%、機能性不妊で20.0%にみられ、他不妊因子にくらべ高率であった。また帝王切開術も機能性不妊の20.7%に施行されている。多胎妊娠は排卵因子に2例、卵管因子に1例認められたが、いずれも双胎であった。排卵因子の2例の

表 5 高年初産婦

	不妊群 (163例)		対照群 (74例)	
	例数	%	例数	%
帝王切開	25	15.3	12	16.2
吸引分娩	34	20.9	15	20.3
遷延分娩	8	4.9	0	0
切迫流・早産*	25	15.3	4	5.4
早期産	11	6.7	3	4.1
妊娠中毒症*	17	10.4	15	20.3
前期破水	33	20.2	15	20.3
骨盤位	6	3.7	6	8.1
多胎	1	0.6	0	0
Fetal distress	45	27.6	25	33.8

* P<0.05

排卵法は clomid 療法, HMG-HCG 療法が 1 例ずつであった。

その他に SFD, 切迫流早産などは各不妊因子間で著しい差は認められなかった。

また新生児の男女比もほぼ 1 : 1 であるが男性因子では男児の出生が多かった。

7. 新生児 Apgar score

Apgar Score 4~7 点の児は不妊群で 74 例 (20.0%), 対照群で 77 例 (13.0%) と有意 (P<0.05) に不妊群で多かった。また SFD 児も不妊群 29 例 (7.8%) に対し対照群 26 例 (4.4%) と不妊群に有意 (P<0.05) に高かった。しかし Apgar Score 0~3 点, LFD 児については両群に差は認められなかった (表 7)。

次に高年初産婦から出生した児について不妊群と対照群をくらべたのが表 8 であり, Apgar Score 4~7 点, 0~3 点, SFD 児などの割合は両群に差を認めなかった。

8. 分娩週数

不妊患者 370 例の分娩週数を表 9 に示した。妊娠 40 週 ± 0 日を中心とした正規分布を示した。

考案

当科不妊症外来の臨床統計はすでに報告しているが¹⁻³⁾, いずれも妊娠までの経過が主であり, 妊娠後の

表 6 各因子別にみた妊娠・分娩経過

	分娩例		吸引分娩		帝王切開		早期産		SFD		多胎		切迫流・早産		男/女	
	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	
排卵因子	74	20.0	18	24.3	8	10.8	7	9.5	9	12.2	2	2.7	11	14.9	39/35	1.11
黄体機能不全	21	5.7	3	14.3	2	9.5	3	14.3	2	9.5			3	14.3	9/12	0.75
卵管因子	170	45.9	23	13.5	13	7.6	4	2.4	9	5.3	1	0.6	18	10.6	84/86	0.98
男性因子	22	5.9	3	13.6	2	9.1			1	4.5			3	13.6	17/5	3.4
頸管因子	20	5.4	1	5.0	2	10.0			1	5.0			4	20.0	8/12	0.67
子宮因子	5	1.4	1	20.0	1	20.0			1	20.0			2	40.0	2/3	0.67
機能性不妊	58	15.7	12	20.7	12	20.7	6	10.3	6	10.3			11	19.0	30/28	1.07
計	370	100	61	16.5	40	10.8	20	5.4	29	7.8	3	0.8	52	14.1		

表 7 新生児

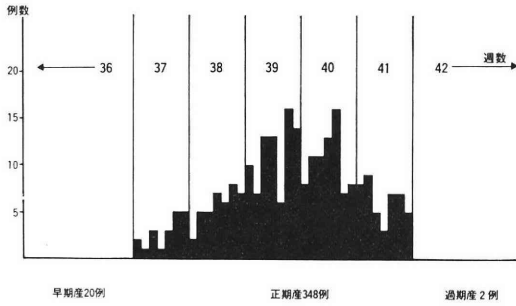
	不妊群 (370例)		対照群 (594例)	
	例数	%	例数	%
Apgar score 4~7*	74	20.0	77	13.0
(4~6)	(27)	(7.3)	(37)	(6.2)
0~3	6	1.6	9	1.5
SFD*	29	7.8	26	4.4
LFD	3	0.8	6	1.0

* P<0.05

表 8 高年初産婦

	不妊群 (163例)		対照群 (74例)	
	例数	%	例数	%
Apgar score 4~7	35	22.7	15	20.3
(4~6)	(15)	(9.2)	(9)	(12.2)
0~3	5	3.1	2	2.7
SFD	13	8.0	4	2.7

表 9 分娩週数



妊娠経過, 分娩経過については報告していない。また他施設においても妊娠成立までの経過の報告がほとんどであり, 妊娠経過, 分娩経過などについての報告はわずかしかない。

当科産科における不妊症患者分娩例の全分娩に占める割合をみると表 1 に示すごとく 3.5~8.5% を占め漸増傾向を示した。これは全分娩数が減少したために相対的に不妊症患者の割合が増加したものであり, 不妊症患者の年間分娩数に大きな変動は認められなかった。

分娩例の妊娠前の不妊因子を見ると卵管因子が最も多く, 次に排卵因子, 機能性不妊の順であったが, これは当科不妊症外来における過去 10 年間の不妊症成功例の因子別分類の成績¹⁾ とほぼ一致するものである。他報告をみると西村ら⁴⁾, 寺田ら⁵⁾, 森下ら⁶⁾ は排卵因子がそれぞれ 25%, 51.2%, 56.9% と最も多く, 卵管因子は西村ら⁴⁾ 22.0%, 寺田ら⁵⁾ 18.1%, 森下ら⁶⁾ 9.8% と低い。また機能性不妊の割合は 15.7% であったが, 寺田ら⁵⁾ 21.4%, 森下ら⁶⁾ 25.5%, 山田ら⁷⁾ 42.5% と高い割合であり, 報告者により成績が異なるが, これは機能性不妊の診断根拠が施設により異なることも一原因と思われる。

妊娠経過, 分娩経過を対照群と比較してみると吸引分娩, 遷延分娩, 切迫流産が対照群にくらべ不妊群に多かった。この原因としては表 3 に示したごとく不妊群に高年初産婦が多いことがあげられる。すなわち高年初産婦における吸引分娩率は表 5 に示すごとく不妊群 (20.9%), 対照群 (20.3%) とともに非常に高かった。

吸引分娩が不妊群に多いことは森下ら⁶⁾ の報告があり, 不妊群 27.5% に対し対照群 15.0% と有意 ($P < 0.01$) に高率であったとしている。この原因として我々の考えと同じく不妊群の平均年齢が高いことを指摘している。しかし福田ら¹⁰⁾ は不妊群の吸引分娩率が 5.8%, 対照群 4.3% と両群に差がないとしている。

高年初産婦の不妊群に占める割合は 44.1% であり対照群の 12.5% に比べ有意 ($P < 0.01$) に高率であった。不妊群と高年初産婦の関係を検討した報告は山田ら⁷⁾ (21.5

%) の報告のみである。また森下ら⁶⁾ は不妊群の平均年齢が対照群よりも高いとしている。我々の成績の 44.1% が特に高いか否か山田ら⁷⁾ の報告にしか比較しようがない。

切迫流産の割合は当科の成績では不妊群 14.1% であり対照群 3.7% に比べ有意 ($P < 0.01$) に高率であった。森下ら⁶⁾ も切迫流産や, 切迫早産率は 21.6%, 32.3% で対照群の 8.1%, 8.9% に比べ有意に高いとし, 不妊群で切迫流産が高いのは年齢因子とは関係なく, また不妊群では valuable pregnancy のため over diagnosis になるためだけではないとしている。

また一般の流産率は約 10% と推定されているが, 当科の最近 10 年間の不妊症成功例の流産率は 10.7%¹⁾ と一般流産率とほぼ同じであり不妊群に流産率が高くはなかった。不妊症成功例の流産率として西村ら⁴⁾ 14.4%, 寺田ら⁵⁾ 18.6%, 山田ら⁷⁾ 19.4%, 福田ら¹⁰⁾ 14.1% と一般流産率よりもやや高いとする報告が多い。

妊娠中毒症発症率は当科の成績では不妊群が 5.4% に対し対照群 9.3% と有意 ($P < 0.05$) に不妊群で低率であった。これは患者自身が valuable pregnancy ということと妊娠中の日常生活, 食事などに対照群に比べ注意しているためではないかと推定している。しかし不妊症患者の妊娠中毒症発症率として山田ら⁷⁾ は重症型 24.3%, 森下ら⁶⁾ は 36.3%, 米谷ら^{8,9)} 7.1%, 福田ら¹⁰⁾ 11.8% との報告が見られ施設によりその頻度が大きく異なるが, これは妊娠中毒症の診断程度, 地域差などが原因かもしれない。

次に帝王切開術との関係を見ると我々の成績では帝切率は不妊群 10.8%, 対照群 8.4% と不妊群にいく分高いが有意ではなかった。また帝王切開術の適応も産科的適応がほとんどであり, 不妊症成功例のために適応があまくなることはなかった。不妊群の帝切率については米谷ら⁹⁾, 森下ら⁶⁾, 西村ら⁴⁾, 山田ら⁷⁾, 福田ら¹⁰⁾ の報告があり, いずれも不妊群に高いが有意差はなかったとしている。これら報告者の帝切率は 10.1~13.7% とほぼ同じであった。我々は高年初産婦の帝切率も検討したが, 不妊群 15.3%, 対照群 16.2% と高年初産婦では帝切率がいく分高くなるが不妊群, 対照群とも同率であった。

妊娠経過および分娩経過が年齢因子により差が生ずるかどうか検討する目的で高年初産婦のみを対象として対照群と比較してみた。高年初産婦は不妊群 163 例, 対照群 74 例であった。表 3 のごとく切迫流産は不妊群に有意 ($P < 0.05$) に高く, 森下ら⁶⁾ のいうごとく年齢因子によつて切迫流産が不妊群に多いのではなく, むしろ valuable pregnancy のために over diagnosis になるためと推定された。また妊娠中毒症発症率も全体例と同様に

妊群が有意 ($P < 0.05$) に低い。

次に新生児について検討を加えると Apgar score 4 ~ 7 点が不妊群で有意 ($P < 0.05$) に多いが、この原因は不明であり、表 3 に示すごとく Apgar score に関する分娩異常が特に不妊群で多くはない。森下ら⁶⁾は Apgar score の平均点で不妊群と対照群を比較し両群ともほぼ同じ score であったとしている。SFD 児が不妊群で 7.8% 対照群で 4.4% と有意 ($P < 0.05$) に不妊群で高いが原因は不明である。ただし高年初産婦のみでは対照群とほぼ同率であり年齢因子は関係ないと思われる。

分娩週数は 40 週 ± 0 日を中心とした正規分布を示しており、一般産婦と同じパターンを示した。

以上の結果をみると不妊症成功例の妊娠、分娩経過は特に high risk とは考えられない。しかし高年初産婦が多く、そのためと思われる吸引分娩など軟産道が関係している分娩異常に注意しなければならぬことを示した。

本論文要旨は第 28 回日本不妊学会総会 (1983. 名古屋) で報告した。

文 献

- 1) 田中昭一, 山本 弘, 遠藤俊明, 幡 洋, 藤井美穂, 下谷保治, 東口篤司, 橋本正淑: 当科不妊症外来の最近 10 年間の臨床統計, 日不妊会誌, 29 : 431, 1984.
- 2) 田中昭一, 郷久鉦二, 光部啓一, 金上宣夫, 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.
- 3) 橋本正淑, 佐藤卓広: 不妊外来の実際, (統計的観察), 臨産産, 34 : 227, 1980.
- 4) 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.
- 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.
- 6) 森下 一, 森 崇英, 嶋川ひろ子: 当科不妊外来における妊娠成功例の妊娠分娩経過の検討, 日不妊会誌, 28 : 89, 1983.
- 7) 山田紳介, 占部 情, 清水健治, 関 正明, 長川富保, 林 伸旨, 早川幸司, 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.

- 8) 米谷国男: 不妊症患者妊娠・分娩例の取扱い方, 産婦実際, 28 : 457, 1979.
- 9) 米谷国男, 伊藤 誠, 広田 穰, 千原 啓, 多田 伸, 作井久孝, 上田 真, 馬島秀泰, 福島穰: 不妊症患者妊娠・分娩例の産科学的考察, 第 26 回不妊学会総会抄録, 173p. 1981.
- 10) 福田 勝, 清田明憲, 奥山輝明, 古谷 博: 当科不妊外来における妊娠例とその予後の検討, 日不妊会誌, 29 : 78, 1984.

Outcome of pregnancy and delivery in infertile women with established pregnancies

Shoichi Tanaka, Hiroshi Yamamoto, Miho Fujii,
Toshiaki Endo, Yasuharu Shimoya,
Atsushi Azumaguchi, Takuhiro Sato,
Estuji Satohisa and Masayoshi Hashimoto

Department of Obstetrics and Gynecology,
Sapporo Medical College

A retrospective study was made on the course of pregnancies and deliveries in 370 cases who had been treated for sterility in our outpatient clinic from January 1975 to June 1983.

Incidence of alte primiparae, threatened abortion, threatened premature labor and vacuum extraction at the time of delivery was significantly higher in the infertility group than in the control group. On the other hand, the incidence of toxemia during pregnancy was significantly lower in the former group than in the latter group.

There was no significant difference in the rate of cesarean section, premature labor, premature rupture of membrane, postpartum hemorrhage, breech delivery, multiple pregnancies and fetal distress between the two groups.

In the alte primipara group, incidences of threatened abortion and threatened premature labor were significantly higher in the infertility group than in the control group. The incidence of toxemia during pregnancy was significantly lower in the infertility group.

The rate of SFD and low Apgar score (4-7 points) in neonates were significantly higher in infertility group.

(受付: 昭和 60 年 3 月 13 日)

抗精子抗体に関する臨床的研究

—男子不妊症240例および精管切断術後症例25例における検討—

Clinical Study of Anti-sperm Antibodies in 240 Infertile Males and 25 Vasectomized Males

山口大学医学部泌尿器科学教室（主任：酒徳治三郎教授）

藤 澤 章 二

Shoji FUJISAWA

Department of Urology, Faculty of Medicine, Yamaguchi University

(Director: Prof. J. Sakatoku)

男子不妊症240名、精管切断術後25名において抗精子抗体を中心に免疫学的検討をおこない次の結果を得た。1) 閉塞性無精子症群と精管切断術後群で、精子凝集抗体（それぞれ70%、44%：ともに $P < 0.01$ ）および精子不動化抗体（44%、36%：ともに $P < 0.01$ ）とも対照群より高い検出率であつた。2) $10 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6/\text{ml}$ の乏精子症群で精子凝集抗体が有意に高い陽性率であつた ($P = 0.09$)。3) 閉塞性無精子症を除く男子不妊症群で、いずれかの検査法で陽性のものは8.3%であつた ($P = 0.05$)。4) 男子不妊症群精漿において、血中抗精子抗体保有群は、非保有群および対照群より IgG と IgA が有意に高値であつた。5) 抗精子抗体保有群の妊娠率（5.9%）は非保有群の妊娠率（23.1%）より低値であつた ($P = 0.12$)。6) 精管切断術後5年目の睾丸生検組織で、精細管基底膜に IgG の沈着を認めた。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 106-115, 1986)

はじめに

精子免疫は、Landsteiner (1899年)がウシ精子で免疫したモルモットの腹腔内に、再びウシ精子を注入すると、その精子の不動化現象を認めたという報告に端を発している。その後、男子不妊症の中にも免疫学的関与が示唆され、その役割が目されるようになった。

免疫学的男子不妊症は自己免疫疾患の一つと言え、次のように考えられている。つまり、精子抗原は発生学的に遅れて出現する抗原 (latently developed antigen) で、しかも解剖学的に blood-testis barrier により免疫担当細胞から隔絶された抗原 (sequestered antigen) である。このように自己の体成分でありながら、寛容性が確立されていないため、何らかの原因で精子が免疫担当細胞と接触することになれば自己とみなされず、自己抗体、すなわち抗精子抗体が産生されることになる。特に rete testis 付近は blood-testis barrier の最も弱い部位とされ、精路内圧の上昇、局所乏血、炎症および外傷などにより容易に破壊され、精子は免疫担当細胞と接触し自己免疫反応が起こる可能性がある。このような免疫現

象は、免疫学的男子不妊症のみならず、安全な避妊法として普及している精管切断術後も問題となる。

そこで、男子不妊症240名および精管切断術後症例25名において、抗精子抗体を中心とした免疫学的検討を試み、若干の知見を得たので報告する。

対 象

対象は、配偶者に何ら婦人科的異常を認めない男子不妊症240名（染色体異常を除く）と、過去に避妊の目的で精管切断術をうけた25名である。

男子不妊症患者の年齢は、24~44歳、平均32.2歳であつた。外来受診時の最高精子数別に分類すると、1) 無精子症51名（このうち閉塞性無精子症10名）、2) $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の高度乏精子症64名、3) $10 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6/\text{ml}$ の乏精子症64名、4) $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上が59名であつた。

精管切断術後症例の年齢は、28~44歳、平均36.3歳であつた。精管切断術後期間は1カ月~20年であつた。

対照は、20歳代および30歳代の実子をもつ男子53名とした。

方 法

各対象患者および対照群の血清と精漿は、測定施行日までに -20°C にて凍結保存した。これらを用いて、まず、抗精子抗体を検索した。抗精子抗体の測定は、精子凝集試験と精子不動化試験を用いた。

1. 精子凝集試験：Friberg の方法 (tray agglutination test) で施行した。まず、被検血清を 0.01M phosphate-buffered saline (PBS), $\text{PH} 7.4$, で $1:4$ より順次希釈する。最初の検査は $1:64$ までとした。流動パラフィンで満たしたテラサキ式マイクロテストプレート (Nunc 社製) に、それぞれ希釈した血清を $5\mu\text{l}$ ずつ分注する。次に健康男子より得られた新鮮な精液を $20\times 10^6/\text{ml}$ になるように PBS で希釈し、それをそれぞれの血清に $1\mu\text{l}$ ずつ加え、室温にて4時間静置する。結果は、倒立位相差顕微鏡を使い、 100 倍像で凝集の程度を、 400 倍像で凝集の型を判定する。判定は、WHOの報告(1974年)³⁾に従った。 $1:64$ の希釈血清で凝集を認めた場合、さらに希釈をすすめて、凝集を認めた最終希釈値をその血清の精子凝集抗体価とした。精漿は、原液より順次希釈しておこなった。

精子不動化試験：Isojima の方法で施行した。まず、被検血清および対照血清(処女血清)を 56°C 、 30 分間で非動化をおこなう。健康男子の新鮮な精液を 10% 非動化家兎血清加生理食塩水で洗浄、遠沈した後、 $60\times 10^6/\text{ml}$ になるように同生理食塩水に再浮遊させる。使用時は、約5分間程度静置し、上層の活動精子を用いる。補体は、モルモット血清を使用し、この血清がヒト精子を不動化しないことを確認しておく。本報では、5頭のモルモット血清を混合したものをを用い、 CH_{50} (Mayer の方法)は 184 であった。検査は、被検血清または対照血清、精子浮遊液および補体を $10:1:2$ の割合で混合し、 32°C で1時間培養する。培養後それぞれの混合液1滴をスライドグラスにのせ、強拡大($\times 200$)にて精子運動率を測定する。また、被検血清の精子に対する非特異的不動化作用でないことをみるために、補体を加えない同様の検査で精子の不動化が起こらないことを確認する。判定は、精子不動化値 (sperm immobilization value : SIV) = 対照血清における精子運動率 / 被検血清における精子運動率が2以上を陽性とする。

2. 免疫グロブリン測定：以上の抗精子抗体検査の結果をもとに、陽性群、陰性群および対照群において、抗体の主体をなす免疫グロブリン値に差異があるかどうかを検討するため、血清および精漿中の IgG, IgA および IgM を測定した。血清の測定は、tripartigen plate (ヘキスト社製)、精漿の測定は、LG-partigen plate (同)

を用いた。

3. 睪丸内における免疫反応を調べることは、免疫学的造精機能障害を検索する上でも、あるいは、抗精子抗体の睪丸におよぼす影響をみる上でも重要と思われる。そこで、睪丸生検が得られた男子不妊症群 13 名、精管切断術後群 3 名において、睪丸内での immune complex の沈着の有無を検討した。得られた睪丸組織は直ちにテイシュテック II, O, C, T, compound (Miles 社製) に埋没させ、検査時まで -80°C にて凍結保存した。この組織片で厚さ $4\mu\text{m}$ の切片をつくり、無蛍光スライドグラスに冷風で乾燥・固定した。次に PBS で洗浄後、切片の上に $1:20$ および $1:40$ に希釈した FITC anti-human IgG, IgA and IgM (rabbit serum, ヘキスト社製) を滴下し、moist chamber 内で 30 分間染色をおこなった。染色終了後、十分に PBS で洗浄し 10% 無蛍光グリセリン緩衝液で埋封した。これを落射型蛍光顕微鏡で観察し、精細管内における immune complex の沈着の有無を検討した。対照として non-labeled IgG, IgA and IgM (rabbit serum) の pre-incubation による blocking test をおこなった。

結 果

1. 男子不妊症と抗精子抗体

(1) 精子凝集試験 (Table 1, Table 2)

精子凝集抗体価(血清) $1:32$ 以上の陽性患者は 24 名であった。抗体価は $1:32$ より $1:2048$ まで認めた。一方、対照群 53 名では 1 名(1.9%)であった。精子数別に検討すると、閉塞性無精子症は 7 名(70%)が陽性であり、対照群との間に有意差 ($P < 0.01$, 直接確率法)を認めた。残りの原因不明の無精子症 41 名では、 4 名(9.8%)が陽性であったが、このうち、 3 名は造精機能が少なからず保たれており、さらに精路の検索が必要と思われる。厳密な意味での germinal cell aplasia は 1 名(2.4% , $P = 0.80$)であった。 $10\times 10^6/\text{ml}$ 以下の乏精子症 66 名では、 5 名(7.5% , $P = 0.16$) $10\times 10^6\sim 40\times 10^6/\text{ml}$ の乏精子症 64 名では、 6 名(9.3% , $P = 0.09$)が陽性であった。 $40\times 10^6/\text{ml}$ 以上では、 59 名中 2 名(3.3% , $P = 0.56$)が陽性であった。また、閉塞性無精子症を除く男子不妊症群の陽性率は 7.3% となった ($P = 0.16$)。凝集の型は、tail to tail head (T-TH) または tail tip to tail tip (TP-TP) が 15 名と最も多く、詳細にはこの両者を区別できない場合が多かった。

精漿は 86 名に同検査をおこなった。血清で陽性を示した 2 名に抗体価 $1:2$ を認めたのみであった。

(2) 精子不動化試験 (Table 1, Table 3)

血清で陽性のものは 10 名であった。一方、対照群はす

Table 1 Positive patients by tests of anti-sperm antibody

No.	Name	Age	Sperm Count	Agglutination (titer, pattern)	Immobilization (SIV)
1	H.S.	33	O.A.	1:64 T-T	(-)
2	H.H.	28	O.A.	1:256 T _P -T _P	(-)
3	Y.N.	35	O.A.	1:32 T-T	(-)
4	T.T.	32	O.A.	1:256 Mix	(+) 5.6
5	S.N.	34	O.A.	1:256 Mix	(+) 10.2
6	A.Y.	31	O.A.	1:128 T-T _H	(+) 4
7	T.S.	30	O.A.	1:2048 T-T	(+) 7.3
8	T.F.	32	azoospermia	1:64 T-T _H	(-)
9	T.T.	30	azoospermia	1:128 Mix	(-)
10	T.K.	31	azoospermia	1:128 T-T _H	(-)
11	M.Y.	34	azoospermia	1:64 T-T _H	(+) 2.6
12	M.F.	28	0.1×10 ⁶	1:64 T-T	(-)
13	T.T.	31	3.7×10 ⁶	1:64 H-H	(-)
14	E.U.	36	2.0×10 ⁶	1:32 Mix	(-)
15	Y.T.	32	9.1×10 ⁶	(-)	(+) 2.5
16	M.F.	28	8.8×10 ⁶	1:256 T-T _H	(+) 4.0
17	Y.S.	28	0.5×10 ⁶	1:512 T-T	(+) 2.2
18	M.O.	35	21.7×10 ⁶	1:64 T-T	(-)
19	J.N.	25	34.0×10 ⁶	1:512 T-T _H	(-)
20	H.F.	30	32.3×10 ⁶	1:128 H-H	(-)
21	S.M.	36	10.3×10 ⁶	1:64 T-T	(-)
22	M.T.	34	21.0×10 ⁶	1:512 Mix	(-)
23	K.Y.	35	38.0×10 ⁶	(-)	(+) 10
24	T.K.	28	27.5×10 ⁶	1:512 H-H	(+) 3.7
25	Y.N.	36	44.0×10 ⁶	1:512 H-H	(-)
26	M.S.	32	78.2×10 ⁶	1:128 T-T _H	(-)

O.A.: Obstructive Azoospermia

Table 2 Tray agglutination test of infertile males.

Sperm count	Total	No. of positive(%)	Exact method
azoospermia			
obstructive	10	7(70%)	P<0.01
others	41	germinal cell aplasia 1(2.4%)	P=0.80
<10×10 ⁶ /ml	66	5(7.5%)	P=0.16
10×10 ⁶ ~ 40×10 ⁶ /ml	64	6(9.3%)	P=0.09
40×10 ⁶ /ml<	59	2(3.3%)	P=0.56
control	53	1(1.9%)	/

べて陰性であった。精子数別に検討すると、閉塞性無精子症は4名(40%, P<0.01)が陽性で、対照群との間に有意差を認めた。残りの原因不明の無精子症は1名

Table 3 Sperm immobilization test of infertile males.

Sperm count	Total	No. of positive(%)	Exact method
azoospermia			
obstructive	10	4(40%)	P<0.01
others	41	1(2.4%)	P=0.44
<10×10 ⁶ /ml	66	3(4.5%)	P=0.17
10×10 ⁶ ~ 40×10 ⁶ /ml	64	2(3.1%)	P=0.30
40×10 ⁶ /ml<	59	0(0%)	/
control	53	0(0%)	/

(2.4%, P=0.44)が陽性であった。10×10⁶/ml以下の乏精子症66名では3名(4.5%, P=0.17), 10×10⁶~40×10⁶/mlの乏精子症64名では2名(3.1%, P=0.30)

Table 4 Pregnancy in 56 infertile couples

Anti-sperm antibodies	Husband's sperm count (/ml)	AIH	Pregnancy
Positive (N=17)	husband (N=5)	N=14	N=1 (5.9%) (AIH)
	AG (N=5)		
	IM (N=2)		
	(Both, N=2)		
Negative (N=39)	wife (N=12)	N=26	N=9 (23.1%) (AIH : 8 spontaneous : 1)
	AG (N=7)		
	IM (N=10)		
	(Both, N=5)		
	<10×10 ⁶ (N=4)		
	10×10 ⁶ ~40×10 ⁶ (N=5)		
	40×10 ⁶ < (N=8)		
	<10×10 ⁶ (N=6)		
	10×10 ⁶ ~40×10 ⁶ (N=10)		
	40×10 ⁶ < (N=23)		

AG : Tray agglutination test
IM : Sperm immobilization test

Table 5 Anti-sperm antibodies of vasectomized males

Postoperative period	N	Positive (%)		
		Tray agglutination test	Sperm immobilization test	Both
≤1 Month	11	4(36.6%)	4(36.6%)	4 (36.6%)
1 Month~ 4 Months	7	5(71.4%)	5(71.4%)	5 (71.4%)
1 Year~ 5 Years 10 Months	10	7(70 %)	5(50 %)	4 (40 %)
20 Years	1	0(0 %)	0(0 %)	0 (0 %)
Total	25	11(44 %)*	9(36 %)*	8 (33.3%)
Control	53	1(1.9%)	0(0 %)	0 (0 %)

* P<0.01

が陽性であった。40×10⁶/ml 以上ではすべて陰性であった。閉塞性無精子症を除く残りの男子不妊症群の陽性率は2.6% (P=0.28) であった。精漿ではすべて陰性であった。また、血中精子不動化抗体陽性患者6名の精子運動率は、2名が5%以下と不良であったが、残りの4名は50%~80%と良好であり、血中精子不動化抗体と精子運動率の間に一定の関係は認めなかった。また、閉塞性無精子症を除く230名のうち、以上の両検査法のいずれかに陽性であったものは19名 (8.3%, P=0.05) であった。

(3) 不妊症夫婦56組における検討 (Table 4)

56組の夫婦では両者に抗精子抗体を測定し、その保有の有無と妊娠について検討した。夫の精子数は、10×10⁶/ml 以下10名、10×10⁶~40×10⁶/ml 15名、40×10⁶/ml 以上31名であった。血中抗精子抗体が陽性であったものは、夫では精子凝集抗体のみ3名、精子凝集抗体および精子不動化抗体ともに陽性2名、妻では、精子凝集抗体のみ2名、精子不動化抗体のみ5名、ともに陽性5名であった。夫妻ともにいずれかの検査法で陽性を示したものはいなかった。56組のうち40組に AIH が1回から最高24回までおこなわれた。結果は AIH で9組、自然に1組が妊娠を得た。10組の妊娠成功例のうち、夫婦

Table 6 IgG, IgA and IgM in serum

	Anti-sperm antibody	IgG (mg/dl)	IgA (mg/dl)	IgM (mg/dl)
Infertile male	(+) n = 16	1420~2000 average : 1660	154~356 268	120~210 174
	(-) n = 22	1160~2160 average : 1715	140~346 242	104~205 168
Vasectomized male	(+) n = 10	1120~2200 average : 1605	108~326 225	114~268 179
	(-) n = 10	1210~2200 average : 1771	132~340 247	132~296 180
Control (n = 13)		1130~1900 average : 1543	185~302 253	104~205 163

Table 7 IgG, IgA and IgM in seminal plasma

	Anti-sperm antibody	IgG (mg/dl)	IgA (mg/dl)	IgM (mg/dl)
Infertile male	(+) n = 10	7.3~12.8 average : 9.80	1.5~2.4 2.01	—
	(-) n = 10	6.0~10.5 average : 7.69	1.2~2.0 1.54	—
Vasectomized male	(+) n = 5	6.0~ 9.7 average : 7.78	1.5~2.0 1.76	—
	(-) n = 6	6.6~ 8.8 average : 7.88	1.4~1.7 1.63	—
Control (n = 10)		6.0~10.2 average : 7.52	1.2~2.2 1.58	—

のいずれかが抗精子抗体を保有するものは1組のみ(妊娠率5.9%)で、残りの9組はともに抗精子抗体は陰性であった(妊娠率23.1%)。抗精子抗体陽性の妊娠例は、夫が精子凝集抗体(抗体価1:64)のみを保有し、AIHにて妊娠した。なお、妊娠成功例10組の夫の精子数は、 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下1名、 $10 \times 10^6 \sim 40 \times 10^6/\text{ml}$ 3名、 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上6名であった。

II. 精管切断術後と抗精子抗体 (Table 5)

血中精子凝集試験での陽性は、25名中11名(44%, $P < 0.01$)であった。抗体価は1:32より1:2048であった。凝集の型は、男子不妊症群と同様に tail to tail head または tail tip to tail tip のものが7名で残りの4名は mixed type であった。精漿では抗体価1:16を1例に認めたのみであった。血中精子不動化試験の陽性は9名(36%, $P < 0.01$)で、全例、精子凝集試験も陽性であった。精漿はすべて陰性であった。

術後期間と抗精子抗体の陽性率を検討すると、いずれかの検査法で陽性を示した頻度は、1カ月目までは36.3%と低いが、2カ月から4カ月の間にすでに71.4%と高い陽性率を示し、1年以後も70%と同様の結果であった。なお、精子凝集抗体価と術後期間との間に一定の関係は認めなかった。

III. 抗精子抗体と免疫グロブリン

結果を Table 6, Table 7, Fig. 1, Fig. 2に示す。男子不妊症群、精管切断術後群ともに、抗精子抗体保有の有無によつて血中免疫グロブリン値に差を認めなかった。一方、精漿では、男子不妊症群における IgG と IgA は、血中抗精子抗体保有群が非保有群および対照群より有意に高値を示した。IgM は、どの群においても測定不能であった(測定範囲1.1~18mg/dl)。精管切断術後群では差を認めなかった。

IV. 睪丸組織における免疫学的検討

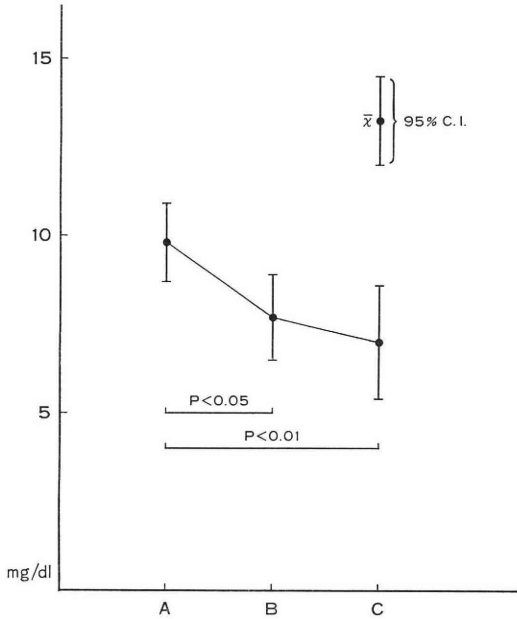


Fig. 1 IgG in seminal plasma

- A : infertile male with antisperm antibody (N=10)
- B : infertile male without antisperm antibody (N=10)
- C : control without antisperm antibody (N=10)

男子不妊症群13名(抗精子抗体保有者3名)および精管切断術後3名(すべて抗精子抗体保有)に施行した。男子不妊症群では、いずれも蛍光染色を認めなかった。精管切断術後群では、術後5年目の1例に、精細管基底膜を中心に IgG の沈着を認めた (Fig. 3)。

考 察

精子の抗原物質は細胞膜内および細胞膜上にあり、精子凝集抗体、精子不動化抗体および細胞障害性抗体などはこれを認識する。その認識される部位は、間接性蛍光染色法により、acrosome, equatorial region, postacrosome region, midpiece, tail mainpiece, tail endpiece および nucleus (protamine) が想定される⁴⁾。また、sperm-specific enzyme である lactate dehydrogenase X や hyaluronidase も抗原性をもつという⁵⁾。

抗精子抗体の臨床的測定法は、1974年 WHO によって諸家の方法をまとめて詳細に報告されている⁶⁾。そのうち、本報では、tray agglutination test および sperm immobilization test を用いて抗精子抗体に関する臨床的検討をおこなった。

I. 男子不妊と抗精子抗体

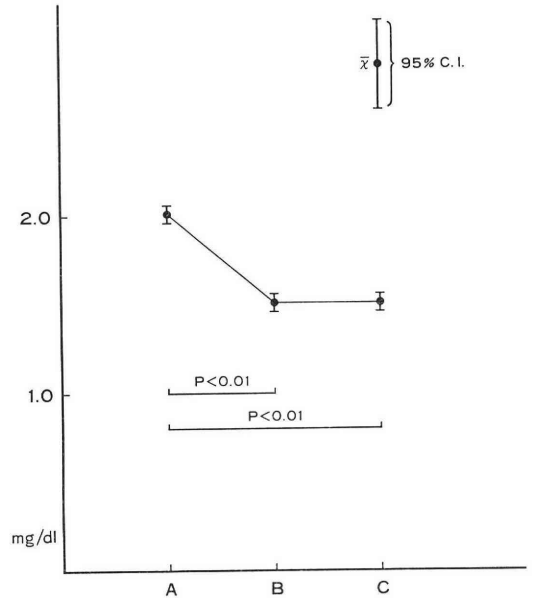


Fig. 2 IgA in seminal plasma

- A : infertile male with antisperm antibody (N=10)
- B : infertile male without antisperm antibody (N=10)
- C : control without antisperm antibody (N=10)



Fig. 3 精管切断術後5年目症例 (×400) 精細管基底膜に沿って IgG の沈着を認める。

(1) 男子不妊症患者における抗精子抗体の検出。

tray agglutination test (serum) では、抗体価 1 : 16 以下の場合、β-lipoglobulin などの non-immunoglobulin spermagglutinin の影響をうけることがあり³⁾、特異的に判定する場合、抗体価 1 : 32 以上を陽性とした方が適当であつて、本報もこれに従つた。本報の結果は、原因のはつきりしない男子不妊症群の 7.3% (P=0.16) に陽性であつた。文献的には、抗体価 1 : 32 以上の陽性

率は5~13.4%との報告^{5,7,9)}があり、本報の結果とほぼ一致していた。補体が関与する血中精子不動化抗体の陽性率は2.6% (P=0.28) と精子凝集抗体より低率であった。また、精子凝集抗体価の高いものは、精子不動化抗体もともに陽性である傾向を認めたが、すべてが一致するわけではなく、精子不動化抗体をより特異的な検査法とする考えより、両者は別々の抗体である可能性がある。これらのいずれかの検査法で陽性のものは、原因のはつきりしない男子不妊症群の8.3%となり、対照群との間に有意差 (P=0.05) を認めた。これは、男子不妊症の原因の一つとして免疫学的関与を示唆するものである。

閉塞性無精子症は、両検査法とも特異的に高頻度の陽性率であった。これは、精路閉塞により思春期以降、精子の再吸収や、いわゆる blood-testis barrier の破壊などが起こり、免疫担当細胞と接触することにより自己抗体が産生されたものと考えられる。またこの結果より、抗精子抗体の測定は閉塞性無精子症の補助診断に有用と考えている。その他の男子不妊症群では、両検査法とも $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の乏精子症群が比較的高い陽性率を示した。これは、造精機能に対する免疫学的関与の可能性を示唆するものと考えられ、後述するように睾丸組織の免疫学的検索も重要となってくる。

精漿における抗精子抗体の測定は、直接に妊孕性と関係し重要である。tray agglutination test で血清と同様に抗体価 1 : 32以上を陽性とすることは、免疫グロブリン含有量の差からしても、また臨床的に自己凝集との相関をみる上でも妥当でなく、本報では、原液より二倍希釈法にて抗体価を求めた。その結果、血清で高い抗体価を示した2例のみに精子凝集を認めたが、その抗体価は 1 : 2 と低値であった。しかし、これらの症例には自己凝集はなく、免疫学的凝集が不明である。なお、精子不動化抗体は認めなかった。血清に精子不動化抗体を認めたものでも、射精された精子の運動率には良好なものも多く、一定の関係は見出し得なかつた。これは、一般に精漿中には補体はほとんど含まれておらず⁶⁾、血中に精子不動化抗体を保有していても、射精された精子の運動率が低下しないということは不思議でないと思われる。

(2) 抗精子抗体と妊孕性

血中にいずれかの検査法で抗精子抗体を証明したもののうち、妻が妊娠を得たものは1例のみであった。この症例は、1 : 64と低い精子凝集抗体価で、しかも AIH により妊娠が得られた。精子凝集抗体保有男子 254名の追跡調査をおこなった Rümke らの報告⁵⁾によれば、36名が妊娠に成功しているが、半数は抗体価 1 : 16以下

で、残りの半数が1 : 64まで、あとの残りが 1 : 512までであったという。また、Mathur ら⁸⁾は、103組の特発性不妊夫婦のうち、抗精子抗体非保有群には22%の妊娠成功例があつたのに対し、夫婦いずれかに抗精子抗体を保有する群には妊娠例はなく、この両者間に著しい差を認めている。本報でも56組の夫婦の検討で、夫の精子数が多いものに妊娠成功例が多いながらも、抗精子抗体保有群が非保有群に比し低い妊娠率であつた (P=0.12)。

抗精子抗体保有女性の場合、抗体が頸管粘液内に分泌され、それが混入してきた精子と結合し、頸管内で精子通過性障害が起こるために不妊になるという報告がある¹⁰⁻¹²⁾。抗精子抗体保有男子の場合も、妊孕性低下の原因の一つとして、配偶者の頸管粘液通過性が問題となる。Friberg は¹³⁾、精子凝集抗体価の高いものほど postcoital test が不良であつたと報告している。この頸管粘液通過性障害の機序として Kremer らは¹⁴⁾、精子と結合した抗体の Fc 部分が頸管粘液の micelle に存在する IgG Fc 受容体に捕捉されるためと説明している。一方、Tzartos は¹⁵⁾、抗精子抗体の存在下で hamster egg の精子貫通性が障害されることを示し、抗体と結合した精子それ自体受精能が障害されていると述べている。また、これは近年注目されている体外受精時に考慮されなければならない問題を含んでいて重要である。

(3) 抗精子抗体の産生と造精機能

抗自己精子抗体が産生される部位として、blood-testis barrier の最も弱い部とされる rete testis および efferent ductule が考えられる。抗精子抗体産生の原因として、種々の炎症、外傷および精管切断術を含めた精路閉塞などが考えられる。文献的にも抗精子抗体保有の男子不妊症群の中に、睾丸炎、副睾丸炎および睾丸外傷の既往を多く認めたという報告^{16,17)}があるが、多くの場合不明である。また逆に、動物実験では抗精子抗体による allergic orchitis が証明されている^{18,19)}が、それがいかに造精機能を障害するかはまだ十分に解明されていない。本報では、睾丸生検組織の immune complex の沈着の有無を検討したが、男子不妊症群では証明されなかつた。

免疫学的造精機能障害では、Leydig cell は障害されず、ホルモン産生は正常である。このため、このような患者は不妊を訴えるまで受診することはまれと思われる。従つて、抗精子抗体が造精機能障害を起こすと仮定すれば、造精機能がある程度保たれている間は常に抗体が産生され、逆にそのために常に造精機能が障害されるという悪循環が成り立つ。この途中の段階で患者が受診する機会を得たならば、抗精子抗体保有の乏精子症となり、この悪循環の最終段階で、つまり抗原性を消失した後 (germinal cell aplasia) で受診すれば抗精子抗体を

保有しない無精子症である。本報の結果のように、抗精子抗体は乏精子症に多く、germinal cell aplasia にはまれであるという事実もうなづける。

II. 抗精子抗体と免疫グロブリン

血中抗精子抗体保有の有無によつて、血中の免疫グロブリン値に差を認めなかつたが、射精された精漿中の免疫グロブリン値に興味ある所見を得た。抗精子抗体保有の男子不妊症群において、抗精子抗体非保有男子不妊症群および対照群より、IgG および IgA がともに有意に高値を示した。IgM はどの群にも検出されなかつた。一方、精管切断術後群精漿では、この差を認めなかつた。健康男子の場合、精漿中の免疫グロブリンは前立腺において分泌または血中より移行すると言われている²⁷⁾。血中に抗精子抗体を保有する男子不妊症群にのみ IgG および IgA が高値を示し、精管切断術後群には認めないということは、精子が精路内を移行することによつて IgG または IgA が過分に精路内に移行または分泌された可能性が示唆される。IgM は分子量が大きい血液からの移行はできないものと思われる。この結果はまた、前述したように妊娠性障害の直接的原因と結びついて興味深い。

III. 精管切断術後と抗精子抗体

精管切断術後は、男子不妊症の特殊な一型である閉塞性無精子症と同様に抗精子抗体の出現頻度は高い。血中精子凝集抗体は、精管切断術を受けたものの $1/2$ から $2/3$ に証明され、精子不動化抗体はそれよりやや低率であるという報告が多い²⁰⁻²³⁾。本報の結果も同様であつた。術後期間で抗精子抗体の出現頻度を比較すると、術後1カ月目までは両検査法とも陽性率は低いが、2カ月目以降になると高率に抗精子抗体が証明されるようになった。この結果は、抗原が認識され抗体が出現するまでにある程度の期間を要するためと考えられる。精子凝集抗体価と術後期間との間に一定の関係は認めなかつた。これらに関しては、これまでにもいくつかの報告²²⁻²⁴⁾があるが、一定したものはない。

術後の睾丸生検が得られた3名に、睾丸内における immune complex の沈着の有無を検討し、1名に精細管基底膜にそつて IgG の沈着を認めた。これは、いつたん抗精子抗体が産生されて循環血液中に入り、それが今度は反応の場として睾丸内に作用したものと思われる。この結果は、精管切断術後の造精機能障害に、精管閉塞による機械的障害ばかりでなく、このような免疫学的機序も関与していることを示唆するものである。実験動物においては、精管切断術後の睾丸に明らかな免疫学的変化が報告されている^{25,26)}。さらに immune complex による atherosclerosis や focal glomerulone-

phritis が認められている²⁶⁾。ヒトではまだ重篤な合併症の報告はない。本報でも一般血液検査、内分泌学的検査 (LH, FSH, Testosterone) および尿検査を併せおこなつたが著変を認めなかつた。

以上、男子不妊症および精管切断術後において、抗精子抗体を中心とした臨床的検討をおこない若干の知見を得た。現在、これらに対する細胞性免疫の関与も示唆されているが、まだ十分に解明されておらず、今後この方面の研究も重要と思われる。

稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました恩師酒徳治三郎教授に厚く感謝の意を表わすとともに、御協力頂きました教室員諸兄、ならびに西田奈津子嬢、抗精子抗体陽性血清の御提供、御助言を頂きました神戸大学泌尿器科・石神襄次教授、松本修講師、さらに対象血清の御提供に御協力頂きました徳山中央病院産婦人科・伊東武久・山下三郎両先生、同泌尿器科・林田重昭、那須誉人両先生、下関市立病院泌尿器科・安井平造先生ならびに山口赤十字病院泌尿器科・永田一夫先生に深謝致します。

本論文要旨の一部は、第28回日本不妊学会総会 (1983年、名古屋) および第72回日本泌尿器科学会総会 (1984年、徳島) において発表した。

この研究の一部は、昭和59年度文部省科学研究費補助金 (奨励研究 (A) No. 59771096) によるものである。

文 献

- 1) Landsteiner, K.: Zur Kenntnis der spezifisch auf Blutkörperchen wirkenden Sera. Zentralbl. Bakteriol. 25: 546, 1899.
- 2) Wilson, L.: Sperm agglutinin in human semen and blood. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 85: 652, 1954.
- 3) Rose, N. R., Hjort T., Rümke, P., Harper, M. J. K. and Vязov, O.: Techniques for detection of iso- and auto-antibodies to human spermatozoa. Clin. exp. Immunol. 23: 175, 1976.
- 4) Tung, K. S. K., Cook, W. D., Teresita, A., McCarty, A. and Robitaille, P.: Human sperm antigens and antisperm antibodies. Clin. exp. Immunol. 25: 73, 1976.
- 5) Rümke, P. and Hekman, A.: Sterility: an immunologic disorder? Clin. Obst. Gyne. 20: 691, 1977.
- 6) Leslie, W., Quinlivan, G. and Sullivan, H.: Antispermatozoal effects of human seminal plasma-an immunologic phenomenon. Fertil. Steril. 27: 1194, 1976.
- 7) Halim, A. and Antoniou, D.: Autoantibodies to spermatozoa in relation to male infertility and vasectomy. Brit. J. Urol. 45:

- 559, 1973.
- 8) Mathur, S., Baker, E. R., Williamson, H. O., Derrick, F. C., Teague, K. J. and Fudenberg, H. H.: Clinical significance of sperm antibodies in infertility. *Fertil. Steril.* 36 : 486, 1981.
 - 9) 松本 修: 男子不妊における抗精子抗体に関する臨床的研究, 泌尿紀要, 27 : 477, 1981.
 - 10) 伊熊健一郎, 窪田耕三, 高田喜嗣, 鎌田敏雄, 香山浩二, 磯島晋三: 抗精子抗体の頸管粘液内精子通過性に及ぼす影響 (1), 日不妊会誌, 25 : 1, 1980.
 - 11) 伊熊健一郎, 窪田耕三, 高田喜嗣, 鎌田敏雄, 香山浩二, 磯島晋三: 抗精子抗体の頸管粘液内精子通過性に及ぼす影響 (2), 日不妊会誌, 25 : 158, 1980.
 - 12) 伊熊健一郎, 窪田耕三, 高田喜嗣, 鎌田敏雄, 香山浩二, 磯島晋三: 抗精子抗体の頸管粘液内精子通過性に及ぼす影響 (3), 日不妊会誌, 26 : 125, 1981.
 - 13) Friberg, J.: Postcoital tests and spermagglutinating antibodies in men. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 141 : 76, 1981.
 - 14) Kremer, J. and Jager, S.: The sperm-cervical mucus contact test: a preliminary report. *Fertil. Steril.* 27 : 335, 1976.
 - 15) Tzartos, S. J.: Inhibition of in-vitro fertilization of intact and denuded hamster eggs by univalent antisperm antibodies. *J. Reprod. Fertil.* 55 : 447, 1979.
 - 16) Rümke, P.: Autospermagglutination: a case of infertility in men. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 124 : 696, 1965.
 - 17) Haensch, R.: Fluoreszenzimmunologische spermien auto-antiloerper-befunde bei mannlichen fertilitats storungen. *Arch. Gynakol.* 208 : 91, 1969.
 - 18) Tung, K. S. K., Unanue, E. R. and Dixon, F. J.: Pathogenesis of experimental allergic orchitis. I. Transfer with lymph node cells. *J. Immunol.* 106 : 1453, 1971.
 - 19) Tung, K. S. K., Unanue, E. R. and Dixon, F. J.: Pathogenesis of experimental allergic orchitis. II The role of antibody. *J. Immunol.* 106 : 1463, 1971.
 - 20) Ansbacher, R.: Vasectomy: sperm antibodies. *Fertil. Steril.* 24 : 788, 1973.
 - 21) Samuel, T., Kolk, A. H. J., Rümke, P. and Van Lis, J. M. J.: Autoimmunity to sperm antigen in vasectomized men. *Clin. exp. Immunol.* 21 : 65, 1975.
 - 22) Hellema, H. W. J. and Rümke, P.: Sperm autoantibodies as a consequence of vasectomy. I. Within 1 year postoperation. *Clin. exp. Immunol.* 31 : 18, 1978.
 - 23) Hellema, H. W. J., Samuel, T. and Rümke, P.: Sperm autoantibodies as a consequence of vasectomy. II. Longterm follow-up studies. *Clin. exp. Immunol.* 38 : 31, 1979.
 - 24) Gupta, J., Dhawan, S., Goel, G. D. and Saha, K.: Low fertility rate in vasovasostomized males and its possible immunologic mechanism. *Int. J. Fertil.* 20 : 183, 1975.
 - 25) Bigazzi, P. E., Kosuda, L. L., Hsu, K. C. and Andres, G. E.: Immune complex orchitis in vasectomized rabbits. *J. exp. Med.* 143 : 382, 1976.
 - 26) Alexander, N. J. and Anderson, D. J.: Vasectomy: Consequences of autoimmunity to sperm antigens. *Fertil. Steril.* 32 : 253, 1979.
 - 27) Rümke, P.: The origin of immunoglobulins in semen. *Clin. exp. Immunol.* 17 : 287, 1974.

Clinical study of anti-sperm antibodies in 240 infertile males and 25 vasectomized males

Shoji Fujisawa

Department of Urology, Faculty of Medicine,
Yamaguchi University
(Director: Prof. J. Sakatoku)

To evaluate the role of anti-sperm antibodies in male infertility and in the post-vasectomized state, the serum and seminal plasma samples of 240 infertile males and 25 vasectomized males were examined for the presence of agglutinating and immobilizing antibodies. 53 fertile males were examined as controls. The concentrations of immunoglobulins (IgG, IgA and IgM) were then measured in subjects with or without anti-sperm antibodies. Immune complex deposition were studied in biopsied testicular samples of 13 infertile and 3 vasectomized males by direct immunofluorescent method. The following results were observed. 1) The highest and most incidence of anti-sperm antibodies was found in cases with obstructive azoospermia and vasectomy. Circulating agglutinating antibodies were present in 70 % of obstructive azoospermias ($p < 0.01$) and in 41.6 % of vasectomized males ($p < 0.01$). Circulating immobilizing antibodies were present in 40 % ($p < 0.01$) and in 33.3 % ($p < 0.01$). At least one of the antibodies was present in 8.3 % of the infertile males excluding the cases with obstructive azoospermia ($p = 0.05$). A high incidence of agglutinating antibodies was found in cases with a sperm count of $10 \times 10^6 - 40 \times 10^6$ per ml. No substantial levels of antibodies were found in the seminal plasma samples. 2) The

昭和 61 年 1 月 1 日

藤 澤 章 二

(115) 115

seminal plasma samples of infertile males with circulating anti-sperm antibodies had significantly higher levels of IgG and IgA than the samples without antibodies and the samples of the control

subjects. 3) IgG deposition was found in one of the vasectomized cases.

(受付: 昭和60年3月11日)

Goatex vascular graft を用いた 人工精液瘤造設術の試み

“A Method of Artificial Spermatocele with Expanded
Polytetrafluoroethylene (Goatex Vascular Graft)”

横浜市立大学医学部泌尿器科

岩崎 皓 穂坂 正彦

Akira IWASAKI Masahiko HOSAKA

木下 裕三 岩本 晃明

Yuhzo KINOSHITA Teruaki IWAMOTO

Department of Urology, School of Medicine, Yokohama City University

横浜市立大学医学部産婦人科

長田 久文

Hisafumi OSADA

Department of Gynecology and Obstetrics, School of Medicine,
Yokohama City University

藤沢市民病院泌尿器科

広川 信

Makoto HIROKAWA

Department of Urology, Fujisawa Municipal Hospital

人工血管素材である Expanded Polytetrafluoroethylene (商品名 Goatex vascular graft) を用いて、閉塞性無精子症 4 例に人工精液瘤を造設した。結果は、全例に合併症を認めず、精巣上体結核症例を除く 3 例に精子を採取することが可能であった。しかし、精子濃度 $10 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6/\text{ml}$ という成績に対して、精子運動率が 10% 前後と良好な精子を得ることが難しく、まだ、配偶者間人工授精 (AIH) による妊娠には成功していない。また、約 1 年から 1 年 6 カ月という限られた精子採取可能期間が存在すると考えられた。従来より、精巣上体頭部より得られた精子には、運動性や妊孕性が疑問視されており、今後の問題として、良好な精子を選択的に得る方法、あるいは精子の妊孕性を高める方法が考慮されるべきと考えられた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 116-121, 1986)

緒言

先天性両側精管欠損症に対しての治療法として、人工精液瘤の造設は古くより試みられている。総鞘膜¹⁾、大伏在静脈^{2,3)}を用いた形成法は、いずれも精液瘤としての着着が不成功に終わっている。1981年、Jimenez Crus⁴⁾が人工血管材料を用いて人工精液瘤を造ることに成功し、獲得した精子により妊娠に到った症例を報告して

いる。Kelâmi⁵⁾、Wagenknecht⁶⁾もそれぞれに特殊な材料を用いて精子を得ることに成功している。

著者らは、人工血管材料の一つである四フッ化エチレン樹脂 (Expanded polytetrafluoroethylene, 商品名 Goatex vascular graft, Goatex と略) を用いて、人工精液瘤の造設を試み、精子を得ることに成功したので報告する。

対象症例

対象は、横浜市立大学病院および藤沢市民病院泌尿器科不妊外来を受診し、下記の診断の得られた4例である。いずれも無精子症を呈し、精巣生検でほぼ正常な造精機能を認めている。

症例1 35歳。診断：先天性両側精管欠損症（精巣上体頭部のみを有し、それより遠位の部位は欠除している）。

精巣容積：左15ml, 右15ml
血中 FSH : 7.5mIU/ml
LH : 6.1mIU/ml
Testosterone : 8.53ng/ml

症例2 30歳。診断：両側精嚢腺欠損症（左側は陰嚢基始部まで、右側は骨盤内までの、精巣、精巣上体に続く精管を認め、その遠位端が欠除している。図3）

精巣容積：左20ml, 右20ml
血中 FSH : 2.3mIU/ml
LH : 5.8mIU/ml
Testosterone : 2.32ng/ml

症例3 28歳。診断：尿路性器結核（1年6カ月抗結核療法施行後で、精管への造影剤注入は不可能であり、管腔の完全閉塞をみる）。

精巣容積：左15ml, 右15ml
血中 FSH : 8.5mIU/ml
LH : 12.5mIU/ml
Testosterone : 4.87ng/ml

症例4 35歳。診断：原因不明の広範囲精管閉塞症例（精管への造影剤注入は不可能であり、管腔の完全閉塞をみる）。

精巣容積：左12ml, 右12ml
血中 FSH : 11.9mIU/ml
LH : 6.9mIU/ml
Testosterone : 8.19ng/ml

方法

1. 手術手技

陰嚢内容を露出し、精巣上体、精管を剝離後、造影などにより診断を確認する。精巣上体頭部あるいは体部を鋭的に切断したあと、切断面よりの漏出液をスライドグラスにとり、精子の有無について検鏡する。精巣上体の精巣鞘膜臓側板を、約3mm程、精巣上体より剝離し、精巣上体との間に Goatex（直径8mm、長さ5~7cm）をはさむようにいれ、剝離した鞘膜をかぶせるような形で Prolene 5-0（13mm, atraumatic needle）にて

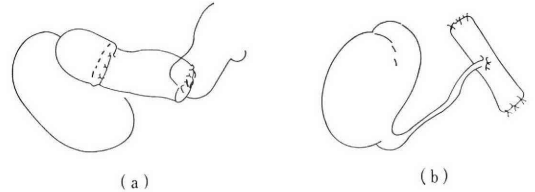


図1 人工精液瘤造設術模式図



図2 症例(1)の手術時完成図

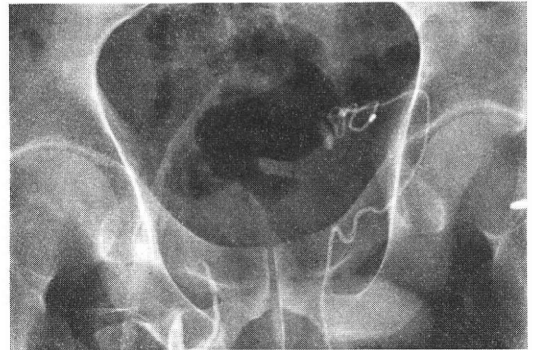


図3 症例(2)の精管造影像

water tight に縫合する。Goatex の遠位端は Prolene 5-0 を用い結節縫合にて閉鎖する。（図1-a, 図2）

症例2では、精管から精巣上体までの管腔が確認されたため(図-3)、約5cm の Goatex の両端を閉鎖して瘤をつくり、その中央に精管を植込む。方法は、精管断端に約3mm の縦の slit を入れたあと、Goatex 中央部に精管直径程の大きさの穴をあけ、ここに精管断端を通し Prolene 5-0による結節縫合にて端側吻合を試みる。（図1-b, 図4）

いずれも精巣鞘膜壁側板を越えて精液瘤を露出させ、その上から陰嚢皮膚をおおって縫合する。

2. 穿刺方法

手術1カ月後に初回の穿刺を、その後2~4週の経過



図 4 症例(3)の手術時完成図

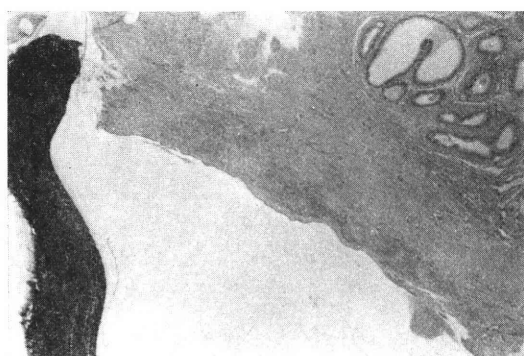


図 5 症例(1)の graft 及び精巣上体の接続部組織像

で穿刺を施行した。方法は、陰囊皮下に触知できる Goatex に対し 穿刺部位を滅菌消毒したのち、2 ml の注射筒につけた 21 Gage 針にて、約 45 度の角度で刺入、液を採取した。一部をスライドグラスにとり検鏡、残りをブドウ糖液あるいは Baker's solution と混合、配偶者間人工授精 (artificial insemination with husband's semen, AIH) に供した。

結 果

結果は表 1 に示した。精液所見は最良のものを表示した。症例 1 は、造設術後、初回穿刺時より多数の精子を採取できたが、1 年後に閉塞をきたしている。再度、精巣上体のより近位部に精液瘤を造設し、再び精子の出現をみたが、約 6 カ月後に無精子となっている。図 5 はその組織像で、精巣上体と精液瘤の間が、繊維組織によりさえぎられている。しかし、Goatex 周囲の組織像には、ほとんど炎症性の反応を認めていない。この症例は、配偶者側にも問題があり、AIH を 4 回試みたが不成功に終わっている。症例 2 も、同様に初回時より精子を認め、12 カ月間継続、その後閉塞をきたしている。精管の長さが、まだ充分残存しているため、再手術を考えている。症例 3 は、1 カ月に 1 回の穿刺を繰り返して、4 カ月後に 1 度、精子の出現をみている。しかし、それ以外の試みでは精子を認めていない。症例 4 は、症例 3 と同様に穿刺を繰り返し、術後 6 カ月を経て、精子が出現し始めた。その後、徐々に精子数が増加し、約 1 年 3 カ月後の現在、精子の採取は可能である。しかし、ブドウ糖液、Baker's solution あるいは患者自身の精漿を加えて AIH を試みたが、いずれも不成功に終わっている。現在、体外授精を考慮中である。

考 察

人工精液瘤は、Hanely (1956)⁷⁾が精巣上体に羊膜を植え込み作製した嚢腫より吸引した精子により人工授精に成功したことが契機となっている。1968年に Schoy-sman は⁸⁾は、先天性精管欠損症に対し、大伏在静脈を用いて人工精液瘤を造設し、17 例中 3 例に実子を得ている。しかし、その後、形成された精液瘤を調べた結果、瘤は大伏在静脈そのものではなく、精子の採取は偶然の結果と判断、大伏在静脈による精液瘤の造設は不可能で

表1 人工精液瘤造設術症例およびその経過

症 例	先天性 精管欠損症	先天性 精囊腺欠損症	尿路性器結核	後天性 閉塞性無精子症
人工精液瘤 造設術	精巣上体 頭部に	精管に	精巣上体 頭部に	精巣上体 頭部に
精子量	1.8 ml	1.0 ml	0.8 ml	0.8 ml
精液所見 精子濃度	78.4×10 ⁶ /ml	152×10 ⁶ /ml	1~3/SF	103×10 ⁶ /ml
運動率	8 %	10%	0 %	18%
精子採取継続期間	12カ月	12カ月	—	15カ月
人工受精	不成功	不成功	未施行	不成功

あると報告している⁹⁾。同様の方法で、Cognat²⁾ら、Vickers³⁾が追試を行ない、いずれも数少ない精子を得ることは成功したが、短期間に精液瘤の collapse を生じている。また、Rubin¹⁾も精巣鞘膜を用いて 2 例に精液瘤造設を試みたが、大伏在静脈の場合と同様な結果に終っている。以上の如く、生体材料を利用した精液瘤造設の試みは、いずれも、少数の精子が得られているが、精液瘤としての生着に問題を残していた。

1981年になって Jimenez Crus⁴⁾が、人工血管素材である monofilament knitted polypropylene を利用して、精子の採取を確実なものとし、先天性精管欠損症例において AIH による実子を得ることに成功している。同時期に、Wagenknecht⁶⁾は rat, bull に silicon cap を用いた人工精液瘤を造設し、精子を得ることに成功、bull にて受精にも結びつけている。kelâmi⁵⁾は、この silicon を用い特殊な形状にして、鼠径部に穿刺部位を設置する方法をとり、ヒトに応用、AIH による実子を得ることに成功している。

Goatex vascular graft は人工血管素材として、慢性透析患者の内シャントの代用血管として用いられている¹⁰⁾。このことより、生体への生着性にすぐれ、また、頻回の穿刺にも耐え得ると考えられた。そこで、著者らは、この素材を用いた人工精液瘤造設を試みた。結果として精液瘤の生着および精子の採取は可能であった。しかし、2 例においてはある期間を経て(約12カ月)、Goatex と精巣上体との間の閉塞が生じて、精子の採取が不可能となってくる。吉田ら¹¹⁾も、著者らと同様に Goatex を用いて精子を得ているが、同様な所見を報告している。このことはまた、Kelâmi の prosthesis を用いた例でもみられている⁵⁾。しかし、自験例 4 では 1 年 3 カ月後に、まだ精子の採取が可能であり、Jimenez Crus の症例も 1 年 3 カ月後に精子採取可能であると報告している⁴⁾。これらのことは、生体材料に比べ、人工素材が精液瘤の管腔保持の点で有用であることを意味している。また、Goatex に関しては、比較的簡単に入手できること、手術手技が簡単なこと、頻回の穿刺が可能であり、感染などの合併症もなく、現在のところ有用な素材であると考えられる。

初回穿刺時期およびその後の穿刺期間に関しては、まだ考慮すべき点が多いが、著者らは手術後の炎症所見がとれたあと、可及的に早期に、最低月に 1 回の穿刺を行なうように考えている。これは精液瘤を作製しても、結局はやや内腔が大きくなっただけで、閉塞性であることにはかわりがなく、内容液が充満する前に採液する方がよいと考えたからである。症例 4 の如く、手術後無精子の状態が続き、6 カ月して精子が発現した例は、この考

え方を裏付けてくれるのではないかと考えている。症例 3 を除き、限られた期間は精子の採取は可能であった。このことより、著者らは以下の経験を得た。(1) 産婦人科と密に連絡をとりあつて、配偶者にあわせて、短期間に最大限の AIH を行なうようにする。(2) まず片側のみの精液瘤造設を試み、精子の採取を確認する。対側を追加することにより、採取期間に余裕をもたせる。

Kelâmi は Baker's solution を添加して、得られた精子の運動性の向上に有用であったと報告している⁵⁾。著者らも、Baker's solution や患者自身の精漿などの添加による AIH を試みてきた。しかし、現在まで残念ながら AIH による受精には成功していない。精巣上体頭部につけられた人工精液瘤より得られた精子は、運動率が 10%前後と低く^{5,6,11)}、また、その多くが tail movement のみとされる¹²⁾。カフェイン添加による運動性の増加は認められるものの、forward Progression の増加はほとんど認められなかつたとも報告されている¹²⁾。自験例でも同様の傾向を示していた。動物実験からも、精巣上体頭部より得られた精子の妊孕性是否定的であり^{13,14)}、精子は精巣上体尾部あたりに進み、はじめて運動性を獲得するとされる¹⁵⁾。実験動物による試験管内受精に関しても、精巣上体頭部精子により受精に成功した例は少ない¹⁶⁾。しかし、逆に考えると自験例 2 のような症例での精子は、もつと運動性を得ていても良いはずであり、それ故、このような症例は本法の適応となり得ると考えている。また、Jimenez Cruz の報告以外にも、Kelâmi, Schoysman の症例で妊娠に成功していると報告されている¹⁷⁾。今後、体外授精に利用された良好精子を得る方法¹⁸⁾、あるいは運動性をもたらす薬剤の添加^{5,12)}、前培養など¹⁶⁾ AIH の成功に向けて、試みられるべき方法は多々あると考えられた。

人工精液瘤造設術の適応について、Kelâmi は (1) 先天性両側精管欠損症、(2) 精管の広範な狭窄、(3) 射精管の閉塞、(4) リンパ節郭清後の射精の消失、(5) 脊損症例と述べている⁵⁾。自験例 2 および 4 のような症例では、妊孕性も期待できると考えている。一方、症例 3 は、精子を採取できなかつた症例であり、著者らの一人岩本が既に報告¹⁰⁾した如く、保存的に抗結核剤による治療を行なつたあと、実子を得る目的で本法を施行した。他症例に比べ、癒着が強く、また、今回報告した 4 症例以外に施行された同様な精路結核の症例では、精巣上体頭部の剖面で、管腔はすべて閉塞されており、精子を得ることはまつたくできなかつた²⁰⁾。現在のところ、本法の適応としては否定的にとらえている。

結 語

Expanded Polytetrafluoroethylene (商品名 Goatex vascular graft) を用いた人工精液瘤造設術 4 例の経験を報告した。症例の適応を選べば精子を得ることは可能であるが、採取期間には限度があると考えられた。また、配偶者間人工授精の成功のためには、今後、得られた精子の quality を高める方法の検討が必要と考えられた。

文 献

- 1) Rubin, S.O.: Congenital absence of vas deferens. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 9 : 94-99, 1975.
- 2) Cognat, M. and Guillaud, M.: The artificial spermatocele in cases of congenital aplasia of sperm duct. Causes of failure and critical review. Personal statistics of 7 cases. *Andrologie* 5(1) : 37-42, 1973.
- 3) Vickers, Jr. M. A.: Creation and use of a scrotal sperm bank in aplasia of the vas deferens. *J. Urol.* 114 : 242-245, 1975.
- 4) Jimenez Cruz, J. F.: Artificial spermatocele. *J. Urol.* 123 : 885-886, 1980.
- 5) Kalâmi, A.: Kelâmi-Affeld alloplastic spermatocele and successful human delivery. *Urol. Int.* 36 : 368-372, 1981.
- 6) Wagenknecht, L. V., Weitze, K. H., Hoppe, L. P. et al.: New development in surgical andrology-alloplastic spermatocele. *Invest. Urol.* 17 : 432-434, 1980.
- 7) Hanely, H. G.: Pregnancy following artificial insemination from epididymal cyst. *Proc. Soc. Study Fertil.* 8 : 20-21, 1956.
- 8) Schoysman, R. and Drouart, J. M.: Progrès récents dans la chirurgie de la stérilité masculine et féminine. *Acta Chir. Belg.* 71 : 261-280, 1972.
- 9) Schoysman, R.: Comment about the review by Cognat and Guillaud. *Andrologie* 5(1) : 43-44, 1973.
- 10) Tellis, V. A., Kohlberg, W. I., Bhat, D. J. et al.: Expanded polytetrafluoroethylene graft fistula for chronic hemodialysis. *Ann. Surg.* 189 : 101-105, 1979.
- 11) 吉田英機, 内藤善文, 井口 宏: 人工精液瘤造設術を行なった閉塞性無精子症の 5 例, *臨泌*, 38(2) : 137-139, 1984.
- 12) Hamm, B. and Kelâmi, A.: How to increase the motility of spermatozoa from the epididymis of bulls and alloplastic spermatoceles in minipigs. *Andrologia* 16(1) : 26-33, 1984.
- 13) Uehara, T. and Yanagimachi, R.: Behavior of nuclei of testicular, caput and cauda

- epididymal spermatozoa injected into hamster eggs. *Biol. Reprod.* 16 : 315-321, 1977.
- 14) Hinrichsen, M. J. and Blaquier, J. A.: Evidence supporting the existence of sperm maturation in the human epididymis. *J. Reprod. Fert.* 60 : 291-294, 1980.
 - 15) Bedford, J. M., Calvin, H. and Cooper, G. W.: The maturation of spermatozoa in the human epididymis. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 18 : 199-213, 1973.
 - 16) 豊田 裕: 哺乳動物における試験管内受精. 代謝 16 : 臨時増刊号「性」 713-721, 1975.
 - 17) Wagenknecht, L. V.: Alloplastic spermatocele. "Genito-Urinary reconstruction with prosthesis" p. 188-213, Thieme-Stratton Inc. New York, 1981.
 - 18) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎・他: われわれの行なっている精液静置法 "layering method" による精液中からの良好精子の分離, *日不妊会誌*, 28 : 101-105, 1983.
 - 19) 岩本晃明, 岩崎 皓, 広川 信・他: 尿路性器結核による無精子症の 2 例, *日不妊会誌*, 29 : 108-111, 1984.
 - 20) 野口純男, 執印太郎, 北島直登・他: 尿路性器結核の臨床統計的観察, *日本泌尿器科学会第49回東部連合総会予稿集*, P. 98, 1984.

A method of artificial spermatocele with expanded polytetrafluoroethylene (Goatex vascular graft)

Akira Iwasaki, Masahiko Hosaka,
Yuhzo Kinoshita, Teruaki Iwamoto,
*Hisafumi Osada, **Makoto Hirokawa

Department of Urology, School of Medicine,
Yokohama City University

* Department of Gynecology and Obstetrics,
School of Medicine, Yokohama
City University

** Department of Urology, Fujisawa Municipal
Hospital

Using Expanded Polytetrafluoroethylene (EPTF: Goatex Vascular Graft), artificial spermatocele were made in 4 cases with obstructive azoospermia. The results were as follows;

1) There were no problems in wound healing or in other complications in all cases studied.

2) In 3 of 4 cases, except a case with tuberculous epididymitis, average volume of 1.1 ml aspirates containing spermatozoa could be obtained. The maximum sperm density and motility were $152 \times 10^6/m$ and 18 %, respectively.

3) Artificial inseminations with these aspirates have provided no pregnancy.

4) It became impossible to obtain spermatozoa from the spermatocele after approximately one year, mainly due to the blockage of the proximal tubules.

It is well documented that the caput epididymal spermatozoa are immotile and incapable of fertilizing ova.

Therefore, it is required for us to make all efforts to attain the capacity for full progressive motility and fertility of the spermatozoa from the artificial spermatocele. However, it was likely concluded that an artificial spermatocele made with Goatex Vascular Graft is successful to obtain a reasonable volume of semen.

(受付：昭和60年3月19日)

男子不妊症における八味地黄丸の臨床効果

Clinical Experience of Hachimijiogan for Patients Male Infertility

群馬大学医学部泌尿器科学教室

小林 幹 男 伊 藤 善 一 牧 野 武 雄
Mikio KOBAYASHI Yoshikazu ITO Takeo MAKINO

熊 坂 文 成 鈴 木 孝 憲 山 中 英 寿
Fuminari KUMASAKA Takanori SUZUKI Hidetoshi YAMANAKA

Department to Urology Gunma University School of Medicine

(Director: Prof. Hidetoshi Yamanaka)

1982年から1983年までの2年間に群馬大学病院泌尿器科不妊外来において特発性造精機能低下症と診断された121例のうち26例に漢方製剤である八味地黄丸(ツムラ)を用い、精液所見改善状況に関して各種治療法との比較検討を行った。

精液検査では精液量、精子数・活動精子数および精子活性度の測定を行い、総精子数、精子活性度において有意の改善を示し、特に造精改善度2以上の症例数は26例のうちの9例(34.6%)であった。また、八味地黄丸投与中の血中ホルモン値の測定においてはエストラジオールの一過性の下降傾向を認める以外は特に統計学的有意差を認めなかった。さらに八味地黄丸投与中、1例も副作用は認められなかった。妊娠成立は2例にみられた。

各種治療成績との比較の結果、八味地黄丸は男性不妊症の治療法として有用であると考えられた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 122-126, 1986)

緒 言

不妊症の診断・治療における進歩とともに最近では、不妊症の約半数は男性側に存在することが判明し、泌尿器科クリニックを訪れる患者数は年々増加の傾向にある。しかし、男性不妊患者の増加の反面、その妊孕性はきわめて低いのが現状である¹⁻³⁾。男性不妊症の病因のうち特発性造精機能障害が頻度が¹⁻³⁾高く、これに対して種々の治療が施行¹⁻³⁾されている。その主な薬物療法として、従来よりホルモン療法が行なわれているが、効果は満足すべきものではない¹⁻³⁾。また、造精現象における代謝の立場から核酸・蛋白合成作用をもつ薬剤(アミノ酸製剤、ビタミン剤等)投与も試みられている¹⁻⁴⁾。最近、漢方医学の普及に伴って男性不妊においても漢方製剤が使用され、造精促進に有用であったという報告も散見される⁵⁻⁸⁾。志田ら⁵⁾は朝鮮人参有効成分粗エキス剤“パナボライド”の造精促進効果における有用性を報告した⁵⁾。

今回、泌尿器科領域において⁹⁻¹³⁾排尿障害やインポテンツ¹⁴⁾に対し臨床効果が報告されている漢方製剤、八味地黄丸を男性不妊症の治療に応用する機会を得たので、その成績について報告する。

対象および投与方法

1982年から1983年までの2年間に群馬大学医学部附属病院泌尿器科不妊外来を受診した181例のうち、精路通過障害、副性器障害、性交不全および性索静脈瘤等の病因を除く造精機能低下症121例に対して5種類の治療を行ない、うち26例に八味地黄丸の単独療法を行なった(Table 1, Table 2)。

年齢は21歳から36歳で、平均30歳であり、全て既婚者である。投与方法は八味地黄丸(ツムラ)を1日量5.0g分2で単独投与した。投与期間は最低3カ月とした。八味地黄丸以外の治療法の概略を(Table. 2)に示した。精液検査法は7日間の禁欲後、手法にてガラス容器内に採取、1時間以内に精液量ならびに精子数、活動精子

Table 1 群馬大学病院泌尿器科不妊外来集計 (昭和57, 58年度)

0.	精子数 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上(活動率40%以上).....23	} 54
	" (" 40%未満).....31	
I.	$40 \times 10^6/\text{ml}$ 未満, $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上.....33	} 181例
II.	$10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満, $1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 以上.....42	
III.	$1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 未満, $0.1 \times 10^6/\text{ml}$ 以上.....9	
IV.	$0.1 \times 10^6/\text{ml}$ 未満, $0.01 \times 10^6/\text{ml}$ 以上.....1	
V.	$0.01 \times 10^6/\text{ml}$ 未満.....42	

Table 2

治 療 法	用 法・用 量
グ・VE・T ₃ (+T.デポー)	グルタミン 6g VE 150mg T ₃ 30 μg 3 \times p.o. (+/- Testosteron-depot 125mg 月1 \times i.m.)
八 味	5.0g 2 \times p.o.
M-VB ₁₂	1000 μg 2 \times p.o.
Clomid	25mg 25日間連続 p.o. 3日間休業
HMG・HCG	HMG 75mg 2/W i.m. HCG 1000 I.U. 3/W i.m.

Table 3 精液所見改善度の判定基準

改善度	総精子数	$0.01 \times 10^6/\text{ml}$ 未満	$0.01 \times 10^6/\text{ml}$ 台	$0.1 \times 10^6/\text{ml}$ 台	$1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 台	$10 \times 10^6/\text{ml}$ 台
	(-) 0度	減少~ $0.02 \times 10^6/\text{ml}$ に増	減少 2倍以下に増	減少 1.5倍以下に増	減少 1.5倍以下に増	減少~不変
(±) 1度	$0.03 \sim 0.09 \times 10^6/\text{ml}$ に増	2~5倍以下に増	1.5~3倍以下に増	2倍以下に増	2倍以下に増	1.5倍以下に増
(+) 2度	$0.1 \sim 0.29 \times 10^6/\text{ml}$ に増	5~15倍以下に増	3~10倍以下に増	2~5倍以下に増	2~5倍以下に増	1.5~3倍以下に増
(++) 3度	$0.3 \sim 1.0 \times 10^6/\text{ml}$ に増	15~30倍以下に増	10~25倍以下に増	5~10倍以下に増	5~10倍以下に増	3~5倍以下に増
(+++) 4度	$1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 以上に増	50倍以上に増	25倍以上に増	10倍以上に増	10倍以上に増	5倍以上に増

数, 精子活性度を測定した. また, 精液所見改善度の判定には当教室独自の判定基準を用いた (Table 3).

結 果 (Table 4)

1. 精液量

八味地黄丸投与による精液量の変化であるが, 投与前の平均標準偏差値は $3.3 \pm 1.21\text{ml}$ であったが, 投与後では $3.4 \pm 1.39\text{ml}$ と有意差は認められなかった.

2. 精子数

八味地黄丸投与前後における総精子数の比較である. 投与前の総精子数の平均標準偏差値は (8.18 ± 10.25) $\times 10^6/\text{ml}$ であり, 投与後では (12.08 ± 15.19) $\times 10^6/\text{ml}$ と増加し, 統計的に有意差を認めた. 総精子数に対して造精機能改善度を総精子数の各段階に分類して, 治療終

了時における精子増加の状態を観察した (Table 5). 改善度3以上の症例数は26例中2例 (7.7%) であり, 改善度2以上の症例数は26例中の9例 (34.6%) であった (Table 6). また, 全26例の平均改善度は 1.038 ± 0.999 であった.

3. 活動精子数

投与前の精子活性度の平均標準偏差値は $12.66 \pm 12.77\%$ であり, 投与後は $13.35 \pm 13.37\%$ と微増を示したが, 統計的に有意差は認められなかった.

4. 精子活性度

投与の精子活性度の平均値は 17.4 ± 1.30 であり, 投与後は 2.11 ± 1.61 と増加を示し, 統計的にも有意差を認めた.

5. 八味地黄丸投与時における血中ホルモン値の変動

Table 4

治療法	症例数	年齢	造精改善度	改善度2以上の症例数	妊娠成立例	精液量 前 後 (ml)	精子数 前 後 (×10 ⁶ /ml)	活動精子数(%) 前 後	精子 前 後 活性度
グ・VE・T ₃ (+T.デポー)	37	30.9 ±3.0	0.649 ±0.716	3(8.1%)	2	3.15±1.25 3.15±1.41	9.11± 9.46 9.67±10.60	13.21± 9.91 14.38±11.39	1.89±1.29 1.86±1.20
八 味	26	30.0 ±2.9	1.038 ±0.999	9(34.6%)	2	3.30±1.21 3.40±1.39	8.18±10.25 12.08±15.19*	12.66±12.77 13.35±13.37	1.74±1.30 2.11±1.61*
Me-VB ₁₂	32	30.1 ±3.0	0.688 ±0.738	3(9.4%)	4	3.41±1.40 3.42±1.29	11.24±11.04 12.56±12.04	14.77±10.18 15.63±10.56	2.27±1.35 2.30±1.41
Clomid	15	31.4 ±2.6	0.867 ±0.743	3(20.0%)	0	2.41±1.44* 2.77±1.13*	5.19± 4.37 7.33± 6.44*	4.47± 6.58 8.31± 9.34	0.65±0.96 1.33±1.20*
HMG+HCG	11	31.2 ±3.2	0.636 ±0.674	1(9.1%)	1	3.26±1.46 3.59±1.41	4.72± 4.02 5.90± 5.56	8.73± 9.87 9.96± 7.86	1.35±1.23 1.48±1.45

M±SD * P<0.05

Table 5 治療終了時における精子数増加状態(I)

初診時精子数	症例数	改善度				
		卅	卍	+	±	-
I. 10×10 ⁶ /ml台	6(1)	0		1	3	2
II. 1.0×10 ⁶ /ml台	17(1)	0	1	6	4	6
III. 0.1×10 ⁶ /ml台	3	0	1	0	0	2
IV. 0.01×10 ⁶ /ml台	0	0	0	0	0	0
V. 0.01×10 ⁶ /ml未満	0	0	0	0	0	0
	26(2)	0	2	7	7(1)	10(1)

() は妊娠成立数

八味地黄丸投与前と投与後3~4カ月の血中FSH, LH, テストステロン, プロラクチン及びエストラジオール値の測定をおこない比較検討した. 結果はエストラジオールにおいて投与後, 一過性の軽度低下傾向がみられた以外は特に, 統計学的に有意差を認めるものはなかった (Table 7).

6. 妊娠成立例

本療法施行中, 2例において妊娠成立がみられた. 第1例は32歳, メチルコバラミン, トレンタールの併用療法を行なうも十分な治療効果が得られないため約2カ月の休薬の後に八味地黄丸にきりかえられたものである. 治療前の精液量4.5ml, 総精子数32×10⁶/ml, 活動精子数50%, 精子活性度4.0の精液所見であり, 八味地黄丸による治療後, 精液所見は精液量4.5ml, 総精子数30.4×10⁶/ml, 活動精子数50%, 精子活性度4.0となり造精改善度は0であつたが妊娠成立のみられた症例である. 他の1例は21歳, やはりメチルコバラミン, トレンタールの

Table 6 治療終了時における精子数増加状態(II)

	(卍)以上の改善例	(卍)以上の改善例
I. 10×10 ⁶ /ml台	0/ 6(0%)	1/ 6(16.7%)
II. 1×10 ⁶ /ml台	1/17(5.9%)	7/17(41.2%)
III. 0.1×10 ⁶ /ml台	1/ 3(33.3%)	1/ 3(33.3%)
IV. 0.01×10 ⁶ /ml台	0	0
V. 0.01×10 ⁶ /ml未満	0	0
	2/26(7.7%)	9/26(34.6%)

併用療法で治療効果を得ず, 約2カ月の休薬後に八味地黄丸にきりかえられたものである. 治療前の精液量3.0ml, 総精子数4.4×10⁶/ml, 活動精子数35%, 精子活性度3.5の精液所見であり, 八味丸による治療後の精液所見は精液量2.5ml, 総精子数7.7×10⁶/ml, 活動精子数15%, 精子活性度4.0となり, 造精改善度は1度で妊娠成立をみた症例であつた.

7. 副作用

全例とも八味地黄丸による副作用と考えられる自覚的および他覚的副作用は認められなかった.

8. 他治療法との比較成績 (Table 4).

1982年から1983年の2年間における特発性造精機能低下症121例に薬物療法として1) グルタミン, ビタミンE, トリヨードサイロニン (+テストステロン) の他に2) 八味地黄丸3) メチルコバラミン (M-VB₁₂), 4) クロミド (Clomid), 5) HMG. HCG 療法の5種類の治療を施行した. 臨床効果はグルタミン, ビタミンE, トリヨードサイロニン (+テストステロン), M-VB₁₂ およびMHG. HCG 療法の3者の効果はほぼ同程度で, 造精改

Table 7 八味地黄丸投与時における血中ホルモンの変動 (M±SD)

	FSH mIU/ml	LH mIU/ml	T ng/ml	PRL ng/ml	E ₂ pg/ml
投与前	11.6±7.1	17.2±8.7	7.37±2.48	7.35±3.32	8.56±2.55
3～4カ月後	11.9±6.2	15.5±5.6	6.77±2.15	9.02±4.09	6.99±3.12
	n=16	n=16	n=16	n=11	n=5

Table 8

治療法	症例数	平均改善度	改善度2以上の症例数	妊娠成立症例数
ゲ・VE・T ₃ (+T.デポー)	37	0.649	3(8.1%)	2
八味	26	1.038	9(34.6%)	2
M-VB ₁₂	32	0.688	3(9.4%)	4
Clomid	15	0.867	3(20.0%)	0
HMG・HCG	11	0.636	1(9.1%)	1

善度はともに0.7以下であった。これに対し、八味地黄丸およびクロミド投与群においては精子数、精子活性度において有意の改善度がみられ、平均造精改善度は各々1.038、0.867であり、また改善度2以上の症例は各々34.6%、20%であった。このように八味地黄丸は同一時期に行なわれた他治療と比べ、精液所見改善度に対して最も有効であり、さらに精子活性度も有意の改善を示すという結果を得た (Table 8)。

IV. 考 察

男性不妊症の大多数を占めるものは、いわゆる特発性造精機能低下症である。治療法としては、従来より視床下部-下垂体-睾丸系を中心としたホルモン機能障害が考えられ、ホルモン療法^{2,3)}が施行されてきたが治療成績はあまり満足すべきものではない。そこで睾丸の代謝賦活という観点からアミノ酸、ビタミン剤の他、核酸前駆物質等の代謝促進剤^{3,4)}が用いられ、ホルモン製剤とほぼ同等の成績である。さらに副作用の点でもホルモン製剤と比較してきわめて少ないという利点がある。従って、最近では治療の第1選択はまず、非ホルモン療法から施行し無効と判定された場合にはホルモン療法あるいは、それらの併用療法に移るのが一般的な治療法^{2,7)}と考えられている。また、最近では漢方薬の普及とともに泌尿器科領域でも漢方製剤を使用する機会が多くなってきた。私共の教室でも朝鮮人参粗エキス剤“パナボライド”を男性不妊症の32例に対して1日9錠、分3で2～3カ月投与し造精機能促進効果があることを確認するとともに朝鮮人参有効成分 prostisol をラットに投与し睾丸の蛋白合成促進効果のあったことをすでに報告⁵⁾し

た。今回、泌尿器科領域において老人性排尿障害、腎炎、陰萎等に用いられている八味地黄丸を特発性造精機能低下症に応用し、その有効性について検討してみた。八味地黄丸は八味丸あるいは八味腎気丸ともいわれ、その成分は地黄(ジオウ)、山薬(サンヤク)、山茱萸(サンシュユ)、沢瀉(タンシヤ)、茯苓(ブクリョウ)、牡丹皮(ボタンピ)、桂皮(ケイヒ)、加工附子(加工ブシ)の8種で構成されており、薬効については主に強心・利尿・鎮痛作用と考えられ、特に地黄、山薬、山茱萸の3種は滋養・強壯作用¹⁵⁾があるとされている。しかし、各構成生薬成分の薬理作用はまだ解明されていない。適応症として腎炎、浮腫、糖尿病、陰萎、坐骨神経痛、腰痛症、膀胱炎、前立腺肥大症、夜尿症、高血圧などである。

男性不妊症に対する八味地黄丸の治療効果における報告はいくつか散見されるが、そのうちで、吉田⁷⁾は無精子症に対しては全く無効であったが、中等度の乏精子症や精子運動率の低下している精子無力症においては著明な改善がみられ、さらに高度の乏精子症でも30%に効果が認められたと述べている。また、三浦⁸⁾らの報告では総精子数、精子運動率、精子運動能指数に有意な改善を認め、特に精子の活動面に著明な改善を示し、八味地黄丸投与後、血中テストステロン値の上昇が観察されたと述べている。自験例では対象症例は総て乏精子症であるが、精子運動率に対しては有意な改善は認められなかったが、総精子数、精子活性度において有意の改善が認められ、特に造精機能改善度は34.6%と同一期間に施行された他の4種類の治療と比較して著明な改善を示した。しかし、八味地黄丸投与時における血中ホルモン値の変動はエストラジオールが投与後一過性の低下を示したのみで三浦⁸⁾らのいうテストステロン値の有意の上昇は認められず、むしろ低下の傾向を示した。エストラジオールの一過性低下の原因に関しては不明である。八味地黄丸の男性不妊に対する作用機序に関しては明らかではないが、吉田⁷⁾は精液所見の改善が投与後4～8週という比較的早期にみられることから精母細胞より精子へと成熟する時期以降の段階で精細管あるいは副性器に作用することを推定し、また三浦⁸⁾らは八味地黄丸の滋養・強壯・強精作用が精系細胞に直接作用するという可能性も

示唆した。さらに宇津木らは、幼若ラットを用いた基礎的実験で、八味地黄丸自体は androgen 作用はないが、dihydrotestosterone receptor の結合部位数を増加させることにより、精囊腺・前立腺葉の副性器重量増加作用があることを示した。八味地黄丸の薬理作用および作用機序に関しては、まだ不明な点が多数あるが、今回の自験例の治療成績においても男性不妊症治療薬として有効であり、さらに基礎的ならびに臨床的検討を加えようと考えている。

文 献

- 1) 志田圭三：男性不妊とその治療法，産婦人科治療，39：241，1979.
- 2) 石神襄次：男性不妊の治療，臨泌，31：475，1977.
- 3) 志田圭三・島崎 淳・浦野悦郎：男子不妊症治療（第2報）．群馬大学泌尿器科不妊外来臨床成績の集計，日不妊会誌，15：113，1970.
- 4) 志田圭三・島崎 淳・浦野悦郎：男子不妊症の治療（第1報） グルタミンの造精促進効果について，日不妊会誌，15：85，1970.
- 5) 志田圭三・島崎 淳・浦野悦郎：男子不妊症治療（第3報）．朝鮮人参有効成分粗エキス剤“パナボライド”の造精促進効果について，日不妊会誌，16：85，1970.
- 6) 石神襄次・斉藤 博・守殿貞夫：男性不妊に対するパナボライドの治療効果について，16：381，1971.
- 7) 吉田英機：男性不妊症に対する漢方療法産婦人科の世界，産婦人科の漢方，34(増刊)：114，1982.
- 8) 三浦一陽・松橋 求・牧 昭夫・高波真佐治・藤尾幸司・中山幸一・白井将文・安藤 弘：男子不妊症患者に対する八味地黄丸の臨床効果について，泌尿紀要，30：97，1984.
- 9) 新島端夫・上野 精・河辺香月：前立腺肥大症の自覚症状改善に対する八味地黄丸の効果，泌尿紀要，25：977，1979.
- 10) 浦田英男・浜野耕一郎・多田 茂・森 幸夫・波部英男・森 修・大患典雄・永野道夫：前立腺肥大症における八味地黄丸の使用による排尿動態の観察，泌尿紀要，25：983，1979.
- 11) 有馬正明・佐川史郎・園田孝夫：排尿障害に対する保存的治療，八味地黄丸の使用経験について，泌尿紀要，25：1231，1979.
- 12) 黒田昌男・三木恒治・清原久和・宇佐美道之・中村隆幸・中村麻嗟男・古武敏彦：排尿障害に対する八味地黄丸の使用経験，泌尿紀要，25：1235，1979.
- 13) 北川龍一・加納勝利・西浦 弘・小川由英・高橋茂喜：八味地黄丸の使用経験，泌尿紀要，26：97，1980.
- 14) 大山武司・前川正信・柏原 昇：インポテンス患者における八味地黄丸の効果，泌尿紀要，28：493，1982.
- 15) 藤平 健：八味地黄丸，漢方医学講座，2：28，1977.
- 16) 宇津木利雄・五十嵐正雄・矢崎千秋・長谷川喜久・宮本 薫・谷口雄一・野村修一・新川唯彦：八味地黄丸の視床下部一下垂体一睾丸機能に対する効果，日産婦誌，35：2305，1983.

Clinical Experience of Hachimijiogan for Patient Male Infertility

Mikio Kobayashi, Yoshikazu Ito,
Takeo Makino, Fuminari Kumasaka,
Takanori Suzuki and Hidetoshi Yamanaka
Department of Urology Gunma University
School of Medicine
(Director: Prof. Hidetoshi Yamanaka)

181 patients complained of male infertility visited our clinic during 2 years from 1982 to 1983.

121 patients of idiopathic male infertility received therapy with metabolic stimulants, hormonal therapy and combination therapy at least for 2 to 3 months.

26 patients suffered from idiopathic oligospermia were treated with a daily oral dose (5.0 g) of Tsumura Hachimijiogan.

The effects of Tsumura Hachimijiogan on 26 male infertilities were clinically evaluated:

1) The sperm count and sperm motile efficiency index showed significant improvement statistically.

In six (34.6%) out 26 patients, increase of sperm count were observed.

2) Pregnancies were obtained in 2 cases successfully.

3) The data suggested that the clinical effects of Tsumura Hachimijiogan were superior to those of other therapy.

(受付：昭和60年3月1日)

男子不妊症の臨床統計的観察 (II)

The Statistical Analysis of Male Infertility (II)

三重大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 多田茂教授)

堀 夏 樹 山 本 逸 夫 有 馬 公 伸
Natsuki HORI Itsuo YAMAMOTO Kiminobu ARIMA
林 宣 男 加 藤 雅 史 多 田 茂
Norio HAYASHI Masafumi KATO Sigeru TADA

From the Department of Urology Mie University School of Medicine
(Director: Prof. S. Tada)

1981年から1984年の4年間に受診した439名の男子不妊症患者のうち、340例につき検討をくわえた。

(1)平均年齢は 31.2 ± 3.7 (m±sd) 歳であった。

(2)精子濃度および精子運動率の平均値±標準偏差は $40.0 \pm 37.5 \times 10^6/\text{ml}$ および $39.7 \pm 27.4\%$ であった。

(3)内分泌学的に血中 LH は $19.3 \pm 13.5\text{MIU/ml}$, FSH $15.4 \pm 8.9\text{MIU/ml}$, testosterone $500 \pm 182\text{ng/dl}$ であった。

(4)約75%が特発性不妊症であり、17%に精索静脈瘤を、4%に Klinefelter's syndrome 等の染色体異常を認めた。

(5)治療を施行した207例のうち妊娠は34例 (16.4%) であり、主たる薬剤の精子濃度、運動率に対する有効性は以下のごとくであった。八味地黄丸エキス顆粒; 44.3%, 10.3%, 塩酸ジラゼブ; 42.0%, 6.0%, テストステロンエンナンテート; 57.1%, 14.3%

(Jap. J. Fert. Ster., 31 (1), 127-131, 1986)

緒 言

われわれは、かつて1977年から1980年における男子不妊症の臨床統計的観察をおこなったが¹⁾、ひきつづき1981年から1984年の4年間の観察を施行し、若干の知見を得た。今回その治療結果とあわせて報告する。

方 法

1981年1月1日より1984年12月31日の間に不妊を主訴として当科不妊外来を受診した新患439名のうち、次の条件を満たした340例につき検討を加えた。

(1)結婚後1年以上正常な性生活を営んでいるにもかかわらず、妊娠の成立をみないもの

(2)5日以上禁欲期間をおいたのち、用手法で精液をこぼさずに採取でき、原則的に治療前に2回以上の精液検査を施行し得たもの

(3)血中 leutenizing hormone (以下 LH), follicle stimulating hormone (以下 FSH), testosterone (以下 T) の定量 (RIA) をおこない得たもの

採取した精液は約30分静置し、十分液化させたのち、医師が量 (ml), 蛋白 (テストテープによる半定量), 精子濃度, 精子運動率を計測した。精子濃度については 10^5 の位を四捨五入し整数 $\times 10^6/\text{ml}$ と表現した。

症例は、精子濃度により normozoospermia=I群 ($45 \times 10^6/\text{ml}$ 以上), mild oligozoospermia=II群 ($44-30 \times 10^6/\text{ml}$), moderate oligozoospermia=III群 ($29-10 \times 10^6/\text{ml}$), severe oligozoospermia=IV群 ($9-1 \times 10^6/\text{ml}$), azoospermia=V群 (0/ml) の5群に分類して検討した。また、運動率は60%以上を正常としてあつた。

特に、V群に関しては、出来得る限り末梢血リンパ球培養による染色体検査を施行した。

治療は非内分泌療法を中心に施行し、一部にホルモン

Table 1 Results of Semem Examination (mean±sd)

Group(number)	Sperm count($\times 10^6/ml$)	Sperm motility(%)	Semen volume(ml)
I (142)	77.3±27.0	58.7±18.9	3.26±1.43
II (31)	36.0±4.2	44.6±18.5	3.95±2.24
III (55)	20.7±4.3	41.6±20.0	3.23±1.46
IV (49)	7.3±4.1	30.3±17.9	3.50±1.65
V (63)	0.0±0.0	0.0±0.0	2.90±1.39
Total (340)	40.0±37.5	39.7±27.4	3.29±1.58

療法をおこなった。

効果の判定は治療開始後、少なくとも3カ月以上継続して治療を受け、かつ(1)の条件下で精液検査をおこない得た症例を対象とした。

データは富士通 MB 25055上で筆者が作成したプログラムを用いて処理した。

結 果

(1) 総括的事項

全340例の平均年齢は 31.2 ± 3.7 歳(m±sd, 以下同様)で平均精子濃度は $40.0 \pm 37.5 \times 10^6/ml$, 平均精子運動率は $39.7 \pm 27.4\%$, 平均精液量は $3.29 \pm 1.58ml$ であった。また、内分泌学的には、LH 19.3 ± 13.5 MIU/ml, FSH 15.4 ± 8.9 MIU/ml, T 500 ± 182 ng/dl であった。

原因を検索したが、258例(75.9%)が不明であり特発性不妊症と考えられた。なお、このうち98例は理学的所見、精液ならびに内分泌学的検査所見に異常を認めず、夫単独に原因を求めることができなかった。また、23例に精液中に白血球を10以上/hpf認め、なんらかの感染症の存在が示唆された。次いで、精索静脈瘤57例(16.8%)、クラインフェルター症候群14例(4.1%)等であった。また、他の染色体異常としては、46, XYp+, 45, X, t(Ynf; 21), 45, XY, t(13q, 15q)が認められた。

治療については、133例が無治療であり、その内訳は、治療を必要としない正常群と思われるものが98例、クラインフェルター症候群等絶対不妊と思われるものが25例、その他なんらかの理由で治療を拒否したり、即AIDを希望する例、あるいは治療開始後3カ月に満たないうち受診しなくなった例等が10例であった。

治療を施行した207例中194例(93.7%)に対して非内分泌療法が施行された。内訳は八味地黄丸エキス顆粒(Hj)単独またはHjとビタミンB複合製剤との併用例が97例(46.9%)、塩酸ジラゼブ(DH)単独またはDHとATP製剤との併用例が50例(25.7%)と大半をしめ、その他としては、人参湯エキス顆粒、カリクレイン製剤、ペントキシフィリン、クエン酸クロミフェン等を

使用した。内分泌療法は18例(8.7%)に施行した。主としてテストステロンエンタート(TE)を使用し、一部にHCG/HMGを用いた。また、手術療法としては、精索静脈瘤6例に対し内精静脈高位結紮術を、精管狭窄または閉塞症2例に対し精管副睾丸吻合術を施行した。

妊娠例は上記207例中34例(16.4%)であったが、3例に12週以内の自然流産を認めた。

治療効果は前回と同様の基準¹⁾に従って判定した。すなわち、精子濃度は、I, II, III群は $20 \times 10^6/ml$ 以上の増加を著効(excellent), $10 \times 10^6/ml$ 以上を有効(good), $9 \times 10^6/ml$ 以内の増減を不変(unchange), $10 \times 10^6/ml$ 以上の減少を悪化(poor)とした。また、IV, V群の場合は、著効 $10 \times 10^6/ml$ 以上の増加、有効 $5 \times 10^6/ml$ 以上の増加、不変 $4 \times 10^6/ml$ 以内の増減、悪化 $5 \times 10^6/ml$ 以上の減少とした。運動率に関しては20%以上を有効とした。また、精液量は1ml以上の増加を有効とした。

薬物治療を施行した207例について上記の基準に基づいて効果を判定したところ、精子濃度は著効93例(44.9%)、有効30例(14.5%)で、有効率は59.4%であった。しかし、運動率は29例(14.0%)に改善を認めたにとどまった。使用頻度の高い3薬剤について効果を検討すると、各薬剤に対する症例数と精子濃度、運動率および精液量の改善率は、それぞれHj; 97例, 44.3%, 10.3%, 9.3%, DH; 50例, 42.0%, 6.0%, 12.0%, TE; 14例, 57.1%, 14.3%, 28.6%であった。

(2) 群別検査結果

I~V群の精子濃度、運動率、精液量をTable 1に、内分泌学的検査結果をTable 2に示す。

精子濃度と運動率の関係は、精子濃度が低下するに従い運動率も悪化する傾向がみられた。すなわち、各群間の運動率の差を検討すると、II~III群間においてのみ統計学的有意差がみられないものの、I~II, III~IV間はそれぞれ有意差を認めた($P < 0.01$)。また、精子濃度と精液量の間をみると、V群のみが他の4群に比し有意に少なかった($P < 0.01 \sim 0.05$)。

Table 2 Results of Endocrinological examination (mean±sd)

Group(number)	LH (MIU/ml)	FSH (MIU/ml)	Testosterone (ng/dl)
I (142)	14.5± 6.0	10.1± 9.1	525±175
II (31)	14.5± 5.9	10.3± 8.8	529±207
III (55)	16.5± 7.4	11.3±10.3	509±156
IV (49)	19.7±10.4	18.8±10.4	510±168
V (63)	34.7±21.2	34.2±21.2	412±190
Total (340)	19.3±13.5	15.4± 8.9	500±182

Table 3 The Causes of Infertility

Causes/group	I	II	III	IV	V	total
Unknown	125	20	41	35	37	258
Varicocele	17	10	14	13	3	57
Klinefelter's syndrome					14	14
Other chromosomal abnormalities					3	3
Mumps orchitis					2	2
Epididymitis				1	1	2
Others		1			3	4

Table 4 Judgement of effect ;
Hachimijiougan (Hj), Dilazep HCl (DH), and Testosteron Enanthate (TE)

group/drugs	Hj	DH	TE	
I	sperm count	29.7% (11/37)	30.4% (7/23)	66.7% (2/ 3)
	sperm motility	5.4% (2/37)	0.0% (0/23)	0.0% (0/ 3)
II	sperm count	66.7% (6/ 9)	40.0% (2/ 5)	0.0% (0/ 3)
	sperm motility	11.1% (1/ 9)	0.0% (0/ 5)	0.0% (0/ 3)
III	sperm count	76.2% (16/21)	77.8% (7/ 9)	100.0% (3/ 3)
	sperm motility	23.8% (5/21)	22.2% (2/ 9)	33.3% (1/ 3)
IV	sperm count	60.0% (9/15)	62.5% (5/ 8)	75.0% (3/ 4)
	sperm motility	6.7% (1/15)	12.5% (1/ 8)	25.0% (1/ 4)
V	sperm count	6.7% (1/15)	0.0% (0/ 5)	0.0% (0/ 1)
	sperm motility	6.7% (1/15)	0.0% (0/ 5)	0.0% (0/ 1)
Total	sperm count	44.3% (43/97)	42.0% (21/50)	57.1% (8/14)
	sperm motility	10.3% (10/97)	6.0% (3/50)	14.3% (2/14)

内分泌学的検索においても、V群の特殊性が確認された。すなわち、血中 LH, FSH 値は他に比し有意に高く ($P < 0.01$)、血中 T 値は有意に低かった ($P < 0.01$)。

I ~ IV 群間においては、I, II 群の内分泌検査値が統計学的に同一の profile を示したので、両群を統一して扱うこととした (以下 I / II 群)。LH は I / II 群と III 群間 ($P < 0.05$)、IV 群間 ($P < 0.01$) および III 群と IV 群間 ($P < 0.05$) に、FSH は I / II 群と IV 群間 ($P < 0.01$) および III 群と IV 群間 ($P < 0.01$) に有意差を認められたが、T は I ~ IV 群間に有意差はなかった。

原因については Table 3 に示す。各群とも特発性不妊症が 60% をこえ、最も高頻度にみられた。次いで多かったのは I ~ IV 群においては精索静脈瘤であり、第二の原因の大半を占めていた。V 群は原因においても他群と異なり多彩であった。なかでも、クラインフェルター症候群が 20% 以上であり、換言すれば azoospermia の 2 割以上は絶対不妊であるということになる。

(3) 治療効果

主要 3 薬剤の精子濃度、精子運動率に対する有効率を Table 4 に示す。最も治療効果の高かったのは III 群であり、80% 近い有効性がみられ、著効率も 75% 以上であった。また、この結果を反映するように妊娠率も 24.5% と 5 群中最も高かった。次いで、IV 群も良好な反応を示し、有効率 62%、著効率 45% であったが、妊娠率は 13.0% と低かった。I, II 群は平均 30% 台の有効率であり、III, IV 群に比しあきらかに低いにもかかわらず、妊娠率は 21.9% と比較的良好であった。V 群はほぼ無反応といつてよく、Hj に反応した 1 例も妊娠には至っていない。

考 察

男子不妊症の多くは基礎疾患をあきらかにしえない特発性不妊症が大半をしめているがその病的機構については、今なお不明な点が多い。最近、三宅等²⁾が特発性不妊症の睾丸変化の解明を器質的、機能的に試み、多くの示唆ある所見を報告し、当疾患理解のための緒を示したが、いまだ臨床応用までには至っていない。従つて、治療は様々な発想により半ば経験的におこなわれているのが現状である。

当科では前回、カリクレイン製剤の有効性を認めたが³⁾、今回はさらに幾つかの循環器系薬剤の有用性を検討し、塩酸ジラゼブに一応の有用性を認めた⁴⁾。次いで、当疾患の慢性的な経過を考慮し、より副作用が少ないと思われる和漢薬の使用を試みた。文献上にみられた八味地黄丸^{5,6)}、人参湯⁶⁾、補中益気湯⁷⁾等について検討したが、今回は前立腺肥大症で使用経験の多い八味地黄丸を使用した。その結果、妊娠 17 例 (17.5%)、V 群を除

く 82 例に対する精子濃度および精子運動率に対する有効率は 52.4%、12.2% と一応満足すべき値が得られた。しかしながら、これらの多くの薬剤の有用性は、妊娠の成立をみない限り有用とはいへぬわけであり、真の意味での有効率は妊娠例の検討において、算出されねばならない。そこで、これらの結果がどれほど妊娠と結びつくのかを検討した。

不妊症の治療にあたり、その最終目的である妊娠を可能ならしめるための薬効を判定するのに、何をどのように指標とすべきか、いまだ定説をみていないが、一般的には精子濃度および運動率が広く用いられている。

精子濃度と運動率の相関は今回もあきらかであったが、両者個別に検討した。まず、精子濃度の改善が妊娠率に与える影響を検討したところ、妊娠 34 例中において、著効 27 例 (79.4%) 有効 5 例 (14.7%) で 94.1% の有効率をみており、妊娠の成立には精子濃度の改善、それも著しい精子数の増加が貢献していることが示唆された。したがって、薬効の判定においては、その基準をさらに厳しくする必要があったと思われる。次に、精子運動率の改善をみると、有効 11 例 (32.4%) と非妊娠群の 10.4% に比し、あきらかに高くこれもまた妊娠に影響を与えていると思われた。当初、20% 以上の改善をもつて有効とするのは、厳しすぎるのではないかという懸念があつたが、改めて結果を検討すると、むしろ妥当な値であると思われた。以上より、精子濃度、運動率がともに著しく上昇することが、妊娠成立のための重要な因子になっている可能性が示唆された。治療前の両者の相関性を考えあわせると、妊娠のための精巣 ~ 副性器にいたる雄性生殖臓器群の総合的な機能を判定する手だてでは、現在のところ、やはり、上記の 2 つの因子に代表されるのかもしれない。

次いで、内分泌学的検査値と治療効果の関係をみた。一般的に非内分泌療法の場合、治療後内因性ゴナドトロピンおよび T の上昇がみられるとされているが^{4,7)}、妊娠群における特異性は認められなかった。したがって、内分泌学的環境の改善は、少なくとも精子濃度、運動率ほど直接的な指標ではないように思われた。

今後はさらに精密な運動率の計測、あるいは、より直接的な精子の質の判定、精液生化学的検討、プロラクチンなど他の内分泌学的環境等を検索し、より正確な治療の指標を導く必要があるものと思われる。

結 語

1981 年から 1984 年の 4 年間に不妊外来を受診した 439 名の新患のうち、諸検査のための条件に合致した 340 例につき臨床統計学的検討を加えた。特に、妊娠例におい

ては精子濃度と運動率の著しい上昇がみられ、これらが妊娠の成立に重大な影響をあたえていると思われた。

文 献

- 1) 堀 夏樹・山崎義久・有馬公伸・柳川 真・杉村芳樹・田島和洋・栃木宏水・加藤広海・斉藤薫・多田 茂：男子不妊症の臨床統計的観察，日本不妊学会誌，27巻：161-169，1982.
- 2) 三宅弘治・欄 芳郎・佐橋正文：精巢生検よりみた特発性男子不妊症，泌尿紀要，29巻，991-1004，1983.
- 3) 斉藤 薫・米田勝紀・浦田英男・田島和洋・堀夏樹：男子不妊症に対するカリジノゲナーゼ製剤オノクレインPの使用経験，現代医療，14巻，562-566，1982.
- 4) 堀 夏樹・山本逸夫・有馬公伸・加藤雅史・山崎義久・多田 茂：男子不妊症における塩酸ジラゼブの使用経験，薬理と治療，12巻，3177-3181，1984.
- 5) 三浦一陽・松橋 求・牧 昭夫・高波真佐治・藤尾幸司・中山幸一・白井将文・安藤 弘：男性不妊症患者に対する八味地黄丸の臨床効果について，泌尿紀要，30巻，97-102，1984.
- 6) 亀井 清：男性不妊—精液不良に対する人参湯と八味地黄丸の効果，産婦人科の世界，34巻増刊，118-121，1982.
- 7) 光川史朗・木村正一・石川博夫・折笠精一：男子不妊症患者に対する補中益気湯の使用経験，日本不妊学会誌，29巻，458-465，1984.

The statistical analysis of male infertility (II)

Natsuki Hori, Itsuo Yamamoto,
Norio Hayashi, Kiminobu Arima,
Masafumi Kato and Shigeru Tada

From the Department of Urology Mie
University School of Medicine
(Director: Prof. S. Tada)

From 1981 to 1984, 439 newly patients visited

our clinic with complaint of male infertility. In this population, 340 patients were selected for our analysis.

The mean age (\pm SD) was 31.2 ± 3.7 y.o. In semen analysis, there were 142 cases with normozoospermia (group I: sperm count 45×10^6 /ml), 31 cases with mild oligozoospermia (group II: $44-30 \times 10^6$ /ml), 55 cases with moderate oligozoospermia (group III: $29-10 \times 10^6$ /ml), 49 cases with severe oligozoospermia (group IV: $9-1 \times 10^6$ /ml), and 63 cases with azoospermia (group V).

Mean sperm motility (\pm SD) and volume of ejaculate (\pm SD) of these groups were as follows: I: 58.7 (18.9)% and 3.26 (1.43)ml, II: 44.6 (18.5)% and 3.95 (2.24)ml, III: 41.6 (20.0)% and 3.23 (1.46)ml, IV: 30.3 (17.9)% and 3.50 (1.65)ml, V: 0.0 (0.0)% and 2.90 (1.39)ml.

About 75% of cases has unknown causes and 17% had left sided varicocele testis. In group V, over 20% (17 cases) had chromosomal abnormalities such as Klinefelter's syndrome, 46, XYp⁺, 45, X, t(Ynf; 21), 45, XY, t(13q 15q).

The serum levels of leutenizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), and testosterone (T) of this population were 19.3 ± 13.5 MIU/ml, 15.4 ± 8.9 MIU/ml, 500 ± 182 ng/dl in all cases. The LH and FSH levels were extremely high and T levels was low in group V ($p < 0.01$).

Following drugs were administrated; (1) Hachimijiougan granule (Hj) to 97 cases, (2) Dilazap HCl (DH) to 50 cases, (3) Testosteron Enantate (TE) to 14 cases, and (4) some other drugs to 46 cases.

As to the increasing of sperm count (gr. I ~ III; 10×10^6 /ml, gr. IV ~ V; 5×10^6 /ml) and motility (20%), the effects were 44.3% and 10.3% by Hj, 42.0% and 6.0% by DH, and 57.1% and 14.3% by TE, and 34 in 207 cases (16.4%) were succeeded in pregnancy.

(受付: 昭和60年4月12日)

Immotile-cilia syndrome の1例

A Case of Immotile-cilia Syndrome

千葉大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 島崎淳教授)

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

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

千葉大学医学部第二解剖学教室 (主任: 永野俊雄教授)

永野 俊雄 外山 芳郎
Toshio NAGANO Yoshiro TOYAMA

Department of 2nd Anatomy, School of Medicine, Chiba University
(Director: Prof. Toshio Nagano)

症例は反復性上気道感染にて千葉大学呼吸器科受診中、精査目的で当科紹介された16歳男子である。家族歴では妹に右胸心・慢性鼻炎をみとめた。理学的所見・超音波検査にて、右胸心を含む全内臓逆位を認めた。内分泌検査では、LH 9.9mIU/ml, FSH 6.3mIU/ml, テストステロン309ng/dl, プロラクチン16.9ng/ml, エストラジオール20pg/ml と正常範囲内であった。精液検査で、量2.0ml, 精子濃度 35×10^6 /ml, 運動率22%, 生存率74%, 奇形率24%であり、精子濃度の若干の低下と運動率の減少をみとめた。精子鞭毛の電顕所見では、約 $\frac{1}{3}$ の精子に、9+0, 7+2というような microtubules の数の異常や、microtubules の配置の異常をみとめ、のこりの $\frac{1}{3}$ の精子では inner dynein arms の様々の欠損をみとめた。

運動率の減少、電顕上の精子鞭毛の多様な異常を特徴とする Immotile-cilia syndrome の一例を報告した。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 132-135, 1986)

緒言

Immotile-cilia syndrome は、1977年 Eliasson らにより慢性気道感染と男性の場合には不妊を示す症候群につけられたものであり、気道粘膜の線毛と精子鞭毛の先天的な欠陥によるものであるとした¹⁾。精子鞭毛の欠陥として、dynein arms の欠損の他にも種々の異常が知られるようになった。以前、我々は outer dynein arms がみとめられず inner dynein arms も一部欠損した症例について報告したが²⁾、今回、精子の鞭毛構造の異常が多様であり、一部の精子に運動性のみとめられた症例を経験したので報告する。

症例

患者: [黒塗り], 16歳, 男性
主訴: 反復性上気道感染
家族歴: 妹 (12歳) に、右胸心、慢性鼻炎をみとめる。
既往歴: 幼児期より上気道感染を反復する。
現病歴: 乳児期より咳、喀痰をみた。5歳時健診の胸部レントゲンで右胸心を指摘された。高校の健診で気管支拡張症を指摘され、千葉大学附属病院呼吸器科で Kartagener 症候群と診断され、当科へ精査目的で紹介される。

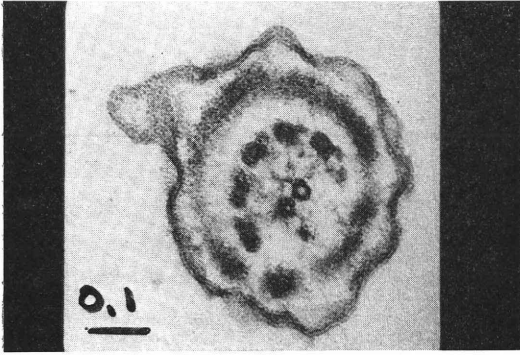


Fig. 1

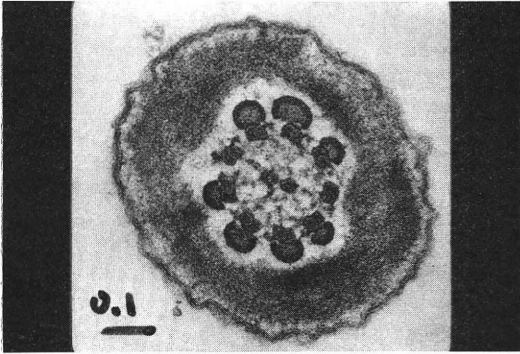


Fig. 2

現症：身長161cm，体重51kg，聴診上右胸部に心音を聴取する。外性器および前立腺に異常なし。

検査成績：

血液一般・血液化学・検尿：異常なし

胸部レントゲン：右胸心をみとめる。

超音波検査：全内臓逆位（脈管系，肝胆道系の左右逆転）をみとめる。

肺機能検査：FEV_{1.0} 2.52 l, FVC 3.38 l, %FVC 83 %FEV_{1.0}% 74.5%

動脈血液ガス検査：pH 7.378, PCO₂ 39.2mmHg, PO₂ 99mmHg, HCO₃⁻ 23.3mmol/l

内分泌検査：血中 LH 9.9mIU/ml, FSH 6.3mIU/ml, テストステロン309ng/dl, プロラクチン16.9ng/ml, エストラジオール20pg/ml

精液検査：量2.0ml，濃度35×10⁶/ml，運動率22%，生存率74%，奇形率24%（精子生存率は0.5%エオジンを用いた超生体染色にて行なった）。

精子鞭毛の電子顕微鏡所見：精漿を除くために Hanks 液で精液をうすめ，遠沈を 2 回行なった。沈澱した精子は 2.5% グルタルアルデヒド（カコチル 酸緩衝液，pH 7.2）で 30 分間室温にて固定した。後固定は 1%

OsO₄で行ない，エタノールで脱水した後，エポキシ樹脂に包埋した。薄切した切片はウラン・鉄 2 重染色を行なった。正常の精子鞭毛は，中心に 1 対の microtubules と周囲に 9 つの microtubules を有し，この 9 つの間にそれぞれ microtubules より突出している dynein arms と呼ばれる ATPase 含有の axoneme をもち，9+2 pattern の基本構造を有している。自験例では，9+0，7+2，5+2 というような数の乱れ，ならびに配置上の乱れをみとめた。また，配置は乱れているが，9+2 の構成をもつ鞭毛もまれにみとめられた。これらの数や配置の乱れている鞭毛は，約 1/3 の割合で存在した（Fig. 1）のこりの 1/3 の鞭毛では数や配置は正常であつたが，観察した全鞭毛においても，いくつか inner dynein arm が欠如していた。この欠損した inner dynein arm の数や位置には一定性がなく，それぞれの精子により異なつていた。（Fig. 2）ただ 1 つの inner dynein arm のみ欠損していた例もあつた。9 本の arm すべてが欠如していた例はみとめられなかつた。以上の所見より，本例は Immotile-cilia syndrome と診断した。

考 案

Immotile-cilia syndrome は，1977年 Eliasson らにより小児期より慢性呼吸器感染，男子不妊を呈する症候群に名付けられた。本症では，気道粘膜線毛と精子鞭毛に先天欠陥がみとめられ，約半数に内臓逆位を合併している。

精子の鞭毛構造上，dynein arm は横紋筋の myosin bridge に相当している。ATPase 活性は，一部 central structure にも存在しているが，主に dynein arm に存在することが，SDS polyacrylamide ゲル電気泳動，ATPase 染色により示された³⁾。この ATP のエネルギーにより，隣接する doublet が互いに slide することで，精子の鞭毛運動が生じると考えられている⁴⁾。outer および inner の両 arms の欠損では，鞭毛運動は不能であると考えられているが，inner outer のどちらかの欠損では，inner arm が outer arm より重要な働きをしており，outer arm のみの欠損では運動性の減少のみであつたと報告されている⁵⁾。

Immotile-cilia syndrome の分類としては，Afzelius らの 14 症例の電顕所見より精子鞭毛の構造異常を 5 型に分類したのが最初である⁶⁾。その 5 型とは，I) dynein arms の欠損，II) inner dynein arms の欠損，III) outer dynein arms の欠損，IV) spoke heads の欠損，V) 1 つまたは 2 つの central microtubules の欠損および central sheath の欠損である。I) ~ VI) 型では小児期より慢性呼吸器感染，男子不妊症を有し約半数で右胸

心を合併している。右胸心を呈するものは Kartagener 症候群と同じであり、患者の気道粘膜上皮線毛に精子鞭毛と同様の構造上の異常をみとめている。現在報告されている異常は、dynein arms の欠損, spoke heads の欠損, microtubules の欠損以外にも種々のものがあり、自験例も含め、Afzelius らの分類に該当しないものが多い。そのような例としては、axoneme の欠損^{3,6)}, central sheath のみの欠損⁵⁾などが報告されている。また Camner らは光顕で運動率低下、精子尾部の異常をみとめる19例について検討し、自験例同様、dynein arms は正常であるが filament の配列が5+2, 7+2, 4+2 など同一症例で多様性をしめす例を発表している⁵⁾。

Escalier らは、不妊男子のうち光顕で運動率30%以下または30%以上の精子尾部に異常のある症例56例について、精子鞭毛の電顕的観察を行ない、鞭毛異常を6型に分類し、各型と運動性、精液所見などに関して詳細な検討を行なっている⁷⁾。I) both dynein arms の欠損, II) inner dynein arms+peripheral junctions の欠損, III) outer dynein arms の欠損, IV) central junctions の欠損, V) central complex の欠損, VI) doublets+corresponding peripheral junctions の欠損, の6型である。自験例は Escalier らの鞭毛異常の分類には該当せず、I) II) V) 型の混合型といえる。運動性に関しては、I) II) 型のすべておよびV) VI) 型の一部では運動性はみとめられず、III) IV) 型のすべておよびV) VI) 型の一部では運動性の低下のみみとめるという。従来、Immotile cilia syndrome では精子の運動性は全くみとめられないと考えられていたが、現在では運動性の低下している症例の方が一般に多いと考えられ、そのような症例が報告されている^{1,5,8,9,10)}。

本症の病因は genetic なもので、常染色体劣性遺伝をしめし、発生学的な異常によるといわれ¹⁰⁾、Björn らによれば単一の gene ではなく多くの gene が関連している¹¹⁾。しかし、sperm immotility は、感染、外傷、抗精子抗体などの後天的要因でもおこりうるといわれ^{10,12)} Escalier らもV) 型とVI) 型は genetic な原因のみならず、後天的な睾丸機能不全に続発して生じる としている。自験例は妹に右胸心をみとめ genetic なものと想像される。

正常胎児の胎生期の上皮の線毛運動は一定の方向性を有しており、内臓の位置決定に重要な役割をはたしている。本症の胎児では線毛運動が欠如しており、内臓の位置関係は偶然性に支配されることになり50%の確率で内臓逆位がおこると考えられている¹³⁾。

治療法は有効なものがなく、Jewett らは本症に AID を行なっている¹⁴⁾。自験例のようにある程度の運動率の

みられるものは、AIH が適応となる可能性があるであろう。

結 語

右胸心・気管支拡張症をみとめ、当科精査目的で紹介された16歳男子の精液検査では運動率22%であつた。精子鞭毛の電顕所見は、9+0, 7+2等の microtubules の数・配置の乱れ、inner dynein arms の部分欠損など多様の異常がみられ、自験例は Immotile cilia syndrome と考えられた。

文 献

- 1) Eliasson, R., Mossberg, B., Camner, P. and Afzelius, B. A.: The immotile-cilia syndrome. A congenital ciliary abnormality as an etiologic factor in chronic airway infection and male infertility. *New Engl. J. Med.*, 297: 1-6, 1977.
- 2) 伊藤晴夫, 皆川秀夫, 布施秀樹, 川村健二, 内藤 仁, 島崎 淳, 永野俊雄, 鈴木二美枝, 夜久有滋, 石川堯夫, 山口邦雄: Immotile-cilia syndrome, *日泌尿会誌*, 73: 206-210, 1982.
- 3) Baccetti, B., Burrini, A. G., Pallini, V. and Renieri, T.: Human dynein and sperm pathology. *J. Cell Biol.*, 88: 102-107, 1981.
- 4) Afzelius, B. A.: Ultrastructural basis for ciliary motility. *Eur. J. Respir. Dis.*, 64 (suppl. 128): 280-286, 1983.
- 5) Camner, P., Afzelius, B. A., Eliasson, R. and Mossberg, B.: Relation between abnormalities of human sperm flagella and respiratory tract disease. *Int. J. Androl.*, 2: 211-224, 1979.
- 6) Afzelius, B. A., and Eliasson, R.: Flagellar mutants in man: On the heterogeneity of the immotile-cilia syndrome. *J. Ultrastruct. Res.* 69: 13-52, 1979.
- 7) Escalier, D. and David, G.: Pathology of the cytoskeleton of the human sperm flagellum: axonemal and peri-axonemal anomalies. *Biol. Cell*, 50: 37-52, 1984.
- 8) Baccetti, B., Burrini, A. G. and Pallini, V.: Spermatozoa and cilia lacking axoneme in an infertile men. *Andrologia*, 12: 525-532, 1980.
- 9) Mossberg, B., Afzelius, B. A., Eliasson, R. and Camner, P.: On the pathogenesis of obstructive lung disease. A study on the immotile-cilia syndrome. *Scand. J. Resp. Dis.*, 59: 55-65, 1978.
- 10) Afzelius, B. A.: "Immotile-cilia" syndrome and ciliary abnormalities induced by infection and injury. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 124: 107-109, 1981.

- 11) Björn, A. and Afzelius, B. A.: Genetical and ultrastructural aspects of the Immotile-cilia syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, 33 : 852-864, 1981.
- 12) Williamson, R. A., Koehler, J. K., Smith, W. D. and Stenchever, M. A.: Ultrastructural sperm tail defects associated with sperm immotility. *Fertil. Steril.* 41 : 103-107, 1984.
- 13) Rott, H. dD.: Kartagener's syndrome and the syndrome of immotile cilia. *Hum. Genet.*, 46 : 249-261, 1979.
- 14) Jewett, M. A. S., Greenspan, M. B., Shier, R. M. and Howatson, A. F.: Necrospemia or immotile cilia syndrome as a cause of male infertility. *J. Urol.*, 124 : 292-293, 1980.

A case of immotile-cilia syndrome

Hidenori Sumiya, Haruo Ito,

Zengo Kataumi, Kenji Kawamura,

Hideki Fuse and Jun Shimazaki

Department of Urology, School of Medicine,
Chiba University

(Director : Prof. Jun Shimazaki)

Toshio Nagano and Yoshiro Toyama

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

(Director : Prof. Toshio Nagano)

A case of Immotile-Cilia syndrome was pre-

sented.

The patient was 16-year-old man, who had been complaining of recurrence of respiratory tract infection since his childhood. His younger sister had dextra cordia and chronic rhinitis.

Physical examination and ultrasonography revealed situs inversus totalis, including dextra cordia. The concentrations of LH, FSH, Testosterone, Prolactin and Estradiol were 9.9 mIU/ml, 6.3 mIU/ml, 309 ng/dl, 16.9 ng/ml and 20 pg/ml, respectively. All values were within the normal limits.

Semen analysis was as follows; volume 2.0 ml, concentration 35×10^6 /ml, motility 22%, live spermatozoa 74%, abnormal spermatozoa 24%.

The electron microscopy of the sperm tail showed missing and irregular arrangement of the microtubules (about $\frac{2}{3}$ of the sperm tails), and defect of the inner dynein arms (other $\frac{1}{3}$ of the specimen).

(受付 : 昭和60年3月20日)

Effects of Acrosin, Acrosin Inhibitors and Anti-acrosin Antibody on the Motility of Human Sperm

Satoru KANEKO¹, Shigeru OSHIO², Toshifumi KOBAYASHI¹,
Hideo MOHRI² and Rihachi IIZUKA¹

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keio University,
35 Shinanomachi, Shinjuku, Tokyo, 160

² Department of Biology, University of Tokyo, Komaba, Meguro, Tokyo, 159

Abstract: The acrosome of mammalian sperm contains acrosin (EC 3. 4. 21. 10), trypsin-like serine proteinase. To investigate possible role of acrosin (acrosome) other than its established function, digestion of the zona pellucida, the effects of acrosin, trypsin, acrosin inhibitors and anti-acrosin antibody on human sperm motility were examined by a multiple exposure photography method.

The addition of acrosin (0.01 U/ml) increased sperm motility through the acceleration of the velocity of forward motile sperm, whereas the corresponding dose of trypsin had little effect. On the contrary, 1.0 U/ml of these enzymes suppressed motility and finally immobilized the sperm. Anti-acrosin immunoglobulin G reduced the number of forward motile sperm and decreased their velocity, but the adverse action was compensated by coexistence of bradykinin. Although acrosin inhibitor from seminal plasma gave no influence on sperm motility, those from other origins such as aprotinin and leupeptin suppressed it as with the anti-acrosin immunoglobulin G. These facts indicated that acrosin (acrosome) might be related to sperm motility in addition to the zona pellucida digestion.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(1), 136-142, 1986)

Introduction

The acrosome located at the head of mammalian sperm and contains a trypsin-like serine proteinase, acrosin, of which enzyme activity is essential for fertilization¹⁾. The major role of acrosin is believed to be formation of a small tunnel through the zona pellucida, allowing sperm to enter into the perivitelline space and fuse with the ovum¹⁾. However, it remains obscure whether acrosin may also participate in other process of fertilization. It is claimed by some authors that acrosin has the critical role in the process of reproduction besides the zona pellucida digestion. It might be involved in the acrosome reaction²⁾, in sperm transport through the cervical mucus³⁾, or in digestion of sperm histone⁴⁾.

Schill observed the stimulating action of boar pancreatic kallikrein, an enzyme similar to trypsin and acrosin, on the motility of

human sperm⁵⁾. This fact led us to an assumption that acrosin might also affect sperm motility. In the present study, the effect of acrosin and the related substances on human sperm motility were examined quantitatively by means of a multiple exposure photography method⁶⁾ in comparison with that of kallikrein.

Materials and Methods

Human and boar semen

Human semen was ejaculated from healthy donors after 4 days sexual abstinence. Boar semen was purchased from Kanagawa Life Stock Improvement Association. Boar seminal plasma was obtained by centrifugation at 11,000×g for 30 min.

Protein concentration

Protein concentration was estimated spectrophotometrically from the absorbance at 280 nm (A 280) taking $E_{280nm}^{1\%} = 11.1$ (acrosin),

10.0 (trypsin), 10.5 (boar seminal plasma acrosin inhibitor, SPAI) and 14.5 (immunoglobulin G, IgG).

Determination of the activities of enzyme and inhibitor

Acrosin and trypsin activities were determined spectrophotometrically by measurement of the hydrolysis of N^{α} -benzoyl-arginine ethyl-ester (BAEE) as substrate at 25°C, pH 8.3 in the presence of 0.05 M $CaCl_2$. One unit of activity was defined as hydrolysis of 1.0 μ mole BAEE/min at 25°C, pH 8.3.

The activities of acrosin inhibitors were measured as follows; 0.2 ml each of inhibitor and enzyme (2.0 U/ml) were preincubated for 5 min in 1.6 ml of 0.3 M Tris-HCl, 0.05 M $CaCl_2$, pH 8.3 and then 1.0 ml of 1.5 mM BAEE in the same buffer was added in the reaction mixture to measure the remaining activity. One inhibitor unit (IU) was defined as the activity which caused complete inhibition for 1.0 U of the enzyme.

Boar acrosin and bovine trypsin used in the present study were purified by affinity chromatography as described previously⁷⁾, and their specific activities were given to be 33.0 U/mg and 146 U/mg, respectively.

Purification of anti-acrosin IgG and SPAI

Boar acrosin purified was immunized in the rabbits and the same animals provided the control serum before immunization. Anti-acrosin IgG was detected by the ring test using the purified acrosin (50 μ g/ml) as the antigen. Anti-acrosin IgG was purified by affinity chromatography on Protein A Sepharose⁸⁾ and acrosin Sepharose, which was made by coupling the purified acrosin (10 mg) to 9.0 ml of BrCN activated Sepharose.

SPAI was isolated from boar seminal plasma by trypsin Sepharose. Bovine trypsin (twice crystallized, 500 mg) was coupled with 100 ml of BrCN activated Sepharose.

Disc gel electrophoresis

Homogeneity of the purified anti-acrosin IgG and SPAI were estimated by disc gel electrophoresis. It was performed with 7.5 % polyacrylamide gel at pH 4.3 for SPAI and at pH 8.9 for IgG. The gels were stained with Coomassie Brilliant Blue.

Estimation of sperm motility

The sperm culture medium was composed of 20 mM HEPES, 138 mM NaCl, 2 mM

$NaHPO_4$, 2 mM $CaCl_2$, 2 mM $MgCl_2$, 10 mM glucose, 7.5 mM NaOH, 2.5 mM KOH, pH 7.4, 290-300 m osmole. Liquified human semen was washed by the density gradient centrifugation with Ficoll as described previously^{6,9)}. After centrifugation, the loose pellet of sperm was resuspended in the culture medium to make up to 5×10^7 sperm/ml. Sperm motility was measured quantitatively by a multiple exposure photography method⁶⁾. The image of moving sperm was photographed stroboscopically 3 times with 1 sec intervals and the image of micrometer was also taken simultaneously. The velocity of forward motile sperm and the percentage of motility were calculated by the following equations, and the values given in the figures were the average of 3 pictures for each specimen.

The velocity of forward motile sperm (μ m/sec) = total distance of marked tracks/number of forward motile sperm $\times 1/2$

The percentage of motility = number of forward motile and submotile sperm/number of sperm in the view area $\times 100$

Results

Purification of anti acrosin IgG and SPAI

The anti-acrosin rabbit antiserum was dialyzed against phosphate buffered saline (PBS), pH 7.0, and applied on a Protein A Sepharose column (1.0 \times 5.0 cm) equilibrated with PBS (Fig. 1). Non adsorbed materials were washed out with PBS until absorbance at 280 nm of the effluent became negligible, and IgG was eluted out as soon as possible with 5 mM HCl, pH 2.6. Then the fractions were neutralized with an equal volume of 0.1 M Tris-HCl, pH 8.0 and the active fractions (Nos. 63-77, total A 280=116) were pooled. Subsequently, elimination of non specific IgG was performed with acrosin Sepharose. The pooled protein was applied on the column (1.5 \times 5.0 cm) equilibrated with PBS. Then, washing, elution and detection of anti-acrosin IgG were performed under the same procedure as with the first step. The neutralized fractions (Nos. 58-61, total A 280=2.16) were pooled. The purified anti-acrosin IgG was homogeneous on disc gel electrophoresis at pH 8.9 (Fig. 3a).

Fig. 2 represents affinity chromatography

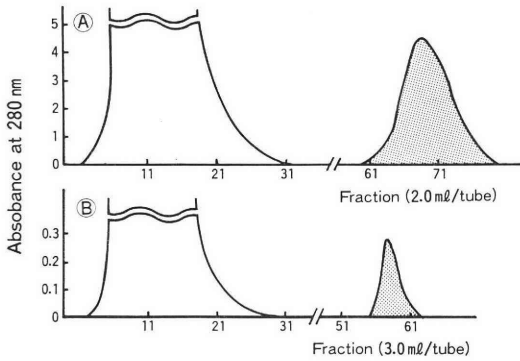


Fig. 1 Purification of anti-acrosin IgG on Protein A Sepharose and acrosin Sepharose

Shaded area shows the active fractions by the ring test

Ⓐ Protein A Sepharose, Ⓑ Acrosin Sepharose

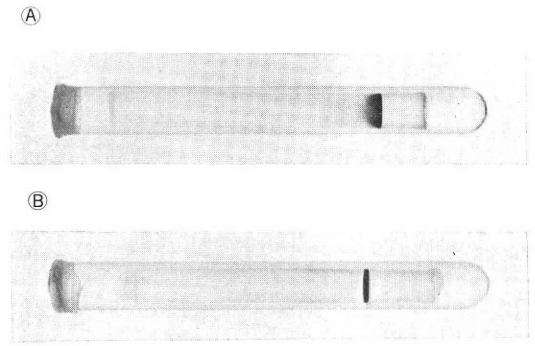


Fig. 3 Disc gel electrophoresis of the purified anti-acrosin IgG and boar seminal plasma acrosin inhibitor (SPAI)

A : Anti-acrosin IgG
B : SPAI

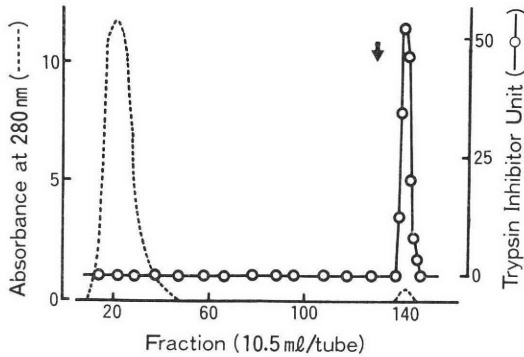


Fig. 2 Affinity chromatography of boar seminal plasma acrosin inhibitor (SPAI) on trypsin Sepharose

Arrow indicates the replacement of running solution to 5×10^{-3} N HCl, pH 2.6.

of SPAI on trypsin Sepharose. Solid NaCl (2.0 g) and 7.7 ml of dioxane were dissolved into 70 ml of boar seminal plasma and centrifuged at $105,000 \times g$ for 1 hr. The supernatant (77 ml) was applied on the column (3.0×13 cm) equilibrated with 0.1 M Tris-HCl, pH 8.0. It was washed with 0.05 M Tris-HCl, 0.5 M NaCl, 10 % dioxane, pH 8.0 and SPAI was eluted with 5 mM HCl, pH 2.6. The inhibitory activity was measured against trypsin and the fractions 136-146 were pooled. SPAI was purified 9.4 fold with 91.2 % recovery and gave a single protein staining band on disc gel electrophoresis at pH 4.3 (Fig.3b).

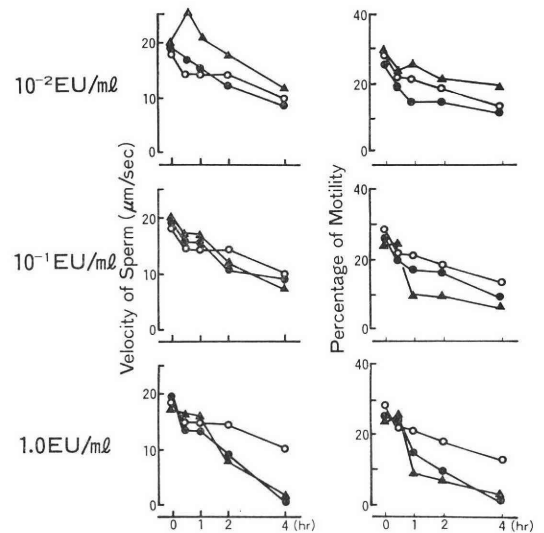


Fig. 4 Effects of acrosin and trypsin on human sperm motility

The replacement of acrosin and trypsin into the culture medium were performed by Sephadex G-25 gel filtration immediately before the experiments to avoid their autolysis. Then their activities were adjusted to 0.02, 0.2 and 2.0U/ml. Equal volumes of washed sperm suspension and various concentrations of acrosin or trypsin were mixed and incubated at 22°C for 4 hr. ○ : Control, ▲ : Acrosin, ● : Trypsin

The specific activity was found to be 113 IU/mg for trypsin and 383 IU/mg for acrosin. The apparent molecular weight of SPAI was estimated to be 7.0×10^8 from the analytical

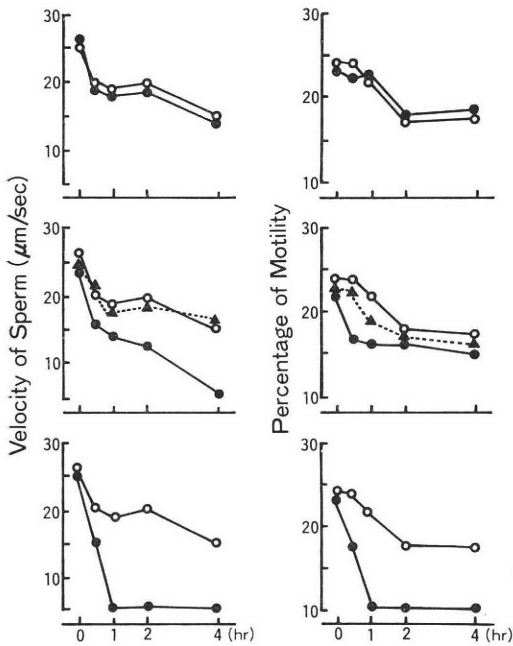


Fig. 5 Influence of anti-acrosin IgG on motility of washed human sperm

Non specific IgG was purified from the control serum by affinity chromatography on Protein A Sepharose as described in the text. The purified IgG preparations were dialysed against the culture medium, and adjusted to 17.0, 170 μg/ml. Washed sperm suspension (0.3 ml) and the culture medium were mixed and cultured at 22°C for 4 hr with 0.1 ml of anti-acrosin or non specific IgG's.

A washed sperm suspension (0.3 ml) was pre-incubated at 22°C for 5 min with 50 μl of SQ 14225 (100 μM in the culture medium), then the mixture was cultured at 22°C with 0.1 ml of anti-acrosin IgG (17.0 μg) and 50 μl of bradykinin (100 ng/ml). ○: Control, ●: Experiment, ▲: Anti-acrosin IgG+bradykinin

gel filtration on Sephadex G50.

Effects of acrosin and anti-acrosin IgG on human sperm motility

The enzymic properties of boar and human acrosins were very similar to each other¹⁰, and anti-boar acrosin antibody cross-reacted with human acrosin¹¹. Therefore, the purified boar acrosin and anti-boar acrosin IgG were applied on human sperm in a series of experiments. As shown in Fig. 4, the addition of 0.01 U/ml of acrosin increased the velocity of forward motile sperm during 0.5-2 hr, but did not increase the percentage of motility.

Trypsin, on the other hand, had no influence on the motility at the corresponding dose. While 0.1 U/ml of these enzymes were ineffective on the forward velocity of motile sperm, the percentage of motility was suppressed weakly by trypsin and strongly by acrosin. Two hours after addition of 1.0 U/ml of the enzymes, both of motility indices were remarkably reduced and all sperm in the field of view were finally immobilized at 4 hr.

Although non-specific IgG (3.4 μg/ml) which was purified from the control serum did not affect at all the sperm motility, the corresponding amount of anti-acrosin IgG reduced both the velocity and number of forward motile sperm (Fig. 5a, b). Only sub-motile sperm were observed at 4 hr. The higher amount of anti-acrosin IgG (34 μg/ml) gave serious influence on both of the motility indices and all sperm were completely arrested within 1 hr (Fig. 5c).

To analyze the mode of action of anti-acrosin IgG on sperm motility, its effect was further investigated in the presence of bradykinin, a physiological active peptide. In our previous report, the velocity of forward motile sperm was accelerated by addition of 0.1-10 ng/ml of bradykinin⁹. The seminal plasma contains dipeptidyl carboxypeptidase (DCP), a bradykinin cleaving enzyme (kininase II)¹². Even after washing of sperm with Ficoll density gradient centrifugation, approximately 2 % of DCP activity remained in the sperm suspension⁶. To observe the net effect of bradykinin on sperm motility, it was completely inhibited by means of 10 μM SQ 14225, a specific inhibitor of DCP¹³. The coexistence of bradykinin compensated the adverse action of anti-acrosin IgG, and maintained both of the motility indices to the control level during incubation (Fig. 5b).

It was especially obvious at 4 hr when the velocity of forward motile sperm was as fast as that of control due to the presence of bradykinin, whereas its absence resulted in complete immobilization.

Effects of acrosin inhibitors on human sperm motility

While anti-acrosin IgG inhibited the proteolytic activity of the solubilized acrosin¹¹, it is not clear as to whether sperm im-

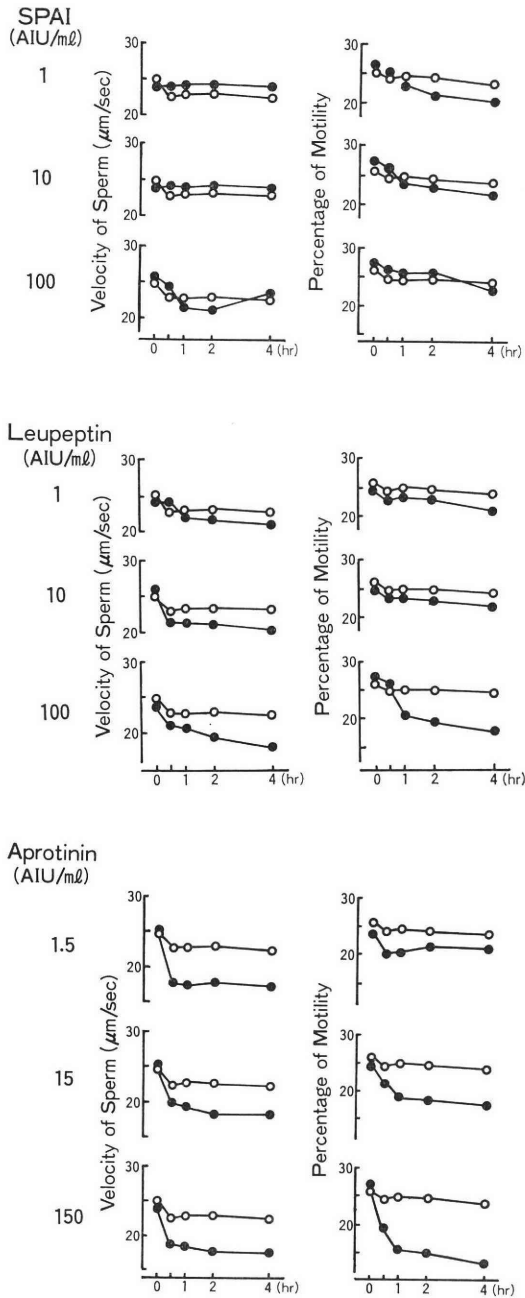


Fig. 6 Effects of acrosin inhibitors on motility of washed human sperm

Acrosin inhibitors, SPAI, leupeptin and aprotinin, were dissolved in the culture medium, then adjusted to 2.0, 20 and 200 IU/ml for SPAI and leupeptin, 3.0, 30 and 300 IU/ml for aprotinin. Equal volumes of sperm suspension and various concentrations of acrosin inhibitors were mixed and cultured at 22°C for 4 hr. ○ : Control, ● : Experiment

mobilization shown in Fig. 5 was also mediated through the inhibition of the enzyme activity. The effects of acrosin inhibitors from the seminal plasma (SPAI) and from the other origins (leupeptin and aprotinin) on sperm motility were investigated to make clear the mode of immobilization by anti-acrosin IgG. Dissociation constants (K_i values) of these acrosin inhibitors against the solubilized and purified acrosin were determined using Dixon plots. The inhibitors were dissolved in 0.05 M Tris-HCl, 0.05 M $CaCl_2$, 0.2 M NaCl, pH 8.3, to make up to 0.5 IU/ml. The inhibitory activities against acrosin (1.0 U/ml) were measured using 0.083 to 0.75 mM BAEE in the same buffer as substrates. K_i values of SPAI, leupeptin and aprotinin were given to be 6.5×10^{-9} M, 4.8×10^{-8} M and 5.8×10^{-4} M, respectively. SPAI gave the highest value among the inhibitors examined.

Even after washing of sperm with Ficoll, approximately 0.3 IU/ml of acrosin inhibitory activity still remained in the suspension. Various concentrations of SPAI were added to the washed sperm, but exerted no influence on their motility, even though it had a high K_i value against the solubilized acrosin (Fig. 6a). This was expected by the fact that sperm motility was not altered before and after washing. Human semen contained 10 to 50 IU/ml of acrosin inhibitory activity, although there was no relationship between the acrosin inhibitory activity and the semen qualities such as sperm concentration and motility (data not shown). These results suggested that the acrosin inhibitory activity in semen might not be related to motility.

Sperm motility, on the other hand, was suppressed weakly by leupeptin and strongly by aprotinin (Fig. 6b, c). Leupeptin was not so effective at low doses, whereas both of the motility indices were reduced by 100 IU/ml of the inhibitor. The forward velocity of sperm was already decreased even in the presence of 1.5 IU/ml of aprotinin, and the higher doses strongly reduced the percentage of motile sperm and forward velocity. Among the inhibitors examined, the potential for suppressing motility was reversely correlated to their K_i values against the solubilized acrosin. Acrosin inhibitors except SPAI re-

duced sperm motility in a similar manner to that of anti-acrosin IgG, and it was supposed that sperm immobilization by anti-acrosin IgG was also appeared through the inhibition of acrosin.

Discussion

Immunological studies are usually performed with the heat inactivated antiserum which contains a variety of substances. In the present study, these contaminants made the evaluation of net effect on sperm motility of anti-acrosin IgG difficult. In particular, serum albumin could not be neglected, since it stimulated motility¹⁴⁾. Thus anti-acrosin IgG was isolated from antiserum by affinity chromatography. The seminal plasma contains potent acrosin inhibitor and DCP, they were eliminated by washing of sperm with Ficoll density gradient centrifugation⁶⁾.

The observation of Schill⁵⁾ concerning the effect of kallikrein on human sperm motility was reinvestigated by Sato using a multiple exposure photography method¹⁵⁾. Low doses of kallikrein increased the velocity of forward motile sperm but not so effective on the percentage of motility.

In contrast, at higher doses it suppressed both of the motility indices. Purified acrosin also showed similar biphasic action on motility to that of kallikrein, whereas trypsin had only the suppressing effect at high dose. Although the exact mechanism of acceleration of motility by these enzymes is still unclear, it might be due to their proteolytic activities. Their toxicities at higher doses, on the other hand, revealed that some sperm components contributing to the motility were sensitive to their proteolytic actions.

In the present study, not only anti-acrosin IgG but also the acrosin inhibitors had the adverse actions on sperm motility. In some infertile women, anti-sperm antibody which caused sperm agglutination and immobilization was detected in their serum and cervical mucus, and it was assumed that a part of antigens of these antibodies were located at the sperm acrosome. The results in Fig. 5 suggested the possibility that acrosin in the acrosome was also one of the antigens for sperm immobilizing antibody. Johnes et al. reported that sperm immobilizing effect by

anti-sperm antibody was mediated through the cell destructive action of the complementary system¹⁶⁾. In the present study, however, the sperm immobilization by anti-acrosin IgG could neglect the participation of this system because the contaminants in the antiserum had been completely eliminated. The examined inhibitors except SPAI also suppressed motility in similar manner to that of anti-acrosin IgG. Therefore it was supposed to be the direct action towards the acrosin (acrosome) and caused by inhibition of acrosin activity. Although SPAI was a potent inhibitor against the solubilized acrosin, it had no influence on motility. It is possible that SPAI had high affinity for the solubilized acrosin but not for that on the acrosome, and the steric hindrance of acrosomal acrosin may affect this difference.

Perreault et al¹⁷⁾ observed that the addition of benzamidine, p-aminobenzamidine and p-guanidinobenzoate, potent synthetic acrosin inhibitors, controlled the acrosome reaction of fully capacitated guinea pig sperm, whereas the percentage of motile sperm was not affected by these agents. In contrast, TPCK, a chymotrypsin inhibitor which does not inhibit acrosin, had no effect on the acrosome reaction, suggesting that the effect of the acrosin inhibitors was mediated through the acrosin inhibition. These results and our observations demonstrated that the regulation of acrosin potential gave significant influences on sperm physiology including motility.

References

- 1) Zaneveld, L. J. D., Polakoski, K. L. and Schumacher, G. F. B.: Proteinase and Biological Control, p 683, Cold Spring Harbor, 1975.
- 2) Meizel, S. and Lui, C. W.: Evidence for the role of a trypsin like enzyme in the hamster sperm acrosome reaction. *J. Exp. Zool.* 195 : 137, 1976.
- 3) Schumacher, G. F. B., and Zaneveld, L. J. D.: Proteinase Inhibitor, p 128, Springer Verlage, 1974.
- 4) Morushige, Y. and Morushige, K.: Enzymatic unpacking of bull sperm chromatin. *Biochim. Biophys. Acta* 403 : 180, 1975.
- 5) Schill, W. B.: Caffeine and Kallikrein induced stimulation of human sperm motility; a comparative study. *Andrologia* 7 :

- 229, 1975.
- 6) Kaneko, S., Moriwaki, C., Sato, S., Kobayashi, T., and Iizuka, R.: Development of a multiple exposure photography method for analysis of sperm motility and preparation of washed sperm with Ficoll density gradient. *Jap. J. Fert. Ster.* 25: 73, 1980.
 - 7) Kaneko, S., and Moriwaki, C.: Studies on acrosin I. purification and characterization of boar acrosin. *J. Pharmacobio. Dyn.* 4: 20, 1981.
 - 8) Endersen, I.: Protein A reactivity of whole rabbit IgG and of fragments of rabbit IgG. *Acts Pathol. Microbiol. Scand. Sect.* 86: 211, 1978.
 - 9) Kaneko, S. and Moriwaki, C.: Effects of kinins and dipeptidylcarboxypeptidase on the motility of highly washed human sperm. *J. Pharmacobio. Dyn.* 4: 443, 1981.
 - 10) Fritz, H., Schill, W. B., Wendt, V. and Winkler, G.: *Proteinase and Biological Control*, p 715, Cold Spring Harbor, 1975.
 - 11) Borhan, G. S., Tschesche, H. and Fritz, H.: Influence of boar acrosin antibodies produced in rabbits and sheep on chymotrypsinogen activation catalyzed by acrosin from boar, bull, ram, rabbit and human sperm. *Z. Physiol. Chem.* 357: 1235, 1976.
 - 12) Kaneko, S. and Moriwaki, C.: Studies on dipeptidylcarboxy-peptidase in the male reproductive organs; its biological and pathological status. *J. Pharmacobio. Dyn.* 4: 175, 1981.
 - 13) Ondetti, M. A., Rubin, B. and Cushman, D. W.: Design of specific inhibitors of angiotensin I converting enzyme; New class of orally active anti hypertensive agents. *Science* 196: 441, 1977.
 - 14) Davis, B. K.: Influence of serum albumin on the fertilizing ability in vitro of rat spermatozoa. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 151: 240, 1976.
 - 15) Sato, H.: Studies on the components of kallikrein-kinin system and treatment of male infertility. *Keio. J. Med.* 29: 19, 1980.
 - 16) Jones, W. R., Ing, R. M. Y. and Kaye M. D.: A comparison of screening tests of antisperm activity in serum of infertile women, *J. Reprod. Fert.* 32: 367, 1973.
 - 17) Perreault, S. D., Zirkin, B. R. and Rogers, B. J.: Effects of trypsin inhibitors on acrosome reaction of guinea pig spermatozoa. *Biol. Reprod.* 26: 343, 1982.

アクロシン及び関連物質の洗滌ヒト精子運動 に対する影響

¹ 慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

² 東京大学教養学部生物学教室

兼子 智¹, 押尾 茂², 小林俊文¹,
毛利秀雄², 飯塚理八¹

フィコール密度勾配遠心分離法により調製した洗滌ヒト精子の運動に及ぼす精製アクロシン、抗アクロシン抗体、アクロシン阻害物質の影響を多重露光撮影法により観察した。

ブタ精子より高純度に精製したアクロシンは 0.1 U/ml では精子運動を賦活し、逆に 100 U/ml の高濃度では抑制した。抗アクロシン-ウサギ抗血清をプロテインAおよびアクロシンをリガンドとしたアフィニティクロマトグラフィにより精製して均一な抗アクロシン IgG を得た。抗アクロシン IgG は前進運動精子数を減少させ、最終的に精子を不動化した。この作用は精子運動を賦活する生理活性物質ブラジキニンの共存により拮抗された。抗アクロシン IgG 抗体の精子不動化機序を検討するためアクロシン阻害物質 (SPAI, ロイペプチン, アプロチニン) の精子運動に対する影響を観察した。ロイペプチン, アプロチニンは精子運動を抑制し、その作用は抗アクロシン抗体と類似していた。SPAI は可溶化アクロシンを強力に阻害したが、精子運動に影響を与えなかった。

以上の結果は精子先体アクロシンに対する作用物質が精子運動に影響することを示しており、アクロシンが卵膜溶解以外にも精子生理、特に運動に関与する可能性を示唆している。

(受付: 昭和60年4月19日)

マウスの過剰妊娠に及ぼす PMSG の投与時期の影響

Effect of Timing of PMSG Administration on
Superpregnancy in Mice

東京農業大学畜産学科

小野寺政一 福田正浩 石島芳郎
Masakazu ONODERA Masahiro FUKUDA Yoshiro ISHIJIMA

(Department of Zootechnical Science, Tokyo University of Agriculture)

過排卵処理後のマウスの交尾率および妊娠率の改善を目的に、PMSG をスメア像を指標に発情前期 (I 期)、発情後期-I (III期)、発情後期-II (IV期) および発情休止期 (V期) を示す日の15:00にそれぞれ投与し、発情周期を考慮しないで PMSG を投与した過排卵対照区と比較検討した。

その結果、交尾率は発情前期、発情後期-I、発情後期-IIならびに発情休止期に投与した区および過排卵対照区において、それぞれ60、50、90、50および71%で、発情後期-IIに投与した場合に有意に高い成績が得られた。妊娠率は、交尾例数に対してみると、いずれの時期に投与した区も過排卵対照区に優り、特に発情後期-I、発情後期-IIおよび発情休止期では100%を示した。しかし供試例数に対する率では、交尾率の高かった発情後期-II以外は過排卵対照区と変わらない結果に終わった。着床数および生存胎子数 (生存率) は、発情前期投与で9.0および7.8 (86.7%)、発情後期-I投与で8.8および7.2(81.3%)、発情後期-II投与で14.9および13.9(93.3%)、発情休止期投与で20.9および17.9(85.6%)ならびに過排卵対照区16.8および15.1 (90.0%)であり、過剰妊娠とみなせる区は発情後期-II、発情休止期および過排卵対照区の3区のみであった。以上の結果を評価するために、総生存胎子数を供試例数で除して胎子生産力を求めると、交尾率、妊娠率に改善がみられた発情後期-IIが当然のことながら最も高い値を示した。

以上のことから、マウスの過剰妊娠誘起に際しては、発情周期を考慮して PMSG を投与することが重要なことが示唆された。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(1), 143-146, 1986)

緒言

過排卵処理を応用して、マウスの一腹の産子数を増加させる試みがこれまで多くの研究者によって行われてきているが、処理動物の交尾率、妊娠率が自然のものに比べて低いことや、着床前あるいは着床後に起きる胚の損失が大きいなどの問題点があり、まだ期待通りの成績は得られていない^{1-5,8-12,16)}。それでも、着床した個体については、妊娠の種々の時期にプロラクチンを投与することにより、妊娠のある時期までは正常の2~3倍の胎子を維持できるまでには改善されている^{2,6,13,14)}。

しかし、処理後の交尾率や妊娠率が自然のものに比べ

て低い以上、かりに多数の胚が着床している個体であっても、総体的には初期の目的を達成したことにはならない。

これまでの過剰妊娠の研究は、いかに着床数を増加させ、これを維持するかに力点が置かれていたために、過排卵処理後の交尾率や妊娠率の改善の検討は比較的少ない^{2,13)}。

そこで本実験では、過排卵処理マウスの交尾率および妊娠率の改善を目的として、PMSG の投与時期を再検討してみた。

材料および方法

この実験には、当研究室で閉鎖集団として維持している CF#1 系マウスの成熟未経産雌 (2~3 カ月齢) を用いた。マウスは、毎日のスメア検査により規則正しい発情周期を 2 回以上繰り返したものを対象にした。交配には同系統の成熟雄を用いた。過排卵処理は PMSG と HCG を組み合わせる従前の方法を用いた。実験は、スメア像を指標に発情前期 (I 期)、発情後期-I (III 期)、発情後期-II (IV 期) および発情休止期 (V 期) を示すマウスを選び、それぞれの日の 15:00 に PMSG (PMS ゼンヤク、日本全薬) 5IU を皮下注射することとし、それぞれ PMSG 注射後 48 時間目に HCG (HCG モチダ、持田製薬) 5IU を皮下注射後、直ちに雄と 1:1 の割合で一晩同居させた。交尾の成立は、翌朝膣栓またはスメア中の精子の存在によって判定した。処理したマウスは妊娠 14 日に殺解剖し、妊娠の有無、着床数および生存胎子数を観察した。また対照区として、PMSG を発情周期の任意の日に投与した過排卵対照区と、発情前期 (I 期) の日に雄と交配した自然排卵対照区を設け、同様の観察を行なった。

結 果

発情周期の各時期に PMSG をそれぞれ投与し、その 48 時間後に HCG を投与して得られた交尾率、妊娠率、着床数および生存胎子数 (生存率) は Table 1 および 2 に示す通りである。

Table 1 から明らかなように、交尾率は、PMSG を発情前期、発情後期-I、発情後期-II および発情休止期に投与した場合、それぞれ 60、50、90 および 50% で、発情後期-II に投与した場合に過排卵対照区 (71%) より高い成績が得られた。また妊娠率は、交尾例数に対してみると、それぞれ 83、100、100 および 100% で、過排卵対照区 (71%) よりいづれも優っていた。しかし、供試例数に対する率でみると、発情後期-II 以外は過排卵対照区と変わらない結果となっていた。

妊娠 14 日における着床数および生存胎子数 (生存率) を妊娠した個体のみでみると、Table 2 に示す通り PMSG を発情前期に投与した場合は 9.0 および 7.8 (86.7%)、発情後期-I では 8.8 および 7.2 (81.3%)、発情後

Table 1 The mating rate and pregnancy rate in mice when PMSG was injected at different stages of the estrous cycle

Stage of the estrous cycle when PMSG was injected	No. of females examined	No. of females copulated	% of females copulated	No. of pregnant females	% of pregnancies	
					Per no. of females copulated	Per no. of females examined
Proestrus	10	6	60	5	83	50
Metestrus I	10	5	50	5	100	50
Metestrus II	20	18	90	18	100	90
Diestrus	20	10	50	10	100	50
At randam*	24	17	71	12	71	50
Control**	10	10	100	10	100	100

* Superovulation control

** Spontaneous ovulation

Table 2 The mean number of implantation sites and living fetuses on Day 14 in pregnant mice when PMSG was injected at different stages of the estrous cycle

Stage of the estrous cycle when PMSG was injected	No. of pregnant females	Mean no. of implantation sites \pm S.E.	Mean no. of living fetuses \pm S.E.	% of living fetuses	Total no. of living fetuses	Productivity* of fetuses
Proestrus	5	9.0 \pm 2.49	7.8 \pm 2.27	86.7	39	3.9
Metestrus I	5	8.8 \pm 2.63	7.2 \pm 2.75	81.3	36	3.6
Metestrus II	18	14.9 \pm 1.16	13.9 \pm 1.12	93.3	250	12.6
Diestrus	10	20.9 \pm 1.87	17.9 \pm 1.71	85.6	179	9.0
At randam	12	16.8 \pm 2.06	15.1 \pm 2.37	90.0	181	7.5
Control	10	9.6 \pm 0.43	8.8 \pm 0.55	91.7	88	8.8

* Total no. of living fetuses/No. of females examined

期-IIでは14.9および13.9(93.3%)、発情休止期では20.9および17.9(85.6%)で、PMSGを発情後期-IIおよび発情休止期に投与した場合は、自然排卵対照区よりも優つた。しかし、この2区と過排卵対照区との間には有意差がみられなかつた。また、発情前期および発情後期-Iの着床数、生存胎子数はむしろ自然排卵対照区よりも劣つていた。

次に、これらの成績を総合的に比較するために、生存胎子総数を供試例数で除して各区における胎子生産力を求めてみると、Table 2のように発情前期に投与した区では3.9、発情後期-Iでは3.6、発情後期-IIでは12.6および発情休止期では9.0、また過排卵対照区では7.5となり、PMSGを発情後期-IIに投与した場合最も生産力の高いことが示された。

考 察

Edwards et al.²⁾は、外因性 GTH の過多は閉鎖黄体あるいは閉鎖卵胞を形成し、交尾率を下げる一因と指摘しており、また、過排卵処理後の妊娠率は、ホルモンの投与量はもとより、系統および処理開始時の発情周期のステージに影響され、特に発情休止期に処理をはじめたマウスは、発情期(本稿の発情後期-Iに相当)あるいは発情後期(本稿の発情後期-IIに相当)に処理をはじめたときの妊娠率よりも低いと報告している。これに対し佐久間¹¹⁾は、処理開始時期の差による妊娠率、着床数に大きな差はみられなかつたとしている。

今回の実験において、PMSGを発情前期、発情後期-Iおよび発情休止期に投与した区の交尾率は50~60%であつたが、発情後期-IIに投与した区では90%と最も良い成績を示した。また妊娠率においても、供試例数に対する割合でみる限り、発情後期-IIに投与した区が他区に比べ有意に高い値を示しており、着床数、生存胎子数も自然排卵対照区に比べ有意に多かつた。この区で得られた妊娠率は佐久間、遠藤¹²⁾が報告しているプロラクチン投与によって向上した妊娠率90%に匹敵するものであつた。

Kovacic and Parlow⁷⁾は、マウスの正常発情周期における血清中の FSH 濃度を測定したところ、FSH 値は発情休止期2の午後は低く、発情前期の午前中にその値は増え、以後ゆるやかに上昇し、排卵から発情期(本稿の発情後期-Iに相当)の夕方遅くまで最高値を示して、その後減少するが、発情後期(本稿の発情後期-IIに相当)に再び上昇し、発情休止期1の夕刻にも、わずかではあるが FSH を検出したことを報告している。また、Beaumont and Smith¹⁾は、内的 LH サージと HCG 投与のタイミングを合せることによって良好な排

卵数を得たと述べている。さらに関谷¹⁵⁾は、発情後期(本稿の発情後期-IIに相当)に PMSG を投与した場合、斉一性の高い排卵反応が得られ、また得られた卵は数が多いにもかかわらず、他の投与時期に比べ受精率も比較的高く、退行卵子の出現率も低いことを観察している。

これらのことを考え合わせると、PMSG を発情後期-IIに投与することは、内的 FSH の分泌と良く調和して、多くの卵が成熟し、PMSG 投与後2日目には殆どのマウスが発情に達するため、この時期に HCG を投与しても内的 LH サージと良く合致して、その後の交尾、排卵、受精、着床に至る過程には、さほど悪影響を及ぼさず、交尾率ならびに生存胎子数が改善されたものと推察される。一方、PMSG を発情休止期に投与した区では、HCG 投与日とマウス自身の発情が一致しない個体が多いために交尾率が低かつたものと考えられる。

また、先に述べた Kovacic and Parlow⁷⁾によれば、発情前期から発情期(本稿の発情後期-Iに相当)にかけては、FSH : LH 比が劇的に変化する時期であるとしている。従つて、今回の実験で、PMSG を発情前期あるいは発情後期-Iに投与したマウスは、この変化がスムーズに行なわれず、返つてホルモンのバランスを崩したため、交尾率や着床数が低下したものと思われる。

いずれにせよ、PMSG と HCG によるマウスの過剰妊娠誘起に際しては、PMSG の投与時期の選択は極めて重要な要因であることが示唆された。

文 献

- 1) Beaumont, H. M. and Smith, A. F.: Embryonic mortality during the pre-and post-implantation periods of pregnancy in mature mice after superovulation. *J. Reprod. Fert.*, 45: 437, 1975.
- 2) Edwards, R. G., Wilson, E. D. and Fowler, R. E.: Genetic and hormonal influences on ovulation and implantation in adult mice treated with gonadotrophins. *J. Endocrin.*, 26: 380, 1963.
- 3) Fowler, R. E. and Edwards, R. G.: Induction of superovulation and pregnancy in mature mice by gonadotrophins. *J. Endocrin.*, 15: 374, 1957.
- 4) Fowler, R. E. and Edwards, R. G.: Effect of progesterone and estrogen on pregnancy and embryonic mortality in adult mice following superovulation treatment. *J. Endocrin.*, 20: 1, 1960.
- 5) 石島芳郎, 島袋宗友, 田 暢淇: 過排卵処理マウスの妊娠時の胎児死亡について, 畜産の研究, 33: 539, 1979.

- 6) 伊藤雅夫, 遠藤 克, 佐久間勇次: 過排卵処理マウスの胚および胎児の生存率におよぼす Prolactin および HCG の影響, 日不妊会誌, 21: 563, 1976.
- 7) Kovacic, N. and Parlow, A. F.: Alternations in serum FSH/LH ratios in relation to the estrous cycle, pseudopregnancy, and gonadectomy in the mouse. *Endocrinology*, 91: 910, 1972.
- 8) McLaren, A. and Michie, D.: Superpregnancy in the mouse. 1. Implantation and foetal mortality after induced superovulation in females of various ages. *J. Exp. Biol.*, 36: 281, 1959.
- 9) McLaren, A. and Michie, D.: Superpregnancy in the mouse. 2. Weight gain during pregnancy. *J. Exp. Biol.*, 36: 301, 1959.
- 10) Sato, A.: Some observations on induced polyovulation and superpregnancy in mature mice. *Embryologia*, 7: 285, 1963.
- 11) 佐久間勇次, 遠藤 克, 石島芳郎: マウスの過剰妊娠に関する研究-I, 日農獣報, 24: 7, 1967.
- 12) 佐久間勇次, 遠藤 克, 石島芳郎: マウスの過剰妊娠に関する研究-II, 日農獣報, 26: 9, 1968.
- 13) 佐久間勇次, 遠藤 克: Prolactin の投与と過排卵処理マウスの過剰妊娠, 過剰分娩に関する研究 (第一報), 日不妊会誌, 15: 1, 1970.
- 14) 佐久間勇次, 伊藤雅夫, 猪 貴義, 遠藤 克, 西川瀨八: マウスの過剰妊娠に関する研究, Prolactin の投与時期と妊娠, 着床との関係 (2), 日畜会報, 41 (学会号): 81, 1970.
- 15) 関谷善朗: 性腺刺激ホルモンによる誘起排卵卵

- 子の正常性に関する研究—受精能および発育能を中心として—, 日大医誌, 41: 707, 1982.
- 16) Wilson, E. D. and Edwards, R. G.: Par-turition and increased litter size in mice after superovulation. *J. Reprod. Fert.*, 5: 179, 1963.

Effect of timing of PMSG administration on superpregnancy in mice

Masakazu Onodera, Masahiro Fukuda
and Yoshiro Ishijima

(Department of Zootechnical Science, Tokyo
University of Agriculture)

The effect on mating and pregnancy in mice when PMSG was injected at different stages of the estrous cycle were examined. Adult female mice of CF#1 strain were used. Superovulation was induced by subcutaneous injection of 5 IU PMSG and 5 IU HCG 48 hours later, and then mating. PMSG was injected 15:00 at proestrus, metestrus-I, metestrus-II and diestrus of the estrous cycle. In superovulation control, PMSG was injected at random during estrous cycle. The results obtained are presented in Table 1 and 2. From above results concluded that the optimum time of PMSG administration is at metestrus-II (judged by vaginal smear) of the estrous cycle.

(受付: 昭和60年5月8日)

地方部会講演抄録

第29回日本不妊学会九州支部総会

期 日 昭和59年11月18日(日)

場 所 熊本大学医学部付属病院構内山崎記念館

1. 当科における妊婦貧血に関する調査について

○石 明寛・陳内誠子・福本弘子
馬場伸二・中村修治・浜崎勲重
柏村正道・岡本 清
(産業医大産婦)

妊産婦の健康管理の中では妊婦の貧血管理も重要な課題の一つである。妊婦の貧血が、妊娠中には胎児の発育遅延、分娩時の微弱陣痛、乳児貧血など、周産期の母児の異常の原因になりうるので、その改善のために各医療施設で努力されている。本発表は妊婦の貧血状態について検討した成績である。

対象は産業医大分娩部において分娩した妊婦253例(初産121例と経産132例)である。

方法：妊娠各期を通じて色素量から4群に分けた(A群：Hb 12.0g/dl 以上, B群：Hb 11.0~11.9g/dl, C群：Hb 10.0~10.9g/dl D群：9.9g/dl 以下)。

成績：初産婦の貧血頻度は、妊娠前期C5.0%, D2.5%, 妊娠中期C14.0%, D7.4%, 妊娠後期C11.6%, D4.1%であった。経産婦では妊娠前期C6.8%, D1.5%, 妊娠中期C20.5%, D8.3%, 妊娠後期C11.4%, D3.0%であった。産後1カ月ではC2.1%, D0%を示した。

考察：妊娠中の貧血発現については、経産が初産より多い傾向が見られ、中程度貧血はむしろ初産の方が多い事が示唆された。また治療によつて産後1カ月で貧血状態が正常に戻る傾向が認められた。

2. 不妊を主訴とした XY gonadal dysgenesis (Swyer 症候群) 症例の臨床病理学的、内分泌学的検討

○角沖久夫・吉田耕治・松岡幸一郎
宇津宮隆史・是永迪夫・門田 徹
(九大生体防御医学研究所産婦)

今日までわれわれは genotype が男性型で表現型は女性である testicular feminization syndrome (Tfm) や Turner 症候群の病態や内分泌学的な研究を続けてきた

(吉田他：Turner 症候群患者の内分泌動態について。温研紀要29：65, 1977. 吉田他：同胞に発症した Tfm の2例に関する内分泌学的検討。産婦実際 30：221, 1981. 吉田他：同胞に発症した完全型 Tfm の2例に関する内分泌学的検討, 第2報。温研紀要34：129, 1983. Yoshida, K. et al.: Danazol suppression of gonadal estradiol-17 β secretion. 日産婦誌 36：133, 1984). 今回の症例は次の様である。

不妊と原発性無月経を主訴とした28歳の主婦を調べたところ核型が46XY であつた。身長が正常で乳房の発育は良くなく陰毛は薄い、小さいながらも子宮があつて estrogen, progesterone (E, P) 剤で消退出血があること、17歳の時に左側卵巣の dysgerminoma を摘出しており、その時の右卵巣は streak gonad であつたこと、テストステロン値は非常に高くはないことなどから XY gonadal dysgenesis (Swyer 症候群) と診断した。本症の成因や内分泌学的な動態について検討を加え、Y染色体を有する dysgenetic gonad の悪性腫瘍合併頻度が高いことから、早期発見して両側性腺摘除が必要なことなどに言及した。文献的には XY gonadal dysgenesis (Swyer 症候群) には histocompatibility Y 抗原陽性のものと陰性のものが報告されており、前者の病因は標的臓器の H-Y 抗原に対するレセプター異常などが想定されている。本症例では H-Y 抗原の検索は出来なかつたが、dysgerminoma などの germ cell tumor を合併するものは文献的には全例 H-Y 抗原は陽性であるといわれている。なお本症例の詳細について現在、「産婦の実際」誌に投稿中である。

3. 体外受精・胚移植についての意識調査

有馬直見・新村亮二・永田行博
(鹿児島大産婦)

体外受精児誕生後の体外受精・胚移植に関する一般市民の認識を得るためアンケート調査を行なつた。対象は10代より50代までの男女合計1,188名である。なお調査期間は昭和59年6月である。集計成績①体外受精に対す

る認識は98.8%と非常に高いが、胚移植については48.6%と比較的少なかった。体外受精・胚移植を治療として認める人は62.9%と比較的多いが、その範囲は夫婦間に限定される意見が大半であった。②いわゆる借り腹については84.3%、貸し腹については89.6%の人が否定的であった。③卵を提供されることについては89.1%、卵を提供することについては83.2%の人が否定的であった。④AIDにおける精子を提供されることについては85.4%の人が否定的であり、卵を提供されることに対する否定的傾向と差がないようであった。⑤受精卵の凍結保存については70.9%の人が知っており比較的高い認識度であったが、凍結保存を認めることについては56.8%の人が否定的であった。⑥不妊女性107名についてみると、体外受精・胚移植や受精卵凍結保存をより積極的に認める傾向にあったが、その他の点では一般と同様の傾向であった。以上のことより夫婦間での体外受精・胚移植は不妊症の治療手段として認められつつあるが、いわゆる借り腹、借り卵については否定的な認識の強いこと、不妊症女性については一般市民と大きな違いのないことが判明した。

4. IUD のマウス受精卵に及ぼす影響

竹内一浩・福元清吾・有馬直見
永田行博 (鹿児島大産婦)

IUD の避妊機序に関する報告は以前より数多くみられるが、未だ推測の域を脱せず、中でも chemical mediator を介しての子宮内膜反応説が一般的である。しかし受精卵そのものに対する影響を述べた文献は少ない。われわれは IUD 装着マウス(絹糸5-0を片側子宮内に挿入)を用いて、受精卵に及ぼす影響を経時的に観察し、検討を加えた。方法は、DDY マウス7週齢~12週齢を用い、PMS (5iu)-HCG (5iu)にて排卵周期を一致させ、上記 IUD 装着マウスをコントロール群とともに雄と交配させ、翌朝腔栓を確認したものを受精後1日目: day 1とした。day 2より day 4まで卵管および子宮より受精卵を採取観察したのち、それぞれ胚盤胞まで追加培養した。交配率および受精率は両群間に有意差はなく、day 2~3の観察でも cell stage, 変性卵の数に有意差はなかった。さらに胚盤胞までの recovery rate も、それぞれ60~70%で差がなく、この時期までは受精卵に対してほとんど影響がないと思われた。しかし、day 4において IUD 装着側子宮内の胚の数が対側群およびコントロール群に比して有意に減少し、マウスにおける避妊の一機序とされる。いわゆる“tube locking”が示唆された。少数ながら4日目に IUD 側子宮内に下降した胚は、正常な初期胚盤胞で24時間の追加培

養により“hatching 現象”を起こし、着床可能な生存胚であった。この胚を recipient mouse に移植実験し、さらに検討を重ねたい。

5. 女性アルコール依存症患者の性障害および内分泌環境について

○石 明寛・岡村 清
(産業医大産婦)
後藤 晃・木村直樹
(大分友愛病院)

近年、日本における飲酒人口は非常に増加している。アルコール依存症患者の増加も目立つてきた。一般に男性アルコール依存症患者には性障害を伴う例が多いといわれている。しかし、女性例についての調査はほとんど見あたらない。本発表は女性アルコール依存症患者のアルコール依存に陥る前後の性行動およびホルモン環境について検討した。対象は DSM-III の女性アルコール依存症患者で、50歳以下の34例について、性交回数、性交時分泌物、性感の変化などを調査した。また、月経、基礎体温、性ホルモン Prolactin, 甲状腺ホルモンの各値も検討した。

成績: 性欲、性交回数、粘液分泌物などについては、飲酒中毒前と比較して、減少傾向が認められた。BBT は、全例一相性で、血中 PRL 値は40ng/ml 以上の異常値を示すケースが多かった。T₃値は低下の傾向を示し、また無月経を示した例が多い。性障害では、性感消失は32/34人(94.1%)で、性交痛は27/34人(79.4%)、性交嫌悪は21/34人(61.7%)、性交拒否は6/34人(17.6%)同性愛経験は5/34人(14.7%)であった。

考察: 女性アルコール依存症患者の性活動は全般的に低下傾向が認められ、一方 PRL 値上昇および T₃ の減少が見られた。

6. Danazol による妊娠例、非妊娠例の検討

増崎英明・藤下 晃・黄 宏駿
石丸忠之・山辺 徹
(長崎大産婦)

腹腔鏡あるいは開腹によって診断され、不妊を主訴とする外性子宮内膜症27例に対して、ダナゾール1日量200~600mgを1.5~6か月間投与し、5~16か月間 follow-up した。その結果、13例(48%)に妊娠が成立した。これら13例の進行期(Beecham)はI期2例、II期2例、III期6例およびIV期3例で、I~III期の10例はダナゾール単独で、またIV期の3例は保存手術の併用により妊娠した。妊娠はIV期の1例(外妊)を除けば、す

べて正常妊娠で、流産はなかつた。投薬終了後、妊娠までの期間は外妊（7か月）以外はすべて5か月以内であつた。一方、ダナゾール投与終了後5か月を経過しても妊娠しなかつた症例は14例で、その進行期はI期2例、II期2例、III期5例およびIV期5例であり、III期の3例およびIV期の4例には保存手術を併用した。これら14例中には他の不妊因子（両側卵管閉塞3例、男性因子1例、子宮因子2例）の合併が6例に認められた。これらの6例を除いて算出した修正妊娠率は62%であつた。

妊娠した13例と妊娠しなかつた14例について、個々の症例を詳細に検討して比較した結果、ダナゾールによる妊娠成立には、①年齢、②既往妊娠、③内臓症以外の不妊因子、④チョコレート嚢胞、⑤進行期、⑥投与中の性器出血、⑦HSG 所見（ことに卵管病変）などの因子が関与していることが示唆された。しかし、ダナゾール投与量や投与期間については両者に差を認めなかつた。

7. 乳汁漏出性無月経症候群に対する Vitamin B₆ および Bromocriptine 療法の効果の検討

○小池弘幸・宮川勇生・谷山圭一
森 憲正 (宮崎医大産婦)

乳汁漏出性無月経症候群は高プロラクチン (PRL) 血症を特徴とし、この高 PRL 状態を正常化することによりその症状の軽快をみることが知られている。治療法として手術療法や薬物療法があるが、ことに薬物療法として視床下部での L-DOPA が dopamine に転換する際の補酵素として作用する Vitamin B₆ (VB₆) による療法および dopamine receptor を介して PRL 分泌を抑制する Bromocriptine (Br) 療法などの方法がある。VB₆ 療法は1973年 Foukas ら、1975年 Delitala らにより血中 PRL 値の低下が報告されている。今回、血中 PRL 値が74.7~355.0ng/ml を呈した4例の本症候群患者に VB₆療法と Br 療法を試み、その治療効果を検討した。VB₆療法は VB₆80~160 mg/日を投与し6~10週間観察したが、いずれの症例も PRL の有意の低下はみられず排卵もみられなかつた。引き続き行なつた Br 療法では4例とも PRL 値は投与後すみやかに正常化し排卵性月経を回復し、4例とも妊娠に成功した。このうち2例は流産し、2例は経産分娩し正常児を得た。今回の VB₆の投与量は最高160mg/日（常用量60mg/日）であつた。1978年川越らは400mg/日、1981年 Kidd らは600mg/日という大量投与を行なつて良好な成績をあげているが、1983年 Schamberger らは大量長期投与によつて知覚神経障害発現を報告している。今回の VB₆療法では、症例の選択や投与量、投与期間に検討の余地が残されているが、Br 療法と比較してその効果は期待するほど著明ではなかつた。

8. プロラクチノーマに対する麦角アルカロイド誘導体の術前投与と手術成績について

尾上敏一・中村元一・堂地 勉
大塚治夫・吉満陽孝・中野仁雄
(九大産婦)

下垂体プロラクチノーマの治療にはプロモクリプチンなど麦角アルカロイド誘導体による薬物療法と手術療法の両者が用いられている。これについて最近プロモクリプチンを術前に使用した場合、プロモクリプチンにより腺瘍組織の線維化、硬化さらには腫瘍の完全摘出が困難になる可能性を示す報告がみられる。このような観点から私たちは昭和51年より59年の間に当科で経験したプロラクチノーマに対する手術療法の結果をプロモクリプチンの術前使用の有無に分けて検討した。この間の14症例のうち6例（43%）に術後プロラクチン値は40ng/ml以下に低下して自然月経が発来し、そのうち2例にプロラクチン値は30ng/ml以下となつた。手術結果に関与する因子としては腫瘍の大きさと術前プロラクチン値で microadenoma は良好な結果であつたが術前のプロモクリプチン投与は明らかな影題を与えなかつた。またプロモクリプチンの投与総量、期間、投与後手術までの中止期間とプロラクチンの低下率との間には明らかな相関はみとめなかつたが、60日以上プロモクリプチンを使った macroadenoma ではプロラクチン低下率が大きい傾向がうかがえた。以上から術前のプロモクリプチン投与は手術結果につねに悪影響を与えるとは限らず、投与期間や腫瘍の大きさなどさまざまな因子によつて変化しうると考えられる。

9. Clomiphene 無効例に対する bromocriptine の効果について

黄 宏駿・藤下 晃・梶村秀雄
石丸忠之・山辺 徹
(長崎大産婦)

最近、bromocriptine は正常プロラクチン血症無排卵症に対しても、排卵誘発効果を有することが報告されている。そこで今回、私どもは clomiphene 無効の正常プロラクチン血症無排卵症患者に bromocriptine を併用し、その効果を検討した。視床下部性1度無月経9例、2度無月経10例、下垂体性無月経2例、無排卵周期症2例および PCO 6例の合計29例に、clomiphene 150mg/日および bromocriptine 5mg/日を投与した結果、17例（58.6%）が排卵誘発に成功し、5例（17.3%）が妊娠した。その中、1度無月経と2度無月経における排卵率は

それぞれ55.6%および40%であった。また PCO の排卵率は83.3% (3/4) と高率であった。血中 gonadotropin の基礎値と bromocriptine の併用効果についてみると、LH の basal level が20mIU/mL 以上を示す症例に有効率が高い傾向が認められたが、無効例との間に有意の差は認められなかった。FSH では、有効群と無効群の間の基礎値において、何ら相違を認めず、基礎値から bromocriptine の併用効果を評価できないものと思われた。また血中 prolactin 値については、15~25ng/ml 間の症例が 15ng/ml 以下の症例に比べて bromocriptine の奏効性が高い傾向を示したが、統計学的には、有意の差は認められなかった。さらに PCO の prolactin 値はいずれも25ng/ml 以下ではあるが、他の群に比べると有意に高値を示した。なお今回対象とした PCO 症例は prednise を併用したものもあることから、PCO に対して bromocriptine は有効であるとの結論を述べることはできないが、有効であったとの報告も少なくないことから、今後 PCO 症例に対する bromocriptine の使用は大変興味のあるところである。PCO に対する作用機序は視床下部 dopamine 活性を改善するためと考えられるが、詳細は不明であり、今後検討すべき課題と思われる。

10. 不妊婦人に対する漢方薬（当帰芍薬散ツムラ）の使用経験

水元淳一・福岡啓造・福島泰斗
 荘田恭二・松尾 勇・前山昌男
 (熊大産婦)

近年、産婦人科領域にも漢方療法が導入され、不妊症、なかでも無月経や無排卵周期症、黄体機能不全などの排卵因子による不妊や機能性不妊を対象に漢方療法を施行して、その有効性を指摘する報告がみられる。われわれは、19例の不妊婦人に当帰芍薬散（ツムラ）を投与した結果、若干の知見を得たので報告する。対象は、昭和57年4月より58年3月までの1年間に、当科不妊外来で精査加療した不妊症患者に、当帰芍薬散7.5g を1日3回に分けて服用させた。基礎体温より分娩有排卵性と判定した。また、投与前および投与周期に血中 FSH, LH, estradiol 値を卵泡期初期・中期・後期および黄体期中期に、血中 progesterone 値および子宮内膜グリコーゲン量を黄体期中期に測定した。その結果、黄体期中期に progesterone 値に上昇傾向がみられ、子宮内膜グリコーゲン量は有意に上昇した。また、19例中7例(36.7%)で妊娠が成立した。妊娠例7例中5例は満期産にて正常児を娩出し、他の1例は合併症もなく正常な妊

娠経過を辿っている。残り1例は妊娠7週で自然流産に終わった。また、冷え症や便秘の改善、BBT 上黄体期の延長、経血量の増加を訴えた例もみられた。不妊症に対する漢方療法の効果発現機序については、不明の点が多く、漢方薬によつて内分泌動態が改善されて妊娠能の改善をもたらすという報告もみられる。また、該薬剤は、循環系に対する薬剤であり、自律神経系や血流動態に改善をもたらす結果とも考えられる。

11. エストロゲン簡易測定キットによる卵泡のモニタリング

○新村亮二・有馬直見・永田行博
 (鹿児島大産婦)

卵泡成熟モニターを行なうには、血中 estrogen を測定することが重要である。しかしその測定は日時や設備を必要とするので必ずしも有用ではなかった。今回、高感度尿中 estrogen 簡易測定キット（モチダ）を試験的に使用する機会があり、臨床への応用法を検討した。

対象は、当科不妊外来受診した8人（のべ12周期）で自然排卵周期3周期、clomid+hCG 3周期、HMG 6周期である。尿中 estrogen の測定とともに超音波検査、頸管粘液検査も行なった。

自然周期では50ng/ml 以下で排卵し、特に30ng/ml 以下でも排卵した例があった。しかし、誘発排卵では逆に50ng/ml 以上、特に HMG 例では100ng/ml になった例があった。経日的変化で尿中 estrogen 値の減少する例も見られたが、これは尿量の影響をうけていると考えられた。この測定法は超音波断層法と併用することで卵泡成熟をモニターするのに有用な方法と考えられる。

12. リレーショナルデータベースによる不妊外来統計の試み

是永迪夫・角沖久夫・宇津宮隆史
 松岡幸一郎・吉田耕治・門田 徹
 (九大生体防衛医学研究所産婦)

不妊外来統計の処理は煩雑なものである。電算機処理の要求は強く、各所でその処理が試みられている。さて電算化する場合、問題となるのは開発までの時間、費用および技術系との意志疎通である。最後の問題はとくに厄介で、システムは作つたが実用にならなかつたということはよく聞く話である。この点、現場のものが作るのが理想であるが、そこにはアプリケーションの融通性に富み、かつプログラミングを必要としない超簡易言語的なものが望まれる。最近リレーショナルデータベースの発想をもつた簡易言語が幾つか発売されているが、デ

ータの移動, 処理には抜群の力もち, かつ一部には入力画面形成にプログラムを必要としないものもある. 今回使用したソフトはコンドルS-20で, リレーショナルデータベースを基礎とし, 入力画面を容易につくることができる. 不妊外来統計(従来学会等で発表されているもの)は, これをもつて短時間にシステムを組みあげることができるが, 今回作製したものは統集計用のものではなく日常診療で, いわゆる診療ツールとなるものを試みた. すなわち, 性周期を時間軸にとり, 検査値(フーナ test, HSG 所見, ホルモン値など)を診療現場で入力していくやり方である. 各検査結果は一画面に表示され, 患者個人の病歴を追うことができ, 日常診療に役立つ. また, 各個人の情報より要約を抜きだし, 集団として“いわゆる不妊外来統計”を行なうことも可能とした. 欠点は MS-DOS 上で動かし, コンドルのプログラムを仕事単位で呼び出すので, 時間がややかかる点があるが, ハードディスク, ラムディスク等を使用すれば処理スピードをあげることができ, さらに検討を加えたい.

13. 挙児希望婦人における子宮卵管造影法の検討

松浦講平・吉村寿博・宗村正英
水元淳一・前山昌男

(熊本大産婦)

昭和58年1月から18か月間, 当科で子宮卵管造影法(以下 HSG)を施行した挙児希望婦人を retrospective に検討した. 同期間における HSG 施行率は152/306(49.7%)であった. HSG 施行後6周期以内に妊娠が成立した例は31例(20.4%)で, これを妊娠群とし, 残り121例を妊娠未成立群(3例は6周期以降に妊娠成立)として比較検討した. 妊娠群では2周期以内に28例(90.3%)が妊娠が成立している. 各々の平均不妊期間は2年10か月と4年3か月であった. 妊娠群の不妊因子と妊娠周期併用療法では黄体期短縮を含む黄体機能不全に対して clomiphene, tamoxifen, hCG, gestagen 療法を受けていた. 精子濃度2000万/ml以下の男性因子34例のうち, 3例は(8.8%)が妊娠し, いずれも VB₁₂, カリクレイン, AIH のいずれかを行なっていた. 妊娠群の14例が不妊因子の系統的検索中の例で HSG 施行全体の9.2%になる. 妊娠群の HSG 所見では, 両側卵管とも疎通性が25例, 片側卵管疎通が5例, 残り1例は両側膨大部閉塞であったが HSG 施行周期に妊娠している. 妊娠群の17例には卵管周囲癒着ありとした. 既往治療をみると妊娠未成立群の20例(16.5%)が不妊因子(主に卵巣, 腹膜因子)に対する手術的治療がみられたが, 妊娠群では腹膜因子に対する治療例はみられなかった. 以上の検討から, 絶対不妊因子のない不妊婦人に対する

HSG の施行は, 妊孕性の向上を期待して推奨されるべき手段と思われる.

第92回日本不妊学会関東地方部会

日 時: 昭和60年6月15日(土)午後1時~
5時30分

場 所: 獨協医科大学臨床棟10階講堂

1. 不妊性正常プロラクチン血症について

○大谷 博・星野恵子, 坂本尚徳
大塚 進・森島 真・伊藤英一
加藤英一・熊坂高弘

(獨協医大産婦)

初めに正常性周期の卵胞期, 黄体期および高 PRL 血症と閉経婦人各2名について, 午前9時から午後2時までに15分間隔で血中 LH, FSH と PRL 値を測定した. LH と PRL の pulse は RI の intraassay の CV×2を陽性とした. PRL の episodic pulse Frequency と Amplitude は卵胞期0.5, 5.1, 黄体期1.5, 6.3, 高 PRL 血症6.0, 15.9, 閉経期1.0, 5.8で高 PRL 血症で高値であった. LH の pulse は正常性周期では卵胞期3.5, 4.7, 黄体期3.0, 5.3で高 PRL 血症で低く閉経期で高い傾向を得た. また不妊性婦人14名中 PRL 基礎値の日差変動の大きかつた黄体機能不全と1度無月経患者各2例では Frequency と Amplitude は2.25, 6.2で Amplitude は正常 control より高値であった. これら4症例に LH・RH と TRH test を行なつたところ TRH に対する PRL の放出亢進があり basal level で LH/FSH と Δ LH/ Δ FSH は control に比して低下していたが, Bromocriptine 2.5mg/日4~6W投与で LH/FSH と Δ LH/ Δ FSH は上昇し control 値に近似したことは LH・RH 分泌調整の改善が示唆されるが, 今後の検討が必要である.

2. 不妊症, 不育症と子宮筋腫との関係について

○堺 正長・久布白兼行・真木 健
柏瀨成一・村田高明

(国立栃木産婦)

3. Testicular Feminization の間脳・下垂体機能

小沼誠一・玉田太郎

(自治医大産婦)

目的: 間脳・下垂体機能検査法を応用して, Testicular Feminization の障害部位や障害の程度を臨床的に診

断可能とすること。

方法：Testicular Feminization と診断された兄弟2名の身体所見を調べ、辜丸摘出前後の各種ホルモン値を比較した。負荷試験として LH-RH : 100mg (iv), Es-iradiol-benzoate : 2mg (im), Testosterone-enanthate : 250mg (im), 5 α -D. H. T-suspension : 500mg (im) を行ない、その反応を血中 LH, FSH にて調べ、正常者と比較した。

成績：①術前の内分泌所見は Hypergonadotropic-normogonadism を示した。②術後は Hypergonadotropic の状態が増強され、末血中の T, Ed 値は著減した。③精巣静脈血中の Ed は 250pg/ml と高値を示した。④患者は LH-RH に良く反応し、Ed-B に対し著明に negative phase の反応を示すが、T-E と D. H. T に対しては弱く不完全な反応を示すことから、この症例を Testicular Feminization の D. H. T. 受容体不完全欠損型であると診断することができた。

4. 17 α -hydroxylase 欠損症の卵巣機能

山内博幸・荒木重雄・関口 勲
近沢幸嗣郎・玉田太郎

(自治医大産婦)

17 α -hydroxylase 欠損に基づく無月経と高血圧症の患者の内分泌環境と卵胞発育の関係について検討した。対象は16歳の女子で、原発性無月経を訴え自治医大産婦人科を受診した。その後、高血圧を指摘され循環器内科にて精査を受けたところ、高鈣質コルチコイド、低糖質コルチコイド、低性ステロイドによる高血圧症で17 α -hydroxylase 欠損症と診断された。

産婦人科で内分泌検査を施行したところ、高ゴナドトロピン、低エストロゲンで卵巣性無月経と診断され、卵巣の生検を施行した。卵巣には、直径2.2mm までの非閉鎖卵胞と直径2.8mm までの閉鎖卵胞が存在し、直径1mm 以上の卵胞の大部分は閉鎖していた。卵巣組織中のプロゲステロンは高値であったが、アンドロゲンとエストロゲンは極めて低値であった。従来から、卵胞発育にはゴナドトロピンとともにエストロゲンが必要であると報告されているが、本症の卵胞形態から、エストロゲン欠除の状態、たとえゴナドトロピンの刺激が十分あつても、直径2mm 前後までしか卵胞は生長しない事が示唆された。

5. 不妊症治療に於ける HCG 療法の基礎的研究

高橋一久・大蔵健義・園 信義
林 雅敏・高見沢実・三ツ矢和弘
矢追良正・熊坂高弘

(獨協医大産婦)

久保田俊郎・生山 博・アンソン
ティール・斎藤 幹

(東京医歯大産婦)

妊娠ラットの妊娠各時期に HCG を連日5日間投与し、胎仔の数、発育を比較した。HCG 投与群では、明瞭に識別でき、個々の胎仔の発育も優れていた。特にプロゲステロンの上昇が著しかった。子宮でのエストロゲンレセプターは生食群で高く、プロゲステロンレセプターは HCG 群で高く経緯した。

結論として、(1) HCG 投与により、卵の着床、発育が促される。(2) HCG 投与により、ステロイド産生、分泌が促される。(3) HCG 投与により、子宮でのステロイド、レセプター特にプロゲステロン、レセプターが活性化される。(4) 以上の効果は、HCG の直接効果なのか、ステロイド産生が促進される事により副次的に起きた効果なのか不明であり、また、動物と人間とは全く異なり、同一に論ずる事は出来ないが、着床、妊娠維持を促進する目的に対して、HCG 投与は有効に作用すると判断される。

6. 黄体期、妊娠初期におけるプロラクチン分泌機構とゴナドトロピン分泌機構の関連性について

久保田俊郎・鎌田周作・尾崎喜一
小山 嵩夫・西 望・斎藤 幹

(東京医歯大産婦)

熊坂 高弘 (獨協医大産婦)
矢追 良正 (越谷病院産婦)

目的：黄体期よりの妊娠初期に至る視床下部・下垂体系の Gonadotropin (Gn) 分泌能および Prolactin (PRL) 分泌能の推移や両者の関連性を検討した。

方法：①妊娠初期婦人7例、黄体期婦人8例に対し、LHRH 100 μ g を1回静注投与し、②妊娠初期婦人10例、黄体期婦人7例に対し metoclopramide (MCP) 10mg を静注し、投与前後のホルモン動態を、妊娠群は血中 LH- β , FSH, PRL 黄体期は LH, FSH, PRL を RIA にて測定した。LH- β は、NIA の NIAMDP 提供のキットを使用した。

成績：①黄体期では、LHRH 静注後 PRL の有意な上昇(30分後)がみられ、Gn と PRL の synchrony

が証明された。妊娠初期では、LHRH 投与後 LH- β は上昇の傾向はみられるが、有意差はなく、PRL の上昇もみられなかった。②MCP 静注後、妊娠時、黄体期とも血中 PRL の有意な上昇はみられたが、LH、FSH、LH- β には変化はなかった。

結論：妊娠初期、下垂体の Gn 分泌能は低下し、PRL と Gn の synchrony はなくなるが、視床下部・下垂体の DA (dopamin) 活性は保たれることを示した。

7. 産婦人科領域における empty sella syndrome

木下俊彦・石川弘子・武谷雄二
水野正彦 (東京大産婦)

Primary empty sella syndrome (PESS) とは、先天的に下垂体隔膜が欠損または脆弱なため、クモ膜下腔が鞍内に陥入し下垂体組織と置換した状態というが、36歳の女性に乳汁漏出を伴い発症した1例を経験したので報告する。LH、FSH の基礎値は2.0, 5.6mIU/ml で LHRH に対し LH は反応不良、FSH は反応良好。PRL 66.1ng/ml、下垂体ホルモンは正常範囲。LH の pulsatile secretion, estrogen positive feedback は、いずれも欠如していた。放射線学に明らかにトルコ鞍の拡大と下垂体茎と下垂体組織の圧排を認めた。産婦人科における PESS は乳汁漏出、無月経で発見されることが多く、比較的高度の高 PRL 血症を伴い、X線上トルコ鞍が拡大するため prolactinoma との鑑別が問題となる。また PESS の無月経は Bromocriptine で改善することより、無月経の原因として下垂体組織の圧迫によるものよりは、下垂体茎圧迫による PIF の減少から生じた高 PRL 血症によるものである可能性が強く示唆された。

8. LH RH 律動的注入法による排卵誘発

○山田祐二・高橋 徹・長田尚夫
津端捷夫・高木繁夫
(日大産婦)

9. 新しい精子機能検査法としての Swelling test の有用性 (第1報)

柳沢洋二・吉田竹郎・津端捷夫
高木繁夫 (日大産婦)
吉田長生 (豊島中央病院)
刈屋幸枝・岡部景子
(日大農獣医学部家畜繁殖学)

正常ヒト精子をクエン酸とフルクトースを混合した 150mosmol の低浸透圧水溶液に入れ、37°C のインキュベーターで30分間培養すると精子尾部が膨化する。この現象を応用したものが Swelling test である。本法は

1984年、R. S. Jeyendran らによつて開発されたもので、ハムスターテストと良好な相関を示すことから欧米では目下精子機能のスクリーニングテストとして盛んに追試されている。われわれも今回不妊夫20例、妊孕夫7例について実験検討し若干の結論をうるに至つたので報告する。

なお、上記膨化精子は様々な尾部の膨化を示すが、これらのうち尾部全体が球状に膨化する精子 (g型) は、その尾部細胞膜の機能がより良好であり、したがつて精子の Capacitation や先体反応などもより良好であると推定し、今回はこの g型膨化精子の占める百分率を求め、その数値によつて精子機能を評価した。

結論：1. 妊孕夫における g型膨化精子の占める百分率は30~50%前後であつたが、不妊夫におけるそれは一般に低かつた。2. 妊孕夫では g型膨化精子の占める百分率が多いのみならず b型のそれ (尾部先端がまるく膨化) や c型のそれ (b型のまるく膨化した部分が内側にカーブ) の占める百分率も20~30%はあるという特徴のあるパターンを示した。3. g型膨化精子の百分率と精子数および運動率との相関は妊孕夫で良好であるが不妊夫では乏しかつた。このことは原因不明不妊因子の解明に有用性があると思われる。4. 本法は技術が簡単で、かつ費用も安価である。したがつて精子機能のスクリーニングテストとして有用性が高い。

10. 最近1年間の男子不妊症患者の臨床統計的観察

友政 宏・吉井慎一・武島 仁
石川博通・小磯謙吉
(筑波大泌尿器)

1984年4月より1985年3月にいたる1年間に筑波大学附属病院泌尿科外来を受診した不妊患者78例中充分に検査をし得た64人を対象とし、臨床統計的に検査した。

患者の年齢は30から34歳までが最も多かつた。不妊期間は2年間未満が最も多かつた。配偶者の年齢は25から29歳までが最も多かつた。配偶者の既往では流産が最も多かつた。

精子濃度と病理組織学的所見にもとづき、患者を5群に分類した。この分類により辜丸容積、血中性ホルモン濃度について検討を行なつた。辜丸容積においては、閉塞性無精子症群が原発性無精子症群に比し、有意に高値を示し、FSH 値においては原発性無精子症群が閉塞性無精子症群に比し、有意に高値を示した。無精子症の鑑別診断におけるこうした検査の有用性が示唆された。

シンポジウム

「排卵障害についての話題」(各シンポジウム発表20分)

I. 単独高 LH 血症性排卵障害の内分泌的特徴

○武谷雄二 (東大産婦)

II. 正常プロラクチン血症性無排卵症に対する bromocriptine 療法

植村次雄 (横浜市大産婦)

dopamine agonist である bromocriptine の治療が正常 prolactin 血症性無排卵症のどのような症例に有効であるか検討するため、正常 prolactin 血症性排卵障害婦人を対象として、bromocriptine 5 mg を3か月間投与し、その排卵誘発効果とみとると共に内分泌学的検索を行なった。

bromocriptine 療法の有効群は無効群に比して、LH 値が高値で、LH, RH に対する LH の反応性が亢進しており、estrogen に対する positive feedback 機構のよく保たれたもので、血中 testosterone 値および TRH に対する prolactin の反応性は正常であった。これらの症例は bromocriptine 投与中、LH 値は低下傾向を示し、LH, RH に対する LH の反応性は有意に低下した。これに対し、無効群では LH, RH に対する LH の反応性に変化はみられなかった。以上の所見は bromocriptine 療法が PCO like の症例に有効なことを示唆するものである。

また、clomiphene 療法無効例に bromocriptine を併用することにより、排卵誘発効果が約40%に認められ、HMG-HCG 療法に dopamine agonist を併用することにより、卵巣の HMG に対する反応性が亢進することを認めた。

III. GnRH の律動的投与による排卵誘発

正岡 薫 (獨協医大産婦)

当教室では GnRH の90分間隔の静脈内律動的投与を行ない、各種の無排卵症に排卵誘発を試みてきた。今回、種々の投与周期を用いて検討し、GnRH の pulse frequency の変化が gonadotropin 分泌と卵胞発育、黄体機能に及ぼす影響について観察した。

GnRH の投与間隔を90分から45分に短縮すると LH の基礎値は上昇するが、pulse amplitude は減少する。逆に90分から180分に投与間隔を延長すると、基礎値は低下するが、pulse amplitude は増加する。FSH はいず

れの投与間隔でも投与初期 (low E₂ phase) には上昇するが、その程度はE₂の増加速度によつて最も影響を受け両者のレベルは常に逆相関する。60分から180分までの投与間隔では、いずれも卵胞発育がみられる。黄体期に90分から180分間隔にすると progesterone 分泌は低下し、黄体機能を維持できない。

以上、GnRH の pulse frequency の gonadotropin, steroid 分泌への影響について詳述する。

IV. HMG の律動的皮下投与による排卵誘発

中村幸雄 (慶大産婦)

HMG (Pergonal) を律動的に皮下投与し、排卵誘発を行なった。

方法：小型ポンプ、ニプロ SP-3I を用い、HMG 150IU (または75IU) を90分間隔で翼状針を用い下腹部膜下の皮下に律動的に投与した。入浴は、患者自身でポンプを脱着することにより可能であり、日常生活にも何等支障はない。

成績：AmI：5例 (12周期)、PCO：3例 (10周期)、AmII：8例 (8周期) に本法を行ない、AmI 5例 (11周期)、PCO 3例 (9周期)、AmII 6例 (6周期) が排卵1、2例が妊娠した。妊娠例は、共に単胎で、1例はすでに健児を出産している。鶯卵大以上の卵巣腫大を示した卵巣過剰刺激症候群は2例 (非妊娠) みられたが、いずれも自然軽快した。

HMG 150IU/日投与例は、75IU/日投与例にくらべ、排卵までに要する HMG 投与量、日数は共に少ない。

排卵確認後ポンプをはずし、黄体期中期まで HCG 投与例と非投与例の BBT 高温日数は、HCG 投与例の方が有意に延長した。

超音波診断を行なった例では、複数の卵胞成熟が認められた。

以上、本法は、1日投与量75IU/日より、150IU/日の方が HMG 使用量は少い。排卵率は高く、連日通院の必要なく、投与時の疼痛も少なく、今後の発展が期待される方法といえる。

昭和60年度日本不妊学会中部支部学術集会

日 時：昭和60年7月6日（土）

場 所：岐阜大学医学部講堂

1. 正常プロラクチン血性排卵障害等に対する Bromocriptine の治験

山田新尚・飲田光雄・陳 超 権
鷺見裕久・大杉 智・森 秀 弘
馬場義孝・門元則達・長谷川幸生
近藤英明・大塚恭一・塚田 英裕
白木信一郎（岐阜大産婦）

正常プロラクチン血性排卵障害および黄体機能不全の計14例に Bromocriptine（パーロデル）を投与し、その単独による排卵誘発効果ならびにクロミッド併用における効果等を、未治療群（他の治療が現在行なわれていないもの）と既治療群（クロミッド治療中のもの、又はクロミッド無効のもの）とに分けて検討した。

未治療群の2例（無排卵周期症、第2度無月経）は、いずれもパーロデル単独投与にて排卵し、このうち無排卵周期症が、それに続くクロミッド投与により妊娠した。既治療群5例は、すべて第1度無月経であるが、既投与のクロミッドにより排卵しなかつた2例中1例が、パーロデル単独投与にて排卵した。また、既にクロミッド投与により排卵を認めていた3例のうち1例が、パーロデルとの併用により妊娠した。そして黄体機能不全（未治療群）の7例では、パーロデル投与後のクロミッド単独投与症例と、クロミッドとの併用症例の計2例が妊娠した。

以上、両治療群14例中4例28.6%が妊娠し、少数例ではあるが、パーロデルが間脳下垂体-卵巣系のクロミッドに対する感受性を上昇させるという意見を支持する成績であると思われる。

2. 不妊外来における Bromocriptine 妊娠33例の検討

村田修吾・北川一郎・熊田俊夫
豊木 実（東海中央病院産婦）

不妊外来において、昭和55年12月より60年5月までの4年半の間において、Bromocriptine を投与し、妊娠成立をみたものは計30名に33回の妊娠であつた。一応血中プロラクチンの正常値を25ng におき25ng までの正プロラクチン血症のグループをA、25~100ng までのグループをB、101ng 以上のグループをCとした。Aグループの妊娠例は計8例でいずれも続発性不妊であつた。この中に41歳の未産婦に AIH を行ない、Bromocriptine

2.5mg を投与したところ、29回目の AIH にて妊娠に成功した症例を経験した。

Bグループの妊娠例は18名に21回の妊娠であつた。21例中、第2度無月経は1例もなく、9例が無排卵もしくは第1度無月経であつた。残りは12例中 BBT 上の黄体機能不全を認めたものは約半数であつた。このグループに2例の双胎妊娠をみたが、むしろクロミッドによる双胎であると思える。

Cグループの妊娠例は4例のみであつた。この4例中 Forbes-Albright 症候群は1例もなかつた。

24名の双胎1例を含む分娩をみたが、1例の早産以外すべて正常産であり、死産はなく、外表奇型は1例もなかつた。圧乳テストとの関係では未産婦の場合約60ng 以上で乳漏を認めた。流産は33例中2例に生じた。

33例中19例にクロミッドまたはセキソビットが併用された。Bromocriptine にクロミッドを併用することにより、排卵率をより向上させるものと思える。

3. 不妊症患者妊娠例の Wastage について

高橋正明・岸野 功・越知正憲
千原 啓・永田哲朗・米谷国男
（藤田学園保健衛生大ばんだね病院産婦）

昭和47年6月より57年12月までの当科不妊外来における妊娠成功例319名の追跡調査を行ない、主として排卵誘発や人工授精という人為的な治療手段が、妊娠予後とどのように関連しているかを検討した。

Wastage 例は全体で48例あり、妊娠成功例の15%を占めた。また原発、続発別の Wastage 率は、それぞれ13.1%、19.0%と続発不妊に高い傾向を示した。Wastage の内訳は子宮胎児または胎芽死亡の22例と最も多く、以下、自然流産、子宮外妊娠の順であつた。また Wastage を3か月以前、4か月前後に分けて比較すると、4か月以後の Wastage は原発不妊¹/₂₈ (3.6%) に対し、続発不妊では⁸/₂₀ (40.0%) と高率で、頸管因子の関与が示唆された。また治療別にみると排卵誘発剤使用群の Wastage 率は²²/₁₀₅ (21.0%) と対照の12.7%に比し P < 0.10 で有意に高率であつた。一方人工授精群は12.5%と対照と変わらぬ値であつた。また排卵誘発剤別に Wastage 率を検討した結果、薬の種類による有意差はなかつた。また年齢別の検討では原発不妊の誘発剤使用群で25歳以下の若年齢層に Wastage 率37%と有意差をもつて高い事が判明した。一方続発不妊では年齢による有意差は存在しなかつた。また原発不妊では妊娠例の52.3%が、何らかの人為的操作を受けた後の妊娠であり、続発不妊の25%に比べ高率であつた。

以上の事より、特に若年においては排卵誘発剤の安易

な慎むべきであり、その適応には、より一層の慎重さが必要であると思われる。また特に続発不妊では妊娠前の治療にかかわらず妊娠中の care に充分注意し follow up する事が必要であると考え。

4. 不妊症検査における腹腔鏡の意義

花田征治・竹内一郎・万歳 稔
水野金一郎・八神喜昭

(名市大産婦)

腹腔鏡検査は骨盤内病変を直接観察できるという利点をもつうえに、患者に対する侵襲も少なく安全性も高いことから、産婦人科領域でも広く応用されている。最近2年間に不妊原因検査を目的として腹腔鏡検査を行なった55例について、従来からの卵管疎通切検査法である子宮卵管造影法(HSG)卵管通気法(Rubin)に基づいて行なった。1. 卵管の通過性診断, 2. 卵管卵巣周囲癒着診断, 3. 小骨盤腔内癒着診断の3項目に対する診断の信頼度を再検討する目的で、腹腔鏡検査の診断結果と比較検討を行なった。HSGあるいはRubinで卵管の通過性ありと診断した場合は、腹腔鏡検査によつて高い正診率が確認されたが、閉塞と診断した場合の正診率は低かつた。卵管卵巣周囲癒着、小骨盤腔内癒着の正診率も低かつた。したがつてHSGあるいはRubinにより閉塞と診断された場合および卵管卵巣周囲癒着、小骨盤腔内癒着が疑われる場合には、積極的に腹腔鏡検査を行なつて診断を確定すべきであろう。

5. 腔欠損症の1例

深松義人・吉田享子・千葉 亘
富田和彦・塚本隆是・福田 透

(信州大産婦)

腔欠損症は4000人に1人の割合で起こり、同時に子宮も欠如しているのが普通である。今回、副角子宮をもち、子宮頸管の存在も認めたため、子宮頸管とS状結腸を縫合して造腔術を行なった症例を報告する。

症例は12歳の少女。昭和59年1月、下腹部痛が出現し、鎮痛剤を服用するも効果なく、近医を受診し、腔欠損症と診断され、当科紹介入院。内診で超驚卵大の腫瘤を触知するため、腔欠損症に伴う子宮溜血腫と診断した。根治手術の前に、頸管の有無を検索するため、同年2月、試験開腹術を施行。子宮は副角子宮で、両側の卵巣は正常。主角はほぼ正常大であつたが、頸管と思われる部位が著しく腫大し、その部位より約80mlの黒褐色粘液状の血液を除去した。頸管にドレーン(経腹的)を留置して手術を終了した。なお、腫大した壁の一部を切

除し、組織学的にも頸管壁であることを確認した。その後、エストロゲンとプロゲステロンの合剤を次回の手術まで投与し、同年3月、造腔術を施行。まず、S状結腸を15cm遊離後、頸管の盲端部を切除し、S状結腸と頸管との吻合術を行ない、子宮腔内にMalecotのカテーテルを留置して手術を終了。術後2日目より3日間消退出血を認めたためカテーテルを抜去し、術後17日目に退院。

退院後、順調に月経の発来を認めていたが、術後1年目の昭和60年3月、急に下腹部痛、38°C台の発熱が出現。B-scanで卵管溜膿腫と副角の子宮溜膿腫が疑われ、発熱も持続するため、同年4月、手術施行。副角は超驚卵大に腫大し、約20mlの膿を吸引したため、副角と左付属器を切除した。術後すみやかに解熱し、経過も順調で15日目に退院し、現在外来で経過観察中である。

6. Sperm penetration test を応用して採集した精子の検討

中川恵彰・山田昌夫・伊藤祐正
中西正美・石原 実

(愛知医大産婦)

目的：乏精子症など男性不妊の治療としてAIHが試みられているが、成功率はきわめて低い。そこでわれわれは、運動性の良い精子をKremerのsperm penetration testを応用した方法で採集し、その精子をAIHに使用することで成功率を高めようと試みているが、今回は生食を満たしたcapillary tube内を10分、30分、60分と時間を変えて上昇させて採集し、そのDNA量を測定して、その有効性を検討することを目的とした。

方法：精子は用手法にて採集し、その数、運動率、奇形率を鏡検した後、処理し、フローサイトメトリーを用いてDNA量を測定し比較検討した。

成績：リンパ球によるヒストグラムのピークを100とした時、精子運動率が60%以上の平均精子DNA量は56、10分間上昇させたものは55、30分間上昇させたものは53、60分間上昇させたものは30分と同じ53、処置後上昇しなかつた精子は59となつた。同様に精子運動率が60%未満のものでは、処置前60、10分間上昇させたものは58、30分間上昇させたものは56、60分間上昇させたものは54で、上昇しなかつた精子は59となつた。以上より運動率の良いものでは生食を満たしたcapillary tube内を30分程度上昇させることにより比較的良好な精子が採集できるのに対して、運動率の悪いものでは60分程度上昇時間を要することがわかつた。また、処置後上昇しなかつた精子の平均DNA量が高くなつていることは、良好な精子が除かれている為だと考えられる。

7. 難治性不妊患者に対する Sperm Capacitated AIH の効果に関する検討

渡辺憲生・渥美正典・林 賛育
能登裕志・寺尾俊彦・川島吉良
(浜松医大産婦)

目的：長期間の不妊治療にもかかわらず妊娠し得なかつた不妊症に対し、積極的に妊孕性を高める目的で Controlled Ovarian Stimulation (COS) 法を施行した後、受精能力を高めるため In Vitro Capacitation (IVC) で処理した精子を用いて AIH を行ない、その有用性を検討した。

方法：難治性機能性不妊症、中枢性無排卵症 (Clo-mid 無効例) に対して hMG-hCG 療法 (hCG の注射時間を一定としない従来法) を行なつても妊娠しなかつた症例に、新たに COSAIH 法 (月経 2 日目より hMG 150~225IU/day を 7~9 回注射し、最後の hMG より 24~50 時間後に AIH を行なう) または COS-IVC-AIH 法を行なつた。男性不妊症 (精子後 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下または運動率 60% 以下)、頸管粘液分泌不全症に対しても、COS-IVC-AIH 法を行なつた。

成績：① hMG-hCG (従来法) における妊娠率は 22.2% ($n=27$ case), これでは妊娠しなかつた症例に COS-AIH 法又は COS-IVC-AIH 法を行なつた。COS-AIH 法の妊娠率は 8.3% ($n=24$ case), COS-IVC-AIH 法は 18.8% ($n=32$ case) であり、後者が有意に高かつた。② COS 法について、hCG 投与 2 日前の血中 E_2 値は妊娠群で 1600 pg/ml, その後 hCG 投与までの E_2 上昇率は 20% であり、非妊娠群は E_2 値 590 pg/ml でその後上昇しなかつた。

結論：① 従来の hMG-hCG 療法にて無効であつた症例を選択し、COS-IVC-AIH 法を行ない、妊娠率を向上させ得た。② COS 法により妊娠に必要な血中 E_2 値および E_2 の上昇傾向を明らかにした。③ IVC 法は精液中の Decapacitation Factor を除去することにより、精子の受精能力を高めると考えられる。

8. 排卵・卵巣因子に対する臨床的検討

松川良治・広瀬省吾・木村敏夫
真鍋 豊・梅村正之
(大垣市民病院産婦)

産婦人科外来に不妊・内分泌疾患を主訴として訪れる夫婦は多い。当院不妊外来では、不妊夫婦に対して系統的検査を行ない、不妊原因をはつきりさせ適切な治療をめざしている。特に内分泌学的検討を中心に、子宮因

子、頸管因子、男性因子等の原因を十分検索している。今回は、その中でも多くを占める排卵卵巣因子をとりあげ、不妊治療における排卵卵巣因子に対する臨床的検討を試みた。

昭和 57 年 7 月より 59 年 12 月までに不妊外来を受診した患者 228 例に対して、内分泌学的検討として、prolactin, 血中, 尿中 estrogen, progesterone, testosterone, 尿中 17VS, 17-OHCS, LH・RH test 等を測定した他、超音波等を駆使した。排卵卵巣等因子を不妊原因とする患者は 40% で 92 例であつた。まず、排卵誘発剤の効果を検討した結果、有効排卵率は 73% であつた。次に、臨床的に診断・治療に困難を伴なう P. C. O. D をとりあげた。P. C. O. D の治療に対しては、卵巣の楔状切除術より、薬物による排卵誘発が有効であつた。一方、hMG-hCG 療法に対し、OH.S.S を予防するため、超音波、尿中 Estrogen 測定が有効で、実症例で、排卵・妊娠にいたる過程を言及した。

9. 不妊患者における TRH 負荷試験の解析

中 義尚・矢納研二・山本稔彦
杉山陽一 (三重大産婦)

正常排卵性周期婦人 32 例、無排卵性周期婦人 26 例について、TRH 250 μg を生理食塩水 10 ml で希釈し、卵胞期 (月経周期初日より 7~9 日目) の午前中 (9~11 時) に静注して、負荷前・負荷後 15 分, 30 分, 60 分, 90 分, 120 分で採血し、プロラクチン (以下 PRL) の分泌動態を検討した。

正常排卵性周期婦人 ($n=32$) における TRH 負荷試験では、負荷後 15 分でピークを示し、その値は $119.8 \pm 41.2 \text{ ng/ml}$ であつた。

無排卵性周期婦人の中には、TRH 負荷に対する PRL の反応性が正常を逸脱するものが認められたが、これらは同時に行なつた LH-RH 負荷後の LH-FSH 値とは関連しなかつた。

TRH 負荷により PRL 分泌が過剰反応を呈した無排卵性周期婦人 2 例では、夜間高 PRL 血症をきたしていることがわかつた。またこれらの患者で、午前中の TRH 負荷試験と、深夜の TRH 負荷試験との比較検討の結果、夜間高 PRL 血症をきたす原因が、夜間における PRH の産生亢進や、TRL に対する感受性の増大にあるとは考えにくいことがわかつた。

TRH 負荷試験の各測定値で形成される面積 (S) は、TRH による PRL の分泌増加総量を反映すると考えられるが、この面積 (S) と、負荷後 15 分値との間には、 $r=0.941$ ($P<0.001$) と良好な相関があつた。

正常排卵性周期婦人 5 例につき、TRH 負荷後 60 分に

再度同量の TRH を負荷する。TRH 2 段負荷法により、PRL 分泌能を検討したところ、0～負荷後60分で形成される面積 S_1 と、負荷後60～120分で形成される面積 S_2 との比は、0.70～1.04の間に分布した。

10. 排卵障害症例における血中 PRL と副腎性アンドロゲン——特に DHEA-S との関連

吉川史隆・市川弥生・花井一夫
呉 明超・大沢政巳・正橋鉄夫
成田 収 (名大分産婦)
菅沼信彦・友田 豊
(名大産婦)

排卵障害と prolactin (PRL) の関係が注目されており、さらに PRL が、副腎性アンドロゲンである dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S) の分泌・合成を刺激する事が示唆されている。

われわれは当院を受診した排卵障害患者において、PRL と DHEA-S との関係、及びその他のホルモンとの関連についても検討した。

稀発月経の患者32人、続発性無月経の患者35人を対象とした。Control として、正常月経周期であり、多毛、痤瘡等の男性化徴候を示さない20人の性成熟婦人の data を使用した。患者群においては LH 値は23.8mIU/ml であり、control 群の15.8mIU/ml に比して有意に高値を示した。(P<0.01) 患者群では PRL 30.6ng/ml, DHEA-S 1530ng/ml であり、両者共 control 群よりも有意に高値を示した (P<0.01)。

Control 群の PRL と DHEA-S の平均値+2・S.D. の値、PRL 27ng/ml, DHEA-S 974ng/ml によつて、患者群を4群に分類した。

TRH test では、正常 PRL・高 DHEA-S 群で605%、正常 PRL・正常 DHEA-S 群で527%の PRL の増加を認めしたが、DHEA-S の値によつて両群間に差は認めなかつた。

Dexamethasone による DHEA-S 抑制試験では、高 PRL・高 DHEA-S 群で358ng/ml, 正常 PRL・高 DHEA-S 群で165ng/ml となり、高 PRL 血症を有する群では抑制されにくい傾向を認めた。

正常 PRL 血症に対する bromocriptine 療法では、高 DHEA-S 群において8人中4人に排卵を認め、潜在性高 PRL 血症のある可能性を示唆した。

以上の事より排卵障害患者には、高 PRL 血症だけでなく、高 DHEA-S を示す症例が高頻度に存在し、PRL と DHEA-S が相互に作用して、排卵障害を引き起こしている可能性があると考えられた。

第23回日本不妊学会中国・四国支部総会

期 日：昭和60年8月31日(土) 午後1時
会 場：ホテル リッチ高松

1. 精索静脈瘤における陰囊シンチグラフィーの診断的意義

安元章浩・安川明広・竹中生昌
(香川医大泌尿器)

触診により精索静脈瘤と診断した10症例および対照として正常男子6名に対し ^{99m}Tc -pertechnetate を用いた陰囊シンチグラフィーを行なった。その結果5～15分後の集積像からは、診断困難な症例があつた。しかし90秒までの早期の集積像 (dynamic phase) でみると、I 型正常、II 型早期上昇後移行の早いもの、III 型上昇を続ける蓄積型、V 型両側蓄積型の4型があることがわかつた。触診で左側のみの精索静脈瘤と診断した患者のうち5名は dynamic phase で右側にも異常があり、潜在性の精索静脈瘤の存在が示唆された。これらのうち左側の精索静脈瘤のあつた34歳の症例に対し内精静脈の高位結紮術を施行した所、術後陰囊シンチグラフィーのパターンが正常化し、さらに1年後には精液所見の改善とともに妊娠の成立した症例を経験した。

2. 川崎医大泌尿器科における精索静脈瘤の臨床統計

木内弘道・曾根淳史・河原博之
田中啓幹 (川崎医大・泌尿器)

昭和59年4月より1年間に川崎医大泌尿器科不妊外来を受診し、理学的所見および scrotal scintigraphy より精索静脈瘤を疑われた subclinical 症例5例、V₁症例12例、V₂症例2例、V₃症例1例の計20例に、scrotal scintigraphy renal venoscintigraphy, 腎静脈造影、選択的内精静脈造影および術中造影を施行し、精索静脈瘤症例の血流動態と静脈瘤形成について検討をした。scrotal scintigraphy より得られる time activity curve は陰のう部の early up-take 像の描出時間を加味し、pattern I, II, III および 0 に分類した。その結果、pattern 0 と診断した症例では静脈造影や術中造影の結果より精索静脈瘤の存在が否定でき、subclinical 症例5例中2例、V₁症例12例中7例は false positive 例であつた。今後 subclinical 症例および V₁症例に対し pattern 分類を応用した scrotal scintigraphy により screening する必要があるらう。

3. Hypogonadotropic hypogonadism に対する HCG-HMG 療法

吉川雅人・入江 伸・大橋洋三
東條俊司・大橋輝久・大森弘之
(岡山大泌尿器)

われわれは低ゴナドトロピン性性腺不全症 15 例に対し、HCG-HMG 療法を行なったので報告する。年齢は 11~42 歳で、前治療を行なっていたのは 7 例で、Fluaxymasterone, Enarmon depot が主たるものである、HCG, HMG の投与量は各々 1000~5000u, 75~150u で 2 回/1 週~1 回/2 週で、主として HCG 2000あるいは 3000u, HMG 75あるいは 150u, 週 2 回投与をおこない、投与期間は 29 週~180 週である。その結果、15 例中 4 例に精子の出現を認め、1 例は妊娠が成立した。また精子出現を含め、pubic hair, penile length および testicular volume すべてが増加したもの 9 例、二者が増加したものの 2 例と良好な成績を得た。また臨床効果と血清ホルモン値および HCG-HMG 投与量との関係において、血清テストステロンは臨床効果のモニタリングに有用であり、さらに HCG 2000~3000u, HMG 75~150u, 週 2 回投与が有用であることが考えられた。

4. Sexual stimulation score を用いた Audiovisual sexual stimulation の臨床応用

川西泰夫・今川章夫・湯浅 誠
沼田 明・田中敏博・山本 明
(高松赤十字病院泌尿器)

Sexual stimulation score (SSS) をもちいた Audiovisual sexual stimulation による erotic erection の記録は刺激を定量化できる客観的な勃起機能検査法であり、その結果は陰莖周増加率と SSS の関係から A, B, C, D, N 領域の 5 つに判定される。

昭和 58 年 4 月より昭和 60 年 7 月までに検査した 74 人を対象に Nocturnal penile tumescence (NPT) の MS 分類、臨床病型、予後との関係を検討した。

NPT (MS 分類) の結果とはよく一致し、A, B 領域には器質的インポテンスはなく、C, D の順に増加していた。A 領域では全例が機能的インポテンスであり、機能的インポテンスの割合は B, C, D の順に減少していた。臨床病型分類でみると器質性続発性インポテンスは A 領域で少なく、B, C, D の順に増加していた。機能的性続発性インポテンスはこの逆の関係をしめした。予後は A, B, C, D, N の順に良かった。N 領域群は他の領域とは異なった傾向を示した。

5. 長期不妊後妊娠に成功した 2 症例

西垣 新・高橋健太郎・吉野和男
荒木芳美・北尾 学
(島根大産婦)

当科不妊外来患者のうち、長期不妊後妊娠に成功した 2 症例を報告する。

症例 1 : 29 歳, 初診時不妊期間 7 年 2 か月。某医で不妊治療を受けるも妊娠せず当科を受診した。検査値では血中 LH, testosterone 値が高値を示し、LH-RH テスト、プレマリンテストの結果より PCOS が疑われ、両側卵巣楔状切除術を行なった。術後 HMG-HCG 療法を 3 回行なうも妊娠せず、経過観察していたところ、妊娠が成立した。

症例 2 : 30 歳, 初診時不妊期間 1 年 2 か月。腹腔鏡検査で漿膜下筋腫、子宮内膜症を認めたので、筋腫核出術とダナゾール 400mg/日 4 か月間投与を行なった。CA 125 値はダナゾール投与前高値を示していたが、投与後は正常範囲内となった。ダナゾール投与後 HMG-HCG 療法を行ない、妊娠が成立した。

6. 子宮筋腫の妊孕性に及ぼす影響の検討

中山孝善・高柳 真・祖川隆年
河野美香・和泉佳彦・福家義雄
岸 恭也 (徳島大産婦)

子宮育腫は従来より不妊原因として挙げられているが、他方、筋腫を有していても妊娠成立に何ら影響を与えていないと考えられる例も多く、不妊治療として筋腫核出術を行なうのに迷うことも少なくない。そこで今回、最近 5 年間に当科で筋腫核出術を行なった不妊症例 19 例を、術後妊娠成功例 (5 例) と不成功例 (14 例) にわけ、その手術所見から、子宮筋腫の妊孕性に及ぼす影響を検討し、以下の結論を得た。(1) 術後妊娠成功例は筋腫結節数(平均 3.8)が不成功例(1.3)より有意に多く、多発筋腫は不妊要因と考えられ、特に 4 個以上の例では核出術を実施した方がよい。しかしながら、子宮や筋腫結節の大きさ、その存在部位には両者に差がなかった。(2) 子宮内膜症、卵巣腫瘍、卵管の異常が、それぞれ 47%、42%、63% にみられたが、妊娠成功例では、それぞれ 20%、0%、20% にすぎない。核出術成功のためには、これらの合併の有無を検討することが重要と考えられた。

7. 当科におけるマイクロサージェリーの現況

吉田信隆・占部 清・林 伸旨
新谷忠司・林 輝庭・高橋史朗
清水健治・関場 香
(岡山大産婦)

近年、卵管性の不妊症に対して卵管のマイクロサージェリーが普及して来つある。岡山大学でも昭和58年より卵管性不妊症と考えられる症例に対し卵管のマイクロサージェリーを行なつて来たのでその結果について報告する。

対象は昭和59年12月までに卵管のマイクロサージェリーを行なつた22例である。まず、卵管疎通性の回復について検討すると、手術時は全例とも疎通性の回復を認めたが、2か月後には1例、6か月後には5例(22.6%)が再び卵管閉塞となつた。術後の妊娠について検討すると、1年子後で7/18例(38.9%)、6か月子後(昭和59年12月までの手術)でみると7/22例(31.8%)が妊娠に至つた。

なお子宮外妊娠例は無く、1例流産に至つたが、その例もその6か月後に正常妊娠となつた。また卵管采の状態とマイクロサージェリーとの関係を見ると、卵管采良好の群で7/11(63.6%)が妊娠に至つたのに対し、卵管采不良群では7例とも妊娠に至らず、卵管采の状態がこの手術の予後を左右するのに重要な因子であると考えられた。

8. 習慣性流産の原因に関する検討

漆川敬次・安井敏之・古本博孝
坂本康紀・大頭敏文・苛原 稔
長谷部宏・鎌田正晴・岸 泰也
(徳島大産婦)

目的：原因不明習慣性流産(習流)患者では、blocking antibody としての抗 HLA 抗体が低値を示すことが示唆されている。今回、われわれは習流患者における抗 HLA 抗体産生抑制機序を検討した。

方法：当科外来に通院中の習流患者10例につき、夫婦の HLA 型を比較するとともに、別の胎児性抗原として赤血球抗原に対する免疫抗体を測定した。

結果：10例の習流夫婦での HLA 適合率は0-57.1%(平均24.2%)であり、DR が全く同一なのは2例のみで、Dはすべて不一致であつた。赤血球に対する免疫抗体の産生については、習流患者も正常妊婦と差はなく、胎児抗原に対する免疫応答性の低下はないと考えられた。

結論：習流患者における抗 HLA 抗体産生抑制は、胎児 HLA に対する特異的低反応性に起因する可能性が示唆された。

9. マウス排卵卵子への精巣精子、精巣上体精子の顕微注入

藤井 徹・舟橋弘晃・丹羽皓二
湯原正高
(岡山大、農、家畜繁殖)

精子の成熟過程および受精能獲得や先体反応等が卵への侵入後の精子の変化にどのように関与するかを解明する方法として精子の顕微注入が行なわれている。

本研究は精子に超音波等による不動化処理をほどこすことを無しに無傷の精巣精子及び精巣上体尾部精子をピペットの先に吸着して卵に注入し、その後の卵子内での精子変化を観察した。

過排卵処理マウスより採取した卵子を裸化後、注入時の傷害を軽減するためサイトカラシンBで処理した卵子に、無傷の精巣および精巣上体尾部精子を注入した。精巣精子を注入した場合、完全に膨化した精子は認められなかつたが、精巣上体尾部精子の場合、34個中14個に精子頭部の膨化が認められ、さらに、雄性前核を形成したのも認められた。

10. 精子不動化抗体の受精阻止効果に関する研究

大頭敏文・安井敏之・漆川敬次
坂本康紀・古本博孝・長谷部宏
苛原 稔・鎌田正晴・岸 恭也
(徳島大産婦)

昨年、われわれは本学会において精子不動化抗体のヒト体外受精系に及ぼす影響について報告した。今回さらに検討を加え、精子不動化抗体の受精阻害作用をより明らかにするとともに、その作用機序を解明する目的で、アクロシン活性に及ぼす影響について検討したので報告する。

ヒト成熟卵透明帯を用いて精子貫通試験を行つた結果、精子不動化抗体陽性例6例中5例は完全に精子の卵透明帯への結合、貫通を阻止し、残りの1例についてもcontrol に比し抑制効果が認められた。さらに精子不動化抗体陽性血清より得た IgG 分画を用いて同様の受精阻害作用を確認し、受精阻害が不動化抗体による事を明らかにした。さらに、精子の透明帯通過において重要な役割を持つ蛋白分解酵素アクロシンの活性に及ぼす影響について検討したが、low molecular substrate を用いた方法では特に有意な活性阻害は認められなかつた。

11. 不妊症患者における体重と LH-RH test の相関について

高橋健太郎・吉野和男・西垣 新
白井孝昭・北尾 学

(島根医大産婦)

LH-RH test の反応型パターンである遅延型反応が肥満および排卵障害とどのように関連しているのかを検討するために、LH-RH test を施行した113例の婦人を対象とし分析してみた。その結果、排卵障害婦人において遅延型反応を示すものは20.4%認められた。その中で肥満症婦人は100%遅延型反応であり、PCOS の肥満症患者も全例遅延型反応を示した。しかし、第2度無月経患者においては、やせ傾向婦人で遅延型反応が多く認められた。以上より、LH-RH test での遅延型反応は肥満による排卵障害と密接な関係がある事が推察された。

12. 血中プロラクチン分泌動態とヒト卵の受精分割能の関係について

○東敬次郎・小林津月・南 晋
西田荘哉・和泉佳彦・中山孝善
山野修司・松下光彦・鎌田正晴
岸 恭也 (徳島大産婦)

婦人の血中 prolactin (PRL) 分泌動態と PRL が卵の受精、分割能に及ぼす影響について検討した。

方法：両側卵管閉塞または強度乏精子症のため clomiphene citrate 刺激下に体外受精・胚移植 (IVF-ET) をうけた患者に対し血中 estradiol (E_2), PRL, LH, を測定し IVF-ET を実施した。

成績：①各症例の血中 PRL 分泌動態を検討した結果月経周期を通して血中 PRL がほとんど変動を示さない NON-TIP (Non-Transient Increase of serum Prolactin) 群、排卵期の一過性の高 PRL 状態がみられる TIP-O (TIP at Ovulatory phase) 群および一過性の高 PRL 状態が排卵期と黄体期中期にみられる TIP-OL (TIP at Ovulatory and mid-Luteal phase) 群の3群が認められた。②卵の受精率は NON-TIP 群、TIP-O 群に比し TIP-OL 群で低下傾向があり、分割率は NON-TIP 群に比し TIP-O 群で低下傾向がみられ TIP-OL 群で有意な低下をみた。

考案：以上より一過性高 PRL 血症は卵の受精、分割能を抑制する可能性が示唆された。

13. インポテンスと高プロラクチン血症

今川章夫・川西泰夫・湯浅 誠
沼田 明・田中敏博・山本 明
(高松赤十字病院泌尿器)

インポテンス (IMP) とプロラクチン (PRL) の関係を明らかにすることを目的として、IMP 患者の血清 PRL 濃度を測定し、高 PRL 血症を併った IMP 症例について検討を加えた。

IMP 患者163例の血清 PRL の平均は 13.4 ± 8.29 ng/ml で、各年代間に有意差はなかつた。

平均+2SD 以上の30ng/ml 以上を示す高 PRL 症例は15例 (9.2%) であったが、再検にて4例が正常値であり、また3例が1回の測定であったため、最終的に高 PRL 血症と診断したのは8例であった。8例中1例がプロラクチノーマで、他は薬剤による高 PRL 血症であった。薬物の中止で2例が、プロモクリプチンの投与で5例 IMP 治療した。

14. CAH (21-OH lase 欠損) 女児に射する genital plasty の経験

森岡政明・戦 泰和・藤田幸利
(高知医大泌尿器)

症例1は1歳2か月女児、生下時よりみられた chitomegaly が進行するため当科紹介され精査の結果、21-OH lase 欠損の CAH, 単純男性化型と診断した。hydrocortisone による control を約1年間行なつたのち2歳6か月時に Spence and Allen の術式に準じた Chitoriplasty を行ない良好な結果を得た。

症例2は2か月女児、chitonimegaly と全身の pymen-tainon を認め、生後4日目に当科小児科に入院、精査の結果、21-OH lase 欠損による CAH, salt losing type と診断した。salt losing 傾向があるため hydrocortisone と Flonioxo を併用し control 中であり、近々 genital plasty の予定である。chitoriplasty と vaginoplasty の術式、手術時期などについて検討を加えた。

15. 男子不妊症における睾丸組織の検討

横関秀明・矢野正憲・稲井 徹
(徳島大・泌尿器)

49例の睾丸生検を施行した男子不妊症患者で、組織学のおよび内分泌学的検討を行つたので報告する。対象患者の年齢は22歳~42歳 (平均30.8歳)、受診までの期間は8か月から8年 (平均3年6か月) であった。乏精子症12例、無精子症37例で、睾丸容積別にみると、10ml

未満27例, 10ml 以上19例であり, 8例に精索静脈瘤を認めた。

造精機能の状態については, Johnsen's mean score と組織分類とを検討したが, 両者はよく平行した結果が得られた。内分泌学的には, 造精機能の低下は, ゴナドトロピン値の上昇と関連したが, ホルモン負荷試験は, Klinefelter 症候群などを除いて, 良好な反応を示した。

睾丸容積, ゴナドトロピン値より, 造精機能の状態についてある程度の推測が可能であると考えられる。

16. 先天性精管欠損症に対する人口精液瘤の経験

河原博之・曾根淳史・木内弘道
田中啓幹 (川崎医大・泌尿器)

不妊と主訴として来院した先天性両側精管欠損症の患者に対して, expanded polytetrafluoroethylene graft (Gore-tex graft) を用いた人工精液瘤造設術を行なった。術後2週間で穿刺液より $0.07 \times 10^6/\text{ml}$, 5週間で $1 \times 10^6/\text{ml}$ の精子の出現を見たが運動率は0%であり, また術後2か月で穿刺不能となった。現在まで人工精液瘤造設術による妊娠例は5例報告されているが残念ながら本邦での成功例はなく, 本法の問題点としては, 1) 外力に耐えうる材質および形態。2) 精巣上体管の閉塞を予防するための microsurgery の使用。3) 採取した精液に対する capacitation の問題などがあるが, AIH およびIVF などへの応用が考えられる今日, 今まで絶望視されていた先天性両側精管欠損症の患者に対し解決の一助となるよう努力したいと考えている。

17. 男子不妊症の統計的観察 (1981~1984年)

山川弦一郎・山口政俊・磯山理一郎
原田 宏行・川井修一・藤沢 章二
藤井 光正・瀧原博史・越戸 克和
酒徳治三郎 (山口大泌尿器)

1981年1月より1984年12月までの山口大学医学部泌尿器科外来における男性不妊主訴延患者数は517例で男性の外来延患者数の12.2%にあたる。初診時年齢は30~34歳が最も多く, 平均31.8歳で, 初診時不妊期間は2年が最も多かつた。乏精子症は133例(48.2%), 無精子症は78例(28.3%)であり, 精子数の減少に伴ない精子運動率, 睾丸容量が各々有意の減少が認められた。身体的特徴では Klinefelter's syndrome 7例, Hypogonadotropic hypogonadism 5例, Seminal tract anomalies 4例, varicocele 73例等であつた。睾丸生検では, Normal-4例, Hypospermatogenesis 30例, Spermatogenic arrest 6例, Germ cell aplasia 32例であつた。

18. 46, X, i (Xq), 45X/XXX を呈した Turner 症候群の2症例

白井孝昭・吉野和男・高橋健太郎
荒木芳美・北尾 学
(島根医大産婦)

Turner 症候群の性染色体分析が種々なされているが, 今回われわれは染色体構成が46X i (xq) 及び45X/47XXXを呈した Turner 症候群の2症例を経験したので, 身体的内分泌学的特徴, 染色体構成, 及び当科の治療方針などについて報告する。症例1, 2共原発性無月経で来院し, 二次性徴を欠き血中ゴナドトロピン高値, 血中エストロゲン低値の hypergonadotropin, hypogonadism であつた。翼状頸, 外反射, 低身長という Turner 症候群に多くみられる特徴は, 両者共に認められず, 腹腔内所見では, 両者共子宮の發育は悪く卵巣は痕跡的で, いわゆる streak gonado の状態であつた。染色体分析では, 症例1は46, X, i (xq), 症例2は45X/47XXXであつた。Turner 症候群では根本的な治療はなく, 当科では二次性徴の發育促進のために estrogen 療法, 月経様出血を起こすために Kaufmann 療法を行なっている。

19. 超音波穿刺術による卵胞穿刺の有用性に関する検討

見尾保幸・谷川正浩・戸田稔子
和田 省・赤岩 明・菊川章仁
前田一雄 (鳥取大産婦)

(目的) 超音波ガイド下経膀胱的卵胞穿刺術を用いて, 体外受精・胚移植の為の採卵及び黄体期卵巣内 cystic pattern の内容液分析を行った。

(対象と方法) 当科不妊外来通院患者のうち, 採卵目的の11症例と cystic pattern の検討を行った3症例を対象とし, アロカ SSD-258, 穿刺用探触子 UST-5027, 3.5MHz, 穿刺針は, 内径1.25mm, 1.12mm ステンレス製を使用した。

(成績) 採卵目的の症例では, 採卵率は75% patient, 59%/follicle で, 最大卵胞径, 卵胞液量共に採卵成功群より不成功群で高値であつた。採取された卵の受精率は66.7%/patient, 53.8%/follicle であつた。卵胞液中E₂, Progesterone は極めて高値を示した。cystic pattern の検討では, 内容液性状, 変性卵の有無, 各種ホルモン値測定により鑑別は可能であることが示唆された。

(結論) 超音波穿刺術は, 採卵法としてだけでなく, 黄体期 cystic pattern 解析にも極めて有用な方法である。

20. 超音波断層法による子宮内膜周期性変化の検討

福家義雄・中山孝善・河野美香
和泉佳彦・東敬次郎・山野修司
松下光彦・岸 恭也

(徳島大産婦)

超音波電子セクタ・スキャナーを用い、子宮内膜像の月経周期に伴う変化を観察し、若干の知見を得たので報告する。正常月経周期を有する婦人の子宮内膜像は周期性変化がみられた。すなわち、月経終了日頃から排卵後 1 ないし 5 日目までは子宮の中央に高輝度線状エコーがあり、その周囲は筋層エコーと比べ low echo になっている像が多くみられ、排卵周辺期においては、さらに筋層との間に高輝度線状エコーが出現し、triple line を示すもの、あるいは中央部の線状エコーがみられない double line を示すものもみられた。黄体期における内膜エコーは均一で echogenic な塊状を示すものが多く、卵胞 check による排卵確認日より 1 ないし 5 日後に出現し、7 ないし 12 日後に消失した。この間、内膜の厚さは平均 10mm 前後であった。その後、内膜エコーの明確な描出は困難となった。組織学的内膜日付診で初期、中期分泌期像を示した症例の多くで echogenic pattern がみられた。

21. 卵胞・黄体嚢胞の超音波画像ヒストグラム診断

菊川章仁・赤岩 明・和田 省
戸田稔子・谷川俊明・寺戸博文
見尾保幸・前田一雄

(鳥取大産婦)

(目的) 卵胞と黄体嚢胞に超音波画像ヒストグラム画像を作成し、比較検討する。

(方法) 任意に選んだ卵胞 10 人、10 コと、排内確認後にできた黄体嚢胞 10 人、10 コに、GAIN STC を一定の上

超音波画像作成した。

(結果) 卵胞では、濃度平均値は 1.74 ± 0.41 、偏差値は 1.04 ± 0.56 、レベル幅も 9.2 ± 2.38 と、一様にきわめて低値であった。黄体嚢胞では、濃度平均値は 9.06 ± 5.90 、偏差値は 13.25 ± 5.50 、レベル幅も 29.16 ± 5.19 といずれもかなり高い値を示した。また、それぞれの 3 症例ずつで、超音波穿刺術施行し、液中ホルモンを測定したが、卵胞では、E₂、P ともにきわめて高値であったが、黄体嚢胞では、一定の傾向を得ることができなかった。

今後は、黄体の経時的変化、個人による卵巣の位置、深さ、超音波振動子の特性ら、超音波診断装置の特性らを考慮して、臨床面にも生かしていきたい。

特別講演 前立腺の生化学的研究

和田 文 雄 (香川医大内分泌)

医学部における研究は、たとえ基礎医学であつても、人間を対象とすべきであり、その意味で臨床医学と基礎医学とは合同の方向に進めるべきである。

1) ヒト前立腺の成長因子 (hPGF) : 肥大症組織からヘパリンセファローズを用いて hPGF を精製した。精製標品は 1 mM で、線維芽細胞系 3 T 3 細胞の DNA 合成を促進した。hPGF は分子量 13,000、等電点 10.5 のたんぱく質である。前立腺の分化増殖および肥大症との関係に興味を持たれる。

2) ラット前立腺における老化 : 老化にともなつて腹部前立腺 (VP) の重量は減少し、背側部前立腺 (DLP) のそれは増加した。DLP では老化によつて DNA 含量も増加し、過形成の状態にある。

3) Prostatic Basic Protein (Probasin) : DLP より大量に分泌される Probasin (分子量 2 万、等電点 11.5) はラット精子の膜成分に強い親和性を示し、その安定化に役立つ可能性を示した。

投稿規定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
 2. 原稿は、本会の目的に関連のある綜説、原著、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
 3. 1論文は、原則として印刷6頁(図表を含む)以内とし、超過頁並びに特に費用を要する図表および写真に対しては実費を著者負担とする。
 4. 綜説、原著、論説、臨床報告等には必ず400字以内の和文抄録並びに、ダブルスペース2枚以内の欧文抄録(題名、著者名、所属を含む)を添付すること。
 5. 図表並びに写真は稿末に一括して纏め、符号を記入しかつ本文中に挿入すべき位置を明示すること。
 6. 記述は、和文又は欧文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
 7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
 8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
 - a. 雑誌の場合
著者名：題名、誌名、巻数：頁数、年次
原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげ
る。
誌名は規定または慣用の略字に従うこと。特に号数
を必要とする場合は、巻数と頁数との間に入れて括
弧で囲む、すなわち
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次
- 例 1. Kilbourne, N. J. : Varicose veins of pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynec. 25 : 104, 1933
 2. 足高善雄, 竹村喬, 美並義博 : 最近1カ年間の我が教室に於ける外来不妊患者の統計的観察, 日不妊誌, 4 : 13, 1959
 3. 中島精, 中村正六, 角田英昭 : 人工妊娠中絶と妊孕性, 日不妊誌, 2(4) : 38, 1957
- a. 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 31 卷 1 号

昭和 60 年 12 月 25 日 印 刷

昭和 61 年 1 月 1 日 発 行

編集兼発行者	飯 塚 理 八
印 刷 者	菊 池 達 長
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