

日本不妊学会雑誌

第 31 卷

第 3 号

昭和 61 年 7 月 1 日

— 目 次 —

(社) 日本不妊学会30周年記念特集

記念講演

日本不妊学会の30年を顧みて……………松本清一…1

記念座談会

不妊学会の30年を語る……………8

記念論文

流産における染色体研究 I 自然流産 II 人工流産……………牧野佐二郎…18

原 著

The Relationship between the Number of Ova Shed and the Time of Sodium Pentobarbital Injection in Superovulation Treated Adult Rat……………Satoshi KAGABU…31

精索静脈瘤に関する実験的研究……………荻田卓…34

Testes from Patiens with Idiopathic Male Infertility……………Koji MIYAKE・他…50

不妊症および陰嚢内疾患時の睾丸血流……………相川英男…56

勃起不全の診断 第6報 高プロラクチン血症……………今川章夫・他…62

低ゴナドトロピン性類宦官症……………布施秀樹・他…68

GnRH Agonist の反復投与による“Medical Hypophysectomy”……………正岡薫・他…75

Gonadotropic Regulation of DNA Polymerase- α Activity in Rat Preovulatory Follicles……………Satoshi USUKI…79

妊娠中の Macroprolactinoma 5 例に対する長期連続 Bromocriptine 療法……………伊吹令人・他…87

Role of Adrenal Androgens and Defective 11 β -Hydroxylation in Hyperandrogenic Anovulatory Women……………Osamu NARITA・他…93

Alterations in Levels of CA 125 during the Menstrual Cycle……………Kentaro TAKAHASHI・他…100

単一合成培養液内でのヒト卵胞卵の成熟と精子侵入……………山田一郎・他…104

Birth of Normal Young Following Intrafallopian Transfer of Preovulatory Oocytes and Epididymal Spermatozoa in Mice……………Naomi NAKAGATA・他…112

超音波ガイド下経膀胱的卵胞穿刺法による卵採取に関する検討……………見尾保幸・他…117

Chlamydia trachomatis による実験的卵管炎の検討……………野口昌良・他…123

卵管におけるアラキドン酸代謝物の産生について……………三橋直樹・他…129

改良精液静置法による人工受精(AIH)の成績について……………久橋春海・他…133

産婦人科領域における腹腔鏡の臨床的意義に関する研究……………中谷一夫・他…139

不妊症治療時のホルモン剤の使用法について……………林耀庭・他…149

会 告

第31回日本不妊学会総会および学術講演会 (第3回予告)

第31回日本不妊学会総会および学術講演会を下記の要領にて開催致します。多数御参加下さいますようお願い申し上げます。

〔日 時〕

学術講演会：昭和61年10月16日（木）、17日（金）

理事会・幹事会：昭和61年10月15日（水）

総会・評議員会：昭和61年10月16日（木）

〔会 場〕

仙台市民会館（仙台市桜ヶ丘4番1号）

〔学術講演会〕

会長講演，招請講演，特別講演，教育講演，シンポジウムについての詳細は日本不妊学会誌第31巻2号に掲載されております。なお一般演題の申込みは昭和61年6月20日に締切らせていただきました。

昭和61年7月

第31回日本不妊学会

会長 折 笠 精 一

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 31, No. 3, 1986)

Japanese Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Special Articles of 30th Anniversary

- Memorial Lecture 1
Memorial Round-Table Talk 8
Chromosome Studies in Human Abortions S. Makino 18

Originals

- The Relationship between the Number of Ova Shed and
the Time of Sodium Pentobarbital Injection in
Superovulation Treated Adult Rat S. Kagabu 31
Varicocele in Rat—A New Experimental Study— T. Ogita 34
Elastic Tissue in the Seminiferous Tubular Wall in the
Testes from Patients with Idiopathic Male Infertility K. Miyake,
M. Yamamoto, J. Hashimoto & H. Mitsuya 50
Testicular Blood Flow in Intrascrotal Disorders H. Aikawa 56
Diagnosis of Impotence Report 6 Hyperprolactinemia A. Imagawa,
& Y. Kawanishi 62
Hypogonadotropic Eunuchoidism H. Fuse, H. Sumiya, Z. Kataumi,
K. Kawamura, H. Ito & J. Shimazaki 68
“Medical Hypophysectomy” Using Repeated Administration of
GnRH Agonist K. Masaoka, T. Niibe & T. Kumasaka 75
Gonadotropic Regulation of DNA Polymerase- α Activity in
Rat Preovulatory Follicles S. Usuki 79
Long Term Bromocriptine Treatment during Pregnancy in 5
Patients with Macroprolactinoma Y. Ibuki, H. Taguchi, M. Yoshida,
T. Shinkawa, H. Mizunuma & M. Igarashi 87
Role of Adrenal Androgens and Defective 11β -Hydroxylation
in Hyperandrogenic Anovulatory Women O. Narita, T. Masahashi,
M. Asai, M. Ohsawa, F. Kikkawa, K. Hanai,
M. Ohwaki, N. Suganuma, S. Mizutani & Y. Tomoda 93
Alterations in Levels of CA 125 during the Menstrual
Cycle K. Takahashi, K. Yoshino, Y. Araki,
A. Nishigaki, T. Shirai, T. Shibukawa & M. Kitao 100
A Culture System for Human Oocyte Maturation and Sperm

Penetration <i>In Vitro</i> Using a Chemically Defined Medium·····	<i>I. Yamada,</i> <i>Y. Noda & T. Mori</i> ···	104
Birth of Normal Young Following Intrafallopian Transfer of Preovulatory Oocytes and Epididymal Spermatozoa in Mice·····	<i>N. Nakagata,</i> <i>& A. Tanaka</i> ···	112
Evaluation of Ultrasonically Guided Transvesical Follicular Aspiration for Oocyte Collection of <i>In Vitro</i> Fertilization and Embryo Transfer·····	<i>Y. Mio, M. Tanikawa,</i> <i>H. Terada, T. Toda, A. Akaiwa, T. Wada,</i> <i>A. Kikugawa & K. Maeda</i> ···	117
Experimental Salpingitis in Rabbits Provoked by Chlamydia Trachomatis·····	<i>M. Noguchi, S. Hieda,</i> <i>T. Akita, T. Yamazaki & M. Ishihara</i> ···	123
Bioconversion of Arachidonic Acid to Prostaglandins in Human Fallopian tube·····	<i>N. Mitsuhashi, K. Yoshida, T. Sawanobori,</i> <i>N. Koike T. Yasumizu & J. Kato</i> ···	129
The Results of AIH Using with Improved "Layering Method" for Collecting Motile Spermatozoa·····	<i>H. Kubo, Y. Abe,</i> <i>K. Rin, S. Katayama & M. Shimada</i> ···	133
Laparoscopy in Gynecologic Practice·····	<i>K. Nakatani & T. Hoshiai</i> ···	139
Clinical Review of the Conception Cycles·····	<i>Y. Rin, K. Shintani,</i> <i>T. Inoue, S. Takahashi, K. Shimizu,</i> <i>N. Yoshida & K. Sekiba</i> ···	149



安藤画一先生

記念講演

日本不妊学会の30年を顧みて

日本不妊学会理事長 松本清一

不妊研究会の発足

日本不妊学会の生みの親は慶応大学名誉教授の故安藤画一先生である。先生は終戦後つとに婦人科生殖学の分野に目を向けられ、昭和24年に慶応大学病院の産婦人科外来の一角に「家族計画相談所」を設けて、不妊と避妊の研究及び診療を始めておられたが、昭和28年ニューヨークで第1回世界妊孕不妊学会が開催された折、日本から唯一人の代表として招かれて出席された。この学会で先生はこの分野における世界の目ざましい進歩発展に直接触れられ、また多くの著名な学者とも交流を持たれて、生殖生理に関する基礎的並びに臨床の研究の重要性を痛感して帰国された。そして日本にもこの種の研究組織を作る必要があるとして、医学、生物学、畜産学方面の関連分野を統合した学会の設立を推進しようと考えられたのであった。

そこで帰国されるとすぐ、まず初めに慶応大学産婦人科学教室に於て妊孕不妊に関する研究会を「二水検討会」と名づけて発足させ、昭和29年2月と3月の2回に亘り会合が持たれた。

慶応大学医学部でのこの研究会は、3月にニューヨーク Rochester 大学で頸管粘液の研究をはじめ種々生殖生理の研究をしていた Pommerenke 教授がロックフェラー財団を介して慶応大学に交換教授として来学されたことによつて、更に発展を遂げることになった。

すなわち、安藤先生は Pommerenke 教授の来日を機会に、妊孕不妊の促進と抑制の理論と實際を研究するため、婦人科、泌尿器科、獣医科、畜産科などの関連分野に広く呼びかけられ、研究発表と研究者相互の交流・親睦をはかることを目的として、昭和29年10月9日第1回不妊性研究会を慶応大学北里講堂で開催された(表1)。

この研究会には安藤先生の呼びかけに共鳴した研究者が各方面から3百数十名参加して活発な討論が行われたが、それと共に本会を継続して学会にまで発展させるべきだという熱心な論議が行われた。私などもこの会で初めて獣医畜産関係の方々の話を伺い、今まで聞いたこと

もないような話に大変興味をひかれると共に、そこから多くの研究上のヒントが得られることから研究交流の必要性を強く感じたものである。更に幸いなことに、日本シェーリング社の前身である日独薬品株式会社が、当時の高田穰副社長などの非常な御好意で経済的援助を申し出られたことによつて研究会継続の実現が可能となり、第2回研究会が昭和30年7月に開催された。

以後研究会は第4回まで慶応大学で開催されたが、次第に他校からの参加者が多くなるにつれ、回り持ちにすべきだということになつて、第5、6回は当時関東通信病院の産婦人科部長であつた私が当番となつて関東通信病院の講堂で開催し、以後は表1に示すように諸所で開催された。

なおこの研究会の名称については、安藤先生は不妊症という病気はないという御持論から「不妊性」という言葉を提唱されたのであつたが、これに関しては多くの議論があつて、第7回からは「不妊研究会」と呼ぶことになつた。また第6回の研究会にはベルリン大学の Junkman 教授が来られ、当時まだきわめて先進的であつたゲスターゲン剤について特別講演をされている。

一方関西でも、安藤先生の呼びかけに応じて、大阪市大の藤森速水教授、大阪大学の足高善雄教授、京都府立医大の沢崎千秋教授などが発起人となつて、表2に示すように、昭和30年9月に第1回の関西不妊研究会が大阪市大医学部で藤森教授のお世話によつて開催されると共に、関西不妊研究会会報を関東に先がけていち早く発刊した。その後の研究会の開催は表2に示す通りであるが、第3回の研究会には関東から代表として私が出席し、関東、関西の合併による全国的学会への発展に関して関西の諸先生方と意見を交換した。

日本不妊学会設立の準備

昭和31年3月になつて、関東と関西の世話人が東京で集つて、日本不妊学会設立準備打合せ会を行ない、4月には設立準備委員会を発足した。そして委員会では、一先づ関東と関西の不妊研究会を統合して日本不妊学会を

表1 学会設立前の研究会

		場 所	当 番 幹 事
29年2月10日	第1回二水検討会	慶大産婦人科	
3月10日	第2回二水検討会	〃	
6月9日	第1回不妊性研究会	慶大北里講堂	
7月14日	第2回不妊性研究会	〃	
10月13日	第3回不妊性研究会	〃	
12月4日	第4回不妊性研究会	〃	
30年3月15日	第5回不妊性研究会	関東通信病院	松本 清一
4月14日	第6回不妊性研究会	〃	〃
6月28日	第7回不妊研究会	東大医学部講堂	長谷川敏雄
9月17日	第8回不妊研究会	東京医科歯科大学	藤井久四郎
12月20日	第9回不妊研究会	横浜市大講堂	森山 豊
31年2月28日	第10回不妊研究会	関東通信病院	安井 修平

表2 関西の研究会

		場 所	当 番 幹 事
30年9月3日	第1回関西不妊研究会	大 阪 市 大	藤森 速水
11月26日	第2回関西不妊研究会	京 大	稲田 務
31年1月28日	第3回関西不妊研究会	大阪市教育会館	橋爪敬三郎
3月16日	第4回関西不妊研究会	神 戸 医 大	村上 清

表3 日本不妊学会幹事

庶務幹事	林基之 (東大産婦人科)
	高島達夫 (国立世田ヶ谷産婦人科)
編集幹事	坂倉啓夫 (慶大産婦人科)
	松本清一 (関東通信産婦人科)
	大越正秋 (関東通信泌尿器科)
	西川義正 (農業技術研究所)
	山田文夫 (大阪市産婦人科)
	田村峰夫 (大阪市大泌尿器科)
	安田徳治 (大阪府大農学部)

表4 各地区支部設立の働きかけ

中 部	水野潤二 (名古屋大産婦人科)
九 州	加来道隆 (熊本医大産婦人科)
東 北	篠田 紘 (東北大産婦人科)
北 海 道	大野精七 (札幌医大産婦人科)

と支部が誕生した。

日本不妊学会の発足

上述のような経過を経て、昭和31年10月21日慶応大学産婦人科中島精教授を会長にして、第1回日本不妊学会総会が慶応大学北里講堂で開催され、ここに日本不妊学会の発足をみた。

また同時に機関誌として日本不妊学会雑誌が発刊された。表5は安藤先生の「発刊の辞」である。なお創刊号には新潟の荻野久作先生、東大名譽教授の高橋明先生及び海外からは Asdell, Engle, Greenhill, Guttmacher, Hamblen, Joël, Kurzrock, Meigs, Lagerlöf, Palmer, Papanicolaou, Pommerenke, Rakoff, Rubin, Stein, Sturgis, Tayler, Te Liude など18名の著名な学者から祝辞が寄せられた。

この雑誌は初め日独薬品のプロパーに頼んで配布してもらったというようなこともあつて、会社の雑誌と誤解して、雑誌を受け取つても会費を払わない人などもあ

作り、会長に安藤画一先生、副会長に長谷川敏雄先生と藤森速水先生（後にそれぞれ理事長及び副理事長）をおすことが決定し、また表3に示すように庶務幹事2名と編集幹事7名が決められて運営の世話をすることになった。発足当時はほとんど幹事が中心となつて学会の企画や運営がはかられたので、これらの方々を実質的な推進役となつた。

関東、関西の両不妊研究会はそれぞれ日本不妊学会の支部とすると共に、全国の各地区で表4に掲げたような方々を中心にしてそれぞれ支部の設立をはかつていただくことになった。その結果、中部ではいち早く昭和31年4月29日に名古屋で、名古屋市大木野潤二助教授のお世話で中部不妊研究会が開かれたのをはじめ、各地で続々

表 5 発 刊 の 辞

不妊研究は避妊研究と対蹠性の立場にある。前者は無を有とする本旨とし、後者は有を無とするを本旨とす。従つて万事が前者に比較的困難で、後者に比較的容易である。人の数（人口）を対象とする従来の研究で、避妊が先とされ不妊が後とされた一因もここに存すと思われる。

この事情が主動となつて、避妊研究は略々完成に近く、残された問題は少ないが、不妊研究には解決を要すべき多くが残されることとなつた。人類のみでなく家畜の生殖に関しても亦た緊急事項と観ねばならぬ。

既に今次戦前から外国殊にラテンアメリカ（ブラジル・アルゼンチン・メキシコ）及び北アメリカに於いては、不妊に関する学会と出版とが実現していたが、戦後となり性急に進展し1953年5月となり第1回世界妊孕不妊学会（The First World Congress on Fertility and Sterility）がニューヨーク市に、その第2回が本年5月にイタリアのナポリ市で開催されたのである。茲に不妊研究が全世界に於ける関係学者の注意を今更の如く喚起するに至つた。

我国に於いても外国に於ける上叙の動向に刺激されて、不妊研究が昭和29年頃から徐々に識者の関心を集めていたが、昨年となり急テンポとなり諸地方に研究会が創設され、本年に及んでこれ等を統合して終に日本不妊学会の結成を見るに至つたのである。

斯くして当然の成行として機関雑誌刊行の必要に迫られて、誕生したのが本誌である。大方諸君の御援助によつて健全なる育成を切望する次第である。

（安藤画一記）

り、会員の把握に困るようなこともあつたが、次第にその内容が認められるようになり、投稿論文が急速に増して権威が高められ、今日のような立派な雑誌に成長した。

「日本不妊学会」の名称については学会発足後も多くの議論があり、殊に他の領域の人々から、一体不妊を治す学会か不妊にする学会かなどと言われたり、単に不妊症の研究をする学会というような狭いとらえ方をされ、生殖科学全般にわたる広い立場がよく理解されないこともあつて、一つ衆知を集めて適切な名称を選ぼうということになり、機関誌の2巻4号に表6のような会告が出された。

しかし「妊孕」の孕は読みにくく、「万葉の桜」の朶と間違つてしばしば「にんだ」と読まれたりするし、「生殖」という言葉にはどうもこだわりがあつたりして、結局名案は出ず、「不妊学会」という名前をそのまま続けることになつた。

歴代の理事長副理事長と事務所

学会発足以来の歴代の理事長並びに副理事長は表7に示す通りである。初めは事務所も日独薬品の世話になつて、中央区日本橋本町の日独薬品東京支店に置かれていたのであるが、昭和34年に大田区大森西7丁目東邦大学医学部の林基之教授の所に事務所を移して段々と独立するように努め、確か昭和40年代になつて経営的にもやつと一人歩き出来るようになったと思う。その後昭和50年には事務所を東邦大学から新宿区市ヶ谷砂土原町の保健会館内に移して完全に自立し、更に59年には業務の外部依頼によつて経営の合理化を計るために現在の中央区日

表 6 学 会 名 の 募 集

不妊学会という名称に対して一般には誤解をまねいているので、次のような規定で適切な学会名を募集致します、会員の皆様は奮つて応募願います。

尚これまでの種々の会合で「不妊性学会」「妊孕性学会」「妊孕不妊学会」「生物リプロダクション学会」「生殖学会」等の名称が出ました。

規 定

本会の目的である婦人科、泌尿器科、獣医畜産科、動物科等の諸学科を含めた生殖生理及び病理の広範な領域を取扱う意味の簡単明瞭な名称であること。

締切期日 昭和32年12月31日

尚採用の方には薄謝を呈します。

送 り 先 東京都中央区日本橋本町3丁目5番地
日本不妊学会宛

日本不妊学会

本橋2丁目の国際会議事務局に移した。

第 7 回国際不妊学会の開催と学会の法人化

昭和39年頃から国際不妊学会を日本で開催してほしいという話がぼつぼつあつたが、昭和40年マドリッドで開かれた第5回国際不妊学会では時機尚早ということで立候補を見合わせた。しかしその後種々検討の結果、また安藤先生に是非国際学会を主宰して載き度いという気持ちもあつて、昭和43年3月の理事会で立候補することが決議され、43年5月イスラエルで開かれた第6回国際不妊学会の折、林基之教授と私とで理事会に出席して次期学会の日本への招致を提案し、大多数の賛成でそれが認め

表 7 歴代理事長・副理事長

理 事 長	副理事長	任 期
安藤 画一		昭31. 4~43. 11
	長谷川敏雄	31. 4~43. 11
長谷川敏雄	藤森 速水	31. 4~49. 10
		43. 11~49. 10
	藤森 速水	
	市川 篤二	43. 11~49. 10
沢崎 千秋	西川 義正	43. 11~52. 10
		49. 10~53. 11
	西川 義正	
高井 修道	林 基之	49. 10~52. 2
	石神 囊次	49. 10~59. 11
	高嶺 浩	52. 10~57. 11
		53. 11~57. 11
松本 清一	石神 囊次	
	高嶺 浩	
	松本 清一	53. 11~57. 11
		57. 11~現在
	佐久間勇次	57. 11~現在
	木下 佐	57. 11~現在
	黒田 一秀	59. 11~現在

表 8 第 7 回国際不妊学会

昭和46年10月17日~23日		東京プリンスホテル	
10月24日~25日		京都国際会議場	
会 長	長 谷 川 敏 雄		
副 会 長	藤 森 速 水		
	市 川 篤 二		
	西 川 義 正		
プログラム委員長	小 林 隆		
事務局 長	林 基 之		
財務局 長	松 本 清 一		

られた。

そこで、日本不妊学会としては昭和43年10月の理事会で、安藤先生を会長に載いて46年に開催することが決められたが、誠に不幸なことに11月3日安藤先生が心筋梗塞で御他界になった。そのため新理事長に就任された長谷川先生に会長をお願いすることになって表8に示すように、昭和46年10月東京と京都において第7回国際不妊学会が開催された。

それに先立つて、本会主催で国際学会を開催するためには、法人になつていないと運営上種々不都合があるため、急遽法人化を進めることとなり、45年12月26日に社団法人の認可を受けることが出来た。法人にすると理事

表 9 第 7 回国際不妊学会シンポジウム主題

生殖の内分泌的調整
生殖における免疫因子
生殖における最近の研究
卵管の病態生理
男性不妊
避妊の新知見
性器結核の治療
生殖における細胞遺伝学
人工受精
人工妊娠中絶
キャパシテーションと雌性性器における胚細胞生存
臓器移植
哺乳類卵体外培養と臓器移植

と評議員の数が強く制限されるので、8支部に分れ、かつ種々領域の会員から成っている本会にとつてはそれが大問題で、そのため各支部に支部評議員を作るなどして、支部には色々御迷惑をかけることになった。

しかしお蔭で第7回国際不妊学会は凡そ3,000名が参加し、海外の参加者からは大変な好評をばくして大成功をおさめた。財政的にも黒字で、世界各国に日本不妊学会の存在や日本における生殖科学研究の高さを知らしめた許りでなく、国内的にも学会の基盤を確固たるものにする事が出来た。この成功の裏には事務局長であつた故林基之教授の大変な御努力があつたことを忘れることはできない。

この学会でのシンポジウムの主題は表9に示すようなものであつた。「哺乳類卵体外培養と臓器移植」のテーマがあり、この中でイギリスの Steptoe が「ヒト卵細胞回収、受精、培養とその臨床応用」について話し、また特別講演で Edwards が「試験管内における排卵前ヒト卵の受精と発育」という題で講演し、人の体外受精の問題がマスコミにも大きく取り上げられて社会的な話題になった。

総会並びに学術講演会

第1回から第30回までの総会並びに学術講演会の会長と開催地は表10に示す通りである。第1回は前述のように慶応大学の中島精教授が会長で東京で行われたが、以後当初は関東、関西、中部、東北、九州、中四国、北陸と8支部をなるべく順に廻るように開催されていた。しかし第15回頃からはなるべく均等に廻すようにはするが、会長として適当な方があれば必ずしもそれにこだわらないで決めるようになってきた。

会期は第1回から第9回までは1日であつたが第10回

表10 総会ならびに学術講演会

回	年 月 日	会 長	所 属	開 催 地
1	昭31. 10. 21	中 島 精	慶 大 医・産 婦	東 京 都
2	32. 9. 22	広 瀬 豊 一	産 婦	大 阪 市
3	33. 10. 5	吉 川 仲	名 大 医・産 婦	名 古 屋 市
4	34. 10. 25	篠 田 紘	東 北 大 医・産 婦	仙 台 市
5	35. 5. 28	町 野 碩 夫	鹿 児 島 大 医・産 婦	鹿 児 島 市
6	36. 11. 3	長 谷 川 敏 雄	日 赤 中 央・産 婦	東 京 都
7	37. 10. 5	小 川 玄 一	北 大 医・産 婦	札 幌 市
8	38. 11. 3	小 南 吉 男	三 重 大 医・産 婦	伊 勢 市
9	39. 11. 29	藤 生 太 郎	山 口 大 医・産 婦	山 口 市
10	40. 10. 25-26	赤 須 文 雄	金 沢 大 医・産 婦	金 沢 市
11	昭41. 10. 26-27	西 川 義 正	京 大 農・畜 産	京 都 市
12	42. 10. 4-5	貴 家 寛 而	福 島 医 大・産 婦	福 島 市
13	43. 10. 10-11	重 松 俊	久 留 米 大 医・泌 尿	久 留 米 市
14	44. 6. 28-29	明 石 勝 英	札 幌 医 大・産 婦	札 幌 市
15	45. 9. 25-26	百 瀬 剛 一	千 葉 大 医・泌 尿	千 葉 市
16	46. 10. 14-15	野 嶽 幸 雄	慶 大 医・産 婦	東 京 都
17	47. 10. 12-13	足 立 春 雄	徳 島 大 医・産 婦	高 知 市
18	48. 10. 26-27	渡 辺 金 三 郎	愛 知 医 大・産 婦	名 古 屋 市
19	49. 10. 11-12	黒 田 恭 一	金 沢 大 医・泌 尿	金 沢 市
20	50. 10. 3-4	鈴 木 雅 州	東 北 大 医・産 婦	仙 台 市
21	昭51. 10. 28-29	石 神 襄 次 郎	神 戸 大 医・泌 尿	神 戸 市
22	52. 10. 4-5	森 一 郎	鹿 児 島 大 医・産 婦	鹿 児 島 市
23	53. 11. 18-19	飯 塚 理 八	慶 大 医・産 婦	東 京 都
24	54. 9. 20-21	熊 本 悦 明	札 幌 医 大・泌 尿	札 幌 市
25	55. 10. 1-2	酒 徳 治 三 郎	山 口 大 医・泌 尿	宇 部 市
26	56. 11. 12-13	西 村 敏 雄	京 大 医・産 婦	京 都 市
27	57. 11. 17-18	木 下 佐 輔 夫	東 邦 大 医・産 婦	東 京 都
28	58. 11. 16-17	高 矢 英 輔 夫	名 大 医・泌 尿	名 古 屋 市
29	59. 11. 13-14	三 木 敏 夫	日 大 医・産 婦	東 京 都
30	60. 11. 27-28	峰 屋 祥 一	慈 恵 医 大・産 婦	東 京 都

以後は2日になった。これまでの総会の開催支部は、関東が8回、関西と中部が4回、東北、九州、北海道、中四国が3回、北陸が2回である。開催地では東京が7回、名古屋と札幌がそれぞれ3回になっている。第1回から第30回までの一般演題の数をみると図1のようで、第1回から第7回までは僅か40-50題だったが、第29回には233題、更に第30回には279題に達している。第16回が少ないのは第7回国際不妊学会と同時に開催したという特殊な事情によるものである。この図で見るように第8回に増し、更に第17回からは年々増加して今日に至っていることが判る。これも国際学会の開催が一つの大きな刺激になったことを示していると思う。

シンポジウム主題と一般演題の推移

小川玄一会長が主宰された第7回総会並びに学術講演会では2つの主題が決められ、それについて演題の発表

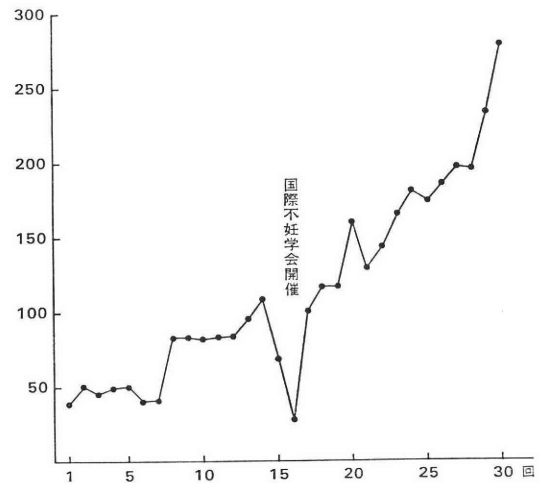


図 1 学術講演会における一般演題数の推移

表 11

第 7 回 (昭37)	小 川 玄 一	不妊症クリニックの機構とその実施法 性細胞抑制について
第 10 回 (昭40)	赤 須 文 男	長期不妊の治療成功例の吟味 避妊法の検討
第 11 回 (昭41)	西 川 義 正	性細胞の生理と病理 性腺異常の診断と治療
第 12 回 (昭42)	貴 家 寛 而	性管造影法について 不妊症治療に関する基礎と臨床 切迫流早産の薬物療法
第 13 回 (昭43)	重 松 俊	男子不妊症と内分泌腺相互の関係 女子不妊症の治療について
第 15 回 (昭45)	百 瀬 剛 一	卵管の生理と病理 男性不妊と副性器
第 16 回 (昭46)	野 嶽 幸 雄	性の分化に関する諸問題 排卵をめぐる
第 17 回 (昭47)	足 立 春 雄	胞胚の形態と機能 機能性不妊症をめぐる
第 18 回 (昭48)	渡 辺 金三郎	性腺の機能とその検査 流産の原因と治療の限界
第 19 回 (昭49)	黒 田 恭 一	精子の性器内移送 Agingと性機能
第 20 回 (昭50)	鈴 木 雅 州	泌乳と生殖 精神・神経とリプロダクション
第 21 回 (昭51)	石 神 囊 次	受精—比較生物学的アプローチ ゴナドトロピン療法の適応とその限界
第 22 回 (昭52)	森 一 郎	思春期の性機能をめぐって 生殖と免疫
第 23 回 (昭53)	飯 塚 理 八	不妊領域における外科的治療
第 24 回 (昭54)	熊 本 悦 明	今まで注目されていなかった不妊原因をめぐる
第 25 回 (昭55)	酒 徳 治三郎	精液の性状と妊孕性
第 26 回 (昭56)	西 村 敏 雄	生殖細胞・初期胚の環境因子
第 27 回 (昭57)	木 下 治	精索静脈瘤の発生病理と診断・治療 不妊症領域におけるマイクロサージェリー
第 28 回 (昭58)	三 矢 英 輔	着床をめぐる
第 29 回 (昭59)	高 木 敏 夫	雄性副性器と不妊 ヒトにおける排卵誘発の進歩—その現状と展望
第 30 回 (昭60)	蜂 屋 祥 一	造精障害の病態と治療 Unexplained infertility—診断へのアプローチ

と公開座談会などによる討議が行われたが、第10回からは大体毎回シンポジウムが行われるようになった。そのテーマは表11に示すようである。第10回、12回、13回などには不妊症の治療の問題が主題になっている。第19回には Aging、第22回には思春期の問題が取り上げられた。また最近では第23回と27回に不妊症の外科的治療、第24回と30回に原因不明の不妊、第27回と30回に精索静脈瘤や造精障害、第28回には着床の問題などが取り上げ

られている。

一方、一般演題を私自身の判断でテーマ別に分類し、学会発足当初の第1-3回の133題、中期の第14-15回の168題と、最近の第30回の279題とでその分布を比較してみると図2のようになる。第1-3回では卵管の問題が圧倒的に多く、次いで卵巣機能、精子・排精に関するもので、受精・着床、プロラクチン、子宮内膜症などは1題も見られなかった。第14-15回では卵巣機能が最も多

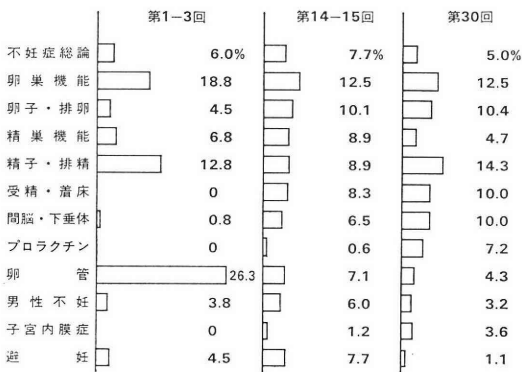


図 2 一般演題の分布

く、卵子・排卵がこれに次いでいて、排卵誘発の研究が盛んだった時代を反映している。ところがこれに対し第30回では、精子・排精が最も多く、受精・着床、間脳・下垂体、プロラクチン、子宮内膜症などの問題がふえ、これに反し、卵管、避妊などの問題が減っていることが目立って、研究テーマの時代による推移を示している。

日本医学会への加盟

本会は昭和51年に日本医学会の分科会として認められ、日本医学会に加盟した。分科会になるための加盟申請は昭和40年頃からしていたのであるが、どうも「不妊学会」という名称から学会の真の内容や目的が中々理解してもらえず、日本医学会の評議員会の投票で何回か落選の苦杯をなめていた。

しかし国際不妊学会の開催で成功をおさめたり、機関誌が定期的に発刊され、その内容も充実してきたことなどがやつと評価されて、昭和51年の評議員会でようやく1票差で当選し、晴れて日本医学会の分科会になることができた。

む す び

以上日本不妊学会30年の歴史の概要を述べたが、現在会員数が2,800名を越え、設立当初に比べれば正に隔世の感という程に発展してきたことを喜ぶと共に、これまでの諸先輩の御努力に心から感謝し、今後更に発展を遂げて、生殖科学の進歩に多大の貢献をすることを祈念して稿を終り度いと思う。

文 献

- 1) 安藤画一：日本不妊学会の沿革，産婦人科治療，15：340，1967.
- 2) 地方研究会抄録：日本不妊学会誌，1(1-2)：42，1956.
- 3) 第7回国際不妊学会抄録：日本不妊学会誌，16：391，1971.
- 4) 藤森速水：安藤先生を憶う，日本不妊学会誌，20(1)：iv，1975.
- 5) 長谷川敏雄：日本不妊学会創立20周年を迎えて，日本不妊学会誌，20(1)：vi，1975.
- 6) 野嶽幸雄：不妊学会・出生前余滴，日本不妊学会誌，20(1)：vii，1975.
- 7) 高島達夫：本学会の成立まで，日本不妊学会誌，1(1-2)：56，1956.

30周年記念座談会

日本不妊学会の30年を語る

<出席者>

司会 松本理事長

発言順 高嶋 達夫・大越 正秋・長谷川敏雄
西川 義正・小島 秋・高嶺 浩
高井 修道・飯塚 理八・木下 佐
高木 繁夫・蜂屋 祥一

(昭和61年1月20日)

不妊学会発足の経緯

松本 本日はお忙がしいところ長谷川先生はじめ皆様、特に西川、小島両先生には遠方からお出でいただきまして大変ありがとうございました。日本不妊学会が創立30周年を迎えましたのを機に、第30回会長をつとめられた蜂屋教授からの御発議で記念座談会を開くことになり、本日も集まりいただいたわけです。一般の記念学会のとき「30年を顧みて」という題で私が記念講演をさせていただきました関係で、僭越ですが、司会を勤めさせていただくことになりました。記念講演は公表されているすべての資料を集めてまとめましたもので、本日はそれにからんでいろいろと裏話を出していただければ大変幸いと考える次第です。大体順を追って話を進めていきたいと思いますが、まず最初に不妊学会発足前に二水会あるいは二水検討会を安藤（畫一）先生が作られたわけですが、その当時の話あたりから高嶋先生にお話いただけますか。



向って左から大越先生、松本先生、長谷川先生、小島先生

高嶋 安藤先生が昭和28年米国ニューヨークで開催されました第一回国際不妊学会に座長として招待され、お帰りになってから急速に妊孕と不妊性に関する研究をどんどんしないと立遅れるというわけで、安藤先生のいわゆる私設の毎月1回水曜日に集って妊孕、不妊性に関する研究会である二水検討会を翌年の二月から開いたのであります。これが日本不妊学会のルーツと云えます。当時は一般にも関心がなく、教室でも集る人が少く15-16人しか集らず、医局員の方に来て貰ったような状態でした。勿論、費用も殆んどかかりませんでした。たまたまニューヨーク州のロチェスター大学のポメレンケ教授が慶大交換教授として来日したのを機会に二水検討会は発展的解消され不妊性研究会として、昭和29年6月から発足しました。第四回までは慶大で担当しましたがそれから後は循環式に担当校を定めて研究会を開き、同時に関東のほか関西、中部、東北、北海道など安藤先生の呼びかけで各地区の不妊性研究会が開設されたのであります。こうして昭和31年10月、不妊性、妊孕、不妊など名称で大もめの末、第一回不妊学会総会が開催され、それから今年で丁度30年も過ぎ益々隆盛を極めているわけです。話は前に戻りますが第一回不妊性研究会を慶応大学北里講堂で開催した時は経済面では第一製薬に御厄介になり、それ以後は慶応大学経済学部出身の高田日独薬品副社長と私共気が合つて、長い間諸雑費など云い尽せない程の御協力を得て発展したのであり、学会として忘れ得ぬ人の一人でしょう。また当時慶応大学産婦人科助教授で医学博士で文学博士の故中山安先生に“しつかりやれよ”と金一封を準備金として載いたことは感激でした。また不妊性研究会開設の当初は獣医科、畜産科の方々の御参加を得ることが難問でしたが、幸い当時の慶応大学

産婦人科助教授の野嶽先生が獣医界の重鎮佐藤繁雄先生(当時日大教授)とじつこんでしたので御力添えをお願いします、星修三先生(当時農林省薬事課長)、ここに出席されている名著、「家畜人工授精法」をお書きになり日本学術会議評議員であられた西川義正先生と、この分野で最高峰の方々の強い御協力を得たことは安藤先生も深く感激したと思います。それから泌尿器科の方は松本先生が大越先生に話していただいたのではないかと思います。

松本 林先生が引き入れて下さったのでしょうか。

大越 林君から勧められたですね。

松本 ぼくがたまたま関東通信病院で一緒にいたのです。



第1回日本不妊学会総会
慶大北里講堂(昭和31年10月21日)

高嶋 その次に問題になったのが不妊性研究会の名前で、これが揉めましたね。これには女子医大の逝くなつた柚木先生が猛反対されました。資金面では第一製薬が最初引き受けてくれたのですが、見込なしと見てかすぐ下り、次に帝国臓器も話があつたと思いますが、それも見込なしと見たのですね。それであと頼るところがなくて困っていたときに、日独薬品の高田さんがハワイ生れの慶応出身ということから、おれが引き受けようということになつたのです。アメリカでは相当不妊の研究が進んでいたので、それを勉強して知っていたらいいのです。私ども日比谷の進駐軍の図書館に1日置きぐらいつ通つて勉強したものです。

松本 ぼくもよく通いましたが、読みたい本がないと、高嶋さんがいて、すでに借りていました。

高嶋 馴れると貸してくれるのです、1週間ぐらいは。ところで柚木先生の話に戻りますが、先生はどうし

ても不妊性という言葉が嫌いで反対されました。ところが安藤先生は当時生産性という言葉などが盛んに使われていたので、それになぞらえると不妊性というのはいい感じの名前であると、柚木先生の説得を5~6回やりましたね。赤坂の中川という料亭の隣りにある“ひさごや”という家のおかみがうちの親父と長い間つき合いがあつたものですから、そこがよいというので、だいが安くしてもらつて会談しましたが、柚木先生はとてもがんばつて、よほど頑固だつたらしいですね。

松本 あの先生は頑固だつた。

高嶋 それで安藤先生も遂に折れて、不妊学会を作るときには、おれはもういいんだから若い人に委せると言われたのですけれども、皆さんがどうしてもやはり安藤先生を押さなければならないということになりました。それで慶応ばかりでやつてはいけないというのでほかの大学の方にも一生懸命働きかけられました。それで藤森先生に関西の方の組織作りを依頼されたのです。当時安藤先生は関西に始終電話されておりました。その結果まず関西に研究会ができ、それから続々各地方に支部ができたのです。あの当時私が小間使いのように安藤先生の命令に従つてあちこち行つたりしたのですが、長谷川先生にご面会するのに、「朝9時に来い」と言うので、東大の教授室に1分ぐらい前に行つたらおこられましたね、先生が「おれは9時に来いと言つたのに1分早く来るとは何事だ、あれにはまいつたですね。

松本 長谷川先生は覚えていらつしやいますか。

長谷川 いや覚えていない。

高嶋 先生は時間にやかましいのですね。またそういうわけで、その後どんどん出席者がふえて、第6回ときには500人ぐらになつた。あれは本当ですか。

松本 高嶋さんの書いた報告にそう書いてあるんじゃないですか。

高嶋 いやほかのに書いてあつたのを写したので…。第1回の不妊性研究会は第一製薬の援助で北里講堂で開かれたのですが、そのときには300名出席し、多いのでびっくりしました。それほど皆さんの心の中には不妊の研究が必要という思いがあつたと思うのです。

松本 第6回までが不妊性研究会、第7回から不妊研究会になつた。

高嶋 その移行がなかなか大変だつたのです。

西川 安藤先生は名前を非常に気にしておられましたね。Sterilität なんだから正確には不妊でなくて不妊性なんだという気持ちがお強かつたのですね。それで不妊を別の名前になおすか、それとも不妊にするのか、何かいい名前はないのかということで、ずいぶん議論がありましたね。ところが結局ほかに適当な言葉もなくてやはり

不妊学会でずつときてしまったのですね。

大越 そのとき繁殖学会にしようか、しかし繁殖学会にするとどうも畜産と同じようになるのでまずい。ではリプロダクションという仮名にしようか……。

松本 小林隆先生は、仮名書きのリプロダクションがいいと言われました。

西川 リプロダクションといういわれわれ動物を扱っているものは生殖と関係があると考えられるけども、リプロダクションだけとりあげると、たとえば経済白書でリプロダクションという言葉を使うとそれは人工的に再生できるということがリプロダクションですから、リプロダクション学会というのは一般的でないですね。

高嶋 あのころは明けても暮れても名前の議論でしたね。

松本 毎回幹事会という名前が議論されました。けんけんごうごうでしたね。

小島 あの頃不妊学会ではどうも誤解を招くからというので新しい名前を募集されたことがありましたね。

松本 そうです。

小島 その結果適当なものなくて不妊学会に落ち着いたのですか。

松本 そうなんです。妙案が出てこなくて結局不妊学会に。

小島 あれは Fertility と Sterility と 2つあるからね。

松本 外国では Fertility & Sterility です。だからそれをそのまま言えば妊孕・不妊なんですけれども、妊孕の孕(ヨ一)の字が難かしくて、満朶(ダ)の桜の朶と間違えて妊ダ学会と言う人もあったのです。

小島 それでも結局不妊学会に定着したのはよかったです。結構だと思いますよ。

松本 使つていれば、そういうもんだということになりますね。

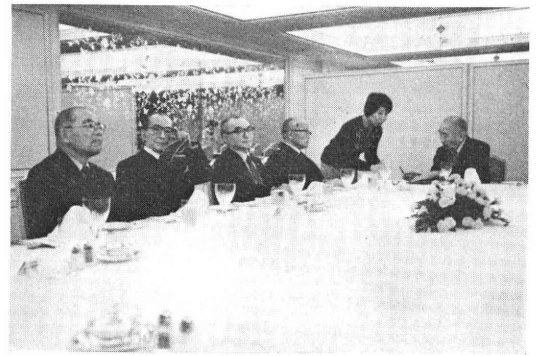
長谷川 Fertility & Sterility を日本語に訳して、なぜ不妊だけを採るのか、これは両方採ると、妊不妊学会にすべきだ、それを不妊学会としたのはぼくは理解できなかったのです。

大越 これはあとで出てくると思いますが、日本医学会で承認されるときにずいぶん問題になったのです。

長谷川 Fertility は生殖とか何とか言うのだが、両方あったのだから妊不妊学会とすべきなんで、それを単に1つだけ採つて不妊学会としたのはどうも……。

松本 これにはいろいろご苦労があつたと思うんですが。

高嶋 国際学会を開催する2年ぐらい前に樋口先生が学術会議の第7部会のメンバーになりました。それで常



向って左から高井先生、高嶋先生、西川先生、小島先生、近藤嬢(不妊学会事務)、長谷川先生

任委員会为上野の学術会議で開かれたときに林先生と私の二人が学術会議のお偉方の前で演説させられました。不妊学会のことをいろいろ説明してやつとわかつたのではないかと思うのですが、それも学会承認の1つのきっかけではなかつたかとぼくは考えているのです。その時は偉い先生の前で説明したものですから、身体がふるえましたよ。

西川 ちよつと個人的なことですけども、畜産の方で不妊学会に初めから関係した方として、佐藤、星両先生の名前が出ていました。私の恩師であり、先輩でもあるのですけれども、両先生との関係よりもむしろ安藤先生と個人的な関係が私にはあつたのです。というのは、昭和19年に「家畜人工授精法」という本を書いたところ、それが安藤先生のお目にとまって、私が農林省の研究員でいたとき先生からお手紙をいただきました。慶応の産婦人科の医局から夫人同伴で見に行きたいから馬の種つけを見せてくれと……。

高嶋 そういうことありましたね。

西川 馬の種つけというのは非常に勇壮なものですから御夫人方も皆さん大満足。それが安藤先生と接触の始まりでした。その後ずつと安藤先生とは何かとお近づきいただき、それと同時にうちの家内と安藤先生の息子さんのお嫁さんが女学校時代、いや小学校の頃からのお友達で、いま京都におられますが、いろいろお世話になりました。そんな関係もあつて、安藤先生から何かにつけて、西川、西川とよく可愛がられたのです。

大越 私も先ほど林君にすすめられてと言いましたが、安藤先生は実は私の患者さんでした。先生は、五反田におられて、前立腺肥大症で尿が出なくなり、私の所にいらして「大越君、苦しいよ、苦しいよ」。当時日本新薬のエビスロスタットが発売前の試薬として使われていたので「これ、先生召し上つて下さい」と言つてさし上げたら、ばかに効いたのです。そんなに効くとは思わ

なかつたのですが、しかし試薬だからそのうちなくなりました。そうしたら安藤先生はご自分で日本新薬に電話して取り寄せて飲まれ、これは死ぬまで飲んでいらつしやいました。手術をしようかとも思つたのですが、安藤先生だからもし失敗すると困るし、服薬をすすめたのです。まあそんな関係もあつたのです。お宅が関東通信病院から100m ぐらいいしか離れていないところだつたので、往診をしていたのです。

高嶋 とにかくあの当時は婦人科だけが独走してはいけないというので、安藤先生がいろいろ配慮されました。

松本 そういうことで西川先生は畜産の方の組織作りを安藤先生から依頼されたわけですね。その辺のことを話していただけませんか。

西川 不妊学会ができて、領域をこえていろいろ仕事がおオーバーラップしておりますので、畜産の方々にもいろいろ会議なりに働き掛けもしました。畜産には繁殖研究会というのがありまして、本当はその方がそのままこつちに皆入れればよかつたのですが、結局は個人的な働き掛けになつてしまひまして、理想どおりにはいかなかつたのです。殊に最近は本当に情けないと思つているのです。繁殖研究会の会員がこつちに合体するか、あるいは両方の会員になつてくれれば非常によかつたのですが、それには少し時間が足りなかつたと言いますか、働きかけ不足で十分なご期待にそえなかつたのです。高嶋先生はその辺の事情はよくご存じでしょう。

高嶋 Pommerenke が来てからでしょうね。

高嶺 私は Pommerenke が来たときの会合のことは覚えております。印象的なのは第1回(昭和29年6月)のことですが、私はたまたま Miller-Kurzrok Test をウシに応用しようと思つてやつていたものですから講演会終了後彼にデータを見せて話をしたら大変興味を持たれて、それで帰国後も文通するチャンスを与えられました。しかし私がつぎにアメリカへ行つたときには残念ながらもう逝くなつていたので、そんなわけで不妊研究会のお蔭でそういうこともあり、また国内では理学の方には割合に先生方を存じ上げていたので、例えば東大の竹脇潔先生、その周りの先生方ですが、婦人科学の方に存じ上げていた先生が少なかつたもので、こちらの会にどんなきつかけで入るようになったのか、その辺がはつきりしないのです。西川先生のお引立によつたのか、あるいは沢崎、林両先生を存じ上げていたので、先生からお話があつたのかとも思います。設立当初からお世話になつて今日に至つているような次第です。

関東と関西の合体

西川 東京を中心にしてお話が進んできて、これ

から小島先生から関西のお話があるかと思いますが、私は初め関東にいまして、編集幹事として関係してずっと参加させていただいておりましたが、昭和33年に京都大学教授になつて関西に行き、すぐ関西の不妊学会に入つたわけです。当時は広瀬先生、この方は産婦人科の大御所で古くから開業しておられた先生ですが、それから京都大学の三林先生、大阪医大の小島先生、大阪市大の藤森先生、大阪大学の足高先生、それに獣医では大阪府立大学の安田さんとか橋爪さん、泌尿器科では神戸大学の石神先生などが主な方々でした。こういう会合に私のような長く関東にいて関東色のついた者が加つたのですが、その中にどうも関東の者に勝手にされてはいかぬというようなムードがありまして、かなり対抗的な空気を初めは感じたものです。しかしそれはほんの一時的で、関西と関東で合体することになつた段階では全くそういう空気はなくなつてきました。



第1回日本不妊学会総会(役員会にて)

小島 藤森先生や足高先生には初め対抗意識がありましたね。私などはそうではなかつたのですが、また三林先生、山田先生それから稲田先生、村上先生などの先生方はあの時代はまだ不妊に対する関心が非常に少なかつたので、お前たちは異端者だというような風がありましたね。その上いつも関東に対抗するような意識を持っていたから、藤森君はじめ私などはむしろだいぶやられたのです。

西川 そういう空気は確かにありました。藤森先生や足高先生は非常に御熱心で、関東に対してわれわれしつかりしなければいかん、それにはしつかりした組織作りをしよう、合体するにしても役員を選出などは関西なりのものにしなければいけないと、このようなムードがありましたよ。

小島 先づ関西不妊研究会の発足に関しましては、関東に於て不妊性研究会が発足したしました頃に、安藤先生から関西にも関西不妊研究会設立の要望がありました。確か大阪市大藤森教授宛に来たように思つています。その頃近畿産婦人科学会の学術委員長広瀬豊一博士

を中心に若い教授、助教授が各々分担して各種ホルモンに関する研究会を開いて時々研究発表をしていた頃でありましたので、安藤先生の要望は、藤森、足高、沢崎教授初め皆が話しはスムーズにまとまりましたが、長老の山田一夫、村上清、吉松信室、三林隆志先生への了承を得ることや泌尿器科及び畜産獣医科の導入に何かと手間をとりまして、やつと昭和30年8月に趣意書と会則を配布して発足を見るに至りました。

第一回の関西不妊研究会は昭和30年9月に大阪市大医学部臨床講堂で開きましたが、その時関東では既に七回の不妊研究会が開かれておりました。

昭和31年4月、日本産科婦人科学会総会が開かれたのを機会に、関東側と関西側の幹事が集って日本不妊学会を結成して、各々関東支部、関西支部として、それぞれ支部集談会を開いて今回に及んでおります。

当時中心的活躍をした藤森、足高、沢崎、山田文夫初め多くの先生は物故せられて、30年の歳月の長さを滲々と感じておる次第であります。

松本 はじめ関東に不妊学会ができ、次いで関西で不妊学会ができ、合体しようということになったのですが、関西の方では関東よりも早くから会報を出されたし、会則も関西の方が先にできて関東はまだできていませんでした。それで合体の話が出た時安藤先生が私に「お前相談に行つてこい」と言われたのです。それで第3回の関西不妊学会に私1人で伺つて、関西のいま言われた偉い先生方のいっぱい並んでおられる所で合体の下話をしてまいつたことがありますよ。

大越 私初めから感じていたのだけれども、以前日本産科婦人科学会そのものが関西と関東と別々に総会をやつたりしていたので、その流れが不妊学会にも影響したのでしょうか。

松本 ところが不妊学会が合体したころから産婦人科学会でも関東、関西の対抗意識はあまりなくなつてきたように思います。殊に若手の間ではだんだん交流が盛んになりました。そうですね、小島先生。

小島 私も1番上の方は存じませんが……。

西川 広瀬先生なんかは頑として持つておられましたよ。

小島 日産婦学会と近畿産婦人科学会とが合併したときのいきさつは長谷川先生などがよく知つておられますが、それは大したものでした。平等でなければ絶対に合併しないというようなことを言つておりました。しかし西川先生がおつしやるほど強い意見はなかつたですね。

西川 そうでしたかね。私の感じでは少し思い過ぎかもしれませんが、そこまで言わなくてもという感じがありましたね。

小島 西川先生がいらつしやつたときにはみんな喜んで歓迎したつもりです。(笑声)

西川 失礼しました。

高嶺 その頃のことだと思うのですが、日独薬品が設営して、関東と関西の合同のため会議を白金の迎賓館でやりましたね。

松本 ええ、ありましたね。

高嶺 そのときの内容覚えていないのですが、1つだけ覚えているのは、足高先生かどなたか、向うの会議のテープレコーダーを聞かせると持つてこられたのですが、今の機械ならそんなことないのでしょうか、当時は50サイクルと60サイクルの違いがあつたので、向うのテープをかけても聞きとれなかつたことです。

松本 大越先生、泌尿器科の方の話をお願いします。

大越 泌尿器科は当時余り不妊に興味を持つている人は少なかつたのです。せいぜい神戸の石神先生くらいだったでしょう。私や高井君あたりは当時はそう関心がなかつたので甚だ申訳ないのですが、私は安藤先生と林君の関係で初めの頃お世話さしていただいたのです。その後はすっかり御無沙汰してしまい誠に申訳ないのですが、きょうはちよつと敷居が高いが、懐かしい皆さんに会えると思つて参つたわけです。初めの頃は不妊は女の人が悪いのだという考えが多かつたと思いますが、その原因が男性にもずいぶんあることがだんだんわれわれにもわかつてきて、研究も盛んになり、高井先生はじめ石神先生、その他たくさん泌尿器科の先生が学会に入り、興味を持つてきたと思います。

松本 高井先生、いかがですか。

高井 不妊学会が始まつた頃は札幌医大におりましたが、北海道でも昭和31年12月に不妊学会の北海道支部会が北大産婦人科の小川先生の提唱で、北大と札幌医大の産婦人科と泌尿器科、それから北大畜産の石河先生などが中心になつて発会しまして、地方会に出席しておりました。札幌医大と北大だけで5つの部門しかないわけですから、2回目ぐらいには否応なしにしやべらされるような状況が続いていました。北海道でも非常に熱心で小川先生が会長もやられ、そのあと明石先生が会長をやられ、ずつと最近になつて54年に札幌医大で熊本先生が会長になりました。私は43年に横浜市大に來まして、49年に常任理事になりましたが、その前後ぐらい、ちよつと不妊学会の国際学会の前後から泌尿器科の方でも、従来は形態学的なことが主だつたのですが、いろいろホルモンの測定ができるようになって形態学だけでなく生化学的なことや組織培養などの研究が行われるようになり、かなり興味を持つ人が多くなりました。それで私が東京に参りまして常任理事になつた時に沢崎先生から、



第7回国際不妊学会開会式

会員が婦人科が8で泌尿器科が1、畜産が1、の割合であり、これではいけないから婦人科が6、泌尿器科と畜産が2つづぐらいになるようにしなくてはならないと言われました。また沢崎先生は市川先生や大越先生にはいろいろとお世話いただいてきたし、市川先生には副理事長をしていただいたのだけれども、私が理事長をやったものだから、市川先生に理事長になつていただけなかつたので、君が代りにやってくれ、決して婦人科だけの学会だと思つていないのだから、理事長になつて会長も泌尿器科の方で大いに引受けてどんどん演題を出してくれということを強く申されて、53年に理事長になつて4年ほど勤めさせていただきました。その間に泌尿器科の方でも会長をする人がずいぶん増えてきました、多少泌尿器科の方も活発になりました。ただ会員数はまだまだですが、これは全体の数が少ないからやむを得ないと思えますけれども、一方落合先生が中心になつてアンドロロジー学会ができ、これには婦人科の方の先生にも、特に飯塚先生にはずいぶんご指導をいただいているのですが、アンドロロジーと不妊学会とがともども相携えて進むことは斯学の発展のために大変ありがたいことだと考

えております。

大越 30回の総会のうち6回泌尿器科が会長をやつておりますね、初めの10回にはなくて、泌尿器科で会長をしたのは重松さんが第13回に初めて。

高井 それから第15回に千葉の百瀬さん。

国際不妊学会の東京開催

松本 いま国際学会のお話が出たのですが、国際学会は初めのうち、果してやれるのかという危惧があつたのですが、林先生が非常に熱心に何とかやろうということを決行したのですが、結果的に見ると、あれから国内の学会の演題の数もずつとふえているのですね。だから国際学会をやつたことは日本不妊学会の発展にも非常に大きく寄与していると思います。また財政面でもあれで非常に助かつたのですね。その辺長谷川先生から……。

長谷川 第7回国際学会がご承知のように日本で開かれたわけですが、当然安藤先生が理事長として会長になられるはずだつたのが急に近くなつて、その結果いつまでも放つてはおけないというので札幌の理事会で不肖私がやれということになつて、皆さんのご後援によって何と

かしてやろうということになつたわけです。いま松本理事長は林基之君の力ということと言われたが、林君だけではないので、松本君と林君とお二人が第6回のテル・アビブにおける国際学会に出席して大いに奔走、折衝してこれまでに持つてくるまでに成功させたわけです。そういう意味において林君は逝くなつたけれども、松本清一君の功績は偉大なものだと思う。

松本 いやいや私はただ一緒にやつていただけで…

長谷川 それで一応日本の組織委員会の結成ということで会長は私になり、副会長は市川篤二君、藤林速水君、西川義正君、事務総長が林基之君、プログラム委員長が小林隆君、財務委員長が松本清一君、それから第16回日本不妊学会々長が野嶽幸雄君でした。パシフィックホテルで壇上に安藤前理事長のお写真を飾つて安藤先生の奥さん及び広瀬名誉会長の奥さんの列席の下に開会式が開催されました。その写真は「誠」という安藤畫一博士生誕百年記念の小冊子に載っていますが、1番右に安藤、広瀬両夫人がおられ、壇上に立っているのが Campos Da Paz です。特別講演としてはここにおられる西川義正京大教授が Recent Advances in the Research Works on Mammalian Reproduction という題でわが国斯界における業績の展望をやらせ聴衆に多大の感銘を与えました。それから京都でも国立京都国際会館で1日 Post congress をやりましたが、そのほか閉会式とかさよならパーティーというようなことは省略いたしますが、日本での第7回国際不妊学会の概略はそんなものでした。なお日本不妊学会の創立に関しましては先ほどもお話がありましたが、安藤先生がニューヨークの第1回国際不妊学会に出席されてその際得られた印象から不妊症の研究の必要性を痛感され、先生の提唱によつて昭和31年4月5日に先生を理事長として日本不妊学会が発足したのです。第1回の講演会は慶応大学の講堂で行われ、それには私どもも出席して状況をよく覚えておりますが、初めのうちはほんの有志の者で時々集まつては話し合つていたのです。そのうちだんだん発展して本当の日本不妊学会が発足し今日に至つたわけです。最近では昨年11月26日から28日まで東京の農林年金会館で慈恵医大の蜂屋祥一会長の下に第30回日本不妊学会が開催されたことは御承知の通りです。

安藤畫一先生の想い出

松本 飯塚先生は何か安藤先生のことで…。

飯塚 第6回の国際学会、テルアビブのときに私も参りました。実は林先生、松本先生から、大体今度は東京、安藤先生にきまるのじやないかということをお聞き



向って左から峰屋先生、飯塚先生、高嶺先生、西川先生、大越先生、松本先生

して行つたのでございますが、夜中に教室から電話がかかつてきて、「安藤先生が物凄くおこつておられる、早速連絡しなさい」ということで、奥様の方に連絡したら、「あなた行つてるのに安藤を会長にするとは何ごとです」と大変おこられた。「実は内定していたのをまだ報告するというか、教室の方にお知らせするのをしなかつた」…安藤先生というのは、ご存じの方多いと思いますが、大変ナイーブと申しますか、シャイというかそういう役職とかそういうことがお嫌い、あるいは面倒なことがお嫌いなのか、いやだいやだと事前に必らず盛んにおつしやる、奥さんも盛んにおつしやるけれども、奥さんはむしろ内心はご主人になつた方がいいと思つても最初から云われぬ。表向きはそういうことを何かやつて下さいともつて行きますとおこられました。それをあなたが行つていながらなぜ止めなかつたかと、そういうことで大変おこられました。けれども、私が帰りまして報告したら、結構それでお喜びになつておられた。みんなが一生懸命やつて先生を担いだのですからと言いましたら、それでは引き受けるということで大変お楽しみになつていたのですが、残念ながら逝くなられました。あのように学会開会式には長谷川先生、林先生、松本先生以下幹部全部安藤先生のお写真を中心にして並んでいただきまして。それから奥様にも、…それから仲のよかつた Campos Da Paz これは学会誌にも載つておりますが、追悼の文を英語で書いております。

松本 ずいぶん長い…。

飯塚 私自身はそう言つちや何ですけれども、産婦人科の中はいろいろなプロフェッサーいらつしやいます。私のように不妊、リプロダクションのこのみで教授になつたのは当時としては珍しいのでは。それで私の学位論文は、先ほどもちよつと出ましたけれども、「不妊性における男性要因の研究」、そのときに先生に、「性は要らないじやないですか」と言いましたら、「これ

がなければ通さない」とのこと。それで仕事自体は昭和27年ごろやつたのですが、大変恐縮ですが、そのころ泌尿器科でも Testicular Biopsy を不妊で実施していた方は少ない。これも安藤先生は日本語は精巣組織診。睾丸とおつしやらない。卵巣というのがあるから精巣だ、睾丸と言つてはいけない。睾丸組織診の方がわかりやすいじゃないかと言つたらおこられましたね。精巣組織診というので私の論文は通つた。当時は私どもの泌尿器科の教授の所あるいは教室の文献にもないからわからない、全くの手探りでした。そのころちよつと志田教授が Punch Biopsy をおやりになつていた。それで志田先生にいろいろお聞きしたものです。それから私ごとになります。第8回の小南先生が会長の津であつたとき大変私光栄でございますが、西川先生と一緒に、名前は安藤先生となつていますが招請講演を私がさせて頂いた。ちよつと書いたことがございますが、実は安藤先生がお引き受けになりまして1週間ぐらいてから私をお呼びになりまして、「実は人工授精の招請講演を引き受けたのだが、ソ連に招待されているからお前やれ」と言われた。安藤先生ほどの方が行かれるのをわかつてお引き受けになつたというのは、今から考えますと私に代役をお考えになつていたらしい。当時私は助手の筆頭でまだ講師にもなつておらなかつた。もう1人の講演者が西川先生なので、私は「そんなことはできません」「いや小南によく言つてあるからお前やりなさい」というようなことで恐縮したことがございます。それで第23回の学会長、これは実は林基之先生がおやりになることがきまつていたのですが、急逝されました。沢崎理事長が「あんた、やりなさい」というご下命で急拠ピンチヒッターをやらせていただきました。実は西川先生は、その昔私凍結精子について、暑い盛りでありましたけれども、千葉の農林試験場に行つて教えていただいた恩師であります。西川先生に特別講演をお願いしてその弟子の一人が学会を主宰するまでになりましたところをお見せしたのです。

大越 飯塚先生が安藤先生の御性格にふれられました。私もちよつと感じておりますことをお話しさせて頂きたいと思ひます。

先生は、少なくとも私に対しては、純粋と申しますか、子供っぽい所があつたと思ひます。それから愛妻家であるとともに、恐妻家でもおありのようでした。先生は何回も外国へお出かけになりましたが、いつも奥様と御一緒でした。しかしある時、先生と私の二人だけのときでしたが、「大越君、僕はたまには一人だけで外国へ行つてみたいんだよ」としみじみとおつしやつたことがありました。

松本 木下先生は林先生の下でいろいろ苦勞されたのではないかと思います。その辺の裏話が何かあるのではないですか。

木下 別に裏話などありませんが、林先生は先ほどからお話のように不妊学会創立の裏方でなく表方みたいだつたわけです。東邦に行かれてからちよつと学会の事務所が教授室のとなりになつたというふうなこともあつて、私も多少お手伝いしたのですが、特に国際学会をやることになつてから「林先生の所でお前忙がしいだろう」とよく言われたのですが、林先生は不妊学会のこととなると非常な情熱を傾けられてほとんどご自分で仕事をされました。私はよそから「お前、忙がしいだろう」と同情されただけで本当はちつとも忙がしくなかつたのです。ただ学内のことで多少お手伝いしたかもしれませんが、学会そのものに関しては林先生がご自分でやられて私は全く手を出す余地がなかつたというふうな恰好でその点では大変楽だつたのではないかと思います。先ほど松本先生がちよつと言われましたけれども、国際学会を契機にして学会の演題もふえて不妊学会が非常に発展し、同時に経済的にも助かつたというお話がありましたが、実際そうなんできて、あのときに国際学会のあとでどのくらい残余金があつたか知りませんが、その後4、5年間実際には不妊学会は赤字だつたのですが、国際学会のときの余つたお金をくい潰して何とか5、6年もたすことができたわけです。私もそのころから幹事になつて会計の方をお手伝いしたわけですが、あのお金があつて本当に助かつたという感じがした次第です。

日本医学会への加盟

松本 その後の不妊学会の経営の立て直しには沢崎先生が非常に努力されましたね。その辺高木先生、何か……。

高木 昭和49年に沢崎先生が理事長をお引き受けになつたとき、丁度47年に私が先生に代つて教授になつたばかりだつたので、まず最初の仕事で「今度理事長を勤めることになつたので、君ひとつ代表幹事で出て学会のいろいろな意味の近代化を図つてくれないか、僕は年とつているからそういう意味でぜひやつてくれないか」ということになりました。それで私初めて不妊学会の幹事会に出さしていただいたときに、財政の立て直しということもございましたが、学会をひとつ近代化しようではないかという話が出てきまして、最初に手掛けたのが学会事務所の移転であつたのです。あのときは日本産科婦人科学会の東京地方部会の事務所も移転しなければならなかつたので、ちよつとまい具合に市ヶ谷の保健会館の

別館にそれ相当の広さの事務所を確保できました。不妊学会としては、単独でそれを持つ余裕がなかったものから、日本産科婦人科学会の東京地方部会の事務所と一緒に入ることで交渉して、あそこに事務所を構えたわけですね。そういった事務的な交渉などを、沢崎先生と始終お会いしているものですから先生のご命令を受けながらやっています。

その次の近代化で、先ほど理事長の松本先生から財政面というお話がありましたが、財政面の立て直しには事務員の問題をどうするかという大きな問題がありました。就業規則とか、退職規程とか、事務員の規則を作ったのです。木下先生にもずいぶん応援してもらったりして施行にこぎつけました。沢崎先生にも大変喜んでもらいましたが、やつと学会らしい形になったわけです。

その次に先生がなさったことは、先ほどのお話にも出ておりますが、日本不妊学会を日本医学会に加盟させるということでしたね。

松本 あれば51年。

高木 51年だったでしょうかね。先生は一生懸命運動されて、医学会の評議員や幹事に出ていらつしやる先生方やほかの学会の先生方にも話をされては何か入れてくれと頼んでおられたようですね。

松本 あの時は都合よく、私が産科婦人科学会からの評議員をやつていて高井先生も評議員でしたね。金沢の黒田先生も評議員で、かなり関係者の方が評議員にいたのです。それで私が部会の意見をまとめて評議員会で報告するという役割になって、名前が誤解されているが、実際はプロダクションの学会なんだということを説明し、結局一票の差であやうく当選しました。

高木 当選したということをお大変喜んでおられましたね。



左から木下先生、高木先生

松本 それまで何回か駄目だったのですね。

大越 その間の事情をちよつと調べてきたのですが、日本医学会に正式に認められるためには、まず日本医学

会総会が行われる前の2月か3月にこういう学会が希望しているということを公示をしまして、そうして総会が済んで6月に臨時の評議員会を開いて、そこで70%以上の賛成をえないと駄目なんですね。それで総会をずつとどつていきますと昭和39年と43年に2度立候補したのです。当時私が説明役を買ったのですが、林君もやつたと思います。そして43年の次は47年ですが、47年のときは2度落ちたので、もう駄目だと思つて諦めて立候補しなかった。その次が51年ですが、私はその当時、今でもそうですが、日本医学会の幹事でした。それでどうしたら70%いくかということが大体わかつていたのですから、林君に言つて、各評議員を回れば何とか70%とれる、今回はさつき話があつたようにいろいろな人がいるし、大丈夫そうだから、ぜひ頑張れと言ひまして、それで林君が日本医学会に各分科会から選出されている評議員にお願いして70%をちよつと越えられたのです。そのとき70%では余り厳し過ぎる、という話が出ました。日本医師会のいろいろな規則を見ると、3分2以上の賛成を得るというのが多いのです。そこで3分の2にしたのですが、考えてみると70%が67%になるわけですから大した違いはないのですが、でも少しやさしくなればというので、次の55年の総会から70%を3分の2以上に改めたのです。日本医学会に正式な分科会として認めてもらうのにはそうした手続きが要るわけで未だに評議員会の3分の2以上の賛成が必要なんです。

高木 もう1つ日本不妊学会のことで非常に印象に残っているのは、先生のお伴をして、Junkmann 教授が来た時日本橋の日独薬品の本社で半日潰して一生懸命話合つたことですね。

松本 ありましたね。

高木 ステロイドの中枢抑制作用とかいろいろなことを話し合いました。

松本 ピルの開発をシェーリングが始めた頃の話ですね。それでは次に蜂屋先生をお願いします。先生は今回第30回の総会を主宰され、279題もの一般演題が集つて開闢以来の大盛会だったわけですが、ひとつ締め括りにその辺のお話をさせていただきたいと思ひます。

蜂谷 不妊学会へのお近づきは、私の前任者の渡辺教授が理事をやつておられたころは余りなかつたのですが、私がアメリカから帰つてきた翌年の昭和44年に産科婦人科学会の臨床大会で不妊症の診断というシンポジウムがあり、そのとき林教授から「お前帰つてきたばかりで、向うでしてきた仕事のことを話せ」といわれて、それからいろいろなおつき合いが始まり、「不妊学会に入っていないのはどういうわけか」と言われたりして不妊学会といろいろな交渉をもつようになりました。先ほど

お話の出ました日本医学会への加入の場合も、直接林先生がお出で下さいまして、「慈恵では4票ある」、先生はお調べになってきたのですね。「病理のあれと内科のあれとそれに誰それがいるから絶対4票入るように話をしてくれ」と言われました。私も先生の熱意に本当に打たれまして、これは何としてでも入れてもらわなければならないというわけで尽力し、皆様のご協力を得て加入ができたわけです。このような林先生の不妊学会に傾けた情熱を私はつくづく感じ、私も一生懸命やらなければならないと思つた次第です。

今回会長をやらせていただきまして、また理事をしております、肝腎なことは、やはり会員を増やさなければいけないことだどつくづく感じているわけです。私も学会の会長をやつて、会員がたくさんあると非常に楽であることを痛切に感じているものですから、今度の学会では6カ月前から特に畜産や泌尿器科の先生にぜひ来ていただきたいという手紙を出し、なるべくたくさんの演題をお願いしますと特に注文を出したようなわけです。そのせいか参加された方も演題も多く、それなりの成果があつたのではないかと思います。たびたび松本先生からお言葉をいただいておりますが、やはりこれから先もいろいろ努力して、会員は前に比べれば増えてきましたが、より一層努力してもつともつと立派なものにしていかなければならないのではないかとつくづく感じた次第です。

高嶋 国際学会の時に作つたシンボルマークのことでちよつと思ひ出したのですが、あれは長谷川先生にシンボルマークを作るように頼まれて作つたのです。その時富士山を必ず入れろと言われたのです。覚えておられませんか。

長谷川 いや覚えておらぬ。

高嶋 それを鵜呑みにして作つたのです。富士山があつてその前に天使が舞つてる図ですが、それができたら小林(隆)先生が「ユーモアに富んでいて非常にいい」と言われました。実はあれを調べるのに約300社の会社のシンボルマークを探したのですが、そのうちイメージが合つたのが藤沢薬品のものでした。僕は富士山をもつと柔かな感じにしたいと思つたのですが、たまたま美術学校を出た私と40年来の知り合いがいて、その人に頼んだら、「富士山というのは外国人には非常にとんがったイメージだ」と言うのです。それでああいうとんがった富士山を作りました。その娘が多岐川ゆみという女優さんで、よくうちへ来ますよ。そんな裏話があつてできたのです。あれは少し時代遅れのようなので今度新しくもう少し——社会党のマークみたいな若々しいものを衆知を集めて検討していただければと思つています。

松本 だいぶ裏話も出たようですし、この辺で座談会も終らせていただきたいと思います。今日はいろいろ貴重なお話をいただきましてありがとうございました。

記念論文

流産における染色体研究

- I 自然流産
II 人工流産

Chromosome Studies in Human Abortions

- I Spontaneous Abortions
II Induced Abortions

牧野 佐二郎*
Sajiro MAKINO

I. 自然流産

染色体に含まれる遺伝子の数は莫大なもので、ヒトの染色体46個には数万に及ぶ遺伝子が含まれている。たとえば1個の染色体にも数百や数千に及ぶ遺伝子が存在しているとみなされる。染色体の形態や数が異常になると、その遺伝子の変化は尠大なものと考えられる。したがって細胞全体に含まれる遺伝子の平衡は大きく乱される。その結果、個体の表現型に変異が現われる胎児の状態で流産または死産が起こる。

受精した卵子が子宮内に着床し、ある期間たつて初めて妊娠の徴候が現われるのであるが、一般に妊娠の15%は流産になり、その流産の80%は妊娠3カ月以内に起こるといわれる。一般に自然流産の約28%は染色体異常をもっている。すなわち遺伝子の不均衡に原因する発育、機能の障害である。流産の原因には母体年齢などの生理的条件や環境条件などの外的要因が関係していることは早くから問題になっていた。

たとえば Hertig and Edmonds (1940) は1000例の流産胎児の解剖病理学研究を行い、その617例に顕著な染色体異常を発見している。また、Javert (1957) は892例のうち、173例は受胎後3週で発育を停止し、その99%が染色体異常であることを報告している。

近年における染色体研究の進歩は、染色体異常が流産の原因として重要なものの一つとしている。

1. 染色体異常の率

自然流産に関係している染色体異常には、モノソミー（その原因は不分離にある）倍数性のような数的異常とモザイク、転座、欠失などの染色体の構造異常が含まれる（表1, 2）。

自然流産において報告された染色体異常胎児の率は研究者により8~64%の変異があり、それは研究材料、その集め方、研究方法などの条件によるもので、平均して未選択では26%であるが、特に妊娠初期に選択した材料では50~64%に及ぶ染色体異常が報告されている。このような妊娠初期に起こった胎児の染色体異常の割合が大きいことと、妊娠と認知される前に失われた受精卵をすべて含めると、染色体異常によつて起こされる流産の率はかなり大きいものになるのは想像に難くない Boué and Boué 1973, Boue, Boue, Delachat, Perraudin and Yvert 1975, Boue, Boue and Lazar 1975 の統計によれば、在胎6~7週以前の流産胎児の65~70%は染色体異常である。Carr (1971) の総合された資料によれば、在胎90日以前の胎児の染色体異常は40%、在胎91~120日のものは25%前後、在胎120日以上のもでは3.5%となり、約36%の平均値を示す。ブタやウサギにおいても着床前の胎胚には高率に染色体異常が知られている (McFeely 1967, Fujimoto and Ariga 1975)。ヒトにおける早い時期の受精卵に関しては不明であるが、胎児の時期にみられる染色体異常率から計算すると、異常受精卵は全体として9~10%と推定される (Carr 1971, Sasaki and Makino 1971)、配偶子形成か、あるいは受精の時期に染色体異常の起こる可能性が高い。

* 本学会名誉会員、日本学士院会員、北海道大学名誉教授

表 1 自然流産における染色体異常の型とその頻度 (被検数 100 例以上の研究報告より10件)

研究者	被験 例数	染色体 異常 (%)	染色体異常の型								モザイク と転座 座	ほか			
			XO	トリソミー									重複 トリソ ミー	倍数性	
				A	B	C	D	E	F	G (計)				3n	4n (計)
Arakaki と Waxman, 1970	127	63(50)	18	1	0	1	1	14	2	0(19)	0	7	1 (8)	17	1(-A)
Boué, Boué ら, 1973, 1974, 1975	1,500	921(62)	140	12	6	86	109	172	7	89(481)	16	185	55 (240)	43	1(-G)
Carr, 1963, 1967	227	53(22)	12	1	1	2	6	9	1	6(26)	0	9	2 (11)	3	1
Creasy ら, 1976	941	287(31)	68	11	2	17	21	60	3	29(143)	0	38	12 (50)	22	4
Dhadial ら, 1970	423	94(22)	31	0	0	6	11	12	0	10(39)	2	13	4 (17)	5	0
Kadotani と Pergament, 1966 ; Kadotani, 1970	163	25(15)	1	0	0	0	1	4	0	5(10)	2	4	4 (8)	4	0
Kaiij ら, 1973	152	82(54)	12	2	1	7	11	20	0	9(50)	1	10	5 (15)	3	1(-G)
Makino ら, 1967; Ikeuchi, Sasaki ら, 1972, 1976	109	23(21)	3	1	2	2	4	2	0	0(11)	0	4	1 (5)	4	0
Stenchever ら, 1967	101	8(8)	2	0	0	0	1	0	0	0(1)	0	3	0 (3)	2	0
Therkelsen ら, 1973	287	139(49)	39	1	2	11	16	27	0	6(63)	2	14	10 (24)	10	?1
総 計	4,030	1,695 (42)	326 19.3	29	14	132	181	320	13	154(843)	23	287	94 (381)	113	9
%										49.9	1.4		22.5	6.6	0.5

(Boué と Boué (1974) の表を改訂補正)

表 2 自然流産胎児にみられた染色体異常の型とその頻度

	被験 例数	染色体 異常	染色体異常の型										重複 トリソ ミー	倍数性		モザイク と転座 ほか
			XO	トリソミー							3n	4n				
				A	B	C	D	E	F	G						
総 計	4,030	1,695	326	29	14	132	181	320	13	154 (小計 843)	23	287	94 (小計 381)	122		
被検総数に 対する%	—	42.0	8.1	0.7	0.3	3.2	4.5	7.9	0.3	3.8 (小計20.8%)	0.6	7.1	2.1 (小計 9.4%)	3.0		
染色体異常 総数に 対する%		100	19.3	1.7	0.8	7.2	10.6	18.9	0.8	9.1 (小計49.9%)	1.4	16.9	5.5 (小計22.5%)	7.2		

出生後(新生児)における染色体異常の率は0.5%である。染色体異常の受精卵を10%とみなすと、その9割強は出生前に淘汰されて、染色体異常をもって産まれてくるのはごくわずかである。したがって流産とは染色体異常をもつ胎児の出生を淘汰する一つの選択的な仕組みと解することができる。異常胎児を産んだ両親には一般に染色体異常が認められていないことから、染色体異常の配偶子の形成時期か、また受精の時期に染色体異常が起こつたものと推定される。

2. 染色体異常の型と頻度

自然流産に関係する染色体異常は主にモノソミー、トリソミー(不分離に原因する)倍数性など数的異常とモザイク、転座、欠失などの染色体構造異常である(表1, 2)。自然流産における染色体の研究は、Penrose and Delhanty (1961) が1流産胎児の組織から培養し

た細胞に3倍性を発見したことが最初の報告である。その後 Carr (1968), Benirschke (1963), Clendenin and Benirschke (1963) らによつて初めて集団的に扱われるようになった。

研究対象として胎児自身の組織、胎児付属物すなわち羊膜、卵膜、絨毛、臍帯の組織が使われた。胎児組織としては、皮膚、眼、筋、内臓、硬脳膜が使われた。材料の採集に関しては未選択区と選択区に大別した。選択区に含まれる7件は特に胎児の週齢に、あるいは胎児の形態に注目して材料を選択して研究したものを含み、未選択区の18件はそれに特別な注意を払わずに集めた材料について研究した。この資料のほかに Degenhardt, Geiser, Kleinbrecht and Boster (1971) は、ドイツ地域における自然流産集団において35例の異常(XOが8例:常染色体トリソミーが20例:重複トリソミーが2例:3倍

表 3 自然流産における総異常例に対するそれぞれの染色体異常個体の頻度(%)

研究者	染色体異常流産総計(数)	XO %	A~G トリソミー %	重複トリソ ミー %	三倍性 %	四倍性 %	構造異常と そのほか %
Arakaki ら, 1970	63	28.5(18)	30.0(19)	0	11(7)	1.5(1)	27.0(18)
Boué ら, 1974	921	15(140)	52(481)	1.7(16)	20(185)	6(55)	1.1(43)
Carr, 1967	53	24(12)	52(26)	0	18(9)	4(2)	8(4)
Creasy ら, 1976	287	23.6(68)	49(143)	0	13(38)	4.2(12)	9(26)
Kajii ら, 1973	82	13.4(12)	61(50)	12(1)	12.2(10)	6.1(5)	4.8(4)
Therkelsen ら, 1973	139	28(39)	45.3(63)	1.4(2)	10(14)	7.2(10)	7.8(11)

() はそれぞれ観察例数

性が2例：モザイクと転座が3例)を報告しているが、被検例その他の詳細も不明である。未選択区における染色体研究例の総計は2,557、選択区における染色体研究例の総計は2,107となり、重複の疑問のあるWHOの資料を除いても総被検数は4,664例に及んでいる。1966年から10年間に流産の細胞遺伝学は見覚ましい発展をしている。流産胎児組織ならびにその付属物(羊膜、卵膜、絨毛、臍帯など)の組織培養の成功率は24~78%の変異があり、平均60%前後である。成功率と染色体異常の出現率や型との間に特に関係はみられない(Carr 1963, Hamerton 1971)。また地域別、特に人種の間にも染色体異常例の出現率に認むべき差違は存在しないようである。

総計的に染色体異常胎児の出現率をみると、未選択区では総計2,557例が研究され、8~54%の変異がみられ、平均すると26%の出現率がみられた。これは各国から集めたWHO(1986)の調査資料から算出された20%に近い比率である。一方、選択区における染色体異常出現率は著しく高く、たとえばArakaki and Waxmann(1970)の50%、Boué and Boué A(1971)の62%、Szulman(1965)の64%、Jherkelsen(1964)の49%、Thiede and Metcalfe(1966)の44%などがあり、総計2,107例が研究された。染色体異常の出現率の変異には、いろいろの要因から関係していると考えられ、それには地域、人種、母体年齢、在胎期間などが考えられるが、そのうちで胎児自身の選択が深い関係をもつているとみなされる。

自然流産にみられる染色体異常の型をみると、100例以上の被検例を含む研究報告10件にもとづいてその資料を表1にまとめた。さらにそれを表2に要約した。

表1にみるように、被検例数100以上の研究報告における染色体異常の出現率は8%(Stenechevee, Hempel and MacIntyre 1960, Boué and Boué. 1973, Boue, Boue and Lazar 1975, Boue, Boue, Dehichat,

Perraudin and Yvert 1975)の幅がみられ、被検例4,030例のうち、1,696例が染色体異常を示し、平均出現率は42%である。これはWHOの示す20%に比べ、はるかに高い。研究材料の選択によるのであろう。染色体異常流産総数1,695例に対する染色体異常の割合をみると、XOは19.3%：A~Gトリソミーは49.9%：重複型トリソミーは1.4%：3倍性は17%：4倍性は5.5%：構造異常その他は7%となる(表2)。次に主なる研究6報告から、それぞれの総異常例に対する各染色体異常の頻度を染色体別にあげて表3に示す。

a. モノソミー

体細胞では染色体は常に相同対をつくって存在するのが正常であるが、その対の一方が欠けているのがモノソミー(monosomy)である。ヒトではモノソミーになると染色体数は45である。流産にみられるモノソミーとしてはXモノソミー(XO)が普通で、稀にGモノソミーがある。

1. XO

流産の染色体異常として特に著しいのはX染色体モノソミー(45XあるいはXO)である。Xモノソミーは流産胎児に高頻度でみられる。表1の10件の研究報告から集計された1,695例の異常胎児のうち326例(14.3%)、総被検流産胎児の8.1%(326/4,030)はXモノソミー(XO)である(表2)。

統計的に2,500~3000人に1人の発現率が報告されている。Xモノソミーが自然流産に著しく高い頻度で現われるが、XO胎児は死亡率が高く、流産によつて失われる。

一、二の報告から出現頻度(XO/総数例)を拾つてみると、Carr(1967)は28.8%(12/53)、Dhadi, Machin and Tait(1970)は33%(31/94)、Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Avirachan(1973)は15%(12/82)、Therkelsen, Jensen, Janasson and Lamm(1973)は28%(39/139)、Creasy, Crolla and Alfermann

(1976) は 24% (68/237), Boué and Boué (1973) は 15.3% (140/921) などの数値がみられ, 必ずしも一定しないが, 平均すれば 20% になり, 総計から求めた数値はほぼ一致する. これからみても XO の高い致死作用は明らかである.

母親の年齢の影響として考えられるような排卵の遅延, あるいは受精遅延による卵子の老化などの影響は XO 異常の要因として取り上げられない. XO, 3n, 4n の母体年齢はそれぞれ 25.9, 26.7, 25.3 歳で, 正常胎児の母体年齢は 26.4 歳である. その間に有意の差はみられない (Creasy, Crolla and Albermann 1976).

流産の染色体異常に関連する重要な問題は胎児の在胎期間 (胎齢) である. Miller and Poland (1970) は 498 例の流産胎児の形態をしらべ, 形態的に異常な胎児の出現率について, 在胎 5 週以内が 88%, 5~6 週が 58%, 7~12 週が 32% と報告している. この関係は染色体調査においても同じ傾向を示している. すなわち, 染色体的に正常な流産胎児のほぼ 1/2 は妊娠 17 週の頃に, 3/4 は 22 週の頃に排出されるが, 対照的に染色体異常胎児の流産は 12~14 週の間大部分が起こっている. そのうち Xモノソミー胎児の流産がその期間に大幅に起こっている (Creasy, Crolla and Albermann 1976).

極めて稀に発見される異常で, 流産において確実な例は Arakaki and Waxman (1970) よるとモノソミー 1 例, Larson, Aaro and Titus (1970), Boué and Boué (1971), Boué and Boué (1973), Carr, Law and Ekins (1972), Ohama and Kajii (1974), Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Aviracha (1973) などより, Gモノソミー 4 例, 計 5 例が報告された. Ohama and Kajii (1974) によれば, Gモノソミー 1 例の母親は 30 歳, 3 回の妊娠の経験者で妊娠 14 週で流産した. 31×33mm の絨毛膜嚢で臍帯も胚子もない. 羊膜組織培養して染色体をしらべ, 45 を確認した. トリプソン G-バンド法によつて 1 例の欠損染色体が No. 21 (45, XX-21) であることを確めた. Carr (1972) のみた 1 例では 24 歳の母親から得た月経齢 85~103 日の胚嚢に包まれた 5~6 mm 胚子の組織培養によつて 28 細胞のうち 25 細胞に染色体数 45 を確認し, 核型分析の結果, No. 22 の対の 1 個が欠けている No. 22 モノソミー (45, XX-22) なることを発見されている.

常染色体のモノソミーの出現頻度の甚だしく低い理由の一つとして, この型の異常個体は胎齢の極めて早い時期に发育を停止し, 妊娠と認めることのできる以前に流出されるためと考えられる. Boué and Boué (1933), Deluchat, Perraudin and Yvert (1975) は Xモノソミーと E (No. 16) モノソミーがほぼ同数 (134, 157) に

生ずること指摘している.

b. トリソミー

1-23 対の各組に正常なら相同対 2 個の染色体が対をなして存在すべき所に, その相同対の 1 個過剰の染色体が加わる現象がトリソミー (trisomy) で, 染色体数は 47 となる. 例えば C 群の 1 個がトリソミーをなせば 47+C である.

流産の染色体異常として著しいものに不分離による常染色体トリソミー (autosomal trisomy) がある. A 群から G 群に亘つてトリソミーが発見され, 総被検例の 20.8% (843/4,030), 総異常例の 50% を占める (表 2). Carr (1971) までに資料を総合した結果でもトリソミーの頻度は 46% (93/201), Boué and Boué (1974) の研究では 49% (143/284), Makino, Ikeuchi and Sasaki (1967), Makino, Awa and Sasaki (1968) は 48% (11/23) である. A~G 群におけるトリソミーの頻度にはかなりの変異がみられる.

近年開発された染色体分染法 (バンド法) によると, A~G 群の各染色体は特徴あるバンドにより形態的に明白に区別される. Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Aviracha (1973) はトリプシン-ギムザ-バンド法により, Therkelsen, Jensen, Jomasson and Lamm (1973) は Q-バンド法キナクリンマスタード, Creasy, Crolla and Albermann (1973) はトリプシン・ギムザバンド法により, それぞれ A~G 群のトリソミー染色体の同定を行なつた. 表 4 に同定された染色体異常をまとめ, それぞれについて述べる.

1) Aトリソミー

A 染色体の 3 対 (No. 1, 2, 3) を含むトリソミーである. 表 2 の資料からみると, 計 843 のトリソミーのうち Aトリソミーは 29 例すなわち 3.4% にみられる. 他群に比し, 頻度は小で, 稀な異常と考えられる. Aトリソミーの形態は破壊胞嚢胞, 空胞嚢などが 11 例知られ, 早期に发育がとまっている (Creasy, Crolla and Albermann 1976). このことから Aトリソミーは致死的な影響をもち, 胚子形成以前に流失されるものと思われる.

Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Aviracha (1973), Therkelsen, Grünnet, Hjort, Jensen and Jonasson (1973), Creasy, Crolla and Albermann (1976) は分染法により Aトリソミー染色体を分析し, トリソミーが A² と A³ 染色体に相当することを確めた. A¹ トリソミーはまだ発見されない.

2) Bトリソミー

B 群染色体の 2 対 (No. 4 と 5) を含むトリソミーは表 2 のとおり, トリソミーのうち 14/843 (1.6%) の頻度を示し, これも流産には極めて稀な異常である.

Boué and Boué (1973) は 6/481 (1.2%), Therkelsen, Jensen, Jonasson and Lamm (1973) は 2/63 (3.2%), Creasy, Crolla and Alberman (1976) はそれぞれ B トリソミーが No. 4 染色体に相当することを発見し, Ikeuchi and Sasaki (1974), Ohama and Kugumi (1977) の 2 例は No. 5 染色体と同定された。

3) C トリソミー

C 群染色体 (No. 6~12) を含むトリソミーで, 形態的に多形である。表 2 にもとづき, トリソミー総計から求められた頻度は 132/843 (15.6%), 染色体異常総数に対し 7.2% である。Boué and Boué (1973) は 86/481 (17.9%), Therkelsen, Jonasson and Lamm (1973) は 11/36 (17.4%), Creasy, Crolla and Alberman (1976) は 17/143 (12%), Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Aviracha (1973) は 7/50 (14%) の頻度をあげ, 平均頻度は 16.1% である。

在胎期間を染色体別にみると, No. 7, 8, 12 のトリソミー胎児は, No. 9, 10 のトリソミー胎児より発育期間が短い傾向がある。前者が 25 日内外であるに比し, 後者は 35~42 日である。培養において在胎期の長い胎児に由来した細胞膜はよく発育するという。

最近 C トリソミーをもつて産まれた個体が, いろいろな奇形や疾患など特徴のある臨床像をもつことが知られている。C トリソミー・モザイクが多いが, 最近では純正な C トリソミーが報告されている。No. 8 トリソミーの保有者の臨床像は造血系疾患, 顔面, 鼻, 耳, 頭蓋, 骨格系, 掌蹠紋など著しい奇形でもち, 低知能が共通的である。ことから 8 トリソミー症候群 (8-trisomy syndrome) として扱われるようになった (Kakati, Nihill and Sinha 1973, Jacobsen, Haüge and Henningon 1973, Tuneblick, Halicioglu and Say 1974)。また No. 8 トリソミーモザイク, たとえば (47, XY+8/46, XY) も同様な各種の臨床像 (異常な前頭部, 低位で奇形の耳, 短頸, 小顎, 手足の奇形, 頭蓋の奇形, 骨格の奇形, 異常掌, 蹠紋, 低知能, 心臓系疾患など) をもつことが発見されて特別な症候群 (trisomy 8 syndrome) として扱われている (Atkins, Miller and Salam 1974, Caspersen, Hulten, Johansson and Lindsten 1971, Fineman, Ablow and Howard 1975, Shiraiishi 1977, Mino, Kasubuchi and Goto 1971, Kondo 1976)。

4) D トリソミー

D 群の 3 対 (No. 13, 14, 15) におけるトリソミーである。表 1 と 2 の資料からみると, 総計 843 例のトリソミー群のうち, D トリソミーは 181 例, その頻度は 21.4% (181/843), 染色体異常総数に対し 10.6% を示し, C トリソミーより高率である。Therkelsen, Jens-

en, Jonasson, Crolla and Alberman (1976) は 16/63 (25.4%), Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Avirachan (1973) は 11/50 (22%), Boué (1973) は 109/431 (22.6%), Creasy, Crolla and Alberman (1976) は 21/143 (14.6%) の頻度をあげている。

D トリソミー群の母体の平均年齢は, Carr (1971) が 18 報告から総計した結果は 33.4 歳, Boué and Boué (1973) によれば 32.5 (± 1.3) 歳, Creasy, Crolla and Alberman (1976) によれば 33.3 歳である。常染色体トリソミーの母体年齢の平均 30~31 歳 (Boué and Boué 1973) に比べるとかなり高い。またモノソミー, 倍数性, 転座などの母体平均年齢は 27.5 歳である。ここに注目すべきは, G トリソミーをもつダウン症候群の出生が母体年齢の増加と共に増加する事実である。母体年齢が増加すると, G 群染色体の不分離現象が高まる。結果, G 群トリソミーをもつダウン症候群の出生率が高まってくると推論されている。端部型染色体は休止期に仁 (neucleous) と結合している。仁との結合が染色体の分離に干渉し, 機械的に不分離を起こす結果として, 端部型染色体にトリソミーが増大すると解される。このようにして, 端部型染色体のトリソミー発生は母体年齢の増加が紡錘系の作用に影響を及ぼし, その原因となる不分離の増加を招来し, その結果として出現頻度を増大するものと推察される (Boué and Boué 1973, Kadotan-1978)。D トリソミーにおける父親の平均年齢は, D 群染色体とその他の非端部型染色体の間で差がなく, 父年齢の不分離への影響は考えられない。

バンド法によつて同定された D 群トリソミーは表 3 に示す通りで, それから拾い出してみると, 13 トリソミー (4 例): 14 トリソミー (12 例): 15 トリソミーが 17 例で各員が同定されている。同定された 223 例のトリソミーのうち, D 群トリソミーの率は 14.8%, 15 トリソミーはその約 7.6% を占めている。

5) E トリソミー

E 群に属する No. 16, 17, 18 の 3 対に関するトリソミーである。表 1 と 2 にもとづいてみると, 総計 843 例のトリソミー群のうち, E トリソミーは 320 例で 37.9% (320/843) の頻度を示し, 染色体異常の総数に対し 18.9% で, トリソミー群中最高頻度を示す。それぞれの報告についてみると, Therkelsen, Grunnet, Hjort, Jeinsen and Jonasson (1973) は 27/63 (42.8%), Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Avirachan (1973) は 20/50 (40%), Boué and Boué (1973) は 127/481 (35.8%), Creasy, Crolla and Alberman (1976) は 60/143 (41.8%) の頻度をあげている。

バンド分染法によつて同定された E 群トリソミーは表

表 4 バンド分染法によつて識別同定された自然流産胎児のA群~G群のトリソミー

研究者	群 番号	A			B		C						D			E			F		G		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Therkelsen, 1973		0	2	3	2	0	0	2	3	3	2	0	0	1	4	10	26	0	6	0	0	3	1
Kajii, 1973		0	1	1	1	0	1	4	3	1	3	2	1	0	4	3	8	0	0	0	0	5	2
Boué, 1974		—	—	—	—	—	0	2	2	5	2	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Creasy, 1976		0	6	1	1	0	0	0	3	3	1	0	0	3	3	4	35	0	6	0	2	10	11
追加*		—	—	—	—	3	—	4	2	—	1	—	—	—	1	—	—	2	—	1	—	—	—
計	223	0	9	5	4	3	1	12	13	12	9	2	2	4	12	17	69	2	12	1	2	18	14
各群小計, % (/223)		14(6.5%)			7 (3.1%)		51 (22.8%)						33(14.8%)			83(36.7%)			3 (1.3%)		32 (14.3%)		

4にみる通り, 16トリソミー69例: 17トリソミー0例: 18トリソミー12例である. 320例中17トリソミーだけが発見されなかつた. 最近, Ohama, Kusumi and Ihara (1977) により2例の17トリソミーの流産胎児が発見された. 25歳ならびに43歳の健康婦人から得られたもので, 18日(7×6mm)と35日(32×28mm)の胎齢である. 形態的に退化した空胚嚢である. 妊娠の早い時期に流産させたものである.

表4によると223例の同定されたトリソミーのうち69例が16トリソミーであるから, 頻度は30.9%となる. また, Creasy, Crolla and Alberman (1976) は183例の集計にもとづいて, 16トリソミーの率を37.3%とみている. また, E群トリソミー内で見ると, 81.1%(68/83)を16トリソミーが占めている. いずれにしても16トリソミーは非常に高い頻度で出現し, トリソミー群では他に匹敵するものがない. いわば16トリソミーは流産にみる最も普通な染色体異常である. 16トリソミーが強い致死因子をもっている.

E群トリソミーの在胎齢をしらべてみる. Boué and Boué (1973) の資料によれば2~4週で胎児の発育が停止している. 胎齢3週で16トリソミー胎児は発育を停止している. 発生の早い時期に発育が停止することから, Eトリソミーが強く致死的に働いていることが想像される.

16トリソミー流産胎児は形態的に一般に退化的傾向が著しい. Carr (1971) が18報告からの集計した結果によると, 不完全のもの7例, 空胚嚢13例, 著しい不整形胚子3例, 外見的に正常のもの1例である. Creasy, Crolla and Alberman (1976) の報告によれば, 16トリソミーの4例において外見上正常な胚子(1体は3mm, 2体は2mm), 12例において不整形胚芽, 7例において空胚嚢を観察し, 18トリソミーでは55mmと150mmの胎児がみられた. 両者とも浸軟性のもので, 彎曲した足, 奇形の指をもっている.

Eトリソミーの母親の年齢は29.58(±0.88)歳(Boué and Boué 1973), 29.3歳(そのうち16トリソミーが29.7歳, 18トリソミーが27.0歳(Creasy, Crolla and Alberman (1976))の報告がある. 正常流産胎児の母体平均年齢(26.4歳)と比べて大差がなく, 染色体異常には特に関係しているとはみられない.

6) Fトリソミー

F群のNo. 19, 20の2対におけるトリソミーである. 表2と表3の2資料によつてみると, 13例が報告され, トリソミー群の総計の1.53%(13/843)の頻度を示し, 染色体異常総数に対し, 0.77%である. B群トリソミーと共にF群のトリソミーは流産には極めて稀である. それぞれの報告か拾つてみると, Carr (1967) の2/26(3.8%), Arakaki and Waxman (1970) の2/19(10.5%), Boué and Boué (1973) の7/481(1.4%), Creasy, Crolla and Alberman (1976) の3/143(2.1%)がみられ, その他の研究にはF-トリソミーは0である. バンド分染法によつて同定されたのはF20が2例, F19が1例である. 流産にFトリソミーの出現率が低いということは, 恐らく胎児の初期に発育が停止し, 妊娠と認められる以前に流産してしまうためと思われる. このことはFトリソミーが致死であることを思わせる. 20トリソミーが2例, 在胎11週と約15週に流産していることがCreasy, Crolla and Alberman (1976) により表示されている. 母体年齢28.3歳(Creasy, Crolla and Alberman 1976), 30.31歳(Boué and Boué 1973)の報告があり, 染色体異常発生への母体年齢の影響は考えられない. 最近, Carr and Gedeon (1977) に19トリソミーの1例が報告がある(0.45%).

7) Gトリソミー

G群のNo. 21, 22の2対に関するトリソミーである. 表1と2の資料によれば, 総計843例のトリソミーのうち134例18.4%(154/843)の頻度をもつて現われる. 染色体異常総数に対して9.1%である.

バンド分染法によつて同定された。Gトリソミー染色体はG21が18例、G22が14例(計32例)である。同定された総数に対する頻度は14.3%(32/223)でD群とほぼ同頻度である。

No. 21と22は普通の染色法やオートラジオグラフィ法では同定が困難であるが、バンド分染法によると確定的に識別される。

最近、Niikawa, Merotlo and Kajii (1977) は46, XX/47, XX +22の1例のモザイク型の22トリソミーの流産胎児を報告している。自然流産においてはモザイクトリソミーの例はごく稀である。Maeda, Ohno, Ishibashi, Samejima and Sasaki (1975) は習慣流産患者からNo. 22転座型トリソミー46, XX+t (22q 22q)の流産胎児を記載した。

G群のうち21トリソミーと22トリソミーの流産胎児はその形態が同じでない。Creasy, Crolla and Alberman (1976)によれば、21トリソミーの多くの例は外見的に正常な胚芽や胎児である。80mm に及ぶ胎児が2例みられ、いずれも外見上浸軟であるが、特に奇形は認められない。しかるに、22トリソミーをもつ27, 29, 30mmの3例は空胚嚢、正常胚子発育の悪い胎児である。このようにみると、21トリソミーの内容は21よりも崩壊異常の度が大きいようである。Carr (1971)の18報告から集約した結果をみると、Gトリソミー流産を検体したうち、25例中8例が外見的に正常で、その他は不完全な胎児が1例空胚嚢が5例である。

母親の年齢についてみると、Creasy, Crolla and Alberman (1976)の報告ではGトリソミー流産の母体の平均年齢は30.5歳(そのうち21トリソミーは30.8歳、22トリソミーは30.2歳)であり、Boué and Boué (1973)の調査では33.2(±1.4歳)である。いずれにしても母親の年齢が比較的に高いことは目立つ。Gトリソミー流産の頻度の高いこと、その母親の年齢の高いという傾向はD群の場合と同一である。G, D群染色体間には付随体連合が起こり易い。これも不分離の原因的要素と考えられる。端部型染色体のトリソミーの発生原因となる不分離が母体の年齢の増加に何等かの影響を受けている可能性は、ダウン症候群において年母齢が影響している事実からも考えられる(Kadotani, Katano and Yamaoka 1978)。

Kadotani, Katano and Yamamaoka (1978)は母体年齢の高いことから、卵母細胞に紡錘系の作用分裂に影響し、トリソミーの発生の原因となる不分離を導き、Gトリソミーの発生を高める結果となつたであろうとしている。

Niikawa, Merotto and Kajii (1977)はD群(No. 13, 14, 15)ならびにG群(No. 21, 22)に属する端

部動原体型染色体にQならびにRバンドに特異な個人的変異(多型)が存在することを発見した。その変異型をもつ染色体を目標として、33例のD, Gトリソミーの流産胎児とその父親と母親の細胞を検討して、トリソミーをなす端部型染色体が両親の減数分裂または受精後の卵分割のいずれかで不分離を起こしたかを追究した。その研究から、13トリソミー1例:21トリソミー3例:22トリソミー5例において、それぞれ(No. 13, 21, 22)の染色体が卵母細胞の第1減数分裂において不分離を起こした結果であること、1例の21トリソミーは卵母細胞の第2減数分裂(または第1回の卵分割)においてNo. 21の不分離によること、1例の13トリソミーでは細胞分裂における不分離に原因している事が判明した。母親の年齢は母方の第1減数分裂に原因した9例(13トリソミー1例:21トリソミー3例:22トリソミー5例)では平均31.1歳、母方の第2減数分裂に原因した21トリソミー1例では23歳である。ここに報告された11例のトリソミー流産のすべてが、母親の主に卵母細胞における染色体の不分離に原因していることは注目される現象である。

8) 重複型トリソミー

同一個体内において2型のトリソミーが存在するもので、染色体数は48である。例えばA群とG群の1染色体が重複トリソミーをなす場合は48, +A+C;またはXトリソミーとDトリソミーの重複は48, XXY+Dの如くである。Kadotani and Pergament (1967)は2例: Dhadiyal, Machin and Tait (1970)による2例: Kajii, Ohama, Niikawa, Ferrier and Avirachan (1973)による1例: Therkelsen, Jensen, Jonasson and Lamm (1973)による2例: Boué and Boué (1973)による16例など、計23例が報告されている(表1)。被検総数に対して0.6%(23/1,695)、染色体異常総数に対して1.4%(表2)、重複トリソミーの頻度は単純トリソミー群に比較して特に高いということはなく、A, B, F群などと共に低い値を示している(表4)。同一個体にみられる2種のトリソミーはそれぞれ無関係で、恐らくそれぞれ独立した2回の不分離に原因するものであろう。Boué and Boué (1973)の資料をもとにして重複トリソミーに関係している染色体群の分布をしてみると、A群(1例): C群(3例): D群(6例): E群(7例): G群(10例): Xトリソミー(3例)である。D, E, G群の率が高い母体年齢は35.0(±6.09)歳で、これは被検例が少ない結果と思われる(Boué and Boué (1973))。+E, +G(1例), +C, +E(1例), +D, +G(1例)でみられた所によれば、これらの流産内容物は空胚嚢か、極めて発育の悪い小さい胚子をもつ胚嚢であるが(Carr

(1971)), ただ 1 例 XXY+D は 20mm, 外見上正常に見える胎児をもっていた (Pergament and Kadotani 1969).

生きて産まれてくる重複トリソミーには XXY+G : XXY+18 : XXY+G : XXX+18 : X/XX+G : X/XX/XXX+G : +D+G : +18+G などが報告されている (牧野著 Human Chromosome 参照).

文 献

Arakaki, D. T. and Voaxman, S. H. : Chromosomal abnormalities in early spontaneous abortions, *J. Med. Genet.* 7 : 118-124, 1970.

Boué, D.H. and Boué, A. : Abnormalies chromosomique dans les avortements spontanees Syu. on chromosome errors in relation to reproductive failure Boué Ad Thibaült, C. (eds) *Inserm. Paris* : 29-56, 1973.

Boué, D. H. Boué, A, Deluchat, P. and Yvert, F. : Identification of C trisomy in human abortuses, *J. Med. Genet.* 12 : 265-268, 1975.

II. 人工流産

特に10週内外の妊娠初期における自然流産では40~60%に及び染色体異常率を示す (Carr 1971, Boué, Boué and Lazaar 1975, Creasy, Crolla and Albermann 1976). しかるに出生後の集団, すなわち新生児や成人の集団にみられる染色体異常の頻度ははるかに低く, 0.5%内外である (Court Brown, Buckton, Jacobs, Tough, Küenssbery and Knox 1966, Labs and Ruddle 1970, Jacols, Melville, Ratchiffe, Keasy and Syme 1974). 一般的に妊娠の15%は流産に終わり, その流産の平均28%は染色体異常である. このような事から考えて, 発生初期の胎児にはかなりの率で染色体異常が存在することが予測される. したがって精子あるいは卵子形成, 受精, 卵割, 着床, 胎児発育という発生段階において, 染色体の異常が個体の発育を障害し, 流産を誘発する染色体異常の重要な原因の一つとして環境要因や母体年齢などが考えられるが, その間の直接的な関連については不明のままに残されている主要研究課題である. 染色体の異常がどの程度まで個体の発育の障害となり, 異常に導くかを探る一つの手掛りを求めるために, 異常個体の調査をし, 染色体異常と表現型との関係を分析する研究は重要な意義をもつ. そのために発生の時期ならびに出生時における染色体異常個体の出現率, 異常の型, 胎齢別性比, 母体年齢と妊娠順位と異常個体の出現頻度などの基本的資料を求めることが必要である. これに関する研究の一つとして人工流産 (induced abortion) における染

色体分析がある.

1. 染色体異常の率

人工流産胎児の染色体を集団的に調べる仕事は1960年頃から始められ主に日本において行なわれた (Makino and Sasaki 1961, Makin, Kikuchi, Sasaki, Sasoki and Yoshida 1962, Yasuda, Masuda and Tomūra, Sasaki, Makino, Mūramoto, Ikeuch and Shima 1967, Sasaki and Makind 1971, Sasaki 1971). 1966年にWHOが集積した450例の人工流産ではその2%に異常が認められている (Geneve Conference 1966). 近年までに染色体研の行なわれた人工流産胎児は4,530余例にのぼる. Makino and Sasaki (1961), Sasaki, Makino, Muramoto, Ikeuchi and Shima (1967), Sasaki 1971), Yasuda and Neriishi (1971), Tomura, Sasaki and Yamada (1969), Kadotani, Ohama and Sato (1969), Carr (1971), Hahneman (1973), Kajii (1973), Yamamoto, Fujimori, Ito, Kamimura and Watanabe (1975), Yamamoto, Ito and Watanabe (1977), Yamamoto, Ito and Watanabe (1976) らの100例以上の例についてまとめた報告を表5にまとめた. それによれば4,139例の人工流産胎児の染色体が研究され, それには日本人の資料6例が含まれる. 最も手広い調査は Makin と Sakaki とその協力者による1961年以降のもので札幌からの1,060例を含む. そのうちには染色体異常9例 (モザイクを含む, そのうち5例は45, X), 常染色体トリソミー4例, DqDq 転座1例を含む (表5). Tonomura, Sasaki and Yamamoto (1969) は東京において609例の染色体を観察し, 11例 (1.8%) の異常個体 (45, X 3例およびDトリソミー) を報告 (表5) した. Kadotani, Ohama, Takakara, Kusumi and Makino (1972) は広島地区から185例を研究し, 異常個体は発見されていない. Yamamoto, Ito, Kamimūra and Watanabe (1975), Yamamoto, Ito and Watanabe (1976), Yamamoto, Ito and Watanabe (1977) は新潟地域において1,600例をしらべ, 77例 (7.1%) に各種のトリソミー, モザイク, 3倍体, 4倍体を報告している (表5).

Ford and Hamerton (1956) はイギリスオックスフォード地域から307例を研究し, 染色体異常は0であると報告している.

Hahneman (1973) はコペンハーゲンにおいて172例を研究し, 6例 (3.5%) の異常個体 (Cトリソミー, Eトリソミー, Gトリソミー各1例とモザイク2例) を報告している (表5).

Kajii (1973) はジュネーブ地域において618例をしらべ, 18例 (2.9%) の異常を報告している (表5). すなわち研究者によつて異常に関する研究結果はかな

表 5 人工流産における染色体研究 (被検例 100 以上の報告より)

研究者	研究した胎児数	染 色 体				
		正常胎児数	異常胎児		性*	
			数	%	♂	♀
Makino, Sasaki ら, 1961~1971	1,060	1,046	14	1.3	498	562
Tomomura ら, 1969	609	598	11	1.8	325	284
Yasuda ら, 1967	188	183	5	2.7	85	103
Kadotani, 1970	185	185	0	0	99	86
Ford ら (未)**	307	307	0	0	157	150
Kajii ら, 1973	618	600	18	2.9	290	328
Hahnemann, 1973	172	166	6	3.5	86	86
Yamamoto ら, 1975, 1976, 1977	1,000	929	71	7.1	516	484
計	4,139	4,014	125	3.02	2,056	2,083

* XOは女性; XXY, XXYY, XYY, そのモザイクなどは男性として扱う。 ** Kajii (1973) による

りの差はあるが、総計4,139例のうち125例に異常染色体が発見されているので、その率は30.2%となる。この率は新生児に発見されている率 (Hamerton, Ray, Affott, Williamson and Dūcase 1972) に比較すると5倍強である。Yamamoto, Ito, Kaminura and Watanabe (1975), Yamamoto, Ito and Watanabe (1976), Yamamoto, Ito and Wanabe (1977), Ford and Hamerton (1956) は直接法 (押しつぶし法) を用い、他は組織培養法によつて、異常胎児の組織は培養困難であるが、羊膜は培養においてよく発育することをみている。このような点にも染色体異常の変異の原因の一つがある。Yamamoto, Ito, Kamimura and Watanabe (1975), Yamamoto, Ito and Watanabe (1976) の研究は大部が絨毛膜によるもので、それが異常率の極めて高い一因をなすものようである。その他は胎児皮膚、胎児付属物の組織培養である。

2. 染色体異常の型

表5におげた報告から、染色体異常125例の染色体異常の型を表6にまとめた。異常の型は、常染色体異常が55例 (45.1%)、性染色体異常が34例 (27.9%)、モザイクが12例 (14%)、3倍体が14例 (11.2%)、高3倍体が1例、4倍体が1例などである。注目されるのはトリソミー個体の高率な点で常染色体群ではモザイクを含めてC, D, E, G トリソミーが多く、125例中22例 (25.6%) である点である。

また性染色体群ではモザイクを含めて, XXY, XXX, XXYY, XXXX がみられる。Xモノソミー (XO) も多く、17例 (14%) みられるが、これはターナー症候群として約1/3,000の出生率を示す染色体異常であり、それが胎児にも高率にみられることは意義がある。これらの

トリソミー, Xモノソミーは自然流産にも高率に現われる。

胎児の在胎期間 (妊娠齢) と母体の年齢を表7にまとめる。

日本の研究は妊娠齢の若い初期の胎児 (平均40~53日) においてみられるのに対し、ヨーロッパの資料は老齢胎児 (平均63~65日) から求められている。40歳以上の母親についてみると、Tomomura, Sasaki and Yamada (1969) は609名中19名の老齢の母親からの2例に、Yamamoto, Fujimoto, Ito, Kamimura and Watanabe (1975) は500名中20歳以上の母親からの胎児6例に、Kajii (1973) は618名中26例の老齢の母親から胎児3例に、それぞれ染色体異常を発見している。Yamamoto, Fujimoto, Ito, Kamimura and Watanabe (1973) によると母年齢24歳未満群における異常胎児は5.4%, 25~89週齢の異常胎児は3.0%, 30~34歳群の異常胎児は2.7%, 35~39歳群における異常胎児は9.7%, 40歳以上群で異常胎児は24.0%で、母親の老齢の増加と共に異常胎児の率が増加する傾向がみられるという。また、ここでトリソミー胎児が母親の老齢と共に高い率で現われる傾向もあつてトリソミーの原因である不分離と母年齢の増加との関連を示唆する事実がみられる。胎児の染色体異常の型ならびに母親の年齢との間で何等かの関係が存在するものようである。

Hahnemann (1973) は同様に母年齢の増加と共に染色体異常の率が増加する傾向があるとみている (30~34歳では5%, 40歳以上では27%)。

Fujimoto, Fuji and Ichinoe (1978) は老齢婦人よりの人工流産胎児314例の調査において母年齢の増加にしたがい、染色体異常胎児の率が増加することを報告した

表 6 人工流産児における染色体異常

研 究 者	染色体異常数	(計)	研 究 者	染色体異常数	(計)	
Makino, Sasaki ら, 1961~1971	45, X	5		46, XX/47, XX, +C	1	
	47, XXX	1		46, XX/47, XX, +C	1	
	45, X/46, XY	1		Yamamoto ら, 1975, 1976	45, X	6
	45, X/46, XX	1			47, XXY	10
	46, XY/47, XXY	1			47, XYY	1
	47, XX, +D	1			47, XXX	4
	47, XX, +17-18	1	47, XX, +D		2	
	47, XY, +21	1	47, XY, +D		3	
	45, XY, t(DqDq)	1	47, XY, +2		2	
	47, XY, +C	1	47, XY, +3		1	
		(14)	47, XX, +3		1	
			47, XX, +18		1	
Tonomura ら, 1969	45, X	3	47, XY, +18	3		
	47, XXY	1	47, XY, +16	1		
	47, XY, +D	1	47, XX, +16	2		
	47, XX, +17-18	1	47, XY, +21	1		
	47, XX, +G	2	47, XX, +21	2		
	47, XY, +G	1	47, XY, +G	3		
	46, XX, inv(2p-q+)	1	47, XX, +G	1		
	69, XXY	1	47, XX, +22	1		
		(11)	47, XX, +mar	1		
Yasuda ら, 1967	45, X	3	48, XX, +18, +G	1		
	47, XX, +D	2	46, XY/92, XXY	2		
Kajii, 1973	47, XX, +D	1	46, XX/69, XXX	1		
	47, XX, +18	1	46, XX/92, XXXX	2		
	47, XX, +G	4	46, XY/47, XX, +C	1		
	46, XX/47, XX, +G	2	46, XY/46, XY, r(D)	1		
	45, XX, t(DqDq)	1	46, XY/47, XY, +D	1		
	47, XX, +16	1	45, XX, -C/46, XX/ 47, XX, +C	2		
	47, XY, +22	1	45, XO/46, XY	4		
	69, XXY	5	69, XXY	3		
	69, XXX	1	69, XXX	1		
	46, XX, 9q-	1	71, XXY, +C, +G	1		
		(18)	92, XYY	1		
Hahnemann, 1973	47, XX, +C	2		(71)		
	47, XX, +E	1				
	47, XY, +G	1				

(35~39歳では4.4%, 40~44歳では9.6%, 45~48歳では26.6%)。

Yamamoto, Ito and Watanabe (1976) は妊娠5週間の若齢の胎児に、特に染色体異常出現率が高いことを注目した。6~11週の胎児では6~8%の染色体異常であるが、5週の胎児は25%の高率である。結論には更に多く資料が必要とされる。

上に述べたように、人工流産にみられる染色体異常の出現率は、研究者によつてかなりの変異がある(1.3~7.1%)。その原因については現在充分に理解されてい

いが、研究方法、研究材料の選択、材料の採集の範囲、母親の年齢など重要な要因があり、それらの支配を受けていることは明らかである。

3. 胎内性比

妊娠初期の胎児の性比(胎内における男女の比率)についてはWHO(1966)の調査では427例の流産胎児における性比は女100:男83となつている。表5にみられるようにその性比は女2,083:男2,056となつている。女性の比率がやや高く、女100:男98.7となる。胎生初期の性比については従来男性率が圧倒的に高いといわれて

表 7 人工流産胎児の母年齢, 妊娠順位別による性比

母年齢	妊 娠 順 位								合 計	
	1		2~3		4~6		7~23			
	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男
17~20	20	30	13	12	7	2	0	0	40	45
	150.0								112.5	
21~25	39	44	70	63	24	23	2	2	135	132
	112.8		90.0		95.8				97.7	
26~30	6	7	28	26	36	38	16	12	86	83
			92.8		105.5				96.5	
31~35	4	1	3	12	24	21	21	13	52	47
					87.5		61.9		90.3	
36~40	1	1	5	6	11	12	9	5	26	24
									92.3	
41~46	0	0	1	0	6	4	4	3	11	7
計	70	83	120	119	108	100	52	35	350	338
	118.5		99.1		93.5		67.3		96.5	

註: 太字は30例以上の群についての性比
(女100に対する男の割合) (Sasaki ら, 1971)

いる。Mikano (1969) は胎児 736 個体の性染色質の調査から女335: 男381の結果を得て、胎生初期(排卵後8~10週間)の若い胎児(体長20~45mm)では女性率が高く、10週以後になると男性率が高くなる傾向があり、染色質の調査だけでは結論がでないようである。この問題について Sasaki and Makino (1971) は染色体検査からの資料にもとづいて詳細な分析をしている。1,000例の人工流産胎児の染色体研究のうちから胎齢と組織由来の正確な737例を選び、胎齢別に性比を比較してみると、平均値は女100: 男90.4であるが、くわしく分析すると胎児の週齢が若いほど女が多く、すなわち最終月経の初日から数えた週齢9日以前の胎児には女性の率が高い(男79.7: 女100)。10週以後になると逆に男性率が高くなる傾向がある(男102.7: 女100)。すなわち9週と10週では性比が逆になる。最終的に平均すれば女100: 男90.4で女性の比率が高い。さらにこのうちから年齢と妊娠順位の判明している688例の資料を集計すると、表7に示す通り母の年齢が高くなるほど、また妊娠順位が高い程、胎児の女性率は高くなる傾向がみられる。たとえば17~20歳の母親からの妊娠順位1の胎児における性比は女100: 男150である。26~30歳の母親から妊娠順2~3の胎児にあつては女160: 男92.8となつて

いる。Yamamoto, Ito and Watanabe (1976) は609名中19名の老齡母親から胎児2例に、Tonomura, Sasaki and

Yamada (1969) は609名中に19名の老齡母親からの胎児2例に、Yamamoto, Fujimori, Ito, Kamimura and Watanabe (1975) は500名中40歳以上の25名の母親からの胎児6例に、Kajii (1973) は618名中26例の老齡母親からの胎児3例にそれぞれ染色体異常を発見している。Yamamoto, Ito, Kaminura and Watanabe (1975) よると母年齢24歳未満者における異常胎児は5.4%, 25~29歳群の異常胎児は9.7%, 40歳以上群における異常胎児は24%に及ぶという。母親の年齢の増加と共に異常胎児の率が増する傾向がみられるという。また、ここでトリソミー胎児が母親の年齢と共に高い率で現われる傾向もあつて、トリソミーの原因である不分離と母年齢との関連を暗示する事実がみられる。胎児の染色体異常の型ならびに頻度と母親の年齢との間には何等かの関係が存在するようである。

Hahnemann (1973) も同様に母年齢の増加と共に染色体異常の率が増加する傾向をみている(30~34歳では5%, 40歳以上では27%)。

Fujimoto, Tuji and Ichinoe (1978) は老齡婦人よりの人工流産児314例の調査において母年齢の増加に従い染色体異常胎児の率が増加することを報告した(35~39歳では4.4%, 40~44歳では9.6%, 45~48歳では26.6%)。

Yamamoto, Ito and Watanabe (1976) は妊娠5週間の若齡の胎児、特に染色体異常出現率が高いことに注目している。6~11週の胎児では6~8%の染色体異常であるに比べ、5週の胎児は25%の高率である。結論にはさらに多くの資料が必要である。

文 献

- Carr, D. H.: Chromosomes and abortions. In Harris, H. d Hirsehorn, K. (eds), *Advances in Human Genetics*. II (Ploum Press, N. Y.) pp. 201-257, 1971.
- Creasy, M. R., Creolla, J. A. and Alberman, E. D.: *Acytogenetical syudy of human spontaneous abortions, using banding technique*, *Hum. Genet*, 31: 177-196, 1976.
- Court Brown, W. M., Bruckton, K., Jacobs, P. A., Tough, I. M., Kuenssferg, E. V and Knox, J. D. E.: *Chromosome studies on adults*, *Eugenies Lab. Mem (Cambridg Univ. Press, London.)* No. 42: pp 1-91, 1966.
- Boué, J., Boué, A. and Lagar, P.: *Restropective and prospective epidemiological studies of 1,500 karyotyped spontaneous human abortions, teratology*, 12: 11-26, 1975.
- Lubs, H. A. and Ruddle, F. H.: *Application*

- of quantitative karyotype to chromosome variation in 44,000 consecutive norforms. In Jacobs, A. A. Price, W.H. and Law P. (eds), *Human Population Cytogenetics* (Edinburgh. Univ. Press. Edinburgh), pp. 199-142, 1970.
- Makino, S. and Sasaki, M.: A study of somatic chromosomes in a Japanese population, *Proc. Jap. Acad.*, 13 : 47-63, 1961.
- Ford, C. E. and Hamerton, J. L.: The chromosomes of man, *Nature*, 178 : 1020-1023, 1956.
- Jacobs, P. A., Melville, M., Ratcliffe, S., Keasy, A. J. and Syme, Y.: A cytogenetic survey of 11,680 newborn infants, *Ann. Hum. Genet.*, 37 : 359-376, 1974.
- Hahnemann, N.: Chromosome studies in induced abortions., *Clin. Genet.*, 4 : 328-332, 1973.
- Jacobs, P. A., Melville, M., Ratcliffe, S., Keasy, A. I. and Syme, Y.: A cytogenetic survey of 11,680 newborn infants, *Ann. Hum. Genet.*, 37 : 359-376, 1974.
- Makino, S. and Sasaki, M.: A study of somatic chromosomes in a Japanese population, *Amer. J. Hum. Gene.*, 13 : 47-63, 1961.
- Kadotani, T., Ohama, K. and Sato, H.: A chromosome survey in 71 couples with repeated spontaneous abortions and stillbirth, *Proc. Jap. Acad.*, 45 : 180-184, 1970.
- Hamerton, J. L., Ray, M., Abott, J., Williams, C. and Ducasse, G. C.: Chromosome studies in a neonatal population, *Canad. Med. Ass. J.*, 106 : 776-779, 1972.
- Kajii, T.: Chromosome abnormalities in induced abortions. In Boué, A and Thibault, C. (eds), *Chromosome Errors in Relation to Reproductive Failure* (Insem. Paris), pp. 57-66, 1973.
- Yamamoto, M., Ito, T., Kamimura, K. and Watanabe, G.: Chromosome studies in 500 induced abortions, *Humangenetik*, 29 : 9-14, 1975.
- Yamamoto, M., Fujimoto, R., Ito, I., Kaminuma, and Watanabe, G.: Chromosome studies in 500 induced abortions, *Humangenetik*, 29 : 9-14, 1975.
- Yamamoto, M., Ito, T. and Watsnabe, G.: Eine weitere Chromosomenanalyse bei Künstlichen Aborten, *Hum. Genet.*, 34 : 69-71, 1976.
- Carr, D. H.: Chromosome abnormalities in a case of spontaneous abortion, *Amer. J. Obst. Gynec.*, 97 : 288-293, 1967.
- Carr, D. H.: Chromosome studies in abortuses and stillborn infants. *Cancer*, 603-606, 1963.
- Carr, D. H., Law, E. M. and Ekins, J. G.: Chromosome studies in selected spontaneous abortions iv. Unusual cytogenetic disorders, *Teratology*, 5 : 45-56, 1972.
- Caspersson, T., Hulten, M., Johanssen, J. and Lindsten, T.: Translocation causing non-fluorescent Y chromosome in human XO/XY mosaics, *Hereditas*, 68 : 317-324, 1971.
- Creeasy, M. R., Crolla, J. A. and Alberman, E. T.: A cytogenetical study of human spontaneous abortions using banding technique, *Hum. Genet.*, 31 : 177-196, 1976.
- Clendenin, T. M. and Benirschke, K.: Chromosome studies on spontaneous abortions, *Lab. Invest.*, 12 : 1281-1291, 1963.
- Boué, J. and Boué, H.: Abnormalities chromosomique dans les avortements spontanés, Sym. on chromosome errors in relation to reproductive failure. In Boue, A. and Thibault, C. (eds) *Chromosome Errors in Relation to Reproductive Failure* (INSEM. Paris), 25-56, 1973.
- Boué, J., Boué, A. and Lazar, P.: Retrospective and prospective epidemiological studies of 1,500 karyotyped spontaneous human abortions, *Teratology*, 12 : 11-26, 1975.
- Fujimoto, S. and Ariga, S.: An improved double fixation method for the chromosomes of rabbit intratubal embryos, *CTS*, 18 : 3-4, 1975.
- Dhedral, R. K., Machin, A. M. and Tait, S. M.: Chromosomal abnormalities in spontaneously aborted human fetuses, *Lancet*, 11 : 20-21, 1970.
- Group, A.: Chromosomenuntersuchungen bei Spontanabortion, *Ver. Deutsh Gesell Patholog*, 51 : 275, 1967.
- Jacobsen, C. B. and Barter, R. H.: Intrauterine diagnosis and management of genetic defects, *Amer. J. Obst. Gynec.*, 99 : 796, 1967.
- Hall, B. and Kallen, B.: Chromosome studies in abortuses and stillborn infant, *Lancet*, 1 : 110-111, 1964.
- Kerr, M. and Rashad, M. N.: Chromosome studies on spontaneous abortions, *Amer. J. Obst. Gynec.*, 94 : 327-339, 1966.
- McFeely, R. H.: Chromosome abnormalities in early embryos of the pig, *J. Reprod. Fertil.*, 13 : 579-587, 1967.
- Ikeuchi, T., Sasaki, M., Kohno, S. et al.: Chromosome studies on spontaneous and threatened abortions, *Jap. J. Hum. Genet.*, 16 : 191-197, 1972.

- Makino, S., Awa, A. and Sasaki, M.: A preliminary study of the chromosome in spontaneous abortions, *Proc. Jap. Acad.*, 41 : 414-418, 1967.
- Niikawa, N., Merott, O. and Kajii, T.: Origin of acrocentric trisomy in spontaneous abortions, *Hum. Genet.*, 40 : 73-78, 1977.
- Ohama, K., Kusumi, I. and Ihara, T.: Trisomy 17 in two abortuses, *Jap. J. Hum. Genet.*, 21 : 257-260, 1977.
- Kakati, S., Nibull, M. and Sinha, A. K.: An attempt to establish trisomy 8 syndrome, *Humangenetik.*, 19 : 392-306, 1973.
- Makino, S., Awa, A. A. and Sasaki, M.: A preliminary study of chromosome in spontaneous abortion, *Proc. Jap. Acad.*, 41 : 414-418, 1976.
- Ohama, K. and Kajii, T.: Mixed cultures of fetus and adult lymphocytes, *Am. J. Obstet. Gynec.*, 19 : 552-556, 1974.
- Ohama, K., Kusumi, I. and Ihara, T.: Trisomy 17 in two abortuses, *Jap. J. Hum. Genet.*, 21 : 257-260, 1977.
- Maeda, T., Oheno, M., Ishibashi, A., Samejima, M. and Sasaki, K.: Ring Y chromosome 45 X/46X r (Y) chromosome mosaicism in a phenotypically normal male azoospermia, *Hum. Genet.*, 34 : 99-102, 1976.
- Kadotani, T. and Pergament, E.: Chromosome studies in abortions and mole (in Japanese), *Hiroshima J. Obst. Gynec.*, 6 : 36-50, 1976.
- Kadotani, T., Kanano, T. and Yamaoka, H.: A case of partial trisomy 22 without cat-eye stigmata, *Proc. Jap. Acad.*, 54 : 217-222, 1978.
- Kajii, T., Ohama, K., Niikawa, N., Ferrier, A. and Avirachan, S.: Banding analysis of abnormal karyotypes in spontaneous abortion, *Amer. J. Hum. Genet.*, 25 : 427-436, 1973.
- Mino, M., Kasubichi, Y. and Goto, O.: Chromosome 8 trisomy mosaic syndrome, *Jap. J. Hum. Genet.*, 21 : 69-78, 1976.
- Kondo, I.: Two cases of trisomy 8 mosaicism, *Jap. J. Hum. Genet.*, 21 : 5-11, 1976.
- Javert, C. T.: *Spontaneous and Habitual Abortion*, McGraw-Hill N. Y., 1957.
- Sulzman, A. E.: Chromosomal aberrations in spontaneous human abortions., *New Engl. J. Med.*, 272 : 811-818, 1965.
- Shiraishi, Y.: Some critical studies on the sister chromatid exchange in human chromosome, *Proc. Jap. Acad.*, 53 : 179-187, 1977.
- Tuneblick, E., Halicioglu, S. and Say, B.: Trisomy 8 syndrome, *Humangenetik*, 23 : 23-29, 1974.
- Penrose, L. S. and Delhanty, J. D. A.: Triploid cell culture from a macerated foetus, *Lancet* 1 : 1265-1262, 1961.
- Thied, H. A. and Metcaefe, S.: Chromosomes and human pregnancy wastage, *Am. J. Obst. Gynec.*, 96 : 1132-1138, 1966.
- Therkelsen, A. J., Jensen, O. M., Jonasson, J. and Lamm, J. B.: *Studies on spontaneous abortions.*, *Nobel Sym.*, 23 : 251-255, 1973.

(本稿は自著「染色体」1980医学書院刊に拠る)

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE NUMBER OF OVA SHED AND THE TIME OF SODIUM PENTOBARBITAL INJECTION IN SUPEROVULATION TREATED ADULT RAT

Satosi KAGABU

Laboratory Veterinary Reproduction, Faculty of Agriculture
Yamaguti University, Yamaguti-si, Japan

Abstract: The effect of sodium pentobarbital on superovulation rat were investigated. The number of ova shed increased only injected sodium pentobarbital on the time of "critical period" in the intact rat. In this study, suggesting that a sodium pentobarbital is effective to maintain the ability of follicles to ovulate via blockade LH surge.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 323-325, 1986)

Introduction

The author have reported that sodium pentobarbital increased drastically the number of ova in superovulation treated adult rats¹⁾. It suggested pentobarbital is effective to maintain the ability of antral follicles to ovulate at least until the day of expected estrus in PMSG treated rats since LH decrease the number of non-atretic follicles destined to ovulation.

The purpose of this study was to determine the influence of pentobarbital injection time on the number ova shed in rats in order to clear the mechanisms.

Materials and Methods

Experiment I

Wistar-Imamichi strain rats used were kept in lighting conditions of 14 h light (light on 5:00 a.m.)/24 h, and food and water provide ad libitum. Vaginal smears were taken daily between 7:00-9:00 a.m. to establish the reproductive state. The animals were maintained for two cycle before use.

Since preliminary results indicate that age was an important factor in superovulation²⁾, only females that aged 12 weeks at the time of PMSG treatment were used. At 9:00 a.m. on the day of metestrus, each female was intramuscular injected with 40 i.u. PM-

SG (Serotropin, Teikokuzoki) in 0.2 ml saline (0.85 g NaCl/l). On the day of proestrus at 8:00 a.m.-4:00 p.m. and on the day of estrus at 3:00 p.m., females in the experimental group were injected 4 mg/100 g B. W. sodium pentobarbital (Nembutal, Abbott Laboratory) intraperitoneally; the control were injected 0.2 ml saline. At 3:00 p.m. on the day of estrus, all females were intraperitoneal injected with 40 i.u. hCG (Gonotropin, Teikokuzoki) in 0.2 ml saline.

At 11:00 a.m. on the day of metestrus (i.e. 20 h after the hCG injection), all females were killed. Oviducts were removed and flushed, the contents were examined under a microscope at $\times 25$ magnification for the presence of ova in cumulus cells and for number of ova shed.

Experiment II

In order to determine "critical period" in the colony, injected sodium pentobarbital intraperitoneally various time on the day of proestrus and estrus, female was killed and observed ovulation as described for experiment I.

The data were analysed by F-test.

Results

Experiment I

As shown in Table 1, the highest ovulation occurred when the pentobarbital injection was

Table 1 Effect of sodium pentobarbital on the number of ova shed in superovulation treated adult rats

Injection time* of sodium pentobarbital		No. of rats ovulated/ rats examined	No. of ova shed (Mean \pm sem)
the day of proestrus	8 : 00 a. m.	10/10	42.7 \pm 7.1
	9 : 00 a. m.	10/10	60.2 \pm 5.9
	10 : 00 a. m.	10/10	55.6 \pm 7.5
	11 : 00 a. m.	10/10	70.1 \pm 10.6*
	11 : 30 a. m.	10/10	95.1 \pm 11.8*
	12 : 00 noon	10/10	101.6 \pm 13.7*
	1 : 00 p. m.	10/10	60.3 \pm 8.0
	2 : 00 p. m.	10/10	58.7 \pm 7.6
	3 : 00 p. m.	10/10	53.4 \pm 9.1
the day of estrus	4 : 00 p. m.	10/10	47.4 \pm 5.7
	3 : 00 p. m.	10/10	32.2 \pm 6.9
Saline**	12 : 00 noon	10/10	34.1 \pm 7.4

Rats kept under the lights being on for 14 h each day. "Midnight" on the colony time scale is the midpoint of the dark period. Rats were injected 40 i.u. PMSG i.m. at 9 a.m. on the day of metestrus, 40 i.u. hCG i.m. at 3 p.m. on the day of estrus and observed 23 h after hCG injection. Sodium pentobarbital 4 mg/100 g B.W. were injected i.p. *Significantly different from saline group, $p < 0.05$. ** Saline injected on the day of proestrus.

Table 2 Effect of sodium pentobarbital on ovulation in intact rats

Injection time*	No. of rats		
	blocked**	not blocked	
the day of proestrus	8 : 00 a. m.	0	10
	9 : 00 a. m.	0	10
	10 : 00 a. m.	2	8
	11 : 00 a. m.	4	6
	11 : 30 a. m.	9	1
	12 : 00 a. m.	10	0
	1 : 00 p. m.	5	5
	2 : 00 p. m.	1	9
	3 : 00 p. m.	1	9
the day of estrus	4 : 00 p. m.	0	10
	3 : 00 p. m.	0	10

Sodium pentobarbital 4 mg/100 b B.W. were injected i.p. and autopsied on the morning after prescriptive ovulation. * See the footnote of Table 1.

** Including partially blocked.

12 : 00 a.m. compared with 8 : 00 a.m.-10 : 00 a.m. and after 1 : 00 p.m. ($P < 0.05$).

Experiment II

Rats treated with pentobarbital at 12 : 00 a.m. on the day of proestrus ovulated more

eggs compared to another time of the injection (Table 2).

Discussion

Treated with 40 i.u. PMSG on metestrus,

large antral follicles expected ovulation which developed over "critical point"³⁾ show the peak on the day of estrus about 110 follicles¹⁾. HCG inject at the peak, however, the number of ova shed did not increase than injected at proestrus according to early method of superovulation treatment. In the study, demonstrated that sodium pentobarbital increased the number of ova shed drastically in superovulation adult rat which injected hCG on the peak. Therefore, must be clear that the effect of LH on the increasing the number of ova shed in such rat.

In the present study, the number of ova increased only injected sodium pentobarbital on the time of "critical period"⁴⁾ in the intact rats. The results might be supported by the study, which there is LH surge in PMSG-treated rats, although the LH levels are lower than intact rats⁵⁾. In the fact, exist LH surge in 40 i.u. PMSG-treated rat on the day of proestrus 300 ng/ml serum in the peak by radioimmunoassay⁶⁾.

On the other hand, there have been reported concerning the block of the LH surge by sodium pentobarbital on rat injected PMSG. It appears safe to conclude from the results describe in this paper that sodium pentobarbital injected on the time "critical period" is effective to increase the number of ova shed in superovulation rat. Suggesting that a sodium pentobarbital is effective to maintain the ability of follicles to ovulate via blockade LH surge. In general, LH leads a follicular lutenization, whereas follicular atresia are similar to the lutenization of the preovulatory follicles⁷⁾. The effect of sodium pentobarbital on increasing the number of ova shed may block to LH release. Absence of LH release the large follicles were rescued from lutenization without ovulation, nearly equal follicular atresia.

However, the mechanisms underlying these phenomena are not clear understood.

References

- 1) Kagabu, S.: Follicular response of adult rats to PMSG and effect of sodium pentobarbital on number of ova shed in superovulation treated rats. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, 29: 20, 1983.
- 2) Kagabu, S.: Morphometric study on the relationship between number of follicles and number of ova shed in superovulation treated rats. *Jpn. J. Fert. Ster.*, 28: 505, 1983.
- 3) Hirshfield, A. N. and Midgley, A. R. Jr.: Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biol. Reprod.*, 19: 597, 1978.
- 4) Everett, J. W. and C. H. Sawyer: A 24-hour periodicity in the "LH-release apparatus" of female rats, discussed by barbiturate sedation. *Endocrinology*, 47: 198, 1950.
- 5) Welschen, R.: Ovulation in adult rats after treatment with pregnant mare serum gonadotrophin during oestrus. *Proc. Spc. Endocrinology*, 48: Ixv, 1970.
- 6) Kagabu, S. and M. Umezū: The inhibition of LH discharge by pentobarbital administration in adult rats prining with PMSG. *Jpn. J. Fert. Ster.*, 29: 279, 1984.
- 7) Byskov, A. G.: Atresia, In "ovarian follicular development and function", Midgley, A. R. & Sadler, W. A. eds., p. 41-57, New York, Raven Press, 1979.

過排卵誘起処理成熟ラットにおけるペン トバルビタール塩の投与時期と排卵 数との関連性

山口大学農学部家畜臨床繁殖学教室

利 部 聰

ペントバルビタール塩を併用すると、過排卵誘起処理後の排卵数は100/ラットと増加する。この機序を解明するために、ペントバルビタール塩の投与時期を変え、排卵数がどのように影響されるかを調べた。その結果、ペントバルビタール塩を“臨界期”に投与した場合だけ排卵数が多く、増加には黄体形成ホルモンが介在していることが示唆された。

(受付: 昭和60年11月8日)

精索静脈瘤に関する実験的研究

Experimental Study on Varicocele in Rats

大阪医科大学泌尿器科学教室 (主任: 宮崎重教授)

荻 田 卓

Takashi OGITA

Department of Urology, Osaka Medical Collage, Osaka, Japan

(Director: Prof. S. MIYAZAKI)

ラットに手術操作を加え左睾丸静脈圧上昇モデルを作製した。この実験モデルについて、患側および健側の睾丸容量を測定し、それぞれの睾丸について光顕的並びに電顕的に組織学的検討を行った。

患側の睾丸容量は減少し、その程度は睾丸静脈圧が高いものほど高度であつたが、健側の睾丸容量には変化は認められなかつた。患側睾丸の精細管には空胞形成と精細胞数の減少がみられ、このような変化も睾丸静脈圧が高いものほど高度に認められた。健側睾丸にも同様な組織学的変化を認めたが、その程度は患側に比べて軽微であつた。また、高度に障害された精細管は睾丸内の一部分に限局して存在する傾向があつた。Sertoli cell や Leydig cell の微細構造にもその一部に変性所見が認められた。

本研究で認められた睾丸障害の程度は、常に患側が健側よりも高度であつたが、ヒト精索静脈瘤の睾丸組織に特徴的であるといわれる maturation arrest や sloughing などの所見はみられなかつた。従つて、ヒト精索静脈瘤の睾丸障害には睾丸の血液循環障害以外の要素も関与しているものと考えられた。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 326-341, 1986)

緒 言

精索静脈瘤が男性不妊症の原因となることはよく知られている。精索静脈瘤により精子輸送能が障害されるとする報告¹⁾もあるが、一般には睾丸の造精機能が障害された結果、乏精子症となり妊孕を妨げるといわれている。しかしながら、精索静脈瘤がどのような機序で睾丸に障害をもたらすかについては未だ解明されていない。

精索静脈瘤の病態生理の解明が困難な理由の一つとして、ヒトにおけると同じような静索静脈瘤を動物で作ることが難しいことが挙げられる。すなわち、ヒト以外の動物において精索静脈瘤の自然発生の報告はなく、また実験動物としてラット^{2,4)}、犬^{5,6)}、猿⁷⁾などに手術操作を行つて精索静脈瘤を作製した報告があるが、ヒトとこれらの動物とでは解剖学的に異なるため、いずれもヒト精索静脈瘤の実験モデルとしては適切なものではなかつた。

精索静脈瘤による睾丸の造精機能障害の機序について

は、(1) 睾丸の温度上昇説⁸⁾、(2) 腎静脈由来の睾丸毒性物質説⁹⁾、(3) 睾丸静脈圧の上昇による血液循環障害説¹⁰⁾などの仮説がある。これらのうち (1) に関しては、過去に実験的停留睾丸として多くの動物実験が行われ、研究が進められて来たが、(2) および (3) についての動物実験による研究は少ない。

そこで著者は、睾丸静脈圧の上昇と精索静脈瘤との関連性を明らかにする目的で、ラットを用いて睾丸静脈圧を人為的に上昇させて、睾丸に起こる変化を組織学的な面から検討した。

研究方法

1) 睾丸静脈圧上昇モデルの作製方法

実験に先立ち、生後6週令の Wistar 系雄ラットを用いて、左睾丸を中心とした静脈系の検索を行い、睾丸静脈圧を上昇させるための手術操作について検討した。Wistar 系雄ラットの左睾丸を中心とした最も一般的な静脈系は図1に示す如くである。左睾丸の静脈血は睾丸

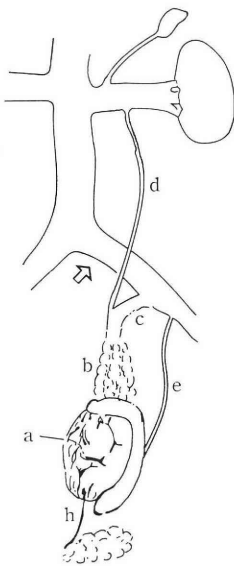


図 1 Wistar rat の左睾丸を中心とした静脈系

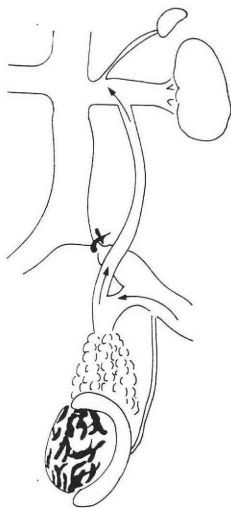


図 2 睾丸静脈圧上昇モデル

白膜下を走る睾丸静脈 (a) に流入し、ついで主として次の3つの径路を経て睾丸外へ流出する。すなわち、大部分の血液は plexus panpiniformis (b) に流入し、一部は精管静脈 (e) および精囊静脈 (h) に流入する。Plexus panpiniformis の血液はラットではヒトや犬と異なり、その大部分が (c) で示した静脈を経て総腸骨静脈に流入する。従つて、内精静脈 (d) に流入する血液は少量であり、内精静脈は非常に細い。そこで、このような睾丸静脈系のうち精囊静脈 (h) を切断した後、図2に示す如く左総腸骨静脈起始部を結紮すると左下肢の静脈血の一部は (c) を逆流して plexus panpiniformis

(b) に流入し、左内精静脈 (d) を経て左腎静脈に流入し、その結果急激な血液量の増加のため左睾丸静脈 (a) の内圧が上昇することがわかつた。このような手術操作を行つたものを左睾丸静脈圧上昇モデルとした。

2) 実験群

生後6週令の Wistar 系ラット15匹を用いて、その両側の睾丸静脈圧および睾丸容量を測定した後、前記のような方法で睾丸静脈圧上昇モデルを作製し実験群とした。これを3群に分け、7日後、28日後および56日後に再開腹して睾丸静脈圧を測定した後、ラットを屠殺して睾丸の容量測定並びに組織学的検討を行つた。同様な9匹のラットを用いてこれを3群に分け、左総腸骨静脈起始部の結紮以外はすべて実験群と同じ手術操作を行つたものを対照群とした。

3) 睾丸静脈圧の測定

28ゲージアトム翼付注射針を睾丸静脈 (a) の比較的大い分枝 (直径0.7~0.8mm) に挿入し、これを圧力計に接続して睾丸静脈圧を測定した。

4) 睾丸容積の測定

生理食塩水を入れた容器内に睾丸を侵し、増加した生理食塩水の量をもつて睾丸の容積とした。

5) 組織標本の作製

ラットを屠殺するに際して、予め5%グルタルアルデヒドを左心室から点滴注入して全身の灌流固定を行つた。次いで両側の睾丸を摘出し、これに縦切開を加えて二分し、一方を光顕標本に、他方を電顕標本に用いた。前者はブアン氏液で固定した後パラフィン包埋し、ヘマトキシリンエオジン染色を行つた。後者は2%グルタルアルデヒドと、オスミウム酸で二重固定後、上昇エタノール系列で脱水、エポン812で包埋して超薄切片を作製し、酢酸ウランとクエン酸鉛による二重染色を行い、日立H-500型透過電子顕微鏡により観察した。

結 果

1) 睾丸静脈圧

実験群および対照群における左右の睾丸静脈圧を、手術前、手術直後および再開腹時に測定した (表1)。

対照群においては、左右の睾丸とも手術前と再開腹時とで睾丸静脈圧の値に相違は認められなかつた。

実験群における左右の睾丸静脈圧の経時的推移を図3に示した。すなわち、左睾丸静脈圧は手術前は12.2±1.0cm saline であつたが、手術直後には19.9±2.8cm saline と上昇していた。再開腹時の値は7日群で14.4±1.2cm saline と手術直後に比しやや低下していたが、28日群では15.4±2.6cm saline, 56日群では14.9±1.9cm saline であり、手術前の値に比し高値を示してい

表 1 辜丸静脈圧 (cm saline)

		前		手術直後		再開腹時							
						7日後		28日後		56日後			
		左	右	左	右	左	右	左	右	左	右		
実験群	No. 1	12.0	13.0	19.8	14.2	14.4	13.8						
		2	10.4	10.2	15.2	11.0	12.6	9.8					
	7日群	3	12.6	12.8	19.4	12.2	15.2	13.0					
		4	10.8	12.2	16.4	11.8	13.8	11.8					
		5	13.0	14.2	23.0	15.0	16.0	15.4					
	28日群	6	12.0	12.4	21.4	12.6			15.6	11.8			
		7	11.4	12.0	16.4	12.2			11.8	12.0			
		8	13.0	13.6	21.6	15.0			14.6	14.0			
		9	12.2	13.4	20.4	14.6			15.4	13.6			
		10	13.6	11.0	25.0	10.2			19.8	11.0			
	56日群	11	14.0	12.8	23.6	13.6					16.0	14.6	
		12	12.2	9.6	19.0	9.6					16.2	10.6	
		13	11.4	11.8	17.6	11.4					13.4	11.4	
		14	11.6	11.6	17.4	11.4					12.0	14.2	
		15	12.2	12.8	22.2	12.8					17.0	14.4	
mean±S.D.		12.2 ±1.0	12.2 ±1.2	19.9 ±2.8	12.5 ±1.6	14.4 ±1.2	12.8 ±1.9	15.4 ±2.6	12.5 ±1.1	14.9 ±1.9	13.0 ±1.7		
対照群	7日群	1	12.4	12.6		12.4	12.4						
		2	12.8	12.8			14.2	12.8					
	28日群	3	11.2	11.8			10.4	11.4					
		4	13.6	14.2					13.4	14.4			
		5	11.4	10.8					13.0	11.4			
	56日群	6	12.2	12.6					10.6	12.2			
		7	11.0	11.6							13.8	14.0	
		8	10.8	10.6							11.4	13.2	
		9	10.8	10.8							10.8	13.0	
mean±S.D.		11.8 ±0.9	12.0 ±1.1			13.3 ±1.6	12.2 ±0.6	12.3 ±1.2	12.7 ±1.3	12.0 ±1.3	13.4 ±0.4		

た。右辜丸静脈圧は何れの群においても、また何れの時点でもほとんど変化がみられなかった。

2) 左内精静脈の変化

左総腸骨静脈起始部を結紮した直後から、左内精静脈は左下肢の静脈血を左腎静脈へ運ぶバイパスの役目を果たしている。したがって、再開腹時には実験群のすべてにおいて左内精静脈の拡張が認められた(図4)。

3) 辜丸容積

手術前と再開腹時に体重1kgあたりの副辜丸を含む辜丸容積を測定した(表2)。

対照群では sham operation 前、再開腹時とも左右の辜丸容積に差はなく、7日群、28日群、56日群と日数の経過と共に単位体重あたりの辜丸容積は減少した。

実験群の左辜丸容積は、7日群では7.8±0.4ml/kg B. W., 28日群では6.5±1.1ml/kg B. W., 56日群では6.7±0.8ml/kg B. W. であつて、何れも同時期の対照群の左辜丸に比しやや小さかつた。実験群の右辜丸容積は、7日群では8.7±0.4ml/kg B. W., 28日群では8.1±0.4ml/kg B. W., 56日群では6.9±1.7ml/kg B. W. であつて、対照群との間に有意差はなかつた。

次に実験群について、左辜丸静脈圧の変化と左右の辜丸容積との関係について検討したが、手術直後の測定値すなわち左辜丸静脈圧の最大値と再開腹時の左辜丸容積との間には負の相関(r=-0.52)が認められ(図5)、再開腹時の左辜丸静脈圧と左辜丸容積との間にはさらに強い負の相関(r=-0.71)が認められた(図6)。

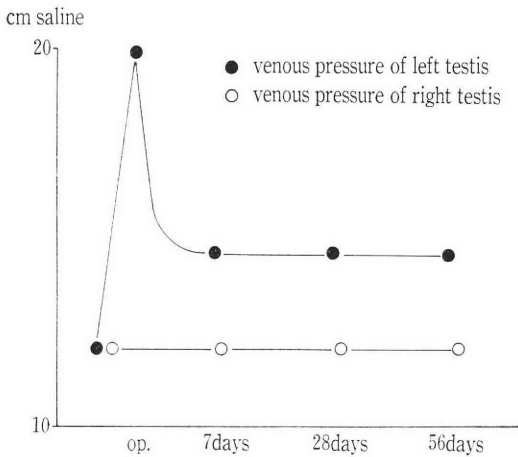


図 3 睾丸静脈圧の経時的推移

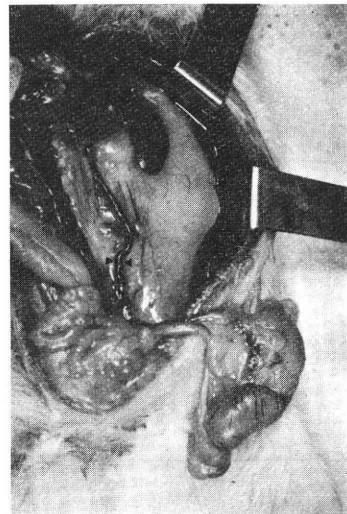


図 4 左内精静脈 (▶◀) の著明な拡張が認められる (実験群 No. 11, 56日後開腹)

一方、右睾丸容積と手術直後の左睾丸静脈圧との間には相関はみられず ($r=0.001$)、再開腹時の左睾丸静脈圧との間にも相関は認められなかった ($r=0.21$)。さらに、左睾丸容積と右睾丸容積との間にも相関は認められなかった ($r=-0.10$)。

4) 睾丸の組織学的所見

I. 光顕所見

a. 精細管

睾丸には数多くの精細管があり、健全な睾丸であつてもすべてが正常な精細管であるとは限らず、種々の細胞構成を示す異常精細管も存在している。本研究では睾丸組織像を客観的かつ正確に評価するために、観察した精細管を次に記す6種類に分類した。

Type I : full spermatogenesis を示す精細管 (図7-1)

Type II : late spermatid が出現し、maturation は良好であるが、明らかに精細胞数が減少している精細管 (図7-2)

Type III : young spermatid までの maturation は認められるが、late spermatid の認められない精細管 (図7-3)

Type IV : primary spermatocyte までの maturation は認められるが、spermatid は認められない精細管 (図7-4)

Type V : spermatogonia と Sertoli cell のみ認められる精細管 (図7-5)

Type VI : Sertoli cell のみ認められる精細管 (図7-6)

実験群15匹、対照群9匹のラットの両側睾丸の正中断

面において、比較的円形に近い最低180以上の精細管を観察し、6つの Type に分類してその出現頻度を百分率で示した (表3)。

対照群の睾丸は左右とも、また7日群、28日群、56日群とも各 Type の精細管の出現頻度に有意差はみられなかった。

実験群の左睾丸については、full spermatogenesis を示す Type I 精細管の出現頻度は7日群が最も低く、28日群、56日群と日を経るにしたがつて次第に増加するが、その出現頻度はいずれも対照群より低かつた。また、7日群では5匹のラット間で個体差がほとんどみられなかったが、28日群および56日群では個体差が著しく、特に28日群の No. 9, No. 10では Type I 精細管はほとんど認められなかった。

一方、高度に障害された Type VI 精細管は、実験群では対照群よりも明らかに多く出現していた。7日群におけるその出現頻度は2.7~6.9%であり個体差はあまりみられなかったが、28日群では0~58.9%であつて個体差が大きく、56日群でも28日群ほどではないがやはりその出現頻度に個体差がみられた。

Type V 精細管は28日群の No. 9, No. 10および56日群の No. 11, No. 13, No. 15に多く出現しており、Type V 精細管の出現頻度と Type VI 精細管の出現頻度との間には相関が認められた。

Type III ならびに Type IV 精細管は、ある程度まで精細胞の成熟が進行した時点で停止した状態、すなわち maturation arrest を示す精細管であるが、7日群の No. 4において Type III 精細管がやや多く出現している

表 2 辜丸容積 (副辜丸を含む) (ml/100g B.W.)

		前		再 間 腹 時						
				7 日 後		28 日 後		56 日 後		
		左	右	左	右	左	右	左	右	
実験群	No. 1	9.6	9.5	7.3	8.3					
		2	9.7	9.6	8.2	8.6				
	7 日 群	3	9.4	9.6	7.5	8.8				
		4	9.6	9.7	8.2	9.4				
		5	9.8	9.4	7.7	8.3				
	28 日 群	6	9.7	9.5			6.8	7.6		
		7	9.4	9.6			7.3	8.7		
		8	9.5	9.5			7.6	7.8		
		9	9.6	9.4			6.2	8.1		
		10	9.6	9.8			4.4	8.4		
	56 日 群	11	9.9	9.7					7.8	5.9
		12	9.8	9.6					6.3	7.8
		13	9.6	9.6					6.7	5.6
		14	9.4	9.6					7.4	5.3
		15	9.8	9.8					5.4	9.7
mean±S.D.		9.6±0.2	9.6±0.1	7.8±0.4	8.7±0.4	6.5±1.1*	8.1±0.4	6.7±0.8	6.7±1.7	
対照群	No. 1	9.5	9.4	8.6	8.7					
		2	9.5	9.4	8.7	8.7				
	7 日 群	3	9.8	9.9	8.6	8.8				
		4	9.6	9.6			8.4	8.3		
		5	9.7	9.6			8.4	8.0		
	28 日 群	6	9.6	9.4			8.3	8.4		
		7	9.8	9.8					7.3	7.1
	56 日 群	8	9.5	9.5					7.5	7.3
		9	9.7	9.8					7.4	7.4
mean±S.D.		9.6±0.1	9.6±0.2	8.6±0.0	8.8±0.0	8.4±0.0	8.2±0.2	7.4±0.1	7.3±0.1	

* P<0.05

以外は各群とも対照群に比し差がみられなかった。

実験群の右辜丸については、Type I 精細管は左辜丸におけると同様に 7 日群で少なく、28 日群、56 日群でやや増加していたが、対照群の同時期のものに比べると少なかった。また、同一群における個体差は左辜丸にみられるほど大きくなかった。Type VI および Type V 精細管は、28 日群の No. 9, No. 10, 56 日群の No. 11 においてやや多く出現していたが、その他は対照群に比して大差がなかった。Type III および Type IV 精細管は左辜丸におけると同様に 7 日群の No. 4 にやや多く出現していたが、その他は対照群に比して差がみられなかった。

以上の如く精細管を Type 別に分類して検討した結

果、実験群においては種々の障害精細管の出現がみられたが、いずれも辜丸内にびまん性に分布していたものではなく一部に限局して存在していた。特に Type V および Type VI 精細管のように高度に障害された精細管は、50ヶ以上の集団を形成しているものもみられた。このような障害領域は、辜丸の周辺部に出現することもあれば中心部に出現することもあり、その辜丸内分布については一定の傾向はみられなかった。

その他、辜丸にみられる特徴的な 2 つの所見、すなわち sloughing と vacuolation についても観察し検討を行った。Sloughing を示す精細管は、実験群、対照群とも辜丸の中心部では少なく、白膜に近い周辺部に多くみられ、またの軽度の maturation arrest を示す細精管

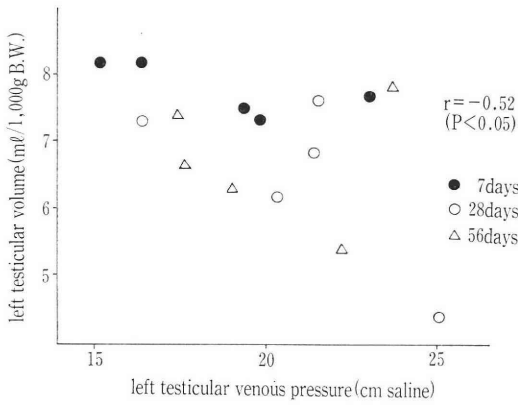


図 5 手術直後の左睾丸静脈圧と再開腹時の左睾丸容量との関係

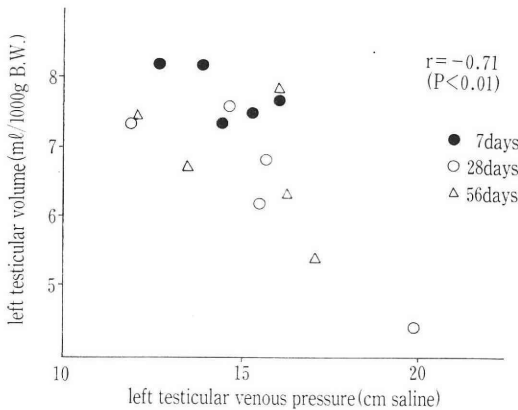


図 6 再開腹時の左睾丸静脈圧と左睾丸容量との関係

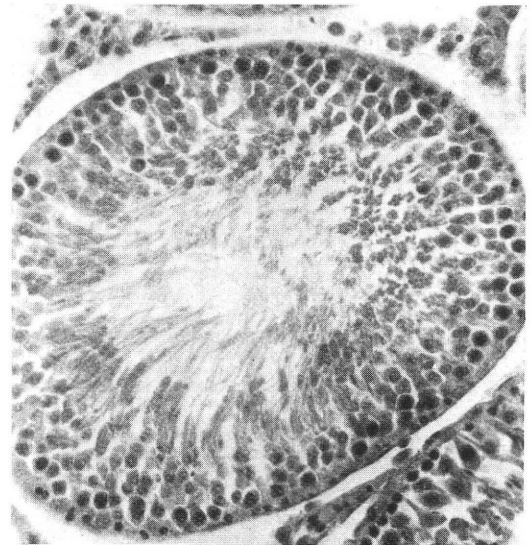


図 7-1 Type I 精細管
各成熟段階の精細胞が整然と並び、細胞数も多い

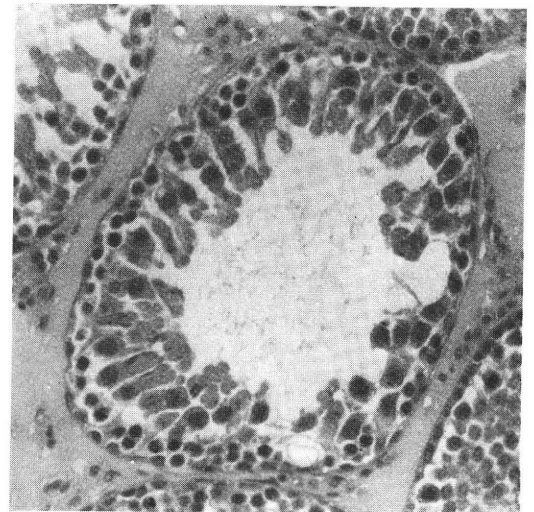


図 7-2 Type II 精細管
Late spermatid まで各成熟段階の精細胞が認められるが、細胞数は明らかに少ない。この標本では、精細管径の縮小、精細管壁の蛇行、精細管内空胞形成 (Vacuolation) が見られる

(Type III) に高度に出現していた(図8). Vacuolation (精細管内空胞) は full spermatogenesis を示す精細管 (Type I) から Sertoli cell のみが存在する精細管 (Type VI) にいたるまであらゆる段階の精細管に出現し、その空胞は高度に障害された精細管にみられるものの方が大きかった (図9-1, 図9-2).

Type III, Type IV, Type V, Type VI 精細管には late spermatoid は認められず精子形成が行われていない。このような精子無形成精細管の出現頻度ならびに vacuolation や sloughing の出現頻度と、これらの組織学的変化を引き起こす原因となつたと考えられる左睾丸静脈圧との関係について検討した結果を表4に示した。

実験群の左睾丸における精子無形成精細管の出現頻度と、手術操作直後の左睾丸静脈圧、すなわち急性一過性に負荷された静脈圧との間には相関がみられたが (r = 0.56), 再開腹時の左睾丸静脈圧、すなわち慢性的持続

的に負荷された静脈圧との間には更に高い相関 (r = 0.70) が認められた (図10).

実験群の右睾丸における精子無形成精細管の出現頻度と、手術直後の左睾丸静脈圧との間には相関が認められず (r=0.36), 再開腹時の左睾丸静脈圧との間にも相関が認められなかつた (r=0.33).

Vacuolation の出現頻度は、実験群の左睾丸では12.2

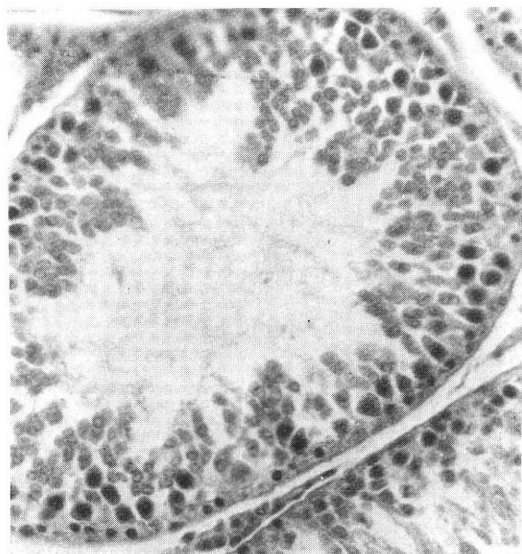


図 7-3 Type III 精細管
Young spermatid までの各成熟段階の精細胞が認められるが, late spermatid は認められない

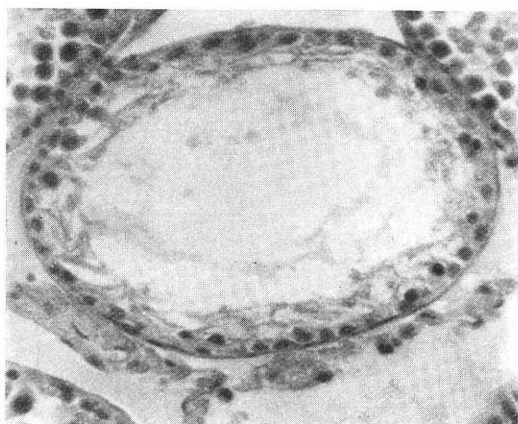


図 7-5 Type V 精細管
精細管内には Sertoli cell と少数の spermatogonia のみが認められる

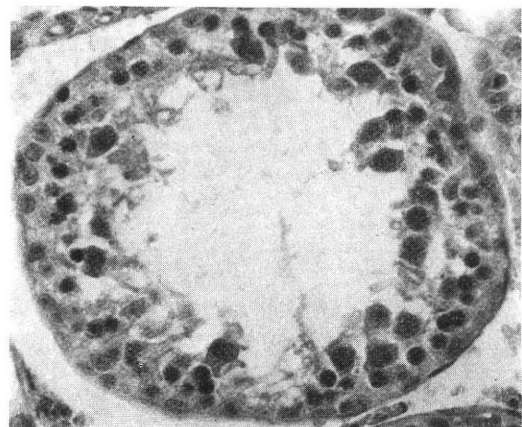


図 7-4 Type IV 精細管
Spermatogonia, primary spermatocyte は認められるが, spermatid は認められない

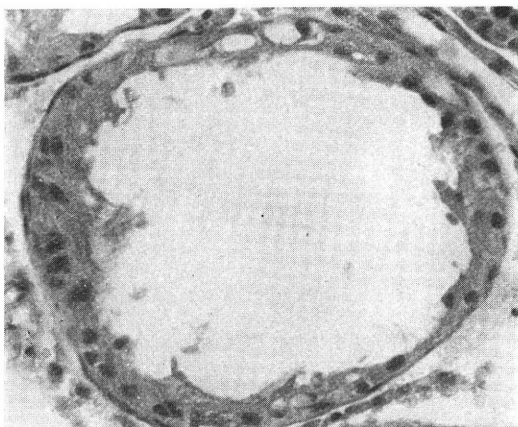


図 7-6 Type VI 精細管
精細管内には Sertoli cell のみ認められる

±0.7%と対照群の0.8±0.7%に比し明らかに高値を示した。実験群の右辜丸においても、その出現頻度は3.0±3.1%と対照群の0.9±0.6%に比しやはり高値を示した。

Vacuolation 出現頻度と左辜丸静脈圧との関係についてみると、手術操作直後の左辜丸静脈圧と左辜丸の vacuolation 出現頻度との間には正の相関(r=0.63)が認められ、再開腹時の左辜丸静脈圧と左辜丸の vacuolation 出現頻度との間にはさらに高い相関(r=0.75)が認められた(図11)。また、右辜丸の vacuolation 出現

頻度も左辜丸静脈圧と相関する傾向がみられた(r=0.49)。精子無形成精細管の出現頻度と vacuolation 出現頻度との間にも正の相関が認められた(r=0.49)。

Sloughing を示す精細管の出現頻度は、実験群対照群とも左右の辜丸においてほとんど差がみられなかつた。実験群の No. 5, No. 10 の左辜丸のように障害の強い辜丸においては、sloughing 出現頻度はむしろ低値であつた。Sloughing 出現頻度と他のパラメーター、すなわち左辜丸静脈圧、精子無形成精細管出現頻度および vacuolation 出現頻度との関係についても検討したが、いずれも相関は認められなかつた。

b. 間質

実験群については、前述の如く精細管に多様な変化を認めたのに対し、辜丸間質には著明な変化を認めたものは少なく、僅かに No. 9, No. 10, No. 11 の左辜丸、

表 3 精細管の type 別出現度 (%)

tubular type		I	II	III	IV	V	VI	
		左 / 右	左 / 右	左 / 右	左 / 右	左 / 右	左 / 右	
実験群	7 日群	No. 1	3.2/ 6.2	89.2/92.4	0.2/ 0.4	0.8/ 0.6	0.2/ 0.1	6.4/ 0.3
		2	9.2/ 7.2	84.2/89.6	0.1/ 0.3	0.9/ 0.4	0.3/ 0.1	5.3/ 2.4
		3	6.8/10.1	87.8/88.5	0 / 0.3	0.6/ 0.9	0 / 0.1	4.8/ 0.2
		4	5.9/ 6.3	84.2/88.8	2.6/ 3.3	0.4/ 1.1	0 / 0.3	6.9/ 0.2
		5	5.3/ 4.2	90.7/96.4	0 / 0.1	0.3/ 0.3	0 / 0	2.7/ 0.6
	—mean±S.D.	6.1±2.0/ 6.8±1.9	87.6±2.6/ 90.9±2.6	0.6±1.0/ 0.9±1.2	0.6±0.3/ 0.7±0.3	0.1±0.1/ 0.1±0.1	5.2±1.5/ 0.7±0.8	
	28 日群	6	15.8/12.6	80.4/83.6	0.2/ 0.2	0.6/ 0.6	0 / 0.2	3.2/ 0.8
		7	17.5/11.8	78.9/85.0	0.2/ 0	0.8/ 0.8	0 / 0.1	2.6/ 2.2
		8	19.2/16.8	80.4/80.6	0.1/ 0.1	0.3/ 0.6	0 / 0	0 / 1.9
		9	1.1/14.8	63.6/80.8	0 / 0.1	0.4/ 0.4	15.0/ 0.4	18.9/ 3.5
		10	0 / 0.6	11.6/83.0	0 / 0	0 / 0.2	27.6/ 2.8	58.9/ 3.4
	—mean±S.D.	10.7±8.4/ 13.3±2.2	63.2±26.1/ /82.6±1.7	0.1±0.1/ 0.1±0.1	0.4±0.3/ 0.5±0.2	8.9±11.9/ 0.7±1.1	16.7±22.1/ /2.4±1.0	
	56 日群	11	11.1/ 9.5	58.1/86.8	0 / 0.3	0.2/ 0.5	21.7/ 0	10.0/ 3.0
		12	7.9/ 8.2	88.2/90.4	0.3/ 0.1	0.3/ 0.6	0.1/ 0.1	3.2/ 0.6
		13	21.2/11.4	67.5/86.8	0.1/ 0.2	0.1/ 0.1	3.2/ 0	7.9/ 1.5
14		30.5/25.6	69.1/73.6	0 / 0.3	0.4/ 0.3	0 / 0.1	0 / 0.1	
15		5.7/18.2	80.9/79.8	0.3/ 0.3	0.1/ 0.4	6.8/ 0.2	6.2/ 1.1	
—mean±S.D.	15.3±9.3/ 14.5±6.5	72.8±10.6/ /83.5±6.0	0.1±0.1/ 0.2±0.1	0.2±0.1/ 0.4±0.2	6.4±8.1/ 0.1±0.1	5.5±3.5/ 1.3±1.0		
対照群	7 日群	No. 1	27.8/19.6	71.3/79.3	0.1/ 0	0.6/ 0.8	0.1/ 0.1	0.1/ 0.2
		2	19.6/20.5	81.0/78.7	0.1/ 0.2	0.2/ 0.4	0 / 0	0 / 0.2
		3	22.4/18.6	76.8/80.3	0.4/ 0.3	0.4/ 0.4	0 / 0.2	0 / 0.3
	—mean±S.D.	23.3±3.4/ 19.6±0.8	76.4±4.0/ 79.4±0.7	0.2±0.1/ 0.2±0.1	0.4±0.2/ 0.5±0.2	0.0±0.0/ 0.1±0.1	0.0±0.0/ 0.2±0.0	
	28 日群	4	20.0/18.5	77.7/80.4	0.2/ 0.1	0.3/ 0.4	0.6/ 0	1.2/ 0.6
		5	16.8/17.0	82.5/81.1	0.2/ 0.3	0.5/ 0.5	0 / 0.3	0 / 0.8
		6	25.4/22.2	74.1/77.0	0.1/ 0.3	0.1/ 0.3	0.1/ 0.1	0.2/ 0.1
	—mean±S.D.	20.7±3.5/ 19.2±2.2	78.1±3.4/ 79.5±1.8	0.2±0.0/ 0.2±0.1	0.3±0.2/ 0.4±0.1	0.2±0.2/ 0.1±0.1	0.5±0.5/ 0.5±0.3	
	56 日群	7	32.0/24.6	64.7/71.4	0.2/ 0.2	0 / 0.6	2.2/ 1.1	2.8/ 2.1
		8	21.2/28.6	77.3/70.4	0.3/ 0.1	0.1/ 0.4	0.6/ 0.2	0.6/ 0.4
		9	25.1/30.5	73.7/68.5	0 / 0	0.4/ 0.5	0.2/ 0.2	0.7/ 0.3
	—mean±S.D.	26.1±4.6/ 27.9±2.5	71.9±5.3/ 70.1±1.2	0.2±0.1/ 0.1±0.1	0.2±0.2/ 0.5±0.1	1.0±0.9/ 0.5±0.4	1.4±1.0/ 0.9±0.8	

No. 10の右辜丸において間質細胞数の軽度増加を認めただにすぎなかった。これらの例ではいずれも間質細胞は集落傾向を有しており、びまん性に増加していたものはみられなかった(図12)。

血管に関しては、内皮細胞の数、血管壁の厚さなどについて観察したが、実験群と対照群との間に相違はみられなかった。

II. 電顕所見
a. 精細管壁

本研究では Lancy & Rotbalt¹¹⁾ の分類に従い、精細管壁を次の4層に分類した。

1. Inner noncellular layer

内層

 (basal lamina)

中間層

外層
- (内非細胞層)
2. Inner cellular layer (内細胞層)
3. Outer noncellular layer (外非細胞層)
4. Outer cellular layer (外細胞層)

精細管壁に電顕的に著明な変化を認めたものは、光顕



図 8 Sloughing

分類の Type V, Type VI 精細管であつた. Type I 精細管には異常所見は認められず, Type II, Type III, Type IV 精細管においても精細胞数が比較的多いものでは特徴的な所見は見出されなかつた.

精細胞が極端に減少あるいは消失した精細管(図13)では, Sertoli cell の細胞質と basal lamina との間に $0.01 \sim 0.5\mu$ の間隙が認められ, basal lamina には著しい蛇行がみられた. 内非細胞層の中間層は泡沫状の物質で占められ, 内非細胞層の外層は不明瞭な部分が多く, その一部は消失していた. 内細胞層の細胞質は電子密度が高く, 少数のミトコンドリアが見られた以外, 細胞内小器官は認められなかつた. また, vesicle が認められたが, その数は対照群に比し少なかつた. 外非細胞層は basal lamina に比し周期の小さい蛇行を示し膨化が著明であつた. 外細胞層の電子密度はやや高く, リボン状に幅の広い部分と狭い部分とがみられ, その内側には外非細胞層の蛇行に沿った凹凸が認められた.

b. Sertoli cell

実験群において, 睾丸の左右別や再開腹の時期にかかわらず, Type I, Type II, Type III, Type IV 精細管内の Sertoli cell の細胞内小器官には特に異常は認められなかつた. 脂肪滴は Type I 精細管では核の $1/3 \sim 1$ 倍程度の大きさのものが多く, 核の近くに位置するものが多かつたが, 精細胞の減少した Type II 以上の精細管では脂肪滴の数が多く, Type I より小さいものも見られ, さらにこれらの脂肪滴は核より離れた位置にも認められた.

一方, Type V, Type VI 精細管の Sertoli cell には以下のような所見がみられた (図13, 14). すなわち,

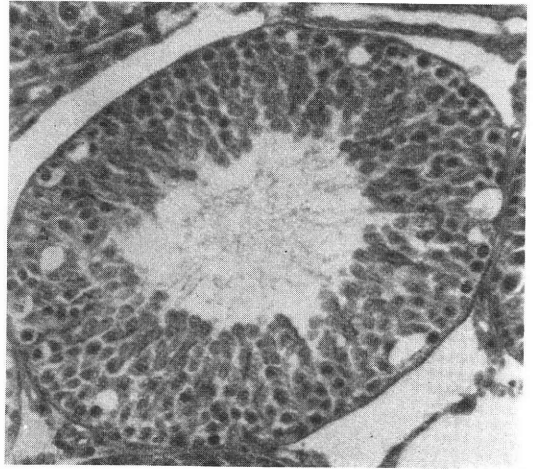


図 9-1 Vacuolation (Type I 精細管)

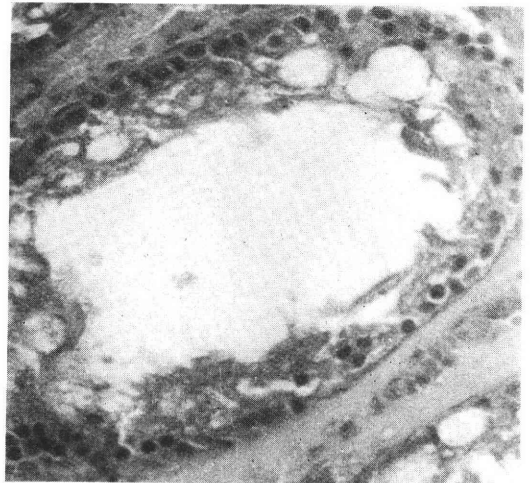


図 9-2 Vacuolation (Type V 精細管)

対照群に比べ, 粗面小胞体は減少し代わつて大小不同の空胞が多く認められた. ミトコンドリアは電子密度の低いものが多く, ゴルジ装置は認められなかつた. 脂肪滴は小さいものが数多くみられた. 精細管壁と接している細胞膜にはしばしば infolding がみられた. また, すべての精細胞が消失している精細管においも spermatozoa が Sertoli cell の細胞質内に認められた (図14).

c. 間質

光顕所見の項で述べたように, 実験群においては高度に障害された精細管は一定の領域に集まつて存在しており, その領域は睾丸の周辺部のこともあり, また中心部のこともあつた. すなわち, 一つの睾丸の中に, 正常領域と異常領域とが混在した状態であつたが, これを電顕的に観察すると, 正常領域の間質には特に異常所見はみ

表 4 左辜丸静脈圧と両側辜丸の病理組織学的特徴

		左辜丸静脈圧 (cm saline)		異常精細管出現度 (%)			
				No-Spermatogenesis (III+IV+V+VI)	Vacuolation	Sloughing	
		手術直後	再開腹時	左 / 右	左 / 右	左 / 右	
実験群	No.	1	19.8	14.4	7.6/1.4	7.1/0.3	3.1/2.4
		2	15.2	12.6	6.6/3.2	8.3/2.8	1.6/1.9
	7日群	3	19.4	15.2	5.4/1.5	13.3/0	2.2/3.8
		4	16.4	13.8	9.9/4.9	8.2/3.0	2.6/3.1
		5	23.0	16.0	3.0/1.0	28.0/2.8	0.9/2.7
	28日群	6	21.4	15.6	4.0/1.8	3.2/1.1	2.4/3.0
		7	16.4	11.8	3.6/3.1	0.6/0.6	2.2/1.6
		8	21.6	14.6	0.4/2.6	5.1/2.2	1.3/1.2
	56日群	9	20.4	15.4	34.3/4.4	31.1/8.6	3.0/2.0
		10	25.0	19.8	88.5/6.4	31.0/8.2	0.2/4.2
		11	23.6	16.0	31.9/3.8	2.5/9.8	1.8/1.8
		12	19.0	16.2	3.9/1.4	12.7/2.1	1.9/3.0
	56日群	13	17.6	13.4	11.3/1.8	0.2/2.0	2.2/3.3
		14	17.4	12.0	0.4/0.8	0.1/0.8	3.0/1.8
		15	22.2	17.0	13.4/2.0	14.0/0.6	1.8/2.9
mean±S.D.				10.2±18.4/2.7±1.6	12.2±10.0/3.0±3.1	2.0±0.8/2.6±0.8	
対照群	No.	1	12.4		0.9/1.1	1.9/2.1	4.1/2.2
		2	14.2		0.3/0.8	0.6/0.3	3.2/1.6
	7日群	3	10.4		0.8/1.2	0.1/0.3	1.4/1.4
		4	13.4		2.3/1.1	1.7/1.7	2.2/1.9
	28日群	5	13.0		0.7/1.9	1.1/1.3	1.7/3.5
		6	10.6		0.5/0.8	0 /0.6	2.8/1.9
	56日群	7	13.8		5.2/4.0	0 /0.2	3.6/3.2
		8	11.4		1.6/1.1	0.8/0.6	1.4/2.6
		9	10.8		1.3/1.0	1.0/0.8	4.3/2.9
mean±S.D.				1.5±1.4/1.4±1.0	0.8±0.7/0.9±0.6	2.7±1.0/2.4±0.7	

られず、異常領域の間質に次のように所見が認められた。すなわち、実験群の左右辜丸において開腹時期に関係なく Type V, Type VI 精細管が集合している領域の間質では Leydig cell の著しい変性が認められた (図 15)。核は縮小し、不整形の切れ込みがみられ核膜は不明瞭であった。細胞質は電子密度が高く層状構造をなし、空胞が多数みられた。また Leydig cell の特徴の一つである脂肪滴は対照群に比し著しく少なかった。

考 按

ヒト精索静脈瘤における辜丸機能障害の発生機序に関しては温度説、毒性物質説および循環障害説の3つの説が主なものである。ヒト精索静脈瘤に対して陰のうの皮膚温を温度プレートやサーモグラフィーを用いて測定し

た報告^{12,13)}によると、患側の皮膚温は正常よりも高く、対側の皮膚温もやや高いといわれ、また最近では深部体温測定器を用いて辜丸温度測定を行った報告¹⁴⁾もみられ、精索静脈瘤においては辜丸の温度が上昇していることが一般にほぼ認められている。

辜丸の温度上昇を伴う他の代表的な疾患としては停留辜丸が知られている。両側停留辜丸では一般に無精子症となることが多く、片側停留辜丸の場合にも停留側辜丸においては組織学的に精子形成が認められないのに対し、精索静脈瘤の辜丸では両側とも比較的軽微な精子形成の障害像がみられるに過ぎない。この両者の相違は、停留辜丸が腹腔内温度に近い温度環境にあるのに対し、精索静脈瘤の辜丸では正常辜丸よりも僅かに高い程度の温度環境にあることから一応の説明はできるが、精索静

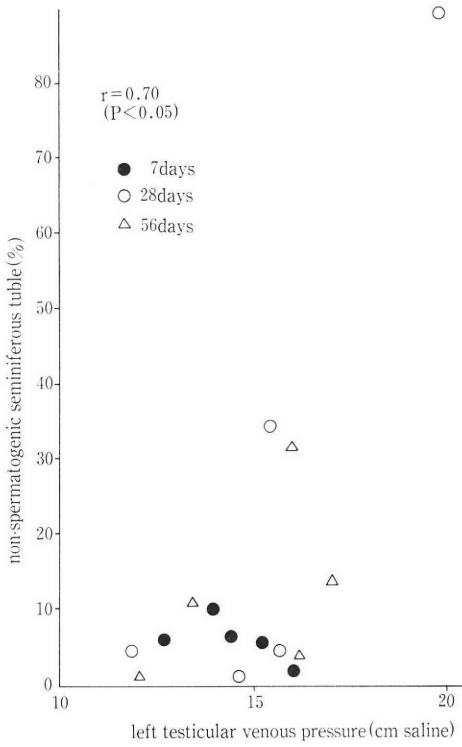


図 10 再開腹時の左睾丸静脈圧と、左睾丸における精子形成を行っていない精細管の出現度との関係

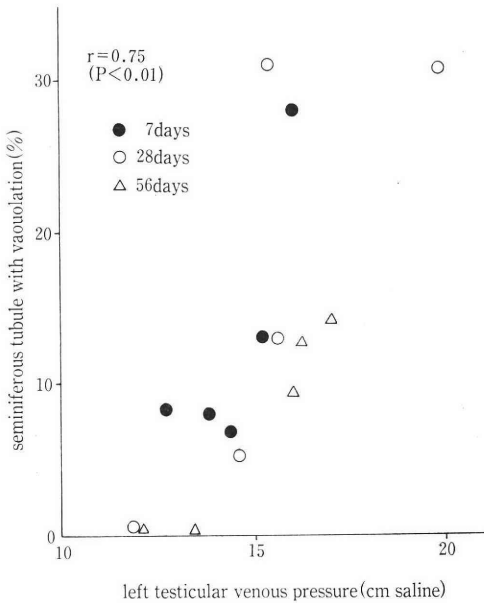


図 11 再開腹時の左睾丸静脈圧と左睾丸における Vacuolation 出現度との関係

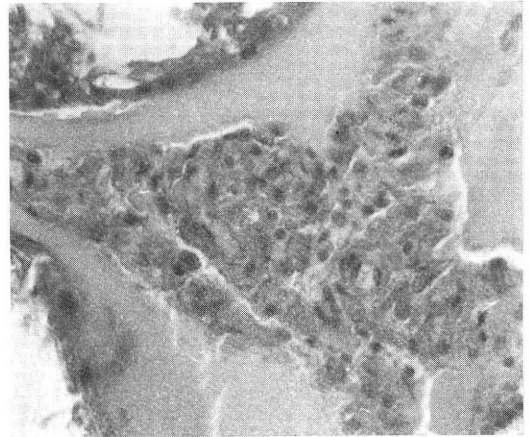


図 12 増加した間質細胞

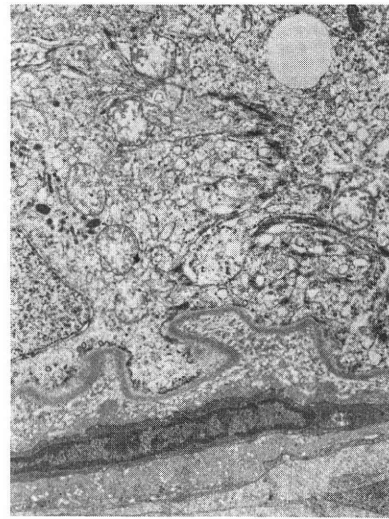


図 13 蛇行した精細管壁と Sertoli cell (No. 4 ラット左睾丸 Type VI 精細管) $\times 12,000$

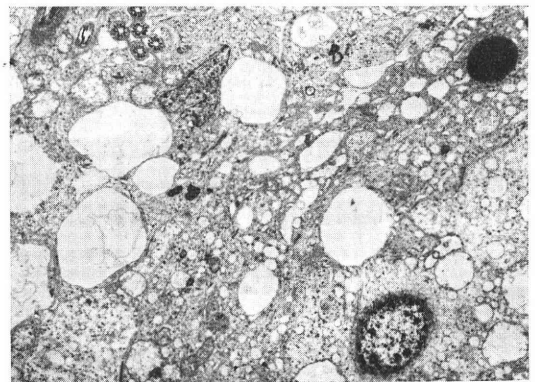


図 14 Sertoli cell (No. 4 ラット右睾丸 Type VI 精細管) $\times 7,000$

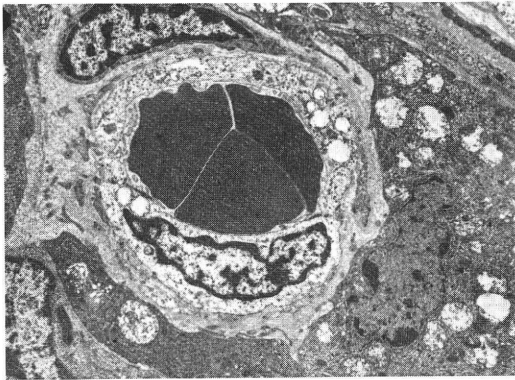


図 15 間質 (血管と間質細胞) (No. 4 ラット左
辜丸) $\times 8,700$

腺瘤における造精機能障害には温度説以外の要因も関与している事を否定できない。

精索静脈瘤における造精機能障害に関しては、左腎静脈血中に高濃度に存在する物質が左内精静脈を経て左辜丸近位の静脈に逆流し、その結果左辜丸の機能が障害されるといういわゆる毒性物質説があり、毒性物質としてはコルチゾール¹⁵⁾、カテコラミン¹⁶⁾、プロスタグランジン¹⁷⁾などが報告されている。いずれも腎静脈血中の濃度は動脈血中の濃度よりも高く、精索静脈瘤患者においては辜丸近位の静脈血中にも高濃度に存在し、これらの物質が辜丸に対して何らかの影響を与えている可能性も否定できない。しかし、これらの物質が対側の辜丸に影響を及ぼすためには、左右の辜丸の静脈系に交通があることが必要である。しかし一般には、左右の辜丸の静脈系はそれぞれ独立しているとされており、精索静脈瘤における対側辜丸障害の機序を毒性物質説のみから説明するには無理があると思われる。

精索静脈瘤は内精静脈系の静脈内圧が上昇した結果 plexus pampiniformis が異常に拡張した状態であり、静脈血のうっ滞のため患側辜丸には慢性的な血液循環障害が生じていると考えられる。精索静脈瘤患者の plexus pampiniformis から血液を採取して、ガス分圧¹⁸⁾やピルビン酸などの代謝物質¹⁹⁾を測定することによって辜丸の低酸素状態を証明しようと試みた報告もみられる。

辜丸の血液循環が障害されるとどのような精液所見を呈するのか、内分泌環境がどのように変化するのか、またどのような病理組織学的変化をきたすのかなどについては現在まだ明らかにされていない。辜丸血流の急激な低下をきたす疾患としては精索捻転があるが、慢性的な辜丸の血液循環障害は疾患として確立されていない。高齢になると全身に動脈硬化性病変が進行し、辜丸にも慢性血液循環障害が起こるものと考えられるが、生殖年齢

を過ぎた男性において辜丸機能が低下し、妊孕力が低下しても、このこと自体は治療を要するものではなく、内分泌環境の変化も同時に進行するため、老人辜丸にみられる変化が慢性血液循環障害のみによるものであるとはいえない。また、辜丸の循環血流量を測定する検査法が開発されていないことも、この問題の解明を困難にしている理由の一つとなっている。この意味において、精索静脈瘤は青壮年男性の辜丸に慢性血液循環障害を来す疾患として興味深いものであるが、精索静脈瘤における血液循環障害も患側辜丸にのみ生じるものであり、対側辜丸の病的変化を説明することは困難である。

本研究においては実験群の患側辜丸の静脈圧は手術後著明な上昇を示した。しかし、経過とともに左内精静脈などの側副路が発達し、それに伴って静脈圧は次第に低下し、7日目以後では一定の値となつたが、なお対照群よりは高値を示した。すなわち、手術直後に患側辜丸に急性循環障害が起り、時間の経過とともに程度は軽いが持続性の慢性循環障害へ移行したものと考えられる。

実験群のすべてのラットにおいて、患側辜丸の容量は対照群のそれに比し減少していた。静脈圧の高いものほど辜丸容量は減少していたが、手術直後の静脈圧よりも再開腹時の静脈圧とより高い相関を示した。すなわち、辜丸の容量は急性循環障害の程度よりも続発する慢性循環障害の程度によって強く影響されるものと思われる。また、辜丸の容量と後に述べる辜丸の組織学的所見との関係については、容量の小さい辜丸ほど精細胞数の減少した精細管の出現頻度が高く、辜丸容量の減少は主に精細胞数の減少によるものと思われる。

辜丸は多くの精細管が集合した臓器であり、たとえ健全な辜丸であってもその中には正常な精細管ばかりではなく、種々の程度の障害精細管がかなり含まれている。したがって、一つの精細管断面において得られた所見を記すだけでは辜丸全体を正しく評価することが出来ない。ヒト辜丸の組織学的評価法としては Johnsen の score count 法²⁰⁾などが提案されており、これらが広く利用されているが、ラットの辜丸に関しては適当な評価方法は報告されていない。そこで本研究においては精細胞の数と成熟度を基準として、次に記すような精細管の Type 別分類を行い、その出現頻度をしらべることによって辜丸組織像を客観的に評価することにした。

Type I 精細管とは精細胞数が多く成熟度も正常ないわゆる full spermatogenesis を示す精細管である。実験群における Type I 精細管の出現頻度は両側の辜丸とも 7 日群が最も低く、28 日群、56 日群と日を経るにしたがつて徐々に高くなるが、同時期の対照群に比べると低値であつた。すなわち、手術操作によって患側辜丸に急

性循環障害が惹起された結果、多くの精細管において精細胞数が減少したものと考えられ、時間の経過につれて辜丸静脈圧が次第に低下するのに伴ってこれらの障害された精細管の一部が再び回復して full spermatogenesis の状態になったものと考えられる。

Type II 精細管とは、Type I 精細管に比べて精細胞の数は少ないが成熟度は正常な精細管である。したがって、spermatogenesis は行われているものと考えられ、対照群の辜丸においてはこの Type の精細管の出現頻度が最も高かった。

Type III および Type IV 精細管とは精細胞の成熟が不十分な、いわゆる maturation arrest の状態の精細管である。Maturation arrest はヒト精索静脈瘤における辜丸の病理組織学的特徴の一つであるという報告²¹⁻²³⁾もあるが、本研究においては maturation arrest の Type III ならびに Type IV 精細管の出現頻度は実験群でも対照群でもほぼ同様の出現頻度であった。

Type V および Type VI 精細管は高度に障害された精細管である。一般に辜丸が熱、薬剤、内分泌環境の変化、あるいは放射線などによつて高度の障害を受けると、その原因の如何に拘らず精細管からほとんど精細胞が消失することが知られている。Sertoli cell only tubules はあらゆる障害に共通した精細管障害の最終像といふことができる。今回の実験結果では Type V ならびに Type VI 精細管の出現頻度は、実験群の患側辜丸では 7 日群、28 日群、56 日群のいずれにおいても高値を示した。また、各群における個体差は 7 日群では小さく、28 日群および 56 日群では大きかった。この理由としては、7 日群では手術によつて惹起された急性循環障害の影響が大きいため辜丸全体にほぼ一様な障害像がみられたのに対し、28 日群および 56 日群ではこれに続く慢性循環障害の程度に差があるため、辜丸組織像にも個体差が現われたものと思われる。すなわち、左内精静脈などの側副路の発達が良好なものでは辜丸静脈圧は低下し高度障害型精細管の出現頻度は低いが、高い静脈圧が持続するものでは高度障害型精細管の頻度が高いものと考えられる。

辜丸の組織学的所見から得られたデータを処理する際に、データの組み合わせ方法によつて辜丸の『組織学的障害度』を数量的に表現する試みがなされている。本研究で行った精細管の Type 別分類においては、Type I と Type II 以外の精細管には late spermatid が認められず、少なくとも観察した断面においては spermatogenesis が行われていない。これら精子無形成精細管の出現頻度は辜丸の造精機能を知る一つの有力な『組織学的障害度』の指標である。著者の実験結果から、患側辜丸

の精子無形成精細管の出現頻度は辜丸静脈圧特に再開腹時の静脈圧と高い相関が認められた。これは辜丸の組織障害が一過性の急性循環障害よりも持続する慢性循環障害の程度に依存するところが大きいためと考えられる。

未熟な精細胞が精細管腔に脱落する現象は sloughing と呼ばれ、これはヒト精索静脈瘤の辜丸において特徴的な所見の一つであるといわれている^{24,25)}。しかし、本研究では sloughing 精細管の増加はみられず、その出現頻度と辜丸静脈圧との間に相関は認められなかった。

一方、精細管内に生じた空胞性変化 (vacuolation) はラットでは Vit. A 欠乏時などに出現²⁶⁾、ヒトでは ADRENO-LEUCODYSTROPHY の症例などに出現する²⁷⁾ことが知られている。いずれの場合も、辜丸が正常に发育した後に何らかの障害が加わつたものであり、停留辜丸や Kallman 症候群などのような先天異常では認められない。また、ヒト精索静脈瘤においても vacuolation を特徴的な所見とする報告はみられない。本研究において vacuolation は実験群患側辜丸に多く認められ、電顕的観察によつて Sertoli cell の胞体内に存在することが確認された。Vacuolation 精細管の出現頻度は辜丸静脈圧と相関しており、循環障害によつて vacuolation が生じたものと考えられる。また、7 日群ではその出現頻度がほぼ一様であつたのに対し、56 日群では個体差が大きかつたことから、慢性循環障害が高度なものではさらに vacuolation を形成しつつ精細胞数の減少が進行したものと考えられた。

高度障害型精細管は辜丸内の一部に限局して存在する傾向が認められたが、これは辜丸の中に血流の停滞が著明な部分と軽度な部分とが混在していたためと考えられる。ヒト精索静脈瘤においても今回の実験結果と同様に、辜丸の一部に障害領域が限局しているという報告²⁸⁾もあるが、精索静脈瘤を伴う辜丸の生検は通常その一部をしらべるに過ぎないためその詳細については不明である。

次に、本研究における健側辜丸の病理組織学的所見を要約すると、まず 7 日群では Type I 精細管の減少、Type V および Type VI 精細管の増加、vacuolation 精細管の増加が認められたことである。これらの所見は患側辜丸に認められた所見に比しその程度は軽かつたが、患側辜丸における同様に血液循環障害が起つたことが示唆される。しかし、手術直後の患側辜丸静脈圧と健側辜丸の組織学的障害の程度との間に相関はみられず、健側辜丸の組織像は改善の方向に向かうことから、患側辜丸静脈圧が健側辜丸に直接影響を及ぼしていないものと考えられる。おそらく総腸骨静脈結紮という手術操作によつて右心房への静脈血還流量が減少し、一過性の血

圧低下が起こったため健側辜丸にも影響が現われたのではないかと推察される。

電顕的観察においては、光顕的観察における Type VI 精細管のような高度障害型精細管とその周囲の間質に、本実験に特徴的と思われるいくつかの所見が観察された。すなわち、Sertoli cell の細胞質と精細管壁との間に間隙が認められ、basal lamina および外非細胞層は著しく蛇行し、内非細胞層の中間層は拡大していた。これら一連の変化は、手術によつて急激に発生した血液循環障害によるものと思われる。精細胞が最初に虚血の影響を受けるため精細管内圧が下降し、精細管壁に蛇行、分離が生じ、さらに精細管内圧の下降が進んだ結果、精細管壁と Sertoli cell との間に剝離が起こつたものと思われる。この状態は間質から精細管内への物質輸送にとつて著しく不利な状態であり、また精細管壁より剝離した Sertoli cell の細胞質には粗面小胞体の減少や空胞形成が認められ、細胞としての viability が低下していることが窺われ、これらの精細管は早晚壊死におちいるものと考えられる。

ラットの辜丸間質には血管内皮細胞の他に Leydig cell と clear cell が存在する。本実験においては各群を通じて、Type VI 精細管が密集した障害領域の間質細胞に異常所見が認められた。すなわち、胞体の明るい clear cell を除く他の細胞は正常の Leydig cell に比し核の縮小と不整形化、空胞の多発、脂肪滴の減少などの所見が認められ、アンドロゲン産生能の低下が疑われた。しかしこのような変性所見は、軽度から中等度に障害された精細管の周囲の Leydig cell には認められなかつた。したがつて、精細管内における精細胞の減少や Sertoli cell の変性は Leydig cell の機能低下に伴う精細管内のアンドロゲン濃度の低下によつてもたらされたものではなく、血液循環障害の直接的な影響によるものと思われる。

ヒト精索静脈瘤における辜丸障害の病理組織学的特徴は、精細胞の maturation arrest と精細管腔内への sloughing であると一般にいわれている。左右の辜丸の障害の程度に関しては、患側も健側も同様であるという報告²⁹⁾もあるが、健側辜丸の障害の程度は患側に比し軽度であるという報告³⁰⁾もあり、未だ一定の見解に達していない。本研究はラットを用いて、ヒト精索静脈瘤の有する一つの要素である片側の辜丸静脈圧上昇モデルを作製してその影響を両側辜丸についてしらべたものであるが、辜丸の病理組織学的特徴は精細胞数の減少と Sertoli cell 胞体内の vacuolation であつて、ヒト精索静脈瘤の辜丸の組織像とは明らかに異なつていた。また、左右の辜丸の障害の程度は患側が高度であつたのに対し、健

側では軽度であつて、それも手術侵襲による一過性のものであり、患側辜丸に発生した血液循環障害が健側辜丸に影響を与えたのではないかと考えられた。以上から、ヒト精索静脈瘤における辜丸障害に血液循環障害が関与している可能性は十分考えられるが、緒言で述べたような循環障害以外の要因も大きく関与しているものと考えられる。

結 語

- 1) ラットの左辜丸静脈圧を上昇させることによつて、患側辜丸に急性循環障害およびそれに続く慢性循環障害が惹起された。
- 2) 患側辜丸の容量は減少し、その程度は循環障害の程度と相関していたが、健側辜丸の容量には変化が認められなかつた。
- 3) 患側辜丸の精細管には vacuolation および精細胞数の減少が認められ、その程度は循環障害の程度と相関していた。健側辜丸においても軽度の vacuolation および精細胞数の減少が認められたが、これは手術侵襲によるものと考えられた。
- 4) 高度に障害された精細管は辜丸内の一部に限局して存在し、高度に障害された領域においては Sertoli cell および Leydig cell の微細構造に退行性変化が認められた。
- 5) 本研究におけるラットの辜丸障害の組織学的特徴はヒト精索静脈瘤の組織学的特徴とは異なつており、ヒト精索静脈瘤における辜丸障害には血液循環器障害以外の要素も大きく関与しているものと考えられた。

稿を終るにあたり、御懇意な御指導、御校閲を賜つた恩師宮崎重教授に深甚なる謝意を捧げます。暖かい御助言を頂いた高崎登助教授に深く感謝致します。そして実験中終始御指導を頂いた大阪医科大学第 2 内科三好博文博士に心より感謝の意を表します。

(本論文の要旨は第 27 回日本不妊学会学術総会において報告した。なお、本研究の一部は文部省科学研究費 57770973 号および 59771118 号によつた。)

文 献

- 1) Shafik, A., Khalil, A. M. and Saleh, M.: The fasciomuscular tube of the spermatic cord. Brit. J. Urol., 44: 147, 1972.
- 2) Green, K. F., Turner, T. T. and Howards, S. S.: Varicocele: Reversal of the testicular blood flow and temperature effects by varicocele repair. J. Urol., 131: 1208, 1984.
- 3) 柳 重行, 寺田為義, 片山 喬: ラットにおける実験的精索静脈瘤の辜丸に及ぼす影響, 日本

- 不妊会誌, 29 : 97, 1984.
- 4) Carmignain, G., Tedde, G. and De Stefani, S.: Experimental varicocele in the rat-A new experimental model. I. Effect on testicular structure. *Urol. Res.*, 11 : 195, 1983.
 - 5) Al-Juburi, A., Prankoff, K., Dougherty, K. A., Urry, R. L. and Cockett, A. T. K.: Alteration of semen quality in dogs after creation of varicocele. *Urology*, 13 : 535, 1979.
 - 6) Saypol, D. C., Howards, S. S., Turner, T. T. and Miller, E. D., Jr.: Influence of surgically induced varicocele on testicular blood flow, temperature, and histology in adult rats and dogs. *J. Clin. Invest.*, 68 : 39, 1981.
 - 7) Kay, R., Alexander, N. J. and Baugham, W. L.: Induced varicoceles in rhesus monkeys. *Fertil. Steril.*, 31 : 195, 1979.
 - 8) Zorogniotti, A. W. and MacLeod, J.: Studies in temperature, human semen quality, and varicocele. *Fertil. Steril.*, 24 : 854, 1973.
 - 9) Comhair, F. and Vermeulen, A.: Varicocele sterility: cortisol and catecholamines. *Fertil. Steril.*, 25 : 88, 1974.
 - 10) Shafik, A.: Venous tension patterns in cord veins. II. After varicocele corelation. *J. Urol.*, 129 : 749, 1983.
 - 11) Lancy, D. and Rotblat, J.: Study of normal and irradiated boundary tissue of the seminiferous tubules of the rat. *Exp. Cell Res.*, 21 : 49, 1960.
 - 12) Korman, M., Kahanpaa, K., Svinhufvnd, U. and Tahti, E.: Thermography of varicocele. *Fertil. Steril.*, 21 : 558, 1970.
 - 13) Goblyos, P., Vydra, G. and Szabolcs, I.: Liquid crystal thermography of the testicles in the diagnosis of infertility. *Eur. J. Radiol.*, 2 : 246, 1982.
 - 14) 山口政俊, 馬場良和, 磯山理一郎, 原田宏行, 藤澤章二, 瀧原博史, 酒徳治三郎: 精索静脈瘤患者における睾丸部深部温測定について, 日本アンドロロジー学会第4回学術大会講演抄録集: 80, 1985.
 - 15) Mobley, D. F.: Left spermatic vein cortisol in subfertile men with varicocele. *Urology*, 3 : 461, 1974.
 - 16) Cohen, M. S., Plaine, L. and Brown, J. S.: The role of internal spermatic vein plasma catecholamine determinations in subfertile men with varicoceles. *Fertil. Steril.*, 26 : 1243, 1975.
 - 17) Ito, H., Fuse, H., Minagawa, H., Kawamura, K., Murakami, M. and Shimazaki, J.: Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients. *Fertil. Steril.*, 37 : 218, 1982.
 - 18) Donohue, R. E. and Brown, J. S.: Blood gasses and pH determinations in the internal spermatic veins of subfertile men with varicocele. *Fertil. Steril.*, 20 : 365, 1969.
 - 19) Ibrahim, A. A., Hamada, T. A. and Moussa, M. M.: Effect of varicocele on sperm respiration and metabolism. *Andrologia*, 13 : 253, 1981.
 - 20) Johnsen, S. G.: Testicular biopsy score count-A method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*, 1 : 2, 1970.
 - 21) Spera, G., Alei, G., Coia, L., Benigni, R., Montagna, G., Gonnelli, S., Morgia, C. and Giordano, R.: Histological lesions in the testis of infertile men with varicocele. *Arch. Androl.*, 2 : 335, 1979.
 - 22) 広川 信, 岩本晃明, 岩崎 皓, 佐藤和彦, 松下和彦, 朝倉茂夫: 精索静脈瘤の臨床的研究: 睾丸生検像からみた精子形成能について, 日本不妊会誌, 27 : 83, 1982.
 - 23) Etriby, A., Girgis, S. M., Hefnawy, H. and Ibrahim, A. A.: Testicular changes in subfertile males with varicocele. *Fertil. Steril.*, 18 : 666, 1967.
 - 24) Cockett, A. T. K., Al-Juburi, A., Altebarmakian, V., Vergamini, R. F. and Caldameone, A. A.: The varicocele: New experimental and clinical data. *Urology*, 15 : 492, 1980.
 - 25) Okuyama, A., Koide, T., Itatani, H., Sonoda, and Miyagawa, M.: Pituitary-gonadal function in schoolboys with varicocele and indications of varicolectomy. *Eur. Urol.*, 7 : 92, 1981.
 - 26) Krueger, P. M., Hodgen, G. D. and Sherins, R. J.: New evidence for the role of the Sertoli cell and spermatogonia in feedback control of FSH secretion in male rats. *Endocrinology*, 95 : 955, 1974.
 - 27) Powers, J. M. and Schauburg, H. H.: The testis in adreno-leucodystrophy. *Am. J. Pathol.*, 102 : 90, 1981.
 - 28) Verstoppen, G. R. and Steeno, O. P.: Varicocele and the pathogenesis of the associated subfertility. A review of the various theories. II. Results of surgery. *Andrologia*, 9 : 293, 1977.

Experimental study on varicocele in rats

Takashi Ogita

Department of Urology, Osaka Medical
College, Osaka, Japan
(Director: Prof. S. Miyazaki)

A new type of experimental left varicocele was created in the adult rat by ligation of the left common iliac vein. Venous stasis of the left testicle seen in human varicocele was induced to rats. High venous pressure of the left testicle developed immediately after the operation, and decreased gradually but remained high. The volume of the left testicle was reduced and

the number of germinal cells lessened. In addition, vacuolized seminiferous tubules were formed. However, "maturation arrest" and "sloughing" reported as typical findings in human varicocele were never seen. The winding tubular wall and the loss of attachment between the tubular wall and Sertoli cell cytoplasm were observed under the electron microscope. On the other hand, in the right testicle decrease of the number of germinal cells and formation of vacuolized seminiferous tubules were recognized as well, but the degree of these histological changes was quite little.

In conclusion, venous stasis might play a certain role in provoke testicular damage, but perhaps other factors are also involved in the principal pathogenesis of human varicocele.

(受付: 昭和60年12月25日特掲)

ELASTIC TISSUE IN THE SEMINIFEROUS TUBULAR WALL IN THE TESTES FROM PATIENTS WITH IDIOPATHIC MALE INFERTILITY

Koji MIYAKE, Masanori YAMAMOTO, Junichi HASHIMOTO
and Hideo MITSUYA

Department of Urology, Nagoya University School of Medicine,
65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, Japan

Abstract: The structure and distribution of elastic tissue were studied in the seminiferous tubular wall in the testes from patients with idiopathic male infertility. For light microscopic identification of components of the elastic system, resorcin-fuchsin staining technique was used. For the electron microscopic visualization of elastic tissue, 3 % glutaraldehyde in 0.1 M sodium cacodylate, pH 7.4, containing 0.25 % tannic acid fixatives were used. Elastic fibers (patches of amorphous material surrounded by bundles of fibrotubules) were observed in almost all intercellular spaces of the seminiferous tubular wall in normal control testes. However, such elastic components were decreased and demonstrable only in the outermost layers of the seminiferous tubular wall in idiopathic male infertile testes. (Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 342-347, 1986)

Introduction

In the course of recent advances in andrology, it has become recognized that testicular dysfunction is one of the most important etiologies in reproductive failure. Such recognition has led urologists to make histological and histopathological studies on testicular tissues obtained from male infertile patients by means of the accepted technique of testicular biopsy^{1,2)}. As a result of these studies, microscopic observations of the state of spermatogenesis and of interstitial cells and fibers have been correlated with various types of testicular dysfunction^{3,4)}. With the onset of testicular dysfunction in idiopathically infertile men, progressive changes in various histologic structures of the seminiferous tubules and interstitial tissues have been noted. These changes include a decline in the diameter of seminiferous tubules with decreased numbers of germinal cells, an apparent increase in the amounts of collagen fibers and microfibrils in tubular walls, multiple lamellar formation of the lamina densa of the seminiferous basement membrane and a relative in-

crease in the amounts of cells and fibers in the interstitium^{5,6)}.

In the present study we have attempted to investigate, at the light and electron microscopic level, the structure and distribution of the elastic tissue in the seminiferous tubular wall in the testes from patients with idiopathic male infertility.

Materials and Methods

Testicular tissues were obtained by means of the accepted biopsy technique (Charny's method)^{1,2)} from testes of six control individuals (aged 30-37, individuals having undergone vasectomy) and from those of nine patients with different grades of idiopathic male infertility (aged 24-36). The tissue specimens biopsied were fixed in a Carnoy's solution, dehydrated, paraffin-embedded, sectioned and deparaffinized according to standard procedures. For light microscopic identification of components of the elastic system, resorcin-fuchsin staining technique (Weigert staining) was used⁷⁾. Other sections were stained with H-E and Azan-Mallory. For the electron microscopic visualization of elastic tissue, 3 %

glutaraldehyde in 0.1 M sodium cacodylate, pH 7.4, containing 0.25 % tannic acid fixatives were used (2 hrs)⁸⁾. Tissue blocks were post-fixed in 2 % osmium tetroxide, dehydrated in ethanol and embedded in Epon 812. Ultrathin sections were cut on a Porter-Blum ultramicrotome and stained doubly with uranyl acetate and lead citrate. All the stained sections were examined in a transmission electron microscope and pictures were taken at original magnifications of 10000 to 30000 times.

Results

Fig. 1 shows the light microscopic finding of normal testis (H-E stain). Fig. 2 shows the Azan stain of normal testis. In this section, thickened tubular wall was not recognized. Fig. 3 shows the Weigert stain of normal testis. The elastic fibers appeared as wavelike thin fibrils staining dark violet with resorcin-fuchsin. These circular fibers surrounded the tubules completely or partially and occurred in all layers of the seminiferous tubular wall. Fig. 4 shows the electron micrograph of elastic fibers in the seminiferous tubular wall in normal testis. At the ultrastructure level, two components could be identified: fibrotubules (oxytalan fibers) approximately 10 nm in diameter and an amorphous material, identified as elastin. The diameter of elastin varied between 14 and 211 nm⁹⁾. The elastic fibers appeared as patches of amorphous material surrounded by bundles of fibrotubules. The amorphous material formed elongated structures of globular units, among the fibrotubules. In this photograph, distinct difference between the collagen fibers and the elastic fibers was disclosed. Large arrow head shows the patches of elastin surrounded by fibrotubules between myoid cell and fibrocyte. Small arrow head indicates the collagen fiber. In some cases of normal testes the elastic fibers closely related to myoid cells were observed (Fig. 5). When elastic fibers surrounded myoid cells, no basement membrane-like material could be observed. In the testes of control individuals, the elastic fibers were recognized in almost all intercellular spaces of the seminiferous tubular wall (Fig. 6). In the testes of patients with mild idiopathic male infertility

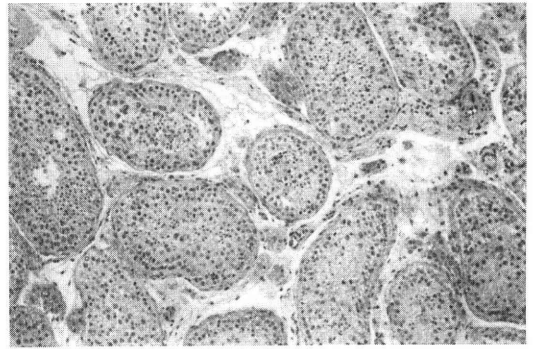


Fig. 1 The testis of a 31-year-old normal adult. Hematoxylin and eosin stain. $\times 200$

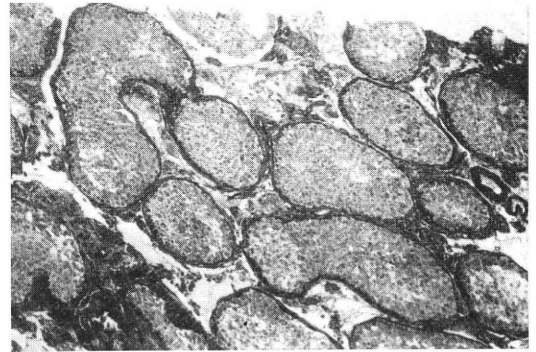


Fig. 2 The testis of a 31-year-old normal adult. Azan stain. $\times 200$.

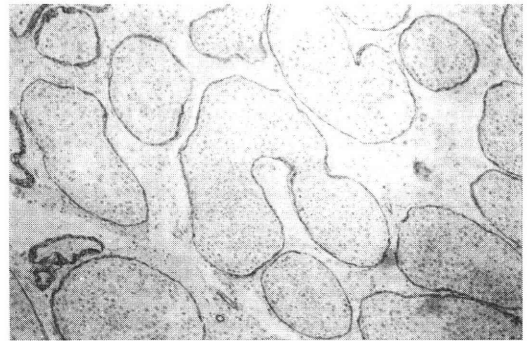


Fig. 3 The testis of a 31-year-old normal adult. Weigert stain. $\times 200$

(whose seminiferous tubules showed apparent sloughing of germinal epithelium and semen analysis showed oligozoospermia), elastic fibers were normal except for a decrease in the staining intensity. Fig. 7 shows the light microscopic finding of the testis of a patient with severe idiopathic male infertility (Sertoli cells only syndrome, H-E stain). Fig. 8

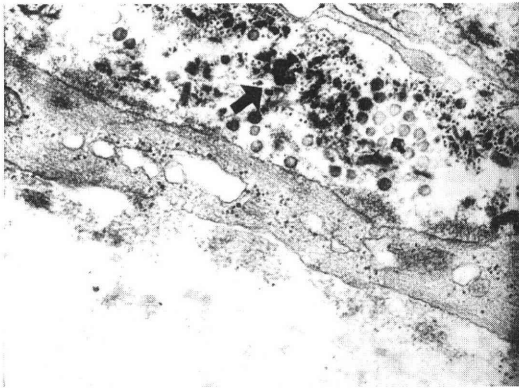


Fig. 4 Elastic fibers in the limiting membrane in normal testis. Patches of elastin surrounded by fibrotubules are showed between myoid cell and fibrocyte (large arrow head). Small arrow head indicates the collagen fiber. $\times 30000$

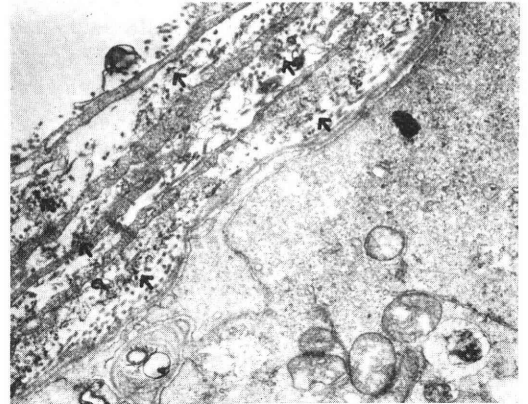


Fig. 6 Elastic fibers are recognized in almost all intercellular spaces of the limiting membrane in normal testis. $\times 10000$.

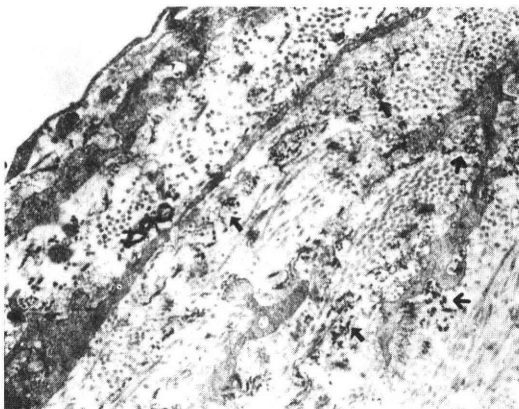


Fig. 5 Elastic fibers closely related to myoid cells in normal testis (arrow head). $\times 10000$

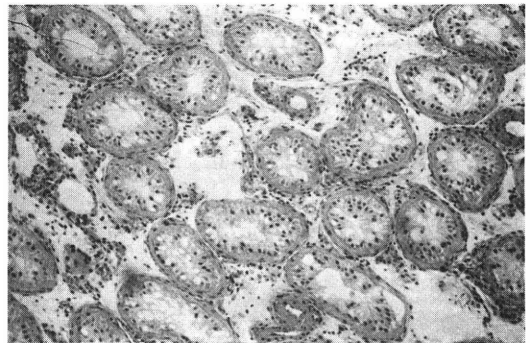


Fig. 7 The testis of a 27-year-old patient with severe idiopathic male infertility. Hematoxylin and eosin stain. $\times 200$

shows the Azan stain of the testis of same patient. This staining reveals the thickness of tubular wall markedly.

By Weigert stain of the testis of same patient, the elastic fibers could be observed only in the outermost layers of the seminiferous tubular wall. The amount and staining intensity of the elastic fibers were decreased compared with the normal testis (Fig. 9). Ultrastructurally, elastic components were recognized only in the outermost layers of the seminiferous tubular wall due to proliferation of collagen fibers. Inner layer of tubular wall was occupied completely by

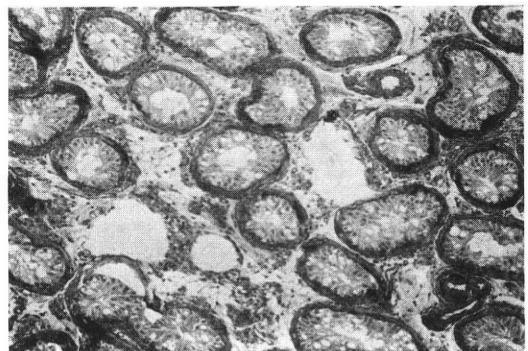


Fig. 8 The testis of a 27-year-old patient with severe idiopathic male infertility. Azan stain. $\times 200$

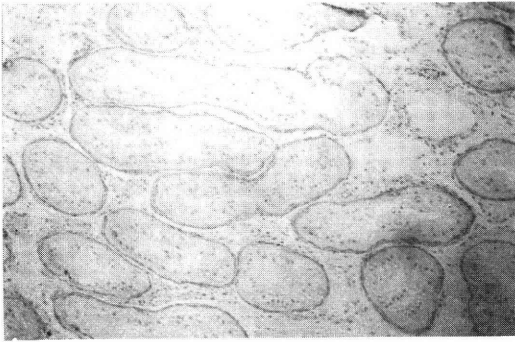


Fig. 9 The testis of a 27-year-old patient with severe idiopathic male infertility. Weigert stain. $\times 200$



Fig. 10 Distribution pattern of elastic fiber in the limiting membrane in idiopathic infertile testis. Elastic components are recognized only in the outermost layers of the seminiferous tubular wall. $\times 10000$

collagen fibers (Fig. 10).

Discussion

Routine techniques used in light and electron microscopy do not visualize all the components of elastic tissue. In previous works, three types of elastic fibers have been defined by their tinctorial affinities: the elanin fibers (stain with aldehyde fuchsin, resorcin-fuchsin or acid orcein)¹⁰, the oxytalan fibers (visualized with the same elastic stains after previous oxidation)¹¹, and the elastic fibers (stain with the Verhoeff's iron hematoxylin).

At the ultrastructural level, two components can be identified: fibrotubules (oxytalan fibers)¹² approximately 10 nm in diameter, staining with uranyl acetate, bismuth subnitrate or lead citrate (cationic stains), and an amorphous material, identified as elastin¹³, with affinity for phosphotungstic acid⁹, silver tetraphenylporphine sulfonate¹⁴ or Verhoeff's iron hematoxylin (anionic stains)¹⁵.

In the intercellular spaces of the limiting membrane (tunica propria or tubular wall) of seminiferous tubule, collagen fibers, fibrillae and basement membrane-like materials are observed with the routine electron microscopic techniques. Elastic components are localized in the empty spaces or low electron dense areas usually observed with the routine techniques, namely without using the fixatives containing tannic acid.

When fixatives containing tannic acid are used, all the intercellular components of the limiting membrane, including the fibrotubules (oxytalan fibers) and the amorphous material (elastin) of the elastic system, are visualized. With high concentrations of tannic acid (4%) or on the superficial sections of the tissue blocks, there is an overstaining of the connective tissue and even the collagen cross-banding is obscured. With lower concentrations, or when an adequate depth of sectioning is selected (tannic acid has a low capacity to penetrate tissues), the cellular preservation is good and the elastin can be clearly demonstrated and differentiated from the other connective tissue structures. In this study, we have tested three concentrations of tannic acid: 4%, 1%, 0.25%. We have concluded that the concentration of 0.25% tannic acid was the best one for visualizing elastic component at ultrastructural level.

Tannic acid, a glucoside with strong affinity for proteins, has been used in several kinds of histochemical techniques. The tannic acid-glutaraldehyde fixative, recently introduced for electron microscopy⁸, is a simple and reproducible method for the visualization of connective tissue, including the fibrotubules and elastin¹⁶.

When tissues are fixed with tannic acid-aldehyde solutions followed by osmium tetroxide, the orthopolyphenol radicals of tannic acid combine with some proteins and os-

mium⁸⁾. This makes a dark-brown, electron-dense, protein-tannic acid-osmium complex that can be identified on unstained thin sections.

Previous histologic descriptions of the limiting membrane of the human seminiferous tubule seldom refer to elastic fibers¹⁷⁻²⁰⁾. The purpose of this work is to study the elastic tissue fine structure in the seminiferous tubular wall in the testis from patient with idiopathic male infertility.

Elastic fibers were identified both at the light and electron microscopic levels in almost all intercellular spaces of tubular wall in normal testes. However, elastic fibers were decreased and demonstrable only in the outermost layers of the seminiferous tubular wall in idiopathic male infertile testes. The mechanism underlying this phenomenon remains unclear. From our observations, the thickening of the peritubular connective tissue with severe idiopathic male infertility seems to be related mainly to the increase of collagen and basement membrane material.

In man, the fibrotubules are the first to appear, before puberty. Elastin synthesis begins at puberty²¹⁾, mainly in the outermost layers of the limiting membrane, probably because they are the first to be exposed to hormones or other substances which influence elastogenesis. In our present study we did not find out the significant relationship between hormonal level in serum (testosterone, LH, or FSH) and structure and distribution of elastic components. Therefore it is still up in the air whether or not there is any possibility of hormonal influence on elastogenesis in idiopathic male infertility.

Brissie et al suggest that myoid cells produce the elastic fibers identified in the limiting membrane of the seminiferous tubule, because these were located in close contact to myoid cells²²⁾. Bustos-Obregon says that as smooth muscle cells in arterial wall produce collagen, elastin, smooth muscle fibers or basement membrane-like material, myoid cells in the seminiferous tubular wall may be multifunctional cells which can produce various substance in the tubular wall or in the interstitium of testis²³⁾. The different morphologic aspects of elastin observed in intimate relation with myoid cells probably

correspond to stages of its synthesis²⁴⁾. Furthermore, human myoid cells exhibit a prominent rough endoplasmic reticulum, as can be observed in smooth muscle cells when connective tissue matrix is being produced²⁵⁾. However, the function and significance of elastic fibers have not yet been fully elucidated. The junctions between myoid cells, desmosomes and gap junctions, are essential to the contractile activity of the seminiferous tubule. Although the fibers, collagen and elastic, are presumably related to this mechanical function, they probably have, together with the other intercellular components, an important role in maintaining an adequate environment for the germinative cells.

References

- 1) Charny, C. W. : Testicular biopsy. Its value in male sterility. *J. Am. Med. Assoc.*, 115 : 1429, 1940.
- 2) Charny, C. W. and Meranze, D. R. : Testicular biopsy. Further studies in male infertility. *Surg. Gynecol. Obst.*, 74 : 836, 1942.
- 3) Engle, E. T. : The testis biopsy in infertility. *J. Urol.*, 57 : 789, 1947.
- 4) Nelson, W. O. : Interpretation of testicular biopsy. *J. Am. Med. Assoc.*, 151 : 449, 1953.
- 5) Miyake, K., Maseki, Y., Mitsuya, H., Kitamura, H. and Yamada, K. : Ultrastructural changes in basement membrane of seminiferous tubules in the testes from patients with idiopathic male infertility and boys with cryptorchidism. *Connective Tissue*, 14 : 11, 1982.
- 6) Maseki, Y., Miyake, K., Mitsuya, H., Kitamura, H. and Yamada, K. : Mastocytosis occurring in the testes from patients with idiopathic male infertility. *Fertil. Steril.*, 36 : 814, 1981.
- 7) Weigert, C. : Ueber eine Methode zur Färbung elastische Fasern. *Zentrab. Allg. Pathol.*, 9 : 289, 1898.
- 8) Futaesaku, Y., Mizuhira, V. and Nakamura, H. : The new fixation method using tannic acid for electron microscopy and some observations of biological specimens. *Proc. Fourth Int. Cong. Histochem. Cytochem.*, Kyoto. p 155, 1972.
- 9) Greenlee, T. K., Ross, R. and Hartmann, J. L. : The fine structure of elastic fibers. *J. Cell. Biol.*, 30 : 59, 1966.
- 10) Gawlik, Z. : Morphological and morphochemical properties of the elastic system in the motor organ of man. *Folia Histochem.*

- Cytochem., 3 : 233, 1965.
- 11) Fullmer, H. M. : Differential staining of connective tissue fibers in areas of stress. *Science*, 127 : 1240, 1958.
 - 12) Carmichael, G. G. and Fullmer, H. M. : The fine structure of the oxytalan fiber. *J. Cell. Biol.*, 28 : 33, 1966.
 - 13) Ross, R. and Bornstein, P. : The elastic fiber. 1. The separation and partial characterization of its macromolecular components. *J. Cell. Biol.*, 40 : 366, 1969.
 - 14) Albert, E. N. and Fleischer, E. : A new electron-dense stain for elastic tissue. *J. Histochem. Cytochem.*, 18 : 697, 1970.
 - 15) Brissie, R. M., Spicer, S. S., Hall, B. J. and Thompson, N. T. : Ultrastructural staining of thin sections with iron hematoxylin. *J. Histochem. Cytochem.*, 22 : 895, 1974.
 - 16) Cotta-Pereira, G., Rodrigo, F. G. and David-Ferreira, J. F. : The use of tannic acid-glutaraldehyde in the study of elastic and elastic-related fibers. *Stain Technol.*, 51 : 7, 1976.
 - 17) De la Balze, F. A., Bur, G. E., Scarpa-Smith, F. and Irazu, J. : Elastic fibers in the tunica propria of normal and pathologic human testis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 14 : 626, 1954.
 - 18) Mancini, R. E., Nolzco, J. and De la Balze, F. A. : Histochemical study of normal adult human testis. *Anat. Rec.*, 114 : 127, 1952.
 - 19) Nelson, W. O. and Heller, C. G. : Hyalinization of the seminiferous tubules associated with normal or failing Leydig cell function. Microscopic picture in the testis and associated changes in the breast. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 5 : 13, 1945.
 - 20) Sniffen, R. C. : The testis. 1. The normal testis. *Arch. Pathol.*, 50 : 259, 1950.
 - 21) De la Balze, F. A., Mancini, R. A., Arri-llaga, F., Andrada, J. A., Vilar, O., Gurtman, A. I. and Davidson, O. W. : Puberal maturation of the normal human testis. A histologic study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 20 : 266, 1960.
 - 22) Brissie, R. M., Spicer, S. S. and Thompson, N. T. : The variable fine structure of elastin visualized with Verhoeff's iron hematoxylin. *Anat. Rec.*, 181 : 83, 1975.
 - 23) Bustos-Obregon, E. : Description of the boundary tissue of human seminiferous tubules under normal and pathological conditions. *Verh. Anat. Ges.*, 68 : 197, 1974.
 - 24) Fahrenbach, W. H., Sandberg, L. B. and Cleary, E. G. : Ultrastructural studies on early elastogenesis. *Anat. Rec.*, 155 : 563, 1966.
 - 25) Ross, R. and Klebanoff, S. J. : The smooth muscle cell. 1. In vivo synthesis of connective tissue proteins. *J. Cell. Biol.*, 50 : 159, 1971.

特発性男子不妊症における精細管壁弾性線維

名古屋大学医学部泌尿器科学教室

三宅弘治, 山本雅憲, 橋本純一, 三矢英輔

特発性男子不妊症における精細管壁弾性線維の構造と配列に関して検討を加えた。精巢生検により得られた試料をもとに、光顕レベルではワイゲルトの弾性線維染色により、また電顕レベルでは、0.25%タンニン酸を混じた3%グルタルアルデヒド固定により弾性線維を同定し、その変化を観察した。弾性線維は、電顕レベルではfibrotubuleと呼ばれる微細な線維束によって囲まれる電子密度が高い無定形の構造物として認められた。正常精巢においては、弾性線維は精細管壁の全層にわたって認められるのに対し、特発性男子不妊症では、弾性線維の量は減少し、また膠原線維の増生により肥厚した精細管壁の外側のみ認められた。弾性線維の意義およびその機能に関しては不明であるが、精細管の収縮性に関与している可能性が示唆された。

(受付：昭和61年2月10日特掲)

不妊症および陰嚢内疾患時の辜丸血流

Testicular Blood Flow in Intrascrotal Disorders

千葉大学医学部泌尿器科学教室

相 川 英 男

Hideo AKIKAWA

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

男子不妊症および陰嚢内疾患患者の辜丸動脈血流ならびに辜丸組織血流を測定し次の結果を得た。

1. 男子不妊症を対象として辜丸動脈血流を測定した結果、精子数正常の者に比べ、乏精子症、無精子症、クラインフェルター症候群では血流の低下が認められた。なお、クラインフェルター症候群は乏精子症、無精子症に比べても低下していた。
2. 辜丸組織血流は無精子症、乏精子症、精子数正常者の間に差を認めなかった。
3. 精索静脈瘤の有無および精索静脈瘤に対する高位結紮術施行の有無は辜丸組織血流に影響を与えなかった。これより精索静脈瘤のさいの造精機能障害は血流障害以外の因子によるものと推定された。
4. 辜丸腫瘍および急性副辜丸炎では辜丸動脈血流の増加が見られたが、慢性副辜丸炎では辜丸動脈血流に変化がなかった。
5. 辜丸捻転症においては、ドップラー変位音が辜丸動脈に認められ、辜丸動脈血流測定は本症の診断には役立たなかった。それに対し、辜丸組織血流測定は診断に有用であった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 348-353, 1986)

結 言

辜丸の疾患によつて辜丸組織内の血流状態が変化したり、辜丸の疾患あるいはそれ以外の陰嚢内疾患によつて辜丸動脈の血流が変化する事は容易に推定される。さまざまな目的で実験動物の辜丸の血流測定が行われているが、ヒトの辜丸血流を測定した報告は測定方法の制約もあり極めて少ない。また陰嚢内疾患を対象とした血流測定は辜丸捻転症の診断のため辜丸内の血流の有無を調べるための非定量的なもの以外見当らない。そこで各種陰嚢内疾患患者を対象として、水素電極法により辜丸組織血流を、また超音波ドプラー法により辜丸動脈血流を測定した。

対象および方法

対象は千葉大学泌尿器科を不妊あるいは陰嚢内疾患を主訴として受診した患者 222 例および対照健康人 7 例、

計229例である(表1)。

超音波ドプラー式血流計は三栄測器社製のものを使用した。プローブは直径6mmの円筒形でその先端はその軸と30°の角度をなす平面となつている。被験者を仰臥位にして陰嚢皮膚上より保持した精索にプローブをあて血流の脈波を得る。一波長の面積をもとめそれを一波長の時間で割り平均血流速度とした。単位はcm/secである。

辜丸容積は次式によりもとめた。

$$\text{辜丸容積} = 0.71 \cdot l_1 \cdot l_2 \cdot l_3^{1.1}$$

$l_1 \cdot l_2 \cdot l_3$ はそれぞれ陰嚢皮膚上から測定した辜丸の縦横高さの値である。

組織血流の測定にはバイオケミカルサイエンス社製の組織内電気分解式水素電極組織血流計を使用した。陰嚢下部に不感電極を張り、陰嚢皮膚を消毒後直径0.6mmの滅菌水素電極針を両側の辜丸に刺入する。微電流を針先に流し水素ガスを発生させ、その濃度の減衰曲線から

表 1 対 象 症 例

	血 管 血 流 測 定	組 織 血 流 測 定
不妊症 正常精子濃度例	9例	46例
乏精子症	21	45
無精子症	13	10
クラインフェルター症候群	4	
精索静脈瘤		19
慢性 副 辜 丸 炎	13	
急性 副 辜 丸 炎	19	
辜 丸 腫 瘍	5	
停 留 辜 丸	9	
健 常 対 照 例	7	
	109	120

次式により血流量を算出した²⁾。

$$\frac{69.3}{\text{クリアランスカーブから求めた半減時間 (min)}} \text{— 自然拡散によるみかけの血流量 (30cc/min/100g)}$$

この自然拡散によるみかけの血流量は除辜術によつて得られた前立腺癌患者辜丸の測定によりもとめた。血流量の単位は ml/min/組織100g である。

精液検査は用手法で精液を採取し、30分～1時間室温放置後、血球計算盤を用いて行なつた。精子濃度 50×10⁶/ml 以上を精子数正常とし、これ以下を乏精子症、精子が認められないものを無精子症とした。

血中 LH, FSH, およびテストステロンの測定はそれぞれ“LH キット第一”、“FSH キット第一”（以上第一 RI 社）、および“テストステロン H3 キット”（CIS 社）により行なつた。正常範囲はそれぞれ 6.5～34.5mIU/ml, 1.9～21.8mIU/ml, および 300～850ng/dl である。

結 果

1. 測定値の再現性について

(a) 辜丸動脈血流

60歳から70歳代までの前立腺肥大症患者を対象として、3分から5分の間隔で左右交互に3～4回の測定を行なつた。良好な再現性が認められた（図1）。

(b) 辜丸組織血流

測定の再現性を調べるため6症例に対して右側辜丸の測定を15分から30分の間隔で2回施行した。その結果を図2に示した。良好な再現性が認められた。

2. 正常および各種陰嚢内疾患の辜丸動脈血流

造精機能と辜丸動脈血流の関係をみるため精子濃度別

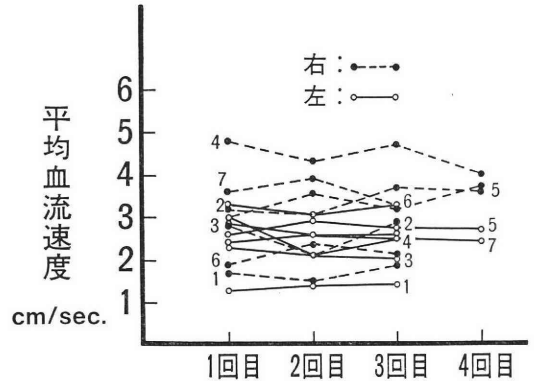


図 1 辜丸動脈血流測定 of 再現性

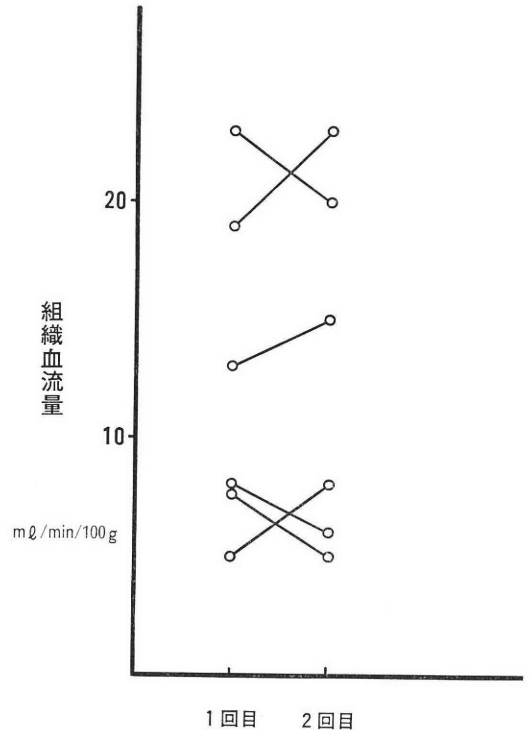


図 2 辜丸組織血流測定 of 再現性

の辜丸動脈血流を調べた（図3）。左右の血流速度を平均して血流速度とした。クラインフェルター症候群、無精子症、乏精子症の各群はそれぞれ正常精子濃度群に比べ有意に低下していた。

正常精子濃度群の年齢はほとんど 30 歳代で平均年齢 35±3、これに対して再現性の検査を行なつた前立腺肥大症の患者の平均年齢 68±5 であつた。辜丸動脈血流測定の結果は前者が 5.2±2.4cm/sec、後者が 3.0±1.0cm/

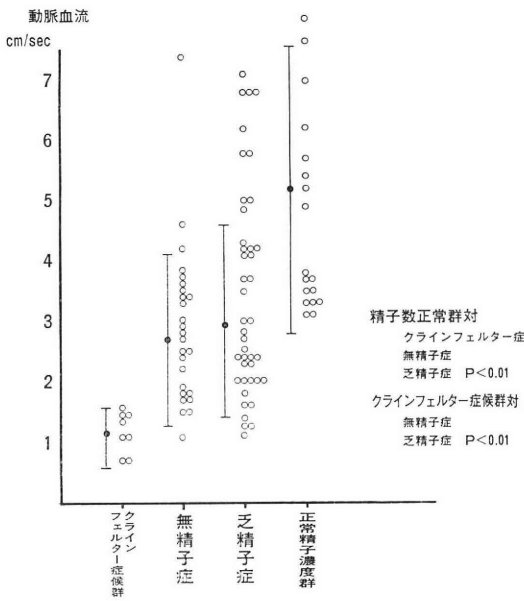


図 3 睾丸動脈血流と精液所見

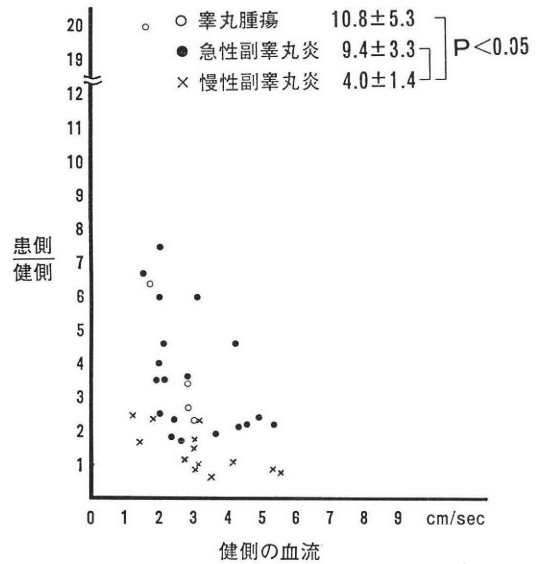


図 5 睾丸腫瘍および副睾丸炎と睾丸動脈血流

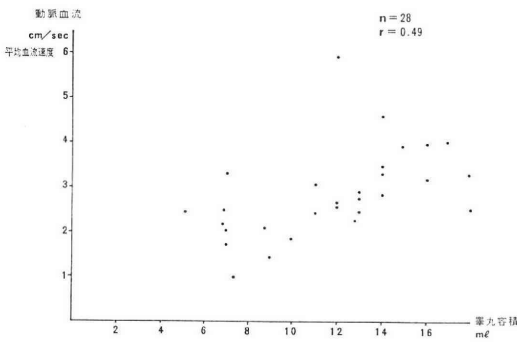


図 4 睾丸動脈血流と睾丸容積

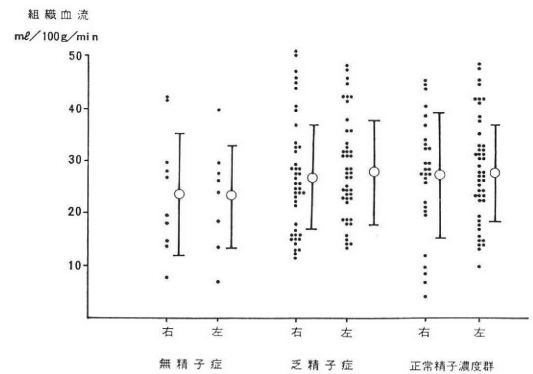


図 6 睾丸組織血流と精液所見

sec で、 $P < 0.05$ にて有意の差を認め、加齢による減少が認められた。

また、正常精子濃度群の平均年齢 35 ± 3 に対し乏精子症 31 ± 4 、無精子症 31 ± 4 で有意の差がなくこれらの血流速度の違いは年齢によるものではない。

睾丸動脈血流と睾丸容積は相関していた(図4)。すなわち睾丸容積が大きいと睾丸動脈が太いだけでなく血流速度も増加していた。

睾丸腫瘍、急性および慢性副睾丸炎患者の睾丸動脈血流の測定結果を図5に示した。睾丸腫瘍、急性副睾丸炎では血流が有意に増加しているが、慢性副睾丸炎では有意差は認められなかった。

睾丸捻転症4例において睾丸動脈血流を測定した所、すべての例で動脈血流によるドップラー変位音を聴取できた。このうち一例に睾丸組織血流測定を行なったと

ころ、血流が存在しないことが判明した。

3. 男子不妊症の睾丸組織血流

造精機能と睾丸組織血流の関係を図6に示した。無精子症群、乏精子症群、正常精子濃度群の間に差を認めなかった。これら各群の年齢はそれぞれ 34 ± 4 、 37 ± 5 、 37 ± 3 であり、有意差を認めなかった。すなわち造精機能の状態と組織血流量は無関係であった。

血中の性腺刺激ホルモンと睾丸組織血流の関係をみると LH、FSH がともに上昇している群と、FSH のみ上昇している群は正常群に比べやや血流量が少ないが統計的には有意でなかった(図7)。

睾丸組織血流と睾丸容積の関係を図8に示した。睾丸容積は5ml以下の萎縮した睾丸では $19.3 \pm 1.0 \text{ ml/min}$

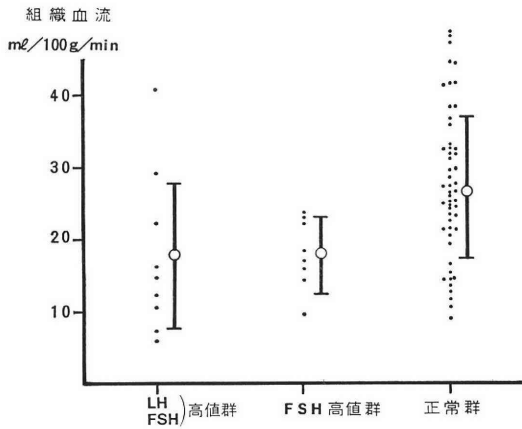


図 7 睾丸組織血流と末梢血ホルモン

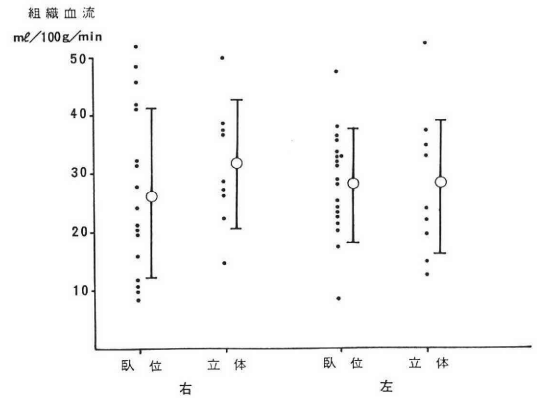


図 10 精索静脈瘤患者の高位結紮術前の臥位および立位における睾丸組織血流

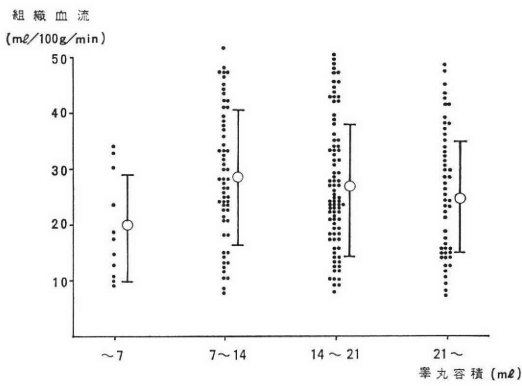


図 8 睾丸組織血流と睾丸容積

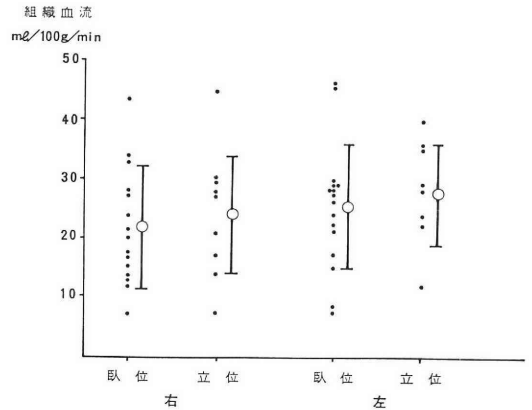


図 11 精索静脈瘤患者の高位結紮術後の臥位および立位における睾丸組織血流

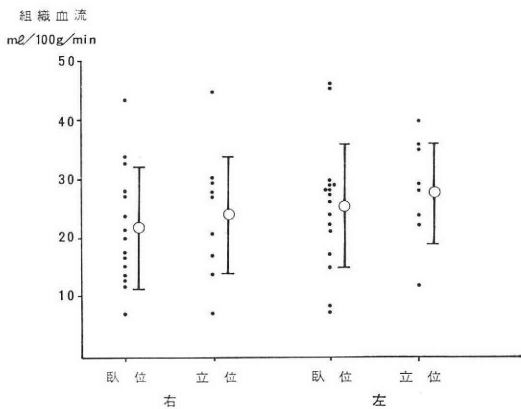


図 9 精索静脈を認めない症例の臥位および立位における睾丸組織血流

100g と他に比べ低値であるが統計的には有意でなかった。

精索静脈瘤が睾丸血流に及ぼす影響を見るため、精索静脈瘤を認めない例に対して、立位と臥位の、また精索静脈瘤患者に対して、高位結紮術の前後にそれぞれ立位と臥位で測定を行なった。精索静脈瘤の有無、あるいは高位結紮術の施行の前後にかかわらず、立位と臥位および左右の睾丸の間にはそれぞれ有意差を認めなかった(図, 9, 10, 11). すなわち精索静脈瘤患者の睾丸障害は血流の変化に起因するものではないと考えられた。

考 案

血流測定は対象により方法に制約が生じるためヒトの睾丸の血流測定の報告は少ない。Fritjofsson⁸⁾ は前立腺癌患者の除睾術の直前に ¹³³Xenon クリアランス法で血流測定を行なった。陰囊内および鼠径部に手術その他の既

往のない13例では1.6~12.4ml/min/100g, なんらかの既往のある11例では0~31.6ml/min/100gであった。

Petterson ら⁴⁾は¹³³Xe クリアランス法と静脈閉塞プレチスモグラフィ法によって前立腺癌患者の除睾術の際に血流測定を行った。クリアランス法では平均13ml/min/100g (6~23ml/min/100g), プレチスモグラフィ法では平均9ml/min/100g (1.6~38ml/min/100g)であった。これらの値は, かなりのばらつきがあるが, それに対して Damber ら⁵⁾は放射性微小球法を用いてラットの睾丸を四分画しそれぞれの血流量を測定したが差は認められなかった。しかし我々の使用した組織血流計や Xenon などのガスクリアランス法では細い電極の先端部や細い注射針の先端におけるガスの濃度の低下を血流量に変換するため, 測定部位の組織の違いによって測定値が異なる可能性も否定できない。また Fritjofsson, Petterson らによる測定値は今回の測定値に比べ低い。

睾丸捻転症に対する今回の測定では, 血流が停止しているはずの睾丸動脈に見かけ上血流が存在する事が判明した。これは捻転部より近位では血管自体に何らの問題もなく, また, 捻転部付近では炎症による血流の増大が生じているためと考えられる。これに対し組織血流測定では血流が存在しない事が判明した。本症に対する術前診断法として有用であろう。

睾丸腫瘍と慢性副睾丸炎に対する睾丸動脈血流測定の結果, これらの疾患の診断に動脈血流測定が有用である事が判明した。すなわち無痛性の硬い腫瘍で血流が著明に増大していれば腫瘍で, 正常と大差なければ慢性炎症である。ラットの実験的停留睾丸において単位重量当りの睾丸血流は著明に増加するが, 総血流量は睾丸の萎縮により減少する⁶⁾。

他臓器の組織血流をみると, イヌの胃では93.5ml/min/100g⁷⁾, ヒトの胃体下部粘膜で52.4ml/min/100g, 萎縮性胃炎で34.4ml/min/100g⁸⁾であった。今回の測定では20~30ml/min/100gであり, これらの値より低値であった。

精索静脈瘤は男子不妊症の原因として重要な疾患であるが, 本症が不妊症を引き起こす機序については, まだ一定の見解が得られていない。伊藤ら⁹⁾は精索静脈瘤患者の内精静脈血中のプロスタグランジンE, Fの濃度が末梢に比べ高いことから, 腎静脈から逆流したプロスタグランジンが睾丸血流を減少させるか, あるいは LH レセプターを直接阻害して¹⁰⁾睾丸障害が生じるとした。プロスタグランジン F_{2α}, E₂ は睾丸動脈注入, 睾丸静脈注入, 組織内注射のいずれにおいても睾丸静脈圧を著明に上昇させる¹¹⁾。これにより睾丸にうつ血が生じ睾丸障害が起ると考えられる。今回の測定では高位結紮術の

前後および, それぞれの立位および臥位における測定において, 左右の睾丸の血流に有意差を認めなかった。それ故血管作動物質による睾丸組織の血流の減少が睾丸障害の原因であることの説に対しては否定的であるが, プロスタグランジンによって LH レセプターが阻害され, そのためテストステロン合成が抑制されるという説もあり¹⁰⁾, 直接睾丸障害を起す可能性は否定できない。

Harrison ら¹²⁾はサルに実験的精索静脈瘤を作成しその睾丸血流と組織内圧の測定によりうつ血が睾丸障害の原因であるとした。臥位における測定ではコントロール群の大差ないが, 30度の頭上げの状態では組織内圧の上昇と睾丸血流の減少が認められた。我々の結果では立位において血流の減少が認められないため, うつ血説とは相入れない。

ラットの睾丸動脈に LH を注入すると, 睾丸静脈中のテストステロン濃度は6倍に上昇し, 血管抵抗の減少と睾丸組織血流の1.2倍の増加が起つたとの報告があるが¹³⁾, この血流の増加が統計的に有意であるかどうかは不明である。しかし卵巣の血流は LH に反応して増加するという¹⁴⁾。今回の LH, FSH, テストステロン濃度と睾丸血流は相関しないという結果はホルモン標的細胞が睾丸に占める率が5%程度¹⁵⁾と少ないためであろう。

(稿を終えるにあたり, 御指導御校閲をいただいた千葉大学泌尿器科島崎淳教授に深謝いたします。また御指導御助言をいただいた千葉大学泌尿器科伊藤晴夫助教授に厚く感謝いたします。)

文 献

- 1) Lambert, B.: The frequency of mumps and of mumps orchitis, and the consequences for sexuality and fertility. Acta ganet. (Suppl), 2: 1, 1951.
- 2) 甲州啓二, 遠藤俊郎, 高久 晃, 斉藤建夫: 電気分解法により発生させた水素ガスを利用しての局所脳血流量測定を試み, 脳神経外科, 9: 1261, 1981.
- 3) Fritjofsson, A., Persson, J-E. and Petterson, S.: Testicular blood flow in man measured with xenon-133. Scand. J. Urol. Nephrol., 3: 276, 1969.
- 4) Petterson, S., Söderholm, B., Persson, J-E., Eriksson, S. and Fritjofsson, A.: Testicular blood flow in man measured with venous occlusion plethysmography and xenon-133. Scand. J. Urol. Nephrol., 7: 115, 1973.
- 5) Damber, J-E. and Janson, P. O.: Methodological aspects of testicular blood flow measurement in rat. Acta Physiol. Scand.,

- 101 : 278, 1977.
- 6) Damber, J.-E., Bergh, A. and Janson, P. O. : Testicular blood flow and testosterone concentrations in the spermatic venous blood in rats with experimental cryptorchidism. *Acta Endocrinol*, 88 : 611, 1978.
- 7) 宮本二郎, 福富久之, 島倉秀也 : 電解式組織血流計による胃血流動態の検討, *Gastroenterological Endoscopy*, 25 : 1658, 1983.
- 8) 高中芳弘, 伊藤和郎, 伊藤恵美子 : 電解式組織血流計による胃粘膜血流量測定 of 検討, *Progress of Digestive Endoscopy*, 23 : 57, 1980.
- 9) Ito, H., Fuse, H., Minagawa, H., Kawamura, K., Murakami, M. and Shimazaki, J. : Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients. *Fertil. Steril.*, 37 : 218, 1982.
- Coolsaet, B. L. R. A. : The Varicocele Syndrome. : Venography determining the optimal level for surgical management. *J. Urol.*, 124 : 833, 1980.
- 10) Chantharaksri, U. and Fuchs, A.-R. : PGF_{2α} regulation of LH action on testicular testosterone production. *Advans in Prostaglandin and Thromboxane Research*, 8 : 1313, 1980.
- 11) Free, M. J. and Jaffe, R. A. : Effect of prostaglandins on blood flow and pressure in the conscious rat. *Prostaglandins*, 1 : 483, 1972.
- 12) Harrison, R. M., Lewis, R. W. and Roberts, J. A. : Testicular blood flow and fluid dynamics in monkeys with surgically induced varicoceles. *J. Androl.*, 4 : 256, 1983.
- Kormano, M. : Angiographic Study of the Testicular Vasculature in the Post-Natal Rat. *Z. Anat, Entwicklungsgeschichte*, 126 : 138, 1967.
- Linder, H. R. : Androgens and related compounds in the spermatic vein blood of domestic Animals. *J. Endocrinol.*, 23 : 171, 1961.
- Larson, L. L. and Foote, R. H. : Testicular blood flow rate in prepubertal and adult rabbits measured by ⁸⁵krypton. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 147 : 151, 1974.

- 13) Damber, J.-E. and Janson, P. O. : Testicular blood flow and testosterone concentration in spermatic venous blood of anaesthetized rat. *J. Reprod, Fert.*, 52 : 265, 1978.
- 14) Wurtman, R. J. : An effect of luteinizing hormone on the fractional perfusion of the rat ovary. *Endocrinology*, 75 : 927, 1964.
- 15) 佐藤文三 : 癌とホルモンレセプター, *ホルモンと臨床*, 7 : 29, 1984.

Testicular blood flow in intrascrotal disorders

Hideo Aikawa

Department of Urology, Chiba University School
of Medicine, Chiba, Japan

Blood flow of testis and testicular artery were measured to clarify the relationship among these and intrascrotal disorders. The results obtained were as follows.

1. Blood flow of testicular artery in oligozoospermia, azoospermia, and Klinefelter's syndrome were decreased compared to normozoospermia.

Blood flow of the testicular artery in Klinefelter's syndrome was reduced than that of oligozoospermia and azoospermia.

2. There was no difference in testicular blood flow of testis among azoospermia, oligozoospermia, and normozoospermia.

3. Testicular blood flow was not affected neither by the presence of varicocele, nor by varicocelectomy.

4. Increased blood flow through testicular artery was observed in testicular tumor and acute epididymitis, but not in chronic epididymitis.

5. The estimation of testicular blood flow was useful to establish the diagnosis of testicular torsion, although doppler sound could be heard even in the case of the testicular torsion.

(受付 : 昭和61年2月27日特掲)

勃起不全の診断

第6報 高プロラクチン血症

Diagnosis of Impotence Report 6 Hyperprolactinemia

高松赤十字病院泌尿器科

今川 章夫 川西 泰夫
Akio IMAGAWA Yasuo KAWANISI

Department of Urology, Takamatu Red Cross Hospital

インポテンス患者163例を対象に、血漿プロラクチン濃度を測定し、以下の結果を得た。

- 1) インポテンス患者の血漿プロラクチン濃度の基礎値の平均は $13.4 \pm 8.29 \text{ ng/ml}$ (平均 \pm SD)で、年齢による変動は認められなかった。
- 2) 平均値 $+2$ SDである 30 ng/ml 以上を高プロラクチン血症とすると、初回の検査で15例が該当した。
- 3) 15例中8例を再検査で高プロラクチン血症と確定したが、原因は1例がプロラクチノーマである以外薬物によるものであった。
- 4) 2例は薬物の中止で、5例はBromocriptineの投与によりインポテンスが改善した。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 354-359, 1986)

結 言

下垂体前葉ホルモンであるプロラクチン(PRL)が種々の原因で過剰になると、性欲の低下やインポテンス(IMP)を来すことが知られている。しかし、IMPの原因となる頻度や、IMPが発症する機序などについては不明の部分も多い。特に、慢性的に高度の高PRL血症が持続した病態におけるIMPは別として、薬物などによる一過性の軽度の高PRL血症におけるIMPの発症機序は不明である。

IMPとPRLの関係の明らかにすることを目的として、IMP患者の血漿PRL濃度を測定し、高PRL血症を伴ったIMP症例について検討を加えたので報告する。

対象および方法

過去4年間に高松赤十字病院泌尿器科を受診した、IMPを主訴とする患者163例を対象として、血漿PRL濃度をダイナボット社製キットによるradioimmunoas-

say(二抗体法)で測定した。採血は外来受診時としたため、多数の症例は午前10時より12時の間に採血されている。なお、当科では腎不全、糖尿病患者などを対象として性機能調査を行っているが、これらの患者は今回の対象から除外し、自分の意志で外来を受診した患者のみである。

各年齢別および全症例の血漿PRL濃度の平均値を求め $+2$ SD以上を高PRL血症とし、これらの症例に血漿のLH、FSH、テストステロン(TES)を測定した。また、高PRL血症の原因を検索し、治療成績などを検討した。

結 果

- 1) 各年代別および全症例の平均値

IMP患者の血漿PRL濃度を図1に示した。20歳代($n=31$) $15.2 \pm 6.84 \text{ ng/ml}$ (平均 \pm SD, 以下同じ)、30歳代($n=58$) $12.4 \pm 5.77 \text{ ng/ml}$, 40歳代($n=24$) $12.9 \pm 8.34 \text{ ng/ml}$, 50歳代($n=32$) $12.8 \pm 11.38 \text{ ng/ml}$, 60歳以上($n=18$) $11.8 \pm 7.98 \text{ ng/ml}$ で、全症例の平均

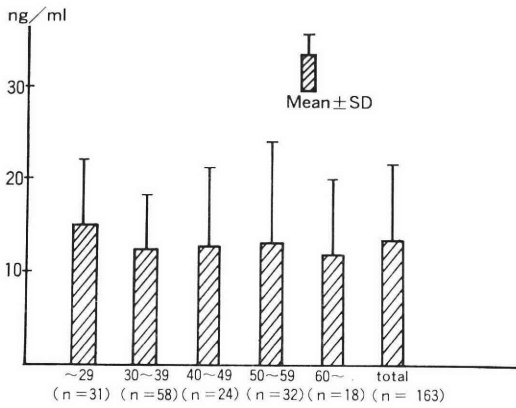


図 1 インポテンス患者の血清プロラクチン濃度

は $13.4 \pm 8.29 \text{ ng/ml}$ であつた。各年代で有意差はなく、平均 $+ 2 \text{ SD}$ が 29.98 ng/ml となるので 30 ng/ml 以上を高 PRL 血症とした。

2) 高 PRL 血症症例の検討

高 PRL 血症 (表 1) は 15 例に認められ全体の 9.2% であつた。年齢は 26 歳から 66 歳で平均 43.7 歳、20 歳代 2 名、30 歳代 5 例、40 歳代 2 例、50 歳代 4 例、60 歳代 2 例で、年齢構成は IMP 患者全般と同じ傾向を示した。

病歴による病型分類¹⁾では急性原発性 IMP 3 例、慢性原発性 IMP 2 例、機能的続発性 IMP 6 例、器質的続発性 IMP 4 例であつた。勃起機能検査は 4 例に REM-penogram²⁾ を、2 例に audiovisual sexual stim-

ulation³⁾ を、1 例に両者を行なつた。以上の 7 例の検査結果は、機能的 IMP 3 例、機能的 IMP 疑い 1 例、器質的 IMP 疑い 2 例と一定の傾向を示さなかつた。

血漿 PRL 濃度は 30 ng/ml から 7400 ng/ml で、 30 ng/ml 台が 7 例と約半数をしめ、40 から 100 ng/ml が 7 例で、異常高値が 1 例であつた。血漿 TES 濃度が低値 (3.0 ng/ml 以下) を示した症例は 4 例で、残り 11 例は正常値を示した。PRL と TES の間には有意の相関は (図 2) 認められなかつた。また FSH は全例正常範囲であり、LH は 66 歳の 1 例で高値を示したが、他は正常範囲であつた。血漿 TES 濃度が低い症例でも高 LH 血症は示さず、PRL と LH の間にも相関が認められなかつた。

初回の検査で高 PRL 血症を示した 15 例のうち 4 例は再検査で正常であつた。これらの 4 例は 2 例が簡易精神療法で治療したが、他の 2 例は種々の治療に抵抗性で治療しなかつた。また、3 例は一度しか来院せずその後の経過は不明である。残り 8 例 (4.9%) は再検査でも血漿 PRL 濃度は高値を示し、高 PRL 血症を伴つた IMP と診断した。

高 PRL 血症の原因は 1 例がプロラクチノーマによるもので、他の 7 例は薬物によるものと診断した。使用されていた薬物は Sulpiride, Haloperidol, Cloxazolam, Maprotiline hydrochloride, Amitriptyline など表 2 に示した。

8 例中 1 例はその後来院しなくなり不明であるが、残

表 1 高プロラクチン血症を伴つた IMP 患者の年齢, 検査所見, 要因

症例	年齢	LH mIU/ml	FSH mIU/ml	TES ng/ml	PRO ng/ml	病型 分類	勃起機能検査		器質的・ 機能的要因
							NPT	AVSS	
1	29	16.5	11.7	3.8	36	F S	MS I a		
2	26	34.4	6.9	11.0	74.7	F S			薬物
3	33	15.0	8.2	4.6	50.9	C P			精神病
4	34	16.4	6.5	2.9	30	A P	MS II a		精神病
5	39	8.9	4.9	4.6	30	A P			
6	36	6.8	3.9	0.6	7400	A P			prolactinoma
7	32	14.3	6.4	2.4	55.7	C P	MS III	D	精神病
8	41	24.0	12.3	5.6	39	F S	MS I a		脳幹機能障害
9	41	23.7	22.7	2.6	99.2	O S	MS I a		事故・精神病
10	53	26.2	11.5	8.1	33.0	O S			前立腺手術
11	54	15.7	8.8	6.3	65	F S		A	薬物
12	53	47.9	15.4	7.1	82.7	F S			精神病
13	58	14.0	7.3	4.8	93.8	O S		C	精神病
14	61	10.8	7.2	4.1	30.4	F S			
15	66	59.8	29.0	6.4	30.6	O S			前立腺手術

AP: 急性原発性 IMP CP: 慢性原発性 IMP FS: 機能的続発性 IMP OS: 器質的続発性 IMP

表 2 高プロラクチン血症の原因, 治療, 予後

症例	高プロラクチン血症の原因	研究会分類	治療	予後
1*		心因性	簡易精神療法	治癒
2	薬剤 (Dogmatyl)	薬物性	薬物中止	治癒
3	薬剤 (Serenace, Vegetamin)	薬物性		不明
4	薬剤 (Lantron)	薬物性	Bromocriptine	治癒
5*		心因性	簡易精神療法	治癒
6	prolactinoma	内分泌性	Bromocriptine	治癒
7	薬剤 (Lantron, Sonacon)	薬物性	Bromocriptine	改善
8*		脳幹機能障害	種々の治療	無効
9	薬剤 (Ludimil, Triptanol)	薬物性	Bromocriptine	治癒
10?				不明
11	薬剤 (Dogmatyl)	薬物性	薬物中止	治癒
12	薬剤 (Sepazon, ?)	薬物性	Bromocriptine	治癒
13?				不明
14?				不明
15*		混合性	種々の治療	無効

* : 再検で正常 ? : 来院せず不明

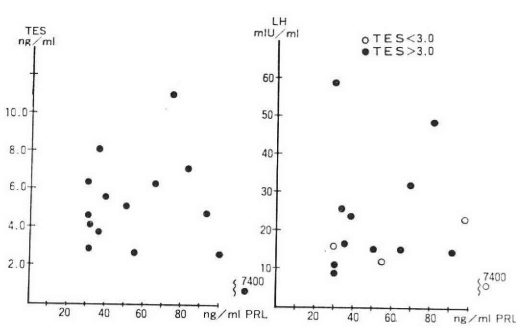


図 2 高プロラクチン血症を伴ったインポテンス患者のプロラクチン, テストステロン, LH

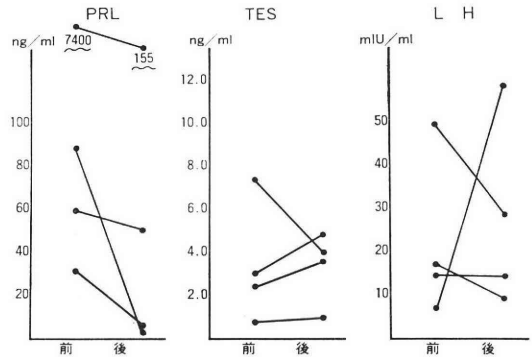


図 3 Brmocriptine 投与前後のプロラクチン, テストステロン, LH の変動

り 7 例中 2 例は薬物の中止によりすみやかに治癒し, 他の 5 例は bromocriptine (以下 BCR) で治療を行なった. プロラクチノーマの 1 例はすでに腫瘍摘出術が行われていたが, 不完全摘出であり BCR を一日 15mg 投与すると性欲の回復とともに IMP が治癒し, 他の薬物性の 4 例は薬物の内服下に BCR を一日 7.5-10mg の併用で治癒した. BCR の投与による消化器症状などの副作用はなく, 抗精神薬の作用が低下し精神症状が悪化した症例も認められなかった.

なお, 症例 4 は IMP が治癒した時点で投与前の血漿 PRL 濃度もあまり高値でなかったため, BCR の投与を中断したところ再発し, BCR を再投与すると勃起は回復した. 症例 7 は本人が性交を試みる 3 日前から BCR を内服すると性交が可能であることに気づき, 自分で服

用を調節している.

BCR 投与前後の血漿 PRL 濃度, 血漿 TES 濃度, 血漿 LH 濃度を図 3 に示した. 血漿 PRL 濃度は全例低下したが, 2 例は正常域までは低下しなかった. 血漿 TES 値は 1 例が不変, 2 例が上昇, 1 例が低下し, 1 例を除き正常域となった. 血漿 LH 濃度は 1 例が上昇し 2 例が低下, 1 例が不変であった.

考 案

下垂体腫瘍により高 PRL 血症を来した男性は, 高頻度に IMP を合併^{4,5)}, BCR の投与で性機能が改善⁶⁻⁸⁾することが知られている. 下垂体腫瘍以外の高 PRL 血症では約 20% に性欲の低下や IMP が合併するとの報告⁹⁾もある.

一方、IMP 患者に占める高 PRL 血症の頻度は Spark ら¹⁰⁾ は 7.6%、Nickel ら¹¹⁾ は 6.2%、Ambrosi ら¹²⁾ は 17% と報告している。今回の検討では初回の検査で疑われたのが 9.2%、確定されたのが 4.9% であった。

Horrobin ら¹³⁾ は下垂体腫瘍の兆候がないにもかかわらず、高 PRL 血症を示す IMP 症例があることを報告し、これらは IMP であることがストレスとなり PRL の産生が高まる可能性があるとしている。しかし、今回の検討では、IMP 患者の血漿 PRL 濃度の平均は $13.4 \pm 8.29 \text{ ng/dl}$ で、採血条件や測定法が異なることを加味しても加藤ら⁹⁾ の採用している正常男子成人の空腹安静時の $10.5 \pm 10.7 \text{ ng/dl}$ と大差がなく、また、高 PRL 血症症例はいずれも原因があきらかであり、Horrobin の考えに合致する症例は発見しえなかつた。Batorions¹⁴⁾ も下垂体腫瘍などのない IMP 患者 51 例の血漿 PRL 値は健康成人と有意差がないことを報告しており、IMP が高 PRL 血症の原因とはならないと考えられる。

高 PRL 血症の原因¹⁵⁾ は下垂体腫瘍のほか、視床下部障害、原発性甲状腺機能低下症、薬物およびホルモン、異所性ホルモン産生腫瘍、特異性などがあげられている。また、腎不全で透析を受けている患者にも高 PRL 血症¹⁶⁻¹⁸⁾ が多いとされ、腎不全による PRL の代謝異常や、中枢における調節機構の異常などが想定されている。しかし、透析患者ではさまざまな合併症に対し種々の薬剤が投与されていることが多く薬剤の影響も無視できない。我々の透析患者の IMP の検討⁹⁾ では高 PRL による IMP は発見しえなかつた。しかし、高 PRL 血症を示す透析患者 7 例に BCR を投与して 5 例に性機能の改善をみたとの報告¹⁹⁾ もある。

高 PRL 血症が IMP を来す機序については不明な点が多い。Drago²⁰⁾ は PRL が直接末梢神経系に作用するかどうか検討し否定的結論を述べている。PRL の中枢神経系への直接作用は、PRL が分子量が大きいにもかかわらず脳脊髄液に移行²¹⁾ し、さまざまな中枢性作用²²⁾ を持つことから可能性があると考えられている。特に、性行動に関与が深い視索前野での TES 依存性ドーパミン代謝に対して PRL は反作用を示すとの報告²³⁾ があり興味もたれる。プロラクチノーマにより長期間、高度の高 PRL 血症が持続した症例にもドーパミンアゴニストである BCR が有効である事実もあり、PRL の中枢神経系への直接作用により IMP が発症するとの仮説はさらに検討されねばならない。しかし、少量の PRL の上昇で発症するような IMP が、PRL による直接の性中枢抑制によるとは考えにくい。

一方、PRL の hypothalamo-pituitary-gonadal axi-

sis (HPG) に対する作用については多くの研究がある。Hermanns ら²⁴⁾ は男性性生殖器に対する PRL の役割について、1) 下垂体におけるゴナドトロピンの分泌、2) 睾丸におけるステロイドの産生と精子形成、3) 前立腺・精囊腺の分泌機能、4) 精子の運動、5) 副腎でのステロイドの合成に関与するとしている。したがって、高 PRL 血症で IMP を発症する機序として下垂体における LH の産生抑制と睾丸における TES の産生障害が示唆される。事実プロラクチノーマの多くの症例では hypogonadotropic hypogonadism を示すことより、PRL は直接 HPG の各部に作用し IMP を来すことは容易に想像しうる。今回の検討でも、低 TES 血症を示す症例でも高齢の 1 例を除き LH も低値が正常値を示し、negative feedback 機能も障害されていることが判明した。しかし、hypogonadism を伴わない症例や、一過性の高 PRL 血症で IMP となる症例の存在などより PRL の HPG に対する作用だけでは、すべての高 PRL 血症を伴う IMP の発症機序は説明しえない。

特に薬物性の高 PRL 血症は薬物により prolactin inhibiting factor と考えられているドーパミンの減少が PRL 産生増加の原因と考えられ、ドーパミンの減少は同時に脳内の性中枢に対しても影響を与えることが想定される。ドーパミンアゴニストである BCR が有効なことや、投与後 PRL の低下がなく TES の回復がなくても IMP が治癒する症例の存在は、この仮説を支持すると思われる。この場合、高 PRL 血症は偶発症で、BCR の脳内の性中枢に対する効果やプラセボー効果により IMP が治癒したのではないかの疑問が残る。今回の検討で 2 例が BCR の中止で高 PRL と IMP が再発し、再投与で治癒したことと、高 PRL 血症のない患者には BCR は無効²⁵⁾ であることより、高 PRL 血症を来す機序に関して BCR が反作用を示し IMP が治癒すると思われる。

最後に高 PRL 血症による IMP 患者の勃起機能検査であるが、初回のスクリーニングで高 PRL 血症とされた 15 例中 7 例に行われているが、一定の傾向はなかつた。そのうち 2 例は再検査で高 PRL が否定されたが、いずれも Rem-penogram で MSIa の症例で機能的 IMP と診断された症例である。一方、高 PRL 血症を伴った IMP と診断された 5 例のうち 2 例は機能的 IMP と判定されていることより、高 PRL 血症を伴った IMP では勃起機能検査は診断にさほど有用でないと考えられた。

結 語

IMP 患者に血漿 PRL 濃度を測定し 8 例 (4.9%) に

高 PRL 血症を認めた。高 PRL 血症が IMP の発症にどのように関与しているかは必ずしも明確ではないが、治療を行なった7例は全例勃起の回復がみられ IMP が治癒した。高 PRL 血症による IMP は頻度は高くないが、IMP 患者の診療にあたり必ず検討する必要がある病態である。

文 献

- 1) 今川章夫, 川西泰夫, 山下利幸, 玉置俊晃, 橋本寛文: 男子性機能障害に関する臨床的研究, 第3報: 病歴による病型分類, 西日泌尿, 46: 1033-1037, 1984.
- 2) 赤澤誠二: 勃起不全の診断, 第4報 REM-Pe-nogram の診断基準, 日泌尿会誌, 75: 1415-1419, 1984.
- 3) 川西泰夫, 今川章夫: 透析患者の sexual potency と下垂体・性腺機能, 透析会誌, 17: 327-331, 1984.
- 4) Franks, S., Jakobs, H. S., Martin, N. and Nabarro, J. P. N.: Hyperprolactinemia and Impotence. Clin. Endocr., 277-287, 1978.
- 5) Carter, J. N., Tyson, J. E., Tobis, G., Van-Vlist, S., Faiman, C. and Friesen, H. G.: Prolactin-Secreting tumors and hypogonadism in 22 men. New Engl. J. Med., 299: 847-852, 1978.
- 6) Thorner, M. O. and Besser, G. N.: Bromocriptine treatment of hyperprolactinaemic hypogonadism. Acta. Endocr. (Kbh), 88, Suppl., 216, 88: 131-146, 1978.
- 7) Nagulesparen, M. V. and Jenkins, J. S.: Bromocriptine treatment of males with pituitary tumors, hyperprolactinemia, and hypogonadism. Clin. Endocr., 9: 73-79, 1978.
- 8) Perryman, R. L. and Thorner, M. O.: The effects of hyperprolactinemia on sexual and reproductive function in man. J. of Androgy, 5: 233-242, 1981.
- 9) 加藤 譲, 島津 章, 太田 光, 樺山泰弘, 松永和彦, 井村裕夫: 高プロラクチン血症の診断と治療, ホと臨床, 32: 27-32, 1984.
- 10) Spark, R. F., White, R. B. and Connolly, P. B.: Impotence is not always psychogenic. JAMA, 243: 750-755, 1980.
- 11) Nickel, J. C., Morales, A., Condra, M., Fennmore, J. and Surridge, D. H.: Endocrine dysfunction in impotence: Incidence significance and cost-effective screening. J. Urol., 132: 40-43, 1984.
- 12) Ambrosi, B., Rossella, B., Travaglini, P., Wehr, G., Beck-Pecoz, P., Rondena, M., Elli, R. and Faglia, G.: Study of the effects of bromocriptine on sexual impotence. Clin. Endocr., 7: 417-421, 1977.
- 13) Horrobin, D. F.: Prolactin and mental illness. Br. J. Psychol., 124: 456-458, 1974.
- 14) Batrinos, M. L., Panitsa-Fafia, C., Anapliotou, M., Pitoulis, S., Loamnous, D. and Callifronas, M.: Prolactin in impotent man. Psyconeur., 6: 341-345, 1981.
- 15) 熊本悦明, 大野一典: 男子における高プロラクチン血症, P 104-123, プロモクリプチン, 基礎と臨床, メディカルトリビューン, 東京, 1983.
- 16) Nagel, J. C., Freinkel, N., Bell, H., Freisen, H., Wilber, J. F. and Metzger, B. E.: Gynecomastia, prolactin and other peptide hormones in patients undergoing chronic hemodialysis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 36: 428-432, 1973.
- 17) Frantz, A. G., Kleinberg, D. and Noel, G. L.: Studies on prolactin in man. Recent Prog. Horm. Res., 28: 527-590, 1972.
- 18) Ramirez, G., O Neile, W. N., Bloomer, H. A. and Jubiz, W.: Abnormalities in the regulation of prolactin in patients with chronic renal failure. J. Clin. Endocrinol. Metab., 45: 658-661, 1977.
- 19) Szucs, J., Mako, J. Gyorgyi, T., Foldes, J. and Feber, T.: Serum prolactin, testosterone, dehydroepiandrosterone, and dehydroepiandrosterone sulphate in male uremic patients on maintenance Hemodialysis: Effect of bromocriptine. Ham. Metabol. Res., 16: 503-504, 1984.
- 20) Drago, F.: Prolactin and sexual behavior: A Review. Neurosien. Biobehavioral review, 8: 433-439, 1984.
- 21) Login, I. S. and MacLeod, R. M.: Prolactin in human and rat serum and cerebrospinal fluid. Brain Res., 132: 477-483, 1977.
- 22) Fuxe, K., Eneroth, P., Gustafsson, J. A., Lofstrom, A. and Skett, P.: Dopamine in the nucleus accumbens: Preferential increase of DA turnover by rat prolactin. Brain Res., 122: 177-182, 1977.
- 23) Kalra, P. S., Simpkins, J. W. and Kalra, S. P.: Hyperprolactinemia counteracts the testosterone-induced inhibition of the peeoptic area dopamine turnover. Neuroendocrinology, 33: 118-123, 1981.
- 24) Hermans, U. and Hafez, E. S. E.: Prolactin and male reproduction. Arch. Androl., 6: 95-125, 1981.
- 25) March, C. M.: Bromocriptine in the treatment of hypogonadism and impotence, Drugs, 17: 349-358, 1979.

Diagnosis of impotence
report 6 hyperprolactinemia

Akio Imagawa and Yasuo Kawanishi

Department of Urology, Takamatu Red
Cross Hospital

Plasma prolactin concentrations were determined in 163 male patients with sexual impotence. The results were as follows.

1) The median plasma prolactin in patients with impotence was 13.4 ± 8.29 ng per milliliter (mean \pm SD), and no significant variation was seen

between prolactin level and the age of the patient.

2) Hyperprolactinemic patients were defined as those whose serum levels were greater than 30 ng per milliliter, and fifteen out of 163 such cases were found on the initial test.

3) Eight out of 15 cases were confirmed as hyperprolactinemic by reexamination. The cause of hyperprolactinemia was drug use except for one patient who suffered from prolactinoma.

4) Two patients who discontinued drug use showed improved sexual potency, as did five patients treated with bromocriptine.

(受付: 昭和60年10月24日)

低ゴナドトロピン性類宦官症

Hypogonadotropic Eunuchoidism

千葉大学医学部泌尿器科学教室（主任：島崎淳教授）

布施 秀 樹 角 谷 秀 典 片 海 善 吾

Hideki FUSE Hidenori SUMIYA Zengo KATAUMI

高 原 正 信 伊 藤 晴 夫 島 崎 淳

Masanobu TAKAHARA Haruo ITO Jun SHIMAZAKI

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

低ゴナドトロピン性類宦官症10例につき臨床的検討を加えた。

主訴は、性器發育不全が4例と最も多かつた。二次性徴欠如、停留睾丸がそれぞれ2例あつた。身長および指極の平均値は、それぞれ168.4cm, 172.8cm と後者が上回つていた。体重のそれは65.1kgであつた。恥毛は2例に数本認められたが、他例はみとめなかつた。睾丸容積は、左右それぞれ1.9ml, 1.8mlであつた。染色体型はいずれも46XYであつた。Kallmann 症候群が3例あつた。

血中 LH および FSH 値は、正常下限～低値を示した。血中テストステロン値は、全例低値で、平均36.0 ng/dl であつた。

LH-RH 試験で、LH は、30分値が前値の3.7倍、FSH は、1.9倍となつた。

hCG 試験では、血中テストステロン値が、前値の6.7倍と良好な反応を示した。正常域に達した2例は、治療により精液に精子の出現をみた。

hCG 投与により、9例中5例は血中テストステロンの上昇を示し、二次性徴の出現をみた。そのうち3例は、精液に精子が出現した。hMG の追加投与により精液所見の著明な改善をみた例があつた。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 360-366, 1986)

緒 言

ゴナドトロピン分泌不全による睾丸機能低下症は、思春期前におこると、二次性徴を欠いた独特の体型の類宦官症を呈する。本症の治療は、分泌不全を示す LH および FSH の補充であるが、その成績は満足のものとはいえない。そこで、われわれは、本症の臨床像ならびに治療予後を検討し、若干の知見をえたので報告する。

対象ならびに方法

1973年1月より1984年12月までに千葉大学医学部泌尿器科で経験した低ゴナドトロピン性類宦官症10例を対象とした。これらのうち1例は、すでに報告したが¹⁾、今回のシリーズに加えて他症例と比較検討した。これらに

つき、主訴、初診時年齢、身体所見、染色体型、内分泌学的所見、治療およびその予後について検討した。

血中ホルモン値は、LH、FSH は、それぞれ LH キット「第1」、FSH キット「第1」にて、テストステロンは、“栄研”キットにて測定した。LH-RH 試験は、LH-RH タナベ注射薬®(田辺) 100 μ g 静注にて、hCG 試験は、ゴナドトロピン®(帝臓) 4000単位3日連続筋注にて行なつた²⁾。

精液は、5日禁欲後、用手にて採取し鏡検に供した³⁾。

治療は、hCG 1000単位、週2回より開始した。1部例に hMG (ヒュメゴン®, 日本オルガノン) 75単位週2回投与も併用した。hCG 無効例は、テストステロン (エンルモン・デポー®, 帝臓) 250mg, 3週に1回の補充とした。

表 1 対 象 症 例

症 例	主 訴	初診時年齢 (才)	身 長 (cm)	指 極 (cm)	体 重 (kg)	恥毛	辜 丸 容 積		染 色 体 型	合 併 症
							左 (ml)	右 (ml)		
1.	停留辜丸	15	126	121	24.5	(-)			46X Y	嗅覚障害 左停留辜丸
2.	"	15	142		28	(-)	0.3	0.3		両側停留辜丸
3.	二次性徴欠如	24				数本				
4.	性器發育不全	29	142	155	63	(-)	1.0	1.0	46X Y	
5.	射精障害	26	180	186.5	65	(-)	4.3	4.7	46X Y	嗅覚障害
6.	不 妊	25	175.5	182	76	(-)	3.7	3.5	46X Y	
7.	性器發育不全	27	182	190	57	(-)	1.0	1.0	46X Y	
8.	"	33	175	190	69.5	数本	2.1	欠	46X Y	嗅覚障害
9.	"	20	154	147	60.5	(-)	1.4	1.3	46X Y	
10.	二次性徴欠如	21	170.5	159	65	(-)	1.7	1.1	46X Y	

mean±S.D. 168.4±14.8 172.8±18.4 65.1±6.2 1.9±1.4 1.8±1.6
 (n=7) (n=7) (n=7) (n=8) (n=7)

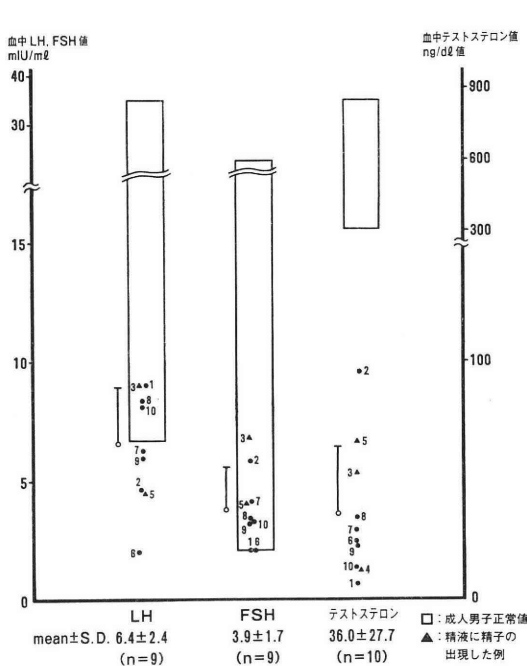


図 1 血中 LH, FSH およびテストステロン値

結 果

- 1) 主訴：性器發育不全が4例と最も多かつた。二次性徴欠如、停留辜丸がそれぞれ2例あつた。後者は、思春期になつても、二次性徴が出現せず、類宦官様体型を示した。停留辜丸例のうち症例2は両側であつた。不妊、射精障害が各1例であつた(表1)。
- 2) 初診時年齢：停留辜丸例がいずれも、15歳であつた。

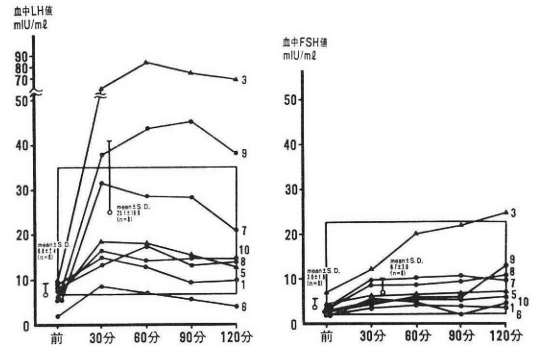


図 2 LH-RH 試験 (LH-RH 100µg 静注)

□：成人男子正常値
 ▲—▲精液中に精子の出現した例

つた。他の例は、いずれも20歳以降に受診していた(表1)。

3) 身体所見：症例4~10の身長、指極、体重の平均値は、それぞれ168.4cm、172.8cm、65.1kgであつた。指極が身長より大であつた。恥毛は、症例3, 8に数本みられたが他の例では、みとめなかつた。辜丸容積は、いずれも5mlにみえず、左右の平均容積は、おのおの1.9ml、1.8mlであつた(表1)。なお症例8の右辜丸は鼠径ヘルニアの手術後に消失したものであつた。

4) 染色体型：8例に施行し、いずれも46XYと正常男子型であつた(表1)。

5) 合併症：嗅覚障害を伴う Kallmann 症候群が3例あつた。先に述べた如く、停留辜丸が、症例1および2にみとめた(表1)。

6) 血中 LH, FSH およびテストステロン値：血中

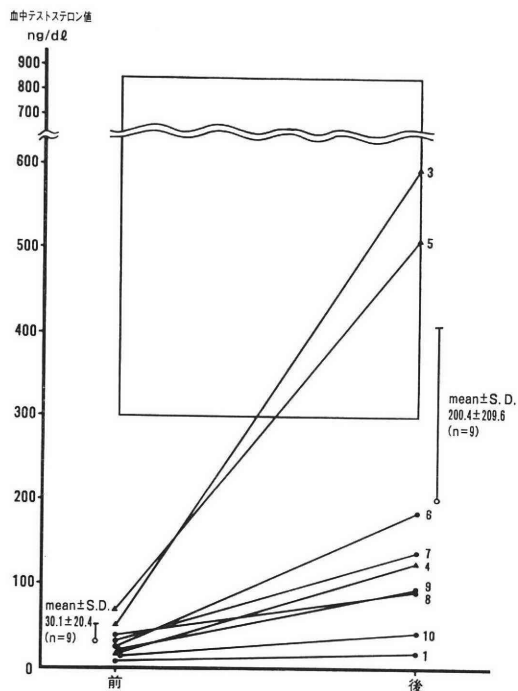


図3 hCG 試験 (hCG 4000単位, 3日連続筋注)
 □: 成人男子正常値
 ▲—▲ 精液中に精子の出現した例

LH 値は、9 例中 5 例が低値を示したが、4 例は正常下限にあつた。FSH 値は、症例 1, 6 の 2 例のみが低値で、他の 7 例は、正常域にあつた。血中テストステロン値は、全例低値を示し、平均値は、36.0ng/dl であつた。なお治療による精液中の精子の出現の有無と血中ホルモン値には一定の傾向はなかつた (図 1)。

7) LH-RH 試験: 血中 LH の30分値は、前値の 3.7倍, FSH 値のそれは、1.9倍と、比較的良好な反応を示した。症例 3, 8 および 9 は、最大反応率は良好であつたが、そのピークが30分以降であり、反応の遅延を認めた。治療による精液中の精子の出現の有無と LH-RH に対する反応性とは関係がなかつた (図 2)。

8) hCG 試験: 血中テストステロンの前値の平均値 30.1ng/dl が、200.4ng/dl と 6.7 倍の増加率を示し、正常以上のそれを示した。症例 3 および 5 は、成人男子正常域に達した。ちなみにこの 2 例は、いずれも治療により、精液中に精子の出現をみた例であり、後者は、配偶者の妊娠をみた (図 3)。

9) 治療および予後: 症例 1, 7 および 8 は、それぞれ hCG 投与 10 カ月, 6 カ月, 6 カ月にて血中テストステロン値が上昇しないため、エンアルモン・デポー® 投与に変更した。

症例 2, 3, 5 ならびに 9 は、hCG 投与にて血中テストステロン値の反応が良好であつたので、現在も投与中である。なお症例 3 ならびに 5 は、精液中に精子の出現をみた。

症例 4 および 6 は、hMG を追加投与し、前者は著明な精液所見の改善をみたが、後者は、血中テストステロン値、精液所見ともに反応不良のためエンアルモン・デポー® 投与とした。

症例 10 は、患者の通院の都合でエンアルモン・デポー® より開始した (表 2)。

10) 症例: 症例 4 は、hCG 1000 単位, 週 2 回投与にて治療前 1 ml だつた睾丸が、4 年後には左右とも 5 ml と増大した。恥毛もわずかながら出現した。1981 年

表 2 治療 および 予 後

症例	治 療	精 液 中 に 精子 が 出現	妊 娠
1	hCG 1000 単位, 週 2 回 (10カ月)→エンアルモンデポー 250mg, 3 週に 1 回 (1年 2 カ月)	-	-
2	hCG 1000 単位, 週 2 回 (4年 5 カ月)	-	-
3	hCG 1000 単位, 週 2 回 (3 年)	+	-
4	hCG 1000 単位, 週 2 回 (6 年)→hCG 1000 単位, hMG 75 単位, 週 2 回 (2年 2 カ月)	+	-
5	hCG 1000 単位, 週 2 回 (1年 4 カ月)→hCG 1000 単位, 週 1 回 (4年 6 カ月)	+	+
6	hCG 1000 単位, 週 2 回 (11カ月)→hCG 1000 単位, hMG 75 単位, 週 2 回 (10カ月)→ エンアルモンデポー 250mg, 3 週に 1 回 (1年 9 カ月)	-	-
7	hCG 1000 単位, 週 2 回 (6 月)→エンアルモンデポー 250mg, 3 週に 1 回 (1年 9 カ月)	-	-
8	hCG 1000 単位, 週 2 回 (6 月)→エンアルモンデポー 250mg, 3 週に 1 回 (10カ月)	-	-
9	hCG 1000 単位, 週 2 回 (3 月)	-	-
10	エンアルモンデポー 250mg, 3 週に 1 回 (1年 6 カ月)	-	-

(): 投与期間

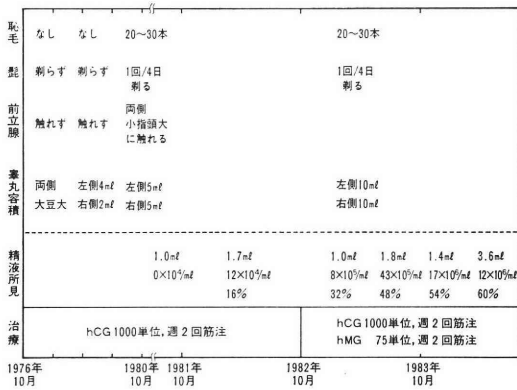


図 4 治療経過と臨床所見 (症例 4)



図 5 治療経過と臨床所見 (症例 5)

8月, 射精可能となり, その8ヵ月後の精液所見は, 高度乏精子症であった。1982年10月より hMG 75単位, 週2回投与を併用した。1984年4月に, 精液量3.6ml, 精子濃度12×10⁶/ml, 精子運動率60%と著明な改善をみた。しかし二次性徴は併用前と比べ著変はなかつた(図4)。

症例5は, 既報告例¹⁾であるが, hCG 1000単位週2回投与1年後, 射精可能となり, 精子濃度82×10⁶/ml, 精子運動率30%と良好な精液所見を示した。1984年2月結婚し, 配偶者の妊娠をみた。そのときの精液所見は, 正常者のそれであった(図5)。

考 按

下垂体前葉ホルモン分泌障害は, 複数あるいは, 全部のホルモンのそれと単独欠損症とに分けられる。後者のゴナドトロピンの分泌障害が低ゴナドトロピン性性腺不全症である。男子においては, 睾丸機能低下をきたし, 前にも述べたように, 思春期に入っても, 二次性徴の出現をみず, 類宦官様の体型を呈するので, 低ゴナドトロピン性類宦官症ともいわれる⁴⁾。嗅覚障害を伴うもの

は, Kallmann 症候群といわれ, 自験の症例1, 5および8がそれに相当する。間脳よりの LH-RH の分泌不全によるとされる⁵⁾。

本症は, 低アンドロゲンにより, 体型は, 細長く, 皮脂腺の分泌は悪く, 変声の未発来, 恥毛, 鬚, 腋毛および体毛が少ない。しかし自験の症例5, 7は, 細長型の体型であったが, 他の例は必ずしも, そうとはいえず, 皮下脂肪の外寡によつても影響されるのだろう。一方, 恥毛は, 自験例でもみとめないものが多く, あつても数本であった。なお四肢骨が骨端線閉鎖不全により過長となり, 自験例でも認めたように指極が身長を上廻ることになる。

停留睾丸は, ゴナドトロピン分泌不全によるとする説が有力であり, 本症に合併しうらる⁶⁾。自験例でも2例にみとめた。

以上より, 思春期相当年齢以降に二次性徴欠如および性器發育不全を主訴に来院することが多く, 自験例でも同様の傾向を示した。同じ性腺不全症の Klinefelter 症候群は, 不妊を主訴とするものが多い²⁾のと対照的である。低アンドロゲンの程度が後者では, 軽度のためであろう。

LH-RH 投与に対して LH, FSH の反応は, 無反応から正常反応まで症例間に差があるとされる^{7,8)}, 無反応のものでも, その連続投与により反応性が回復するものが多いという⁹⁾。自験例でも, 反応率の低いものから, 症例3, 7, 9のように, ほぼ正常の反応率を示すものまで相当の幅があつた。

hCG 試験に対しては, 一般によく反応するとされるが, 自験例では, 反応のみられないものから正常域に達するものまで差があつた。平均では, その反応率は, 正常者を上廻つた。hCG 投与後, 血中テストステロン値が正常域に達したものは, いずれも後述のゴナドトロピン投与により, 精液中に精子の出現をみており, 造精機能の予後を推測する1つのパラメーターとなりうるだろう。

治療は, Kallmann 症候群のように, 間脳よりの LH-RH 分泌障害とされるものは, LH-RH の投与が合目的といえるが, LH-RH は半減期が短い¹⁰⁾ので, 頻回投与を要する。最近, LH-RH をポータブルの自動注入器により間歇的に投与し, 良好な成績をえた報告もあり^{11,12)}, 期待がもてるかもしれない。一方, 長時間作用型の高活性の analogue¹³⁾ は, 下垂体を抑制することもあり, 問題を残しており, むしろ前立腺癌の治療薬として脚光をあびている。

現時点では, LH 作用の hCG と FSH 作用をもつ hMG の併用が最良の方法といえよう。従来, hCG のみ

の投与が行なわれていたが、造精機能導入には、LH、FSH の両者が必要なので、hMG の併用が望ましいだろう。ちなみに自験の症例4は、hMG の追加投与で精液所見の著明な改善をみており、このことを裏付けるものだろう。

hCG の投与量、間隔に一定のものではなく奥山ら¹⁴⁾は、3000~5000単位を週1~2回、岩動¹⁵⁾は、5000単位を週2回投与としている。症例間に差があり、また抗体の出現することもあり^{16,17)}、血中テストステロン値を指標とするのが、望ましいだろう。自験例は、hCG 1000単位、週2回投与で9例中5例に血中テストステロン値の上昇と二次性徴の出現をみた。そのうち3例に精液中に精子をみた。

hMG は自験例では75単位、週2回投与としたが、造精機能導入をみない場合は、増量となろう。hCG 投与の場合ほど明確な指標がなく、今後検討されるべきだろう。

ゴナドトロピン投与によつても、血中テストステロン値の上昇をみず、二次性徴の発現をみないものは、テストステロンの補充となる。テストステロン・エンアンセートがよく用いられ、Snyder ら¹⁸⁾は、その投与量および間隔について検討した結果、200mg を2週に1度あるいは、300mg を3週に1度投与するのがよいとしている。自験例でも250mg、3週間に1回投与とし、比較的良好な結果をえた。

後天性の低ゴナドトロピン性の性腺不全症に対してテストステロンの補充により造精機能が保たれ、妻の妊娠をみた例が報告された¹⁹⁾。一度、導入された造精機能は、外因性のテストステロン投与でも、維持できることを示唆し、Marshall ら²⁰⁾は、赤毛猿で、同様の結果をえている。自験の症例5で、投与回数少なくすむ、テストステロン補充に変更できる可能性を示すのだろう。

長期間テストステロン投与後でも、ゴナドトロピンにより²¹⁾、精子形成が開始されるといふ。自験症例10で、挙児を希望する時、ゴナドトロピンに変更することにより、妊孕性がえられることを示すのだろう。なお、Rowe ら²²⁾のテストステロンのみで挙児をえた例は、特殊例であろう。ちなみに自験症例10では、テストステロン投与後、2年経過するが、精子の出現をみない。

結 語

1973年1月より1984年12月までに千葉大学医学部泌尿器科で経験した低ゴナドトロピン性類宦官症10例について以下の成績をえた。

1) 主訴は性器發育不全が最も多かつた。

2) 指極は、身長を上廻っていた。恥毛は数本のものが2例、他は認めなかつた。睾丸容積は、平均左1.9ml 右1.8ml であつた。

3) 血中 LH、FSH は低値~正常下限であつた。テストステロンは全例低値で、平均36.0ng/dl であつた。

4) LH-RH 試験で LH は30分値が前値の3.7倍、FSH は1.9倍の反応を示した。

5) hCG 試験は、血中テストステロンが前値の6.7倍と良好な反応を示した。正常域に達した2例は、hCG 療法により精液に精子の出現をみた。本試験に対する反応性よりある程度、妊孕性の予後を推定しうると考えた。

6) hCG 投与により9例中5例で血中テストステロンの上昇をみ、二次性徴の発現をみた。そのうち3例は、精液に精子が出現した。hMG の追加投与により、精液所見の著明な改善をみた例があり、造精機能導入には、hMG 併用が望ましいことを示した。

(本論文の要旨は、1984年11月、第29回日本不妊学会総会において発表した。)

文 献

- 1) 布施秀樹, 伊藤晴夫, 皆川秀夫, 川村健二, 島崎 淳: 造精機能導入に成功した Kallmann 症候群の1例, 泌尿紀要, 28: 1167, 1982.
- 2) 布施秀樹, 皆川秀夫, 伊藤晴夫, 島崎 淳, 片山 喬: Klinefelter 症候群の臨床的観察, 日泌尿会誌, 74: 226, 1983.
- 3) 布施秀樹, 皆川秀夫, 伊藤晴夫, 島崎 淳: 男子不妊症の臨床的観察, 日不妊会誌, 28: 197, 1983.
- 4) 島崎 淳, 伊藤晴夫: 男性ホルモン欠乏症(睾丸性女性化症を含む), 性腺疾患, P 49, 内科セミナー, END 5, 永井書店, 大阪, 1981.
- 5) Kallmann, F. J., Schoenfeld, N. A. and Barre, S. F.: The genetic aspects of primary eunuchoidism. Amer. J. Menet. Defic., 48: 203, 1944.
- 6) 布施秀樹, 皆川秀夫, 伊藤晴夫, 島崎 淳: 停留睾丸の予後, 日不妊会誌, 29: 102, 1984.
- 7) Marshall, J. C., Harsoulis, P., Anderson, D. C., McNeilly, A. S., Besser, G. M. and Hall, R.: Isolated pituitary gonadotrophin deficiency: Gonadotrophin secretion after synthetic luteinizing hormone and follicle stimulating hormone-releasing hormone. Brit. Med. J., 16: 643, 1972.
- 8) Liebllich, J. M., Rogol, A. D., White, B. J. and Rosen, S. W.: Syndrome of anosmia with hypogonadotropic hypogonadism (Kallmann syndrome): Clinical and laboratory studies in 23 cases. Amer. J. Med., 73:

- 506, 1982.
- 9) Oettinger, M., Bruneteau, D. W., Pasroudakis, A. and Greenblatt, R. B.: FSH and LH response to LHRF in Kallmann's syndrome. *Obst. Gynec.*, 47: 233, 1976.
 - 10) Mortimer, C. H., McNeilly, A. S., Fisher, R. A., Murray, M. A. F. and Besser, G. M.: Gonadotrophin-releasing hormone therapy in hypogonadal males with hypothalamic or pituitary dysfunction. *Brit. Med. J.*, 14: 617, 1974.
 - 11) Hoffman, A. and Crowley, W. F. Jr.: Induction of puberty in men by long-time pulsatile administration of low-dose gonadotropin-releasing hormone. *N. Engl. J. Med.*, 307: 1237, 1982.
 - 12) Skarin, G., Nillius, S. J., Ahlsten, G., Tuveno, T. and Wide, L.: Induction of male puberty by long-term pulsatile subcutaneous LH-RH therapy. *Upsala. J. Med. Sci.*, 89: 73, 1984.
 - 13) Morel, Y., Fournier, M., Mazonod, B., Tournaire, J. and Mornex, R.: Treatment of hypogonadotropic hypogonadal male patients with the luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) analog D-Ser-(TBU)⁶ EA¹⁰ LH-RH: Transient disappearance of gonadotropin stimulation. *Fertil. & Steril.*, 38: 85, 1982.
 - 14) 奥山明彦, 並木幹夫, 小出卓生, 園田孝夫, 宇都宮正登, 伊東 博, 吉岡俊昭, 板谷宏彬, 西本直光, 水谷修太郎: 辜丸間質機能の検討, 第 8 報: 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症に対するゴナドトロピン長期投与の経験, 日泌尿会誌, 74: 1205, 1983.
 - 15) 岩動孝一郎: Gonadotropin deficiency による男子 hypogonadism 症例に対する hCG/hMG 併用療法についての検討, 日不妊会誌, 28: 189, 1983.
 - 16) Claustrat, B., David, L., Faure, A. and Francois, R.: Development of anti-human chorionic gonadotropin antibodies in patients with hypogonadotropic hypogonadism. A study of four patients. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 57: 1041, 1983.
 - 17) Sokol, R. Z., McClure, R. D., Peterson, M. and Swerdloff, R. S.: Gonadotropin therapy failure secondary to human chorionic gonadotropin-induced antibodies. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 52: 929, 1981.
 - 18) Snyder, P. J. and Lawrence, D. A.: Treatment of male hypogonadism with testosterone enanthate. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 51: 1335, 1980.
 - 19) Baranetsky, N. G. and Carlson, H. E.: Persistence of spermatogenesis in hypogonadotropic hypogonadism treated with testosterone. *Fertil. & Steril.*, 34: 477, 1980.
 - 20) Marshall, G. R., Wickings, E. J., Lüdecke, D. K. and Nieschlag, E.: Stimulation of spermatogenesis in stalk-sectioned Rhesus monkeys by testosterone alone. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 57: 152, 1983.
 - 21) Burger, H. G., Dekretser, D. M., Hudson, B. and Wilson, J. D.: Effects of preceding androgen therapy on testicular response to human pituitary gonadotropin in hypogonadotropic hypogonadism: A study of three patients. *Fertil. & Steril.*, 35: 64, 1981.
 - 22) Rowe, R. C., Schroeder, M.-L. and Faiman, C.: Testosterone-induced fertility in a patient with previously untreated Kallmann's syndrome. *Fertil. & Steril.*, 40: 400, 1983.

Hypogonadotropic eunuchoidism

**Hideki Fuse, Hidenori Sumiya,
Zengo Kataumi, Masanobu Takahara
Haruo Ito and Jun Shimazaki**

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

The clinical observations of ten cases of hypogonadotropic eunuchoidism were performed. Four cases had chief complaints of incomplete development of their genital organs, which are most frequent. The other chief complaints were lack of secondary sexual characteristics in two cases and cryptorchism in two.

The average stature and arm span were 161.4 cm and 172.8 cm, respectively. The latter was larger than the former. The average body weight was 65.1 kg.

Two cases had several pubic hairs but the other cases had no pubic hair.

The average testicular volume was 1.9 ml in the left side and 1.8 ml in the right side. The karyotype was 46, XY in all cases.

Kallmann's syndrome was recognized in three cases. The basal levels of luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in blood were low normal or low. The basal level of testosterone in blood was low in all cases and the average level was 36.0 ng/dl.

The average LH and FSH levels thirty minutes after luteinizing hormone-releasing hormone administration were 3.7 and 1.9 times as high as the basal levels of LH and FSH, respectively.

The testosterone level in blood after human chorionic gonadotropin (hCG) administration proved to be 6.7 times as high as the basal level.

In two cases whose testosterone levels reached normal range after hCG administration, the appearance of sperms in their semen was observed after hCG therapy.

In five cases out of nine, testosterone level in blood was elevated and secondary sexual characteristics appeared after hCG administration.

Three out of the above five cases were found to have sperms in their semen.

In one case, significant improvement of semen findings was observed after additive human menopausal gonadotropin (hMG).

(受付：昭和60年8月9日)

GnRH Agonist の反復投与による “Medical Hypophysectomy”

“Medical Hypophysectomy” Using Repeated Administration of GnRH Agonist

獨協医科大学産科婦人科学教室

正岡 薫 新部 哲雄 熊坂 高弘
Kaoru MASAOKA Tetsuo NIIBE Takahiro KUMASAKA

Department of Obstetrics and Gynecology, Dokkyo University School of Medicine

GnRH agonist (GnRH-A) による性腺機能抑制効果の発現機序について検討した。無排卵性過多月経患者1名と子宮内膜症患者2名に対し、GnRH-A (des-Gly¹⁰-[D-Leu⁶]-LHRH-ethylamide) を携帯用自動輸液ポンプにて間歇または持続皮下投与した。3名とも投与後1~2週間でGnRHテストに対するLH、FSHの反応は消失した。投与中、LHは投与前値以上のレベルを維持したが、FSHは一過性に増加した後、著明に低下した。estradiol (E₂)は投与開始後2週間で閉経レベルまで低下した。過多月経患者では投与9日目 (E₂ 23pg/ml) よりGnRH-AとともにhMG (150IU/日) を併用投与したところ、16日目にはE₂は553pg/mlに増加し、hCGの投与によりほぼ正常な排卵が誘発された。

以上から、GnRH-Aの性腺抑制作用は下垂体のGn分泌の質的、量的変化によるものであり、卵巣への直接的阻害作用やGnレセプターのdown-regulationは否定的であることが示唆された。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 367-370, 1986)

緒言

最近、gonadotropin-releasing hormone (GnRH) の potent agonist (GnRH-A) による子宮内膜症の治療が注目されている。しかし、その作用機序はまだまだ明確ではなく、卵巣のGnレセプターへのdown regulation¹⁾や卵巣のGnRHレセプターへの直接阻害作用^{2,3)}、あるいはbioactivityの低下したGnによるsteroidogenesisの低下⁴⁾など、いくつかの可能性が提起されている現状である。そこで今回、われわれはGnRH-Aの作用部位について若干の検討を行ない、preliminaryなデータではあるが、興味ある知見を得たので報告する。

対象と方法

20歳の無排卵性過多月経患者 (R.A.) と32歳 (U.M.) と33歳 (M.K.) の正常月経周期を有する子宮内膜症患者

(腹腔鏡的診断) を対象とした。患者 R.A. に対して月経周期の7日目よりGnRH-A (des-Gly¹⁰-[D-Leu⁶]-LHRH-ethylamide; TAP-144, タケダ薬品) 150 μ g を90分毎に携帯用間歇輸液ポンプ (SP-3I, ニプロ社製) にて皮下投与した。投与9日目からagonistとともにhMG (Pergonal, 帝国臓器) 9.375IUを同じく90分毎に皮下投与で7日間併用した。患者 U.M. は月経周期7日目よりGnRH-A 50 μ gを90分毎に同ポンプにて14日間皮下投与した。患者 M.K. は月経周期15日目から1日当り800 μ gのGnRH-Aを携帯用持続輸液ポンプ (SP-3, ニプロ社製) で14日間皮下投与した。以上3名の患者はagonist投与前、投与中、投与後に適宜、GnRH 100 μ gテストを行ない下垂体の反応性をチェックした。得られた血液サンプルは同一人については1回のassayで各種のホルモンを同時測定した。血中LH, FSH, estradiol (E₂), progesterone (P) の測定は第一ラジオアイソトープ社のキットを用いた。

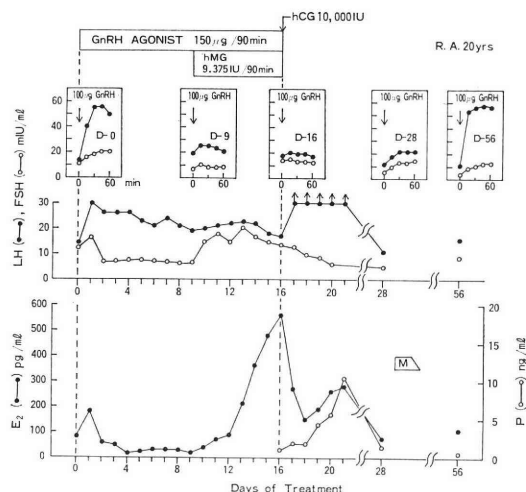


図1 無排卵性過多月経患者に月経周期7日目より GnRH agonist 150 μ g を90分毎に間歇皮下投与した例。上段パネル内は GnRH テスト。投与9日目より hMG を併用している

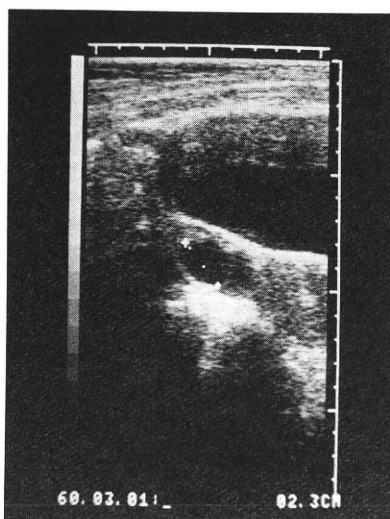


図2 患者 R.A. の GnRH agonist と hMG 併用により観察された超音波断層法による卵胞の発育

成績

患者 R.A. の LH, FSH は GnRH-A 投与24時間後に上昇し、同時に E₂ も増加したが48時間後には FSH, E₂ ともに低下した(図1)。LH は投与前の14mIU/ml から GnRH-A 投与中は20~30mIU/ml と投与前値より常に上昇を続けた。投与後9日目には FSH は投与前の13mIU/ml から6.3mIU/ml, E₂ は投与前の80pg/ml から23pg/ml と低値を示し、下垂体の GnRH (100 μ g) テストの反応はほとんど認められない程度に抑制されていた (Day 9)。この時点から hMG の間歇投与 (150IU/日) を併用すると翌日より FSH は15~21mIU/ml に増加した。これと平行して E₂ も増加を開始し、7日間の hMG 併用により 553pg/ml に達した。この時点での GnRH テストの反応はほぼ完全に抑制されていた (Day 16)。投与後16日目の超音波断層法にて右卵巣に最大径2.3cm の卵胞を1個認めた(図2)ので、hCG 10,000IU を筋注し GnRH-A の投与を中止した。hCG 投与2日後より基礎体温は上昇し、黄体期4日目の P 値は10ng/ml であった(図1)。11日間の黄体期の後、月経が発来したが、この時点ではまだ GnRH への反応性の回復は軽度であり (Day 28)、56日目に治療前と同様の反応性の回復がみられた。

患者 U.M. は月経周期7日目より GnRH-A の投与を開始した(図3)。投与翌日には LH, FSH, E₂ は急増し、その後 LH, FSH は低下したが E₂ は7日目まで上昇を続けた。7日目の GnRH テストでは LH, FSH

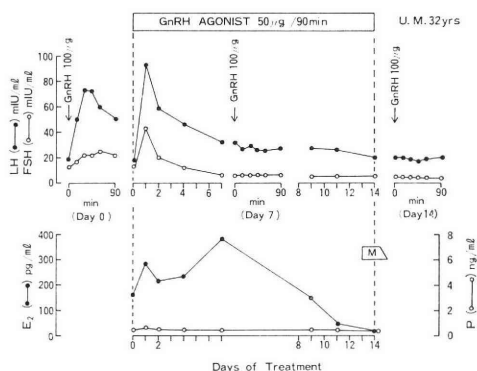


図3 子宮内膜症患者に月経周期7日目より GnRH agonist 50 μ g を90分毎に間歇皮下投与した例

の反応性は消失していた。7日目から14日目にかけて LH はほぼ投与前値まで漸減したが、FSH の低下は急速で7日目以降 4~5 mIU/ml の低値を持続した。E₂ は14日目には20pg/ml まで低下して月経周期の20日目には月経が発来した。この時点での下垂体の GnRH への反応性は完全に消失していた (Day 14)。

患者 M.K. は月経周期15日目より GnRH-A の持続投与を行つた(図4)。投与直前の GnRH テストで LH, FSH の基礎値が高く過剰反応がみられるのは LH surge の下降脚の時期にあつていたためと思われる。投与開始後 LH, FSH は漸減したが、E₂ はしばらくは高値を続け、P は6 ng/ml まで増加した後、投与14日目に月経が発来した。この時点の GnRH テストでは LH,

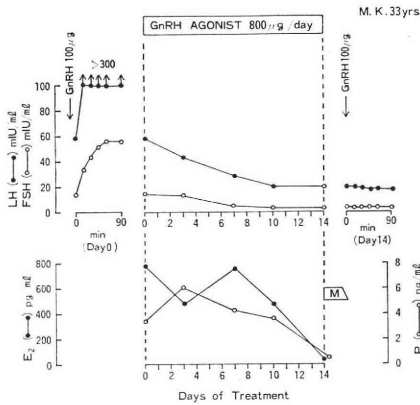


図 4 子宮内膜症患者に月経周期15日目より GnRH agonist 1日800 μ g を持続皮下投与した例

FSH の反応性は全く消失していた (Day 14).

考 察

GnRH-A による性腺機能抑制作用は現在ではよく知られた事実であるが、発見当初は “paradoxical effect” として注目された。しかしながら、そのメカニズムに関してはラットにおいて膨大な evidence が集積しているにもかかわらず、ヒトではあまり検討されておらず、作用部位をめぐってはまだ論議のあるところである。現在のところ考えられるメカニズムとしては次のようなものがあげられる。GnRH-A の反復投与により、(i) 下垂体の GnRH レセプターに down-regulation (desensitization) が起こる⁹⁾。ii) 大量に放出された Gn により卵巣の Gn レセプターに down-regulation が起こる¹⁾。iii) 卵巣の GnRH レセプター³⁾に結合し steroidogenesis を阻害する²⁾。iv) 放出される Gn の biological activity が低下する⁴⁾。

今回用いた GnRH-A (TAP-144) は Saito et al.⁶⁾によると、25 μ g の皮下投与で血中 LH は 3 ~ 4 時間後に約 21 倍増加し、作用持続時間は 24 時間以上と報告されているほど強力な long acting なものである。今回これをさらに大量かつ頻回に作用させる目的で、間歇投与および持続投与して検討した。3 症例とも少なくとも投与 2 週間で下垂体の GnRH に対する反応性は消失し、GnRH レセプターの down regulation が起こった。卵巣からの E₂, P 分泌も 2 週間目には閉経婦人に近いレベルまで低下し、steroidogenesis の抑制効果がみられた。この間、LH は投与前値以下には低下しなかつたが、FSH は初期の上昇後、急速に低下した。Meldrum et al.⁷⁾ も子宮内膜症婦人 5 名に GnRH-A (D-Trp⁹-

Pro⁹-Net-LHRH) 100 μ g を連日 1 回皮下投与すると、LH は持続的に上昇するが、FSH は早期に低下し 3 ~ 4 週間で E₂ は去勢レベルにまで低下することを示している。したがって、FSH は aromatization を促進させ E₂ 分泌を高める⁸⁾ことが知られているので、この FSH の持続的低値が GnRH-A 投与中の E₂ 分泌抑制の原因の一つである可能性は十分に考えられる。また、投与中 E₂ が極端な低値となつても FSH が反応性に増加 (negative feedback の解除) してこないのは下垂体の GnRH レセプターの down regulation が既に起こっているためと思われる。一方、LH は FSH のように低下せず、血中濃度を維持しているが、Meldrum et al.⁴⁾ のその後の報告でこの LH は bioactivity が約 1/15 に低下したものであることが示された。したがって GnRH-A 投与により Gn 分泌は bioactivity の低下した LH と FSH 分泌の低下により steroidogenesis は低下すると考えられる。

GnRH-A とともに hMG の間歇投与を併用した 1 例では、FSH の増加にともない E₂ の上昇と卵巣成熟がみられた。このことは卵巣の Gn レセプターは GnRH-A 投与中も阻害されていないことを示しており非常に興味深い。また GnRH-A による直接的な卵巣への阻害作用もこの結果からみると否定的である。ラットで証明されている卵巣の GnRH レセプター³⁾はヒトでは証明されておらず⁹⁾、in vitro のヒト黄体への阻害作用も認められていない¹⁰⁾。

以上より GnRH-A の性腺抑制効果の作用部位は下垂体であり、Gn 分泌の質的、量的変化を介するものであると考えられる。また卵巣の Gn レセプターが投与中も阻害されていないことをみると、本剤の効果は medical oophorectomy⁷⁾ というよりもむしろ medical hypophysectomy と呼んだ方が適切のように思われる。このことは本剤の臨床応用の範囲を拡大する意味でも重要で、hMG による卵巣過剰刺激反応の防止に適用できるかもしれない。例えば、多嚢胞性卵巣患者では高 LH 血症のため過剰刺激を起こしやすいが、本剤の投与で LH の bioactivity を低下させておいて hMG 投与を行えば過剰刺激をある程度防止できるのではないかと思われる。

本論文の要旨は第 7 回エンドメトリオージス研究会 (1985, 東京) で発表した。

文 献

1) Conti, M., Harwood, J. P., Hsueh, A. J. W., Dufau, M. L. and Catt, K. J.: Gona-

- dotropin-induced loss of hormone receptors and desensitization of adenylate cyclase in the ovary. *J. Biol. Chem.*, 251 : 7729, 1976.
- 2) Hsueh, A. J. W. and Erickson, G. F. : Extrapituitary action of gonadotropin-releasing hormone: Direct inhibition of ovarian steroidogenesis. *Science*, 204 : 854, 1979.
 - 3) 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.
 - 4) Meldrum, D. R., Tsao, S. E., Monroe, S. E. and Chang, R. J. : Stimulation of LH fragments with reduced bioactivity following GnRH agonist administration in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 58 : 755, 1984.
 - 5) Bergguist, C., Nillius, S. J. and Wide, L. : Reduced gonadotropin secretion in post-menopausal women during treatment with a stimulatory LRH analogue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49 : 472, 1979.
 - 6) Saito, M., Kumasaka, T., Yaoi, Y., Nishi, N., Arimura, A., Coy, D. H. and Schally, A. V. : Stimulation of luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone by [D-Leu⁶, des-Gly¹⁰-NH₂]-LH-releasing hormone ethylamide after subcutaneous, intravaginal, and intrarectal administration to women. *Fertil. Steril.*, 28 : 240, 1977.
 - 7) Meldrum, D. R., Chang, R. J., Lu, J. and Judd, H. L. : “Medical oophorectomy” using a long-acting GnRH agonist: A possible new approach to the treatment of endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54 : 1081, 1982.
 - 8) Dorrington, J. H., Moon, Y. S., Armstrong, D. T. : Estradiol-17 β biosynthesis in cultured granulosa cells from hypophysectomized immature rats: Stimulation by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology*, 97 : 1328, 1975.
 - 9) Clayton, R. N. and Huhtaniemi, I. T. : Absence of gonadotropin-releasing hormone receptors in human gonadal tissue. *Nature*, 299 : 56, 1982.
 - 10) 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.

“Medical hypophysectomy” using
repeated administration of
GnRH agonist

**Kaoru Masaoka, Tetsuo Niibe
and Takahiro Kumasaka**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Dokkyo University School of Medicine

In an attempt to suppress ovarian steroidogenesis, one woman with hypermenorrhea due to anovulation and two women with endometriosis were administered a potent long-acting GnRH agonist, des-Gly¹⁰-[D-Leu⁶]-LHRH-ethyl-amide (GnRH-A) in an intermittent or continuous fashion for 14 to 16 days. Serum LH, FSH and estradiol (E₂) levels increased initially and then FSH levels declined markedly, followed by a decrease in E₂ levels, whereas LH levels remained above pretreatment values during GnRH-A treatment. The LH and FSH responses to 100 μ g GnRH challenge test were completely abolished within two weeks of treatment. In a hypermenorrheic woman who received intermittent regimen of hMG in addition to GnRH-A since the 9th day of treatment, E₂ levels increased progressively from 23 to 553 pg/ml within 7 days in response to hMG and then ovulation occurred following hCG administration.

These results suggest that the suppression of gonadal function by repeated administration of GnRH-A is due to an alteration of the pituitary LH and FSH secretion, and down-regulation of gonadotropin receptors or a direct inhibitory action of GnRH-A on the ovary is not responsible for this antifertility effect.

(受付: 昭和60年11月2日)

GONADOTROPIC REGULATION OF DNA POLYMERASE- α ACTIVITY IN RAT PREOVULATORY FOLLICLES

Satoshi USUKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Clinical Medicine,
University of Tsukuba, Niihari-gun, Ibaraki, Japan
(Director: Prof. Hirokazu Iwasaki)

Abstract: The present study was carried out to elucidate the effects of LH, FSH and prolactin (PRL) on the induction of DNA polymerase- α and - β activities of preovulatory follicles. Twenty-seven day-old rats were injected subcutaneously with 10 IU of PMS and follicles excised 48 hours after the PMS treatment were incubated for 120 minutes or perfused for 90 minutes with ovine NIH-LH, NIH-FSH or NIH-PRL at 37 °C. In the succeeding *in vitro* experiment, the animals were injected intravenously with 20 μ g of NIH-LH or FSH 48 hours after the PMS injection. DNA polymerase- α and - β activities in tissue were assayed by incorporation of [3 H] dNMP into acid insoluble fraction. LH and FSH stimulated the accumulation of DNA polymerase- α in the follicles incubated, while they showed no effect on DNA polymerase- β . PRL showed no significant effect on DNA polymerase- α and - β activities. In the follicles perfused, DNA polymerase- α activity began to increase 3 minutes after the initiation of LH- or FSH-stimulation and reached its peak 20 minutes later, thereafter revealing a plateau. In the *in vivo* study, the whole ovaries, follicles or oocytes obtained after LH- or FSH-injection augmented significantly DNA polymerase- α activity. The effect of LH was similar to that of FSH. These results suggest that LH or FSH stimulates the preovulatory follicles, mainly oocytes, to induce DNA polymerase- α required for DNA replication.

(Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 371- 378, 1986)

Introduction

DNA polymerase has been classified into three species (α , β and γ) and well characterized in eukaryotic cells¹. DNA polymerase- α is thought to be related to DNA synthesis by nuclear DNA replication and recently, two types of DNA polymerase- α were suggested to be separated^{2,3}. On the contrary, DNA polymerase- β is considered to participate in nuclear DNA repair^{4,5}. Unfertilized eggs contain a large amount of DNA polymerase- α required for DNA replication of rapid cleavage during early embryogenesis in several animals⁶. Grippo et al.⁷ and Benbow et al.⁸ reported that accumulation of DNA polymerase- α took place during oocyte maturation in *Xenopus laevis*, and the enzyme was induced in full-grown oocytes of *Xenopus*

laevis during *in vitro* progesterone-induced maturation⁹.

It is well known that pituitary gonadotropins have an important role in the initiation of resumption of meiosis. However, there are very few reports of biochemical studies on the relationship between pituitary gonadotropins and DNA synthesis in preovulatory follicles in mammals.

Recently, our previous *in vitro* study¹⁰ has suggested that LH or FSH stimulates rat preovulatory follicles to accumulate DNA polymerase- α and that DNA polymerase- α may be related to oocyte maturation. In the present study we elucidated *in vitro* or *in vivo* the effects of LH, FSH or PRL on DNA polymerase- α and - β activities in rat preovulatory follicles.

Materials and Methods

Animals

Immature female Wistar-Imamichi rats purchased from the Imamichi Institute for Animal Reproduction (Saitama) were maintained in an air-conditioned room with controlled light-dark cycle (light 8 AM to 8 PM). The rats were injected subcutaneously with 10 IU of PMS (Pregnant mare's serum gonadotropin; Teikokuzoki Co., Ltd., Tokyo) at 27 days of age and sacrificed by decapitation under ether anesthesia 48 hours after the PMS injection. The ovaries were removed to cold saline, cleaned of adhering fat, blotted, and large follicles (about 1 mm in diameter) were collected under a dissecting microscope and then they were incubated or perfused.

Furthermore, to examine *in vivo* the effects of LH or FSH on DNA polymerase, 20 μ g of LH or FSH in 0.2 ml of saline was intravenously injected 48 hours after the PMS injection and killed 15, 30, 60 and 90 minutes after LH- or FSH-injection. The ovaries were resected, and large follicles and oocytes were collected from the ovaries resected 60 minutes after LH- or FSH-injection under a dissecting microscope.

Incubation or perfusion study

Twenty follicles were preincubated for 60 minutes in the synthetic TC-199 media containing 1.0 % glucose and 0.2 % NaHCO_3 , at 37 °C in an atmosphere of 95 % O_2 -5 % CO_2 , and then they were incubated for 120 minutes under the same condition, with 2.0 ml of synthetic media containing various doses of LH, FSH or PRL as described in legends for tables and figures. The medium was agitated throughout the incubation period.

In a parallel experiment, excised follicles were perfused in the apparatus illustrated in Fig. 1. Twenty follicles were placed in a chamber room (0.5 ml in volume) and exposed to a continuous flow (flow rate 2.5 ml per 20 minutes) of synthetic TC-medium 199 (1.0 % glucose and 0.2 % NaHCO_3 , pH 7.4) saturated with a mixture of O_2 (95 %) and CO_2 (5 %). The medium was maintained at 37 °C in a water bath and was forced through the apparatus by a multichannel infusion pump (Yoshie Science Co., Ltd., Tokyo). Following a 20 minute-preincubation, medium was delivered

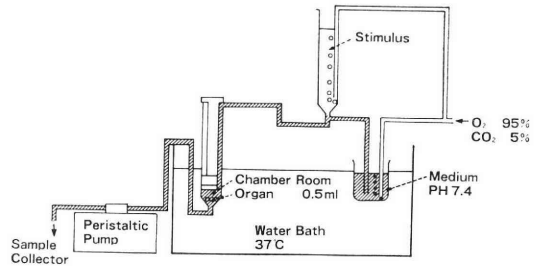


Fig. 1 Perfusion system

for 60 minutes to stabilize flow rate without any addition of stimuli, and then 2.0 μ g/ml of LH or FSH was infused together with the perfusion medium. The follicles were collected 3, 5, 10, 20, 30, 60 and 90 minutes after initiation of LH- or FSH-stimulation. In control groups, the medium alone was superfused. After incubation or perfusion, DNA polymerase activities were measured in follicles.

Hormone preparations

FSH (ovine follicle stimulating hormone; NIAMDD-oFSH-15, AFP-5529 C, having FSH potency 20 \times that of NIH-FSH-S1, LH potency 0.04 \times NIH-LH-S1 and prolactin potency less than 0.001 \times NIH-prolactin), LH (ovine luteinizing hormone; NIAMDD-oLH-24, AFP-0754, having LH potency 2.3 \times that of NIH-LH-S1, FSH potency less than 0.005 \times NIH-FSH-S1 and prolactin potency less than 0.001 \times NIH-prolactin) and PRL (ovine prolactin; NIAMDD-oPRL-15 having PRL potency 30.5 IU/mg, determined by the pigeon local crop-sac bioassay method of C. S. Nicoll, and LH and FSH potencies less than 0.005 by weight) were gifts of Dr. A. F. Parlow (Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, California).

Measurement of DNA polymerase activities

One ovary or 20 follicles or 30 oocytes were homogenized in 200 μ l of 1.0 % Triton X-100, 0.25 M sucrose, 20 mM potassium phosphate buffer, pH 7.9, 5 mM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), 5 mM 2-mercaptoethanol and 0.25 M NaCl and centrifuged at 10,000 \times g for 15 minutes. 100 μ l of supernatant was added with 50 μ l of 90 % glycerol. Aliquots (0.5-5 μ l) of the supernatant were assayed for DNA polymerase activities.

DNA polymerase activities were determined by incorporation of [^3H] dTTP (deoxy-

Table 1 Procedure for measurement of DNA polymerase- α and - β activities

Ovarian tissue
↓
Homogenize in 200 μ l, 1.0 %, Triton X-100 0.25 M Sucrose, 0.25 M NaCl 20 mM PBS, pH 7.9
↓
5 mM EDTA, 5 mM Mercaptoethanol
↓
Centrifuge at 10,000 \times g for 15 minutes
↓
Supernatant, 100 μ l
↓
Add 50 μ l, 90 % Glycerol
↓
Sample, 0.5-5.0 μ l
↓
Incubate at 37°C for 20 minutes in 50 mM Tris-maleate, pH 8.0, 20 μ M dATP, dCTP, dGTP, 10 μ M dTTP, 0.4 μ Ci [3 H] dTTP (100 cpm=1 pmol dNMP), 7 mM MgCl ₂ , 4 μ g Activated DNA (Calf thymus), 50 mM NaCl, 400 μ g/ml BSA, 2 mM β -mercaptoethanol, 10 % Glycreol
↓
(final volume 25 μ l)
↓
Saturate filter paper (Whatman 3 MM)
↓
Wash in 10 % TCA, 5 % TCA (Tricarboxylic acid), 95 % Ethanol
↓
Dry paper
↓
Count incorporation of [3 H] dNMP into acid insoluble fraction by liquid scintillation counter
↓
DNA Polymerase α -Activity; Activity sensitive to 20 μ g/ml Aphidicolin or 20 mM N-ethylmaleimide
↓
DNA Polymerase β -Activity; Activity resistant to 20 μ g/ml Aphidicolin or 20 mM N-ethylmaleimide

thymidine 5'-triphosphate) into the acid insoluble material. The reaction mixture contained 50 mM Tris-maleate buffer, pH 8.0, 7 mM MgCl₂, 20 μ M each of dATP (deoxyadenosine 5'-triphosphate), dCTP (deoxycytidine 5'-triphosphate) and dGTP (deoxyguanosine 5'-triphosphate), 10 μ M dTTP containing 0.4 μ Ci [3 H] dTTP [100 cpm (count per minute)=1.0 pmol dNMP (deoxynucleotide 5'-monophosphate)], 50 mM NaCl, 4 μ g activated DNA, 400 μ g/ml bovine serum albumin in a final volume of 25 μ l. Incubation was carried out at 37°C for 20 minutes and incorporation into acid-insoluble fraction was measured. For selective determination of DNA polymerase- α and - β

activities, the assays were carried out in the absence and presence of 20 μ g/ml aphidicolin or 20 mM N-ethylmaleimide. These drug-sensitive and resistant activities were named DNA polymerase- α and - β activities, respectively (Table 1). DNA polymerase activity was expressed as pmol dNMP incorporated for 20 minutes at 37°C.

Student's t-test was used for statistical analysis.

Results

Table 2 shows DNA polymerase- α and - β activities in the follicles excised 48 hours after the PMS injection.

Table 2 DNA polymerase- α and - β activities in preovulatory follicles

Stimuli		DNA Polymerase- α Activity		DNA Polymerase- β Activity	
		Mean \pm SD		Mean \pm SD	
		p mol dNMP incorporated ^{a)}			
Control		38.00 \pm 7.00		1.67 \pm 0.33	
FSH	0.02 μ g/ml	45.67 \pm 12.33		2.00 \pm 1.00	
	0.2 μ g/ml	65.67 \pm 12.33**		1.67 \pm 0.67	
	2.0 μ g/ml	83.33 \pm 12.33*		2.00 \pm 1.33	
	20 μ g/ml	63.00 \pm 18.00**		1.67 \pm 0.67	
LH	0.02 μ g/ml	45.67 \pm 6.67		1.67 \pm 0.33	
	0.2 μ g/ml	58.00 \pm 8.67**		2.00 \pm 1.00	
	2.0 μ g/ml	86.67 \pm 16.33*		1.33 \pm 0.33	
	20 μ g/ml	61.00 \pm 8.67**		1.67 \pm 0.67	
Prolactin	0.2 μ g/ml	40.00 \pm 3.33		1.67 \pm 0.67	
	2.0 μ g/ml	38.33 \pm 8.00		1.67 \pm 0.33	
	20 μ g/ml	50.00 \pm 7.00		2.00 \pm 1.33	

10 IU of PMS was injected at 27 days of age and incubation was done 48 hours after the injection as described in Materials and Method.

^{a)} p mol dNMP incorporated/follicle. Values are expressed as means \pm SD of ten experiments. * P < 0.01, ** P < 0.05

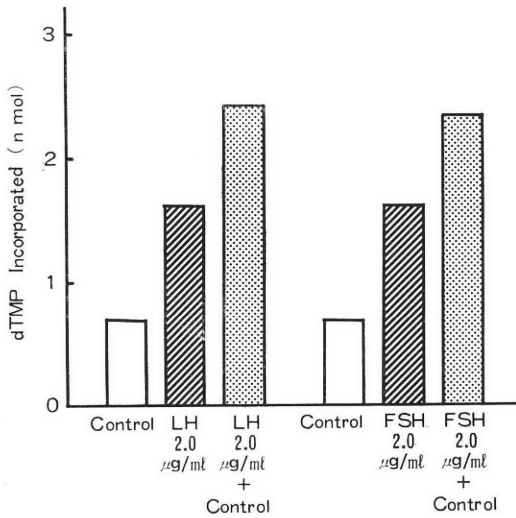


Fig. 2 Additive effects of LH, LH+control, FSH and FSH+control on DNA polymerase- α activity. 10 IU of PMS was injected at 27 days of age and incubation was done 48 hours after the injection as described in Materials and Methods.

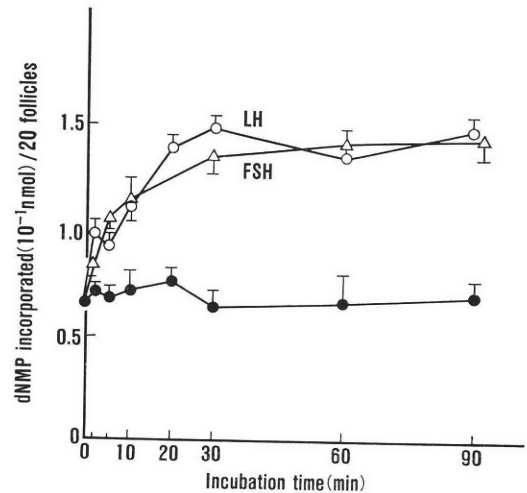


Fig. 3 Time-courses of DNA polymerase- α activity by preovulatory follicles perfused *in vitro*. 10 IU of PMS was injected at 27 days of age and perfusion was done 48 hours after the injection as described in Materials and Methods. \circ — \circ ; LH, Δ — Δ ; FSH, \bullet — \bullet ; control. Values are expressed as means \pm SD of four experiments.

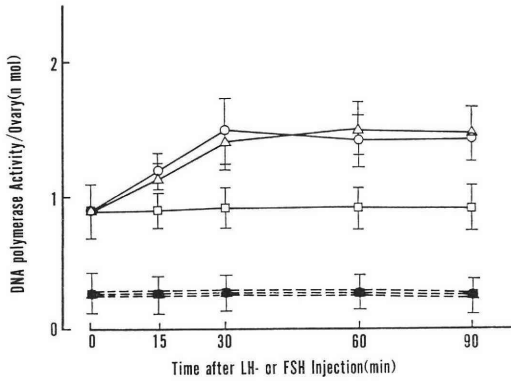


Fig. 4 Time courses of DNA polymerase- α and - β activities in preovulatory follicles by LH or FSH *in vivo*. 10 IU of PMS was injected subcutaneously at 27 days of age and 20 μ g of NIH-LH or -FSH was injected intravenously 48 hours after the PMS injection. The ovaries were resected 15, 30, 60 and 90 minutes after LH- or FSH-injection.
 DNA polymerase- α activity: ○—○; LH, △—△; FSH, □—□; control. DNA polymerase- β activity: ●····●; LH, ▲····▲; FSH, ■····■; control. Values are expressed as means \pm SD of five experiments.

0.2 to 20 μ g/ml of LH or FSH significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$) augmented DNA polymerase- α activity, depending on an optimum dose, whereas PRL revealed no significant effect on it. The efficacy of LH was almost similar to that of FSH. No significant change of DNA polymerase- β activity was observed by LH, FSH or PRL. This result was almost similar to that in the whole ovaries at the same stage⁵⁾.

Mixing experiments on the homogenates from hormone treated and untreated ovaries showed only the additive α or β activity of both homogenates (Fig. 2).

The perfusion technique was applied in order to clarify the kinetic pattern of DNA polymerase- α activity. In the perfused follicles excised 48 hours after the PMS injection, DNA polymerase- α activity began to increase 3 minutes after the initiation of LH- or FSH-stimulation and reached at its peak 20 minutes later, thereafter revealing a plateau (Fig. 3). The effect of LH was almost similar to that of FSH.

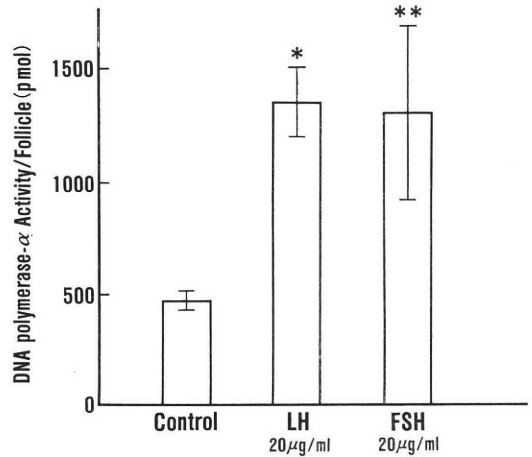


Fig. 5 DNA polymerase- α activity in preovulatory follicle. 10 IU of PMS was injected subcutaneously at 27 days of age and 20 μ g of NIH-LH or -FSH was injected intravenously 48 hours after the PMS injection. The follicles were excised from the ovaries resected 60 minutes after LH- or FSH-injection. Values are expressed as means \pm SD of five experiments. * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$

The perfusion study is relatively similar to the *in vivo* study and therefore, the *in vivo* study was performed in order to confirm the results of the incubation or perfusion study.

As shown in Fig. 4, DNA polymerase- α activity was increased in the whole ovaries 30 minutes after LH- or FSH-stimulation, thereafter showing a plateau. The effect of LH was almost similar to that of FSH. DNA polymerase- β activity was not stimulated by LH or FSH.

The cellular localization is also another problem.

Our previous incubation study¹⁰⁾ has shown that LH or FSH accumulates DNA polymerase- α , which is required for oogenesis or embryogenesis, in the oocytes of the PMS-treated rats. Therefore, the cellular localization of DNA polymerase- α was detected in the ovaries resected 60 minutes after LH- or FSH-injection as mentioned in legends for Figs. 5 and 6.

In this *in vivo* experiment, DNA polymerase- α activity was significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$) augmented by LH or FSH in the follicles or oocytes (Figs. 5 and 6).

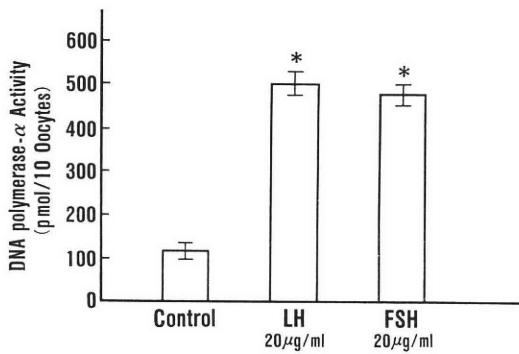


Fig. 6 DNA polymerase- α activity in the oocyte. 10 IU of PMS was injected subcutaneously at 27 days of age and 20 μ g of NIH-LH or FSH was injected intravenously 48 hours after the PMS injection.

The oocytes were collected by puncture of the follicles excised 60 minutes after LH- or FSH-injection. Values are expressed as means \pm SD of ten determinations.

Granulosa cells and thecal and interstitial cells showed a negligible change (data not shown).

Discussion

It is well known that mammalian oocytes have been in the first meiotic prophase for a long time and that LH and/or FSH surge initiates the resumption of meiosis. However, the detail mechanism at the molecular level between pituitary gonadotropins and resumption of oocyte meiosis is not well clarified. Recently, our incubation study of the whole ovary^{5,10} has suggested that LH or FSH stimulates the preovulatory follicles to increase DNA polymerase- α required for oogenesis and embryogenesis and that DNA polymerase- α accumulates mainly in the oocyte.

In the follicles excised 48 hours after the PMS injection, DNA polymerase- α activity was stimulated with LH- or FSH-treatment. This result is consistent with that in the whole ovaries⁵. The combination of control and LH- or FSH-stimulated ovaries resulted in only additive amount of DNA polymerase α activity and this fact indicates that there seems to be no activators or inhibitors. These results suggest that DNA polymerase- α activity was directly stimulated in rat preovulatory follicles by LH or FSH.

DNA polymerase- α is known to participate in nuclear DNA replication in eukaryotic cells¹. In oogenesis or embryogenesis of *Xenopus laevis*, the enzyme accumulates in the oocyte during oocyte maturation, providing for rapid DNA replication during embryogenesis^{7,8}. LH or FSH was reported to induce oocyte maturation through a cyclic AMP dependent reduction in the level of a maturation inhibitor in mouse^{11,12} and the membrane permeable dibutyryl cyclic AMP regulates DNA polymerase- α activity in the oocyte¹³. This fact indicates that LH or FSH may regulate the accumulation of DNA polymerase- α through its cyclic AMP accumulative action^{10,13,14,15}.

In the follicles perfused *in vitro*, DNA polymerase- α activity was augmented by LH or FSH. This result is in agreement with that of the incubation study. Considering the time course of an elevation of DNA polymerase- α activity, the initiation of the accumulation of DNA polymerase- α is very rapid and the time of initiation is almost similar to that of cyclic AMP level (our unpublished data). This result suggests a possibility that the pathway different from that via the cyclic AMP system may also exist, for which further study is currently in progress.

In the *in vivo* study of the ovaries resected 60 minutes after LH- or FSH-injection at 29 days of age (48 hours after the PMS injection), DNA polymerase- α activity was increased by LH or FSH and furthermore, follicles or oocytes excised accumulated DNA polymerase- α . This *in vivo* accumulation of DNA polymerase- α in follicles or oocytes is consistent with the results of the incubation study^{10,13}.

Since DNA polymerase- α is known to be required for DNA synthesis¹⁶, this accumulation of DNA polymerase- α indicates that the accumulation of DNA polymerase- α in preovulatory follicles with LH- or FSH-treatment may take place in the oocyte for initiation of oocyte maturation.

Recently, two types (α_1 and α_2) of DNA polymerase- α were separated^{2,3,17} and DNA primase, which is specifically associated with DNA polymerase- α_1 ², was reported to be augmented in the preovulatory follicles by LH or FSH¹⁰. This result suggests that multi-

enzymes concerning with DNA replication are accumulated during oocyte maturation.

DNA polymerase- β activity is supposed to participate in DNA repair in eukaryotic cells¹⁾. This enzyme has been reported to be regulated by ACTH in rat adrenal gland¹⁸⁾, and by testosterone and pituitary gonadotropins in rat testis¹⁹⁾. However, this enzyme showed no significant change by LH, FSH or PRL. This difference remains to be clarified.

Acknowledgments

The author wishes to thank Drs. S. Raiti, Univ. of Maryland, Baltimore, Maryland, and A. F. Parlow, Pituitary Hormones and Antisera Center, Harbor-UCLA Medical Center and the Hormone Distribution Office, NIADDK, Torrance, California, for providing us highly purified ovine NIH-FSH-15, ovine NIH-LH-24 and ovine NIH-PRL-15. The technical assistance of Ms. M. Kawamura and Y. Yoshimine is gratefully acknowledged.

This work was supported in part by University of Tsukuba Project Research.

References

- 1) Sarngadharan, M. G., Robert-Guroff, M. and Gallo, R. C. : DNA polymerases of normal and neoplastic mammalian cells. *Biochem. Biophys. Acta.*, 516 : 419, 1978.
- 2) Shioda, M., Nelson, E. M., Bayne, M. L. and Benbow, R. M. : DNA primase activity associated with DNA polymerase α from *Xenopus laevis* ovaries. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 79 : 7209, 1982.
- 3) Shioda, M. and Usuki, S. : Two types of DNA polymerase α in sea urchin eggs and embryos. *Zool. Sci.*, 3 : in press, 1986.
- 4) Ikegami, S., Taguchi, T., Ohashi, M., Ogura, M., Nagano, H. and Mano, Y. : Aphidicolin prevents mitotic cell division by interfering with the activity of DNA polymerase- α . *Nature*, 275 : 458, 1978.
- 5) Usuki, S. and Iwasaki, H. : LH and FSH induce DNA polymerase α activity required for DNA replication by preovulatory follicles. *Jap. J. Fert. Ster.*, 31 : 234, 1986.
- 6) Shioda, M., Nagano, H. and Mano, Y. : Transition of DNA polymerase- α and endoplasmic reticulum during gastrulation of the sea urchin. *Dev. Biol.*, 91 : 111, 1982.
- 7) Grippo, P. and Lo Scavo, A. : DNA polymerase activity during maturation in *Xenopus laevis* oocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 48 : 280, 1972.
- 8) Benbow, R. M., Pestell, R. Q. W. and Ford, C. C. : Appearance of DNA polymerase activities during early development of *Xenopus laevis*. *Develop. Biol.*, 43 : 159, 1975.
- 9) Grippo, P., Locorotondo, G. and Taddei, C. : Progesterone-induced DNA polymerase activity in full-grown oocytes of *Xenopus laevis* (1). *J. Exp. Zool.*, 200 : 143, 1977.
- 10) Usuki, S., Iwasaki, H., Usuki, Y. and Shioda, M. : Effects of LH, FSH and prolactin on induction of DNA polymerase α and β by rat preovulatory follicles. In *Gamete Quality and Fertility Regulation* (ed. R. Rolland, M. J. Heineman, S. G. Hillier and H. Vemer), 63. *Excerpta Medica*, Amsterdam, New York & Oxford, 1985.
- 11) Freter, R. R. and Schultz, R. M. : Regulation of Murine oocyte meiosis : Evidence for a gonadotropin-induced, cAMP-dependent reduction in a maturation inhibitor. *J. Cell Biol.*, 98 : 1119, 1984.
- 12) Schulz, R. M., Montgomery, R. R. and Belanoff, J. R. : Regulation of mouse oocyte meiotic maturation : Implication of a decrease in oocyte cAMP and protein dephosphorylation in commitment to resume meiosis. *Dev. Biol.*, 97 : 264, 1983.
- 13) Usuki, S., Saitoh, M. and Iwasaki, H. : Effects of LH and FSH on DNA polymerase by preovulatory follicles : Cellular localization. *Proceedings of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology*, 37th Annual Meeting, Fukuoka, Japan. Abst No. 192.
- 14) Usuki, S. : Gonadotropic regulation of estrogen secretion by rat ovarian follicles. *Acta. Obst. Gynaec. Jpn.*, 34 : 863, 1982.
- 15) Usuki, S. and Iwasaki, H. : Effects of LH and FSH on estrogen, progesterone and testosterone secretion by rat preovulatory follicles incubated or perfused in vitro. In *Growth and Differentiation of Cells in Defined Environment* (ed. H. Murakami, I. Yamane, D. W. Barnes, J. P. Mather, I. Hayashi and G. H. Sato), 285. *Springer-Verlag*, Berlin-Heidelberg-New York 1985.
- 16) Usuki, S. and Shioda, M. : Follicle-stimulating hormone and estrogen elevate deoxyribonucleic acid α -nucleotidyltransferase activity in relationship to deoxyribonucleic acid synthesis in immature rat ovaries. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 155 : in press, 1986.
- 17) Shioda, M. and Usuki, S. : IN Vitro DNA synthesis by the sea urchin DNA polymerase α -primase complex on single-stranded DNA of bacteriophage fd. *Zool. Sci.*, 3 : in press, 1986.
- 18) Nagasaka, A. and Yoshida, S. : Regulation of DNA polymerase β in rat adrenal gland

by adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology*, 111: 1345, 1982.

- 19) Nagasaka, A. and Yoshida, S.: Hormonal regulation of deoxyribonucleic acid polymerase β activity in rat testis. *Endocrinology*, 115: 1110, 1984.

ラット成熟卵胞に於けるDNA polymerase- α 活性の Gonadotropin による調節

筑波大学臨床医学系産婦人科 (主任: 岩崎寛和教授)

白 杵 哲

排卵前卵胞における LH および FSH の DNA 複製酵素活性促進の作用機序を明らかにするため, PMS 処理ラット排卵前卵胞における LH および FSH の DNA polymerase- α および- β (DNA poly. α, β) 活性に及ぼす影響について *in vitro* ないし *in vivo* での検討を加

えた. 27日齢 Wistar-Imamichi 系雌ラットに PMS 10 IU を皮下投与し, 48 時間後の摘出卵胞を NIH-LH, FSH および prolactin (PRL) で incubation ないし perfusion した. 同時に, PMS 処理48時間後に LH および FSH を静注し, 15, 30, 60および90分後に卵巣を摘出した. Incubation 実験では LH および FSH は DNA poly. α 活性を上昇させたが, PRL では変化が認められなかった. Perfusion 実験では, DNA poly. α 活性は LH ないし FSH 投与後3分で増加を始め, 20分後に peak を形成し, 以後 plateau となった. *In vivo* 実験では, LH ないし FSH 投与後30分で DNA poly. α 活性は増加し以後は plateau となった. また, LH ないし FSH 投与60分後の卵胞および卵では DNA poly. α 活性は有意に増加した. 以上から排卵前卵胞において, LH および FSH は oogenesis ないし embryogenesis に必要な DNA polymerase- α を主に卵細胞に蓄積させることが示唆された.

(受付: 昭和60年10月29日)

妊娠中の Macroprolactinoma 5例に対する 長期連続 Bromocriptine 療法

Long Term Bromocriptine Treatment during Pregnancy in 5
Patients with Macroprolactinoma

群馬大学医学部産科婦人科学教室

伊吹 令人 田口 宏中 吉田 光典
Yoshito IBUKI Hironaka TAGUCHI Mitsunori YOSHIDA

新川 唯彦 水沼 英樹 五十嵐 正雄
Tadahiko SHINKAWA Hideki MIZUNUMA Masao IGARASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Gunma University School of Medicine

われわれが経験した Macroprolactinoma は26例で既に手術を施行したものは11例、そのうち9例に挙児希望があり8例が妊娠した。手術未施行例15例中12例に挙児希望があり10例が妊娠した。妊娠中、激しい頭痛、視野障害などの合併症起こした症例は18例中5例(27.8%)であつたが、これらは全て手術未施行例であり、手術未施行の妊娠例10例中50%にあたる高率であつた。

この妊娠した Macroprolactinoma 5例にみられた妊娠中合併症の発生率、および Bromocriptine による治療成績から以下の知見が得られた。

1. Macroprolactinoma の妊娠中は激しい頭痛や視野障害等の合併症の発生率が極めて高い。
2. 一方、手術施行例では治療を要する程の合併症の発生は見られないことから Macroprolactinoma は手術施行後に不妊に対する治療を行う事が望ましい。
3. Bromocriptine は Prolactinoma の妊娠中の合併症の治療にも有効で、PRL の分泌抑制と腫瘍の縮小効果を持つ。
4. Bromocriptine 治療に反応が悪く、手術的治療を必要とする症例もある。
5. Bromocriptine は胎児の PRL 分泌も抑制するが、羊水中の PRL 値に影響を与えない。
6. Prolactinoma の妊娠中の合併症に対する Bromocriptine 治療が児に与える影響に付いては今後の長期的 follow up が必要である。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 379-384, 1986)

緒 言

Prolactinoma 症例に Bromocriptine (BC) を投与することにより排卵を誘発し、妊娠、分娩に成功することは少なくない。BC を投与すると血中 Prolactin (PRL) 値が下降し、LH の pulsatile 分泌も回復し排卵が誘発されるばかりでなく、BC による腫瘍の縮小作用があることも報告されている。しかし現在のところ BC 治療によつて排卵した場合でも、妊娠が確定したら出来るだ

け早期に BC の投与を中止した方がよいとされ、妊娠中に腫瘍の縮小を目的として、あるいは合併症の治療を目的として BC を長期にわたり連続的に投与した報告は少ない。

症 例

われわれは Macroprolactinoma 症例で妊娠中、激しい頭痛や視野障害を起こした5例に妊娠中、長期にわたる BC 療法を行ない4例に著効を、1例に症状の停滞

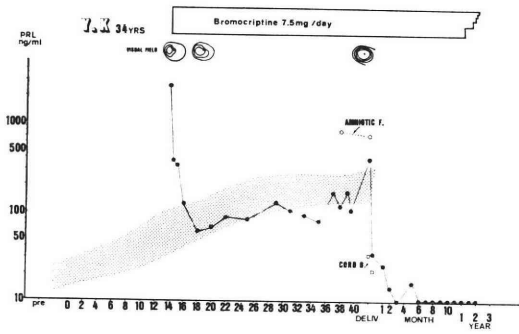


図 1 症例 1 の経過

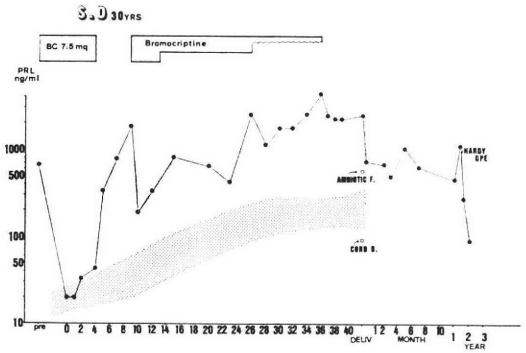


図 2 症例 2 の経過

を得、分娩させることが出来たのでその経過を報告し、更にその後の産褥経過についても検討を加え報告する。

われわれが現在までに経験した Macroprolactinoma は26例であるが、既に手術を施行したものは11例、そのうち9例に挙児希望があり8例(88.9%)が妊娠した。一方手術未施行例15例中12例に挙児希望があり10例が妊娠した。この18名の妊娠例のなかで、妊娠中激しい頭痛や視野障害などの合併症を起こした症例は5例(27.8%)であったが、これらは全て手術未施行例であり、手術未施行の妊娠例10例中50%にあたる高率であった。一方 Microprolactinoma 41例中手術例は9例、うち不妊症は8例で4例が妊娠した。また非手術例32例中25例が不妊症で、そのうち23例が妊娠した。これら Microprolactinoma の妊娠例27例では妊娠中治療を必要とする程の不快感合併症を起こした症例は皆無であった。

第1例 34歳。20歳のときから無月経となり、乳漏にも気づいていた。時々 cyclic therapy を受けると消退出血前に視野狭窄が起こることを自覚していた。26歳で結婚、29歳のとき某病院で hMG-hCG 療法を受け妊娠したが、卵巣過剰刺激による腹水が出現、更に視野障害が出現したため群馬大学医学部付属病院脳神経外科を受診した。このときは人工妊娠中絶を受け症状が改善したため放置した。昭和56年12月 clomid-hCG 療法で妊娠、昭和57年2月9日急激な視野障害のため脳神経外科を受診、更に当科へ紹介された。このとき Polytomo ではトルコ鞍の著明な脱灰、CT で径30mm の腫瘍が認められた。視野検査では著明な縮小が証明された(図1)。入院後 BC 7.5mg/day 投与で急速な自覚症状の改善が認められ、他覚的にも9日後の視野障害の回復は著明であった。退院後も BC 7.5mg の投与でほとんど正常に経過し、妊娠38週に入院した時点での視野検査は異常なしと判定された。血中 PRL 値は14週で2,600ng/ml と著明に上昇していたが、BC 7.5mg の連続投与で100ng/ml 前後に抑制された。分娩時羊水中 PRL 値は

733ng/ml で正常域であつたが臍帯血中 PRL 値は33 ng/ml、生後7日目の血中 PRL 値は22ng/ml と低値であつた。児は男子3,330g、停留辜丸が認められた。分娩直後 CT を施行し、妊娠14週時のものと比較し腫瘍はやや縮小していると判定された。分娩後 BC 7.5mg を引き続き服用したため乳汁分泌はなく、血中 PRL 値、CT 所見を参考にしながら BC を1.25mg まで減量し、分娩後2年で BC 治療を中止した。約5週後 LHRH-TRH 負荷試験を行なつたが PRL 値は226ng/ml、response も不良であつた。

第2例 30歳。24歳頃より無月経。乳漏、頭痛、視野障害なく、眼底にも異常なし。第2度無月経で血中 PRL 655ng/ml、FSH 28.6ng/ml、LH 20.2ng/ml と低値を示し、LHRH 10 μ g、TRH 50 μ g、負荷試験では FSH、LH は低反応、PRL は無反応であつた。CT ではトルコ鞍内に造影剤で enhance される density area が認められた。BC 5 mg/day 投与で排卵は認められず、BC 7.5mg と clomid 150mg 5日間の併用投与でも排卵しなかつたため、clomid を200mg 5日間に増量して漸く排卵するようになり3クール目に妊娠した。BC は BBT の高温17日で中止し、妊娠7週には超音波 B-scope で胎児心拍を確認した。しかし妊娠9週に耐え難い頭痛を訴えて来院、即日入院となつた。血中 PRL 値は BC 中止後急激に上昇し、5週で330ng/ml、7週770、9週1,770となつた。即日 CT を施行したが治療前に比べ腫瘍が増大した所見は得られなかつた。入院後 BC 7.5 mg を内服させたところ、頭痛は約1日で軽快し、血中 PRL も200ng/ml まで急激に下降した(図2)。その後 BC 5 mg に減量し、更に耐え難い頭痛のある時に服用し臥床する生活を続けたが、時に激しい頭痛や、悪心嘔吐などがあつた。妊娠36週になると頭痛も次第に軽快し BC を全く服用しないですむ状態となつたが、これと共に血中 PRL 値は2,000~3,000ng/ml と高値を持続する

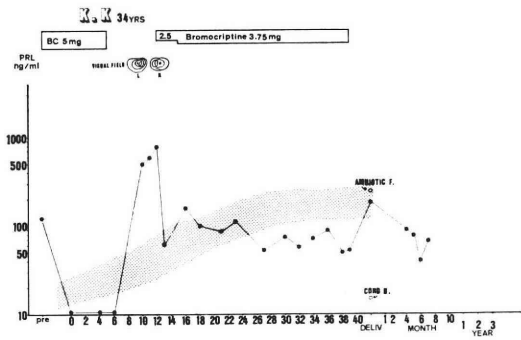


図 3 症例 3 の経過

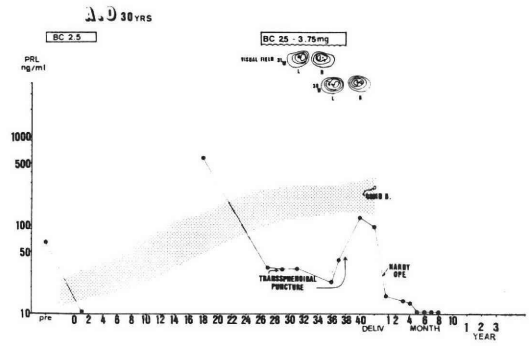


図 4 症例 4 の経過

ようになった。妊娠経過は順調であったが、妊娠39週でCPD のため帝王切開により男子3,160g を出生、外表奇形は認めなかった。BC 服用は36週で中止したため乳汁分泌は良好であった。帝王切開採取した羊水中 PRL 値は、579ng, 臍帯血中 PRL 値は95ng であった。

第3例 34歳。2妊1産。昭和49年5月人工妊娠中絶、その後無月経となった。乳漏には気付かなかつたが初診時に指摘された。CT では $\phi 10\text{mm}$ の intrasellar prolactinoma が認められ血中 PRL 値120ng/ml, FSH 247ng/ml, LH 39ng/ml, であった。BC 5mg の投与で排卵はなかつたが50日間の投与で腺腫の縮小がみられたため BC に加え clomid 100mg 5日間の併用投与を行なつたところ排卵が認められるようになった。5コース目に妊娠したが流産に終わった。1カ月後 BC 治療を再開したところ29日目に排卵し、そのまま妊娠した。妊娠5週より時々頭痛を訴えるようになり、妊娠10週になると右眼霧視が出現したが超音波 B-scope で CRL 42mm, FHM, FM, も明らかであった。妊娠12週に至つても頭痛があり、視野障害もはつきり認められるため入院治療を行なつた。入院時血中 PRL 値は807.4ng/ml まで上昇しており図3のように視野障害も認められたため BC 2.5mg/day を投与したところ頭痛、視野障害とも急速に改善され、外来治療にきりかえた。BC 3.75mg を維持量として妊娠39週まで投与を続け、妊娠39週1日、第2単腎位で女兒3,120g を経膈分娩した。分娩時羊水中 PRL 値は244ng, 臍帯血中 PRL 値は15.2ng と低値であった。分娩後は母乳栄養を行なつていたが間もなく分泌不全のため人工栄養となった。退院後は頭痛、視野障害も改善されたまま現在経過観察のみを行なつて

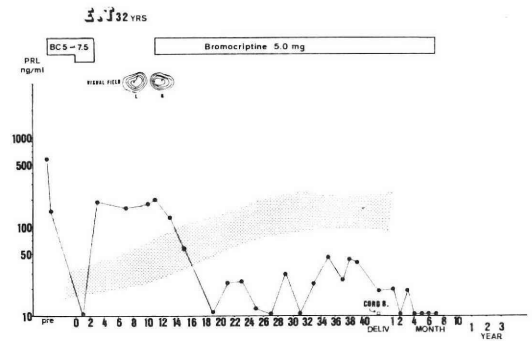


図 5 症例 5 の経過

両耳側半盲が出現し脳神経外科に紹介され、視野障害の存在が確認され、CT で囊腫を伴う下垂体 Macroprolactinoma の診断を受けた。血中 PRL 値が560ng/ml であり、BC 療法等に反応が不良で視野障害が充分改善されないため、妊娠28週に経蝶形骨洞的に囊腫の穿刺を受けたのち、当科に紹介された(図4)。このとき骨盤位と IUGR を指摘され、妊娠34週で入院、視野障害と IUGR の治療をうけた。視野障害は BC 治療によつても改善されず、妊娠37週に再度経蝶形骨洞の穿刺を施行した。しかしこの手術による効果は全く一時的で、眼底所見を参考に妊娠41週まで IUGR の治療に専心したのち分娩を誘発し、第2複腎位で経膈分娩に成功、臍帯血中 PRL 値は272ng/ml であった。しかし生後1日目に児は Meningitis のため小児科入院となり治療をうけた。患者本人は産褥第3週脳神経外科に入院し Hardy 手術をうけ視野障害、視力も回復、血中 PRL 値は正常化し、排卵性月経が回復した。

第4例 30歳。昭和57年3月より原発不妊症のため某医を受診、乳漏があり血中 PRL 値63ng/ml と高値であることに気づかれたが、脳神経外科に紹介されることなく BC 治療を受け妊娠した。妊娠18週になつて突然、

第5例 32歳。昭和55年より無月経となり某病院を受診し不妊症として検査を受け、高プロラクチン血症を指摘され脳神経外科を紹介された。脳神経外科で検査の結果 large prolactinoma を指摘され BC 投与2~3カ月で CT を再検し、手術の適応を決める事とし、その間

に産婦人科を受診することになっていた。BC 5.0mg 投与で無排卵性月経が3回再来したが排卵は起こらなかったため7.5mg に増量したところ排卵が誘発され、産婦人科を受診しないうちに妊娠した。腫瘍は BC により軽度縮小したが妊娠したため、BC 投与は中止され眼症状の出現する可能性を指摘されたまま妊娠を続けることに決定した。妊娠10週に頭痛、霧視、視野障害が自覚されたため眼科へ紹介したところ軽度の両耳側半盲を指摘された(図5)。妊娠13週より BC 5.0mg を投与したところ自覚症状は改善されたが、妊娠25週に行なつた CT では鞍上部に進展する Macroprolactinoma の存在が確認された。妊娠39週女児3,180g を経膈分娩し臍帯血中 PRL 値は2.8ng/ml と全く低値であつた。分娩後も BC 治療を続行したため人工栄養を行なつた。産褥4週に CT を行ない腫瘍は縮小してトルコ鞍内に局限していることが確認出来たのでそのまま BC 治療を行ない follow up することになった。現在血中 PRL 値は低値を続けている。

考 案

妊娠中の下垂体の増大は1909年に初めて記載されたが、これは lactotroph cell の hypertrophy と hyperplasia によると理解され、妊娠初期に始まるとされている。下垂体腺腫の存在により妊娠中視野障害等の不愉快な合併症を引き起こすことは1975年頃より報告されている。Magyar & Marshall¹⁾ は下垂体腺腫の非手術例73例の91回の妊娠中頭痛は26%視野障害は25%に認められ合併症の無かつたものは61%に過ぎなかつたこと、視野障害発現の時期は平均14週であつたと報告し、Gemzell & Wang²⁾ は下垂体微小腺腫の妊娠例で94.5%が異常なく経過したのに対し、無処置の Macroprolactinoma 症例では視力障害および頭痛を合併した例が25%、頭痛を訴えた例が8.9%あつたことを報告した。一方 Jewelewicz ら³⁾ は25例の Microprolactinoma では妊娠中神経症状や視野障害の発症したものはなかつたと述べた。Gemzell⁴⁾ は hPG 療法で妊娠した下垂体腺腫4例のうち3例は無事分娩を終了したが、1例は妊娠中手術を必要とし、4例ともに頭痛があり3例に視野障害が認められたことを報告した。Jewelewicz ら⁵⁾ は妊娠30週で視野狭窄が起こり、トルコ鞍の拡大と erosion が認められた例を dexamethasone で治療し妊娠36週で分娩に成功したことを報告した。Bergh ら⁶⁾ は妊娠した高プロラクチン血症症例の視野障害に対して BC 治療を行ない、急速な回復が得られたことを報告し、また妊娠中腫瘍の増大症状を認めた例に BC を投与した Maeda ら⁷⁾ 1例、Hammond ら⁸⁾ 2例の報告がある。Canales ら⁹⁾

Konopka ら¹⁰⁾ は主として Macroprolactinoma に対して妊娠中予防的に BC を投与した成績を報告した。妊娠中の BC 投与については、わが国でも長嶺ら¹¹⁾、片山ら¹²⁾、五十嵐・伊吹¹³⁾等の報告があり高プロラクチン血症研究会が集計した26例の報告が最近発表された¹⁴⁾。しかし妊娠中の BC 投与に関しては Yuen¹⁵⁾ が全妊娠期間中 BC で治療したにもかかわらず、妊娠後半期における視野障害の発現を予防出来なかつた症例を報告し、われわれの第4例も BC 治療が効果を示さなかつたことから問題がないとはいえない。Yamaji ら¹⁶⁾ は末端肥大症を BC で治療中、下垂体 Apoplexy を引き起こした症例を報告したことから BC の長期投与、特に妊娠中の長期投与については十分な注意が必要であろう。妊娠中の BC 治療による外表奇形は未だ報告がなく、第1例の停留睾丸が BC 治療と関連があるかどうかについては不明である。第4例は出生後 Meningitis となり小児科へ入院し治療を受けた。この例は骨盤位経膈分娩であつたが分娩時間は初産にもかかわらず4時間36分と短く、破水後3時間47分で分娩するなど産科的には問題はなく、BC が感染を助長することもないと考えられるので因果関係は不明といわざるを得ない。

出生児の臍帯血中 PRL 値はいずれも低値であつた。片山らの症例も同様であり、4か月後には Bigazzi ら¹⁷⁾ の報告のように逆に上昇したと言う。BC は胎盤を通過し児の下垂体で PRL の産生を抑制すると考えられるが、BC による胎内での PRL 抑制と出生後の rebound が児の発達にどのような影響を及ぼすかは今後の重要な問題である。羊水中の PRL 値は母体に BC を投与したと否とに関わらずほぼ正常値を示した。これは母体・胎児血中の PRL 値が BC 投与により低値を示したのに比べ対照的で、Bigazzi らの成績と全く一致した。

妊娠中の合併症に対する BC 投与は非常に効果的であることが多く、これを第一選択として良いと考えられるが、それでは何故有効なのかと言う疑問に対する解答はなされていない。Prolactinoma 症例に BC を投与すると腫瘍の縮小が見られることが報告されており、腫瘍細胞の分裂抑制、個々の腫瘍細胞の縮小、血管周囲の fibrosis 等があげられているが、われわれの経験では BC 投与後1～数日で頭痛の消失や視力の改善などが観察されること、妊娠中14週から BC 治療を行なつて自覚症状は急速に改善されたが、分娩直後に行なつた CT では肉眼的にもはつきりした腫瘍の縮小などは認めにくいこと、等から BC 投与によつて腫瘍周囲の浮腫の改善等、他の要因もあるのではないかと考えられる。

文 献

- 1) Magyar, D. M. and Marshall, J. R.: Pituitary tumors and pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 132 : 739, 1978.
- 2) Gemzell, C. and Wang, C. F.: Outcome of pregnancy in women with pituitary adenoma. *Fertil. Steril.*, 31 : 363, 1979.
- 3) Jewelewicz, R. and Vande Wiele, R. L.: Clinical course and outcome of pregnancy in 25 patient with pituitary microadenomas. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136 : 339, 1980.
- 4) Gemzell, C.: Induction of ovulation in infertile women with pituitary tumors. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 124 : 311, 1975.
- 5) Jewelewicz, R., Zimmerman, E. A. and Carmel, P. W.: Conservative management of a pituitary tumor during pregnancy following induction of ovulation with gonadotropins. *Fertil. Steril.*, 28 : 35, 1977.
- 6) Bergh, T., Nillius, S. J. and Wide, L.: Clinical course and outcome of pregnancies in amenorrhoeic women with hyperprolactinemia and pituitary tumours. *Br. Med. J.*, 2 : 875, 1978.
- 7) Maeda, T., Ushiroyama, T., Okuda, K., Fujimoto, A., Ueki, M. and Sugimoto, O.: Effective bromocriptine treatment of a pituitary macroadenoma during pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 61 : 117, 1983.
- 8) Hammond, C. B., Haney, A. F., Land, M. R., van der Merwe, J. V., Ory, S. J. and Wiebe, R. H.: The outcome of pregnancy in patients with treated and untreated prolactin secreting pituitary tumors. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 147 : 148, 1983.
- 9) Canales, E. S., Garcia, I. C., Ruiz, J. E. and Karate, A.: Bromocriptine as prophylactic therapy in prolactinoma during pregnancy. *Fertil. Steril.*, 36 : 524, 1981.
- 10) Konopka, P., Raymond, J. P., Merceron, R. E. and Seneze, J.: Continuous administration of bromocriptine in the prevention of neurological complications in pregnant women with prolactinomas. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 146 : 935, 1983.
- 11) 長嶺元久, 栗林忠信, 荒木淑郎, 宮川勇生, 谷山圭一, 小池弘幸, 森 憲生: Bromocriptine 療法中に妊娠分娩を経過した末端肥大症の一例, *日内分泌誌*, 57(Suppl) : 1332, 1981.
- 12) 片山和明, 藤原卓夫, 森川 肇, 望月真人: 視野欠損のため長期連続的 bromocriptine 療法を行った prolactinoma 合併妊娠の 1 例, *産婦 産科*, 35 : 335, 1983.
- 13) 五十嵐正雄, 伊吹令人: Prolactinoma 症例の妊娠中の障害とその治療, *厚生省特定疾患・間脳下垂体機能障害調査研究班*, 昭和57年度総括研究事業報告書 : 263, 1983.
- 14) 倉智敬一, 青野敏博, 五十嵐正雄, 伊吹令人, 他: 妊娠中にプロモクリプチンの投与を受けたプロラクチノーマを主とする下垂体腫瘍症例における妊娠の転帰と新生児所見, *産と婦*, 52 : 129, 1985.
- 15) Yuen, H. B.: Bromocriptine, pituitary tumours, and pregnancy. *Lancet*, 2 : 1314, 1978.
- 16) Yamaji, T., Ishibashi, M., Kosaka, K., Fukushima, T., Hori, T., Manaka, S. and Sano, K.: Pituitary apoplexy in acromegaly during bromocriptine therapy. *Acta Endocrinol.*, 98 : 171, 1981.
- 17) Bigazzi, M., Ronga, R., Lancranjan, I., Ferrano, S., Branconi, F., Buzzoni, P., Martorana, G., Scarselli, G. F. and Del Pozo, E.: A pregnancy in an acromegalic woman during bromocriptine treatment: Effects on growth hormone and prolactin in the maternal, fetal, and amniotic compartments. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48 : 9, 1979.

Long term bromocriptine treatment
during pregnancy in 5 patients
with macroprolactinoma

**Yoshito Ibuki, Hironaka Taguchi,
Mitsunori Yoshida, Tadahiko Shinkawa,
Hideki Mizunuma and Masao Igarashi**

Department of Obstetrics and Gynecology, Gunma
University School of Medicine

Out of 26 patients with macroprolactinoma thus far we treated, 21 visited our clinic for sterility. Nine patients had been surgically treated before and 12 were with intact tumor when pregnancy occurred or ovulation induction was initiated. Eighteen cases (8 : operated, and 10 : non-operated) conceived spontaneously or by ovulation induction and 5 showed intense complications such as severe headache or field disturbances during the course of pregnancy. All of 5 patients who showed severe exacerbation of the tumor were of a non-operated group and were medically treated with bromocriptine (BC) throughout most of the pregnancy.

Thus we treated 21 sterile women with macroprolactinoma, obtained 18 pregnancies and encountered 5 cases who showed severe complications by pregnancy. The results of our observations were as follows:

1. Non-surgically treated patients with macroprolactinoma are at high risks of exacerbation

by pregnancy.

2. Surgical treatment should be proceeded to pregnancy, since no complications were seen in patients who had received tumorectomy before pregnancy occurred.

3. BC effectively suppresses PRL secretion and reduced tumor size even in pregnancy.

4. There was a patients who did not respond to BC treatment. In this case surgical treatment was performed during pregnancy.

5. BC crosses placenta and exerts its inhibitory effects on PRL release from the fetal pituitary gland, but not PRL in amniotic fluids.

6. Further observation is necessary to mention about safety of BC treatment during pregnancy from the standpoint of long term effect of BC on development of a child who was born from the mother receiving the drug during pregnancy.

(受付：昭和61年3月11日特掲)

ROLE OF ADRENAL ANDROGENS AND DEFECTIVE 11 β - HYDROXYLATION IN HYPERANDROGENIC ANOVLATORY WOMEN

Osamu NARITA, Tetsuo MASAHASHI, Mitsuoki ASAI,
Masami OHSAWA, Fumitaka KIKKAWA, Kazuo HANAI,
Masaya OHWAKI, Nobuhiko SUGANUMA*, Shigehiko MIZUTANI*
and Yutaka TOMODA*

Department of Obstetrics and Gynecology, Nagoya University, Branch Hospital, Nagoya

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

Abstract: The causes of androgen excess and the possible role of the adrenal gland in the development of hyperandrogenism were examined in 42 patients with hyperandrogenic anovulation. Estradiol, testosterone (T), dihydrotestosterone (DHT), dehydroepiandrosterone (DHEA), androstenedione, FSH and LH were determined in 42 patients and 6 control women. The responses of adrenal steroids such as 11-deoxycortisol(S), cortisol(F), 11-deoxycorticosterone (DOC), and corticosterone (B) were studied in connection with the administration of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) after dexamethasone suppression in 24 of the patients and in six normal control women. The mean basal concentrations of T, DHT, DHEA and LH in patients were significantly higher than in controls. Analysis of the substrate/product ratios in these 24 patients revealed abnormally higher ratios for 11-deoxycortisol/cortisol in three patients and 11-deoxycorticosterone/corticosterone in seven patients than in the normal control women. One patient had abnormally high ratios between these steroid pairs. These results suggest that 11 β -hydroxylation was deficient in hyperandrogenic anovulatory patients and adrenal-derived androgens played an important role in the development of hyperandrogenism. (Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 385-391 1986)

Introduction

Hirsute and oligomenorrheic women often have elevated serum androgens. However, the source of excess androgens is controversial. Several investigators suggest an adrenal origin, whereas others assume an ovarian source or mixed adrenal and ovarian sources^{1,2}. Subtle, incomplete steroid biosynthetic enzymatic deficiencies such as 3 β -ol-hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -ol)³, 11 β -hydroxylase⁴ or 21-hydroxylase^{5,6} have been implicated as a cause of excess androgens in some hirsute and oligomenorrheic women. Rosenfield et al.³ reported on a 17-yr-old girl with androgen excess and a partial deficiency of 3 β -ol. Although 11 β -hydroxylase deficiency and 3 β -ol deficiency have been seen, the commonest abnormality seems to be 21-

hydroxylase deficiency. The adrenal contribution to the androgen excess and its enzymatic deficiency in hirsute and oligomenorrheic patients have been assessed by adrenal steroid responses to dexamethasone suppression and ACTH stimulation^{4,7}. In this study, the response of multiple adrenal steroids to ACTH stimulation was examined to investigate whether enzymatic deficiency of 11 β -hydroxylase is present and to explain the role of adrenal-derived androgens in the development of hyperandrogenism.

Materials and Methods

Forty-two patients with clinical manifestations such as hirsutism, acne and/or seborrhea who attended the Gynecologic Infertility Clinic at Nagoya University Hospital, participated in this study. These patients, who

were between 18 and 37 years old had the chief complaint of menstrual disorders and desired to have a child.

These women were moderately hirsute and were classified according to Ferriman and Gallwey's criteria⁸⁾.

Six women between aged 20 and 26 years old, with regular ovulatory cycle and no signs of androgen excess served as the controls. Twenty-four of the 42 patients were given the ACTH stimulation test for further evaluation of androgen excess. Two of the 24 patients had clinically enlarged ovaries by pelvic examination and were diagnosed to have polycystic ovarian disease (PCOD).

Assays

The blood was allowed to clot at room temperature whereupon the serum was separated by centrifugation and stored at -20°C until it was analyzed. The concentrations of estradiol (E_2), testosterone (T), androstenedione (A^4), dehydroepiandrosterone (DHEA), dihydrotestosterone (DHT), follicle stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH) were determined in the blood samples drawn between 0800 and 1000 h as baseline hormone levels in the patients and control women. FSH and LH were determined during the early follicular phase before and at 30 and 60 minutes after the intravenous injection of 100 μg of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) in patients and control women. Serum FSH and LH were measured by double antibody radioimmunoassay using Daiichi-isotope kits. Results were expressed as mIU per milliliter. 11-Deoxycortisol (S), cortisol (F), 11-deoxycorticosterone (DOC) and corticosterone (B) concentrations were measured after dexamethasone suppression and ACTH stimulation. The patients and controls received 1 mg dexamethasone orally at 2300 h followed by a single iv bolus of 0.25 mg synthetic ACTH at 0800 h the next morning. In the controls, the ACTH stimulation test was performed during the midfollicular phase (days 5-10). Venous blood was collected at -15 , 0, and 60 min after ACTH injection. Concentrations of testosterone, cortisol and DHEA⁹⁾ were determined by non-chromatographic RIAs. Serum corticosterone, 11-deoxycorticosterone, 11-deoxycortisol

and androstenedione were measured after chromatography by previously reported methods¹⁰⁻¹²⁾. The results were corrected for the recovery of the tracers. Statistical analyses were made using Student's t test for paired variables. Differences with P values of 0.05 or less were considered significant. Data were expressed as the mean \pm standard error.

Results

Clinical and laboratory data of 6 normal control women and 42 hyperandrogenic anovulatory patients were presented in Table 1. Twenty-two of the 42 patients had amenorrhea and 20 had oligomenorrhea. The mean basal levels of LH (33.4 ± 2.7 mIU/ml) and maximal response (179.6 ± 21.2 mIU/ml) to LH-RH were significantly elevated in the patient group ($P < 0.001$). The mean basal levels of FSH (6.8 ± 0.7 mIU/ml) and E_2 (34.0 ± 5.5 pg/ml) and maximal response (14.3 ± 1.6 mIU/ml) to LH-RH were not significantly different between the two groups. LH/FSH ratio of basal levels in the patient group was 3.42 ± 0.25 , which was significantly higher than that (2.25 ± 0.19) in the controls ($P < 0.001$). The mean basal concentrations of T, DHT, DHEA and A^4 in 6 normal control women and 42 patients are depicted in Table 2. Mean levels of T, DHT and DHEA in patients were significantly higher than those in the controls (T: $P < 0.01$, DHT: $P < 0.001$, DHEA: $P < 0.05$). The mean level of A^4 was higher than that in the controls, but not significantly. With the use of dexamethasone suppression and ACTH stimulation test, 11-deoxycortisol, cortisol, 11-deoxycorticosterone and corticosterone in 6 normal control women and 24 patients were determined for further evaluation of androgen excess. The individual steroid responses after dexamethasone and ACTH administration were depicted in Fig. 1-5.

The serum concentrations of 11-deoxycortisol exceeded the normal control range in 7 out of 24 patients 60 min after ACTH stimulation. The mean concentration of 11-deoxycortisol after overnight dexamethasone suppression was 0.21 ± 0.01 ng/dl in the controls and 0.22 ± 0.01 ng/dl in the patients which did not differ significantly between the two groups. The mean stimulated concentra-

Table 1 Clinical and Laboratory Data

	Controls	Patients
Total number	6	42
Age (yr)	20 — 26	18 — 37
<i>Meases</i>		
Regular menses	6	0
Oligomenorrhea	0	20
Amenorrhea	0	22
<i>Laboratory Data</i>		
LH (mIU/ml)		
basal	15.2 ± 1.8	33.4 ± 2.7 ^a
maximal (LH-RH)	63.8 ± 7.9	179.6 ± 21.2 ^a
FSH (mIU/ml)		
basal	6.8 ± 0.7	10.0 ± 0.5
maximal (LH-RH)	14.3 ± 1.6	23.3 ± 2.9
LH/FSH	2.25 ± 0.19	3.42 ± 0.25 ^a
Estradiol (pg/ml)	34.0 ± 5.5	38.0 ± 3.2

a: P < 0.001

Table 2 Total androgen levels in controls and hyperandrogenic anovulatory women

	T (ng/ml)	DHT (ng/ml)	DHEA (ng/ml)	A (ng/ml)
Control (n = 6)	0.44 ± 0.03	0.10 ± 0.01	5.05 ± 0.49	1.15 ± 0.12
Patient (n = 42)	0.74 ± 0.04 ^a	0.24 ± 0.03 ^b	7.90 ± 0.97 ^c	1.70 ± 0.13

Values are the mean ± S.E.

Different from control

a: P < 0.01, b: P < 0.001, c: P < 0.05

tion of 11-deoxycortisol in 24 patients was 0.60 ± 0.04 ng/dl which was not significantly differ from that (0.44 ± 0.04 ng/dl) of the controls at 60 min after ACTH stimulation.

The serum 11-deoxycorticosterone concentrations exceeded the normal control range in 6 out of 24 patients at 60 min after ACTH stimulation. The mean concentration of 11-deoxycorticosterone after overnight dexamethasone suppression was 0.04 ± 0.01 ng/dl in the controls and 0.06 ± 0.01 ng/dl in patients which was not significantly different. The mean concentration of 11-deoxycorticosterone (0.24 ± 0.02 ng/dl) in 24 patients was not significantly differ from that (0.17 ± 0.02 ng/dl) of the controls at 60 min after ACTH stimulation. Serum cortisol concentrations exceeded the normal control range in one of the 24 patients at 60 min after ACTH stimulation. Serum

cortisol levels did not differ significantly between control and patient groups at overnight dexamethasone suppression levels (1.2 ± 0.3 ng/dl vs. 1.5 ± 0.2 ng/dl) and stimulation levels (24.1 ± 3.5 ng/dl vs. 26.1 ± 0.9 ng/dl) after ACTH stimulation. Serum corticosterone concentrations exceeded the normal control range in one of the 24 patients at 60 min after ACTH stimulation. Serum corticosterone levels did not differ significantly between control and patient groups at overnight dexamethasone suppression levels (0.37 ± 0.04 ng/dl vs. 0.36 ± 0.04 ng/dl) and stimulation levels (21.7 ± 2.1 ng/dl vs. 18.6 ± 1.4 ng/dl) after ACTH stimulation.

The multiple adrenal steroid ratios were measured in 6 normal controls and 24 patients at 60 min after ACTH stimulation.

The individual ratios for serum 11-deoxy-

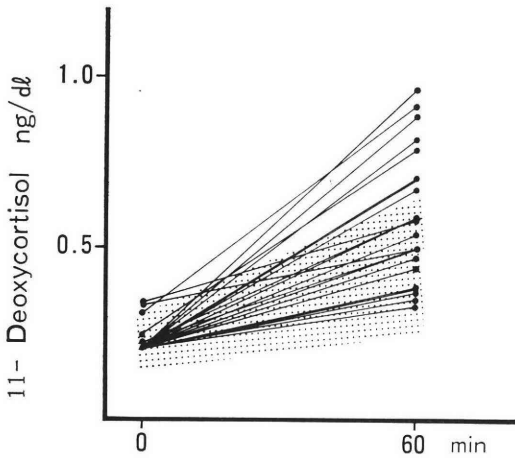


Fig. 1 Serum 11-deoxycortisol concentrations after ACTH administration following overnight dexamethasone suppression in 24 hyperandrogenic anovulatory patients. The 95% confidence limit of normal women is shown by the shaded area

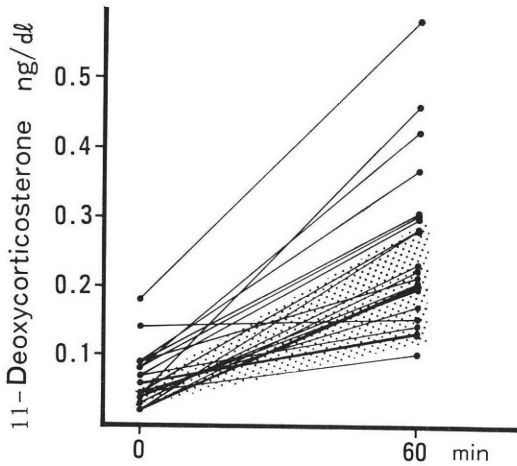


Fig. 2 Serum 11-deoxycorticosterone concentrations after ACTH administration following overnight dexamethasone suppression in 24 hyperandrogenic anovulatory patients. The 95% confidence limit of normal women is shown by the shaded area

cortisol to cortisol (S/F) and 11-deoxycorticosterone to corticosterone (DOC/B) at 60 min. after ACTH stimulation are depicted in Fig. 5. The shaded areas depicted the 95% confidence limits of these ratios for each steroid pairs in six normal controls.

As is depicted in Fig. 5, seven patients had higher 11-deoxycortisol to cortisol (S/F)

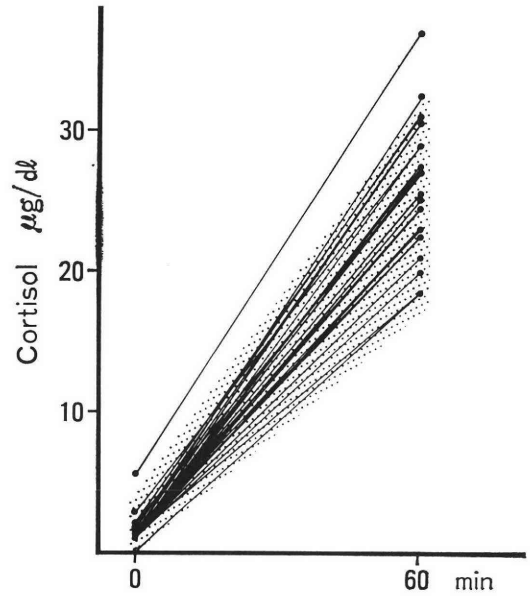


Fig. 3 Serum cortisol concentrations after ACTH administration following overnight dexamethasone suppression in 24 hyperandrogenic anovulatory patients. The 95% confidence limit of normal women is shown by the shaded area

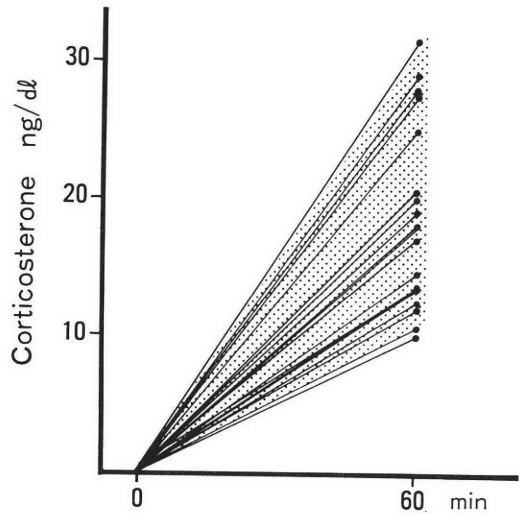


Fig. 4 Serum corticosterone concentrations after ACTH administration following overnight dexamethasone suppression in 24 hyperandrogenic anovulatory patients. The 95% confidence limits of normal women are depicted as shaded area

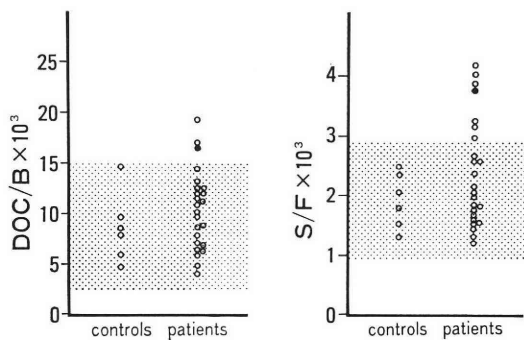


Fig. 5 Serum DOC/B and S/F ratios after ACTH administration following overnight dexamethasone suppression in 24 hyperandrogenic anovulatory patients. One patient (●) has abnormal ratios between two steroid pairs

ratio than the normal control women. Three of the 24 patients showed an abnormal ratio for 11-deoxycorticosterone and corticosterone (DOC/B). One patient (●) had abnormally high ratios of these steroid pairs.

Discussion

Serum androgen levels are elevated in hyperandrogenic anovulatory women, and this is said to be related to inappropriate gonadotropin secretion (IGS). In our study, significantly elevated levels of T, DHT and DHEA and slightly elevated level of Δ^4 A were observed with the increased basal LH level and LH/FSH ratio. The interrelationship of androgen excess and IGS have been studied by several investigators and the possibility that androgen excess might be implicated at least in part as the cause of IGS has been suggested^{13,14}. However, further investigation is necessary to determine the cause of IGS. The ACTH stimulation test is useful in the evaluation of androgen excess in hyperandrogenic anovulatory women. Some investigators have reported that a partial adrenocortical enzymatic deficiency in hyperandrogenic women might be present and revealed only after ACTH stimulation^{4,15,16}.

Gibson et al.¹⁷ have presented evidence suggesting frequent occurrence of deficiencies in several hydroxylase in hirsute women when challenged with ACTH. In the present study the serum concentrations of 11-deoxy-

cortisol and 11-deoxycorticosterone were stimulated in some hyperandrogenic anovulatory patients to an abnormal degree by ACTH with higher S/F and DOC/B ratios than those of normal control women.

Out of 24 patients, 7 had abnormal S to F, and 3 had abnormal DOC to B ratio in response to ACTH stimulation. One patient had abnormally high ratios between these steroid pairs. Whether these elevations are secondary to a partial deficiency in the 11 β -hydroxylase system or to functional disturbances in steroidogenesis can not be ascertained from these data. However, the patient with both higher S/F and DOC/B ratios probably had impaired adrenal 11 β -hydroxylation.

Guthrie⁴ reported that women with idiopathic hirsutism responded to physiologic amounts of cosyntropin with significantly higher plasma concentrations of 11-deoxycortisol and 11-deoxycorticosterone and higher S/F and DOC/B ratios than women without hirsutism, suggesting that an adrenal defect was common in this disorder.

Analysis of substrate to product steroid ratios was an effective method to verify defective hydroxylation in hyperandrogenic women. The accumulation and conversion to androgen of steroids proximal to the impaired hydroxylation step are thought to produce hyperandrogenism^{18,19}.

In most countries, 21-hydroxylase deficiency is considered to be the most frequent cause of congenital adrenal hyperplasia (CAH) and 11 β -hydroxylase deficiency (11 β -OHD) is thought to account for 5% or less of all cases^{20,21}. Mild cases of 11 β -OHD have been recently detected⁴, as was the case in 21-hydroxylase deficiency⁵. It is very difficult to estimate the prevalence of such a subtle enzymatic deficiency in hirsute and oligomenorrheic women. The present study suggests that only a minority of women may have a mild 11 β -OHD.

Before these 24 patients were investigated, two patients were considered to have PCOD based on their clinical and hormonal profile. The degree of hirsutism and menstrual disorder in these PCOD patients did not differ from that observed in other hyperandrogenic anovulatory patients. Yen¹⁴ proposed that

adrenal-derived androgens had a potential role in the development of PCOD or PCOD-like syndromes. Adrenal hyperandrogenism could lead to PCOD by causing an IGS through the conversion of androgens into estrogens in the extra-ovarian tissues.

Further investigations on the pathophysiology of hypothalamo-pituitary-ovarian axis are necessary to understanding this disorder.

References

- 1) Abraham, G. E., Chakmakjian, Z. H., Buster, J. E. and Marshall, J. R.: Ovarian and adrenal contributions to peripheral androgens in hirsute women. *Obstet. Gynecol.*, 46 : 169, 1975.
- 2) Ettinger, B., Goldfield, E., Burrill K. C., von Werder K. and Forsham, P. H.: Plasma testosterone stimulation-suppression dynamics in hirsute women. *Am. J. Med.*, 54 : 195, 1972.
- 3) Rosenfield, R. L., Rich, B. H., Wolfsdorf, J. I., Cassorla, F., Parks, J. S., Bongiovanni A. M., Wu C. H. and Shackleton, C. H. L.: Pubertal presentation of congenital Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51 : 345, 1980.
- 4) Guthrie, G. P., Jr., Wilson, E. A., Quillen, D. L. and Jawad, M. J.: Adrenal androgen excess and defective 11 β -hydroxylation in women with idiopathic hirsutism. *Arch. Intern. Med.*, 142 : 729, 1982.
- 5) Blankstein, J., Faiman, C., Reyes, F. I., Schroeder, M. L. and Winter, J. S. D.: Adult-onset familial adrenal 21-hydroxylase deficiency. *Am. J. Med.*, 68 : 441, 1980.
- 6) Lobo, R. A. and Goebelsmann, U.: Adult manifestation of congenital adrenal hyperplasia due to incomplete 21-hydroxylase deficient polycystic ovarian disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138 : 720, 1980.
- 7) Meikle, A. W., Worley, R. J. and West, C. D.: Adrenal corticoid hyperresponsiveness in hirsute women. *Fertil. Steril.*, 41 : 575, 1984.
- 8) Ferriman, D. and Gallwey, J. D.: Clinical assessment of body hair growth in women. *J. Clin. Endocrinol.*, 21 : 1440, 1961.
- 9) Kokubu, T., Hisatomi, M., Oh-uchi, R., Mori, H., Kanbegawa, A., Furuya, K., Den, K., Yoshida, T. and Takagi, S.: The simple methods for radioimmunoassay of unconjugated and sulfate conjugated dehydroepiandrosterone. *Folia Endocrinol. Jap.*, 54 : 117, 1978.
- 10) Tochigi, B., Tomida, M., Yoshida, T., Takagi, S., Makino, T. and Kanbegawa, A.: Radioimmunoassay of 11-deoxycorticosterone (DOC) in blood. *Clinical Endocrinology (in Japanese)*, 24 : 1151, 1976.
- 11) Ohashi, T., Morioka, M., Akaeda, T., Mitsuhata, N., Takeda, K., Ohmori, H., Saito, T., Takami, T. and Kanbegawa, A.: Plasma 11-deoxycortisol response to single dose metyrapone in prostatic cancer patients. *Folia Endocrinol. Jap.*, 57 : 983, 1981.
- 12) Yoshida, T., Tanemori, K., Inatomi, K., Ozaki, H., Takagi, S., Makino, T. and Kanbegawa, A.: Radioimmunoassay of sex steroid hormone (6) —Radioimmunoassay of Δ^4 -androstenedione—. *Clinical Endocrinology (in Japanese)*, 22 : 671, 1974.
- 13) Lobo, R. A. and Goebelsmann, U.: Effect of androgen excess on inappropriate gonadotropin secretion as found in the polycystic ovary syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 142 : 394, 1982.
- 14) Yen, S. S. C.: The polycystic ovary syndrome. *Clin. Endocrinol.*, 12 : 177, 1980.
- 15) Kem, D. C., Gomez-Sanches, C., Kramer, N. J., Holland, O. B. and Higgins, J. R.: Plasma aldosterone and renin activity response to ACTH infusion in dexamethasone-suppressed normal and sodium-depleted man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40 : 116, 1975.
- 16) Narita, O., Asai, M., Masahashi, T., Osawa, M., Suganuma, N., Wu, M. C. and Ichikawa, Y.: Hyperandrogenism: pathogenesis and management. *Tokai J. Obst. Gynec.*, 20 : 74, 1983.
- 17) Gibson, M., Lackritz, R., Schiff, I., Tulchinsky, D.: Abnormal adrenal responses to adrenocorticotrophic hormone in hyperandrogenic women. *Fertil. Steril.*, 33 : 43, 1980.
- 18) Newmark, S., Dluhy, R. G., Williams, G. H., Pochi, P. and Rose, L. I.: Partial 11- and 21-hydroxylase deficiencies in hirsute women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 127 : 594, 1977.
- 19) Fleetwood, J. A., Leigh, R. J., Hall, R., et al: Evidence for an underlying adrenocortical abnormality in hirsute women. *Clin. Endocrinol.*, 3 : 457, 1974.
- 20) Rösler, A., Leiberman, E., Sack, J., Landau, H., Bendry, A., Moses S. W. and Cohen T.: Clinical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency. *Hormone Res.*, 16 : 133, 1982.
- 21) Weder, E. A., Siefenmann, R. E., Knorr-Murset, G., Zimmermann, A., Sizonenko, P. C., Theintz, P., Girard, J., Zachmann, M. and Prader, A.: The incidence of con-

genital adrenal hyperplasia in switzerland-a survey of patients born in 1960 to 1974. *Helv. Paediatr. Acta*, 35 : 5, 1980.

- 22) Lodo, R. A. and Goebelsmann, U.: Evidence for reduced 3β -ol-hydroxysteroid dehydrogenase activity in some hirsute women thought to have polycytic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 53 : 394, 1981.

Hyperandrogenism を伴う無排卵婦人における副腎性 androgen と 11β -hydroxylation 欠損の役割について

名古屋大学医学部産婦人科教室
成田 収, 正橋鉄夫, 浅井光興
大沢政巳, 吉川史隆, 花井一夫
大脇正哉, 菅沼信彦, 水谷榮彦
友田 豊

多毛と月経異常を示す42人の患者における副腎の役割を明らかにする目的で, 血中 androgens の測定と, ACTH 負荷による血中 11-deoxycortisol (S), cortisol (F), 11-deoxycorticosterone (DOC) および, corticosterone (B) の変動を測定し, 正常月経周期を示す6人の対照婦人の卵胞期の値と比較した. この結果, 血中 T, DHT, DHEA は対照群に比較し有意に高値を示した. またFに対するS, およびBに対するDOCの比を検討したところ, 前者は24人中3人に, 後者は7人に高値を認め, 1人はこの両者の比がいずれも高値を示した. また, これらの患者におけるLHRH $100\mu\text{g}$ 負荷検査では, FSH は対照群に比し基礎値, 頂値共, 有意差を認めなかったが, LH は基礎値, 頂値共, 有意に高値を示し所謂 inappropriate gonadotropin secretion の状態を示していた. これらの成績は, 多毛と月経異常を示す婦人において 11β -hydroxylation の部分的欠損が存在し, hyperandrogenism の発現に副腎が重要な役割を果たしていることを示唆するものと思われる.

(受付: 昭和60年10月22日)

ALTERATIONS IN LEVELS OF CA 125 DURING THE MENSTRUAL CYCLE

Kentaro TAKAHASHI, Kazuo YOSHINO, Yoshimi ARAKI,
Arata NISHIGAKI, Takaaki SHIRAI, Toshihiko SHIBUKAWA
and Manabu KITAO

Department of Obstetrics and Gynecology, Shimane Medical University

Abstract: To determine possible alteration in serum CA 125 concentrations during the menstrual cycle, these concentrations in 57 women with a normal menstrual cycle and 3 with an anovulatory menstrual cycle were assayed. The following results were obtained.

1. In women with a normal menstrual cycle, alteration in the serum CA 125 concentrations did occur during the cycle, that is a transitory peak was observed during the menstrual phase while the concentration during the phase of ovulation was at the lowest level.

2. In those with an anovulatory menstrual cycle, changes in serum CA 125 concentrations were not observed during the menstrual cycle, rather a low level of 20 U/ml was maintained throughout the cycle.

This assay of serum CA 125 facilitates determination of disorders of ovulation and will aid in predicting the day of ovulation in those with a normal menstrual cycle.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 392-395, 1986)

Introduction

CA 125 is a human ovarian cancer associated antigen and is used as a tumor marker. We entertained the idea that changes in serum CA 125 may occur during the menstrual cycle and performed studies to observe related events.

Materials and Methods

Fifty-seven Japanese women with a normal menstrual cycle and a biphasic BBT, in whom ovulation was confirmed by an ultrasonographic method and three women with an anovulatory menstrual cycle and monophasic BBT were examined.

Serum CA 125 was subjected to radioimmunoassay (CENTOCOR Inc., Malvern, PA USA), with a sensitivity of 8 U/ml. A normal value of serum CA 125 of 39 U/ml, as we already reported¹⁾, was used as the sta-

ndard. Significant differences were determined by Student's t-test.

Results

When the normal menstrual cycle was separated into the menstrual, follicular, ovulation and luteal phases, the concentrations of serum CA 125 was found to be high during the menstrual phase, as shown in Fig. 1. A serum CA 125 concentration as high as 91 U/ml was evident in one subject. Assuming that all values of 40 U/ml or more were positive, 52% of the cases showed a positive result, but in all other phases of the menstrual cycle it was 0%. The mean \pm S. D. values of serum CA 125 are shown in Fig. 2. In the menstrual phase it was 44.2 ± 20.7 U/ml (highest value), 16.6 ± 6.7 U/ml in the luteal phase, 16.1 ± 4.7 U/ml in the follicular phase, and lowest in the ovulation phase with 12.9 ± 4.2 U/ml. A significant difference in the

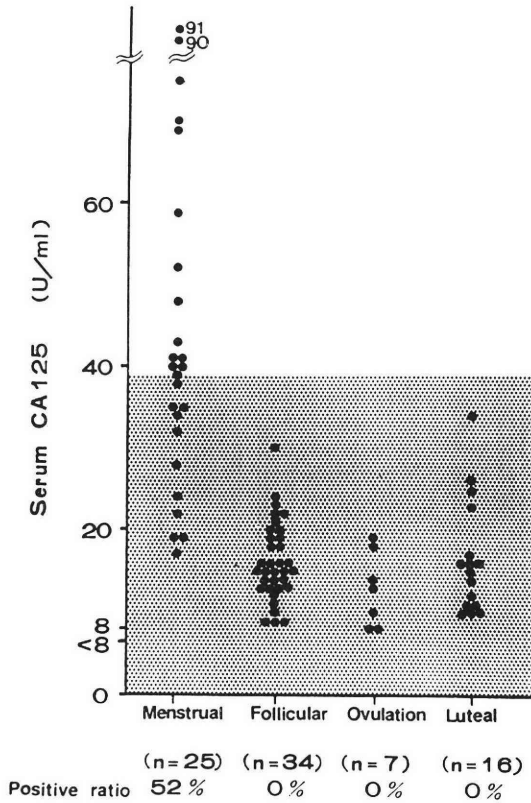


Fig. 1 Distribution of serum CA 125 in women with a normal menstrual cycle

serum CA 125 concentration was observed between that of the menstrual phase and the three other phases of the menstrual cycle. There was no statistically significant difference in the serum CA 125 concentration between the ovulation phase and the follicular and luteal phases. The distribution of the serum CA 125 concentration during the menstrual phase is shown in Fig. 3. In those with a normal menstrual cycle, the serum CA 125 showed particularly high values from the second to the fourth day of the menstrual phase. The serum CA 125 concentration on the first day of the menstrual phase was negative in all cases. In those with an anovulatory menstrual phase, the serum CA 125 level was less than 20 U/ml, during all phases. The serum CA 125 concentrations were measured on consecutive days in 4 with a normal cycle and in 3 with an anovulatory menstrual cycle. In all those with a normal men-

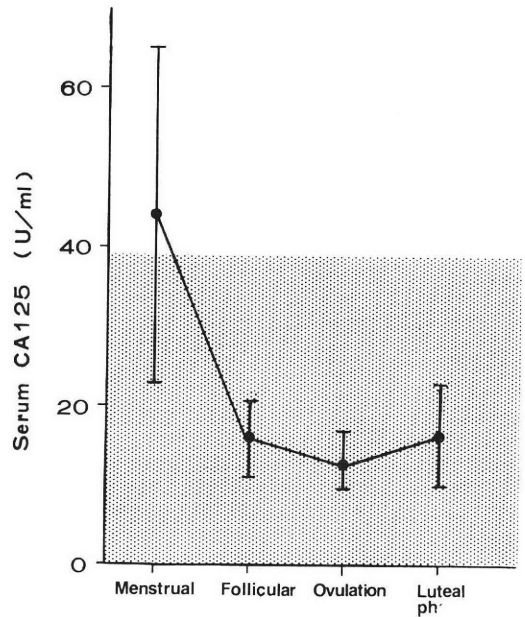


Fig. 2 Mean values of serum CA 125 in women with a normal menstrual cycle

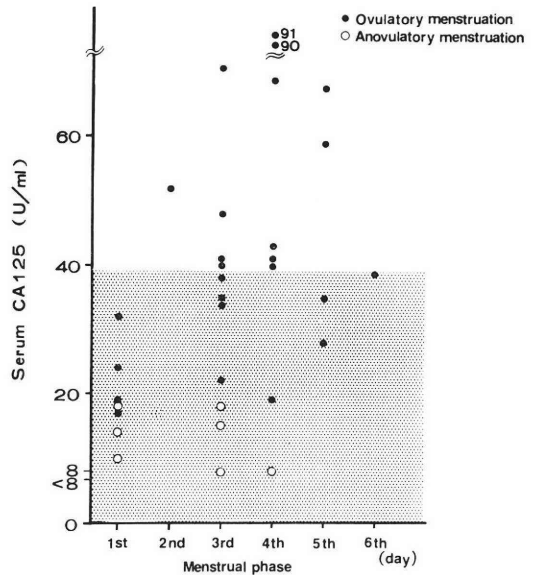


Fig. 3 Distribution of serum CA 125 during the menstrual phase

strual cycle, a transitory high peak was observed in serum CA 125 concentrations during the menstrual phase, but in women with an anovulatory menstrual cycle, the serum CA 125 concentration was a plateau of less than 20 U/ml, with no peak. Two with a normal

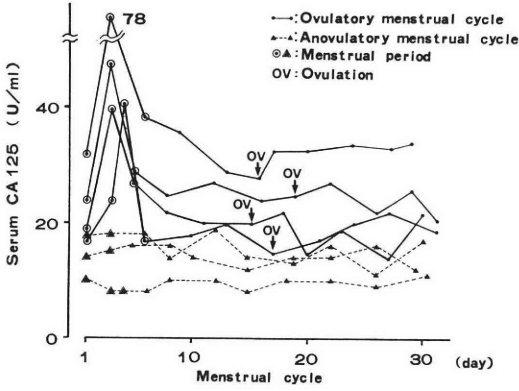


Fig. 4 Serum CA 125 levels in 4 women with a normal menstrual cycle and 3 with an anovulatory menstrual cycle

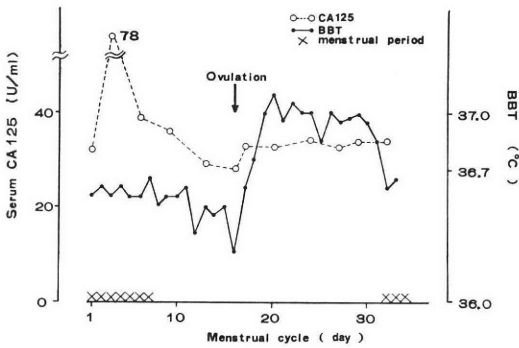


Fig. 5 Relationship between serum CA 125 levels and BBT in a woman with a normal menstrual cycle

menstrual cycle had the lowest serum CA 125 concentrations, on the day of ovulation (Fig. 4). The relationship between the serum CA 125 concentration and the BBT in one of these patients is shown in Fig. 5. The serum CA 125 concentration presents a peak during the menstrual phase, drops gradually thereafter, shows the lowest concentration on the day of ovulation, rises somewhat thereafter and maintains a rather low level throughout the luteal phase. A concurrence between the dip in the BBT and ovulation was observed by ultrasonography, in one case.

Discussion

A great deal of attention has been directed to the role of CA 125, a tumor associated antigen, as a tumor marker in the diagnosis

of ovarian cancer and follow up after treatment^{2,3}. It is used also for a differential diagnosis between uterine myoma and adenomyosis⁴, in the follow-up treatment for endometriosis⁵, and as a supplementary diagnostic procedure⁶, at the serum level, in abnormal pregnancies. There is a correlation between CA 125 and a glycoprotein which is found in the fetal coelomic epithelium⁷. Thus, the endometrium derived from the fetal coelom might be the source of CA 125 secretion. As the endometrium is strongly influenced by sex hormones, it is possible that marked changes may occur in the secretion of serum CA 125 due to sex hormones during the menstrual cycle. We found a high peak of serum CA 125 during the menstrual phase and the lowest level of CA was noted during the ovulation phase. In those with an anovulatory cycle, no peak in CA 125 concentration was observed, and a low concentration of CA 125 of less than 20 U/ml persisted throughout the menstrual cycle. Therefore, in cases of a serum CA 125 concentration of less than 20 U/ml during the menstrual cycle, the menstrual cycle may have been anovulatory. As shown above, CA 125 analysis may be used as a test for the functional activity of the reproductive system, as pointed out by Totani et al⁸. Since the concentration of serum CA 125 shows the lowest value on the day of ovulation, the assay of CA 125 may be used to predict the day of ovulation. In our study, we found that changes in the serum CA 125 concentration do occur during the menstrual cycle in women with a normal cycle and that a high concentration of CA 125 is observed in the menstrual phase. Therefore, when serum CA 125 assay is to be used as a tumor marker in those with a normal menstrual cycle, it would be performed to avoid false-positive results.

Acknowledgment

We thank M. Ohara for advice on the manuscript.

References

1) Takahashi, K., Yoshino, K., Shibukawa, T. and Kitao, M.: The normal level of an antigenic determinant CA 125 in healthy

non-pregnant Japanese. *The World of Obstetrics and Gynecology*, 37 : 717-719, 1985.

- 2) Bast, R. C., Jr., Klug, T. L., Schaetzl, E., Lavin, P., Niloff, J. M., Greber, T. F., Zurawski, V. R., Jr. and Knapp, R. C.: Monitoring human ovarian carcinoma with a combination of CA 125, CA 19-9, and carcinoembryonic antigen. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 149 : 553-559, 1984.
- 3) Takahashi, K., Fukuda, S., Yoshino, K., Shibukawa, T., Murao, F. and Kitao, M.: Diagnostic usefulness of serum CA 125 in patients with ovarian cancer. *Shimane J. Med. Sci.*, 9 : 43-48, 1985.
- 4) Takahashi, K., Kijima, S., Yoshino, K., Shibukawa, T., Murao, F. and Kitao, M.: Differential diagnosis between uterine myoma and endometriosis using CA 125 as a new tumor marker of ovarian carcinoma. *Asia-Oceania J. Obstet. Gynaecol.*, 12 : 99-103, 1986.
- 5) Takahashi, K., Nagata, H., Yamane, Y., Yoshino, K., Shibukawa, T., Murao, F. and Kitao, M.: Clinical usefulness of serum CA 125 in patients with endometriosis. *Shimane J. Med. Sci.*, 9 : 82-88, 1986.
- 6) Takahashi, K., Yamane, Y., Yoshino, K., Shibukawa, T., Matsunaga, I. and Kitao, M.: Studies on serum CA 125 levels in pregnant women. *Acta Obstet Gynaec Jpn.*, 37 : 1931-1934, 1985.
- 7) Kabawat, S. E., Bats, R. C., Bhan, A. K., Welch, W. R., Knapp, R. C. and Colvin, R. B.: Tissue distribution of a coelomic epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC 125. *Lab. Invest.*, 48 : 42A, 1983.
- 8) Totani, R., Suzuoki, Y., Miwa, T., Kuroki, N. and Shibuta, K.: An application of ovarian function. *Acta Obstet Gynaec, Jpn.*, 37 : 2624-2625, 1985.

婦人の性周期における CA 125 値の変動

島植医科大学医学部産科婦人科学教室

高橋健太郎, 吉野和男, 荒木芳美

西垣 新, 白井孝昭, 渋川敏彦

北尾 学

血清 CA 125 が月経周期において変化するかどうかを検討するために57名の正常月経を有する婦人及び3名の無排卵周期症婦人の血清 CA 125 を測定し以下の結果を得た。

1) 正常月経周期を有する婦人の血清 CA 125 は性周期により変動し、月経期に一過性のピークを示し、排卵期に低値を示す傾向が認められた。

2) 無排卵周期症婦人の血清 CA 125 は性周期による変動は認められず、20U/ml 以下の低値を示した。

以上より、血清 CA 125 測定は、排卵障害の有無の推定及び排卵日の推定に利用出来ることが示唆された。

(受付：昭和60年12月5日特掲)

単一合成培養液内でのヒト卵胞卵の成熟と精子侵入

A Culture System for Human Oocyte Maturation and Sperm Penetration *In Vitro* Using a Chemically Defined Medium

京都大学医学部婦人科学産科学教室

山田 一郎 野田 洋一 森 崇英
Ichiro YAMADA Yoichi NODA Takahide MORI

Department of Gynecology and Obstetrics, Kyoto University
Faculty of Medicine, Kyoto, 606, Japan

ヒトにおける卵成熟、および受精機構解明に資するため、われわれは単一合成培養液内でのヒト卵胞卵の成熟と体外受精系の確立を試みた。

婦人科手術症例より得られた40個の種々の月経周期にある卵巣より採取した卵胞卵のうち、明らかな退行変性を示すものを除いた194個を合成培養液 (m-KRB) 中に浮遊させ、炭酸ガス培養器内 (5% CO₂, 95% 空気, 37°C) で40~47時間培養した。培養に供した卵のうち、100個は培養終了時に明らかな退行変性を示した。残り94個のうち、39個について固定、染色を行ない、成熟の程度を検討したところ、34個 (87.2%) に germinal vesicle breakdown (GVBD) が認められた。固定、染色を行なわなかつた55個の卵は、1~3時間前培養した精子浮遊液に移して授精10時間後に固定、染色した結果、22個 (40.0%) の卵に精子侵入が認められ、それぞれ膨化精子ないし雄性前核と対応する精子中片部、あるいは尾部が確認された。授精した卵のうち、GVBD を起こした卵は40個で、このうち metaphase II (MII) にまで成熟していたと思われる卵は21個であり、このうち17個 (81%) に精子侵入を認めた。精子侵入を認めた卵のうち、metaphase I (MI) にまで成熟していたと判定されたものについては、侵入精子は膨化精子にとどまり、metaphase II にまで達していたと判定した卵については、侵入精子はすべて前核形成を示した。

以上の結果から①血清あるいは、卵胞液等を含まない単一合成培地内で、ヒト卵胞卵の成熟および受精が成立すること、②卵への精子進入率は卵の成熟度が進むにつれて高率になること、③侵入精子は MI の卵では膨化精子にまで、MII では雄性前核にまでそれぞれ達するが、それ以上の過程が進行しないことが明らかとなった。本研究を通じて、ヒト卵の成熟過程および受精機構解明のための基礎的な条件設定ができたと考えられる。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 396-403, 1986)

緒 言

1939年 Pincus et al¹⁾ によりヒト卵胞卵の体外成熟が、1969年に Edwards et al²⁾ により体外成熟によるヒト卵胞卵の体外受精がそれぞれ最初に報告されて以来、ヒト卵胞液、ヒト血清などの生体由来の成分を含む組成の異なる種々の培養液がこれらの目的のために用いられてきた³⁾。しかしヒト卵胞卵の成熟および受精機構の解明という観点からすると、卵胞液、血清などの組成の明らかでない生体由来の成分を含まない培養液による受精系の確立が望ましい。その理由は、物理化学的に制御さ

れた環境下に成熟、受精を成立させることにより、成熟、受精成立におよぼす環境要因の分析、種々の生理的活性物質および薬物の効果の検討が可能となるからである。今回われわれはヒト卵胞卵の体外成熟と体外受精を単一の完全合成培養液中で試み、ほぼ満足すべき成績を得たので報告する。

材料と方法

1. 実験材料

本研究に用いたヒト未熟卵胞卵は、子宮癌などにより開腹術をうけた30歳から43歳の40人の患者より、同意を

表 1 Compositions of modified Krebs-Ringer-Bicarbonate solution

NaCl	94.60mM
KCl	4.78
CaCl ₂	1.71
KH ₂ PO ₄	1.19
MgSO ₄	1.19
NaHCO ₃	25.07
Na-lactate	21.58
Na-pyruvate	0.50
Glucose	5.56
BSA	4mg/ml
Streptomycin	50 μ g/ml
Penicillin	75 μ g/ml

得て卵巣の提供を受け、別項で述べる方法によつて回収した。ヒト精子は妊孕性の証明されている健康成人男子より用手法にて採取した精液から得た。培養液調整に際して基本溶媒となる水は、自家精製水をイオン交換樹脂(オルガノ G-10)を通したあと、ガラス製蒸留器を用いて3回蒸留水を作成し、これを用いた。また、培養液調整に必要なすべての化合物は半井化学薬品株式会社より入手した特級試薬を用い、ウシ血清アルブミン (BSA) は Sigma 社製を用いた。

2. 培養条件の設定

培養液には modified Krebs-Ringer-bicarbonate solution⁴⁾ (m-KRB) を用いたがその組成は表1に示した通りである。本研究の目的からして、生体由来の未知の成分を含まない培養液の組成が要求されるため、マウス、ラット等に頻用されている m-KRB を用い、蛋白成分としてはウシ血清アルブミン結晶標品を4mg/ml に加えた。培養の温度および気相条件は37°C, 5% CO₂ in air とし、この条件に合致するよう調整された CO₂ incubator (Heinicke 社) 内で行なった。

3. 卵胞卵の回収と選別

卵巣表面に肉眼的に認められる直径2mm~10mm の卵胞を、メスあるいはハサミで穿刺または切開し、m-KRB 溶液中へ遊離してくる多種の細胞中より卵細胞を実体顕微鏡下でマイクロピペットを用いて回収した。回収し得た卵胞卵については、実体顕微鏡下での観察を行ない、卵丘細胞を失つて裸化卵子として認められるものでも、細胞質に明らかな変性の認められないものや、緻密な数層の卵丘細胞に囲まれて、卵実質が直接観察できないものについても、これを以下の成熟培養に供し、卵細胞質に明らかな変性の認められる場合は除外した。成熟培養に供された卵胞卵は、卵を直接観察し得たものに

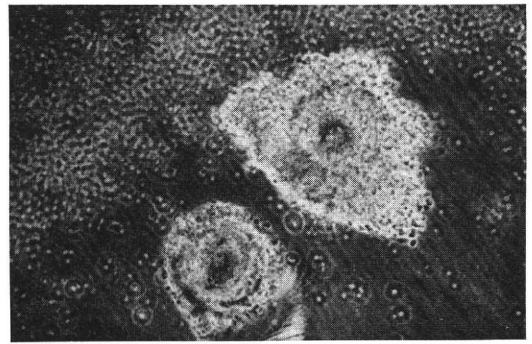


図 1 Immature human follicular ova with intact appearance

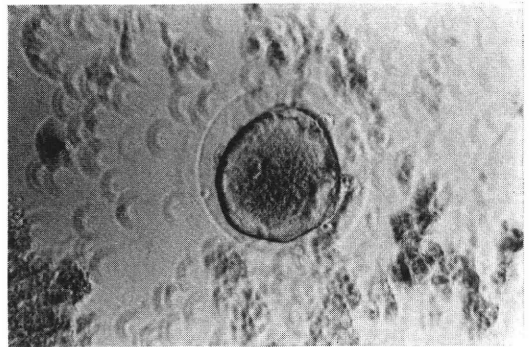


図 2 A degenerated ovum after 40h maturation culture

ついては、第1極体を放出しているものではなく、また卵丘細胞に被われて直接観察のできないもの(図1)についても、その形態から成熟卵と判定しうるものはなかった。

こうして選別、回収した卵を m-KRB にて2回洗浄し、付着している血液その他生体由来の成分を可及的に除去したあとただちに成熟培養に供した。

4. 成熟培養

プラスチックシャーレ (Falcon 社, 3.5cm 径) 中に 0.4ml の m-KRB 液の spot をパラフィンオイル下に作成、あらかじめ気相を培養条件と平衡化しておき、回収した未熟卵1~3個ずつを浮遊せしめ、40~47時間培養を行なった。この時間の設定はヒト卵胞卵の成熟時間がおおよそ38時間と推定されている (Edwards ら²⁾) ことに準拠したものである。成熟培養終了時点で明らかな退行変性を示す卵は除外し (図2)、その他の卵は一部は成熟度判定のために固定染色し、残りのものは授精に供した。

5. 精子液の調整と授精

妊孕性の証明されている健康成人男子より用手法にて

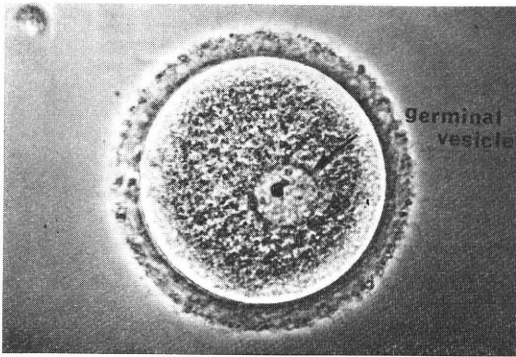


図 3 An ovum remained at the germinal vesicle stage after 47h maturation culture

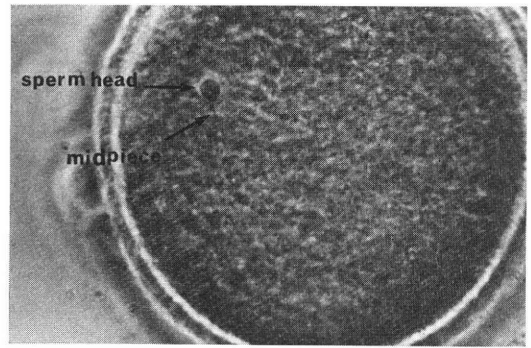


図 5 An ovum being penetrated by a sperm : sperm head and midpiece can be recognized in the cytoplasm of an ovum following *in vitro* insemination

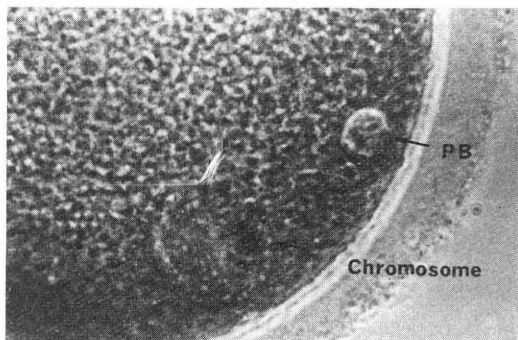


図 4 An ovum in the metaphase II : first polar body and condensed chromosome can be as indicated by the arrows

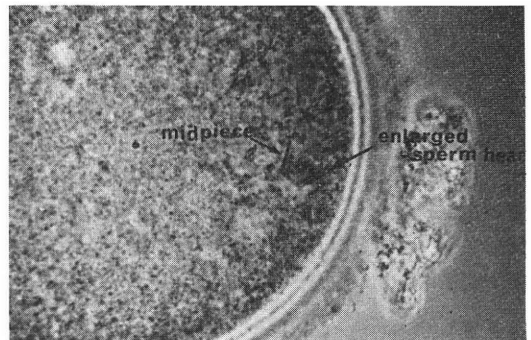


図 6 An ovum being penetrated by a sperm : enlarged sperm head and midpiece can be seen

得た精液を室温で十分に液化したのち、約3倍量の培養液を加えて攪拌し、 $30\times g$ にて10分間遠心操作を行なった。この様にして精子以外の粗粒子を可及的に除去した後上澄を回収し、 $300\times g$ 10分間の遠心操作を行ない、沈渣に再び培養液を加えて攪拌し、同様の遠心操作の後上澄を捨て、2mlの培養液を加えて精子懸濁液を作成した。その一部を精子数の算定に用い、残りをプラスチックシャーレ中に作成しておいた0.4mlの培養液中へ移し、終濃液 $0.5-1.0\times 10^6/ml$ の精子濃度となるよう調整した。これを卵の成熟培養に用いたのと同じ培養条件で1~3時間培養し、受精能を獲得せしめた。

成熟培養の終了した卵のうち、変性卵および成熟度判定に供した卵以外のものはすべて精子液中へ移し、引きつづき10時間の培養を行なったあと、精子侵入の有無を判定するため固定染色に供した。

6. 卵の固定染色法と成熟度および精子侵入の判定

明らかな退行変性を認めない成熟培養後の卵および受精後の卵の成熟度判定および精子侵入を観察するため、

卵子のホルマウント染色標本を作製した。まず、スライドガラスとカバーガラスのあいだに卵を圧迫固定し、2.5%グルタルアルデヒド、10%中性ホルマリンを用いて順次固定し、0.25%酢酸ラクモイドを用いて染色した。卵の成熟度判定に関しては、卵核胞(germinal vesicle)を認めたものをGV期卵(図3)、卵核胞の消失したものはgerminal vesicle breakdown (GVBD)期卵とした。さらにGVBDのうち第1極体(polar body; PB)の囲卵腔への放出の認められなかったものをmetaphase I (MI)期卵、第1極体を囲卵腔へ放出し、なおかつ細胞質に染色体の配列を認めたものをmetaphase II (MII)期卵(図4)とし、退行変性の所見が得られたものは変性卵(degeneration; Deg)として分類した。また、細胞質中に精子尾部をともなう膨化精子頭部(enlarged sperm head)(図5, 6)または雄性前核(pronucleus; PN)を認めたもの(図7, 8)は、精子侵入卵と判定した。精子侵入卵と判定された卵の成熟度についても同様に、第1極体あるいは第2極体放出

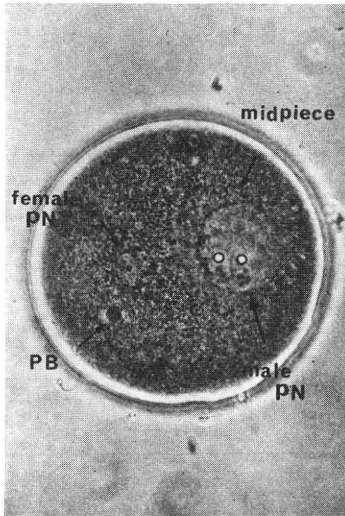


図 7 An ovum being penetrated by a sperm : female and male pronuclei and midpiece can be seen. 2nd polar body was also seen

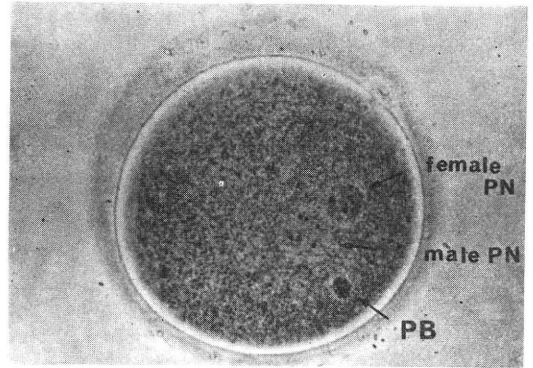


図 8 Afertilized ovum at the pronuclear stage : female and male pronuclei are about to fuse

が認められるものについては metaphase II として分類し、極体が観察されない卵については metaphase I として分類した。

7. 光学器械

培養に供する卵の観察は、実体顕微鏡（オリンパス SZ）下で行ない、固定染色後の形態観察はオリンパス MPS で行なった。写真撮影は40倍または100倍で行ない、フィルムはコダック社エクタクローム ASA 400を用いて行なった。

成 績

実験に供した卵胞卵の採取時期ならびに実験区分は表 2 に示した通りである。採取した卵胞卵のうち、実体顕微鏡下に観察した形態上、明らかな変性を示さない194個を成熟培養に供した。培養終了直後に再検査したところ、100個（51.5%）は明らかな退行変性を示したので以後の実験からは除外した。残りの94個のうち39個の卵については、成熟度の判定のために固定染色し、残りの55個については精子液に移して、以後の受精実験に供した。

1) 試験管内成熟率

成熟度の判定に供した39個の卵の成熟度は一括して表 3 に示した通りである。GV あるいは退行変性を示したものが合わせて5個（12.8%）、metaphase I および II に達していたものがそれぞれ21個（53.8%）13個（33.3%）であり、GVBD が生じたものは合わせて34個（87.2%）であった。この様に *in vitro* maturation が

単一合成培地を用いた試験管内で誘導できることが判った。全培養操作の結果、今回われわれが用いた実験条件下では、卵の成熟におよぼす効果の面からみると、培養に供した199個の卵のうち74個（38.1%）に GVBD が生じ、そのうち M I にいたつたもの40個（20.6%）、M II にいたつたもの34個（17.5%）であった。

2) 試験管内受精率

授精に用いたのは成熟培養後に変性卵を除外した55個の卵である（表 4）。授精10時間後の判定結果から22個（40%）に精子侵入が認められ、33個（60%）には精子侵入が認められなかった。

精子侵入が認められなかった33個の卵についてみると、15個は GV にとどまっているか、あるいは変性を示していた。残り18個の卵については M I と判定されたもの14個、M II と判定されたもの4個であった。

精子侵入を認めた22個の卵についてみると、膨化精子頭部を認めたもの5個であり、いずれも卵の形態から M I の成熟度と判定されるものであった。雄性および雌性前核とそれに対応する精子中片部を認めたものは17個であり、いずれも第1極体を放出し、卵の成熟度に関しては M II と判定されたものであった。なお、本研究全体を通じて、授精後10時間の時点で固定染色した場合、syngamy を呈した受精卵は1個も認められなかった。

次に卵成熟度と精子侵入率との関係を調べた成績を表 5 に示した。精子侵入卵を卵の成熟度と対比してみると、M II と判定された21個の卵のうち、17個（81%）に精子侵入が認められた。同様に M I と判定された19個の卵のうち、5個（26.3%）に精子侵入が認められた。しかし GV あるいは変性と判定された卵には、精子侵入は全く認められなかった。これらのことから、卵の成熟度の進行にともない、精子侵入率の上昇すること

表 2 Classification of ovum conditions recovered from human ovaries at different stages of menstrual cycle

Menstrual cycle (days)	No. of patients	No. of oocytes			
		Cultured	Degenerated after culture (%)	Examined for maturation	Used for insemination
1-12	14	62	24(38.7)	16	22
13-15	7	40	25(62.5)	7	8
16-27	19	92	51(55.4)	16	25
Total	40	194	100(51.5)	39	55

表 3 Maturation in culture of human oocytes in a chemically defined medium

Menstrual cycle (days)	No. of oocytes		No. of oocytes with GVBD		
	Examined	GV/Deg	Total (%)	M I	M II
1-12	16	1	15(93.8)	12	3
13-15	7	1	6(85.7)	3	3
16-27	16	3	13(81.3)	6	7
Total	39	5	34(87.2)	21	13

GV : Germinal Vesicle

M I : Metaphase I

Deg : Degeneration

M II : Metaphase II

GVBD : Germinal Vesicle Breakdown

表 4 Status of penetrated and unpenetrated oocytes 10 h after insemination

Menstrual cycle (days)	No. of oocytes inseminated	No. of oocytes penetrated			No. of unpenetrated oocytes at the stage of:			
		Total (%)	Enlarged sperm head no PB	Male & female PN	Total	GV/Deg	M I	M II
1-12	22	5(22.7)	0	5	17	8	6	3
13-15	8	6(75.0)	2	4	2	1	1	0
16-27	25	11(44.0)	3	8	14	6	7	1
Total	55	22(40.0)	5	17	33	15	14	4

PB : Polar Body

M I : Metaphase I

PN : Pronucleus

M II : Metaphase II

GV : Germinal Vesicle

Deg : Degeneration

が明らかとなった。なお、授精に供した卵55個のうち、GV あるいは変性を示したものは15個であったから、GVBD を生じた卵40個についていえば、精子侵入を認めた卵は22個 (55%) であったことになる。

患者の月経周期と試験管内成熟度との間には相関関係は認められなかったが、授精によって精子侵入がみられた卵は、月経周期の13~15日の間に回収したものに高率に認められた (表4)。

考 案

本研究で採用した修正 KRB 液はラット^{5,6)}、ハムスターとマウス⁷⁾などの実験動物の体外受精に適した培養液であるところから、ラット⁵⁾、ウシ⁸⁾、ブタ⁹⁾の卵胞卵の体外成熟、体外受精の目的にも有用であることが実証されている。今回の研究成績から m-KRB を用いた完全合成培養液中で、ヒト卵胞卵の体外成熟、体外受精、

表 5 Relationship between maturity and sperm penetrability of follicular ova cultured *in vitro*

stage of ova	No. of oocytes	
	inseminated	penetrated (%)
GV/Deg	15	0(0)
MI	19	5(26.3)
MII	21	17(81.0)
Total	55	22(40.0)

GV/: Germinal Vesicle

Deg: Degeneration

MI: Metaphase I

MI: Metaphase II

精子の受精能獲得が可能であることが明らかとなった。さらに卵の成熟の程度が進むにしたがい精子侵入率の上昇が認められ、特に MII にまで成熟した卵への精子侵入は高率におこることが知られた。

卵胞から採取した卵核期期のヒト卵母細胞は、適当な培養条件下で体外で自然に成熟分裂を再開し、体内成熟と異なりゴナドトロピンやステロイドホルモンの存在を必要としないことがすでに知られている。Bavister et al.¹⁰⁾は卵胞液を添加したバビスター液中で36~37時間、Kennedy et al.⁹⁾は199液中および Ham's F-10液中で43~47時間、Edwards et al.²⁾は卵胞液を添加したハンクス液、プリンスター液中で38時間、Suzuki et al.⁴⁾はウシ胎仔血清を添加した TC 199液中で、46~48時間それぞれヒト卵胞卵を培養することにより成熟分裂が再開することを報告している。本研究においては卵巣より採取した卵胞卵のうち、明らかな変性像を伴わないもののみを40~47時間の体外培養後、87.2% (34/39) の卵に成熟分裂の再開を認めた。Kennedy et al.¹¹⁾は卵巣から採取したすべての卵胞卵を培養し、体外培養後に明らかな退行変性を示した卵も含めて51.0%—63.2%に成熟分裂の再開を認め、Suzuki et al.⁴⁾は卵巣より採取した卵胞卵のうち、変性を示す卵を除外し成熟培養を行ない、82.6%に成熟分裂の再開を認めたと報告している。今回著者らが得た成績は、これら諸家の報告とほぼ同程度のものと考えられる。

卵細胞の成熟率に影響を与える培養条件として培養時間、気相、培養液の組成、pH、浸透圧などが主なものであると考えられる。培養液としては一般の組織培養に用いられる Ham's F-10液、199液のほかに KRB 液に若干の組成上の修正を加味したものが用いられ、研究者によりヒト血清、卵胞液、ウシ胎仔血清等を加えている。本実験に用いた培養液の pH、浸透圧はそれぞれ 7.2、

300mOsmol/kg であつた。卵の成熟率は用いた卵の quality に左右されることが多いので、諸家の報告を単純に比較することは困難であるが、今回得られた結果から考えると、生体由来の諸要素が添加されていなくても、卵成熟率からみる限り大きな影響がないと考えることができる。

しかしながら、体外培養でヒト卵胞卵の成熟を誘導した場合の精子侵入率は概して低率であり、Edwards et al.²⁾ は体外成熟培養にて MII に至つた34個の卵子のうち7個 (20.6%) の卵子に雄性前核を示す精子侵入を認めたとしている。今回の検討では、授精した55個の卵子のうち22個の40%に精子侵入を認めたが、成熟分裂再開を認めたものは55個中44個であつたから、これを一応成熟卵と判定すると成熟卵への精子侵入率は40個中22個の55%となる。この場合でも卵の成熟程度が進むにしたがい、精子侵入率は増加し、MII期卵への精子侵入率は81.0%と高率であつたのに対し、MI期卵への侵入率は僅か26.3%と低率であつた。卵の成熟度はこのように精子侵入率に影響するだけでなく、侵入後の精子の変化にも大いに影響している。MI期卵へ侵入した精子の頭部は膨化したが雄性前核にまで進行しなかつたのに対し、MII期卵に侵入した精子は、授精後10時間の観察では雄性前核にまで達したが、syngamy までには至らなかつた。この事実はヒトにおいてもマウス¹²⁾、ラット⁵⁾における観察と同様に、卵細胞質の成熟が正常の受精現象の進行と完了に重要であることを示唆している。

このことはすでにヒト体外受精の臨床応用でも示されている。Trounson et al.¹³⁾ は体外受精・胚移植 (IVF-ET) の際に授精に供する卵の成熟を完了させるべく排卵直前の卵を卵胞より回収した後、5-5 1/2時間の前培養を行ない、以後の受精率、卵割率ともに前培養を行なわない場合に比べて著しく改善されたとして、卵細胞の核の成熟のみならず、卵黄膜を含めた細胞質の成熟が重要であると指摘している。表 3, 4で示したごとく、排卵前期卵巣から採取した卵子は、他の月経周期に得た卵子に比べて、その成熟率に差は認められないものの、有意に高い精子侵入率が認められた。この事実は排卵期の LH サージを始めとする卵胞内の内分泌的 microenvironment が、卵胞卵の体外成熟能に重要な因子であることを物語っている。

報告によれば、*in vitro* で成熟したヒトの卵は精子に対して感受性があり、*in vitro* で受精が成立することはすでに知られている¹⁴⁾。この場合、侵入精子の頭部はすぐには膨化できず、数時間そのままの状態にとどまつており、たとえ雄性前核に変化しても正常には発育せず、凝縮した染色体の顆粒がそのまま残つていとされてい

る。この現象を説明するのに Thibault¹⁵⁾ はウサギを用いて解析し、卵細胞質中には精子頭部を膨化させ雄性前核へと発育させる因子、すなわち雄性前核成長因子 (male pronucleus growth factor; MPGF) があり、通常 MPGF は *in vivo* で卵が成熟するに伴って合成されるが、*in vitro* ではこれが合成されないか、または合成されてもその量が不足なためであろうと推定している。これらの現象がヒト卵についてもそのまま適用しうるかどうかは不明ではあるが、一般に *in vitro* で成熟したヒト卵が受精後の胚発生を正常につづけることは難しいこととされている¹⁵⁾。

しかし、Veeck et al.¹⁶⁾ は、ヒト体外受精において排卵直前の卵胞を吸引する際に、同時に得られた未成熟卵を体外成熟させ、以後の IVF. ET にて健児を得ており、排卵前期の卵巣より得られた未成熟卵の IVF. ET への応用の可能性も示唆されている。今後、ヒト体外受精に *in vitro* で成熟させる卵を用いることは、成功率に直結する改善法の一つと考えられるだけに、今回用いた実験条件下では不充分で、何等かの方法で細胞質の成熟を促進する条件設定が必要であろう。この点、Soupart¹⁴⁾ は培養液中にエストラジオール 17β 、さらに 17α -ヒドロキシプロゲステロンを加えてヒト卵を培養すると、受精後ただちに精子核の膨化が生ずると報告しており、今後、培養条件が改良されれば未成熟卵を用いた臨床応用も可能になるであろう。

精子が透明帯に侵入し、さらに卵黄膜と融合し受精を完遂する能力を備える条件として、精子の受精能獲得がある。Bavister et al.¹⁰⁾ は、ヒト卵胞液を添加したバビスター液中で精子を7時間培養することにより、また、Seitz et al.¹⁷⁾ は、アカゲザルの子宮内で4~5時間培養することにより、さらに Lopata et al.¹⁸⁾ は、修正 KRB 液類似の組成の培養液中で1.5~3時間培養することにより、それぞれ受精に成功した。本研究では精子の侵入能を獲得する正確な時間は検討しなかつたが、精子の受精能獲得は修正 KRB 液中の1~3時間の間に、または引き続き授精を行なつたあとの10時間培養の間に完了したと推定できる。したがって完全合成培地中でも、現在世界各地で試みられているヒト体外受精系で用いられていると同様の前処理で、精子の受精能獲得が達成されることが示された。

以上、本研究で示された結果、ならびにすでに発表している一部の結果を¹⁹⁾ 合わせて、ヒト卵胞卵の体外成熟と体外受精および、精子の受精能獲得が同一の完全合成培養液を用いて可能であることが立証されたと考えられる。この系を用いて成熟分裂再開、受精過程におよぼす種々の環境因子の影響を解析する基礎条件が整つただけ

でなく、今後ヒト体外受精における未成熟卵の応用が可能であることも同時に示唆された。

本稿を終るにあたり、御指導を賜りました京都大学農学部畜産学科、入谷 明教授、ならびに丹羽皓二助教授に謝意を表します。

なお、本研究の要旨は第26回日本不妊学会(昭和56年11月京都)および、第11回世界不妊会議(ダブリン、1983年6月)において発表した。

本研究の一部は、文部省科学研究費補助金(課題番号: 58570684, 60570775) によるものである。

文 献

- 1) Pincus, G. and Saunders, B. : The comparative behavior of mammalian eggs *in vivo* and *in vitro*. IV, The maturation of human ovarian ova. Anat. Rec., 75 : 537, 1939.
- 2) Edwards, R. G., Bavister, B. D. and Steptoe, P. C. : Early stages of fertilization *in vitro* of human oocytes matured *in vitro*. Nature, Lond., 221 : 632, 1969.
- 3) Kennedy, J. F. and Donahue, R. P. : Maturation and fertilization of human oocytes *in vitro*. in Oogenesis, pp. 439-457, Baltimore, eds. J. D. Biggers and A. W. Schuetz. University Park Press.
- 3) Suzuki, S. and Iizuka, R. : Maturation of human ovarian follicular oocytes *in vitro*. Experientia, 26 : 640, 1970.
- 5) Niwa, K. and Chang, M. C. : Fertilization of rat eggs *in vitro* at various times after ovulation with special reference to fertilization of ovarian oocytes matured in culture. J. Reprod. Fertil., 43 : 435, 1975.
- 6) Toyoda, Y. and Chang, M. C. : Fertilization of rat eggs *in vitro* by epididymal spermatozoa and development of the eggs following transfer. J. Reprod. Fertil., 36 : 9, 1974.
- 7) Niwa, K., Imai, H., Kim, C. I. and Iritani, A. : Fertilization *in vitro* of hamster and mouse eggs in a chemically defined medium. J. Reprod. Fertil., 58 : 109, 1980.
- 8) Iritani, A. and Niwa, K. : Capacitation of bull spermatozoa and fertilization *in vitro* of cattle follicular oocytes matured in culture. J. Reprod. Fertil., 50 : 119, 1977.
- 9) Iritani, A., Niwa, K. and Imai, H. : Sperm penetration *in vitro* of pig follicular oocytes matured in culture. J. Reprod. Fertil., 54 : 379, 1978.
- 10) Bavister, B. D., Edwards, R. G. and Steptoe, P. C. : Identification of the midpiece and tail of spermatozoa during fertilization of human eggs *in vitro*. J. Reprod. Fertil., 20 :

- 159, 1969.
- 11) Kennedy, J. F. and Donahue, R. P. : Human oocytes maturation in a chemically defined medium. *Science*, N. Y., 164 : 1292, 1969.
 - 12) Iwamatsu, T. and Chang, M. C. : Sperm penetration *in vitro* of mouse oocytes at various times during maturation. *J. Reprod. Fertil.*, 31 : 237, 1972.
 - 13) Trounson, A. O., Mor, R. M., Wood, C. and Leeton, J. F. : Effect of delayed insemination *in vitro* fertilization, culture and transfer of human embryos. *J. Reprod. Fertil.*, 64 : 285, 1982.
 - 14) Soupart, P. : The need for capacitation of human sperm : Functional and ultrastructural observations. in *The Biology of Spermatozoa*, eds. E. S. E. Hafez and C. G. Thibault : p. 182 Karger, Basel, 1975.
 - 15) Thibault, C. G. : Final stages of mammalian oocyte maturation. in *Oogenesis*, eds. Biggers, J. D. and Schuetz, A. W. : p 397, Baltimore, University Park Press, 1972.
 - 16) Veeck, L. L., Wortham, J. W. E. Jr., Witmyer, J., Sandow, B. A., Acosta, A. A., Garcia, J. E., Jones, G. S. and Jones, H. W. Jr. : Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of *in vitro* fertilization. *Fertil. Steril.*, 39 : 594, 1983.
 - 17) Seitz, H. M. Jr., Rocha, G., Brackett, B. G. and Mastroianni, L. J. : Cleavage of human ova *in vitro*. *Fertil. Steril.*, 22 : 255, 1971.
 - 18) Lopata, A., McMaster, R., McBain, J. C. Johnston, W. I. H. : *In vitro* fertilization of preovulatory human eggs. *J. Reprod. Fertil.*, 52 : 339, 1978.
 - 19) Nishimoto, T., Yamada, I., Niwa, K., Mori, T., Nishimura, T. and Iritani, A. : Sperm penetration *in vitro* of human oocytes matured in a chemically defined medium. *J. Reprod. Fertil.*, 64 : 115, 1982.

A culture system for human oocyte maturation and sperm penetration *in vitro* using a chemically defined medium

Ichiro Yamada, Yoichi Noda and Takahide Mori

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

A culture system for human oocyte maturation and sperm penetration *in vitro* was established using a chemically defined medium. Human oocytes recovered from the ovaries excised from 40 patients with gynecologic malignancies at different stage of the menstrual cycle, were introduced into a 0.4 ml-spot of m-KRB solution covered with paraffin oil in a plastic dish and incubated for 40-47 h in a CO₂ incubator (5 % CO₂ in air at 37°C). Of 194 oocytes cultured, 100 showed an apparent degeneration at the end of the culture. Germinal vesicle breakdown (GVBD) had occurred in 34 (87.2 %) out of 39 oocytes examined for *in vitro* maturation. The residual 55 oocytes were subjected to insemination with the ejaculated spermatozoa which had been capacitated *in vitro*. Sperm penetration was observed in 22 oocytes (40 %) as judged by the presence of enlarged sperm head or male pronuclei and its corresponding sperm tails. On examination of the oocyte maturity, GVBD had occurred in 40 oocytes out of 55 cells inseminated and sperm penetration was observed in 22 oocytes giving a penetration rate of 55 %. It is concluded that a *in vitro* maturation system for human oocytes has been established using a chemically defined medium.

(受付 : 昭和61年1月24日)

BIRTH OF NORMAL YOUNG FOLLOWING INTRAFALLOPIAN TRANSFER OF PREOVULATORY OOCYTES AND EPIDIDYMAL SPERMATOZOA IN MICE

Naomi NAKAGATA* and Atsushi TANAKA**

* Department of Central Laboratory for Medical Sciences: Division of Pathology,
School of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan.

** Department of Obstetrics and Gynecology, Koshigaya City Hospital, Koshigaya
City, Saitama, Japan.

Abstract: Preovulatory oocytes were obtained from the ovaries of C 57 BL/6 J (black) female mice pretreated with 5 iu PMSG and 5 iu HCG at 9-11 hr after hCG injection and were inseminated with epididymal spermatozoa of IV CS mice (albino) capacitated by preincubation for 1 hr. The oocytes used for the insemination were in various of meiotic division including telophase I, chromatin mass stage, prometaphase II and metaphase II. Between 10 and 30 minutes after insemination, the oocytes and spermatozoa were transferred into the Fallopian tubes of the IV CS mice with pseudopregnancies of day 1, as determined by confirmation of the presence of the vaginal plug after mating with a vasectomized male. A total of 142 oocytes with spermatozoa were transferred to the Fallopian tubes of 14 recipients, and 23 young with black or agouti hair (♂ : ♀ = 12 : 11) and 41 with white hair (♂ : ♀ = 19 : 22) were born from 10 of the 14 recipients. No externally visible abnormality was found in these young. Two months after birth, they were subjected to brother X sister mating, and it was confirmed that they produced normal young. These observations indicate that fertilization occurred not only in the transferred oocytes but also in those of the recipient animals, resulting in the birth of healthy young.

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 404-408, 1986)

Introduction

Though in vitro fertilization and embryo transfer (IVF & ET) is a well established technique for treating human infertility¹⁻³⁾, the technique requires complicated and time consuming in vitro processes before the transfer of embryos into the uterus. Transfer of preovulatory oocytes and spermatozoa into the Fallopian tube seems to be a much simpler and less time consuming technique than that of IVF & ET, and this can be used to treat infertility due to such conditions as failure to ovulate, disturbance of the picking up of oocytes by tubal fimbria, and oligospermia. The present paper concerns gamete intrafallopian tube transfer (GIFT) performed in mice.

Materials and methods

Spermatozoa were obtained from the cauda epididymidis of 3 to 4 month old IV CS male mice and were suspended in a culture dish (35 × 10 mm, Falcon) containing 0.4 ml of TYH medium⁴⁾ covered with paraffin oil (Art 7160, Merck), followed by preincubation for 1 hr at 37 °C under 5 % CO₂ in air. After the preincubation, sperm concentration was adjusted to 2000 cells/μl of the TYH medium. Preovulatory oocytes were obtained from 3 to 4 month old C 57 BL/6 J virgin female mice which had been subjected to intraperitoneal injection of 5 iu PMSG and 5 iu HCG, respectively 59 to 57 hrs and 11 to 9 hrs before removal of the ovaries. The ovaries were placed in the TYH medium (Fig. 1) and

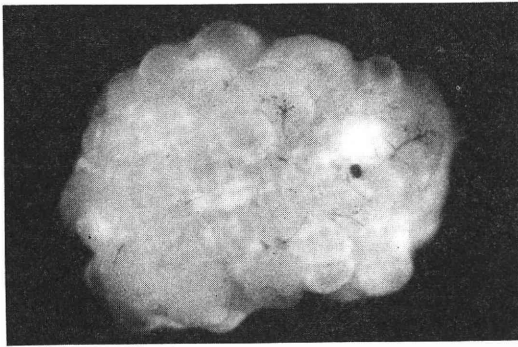


Fig. 1 Graafian follicles in the ovary of C57BL/6J mouse, removed 10 hr after intraperitoneal injection of 5 iu of hCG

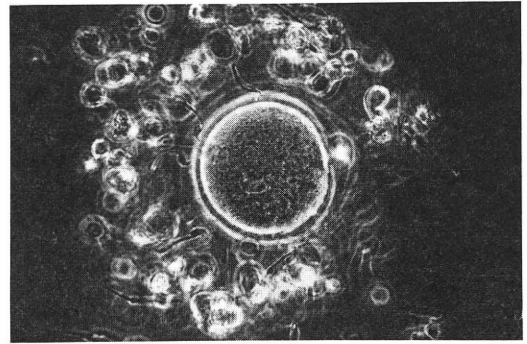


Fig. 3 Phase-contrast microphotograph of the preovulatory oocytes, 10 minutes after insemination. Note spermatozoa attaching to the cumulus cells and the zona pellucida of the oocyte

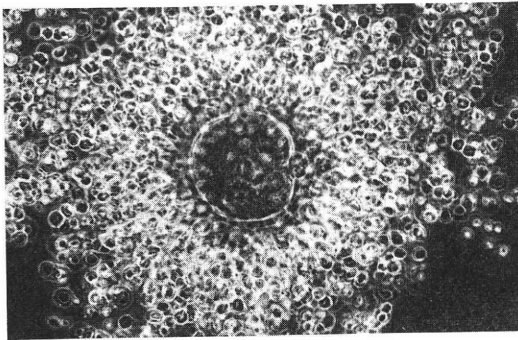


Fig. 2 Phase-contrast microphotograph of the preovulatory oocyte surrounded by cumulus cells, isolated 10 hr after hCG injection

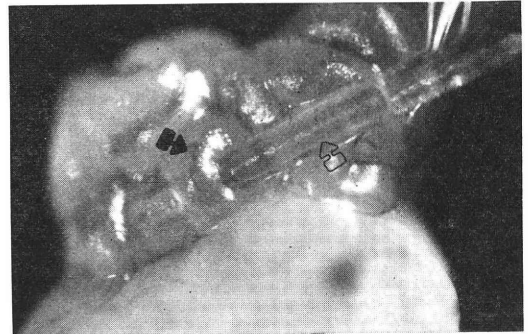


Fig. 4 Photographic view of the gamete intrafallopian tube transfer. A glass capillary with the gametes (open arrow) is being inserted into the tubal fimbria (black arrow)

oocytes surrounded by expanded cumulus mass were dissected from the Graafian follicles of the ovaries using a sharp pointed needle (Fig. 2). The oocytes were then transferred into the TYH medium containing 0.1 % of hyaluronidase. When a large portion of the cumulus cells had been detached from the oocytes, they were washed twice in appropriate amounts of TYH medium. Approximately 10 oocytes were introduced into the preincubated sperm suspension. The oocytes and spermatozoa were transferred within 10-30 min of incubation.

Mature female IV CS mice 3 to 4 months of age were used as the recipients. They had been subjected to intraperitoneal injection of 2.5 iu PMSG and 5 iu HCG, at 53 to 51 hrs and 15 to 13 hrs respectively before the gamete transfer experiment and were mated

with sterility-proven vasectomized males soon after the HCG injection. The vaginal plug was observed after mating, and the animal was considered to be in a pseudopregnancy of day 1. The gamete transfer method was essentially the same as that described by Noyes and Dickmann⁵⁾. Four to 6 oocytes in a small volume of TYH medium containing 200 to 400 spermatozoa were transferred into the fimbriated ends of the oviducts of the recipients with day 1 pseudopregnancy (Fig. 3 and 4). The oocytes not used in the transfer experiment were made completely by pipetting them in a 0.1 % hyaluronidase solution, and they were fixed in 2.5 % glutaraldehyde and 10 % neutral formalin. They were stained with acetic lacmoid for determination of the stages of maturation divi-

Table 1 Development to live young after transfer of preovulatory oocytes and epididymal spermatozoa into Fallopian tubes of pseudopregnant mice

No. of recipients used ^{a)}	No. of oocytes transferred ^{b)}	No. of pregnant animals ^{c)} (c/a, %)	No. of animals which delivered live young ^{d)} (d/a, %)	No. of live young					
				black or agouti hair			albino hair		
				♂	♀	Total ^{e)} (e/b, %)	♂	♀	Total
14	142	12 (85.7)	10 (71.4)	12	11	23 (16.2)	19	22	41



Fig. 5 Twenty-one-day-old young with their mother

sion⁶⁾.

Results

Out of 14 recipients, 12 were found to be pregnant. Ten out of the 12 pregnant mice delivered 23 young with black or agouti hair (♂ : ♀ = 12 : 11) and 41 with white hair (♂ : ♀ = 19 : 22) (Table 1 and Fig. 5).

They were found to have no externally visible malformation. All survived the observation period of 6 months. By the age of 2 months, brother X sister matings among the same colored animals were performed, and 70 young (32 males and 38 females) were

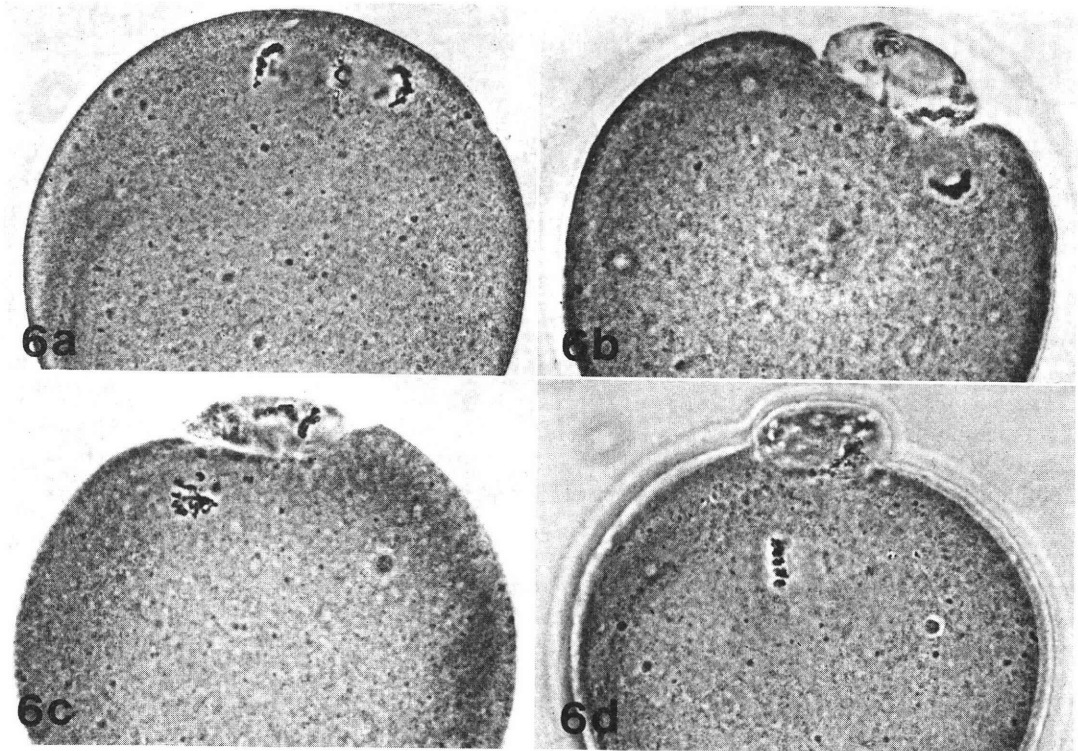


Fig. 6 Whole-mount preparations of preovulatory oocytes used for the insemination. Note the chromosomes at various meiotic stages

- 6 a. Telophase I 6 b. Chromatin mass stage
6 c. Prometaphase II 6 d. Metaphase II

Table 2 Stages of maturation division of preovulatory oocytes at the time of insemination^{a)}

	Stages of maturation division ^{b)}				
	Telo I	C. M.	Promet II	Met II	Total
No. of oocytes (%)	17(14.9)	38(33.3)	40(35.1)	19(16.7)	114

a) Injection procedure : 5 iu PMSG followed 48 hr later by 5 iu HCG. Preovulatory oocytes were recovered 9-11hr after HCG injection.

b) Telo I : Telophase I, C.M.: Chromatin mass, Promet II : Prometaphase II, Met II : Metaphase II.

obtained from the 8 females with either black or agouti hair and 63 young (32 males and 31 females) were obtained from 7 females with white hair. The average litter size was 8.8 ± 0.7 (M \pm S. D.) and 9.0 ± 1.4 (M \pm S. D.), respectively.

Stages of maturation division of preovulatory oocytes at the time of insemination were telophase I, 14.9 % (Fig. 6 a), chromatin mass stage, 33.3 % (Fig. 6 b), prometaphase II, 35.1 % (Fig. 6 c), and metaphase II, 16.7 % (Fig. 6 d) of meiotic division (Table 2).

Discussion

The present study demonstrates that intra-fallopian tube transfer of preovulatory oocytes with spermatozoa can give rise to normal pregnancy producing healthy young in mice. The young with either black or agouti hair were considered to be the product of GIFT. The young with white hair are considered to be a product of the fertilization of the oocytes of the recipient animals by the transferred spermatozoa. In the present experiment, the incidence of young originating from gamete transfer was only 16.2 %. Such a low incidence may be due to either technical difficulties in introducing the gametes into the Fallopian tubes of the recipients or immaturity of the oocytes, as found in the examination of the stages of maturation division (Table 2). Causes of the low incidence is producing young after GIFT in our experiment are under investigation in our laboratory, and this will be reported elsewhere. Very recently Asch et al⁷⁻⁹⁾ have reported the success of GIFT in the treatment of human infertility due to conditions such as unexplained infertility. These reports may suggest that GIFT is an excellent alternative to IVF & ET technique.

However, investigations in experimental animals to confirm the safety and efficacy of GIFT in treatment of human infertility seem to be indispensable. Although the experimental study presented here is preliminary, our results suggest that GIFT may be a plausible technique for treating human infertility with specific conditions.

Acknowledgements

We wish to thank Prof. Y. Toyoda (Kitasato University, Aomori, Japan) and Dr. Y. Minato (Livestock Improvement Association of Japan, Inc., Gunma, Japan) for their helpful advice, Mrs. Y. Murata, Mr. A. Furuhashi, and Mr. S. Nakamura for their technical assistance, Mr. J. Ono, Mr. K. Shimizu, Mr. M. Oono for the preparation of photographs used in this manuscript.

References

- 1) Edwards, R. G. and Purdy, J. M.: Human conception in vitro. London, Academic Press, 1982.
- 2) Beier, H. M. and Lindner, H. R.: Fertilization of the human egg in vitro. Berlin, Springer-Verlag, 1983.
- 3) Suzuki, M.: In vitro fertilization and embryo transfer. Kanehara press, 1985.
- 4) Toyoda, Y., Yokoyama, and Hosi, T.: Studies on the fertilization of mouse eggs in vitro. I. In vitro fertilization of eggs by fresh epididymal sperm. Jap. J. Anim. Reprod., 16 : 147, 1971.
- 5) Noyes, R. W. and Dickmann, Z.: Survival of ova transferred into the oviduct of the rat. Fertil. Steril., 12 : 67, 1961.
- 6) Donahue, R. P.: Maturation of the mouse oocyte in vitro. I. Sequence and timing of nuclear progression. J. Exp. Zool., 169 : 237, 1968.
- 7) Asch, R. H., Ellsworth, L. R., Balmaceda, J. P. and Wong, P. C.: Pregnancy after

translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. *Lancet*, 2: 1034, 1984.

- 8) Asch, R. H., Ellsworth, L. R., Balmaceda, J. P. and Wong, P. C.: Birth following gamete intrafallopian transfer. *Lancet*, 2: 163, 1985.
- 9) Asch, R. H., Balmaceda, J. P., Ellsworth, L. R. and Wong, P. C.: Gamete intra-fallopian transfer (GIFT): a new treatment for infertility. *Int. J. Fertil.*, 30: 41, 1985.

マウス配偶子の卵管内移植による受胎成績について

* 順天堂大学医学部共同病理研究室

** 越谷市立病院産婦人科

中潟直己*, 田中 温**

PMSG と HCG を投与して過排卵を誘起した C57 BL/6J 系成熟雌の卵胞より, HCG 注射後 9~11 時間に採取した卵胞卵と IV CS 系成熟雄の精巢上体尾部より採取し, 約 1 時間前培養した精子を授精後 10~30 分に偽妊娠第 1 日目 (陰栓確認日) の受容雌 (IV CS 系成熟雌) の卵管内へ移植した。精子浮遊液とともに計 142 個の卵胞卵を 14 匹の受容雌へ移植した結果, 10 匹の雌から, 黒色あるいは野生色の毛色を有する新生子 (雄 12, 雌 11), 計 23 匹と白色の毛色を有する受容雌卵子由来の新生子, 41 匹 (雄 19, 雌 22) が得られた。これらの産子は性成熟後の兄妹交配により正常な繁殖能力を有することが知られた。授精時における卵胞卵の成熟分裂の段階は, Telophase I (14.9%), Chromatin mass stage (33.3%), Prometaphase II (35.1%) および Metaphase II (16.7%) であった。

(受付: 昭和 60 年 12 月 24 日)

超音波ガイド下経膀胱的卵胞穿刺法による 卵採取に関する検討

Evaluation of Ultrasonically Guided Transvesical Follicular Aspiration for
Oocyte Collection of *In Vitro* Fertilization and Embryo Transfer

鳥取大学医学部産科婦人科

見尾保幸 谷川正浩 寺戸博文
Yasuyuki MIO Masahiro TANIKAWA Hirofumi TERADO
戸田稔子 赤岩明 和田省
Toshiko TODA Akira AKAIWA Tasuku WADA
菊川章仁 前田一雄
Akihito KIKUGAWA Kazuo MAEDA

Department of obstetrics and Gynecology, Tottori University School
of Medicine, Yonago, Japan

われわれは、腹腔鏡下採卵に比較して極めて簡便な超音波ガイド下経膀胱的卵胞穿刺法による採卵を試み、その有用性と安全性について検討した。対象は、通常の治療法で妊娠困難と考えられた12症例、17周期、29卵胞であり、卵胞穿刺法は局所浸潤麻酔のみで行った。

卵胞穿刺は全ての卵胞に可能で100%の成功率であり、採卵率は、83.3%/patient, 70.6%/cycle, 62.1%/follicleであった。

穿刺卵胞の最大径と卵胞液量は良く相関したが、採卵成功率と不成功例の間には一定の傾向はなく、卵胞液中ホルモン値でも採卵成功例と不成功例の間に有意差は認められなかった。採卵成功例の最大卵胞径の平均値は、不成功例よりも低値を示した。

術後合併症はほとんどなく、臨床的に問題となる症例は認められなかった。

今回の検討結果から、本法による採卵は、体外受精・胚移植のための有効かつ安全な採卵法であると考えられた。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 409-414, 1986)

緒言

わが国における体外受精・胚移植 (*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET) は、特別な事情のない限り腹腔鏡下での採卵によって行なわれているのが現状であるが、その侵襲は決して少ないとはいえない。さらに入院、麻酔の必要なことや、頻回反復施行の困難などを考慮して、われわれは侵襲がより少なく、簡便で入院の必要性がなく、局所浸潤麻酔下で施行可能な、超音波ガイド下経膀胱的卵胞穿刺法による卵採取を試みた。

本法は、Lenz^{1,3,5)}やWikland^{2,4)}によつてその有効性・安全性などの検討結果が報告されているが、わが国ではあまり多用されていない。そこでわれわれは、超音波断層法による卵胞発育モニタリングで卵胞が観察可能な、IVF-ETを目的とする症例に対し、全例に本法による採卵を行ない、その有用性や安全性などについて検討した。

研究対象

1985年6月から12月までの期間に、鳥取大学医学部附

表 1 超音波ガイド下卵胞穿刺法の前処置

1. 卵巣刺激法
a) Clomiphene 単独：月経周期 5 日間より 5 日間 (100~150mg/day)
b) MHG 単独：月経周期 5~7 日目より至適卵胞確認まで (75~255iu/day, 連日または隔日投与)
c) Clomiphene+Prednisolone 併用
d) Clomiphene+Prednisolone 併用
e) Clomiphene+Bromocriptine 併用
2. 卵胞発育モニタリング
a) 超音波卵胞計測
b) 血中エストラジオール定量
c) 尿中エストロゲン定量 (Hi-estrotec®)
d) 尿中 LH 定量 (Hi-gonavis®)
3. 採卵時期の決定 (卵胞最大径 18mm 以上)
a) 尿中 LH 50iu/L (+)→24~28時間後
b) 尿中 LH 50iu/L (-)→HCG 投与後 30~36時間
4. 前投薬
atropine sulfate 0.5mg 筋注
必要に応じて diazepam 15mg 筋注
5. 膀胱充滿
不十分なら脱気蒸留水注入
6. 麻酔法
局所浸潤麻酔

属病院産科婦人科ホルモン外来に通院した患者のうち、通常の治療法では妊娠困難と判断され、IVF-ET の適応となった12症例、17周期を対象とした。

研究方法

採卵施行予定の月経周期では、月経開始 5 日目より clomiphene 100~150mg/day 5 日間投与、または 5~7 日目より HMG150~225iu/day を至適卵胞確認 (最大卵胞径18mm 以上) まで連日または隔日投与することを原則とし、各症例の状態に応じて種々の combination therapy を用いて卵巣刺激を行なった。

卵胞発育モニタリングには、超音波断層法による卵胞計測、血中エストラジオール定量、尿中エストロゲン、LH 定量などを用い、月経周期10日目以降は連日モニタリングを施行、主席卵胞18mm 以上で尿中 LH 定量にて50iu/L (-) の場合、HCG 5000iu を投与し、その30~36時間後、50iu/L (+) ならその24~28時間後に採卵した。超音波ガイド下経膀胱的卵胞穿刺法に際しては、前投薬として、atropin sulfate 0.5mg を投与し、患者の不安・緊張が強ければ、必要に応じて diazepam 10mg を追加投与した。患者には膀胱を充滿させ、不充

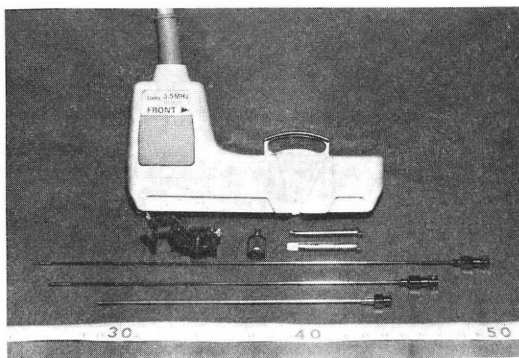


図 1 超音波穿刺用探触子と付属部品および各種穿刺針

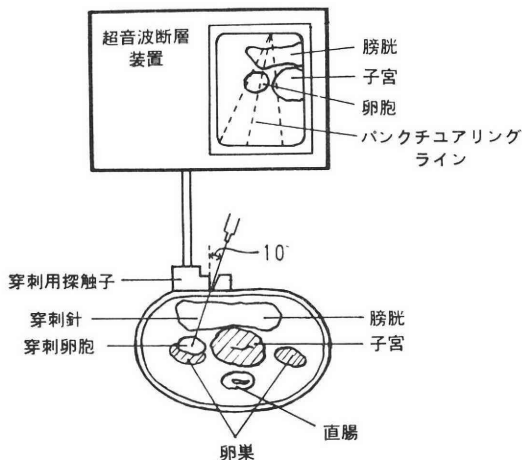


図 2 経膀胱的卵胞穿刺法の模式図

分な時は、カテーテルで脱気蒸留水を適量注入した。体位は仰臥位、軽度骨盤高位とし、麻酔は局所浸潤麻酔のみで行ない、術後約 1 時間のベット上安静をとらせ、超音波断層法で骨盤腔内に異常所見がないことを確認したのち帰宅させ、翌日必ず再検することとした (表 1)。

使用機器は、アロカ SSD-258、穿刺用探触子 UST-5018, P-3.5、超音波周波数 3.5MHz で、穿刺針は、内径 1.25mm、13cm 長のエラストカ針内套および内径 1.25mm、18cm 長のシリコンコーティングステンレス製の専用針を使用した (図 1)。

本法の実施にあたっては、モニターに穿刺角度 10° に設定した puncturing line を表示したのち、穿刺用探触子を下腹部に置いて至適画像を表示し、卵胞を puncturing line に合わせ、探触子を固定して卵胞穿刺を施行した (図 2)。採取した卵胞液中に卵が確認できなければ、患者非働化血清 7.5% 添加 medium (Ham F-10) で数回 flushing を行なった。

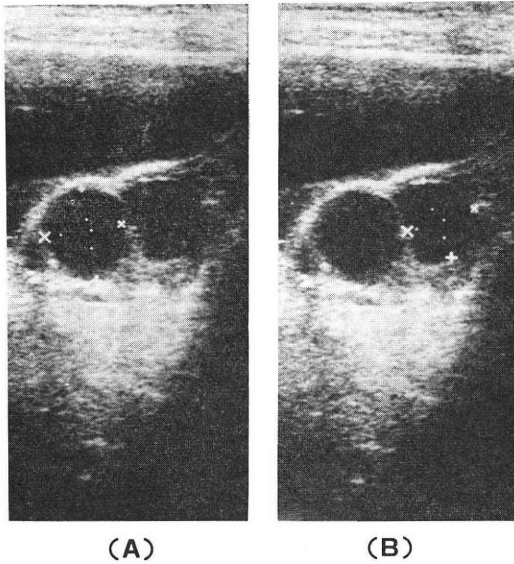


図 3 超音波断層法によって検出した成熟卵胞の 1 例
 dominant follicle (A) : 26×21mm
 second follicle (B) : 25×20mm

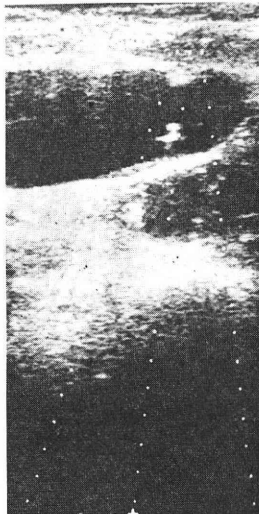


図 4 膀胱内を通過する穿刺針先端の超音波断層法所見

実際に、卵巣内の dominant follicle や second follicle は、膀胱直下に明瞭に確認でき (図 3), また穿刺針先端が puncturing line に沿って膀胱内に入ることがみられ (図 4), さらに卵胞内に穿刺針先端が入って卵胞液吸引後に卵胞が虚脱化していることが確認できた (図 5). 図示の症例で採取された卵は, cumulus cell の expansion, corona radiata, first polar body 放出などの

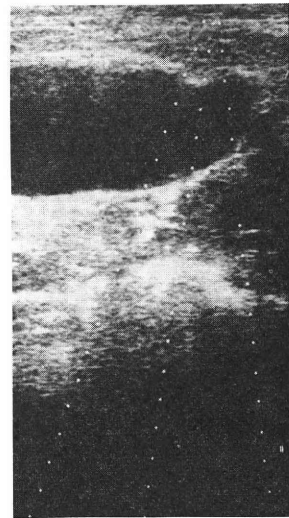


図 5 卵胞内に進入した穿刺針と卵胞の虚脱化

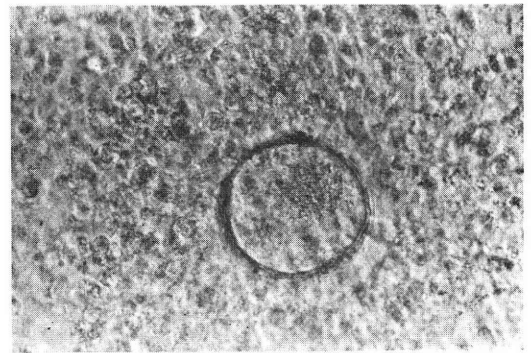


図 6 本症例の dominant follicle から得られた成熟卵 (×200)

所見によって成熟卵と判定できた (図 6).

採取された卵は、成熟度に応じて 6~24 時間の前培養後、われわれの操作手順に従って IVF-ET を行なった (表 2). また同時に得られた卵胞液は、性状、液量を確認したのち、1000rpm, 10 分間遠沈し上清液を RIA (2 抗体法) による各種ホルモン測定に供した.

成 績

われわれが IVF-ET の対象とした症例の内訳は、両側卵管閉鎖のため plastic surgery を施行したが疎通性の得られなかった 1 症例、子宮内膜症にて開腹術施行し、骨盤内の癒着著明で通常の治療法にて妊娠成立困難と考えられた 2 症例、5 年以上の長期不妊で、しかも、不妊原因の明らかでない、いわゆる機能性不妊が 4 症例、さらに乏精子症で 10 回以上の AIH により妊娠成立

表 2 われわれの作製した IVF-ET プログラム

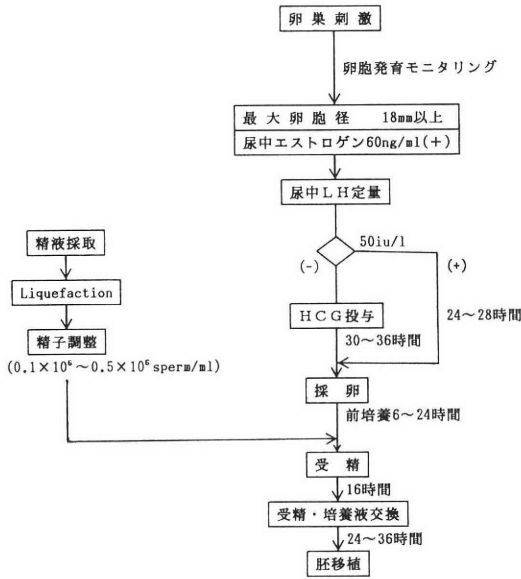


表 3 対象症例の詳細

症例	年齢(歳)	不妊期間(年)	不妊原因
1	30	6	卵管閉鎖
2	30	8	子宮内膜症
3	35	12	子宮内膜症
4	33	7	機能性不妊
5	33	9	機能性不妊
6	30	8	機能性不妊
7	28	5	機能性不妊
8	29	8	乏精子症
9	30	7	乏精子症
10	29	5	乏精子症
11	35	11	乏精子症
12	30	5	乏精子症
平均	31.0±2.4	7.6±2.3	

を認めない5症例の合計12症例で、平均年齢は31.0歳、平均不妊期間は7.6年であった(表3)。

本法による卵胞穿刺成功率は、症例数、周期数、卵胞数に対しいずれも100%で、採卵率は、12症例中10症例(83.3%)、17周期中12周期(70.6%)、29卵胞中18卵胞(62.1%)であった。また、second polar body 放出、2個以上の pronucleus 形成、または2cell 以上への分割などから判定した受精率は、10症例中6症例(60.0%)、12周期中8周期(66.7%)、18卵胞中9卵胞(50.0%)であった(表4)。

表 4 本法における各種の成績

	卵胞穿刺成功率	採卵率	受精率
症例	100% (12/12)	83.3% (10/12)	60.0% (6/10)
周期	100% (17/17)	70.6% (12/17)	66.7% (8/12)
卵胞	100% (29/29)	62.1% (18/29)	50.0% (9/18)

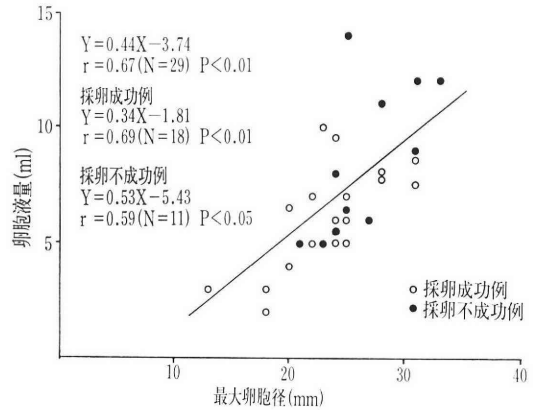


図 7 本法施行例の最大卵胞径と卵胞液量の関係

卵胞穿刺を行なった最大卵胞径と実際に採取された卵胞液量の間には、 $y=0.44x-3.74$ ($r=0.67$, $P<0.01$) と有意の相関関係を認め、採卵成功例、不成功例においても、それぞれ $y=0.34x-1.81$ ($r=0.69$, $P<0.01$)、 $y=0.53x-5.43$ ($r=0.59$, $P<0.05$) と相関関係がみられたが、採卵成功例と不成功例の間には一定の傾向は認められなかった(図7)。

次に採卵成功例と不成功例とにおける穿刺卵胞の最大径、液量および卵胞液中の各種ホルモン値を比較してみると、最大卵胞径は採卵成功例で平均23.4mm、不成功例で26.5mmであり、卵胞液量でも採卵成功例で6.2ml、不成功例で8.6mlと、いずれも採卵不成功例で高値を示した。卵胞液中ホルモン値では、LHは採卵成功例で平均50.6mIU/ml、不成功例で66.6mIU/mlと採卵不成功例で高値を示したが、FSH、エストラジオール、プロゲステロン、プロラクチンおよびテストステロンのいずれも採卵成功例で高値を示したものの、いずれのホルモン値も採卵成功例と不成功例の間に有意差は認められなかった。またLH、FSH、プロラクチン、テストステロンの卵胞液中濃度と末梢血中濃度とに大きな差異は認められなかったが、エストラジオールとプロゲステロンは末梢血中濃度に比較して極めて高値を示した(表5)。

本法による術後合併症としては1症例の1周期に一過性血尿を認めたのみで、その他に特記すべき異常は認められなかった。

表 5 採卵成功例と不成功例における穿刺卵胞の最大径、液量及びホルモン濃度の比較

	採卵成功例	採卵不成功例
最大卵胞径(mm)	23.4±4.6	26.5±3.8
卵胞液量(ml)	6.2±2.7	8.6±3.4
LH(mIU/ml)	50.6±20.6	66.6±44.7
FSH(mIU/ml)	9.4±4.2	7.1±2.7
E ₂ (ng/ml)	1618.3±533.9	1350.3±537.4
Prog.(μ g/ml)	13.0±5.9	9.7±2.7
PRL(ng/ml)	17.0±9.3	16.4±8.9
Test.(ng/ml)	11.8±3.1	10.4±10.9

(mean±SD)

考 察

IVF-ET は、卵管閉鎖、長期間原因不明不妊(いわゆる機能性不妊)、重症子宮内膜症、あるいは AIH 無効な乏精子症などの不妊症患者にとって、有効な治療法であるが、その成功率は決して満足できるものといえず、したがって採卵の反復施行が必要な場合が少なくない。そこでわれわれは採卵法として腹腔鏡よりも極めて簡便な超音波ガイド下経膀胱的卵胞穿刺法を応用することを試みた。

われわれの今回の成績からみると、卵胞穿刺成功率に関しては、施行した全ての卵胞で可能であり、採卵率は 83.3%/patient, 70.6%/cycle, 62.1%/follicle であった。

Lenz⁵⁾の最近の報告では、採卵率は80%/cycle, 64%/follicle であり、Wikland ら⁴⁾は77%/follicle と報告しているが、これらの報告には卵胞穿刺成功率が触れられておらず、単純に比較することはできないが、採卵率に関してはわれわれの成績は遜色ない結果と考えられる。諸家の報告による腹腔鏡下採卵率と比較すると本法による採卵率は低い傾向にあるが⁶⁻¹⁰⁾、卵胞穿刺成功率は高く、今後さらに採卵時期の選択、採卵針の改良、採卵時吸引圧の調整などの検討と、手技的な熟練により、飛躍的な採卵率向上が期待できるものと考えている。

卵胞穿刺を行なった卵胞の超音波断層法による最大卵胞径と採取された卵胞液量の間には正の強い相関が得られ、また採卵成功例と不成功例の各群でも相関関係が認められた。このことは、卵胞穿刺法によって卵胞液は確実に採取されているものと考えられ、星合ら¹⁰⁾による腹腔鏡下採卵における成績と同様の傾向を示した。しかし、われわれが期待した採卵成功例と不成功例の間の差異には一定の傾向が認められず、retrospective な見地からは採卵可能な卵胞の条件を定めることはできなかった。

さらに採卵成功例と不成功例における最大卵胞径、卵胞液量および卵胞液中各種ホルモン値の比較で、最大卵胞径および卵胞液量ともに採卵不成功例でそれぞれ平均 26.5mm, 8.6ml と成功例の23.4mm, 6.2ml よりも高値であり、また卵胞液中ホルモン値では、LH, FSH, プロラクチン、テストステロンに一定の傾向はなく、末梢血中濃度と大差ない値を示したが、エストラジオール、プロゲステロンは採卵成功例と不成功例の間には有意差はないものの、末梢血中濃度と比較して極めて高値であり、これらの穿刺卵胞は卵胞期後期の成熟卵胞であることが示唆された。これらの成績は、鈴木¹¹⁾によって示された基礎的卵胞発育メカニズムの検討結果によく一致していた。

また本法を施行する際の最も基礎的な留意点として、術中術後の疼痛と術後合併症の問題がある。われわれは麻酔法として前投薬と局所浸潤麻酔のみを行ない、それだけで十分に目的を達しているが患者の疼痛に対する感受性には個人差があり、疼痛時の不随意的体動の可能性もありうることから、今後は NLA (neurolepto analgesia) 法などの併用も考慮中である。また術後合併症として特に問題となるものは1例もなく、安全性は極めて高いと考えられる。

以上の検討結果から、今後の改良工夫すべき点はあるものの、基本的には侵襲の極めて少ない有効な採卵法であり、今後大いに普及することが期待される。

(本研究の一部は、第23回日本不妊学会中国・四国支部総会、第38回日本産科婦人科学会中国四国合同地方部会および第30回日本不妊学会学術総会で発表した。)

文 献

- 1) Lenz, S., Lauritsen, J. G. and Kjellow, M. : Collection of human oocytes for in vitro fertilization by ultrasonically guided follicular puncture. *Lancet*, 1 : 1163, 1981.
- 2) Wikland, M., Nilsson, L. and Hamberger, L. : The use of ultrasound in a human in vitro fertilization program. *Ultrasound Med. Biol.* (Suppl 1), 8 : 208, 1982.
- 3) Lenz, S. and Lauritsen, J. G. : Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia : a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 38 : 673, 1982.
- 4) Wikland, M., Nilsson, L., Hansson, R., Hamberger, L. and Jonson, P. O. : Collection of human oocytes by the use of sonography. *Fertil. Steril.*, 39 : 603, 1983.
- 5) Lenz, S. : Ultrasonically guided aspiration of human oocytes. *Ultrasound in Med. Biol.*,

- 10 : 625, 1984.
- 6) Steptoe, P. C. and Webstar, J. : Human Conception In Vitro, 97, 1982.
- 7) Renou, P., Trounson, A. O., Wood, C. and Leeton, J. F. : The collection of human oocytes for in vitro fertilization. An instrument for maximizing oocyte recovery rate. Fertil. Steril., 35 : 409, 1981.
- 8) Mettler, L., Semm, K., Riedel, H. H., Baukloh, V. and Paul, S. : Fertilization of the human egg in vitro. Springer-Verlag, Berlin, 99, 1983.
- 9) 吉村慎一 : 卵採取とその取り扱い, 産婦人科の世界, 36 : 365, 1984.
- 10) 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, 産婦人科の世界, 32 : 375, 1984.
- 11) 鈴木秋悦 : ヒトの受精のタイミング, 講談社, 東京, 34, 1982.

Evaluation of ultrasonically guided transvesical follicular aspiration for oocyte collection of *in vitro* fertilization and embryo transfer

Yasuyuki Mio, Masahiro Tanikawa,

Hirofumi Terado, Toshiko Toda,

Akira Akaiwa, Tasuku Wada,

Akihito Kikugawa and Kazuo Maeda

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tottori University School of Medicine,
Yonago, Japan

Ultrasonically guided transvesical follicular aspiration was tried to evaluate the safety and usefulness for the oocyte collection of *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET).

Twelve patients attending in our IVF-ET program due to tubal occlusion, severe endometriosis, unexplained infertility and oligospermia were involved in this study.

Follicular aspirations were able to be performed in all follicles which were aspirated under the local anesthesia. Twenty-nine follicles were aspirated and eighteen oocytes were recovered corresponding to a success rate of 62.1 % per follicle. The overall oocyte collection rate was 70.6 % (12/17) per cycle and 83.3 % (10/12) per patient.

All punctured follicles were recognized to be mature follicles from the results of hormone assay of follicular fluids.

Mean diameter of follicles with oocyte was smaller than that of follicles without oocyte.

In this study, no clinical complication was observed after the ultrasonically guided transvesical oocyte aspiration.

This technique is feasible and reliable method for oocyte collection of IVF-ET.

(受付 : 昭和61年2月7日特掲)

Chlamydia trachomatis による実験的卵管炎の検討

Experimental Salpingitis in Rabbits Provoked by Chlamydia Trachomatis

愛知医科大学産婦人科学教室

野口昌良 稗田茂雄 秋田敏行
Masayoshi NOGUCHI Shigeo HIEDA Toshiyuki AKITA
山崎健 石原実
Takeshi YAMAZAKI Minoru ISHIHARA

Department of Obstetrics and Gynecology, Aichi Medical University

12羽の家兎による24卵管について Chlamydia trachomatis 10^4 /ml 接種後の変化について腹腔内所見と併せて観察した。

接種1週後ですでに多量の腹水が発生し、卵管及び子宮膀胱表面は強く発赤腫脹を示した。この状況は4~6週後にもみられるが、腹水は4週後には消失する。卵管上皮の走査型電子顕微鏡所見に異常が出るのは4週後頃からであり、特に線毛細胞の変化が表われる。

以上の所見がみとめられるものの、24卵管中23卵管には6週後まででは疎通性は存在した。また、6週後の腹腔内採取検体から Chlamydiazyme による抗原性が証明され Chlamydia trachomatis 感染が確認されている。

ここ数年、淋菌、結核菌よりも多くの頻度で卵管炎を起こすものとして注目されている Chlamydia trachomatis による実験的卵管炎の成立を意図し、若干の知見を得たので報告する。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 415-420, 1986)

はじめに

卵管の通過障害が原因する不妊症は、不妊患者の40%以上を占めるといわれて来た。排卵障害が HMG-HCG 療法などで大むね解決したかにみえる現在では、不妊症の治療は男性側の原因を除けば、やはりこの卵管の閉塞症に対する対応が最も多くの割合を占めるところであり、卵管のマイクロサージェリーに続いて、体外受精 (IVF-ET) へと研究面での展開がはかられて、充分評価出来る実績が積み重ねられて来た。

しかしながら、これらの解決の手段が進歩したとはいえ、マイクロサージェリーによる疎通性の回復がはかられていても、妊孕性はそれほど高くはなるものでもなく、術後の妊娠率は、50%を越えることさえ困難な状況である。まして体外受精となると、技術的に可能な施設は少なく、その上今後実施し得る機関も急には増えると

は思えない。従つて、卵管疎通障害を来し、治療にもつて行くまえに卵管閉塞症の成因をつきとめ、この病態生理を適確に把握することにより、少しでも通過障害を未然に防ぐことが出来れば、不妊に悩む患者も、今少し減らすことが出来るものと思われる。

卵管閉塞症の原因は、1960年代までは性器結核と淋菌感染が主体であり、重篤な大腸菌感染も原因となり得た。1970年代に入り、子宮内膜症による卵管障害も数を増しては来た。ところが1980年代には全くこれまで考えられていなかった Chlamydia trachomatis の感染が注目されはじめた¹⁻³⁾。これは、この細菌と似た生物の感染が検出可能となつたのも近年のことではあるが、細菌に対して選択される抗生物質が、セフェム系抗生剤の登場により Chlamydia trachomatis に感受性のあるテトラサイクリン系や、マクロライド系の抗生剤の使用が減少したことにもその遠因はあると云われている。男子尿道炎の

うち非淋菌性のもは50%以上がこの *Chlamydia trachomatis* によることが判明したのもまだ最近のことである。この結果パートナーである女性への感染も当然のこととして存在し、症状の少い頸管炎を経て卵管炎を生じ、ゆくゆくは卵管閉塞症を起すのではないかということが考えられて来た。

著者らは、卵管閉塞の成因と卵管留水腫の形成をその細菌感染モデルなどにより検討を続けて来たところから、今回は、これら *Chlamydia* 感染の流行に着目し、果たして *Chlamydia* が原因となり卵管に何らかの障害が起り得るのかを検討し、興味ある知見を得たので報告する。

実験方法

成熟日本白色家兎の未妊妊雌で体重3 kg 前後のものを用い、セレクトアル及びケタラル麻酔下で開腹し、1 ml 中 10^4 個の *Chlamydia trachomatis* を含むように調製した菌液を26 G の針のついた1 ml の注射器で、図1のように卵管采側から手術用顕微鏡下で子宮の方向へ向けて注入し、注入後は卵管采部を圧迫し菌液の逆流を防ぎ約10分後に3-0ナイロン糸で腹壁を二層に縫合して閉腹した。

使用した *Chlamydia trachomatis* は、表1に示すような2種類で岐阜大学泌尿器科学教室より分与されたものを用いた。

実験成績

Chlamydia trachomatis 含有液を卵管采側から注入した、12羽の家兎はすべて生存しており、やや食欲の減退を示したものが3羽あつたのみで、全身状態に著変は認められなかった。

12羽の開腹所見は表2のように第1週後、第2週後で、全例に多量の腹水がみとめられ、それとともに、腹壁と腸管との癒着の他ほぼ全例に子宮と膀胱との癒着が存在し、この癒着程度は4週から6週後になるにつれて次第に強固なものとなつていた。また、*Chlamydia trachomatis* 含有液を接種された卵管には1週後、2週後の開腹所見で全例強い発赤がみられ、同時に卵管それ自体の浮腫も著明であつた。しかし、4週後ないし6週後にはこれらの浮腫も発赤も消失していた。

卵管の疎通性の障害は、4週後及び6週後の同一家兎に片側の卵管においてみられたのみで、その他どの時期においても全くみられず、疎通性は保たれていた。この点に関しては、現在なおそのまま生存させて、長期間経過後の卵管疎通性の検討を続けている。また、卵管留水腫は、1例片側の閉塞例にも形成されておらず、6週

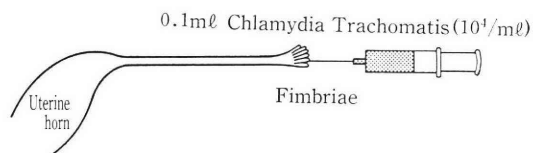


図1 卵管采側より菌液を卵管内へ注入

表1 *Chlamydia Trachomatis* 接種株

菌 種	
G/UR 1483	臨床分離株
G/UR 1488	臨床分離株

表2 *Chlamydia trachomatis* 接種家兎開腹所見

	1 週後	2 週後	4 週後	6 週後
腹 水	12	12	0	0
臓器間癒着	0	10	10	10
卵管浮腫	12	12	0	0
卵管閉塞症	0	0	1	1
卵管周囲膿瘍	0	0	0	0
卵管留水腫	0	0	0	0

後までの所見ではみられていない。

この写真1は、C. T. 接種後2週後の開腹所見で、多量の腹水が存在し右卵管中央部の発赤と腫脹がみられる。左もほぼ同様の変化がみられた。写真2この写真は、膀胱と子宮壁に炎症様発赤を来している所見である。C. T. 含有液が卵管采より腹腔への流出により、腹膜炎を生じている所見である。写真3この写真は4週後の開腹所見で、子宮は膀胱壁に強く癒着し、膀胱表面は強度の浮腫を呈している。写真4は、この時の卵管所見であるが、強い発赤があり、炎症を呈するものの卵管の疎通性は保たれている。

以上 *Chlamydia trachomatis* の接種により生じた家兎腹腔内の変化について述べたが、4週後の腹腔内液、膀胱表面発赤部分の擦過、卵管内溶液からそれぞれ *Chlamydia* の抗原性を測定する *Chlamydiazyme* 法⁵⁾ で強陽性が確認され、*Chlamydia trachomatis* の感染は実証されている。

考 案

① *Chlamydia trachomatis* の感染の立証

今回のわれわれの検討でもっとも重要なことは接種により腹水、卵管内、膀胱壁、尿道からそれぞれ *Chlamydia trachomatis* の抗原性を *Chlamydiazyme* により証明できたことである。



写真 1 接種 2 週後の卵管所見, 写真中央部にみられる卵管は全体に強い発赤と腫脹がみとめられる

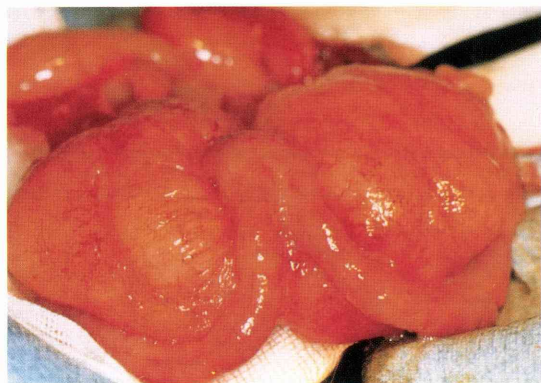


写真 3 接種 4 週後の膀胱に癒着する子宮, 膀胱には強い浮腫がみられる

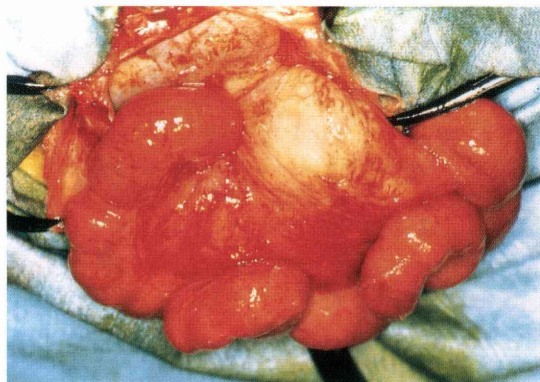


写真 2 接種 2 週後の膀胱表面と子宮表面にみとめられる発赤浮腫をともなう炎症所見

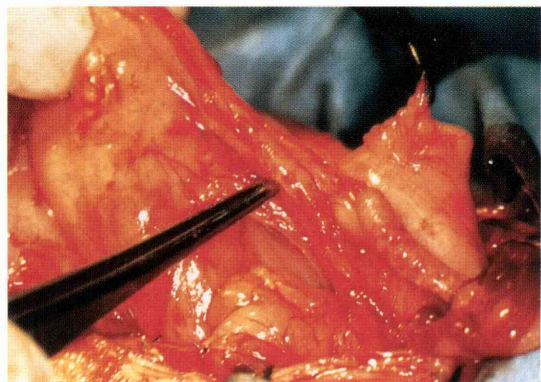


写真 4 接種 4 週後の卵管所見. なお発赤腫脹をともなう炎症が見られる. 卵管の疎通性は維持されている.

Chlamydia trachomatis による実験的 Salpingitis の報告は1980年 Wang⁶⁾ により報告されたものが唯一の文献である。Chlamydia trachomatis を実験的に哺乳動物に感染させることは、一般的には不可能とされていたためであろうが、そのとき Wang は卵管に C. T. を感染させ得たと報告した。

これまでなかなか成功しないと云われた Chlamydia trachomatis の感染の証明で今後の実験系の確立がされ将来この分野での研究への見通しがたつたことは評価できる。

② 接種感染の成立とその予後

前回われわれ⁴⁾が報告した大腸菌接種による実験的卵管炎作製の際には、殆んど臨床分離株で 10^{10} 個/ml 接種された家兎は2日以内に敗血症により死亡してしまう。また、菌数を減らし死亡数をなくすると感染が成立しない。そのため標準株の弱毒のものをを用いて意図する卵管炎、卵管留水腫の形成を試みて報告したが、このよ

うに大腸菌による感染モデルの作製は敗血症による死亡が実験不成功の一つの大きな要素となっていた。

しかしながら Chlamydia trachomatis による感染では、全く死亡する症例は存在しなかつた。このことは、Chlamydia trachomatis の菌数にもよるかも知れないが、現在 McCoy cell や Hela cell による封入体作製法によつて得られる 1 ml あたりの菌数は 10^6 個というあたりが、もつとも一般的でありこの程度の菌数ではそれによる敗血症死や感染死はおこらないものと考えてよいと思われる。

③ 接種後の卵管の浮腫の出現

大腸菌による感染モデルが成立したケースと同様に接種後 1 週及び 2 週間で現われた著明な浮腫は Chlamydia trachomatis 感染後でも 1 週後すでにみとめられ、その卵管表面の強い発赤は大腸菌感染の際よりも、はるかに強いものであつた。また、これはコントロールの生食注入群には全くみられない変化であつた (写真 1)。

④ Chlamydia 感染と腹水

大腸菌感染モデルと比べて腹水の出現は、すみやかにかつ量的にはるかに多い。その量の比較測定までは行っていないが、大腸菌感染の場合は、腹水よりもむしろ膿汁に近いものが、卵管とその周辺と膀胱・子宮周囲に現われるが、Chlamydia の感染では、無色の漿液性の腹水が感染家兎全例に20ml 以上みとめられており、感染後3週間経て採取した腹水からは Chlamydia の抗原性が強陽性に検出されている。これらの例はやはりすべてに膀胱壁の発赤が強く、卵管の発赤、浮腫とともに腹水を産生する場となつていると考えられた。

⑤ 周囲臓器との癒着

多量の腹水などの出現で内臓、特に消化管における癒着の出現が予想されたが、意に反し殆んどなく、確実に生じてくるのは、膀胱と子宮の癒着でこれは12例中10例に4週以後にはみとめられた。これは2週後に殆んどすべてに出現する膀胱壁の強い発赤が炎症によるものであることを裏付け、この部に子宮との癒着が成立するものと思われる。

⑥ 卵管の疎通性

それぞれ週数ごとに開腹した症例では1例のみ片側の卵管の疎通性を欠くものが存在した。この他は、23卵管すべて疎通性は維持されていた。また週毎に開腹し、癒着の検討を行うことや、卵管の疎通性を確かめる通水操作により、癒着の成立を妨げている可能性も考えられることから、接種後6週間目にはじめて開腹して検索したケースにおいても同様に癒着は存在したものの、卵管の疎通性は保たれていた。

⑦ 卵管の内腔の変化についての検討

殆んど例において疎通性の維持が確認されたが卵管の内腔も変化がないかどうかをみるために、2週後と4週後に同じ条件で C. T. 含有液を接種した卵管について走査型電子顕微鏡による検討を加えた。写真5に示すように2週後の卵管上皮の所見では、分泌細胞の表面構造に著変はみとめられず、線毛細胞にもわずかな変化がみとめられるにすぎない。しかし、4週後の卵管上皮は明らかに線毛細胞の配列に異常がみられ、C. T. 感染による変性と考えられる。また、分泌細胞に存在する villi にも、ところどころに疎なところがみとめられ、接種後の日時の経過とともに変化が現われてくることを示している。

⑧ 卵管閉塞の成立の可能性

今回の接種後感染が成立したあとが6週間までの状況では、卵管内膜の変化が比較的緩徐に現われてくることから考えて、さらに時間の経過で閉塞が成立する可能性も考えられる。しかしながら、今後の引き続いた長期の

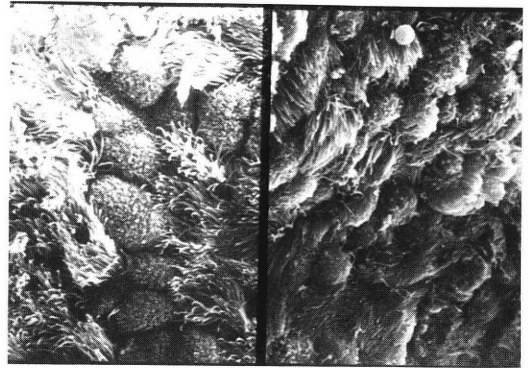


写真5 Chlamydia trachomatis 接種後の卵管円膜の走査電顕所見。(×3000)2週後(左)は殆んど変化はないが4週後(右)は線毛細胞の異常が著明となっている。

観察が必要と思われる。また、このまま疎通性は維持されたまま経過することも考えられるが、卵管上皮の変化から考えれば Unexplained Sterility ということになることも考えられるが一方 reversible な卵管上皮の変化で時間の経過とともに卵管内膜は修復され、再び妊孕性を回復されるのかは判然とはしない。今後の長期間に及ぶ経過観察をしてゆきたいと考えている。

⑨ 大腸菌接種とC.T.接種とによる腹腔内所見の比較

以前に著者らが本誌⁴⁾に報告したように大腸菌の接種を行なうとまず接種された卵管内に炎症がすみやかに起り、やがてその卵管内の病変が卵管采から腹腔内に及び、腹膜炎を起こしたり、臓器内癒着の原因となることが確認されているが、C. T. 接種による変化は卵管そのものの浮腫が先に起こり、同時に多量の腹水が産生される。この点は大腸菌の接種のさいにはみられない大きな相違点である。従つて、この2つの感染モデルの違いから C. T. 感染ではまず腹水産生が起こり、これらが再び卵管内に浸入することで、卵管内の病変が生じる可能性が強く示唆されたが、さらに詳しい検討を続けたいと考えている。

⑩接種法の検討

C. T. 感染症についての研究で先駆的な立場にあるワシントン大の Dr. Wang⁶⁾により報告された卵管采より卵管内への C. T. 含有液の注入という方法をわれわれも採用して検討したが、現在まだ報告出来るところまで十分な検討がすんではないが、より自然の感染状況を作るため、経腔的もしくは経子宮的に C. T. 注入を行なつて同様の検討をしたいと考えている。ただヒトの場合と異なり、家兎の膈はきわめて長く、また双角子宮の子宮口に直接 C. T. 含有液を注入することが困難なため、より確実に以上のような設定が出来る工夫がなさ

れなければならないことから、教室ではこの点の検討を急いでいる。

おわりに

臨床上 *Chlamydia trachomatis* の検出分離は今なお検討途上にあるが、卵管閉塞の50%以上が淋菌や結核菌ではなく、この *Chlamydia trachomatis* によるといわれるようになった現況では、この種の卵管炎の解明は急務といわれなければならないが、今回のわれわれの研究の意図もこのような背景から生まれたものである。

今回のわれわれの検討は、なお小数例ではあるが、いずれのケースも腹腔内の炎症所見がある反面、卵管の疎通性は余り失われていないことから、*Chlamydia trachomatis* の上行性感染により、卵管内よりも卵管采から腹腔内に流出し、さきに P. I. D. 様所見を呈し、この結果生じた腹水などが再度卵管内に流入して卵管閉塞をひきおこしたり、卵管采部を炎症性変化から閉塞させて、卵管水腫を誘発することが示唆された。

一方、臨床的に婦人科領域においては、泌尿器科における尿道炎の成立から、この *Chlamydia trachomatis* の感染で頸管炎が生じると考えられ続けて来たが、かりに初期感染で頸管炎が成立したとしても、臨床症状には乏しく、かなり重篤な感染が起こり、腹腔内に波及して骨盤腹膜炎となつてから、はじめて明確な症状を示してくることがわれわれ^{7,8)} の検討で明らかになつて来ている。この点から考えても今後なお一層 *Chlamydia trachomatis* の感染モデルによる不妊症の原因の追求が重要な意味をもつてくるものと思われる。

結 語

1) 卵管性不妊症の成因をさぐるべく *Chlamydia trachomatis* 含有液を卵管采側から卵管に注入し、実験的に感染モデルの形成を検討した。

2) *Chlamydia trachomatis* 接種後1週後にはすでに卵管の強い発赤と浮腫がみとめられた。

3) 感染モデル全例に多量の腹水が発生したが3週後には殆んど消失した。

4) 6週後の開腹所見で、24卵管中23卵管の疎通性は維持されていた。

5) *Chlamydia trachomatis* 接種による感染の成立は、6週後における腹水、卵管内容液、膀胱表面、尿道よりの採取検体により *Chlamydiazyme* 法による抗原性の確認により立証された。

稿を終るにあたり、臨床分離株を分与された岐阜大医学部泌尿器科教室及び故西浦常雄教授に深謝し、Ch-

lamydia trachomatis 分離培養法に関する技術的御指導を賜った加藤直樹先生に感謝を捧げるものである。

文 献

- 1) March, P.-A., Møller, B. R., Ingerselv, H. J., Nüssler, E., Westrom, L. and Wølner-Hanssen, P. : Endometritis caused by *Chlamydia trachomatis*. Br. J. Vener. Dis., 57 : 191, 1981.
- 2) Richard, L. S. : Chlamydial salpingitis and infertility. Fertil. Steril., 36 : 530, 1982.
- 3) Jones, R. B., Ardery, B. R., Hui, S. L. and Cleary, R. E. : Correlation between serum antichlamydial antibodies and tubal factor as a cause of infertility. Fertil. Steril., 38 : 553, 1982.
- 4) 野口昌良, 稗田茂雄, 秋田敏行, 山田昌夫, 中西正美, 石原 実 : 家兎卵管内感染モデルによる卵管留水腫の作製, 日不妊会誌, 30 : 83, 1985.
- 5) 加藤直樹, 野口昌良他 : *Chlamydia trachomatis* 感染症診断試薬としての *Chlamydiazyme* TM の有用性—尿路性器感染症における検討—, 感染症学雑誌, 60 : 378, 1986.
- 6) Patton, D. L., Halbert, S. A. and Wang, S. P. : Experimental salpingitis in rabbits provoked by *chlamydia trachomatis*. Fertil. Steril., 37 : 691, 1982.
- 7) 野口昌良, 稗田茂雄, 秋田敏行, 山崎 健, 石原 実 : 産婦人科領域における *Chlamydia trachomatis* の検出とその問題点, 東海産婦誌, 22 : 33, 1985.
- 8) 野口昌良, 秋田敏行, 山崎 健, 稗田茂雄, 鈴木正利, 石原 実 : *Chlamydiazyme* 法による産婦人科領域における骨盤腹膜炎を中心とした *Chlamydia trachomatis* 感染症の検討, 産婦人科の世界, 38 : 459, 1986.

Experimental salpingitis in rabbits provoked by *chlamydia trachomatis*

Masayoshi Noguchi, Shigeo Hieda,
Toshiyuki Akita, Takeshi Yamazaki
and Minoru Ishihara

Department of Obstetrics and Gynecology,
Aichi medical University

24 fallopian tubes of 12 rabbits were observed concerning a damage after *Chlamydia trachomatis* 10⁴/ml inoculation and the intra-abdominal findings.

1 week after the inoculation, a large quantity of ascites were already produced and severe redness and shelling were observed on fallopian

tubes and the surface of uterus and urinary bladder. The same condition was also seen 4-6 weeks later, but ascites disappeared 4 weeks later. Using the scanning electron microscope, abnormality on epithelium of fallopian tubes were observed from about 4 weeks later, especially there was a change in cilia cell.

Although there were the above changes, yet 23 out of 24 fallopian tubes had facilitation till 6 weeks later. Besides, antigenicity by Chlamydiazyme was proved by the materials taken from Chlamydia trachomatis infection was confirmed. In these years, Chlamydia trachomatis has been paid attention as the pathogenic organism that causes salpingitis with higher frequency than gonococcus and tubercle bacillus.

We tried to induce salpingitis experimentally week Chlamydia trachomatis, and here are report some result obtained from our study.

1) To search the cause of fallopian tube ste-

rility, liquor which contains Chlamydia trachomatis was infused into fallopian tubes from fimbriae. Then formation of experimentally infected models was studied.

2) 1 week after the Chlamydia trachomatis incubation, severe redness and edema were already observed on fallopian tubes.

3) A large quantity of ascites were produced in every infected models, however, most of them disappeared 3 weeks later.

4) By recovery findings 6 weeks later, 23 out of 24 fallopian tubes maintained facilitation.

5) Antigenicity of Chlamydiazyme was confirmed by ascites 6 weeks later, liquor in fallopian tubes, the surface of bladder and the materials taken from intra-abdomen, so that the infection by Chlamydia trachomatis incubation was proved to be occurred.

(受付：昭和61年2月4日特掲)

卵管におけるアラキドン酸代謝物の産生について

Bioconversion of Arachidonic acid to Prostaglandins in Human Fallopian Tube

山梨医科大学産婦人科

三橋 直樹 吉田 孝二 沢 登 環
Naoki MITSUHASHI Koji YOSHIDA Tamaki SAWANOBORI
小池 憲章 安水 洸彦 加藤 順三
Noriaki KOIKE Takehiko YASUMIZU Junzo KATO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yamanashi Medical University

in vitro では卵管の収縮にプロスタグランジン (PG) が大きな作用を持つことが知られている。しかもその作用は卵管の部位によって異っている。今回我々は子宮筋腫の手術時に採取した卵管を用いて、卵管における PG 産生について検討してみた。アラキドン酸を基質として PG 産生を、卵管の峡部、膨大部、柔部分けて検討してみると、各部位で 6keto-PGF_{1α}, PGF_{2α}, PGE₂, および PGD₂ の産生が認められた。また PG の外に hydroxyacid または HHT と推定される 2つの物質の産生が認められた。しかしながら卵管の部位による PG 産生率の差はなかった。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 421-424, 1986)

緒 言

卵管は受精の場となるだけでなく、卵子、精子、および受精卵の移送という大きな役割を持っている。この移送が円滑に行われるためには卵管の輪状筋および縦走筋の収縮が重要である。これら卵管の筋の tonus, 収縮の頻度、大きさ等はプロスタグランジン (PG) により大きく影響を受けることが知られている。

卵管に対する PG の作用については Sandberg らが PGE₁ について検討している。彼らは卵管を子宮に近い方から4つの部分に分け、それぞれにつき筋収縮の tonus, frequency, amplitude, を検討している¹⁾。それによれば PGE₁ の作用は卵管の部位により異っており、一般に子宮に近い部位の方が遠位部より PGE₁ による筋収縮の刺激効果が高い。また彼らは PGE₂, PGE₃ についても検討しており²⁾ 卵管に対する効果が卵胞期と黄体期で全く異ると報告している。それによると黄体期の方が PG の筋収縮効果は高い。また Labhsetwar によると³⁾ 卵が卵管内にある段階で PG を投与すると着床する

胎児の数が減少する。また Spilman も卵管に対する PG の作用を Rhesus monkey で検討し⁴⁾、性周期により PG に対する反応が異なると報告している。このような卵管の部位あるいは性周期による PG に対する反応性の差異が、卵、精子、受精卵の移送に大きな意味を持つことは十分に予想されることである。

一方 PG は local hormone ともいわれる様に産生された局所で作用することが知られている。従って卵管で産生される PG は卵子や精子の移送に非常に重要であると考えられる。しかし卵管での PG 産生を検討した仕事はほとんど見られない。我々はヒト卵管における PG 産生をアラキドン酸を用いた転換実験で検討してみた。

方 法

(1) Incubation および Extraction

子宮筋腫で子宮全摘および付属器摘出を行った症例のうち肉眼的に正常な卵管を実験に用いた。摘出直後に氷

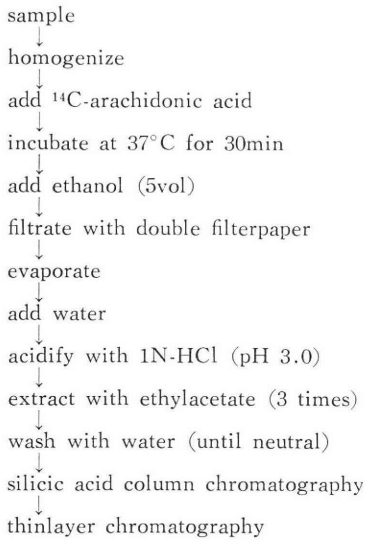


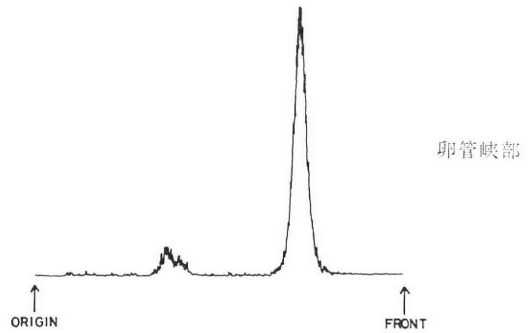
図 1 Incubation and Extraction

冷下の0.1M K-phosphate buffer (pH=7.4) 中に卵管を入れ、可能な限り serosa を除去した。更に采部、膨大部、峡部に分け各部位を0.5g 採取した。各組織は4 ml の上記 buffer 中で細切し、ポリトロンにてホモゲナイズした。¹⁴C-Arachidonic acid (55.8mCi/mmol) 約2 μCi を N₂ gas 下で乾固し、0.1M KHPO₄ 350 μl で溶解し、100 μl を各ホモジェネートに加えた。¹⁴C-Arachidonic acid 溶解液は10 μl を3本液体シンチレーションバイアル中に入れ radioactivity をカウントし平均値の10倍を各ホモジェネートに加えた放射線量とした。各ホモジェネートは37°C, 30分間インキュベーションを行った。インキュベーション終了後20ml のエタノールを加え反応を停止した。二重ろ紙でろ過後反応液は rotary evaporator で蒸発乾固し、10ml の蒸留水を加え 1N HCl で pH を3.0に調整し、25ml の酢酸エチルで3回抽出した。反応生成物を抽出後の酢酸エチルは3~4 ml の蒸留水で数回洗い中性化した。これまでの段階を図1にまとめ示した。

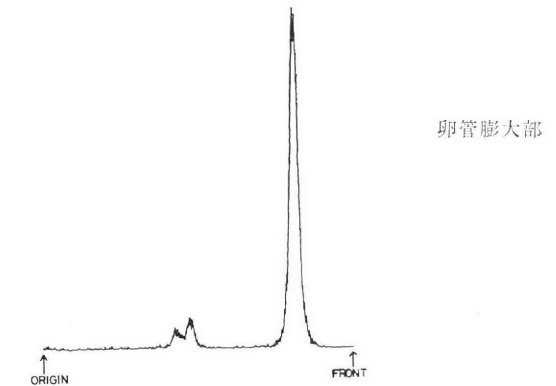
(2) クロマトグラフィー

反応生成物を抽出した酢酸エチルは先ずケイ酸カラムクロマトグラフィーを行った。0.25g のケイ酸 (Silicic acid AR-CC4, Mallinkrodt) を用い、内径7 mm, 長さ30cm のガラス管カラムでテフロンコック付カラムを使用した。用いた溶剤は A. Ethylacetate : Toluene=1 : 9, B. Ethylacetate : Toluene=2 : 8, C. Ethylacetate, C, Methanol : Ethylacetate=1 : 9, D, Methanol である。各溶剤は12.5ml 用い、AおよびBの溶剤で溶出したフラクションは併せて A, B フラクションとし、CおよびDの溶剤

で溶出したフラクションは併せて C, D フラクションとした。A, B フラクションはジアゾメタンでメチル化し薄層クロマトグラフィーを行った。用いた溶剤システムは Ethylacetate : 2-2-4 Trimethylpentane : Water=50 : 100 : 100 の有機相である。C, D フラクションはそのまま Ethylacetate : Aceticacid : 2-2-4 Trimethylpentane : Water=110 : 20 : 30 : 100 の有機相を用いた溶剤システムで薄層クロマトグラフィーを行った。薄層のプレートは Aloka の TLC scanner にて radioactivity を調べた。各 peak の面積を計算しアラキドン酸からの転換率を求めた。

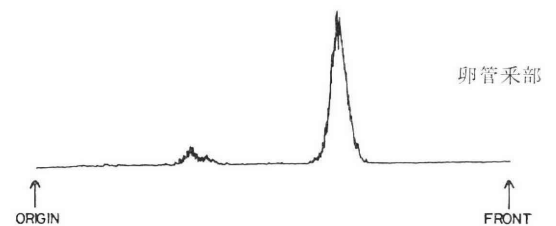


卵管峡部



卵管膨大部

図 2-1



卵管采部

図 2-2

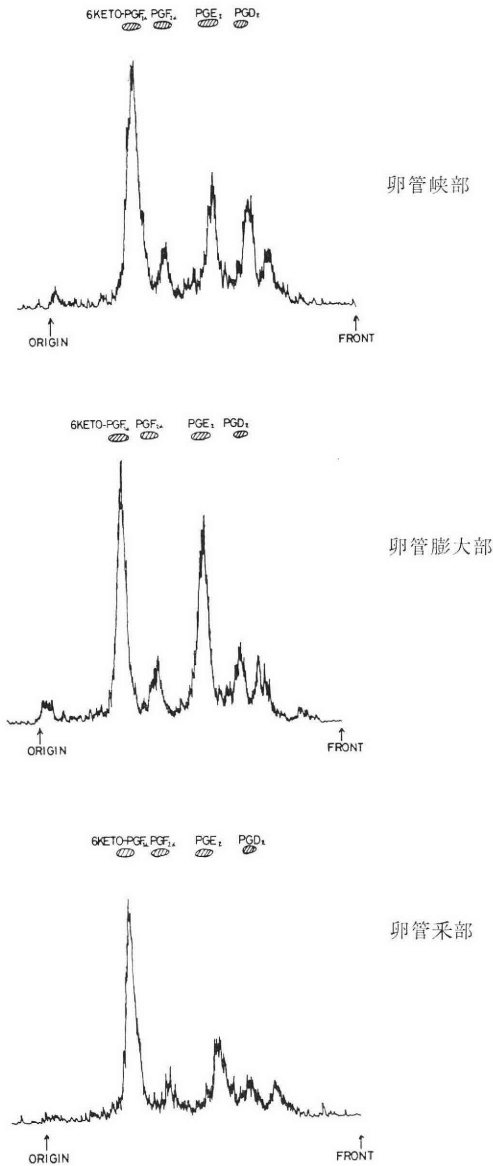


図 3

結 果

ケイ酸カラムクロマトグラフィーで溶出した A, B フラクションはメチル化後方法に示した溶剤で薄層クロマトグラフィーを行った。図2に示すように Rf 0.72, 0.39, 0.35の三本のピークが得られた。最も大きな Rf 0.72のピークは、スタンダードの Arachidonic acid のメチルエステルと Rf 値が一致することから未反応のアラキドン酸と考えられる。他の二つのピークは lipoxygenase 反応による hydroxyacid と思われるがこれ以上の同定は行わなかった。

ケイ酸カラムクロマトグラフィーで溶出した C, D フラクションは次に薄層クロマトグラフィーを行った。図3に示すようにスタンダードの 6-ketoPGF_{1α}, PGF_{2α}, PGE₂, PGD₂ と一致するピークが得られた。

各クロマトグラムのピークの面積を計算し、アラキドン酸からの転換率を求めたのが表1である。

考 察

我々のデータから卵管で 6keto-PGF_{1α}, PGF_{2α}, PGE₂ および PGD₂ が産生されることがわかった。このうち PGD₂ については薄層クロマトグラフィーで一致するという点だけでは完全な同定とは言えず、さらに検討を要すると思われる。PG 産生を卵管の部位別に検討してみると、峡部、膨大部、采部での PG 産生パターンに差はなかった。卵胞期および黄体期の別では、我々の症例はほとんど黄体期にあり、性周期による PG 産生の差について検討することはできなかった。

ケイ酸カラムクロマトグラフィーで溶出した A, B フラクションについては未反応のアラキドン酸の外に2個の産生物が認められた。これ等は我々の今迄の報告⁵⁾より何等かの hydroxyacid あるいは 12-hydroxy-5, 8, 10-heptadecatrienoic acid (HHT) と推定される。このことより hydroxyacid あるいは HHT についてもその卵管に対する作用を検討する必要があると考えられる。

排卵時の卵管の PG に対する作用で問題となるのは、精液中の PG である。精液中の PG については我々も

表 1 Conversion rates of arachidonic acid in hynam fallopian tube

n=10

	F (M±SD %)	A (M±SD %)	I (M±SD %)
6Keto-PGF _{1α}	2.64 ± 1.84	3.15 ± 1.86	4.61 ± 2.91
PGF _{2α}	0.80 ± 0.43	1.12 ± 0.55	1.06 ± 0.51
PGE ₂	1.42 ± 0.83	2.78 ± 1.58	3.20 ± 2.51
PGD ₂	0.92 ± 0.80	1.70 ± 0.82	1.71 ± 0.95

F : fimbriae tubae

A : ampulla tubae

I : isthmus tubae

報告しているが⁶⁾, 桁違いに大量に含まれており, しかも 19-hydroxylated PG という特殊な PG を含んでおり, それらが受精という大切な時期の卵管の運動に影響している可能性は以前から指摘されていた⁷⁾. 特に 19-OHPGE は精液中には数 mg のオーダーで含まれており, 卵管に対する影響は無視できないと考えられる. Bygdeman 等は⁸⁾機能性不妊の男性の精液中の PG はコントロールに比べ少ないと報告している. その理由は未だ解っていないが, PG の卵管に対する作用に原因があることも考えられる.

文 献

- 1) Sandberg, F., Ingelman-Sundberg, A. and Ryden, N.: The effect of prostaglandin E₁ on the human uterus and the fallopian tubes in vitro. *Acta obst. et gynec. scandinav.* 42: 269, 1963.
- 2) Sandberg, F., Ingelman-Sundberg, A. and Ryden, G.: The effect of prostaglandin E₂ and E₃ on the human uterus and the fallopian tubes in vitro. *Acta obst. et gynec. scandinav.* 43: 103, 1964.
- 3) Labhsetwar, A. P.: Prostaglandin E₁: Studies on antifertility and luteolytic effects in hamsters and rats: *Biology of repro.* 8: 103, 1973.
- 4) Spilman, C. H.: Oviduct motility in the rhesus monkey: Spontaneous activity and response to prostaglandins. *Fert. and Ster.* 25: 935, 1974.
- 5) Mitsuhashi, N. and Kato, J.: Bioconversion of arachidonic acid by human uterine cervical tissue and endocervix in late pregnancy. *Endocrinol. Japan.* 31: 533, 1984.
- 6) 三橋直樹, 安水洗彦, 加藤順三: ヒト精液中のプロスタグランジン測定法について, *日産婦学会誌*, 36: 771, 1984.
- 7) Candella, R. J.: *Advances in sex hormone reserch.*: p325, Baltimore, University park press. 1975.
- 8) Bygdeman, M., Fredricsson, B., Svanborg, K. and Samuelsson, B.: The relation between fertility and prostaglandin content of seminal fluid in man. *Fertil. and Steril.* 21: 622, 1970.

Bioconversion of arachidonic acid to prostaglandins in human fallopian tube

Naoki Mitsuhashi, Koji Yoshida,
Tamaki Sawanobori, Noriaki Koike
Takehiko Yasumizu and Junzo Kato

Department of Obstetrics and Gynecology
Yamanashi Medical University

Prostaglandins (PGs) have strong effect on the fallopian tube *in vitro*. The effects of PGs are known to be different on the different portion of the fallopian tube. Sometimes they contract the tube and sometimes they relax it. The contractile movement of the tube is very important on the transport of the ovum, sperm and fertilized egg. Therefore PGs made in the fallopian tube are quite important on the reproductive physiology.

We studied bioconversion of ¹⁴C-labelled Arachidonic acid in the fallopian tube. Fallopian tubes were obtained from the patients undergoing hysterectomy. The tubes were put into ice cold 0.1M-potassium phosphate buffer (pH: 7.4) and surrounding peritoneum was carefully removed, and were divided to three portions; pars isthmica (I), pars ampullaris (A), and infundibulum tubae (F). They were weighed and 0.5g of each portion was cut into small pieces and homogenized. ¹⁴C-Arachidonic acid was added and incubated at 37°C for 30 min. The products were extracted by ethylacetate and studied by silicic acid column chromatography and thin layer chromatography. Concerning to the prostaglandins, 6 keto-PGF_{1α}, PGF_{2α}, PGE₂, and PGD₂ were made in every portion of the fallopian tube. There was no difference in the conversion rates to prostaglandins in different portions of the tube.

There were two products which were supposed to be hydroxyacid or HHT. But further identification was not performed.

(受付: 昭和60年7月16日)

改良精液静置法による人工授精 (AIH) の成績について

The Results of AIH Using with Improved "Layering Method"
for Collecting Motile Spermatozoa

東邦大学医学部第1産婦人科学教室

久保春海 安部裕司

Harumi KUBO Yuji ABE

林鴻程 片山進

Kotei RIN Susumu KATAYAMA

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

大森赤十字病院

島田美津江

Mitsue SHIMADA

Department of Obstetrics and Gynecology, Ohmori Red Cross Hospital

AIH に用いる良好精子の回収方法として、精液静置法 (Layering 法) を以下の点を目的として改良を試みた。

1. 過度な洗浄操作を行わない。
2. 機械的損傷をできるだけ少なくする。
3. 精子回収率をあまり問題にしない。
4. 簡略、経済的である。

これ等の点を考慮し、syringe 法とも呼ぶべき、簡易 Layering 法を考案した。この方法により、1本の syringe 中で良好精子の回収から AIH までの連続操作が可能となった。

これによる精子回収率は静置後60分で plateau に達し、平均回収精子数 $20.7 \pm 17.9 \times 10^6/\text{ml}$ 、回収率 $27.2 \pm 13.3\%$ であり、以後5h までに増加は認められなかった。運動率は原精液平均 $61.8 \pm 14.0\%$ であつたが、60分後の回収精子運動率は平均 84.9 ± 10.5 と著明な改善が認められた。これにより、静置1h 前後の精子を回収して、AIH を18例 (昭和60年5月~12月まで) の適応例に実施したところ、6例 (精子減少症2例、精子無力症1例、頸管因子2例、長期排卵障害1例) に妊娠成立が認められた。これ等の症例は本法実施以前に少なくとも6回以上の通常法 (原精液 AIH) を施行されており、本法に切替えてから施行回数平均 1.8 ± 1.2 回で妊娠成立を見た。現在、妊娠継続4例、双胎分娩 (1胎健常、1胎胎状奇胎) 1例であり、他の1例は妊娠第5週で、妊娠反応陽性となつたが、その後、流産に終わった。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 425-430, 1986)

緒言

従来、夫精液を用いた AIH には液化射精精液をそのまま注入するか、分画射精法¹⁾、cervical cap などの器具を用いた方法²⁾などが実施されてきた。しかし、原精

液を子宮内に注入すると、感染、子宮痛、ショックなどの副作用の他に、精液部分には decapacitation factor、アクロシンインヒビター、抗精子抗体などの受精阻害物質の存在が報告されており、AIH には不都合な点が多い。特に精液性状不良例においては妊娠率はきわめて低

表 1 洗浄精子 AIH 適応例

表 2 MEDIUM

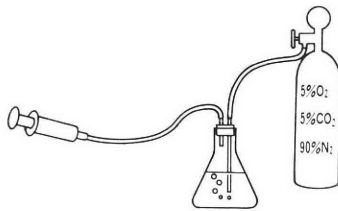
男性因子
 軽度, 中等度減精子症 ($10 \times 10^6 - 40 \times 10^6/ml$)
 Polyzoospermia
 asthenospermia
 精液液化不全
 精液過少症
 性交障害
 逆行性射精

女性因子
 頸管因子不妊
 機能性不妊
 長期排卵障害不妊 (5年以上)

不適応例
 高度減精子症 ($10 \times 10^6/ml$ 以下)

1. Modified L 15 medium	
NaCl	7.035g/l
KCl	0.400
MgSO ₄	0.200
CaCl ₂	0.189
Na ₂ HPO ₄	0.360
KH ₂ PO ₄	0.060
Glucose	1.000
Ca lactate	0.527
Na pyruvate	0.028
Antibiotics stock soln.	1.0ml
H.S.A.	3.000
2. Ham F10 +5% human serum	

↓
 IVF または GIFT 法



G: 混合ガス
 M: 培養液
 S: 精子浮遊液

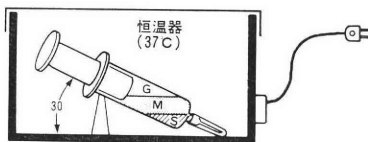
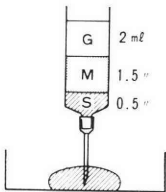
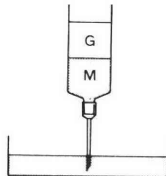


図 1 洗浄精子による人工授精手技

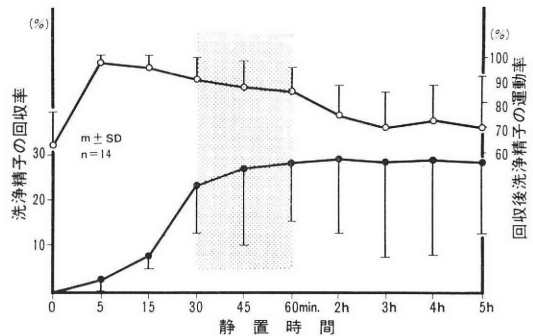


図 2 静置時間と精子回収率・運動率

く、精液性状の改善法が現在までに種々考案されている。

最近、不妊症治療の一環として、体外受精・胚移植法 (IVF-ET) が臨床応用されるにいたり、その技術の改良応用が試みられている⁹⁾。IVF における精子-精漿分離法のひとつとして、Layering 法⁴⁾が用いられているが、swim up した良好精子を更に濃縮して、これを AIH に応用する方法が報告されている⁹⁾。われわれは Layering 法に改良を加え、一般不妊外来でも AIH に使用可能な方法を考案し応用を試みている。今回、その具体的な方法を紹介し、他の Layering 法の成績と比較検討したので報告する。

対象および方法

当科不妊外来にて不妊原因を検査指針にそつて check up 終了した患者のうち、表1のごとく洗浄精子 AIH 適応例を設定した。Layering 法は図1のごとく HamF 10を用いた場合、混合ガス(5% O₂, 5% CO₂, 90% N₂)を18G 針付ディスプレインジ (容量3~5ml) に吸引し、

表 3 各 Layering 法による精子数・運動率¹⁾

	原 精 子		回 収 精 子	
	数 ×10 ⁶ /ml	運動率 %	数 (回収率; %)	運動率 %
Lopata et al (1976) n = 8	133.4±48.9*	62.5±19.8*	2.1±1.6* (1.6±1.0)	85.6±16.8*
星ら (1983) n = 4	65.3±31.0	66.7±13.5	6.3±28.8 (46.8±18.3)	97.4±1.8
久保ら (1986) n = 14	64.3±36.8	61.8±14.0	20.7±17.9 (27.2±13.3)	4.9±10.5

1) 1h 静置した場合の成績.

* 数値はそれぞれ m±SD を表わす

表 4 Concentration and Motility of Spermatozoa That Entered the Medium Which Was Layered for 60 Minutes

Donor	Original Semen		Collected Spermatozoa		Pregnancy after AIH
	Count ×10 ⁶	Motility %	Count ×10 ⁶	Motility %	
A	145	70	30.0	80	
B	34	50	2.4	50	
C	64	40	3.1	50	
D	15	34	0.6	60	
E	24	75	1.5	75	+
F	105	70	27	85	+
G	45	40	2.0	70	
H	39	60	2.8	80	
I	112	30	9.6	70	
J	326	60	40.0	80	
K	225	40	17.6	75	
L	50	40	3.8	60	
M	167	80	39.0	90	+
N	173	70	18.0	95	
O	59	80	10.2	85	+
P	88	30	2.7	50	
Q	120	80	21.0	95	
R	108	50	4.8	70	
S	210	86	38.7	92	
T	10	30	0.2	60	

m±S.D. 106±82 56±20 14±12 74±15 20.0% (4/20)

続いて HamF 10+5% 自己血清を 1.5ml 吸引する。

その後、出来るだけ緩徐に液化射精精液 0.5ml を吸引することによって、上面よりガス相、培養液相、精液相の 3 相が形成される。これを 37°C 恒温器内に入れ、水平~30° 位の傾斜角に保持し、精液相より培養液相に運動良好精子を swim up させる。静置終了後 (1h) 再び

シリンジを垂直に保持し、精液相をピストンにより圧出する。培養液相に swim up した精子の一部は回収率、運動率算定に用い、残りの 0.5~1.0ml を人工授精針を装着し、AIH を行なつた。また、混合ガスを用いる必要のない、修正 Leivobitz 15 (L 15) 培養液+3mg/ml 人血清アルブミン (HSA, 56°C, 30分加熱処理) 添加培地も用いた (表 2)。

AIH のタイミング決定には排卵予知に関するわれわれの方法⁶⁾にしたがつた。すなわち性周期 D7より尿中 E 測定 (ハイエストロテック, 持田), 超音波断層法 (セクタースキャン) による最大卵胞径 (MFD) 測定を施行し、E の卵胞期基準値より 150% 以上の上昇が連続 2 日間持続し、MFD が 18mm 以上になつた時、HCG 10,000IU 筋注、その翌日に AIH を行なうようにした。

更に、星ら (1983)⁵⁾ の報告した重層法を行ない、この方法と比較した。

AIH は人工授精針の先端が内子宮口を越えた点まで挿入し、出来るだけ緩徐 (2~3分) に精子浮遊液を注入、頸管粘液が膨隆した時点で中止する、注入量は約 0.3~0.5ml であつた。精子浮遊液および原精液の残量は外子宮口周辺に散布した。

結 果

静置時間の経過による精子回収率と運動率は図 2 のごとくである。精子回収率 (黒丸) は静置後 30分までは急速に増加するが、以後 30~60min までは緩徐な増加のみであり、1h 値は表 3 のごとく平均回収精子数 20.7±17.9×10⁶/ml, 回収率 27.2±13.3% であつた。静置 1h 以降はほとんど増加を認めなかつた。回収精子の運動率 (白丸) は原精液中で 61.8±14.0% であつたが、5min 後回収精子では 95±4.2% であり、30~60min の間では平均 84.5±11.0% であつた。以後漸減し、5h 後では 72.4±19.8% となつた。

表 5 洗浄精子 AIH 法による妊娠成功例

症例	年齢	不妊期間	不妊原因	通常 AIH	洗浄 AIH	妊娠経過
1	29	4 Y 0 M (原)	頸管粘液分泌不全 PCO	7 (他医にて4)	1	Preg. 9 w FHB (+)
2	31	5 Y 10 M (原)	高プロラクチン血症 Sturmdorf 術後	6	2	Preg. 11w
3	32	7 Y 10 M (原)	精子無力症 運動率30~60% 63×10 ⁶ /ml	10+α (他医にて)	1	Preg. 17w
4	32	6 Y 3 M (原)	精子減少症 10~12×10 ⁶ /ml	6	1	Preg. 5 w 流産 (ゴナビス+)
5	38	13 Y 9 M (原)	精子減少症 20~41×10 ⁶ /ml	?	4	Preg. 11w
6	36	5 Y 4 M (続)	無排卵周期症 PCO	6 実施回数	2	双胎 (1胎は胎状奇胎) Preg. 35w で CS 児は健・正常

(S 60.5~12までの18例のうち)

表 6 いろいろな良好精子の調製方法

1. 古典的心洗浄法 (Mann, T.; 1945)
2. 密度勾配遠心用担体を用いる方法
 - a. Ficoll 法 (Harrison, P.A.R.; 1976)
 - b. Percoll 法 (Torfer-Pertersen, E; 1981)
3. カラム法
 - a. Albumin column (Dmowski, W.P.; 1979)
 - b. Sephadex gel column (Steen, O.; 1975)
 - c. Glass fiber column (Paulson, J. D.; 1977)
 - d. Nylon fiber column (須藤ら; 1978)
 - e. Medium column (Lopata, A. 1976)
4. 各種薬物添加法
 - a. Caffeine (Schoenfeld, C. et al.; 1975)
 - b. Kallikrein (Schill, W.B.; 1975)
5. 精液静置法 (Friberg, J.; 1974)
 - a. Layering 法 (Isojima, S.; 1978)
6. 分画射精法 (Amelar, R.D. et. al; 1965)
7. Cervical cap (Whitelaw, W.J.; 1950)

一方、星らの重層法によつて回収された精子数、回収率、運動率(1h 値)はそれぞれ、 $14 \pm 12 \times 10^6/\text{ml}$ 、 $13.2 \pm 11.7\%$ 、 $74 \pm 15\%$ であつた(表4)。

これらの回収良好精子浮遊液による AIH 施行結果は表5に示すごとく、妊娠成功6例(18例中)妊娠率33.3%であつた。内訳は頸管因子2例、精子減少症2例、精子無力症と長期排卵障害例各1例であつた。いずれの症例も洗浄精子 AIH 法施行以前に射精精液による通常 AIH 法を6回以上実施している。

これに対して星らの方法に準じた洗浄法による結果で

は20例中4例(20.0%)の妊娠率であつた。

考 案

AIH に用いる良好精子の調整法は Man (1945)⁷⁾ の古典的遠心洗浄法以来、各種の方法が報告されている(表6)。この中でも密度勾配遠心用担体である Percoll を用いた方法は X, Y 精子分離や細菌除去も可能な事実が報告されている⁸⁾。しかし、遠心法であるが故に精子尾部の屈曲, coiling を起こす事が報告されており、また Percoll 粒子が培養液中に残留するのを避けられず、これを除くためには再遠心を行なわねばならない⁹⁾。精液静置法は Friberg (1974)¹⁰⁾ が始めて報告し、磯島ら (1978) が精子不動化試験に応用したものである。星ら (1983) はこれを改変し、IVF および AIH に応用した。これにより回収精子の運動率は飛躍的に改善されたが、手技が煩雑であり、われわれはこれを一般不妊外来でも簡単に施行可能な方法に改良を加えた。改良のポイントは AIH の場合は IVF のように卵子周囲に媒精された精子がすぐに *in vitro* で受精能を得て、透明帯層に付着する必要がなく、卵管膨大部に至るまでに、*in vivo* で生理的な capacitation が得られる可能性を有している。したがつて、過度な洗浄操作を行なう必要がない。また、遠心、ピペット操作などの手順を出来るだけ少なくし、精子原形質膜や尾部に対する機能的損傷を出来るだけ少なくする。精子妊娠性の問題としては、総精子数や精子濃度よりも精子運動率が問題である¹¹⁾。したがつて、精子回収率はあまり問題にせず、良好精子の運動率をむしろ目的とする。更に出来るだけ操作が簡単で、経

済的でなければならない。この目的のため syringe 法とも呼ぶべき精液静置法を工夫し単純な操作で精子—精漿分離が可能となった。この方法は星らの報告(1983)した回収率、運動率にはやや及ばないが、Lopata et al. の medium column 法によるものよりは良好な結果であり(表3)、簡易法としては満足すべき結果であった。また、精液静置法を行なつたシリンジに人工授精針を装着してそのまま AIH を行なう事が出来るので、ピペット操作も全く必要がない。これにより、昭和60年5月より12月までに18症例中6例が妊娠成立し、成功率は33.3%であった。成功率が著明に向上したとは必ずしも云えないが、成功例はいずれも射精精液を用いた通常 AIH 法をこの方法施行以前に少なくとも6回以上受けて、不成功に終わった症例ばかりであり、この点に意義があると考えられる。

以上、シリンジ法とも呼ぶべき改良精液静置法を工夫し、AIH に応用した結果、満足すべき結果が得られたので、ここに報告した。

(本論文の要旨は第93回日本不妊学会関東地方部会において発表した。)

文 献

- 1) Amelar, R. D. and Hotchkiss, R. S. : The split ejaculate : its use in the management of male infertility. *Fertil. Steril.*, 16 : 46, 1965.
- 2) Whitelaw, M. J. : Use of the cervical cap to increase fertility in case of oligospermia. *Fertil. Steril.*, 1 : 33, 1950.
- 3) 久保春海, 林 鴻程, 片山 進, 百瀬和夫 : 妊娠能検査法としての IVF の応用, 受精. 着床, 83 : p 120, 学会出版センター, 1984.
- 4) Isojima, S. and Koyama, K. : Microtechniques of sperm immobilization test. *Immunol. Reprod.*, p 215, Bulgarian Academy of Science, 1978.
- 5) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎, 京野広一, 対木 章, 齋藤 晃, 鈴木雅洲, 林 恵子, 柳町隆造 : われわれの行っている精液静置法 “layering method” による精液中からの良好精子の分離, 日不妊会誌, 28 : 101, 1983.
- 6) 安部裕司, 森田峰人, 林 鴻程, 片山 進, 渡辺 肇, 久保春海 : 尿中 E, LH 測定による排卵誘発管理の適応と限界について, 基礎と臨床, 18 : 721, 1984.
- 7) Mann, T. : Studies on the metabolism of semen. 1. General aspects : Occurrence and distribution of cytochrome, certain enzymes and coenzymes. *Biochem. J.*, 39 : 451, 1945.
- 8) 兼子 智, 小高 清, 小林俊文, 飯塚理八 : 体外受精に供する精子の調製について, 受精. 着

床, 83 : p 51, 学会出版センター, 1984.

- 9) Lessley, B. A. and Garner, D. L. : Isolation of motile spermatozoa by density gradient centrifugation in Percoll. *Gamete Res.*, 7 : 49, 1983.
- 10) Friberg, J. : A simple and sensitive micro-method for demonstration of sperm agglutinating antibodies in serum from infertile men and women. *Acta Obst. Gynecol. (Suppl.)*, 36 : 31, 1974.
- 11) 守殿貞夫, 岡 伸俊, 浜口毅樹, 岡田 弘, 羽間 稔, 松本 修, 石神襄次 : 精子パラメーターに関する臨床的研究, 受精. 着床, 84 : p 182, 学会出版センター, 1985.
- 12) Lopata, A., Patillo, M. J., Chang, A. and James, B. : A method for collecting motile spermatozoa from human semen. *Fertil. Steril.*, 27 : 677, 1976.

The results of AIH using with improved “Layering method” for collecting motile spermatozoa

Harumi Kubo, Yuji Abe, Kotei Rin,
Susumu Katayama and Mitsue Shimada*

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

* Department of Obstetrics and Gynecology,
Ohmori Red Cross Hospital

An improved “Layering method” for collecting motile spermatozoa from human semen was made, and applied to artificial insemination (AIH). The purposes of improvement are as follows: 1. Avoid excessive washing procedures to remove seminal plasma. 2. Decrease mechanical damage to spermatozoa. 3. Conduct the procedures not for recovery rate, but motility rate of good spermatozoa. 4. simple and economic method must be preferable. For these purposes, we designed a new technique “Syringe method” for collecting motile spermatozoa from layered medium. According to this method, all procedures from collection of good sperm to artificial insemination can be performed with same syringe.

Recovery rate reached its plateau sixty minutes after incubation at 37°C, and was stable, thereafter, up to five hours. Average recovery rate at one hour of incubation was $20.7 \pm 17.9 \times 10^6/\text{ml}$ ($27.2 \pm 13.3\%$), and motility rate was improved markedly from $61.8 \pm 14.0\%$ to $84.9 \pm 10.5\%$.

AIH was performed eighteen infertile couples who admitted our clinic from May 1st to the

end of December, '85 using with the recovered spermatozoa from husband's semen.

In the result, six cases of pregnancy (33.3 %) were established including 2 oligozoospermia, 1 asthenospermia, 2 cervical factor sterility and 1 ovulatory failure for five years. 1.8 ± 1.2 was

the average time of AIH performed until pregnancy. All these successfully pregnant cases had been accepted at least six times of ordinary AIH method using with ejaculated semen before the treatment of this method.

(受付：昭和61年2月24日特掲)

産婦人科領域における腹腔鏡の臨床的意義に関する研究

Laparoscopy in Gynecologic Practice

釜石市民病院産婦人科

中 谷 一 夫

Kazuo NAKATANI

Department of Obstetrics and Gynecology, Kamaishi City Hospital

東北大学医学部産科学婦人科学教室

星 合 昊

Hiroshi HOSHIAI

Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University School of Medicine

当科で昭和60年7月31日までに腹腔鏡を施行した155例について臨床的検討を行なった。

不妊症84例中（原発不妊：55例，続発不妊：29例），原発不妊例の80%，続発不妊例の79.3%に異常が見出された。そのうちの原因不明不妊例17例中11例（原発不妊：10例中6例，続発不妊：7例中5例），64.7%には何らかの異常があり，6例，35.3%は子宮内膜症であった。また精子過少症に不妊原因が帰せられていた12例のうち6例，50.0%に女性側にも異常が認められ，うち5例，41.7%は子宮内膜症であった。

原発無月経4例のうち3例はageneticあるいはstreak ovaryであった。続発無月経，稀発月経13例中11例，84.6%，臨床診断によるPCO9例中7例，77.8%の腹腔鏡所見はPCOであり，臨床診断，腹腔鏡診断，病理組織診断相互間の，あるいは全体としての診断の一致率は54.5～88.9%であった。

原因が確信出来なかつた下腹痛症例36例中11例，30.6%，月経困難症15例中10例，66.7%に子宮内膜症が見出された。子宮内膜症の腹腔鏡前後の診断の一致率は70～76%であった。

ダナゾール400mg/日，16週治療後の17例の腹腔鏡上での改善度は，私達の採点法では全体として57.1%であり，付属器周囲癒着，ダグラス窩の閉塞性変化の改善度がblueberry spots, blood blebsやendometriomaのそれに比べて不良であった。

卵巣癌治療後のsecond look laparoscopy所見が正常であり，腫瘍マーカーが正常値を持続している6例は，いずれもその後最短5か月，最長3年9か月間再発をみていない。

(*Jap. J. Fert. Ster.*, 31(3), 431-440, 1986)

緒 言

近年産婦人科領域で，国内においても腹腔鏡の有用性は広く認識され，これまでの双合診その他の検査手段では診断され得なかつた病変が比較的容易に発見され，しかも侵襲度の少ないことなどから，とくに不妊症領域においては既に必須の診療手段となりつつあり，これまでのいわゆる“原因不明不妊症”の頻度を大きく減少させるとともに，その定義をも変えつつある。同様に原因の判然としない下腹痛，あるいは下腹部小腫瘤の診断，軽

度の癒着の剝離，さらには癌の治療後のfollow-up等々，腹腔鏡の適応は益々拡大されるとともに，盲目的治療の頻度を減少させている。

方 法

当科で行なっている腹腔鏡の方法について簡単に述べる。症例に応じて不妊症に対するルーチン検査，血清ゴナドトロピン，プロラクチン等の測定，超音波断層法，染色体検査，腫瘍マーカー測定等を併せ行なうが，術前検査，および処置は一般開腹手術の場合と同様である。

麻酔は全例挿管麻酔で行なっているが、この検査が比較的短時間内に終了することや、短時間内に反復される可能性のあることから、稀ではあるが肝障害を起こすことがあるとされるフローセンやエトレンを使用せず GO 麻酔を使用し、開腹に移行する場合のみ通常の GOF 麻酔等に変更している。筋弛緩はこの検査を安全にスムーズに行なうために特に重要であり、サクシンで導入の後は非脱分極型筋弛緩剤を使用している。呼吸の維持は特殊体位、および気腹による横隔膜挙上のため一定の換気量を得ることが難しいことからレスピレーターによる人工換気を行なっている。そのためにも十分な筋弛緩が必要である。気腹ガスには笑気を用い、主に臍直下から自動気腹装置により注入した後、同じ部位からスコープを挿入し、恥骨上部から挿入した探り針と、子宮腔部に装着した anteverter の協力のともに、骨盤腔の観察、卵管通過性検査、卵巣の生検、小癒着の切断・剝離、上腹部の観察等を症例に応じて行なっている。また診断の正確性、再検討のために必ず写真撮影を行なっている。

結 果

不妊症例：55例の原発不妊例のうち44例（80.0%）に何らかの異常が認められた。そのうち19例（34.5%）は子宮内膜症、8例（14.5%）に PCO の所見があり生検を行なった。その他は付属器周囲癒着5例（9.1%）、卵管通過性不良4例（7.3%）、子宮發育不全3例（5.5%）、子宮筋腫2例（3.6%）、傍卵巣囊腫2例（3.6%）、両側の非癒着性卵管閉塞1例（1.8%）であり、11例（20.0%）には異常は認められなかった。

29例の続発不妊例のうち23例（79.3%）に異常が認められた。そのうち13例（44.8%）が子宮内膜症、5例（17.2%）が付属器周囲癒着であり、子宮筋腫3例（10.3%）、PCO 疑いで生検を行なった1例（3.4%）、両側の非癒着性卵管閉塞1例（3.4%）を除く6例（20.7%）の所見は正常であった。

以上の不妊例のうち、腹腔鏡施行前に不妊の原因が見出されなかった17例のいわゆる原因不明不妊症のうち10例は原発不妊であり、7例は続発不妊であった。原発不妊例のうち6例（60.0%）に異常が発見され、子宮内膜症が3例（30.0%）、あとは PCO 疑い、付属器周囲癒着、卵管通過性不良の各1例であり、残りの4例（40.0%）には異常が認められなかった。また続発不妊例のうち5例（71.4%）に異常が見出され、そのうち3例（42.9%）は子宮内膜症、2例（28.6%）は付属器周囲癒着であり、残る2例（28.6%）は正常であった。全体として原因不明不妊症17例中11例（64.7%）に異常があり、6例（35.3%）は子宮内膜症、3例（17.6%）が付属器

表 1 Indications

Sterility	84
(primary)	(55)
(secondary)	(29)
Second look after Danazol therapy	17
Second look for ovarian cancer	6
Primary amenorrhea	4
Others (low. abd. pain and/or tumor, dysmenorrhea etc.)	44
Total	155

表 2 Findings in patients with infertility

Laparoscopy finding	Infertility			
	primary		secondary	
	No.	%	No.	%
Normal	11	20.0	6	20.7
Endometriosis	19	34.5	13	44.8
PCO suspected	8	14.5	1	3.4
Periadnexal adhesion	5	9.1	5	17.2
Poor tubal patency	4	7.3		
Hypoplasia	3	5.5		
Myoma nodules	2	3.6	3	10.3
Paraovarian cyst	2	3.6		
Non-adhesive bilat. tubal occlusion	1	1.8	1	3.4
	55		29	

周囲癒着であり、PCO 疑い、および非癒着性卵管通過性不良の各1例を除く6例（35.3%）は正常であった。

不妊の原因が男性側の精子過少症にあるとされ、女性側は正常とされていた12例（原発不妊10例、続発不妊2例）のうち6例（50.0%）に異常が見出され、6例（50.0%）は正常であった。異常例のうち5例（41.7%）は原発不妊例の子宮内膜症であり、他の1例は続発不妊例の付属器周囲癒着であった。

原発無月経症例：原発無月経の4例はいずれも高いゴナドトロピン値を示した。このうち2例は外見上異常を認めず、第II度無月経であった。うち1例の腹腔鏡所見、組織所見はともに agenetic ovary であり、正常染色体であった。もう1例の腹腔鏡所見は streak ovary であり、組織には間質のみが認められたが、染色体検査は行なわなかった。他の2例のうち1例は外見上 Turner 症候群の特徴を有し、卵巣は確認出来なかったが、相当する部位の組織所見は agenetic ovary であり、染色体は45X, 46XX, 47XXX のモザイクであった。もう

表 3 Findings in patients with unexplained infertility

Laparoscopy finding	Infertility					
	primary		secondary		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
Normal	4	(40.0)	2	(28.6)	6	(35.3)
Endometriosis	3	(60.0)	3	(71.4)	6	(64.7)
PCO suspected	1		1		(5.9)	
Periadnexal adhesion	1		2		(17.6)	
Non-adhesive poor tubal patency	1		1		(5.9)	
	10		7		17	

表 4 Findings in patients married with oligospermic males

Laparoscopy finding	Infertility			
	primary		secondary	
	No.	%	No.	%
Normal	5	50.0	1	12.5
Endometriosis	5	41.7	1	8.3
Periadnexal adhesion	1	8.3	1	8.3
	10	100.0	2	20.0

1例は染色体検査は行なえなかつたが, atresia vaginae と恥毛欠如の例であり, 腹腔鏡上では正常の卵巣であつたが組織診では hypoplasia であつた. なお, これら4例の子宮の発育はいずれも不良であつた.

続発無月経, 稀発月経症例: 続発無月経, あるいは稀発月経の13例の腹腔鏡の適応は全て不妊であり, いずれも卵巣の生検を行なつた. そのうち11例が原発不妊, 2例が続発不妊であつた. 13例中の11例は中村ら²⁰⁾の臨床的診断基準による PCO であつたが, そのうち8例(72.7%)が腹腔鏡でも, 同じく8例(72.7%)が組織診でも PCO であり, 3診断の合致率は54.5%であつた. また9例の腹腔鏡による PCO 診断例のうち8例(88.9

%)が臨床的に, 7例(77.8%)が組織診で PCO であり, 3診断の合致率は66.7%であつた. さらに組織診で PCO であつた11例(polycystic type 3例, sclerotic type 5例, polycystic+sclerotic type 3例)のうち9例(81.8%: polycystic type 3例, sclerotic type 3例, polycystic+sclerotic type 3例)が臨床的に, 7例(63.6%: polycystic type 3例, sclerotic type 3例, polycystic+sclerotic type 1例)が腹腔鏡的に PCO であり, 3診断の合致率は54.5%であつた. 臨床的に PCO と診断しなかつた2例の組織診はいずれも PCO であり, 結局, 13例全てがいずれかの診断により PCO であつた.

下腹痛症例: 確定診断のつかなかつた36例の下腹痛症例のうち11例(30.6%)は子宮内膜症であり, 卵管妊娠5例(13.9%: 4例は破裂前, 1例は卵管流産), 炎症後癒着3例(8.8%), 術後癒着3例(8.8%), 卵巣嚢腫3例(8.8%), 卵巣出血, pelvic varicocele, Allen-Masters 症候群, 子宮腺筋症, Krukenberg 腫瘍の各1例の他の6例(16.7%)には異常が認められなかつた.

月経困難症例: 月経困難を主訴とする15例のうち10例(66.7%)は子宮内膜症を有していた. 炎症所見に子宮筋腫, 子宮腺筋症を合併するものが各1例あり, 残る2例には異常はみられなかつた.

表 5 Details of cases with primary amenorrhea

No.	Age	Chromosomes	Serum Gn (mIU/ml) LH/FSH	Appearance	Laparoscopic findings	Ovarian biopsy
1	32	46XX	64/135	normal	agenetic ovary	agenetic ovary
2	28	—	98/114	normal	streak ovary	streak ovary
3	37	45X/46XX/47XXX	55/53	Turner	agenetic ovary	agenetic ovary
4	20	—	94/93	atresia vag. & absence of pubic hair	normal	hypoplasia

表 6 Details of casses with secondary amenorrhea and oligomenorrhea

No.	Age	Para.	clinical diag.	laparoscopic diag.	ovarian biopsy	prognosis
1	22	prim.	PCO	PCO Pt. tubal stricture Tt. tubal occlusion	normal	preg.
2	29	prim.	PCO	PCO	hypoplasia	preg.
3	26	prim.	PCO hyper PRL	PCO Lt. tubal occlusion	polycystic	—
4	25	prim.	postpill amenorrhea	Hypoplasia ut. & ov. Lt. tubal occlusion	sclerotic	preg.
5	24	prim.	PCO hyper PRL	PCO	sclerotic	preg.
6	31	prim.	PCO	PCO	polycystic	—
7	31	second.	PCO	PCO Rt. tubal occlusion Lt. tubal stricture	sclerotic	preg.
8	27	second.	PCO	normal	sclerotic + polycystic	preg.
9	33	prim.	PCO	PCO	sclerotic + polycystic	—
10	35	prim.	?	PCO	sclerotic	—
11	27	prim.	PCO	Tubal stricture	sclerotic + polycystic	—
12	26	prim.	PCO	Early endometriosis	sclerotic	—
13	31	prim.	PCO	PCO	polycystic	—

表 7 Comparison of procedures on the diagnosis of PCO

Diagnostic procedures	No.	No. of consistent diagnosis by other procedures () : %			
		Clinical	Lanaro.	Biopsy	Consistent in all
Clinical	11	—	8 (72.7)	8 (72.7)	6 (54.5)
Laparo.	9	8 (88.9)	—	7 (77.8)	6 (66.7)
Biopsy	11	9 (81.8)	7 (63.6)	—	6 (54.5)

子宮内膜症例：腹腔鏡により発見される異常の中で最も多かったのは子宮内膜症であった。検査前診断が子宮内膜症であった31例のうち、腹腔鏡所見も一致した例は24例(77.4%)であり、正常例は無かったが他の疾患7例(22.6%)を含んでいた。逆に、腹腔鏡で子宮内膜症と診断した42例のうち前診断も同様であった例は30例(71.4%)であり、9例(21.4%)は正常と診断された。

腹腔鏡により子宮内膜症と診断し、400mg/日、16週間のダナゾールを投与した後、17例に再び腹腔鏡を行ないその効果を検討した。私達の工夫した採点法¹⁸⁾によれば全体としての改善率は57.1%であり、A) blueberry spots, blood blebs, B) endometrioma, C) 付属器周囲

癒着、D) ダグラス窩の閉塞性変化に対する改善率はそれぞれ87.5%、80.0%、32.0%、53.8%であった。

最近4年間に開腹した卵巣癌12例のうち second look laparoscopy を行ない得たのは6例であった。CA-125 その他の腫瘍マーカーを含む検査所見、および全身所見から総合的に判断し、それに腹腔鏡により no recurrence と判断した6例は、現在のところ最も短い追跡例で5か月、その他は1年以上、最長3年10か月の intact survival を得ている。他の6例は明らかな進行あるいは再発例であり、いずれも手術後8か月以内の経過で死亡した。

表 8 Laparoscopy findings in cases of uncertain lower abdominal pain.

Laparoscopy finding	No.	%
Endometriosis	11	30.6
Early ectopic pregnancy	5	13.9
Post-inflammatory adhesion	3	8.3
Post-operative adhesion	3	8.3
Ovarian cyst	3	8.3
Ovarian bleeding	1	
Pelvic varicocele	1	
Allen-Master's syndrome	1	
Adenomyosis	1	
Krukenberg tumor	1	
Normal	6	16.7
	36	100.0

考 察

不妊症を対象とした腹腔鏡により異常の見出される頻度は、まず腹腔鏡がどの程度ルーチンに診療に取り入れられているかによつて異なる。一般には“原因不明不妊症”に対して原因探索の目的で用いられることが多いが、しかし、その定義もまた行なわれた検索の程度によつて異なり一定しない。当科では内診、BBT、HSG、精液検査、血清 PRL 測定をルーチンに行ない、PCO の疑われる例には血清ゴナドトロピンを測定し、それらに異常の無い例を一応“原因不明”として扱っているが、これらの所見あるいは検査値の読みも施設により、また不妊症例に対して腹腔鏡を行なう場合、(1) 子宮内膜症、付属器周囲癒着の有無、卵管通過性の確認、(2) PCO 疑いの例の診断の補強と卵巣の生検、およびそれによる排卵の誘発と妊娠への期待、という予測や目的を

表 9 Findings in patients with dysmenorrhea

Laparoscopy finding	No.	%
Endometriosis	10	66.7
Inflammation + myoma	1	
Inflammation + adenomyosis	1	
Myoma	1	
Normal	2	13.3
	15	100.0

表10 Relation between pre-and post-laparoscopic diagnosis of endometriosis

preoperative diag.	laparoscopic diag.
endometriosis : 31	endometriosis : 24 (77.4%)
	other disease : 7
	normal : 0
endometriosis : 30 (71.4%)	endometriosis : 42
	other disease : 7
	normal : 9

持つて行なうが、それらをどの程度まで“原因不明”に含めるかという問題もあり、腹腔鏡により発見される異常の頻度を云々することはあまり意味の無いことと思われる。しかし私達の結果は子宮内膜症が30~50%に発見されるとする諸報告^{6,24,25)}と一致した。これまでに子宮内膜症を発見された6例中2例は治療により妊娠し、異常の無かつた6例中3例はその後自然に妊娠している。また腹腔鏡、HSG との間の所見の不一致についてはこれまでも多くの指摘があり^{6,11,12,16,27)}、適切な治療を行ない、不必要な治療を避けるために、不妊症の診断にもつ

表 11

score of finding	targets of evaluation			
	0	1	2	3
hemorrhagic change				
A) blueberry spots or blood blebs	(-)	few	scattered	scarring
B) endometrioma	(-)	hemorrhagic mass withoutt enlargemen	enlarged	enlarged more than twofold
secondary change				
C) periadexal adhesion	(-)	minimal	moderate	significant
D) obliteration of pouch of Douglas	(-)	dirty cul-de-sac	invisible sacro-ut. lig.	invisible post. aspect of ut.

表 12

	recovering score				total	recovering rate (%)
	A	B	C	D		
1)	—	3/3	2/3	3/3	8/9	88.9
2)	—	3/3	1/3	2/3	6/9	66.7
3)	—	—	0/3	0/3	0/6	0.0
4)	—	1/3	1/3	2/3	4/9	44.4
5)	1/1	—	1/2	1/2	3/5	60.0
6)	1/1	1/1	1/1	0/1	3/4	75.5
7)	1/2	—	1/2	—	2/4	50.5
8)	3/3	—	—	1/1	4/4	100.0
9)	—	—	0/2	1/2	1/4	25.0
10)	—	—	1/1	1/1	2/2	100.0
11)	—	—	0/2	0/2	0/4	0.0
12)	1/2	—	—	—	2/2	50.0
13)	2/2	—	—	—	2/2	100.0
14)	1/1	—	—	0/1	1/2	50.0
15)	1/1	—	0/2	2/2	3/5	60.0
16)	1/1	—	—	1/1	2/2	100.0
17)	2/2	—	0/1	0/1	2/4	50.0
total	14/16	8/10	8/25	14/26	44/77	
recovering rate (%)	87.5	80.0	32.0	53.8		57.1

表 13 Second look laparoscopy for ovarian carcinoma

	cpse	stage	clinical diag.	laparo. diag. (postope. period)	postope. alive period
1)	Serous c.a.c.	1A	no recur.	no recur. (1y9m)	3y9m
2)	Endometr. c.	2C	no recur.	no recur. (11m)	3y0m
3)	Adenocarc.	1C	no recur.	no recur. (1y1m)	2y3m
4)	Serous c.a.c.	3	progress.	—	+(?)
5)	Serous c.a.c.	2C	recur.	—	+(6m)
6)	Serous c.a.c.	3	progress.	—	+(6m)
7)	Serous c.a.c.	1A	no recur.	no recur. (6m)	1y1m
8)	Adenocarc.	3	recur.	—	+(3m)
9)	Mesonephr. c.	1A	no recur.	no recur. (7m)	1y1m
10)	Mucinous c.a.c.	3	progress.	—	+(2m)
11)	Adenocarc.	3	recur.	—	+(8m)
12)	Endometr. c.	1C	no recur.	no recur. (5m)	5m

と頻繁に腹腔鏡は使用されるべきではないかと考える。

不妊症のルーチン検査で精液所見に不妊因子が見つかった場合、男性不妊として扱われ、女性側の不妊因子が見落とされることがある。私達の行なった AIH その他の治療がなかなか奏効しなかった平均精子数 50×10⁶/ml 以下の12例に対する腹腔鏡で、6例の異常が腹腔鏡

により発見され、うち5例は子宮内膜症であつた。そのうち1例はダナゾール治療後に妊娠しており、精子過少症の場合でもなるべく早期に腹腔鏡により latent の病変の有無を調べておくことが必要と考えられる¹⁹⁾。

原発無月経例のうち外見上正常な2例はいずれも agenetic あるいは streak ovary であつたが、その後ホ

表 14 Course of PCO cases resulted in pregnancy after ovarian biopsy

Case No.	Before biopsy		After biopsy	
	Method	Ovulation	Method	Ovulation
1	Clomid	(+)—	Clomid	(+)—
	Clomid-HCG	↳(-)(+)(+)(-)	Clomid-HCG	↳(+)(+)
			No treatment	↳(+)(+)(+)(+) (preg.)
2	Clomid-HCG	(-)(-)(-)(-)	Clomid-HMG-HCG	(-)(preg.)
	Clomid-HMG-HCG	↳(+)(+)(-)		
5	Parlodel	(-)(-)	Parlodel	(-)(-)
	Parlodel	↳(+)(+)(-)(-)	Parlodel	↳(preg.)
	+ (Clomid-HCG)		+ (Clomid-HCG)	
8	Premarin-HCG	(-)	Clomid	(+)—
	Clomid-HCG	↳(+)(+)(-)	No treatment	↳(preg.)

ルモン補充療法を継続し月経様出血を起こさせており、以前よりも自覚的に良好な状態にある。atresia vaginae 例の腹腔鏡所見は正常であつた。しかし卵巣の生検では hypoplasia でありゴナドトロピン値も高かつたが、腔開口術により時々月経様出血をみている。陰毛欠如以外の外見は正常で、未婚でもありそれ以上の検査や治療を希望しなかつたが、おそらく結婚後に治療の対象になるものと思われる。腹腔鏡より内性器、とくに卵巣の形態を確認し、生検により組織診断を行なうことは、その後の治療方針を決める上で大いに参考になると考えられる。

続発無月経および稀発月経の場合の腹腔鏡の目的は主に卵巣の観察と生検であり、検査前診断としては PCO が疑われていることが多い。臨床的診断は内分泌動態を、腹腔鏡は形態的变化を指標とし、組織診断はそれらに確診を与えるものと考えられるが wedge resection による採取組織片と異なり、腹腔鏡により得られる組織は小さく、かつ局所的であり、採取された組織がその症例の卵巣を代表するものとは考え難い。また PCO 変化の開始は初経時、あるいはその直後からであることが多く^{9,10)}、PCO は卵巣の機能が障害されていく一連の過程の一つの断面であるとも言われているが¹⁴⁾、一時点での病理組織診断をもつてその卵巣の確定診断とすることには疑問があり、私達の場合でも11例の組織診断による PCO のうち3例が1例 polycystic、他側 sclerotic と同一症例が異なつた組織所見を併有していた。3つの診断法にはそれぞれに意義があるが、その合致率は当研究では50~70%と必ずしも高くなかつた。Wedge resection 後の癒着の問題もあり³⁾、前記の理由からも PCO に対してはむしろ臨床診断基準および腹腔鏡による total な

あるいはマクロな診断が主となるべきではないかと考えた。13例中、夫が長期不在の1例を除く10例中6例がその後妊娠している。このうち4例は生検操作と妊娠成立との間に関連性が考えられた。小池ら¹⁵⁾も PCO 例の腹腔鏡において両側卵巣に大きな切開とともに部分切除に近い処置を加えることにより、その後排卵、妊娠し生児を得た数例を、Yuzpe ら²⁰⁾は clomiphene 単独あるいは Clomiphene-HCG 無効の Stein-Leventhal 症候群に腹腔鏡下に卵巣生検を行なつた後、2か月以内に排卵性周期を回復し、他の治療を加えることなしに6か月以内に妊娠した数例を報告している。

急性の下腹痛は術前診断のつき易いこと、または緊急に開腹されることが多いため、診断に苦慮するのはむしろはつきりしない慢性の下腹痛あるいは pelvic pain であることが多い。そしてその最も多い腹腔鏡診断としては、PID をあげている報告が多い^{4,7,17,23,26)}。感染症が疑われる例に対する腹腔鏡の是非は意見の分かれるところであるが、Chaparo ら⁴⁾は病変の拡がりや、将来の妊娠の可能性の評価するために腹腔鏡は必要であり、また PID を疑われていた例の22.9%は正常であつたので、もし腹腔鏡が行われていなかつたらこれらの例は不必要な治療を受けたはずだと述べている。PID の疑われる症例を適応としなかつた私達の場合、子宮内膜症が最も多かつたが、これは PID の次に多い所見として子宮内膜症をあげている前述の諸報告と一致している。また月経困難を主訴とするものにも子宮内膜症が最も多く見出されたが、新田ら²²⁾も同様の例において57%が外性子宮内膜症、7%が腺筋症であつたと私達と同様の結果を報告している。

不妊例の38%、原因不明不妊例の35%、下腹痛例の31

%, 月経困難症例の67%と種々の適応において最も多く見出された異常は子宮内膜症であったが, 臨床的に子宮内膜症と診断された例のうち, 腹腔鏡所見と一致したのは75.5%であり, Semchysyn²⁰⁾は68.3%, Pent²¹⁾は45.5%と報告している. Beecham I期というカテゴリーが存在することからも当然と考えられるが, この疾患の腹腔鏡によらない正確な診断の困難さが理解出来る.

近年ダナゾールが保存的治療を要する機会の多い子宮内膜症の治療に汎用されつつあるが, その効果を自覚症状, 内診所見, 妊娠率の上から判定する場合が多く, 投与前後の腹腔鏡所見によって比較した報告は少ない^{5,8,22)}. 4つのtargetを重症度によって0~3点の4段階に分けて採点した私達の方法¹⁹⁾では, これまでに行なった17例の全体としての改善率は57.1%であり, 初期病変や出血性変化に対する効果に比較して, 2次的変化である癒着性病変に対する効果は400mg/日, 16週投与では不十分と考えられた. 自覚症状および内診所見上の効果と腹腔鏡による所見とは必ずしも一致せず, 出来れば予定治療終了後に再度腹腔鏡を行った上で, 治療の中止, 追加の期間, あるいは手術の施行等のその後の方針を決めることが望ましいと思われる.

卵巣癌治療後のfollow-upにおける腹腔鏡の使用には否定的な意見²³⁾もあり, その理由として後腹膜, リンパ節, 横隔膜の観察が困難であることを挙げている. しかし私達の経験では腹腔鏡による横隔膜下面, 肝表面の観察は体位の変換等により開腹によるよりもむしろ容易であり, 最大の盲点が開腹の場合と同様に左側横隔膜, spleen周辺であると感じている. いずれにしる肉眼的診断のみをもつて再発の有無を判断することは疾患の性質上危険と考えられる. 最近, 卵巣癌と腫瘍マーカーCA-125値の高い関連性が報告されており^{2,13,23)}, Niloff²³⁾はCA-125を用いてのsecond look operationの適応について述べている. すなわちfollow-up例でCA-125値が35U/ml以上であれば再発, あるいは再発の近い例であり, cell reduction operationを行う目的ならともかく, second lookの必要は無く, むしろ治療開始の適応であるとし, 35U/ml以下であれば再発は無いか, 有るとしても全て直径1cm以下でありsecond look operationの適応になるとしている. 私達の症例中, 初回手術が試験開腹に終わった進行癌の1例は抗癌剤治療により急速に症状好転し, 再開腹により縮小した病巣を完全摘除出来たと思われたが, CA-125値の低下は最低37U/mlにとどまり, その後再び症状の悪化した時の測定値は1200に達しており, 治療の甲斐なく死亡した. しかし完全摘出後5か月~1年9か月の間に se-

cond look laparoscopyを行ないno recurrenceと診断した6例は, 手術後, 最短5か月, 最長3年9か月のintact surgicalを得ており, これらの例のCA-125値は常に25U/ml以下を維持している. 侵襲度の少ない検査とはいえ, 麻酔を含めてのsecond look laparoscopyの侵襲を考えると, 今後更に信頼性の高いこの方面の発展が期待される.

おわりに

当科でこれまでに施行した155例の腹腔鏡について報告した. 種々の適応において, 臨床診断, あるいは検査前診断と腹腔鏡診断との間の相違を見出した. また, PCOにおいては診断法による診断の一致率の必ずしも高くないこと, および子宮内膜症, 卵巣癌治療のfollow-upにおける腹腔鏡の有用性について報告した.

文 献

- 1) Averette, H. E. : In the discussion of "Niloff, J. M., Bast, R. C., Jr., Schatzl, E. M. and Knapp, R. C. : Predictive value of CA-125 antigen levels in second look procedures for ovarian cancer. Am. J. Obstet. Gynecol., 151 : 981, 1976.
- 2) Bast, R. C., Jr., Niloff, J. M., Lazarus, H., Berkowitz, R. S., Leavitt, T., Griffiths, C. T., Parker, L., Zurawski, V. R., Jr. and Knapp, R. C. : Radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. N. Engl. Med., 309 : 883, 1983.
- 3) Buttram, V. C., Jr. and Vaquero, C. : Post-ovarian wedge resection adhesive disease. Fertil. Steril., 26 : 874, 1975.
- 4) Chaparro, M. V., Ghosh, S., Nashed, A. and Poliak, A. : Laparoscopy for the confirmation and prognostic evaluation of pelvic inflammatory disease. Int. J. Gynecol. Obstet., 15 : 307, 1978.
- 5) Dmowski, W. P. and Cohen, M. R. : Treatment of endometriosis with an antigonadotropin, Danazol. A laparoscopic evaluation. Obstet. Gynecol., 46 : 147, 1975.
- 6) Drake, T. S., Tredway, D. R., Takaki, N. K. and Daane, T. : Unexplained infertility : A reappraisal : In Endoscopy in Gynecology, (ed. Phillips, J. M.), 263. American Association of Gynecologic Laparoscopists., California.
- 7) Fear, R. E. : Laparoscopy : A valuable aid in gynecologic diagnosis. Obstet. Gynecol., 31 : 297, 1968.
- 8) 福島峰子, 太田博孝, 真木正博 : 子宮内膜症に

- 対する Danazol 投与の効果と内分泌学的変動, 日不妊会誌, 28 : 273, 1983.
- 9) Goldzieher, J. W. : Polycystic ovarian disease. *Fertil. Steril.*, 35 : 371, 1981.
 - 10) Goldzieher, J. W. and Green, J. A. : The polycystic ovary. 1. Clinical and histologic features. *J. Clin. Endocrinol.*, 22 : 325, 1962.
 - 11) Israel, R. and March, C. M. : Diagnostic laparoscopy : a prognostic aid in the surgical management of infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 125 : 969, 1976.
 - 12) Keirse, MJNC. and Vადergellen, R. : A comparison of hysterosalpingography and laparoscopy in the investigation of infertility. *Obstet. Gynecol.*, 41 : 685, 1973.
 - 13) 木村英三, 村江正始, 古賀良一, 小田原 靖, 中林 豊, 横山 敬, 中田裕信, 遠武孝育, 落合和徳, 安田 允, 寺島芳輝, 峰谷祥一: 婦人科悪性腫瘍における新しい腫瘍マーカー CA 125の臨床的意義—とくに卵巣悪性腫瘍診断における有用性について—, 日産婦誌, 36 : 2121, 1984.
 - 14) 楠田雅彦: 多嚢胞性卵巣と不妊症, 産婦治療, 38 : 35, 1979.
 - 15) 小池皓式: PCO に対する laparoscopy による診断と治療への応用, 日不妊会誌, 30 : 88, 1985.
 - 16) Maathuis, J. B., Horbach, J. G. M. and Hall, E. V. : A comparison of results of hystero-salpingography and laparoscopy in the diagnosis of fallopian tube dysfunction. *Fertil. Steril.*, 23 : 428, 1972.
 - 17) McBride, N. and Newman, L. : Diagnostic laparoscopy. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 15 : 556, 1978.
 - 18) 中谷一夫, 吉田仁秋, 星合 昊: 子宮内膜症に対する Danazol の効果の腹腔鏡による検討, 日不妊会誌, 30 : 350, 1985.
 - 19) 中谷一夫, 吉田仁秋, 大井嗣和, 星合 昊: 夫の精液所見と妻の腹腔鏡所見の関係, 日産婦内視鏡会誌, 1 : 51, 1985.
 - 20) 中村幸雄, 春日義生, 福永知明, 吉村泰典: 多嚢胞性卵巣症候群 (PCO), 産婦人科 Mook, No. 13. (坂本正一ら編), 214, 金原出版, 東京, 1980.
 - 21) Niloff, J. M., Bast, R. C., Schaeztl, E. M. and Knapp, R. C. : Predictive value of CA-125 antigen levels in second-look procedures for ovarian cancer. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 151 : 981, 1985.
 - 22) 新田武司, 中村英世, 岩田嘉行, 林 茂: 有痛月経患者の腹腔鏡所見, 産婦人科内視鏡研究会会報復刻版, 69, 1985.
 - 23) Pent, D. : Its role in private practice. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 113 : 459, 1972.
 - 24) Peterson, E. P. and Behrman, S. J. : Laparoscopy of the infertile patient. : *Obstet. Gynecol.*, 36 : 363, 1967.
 - 25) Schenken, R. S and Malinak, L. R. : Conservative surgery versus expectant management for the infertile patients with mild endometriosis. *Fertil. Steril.*, 37 : 183, 1982.
 - 26) Semchysyn, S. and Strickler, R. C. : Laparoscopy—Is it replacing clinical acumen ? . *Obstet. Gynecol.*, 48 : 615, 1976.
 - 27) Steptoe, P. C. : Laparoscopy in Gynecology. Edinburgh and London. E & S Livingstone, Ltd., 1967.
 - 28) 高橋良樹: 子宮内膜症のボンゾール療法, 妊娠成立と腹腔鏡による臨床効果の確認, 産と婦, 50 : 1834, 1983.
 - 29) Yuzpe, A. A. and Rioux, J. E. : The value of laparoscopic ovarian biopsy. *J. Reprod. Med.*, 15 : 57, 1975.

Laparoscopy in gynecologic practice

Kazuo Nakatani and Hiroshi Hoshiai*

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kamaishi City Hospital

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

Synopsis A series of consecutive 155 cases of laparoscopy performed until July 30, 1985 was evaluated.

Of the 84 sterility patients (55 primary and 29 secondary), 80.0 % of primary and 79.3 % of secondary sterility cases were found to be abnormal. Of the above involved 17 cases of unexplained sterility, 11 (64.7 % ; 6 of 10 primary and 5 of 7 secondary) were proved to be abnormal and 6 (35.3 %) of them were endometriosis. Six (50.0 %) of 12 females being considered to be normal and whose causes of sterility being attributed to oligospermia were associated with some forms of abnormality and 5 (41.7 %) of them were with endometriosis. Three of 4 cases of primary amenorrhea revealed agenetic or streak ovaries laparoscopically. In the 13 cases of secondary amenorrhea and oligomenorrhea, 11 (84.6 %) of them and 7 (77.8 %) of 9 cases being diagnosed as PCO clinically were PCOs by laparoscopy. The coincidence rate among clinical, laparoscopic and histological diagnosis on PCO was between 54.5 % and 88.9 %.

Eleven (31.4 %) of 35 cases with undefined lower abdominal pain and 10 (66.7 %) of 15 dysmenorrhea cases were associated with endometriosis. The coincidence rate between clinical and laparoscopic diagnosis on endometriosis was from 70 % to 76 %.

The recovering rate of endometriosis by Dana-

zol 400 mg/day for 16 weeks in 17 cases was 57.1 % as a whole by our own evaluation method. The improvement of periadnexal adhesion and the obliterating change of cul-de-sac were less sufficient than those of blueberry spots, blood blebs or endometrioma.

Concerning the cases in follow-up of ovarian

cancer, 6 patients whose findings of second second look laparoscopy and values of tumor marker, CA-125, maintain normal level are alive without recurrence from 5 months to 9 months after their initial operations.

(受付：昭和60年10月4日)

不妊症治療時のホルモン剤の使用法について

Clinical Review of the Conception Cycles

岡山大学産婦人科教室

林 耀 庭 新谷 恵 司 井 上 隆
Yaw-tyng LIN Keiji SHINTANI Ryu INOUE
高橋 史 朗 清水 健 治 吉 田 信 隆
Shiro TAKAHASHI Kenji SHIMIZU Nobutaka YOSHIDA
関 場 香
Kaoru SEKIBA

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

昭和48年1月より、57年12月までの10年間、当科不妊外来にて妊娠成立した846例を基礎体温によつて、正常月経周期、黄体機能不全〔二相群〕、無排卵周期、I度無月経〔一相群〕に分け、妊娠成立周期の治療内容を調べた。妊娠周期に Clomiphene 治療を行なつた割合は一相群の方が有意に高く、一方 Cyclofenil による治療の割合は二相群の方が高かつた。黄体期のみ治療を行なつた妊娠例では二相群の方が一相群より高い割合を示した。卵胞期および黄体期双方に治療を行なつたのは一相群の方が高かつた。治療後初回の休業周期では各群ともに10%以上を占めていた。一相群には Clomiphene が有効であり、頸管粘液不良症例には Cyclofenil も試みるべきであること、他に不妊原因の見当たらない場合、二相群にも排卵誘発剤を積極的に投与すべきであること、また卵胞期投薬に引き続き、黄体期治療も有用であること、更に時どき休業期間をおくことが必要であることが示された。

(Jap. J. Fert. Ster., 31(3), 441-445, 1986)

緒 言

視床下部性の無排卵性不妊症に対しては、合成排卵誘発剤が first choice とされており、良好な結果を挙げており、また基礎体温上黄体機能不全パターンを呈する患者、さらには正常な二相性体温を有する不妊患者に対しての排卵誘発剤、ゲスタゲン、hCG などの投与も妊娠の成立に対する効果が認められている。一方、排卵誘発剤の投与方法について連続投与および間歇投与、さらには休業期間の必要性などがよく論じられているものの、その結論は未だ出ていない。そこで、われわれは当科で加療後妊娠成立した症例について、妊娠周期の卵胞期および黄体期の治療内容を retrospective に検討し基礎体温と妊娠成立をせしめた治療法の関連について若干の考察を加えた。

対 象

昭和48(1973)年1月より、57(1982)年12月までの十年間、当科不妊外来を訪れた不妊患者のうち、BBT(基礎体温)の記録が完全であり、clomiphene, cyclofenil の合成排卵誘発剤投与により妊娠が成立した症例について検討を行なつた。基礎体温上の所見に関しては二相性体温を有し、高低温度差が 0.3°C 以上、黄体期が12日以上、正常基礎体温群(Normal BBT, NOR)とし、高温期が11日以下、もしくは高低温差が 0.3°C 以下の症例を黄体機能不全群(Luteal insufficiency, LI)とし、一相性基礎体温を有する周期を無排卵周期(Anovulation, ANO)、ゲスタゲン test 陽性の無月経症例を1度無月経(Amenorrhea 1 grade, AM I)とした。ただし、高プロラクチン血症、hMG 治療例、II度無月経症例については合成排卵誘発剤などの加療の

表 1 昭和48年から57年までの当科不妊外来患者数および妊娠数

	患者数	妊娠数
原発性不妊症	2,125	514 (24.2%)
続発性不妊症	803	322 (40.0%)
総 数	2,928	836 (28.6%)

表 2 基礎体温評価可能な患者数

正常基礎体温群 (NOR)	314 (55.5%)
黄体機能不全群 (LI)	150 (26.5%)
無排卵周期群 (ANO)	68 (12.0%)
I 度無月経群 (AM I)	34 (6.0%)
総 数	566 (100.0%)

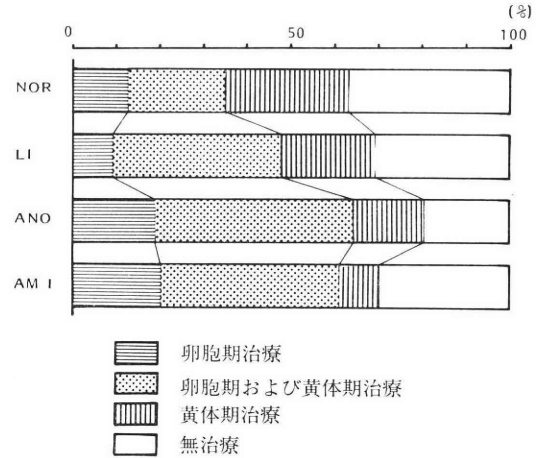


図 1 妊娠周期に諸治療の割合

適否を検討する際、不適と考えられ、今回の検討から除外した。なお、当期間中当科不妊外来患者総数2,928人中、妊娠に至ったのは836例(28.6%)である(表1)。原発性不妊患者2,125人中のうち、妊娠例は514例、妊娠率24.2%であったのに対し、続発性不妊患者803例では、妊娠例は322例、妊娠率40.0%であった。このうち今回の検討の対象とした妊娠例566例の内訳は正常基礎体温群314例、黄体機能不全群150例、無排卵周期群68例、I度無月経群34例であった(表2)。各群間の初経年齢、結婚年齢、初診年齢、妊娠年齢などについては有意な差を認めなかった(表3)。

結 果

1) 治療周期妊娠例の検討

妊娠周期合成排卵誘発剤単独投与 (Follicular treatment, clomiphene あるいは cyclofenil) の比率は正常基礎体温群が12.2% (40/314)、黄体機能不全群が9.3% (14/150)、無排卵周期群が19.1% (13/68)、I度無月経群が20.6% (7/34) であり、無排卵周期とI度無月経を合わせた一相性基礎体温症例の方が有意に高い事を示した(図1)。また合成排卵誘発剤単独および併用(黄体

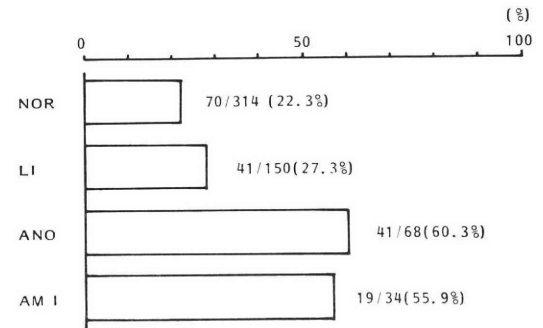


図 2 妊娠周期における clomiphene 使用の割合

期 hCG 投与またはゲスタノン投与) 療法の同一妊娠例全体でみると clomiphene 投与周期に妊娠の成立したのは22.3% (70/314)、黄体機能不全群では27.3% (41/150) と30%未満であるのに対し、無排卵周期群で60.3% (41/68)、I度無月経群が55.9% (19/34) と50%以上であり、後2群の一相性基礎体温症例の方が有意 (P<0.005) に高値を示した(図2)。

一方、妊娠成立周期での cyclofenil の使用頻度は正常基礎体温群が12.7% (40/314)、黄体機能不全群が20.0% (30/150)、無排卵周期群が4.4% (3/68)、I度無月経

表 3 対象群の背景

	初経年齢	結婚年齢	初診年齢	妊娠年齢
正常基礎体温群	13.1±1.2*	23.9±2.5	27.8±3.1	28.7±3.3
黄体機能不全群	13.3±1.2	24.0±2.8	27.5±3.2	28.6±3.4
無排卵周期群	13.8±2.0	23.6±2.2	26.8±2.8	28.1±3.2
I度無月経群	13.6±1.5	23.6±2.2	26.9±3.0	27.8±3.2

* : 平均±標準偏差

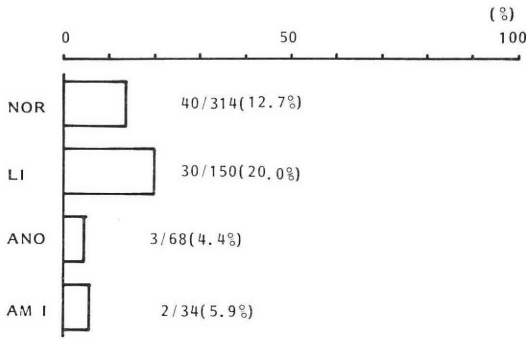


図 3 妊娠周期における cyclofenil 使用の割合

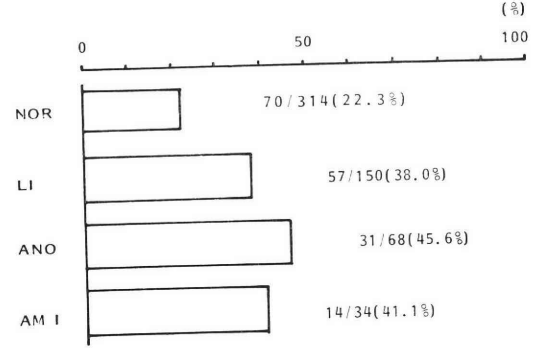


図 5 黄体期治療の割合 (卵胞期治療を含む)

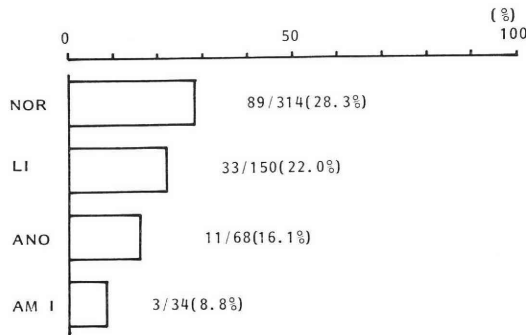


図 4 妊娠周期における黄体期治療の割合 (黄体期治療のみ)

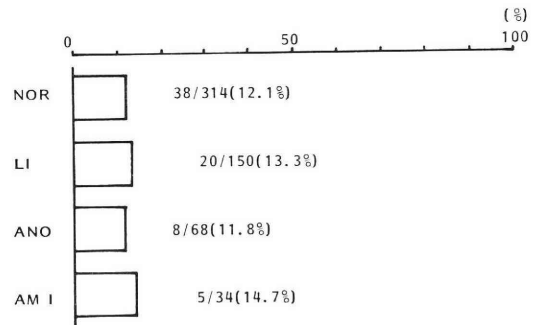


図 6 Rebound effect (休薬次周期の妊娠例の割合)

群が5.9% (7/34) であり, clomiphene に反して, 二相性基礎体温群の方が使用症例の割合が高かった(図3)。

また, 黄体期だけに hCG あるいはゲスタゲンの投与 (Luteal treatment) を行なった割合は, 正常基礎体温群が28.3% (89/314), 黄体機能不全群が22.0% (33/150), 無排卵周期群が 16.2% (11/68), I 度無月経群が8.8% (3/34) であり, 二相性基礎体温群の方がより高い割合を示した (図4)。

次に卵胞期および黄体期の双方に治療を行なった比率は正常基礎体温群が 22.3% (70/314), 黄体機能不全群が38.0% (57/150), 無排卵周期群が45.6% (31/68), I 度無月経群が41.1% (14/34) であつた。一相性基礎体温症例の方が高い割合を示した (図5)。

一方, 妊娠周期に無治療症例の比率では正常基礎体温群が36.7% (115/314), 黄体機能不全群が30.7% (46/150), 無排卵周期群が19.1% (13/68) I 度無月経群が 29.4% (10/34) であつた (図1)。

2) 休薬周期妊娠例の検討

治療後初回の休薬周期に妊娠したのは正常基礎体温群が12.1% (38/314), 黄体機能不全群が13.3% (20/150), 無排卵周期群が 11.8% (8/68), I 度無月経群が14.7%

(5/34) である。これを rebound effect として, 図6に示した。

考 案

当期間中, 当科不妊外来の患者総数 2,928例に対し, 836例 (28.6%) が妊娠した。これは山本ら¹⁾の報告の 44.0%より低いが, 寺田ら²⁾の18.1%, 中居³⁾の25.7%, 白水⁴⁾の21.9%, 松山⁵⁾の29.5%とほぼ一致している。原発性不妊症例の妊娠率24.2%に対し, 続発性不妊症例の妊娠率が40.0%であつた。これも諸家の報告と同じく, 続発性不妊の方が妊娠率が高い事が示されている。

不妊症の原因は男性因子, 女性因子, 原因不明 (いわゆる機能性不妊) と大きく分類されている。今回われわれは女性因子のうち, 排卵性の因子を基礎体温によって, 正常基礎体温群, 黄体機能不全群, 無排卵周期群, I 度無月経群の 4 群について妊娠に至つた治療内容を検討した。

正常基礎体温群のうちには機能性不妊, 頸管因子の症例も含まれている。この群の背景, 不妊期間, 治療期間は他の群に比して有意な差が認められなかつたが, 妊娠例の22.3%が当周期に clomiphene の投与を受けてお

り、12.7%が cyclofenil によつて妊娠した事から排卵性の二相性体温の場合でも、卵胞期の排卵誘発剤の使用が卵胞発育の促進、黄体機能の賦活を行なうようによつて、妊娠を成功させた事が考えられる。このことを裏付けるように Dodson^{6,7)}は経目的採血によつて、正常な排卵周期を有する不妊患者にも黄体発育不全を疑わせるホルモン変動を認め、卵胞期および前周期の黄体期末の FSH 刺激が不足し、卵胞の発育が不良に続いて、黄体期の E₂ や progesterone の分泌が低下し、妊娠着床が維持できないとし、さらに基礎体温が正常であつても、LH-surge 前の E₂ peak が正常婦人に比し低く、LH-Rh 放出に対する視床下部への rebound effect が作動できないので、未熟な卵胞が黄体化し、一部が unruptured luteal follicle に成ると提言している。そして、排卵性周期を有する婦人に clomiphene 投与後 E₂ peak level、全周期にわたつて E₂ level、黄体期に progesterone level の上昇も認め、clomiphene の投与により、卵胞発育が改善され、黄体機能が良くなると結論している。それらに対する clomiphene の作用について、Adashi⁸⁾は視床下部、下垂体または卵巣に直接刺激を与えて、各臓器の総合反応または相互作用によつて表われるとした。これらのことは今回われわれの検討に正常基礎体温群が22.3%、黄体機能不全群に27.3%が clomiphene 投与の周期に妊娠した事実からも裏付けられ、他にはつきりした原因の認められない二相性基礎体温婦人患者にも積極的に clomiphene を投与し、effective ovulatory cycle をつくる必要が示唆されている。また、一相性基礎体温を有し視床下部機能正常、十分な内因性エストロゲン分泌を有する患者に対して clomiphene 投与による排卵の mechanism は投与中より LH、FSH が急速に増加し、高値を保ち、これに続いて、E₂ level も上がつて、視床下部に negative feedback の作用を呈し、Gn-Rh の分泌を抑制し、FSH および LH level が下がり、その後の E₂ の feedback effect によつて、LH surge が起きて、排卵が起きるとされている⁹⁾。しかし、前にも述べたように、近年諸家の研究で分かるように clomiphene の効果は reproductive axis の各臓器の総合反応によつて表われる。われわれの今回の調べでは無排卵周期群の60.3% (41/68)、I 度無月経群の55.9% (19/34) が妊娠当周期に clomiphene 投与したこともその有効性を裏付けている。

しかし、clomiphene の頸管粘液に対する anti-estrogenic effect により、粘液分泌の低下、長期間投与により reproductive axis 反応性の低下を考慮、または上述の clomiphene の繰り越し効果も期待して、休薬期を設ける事も必要である。これが妊娠周期の卵胞期に無投薬

の割合が正常基礎体温群は65.0% (204/314)、黄体機能不全群で52.7% (79/150) を示した事でも裏付けられる。反面、無排卵性周期群、I 度無月経群ではそれがそれぞれ35.3% (24/68)、38.2% (13/34) と低率であつた。これは白河¹⁰⁾の前の発表にも述べたように、二相性基礎体温群には間歇投与が必要であり、一相性体温群では一定量の維持が有効である事を示唆している。

臨床的に良く使用されている合成排卵誘発剤の cyclofenil は clomiphene に比し排卵誘発作用が弱く、頸管粘液減少の副作用が少ないとされている。その作用機序も clomiphene と同様に視床下部、下垂体に働きかけ、内因性のゴナドトロピン、とくに LH 分泌を促すとともに、卵巣にも直接あるいは間接的に作用し、卵胞の発育、ステロイド産生を促進して、排卵を引き起こさせると考えられている^{10,11)}。

今回、われわれの検討結果では当周期の cyclofenil の使用は無排卵性周期群の4.4%とI度無月経群の5.9%であるのに対し、二相性基礎体温の正常体温群が12.7%、黄体機能不全群が20.0%であり、二相性基礎体温の症例に対し cyclofenil 投与の効果を示した。この事から、cyclofenil は基礎体温二相性の症例に対しての治療にも有用であると考えられる。

黄体賦活または補充療法として、hCG やゲスタノンの投与を行なつた妊娠例は正常基礎体温群では50.5%であり、そのうちに黄体期治療のみのものは28.3%であつた。これは Dodson⁷⁾が報告した通り、正常排卵周期の女性にも黄体期に progesterone 分泌の低下がみられ、積極的な黄体賦活もしくは補充療法を施す事により、子宮内膜の発育を促進して、妊卵の着床または初期胚の発育に有益である事が推測される。

一方、黄体機能不全群に対する治療としては従来ゲスタゲンによる補充療法あるいは hCG による黄体賦活療法が良く行なわれている。今回われわれの検討では黄体機能不全群の中で黄体賦活もしくは補充療法のみを受け妊娠にいたつたものは22.0%であつたのに対し60.0%が卵胞期、黄体期を通して治療を受けていた。この事は黄体機能不全の原因は卵胞期にもあり、卵胞期の卵胞刺激により改善される事も可能である事を示している。

結 論

- 1) 排卵障害には、clomiphene を first choice として使い、頸管粘液不良例に対しては cyclofenil も用いられるべきである。
- 2) 二相性体温を有する不妊患者にも積極的に cyclofenil や clomiphene の投与を試みるべきである。
- 3) 卵胞期投薬に続いて、黄体期の治療も有用である。

4) 排卵誘発剤投与に、一相性体温の排卵障害群は連続投与、二相性体温不妊患者には、休薬期間が必要である。

(本稿の要旨は第29回日本不妊学会において発表した。)

文 献

- 1) 山本 弘, 遠藤俊明, 幡 洋, 藤井美穂, 下谷保治, 東口篤司, 佐藤卓広, 田中昭一, 橋本正淑: 当科に於ける最近5年間の不妊症の臨床統計, 日不妊会誌, 29: 394, 1984.
- 2) 寺田夏樹, 前川岩夫, 内藤正文, 小堀恒夫, 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.
- 3) 中居光生, 馬嶋恒夫, 西島正博, 尾崎周一, 前田 徹, 新井正夫, 長内国臣: 当科における不妊外来統計, 日不妊会誌, 25: 506, 1980.
- 4) 白水充典, 平井ひろみ, 河田文字, 藤本 俊, 有馬昭夫, 下村 宏, 加藤 俊: 最近5年間の当教室不妊外来の臨床統計, 日不妊会誌, 27: 59, 1982.
- 5) 松山明美, 白須和裕, 大森治郎, 鈴木直行, 上村次雄: 当教室における不妊クリニック患者の推移, 日不妊会誌, 26: 313, 1981.
- 6) Dodson, K. S., Macnaughton, M. C. and Coutts, J. R. T.: Infertility in women with apparently ovulatory cycles. *British J. of Obs. & Gyn.*, 82: 615, 1975.
- 7) Dodson, K. S., Macnaughton, M. C. and Coutts, J. R. T.: Infertility in women with apparently ovulatory cycles, 1. The effects of clomiphene treatment on the profiles of gonadotrophin and sex steroid hormones in peripheral plasma. *British J. of Obs. & Gyn.*, 82: 625, 1975.
- 8) Adashi, E. Y.: Clomiphene Citrate, mechanism (S) and site (S) of action a hypothesis revisited. *Fertil. & Steril.*, 42: 331, 1984.
- 9) Cantor, B.: Induction of ovulation with Clomiphene Citrate. *Sciarra Obstetrics and Gynecology*, Chapter 68, Harper & Row, 1984.
- 10) 奥山通雄: 排卵誘発剤 sexovid の臨床効果, ホと臨床, 23: 73, 1975.
- 11) 田村 貴, 玉田太郎: Sexovid 療法と妊娠, ホと臨床, 29: 19, 1977.
- 12) 白河尚子, 吉田信隆, 鈴木康之, 占部 清, 林信旨, 早田幸司, 鎌田恒子, 林 泰堂, 清水健治, 小林俊三, 秋本暁久, 関場 香: 不妊治療における排卵誘発剤使用の臨床的検討, 日不妊会誌, 29: 31, 1984.

Clinical review of the conception cycles

**Yaw-tyng Lin, Keiji Shintani, Ryu Inoue,
Shiro Takahashi, Kenji Shimizu,
Nobutaka Yoshida and Kaoru Sekiba**

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

A retrospective study from 1973 to 1982 was made over the conception cycles of the infertility patients. The administration of the chemical inducers and hormones were reviewed for the patients with complete BBT records for evaluation. A total of 2,928 patients were treated and 836 cases (28.6%) of pregnancy were achieved after treatment. 566 patients with normal gonadotropin and endogenous estrogen were divided into 4 groups--normal BBT group (314 cases), luteal insufficiency group (150 cases), anovulation group (68 cases) and 1st grade amenorrhea group (34 cases).

Clomiphene administration with or without luteal replacement therapy at the fertile cycle was 22.3% with normal BBT group, 27.3% with luteal insufficiency group, 60.3% with anovulation group and 55.9% with 1st grade amenorrhea group individually. Cyclofenil usage with normal group was 12.7%, with luteal insufficiency group 20.0%, with anovulation group 4.4% and with 1st grade amenorrhea group 5.9%. Clomiphene is effective for patients with either monophasic BBT or biphasic BBT. Cyclofenil is also beneficial for biphasic BBT patients.

Luteal replacement therapy with hCG or (and) gestagens is also helpful in accomplishing pregnancy for the biphasic patients as evidenced by 28.3% with normal BBT group, 16.1% with luteal insufficiency group, 16.1% with anovulation group and 8.8% with 1st grade amenorrhea group. However, replacement therapy following ovulation induction is quite useful for monophasic patients as 45.6% with anovulation, 41.1% with amenorrhea group, 25.8% for normal BBT group, 38.0% for luteal insufficiency group patients.

Carrying over effect is also seen by 12.1% with normal BBT group, 13.3% with luteal insufficiency group, 11.8% with anovulation group and 14.7% with 1st grade amenorrhea group.

For anovulatory patients, chemical inducer followed by luteal replacement therapy is the therapy of choice. For those with biphasic BBT, trial with chemical inducers and luteal replacement is also beneficial.

(受付: 昭和60年10月24日)

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、原則として未発表のものに限る。
3. 1論文は、原則として印刷6頁（図表を含む）以内とし、超過頁並びに特に費用を要する図表および写真に対しては実費を著者負担とする。
4. 綜説、原著、論説、臨床報告等には必ず400字以内の和文抄録並びに、ダブルスペース2枚以内の欧文抄録(題名、著者名、所属を含む)を添付すること。
5. 図表並びに写真は稿末に一括して纏め、符号を記入しかつ本文中に挿入すべき位置を明示すること。
6. 記述は、和文又は欧文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。

a. 雑誌の場合

著者名：題名、誌名、巻数：頁数、年次

原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげる。

誌名は規定または慣用の略字に従うこと。特に号数を必要とする場合は、巻数と頁数との間に入れて括弧で囲む、すなわち

著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次

- 例 1. Kilbourne, N. J. : Varicose veins of pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynec. 25 : 104, 1933
2. 足高善雄, 竹村喬, 美並義博 : 最近1カ年間の我が教室に於ける外来不妊患者の統計的観察, 日不妊誌, 4 : 13, 1959
3. 中島精, 中村正六, 角田英昭 : 人工妊娠中絶と妊孕性, 日不妊誌, 2(4) : 38, 1957

b. 単行本の場合

著者名：題名、巻数：頁数、発行所、年次

- 例 1. Rovinsky, J. J., and Guttmacher, A. F. : Medical, Surgical and Gynecological Complications of Pregnancy, ed 2 : p 68, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1965
9. 原稿の採否、掲載順位その他編集に関する事項は編集会議で決定する。掲載は、原則として受付順による。
10. 特別掲載を希望する場合は、受付順序によらず、すみやかに論文を掲載する。この際は掲載に要する実費は全額著者負担としかつ特別掲載料を納付する。
11. 掲載の原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。(但し、特に費用を要した場合は、その一部を著者負担とすることがある) それ以上を必要とする場合は、原稿に総別刷部数を朱書すること。30部を越す分についての実費は著者負担とする。
12. 投稿先および諸費用の送付先は、東京都中央区日本橋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 3 号

昭和 61 年 6 月 25 日 印 刷
昭和 61 年 7 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