

ISSN  
0029-0629  
CODEN:NFGZAD

# JAPANESE JOURNAL OF FERTILITY AND STERILITY

*Vol. 33* No. 2

April  
1988

# 日本不妊学会雑誌

第33卷 第2号

昭和63年4月1日

Jpn. J. Fertil. Steril. 日本不妊学会誌 日本不妊学会発行

# 会 告

## 第 33 回日本不妊学会総会および学術講演会

### (第 2 回予告)

第 33 回日本不妊学会総会および学術講演会を下記の要領にて開催いたします。会員の皆様方の多数の御参加をお願い申し上げます。

#### 日時・会場

学術集会 昭和63年11月15日(火)、16日(水) ……国立京都国際会館  
理事会・幹事会 昭和63年11月14日(月) ……京都ロイヤルホテル  
総会・評議員会 昭和63年11月15日(火) ……国立京都国際会館  
国立京都国際会館 〒606 京都市左京区宝ヶ池 TEL 075-791-3111  
京都ロイヤルホテル 〒604 京都市中京区河原町三条上る恵比須町 426  
TEL 075-223-1234

#### 学術講演会

本講演会では、招請講演、特別講演、シンポジウム、一般講演などを行う予定です。シンポジウムの詳細については、追ってお知らせいたします。

一般講演には、多数の演題をお申込み下さいますようお願い申し上げます。なお今回、ポスターセッションを重要視し、演題数の約半分をポスターセッションにしたいと考えています。ご応募の方は、申込要領に従い、締切期日を厳守して下さい。

#### I. 会長招請講演

「New Technology in the Field of Animal Reproduction」

Robert H. Foote 教授 (コーネル大学農学部)

司会 入谷 明 教授 (京都大学農学部)

#### II. 特別講演

##### 1. 精子の運動生理

毛利 秀雄 教授 (東京大学教養学部)

司会 正木 淳二 教授 (東北大学農学部)

##### 2. 黄体機能の調節とその異常

森 崇英 教授 (京都大学産婦人科)

司会 飯塚 理八 教授 (慶応義塾大学産婦人科)

##### 3. 副睾丸におけるアンドロジェン代謝と精子成熟にかかわる因子

穂坂 正彦 教授 (横浜市立大学泌尿器科)

司会 大島 博幸 教授 (東京医科歯科大学泌尿器科)

### III. シンポジウム

1. 初期発生に関する諸問題
2. 男性副性器障害の基礎と臨床

### IV. 一般講演

#### 演題申込資格

講演者(共同発表者を含む)は本会会員に限ります。会員以外の方は演題申込と同時に、昭和63年度会費(8,000円)を納入の上、会員となって下さい。

#### 演題申込要領

1. 抄録を所定の抄録用紙にタイプで打ち書留郵便にて下記にお送り下さい。  
〒606 京都市左京区北白川追分町  
京都大学農学部畜産学教室内  
第33回日本不妊学会事務局  
(担当：内海恭三)  
TEL. (075) 751-2111 ext. 6059, 6057, 6058
2. 抄録は800字以内、図、表はつけないで下さい。
3. 一施設より2題以上の出題のときは、順位をつけて下さい。
4. 別紙演題申込書、受取書、採用通知書に所定事項を記入し、切手を貼り抄録用紙および抄録用紙コピー3部とともに送って下さい。
5. 申込締切：昭和63年7月20日(必着)

#### 演題発表方法

講演時間は7分、討論時間は3分の予定です。スライドプロジェクターは各会場とも1台とします。スライド枚数は10枚以内とします。また、ポスターセッションを御希望の方はポスターのところに○印をつけて下さい。なお、発表形式の最終決定は事務局に御一任願います。ポスターボードの大きさや討議の様式は、採用者に後日御連絡いたします。

#### 参加申込方法

学会当日、会場にて受付けます。

学会参加費 7,000円

総懇親会費 7,000円

総懇親会は学会第1日の終了後に同京都国際会館で行う予定です。

昭和63年4月

第33回 日本不妊学会

会長 入谷 明

# 日本不妊学会誌

## 第33巻 第2号

昭和63年4月1日

### ——目 次——

#### 原 著

- ヒト精漿中亜鉛および酸フォスファアーゼに関する検討  
(ヒト精漿成分に関する研究 第3報) …………… 斎藤誠一・他 …… 1
- 当科で施行している精子 swim up 洗浄濃縮法を用いた AIH の有用性に関する研究  
…………… 吉野和男・他 …… 7
- ヒト型モノクローナル精子不動化抗体を用いて分析した  
精子不動化関連抗原の多様性…………… 小林真一郎・他 …… 12
- 精細管内 Androgen 濃度の研究  
第一報…………… 入江 伸・他 …… 18
- 男性不妊症患者精子の運動能におよぼす  
caffeine と kallikrein の基礎的研究…………… 小川 肇・他 …… 26
- ハムスターテストと一般精液検査との  
関連性についての検討…………… 高橋健太郎・他 …… 33
- 精子無力症における精子の微細構造について  
第2報 immotile cilia syndrome の1例…………… 佐藤和宏・他 …… 39
- 不妊を主訴として来院した XX male の一例…………… 佐藤安男・他 …… 43
- 培養液内におけるヒト精子運動形態の変化…………… 星 和彦・他 …… 50
- Luteinizing Hormone Responses  
to Metoclopramide in Normal  
Women During the Various Phases of  
the Menstrual Cycle…………… K. SEKI & K. KATO …… 61
- “排卵誘発療法における最近開発された  
簡易スライド法による尿中エストロゲン値と  
RIA による血中エストラジオール値との相関” …………… 高倉賢二・他 …… 65
- 女子運動選手の視床下部—下垂体系機能…………… 目崎 登・他 …… 73
- 種々の HMG 製剤中に含有される FSH  
および LH の免疫学的活性と生物学的活性 …………… 浜田雄行・他 …… 79
- HMG-hCG 療法における  
副作用発現因子に関する実験的研究…………… 淵 利雄 …… 86
- Two Step Sandwich 法に基づく LH・RIABEAD  
FSH・RIAEAD の検討と臨床応用…………… 竹下茂樹・他 …… 98

体重減少性無月経の長期的予後に関する検討	堂地 勉・他	105
BBT 高温 16 日の HCG 値による妊娠, およびその予後の判定	假野隆司・他	112
正プロラクチン血症軽度排卵障害に対する プロモクリプチン療法	林 伸旨・他	120
正プロラクチン血症性不妊患者における Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH)負荷試験の意義	山本稔彦・他	128
一過性高プロラクチン血症に対する 臨床的研究	長田久文・他	135
卵管不妊に関する臨床病理学的研究	西村順一	139
マイクロサージェリーによる 卵管形成術の成績と流産例の検討	野口昌良・他	151
A Case of Successful Double Tubal Anastomosis on a Single Oviduct	S. HANADA et al.	157
経膈探触子を用いた 超音波採卵の有用性に関する検討	見尾保幸・他	160
Tōki-Syakuyaku-San Stimulates Cyclic Adenosine 3', 5'-Monophosphate Accumulation and Deoxyribonucleic Acid $\alpha$ -Nucleotidyltransferase Activity in Rat Ovaries	S. USUKI	167
Kallmann 症候群の妊娠成功例	山本 弘・他	179
Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome- Observations on 10 Cases	H. OTA et al.	185
Translocation (X; 8) (q22.3; p21.1) in a Female with Gonadal Dysgenesis	S. YAMASHITA et al.	193
排卵直前マウス卵胞卵の新生仔への発生能に及ぼす 卵子前培養の効果について	中潟直己・田中 温	197
IUD のマウス受精卵に及ぼす影響について	竹内一浩・他	201
ラットにおける受精卵の着床に及ぼす 非病原性細菌の影響について	内山保浩・他	207
Interruption of Pregnancy by RU486, an Antiprogestosterone Compound and Subsequent Reproductivity in Rats	M. UMEZU et al.	213
<b>総 説</b>		
遺伝子が予測される精子の形態異常：尾部	小島義夫	220
地方部会講演抄録		234

# Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 33, No.2 1988)

Japan Society of Fertility and Sterility

## CONTENTS

### Originals

- Studies of Human Seminal Zinc and Acid Phosphatase.  
(Studies of Human Seminal Plasma: Report 3) .....S. Saito, K. Ohno,  
N. Mikuma & Y. Kumamoto ..... 1
- Clinical Studies on Artificial Insemination with Husband's Semen (AIH)  
Using the Method of Swim up and  
Washed Spermatozoa .....K. Yoshino, K. Ryuko, M. Kusakari,  
T. Shirai, A. Nishigaki, K. Takahashi & M. Kitao ..... 7
- Heterogeneity of Human Sperm Antigens Associated  
with Sperm Immobilization:  
Analyses Using Human Sperm-immobilizing  
Monoclonal Antibody .....S. Kobayashi, H. Shibahara, H. Sawai,  
K. Yokoyama, M. Shigeta,  
K. Koyama & S. Isojima ..... 12
- Study of Intratubular Androgen Levels Report 1 .....S. Irie, T. Ohashi, Y. Ohashi,  
M. Furukawa, A. Nagai,  
Y. Yamashita & H. Ohmori ..... 18
- The Fundamental Studies of Caffeine and Kallikrein  
on Sperm Motility in Male Infertility .....H. Ogawa, H. Tashiro,  
H. Yoshida & K. Imamura ..... 26
- Correlation Between the Zone-free  
Hamster Egg Sperm Penetration Test  
and Seminal Examinations .....K. Takahashi, K. Yoshino, T. Takagi,  
T. Shirai, A. Nishigaki,  
A. Uchida, M. Kusakari & M. Kitao ..... 33
- Fine Structure of Asthenozoospermia in Infertile Men  
2. Immotile Cilia Syndrome Report of a Case .....K. Satoh, H. Ishikawa,  
I. Maehara, S. Satoh, M. Kimura & S. Orihara ..... 39
- XX Male in a Case of Male Infertility .....Y. Sato, T. Hamada, J. Igarashi,  
K. Okada & T. Kishimoto ..... 43
- Movement Characteristics of Human  
Spermatozoa In Vitro .....K. Hoshi, K. Yanagida, T. Aita & A. Sato ..... 50

Luteinizing Hormone Responses to Metoclopramide in Normal Women During the Various Phases of the Menstrual Cycle .....	<i>K. Seki &amp; K. Kato</i> .....	61
Correlation of the Levels of Urinary Estrogens by Newly Developed Three-minute Assay with Those of Serum Estradiol by RIA in Patients under Ovulation Induction .....	<i>K. Takakura, S. Taii, A. Ohara, M. Fukuoka, I. Takai, K. Tatsumi, Y. Noda &amp; T. Mori</i> .....	65
Hypothalamic-Pituitary Function in Female Athlete	<i>N. Mesaki, M. Motobu, J. Sasaki, M. Shoji &amp; H. Iwasaki</i> .....	73
Immunological and Biological Activities of FSH and LH in the Various HMG Preparations .....	<i>K. Hamada, H. Suginami &amp; S. Matsuura</i> .....	79
Experimental Studies on the Onset Factors of Side Effects in HMG-hCG Therapy .....	<i>T. Fuchi</i> .....	86
Clinical Application of LH • FSH RIABEAD Based on a Two-step Sandwich Method .....	<i>S. Takeshita, T. Ohkawa, M. Kobayashi, S. Arakawa, S. Yoshimura, A. Kambegawa S. Okinaga &amp; K. Arai</i> .....	98
Long Term Follow-up of Amenorrhea Associated with Weight Loss.....	<i>T. Douchi, Y. Nagata, G. Nakamura, T. Onoue &amp; H. Nakano</i> .....	105
Diagnosis of Pregnancy and Prognosis by the Serum HCG Level at 16th day of Hyperthermia of BBT .....	<i>T. Kano, A. Izuma &amp; M. Ito</i> .....	112
Bromocriptine Therapy for Normo-prolactinemic Ovarian Insufficiency .....	<i>N. Hayashi, N. Yoshida, T. Akimoto, M. Hongoh, S. Katayama, H. Ito, E. Okada, J. Shimizu, K. Miyano, Y. Nanba, T. Mori, N. Kubo, T. Mori, M. Kawamoto &amp; R. Motomori</i> .....	120
Prolactin Secretion induced by Thyrotropin- Releasing Hormone (TRH) in Normo- Prolactinemic Infertile Women .....	<i>T. Yamamoto, Y. Naka, N. Toyoda, M. Hamaguchi, M. Nishiyama, A. Naka, T. Yamawaki, H. Nomura &amp; Y. Sugiyama</i> .....	128
Clinical Studies of Transient Hyperprolactinemia on Sterility .....	<i>H. Osada, U. Mohri, T. Koshimizu &amp; T. Negishi</i> .....	135

Clinico-pathological Studies on the Tubal Infertility in Our Clinic.....	<i>J. Nishimura</i> .....	139
Studies on the Pregnancy and Miscarriage Rate after Microsurgical Tubalplasty in Our Clinic .....	<i>M. Noguchi, S. Hieda, T. Akita, T. Yamazaki, M. Asai &amp; M. Ishihara</i> .....	151
A Case of Successful Double Tubal Anastomosis on a Single Oviduct .....	<i>S. Hanada, I. Takeuchi, K. Mizuno &amp; Y. Yagami</i> .....	157
Evaluation of Ultrasonic Transvaginal Oocyte Collection for IVF-ET .....	<i>Y. Mio, T. Iwabe, A. Sekijima, M. Tanikawa, H. Terado, T. Toda, T. Wada, K. Iwamoto, A. Kikukawa &amp; K. Maeda</i> .....	160
Tôki-Syakuyaku-San Stimulates Cyclic Adenosine 3', 5' - Monophosphate Accumulation and Deoxyribonucleic Acid $\alpha$ - Nucleotidyltransferase Activity in Rat Ovaries .....	<i>S. Usuki</i> .....	167
Case Report of Successful Conception in Kallmann's Syndrome .....	<i>H. Yamamoto, T. Endoh, A. Azumaguchi, S. Tanaka &amp; M. Hashimoto</i> .....	179
Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome- Observations on 10 Cases .....	<i>H. Ota, M. Fukushima, H. Kodama &amp; M. Maki</i> .....	185
Translocation (X; 8) (q22.3; p21.1) in a Female with Gonadal Dysgenesis .....	<i>S. Yamashita, T. Ito, N. Kinashi, A. Yakabe &amp; A. Takasaki</i> .....	193
Effect of Preincubation on Development of Preovulatory Oocytes to Normal Young in Mice .....	<i>N. Nakagata &amp; A. Tanaka</i> .....	197
Study on the Effect of IUD on Mouse Embryos .....	<i>K. Takeuchi, S. Hukumoto &amp; Y. Nagata</i> .....	201
Effect of the Infection of Non-pathogenic Bacteria in the Uterus on the Successful Implantation of Blastocysts in Rats .....	<i>Y. Uchiyama, T. Fukuyasu &amp; K. Ashida</i> .....	207
Interruption of Pregnancy by RU486, an Antiprogestosterone Compound and Subsequent Reproductivity in Rats.....	<i>M. Umezu, M. Tadano, T. Furusawa, S. Ishii, J. Masaki, T. Sankai, T. Endo &amp; Y. Sakuma</i> .....	213
<b>Review</b>		
Morphologically Abnormal Spermatozoa Suspected Inheritance: Tail .....	<i>Y. Kojima</i> .....	220

# ヒト精漿中亜鉛および酸フォスファターゼに関する検討 (ヒト精漿成分に関する研究 第3報)

## Studies of Human Seminal Zinc and Acid Phosphatase. (Studies of Human Seminal Plasma: Report 3)

札幌医科大学泌尿器科学教室 (主任: 熊本悦明教授)

斎藤 誠一      大野 一典      三熊 直人  
Seiichi SAITO      Kazunori OHNO      Naoto MIKUMA  
熊本 悦明  
Yoshiaki KUMAMOTO

Department of Urology, Sapporo Medical College.  
(Director: Prof. Y. Kumamoto)

男子不妊症患者を中心に、ヒト精漿中亜鉛および酸フォスファターゼを測定した。亜鉛は、精漿中に正常者で  $140.2 \pm 74.4 \mu\text{g/ml}$  と高値を示し、精子数とは明らかな関係は認めないが、精子運動率において、60%以上の運動率を有した群で有意に高値であった。このことより、精漿中亜鉛は精子運動能に関係することが推測された。また、精管結紮例の精漿で  $72.8 \pm 50.8 \mu\text{g/ml}$ 、正常者前立腺液で  $40.8 \pm 21.2 \mu\text{g/ml}$  と測定され、前立腺等の副性器からの分泌が推測された。酸フォスファターゼに関しては、正常者で  $9.2 \pm 9.1 \text{IU/L}$  の値であり、精子濃度、精子運動率との関係はみとめられなかった。また、精管結紮例の精漿中で  $27.7 \pm 27.4 \text{IU/L}$ 、正常者前立腺液中で  $25.0 \pm 5.9 \text{IU/L}$  と、ともに高値であり、精漿中酸フォスファターゼの分泌は主に前立腺によるものと考えられた。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 219-224, 1988)

### 緒 言

男子不妊症の診断は、その精液中の形態学的検討にはじまる。しかし、睾丸および副性器の機能を知るべく、精漿成分の検討も忘れてはならない存在である。精子の運動は前立腺により促進され、精囊腺により障害を受けるとされている。そして、精液の精漿成分は前立腺から13~33%、精囊腺から46~80%、その他球尿道腺や尿道腺より数%の分泌により成っているといわれている<sup>1)</sup>。

近年、ヒト精漿成分の生化学的および内分泌学的解明が着々となされ、その測定意義の検討が幾多報告されてきた。我々も、男子不妊症患者を中心に精

漿成分の検討を数々おこなってきた。今回は、ヒト精漿中亜鉛および酸フォスファターゼの測定を行ない検討をおこなったので報告する。

### 対象と方法

当科不妊外来を受診した男子患者を対象とした。精子数  $40 \times 10^6/\text{ml}$  以上を正常者群とし、 $20 \sim 39 \times 10^6/\text{ml}$  を軽度乏精子症群、 $1 \sim 19 \times 10^6/\text{ml}$  を高度乏精子症群とし、さらに無精子症、精管結紮例を加えた精漿ならびに正常者より採取した前立腺液を対象とし、Table-1の如く亜鉛および酸フォスファターゼを測定した。なお、精液は用手法にて採取し、容量、PH、精子数、精子運動率、精子奇形率、白血球数

Table 1. Sample

	No. for Zn	No. for Acid-phosphatase
normal	30	15
oligozoospermia		
1 - 19/ml	10	20
20 - 39/ml	11	12
azoospermia	2	11
vasectomized cases	4	4
normal prostatic fluid	4	4
total	61	66

等を測定後、10 分間 1000rpm で遠心し、上清を精漿とした。前立腺液は前立腺マッサージにて得た。

1) 亜鉛

測定は、Bristol Laboratories にて原子吸光スペクトロメーターを用いて行なった。

2) 酸フォスファターゼ

当院検査部にて、有機リン酸エステルを用いた Kind-King 法<sup>2)</sup>にて行なった。

結 果

1) 亜鉛

精漿中亜鉛の測定値は、Fig. 1 に示す様に正常者群で  $140.2 \pm 74.4 \mu\text{g/ml}$  であった。精子数で 4 群に分類し検討をおこなったが、有意な関係は認められなかった。

Fig. 2 に精子運動率との関係を示すが、60%以上の群 ( $n=31$ ) で  $152.9 \pm 70.4 \mu\text{g/ml}$ 、60%未満の群 ( $n=20$ ) で、 $104.0 \pm 62.1 \mu\text{g/ml}$  と両者の間には有意差 ( $P < 0.05$ ) が存在し、精漿中亜鉛は、精子運動率と関係することが示唆された。

また、Fig. 3 に示す如く、睾丸、副睾丸の精漿成分を含まない精管結紮例の精漿中で  $72.8 \pm 50.8 \mu\text{g/ml}$ 、正常者前立腺液中で  $40.8 \pm 21.2 \mu\text{g/ml}$  という測定結果であった。このことは、精漿中亜鉛は主に前立腺等の副性器から分泌されることが推測された。

炎症所見と比べると、精液中白血球数を Fig. 4 の如く分類し、精漿中亜鉛値を比較してみたが、少数例のためか明らかな関連性は認められなかった。

2) 精漿中酸フォスファターゼ

正常者精漿中酸フォスファターゼは  $9.2 \pm 9.1 \text{IU/L}$

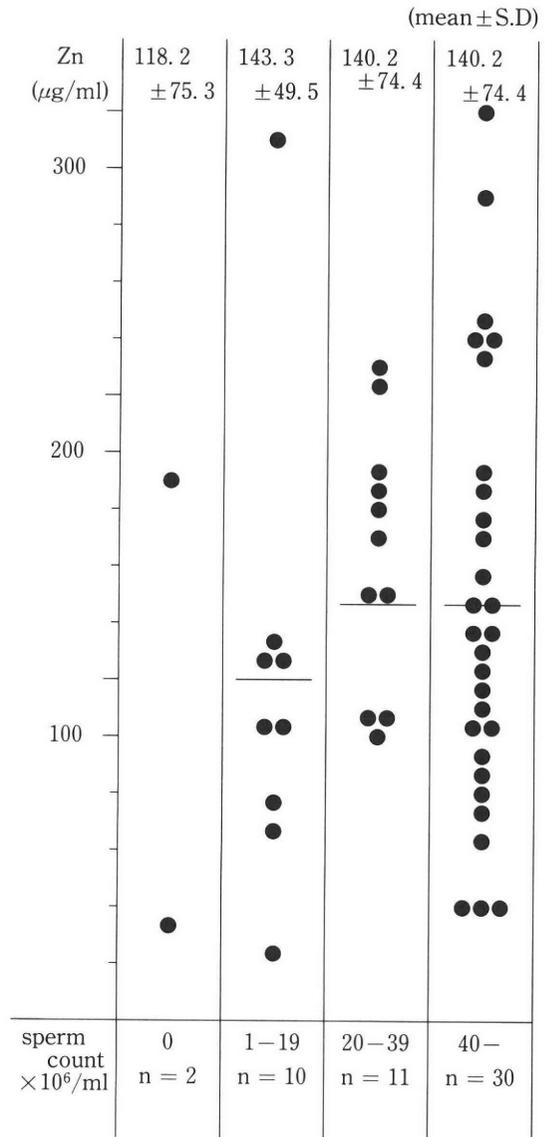


Fig. 1. Relationship between seminal Zn and sperm count

の値であった。

Fig. 5 に精子数との関係を、Fig. 6 に精子運動率との関係を示すが、有意な関係は認められなかった。

しかし、Fig. 7 に示すように、精管結紮例の精漿で  $27.7 \pm 27.4 \text{IU/L}$ 、正常者前立腺液で  $25.0 \pm 5.9 \text{IU/L}$  と、高値を示した。よって、精漿中酸フォスファターゼは前立腺から分泌されることが推測された。

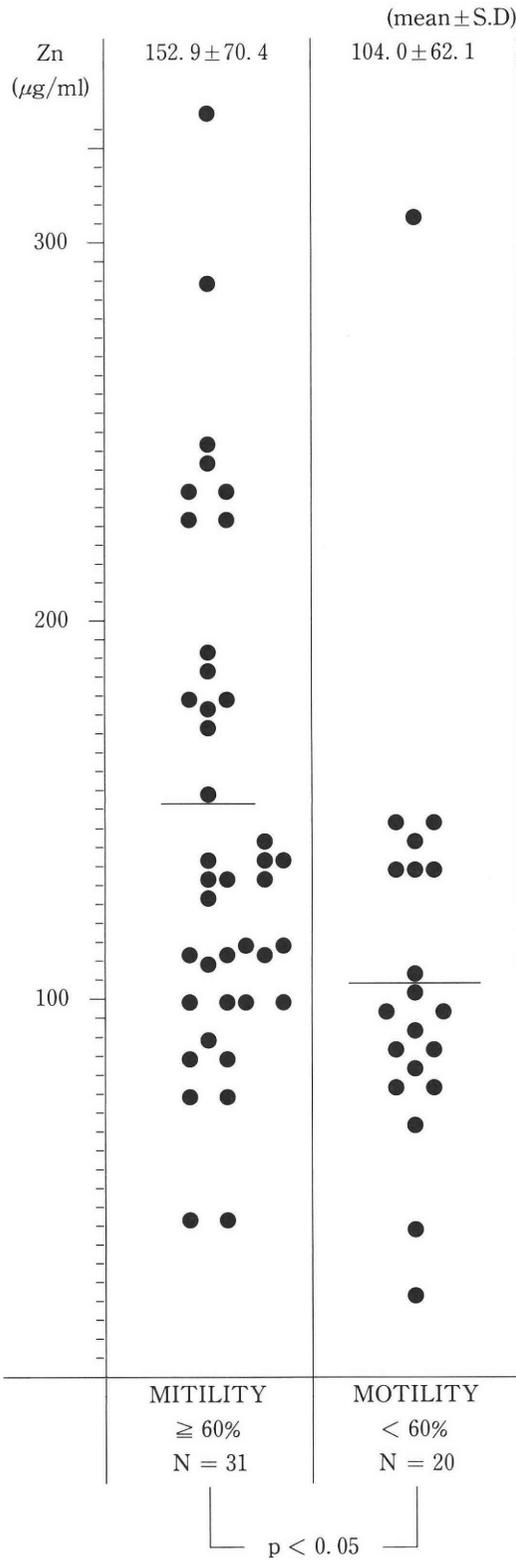


Fig. 2. Relationship between seminal Zn and sperm motility

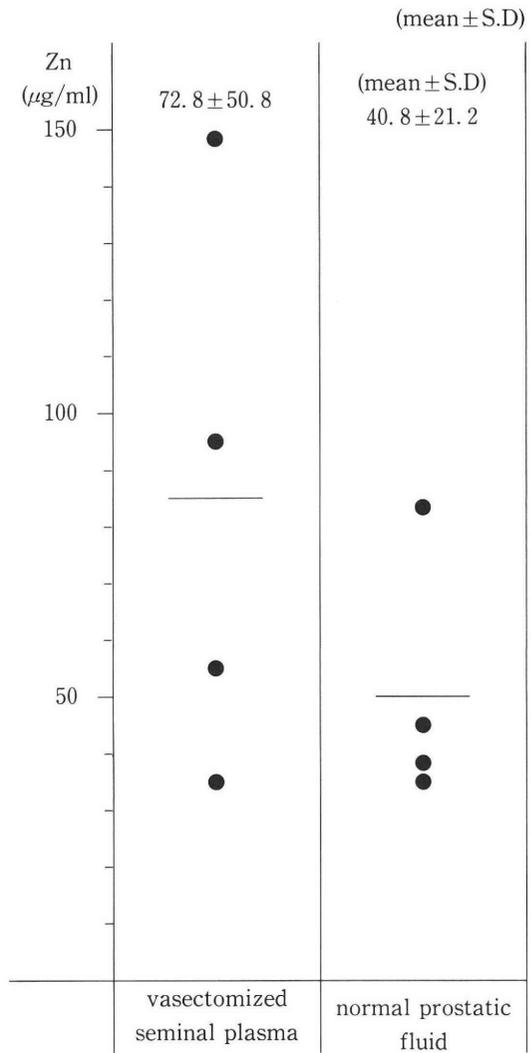


Fig. 3 Levels of seminal Zn vasectomized seminal plasma and normal prostatic fluid

WBC count (/F)	Level of seminal Zn (mean ± S.D)	
	(µg/ml)	
0-2	133.1 ± 65.1	(N = 36)
3-5	133	(N = 1)
6-10	282	(N = 1)
10-	184.1 ± 107.6	(N = 3)

Fig. 4 Relationship between seminal Zn and infection

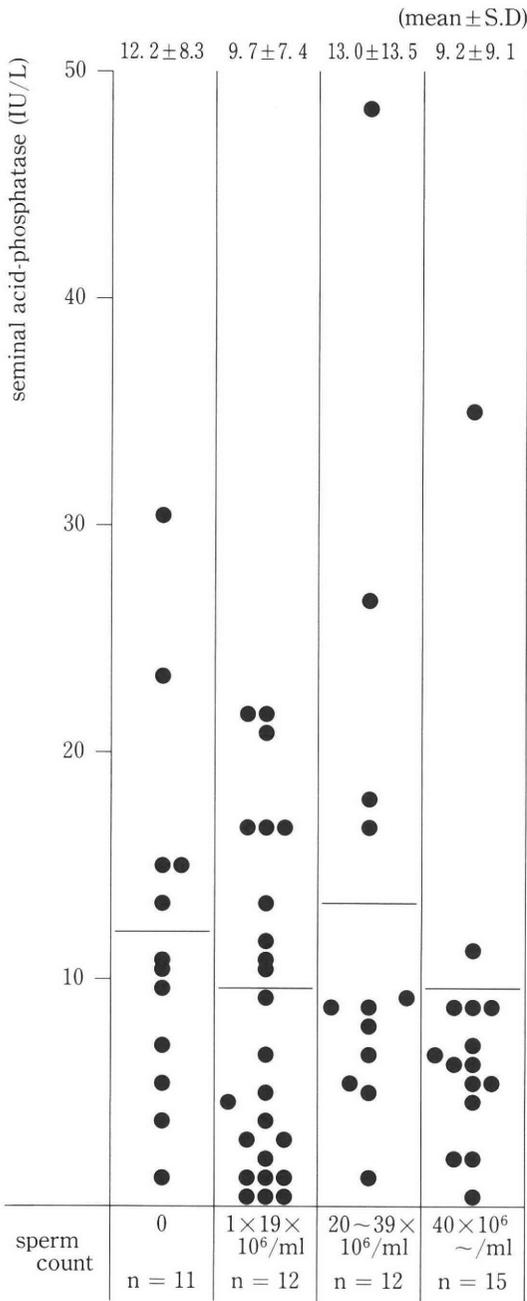


Fig. 5 Relationship between seminal acid phosphatase and sperm count

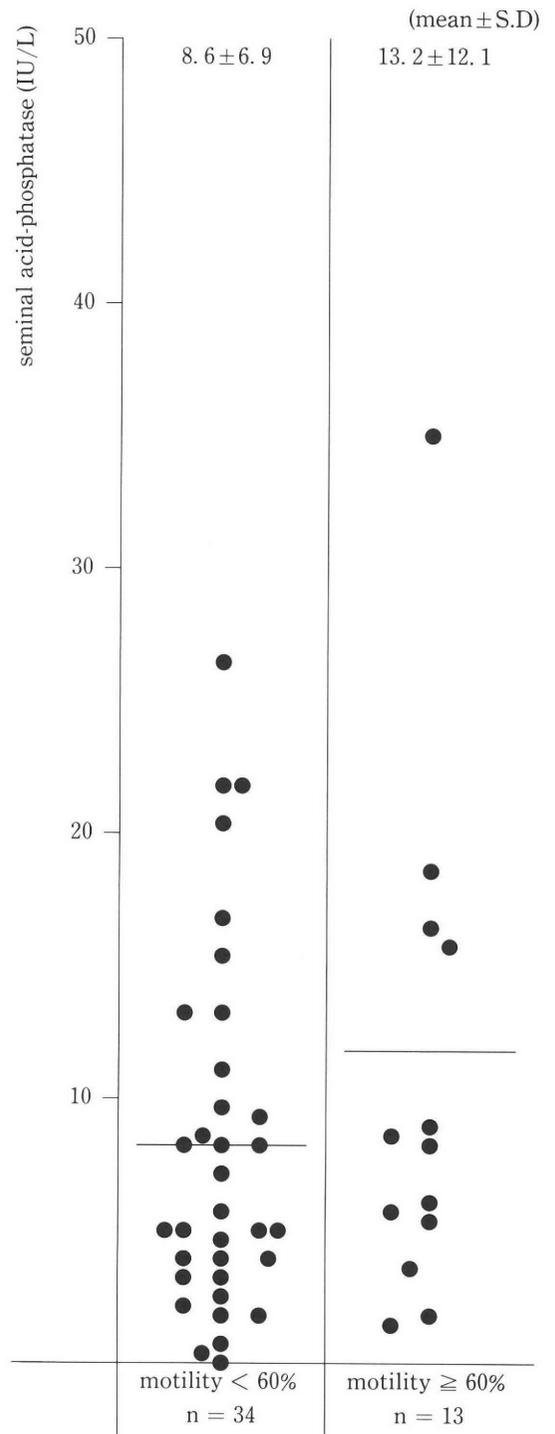


Fig. 6 Relationship between seminal acid phosphatase and sperm motility

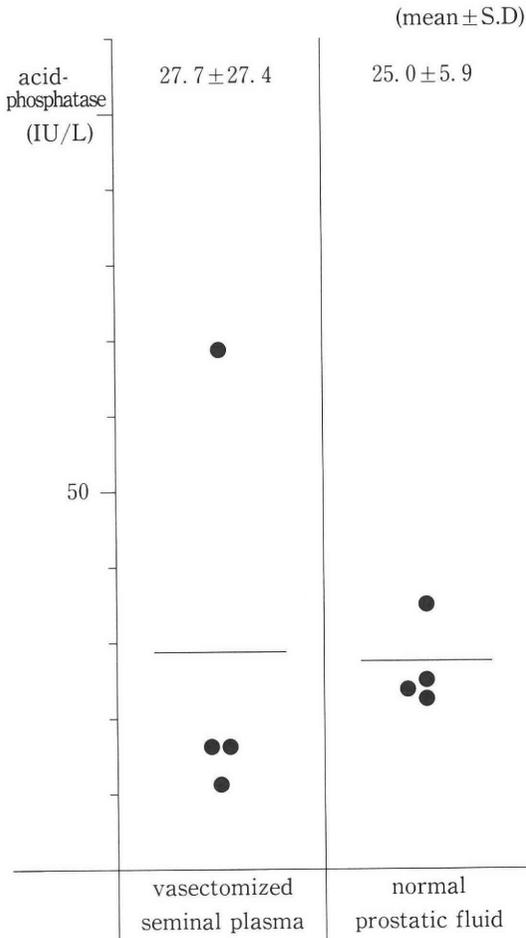


Fig. 7 Levels of seminal acid-phosphatase in the vasectomized seminal plasma and normal prostatic fluid

考 察

1) 亜鉛

精漿中亜鉛の濃度は1921年 Bertrandら<sup>3)</sup>によって測定されたことにはじまり、1953年には Mauseonら<sup>4)</sup>がその値が非常に高値であることを最初に報告している。その値は、Eliassonら<sup>5)</sup>によると1~621、平均133μg/ml、島崎ら<sup>1)</sup>は5~23、平均16ng/dlであったと報告している。これは、著者らの測定値とはほぼ同様の値であった。

また、その値に年齢差はなく、精子数との関係については、正常者、乏精子症、無精子症の順に、その含有量の低下をみたとする前田ら<sup>6)</sup>の報告があるが、多くの報告<sup>7-10)</sup>では、精子数との関係は否定的である。

精子運動率に関しては、その上昇とともに、亜鉛濃度が増加するという報告<sup>7-10)</sup>が数々なされており、

精子運動能に影響を与えることが推測されている。我々の測定結果でも、60%以上、および未満の群で、有意の差が存在していた。

分泌部位に関しては、前立腺とされており<sup>4)</sup>、Gyurkeyら<sup>11)</sup>は側葉が最も多く、後葉、前葉の順に少なくなるという。しかも、Androgenの影響をうけるとされ、前立腺機能を示すものとされている<sup>12)</sup>。

また、前立腺炎では低濃度であるという報告<sup>7-10)</sup>が多いが、著者らの測定結果では、少数の検討のためか明らかな関係がなく、さらに症例を重ねて検討する必要があると考えられた。

2) 酸フォスファターゼ

Eliassonら<sup>13)</sup>によると、精液中酸フォスファターゼは前立腺の生理と分泌能を忠実に示すもので、その分泌はAndrogenにより変動するとされている。島崎ら<sup>1)</sup>も、同様な報告をし、かつagingによって消長するとしている。

精子数との関連性については、石部<sup>14)</sup>、高岸<sup>15)</sup>、Robachら<sup>16)</sup>は、相関するとし、Singerら<sup>17)</sup>は逆相関するとしている。しかし、関係しないという報告も多い<sup>1,7)</sup>。著者らの結果でも、何等関連性は認められなかった。

また、精子運動率に関しても、関係がないという多くの報告<sup>1,7,15)</sup>と同様、著者らの測定結果も関係を見だせなかった。

なお、精管結紮例の精漿や、前立腺液中で高値を示したことより、前立腺からの分泌が確認された。

結 語

ヒト精漿中亜鉛と酸フォスファターゼを男子不妊症を中心に測定し、以下の知見を得た。

- 1) 精漿中亜鉛濃度は、精子数とは関係しないが精子運動能に関係することが推測された。
- 2) 精漿中酸フォスファターゼは、精子数、精子運動率において、その関連性は認められなかった。
- 3) 亜鉛、酸フォスファターゼともに、前立腺等の副性器から分泌されることが確認された。

参考文献

- 1) 島崎 淳, 片山 喬, 相川英男, 柳 重行: 精液の生化学. 代謝, 16: 臨増「性」, 417, 1979.
- 2) King. E. J., and Wootton. I. D. P.: Microanalysis in medical biochemistry. Churchill, London, 1956.
- 3) Bertrand. G., and Vladesco. R.: Intervention probable du zine dans les phenomenes de feconation des les animaux vertebres. Compt. Rend. Acad. Sci., 173: 176, 1921.

- 4) Mauson. C. A., and M. I. Fischer.: Zinc and carbonic anhydrase in human semen. *Biochem. J.*, 55: 696, 1953.
- 5) R. Eliasson., and Chr. Lindholmer. Zinc in human seminal plasma. *Andrologia*, 3: 147, 1971.
- 6) 前田兼成: 前立腺の亜鉛に関する研究. 皮と泌, 28: 99, 1966.
- 7) 志田圭三, 島崎 淳, 古谷信雄, 田谷元祐: 男子不妊症の精液内化学成分の研究. 日不妊会誌, 16: 217, 1971.
- 8) J. L. Marman., S. Katz., and D. E. Praiss.: Semen zine levels in infertile and postvasectomy patients and patients with prostatitis. *Fertil. Steril.*, 26: 1057, 1975.
- 9) H. Stankovic., and D. Mikac-Deric.: Zinc and Copper in human semen. *Clin. Chem. Acta.*, 70: 123, 1976.
- 10) T. Abyholm., J. Kofstad., K. Molne., and S. Stray-Pederson.: Seminal plasma fructose, zinc, magnesium and acid phosphatase in case of male infertility. *Int. J. Andrology.*, 4: 75, 1981.
- 11) F. Gyorkey., K. Min., J. A. Hutt., and P. Gyorkey.: Zinc and Magnesium in human prostatic gland: normal, hyperplastic and neoplastic. *Cancer Res.*, 27: 1348, 1967.
- 12) M. I. Fisher., A. O. Tikkala., and C. A. Mauson.: Zinc, Carbonic anhydrase and phosphatase in the prostatic glands of the rat. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 33: 181, 1955.
- 13) R. Eliasson.: Biochemical analysis of human semen in the study of the physiology and pathophysiology of the male accessory genital glands. *Fertil. Steril.*, 19: 344, 1968.
- 14) 石部知行, 仁平寛巳: ヒト不妊精液の生化学. II Acid phosphatase について. 日不妊会誌, 18: 80, 1973.
- 15) 高岸秀俊: 男子不妊症の研究 (第 8 報). 日不妊会誌, 20: 320, 1975.
- 16) J. Robach., and J. Homolka.: Acid phosphatases in the ejaculate of men with disturbances of

somatosexual development. *Fertil. Steril.*, 12: 368, 1961.

### Studies of Human Seminal Zinc and Acid Phosphatase (Studies of Human Seminal Plasma: Report 3)

**Seiichi Saito, Kazunori Ohno,  
Naoto Mikuma and Yoshiaki Kumamoto**

Department of Urology,  
Sapporo Medical College  
(Director: Prof. Y. Kumamoto)

The levels of Zinc (Zn) and Acid-phosphatase (Acid-P) were determined in human seminal plasma.

The seminal Zn levels in normal men was  $140.2 \pm 74.4 \mu\text{g/ml}$ , and there was no correlation between sperm count and seminal Zn level. But the Zn level of the group whose sperm motility was higher than 60% had significant deference with those of the remaining group. Therefore, it was suggested that there was a relation between seminal Zn level and sperm motility. The Zn levels of the vasectomized seminal plasma and normal prostatic fluid were  $72.8 \pm 50.8 \mu\text{g/ml}$  and  $40.8 \pm 21.2 \mu\text{g/ml}$  respectively. Therefore, seminal Zn was suspected to be secreted from accessory genital organs such as prostate.

As for seminal Acid-p, the level was  $9.2 \pm 9.1 \text{IU/l}$  in normal men, and there was no relation between seminal Acid-P level and sperm count or sperm motility. The Acid-P of the vasectomized seminal plasma and normal prostatic fluid were  $27.7 \pm 27.4 \text{IU/l}$  and  $25.0 \pm 5.9 \text{IU/l}$  respectively.

Therefore, it was suggested that origin of seminal Acid-P was mainly prostate.

(受付: 昭和 62 年 4 月 22 日)

# 当科で施行している精子 swim up 洗浄濃縮法を用いた AIH の有用性に関する研究

## Clinical Studies on Artificial insemination with Husband's Semen (AIH) Using the Method of Swim up and Washed Spermatozoa

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 北尾 学教授)

吉野 和男	柳 光 寛 仁	草刈万寿夫
Kazuo YOSHINO	Kanji RYUKO	Masuo KUSAKARI
白井 孝 昭	西 垣 新	高橋 健 太 郎
Takaaki SHIRAI	Arata NISHIGAKI	Kentaro TAKAHASHI
	北 尾 学	
	Manabu KITAO	

Department of Obstetrics and Gynecology, Shimane Medical University

精子 swim up 洗浄濃縮法を利用し、AIH を施行し、次の結果を得た。本法を乏精子症および運動率の悪い精子 47 例で検討したところ、精子濃度は減少したが、精子運動率は約 2 倍に、妊孕係数は約 1.3 倍に上昇した。また、本法を施行する前の AIH の成績と施行後の成績を比較すると、本法施行後は妊娠率が著しく上昇しており、本法は AIH の際の精子の調整処理として有効な方法と推測される。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 225-229, 1988)

### 緒 言

配偶者間人工授精 (artificial insemination with husband's semen, AIH) は男性因子、頸管因子などの不妊症患者に施行される治療法の一つである。1949 年に慶応病院で本邦における人工授精による児の最初の出産が確認されており<sup>1)</sup>、島根医大産科婦人科においても、昭和 54 年 10 月 15 日の附属病院開院以来、不妊症の治療として AIH をとり入れている<sup>2)</sup>。昭和 61 年 4 月までは精液の原液を直接子宮腔内に入れる従来の方法であったが、昭和 61 年 5 月よりは精子 swim up 洗浄濃縮法により精液性状を改善し、AIH を施行している。今回、当科で施行している精子 swim up 洗浄濃縮法の有用性を検討したので若干の文献的考察を加えて報告する。

### 研究対象及び方法

#### 1) 研究対象

昭和 58 年 1 月より昭和 61 年 10 月までに男性因子不良で AIH を施行した 49 例、延べ 175 周期を対象とし、以下の 2 群に分類した。

(1) 精子 swim up 洗浄濃縮法を施行していない昭和 58 年 1 月より昭和 61 年 4 月までの 22 例 112 周期。

(2) 精子 swim up 洗浄濃縮法を施行した昭和 61 年 5 月より 10 月までの 27 例、63 周期。

#### 2) 方法

(1) 当科の男性因子不良例に対する AIH の適応。当科では精子濃度  $40 \times 10^6/\text{ml}$  以下、あるいは精子運動率 60 % 以下を精液性状不良として AIH の適応としている。

(2) 精子 swim up 洗浄濃縮法に用いる培養液の組成

精子培養液は表 1 に示すような Whittingham's T。を使用した。

(3) 精子 swim up 洗浄濃縮法

表1 精子培養液の組成  
Whittingham's T6

	g/l
NaCl	5.719
KCl	0.106
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.096
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.0511
CaCl <sub>2</sub>	0.262
NaHCO <sub>3</sub>	2.101
D-Glucose	1.000
Na-Pyruvate	0.052
Na-Lactate 60% syrup	4.650 (ml/l)
Human Serum Albumin	10.000
Penicillin G	0.060
Streptomycin sulphate	0.050
Phenol Red	0.005
m Osmol	290
pH	7.4

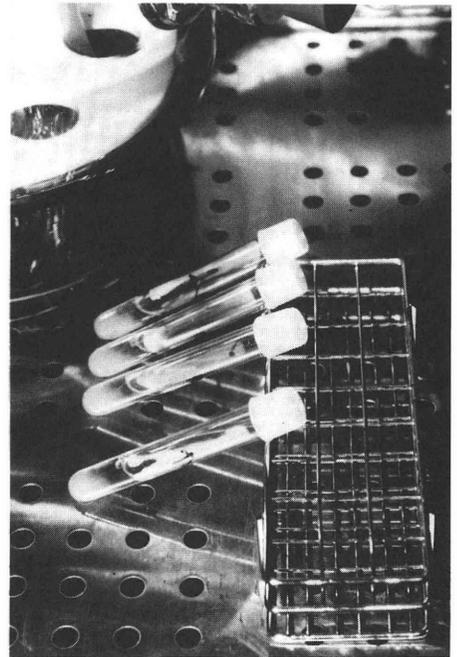


図2 精子をインキュベーター内で swim up している状態

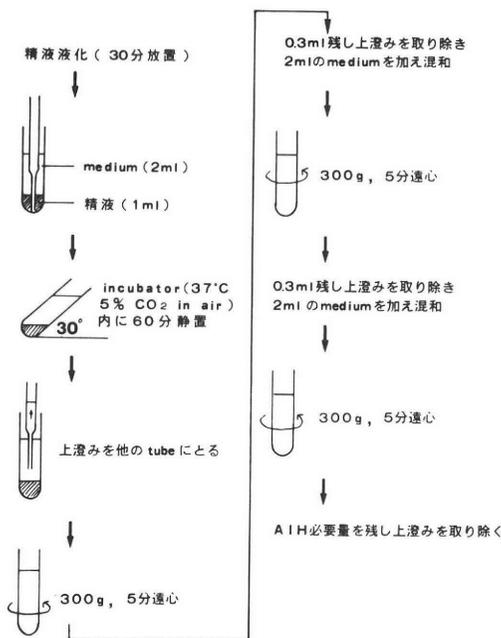


図1 精子 swim up 洗浄濃縮法

図1に示すように、まず精液を室温で30分間放置し、精液を液化させた。この場合、粘性の高い場合と普通の場合に分け、通常の場合は、液化後培養液をチューブに2ml ずつ数本に分注し、下層に精液を

1ml 混合しないように入れる。そして、37°C、5%CO<sub>2</sub>に調整したインキュベーター内(図2)に30度傾けた状態で1時間静置し、精子のswim upを行う。その後上澄み(培養液部分)を他のチューブにとり、回転速度×300gにて5分間遠心分離し、0.3mlを残し、上澄みを取り除く。そして1本に集め、2mlの培養液を加え混合し、回転速度×300gで5分間再度遠心分離し、0.3mlを残し、上澄みを取り除く。また、さらに培養液を2ml 加え混合し、5分間さらに遠心分離し、A I Hに必要量を残し、上澄みを取り除く。一方、粘性性の高い場合は、インキュベーター内でswim upする前に2回遠心分離し、他の方法は通常の方法に準じた。

(4) 妊孕係数 (Fertility Index: F. I.)

飯塚ら<sup>3)</sup>が報告している妊孕係数(精液1ml中の運動精子数を100万で除した値)を用いた。

研究成績

1) 精子 swim up 洗浄濃縮法の結果

本法を47例について検討したが、図3に示すように精子濃度は処理前の $35.2 \pm 25.7 \times 10^6/ml$ に比べて処理後は $20.3 \pm 14.2 \times 10^6/ml$ と低下を示した。しかし、精子運動率は処理前では $43.1 \pm 18.9\%$ であった

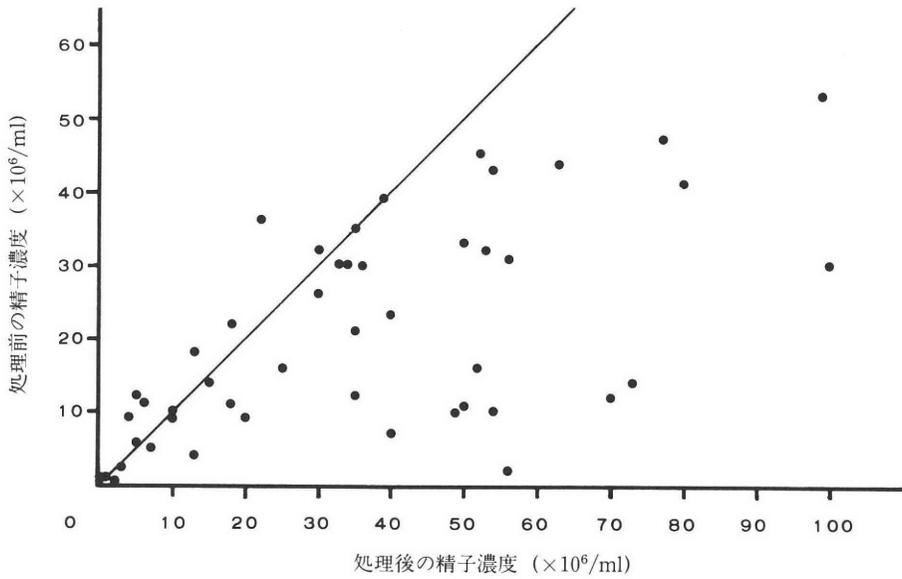


図3 精子 swim up 洗浄濃縮法前後の精子濃度

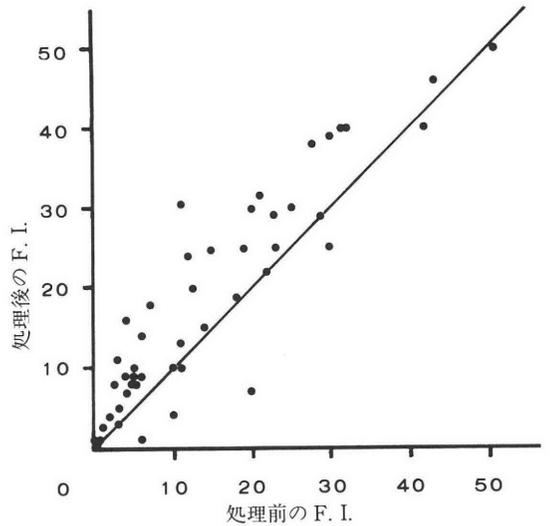
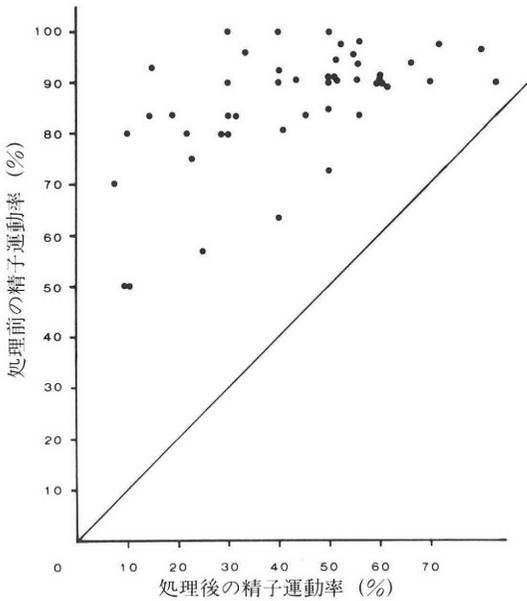


図5 精子 swim up 洗浄濃縮法前後の妊娠係数(F.I.)

が、処理後は  $85.9 \pm 11.7\%$  と大幅な上昇を示し、統計的にも有意 ( $P < 0.001$ ) であった (図4)。妊娠係数は図5に示すように処理前の  $14.4 \pm 12.5$  より処理後では  $18.1 \pm 13.4$  と若干の上昇傾向を示したが、統計的には両者間に有意差は認められなかった。

2) 精子 swim up 洗浄濃縮法施行前後の A I H の成績

(1) 妊娠数、妊娠率の比較

当科では昭和61年5月より精子 swim up 洗浄濃

縮法を施行しているが、それ以前と比較してみると、表2に示すように、施行前では22例中3例の妊娠(妊娠率3.6%)しかなかったが、施行後では27例中7例(妊娠率25.9%)と妊娠率は大幅に上昇した。また、周期別に対しても、本邦施行後は妊娠率2.7%から施行後11.1%と上昇を示した。

(2) 精子濃度別運動率の比較

表3に示すように、精子 swim up 洗浄濃縮法施行前では  $20 \times 10^6/\text{ml}$  から  $30 \times 10^6/\text{ml}$  の間での妊娠が

表2 AIHによる妊娠数, 妊娠率の比較

期 間	S 58.1~S 61.4	S 61.5~S 61.10	計
症 例 数	22	27	49
周 期 数	112	63	175
妊 娠 数	3	7	10
妊 娠 率 (症例別)	13.6	25.9	20.4
妊 娠 率 (周期別)	2.7	11.1	5.7

表3 精子濃度, 運動率別の比較

精子濃度, 運動率	S 58.1~	S 61.5~	計
	S 61.4	S 61.10	
10×10 <sup>6</sup> ml 以下	2	4	6
20×10 <sup>6</sup> ml 以下	4	5(1)	9(1)
30×10 <sup>6</sup> ml 以下	6(1)	0	6(1)
40×10 <sup>6</sup> ml 以下	6(2)	10(4)	16(6)
運動率 60% 以下	4	8(2)	12(2)

( ) : 妊娠例数

1例認められたが, 施行後では10×10<sup>6</sup>/mlから20×10<sup>6</sup>/mlの間のより低濃度の精子濃度でも妊娠例が認められた。また, 本邦施行前では精子濃度が正常で運動率が低い症例では妊娠は全く認められなかったが, 施行後では2例に妊娠が認められた。

### 考 察

IVF-ETの成功と共に, 不妊症に対する診断法, 治療法は近年急速な進歩を遂げており, 卵子・精子そして受精卵の培養に関してはここ数年でかなりの進歩がある。そして, 今後IVF-ETは不妊症治療の中で重要な位置を占めていくと思われる。男性不妊, 特に乏精子症をIVF-ETの適応とする施設もあり, 今後乏精子症に対する有効な治療法としてIVF-ETは確立していくものと思われる。しかし, IVF-ETはどの施設でも可能ではなく, 現在の所, 乏精子症に対しては, 二分画精子採取法<sup>4)</sup>, 各種ホルモン療法<sup>5)</sup>, 酵素製剤<sup>6)</sup>などの投与が行われているが必ずしも満足のいくものではない。また, 乏精子症に対してA I Hも行われるが, A I Hの妊娠率は低く, 現在では, 精子を調整してA I Hを行うことが報告されている<sup>7,8)</sup>。真田ら<sup>9)</sup>は密度勾配遠心蔗糖重合体を用いた精子洗浄濃縮法を報告している。この場合のA I H施行上の利点は①人工授精のさいに起こることのある子宮痛の原因と思われるプロスタグランディンの除去, ②精子無力症において精子運動能が向上することから, 精漿中に存在すると思われる精子運動能を抑制する

因子の除去などが考えられている。また星ら<sup>10)</sup>は精子静置法(layering method)により, 受精能を有している良好精子だけを精液中から効率よくとり出し, 人工授精を行い良好な成績を得たと報告している。

今回, 我々の施行した精子swim up洗浄濃縮法は60分間培養液中に静置し, 精子をswim upさせることにより, 良好精子を選び, それを遠心濃縮する方法であるので, 精子濃度は処理前に比べて減少した。しかし, 運動率は有意な上昇が認められ, 飯塚ら<sup>9)</sup>の提唱する妊孕係数も上昇した。さらに, 妊娠率の上昇ももたらした。故に, 我々の施行している精子swim up洗浄濃縮法は乏精子症のみならず, 運動率の悪い男性因子による不妊に対しても有効な方法であり, 大きな設備も必要なく, 外来で気軽に行える方法である。

### 参考文献

- 1) 飯塚理八, 山口 順: 本邦における人工受精の歴史と今後の展望, 周産期医学, 10: 1305, 1980.
- 2) 北尾 学, 高橋健太郎, 吉野和男: 不妊外来の実際とすすめ方, 産婦治療, 53: 312, 1986.
- 3) 飯塚理八, 小林俊文, 遠藤勝英: 人工受精の実際, 産婦治療, 53: 264, 1986.
- 4) 小林俊文: 二分画射精に関する研究, 日不妊会誌, 15: 7, 1970.
- 5) 飯塚理八, 己斐秀豊, 小林俊文: 不妊症学: P258, 金原出版, 1974.
- 6) Sato H: Studies on the components of Kallikrein kinin system and treatment of male infertility, Keio J. Med. 29: 19, 1980.
- 7) Makler, A., Murilo, O., Huszar, G., Tarlatzis, B., DeCherney, A. and Naftolin, F.: Improved techniques for separating motile spermatozoa from human semen. II. An atraumatic centrifugation method. Int. J. Androl., 7: 71, 1984.
- 8) Gorus, F. K. and Pipeleers, D. G.: A rapid method for the fractionation of human spermatozoa according to their progressive motility. Fertil. Steril., 35: 662, 1981.
- 9) 真田利男, 小林俊文, 兼子 智, 小嶋 清, 飯塚理八: 密度勾配遠心用蔗糖重合体を用いた精子洗浄濃縮法のA I Hへの応用, 日不妊会誌, 28: 267, 1983.
- 10) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎, 京野広一, 村木 章, 斎藤 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.

Clinical Studies on Artificial  
Insemination with Husband's Semen  
(AIH) Using the Method of Swim up  
and Washed Spermatozoa

Kazuo Yoshino, Kanji Ryuko,  
Masuo Kusakari, Takaaki Shirai,  
Arata Nishigaki, Kentaro Takahashi  
and Manabu Kitao

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Shimane Medical University

Artificial insemination with husband's sperm (AIH) was carried out on 49 women whose husbands were considered infertile, hence pregnancy did not occur. While density of the sperm did not increase, sperm motility and the fertility index (sperm density  $\times$  percentage of motility) increased 2 and 1.3 fold, respectively. The rates of conception increased. This method is effective in cases of oligozoospermia or asthenospermia.

(受付：昭和62年4月27日)

# ヒト型モノクローナル精子不働化抗体を用いて分析した 精子不働化関連抗原の多様性

## Heterogeneity of Human Sperm Antigens Associated with Sperm Immobilization: Analyses Using Human Sperm-immobilizing Monoclonal Antibody.

兵庫医科大学産婦人科学教室

小林真一郎	柴原浩章	沢井英明
Shinichiro KOBAYASHI	Hiroaki SHIBAHARA	Hideaki SAWAI
横山一海	繁田実	香山浩二
Kazumi YOKOYAMA	Minoru SHIGETA	Koji KOYAMA
	磯島晋三	
	Shinzo ISOJIMA	

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Hyogo Medical College, Nishinomiya, 663, Japan.

不妊症の発症原因の一つとして、精子不働化抗体 (SI-Ab) の存在が知られている。我々は既に抗体吸収実験により、この SI-Ab は単一のものではなく、複数抗体である事を明らかにし、その認識する抗原にも多様性のある事を示してきた。本論文では、ヒト型モノクローナル SI-Ab (Mab H6-3C4) と、マウス又はラットで作製した SI-Mab とのヒト精子に対する競合反応により、これらの精子不働化関連抗原の多様性を抗原エピトープのレベルで分析した。その結果マウス又はラットで作製した 10 種の SI-Mab の中には、Mab H6-3C4 のヒト精子に対する結合を阻止するもの 7 種と、阻止しないもの 3 種が存在した。これは SI-Ab の認識する抗原エピトープには、Mab H6-3C4 と同一か又は近接した部位に存在するエピトープと、それとは全く異なったエピトープの、少なくとも 2 種類存在する事を意味しており、ヒト精子上の精子不働化関連抗原エピトープに多様性の存在する事を強く示唆するものである。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 230-235, 1988)

### 緒言

不妊症の中でも特に原因不明不妊婦人に高率に精子不働化抗体 (S I 抗体) が検出され、S I 抗体保有婦人の妊孕性が著しく悪い<sup>1,2)</sup>ことから、S I 抗体に対応する精子不働化関連抗原を分離、精製することにより、S I 抗体による不妊症の発症機序を解明し、ひいては精子抗原による避妊ワクチンを開発しようとする研究が進められている<sup>3)</sup>。不妊婦人血中の S I 抗体の抗体吸収実験によると、S I 抗体は精子並びに精漿抗原によって吸収され、また精漿抗原による抗体の吸収効果には個人差の見られることから、

S I 抗体の多様性が指摘されている<sup>4)</sup>。今回、著者らが既に S I 抗体保有不妊婦人の末梢血リンパ球とマウスミエローマ細胞との細胞融合によって樹立に成功した<sup>5,6)</sup> human-mouse heterohybridoma (H6-3C4) の産生するヒト由来モノクローナル S I 抗体を用いた competitive binding inhibition assay により精子不働化関連抗原の多様性につき検討したので報告する。

実験材料および方法

1. ヒト型モノクローナル精子不活化抗体 (Mab H6-3C4)

既に報告した<sup>5,6)</sup>如く、血中に S I 抗体を保有する不妊婦人の末梢血リンパ球を *in vitro* でヒト精子と pokeweed mitogen (PWM) にて刺激して得た blast 化 Bcell と、マウスミエローマ株化細胞 (NS-1) との細胞融合により、S I 抗体産生 human-mouse heterohybridoma (H6-3C4) を樹立した。この hybridoma (H6-3C4) の産生抗体は human IgM ( $\lambda$ ) で、抗体の精製には hybridoma 細胞を無血清培地 (Hybrity-1 三光純薬株式会社) 中にて培養し、その上清中のモノクローナル抗体を限界濾過 (PM10 Amicon U.S.A.) 及び 50% 飽和硫酸塩析法にて濃縮し、gel filtration (superfine column, pharmacia, Sweden) にて IgM 分画を精製し、今回の実験に用いた。

2. マウス及びラット由来抗ヒト精子モノクローナル抗体

ラット又はマウスをヒト精子又は精漿抗原で免疫して作製した 53 種の抗ヒト精子モノクローナル抗体 (Mab) を実験に使用した。著者らが作製した 4 種の Mab (1C4, 2C6, 2E5, 2B6) はいずれもヒト精子に対して強い不活化作用を有しており、前 3 種については作製方法並びに特異性を既に報告した<sup>7,8,9,10)</sup>、他の 49 種の抗ヒト精子 Mab (S01-S49) は WHO の Mab-bank より提供を受けた<sup>11)</sup>ものである。

3. ヒト型精子不活化抗体 (Mab H6-3C4) を用いた competitive binding inhibition assay

3-1. ヒト型精子不活化抗体 (Mab H6-3C4) の <sup>125</sup>I 標識

<sup>125</sup>I による Mab H6-3C4 の標識には Iodo-Gen 法<sup>12)</sup>を用いた。即ち、Iodo-Gen (1,3,4,6-tetrachloro-3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -diphenylglycoluril reagent) 1 mg を 100 $\mu$ l のクロロホルムに溶かし、それを 15ml の cortex 遠心管に入れ、回転しながら溶媒を蒸発させて試験管の内壁に Iodo-Gen のフィルムを作り、そこに Mab H6-3C4 を 100 $\mu$ l (human IgM: 50 $\mu$ g) と Na-<sup>125</sup>I 3 $\mu$ l (300 $\mu$ Ci) とを加え 13 分間室温にて反応させた。これを Sephadex G-25 カラム (PD-10 Pharmacia Sweden) に加えて、0.5ml/tube で分画し、<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 を得た。図-1 は  $\gamma$ -ray scintillation counter にて測定した radioactivity の溶出パターンを示したものである。tube No.6 から No.9 までの第 1 ピークに全 radioactivity の 80.5% が溶出された。この内、tube No.7 を <sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 として

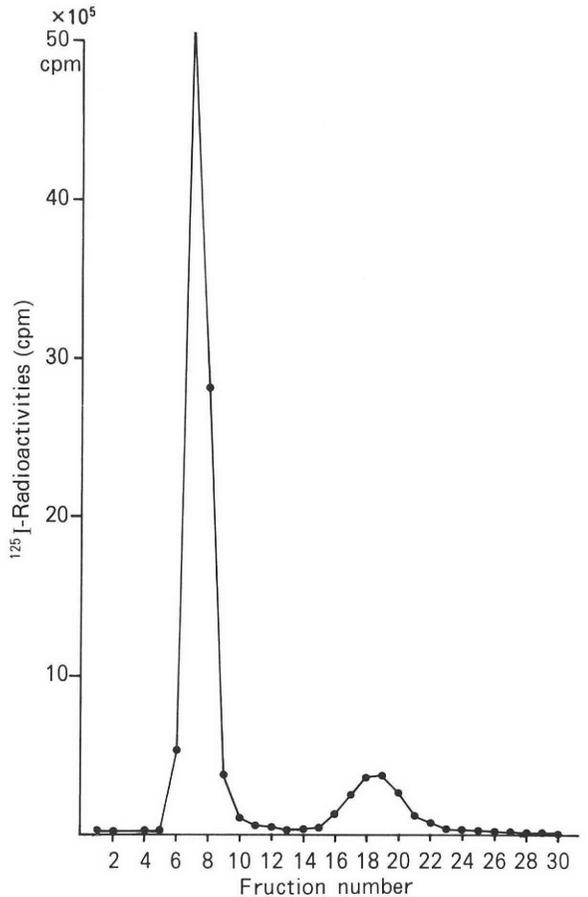


Fig. 1 Elution pattern of <sup>125</sup>I-labeled human monoclonal antibody (Mab H6-3C4) on Sephadex G-25 column.

assay に用いた。この <sup>125</sup>I 標識分画の抗体活性は、精子不活化試験にて精子不活化値 (S I V) 無限大を示し、<sup>125</sup>I 標識後も抗体活性を保持していた。

3-2. マウス及びラット由来抗ヒト精子モノクローナル抗体による <sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 のヒト精子への結合に対する競合的結合阻止実験 (図-2)

ヒト射精精液を P B S にて十分に洗浄した後、1 × 10<sup>6</sup>精子/ml 濃度に調製し、その 50 $\mu$ l を 96well microplate (Falcon 3912) の各 well に加え、air dry にてコーティングした。P B S にて 1 回洗浄後、2% horse serum 含有 coating buffer (bicarbonate buffer PH9.0) を加えて、microplate 上の protein binding site を block した。1 時間室温に静置し、P B S にて更に 2 回洗浄した後に、WHO 提供 Mabs S01-S49 の場合は 10% normal human serum (NHS) 含有 P B S にて 5 倍に希釈した溶液を、Mabs 2C6, 2E5, 2B6, 1C4, H6-3C4 の 5 種の場合は原溶液を、それぞれ各

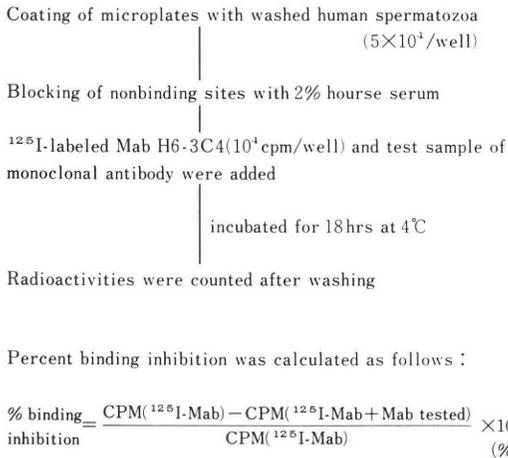


Fig. 2 Method of competitive binding inhibition assay with <sup>125</sup>I-labeled Mab H6-3C4 to human spermatozoa

well 当り 40μl ずつ加え、更に<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 20μl (10<sup>4</sup>cpm) を各 well に加えて 4°C で 18 時間 incubate した。次に washing buffer (0.05% Tween20 含有 PBS) で 5 回洗浄した後、精子に結合した<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 の radioactivity を γ-ray scintillation counter にて測定した。結果は図-2 の下段に示した計算式によって、%binding inhibition を算出し、各検体間の結合阻止能を比較した。

4. 精子不活化試験 Sperm Immobilization Test (SIT)

精子不活化抗体の検出は微量精子不活化試験 (microSIT)<sup>13)</sup>を用いて行った。即ち、流動パラフィンを充填した Terasaki microplate (Falcon3034) に検体 10μl と洗浄活動精子浮遊液 (40×10<sup>6</sup>/ml) 1μl 及び、モルモット血清 (補体) 2μl を混和し、室温にて振盪しながら 1 時間反応させ、精子運動率を倒立顕微鏡下 (200 倍) で算定した。結果は、抗体を含まない対照液中の精子運動率 (C%) に対する検体液中の精子運動率 (T%) の比 C/T を、精子不活化値 Sperm Immobilization Value (SIV 値) とし、S I V 値 ≥ 2 の場合を S I T 陽性とした。定量的精子不活化試験<sup>14)</sup>では microSIT に従って、各検体の倍数希釈液中での精子運動率 (T%) を算定し、各希釈倍数での精子不活化率 C-T/C×100 を算定し、これを片対数表にプロットして 50%精子不活化率を示す検体希釈倍数を求め、これを 50% sperm immobilization unit (SI<sub>50</sub>値) として表現した。なお、対照液または検体の希釈液には 10% NHS 含有 PBS (PH7.2) を使用した。

Table. 1 Sperm immobilizing activities of monoclonal antisperm antibodies

Mabs*1	Ig <sup>2</sup> class	SIV*3	SI <sub>50</sub> *4	Mabs	Ig class	SIV	SI <sub>50</sub>
S01	IgG <sub>1</sub>	∞	4700	S28	IgG <sub>2</sub>	1.0	
S02	IgM	∞	4300	S29	IgG <sub>2</sub>	0.8	
S03	IgG <sub>1</sub>	0.8		S30	IgG <sub>3</sub>	1.0	
S04	IgG <sub>2</sub>	0.7		S31	NT*5	0.6	
S05	IgG <sub>3</sub>	∞	135	S32	NT	0.6	
S06	IgM	0.8		S33	NT	0.7	
S07	IgM	1.0		S34	IgM	∞	45
S08	IgM	0.8		S35	NT	0.6	
S09	IgM	1.5		S36	IgG <sub>1</sub>	1.2	
S10	IgM	0.8		S37	IgG <sub>1</sub>	1.3	
S11	IgG <sub>1</sub>	0.9		S38	IgG <sub>1</sub>	∞	45
S12	IgM	1.1		S39	IgG <sub>1</sub>	∞	45
S13	IgM	1.0		S40	NT	0.8	
S14	IgM	1.1		S41	NT	1.1	
S15	IgG <sub>1</sub>	0.9		S42	NT	1.2	
S16	IgG <sub>1</sub>	0.7		S43	NT	1.2	
S17	IgG <sub>1</sub>	0.8		S44	NT	1.3	
S18	IgG <sub>1</sub>	1.0		S45	NT	1.3	
S19	IgG <sub>1</sub>	∞	45	S46	NT	0.9	
S20	IgG <sub>1</sub>	1.0		S47	NT	1.3	
S21	IgG <sub>1</sub>	1.0		S48	NT	0.9	
S22	IgM	1.0		S49	NT	0.8	
S23	IgG <sub>2</sub>	1.0		2C6	IgM	∞	280
S24	IgG <sub>2</sub>	0.8		2E5	IgG <sub>3</sub>	∞	110
S25	IgG <sub>2</sub>	1.2		2B6	IgG <sub>3</sub>	∞	100
S26	IgG <sub>2</sub>	0.8		1C4	r*6-IgM	∞	66
S27	IgG <sub>2</sub>	1.0		H6-3C4	h*7-IgM	∞	5000

Mabs\*1: Monoclonal antibodies  
 Ig<sup>2</sup>: Immunoglobulin  
 SIV\*3: Sperm Immobilization Value  
 SI<sub>50</sub>\*4: Sperm Immobilization Unit  
 NT\*5: not tested  
 r\*6: rat  
 h\*7: human  
 other Mabs: mouse Immunoglobulin

実験結果

1. 各種抗ヒト精子モノクローナル抗体の精子不活化作用

WHO より提供を受けた抗精子モノクローナル抗体のうち、S 01, S 02, S 05, S 19, S 34, S 38, S 39, の 7 種が S I V : 無限大 (∞) となり補体依存性の精子不活化作用を示した。我々の確立した精子不活化モノクローナル抗体 (2C6, 2E5, 2B6, 1C4, H6-3C4) を加えると、合計 12 検体が補体依存性精子不活化作用を有する Mab であった (表-1)。各 Mab の精子不活化作用の有無が、免疫グロブリン (Ig) class の違いに基づく補体活性化作用の有無によるものではないことは、同じ IgG subclass 又は IgM class の中でも精子不活化作用を示すものと、示さないものがあることより明らかである。これら精子不活化作用を示す 12 種の Mab につき、定量的 microSIT によりその S I<sub>50</sub> 値を求めると 45~5000 を示した (表-1)。

2. 各種抗ヒト精子モノクローナル抗体による<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 のヒト精子への結合に対する競合的結合阻止反応

53 種のマウス又はラット由来抗ヒト精子モノクロー

一ナル抗体による<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 のヒト精子への結合阻止実験を行った。結果を表-2 にまとめて示した。非標識抗体による<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 の結合阻止率を測定すると、53 種の Mab のうち7 種において40 %以上の%binding inhibition を示した。7 種の Mab による%binding inhibition はそれぞれ S 05 が 59.6 %、S 19 が 69.8 %、S 38 が 74.5 %、S 39 が 62.3 %、2 C 6 が 76.0 %、2 E 5 が 96.7 %、2 B 6 が 76.1 % でこれら7 検体はすべて精子不動化作用を有していた。これに対して、同じ精子不動化作用を有するM a b でも、S 01、S 02、S 34、1 C 4 の4 種の Mab は<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 の精子への結合に対しては阻止反応を示さなかった。一方、精子不動化試験陰性の検体はすべて結合阻止を示さなかった。

精子不動化作用を有する12 種の Mab のうち8 種の抗体 (S 01、S 02、S 19、S 38、2 E 5、2 C 6、1 C 4、H6-3C4) を用いて、これを順次10 %N H S 含有P B S で倍数希釈し、その精子不動化抗体価 (S I<sub>50</sub>値) と、競合的結合阻止実験における%

binding inhibition との関係を定量的に調べた結果が図-3 である。太い実線で示した非標識 Mab H6-3C4 の inhibition curve に対して、S 19、S 38、2 E 5 の3 種の Mab は H6-3C4 に比べてより低い不動化抗体価でもって、<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 のヒト精子に対する結合を著明に阻止した。一方、1 C 4、S 01、S 02 の3 種のM a b は、より高い不動化抗体価を示す抗体濃度においても有意な結合阻止を示さなかった。Mab 2C6 は、Mab H6-3C4 と非常によく似た inhibition curve を示した。またS01-S49 の Mab の検討を行った WHO workshop の担当者である Anderson, D. J.ら<sup>11)</sup>によって、表-2 で示したS 34 は著者らの研究室より WHO の Mab-bank に提供した Mab 2C6 であることが明らかにされた。S 34 は WHO より配布された抗体濃度がS I<sub>50</sub>=45 であり、更に5 倍希釈した濃度で結合阻止実験を行っているので本実験に使用した抗体濃度はS I<sub>50</sub>=9 である。よって、表-2 ではS 34 は結合阻止を示していないが、これは図-3 の2 C 6 の inhibition curve よりみて当然の結果である。以上の精子不動化 Mab によ

Table. 2 Results of competitive binding inhibition assay with <sup>125</sup>I-labeled Mab H6-3C4 to human spermatozoa by different monoclonal antisperm antibodies.

Mabs*	% binding inhibition	Mabs	% binding inhibition	Mabs	% binding inhibition
※S01	-7.6	※S19	69.8	S37	21.4
※S02	-15.9	S20	12.8	※S38	74.5
S03	-6.8	S21	12.8	※S39	62.3
S04	0.6	S22	11.3	S40	4.8
※S05	59.6	S23	-3.4	S41	3.2
S06	2.3	S24	15.2	S42	13.0
S07	5.9	S25	-2.2	S43	0.5
S08	11.3	S26	12.2	S44	13.7
S09	16.1	S27	-4.4	S45	12.2
S10	17.0	S28	0.0	S46	18.4
S11	2.5	S29	-3.7	S47	-12.4
S12	6.1	S30	-5.5	S48	17.5
S13	12.4	S31	0.3	S49	7.0
S14	-1.3	S32	11.3	※2C6	76.0
S15	0.9	S33	-0.3	※2E5	96.7
S16	-1.3	※S34	11.1	※2B6	76.1
S17	-5.9	S35	7.0	※1C4	3.7
S18	-25.8	S36	17.2	※H6-3C4	97.8

Mabs\* : Monoclonal antibodies

※ : Monoclonal antibodies which are SIT positive

S01-S49; diluted with 10% normal human serum in PBS

2C6, 2E5, 2B6, 1C4, H6-3C4; not diluted

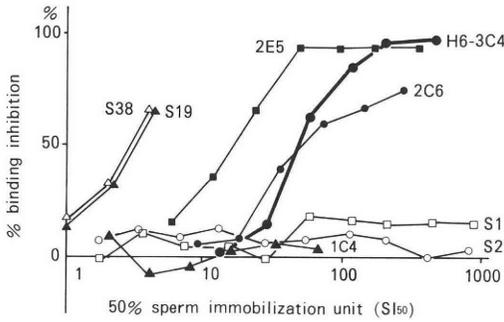


Fig. 3 Relationship between sperm immobilizing activities and % binding inhibition of various monoclonal sperm immobilizing antibodies.

Table. 3 Summary of competitive binding inhibition assay.

Mabs* <sup>1</sup>	Ig* <sup>2</sup> class	SIT* <sup>3</sup>	binding inhibition
S01	m* <sup>1</sup> -IgG <sub>1</sub>	+	-
S02	m-IgM	+	-
1C4	r* <sup>5</sup> -IgM	+	-
S19	m-IgG <sub>1</sub>	+	+
S38	m-IgG <sub>1</sub>	+	+
S39	m-IgG <sub>1</sub>	+	+
S05	m-IgG <sub>3</sub>	+	+
2B6	m-IgG <sub>3</sub>	+	+
2E5	m-IgG <sub>3</sub>	+	+
2C6	m-IgM	+	+
(S34)			
H6-3C4	h* <sup>6</sup> -IgM	+	+

Mabs\*<sup>1</sup>: Monoclonal antibodies  
 Ig\*<sup>2</sup>: Immunoglobulin  
 SIT\*<sup>3</sup>: Sperm Immobilization Test  
 m\*<sup>1</sup>: mouse r\*<sup>5</sup>: rat h\*<sup>6</sup>: human

る結合阻止反応の実験結果を各免疫グロブリン (Ig) class と共にまとめると表-3 の如くで、結合阻止反応の有無が Ig class の違いによるものでないことは明らかである。

考 察

WHO より提供を受けた抗ヒト精子 Mab 49 種のうち、補体依存性精子不働化作用を示したものは、わずか 7 種にすぎなかった。他の Mab は単に精子に結合を示すのみで、精子不働化作用も、また精子凝集作用も示さない抗体であったり、精子凝集作用は示すが精子不働化作用を示さないものであった。WHO の 6 種の精子不働化 Mabs (S 34 は著者らの研究

室で作製した Mab 2C6 である)に我々の作製した 5 種の精子不働化 Mabs を加えた 11 種の Mabs を用いて行った<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 のヒト精子に対する結合阻止反応では、標識抗体と同じ Mab H6-3C4 では当然のことながら強い阻止反応が起こり、またこれ以外に 7 種の Mabs が有意の結合阻止を示したが、残り 3 種の Mabs は阻止反応を示さなかった。この結果は同じ精子不働化作用を示す抗体であっても、おそらくその認識する抗原エピトープが異なっているため結合阻止反応を示すものと、そうでないものとに分れてきたものと考えられる。そして<sup>125</sup>I 標識 Mab H6-3C4 の精子への結合を阻止した Mab は、その抗体の認識する抗原エピトープが Mab H6-3C4 対応抗原エピトープと同じかまたはその近傍に存在するものと思われる。各 Mab による結合阻止反応の有無が、用いた Mab の免疫グロブリン class 又は subclass の違いによるものでないことは、同じ class の抗体でも結合阻止反応を示すものと示さないものがあることより明らかである。しかし、各 Mab の精子表面抗原に対する結合親和力の差による可能性は完全には否定し得ない。

本研究において明らかとなったことは、単一抗原レベルでも、抗原の違いにより対応抗体によって精子不働化作用を来すものと来さないものがあるということであり、これら精子不働化に関連した抗原として少なくとも 2 種類のが識別された点である。この内の一つはある特定の婦人が認識して S I 抗体を産生してくる抗原 (H6-3C4 対応抗原) で、ほかの一つは婦人が認識して S I 抗体を産生してくるか否かは分らないが、少なくともマウスやラットが認識して S I 抗体を産生してくるヒト精子表面上の、H6-3C4 対応抗原とは異なる抗原であることは間違いない。現在更に多くのヒト由来精子不働化 Mab を作製し、婦人が認識して S I 抗体を産生してくる精子不働化関連抗原が何種類存在するか、そして各抗原あるいはその対応抗体が受精過程においていかなる役割を担い、また障害作用を示すかを分析する研究をおこなっているが、このことは S I 抗体による不妊機序の解明、ひいては精子抗原による避妊ワクチンの開発につながってゆくものと期待される。

文 献

- 1) Isojima, S., Li, T. S. and Ashitaka, Y.: Immunologic analysis of sperm immobilizing factor in sera of women with unexplained sterility. Am. J. Obstet. Gynecol., 101: 677, 1968
- 2) Isojima, S., Tsuchiya, K., Koyama, K., Tanaka,

- C., Naka, O. and Adachi, H.: Further studies on sperm-immobilizing antibody found in sera of unexplained cases of sterility in women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 112: 199-207, 1972
- 3) Isojima, S., Koyama, K., Takada, Y., Shigeta, M., Tsuji, Y. and Hasegawa, A.: The development of a contraceptive vaccine by purification of antigens from gametes. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, 10: 90-92, 1986
- 4) Isojima, S., Koyama, K., Ikuma, K., Kubota, K. and Shigeta, M.: Female immunological infertility: a new immunological approach to contraception. *Research on Fertility and Sterility* (J. Cortes-Prieto, A. Campos da Paz and M. Neves-e-Castro eds.): 339-354, MTP press limited, Lancaster, England, 1981
- 5) Kyurkchiev, S. D., Shigeta, M., Koyama, K. and Isojima, S.: Establishment of human-mouse hybridomas using lymphocytes from sterile women with sperm-immobilizing antibodies. *Acta Obstet. et Gynaecol. Japonica*, 37: 2135, 1985
- 6) Kyurkchiev, S. D., Shigeta, M., Koyama, K. and Isojima, S.: A human-mouse hybridoma producing monoclonal antibody against human sperm coat antigen. *Immunology*, 57: 489-492, 1986
- 7) Shigeta, M., Watanabe, T., Maruyama, S. et al: Sperm-immobilizing monoclonal antibody to human seminal plasma antigens. *Clin. exp. Immunol.*, 42: 459-462, 1980
- 8) Isojima, S., Koyama, K. and Fujiwara, N.: Purification of human seminal plasma No. 7 antigen by immunoaffinity chromatography on bound monoclonal antibody. *Clin. exp. Immunol.*, 49: 449-456, 1982
- 9) Koyama, K., Takada, Y., Takemura, T. et al: Localization of human seminal plasma No. 7 antigen (Ferrisplan) in accessory glands of male genital tract and spermatozoa. *J. Reprod. Immunol.*, 5: 135-143, 1983
- 10) Koyama, K., Kameda, K., Kyurkchiev, S. D., Shigeta, M. and Isojima, S.: Nature of seminal plasma antigens responsible for production of sperm immobilizing antibodies. *J. Reprod. Immunol.*, Suppl.: 78, 1986
- 11) Anderson, D. J., Johnson, P. M., Alexander, N. J., Jones, W. R., and Griffin, P. D.: Monoclonal antibodies to human trophoblast and sperm antigens. Report of two WHO-sponsored work-

- shops. June 30, 1986-Toronto, Canada. *J. Reprod. Immunol.* In Press.
- 12) Johnstone, A. and Thorpe, R.: *Immunochemistry in Practice*, 109-110, Blackwell Scientific Publications, 1982
- 13) 香山浩二, 伊熊健一郎, 窪田耕三, 鎌田敏雄, 磯島晋三: 微量精子不動化試験法による頸管粘液内補体結合精子不動化因子 of 検索, *日産婦誌*, 32, 377-383, 1980
- 14) 香山浩二, 伊熊健一郎, 窪田耕三, 鎌田敏雄, 磯島晋三, 定量的精子不動化試験とその臨床応用, *日産婦誌*, 31, 1906-1912, 1979

Heterogeneity of human sperm antigens associated with sperm immobilization: analyses using human sperm-immobilizing monoclonal antibody.

**Shinichiro Kobayashi, Hiroaki Shibahara,  
Hideaki Sawai, Kazumi Yokoyama,  
Minoru Shigeta, Koji Koyama  
and Shinzo Isojima**

Department of Obstetrics  
and Gynecology, Hyogo Medical College,  
Nishinomiya, 663, Japan.

Sperm-immobilizing antibodies (SI-Abs) are known as one of the immunological factors of sterility. We have demonstrated that there were heterogeneous specificities of SI-Abs to antigen epitopes on spermatozoa, and in the present study, we confirmed our previous findings by a competitive binding inhibition assay using <sup>125</sup>I labelled human monoclonal SI-Ab (Mab H6-3C4) to human spermatozoa and other hetero monoclonal SI-Abs. Seven of the ten hetero monoclonal SI-Abs inhibited the binding of <sup>125</sup>I labelled human Mab H6-3C4 to human spermatozoa, but the remaining three SI-Abs did not. These results strongly suggested that there are at least two kinds of epitopes on human spermatozoa, which may be identical or closely related epitope to human Mab H6-3C4, and completely different epitope from it.

受付: 昭和62年5月1日

# 精細管内 Androgen 濃度の研究 第一報

## Study of Intratubular Androgen Levels Report 1

岡山大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 大森弘之教授)

入江 伸            大橋 輝久            大橋 洋三  
Shin IRIE            Teruhisa OHASHI            Yozo OHASHI  
古川 雅人            永井 敦            山下 良孝  
Masato FURUKAWA            Atsushi NAGAI            Yoshitaka YAMASHITA  
大森 弘之  
Hiroyuki OHMORI

Department of Urology, Okayama University Medical School, Okayama, Japan  
(Director: Prof. Hiroyuki Ohmori)

男子不妊症における、精細管内 androgen の役割を知るため、7人の未治療前立腺癌患者、2人の性腺機能不全症、50人の男子不妊症より得られた精細管を用いて、精細管内 androgen 濃度を測定した。精細管分離には、穂坂により報告された collagenase と mesh も用いた two step incubation system で行い、androgen 濃度測定は RIA 法で行った。その結果は以下の如くである。

1. 精細管内 androgen 濃度測定にあたっては、できるだけ早期の分離が必要である。
2. 老人精巣においては、精巣生検の組織量では精細管内 testosterone (T), 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone (DHT) は測定可能であったが、5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ , 17 $\beta$  diol (Adiol)は測定不能であった。
3. 男子不妊症より得られた精巣では、精細管内TがDHTより優位であった。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 236-243, 1988)

### 緒 言

男子不妊症における治療は、その原疾患に応じて様々な方法が試みられている。しかし、男子不妊症の大半をしめる特発性男子不妊症に対しては、現在もなお確たる治療法はなく、特に無精子症および高度乏精子症の治療には難渋しているのが現状である。一方、ヒト精子形成に重要な役割を果たしていると考えられる精細管内における androgen binding protein (ABP) および androgen の役割についても不明の点が多い。今回、我々は、前立腺癌未治療例、男子不妊症症例および若干の性腺機能不全症例より得られた精巣組織をもちいて、精細管内 androgen 濃度を測定し、testicular volume, mean germinal epith-

elium count of Johnsen (JSC)<sup>1)</sup>、血中 luteinizing hormone (LH)、follicle stimulating hormone (FSH) および testosterone (T) との関連性を検討したので若干の文献的考察を加え報告する。

### 対象並びに方法

#### 1. 対象

対象は、前立腺癌7例、男子不妊症50例および性腺機能不全症2例の計59例である。

#### 2. 方法

##### 1) 精細管分離

穂坂ら<sup>2)</sup>により報告された collagenase による two step incubation system と mesh No. 100 上での組織の洗浄を行う方法により、精細管と間質組織の分

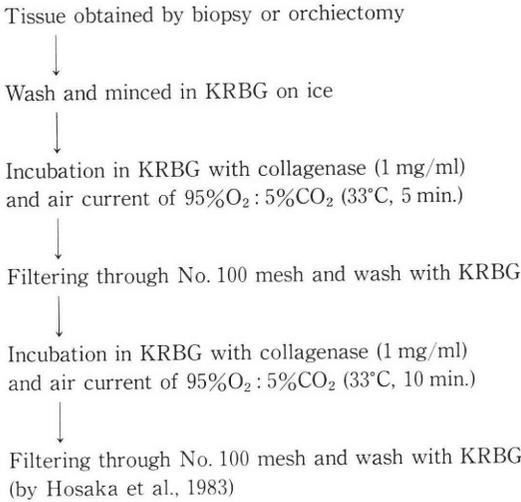


Fig. 1 Isolation method of seminiferous tubules

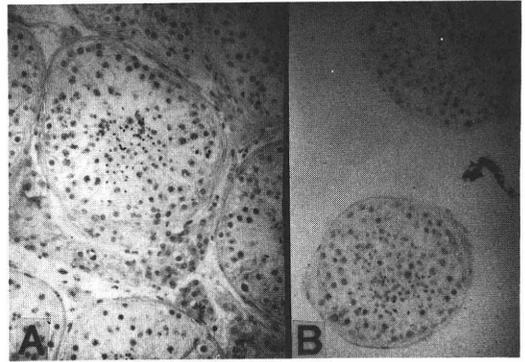


Fig. 3 Histological findings of seminiferous tubules  
A. before isolation  
B. after isolation

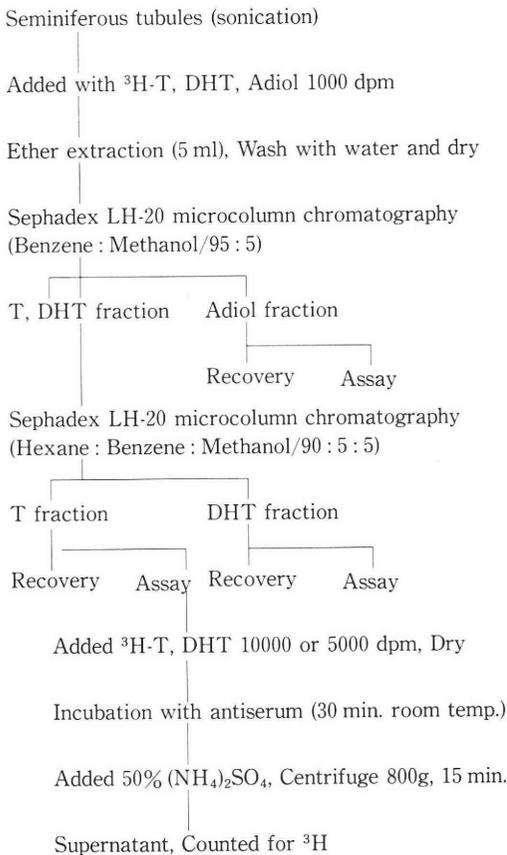


Fig. 2 Assay procedure of intratubular androgen levels.

離を行った。方法は Fig. 1 に示す。基礎的検討には、前立腺癌患者の精巣摘除術より得られた精巣組織を、また、臨床的検討には、男子不妊症患者の精巣生検より得られた約 30-50 mg の精巣組織を用いた。

2) androgen 濃度測定

精細管組織を wet tissue weight で測定した後、sonication を行い T, 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone (DHT), 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ , 17 $\beta$ diol (Adiol) を測定した。assay procedure は Fig. 2 に示すごとく sample に recovery 補正用 1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ -<sup>3</sup>H-T, 1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ -<sup>3</sup>H-DHT および 1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ -<sup>3</sup>H-Adiol をそれぞれ 1000dpm 添加後、ether 5ml により抽出し、Sephadex LH-20 microcolumn chromatography を行った。展開液 1 (Benzene: Methanol/95: 5) により Adiol 分画 (4-6ml) をとり、その 1/2 (1.5ml) 量を recovery 補正用、1/2 (1.5ml) 量を assay 用とした。次いで展開液 2 (Hexane: Benzene: Methanol/90: 5: 5) により DHT 分画 (6.5-9.5ml), T 分画 (10.5-13.5ml) をとり、DHT は 1/3 (1ml) 量を、T は 2/3 (2ml) を recovery 補正用、残りを assay 用とした。

3) 蛋白濃度補正

蛋白濃度測定にあたっては、まず精細管重量 (wet tissue weight) を測定し、次いでその精細管を 1ml の Krebs ringer bicarbonate glucose buffer (KRBG) 中で HEATSYSTEM ultrasonics を用いて sonication を行った。うち 500 $\mu$ l を T, DHT 濃度測定に用い、100 $\mu$ l を Lowry 法による蛋白濃度測定用とした。

成 績

1. 精細管分離

精細管分離にあたっては、まず前立腺癌未治療例

の精巣摘除術より得られた精巣を用いて行ったが、穂坂ら<sup>2)</sup>も報告しているように、ほとんどの間質組織は脱落しており、分離精細管の光顕所見では、Fig. 3に示すごとく、精細管の内部構造はよく保存されている。

しかし、spermatogenesisの不良な精巣、特にJSC3未満の症例では、間質組織の脱落は十分ではなく、今回の検討には不相当と判断した。

また血流中のtestosterone-estrogen binding globulin (TeBG) および TeBG と結合した androgen の contamination の有無を家兔抗 TeBG 抗血清 (Farnos Diagnostica 社製) を用いた免疫組織化学染色で検討したが、Fig. 4 に示すごとく精細管周囲には TeBG の付着はまったく認められず、精細管は完全に分離されていることが判明した。

2. 基礎的検討

androgen 濃度測定にあたっては、精巣組織採取後すぐ精細管を分離し直ちに測定、採取後すぐ精細管分離を行い-80°C deep freezer に保存しその後測定、採取後すぐ-80°C deep freezer に保存し、その後精細管分離を行い測定という3通りの方法を300-500 mg の精細管を用いて行った。

何れの方法においても、精巣生検で得られる程度の組織量では、T、DHTは測定可能であったが、Adiolは測定感度以下であった。3通りの方法で得られたT、DHT濃度をfig. 5に示す。採取後すぐ分離を行った検体では、その後測定を行うかあるいは-80°Cで保存し測定を行うかという操作にかかわらず、重量補正ではほぼ同等の値が得られたが、-80°Cでfreezeしその後分離測定を行った検体では、Tでは1/5-1/10、DHTでは1/2から測定不能例も存在するという結果であった。また、光顕的にも-80°Cでfreezeしその後分離測定を行った検体では、正常な精細管組織は認められなかった。このことは、採取した組織をfreezeすると精細管壁の損傷をきたし、分離操作の段階で精細管内のandrogenが失われることが考えられ、採取後直ちに精細管分離を行うのが適当であると判断した。以上の結果より、精巣生検で得られる30-50 mg程度の組織量では、精細管内 Adiol の臨床的应用は無理であるとともに、精細管内T、DHTの臨床的应用は可能であるが、一方、精細管内ではT、DHTが主体を占めていることが判明した。

次に、inter-assay および intra-assay variation の検討を行った。前立腺癌未治療例の精巣摘除術より得られた精巣を用いたが、inter-assay variation ではTはmean116.53ng/g.t.w., S.D.9.58, C.V.8.2%, DHTはmean35.78ng/g.t.w., S.D.3.39,C.V.9.5%, ま

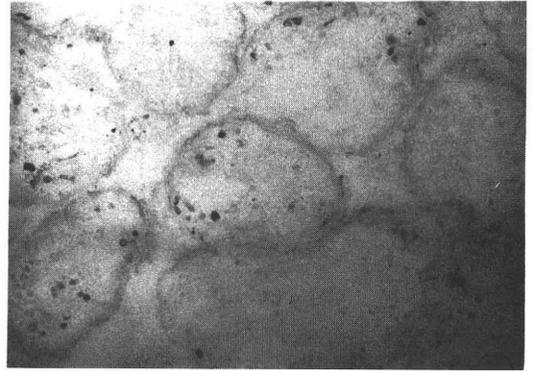


Fig. 4 Immunohistochemical staining with anti-TeBG antiserum of isolated seminiferous tubules

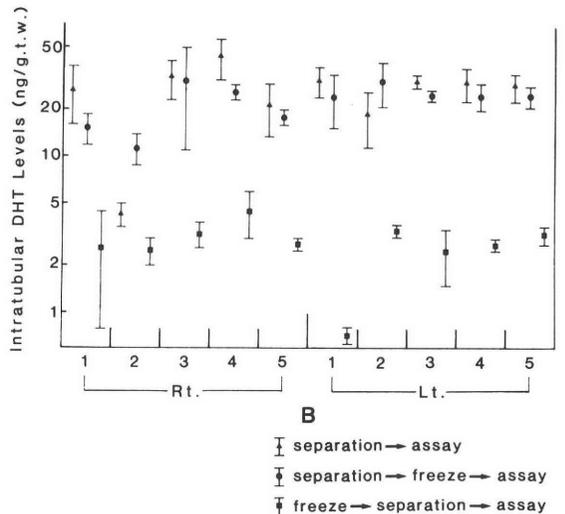
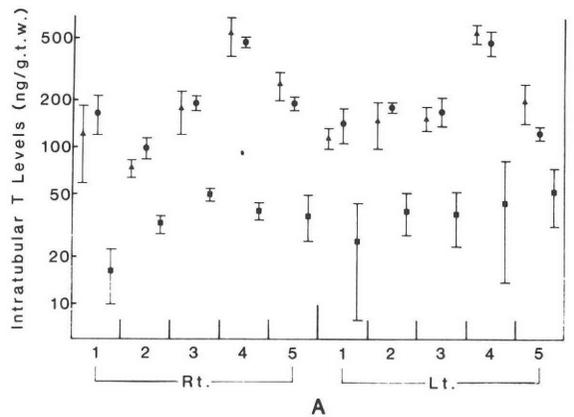


Fig. 5 Comparison of three different methods intratubular T (A) and DHT (B) levels

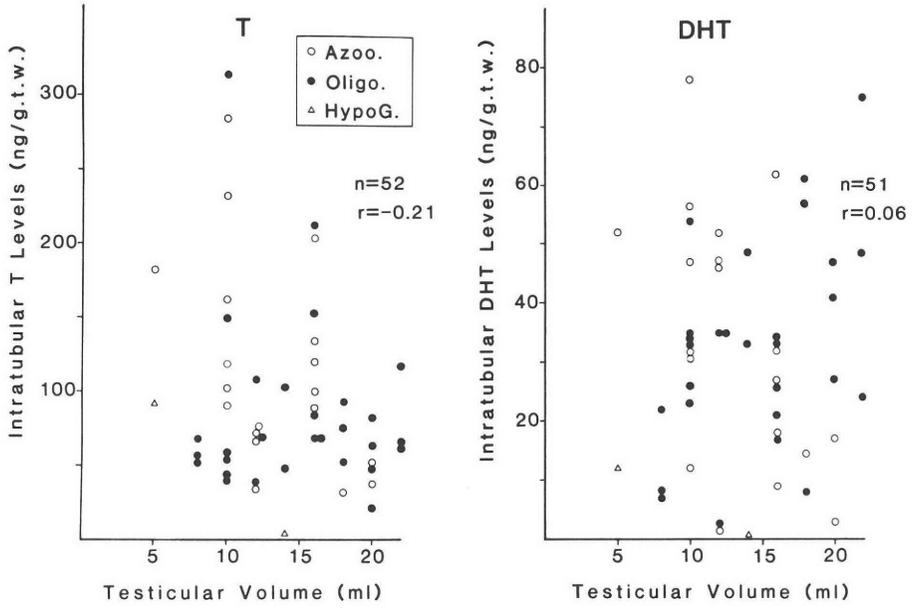


Fig. 6 Correlation between intratubular androgen levels and testicular volume

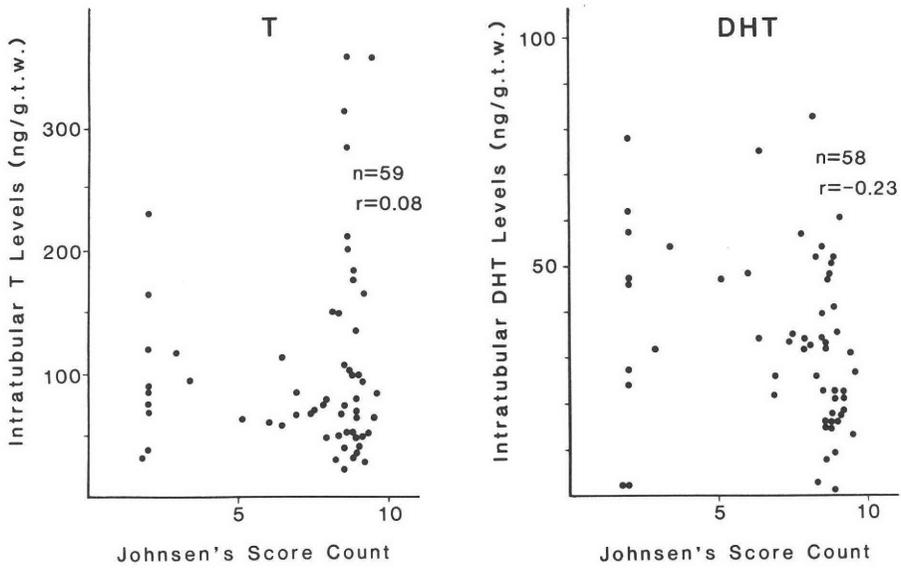


Fig. 7 Correlation between intratubular androgen levels and mean germinal epithelium count of Johnsen (JSC)

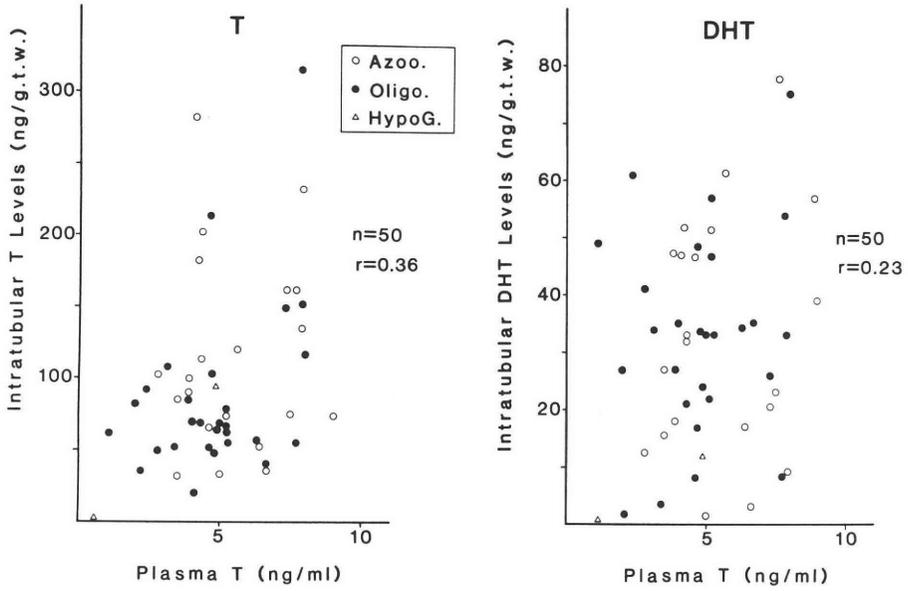


Fig. 8 Correlation between intratubular androgen levels and plasma T levels

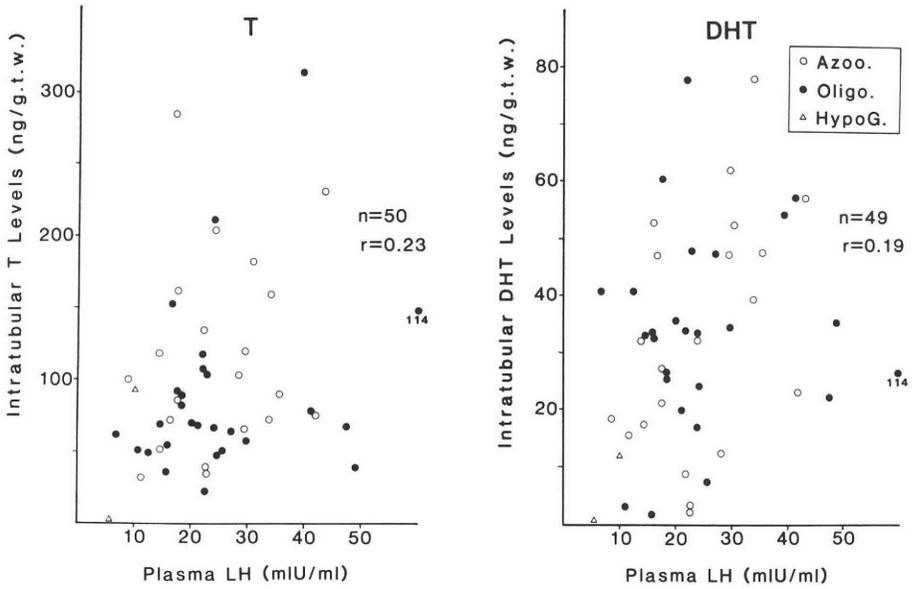


Fig. 9 Correlation between intratubular androgen levels and plasma LH levels

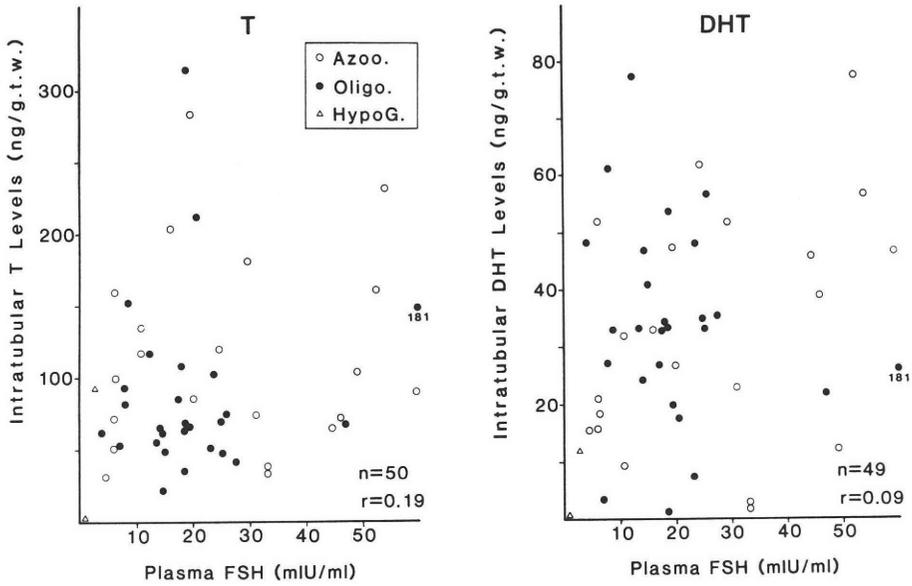


Fig. 10 Correlation between intratubular androgen levels and plasma FSH levels

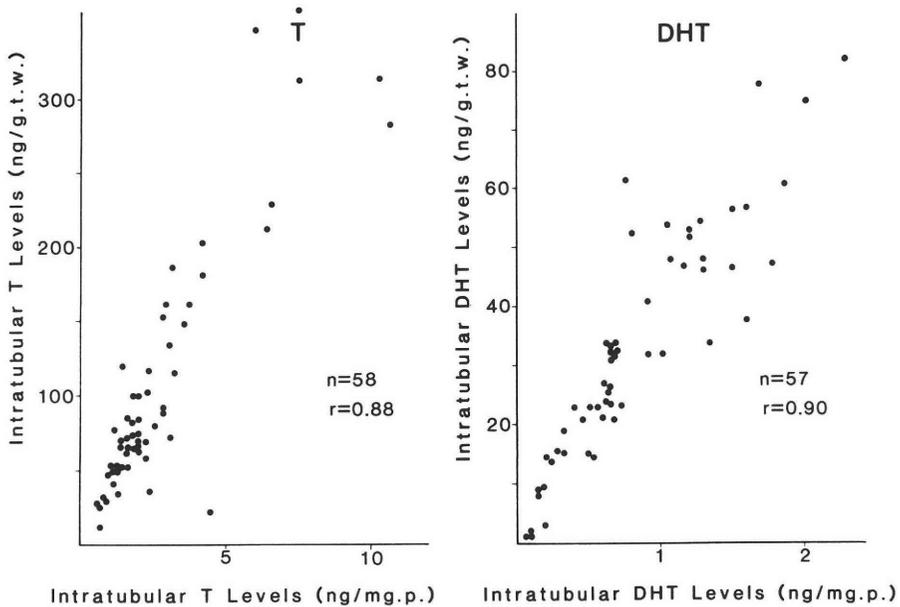


Fig. 11 Correlation between intratubular androgen levels expressed as ng/tissue weight and those expressed as ng/mg. protein

た intra-assay variation では T は mean42.40ng/g. t.w., S.D.4.38, C.V.10.3%, DHT は mean14.41ng/g. t.w., S.D.1.69, C.V.11.7%と満足できる結果であった。なお, inter-assay, intra-assay variation にはそれぞれ異なる精巢を用いて検討した。

## 2) 臨床的検討

臨床的検討は, 男子不妊症および若干の性腺機能不全症例の精巢生検より得られた組織を用いて行った。生検より得られた組織量は, wet tissue weight で約 30-50 mg である。

精細管内 T, DHT 濃度と testicular volume との関係を図 6 に示す。なお, testicular volume は山口大にて考案された打ち抜き式 orchidometer<sup>9)</sup>にて測定した。精細管内 T は  $r = -0.21$ , DHT は  $r = 0.06$  という相関係数であり, いずれも有意の相関は認められなかった。

精細管内 T, DHT 濃度と JSC との関係を Fig. 7 に示したが, 精細管内 T は  $r = 0.08$ , DHT は  $r = -0.23$  といずれにも有意の相関は認められなかった。しかし, JSC が 3 未満の症例では, 分離後に固定した標本をみると分離率が 90% 以下であった。

精細管内 T, DHT 濃度と血中 T 濃度との関係を Fig. 8 に示す。精細管内 T は  $r = 0.36$ , DHT は  $r = 0.23$  と精細管内 T はある程度の相関を認めたものの, 有意の相関は認められなかった。

精細管内 T, DHT 濃度と血中 LH, FSH 濃度との関係を Fig. 9, 10 に示す。血中 LH は精細管内 T と  $r = 0.23$ , DHT と  $r = 0.19$ , 血中 FSH は精細管内 T と  $r = 0.16$ , DHT と  $r = 0.09$  といずれも明らかな相関は認められなかった。

## 3. 蛋白濃度補正

蛋白濃度測定には, 先に述べたごとく HEATSYSTEM ultrasonics を用いて sonication を行った後, Lowry 法にて測定した。また, 重量測定は, freeze しておいた精細管をろ紙にのせて測定し, 水分を吸収させその差をとって精細管重量とした。Fig. 11 に単位重量当たりおよび mg protein 当たりの精細管内 T, DHT 濃度を示す。T においては  $r = 0.88$ , DHT においては  $r = 0.90$  と明らかな正の相関が認められた。

## 考 察

Sertoli cell は, ヒト精子形成に対し重要な役割を果たすとされている。その中の一つに, FSH の支配を受けて ABP を生成し, この ABP が Leydig cell より分泌された T と結合して, 精細管内に, ひいては精巢上体内に T を輸送することであると考えられ

ている<sup>4)</sup>。この結果, 精細管内および精巢上体内は高 T 環境下に維持され, そのことが精子形成および成熟に大きな意義をもつとされている。また, Steinberger<sup>5)</sup>および Rivalora ら<sup>6)</sup>の rat における検討でも, 性成熟期においては T が最も高濃度であり精子形成に重要な役割を果たすと考えられている。

著者らもこの考え方にに基づき, 精子数 1000 万/ml 以下の高度乏精子症例に対し, 瀧原<sup>7)</sup>の提唱した, いわゆる「はねかえり現象」を応用した testosterone-chlomiphene 療法を行ってみたが, 妊娠成立に至ったのは 77 例中 2 例と, かんばしい成績は得られなかった。

そこで, 現実に精細管内において, azoospermia, oligozoospermia において T, DHT がどのような濃度をとっているか, また, それらと血中 LH, FSH, T, JSC との関連性を調べるため今回は検討を行った。

今回の検討では, 精細管内 T, DHT は血中 hormone, JSC とは密接な関連性は認められなかった。このことは精細管内 androgen が種々の factor によりコントロールされているとともに, 今回の研究対象に種々の疾患が含まれていることも挙げられる。今後は各疾患ごとに上記検討を行うことが必要と考える。

また, 精細管内においては T が DHT より優位であり, この結果は, 森岡ら<sup>8)</sup>が報告した, androgen 標的臓器である前立腺における結果とは異なっている。他の androgen 標的臓器では, androgen receptor (AR) と結合する androgen は DHT であるとされているが, Wilson ら<sup>9)</sup>は, 精細管において receptor と結合する androgen は T であり, それは, 精細管組織においては  $3\alpha, (\beta)$  HSD の活性が高く, DHT をすみやかに Adiol に代謝してしまうためであると述べている。また穂坂ら<sup>2)</sup>も精細管内においては  $5\alpha$ -reductase の活性は低く, その T からの代謝率は, 組織重量の変化によっても一定かつ微量であると述べている。また, Chemes ら<sup>10)</sup>の報告した, 小児 Leydig 細胞腫症例で, 腫瘍近接部に成熟した Sertoli cell および精子形成の完成像がみられたこと, すなわち Sertoli cell から分泌される T の direct effect がみられたことから, 精細管において精子形成に主たる役割を果たす androgen は, T ではないかと考えられる。

しかし, T の直接作用は現時点では胎生 7-14 週における Wolf 氏管の発育に関与するのみであると考えられていること, また精巢も前立腺と同様, ヒトにおける androgen 標的臓器であり, DHT も精細管内で存在すること, さらには ABP は TeBG と非常に類似しており T と結合して精巢上体へ移行し, い

わゆる carrier protein の性格を有することなどを考慮すると、精細管内には ABP とは別に AR が存在することが示唆され、今後は精細管内における AR の検索、さらには DHT の意義についても検討の必要があると考えらる。

### 結 語

1. 精細管内 androgen 濃度測定にあたっては、組織採取後できるだけ早期の分離が必要である。
2. 老人精巣においては、精巣生検の組織量では、精細管内 T, DHT は測定可能であったが、Adiol は測定不能であった。
3. 男子不妊症より得られた精巣では、精細管内 T が DHT より優位であった。

### 文 献

- 1) Johnsen, S. G.: Testicular biopsy score count a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*, 1: 2, 1970
- 2) 穂坂正彦, 西村隆一, 高井修道, 原田昌興: ヒト分離精細管における testosterone の代謝. *日不妊会誌*, 28: 143, 1983
- 3) 那須誉人, 瀧原博史, 平山 嗣, 越戸克和, 酒徳治三郎: 新しい睾丸測定器 (Orchidometer) について. *日不妊会誌*, 24: 12, 1979
- 4) Dym, M., Madhwa Raj, H. G. and Chemes, H. E.: *The testis in normal and infertile men*, edited by Troen, P and Nankin, H. R., Raven Press, New York, 1977
- 5) Steinberger, E.: *Hormonal control of mammalian spermatogenesis*, published by American Physiological Society, *Physiological Reviews*, 51: 1, 1971
- 6) Rivarola, M. A. and Podesta, E. J.: Metabolism of testosterone-<sup>14</sup>C by seminiferous tubules of mature rats: Formation of 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ , 17 $\beta$ -diol-<sup>14</sup>C. *Endocrinology*, 90: 618, 1972
- 7) 瀧原博史: 特発性男子不妊症に対する testosterone-clomiphene 療法. *日不妊会誌*, 25: 101, 1980
- 8) 森岡政明, 武田克治, 光畑直喜, 大橋輝久, 大森弘之, 斎藤利興, 神戸川明: ヒト前立腺組織内 androgen 濃度について. *日内分泌会誌*, 58: 876, 1982
- 9) Wilson, E. M. and French, F. S.: Binding properties of androgen receptors.: *J. Biol. Chem.*, 251: 5620, 1976
- 10) Chemes, H. E., Pasqualini, T., Rivarola, M. A. and Bergada, C.: Is testosterone involved in the initiation of spermatogenesis in humans? A clinicopathological presentation and physiological considerations in four patients with Leydig cell tumors of the testis or secondary Leydig cell hyperplasia. *Int. J. Androl.*, 5: 229, 1982

## Study of intratubular androgen levels report 1

Shin Irie, Teruhisa Ohashi,  
Yozo Ohashi, Masato Furukawa,  
Atsushi Nagai, Yoshitaka Yamashita  
and Hiroyuki Ohmori

Department of Urology,  
Okayama University Medical School,  
Okayama, Japan

(Director: Prof. Hiroyuki Ohmori)

In order to assess the role of androgen levels in male infertility, testosterone (T) and 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone (DHT) levels in isolated seminiferous tubules (intratubular levels) were measured by radioimmunoassay in 7 patients with untreated prostatic cancer, 2 with hypogonadism and 50 with male infertility.

Seminiferous tubules were separated by two step incubation system using collagenase and mesh No. 100.

The following results were obtained.

1. An immediate isolation after testicular biopsy is necessary for the measurement of intratubular androgen levels.

2. Intratubular T, DHT levels were detectable in the testis obtained by conventional biopsy, but intratubular 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ , 17 $\beta$  diol (Adiol) levels were non-detectable. Therefore, it was suggested that T and DHT might exist mainly in human seminiferous tubules.

3. The concentration of T was higher than that of DHT in human seminiferous tubules as same as the peripheral plasma level.

受付: 昭和62年7月20日

# 男性不妊症患者精子の運動能におよぼす caffeine と kallikrein の基礎的研究

## The Fundamental Studies of Caffeine and Kallikrein on Sperm Motility in Male Infertility

社会保険部南総合病院 (院長: 川瀬貞臣)

小川 肇

Hajime OGAWA

The Division of Urology, Social Insurance Tonan General Hospital.  
(Director: S. Kawase, M. D.)

昭和大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 今村一男教授)

田代博紹 吉田英機 今村一男  
Hirotsugu TASHIRO Hideki YOSHIDA Kazuo IMAMURA

Department of Urology,  
School of Medicine,  
Showa University.

(Director: Prof. K. Imamura, M. D.)

---

男性不妊症患者の精子を用い、caffeine および kallikrein が精子の運動能にどのような影響を与えるかについて、Han's F-10 液のみを添加したものを control として検討した。

1) 7.5mM の caffeine を加えた液を添加すると、精子運動能率が著明に上昇するが、5時間以後は急激に低下した。この場合エオジン非活性率に変化はなく、caffeine の作用は非運動精子の運動能を賦活することが示唆された。

2) 1ku/ml の kallikrein を加えた液を添加すると、精子運動能はあまり変化しなかったが比較的長時間維持された。

3) 7.5mM の caffeine と、1ku/ml の kallikrein を加えた液を添加すると、精子運動率は4時間までは著明に上昇し、それ以後緩徐に低下した。

4) caffeine および caffeine と kallikrein 両者添加による精子運動率上昇効果は、処理前運動率40%以上の群に比し、40%未満の群において運動率上昇がより著明であった。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 244-250, 1988)

---

### 緒 言

特発性男性不妊症に対し、種々の薬物療法が行われているが、精液所見の改善にもかかわらず、必ずしも自然妊娠に至らない症例を数多く経験する。このような症例に対する治療手段の一つとして、配偶者間人工受精 artificial insemination with husband's semen (AIH) 等が施行されているが、しか

し期待された程の成果を挙げ得ないことが多い<sup>1)</sup>。

今回我々は、精子の運動能を高める stimulants として、以前よりその著明な促進効果が報告されている caffeine<sup>8,9)</sup> と kallikrein<sup>10,11)</sup> について、男性不妊症患者精子を用いてその効果を基礎的に検討したので報告する。

症例と方法

症例は1985年1月より3月迄に当科男性不妊症外来を訪れた未治療の患者より無作為に選択した29歳から37歳(平均33.1±2.5歳, mean±SD)の14例である。症例の年齢, 精子濃度および精子運動能のmean±SD値を, Table 1に示した。なお, 精液は4日以上禁欲期間後に用手法にて採取させた。

今回検討を行ったmediumをTable 2に示した。Ham's F-10 solution (CIBCO Laboratories)<sup>12)</sup>のみ (medium-1), Ham's F-10 solutionに7.5mM (final volume)のcaffeine<sup>13)</sup>(Sigma Chemical Co.)を添加したもの (medium-2), 1KU/mlのkallikrein<sup>14)</sup>(Bayer Co.)を添加したもの (medium-3), および同濃度のcaffeineとkallikreinを混合添加したもの

Table 1. Background of cases in this study.

Groups	n	Age	Sperm count (million/ml)	% of sperm motility (%)
over 40% of sperm motility (range)	8	32.6 ± 2.2 (30-37)	68.1 ± 60.1 (11-176)	55.8 ± 6.9 (46-64)
Less than 40% of sperm motility (range)	6	33.8 ± 2.9 (29-37)	41.1 ± 24.7 (15-87)	22.5 ± 8.5 (14-33)
Total (range)	14	33.1 ± 2.5 (29-37)	56.6 ± 48.7 (11-176)	41.5 ± 18.6 (14-64)

Table 2. Mediums in this study.

- Medium-1 : Ham's F-10 solution (control medium)
  - Medium-2 : Ham's F-10 solution + 7.5mM of caffeine (final volume)
  - Medium-3 : Ham's F-10 solution + 1KU/ml of kallikrein
  - Medium-4 : Ham's F-10 solution + same concentration of caffeine and kallikrein
- 100U/ml of penicillin G was added to these mediums

(medium-4)の4種で, それぞれには100U/mlのPenicillin Gを加え, medium-1をcontrolとした。

各medium 2mlの中に精子濃度が約10million/mlとなるように精液を混和し, 95%O<sub>2</sub>下37°Cでincubationを行い, 経時的に30分から8時間までの精子運動率の変化について検討した。さらにcaffeineの著明な精子運動能上昇効果が示唆されたため, 3症例については短時間ではあるが運動能とともに, エオジ

ン非活性の精子に対する影響について, エオジン非活性率の変化の検討も試みた。

精子濃度と精子運動率の測定はMaklarのcounting chamber<sup>15)</sup>を用いて行ったが, 運動率については可能な限り前進運動精子率を算出した。また推計学的処理は, Wilcoxon-Whitney-MannのU検定により行った。

結 果

i) caffeine添加による精子運動率の経時変化  
caffeine加medium中での運動率の変化について, control medium中での変化と対比しFig. 1に示したが, caffeineにより精子運動率はすでに30分で著明に上昇し, incubation直前を100%として比較すると30分で158.4±61.4%(mean±SD), 1時間で160.9±53.1%, 2時間で143.1±44.2%と上昇を認め, control mediumと比較しincubation後5時間までは推計学的にも有意(P<0.01)な運動率の上昇を認めたが, それ以後急激に低下し, 8時間後にはむしろcontrolよりも低下する傾向が認められた。

ii) caffeine添加のエオジン非活性率に及ぼす影響  
caffeineによる著明な運動率の上昇が認められた3例について, 同時にエオジン非活性率について検討を行ったが, Table 3に示したように3例ともエオジン非活性率にはほとんど変化を認めなかった。

iii) kallikrein添加による精子運動率の経時変化  
Fig. 2に示したようにkallikrein加medium中での精子運動率の変化は, caffeine添加で見られたような著明な運動率の上昇は認められなかったが, controlと比較し3時間以後の運動率は有意(P<0.05, P<0.01)に高く, 精子の運動がより長時間維持される傾向が認められた。

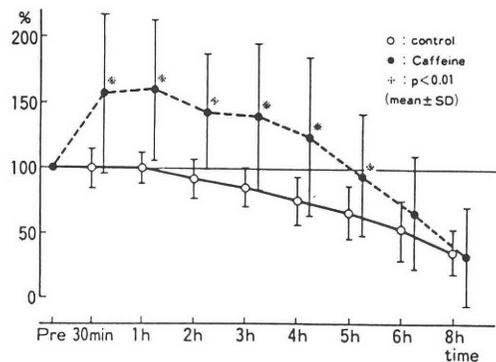


Fig. 1. % changes of sperm motility after incubation into the caffeine medium. (mean ± SD)

Table 3. Changes of % of eosin-stained sperm and sperm motility during incubation into caffeine-medium in 3 cases

Name	Age	sperm density	Time (min.)	% of eosin-stained sperm	% of progressive motility
I. O.	37	176 million/ml	0	22	54
			30	24	60
			60	22	69
			120	25	65
K. Y.	33	62 million/ml	0	19	63
			30	21	66
			60	18	79
			120	23	72
T. T.	35	41 million/ml	0	28	30
			30	30	36
			60	27	41
			120	30	38

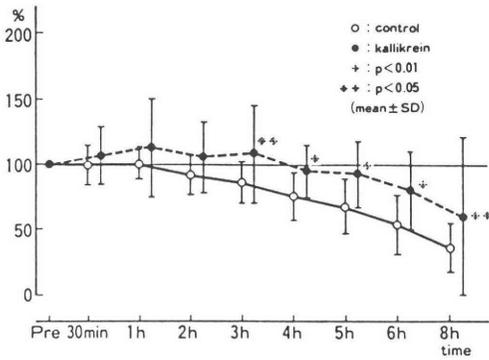


Fig. 2. % changes of sperm motility after incubation into the kallikrein medium. (mean ± SD)

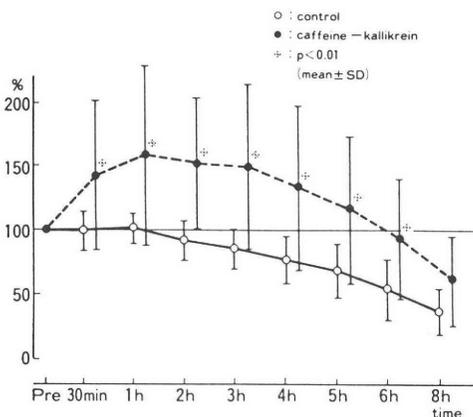


Fig. 3. % changes of sperm motility after incubation into the caffeine-kallikrein medium. (mean ± SD)

iv) caffeine と kallikrein の同時添加による精子運動率の経時的变化

caffeine と kallikrein の両者を混合した medium 中の精子運動率の変化については, Fig. 3 に示したように, caffeine 加 medium 中で見られた変化とほぼ同様の著明な運動率の上昇を認め, incubation 直前と比較し 30 分で  $134.4 \pm 48.0\%$ , 1 時間で  $158.5 \pm 69.7\%$ , 2 時間で  $152.1 \pm 50.6\%$  と運動率の上昇を認め, さらに caffeine のみの medium 中で見られた変化と異なり, 5 時間以後も急激な精子運動率の低下を認めず, control と比較し 6 時間までは有意 ( $P < 0.01$ ) に高い値を示した.

v) 各 medium 中における処理前の精子運動率 40 % 以上の群と 40 % 未満の群の精子運動率の経時的变化

caffeine 加 medium 中の精子運動率の経時的变化は, Fig. 4 に示したように, 処理前の精子運動率によって 40 % 以上の群と 40 % 未満の群とに分け比較検討すると, 30 分ではそれぞれ  $121.6 \pm 14.9\%$ ,  $207.3 \pm 66.8\%$  ( $P < 0.05$ ), 1 時間では  $127.1 \pm 14.4\%$ ,  $206.0 \pm 52.7\%$  ( $P < 0.05$ ) 2 時間では  $119.1 \pm 22.3\%$ ,  $175.0 \pm 47.5\%$  ( $P < 0.05$ ), 3 時間でも  $114.9 \pm 23.9\%$ ,  $175.7 \pm 70.4\%$  ( $P < 0.05$ ) で, 処理後 3 時間までは, 処理前精子運動率が 40 % 未満の群での精子運動率が有意に高い結果が得られた.

kallikrein 加 medium 中の精子運動率の経時的变化は, Fig. 5 に示したように, 各群間に有意な差は認めなかったが, 処理前精子運動率が 40 % 未満の群がよりその運動率を長時間維持する傾向が認められ

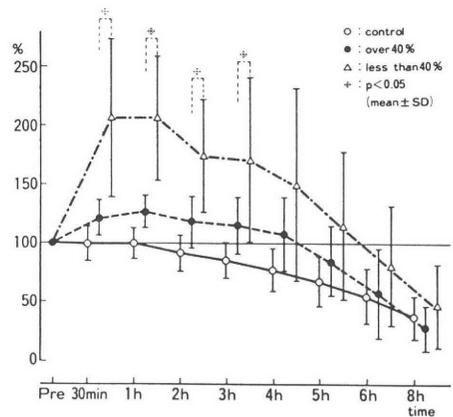


Fig. 4. % changes and comparison of sperm motility after incubation into the caffeine medium in the groups which sperm motility was over 40% and less than 40%. (mean ± SD)

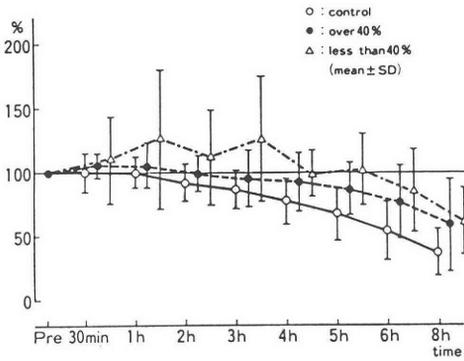


Fig. 5. % changes and comparison of sperm motility after incubation into the kallikrein medium into the groups which sperm motility was over 40% and less than 40%. (mean ± SD)

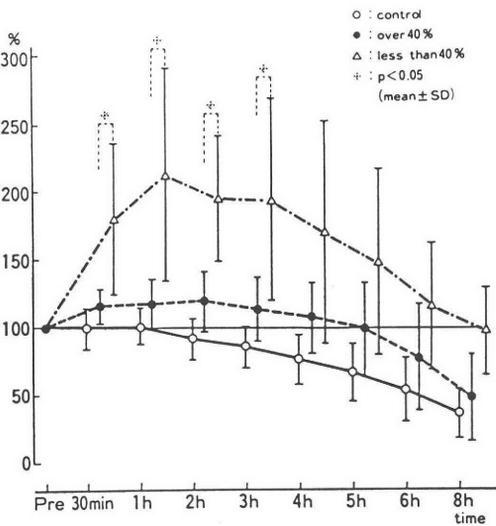


Fig. 6. % changes and comparison of sperm motility after incubation into the caffeine-kallikrein medium into the groups which sperm motility was over 40% and less than 40%. (mean ± SD)

た。

caffeine と kallikrein の同時添加 medium 中での精子運動率の経時的変化は、Fig. 6 に示したように、caffeine 加 medium 中での変化とほぼ同様であり、処理前の精子運動率によって 40% 以上の群と 40% 未満の群とに分け比較検討すると、30 分ではそれぞれ  $116.3 \pm 12.1\%$ ,  $179.1 \pm 55.1\%$  ( $P < 0.05$ ), 1 時間

では  $118.0 \pm 17.9\%$ ,  $121.5 \pm 77.8\%$  ( $P < 0.05$ ), 2 時間では  $120.4 \pm 22.9\%$ ,  $194.5 \pm 46.4\%$  ( $P < 0.05$ ), 3 時間では  $114.4 \pm 24.3\%$ ,  $194.0 \pm 73.5\%$  ( $P < 0.05$ ) で、処理後 3 時間までは、処理前精子運動率が 40% 未満の群での精子運動率が有意に高い結果が得られた。

### 考 察

男性不妊症に対し近年各種の薬剤による治療が試みられ、その有効性が認められているが<sup>2)</sup>、精液所見の改善は見られても自然妊娠に至らない症例も多い、その解決法の一つとして A I H が積極的に試みられるようになって来たが、必ずしも期待された程の成果を挙げ得ないのが現状である。そのため最近ではさらに体外受精 invitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET)<sup>3,4)</sup> や配偶子卵管内移植 gamete intrafallopian transfer (GIFT)<sup>16,17)</sup> が行われるようになり、それらに用いられる運動良好精子の回収方法が多数研究されるようになったが、多くの時間と人手を要するものが多い。

さて守殿<sup>2)</sup>は妊娠成功例の精液パラメーターの詳細な分析を行い、妊娠成功に至る精液側の条件として、精子濃度の増加よりも、精子運動率あるいは精子運動能の改善が最も重要な因子であると報告したが、一方近年精子運動能に対し、caffeine や kallikrein が in vitro で促進的に作用するという報告が多くなされるようになって来た。そこで我々は精子運動率の低下している症例の多い男性不妊症患者精子に対する caffeine と kallikrein の影響について、in vitro での実験による検討を行った。その結果、caffeine により精子運動率は短時間で著明に上昇し、4 時間までは持続するものの 5 時間以後急激に低下する傾向を認めた。また kallikrein では精子運動能の有意の上昇は認めなかったが、control に比し精子運動率の経時的低下を抑制するような傾向を認めた。一方 caffeine と kallikrein の両者を添加した medium では、caffeine 単独で見られた急激な精子運動率の上昇を認めるとともに、5 時間以後も精子運動率は比較的良好に保たれる傾向を認めた。

caffeine の精子運動能上昇効果についての報告は多く、その作用機序として、Schoenfeld et al.<sup>18)</sup> は、牛精子による検討で、phosphodiesterase の inhibitor である caffeine の添加により、精子中の cyclic adenosin 3: 5 monophosphate と cyclic guanosin 3: 5 monophosphate の濃度が上昇したことから、その結果、精子の oxidative metabolism に好影響を与え、精子の運動能が高められると報告している。一方 Dougherty et al.<sup>19)</sup> のように caffeine にはヒト精子

の運動能を高める効果はないとするものもある。しかし Makler et al.<sup>14)</sup>は, objective multiple exposure photography (MEP) を用いて caffeine の効果について検討したところ, 精子運動能は caffeine により処理前の 30~50% の上昇を認めたことから, caffeine を無効とする Dougherty et al.<sup>19)</sup>の報告は, 正確な精子運動能を判定し得なかったためではないかと述べている。Maussa<sup>9)</sup>はヒト精子運動能に対する caffeine の効果は, その濃度により異なり, 6mM 以下の濃度では著明な上昇効果を認めたが, 60mM 以上の高濃度では逆に抑制されると述べており, Prins and Ross<sup>13)</sup>も人工精液瘤から採取したヒト精子の運動率を高める効果を 7.5mM (final volume) の caffeine により確認していることから, 今回我々も caffeine の濃度を 7.5mM (final volume) とした。このように caffeine により精子運動能は促進されるが, Makler et al.<sup>10)</sup>も述べているように死滅精子を賦活する作用はなく, 非運動精子の運動能を賦活させることが我々の検討からも示唆された。

kallikrein の効果について, 臨床例では有用であるとの報告が多く<sup>20,21,22,23)</sup>, in vitro の研究でも Schill et al.<sup>10)</sup>や Blatanov et al.<sup>11)</sup>らは精子運動能の促進効果を有すると述べ, その作用機序として, Leidle et al.<sup>24)</sup>は kininogenase である kallikrein は kinins の生成を促進し, 平滑筋細胞を活性化し, 骨髄や胸腺の細胞分裂を促進することから, 精子に対しても細胞膜の透過性を高めることにより細胞内代謝を促進させる作用を有する可能性が高いと述べている。しかし Makler et al.<sup>14)</sup>や Hamm and kelami<sup>25)</sup>を始めとし, 今回の我々の結果と同様, kallikrein の精子運動能促進効果は著明ではないとする報告も多い。

caffeine と kallikrein 両者の添加 medium による検討について, Hamm and kelami<sup>25)</sup>は minipig の精巢上体精子の運動能を高めることを報告しているが, ヒト精子での検討は我々が最初のものである。caffeine と kallikrein の両者を添加することにより, 両 stimulants の長所と短所を互いに補い合う結果を得たことは興味深い結果であり, 今後その作用機序についてさらに研究を進める必要があると思われる。

今回の我々の結果から臨床応用には caffeine, kallikrein は有用であると思われたが, Harrison et al.<sup>26,27,28)</sup>は 6mM の caffeine 処理を行ったヒト精子での光学顕微鏡的, 電子顕微鏡的検討の結果, 精子奇形率が増加していたことから, 臨床応用に対する caffeine の使用は催奇性を増加させる可能性が強いと述べている。これらの点から caffeine 処理精子の臨床応用を疑問視する研究者も少なくないが, 最近 Bar-

kay et al.<sup>29)</sup>は 7.2mM の caffeine で処理されたヒト精子の電子顕微鏡的検討を行い, caffeine によるヒト精子への形態的变化を全く認めなかったことから, Harrison et al. の結果は caffeine による変化ではなく, 電子顕微鏡標本の処理段階で精子に変化を来した可能性が高く, caffeine の臨床応用は安全であり実際に応用されつつあることを報告している。

我々も今回の in vitro の検討結果から, 特に精子運動率の著明な低下を示している患者精子の運動能を高める方法として, caffeine あるいは caffeine と kallikrein の両者による処理が有効と考えるが, その臨床応用には慎重に臨むべきであると考えている。

## 結 語

caffeine および kallikrein の有用性について検討する目的で, 今回 14 例の男性不妊症患者より得られた精子を用い精子運動率の経時的变化について検討し, 以下の結果を得た。

- 1) 7.5mM (final volume) の caffeine 添加により精子運動率は 30 分ないし 1 時間後で処理前を 100% とした場合, 約 160% と著明に上昇したが, 5 時間以後は急激に低下する傾向が認められた。また caffeine 添加により精子のエオジン非活性率の変化を認めなかったことから, caffeine は非運動精子の運動能を賦活することが示唆された。
- 2) 1ku/ml の kallikrein 添加による精子運動能の上昇効果は認められなかったが, 精子運動率を比較的長時間維持する傾向を認めた。
- 3) 1), 2) で用いたと同濃度の caffeine および kallikrein を同時に添加した場合は, 4 時間までは caffeine 単独による処理とほぼ同様, 精子運動率の著明な上昇効果を認め, それ以後の精子運動率の低下は caffeine 単独時に比し緩徐に低下し, 精子運動能の維持効果が認められた。
- 4) caffeine および caffeine と kallikrein 両者添加による精子運動率の上昇効果は, 処理前運動率が 40% 以上の群に比し, 40% 未満の群においてより著明であった。

## 文 献

- 1) 森 崇英: 乏精子症に対する治療の現況, 日本アンドロロジー学会, 第 5 回学術大会講演抄録集, 6, 1986.
- 2) 守殿貞雄: 男性不妊症の臨床—最近の話題を中心に—, 臨泌, 40: 7, 1986.
- 3) Trounson, A. O., Mohr, L. R., Wood, C. and Leeton, J. F.: Effect of delayed insemination of in-vitro fertilization, culture and transfer of

- human embryos. *J. Reprod., Fert.*, 64: 285, 1982.
- 4) 鈴木雅洲, 星 和彦, 星 合晃, 斎藤 晃, 桃野耕太郎, 森 良一郎, 京野広一, 対木 章, 今泉英明, 長池文康, 上原茂樹, 水沼孝子, 広瀬洋子: 体外受精, 胚移植により受精, 着床に成功した卵管性不妊症の1例, 日不妊会誌, 28, 439, 1983.
  - 5) 星 和彦, 長池文康, 桃野幸太郎, 京野広一, 対木 章, 斎藤 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) 真田利男, 古林俊文, 兼子 智, 小堀 清, 飯塚理八: 密度勾配遠心用蔗糖合体を用いた精子洗滌濃縮法のA I Hへの応用, 日不妊会誌, 28: 268, 1983.
  - 7) Kaneko, S., Yamaguchi, J., Kobayashi, Y. and Iizuka, R.: Separation of fuman X-and Y-bearing sperm using Percoll density gradient centrifugation. *Fertil Steril.*, 40: 661, 1983.
  - 8) Haesungcharen, A. and Chulavatonatol, M.: Stimulation of human spermatozoal motility by caffeine. *Fertil Steril.*, 24: 662, 1973.
  - 9) Mousa, M. M.: Caffeine and sperm motility. *Fertil Steril.*, 38: 845, 1983.
  - 10) Schill, W. B., Faleo, O. B. and Haberland, G. L.: The possible role of kinins in sperm motility. *Int. J. Fertil.*, 19: 163, 1974.
  - 11) Blatanov, K., Somlev, B., Doycheva, M., Tornyov, A. and Efremova, V.: Effect of kallikrein on bull sperm motility in vitro. *Int. J. Fertil.*, 23: 73, 1978.
  - 12) Makler, A., Fisher, M., Murillo, O., Laufer, N., Decherney, A. and Naftolin, F.: Factors affecting sperm motility. IX. Survival of spermatozoa in various biological media and under different gaseous compositions. *Fertil Steril.*, 41: 428, 1984.
  - 13) Prins, G. C. and Ross, L. S.: Properties of human epididymal sperm obtained from an allopaastic spermatocele: motility assessment and penetration of zona-free hamster oocytes in the presence and absence of caffeine. *Fertil Steril.*, 44: 401, 1985.
  - 14) Makler, A., Makler, E., Itzkovitz, J. and Brandes, J. M.: Factors affecting sperm motility. IV. Incubation of human semen with caffeine, kallikrein and other metabolically active compounds. *Fertil Steril.*, 33: 624, 1980.
  - 15) Makler, A.: The improved ten-micrometer chambers for raped sperm count and motility evaluation. *Fertil Steril.* 33: 337, 1980.
  - 16) Ash, R. H., Balmaceda, J. P., Ellisworth, L. R. and Wong, P. C.: Gamete intra-fallopian transfer (GIFT): A new treatment for infertility. *Int. J. Fertil.*, 30: 41, 1985.
  - 17) 田中 温, 戸枝通保, 長沢 敢, 山本 勉, 中潟直己: 配偶子卵管内移植 (GIFT) の開発とその検討: 産婦の世界, 38: 727, 1986
  - 18) Schoenfeld, C. Y., Amelar, R. D. and Dubin, L. Stimulation of ejaculated human spermatozoa by caffeine. *Fertil Steril.*, 26: 158, 1975.
  - 19) Dougherty, K. A., Cochet, A. T. K. and Urry, R. L.: Caffeine, theophylline and human sperm motility. *Fertil Steril.*, 27: 541, 1976.
  - 20) Schill, W. B.: Die Behandlung männlicher Fertilitätsstörungen mit kallikrein. *Dtsch. Mtsch. Med. Wschr.*, 101: 1733, 1978.
  - 21) Ishigami, J., Matsumoto, O., Hazama, M., Tomioka, O. and Kamidono, S.: Kallikrein and male infertility. *Kininogen-kallikrein* 5: 65, Schattauer, Stuttgart, New York, 1980.
  - 22) 牧 昭夫, 松橋 求, 高波真佐治, 村上憲彦, 三浦一陽, 中山孝一, 白井将文, 安藤 弘: 男性不妊症患者に対するTKT-100kallidinogenase製剤の使用経験, 泌尿紀要, 28: 605, 1982.
  - 23) 田代弘紹, 宮本憲二, 星野真希夫, 吉田英機, 今村一男: 男性不妊症に対するkallikrein (TKT-100)の臨床的効果と末梢血中LH, FSHおよびtestosterone値の変動について, 日不妊会誌, 30: 298, 1985.
  - 24) Leidle, W., Prinzen, R., Schill, W. B. and Fritz, H.: The effect of Kallikrein on motility and metabolism of spermatozoa in vitro. *Kininogenase-Kallikrein* 2: 33, Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.
  - 25) Hamm, B. and Kelami, A.: How to increase the motility of spermatozoa from the epididymis of bulls and alloplastic spermatoceles in minipigs. *andrologia* 16: 26, 1984.
  - 26) Harrison, R. F.: Insemination of husband semen with and without the addition of caffeine. *Fertil Steril.*, 29: 532, 1978.
  - 27) Harrison, R. F., Sheppard, B. L. and Kalszer, M.: Observation on the motility, ultrastructure and elemental composition of human spermatozoa incubated with caffeine. *andrologia* 12: 34, 1980.
  - 28) Harrison, R. F., Sheppard, B. L. and Kalszer, M.: Observation on the motility, ultrastructure and elemental composition of human spermatozoa incubated with caffeine. II. A time sequence study. *andrologia* 12: 434, 1980.
  - 29) Barkay, J., Bartoov, B., Ben-Ezra, S., Langsam, J., Feldman, E., Gordon, S. and Zuckerman, H.: The influence of in vitro caffeine treatment on human sperm morphology and fertilizing capacity. *Fertil Steril.*, 41: 913, 1984.

## The Fundamental Studies of Caffeine and Kallikrein on Sperm Motility in Male Infertility

**Hajime Ogawa**

The Division of Urology,  
Social Insurance Tonan  
General Hospital.

(Director: S. Kawase, M. D.)

**Hirotsugu Tashiro, Hideki Yoshida  
and Kazuo Imamura**

Department of urology,  
School of Medicine,  
Schowa University.

(Director: Prof. K. Imamura, M. D.)

The effect of caffeine and kallikrein on sperm motility in the cases with male infertility was inves-

tigated, and the change of time course of sperm motility was studied at the same time.

Addition of 7.5mM caffeine markedly enhanced sperm motility, as compared with control medium (Ham's F-10). The rate of eosinactivity of spermatozoa was not changed during these incubations. It was suggested that, caffeine stimulated non-motile and eosinactive spermatozoa, The increase of sperm motility was not observed in the 1KU/ml of kallikrein, but sperm motility maintained for long term. In the combination medium of 7.5mM caffeine and 1KU/ml kallikrein, the sperm motility was evaluated significantly, and maintained for long term. The effect of caffeine and/or combination medium of caffeine and kallikrein was more significant in group whose sperm motility was less than 40% before these treatments than that of over 40%.

From these results, it was suggested that caffeine and/of combination medium of caffeine and kallikrein were clinically useful.

(受付：昭和62年11月19日特掲)

## ハムスターテストと一般精液検査との 関連性についての検討

### Correlation Between the Zone-free Hamster Egg Sperm Penetration Test and Seminal Examinations

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 北尾 学教授)

高橋 健太郎      吉野 和男      高木 司  
Kentaro TAKAHASHI      Kazuo YOSHINO      Tsukasa TAKAGI  
白井 孝昭      西垣 新      内田 昭弘  
Takaaki SHIRAI      Arata NISHIGAKI      Akihiro UCHIDA  
草刈 万寿夫      北尾 学  
Masuo KUSAKARI      Manabu KITAO

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

ハムスターテストはヒト精子の妊孕能判定法として近年利用されつつある。今回、当科不妊外来を訪れた30名の不妊男性患者を対象とし、ハムスターテストと一般精液検査との関連性について検討を行い、以下の結果を得た。

1. 11名が正常精液所見(精子濃度  $60 \times 10^6/\text{ml}$  以上、運動率60%以上)で19名が異常精液所見であり、正常精子の平均侵入率は50.2%、異常精子の平均侵入率は25.0%で、統計的に侵入率に有意な差 ( $P < 0.01$ ) が認められた。

2. 精子濃度と侵入率及び運動精子濃度と侵入率の間には統計的に比較的強い正の相関関係 ( $P < 0.001$ ) が認められたが、運動率と侵入率との間の相関関係は認められなかった。

3. ハムスターテストで妊孕性の判定をする場合、侵入率40%以上を陽性とするとき一般精液検査所見とハムスターテスト所見は最も一致する。

以上より、ハムスターテストと一般精液検査との関連性は比較的強く認められた。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 251-256, 1988)

#### 緒 言

男性不妊症の診断上、最も重要な検査に精液検査がある。この検査は通常、精子濃度、運動率、奇形率の検査を行うのが一般的である。しかし、これらの検査はあくまでも精液の性状を検査するものでしかなく、実際に妊孕能を有する精子かどうかの機能検査ではない。事実、これらの精液の検査成績と妊娠率との間には必ずしも相関がみられない場合があ

り、基準値以下の異常精子の場合でも妊娠成立は多々見られる。逆に、すべての性状に異常がないにもかかわらず、不妊である場合もある。精子の妊孕性を確かめるにはヒト卵子を用いて検査するのが最良の方法ではあるが、倫理上の問題や必要に応じて卵子を得られないなどの理由により非常に困難であるの言うまでもない。そこで考えられるのは他の動物の卵子が利用出来ないかと言うことである。1972年に Yanagimachi<sup>1)</sup>により capacitation と acrosome

reaction を終えたモルモット精子は透明帯を除去したハムスター卵子に侵入する事が報告され、その後、ヒト精子でもその現象は可能である事が報告された<sup>2)</sup>。そこで、透明帯通過能については確認できないが、capacitation と acrosome reaction を終えた精子のみが透明帯除去ハムスター卵子への侵入が可能であるという原理を利用することにより、間接的ではあるが、ヒト精子の受精能力の有無を知ることが出来る。最近、この特性を利用し、精子妊孕能判定法として透明帯除去ハムスター卵子へのヒト精子侵入試験 (Zona-free hamster egg sperm penetration test: ZSPT, 以下ハムスターテストと略す) が用いられつつある<sup>3)</sup>。しかし、その検査方式及び判定基準には確立したものはなく、各施設において、それぞれが基準値を定めているのが現状である。今回は、島根医大産科婦人科不妊外来で行っているハムスターテストの成績を基に、一般精液検査との関連性について検討を行ったので、文献的考察を加え報告する。

研究対象及び方法

1. 対象

昭和 61 年 5 月より 10 月までに当科不妊外来を訪れた不妊夫婦のうち、ハムスターテストを行った 30 名の不妊男性患者を対象とした。

2. 一般精液検査

精液検査条件は 5 日以上禁欲の後、用手法にて滅菌シャーレに射精させ、室温下で 30 分間液化させた後、精子数を算定した。なお、正常精子所見は 60×

10<sup>6</sup>/ml 以上の精子濃度を有し、精液量 2.0ml 以上、精子運動率 60% 以上、精子奇形率 15% 以下のものとし、それ以外の精液所見のものは異常精液とした。

3. ハムスターテスト (図 1)

(1) 培養液

卵子と精子の培養には Whittingham's T<sub>6</sub>液 (表 1) に 3% ヒト血清アルブミン (HSA) を加えたものを使用した。

(2) 透明帯除去ハムスター卵子

表 1 培養液の組成  
(Whittingham's T<sub>6</sub>-To make 1 liter)

NaCl	5.719gm
KCl	0.106gm
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.096gm
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.0511gm
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.262gm
NaHCO <sub>3</sub>	2.101gm
D-Glucose	1.000gm
Na Lactate 60% syrup	4.65ml
Na Pyruvate	0.052gm
Penicilin G	0.06gm
Streptomycin sulphate	0.05gm
Phenol Red	0.005gm

成熟雌ゴールデンハムスター (体重 100-150gr, 8-12 週齢) を使用し、性周期の Day 1 の A.M. 11:00 に PMS 30IU, Day 3 の P.M. 7:00 に hCG 30IU を腹腔内に投与し過排卵を誘起した。hCG 投与 18 時間後に開腹し卵管より採卵し、得られた卵子を 0.1%

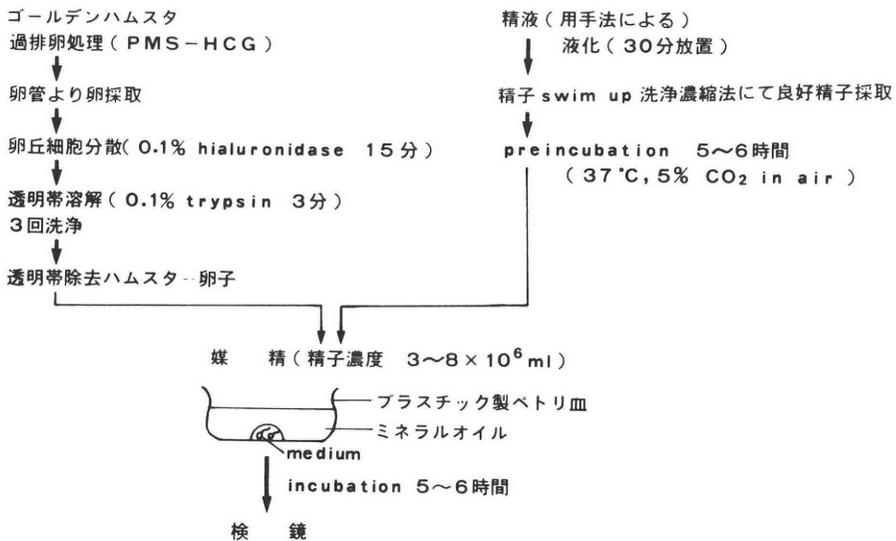


図 1 ハムスターテストの概要

hyaluronidaseで15分間処理して卵丘細胞を分散させ、次に0.1% trypsinで3分間処理することにより透明帯を除去し、3回培養液で洗浄後検査に供した。

(3) 精子

被検者より用手法によって得た精液を30分間室温に放置し十分液化させた後、精子swim up洗浄濃縮法<sup>4)</sup>により良好精子を回収した。回収した良好精子は受精まで5-6時間の前培養を行った。

(4) 受精

培養液0.1mlをプラスチック製ペトリ皿に入れ、パラフィンオイルでおおい、あらかじめ準備しておいた透明帯除去卵子(10-20個)と精子をその中に入れincubator(37°C,5% CO<sub>2</sub> in air)内で培養した。受精精子濃度は3-8×10<sup>6</sup>/mlとなるようにしたが、被検者の精液量、精子濃度が極端に少ない場合は最大限その数値に近づけるようにした。

(5) 観察及び判定

受精後5-6時間培養し位相差顕微鏡下で観察を行い、頭部膨化精子もしくは尾部をともなった雄性前核が確認できた場合に侵入とし、侵入率を算出した。

以上、一般精液検査の精子数及び運動率をパラメーターとし、ハムスターテストの結果との関連性について統計学的に検討した。

なお、平均値の差の検定にはStudent's t-testを使用した。

結 果

1. 対象における精液検査所見及びハムスターテストの結果

30名の対象症例における精液検査所見及びハムスターテストの結果を表2に示す。対象男性の射出精液における精子濃度、運動率及び運動精子濃度の分布はそれぞれ0.1×10<sup>6</sup>~172×10<sup>6</sup>/ml、15-81%、0.1×10<sup>6</sup>~130×10<sup>6</sup>/mlであり、11名が正常精液所見で19名が異常精液所見であった。また11名の正常精子のうち妊孕性の判明しているものが8名あった。そしてハムスターテストの侵入率は0%~83.3%に分布していた。

2. 精液所見と侵入率との相関

精液所見のうち精子濃度と侵入率との相関関係を図2に示す。精子濃度と侵入率の間には0.1%以下の危険率で正の相関( $\gamma=0.723$ )が認められ、精子濃度が濃くなるにつれ、侵入率も高率となる事が解った。同様に運動率と侵入率との関係のみてみると(図3)、有意な相関関係は全く認められなかった。しかし運動精子濃度と侵入率との相関は、危険率0.1

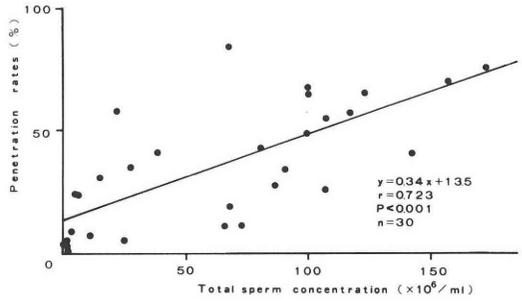


図2 精子濃度と侵入率との相関

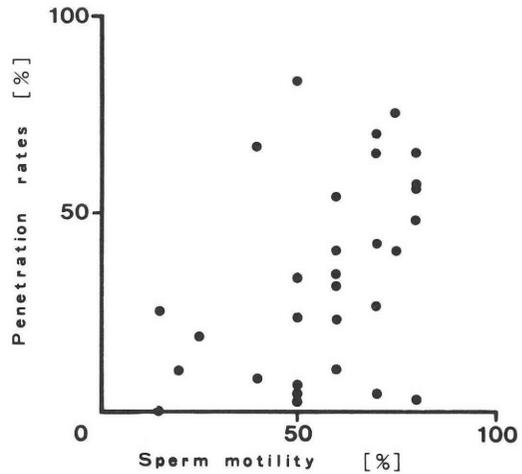


図3 運動率と侵入率との相関

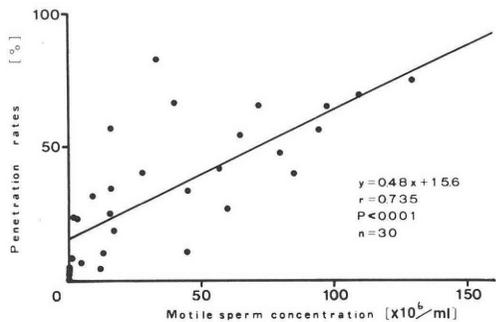


図4 運動精子濃度と侵入率との相関

%以下で正の相関( $\gamma=0.735$ )が認められ、運動精子の数が増すほど侵入率も高率となる事が解った(図4)。

3. 正常精子と異常精子との侵入率の比較

表2 精液検査所見及びハムスターテストの結果

Patients	Total sperm concentration ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	Sperm motility (%)	Motile sperm concentration ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	No. of examined eggs	No. of penetrated eggs	Penetration rates (%)
1	67	25	17	44	8	18.2
2	38	74	28	42	17	40.5
3	0.1	80	0.1	35	1	2.9
4	100	72	72	46	30	65.2
5	80	71	57	43	18	41.9
6	4	50	2	38	9	23.7
7	172	76	130	40	30	75.0
8	157	70	110	43	30	69.8
9	86	70	60	15	4	26.7
10	1.3	15	0.2	28	0	0
11	67	51	34	30	25	83.3
12	0.7	71	0.5	50	2	4.0
13	15	60	9	38	12	31.6
14	24	50	12	24	1	4.2
15	123	80	98	46	30	65.2
16	99	81	80	44	21	47.7
17	100	40	40	27	18	66.7
18	0.2	50	0.1	42	1	2.4
19	107	15	16	16	4	25.0
20	90	50	45	18	6	33.3
21	72	63	45	29	3	10.3
22	10	50	5	15	1	6.7
23	65	20	13	10	1	10.0
24	27	59	16	26	9	34.6
25	2.5	40	1	25	2	8.0
26	107	61	65	35	19	54.3
27	142	61	86	15	6	40.0
28	117	81	95	48	27	56.4
29	5	60	3	26	6	23.0
30	21	76	16	28	16	57.1

正常精子と異常精子における精子濃度、運動率、運動精子濃度及び侵入率の平均値を表3に示す。11例の正常精子の平均精子濃度は $114.1 \times 10^6/\text{ml}$ であり、平均運動率は71.5%、平均運動精子数は $81.6 \times 10^6/\text{ml}$ であった。侵入率は10.3~75.0%に分布しており平均50.2%であった。しかし、19例の異常精子は平均精子濃度 $33.9 \times 10^6/\text{ml}$ 、平均運動率49.3%、平均運動精子濃度は $13.6 \times 10^6/\text{ml}$ であり、平均侵入

率は25.0%であった。このように正常精子と異常精子とを比較すると、精液所見では精子濃度、運動率、運動精子濃度ともに有意に( $P < 0.001$ )正常精子が高値であった。また、侵入率も正常精子の方が、異常精子よりも有意に( $P < 0.01$ )高率であった。そして、妊孕性の判明している正常精子の平均侵入率は59.2%であり、11例の正常精子の平均侵入率50.2%よりも、やや高値であるが、統計的には有意な差

表3 各種パラメーターにおける正常精子と異常精子との比較

Subjects	No. of patients	Sperm parameters			
		Total sperm concentration	Sperm motility	Motile sperm concentration	Penetration rates
		Mean±S.D. (×10 <sup>6</sup> /ml)	Mean±S.D. (%)	Mean±S.D. (×10 <sup>6</sup> /ml)	Mean±S.D. (%)
Normal sperm	11	114.1±30.5	71.5±7.2	81.6±24.1	50.2±18.7
Abnormal sperm	19	33.9±35.9**	49.3±19.2**	13.6±13.7**	25.0±23.0*

\* P < 0.01  
\*\* P < 0.001

は認められなかった。

次に精液所見と侵入率との相関関係を正常精子と異常精子とで比較検討すると、精子濃度との相関は正常精子、異常精子ともに認められ、危険率もともに5%以下であった。しかし、運動率との相関は、正常精子、異常精子ともに認められなかった。また、運動精子濃度との相関は、正常精子が危険率1%以下であるのに対して、異常精子は危険率0.1%でさらに有意な正の相関関係が認められた。

5. ハムスターテストの基準値

一般精液検査所見を基準とし、侵入率の cut-off 値により、妊孕性判定の予測を試みた(表4)。cut-off 値を10%に設定すると、感受性は100%となるが特異性は36.8%しかなく、逆に cut-off 値を50%に設定すると、特異性は84.2%と上昇するが、感受性は54.5%と低下した。そこで cut-off 値を40%にすると、感受性は81.8%、特異性は78.9%となった。故に、一般精液検査で正常精子(妊孕可能である)の基準を精子数60×10<sup>6</sup>/ml以上かつ運動率60%以上とすると、ハムスターテストで妊孕性の判定をする場合、侵入率40%以上を陽性とする、一般精液検査所見とハムスターテスト所見は最も一致する。

表4 各 Penetration rates による妊孕性判定の予測値

Cut-off value (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
10	100.	36.8
15	90.9	42.1
20	90.9	47.4
30	81.8	63.2
40	81.8	78.9
50	54.5	84.2

考 察

ハムスターテストは一般精液検査ではカバーする事が出来ない妊孕能を確認することができる。そし

て、IVF治療の確立しつつある現在、Margaliothら<sup>4)</sup>も報告しているように、卵管因子、原因不明の不妊には、IVFにおいて、ハムスターテストの結果は良い予報となるのでIVFプログラムのプレスクリーニングとして、ハムスターテストはルチーンに行う事が望ましい。

一般精液検査とハムスターテストとの関連性について Binorら<sup>5)</sup>は運動精子濃度が最も重要であり、運動精子濃度6×10<sup>5</sup>/ml以下では侵入は起こらなかったと報告しているが、反対に、Yanagimachiら<sup>2)</sup>は3-5×10<sup>5</sup>/mlで実際に侵入を認めており、星ら<sup>6)</sup>も個人差はあるものの2.5×10<sup>5</sup>/mlの低濃度でも侵入する事を報告している。このように、ハムスターテストの侵入と精子濃度との限界に関しては様々な報告がある。我々の成績では運動精子濃度1×10<sup>6</sup>/ml以下のものの侵入率は0-8.0%と低率ではあるが1×10<sup>5</sup>/ml以下の非常に低濃度のものでも侵入は認められた。

今回の研究により、一般精液検査で正常精子と判定されたものと、異常精子と判定されたものとのハムスターテストにおける侵入率は有意に正常精子の方が高率であった。この事は、一般精液検査で判定された正常精子と異常精子との間に妊孕能の差が明らかに証明されており、一般精液検査で正常精子と判定されたものは妊孕性ありと判断してもさしつかえないと推察出来る。また、Rogersら<sup>7)</sup>やHall<sup>8)</sup>は精子濃度、運動率と侵入率との相関は見い出せなかったと報告している。我々の成績でも、確かに運動率との相関は全く見い出せなかった。しかし、精子濃度、特に運動精子濃度と侵入率の間には比較的強い相関が認められ、今後の検討によっては運動精子濃度は妊孕能判断の指標になりうる事が示唆された。

ハムスターテストの判定規準は各施設によって異なり、Rogersら<sup>7)</sup>は10%をその判定境界値としており、Karpら<sup>9)</sup>は11%以下を陰性、15%以上を陽性とした場合、妊孕力を正確に表現出来ると報告している。我々の成績では、明らかに妊孕力が認められた者の侵入率は、40.0-75.0%(平均59.2%)であるが、一般精液検査で正常精子と判定(精子濃度60×

10<sup>6</sup>/ml 以上、運動率 60% 以上) したものの中には 10.3% と低侵入率を示すものもあり、今後検討を要す。しかし、今回検討した一般精液検査での正常精子を妊孕性ありとして取り扱う場合、侵入率 40% を判定規準とする事が最も精液検査の結果と一致する。

ハムスターテストと精子の妊孕性の関係については、様々な報告があり、まだ統一的な見解は得られておらず、まだまだ疑問となる点も多いが、今後の研究により、一般精液検査と同様に有用な不妊検査法となると推察出来る。

#### 文 献

- 1) Yanagimachi, R.: Penetration of guineapig spermatozoa into hamster egg in vitro. *J. Reprod. Fertil.*, 28: 477, 1972.
- 2) Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. and Rogers, B. J.: The use of zona-free animal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Bio. Reprod.*, 15: 471, 1976.
- 3) 星 和彦, 齊藤 晃: 精子の機能検査法, 体外受精・胚移植〈基礎と臨床〉(鈴木雅洲編), p 30, 金原出版, 東京, 1985.
- 4) Margalioth, E. J., Navot, D., Laufer, N., Lewin, A., Rabinowitz, R. and Schenker, J. G.: Correlation between the zona-free hamster egg sperm penetration assay and human in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 45: 665, 1986.
- 5) Binor, Z., Sokoloski, J. and Wolf, D.: Penetration of the zona-free hamster egg by human sperm. *Fertil. Steril.*, 33: 321, 1980.
- 6) 星 和彦, 齊藤 晃, 京野広一, 村木 章, 桃野耕太郎: ハムスター卵子を用いた精子の受精能検査, *細胞工学* 3 : 595, 1984.
- 7) Rogers, B. J., Van Campen, H., Ueno, M., Lambert, H., Bronson, R. and Hale, R.: Analysis of human spermatozoal fertilizing ability using zona-free ova. *Fertil. Steril.*, 32: 664, 1979.
- 8) Hall, J. L.: Relationship between semen quality and human sperm penetration of zona-free hamster ova. *Fertil. Steril.*, 35: 457, 1981.
- 9) Karp, L. E., Williamson, R. A., Moore, D. E., Shy, K. K., Plymate, R. and Smith, W. D.:

Sperm penetration assay; Useful test in evaluation of male fertility. *Obste. Gynecol.*, 57: 620, 1981.

### Correlation Between the Zona-free Hamster Egg Sperm Penetration Test and Seminal Examinations

**Kentaro Takahashi, Kazuo Yoshino,  
Tsukasa Takagi, Takaaki Shirai,  
Arata Nishigaki, Akihiro Uchida,  
Masuo Kusakari and Manabu Kitao**

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

The zona-free hamster egg sperm penetration test (ZSPT) can be used to the test for male infertility. We examined thirty men, whose female partners had visited our infertile clinic. We studied the correlation between the ZSPT and the common seminalysis.

The results are as follows:

- 1) Eleven men were normal in the seminalysis test (sperm concentration was over  $60 \times 10^6$ /ml, and the sperm motility exceeded 60%). Nineteen had abnormal findings. The mean sperm penetration rate of the normal group (50.2%), a value significantly higher than that of the abnormal group (25.0%) ( $P < 0.01$ ).
- 2) There was a statistically high positive relationship between sperm concentration and the penetration rate ( $P < 0.001$ ), also between the motile sperm concentration and the penetration rate ( $P < 0.001$ ). There was no significant relationship between the motility and the penetration rate.
- 3) The mean value of the penetration rate of ZSPT highly correlated with the seminalysis when the cut-off value of ZSPT was over forty percent.

Thus, there is a statistical relation between the ZSPT test and common seminalysis.

(受付: 昭和 62 年 4 月 15 日)

# 精子無力症における精子の微細構造について。 第2報. immotile cilia syndrome の1例

## Fine Structure of Asthenozoospermia in Infertile Men.

### 2. Immotile Cilia Syndrome. Report of a Case.

東北大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 折笠精一教授)

佐藤 和宏      石川 博夫      前原 郁夫  
Kazuhiro SATOH      Hiroo ISHIKAWA      Ikuo MAEHARA  
佐藤 滋彰      木村 正一      折笠 精一  
Sigeaki SATOH      Masaichi KIMURA      Seiichi ORIKASA

Department of Urology, Tohoku University  
School of Medicine, Sendai, Japan.

immotile cilia syndrome の1例を報告した。患者は35才の男性で8年間の不妊を主訴に当科不妊外来を受診した。精液検査所見では精子濃度  $24 \times 10^6 \sim 41 \times 10^6/\text{ml}$ 、生存率 59~76% 等であったが、3回の検査において運動率、運動能 (SMEI) は常にゼロであった。患者は慢性副鼻腔炎、気管支拡張症の既往歴を有し、胸部X線写真で右胸心を認めた。精子の電顕像では、観察した全ての精子の尾部の微細構造において、outer, inner dynein arm の欠損がみられた。

以上より本症例は immotile cilia syndrome と考えられたが、Afzelius の分類では I 型に属し、我々の調べ得た範囲では不妊領域の報告では本邦の文献上第5例目と思われた。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 257-260, 1988)

#### 緒 言

immotile cilia syndrome は1975年 Afzelius ら<sup>1)</sup>と Pederson ら<sup>2)</sup>によって発見され、1977年 Eliasson ら<sup>3)</sup>によって命名された症候群である。本症例群は、幼児期よりのくり返す気道感染と男性の場合には不妊症を呈し、その原因は気道粘膜線毛と精子鞭毛の構造異常とされている。

今回我々は不妊を主訴とした症例で精子の運動性が全くゼロである事から、既往歴聴取、心音聴取、胸部X線撮影、精子尾部の電顕観察等を行ない、immotile cilia syndrome と診断した1例を経験したので報告する。

#### 症 例

患者: [ ] 35才, I D: [ ]  
主 訴: 不妊 (不妊期間8年)  
家族歴: 長姉2人子供有。次姉結婚後2年子供無。内蔵逆転の有無等不明。  
既往歴: 慢性副鼻腔炎、気管支拡張症の既往歴あり。幼少時より気道感染をくり返していた。

#### 検査成績

精液検査所見: 検査は3回施行した。精液量は2.4~4.4ml, 平均3.2ml。精子濃度は  $24 \times 10^6 \sim 41 \times 10^6/\text{ml}$ 、平均  $32 \times 10^6/\text{ml}$ 。運動率0%。運動能0 SMEI。奇形率3~20%、平均9%。生存率59~76%、平均65%。

血清ホルモン値：LH7.7mIu/ml, FSH9.5mIu/ml, PRL7.3mIu/ml, T412.0ng/dl.

精巣容量：右側 12ml, 左側 15ml.

心音聴取, 胸部X線写真：気管支拡張などの異常所見は認められなかったが, 右胸心が判明した(Fig. 1).

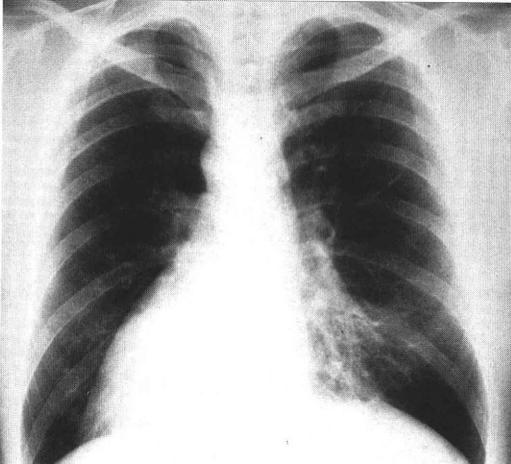


Fig. 1 Chest X-ray film showing dextrocardia.

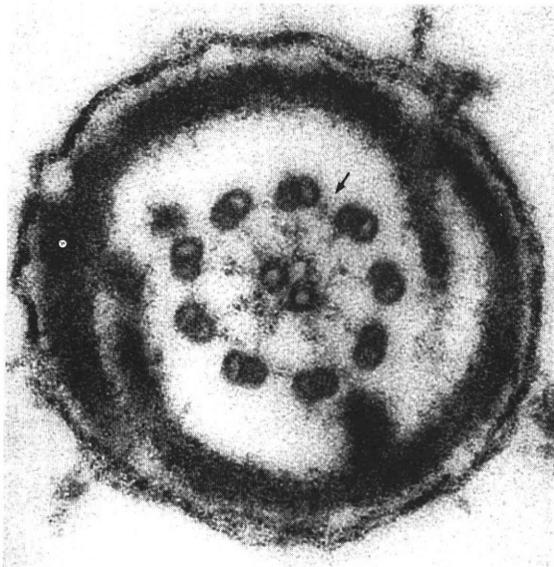


Fig. 2 Transverse section of sperm tail in this case. Arrow indicates lack of both dynein arms.

精子の電顕所見：既報した如き方法<sup>4)</sup>で精子の電顕所見を得た。Fig. 2 は主部の横断面像を示すが, axoneme の outer, inner dyneinarm の欠損をみる。

観察した全ての精子の尾部横断面像において同様の所見が得られた。

以上より本症は immotile cilia syndrome と診断したが, 鼻粘膜線毛の形態, 機能検査や精巣生検は施行できなかった。

考 按

fig. 3 に線毛と鞭毛の基本的構造<sup>5)</sup>を示すが, 精子は以下の様な機能によって運動すると考えられている。即ち精子の運動は中間部の mitochondria で造られる ATP を利用して, doublet microtubules の A 小管に結合している dynein arm (ATPase を有するタンパク質, グイニンより成る) が隣りの B 小管に周期的に付着し, これをある一方向に押しやるといった機構, いわゆる滑りの機構によって行なわれると考えられている。毛利はこれを例えて, ある doublet microtubules が隣りの microtubules に沿ってムカデの様歩いていくと表現している<sup>6)</sup>。しかし滑りが屈曲に変換する機構に関しては, 今後解明されるべき点もある。immotile cilia syndrome はこの dynein arm の構造異常がある為に, 線毛及び鞭毛の運動障害がおこり, 臨床症状として慢性気道感染症や精子不動症が出てくるものと思われている。

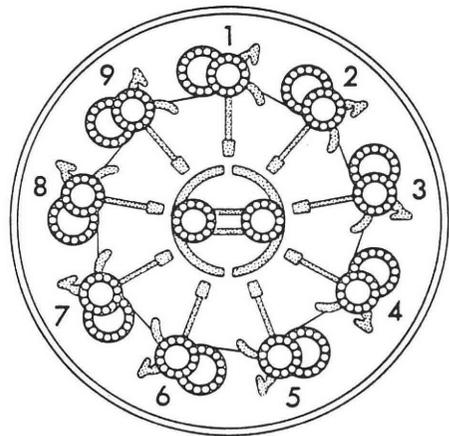


Fig. 3 Diagram of axonemal complex (modified after Mohri's illustration<sup>5)</sup>).

本症候群は 1975 年 Afzelius らと Pederson らにより別々に発表され, 1977 年 Eliasson らによってその名称が提唱されたものである。Afzelius<sup>7)</sup>は本症候群の定義として幼少児期よりの慢性気管支炎, 鼻炎がある他に以下の 1 つ以上の条件を満しているものとしている。

i) 本人か近縁者に内臓逆位のあるもの ii) 精子の生存率は正常だが動かないもの iii) 気道粘膜の線毛機能検査で線毛機能が全くゼロか殆どないもの iv) 気道粘膜線毛の微細構造異常があるもの。そして immotile cilia syndrome という名称は、本症候群の病態をも簡便に言い表わしたものであり推奨されるべきであると述べている。

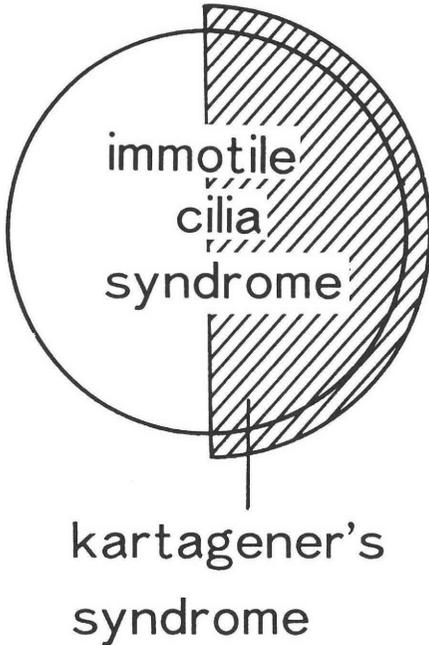


Fig. 4 Schema of the relationship between Immotile cilia syndrome and Kartagener's syndrome.

Kartagener 症候群は慢性副鼻腔炎、気管支拡張症、完全内臓逆位を trias とする症候群であるが、これと immotile cilia syndrome との関係は要約すれば fig. 4 の如くである。即ち例外も報告されているが<sup>9)</sup>、Kartagener 症候群のものはいまほ全て immotile cilia syndrome であり、逆に immotile cilia syndrome の約半数は Kartagener 症候群である。これら両症候群の本態は同一と思われるが、胎生期の内臓の位置決定に線毛運動が重要な役割をしており、線毛運動が欠如した場合内臓の位置は偶然性に支配され 50% の確率で内臓逆位がおこるとされており<sup>9)</sup>、その結果 immotile cilia syndrome の約半数に内臓逆転がみられず、Fig. 4 の様な結果となったものと考えられる。尚 immotile cilia syndrome は常染色体劣性遺伝を示す事が知られている<sup>10)</sup>。本邦における本症候群は知りうる限り不妊領域では文献上 4 例<sup>11-14)</sup>

の報告が見られるが、Kartagener 症候群の頻度が吹米では 7,300~12,500 名に 1 名とされる<sup>15)</sup>事から、immotile cilia syndrome は実際にはより多数存在するものと推定される。

Afzelius は 14 例の本症候群の精子の微細構造の観察から、構造異常を 5 型に分類しているが<sup>16)</sup>、その後の報告ではこの分類に入らない亜型も比較的多く報告されており、今後の報告も含め将来的には再分類されるものと思われる。

実際の不妊外来で留意すべき事は、精子の運動性が常に極端に低下している症例では、一度は本症候群の疑いをもち既往歴の聴取、心音聴取等を行なうべきであり、その後に精子、気道粘膜線毛の形態あるいは機能検査によって診断すべきであろう。ヒトでの本症候群の不妊に関する治療は全く不明なのが現状である。

最近感染や外傷を契機に、精子の運動性が悪く精子尾部微細構造異常を示す症例が報告されており、Williamson ら<sup>17)</sup>は immotile cilia syndrome と対比させて acquired immotile sperm syndrome なる名称を用いている。この名称が妥当か否かは別として、実際の不妊外来では膿精液症で精子の運動性が低下している症例が少なからずみられる事から、今後このような症例の原因解明と同時に immotile cilia syndrome との鑑別も必要とされよう。(本論文の要旨は第 31 回日本不妊学会総会で発表した。稿を終えるにあたり御教示頂いた東京大学教養学部生物学科毛利秀雄教授に深謝致します。)

#### 参考文献

- 1) Afzelius, B., Eliasson, R. and Johnsen, and Lindholmer, C.: Lack of dynein arms in immotile human spermatozoa. *J. Cell Biol.*, 66: 225, 1975.
- 2) Pederson, H. and Rebbe, H.: Absence of arms in the axoneme of immobile human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 12: 541, 1975.
- 3) Eliasson, R., Mossberg, B., Camner, P. and Afzelius, B. A.: The immotile-cilia syndrome. A congenital ciliary abnormality as an etiologic factor in chronic airway infections and male sterility. *N. Engl. J. Med.*, 297: 1, 1977.
- 4) 佐藤和宏, 石川博夫, 前原郁夫, 佐藤滋彰, 木村正一, 折笠精一: 精子無力症における精子の微細構造について。第 1 報。精子無力症の臨床的事項に関する一考察, *日不妊会誌*, 32: 12, 1987.
- 5) 毛利秀雄: 細胞運動におけるチューブリン・ダイニン系 I. *動雑*, 85: 1, 1976.
- 6) 毛利秀雄: 線毛運動のメカニズム, *日気食会報*, 34: 75, 1983.

- 7) Afzelius, B. A.: "Immotile-cilia" syndrome and ciliary abnormalities induced by infection and injury. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 124: 107, 1981.
- 8) Johnsson, M. S., McCormick, J. R., Gilies, C. G. and Gondos, B.: Kartagener's syndrome with motile spermatozoa. *N. Engl. J. Med.*, 307: 1131, 1982.
- 9) Rott, H. dD.: Kartagener's syndrome and the syndrome of immotile cilia. *Hum. Genet.*, 46: 249, 1979.
- 10) Björn, A. and Afzelius, B. A.: Genetical and ultrastructural aspects of the Immotile-cilia syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, 33: 852, 1981.
- 11) 伊藤晴夫, 皆川秀夫, 布施秀樹, 川村健二, 内藤仁, 島崎 淳, 永野俊雄, 鈴木二美枝, 夜久有滋, 石川堯夫, 山口邦雄: Immotile-cilia syndrome. *日泌尿会誌*, 73: 206, 1982.
- 12) 原 慎, 石田仁男, 新島端夫, 福谷恵子, 横山正夫: Immotile cilia syndrome の 1 例. *日本アンドロロジー学会講演抄録集*, P128, 1983.
- 13) Saeki, H., Kondo, S., Morita, T., Sasagawa, I., Ishizuka, G. and Koizumi, Y.: Immotile cilia syndrome associated with polycystic kidney. *J. Urol.*, 132: 1165, 1984.
- 14) 角谷秀典, 伊藤晴夫, 片海善吾, 川村健二, 布施秀樹, 島崎 淳, 永野俊雄, 外山芳郎: Immotile-cilia syndrome の 1 例. *日不妊会誌*, 31: 132, 1986.
- 15) Moreno, A. and E. A. Murphy: Inheritance of Kartagener syndrome. *Amer. J. Med. Genet.*, 8: 305, 1981.
- 16) Afzelius, B. A. and Eliasson, R.: Flagellar mutants in man: On the heterogeneity of the immotile-cilia syndrome. *J. Ultrastruc. Res.*, 69: 13, 1979.
- 17) Williamson, R. A., Koehler, J. K., Smith, W. D. and Stenchever, M. A.: Ultrastructural sperm tail defects associated with sperm immotility. *Fertil. Steril.*, 41: 103, 1984.

Fine Structure of Asthenozoospermia in Infertile men.  
2. Immotile cilia syndrome.  
Report of a Case.

**Kazuhiro Satoh, Hiroo Ishikawa,  
Ikuo Maehara, Sigeaki Satoh,  
Masaichi Kimura and Seiichi Orikasa**

Department of Urology, Tohoku University  
School of Medicine, Sendai, Japan.

A case of immotile cilia syndrome was reported. Thirty-five-year old man visited our clinic with the complaint of sterility for eight years. Three semen samples revealed that the spermatozoa were viable but totally immotile.

He had a history of chronic sinusitis and bronchiectasis. Chest X-ray films revealed dextrocardia.

The fine structure of the sperm tails showed missing both dynein arms.

To our knowledge, this is the fifth case of immotile cilia syndrome reported in Japan.

(受付: 昭和 62 年 6 月 22 日)

# 不妊を主訴として来院した XX male の一例

## XX Male in a Case of Male Infertility

日本大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 岸本孝教授)

佐藤安男 濱田隆正 五十嵐丈太郎  
Yasuo SATO Takamasa HAMADA Jotaro IGARASHI  
岡田清己 岸本孝  
Kiyoki OKADA Takashi KISHIMOTO

Department of Urology, Nihon University School of Medicine  
(Director: Prof. T. Kishimoto)

表現型は男性で、核型が 46 XX の一例を報告する。患者は 32 才の既婚者で、男性不妊を主訴に来院した。身長は 166.7 cm, 体重は 58 kg で、出生時父 36 才, 母 29 才であった。

外陰部は正常男性所見で、精巣は両側陰嚢内に触知するが、小さい。女性化乳房を認める。

血清 LH は 74 mIU/ml, FSH は 47 mIU/ml, テストステロンは 3.1 ng/ml であった。LH-RH 試験及び hCG 試験は低反応であった。X 染色体分析は陽性で、性染色体分析は 46 XX であった。

自験例を含めた本邦報告 35 例についての文献的考察をおこなった。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 261-267, 1988)

### 緒言

人の完全なる性分化は、受精直後に決定されるものではなく、胎生初期には遺伝的性のみが決定される。すなわち早期には生殖腺や生殖器は両性的機能を有し、その後の胎生期及び出生後種々の影響により決定されていく。一般に言われる完全なる男性・女性の他に、種々の影響によりその中間型を保有する個体が存在するが、それも両者の混合型であって、全く別の形態をとることはない。

最近、われわれは XX male の一例を経験したので、若干の文献的考察を加え報告する。

### 症例

患者: [ ] 32 才 男性 (戸籍上)

教員

主訴: 男性不妊

現病歴: 24 才時に結婚し、その後正常な夫婦生活を営むも、8 年間妻が妊娠しないため、昭和 60 年 4 月 1 日近医を受診。性染色体分析にて 46XX のため当院紹介、精査目的にて昭和 60 年 8 月 12 日入院とな

る。なお妻は婦人科的に正常であった。

既往歴: 4~5 才時よりてんかんにて現在も内服治療中。(但し最近 4 年間は、発作を認めない。) 24~25 才頃に肺結核症の診断を受け、1 年間入院、抗結核剤を内服治療し治癒。

家族歴: 父親は 5 人兄弟で、全て男性。同朋は本人を含め 5 人で、患者は 4 番目。兄は 2 人で、各々子供が 3 人。姉が 1 人。弟は結婚後間もないため、子供はいない。

現症: 身長 166.7 cm, 体重 58 kg, 指極長 159.5 cm, 陰莖長 5.5 cm (勃起・射精は正常)、精巣は陰嚢内に両側共触知するが、小さい、右: 5 g, 左: 5 g (orchidometer 測定値)。

前立腺: 直腸診上正常大。

女性化乳房: 軽度認める (図 1)。

体型: 男性型, 恥毛: 男性型, 髭: 3 日に一度剃る, 腋毛: 正常, 声変わり: 正常, 嗅覚: 異常なし, 学歴: 大学出身。

母親の妊娠経過中における薬剤服用・被曝はない。分娩は正常であったが、生下時体重は不明。出生時、父 36 才, 母 29 才であった。近親結婚ではない。

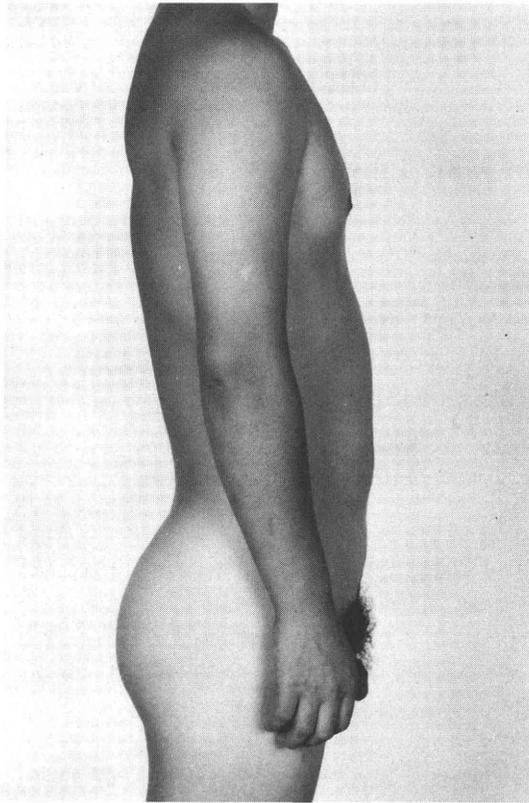


図1 胸部写真

検査成績：尿一般 正常，塗沫 細菌なし，血液一般及び末梢血液像：正常。

血液生化学：アルカリホスファターゼ 159mIU を含め肝機能は正常であった。総コレステロール 157 mg/dl，血糖値 88 mg/dl。

精液検査：量 2.4ml，数 0，pH7.6。

性染色体分析：46 XX〔2施設で確認，末梢血リンパ球培養〕(図2)

性染色質：陽性。

内分泌検査：GH0.7ng/ml，TSH2.4μU/ml，LH74mIU/ml，FSH47mIU/ml，PRL16ng/ml，Testosterone3.1ng/ml，T<sub>3</sub>1.313ng/ml，T<sub>4</sub>8.104μg/dl，T<sub>3</sub>uptake30.7%，尿中17-KS6.9 mg/day，尿中17-OHCS6.4 mg/day。

以上よりLHは高値，FSHはやや高値で，Testosteroneはやや低い値を示した。

hCG試験は，表1に示すごとく低反応であった。

LH-RH試験は表2に示すごとく反応軽度不良であった。

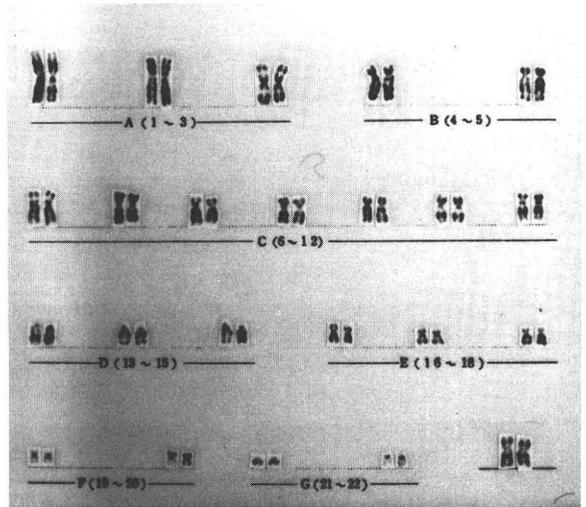


図2 性染色体分析

表1 hCG試験

hCG試験：6日間hCG 5000iu筋注		
投与日	testosterone(ng/ml)	尿中17-KS(mg/day)
投与前		6.9
投与前		7.5
投与前	3.1	6.9
1日後	4.9	7.2
2日後	5.7	4.9
3日後	5.9	9.9
4日後	4.8	9.8
5日後	4.9	9.4
6日後	4.4	7.9

表2 LH-RH試験

LH-RH試験：LH-RH100μg静注		
投与時間	LH(mIU/ml)	FSH(mIU/ml)
前	68	45
30分後	190	60
60分後	210	65
90分後	140	50
120分後	120	50
180分後	120	50

画像診断：尿道膀胱造影では正常男性尿道を示し腫は認められなかった〔図 3〕。経静脈性腎盂造影 正常，超音波検査前立腺は正常。

精巢生検所見：精細管基底膜の肥厚，精細管の硝子化，精原細胞の消失，Leydig cell の増加・集塊形式が散見された。精子形成は全く認められていない〔図 4〕

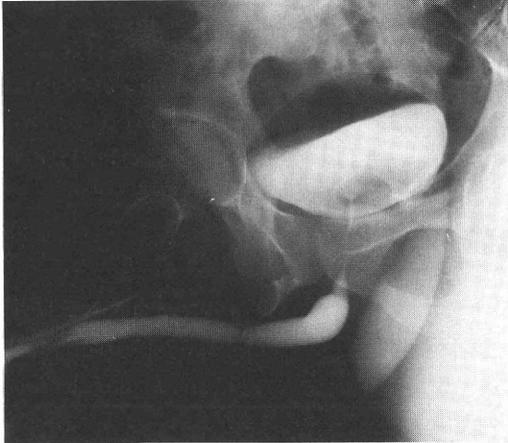


図 3 尿道造影写真

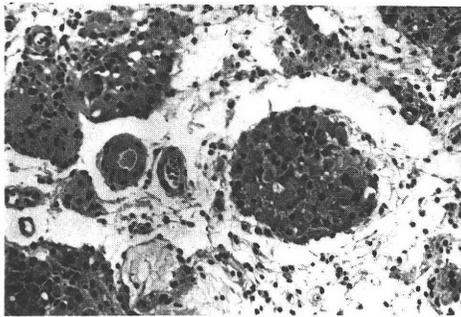


図 4 精巢生検像

試験開腹は本人の希望もあり行えなかったが，性染色体分析では 46 XX であり，X クロマチン陽性，Y クロマチン陰性，性腺は一側は生検により確認し，他側は組織学的には証明されていないが，触診より両側共精巣と考えられ，また女性の外性器を保有していないことより 46XX male と診断した。

### 考 案

46XX male は Chapella らが 1964 年に第 1 例目の報告を行い<sup>1)</sup>，さらに ①染色体構成が 46 XX ②性腺が精巣組織で，顕微鏡的に卵巣組織を認めない

③女性の内外性器をもたない 45 例をまとめ<sup>2)</sup>，現在までに約 160 例が集計されている<sup>3)</sup>。成因として，モザイク説<sup>4)</sup>・cell selection 説<sup>5)</sup>・転座説<sup>6)</sup>・常染色体上の因子が精巣発生に関与<sup>7)8)</sup>・Y 染色体の常染色体への転座<sup>9)</sup>などが考えられている。本邦ではわれわれが調べ得た限りでは，自験例を含め 35 例 (表 3)<sup>10)~38)</sup>のみが報告されているにすぎず，9000~20000 人に 1 例<sup>39)</sup>の発症頻度から考えると，相当数の症例が潜在しているように思われる。

以下本邦報告例より XX male の臨床像を明かにしたい。受診年齢は最年少 10 日，最高齢 47 才であった。受診の動機となる主訴は，この受診年齢と密接な関係を示している。すなわち 25 才以上の 21 例の内 17 例が男性不妊を，10 才以下の 13 例の内不明 2 例を除く全例が外陰部の異常を主訴としている。一方 10 才代で受診した症例はなく，このことは合併奇形がない限り早期に発見されることがなく，いかに外見上は男性であるかということを物語っている。

職業は 25 才以上の 21 例の内 10 例に記載があったが，特に知的職業が少ないとは考えられなかった。

出生時の母親の年齢は，30 才以上が 7 例で，その内第一子であったものが 3 例であり，最高齢は 42 才であった。血族結婚・分娩異常との関連性を示すものはみあたらない。

25 才以上の不明 5 例を除く 16 例では未婚は 1 例のみで，既婚が 15 例であり，性生活に対してはほとんど問題になっていない。

同朋に関しては 2 組が同朋症例であるが，他には異常症例はなかった。

一方合併奇形においては klinefelter 症候群では，停留精巣及び尿道下裂は稀<sup>40)</sup>であるとされているが，本疾患では停留精巣を合併しているものが 4 例，尿道下裂を合併しているものが 12 例認められ，これらはほとんどが 10 才以下の症例であった。また精巣組織所見は，非常に klinefelter 症候群と類似した結果が得られた。

全身的な奇形は 1 例に筋性斜頸を認めたのみであった。

身長は成人 18 例についてみると，147~167 cm で 161.1±5.7 cm とやや低身長であった。体重は成人 17 例では，50~82 kg で 62.4±7.5 kg であった。一般的に低身長・筋肉質の症例が多いといわれ，この原因としては，Y 染色体部の長腕部 (Y<sub>q12</sub>) にある身長を促進させる因子が本疾患では存在しないことが考えられている<sup>41)</sup>。

指極長は記載のあった成人 8 例では，身長より長いものが 5 例，短いものが 3 例であり，一般的に類

表3 XX male 本邦報告症例

(成人例)

番号	報告番号	報告年度	報告者	年齢	主 訴	身長	体重	指極長	母親の 生下時 年齢	結婚 の有 無	女性 化乳 房	性 色 染 体	H-Y 抗 原	Xクロ マチン	Yクロ マチン	文献 番号
1	1	1969	森他	25	勃起力の減退	154	50		27	未	無	46XX		陽性	陰性	10
2	2	1969	Hayata他	25	尿道下裂	167	63	169			無	46XX		陽性		11
3	4	1974	大島他	34	男性不妊	163.4			20			46XX				13
4	6	1976	橋本他	44	性腺發育不全・女性化乳房	160	55	161		既	有	46XX		陽性	陰性	15
5	7	1976	内島他	47	勃起力減退・男性不妊	162	67		19	既	無	46XX				16
6	8	1977	小池他	29	男性不妊					既	無	46XX		陽性	陰性	17
7	12	1979	大西他	41	蛋白尿・血尿・男性不妊	164	66	163	33	既	無	46XX	陽性	陽性		20
8	13	1980	大野他	35	男性不妊	147	66		24	既	有	46XX	陽性			20
9	14	1982	布施他	29	男性不妊	154	63		24	既	無	46XX	陽性	陽性	陰性	21
10	20	1983	藤本他	53	排尿障害							46XX				25
11	21	1983	東條他	28	男性不妊	163	69			既	無	46XX				26
12	22	1983	山本他	40	男性不妊							46XX	陽性			27
13	23	1983	内島他	29	男性不妊	167	64	173	32	既	無	46XX	陽性	陽性	陰性	28
14	25	1984	小寺他	33	男性不妊	162	54			既	無	46XX		陽性	陰性	30
15	26	1985	大橋他	39	男性不妊	153	58			既	無	46XX				31
16	27	1985	笹川他	26	男性不妊	167	54	167.5	23	既	無	46XX	陽性			32
17	28	1985	羽間他	31	男性不妊	158	82	155	42	既	有	46XX	陽性	陽性	陰性	33
18	29	1985	羽間他	32	男性不妊	165	60	167	25	既	無	46XXp+	陽性	陽性	陰性	33
19	30	1985	武市他	32	男性不妊	162	64		39	既	無	46XX	陽性	陽性	陰性	34
20	31	1986	濱田他	32	男性不妊	167	58	160	29	既	有	46XX		陽性	陰性	35
21	35	1987	堀他	31	男性不妊	164	68					46XXp+		陽性		38

(小児例)

番号	報告番号	報告年度	報告者	年齢	主 訴	身長	体重	陰囊 の 状態	母親の 生下時 年齢	合併症 (全身的)	性 色 染 体	H-Y 抗 原	Xクロ マチン	Yクロ マチン	文献 番号
1	3	1973	宮下他	1 1/2	尿道下裂	(年齢相応)		發育悪	25		46XX		陽性	陰性	12
2	5	1975	高橋他	10日	外陰部異常	47	2800g	分裂	34	筋性斜頸	46XX		陽性	陰性	14
3	9	1977	兼田他	4月	外陰部異常			分裂			46XX		陽性	陰性	18
4	10	1978	藁和田他	4 5/6	尿道下裂	103	18				46XX				19
5	11	1978	藁和田他	1 1/3	尿道下裂	75	10.4				46XX				19
6	15	1982	中村他	患児	尿道下裂			分裂			46XX	陽性			22
7	16	1982	藪元他	6 1/2	尿道下裂			分裂			46XX	陽性			23
8	18	1982	守屋他	3	尿道下裂			分裂			46XX	陽性	陽性		24
9	19	1982	守屋他	1 1/3	尿道下裂			分裂			46XX	陽性	陽性		24
10	24	1984	堀他	2	尿道下裂	88	12		30		46XX		陽性	陰性	29
11	32	1986	奥山他	7	両側陰囊内容の欠如	117.6	19.4		33		46XX	陽性	陽性		36
12	33	1986	藪元他	8							46XX				37
13	34	1986	藪元他	5							46XX				37

(不明例)

番号	報告番号	報告年度	報告者	年齢	主 訴	身長	体重	指極長	母親の生下時年齢	結婚の有無	女性化乳房	性染色体	X-Y抗原	Xクロマチン	Yクロマチン	文献番号
1	17	1982	藪元他		男性不妊							46XX				23

官宦症体型では指極>身長, XX male では身長>指極とされているが, 結果的には類官宦症体型に近いことが示唆された. klinefelter 症候群との共通点としては ①X染色体が2個 ②生殖腺は精巣 ③精巣には精子形成が認められない, などが上げられる. 一方相異点としては, XX male では低身長・知能発達が良い・筋肉質のいわゆる男性的な体つき<sup>2)</sup>をしているといわれているが, 今回の結果は体型としては類官宦症的体型に近いものであった.

髭の発育は悪く, 腋毛は正常と疎が半々であり, 恥毛は女性型を示すものが多く, 全体的に体毛は正常男性より少ない.

陰茎は正常大のものが多く, 精巣は正常より小さいものがほとんどであった.

2分陰嚢は小児7例に, 女性化乳房は成人症例中4例に認められている.

精子数に関しては無精子症を示す. ホルモン学的にはゴナドトロピン高値・テストステロン低値の原発性精巣障害の型をとる. LH-RH テストは正常を示すものが多く, hCG テストは低反応. クロミフェンテスト及びTRHテストは3例に施行され, 前者はklinefelter 症候群様の反応, 後者はPRL・TSH共に正常であった.

性染色体分析結果は, 33例が46XX, 2例が46XX<sub>p+</sub>であり, Xクロマチンは陽性Yクロマチンは陰性であった.

一方H-Y抗原(Histocompatibility-Y)は1955年発見され<sup>42)</sup>, 精巣化誘導因子として重要な役割を果たしていることが確認された<sup>43)</sup>. そのためXX maleにおいてH-Y抗原が存在するかどうかに興味をもたれた<sup>44)</sup>. 文献上H-Y抗原は, 14例に調べられており, 全例陽性であったと報告されている. すなわち本疾患における睾丸発生は, Y-X転座・モザイクのほか常染色体性のH-Y構造遺伝子の抑制因子との結合部位で突然変異がおきたためと考えられる<sup>45)</sup>.

治療は, 精神的に男性指向が強いことから, 合併奇形を有する場合は, その治療を行い, 男性不妊に対してはテストステロンの補充療法による男性機能の持続に心がけるべきであると考え.

今後の医療事情によっては, 特に本症のように, 試験開腹に関しては治療方針上, 絶対必要というわ

けではないため, 現在行われている諸種の診断技術で十分カバーしなくてはならないと考える.

以上をまとめるとXX maleとは

- 1) 成人では不妊(但し性生活に支障はない.)を, 10才以下では外陰部異常(尿道下裂・停留精巣)を主訴として来院することが多い.
- 2) 特に知能の低下は認められない.
- 3) 低身長・筋肉質といわれているが, 類官宦症体型に近い体型であった.
- 4) 髭の発育は悪い.
- 5) 女性化乳房を認めることがある.
- 6) 全身的合併奇形は少ない.
- 7) 外陰部は正常男性所見を示すことが多い.
- 8) 精巣は陰嚢内に触知することが多いが, 小さい. また生検所見はklinefelter 症候群に類似している.
- 9) 精液検査では無精子症を示す.
- 10) 内分泌学的にはゴナドトロピン高値・テストステロンはやや低値(原発性精巣障害)で, LH-RH試験は反応軽度不良, hCG試験は低反応であった.
- 11) 性染色体分析は46XX, 性染色質は陽性である.

その他女性の内性器を有しない, H-Y抗原が陽性であるといえることができる.

### 結 語

32才の男性で, 不妊を主訴に来院したXX maleの一例を報告し, 若干の文献的考察を加えた.

(なお本論文の主旨は第438回日本泌尿器科学会東京地方会にて発表した.)

### 文 献

- 1) de la Chapelle, A., Hortling, H., Niemi, M. and Wennström, J.: XX sex chromosomes in a human male. First case. Acta Med. Scand. Suppl., 412: 25, 1964
- 2) de la Chapelle, A.: Analytic review: Nature and origin of males with XX sex chromosomes. Am. J. Hum. Genet., 24: 71, 1972
- 3) Raspa, R. W., Burbige, K. A. and Hensle, T. W.: The sex reversal syndrome (The XX male patient). J. Urol., 134: 152, 1985
- 4) Lindsten, J., Bergstrand, C. G., Tillinger, K. - G., Schwarzacher, H. - G., Tiepolo, L., Muldal, S. and Hökfelt, B.: A clinical and cytogenetical

- study of three patients with male phenotype and apparent XX sex chromosome constitution. *Acta Endocrinol.*, 52: 91, 1966
- 5) Hecht, F., Antonius, J. I., McGuire, P. and Hale, C. G.: XXY cells in a predominantly XX human male: Evidence for cell selection. *Pediatrics*, 38: 982, 1966
  - 6) Ferguson-Smith, M. A.: X-Y chromosomal interchange in the etiology of true hermaphroditism and of XX Klinefelter's syndrome. *Lancet*, II (NO7461): 475, 1966
  - 7) Hamerton, J. I.: *Handbook of molecular cytology*, ed. 15: p 751, Amsterdam·London, North-Holland Publishing Co., 1969
  - 8) de la Chapelle, A., Koo, G. C. and Wachtel, S. S.: Recessive sex-determining genes in human XX male syndrome. *Cell*, 15: 837, 1978
  - 9) Koo, G. C., Wachtel, S. S., Krupen-Brown, K., Mittl, L. R., Berg, W. R., Genel, M., Rosenthal, I. M., Borgaonkar, D. S., Miller, D. A., Tantravahi, R., Schreck, R. R., Erlanger, B. F. and Miller, O. J.: Mapping the locus of the H-Y gene on the human Y chromosome. *Science*, 198: 940, 1977
  - 10) 森 義則, 水谷修太郎, 園田孝夫, 古山順一: 性染色体がXX型を呈した男子の1例, *日泌尿会誌*, 60: 279, 1966
  - 11) Hayata, I., Makino, S. and Sutou, S.: A preliminary note on a phenotypic male with an XX constitution. *Proc. Jpn. Acad.*, 45: 303, 1969
  - 12) Miyashita, A., Isurugi, K. and Aoki, H.: Infantile XX male: A case report. *Clinical Genetics*, 10: 208, 1976
  - 13) 大島博幸, 酒井邦彦, 高木健太郎, 池上 茂: 眞性半陰陽の細胞遺伝学的検索, 性染色体構成と性腺および導管系の分化, *日泌尿会誌*, 65: 732, 1974
  - 14) 高橋 剛, 寺島和光, 黒木良和, 高井修道: XX-male 症候群の1新生児例, *日泌尿会誌*, 66: 432, 1975
  - 15) 橋本琢磨, 宮井 潔, 熊原雄一, 井上 雅, 藤田弘子: XX male 症候群の1例, *日内会誌*, 65: 196, 1976
  - 16) 内島 豊, 駒瀬元治, 岡田耕市, 大島博幸, 根岸壯治, 高木健太郎: XX男性の1例, *日不妊会誌*, 21: 551, 1976
  - 17) 小池莊一, 樋口 文, 枝村節子, 山本美樹, 三村六郎, 佐々木正道, 高橋陽一: 核型XXで表現型男性の1症例, *日赤医学*, 29: 10, 1977
  - 18) 兼田達夫, 後藤俊明: XX-male の1例, *日泌尿会誌*, 68: 697, 1977
  - 19) Minowada, S., Kobayashi, K., Isurugi, K., Fukutani, K., Ikeuchi, H., Hasegawa, T. and Yamada, K.: Two XX male brothers. *Clinical Genetics*, 15: 399, 1979
  - 20) 大野一典, 熊本悦明, 島村昭吾, 大西茂樹, 是澤光彦: H-Y抗原陽性の46XX male 2症例, *泌尿紀要*, 26: 571, 1980
  - 21) 布施秀樹, 伊藤晴夫, 皆川秀夫, 島崎 淳, 早田勇: XX-male 症候群の1例, *日不妊会誌*, 27: 77, 1982
  - 22) 中村裕子, 松井忠孝, 永田 忠, 河原恒一: 外性器異常を主訴としたXX-male の一例, *日児誌*, 86: 502, 1982
  - 23) 藪元秀典, 島 博基, 川口理作, 森 義則, 生駒文彦, 坂本博三, 千代豪昭, 橋本知子, 古山順一, 永田 肇: XX male の3例, 第32回泌尿器科中部連合総会抄録集, 39, 1982
  - 24) 守屋尚橋, 渡辺秀輝, 太田黒和生: 46XX male 症候群の2例, *日泌尿会誌*, 73: 1638, 1982
  - 25) 藤本 博, 田中正敏: 46XX-male の1症例, *日泌尿会誌*, 74: 125, 1983
  - 26) 東條俊司, 武田克治, 光畑直喜, 森岡政明, 大橋輝久, 大森弘之: XX male の一例, *日不妊会誌*, 28: 294, 1983
  - 27) 山本隆次, 松本 泰, 濱田吉通, 日高良一, 石北敏一: 46XX male の一例, *日内泌誌*, 59 増刊号 1530, 1983
  - 28) 内島 豊, 坂本修一, 平賀聖悟, 岡田耕市, 根岸壯治: XXmales の1例, *日泌尿会誌*, 74: 1057, 1983
  - 29) Hori, N., Arima, K., Ogawa, H., Hoshina, A., Kinoshita, N., Kato, M., Tochigi, H. and Tada, S.: A case of XX male. *Mie Med. J.*, 34: 123, 1984
  - 30) 小寺重行, 池本 庸, 御厨裕治, 町田豊平: XX male の1例, 第3回日本アンドロロジー学会予稿集, 66, 1984
  - 31) 大橋洋三, 森岡政明, 藤田幸利: XX male の1例, *日不妊会誌*, 30: 260, 1985
  - 32) 笹川五十次, 寺田為義, 風間泰蔵, 片山 喬, 長谷川真常, 坂本博三: 不妊を主訴としたXX male の1例, *泌尿紀要*, 31: 849, 1985
  - 33) 羽間 稔, 近藤兼安, 藤沢正人, 前田浩志, 岡本恭行, 岡 伸俊, 柯 昭仁, 浜口毅樹, 山崎 浩, 岡田 弘, 浜見 学, 松本 修, 守殿貞夫, 富岡収, 荒川創一, 石神囊次, 坂本博三: 染色体異常をとまなう男性不妊第2報: XX-male 症候群, *泌尿紀要*, 33: 193, 1987
  - 34) 武市佳純, 大前博志, 羽間 稔, 松本 修, 守殿貞夫, 坂本博三: XX-male 症候群の1例, *日不妊会誌*, 30: 637, 1985
  - 35) 濱田隆正, 佐藤安男, 岡田清己, 岸本 孝, 五十嵐丈太郎: 不妊を主訴として来院したXX male の1例, *日泌尿会誌*, 77: 1021, 1986
  - 36) Okuyama, A., Kondo, N., Namiki, M., Nakamura, M., Sosoda, T., Takasugi, Y. and Sakamoto, H.: 46 XX male; Report of case. *Acta Urol. Jap.*, 32: 1539, 1986
  - 37) 藪元秀典, 島 博基, 岡本英一, 荻野敏弘, 寺川知良, 森 義則, 生駒文彦, 坂本博三: XX male の1同胞例, 第5回日本アンドロロジー学会予稿集, 138, 1986

- 38) 堀 夏樹, 山本逸夫, 林 宣男, 杉村芳樹, 鈴木泉, 桜井正樹, 荒木富雄, 塚本勝己, 山川謙輔, 川村寿一: 無精子症における染色体異常の検討, 泌尿紀要, 33: 187, 1987
- 39) Evans, H. J., Buckton K. E., Spowart, G. and Carothers, A. D.: Heteromorphic X chromosomes in 46, XX males: Evidence for the involvement of X-Y interchange. Hum. Genet., 49: 11, 1979
- 40) 戎野庄一, 高松正人, 新家俊明, 北村慎治, 大川順正: Chordee without hypospadias を伴う一卵性双生児の 47XXY, Klinefelter 症候群, 日泌尿会誌, 68: 1084, 1977
- 41) Yamada, K., Ohta, M., Yoshimura, K. and Hasekura, H.: A possible association of Y-chromosome heterochromatin with stature. Hum. Genet., 58: 268, 1981
- 42) Eichwald, E. J. and Silmsler, C. R.: Transplantation Bull., 2: 148, 1955
- 43) Wachtel, S. S., Ohno, S., Koo, G. C. and Boyse, E. A.: Possible role for H-Y antigen in the primary determination of sex. Nature, 257: 235, 1975
- 44) Dosik, H., Wachtel, S. S., Klan, F., Spergel, G. and Koo, G. C.: Y-chromosomal genes in a phenotypic male with a 46 XX karyotype. J. A. M. A., 236: 2505, 1976
- 45) 山田清美, 岩動孝一郎: 性腺分化におけるH-Y抗原の働き. 性腺発生異常疾患におけるH-Y抗原の表現型と発現の遺伝的制御機構, 医学のあゆみ, 119: 825, 1981

## XX male in a case of male infertility

**Yasuo Sato, Takamasa Hamada,  
Jotaro Igarashi,  
Kiyoki Okada and Takashi Kishimoto**

Department of Urology, Nihon University  
School of Medicine  
(Director: Prof. T. Kishimoto)

One case of phenotypic male with 46XX karyotype is reported. The patient was a 32-year-old married man who was admitted to our clinic complaining of sterility. He was 166.7 cm in height and 58 kg in weight. At his birth, his mother was 29-year-old and father 36-year-old. The external genitalia appeared normal male phenotype. A small testis was felt in both scrotal sacs. Gynecomastia was noted.

On serum LH, FSH and testosterone levels were 74 mIU/ml, 47 mIU/ml and 3.1 ng/ml, respectively. The response test to LH-RH and hCG stimulation were low. Sex chromatin was positive on the buccal mucosa smears. Chromosomal analysis performed in peripheral blood showed 46 XX.

Thirty five cases of XX male including our case were collected from Japanese literatures and discussed in terms of clinical feature of XX male.

受付:昭和62年6月22日

## 培養液内におけるヒト精子運動形態の変化

### Movement Characteristics of Human Spermatozoa In Vitro

福島県立医科大学産科婦人科学教室

星 和彦 柳田 薫 会田 都美子  
Kazuhiko HOSHI Kaoru YANAGIDA Tomiko AITA  
佐藤 章  
Akira SATO

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

培養液中におけるヒト精子の運動形態の変化を顕微鏡ハイスピードビデオを用いて経時的に観察し、同時にハムスターテストを行って acrosome reaction との関連性を検討した。

(1) ヒト精子の運動形態はつぎの4タイプに分類できた。

タイプA……非常に活発に動くが、尾部の動き・進行方向とも極めて不規則。

タイプB……直進するが、尾部末端の振幅の大きい動きが目立つ。

タイプC……尾部の振幅が小さくなり、速度が増す。

タイプD……尾部全体が波を打つようにリズムミカルに動きスピードも速い。

(2) ヒト精子の運動形態は培養液中でタイプAからB・C・Dと変化する。タイプDはそのダイナミックな動き方から、ヒト精子の hyperactivation と考えられるが、培養開始後 120~180 分から現れ 180~240 分で大部分を占めるようになる。

(3) タイプDへの変化は、ハムスターテストによる透明帯除去ハムスター卵への精子侵入より早く起こり、hyperactivation が acrosome reaction に先立って生じることが示唆された。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 268-279, 1988)

#### 緒 言

受精における精子サイドの条件としては、受精能獲得 capacitation・先体反応 acrosome reaction それに尾部の運動性があげられる。そしてこの3条件の1つでも不十分なときは、受精は困難もしくは不可能になる。

運動性に関しては、有る種の哺乳動物の精子はまもなく卵子に受精する頃にその尾部を以前にも増して活発に動かすことが知られており、hyperactivation と呼ばれている。hyperactivation があらゆる哺乳動物の精子にみられる現象かどうかは未だ不明であり、ヒト精子においてもその存在の有無に関しては異論がある。われわれは以前から、時間の経過とともに

in vitro におけるヒト精子の尾部の動き方が変化することを指摘してきたが、今回顕微鏡ハイスピードビデオを用いてさらに詳細に検討する事ができたので報告する。

#### 研究方法

用手法にて採取した健康男子の精液を 30 分室温に置くことにより十分液化させる。

直径 15 mm の小試験管を用意し、2.0ml の modified Biggers, Whitten and Whittingham<sup>1)</sup>液 (以下 mBWW と略す、表 1) を入れ、その管底に 1.0ml の精液を静かに注入する。試験管口をシールし、精液・培養液境界面が広がるように 30° の傾斜をつけて CO<sub>2</sub> incubator 内 (37°C, 5% CO<sub>2</sub> in air) に静置

表1 mBWW 液の組成

	g/l	mM
NaCl	4.910	84.00
KCl	0.356	4.78
CaCl <sub>2</sub>	0.189	1.71
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.162	1.19
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.294	1.19
NaHCO <sub>3</sub>	3.000	35.71
Na-pyruvate	0.028	0.25
Na-lactate	2.416	21.58 <sup>a</sup>
Glucose	1.000	5.56
Human serum albumin <sup>d</sup>	3.000	...
Antibiotics stock soln <sup>e</sup>	1.0ml	...
mOsmol	308	

- a DL-lactic acid, Na-salt (Sigma Chem., St. Louis, MO); 60% syrup, 3.68ml.
- b Purified human serum albumin, Norite-treated, (Sigma Chem., St. Louis, MO)
- c 100,000 iu/ml K-penicillin G in distilled water, stored frozen until use.



図2 Makler の精子分析カウントチェンバー

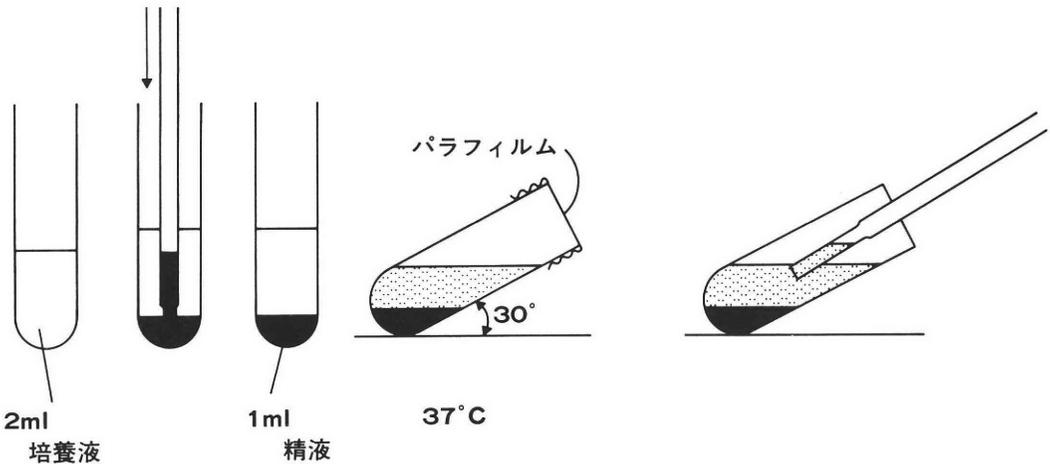


図1 精液静置法 “layering method”

する。こうすると運動良好精子は精液中から mBWW 中に swim up してくる (精液静置法<sup>2)</sup>, 図1)。

精液静置法を開始して15分から300分までの間、経時的に上層 mBWW を1滴 Makler の精子分析カウントチェンバー (図2) にとり、mBWW 中の精子の動きを以下に述べる方法で観察する。なお試験管底の精液は60分後には除去しておく、検体を直ち

に位相差顕微鏡 (ニコン XF-ph 21, 日本光学) にセットし、1検体につき10-100視野内の精子の動きを顕微鏡ハイスピードビデオ (Nac Microscopic High Speed Video, ナック, 図3) で数秒-10数秒ずつ録画する。このビデオ装置は毎秒200コマの超高速録画が可能であるため、1/200秒 (0.005秒) 毎の精子の動きが再生できる。再生画面により、特に尾部



図3 ナック顕微鏡ハイスピードビデオ装置

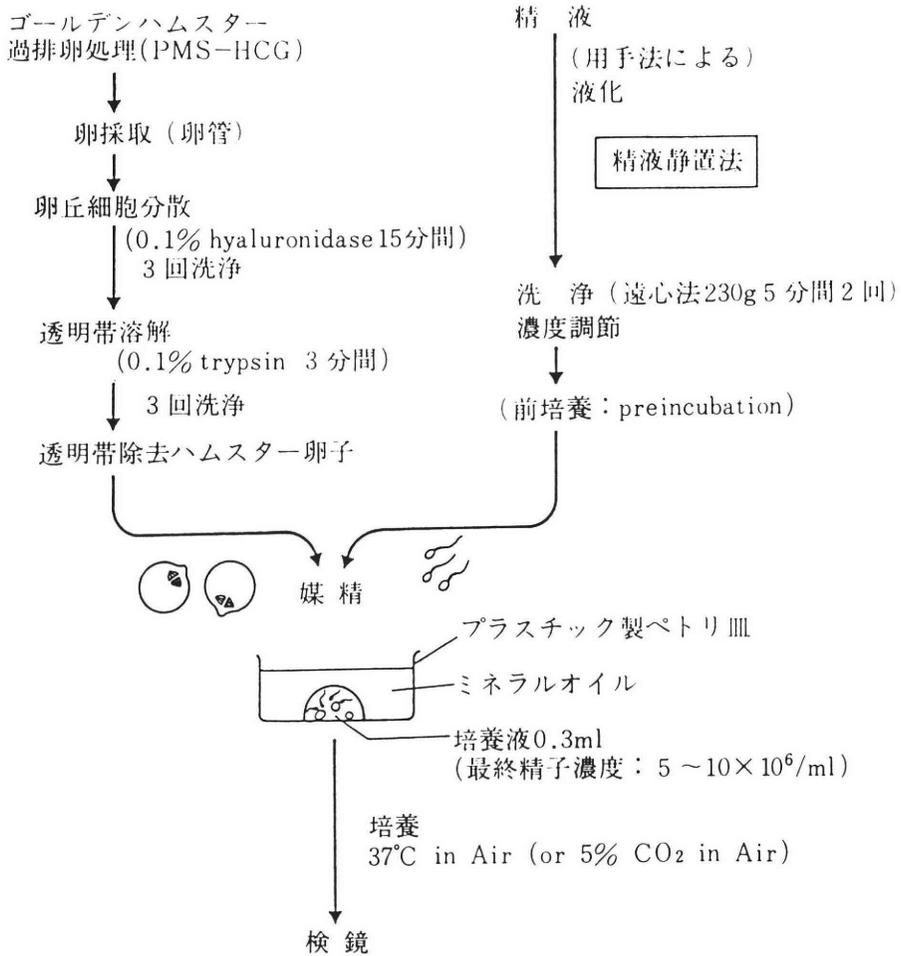


図4 ハムスターテストの概略

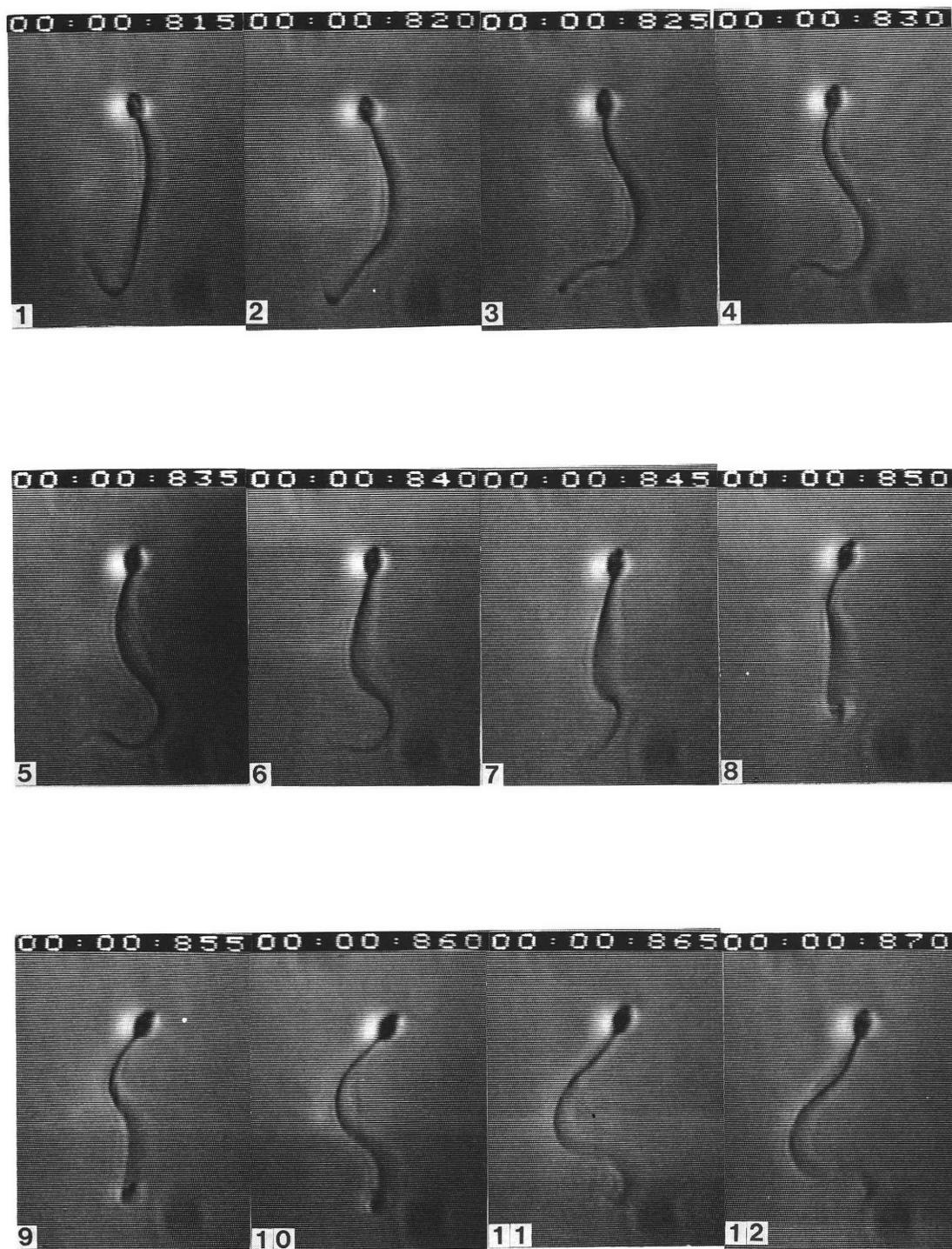


図5 ハイスピードビデオ再生画面  
(5/1000 秒毎, 上の数字は時間を示す)

表2 精子の運動タイプ分類とその特徴

タイプA	タイプB	タイプC	タイプD
非常に活発に動くが、尾部の動き・進行方向とも極めて不規則。	直進運動。 尾部末端の振幅の大きい動きが目立つ。	尾部の振幅が小さくなり、 速度も増す。	直進運動。 尾部全体が波を打つようにリズミカルに動く。

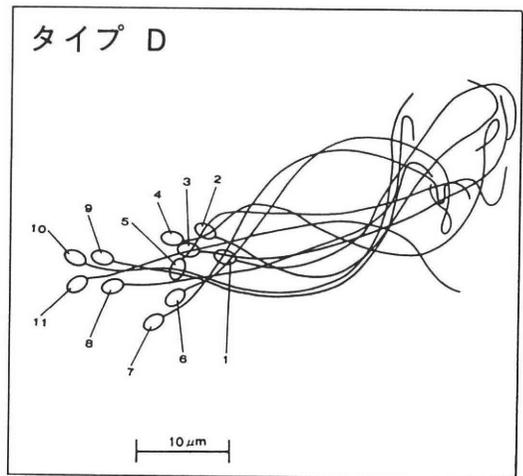
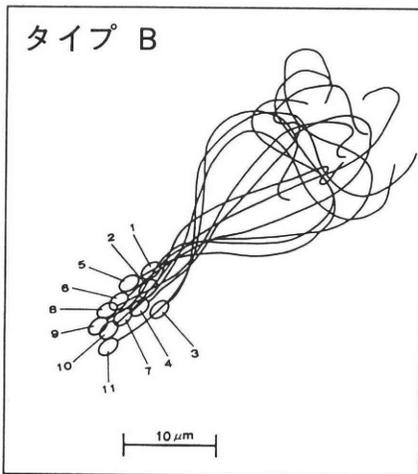
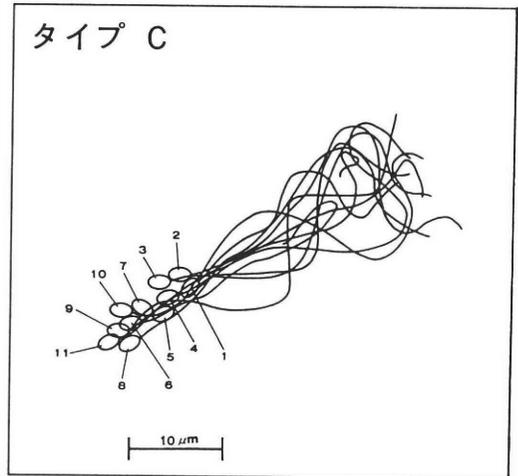
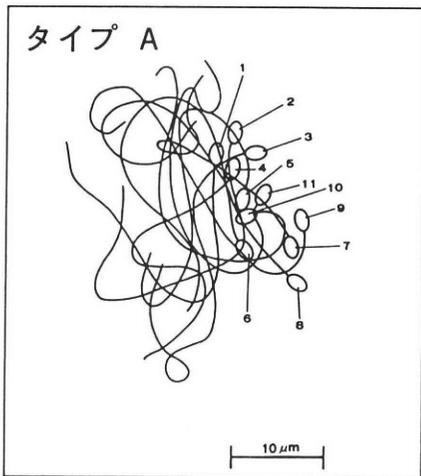


図6 培養液内精子の運動タイプ分類 (0.025 秒毎の動きを示す)

の動きから精子の運動形態を分類し、経過時間との関連を検討した。

同時に精子の capacitation と acrosome reaction

を調べる目的で透明帯除去ハムスター卵への精子侵入テスト (ハムスターテスト) を図4に示した方法で行った。

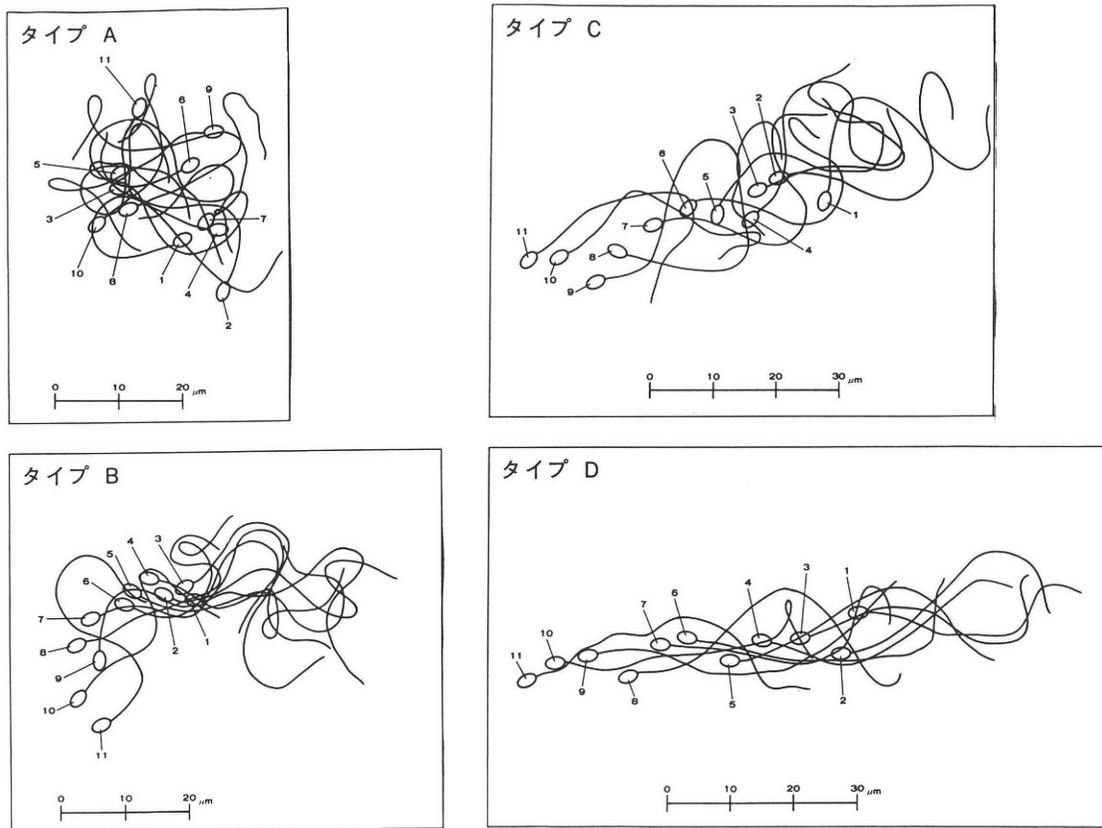


図 7 培養液内精子の運動タイプ分類  
(0.100 秒毎の動きを示す)

表 3 精子の運動タイプ別平均速度

( $M \pm SD$   $\mu\text{m}/\text{sec}$ ,  $n = 10$ )

ケース	タイプ A	タイプ B	タイプ C	タイプ D
ケース 1	20.1 $\pm$ 7.6	31.4 $\pm$ 8.2	38.9 $\pm$ 7.4	52.3 $\pm$ 7.5
ケース 2	19.3 $\pm$ 9.6	38.8 $\pm$ 6.3	53.0 $\pm$ 10.3	59.5 $\pm$ 8.3
ケース 3	17.7 $\pm$ 4.6	29.5 $\pm$ 4.0	56.4 $\pm$ 7.1	64.1 $\pm$ 10.0
ケース 4	13.9 $\pm$ 7.3	28.7 $\pm$ 9.3	46.2 $\pm$ 7.9	51.7 $\pm$ 4.6
ケース 5	27.4 $\pm$ 8.1	41.2 $\pm$ 11.3	62.7 $\pm$ 11.5	66.3 $\pm$ 10.7

成 績

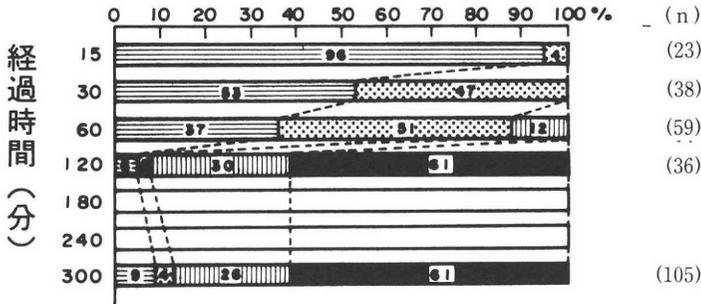
ハイスピードビデオの再生画面 (図 5) よりヒト精子の運動パターンは表 2 のような 4 タイプに分類

できた。図 6 は各運動タイプの 1/40 秒 (0.025 秒) 毎の変化をトレースしたものであるが、尾部の細かな動き方の違いをみることができる。図 7 は 1/10 秒 (0.100 秒) 毎の動きを示したもので、これらの図か

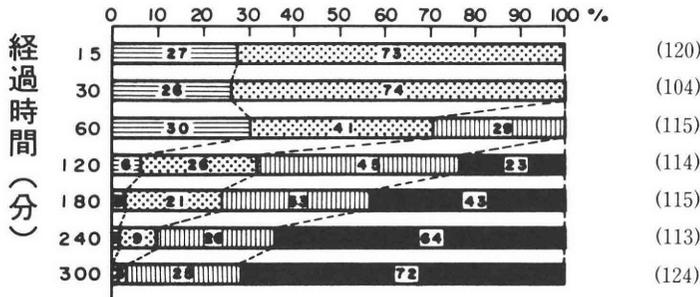
らは精子のスピードの違いがよくわかる (1 の精子から 11 の精子までの間隔が 1 秒間にその精子が進ん

だ距離になる). なお各々のケースの各タイプ毎の平均速度は表 3 に記した.

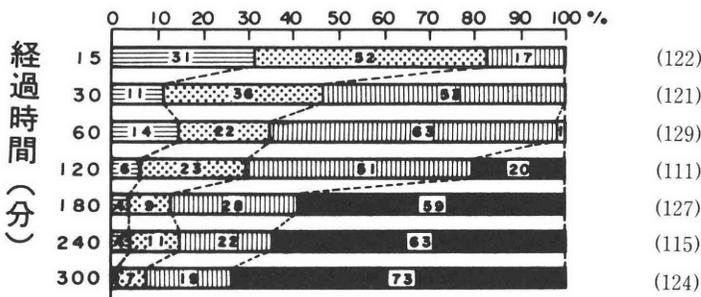
ケース 1



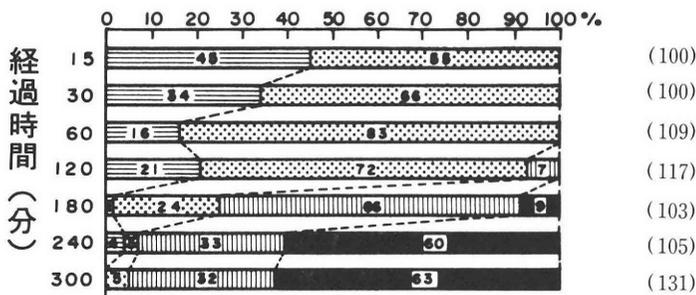
ケース 2



ケース 3



ケース 4



ケース5

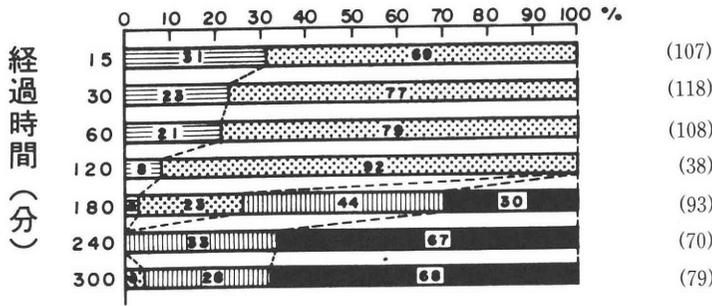


図8 精子運動タイプの時間経過による推移

表4 ハムスターテストの成績 (透明帯除去ハムスター卵への精子侵入率)

ケース	培養時間 (分) (swim up 開始から)	研究に用いた卵子総数	精子侵入の認められた卵子数	精子侵入率 (%)
1	120	15	0	0
	300	8	1	13
	420	14	5	36
	540	13	6	46
	660	8	6	75
2	300	9	0	0
	360	18	6	33
	420	8	3	38
	480	17	8	47
	600	12	8	67
3	300	15	1	7
	420	18	6	33
	540	17	10	59
	660	16	11	69
4	480	25	1	4
	600	21	15	71
5	300	7	0	0
	360	9	2	22
	420	12	10	83

図8は、時間の経過とともに精子の各タイプの割合がどう変化するかをケース毎にまとめたものである。精子は精液の中から培養液中にswim upしてくると先ず極めて無秩序なしかし非常に活発な動きを示す(タイプA)。この時点で直進するものは少ない。その後は次第に直進する精子が増えてくるが、初期

には尾部末端部の動きが著明(タイプB)な割にはスピードがない。やがて徐々に尾部の動きはスマートになり(タイプC)、さらに尾部全体を鞭を打つようにさせながら猛スピードで前進するもの(タイプD)の割合が増えてくる。

表4は各ケースの精子で行ったハムスターテストの成績を示したもので、図9はハムスターテストの侵入率とタイプDの占める割合の推移を同じグラフ上に示したものである。

考 案

哺乳動物の受精現象にとって精子の運動性は重要である。雌性生殖管を上昇して受精の場へ到達するためにも必要であるが<sup>3-5)</sup>、卵子の保護層である卵丘細胞群と透明帯を突破して受精を成就せしめるために必須といわれている<sup>6-11)</sup>。すなわち精子は先体反応(acrosome reaction)で蛋白分解酵素を放出することで、保護層を分散・溶解し、同時に強い尾部の力で前進して行く。

1970年 Yanagimachi<sup>6)</sup>はハムスターの精子が受精能を獲得(capacitation)して先体反応(acrosome reaction)を起こし始める頃に以前にも増して尾部の動きが活発になることを発見し、これをhyperactivationと名付けた<sup>12)</sup>。同様の現象はその後モルモット<sup>13-15)</sup>マウス<sup>16,17)</sup>、イヌ<sup>18)</sup>、ウサギ<sup>19,20)</sup>、コウモリ<sup>21)</sup>、イルカ<sup>22)</sup>、ヒツジ<sup>23)</sup>の精子でも確認された。ヒトの精子はこれら哺乳動物のに比べ小型であるためかhyperactivationの存在は確認しがたいと言われていたが、近年 cinematography<sup>24)</sup>や videomicrography<sup>25,26)</sup>あるいは time-exposure photomicrography<sup>8,27,28)</sup>による観察が可能となりヒト精子の運動形態の詳細も次第に解明されつつある。Aitkenらは time-exposure photomicrography を用いて capacitation 完了精子

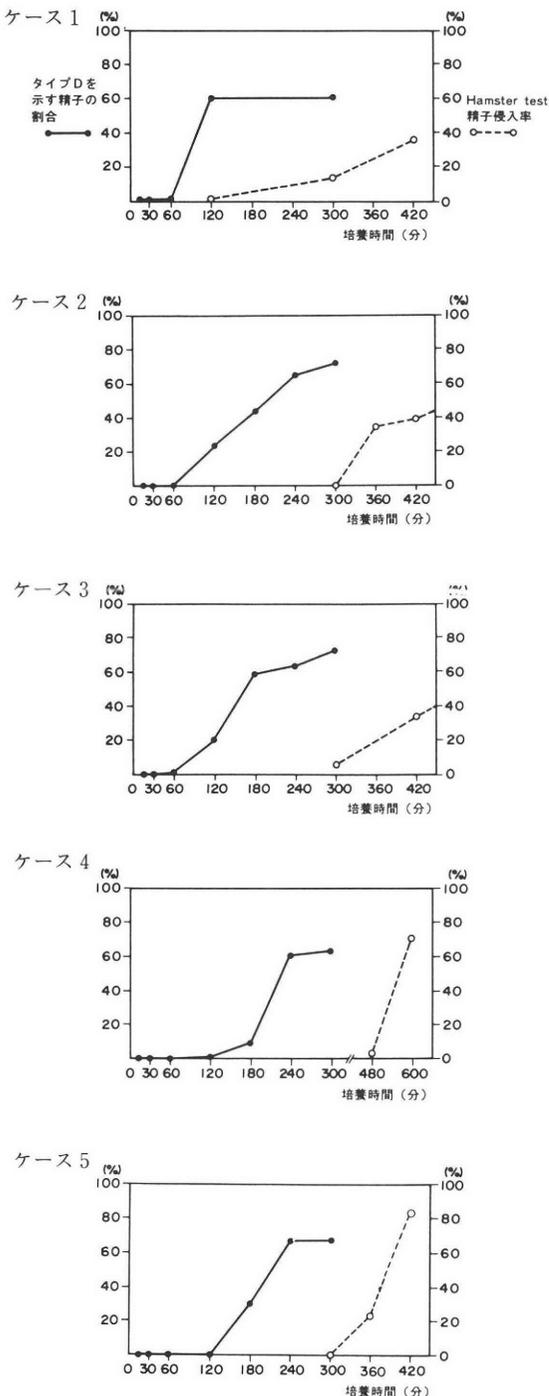


図9 タイプDを示す精子の割合とハムスターテストによる精子侵入率

の運動形態の特徴を直進速度・回転頻度・頭部の移動幅から分析し、原因不明の不妊グループは対照に比べ有意に活動性の弱いこと、また精液中の精子の活動性と頸管粘液通過能には密接な関連性が認められることを報告している<sup>28)</sup>、Burkmanはvideomicrographic methodによりヒト精子のhyperactivationを3つの基礎的な動き方すなわち“a wide-amplitude”, “two-dimensional whiplash pattern”, “displaying marked lateral displacement of the head”を示すものと規定し、妊よう性の認められた精子では培養後3時間でその割合が22.1%であったのに対しoligozoospermiaの場合は僅か8.4%と低率であったと述べている<sup>26)</sup>、Okadaら<sup>29)</sup>は、光川<sup>30)</sup>が報告した直進運動精子の割合を示す指標である精子運動能指数sperm motile efficiency index (SMEI)を用いて検討し、妊よう性の認められた男性の精子では4時間の培養でSMEIが全例上昇していたのに対し、不妊グループでは64%しか上昇しなかったことから精子の活動性に差がある事を示唆している。

われわれは以前にmultiple exposure photography method<sup>31)</sup>を用いて培養液中のヒト精子の運動率と速度の変化を時間を追って調べたが、培養開始時と4時間後において大きな差異を認めることができなかった<sup>32,33)</sup>。しかし、時間経過とともにその動き方が変化しているらしいことは指摘してきた<sup>12)</sup>。今回、新しく開発された顕微鏡用の超高速ビデオ装置high-speed videomicrographyを使用してヒト精子の動きを詳細に追求し、初めてその変化を確認することができた。培養液内に出てきた精子は当初極めて不規則な行動を示し、徐々に直進するようになる。それははじめは尾部の振動が有効な前進力に結び付いていないが、やがて次第にsmoothな動きになってくる。

培養液内での精子の動きは確かにタイプAからタイプDへと順を追って変化し、それにつれてスピードも増してくる。しかして、全ての精子が同時に変わるのでなく常に種々のタイプが混在しており、これが時間を経ても全体としての平均スピードにあまり差がでてこない理由になっているのであろう。

タイプDは明らかにほかのタイプと異なっている。すなわち非常にスピーディーで力強い動き方である。もちろん断定することはできないが、尾部運動の大きな変化と言う点からみて、タイプDへの変化をヒト精子のhyperactivationとみなしてよいのではないかとわれわれは考えている。タイプDは培養開始後、120-180分から現れ、180-240分で大部分を占める

ようになる。

また acrosome reaction との関連をハムスターテストの結果からみてみると、既に大半の精子が hyperactivation を起こしている 180-300 分の時点でも侵入率は未だ 0 もしくは低値でしかない。おそらくヒトの場合は acrosome reaction の起こるかなり前の時期に hyperactivation が起こるものと推定される。

従来より男性不妊症の診断には精液検査が用いられてきたが、この成績が妊よう能力と必ずしも一致しないことは臨床的にしばしば経験するところである。そこで受精能力をより反映する新しい精子機能検査法が登場してきている。透明帯除去ハムスター卵への精子侵入テスト the zona-free hamster oocyte penetration test (ハムスターテスト)<sup>34)</sup>、染色法による先体反応検査法 (the triple-stain technique)<sup>35)</sup>、塩溶液内保存ヒト卵透明帯を用いたヒト精子侵入検査法<sup>36,37)</sup>などである。本研究で示した hyperactivation への変化も当然精子の受精能に密接に関連する事が予想され、今後この点について追求して行きたいと考えている。

#### 参考文献

- 1) Biggers, J. D., Whitten, W. K. and Whittingham, D. G.: The culture of mouse embryos in vitro. In Methods in Mammalian Embryology, Edited by J. C. Daniel, Jr. San Francisco, W. H. Freeman and Co., p86, 1971.
- 2) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎, 京野広一, 対木 章, 斎藤 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 "layering method" による精液中からの良好精子の分離, 日不妊誌, 28: 101, 1983.
- 3) Mortimer, D. and Templeton, A. A.: Sperm transport in the human female reproductive tract in relation to semen analysis characteristics and time of ovulation. J. Reprod Fertil, 64: 401, 1982.
- 4) David, M. P., Amit, A., Bergman, A., Yedwab, G., Paz, G. F. and Homonnai, Z. T.: Sperm penetration in vitro: Correlations between parameters of sperm quality and the penetration capacity. Fertil, Steril., 32: 676, 1979.
- 5) Schats, R., Aitken, R. J., Templeton, A. A. and Djahanbakhch, O.: The role of cervical mucus-semen interaction in infertility of unknown aetiology. Br J. Obstet, Gynaec., 91: 371, 1984.
- 6) Yanagimachi, R.: The movement of golden hamster spermatozoa before and after capacitation. J. Reprod, Fertil., 23: 193, 1970.
- 7) Aitken, R. J., Best, F. S. M., Richardson, D. W., Djahanbakhch, O. and Lees, M. M.: The corre-

- lates of fertilizing capacity in normal fertile men. Fertil, Steril., 38: 68, 1982.
- 8) Aitken, R. J., Best, F. S. M., Richardson, D. W., Djahanbakhch, O., Mortimer, D., Templeton, A. A. and Lees, M. M.: An analysis of sperm function in cases of unexplained infertility: Conventional criteria, movement characteristics, and fertilizing capacity. Fertil. Steril., 38: 212, 1982.
- 9) Aitken, R. J., Best, F. S. M., Richardson, D. W., Djahanbakhch, O., Templeton, A. and Lees, M. M.: An analysis of semen quality and sperm function in cases of oligozoospermia. Fertil, Steril., 38: 705, 1982
- 10) Aitken, R. J., Warner, P., Best, F. S. M., Templeton, A. A., Djahanbakhch, O., Mortimer, D. and Lees, M. M.: The predictability of subnormal penetrating capacity of sperm in case of unexplained infertility. Int J. Androl., 6: 212, 1983.
- 11) Bedford, J. M.: Significance of the need for sperm capacitation before fertilization in eutherian mammals. Biol. Reprod., 28: 108, 1983.
- 12) Yanagimachi, R.: Mechanisms of fertilization in mammals: In Fertilization and Embryonic Development In Vitro. Edited by Mastroianni, L. and Biggers, J. D. New York, Plenum, 1981, p81.
- 13) Yanagimachi, R.: Fertilization of guinea pig eggs in vitro. Anat. Rec., 174: 9, 1972.
- 14) Barros, C., Berrios, M. and Herrera, E.: Capacitation in vitro of guinea pig spermatozoa in a saline solution. J. Reprod. Fertil., 34: 547, 1973.
- 15) Yanagimachi, R. and Usui, N.: Calcium dependence of the acrosome reaction and activation of guinea pig spermatozoa. Exp. Cell Res., 89: 161, 1974.
- 16) Phillips, D. W.: Comparative analysis of mammalian sperm motility. J. Cell Biol., 53: 561, 1972.
- 17) Fraser, L. R.: Motility patterns in mouse spermatozoa before and after capacitation. J. Exp. Zool., 202: 439, 1977.
- 18) Mahi, C. A. and Yanagimachi, R.: Maturation and sperm penetration of canine ovarian oocytes in vitro. J. Exp. Zool., 196: 189, 1976.
- 19) Cooper, G. W., Overstreet, J. W. and Katz, D. F.: The motility of rabbit spermatozoa recovered from the female reproductive tract. Gamete. Res., 2: 35, 1979.
- 20) Johnson, L. L., Katz, D. F. and Overstreet, J. W.: The movement characteristics of rabbit spermatozoa before and after activation. Gamete, Res., 4: 275, 1981.
- 21) Lambert, H.: Temperature dependence of

- capacitation in bat sperm monitored by zona-free hamster ova. *Gamete. Res.*, 4: 525, 1981.
- 22) Fleming, A. D., Yanagimachi, R. and Yanagimachi, H.: Spermatozoa of the atlantic bottlenosed dolphin *Tursiops truncatus*. *J. Reprod. Fertil.*, 63: 509, 1982.
- 23) Cummins, J. M.: Hyperactivated motility patterns of ram spermatozoa recovered from the oviducts of mated ewes. *Gamete. Res.*, 6: 53, 1982.
- 24) David, G., Serres, C. and Jouannet, P.: Kinematics of human spermatozoa. *Gamete. Res.*, 4: 83, 1981.
- 25) Katz, D. F. and Overstreet, J. W.: Sperm motility assessment by videomicrography. *Fertil. Steril.*, 35: 188, 1981.
- 26) Burkman, L. J.: Characterization of hyperactivated motility by human spermatozoa during capacitation: Comparison of fertile and oligozoospermic sperm populations. *Arc. Androl.*, 13: 153, 1984.
- 27) Overstreet, J. W., Katz, D. F., Hanson, F. W. and Fonseca, J. R.: A simple inexpensive method for objective assessment of human sperm movement characteristics. *Fertil. Steril.*, 31: 162, 1979.
- 28) Aitken, R. J., Sutton, M., Warner, P. and Richardson, D. W.: Relationship between the movement characteristics of human spermatozoa and their ability to penetrate cervical mucus and zona-free hamster oocytes. *J. Reprod. Fertil.*, 73: 441, 1985.
- 29) Okada, A., Kato, M., Fujio, K., Miura, K., Nakayama, K. and Shirai, M.: Hyperactivation of human spermatozoa: Measurement of motility before and after incubation. *Andrologia.*, 17: 583, 1985.
- 30) 光川史郎: 精子運動の新測定法—精子運動能の臨床的検討. *日泌尿会誌*, 70: 1221, 1979.
- 31) Makler, A.: A new multiple exposure photography method for objective human spermatozoal motility determination. *Fertil. Steril.*, 30: 192, 1978.
- 32) 星 和彦, 斎藤 晃, 平野睦男, 鈴木雅洲, 林 恵子, 柳町隆造: ヒト精子の先体反応と Ca<sup>+</sup>・Mg<sup>+</sup>. *臨婦産*, 37: 235, 1983.
- 33) 星 和彦: ヒト卵の受精・初期発生期における環境要因. *日産婦誌*, 36: 1387, 1984.
- 34) Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. and Rogers, B. J.: The use of zona-free animal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 15: 471, 1976.
- 35) Talbot, P. and Chacon, R. S.: A triple-stain technique for evaluating normal acrosome reactions of human sperm. *J. Exp. Zool.*, 215: 201, 1981.
- 36) Overstreet, J.W. and Hembree, W. C.: Penetration of the zona pellucida of nonliving human oocytes by human spermatozoa in vitro. *Fertil. Steril.*, 27: 815, 1976.
- 37) Overstreet, J. W., Yanagimachi, R., Katz, D. F., Hayashi, K. and Hanson, F. W.: Penetration of human spermatozoa into the human zona pellucida and the zona-free hamster egg: A study of fertile donors and infertile patients. *Fertil. Steril.*, 33: 534, 1980.

## Movement Characteristics of Human Spermatozoa In Vitro

Kazuhiko Hoshi, Kaoru Yanagida,  
Tomiko Aita and Akira Sato.

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

Suspensions of capacitating human spermatozoa were analyzed for movement characteristics using high-speed videomicrography. The status of the acrosome reaction was also assessed by zona-free hamster ova penetration test.

(1) Movement characteristics of human spermatozoa were classified into 4 types (A, B, C, D).

Type A: The movement was active, but its progressive orientation was irregular;

Type B: The spermatozoa moved with a wide-amplitude of the end of flagellum;

Type C: The amplitude of the flagellum decreased, and the linear velocity of progression increased;

Type D: The movement of the whole part of flagellum showed a wave-like rhythmical pattern, and the velocity more got up;

(2) Movement characteristics of human spermatozoa in vitro gradually changed from A to B, C and D.

As the spermatozoa classified type D moved powerfully and this motility pattern was obviously different from the other types, it was considered hyperactivation of human spermatozoa.

The type D was found from 120 or 180 minutes of incubation, and after 180 or 240 minutes most of the spermatozoa showed type D.

(3) The motility pattern of human spermatozoa changed to the type D before the sperm penetrate into zona-free hamster oocytes. It suggested that the hyperactivation occurred before the acrosome reaction takes place.

(受付: 昭和 62 年 5 月 2 日)

# LUTEINIZING HORMONE RESPONSES TO METOCLOPRAMIDE IN NORMAL WOMEN DURING THE VARIOUS PHASES OF THE MENSTRUAL CYCLE

Katsuyoshi SEKI and Koichi KATO

Department of Obstetrics and Gynecology, National Defense  
Medical College, Saitama, Japan.

---

**Abstract:** Luteinizing hormone responses to metoclopramide (MCP), a dopamine (DA) antagonist, were evaluated in normal women during the various phases of the menstrual cycle. The administration of MCP increased circulating LH levels in normal women during the late follicular and mid luteal phases, but not during the early follicular phase. The rise in circulating LH levels in response to MCP during the high estrogen and progesterone phases of the menstrual cycle may be related to an increased endogenous DA activity.

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 279–282, 1988)

---

## Introduction

Endogenous opiate peptides play an inhibitory role on gonadotropin secretion in humans<sup>1,2</sup>. Previous *in-vivo* studies suggested an inhibitory role for dopamine (DA) in the regulation of luteinizing hormone (LHRH)–releasing hormone (LHRH) release<sup>3–10</sup>. Several lines of evidence suggest the existence of an interaction between DA and opioid peptide secretion in hypothalamic pituitary LH regulation<sup>10–13</sup>. The administration of naloxone, an opioid antagonist, increased serum LH levels in normal women during the late follicular and mid luteal phases, but not during the early follicular phase<sup>14,15</sup>. Thus, opioidergic inhibition of LH secretion appears to be increased during the high estrogen and progesterone phases of the cycle. According to Ropert et al., the administration of metoclopramide (MCP), a DA antagonist, increased serum LH levels in normal women during the mid luteal phase, but not during the early follicular phase<sup>13</sup>. Consequently, dopaminergic inhibition of LH secretion may also

be increased during the high estrogen and progesterone phases of the menstrual cycle. However, the results of Ropert et al<sup>13</sup>, have not yet been confirmed by others. Reported are LH responses to MCP during the various phases of the menstrual cycle.

## Materials and Methods

Sixteen ovulatory women with menstrual cycles between 28 and 31 days in length participated in this investigation. Sixteen studies were performed at different stages of the menstrual cycle; early follicular phase (day 2–5, n=6), late follicular phase (day 10–12, n=5) and mid luteal phase (day 18–22, n=5). All women were free from any medication for at least 6 weeks prior to the examination. Starting at 0900 to 1000 h, each subject received 10mg of MCP as an iv bolus dose after two baseline samples had been obtained (–15 and 0 min); additional blood samples were obtained at 15, 30, 60, 120 and 180 min after MCP administration. Serum concentrations of LH, FSH and estradiol (E2) were measured by

radioimmunoassay as previously described<sup>7)</sup>. Serum LH and FSH concentrations were expressed in terms of ng LER 907/ml. Progesterone (P) was determined by radioimmunoassay with kits obtained from Commissariat a l'Energie Atomique (Gif-sur-Yvette, France). All samples from an individual subject were analyzed at the same time. Mean basal concentrations were obtained by averaging the two baseline samples collected before administration of MCP. Statistical analyses were performed using analysis of variance and Wilcoxon's rank test.

### Results

The mean basal levels of LH, follicle stimulating hormone (FSH), E2 and P were consistent with the various stages of the menstrual cycle (Table 1). Although MCP induced no discernible change in circulating LH levels during the early follicular phase, a rise in serum LH was observed

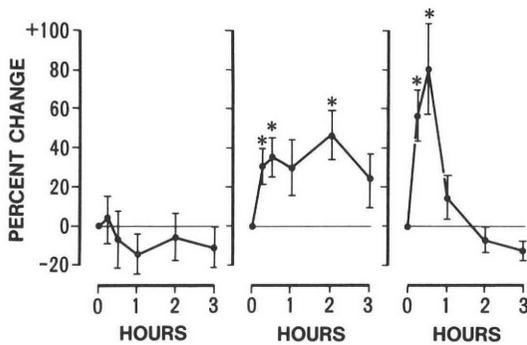


Fig. 1 The mean ( $\pm$  SE) percent change in serum LH from basal concentrations in response to metoclopramide administered as a 10 mg iv bolus to normal women during the early follicular (n=6) (left panel), late follicular (n=5) (middle panel) and mid luteal (n=5) (right panel) phases of the menstrual cycle. \* $q < 0.05$  vs basal concentrations

following MCP administration during both the late follicular and mid luteal phases of the cycle (Fig. 1). When compared to the basal values, serum LH concentrations were significantly higher at 15, 30 and 120 min after MCP administration during the late follicular phase, and at 15 and 30 min during the mid luteal phase (Fig. 1). When compared to the LH concentrations at 30 min after MCP administration, serum LH concentrations at 120 and 180 min were significantly ( $p < 0.05$ ) lower during the mid luteal phase, but not during the late follicular phase. No significant change in serum FSH levels were observed during any of the 3 stages of the menstrual cycle (data not shown).

### Discussion

The present study demonstrates that the administration of MCP results in a prompt elevation of circulating LH levels in women during the late follicular and mid luteal phases but not in the early follicular phase of the cycle. The absence of LH response to MCP during the early follicular phase is in keeping with the results of other reported studies<sup>6,7,10,13)</sup>. The significant LH rise after MCP administration during the late follicular and mid luteal phases is in general agreement with the results of Ropert et al.<sup>13)</sup>. Ropert et al. found a significant increment in LH after MCP administration during the mid luteal phase. The data of Ropert et al. suggested a rise in serum LH after MCP administration during the late follicular phase, though the data did not achieve statistical significance. Thus, MCP appears to stimulate LH secretion during the high estrogen and progesterone phases of the menstrual cycle. The pattern of increase in serum LH was different between the late follicular and mid luteal phases. Increased

Table. 1 Mean ( $\pm$ SE) basal concentrations of LH, FSH, E2 and P in normal women during the early follicular (EF), late follicular (LF) and mid luteal (ML) phases of the menstrual cycle

Subject	LH (ng/ml)	FSH (ng/ml)	E 2 (pg/ml)	P (ng/ml)
EF (n=6)	80.8 $\pm$ 12.3	330 $\pm$ 142	43 $\pm$ 19	0.31 $\pm$ 0.03
LF (n=5)	120.4 $\pm$ 16.3	361 $\pm$ 105	220 $\pm$ 46	0.34 $\pm$ 0.03
ML (n=5)	66.4 $\pm$ 7.1	325 $\pm$ 94	110 $\pm$ 21	11.3 $\pm$ 1.0

LH levels after MCP administration lasted longer in women during the late follicular phase than in those during the mid luteal phase (Fig. 1).

The administration of DA inhibited LH secretion in normal women during the late follicular phase of an ovulatory cycle and in hyperprolactinemic women<sup>3,5</sup>). The administration of MCP increases circulating LH levels in some women with hypothalamic and hyperprolactinemic amenorrhea as in normal women during the high estrogen and progesterone phases of the menstrual cycle<sup>6,7,10,17</sup>). The findings are consistent with an inhibitory role for DA in the regulation of LHRH release, and MCP may elicit an LH response by decreasing dopaminergic inhibition of LHRH release. However, this interpretation is not consistent with the results of Rasmussen et al. who demonstrated that DA can stimulate *in vitro* release of LHRH from human hypothalamus by a DA receptor mediated mechanism<sup>18,19</sup>). Although MCP and naloxone induce no discernible change in LH levels in normal women during the early follicular phase, both receptor antagonists increase LH levels in normal women during the late follicular and mid luteal phases. Such parallelism in the LH responses to both antagonists has previously been found in patients with hypothalamic and hyperprolactinemic amenorrhea<sup>10,17</sup>). Thus, there appears to be an interaction between DA and opioid peptide secretion in hypothalamic pituitary LH regulation. Hypothalamic opioid peptides exert a tonic inhibitory influence on LHRH release since opiate receptor blockade by naloxone induces a prompt LHRH release from human mediobasal hypothalamus perfused *in vitro*<sup>20</sup>). Furthermore, DA can stimulate *in vitro* release of  $\beta$ -endorphin from human hypothalamus. Thus, DA receptor blockade by MCP may result in decreased opioid activity, which may in turn induce LHRH secretion, though other mechanisms by which MCP stimulate LH secretion cannot be ruled out.

In conclusion, the pattern of LH response to MCP was different between the various phases of the menstrual cycle. The role of DA in the regulation of LH secretion during the menstrual cycle should be further investigated.

## References

- 1) Reid, R. L., Hoff, J. D. H., Yen, S. S. C. and Li, C. H.: Effects on pituitary hormone secretion and disappearance rates of exogenous  $\beta$ h-endorphin in normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51:1197, 1981.
- 2) Stubbs, W. A., Jones, A., Edwards, C. R. W., Delitala, G., Jeffcoate, W. J., Ratter, S. J., Besser, B. M., Bloom, S. R. and Alberti, K. G. M. M.: Hormonal and metabolic responses to an enkephalin analogue in normal man. *Lancet*, 2:1225, 1978.
- 3) Leblanc, H., Lachelin, G. C. L., Abu-Fadil, S. and Yen, S. S. C.: Effects of dopamine infusion on pituitary hormone secretion in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43:668, 1976.
- 4) Lachelin, G. C. L., Leblanc, H. and Yen, S. S. C.: The inhibitory effect of dopamine agonists on LH release in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44:728, 1977.
- 5) Judd, S. J., Rakoff, J. S. and Yen, S. S. C.: Inhibition of gonadotropin and prolactin release by dopamine: effect of endogenous estradiol levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 47:494, 1978.
- 6) Quigley, M. E., Judd, S. J., Gilliland, G. B. and Yen, S. S. C.: Effects of a dopamine antagonist on the release of gonadotropin and prolactin in normal women and women with hyperprolactinemic anovulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48:718, 1979.
- 7) Seki, K., Uesato, T. and Kato, K.: Effects of a dopamine antagonist (metoclopramide) on the release of the adenohipophyseal hormones in amenorrhoeic patients with and without hyperprolactinaemia. *Acta Endocrinol.*, 101:166, 1982.
- 8) Delitala, G., Devilla, L. and Musso, N. R.: On the role of dopamine receptors in the naloxone-induced hormonal changes in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56:181, 1983.
- 9) Perhson, J. J., Jaffe, W. L. and Vaitukaitis, J. L.: Effect of dopamine on gonadotropin-releasing hormone-induced gonadotropin secretion in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56:889, 1983.
- 10) Seki, K., Kato, K. and Shima, K.: Parallelism in the luteinizing hormone responses to opioid and dopamine antagonists in hyperprolactinemic women with pituitary microadenoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 63:1225, 1986.
- 11) McNeill, T. H. and Sladek, J. R.: Fluorescence-immunocytochemistry: simultaneous localization of catecholamines and gonadotropin-

- releasing hormone. *Science*, 200:72, 1978.
- 12) Pollard, H., Llorens-Cortes, C. and Schwartz, J. C.: Enkephalin receptors on dopaminergic neurons in rat striatum. *Nature*, 268:745, 1977.
  - 13) Ropert, J. F., Quigley, M. E. and Yen, S. S. C.: The dopaminergic inhibition of LH secretion during the menstrual cycle. *Life Sci.*, 34:2067, 1984.
  - 14) Quigley, M. E. and Yen, S. S. C.: The role of endogenous opiates on LH secretion during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 179, 1980.
  - 15) Ropert, J. F., Quigley, M. E. and Yen, S. S. C.: Endogenous opiates modulate pulsatile luteinizing hormone release in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52:583, 1981.
  - 16) Yen, S. S. C., Tsai, C. C., Naftolin, F., Vandenberg, G. and Ajobor, L.: Pulsatile patterns of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34:67, 1972.
  - 17) Quigley, M. E., Sheehan, K. L., Casper, R. F. and Yen, S. S. C.: Evidence for increased dopaminergic and opioid activity in patients with hypothalamic amenorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 50:949, 1980.
  - 18) Rasmussen, D. D., Liu, J. H., Wolf, P. L. and Yen, S. S. C.: GnRH neurosecretion in the human hypothalamus: in vitro regulation by dopamine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 62:479, 1986.
  - 19) Rasmussen, D. D., Liu, J. H. Swartz, W. H., Tueros, V. S. and Yen, S. S. C.: Human fetal hypothalamic GnRH neurosecretion: dopaminergic regulation in vitro. *Clin. Endocrinol.*, 25:127, 1986.
  - 20) Rasmussen, D. D., Liu, J. H., Wolf, P. L. and Yen, S. S. C.: Endogenous opioid regulation of gonadotropin-releasing hormone release from the human fetal hypothalamus in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 57:881, 1983.
  - 21) Rasmussen, D. D., Liu, J. H. Wolf, P. L. and Yen, S. S. C.: Neurosecretion of human hypothalamic immunoreactive  $\beta$ -endorphin: In vitro regulation by dopamine. *Neuroendocrinol.*, 45: 197, 1987.

### metoclopramide に対する血中 LH の反応 の月経周期における変化

防衛医科大学校産科婦人科

関 克義 加藤宏一

ドーパミン拮抗剤である metoclopramide (MCP) に対する血中 LH の反応の月経周期における変化について検討した。MCP 投与後血中 LH は卵胞期初期の婦人において増加しなかったが、卵胞期後期および黄体期中期の婦人において増加した。高エストロゲンおよびプロゲステロン環境下に認められた LH の MCP に対する反応と内因性ドーパミン活性の亢進との関連性が推測される。

(受付：昭和 62 年 4 月 10 日)

# “排卵誘発療法における最近開発された 簡易スライド法による尿中エストロゲン値と RIAによる血中エストラジオール値との相関”

Correlation of the Levels of Urinary Estrogens  
by Newly Developed Three-minute Assay  
with Those of Serum Estradiol by RIA  
in Patients under Ovulation Induction

京都大学医学部婦人科学産科学教室

高倉 賢二      泰井 俊造      小原      明  
Kenji TAKAKURA      Shunzo TAI      Akira OHARA  
福岡 正恒      高井 一郎      辰巳 賢一  
Masatsune FUKUOKA      Ichiro TAKAI      Kenichi TATSUMI  
野田 洋一      森      崇英  
Yoichi NODA      Takahide MORI

Department of Gynecology and Obstetrics  
Kyoto University Faculty of Medicine

最近開発されたスライド法による簡便な尿中総エストロゲン (E) 測定法の卵胞発育モニタリング法としての有用性を検討する目的で、ゴナドトロピンによる排卵誘発療法施行中の40症例において303検体の尿および血液検体を採取し、スライド法により尿中E濃度を、radioimmunoassay法により血中エストラジオールをそれぞれ測定し、両者の相関を検討した。症例全体における両者の相関係数は0.38であったが、ほぼ一周期にわたって毎日尿および血液を採取できた4症例について相関をみると0.70~0.78と全体で検討した場合にくらべて有意に高値をとった。すなわち、個人内での相関は良好であるが、症例数が増して全体で検討すると相関は低下した。このことはエストロジェンの尿中への排泄率が個人間で異なることを示唆するとともに、臨床応用にあたって各症例毎の基準値設定などの個別化が必要であることを示すと考えられた。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 283-290, 1988)

## 緒 言

Lunenfeldら<sup>1)</sup>によって開発されたhuman menopausal gonadotropin (HMG)-human chorionic gonadotropin (hCG)療法は、無排卵症や体外受精(IVF-ET)の症例に対する排卵誘発方法として広く行われている。しかし一般的な排卵誘発治療時には多胎妊娠や卵巣過剰刺激症候群(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)の合併が問題となっ

ているし、IVF-ETにおいてはより厳密な卵胞発育のコントロールが要求される。これらの合併症を回避し、最適な排卵および採卵の時期をえるためには、卵胞発育を種々の方法を組み合わせ適確にモニターすることが重要となってくる。卵胞発育の指標としては、(1)頸管粘液検査、(2)膣スミア検査、(3)血中エストロゲン測定、(4)尿中エストロゲン(E)測定、(5)超音波断層法による卵胞計測などが挙げられる。これらの中で、鋭敏で実際的なものは尿中E定

量と超音波断層法による卵胞計測であろう。血中エストロジェン測定は最も鋭敏かつ正確であるが、通常 radioimmunoassay (RIA) により行われるので、操作の煩雑性と所用時間・設備の特殊性・費用の面などから実際的とはいえない。最近エストラジオールに対するモノクローナル抗体を用い、3分間という短時間で結果がえられる尿中微量総エストロジェン測定法が開発され臨床応用が開始されている。今回われわれは主に HMG-hCG 療法施行中の症例を対象として本測定法によりえられた尿中E値による卵胞発育の診断・判定の信頼性を検討するために、多数例で血中エストラジオール ( $E_2$ ) 値との比較・相関を詳細に行い、その問題点を明らかにしたので報告する。

### 対象と方法

対象は当科不妊外来で HMG-hCG 療法または pure FSH-hCG 療法を施行した排卵障害婦人 35 名および IVF-ET 症例 5 名の計 40 症例で、のべ 54 排卵周期の卵胞期から排卵期、黄体期におよぶ尿 417 検体について尿中E値を測定した。尿検体は原則として早朝尿の中間尿とした。また、そのうち 303 検体については採尿当日の外来受診時(午前9時~10時)に採血し、血中  $E_2$  値も測定した。116 検体については採尿時に屈折計 (アタゴ卓上蛋白計 T 2, アタゴ株, 東京) により尿比重も測定した。なお, IVF-ET 症例においてはクロミフェン-HMG-hCG 療法を施行した<sup>2)</sup>。

排卵日の推定は BBT, 血中 Luteinizing Hormone (LH) 値, 血中プロゲステロン値, 血中  $E_2$  値, 超音波断層法による卵胞の観察により総合的に行った。

尿中E測定はハイエストロテックスライド (Hi-E, 持田製薬) によって行った。血中  $E_2$  値の RIA はエストラジオール・I-125・キット (ミドリ十字) により測定した。また、尿検体のうち 307 検体については Hi-E とともにハイモニター E (Hi-M, 帝国臓器製薬) による尿中E値測定も同時に行った。尿検体の希釈系列は Hi-E では 200ng/ml までは 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 200ng/ml で, 200ng/ml 以上については 100ng/ml 間隔で行い, Hi-M では 200ng/ml までは 5, 10, 15, 25, 50, 75, 100, 150, 200ng/ml で, 200ng/ml 以上については Hi-E と同様 100ng/ml 間隔で希釈していった。

Hi-E および Hi-M はともに、モノクローナル抗体感作ラテックスの凝集阻止反応を用いるスライド法による尿中E測定試薬であるが、前者は抗  $E_2$  抗体感作ラテックスと牛血清アルブミン、後者は抗エスト

リオール-16-グルクロナイド抗体感作ラテックスとエストリオール-16-グルクロナイド結合ラテックスとの間の抗原抗体反応を利用している。反応時間は前者で3分、後者で2分、測定感度はそれぞれ 10ng/ml, 2ng/ml である<sup>3,4)</sup>。

排卵誘発に用いた薬剤は、パーゴナル (帝国臓器製薬), ヒュメゴン (日本オルガノン), pure FSH (セローノ・ジャパン), クロミッド (塩野義製薬), ゴナトロピン (帝国臓器製薬), HCG モチダ (持田製薬) である。

特別の説明がない限り、本稿では尿中E濃度と血中  $E_2$  濃度との相関は同日に採取した尿および血液検体について検討した。尿中Eの尿比重による補正は、Hi-E により測定した尿中E濃度について、尿中E値×尿比重より求めた予測1日尿量 ( $\mu\text{g}/\text{day}$ )<sup>5,6)</sup>, 尿中E/尿比重 ( $\text{ng}/\text{ml}$ )<sup>7)</sup> のふた通りの補正を行った。

### 結 果

#### 1. 全体における検討

##### (1) 尿中E値と血中 $E_2$ との相関

一周期あたり day 0 (排卵日) までの卵胞期に平均 5.0 検体を測定したが、のべ 54 周期の検討周期すべてにおいて尿中E値の排卵前の急上昇をとらえることができた。血中  $E_2$  値の分布は表 1 に示すように 20 以下から 5545  $\text{pg}/\text{ml}$  にわたって広範囲に分布し、

表 1 血中  $E_2$  値の分布

血中 $E_2$ 値の分布	検体数
0 ~ 50	82
~ 100	31
~ 150	24
~ 200	15
~ 250	9
~ 300	9
~ 400	17
~ 500	19
~ 600	12
~ 700	14
~ 800	8
~ 900	14
~ 1000	7
~ 1500	19
~ 2000	11
> 2000	12
計	303

平均は 481.2pg/ml であった. 排卵推定日を day 0 として排卵周期別に尿中 E 値と血中 E<sub>2</sub> 値の推移をみると, 両者ともに day-7 頃より上昇傾向を示し, day 0 にピーク値 (尿中 E 196.4±63.3ng/ml, 血中 E<sub>2</sub>

1312.5±320.1pg/ml) をとった (図 1). 検討症例全体 (n=303) でみた場合, Hi-E による尿中 E 値 (ng/ml; x) と RIA による血中 E<sub>2</sub> 値 (pg/ml; y) との相関係数は 0.38, 寄与率は 0.148, 回帰式は  $y = 1.40x + 376.3$  であった (表 2-1).

このように尿中 E 値と血中 E<sub>2</sub> 値の相関が 0.38 と不良であったので, 以下に尿比重による補正や, 尿比重・尿中 E・血中 E<sub>2</sub> レベルのランク分け等を行いさらに検討した.

(2) 尿比重による補正および尿比重ランク別の尿中 E 値と血中 E<sub>2</sub> 値との相関

尿比重は 417 検体のうちの 116 検体について測定し, 未補正尿中 E 値あるいは尿比重で補正した尿中 E 値と血中 E<sub>2</sub> 値との相関を検討した (表 2-1). 相関係数は未補正では 0.70, 補正した場合は 0.70 (尿中 E 濃度/尿比重<sup>7)</sup> あるいは 0.72 (尿中 E 濃度×予測尿量<sup>5,6)</sup>) と三者の間で有意差は認めなかった. さらに尿比重のランク別でも尿中 E 値と血中 E<sub>2</sub> 値との相関をみたが, 各群の間で有意差を認めず, 特に良好な相関を示すランクは見いだせなかった (表 2-2). 興味深いことに 303 検体のうち尿比重測定群 (n=116) での尿中 E 値 (未補正) と血中 E<sub>2</sub> 値との相関係数が 0.70 であり, 尿比重非測定群 (n=187) でも 0.66 と良好であったが, 両群を合わせた全体で

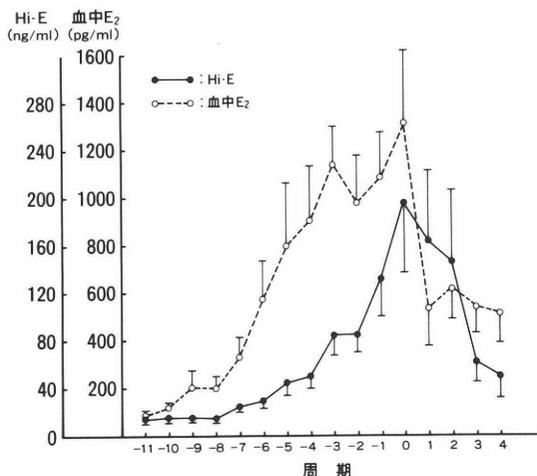


図 1 ハイエストロテックスライド (Hi-E) による尿中エストロジェン値と RIA による血中エストロジオール (E<sub>2</sub>) 値の排卵周期における推移 (症例全体における検討)  
平均 ± SEM  
周期は推定排卵日を day 0 とした

表 2-1 検討症例全体, 尿比重測定群, 尿比重非測定群における尿中 E 値 (x; ng/ml) と血中 E<sub>2</sub> 値 (y; pg/ml) との相関および尿比重補正の検討

	相関係数	母 数	寄与率	回帰式
今回の検討症例全体	0.38 <sup>c,d</sup>	303	0.148	$y = 1.40x + 376.3$
尿比重非測定群	0.66 <sup>c</sup>	187	0.430	$y = 1.05x + 205.4$
尿比重測定群 (未補正)	0.70 <sup>d</sup>	116	0.490	$y = 8.86x + 237.3$
尿比重測定群 (補正 1) <sup>a</sup>	0.70	116	0.494	$y = 9.14x + 231.6$
尿比重測定群 (補正 2) <sup>b</sup>	0.72	116	0.520	$y = 11.9x + 134.7$

<sup>a</sup> (補正 1) : x = 尿中 E 濃度/尿比重 (ng/ml)

<sup>b</sup> (補正 2) : x = 尿中 E 濃度 × 予測 1 日尿量 (μg/day)

<sup>c,d</sup> ; p < 0.01

表 2-2 尿比重ランク別の尿中 E と血中 E<sub>2</sub> の相関

尿比重 (SG) ランク	相関係数	母 数	寄与率	回帰式
SG < 1010	0.81	9	0.653	$y = 25.7x + 34.6$
1010 ≤ SG < 1020	0.70	70	0.485	$y = 12.4x + 178.9$
1020 ≤ SG < 1030	0.61	25	0.367	$y = 6.67x + 195.3$
SG > 1030	0.84	12	0.698	$y = 8.71x - 143.2$

x : 尿中 E 値 (ng/ml), y : 血中 E<sub>2</sub> 値 (pg/ml)

表3 尿中Eランク別の尿中Eと血中E<sub>2</sub>の相関

尿中Eランク	相関係数	母数	寄与率	回帰式
尿E ≤ 40ng/ml	0.41 <sup>a,b,c</sup>	206	0.169	y = 10.4x - 3.73
尿E > 40ng/ml	0.15 <sup>b,d</sup>	97	0.022	y = 0.46x + 1015.0
尿E ≤ 80ng/ml	0.57 <sup>c,d,e</sup>	237	0.326	y = 13.8x - 56.6
尿E > 80ng/ml	0.13 <sup>a,e</sup>	66	0.016	y = 0.3x + 1096.3

x: 尿中E値 (ng/ml), y: 血中E<sub>2</sub>値 (pg/ml)

<sup>a,b,c</sup>: p < 0.05, <sup>d,e</sup>: p < 0.001

表4 血中E<sub>2</sub>ランク別の尿中Eと血中E<sub>2</sub>の相関

血中E <sub>2</sub> ランク	相関係数	母数	寄与率	回帰式
E <sub>2</sub> < 100pg/ml	0.15	113	0.023	y = 0.24x + 33.5
E <sub>2</sub> ≥ 100pg/ml	0.31	190	0.095	y = 1.0x + 640.5
100 ≤ E <sub>2</sub> ≤ 500pg/ml	0.32	93	0.100	y = 0.73x + 231.5
E <sub>2</sub> > 500pg/ml	0.14	97	0.020	y = 0.38x + 1170.4

x: 尿中E値 (ng/ml), y: 血中E<sub>2</sub>値 (pg/ml)

表5 ハイエストロテックスライド (Hi-E, ng/ml), ハイモニターE (Hi-M, ng/ml) および血中E<sub>2</sub>値 (pg/ml) 三者間の相関

x	y	相関係数	母数	寄与率	回帰数
Hi-E	Hi-M	0.87 <sup>a,b</sup>	307	0.751	y = 1.26x + 0.57
Hi-E	血中E <sub>2</sub>	0.64 <sup>a</sup>	167	0.415	y = 7.19x + 202.0
Hi-M	血中E <sub>2</sub>	0.70 <sup>b</sup>	167	0.485	y = 5.23x + 238.8

<sup>a,b</sup>: p < 0.001

みると (n = 303) 0.38 と有意に悪化した。

(3) 尿中E濃度ランク別の尿中E値と血中E<sub>2</sub>値との相関

尿中E濃度ランク別に尿中E値と血中E<sub>2</sub>との相関をみると、表3に示すように尿中Eランクを40 ng/ml あるいは80ng/ml 以下とそれより高いランクのふた通りにわけて検討したが、どちらの場合においても尿中E濃度の低い群の方が相関が有意に良好であった。

(4) 血中E<sub>2</sub>濃度ランク別の尿中E値と血中E<sub>2</sub>値との相関

血中E<sub>2</sub>濃度ランク別にみた尿中E値と血中E<sub>2</sub>値との相関を検討すると、各ランクともに検討症例全体と比較して相関が悪化する傾向がみられた。しかし、各群間には有意差を認めなかった (表4)。

(5) Hi-E と Hi-M との相関

Hi-E および Hi-M の両者により重複して測定した検体は307検体あり、両者による測定値間の相関係

数は0.87と良好であった。また、Hi-E, Hi-M による尿中E値と血中E<sub>2</sub>の三者を測定しえた167検体についてHi-E および Hi-M による尿中E値と血中E<sub>2</sub>との相関を検討するとそれぞれ0.64, 0.70 とほぼ等しかった (表5)。

2. pure FSH-hCG 療法症例における検討

pure FSH-hCG 療法を施行した4症例についてはほぼ一ヶ月周期にわたり連日尿中E濃度および血中E<sub>2</sub>濃度を測定した。血中E<sub>2</sub>値の推移は図2～5に示すように、個々の症例における絶対値に差異はあるものの、治療開始後2～3週間の間は低値ないしはわずかな上昇傾向を示すのみであるが、その後急速に増加し、排卵直前にいったん急速に減少し、排卵後には再び上昇し、月経発来前に下降するという4例に共通したほぼ一定の変動パターンを示した。一方、尿中E値の推移は、血中E<sub>2</sub>値と比較して解離の著しい値があるものの、基本的には血中E<sub>2</sub>値と類似した変動パターンを示した。

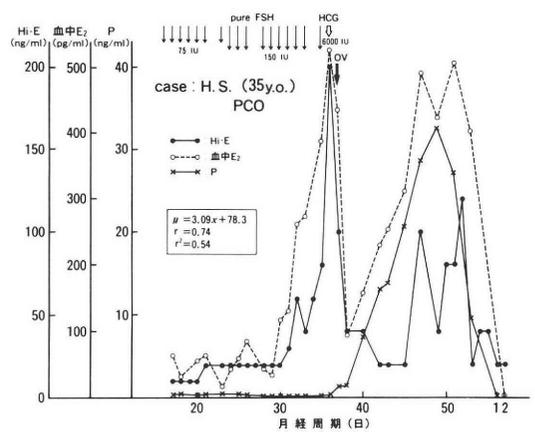
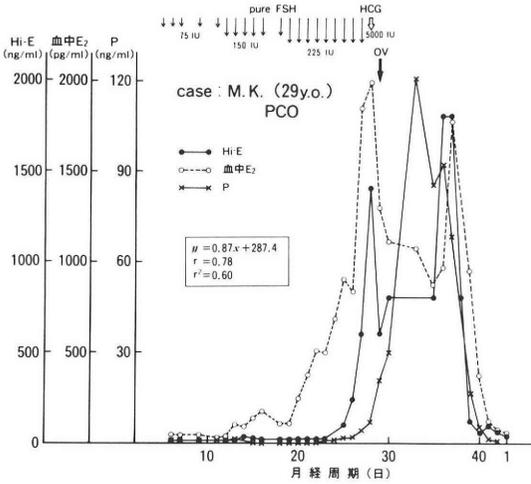


図 4 pure FSH-hCG 症例 (3)

図 2 pure FSH-hCG 症例 (1)  
 Hi-E: ハイエストロテックスライド  
 血中 E<sub>2</sub>: 血清エストラジオール値  
 P: 血清プロジェステロン値  
 OV: 推定排卵日  
 x: 尿中エストロジェン値 (ng/ml)  
 y: 血清 E<sub>2</sub> 値 (pg/ml)  
 r: 相関係数  
 r<sup>2</sup>: 寄与率  
 (以上, 図 3 ~ 5 についても同じ)

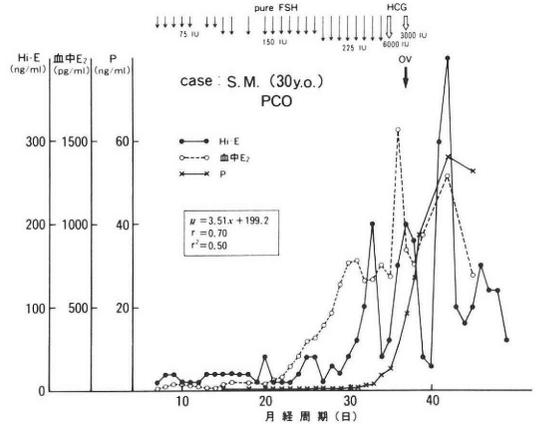


図 5 pure FSH-hCG 症例 (4)

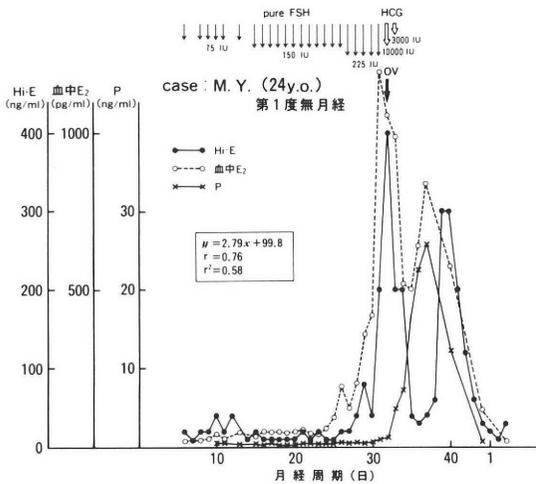


図 3 pure FSH-hCG 症例 (2)

尿中 E 値と血中 E<sub>2</sub> 値との相関係数を検討すると、個々の症例では 0.70~0.78 と良好であったが、4 症例全体では 0.68 とやや低下した (表 6)。また、血中 E<sub>2</sub> 値と採血前日尿中 E 値との相関は血中 E<sub>2</sub> 値と採血当日尿中 E 値との相関にくらべ低下した (表 6)。

考 察

近年における排卵誘発療法の進歩は生殖医学全般にわたる知見の集積を背景にし、直接的には新たな薬剤ならびにその合理的投与方法や卵胞発育モニタリング法の開発に負うところが大きい。そのうち内分泌学的な卵胞発育のモニタリング法に関しては、従来の主に R I A による血中 E<sub>2</sub> 測定に代わるより実際的なものとして様々な尿中 E 濃度の測定方法が開発されてきた。しかし、これまでに報告されたラジオイムノアッセイ法<sup>8-10)</sup>、ガスクロマトグラフィー法<sup>11)</sup>、蛍光法<sup>12,13)</sup>などによる測定法はいずれも血中 E<sub>2</sub> 測定とくらべて簡便とはいいい難く、実地臨床面で尿中 E

表6 pure FSH-hCG 症例における尿中Eと血中E<sub>2</sub>の相関

症 例	相関係数	母 数	寄与率	回帰式
今回の検討症例全体	0.38	303	0.148	$y = 1.40x + 376.3$
pure FSH の 4 症例全体	0.68 <sup>a</sup>	118	0.464	$y = 1.01x + 245.7$
同上(翌日尿との相関)	0.60 <sup>b</sup>	104	0.355	$y = 0.87x + 272.6$
症例:M.K.	0.78 <sup>c</sup>	28	0.605	$y = 0.87x + 287.4$
症例:M.Y.	0.76 <sup>d</sup>	31	0.582	$y = 2.79x + 99.8$
症例:H.S.	0.74 <sup>e</sup>	27	0.544	$y = 3.09x + 78.3$
症例:S.M.	0.70 <sup>f</sup>	32	0.497	$y = 3.51x + 199.2$

x:尿中E値(ng/ml), y:血中E<sub>2</sub>値(pg/ml)

b,e,f:  $p < 0.05$ (検討症例全体と比較)

a,c,d:  $p < 0.001$

測定が一般化したのは赤血球凝集阻止反応を利用したハイエストロテック(持田製薬)が開発されてからである。このハイエストロテックを操作面でさらに簡便化したものが今回検討したHi-Eである。前者で2時間であった反応時間は3分間と大幅に短縮され、手技もスライド法を用いることによりさらに容易となった。

Hi-Eによる尿中E測定法は操作上の簡便性ととも測定法自体の信頼性も十分に検討され認められている<sup>3)</sup>。測定法の原理は、抗E<sub>2</sub>モノクローナル抗体感作ラテックスとエストロン-牛血清アルブミンとの抗原抗体反応を被検尿中のEが阻止する反応、すなわち競合的ラテックス凝集阻止反応を利用した尿中微量総エストロジェン測定試薬であり、測定感度は10 ng/mlである。本試薬に用いられている抗E<sub>2</sub>モノクローナル抗体はE<sub>2</sub>のほか、エストロン、エストリオールおよびそれらの16位あるいは17位抱合体とほぼ等しく反応するが、3位の抱合体あるいはプレグナジオールやテストステロンなどの他のステロイドとはほとんど反応しない。標準希釈系列は2系列設定してあり、通常の測定には(1)20, 40および80 ng/ml, (2)30, 60および120ng/mlの希釈系列が用いられるが、あらかじめ原尿を希釈することによりさらに高濃度の測定や別の希釈系列の作成も可能である。また、その測定値は尿pHの変動(4.0~9.0), 5000 mg/mlまでのグルコースや血清アルブミンの尿中混入に影響されず、ハイエストロテックによる測定値との相関も良好で、相関係数は0.9864, 回帰式は $y = 0.9146x + 3.256$  (n=23)と報告されている<sup>3)</sup>。

前述した操作上の簡便性や測定法自体の信頼性を有する本測定法が臨床面で有用であるためには、そ

の測定値が卵胞の発育程度を正確に反映している必要がある。本法による尿中E測定の意味ならびに目的は、その測定値から内分泌学的な卵胞発育の直接的な指標である血中E<sub>2</sub>濃度を推定し、さらには卵胞の発育程度を評価することにある。従って、本測定法が卵胞発育の指標として有用であるためには、その測定値が血中E<sub>2</sub>値をよく反映することが必要である。ハイエストロテックにおいてはRIA法による血中E<sub>2</sub>値との相関に関して多数の報告があり、それらによると相関係数は、0.38 (n=86)<sup>14)</sup>から0.92 (n=63)<sup>6)</sup>に至るまで様々な値が報告されている<sup>15)</sup>。これらの中には尿中クレアチニン<sup>7,16)</sup>や尿比重<sup>6,7)</sup>による補正を行ったり、蓄尿中から検体を採取して<sup>14,17,18)</sup>相関をあげる努力がなされているものもあるが、全体的にみて未補正のものともあまり差は認められない。また、検体数も100未満のものがほとんどで、飯塚ら<sup>19)</sup>の147検体が最多である。今回の報告では多数の排卵誘発例を対象にして両者の相関を種々の観点から詳細に検討した。その結果、血中E<sub>2</sub>値を測定した303検体全体でみた場合、Hi-Eによる尿中E値とRIA法による血中E<sub>2</sub>値との相関係数は0.38にとどまり、不十分な相関であった。そこで、尿比重による補正や、尿比重・血中E<sub>2</sub>値・尿中E値のランクわけなどを行って検討した。

尿比重に関しては、尿比重が尿量を反映し<sup>5)</sup>、実際、尿比重で尿中E濃度を補正することにより、血中E<sub>2</sub>値との相関がよくなるとの報告があるが<sup>6)</sup>、今回の検討では尿比重補正を行った尿中E値と血中E<sub>2</sub>値との相関は、未補正の場合に比し有意な改善は認められなかった。また、尿比重ランク別に相関を比較したが、各ランク間で有意差はなく、特に相関がよくなるランクは認められなかった。このことは金田らの

報告<sup>7)</sup>と同様、尿比重がHi-Eによる尿中E値と血中E<sub>2</sub>値との相関にほとんど寄与しないことを示すものであり、従って臨床応用にあたっては、しいて尿比重で補正する必要はないものと思われる。

尿比重や尿中クレアチニンによる補正、蓄尿中よりの測定はすべて尿量を間接的・直接的に推定しようとするものである。そのうち最も簡便な尿比重については今回の検討でも血中E<sub>2</sub>値との相関に影響しなかったし、尿中クレアチニンによる補正は尿中E測定よりもクレアチニン測定の方が煩雑で時間がかかり、実用的とはいえない。また、蓄尿中よりの測定は尿量がわかり、1日排泄量を正確に計算することができるが、外来患者について行うのは困難である。外来患者においては採尿時刻、前回排尿時刻、尿量の三者がわかれば尿中E排泄速度がもとまり、これを用いるほうがむしろ実際のあるいは正確であると考えられる。具体的な方法としては、外来受診が午前であれば、患者は起床時排尿し、病院で診察を受ける前に採尿するとともに尿量も測定する。患者としては2回の排尿時刻を記憶するだけでよい。この尿中E排泄速度については今後検討すべき課題であると思われる。また、尿中E値は当日血中E<sub>2</sub>よりも前日の血中E<sub>2</sub>値と相関がよいとの報告があり<sup>20)</sup>、この点についても検討したが、両者に差はなく、むしろ前日血中E<sub>2</sub>との相関の方が悪かった。

血中E<sub>2</sub>値のランク別検討では各ランク間で有意差は認められなかったが、血中E<sub>2</sub>値が100pg/ml未満あるいは500pg/ml以上の群では相関が悪化する傾向にあった(表4)。尿中E値のランク別検討では尿中E値の高いランクでは低いランクにくらべて相関が有意に悪化し、従って尿中E値の高いものではより信頼性に欠けるものと考えられた(表3)。

ほぼ一周期連日測定できたpure FSH-hCG療法の4症例で検討してみると、個々の症例では0.7~0.78といずれも良好な相関係数がえられた。これら4症例を全体でみると両者の相関係数は0.68となり、個々でみた場合よりも低下したが、全検体(n=303)における相関よりはるかに良好であった。このことはEの尿中排泄率に個人差があり、そのために症例数が増加すればするほど相関が悪くなることを示唆し、従って、多数症例を検討したとしても、全体での検討でえられた基準で単純に血中E<sub>2</sub>値を推定することは不正確になると考えられる。また、表2-1の尿比重測定群116検体および非測定群187検体における尿中E値(未補正)と血中E<sub>2</sub>値との相関係数がそれぞれ0.70, 0.66と良好であるのに両者を合わせた303検体でみると0.38と有意に悪化したのも上

述のpure FSH-hCG療法の検討と同様に症例数の増加と相関の悪化の点から解釈される。

今回の検討より排卵誘発療法時のHi-Eによる尿中E値は、個人内においては血中E<sub>2</sub>値とよく相関し、その操作が簡便なことからも超音波断層法などの他の検査所見と組み合わせることにより卵胞発育の重要な指標になりうると考えられた。ただし、尿中E排泄率には個人差があり、多数例の検討から絶対的な基準値を設定することは困難であると考えられる。特に、HMG-hCG療法切り換えやIVF-ETの際の採卵など卵胞発育のより厳密なモニタリングが要求される場合には基準値の設定にあたって個別化が重要であると思われる。

稿を終わるにあたり、ハイエストロテックスライドを提供して頂いた持田製薬に深謝する。

## 文 献

- 1) Lunenfeld, B., Menzi, A., and Volet, B.: Clinical effects of human postmenopausal gonadotrophin. *Acta Endocrinol. Suppl.* 51: 587, 1960.
- 2) 辰巳賢一, 矢野樹理, 神崎秀陽, 松本 央, 馬岡陽, 福田愛作, 高井一郎, 泰井俊造, 野田洋一, 森 崇英: 体外受精・胚移植法における、内因性LHサーージによる採卵とhCG投与による採卵との比較, 第32回日本不妊学会抄録集, 1987.
- 3) MS-8601 治験用説明書(持田製薬)
- 4) TZR-311 治験用説明書(TZR-311について)(帝國臓器製薬)
- 5) 宮川勇生, 宮崎康二, 水元淳一, 前山昌男: ESTROTECによる妊婦尿中estriol測定法とその臨床応用, *臨産*, 29: 397, 1975.
- 6) 梶村秀雄, 石丸忠之, 岡本純英, 山下隆則, 山辺徹: HMG療法における尿中estrogen測定の意義, *産婦世界*, 37: 727, 1985.
- 7) 金田健一, 安田 晃, 村尾文規, 北尾 学: 尿中微量エストロゲン測定キットのクレアチニンおよび比重補正による血中エストロゲンとの相関, *産婦世界*, 38: 863, 1986
- 8) Wright, K., Collins, D. C., Musey, P. I., and Preedy J. R. K.: Direct radioimmunoassay of specific urinary estrogen glucosiduronates in normal men and nonpregnant women. *Steroids*, 31: 407, 1978.
- 9) Baker, T. S., Jennison, K. M., and Kellie A. E.: The direct radioimmunoassay of oestrogen glucuronides in human female urine. *Biochem. J.* 177: 729, 1979.
- 10) Miyakawa, I., Stanczyk, F. Z., March, C. M., March, A. D., and Goebelsmann, U.: Urinary estradiol-17 $\beta$ -glucuronide assay for gonadotropin therapy. *Obstet. Gynecol.* 58: 142, 1981.
- 11) Adams, W. P., Hasegawa, J., Johnson, R., and

- Haring R. C.: Conjugated estrogens bioequivalence: Comparison of four products in postmenopausal women. *J. Pharm. Sci.* 68: 986, 1979.
- 12) Brown, J. B., Macleod, S. C., Macnaughtan, C., Smith, M. A., and Smyth, B.: A rapid method for estimating oestrogens in urine using a semi-automatic extractor. *J. Endocrinol.* 42: 5, 1968.
- 13) 河本裕子, 山根俊夫: 卵巣機能検査としての尿中総エストロゲンの蛍光法による簡易定量法, *日産婦誌*, 32: 1025, 1980.
- 14) 荒川 修, 須藤寛人, 上田昌博, 古谷元康, 田中俊夫: 不妊症治療における尿中微量エストロジェン測定試薬「Hi-Estrotec」の臨床応用, *産婦実録*, 33: 1909, 1984.
- 15) 高倉賢二, 泰井俊造, 越山雅文, 野々垣比路史, 高井一郎, 辰巳賢一, 野田洋一, 森 崇英: スライド法による尿中エストロジェン測定の排卵誘発療法における有用性—血中エストロジオール値との相関を中心に—, *産と婦*, 55: 498, 1988.
- 16) 関 光倫: Hi-Estrotec の実用性—血中 estradiol radioimmunoassay 値との相関—, *産婦治療*, 50: 241, 1985.
- 17) 紀平正道, 松澤克治, 稲垣克久, 鈴木正利, 友田豊: 赤血球凝集反応を利用した尿中エストロゲン測定法 (ハイエストロテック) による HMG-hCG 療法中の卵胞成熟度判定, *産と婦*, 51: 1511, 1984.
- 18) 上原茂樹, 永沼孝子, 千田 智, 八日市谷隆, 村木 章, 京野広一, 森良一郎, 今泉英明, 星合 昊, 鈴木雅洲: 卵胞成熟モニタリングの指標としての血中 estradiol, progesterone, testosterone 濃度および尿中 estrogen 排泄量の評価, *日産婦誌*, 37: 1849, 1985.
- 19) 飯塚理八, 小林俊文, 神野正雄, 飯田悦郎, 杉村和夫: 体外受精の卵胞期管理への尿中エストロジェン微量測定法の応用, *産婦世界*, 37: 1057, 1985.
- 20) 鈴木康之, 林 伸旨, 野間 純, 安藤尚子, 清水一二美, 早田幸司, 占部 清, 吉田信隆, 関場 香: 尿中微量 estrogen 半定量法の臨床における有用性の検討, *臨産産*, 39: 53, 1985.

Correlation of the levels of urinary estrogens by newly developed three-minute assay with those of serum estradiol by

## RIA in patients under ovulation induction

Kenji Takakura, Shunzo Taii,  
Akira Ohara, Masatsune Fukuoka,  
Ichiro Takai, Kenichi Tatsumi,  
Yoichi Noda, and Takahide Mori

Department of Gynecology and Obstetrics  
Kyoto University Faculty of Medicine

We evaluated the clinical usefulness of a newly developed three-minute assay kit for urinary total estrogens (E) using latex agglutination inhibition test (Hi-Estrotec Slide) for monitoring ovarian follicular development. For this purpose, the levels of urinary E and serum estradiol ( $E_2$ ) were assayed by Hi-Estrotec Slide and RIA, respectively, in 303 samples obtained from 40 patients under ovulation induction, and correlation coefficients (CC's) between them were calculated in detail. CC between the levels of urinary E and serum  $E_2$  was unexpectedly as poor at 0.38, when it was calculated for the whole samples. Efforts to improve the CC's between the levels by correcting the urinary E value by its specific gravity in each urine sample, or subgrouping the samples by their urinary E and serum  $E_2$  levels, or by their urinary specific gravities, essentially did not contribute to their improvement. However, each CC in four patients whose urine and blood samples were collected almost everyday throughout the stimulatory cycle using pure FSH and hCG improved significantly to 0.70~0.78 and the overall CC in these patients was also as good at 0.68.

These results suggest that urinary secretion rates of E in the patients are different and that setting the indicative values of urinary E as the standardized parameter for follicular maturation may be difficult. In conclusion, measurements of urinary E levels by the newly developed kit are generally useful in estimating follicular development, taking individual variation in urinary E excretion rates among the patients into account, and it seems necessary to establish the individual urinary E value in each patient for precise assessment.

(受付: 昭和62年10月13日特掲)

## 女子運動選手の視床下部一下垂体系機能

### Hypothalamic-Pituitary Function in Female Athlete

筑波大学臨床医学系

目崎 登 本部 正樹 佐々木 純一  
Noboru MESAOKI Masaki MOTOKU Junichi SASAKI

庄司 誠 岩崎 寛和  
Makoto SHOJI Hirokazu IWASAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba.

- 女性の長期的、継続的な激しいスポーツ活動が視床下部一下垂体系機能に及ぼす影響を検討した。
1. トップレベルにある大学女子運動選手 40 名に基礎体温を測定させ、正常排卵性周期群 14 名、黄体機能不全群 13 名、無排卵周期症および続発性無月経群 13 名に分類した。
  2. 運動時に prolactin は一過性の著明な上昇を示すが、FSH および LH には大きな変動は認められない。
  3. 激しいトレーニングを行っている時期では、安静時の FSH および LH は低値を示した。
  4. LH-RH 負荷試験において、月経異常群では LH の分泌亢進および遅延反応が認められたが、FSH の反応には大きな変化は認められない。
  5. TRH 負荷試験時の prolactin 分泌反応は、月経異常群では亢進しており、また頂値が遅延する傾向を示した。
  6. 運動時と TRH 負荷試験時の prolactin 分泌能には明らかな相関関係は認められない。
- 以上の成績より、女子運動選手では視床下部一下垂体系機能、とくに視床下部性機能障害が推定される。この機能障害発現に運動時の一過性 prolactin 分泌亢進がどのように関与するかは不明であり、今後の詳細な検討が必要である。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33(2), 291-296, 1988)

#### 緒言

女性のスポーツ活動の積極化にともない、スポーツ活動が各種月経現象に及ぼす影響が注目されている。とくに、若年齢のうちから早期に開始されるトレーニングによる初経発来の遅延傾向<sup>1,2)</sup>、さらに日々に繰り返される激しいトレーニングに起因する各種月経異常が報告されている<sup>3,4)</sup>。

スポーツ活動による月経異常発現機転としては、①精神的・身体ストレス、②体重(体脂肪量)の減少、③ホルモン環境の変動などの要因が挙げられている<sup>5)</sup>。しかし、これらの要因が単独に作動しているのではなく、相互に関与することにより月経異常を

惹起するものと考えられる。すでに、これら要因の関与について、とくに運動時のホルモン環境の変動に関しては多くの検討がなされている<sup>6,7,8,9,10)</sup>。

しかし、生殖生理機能の長期予後に関する検討は必ずしも充分には行われていない。そこで、長期間の激しいスポーツ活動が女子運動選手の視床下部一下垂体系機能に及ぼす影響を検討した。

#### 対象および方法

##### A 対象

トップレベルにある大学女子運動選手 40 名に基礎体温を測定させた。基礎体温表により正常排卵性周期群 14 名(N群)、黄体機能不全群 13 名(SL群)、

無排卵周期症7名および続発性無月経6名(SA群)の3群に分類した。

B 方法

月経周期の5~8日間の卵胞期において以下の検査を実施した。

1 最大運動負荷試験

N群7名, SL群5名およびSA群4名を対象として, モナーク社製自転車エルゴメーターを用いる多段階漸増負荷法による最大運動負荷試験(ペダル回転数60回/分)を実施した。採血は前腕静脈に翼状針を留置し仰臥位安静60分後(Rest), 運動負荷試験中は心拍数160bpm時(Submax)および疲労困憊して運動継続が不可能となった最大運動負荷時(Max)とし, さらに仰臥位安静60分後(After 1hr)に行った(図1)。

2 ホルモン負荷試験

視床下部一下垂体前葉系機能予備能検査のためのホルモン負荷試験として, LH-RH (luteinizing hormon-releasing hormone) 負荷試験およびTRH (thyrotropin-releasing hormone) 負荷試験を実施した。なお, 試験は最も激しいトレーニングが行われ

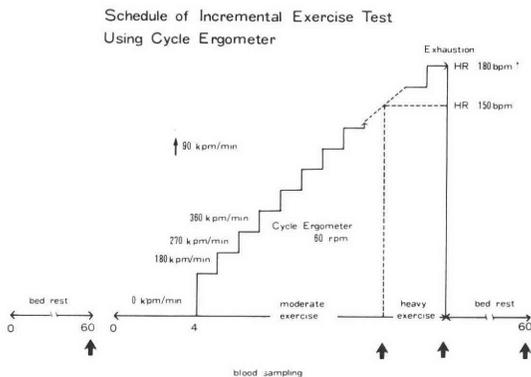


図1 Schedule of Incremental Exercise Test Using Cycle Ergometer.

ている時期に実施した。

a LH-RH 負荷試験

N群6名, SL群7名およびSA群7名に実施した。前腕静脈に翼状針を留置し座位安静30分後, さらにLH-RH 100μgの筋注投与30, 60, 90分後に採血を行った。

b TRH負荷試験

40名全員に実施した。前腕静脈に翼状針を留置し, 座位安静30分後, さらにTRH 500μgの筋注投与30, 60, 90分後に採血を行った。

3 測定

血清は直ちに分離し, 測定まで-20°Cに凍結保存した。血清 prolactin, FSH (follicle-stimulating hormone) および LH (luteinizing hormone) 濃度をRIA (radioimmunoassay) 法により測定した。

成績

A 運動負荷試験時のホルモンの変動

自転車エルゴメーターによる最大運動負荷試験時の各ホルモンの変動を示す。

1 FSHの変動

運動負荷試験中の血清FSH値の変動は, 図2に示す如く, 軽度の上昇傾向を示すのみであり, 明らかな変化は認められない。

2 LHの変動

血清LH値の運動負荷試験にともなう変動は, 図3に示す如く, Max時において軽度の増加傾向を示しているが, やはり明らかな変化は認められない。

3 prolactinの変動

運動負荷試験時の血清 prolactin 値の変動は著明

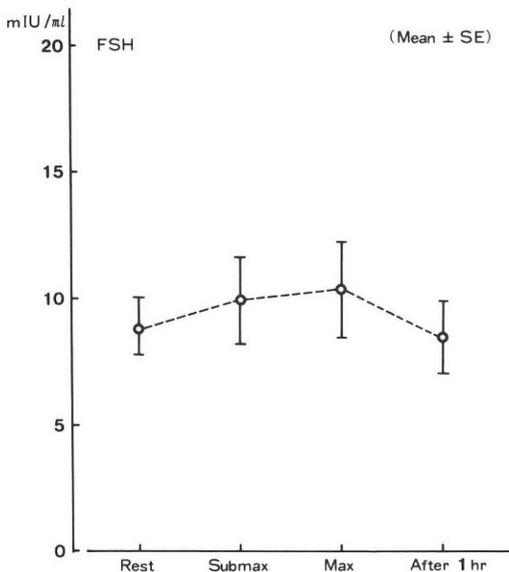


図2 Change of Serum FSH Level during Incremental Exercise Test Using Cycle Ergometer.

であり, 運動開始にともない直ちに上昇し, Submax時およびMax時とも著明な上昇を示している。しかし, この上昇も一過性であり, 運動負荷試験終了にともない直ちに減少した(図4)。

B ホルモン負荷試験

1 LH-RH 負荷試験

安静時の血清FSHおよびLH値(基礎値)は全

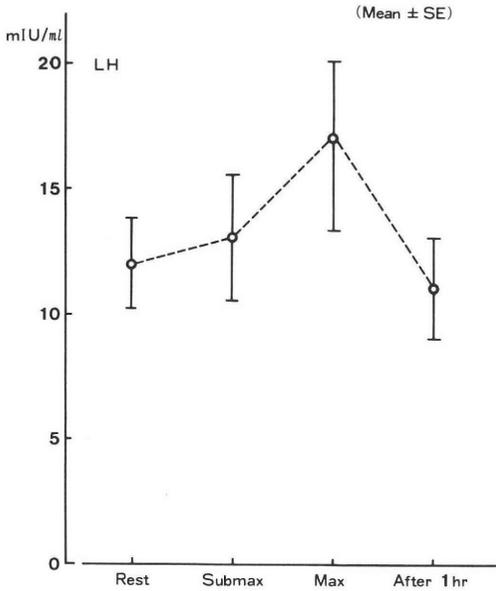


図 3 Change of Serum LH Level during Incremental Exercise Test Using Cycle Ergometer.

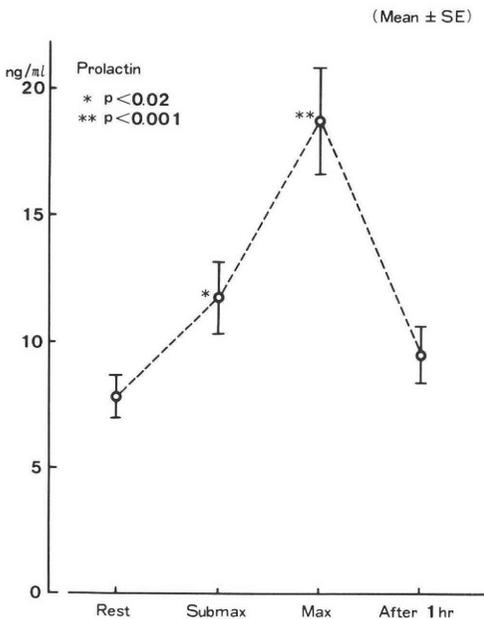


図 4 Change of Serum Prolactin Level during Incremental Exercise Test Using Cycle Ergometer.

員が低い傾向にあった。

a FSHの変動

LH-RH 負荷後の血清 FSH 値の変動は、図 5 に

示す如く、各群間に明らかな差は認められない、しかし、黒丸で示す N 群では 30 分時点で頂値となる正常パターンを示しているのに対し、月経異常群では下降がやや遅延する傾向を示しているが、明らかな差は認められない。

b LHの変動

LH-RH 負荷試験時の血清 LH 値の変動は、N 群では 30 分時に頂値を示す正常パターンを示している。しかし、月経異常群では頂値が遅れ、また高値をとる傾向にある。とくに、SA 群においてその傾向が著明である (図 6)。

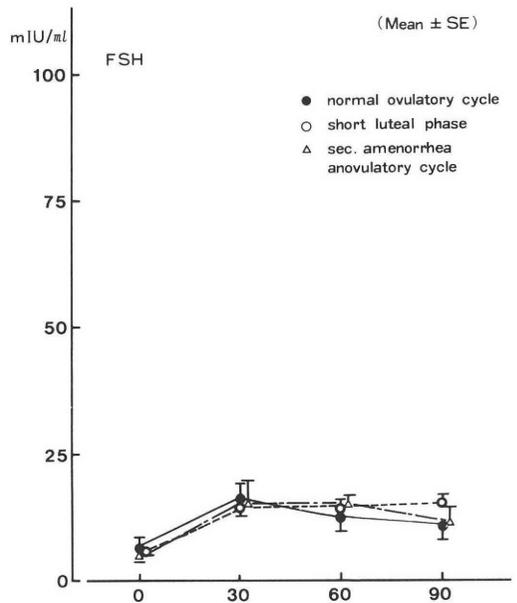


図 5 Serum FSH Response to Intramuscular LH-RH Injection in Follicular Phase.

すなわち、LH-RH 負荷試験の結果から、運動選手、とくに月経異常を呈する運動選手では視床下部-下垂体系機能、とくに視床下部機能障害の状態が窺われる。

2 TRH 負荷試験

安静時の血清 prolactin 値 (基礎値) は全員正常範囲内にあり、高 prolactin 血症の者は認められない。

TRH 負荷試験時の血清 prolactin 値の変動は、N 群では全員が 30 分時点で頂値を示しており、また頂値が 100ng/ml 以上の過剰反応を呈する者は認められない。これに対し、月経異常群では頂値が遅れる傾向にあり、さらに過剰反応を示す者が多く認められる。この傾向は SL 群より SA 群においてより著明であ

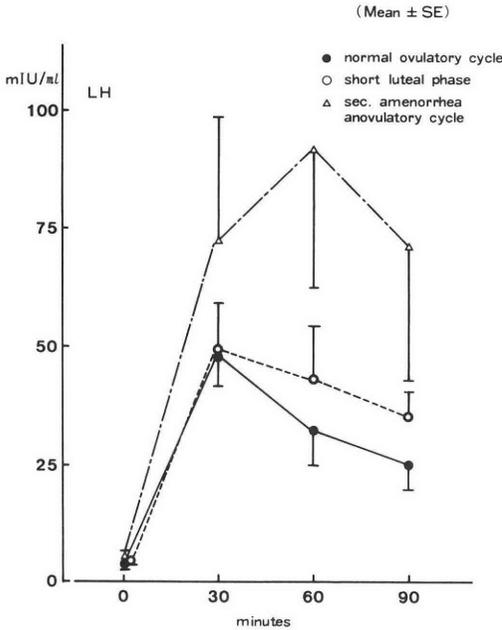


図6 Serum LH Response to Intramuscular LH-RH Injection in Follicular Phase.

った (図7).

C Prolactin 分泌能の検討

血清 prolactin の TRH 負荷試験時の頂値と最大運動負荷試験時の Max 時の値の相関関係を検討した。

図8に示す如く、相関係数  $r = 0.1374$  と両者には明らかな相関は認められない。

すなわち、TRH 負荷試験時の prolactin 分泌反応から、運動時の prolactin 分泌亢進能を予測することは出来ない。

考 察

女性のスポーツ活動の積極化にともない各種月経異常を呈する者が多いことは周知の事実である。しかし、その月経異常の発現機転の詳細は必ずしも明らかにはされていない。スポーツ活動にともない精神的・身体的ストレス、さらに体重(体脂肪量)の減少が大きな要因であるとする報告がなされている<sup>6,7,12</sup>。我々は、月経現象に対する直接的な影響として、スポーツ活動にともない内分泌学的変動に注目して検討した。

スポーツ活動にともない各種ホルモンの変動は、運動内容の差異、性差、さらに女性では性周期の時期によっても大きな差異を生ずるので、その検討に

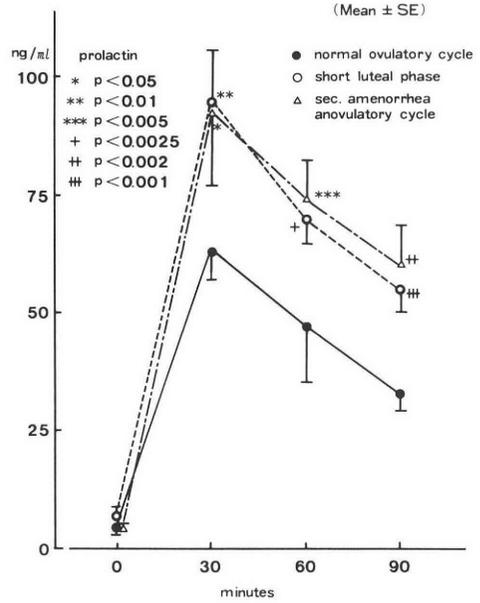


図7 Serum Prolactin Response to Intramuscular TRH Injection in Follicular Phase.

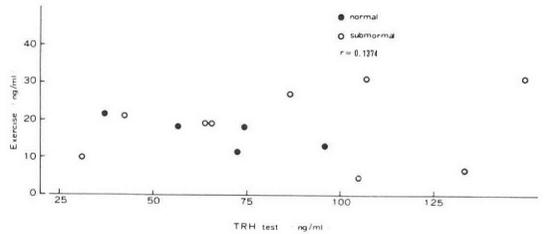


図8 Correlation of Prolactin Levels between TRH Test and Incremental Exercise.

際しては十分な配慮が必要である。安定した検査成績を得るための性周期における時期として、我々は卵胞期の第5~8日に各種検査を実施した。

運動にともない gonadotropin, FSH および LH の変動には明らかな変化は認められなかった。これに対し、prolactin の変動は著明であり、運動開始にともない直ちに著明な増加傾向を示し、また運動の継続により持続的に上昇する。しかし、運動の終了にともない直ちに低下している。これらの成績は、我々がすでに報告した成績と同様である<sup>8,9,10,11</sup>。

近年、続発性無月経、黄体機能不全さらに排卵障害などの各種月経異常発現機転において prolactin の関与が注目されている。すなわち、明らかな高 prolactin 血症ばかりでなく、日中の安静時においては正常値を示す正 prolactin 性月経異常における prolactin の

関与である。このような症例では排卵期<sup>13)</sup>,あるいは夜間<sup>14)</sup>における一過性の prolactin の上昇が指摘されている。これらは潜在性高 prolactin 血症として注目されており,またTRH負荷試験において prolactin の過剰分泌亢進反応があると指摘されている<sup>14)</sup>。これらのことから,スポーツ活動時の一過性ではあるものの著明な prolactin の上昇が,女子運動選手の各種月経異常発現機転において重要な意義を有しているものと考えられる。

女子運動選手に対するTRH負荷試験における prolactin の分泌反応をみると,正常排卵性月経周期の者では正常分泌反応を示しているが,黄体機能不全,無排卵周期症さらに続発性無月経の者では prolactin の過剰分泌反応とともに,分泌遅延傾向を示している。このような反応性が一義的な体質によるものであるか,あるいは長期的なスポーツ・トレーニングによる二次的な反応であるのかは不明である。しかし,各種月経異常を呈する prolactin の過剰分泌反応を示す者が多いことは,スポーツ活動に関する月経異常発現機転における prolactin の重要性を示すものと考えられる。

血清 prolactin の最大運動負荷試験における Max 時の値と TRH 負荷試験時の頂値の間には相関関係は認められない。この事実,スポーツ活動時には TSH (thyroid-stimulating hormone) に何らの変化も認められないことから<sup>8)</sup>,スポーツ活動時の prolactin 分泌亢進機構には内因性 TRH が関与していないことを示すものである。

長期的な激しいトレーニングが gonadotropin 分泌に及ぼす影響としては,我々の成績と同様に LH および FSH も減少すると報告<sup>15)</sup>とともに, LH は減少するが FSH には変化は認められないとする報告もある<sup>16,17,18)</sup>。すなわち,長期的なトレーニングにより視床下部一下垂体系の何らかの機能障害が推定される。しかし,これらの調査対象者の月経異常の内容,程度には違いがあるので,長期的な激しいスポーツ活動を行っている女性の視床下部一下垂体系機能を一概に規定することには不可能である。そこで,視床下部一下垂体系機能状態を正確に把握するには LH-RH 負荷試験が重要である。

McArthur et al. は続発性無月経の陸上競技選手に対して LH-RH 負荷試験を行い,正常あるいは過剰分泌反応を示したと報告している<sup>16)</sup>。今回の我々の検討では,正常排卵性月経周期の者では正常分泌反応を示していたが,月経異常者,とくに無排卵性周期症あるいは続発性無月経の者では過剰分泌および遅延分泌反応を示した。すなわち,長期的な激しいス

ポーツ活動にともなう月経異常の病態は,視床下部一下垂体系,とくに視床下部性機能障害によるものと考えられる。

しかし, Boyden et al. は長期的なトレーニングによる影響を継続的に検討し,トレーニングによる荷重の増大にともない LH-RH 負荷に対する反応性は悪くなり,頂値も低くなると報告している<sup>17)</sup>。

なお, Barron et al. は視床下部機能障害の状態はオーバー・トレーニング状態の診断の指標になるとしている<sup>19)</sup>。

スポーツ活動のたび毎に繰り返される一過性ではあるものの著明な prolactin の上昇が,この視床下部性機能障害発現に如何に関わるのか,あるいは直接的に卵巣機能に影響を及ぼしているのか,その詳細な機序は未だ不明であり,今後の検討が必要である。また,同じトレーニングを行っている者でも,何らの影響を受けない者と,月経異常を呈する者がいることは,本質的には本来もっている各個人の体質因子(体重,体脂肪量)なども大きく関与するものと考えられる。

なお,激しいトレーニングの継続により容易に月経異常は惹起されるが,トレーニングを終了することにより正常な月経周期が回復するとされているが<sup>20)</sup>,若い女性が大部分であることから,将来の妊孕性に及ぼす影響なども考慮して,積極的な治療の必要性も強調されている<sup>21)</sup>。

## 文 献

- 1) 目崎 登, 佐々木純一, 庄司 誠, 岩崎寛和, 江田昌佑: スポーツトレーニングと初経発来. 日産婦誌, 36: 49, 1984.
- 2) 目崎 登, 佐々木純一, 庄司 誠, 岩崎寛和: 初経発来に及ぼすスポーツの影響. 思春期学, 2: 46, 1984.
- 3) 目崎 登, 佐々木純一, 庄司 誠, 岩崎寛和, 江田昌佑: 大学運動選手の月経現象. 日産婦誌, 36: 247, 1984.
- 4) 佐々木純一, 目崎 登, 庄司 誠, 岩崎寛和, 大木昭一郎, 江田昌佑: 筑波学園マラソン大会参加成熟期女性の月経現象. 臨床スポーツ医学, 3 (別冊): 175, 1986.
- 5) 目崎 登, 庄司 誠, 佐々木純一: 女性のスポーツ活動と月経現象. 臨床スポーツ医学, 2: 41, 1985.
- 6) Schwartz, B., Cumming, D. C., Riordan, E., Selye, M., Yen, S. S. C. and Rebar, R. W.: Exercise-associated amenorrhea: A distinct entity? Am. J. Obstet. Gynecol., 141:662, 1981.
- 7) Carlberg, K. A., Buckman, M. T., Peake, G. T. and Riedesel, M. L.: Body composition of

- oligo/amenorrheic athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 15: 215, 1983.
- 8) 目崎 登, 佐々木純一, 庄司 誠, 岩崎寛和, 浅野勝己, 江田昌佑: 女子運動選手の運動負荷時における内分泌学的変動. *日産婦誌*, 38: 45, 1986.
- 9) 目崎 登, 佐々木純一, 庄司 誠, 岩崎寛和, 浅野勝己, 江田昌佑: 女子運動選手の長時間運動時の内分泌学的変動. *日産婦誌*, 39: 63, 1987.
- 10) 佐々木純一, 目崎 登, 庄司 誠, 岩崎寛和: 女子一流選手のスポーツ活動時の内分泌学的変動. *日不妊会誌*, 32: 5, 1987.
- 11) 目崎 登, 佐々木純一, 庄司 誠, 岩崎寛和: 女子運動時のホルモンの変動. *産婦人科の実際*, 35: 1153, 1986.
- 12) Carlberg, K. A., Buckman, M. T. Peake, G. T. and Riedesel, M. L.: A survey of menstrual function in athletes. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 51: 211, 1983.
- 13) Ben-David, M. and Schenker, J. G.: Transient hyperprolactinemia: A correctable cause of idiopathic female infertility. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 57: 442, 1983.
- 14) 森 宏之, 合阪幸三, 松岡 良, 木川源則: 正プロラクチン血性排卵障害におけるプロラクチン分泌予備能とプロラクチンの日内変動との相関. *日産婦誌*, 37: 287, 1985.
- 15) Warren, M. P.: The effects of exercise on pubertal progression and reproductive function in girls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 1150, 1980.
- 16) McArthur, J. W., Bullen, B. A., Beitins, I. Z., Pagano, M., Badger, T. M. and Klibanski, A.: Hypothalamic amenorrhea in runners of normal body composition. *Endocr. Res. Commun.*, 7: 13, 1980.
- 17) Boyden, T. W., Pamenter, R. W., Stanforth, P. R., Rotkins, T. C. and Wilmore, J. H.: Impaired gonadotropin responses to gonadotropin-releasing hormone stimulation in endurance-trained women. *Fertil. Steril.*, 41: 359, 1984.
- 18) Russel, J. B., Michell, D., Musey, P. I. and Collins, D. C.: The relationship of exercise to anovulatory cycles in female athletes: Hormonal and physical characteristics. *Obstet. Gynecol.*, 63: 452, 1984.
- 19) Barron, J. L., Noakes, T. D., Levy, W., Smith, C. and Millar, R. P.: Hypothalamic dysfunction in overtrained athletes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 60: 803, 1985.
- 20) Bullen, B. A., Skrinar, G. S., Beitins, I. Z., von Mering, G., Turnbull, B. A. and McArthur, J. W.: Induction of menstrual disorders by strenu-

- ous exercise in untrained women. *N. Engl. J. Med.*, 312: 1349, 1985.
- 21) Shangold, M. M.: Menstrual irregularity in athletes: Basic principles, evaluation, and treatment. *Can. J. Appl. Spt. Sci.*, 7: 68, 1982.

### Hypothalamic-pituitary function in female athlete

**Noboru Mesaki, Masaki Motobu,  
Junichi Sasaki, Makoto Shoji  
and Hirokazu Iwasaki**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Institute of Clinical Medicine,  
University of Tsukuba

The purpose of this study is to estimate the effects of endurance exercise on hypothalamic-pituitary function in female athlete.

Forty female athletes were divided into three groups, as normal ovulatory cycle group (n=14), short luteal phase group (n=13) and anovulatory cycle or secondary amenorrhea group (n=13), according to basal body temperature (BBT) pattern.

Incremental exercise using bicycle ergometer, LH-RH test and TRH test were performed during 5th to 8th day of menstrual cycle. Serum levels of FSH, LH and prolactin were analyzed by radioimmunoassay.

1. During incremental exercise, prolactin significantly increased, however, FSH and LH showed no significant changes.

2. Basal levels of FSH and LH indicated slightly decrease following the vigorous exercise.

3. At LH-RH test, FSH showed no remarkable changes in three groups. However, LH increased significantly in menstrual disorder groups.

4. At TRH test, prolactin increased significantly in menstrual disorder groups.

5. There was no significant correlation between prolactin secretion patterns at TRH test and incremental exercise.

These data suggested that the increase of prolactin during exercise may be one of the important factor for menstrual disorder following strenuous exercise. Furthermore, the pathophysiology of menstrual disorder in female athlete may be caused by the hypothalamic dysfunction.

(受付:昭和62年9月24日)

# 種々のHMG製剤中に含有されるFSH およびLHの免疫学的活性と生物学的活性

## Immunological and Biological Activities of FSH and LH in the Various HMG Preparations

愛媛大学医学部産科学婦人科学教室

浜田 雄行 杉 並 洋 松浦 俊平  
Katsuyuki HAMADA Hiroshi SUGINAMI Shumpei MATSUURA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,  
Ehime University.

FSH含量が75IU/Aとされているパーゴナル、ヒュメゴン、ゴナドリール、HMG「日研」およびLH含量を少なくした新HMG「日研」の5種類のHMG製剤を用い、各製剤中のFSH含量およびLH含量をRIA, in vivo bioassayにより、さらにLH含量はin vitro bioassayによっても測定し比較検討した。immunoreactivityにおいてFSH含量はゴナドリール>HMG「日研」>ヒュメゴン=新HMG「日研」>パーゴナル、LH含量はヒュメゴン>ゴナドリール=パーゴナル>HMG「日研」>新HMG「日研」、FSH/LH ratioは新HMG「日研」>HMG「日研」=ゴナドリール>パーゴナル>ヒュメゴンの順であった。in vivo bioactivityにおいては、FSH含量に製剤間の差はなく、LH含量およびFSH/LH ratioは新HMG「日研」と他の4製剤との間に著明な差が認められた。in vitro bioactivityにおけるLH含量はヒュメゴン>パーゴナル>HMG「日研」>ゴナドリール>新HMG「日研」の順であった。

HMG製剤はin vivo bioactivityを基に使用されるべきであり、新HMG「日研」には他製剤と異なる臨床作用が期待される。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 297-303, 1988)

### 緒 言

無排卵を原因とする不妊症に対してHMG製剤が最も強力な排卵誘発剤として、日常臨床に頻繁に使用されている。しかしながら、その使用に当たってはovarian hyperstimulation syndrome, 多胎妊娠, Meigs syndrome等の副作用が問題となり細心の注意が必要とされる。このため、投与方法として1回大量投与、連日投与、pulse投与、持続投与等の試み<sup>1)2)</sup>、また検査方法として尿中エストロゲンや血中estradiolのモニタリング<sup>3)4)5)</sup>、エコーによる卵胞径の測定<sup>6)</sup>等によりこれらの副作用はかなり軽減され排卵誘発率も向上してきたが、未だいくつかの問題点が残されている。まず、第1にHMG製剤中に含有されるFSHおよびLHの質的な問題についてであ

る。FSHおよびLHは等電点電気泳動法(IEF)により電氣的多様性を有する複数の分子種に分画される<sup>7)8)9)</sup>。これらの分子種はreceptor binding activity, in vitro bioactivity, 血中半減期が各々異なるものと思われ、排卵誘発に投与された場合異なった臨床作用の発現する可能性がある。我々は3種類のHMG製剤(パーゴナル、ヒュメゴン、HMG「日研」)において、FSHおよびLH分子種がそれぞれ相対的に異なって含有されていることを報告した<sup>10)</sup>。また、同様な成績が3種類のHMG製剤(パーゴナル、ヒュメゴン、メトロディン)について報告されている<sup>11)</sup>。次に、HMG製剤の臨床効果発現に重要とされているFSH/LH ratioがあげられる。過量のLH投与は、卵胞発育等のFSH作用発現において有効に作用しない<sup>12)</sup>。HMG製剤には、FSH作用を主

として臨床使用されているためFSH含量のみ記載されており、何れの製剤にもLH含量の記載はない。このため、各製剤間にLHの質的な差のあるのと同様に、各製剤間にLHの量的な差のあることも想定される。Harlinら<sup>11)</sup>は、RIAおよびin vitro bioassayを用いて各製剤間の量的な検討を行っているが、in vivo bioassayについての検討は行っていない。したがって、今回の研究により現在日本で発売されているパーゴナル、ヒュメゴン、ゴナドリール、HMG「日研」さらにLH含量を少なくして新たに製造した新HMG「日研」の5種類のHMG製剤中のFSHおよびLH含量をRIA, in vitro bioassayに加えてさらにin vivo bioassayによっても測定し比較検討したので報告する。

### 1. 材料および方法

現在我が国で発売されFSH含量が751 IU/Aとされているパーゴナル(帝国臓器, Lot No. T001), ヒュメゴン(三共, Lot No. 850314-004), ゴナドリール(持田, Lot No. 5A052), HMG「日研」(日研科学, Lot No. 0125x)さらにHMG「日研」から中性域~弱酸性域のLHを除外しLH含量を少なくして新たに製造した新HMG「日研」(日研科学, Lot No. 01768)の5種類を実験に用いた。HMG製剤は各バイアル中の原末を蒸留水1mlに溶解し十分に攪拌した後、実験に供した。各製剤溶解液中に含有されるFSHおよびLH含量をRIA kit, in vivo bioassayにより測定した(n=3)。さらに、LH含量についてはin vitro bioassayによっても測定した(n=3)。

FSHおよびLHのradioimmunoassay: 5種類のHMG製剤中に含有されるFSH, LHのimmunoreactivityをCIS kitを用いて測定し値はInd IRP HMGに換算した。このkitのstandardには血清が含まれているため、dilution bufferとして標準曲線と平行性の良好な1%-BSA-PBSを用いた<sup>10)</sup>。200 $\mu$ lの検体溶解液および標準FSH, LH液に100 $\mu$ lの第1抗体液を加えて良く攪拌し室温にて一晩放置し、さらに第2抗体液1mlを加え室温に15分間放置した後遠沈(3000rpm, 15分間)した。上清をdecantingにより除去し、沈渣の放射能(bound activity)をauto-well gamma counterで測定した。精度( $\lambda$ )はFSHで0.04, LHで0.03であった。

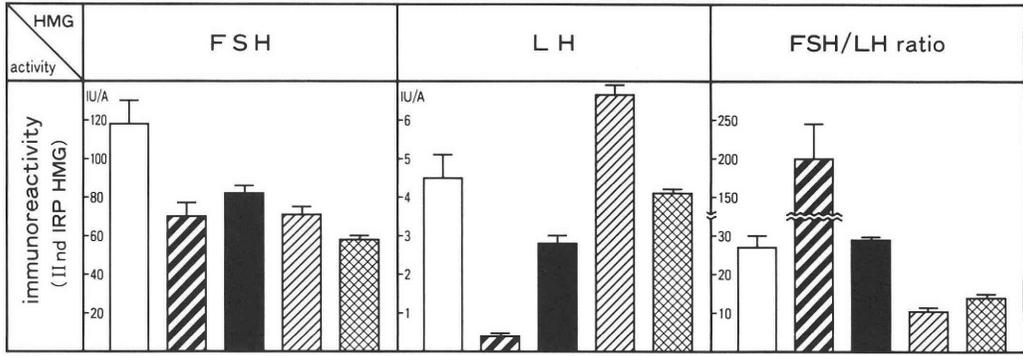
FSHのin vivo bioassay: FSHのin vivo bioassayはSteelman-Pohley法<sup>13)</sup>に若干の改良を加えて行った。標準品はInd IRP HMGを基に作成したworking standardを使用した。検体および標準品は

HCG溶液を加えて溶解した。この溶液を1回0.2mlづつ第1日の午後1回、第2日の午前、正午および午後の3回、第3日の午前および午後の2回に渡って雌シロネズミ(体重約40g)に注射した。第5日に卵巣を摘出し、付着する脂肪その他の不用組織を分離、濾紙で軽く吸い取り、直ちに卵巣重量を計った。試験動物は1群10匹以上で各群同数とした。精度( $\lambda$ )は0.19であった。

LHのin vivo bioassay: LHのin vivo bioassayはParlow, A. F.<sup>14)</sup>による卵巣アスコルビン酸減少法(OAAD法)に若干の改良を加えて行った。標準品はInd IRP HMGを基に作成したworking standardを使用した。生後25~26日の幼若雌ラットにPMS 50~75 IUを皮下注射し、56~65時間後にHCG 25~75 IUを皮下注射した。注射後5~9日目のラットの一侧卵巣を背部より摘出した。卵巣摘出直後に検体を尾静脈にゆっくり注入し、静注後一定の時間を経てから残りの卵巣を摘出した。検体静注前後に摘出した卵巣は1個づつ周囲の脂肪組織などを除き、torsion balanceで計量後2.5%メタリン酸液8mlを入れた冷却ガラス製ホモジェナイザー中でホモジェナイズした。卵巣重量に応じてさらにメタリン酸液を加え全量を8~24mlとし、約1時間氷室に保存した。濾液が完全に透明になるまで数回濾過した後左右卵巣中アスコルビン酸を測定した。精度( $\lambda$ )は0.27であった。

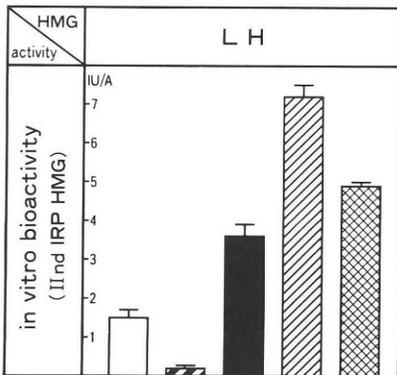
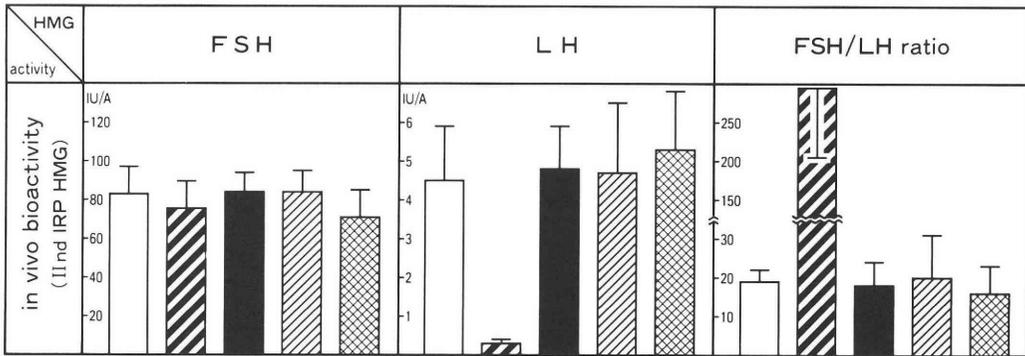
LHのin vitro bioassay: LHのin vitro bioactivityはマウス testis Leydig 細胞におけるLH依存性テストステロン合成能を指標とするin vitro bioassay法により測定した<sup>15)16)</sup>。マウスはLH依存性テストステロン合成能に優れた7~9週齢のC-57黒系雄マウスを用いた。標準品としてヒト下垂体LH Ist IRP for immunoassay (Code No. 68/40, National Institute of Biological Standards and Control, London)を使用しInd IRP HMGと比較してその値を換算した。in vitro bioassayの感度は6.25~12.5 $\mu$ IU/tube, 精度( $\lambda$ )は0.02~0.05であり、assay間のquality controlとして用いたpost menopausal plasma (PMP) 値は145.0 $\pm$ 26.0mIU/ml (Mean $\pm$ S.D., n=50)であった。

統計学的処理: 全てのassayのdata処理に際し、multiple 2+2 parallel line assay design<sup>17)</sup>を導入し、全ての検体は2 dilution levelsで測定し、standard curveとの間に平行性の認められないものは検討より除外した。得られた成績は、student's t-test, 回帰分析, 一元配置分散分析を用いて統計学的処理を行った。危険率5%以下のものを有意と判定した。



- パーゴナル (Lot No. T001)
- ヒュメゴン (Lot No. 850314-004)
- HMG「日研」(Lot No. 0125X)
- 新HMG「日研」(Lot No. 01768)
- ゴナドリール (Lot No. 5A052)

図1 各製剤中に含有される FSH, LH の immunoreactivity および FSH/LH ratio



- パーゴナル (Lot No. T001)
- ヒュメゴン (Lot No. 850314-004)
- HMG「日研」(Lot No. 0125X)
- 新HMG「日研」(Lot No. 01768)
- ゴナドリール (Lot No. 5A052)

図2 各製剤中に含有される FSH, LH の in vivo bioactivity および FSH/LH ratio と LH の in vitro bioactivity

II. 結 果

1)各製剤中に含有されるF S H, L HのimmunoreactivityおよびFSH/LH ratio (図1).

MRC immunoreactivityをIInd IRP HMG immunoreactivityに換算すると, F S Hでは2.2倍の高値となり, L Hでは0.4倍の低値となった. F S H含量はゴナドリール; 118.3±12.2IU/A>HMG「日研」; 82.1±4.4IU/A>ヒュメゴン; 71.0±3.9IU/A=新HMG「日研」; 69.9±6.9IU/A> パーゴナル; 58.1±2.0IU/Aの順であった. L H含量はヒュメゴン; 6.8±0.5IU/A> ゴナドリール; 4.5±0.6IU/A=パーゴナル; 4.1±0.1IU/A> HMG「日研」; 2.8±0.2IU/A>新HMG「日研」; 0.35±0.04IU/Aの順であった. FSH/LH ratioは新HMG「日研」; 201.5±45.0> HMG「日研」; 29.3±0.2=ゴナドリール; 26.6±3.1> パーゴナル; 14.3±0.7> ヒュメゴン; 10.5±1.1の順であった.

2) 各製剤中に含有されるFSH, L Hのin vivo bioactivityおよびFSH/LH ratioとL Hのin vitro bioactivity (図2).

in vivo bioactivityにおいてF S H含量はパーゴナル; 71.4±13.9IU/A, ヒュメゴン; 84.3±11.1IU/A, HMG「日研」; 84.1±10.2IU/A, 新HMG「日研」; 74.8±14.1IU/A, ゴナドリール; 82.8±14.5IU/Aであり有意差はなかった. L H含量は, パーゴナル; 5.3±1.6IU/A, ヒュメゴン; 4.7±1.8IU/A, HMG「日研」; 4.8±1.2IU/A, ゴナドリール; 4.5±1.4IU/Aであり有意差はなく, 新HMG「日研」は0.3±0.1IU/Aであり他製剤に比べて著明に少なかった. FSH/LH ratioは, パーゴナル; 16.1±7.0, ヒュメゴン; 20.3±11.1, HMG「日研」; 18.4±5.5, ゴナドリール; 18.7±3.4であり有意差はなく, 新HMG「日研」は288.2±80.5であり他製剤に比べ著明に多かった.

各製剤中L Hのin vitro bioactivityは, ヒュメゴン; 7.2±0.3IU/A> パーゴナル; 4.9±0.1IU/A> HMG「日研」; 3.6±0.3IU/A> ゴナドリール; 1.5±0.2IU/A>新HMG「日研」; 0.22±0.04IU/Aの順であった.

3) 各製剤中に含有されるFSH, L Hのin vivo/immuno. ratioとL Hのin vivo/in vitro ratioおよびin vitro/immuno. ratio (in vivo; in vivo bioactivity, in vitro; in vitro bioactivity, immuno.; immunoreactivity) (図3).

F S Hのin vivo/immuno. ratioはパーゴナル; 1.23±0.04, ヒュメゴン; 1.19±0.06, HMG「日

研」; 1.02±0.05, 新HMG「日研」; 1.07±0.10, ゴナドリール0.70±0.07であり, ゴナドリールが最も少なかった.

L Hのin vivo/immuno. ratioはパーゴナル; 1.30±0.02, ヒュメゴン; 0.69±0.05, HMG「日研」; 1.72±0.10, 新HMG「日研」; 0.86±0.12, ゴナドリール; 1.01±0.12であり, パーゴナルが最も多かった. L Hのin vitro/immuno. ratioはパーゴナル; 1.19±0.00=ヒュメゴン; 1.06±0.13=HMG「日研」; 1.29±0.17>新HMG「日研」; 0.63±0.19=ゴナドリール; 0.34±0.04であった. L Hのin vivo/in vitro ratioは新HMG「日研」; 1.40±0.30とHMG「日研」; 1.33±0.11およびパーゴナル; 1.08±0.01との間に有意差はなく, ゴナドリール; 2.95±0.28が最も多く, ヒュメゴン; 0.65±0.02が最も少なかった.

L Hにおいてin vivo/in vitro ratioとin vitro/immuno. ratioの間には負の相関が認められ(R=-0.78), in vivo/immuno. ratioとin vivo/in vitro ratioおよびin vitro/immuno. ratioの間には有意の相関は認められなかった(r=0.04, r=0.52).

III. 考 察

各HMG製剤のF S H含量はIInd IRP HMGを標準品としてin vivo bioactivityの値を75IU/Aと記載してあるが, 今回IInd IRP HMGを標準品として実際に測定すると71.4IU/A~84.3IU/Aとほぼ記載の通りのin vivo bioactivityが認められた. immunore-

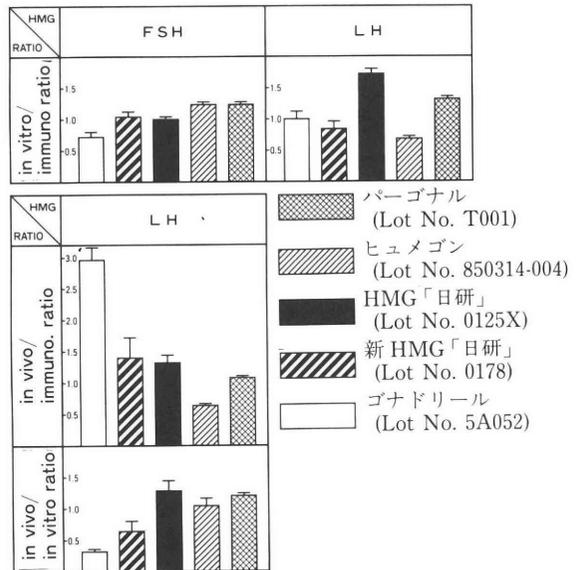


図3 各製剤中に含有されるFSH, L Hの各活性値の比

eactive FSH 含量についても同様な成績が得られた。Harlin ら<sup>11)</sup>は、hMG Ist IS: Ist International Standard [IS] of urinary FSH and LH/interstitial cell stimulating hormone (ICSH), human, for bioassay, code no. 70/45 を標準品として用いてパーゴナルそしてヒュメゴン中のFSH含量を測定し、in vitro bioactivity と免疫学的活性値はIInd IRP HMG を標準品として in vivo bioactivity に基づいて記載されている含量よりかなり低いことを報告している。IInd IRP HMG に換算した値に比べMRC 78/549 をFSH標準品とした値では、immunoreactive FSH 含量が約1/2と低値を示した。同様に、IInd IRP HMG と Ist IRP HMG の間にも絶対値に差のあることが想定され、Harlin ら<sup>11)</sup>の成績と今回の成績との違いは主に用いたFSH標準品の絶対値の差が関係しているものと推察される。

FSHの in vivo/immuno. ratio は製剤間で有意に差のあることが認められた。Storring ら<sup>18)</sup>は12種類のFSH標準品を検定し、標準品の間においてFSHの in vitro/immuno. ratio は一定であり、FSHの in vivo/immuno. ratio および in vivo/in vitro ratio は標準品間で差があり互いに有意の相関があることを報告している。Harlin ら<sup>11)</sup>は各HMG製剤(パーゴナル、ヒュメゴン、メトロディン)のFSHの in vitro/immuno. ratio は製剤間に有意差はないとしている。FSHは5% (w/w) のシアル酸を含んでいる<sup>19)20)21)22)</sup>が、それより少ない<sup>23)</sup>あるいは多い<sup>24)</sup>という報告もみられ、FSHのシアル酸含量については種々である。脱シアル化はFSHの in vivo bioactivity を減少させる<sup>25)26)27)</sup>が、receptor binding activity および immunoreactivity は減少させない<sup>26)28)29)</sup>。脱シアル化によるFSHのシアル酸含量の減少は、HCGの脱シアル化の如くFSHの血中からの消失時間を早め in vivo bioactivity を低下させるものと思われる<sup>30)</sup>。したがって、今回認められた in vivo/immuno. ratio の差は各製剤におけるシアル酸含量の多様性によるものと推察される。

LH含量については、in vivo bioactivity で0.3~5.3IU/A、in vitro bioactivity で0.22~7.2IU/A、immunoreactivity で0.35~6.8IU/Aであり、Harlin ら<sup>11)</sup>の in vitro bioactivity で29.9~42.5IU/A、immunoreactivity で19.9~84.7IU/Aの値に比べかなり低値を示している。これはFSHと同様、今回用いたLH標準品はIInd IRP HMGであり、Harlin ら<sup>11)</sup>が用いた標準品がIst IRP HMGであることから主にこれらの標準品の絶対値の差が関係しているものと思われる。

LHにおいて in vivo/in vitro ratio と in vitro/immuno. ratio の間には負の相関が認められたが、FSHと同様にシアル酸がこれら各活性値の比に影響を与えることが示唆されている<sup>10)11)</sup>。シアル酸を除去したLHはリセプター結合能もステロイド産生能も亢進するが immunoreactivity には影響をあたえないため in vitro/immuno. ratio も増加する<sup>31)</sup>。in vivo bioactivity についてはFSHおよびHCGと異なり、シアル酸を除去してもLHにおいては低下しない<sup>32)</sup>。α-subunit およびFSH、HCGのβ-subunitの糖鎖はシアル酸が含有されているが、LHのβ-subunitの糖鎖にはシアル酸は殆ど含有されていない<sup>33)34)35)36)</sup>。Parsons ら<sup>37)</sup>はLHの糖鎖末端に sulfate が linke していることを報告している。このためLHはシアル酸を除去しても血中半減期が著明に低下することはなく in vivo bioactivity も低下せず、一方 in vitro bioactivity は増加するため in vivo/in vitro ratio が低下する事が想定される。LHは等電点電気泳動法(IEF)により電気的多様性を有し各HMG製剤の間でそのIEF profile は異なり、これは主に各製剤中LHのシアル酸含量の多様性によることが示唆されている<sup>10)11)</sup>。したがって、今回の実験で認められた製剤毎における各活性値の比の違いと in vivo/in vitro ratio と in vitro/immuno. ratio の負の相関には少なくとも一部はシアル酸が関係しているものと思われる。

immunoreactive FSH/LH ratio は製剤間で異なっていることが認められた。Harlin ら<sup>11)</sup>も immunoreactive FSH/LH ratio がパーゴナルとヒュメゴンの間に差のあることを報告している。しかしながら、今回の in vivo bioactive FSH/LH ratio における検討ではパーゴナル、ヒュメゴン、HMG「日研」、ゴナドリールの間に差はなく、新HMG「日研」のみ他製剤より著明に多いことが明かとなった。HMG製剤の臨床的効果を検討する際にはあくまで in vivo bioactivity を基本にして行うべきであり、他製剤に比べ in vivo bioactive FSH/LH ratio が著明に多い新HMG「日研」には他製剤とは異なった臨床作用が期待できるものと考えられる。しかしながら、HMG製剤におけるFSH/LH ratioの臨床的意義については未だ不明な点も多く、今後の検討が必要とされる。

## 文 献

- 1) Seddon, R. J.: The ovarian response in women to large single injections of human menopausal gonadotrophin and human chorionic

- gonadotrophin. *J. Reprod. Fertil.*, 21: 844, 1970.
- 2) Kemmann, E., Brandeis, V. T., Shelden, R. M., Noshier, J. L.: The initial experience with the use of a portable infusion pump in the delivery of human menopausal gonadotropins. *Fertil. Steril.*, 40: 448, 1983.
  - 3) Raj, S. G., Thompson, I. E., Berger, M. J. and Taymor, M. L.: Clinical aspects of the polycystic ovary syndrome. *Obstet. Gynecol.*, 49: 552, 1977.
  - 4) Gemzell, C. A.: Induction of ovulation with human gonadotropins. *Rec. Prog. Horm. Res.*, 21: 179, 1965.
  - 5) Wang, C. F. and Gemzell, C. A.: The use of human gonadotropins for the induction of ovulation in women with polycystic ovarian disease. *Fertil. Steril.*, 33: 479, 1980.
  - 6) 杉並 洋, 伊藤孝徳, 浜田雄行, 矢野浩史, 松浦俊平: 多嚢胞性卵胞 (Polycystic ovarian disease; PCOD) 例における hMG-hCG 排卵誘発と超音波断層検査による卵胞成熟モニタリング. *日不妊誌*, 31: 244, 1986.
  - 7) Zaidi, A. A., Qazi, M. H. and Diczfalusy, E.: Molecular composition of human luteinizing hormone: biological and immunological profiles of highly purified preparations after electrofocusing. *J. Endocrinol.*, 94: 29, 1982.
  - 8) Loeber, J. G.: Human luteinizing hormone: structure and function of some preparations. *Acta Endocrinol. (Copenh) (Suppl 210)*, 85: 1, 1977.
  - 9) Zaidi, A. A., Fröysa, B. and Diczfalusy, E.: Biological and immunological properties of different molecular species of human follicle-stimulating hormone: electrofocusing profiles of eight highly purified preparations. *J. Endocrinol.*, 92: 195, 1982.
  - 10) 浜田雄行, 杉並 洋, 矢野浩史, 松浦俊平: 性成熟期婦人下垂体および種々のHMG製剤に含有されるLHおよびFSHの質的・量的な比較検討. *日不妊誌*, 32: 236, 1987.
  - 11) Harlin, J., Khan, S. A. and Diczfalusy, E.: Molecular composition of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in commercial gonadotropin preparations. *Fertil. Steril.*, 46: 1055, 1986.
  - 12) Louwerens, B.: The clinical significance of the FSH/LH ratio in gonadotropin preparations of human origin. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. (Suppl 1)*, 48: 31, 1969.
  - 13) Steelman, S. L. and Pohley, F. M.: Assay of the follicle stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. *Endocrinology*, 35: 604, 1953.
  - 14) Parlow, A. F.: Importance of differential, quantitative bioassays for pituitary gonadotrophins in the rat. *Endocrinology*, 74: 138, 1964.
  - 15) Van Damme, M. P., Robertson, D. M. and Diczfalusy, E.: An improved in vitro bioassay method for measuring luteinizing hormone (LH) activity using mouse leydig cell preparations. *Acta Endocrinol.*, 77: 655, 1974.
  - 16) Suginami, H., Yano, M. and Nakajima, A.: A trial for the improvement of the in vitro bioassay for human luteinizing hormone. *Endocrinol. Japon.*, 28: 95, 1981.
  - 17) Finney, D. J.: *Statistical method in biological assay* (3rd edition), Charles Griffin Co., London, England, 1978.
  - 18) Storrington, P. L., Zaidi, A. A., Mistry, Y. G., Froysa, B., Stenning, B. E. and Diczfalusy, E.: A comparison of preparations of highly purified human pituitary follicle-stimulating hormone: differences in the follicle-stimulating hormone potencies as determined by in-vivo bioassay, in-vitro bioassay and immunoassay. *J. Endocr.*, 91: 353, 1981.
  - 19) Reichert, L. E., Kathan, R. H. and Ryan, R. J.: Studies on the composition and properties of immunochemical grade human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH): comparison with luteinizing hormone (LH). *Endocrinology*, 82: 109, 1968.
  - 20) Roos, P.: Human follicle-stimulating hormone. *Acta Endocrinologica*, 59, Suppl. 131: 1, 1968.
  - 21) Barker, S. A., Gray, C. J., Kennedy, J. F. and Butt, W. R.: Evaluation of human follicle-stimulating hormone preparations. *J. Endocr.*, 45: 275, 1969.
  - 22) Saxena, B. B. and Rathnam, P.: Dissociation phenomenon and subunit nature of follicle-stimulating hormone from human pituitary glands. *J. Biol. Chem.*, 246: 3549, 1971.
  - 23) Papkoff, H., Mahlmann, L. J. and Li, C. H.: Some chemical and physical properties of human pituitary follicle-stimulating hormone. *Biochemistry*, 6: 3976, 1967.
  - 24) Shownkeen, R. C., Stockell Hartree, A., Stewart, F., Mashiter, K. and Stevens, V. C.: Purification and properties of the subunits of human pituitary follicle-stimulating hormone. *J. Endocr.*, 69: 263, 1976.
  - 25) Amir, S. M., Barker, S. A., Butt, W. R. and Crooke, A. C.: Purification and lability of human follicle-stimulating hormone. *Nature*, 209: 1092, 1966.
  - 26) Mori, K. F.: Antigenic structure of human gonadotropins: contribution of carbohydrate moiety to the antigenic structure of pituitary follicle-stimulating hormone. *Endocrinology*, 85: 330, 1969.

- 27) Suttajit, M., Reichert, L. E. Jr. and Winzler, R. J.: Effect of modification of N-acetylneuraminic acid on the biological activity of human and ovine follicle-stimulating hormone. *J. Biol. Chem.*, 246: 3405, 1971.
- 28) Reichert, L. E. Jr. and Bhalla, V. K.: Development of a radioligand tissue receptor assay for human follicle stimulating hormone. *Endocrinology*, 94: 483, 1974.
- 29) Butt, W. R. and Lynch, S. S.: Radioimmunoassay of gonadotrophins with special reference to follicle-stimulating hormone. *Clinica Chimica Acta*, 22: 79, 1968.
- 30) Vaitukaitis, J. L., Ross, G. T., Braunstein, G. D. and Rayford, P. L.: Gonadotropins and their subunits: basic and clinical studies. *Recent Progress in Hormone Research*, 32: 289, 1976.
- 31) Hattori, M., Ozawa, K. and Wakabayashi, K.: Sialic acid is responsible for the charge heterogeneity and the biological potency of rat lutropin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 127: 501, 1985.
- 32) Finne, E.: Selective chemical changes of gonadotropic hormones by means of neuraminidase from vibrio cholerae. *Endokrinologie*. 66: 279, 1975.
- 33) Kessler, M. J., Reddy, M. S., Shah, R. H. and Bahl, Om. P.: Structures of N-glycosidic carbohydrate units of human chorionic gonadotropin. *J. Biol. Chem.*, 254: 7901, 1979.
- 34) Kessler, M. J., Mise, T., Ghai, R. D. and Bahl, Om. P.: Structure and location of the O-glycosidic carbohydrate units of human chorionic gonadotropin. *J. Biol. Chem.*, 254: 7909, 1979.
- 35) Hara, K., Rathnam, P. and Saxena, B. B.: Structure of the carbohydrate moieties of  $\alpha$  subunits of human follitropin, lutropin, and thyrotropin. *J. Biol. Chem.*, 253: 1582, 1978.
- 36) Tolvo, A., Fujiki, Y., Bhavanandan, V. P., Rathnam, P. and Saxena, B. B.: Studies on the unique presence of an N-acetylgalactosamine residue in the carbohydrate moieties of human follicle-stimulating hormone. *Biochim. Biophys. Acta*, 719: 1, 1982.
- 37) Parsons, T. F. and Pierce, J. G.: Oligosaccharide moieties of glycoprotein hormones: Bovine lutropin resists enzymatic deglycosylation because of terminal O-sulfated N-acetylhexosamines. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 77: 7089, 1980.

## Immunological and biological activities of FSH and LH in the various HMG preparations

**Katsuyuki Hamada, Hiroshi Suginami  
and Shumpei Matsuura**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
School of Medicine, Ehime University.

Commercially available purified urinary gonadotropin preparations (Pergonal, Humegon, Gonadoril, HMG "NIKKENN" and NEW HMG "NIKKENN" were used in this study. The FSH potency is stated to be 75 IU/ampule in all five preparations. The FSH and LH activities in the preparations were determined by a radioimmunoassay and an in vivo bioassay. An in vitro bioassay was used for the determination of LH activity. In immunoreactivity, the order proved as follows: with respect to FSH, Gonadoril > HMG "NIKKENN" > Humegon = NEW HMG "NIKKENN" > Pergonal; with respect to LH, Humegon > Gonadoril = Pergonal > HMG "NIKKENN" > NEW HMG "NIKKENN"; and with respect to FSH/LH ratio, NEW HMG "NIKKENN" > HMG "NIKKENN" = Gonadoril > Pergonal > Humegon. In the in vivo bioactivity, FSH of all preparations was not significantly different but LH and FSH/LH ratio of NEW HMG "NIKKENN" was distinctly different from the other four preparations. In the in vitro bioactivity, the order with respect to LH was as follows: Humegon > Pergonal > HMG "NIKKENN" > Gonadoril > NEW HMG "NIKKENN".

Clinical effects of these HMG preparations should be assessed on the basis of in vivo bioassay estimates. It therefore could be expected that NEW HMG "NIKKENN" shows the differences in the clinical effects when compared with the other four preparations.

(受付:昭和 62 年 8 月 31 日)

# HMG-hCG 療法における 副作用発現因子に関する実験的研究

## Experimental Studies on the Onset Factors of Side Effects in HMG-hCG Therapy

長崎大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 山辺 徹教授)

淵 利 雄

Toshio FUCHI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki  
(Director: Prof. Tooru Yamabe)

HMG-hCG 療法における副作用 (OHSS および多発排卵) 発現因子について、雌家兎を用いて実験的に検討し、次のような結果が得られた。

- ① OHSS 発生には、hCG 投与による LH 作用が関与する。
- ② OHSS 発生例における腹水貯留には、卵巣の存在が必要である。
- ③ OHSS 発生は高 FSH/LH 製剤投与の際に高度である。
- ④ HMG の隔日投与よりも連日投与の際に OHSS 発生率が高い。
- ⑤ あらかじめ E<sub>2</sub> または PRL 投与した家兎に hCG を投与しても OHSS は発生しないが、これらのいずれかと HMG とを併用すると、HMG-hCG 投与の場合よりも高度の OHSS が発生する。
- ⑥ histamine は OHSS の誘起物質であり、PG は histamine を介して OHSS の発生を促す。

以上の成績ならびに文献の考察から、LH (hCG) 投与や estrogen 過剰が PG の産生を促す結果、histamine の放出を促進させ、この histamine の作用により OHSS が発生するものと結論された。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 304-315, 1988)

### 緒 言

HMG-hCG 療法は高度の間悩一下垂体性排卵障害の婦人に対しても、妊娠を可能にする場合があり、今日では、最も強力な排卵誘発法として広く行われている。しかし HMG 製剤は性腺に対する作用が強く、しかも至適投与量の幅が狭いため、多胎妊娠や卵巣過剰刺激症候群 ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) などの副作用が発現しやすい<sup>1-8)</sup>。これら副作用の発現因子については、これまで種々の検討がなされているが<sup>9,10)</sup>、必ずしもその結論は得られていない。

副作用の発生には、種々の誘起物質として estrogen, prolactin, prostaglandin および histamine などが関与しており、さらにこれらの誘起物質の遊

出と性腺の感受性、HMG 製剤の組成および投与方法などとの間には、密接な関係が存在するようである。そこで、雌家兎を用いて、HMG-hCG 投与による卵巣腫大や腹水の貯留などの副作用と誘起物質との関連性について検討をこころみた。

### 方 法

ニュージーランド産、13~14 週齢の白色雌家兎 (体重 2.5~3.0 kg) を用いて、次の検討を行った。

まず OHSS の発生および腹水産生機序を解明するために、次の 3 群に分けて検討した。すなわち、① HMG-hCG 群; Pergonal (HMG 剤) 75iu/day を 5 日間筋注し、その翌日 (24 時間後)、hCG 1,000iu (以下 hCG を投与した際の量はすべて 1,000iu である) を筋注した 5 羽、② HMG 群; 同様に Pergonal 投与

後、生理的食塩水1mlを筋注した5羽、および③卵巣摘出-HMG-hCG群; 両側卵巣摘出後にHMG-hCG群と同様の処理を行った5羽の3群である。そして生理的食塩水のみを6日間筋注した5羽を対照群とした。なおOHSS発生の有無は卵巣の重量およびその病理学的所見によって判定した。

次にHMG薬剤中に含まれるFSH/LH比とその投与方法による副作用発現の差をみるために、3種類のHMG剤を用いて検討した。すなわち、①HMGp-hCG群; Pergonal (FSH/LH比0.99) 10iu/dayを5日間筋注後、hCGを筋注した8羽、②HMGh-hCG群; Humegon (FSH/LH比1.19) 10iu/dayを5日間筋注後、hCGを筋注した5羽、および③HMGn-hCG群; HMG「日研」(FSH/LH比28.79) 10iu/dayを5日間筋注後、hCGを筋注した5羽の3群である。さらにこれらのHMG剤連日投与の場合と比較するために、④HMGp(隔日)-hCG群; Pergonal 10iu/dayを隔日5回筋注し、その翌日、hCGを筋注した7羽、および⑤HMGn(隔日)-hCG群; HMG「日研」10iu/dayを隔日5回筋注後、hCGを筋注した5羽の2群を設定した。なおこれらの各群において、開腹所見で卵巣表面に隆起した卵胞を卵胞嚢胞、そのうち出血のため黒褐色を呈したものを排卵に基づく出血卵胞と判定し、それらの数を求めた。

またHMG投与による副作用発現に関与すると思われるいくつかの因子について検討した。すなわち、①E<sub>2</sub>-hCG群; estradiol benzoate (E<sub>2</sub>剤) 0.2 mg/dayを5日間筋注後、その翌日、hCGを筋注した5羽、②E<sub>2</sub>+HMGn-hCG群; estradiol benzoate 0.2 mg/dayおよびHMG「日研」10iu/dayを同時に5日間筋注後、同様にhCGを筋注した5羽、③PRL-hCG群; Prolactin 50ng/dayを5日間筋注後、hCGを投与した5羽、④PRL+HMGn-hCG群; PRL50ng/dayとHMG「日研」10iu/dayを同時に5日間筋注後、hCGを筋注した5羽、⑤PG+HMGn-hCG群; Prostaglandin F<sub>2α</sub> 500γ/dayとHMG「日研」10iu/dayを同時に5日間筋注後、hCGを投与した5羽、⑥抗PG+HMGn-hCG群; indomethacin (抗PG剤) 100 mg/dayを1% methylcellulose 20mlに溶解し、その0.5%懸濁液を経鼻カテーテルで胃内に5日間投与するとともに、HMG「日研」10iu/dayを筋注した後、hCGを投与した5羽、⑦His+HMGn-hCG群; histamine dihydrochloride 2 mg/dayとHMG「日研」10iu/dayを同時に5日間筋注後、hCGを投与した5羽、⑧H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG群; cimetidine (histamine H<sub>2</sub> blocker 剤) 50 mg/dayとHMG「日研」10iu/dayを同時に5日間筋注後、hCGを投与した5羽、および⑨

H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG群; chlorpheniramine maleate (histamine H<sub>1</sub> blocker 剤) 2 mg/dayとHMG「日研」10iu/dayを同時に5日間筋注後、hCGを筋注した5羽に分け、これらの各群について、先のHMGn-hCG群の場合と比較した。なおPRL-hCG群、PRL+HMGn-hCG群、PG+HMGn-hCG群、抗PG+HMGn-hCG群、His+HMGn-hCG群およびH<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG群については、卵巣組織中のhistamine濃度をShore変法<sup>11)</sup>により測定した。

## 成 績

### 1 OHSS発症実験

HMG-hCG群の卵巣重量は $2.16 \pm 0.27$  g (mean value  $\pm$  SE)であり、HMG群( $1.43 \pm 0.14$  g) ( $P < 0.05$ ) および対照群( $0.17 \pm 0.03$  g) ( $P < 0.001$ ) に比べて、それぞれ明らかに増大していた。なお各群の平均卵巣容積はそれぞれ $1,940 \pm 210$  mm<sup>3</sup>、 $900 \pm 110$  mm<sup>3</sup> および $130 \pm 20$  mm<sup>3</sup>であった。このうちHMG-hCG群の卵巣表面には多数の卵胞嚢胞が認められた(図1)。

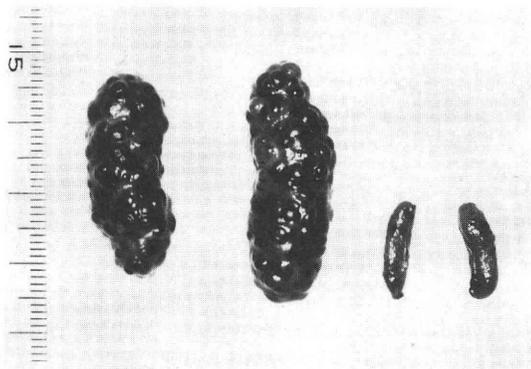


図1 Pergonal (75iu/day) 5日間、24時間後hCG1,000 iu投与における両側卵巣(左)および生理的食塩水(1ml/day) 6日間投与における両側卵巣(右)。

組織学的には、これらの嚢胞壁の顆粒膜細胞はほとんど消失していた(図2)。また卵胞膜細胞は著明に増生するとともに、多量の脂質顆粒を含有しており、卵胞膜細胞層では、血管の新生と拡張および充盈がみられた(図3)。

### 2 卵巣の存在と腹水産生

卵巣摘出-HMG-hCG群では腹水貯留は認められなかった。一方、卵巣を保有するHMG-hCG群ではすべての例に腹水が存在し、その平均量は2.4ml (0.4~4.8ml)であった。

### 3 HMG製剤のFSH/LH比と副作用

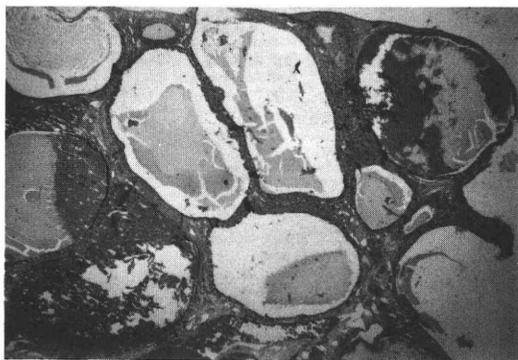


図2 Pergonal(75iu/day) 5日間, 24時間後 hCG1,000 iu 投与における卵巣の組織像. 多数の卵胞嚢胞を認める.

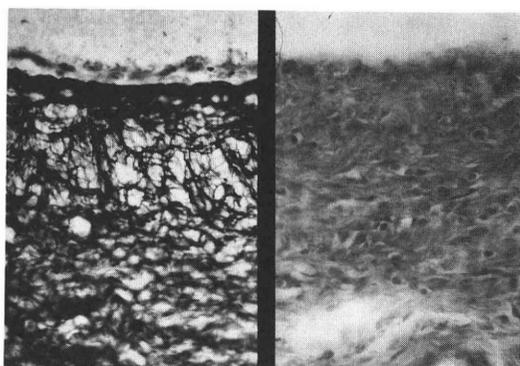


図3 Pergonal(75iu/day) 5日間, 24時間後 hCG1,000 iu 投与における卵胞壁の組織像. 鍍銀染色(左)では, 個々の卵胞膜細胞を取り囲む好銀線維を認め, スダンⅢ染色(右)により脂質を含有する卵胞膜細胞の増生と血管新生を認める.

#### a. 腹水量

腹水量は HMGn-hCG 群が最も多く ( $5.00 \pm 0.85\text{ml}$ ), 次いで HMGh-hCG 群 ( $3.40 \pm 0.33\text{ml}$ ) および HMGp-hCG 群 ( $1.56 \pm 0.60\text{ml}$ ) の順であり, HMGp-hCG 群は HMGh-hCG 群 ( $p < 0.05$ ) および HMGn-hCG 群との間 ( $p < 0.01$ ) にともに有意の差を認めたが, 後の2群の間には差はなかった. なお対照群のすべての例において腹水は存在しなかった.

#### b. 卵巣重量

次に卵巣重量は HMGn-hCG 群 ( $0.57 \pm 0.05\text{g}$ ) で最も重く, しかも卵巣は著しく増大しており, 次いで HMGp-hCG 群 ( $0.38 \pm 0.04\text{g}$ ), HMGh-hCG

群 ( $0.34 \pm 0.03\text{g}$ ) および対照群 ( $0.17 \pm 0.03\text{g}$ ) の順であった. HMGn-hCG 群は HMGp-hCG 群 ( $p < 0.01$ ) および HMGh-hCG 群との間 ( $p < 0.001$ ) にともに有意差を認めたが, 後の2群間には差がなかった.

また HMG 製剤投与の各群の卵巣重量は対照群より明らかに重かった ( $p < 0.001$ ).

#### c. 卵胞嚢胞数

次に卵胞嚢胞数は HMGn-hCG 群 ( $44.1 \pm 2.4$  個), HMGp-hCG 群 ( $42.1 \pm 4.4$  個) および HMGh-hCG 群 ( $30.3 \pm 1.5$  個) の順であった. すなわち, HMGh-hCG 群の場合が最小であり, HMGp-hCG 群 ( $p < 0.05$ ) および HMGn-hCG 群との間 ( $p < 0.001$ ) にそれぞれ有意の差が認められた. しかし後の2群の間には有意の差はなかった. また対照群の5羽にはいずれも肉眼的に卵胞嚢胞の存在は認められなかった. 出血卵胞数についても卵胞嚢胞数とほぼ同様の傾向が認められた. すなわち, HMGp-hCG 群の出血卵胞数 ( $5.5 \pm 1.0$  個) は HMGh-hCG 群 ( $3.0 \pm 0.4$  個) に比べて明らかに増加しており ( $p < 0.05$ ), また HMGn-hCG 群 ( $7.3 \pm 0.9$  個) も HMGh-hCG 群に比べて有意な増加が認められた ( $p < 0.01$ ). なお後の2群間には差を認めなかった. 同様に対照群のすべての例において出血卵胞は認められなかった (表1).

### 4 HMG 製剤の投与方法と副作用

#### a. 腹水量

腹水量についてみると, Pergonal の連日投与 (HMGp-hCG) 群 ( $1.56 \pm 0.60\text{ml}$ ) は隔日投与群 ( $1.00 \pm 0.41\text{ml}$ ) に比べて増加傾向がうかがわれたが, 有意の差は認められなかった. しかし HMG 「日研」の連日投与 (HMGn-hCG) 群 ( $5.00 \pm 0.85\text{ml}$ ) では隔日投与群 ( $2.26 \pm 0.83\text{ml}$ ) より有意に増加していた ( $p < 0.05$ ).

#### b. 卵巣重量

卵巣重量については, Pergonal の連日または隔日投与方法による差はなかったが, HMG 「日研」の連日投与群 ( $0.57 \pm 0.05\text{g}$ ) は隔日投与群 ( $0.43 \pm 0.04\text{g}$ ) に比べて増加していた ( $p < 0.05$ ).

#### c. 卵胞嚢胞数

卵胞嚢胞数は Pergonal の連日投与群 ( $42.1 \pm 4.4$  個) では隔日投与群 ( $26.8 \pm 3.3$  個) より多く ( $p < 0.01$ ), また HMG 「日研」の連日投与群 ( $44.1 \pm 2.4$  個) も隔日投与群 ( $20.9 \pm 4.1$  個) に比べて増加していた ( $p < 0.001$ ). 出血卵胞数については, Pergonal の両投与方法による差は認められなかったが, HMG 「日研」の連日投与群 ( $7.3 \pm 0.9$  個) は隔日投与群 ( $2.6 \pm 0.8$  個) に比べて増加していた ( $p < 0.001$ ) (表2).

表 1 HMG 製剤の FSH/LH 比と腹水および卵巣所見

実験群	所見 No.	腹水量 (ml)	左右の卵巣重量 (g)	左右卵巣における 卵胞嚢胞数 (出血卵胞数) (個)
HMGp-hCG 群 (8羽)	1	0	0.23, 0.26	23(1), 87(14)
	2	0	0.23, 0.22	27(2), 19(1)
	3	4.0	0.68, 0.60	25(3), 57(9)
	4	3.0	0.49, 0.46	50(14), 44(8)
	5	1.0	0.32, 0.46	42(4), 46(2)
	6	1.5	0.41, 0.45	40(4), 46(5)
	7	3.0	0.38, 0.35	55(5), 51(4)
	8	0	0.25, 0.30	28(6), 33(6)
	平均値	1.56±0.60	0.38±0.04	42.1±4.4(5.5±1.0)
HMGh-hCG 群 (5羽)	1	4.0	0.33, 0.33	27(3), 28(3)
	2	3.5	0.26, 0.22	28(5), 26(2)
	3	3.0	0.31, 0.26	34(4), 23(3)
	4	4.0	0.56, 0.46	35(4), 32(2)
	5	2.5	0.35, 0.35	33(2), 37(2)
	平均値	3.40±0.33	0.34±0.03	30.3±1.5(3.0±0.4)
HMGn-hCG 群 (5羽)	1	7.5	0.61, 0.57	43(6), 44(8)
	2	3.0	0.35, 0.44	31(4), 41(5)
	3	4.0	0.49, 0.40	51(13), 35(8)
	4	5.5	0.67, 0.68	46(5), 51(5)
	5	5.0	0.78, 0.73	53(10), 46(9)
	平均値	5.00±0.85	0.57±0.05	44.1±2.4(7.3±0.9)

HMGp : Pergonal, HMGh : Humegon, HMGn : HMG「日研」

平均値は mean±SE

## 5 副作用発現に関与するその他の因子

### a. Estrogen

E<sub>2</sub>-hCG 群における腹水量 (0.80±0.22ml) は HMGn-hCG 群 (5.00±0.85ml) および E<sub>2</sub>+HMGn-hCG 群 (6.42±0.88ml) に比べて有意に少なかった (P<0.01)。また E<sub>2</sub>+HMGn-hCG 群の場合は、HMGn-hCG 群に比べて有意に増加していた (P<0.05)。

次に卵巣重量は E<sub>2</sub>-hCG 群 (0.19±0.02 g) が最も軽く (P<0.001), HMGn-hCG 群 (0.57±0.05 g) および E<sub>2</sub>+HMGn-hCG 群 (1.19±0.17 g) との間にそれぞれ有意な増加が認められた。また E<sub>2</sub>+HMGn-hCG 群は、HMGn-hCG 群に比べて有意に増加していた (P<0.01)。

卵胞嚢胞数については、E<sub>2</sub>-hCG 群 (4.8±1.0 個) は HMGn-hCG 群 (44.1±2.4 個) および E<sub>2</sub>+HMGn-

hCG 群 (60.3±5.7 個) に比べて有意に少なかった (p<0.001)。また HMGn-hCG 群は E<sub>2</sub>+HMGn-hCG 群に比べて有意に少なかった (P<0.01)。出血卵胞数は卵胞嚢胞数の場合と同様に E<sub>2</sub>-hCG 群 (0.8±0.4 個) が最も少なく、次に HMGn-hCG 群 (7.3±0.9 個)、E<sub>2</sub>+HMGn-hCG 群 (25.9±6.7 個) の順であり、これらは E<sub>2</sub>-hCG 群に比べて、それぞれ有意の増加が認められた (表 3)。

### b. Prolactin

PRL-hCG 群の腹水量 (0.78±0.28ml) は HMGn-hCG 群 (5.00±0.85ml) および PRL+HMGn-hCG 群 (7.78±1.69ml) に比べて有意に少なかった (P<0.01)。一方、PRL+HMGn-hCG 群は HMGn-hCG 群に比べて増加傾向を示したものの有意の差は認められなかった。

次に PRL-hCG 群の卵巣重量 (0.17±0.01 g) は

表2 HMG 製剤の投与方法と腹水および卵巣所見

実験群	所見 No.	腹水量 (ml)	左右の卵巣重量 (g)	左右卵巣における 卵胞嚢胞数 (出血卵胞数) (個)
HMGp(隔日)－ hCG 群 (7羽)	1	0	0.43, 0.41	31(4), 25(5)
	2	2.0	0.47, 0.47	38(6), 34(7)
	3	0	0.17, 0.15	10(0), 8(1)
	4	1.0	0.55, 0.53	36(11), 30(8)
	5	2.0	0.63, 0.60	37(12), 44(15)
	6	2.0	0.32, 0.28	29(7), 31(7)
	7	0	0.20, 0.27	9(1), 13(4)
	平均值	1.00±0.41	0.39±0.04	26.8±3.3(6.3±1.2)
HMGn(隔日)－ hCG 群 (5羽)	1	4.5	0.51, 0.49	26(5), 34(3)
	2	1.8	0.44, 0.58	11(1), 12(1)
	3	3.0	0.42, 0.35	28(4), 18(2)
	4	0	0.22, 0.23	5(0), 5(0)
	5	2.0	0.50, 0.56	35(7), 35(3)
	平均值	2.26±0.83	0.43±0.04	20.9±4.1(2.6±0.8)

HMG 連日投与の HMGp-hCG 群および HMGn-hCG 群については表1に記載

表3 Estrogen 負荷と腹水および卵巣所見

実験群	所見 No.	腹水量 (ml)	左右の卵巣重量 (g)	左右卵巣における 卵胞嚢胞数 (出血卵胞数) (個)
E <sub>2</sub> -hCG 群 (5羽)	1	0.6	0.27, 0.29	13(3), 3(0)
	2	0.2	0.12, 0.13	3(0), 4(0)
	3	1.4	0.19, 0.16	6(2), 2(1)
	4	0.8	0.23, 0.17	3(0), 5(0)
	5	1.0	0.17, 0.20	4(0), 5(2)
	平均值	0.80±0.22	0.19±0.02	4.8±1.0(0.8±0.4)
E <sub>2</sub> + HMGn-hCG 群 (5羽)	1	8.0	0.99, 1.01	62(24), 63(26)
	2	4.2	0.79, 0.73	42(16), 31(13)
	3	5.5	1.09, 1.11	67(8), 65(9)
	4	8.4	2.06, 2.22	82(61), 87(63)
	5	6.0	1.02, 0.90	57(23), 47(16)
	平均值	6.42±0.88	1.19±0.17	60.3±5.7(25.9±6.7)

HMGn-hCG 群については表4に記載

HMGn-hCG 群 (0.57±0.05 g) (p<0.001) および PRL+HMGn-hCG 群 (0.76±0.13 g) (p<0.01) に比べて軽かった。また PRL+HMGn-hCG 群は腹水量の場合と同様に HMGn-hCG 群に比べて腫大傾

向を示したが、推計学的に差は認められなかった。

卵胞嚢胞数については、PRL-hCG 群 (9.5±1.8 個) は HMGn-hCG 群 (44.1±2.4 個) および PRL+HMGn-hCG 群 (49.8±4.4 個) に比べて有意に少な

表4 Prolactin 負荷と腹水および卵巣所見

実験群	所見 No.	腹水量 (ml)	左右の卵巣重量 (g)	左右卵巣における 卵胞嚢胞数 (出血卵胞数) (個)
PRL-hCG 群 (5羽)	1	0.8	0.19, 0.20	16(7), 20(8)
	2	0.3	0.17, 0.13	10(2), 7(0)
	3	1.0	0.22, 0.24	9(0), 11(0)
	4	1.6	0.13, 0.10	8(0), 3(0)
	5	0.2	0.18, 0.17	8(0), 3(0)
	平均値	0.78±0.28	0.17±0.01	9.5±1.8(1.7±1.0)
PRL+ HMGn-hCG 群 (5羽)	1	6.0	0.75, 0.70	63(3), 57(2)
	2	4.2	0.76, 0.56	65(9), 42(7)
	3	8.6	0.53, 0.61	42(1), 44(1)
	4	13.1	1.31, 1.61	64(23), 57(27)
	5	7.0	0.33, 0.39	28(7), 36(10)
	平均値	7.78±1.69	0.76±0.13	49.8±4.4(9.0±3.0)

HMGn-hCG 群については表1に記載

かった ( $P < 0.001$ ). また PRL+HMGn-hCG 群は HMGn-hCG 群に比べて増加傾向を示したが、有意差は認められなかった。出血卵胞数も同様に PRL-hCG 群 ( $1.7 \pm 1.0$  個) では HMGn-hCG 群 ( $7.3 \pm 0.9$  個) に比べて有意に少なかった ( $P < 0.01$ )。しかし PRL+HMGn-hCG 群 ( $9.0 \pm 3.0$  個) は PRL+hCG 群および HMGn-hCG 群に比べて増加傾向を示したが、有意な差は認められなかった (表4)。

卵巣組織中の histamine 濃度は PRL-hCG 群 ( $1, 350 \pm 130 \text{ng/ml}$ ) では PRL+HMGn-hCG 群 ( $3, 130 \pm 320 \text{ng/ml}$ ) に比べて低値であった ( $P < 0.01$ ) (表5)。

#### c. Prostaglandin

腹水量は抗 PG+HMGn-hCG 群 ( $0.34 \pm 0.17 \text{ml}$ ) では PG+HMGn-hCG 群 ( $3.46 \pm 0.85 \text{ml}$ ) ( $p < 0.05$ ) および HMGn-hCG 群 ( $5.00 \pm 0.85 \text{ml}$ ) ( $p < 0.01$ ) よりも有意に減少していた。しかし PG+HMGn-hCG 群と HMGn-hCG 群の間には差を認めなかった。

卵巣重量は HMGn-hCG 群 ( $0.57 \pm 0.05 \text{g}$ ) において最も大であり、次いで PG+HMGn-hCG 群 ( $0.51 \pm 0.10 \text{g}$ ) および抗 PG+HMGn-hCG 群 ( $0.38 \pm 0.04 \text{g}$ ) の順であった。すなわち、抗 PG 投与の際に軽かったが ( $P < 0.05$ )、PG+HMGn-hCG 群と抗 PG+HMGn-hCG 群および HMGn-hCG 群の間には有意の差は認められなかった。

卵胞嚢胞数については、HMGn-hCG 群 ( $44.1 \pm 2.$

4 個)、PG+HMGn-hCG 群 ( $39.4 \pm 5.0$  個) および抗 PG+HMGn-hCG 群 ( $29.2 \pm 2.4$  個) の順に減少していた。抗 PG+HMGn-hCG 群と HMGn-hCG 群の間には有意の差が認められたが ( $p < 0.001$ )、PG+HMGn-hCG 群と抗 PG+HMGn-hCG 群および HMGn-hCG 群の間には有意の差は認められなかった。次に出血卵胞数は卵胞嚢胞数の場合と同様に HMGn-hCG 群 ( $7.3 \pm 0.9$  個) で最も多く、次いで PG+HMGn-hCG 群 ( $7.0 \pm 2.6$  個) および抗 PG+HMGn-hCG 群 ( $3.7 \pm 0.8$  個) の順であり、抗 PG+HMGn-hCG 群の出血卵胞数は HMGn-hCG 群よりも有意に減少していた ( $P < 0.05$ ) (表6)。

卵巣組織中の histamine 濃度については、PG+HMGn-hCG 群 ( $1,600 \pm 280 \text{ng/ml}$ ) では抗 PG+HMGn-hCG 群 ( $750 \pm 80 \text{ng/ml}$ ) に比べて有意に高値であった ( $P < 0.05$ ) (表5)。

#### d. Histamine

腹水量は His+HMGn-hCG 群 ( $5.32 \pm 0.57 \text{ml}$ ) において最も多く、次いで HMGn-hCG 群 ( $5.00 \pm 0.85 \text{ml}$ )、 $H_1\text{bl} + \text{HMGn-hCG}$  群 ( $4.72 \pm 1.29 \text{ml}$ ) および  $H_2\text{bl} + \text{HMGn-hCG}$  群 ( $1.38 \pm 0.90 \text{ml}$ ) であり、 $H_2\text{bl} + \text{HMGn-hCG}$  群は His+HMGn-hCG 群および HMGn-hCG 群よりも有意に減少していた ( $p < 0.05$ )。しかし His+HMGn-hCG 群、 $H_1\text{bl} + \text{HMGn-hCG}$  群および HMGn-hCG 群の間には有意の差を認めなかった。

表5 卵巣組織中の Histamine 濃度

実験群	所見 No.	左右卵巣における 組織中の Histamine 濃度 (ng/ml)
PRL— hCG 群 (2羽)	1	1,140, 1,320
	2	1,660, 1,270
	平均值	1,350±130
PRL+ HMGn— hCG 群 (2羽)	1	2,800, 3,130
	2	3,920, 2,680
	平均值	3,130±320
PG+ HMGn— hCG 群 (5羽)	1	1,190, 1,290
	2	470, 578
	3	1,330, 1,920
	4	1,720, 2,050
	5	3,320, 2,100
	平均值	1,600±280
抗 PG+ HMGn— hCG 群 (5羽)	1	628, 677
	2	914, 1,180
	3	448, 434
	4	966, 745
	5	794, 689
	平均值	750±80
His.+ HMGn— hCG 群 (4羽)	1	3,210, 3,780
	2	3,460, 2,660
	3	2,690, 1,530
	4	7,400, 3,100
	平均值	3,480±650
H <sub>2</sub> bl.+ HMGn— hCG 群 (4羽)	1	3,080, 3,630
	2	3,070, 2,170
	3	1,850, 2,280
	4	1,110, 827
	平均值	2,250±370

次に卵巣重量についてみると、His+HMGn-hCG 群 (0.77±0.04g) では H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG 群 (0.46±0.05g) (p<0.001), H<sub>1</sub>bl+HMGn-hCG 群 (0.53±0.06g) (p<0.01) および HMGn-hCG 群 (0.57±0.05 g) (p<0.05) に比べて有意に腫大していた。一方、H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG 群で最も軽かったが、H<sub>1</sub>bl+HMGn-hCG 群および HMGn-hCG 群の間には有意の差は認めなかった。

卵胞数については、His+HMGn-hCG 群 (68.

7±2.9 個) は H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG 群 (40.0±4.4 個) (p<0.001), H<sub>1</sub>bl+HMGn-hCG 群 (51.4±4.8 個) (p<0.01) および HMGn-hCG 群 (44.1±2.4 個) (p<0.001) に比べて有意に多かった。一方、H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG 群、H<sub>1</sub>bl+HMGn-hCG 群および HMGn-hCG 群の間には、有意の差は認めなかった。出血卵胞数は His+HMGn-hCG 群 (14.1±1.3 個) では H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG 群 (4.0±1.2 個) (p<0.001) および HMGn-hCG 群 (7.3±0.9 個) (p<0.01) に比べて有意に増加していたが、H<sub>1</sub>bl+HMGn-hCG 群 (9.6±2.5 個) との間には差は認めなかった。また H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG 群の出血卵胞数が最も少なかったが、H<sub>1</sub>bl+HMGn-hCG 群および HMGn-hCG 群の間には有意の差は認めなかった (表7)。

卵巣組織中の histamine 濃度については、His+HMGn-hCG 群 (3,480±650ng/ml) は H<sub>2</sub>bl+HMGn-hCG 群 (2,250±370ng/ml) に比べて高値であったが、有意の差は認められなかった (表5)。また腹水量および卵巣重量は His+HMGn-hCG 群の方が histamine bl+HMGn-hCG 群よりもともに増加しており、卵巣中の histamine 濃度と OHSS との間には密接な関係が存在するものと思われた。

#### 考 察

HMG-hCG 療法は強力な排卵誘発法であるが、OHSS 発生や多胎妊娠などの副作用がかなり高頻度にみられ、問題となっている<sup>1-8)</sup>。OHSS では多数の腫大した囊胞が形成され卵巣は著しく腫大する。家兎を用いた今回の実験的 OHSS においても、HMG-hCG 投与における卵巣は肉眼的に正常の 10 数倍に腫大し、多数の囊胞性卵胞が認められた。組織学的には、多数の卵胞膜ルテイン囊胞 theca lutein cyst によって占められ、それらの囊胞壁の顆粒膜細胞はほとんど消失しており、これは閉鎖卵胞の腫大によるものとみなされる。また卵胞膜細胞層の細血管は新生、拡張しており、血流の増加がうかがわれた。これには histamine などの vasoactive substance が関与し、毛細血管透過性が亢進した結果、囊胞化がおこるものと考えられる<sup>9,12,13)</sup>。また OHSS では腹腔や胸腔などの第三体液区分に水分貯留を認めることがある。この点に関しては、卵巣摘出群では腹水は貯留せず、卵巣保有群のすべての例に腹水が認められた。なお Schenker ら<sup>14)</sup>は雄家兎に HMG 製剤を投与しても、腹水は認められなかったと述べている。また Polishuk ら<sup>6)</sup>は卵巣を腹膜外に移植した家兎に HMG 製剤を投与しても、腹水が認められ、OHSS における腹水貯留には卵巣の存在が必要であると述べ

表 6 Prostaglandin 負荷と腹水および卵巣所見

実験群	所見 No.	腹水量 (ml)	左右の卵巣重量 (g)	左右卵巣における 卵胞囊胞数 (出血卵胞数) (個)
PG+ HMGn-hCG 群 (5羽)	1	3.5	0.39, 0.40	34(6), 26(5)
	2	1.6	0.50, 0.69	34(5), 42(6)
	3	2.0	0.36, 0.36	33(2), 44(1)
	4	4.6	0.22, 0.18	32(2), 20(1)
	5	5.6	1.02, 0.97	70(23), 59(19)
	平均値	3.46±0.85	0.51±0.10	39.4+5.0(7.0±2.6)
抗 PG+ HMGn-hCG 群 (5羽)	1	0.8	0.23, 0.19	29(4), 16(1)
	2	0.6	0.34, 0.31	29(2), 28(4)
	3	0	0.58, 0.50	24(7), 21(5)
	4	0.2	0.52, 0.48	34(5), 38(7)
	5	0.1	0.32, 0.32	35(1), 38(1)
	平均値	0.34±0.17	0.38±0.04	29.2±2.4(3.7±0.8)

HMGn-hCG 群については表 1 に記載

表 7 Histamine 負荷と腹水および卵巣所見

実験群	所見 No.	腹水量 (ml)	左右の卵巣重量 (g)	左右卵巣における 卵胞囊胞数 (出血卵胞数) (個)
His.+ HMGn-hCG 群 (5羽)	1	4.8	0.91, 0.84	81(13), 62(10)
	2	4.0	0.84, 0.85	68(21), 66(20)
	3	5.8	0.76, 0.65	65(12), 59(11)
	4	7.0	0.66, 0.56	83(14), 58(9)
	5	5.0	0.84, 0.78	74(16), 71(15)
	平均値	5.32±0.57	0.77±0.04	68.7±2.9(14.1±1.3)
H <sub>2</sub> bl.+ HMGn-hCG 群 (5羽)	1	3.8	0.65, 0.58	46(8), 54(4)
	2	2.8	0.70, 0.64	55(9), 57(10)
	3	0.3	0.29, 0.32	22(1), 19(1)
	4	0	0.34, 0.37	38(1), 38(2)
	5	0	0.38, 0.35	33(1), 38(3)
	平均値	1.38±0.90	0.46±0.05	40.0±4.4(4.0±1.2)
H <sub>1</sub> bl.+ HMGn-hCG 群 (5羽)	1	2.0	0.45, 0.32	35(13), 29(7)
	2	5.8	0.62, 0.69	46(3), 59(5)
	3	1.9	0.30, 0.26	46(3), 44(3)
	4	7.2	0.80, 0.69	70(12), 75(6)
	5	6.7	0.63, 0.52	52(20), 58(24)
	平均値	4.72±1.29	0.53±0.06	51.4±4.8(9.6±2.5)

HMGn-hCG 群については表 1 に記載

ている。すなわち、卵胞壁周囲の毛細管の透過性亢進が血清成分の囊胞内移入をもたらし、囊胞が腫大し、さらに卵巣の存在を介して、第三体液区分への水分の貯留が起こるものと推察される。

次に HMG-hCG 投与例の卵巣重量は HMG 単独投与群に比べて明らかに増大していた。そして hCG (LH) が prostaglandin の産生を促して、OHSS 発生機序に関与すること<sup>15)</sup>や、臨床的に、大多数の OHSS は hCG 投与後に発生すること<sup>9)</sup>などから、hCG 投与と OHSS 発生との間には密接な関係があるといえる。しかし私どもの臨床経験では、hCG 投与量と OHSS 発生率との間には必ずしも dose dependent な関係は認められていない<sup>16,17)</sup>。アメリカおよびカナダにおける HMG-hCG 療法 3,002 周期の分析でも、hCG 投与量と OHSS 発生率との間には一定の量的関係は認められていない<sup>18)</sup>。これらの事実は、OHSS 発生が単に hCG 投与量によって左右されるだけではなく、HMG 投与によって惹起された多数の発育卵胞の感受性の差によるとみらるべきである。

ところで、正常排卵周期の卵胞期、排卵前期および排卵期における内因性 FSH/LH 比はそれぞれ異なっており、たとえば、bioreactive FSH/LH 比は卵胞期で 1.36、排卵前期 0.69 および排卵期 0.16 とされている<sup>19)</sup>。ところが、HMG 製剤を投与した場合の FSH/LH 比はその製剤により常に一定で、しかも正常排卵周期にみられる比とは著しく異なっている。このような HMG 製剤における FSH/LH 比の動態の相違が OHSS 発生に関与するであろうことは容易に想像される。そこで、FSH/LH 比の異なる 3 製剤を用いて検討した結果、高 FSH/LH 製剤 (HMG「日研」) 投与では、低 FSH/LH 製剤 (Pergonal, Humegon) による OHSS に比べて明らかに高度であった。また多発排卵に関係する卵胞囊胞数や出血卵胞数も、高 FSH/LH 製剤の際に多数出現していた。したがって、ヒトの排卵誘発に際しても、高 FSH/LH 製剤ほど高度の OHSS を起こす可能性がある。しかしこれまで FSH/LH 比と OHSS 発生の関係については一定の見解は得られていない。たとえば、Crooke<sup>20)</sup>は FSH/LH 比が高いと、OHSS 発生は少なくなるとし、Taymor<sup>21)</sup>は LH 含量の少ない方が OHSS を発生しやすいと述べている。また Neale-Bettendorf<sup>22)</sup>はその比が 0.1 以下か 5 以上では OHSS は増加するとし、五十嵐<sup>23)</sup>も FSH/LH 比が OHSS 発生に関与していると述べている。一方、Lowerence<sup>24)</sup>、Rosemberg<sup>25)</sup> および Thompson<sup>18)</sup>によると、FSH/LH 比は OHSS 発生に関係しないという。このように FSH/LH 比と OHSS 発生との関連について見解が異なる理由として、①

gonadotropin に対する感受性には個体差があること、② HMG 投与法の相違によっても性腺の反応が異なること、③ OHSS の判定基準が研究者によって異なっていること、④ assay に用いた standard preparation が異なることなどが挙げられる。

OHSS 発生原因のひとつとして、HMG 製剤の投与量と投与法の違いが考えられるが、一般に日常臨床においては、等量投与法が用いられており、この投与法にも連日と隔日投与法がある。今回の実験結果では、OHSS 発生や出血卵胞は連日投与法の方が隔日投与法に比べて高頻度にみられた。臨床的に HMG 製剤を連日および隔日に投与した際の血中 LH 動態には著しい差は認められないが、連日投与における血中 FSH 値は HMG 投与回数とともに漸増する<sup>16)</sup>。これに対して、隔日投与法ではほとんど変動は認められない。これらのことから考えて、連日投与法の副作用の方が強く現われるのは当然と思われる。また臨床的経験からも、HMG 隔日投与法では、OHSS や多胎妊娠などの発生率が連日投与の場合よりも、はるかに少なかったが、排卵率や妊娠率も有意に低下していた<sup>17)</sup>。しかし軽度の排卵障害に限ってみると、両投与法間の排卵率や妊娠率には差は認められないので、副作用防止の面から考えると、軽度排卵障害例には隔日投与法が好ましいと考える。

OHSS 発生予知には血中または尿中 estradiol ( $E_2$ ) 測定が有用とされている<sup>10,26,27,28)</sup>。HMG 投与時の  $E_2$  値は多数の発育卵胞から分泌される estrogen の総和であるから、 $E_2$  の極端な増加は多数の発育卵胞の存在を意味することになる。この急増する estrogen が OHSS 発生の誘因となるか否かについてはいまだ結論は得られていない。そこで、 $E_2$  と OHSS との関係を検討してみたところ、 $E_2$ -hCG 投与群では卵胞発育がほとんど認められず、OHSS 発生もみられなかった。これに対して、HMG と  $E_2$  併用投与では HMG 単独投与群に比べて腹水量および卵巣重量は増加しており、しかも多発排卵との関係を示唆する出血卵胞数も、併用例の方が有意に増加していた。Schenker ら<sup>14)</sup>は estrogen は OHSS 発生の直接原因とはならないが、大量の estrogen は PG 産生を促し、この PG が histamine ないし histamin like substance の放出を促進させると報告している。また Engel ら<sup>7)</sup>も estrogen 作用を重視しており、Davis<sup>29)</sup>は estrogen により毛細管透過性は亢進すると述べている。また石島ら<sup>30)</sup>はこの  $E_2$  の過排卵誘起作用を畜産学の分野に応用している。以上のことから、過剰の estrogen は OHSS 発生の重要な要因をなすものと考えられる。

従来より PRL には水および電解質代謝作用のあ

ることが知られているが、OHSS 発生例の中には高 PRL 血症を呈する例もあり、PRL が体腔への水分貯留に関与することが考慮されている<sup>31)</sup>。今回の家兎実験では、PRL 単独投与では、hCG を追加しても腹水貯留は少量であったが、HMG と PRL 併用後の hCG 投与により腹水は増量した。また Yuen ら<sup>32)</sup>によると、E<sub>2</sub> 上昇により PRL も上昇するとし、PRL が OHSS 発生に関与することを示唆している。しかし Lindenbaum ら<sup>33)</sup>は rat における OHSS 群と対照群との血中 PRL 値に有意の差を認めていない。さらに日常遭遇する高 PRL 血症例に HMG-hCG 療法を行っても、必ずしも OHSS が発生するわけではない。以上のことから、PRL は OHSS 発生に何からの影響を与えたとしても、必須の条件とは考えられない。

Schenker ら<sup>10)</sup>は OHSS にみられる毛細管透過性亢進は、卵巣内のある種の active substance によることと考へ、その主要物質は prostaglandin であろうと論じている。このことは、indomethacin (PG 合成阻害剤)との併用により OHSS を予防できること<sup>34)</sup>からも興味深い。そこで、PG との関係を検討したところ、Schenker らの結果と同様に、indomethacin 併用により腹水量、卵巣重量、卵胞嚢胞数および出血卵胞数は有意に減少していた。また Katz ら<sup>35)</sup>は OHSS 例に indomethacin を使用し、臨床的に治療効果を認めている。しかし今回の実験で、PG 剤 (PGF<sub>2</sub>α) 併用によって、OHSS および多発排卵を誘発することはできなかった。このことは PG の直接作用に関してはむしろ否定的であり、PG は histamine ないし histamine like substance を介して OHSS 発生機序に関与している可能性がある。また histamine と HMG 併用の際の腹水量および卵巣重量は HMG 単独投与に比べ増加しており、卵胞嚢胞数および出血卵胞数も有意に増加していた。すなわち、histamine 併用により高度の OHSS を生じていた。卵巣組織中の histamine 濃度は OHSS 発生例で有意に高値であったこと、さらに抗 histamine 剤として histamine H<sub>2</sub> blocker を HMG と併用すると、腹水量および卵巣重量が有意に減少していたことなどを考慮した場合、histamine は OHSS 発生に直接的な役割を演じる可能性がある。これに対して、histamine H<sub>1</sub> blocker を HMG と併用した場合には、有意の変化は認められなかった。しかし Pride ら<sup>36)</sup>は histamine H<sub>1</sub> blocker 投与によって OHSS 発生を予防できるとしている。一方、Juan ら<sup>37)</sup>は histamine H<sub>1</sub> blocker では OHSS を block できるが、histamine H<sub>2</sub> blocker ではできないと述べている。この差は histamine H<sub>1</sub> blocker 剤の投与量によることが考えられる。いずれにせよ、

今回の成績や文献的考察から、histamine は OHSS 発生にとって重要な因子と考えられ、体腔への水分貯留の鍵を握る物質と思われる。

以上の考察より、LH (hCG) 投与や過剰の estrogen が PG の産生を促す結果、histamine ないし histamine like substance の放出を促進させ、主としてその作用により OHSS が発生すると考えられる。

稿を終えるに臨み、ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜りました恩師山辺 徹教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究に直接ご指導、ご助言をいただきました石丸忠之助教授に深謝致します。

なお、本論文の要旨は、第 29、30 および 31 回日本不妊学会総会学術講演会において発表した。

## 文 献

- 1) 青野敏博：ゴナドトロピン療法による副作用の予防と治療、産婦進歩、30：195、1978。
- 2) 東篠伸平、赤堀泰一郎：ホルモン療法と多胎妊娠、産婦実地、29：15、1980。
- 3) 倉智敬一、他 38 名：HMG (Humegon)-HCG 療法による排卵誘発効果と妊娠の転機 (5 年間累計)-全国集計による 2,166 例 6,099 周期の成績-、産と婦、50：274、1983。
- 4) 平野睦男：ゴナドトロピン療法の合併症、産婦人科 MOOK No.13. (仲野良介編)、189、金原出版、東京、1980。
- 5) 中村幸雄、杉村和男、片山恵利子、服部政博、吉尾敬徳、簡 邦彦：HMG (PMS)-HCG 療法における卵巣過剰刺激症候群と多胎妊娠、産婦人科 MOOK No.31. (青野敏博編)、221、金原出版、東京、1985。
- 6) Polishuk, W. Z. and Schenker, J. G.: Ovarian overstimulation syndrome. *Fertil. Steril.*, 20: 443, 1969.
- 7) Engel, T., Jewelewicz, R., Dyrenfurth, I., Speroff, L. and Vande Wiele, R. L.: Ovarian hyperstimulation syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 112: 1052, 1972.
- 8) Schenker, J. G. and Polishuk, W. Z.: Ovarian hyperstimulation syndrome. *Obstet. Gynecol.*, 46: 23, 1975.
- 9) 淵 利雄、石丸忠之、黄 宏駿、増崎英明、鮫島哲郎、藤下 晃、山辺 徹：HMG-HCG 投与時の副作用発現因子に関する考察-家兎による実験的検討-、臨産、39：895、1985。
- 10) Schenker, J. G. and Weinstein, D.: Ovarian hyperstimulation syndrome.: A current survey. *Fertil. Steril.*, 30: 255, 1978.
- 11) Shore, P. A., Burkhalter, A. and Cohn, V. H.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissue. *J. pharm. Exp. Ther.*, 127: 182, 1959.
- 12) 一戸喜兵衛、木脇祐普：卵巣腫瘍、卵巣 (基礎と臨床) (林 基之、一戸喜兵衛、鈴木秋悦編)、397、

- 金原出版, 東京, 1980.
- 13) 岡村 均, 森川博史, 竹中 章, 矢島康雄, 神埼秀陽, 森本幸己, 奥田雄二, 西村敏雄: 卵胞壁の形態と機能, 産婦人科 MOOK No.13. (中野良介編), 23, 金原出版, 東京, 1980.
  - 14) Schenker, J. G.: Experimental and clinical ovarian hyperstimulation syndrome. Proceedings of III world congress of human reproduction, Edited by Semm and Mettler, Excerpta Medica: 137, 1981.
  - 15) 佐藤和雄: 排卵に於けるプロスタグランデインの意義, 日産婦誌, 31: 975, 1979.
  - 16) 石丸忠之, 中野龍夫, 今道節夫, 黄 宏駿, 梶村秀雄, 岡本純英, 今村定臣, 淵 利雄, 山下隆則, 山辺 徹: HMGの投与方法について—副作用防止の観点から—, 産と婦, 51: 193, 1984.
  - 17) 石丸忠之, 岡本純英, 梶村秀雄, 淵 利雄, 増崎英明, 黄 宏駿, 鮫島哲郎, 今村定臣, 中島久良, 山下隆則, 今道節夫, 中野龍夫, 森崎正幸: HMGの隔日投与方法, 産婦の世界, 37: 333, 1985.
  - 18) Thompson, C. R. and Hansen, L. M.: Pergonal (Menotropins): A summary of clinical experience in the induction of ovulation and pregnancy. Fertil. Steril., 21: 844, 1970.
  - 19) 仲野良介: 排卵とFSH: LH比—新しいゴナドトロピン療法の試み—, 産と婦, 42: 43, 1975.
  - 20) Crooke, A. C., Butt, W. R., Palmer, R.F., Morris, R., Edwards, R. L. and Anson, C. J.: Clinical trial of human gonadotropins. J. Obstet. Gynecol., 70: 604, 1963.
  - 21) Taymor, M. L., Sturgis, S. H., Goldstein, D. P. and Lieberman, B.: Induction of ovulation with human postmenopausal gonadotropin. III. Effect of varying dosage schedules on estrogen and pregnanediol excretion levels. Fertil. Steril., 18: 181, 1967.
  - 22) Neale, C.H. and Bettendorf, G.: Comparison of the results of gonadotropin therapy. In clinical application of human gonadotropins. Edited by G. Bettendorf, V. Insler. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.; 21, 1970.
  - 23) 鈴木 勉, 五十嵐正雄, 宮本 薫, 浅野目和広: 精製HMGによる卵巣腫大・多発排卵予防効果, 第36回日産婦学会抄録, 282, 1984.
  - 24) Louwerens, B.: The clinical significance of the FSH/LH ratio in gonadotropin preparations of human origin. Acta. Obstet. Gynecol. Scand., XLV III: 31, 1969.
  - 25) Rosenberg, E. and Nwe, T. T.: Induction of ovulation with human postmenopausal gonadotropin. Experience with 23 patients. Fertil. Steril., 19: 197, 1968.
  - 26) Tredway, D. R., Goebelsmann, U., Thorneycroft, I. H. and Mishell, D. R.: Monitoring induction of ovulation with human menopausal gonadotropin by a rapid estrogen radioimmunoassay. Am. J. Obstet. Gynecol., 120: 1035, 1974.
  - 27) 萩野瑠美, 青野敏博, 安田 基, 宮崎正敏, 南川淳之祐, 三宅 侃, 塩路武徳, 近藤国男, 倉智敬一, 松本圭史: Estrogenの迅速 radioimmunoassayによるHMG-HCG療法での monitoring, 日産婦誌, 32: 153, 1980.
  - 28) 石丸忠之, 岡本純英, 梶村秀雄, 増崎英明, 黄 宏駿, 淵 利雄, 山下隆則, 今村定臣, 今道節夫, 秦 知紀, 森崎正幸, 中野龍夫, 中島久良: HMG-HCG療法による排卵誘発時の卵胞の観察—とくに副作用防止の立場から—, 日産婦誌, 37: 721, 1985.
  - 29) Davis, J.S.: Hormonal control of plasma and erythrocyte volume of rat uterus. Am. J. Physiol., 199: 841, 1960.
  - 30) 石島芳郎, 伊藤雅夫, 平林 忠, 佐久間勇次: PMSによる家兎の過排卵誘起における Estrogen 併用効果, 家畜繁殖誌, 14: 43, 1968.
  - 31) Leung, P., Yuen, B. H. and Moon, Y. S.: Effect of prolactin in an experimental model of the ovarian hyperstimulation syndrome. Am. J. Obstet. Gynecol., 145: 847, 1983.
  - 32) Yuen, B.H., McComb, P., SY, L., Lewis, J. and Cannon, W.: Plasma prolactin, human chorionic gonadotropin, estradiol, testosterone and progesterone in the ovarian hyperstimulation syndrome. Am. J. Obstet. Gynecol., 133: 316, 1979.
  - 33) Lindenbaum, E. S., Sela, P. B., Itzkovitz, J., Beach, D. and Brandeis, J.: Ovarian hyperstimulation in rats. Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 11: 57, 1980.
  - 34) Schenker, J. G. and Polishuk, W. Z.: The role of prostaglandins in ovarian hyperstimulation syndrome. Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 6: 47, 1976.
  - 35) Katz, Z., Lancet, M., Borenstein, R. and Chemke, J.: Absence of teratogenicity of indomethacin in ovarian hyperstimulation syndrome. Int. J. Fertil., 29: 186, 1984.
  - 36) Pride, S. M., Yuen, B. H. and Moon, Y. S.: Clinical, endocrinologic, and intraovarian prostaglandin F responses to H-1 receptor blockade in the ovarian hyperstimulation syndrome.: Studies in the rabbit model. Am. J. Obstet. Gynecol., 148: 670, 1984.
  - 37) Juan, H. and Sametz, W.: Histamine-induced release of arachidonic acid and of prostaglandins in the peripheral vascular bed. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm., 314: 183, 1980.

Experimental studies on the onset factors of side effects in HMG-hCG therapy

**Toshio Fuchi**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki  
(Director: Prof. Tooru Yamabe)

Onset factors of side effects (OHSS and multiple ovulation) of HMG-hCG therapy were investigated using female rabbits. The following is a brief summary of the results.

- 1) LH action resulting from hCG infection was concerned in the incidence of OHSS.
- 2) Ascitic retention in OHSS did not develop in the absence of ovaries.
- 3) OHSS developed more severely as the dosage of FSH/LH preparation increased.
- 4) Incident rates of OHSS were higher in rabbits

with daily administration of HMG than in those who received HMG every other day.

5) OHSS did not develop after the injection of hCG in rabbits who had been given injections of E<sub>2</sub> or PRL beforehand. However, it developed more severely when HMG and either E<sub>2</sub> or PRL were administered at the same time than when HMG alone was administered.

6) Histamine was found to lead to OHSS, and PG raised histamine levels and thus accelerated the incidence of OHSS.

From the above results and other reports, we reached the conclusion that output of PG resulting from LH (hCG) administration and/or excessive estrogen stimulated the release of histamine, which affected the incidence of OHSS.

(受付：昭和 62 年 11 月 30 日特掲)

# Two Step Sandwich法に基づく LH・RIABEAD FSH・RIAEAD の検討と臨床応用

## Clinical Application of LH・FSH RIABEAD Based on a Two-step Sandwich Method

帝京大学医学部産婦人科学教室

竹下茂樹 大川とみ 小林美和子  
Shigeki TAKESHITA Tomi OHKAWA Miwako KOBAYASHI  
荒川聡子 吉村幸子 神戸川明  
Satoko ARAKAWA Sachiko YOSHIMURA Akira KAMBEGAWA  
沖永荘一 荒井清  
Souichi OKINAGA Kiyoshi ARAI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Teikyo University School of Medicine.

抗体結合ピーズ、<sup>125</sup>I 標識抗体を用いる 2 段階サンドイッチ法(LH・RIABEAD,FSH・RIABEAD) について測定系の検討と臨床応用を試みた。

本法による LH, FSH の測定感度はそれぞれ 0.5, 0.1mIU/ml で検量線は両対数プロットで直線となり、NIDDK 標準品との平行性も良好であった。特に LH 測定の特異性は高く、hCG, FSH との交叉反応は 0.007%, 2.8% を示した。検量線中濃度域で、測定内変動は LH 3.8%, FSH 2.3%, 測定間変動は LH 5.4%, FSH 6.8% であった。本キットと NIDDK キット、市販キット(第一)との相関係数は、それぞれ LH : 0.99, 0.99, FSH : 0.97, 0.98 と高い相関を示した。

LH・RIABEAD,FSH・RIABEAD を用いて健常人、各種婦人科疾患例の血中 LH・FSH を測定し、本法が臨床検体測定に有用であることを示した。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 316-322, 1988)

### 緒言

LH, FSH は婦人の卵巣機能を直接かつ協同的に支配する下垂体ホルモンとして知られ、その血中値は月経周期、加齢により著しく変動する。また血中 LH 値は視床下部 LHRH の分泌様式を反映し律動的な変化を示す。無月経や無排卵周期等の視床下部下垂体卵巣系の異常では、LH, FSH 基礎値ならびに LHRH 負荷試験時の反応性を知ることが診断上必須で、これらの検査結果をもとに障害部位を推定し治療方針が決定される。

従来、血中 LH, FSH の測定は NIDDK キットその他、各種の簡便な測定キットが臨床応用されてお

り、その大部分は二抗体法RIAに基づく測定系である。今回我々は、モノクロナール抗体を使用し、抗体結合ピーズと<sup>125</sup>I 標識抗体による 2 段階サンドイッチ法で血中ゴナドトロピンを測定する LH・RIABEAD,FSH・RIABEAD について検討し満足すべき成績を得たので報告する。

### 方法

#### (1) 測定方法

キットの内容は LH, FSH とも検量線作成用標準品(LH : 0, 1, 5, 25, 100, 250mIU/ml, FSH : 0, 0.5, 2, 10, 50, 100mIU/ml), 抗体ピーズ、<sup>125</sup>I 標識抗体、緩衝液で他に反応トレイ、ト

レイ密封用シール, カウンティングチューブがセットされている。

操作は室温で行なう。まず凍結乾燥標準品に指定量の精製水を加え溶解する。反応トレイの各ウェルに標準品, 被験血清を100 $\mu$ lずつ duplicate で分注し次いで緩衝液を100 $\mu$ lずつ加える。全てのウェルに抗体ビーズを一個ずつ入れトレイにシールを貼ってシェーカー上で60分間振盪(200rpm)する。その後ウェル中の液を吸引し精製水1mlを加えて洗浄する操作を3回行なう。洗浄後<sup>125</sup>I 標識抗体200 $\mu$ を各ウェルに加え再びシールをかけ90分間振盪する。抗体溶液吸引後精製水1mlを加えて3回洗浄しカウンティングチューブにビーズを移しビーズの放射能を測定する。検量線は各標準品で得た測定値から0mIU/mlの測定値を引いた net cpm と標準品濃度を両対数グラフにプロットして作成, これを用いて被験血清中のホルモン濃度を求める。尚, 今回の検討では, 両対数プロットの3次回帰曲線からLH, FSH濃度を求めた。

(2) 検討項目

基礎的検討として, 測定感度, 特異性, 再現性, 添加回収試験, 希釈試験を行ない。従来法との相関ではNIDDK提供のヒトLH・FSH測定キットならびにLH・FSH“第一”について比較した。

血中LH, FSHの測定は, 正常排卵周期: 1例, 分泌様式: 黄体期2例, 男性1例, LHRHテスト: 卵胞期3例, 黄体期4例, 男性3例, 卵巣機能不全等婦人科疾患8例, 基礎値: 卵胞期6例, 黄体期12例, 男性12例, 妊娠8例, 更年期3例, 閉経期10例, 去勢婦人2例, および各種婦人科疾患: 24例を対象とした。

採血は原則として午前10-12時の間に行なった。分泌様式用サンプルは静脈に翼状針を留置し15分毎, 8時間にわたり採血した。LHRHテストは負荷前と合成LHRH100 $\mu$ g(田辺製薬)静注後15, 30, 60, 120分で採血した。摂取した血液は800 $\times$ g10分遠心後血清又は血漿を分取し, 測定まで-20 $^{\circ}$ Cで保存した。

結 果

基礎的検討

(1) 標準曲線

図1は15回のアッセイで得た標準品各濃度の結合率(B/T)の平均値, 変動係数を示す。結合率と標準品濃度の両対数プロットは通常LH, FSHともによい直線性を示したが, LH1mIU/mlでは変動係数が11.6%と若干高値をとることもあり15回の平均

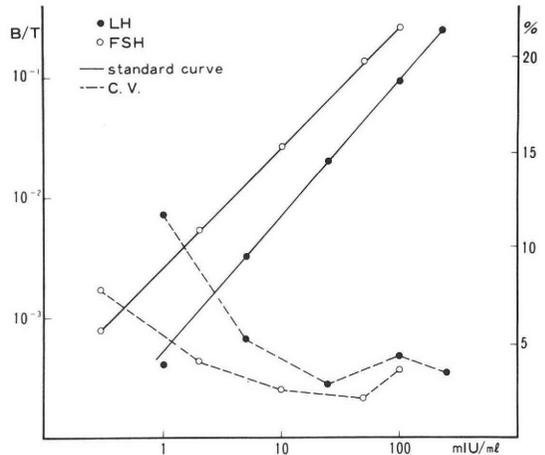


図1 LH・RIABEAD, FSH・RIABEADの検量線

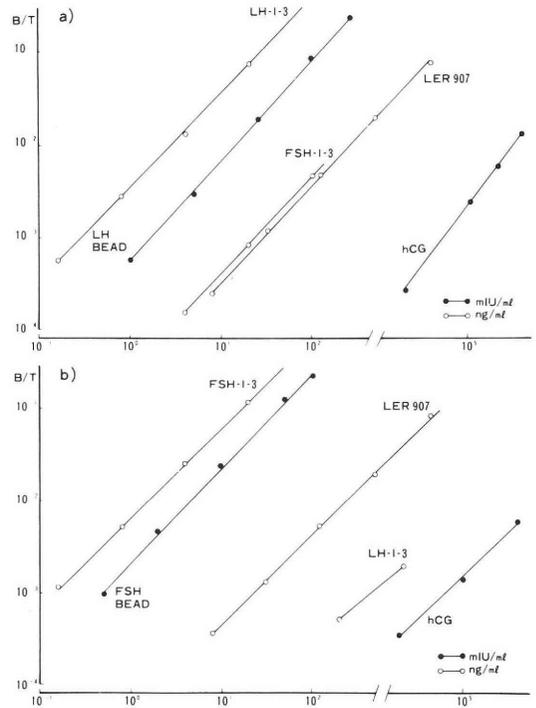


図2 各種標準品を用いた特異性の検討  
a) LH, b) FSH

値は下方にシフトしている。変動係数はLH 5-250mIU/mlで2.8-5.1%, FSH 0.5-100mIU/mlで2.1-7.7%で検量線の安定性はおおむね良好であった。

(2) 測定感度

標準液を0mIU/ml標準液で希釈, LHは0, 0.25, 0.

5, 1mIU/ml, FSH は 0, 0.1, 0.2, 0.5mIU/ml に調整して 5 回測定し感度を求めた, 結果は LH は 0.5mIU/ml, FSH は 0.1mIU/ml で 0mIU/ml に比し有意に (P<0.01) 結合率が上昇した.

(3) 特異性

NIDDK-hLH-I-3, NIDDK-hFSH-I-3, LER907, hCG (持田製薬) を各種濃度に調整し, LH RIABEAD(図 2a), FSH RIABEAD (図 2 b) で測定した. RIABEAD 標準品は LH, FSH ともに LER 907 および高度精製標準品 (LH-I-3 又は FSH-I-3) とよい平行性を示した. LH-I-3, FSH-I-3, hCG の結合率 1%の点を一部は直線を外挿して求め測定の特異性を検討した.

LH・RIABEAD 系では FSH, hCG に対する交叉反応はそれぞれ 2.4%, 0.007%で hCG との交叉は事実上認められなかった. FSH・RIABEAD 系は LH と 0.02%, hCG と 0.0008%の交叉率を示しいずれも充分低値であった.

(4) 再現性

低中高3濃度の血清を 6 回ずつ日を変えて 5 回測

表 1 RIABEAD の測定内, 測定間変動

		Mean mIU/ml	Intra-a. CV%*(N)	Inter-a. CV% (N)
LH	a	7.72	5.2 (6)	7.4 (5)
	b	28.34	3.8 (6)	5.4 (5)
	c	54.19	2.4 (6)	2.4 (5)
FSH	a	4.52	3.4 (6)	6.0 (5)
	b	11.98	2.3 (6)	6.8 (5)
	c	21.98	2.0 (6)	5.8 (5)

\* 5 回測定の平均値

定し再現性を検討した. 測定内, 測定間変動は表 1 に示す如くで, LH ではそれぞれ 2.4-5.2%と 2.4-7.4%, FSH では 2.0-3.4%と 5.8-6.8%となりいずれも低濃度で変動係数が増加するものの再現性は非常に優れていた.

(5) 添加回収試験

3 種の濃度の血清に既知量の標準 LH, FSH を添加し回収率を求めた(表 2). 平均回収率は LH 104.9%,FSH 97.6%で満足すべき結果であった.

(6) 希釈試験

2 種の血清を 0mIU/ml 標準液を用いて 2-36 倍

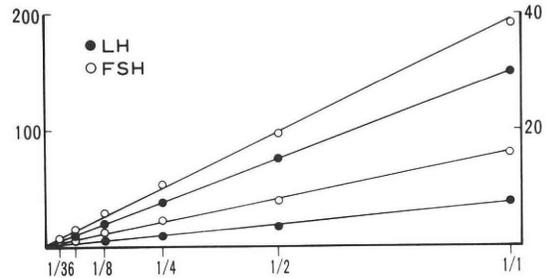


図 3 血清サンプルの希釈試験

に希釈して測定したところ, 図 3 に示す如く LH・FSH ともに良好な希釈直線を得た.

(7) 他測定法との相関

図 4 は y 軸に RIABEAD, x 軸に NIDDK キット又は“第一”キットの測定値をとり作成した散布図である. LH・RIABEAD と NIDDK, 第一の相関係数はそれぞれ r=0.989(n=54), r=0.985(n=67)で, FSH・RIABEAD と NIDDK, “第一”の相関係数は r=0.973(n=67), r=0.984(n=66)といずれも高い相関を示した. 回帰直線の係数は, LH (BEAD) =0.25×LH (NIH) +0.75, LH (BEAD) =

表 2 RIABEAD 添加回収試験

LH(mIU/ml)				
添加濃度	0.00	12.51	51.76	127.00
A	3.45	17.15(109.5%)	61.63(112.4%)	135.78(104.2%)
B	5.59	18.64(104.3%)	60.23(105.6%)	130.23(98.1%)
C	15.25	27.52(98.1%)	68.75(103.4%)	153.14(108.6%)
FSH(mIU/ml)				
添加濃度	0.00	4.71	25.12	49.60
A	2.93	7.46(96.2%)	26.73(94.7%)	52.10(99.1%)
B	5.33	9.66(91.9%)	28.59(92.6%)	53.03(96.2%)
C	25.95	30.82(103.4%)	51.28(100.8%)	77.35(103.6%)

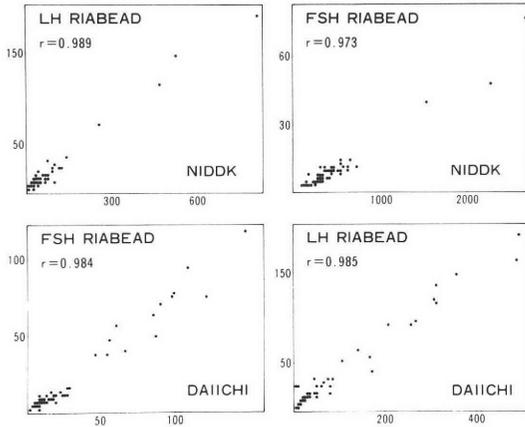


図4 RIABEADとNIDDK LH・FSHキット (ng/ml), LH・FSH 第一(ml2/ml)の相関

$0.36 \times \text{LH (第一)} + 3.42, \text{FSH (BEAD)} = 0.03 \times \text{FSH (NIH)} - 2.26, \text{FSH (BEAD)} = 0.75 \times \text{FSH (第一)} - 2.03$ であった。これら3種の測定系はそれぞれ異なる標準品を使用している為直接測定の結果を比較することはできないが、同一単位系を用いる“第一”キットに比べRIABEADではLHが36%, FSHは75%に測定結果が減少することになる。

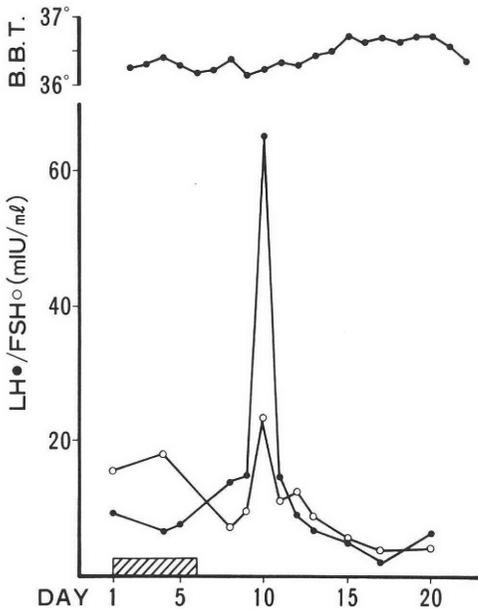


図5 正常排卵周期の血中LH, FSH値

臨床検体の測定

(1) 正常排卵周期

正常の排卵周期を有する健常婦人一例について血中LH, FSHを測定した(図5)。LHサージは周期ほぼ中間に認めFSHも頂値を示した。またLHサージとB.B.T.の変化もよく対応した。

(2) 分泌様式

健常婦人, 男性各1例で15分毎に採血, 8時間にわたって血中LH, FSHを測定したところ, 図6に示すようにLHは全例パルス様分泌が明らかであった。黄体中期では黄体初期に比べ周期の長いパルスが認められ, 男性ではパルスの周期は2-3時間であった。一方血中FSH値は黄体期で変動はほと

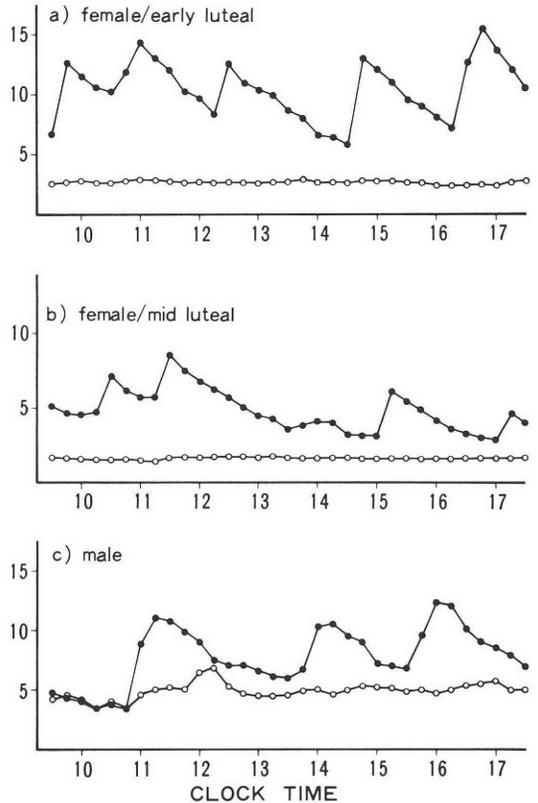


図6 健常人のLH・FSH分泌様式 (ml2/ml)

んど見られず, 男性においても周期的変動を示さなかった。

(3) LHRH 負荷試験

健常人のLHRH負荷試験の成績を図7に示す。卵泡期, 黄体期, 男性のいずれもLHRH静注後30分

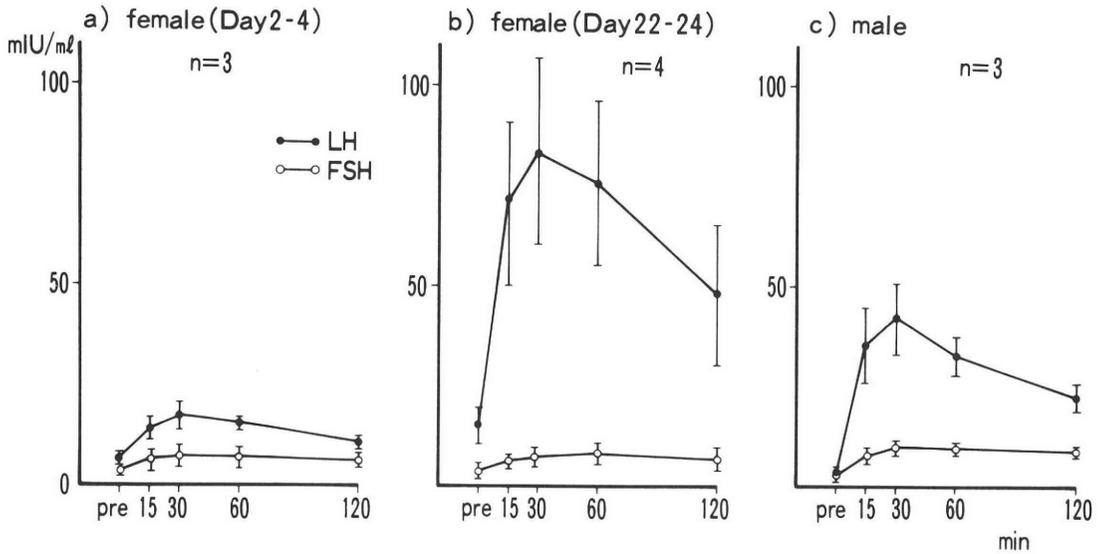


図7 健康人におけるLHRHテスト

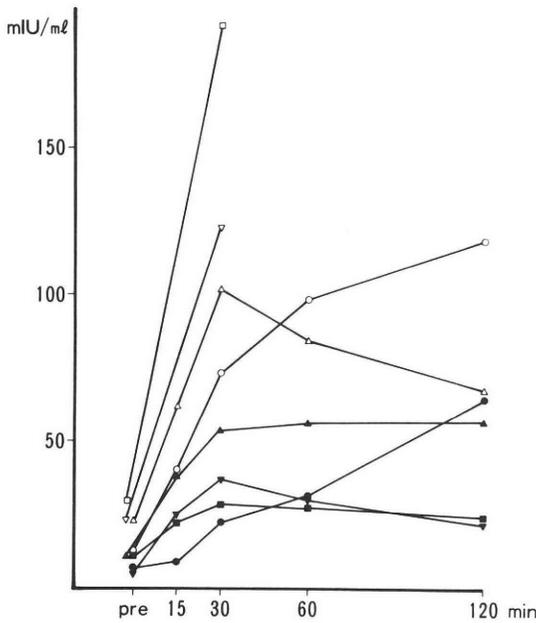


図8 婦人科疾患例におけるLHRHテスト

図8は婦人科疾患例のLHRH 負荷時血中LHの変動を示す。全例LHRHに反応して血中LHの増加をみたが4例(PCO 1例, 卵巣機能不全2例, 不妊症1例)では最大反応値が100mIU/ml以上と高い反応性を示した。LHの頂値が100mIU/ml以下の症例は、高PRL血症, 卵管因子による不妊症, 子宮内膜症などであった, 全症例ともFSHの反応性は健康人と差がなかった。

(4) 健康人, 妊娠, 閉経, 各種婦人科疾患例の血中LH, FSH値(表3)

排卵周期を有する婦人では卵胞期の血中FSH基礎値は黄体期に比べ有意( $P < 0.01$ )に高値となり, 血中LH値は黄体期と卵胞期で有意差はなかった。妊娠例のLH, FSHはともに低値で, 妊娠時, 下垂体機能が抑制されることを示した。血中LH, FSHはともに更年期, 閉経期, 卵巣摘出例で著明に上昇した。婦人科疾患例のうちPCO, 卵巣機能不全例ではLH基礎値は, 健康婦人卵胞期や腫瘍, 子宮内膜症等の婦人科疾患例のLH値に比較し有意に高値を示した。( $P < 0.05$ )。これら4群のFSH値は群間で差を認めなかった。

考 察

以上述べた如く本測定法は操作が簡便で, 半日ほどで測定結果が得られ, 迅速性も優れていた。RIABEADの測定再現性は良好で以前当教室で検討したLH, FSH測定用2抗体RIAに比べ測定内, 測定間変動とともにより低値を示したり, 特にFSH・

で血中LH値は頂値となり, 投与前値に比し卵胞期296%, 黄体期547%, 男性909%の増加を示した。女性ではLHRHに対する反応性は卵胞期より黄体期が高かった。血中FSH値はLHRH投与後30-60分で頂値を示し, その増加は卵胞期166%, 黄体期229%, 男性244%であった。

表3 健常人, 婦人科疾患のLH, FSH値 (mIU/ml; Mean±SE)

症例	例数	平均年齢	LH	FSH
健常男性	12	33.9	6.21±0.60	5.16±0.74
健常婦人卵胞期	6	28.8	6.41±1.15	6.30±1.06
健常婦人黄体期	12	26.8	6.97±1.72	3.38±0.47
妊娠9—18週	8	26.1	(<1)	(<0.2)
更年期	3	44.0	55.13±6.90	61.67±12.15
閉経期	10	65.3	37.83±7.21	62.63±7.82
両側卵巣摘出	2	40.5	51.38±16.11	85.58±9.20
多嚢胞卵巣	2	28.0	20.86±2.08	8.42±0.61
卵巣機能不全	8	25.8	17.24±3.57	6.55±0.60
乳汁漏出, 高PRL血症	2	29.5	9.65±1.60	5.26±0.06
その他婦人科疾患	12	30.8	7.23±0.94	6.06±0.82

RIABEADでは変動係数のFSH濃度依存性はほとんど見られなかった。一般にアイソトープ標識抗体を用いる非競合的イムノアッセイ(IRMA)は標識ホルモンを用いる競合的イムノアッセイに比較して測定範囲が広く高感度で測定の変動係数も低いとされ<sup>2,3)</sup>、測定原理の違いが再現性の良さに寄与していることも考えられた。

いくつかの下垂体ホルモンはサブユニットから構成されLH, FSH, hCG, TSHは共通の $\alpha$ サブユニットを持つ測定の特異性も留意すべき点のひとつである。今回TSHについては検討していないが、高度に精製したLH, FSHとhCGを用いて検討した結果LH・RIABEAD, FSH・RIABEADともに充分高い特異性を持つことが判明した。特にLH測定ではNIDDKキットでFSH, hCGに対する交叉反応がそれぞれ8.9%, 42.1%である<sup>4)</sup>のに対しRIABEADは2.4%, 0.007%となった。hCGが血中に高濃度に検出される妊娠初期で、RIABEADにより測定したLH値は1mIU/ml以下の低値であり、本測定系が実際上hCGと交叉しないことを裏づける成績であった。またNIDDK FSHキットはLHに対する交叉反応が0.03%<sup>5)</sup>でRIABEADと同程度であった。

現在臨床で汎用されるLH, FSH測定系は尿性、下垂体性ゴナドトロピンの双方が使われているが、RIABEADではLHはWHO 1st IRP 68/40, FSHは、WHO 2nd IRP 78/549で検定された標準品を使用している。今回の検討からRIABEADの標準品と下垂体性標準品であるLER907の平行性は良好といえる。なお、今回の結果から求めたLER907とWHO下垂体性標準品の関係は、LER 907 1ngがLHで0.038mIU WHO 1stIRP68/40, FSHで0.022mIU WHO 2nd IRP 78/549であった。一方、“第一”キ

ットとRIABEADとの相関が高いことから、本測定系と尿性ゴナドトロピンを規準とするキット間で重大な測定結果の解離はないと考えられる。RIABEADと“第一”のキット間にみられる測定絶対値の差は検定標準品の差に起因すると思われ、RIABEADと同一の検定標準品を用いる他のキットでも同様の現象が報告されている<sup>6)</sup>。標準物質が統一されていない現状では測定系毎に正常域を設定する必要がある。

RIABEADで測定して得た血中ゴナドトロピンの排卵周期、加齢による変動や排卵周期によるLHRH反応性の変化<sup>7)</sup>等の結果はいずれも過去の報告と一致した。LHの分泌周期は黄体期で延長すると報告され<sup>8)</sup>、今回の結果も限られた採血間隔の条件下で同様の傾向がみられた。このようなLHの律動的分泌はLHRH間歇投与による排卵誘発法として治療上に応用されている<sup>9)</sup>。また、今回少数例であるがPCO、卵巣機能不全群でLH基礎値の有意な増加を認め、卵巣機能不全例の高LH値は、卵巣性ステロイド産生低下あるいはネガティブフィードバック系の障害を示唆すると思われた。

今回の成績を総合すると、二段階サンドイッチ法に基づく本測定法の臨床応用への価値は高いと思われた。

(稿を終るにのぞみLH・RIABEAD, FSH・RIABEADを提供されたダイナボット株式会社、ならびにヒトLH・FSHキットを提供されたNIDDKに感謝いたします。)

## 文 献

- 1) 大川とみ, 岡野秀子, 吉江絹子, 宮里良尚, 池下久弥, 荒井 清, 沖永荘一: 短時間で測定可能なDPC, FSH・LHキットに関する臨床的研究,

- 日不妊誌, 25: 447, 1980
- 2) Hunter, W. M., Bennie, J. G., Kellet, H. A., Micklem, L. R., Scott, A. and James, K.: A monoclonal antibody-based immunoradiometric assay for h-LH. *Ann. Clin. Biochem.* 21: 275, 1984.
  - 3) Sharma, V., Williams, J., Collins, W., Riddle, A., Mason, B. and Whitehead, M.: Studies on the measurement and pharmacodynamics of human follicle-stimulating hormone. *Fertil. Steril.* 47:244, 1987.
  - 4) National Institute of Diabetes & Digestive & Kidney Diseases: Human Luteinizing Hormone Radioimmunoassay (h-LH RIA).
  - 5) National Institute of Diabetes & Digestive & Kidney Diseases: Human Follicle Stimulating Hormone RIA.
  - 6) 高坂唯子, 梶田靖子, 小西淳二, 鳥塚莞爾, 泰井俊造, 高井一郎, 森 崇英: phamacia LH, FSH RIA キットの基礎的検討, ホと臨 34: 535, 1986
  - 7) Grimes, E. M., Thompson, I. E. and Taymor, M. L.: The sequence of pituitary responses to Synthetic Luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) throughout the normal menstrual cycle. *Acta Endocr.* 79: 625, 1975.
  - 8) Yen, S. S. C., Tsai C. C., Naftolin, F., Vandenberg, G. and Ajabor, L.: Pulsatile patterns of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 34: 671, 1972.
  - 9) Leyendecker, G., Wildt, L. and Hansmann, M.: Pregnancies following chronic intermittent (pulsatile) administration of Gn-RH by means of a portable pump (Zyklomat): a new approach to the treatment of infertility in hypothalamic amenorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51: 1214, 1980.

## Clinical Application of LH-FSH RIABEAD Based on a Two-step Sandwich Method

**Shigeki Takeshita, Tomi Ohkawa,  
Miwako Kobayashi, Satoko Arakawa,  
Sachiko Yoshimura, Akira Kambegawa,  
Souichi Okinaga and Kiyoshi Arai**

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

Applicability of new measurement systems for human LH and FSH was evaluated. The method is based on a two-step sandwich method, in which antibody-coated bead and  $^{125}\text{I}$  labelled antibody are used. The sensitivity of determination was estimated to be 0.5mIU/ml for LH and 0.1mIU/ml for FSH. The calibration curve obtained by plotting the binding counts and hormone concentrations in bilogarithmic scales, showed a good linearity. The response of standards in these kits were parallel to that of highly purified LH or FSH preparation provided by NIDDK. The specificity of LH measurement was very high; crossreactivity to hCG and FSH was 0.007% and 2.8%, respectively. intra-assay variance was 3.8% for LH and 2.3% for FSH, and inter-assay variance was 5.4% for LH and 6.8% for FSH. Correlation of these assay to other conventional RIA systems was significant (LH: NIDDK  $r=0.99$ , DAIICHI  $r=0.99$ . FSH: NIDDK  $r=0.97$ , DAIICHI  $r=0.98$ ). The above mentioned results as well as estimated levels of LH and FSH in various physiological and pathological conditions together suggested that these new measurement systems were suitable for the clinical use.

(受付: 昭和 62 年 10 月 13 日特掲)

## 体重減少性無月経の長期的予後に関する検討

### Long Term Follow-up of Amenorrhea Associated with Weight Loss.

鹿児島大学医学部産婦人科

堂 地 勉 永 田 行 博  
Tutomu DOUCHI Yukihiro NAGATA

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

九州大学医学部産婦人科

中 村 元 一 尾 上 敏 一 中 野 仁 雄  
Gen-ichi NAKAMURA Toshikazu ONOUE Hitoo NAKANO

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Faculty of Medicine, Kyushu University.

昭和48年から昭和56年12月まで九大産婦人科で経験した体重減少性無月経52例中、昭和59年8月の時点で予後の判明した35例を対象とした。体重減少の原因は美容上の減食21例(60%)、環境の変化によるもの4例(11.4%)、手術のストレス3例(8.5%)、その他が4例(11.4%)であった。初診時の無月経の程度は28例(80%)が第2度無月経、7例(20%)が第1度無月経であった。性機能の回復をみると、初診時第2度無月経28例中16例は規則的な月経の回復をみ、3例は第1度無月経へ改善した。また第1度無月経7例のうち4例は規則的な月経の回復をみた。月経が回復した20例の体重回復率は原体重の平均 $97.3 \pm 6.1\%$ であり、現在も無月経が持続している15例の体重回復率 $84.7 \pm 7.8\%$ と比べ有意に高かった( $P < 0.001$ )。

昭和56年8月調査時より月経回復率が高かったことより、体重減少性無月経は体重が回復してからある程度時間が経てば、月経が回復する可能性が高いといえる。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 323-329, 1988)

#### 緒 言

無月経の原因は多岐にわたる。体重が減少することにより無月経におちいることもよく知られている。その典型が神経性食思不振症である。ところで最近これはこれとは別に若い女性の間で美容上の目的で減食し無月経になる病態が相次いで報告されている。神経性食思不振症と呼ぶにはおおげさすぎるし、精神的背景に乏しいとも言われている。またジョギング、運動等によっても無月経になるという。これも運動によるストレスのみでなく、体重の減少が関係あるのではないかとされている。

この体重減少性無月経は若年未婚婦人に多く見られる重要な問題であるが、一般に通院が長続きしない傾向にあるためか、その長期的予後は必ずしも明確でない。われわれは以前よりこの体重減少性無月経に注目しており、すでに報告してきた<sup>1,2)</sup>。その中で体重が回復しても自然に月経が回復するのは困難であると結論した<sup>1)</sup>。ところがその後長期間観察を続けているうちに、自然に月経が回復してくる症例に遭遇するようになった。このことからわれわれは、体重減少性無月経の性機能の回復には体重の回復はもとより、体重が回復してからある程度時間の経過が必要ではないかと考えるようになった。そこで今

回は時間の経過を考慮し、3年以上前に発症した体重減少性無月経のその後の性機能の回復について追跡調査を行い、若干の知見を得たので報告する。

### 対象と方法

対象は昭和48年から昭和56年12月までに九大産婦人科で経験した体重減少性無月経52例中、現在も通院中の10例とアンケート調査にて追跡出来た25例の合計35例である。体重減少性無月経とは、3ヵ月から6ヵ月の間に5kg以上の体重減少をきたした後無月経になったものと定義した。末松<sup>3)</sup>の診断基準による狭義の神経性食思不振症例はここでいう体重減少性無月経（あるいは単純性体重減少性無月経）と病態を異にすると考えるため対象から除外した。

アンケート調査は、その後の体重回復状況、性機能回復の程度、月経回復時の体重等について行った。また既婚者について妊孕性についても検討した。体重回復率とは、その症例が規則的に月経が再来していた時の体重（原体重）に対するその時点の体重の割合とした。無月経の判定は、dydrogesterone（デュファストン）50mg内服後の消退出血の有無によった。LH-RHテストはLH-RH（ルタミン100 $\mu$ g）静注、前、30分、60分後に採血し、LH、FSHをRIAにて測定した。中枢のpositive feedback機能を知る目的で、estradiol benzoate（E. B）1mg筋注、前、24、48、72、96時間後に採血し、LHを同様に測定した。

### 成 績

昭和59年8月の時点で予後の判明した体重減少性無月経35例の最終的な体重の回復を原体重に対する比率で示し、体重回復の高い順に表1に列記した。体重減少の原因は美容上の減食によるもの21例（60%）、進学、就職などの環境の変化によるもの4例（11.4%）、手術のストレスによるものが3例（8.5%）、その他が4例（11.4%）であった。外来初診時の無月経の程度は35例中28例（80%）が第2度無月経、7例（20%）が第1度無月経であった。最低体重は原体重を100%とすると平均79.4 $\pm$ 8.1%であった。追跡調査時の体重回復は平均91.9 $\pm$ 9.3%であり、5例を除いた30例に最低体重からの体重増加が認められた。

性機能の回復を見ると、初診時第2度無月経であった28例中16例は規則的な月経の回復を見、3例は第1度無月経へ改善した。初診時第1度無月経であった7例中4例は規則的な月経の回復を見た。全体では正常月経に回復したものは35例中20例57.1

%、第2度無月経から第1度無月経へ改善した3例を加えると35例中23例65.7%に性機能の改善を認めた。月経回復した20例の体重は原体重の平均97.3 $\pm$ 6.1%に回復しており、現在も無月経が持続している15例の体重（原体重の平均84.7 $\pm$ 7.8%）に比べ有意に高かった（ $P < 0.001$ ）。そこで体重が原体重の90%以上に回復したものを体重回復例、90%に満たなかったものを体重非回復例と定義すると、体重回復例では22例中18例81.8%に規則的な月経の回復をみた。一方体重非回復例では13例中2例15.3%にしか月経の回復をみなかった。しかもこの2例の体重はそれぞれ原体重の88.4%、87.8%といずれも90%に近い体重回復であった。

症例11は体重回復が原体重の96.4%であるが第2度無月経のままである。昭和56年9月試験勉強のストレスにより体重が51kgから45kg（原体重の88.2%）に減少し無月経におちいったが、その後の体重回復は順調であり、本症例の外来初診時49kg（96.4%）の時点でのLH-RHテストによる下垂体の反応はLH前値19.7mIU/mlから頂値180.0mIU/mlと良好であった。またE. BテストではLH前値26.6mIU/mlから頂値43.8mIU/mlと反応良好であったが、昭和59年8月の時点では未だ月経の回復をみていない。症例13は中学1年の時受けた手術のストレスで50kgの体重が28kg（56%）に減少し、その後体重は48kg（96%）まで増加したが、原発性無月経のままである。23才で48kg（96%）の時点でのLH-RHテストはLH前値15mIU/mlから頂値190mIU/mlと反応良好であったが、E. Bテストには全く反応しなかった。性機能は第1度無月経まで好転しclomipheneで排卵したものの妊娠に至らず、hMG総量900IUで妊娠成立した。症例28は昭和56年6月に美容上の減食で体重42kgから31kg（73.8%）に減少し無月経になった。33kg（78.5%）の時点でのLH-RHテストはLH前値2.1mIU/mlから頂値9.5mIU/mlと反応不良であった。昭和59年8月の時点での体重回復は85.7%であり第2度無月経のままであった。しかしその後体重が増加し、昭和60年1月には43kg（102.3%）になり不規則ながら月経がおこっていることが判明した（表1）。

今回の結果と昭和56年8月の結果と比較すると、昭和56年8月の時点では体重回復例17例のうち自然に月経が回復した症例は5例29.4%であった。これに対し今回は体重回復例22例のうち18例81.8%に月経の回復をみた（表2）。

正常月経の回復を見た20例を、通院期間と無月経におちいつてから月経回復までに要した期間で比較

表 1 体重減少性無月経の詳細 (N=35)

症 例	体重減少の原因	発 症	原体重(kg)	最低体重	最終体重	体重回復(%)	初 診 時 無月経の程度	結 果
1. Y. S	手術のストレス	S. 56. 7	52	47	59	113	2	Normal Cycle
2. K. M	おたふく風	S. 51. 4	47	37	50	106	2	Normal Cycle
3. A. N	美容上の減食	S. 54. 8	51	40.5	54	105	2	Normal Cycle
4. M. I	美容上の減食	S. 55. 8	58	50	58	100	2	Normal Cycle
5. K. I	美容上の減食	S. 52. 4	56	38	56	100	2	Normal Cycle
6. J. T	受験勉強	S. 49. 12	50	40	50	100	2	Normal Cycle
7. N. T	美容上の減食	S. 52. 1	45	28	45	100	2	Normal Cycle
8. K. I	美容上の減食	S. 47. 9	48	42	48	100	2	Normal Cycle
9. S. H	美容上の減食	不. 明.	50	40	50	100	2	Normal Cycle
10. M. N	美容上の減食	不. 明.	46	38	46	100	2	Normal Cycle
11. M. S	試験勉強	S. 56. 9	51	45	49	96.4	2	2
12. Y. I	美容上の減食	S. 54. 7	50	42	49	96	1	Normal Cycle
13. K. H	手術のストレス	原発性無月経	50	28	48	96	2	1
14. K. K	手術のストレス	S. 55. 6	61	54	57	95	2	Normal Cycle
15. H. Y	美容上の減食	S. 55. 5	58	48	55	94.8	2	Normal Cycle
16. Y. M	就 職	S. 54. 1	55	47	52	94.5	2	Normal Cycle
17. T. T	美容上の減食	S. 44. 10	50	42	46	94	2	Normal Cycle
18. R. U	環境の変化	S. 52. 1	47	42	44	93.6	2	1
19. A. O	高校入学	S. 52. 3	60	52	54	91.6	1	Normal Cycle
20. K. M	環境の変化	S. 55. 2	58	39	53	91.3	2	Normal Cycle
21. Y. T	試 験	S. 56. 9	45	38	41	91.1	2	2
22. T. S	母病気	S. 48. 2	51	39	46	90.1	1	Normal Cycle
23. F. O	美容上の減食	S. 52. 1	60.5	52	54	89.2	1	1
24. F. H	父病気	S. 52. 4	52	43	46	88.4	2	Normal Cycle
25. K. N	美容上の減食	S. 49. 3	60	53	53	88.3	2	2
26. T. N	美容上の減食	S. 52. 3	53.5	43.5	47	87.8	1	Normal Cycle
27. Y. U	美容上の減食	S. 48. 1	49	38	42	85.7	1	1
28. K. S	美容上の減食	S. 55. 7	42	31	36	85.7	2	2
29. T. M	美容上の減食	S. 46. 4	49	38	41	83.6	1	1
30. Y. I	病 気	S. 50. 3	52	43	42	80.7	2	2
31. K. M	美容上の減食	S. 52. 7	54	44	44	81.4	2	2
32. I. I	美容上の減食	S. 45. 5	53	36	42	79.2	2	1
33. Y. H	美容上の減食	S. 50. 5	45	35	35	77.7	2	2
34. T. I	美容上の減食	S. 55. 1	60	43.5	46	76.6	2	2
35. N. H	美容上の減食	S. 51. 10	60	40	40	66.6	2	2

表 2 体重減少性無月経の月経回復

	体重回復あり	体重回復なし
月 経 回 復 (S. 59. 8)	18/22 (81.8%)	2/13 (15.3%)
月 経 回 復 (S. 56. 8)	5/17 (29.4%)	0/13 (0%)

すると(表3), わずか1回だけ受診して以後来院しなかった症例も2例あったが, 平均通院期間26.9ヶ月に対し月経が回復するまでに要した期間は平均56.2ヶ月であった. 通院中に月経の回復を観察出来たのはわずか2例であり, 残り20例は通院しなくなってから月経の回復を見た.

自然に月経を回復した20例の累積回復率を図1に

表 3 正常月経周期を回復した症例の詳細

症 例	体重回復 (%)	治 療 (ヶ月)	無月経の期間 (ヶ月)
Y. S	113	24	36
K. M	106	1	60
A. N	105	36	55
M. I	100	36	32
J. T	100	51	93
N. T	100	43	72
K. I	100	6	31
K. I	100	53	78
S. H	100	24	—
M. N	100	1	—
Y. I	96	24	36
K. K	95	12	19
H. Y	94.8	12	31
Y. M	94.5	6	49
T. T	94	36	96
A. O	91.6	6	26
K. M	91.3	36	44
T. S	90.1	79	156
F. H	88.4	14	59
T. N	87.8	39	39

平 均 26.9 56.2

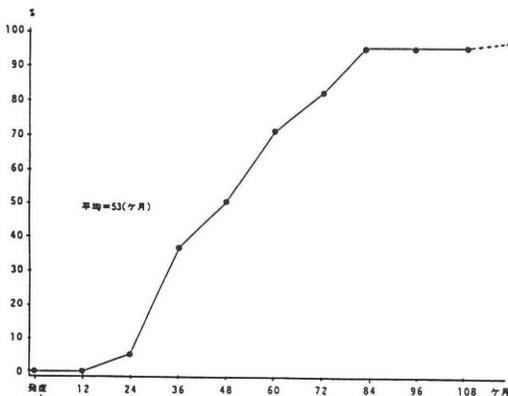


図 1 体重減少性無月経の累積回復率

示した。無月経におちいってから月経回復まで最短の症例は1年7ヶ月で、最長は13年であり、50%の症例が回復するには4年5ヶ月要した。なお最長の症例22は、clomiphene 妊娠・分娩後自然に月経が回復した。また体重が早期に回復する症例ほど月経が早期に回復する傾向にあった。

体重減少性無月経35例中9例は既婚ないしはその後結婚した。その妊孕性を検討すると9例中8例(88.8%)が妊娠成立した(表4)。しかし既婚者では正常月経周期を回復した症例はわずか2例であったため、他はすべて排卵誘発剤により妊娠した。無月経の程度は妊娠直前のもをを示すが、自然妊娠が2例2周期、clomiphene が4例7周期、hMG 療法が2例2周期、Cyclofenil が1例1周期であった。症例35はhMG 療法を2回施行後来院していないが、体重増加が全くなく無月経のままである。

考 察

最近美容上の目的で減食し無月経になる病態が相次いで報告されている。田中<sup>4)</sup>は本邦ではじめてこのような病態の存在を報告し、美容上スマートになりたい目的で減食し体重減少をきたし無月経になる症例を現代病の1つとし、減食性無月経と定義した。また Vigersky et al.<sup>15)</sup>は体重減少によっておこる無月経を神経性食思不振症とそれ以外のもの、すなわち secondary amenorrhea associated with simple weight loss に分けている。中村ら<sup>6)</sup>は何らかの原因により急激に短期間で(3ヵ月から6ヵ月)体重減少(5kgから10kg)し、今まで全く整順であった月経周期が無月経になる病態を体重減少無月経としその中に神経性食思不振症も含めている。減食性無月経は神経性食思不振症とは区別されるべきものであるという立場から、われわれは Vigersky et al.のごとく神経性食思不振症を除いた体重減少性無月経に関し検討を加えた<sup>1)</sup>。

体重減少の原因としては、美容上の目的で減食したものが57.1%と最も多かった。楠原ら<sup>7)</sup>は45%、中村ら<sup>6)</sup>は35.4%と程度の差はあれいずれも美容上の目的が最も多かったとしている。やせを目的とした最近のダイエット食品の氾濫、一部女性週刊誌のダイエットに成功した誇張した記事、やせが美德であるが如き社会風潮もあいまって体重減少性無月経は今後ますます増加することが予想される。

無月経の程度は、重症の第2度無月経が80%と圧倒的に多かった。楠原ら<sup>7)</sup>も同様に80%と報告している。また中村ら<sup>6)</sup>は未婚の続発性第2度無月経の3/5は体重減少性無月経であったとしている。以上より体重減少性無月経は極めて重症の無月経が多いと言える。

体重減少性無月経はほとんどが未婚女性に見られるため、将来妊孕性に及ぼす影響が心配される。ところがその長期的予後は必ずしも明確でない。それは通院が長続きせず予後が不明になってしまう場合

表4 体重減少性無月経の妊孕性

症例	体重(kg)			無月経の程度	排卵誘発法	結果
	原体重	最低体重	最終体重			
T.S	51	39	43	1	(1) hMG-hCG	Delivery
			47	正常月経	(2) Sp.Pregnancy	In Pregnant
T.M	49	38	41	1	Clomiphene	Delivery
F.O	60	52	54	1	Clomiphene	In Pregnant
U.I	50	42	49	正常月経	Sp.Pregnancy	Delivery
K.H	50	28	49	1	hMG-hCG	In Pregnant
T.T	50	42	46	1	(1) Clomiphene + E.B	Abortion
			46	1	(2) Clomiphene	Delivery
			47	1	(3) Clomiphene	Delivery
			47	1	(4) Clomiphene	In Pregnant
K.K	52	35	35	1	Cyclofenil	Delivery
H.M	63	45	55	1	Clomiphene	Abortion
N.H	60	41	41	2	hMG-hCG	Infertile

もあることが関係あるかも知れない。その予後を文献的にみると、黒川ら(1974)<sup>9)</sup>は減食性無月経12例中自然月経が回復したのはなかったとし、楠原ら<sup>7)</sup>は20例中4例(20%)、関ら<sup>10)</sup>は13例中4例(30.8%)が自然に回復したとしている。また中村らは1979年に通院しなくなった体重減少性無月経患者13例中自然に回復したものは3例(23.1%)であったとし<sup>8)</sup>、さらに1984年には41例中14例(34.1%)しか改善しなかったと報告し<sup>8)</sup>、体重減少性無月経は必ずしも体重が回復しても性機能の改善にはならないと結論している。このように自然月経の回復率は全般的に低いという報告が多い。一方Knuth et al.<sup>11)</sup>は13例中6例46.1%に月経が自然に回復し、無月経にとどまったものは体重増加がなかったものであったと報告している。また青野ら<sup>12)</sup>は体重減少性無月経より重症であると考えられる神経性食思不振症21例を7年から13年間追跡調査し、17例81.0%に月経の回復を見たとし性機能に関しては大旨予後良好であるとされている。

このようにその予後に関しては一致していないが、今回のわれわれの検討では、全体として35例中20例57.1%が正常月経周期を回復し、さらに90%以上の体重回復例に限れば22例中18例81.8%に月経の回復を見ている。この結果は従来の体重減少性無月経に対する考え方を改めさせるものである。すなわち体重減少性無月経では体重が回復すると月経も回復する可能性がきわめて高いと言える。このような好成绩は動物実験からも裏付けられる。小辻ら<sup>13)</sup>はラットで実験的に体重減少性無月経を作り、体重を回復

させると大部分が性周期を回復したと報告している。またわれわれも同様の実験を行い同様の結果を得ている<sup>14)</sup>。

次に今回のわれわれの報告と前回の報告<sup>1)</sup>あるいは中村ら<sup>6,8)</sup>、楠原<sup>7)</sup>らの報告と予後がなぜ違うかを検討する必要がある。まず前回のわれわれの報告では、体重回復例17例中5例29.4%しか月経の回復を見なかったが、3年経過後の今回は実に81.8%の月経の回復を見ている。このことから体重減少性無月経は体重が90%以上に回復しても月経はすぐには回復せず、ある程度時間の経過が必要であることが推察される。体重が回復しても性機能が回復しないと結論した前回のわれわれの報告は、性機能回復の一断面を見ていた可能性がある。したがって体重減少性無月経の予後は長期的観察が必要といえる。中村ら<sup>8)</sup>はわれわれより多数の症例を時間の経過も考慮し観察し、予後が良くないものも多く存在すると結論しているが、今後同一症例を長期間follow-upして見る必要があると考える。

体重減少性無月経の性機能の回復には、体重が90%以上回復した後ある程度時間の経過が必要であるとしたが、無月経になってから月経回復まで最低1年7ヶ月、最高13年、平均4年5ヶ月と長期間を要している。これに対し平均通院期間は2年3ヶ月であったことは、体重減少性無月経は通院中に月経の回復をみることは稀であり、大部分は通院しなくなってからのちに回復していると言える。このことも体重減少性無月経の予後が悪いという印象を与えるのかも知れない。

さて体重減少性無月経は体重が回復すれば月経は回復する可能性が高いとしたが、内分泌学的にはいかがであろうか。前回の報告は cross sectional な分析であるが、体重減少が高度になると LH 値同様 FSH 値も低下した。体重が 80% 以上になると下垂体からのゴナドトロピン分泌も徐々に回復しはじめ、一時的に LH-RH に対して下垂体は hyperresponse するが、さらに体重回復が進むと正常反応に復した。また Sherman et al.<sup>15)</sup>によれば、標準体重の 53-64% では LH の分泌は全く障害されているが体重の回復につれて徐々に反応するようになり、正常に近づくにつれ hyperresponse の時期があるという。下垂体の反応も体重回復とともに回復することから考えると、体重回復後月経が回復するものと予想される。

体重減少性無月経の妊孕性についての報告は少ない。楠原ら<sup>7)</sup>は既婚婦人 4 例中 2 例が hMG-hCG 療法で妊娠し、中村ら<sup>8)</sup>は同様の方法で 19 例中 4 例の妊娠例を報告している。妊孕性は低いとも受けとれるが、青野ら<sup>12)</sup>は神経性食思不振症 16 例中、自然妊娠 11 例、排卵誘発剤 3 例の合計 14 例が妊娠したとし妊孕性は問題ないと報告している。今回のわれわれの検討でも挙児希望がある 9 例中 8 例に妊娠成立をみた。以上より体重減少性無月経の妊孕性は長期的に見た場合、まず問題ないと言える。

このように体重減少性無月経の予後は長期的に見た場合、性機能、妊孕性に問題はないとしたが、それでは一体われわれ婦人科医は体重減少性無月経にどのように対処すれば良いのであろうか。体重減少性無月経をみた場合まず第一に神経性食思不振症を除外すべく努力する必要がある。神経性食思不振症は内分泌学的には広汎な derangement をきたし、食行動の異常、体重に対する歪んだ考え方、精神症状、著しいいそぎを伴うため詳細な問診をとれば鑑別可能と考えられる。そうでなければ心療内科、精神科を受診させ鑑別してもらおう。次に体重減少性無月経は月経が回復すると言っても、かなり長期間を要するため、体重回復を早めにはかるよう積極的に指導する必要がある。患者、家族特に母親は将来の妊孕性を心配して来院する場合がほとんどであるから、予後は心配ないと説明し安心させることが大切である。

体重減少性無月経は、最近のマスコミ（特に女性週刊誌）等のダイエットに成功した誇張した記事の氾濫や、やせ志向の社会風潮もあいまって今後ますます増加してゆくものと予想される。ダイエットの弊害を一般に広く知らしめることはきわめて重要と考える。

## 文 献

- 1) 永田行博, 堂地 勉, 津田知輝, 中村正彦, 尾上敏一: 体重減少の性機能への影響, 日不妊会誌, 28: 252, 1983.
- 2) 堂地 勉, 尾上敏一, 井村睦規, 中村元一, 中野仁雄: 体重減少性無月経の臨床内分泌学的検討, 第 3 回日本思春期学会: 浜松, 1984.
- 3) 末松弘行, 久保木富秀, 青木宏之, 江崎正博, 黒川順夫, 玉井 一: 神経性食思不振症の臨床像, ホと臨床, 27: 693, 1979.
- 4) 田中良憲: 減食性無月経, ホと臨床, 20: 1107, 1972.
- 5) Vigersky, R. A., Loriaux, D. L., Andersen, A. E., Mecklenburg, R. S. and Vaitukaitus, J. L.: Delayed pituitary response to LRF and with secondary amenorrhea associated with simple weight loss, J. Clin. Endocrinol. Metab., 43: 893, 1976.
- 6) 中村幸雄, 塗百寛, 上野 裕, 春日義生, 小林俊文, 福永友明, 斎錚媛, 黒川博厚: 体重減少性無月経, ホと臨床, 27: 747, 1979.
- 7) 楠原浩二, 安江育代, 杉田 元, 篠塚正一, 徳倉昭治, 花岡 苗, 峰屋祥一: 体重減少による無月経の病態, 日不妊会誌, 26: 7, 1981.
- 8) 中村幸雄, 吉村泰典, 小田高久, 亀井 清, 飯塚理八: 体重減少性無月経, 日産婦誌, 36: 7 2 7, 1984.
- 9) 黒川博厚, 松本 茂, 中村幸雄, 飯塚理八, 島袋嘉修, 土屋雅春: 神経性食思不振症と減食性無月経における LH-RH・TRH test と LH-RH 賦活療法, ホと臨床, 22: 1139, 1974.
- 10) Kuuth, U. A., Hull, M. G. R. and Jacob, H. S.: Amenorrhea and loss of weight, Brit. J. Obstet. Gynecol., 84: 801, 1977.
- 12) 青野敏博, 三宅 侃, 甲村弘子: 神経性食思不振症の婦人科における治療, 末松弘行, 河野友信, 玉井 一, 馬場謙一編: 神経性食思不振症その病態と治療, 医学書院, 東京 1985.
- 13) 小辻文和, 麻生武志, 富永敏朗: 体重減少のラット性周期に与える影響—減少の期間と性周期回復—, 産婦治療, 48: 623, 1984.
- 14) 堂地 勉, 福元清吾, 竹内一浩, 永田行博: 体重減少に伴う性機能失調と脳内力テコールアミンに関する検討, 第 38 会日本産婦人科学会抄録集, 38: 1317, 1986.
- 15) Sherman, B. M., Halmi, K. A. and Zamudio, R.: LH and FSH response to gonadotropin-releasing hormone in anorexia nervosa: Effect of nutritional rehabilitation, J. Clin. Endocrinol. Metab., 41: 135, 1975.

Long term follow-up of amenorrhea associated with weight loss

**Tutomu Douchi and Yukihiro Nagata**

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

**Gen-ichi Nakamura, Toshikazu Onoue  
and Hitoo Nakano**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Faculty of Medicine, Kyushu University.

In order to elucidate the long term prognosis of amenorrhea associated with weight loss, we examined details of 35 patients who visited the Dept. of OB & GYN, Kyushu Univ. Hospital during the period of Jan.1973 to Dec. 1981. The causes of

weight loss were mainly self-imposed behavior for cosmetic reason. On first visit, 28cases were in 2nd grade amenorrhea and 7cases in 1st grade amenorrhea; 3years later, 16cases of former resumed their normal cyclicity and 3cases showed improvement to 1st grade amenorrhea, while all of the latter resumed their normal cyclicity. Weight recovery rates were significantly higher ( $p < 0.001$ ) in normal cycling women ( $97.3 \pm 6.1\%$  of original weight) than that in persistent amenorrheic patients ( $84.7 \pm 7.8\%$ ).

These results suggest that amenorrhea associated with weight loss is reversible after weight gain. It takes long time (average 4 years and 5 months) to restore to normal menstrual cycle.

(受付：昭和 62 年 8 月 4 日)

## BBT高温16日のHCG値による妊娠、 およびその予後の判定

### Diagnosis of Pregnancy and Prognosis by the Serum HCG Level at 16th day of hyperthermia of BBT

假野クリニック婦人科内科

假野 隆 司

Takashi KANO

Kano Clinic

出馬病院産婦人科

出馬 淳 名            伊藤 正 尚

Atsuna IZUMA            Masanao ITO

Department of Obstetrics and Gynecology, Izuma Hospital.

実質不妊期間3年以上の306例3926周期中223周期で基礎体温(BBT)の高温相が16日以上持続した。これらの症例の高温16日目の血中HCGをRIAで、尿中HCGをHAR-test測定するとともに、卵胞機能および黄体機能を中心とした内分泌学的背景を検討した。また、これ等の症例のその後の経過を超音波断層法、尿中HAIR-testで追跡した。高温16日目の尿中HCG 160mIU/ml陰性で血中HCGが10mIU/ml以上の症例をsubclinical abortionと診断すると正常妊娠52例(23.3%)、Abortion 31例(13.9%) Subclinical abortion 88例(39.5%) Non-pregnancy 52例(23.3%)となった。BBT+16Dayの血中HCGが250mIU/ml以上であったのは50例であり、そのうち45例(90%)が予後良好であった。このことよりBBT+16Dayの血中HCGの測定による予後判定は超音波断層法によるGSの確認、HCG HAIR-testの陽性の確認より早期の診断が可能という点で優れていると考えられた。また無作為に選択した機能性不妊症と考えられる19例のBBT+5~+8Dayの血中HCGを測定すると16例(84.2%、内2例は正常妊娠)で絨毛からのHCG分泌を確認した。この事実は従来非妊娠と診断されている症例の中かなり多数の着床不全例が含まれている可能性を示唆している。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 330-337, 1988)

#### 緒 言

日常不妊臨床上、基礎体温(BBT)の高温が14日以上持続するケースに遭遇することは少なくない。しかし、このような場合、妊娠を想定して一般的に行なわれているHCG HAIR-testによる妊娠反応が陰性を呈し、その後出血をきたし、高温持続の原因が妊娠によるか否かの診断に困惑することが多い。また、妊娠の早期診断は不妊症の臨床上重要で

ある。この様な観点から、BBT高温が持続した症例の高温16日目(BBT+16Day)の尿中および血中HCG値を測定することで高温の持続が妊娠に起因するのか、妊娠の場合はその予後をその後の超音波断層法のGSの確認、尿中HCG HAIR-testの陽性の検出日と比較した。更に高温持続周期の中で妊娠であった症例の内分泌学的背景をretrospectiveに検討することで流産の原因を検討した。

対象と方法

1985年3月1日より1986年12月25日までに假野クリニックを挙児希望で来院した患者のうち、系統的不妊症検査を終了した後に治療を行なった22歳から42歳までの実質不妊期間3年以上の306例3926周期を対象とした。

尿中HCGは早朝尿をHCG HAR-test (ハイゴナビス, 持田製薬) により半定量で160mIU/mlと320mIU/mlを, 血中HCGはradioimmunoassay<sup>1)</sup>でBBT高温16日目に測定した。妊娠例についてはアロカ社製SS-256型リニア-式超音波断層装置で適宜超音波的検索を行ないGSを確認した日とHCG HAIR-test (ゴナビスライド, 持田製薬) で陽性を呈する日を調べた。

卵巣機能不全型診断の為 estradiol の測定はBBT-3~0day<sup>2)</sup>に, progesterone の測定は+5~8day<sup>3)</sup>にそれぞれradioimmunoassayで行なった。

また, 無作為に選択した実質不妊期間5年以上の原発性不妊の症例で卵管の形態, 機能に異常がなく, 夫の精子所見も正常でHuhner-testが良好であった

周期のBBT+5~8dayの血清中HCG, progesterone 値およびその後の経過の観察も合わせて検討した。

結 果

3926周期の中で223周期(5.7%)で高温が16日以上延長した。

正常月経周期を有する18歳から40歳までの19例のvolunteerの卵胞初期の血中HCG値のM±SDは4.1±1.5mIU/mlであり, M+3SDは8.4mIU/mlであった (Fig. 1)。このことから血中HCG値が10mIU/ml以上<sup>1)</sup>の症状では絨毛からのHCG分泌を証明したと考えられる。この認識で高温が16日以上持続した症例で尿のHCG HAR-test160mIU/mlが陰性で血中HCG10mIU/ml以上の症例をSubclinical abortionと診断すると223例の内訳はnormal pregnancy 52例(23.3%), abortion 31例(13.9%), subclinical abortion 82例(39.5%), non-pregnancy 52例(23.3%)となりsubclinical abortionが最も高率であった (Table.1)。

各群の血中HCG値を検討するとnormal pregnancy群はabortion群より, abortion群はsubclinical abortion群よりそれぞれ高値であった (Fig. 2)。Normal pregnancyの最低HCG値は245mIU/mlであり, abortion, subclinical abortionの血中最高HCG値は890mIU/ml, 127mIU/mlであった (Fig. 2)。血中HCG値が250mIU/ml以上のabortionは50例中5例(10.0%)であった。

BBT+16DayのHAR-testによる尿中HCG値と妊娠の予後の関係を検討するとnormal pregnancyでは全例320mIU/ml陽性であったのに対して, abortionでは320mIU/ml陽性は14例(41.9%)であった (Table. 2)。

HCG HAR-testが160mIU/ml, 320mIU/mlが陽性であった症例は総計73例であるが, この内21例(28.8%)は血中HCG値が160mIU/mlが陰性であ

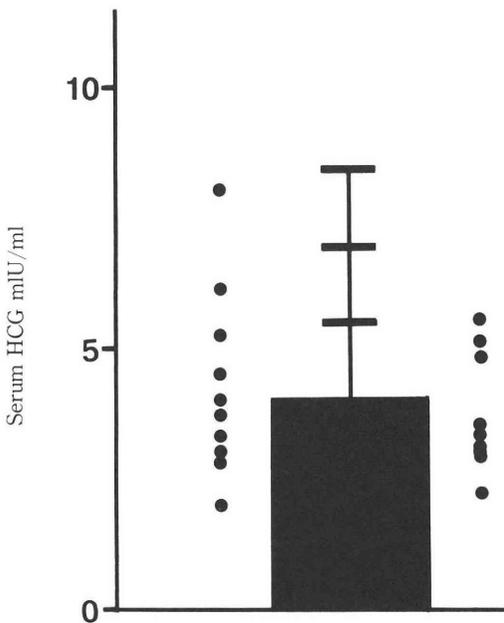


Fig. 1 Serum HCG levels on early follicular phase in volunteer with normal menstrual cycle. Data are presented as M+SD, M+2SD and M+3SD. (n=20)

Table. 1 Diagnosis of the cases whose hyperthermia continued over 16 days.

	Cases	%
Normal Pregnancy	52	23.3
Abortion	31	13.9
Subclinical Abortion	88	39.5
Non-Pregnancy	52	23.3
Total	223	100.0

ったSubclinical abortionの最高血中HCG値127mIU/ml以下であった。

Normal pregnancyでその後1000mIU/ml HCG HAIR-test 陽性となった時期は+19Day (4W+5D)が15例と最も多く、平均は+19.3日であり100%陽性になったのは+24日であった (Table. 3)。

Table. 2 Urinal HCG levels by HAIR-test on BBT+16 day.

	Total	160mIU/ml	320mIU/ml
Normal Pregnancy	42	0 (0.0%)	42(100%)
Abortion	31	18(58.1%)	14(41.9%)

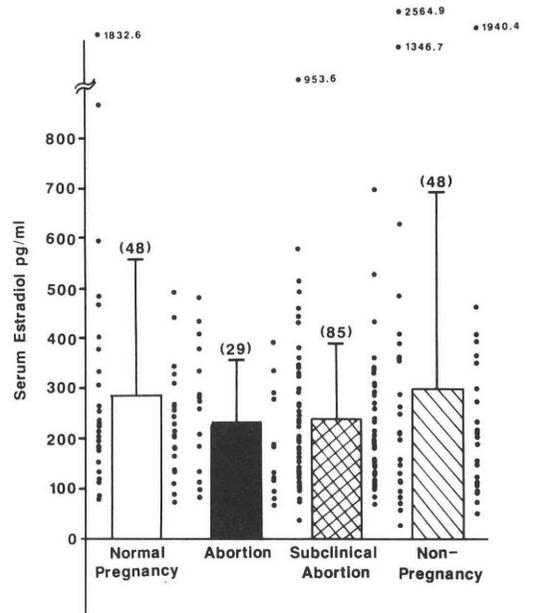
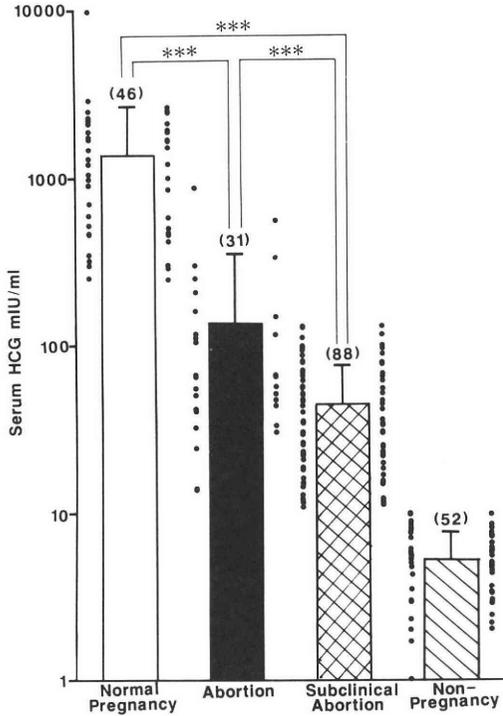


Fig. 2 Serum HCG levels on BBT+16day in cases of continued hyperthermia. Data are presented as M±SD. (\*\*\*)P<0.001

Fig. 3 Serum estradiol levels on BBT-3~0day in cases of continued hyperthermia. No significant difference each other.

Table. 3 BBT days when urinal HCG HAIR-test prove positive.

BBT	+17	+18	+19	+20	+21	+22	+23	+24	+25
Normal Pregnancy	5 (10.9%)	10 (21.7%)	15 (32.6%)	8 (17.4%)	1 (2.2%)	4 (8.7%)	2 (4.3%)	1 (2.2%)	0 (0.0%)
Abortion	0 (0.0%)	3 (3.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

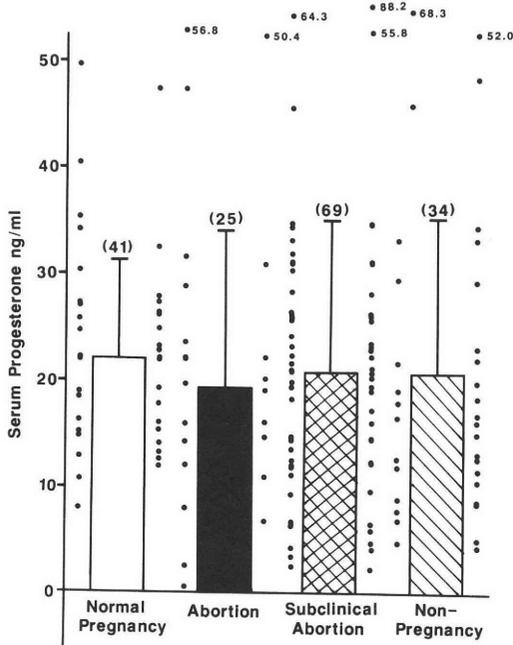


Fig. 4 Serum progesterone levels on BBT+5~+8 day in cases of continued hyperthermia. No significant difference each other.

Table. 4 Serum estradiol and progesterone levels in normal pregnancy and total abortion.

Estradiol		
	Over 150pg/ml	Under 150pg/ml
Normal Pregnancy	38 (77.6%)	11 (22.4%)
Total Abortion	75 (67.6%)	36 (32.4%)

Progesterone		
	Over 15ng/ml	Under 15ng/ml
Normal Pregnancy	33 (82.5%)	7 (17.5%)
Total Abortion	59 (64.1%)	33 (36.9%)

次に各群の内分泌学的背景を検討した。各群の BBT-3~0Day の estradiol (Fig. 3) と BBT+5~+8day の progesterone の値 (Fig. 4) には有意な変化は認められなかったが normal pregnancy 群では estradiol 150pg/ml 以下は 11 例 (22.4%) であったのに対し, total abortion (abortion と Subclinical abortion の和) 群では 36 例 (32.4%) と高率であった。progesterone は normal pregnancy 群では 15ng/ml 以下は 7 例 (17.5%) であるのに対し total pregnancy 群では 33 例 (36.9%) と 2 倍以

上高率であった (Table. 4)。Estradiol と progesterone を二元的に解析すると estradiol 150pg/ml 以上 progesterone 15ng/ml 以上の症例は normal pregnancy 群は 28 例 (73.7%) であるのに対し, total abortion 群は 50 例 (54.9%) と低率であった。Total abortion 群で多い内分泌異常型は, estradiol 150pg/ml 以上, progesterone 15ng/ml 未満 20 例 (22.0%), estradiol 150pg/ml 未満, progesterone 15ng/ml 未満 14 例 (15.4%), estradiol 150pg/ml 未満, progesterone 15ng/ml 以上 7 例 (7.7%) の順であった (Table. 5)。

超音波学的には G S の確認が最も早かったのは BBT+17Day (4W+6D) で, 100% に認められたのは +25Day (5W+4D) で平均は +20.8Day であった (Table. 6)。

無作為に選択した実質不妊期間 5 年以上の 19 例の BBT+5~+8Day の血中 HCG 値が 10mIU/ml 以上であったのは 16 例 (84.2%) であり, その内高温が 16 日以上持続したのは 7 例 (43.8%) であり, この内 2 例は BBT+16Day の尿 HAR-test は 320mIU/ml 陽性でその後の妊娠経過は順調である (Table. 7)。

考 察

不妊外来で BBT が正常の 14 日を超えて 16 日以上持続するケースに遭遇する機会は少なくない。卵巣機能不全では殆どの症例で黄体機能賦活の目的で HCG 療法を行なっているので黄体機能存続が生じる素地があり, 高温の持続は考えられない事ではないが, このような場合は妊娠を疑うのが普通である。

しかし, 日常臨床上行なわれる諸家の報告<sup>4,5)</sup>では診断率 (陽性率) が 90% 以上になるのが 6 週以降となる 1000 mIU/ml を最高感度とする尿 HCG HAIR-test による妊娠反応で陰性を呈し, その後出血が始まった場合, 黄体機能存続症か流産か果ては子宮外妊娠かと診断に困惑することが多い。

このような状況のもとで妊娠の場合 HCG HAIR-test が陽性にならない時期の血中 HCG 値で妊娠か否かの診断, および妊娠であった場合の予後診断した研究は殆どない。HCG, LH は  $\alpha$ ,  $\beta$  の 2 つの Subunit から構成され,  $\alpha$ -Subunit はほとんど共通した構造を有することが知られている。このため, HCG の RIA では LH との間に交叉反応を生じることが認められている。

HCG RIA は HCG  $\beta$ RIA と比較して低レベルで高感度であり, 流産例では診断価値に差がないとされる<sup>6)</sup>。このため我々はあえて妊娠の予後判定に HCG

Table. 5 Serum estradiol levels on BBT-3~0 day and serum progesterone levels on BBT+5~+8 day in normal pregnancy and total abortion.

Normal Pregnancy

Progesterone	Estradiol	
	Over 150pg/ml	Under 150pg/ml
Over 15ng/ml	28 (73.7%)	4 (10.5%)
Under 15ng/ml	5 (13.2%)	1 (2.6%)

Total Abortion

Progesterone	Estradiol	
	Over 150pg/ml	Under 150pg/ml
Over 15ng/ml	50 (54.9%)	7 (7.7%)
Under 15ng/ml	20 (22.0%)	14 (15.4%)

RIA を選択した。

通常 LH は 1/2~1/4 の値として HCG RIA により測定される<sup>6)</sup>。

黄体後期の LH は我々の研究によれば 13.1±5.9mIU/ml であり、卵胞前期の値と有意の差はない<sup>7)</sup>。今回の volunteer の卵胞前期の HCG 値は全て LH の交叉反応と考えられるので LH の 1/3 程度が HCG として測定されていると考えられる。LH が高値になる場合は測定値にかなりの交叉反応を考慮する必要が生ずるが、BBT 高温 16 日目では LH surge や

去勢状態に似た卵巣機能の極端な機能低下の結果の negative feedback による LH 高値は考えられないので、volunteer の LH の交叉反応として測定された HCG+3SD 以上の 10mIU/ml 以上では絨毛から分泌された内因性の HCG を検出していると考えすることに無理はない<sup>1)</sup>。このことから血中 HCG 10mIU/ml 以上で、尿 HCG HAR-test 160mIU/ml 陰性のケースは subclinical abortion と診断した。この基準による subclinical abortion は今回検討した BBT の高温が 16 日以上持続した 223 例の 39.5% と最も大きさを占めた。この事実から BBT の高温が持続して診断困難な症状の中には Subclinical abortion がかなり含まれていると推察された。

妊娠の予後の判定に当たっては HCG HAR-test は 5.2%<sup>7)</sup>から 33%<sup>8)</sup>の false positive 例が報告されており、今回の研究でも 28.8% で false positive が認められたことから血中 HCG の測定により意義が見出されるものと考えられ、250mIU/ml ではその予後はおおむね良好と考えられた。

一方、超音波断層法で妊娠の予後を判定する試みが行なわれている。

子宮内に echogenic shadow を認めるのは妊娠の早期診断の疑診であり、GS の確認は確定診断になる。

Table. 6 The day of echographical observation of echogenic shadow and GS.

BBT		+16	+17	+18	+19	+20
Normal Pregnancy	Echogenic	6 (17.6%)	5 (14.7%)	11 (32.4%)	9 (26.4%)	2 (5.9%)
	GS	0 (0.0%)	2 (4.5%)	8 (18.2%)	5 (11.4%)	10 (22.7%)
Abortion	Echogenic	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.2%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)
	GS	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.2%)

+21	+22	+23	+24	+25	+26	+27	+28
0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (2.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
2 (4.5%)	3 (6.8%)	6 (13.6%)	5 (11.4%)	3 (6.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)	2 (6.4%)

Table. 7 Serum HCG levels on BBT+5~+8 day in nonselective infertail cases over 5 years.

No.	Name	Age	HCG (+5-+8)	Prog	BBT	S-HCG (+16)	U-HCG (+16)	Diagnosis
1	S.N.	31	124.0	14.2	—	520.0	320	Normal Pregnancy
2	T.T.	36	68.6	26.0	—	220.0	320	Normal Pregnancy
3	E.Y.	27	115.3	34.3	15	—	—	Sub- Abortion
4	Y.N.	28	150.0	21.5	14	—	—	Sub- Abortion
5	K.T.	31	17.0	14.1	16	—	—	Sub- Abortion
6	E.O.	35	40.0	34.1	13	—	—	Sub- Abortion
7	M.S.	32	15.0	11.6	14	—	—	Sub- Abortion
8	Y.F.	25	13.0	22.7	20	5.0	160 (—)	Sub- Abortion
9	K.T.	34	40.0	32.7	14	—	—	Sub- Abortion
10	M.Y.	43	18.0	22.3	14	—	—	Sub- Abortion
11	M.N.	31	40.0	23.9	18	8.2	160 (—)	Sub- Abortion
12	S.H.	34	33.0	23.8	13	—	—	Sub- Abortion
13	S.K.	29	40.5	3.5	12	—	—	Sub- Abortion
14	M.I.	31	180.0	31.0	13	—	—	Sub- Abortion
15	K.T.	31	56.4	16.2	15	—	—	Sub- Abortion
16	T.K.	43	40.3	14.0	12	—	—	Sub- Abortion
17	C.T.	30	4.8	14.4	13	—	—	Non- Pregnancy
18	Y.M.	32	4.5	19.8	13	—	—	Non- Pregnancy
19	T.M.	28	3.0	19.7	14	—	—	Non- Pregnancy

G S の確認は最も早い検出時期は4W+2D (BBT+16Day) から<sup>10)</sup>4W+3D (BBT+17Day)<sup>11)</sup>で100%診断可能と報告されており、我々の最も早くて+17Day, 100%診断可能となるのが+25Day との結果と差はない。予後不良例でG S が確認出来たのは16%に過ぎず、G S の確認は予後良好の診断には有益ではあるが、その決定には5W+5D (BBT+26Day) を待たねばならず、早期の予後不良の診断を下すに

は適當とはいえない。

血中HCGは我々開業医の場合、結果が判明するのが検査後数日を要することを勘案しても时期的にははるかに優れているといえる。さらに100%の診断が可能であるのが6週以降(+29Day以降)になるHCG HAIR-testよりも優れているといえる。

次に高温延長症例の内分泌学背景とその予後を考察すると、BBT-3~0dayのestradiolおよびBBT+

5~8dayのprogesterone値は各群間に有意の差を認めなかったが、estradiolは正常妊娠群に比較してtotal abortion群で150pg/ml未満の症例がやや高率、progesterone15ng/ml未満の症例は2倍以上であった。Estradiolとprogesteroneを二元的に検討すると黄体機能不全が最も高頻度であり、次いで卵胞黄体機能不全、卵胞機能不全の順となった。この結果、流産の中に占める内分泌学的原因としてprogesterone分泌不全に起因する着床不全が最も重きをなすと考えられた。

絨毛から分泌されるHCGはHCG- $\beta$ RIAでは早ければ排卵後4-6日に検出可能と報告<sup>12)</sup>されているが、今回の研究によればBBT+5から+8日に検出された。

無作為に選択した卵管、精子所見、に異常を認めなかった実質不妊期間5年以上のHuhner-test良好<sup>13)</sup>な原発性不妊症19例のBBT+5~8dayに測定した血中HCGの実に16例84.2%が10mIU/mlであり、そのうち7例56.2%の高温持続が14日以内であった事実はBBTの高温持続が14日以内で出血をきたし、日常臨床上月経と考えられている床例の中にsubclinical abortionがかなり含まれていること、従来機能性不妊症と考えられてきた症例の中には実際は着床まで進んでいた習慣性流産患者がかなり含まれていることを示唆している。

ただし、HCGレベルが予後良好であった妊娠例よりも高レベルでありながらBBT+14日以内で出血をきたし臨床的にはHCGを測定していなかったならmenstruationと診断される症状が存在するので、この時期のHCG値からは妊娠の予後の判定は困難と考えられた。

IVF-ETに於いても受精の成功率に比して着床の成功率が低いとの成績を考えあわせると不妊症の克服のためにはprogesterone分泌不全症による子宮内膜異常に起因する流産の病態生理学の解明と治療法の確立が重要と考えられた。

また、Subclinical abortionは繰り返すことが多いので、この中には最近習慣性流産で問題になっている免疫学的な原因に起因すると思われる症例<sup>14)</sup>がかなり高頻度に含まれている可能性がある。

以上の結果により、BBTの高温が15日以上持続する症例のみならず14日以内で出血をきたし月経と考えられている症例の中にはかなりの高頻度にsubclinical abortionが存在する。妊娠の予後の判定にはBBT+16dayの血中HCGの測定が有意義であり10mIU/ml以上では妊娠の、250mIU/ml以上ではその予後が良好の診断可能である。また、流産の原因

としてはprogesterone分泌不全に基づく内膜異常が最も重要であることが明らかとなった。

本研究に協力していただいた20人のvolunteerと血中HCGの測定に協力していただいた株式会社関西医学検査センターに感謝致します。

## 文 献

- 1) 名古純一, 野村光男, 伊吹令人, 五十嵐正男. : ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) および subunit. 日本臨床. 43 秋季臨時増刊号 : 963, 1985
- 2) Kano, T. and Nishikawa, K.: Etiological study on hyposecretion of progesterone in the aspect of echographically measured follicular diameter and estradiol and progesterone in patients categorized by BBT pattern Jap. J. Fertil. Steril. 30: 5, 1985.
- 3) Kano, T. Nishikawa, K., Kurobe, Y. and Ishii, K.: Etiology of luteal insufficiency (hyposecretion of progesterone) in relation with BBT patterns. Jap. J. Fertil. Steril. 29: 92, 1984.
- 4) 木村好秀, 浜守, 小浜昭博. : 各種免疫学的妊娠診断薬に関する臨床的検討. 産科と婦人科. 11 : 1437, 1972.
- 5) 谷沢 修, 杉田長敏, 高木 哲, 森 政男. : 妊娠反応. 臨床検査. 26 : 1567, 1982.
- 6) 岩永圭市, 川島 実, 杉田長敏, 三宅 侃, 山路健二, 谷沢 修. : HCG- $\beta$  Radioimmunoassay による妊婦血清中hCGの測定に関する研究. 産婦人科の世界, 31 : 1247, 1979.
- 7) Kano, T., Nishikawa, K., Kanda, T., Miyazaki, K. and Sngimoto, O.: Plasma prolactin in luteal insufficiency and treatment with bromocriptine. Fertil. Steril. 28:26,1983.
- 8) 伊吹令人. : 早期妊娠診断法- $\beta$  subunit などを中心として-産と婦. 4 : 681, 1978.
- 9) 本庄英男, 山本淳子, 大坪一夫, 大森研二, 山本宝, 大嶋一也, 山元貴雄, 阪井千秋, 小畑 義, 岡田弘二. : HCG- $\beta$  HAR test 陽性HCG HAIR 陰性症例の検討. 産婦人科の世界. 30 : 799, 1978.
- 10) 稲垣正暢 : 電子スキャンニング, 臨産婦, 32 : 271, 1978.
- 11) 富岡 恵, 山元貴雄, 辻 雅路, 大野洋介, 本庄英男, 岡田弘二. : 妊娠の早期診断. 日不妊誌. 30 : 55, 1985.
- 12) Catt, K. J., Dufan, M. L. and Vaikaitus, J. L.: Appearance of hCG in pregnancy plasma following the initiation of implantation of the blastocyt. J. Clin. Endocrinol. Metab. 40: 537, 1975.
- 13) 假野隆司, 西川 潔. : Huhner-test 不良例の解析と AIH. 日不妊誌. 28 : 46, 1983.
- 14) 八神喜昭, 青木耕治. : 原因不明習慣流産の免疫学背景と免疫療法. 日産婦誌. 39 : 702, 1987.

Daiagnosis of pregnancy and prognosis  
by the serum HCG level at 16th day  
of hyperthermia of BBT

**Takashi Kano**

Kano Clinic, Osaka, Japan

**Atsuna Izuma and Masanao Ito**

Department of Obsterics and Gynecology,  
Izuma Hospital, Osaka, Japan

Continuation of hyperthermia of basal body temperature (BBT) over 16 days were recognized in 223 cycles in 3926 cycles of 306 patients who have not been pregnant over 3 years. Serum HCG level by RIA and urinary HCG level by HAR-test were measured at 16th day of hyperthemia of BBT in these patients. Endocrinological back groudns were also investigated by the measurement of estradiol and progesterone. Follow up observations of echography and urinaly HCG measurements by HCG HAIR-test were supplemented in these patients.

The patients were diagnosed by the serum and urinary HCG levels at 16th day of hyperthermia of BBT as follow; normal pregnancy were 52 patients (23.3% ), abortion were 31 patients (13.9%), sub-clinical abortion (included the cases urinary HCG levels was less than 160mIU/ml and serum HCG levels was over 10mIU/ml) were 88 patients (39.5%) and non-pregnancy were 52 patients (23.3%).

Serum HCG levels were more than 250mIU/ml at 16th day of hyperthermia of BBT in 50 patients and 45 of them (90.0%) had normal pregnancy.

These results might indicate that the measurement of serum HCG at 16th day of hyperthermia of BBT is more reliable for a diagnosis of pregnancy in eary stage then the observation of GS by echography HCG HAIR-test.

In the measurement of serum HCG at 5th to 8th day of hyperthermia of BBT in patients with functional infertility, secretion of HCG from chorion were recognized in 16 cases (82.4% included 2 normal pregnancy). It might be suggested that that there were some cases who were subclinical abortion within the patients diagnosed as non-pregnancy.

(受付：昭和 62 年 5 月 19 日)

# 正プロラクチン血性軽度排卵障害に対する ブロモクリプチン療法

## Bromocriptine Therapy for Normo-prolactinemic Ovarian Insufficiency.

正プロラクチン血性軽度排卵障害に対するブロモクリプチン療法研究会

岡山大学医学部附属病院 岡山済生会病院 岡山赤十字病院 津山中央病院 大阪住友病院  
国立福山病院 福山市民病院 広島中電病院 広島通信病院 国立岩国病院  
香川県立中央病院 愛媛県立中央病院 松山市民病院 高知県立中央病院 岡山大学医学部

林 伸 旨	吉 田 信 隆	秋 本 暁 久
Nobuyoshi HAYASHI <sup>1)</sup>	Nobutaka YOSHIDA <sup>1)</sup>	Teruhisa AKIMOTO <sup>2)</sup>
本 郷 基 弘	片 山 俊 介	伊 藤 裕
Motohiro HONGO <sup>3)</sup>	Shunsuke KATAYAMA <sup>4)</sup>	Hiroshi ITO <sup>5)</sup>
岡 田 悦 子	清 水 潤 司	宮 野 恭 一
Ethuko OKADA <sup>6)</sup>	Junji SHIMIZU <sup>7)</sup>	Kyoichi MIYANO <sup>8)</sup>
難 波 義 明	森 透	久 保 信 夫
Yoshiaki NANBA <sup>9)</sup>	Toru MORI <sup>10)</sup>	Nobuo KUBO <sup>11)</sup>
森 巍	川 本 雅 教	本 森 良 治
Takashi MORI <sup>12)</sup>	Masanori KAWAMOTO <sup>13)</sup>	Ryoji MOTOMORI <sup>14)</sup>
	関 場 香	
	Kaoru SEKIBA <sup>1)</sup>	

- 1) Okayama University Medical School
- 2) Okayama Saiseikai General Hospital
- 3) Okayama Red Cross General Hospital
- 4) Tsuyama Central Hospital
- 5) Osaka Sumitomo Hospital
- 6) National Fukuyama Hospital
- 7) Fukuyama Shimin Hospital
- 8) Chugoku Denryoku Company Hospital
- 9) Hiroshima Teishin Hospital
- 10) National Iwakuni Hospital
- 11) Kagawa Prefecture Central Hospital
- 12) Ehime Prefecture Central Hospital
- 13) Mathuyama Shimin Hospital
- 14) Kochi Prefecture Central Hospital

---

血清プロラクチン値 25 ng/ml 未満の稀発月経 (DO群) 28 例, 無排卵周期症 (AO群) 19 例, 第一度無月経 (AM群) 39 例に対し, bromocriptine 5mg/day 単独投与を 2 周期おこない, また, この単独療法無効の DO 群 8 例, AO 群 7 例, AM 群 18 例に対し, さらに clomiphene citrate との併用療法を 2 周期おこなって以下の成績を得た.

《単独療法》 周期別検討でD O群 58%, A O群 50%, A M群 38%, また症例別検討ではD O群 46%, A O群 32%, A M群 13%に有効で、拳児希望者 64例の 14%に妊娠成立したが、D O群 24例では妊娠率 33%と高率であった、これらの成績から、拳児希望のあるD O群は単独療法の適応と考えられる。

《併用療法》 周期別検討でD O群 81%, A O群 71%, A M群 64%, また症例別検討ではD O群 75%, A O群 71%, A M群 61%に有効で、clomiphene 療法無効の不妊婦人に併用療法が有用と考えられる。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 338-344, 1988)

## はじめに

高 prolactin (PRL) 血症が排卵障害を発症させ、これに dopamine agonist である bromocriptine (BRM) (Parlodel®) 療法が有効であることは周知のこととなっている。最近、さらにBRM療法は、血清PRL値が生理的濃度にある排卵障害例にも有効であるとの報告が多くみられるようになっているが、その適応症例の選択基準については一定の見解が得られていない。このため、今回、われわれは血清PRL値 25ng/ml 未満の軽度排卵障害例にBRM単独療法、さらに、その無効例にclomiphene citrate (CC) (clomid®) との併用療法をおこなって検討した。

## 方 法

対象症例は、昭和60年3月より昭和60年12月の期間に本研究会14施設を受診した、年齢40歳未満、血清PRL値 25ng/ml 未満で乳漏症がなく、軽度排卵障害があり治療を必要とした86例であった。これらの症例を治療開始前の基礎体温により、稀発月経D O群(月経周期29日目以降に排卵)28例、無排卵周期症A O群19例、第I度無月経A M群(3カ月間以上無月経)39例に分類した。BRM投薬は、維持量 5mg/day (月経5日目より服用開始、7日間漸増)で2月経周期単独投与した。治療効果の判定は、基礎体温で7日間以上の高温期があり、それに続く月経または妊娠成立をみたものを排卵として、D O群、A O群では月経周期28日以内に、A M群では56日以内に排卵を認められる周期を有効周期とした。この期間内に排卵または月経がない場合、黄体ホルモン投与により消退出血を起こさせた。また症例別検討においては、治療周期すべて有効であったものを有効例、治療周期により効果が一定でなかったものをやや有効例、治療周期すべて無効であったものを無効例とした。D O群8例(10周期)、A O群9例(15周期)、A M群7例(10周期)についてはさらに単独療法をおこない、またD O群8例、A O群7例、A M群18例の無効例については、CC (100mg または

150mg/day, 5日間投与)併用療法をさらに2月経周期おこなった。

治療開始前および単独療法2周期後(併用療法開始前)にPRL, FSH, LH, testosterone およびLH-RH 100 $\mu$ g 静注負荷30分後FSH, LHの各血清ホルモン定量をおこなった。また一部の症例については、LH-RH 負荷時にTRH 500 $\mu$ g 混合静注し、30分後PRLも定量した。これらのホルモン定量は一括しておこなった。

副作用については、排卵障害のなかった症例や第II度無月経例などの今回効果検討除外19例および副作用による脱落症例4例を加えた109例について検討した。

## 成 績

D O群の低温持続日数は、治療開始前周期(n=7)の36.1 $\pm$ 4.7 (mean $\pm$ SD)日に対し有効周期(n=34)では20.2 $\pm$ 3.9日であった。これらのうち一例は低温持続日数31日であったが、その周期に妊娠成立をみたため例外的に有効周期とした。

A O群(n=26)およびA M群(n=29)の有効周期低温持続日数は、それぞれ18.2 $\pm$ 4.0日および24.5 $\pm$ 7.8日であった。一方、高温持続日数は、D O群では治療開始前周期(n=7)の9.6 $\pm$ 1.9日に対し、妊娠例を除いた有効周期(n=26)では11.9 $\pm$ 1.7日であり、A O群(n=26)およびA M群(n=28)では、それぞれ11.8 $\pm$ 1.7日および11.6 $\pm$ 1.9日であった。

BRM単独投与2周期の周期別検討(表1)では、D O群については、有効周期は第一周期28周期中15周期、第二周期22周期中14周期であった。A O群では、有効周期は第一周期19周期中8周期、第二周期15周期中9周期であった。A M群では、有効周期は第一周期39周期中11周期、第二周期22周期中12周期であった。この成績の症例別検討(表2)では、治療周期すべて有効であった有効例は、それぞれD O群28例中13例、A O群19例中6例、A M群39例中5例であった。また治療周期により効果が一

表 3 bromocriptine 単独療法無効例に対するクロミフェン併用療法(周期別検討)

		併用第一周期 8	併用第二周期 8	総 計 16
稀 発 月 経	有 効	7 (88%)	6〔1〕(75%)	13〔1〕(81%)
	無 効	1 (13%)	2 (25%)	3 (19%)

		併用第一周期 7	併用第二周期 7	総 計 14
無排卵周期症	有 効	7 (71%)	5 (71%)	10 (71%)
	無 効	2 (29%)	2 (29%)	4 (29%)

		併用第一周期 18	併用第二周期 18	総 計 36
第 1 度無月経	有 効	11 (61%)	12〔1〕(67%)	23〔1〕(64%)
	無 効	7 (39%)	6 (33%)	13 (36%)

		併用第一周期 33	併用第二周期 33	総 計 66
総 計	有 効	23 (70%)	23〔2〕(70%)	46〔2〕(70%)
	無 効	10 (30%)	10 (30%)	20 (30%)

〔 〕内は妊娠症例数

表 4 bromocriptine 単独療法無効例に対するclomiphene citrate 併用療法(症例別検討)

		有 効	やや有効	無 効
稀 発 月 経	8 (挙児希望 6)	6〔1〕(75%)	1 (13%)	1 (13%)
無排卵周期症	7 (挙児希望 5)	5 (71%)	0	2 (29%)
第 1 度無月経	18 (挙児希望 7)	11〔1〕(61%)	1 (5%)	6 (33%)
総 計	33 (挙児希望 18)	22〔2〕(67%)	2 (6%)	9 (27%)

〔 〕内は妊娠症例数

定でなかったやや有効例は、それぞれDO群 4例、AO群 6例、AM群 11例であった。第一周期が無効でありながら第二周期以降に有効周期があった症例は、それぞれDO群 9例中 2例、AO群 8例中 4例、AM群 11例中 5例であった。一方、第一周期が有効でありながら第二周期以降に有効周期のなかった症例はそれぞれDO群 13例中 1例、AO群 7例中 1例、AM群 11例中 2例であった。単独療法中の妊娠症例は、挙児希望のあった 64例 (DO群 24例、AO群

15例、AM群 25例)のうち、DO群 8例、AM群 1例の総計 9例 (妊娠率 14%)であった。これら妊娠例はDO群が全例有効例、AM群がやや有効例で、妊娠成立周期は第一周期 2例、第二周期 5例、第三周期 2例であった。

BRM単独療法無効例にCC併用療法をおこなったが(表 3)、DO群では併用第一周期 8周期中 7周期、併用第二周期 8周期中 6周期に有効であった。AO群については、併用第一周期 7周期中 5周期、

表1 bromocriptine 単独療法 (周期別検討)

		第一周期 28	第二周期 22	総計 50
稀発月経	有効	15〔2〕(54%)	14〔4〕(64%)	29〔6〕(58%)
	無効	13 (46%)	8 (36%)	21 (42%)
		第一周期 19	第二周期 15	総計 34
無排卵周期症	有効	8 (42%)	9 (60%)	17 (50%)
	無効	11 (58%)	6 (40%)	17 (50%)
		第一周期 39	第二周期 22	総計 61
第1度無月経	有効	11 (28%)	12〔1〕(55%)	23〔1〕(38%)
	無効	28 (72%)	10 (45%)	38 (62%)
		第一周期 86	第二周期 59	総計 145
総計	有効	34〔2〕(40%)	35〔5〕(59%)	69〔7〕(48%)
	無効	52 (60%)	24 (41%)	76 (52%)

〔 〕内は妊娠症例数

表2 bromocriptine 単独療法 (症例別検討)

		有効	やや有効	無効
稀発月経	28 (挙児希望24)	13〔8〕(46%)	4 (14%)	11 (39%)
無排卵周期症	19 (挙児希望15)	6 (32%)	6 (32%)	7 (37%)
第1度無月経	39 (挙児希望25)	5 (13%)	11〔1〕(28%)	23 (59%)
総計	86 (挙児希望64)	24〔8〕(28%)	21〔1〕(24%)	41 (48%)

〔 〕内は妊娠症例数

併用第二周期7周期中5周期に有効であった。またAM群については、併用第一周期18周期中11周期、併用第二周期18周期中12周期に有効であった。この成績の症例別検討(表4)では、併用治療周期すべて有効であった有効例は、それぞれDO群8例中6例、AO群7例中5例、AM群18例中11例であった。また治療周期により効果が一定でなかったやや有効例は、それぞれDO群1例、AM群1例であった。併用療法中の妊娠症例は、挙児希望のあった18例(DO群6例、AO群5例、AM群7例)のうち、DO群1例、AM群1例の総計2例(妊娠率11%)で、これら妊娠例はいずれも有効例で妊娠成立

周期は第二周期であった。さらに総症例(単独療法無効であったがCC併用療法をおこなわなかったDO群3例、AM群5例を除く)に対する、単独療法またはCC併用療法の有効例・やや有効例はそれぞれDO群25例中24例、AO群19例中17例、AM群34例中28例であった。

治療開始前血清ホルモン測定値(表5)の検討では、PRL値は、単独無効・併用無効例(n=8)、単独無効・併用有効例(n=21)のそれぞれ11.0±2.8ng/ml(5.9~15.0ng/ml)、11.8±5.4ng/ml(3.0~23.0ng/ml)に比較し、単独有効例(n=22)は14.0±5.1ng/ml(3.0~23.3ng/ml)と高値傾向を示し

表5 brnmocriptine 単独療法開始前検査値

		単独療法有効例	単独療法無効例	
			併用療法有効例	併用療法無効例
基礎値	PRL (ng/ml)	14.0±5.1 (n=22)	11.8±5.4 (n=21)	11.0±2.8 (n=8)
	LH (miu/ml)	22.3±8.9 (n=22)	22.8±11.3 (n=21)	23.6±12.0 (n=8)
	FSH (miu/ml)	11.0±3.0 (n=22)	9.1±2.6 (n=21)	10.1±2.5 (n=8)
	testosterone (ng/ml)	0.6±0.3 (n=22)	0.7±0.2 (n=21)	0.7±0.4 (n=8)
LH-RH 100 $\mu$ g TRH 500 $\mu$ g 混合静注30分後測定値	PRL (ng/ml)	102.2±32.0 (n=14)	81.7±36.7 (n=6)	
	PRL 増加率 (%)	703±267 (n=14)	628±238 (n=6)	
	LH (%)	108.2±63.0 (n=22)	117.2±68.3 (n=21)	110.6±89.6 (n=8)
	LH 増加率 (%)	501±282 (n=22)	514±515 (n=21)	422±189 (n=8)
	FSH (miu/ml)	20.0±5.3 (n=22)	18.3±4.9 (n=21)	16.3±6.8 (n=8)
	FSH 増加率 (%)	188±49 (n=22)	200±62 (n=21)	165±41 (n=8)

たが有意差は認められなかった。また妊娠例 (n=9) の PRL 値も 15.0±5.7ng/ml (6.3~22.0ng/ml) と高値を示したが単独無効例に比較し有意差は認められなかった。一部の症例についておこなった LH-RH 100 $\mu$ g および TRH 500 $\mu$ g 混合静注 30 分後 PRL 値および増加率は、それぞれ単独無効・併用有効例 (n=6) の 81.7±36.7 ng/ml, 628±238% に比較し、単独有効例 (n=14) は 102.2±32.0ng/ml, 703±267% と高値傾向を示したが有意差は認められなかった。このほか testosterone, LH-RH 100 $\mu$ g 静注負荷前および 30 分後の FSH, LH 各測定値および増加率についても検討したが、単独有効例、単独無効・併用有効例、単独無効・併用無効例ともほぼ同様の値を示していた。

単独療法 2 周期後 (併用療法開始前) 血清ホルモン測定値 (表 6) の検討では、PRL 値が単独有効例 (n=7) の 7.4±5.0ng/ml および単独無効・併用有効例 (n=10) の 8.1±4.0ng/ml に比較し、単独無効・併用無効例 (n=4) は 4.4±1.2ng/ml と低値傾向が認められた。また負荷後 PRL, LH の各測定値および増加率は、単独無効例に比較し単独有効例で低

値を示す傾向が認められた。このほかの項目についてはほぼ同様の値であった。

副作用は、嘔気、嘔吐、便秘、目暈、その他の各症状がそれぞれ 32 例、15 例、9 例、5 例、3 例に認められ、なんらかの副作用を訴えた症例が 109 例中 36 例あった。このうち嘔気、嘔吐による脱落症例が 4 例にあったが、このほかの症例は症状が軽度で継続服用が可能であった。

## 考 察

正 PRL 血性排卵障害に対する BRM 療法は、潜在性高プロラクチン血症 [1] [2] [3] や一過性高 PRL 血症 [4] の病態が明らかにされ、また CC 療法無効例にも BRM 併用療法が有効であるとする報告 [5] [6] も多く、臨床上有用と考えられる。しかしながら、実地臨床においては PRL 値さらには TRH テストによっても判別不能な症例が多く、症例選択には一定の見解が得られていない。

今回の検討において、DO 群、AO 群では月経周期 28 日以内に、AM 群では 56 日以内に排卵の認められる周期を有効周期としたが、DO 群、AO 群、

表 6 bromocriptine 単独療法後 (併用療法開始前) 検査値

		単独療法有効例	単 独 療 法 無 効 例	
			併用療法有効例	併用療法無効例
基 礎 値	PRL (ng/ml)	7.4±5.0 (n=7)	8.1±4.0 (n=10)	4.4±1.2 (n=4)
	LH (miu/ml)	19.4±6.4 (n=8)	25.4±12.1 (n=10)	22.1±13.4 (n=5)
	FSH (miu/ml)	10.6±3.2 (n=8)	9.5±4.5 (n=13)	10.1±1.1 (n=5)
	testosterone (ng/ml)	0.6±0.2 (n=8)	0.6±0.2 (n=13)	0.6±0.3 (n=5)
LH-RH 100 $\mu$ g TRH 500 $\mu$ g 混合静注30分後測定値	PRL (ng/ml)	27.9±39.4 (n=5)	78.8 (n=2)	
	PRL増加率 (%)	243±172 (n=5)	421 (n=2)	
	LH (miu/ml)	71.8±24.6 (n=8)	108.8±71.1 (n=10)	111.6±94.6 (n=5)
	LH増加率 (%)	403±167 (n=8)	430±224 (n=10)	460±166 (n=5)
	FSH (miu/ml)	18.1±4.6 (n=8)	15.4±6.3 (n=13)	17.2±2.2 (n=5)
	FSH増加率 (%)	175±31 (n=8)	162±98 (n=13)	172±29 (n=5)

AM群の有効周期低温持続日数は正常周期より遅延していたが、DO群では治療開始前周期に比較し約2週間短縮していた。一方、有効周期高温持続日数は、稀発月経では治療開始前周期の9.6±1.9日に対し、有効周期では11.9±1.7日とやや延長する傾向にあり、黄体機能不全にもBRM療法が有効とする報告〔7〕〔8〕〔9〕に一致すると考えられた。

BRM単独療法の有効率(表1)は、治療開始第一周期のDO群54%、AO群42%、AM群28%に対し、第二周期ではDO群64%、AO群60%、AM群55%であった。第一周期と第二周期では有効率が10~20%増加していたが、これは単独療法が1周期のみだった症例に無効例が多かった可能性があり、必ずしも投与期間の延長により有効率が高まるとは考えられなかった。第一周期・第二周期総計での有効率はDO群58%、AO群50%、AM群38%であった。第三周期以降での有効率はDO群50%、AO群67%、AM群80%と特にAM群で高率であったが、第一周期、第二周期の無効例はCC併用療法に切り替えているためであり、これも投薬期間の延長

による効果とは考えられなかった。症例別検討(表2)では、有効例はそれぞれDO群46%、AO群32%、AM群13%を占め、やや有効例も加えての有効率は、DO群61%、AO群63%、AM群41%であった。これらの成績からBRM単独療法はDO群にもっと有効で、AO群がこれに続き、AM群ではやや効果が劣ると考えられ、DO群にもっとも有効とするLouvetらの報告〔10〕に一致していた。これら症例のうち第一周期が有効でありながら第二周期以降に有効周期がなかった症例は、DO群8%、AO群14%、AM群18%と低率であった。一方、第一周期が無効でありながら第二周期以降に有効周期があった症例は、AO群50%、AM群45%に対し、DO群22%と低率であった。これらの成績から特にDO群については第一周期の治療効果判定が以後の効果予測するうえで重要な意味を持つと考えられた。単独療法中の妊娠率は14%であったが、DO群では33%と高率であった。第一周期・第二周期で7例と治療開始当初で多数の妊娠成立を認めたが、また治療終了後に妊娠成立をみた症例もあった。この

ことは、PRL値が抑制されすぎた場合にも卵巣機能が障害されるとの報告〔8〕〔11〕〔12〕との関連から興味深い。

BRM単独療法無効例にCC併用療法をおこなったが、併用第一周期の有効率はDO群88%、AO群71%、AM群61%であり、併用第二周期ではDO群75%、AO群71%、AM群67%で、併用周期総計ではDO群81%、AO群71%、AM群64%に有効であった(表3)。この成績の症例別検討(表4)では、有効例はDO群75%、AO群71%、AM群61%を占め、また併用有効例、やや有効例の総計は、それぞれDO群87%、AO群71%、AM群67%を占めていた。さらに単独療法またはCC併用療法の有効例・やや有効例が総症例に占める割合は、それぞれDO群96%、AO群89%、AM群82%と高率であり、CC単独療法との比較はできなかったが、CC単独療法無効例に併用療法が有効であるとする報告〔5〕〔6〕とも合致する良好な成績であった。

治療開始前血清ホルモン測定値(表5)の検討では、単独有効例のPRL値 $14.0 \pm 5.1$ ng/mlは単独無効例 $11.6 \pm 4.6$ ng/mlに比較し高値傾向を示したが有意差は認められず、また妊娠例のPRL値 $15.0 \pm 5.7$ ng/mlとも有意差は認められなかった。さらにLH-RH $100\mu\text{g}$ およびTRH $500\mu\text{g}$ 混合静注30分後PRL値および増加率についても、単独有効例は単独無効例に比較し高値傾向を示したが有意差は認められなかった。潜在性高PRL血症についてはTRHテストによる症例選択が可能とする報告〔13〕〔14〕もあるが、臨床例では有効例・無効例で検査値に有意差を認めないとする報告〔15〕〔16〕も多く、一定の値で適応症例をすべて決定することは、一過性高PRL血症型などの存在から困難と考えられる。

単独療法2周期後(併用療法開始前)血清ホルモン測定値(表6)の検討では、PRL値はBRM療法により低値を示したが、併用無効例では特に低値を示していた。PRL値が抑制されすぎた場合に卵巣機能が障害されるとの報告もあり、BLM投与により極端な低値を示す症例には無効例が多いと考えられた。TRH負荷後PRL値は、単独療法前後の比較で有効例は無効例に比較し反応が抑制されている傾向が認められたが、検討症例が少なかった。LHについては、Martinらは正常婦人BRM投与により軽度増加したと報告〔17〕しているが、今回の検討では $22.3 \pm 8.9$ ng/mlより $19.4 \pm 6.4$ ng/mlに減少しており、LH-RH負荷後LH値も単独療法有効例で反応が抑制されていた。この成績は、BRM作用に直接かわらない排卵に伴う性ステロイドホルモン増加の

negative feedback作用によるものと考えられた。

polycystic ovary 症候群に対するBRM療法の有効性については、有効とする報告〔18〕〔19〕〔20〕〔21〕、無効とする報告〔22〕がある。今回の検討では $\text{LH} \geq 30$ miu/ml、 $\text{FSH} < 20$ miu/ml、 $\text{testosterone} > 0.8$ ng/ml、LH-RH負荷30分後 $\text{LH} \geq 160$ miu/mlをpolycystic ovary 症候群とした場合、AO群3例(6周期)、AM群7例(11周期)にBRM単独療法をおこなったが5周期(29%)に有効で、有効例1例、やや有効例3例、無効例6例であった。この成績は比較的低い有効率であり、polycystic ovary 症候群に特に有効とは考えられなかった。

副作用については、嘔気、嘔吐、便秘、目暈、その他の各症状がそれぞれ29%、14%、8%、5%、3%に認められ、なんらかの副作用症状を訴えた症例が33%を占めた。このうち嘔気、嘔吐による脱落症例が3.7%にあったが、投薬中止により直ちに改善した。このほかの症例では症状が軽度で継続作用が可能で、便秘以外の症状は途中軽快するものが多かった。

## まとめ

正PRL血性排卵障害に対するBRM療法

- 1 治療開始第一周期の有効率は、DO群54%、AO群42%、AM群28%であった。
- 2 症例別検討では、有効例がDO群46%、AO群32%、AM群13%を占め、やや有効も加えての有効率はDO群61%、AO群63%、AM群41%であった。
- 3 妊娠成立例が挙児希望者の14%に認められ、特にDO群では33%と高率であった。
- 4 第一周期が有効でありながら第二周期以降に有効周期がなかった症例は、低率であり、一方、第一周期が無効でありながら第二周期以降に有効周期に有効周期があった症例は、DO群22%と低率であった。
- 5 単独療法開始前検査値の検討では、有効例のPRL値は無効例に比較し高値傾向を示したが、有意差は認められなかった。

以上の成績から、治療開始前検査値で適応症例を決定することは困難であったが、特にDO群では有効率が高く、また第一周期の治療効果判定が以後の効果予測するのに有用で、これらのことから挙児希望のあるDO例はBRM療法の適応と考えられた。

正PRL血性排卵障害(BRM単独療法無効例)に対するCC併用療法

- 1 周期別検討では、DO群81%、AO群71%、

AM群64%に有効であった。

- 2 症例別検討では、有効例がDO群75%、AO群71%、AM群61%を占め、やや有効例も加えての有効率はDO群87%、AO群71%、AM群67%であった。
- 3 単独療法またはCC併用療法の有効例・やや有効例はDO群96%、AO群89%、AM群82%と高率を占めた。
- 4 妊娠成立例が挙児希望者の11%に認められた。
- 5 併用療法開始前検査値の検討では、有意差は認められなかった。

以上の成績から、CC療法をおこなっても排卵一妊娠に至らないDO群、AO群、AM群の不妊婦人に對し、BRM併用療法が有用と考えられる。

本論文の要旨の一部を第20回日本不妊学会、昭和61年度日本産婦人科学会岡山地方部会において発表した。

#### 参考文献

- 1) Fertil. Steril., 36: 720, 1981.
- 2) Fertil. Steril., 37: 530, 1982.
- 3) 日内分泌会誌, 61: 38, 1985.
- 4) J. Clin. Endocr. Metab., 57: 442, 1983.
- 5) Fertil. Steril., 35: 138, 1981.
- 6) 日内分泌会誌, 58: 49, 1982.
- 7) Lancet, 1: 229, 1976.
- 8) Obstet. Gynecol., 53: 282, 1979.
- 9) 日内分泌会誌, 62: 117, 1986.
- 10) 第11回FIGO report of Sandoz, 7, 1985.
- 11) Am. J. Obstet. Gynecol., 132: 561, 1978.
- 12) ホと臨 35: 159, 1987.
- 13) 日不妊会誌, 29: 409, 1984.
- 14) 日産婦誌, 39: 586, 1987.
- 15) 産婦の世界, 37: 1097, 1985.
- 16) 日産婦誌, 38: 2223, 1986.
- 17) J. Clin. Endocr. Metab., 52: 650, 1981.
- 18) Fertil. Steril., 41: 569, 1984.
- 19) Obstet. Gynecol., 64: 213, 1984.
- 20) Clin. Endocrinol., 20: 481, 1984.
- 21) ホと臨 35: 149, 1987.
- 22) J. Clin. Endocr. Metab., 63: 119, 1986.

Bromocriptine therapy for normo-prolactinemic ovarian insufficiency

Nobuyoshi Hayashi<sup>1)</sup>, Nobutaka Yoshida<sup>1)</sup>,

Teruhisa Akimoto<sup>2)</sup>, Motohiro Hongoh<sup>3)</sup>,  
Shunsuke Katayama<sup>4)</sup>, Hiroshi Ito<sup>5)</sup>,  
Ethuko Okada<sup>6)</sup>, Junji Shimizu<sup>7)</sup>,  
Kyoichi Miyano<sup>8)</sup>, Yoshiaki Nanba<sup>9)</sup>,  
Toru Mori<sup>10)</sup>, Nobuo Kubo<sup>11)</sup>,  
Takashi Mori<sup>12)</sup>, Masanori Kawamoto<sup>13)</sup>,  
Ryoji Motomori<sup>14)</sup>, Kaoru Sekiba<sup>1)</sup>

- 1) Okayama University Medical School
- 2) Okayama Saiseikai General Hospital
- 3) Okayama Red Cross General Hospital
- 4) Tsuyama Central Hospital
- 5) Osaka Sumitomo Hospital
- 6) National Fukuyama Hospital
- 7) Fukuyama Shimin Hospital
- 8) Chugoku Demryoku Canpany Hospital
- 9) Hiroshima Teishin Hospital
- 10) National Iwakuni Hospital
- 11) Kagawa Prefecture Central Hospital
- 12) Ehime Prefecture Central Hospital
- 13) Mathuyama Shimin Hospital
- 14) Kochi Prefecture Central Hospital

Bromocriptine 5 mg/day was administered for 2 menstrual cycles in 28 cases with oligomenorrhea (DO group) of serum prolactin levels under 25 ng/ml, 19 cases with anovulomenorrhea (AO group) and 39 cases with amenorrhea of the first grade. Eight cases in DO group, 7 cases in AO group and 18 cases in AM group, all of which did not respond to bromocriptine mono-therapy, were treated with bromocriptine in combination with clomiphene citrate for further 2 menstrual cycles.

Bromocriptine mono-therapy was effective in 58% of DO group, 50% of AO group and 38% of AM group in an analysis by menstrual cycle, while effective rates were 46%, 32% and 13% of DO, AO, and AM groups respectively in an analysis by case. Fourteen per cent of 64 cases who desired for child bearing succeeded in pergnancy. Pergnancy rate was high in DO group, showing 33% (24 cases). These results suggest that cases who want babies in DO group are indicated for mono-Therapy with bromocriptine.

Combined therapy was effective in 81%, 71% and 64% of DO, AO and AM groups respectively in an analysis by menstrual cycle, while the effective rates were 75%, 71% and 61% of respective group in an analysis by case. These evidences suggest that combined therapy is recommended for cases which do not respond to clomiphene mono-therapy.

(受付: 昭和62年7月16日)

# 正プロラクチン血症性不妊患者における Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH)負荷試験の意義

Prolactin Secretion induced by Thyrotropin-  
Releasing Hormone (TRH) in Normo-  
Prolactinemic Infertile Women.

三重大学医学部産科婦人科学教室

山本 稔彦	中 義尚	豊田 長康
Toshihiko YAMAMOTO	Yoshihisa NAKA	Nagayasu TOYODA
浜口 元昭	西山 真人	中 淳
Motoaki HAMAGUCHI	Masato NISHIYAMA	Atsushi NAKA
山脇 孝晴	野村 浩史	杉山 陽一
Takaharu YAMAWAKI	Hiroshi NOMURA	Youich SUGIYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Mie University School of Medicine.

内分泌不妊外来を訪れた患者のうち、PRL基礎値が正常(25 ng/ml以下)である者を対象として、thyrotropin-releasing hormone (TRH) 負荷試験を施行し、PRL分泌動態の特徴を解析した。

1) コントロール群 (n=32) におけるPRLの動態では、基礎値: 13.4±5.6ng/ml (mean±SD), 15分値: 119.8±41.4ng/ml, 30分値: 100.2±34.2ng/ml, 60分値: 56.1±20.7ng/ml, 90分値: 35.8±15.8ng/ml, 120分値: 23.8±9.7ng/mlであった。

2) 正PRL血症性無排卵周期婦人 (n=26) では、その反応性から、①過剰反応群、②正常反応群、③低反応群に大別されることがわかった。

3) TRH過剰反応 (n=2) について、PRLの日内を変動を検討したところ、夜間高PRL血症を来していることがわかった。しかし、本例におけるlactropeのTRHに対する感受性自体は、夜間に亢進していないことがわかった。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 346-352, 1988)

## 緒 言

近年、prolactin (PRL) の分泌亢進が排卵障害の原因として脚光を浴び、dopamine agonistであるbromocriptineの臨床応用がなされてきている。

高PRL血症の診断には、安静時30 ng/ml以上(境界域: 25~30 ng/ml)という基準が一般的に受け入れられてきているが、PRLの分泌は、種々の刺激により容易に変動し、安静時のone point assayだ

けでは、その分泌状態を的確に把握しているとは言い難い。したがって、one point assayにより高PRL血症を見出し得ない正常PRL血症性不妊患者に対してもbromocriptineの投与が試みられ、現在まで、ある程度の効果を上げてきている。

しかし、本剤が嘔気・嘔吐などの副作用を有し、患者に経済的負担をかけることを考えると、その投与開始前に、有効と思われる症例を、あらかじめスクリーニングすることが望ましい。

そこで我々は、三重大学医学部付属病院産婦人科・内分泌不妊外来を訪れた患者のうち、PRL基礎値が正常 (25 ng/ml 以下) である者を対象として、thyrotropin-releasing hormone (TRH) 負荷試験を施行し、PRL分泌動態の特徴を解析した。

対象ならびに方法

1. TRH負荷試験の施行方法

基礎体温が二相性を示し、黄体期中期の血中 progesterone 値が 10ng/ml 以上であった正常排卵性周期婦人 32 例 (年齢: 27 ± 5 歳) をコントロール群とし、無排卵周期婦人 26 例 (年齢: 29 ± 7 歳) を対象とした。なお、乳汁漏のある者、薬剤を服用している者については、検索対象から除外した。負荷試験は、原則として月経周期 7 ~ 9 日目に以下のごとく行った。

前夜より絶食とし、検査当日の午前 10 時に翼状針にて負荷前の採血を行い、直ちに生理食塩水 8ml で希釈した TRH250µg (田辺製薬製) を 2 分間かけて静注負荷した。負荷後各々 15 分, 30 分, 60 分, 90 分, 120 分に採血し、分離した血清はホルモン測定まで

-20°C にて凍結保存した。

2. PRL分泌の日内変動に関する検討

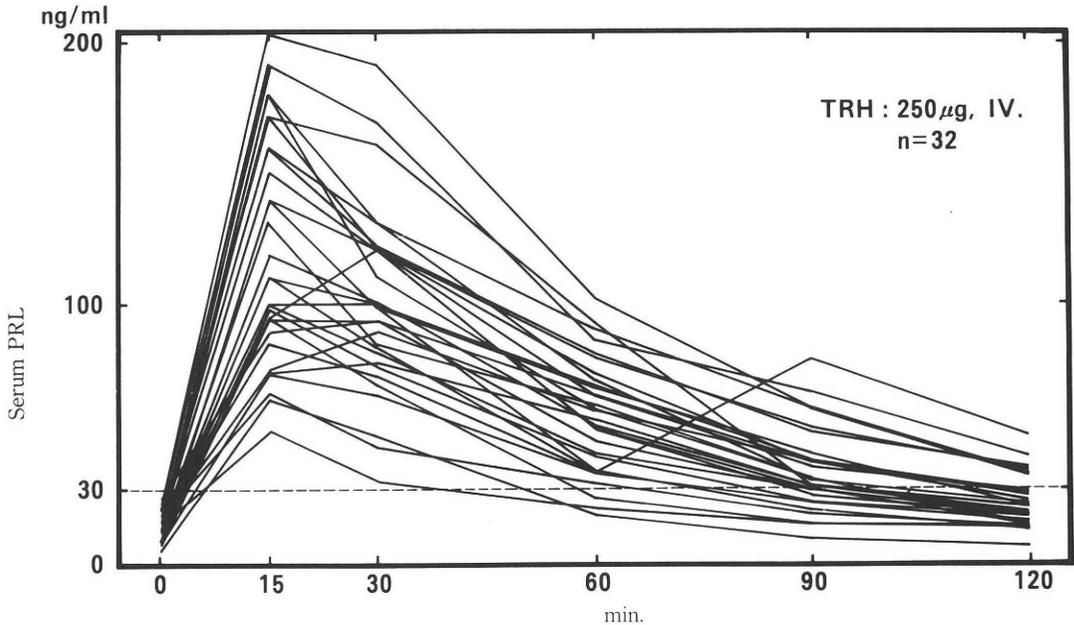
TRH負荷試験に対しての過剰反応を呈することが、果してPRL分泌の不安定性 (lability) を的確に反映し得るかを否かを検討するため、TRH過剰反応例 (2例) につき、月経周期 8 日目に、2 時間毎に肘静脈より採血し、PRL分泌の日内変動を検討した。なお、TRHに対して正常反応を示した 2 例を対照としたが、いずれも午後 9 時に就床させることによって測定条件を一定とした。

3. 夜間におけるTRH反応性に関する検討

Lactotrope の TRH に対する反応感受性が、昼・夜間において相違するか否かを明かにするため、TRH負荷試験で過剰反応を呈した前述の 2 例について、深夜 24 時に TRH (250µg) 負荷試験を行い、通常の負荷試験 (午前 10 時施行) との差意を検討した。

4. ホルモン測定

PRLの測定は、第一ラジオアイソトープ社製RIAキットを用いて行った。



	Before Inj.	15min.	30min.	60min.	90min.	120min.
Mean ± S.D. (ng/ml)	13.4 ± 5.6	119.8 ± 41.4	100.2 ± 34.2	56.1 ± 20.7	35.8 ± 15.8	23.8 ± 9.7

図 1. TRH test in ovulatory women. Thirty-two women who had normal ovulatory cycles (with bi-phasic BBT, without luteal insufficiency, mid-luteal progesterone ≥ 10ng/ml) were chosen as the control.

After obtaining the pre-loading blood sample (0min.), 250µg of TRH was administered intravenously. Time courses of the responsiveness were studied from 15min. to 120min. after the TRH stimulation.

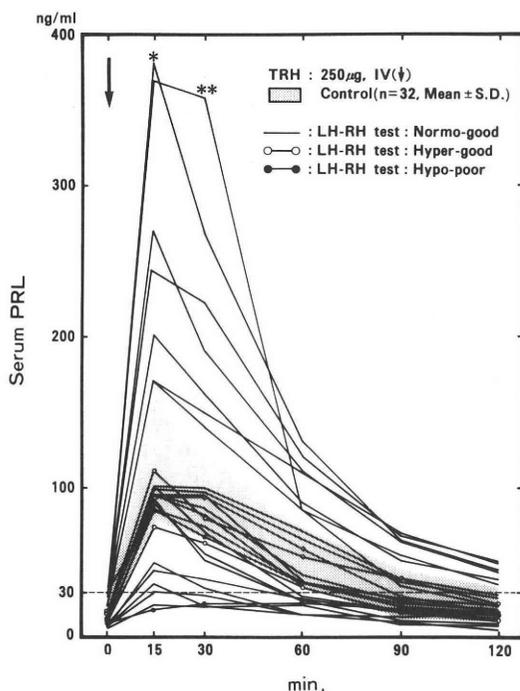


図2. TRH test in anovulatory women.

Twenty-six women who had anovulatory cycles were assigned to the TRH test. Their pre-loading PRL values were less than 25ng/ml.

The shadowed area represents normal ranges (mean±SD of the control).

## 成績

### 1. コントロール群における検討成績

コントロール群のPRL基礎値は7.2~25.0ng/mlの範囲に分布し、その平均値は13.4±5.6ng/ml (mean±SD)であった。

32例中28例が、負荷後15分にピークを示し、その値は119.8±41.4ng/mlであった。以後、30分値: 100.2±34.2ng/ml, 60分値: 56.1±20.7 ng/ml, 90分値: 35.8±15.8 ng/ml, 120分値: 23.8±9.7ng/mlと漸減し、負荷後2時間には6例を除き30 ng/ml以下に復帰した(図1)。

### 2. 無排卵性周期婦人における検討成績

今回検討した無排卵性周期婦人26例の内訳は、LH-RH負荷試験の検討成績から、視床下部性無排卵症21例、下垂体性無排卵症2例、卵巣性無排卵症3例であった。図2に個々の症例の検討成績を示した

が、おおむね正常域(シャドウで示したコントロール群のmean±SD域)に留まる群と、明らかに過剰反応を呈する群と、逆に低反応を呈する群に大別できる傾向を示した。

しかしながら、LH-RH負荷試験におけるgonadotropinの分泌動態とは直接的な関連を見出すことができなかった。

### 3. PRL測定値で形成される面積に関する検討成績

TRH負荷試験施行時の各PRL測定値によって形成される面積Sは、TRHにより惹起されるlactotropeからのPRL分泌増加量を反映していると考えられる。そこで、今回検討し得た58例について、この面積Sを求め、各PRL測定値との相関関係を検定した。

図3に示すごとく、面積SはいずれのPRL測定値とも有意に( $P < 0.001$ )相関したが、相関係数(r)から見る限り、負荷後15分値、30分値がとりわけ良好であることがわかった。

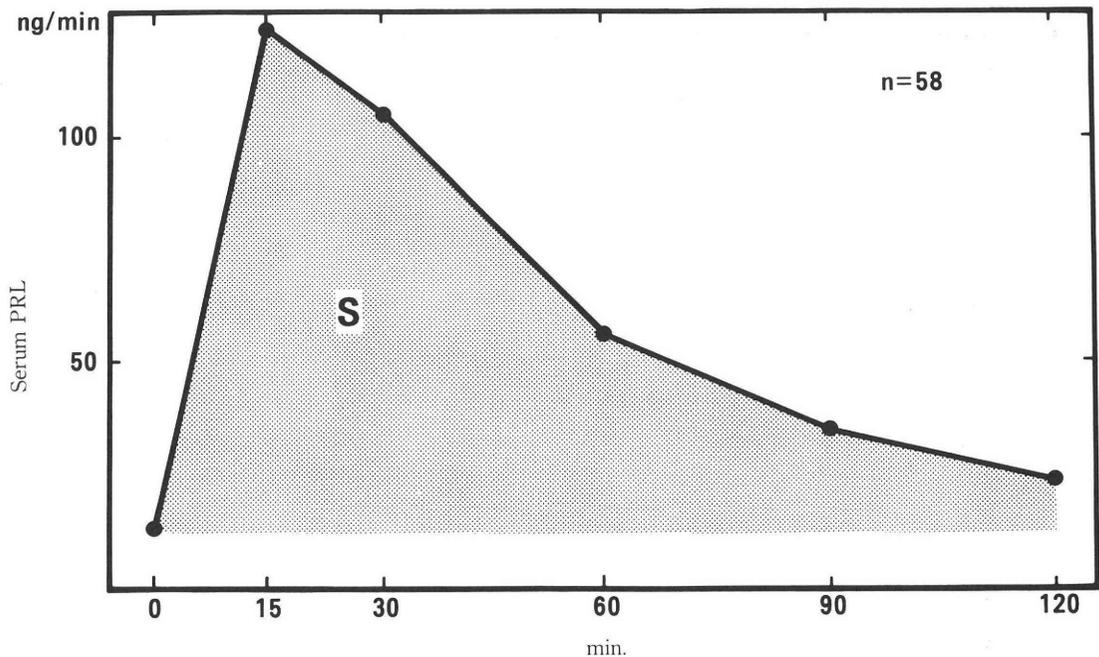
### 4. TRH過剰反応例におけるPRL日内変動の検討成績

TRHに対して過剰反応を呈した2例(図2の\*および\*\*例:ピーク値380ng/mlおよび370ng/ml)につき、2時間毎に血清PRL値の日内変動を検討した結果、明らかな夜間高PRL血症を認めた(図4)。すなわちコントロールの2例(図4下段)では、いずれの時間帯においても、血清PRL値が30 ng/ml以上になることはなかったが、TRH過剰反応(図4上段)では、就寝まで30 ng/ml以下に留まるものの、深夜24時にピークを形成し、その値は93 ng/ml(\*例)および82 ng/ml(\*\*例)と高値であった。

### 5. 深夜におけるTRH負荷試験の検討成績

PRL日内変動を検討したTRH過剰反応例(2例)について、深夜24時にTRH(250µg)負荷試験を行い、午前10時における検討成績と比較した。なお、夜間のTRH負荷試験については、睡眠障害のことを考慮して、負荷前、負荷後15分、30分の採血にて検査を打ち切った。

図5右に示すように、深夜24時における負荷前値は、各々98 ng/ml, 72ng/mlと潜在性夜間高PRL血症であることを示したが、TRH負荷後の血清PRL値の推移は、午前中の負荷試験の場合(図5左)と比較して、1例(○—○)では、ほぼ同等の反応性を示し、他の1例(●—●)では、むしろ反応性が低下した。したがって、lactotropeのTRHに対する感受性が、夜間に亢進するとは考え難いことがわかった。



	15min	30min	60min	90min	120min
S	r = 0.941*	r = 0.945*	r = 0.889*	r = 0.816*	r = 0.752*

\* p < 0.001

図 3. Correlation coefficients (PRL value vs. area [S]).  
It is supposed that the areas formed by PRL values (shown as [S]) correlate with the net PRL production stimulated by TRH.

Correlation coefficients between the area [S] and the individual PRL value were calculated to determine the most reliable single assay point.

### 考 察

PRL は分子量約 22 kDa の単純蛋白であるが<sup>1)</sup>, その下垂体前葉 lactotrope からの分泌は, 視床下部由来の PIF (PRL-Inhibiting Facotrs) と PRF (PRL-Releasing Factors) の均衡により調節されている。

PIF の主体は dopamine であるが, 近年 LH-RH の prohormone の一部 (fragment) に PIF 活性が存在することがわかり, 脚光を浴びてきている<sup>2,3)</sup>。

PRF 活性を有する物質としては, TRH の他に vasoactive intestinal peptide (VIP), angiotensin II, serotonin, histamine, substance P など<sup>4)</sup>が知られているが, 一般的に負荷試験として臨床応用がなされているのは TRH である。これは, TRH 自体が 3 個のアミノ酸から成り (tripeptide) 合成が容易であることと, 静注負荷しても副作用が比較的少ないことによると考えられる。

今回我々は 250 $\mu$ g/回の TRH を用いたが, コントロール群のピーク値が負荷前値の平均 9 倍増加していることから, 負荷量としては十分であったと考えられる。500 $\mu$ g を負荷した報告も見受けられる<sup>5)-7)</sup>, より微妙な PRL 分泌反応性を見出すためにも, 尿量・陰部異和感, 熱感, 悪心・嘔気等の副作用を軽減するためにも, むしろ投与量は少ない方が良いと考えられる。

TRH 負荷試験施行時の PRL 測定によって形成される面積 S と各測定値との関係を解析した結果, いずれの測定値も TRH により惹起される PRL 分泌増加量を反映していると考えられた。とりわけ負荷後 15 分値, 30 分値の相関係数が良好なことから, 患者の拘束時間を短縮し, しかも外来診療の省力化を計るためには, 負荷前値とピーク値 (負荷後 15 分値) を比較検討することで十分であると考えられた。

今回検討した正 PRL 血症無排卵周期婦人例 (PRL 基礎値 < 25ng/ml) には, LH-RH test の成績

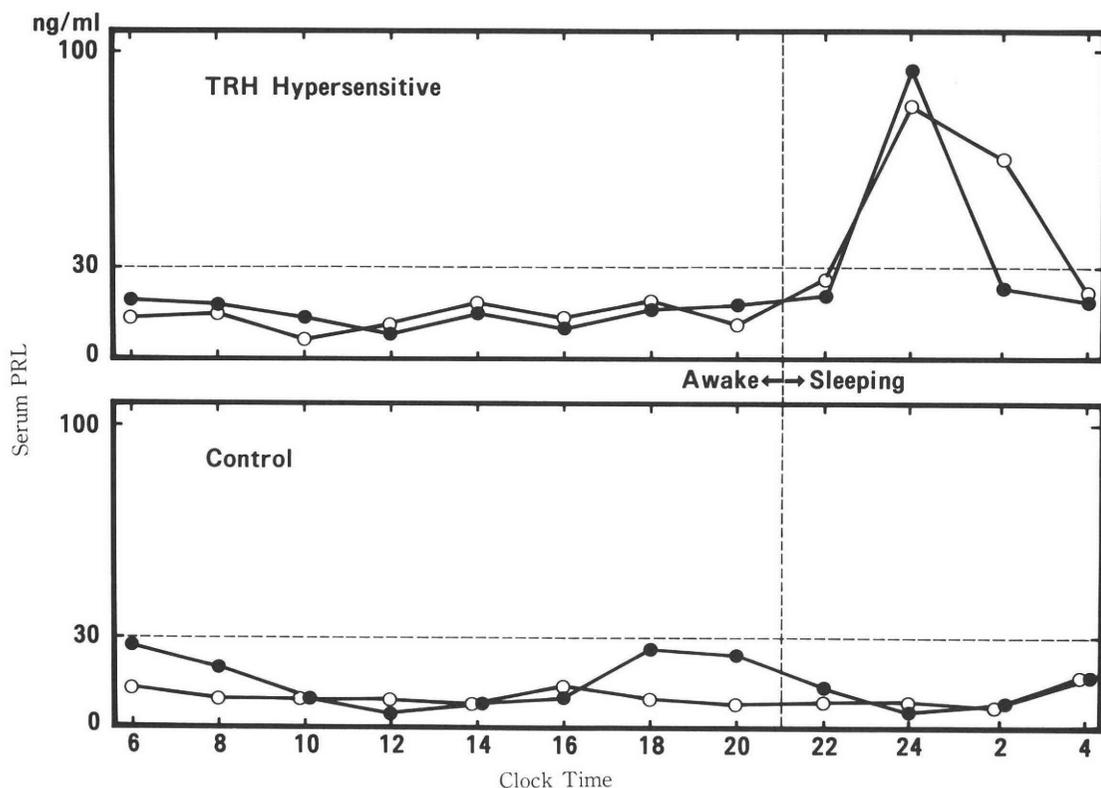


図4. Circadian profiles of prolactin secretion. Circadian rhythms of PRL secretion were investigated in two normo-prolactinemic anovulatory women who showed hyper-

reactivity to TRH (upper panel) and two control women who had ovulatory cycles and normo-reactivity to TRH (lower panel).

から視床下部障害と考えられる症例が多かったが、TRH負荷試験の結果、PRL反応性には①過剰反応群、②正常反応群、③低反応群の3群が存在することがわかった。さらに、過剰反応群についてPRLの日内変動を検討したところ、夜間高PRL血症を来していることがわかった。

この潜在性夜間高PRL血症の原因を探るために、深夜24時においてTRH負荷試験を施行したが、lactotropeのTRHに対する感受性は夜間に亢進するとは考え難い結果であった。したがって、この原因としては、dopamineを中心とするPIFの変動がより優位に関与していると考えるのが妥当なのかもしれない。

今回PRLの日内変動等を詳細に検討し得た2例のTRH過剰反応例のうち、1例は拳児希望が無くなったために治療を中止したが、他の1例はbromocriptine単独投与により妊娠の成立を認め、生児を得ている。

以上の結果から、TRH負荷試験を施行することにより、PRL分泌のlability、殊に滞在性夜間高PRL血症をスクリーニングできる可能性が示唆された。したがって、PRL基礎値が正常である正PRL血症無排卵症に対して、ただ闇雲にbromocriptineを投与するのではなく、TRH負荷試験の結果を参考にして方針を決定することが望ましいと考えられる。

Bromocriptineの投与の適応基準の詳細については、さらに症例を重ねて検討する必要があるが、現時点では—①TRH負荷試験のピーク値が160ng/mlを越える過剰反応群に対しては、bromocriptine療法を第一選択とする。②それ以下の正常反応群に対しては他の療法を優先するが、効果不良の際には漸次bromocriptineの療法を加味する。③TRH低反応群に対しては他の療法を適用し、bromocriptineの投与は差し控える—のが妥当ではないかと暫定的に考えている。

PRLは、測定キットの種類によってその絶対値

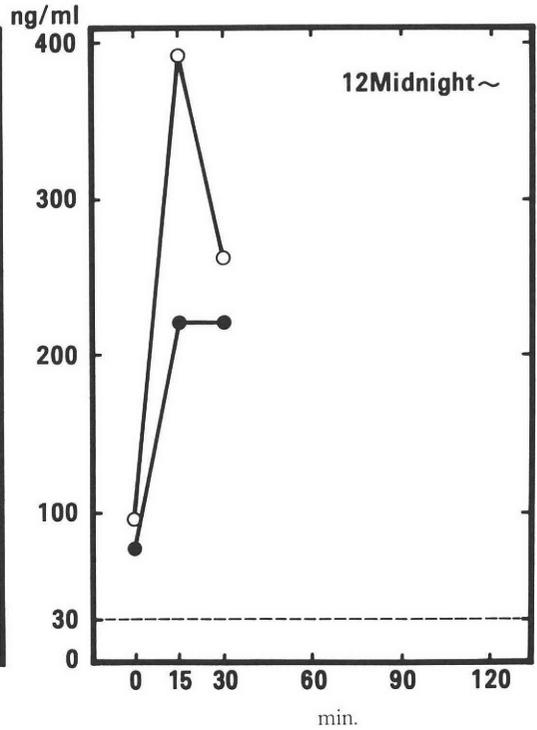
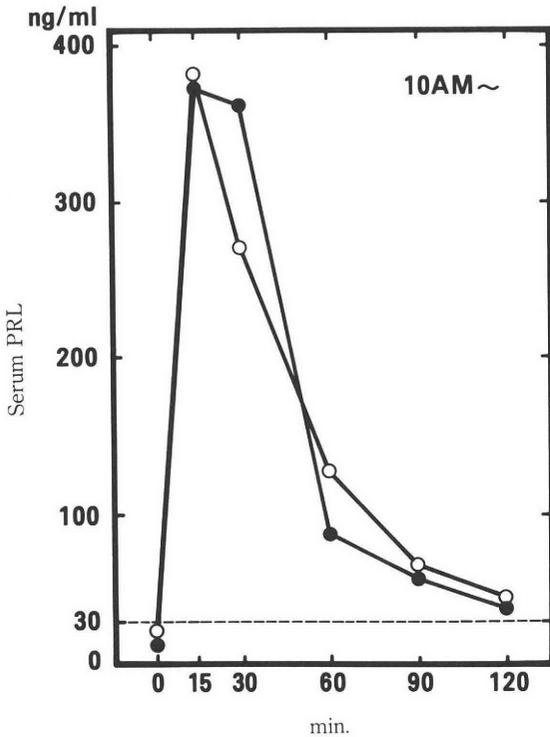


図5. Daytime TRH test and midnight TRH test. Two women who had hyper-reactivity to TRH and nocturnal hyperprolactinemia were assigned to midnight TRH test. 250 $\mu$ g

of TRH was administered intravenously at 24-h midnight. Blood samples were obtained at 0min., 15min. and 30min., then the test was discontinued not to disturb their sleep.

が変動すること<sup>8)-10)</sup>, さらに存在様式自体が多様性 (heterogeneity) を示すことが知られている。

すなわち, 通常の“little” PRL (分子量~22 kDa) の他に“big” PRL (分子量~50kDa) および“big-big” PRL (分子量~100kDa) が存在し, これらは受容体結合能が低いが, S = S 結合の還元により“little” PRL に変換され, 抗ゴナドトロピン作用を発揮すること, “glycosylated” PRL (分子量~25kDa) は, 血中濃度が“little” PRL より高いにも拘らず, 抗原性が弱いことなどが知られている<sup>11,12)</sup>。

今回の検討成績はあくまでも第一ラジオアイソトープ社製RIAキットを使用したものであり, 他の測定キットを用いれば, 当然測定値が変化するものと考えられる<sup>8)-10)</sup>。したがって, さらに正確な治療基準を設定するためには, 多施設間において, 同一測定系を用いた詳細な比較検討が必要となるであろう。

また, 今後はPRLの変動をただ単に量的に促えるだけでなく, 質的に追求することも興味ある課題となるであろう。

(本論文の要旨は, 12th World Congress on Fertility and Sterility, Singapore, 1986.において報告した.)

文 献

- 1) Lewis, U. J., Singh, R. N. P., and Seavey, B. K.: Human prolactin: Isolation and some properties. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 44: 1169-1176, 1971.
- 2) Nikolics, K., Mason, A. J., Szonyi, E., Ramachandran J., and Seeburg, P. H.: A prolactin-inhibiting factor within the precursor for human gonadotropin-releasing hormone. *Nature*, 316: 511-517, 1985.
- 3) Phillips, H. S., Nikolics, K., Branton, D., and Seeburg, P. H.: Immunocytochemical localization in rat brain of a prolactin releasing-inhibiting sequence of gonadotropin-releasing hormone prohormone. *Nature*, 316: 542-545, 1985.
- 4) Leong, D. A., Frawley, L. S., and Neill, J. D.: Neuroendocrine control of prolactin secretion. *Ann. Rev. Physiol.* 45 :109-127, 1983.
- 5) 佐藤昭雄, 日野理彦: 甲状腺機能異常症における

Prolactin 分泌能に関する研究,  
医療, 35: 711-716, 1981

- 6) Sternbach, H., Gerner, R. H., and Gwirtsman, H. E.: The thyrotropin releasing hormone stimulation test: A review. J. Clin. Psychiatry, 43: 4-6, 1982.
- 7) 加藤広英, 新部哲雄, 正岡 薫, 熊坂高広: 潜在性高 prolactin (PRL) 血症における Bromocriptine と Clomid の排卵効果. ホと臨, 32: 969-973, 1984.
- 8) 青野敏博, 小泉 清, 池上博雅: プロラクチンの R I A におけるキット間および施設間の測定値の比較. ホと臨, 34: 203-208, 1986.
- 9) 森 宏之, 合坂幸三, 松岡 良: プロラクチン測定値の評価. 産と婦, 53: 1208-1214, 1986.
- 10) 浜口元昭, 山本稔彦, 中 義尚, 山脇孝晴, 野村浩史, 豊田長康, 中 淳, 西山真人, 杉山陽一: 単クローン性抗体を用いた Enzyme Immunoassay (EIA) によるプロラクチンの測定. 産と婦, 54: 1567-1571, 1987.
- 11) Yen, S. S. C.: Prolactin in human reproduction. in Reproductive Endocrinology 2nd ed.(ed. by Yen, S. S. C. and Jaffe, R. B.), W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1986.
- 12) 石丸忠之, 森 広康, 黄 宏駿, 今道節夫, 森崎正幸, 河野前宣, 吉田京子, 今村貞臣, 山辺 徹: 正常プロラクチン血症無排卵症に対する Bromocriptine (CB-154) の意義について, 日産婦誌, 32: 1583-1590, 1980.

Prolactin secretion induced  
by thyrotropin releasing hormone  
(TRH) in normo-prolactinemic  
Infertile women.

Toshihiko Yamamoto, Yoshihisa Naka,  
Nagayasu Toyoda, Motoaki Hamaguchi,

Masato Nishiyama, Atsushi Naka,  
Takaharu Yamawaki, Hiroshi Nomura  
and Youichi Sugiyama

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Mie University School of Medicine

To pick up infertile patients with labile prolactin (PRL) secretion, fifty-eight normo-prolactinemic women without galactorrhea were assigned to a loading-test with 250 $\mu$ g of TRH and 100 $\mu$ g of LH-RH. PRL and gonadotropins were measured by radio-immunoassay. The circadian rhythm of PRL secretion and midnight responsiveness to TRH were also investigated in hyper-reactive patients to the ordinary TRH stimulation.

Results were as follows: 1) Responsiveness of PRL in normal women with ovulatory cycles (n=32): 13.4 $\pm$ 5.6ng/ml (before loading, mean $\pm$ SD), 119.8 $\pm$ 41.4ng/ml (15min.), 100.2 $\pm$ 34.2ng/ml (30min.) 56.1 $\pm$ 20.7ng/ml (60min.), 35.8 $\pm$ 15.8ng/ml (90min.), and 23.8 $\pm$ 9.7ng/ml (120min.)

The areas formed by individual PRL values had good correlation with the peak values (r=0.941, p<0.01).

2) In normo-prolactinemic anovulatory patients (n=26), some were hyper-reactive or hypo-reactive to TRH. The data, however, had no correlation with gonadotropin responsiveness to LH-RH.

3) Nocturnal hyperprolactinemia (>82ng/ml) was noted in the hyper-reactive group. However, midnight reactivity to TRH was almost similar to that in the morning in these patients.

These results indicate that the responsiveness to TRH serves to identify infertile women with "labile normo"-prolactinemia and suggest that bromocriptine is the first-choice drug in these patients.

(受付: 昭和 62 年 5 月 30 日)

# 一過性高プロラクチン血症に対する 臨床的研究

## Clinical Studies of Transient Hyperprolactinemia on Sterility

横浜市立市民病院産婦人科

長田 久文  
Hisafumi OSADA

毛利 由弦  
Uzuru MOHRI  
根岸 達郎  
Taturlo NEGISHI

小清水 勉  
Tsutomu KOSHIMIZU

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Yokohama Municipal Citizen's Hospital.

最近、夜間や性周期により、一過性に高プロラクチン（PRL）血症になるものを、一過性又は潜在性高PRL血症と呼んでいる。しかし、その病態や内分泌動態、臨床的検討はまだ数少ない。そこで、私達は、性周期のいずれかの時期にPRL値が30ng/ml以上を呈し、他の時期には正PRL値であった12例について検討を行った。

1. basal PRLは6.5~26.7ng/mlが30.5~130ng/mlの一過性高値を認めた。
2. 不妊原因は黄体機能不全が6例と半数を占めた。
3. bromocriptine 2.5 mg投与で12例中5例が妊娠し41.7%の妊娠率であった。男性因子、頸管因子を除くと8例中5例の62.5%の高率の妊娠率であった。
4. 一過性高PRLの性周期の時期は排卵期3例、黄体期9例で卵胞期には認められなかった。
5. LH-RH test, TRH testを7例に実施し6例にLH・PRLの反応性で正常域を超えていた。

(Jpn. J. Fertil Steril., 33(2), 353-356, 1988)

### はじめに

プロラクチン（PRL）と不妊症との関係は高PRL血症の排卵障害によることはよく知られているが、その後、潜在性高PRL血症あるいは、一過性高PRL血症を有する原因不明の不妊症との関連が論議されている。Ben-Davidらが正常排卵周期を有する不妊症婦人の排卵前後に一過性高PRL血症が高率に認められ、これらの婦人にbromocriptineを投与すると、40%に妊娠を認めた報告をして、一過性高PRL血症が注目されるようになった。その後、夜間にPRLが高値を示すものや、最近では、TRH負荷試験で、150ng/mlを超えるものを潜在性高PRL血症と称するとしているものもある。一過性P

R L血症と潜在性高PRL血症の定義、分類等について、clearに論じているものは少ない。いずれにしても、PRLが不妊症と関係があることを否定できず、今回、私達は性周期のいずれかの時期に血中PRL値が30ng/ml以上を呈し、他の時期には正PRLであった不妊婦人を一過性高PRLとして、その12例について臨床的検討を試みたので報告をする。

### 研究対象と方法

当院の不妊クリニックに通院している婦人のうち、atrandamに卵胞期、排卵期、黄体期に血中PRL値を二度以上測定し、いずれかが正PRL値、一方が30ng/ml以上の高PRL血症を呈した12例を対照にした。そのうち、7例にLH-RH testを行った。治療

は bromocriptine 2.5 mg/day を 1-14 ヶ月投与した。排卵障害症例はなく、黄体機能不全が多く、クロミヘンを併用した。

結 果

1. 一過性高 PRL 血症症例 (表 1)

年齢は 24-36 才にあり、平均 29.4 才であった。原発性不妊 7 例、続発性不妊 5 例の計 12 例であった。basal PRL とは hyper でない時期の血中 PRL 値で、いずれかの時期に PRL 値が 30ng/ml 以上になったものを hyper PRL とした。basal PRL は 6.5-26.7ng/ml で、平均 12.0ng/ml であった。25ng/ml 以上は 1 例だけであった。一過性高 PRL の程度は 30.5-130ng/ml となり、100ng/ml 以上は 2 例にみられ、最高 130ng/ml にも達した。

2. 不妊原因、治療、妊娠

不妊原因は表 2 に示すように、黄体機能不全が 6 例と半数を占め、PRL の関与を示唆するところで

あった。パーロデル 2.5 mg を 1-14 ヶ月投与し、12 例中 5 例が妊娠し、妊娠率は 41.7% であった。さらに、男性因子、頸管因子を除くと、8 例中 5 例 62.5% と高率であった。しかしながら、5 例中 3 例が流産してしまった。妊娠した例をみると、5 例中 4 例は、パーロデル投与期間がわずか 1-2 ヶ月の短期間で妊娠している事実は興味深い。

3. 一過性高 PRL と月経周期

一過性高 PRL の時期をみると、表 3 のように、排卵期 3 例、黄体期 9 例で卵泡期は Ben-David らの報告のように認められなかった。しかしながら、すべての症例で卵泡期、排卵期、黄体期を経日的に調べていないので、各時期で一過性高 PRL 血症の頻度を論じることはできない。今回、私達の研究では、黄体期での採血が多かったことが考えられ、その頻度を言及することはできない。PRL はストレスホルモンであるとされているが、黄体期に採血した症例では、内膜採取後に採血した症例もあり、この点については後述する。

4. 一過性高 PRL 血症の LH-RH, TRH test

12 例中 7 例に LH-RH100 $\mu$ g, TRH500 $\mu$ g を筋注し、投与前、投与後 30, 60, 90 分の血中 FSH, LH, PRL 値を測定した。図 1, 図 2 に示すように、LH の反応性は 1 例を除く 6 例が LH 正常反応域を超えた well response type であった。TRH に対する PRL の反応性は、基礎値が 2 例で 30ng/ml を超え、分泌反応では 1 例を除く 6 例に正常反応域を上わった。また、LH, PRL の反応性を piek/basal 値でみると、表 4 のように、LH では 7 例中 6 例が 5 倍を超えた。PRL では、10 倍以上が 2 例、10 倍以下が 5 例であった。

5. 内膜採取と PRL

表 1 一過性高プロラクチン血症一覧表

症例	氏名	年齢	para	不妊	basal PRL	hyper PRL
1	H.M	24	0×0	原発性	6.5	49.1
2	Y.A	28	0×0	原発性	10.0	38.2
3	M.K	36	0×0	原発性	11.5	48.2
4	R.N	29	0×0	原発性	9.1	30.5
5	R.S	29	1×0	続発性	16.8	123.0
6	T.Y	28	0×0	原発性	11.2	44.5
7	H.A	26	2×1	続発性	18.0	40.3
8	M.H	30	1×1	続発性	15.8	51.0
9	K.A	35	0×0	原発性	17.1	30.8
10	N.U	30	1×0	続発性	11.8	40.7
11	M.I	30	1×0	続発性	22.7	130.0
12	T.O	28	0×0	原発性	26.7	44.8

表 2 一過性高プロラクチン血症の不妊原因、治療、妊娠

症例	不妊原因	Bromo 投与量	Bromo 投与期間	併用薬	妊娠
1	男性因子	2.5	4M	-	
2	PCO	2.5	12M	clomid	
3	頸管因子	2.5	9M	clomid	
4	男性因子	2.5	6M	-	
5	黄体機能不全	2.5	2M	-	流産
6	黄体機能不全	2.5	14M	clomid	
7	黄体機能不全	-	-	-	流産
8	稀発月経	2.5	12M	clomid	流産
9	頸管因子	2.5	6M	clomid	
10	黄体機能不全	2.5	1M	clomid	分娩
11	黄体機能不全	2.5	1M	clomid	双胎
12	黄体機能不全	2.5	5M	当芍散	

表 3 一過性高プロラクチン血症と月経周期

症例	basal PRL	hyper PRL	hyper の時期	内膜採取時期
1	6.5	49.1	黄体期	同日
2	10.0	38.2	"	"
3	11.5	48.2	"	"
4	9.1	30.5	"	異
5	16.8	123.0	排卵期	"
6	11.2	44.5	黄体期	同日
7	18.0	40.3	"	異
8	15.8	51.0	排卵期	"
9	17.1	30.8	黄体期	同日
10	11.8	40.7	"	"
11	22.7	130.0	"	"
12	26.7	44.8	排卵期	異

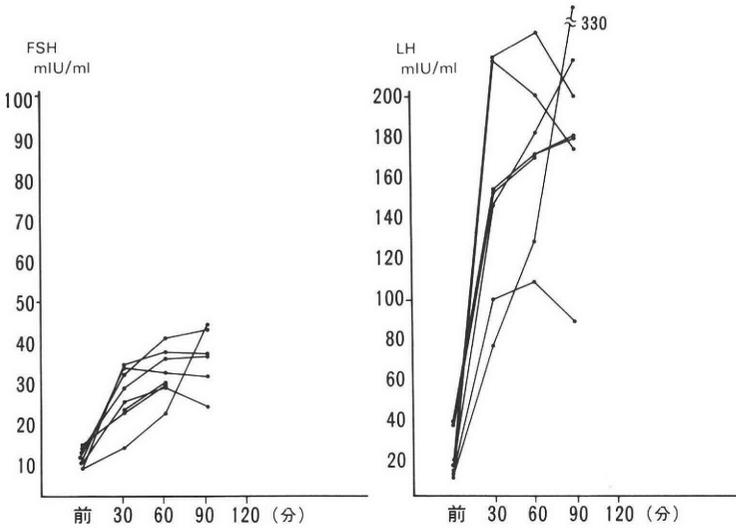


図 1 一過性高プロラクチン血症の LH-RH Test

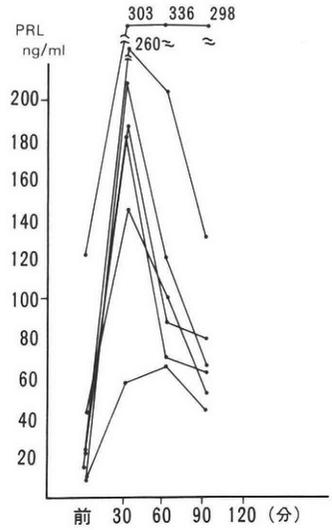


図 2 一過性高プロラクチン血症の TRH Test

表 4 LH-RH, TRH test の LH, PRL の反応性  
piek/basal Ratio

症例	LHp/b	PRLp/b
2	4.8	3.1
3	11.6	5.8
4	12.9	23.1
5	10.7	2.7
6	5.1	17.7
11	28.7	8.3
12	13.6	3.3

表 5 内膜採取時の PRL の変動

採取前 PRL	採取時 PRL	増減
6.5	49.1	up
10.0	38.2	"
11.5	48.2	"
11.2	44.5	"
17.1	30.8	"
11.8	40.7	"
22.7	130.0	"
42.7	72.8	"
36.8	52.2	"
21.4	24.4	"
29.8	21.2	"
56.3	61.9	"
16.3	23.2	"
30.7	13.0	down
26.3	14.9	"
9.6	6.6	"

表 3 に示したように、黄体期に一過性 PRL 血症を呈した症例は 9 例中 7 例に内膜を同時採取しており、痛み刺激による PRL の上昇も考えられる。そこで、1 年間に内膜と PRL を同時期に採血した 16 例を検討してみると、表 5 のように、16 例中 13 例に PRL の上昇を認めた。その割合は 81.3% であった。また、16 例中一過性高 PRL 血症となったのは 10 例中 7 例 70.7% となり、このような症例を一過性高 PRL 血症とするかについては今後の問題となろう。

考 察

PRL の不妊症領域に対する最近の方向は、高 PRL 血症の結果引き起こされる排卵障害から、潜在性または一過性高 PRL 血症による黄体機能不全へと、研究課題が移ってきた。Ben-David ら<sup>1)</sup>は正常排卵周期を有する原因不明婦人の 94% に排卵期に一致して、一過性高 PRL 血症がみられること、ならば

にこれらの婦人に bromocriptine を投与し 40% に妊娠の成立をみた報告した。しかし、Ehara<sup>2)</sup>や Erstein<sup>3)</sup>はこれらを否定する論文を発表し、一過性高 PRL 血症は確立されなかった。その後、東ら<sup>4)</sup>の研究によって性周期で一過性に PRL が上昇する場合、排卵期のみ上昇する例と、排卵期と黄体期の両者に上昇する例が存在することが証明された。また合阪ら<sup>5)</sup>は夜間 PRL が 30ng/ml 以上に上昇する例を潜在性高 PRL 血症と命名しているが、両者の定義はまだ統一されていない感がある。いずれにしても、PRL が黄体機能不全と関係し、不妊症に関与していることは認められつつある。その治療として bromocriptine を投与することにより、妊娠率が上昇することは、黄体機能不全が改善され妊娠するものと考えられる。bromocriptine 2.5 mg にするのか 5.0 mg にするのかはまだ確立されていない。PRL を下げすぎても妊娠の成立にマイナスになるとの報告もあり今後の課題であろう。一方、PRL は原則として安静時の採血をすることが重要であるが、一般临床上、その条件を満たすことができない場合が多い。長田ら<sup>8)</sup>が指摘するように、たえず PRL はストレスホルモンであることを頭にいれ判断することが肝心である。

#### 参考文献

- 1) M. Ben-David and J. G. Schenker: Transient hyperprolactinemia: A correctable cause of Idiopathic Female Infertility: J. of Clin. Endocrinol. Met., 57, 442, 1983.
- 2) Ehara, Y., Siler, T., Vandenberg, G., Sinha, Y. N. and Yen: Circulating prolactin levels during the menstrual cycle: Episodic release and diurnal variation. Am. J. Obstet. Gynecol., 117: 962, 1973.
- 3) Epsteen, M. T., Mcneilly, A.S., Murray, M. A. F. and Hockaday, T. D. R: Plasma testosterone and prolactin in the menstrual cycle. Clin. Endocrinol., 4: 531, 1975.
- 4) 東敬次郎, 山野修司: 血中プロラクチン分泌動態とヒト卵の受性, 分割能に関する研究, 日産婦誌, 37, 2097, 1985.

- 5) 合阪幸三, 安藤三郎, 国保健太郎, 吉田浩介, 森宏之: いわゆる潜在性高 prolactin 血症患者における prolactin 分泌予備能の検討: 日内分泌誌, 62, 662, 1986.
- 6) del Pozo, E. H. Wyss, G. Tolis, J. Alcaniz, A. Campana and F. Naftolin: Prolactin and Deficient Luteal Function, Obstet Gynecol., 53, 56, 1979.
- 7) 森 宏之, 松岡 良, 合坂幸酸, 木川源則: 正プロラクチン血症性黄体機能不全の病態にかかわるプロラクチンの意義, 日不妊会誌, 30, 79, 1985
- 8) 長田久文, 根岸達郎: 針刺激の女性内分泌環境に及ぼす影響 分娩と麻酔, 61, 1, 1986

### Clinical studies of transient hyperprolactinemia on sterility

Hisafumi Osada, Yuzuru Mohri,  
Tsutomu Koshimizu and Tatuuro Negishi

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Yokohama Municipal Citizen's Hospital

Recently, the transient or occult hyperprolactinemia that the serum prolactin rises over 30ng/ml in the midnight or circadian. But its mechanism or clinical study are unknown yet. We studied clinically in 12 cases of the transient prolactinemic women who increase only in the preovulatory or luteal phase.

1. The clinical diagnosis of transient hyperprolactinemic sterility women were the luteal insufficiency that showed in 6 cases (50%).
2. The level of the serum prolactin were 30.5-130ng/ml in preovulatory (3 cases) or luteal phase (9 cases). There was no case in our study which rises in the follicular phase.
3. Bromocriptine was given to patients and pregnancies obtained in 5 cases successfully (41.3%).
4. FSH, LH and PRL secreting capacities were tested by LHRH and TRH injection in 7 cases and 6 cases were shown above normal range in LH and PRL.

(受付: 昭和 62 年 6 月 2 日)

# 卵管不妊に関する臨床病理学的研究

## Clinico-pathological Studies on the Tubal Infertility in Our Clinic

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室 (主任: 百瀬和夫教授)

西村 順一

Junichi NISHIMURA

Ist Dep. Obstet. Gynec. Toho Univ. School of Medicine  
(Director: Prof. Kazuo Momose)

当科における不妊症手術例を卵管手術群とその他の手術群に分け、1975年から1985年までの統計を中心に、1964年から1974年までの統計と比較検討した。

この間に結核の既往は激減し、腹腔内炎症と婦人科手術、さらに外妊の既往は卵管手術群に多く見られた。HSGからみた卵管不妊は近年やや減少傾向にあるが、内視鏡からみると増加傾向を示した。卵管形成術は減少傾向にある反面、子宮内膜症の手術が増加しており、不妊症の重要な因子となっている。

後期の卵管手術後の妊娠率は10.1%にとどまり、その他の手術群における16.5%に比し低率であり、卵管不妊における治療の困難さを示した。また妊娠例の85.7%が術後2年以内に成立していることから、術後少なくとも2年間は治療を継続する必要があると示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33(2), 357-368, 1988)

### はじめに

卵管は腔、子宮を介して、体外と腹腔内をつなぐ長さ10~12cmの細長い管状の器官であり、采による卵の摂取や精子および卵への栄養、さらに受精の場として受精卵の分割・分化、子宮腔への移動など複雑多岐にわたる機能を有し、妊娠の成立に重要な臓器の1つである<sup>1)</sup>。しかし卵管全体の巧妙な構造、周期的な変化などについては、完全に解明されているとは言い難い。

近年 microsurgery の導入により、形成術後の妊娠率が向上してきたとはいえ、なお妊娠率は低く、疎通性の回復と妊娠成立には、かなりの開きがある。これは形態学的に卵管疎通性が回復しても、機能がそれに伴わないためと考えられる。

教室における卵管不妊の年次的変遷を検討し、その病態を総括し、更に治療予後に関して1975年から1985年までの統計をまとめ、1964年から1974年までの統計<sup>2)</sup>と比較検討した。

### 対 象

1964年から1974年までの前期11年間と、1975年から1985年までの後期11年間に、挙児希望にて当科外来を受診した患者を対象とした。諸検査の結果、手術を施行したものは前期で851例、後期で469例であり、これらの患者について初診年月日を基準に年度別に推移を追った。妊娠に対し最も効果的と考

表1 不妊症関連手術数

		不妊症 手術	卵管手術群 (%)	その他の手 術群 (%)
1964 } 1974 (前期)	原発不妊	593	333(56.2)	260(43.8)
	続発不妊	258	143(55.4)	115(44.6)
	計	851	476(55.9)	375(44.1)
1975 } 1985 (後期)	原発不妊	335	128(38.2)	207(61.8)
	続発不妊	134	80(59.7)	54(40.3)
	計	469	208(44.3)	261(55.7)

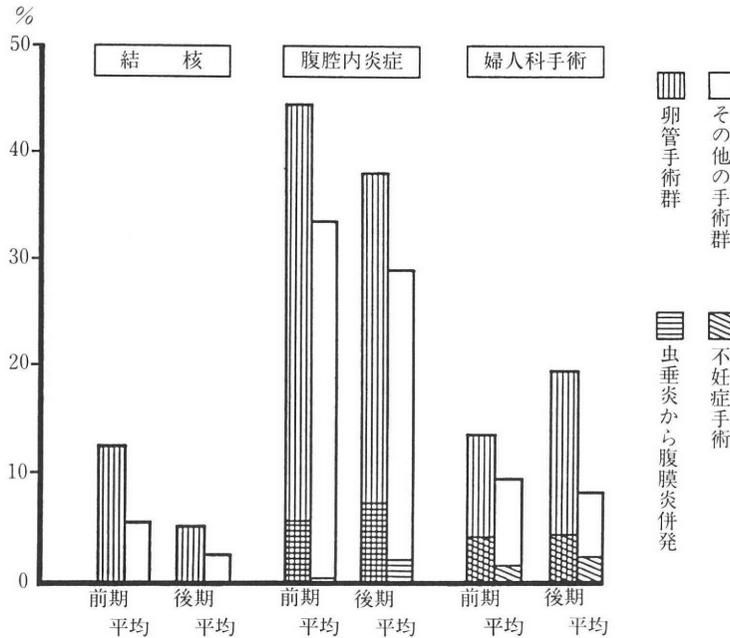


図1 既往歴の頻度

えられたものを主要術式として分類した結果、前期では卵管手術群 476 例(55.9%), 子宮, 卵巣およびその他の手術群 (以後, これらをまとめて「その他の手術群」と呼ぶ) 375 例 (44.1%) であり, 後期では卵管手術群 208 例(44.3%), その他の手術群 261 例 (55.7%) で, 前期と後期で逆転を認めた。卵管結紮後の再疎通術は今回の統計からは除外した (表 1)。

結 果

1. 初診時年齢

21 歳から最高 47 歳と幅広い分布を示した。後期の卵管手術群の平均年齢は 30.0 歳であり, 前期の平均 31.2 歳に比べ, 1.2 歳の低年齢になっている。その他の手術群では後期の平均 30.3 歳, 前期の平均 30.4 歳とほぼ同様であった。

2. 不妊期間 (表 2)

後期の不妊症手術例における来院までの不妊期間を表 2 に示す。不妊期間は 1 年以内から最高 17 年と初診時年齢同様に広く分布している。前期では卵管手術群の平均不妊期間は 6.2 年, その他の手術群では 5.0 年であったが, 後期では卵管手術群の平均 4.0 年, その他の手術群の平均 3.7 年と, 著しく短くなっている。

3. 既往歴 (図 1)

以前は卵管癒着の大きな原因となっていた性病は

表 2 不妊期間 (外来時)

不妊期間	卵管手術群 (%)	その他の手術群 (%)
< 1 年	5 ( 2.4)	7 ( 2.7)
1 ~ 2	34 ( 16.4)	56 ( 21.4)
2 ~ 3	40 ( 19.2)	49 ( 18.8)
3 ~ 4	30 ( 14.4)	36 ( 13.8)
4 ~ 5	21 ( 10.1)	23 ( 8.8)
5 <	78 ( 37.5)	90 ( 34.5)
計	208(100.0)	261(100.0)
後 期 平均不妊期間	4.0年	3.7年
前 期 平均不妊期間	6.2年	5.0年

ほとんど認められず, 前期で 0.9%, 後期でも 1.4% に過ぎなかった。

1) 結核の既往

結核の既往を有するものは近年減少傾向にあり, 前期の卵管手術群では平均 12.6%, その他の手術群では平均 5.6% であったのに対し, 後期の卵管手術群では平均 5.3%, その他の手術群では平均 2.7% と半減した。そのうち結核性腹膜炎の既往についてみると, 前期では卵管手術群に 4 例, その他の手術群に 1 例に対し, 後期では卵管手術群に 3 例, その他の手術群 1 例と, いずれも卵管手術群により多く

認め、結核性疾患の卵管不妊に対する影響をうかがわせた。

2) 腹腔内炎症の既往

虫垂炎、腹膜炎、付属器炎などの腹腔内炎症の既往は、前期の卵管手術群で平均 44.5 %、その他の手術群で平均 33.6 %と、卵管手術群に多く、後期では卵管手術群の平均 38.0 %、その他の手術群平均 29.1 %と、やや減少しているものの、やはり卵管手術群に多くみられた。さらに虫垂炎から腹膜炎を併発したものは、前期で平均 2.8 %、後期で平均 4.3 %とやや増加はしているものの、卵管手術群に高率であった。

3) 婦人科手術の既往

婦人科手術の既往歴は、前期の卵管手術群では平均 13.7 %、その他の手術群では平均 9.6 %で、そのうち以前に不妊症手術を受けているものは、それぞれ 4.2 %、および 1.7 %であった。後期の卵管手術群では平均 19.7 %、その他の手術群では平均 8.4 %で、そのうち不妊症手術の既往のあるものは、それぞれ 4.3 %、および 2.3 %であった。前期と後期を年度別に比較すると、不妊症手術の既往に関しては一定した変化は認められないものの、婦人科手術の既往は全体として卵管手術群に多かった。

4. 最終妊娠歴

続発不妊における最終妊娠歴のうち、自然流産、人工中絶、子宮外妊娠について調べた。前期の自然流産は、卵管手術群で平均 9.9 %に対し、その他の手術群では平均 13.9 %と多いが、後期になると前者

では 7.2 %、後者では 8.4 %とほぼ同率であった。

人工中絶は前期の卵管手術群平均 11.1 %、その他の手術群平均 11.5 %とほぼ同頻度であるが、後期では前者 22.6 %、後者 6.9 %と卵管手術群の方が約 3 倍も多くなっている。

子宮外妊娠は前期の卵管手術群平均 9.5 %、その他の手術群平均 1.9 %であり、後期では前者 8.2 %、後者 0.8 %で、各年度とも卵管手術群に著明に多く見られた。

5. 子宮卵管造影法 (HSG) からみた卵管不妊

後期の不妊患者 5,057 例中、HSG が施行された数は、3,092 例 (61.1 %) で、そのうち両側卵管像不明の 54 例を除く 3,038 例のうち、原発不妊は 1,987

表 3 不妊婦人の卵管 X 線像 (1975~1985 年)

	原発不妊 %		続発不妊 %	
両側通	1317	66.3	627	59.7
一側通・他側癒着 閉塞 不明	150	14.6	66	17.6
	51		56	
	89		63	
両側癒着 一側癒着・他側閉塞 不明	120	10.4	39	9.8
	71		59	
	12		2	
一側閉塞・他側不明	4		3	
両側閉塞	173	8.7	136	12.9
計	1987		1051	
不明	30		24	

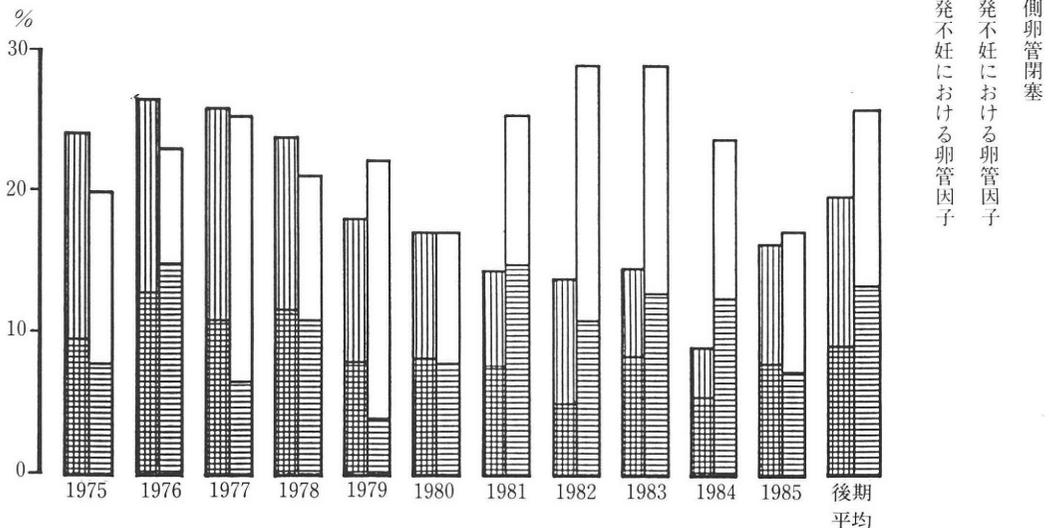


図 2 子宮卵管造影法からみた卵管不妊の年度別推移

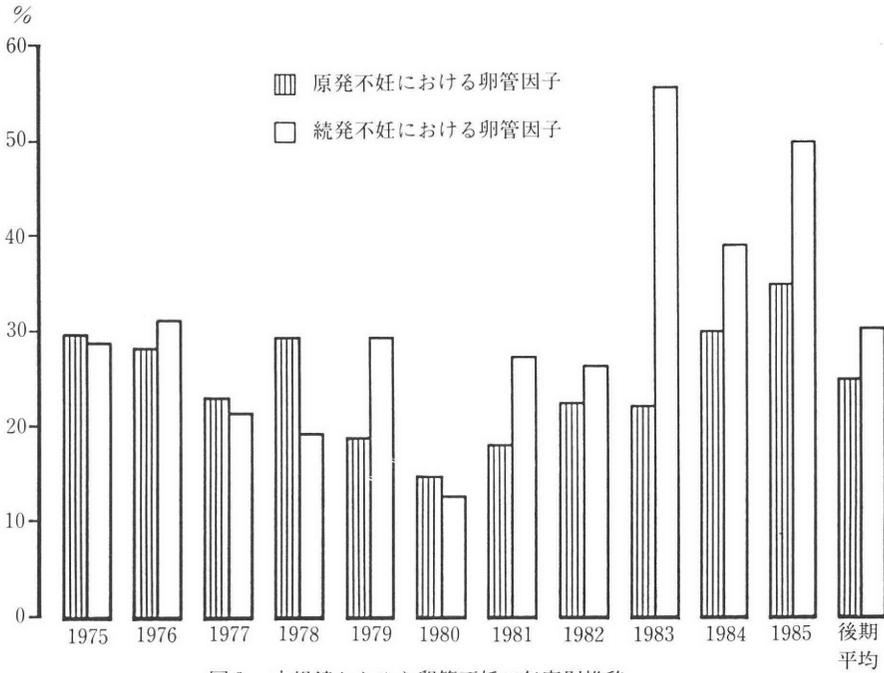


図3 内視鏡からみた卵管不妊の年度別推移

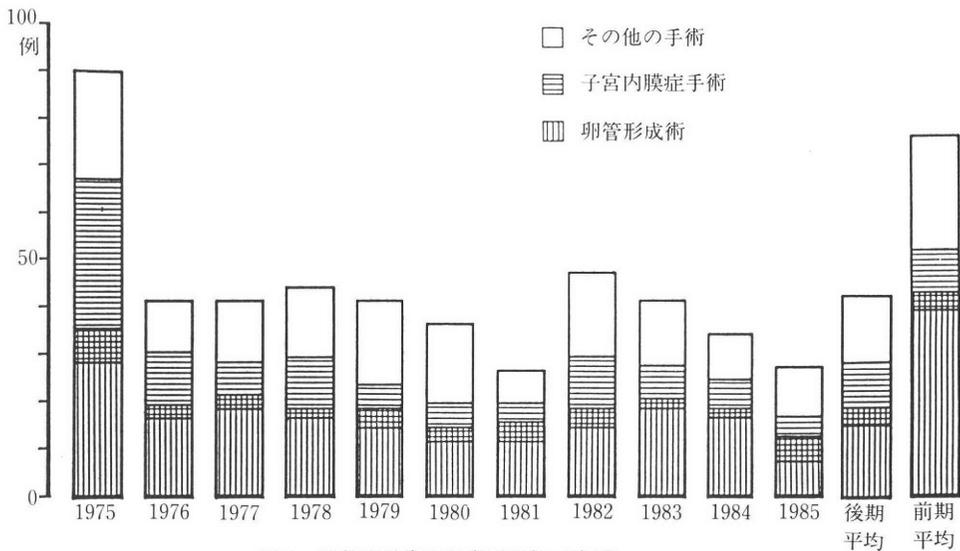


図4 不妊症手術の年度別変化 (後期)

例, 続発不妊が1,051例であった。

2本の卵管のうち, 少なくとも一方に通過性があれば, 妊娠可能と考えられるので, 卵管不妊は原発不妊で19.1%, 続発不妊で22.7%となる。また, 完全な卵管不妊となる両側閉塞は, 原発不妊で8.7%, 続発不妊で12.9%であった(表3)。

卵管不妊の年度別変遷をみると, 続発不妊中の卵管不妊の頻度はあまり変化がないものの, 原発不妊

中の卵管不妊は近年減少傾向にあることがわかる(図2)。

6. 骨盤内視鏡からみた卵管不妊 (図3)

後期の不妊患者5,057例のうち, 骨盤内視鏡が施行された症例数は782例(15.5%)であり, そのうち原発不妊が596例, 続発不妊が186例であった。ただし, 高度の癒着のために内視鏡検査が出来なかった例は今回の統計より除外した。

内視鏡により、卵管の形態異常や機能異常の原因となる卵管周囲癒着、子宮内膜症などの腹膜因子、さらに色素通水で疎通障害が存在する例をすべて卵管不妊因子と判定した。

こうして内視鏡からみた卵管不妊を経年的にみると、原発・続発不妊とも最近ではやや増加傾向にあり、原発不妊で平均25.0%、続発不妊で平均30.1%であった。これらではHSGによるスクリーニングで卵管因子が疑われ、あるいは比較的長期の不妊がより多く含まれたためと思われる。

7. 不妊症手術の変遷 (図4)

後期での卵管手術群208例、その他の手術群261例、総計469例中、子宮内膜症を認めたものは、143例(全体の30.5%)で、その内訳は卵管形成術39例(27.3%)、その他の手術104例(72.7%)であった。

これらの年度別変遷をみると、前期で全体の55.9%を占めていた卵管形成術は、後期に至って全体の44.3%に減少している。その反面、前期で全体の17.0%を占めていた子宮内膜症の手術が、後期では全体の30.5%に著増し、各年度を通じ、ほぼ一定した頻度を示している。すなわち近年、子宮内膜症が不妊症の重要な原因となっていることがわかる。

8. 子宮内膜症手術の変遷 (図5)

不妊症手術のうち子宮内膜症手術を年度別にみると、最近では年間10例前後ではほぼ一定している。以前には巨大チョコレート嚢胞、子宮・卵管・卵巣の癒着が強いもの、さらに frozen pelvis となって手もつけられない症例に対しては、保存手術を諦め、子宮摘出を行なわざるをえなかったこともある。しかし、近年では偽妊娠療法や、Danazol<sup>3-5)</sup>による偽閉経療法などの保存療法が手術に優先されるようになって、

子宮摘出例は減少傾向にある。また、内膜症手術例のうち卵管形成術は、ほとんどが卵管卵巣周囲癒着剥離術で占められていることにより、内膜症に伴う卵管および卵巣の癒着や、卵管の走行異常が不妊の要因になっているものと考えられる。

9. 卵管形成術の変遷 (図6)

前期の前半には卵巣移植なども行なわれたが、1969年以後はまったく無くなり、卵管・卵巣接合法も1970年以後には姿を消した。1971年ごろより一時ゾンデ法なども試みられたが、これも1979年以後は行なわれていない。近年、卵管形成術の術式は、ほとんどが癒着剥離術・開口術・吻合術で占められ、それも大部分がmicro術式になっている。

10. 不妊卵管の病理組織像 (図7)

卵管形成術術式の変化に伴い、卵管の損傷をできるだけ少なくし、卵管組織を温存する方法が主流となっている。それ故、卵管組織片の採取は減少し、卵管峡部、角部の閉塞に対して行なわれる吻合術や移植術のさいに、少量得られたものがほとんどある。

卵管形成術例における閉塞卵管の病理組織所見では、結核性卵管炎の減少が著しく、1977年以後は僅か1例を認めたにすぎない。また、非特異性炎症が増加し、慢性炎症性細胞浸潤・水腫・線維化・石灰化・閉塞といった病像を呈している。

以下に特徴ある卵管の病理組織像を示す。

1) 結核性卵管炎 (写真1, 2)

35歳、原発不妊7年、卵管峡部閉塞。剖面は乾酪変性した物質にて充満した内腔を示し、石灰化および一部骨化も認められ、その周囲には硝子化した結合織がみられる。

2) 急性卵管炎 (写真3)

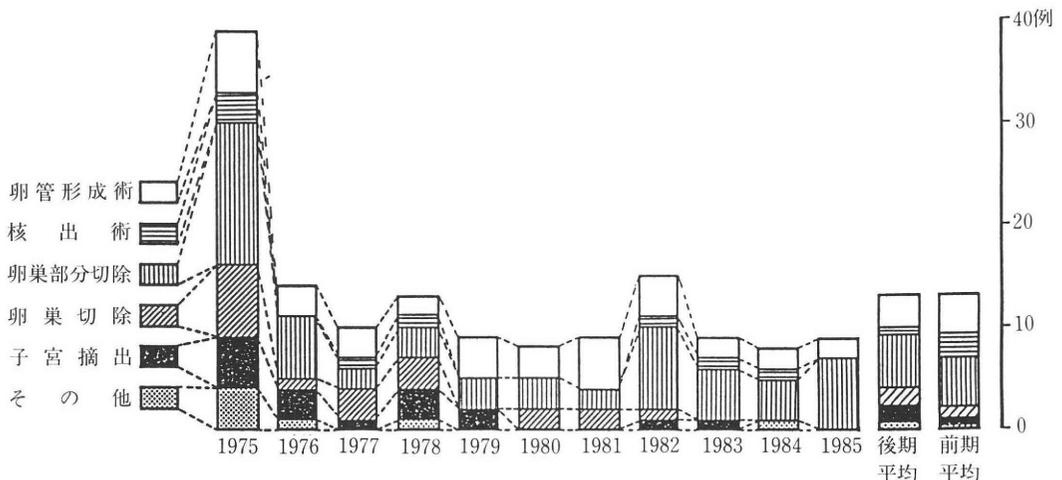


図5 子宮内膜症手術の年度別推移 (後期)

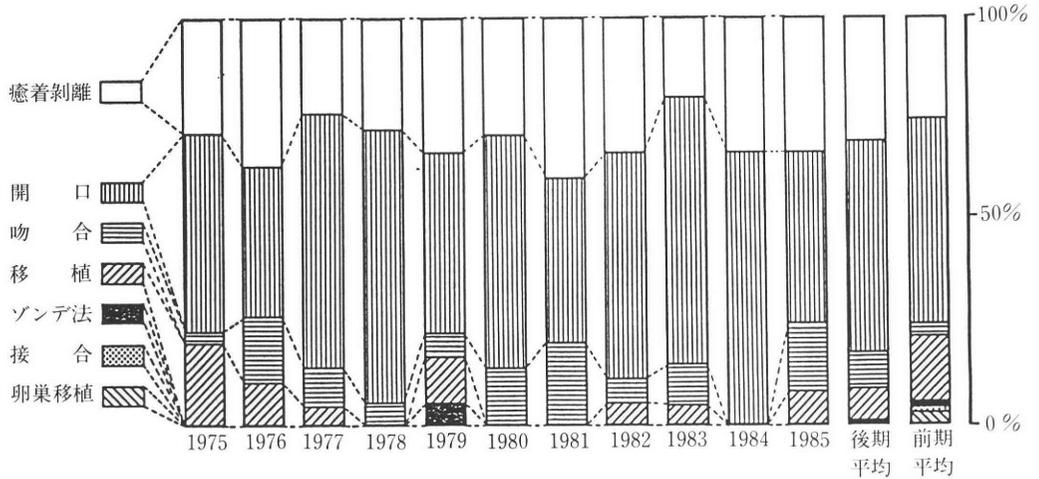


図6 卵管形成術術式の変遷(後期)

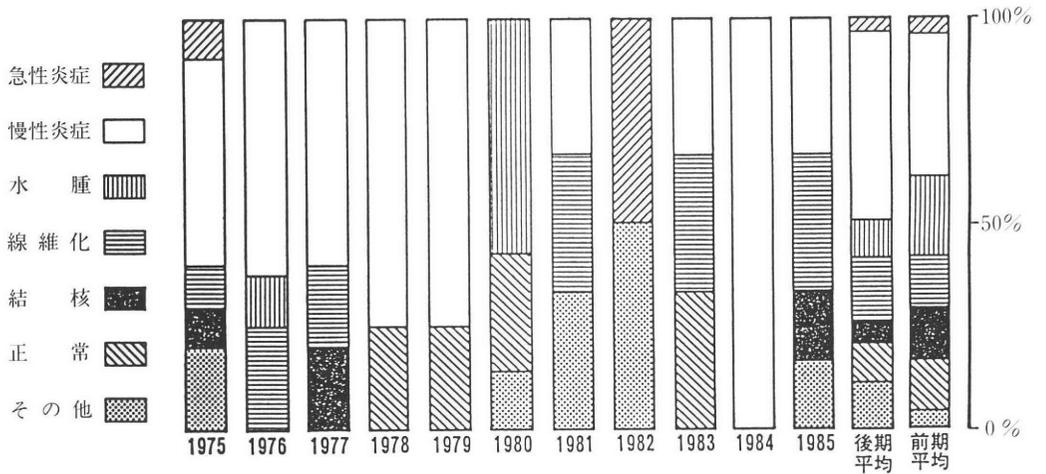


図7 閉塞卵管の病理組織所見の年度別頻度(後期)

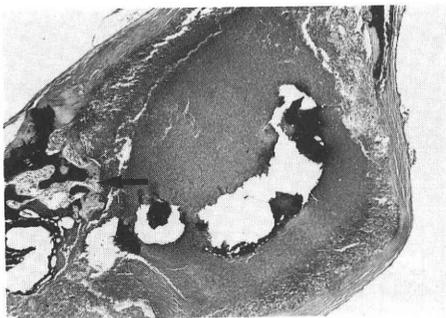


写真1 結核性卵管炎(×10)



写真2 写真1, 矢印の拡大図(×60)

33歳，続発不妊5年，卵管膨大部閉塞，筋層内に著明な出血と中等度の好中球浸潤を示し，出血部位周辺には線維芽細胞と血管の増殖を認める。

3) 慢性卵管炎 (写真4)

40歳，原発不妊5年，卵管峡部閉塞，卵管の管腔は存在するが，粘膜襞は全く認めず，間質は線維化を呈し，軽度の小円形細胞浸潤を伴う mild な慢性卵管炎の所見を示す。

4) 卵管溜水腫 (写真5)

26歳，原発不妊2年，卵管膨大部閉塞，卵管腔は拡張が著明で，内膜はところどころで剥離し，ごく一部に乳頭状の粘膜襞が残存している。

5) 卵管の線維化 (写真6)

30歳，続発不妊3年，卵管膨大部閉塞，上皮には増殖傾向がつよく，襞の癒合は強度である，間質には線維化が著明で，軽度の炎症性細胞浸潤を伴っている。

6) 卵管の子宮内膜症 (写真7, 8)

32歳，原発不妊6年，卵管峡部閉塞，卵管腔は狭小化し，内部に凝血を認めるが，これは標本作製上

のものと考えられる。筋層内には内膜腺組織が散見される。

7) 卵管狭窄 (写真9)

26歳，続発不妊4年，卵管峡部閉塞，卵管の管腔構造をわずかに認め，少量の結合織成分が癒合して内腔に突出している。

8) 卵管閉塞 (写真10)

26歳，続発不妊4年，卵管峡部閉塞，内腔を示す上皮は全く存在せず，管腔は完全に癒着，閉鎖している。

9) 先天性卵管閉塞 (写真11)

36歳，原発不妊8年，卵管峡部閉塞，粘膜襞はなく内腔はほとんど閉塞しているが，出血や壊死，その他の炎症所見はなく，卵管筋層も整然としている。

10) 陳旧性子宮外妊娠による卵管采閉塞 (写真12)

33歳，原発不妊8年，卵管采閉塞，卵管妊娠より腹腔内妊娠へと移行した症例と思われる，発症から約3年が経過しており，卵管采には villi と思われる硝子化した変性組織を認める。

11. 卵管形成術の予後

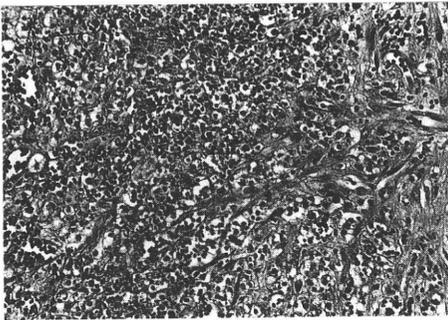


写真3 急性卵管炎 (×60)

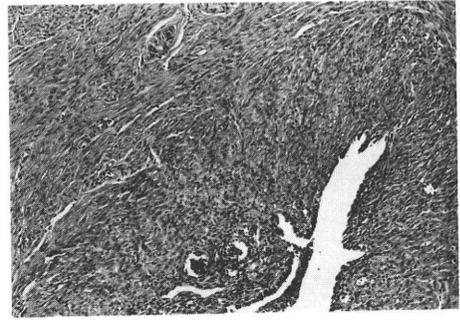


写真4 慢性卵管炎 (×30)

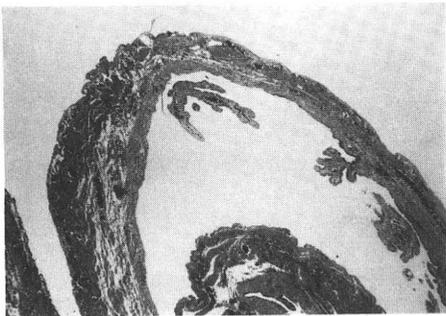


写真5 卵管溜水腫 (×6)

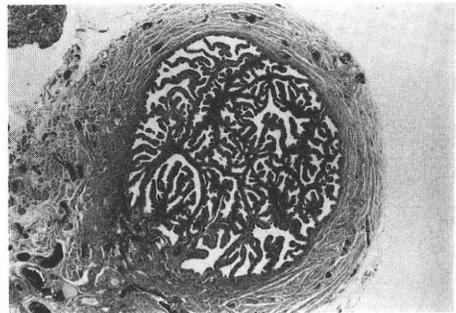


写真6 卵管の線維化 (×6)

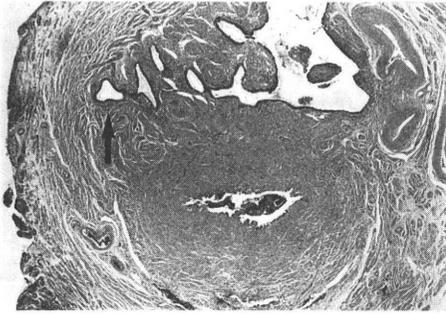


写真7 卵管の子宮内膜症 (×6)

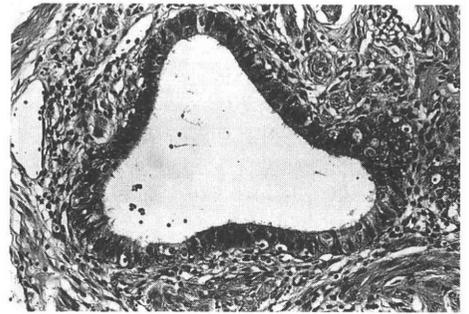


写真8 写真7, 矢印の拡大図 (×60)

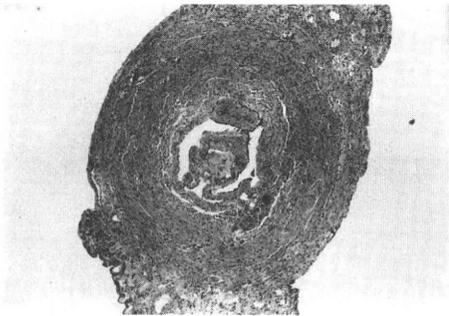


写真9 卵管狭窄 (×10)

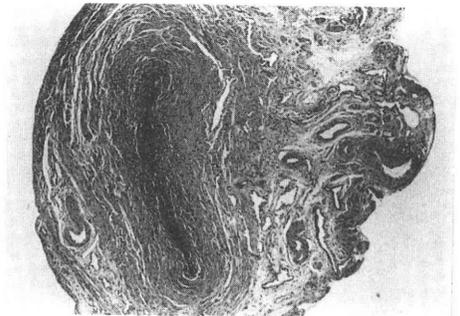


写真10 卵管閉塞 (×10)

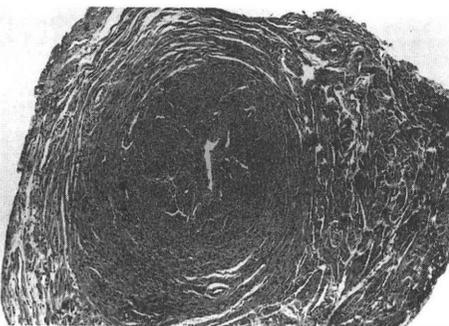


写真11 先天性卵管閉塞 (×50)

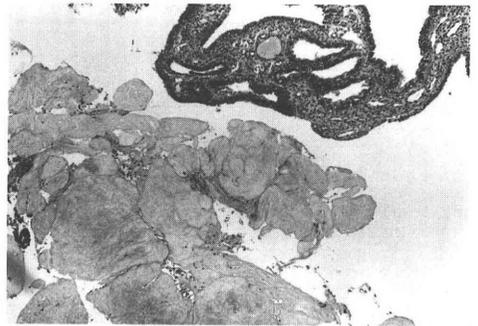


写真12 陳旧性子宮外妊娠による卵管采部閉塞 (×50)

表4 手術から妊娠までの期間(後期)

手術後の期間	卵管手術群(%)	その他の手術群(%)
<1年	8(38.1)	16(37.2)
1~2	10(47.6)	13(30.2)
2~3	1(4.8)	5(11.6)
3~4	2(9.5)	5(11.6)
4~5	0(0.0)	2(4.7)
5<	0(0.0)	2(4.7)
計	21(100.0)	43(100.0)
妊娠率	10.1%	16.5%

不妊症手術後の妊娠率を後期についてみると、卵管手術群208例中21例(10.1%)、その他の手術群261例中43例(16.5%)に妊娠成立を認めている。当科における全不妊患者の妊娠率21.9%に比べると、卵管手術群での妊娠率はかなり低く、卵管不妊における治療の困難さを物語っている。さらに手術から妊娠までの期間についてみると、卵管手術群では妊娠成功例の85.7%が術後2年以内に成立しており、術後4年以上経過した例には妊娠は認められなかった(表4)。

## 考 察

不妊症の定義として、国際産婦人科学会では2年以上の不妊期間、アメリカ不妊学会では1年以上の不妊期間としているが、近年、不妊を主訴として来院する患者は早期受診の傾向が強い。これに対し、当科では不妊期間が1年未満であっても、年齢などにより挙児希望が強ければ、侵襲の軽い検査および治療から始めている。

不妊症の原因として卵管不妊の占める割合は、報告者<sup>6-15)</sup>により多少の違いはあるものの10~30%とされており、最近の報告では卵管閉塞の率は減少傾向を示している。さらに卵管機能検査法<sup>14,16,17)</sup>としては、卵管通気法、子宮卵管造影法などの卵管疎通性検査が主であり、これ以外に有効な検査手段が確立されていない。したがって、卵管因子で治療の対象となるのは卵管疎通障害のみである。そこで、このような卵管異常が不妊症にどのように関与しているか、卵管手術例を中心に様々な角度から検討を加えた。

卵管手術群の初診時平均年齢は、後期の方が前期に比べ低くなっており、同様に不妊期間についても、後期の方が前期に比べ著明に短くなっている。これは、前期にはいろいろと治療を受けたが妊娠せず、比較的高年になってから当院を訪れる患者が多かつ

たのが、近年、内視鏡やその他の不妊検査の目覚ましい進歩に伴い、検査や手術を希望して比較的早期に受診する傾向にあるためと考えられる。このことは、加齢および不妊期間の長いものほど妊娠率が低い<sup>27)</sup>ことから考えて、望ましいことといえよう。

既往歴では、以前に卵管不妊の大きな原因となっていた結核や性病は減少している<sup>15)</sup>。これは生活環境の改善や、抗生物質の発達などにより結核、淋疾などの重症炎症性疾患が著減したためと思われる。しかし、虫垂炎、腹膜炎、付属器炎、などの骨盤内感染症の頻度は、後期の卵管手術群で平均38.0%と、前期よりやや減少したとはいえ依然として高い。これらの患者の子宮卵管X線像では、卵管周囲癒着という型のことが多く、卵管采による卵摂取機構の障害が考えられる。Ismajovichら<sup>18)</sup>は卵管形成術例のうち腹腔内炎症の既往は44%にみられ、癒着の程度が強いほど妊娠率が悪いと報告している。さらに最近では、腹腔内炎症のなかでも子宮内膜症と思われる不妊患者が増加しており、植木<sup>19)</sup>は子宮内膜症と不妊との合併は59.2%に認められるとし、不妊の最も重要な因子にあげている。

卵巣、卵管、子宮など内性器に加えられた婦人科手術の既往は、前期・後期ともに卵管手術群に多く見られる。これらが妊娠成立に直接あるいは間接的に影響するのは当然であり、婦人科疾患の診断と治療および手術の適応と手術操作には慎重な配慮が必要であろう。Abyholmら<sup>20)</sup>は、卵管手術後の妊娠率からみた最も重要なrisk factorは婦人科手術で、つぎに卵管炎、淋疾、腹膜炎を併発した虫垂炎であるとし、risk factorの数が増えるにつれて妊娠率も低下すると述べている。

続発不妊の原因の1つとして重要な最終妊娠歴についてみると、子宮外妊娠は前期・後期を通じ卵管手術群に圧倒的に多い。また人工中絶では、その他の手術群で前期から後期へかけて11.5%から6.9%へと半減している反面、卵管手術群で11.1%から22.6%へと倍増しているのが目立つ。

HSGによる両側卵管閉塞率に関する報告は、江口<sup>15)</sup>34.8%、Hofmann<sup>6)</sup>10.7%、World Health Organization<sup>8)</sup>34.2%、百瀬<sup>14)</sup>10.8%と各報告者によりかなり異なる。今回の集計では3,038例中、両側閉塞は309例(10.2%)であり、原発不妊で8.7%、続発不妊で12.9%と、やや続発不妊に多い傾向がうかがえる。また通過困難群310例と合計すると、20.4%に卵管通過障害が認められたことになる。HSGは内性器の形態を客観的に評価する有力な手段ではあるが、ただ1回の撮影で卵管閉塞と断定する

ことは誤診のおそれもあり、内視鏡との併用により疎通性を再検討し、形成手術の適応となるかどうか慎重に判断すべきである。

内視鏡<sup>21)</sup>から卵管不妊についてみると、以前には culdoscope を主体にし、ダグラス窩に高度の癒着があるときに laparoscope を用いることが多かったが、最近では culdoscopy はほとんど行なわれず、麻酔科管理のもとに手術的操作の行ないやすい laparoscopy が施行される趨勢にある。内視鏡からみた卵管不妊因子は、原発不妊で平均 25.0%、続発不妊で平均 30.1% であり、HSG による卵管不妊因子より頻度が高い。これは HSG の盲点となる卵管卵巣周囲癒着などの腹膜因子に対して、内視鏡での直視下診断による異常発見率の上昇によるところが大きい。内視鏡と HSG を併用して卵管因子を検討した報告<sup>8,22-24)</sup>は多く、卵管疎通性に関する一致率は 70~85% とされている。

内視鏡からみた卵管不妊の年次別変遷をみると、近年やや増加傾向がみられるが、これは以前には視野の狭い culdoscope で見逃されていたものが、laparoscope で比較的容易に観察できるようになり、さらに経験や技術の向上も相まって、卵管異常の発見率が上昇したものと推測される。

不妊症手術のうち、卵管形成術は後期に減少傾向を認めたが、これは前述のごとく、結核・淋疾・腹腔内炎症既往の減少と相まって、抗生物質治療による急性化膿性卵管炎の減少によるところが大きい。

卵管形成術<sup>25-30)</sup>のうち卵巣移植は、両側卵管の欠除や高度の炎症性変化のために卵管機能が廃絶し、その再利用が絶望的な症例に対し、僅かな希望を残すという意味で行なわれたが、1例の妊娠例もなく、もはや歴史的な術式となっている。卵管采の機能回復が期待できない症例には、卵管と卵巣を直接接合したり、大きな卵管溜水腫のなかに卵巣を包みこむ接合法も試みられた。しかし、これらに適した症例は少なく、1970年以後は全く行なわれず、もっぱら基本的な開口術式になっている。

ゾンテ法は峽部、角部の閉塞に対して、卵管を切除する前に試みられた術式である。これにより妊娠に成功した場合もあるが、組織を傷つけやすいのが欠点で、近年では閉塞部の切除後、吻合術や卵管移植術を優先している。また卵管溜水腫や卵管溜囊腫となっている場合には、開口術が応用され、閉塞部位を切開あるいは切断して新しく卵管腹腔口を形成する。さらに閉塞部位を鋭的に切開・切断せず、Kelly 鉗子などで押し広げて開口する方法 (Dimple operation) も応用された。

いずれの術式においても卵管形成術の目的<sup>31)</sup>は、卵管の疎通性回復と機能の改善であり、そのためには ①適切な症例の選択、②適切な術式の選択・改良、③卵管への侵襲を少なく、卵管全長に近い長さを残す、④粘膜の変化が少ない時期での手術、⑤結核性病変の除外、などに十分な配慮が大切である。

子宮内膜症手術例のうち、卵管形成術のほとんどが卵管周囲癒着剝離術で占められていることは、本症が不妊の大きな原因となり得ることを示す<sup>4,5,19,32)</sup>。しかしながら、病変がかなり進行した症例でも、卵管の疎通性は比較的良好に保たれている場合もある。

教室の成績では表3のごとく、HSGで卵管疎通障害を認めたものが3,038例中619例(20.4%)にあり、不妊症手術例中 endometriosis が 30.5% に認められたことから、本症による癒着発生が不妊の重要な原因になることは容易に推測されよう。Olive ら<sup>33)</sup>は、内視鏡で確認された内膜症合併例のうち、mild endometriosis の妊娠率は 52.9%、moderate では 25.0%、severe では 0% であったと報告しており、子宮内膜症が重症なほど不妊に対し重大な影響を及ぼすことを指摘している。

しかし卵管自体に子宮内膜症の組織像を発見することは比較的少なく、前期と後期を合わせて 288 例中わずか 5 例にすぎなかった。したがって卵管の子宮内膜症自体が原因というより、むしろ子宮内膜症に伴う卵管の変化が不妊にとって重要な意義をもつものと考えられる。

閉塞卵管の病理組織像の検討で、江口<sup>15)</sup>は昭和 30 年 1 月から 4 年間に卵管形成術 81 症例から得られた組織片について報告している。それによると、非特異性炎症 (47.3%)、結核性炎症 (27.3%)、炎症なし (23.6%) で、当時における卵管不妊の中で、結核性卵管炎は極めて重要な位置を占めていたことがわかる。しかし、卵管子宮内膜症はわずか 1 例にすぎず、これらの結果は今回の成績とは極めて対照的で、時の流れを痛感する。

また、Fortier ら<sup>34)</sup>は子宮卵管接合部閉塞例の組織学的な評価を行ない、結節を伴わない線維化 (38.1%)、結節性峽部卵管炎 (23.8%)、慢性炎症 (21.4%)、子宮内膜症 (14.3%) と報告している。Sulak ら<sup>35)</sup>は近位卵管閉塞例の病理組織像で、18 例中 6 例の卵管内腔に組織由来不明の塊状物質を認め、この“栓塞”が卵管閉塞の大きな原因の 1 つになると推論している。卵管不妊の原因を究明するためには、閉塞卵管の病理検討により、卵管の各部分での組織形態の違い、さらに傷害に対する反応性の違いを正しく認識しなければならない。

卵管通過障害の治療成績については、症例や術式によって異なり、また報告者<sup>7,15,25,30,36-39</sup>)によって、かなりの差がみられる。近年は術後疎通性の回復率では比較的高率の報告が多いが、本来の目的である妊娠率はいまだ低い。卵管形成術において、その治療機序が必ずしも妊孕性とは直結しないし、単に卵管疎通性が得られただけで受精条件を満たすものではない。卵管形成術の成績が芳しくないのも止む得ないところであろう。

教室での卵管形成術後の妊娠率は10.1%であり、そのうち85.7%が術後2年以内に成立している。このことから卵管不妊の治療は、術後少なくとも2年間は継続して行なう必要があるとともに、2年以上治療しても妊娠しない場合は、不妊原因や治療法を再検討し、IVF、GIFTなど新しい手技への移行も必要であろう。

### おわりに

卵管不妊について教室における手術例を中心に様々な角度から検討したが、症例の選択や手術方法(卵管開口術、癒着剝離術、吻合術など)が異なれば、治療成績も異なってくる。また年代によって、卵管閉塞の原因も少しずつ変化し、20年前までは主因であった結核性病変はここ10年来、著しく減少し、代わって非炎症性の子宮内膜症が目立つようになった。術後の妊娠率を向上させるには病態の解明が必要であり、手術手技のみならず、検査方法の一層の向上が望まれる。

最近では卵管不妊の最終的治療法の1つとして、体外受精(IVF=in vitro fertilization)<sup>40</sup>)が急速な進歩を遂げている。これにより卵管形成術不能例や、不成功例、あるいは術後疎通性が得られても機能不全のため妊娠できない症例などに対し、拳児の希望が出現してきた。社会的道徳、倫理感に若干の問題を残してはいるが、今日もっとも期待されている分野の1つになるであろう。

今回の統計的考察が、今後、卵管不妊の治療成績向上に寄与することを切に望むものである。

(稿を終るに望み、懇篤な御指導、御校閲を賜った恩師百瀬和夫教授に深甚なる謝意を表します。また、卵管病理組織所見に関する指導を受けた大村 剛講師、および協力をいただいた医局員各位に厚くお礼申し上げます。なお本論文の要旨は、第96回日本不妊学会関東地方部会(横浜)にて発表した。)

### 文 献

- 1) Hafez, E. S. E. : Function of the fallopian tube in human reproduction. Clin. Obstet. Gynecol. 22: 61, 1979.
- 2) 吉澤伸二, 内野鴻一, 百瀬和夫: 当教室における卵管不妊の経年的推移, 産婦の世界, 28: 3, 1976.
- 3) 平川 舜, 小島栄吉, 西田修二, 大村 剛: Danazol療法による子宮内膜症の内視鏡的管理, 産婦の世界, 33: 168, 1981.
- 4) Dmowski, W. P., Scholer, H. F. L., Mahesh, V. B., Greenblatt, R. B.: Danazol—A synthetic steroid derivative with interesting physiologic properties. Fertil. Steril. 22: 9, 1971.
- 5) Greenblatt, R. B., Borenstein, R., Hernandez, S.: Experiences with danazol (an anti-gonadotropin) in the treatment of infertility. Am. J. Obstet. Gynecol. 118: 783, 1974.
- 6) Hofmann, R., Schröder, S., Meinkies, M.: Auswertung von 500 Hysterosalpingogrammen unter besonderer Berücksichtigung der Tubensterilität. Zbl. Gynäkol. 107: 605, 1985.
- 7) Dor, J., Homburg, R., Rabau, E.: An evaluation of etiologic factors and therapy in 665 infertile couples. Fertil. Steril. 28: 718, 1977.
- 8) World Health Organization: Comparative trial of tubal insufflation, hysterosalpingography, and laparoscopy with dye hydrotubation for assessment of tubal patency. Fertil. Steril. 46: 1101, 1986.
- 9) 富田哲夫, 桑原惣隆, 杉浦幸一, 石間友明, 松井一成: 当教室における最近5年間の不妊症に関する統計的考察, 日不妊誌, 28: 94, 1983.
- 10) 松山明美, 白須和裕, 大森治郎, 鈴木直幸, 植村次雄: 当教室における不妊クリニック患者の推移, 日不妊誌, 26: 313, 1981.
- 11) 寺田夏樹, 前川岩夫, 内藤正文, 小堀恒雄, 高見沢裕吉: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊誌, 28: 69, 1983.
- 12) 東出香二, 下須賀洋一, 万羽 進, 成田 収: 最近の当教室における不妊外来統計, 日不妊誌, 22: 208, 1977.
- 13) 白水充典, 平井ひろみ, 河田文子, 藤本 俊, 有馬昭夫, 下村 宏, 加藤 俊: 最近5年間の当教室不妊症外来の臨床統計(昭和41~45年の統計と比較して), 日不妊誌, 27: 59, 1982.
- 14) 百瀬和夫, 鈴木ふさ, 高橋七雄: 子宮卵管造影, 臨放, 28: 1423, 1983.
- 15) 江口貞雄: 卵管閉塞症に関する臨床的ならびに病理学的考察, 日不妊誌, 4: 231, 1959.
- 16) 斉藤真一, 西村順一, 百瀬和夫: 卵管機能検査法とその限界, 産婦実録, 35: 1429, 1986.
- 17) Aref, I., Reda, M., Kandil, O., Tagi, A. El.: Postcoital recovery of sperm in douglas pouch aspirates of infertile patients. Int. J. Gynaecol. Obstet. 22: 29, 1984.
- 18) Ismajovich, B., Neudorfer, M., Confino, E., Lidor, A. L., David, M. P.: The role of severe adnexal disease in tubal reconstructive sur-

- gery. Acta Eur. Fertil. 15: 261, 1984.
- 19) 植木 実, 佐野 隆: エンドメトリオーシスと不妊, 産婦人科 MOOK, No5: 239, 金原出版, 1979.
  - 20) Abyholm, T., Holst, N., Bjoro, K.: pregnancy rates after tubal surgery in different etiological groups of infertility. Acta Eur. Fertil. 16: 405, 1985.
  - 21) Portuondo, J. A., Irala, J. P., Ibanez, E., Echanouaregui, A. D.: Clinical selection of infertile patients for laparoscopy. Int. J. Fertil. 29: 85, 1984.
  - 22) 坂倉啓一: 不妊症例における子宮卵管造影像と腹腔鏡所見併用による診断的意義, 慶応医学, 59: 737, 1982.
  - 23) 小池皓弐, 三村三喜男, 大島 勉, 小川統久, 八神喜昭: 不妊症における腹腔鏡検査の意義について, 日不妊誌, 27: 40, 1982.
  - 24) 田中俊誠, 藤本征一郎, 及川 衛, 桜木範明, 一戸喜兵衛: 卵管周囲癒着ならびに卵管通過性の Hysterosalpingography による診断と Laparoscopy による確認, 日産婦誌, 39: 161, 1987.
  - 25) 百瀬和夫, 善方正一, 酒井隆慈: 卵管形成術, 産と婦, 49: 1395, 1982.
  - 26) 林 基之: 卵管不妊の治療, 産婦治療, 32: 67, 1976.
  - 27) 林 基之, 黒沢忠彦, 佐藤龍男: 難治性卵管不妊, 産婦実録, 22: 365, 1973.
  - 28) 河上征治: 卵管形成術について, 産と婦 46: 1434, 1979.
  - 29) 井上正人, 藤井明和: 卵管形成術の展望, 産婦の世界, 31: 1083: 1979.
  - 30) 真木 健: 卵管形成術に対する microsurgery の応用—その基礎と臨床—, 26: 187, 1981.
  - 31) Taylor, P. J., Leader, A.: Surgery of the fallopian tube. Int. J. Fertil. 29: 65, 1984.
  - 32) 滝 一郎: 子宮内膜症のすべて, p136, 南江堂, 東京, 1976.
  - 33) Olive, D. L., Stohs, G.F., Metzger, D. A., Franklin, R.R.: Expectant management and hydrotubations in the treatment of endometriosis-associated infertility. Fertil. Steril. 44: 35, 1985.
  - 34) Fortier, K. J., Haney, A.F.: The pathologic spectrum of uterotubal junction. Obstet. Gynecol. 65: 93, 1985.
  - 35) Sulak, P. J., Hayslip, C. C., Letterie, G. S., Woodward, J. E., Coddington, C.C., Klein, T. A.: Histology of proximal tubal occlusion. Fertil. Steril. 48: 437, 1987.
  - 36) Bateman, B.G., Nunley, W. C. Jr., Kitchin, III, J. D.: Surgical management of distal tubal obstruction—are we making progress? Fertil. Steril. 48: 523, 1987.
  - 37) Kitchin, III, J. D., Nunley, W.C., Bateman, B. G.: Surgical management of distal tubal occlusion. Am. J. Obstet. Gynecol. 155: 524, 1986.
  - 38) 大久保綜也: 卵管性不妊に関する研究, 日不妊誌, 23: 339, 1978.
  - 39) 高野 昇: 卵管形成術後の妊娠成功, 産と婦, 26: 890, 1979.
  - 40) Paterson, P.J.: Indications for the treatment of tubal infertility patients by microsurgery or in vitro fertilization. Aust. N. Z. J. Obstet. Gynecol. 24: 262, 1984.

## Clinico-pathological Studies on the Tubal Infertility in Our Clinic

Junichi Nishimura

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

A comparative study was done on the cases having undergone operations to treat infertility; they were divided into two groups: one having undergone tubal operation and the other having undergone other operations, centering on the statistics collected from 1975 to 1985 in comparison with those from 1964 to 1974. The number with a past history of tuberculosis has decreased significantly and, as a matter of course, patients with case histories of intraperitoneal inflammation and gynecological operation and, further, of extrauterine pregnancy were often seen in the tubal operation group.

Incidence of tubal infertility seen from HSG shows a trend of slight decrease in recent years but the same entity seen from endoscopical aspect contrarily an increasing trend. While frequency of tuboplasty is following a trend to decrease, that of operation on endometriosis is on the increase, constituting an important factor of infertility.

The rate of pregnancy after tubal operation at the later periods is 10.1%, being low compared with 16.5% of other operation groups, reflecting the difficulty in treating tubal infertility. But the fact that 85.7% of the pregnancies occurred within 2 postoperative years suggests the necessity of continuing treatment for at least 2 years postoperatively.

(受付: 昭和 62 年 11 月 21 日, 特掲)

# マイクロサージェリーによる 卵管形成術の成績と流産例の検討

## Studies on the Pregnancy and Miscarriage Rate after Microsurgical Tubalplasty in Our Clinic

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	浅井光興	石原実
Takeshi YAMAZAKI	Mituoki ASAI	Minoru ISHIHARA

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Aichi Medical University

1982年1月より1986年12月までの5年間に愛知医科大学産婦人科学教室などにおいて施行した77例の卵管マイクロサージェリーの術後成績と、術後妊娠例についての検討を加えた。

1年以上追跡が継続している58例のうち妊娠例は20例34.5%であった。また分娩例は10例、流産例は10例であり、うち2例は卵管妊娠であった。流産例について、術後妊娠までの期間、手術時年齢などに分娩例との間に差は認められなかった。また術式についての検討で、勿合術後の再建卵管の長さを4cmを基準に検討したが、分娩例との間には差はなく、卵管形成術後の妊娠例については、卵管の直径3cmを基準に検索したが、分娩例と流産例との間に差はなく、また一定の傾向をも見出せなかった。流産例の検討から流産例を減少させることで、卵管のマイクロサージェリー後の生児獲得率を向上させ得るとの期待から、このような調査を行なったが、現時点では明確な情報を得るには至っていない。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33 (2), 369-374, 1988)

### 緒言

卵管閉塞による不妊症の治療は、欧米において1970年代初めにマイクロサージェリーの導入により従来行なわれてきた薬物療法、通気、通水療法から大きく転換することとなったが、本邦においては、実際に広く始められたのは1980年代に入ってからといっても過言ではない。ということはほとんど時を同じくして、わが国に紹介された体外受精の技術導入とも重なり、この2つの治療法が並行して進展してきたものと考えられている。

このような経過から、なお歴史も浅く一部を除き比較的短い経過しかないためか、詳細な成績の報告は散見する程度である<sup>1,2)</sup>。われわれの大学の付属病

院においては昭和56年よりこの卵管不妊症に対してmicrosurgeryをとり入れてきた。そこで、昭和62年12月までの5年間に実施した77件の卵管microsurgeryのうち、手術後1年以上の追跡が継続されている58例についての予後調査を行なったところ、諸家の報告に比べ術後妊娠例のうちの流産に終わる確立がかなり高頻度であるため、術後の成績を検討し、併せて流産例についても若干の検討を加え報告する。

### 対象および方法

愛知医科大学産婦人科学教室において1982年1月より1986年12月までの5年間にHSG、もしくは腹腔鏡により卵管閉塞症の診断を受け、かつ、手術適応例との判定をされて卵管マイクロサージェリー

表1 Microsurgery による卵管形成術対象

患者の既往妊娠歴分類		N: 77
原発不妊	30 (39.0%)	
続発不妊	47 (61.0%)	
0 子不妊	45 (95.7%)	
人工妊娠中絶後	36	
自然流産後	3	
子宮外妊娠後	4	
中絶, 外妊後	2	
1 子不妊	2 (4.3%)	

表3 Microsurgery による卵管形成術後の妊娠率

追跡継続数 (1年以上)		58
○妊娠	20 (34.5%)	
分娩	10 (17.2%)	
流産	8 (13.8%)	
卵管妊娠	2 (3.4%)	
○不妊	38 (65.5%)	
手術総数		77

表2 Microsurgery による卵管形成術の術式分類

( ) 内は追跡継続例: 58例

術式	術後経過期間					
	4年以上	3~4年	2~3年	1~2年	1年	計
癒着剥離術 (付属器に限定)	0	2 (1)	1	0	0	3 (1)
癒着剥離術 (付属器を越える)	2	0	0	0	0	2
卵管吻合術	2 (1)	4 (4)	8 (5)	7 (6)	4 (4)	25 (20)
卵管采形成術	3 (1)	5 (3)	3 (3)	5 (5)	4 (4)	20 (16)
卵管吻合術 兼 卵管采形成術	2 (1)	4 (3)	4 (4)	3 (3)	4 (4)	17 (15)
卵管開口術	2 (1)	0	2 (2)	1 (0)	3 (3)	8 (6)
その他	1	1				2 (0)
計	12 (4)	16 (11)	18 (14)	16 (14)	15 (15)	77 (58)

を受けた 77 例について、その後の追跡調査を行なった。なお 1984 年以降は全例 HSG と腹腔鏡両検査により手術適応を判定している。

対象となった 77 症例の既往妊娠歴を検討すると(表 1)、原発不妊症例 30 例(39.0%)、続発不妊症例 47 例(61.0%)であった。続発性不妊症のうち 2 例(4.3%)は I 子不妊であるが、残る 45 例(95.7%)は O 子不妊であった。O 子不妊 45 例のうち 36 例(80%)は 1 回ないし 2 回の人工妊娠中絶の既往歴があった。このうちの多くは結婚前の初期妊娠中絶であった。また自然流産歴のみを既往妊娠とするものが 3 例あり、子宮外妊娠後の卵管閉塞例も 6 例存在した。

このように人口妊娠中絶の先行例が圧倒的に多いことは、卵管閉塞症の成因を考える上で注目されるべき点と考えられた。

次に対象例を International Federation of Fertility and Sterility (IFFS) の分類により術式別に検討すると、付属器のみの癒着剥離術を行なったものが 3 例、付属器をこえる癒着剥離術は 2 例であった。また最も症例数の多いものは、卵管吻合術で 25 例

32.5%を占めている。また卵管采形成術を行なったものが 20 例、combination 術式に入る卵管吻合術と卵管采形式術を併せて行なったものが 17 例あり、Neostomy というべき卵管開口術 8 例、その他に子宮外妊娠の保存手術例が 2 例含まれている(表 2)。これを表 2 に一括して示したが、いずれも術後 1 年以上経過したものを検討対象としてはいるが 19 例の追跡不能例がある。

成 績

卵管マイクロサージェリーを施行し 1 年以上経過した 77 症例のうちで、追跡継続例 58 例の中で妊娠例は 20 例(34.5%)である。その妊娠の内訳は分娩 10 例(17.2%)、流産例 10 例(13.8%)、うち 2 例(3.4%)は卵管妊娠であった(表 3)。

このように妊娠例 20 例のうち 10 例が流産もしくは卵管妊娠に至ったことから、生児獲得率は 17.2%と芳しいとはいいがたい結果であった。

分娩例 10 例の術式と妊娠までの期間、および分娩週数を示すと表 4 のようになる。

表4 卵管形成術後の分娩症例

N:10

No.	症 例	手術時年齢	術 式	妊娠までの期間	予 後	備 考
1	O.K.	28歳	采形成術(片側)	2年2か月	満期産	
2	Y.K.	29歳	吻合術(片側)	1年1か月	"	
3	I.Y.	26歳	采形成術(両側)	3か月	"	
4	M.Y.	27歳	癒着剥離術	6か月	"	
5	H.K.	33歳	再吻合術(両側)	3か月	"	
6	H.R.	27歳	吻合兼采形成術	1年	32週早産	
7	K.M.	26歳	采形成術(両側)	8か月	満期産	6か月時流産あり
8	M.K.	28歳	吻合兼采形成術	8か月	"	
9	S.M.	30歳	吻合術(片側)	8か月	"	
10	I.A.	28歳	采形成術(両側)	9か月	"	
	平 均	28.2歳		9.6か月		

表5 Microsurgeryによる卵管形成術後の流産症例

No.	症 例	手術時年齢	術 式	術後妊娠までの期間	流産週数	備 考
1	K.M.	26歳	采形成術(両側)	6か月	6週	次周期再妊娠, 満期産する
2	I.T.	26歳	采形成術(片側)	2か月	7週	
3	I.M.	21歳	采形成術(両側)	5か月	6週	
4	Y.T.	31歳	峽部-峽部吻合術(片側)	1年7か月	6週	付属器摘出の既往
5	S.M.	31歳	間質部-膨大部吻合(片側)	3か月	6週間質部妊娠	卵管妊娠の既往あり
6	A.M.	23歳	峽部-膨大部吻合(両側)	1年11か月	7週	16歳 肺結核 卵管閉塞部の組織診にて 結核の既往証明
		24歳		2年5か月	6週	
7	A.M.	32歳	峽部-峽部再吻合術(両側)	2か月	6週	再婚による再吻合
8	O.M.	27歳	采形成術(両側)	10か月	5週	
9	T.Y.	23歳	采形成術(両側)	3か月	6週	
10	K.A.	26歳	采形成術(片側)	4か月	6週峽部妊娠	
	平 均	26.4歳		9.6か月	6.1週	

分娩10例の術式と妊娠までの期間および予後を示したものである。妊娠までの期間は平均9.6カ月、最も長いもので2年2カ月、最も短いものは術後3カ月であった。しかしながら10例中6例までが術後8カ月以内の妊娠であった。また1例は自然流産後の再妊娠による分娩例である。また1例32週の早産があるも、その他は全て満期産であった。

表5は流産例10例を一括表示したもので、手術時の平均年齢は26.4歳、妊娠までの期間は10.2カ月であり、流産の確認された週数は5週1例、7週2

例、他はすべて6週であった。これらの症例に限って考えれば、術後1年以上経過して妊娠に至った2例3妊娠は、いずれも吻合術を施行された症例であった。また間質部膨大部吻合術を行なった症例は、間質部妊娠の破裂を来した。他に采形成術を行なった1例が峽部妊娠の破裂のため卵管摘出術の止むなきに至った。

表6は卵管形成術後の妊娠例20例の術式を流産、分娩の転帰別に示したものであるが、特別の傾向は見出せない。しかしながら妊娠例の50%が流産した

表6 Microsurgery による卵管形成術後の妊娠例の手術術式 (20例)

		流産例	分娩例
癒着剥離術	付属器限定	0	1
吻合術	間質部—膨大部	1	0
	峽部—峽部	2	2
	峽部—膨大部	1	1
采形成術	by deagglutination and dilatation with serosal incision	3 3	2 2
吻合術 兼 采形成術	峽部—峽部 by deagglutination and dilatation	0	2
計		10	10

表7 卵管吻合術後の妊娠例における卵管の長さの検討

No.	症例	年齢	術式 (吻合術)	卵管の長さ (両側の場合は長い) 方を基準にする	妊娠までの期間	予後
1	Y.K.	29歳	峽部—膨大部 (片側)	> 4 cm	1年1か月	満期産
2	S.M.	30歳	峽部—峽部 (片側)	> 4 cm	8か月	〃
3	H.K.	33歳	峽部 再 (両側)	< 4 cm	3か月	〃
4	Y.T.	31歳	峽部—峽部 (片側)	> 4 cm	1年7か月	6週流産
5	S.M.	31歳	間質部—膨大部 (片側)	< 4 cm	3か月	6週間質部 妊娠
6	A.M.	23歳	峽部—膨大部 (両側)	< 4 cm	1年11か月 2年5か月	7週流産 6週流産
7	A.M.	32歳	岐部 再 (両側)	> 4 cm	2か月	6週流産

表8 卵管采形成術後の妊娠例における卵管留水腫の大きさの検討

No.	症例	年齢	術式	卵管留水腫の直径	妊娠までの期間	予後
1	O.K.	28歳	采形成 (片側)	> 3 cm	2年2か月	満期産
2	I.Y.	26歳	采形成 (両側)	> 3 cm	5か月	〃
3	K.M.	26歳	采形成 (両側)	< 3 cm	8か月 (6か月時流産あり)	〃
4	M.K.	28歳	吻合兼采形成	< 3 cm	8か月	〃
5	H.R.	27歳	吻合兼采形成	< 3 cm	12か月	32週早産
6	I.A.	28歳	采形成 (両側)	< 3 cm	9か月	満期産
7	K.M.	26歳	采形成 (片側)	< 3 cm	6か月	6週流産
8	I.T.	26歳	采形成 (片側)	< 3 cm	2か月	7週流産
9	I.M.	21歳	采形成 (両側)	< 3 cm	5か月	6週流産
10	O.M.	27歳	采形成 (両側)	> 3 cm	10か月	5週流産
11	T.Y.	23歳	采形成 (両側)	> 3 cm	3か月	6週流産
12	K.A.	26歳	采形成 (片側)	> 3 cm	4か月	6週峽部破裂

という報告も他にはみられないようである。

表7はかつて、Gomelが卵管形成術後の卵管の長さを4cmを標準にして妊娠までの期間との間の相関について検討した報告にならって、われわれが行なった勿合例の妊娠7例について検索したものであるが、4cm以下での分娩例1例、4cm以上の分娩例は2例であり、また流産例に関しては、それぞれ2例ずつで特別な傾向はみられなかった。

表8は卵管留水腫Iにおける形成術後の妊娠例12例について、そのさいの卵管留水腫の大きさを直径3cm以上と以下とに分けて検討したものであるが、それぞれ大きさの間に差はなく、妊娠までの期間の間にもみるべき特別な差は認められなかった。

以上当教室において77症例の卵管のマイクロサージェリーを行ない、1年以上追跡が継続している58症例についての術後の経過について検討した。

### 考 察

microsurgeryを応用した卵管形成術後や卵管勿合術は、1970年代から1980年代初めにかけて多く報告され、Gomel<sup>13,4)</sup>、Winston<sup>5,6)</sup>らの詳細な検討のみならず、枚挙にいとまかないほどである<sup>7-11)</sup>。これらの報告は概して本邦にみられる報告より妊娠率は良好なものが多い、約10編に及ぶ論文を分析すると、平均妊娠率は40%である。しかし30%以下の報告もある反面、60%を上回る報告もあり、一定していない。これを最も安易に判断すれば対象症例の選択にあるといえないこともない。卵管勿合ことに卵管結紮後の再勿合型が主流である、北米中心のデータは、炎症型閉塞卵管の治療手術が主体である欧州よりははるかに良好な成績を出しているとみられている。本邦では残念ながら症例を選択する土壌がなく、炎症の治療目的の卵管マイクロサージェリーが主体である。従って術後妊娠率の向上が望みにくい理由はここにあるといえよう。

われわれの教室のデータに関するかぎり、最も対象の多いのは卵管勿合術、卵管形成術とそのCombination methodであるが、20例の妊娠の間と対象による差は論じがたい。

しかしながら、今回ここに報告する最大の意図は流産例の頻度の高さについてである。妊娠例20例の中で8例は、自然流産に終わった。2例の子宮外妊娠は止むを得ざるものとしても残る18妊娠中の8流産、しかもいずれも初期の流産であるが故、単なる偶然とは考えにくい。そこで術後の生児獲得率を上昇させるためにはこの初期流産をどうにかしてなくせないものかと考えざるを得ないところである。

われわれの方法では術後の抗癒着剤の投与は、術前日より副腎皮質ホルモンを投与するGomelの方法を採用し術中局所へも閉腹前に投与している。また、デキストラン70も100ml腹腔内に入れるようにしている。術後通水は、賛否両論のある中で、一貫して全例に術後7日目に施行してきた。また術後の妊娠時期の問題であるが、術後すぐから妊娠を認める方策で妊娠をすすめてきた。その結果、特に術直後の妊娠例に流産が多いということではないが、因果関係がないとはいいたいと思われるので、今後なお検討を加えたいと考えている。Gomel<sup>11,2)</sup>の報告で、卵管勿合術後の妊娠は再建された残存卵管の長さとの相関するというものがあり、とくに4cmより長いか短いかにより有意の差があるという。これは流産との関係を検索したものではないが、その基準により筆者らも勿合例の流産と分娩例については分析したが、特別な関係は見出すことが出来なかった。同様の考え方から卵管留水腫例について、その大きさと関連を考慮して検討した。もとより卵管留水腫が大きければ卵管内膜の線毛細胞の損傷はひどく、妊孕性への影響が避けがたいことはよく知られたところである。そのような観点から流産例について卵管留水腫との関わりを分析したが、やはりいかに水腫が大きくとも子宮内まで受精卵が到達してから流産という転帰をとった症例と分娩例の間には一定の傾向も見られず、特別な結論を見出すには至っていない。

今回の検討例で流産後の再妊娠は2例あり、1例は満期産をし、1例は再び流産に至った。またこの他の流産例7例は全くその後妊娠をしていない。そして全例ともHSGでは良好な卵管像を呈している。これらの症例の流産の理由は、少なくとも子宮内妊娠が成立していることから、マイクロサージェリーそのものも手技的な点に問題があるとは思えないところであるが、いずれにせよこの高頻度の流産例を分娩にまでもっていくことが出来れば、さらに生児獲得率を上昇させることが出来ると思われ、なんとか改善出来ないものかと考えている。症例数、妊娠例数も多くないことから、単なる偶然といえるかも知れないが、今後われわれの機関での症例を増やすことと、諸家の報告を得て、さらに改善出来る点の発見に努めたいと考えている。

### 結 語

1) 77例の卵管のマイクロサージェリーを施行し、1年以上の追跡継続中の58例のうち妊娠例は20例34.5%であった。

- 2) 20 例のうち分娩例は 10 例, 流産例 10 例, うち 2 例の卵管妊娠が含まれている。
- 3) 流産例を分娩例と比較検討したが, 吻合術施行例において再建卵管の長さとの相関は認められなかった。
- 4) 同じく卵管留水腫における卵管形成術施行例で卵管留水腫の大きさとの相関は認められなかった。
- 5) 結局, 流産率の高さとマイクロサージェリーとの因果関係を把握するには至らなかった。

#### 参考文献

- 1) 印牧義孝: マイクロサージェリーによる卵管性不妊の治療, 34 (6): 603, 1982.
- 2) 星合 昊, 森 良一郎, 今泉英明, 上原茂樹, 京野広一, 鈴木雅洲: マイクロサージェリーによる卵管形成術後の成績と適応に関する研究. 日不妊会誌. 30: 451, 1985.
- 3) Gomel, V.: Tubal reanastomosis by microsurgery. *Fertil. Steril.*, 28: 59, 1977.
- 4) Gomel, V.: Classification of operations for tubal and peritoneal factors causing infertility. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 23: 1259, 1980.
- 5) Winston, R. M. L.: Microsurgery of the fallopian tube; from fantasy to reality. *Fertil. Steril.*, 34: 521, 1980.
- 6) Winston, R. M. L.: Progress in tubal surgery. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 8: 653, 1980.
- 7) Diamond, E.: Microsurgical reconstruction of the uterine tube in sterilized patients. *Fertil. Steril.*, 28: 1203, 1977.
- 8) Diamond, E.: Lysis of postoperative pelvic adhesions in infertility. *Fertil. Steril.*, 31: 287, 1977.
- 9) Siegler, A. M. and Kontopoulos, V.: An analysis of microsurgical and microsurgical techniques in the management of the tubosurgical factor in infertility. *Fertil. Steril.*, 32: 377, 1979.
- 10) Larsson, B.: Late results of salpingo ostomy combined with salpingolysis and ovariolysis by electromicrosurgery in 54 women. *Fertil. Steril.*, 37: 156, 1982.
- 11) Patton, G. W. Jr.: Pregnancy outcome following microsurgical fimbrioplasty. *Fertil. Steril.*, 37: 150, 1982.
- 12) Gomel, V.: An odyssey through the oviduct. *Fertil. Steril.*, 39: 144, 1983.

Studies on the pregnancy and miscarriage rate after microsurgical tubalplasty in our clinic

Masayoshi Noguchi, Shigeo Hieda,  
Toshiyuki Akita, Takeshi Yamazaki,  
Mituoki Asai and Minoru Ishihara

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Aichi Medical University

Pharmacotherapy, or therapy by insufflation or hydrotubation had long been performed as a treatment for the sterility by tubal obstruction, but the situation has greatly changed in the early 1970's by the introduction of microsurgery in western countries. In Japan, however, it is no exaggeration to say that the microsurgery has been actually and widely performed since the early 1980's.

Owing to such process, history of microsurgery is still short and the process of reported cases is relatively short except some cases in Japan, so that the reports with detailed results have rarely seen. In the hospital attached to our university, microsurgery has been introduced for the tubal sterility since 1981. Then we made an investigation of the prognosis of 58 cases, whose condition has been inspected continuously over more than one year after an operation, out of 77 who underwent a microsurgery during 5 years by December 1987. As results, the miscarriage rate in our subjects who became pregnant after the operation was fairly high compared with the reports of other doctors. So this time we studied the postoperation condition of our subjects and also little about miscarriage cases, and reports the results hereinafter.

- 1) Microsurgery was performed to fallopian tubes of 77 cases. Among 58 cases who were still under a follow-up inspection over 1 year or above, the pregnant rate was 34.5% (20 cases).
- 2) Out of those 20 cases, 10 cases were delivered, and other 10 had a miscarriage (including 2 cases of tubal pregnancy).
- 3) Miscarriage cases and delivery cases were comparatively examined, however, no correlation with the length of reconstructed fallopian tubes was found in cases that underwent anastomosis.
- 4) Similarly in cases with hydro-salpinx that underwent fimbriae tubae reconstructive surgery, no correlation was found with the size of hydrosalpinx.
- 5) In the end, causal relationship between the high miscarriage rate and microsurgery has not been clarified yet.

(受付: 昭和 62 年 12 月 2 日特掲)

## A CASE OF SUCCESSFUL DOUBLE TUBAL ANASTOMOSIS ON A SINGLE OVIDUCT

Seiji HANADA, Ichirou TAKEUCHI,  
Kinichirou MIZUNO and Yoshiaki YAGAMI

Department of Obstetrics and Gynecology  
Nagoya City University Medical School

---

**Summary:** A rare case resulting in delivery of a full-term baby following double tubal end-to-end anastomosis on single oviduct which was blocked pathologically in two different sites is presented. The prognosis is not necessarily encouraging, but this surgical procedure is feasible when a situation of the kind is encountered.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33 (2), 375-377, 1988)

---

### Introduction

Salpingoplasty, which has been employed for the recovery of tubal function disturbed by adhesion to peritubal tissue and/or occlusion, has yielded very favorable results in patients suffering from sterility, thanks to the remarkable progress in operating techniques, special tools and suture materials<sup>1-3</sup>.

This is the report of a rare case, in which a woman with tubal sterility having a single oviduct occluded at two different sites, double tubal end-to-end anastomosis was performed following partial resection of its two occluded segments. As a result, not only recovery of tubal patency but also subsequently a full-term baby was obtained.

### Case report

The patient was a 33-year-old housewife with secondary sterility, who came to our hospital in July 1983 desiring to have a child. In December 1981 she had undergone left salpingectomy for ectopic pregnancy, and 6 months later also had a relaparotomy, with lysis of intestinal adhesion, for mechanical ileus caused by postsurgical adhesion formation. The routine clinical tests for infertility were performed. Hysterosalpingograms

showed the right oviduct was occluded at its isthmic segment and the left oviduct defective after a previous salpingectomy. The other sterility tests confirmed no abnormality, including male factor. The laparoscopy revealed a normal left ovary and an entirely absent left oviduct resulting from the salpingectomy for tubal pregnancy; the right oviduct presented a slight adhesion formation between its ampulla and the pelvic peritoneum, but with normal tubal fimbriae. Dye was injected through the uterus under laparoscopy, but did not enter the oviduct even under moderate pressure. From these results, tubal occlusion was thought to be a sole causative factor in the woman's sterility. In May 1984, salpingoplasty on the right oviduct was performed. On laparotomy, the right tube was freed from peritubal adhesion without difficulty, and tubal patency was explored by 1-0 nylon suture material used as a sound. It was clarified that the oviduct was occluded at two different sites of tubal isthmus, i. e., proximal region of isthmus and distal adjacent to isthmic-ampullary junction of the oviduct. Employing microsurgical techniques, followed by resecting two occluded segments in their respective length of 6mm and 12mm, double tubal end-to-end anastomosis; with

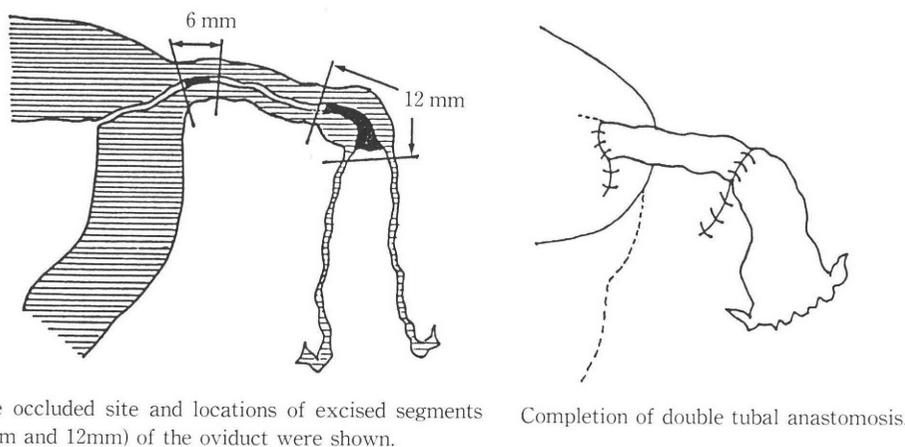


Fig. 1 Schematic figures of a double tubal end-to-end anastomosis

isthmic-isthmic and isthmic-ampullary, was performed using four interrupted sutures of muscular layer by 10-0 Dexon® (Davis & Geck, N. J.) and six interrupted sutures of the serosa by 8-0 nylon, respectively (Fig. 1). A suture material of 1-0 nylon was indwelled as a splint on suture and removed the next day. Pathologic examination of resected tubal specimens proved the same histologic finding of follicular salpingitis. Hysterosalpingograms at six months after surgery showed the tubal occlusion at the terminal ampulla and a small hydrosalpinx in the reconstructed oviduct. Relaparotomy with salpingolysis and fimbrioplasty was performed. No scar formation could be identified on the serosa of the anastomosed oviduct.

In July 1985, pregnancy was confirmed biochemically by pregnancy test, but resulted in abortion after six weeks of pregnancy. By ultrasound, the gestational sac could not be detected in the uterine cavity, so it was a matter of course to suspect a tubal pregnancy in the reconstructed oviduct. It was not feasible to prove whether a tubal abortion had occurred, because laparoscopy was refused. Since pathologic examination of the specimen obtained by D & C from uterine cavity

could not have identified the villi in the tissues, it was supposed that complete abortion must have occurred. Hysterosalpingograms taken at 3 months after the abortion, showed that the patency of the reconstructed oviduct had been completely maintained, but not peritubal adhesion. In December 1985, the woman became pregnant, and in July 1986 delivered a full-term baby.

#### Discussion

Multiple tubal occlusion on a single oviduct is thought to occur in rare instances. As seen in this case, it is hardly feasible to diagnose radiologically or laparoscopically the occluded sites at two different segments. This is probably the first report in Japan of a successful pregnancy following a double tubal end-to-end anastomosis after resection of two occlusions on a single oviduct due to a pathologic cause. The same procedure may well have been employed successfully for the reversal of tubal sterilization in patients with a single oviduct<sup>1)</sup>. In connection with successful pregnancy following double surgery on a single oviduct blocked pathologically, there has been only one report in which ampullary end-to-end anastomosis and isthmic uterotubal implantation

were employed<sup>5)</sup>. Another author<sup>4)</sup> commented on the double surgery on single oviduct that in such a case of tubal occlusion at two different sites on the same oviduct, it would have been better to perform tubo-cornual anastomosis instead of tubal implantation in addition to the end-to-end ampullary anastomosis after excision of the involved segment. In our case, the isthmic-ampullary tubal anastomosis after resection of almost all of the isthmus including occluded segments instead of the procedure we used in this case, was abandoned because the procedure were presumed to result in some disadvantage such as much less fecundity caused by remarkable shortening of the tube to less than 3cm. We thought that double tubal anastomosis feasible to reserve the oviduct as long as about 6cm would lead to a much better possibility of pregnancy, even though two lesser disadvantages might be a greater incidence of tubal pregnancy and tubal reocclusion on the reconstructed oviduct. For the present case of a woman with a very strong desire for a child, hydrosalpinx due to adhesion formation of tubal fimbriae after the first salpingoplasty was controlled by reconstructive surgery with fimbrioplasty, leading to successful delivery. Although IVF-ET has been regarded as a new therapeutic modality for women with tubal sterility, salpingoplasty by means of microsurgery with less mental and economic burden on patients may well be indicated in certain cases of female sterility.

### References

1. DeCharney, A. and Mezer, H.: Current approach to tubal anastomosis. *Obstet. Gynecol. Ann.* 14: 277, 1985
2. Wallach, E. E., Manara, L. R. and Eisenberg, E.: Experience with 143 cases of tubal surgery.

*Fertil. Steril.* 39:609, 1985

3. Winston, R. M. L.: Microsurgery of the fallopian tube: From fantasy to reality. *Fertil. Steril.* 34: 521, 1980
4. Gomel, V.: Conservative surgical treatment of tubal pregnancy. In *Microsurgery in Female Infertility*, ed I: P209, Little, Brown and Company, 1983
5. Sander, S. M.: Successful multiple resection and reconstruction of the oviduct. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 129:344, 1977

### 単一卵管の二重端端吻合術により 妊娠に成功した 1 例

名古屋市立大学医学部産科  
婦人科学教室

花田征治 竹内一郎 水野金一郎  
八神喜昭

マイクロサージェリーによる卵管形成術の内でも、閉塞卵管に対する卵管部分切除-端端吻合術は、治療成績の優れた治療法であるが、不妊手術後の再疎通術として実施した場合と比較して、病的原因に依る閉塞例に行なった場合の治療成績は明らかに劣ると考えられている。我々は卵管妊娠のため片側の卵管摘出術を受けた後、残された対側卵管が、病的原因により卵管峡部と、峡部-膨大部接合部の 2 か所で閉塞していた症例に対して、閉塞部位をそれぞれ 6 mm, 12 mm の長さに切除した後、double tubal end-to-end anastomosis を行ない、正常妊娠に 2 児を得た貴重な症例を経験したので報告した。

卵管性不妊症に対しては、新しい治療法である IVF-ET 法が、我が国でも臨床応用が検討されているが、治療成績は未だ、かならずしも満足できるものではない。卵管形成術は、IVF-ET 法と比べて、患者の精神的、経済的負担がはるかに軽いという利点があるところから、卵管性不妊症の有用な治療法とし応用できる症例は少なく無いと考える。

(受付 昭和 62 年 9 月 28 日)

## 経膈探触子を用いた 超音波採卵の有用性に関する検討

### Evaluation of Ultrasonic Transvaginal Oocyte Collection for IVF-ET

鳥取大学医学部産科婦人科

見尾保幸 Yasuyuki MIO	岩部富夫 Tomio IWABE	関島秋男 Akio SEKIJIMA
谷川正浩 Masahiro TANIKAWA	寺戸博文 Hirofumi TERADO	戸田稔子 Toshiko TODA
和田省 Tasuku WADA	岩本好吉 Koukichi IWAMOTO	菊川章仁 Akihito KIKUKAWA
	前田一雄 Kazuo MAEDA	

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tottori University School of Medicine, Yonago, Japan

体外受精・胚移植 (IVF-ET) のための採卵法として、卵胞がダグラス窩に存在し、超音波ガイド下経腹採卵の不可能な症例に対し、超音波ガイド下経膈採卵を試み、その有用性と安全性を検討した。

対象は、昭和61年11月より昭和62年3月までの間に当科にて超音波ガイド下経膈採卵よりIVF-ETを実施した9症例15周期である。

採卵率は、100%/cycle (15/15), 81.8%/follicle (36/44) と極めて良好であり、採取された卵のうち、卵胞液中に存在した場合が、58.3% (21/36) に認められ、残りの卵は、flushingにより回収された。回収された卵の受精率は、全体では79.4%/oocyte (27/34) であり、卵管不妊及び子宮内膜症のみでは82.6%/oocyte (19/23) であった。受精の確認された卵のうち、正常分割した率は、全体では41.8% / oocyte (13/27) と低値であったが、卵管不妊及び子宮内膜症のみでは63.1%/oocyte (12/19) と改善された。

本法による術中術後の合併症として、1症例1周期に子宮動脈下行枝の損傷による外出血200mlを認めたが圧迫止血が可能であった。

経膈探触子を用いた超音波採卵は、膈凹蓋部から近距離のダグラス窩周辺に存在する卵胞に対しては、極めて高い採卵率が得られ、安全性も高く、有効な採卵法と考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33(2), 378-385, 1988)

#### 緒言

体外受精・胚移植 (in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) のための超音波ガイド下採卵法は、1981年Lenzらにより最初に報告され、その後、本法の有用性、安全性について数多くの検討

結果が報告されてきた<sup>1,2,3,4,5)</sup>。わが国においては、1986年著者らにより、腹腔鏡下採卵に代わる方法として、超音波ガイド下経腹的採卵法 (ultrasonic transabdominal oocyte collection, TA) が報告された<sup>6)</sup>。この方法の利点は入院の必要がなく外来患者に実施できること、麻酔も軽度で侵襲は極めて少なく回復

施行が容易なこと、さらに採卵成績も良好で、安全性が高いことなどであり、本法による IVF-ET で妊娠例も報告されたことなどから、その後急速に普及するに至った<sup>7)</sup>。しかし、TA は、腹壁から卵胞までの距離が比較的遠く、正確に卵胞穿刺し採卵するには技術的熟練を必要とすること、膀胱充満の必要性、穿刺針が膀胱を貫通する際の疼痛とその後の膀胱出血の問題、さらに卵胞が子宮後方のダグラス窩に存在する場合の不都合さなどの欠点も指摘されており、改良・工夫の必要性が唱えられていた<sup>8,9)</sup>。最近、経膈超音波探触子の開発に伴い、これらの TA の欠点を解決するため、これを応用した超音波ガイド下経膈採卵法 (ultrasonic transvaginal oocyte collection, TV) が実施可能となってきた<sup>10,11,12,13,14)</sup>。本法によると、膀胱充満、膀胱貫通の必要がなく、穿刺の際の疼痛も軽度であり、ダグラス窩に存在する卵胞では、膈円蓋部から卵胞までの距離が短く、卵胞の鮮明な画像が得られるため、卵胞穿刺は極めて容易となる。我々も昭和 61 年 11 月より、採卵の際、卵胞の存在する位置に応じて TV を TA と併用して採卵を行っている。そこで今回当科における TV による IVF-ET の成績を解析し、本法の有用性と問題点について検討を加えたので報告する。

### 研究対象

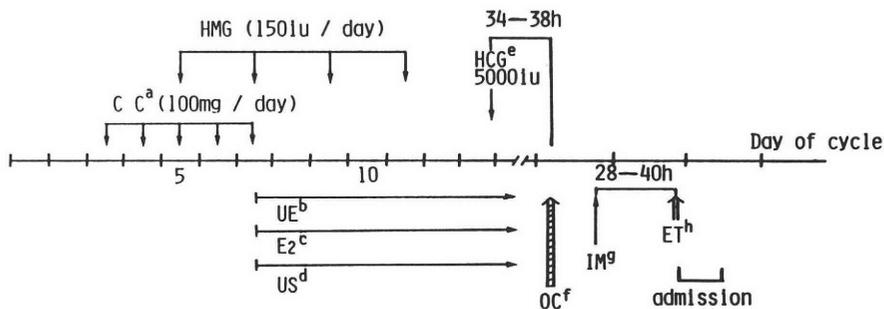
鳥取大学医学部附属病院産科婦人科ホルモン外来

に通院中で IVF-ET の適応と判断された患者のうち、昭和 61 年 11 月より昭和 62 年 3 月までの期間において、選択的に TV により IVF-ET を実施した 9 症例 15 周期を対象とした。

### 研究方法

IVF-ET 実施予定の月経周期では、月経周期 3 日目より clomiphene citrate 100 mg/day 5 日間投与し、さらに月経周期 5 日目より HMG150iu/day を隔日に投与し、至適卵胞を確認するまで継続することを原則として卵巣刺激を行った。

月経周期 7 日目より早朝尿を用いた尿中エストロゲン測定 (Hi-estrotec<sup>®</sup>, 持田製薬)<sup>15)</sup>、血中エストラジオール測定及び超音波断層法を用いた卵胞径計測により卵胞発育モニタリングを行い、主卵胞の 2 方向平均値 20 mm 以上で、尿中エストロゲン 120ng/ml 以上、さらに尿中 LH25mIU/ml 以下の時、HCG5000iu 投与しその 34~38 時間後に採卵を施行した。また尿中 LH25mIU/ml 以上であれば、HCG 投与後 24~28 時間で採卵することとした (図 1)。採卵に際しては、膈内を生理食塩水を用いて充分清浄後、経膈探触子を膈内に挿入し、主卵胞を含む穿刺可能な卵胞の数、大きさを超音波断層法によりあらかじめ確認した後、血管確保し N L A 法による麻酔下に膈円蓋部と穿刺卵胞の間に他臓器や血管を認めない卵胞穿刺に最適な画像を、モニター上に表示し



a. Clomiphene citrate    b. Urinary estrogen (Hi-estrotec<sup>®</sup>)

c. Serum estradiol    d. Ultrasonic follicular measurement

e. Criteria for HCG injection

1 Follicular diameter:  $\geq 20$ mm in two dimension

2 Urinary estrogen:  $\geq 120$ ng/ml

3 Serum estradiol:  $\geq 1000$ pg/ml

4 Urinary LH:  $\leq 25$ mIU/ml

f. Ultrasonic oocyte collection    g. Insemination    h. Embryo transfer

Fig. 1 Schedule of IVF-ET in Tottori University

(図2), puncturing line を卵胞中央部に合わせ超音波探触子に取付けた専用アタッチメントから穿刺針を卵胞内に挿入し採卵を行った。卵胞内に穿刺針が的確に刺入されているか否かは、モニターに表示される卵胞内の穿刺針先端部の高輝度エコーで容易に判定でき、我々は穿刺針先端を卵胞後壁近くまで深く進め、注射器にて卵胞液を用手的に吸引採取している(図3)。卵胞液中に卵が確認されなければ、患者非働化血清10%添加mediumで数回flushingを行った。

採取された卵は、実体顕微鏡(Nikon, SMZ-10)下にその成熟度を判定し<sup>16)</sup>、一定時間(5~12時間)の前培養後、配偶者の精子を2回遠沈(1000rpm, 10分間)しswim up後、運動良好精子 $1 \times 10^5/\text{ml}$ を用いてinsemination(IM)を行った。その後、16~18

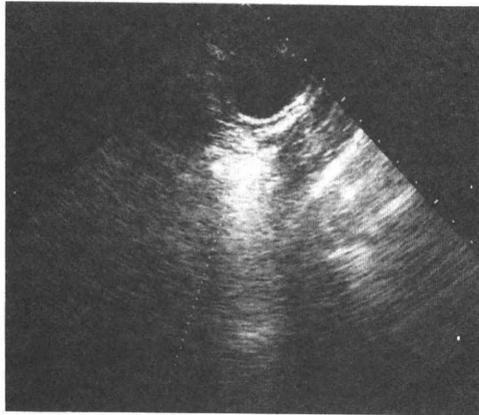


Fig. 2 Mature follicle in posterior cul-de-sac (24×21mm in diameter)

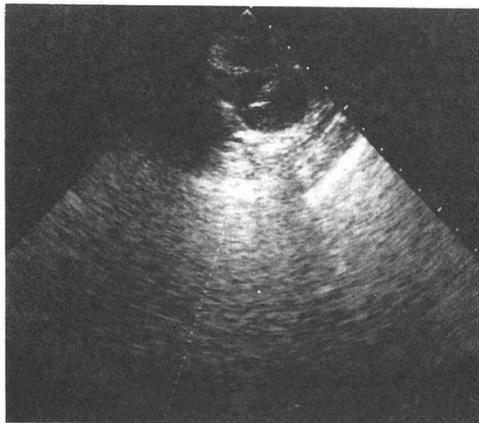


Fig. 3 Needle tip in the follicular antrum

時間後に、2個以上の前核形成、あるいは2個以上の極体放出から受精の有無を確認し、受精の確認できた卵はgrowth mediumに移し、さらに培養を続

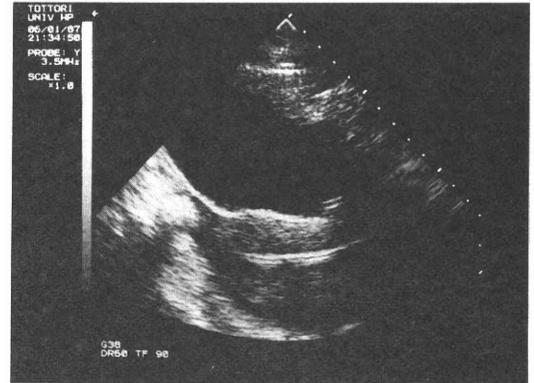


Fig. 4 Transfer catheter in the uterine cavity

け、IM後28~40時間で超音波観察下に2~4細胞胚を子宮内に胚移植した(図4)。

採卵に使用した機器は横河メディカルRT-3600、経腔探触子(Yokogawa TV-probe, 電子セクタ, 5MHz)で穿刺針には内径1.25mm, 35cm長の専用針(八光商事K. K)を用いた(図5)。培養液はBiggers-Whittingham-Whitten(BWW)液で、flushing medium及びinsemination mediumには患者非働化血清を10%添加し、growth mediumには20%添加、さらにtransfer mediumには50%添加して用い、培養条件は5%CO<sub>2</sub> in air, 37°Cである。

### 成績

今回の検討に含まれた対象症例の内訳は、長期間原因不明不妊が4例(44.4%)、次いで、卵管不妊及び乏精子症が、それぞれ3例(33.3%)、そして子宮内膜症1例(11.1%)であり、それぞれの適応疾患別の平均年齢はいずれも30歳を越え、全体では34.1歳であった(表1)。

本法による採卵成績は、15周期44卵胞に対し、全ての周期において少なくとも1個以上の卵が回収でき(100%/cycle)、回収された卵は36個(81.8%follicle)であった(表2)。さらに、採卵の際のflushingの必要性を検討すると、flushingを必要とせず卵胞液中に卵が確認できた場合が58.3%(21/36)に認められ、flushingの1回目に卵が採取された場合が30.6%(11/36)、flushing2回目、3回目でもそれぞれ5.6%(2/36)に卵が回収された。(表3)。

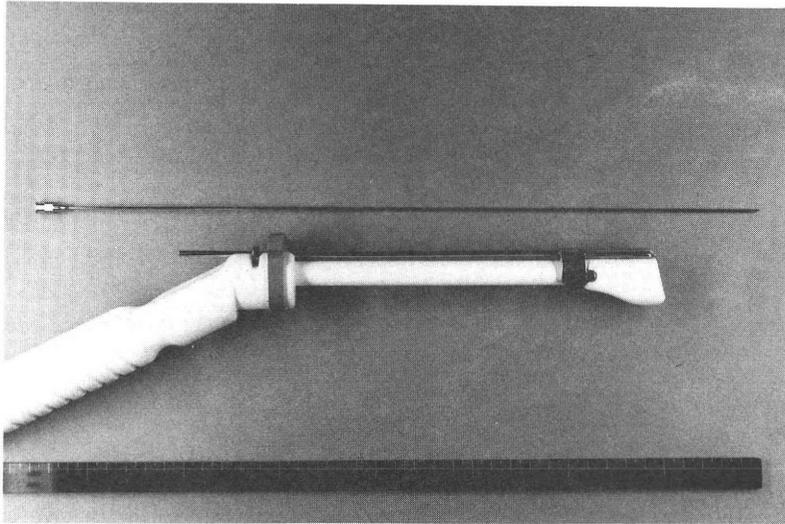


Fig. 5 TV-probe and needle for the ultrasonic transvaginal oocyte collection

Table 1 Indication for IVF-ET by the transvaginal oocyte collection

Indication	No. and ratio of cases	Age (yr)
Tubal damage	3(33.3)	32.0±1.0
Endometriosis	1(11.1)	38.0
Unexplained infertility	4(44.4)	34.3±3.3
Oligospermia	3(33.3)	36.0±2.0
Total	9*	34.1±2.9

※ Two cases included double indications (tubal damage and oligospermia, endometriosis and oligospermia)

Table 2 Summary of the results obtained with transvaginal oocyte collection

Patient	9
Treatment cycle	15
Attempted follicle	44 (2.9 follicles/ cycle)
Oocyte recovered (≥ 1)	15 (100%/cycle)
No. of oocyte recovered	36 81.8%/follicle)

Table 3 The significance of follicle flushing for transvaginal oocyte collection

Flushing	No. and ratio of oocyte collected
No flushing	21(58.3)
Flushing×1	11(30.3)
×2	2( 5.6)
×3	2( 5.6)
×4	0( 0 )
Total	36(100)

本法により回収された卵のその後の IVF-ET における成績を、全ての対象症例での成績と卵管不妊及び子宮内膜症のみでの成績に分けて検討すると受精率は全体では 79.4 % oocyte (27/34) であり、卵管不妊及び子宮内膜症のみでは、82.6 %/oocyte (19/23) であり、有意差はないものの後者において高値の傾向を示した。受精の確認された卵のうち、正常分割卵の得られた率は、全体では 48.1 %/oocyte (13/27) と比較的 low 値であるが、卵管不妊及び子宮内膜症のみでは、63.1 %/oocyte (12/19) と改善された。また、細胞質の不均衡分割や fragmentation などの異常分割率は、それぞれ、37.0%/oocyte (10/27), 26.3%/oocyte (5/19) であった。全体として 7 周期に正常分割卵 13 個を胚移植したが、妊娠成立は認められ

Table 4 Results of fertilization, cleavage and embryo transfer after the transvaginal oocyte collection

	Indication of IVF-ET	
	Total	Tubal damage & endometriosis
No. of oocyte recovered	34*	23
Fertilization	27 (79.4%/oocyte)	19 (82.6%/oocyte)
Cleavage		
normal	13 (48.1%/oocyte fertilized)	12 (63.1%/oocyte fertilized)
abnormal	10 (37.0%/oocyte fertilized)	5 (26.3%/oocyte fertilized)
Transfer cycle	7	6
Embryos transferred	13 (1.8 embryos/transfer cycle)	12 (2.0 embryos/transfer cycle)
Pregnancy	0	0

※ Two eggs were used for GIFT

Table 5 Successful cases of IVF-ET in Tottori University (July, 1986-August, 1987)

Case	Age	Infertile period (yrs)	Indication	Method of OC <sup>a</sup>	No. of oocyte collected	No. of embryo transferred	Clinical result
1	33	4	Tubal damage	TA <sup>b</sup>	1	3	NVD <sup>c</sup> (♂ 2800gr)
2	36	11	Endometriosis	TA <sup>b</sup>	1	1	C/S <sup>d</sup> (♂ 2500gr)
3	30	5	Endometriosis	TA <sup>b</sup>	1	1	Clinical abortion (5 weeks of gestation)

All of their husbands revealed normal semen findings.

a. Oocyte collection    b. Transabdominal oocyte collection

c. Normal vaginal delivery    d. Cesarean section

なかった(表4)。また、現在までに当科で実施したTVによる合併症は、1症例1周期に子宮動脈下行枝の損傷による約200mlの外出血を認めたのみで、この症例も圧迫止血が可能で、特別な処置を必要としなかった。

当科では、1985年6月より体外受精・胚移植を実施し、既に3例の妊娠例を得ており、このうち2例は、経腔分娩及び帝王切開術により健康な男児を得ている。また1例は妊娠5週で流産に至った。これらの症例における採卵法は、いずれもTAであり、我々は未だTVによるIVF-ETでの成功を得ていない(表5)。

### 考 案

IVF-ETの採卵に超音波ガイド下経腹採卵法(TA)が実施される様になり、その簡便さ、安全性そして高い採卵率から広く普及するに至ったが、同時に幾つかの欠点も指摘されており、このうち最も不都合な点は、卵胞がダグラス窩に存在する場合の採

卵であった。これに対し、Dullenbachら<sup>8)</sup>は、腹壁からの超音波断層法により卵胞を描出し、経腔的卵胞穿刺術による採卵法を報告しており、我々も同様の方法で採卵を試みたが、採卵率は37.5%/follicleで、満足できる成績を上げることはできなかった<sup>9)</sup>。しかし、経腔探触子が開発されるに至り、膈円蓋部から至近距離のダグラス窩に存在する卵胞が、極めて明瞭に抽出され、これを用いた経腔採卵法(TV)が相次いで報告され<sup>10,11,12,13,14)</sup>、我々も昭和61年11月よりダグラス窩に存在しTAの困難な卵胞に対しTVを実施しており、今回その成績を分析し、本法の有用性を検討した。

世界的には、走査法、超音波周波数、走査角などの異なる数種の超音波探触子が開発されており、今回我々が使用した探触子は、超音波周波数5MHz、走査角90°の電子セクタ探触子であり、その特性から、膈円蓋部から至近距離のダグラス窩に位置する卵胞の抽出は、極めて容易で、卵胞の個々の輪郭も極めて明瞭に表示され、卵胞穿刺も容易であり、さらに、

卵液吸引時の卵胞の虚脱や flushing の際の medium の対流なども明瞭に観察できた。

今回の我々の成績から、採卵率は 100%/cycle, 81.8%/follicle と極めて良好な結果が得られたが、周期あたりの回収された卵の数は 2.4 個と諸家の成績と比較し、採卵率には遜色はないが、周期あたりの回収卵数は低値を示した<sup>10,11,12,13,14</sup>。しかし、この原因は、採卵率に差がないことから、採卵法の問題ではなく、複数の成熟卵胞を得るための卵巣刺激法にあると考えられ、今後この面で大なる改善が必要であろう。さらに単純な比較はできないが、TV における採卵率は、TA の採卵率に比較し、高値となる傾向を示しており、これは卵胞と探触子間の距離の短いことや、比較的容易に明瞭な卵胞が抽出されることなどの TV の利点を反映しているものと考えられる<sup>1,2,3,4,5,6</sup>。

採卵の際、半数以上 (58.3%) の卵は卵胞液中に確認されているが残りの卵は、flushing により回収されており、経膈探触子による明瞭な画像の抽出が容易になり、的確な卵胞穿刺で卵胞液中に卵が回収される率は高まったと考えられるもの、同時に flushing も手技的に容易となり、的確に実施できることから、卵胞液中に卵が認められない場合の flushing の意義は大きいと考えられる。我々のこの成績は、Lenz らの成績とほぼ同様の傾向であったが、Lenz らはさらに flushing による卵の damage をその後の受精・分割率で比較検討し、卵胞液中から回収された卵と、flushing により回収された卵で何ら差異を認めず flushing の安全性を確認しており意義深い<sup>17</sup>。

TV により得られた卵の受精率、分割率は、IVF-ET の適応症例全体では、それぞれ 79.4%、48.1% であるのに対し、適応疾患を卵管不妊及び子宮内膜症に限定してみると、それぞれ 82.6%、63.1% と改善が認められた。

男性不妊、原因不明不妊などにおいて、受精率、分割率ひいては妊娠率が低いことは、周知の事実であるが<sup>18,19</sup>、我々の成績は、これらの点を考慮して判断しても、諸家の報告と大差ない値となっている<sup>10,17</sup>。また、TV の安全性の検討では、1 症例 1 周期に子宮動脈下行枝の損傷による外出血が認められたが、特別な処置は必要とせず、安全性は高いと考えられるが、本法の実施はダグラス窩を中心に膈凹蓋部から至近距離にあり、膈凹蓋部と穿刺卵胞の間に他臓器、血管を含まない場合に限定することが肝要と思われる。

当科では、IVF-ET の成功例を現在までに 3 例経験し、このうち 2 例は既に正常男児を分娩し、1 例は

流産に至っている。しかし、これらの成功例は、いずれも TA によっており、現在までに TV による成功例は得られていない。Lenz らは、TV による IVF-ET の妊娠率は低いと報告しており<sup>12</sup>、逆に Torode らは、TV により腹腔鏡下採卵による IVF-ET の妊娠率よりも高い成功率を報告している<sup>14</sup>。今後、TV による IVF-ET の成績を幅広く詳細に検討し、TV による IVF-ET の総合的な安全性を確認することが不可欠であろうと考えられる。

これらの点が解明され、さらなる改良、工夫が行われるならば、TV は IVF-ET のための採卵法として、ダグラス窩を中心にした膈凹蓋部から近距離に存在し、TA で採卵不可能な卵胞に対し、極めて有用な採卵法であると考えられる。

本論文要旨の一部は、第 39 回日本産科婦人科学会総会及び第 25 回日本不妊学会中国四国支部総会で発表した。

## 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 Janson, 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) 見尾保幸, 谷川正浩, 寺戸博文, 戸田稔子, 赤岩明, 和田省, 菊川章仁, 前田一雄: 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. *日不妊会誌*, 31: 409, 1986.
- 7) 見尾保幸, 谷川正浩, 寺戸博文, 戸田稔子, 和田省, 長田直樹, 菊川章仁, 前田一雄: 体外受精・胚移植のための超音波卵胞穿刺術による採卵とその妊娠例について. *日産婦誌*, 39: 307, 1987.
- 8) Dellenbach, P., Nisand, I., Moreau, L., Feger, B., Plumere, C. and Gerlinger, P.: Transvaginal sonographically controlled follicle puncture for oocyte retrieval. *Fertil. Steril.*, 44: 656, 1985.
- 9) 見尾保幸, 谷川正浩, 寺戸博文, 赤岩明, 戸田

- 稔子, 和田 省, 菊川章仁, 前田一雄: 超音波卵胞穿刺術による採卵の有用性に関する検討. 日超医講演論文集, 49: 987, 1986.
- 10) Feichtinger, W. and Kemeter, P.: Transvaginal sector scan sonography for needle guided transvaginal follicle aspiration and other applications in gynecologic routine and research. *Fertil. Steril.*, 45: 722, 1986.
  - 11) Russell, J. B., DeCherney, A. H. and Hobbins, J. C.: A new transvaginal probe and biopsy guide for oocyte retrieval. *Fertil. Steril.*, 47: 350, 1987.
  - 12) Lenz, S., Leeton, J. and Renou, P.: Transvaginal recovery of oocytes for in vitro fertilization using vaginal ultrasound. *J. In Vitro Fertil Embryo Transfer*, 4: 51, 1987.
  - 13) Wikland, M., Enk, L., Hammarberg, K. and Nilsson, L.: Use of a vaginal transducer for oocyte retrieval in an IVF/ET program. *J Clin Ultrasound*, 15: 245, 1987.
  - 14) Torode, H. W., Picker, R. H., Porter, R. N., Robertson, R. D., Smith, D. H., O'Neill, C. and Saunders, D. M.: Oocyte pickup by laparoscopy replaced by transvaginal aspiration in an in vitro fertilization program. *J In Vitro Fertil Embryo Transfer*, 4: 148, 1987.
  - 15) 和田 省, 谷川正浩, 寺戸博文, 戸田稔子, 菊川章仁, 見尾保幸, 前田一雄: 体外受精・胚移植における早朝尿エストロゲン測定の卵胞期管理への応用, 日不妊会誌, 31: 35, 1987.
  - 16) Veeck, L. L., Wortham, Jr., J. W., Witmyer, J., Sandow, B. A., Acosta, A. A., Garcia, J. E., Jones, G. S. and Jones, Jr., H. W.: Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 39: 594, 1983.
  - 17) Lenz, S., Lindenberg, S., Fehilly, C. and Petersen, K.: Are ultrasonic guided follicular aspiration and flushing safe for the oocyte? *J In Vitro Fertil Embryo Transfer*, 4: 159, 1987.
  - 18) Edwards, R. G., Fishel, S. B. and Purdy, J. M.: In Vitro Fertilization of Human Eggs: Analysis of Follicular Growth, Ovulation and Fertilization. In Beier, H. M. and Linder, H. R. ed. *Fertilization of the Human Egg In Vitro*, Springer-Verlag, Berlin, 169, 1983.
  - 19) Acosta, A. A., Uem, J. V., Ackerman, S. B., Mayer, J. F., Stecker, J. F., Swanson, R. J.,

Pleban, P., Yuan, J., Chillik, C. and Brugo, S.; Estimation of male fertility by examination and testing of spermatozoa. In Jones, Jr., H. W., Jones, G. S., Hodgen, G. D. and Resenwaks, Z. ed. *In Vitro Fertilization*, Norfolk, Williams & Wilkins, Baltimore, 126, 1986.

### Evaluation of ultrasonic transvaginal oocyte collection for IVF-ET.

**Yasuyuki Mio, Tomio Iwabe,  
Akio Sekijima, Masahiro Tanikawa,  
Hirofumi Terado, Toshiko Toda,  
Tasuku Wada, Koukichi Iwamoto,  
Akihito Kikukawa and Kazuo Maeda**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tottori University School of  
Medicine, Yonago, Japan

In order to evaluate the effectiveness and safety of ultrasonic transvaginal oocyte collection (TV), the analysis of overall IVF-ET results in Tottori University was carried out from November, 1986 to March, 1987.

After the superovulation and follicle monitoring according to our IVF-ET protocol, TV was performed in 15 cycles of 9 patients in which the mature follicles were located in cul-de-sac.

Oocyte collection rates were 100% (15/15) per cycle, 81.8% (36/44) per follicle, respectively. Twenty one of recovered oocytes (58.3%) were found in the follicular fluids and the remaining were collected by flushing.

Fertilization and cleavage rates were 82.6% (19/21) and 63.1% (12/19) among the patients of tubal damage and endometriosis.

Only a single case had a complication of vaginal bleeding about 200 ml due to the injury of descending branch of uterine artery after the transvaginal oocyte collection.

Those results indicate that the transvaginal oocyte collection is very useful and safe method for the follicles in cul-de-sac in IVF-ET.

(受付: 昭和 62 年 10 月 30 日特掲)

TÔKI-SYAKUYAKU-SAN STIMULATES  
CYCLIC ADENOSINE 3', 5'-MONOPHOSPHATE  
ACCUMULATION AND DEOXYRIBONUCLEIC ACID  
 $\alpha$ -NUCLEOTIDYLTRANSFERASE ACTIVITY IN  
RAT OVARIES

Satoshi USUKI, M. D.,

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba,  
Tenodai 1-1-1, Sakura-mura, Niihari-gun, Ibaraki 305, Japan

---

**Abstract:** Immature female rats of the Wistar-Imamichi strain aged 27 days were injected subcutaneously with 20 IU of pregnant mare's serum gonadotropin (PMS), followed 56h later by intraperitoneal administration of 40 IU of human chorionic gonadotropin (hCG) to induce superovulation in the ovaries. Ovaries, removed 48h after the PMS injection and 7 days after the hCG administration, respectively, were incubated for 120 min with various doses of luteinizing hormone (LH) and Tôki-syakuyaku-san (TS; Chinese, Dang-Gui-Shao-Yao-San). The estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>) and progesterone concentrations in the incubation medium, and the levels of cyclic nucleotides and the activities of deoxyribonucleic acid nucleotidyltransferases (DNA polymerases) in incubated ovarian tissue were measured. The concentrations of progesterone secreted by preovulatory follicles and corpora lutea were significantly increased by 20–200 $\mu$ g/ml of LH and 20 $\mu$ g/ml of TS, and by 20–200 $\mu$ g/ml of LH and TS, respectively. In contrast, TS showed a tendency to decrease the levels of E<sub>2</sub> secreted by preovulatory follicles, and LH and TS had no effects on E<sub>2</sub> secretion by corpora lutea. The levels of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate (cyclic AMP) accumulated by preovulatory follicles were significantly increased by 2–200 $\mu$ g/ml of LH and 2–20 $\mu$ g/ml of TS, and the levels in the case of corpora lutea were also significantly augmented by 2–200 $\mu$ g/ml of LH and 2–20 $\mu$ g/ml of TS. The DNA polymerase  $\alpha$  activity of preovulatory follicles was significantly enhanced by 2–20 $\mu$ g/ml of LH and 20 $\mu$ g/ml of TS, while in the case of corpora lutea, no significant changes were seen in the activity, and also no significant changes in the levels of cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate (cyclic GMP) and the DNA polymerase  $\beta$  activities of preovulatory follicles and corpora lutea were seen with LH or TS. These results suggest that TS stimulates the secretion of progesterone by preovulatory follicles and corpora lutea at least via a cyclic AMP system like in the case of LH, and it is also indicated that TS induces DNA polymerase  $\alpha$  activity in relation to DNA replication in preovulatory follicles.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33 (2), 385–396, 1988)

---

Table 1. Nomenclature and characterization for DNA polymerases

DNA polymerase	$\alpha^*$ ( $\alpha_1$ , $\alpha_2$ )	$\beta$	$\gamma$
Terms used previously	9, 10) I, 15) II, 16) C	9, 10) II, 15) I, 16) N	9, 10) III, R 12)
Sedimentation constant	6-8 S, maxi	3.4 S, min	
Molecular weight (dalton)	7-10S	3-4 S	6, 8 S
pH	150,000-250,000	38,000-40,000	150,000-250,000
Sensitivity to SH-inhibitors	-4.5	8.5-9.0	5-6
Aphidicolin	High	Low	High
N-Ethylmaleimide	Sensitive	Resistant	Resistant
ddTTP	Sensitive	Resistant	Sensitive
Resistant	Resistant	Sensitive	Sensitive
Template/primer			
Activated DNA	+	+	-
Poly(rA)/oligo(rT)	-	+	+

DNA polymerase; called also DNA deoxynucleotidyltransferase, DNA nucleotidyltransferase or DNA pyrophosphoxylase.

[Reaction] 4 deoxynucleoside triphosphates + (DNA)<sub>n</sub>  $\rightleftharpoons$  4 pyrophosphate + (DNA)<sub>n+1</sub>  
 \* Sea urchin DNA polymerase  $\alpha$  is classified as DNA polymerase  $\alpha$ , 8.4 S with DNA primase,  $\alpha$ , 6.6 S without DNA primase<sup>17, 18</sup>.

DNA polymerase  $\alpha$   $\begin{cases} \alpha_1 ; \alpha_1 + \text{DNA primase} \\ \alpha_2 ; \alpha_2 \end{cases} = \begin{cases} \text{DNA replicase} \\ \text{(RNA-DNA synthesis)} \end{cases}$   
 (RNA synthesis)

## Introduction

Recent marked advances in studies on the roles of Chinese herbal medicines in connection with fertility and sterility have gradually clarified the fundamental mechanisms of their actions, seemingly too leisurely for the history of use.

Recently, Usuki<sup>1-8)</sup> implied that Hatimi-zîð-gan, TS, Keishi-bukuryð-gan, Unkei-tô and Ninzin-tô are closely related with gonadal steroidogenesis. In particular, TS is known to stimulate the secretion of progesterone by preovulatory follicles and corpora lutea in a way relatively similar to in the case of LH<sup>4,6,8)</sup>, the mechanism of which has not yet been elucidated, which raises the question as to whether or not TS stimulates progesterone production through activation of adenylate cyclase like gonadotropins do.

Furthermore, the relationship between hormones and DNA polymerases (Table 1, and Figs.

1 and 2)<sup>7,9-25)</sup> has been gradually clarified, facilitating the elucidation of the role of the hormones in DNA synthesis. The fact that TS is closely related to ovarian steroidogenesis leads to the question as to whether or not TS enhances or the activities of DNA polymerases.

The present investigation was conducted to elucidate the correlations between TS and cyclic AMP production and DNA polymerase activities in preovulatory follicles and corpora lutea.

## Materials and Methods

### Animals

Immature female rats of the Wistar-Imamichi strain were purchased from the Imamichi Institute for Animal Reproduction (Saitama, Japan), and maintained on pelleted rat food and water ad libitum with a scheduled photoperiod of 12h (0800-2000h) in an environmentally controlled room until autopsy. One group of rats was inject-

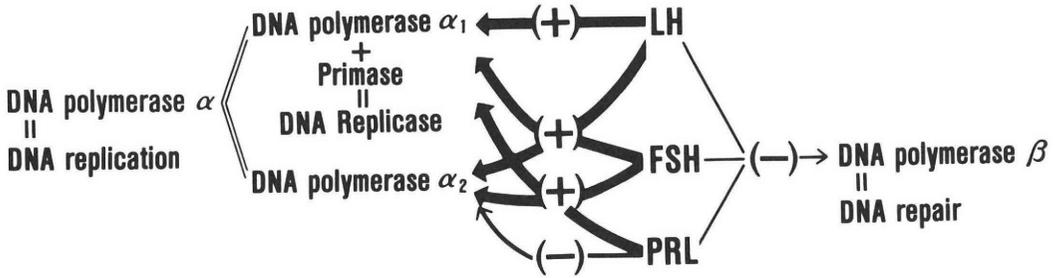


Figure 1 Relationship between LH, FSH and prolactin, and DNA nucleotidyltransferase (DNA polymerase) activities.

DNA polymerase α — α<sub>1</sub> ; DNA polymerase α<sub>1</sub> + DNA primase = DNA replicase  
 (150,000 dalton) (150,000) (50,000)

α<sub>2</sub> ; DNA polymerase α<sub>2</sub>  
 (150,000)

DNA primase takes part in RNA synthesis, and DNA replicase participates in the synthesis of DNA and RNA.

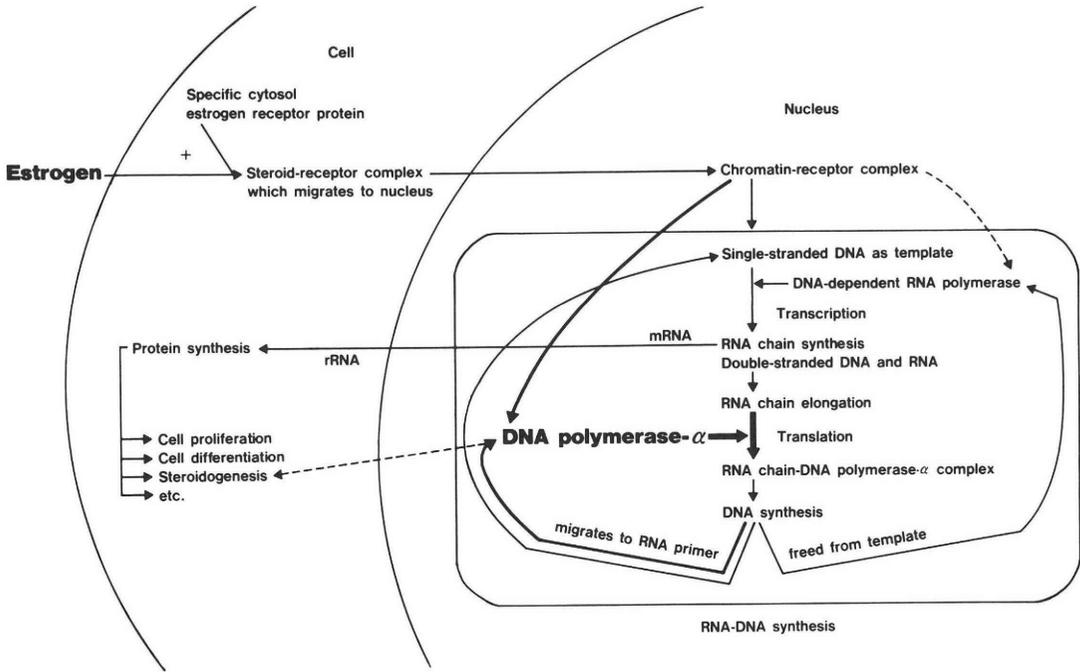


Figure 2. Postulated relationship between estrogen and DNA polymerase α activity in rat ovaries. The solid lines represent a possible pathway with experimental evidence, and the dotted lines a probable pathway without experimental evidence at present.

ed subcutaneously with 20 IU of PMS (Teikoku-zo-ki Co., Ltd., Tokyo) at 27 days of age and sacrificed by decapitation 48h later. Another group of rats was injected subcutaneously with 20 IU of PMS followed 56h later by 40 IU of hCG (Mo-

chidaseiyaku Co., Ltd., Tokyo, Japan) to induce superovulation in the ovaries, and they were decapitated 7 days after the hCG injection.

After autopsy, the ovaries were quickly removed and immersed in physiological saline,

and then the periovarian bursa and oviducts were stripped away.

#### *Incubation study*

Large follicles (approximately 0.75mm in diameter) were excised from the ovaries of PMS-primed rats under a dissecting microscope, and the corpora lutea in another group were sliced (approximately 0.5mm thick). Twenty preovulatory follicles and ten slice corpora lutea were each preincubated with continual shaking in 2.0ml of synthetic TC-199 medium containing 1% glucose and 0.2% NaHCO<sub>3</sub>, pH 7.4, for 60 min at 37°C under an atmosphere of 95% O<sub>2</sub> - 5% CO<sub>2</sub>, followed by incubation for 120 min in fresh medium containing various doses of LH and TS, as described in the Tables and Figures.

#### *LH preparation*

LH (ovine luteinizing hormone, NIAMDD-oLH-25, with an LH potency of 2.3x that of NIH-LH-SI, an FSH potency of less than 0.005x that of NIH-FSH-SI and a prolactin potency of less than 0.001x that of NIH-prolactin) was kindly donated by Dr. A. F. Parlow.

#### *Tôki-syakuyaku-san*

The main component herbs (plants) and chemical constituents in TS were reported in full previously<sup>1,4</sup>. The extract was obtained from Tsumura-Juntendo Co., Ltd. (Tokyo, Japan), and dissolved directly in the medium.

#### *Radioimmunoassaying of E<sub>2</sub> and progesterone*

The concentrations of E<sub>2</sub> and progesterone in incubation medium were measured by radioimmunoassaying. The data were expressed as pg or ng/mg protein.

#### *Determination of cyclic AMP and cyclic GMP in ovarian tissue*

Ovarian tissue incubated for 20 min was minced with scissors, placed in a Potter-Elvehjem homogenizer containing 0.5ml of a 0.1N HCl-10mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solution (which was preboiled beforehand for 1 min), followed by 3-min heating in a boiling water bath to obtain an acid extract of the tissue suitable for the assaying of cyclic AMP or cyclic GMP, homogenized with a Teflon pestle at 1,200 rpm at 4°C in an ice-cold water bath, and then centrifuged at 3,000 rpm for 10 min at 4°C. One

hundred-microliter aliquots of the supernatant were added to 100  $\mu$ l of succinic anhydride-triethylamine reagent (which was prepared by mixing 9ml of dioxane containing 36mg of succinic anhydride with 1ml of triethylamine). After 10 min at room temperature, each mixture was diluted with 800  $\mu$ l of 0.3M imidazole buffer, pH 7.5, and then a 100  $\mu$ l-aliquot was used, in triplicate, for assaying cyclic AMP or cyclic GMP. Assays were carried out in acrylic test tubes (13x 78mm). One hundred microliters of a <sup>125</sup>I cyclic AMP or cyclic GMP solution prepared according to Steiner et al<sup>27,28</sup>, and Honma et al<sup>29</sup>, was added to each tube, and then a 100  $\mu$ l aliquot of a cyclic AMP or cyclic GMP standard solution (0, 0.625, 1, 25, 2.5, 5, 10, 20, 40 and 80 pmol/ml) or samples treated as above were added and mixed with 100  $\mu$ l of 2,000-fold diluted cyclic AMP or cyclic GMP antiserum. The reaction mixture was stored at 4°C for 20h. To each tube was added 500  $\mu$ l of dextran-coated charcoal and H<sub>2</sub>O (28ml: 28ml) in an ice-cold water bath, and 20 min later the mixture was centrifuged at 3,000 rpm for 5 min at 4°C. Five hundred-microliter aliquots of the supernatant fractions were collected, and then radioactive counting was performed with a gamma spectrometer.

The accuracy and precision were within reasonable ranges and the coefficients of variation were below 15%. The data were expressed as pmol/mg protein.

#### *Measurement of DNA polymerase activities*

Twenty follicles or ten ovarian slices of each group were homogenized in 200  $\mu$ l of 1.0% Triton X-100, 0.25M sucrose, 20 mM potassium phosphate buffer, pH 7.9, 5 mM EDTA, 5 mM 2-mercaptoethanol and 0.25M NaCl, and then centrifuged at 10,000xg for 15 min. To a 100  $\mu$ l-aliquot of the supernatant was added 50  $\mu$ l of 100% glycerol. Aliquots (0.5-5  $\mu$ l) of the supernatant were assayed for DNA polymerase  $\alpha$  and  $\beta$  activities according to Usuki and Shioda<sup>24</sup>.

DNA polymerase activity was expressed as pmol deoxynucleotide 5'-monophosphate (dNMP: sum of deoxyadenosine 5'-monophosphate, deoxycytidine 5'-monophosphate, deoxyguanosine 5'-monophosphate and deoxythymidine 5'-mono-

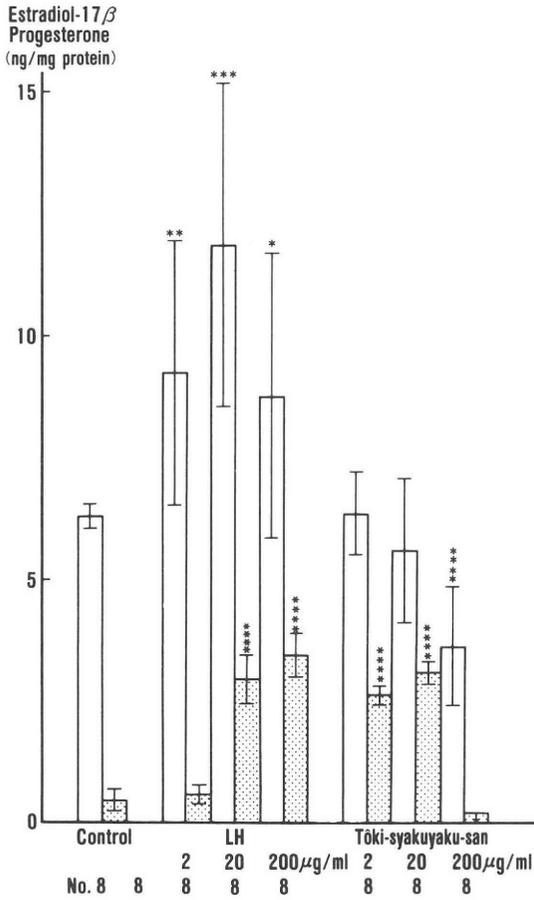


Figure 3. Effects of LH and Tōki-syakuyaku-san (TS) on E<sub>2</sub> and progesterone secretion by preovulatory follicles incubated *in vitro*.

Rats, aged 27 days, received 20 IU of PMS 48h prior to killing. The animals were sacrificed by decapitation after an overdose of ether, and then the ovaries after removal were subjected to a 2 h-incubation as described under Materials and Methods. The medium E<sub>2</sub> and progesterone concentrations were measured by radioimmunoassaying. The ordinate indicates E<sub>2</sub> and progesterone secretion (ng/mg protein), and the abscissa the doses of LH and TS administered. Each value represents the mean ± SD for eight experiments. □, E<sub>2</sub>; ▨, progesterone.

- \*: Significantly different from the control,  $p < 0.05$ .
- \*\* : Significantly different from the control,  $p < 0.02$ .
- \*\*\* : Significantly different from the control,  $p < 0.01$ .
- \*\*\*\* : Significantly different from the control,  $p < 0.001$ .

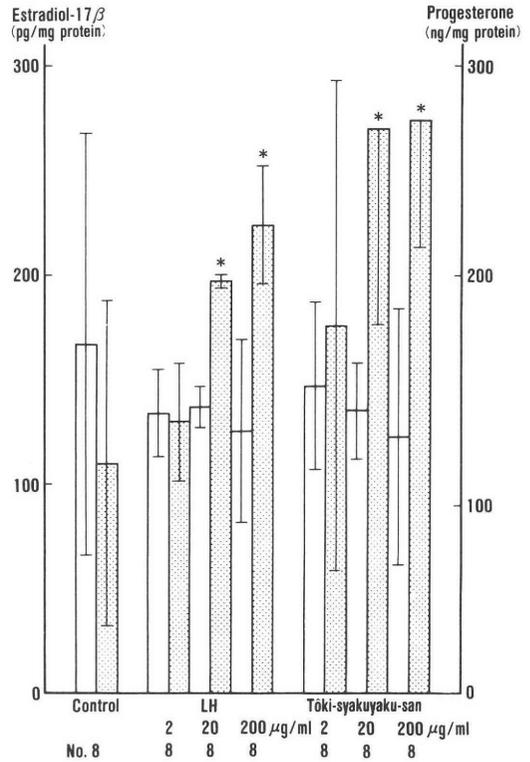


Figure 4. Effects of LH and Tōki-syakuyaku-san on E<sub>2</sub> and progesterone secretion by corpora lutea incubated *in vitro*.

Rats were injected subcutaneously with 20 IU of PMS at 27 days of age followed in 56h by the administration of 40 IU of hCG. The animals were killed by decapitation 7 days after the hCG injection, and then the ovaries after removal were subjected to a 2 h-incubation as described under Materials and Methods. E<sub>2</sub> and progesterone concentrations in the incubation medium were measured by radioimmunoassaying. The ordinate represents the E<sub>2</sub> and progesterone levels (pg/ and ng/mg protein, respectively), and the abscissa the doses of LH and TS added to the incubation medium. Each value represents the mean ± SD for eight experiments. □, E<sub>2</sub>; ▨, progesterone.

- \*: Significantly different from the control,  $p < 0.01$ .

phosphate [dTMP] activities) incorporated in 20 min at 37°C per mg protein.

#### Measurement of protein in ovarian tissue

Ovarian tissue was minced with scissors, placed in a Potter-Elvehjem homogenizer containing 0.5 ml of 10% trichloroacetic acid solution, and then homogenized with a Teflon pestle at 1,200 rpm at 4°C in an ice-cold water bath. After 60 min at 4°C, the homogenate was centrifuged at 3,000 rpm for 10 min at 4°C and the supernatant was removed. To the precipitate was added 0.5 ml of 1N NaOH and then it was resolved with an electron sonicator. The resolved samples were subjected to protein assaying using Bio-Rad Protein Assay Kits (Nippon Bio-Rad Laboratories, Tokyo, Japan).

The data were expressed as mg/ovary.

#### Statistical analysis

Student's t-test was used for the statistical analysis, and differences were considered to be significant at  $p < 0.05$ .

### Results

Figures 3 and 4 show the medium  $E_2$  and progesterone concentrations for preovulatory follicles and corpora lutea incubated with LH and TS.

The concentrations of  $E_2$  secreted by preovulatory follicles with treatment with 2,20 and 200  $\mu\text{g/ml}$  of LH (mean  $\pm$  SD;  $9.24 \pm 2.68$ ,  $11.86 \pm 3.29$  and  $8.77 \pm 2.89$  ng/mg protein, respectively) were significantly ( $p < 0.02$ ,  $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ , respectively) increased when compared with in the control group ( $6.34 \pm 0.26$ ). In contrast, 200  $\mu\text{g/ml}$  of TS significantly ( $p < 0.001$ ) decreased the concentrations (Fig. 3). As shown in Fig. 3, 20 and 200  $\mu\text{g/ml}$  of LH, and 2 and 20  $\mu\text{g/ml}$  of TS significantly ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$  and  $p < 0.001$ , respectively) increased the concentrations of progesterone secreted by preovulatory follicles ( $2.95 \pm 0.51$ ,  $3.46 \pm 0.44$ ,  $2.62 \pm 0.17$  and  $3.07 \pm 0.22$  ng/mg protein, respectively) as compared with in the control group ( $0.46 \pm 0.23$ ).

The levels of progesterone secreted by corpora lutea incubated with 20 and 200  $\mu\text{g/ml}$  of LH or TS ( $206.58 \pm 3.11$ ,  $224.23 \pm 28.20$ ,  $269.04 \pm 92.91$  and  $273.37 \pm 60.21$  ng/mg protein, respectively) were

also significantly ( $p < 0.01$ ) increased when compared with in the control group ( $110.21 \pm 77.68$ ), while there was no significant difference in the  $E_2$  level between LH and TS and the control group ( $166.61 \pm 100.35$  pg/mg protein) (Fig. 4).

As shown in Figs. 5 and 6, 2, 20 and 200  $\mu\text{g/ml}$  of LH, and 2 and 20  $\mu\text{g/ml}$  of TS significantly ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$  and  $p < 0.05$ , respectively) stimulated the tissue cyclic AMP accumulation by preovulatory follicles ( $42.91 \pm 4.15$ ,  $69.55 \pm 20.93$ ,  $83.91 \pm 24.22$ ,  $18.42 \pm 2.51$  and 19.

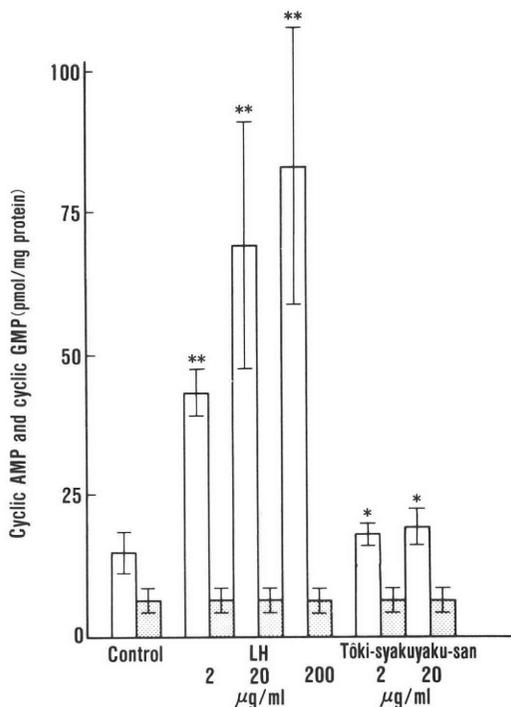


Figure 5. Effects of LH and Tōki-syakuyaku-san (TS) on tissue cyclic AMP and cyclic GMP accumulation by preovulatory follicles incubated *in vitro*.

Rats were injected subcutaneously with 20 IU of PMS at 27 days of age, and 48h later twenty excised ovarian follicles per one group were incubated for 20 min. The tissue cyclic AMP and cyclic GMP levels were assayed.

The ordinate represents the levels of cyclic AMP and cyclic GMP (pmol/mg protein), and the abscissa the doses of LH and TS added to the incubation medium. The data represent the means  $\pm$  SD for eight experiments.  $\square$ , cyclic AMP;  $\text{▨}$ , cyclic GMP. \*: Significantly different from the control,  $p < 0.05$ . \*\*: Significantly different from the control,  $p < 0.001$ .

40±3.38 pmol/mg protein, respectively) when compared to in the control group (14.67±3.71) (Fig. 5), whereas the increases in cyclic AMP accumulation by corpora lutea with treatment with 2 and 20 μg/ml of LH or TS (64.36±11.25, 159.87±54.50, 8.60±0.51 and 10.29±1.01 pmol/mg protein, respectively) were significantly (p<0.001, p<0.001, p<0.02 and p<0.001, respectively) dif-

ferent from in the control group (7.59±0.84)(Fig. 6). The levels of cyclic GMP accumulated by preovulatory follicles and corpora lutea were not significantly increased by LH and TS.

As for the activities of DNA polymerases, the DNA polymerase α activity of preovulatory follicles showed a tendency to be enhanced by 2 and 20 μg/ml of LH or TS (449.84±112.46, 363.33±51.90,

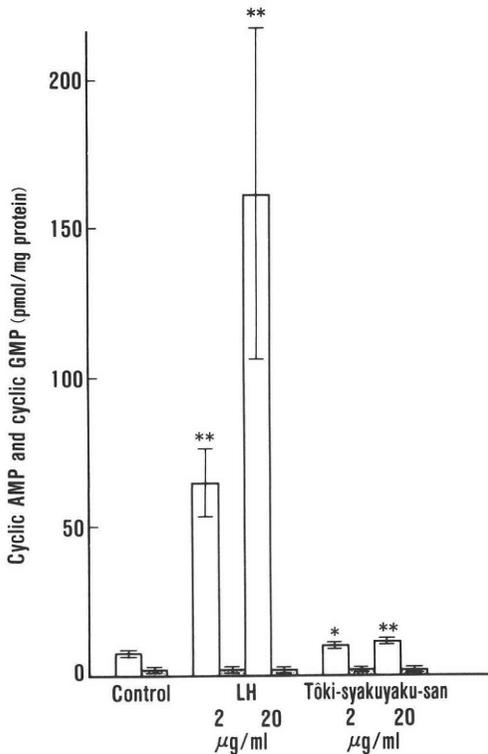


Figure 6. Effects of LH and Tōki-syakuyaku-san (TS) on tissue cyclic AMP and cyclic GMP accumulation by corpora lutea incubated *in vitro*.

Rats, aged 27 days, were injected subcutaneously with 20 IU of PMS followed in 56h by the administration of 40 IU of hCG, and then decapitated 7 days after the hCG injection. Ten sliced corpora lutea were incubated as described under Materials and Methods. The tissue cyclic AMP and GMP levels were assayed.

The ordinate represents the levels of cyclic AMP and cyclic GMP (pmol/mg protein), and the abscissa the doses of LH and TS added to the incubation medium. The data represent the means±SD for eight experiments. □, cyclic AMP; ▨, cyclic GMP. \*: Significantly different from the control, p<0.02. \*\*: Significantly different from the control, p<0.001.

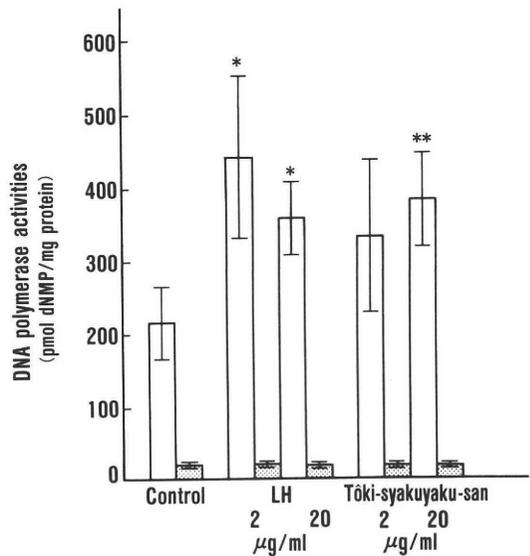


Figure 7. Effects of LH and Tōki-syakuyaku-san on tissue DNA polymerase α and β activities of preovulatory follicles incubated *in vitro*.

Rats were injected subcutaneously with 20 IU of PMS at 27 days of age followed in 56h by the administration of 40 IU of hCG, and then killed by decapitation 7 days after the hCG injection. Twenty excised preovulatory follicles per each group were incubated for 120 min. After incubation, The DNA polymerase α and β activities in the ovarian tissue were determined from the incorporation of (³H) dTMP into the acid-insoluble materials with activated DNA as a template. The ordinate represents the DNA polymerase α (□) and β (▨) activities (pmol/dNMP/mg protein), and the abscissa the doses of LH and TS added to the incubation medium. The data represent the means±SD for four experiments.

\*: Significantly different from the control, p<0.05. \*\*: Significantly different from the control, p<0.02.

337.33±101.20 and 387.93±67.47 p mol dNMP/mg protein), and the activities after treatment with 2 and 20  $\mu\text{g/ml}$  of LH and 20  $\mu\text{g/ml}$  of TS were significantly ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$  and  $p < 0.02$ , respectively) different from in the control group (219.26±50.60)(Fig. 7). In contrast, LH and TS showed no significant effects on the DNA polymerase  $\alpha$  activity of corpora lutea nor on the DNA polymerase  $\beta$  activities of preovulatory follicles and corpora lutea (Figs. 7 and 8).

### Discussion

Lately, TS has drawn much attention as one of factors which stimulate ovarian steroidogenesis. Recently, Usuki reported that TS increases the serum progesterone level in women during the luteal phase<sup>7)</sup>, and the concentrations of progesterone secreted by rat preovulatory follicles and corpora lutea<sup>1,4-8)</sup>. In an *in vitro* study<sup>5-8)</sup>, TS was found to stimulate ovarian steroidogenesis in a way somewhat similar to in the case of LH. It is also well known that cyclic AMP acts as a second messenger in the action of LH.

In an incubation study, TS was found to increase cyclic AMP accumulation and progesterone secretion by preovulatory follicles and corpora lutea like LH does, but the effect was much less than that of LH. The results demonstrate that TS significantly stimulates cyclic AMP accumulation and progesterone synthesis in rat ovaries somewhat like LH does, suggesting that TS causes the secretion of progesterone via the mediation of cyclic AMP. However,  $E_2$  secretion by preovulatory follicles is suppressed by TS, but not by LH, and therefore different mechanisms in ovarian steroidogenesis for TS and LH may exist. Clarification of the detailed mechanisms awaits further study.

Recently, Usuki and colleagues<sup>21,22,23)</sup> have implied that LH enhances the DNA polymerase  $\alpha$  activity associated with DNA replication in rat preovulatory follicles, especially the oocytes. DNA polymerase  $\alpha$  activity is supposed to reflect the activity of DNA synthesis. Because it acts on the ovaries like LH, although only partially, TS may also possibly induce the DNA polymerase  $\alpha$  activity. Therefore, the effect of TS on the activ-

ity was examined. 20  $\mu\text{g/ml}$  of TS, a dose similar to that which increased the cyclic AMP and progesterone secretion, caused a significant increase in the DNA polymerase  $\alpha$  activity of preovulatory follicles in a similar way to as LH does. On the contrary, no changes in the DNA polymerase  $\alpha$  activity of corpora lutea or the DNA polymerase  $\beta$  activities of both preovulatory follicles and corpora lutea were detected, compared with in the control group. These data indicate that TS is able to cause the enhancement of the DNA polymerase  $\alpha$  activity required for DNA replication in preovulatory follicles *in vitro*

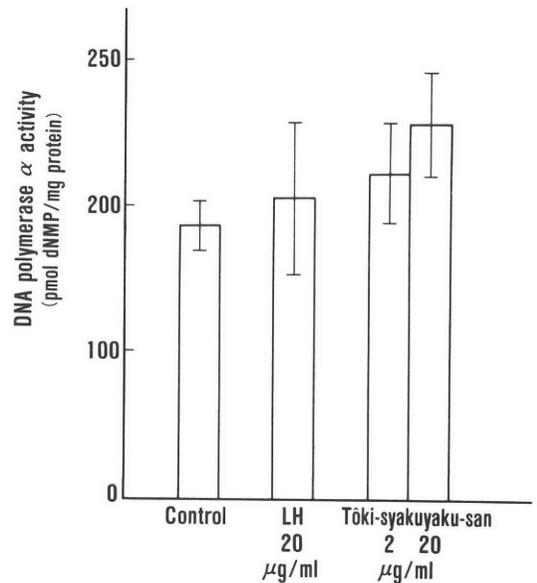


Figure 8. Effects of LH and Tōki-syakuyaku-san (TS) on tissue DNA polymerase  $\alpha$  activity of corpora lutea incubated *in vitro*.

Rats were injected subcutaneously with 20 IU of PMS at 27 days of age followed in 56h by the administration of 40 IU of hCG, and then killed by decapitation 7 days after the hCG injection. Ten sliced corpora lutea per each group were incubated for 120 min. The DNA polymerase  $\alpha$  activity was determined from the incorporation of [<sup>3</sup>H] dTMP into the acid-insoluble materials with activated DNA as a template. The ordinate indicates the DNA polymerase  $\alpha$  activity (pmol/dNMP/mg protein), and the abscissa the doses of LH and TS administered. The data represent the means±SD for three experiments.

The values after the addition of LH and TS were not significantly different from in the control.

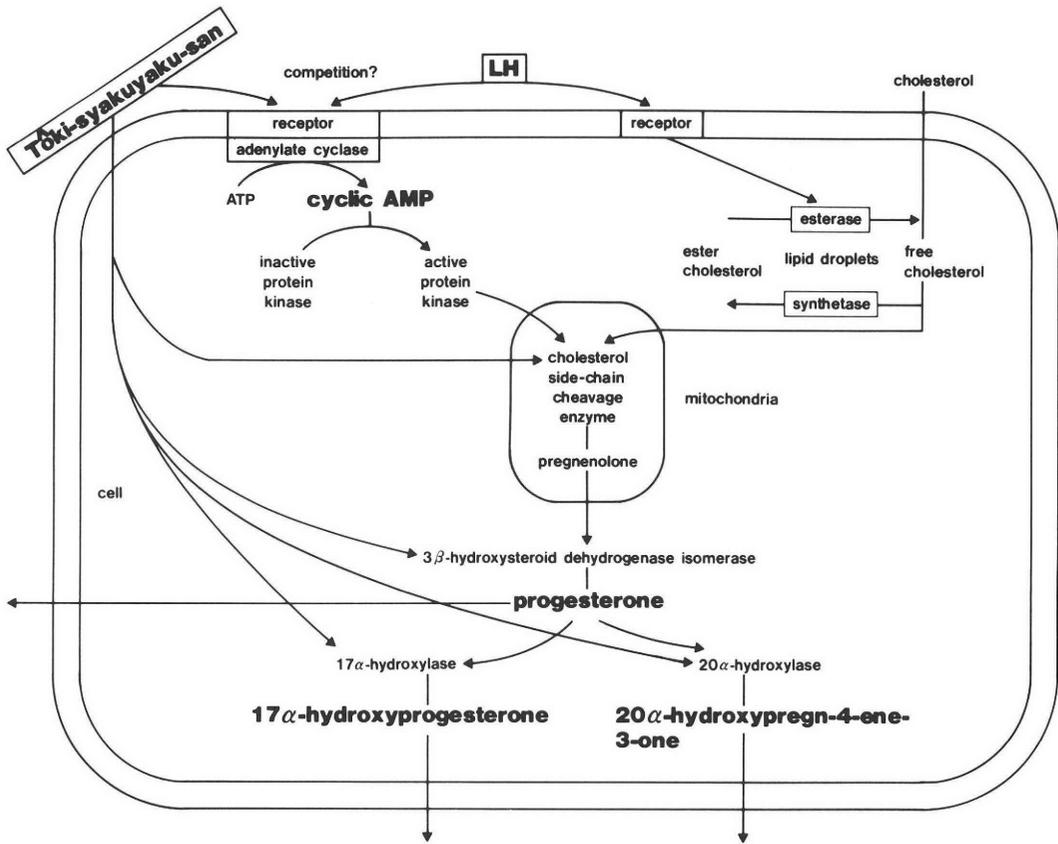


Figure 9. Postulated relationship between Tōki-syakuyaku-san (TS) and ovarian steroidogenesis.

TS or some of its components presumably act on the ovary directly or via a cyclic AMP system and/or a cytosol TS-receptor complex.

but that it does not enhance the activity in further differentiated corpora lutea like LH does. The results of this study can be summarized as follows: a) TS increases cyclic AMP accumulation and stimulates progesterone secretion by preovulatory follicles and corpora lutea, and b) it enhances DNA polymerase  $\alpha$  activity of preovulatory follicles.

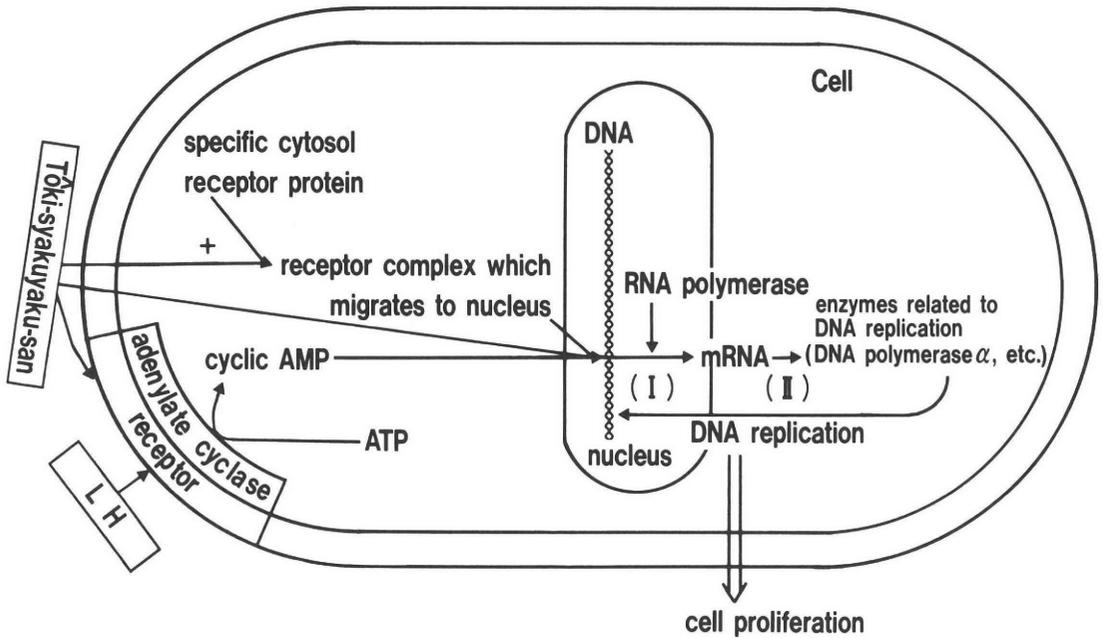
These results lead to the conclusion that TS has a steroidogenic effect on the preovulatory follicle and corpus luteum at least partially via the mediation of cyclic AMP, and enhances the DNA polymerase  $\alpha$  activity in relation to DNA replication in preovulatory follicles, either via a cyclic

AMP system or not. The postulated pathways for these effects are summarized in Figs. 9 and 10.

Clarification of the possible mechanism of the effect of TS on the preovulatory follicle and corpus luteum remains to be performed.

#### Acknowledgements

The author would like to thank Drs. S. Raiti, University 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 him with the highly purified ovine NIH-LH-S25. The techni-



### I ; transcription, II ; translation

Figure 10. Postulated relationship between Tōki-syakuyaku-san and DNA polymerase  $\alpha$  activity in relation to DNA synthesis.

The solid lines represent a possible pathway with experimental evidence.

TS or some of its components presumably act on the ovary through three pathways; 1) directly, 2) via a cyclic AMP system and/or 3) via a cytosol TS-receptor complex.

cal assistance of Mrs. S. Kawamura and M. Kusumi, and the skillful preparation of this manuscript by Miss M. Sugawara and Mrs. S. Ide are also gratefully acknowledged. This study was supported in part by a Tsukuba University Project Research Grant.

### References

- 1) Usuki, S.: Effects of various Chinese herbal medicines on steroidogenesis by rat preovulatory follicles. In: *Advances in Chinese Herbal Medicine* (ed. by S. Takeuchi and S. Sakamoto). Tokyo: Diagnosis and Therapy (Jpn Ed), p.94-109, 1984.
- 2) Usuki, S.: Effects of various Chinese herbal medicines on testosterone and estrogen secretion by rat testes. In: *Advances in Chinese Herbal Medicine* (ed. by S. Takeuchi and S. Sakamoto). Tokyo: Diagnosis and Therapy (Jap Ed), p.110-116, 1984.
- 3) Usuki, S.: Hachimijiogan changes serum hormonal circumstance and improves spermatogenesis in oligozoospermic men. *Am. J. Chinese Med.* XIV: 37-45, 1986.
- 4) Usuki, S.: Effects of Hachimijiogan, Tokishakuyakusan and Keishibukuryogan on estrogen and progesterone secretions by rat preovulatory follicles. *Am. J. Chinese Med.* XIV: 161-170, 1986.
- 5) Usuki, S.: Effects of Hachimijiogan, Tokishakuyakusan and Keishibukuryogan on the corpus luteum function and weights of various organs in vivo. *Am. J. Chinese Med.* XV: 99-108, 1986.
- 6) Usuki, S.: Effects of Hachimijiogan, Tokishakuyakusan and Keishibukuryogan on progesterone secretions by corpus luteum. *Am. J. Chinese Med.* XV: 109-115, 1986.

- 7) Usuki, S.: Effects of Chinese herbal medicines on gonadal steroidogenesis. Proc. Symp. WAKAN-YAKU 3: 219-222, 1986.
- 8) Usuki, S.: Effects of Tokishakuyakusan and its components on rat corpus luteum function in vitro. Am. J. Chinese Med. (in press), 1988.
- 9) Lewis, B. J., Abrell, J. W., Smith, R. G. and Gallo, R. C.: DNA polymerases in human lymphoblastoid cells infected with simian sarcoma virus. Biochim. Biophys. Acta 349:148-160, 1974.
- 10) Matsukage, A., Bohn, E. W. and Wilson, S. H.: Multiple forms of DNA polymerase in mouse myeloma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71:578-582, 1974.
- 11) Baril, E. F., Jenkins, M. D., Brown, O. E., Laszlo, J. and Morris, H. P.: DNA polymerase I and II in regenerating rat liver and Morris hepatomas. Canc. Res. 33:1187-1193, 1973.
- 12) Fry, M. and Weissbach, A.: A new deoxyribonucleic acid dependent deoxyribonucleic acid polymerase from HeLa cell mitochondria. Biochemistry 12:3602-3608, 1973.
- 13) Sedwick, W. D., Wang, T. S.-F. and Korn, D.: Purification and properties of nuclear and cytoplasmic deoxyribonucleic acid polymerases from human KB cells. J. Biol. Chem. 247:5026-5033, 1972.
- 14) Sedwick, W. D., Wang, T. S.-F. and Korn, D.: "Cytoplasmic" deoxyribonucleic acid polymerase. J. Biol. Chem. 250:7045-7056, 1975.
- 15) Chang, L. M. S. and Bollum, F. J.: Variation of deoxyribonucleic acid polymerase activities during rat liver regeneration. J. Biol. Chem. 247:7948-7950, 1972.
- 16) Chang, L. M. S. and Bollum, F. J.: Induction of DNA polymerase in mouse L cells. J. Mol. Biol. 74:1-8, 1973.
- 17) Shioda, M. and Usuki, S.: Two forms of DNA polymerase  $\alpha$  in sea urchin eggs and embryos. Zool. Sci. 3:555-558, 1986.
- 18) Shioda, M. and Usuki, S.: In vitro DNA synthesis by the sea urchin DNA polymerase  $\alpha$ -primase complex on single-stranded DNA of bacteriophage fd. Zool. Sci. 3:633-640, 1986.
- 19) Nagasaka, A. and Yoshida, S.: Hormonal regulation of deoxyribonucleic acid polymerase  $\beta$  activity in rat testis. Endocrinology 115:1110-1115, 1984.
- 20) Usuki, S. and Iwasaki, H.: Effects of LH, FSH and prolactin on estrogen, progesterone and testosterone secretion by preovulatory follicles incubated or perfused in vitro. In: Growth and Cell Proliferation in Defined Environments (ed. by H. Murakami, I. Yamane, D. W. Barnes, J. P. Mather, I. Hayashi and G. H. Sato), Berlin: Springer-Verlag, p.285-288, 1984.
- 21) Usuki, S., Iwasaki, H., Usuki, Y. and Shioda, M.: Effects of LH, FSH and prolactin on induction of DNA polymerase  $\alpha$  and  $\beta$  by rat preovulatory follicles. In: Gamete Quality and Fertility Regulation (R. Rolland, M. J. Heineman, S. G. Hillier and H. Vemer). Amsterdam: Excerpta Medica, p.63-72, 1985.
- 22) Usuki, S. and Iwasaki, H.: LH and FSH induce DNA polymerase  $\alpha$  activity required for DNA replication by preovulatory follicles. Jap. J. Fert. Ster. 31:234-237, 1986.
- 23) Usuki, S.: Gonadotropic regulation of DNA polymerase  $\alpha$  activity in rat preovulatory follicles. Jap. J. Fert. Ster. 31:371-378, 1986.
- 24) Usuki, S. and Shioda, M.: Follicle-stimulating hormone and estrogen elevate deoxyribonucleic acid  $\alpha$ -nucleotidyltransferase activity in relationship to deoxyribonucleic acid synthesis in immature rat ovaries. Am. J. Obstet. Gynecol. 155: 447-451, 1986.
- 25) Usuki, S.: Stimulatory action of estradiol-17 $\beta$  on deoxyribonucleic acid  $\alpha$ -nucleotidyltransferase activity in immature hypophysectomized rat ovaries. In: Ovarian Function (ed. by K. Ichinoe, S. Fujimoto and S. J. Segal). New York: Raven Press, (in press), 1987.
- 26) Usuki, S.: Gonadotropic regulation of estrogen secretion by rat ovarian follicles. Acta Obst. Gynaec. Jpn. (Jpn Ed) 34:863-872, 1982.
- 27) Steiner, A. L., Parker, C. W. and Kipnis, D. M.: Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. I. Preparation of antibodies and iodinated cyclic nucleotides. J. Biol. Chem. 247:1106-1113, 1972.
- 28) Steiner, A. L., Pagliala, A. S., Chase, L. R. and Kipnis, D. M.: II. Adenosine 3', 5'-monophosphate and guanosine 3', 5'-monophosphate in mammalian tissues and body fluids. J. Biol. Chem. 247:1114-1120, 1972.
- 29) Honma, M., Satoh, T., Takezawa, J. and Ui, M.: An ultrasensitive method for the simultaneous determination of cyclic AMP and cyclic GMP in small-volume samples from blood and tissue. Biochem. Med. 18:257-273, 1977.

当帰芍薬散の卵巢に於ける  
cyclic adenosine 3',  
5' monophosphate 産生および  
DNA  $\alpha$ -nucleotidyltransferase  
活性に及ぼす影響

筑波大学臨床医学系産科婦人科

白杵 愷

目的：当帰芍薬散 (TS) が卵巢において steroidogenesis に直接関与し、しかもその作用は LH と部分的に類似することが明らかとなった。

LH は排卵前卵胞において DNA 合成酵素の一つである DNA  $\alpha$ -nucleotidyltransferase 活性を増加させるとともに cyclic adenosine 3', 5' monophosphate (cyclic AMP) を second messenger とすることが明らかとなっている。このことから TS の卵巢におけるステロイド産生能、cyclic AMP 産生および DNA  $\alpha$ -nucleotidyltransferase 活性に及ぼす影響について LH と比較しながら検討を加えた。

方法：Wistar-Imamichi 系雌ラットを用い以下の実験を行った。

生後 27 日目に PMS 20 IU を皮下投与し、48 時間後に卵巢を摘出した群 (G-1) と、生後 27 日目に PMS 20 IU を皮下投与し 56 時間後に hCG 40 IU を腹腔内

投与し、hCG 投与後 7 日目に卵巢を摘出した群 (G-II) を用いた。

G-1 においては 20 コの卵胞を、G-II においては 10 コの 0.5 mm に細切した黄体を各々の群として、medium TC-199 を用いて 60 分間の preincubation の後、2-200  $\mu$ g/ml の TS エキス (ツムラ順天堂) を添加して 120 分間 incubation し、medium 中の estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>) および progesterone、組織中の cyclic AMP (cyclic AMP は 20 分間 incubation) および DNA  $\alpha$ -nucleotidyltransferase 活性を測定した。結果：Medium 中の progesterone 濃度は G-1 群および G-II 群において LH および TS で有意な増加を示したが、E<sub>2</sub> は TS の添加で減少傾向 (G-I 群) ないし変化を示さなかった (G-II 群)。組織中の cyclic AMP 濃度は、G-I 群および G-II 群において LH および TS で有意な増加を示した。

DNA  $\alpha$ -nucleotidyltransferase 活性は、G-I 群において LH および TS で有意な増加を示したが、G-II 群においては有意な変化が認められなかった。Cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate および DNA  $\beta$ -nucleotidyltransferase 活性は有意な変化を示さなかった。

結論：以上の事実は、TS がステロイド産生等に部分的ではあるが LH と似て adenylate cyclase-cyclic AMP 系を介して作用することを示すと同時に、DNA replication 酵素である DNA  $\alpha$ -nucleotidyltransferase 活性を排卵前卵胞において増加させることを示唆している。

(受付 昭和 61 年 10 月 16 日)

## Kallmann 症候群の妊娠成功例

### Case Report of Successful Conception in Kallmann's Syndrome.

札幌医科大学産婦人科学講座

山本 弘 遠藤 俊明 東口 篤司  
Hiroshi YAMAMOTO Toshiaki ENDOH Atsushi AZUMAGUCHI

田中 昭一 橋本 正淑  
Shoichi TANAKA Masayoshi HASHIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology  
Sapporo Medical College  
(Director: prof. Masayoshi Hashimoto)

両親が血族結婚であり、常染色体優性遺伝により発症したと考えられる姉妹の Kallmann 症候群を経験した。姉妹ともに hypogonadotropic hypogonadism を示し、LHRH テストは poor response であった。gonadotropine 以外の下垂体前葉ホルモンの基礎分泌は正常であった。TRH test での TSH および PRL の反応性は正常であったが、chlorpromazine による PRL の増加は正常以下であった。このことは本症の障害部位は下垂体ではなく視床下部であることを示唆するもので、下垂体機能低下は二次的なものと考えられた。妹は当科で hMG-hCG 療法により排卵し妊娠した。本邦における本症の妊娠成功例の報告は、われわれの症例が第 2 例目である。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33 (2), 397-402, 1988)

#### 緒言

Kallmann 症候群は 1944 年に Kallmann ら<sup>1)</sup>により先天性嗅覚脱失または低下を伴う hypogonadotropic hypogonadism として初めて報告された。病因は嗅球の無形成あるいは低形成、および視床下部の GnRH の合成または分泌不全と考えられている。本邦において女性の Kallmann 症候群の報告は少なく、またその妊娠成功例の報告は、われわれが調べた限りでは宮川ら<sup>2)</sup>の 1 例のみである。今回われわれは、姉妹が Kallmann 症候群であり、妹は hMG-hCG 療法で排卵し妊娠した症例を経験したので、その内分泌検査所見を中心に若干の文献的考察を加え報告する。

#### 症例

1) 症例 1 (妹) 昭和 32 年 3 月生、初診時年齢は 23 歳。

主 訴：原発性無月経、先天性嗅覚脱失。

家族歴：図 1 に示したように、両親はいとこ同志の

結婚で、父と三女に先天性嗅覚低下のみを認め、長女は症例 2 の Kallmann 症候群であった。

既往歴：特記すべきことなし。

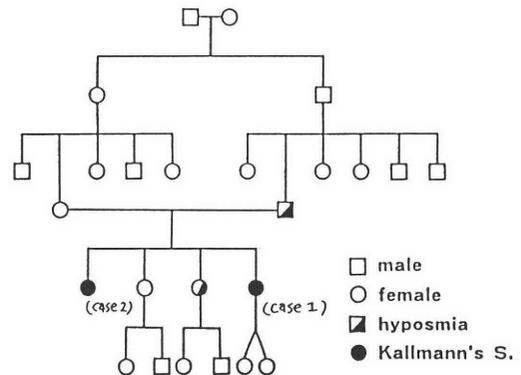


図 1 家系図

現病歴：18 歳になっても初経が発来しなかったが、特別の治療をせず放置していた。22 歳の時、原発性

無月経のため某産婦人科で Kaufmann 療法を受けていた。23 歳時に、上記主訴で精査を求め当科を受診し、Kallmann 症候群と診断された。まだ未婚であったため第二次性徴の発育の目的のため Kaufmann 療法を 2 年間施行された。25 歳に結婚し挙児希望のため hMG-hCG 療法を受け、3 周期目 (hMG225 単位、連日投与) から排卵を認め、11 周期目に妊娠した。図 2 にその時の基礎体温表を示した。妊娠 10 週の時点で B スコープで双胎と確認された。昭和 60 年 3 月、妊娠 27 週に 740g と 920g の一卵性の女児を早産した。

2) 症例 2 (姉) 昭和 22 年 10 月生、初診時年齢は 32 歳。

主 訴：原発性無月経、挙児希望、先天性嗅覚脱失。  
家族歴：症例 1 の姉である。

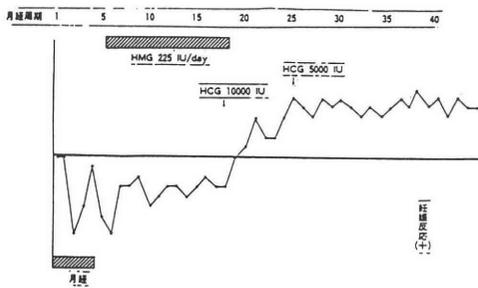


図 2 症例 1 (妹) の妊娠周期の基礎体温表

既往歴：特記すべきことなし。

現病歴：24 歳の時、原発性無月経のため某産婦人科で Kaufmann 療法を受けていた。27 歳で結婚し、32 歳時に上記主訴で精査を求めて当科を受診した。当科で Kallmann 症候群と診断されたが、遠方で当科通院が困難なため他病院で hMG-hCG 療法を受けているが妊娠に至っていない。

#### 検査成績

1) 症例 1 (妹)

全身所見：身長 163 cm, 体重 57 kg. 知能は正常で、外表的奇形はなかった。乳房の発育は比較的良好であり、腋毛はなかった。

外陰・内診所見：恥毛は少なく、陰核・小陰唇の発育は不良で、子宮はやや小、子宮腔長は 6 cm であった。両側付属器は触知されなかった。

諸検査成績：基礎体温は低温一相性であり、第 2 度無月経であった。LH 2.5mIU/ml, FSH 2.0mIU/ml

以下で gonadotropin の基礎分泌は低値で、PRL 4.7ng/ml, TSH 2.3 $\mu$ U/ml, hGH 1.5ng/ml 以下、ACTH 45pg/ml であり他の下垂体前葉ホルモンの分泌は正常であった。血中 E<sub>2</sub> は 10pg/ml 以下と低値であった。尿中 17-KS 9.7mg/day, 尿中 17-OHCS 6.0mg/day と正常であった。LHRH テストは図 3・図 4 に示したごとく hypogonadotropic poor response であった。TRH テストにおける PRL および TSH の反応を図 5・図 6 に示したが、PRL および TSH は正常な反応を示した。図 7 に chlorpromazine (CPZ) を 10 mg 筋注した時の PRL の反応を示した。CPZ による PRL の増加は軽度で正常反応以下であった。染色体は 46 XX normal karyotype であった。また、当院耳鼻科で神経性の嗅覚脱失と診断された。

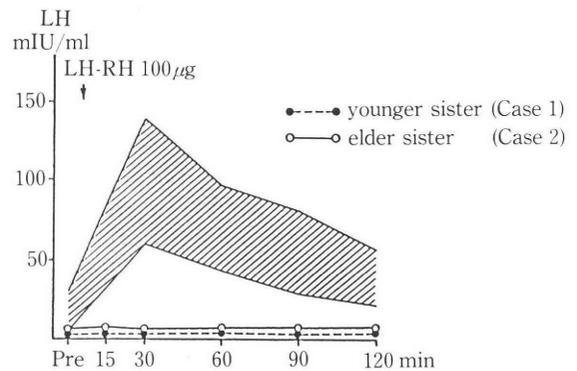


図 3 LH response to LH-RH

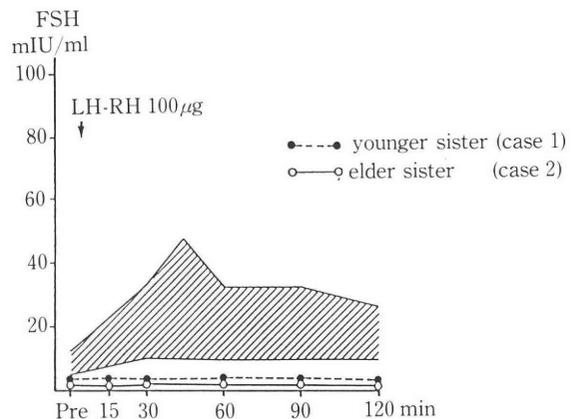


図 4 FSH response to LH-RH

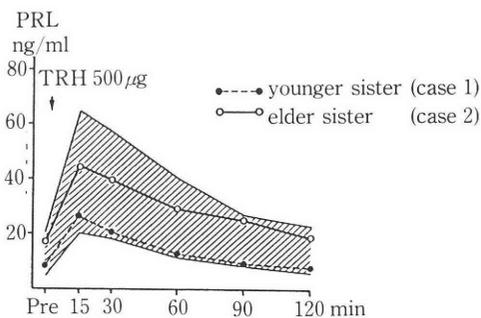


図 5 PRL response to TRH

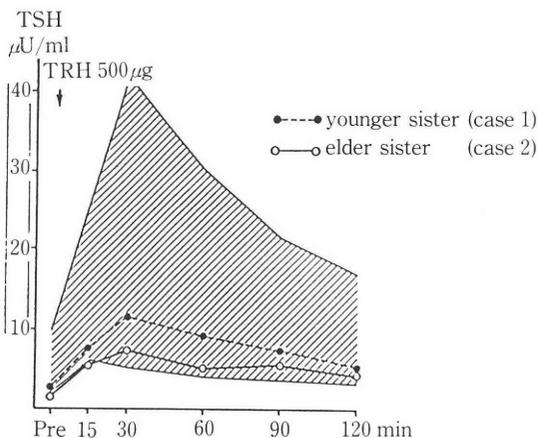


図 6 TSH response to TRH

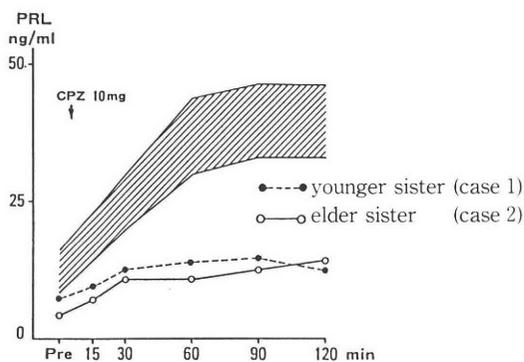


図 7 PRL response to Chlorpromazine

外陰・内診所見：恥毛は少なく、陰核・小陰唇は發育不良で、子宮は小、子宮腔長は 5 cm であった。兩側附屬器は触知しなかった。

諸検査成績：基礎体温は低温一相性で、第 2 度無月經であった。LH 4.5mIU/ml, FSH 2.0mIU/ml 以下で gonadotropin の基礎分泌は低値であった。PRL 7.1ng/ml, TSH 2.1μU/ml, hGH 1.5ng/ml 以下、ACTH 53pg/ml であり他の下垂体前葉ホルモンの分泌は正常であった。血中 E<sub>2</sub> は 10pg/ml 以下で低値であった。尿中 17-KS 5.7mg/day, 尿中 17-OHCS 6.5mg/day と正常であった。LHRH テストは hypogonadotropic poor response を示し (図 3・図 4)、TRH テストの PRL (図 5) および TSH (図 6) の反応は正常であったが、CPZ による PRL の反応は正常以下であった (図 7)。染色体は 46 XX normal karyotype であった。また、本症例も症例 1 と同様に神経性嗅覚脱失と診断された。

考 察

Kallmann 症候群は現在では gonadotropin 単独欠損症の一亜型に分類されている<sup>3)</sup>。女性の gonadotropin 単独欠損症の診断基準は宮川ら<sup>4)</sup>によれば、①原発性無月經②第二次性徴の欠如ないし低下③骨年齢の遅延④ eunucoid 体型⑤ gonadotropin の基礎分泌が 5mIU/ml 以下であり、かつ他の下垂体前葉ホルモンの分泌は正常であることが必須条件とされている。Kallmann 症候群はこの診断基準に先天性嗅覚障害が合併していれば診断を下し得る。今回、われわれの報告した症例は骨年齢の遅延 (検査していない) 以外の全ての所見を満たしていた。本症の發生頻度は Jones and Kemman<sup>5)</sup>によれば、男性は 1 万人に 1 人、女性は 5 万人に 1 人と報告され、男女比は 5 : 1 と男性に多いといわれている。家系内発症が多いが、その遺伝形式は伴性劣性遺伝<sup>1,7,8)</sup>、伴性優性遺伝<sup>6)</sup>、常染色体優性遺伝<sup>9,10,14)</sup> など様々な報告がある。また家系内発症を認めない散発例もまれではない。われわれの症例は父からその形質が 3 人の娘に遺伝したことより、常染色体優性遺伝で本症が発症したと推察された。本症には停留睪丸、片側腎無形成、口蓋裂、小眼症、外反肘、知能障害、協同運動など様々な合併症が報告されている<sup>1,6-13)</sup>。しかし、われわれの症例では姉妹ともにこれらの合併症はなかった。本症の嗅覚障害の原因は、剖検で嗅球、嗅索の欠損のためと確認されている<sup>15-17)</sup>。性腺機能低下は、内分泌学的検査で視床下部の GnRH の合成または分泌障害のためと考えられている<sup>18-21)</sup>。剖検例での視床下部の光顕所見では、異常があると

2) 症例 2 (姉)

全身所見：身長 151 cm, 体重 47 kg. 知能は正常で、外表的奇形はなかった。乳房の發育はやや不良で、腋毛はなかった。

の報告<sup>15,17,22</sup>)と異常がないとの報告<sup>16)</sup>があり、本症の視床下部の器質的障害が原因であるか否かは不明である。しかし、石田ら<sup>17)</sup>によれば嗅覚の神経経路は嗅球から扁桃核、さらに視床下部を経ている経路が存在するという。したがって視床下部の変化が嗅覚障害と GnRH 分泌障害に関連してくる可能性が示唆される。

本症の LHRH テストは多くの場合われわれの症例と同じく hypogonadotropic poor response を示すが、正常に近い反応を示す症例もある<sup>23)</sup>。一般に LHRH テストが hypogonadotropic poor response であった場合、この結果だけでは下垂体が原発部位か視床下部障害による続発性下垂体機能不全かの鑑別は困難である。続発性下垂体機能不全と診断するためには、LHRH を長期連続投与を行ない下垂体の LHRH に対する反応性改善を調べる必要がある。今回われわれは行っていないが、本症では LHRH 長期連続投与を行ない再度 LHRH テストを施行すると下垂体の反応性は改善されたと報告されている<sup>10,21,24,25)</sup>。この結果は本症の障害部位は視床下部にあることを示すものである。今までの本症を含めた hypogonadotropic hypogonadism の治療は、第二次性徴発育に Kaufmann 療法が、排卵誘発に hMG-hCG 療法が行なわれてきた。しかし、hypogonadotropic hypogonadism の障害部位の多くは下垂体ではなく視床下部にあることを考えると、その治療に LHRH 投与が有効と思われる。最近、Kallmann 症候群に LHRH 脈動的投与を行ない、その第二次性徴発育や排卵誘発に成功した報告がなされている<sup>26-28)</sup>。本邦での Kallmann 症候群の妊娠成功例は宮川ら<sup>21)</sup>もわれわれも hMG-hCG 療法によるものであり、LHRH 脈動的投与による妊娠成功例の報告はない。本症では gonadotropin 以外の下垂体前葉ホルモンは正常といわれるが、インスリンやアルギニン負荷テストの hGH<sup>11,13)</sup>、メチラポンに対する ACTH の反応<sup>29)</sup>、TRH や CPZ に対する TSH や PRL の反応<sup>30,31)</sup>などが低反応であったとの報告がある。これらの各種負荷テスト (TRH テストを除く) は視床下部を介して二次的な下垂体の反応性をみる検査である。したがって、これら負荷テストが低反応であった結果は本症の障害部位が視床下部にあることを示唆するものである。また、われわれの症例で TRH テストの PRL の反応性は正常であるが、CPZ に対する PRL の反応性は低下していた。このような報告は視床下部性原発性無月経<sup>32)</sup>、gonadotropin 単独欠損症<sup>33)</sup>および Kallmann 症候群<sup>34)</sup>で報告されている。TRH は直接下垂体を刺激し PRL の分泌を促進させるが、CP

Z は視床下部の P I F (PRL 分泌抑制因子) の分泌や作用を抑制することにより間接的に下垂体からの PRL の分泌を促進すると考えられており、TRH と CPZ による PRL の反応性の違いは本症の障害部位は下垂体ではなく視床下部にあることを示唆する所見である。本症で、このような様々な視床下部を介する下垂体機能検査で異常が報告されていることは、本症は症例により視床下部の障害の程度が異なるためとも考えられ、本症の性腺機能低下の原因は単に GnRH の合成または分泌不全のためだけではない可能性を示唆するもので興味深い。

#### まとめ

両親が血族結婚である姉妹に発症し、その遺伝形式は常染色体優性遺伝と推察され、妹は hMG-hCG 療法で妊娠した Kallmann 症候群を報告した。内分泌学的検査で、本症の障害部位は視床下部にあり、その理想的な治療は LHRH 脈動的投与方法と考えられた。また、本症の発症頻度は少ないが、原発性無月経患者の診察の際に家族歴および嗅覚障害の有無に関する問診の重要性が改めて痛感した。

なお本論文の要旨は、第 31 回日本不妊学会総会(仙台, 1986) で発表した。

#### 文 献

- 1) Kallmann, F. J., Schoenfeld, W. A. and Barrera, S. E.: The genetic aspects of primary eunuchoidism. *Am. J. Ment. Defic.*, 48: 203, 1944.
- 2) 宮川勇生, 宗村正英, 前山昌男, 藤崎俊一, 森 憲正: Olfacto-genital syndrome と妊娠, *日産婦誌*, 29: 294, 1977.
- 3) 井村裕夫, 吉本祥生, 加藤 譲, 森寺邦三郎, 中井義勝: 下垂体前葉ホルモン単独欠損症, *臨床科学*, 10: 33, 1974.
- 4) 宮川勇生, 井福正則, 井上 悟, 藤崎俊一, 森 憲正: Gonadotropin 単独欠損症, *日不妊会誌*, 21: 52, 1976.
- 5) Jones, J. R. and Kemman, E.: Olfacto-genital dysplasia in the female. *Obstet. Gynecol. Annu.* 5: 443, 1976.
- 6) Nowakowski, H. and Lenz, W.: Genetic aspects in male hypogonadism. *Recent prog. Horm. Res.* 17: 53, 1971.
- 7) Wegenke, J. D., Uehling, D. T., Wear, J. B., Gordon, E. S., Bargmann, J. G., Deacon, J. S. R., Herrmann, P. R. and Opitz, J. M.: Familial Kallmann syndrome with unilateral renal aplasia. *Clin. Genet.* 7: 368, 1975.
- 8) Hermanussen, M. and Sippl, W. G.: Heterogeneity of Kallmann's syndrome. *Clin Genet.* 28: 106, 1985.

- 9) Santen, R. J. and Paulsen, C. A.: Hypogonadotropic eunuchoidism. I. Clinical study of the mode of inheritance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36: 47, 1973.
- 10) 中田恵輔, 和泉元衛, 石丸忠彦, 宇佐利隆: Kallmann 症候群の4例—内分泌学的検討を中心として—, *日本臨床*, 39: 678, 1981.
- 11) Boyar, R. M., Finkelstein, J. W., Witkin, M., Kapen, S., Weitzman, E. and Hellman, L.: Studies of endocrine function in "Isolated" gonadotropin deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36: 64, 1973.
- 12) Check, J. H., Rakoff, A. E., Goldfarb, A. F. and Slipian, P.: Anosmia and hypogonadism associated with elevated luteinizing hormone levels and multiple congenital anomalies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 127: 889, 1977.
- 13) Jones, J. R., Kemman, E., Cresci, J. and Solish, G. I.: Anosmia and hypogonadism with ovarian mosaicism. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 121: 991, 1975.
- 14) Merriam, G. R., Beitins, I. Z. and Bode, H. H.: Father-to-Sun transmission of hypogonadism with anosmia. *Am. J. Dis. Child.* 131: 1216, 1977.
- 15) De Morsier, G. and Gauthier, G.: La dysplasie olfacto-genitale. *Path. Biol.* 11: 1267, 1963.
- 16) 井坂勝利, 近森一正, 森 博愛, 齊藤久樹, 古谷敬三, 玉橋信彰: Kallmann 症候群の1剖検例, *日内会誌*, 68: 89, 1979.
- 17) 石田 孝, 朴沢二郎, 齊藤久樹, 高木明子, 中村清純, 吉村教峰, 八木橋操六: Kallmann 症候群の剖検例, *耳鼻咽喉*, 52: 961, 1980.
- 18) Boyer, R. M.: The effect of clomiphene citrate in anosmic hypogonadism. *Ann. Intern. Med.* 71: 1127, 1969.
- 19) Schroffner, W. G. and Furth, E. D.: Hypogonadotropic hypogonadism with anosmia (Kallmann's syndrome) unresponsive to clomiphene citrate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 31: 267, 1970.
- 20) Naftolin, F., Harris, G. W. and Bobrow, M.: Effect of purified luteinizing hormone releasing factor on normal and hypogonadotropic anosmia men. *Nature* 232: 496, 1971.
- 21) 小池弘幸, 宮川勇生, 井上 博, 森 憲正: Kallmann's (olfacto-gonital) syndrome の1例, *日産婦誌*, 36: 973, 1984.
- 22) Kovacs, K. and Sheehan, H. L.: Pituitary changes in Kallmann's syndrome: a histologic, immunocytologic, ultrastructural, and immunoelectrone microscopic study. *Fertil. Steril.* 37: 83, 1982.
- 23) Marshall, J. C., Harsoulis, P., Anderson, D. C., McNeilly, A. S., Besser, G. M. and Hall, R.: Isolated pituitary gonadotropin deficiency: Gonadotropin secretion after synthetic luteinizing hormone and follicle stimulating hormone-releasing hormone. *British Medical J.* 4: 643, 1972.
- 24) 衣笠隆之, 青野敏博, 三宅 侃, 塩路武徳, 倉智敬一: LH-RH 連続負荷 test に関する研究, *日産婦誌*, 28: 24, 1976.
- 25) Hashimoto, T., Miyai, K., Onishi, T., Matsumoto, K. and Kumahara, Y.: Comparison of short and long-term treatment with synthetic LH-releasing hormone and clomiphene citrate in male hypogonadotropic hypogonadism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41: 905, 1975.
- 26) 水沼英樹, 小原満雄, 山田清彦, 伊吹令人, 五十嵐正雄, 中井義勝: 長期間連続して施行した LH-RH 脈動的皮下投与法の原因性無月経婦人に対する排卵誘発および二次性徴発育に与える影響について, *日不妊会誌*, 31: 447, 1986.
- 27) 貝田清隆, 花田征治, 生田克夫, 竹内一郎, 万歳稔, 水野金一郎, 八神喜昭, 渡辺紘一: LH-RH 律動的投与法により排卵に成功した Kallmann 症候群の一例, *日不妊会誌*, 31: 696, 1986.
- 28) Seibel, M. M., Claman, P., Oskowitz, S. P., McArdle, C. and Weistein, F. G.: Events surrounding the initiation of puberty with long term subcutaneous pulsatile gonadotropin-releasing hormone in a female patient with Kallmann's syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 61: 575, 1985.
- 29) Males, J. L., Townsend, J. L. and Schneider, R. A.: Hypogonadotropic hypogonadism with anosmia-Kallmann's syndrome. *Arch. Intern. Med.* 131: 501, 1973.
- 30) Antaki, A., Somma, M., Wyman, H. and Van Camphenout, J.: Hypothalamic-pituitary function in the olfacto-genital syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38: 1083, 1974.
- 31) Yamaji, T., Shimamoto, K., Kosaka, K. and Isurugi, K.: Heterogeneity of prolactin and TSH response to TRH in hypogonadotropic hypogonadism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45: 319, 1977.
- 32) 多賀理吉, 武谷雄二, 森 宏之, 水口弘司, 木川源則, 坂本正一: 中枢性原因性無月経に関する内分泌学的研究, *日内分泌会誌*, 58: 63, 1982.
- 33) Spitz, I. M., Almaliach, N., Bosen, E., Polishuk, W. and Rabinowitz, D.: Dissociation of prolactin responsiveness to TRH and Chlorpromazine in women with isolated gonadotropin deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45: 1173, 1977.
- 34) Turksoy, R. N.: Dissociation of prolactin responsiveness to thyrotropin-releasing hormone and chlorpromazine in a female with Kallmann's syndrome. *Fertil. Steril.* 32: 228, 1979.

## Case report of the successful conception in Kallmann's syndrome

**Hiroshi Yamamoto, Toshiaki Endoh,  
Atsushi Azumaguchi, Shoich Tanaka,  
and Masayoshi Hashimoto**

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Sapporo Medical College  
(Director: prof. Masayoshi Hashimoto)

We report that sisters were Kallmann's syndrome (olfacto-genital syndrome). Their parents were a consanguineous marriage. Autosomal dominant inheritance was considered to be most probable in

this family. They were pointed out hypogonadotropic hypogonadism with anosmia. Serum LH and FSH were less than 5mIU/ml, serum estradiol was less than 10pg/ml. The basal secretion of other anterior pituitary hormones were within normal range. LHRH tests were hypogonadotropic poor response. PRL responsiveness to TRH was normal, but to chlorpromazine was low. This dissociation of PRL responsiveness to TRH and chlorpromazine is suggested that they have impediment in the hypothalamus. It is expected for secondary impediment in the pituitary that their LHRH tests were hypogonadotropic poor response. Younger sister had conceived with hMG-hCG therapy in our clinic. The successful conception in Kallmann's syndrome was the secondary case in Japan.

(受付：昭和 62 年 6 月 17 日)

# ROKITANSKY-KÜSTER-HAUSER SYNDROME- OBSERVATIONS ON 10 CASES

Hirotaoka OTA, Mineko FUKUSHIMA, Hideya KODAMA  
and Masahiro MAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Akita University School of Medicine, Akita, Japan.

Reprint requests: Hirotaoka Ota, M. D., Department of Obstetrics  
and Gynecology, Akita University School of Medicine,  
1-1-1 Hondo, Akita 010, Japan

---

**Abstract:** Ten patients with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome with variable abnormalities of the uterus and tubes were observed. That is, bipartite uterus in five cases and small midline structure in one and absent in the remained four. The tubes were normal in six cases, a unilateral hypoplasia in two and absent in the remained two. The ovaries were normal in nine of ten cases and, the remained one displayed a unilateral hypoplastic ovary. The basal body temperature revealed biphasic, but half of them ( $n=5$ ) had patterns of luteal phase defect. LH-RH test showed a normal basal level and response of LH and FSH to LH-RH, indicating the maintained endocrine system. Eight of them married about 7 months later in an average after the vaginoplasty by McIndoe's method and came out successful sexual intercourse. Moreover, these cases were accompanied by a wide variety of other abnormalities such as inguinal hernia in two, absence of one kidney, scoliosis, median cervical cyst and Goldenhar syndrome in one, respectively. Thus, it was concluded that the syndrome has various abnormalities of the tubes and uterus as well as varieties of extragenital anomalies. This study indicates laparoscopy as a useful tool in the diagnosis of the syndrome.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33 (2), 404-411, 1988)

---

## Introduction

It is well documented that the congenital absence of the vagina is frequently observed in primary amenorrhea<sup>1)</sup>. The Rokitansky-Küster-Hauser syndrome characterizes the absence of vagina, rudimentary uterus and normal ovary<sup>2)</sup>. The syndrome also associates a variety of abnormalities such as urinary, skeletal or other anomalies as shown in Fig 1<sup>3)4)5)</sup>. Furthermore, the findings in the genital organs appears different in some degree according to their development. For example, as for rudimentary uterus, it may exist bilaterally or in the center as a small midline

structure<sup>6)</sup>, or may be completely absent<sup>7)8)</sup>. However, few details were discussed with variants of fallopian tubes according to the location and the development. In the present study, we tried to classify the tubes according to its development. We also present quite rare two cases with median cervical cyst or Goldenhar syndrome associated with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome.

## Materials and Methods

Ten patients with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome were investigated in the Department of Obstetrics and Gynecology at Akita University Medical Center. Prior to laparoscopy all patients

recorded the basal body temperature for at least two months. All had undergone chromosomal analyses and intravenous pyelography to examine the anatomy of the urinary tract. Radiological investigation for skeletal anomalies were also carried out. LH-RH test was performed in seven

patients by injecting LH-RH (100  $\mu$ g). Blood was drawn 15, 30, 60 and 120 min after the injection. Separated sera were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the assay. Then, the serum LH and FSH levels were determined by radioimmunoassay as described previously<sup>9</sup>). Following laparoscopy eight of them

1. Absence of the vagina	Scoliosis, Spina bifida, etc
2. Rudimentary uterus	5. Limb
3. Renal	Malformed arm or leg
Ectopic kidney, Agenesis of kidney, Solitary fused kidney, Horseshoe kidney	6. Rib deformity or extra ribs
4. Spinal	7. Inguinal hernia
	8. Others

Fig. 1 Clinical abnormalities in Rokitansky-Küster-Hauser syndrome

Table. 1 Clinical features in 10 patients with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. Diag: age diagnosed, Ope: age performed McIndoe's operation, Wt: weight, Ht: height.

Patient	Age			Wt (cm)	Ht (kg)	Pelvic exam
	Diag (yrs)	Ope (yrs)	Marriage (yrs)			
1. M. N.	21	26	26	44	150	Blind-ending vagina
2. I. F.	20	24	25	42	143	Blind-ending vagina
3. S. S.	20	24	24	45	153	Blind-ending vagina
4. S. M.	24	24	26	38	150	Blind-ending vagina
5. F. M.	19	23	23	49	159	Blind-ending vagina
6. Y. T.	20	24	26	45	150	Blind-ending vagina
7. M. N.	17	26	26	57	161	Blind-ending vagina
8. K. Y.	17	24	24	53	165	Blind-ending vagina
9. H. Y.	18	—	—	43	148	Blind-ending 2cm vagina
10. M. M.	19	—	—	47	155	Blind-ending vagina
Mean	19.5	24.4	25.1	46.3	153.4	

Table. 2 Clinical features in 10 patients with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome.

Patient	Karyotype	Family History	Other abnormalities
1. M. N.	46, XX	Negative	Bilateral inguinal hernia
2. I. F.	46, XX	Negative	None
3. S. S.	46, XX	Negative	None
4. S. M.	46, XX	Negative	Goldenbar syndrome
5. F. M.	46, XX	Negative	None
6. Y. T.	46, XX	Negative	Median cervical cyst
7. M. N.	46, XX	Negative	Absence of right kidney
8. K. Y.	46, XX	Sister with uterus bicornis unieollis	Left inguinal hernia
9. H. Y.	46, XX	Negative	Thoracolumbar scoliosis
10. M. M.	46, XX	Negative	None

Table. 3 Laparoscopic findings in 10 patients with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome.

Patient	Uterus	Fallopian tubes	Size and appearances of ovaries
1. M. N.	Bipartite uterus	Normal	Normal
2. I. F.	Small midline structure	Absent	Rt. hypoplastic Lt. normal
3. S. S.	Absent	Absent	Normal
4. S. M.	Bipartite uterus	Rt. normal Lt.hypoplastic	Normal
5. F. M.	Bipartite uterus	Normal	Normal
6. Y. T.	Absent	Normal	Normal
7. M. N.	Absent	Rt. rudimentary Lt. hypoplastic	Normal
8. K. Y.	Bipartite uterus	Normal	Normal
9. H. Y.	Absent	Normal	Normal
10. M. M.	Bipartite uterus	Normal	Normal

received an operation of vaginoplasty by McIndoe's method, which came out successful post-operative course in all cases. The values in the paper were expressed as mean ± SE.

**Results**

1) Physical findings

The physical findings in ten cases are summarized in Table 1. A mean age first seen to our outpatient clinic and diagnosed was 19.5 years old. Laparoscopy was performed at 24.4 years old in an average. About 7 months later eight patients married and had successful sexual intercourse. A mean body weight was 46.3Kg and a mean height was 153.4cm. Nine of the ten patients displayed

congenital absence of the vagina and the remained one had 2cm blind-ending vagina (H. Y.). As shown in Table 2, all displayed normal 46

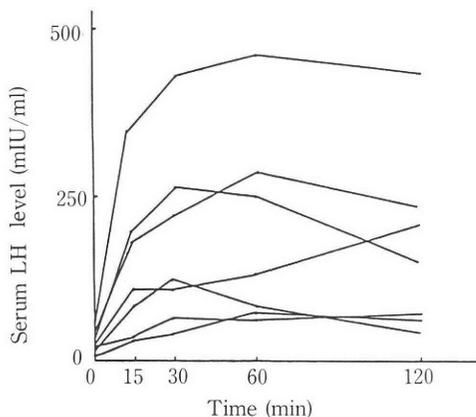


Fig. 2 Response of serum LH on LH-RH test in 7 patients with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome.

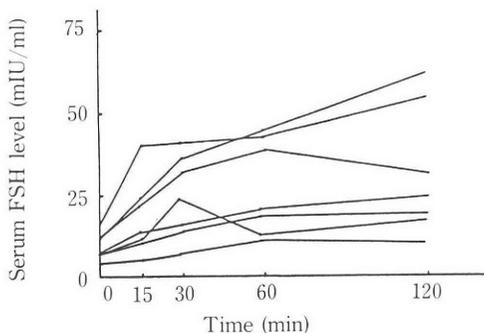


Fig. 3 Response of serum FSH on LH-RH test in 7 patients with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome.

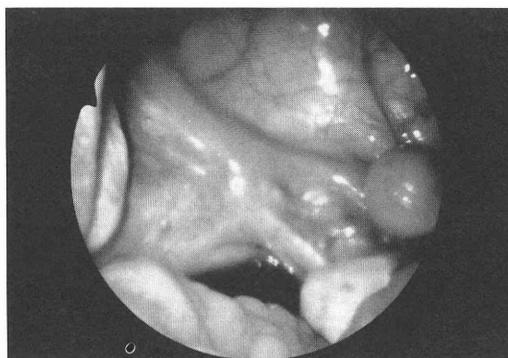


Fig. 4 A typical peritoneal fold showing absent uterus in the central portion in a patient with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome.

chromosomes with a XX sex chromosome complement. Their basal body temperature showed all biphasic pattern, but five of them had patterns of luteal phase defect. One patient had a family history of her elder sister with uterus bicornis unicollis (K. Y.).

## 2) Hormonal analyses

In one patient (M. M.) serum LH level showed an excessive reaction to LH-RH due to the test period performed in the preovulatory phase (Fig. 2). The other patients (n=6) exhibited LH of the normal basal level ( $15.9 \pm 3.8$  mIU/ml) and normal response to LH-RH. Serum FSH showed the normal basal level ( $8.8 \pm 1.7$  mIU/ml) and response to LH-RH in all cases (Fig. 3).

## 3) Laparoscopic findings

Laparoscopy disclosed bipartite uterus con-

nected to each other across the midline by a peritoneal fold (Fig. 4) in five cases, small midline structure in one and absent in the remainder (n=5)(Table 3). The rudimentary uterus varied from thumb's head to overbean's size (Figs. 5 and 6). The ovaries were normal in size and appearance with corpora lutea or maturing follicles in nine cases, except one with a hypoplastic ovary in one side and a normal ovary in another side (I. F.). The fallopian tubes were normal in six cases and absent in two (I. F. and S. S.). The remained two cases showed unilateral hypoplastic tubes (Fig. 7), but the other one was normal (S. M.) or rudimentary (M. N.; No. 7)

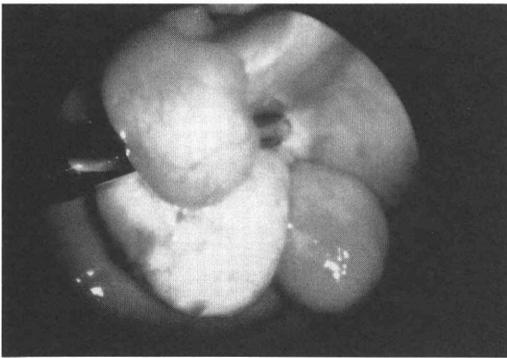


Fig. 5 A thumb's head-sized rudimentary uterus showing normal tube and ovary from a patient K. Y.



Fig. 6 A overbean's-sized rudimentary uterus from a patient H. S.

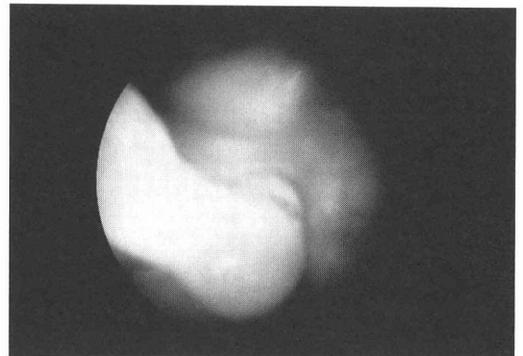
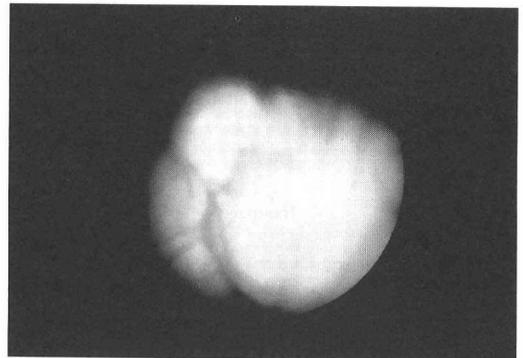


Fig. 7 A upper hypoplastic tube (upper panel) and a right rudimentary tube (lower panel) from a patient M. N.

## 4) Associated anomalies

Six of ten patients associated a variety of anomalies. That is, two (M. N.; No. 1 and K. Y.) had bilateral or unilateral inguinal hernias, which is depicted in Fig. 8 from K. Y. One patient had an absence of the right kidney, median cervical cyst

and thoracolumbar scoliosis, respectively. One patient (S. M.) displayed a asymmetrical facial anomalies. That is, hypoplasia of left auricle, obstructed external auditory meatus, deafness, colobomata of the upper rid, mandibular hypoplasia and cleft palate, which signs were classified as Goldenhar syndrome (Fig. 9)

**Discussion**

Rokitansky-Küster-Hauser syndrome has been classically defined as the absence of vagina, rudimentary uterus in spite of normal tube and ovary<sup>10</sup>. However, several reports indicate the presence of variants in uterus and tube. That is,

uterus typically remains as bilateral rudimentary buds, but rarely it may exist as a median form<sup>6)</sup> or may be completely absent<sup>7)8)</sup>. Similar findings were observed in the present study, as bipartite

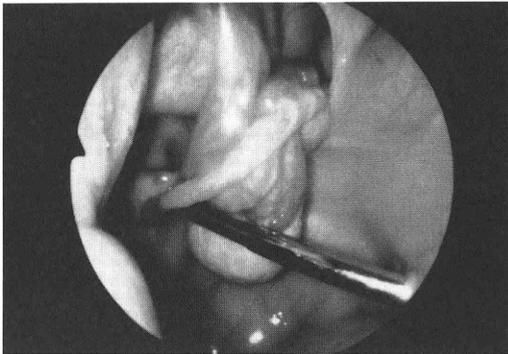


Fig. 8 A dilated left inguinal canal from a patient K. Y.

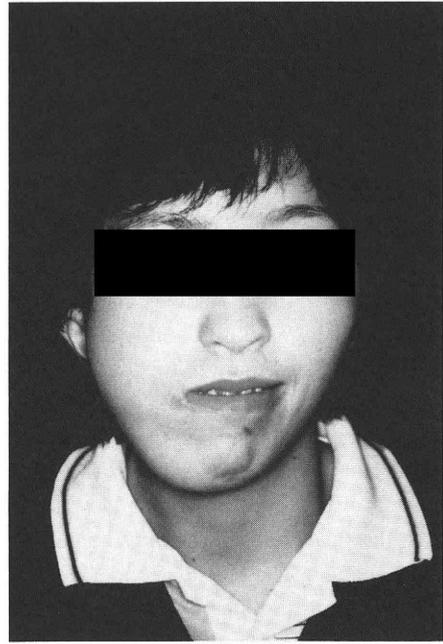


Fig. 9 Typical findings in a patient [redacted] with goldenhar syndrome showing asymmetrical hypoplasia of auricle and mandibular hypoplasia.

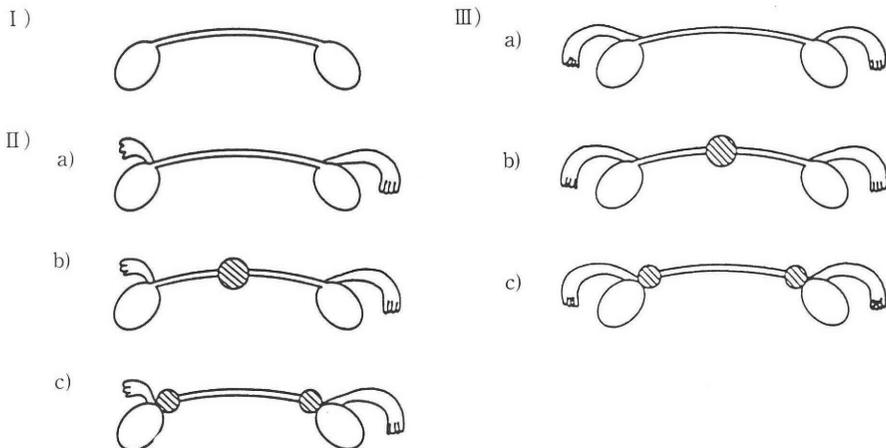


Fig. 10 Presentation of the different anatomical types of Rokitansky-Küster-Hauser syndrome; I) total utero-tubal aplasia, II) Hypoplasia of unilateral or bilateral tubes with normal ovary, III) Absent or rudimentary uterus with normal tube and ovary.

uterus in five cases, median form in one and absent in four. On the other hand, the tubes showed various forms among the individuals. Six of ten patients revealed the normal tubes, two with a unilateral hypoplastic tube, in which one had a normal tube and the other had a rudimentary one. The remained two displayed complete absence of the tubes. The ovaries were normal with corpora lutea and/or maturing follicles in nine cases, but the remained one had one hypoplastic ovary. Such abnormal ovaries may infrequently exist in the syndrome, since there are several studies referring cystic or ectopic ovaries<sup>5)6)</sup>. From these findings including other series<sup>6)7)8)11)</sup>, it is possible to indicate that there are several forms of tubes in this disorder. In Fig. 10, we describe the laparoscopic classification of the genital organs focusing on the tubes. Thus, the genital organs will be divided into three groups from the view of the development of the tubes. That is, the tubes and uterus may be completely absent (group I). The second group has hypoplastic or rudimentary tubes in one or both sides associated with or without the presence of uterus (group II; a-c). The last group would have normally developed tubes with or without the presence of rudimentary uterus (group III; a-c).

It is generally assumed that ovarian function in this disorder is normal. Daily analysis of serum hormones indicate<sup>12)13)</sup> that characteristic peak of estradiol, LH and FSH during preovulatory phase, and subsequent increase in progesterone and 17-hydroxyprogesterone are clearly recognized in the syndrome. Although we performed LH-RH test at different phases, the basal levels of LH and FSH and their response to LH-RH were generally normal, indicating the well-maintained hypothalamic-pituitary-ovarian system despite lack of uterus.

Frequent developmental abnormalities of the urogenital system have been well recognized<sup>4)14)</sup>. About one third of the patients were found to have abnormalities of the urinary tract. According to the report by Griffin et al.<sup>4)</sup> frequent abnormalities are agenesis of one kidney, ectopia of one or both kidney and fused kidney. However, in the present study only one patient had agenesis of one

kidney and the others did not show any abnormalities. Anyway, special care should be taken to evaluate the kidneys before any operative procedures in the pelvis.

It is not rare that this syndrome associates skeletal abnormalities. The incidence is about 10–15%<sup>4)5)</sup>, which is less than that of the urinary tract. The common abnormalities would involve the spine and limb, such as scoliosis, spina bifida, syndactyly and absence of a digit. In the present series one patient exhibited scoliosis.

Various other abnormalities have been described, including congenital heart lesions<sup>15)16)</sup>, inguinal hernia<sup>5)</sup>, deafness<sup>4)</sup> and cleft palate<sup>17)</sup>. In the present study we found one case with median cervical cyst or Goldenhar syndrome, respectively. Goldenhar syndrome typically associates asymmetrical deafness, hypoplasia of auricle, cleft palate and eye abnormalities<sup>18)</sup>. And this appears to be the first paper to describe the combined abnormalities with Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and Goldenhar syndrome.

In all of the cases chromosomal karyotype is that of a normal 46, XX woman. A deal of studies have reported on the karyotype of chromosome, which are similar to the present result<sup>4)6)</sup>. Several reports, however, indicate the presence of chromosomal abnormalities<sup>4)19)</sup>, including mosaicism or abnormality of the short arm of autosomal chromosome<sup>20)</sup>, although these appearance is within normal variations. Anyway, the overall incidence of these chromosomal abnormalities are very low and these abnormalities appear to have few possibilities for the pathogenesis of this syndrome.

The pathogenesis of the Rokitansky-Küster-Hauser syndrome is still uncertain. Frequent occurrence of concomittant abnormalities of the genital tract, the urinary system and the skeleton may suggest some common embryonic defect. That is, fallopian tubes, uterus and upper vagina are derived from the Müllerian duct<sup>21)</sup>. The duct has two components—a cephalic portion and a caudal end that is probably derived from the Wolffian duct<sup>22)</sup>. The Wolffian duct is also the anlage of the metanephric duct, and the vertebrae develop from adjacent mesodermal cell concen-

trations at about the same embryonic stage<sup>4)</sup>. Therefore, it is possible to suggest that some defect in the organization of the mesoderm in these somites could cause these various abnormalities at early embryonic stage.

### References

- 1) Ross, G. T. and Vande Wiele, R. E.: The textbook of endocrinology (5th edition): The ovaries (ed. by Williams, R. H.), 400-406. W. B. Saunders, Philadelphia-London-Toronto-Tokyo, 1974.
- 2) Golditch, I. M.: Vaginal aplasia. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 129:361-367, 1969.
- 3) Chawla, S., Bery, K. and Indra, K. J.: Abnormalities of the urinary tract and skeleton associated with congenital absence of vagina. *Br. Med. J.*, 1:1398-1400, 1966.
- 4) Griffin, J. E., Edwards, C., Madden, J. D., Harrod, M. J. and Wilson, J. D.: Congenital absence of the vagina: The Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Ann. Int. Med.*, 85:224-236, 1976.
- 5) Pinsky, L.: A community of human malformation syndromes involving the Mullerian ducts, distal extremities, urinary tract and ears. *Teratology* 9:65-79, 1974.
- 6) Leduc, B., Van Campenhout, J. V. and Simard, R.: Congenital absence of the vagina: Observations on 25 cases. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 100: 512-520, 1968.
- 7) Whitely, J. M., Parrott, M. H. and Rowland, W.: Split-thickness skin graft technique in the correction of congenital or acquired vaginal atresia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 89:377-385, 1964.
- 8) Wildemeersch, D. A. A., Theron, E. S. and Jensen, L. P.: Congenital absence of the vagina and associated defects. *S. Afr. Med. J.*, 50: 2012-2015, 1976.
- 9) Ota, H., Fukushima, M., Junji, M., Maki, M. and Wakizaka, A.: Ovarian membrane receptors for LH, FSH and prolactin during the menstrual cycle and in polycystic ovary syndrome. *Tohoku J. Exp. Med.*, 149:231-240, 1986.
- 10) Küster, H.: Uterus bipartitus solidus rudimentarius cum vagina solida. *Z. Geb. Gyn.*, 67:692-718, 1910.
- 11) Buttram, V. C. and Gibbons, W.E.: Müllerian anomalies: A proposed classification (An analysis of 144 cases). *Fertil. Steril.*, 32:40-46, 1979.
- 12) Coyotupa, J., Buster, J., Parlow, A. F. and Digram, W. J.: Normal cyclical patterns of serum gonadotropins and ovarian steroids despite congenital absence of the uterus. *J.*

- Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:395-396, 1973.
- 13) Fraser, I. S., Baird, D. T., Hobson, B. M., Michie, E. A. and Hunter, W.: Cyclical ovarian function in women with congenital absence of the uterus and vagina. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36: 634-637, 1973.
- 14) Neinstein, L. S. and Castle, G.: Congenital absence of the vagina. *Am. J. Dis. Child.*, 137: 669-671, 1983.
- 15) Cali, R. W. and Pratt, J. H.: Congenital absence of the vagina. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 100: 752-763, 1968.
- 16) Miller, N. F. and Stout, W.: Congenital absence of the vagina. *Obstet. Gynecol.*, 9:48-54, 1957.
- 17) Turunen, A.: Ubercongenitales Fehlen der Schide. *Ann. Chir. Gynaecol. Fenn.*, 46:125-142, 1957.
- 18) Fraser, F. C.: Diseases of the newborn (4th edition): Some multiple malformation syndromes not caused by gross chromosomal aberrations. (ed. by A. J. Schaffer and M. E. Avery), 928-931. W. B. Saunders, Philadelphia-London-Toronto-Tokyo, 1977.
- 19) Jones, H. W., Jr. and Mermut, S.: Familial occurrence of congenital absence of the vagina. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 114:1100-1101, 1972.
- 20) Baird, P. A. and Lowry, R. B.: Absent vagina and the Klippel-Feil anomaly. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 118:290-291, 1974.
- 21) Gruenwald, P.: The relation of the growing Müllerian duct to the Wolffian duct and its importance for the genesis of malformations. *Anat. Rec.*, 81:1-19, 1941.
- 22) Gruenwald, P.: Growth and development of the uterus: The relationship of epithelium to mesenchyme. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 75:436-440, 1959.

### ロキタンスキー・キュスター・ ハウザー症候群 10例について

秋田大学医学部産科婦人科

太田博孝 福島峰子 児玉英也

真木正博

Rokitansky-Küster-Hauser 症候群は正常卵巣を有するも膣欠損、痕跡状芽状子宮を特徴とし、さらに種々の奇形を合併するなど発生学的にも興味ある疾患である。著者等は最近8年間に本症を10例経験、8例にMcIndoe手術を行い予後良好的な結果を得たので報告する。平均外来初診年齢は19.5歳、結婚年齢は21.1歳であり、また平均身長は153.4 cm、体重は46.3 kgであ

った。全例性染色体は正常，基礎体温表は2相性であった。腹腔鏡所見で卵巣は1例に片側の低形成を認めたが他は全例正常であった。子宮は両側性痕跡型5例，中央型1例，欠損4例であった。その他2例に鼠径ヘルニア，1例に腎欠損，側弯症，正中頸部嚢胞，Golden-

har 症候群をそれぞれ合併していた。以上のように本疾患は生殖器のみならず種々の器官の異常を合併し，多彩な病態を示すことが明らかとなった。

(受付 昭和61年9月16日)

## TRANSLOCATION (X; 8)(q22.3; p21.1) IN A FEMALE WITH GONADAL DYSGENESIS.

Saburoh YAMASHITA, Takehisa ITO, Norio KINASHI,  
Akito YAKABE and Akihisa TAKASAKI

Section of Obstetrics and Gynecology,  
Social Insurance Tokuyama Central General  
Hospital, Tokuyama, Japan.

Masato TSUKAHARA, Ichiroh MURANO and Yoshiharu AOKI

Department of pediatrics, Yamaguchi  
University School of Medicine, Ube, Japan.

---

**Abstract:** This paper describes a (X; 8)(q22.3; p21.1) translocation in a 26-year-old infertile female with gonadal dysgenesis.

She had normal intelligence and amenorrhea, infantile internal and external genitalias, and hypergonadotropic hypogonadism.

The normal X chromosome was late replicating in all the cells of cultured peripheral blood (PB) lymphocytes and of skin fibroblasts. Several possibilities were demonstrated about the relationship between the X/8 translocation and the development of gonadal dysgenesis.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33 (2), 411-414, 1988)

---

### Introduction

Gonadal dysgenesis is often induced by these chromosomal abnormalities which include Turner's syndrome, poly X syndrome, Xp or Xq deletion and balanced X/autosome translocation. Although the clinical manifestations of balanced X/autosome translocation are variable among each individual case, they are characterized by the presence of normal phenotype or gonadal dysgenesis with or without other malformations.

We describe here a case with X/8 translocation with gonadal dysgenesis.

### Case report

The case was the 26-year-old infertile woman. She was born from a 22-year-old mother and a 29-year-old father with normal courses of pregnancy and delivery, with a birth weight of

2500g. The initial breast development occurred at age 11 years. A small amount of vaginal bleeding was observed at 11 years, but she had never had any regular menstruation thereafter. Her axillary and pubic hairs were first developed a little later than bleeding. Her performance at school was normal.

She visited our outpatient clinic at the age of 25 years old because of amenorrhea and wishing for baby. She weighed 49kg (-0.5 S. D.) and measured 160cm (+0.6 S. D.). Her breasts and pubic hair were at Tanner's stage III, and her axillary hair development was normal. Both the labia majora and minora were poorly developed, while the portio vaginalis was normal in size. Laparoscopic examination revealed a small uterus, morphologically normal fallopian tubes, and the bilateral ovaries were restiform. Biopsy specimen from the bilateral ovaries revealed that the ovary

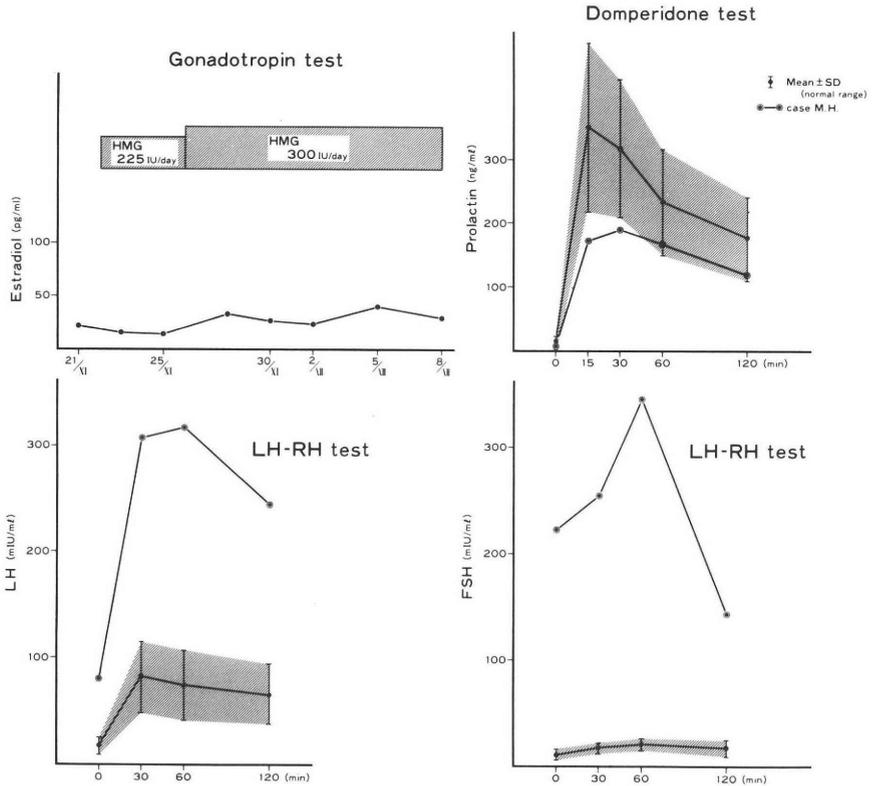


Fig. 1 Endocrinological studies.

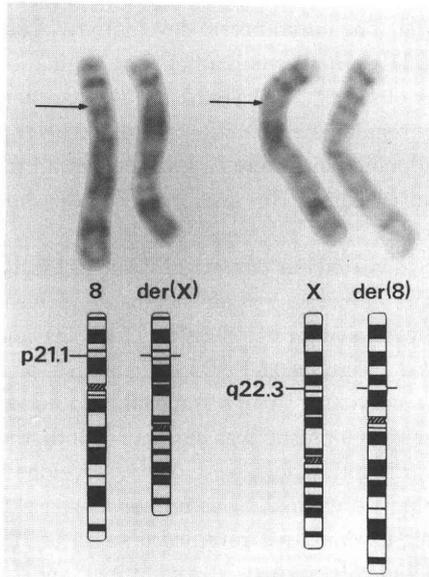


Fig. 2 Partial karyotype. High resolution G-banding reveals the break point at 8p21.1 and Xq22.3.

was composed of the stroma but lacked follicles.

Endocrinological studies (Fig. 1): The serum estradiol level was 27.9pg/ml, and poorly responded to HMG administration (225–300 IU/day). Basal levels of serum LH and FSH were 80.0 and 224.0mIU/ml, respectively, and their maximum responses to LH-RH (100µg i. v. in bolus) were 312.8 and 345.9mIU/ml which were exaggerated, compared to those in control women. Basal prolactin level was 5.4ng/ml and its response to Domperidone (10mg i. v. in bolus) was poor.

Cytogenetic studies: Chromosomes were examined on G-banded preparations from the cultures of PB lymphocytes and skin fibroblasts of the patient. Skin biopsy was taken from the patient's left elbow. All these cells had a 46, X, t (X; 8) (q22.3; p21.1) karyotype (Fig. 2). Replication patterns of X chromosome were studied in PB lymphocytes and cultured fibroblasts from the patient using the B protocol of 5-bromodeoxyuridine (BrdU) incorporation<sup>1)</sup>. BrdU

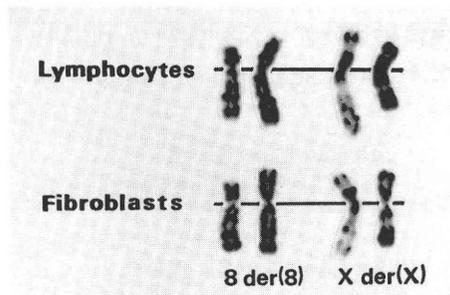


Fig. 3 Late replication patterns in PB lymphocytes and skin fibroblasts.

The normal X chromosome is late replicating.

Table. 1 Glutathione reductase activity in red cells

Subject	Enzyme activity (IU/gHb)	
	-FAD	+FAD
Patient	6.31	7.18
Adult controls (n=5)	5.62±1.00	6.04±0.67

was added in cultures for the last 5h in PB lymphocytes and 6h in skin fibroblasts, and chromosome slides were then stained with Hoechst 33258 and Giemsa. One hundred cells were scored from PB lymphocytes and skin fibroblasts. Both PB lymphocytes and skin fibroblasts revealed the normal X chromosome to be late replicating in all the cells studied (Fig.3). The X chromatin count from a buccal smear was 18%, and the Barr bodies appeared normal. Cytogenetic studies of the patient's parents showed normal.

Glutathione reductase studies: The glutathione reductase locus is assigned to locate 8p21.1. The glutathione reductase activity of lysates of erythrocytes from the patient, measured by the method of Beutler<sup>2)</sup>, was within normal range (Table 1).

### Discussion

The patient we described here had no abnormal clinical findings other than gonadal dysgenesis. Cytogenetic and enzyme studies revealed that the X/8 translocation was reciprocal without any loss of genetic materials. Several explanations are conceivable for the occurrence of gonadal dysgenesis in the reciprocal X/8 translocation. First, submicroscopic "unbalanced" transloca-

tion affected the normal development of the gonads<sup>3)</sup>. Secondly, position effect in X/8 translocation acted to induce gonadal dysgenesis<sup>3)</sup>.

Thirdly, gene mutation<sup>3)</sup> or subdivision<sup>4)</sup> of a gene regulating gonadal development occurred from the translocation, resulting in gonadal dysgenesis. Fourthly, the recessive gene(s) controlling gonadal development would be fully expressed in the absence of normal gene(s)<sup>5)</sup>. Fifthly, the gonadal cells in our patient may have had the derivative X selectively inactivated. It has been known that the patterns of X chromosome inactivation are varied among different tissues<sup>6)</sup>. In this situation, disomy of Xq22.3 to q28 or monosomy of 8p21.1 to p24, resulting from spread of the inactivation to autosomal segments, may have had deleterious effects to gonadal development. Also, we cannot rule out possibility that the association of X/8 translocation and gonadal dysgenesis is fortuitous.

Carpenter<sup>7)</sup> reviewed a total of 77 females with balanced X/autosome translocation and classified them into three groups based on the clinical findings. Namely, 29 cases (38%) were phenotypically normal, 29 cases (38%) had only gonadal dysgenesis with primary or secondary amenorrhea, oligomenorrhea, hypogonadism, hypoplastic genitalia, a "eunuchoid" habitus and delayed or absence of secondary sexual development. The other 19 cases (24%) had gonadal dysgenesis with additional clinical findings, including facial dysmorphism, multiple congenital anomalies, short stature and mental retardation. It is noteworthy that in the second group, all of the breakpoints occurred between Xq13 and Xq26, particularly in either Xq21 or Xq22. Summitt et al.<sup>8)</sup>, thus, proposed the segments between Xq13 and Xq27 to be "critical region" for gonadal dysgenesis. Our patient who had the breakpoint at Xq22.3 follows the rule.

To focus more on the "critical region" for gonadal development, high resolution banding chromosome analysis is necessary in the patients with reciprocal X/autosome translocation.

### References

1) Tsukahara M, Kajii T: Replication of X chro-

- mosomes in complete moles. *Hum Genet* 71:7, 1985.
- 2) Beutler E: Red cell metabolism. In *A Manual of Biochemical Methods*. New York, Grune and Stratton, 1975, p69.
  - 3) Jacobs PA: Correlation between euploid structural chromosome rearrangements and mental subnormality in humans. *Nature* 249: 164, 1974.
  - 4) Worton RG, Duff C, Sylvester JE, Schmickel RD, Willard HF: Duchenne muscular dystrophy involving translocation of the dmd gene next to ribosomal RNA genes. *Science* 224:1447, 1984.
  - 5) Sarto GE, Therman E, Patau K: X inactivation in man: A woman with t (Xq-; 12q+). *Am J Hum Genet* 25:262, 1973.
  - 6) Hellkuhl B, de la Chapelle A, Grzeschik K-H: Different patterns of X chromosome inactivity in lymphocytes and fibroblasts of a human balanced X; autosome translocation. *Hum Genet* 60:126, 1982.
  - 7) Carpentar NJ: Balanced X; autosome translocations and gonadal dysfunction in females and males, *Cytogenetics of the Mammalian X Chromosome, Part B: X chromosome anomalies and their clinical manifestations*. Edited by AA Sandberg. New York. Alan R. Liss, 1983, p211.
  - 8) Summitt RL, Tipton RE, Wilroy RS, Martens PR, Phelan JP: X-autosome translocations: A review. *Birth Defects OrigArt Ser* 14:219, 1978.

#### LEGENDS

### 染色体相互転座 t (X;8) (q22.3; p21.1) を有する Gonadal Dyagenesis の一例

山口県徳山市孝田町 1 番 1 号  
総合病院社会保険徳山中央病院

山下三郎 伊東武久 木梨憲夫  
矢壁昭人 高崎彰久

山口大学医学部小児科  
塚原正人 村野一郎 青木 宜治

染色体相互転座 t (X; 8) (q22.3: p21.1) を持った Gonadal Dysgenesis の 1 例を報告する。症例は 26 才主婦。160 cm, 49 kg, 無月経及び不妊を主訴として来院した。乳房は小児様で、外陰・子宮の発達はやや不良。LH, FSH の基礎値はそれぞれ 80 及び 224mIU/ml で LH-RH 負荷試験では high-good pattern を示し、また HMG 負荷試験では無反応を示したため、卵巣性無月経と診断した。腹腔鏡検査では、正常形態の子宮及び卵管を確認したが、卵巣は索状卵巣で、組織学的には卵胞成分を認めなかった。X 染色体の後期複製パターン分析では、末梢血リンパ球、培養線維芽細胞とともに全ての細胞において、正常 X 染色体は後期複製であり、転座 X 染色体は早期複製であった。本症例において X 染色体と 8 番染色体の相互転座と Gonadal Dysgenesis 発症との因果関係について、考察を加えた。

(受付：昭和 62 年 6 月 25 日)

# 排卵直前マウス卵胞卵の新生仔への発生能に及ぼす 卵子前培養の効果について

## Effect of Preincubation on Development of Preovulatory Oocytes to Normal Young in Mice.

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 瀉 直 己 田 中 温

Naomi NAKAGATA Atsushi TANAKA\*

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

過排卵処理を施した C57BL/6J 系成熟雌マウスの卵胞より, HCG 投与後 10 時間に採取した排卵直前の卵胞卵 (非前培養区) と採卵後 6 時間前培養した卵胞卵 (前培養区) について, JCL: ICR 系成熟雄の精巣上体尾部精子を用いて体外受精を行なった. 受精卵の移植は授精 29 時間後に 2 細胞期へ発生した胚を受容雌の卵管へ注入することにより行なった. 非前培養区において, 授精 29 時間後に 2 細胞期へ発生した胚の割合および 2 細胞期胚の移植により新生仔に発生した胚の割合は, それぞれ 40.2% (82 / 204) および 15.9% (13 / 82) と低値であった. 一方, 前培養区においては, 授精 29 時間後にそのほとんどが 2 細胞期へ発生し (92.6%, 87 / 94), 移植によるそれら胚の新生仔への発生率も 41.4% (36 / 87) と非前培養区のそれに比べ有意に高い値であった. 以上のことから, 排卵直前のマウス卵胞卵において, 授精前の卵子前培養を行なうと卵子の新生仔への発生能が向上することが知られた.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33 (2), 415-418, 1988)

### 緒 言

近年, 排卵直前の卵胞卵を用いるヒトの体外受精・胚移植 (IVF&ET)<sup>1)</sup>あるいは配偶子卵管内移植 (GIFT)<sup>2)</sup>において, 採卵後 5~6 時間卵子の前培養を行ない, 卵子の成熟を完全に誘起した後に授精せしめると, 受精率, 卵割率あるいは新生仔への発生率が向上することが報告されているが, 排卵直前の卵胞卵の受精能あるいはその後の胚の発生能に及ぼす卵子前培養の効果について, 実験動物を用いた詳細な検討は行なわれていないのが現状の様に見える.

最近, 我々は受精能および初期発生能に及ぼす卵子前培養の効果について, 排卵直前のマウス卵胞卵を用いて検討し, 授精前一定時間の卵子前培養を行

なうと, 飛躍的に卵子の受精能および胚盤胞への発生能が向上することを明らかにした<sup>3)</sup>. そこで本研究では, さらにこれら卵胞卵の新生仔への発生能に及ぼす卵子前培養の効果について, 体外受精と受精卵移植により検討を行なった.

### 方 法

#### 1. 卵胞卵の採取, 前培養および体外受精

卵胞卵の採取はすべて前報に従った<sup>3,4)</sup>. 即ち, 5iu PMSG と 5iu HCG を 48 時間間隔で腹腔内投与し, 過排卵処理を施した 3~4 ヶ月齢の C57BL/6J 系成熟雌マウスの卵胞より, 卵丘細胞に包まれた排卵直前の卵胞卵のみを採取した. 続いて, これら卵胞卵を TYH 培地<sup>5)</sup>内で 2 回洗浄後, 直ちに授精を行なうも

の(非前培養区)と前培養後に授精を行なうもの(前培養区)に分け、前培養区の卵子については採卵後 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 95% air の気相下にシャーレ内の被流動パラフィン TYH 培地内で 6 時間の前培養を行なった。また、対照区としては、同様の過排卵処理を施した同系成熟雌の卵管膨大部より、HCG 投与 16 時間後に採取した排卵卵子を用いた。体外受精は JCL: ICR 系成熟雄の精巣上体尾部より採取し、TYH 培地内で 1.5 時間前培養した精子を最終精子濃度が 150 精子/ $\mu$ l となるように、それぞれの卵子を含む培地へ添加することにより行なった。精子添加後 5 時間にそれらすべての卵子を 100 $\mu$ M EDTA<sup>®</sup>を含む TYH-280 培地<sup>7)</sup>に移し、さらに 24 時間(授精後 29 時間)の培養を行ない、2 細胞期への発生について観察した。

2. 受精卵の移植

受精卵の移植は授精 29 時間後に 2 細胞期へ発生した胚を、精管結紮雄と交配し、偽妊娠を誘起した偽妊娠第 1 日目(膣栓確認日)の受容雌の卵管へ少量の培養液と共に注入することにより行なった。また、2 細胞期へ至らなかつた残りの卵子はホルマウント標本を作製し、2.5% glutaraldehyde と 10% neutral formalin で固定、0.25% lacmoid 液で染色後、受

精の有無について観察を行なった。

3. 移植により得られた仔の繁殖能力の検査

移植により得られた仔は、すべて生後 2 ヶ月齢において同腹子間の兄妹交配を行ない、それら仔の繁殖能力について検索した。

結 果

1. 2 細胞期への発生

授精後 29 時間における卵子の 2 細胞期への発生について検索した結果を表 1 に示す。非前培養区(-)において、受精卵総数 204 個のうち、2 細胞期へ発生した卵子は 82 個(40.2%)、また異常受精卵、即ち、卵細胞質内に精子尾部を認めるものの、規則性を持たず広範囲に分散した染色体を有する卵子<sup>a)</sup>が 115 個(56.4%)観察された。一方、前培養区(+)においては、異常受精卵はほとんど認められず(3.2%)、受精卵総数 94 個中 87 個(92.6%)が 2 細胞期へ発生し、非前培養区の 2 細胞期への発生率に比べ明らかに高値を示した(P<0.01)。

2. 移植成績

表 2 は授精 29 時間後に得られた 2 細胞期胚の移植成績を示したものである。非前培養区(-)においては、8 例の受容雌に計 82 個の 2 細胞期胚を移植し、

Table 1. Development to 2-cell stage of preovulatory oocytes inseminated immediately after recovery or after preincubation in vitro

Oocyte Preincubation *	No. of oocytes examined	No. of fertilized oocytes (%)	No. and (%) of oocytes at stage of				
			Pronucleous	Syngamy	First cleavage	2-cell	Abnormal <sup>(a)</sup>
-	232	204(87.9)	1(0.5)	3(1.5)	3(1.5)	82(40.2)	115(56.4)
+	101	94(93.1)	0(0)	1(1.1)	3(3.2)	87(92.6)	3(3.2)
Control (Ovulated oocytes)	79	76(96.2)	0(0)	0(0)	0(0)	76(100)	0(0)

\* Preovulatory oocytes were inseminated immediately after recovery (-) or after 6 hr period in preincubation in vitro(+).

a : Oocytes with scattered chromosomes and sperm tail.

Table 2. Results of transplantation of 2-cell embryos derived from preovulatory oocytes inseminated immediately after recovery or after preincubation in vitro.

Oocyte preincubation*	No. of recipients used(a)	No. of 2-cells transferred(b)	No. of pregnant animals(c)	No. of animals which delivered live young(d)	No. of live young		
					(c/a, %)	(d/a, %)	♂ ♀ Total(c)(e/b,%)
-	8	82	5(62.5)	4(50.0)	7	6	13 (15.9)
+	8	87	7(87.5)	7(87.5)	17	19	36 (41.4)
Control (Ovulated oocytes)	7	76	6(85.7)	6(85.7)	18	16	34 (44.7)

\* See footnote in Table 1.

5 例が妊娠, その内の 4 例から雄 7, 雌 6, 計 13 匹 (15.9%) の産子が得られた. 一方, 前培養区 (+) においては, 受容雌 8 例に計 87 個の胚を移植したところ, その内の 7 例から, 移植総数の 41.4% に当たる 36 匹 (雄 17 匹, 雌 19 匹) の産子が得られ (図 1), 2 細胞期胚の新生仔への発生率においても, 非前培養区のそれに比べ有意に高い値であった ( $P < 0.01$ ).

3. 移植により得られた仔の繁殖能力  
 移植により得られた仔の繁殖能力について同腹子間の兄妹交配により検定した結果を表 3 に示す. 非前培養卵子 (非前培養区) および前培養卵子 (前培養区) に由来する検定雌全例において分娩が確認されたが, それら平均産子数は, それぞれ  $7.5 \pm 2.1$  および  $8.0 \pm 3.1$  と両者間に有意な差は, 認められなかった ( $P > 0.01$ ).

考 察

本実験結果より, 排卵直前のマウス卵胞卵において授精前一定時間の卵子前培養を行なうと, 2 細胞期への発生能, さらにこれら胚の移植による新生仔への発生能が向上することが明らかとなった.

授精 29 時間後における 2 細胞期への発生率 (表 1) は, 前報<sup>3)</sup>とはほぼ同様の傾向を示した. 即ち, 前培養区における 2 細胞期への発生率は, 92.6% (87 / 94) と高値であったのに対し, 非前培養区のそれは 40.2% (82 / 204) であり, 残りのほとんどの卵子が卵細胞質内に精子尾部と広範囲に分散した染色体を有する異常受精卵<sup>3)</sup>であった (56.2%, 115/204). 本実験において, 授精時, 卵子の成熟分裂像の検索は行なわなかったが, 採卵後, 直ちに授精を行なうと高率に異常受精卵の出現を見たことは, 採卵時, Metaphase II を呈する卵子の割合が低く, 未だ卵子の成熟が完了していなかったものと推定された<sup>3)</sup>.

排卵直前の卵胞卵において, 前培養後, 体外受精して得られた胚の移植成績はヒトにおける Trounson

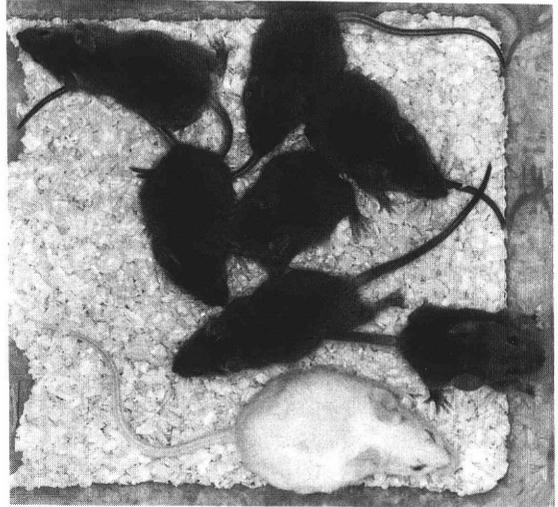


Fig. 1 Twenty-one-day-old young with their mother.

et al<sup>1)</sup>の報告のみで, 実験動物においてはまったく報告されていない. 本実験の前培養区における 2 細胞期胚の新生仔への発生率は, 41.4% (36 / 87) と, 非前培養区のそれ (15.9%, 13 / 82) と比較し, 有意に高い値であり, また対照区 (排卵卵子由来 2 細胞期胚) の移植成績 (44.7%, 34 / 76) と有意差を見なかった (表 2). 前報<sup>3)</sup>で, 得られた非前培養および前培養卵子における胚盤胞期への培養成績, 即ち, 授精前, 6 時間前培養を行なった排卵直前の卵胞卵に由来する 2 細胞期胚の胚盤胞期への発生率が, 非前培養卵子由来 2 細胞期胚のそれに比べ, 有意に高値を示した結果をも考慮すると, 本実験で得られた移植成績は, 排卵直前の卵胞卵において授精前一定時間の前培養を行なうと, 卵子の新生仔への発生能が明らかに向上することを示すとともに, 排卵卵子のそれに劣らないことをも示唆しているものと考えられる.

マウス体外受精卵の移植により得られた仔の繁殖

Table 3. Reproductive capacity of young obtained by transplantation of 2-cell embryos derived from preovulatory oocytes inseminated immediately after recovery or after preincubation in vitro.

Oocytes preincubation *	No. of females used for progeny test	No. of females which delivered live young (%)	Average no. of young born **
-	6	6(100)	7.5 ± 2.1
+	19	19(100)	8.0 ± 3.1
Control (Ovulated oocytes)	16	16(100)	7.8 ± 2.8

\* See footnote in Table 1.

\*\* Mean ± S.D.

能力について、Kasai et al<sup>8)</sup>は排卵卵子、湊ら<sup>9)</sup>は体外成熟卵を用いて検討を行ない、性成熟後のそれら仔の繁殖能力が、正常であったことをすでに明らかにしている。排卵直前の卵胞卵を用いるヒトのIVF&ETにおいて、生まれた子の妊孕性については未だ明らかにされていないが、本実験において、移植して得られた仔の兄妹交配により、すべての雌で分娩が確認されたこと(表3)は、排卵直前の卵胞卵に由来する仔の繁殖能力が正常であったことを明らかにしたものである。

稿を終るに臨み、御指導を頂きました豊田 裕教授(東京大学医科学研究所)、福田芳郎教授(本学病理学教室)並びに村田彌恵子様(本学共同病理研究室)に深謝致します。

### 文 献

- 1) Trouson, A. O., Mohr, L. R., Wood, C., and Leeton, J.F: Effect of delayed insemination on in vitro fertilization, culture and transfer of human embryos. *J. Reprod. Fert.*, 64: 285, 1982.
- 2) 田中 温, 戸枝通保, 長沢 敢, 山本 勉, 中瀧直己: 配偶子卵管内移植(GIFT)の開発とその改良. *産婦人科の世界*, 39: 435, 1987.
- 3) 中瀧直己, 田中 温: 排卵直前のマウス卵胞卵の受精能および初期発生能に及ぼす卵子前培養の効果について. *日不妊会誌*, 33(1): 160, 1988.
- 4) Nakagata, N., and Tanaka, A.: Birth of normal young following intrafallopian transfer of preovulatory oocytes and epididymal spermatozoa in mice. *Jap. J. Fert. Steril.*, 31: 404, 1986.
- 5) 豊田 裕, 横山峯介, 星 冬四郎: マウス卵子の体外受精に関する研究 I. 精巢上体精子による受精成績. *家畜繁殖誌*, 16: 147, 1972.
- 6) 星 雅樹, 豊田 裕: 体外受精に由来するマウス胚の発生におよぼすEDTAの効果. *日畜会報*, 56: 931: 1985.
- 7) Kasai, K., Minato, Y., and Toyoda, Y.: Fertilization and development in vitro of eggs from inbred strains and F1 hybrids. *Jap. J. Anim. Reprod.*, 24: 19, 1978.
- 8) Kasai, K., Sugimoto, M., and Toyoda, Y.: Normal progeny produced by the parents derived from mouse eggs fertilized in vitro. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 50: 885, 1979.
- 9) 湊 芳明, 豊田 裕: 体外成熟-体外受精マウス卵子の正常産子への発生について. *日畜会報*, 54: 387, 1983.

### Effect of preincubation on development of preovulatory oocytes to normal young in mice.

Naomi Nakagata and Atsushi Tanaka\*

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

Preovulatory oocytes were obtained from the ovaries of C57BL/6J matured mice which had been injected with PMSG and HCG respectively 58 and 10 hr before oocyte collection. The oocytes were inseminated immediately after recovery or after a period of 6 hr in preincubation in vitro with epididymal spermatozoa obtained from JCL: ICR matured mice. For oocytes inseminated immediately after recovery, the proportion of 2-cell embryos 29 hr after insemination and the incidence of normal young after transfer of the 2-cell embryos to pseudopregnant recipients were only 40.4% (82/204) and 15.9% (13/82) respectively. For oocytes inseminated after preincubation, the proportion of 2-cell embryos 29 hr after insemination and the rate of development to normal young following transfer were significantly higher at 92.6% (87/94) and 41.4% (36/87) respectively. Appropriate preincubation of the preovulatory oocytes clearly improved the capability for development of preovulatory oocytes to normal young in mice.

(受付: 昭和62年7月31日)

# IUDの Maus 受精卵に及ぼす影響について

## Study on the Effect of IUD on Mouse Embryos.

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 永田行博教授)

竹内 一 浩      福元 清 吾      永田 行 博  
Kazuhiro TAKEUCHI    Seigo HUKUMOTO    Yukihiro NAGATA

Department of Obst. & Gynec., Faculty  
of Medicine, Kagoshima University

IUDの Maus 受精卵に及ぼす影響を検討するため、IUD装着 Maus を用いて受精から着床期まで種々観察し、次のような結果を得た。

- 1) Maus において IUD は受精を阻止せず、受精後 3 日目までの胚にもまったく影響を及ぼさなかった。
- 2) 受精後 4 日目では、IUD 挿入側でいわゆる“tube-locking”が生じ子宮内に下降する胚は有意に少なかったが、胚そのものは形態学的に正常な胚盤胞で、着床能をも保持した生存胚であった。
- 3) 受精後 4 ½ 日目頃より、非 IUD 子宮側では hatching 及び着床が見られるが、IUD 挿入側では胚の変性が始まり、5 日目では完全に変性した。また変性卵のいずれにも hatching は認められなかった。

以上より IUD 装着子宮内に embryo-toxic agents の存在が示唆され、その胚における critical period は胚盤胞以降の hatching から着床の時期であると考えられる。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33(2), 419-424, 1988)

### 緒 言

Intrauterine Contraceptive Device (IUD) は、一時的避妊法としてすでに確立している。しかしながら、IUD の作用機序については未だ不明確である。現在では着床の段階を阻止するであろうと言われ chemical mediator を介しての子宮内膜反応説が一般的である。最近ではマクロファージ等の関与する免疫学的方面からの研究も行われている。しかし IUD が受精卵にどのような影響を及ぼすかについての報告はほとんどない。

この実験では IUD の受精卵に及ぼす影響を調べるために、Maus を用いて受精後より着床期まで経時的に観察し検討した。さらに IUD 装着下における子宮内胚の着床能を調べるとともに、着床期の胚の運命を明らかにし、IUD の作用機序解明へのつながりを得ることを目的とした。

### 実験方法

#### 1. IUD 装着 Maus の作製

7 週齢より 12 週齢の成熟 D D Y Maus を無作意に抽出し、ペントバルビタール (0.4ml/kg) 麻酔下に Fig. 1 のごとく腹腔内の癒着及び手術侵襲を少なくするために背側部より切開し、一側子宮をつまみ出した。卵管子宮接合部より腔側に 5~10 mm 以上離れた部位より絹糸 (5-0) を約 5 mm 程縦に挿入し、子宮漿膜外側で結紮固定した。Fig. 2 は右側子宮角下 1/3 に挿入し (↑印)、自然交配後 14 日目に解剖したものであるが、挿入側では着床妊娠がなく避妊効果が確認された。この絹糸挿入による避妊効果は絹糸の長さや子宮内の挿入部位を種々変えて検討したが、着床妊娠はいずれもみられなかった。これら IUD 装着 Maus は少なくとも装着後 10 日間以上放置し、以下の実験に使用した。

実験に際して IUD 装着群及びコントロール群は排卵周期を一致させるために PMS (セトロロビン)

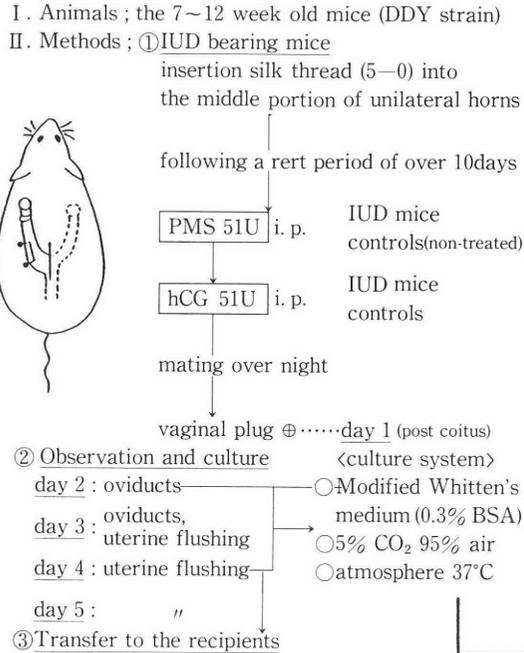


Fig. 1 Materials &amp; Methods

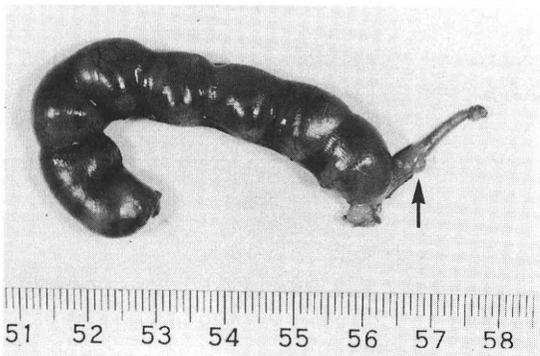


Fig. 2: At the site of IUD insertion (arrow), neither implantation nor gestation was observed.

5 単位を腹腔内注射し、48 時間後に hCG (ゴナトロピン) 5 単位を注射後、成熟雄マウスと一昼夜同居させた。そして翌朝、腔栓の確認できたものを受精後 1 日目 : day1 とし別ケージに移した。

なお実験モデルとしてマウスを選出したのは、(1) マウス受精卵は他の動物に比して培養法が確立しており、培養が比較的容易であること、(2) 着床の段階においてマウスは透明帯消失 (hatching) 後着床を開始し、この点ヒトと類似していることからである。

## 2. 実験

1) 実験 1 : IUD 挿入子宮側、対側子宮側及びコ

ントロール群 (2 子宮角) について、Fig. 1 のごとく day2 より day5 の受精卵をそれぞれ採取した。受精後 2 日目には実体顕微鏡下で培養液とともに卵管を灌流し、3 日目には卵管および子宮を、4~5 日目では子宮のみを灌流し、それぞれ採取した。採取時、それぞれの受精卵の数や状態を位相差顕微鏡にて観察し変性卵は除去したのち、培養液 modified Whitten's medium (0.3% bovine serum albumin), 5% CO<sub>2</sub> in air, 37°C の条件下で、経時的に得られた胚を追加培養し、胚盤胞までの発育率を観察した。

2) 実験 2 : 受精後 4 日目に IUD 挿入子宮側及びコントロール群より得られた胚盤胞を偽妊娠 2 1/2 日目 (発情前期に精管結紮雄マウスと交配させ、翌朝腔栓を確認したものを偽妊娠 1 日目とした。) のレシピエントの子宮角に平均 5 個ずつ移植した。

移植法はレシピエントの腹側部を切開し、子宮角上部を引出し卵管子宮接合部に 27 G 注射針で小口を開け、そこから少量の培養液とともにマイクロピペットで注入する方法で行った。以上の操作はすべて

Table 1. The number of embryos and observation in the oviducts, uterus on day 2, 3 and 4

day (p.c.)	uterine horn	No. of mouse	mean No. embryo / horn	No. of degenerated oocytes	embryonic stages
day 2 oviduct	IUD tract	8	8.75	10(14%)	<sup>a</sup> DNF 14(20%) 2 cell 46(69%)
	contralateral tract		12.13	15(15%)	DNF 13(13%), 2 cell 67 (69%), 4cell 2(2%)
	control	9	11.17	30(15%)	DNF 14(6%) 2 cell 157(78%)
day 3 oviduct & uterus	IUD tract	8	9.88	16(20%)	4~8 cell 24(30%) morula 39(49%)
	contralateral tract		11.50	23(25%)	4~8 cell 23(25%) morula 46(50%)
	control	10	8.35	32(19%)	4~8 cell 55(33%) morula 80(48%)
day 4 uterus	IUD tract	8	1.75*	4(29%)	morula 1(7%) blastocyst <sup>b</sup> E 9(52%) <sup>c</sup> L (-)
	contralateral tract		7.50*	13(22%)	morula 14(23%) blastocyst E 31(52%) L 2(3%)
	control	7	9.07	30(24%)	morula 23(18%) blastocyst E 71(56%) L 3(2%)

\* < 0.05 (paired t-test)      <sup>a</sup> DNF : did not fertilize      <sup>b</sup> E : early      <sup>c</sup> L : late

実体顕微鏡下で行い、これらレシピエントは移植後10日前後で解剖し着床妊娠の有無を検討した。

3) 実験3: IUD装着マウスを前述の方法で誘起後交配させ、受精後3日目および4日目に麻酔下にIUD(絹糸)を抜去した。その後受精後10日前後まで放置したのち解剖し、着床妊娠の有無を検討した。

結 果

1. 実験1の結果

IUD装着マウス群とコントロール群の受精率はそれぞれ88%及び89%で差はなかった。

次に受精後2日目より4日目の卵管、子宮内の胚数及び発育度の結果をTable 1に示した。2日目では3群とも2細胞期胚が大部分であり、IUD側群69%、対側群69%、コントロール群78%を占めた。またこれらは子宮角あたりの卵個数および変性卵の割合にも差はみられなかった。3日目では、4-8細胞期がそれぞれの30%、25%、33%、morulaが49%、50%、48%で3群間に差はなかった。さらに、

これら2日目および3日目で得られた胚を追加培養したところ、胚盤胞までの発育率はそれぞれ64%、61%、70%で差はなく、また変性卵の出現率にも差はなかった。

受精後4日目になるとIUD側群では、コントロール群及び対側群に比べて子宮内の胚が有意に少なかった。しかし得られた子宮内胚の観察では64%が形態学的に正常な初期胚盤胞を示し、コントロール群の56%、対側群の52%と有意差はなかった。なおこのIUD側の胚盤胞をさらにD'MEM液(10% NCS)で24時間追加培養したところhatchingが観察され生存が確認された(Fig. 3)。

受精後4½日ではIUD側の胚は胚盤胞まで発育していたが、卵実質の萎縮を認め変性の途上にあると判定された(Fig. 4a)。同様に5日目になるとIUD側の胚はすべて変性しており、hatchingはいずれも観察できなかった(Fig. 4b)。これに対してコントロール群および対側群では、4½日以降になるとhatchingおよび着床を開始しており子宮内灌流では卵回収不能例が多く、一部円筒胚が見られたのみであった

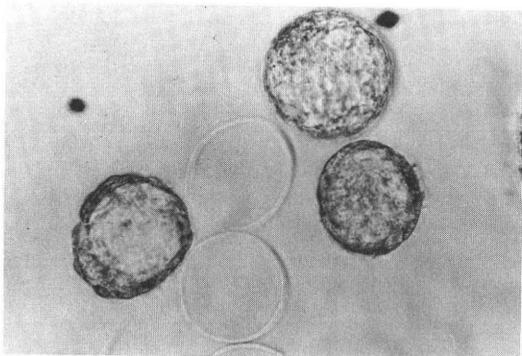


Fig. 3: The recovered blastocysts from the IUD tract hatched after 24 hours culture. ( $\times 300$ )

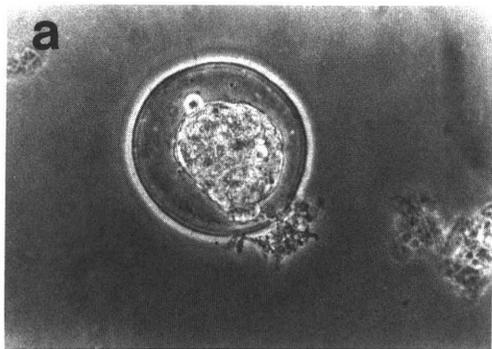


Fig. 4a: The blastocyst in the IUD tract began to degenerate on day 4 1/2. ( $\times 300$ )



Fig. 4b: The degenerated embryo in the IUD tract on day 5. ( $\times 300$ )

(Fig. 5).

## 2. 実験 2 の結果

受精後 4 日目に IUD 挿入子宮側およびコントロール子宮より得られた胚盤胞をレシピエントに移植したところ、IUD 側胚は移植胚 110 個のうち 83 個が着床し 75.5% の着床率であった。これはコントロール側胚の 78.3% (94 個/120 個) と比較して有意差はなかった。

## 3. 実験 3 の結果

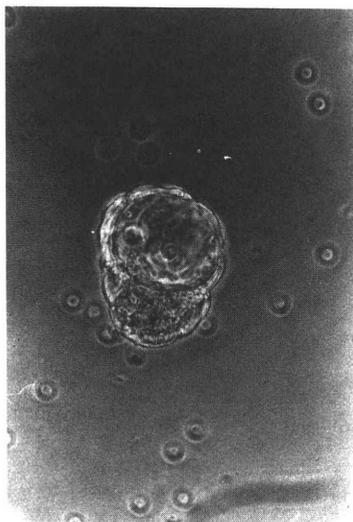


Fig. 5: The cylinder egg in the contralateral tract on day 5. ( $\times 400$ )

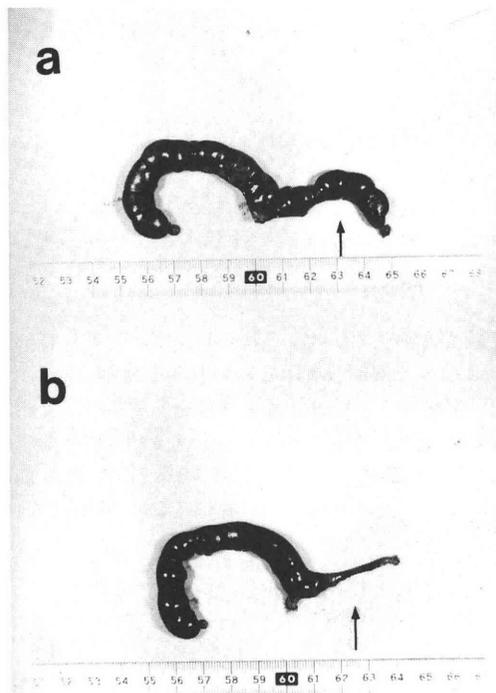


Fig. 6: Implantation and gestation were not inhibited after removal of the IUD on day 3 (fig. 6a, arrow), but were completely inhibited after removal on day 4 (fig. 6b, arrow).

受精後 3 日目抜去群では、抜去群で平均 5.3 個、対側で 10.4 個 (10 匹平均) の着床が認められた (Fig. 6a)。受精後 4 日目抜去群では、対側が平均 8.3 個 (10 匹平均) の着床であったのに対して IUD 抜去側では着床は全例認められなかった (Fig. 6b)。

## 考 察

IUDの作用機序は現在もなお完全に解明されているとは言えない。多くの論文より作用機序を整理してみると、(1)卵の卵管内輸送と関連するという説<sup>1)</sup>、(2)IUDの子宮内膜反応説<sup>3,4)</sup>、(3)受精卵への直接作用<sup>6-12)</sup>となる。現在までに卵管に関する説は否定的とされ、子宮内膜反応説が主体となっている。Jessen<sup>3)</sup>、Bonny<sup>4)</sup>らはIUD装着子宮内膜で、間質に浮腫、出血、円形細胞の浸潤を認め内膜炎と着床阻害を関連づけている。われわれの検討<sup>5)</sup>でもIUD装着子宮内膜で同様の組織学的変化は認められた。しかしそれはIUD接触部およびその周辺のみであり、それ以外では正常な周期性を保持していた。すなわち、単にIUDによる着床期子宮内膜の変化が原因とは言えず、子宮内膜側の因子のみが避妊機序とは考えにくい。

この実験でIUD側子宮から回収した2日目、3日目および4日目の胚は正常な形態を示し、しかも他子宮への移植によって着床妊娠が成立した。一方受精後3日目にIUDを抜去すると着床・妊娠が成立し、4日目抜去では着床が認められなかった。このことは4日目胚でも良好な子宮内膜環境にあれば着床可能であることを示し、またIUD除去によって子宮内環境は急速に改善されることをも示している。

Hurst<sup>10,11,12)</sup>らは動物実験でプラスチックおよび絹糸によるIUDの存在下で多核白血球の胚への侵入や、胚盤胞の微細構造の異常等を指摘している。しかし我々の実験ではこのような多核白血球の侵入像は認められなかった。すなわち、IUDに反応して生じた食細胞が直接胚に作用して避妊効果を発揮するとすれば、どの胚にも同じような影響が見られてもよいはずであるから、彼らの観察結果は普遍的なことだとは言いがたい。

Zipper<sup>6)</sup>、Chang<sup>7)</sup>らはCopper-IUDで銅イオンの胚に対する毒性を示し、受精卵への直接作用を述べている。またWebb<sup>8)</sup>および水上<sup>9)</sup>らも同様に銅イオンの胚へのtoxic effectを報告している。しかしこの場合は銅イオンの胚への毒性を証明したわけであり、IUDの作用機序を解明したとは言いがたい。ただこれらの報告の重要なことは、胚にtoxicに作用する時期が桑実胚から胚盤胞への移行期であると述べていることである。通常マウス胚は3～4日目に卵管より子宮内に降りてくる。IUD挿入子宮ではtubelockingのため子宮内に降りてくる胚は少ないが、それでも正常胚であった。そしてわれわれの実験では

4日目までは着床能を有していたが、4½日目以降の胚盤胞からhatching開始時期頃に変性が開始している。つまりこの間に何らかの影響を受け、変性が起こったと考えられる。その原因として、われわれは胚に対してtoxicに作用する物質がIUD挿入子宮内に存在するのではないかと考えている。Copper-IUDではわれわれの結果と違って、それよりもやや早い桑実胚から胚盤胞への移行期にその毒性が発揮されているが、これは銅イオンの強い毒性により胚に比較的早くその影響が現れたのだと考えられる。すなわち普通のnon-medicated IUDではIUDが子宮内膜に影響し、その結果生じた二次的な反応が弱い毒性を発揮しているのではないかと推察される。

IUDは異物であるからそれに対する反応として当然、炎症細胞の出現がある。以前よりIUD装着子宮内には多核白血球やマクロファージが増加するとの報告があるが、実際われわれの検討でもマクロファージが増加していた。さらにTursi<sup>23)</sup>らはIUD smear中に多くのmast cellの存在を報告し、このこととIUDの避妊機序とを関連づけている。現在、われわれはこれら炎症細胞の分泌するmediator、例えばprostaglandin, interleukin, histamine, serotonin, tumor necrosis factorなどが胚の変性となんらかの関連があるのではないかと考えている。

本論文の要旨は第37回日本産科婦人科学会総会(福岡, 1985年)および第3回日本受精着床学会(旭川, 1985年)において発表した。

## 文 献

- 1) Mastroianni, L & Rosseau, C: Influence of the intrauterine coil on ovum transport and sperm distribution in the monkey. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 93: 416, 1965.
- 2) 石浜敦美: 子宮内避妊法, 金原書店, 東京 1967.
- 3) Jessen, D. et al: Intrauterine foreign body, A clinical and histopathologic study on the use of the Graefenberg ring. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 96: 1023, 1963.
- 4) Bonney, W. A. et al: Endometrial response to the intrauterine device. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 96: 101, 1966.
- 5) 永田行博: 子宮内避妊装置(IUD)の臨床的、病理組織学的検討・福岡医学雑誌 61: 600, 1970.
- 6) Zipper, J. A. Medel: Suppression of fertility by intrauterine copper and zinc in rabbits, a new approach to intrauterine contraception. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 105: 529, 1969.
- 7) Chang, C. C. et al: The effect of intrauterine copper and other metals on implantation in rats and hamsters. *Fertil. Steril.* 21: 274, 1970.

- 8) Webb, F. T. G: The contraceptive action of the copper IUD in the rats. *J. Reprod. Fertil.* 32: 429, 1973.
- 9) 水上 端: 家兔における Cu-IUD の卵管内及び子宮内受精卵におよぼす影響・日本不妊学会誌 24 (1): 101, 1979.
- 10) Hurst, P. R., Jefferies, K., Dawson, K. J., and Eckstein, P: Intrauterine degeneration of embryos in IUD-bearing mice. *J. Reprod. Fertil.* 50: 187, 1977.
- 11) Hurst, P. R., Jefferies, K., Dawson, K. J., and Eckstein, P: In vitro development of preimplantation embryos recovered from IUD-bearing mice. *J. Reprod. Fertil.* 54: 413, 1978.
- 12) Hurst, P. R., Wheeler, A. G., and Eckstein, P: A study of uterine embryos recovered from rhesus monkeys fitted with intrauterine devices. *Fertil. Steril.* 33: 69, 1980.
- 13) 川上征治・古川雄一・川口雄次・飯塚理八: IUD の避妊機序, IUD と経口避妊 (産婦人科シリーズ)・30: 33, 南江堂 1981.
- 14) 妹尾左知丸, 加藤淑裕, 入谷 明, 鈴木秋悦, 館 鄰: 哺乳動物の初期発生, 理工学社 1981.
- 15) 大沢仲昭, 江藤一洋, 館 鄰, 御子柴克彦: 哺乳動物の発生工学, ソフトサイエンス社 1983.
- 16) Testator, J. and Gauthier, A: The action of anti-inflammatory drugs on the fertility of female rats with intrauterine contraceptive devices. *J. Reprod. Fertil.* 63: 251, 1981.
- 17) Harpreet Kaur, K. C. Saini, P. Pandhi and R. R. Chaudhury: Effect of insertion of a silk thread suture in early pregnancy in rats. *Indian J. Med. Res.* 73: 184, 1981.
- 18) Gordon W. Duncan and Robert, G. Wheeler: Pharmacological and Mechanical Control of Implantation. *Biol. Reprod.* 12: 143, 1975.
- 19) Lippes, J. et al: The mechanism of action of intrauterine contraceptive devices. *Mid. Health Visit Communi. Nurse.* 17: 518, 1981.
- 20) R. R. Chaudhury: Current Status of Research on Intrauterine Devices. *Obstet. & Gynecol. Survey.* 35: 333, 1980.
- 21) Whitten, W. K.: Nutritional requirements for the culture of preimplantation embryos in vitro. *Adv. In Biosci.* 6: 129, 1971.
- 22) Peter, C. Hoppe: Fertilization in Vitro and Development of Mouse Ova. *Biol. of Reprod.* 8: 420, 1973.
- 23) A. Tursi, A. Mastrorilli, D. Ribatti, L. Loiudice, R. Contino, and J. Claudatus: Possible role of mast cells in the mechanism of action of intrauterine contraceptive devices. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 148: 1064, 1984.

## Study on the effect of IUD on mouse embryos

**Kazuhiro Takeuchi, Seigo Hukumoto  
and Yukihiro Nagata**

Department of Obst. & Gynec.,  
Faculty of Medicine, Kagoshima University

In order to clarify the effect of IUD on mouse embryos, the following experiments were undertaken.

A silk thread used as IUD was inserted into the unilateral uterine horn of mouse. After induction of ovulation with PMS-hCG, IUD-bearing mice and non-treated control mice were both allowed to mate. It was defined as the day 1 when vaginal plug was found next morning.

Embryos were recovered from oviducts and uterine horns by the flushing procedure on day 2, 3, 4 and 5. They were cultured with modified-Whitten's medium, and observed daily to monitor their subsequent growth to the blastocysts or degeneration rates.

Fertilization rates were 88% in IUD-bearing mice and 89% in non-IUD mice. Embryos in IUD tracts developed normally until day 3, and its degeneration rates of embryos were not different from that of non-IUD tracts. Embryos were collected from IUD tracts, contralateral non-IUD tracts, and control tracts on day 2 and 3; the rates of these 3 kinds of embryos that developed to the blastocyst stages in vitro were 64%, 61%, and 70%, respectively.

On day 4, the number of embryos in IUD-tracts decreased significantly, suggesting a "tube locking", however, the recovered blastocysts showed normal appearance morphologically, and also hatching occurred after 24hrs culture. When those blastocysts were transferred to the recipients, they implanted normally.

During day 4 1/2 to 5 period, the embryos in IUD tract were degenerated, suggesting an arrest of development at blastocyst stage. No hatched blastocysts were found in the IUD tracts.

From these result, it can be concluded that IUD did not inhibit the fertilization or embryo development to the blastocysts in mouse, and also suggested that embryo-toxic agents were present in the IUD-bearing uterus.

(受付: 昭和 62 年 8 月 12 日)

## ラットにおける受精卵の着床に及ぼす 非病原性細菌の影響について

### Effect of the Infection of Non-pathogenic Bacteria in the Uterus on the Successful Implantation of Blastocysts in Rats

麻布大学 獣医学部 衛生学第2講座

内山 保浩 福安 嗣昭 芦田 浄美  
Yasuhiro UCHIYAMA Tsuguaki FUKUYASU Kiyomi ASHIDA

Department of Animal Health II, School of  
Veterinary Medicine, Azabu University, Sagamihara, Kanagawa, Japan  
(Director: Prof. K. ASHIDA)

家畜改良のための受精卵の移植技術は著しく進歩した。しかし、その着床率は必ずしも高くない。移植卵の着床に關与する要因はいろいろ考えられるが、家畜の外陰部、膣、その他環境に常在する非病原性細菌の感染による“early embryonic death”が推察される。そこで、受精卵の着床に対する大腸菌の影響を検討した。偽妊娠4日目のラット子宮内に大腸菌を注入した結果、増菌法では菌液注入後6日目まで大腸菌が検出された。また、偽妊娠4日目のラット14例の左右子宮内にそれぞれ3～6個の胚盤胞を移植した結果、9例(64.3%)に着床が認められ、着床した胚盤胞は116個中57個(49.1%)であった。さらに偽妊娠4日目のラット5例の左子宮内に胚盤胞を3～4個移植し、同時に右子宮内に大腸菌を注入した結果、1例(20%)に着床が認められた。胚盤胞の着床が認められたラット子宮から大腸菌も検出された。しかし、他の4例は着床が認められず、大腸菌も検出されなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33(2), 425-430, 1988)

#### 緒 言

家畜改良の技術開発が進められてきたなかで、著しい効果をもたらした技術として人工授精がある。また、近年、受精卵移植の技術も著しく進歩し、徐々に実用的に利用されるまでになっている。しかしながら、移植卵の着床率は必ずしも高くない。

移植卵の着床率に關与する要因はいろいろ考えられるが、その一つに、外陰部、膣などの生殖器官内の常在菌による子宮内感染がある。これは主に非病原性細菌のよって起こるもので、非伝染性のものが多い。非病原性細菌の子宮内感染は、そのほとんどが経膣感染で、人為的あるいは自然的に細菌が子宮内に侵入するいわゆる自発性感染症である<sup>1)</sup>。このような子宮内における細菌感染症は、受精卵の移植およびその着床において重要な要因と考えられる。

非病原性細菌による子宮内感染症については、過去において詳細に検討され、特に子宮内膜炎の発生はホルモンと密接に關係していることが明らかにされている<sup>2)</sup>。現在、家畜、特に牛の人工授精と受精卵移植は、経膣的に行われている。しかし、精液あるいは受精卵を注入する性周期の時期は、これらの両者の間に5～7日の差がある。すなわち、人工授精はエストロジェン優位支配である発情最盛期に行なわれ、受精卵移植はプロゲステロン優位支配である黄体初期に行なわれている<sup>3)</sup>。しかしながら、このような異なる性周期に外陰部および膣内の常在菌が子宮内に感染した場合、その感染の様相は様々である。例えばウサギにおける発情期と黄体期では、非病原性細菌による子宮内膜炎の発症に差がみられる。すなわち、黄体期の方がより発症しやすいことが明らかにされている<sup>1)</sup>。このようなことから黄体初期に

行なわれる受精卵移植において、非病原性細菌の子宮内感染はその着床率に強く影響するものと考えられる。

そこで、外陰部および膈内に常在する非病原性細菌、特に大腸菌が受精卵の着床にどのように影響するのかを明らかにするために、まず、ラット子宮内における大腸菌の消長、さらに大腸菌と受精卵を同時に子宮内に注入し、受精卵の着床に大腸菌がどのように影響するのか検討した。

## 材料と方法

### 1. 供試動物

成熟未経産の Jcl・Wister 系雌ラット (約 10 週齢, 体重 180~220g, 日本クレア) の膈垢像を毎日午前 9 時に検査し, 規則正しい性周期を示したラット 44 匹を試験に用いた。また, Jcl・Wister 系雄ラット (約 3 ヶ月齢, 体重 260~300g, 日本クレア) 5 匹を使用した。

### 2. 供試大腸菌と供試培地

供試大腸菌はラットの膈より分離同定した大腸菌を使用した。この大腸菌は寒天斜面培地上の湿菌 1 mg を滅菌生理食塩液 1ml 中に浮遊し, 懸濁浮遊菌液 (約  $3 \times 10^8$  個/ml) として用いた。

供試培地は大腸菌の分離に DHL 寒天培地 (栄研) を, 培養および菌数測定に普通ブイオン (栄研) および普通寒天培地 (栄研) を用いた。

### 3. 偽妊娠ラットの作出法

ラットの膈垢像を毎日午前 9 時に 3 性周期以上検査した後, 発情前期の当日午後 5 時と翌日午前 9 時の 2 回, 子宮頸管部を電気刺激 (10 V, 60 秒, 2 回) して偽妊娠を誘起した。さらに, 2 回目の刺激を行なった日を偽妊娠 1 日目として<sup>14)</sup>, 偽妊娠 4 日目のラットを子宮内における大腸菌の消長および胚盤胞移植時のレシピエントラットとして使用した<sup>7,13)</sup>。

### 4. 妊娠ラットの作出法

偽妊娠ラットの作出と同様に膈垢像を検査した後, 午前 9 時の膈垢像検査で発情前期の雌ラットを同日午後 5 時に雄ラットと同居させた。翌日の午前 9 時に膈腔の有無と膈垢中の精子の存在を検査し交尾の有無を確認した。この日を妊娠 1 日目とし妊娠 5 日目のラットを胚盤胞のドナーラットとして使用した<sup>8)</sup>。

### 5. 胚盤胞の採取法

胚盤胞の採取は子宮灌流法により実施した<sup>13)</sup>。ドナーラットを午後 1 時頃にエーテルにより安楽死させ腹部正中切開後, 子宮, 卵管, 卵巣を摘出した。滅菌時計皿に子宮角の切り口を当て滅菌ガラスキャピラリーを子宮腔に挿入し, 37°C に加温したペニシリ

ン無添加 PB1 液<sup>17)</sup> 0.5~1ml を静かに流出して時計皿中に胚盤胞を採取した。胚盤胞は双眼実体顕微鏡および倒立顕微鏡で正常に発育しているものだけを選別し, 移植するまで 37°C に加温した時計皿に移し静置した。

### 6. 胚盤胞の移植法

レシピエントの腹腔内にネンプタール (大日本製薬) 30 mg/kg を投与し麻酔後, 背側部を切開して卵管, 子宮角上部を露出し, 左右卵管子宮接合部にそれぞれ 3~6 個の胚盤胞をできるだけ少量の PB1 液 (1~2 $\mu$ l) と共に<sup>13)</sup>, 滅菌したマイクロシリンジ (10 $\mu$ l, KROHEN) を用いて静かに注入移植した。

移植後, 速やかに切開部を縫合し, 縫合部には術後感染予防のためヨードチンキを塗布した。このような採卵から胚盤胞移植までの操作は, 20~30 分以内に実施した。

### 7. 大腸菌液の注入法

胚盤胞の移植と同様に麻酔処理後のラットを開腹し右子宮を露出させた。この卵管子宮接合部にマイクロシリンジで大腸菌液を 2 $\mu$ l 注入した。また胚盤胞と大腸菌の同時注入実験では, 胚盤胞は左子宮に移植し, 大腸菌は右子宮に注入した。

### 8. 培養

大腸菌液を注入したラットは経目的に, また移植および菌液注入を行なったラットは移植 7 日後にそれぞれエーテル麻酔にて安楽死させ, 卵巣, 卵管および子宮を摘出した。移植卵の着床の有無を胎児の確認により検査した後, 細菌検索の材料採取を行った。また同時に子宮の腫脹, 膿汁の貯溜等も検査した。

### 9. 細菌検索の方法

剖検後切開した左右子宮内腔から白金耳で子宮内液を採り滅菌生理食塩液 1ml に懸濁した。この懸濁液の大腸菌数は 10 倍段階希釈液により普通寒天平板培地を用いて測定した (希釈法)。さらに, 白金耳で子宮内液を 1 白金耳採取し, 普通寒天平板に直接塗布および普通ブイオンにそれぞれ接種した (平板塗抹法および増菌法)。これら培地は 37°C で培養し, 24 時間後に菌数の測定および細菌の発育の有無を検査した。

## 成 績

### 1. 偽妊娠ラット子宮内における大腸菌の消長

偽妊娠 4 日目のラット子宮内に大腸菌を注入し, 子宮内における大腸菌の消長について経時的に, 希釈法, 平板塗抹法および増菌法により試験した結果を表 1 に示した。

表1. 偽妊娠ラット子宮内における大腸菌の消長と肉眼的所見

菌注入 後日数	注入菌数* 個/2 $\mu$ l	希釈法(個/ml)		平板塗抹法		増菌法		子宮の肉眼的所見		黄体数	
		左子宮	右子宮	左子宮	右子宮	左子宮	右子宮	左子宮	右子宮	左子宮	右子宮
直後	5.5 $\times$ 10 <sup>5</sup>	<10 <sup>1</sup>	1.2 $\times$ 10 <sup>4</sup>	-	++	-	+	変化なし	変化なし	6	8
0.5	4.4 $\times$ 10 <sup>5</sup>	<10 <sup>1</sup>	2.1 $\times$ 10 <sup>4</sup>	+	++	+	+	変化なし	変化なし	5	6
1	4.4 $\times$ 10 <sup>5</sup>	3.6 $\times$ 10 <sup>3</sup>	5.0 $\times$ 10 <sup>3</sup>	-	+	+	+	変化なし	変化なし	7	7
2	4.4 $\times$ 10 <sup>5</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	+	-	+	+	変化なし	変化なし	5	5
4	4.2 $\times$ 10 <sup>5</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	-	-	+	-	変化なし	脱落膜腫	6	5
6	4.2 $\times$ 10 <sup>5</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>	-	-	-	+	変化なし	脱落膜腫	7	6

\* : 大腸菌の注入は右子宮

表2. 偽妊娠ラットにおける胚盤胞の移植

ラット No.	移植卵数(個)		着床卵数(個)		卵の着床率 (%)	黄体数(個)	
	左子宮	右子宮	左子宮	右子宮		左卵巣	右卵巣
1	3	3	0	0	0	6	6
2	3	3	0	0	0	7	7
3	3	3	1	0	16.7	5	6
4	5	4	4	2	66.7	8	6
5	5	4	0	0	0	7	8
6	4	5	0	0	0	6	6
7	4	5	2	3	55.6	7	6
8	4	3	3	3	85.7	4	6
9	3	3	3	2	83.3	8	7
10	4	5	0	0	0	6	6
11	4	4	4	4	100	7	5
12	4	4	4	3	87.5	6	7
13	6	6	5	5	83.3	7	7
14	6	6	4	5	75.0	6	7
合計	116		57		49.1		

ラット右子宮内に10<sup>5</sup>個/2 $\mu$ lの大腸菌を注入し経時的に菌数測定を行った結果、菌液注入直後(約3分後)に右子宮から1.2 $\times$ 10<sup>4</sup>個の大腸菌が検出され、12時間後に2.1 $\times$ 10<sup>4</sup>個と菌数が若干増加した。しかし、菌液注入1日後では5.0 $\times$ 10<sup>3</sup>個に減少し、2日後以降は検出限界の10<sup>1</sup>個以下になった。一方、菌液を注入しなかった左子宮からも1日後のみ右子宮の菌数とほぼ同じ菌数、3.6 $\times$ 10<sup>3</sup>個の大腸菌が検出された。

また、平板塗抹法の結果は希釈法と同様に右子宮からは菌液注入1日後まで検出されたが、それ以降大腸菌は検出されなかった。しかし左子宮からは、24時間後および2日後に大腸菌が検出された。一方、増菌法による検索では、希釈法および平板塗抹法の場合と異なり、菌液注入6日後まで右子宮から大腸

菌が検出された。また、菌液注入直後では希釈法および平板塗抹法と同様に左子宮からも大腸菌は検出されなかった。しかしながら、24時間後から4日後まで大腸菌が検出された。

これら大腸菌を検索した子宮の肉眼的な所見では、2個ずつの米粒大の脱落膜腫が、菌液注入後4日および6日の右子宮の菌液注入部位付近に認められたのみで、子宮内膜の色調および大きさなどに変化はなかった。

## 2. 胚盤胞の移植

偽妊娠4日目のラット子宮内に胚盤胞を移植した成績は表2に示した。

胚盤胞の移植を行なった14例のうち9例に着床が認められ、その着床率は64.3%であった。さらに着

表3. 胚盤胞と大腸菌の同時注入における卵の着床と大腸菌の分離

ラット No.	移植卵* 数(個)	着床卵数(個)		卵の着床率 (%)	子宮の肉眼的所見		黄体数(個)		注入菌数** (個/2 $\mu$ l)	希釈法(個/ml)		平板塗抹法		増菌法	
		左子宮	右子宮		左子宮	右子宮	左	右		左子宮	右子宮	左子宮	右子宮	左子宮	右子宮
1	6	0	0	0	腫脹	腫脹	8	6	$4.6 \times 10^5$	$<10^1$	$<10^1$	-	-	-	-
2	6	0	0	0	変化なし	変化なし	6	6	$4.6 \times 10^5$	$<10^1$	$<10^1$	-	-	-	-
3	6	0	0	0	変化なし	変化なし	5	7	$1.3 \times 10^6$	$<10^1$	$<10^1$	-	-	-	-
4	6	0	0	0	変化なし	変化なし	7	7	$1.3 \times 10^6$	$<10^1$	$<10^1$	-	-	-	-
5	4	3	1	100	卵着床	卵着床	7	6	$7.3 \times 10^5$	$4.5 \times 10^3$	$5.0 \times 10^3$	++	++	+	+
合計	28	4		14.3					65						

\* : 胚盤胞の移植は左子宮 \*\* : 大腸菌の注入は右子宮

床の認められた9例のうち卵の着床率の最も低い例は左右子宮に合計6個の胚盤胞を移植したNo.3ラットであり、卵の着床は1個のみであった(卵の着床率16.7%)。また卵の着床率の最も高い例は8個の胚盤胞を移植したNo.11ラットで、移植した全ての胚盤胞が着床した(卵の着床率100%)。

子宮の肉眼的な所見としては、着床の認められた9例のうち5例(Na.7, Na.9, Na.11, Na.13, Na.14)の胚盤胞の注入部位付近に、1~2個の脱落膜腫の形成が認められた。また着床の認められなかった5例のうち2例(Na.1, Na.5)の胚盤胞の注入部位付近に1~2個の脱落膜腫の形成が認められたが、その他の肉眼的著変は認められなかった。

### 3. 胚盤胞の着床に及ぼす大腸菌の影響

偽妊娠4日目のラットの左子宮に胚盤胞を右子宮に大腸菌( $10^5$ 個/2 $\mu$ l)を同時に注入した試験における胚盤胞の着床成績および細菌検索の結果は表3に示した。

胚盤胞と大腸菌を同時に注入した5例のうち着床の認められたものは、No.5ラットの1例のみで着床率は20%であった。着床の認められたNo.5ラットは左子宮に4個の胚盤胞を移植したが、卵の着床は左子宮に3個認められた。さらに右側子宮にも1個の着床が認められた(卵の着床率100%)。

これら試験したラットの左右子宮内の希釈法による細菌検索では、No.1ラット~No.4ラットまで大腸菌は全く分離されなかった。しかし、No.5ラットの左子宮から $9.0 \times 10^3$ 個、右子宮から $8.5 \times 10^3$ 個の大腸菌が検出された。また、平板塗抹法および増菌法においても希釈法と同様な結果が得られた。

子宮の肉眼的な所見は、着床の認められなかった4例(Na.1ラット~No.4ラット)では、No.1ラットの子宮に若干の腫脹が認められたが、胆汁の貯留などの所見は認められなかった。他の3例においては肉眼的に全く変化は認められなかった。また、着床

の認められたNo.5ラットの左側子宮の胚盤胞注入部位付近に1個の脱落膜腫の形成が認められた。

## 考 察

現在、牛の受精卵移植はそのほとんどが経陰法により実施されている。この経陰法は人工授精技術を応用したものであり、外科的方法よりも家畜に与える各種ストレスや術後感染が少なく、もっとも経済的で安全な方法といえる。しかしながら、外陰部および腔内の常在菌(非病原性細菌)が誤って同時に子宮内に感染する恐れがある。事実、牛の精液中および生殖器道内からもマイコプラズマ、ヘモフィルスなどの細菌が分離されている<sup>2,6,9)</sup>。このことにより牛の人工授精においては精液希釈液に数種類の抗生物質を添加し、精液中および子宮内の微生物の増殖を防止している。また、人工授精が行われる時期の子宮のホルモン支配はエストロジェンが優位であるため、エストロジェンの作用により子宮内に侵入した微生物を排除し<sup>15,19)</sup>、さらにこの時期には子宮動脈の発達が著明であるため、子宮への血液の供給が盛んになり、種々の食細胞が子宮内に滲出しやすくなるため感染した細菌の増殖を阻止する<sup>1,18)</sup>ことなどが明らかにされている。

これらのことから人工授精における常在菌(非病原性細菌)の感染はそれほど問題にはならない。しかし、受精卵移植においてこのような細菌感染は受精卵の着床率を左右する重要な要因の一つであるといえる。なぜならば、受精卵移植時の子宮はプロジェステロンの優位支配を受けているため、エストロジェン支配の子宮に比較して細菌の増殖抑制作用が弱いこと<sup>19)</sup>。また、子宮動脈の発達が少ないため血液中の食細胞が子宮内に滲出しにくくなっていること<sup>18)</sup>、さらに受精卵の採卵用の灌流液には一般に添加されている抗生物質が培養液には添加しない場合が多い<sup>4)</sup>ことなどから、受精卵移植時に細菌が子宮内感染し

た場合、受精卵の着床に少なからず影響があるものと考えられる。

そこで、ラットにおいて受精卵移植を行う時期すなわち偽妊娠4日目の子宮内に大腸菌を注入してその消長を調べた。その結果、菌液を注入した右子宮から希釈法および平板塗抹法では1日後までしか大腸菌が検出されなかったが、増菌法では菌液注入6日後まで大腸菌が検出された。左子宮から菌液注入直後に検出されなかった大腸菌が24時間後に検出され始め、5日目まで継続して大腸菌が検出された。このことにより偽妊娠4日目のラット子宮内に大腸菌を注入すると菌液注入後5～6日間までは子宮内に大腸菌が増殖および生存することが明らかになった。これは偽妊娠4日目の子宮が受精卵の着床に最適な条件すなわち栄養豊富な時期であるため、注入大腸菌も増殖するものと考えられる。しかし、大腸菌は菌液注入2日目から暫時減少した。このことは着床時期の子宮内膜にはマクロファージが滲出することから<sup>12)</sup>、そのマクロファージおよび好中球の食作用により大腸菌が貪食されて減少したものと思われる。しかしながらマクロファージの滲出は偽妊娠4日目頃が最高で、以後子宮内膜のマクロファージは少なくなるともいわれている。したがって、マクロファージおよび好中球の食作用により急速に大腸菌が消失するのではなく、ある程度貪食されて減少するものの菌液注入後5～6日目まで大腸菌は子宮内に生存できるものと推察される。

一方、本試験における移植胚盤胞の着床率は64.3%であったが、胚盤胞と大腸菌を同時に注入した場合の着床率は20%であり、胚盤胞のみを移植したものと比べて著しく低かった。一般にラットにおける胚盤胞子宮内移植の着床率は70～80%であるといわれている<sup>13)</sup>。このように胚盤胞の着床に大腸菌の感染が関与していると推察できる結果であった。しかし胚盤胞と大腸菌を注入した試験のなかで胚盤胞は左子宮のみに移植しているにもかかわらず右子宮にも着床が1例認められた。これは移植胚盤胞が子宮頸管を經由して他側の子宮に着床したのか、または胚盤胞の移植に使用したマイクロシリンジを引続いて大腸菌の注入にも使用したので、マイクロシリンジ内に胚盤胞が残存し、それを移植した可能性も考えられる。受精卵が子宮頸管を移行することは豚などで報告されており<sup>10)</sup>、またラットでも卵子が子宮頸管を移行して他側の子宮に着床することが明らかにされている<sup>3,16)</sup>。このことから本試験におけるラット右子宮への着床は移植胚盤胞の子宮頸管移行の可能性も考えられる。しかし、マイクロシリンジ内に胚盤胞

が残存し、それを注入したとすれば、右子宮に着床した胚盤胞は大腸菌の菌液の中に浮遊し、しかも胚盤胞と大腸菌が混合注入されたことになる。また移植を行った4個(左子宮に3個、右子宮に1個)の胚盤胞が全て着床し同時に左右子宮粘膜から大腸菌が分離された。このような胚盤胞と微生物を同時に注入した場合でも受精卵の着床が認められ、正常な発育が確認された報告<sup>11)</sup>もある。これらのことから受精卵移植時に大腸菌が同時に子宮内に感染しても、それが必ずしも受精卵の着床を阻止するとは限らないものと推察される。しかし着床しなかった4例においては、大腸菌は全く分離されなかった。このことは胚盤胞移植および大腸菌注入などの子宮の物理的刺戟などにより着床遅延があった場合、子宮内膜にマクロファージおよび好中球などの食細胞が滲出し、これら滲出細胞の食作用により大腸菌は貪食され検出できなかったものと考えられる。また大腸菌の注入により子宮内膜の軽度の炎症性変化が起こればマクロファージおよび好中球などの子宮内膜への滲出が胚盤胞の着床に影響していることも考えられる。

#### 文 献

- 1) Bessis, M.: Blood smears reinterpreted. 血液細胞へのダイナミックアプローチ, 八幡義人訳, 118, 文光堂, 1985.
- 2) Humphrey, J. D., Little, P. B., Barnum, D.A., Doig, P. A., Stephens, L. R. and Thorsen, J.: Occurrence of "Haemophilus somnus" in bovine semen and in the prepuce of bulls and steers. *Can. J. Comp. Med.*, 46: 215, 1982.
- 3) 石島芳郎, 下村孝英, 平林 忠: ラット卵子の子宮内移植に関する研究 I, 東農大農学集報, 12: 79, 1968.
- 4) 金川弘司: 移植技術と受胎率, 牛の受精卵移植, 91, 近代出版, 1984.
- 5) Lamming, G. E. and Rowson, L. E. A.: Ovarian hormones and uterine infection in cattle. *Pro. R. Soc. Med.*, 46: 387, 1953.
- 6) Miller, R. B., Lein, D. H., MaEntee, K. E., Hall, C. E. and Shin, S.: Haemophilus somnus infection of the reproductive tract of cattle: A review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 182: 1390, 1983.
- 7) Noyes, R. W. and Dickmann, Z.: Relationship of ovular age to endometrial development. *J. Reprod. Fert.*, 1: 186, 1960.
- 8) Noyes, R. W. and Dickmann, Z.: Survival of ova transferred into the oviduct of the rat. *Fertility & Sterility*, 12: 67, 1961.
- 9) Rae, A. G.: Isolation of mycoplasmas from bobine semen. *Vet. Rec.*, 111: 462, 1982.
- 10) 菅原七朗, 高橋寿太郎, 佐藤正光, 安部徹良: 雌

性副生殖器官、生殖機能の組織学、菅原七朗ら編、103、理工学社、1981。

- 11) 菅原七朗：卵子の異常とその病理，家畜人工授精講習会テキスト(家畜受精卵移植編)，中原達夫ら編，63，家畜人工授精師協会，1985。
- 12) 館 澄江，館 鄰：ラットおよびマウス胚盤胞と macrophages の invitro における相互作用，動物学雑誌，89：142，1980。
- 13) 館 鄰，横山峯介，館 澄江：初期胚の移植，哺乳動物の初期発生—基礎理論と実験法—，妹尾左知丸ら編，257，理工学社，1981。
- 14) 竹島 勉，尾川昭三：偽妊娠の誘起，実験動物学ラット，石橋正彦ら編，341，講談社，1984。
- 15) 東条伸平：妊娠の内分泌の機能，内分泌産科学，89，南山堂，1977。
- 16) 辻井弘忠：片側卵巣と他側の卵管を摘出したラットにおける卵子の腹腔内ならびに子宮頸管經由移動について，日不妊会誌，30：610，1985。
- 17) 若杉 昇：実験動物の胚の採取法および凍結保存法，リプロダクション実験マニュアル，飯塚理八ら編，116，講談社，1985。
- 18) 渡辺守松：非病原菌による子宮内膜炎及び流産とその対策，畜産の研究，7：1057，1953。
- 19) 山内 亮，芦田淨美，三船亮介，中原達夫：子宮内膜炎の発生機転に関する研究，家畜繁殖誌，1：45，1955。
- 20) 湯原正高，内海恭二，野上与志郎，坂本寿文，奥山 博：ラットの人工妊娠に関する研究 1. ラット受精卵の子宮内移植，岡山大農学報，42：27，1973。

Effects of the infection of  
non-pathogenic bacteria  
in the uterus on successful  
implantation of blastocysts in rats

Yasuhiro Uchiyama, Tsuguaki Fukuyasu  
and Kiyomi Ashida

Department of Animal Health II, School of  
Veterinary Medicine, Azabu University,  
Sagamihara, Kanagawa,  
(Director: Prof. K. Ashida)

It has been reported by many authors that bacterial infection of female reproductive organs are common in domestic animals and also the infection usually ascend from vagina to uterus especially in the early stages of progestational proliferation of the endometrium.

*Escherchia coli* and other non-pathogenic bacteria are the most commonly isolated microorganisms. Therefore, effects of the infection of *E. coli* in the uterus of rats on the successful implantation of blastocysts were examined.

(1) *E. coli* were inoculated into the uterus of the rats in the 4th days of pseudopregnancy induced by electro-stimulus of cervix-uteri. Quantitative and qualitative analysis of the mode of *E. coli* culture were carried out at 3 minutes, 12 hours, 1st, 2nd, 4th and 6th day after the inoculation. The recovery of the *E. coli* was confirmed by qualitative analysis at 6th days. Generally, qualitative analysis was more superior rather than quantitative analysis in estimation of *E. coli* cultivation.

(2) Three or 6 blastocysts were injected into each uterine horn of 14 rats in the 4th day of pseudopregnancy. Fertilized implantation were confirmed in 9/14 rats (64.3%) and 57/116 blastocysts (49.1%) after 7 days of the injection.

(3) Three or 4 blastocysts were injected into the left uterine horn and at the same time *E. coli* were inoculated into the right horn of 5 rats in the 4th day of pseudopregnancy. Fertilized implantation were confirmed in 1/5 rats (20%), 4/28 blastocysts (14.3%) and the recovery of the *E. coli*. On the contrary, the recovery of the *E. coli* were not confirmed in the sterile 4 rats.

(受付：昭和 62 年 5 月 6 日)

# INTERRUPTION OF PREGNANCY BY RU486, AN ANTIPROGESTERONE COMPOUND AND SUBSEQUENT REPRODUCTIVITY IN RATS.

Motoaki UMEZU, Miki TADANO, Tadashi FURUSAWA,  
Shinichi ISHII, Junji MASAKI, Tadashi SANKAI\*  
Tuyoshi ENDO\* and Yuzi SAKUMA\*

Laboratory of Animal Reproduction,  
Faculty of Agriculture,  
Tohoku University, Sendai.

\* Department of Veterinary Physiology,  
College of Agriculture  
and Veterinary Medicine,  
Nihon University, Fujisawa.

---

**Abstract:** RU486, an antiprogesterone compound was administered to pregnant rats in order to trace the interruption of pregnancy and subsequent reproductivity. It was dissolved in sesame oil and administered either orally or subcutaneously, with doses of 0.5–9mg/kg B. W. at early (Day 4), mid (Day 11), or late (Day 18) pregnancy.

All of the rats (23/23) in the mid and late stages showed fresh bleeding in the vagina, indicating interrupted pregnancy, within 2 days following the abortive administration of RU486 (>3mg/kg B. W.), whereas the bleeding occurred in 4/6 and in 3.3 days following the administration to the rats in the early stage.

A single dose of 9mg/kg B. W. orally and 6mg/kg B. W. subcutaneously was found to be 100% effective in inducing in the mid and late stages of pregnancy.

In the early stage, full interruption of pregnancy occurred with doses of 9mg/kg B. W. orally and 6mg/kg B. W. subcutaneously. The recurrence of the sexual cycle was significantly delayed in the early stage compared with the other two stages (17.3 days vs. 10.5 and 11.0 days). However, the day of the first estrus following recovery was the same in all three stages. The duration of pregnancy and litter size in the experimental groups were the same as in the control group.

Ninety-six percent of the treated rats were mated at the first service and 93% of them became pregnant.

It was concluded the RU486 exerts a remarkable action in the interruption of pregnancy in rats and shows no side effects in the recurrence of reproductivity after the interruption.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33(2), 431–437, 1988)

---

## Introduction

The synthetic steoid RU486 (17 $\beta$ -hydroxy-11 $\beta$ -(4-dimethyl aminophenyl-1)-17 $\alpha$

(prop-1-ynyl) estra-4,9 diene-3 one: Mafepri-  
stone: Roussel-Uclaf, Paris, France) is known  
to bind with progesterone and glucocorticoid  
receptors<sup>1-3</sup>).

It exerts a strong antagonistic influence on progesterone, thus inducing the interruption of pregnancy. RU486 induces a remarkable abortive action in primates<sup>4-11)</sup> such as rhesus monkeys<sup>9-10)</sup>, cynomolgus monkey<sup>11)</sup>, and humans<sup>4-8)</sup>. This effect has also been reported to be remarkable in rats, but little was formerly known about reproductivity following the interruption.

The present experiment was undertaken to examine the effect of RU486 in the interruption of pregnancy by two routes of administration, oral or subcutaneous, in varying doses and at different stages of pregnancy. Subsequent reproductivity (estrus, the sexual cycle and pregnancy) was also studied.

### Materials and Methods

Virgin female rats of the Wistar strain were kept in a room with a constant temperature, under a standard lighting regime, being turned on at 6:00 and turned off at 18:00. The female rats all having a regular 4-day estrous cycle were mated with fertile males. The first day following mating, when a plug or sperm appeared in the vagina, was designated as "Day 1" of pregnancy. RU486 was dissolved in sesame oil to make 2mg/ml solution. The administration was either done by oral injection through a probe tube or subcutaneously at one of three stages: early (Day 4), mid (Day 11) or late (Day 18) pregnancy.

The rats were either injected with a single dose of 0.5-9mg/kg B. W., or given oral injection of 3mg/kg B. W. once daily for 3 successive days. Rats given sesame oil alone (0.5ml/day  $\times$  3) were designated as the control group. Vaginal smears were taken daily from Day 0. The rats which showed fresh bleeding in the vagina or revealed estrus in smears after the administration of RU486 did not, in any case, proceed to parturition, indicating the complete interruption of pregnancy. Each case was used to form an index of the interruption of pregnancies. When a vaginal smear indicated the onset of the first estrous cycle, the day of onset was recorded as the day of the recurrence of "estrus" or "sexual cycle".

At least 2 regular cycles were recorded in the

rats following the interruption of pregnancy, and they were mated again on the first day of the period of proestrus in order to determine whether or not they could still become pregnant.

Statistical calculations were carried out using a t-test and a  $\chi^2$ -test.

### Results

#### 1. Appearance of fresh bleeding in the vagina after the abortive administration of RU486.

Observation records of the rats were kept following the oral administration of RU486. Fresh bleeding from the vagina appeared in 4/6 of the early stage group and the amount of blood was always less than in the mid or late stage group. All the rats in the mid and late stages showed bleeding in the vagina within 2 days following the first administration of RU486, including those which had received a higher dose (3mg/kg B. W.  $\times$  3)(Table 1). The time process of bleeding in the vagina in rats which received a corresponding dose of RU486 by subcutaneous administration was similar to that in rats which received oral administration (unpresented data).

One rat which was administered RU486 in the late stage was prematurely delivered of 3 fetuses enclosed in the intact fetal membrane. When the membrane was removed, the inner fetuses were found to be still alive. The fetuses were subsequently killed and eaten by the mother.

#### 2. Pregnancy interruption rate in rats with respect to doses, routes of administration and stages of pregnancy.

In no case did an interruption of pregnancy occur among the control group; all proceeded to a normal delivery.

Low doses of 0.5mg/kg B. W. of RU486 were ineffective in the interruption of pregnancy regardless of the routes of administration stages. A single oral supply of 9mg/kg B. W. exerted a full abortive effect at the early stage, whereas a dose of 3mg/kg B. W. succeeded only at the mid or late stage. An oral supply of 3mg/kg B. W. for 3 successive days effected a complete interruption of pregnancy at any stage.

When administered in subcutaneous route, a 6mg/kg B. W. dose of RU486 exerted a full abor-

Table 1. Days to appearance of blood in the vagina following administration of RU486

Stage of pregnancy	Dose x Day(s) (mg/kg B. W.)	Appearance of bleeding	Days prior to bleeding	
Early	3 × 3	4/6	3.3 ± 0.2	a, b, c, d.
Mid	3 × 1	6/6	1.2 ± 0.2	a.
	3 × 3	6/6	1.3 ± 0.2	b.
Late	3 × 1	6/6	1.2 ± 0.2	c.
	3 × 3	5/5	1.2 ± 0.2	d.

M ± S. E.

RU486 was given orally to pregnant rats in a single or triple dose of 3mg/kg B. W. at early (Day 4), mid (Day 11) or late (Day 18) stage of pregnancy.

Appearance of fresh blood was examined daily by taking a vaginal smear. The same letter indicates a statistically significant difference between two groups ( $P < 0.01$ ).

Table 2. Rate of interruption of pregnancy using RU486 in rats

	Dose of RU486 (mg/kg. B. W.)	Interruption rate		
		Early stage	Mid stage	Late stage
Oral administration	0	0/8	—	—
	0.5 × 1	0/6	0/5	0/6
	3 × 1	1/6	6/6	5/5
	6 × 1	4/6	—	—
	9 × 1	6/6	5/5	4/4
	3 × 3	6/6	6/6	6/6
Subcutaneous administration	0.5 × 1	0/6	0/5	0/6
	3 × 1	5/6	6/6	5/5
	6 × 1	6/6	—	—

RU486 in varying doses was given orally or subcutaneously to pregnant rats at various stages.

The interruption of pregnancy was indicated by fresh bleeding in the vagina or the recurrence of estrus in a vaginal smear.

tive effect in rats at the early stage but a 3mg/kg B. W. dose succeeded only in the mid or late stage (Table 2).

In order to compare the abortive effect of RU486 with respect to the 3 stages of pregnancy in the rats, records of the two routes of administration were combined. The interruption of pregnancy was 5/12, 12/12 and 10/10 at the early, mid and late stages, respectively. The interruption rate was significantly lower in the early stage

( $\chi^2$ :  $P < 0.01$  early stage vs. mid stage; early stage vs. late stage).

In order to compare the abortive effect of RU486 when administered through the oral or subcutaneous route, records including the dose of 3mg/kg B. W. and 6mg/kg B. W. were combined at the early stage. The interruption rates of pregnancy were 5/12 by the oral route and 11/12 by the subcutaneous route, indicating that the latter was significantly more effective ( $\chi^2$ :  $P < 0.01$ ).

3. Recurrence of "the first estrus" and the "sexual cycle" following the abortive administration of RU486.

The occurrence of "the first estrus" following the administration of RU486 was not different among the 3 stages of pregnancy. A "sexual cycle" was significantly delayed in the early stage compared with the remaining stages ( $P < 0.01$ ). Neither the recurrence of "the first estrus" or the "sexual cycle" showed any difference in the mid and late stages when the effect of single or triple oral supplies were compared (Table 3).

4. The duration of pregnancy and litter size in rats where abortion by RU486 was unsuccessful.

The duration of pregnancy in the experimental group was not different from that in the control group (Table 4).

5. Recurrence of pregnancy following the abortive administration of RU486.

Twenty-six of twenty-seven female rats were mated at the first service, (one did not accept the male) and 25 of them became pregnant.

The first instance of pregnancy (when sperm or a vaginal plug was recognized in the vagina) occurred  $18.2 \pm 1.1$  days (11–32 days) following the administration of RU486. The duration of pregnancy and litter size of these rats were not different than in the control group.

### Discussion

Following a higher dose or RU486, the rats exhibited interruption of pregnancy (with vaginal bleeding) within 2 days in the mid and late stages. However, in the early stage, the day of occurrence of bleeding was delayed and the degree of bleeding was slight. These results correspond with those in rhesus monkey which, following the administration of RU486, showed accelerated

Table 3. Recovery of the first estrus and the initial estrus of the estrous cycle as indicated in vaginal smears in rats after RU486 treatment

Dose (mg/kg)	Early stage		Mid stage		Late stage	
	F. E.	S. C.	F. E.	S. C.	F. E.	S. C.
3 x1 (days)	11	11	8.7 $\pm 1.9$	9.0 $\pm 1.6$	6.6 $\pm 1.4$	12.2 $\pm 2.8$
	(1)		(6)		(5)	
6 x1	3.0 $\pm 0.0$	15.0 $\pm 1.7$	---	---	---	---
	(4)					
3 x3	9.5 $\pm 1.9$	19.7 $\pm 2.6$	7.5 $\pm 0.6$	11.7 $\pm 1.2$	6.7 $\pm 0.5$	10.0 $\pm 1.2$
	(6)		(6)		(6)	
Total	7.3 $\pm 1.4$	17.3 $\pm 3.1$	8.1 $\pm 0.5$	10.5 $\pm 1.1$	6.6 $\pm 0.7$	11.0 $\pm 1.3$
	(11) a, b, c, d		(12) a, c		(11) b, d	

M  $\pm$  S. E.

F. E. : the first estrus

S. C. : sexual cycle

Abortive dose ( $\geq 3$  mg/kg, B. W.) was orally injected at various stages. When a vaginal smear was found to indicate the first estrus or the estrus indicating the initiation of the 4-days estrous cycle, the day was recorded as "the first estrus" or "sexual cycle"

The same letter indicates a statistically significant difference between two groups ( $P < 0.01$ ).

Parentheses means number of rats used in experiment.

Table 4. Duration of pregnancy and litter size of rats in which interruption of pregnancy with RU486 failed

RU486 administration	No. of animals	Stage of pregnancy	Duration of pregnancy (days)	Litter size
Control (oral.)	8	Early	21.9±0.1	11.0±0.9
0.5 x1 (mg/kg) (oral)	5	Mid	21.8±0.2	11.2±0.9
0.5 x1 (oral.)	6	Late	21.8±0.7	10.7±0.5
0.5 x1 (s. c.)	6	Early	21.7±0.2	8.55±1.0
0.5 x1 (s.c.)	5	Mid	22.0±0.8	11.2±0.9
0.5 x1 (s. c.)	6	Late	21.8±0.2	9.8±0.6
3 x1 (oral.)	5	Early	22.0±0.0	10.2±1.1

M±S. E.

oral : oral administration

s. c. : subcutaneous administration

Table 5. Pregnancy of rats after the recovery of the estrous cycle following the interruption of pregnancy using RU486

RU486 administration	No. of animals	Stage of pregnancy	Duration of pregnancy (days)	Litter size
Control	8	Early	21.9±0.1	11.0±0.9
3 x1 (mg/kg)	2	Mid	20.5±0.5	11.5±1.5
3 x1	5	Late	21.7±0.3	11.7±0.5
3 x3	6	Early	22.0±0.3	9.2±0.9
3 x3	6	Mid	21.5±0.5	11.4±0.9
3 x3	6	Late	21.8±0.2	10.4±1.4

M±S. E.

Rats were mated between 11 and 32 days ( $18.2 \pm 1.1$  days) after the administration of RU486 ( $\geq 3$  mg/kg B. W.).

vaginal bleeding only in the late stage<sup>9)</sup>.

Even among the rats which received a repeated supply of RU486 (3mg/kg B. W.), the day when vaginal bleeding occurred was not different than for the rats which received just a single injection. This finding suggests that the first administration of the steroid is enough to induce the interruption of pregnancy.

In the late stage, only one rat was led to pre-

mature parturition with RU486. Bosc et al<sup>12)</sup> showed that accelerated delivery occurred within 32 hours after the administration of RU486 to rats near the end of pregnancy; the day when premature delivery occurred in the present experiment seems similar to that in their report.

The most effective dose for interrupting pregnancy with RU486 was 3mg/kg B. W. in the mid or late stage.

Philbert et al<sup>2)</sup> reported that an oral supply of the steroid was less effective than a subcutaneous supply in inducing abortion in the early stage. This finding agrees with our results.

When supplied subcutaneously, the most effective dose was 6mg/kg B. W. at the early stage and 3mg/kg B. W. at the mid and late stages. Chang et al<sup>3)</sup> reported that the most effective doses were 8mg/kg B. W.  $\times$  3 or 16mg/kg B. W.  $\times$  1 when supplied subcutaneously. Their results with subcutaneous injections accorded with ours; however, they found that the most effective dose for oral supply was higher than ours. This discrepancy may be due to a difference in the strain of rats used (Sprague-Dawley and Wistar) and/or the vehicle used (100% ethanol-corn and sesame oil).

There is a significantly greater delay in the recurrence of the sexual cycle in the early stage than the remaining stages. It is interesting to note that the response of pregnant rats to RU486 may differ according to the stage of pregnancy, particularly in the early stage before the implantation of the fertilized eggs. The reasons for this difference are not clear. It may be that a change in the quantity of the uterine progesterone receptor and the degree of degradation of uterine tissue after the administration of RU486 are involved in the response.

When the female were mated after the recovery of the sexual cycle, all became pregnant at the first service and proceeded to normal parturition. In this experiment, the female were mated after the second proestrus at the earliest. Still, it is assumed that the mating could just as well occur at the first proestrus after the recurrence of the sexual cycle.

In conclusion, RU486 was found to induce a drastic interruption of pregnancy in rats, although the response differed according to the stage of pregnancy. However, in all cases, regardless of the stage of pregnancy at the time of interruption, the normal reproductive function was subsequently found to recur.

#### Acknowledgement

We thank Roussel-Uclaf, Paris, France for a supply of the synthetic steroid, RU486.

#### References

- 1) Philbert, D.: Ru38486: an original multifaced antihormone. Adrenal steroid antagonism., 77p Agarwal, M. K., Ed. Walter de Gruiter & Co., Berlin-New York 1984.
- 2) Philbert, D., Moguilewsky, M., Mary, I., Lecaque, D., Tourenemine, C., Secchi, J. and Deraedt, R., : Pharmacological profile of RU486 in animals. The antiprogesterone steroid RU486 and human fertility control. 49p. Baulieu, E. E. & Segal, S. J. Eds, Pleum Press, New York 1985.
- 3) Chang, C. C., Segal, S. J. & Bardin, C. W.: In vivo assessment of anti-progesterone and antiglucocorticoid activities of RU486 in rats: efficacy in terminating early pregnancy in the rat. *Ibid* 1p 1985.
- 4) Healey, D. L., Chrousos, G. P., Sculte, H. M., Williams, R.: Pituitary and adrenal responses to the antiprogesterone and antiglucocorticoid steroid RU486 in primates. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57:867, 1983.
- 5) Sakiz, E., Euvrard, C. and Baulieu, E. E.: The antiprogesterone activity of RU486, a contraceptive agent in the human. *Int. Congr. Ser. Excerpta Med.* 655:239, 1984.
- 6) Baulieu, E. E.: RU486: antiprogesterone steroid with contraceptive activity in woman. The antiprogesterone steroid RU486 and human fertility control. 1p 1985.
- 7) Shaison, G., George, M., Lestrat, N., Reinberg, A. and Baulieu, E. E.: Effect of the antiprogesterone steroid RU486 during midluteal phase in normal women. *J. Clin. Endocrinol. Medab.* 61: 484, 1985.
- 8) Herrman, W., Wyss, R., Riondel, A., Philbert, D., Teutsch, G., Sakitz, E. and Baulieu, E. E.: Effect of the antiprogesterone steroid in women: interruption of the menstrual cycle and of early pregnancy. *C. R. Seances Acad. Sci.* 294:933, 1982.
- 9) Asch, R. H. & Rojas, F. J.: The effects of RU486 on the luteal phase of the rhesus monkey. *J. steroid Biochem.* 22:227, 1985.
- 10) Shortle, B., Dyrenfurth, I., Ferin, M.: Effect of an antiprogesterone agent, RU486, on the menstrual cycle of the rhesus monkey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 60:731, 1985.
- 11) Germain, G., Philbert, D., Pottier, J., Mouren, M., Baulieu, E. E. and Sureau, C.: Effects of the antiprogesterone agent RU486 on the natural cycle and gestation in intact cynomolgus monkeys.: The antiprogesterone steroid RU486 and human fertility control. 155p 1985.
- 12) Bosc., M. J., Germain, G., Nicolle, A., Mouren,

M., Philbert, D. and Baulieu, E. E.: Control of birth in rats by RU486, an antiprogesterone compound. J. Reprod. Fert. 79:1, 1987.

## ラットにおける抗プロゲステロン化合物, RU486による妊娠の阻害と その後の繁殖機能について

(東北大学 農学部 畜産学科)

梅津元昭 只野美樹 古沢 軌

石井伸一 正木淳二

(日本大学 農獣医学部 獣医生理学教室)

山海 直 遠藤 克 佐久間勇次

抗プロゲステロン化合物, RU486 を妊娠ラットに処理し, 妊娠阻害とその後の繁殖機能を調べた。  
薬剤をゴマ油に溶かし, 経口または皮下投与で, 投

与量を0.5—9mg/kg体重とし, 妊娠の初期(4日), 中期(11日), 後期(18日)に投与した。

中期と後期では, すべてのラット(23/23)がRU486(>3mg/kg体重)の処理により, 2日以内に腔内に鮮血を現わし, 妊娠が阻害されたことを示したが, 初期の処理では, 腔内への出血は4/6でみられ, 3.3日以内に現われた。

RU486(>3mg/kg体重)の経口および皮下処理は, 中, 後期において完全に妊娠を阻害した。

初期では, 妊娠の完全な阻害は, 経口処理では9mg/kg体重, 皮下処理では6mg/kg体重であった。

性周期の回復は, 初期では他の時期と比較して有意に遅れた(17.3日対10.5または11.0日)。

回復後の最初の発情日は3時期で異ならなかった。実験群の妊娠期間と産子数は対照のそれと異ならなかった。処理群の96%が最初の交配で交尾し, そのうち93%が妊娠した。

結論として, RU486は, ラットで顕著な妊娠阻害作用を発揮し, 阻害後の繁殖機能の回復に関して, 副作用を示さなかった。

(受付 昭和62年8月11日)

## 総 説

# 遺伝が予測される精子の形態異常：尾部

## Morphologically Abnormal Spermatozoa Suspected Inheritance: Tail

静岡大学農学部農学科家畜繁殖学教室

小 島 義 夫

Yoshio KOJIMA

Laboratory of Reproductive Physiology,  
Faculty of Agriculture, Shizuoka University

本論文は、遺伝が予測される精子の形態異常のうち、尾部の異常について、頸部、中片部、尾部主部、尾端部の順で整理したものである。分類の項目は欧文報告が多いので、異常の名称を英文であげ、試みにカッコ内に和訳を附した。

人や家畜の精子の異常の中で、遺伝にかかわる形態異常は現在迄のところ、尾部について16種を数えあげることが出来た (Table 1)。従って、前報<sup>25)</sup>、頭部の異常の例と合わせると合計26種類となった。これらの異常について展望し、多少の検討を加えた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 33(2), 438—451, 1988)

### 緒 言

雄性配偶子としての精子の形態は光学顕微鏡 (以下 光顕と略す) の発明以来、無数の研究報告がなされ枚挙に暇がない。一方、その形態異常に関する症例も多く、特に、家畜や人の精子については幾つかの分類も試みられている<sup>1,2,3,4,5,6,7,8,9)</sup>。その後、電子顕微鏡 (以下 電顕と略す) の発達により、精子の内部構造が解明され、微細構造にかかわる形態異常も究明されつつある<sup>10,11,12,13,14,15,16)</sup>。さらに、形態の異常を精子細胞の段階まで遡って分類する試みもなされ<sup>17,18)</sup>、それらの発生機序が解明されると共に、従来雄性不妊症の重大な要因として考えられてきた遺伝にかかわる問題が、具体的に注目を集めてきている。精子の奇形と遺伝との関連を論じた総論もみられるが<sup>19,20,21,22,23,24)</sup>、その後の症例、報告も少なくない。

遺伝が予測される精子の異常のうち、頭部の異常については先報で総説したか<sup>25)</sup>、今回は尾部の異常について、出来るだけ頸部、中片部、尾部主部、尾端部の順で整理してみた。部分的には前報と重複するものもあるが、本総説を独立したものとして尾部全

体を通覧する上で必要なので加えておいた。

精子尾部の起源はその主体を成す軸線維束 (axial fibrillar complex) が一般体細胞にみられる中心体の axoneme 微小管線維束に由来するものであり、Afzelius (1959)<sup>26)</sup>によりその微細構造が明らかにされ、 $[2+9n]$  の基本構造が中心体、鞭毛、繊毛等について普遍的なものとして確認されている。さらに、鞭毛や繊毛の運動機序と共に微小管 (microtubule) に関する研究が急速に進み、それらの分子構造まで解明されてきている<sup>27)</sup>。その様な状況の中で、各種動物における精子尾部の形態異常が次第に明らかとなってきている。しかし、尾部の形態異常は複雑、多岐にわたり、多くの症例は微細構造の上から複数の部分的異常を含むものが多い為、その整理、分類は困難を伴う。ここでは複数の異常をもつ精子の場合でも、その代表的な部分をとり上げて大約、一括して整理を試みた。

### 頸部の異常

1. decapitated sperm, disintegrated sperm  
(頭部離断, 尾部離断)

精子尾部の頭部からの離断は、牛で精子輸送路の

生殖器管系統の炎症によって生ずることが報告されているが<sup>31,32</sup>、他に精巢の加温、冷却等の実検処理後も豚で出現する<sup>28</sup>。

Hancock and Rollinson (1949)<sup>29</sup>は英国で、若い Guernsey 牛 12 頭が何れも 95% 以上尾部離断の精子を射精したことに特別の興味を抱いた。そして、Hag (1949)<sup>30</sup>の成績等も参照して、この異常はガンジー種牛に特有の genetical origin であろうと、推察した。その後の研究で、この異常が精巢上体通過中に起こることをつきとめた<sup>31,32</sup>。同様に Jones (1962)<sup>33</sup>は英国ガンジー島の同種雄牛 7 頭でやはり 95% 以上の尾部離断精子を産出する不妊例を見出し、何れも共通の 3 頭の種雄牛の子孫であることを確かめ、その原因は雌牛も担体となり得る a sex-limited recessive gene によるものと判定した。この遺伝性は南アフリカで、Van Rensburg ら (1966)<sup>34</sup>により 13 頭のガンジー種牛でも報告された。

同様の所見が低受胎のヘレフォード種雄牛 8 頭でも検出されたが、精巢の hypoplasia が 5 頭含まれていた<sup>35</sup>。この異常が 50% に及ぶスウェーデン赤牛について電顕的検索をした Settergren and Nicander (1968)<sup>36</sup>は、精子頸部の implantation groove (fossa: 関節窩) が狭く segmented columns (関節頭を形成する頸部の分節柱) が細く、basal plate (頸部の基底版) が頸部の関節頭部を完全に把握固定していないことを見出し、精巢上体通過中に離断が起こることを確認した。その後、Blom and Birch-Andersen (1970)<sup>37</sup>も不妊のガンジー牛の例で精子頸部の形成不全を追証した。ヘレフォード種牛については豪州の例があり<sup>38</sup>、さらに、80% 以上の頭部離断精子を産出する 2 頭の不妊雄牛がデンマークでも見出されて、Blom (1977)<sup>39</sup>は家畜の輸出入に当たっての注意を呼びかけている。

頸部附着部の形成不全は人精子でも見られ、Luders (1976)<sup>40</sup>はドイツで不妊男性 3 名の精液中に 52~65% に及ぶ 160° 以上の角度の首折れ精子を見出し、頸部異常を報告した。この例は牛における報告と一致するが離断は起こしていない。類似の首折れ精子は round headed sperm の報告にも見出される<sup>41,42</sup>。

Perotti ら (1981)<sup>43</sup>はイタリアの不妊男性で全ての精子が尾部離断を呈した症例を電顕で調べ、大部分は関節窩の形成不全から起こるもので、その頸部は proximal centriole (頸部中心体) を持つ正常構成であったが、一部関節頭部に chromatoid body や centriole adjunctive を容れた原形質小滴を持つものがあり、中には spindle shape body の遺残物を付けていたり、中片部の mitochondria 鞘を欠くものも発

見した。これらの所見から彼等は雄牛の遺伝性を支持し、この例も遺伝的なものであらうと類推した。

同じくイタリアで別の不妊患者の biopsy 材料について研究した Baccetti ら (1984)<sup>44</sup>は spermiogenesis 段階で acrosome と centriole の間のゴルジ複合体が膜小胞体を過剰に産生することが頭部と尾部を離断させる原因であると結論づけた。類似の頭部離断精子をもつ不妊患者の biopsy 検索を行ったドイツの Holstein ら (1986)<sup>45</sup>は、精子頸部の proximal centriole が頭部に附着して、distal centriole 由来の尾部が離断する症例を発表し、その原因は spermatid が頸部形成に当たって pericentriolar granular material の欠損または不足による頸部の striated columns の形成不全によるものであるという新たな知見をつけ加えた。そして、この症例は時折り spindle shape body の欠損や異常によって中片部の形成不全も併発することを追証した。

## 2. persistence of cytoplasmic droplet, pseudodroplet (原形質小滴の遺残)

家畜の射精精子における原形質小滴の遺残は珍らしくないし、その内部微細構造についても詳細に報告されている<sup>46,47</sup>。この原形質小滴は通常、未熟精子の頸部から中片部にかけてみられるが、大方は精巢上体通過中に消失し、成熟した正常精子では痕跡を止めない。一般に、この小滴の附着は造精機能の over work とみなされ、これが精子頸部に附着している例は重症である。

Blom (1968)<sup>48</sup>はデンマークへ輸入したフリーシェン種雄牛 5 頭 (内 2 頭は兄弟) の精子が高率に原形質小滴をもち、しかもその附着点の中片部で特徴的に折り返していることに注目し、この異常を pseudo-droplet と命名し、その遺伝性の可能性を推論した。切片標本によるこの小滴は直径 250~550 Å の電子密度の高い顆粒塊から構成されていることが電顕により明らかとなった<sup>49</sup>。しかし、この顆粒が virus 等の病原体であるかどうか現在のところ不明である。一方、Rao (1971)<sup>50</sup>はスウェーデンで 23 頭の不妊牛について調査、研究し、それらの精液中に異常に原形質小滴の多い未熟形精子 (12~29%) を見出し、この異常の遺伝性を考えた。

## 3. microtubular mass defect (微小管遺残物の附着)

米国で近親関係にある低受胎馬 7 頭の精子の微細構造を調べた Heath ら (1985)<sup>51</sup>は、その頸部原形質の小滴内あるいは頭部に直径 18~19 nm の微小管塊を持つ異常を発見した。彼等はその起源を精子完成過程に現われる特有の manchette (頭部形成の際

の微小管から成る外套)に関連ある物と考え、系統内における遺伝的要因の可能性を示唆した。

4. centriole defect (頸部近位中心体の異常あるいは欠損)

極端に特殊化した細胞としての精子にとって、その中心体の変化や機能は必ずしも十分に解明されつくしている訳ではないが、少なくとも一般体細胞にみられる中心体から、精子の頸部近位中心体と軸線維束(axial fibrillar complex)が派生することを考えれば、これらの構造物の欠損等は無視出来ない。

精子における中心体欠損の証拠は、ラットの精巣内精子について Woolley and Fawcett (1973)<sup>52)</sup>によって初めて見出された。すなわち、spermiogenesis過程で近位中心体を消失し、頸部に壁龕上の空所を形成する例であり、彼らはこの異常を受精現象に関する文献と比較検討し、少なくとも受精後の第一分裂には影響がないものと考えた。類似の近位中心体の欠除とみなされる像や頸部内における空胞形成は豚の射精精子でも発表されている<sup>53)</sup>。

その後、Thilanderら(1985)<sup>54)</sup>は精液性状に異常のあるエアシャー種とフリージアン種牛の射精精液や生殖器について研究を進め、それらの精子から尾部の非対称性附着、附着部の脱臼、空胞形成、中心体の附着異常等を検出し、この種の異常は遺伝的なものであろうと推定した。

5. double tail, multiple tail (尾部の重複)

人や家畜の異常精子の中で、巨大頭部と共に尾部の重複例は古くから衆知のもので、奇形の分類に関する多くの文献に記載されている<sup>1-18)</sup>。

Kojima (1973)<sup>55)</sup>は2日間40℃を越える発熱症状を呈した雄豚が重複精子(最高8精子が同一細胞膜内に存在)を射出した例を報告し、この異常が精巣中に既に存在する多精子合胞体(multiple sperm syncytium)であることを証明した<sup>56,57)</sup>。

スイスで Bertschinger (1975)<sup>58)</sup>、Zerobinら(1978)<sup>59)</sup>はブラウン・スイス種牛の Achim 系について2倍体精子(巨大頭部又は重複頭部)を20%以上産生する遺伝的な系統例を報告し、Wildら(1978)<sup>60)</sup>は異常精子の多くは尾部も重複することを確かめた。また、オーストリアで Czaker and Mayer (1984)<sup>61)</sup>は不妊のシンメンタール種牛について頭部離断を含む重複精子の例を見出し、尾部も重複していることを報告し、その遺伝性を予告した。チェコスロバキヤの Zirbin and Tomajkova (1974)<sup>62)</sup>は低受胎の牛や馬の精子合胞体例を報告し、重複精子が染色体の異常に起因し胎児の早期消失につながるという従来の学説<sup>63-65)</sup>を支持した。重複や多尾精子について

は他に豚<sup>66)</sup>、兎<sup>67,68)</sup>、馬<sup>69)</sup>などの報告がみられる。

人精子の尾部重複についてもいくつかの報告があり<sup>18,70-77)</sup>、スペインの Nistalら(1977)<sup>75)</sup>は巨頭精子が4本の尾部を持つ症例を発表している。中でも Holstein and Schirren (1979)<sup>18)</sup>や Escalier (1983)<sup>76)</sup>はこの種の異常の遺伝性を示唆している。しかし、イスラエルで30%を越える重複精子異常の症例を見出した Zuckermanら(1986)<sup>77)</sup>はこの種の異常は心理的加圧<sup>78)</sup>、zincの欠乏<sup>79)</sup>、seleniumとvitamin E欠乏<sup>80)</sup>などに起因するもので、正常精子が10~15%あれば受精に充分であると、楽観的見解を述べている。この所見は、40%を越える異常精子を産出する若者にも受精能があるという発表<sup>81)</sup>や、形態異常の精子の受精能に関する報告例等<sup>82-86)</sup>を参照すると、臨床家にとって究めて興味ある問題を提供して将来の追求が待たれる。

#### 中片部の異常

ここにあげる中片部の異常は中片部のみに止まらず、以下の尾部主部、尾端部の異常を含み、主たる異常が中片部に先ず出現する為便宜上の分類方法をとって重複を避けた。

1. coil tail (尾部弯曲, 中片部以降の尾部全体にわたる強度の巻き込み)

精子の尾部がゆるやかな弯曲をしたり、中片部で折り返す hairpin curve の例については多くの報告がある<sup>87,88)</sup>。すなわち、折り返し点の中片部下方 Jensen 氏の終輪近くに起こる腰折れが特徴であり、それらの例は頭部からみて後退運動しか出来ず、自然状態では雌性生殖器内の受精部位に到達出来ない為受精に関与しないと考えられている。この変形異常は精巣内ではみられず<sup>89)</sup>、精巣上体の病変<sup>89,90)</sup>によって発症するもので尾部構築に異常の無い限り、精巣上体の生理状態が3復すれば正常精子の産出が可能となることも明らかとなった。類似の症状は兎における人工陰辜処理<sup>91)</sup>や実験的な浸透圧の変化<sup>92)</sup>などによっても発生する。マウスではこの種の異常精子の発生し易い系統がみつかっている<sup>93)</sup>。

一方、精子尾部の一点での曲り(curve, recurve, bent)とは別に、中片部以降の尾部全体が強度の巻き込み旋回(coil)した異常は光顕時代から知られ、多くの報告があり、電顕による切片像も牛<sup>94)</sup>、豚<sup>95)</sup>、人<sup>72,96)</sup>等の精子について提示されている。人の immotile syndrome の症例で頭部を含む強度の弯曲精子を示した例では、Afzelius and Eliasson (1979)<sup>97)</sup>は遺伝にからむ突然変異と解釈した。

この精子の旋回形態はその機能との関連上古くから注目されているが、近年、牛<sup>98,99)</sup>や、人精子<sup>100,101)</sup>

が人工的に尾部旋回を起こし細胞膜も癒合し得ることが立証され、精子形態のみならず精子を含む細胞膜の脆弱性等も論議の対象となってきた。このことは精子の内部構造のみならず、外界感作への耐性や細胞膜の強度等も将来、分子レベルでの遺伝の問題となり得るであろうことを暗示している。

なお、精子の軸線維束の外側の dense fiber は弾性抵抗要素 (stiff elastic element) であろうという説が出されているが<sup>102)</sup>、その観点からみて、軸線維束や構築に欠損のある弯曲尾部の横断像では欠損部分が内側に位置している傾向がみられる。このことは精子尾部の運動や機能を考える時興味深い。

## 2. Dag defect, Ard defect (中片部の強度の折れ曲り, あるいは腰折れ異常)

デンマークで精子尾部の Jensen 氏の終輪近辺における折れ曲り、鋭い折り返し、あるいは中片部から尾端部を含む強度の巻き込み等の異常精子を高率に生産した、父母を同じくする兄弟のジャージー種の不妊雄牛が発見され、その牛の名号からこの異常が Dag defect と命名された<sup>103)</sup>。この異常は電顕により尾部主部以降の axoneme の 1~4 の microtubules を欠く尾部の旋回、折れ曲り等が確認され、その遺伝性が推定された<sup>104)</sup>。しかし、同じデンマークでジャージー種牛で axoneme の 4~7 の微小管欠損の Dag defect を見出した Koefoed-Johnson and Ederesen (1971)<sup>105)</sup> は精子成熟以前の細胞質内酵素 lysosome の働きによる影響と考えた。酵素の影響は、男性不妊薬 DICA 投与の猿の精子が axoneme 構成を乱し精巣上体内で精子尾部の弯曲をきたす、という報告をした Lobl and Mathew (1978)<sup>106)</sup> によって支持された。

Dag defect は、その後、精子各部の異常も含めてオーストリアの馬<sup>107)</sup>、デンマークのジャージー種牛<sup>108)</sup>でも報告され、オランダの大ヨークシャー種豚の例ではその名号から Ard defect と提称された<sup>109)</sup>。さらに、この異常が 30% を超える精子を産生したハンガリーの雄豚の例で遺伝とみなした報告もある<sup>110)</sup>。

一方、食餌中の zinc 含量が精子形成に重要な意義を持つことはよく知られているが<sup>111)</sup> 低 zinc 含有飼料によって飼育されたラットの精細管が萎縮し、そこで生産される精子の axoneme を構成する微小管が欠損するという奇形を招くことが証明された<sup>112)</sup>。Dag defect が 50% 以上の 4 頭のジャージー種牛 (内 2 頭は兄弟) の精液について zinc 含量を調べた Blom and Wolstrup (1976)<sup>113)</sup> は、疾患牛では性漿と精子の outer dense fibers に正常の倍量近い zinc が存在する成績を得て、遺伝性と共に問題を提起している。

このように本症について種々の要因が考えられる中で、デンマークで 17 年間にわたって Dag defect 精子を産出する 15 頭のジャージー種牛を診察した Koefoed-Johnsen ら (1980)<sup>114)</sup> は、何れの雄牛も両親の系統をたどると Dag 号に到達し、罹患牛をもどし交配 (近親交配) して得られた 38 頭の雄牛の中 6 頭が Dag defect 精子を産生したことから autosomal recessive gene に由る異常という最終結論に至った。さらに、彼等は 17 頭の牛生殖器を検査し、それらが組織学的にも生化学的にも正常のものと変わらないが、精巣上体頭部、通過後に形態異常が進行することをつきとめた。

## 3. mitochondrial sheath defect, corkscrew defect (ミトコンドリア鞘の形成不全, 部分的および全部欠損)

中片部の mitochondria の配列不全が不妊のデンマーク種牛 2 頭の精子で見出され、その形状から corkscrew sperm と名づけられ、萎縮中の精巣から産出されることが分かった<sup>115)</sup>。日本でも Ishikawa ら (1964)<sup>116)</sup> が 2 頭のホルスタイン種牛で類似の症例を報告している。また Kojima ら (1969)<sup>94)</sup> は人工受精に供用されている雄牛の精液中から mitochondria 鞘形成不全の精子の内部構造を明示した。これらの症例はフランスでも見つかっている<sup>117)</sup>。ブラジルでは不妊の Gyr 牛で報告があり<sup>118)</sup>、後者は系統的なものとみなされた。類似の軽症をランドレース豚で発見した Blom (1973)<sup>119)</sup> は、この異常の原因が尿道憩室内に残留した精子の細菌感作によるものと解釈した。精液性状の悪いスウェーデン赤牛 2 例の精巣について電顕的探索を行った Hellmen ら (1980)<sup>120)</sup> は、mitochondria の配列不全は精巣中で起こり、中片部脆弱化から頻々尾部全体の弯曲や折り返しを起こし、異常は遺伝するものとみなした。

興味ある実験結果として、ethylene dibromide を注射したカナダの羊が knobbed acrosome やその他の異常と共に顕著な corkscrew defect を示した<sup>121)</sup>。また、雄性不妊剤 Gossypol 注射によってもラット精子の mitochondria 鞘の形成不全が起こった<sup>122,123)</sup>。

人における corkscrew defect の症例は見当たらないが、日本で mitochondria 鞘の部分的および完全欠損等の症例報告はあり<sup>70,124)</sup>、カナダの不妊症例でも報告されている<sup>125)</sup>。これらの異常は精子細胞段階の例もあり<sup>17)</sup>、頭部離断例中にもみられる<sup>43~45)</sup>。また、首曲り精子の報告例中にも見出される<sup>96)</sup>。

## 4. prolongation of middle piece (中片部の延長異常)

1971 年に英国の低受胎の男性<sup>126)</sup> とデンマークの

asthernospermia の患者の精子異常例が報告された<sup>127)</sup>。これらの症例は何れも中片部が過剰に伸長し、尾部主部の線維鞘 (fibrous sheath) を欠く点で共通しているが、細部にわたっては微小管の余剰や mitochondria の片側の余剰配列など複雑な異常構成を持つ精子も見出された。類似の症例がフランスで 2 人の不妊男性の精子でも報告され、附随する過剰な微小管数は重複精子の片方の形成不全と全体によって起こることを示唆している<sup>128)</sup>。最近、我国においても中片部延長例が見つかった<sup>124)</sup>。これらの異常について Nistal and Paniagua (1984)<sup>129)</sup> は遺伝性を考えている。

5. stump tail, tail stub defect (尾部の短縮, 切り株状尾部)

精子尾部の形成不全の極端な例として数 10  $\mu$  にわたる尾部全体の正常な伸展がなく、短い尾部しか持たない部分的欠損がある。これらは魚類の精子にみられる様な中片部の形成が痕跡的なものから、全体として点状のもの (輪郭としては帽子の飾りボタン状となる)迄あって、decapitated sperm と間違い易く、異常は種々の段階にわたっている。

この異常はカナダでエアシャー、ショートホーンおよびホルスタイン種の不妊牛の精子について指摘され<sup>130)</sup>、加歳と共に増加し、tail stump と呼ばれた。その後、デンマークでもホルスタイン種牛で見出され tail stub defect とも呼ばれ、その遺伝性 (recessive gene) が疑われている<sup>131)</sup>。ブラジルではゼビウ種牛 (*Bos insicus*) で近親の Gyr 系雄牛 7 頭に stump tail を含む種々の中片部形成不全の精子が検出され、系統的なものともみなされた<sup>132)</sup>。次いで同国のヘレフォード種牛でも類似の遺伝性が暗示されている<sup>133)</sup>。さらに、同様の症例がジャーマン・フリージアン種牛、スウェーデン赤牛、オーストリアの肉牛でも見出され、デンマークでは輸入牛の子孫で 60% の tail stump 精子を産出する 2 頭の例について精巢迄遡ってその起源を電顕的に検索し、spermiogenesis 過程における遠位中心体 (distal centriole) の機能消失によるものと推定された<sup>134)</sup>。

フィンランドで Vierula ら (1983)<sup>135)</sup> はエアシャー種牛の精液中に <1% の比率で stump tail を見出し、その内部構造を調べ遺伝するものと報告し、アメリカでも Arriola ら (1985)<sup>136)</sup> がエアシャー種牛の oligoteratozoospermia の精子について調べ、recessive gene によるものと考察した。tail stump 精子は兎<sup>137)</sup>や馬や犬<sup>138)</sup>などでも報告されている。

人精子については、不妊男性の極端に短い異常構成の尾部を持つイタリアからの 2 例の報告<sup>139)</sup>や、フ

ランスの不妊症例<sup>140)</sup>がみられる。

6. annulus defect, Jensen's ring defect (Jensen 氏の終輪の欠損あるいは異常)

Jensen 氏の終輪は中片部の mitochondria 鞘をしめくり、以下の尾部主部との区分を明確にしている構造物である。従って、stump tail 等の場合、この構造物の欠損や不全等の異常が起こる。

終輪の位置異常が人精子について、日本<sup>70)</sup>やフランス<sup>145)</sup>で報告されている。また、終輪の欠損については、人精子でフランス<sup>76)</sup>やデンマーク<sup>127)</sup>から症例報告があり、家畜に関してはオーストラリアの低受胎の馬精子で報告がみられる<sup>107)</sup>。

### 尾部主部の異常

尾部主部の異常は中片部同様、精子の尾部全体と関連するものも多い。すなわち、整理の都合上、頸部に分類した原形質小滴の遺残<sup>48)</sup>および multiple tail<sup>18,55-76)</sup>、さらに、中片部に分類した coil<sup>72,94-97)</sup>および stump tail<sup>130-140)</sup>などが含まれる。

このことはまた、主部に分類して以下に記述される dense fiber の異常や axoneme の異常等も主部に限らず、中片部にも出現して以下の尾部全体に波及している例もみられる。

1. fibrous sheath defect (尾部線維鞘の異常, 欠損)

スウェーデンで Einarsson and Nicander (1968)<sup>141)</sup> は馬精子の尾部主部における fibrous sheath が不規則な配列を示し、頻々 rib の欠損が起こることを報告した。

人ではイギリスの低受胎の症例<sup>126)</sup>やデンマークの劣化精子の症例<sup>127)</sup>で、夫々 fibrous sheath を全く欠いた尾部主部の異常が提示されている。この部分は尾部の中でも比較的安定した構造物であるが<sup>142)</sup>、細かな異常は多くの場合他の部分の奇形と併発する為、直接論議の対象となりにくい。しかし、遺伝が予測される精子異常の電顕写真で rib の部分的欠損等も認められるので注意を要する。

2. dense fiber の消失 (外側緻密線維の欠損)

人精子についてフランスの研究者らが詳細な探索を行ない<sup>143)</sup>、axoneme に附随する dense fibers の Nos. 8 と 3 が最も早く最初に消失し、Nos. 9, 6 および 1 の順に最後迄残ることを報告している<sup>168)</sup>。

一般に dense fiber の存在は附随する axoneme の微小管の消失と命運を共にすることが多く、Dag defect の症例<sup>108,114)</sup>でこのことが証明されている。

ベルギーで 50 例の精子無力症について調べた Casseye ら (1980)<sup>144)</sup> は 3 例の精子尾部の複雑な形態異常を見出し、外側緻密線維の欠損も含まれる axoneme の異常は spermatogenesis 段階に起こるも

のと考察した。

### 3. longitudinal column defect (尾部縦柱の欠損)

この異常は尾部の真正横断面が連続切片によってのみ判定し得るもので、報告例は少ない<sup>143)</sup>。

フランスの Escalier and Serres (1985)<sup>145)</sup>は人精子について、軸線維束に異常のある奇形を光顕と電顕で対比し axoneme 周辺の異常の発現率を算定したが、尾部縦柱についても不整や欠損を見出し異常精子の運動性や coil 変形との関連性を追求した。彼等は Raff (1984)<sup>146)</sup>の文献を引用して、これらの異常が single copy genes に由来することを支持した。更に、スイスで Walt ら (1982)<sup>147)</sup>は不妊の男性の精子からこの column の欠損や余剰などの異常を見出し、突然変異によるものと考えた。

### 4. axoneme の異常 (微小管線維束の異常)

axoneme の構成 (2+9n) の異常は多くの動物精子について散発的にみられるが、Nagano (1963)<sup>148)</sup>はラットに人工陰嚢処理を施してその発生を報告した。その際、axoneme の中心微小管対と微小管 A の方が外界感作に対してより感受性が高く、脆いことを証明している。

a) immotile-cilia syndrome, Kartagener's syndrome (上皮細胞繊毛の運動性欠損症候群, カルタゲネル氏症候群)

スウェーデンで Afzelius 一派 (1975)<sup>149)</sup>は運動性を欠く人精子を調べ、尾部の axoneme の中で dynein arms の欠損を見出し、その弟も類似の症状を示し、その原因が Kartagener's syndrome<sup>150)</sup>であることをつきとめた。同じ年にデンマークでも Pedersen and Rebbe (1975)<sup>151)</sup>が類似の症例を発表した。また、Afzelius らはこの異常が風邪や中耳炎と関係があり、気管や気管支炎の患者にみられる繊毛の運動性欠損と合併する immotile-cilia syndrome であり、遺伝的なものであることを強調した<sup>152,153)</sup>。

ニュージーランドでは Waite ら (1978)<sup>154)</sup>が Samoan polynesia の気管支拡張症の症例でその精子尾部における dynein arms の欠損を報告した。さらに、Afzelius ら<sup>97,154)</sup>は精子 axoneme の dynein の中 inner arms の欠損が運動性の欠除につながることをつきとめ、14 人の症例について 5 groups に分類した<sup>156)</sup>。この dynein arms の欠損はカナダでも症例が発表されている<sup>157)</sup>。

Afzelius (1981)<sup>158)</sup>は immotile-cilia syndrome は多分 recessive gene 支配による雄性不妊症を起こし、axoneme が dynein arms の欠損から左右対称となり、胎児発生の際、心臓の左側配置を妨げる要因となり得ることを指摘した。

イタリアでは Baccetti ら (1979)<sup>159)</sup>が axoneme の中心微小管対を欠く (0+9n) の症例を発表した。その症例は所謂 central sheath と呼ばれる spokes も欠損していた。類似の例は Lungarella ら (1982)<sup>160)</sup>によっても報告されている。さらに Baccetti ら (1980)<sup>161)</sup>は Kartagener's syndrome の例で axoneme の全部欠損例も発表している。この異常に関連してフランスの Escalier ら (1982)<sup>162)</sup>は 34 名の子供の cilia の異常を調べその親族関係の調査から遺伝的なものと結論づけている。この immotile-cilia syndrome の異常についてスウェーデンの Palmblad ら (1984)<sup>163)</sup>は 10 型に分類した。

フランスで 57 人の不妊症患者の精子尾部について調べた Escalier and David (1984)<sup>164)</sup>は axoneme 周辺の微細構造の乱れを分析し、哺乳動物で tubulin を含めた蛋白質構成の異常に限られた系統内に遺伝因子として内在するという仮説<sup>146)</sup>を支持した。そして、この異常は運動性との関連において種々論じられている<sup>145,165)</sup>。アメリカで呼吸器系疾患を含む男性不妊症 4 例で運動性を欠く精子について検索した Williamson ら (1984)<sup>166)</sup>は、何れにも精子中片部から尾部にわたる axoneme の異常を認め、acquired immotile sperm syndrome (s) と呼び、この異常が精巢の損傷や生殖器感染によっても発症することを証明した。Immotile-cilia syndrome の症例は最近日本でも報告されている<sup>167)</sup>。

b) Usher's syndrome (色素性網膜炎症候群)

色素性網膜炎は網膜の変性萎縮による進行性盲目化で知られ、聾の合併症が高率に発生するという。

内耳の感覚上皮が cilia を持つ細胞に由来することに注目したイギリスの Arden and Fox (1979)<sup>169)</sup>は鼻粘膜上皮細胞の axoneme の形成異常を見出した。この疾患は X 染色体上に位置する単純な劣性遺伝因子によるもので、研究者の名前をとって他の名称 (Laurence-Moon-Biedl syndrome, Cockayne's syndrome) でも呼ばれているが、アメリカの Hunter ら (1986)<sup>170)</sup>は最初の発見者の名を採って Usher's syndrome と命名している。彼等は 10 名の患者の精液を調べ、運動性が劣り、精子の axoneme に不整、余剰、欠損がみられ、dynein arms の欠除等の異常の存在を確認し、網膜の炎症の進行と平行して精子尾部奇形の増加が起こるものと推測した。

マウスでは劣性の突然変異として盲目性不妊症の遺伝因子が第 2 染色体上に位置していることが分かっている<sup>171)</sup>。この不妊は arrested spermatogenesis と報告されたが Sotomyor and Handel (1986)<sup>172)</sup>はこの現象が acrosome の欠損や形成不全に起因するこ

Table 1. : Sperm defects suspected inheritance : Tail

	Abnormal type	Breed	Author(s)	Country	Heritability
neck piece	○ disintegrated	bull	HANCOCK & ROLLINSON (1949)	U. K.	species specific gene
	decapitated	bull	JONES (1962)	U. K.	sex-limited recessive gene
		human	PEROTTI et al (1981)	Italy	+
	○ pseudo-droplet	bull	BLOM (1968)	Denmark	+ ?
	○ microtubular mass	stallion	HEATH et al (1985)	U. S. A.	+ ?
	○ centrioler defect	bull	THILANDER et al (1985)	Sweden	+ ?
	○ double tails	bull	BERTSCHINGER et al (1975)	Swiss	Achim strain
	(multiple)	bull	CZAKER & MAYER (1984)	Austria	+
		human	HOLSTEIN (1975)	Germany	+ ?
		human	ESCALIER (1983)	France	+ ?
middle piece	○ coil	human	AFZELIUS & ELIASSON (1979)	Sweden	mutant (immotile cilia syndrome)
	○ Dag defect	bull	BLOM (1966)	Denmark	+
		stallion	CHENOWETH et al (1970)	Australia	+ ?
	Ard defect	boar	DUIJN (1972)	Netherland	+
		bull	KOEFOD-JOHNSEN et al (1980)	Denmark	autosomal recessive gene
	○ cork screw	bull	BLOM (1959)	Denmark	
	mitochondrial sheath defect	bull	HELLMEN et al (1980)	Sweden	+
	○ prolongation	human	NISTAL & PANIAGUA (1984)	Italy	+ ?
	○ stump	bull	COUBROUGH & BAKER (1964)	Canada	
		bull	BLOM (1976)	Denmark	recessive gene
principal piece	○ abnormal annulus	stallion	CHENOWETH et al (1970)	Australia	+ ?
	○ fibrouth sheath defect	stallion	EINARSSON & NICANDER (1968)	Sweden	+ ?
		human	ROSS et al (1971)	U. K.	
		human	PEDERSEN et al (1971)	Denmark	
	○ dense fibers	bull	ZULETH et al (1978)	Denmark	+ (=Dag defect)
	○ longitudinal column defect	human	ESCALIER & SERRES (1985)	France	+ mutant
		human	SERRES (1986)	France	single copy gene
	abnormal axoneme				
	○ immotile cilia syndrome	human	AFZELIUS et al (1975)	Sweden	+ (=Kartagener's syndrome)
	○ Usher's syndrome	human	HUNTER et al (1986)	U. S. A.	simple recessive gene on X-chromosome

とを証明した。したがって現段階では Usher's syndrome と類似の不妊症の結果をもたらす疾患であるが、全く別のものであろうと考えられる。

以上、遺伝が予測される精子の形態異常の中、主として家畜や人精子の尾部に関するものを取り集め、第1表にまとめてみた。表に掲げたように、16種類の尾部の形態異常が報告されているが、前報、頭部の異常<sup>25)</sup>の例と合わせると、重複するものを除き合計26種類となる。

実検用小動物の精子の異常については多数の報告がみられるが(例えば、文献21, 52, 171, 173, 174

など)、本報ではその内容の検討を割愛した。

この分類は、あくまで形態学上のものであり、今後、形態のみならず、生化学的あるいは物理化学的手法により、精子の構成成分の異常(例えば、核酸や酵素等の成分異常)等にかかわる遺伝が究明され、より優れた整理、分類が期待される。

最近、少なくとも精子の運動に関連して、微小管について分子レベルの研究が盛んである<sup>175)</sup>。そして又、形態と機能との関連が注目され<sup>176-178)</sup>、とり分け受精能との関係が重要視されてきている<sup>179)</sup>。哺乳動物精子の機能テストも zona-free hamster egg pene-

tration test (ZFPT 法)<sup>180-182)</sup>により活発に行われている。しかし、この機能テストも自然界では逆淘汰される筈<sup>183)</sup>の運動性を欠く精子<sup>184)</sup>や形態学的に異常な精子も受精する例が報告されている<sup>185)</sup>ので注意を要する。我々の研究室でもその種の例を観察しているが、今後の問題として興味深いものがある。

本総説の概要は第31回日本不妊学会のシンポジウム(1985 X 16・仙台)において発表したものである。関係者各位に深謝致します。

### 文 献

- 1) Retzius, G.: Weitere Beitrage zur Kenntniss der Spermien des Menschen und einiger Säugetiere. Biol. Untersuch., 7: 45, 1902.
- 2) Retzius, G.: Biol. Untersuch., 14: 321 pp, 1909.
- 3) Lagerlof, N.: Morphologische Untersuchungen uber Veränderungen im Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilitate. Acta path. microbiol. scand., Suppl. 19, 1934.
- 4) Blom, E.: On the evaluation of bull semen with special reference to its employment for artificial insemination. Thesis, Copenhagen, 1950.
- 5) Bretschneider, I. H.: Die Morphogenese und Pathogenese der Spermien von Stier. I & II. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch. Amsterdam, Ser. C, 58: 495, 1955.
- 6) 石川恒: 雄牛不妊症の臨床診断要領. 日獣会誌, 15; 319, 1962.
- 7) Freund, M.: Semen analysis. In Progress in Infertility. Behrman, S. J. and Kistner, R. W. eds. 593. Boston, Little Brown and Co., 1968.
- 8) MacLeod, J.: The significance of deviations in human sperm morphology. In The Human Testis. ROSENBERG, E. and PAULSEN, A. eds. 481. New York-London Plenum Press, 1970.
- 9) Seuanez, H. N., Carothers, A. D., Martin, D. E. and Short, R. V.: Morphological abnormalities in spermatozoa of man and great apes. Nature, 270: 345, 1977.
- 10) Blom, E.: The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. VIIth Int. symp. Zootech., Milano, 125, 1972.
- 11) Fujita, T.: Abnormal spermatozoa and infertility (man). In Scanning Electron Microscopic Atlas of Mammalian Reproduction. HAFEZ, E. S. E. ed., 82, Igakushoin Ltd., 1975.
- 12) Bisson, J. and David, G.: Anomalies morphologiques du spermatozoïde humain. 2) Etude ultrastructurale. J. Gyn. Obst. Biol. Repr., 4: Suppl. 1: 37, 1975.
- 13) Bartoov, B., Eltes, F., Weissenberg, R. and Lunenfeld, B.: Morphological characterization

of abnormal human spermatozoa using transmission electron microscopy. Arch. Androl., 5: 305, 1980.

- 14) Bartoov, B., Fisher, J., Eltes, F., Langsam, J. and Lunenfeld, B.: A comparative morphological analysis of abnormal human spermatozoa. In Advances in Diagnosis and Treatment of Infertility. INSLER, V. and BETTEN-DORF, G. eds. 355. Elsevier North Holland, Inc., 1981.
- 15) Afzelius, B.: Abnormal human spermatozoa including comparative data from apes. Amer. J. Primatol., 1: 175, 1981.
- 16) 小島義夫: 精子と精子形成の異常. In 造精障害の病態と治療, 町田豊平編, 7, 医学教育出版社, 1985
- 17) Holstein, A. F.: Morphologische Studien an abnormen Spermatiden und Spermatozoen des Menschen. Virch. Arch. A Path. Anat. Histol., 367: 93, 1975.
- 18) Holstein, A. F. and Schirren, C.: Classification of abnormalities in human spermatids based on recent advances in ultrastructure research on spermatid differentiation. In The Spermatozoon. Fawcett, D. W. and Bedford, J. M. eds. 341. Baltimore-Munich, Urban and Schwarzenberg, Inc., 1979.
- 19) Bane, A.: Control and prevention of inherited disorders causing infertility. Brit. vet. J., 124; 1, 1968.
- 20) Becker, R. B. and Wilcox, C. J.: Hereditary defects of spermatozoa. An illustrated review. A. I. Digest, 17; 8, 1969.
- 21) Beatty, R. A.: The genetics of the mammalian gamete. Biol. Rev., 45; 73, 1970.
- 22) Bishop, M. W. H.: Genetically determined abnormalities of the reproductive system. J. Reprod. Fert., Suppl. 15; 51, 1972.
- 23) Hancock, J. L.: Spermatogenesis and sperm defects. In The Genetics of the Spermatozoon. BEATTY, R. A. AND GLUECKSOHN-WAEISCH, S. Eds. 121, Univ. Edinburgh, 1972.
- 24) Gledhill, B. L.: Inherited disorders causing infertility in the bull. J. Amer. vet. med. Ass., 162; 979, 1973.
- 25) 小島義夫: 遺伝が予測される精子の形態異常: 頭部. 日不妊会誌, 33; 187, 1988.
- 26) Afzelius, B.: Electron microscopy of the sperm tail. Results obtained with a new fixative. J. biophys. biochem. Cytol., 5; 269, 1959.
- 27) Linck, R. W.: Advances in the ultrastructural analysis of the sperm flagellar axoneme. In The Spermatozoon. FAWCETT, D. W. and BEDFORD, J. M. eds. 99, Baltimore-Munich, Urban and Schwarzenberg, 1979.
- 28) Holst, S. L.: Sterility in boars. Nord. Vet. Med.,

- 1;87, 1949.
- 29) Hancock, J. L. and Rollinson, D. H. L.: A seminal defect associated with sterility of Guernsey bulls. *Vet. Rec.*, 61; 742, 1949.
- 30) Haq, I.: Causes of sterility in bulls in southern England. *Brit. vet. J.*, 105; 71, 1949.
- 31) Hancock, J. L.: The disintegration in bull spermatozoa. *Vet. Rec.*, 67; 825, 1955.
- 32) Hancock, J. L.: The morphological characteristics of spermatozoa and infertility. *Int. J. Fert.*, 4; 347, 1959.
- 33) Jones, W. A.: Abnormal morphology of the spermatozoa in Guernsey bulls. *Brit. vet. J.*, 118; 257; 1962.
- 34) Van Rensburg, S. W. J., Van Rensburg, S. I. and De Vos, W. H.: The significance of the cytoplasmic droplet in the disintegration of semen in Guernsey bulls. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 33; 169, 1966.
- 35) Williams, G.: An abnormality of the spermatozoa of some Hereford bulls. *Vet. Rec.*, 77; 1204, 1965.
- 36) Settergren, I. and Nicander, L.: Ultrastructure of disintegrated bull sperm. VIth Int. Cong. Anim. Reprod. A. I., Vol. 1, 191, 1968.
- 37) Blom, E. and Birch-Andersen, A.: Ultrastructure of the decapitated sperm defect in Guernsey bulls. *J. Reprod. Fert.*, 23; 67, 1970.
- 38) Wright, P. I.: Detached heads in the ejaculate of a Hereford bull. *Aust. vet. J.*, 50; 39, 1974.
- 39) Blom, E.: A decapitated sperm defect in two sterile Hereford bulls. *Nord. Vet. Med.*, 29; 119, 1977.
- 40) Luders, G.: Ein defekt der Kopf-Schwanz-Verknüpfung bei menschlichen Spermatozoen. *andrologia*, 8; 365, 1976.
- 41) Pedersen, H. and Rebbe, H.: Fine structure of round-headed human spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 37; 51, 1974.
- 42) Baccetti, B., Renieri, T., Rosati, F., Selmi, M. G. and Casanova, S.: Further observations on the morphogenesis of the round headed human spermatozoa. *andrologia*, 9; 255, 1977.
- 43) Perotti, M. E., Giarola, A. and Gioria, M.: Ultrastructural study of the decapitated sperm defect in an infertile man. *J. Reprod. Fert.*, 63; 543, 1981.
- 44) Baccetti, B., Selmi, M. G. and Soldani, P.: Morphogenesis of decapitated spermatozoa in a man. *J. Reprod. Fert.*, 70; 395, 1984.
- 45) Holstein, A. F., Schill, W. G. and Breucker, H.: Dissociated centriole development as a cause of spermatid malformation in man. *J. Reprod. Fert.*, 78; 719, 1986.
- 46) Bloom, G. and Nicander, L.: On the ultrastructure and development of the protoplasmic droplet of spermatozoa. *Z. Zellforsch.*, 55; 833, 1961.
- 47) Kojima, Y. and Ishikawa, T.: Etude au microscope électronique de la gouttelette protoplasmique observée dans le spermatozoïde chez les taureaux. *Jpn. J. vet. Res.*, 11; 153, 1963.
- 48) Blom, E.: A new sperm defect-pseudo-droplet in the middle piece of the bull sperm. *Nord. Vet. Med.*, 20; 279, 1978.
- 49) Blom, E. and Birch Andersen, A.: The ultrastructure of the "pseudo droplet" -defect in the bull sperm. VIth Int. Cong. Anim. Reprod. A. I., Paris, Vol. 1; 117, 1968.
- 50) Rao, A. R.: Changes in the morphology of sperm during their passage through the genital tract in bulls with normal and impaired spermatogenesis. Thesis, 88 pp., Stockholm, 1971.
- 51) Heath, E., Aire, A. and Fujiwara, D.: Microtubular mass defect of spermatazoa in the stallion. *Amer. J. vet. Res.*, 46; 1121, 1985.
- 52) Woolley, D. M. and Fawcett, D. W.: The degeneration and disappearance of the centrioles during the development of the rat spermatozoon. *Anat. Rec.*, 177; 289, 1973.
- 53) Kojima, Y.: Intracellular vacuoles or vesicles and invagination in boar spermatozoa. *Jpn. J. vet. Sci.*, 43, 37, 1981.
- 54) Thilander, G., Settergren, I. and Plone, L.: Abnormalities of testicular origin in the neck region of bull spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.*, 8; 151, 1985.
- 55) Kojima, Y.: Boar spermatozoa with multiple heads. *J. Reprod. Fert.*, 35; 537, 1973.
- 56) Kojima, Y., Kinoshita, Y. and Fukuda, M.: Multiple headed spermatozoa in the boar testes. *Jpn. J. vet. Sci.*, 36; 363, 1974.
- 57) Kojima, Y. and Kinoshita, Y.: Fine structure of multiple sperm syncytium in the boar testes. *Jpn. J. vet. Sci.*, 37; 555, 1975.
- 58) Bertschinger, H. J.: The heredity occurrence of diploid spermatozoa in the semen of brown Swiss bulls. Thesis, 47 pp., Univ. Zurich, 1975.
- 59) Zerobin, K., Bertschinger, H. J. and Wild, P.: Diploider DNA-Gehalt in Spermien von Stieren der Schweizer Braunviehrasse. *Zuchthyg.*, 13; 113, 1978.
- 60) Wild, P., Bertschinger, H. J. and Zerobin, K.: Raster- und transmissions-elektronenmikroskopische Untersuchungen diploiden bovinen Spermien. *Zuchthyg.*, 13; 107, 1978.
- 61) Czaker, R. & Mayer, B.: Multiple malformation of bovine spermatozoa with special reference to their light microscopic fluorescing pattern and electron microscopic structure. *andrologia*, 16; 61, 1984.
- 62) Zibrin, M. and Tomajkova, E.: Ultrastructure

- of double-headed spermatozoa in bulls and stallions. *Z. mikrosk. anat. Forsch.*, 88; 511, 1974.
- 63) Bishop, M. W. H.: Paternal contribution to embryonic death. *J. Reprod. Fert.*, 7; 383, 1964.
- 64) Sumner, A. T.: Frequency of polyploid spermatozoa in man. *Nature*, 231; 49, 1971.
- 65) Jacobs, P. A.: Chromosome abnormalities and fertility in man. In *The Genetics of the Spermatozoon*. BEATTY, R. A. and GLUECK-SOHN-WAELSCH, S. eds., 346, Univ. Edinburgh, 1972.
- 66) Jones, R. C.: Studies of the structure of the head of boar spermatozoa from the epididymis. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 13; 51, 1971.
- 67) Beatty, R. A. and Fechheimer, N. S.: Diploid spermatozoa in rabbit semen and their experimental separation from haploid spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 7; 267, 1972.
- 68) Phillips, D. M.: *Spermiogenesis*. 68 pp., Acad. Press, 1974.
- 69) Sharma, O. P.: Scanning electron microscopy of equine spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 48; 413, 1976.
- 70) Fujita, T., Miyoshi, M. and Tokunaga, J.: Scanning and transmission electron microscopy of human ejaculate spermatozoa with special reference to their abnormal forms. *Z. Zellforsch.*, 105; 483, 1970.
- 71) Matano, Y.: Ultrastructural study on human binucleate spermatids. *J. Ultrastruct. Res.*, 34; 123, 1971.
- 72) Lacy, D., Pettitt, A. J., Pettitt, J. M and Martin, B. S.: Application of scanning electron microscopy to semen analysis of the sub-fertile man utilising data obtained by transmission electron microscopy as an aid to interpretation. *Micron*, 5; 135, 1974.
- 73) Zamboni, L.: *Fine Morphology of Mammalian Fertilization*. Harper and Row, New York, 46, 1971.
- 74) Nistal, M., Herruzo, A. and Sanchez-Corral, F.: *Teratozoospermia absoluta de presentacion familiar. Espermatozoides microcefalos irregulares sin acrosoma*. *andrologia*, 10; 234, 1978.
- 75) Nistal, M., Paniagua, R. and Herruzo, A.: Multi-tailed spermatozoa in a case with asthenospermia and teratospermia. *Virch. Arch. B Cell Path.*, 26; 111, 1977.
- 76) Escalier, D.: Human spermatozoa with large heads and multiple flagella: a quantitative ultrastructural study of 6 cases. *Biol. Cell*, 48; 65, 1983.
- 77) Zukerman, Z., Sagiv, M., Ravid, A., Ben-Bassat, M., Malik, Z., Shohat, B., Tadir, Y., Ovadia, Y. and Singer, R.: A high proportion of double-headed and double-tailed sperm in semen of a human male. *A case report. andrologia*, 18; 495, 1986.
- 78) MacLeod, J.: Human seminal cytology as a sensitive indicator of the germinal epithelium. *Int. J. Fert.*, 9; 281, 1964.
- 79) Dinsdale, D. and Williams, R. B.: Ultrastructural changes in the sperm tail of zinc-deficient rats. *J. comp. Anat.*, 90; 559, 1980.
- 80) Wu, A. S. H., Oldfield, J. E., Whanger, P. D. and Weswig, P. H.: Effects of selenium, vitamin E and antioxidants on testicular function in rats. *Biol. Reprod.*, 8; 625, 1973.
- 81) Holstein, A. F.: Abnormal spermatid differentiation in man. *日本アンドロロジー学会, 第4回学術大会特別講演*, 15, 1985.
- 82) Smith, D. M., Oura, C. and Zamboni, L.: Fertilizing ability of structurally abnormal spermatozoa. *Nature*, 227; 79, 1970.
- 83) Lalonde, L., Faucher, G., Chapdelaine, A., Roberts, K. D. and Bleau, G.: Fertilizing ability of round-headed spermatozoa. *Fert. Steril.*, 38; 135, 1982.
- 84) Mortimer, D., Leslie, E. E., Kelly, R. W. and Templeton, A. A.: Morphological selection of human spermatozoa in vivo and in vitro. *J. Reprod. Fert.*, 64; 391, 1982.
- 85) Aitken, R. J.: Attributes and applications of the zona free hamster egg penetration test. In *In Vitro Fertilization and Embryo Transfer*. 187, CROSIGNANI, P. G. and RUBIN, B. L. eds., Acad. Press, Grune and Stratton 1983.
- 86) Moryan, A. I., Guay, A. T. and Tulchinsky, D.: Normal penetration of hamster ova by human spermatozoa with dyskinetic motility. *Fert. Steril.*, 45; 735, 1986.
- 87) Kojima, Y.: Fine structure of boar sperm abnormality: Hairpin curved sperm. *J. Electron Microscopy*, 24; 167, 1975.
- 88) Kojima, Y.: Light and electron microscopic studies of "hairpin curved deformity" on boar spermatozoa. *Jpn. J. vet. Sci.*, 39; 265, 1977.
- 89) Gustafsson, B., Einarsson, S., Nicander, L., Holtman, M. and Soosalu, O.: Morphological, physical and chemical examination of epididymal contents and semen in a bull with epididymal dysfunction. *andrologia*, 6; 321, 1974.
- 90) Wenkoff, M. S.: A sperm mid-piece defect of epididymal origin in two Hereford bulls. *Theriogenology*, 10; 275, 1978.
- 91) Ploen, L. and Hakansson, N.: Abnormal epididymal spermatozoa. Two to thirty-five days after a brief experimental cryptorchidism in the rabbit. *Int. J. Androl.*, 1; 250, 1978.

- 92) Drevius, L. O.: Osmotic behaviour, membrane permeability and mobility mechanisms in bull spermatozoa. Thesis, 20 pp., Uppsala, 1972.
- 93) Eyden, B. P. and Maisin, J. R.: Observations on the structure and levels of expression of murine spermatozoan abnormalities with special reference to tail deformations. *Arch. Anat. micros.*, 67; 19, 1978.
- 94) Kojima, Y., Ishikawa, T. and Mifune, Y.: Etude morphologique sur le spermatozoide anormal de taureau au microscope electronique. *Jpn. J. vet. Res.*, 17; 97, 1969.
- 95) Kojima, Y.: Fine structure of boar sperm abnormality: Tightly coiled tail. *Jpn. J. anim. Reprod.*, 24; 89, 1978.
- 96) Renieri, T.: Submicroscopical observations on abnormal human spermatozoa. *J. Submicr. Cytol.*, 6; 421, 1974.
- 97) Afzelius, B. and Eliasson, R.: Flagellar mutants in man: On the heterogeneity of the immotile-cilia syndrome. *J. Ultrastruct. Res.*, 69; 43, 1979.
- 98) Lindahl, P. E. and Drevius, L. O.: Observations on bull spermatozoa in a hypotonic medium related to sperm motility mechanisms. *Exp. Cell Res.*, 36; 632, 1964.
- 99) Drevius, L. O.: Permeability of the bull-sperm membrane. In *The Functional Anatomy of the Spermatozoon*. AFZELIUS, B. A. ed., 373, Pergamon Press, Oxford and New York, 1975.
- 100) Jeyendran, R. B., Van Der Ven, H. H., Perez-Elaez, M., Crabo, B. G. and Zaneveld, L. J. D.: Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fert.*, 70; 219, 1984.
- 101) Schrader, S. M., Platek, S. F., Zaneveld, L. J. D., Perez-Elaez, M. and Jeyendran, R. S.: Sperm viability: A comparison of analytical methods. *andrologia*, 18; 530, 1986.
- 102) Phillips, D. M.: Comparative analysis of mammalian sperm motility. *J. Cell Biol.*, 53; 561, 1972.
- 103) Blom, E.: A new sterilizing and hereditary defect (the "Dag defect") located in the bull sperm tail. *Nature*, 209; 739, 1966.
- 104) Blom, E. and Birch-Andersen, A.: The ultrastructure of a new hereditary sterilizing defect (the Dag defect) in the bull sperm tail. *Proc. Vth World Cong. Fert. Steril.*, Stockholm, 602, 1966.
- 105) Koefoed-Johnsen, H. H. and Pedersen, H.: Further observations on the Dag-defect of the tail of the bull spermatozoon. *J. Reprod. Fert.*, 26; 77, 1971.
- 106) Lobl, T. J. and Mathews, J.: Effect of 1-(2,4-dichlorobenzyl)-indazole-3-carboxylic acid on sperm tails in rhesus monkeys. *J. Reprod. Fert.*, 52; 275, 1978.
- 107) Chenoweth, P. J., Pascoe, R. R. R., Mc Dougall, H. L. and Mc Cosker, P. J.: An abnormality of the spermatozoa of a stallion (*Equus caballus*). *Brit. vet. J.*, 126; 476, 1970.
- 108) Zuleta, M., Koefoed-Johnsen, H. H. and Bresciani, J.: The Dag-defect of the tail of the bull spermatozoon. *Kgl. Vet. -og Landbohojks. Arsskr.*, 21, 1978.
- 109) Van Duijn, C.: Ultrastructural mid-piece defects in spermatozoa from the subfertile great Yorkshire boar "Ard". VIIth Int. Cong. Anim. Reprod., Munchen, Vol. 1, 469, 1972.
- 110) Wekerle, L.: The inheritance of some boar semen anomalies. *Pig News and Information*, 6; 261, 1982.
- 111) Mann, T.: *The Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract*. Methuen and Co Ltd., London, 493 pp., 1964.
- 112) Dinsdale, D. and Williams, R. B.: Ultrastructural changes in the sperm-tail of zinc-deficient rats. *J. comp. Path.*, 90; 559, 1980.
- 113) Blom, E. and Wolstrup, C.: Zinc as a possible causal factor in the sterilizing tail defect, the Dag defect, in Jersey bulls. *Nord. Vet.-Med.*, 28; 515, 1976.
- 114) Koefoed-Johnsen, H. H., Andersen, J. B., Andersen, E., Blom, E. and Philipsen, H.: The Dag defect of the tail of the bull sperm. Studies on the inheritance and pathogenesis. *Theriogenology*, 14; 471, 1980.
- 115) Blom, E.: A rare sperm abnormality: Corkscrew-sperms associated with sterility in bulls. *Nature*, 183; 1280, 1959.
- 116) Ishikawa, T., Kojima, Y., Tiba, T., Kawata, K., Kanagawa, H., and Sato, K.: Deux cas d'anomalie spermatique chez le taureau infertile. *Jpn. J. vet. Res.*, 12; 13, 1964.
- 117) Uzu, G., Courtens, J. L. and Courrot, M.: Quantitative analysis of ultra-structural abnormalities of spermatozoa from bulls of different fertility. VIIIth Int. Cong. Anim. Reprod. A. I., Cracow, 748, 1976.
- 118) Vale filho, V. R., Megale, F. and Gercia, O. S.: Mitochondrial sheath defects in spermatozoa of sterile Gye bulls. VIIIth Int. Cong. Anim. Reprod. A. I., Cracow, 752, 1976.
- 119) Blom, E.: Studies on boar semen. II. Abnormal mitochondrial helix 'pseudo-corkscrew sperm' due to ejaculation in the preputial cavity. *Acta vet. scand.*, 14; 636, 1973.
- 120) Hellmen, E., Ploen, L., Settergren, I. and Nicander, L.: Middle piece defects of testicular origin in bull sperm. *Nord. Vet. -Med.*, 32; 423, 1980.
- 121) El Jack, A. H. and Hrudka, F.: Pattern and

- dynamics of teratospermia induced in rams by parenteral treatment with ethylene dibromide. *J. Ultrastruct. Res.*, 67; 124, 1979.
- 122) Nadakavukaren, M. J., Sorensen, R. H. and Tone, J. N.: Effect of Gossypol on the ultrastructure of rat spermatozoa. *Cell Tissue Res.*, 204; 293, 1979.
- 123) Oko, R. and Hrudka, F.: Segmental aplasia of the mitochondrial sheath and sequelae induced by Gossypol in rat spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 26; 183, 1982.
- 124) 佐藤和宏, 石川博夫, 前原郁夫, 佐藤滋彰, 木村正一, 折原精一: 精子無力症における精子の微細構造について、第 1 報: 精子無力症の臨床的事項に関する一考察, 日不妊会誌, 32; 338, 1987.
- 125) Mc Clure, R. D., Brawer, J. and Robaire, B.: Ultrastructure of immotile spermatozoa in an infertile male: A spectrum of structural defects. *Fert. Steril.*, 40; 393, 1983.
- 126) Ross, A., Christie, S. and Kerr, M. G.: An electron microscope study of a tail abnormality in spermatozoa from a subfertile man. *J. Reprod. Fert.*, 24; 99, 1971.
- 127) Pedersen, H., Rebbe, H. and Hammen, R.: Human sperm fine structure in a case of severe asthenospermia-necrospermia. *Fert. Steril.*, 22; 156, 1971.
- 128) Sauvalle, A., Le Bris, C. and Izard, J.: Supernumerary microtubules and prolongation of the middle piece in two infertile patients. *Int. J. Fertil.*, 28; 173, 1983.
- 129) Nistal, M. and Paniagua, R.: *Testicular and Epididymal Pathology*. 229, Thieme-Stratton Inc., New York, 1984.
- 130) Coubrogh, R. I. and Barker, C. A. V.: Spermatozoa: An unusual middlepiece abnormality associated with sterility in bulls. *Vth Int. Cong. Anim. Reprod. A. I.*, Trento, Vol. V, 219, 1964.
- 131) Blom, E.: A sterilizing tail stump sperm defect in a Holstein-Friesian bull. *Nord. Vet. -Med.*, 28; 295, 1976.
- 132) Vale Filho, V. R., Megale, F. and Garcia, O. S.: Mitochondrial sheath defects of spermatozoa and low reproductive efficiency in bulls of the Gyr (*Bos indicus*) breed. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 1; 31, 1977.
- 133) Silva, J. F., Moraes, J. C. F. and Schuch, L. H.: Agenesia de peca intermediaria do espermatozoide: Um defeito de espermiogênese. *Pesq. agropec. bras.*, 12; 247, 1977.
- 134) Blom, E. and Birch-Andersen, A.: Ultrastructure of the stump sperm defect in the bull. *Acta path. microbiol. scand., Sect. A*, 88; 397, 1980.
- 135) Vierula, M., Alanko, M., Remes, E. and Vanha-Perttula, T.: Ultrastructure of a tail stump sperm defect in an Ayrshire bull. *andrologia*, 15; 303, 1983.
- 136) Arriola, J., Johnson, L. A., Kaproth, M. and Foote, R. H.: A specific oligoteratozoospermia in a bull: The sperm tail stump defect. *Theriogenology*, 23; 899, 1985.
- 137) Maqsood, M.: An abnormality of mammalian spermatozoa. *Experientia*, 7; 304, 1951.
- 138) Barker, C. A. V.: Two cases of "tail stump" sperm defect. *Proc. Soc. Theriogenology*, Mobile, Alabama, 1979 (cited from BLOM and BIRCH-ANDERSEN: 1980).
- 139) Baccetti, B., Burrini, A., Pallini, V., Renieri, T., Rosati, F. and Menchini Fabris, G. F.: The short-tailed human spermatozoa. Ultrastructural alterations and dynein absence. *J. Submicr. Cytol.*, 7; 349, 1975.
- 140) Alexandre, C., Bisson, J. P. and David, G.: Asthenospermie totale avec anomalie ultrastructurale du flagelle chez deux freres steriles. *J. Gyn. Biol. Rep.*, 7; 31, 1978.
- 141) Einarsson, S. and Nicander, L.: Fine structure of the fibrous sheath of stallion sperm tails. *J. Reprod. Fert.*, 16; 295, 1968.
- 142) Olson, G. E., Hamilton, D. W. and Fawcett, D. W.: Isolation and characterization of the fibrous sheath of rat epididymal spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 14; 517, 1976.
- 143) Serres, C., Feneux, D. and Jouannet, P.: Abnormal distribution of the periaxonemal structures in a human sperm flagellar dyskinesia. *Cell Motil. Cytoskelet.*, 6; 68, 1986.
- 144) Casseye, M. J. V., Schonyman, R., Smets, G. and Gepts, W.: Ultrastructural aspects of asthenospermia. *Int. J. Androl.*, 3; 15, 1980.
- 145) Escalier, D. and Serres, C.: Aberrant distribution of the peri-axonemal structures in the human spermatozoon: Possible role of the axoneme in the spatial organization of the flagellar components. *Biol. Cell.*, 53; 239, 1985.
- 146) Raff, E.: Genetics of microtubule systems. *J. Cell Biol.*, 99; 1, 1984.
- 147) Walt, H., Campana, A., Balerna, M., Domenighetti, G., Hedinger, C., Jakob, M., Pescia, G. and Sulmoni, A.: Mosaicism of dynein in spermatozoa and cilia and fibrous sheath aberrations in an infertile man. *andrologia*, 15; 295, 1983.
- 148) Nagano, T.: Fine structural changes in the flagellum of the spermatid in experimental cryptorchidism of the rat. *J. Cell Biol.*, 18; 337, 1963.
- 149) Afzelius, B. A., Eliasson, R., Johnsen, O. and Lindholmer, C.: Lack of dynein arms in immotile human spermatozoa. *J. Cell Biol.*, 66; 225, 1975.
- 150) Pedersen, H. and Mygind, N.: Absence of axonemal arms in nasal mucosa cilia in Kar-

- tagener's syndrome. *Nature*, 262; 494, 1976.
- 151) Pedersen, H. and Rebbe, H.: Absence of arms in the axoneme of immobile human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 12; 541, 1975.
  - 152) Afzelius, B. A.: A human syndrome caused by immotile cilia. *Science*, 193; 317, 1976.
  - 153) Eliasson, R., Mossberg, B., Camner, P. and Afzelius, B. A.: The immotile-cilia syndrome. A congenital ciliary abnormality as an etiologic factor in chronic airway infections and male sterility. *New Eng. J. Med.*, 297; 1, 1977.
  - 154) Waite, D., Wakefield, J. S. J., Steele, R., Mackay, J., Ross, R. and Wallace, J.: Cilia and sperm-tail abnormalities in polynesian bronchiectatics. *Lancet*, July, 132, 1978.
  - 155) Camner, P., Afzelius, B. A., Eliasson, R. and Mossberg, B.: Relation between abnormalities of human sperm flagella and respiratory tract disease. *Int. J. Androl.*, 2; 211, 1979.
  - 156) Afzelius, B. A. and Eliasson, R.: Flagellar mutants in man: On the heterogeneity of the immotile-cilia syndrome. *J. Ultrastruct. Res.*, 69; 43, 1979.
  - 157) Jewett, M. A. S., Greenspan, M. B., Shier, R. M. and Howatson, A. F.: Necrostermia or immotile cilia syndrome as a cause of male infertility. *J. Urol.*, 124; 292, 1980.
  - 158) Afzelius, B. A.: Genetical and ultrastructural aspects of the immotile-cilia syndrome. *Amer. J. Hum. Genet.*, 33; 852, 1981.
  - 159) Baccetti, B., Burrini, A. G., Maver, A., Pallini, V. and Renieri, T.: "9+2" immotile spermatozoa in an infertile man. *andrologia*, 11; 437, 1979.
  - 160) Lungarilla, G., Fonzi, L. and Burrini, A. G.: Ultrastructural abnormalities in respiratory cilia and sperm tails in a patient with Kartagener's syndrome. *Ultrastruct. Pathol.*, 3; 319, 1982.
  - 161) Baccetti, B., Burrini, A. G. and Pallini, V.: Spermatozoa and cilia lacking axoneme in an infertile man. *andrologia*, 12; 525, 1980.
  - 162) Escalier, D., Jouannet, P. and David, G.: Abnormalities of the ciliary axonemal complex in children; An ultrastructural and cinetic study in a series of 34 cases. *Biol. Cell.*, 44; 271, 1982.
  - 163) Palmblad, J., Mossberg, B. and Afzelius, B. A.: Ultrastructural, cellular, and clinical features of the immotile-cilia syndrome. *Ann. Rev. Med.*, 35; 481, 1984.
  - 164) Escalier, D. and David, G.: Pathology of the cytoskeleton of the human sperm flagellum: Axonemal and peri-axonemal anomalies. *Biol. Cell*, 50; 37, 1984.
  - 165) Afzelius, B. A.: Pathology of cell motility. In *Cell Biological Aspects of Disease*. DAEMS, W. T. et al. eds., 145, Martinus Nijhoff Pub., London, 1981.
  - 166) Williamson, R. A., Koehler, J. K., Smith, W. D. and Stenchever, M. A.: Ultrastructural sperm tail defects associated with sperm immotility. *Fert. Steril.*, 41; 103, 1984.
  - 167) 角谷秀典, 伊藤晴夫, 片海喜吾, 川村健二, 布施秀樹, 島崎淳, 永野俊雄, 外山芳郎: Immotile-cilia syndrome の 1 例. *日不妊会誌*, 31; 132, 1986.
  - 168) Serres, C., Escalier, D. and David, G.: Ultrastructural morphometry of the human sperm flagellum with a stereological analysis of the lengths of the dense fibres. *Biol. Cell*, 49; 153, 1983.
  - 169) Arden, G. B. and Fox, B.: Increased incidence of abnormal nasal cilia in patients with retinitis pigmentosa. *Nature*, 279; 534, 1979.
  - 170) Hunter, D. G., Fishman, G. A., Mehta, B. S. and Fretzer, F. L.: Abnormal sperm and photoreceptor axonemes in Usher's syndrome. *Arch. Ophthalmol.*, 104; 385, 1986.
  - 171) Varnum, D. S.: Blind-sterile: A new mutation on chromosome 2 of the house mouse. *J. Hered.*, 74; 206, 1983.
  - 172) Sotomayor, R. E. and Handel, M. A.: Failure of acrosome assembly in a male sterile mouse mutant. *Biol. Reprod.*, 34; 171, 1986.
  - 173) Beatty, R. A. and Gluecksohn-Waelsch, S. Eds.: *The Genetics of the Spermatozoon*. Univ. Edinburgh, Edinburgh, pp 406, 1972.
  - 174) Sotomayor, R. E. and Handel, M. A.: Failure of acrosome assembly in a male sterile mouse mutant. *Biol. Reprod.*, 34; 171, 1986.
  - 175) 酒井彦一: 微小管の構造とはたらき, 生命現象をささえるパイプライン, 培風館 pp 178, 1983.
  - 176) Afzelius, B. A. Ed.: *The Functional Anatomy of the Spermatozoon*. Pergamon Press, pp 393, 1975.
  - 177) Hubinont, P. O., L'hermite, M. and Schers, J. Eds.: *Sperm Action*, *Prog. Reprod. Biol.*, Vol, 1, S. Karger, Basel, pp 314, 1976.
  - 178) Fawcett, D. W. and Bedford, J. M. Eds.: *The Spermatozoon. Maturation, Motility, Surface Properties and Comparative Aspects*. Urban and Schwarzenberg, Baltimore, pp 441, 1979.
  - 179) Andre, J. Ed.: *The Sperm Cell. Fertilizing power, surface properties, motility, nucleus and acrosome, evolutionary aspects*. Martinus Nijhoff Pub., Hague, pp 465, 1983.
  - 180) Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. and Rogers, B. J.: The use of zona-free animal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 15; 471, 1976.
  - 181) Bousquet, D. and Brackett, B. G.: Penetration of zona-free hamster ova as a test to assess fertil-

- izing ability of bull sperm after frozen storage. *Theriogenology*, 17; 199, 1982.
- 182) Yanagimachi, R.: Zona-free hamster eggs: Their use in assessing fertilizing capacity and examining chromosomes of human spermatozoa. *Gamet. Res.*, 10; 187, 1984.
- 183) Mortimer, D., Leslie, E. E., Kelly, R. W. and Templeton, A. A.: Morphological selection of human spermatozoa in vivo and in vitro. *J. Reprod. Fert.*, 64; 391, 1982.
- 184) Moryan, A. I., Guay, A. T. and Tulchinsky, D.: Normal penetration of hamster ova by human spermatozoa with dyskinetic motility. *Fert. Steril.*, 45; 735, 1986.
- 185) Smith, D. M., Oura, C. and Zamboni, L.: Fertilizing ability of structurally abnormal spermatozoa. *Nature*, 227; 79, 1970.
- 186) Overstreet, J. W., Yanagimachi, R., Katz, D. F., Hayashi, K. and Hanson, F. W.: Penetration of human spermatozoa into the human zona pellucida and the zona-free hamster egg: A study of fertile donors and infertile patients. *Fert. Steril.*, 33, 534, 1980.
- 187) Aitken, R. J., Ross, A. and Less, M. M.: Analysis of sperm function in Kartagener's syndrome. *Fert. Steril.*, 40, 696, 1983.
- 188) Alando, M. and Vierula, M.: Tail stump sperm defect in Ayrshire bulls; Sperm morphology and inheritance of the defect. *Xth Int. Cong. Anim. Reprod. A. I.*, Vol. III, 522, 1984.
- 189) Moryan, A. I., Guay, A. T. and Tulchinsky, D.: Normal penetration of hamster ova by human spermatozoa with dyskinetic motility. *Fert. Steril.*, 45, 735, 1986.
- 190) Vierula, M., Alanko, M., Andersson, M. and Vanha-Peritula, T.: Tail stump sperm defect in Ayrshire bulls: Morphogenesis of the defect. *Andrologia*, 19, 207, 1987.
- 191) Aitken, R. J., Clarkson, J. S., Huang, G. F. and

- Irvine, D. S.: Cell biology of defective sperm function. In *New Horizons in Sperm Cell Research*. 75, Mohri, H. ed., Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, 1987.
- 191) 角谷秀典, 高原正信, 石井弘之, 布施秀樹, 島崎淳, 外山芳郎, 水野俊雄: Immotile spermatozoa. *日不妊会誌*, 33, 127, 1988.

## Morphologically abnormal spermatozoa suspected inheritance: Tail

Yoshio Kojima

Laboratory of Reproductive Physiology,  
Faculty of Agriculture, Shizuoka University.

Among morphologically abnormal sperms, the inherited disorders are one of the most important problems for medical clinician and veterinarian. As a sequel of the review<sup>25)</sup> on sperm head abnormality, this paper describes the sperm tail defects which are suspected to be inheritable in human and farm animals.

As shown in the table 1, sixteen categories of sperm tail defects being suggested or confirmed to be gene origin were tentatively classified as follows; decapitated, cytoplasmic droplet, microtubular mass, Dag (Ard) defect, corkscrew (mitochondrial sheath defect), prolongation of middle piece, stump (stub), annulus defect, fibrous sheath defect, dense fiber defect, longitudinal column defect, axoneme defects (Kartagener's or immotile cilia syndrome, and Usher's syndrome). However, this classification appears to be modified. The present author hopes that it may assist in the exact diagnosis of semen characteristics and prognosis of subfertility.

(受付: 昭和62年4月6日)

## 地方部会講演抄録

### 第96回日本不妊学会関東地方部会

日時：昭和62年6月27日（土）  
場所：神奈川県立県政総合センターホール

#### 1. 精液自動分析装置 Computer assisted semen analyzer (CASA) の使用経験

淡路英雄・古橋進一・本田育子・小林善宗  
佐々木史・出口しのぶ・松井素子・井上正人  
藤井明和（東海大産婦）

最近米国で開発された精液自動分析装置 Computer assisted semen analyzer (CASA) は精液分析を迅速に行なえるようにし、また精子運動能を客観的、定量的に測定出来る機器である。当科では本年5月より本システムを導入し種々の精液分析に使用している。今回はその使用経験について報告する。当科で導入した機器はCRYO Resources社製“Cell Soft”である。本システムはPersonal Computer, Printer, 位相差顕微鏡, Video Camera各1台とVideo monitor 2台と“Cell Soft”より構成されている。本システムを使用して得られたデータと検者による通常の精液分析とを比較し、相関性をみたところ、精子濃度では相関係数 $r=0.84$ 、運動率では $r=0.85$ と高い相関性を認めたが、Hochkissの基準に準じて判定した“Progressive activity”と精子の運動能の客観的指標であるVelocity, Linearityとの相関をみたところでは、それぞれ $r=0.66$ 、 $r=0.34$ と低い相関を示した。以上CASAは精子運動能を客観的、定量的に測定できる点で有用であると考えられた。

#### 2. 人工精液造設術の手術経験

宮北英司・星野英章・中島 登・勝岡洋治  
河村信夫（東海大泌尿器）

人工血管素材であるExpanded Polyterafluoroethyleneを用いて、先天性精管欠損症1例、精管閉塞症2例、射精障害1例、いわゆる閉塞精無精子症に人工精液造設した。結果は、全例に合併症を認めなかったが、 $75000\sim 3\times 10^6/\text{ml}$ という精子濃度が得られた。しかし精子運動率は1~30%と良好な精子を得ることが難しく、まだ配偶者間人工授精による妊娠は成功していない。人工精液造設からの精巢上体精子を得ることは容易であるが、運動性や妊孕性に

は大きな問題が残されていると考えられており、今後の問題としては、良好な精子を得る方法、あるいは精子の妊孕性を高める方法を検討し、体外受精にも応用可能になることを考えていきたい。

#### 3. 当院における卵管妊娠保存手術例の検討

山賀明弘・黄 健哲・田中尚武  
高野 昇（国立横浜東病院産婦）

近年超音波診断技術、微量ホルモン定量法の進歩等により子宮外妊娠が比較的早期に診断され、卵管温存手術可能な子宮外妊娠例が多くなる傾向にある。不妊4例、未婚3例、外妊反復例1例、卵管形成術後1例を含む、外妊卵管機能保存手術11例を対象に術前診断、開腹所見、手術、その予後等につき検討を行ない、今後の当院における外妊、不妊症治療取り扱い上の指針の1つにした。

術後11例中、反復外妊例なく、2例の正常妊娠がみられ、術後施行し得た9例のHSG像の分析結果、4例の患側卵管は通過性良好であったが、3例は通過不良、2例は全く閉塞していた。なお妊娠例の1例は全く正常、他の1例は通過性不良であった。特に不妊、未婚等問題のある例に対しては高感度の妊娠反応、超音波診断により流産、破裂以前に外妊を発見し、手術に際しては入念にマイクロサージャリーの発想で処理すべきであると考えられた。

#### 4. 当教室における卵管不妊の統計的考察

西村順一・斉藤真一・百瀬和夫  
（東邦大・第1産婦）

不妊症手術例を卵管手術群とその他の手術群に分け、1975年から1985年までの統計を中心に、1964年から1974年までに行なった統計と比較検討した。結核の既往は激減しており、腹腔内炎症と婦人科手術の既往、さらに外妊の既往は卵管手術群に多くみられた。HSGからみた卵管不妊は近年やや減少傾向にあるが、逆に内視鏡からみた卵管不妊は増加傾向にあった。卵管形成術は減少傾向にある反面、子宮内膜症の手術が増加しており、不妊症の重要な因子となっている。卵管形成手術後の妊娠率は10.1%で、その他の手術群の16.5%、一般不妊患者の21.9%に比して低率であり、卵管不妊における治療の困難さを示した。しかし妊娠例の85.7%が術後二年以内に成立していることから、手術後少なくとも2年間

治療を継続する必要がある。

### 5. 家兎における子宮内深部への精液注入と卵管人工授精との比較検討

山海 直・金山喜一・遠藤 克  
佐久間勇次 (日大・農獣医・獣医生理)

少量の稀釈精液を直接卵管内に注入する卵管内人工授精を家兎で試み、受精、着床を経て正常な産子が得られることを明らかにしてきた。これは、IVF-ET、GIFTと同様にヒトの不妊症治療に十分応用できることを示唆するものである。

今回、卵管内人工授精を簡易化した子宮内深部への少数精子の注入を試み、卵管子宮接合部から上向きに卵管内に精液を注入する卵管内人工授精と比較した。

供試家兎は体重3kg前後の日本白色種で、人工腔法により採取した精液をB.O液により100倍に稀釈し、テフロンチューブを用いて、子宮頸管を經由して子宮内深部へ注入した。注入量は一側に0.05ml、他側に0.2mlとした。注入後1時間目に排卵を誘起するためにhCG75iuを静注し、その後30時間目に卵管を灌流して卵子を検索した。

その結果、供試6例中3例から分割卵子を得ることができ、卵子の回収率、受精率はそれぞれ63.6、65.7%であった。また、注入精液量、すなわち0.05mlと0.2mlでは回収率、受精率に大きな差は認められなかった。

卵管子宮接合部の手前の子宮に精液を注入する本法は、卵管子宮接合部から卵管内に精液を注入する卵管内人工授精より回収率、受精率とも大きく劣り、簡易化による成績の向上を図ることはできなかった。

以上のことから、少数の精子による人工授精においては、直接卵管内に精液を注入する卵管内人工授精が有効であることが示唆された。

### 6. ハムスター卵子内に注入したウサギ精子頭部の動態

金田秀貴・佐藤嘉兵  
(日大農獣医学部家畜繁殖)

通常、哺乳動物の受精は精子が透明帯通過し精子-卵子の膜融合により開始される。最近、精子頭部を直接卵子細胞質内にマイクロインジェクションすることにより、精子頭部は正常受精過程に見られる形態変化を示し受精の起こることが報告されている。本実験では、ハムスター卵子細胞質中にウサギ精子のマイクロインジェクションを行ない、以後の精子頭部の形態変化について観察し、その応用性につい

て予備的に検討を加えた。

過排卵処理により得られたハムスター卵子を用いた。ウサギ精子は成熟NZW種雄から採取した。精子はm-TALP medium中に浮遊させ、直ちに $-20^{\circ}\text{C}$ に3時間静置して凍結した後に融解して、頭部のみをマイクロマニピュレーターを用いて卵子内に注入した。その結果、注入後15~30分で頭部は膨化し始め、1時間後には雄性前核が形成された。注入後4~5時間には雌雄前核の融合が認められ、実に染色体が分裂中期の配列を示めた。

### 7. 基礎体温よりみた黄体機能不全に対するプロモクリプチンの治療効果

町田稔文・岡宮保彦・飛鳥井邦雄・植村次雄  
水口弘司 (横浜市大産婦)

目的) 黄体機能不全患者に対してプロモクリプチン (以下 Br) を投与して、基礎体温上の高温相の延長日数より Br の有効性を検討した。

対象) 23歳から42歳までの臨床的に黄体機能不全と診断した41名の女性とした。

方法) PRL値 (基礎値およびTRH500 $\mu\text{g}$ 筋注後30分値) により、正PRL血症 (基礎値25ng/ml未満、30分値160ng/ml未満)、潜在性高PRL血症 (基礎値25ng/ml未満、30分値160ng/ml以上)、高PRL血症 (基礎値25ng/ml以上) の3群に分類し、Br投与前後の高温相の延長日数を検討した。また、症例を有効例 (高温相1.5日以上延長、または妊娠例)、無効例に分類し、PRL基礎値、30分値を調べた。

結果) Br投与により3群とも高温相の延長が認められ、また、PRL基礎値、30分値ともに有効例の方が高い傾向が認められた。

結論) Brは黄体機能不全にたいして有用であり、特にPRL基礎値、30分値の高いものに対して有効であった。

### 8. 高LH、高T血症を示す排卵障害例への芍薬甘草湯の投与効果

篠崎百合子・岩下光利・安達知子・大平 篤  
武田佳彦・坂元正一  
(東京女子医大産婦・同母子総合医療センター)

芍薬甘草湯は血中testosterone (T) を低下させる作用があることが報告されている。われわれは、排卵障害の症例中高T (90ng/dl以上) で高LH (25mIU/ml以上) またはLH/FSH比が2.5以上を示す症例に対し芍薬甘草湯7.5g/日の投与を行い排卵効果を検討した。9症例に対し芍薬甘草湯を投与し、

投与開始後 2 週間毎に血中 FSH, LH, T, DHEAS, androstenedione を測定した。投与後 4 週間迄に排卵を認め正常月経周期となったものは 9 例中 3 例 (33%) であったが、これらの有効例においては無効例に比べ T の有意な低下が見られた。また血中 DHEAS を副腎性, androstenedione を卵巣性の androgen の指標として有効例, 無効例で比較すると、副腎由来の高 T 血症症例では芍薬甘草湯無効例が多かった。

### 9. 異なる hMG 製剤による多嚢胞性卵巣 (PCOD) の治療

渡辺直生・楠原浩二・許山浩司・川勝雅秀  
松本和紀・寺島芳輝 (慈恵医大産婦)

clomid 単独投与や、種々の clomid variation 法に抵抗性の PCO 例に、2 種の異なる hMG 製剤 (Humegon: FSH/LH=1.00, hMG 日研: FSH/LH=96.92) を用いて、その効果を比較検討した。hMG 製剤投与開始後 LH 値および LH/FSH の低下を認め、より生理的なホルモン環境が形成されることが判明した。この傾向は hMG 日研において著明であった。2 種の hMG 製剤の投与期間および総投与量には有意差なく、両者とも排卵率は 90~100% と良好であった。症例あたりの妊娠率は Humegon 投与群が hMG 日研投与群よりやや高値であったが症例数が少ないので今後の検討を要する。PCO 例に対する hMG 製剤の最大の問題点である OHSS の発生率は、Humegon 投与群より hMG 日研投与群が有意に低値で、またその程度も軽症である傾向を認めた。以上の結果より hMG 日研は、PCO 例に対する排卵誘発剤として、有効性が高いことが示唆された。

### 11. 不妊診療における経膈超音波断層法の有用性について

渡辺 拓・中村幸雄・鈴木正彦  
(杏林大産婦)

超音波診断装置の進歩はめざましく、最近では従来からの経腹的経膀胱的超音波断層法のほかに、それらとは異なる角度から骨盤内臓器の観察が可能な経膈的超音波断層法が実地臨床に取り入れられつつあり、不妊診療領域にも超音波診断の新たな応用範囲を提供するものと期待されている。

当教室では、Aloka-SSD630, 周波数 5MHz のコンベックス電子走査の経膈プローブを外来での不妊診療に用いることにより、以下の有用性を確認した。

(1) 前処置として膀胱充満法の必要がなく、内診台上で直ちに超音波検査ができる。(2) プローブと卵巣との距離が短いため、卵胞の観察では、従来法

よりも鮮明に、しかも容易に描出可能。従って、不妊診療上、従来の頸管粘液検査やホルモン測定にとって代わる新しい検査法とも思われる。今後、さらにコンパクトで安価な装置の開発が期待される。

### シンポジウム「卵管性不妊の治療」

#### 2. 腹腔鏡下卵管形成術

関 守利 (群馬大学産婦人科)

昭和 58 年 6 月より 62 年 3 月までの、3 年 10 カ月間に、不妊症患者 263 名に 268 回の腹腔鏡を施行した。そのうち IVF-ET, GIFT Microsurgery の適応となった 111 名、男性不妊因子症例 19 名を除いた、113 名を外来にて経過観察した。62 年 5 月までの、妊娠成立は 45 名 (33.8%) である。

オリンパス社と協同で開発した手術用補助具類と、アトム社と開発した大量通水装置を用いて、腹腔鏡診断時に、腹腔鏡下手術の適応ありと診断された卵管性不妊 35 例において腹腔鏡下手術を行なった。妊娠例は 19 名で妊娠率は 54.3% であった。手術項目別での妊娠率は、①卵管周囲癒着剥離 18 例中 10 例 (55.6%)、②PFA 癒着剥離は 16 例中 13 例 (81.3%) ③卵管開口術 4 例中 2 例 (50.0%) ④卵管形成術 12 例中 5 例 (41.7%) であった。そのうち腹腔鏡下大量通水を併用した症例は 18 例で 12 例 (66.7%) が妊娠している。

### シンポジウム「卵管性不妊の治療」

#### 4. GIFT, IVF-ETR

小林善宗 (東海大産婦人科)

疎通性のある卵管性不妊に対して、新しい治療法である配偶子卵管内移植 (GIFT) および体外受精卵管内移植 (IVF-ETR) を試みて、良好な成績を得た。対象は術後卵管性不妊 (腹腔鏡下卵管形成術後および microsurgery 卵管形成術後) で、その不妊原因が卵子 pick up 障害と考えられ、これら配偶子操作による治療法は、疎通性のある卵管を使用することにより生理的であるばかりでなく、その手術療法の成果を十分活用するものである。

術後卵管性不妊に対する GIFT の成績は、105 周期 (81 例) で 25 例 (24%) が妊娠し、IVF-ETR では 20 周期 (20 例) で 6 例 (30%) が妊娠した。また重大な問題である子宮外妊娠の発生は、GIFT で 3 例 (12%)、IVF-ETR で 1 例 (17%) にすぎなかった。

術後卵管性不妊に対して、上記の治療法は有効で、IVF-ET より成績がよかった。

## 昭和62年度日本不妊学会中部支部学術集会

日 時：昭和62年6月27日（土）

場 所：愛知医科大学

## 1. Hypergonadotropic Hypogonadism を合併した重症筋無力症の1例

中川恵彰・藪下廣光・浅井光典・鈴木正利  
野口昌良・石原 実（愛知医大産婦）  
佐橋 功（同第4内科）

卵巣性無月経の病因としては、さまざまな原因が考えられるが、まだ不明な点が多く、有効な治療法は少ない。

近年、免疫異常によって出現したと思われる症例が数多く報告されるようになり、注目されているが、今回、本邦で3例目と思われる重症筋無力症に合併した Hypergonadotropic hypogonadism の1症例を経験したので報告する。

症例は27歳の女性で、妊娠歴、結婚歴はなく、20歳頃より重症筋無力症を発病した。月経は26歳まで28日型で規則的に発来していたが、徐々に不規則となり、27歳より無月経となった。LH、FSHの高値とE<sub>2</sub>の低値より卵巣性無月経と診断し、Kaufmann療法にて消退出血をみた。卵巣生検では原始卵胞は存在し、わずかに一次卵胞の存在をみた。抗卵巣抗体は証明されなかったが、本症例の病因として免疫的機序は否定できず、今後さらに検討して免疫学的アプローチも行ないたいと考えている。

## 2. 不妊症患者の超音波診断における経膈プローブの有用性について

貝田清隆・生田克夫・竹内一郎・万歳 稔  
花田征治・水野金一郎・八神喜昭  
（名市大産婦）

最近、超音波断層法は産科婦人科領域において、その装置の改良とともにますます有用なものとなってきている。しかし不妊症領域では、超音波診断の対象は主に卵管、卵巣である。骨盤深部にあるこれらの臓器の描出は、経腹壁プローブによる超音波断層法では、セクター方式をもってしてもしばしば困難である事を経験する。この点、経膈プローブを使用すると、腹壁、腸管などにより画像描写が妨げられることがなく、また目標臓器が解剖学的に至近距離にあるため、経腹壁プローブに比べて有利であると考えられる。今回、われわれは経腹壁プローブでは証明し得なかったGSとFHBを、経膈プローブによって子宮腔外に確認し、子宮外妊娠と診断し

た症例、および、経膈プローブによる経日的卵胞モニタリングが有用であったIVF-ET施行症例を報告する。

## 3. 子宮内膜症保存手術後再発例の検討

松澤克治・近藤育代・大脇正哉・木村俊男  
大沢政巳・成田 収（名大分院産婦）  
石原 豊・林 隆行・小栗久典・水谷哲也  
菅沼信彦・友田 豊（名大産婦）

子宮内膜症の保存療法を行なう場合、内膜症病変の一部残存は不可避であり、性機能が温存される限り、子宮内膜症が再燃・再発する可能性は高い。今回われわれは、昭和39年より58年に至る20年間に子宮内膜症保存手術を受け、3年以上の経過観察が可能であった98症例を対象として再発の検討を加えた。

98症例中、再発例は44例あり、再発率は45%であった。保存手術単独、ホルモン療法併用療法群に、有意な再発率の違いを認めなかったが、内膜症進行度別再発率は、Beecham II期は28.5%、III期は56%、IV期は83%と、有意に進行度の進んだ症例の再発率の高さが示された。また、98症例中、初回保存手術後妊娠例は41例あったが、うち11例(27%)に後に再発が認められ、再発までの平均期間は、39.3か月であった。一方、非妊娠群57例の再発例は33例(58%)であり、再発までの平均期間は16.7か月であり、妊娠による内膜症の再発予防、延長効果が認められた。

## 4. 単クローン性抗体を用いた Enzyme Immunoassay (EIA) による LH の測定

箕浦博之・中 淳・西山真人・山本稔彦  
杉山陽一（三重大産婦）

血中 LH (Luteinizing hormone) の簡便かつ信頼度の高い測定法の確立は、ベッドサイドで排卵をモニタリングするうえで、非常に有用であると思われる。

今回われわれは、単クローン性抗 LH 抗体を用いた LH enzyme immuno assay キット (MS8001) の有用性について検討した結果、以下のような成績を得た。

- 1) 測定感度は 5.0mIU/ml であり、検量線の直線性は 10~250mIU/ml の範囲で認められた。
- 2) 検体の希釈試験を施行した結果、満足すべき直線性が得られた。
- 3) RIA との相関を検討した結果、 $r=0.992$  ( $P<0.001$ )、 $y=1.04x-0.86$  と満足すべき直線回帰を得

た。

4) 再現性につき変動係数より検討した結果, 同時再現性では 3.4~6.0%, 測定間再現性では 5.5~7.8% であり, 満足すべき成績を得た。

5) hCG, TSH, FSH との交叉反応性についても臨床的レベルでは問題とならなかった。

### 5. カリクレインの精巣機能に及ぼす影響

篠田正幸・名出頼男 (藤田学園保健衛生大泌尿器)

男子不妊症の治療のうち kallikrein (KAL) は比較的成績良好であるが, 作用機序は不明である。今回, KAL の精巣機能に及ぼす影響を検討した。

方法: rat を 5 群に分け以下の薬剤を 7 日間連日腹腔内投与した。G1: 生食 0.5ml G2: KAL 50KU/kg G3: KAL 50 KU/kg + aprotinin 500 KIU/kg G4: KAL50KU/kg + indomethacin 3 mg/kg G5: Hydralazine (HLZ) 10 mg/kg 各群に対し精巣血流を測定し, hCG 負荷試験により Leydig 細胞機能を, 精巣組織中の androgen-binding protein (ABP) の測定により Sertoli 細胞機能を検討した。

結果: 精巣血流量は, G2 で 29.2ml/m/100g tissue と G1 の 170% の増加が見られ, G5 で G2 と同等の増加が見られた。Leydig 細胞機能は各群で差はなかった。ABP は G2 で 0.26pmol/mg protein で G1 に対し有意に増加し, これは aprotinin により抑制され, G5 では ABP の増加は見られなかった。以上より KAL は Sertoli 細胞機能を賦活し, その作用は血流増大とは無関係と考えられた。

### 6. 高比重による Percoll AIH

藤原義俱 (静岡市)

AIH による妊娠率は非常に低いが, 昭和 61 年 7 月~62 年 3 月の 9 か月間に施行した Percoll 法 AIH について検討したので報告する。対象は unexplained infertility, oligospermia, asthenospermia, 排卵障害, その他の原因による不妊症患者である。排卵のモニタリングには B モードによる主席卵胞の測定, 尿中 LH (ハイゴナビス), BBT 等を参考にした。AIH 施行日は BBT 陥落日と思われる日を 0 とし ⊖3 ~ ⊕2 までとした。攪拌法 (Percoll 法) で比重 1.10 以上の良好精子を獲得し, 注入針は新しく考案した北里サプライ製のポリエチレンチューブを使用して AIH を施行した。この注入針を使用したことにより出血, 疼痛も無く, 操作が従来より簡単となった。高比重 Percoll 法は副作用は全く認められず, 従来の AIH より妊娠率が高く, 不妊患者にとって有効な治療法の一つであると思われる。

### 7. 単層 Percoll 法を用いた AIH に関する研究

渡辺憲生・林 賛育・寺尾俊彦  
川島吉良 (浜松医大産婦)

男性不妊症患者を対象とし, 単層 Percoll の濃度別の精子回収率および運動率の変化を比較検討した。単層 Percoll の濃度は (A) 25% Percoll (B) 50% Percoll (C) 75% Percoll の 3 つを用いた。運動精子の回収率と非運動精子の回収率は, (A) 41%, 36% (B) 44%, 25% (C) 27%, 11% であった。運動率向上度 (倍) = Percoll 法後の運動率 / Percoll 法前の運動率と定義すると, 運動率向上度は (A) 1.25 倍 (B) 1.50 倍 (C) 1.61 倍となった。運動精子の回収率, 選択的に運動精子を回収できる点, 運動率向上度を総合的に判断すると, 男性不妊症に対する単層 Percoll 法を用いた AIH には 50% Percoll が最も適していると考えられる。また男性不妊症患者に 50% 単層 Percoll 法を用いた AIH を行ない 4 例の妊娠例を得た。運動精子濃度は  $5.4 \sim 15.6 \times 10^6 \text{ml}$  と低いものばかりであった。以上より, 男性不妊症の治療として 50% 単層 Percoll 法を用いた AIH は有効であると考えられる。

### 8. マウス卵の受精後発育について

市川文隆・吉村俊和・白木 誠・丸山邦之  
蛸原照男・作井久孝・多田 伸  
沢田富夫・吉村泰典・河上征治  
福島 穰 (藤田学園保健衛生大産婦)

ヒト体外受精に使用される各種培養液を BDF<sub>1</sub> マウス 2 細胞期卵の受精後発育により比較検討した。培養液は m-KRB, BWW, TYH280, HamF-10 を使用し, macromolecule として bovine serum albumine (BSA), Fetal bovine serum (FBS), Cord blood serum (CBS), Women's serum (WS) を添加した。培養 72 時間後の胞胚形成率について検討すると, BSA 添加群での mouse embryo の胞胚形成率は, BWW (82.5%), TYH-280 (80%) に比し HamF-10 (0%) は有意に低値を示した。各種添加血清について比較すると, WS 添加 BWW 群における胞胚形成率は, CBS および FBS 添加 BWW 群に比し高値を示し, 特に FBS 群との間に有意差が認められた。さらに WS 添加 BWW 群の胞胚形成率は, WS 添加 HamF-10 群に比し有意に高値を示した。以上よりヒトの IVF 施行に際しても受精, 受精後発育の過程に重大な関与を示す培養液の quality control は必須の条件と思われる。

## 第25回日本不妊学会中国・四国支部総会

期 日：昭和62年8月22日(土)午後12時30分  
会 場：愛媛県医師会医学研修所(県医師会館)

### 1. 超音波断層法と尿中エストロゲン測定による排卵障害患者に対する至適HMG投与量の決定

谷川正浩・関島秋男・岩部富夫・寺戸博文  
戸田稔子・和田 省・菊川章仁・見尾保幸  
前田一雄(鳥取大産婦)

超音波断層法と尿中エストロゲン測定による卵胞発育モニタリングをもとに重症排卵障害患者にHMG-HCG療法を実施し、その有用性を検討した。

対象と方法：重症排卵障害患者9例27周期を対象に超音波断層法と尿中エストロゲン測定による卵胞発育モニタリングのもとにHMG-HCG療法を行ない、反応不良症例にはHMG投与量を増加した。

結果：排卵周期では主卵胞最大径は平均20.9mm、尿中エストロゲン値は平均246.8ng/mlと高値を示し、排卵が認められなかった周期では卵胞発育は認められず、尿中エストロゲン値も低値を示した。全体では27周期中18周期(66.7%)に排卵を認め、6周期(22.2%)がOHSSに至り、4例(14.8%)の妊娠を得た。

考察：重症排卵障害患者における排卵誘発時の超音波断層法と尿中エストロゲン測定による卵胞発育モニタリングの重要性を確認した。

### 2. 経腔的卵胞観察の有用性について

白井孝昭・吉野和男・西垣 新・迫田良一  
高橋健太郎・北尾 学(鳥根医大産婦)

卵胞観察は、不妊症患者においては重要なことであり、膀胱充満法による超音波診断が日常診察において頻回になされている。今回、従来の経膀胱法と経腔法による卵胞観察を実施して比較検討した。経膀胱法はAloka SSD-720、超音波周波数3.0MHzの電子セクタスキャン、経腔法はBrüel & Kjaer Ultrasound scanners Type 1846に周波数7.0MHzのVaginal Transducer Type 8538を設置した装置を用いた。卵胞像は両法とも形態学的に一致し、卵胞壁は経腔法でより明瞭であった。また子宮後方の卵胞に関しては経膀胱法では不明瞭なことが多いのに比べ、経腔法によると卵胞観察は正確にでき経腔的採卵にも有効であると思われる。以上より経腔法は従来の経膀胱法に比べ卵胞像は明瞭であり、操作も容易であることより日常診察に有用であると推定す

る。

### 3. 超音波による卵胞観察、とくにAIHへの応用について

高柳 真・前川正彦  
西田荘哉(香川県立津田病院産婦)

最近4年間、当院では排卵誘発に際し、卵胞のモニタリングを応用しているが、今回卵胞の大きさとHCG投与時期、超音波による排卵日とBBT、LH、progesteroneの関係、AIH成功例の超音波所見とhormone値の関係、等について報告する。

### 4. 超音波断層法による黄体化無排卵卵胞(LUF)の診断と経日的変化

戸田稔子・関島秋男・岩部富夫・谷川正浩  
寺戸博文・和田 省・菊川章仁・見尾保幸  
前田一雄(鳥取大産婦)

連続的な超音波断層法による卵胞モニタリングにより、黄体化無排卵卵胞(LUF)症候群の診断を行ない、その経日的変化を検討した。

対象と方法：BBT 2相性、黄体期中期の血中Progesterone  $\geq 5\text{ng/ml}$ 、かつBBT上昇後も卵胞が存続したものをLUFの診断基準とし、60名384周期にモニタリングを施行した。

結果：みかけ上の排卵を示す384周期中、52周期(13.5%)がLUF周期であった。不妊原因別では、PCO(37.5%)、子宮内膜症(21.4%)、骨盤内手術既往症例(26.2%)に多く、男性不妊症(6.8%)や妊娠成立症例(2.7%)には少なかった。LUFの卵胞発育は、正常排卵周期とほぼ同等で、HCG投与時の卵胞径は $20.5 \pm 3.0\text{mm}$ であったが、黄体形成後も卵胞径は増大し、最大 $45.2 \pm 7.0\text{mm}$ に達した。10例のLUFを超音波穿刺し、内容液を検討した結果、正診率は、90%であった。

考察：LUFの診断と病態解明に超音波断層法の有用性が確認された。

### 5. 超音波ガイド下経腔的採卵法による体外受精・胚移植の臨床的検討

#### ——各種経腔プローブによる成績の比較——

寺戸博文・関島秋男・岩部富夫・谷川正浩  
戸田稔子・和田 省・菊川章仁・見尾保幸  
前田一雄(鳥取大産婦)

体外受精・胚移植のための超音波採卵は広く普及し、最近では経腔用探触子を用いた経腔採卵法も実施可能となってきた。今回われわれは、走査法の異なる数種の探触子を使用する機会を得たので、それ

らの探触子を用いた採卵成績及びその後の受精率、分割率に関し比較検討を加えたので報告する。

各種探触子を用いた採卵成績は、経腹採卵ではリニアで 94.2%/cycle, 電子セクタで 80%/cycle, 経腔採卵では、電子セクタで 100%/cycle, リニアコンベックスで 95.5%/cycle, さらにメカニカルセクタで 100%/cycle と良好な成績が得られた。また受精率、分割率においても採卵法による差は認められなかった。

IVF-ET の採卵法として超音波採卵は、機種の違いによる差異はほとんど無く、卵胞の存在する位置に応じて経腹・経腔採卵を使い分けることにより、極めて安全かつ簡便に行なえ、その有用性は確立されたと考えられる。

## 6. 超音波ガイド下経腔採卵法の検討

春名 充・中山孝善・加川俊明・坂東律雄  
東敬次郎・山野修司・松下光彦  
青野敏博 (徳島大産婦)

当科において新しく開発された経腔専用プローブを用いた超音波ガイド下経腔採卵法を実施し、妊娠 3 例を経験し、その安全性と有用性を検討したので報告する。

(対象・方法) 1986 年 9 月より 1987 年 7 月までに IVF-ET 予定で当科に入院した 46 周期である。経腔採卵には横河 RT-3600 および付属経腔プローブ (発振周波数 5MHz) を使用した。

(成績) 卵胞穿刺成功率は 96% 卵胞, 100% 周期, 1 周期あたりの平均採卵数は 2.5 個, 採卵率は 71%, 分割率は 56%, 妊娠率は 8.3% であった。16 mm 未満の小卵胞でも穿刺成功率は 96% 卵胞と高く, 12~15 mm の小卵胞で成熟卵が回収できた。術後の合併症は軽度の下腹痛が 3 症例, 6.5% にみられた。

(結論) 経腔採卵法は膀胱充滿の必要性がなく簡便に実施でき、また高周波数のプローブを使用できるため卵胞を明瞭に描出でき、その結果、卵胞穿刺成功率、採卵数とも良好で、重篤な合併症も少ないことから極めて有用な採卵法と考えられた。

## 7. 体外受精用培養液中カリウム濃度のマウス胚発生に及ぼす影響

和田 省・関島秋男・岩部富夫・谷川正浩  
寺戸博文・戸田稔子・見尾保幸  
前田一雄 (鳥取大産婦)

ヒト体外受精、胚移植に使用されている代表的な培養液中カリウム(K)濃度は 1~6mM の範囲内にあるが、これに比較して報告されているヒトおよびマ

ウス卵管液中K濃度は非常に高い。本実験では F<sub>1</sub> (C57BL×CBA) マウスの 1 細胞胚および ICR マウスの 2 細胞胚培養を使い Expanded Blastocyst (EB) への発生率で 1.2~17.8mM の 6 種の K 濃度を検討した。培養液は BWW を基に NaCl と KCl を置換することにより K 濃度を調整した。

ICR 2 細胞胚では、分割速度、EB への発生率ともに 1.2, 6.0mM で高く, 7.7, 17.8 と高 K 濃度では共に低下した。F<sub>1</sub> 1 細胞胚では、K 濃度 6.0mM で EB への発生率は最も高くその他の濃度においては発生率は低下した。

本実験で K 濃度 6.0mM が着床前マウス胚発生に最も適している事が推測された。

## 8. 配偶子卵管内移植 (BIFT) と子宮筋腫核出術同時施行による妊娠例の報告

本山洋明・山崎史行・安藤正明  
吉岡 保 (倉敷成人病センター南くらしき病院産婦)  
藤井好孝 (医科学研究所)

我々は配偶子卵管内移植 (GIFT) と子宮筋腫核出術を同時に施行し、正常妊娠に成功した。症例は 35 歳、不妊期間 11 年の原発性、原因不明不妊症で、昭和 60 年 3 月初診。治療は洗浄精子による AIH, 通水, clomid, hMG 等を行ないつつ、腹腔鏡検査で両側卵管開存、腹水中運動精子(+), 子宮内膜症(-), 子宮底部の筋層内筋腫と診断し、62 年 1 月 GIFT と筋腫核出を同時に施行した。ovarian stimulation は clomid+hMG で行ない hCG を用いた。GIFT 当日の ejaculate は  $14 \times 10^6$  motility 7% と不良で、運動精子  $3.3 \times 10^4/50\mu\text{l}$  を使った。下腹部正中切開し、hCG 後 35 時間で 2 個の成熟卵を得た。続いて 140g の筋腫を核出した。閉腹前に右卵管 AIJ 付近に 2 つの卵子を移植した。4 日目より progesterone 20 mg/day im し、GIFT 後 15 日目 u-hCG 80IU/L, 31 日目 (6w3d) FHB(+). その後の妊娠経過は順調で、今秋出産予定である。

## 9. 精子不動化抗体陽性例に対する体外受精胚移植法の応用

植田敏弘・大頭敏文・森 一正・漆川敬治  
安井敏之・古本博孝・板東律雄・坂本康紀  
東敬次郎・苜原 稔・山野修司・鎌田正晴  
青野敏博 (徳島大産婦)

われわれはヒト卵透明帯を標的とした精子貫通試験を用いて、精子不動化抗体の受精阻害作用を明らかにしてきた。今回、体外受精胚移植法 (IVF-ET) を施行した精子不動化抗体陽性例につき検討し、臨

床的に精子不動化抗体の受精阻害作用を明らかにすることができたので報告する。

今回検討した4例は全て両側卵管閉塞症例で、精子不動化抗体が陽性である以外は受精に悪影響を及ぼし得る因子は認められなかった。3例4周期には、卵および精子の培養に患者本人の血清を使用し、計8個の成熟卵が得られたが、受精に成功したのは4個であり、受精率は50%と著しく低率で、精子不動化抗体陰性者との間に有意差を認めた。また妊娠例は得られなかった。次に、患者本人の血清に代えて臍帯血清あるいは精子不動化抗体陰性血清を用いた3例3周期では、得られた成熟卵7個全てが受精に成功し(受精率100%)、さらに1例の妊娠例を得た。

#### 10. 男子不妊症に対する HCG-HMG 療法の検討

山下良孝・永井 敦・古川雅人・大橋洋三  
大橋輝久・大森弘之(岡山大泌尿器)

男子不妊症に対する HCG-HMG 療法の効果について検討した。対象は不妊を主訴として当科を受診した47例、年齢は26-40歳、平均33歳であった。投与前の精子濃度は2000万/ml以上1例、2000万/ml未満-1000万/ml以上5例、1000万/ml未満が41例であった。投与方法は、HCG2000IU、HMG150IUを週1回筋注で12週以上、24週まで投与した。その結果、12週後の精子濃度は、著明改善2例、改善1例、不変40例、24週後、著明改善2例、不変35例であった。運動率に関しては、12週後では、著明改善が8例、改善6例、不変14例、悪化10例、24週後では、著明改善5例、改善2例、不変14例、悪化が11例に認められた。また、47例中、2例に妊娠の成立を見た。なお、治療前、無精子症、高度乏精子症、血中LH、FSH高値の症例では、治療効果は認められず、精細管内テストテロン、DHT濃度と治療効果との間には、関連性は認められなかった。

#### 11. 下垂体性男子性腺機能不全に対する hCG/hMG 療法の経験

武田繁雄・武田祐輔・安元章浩・安川明廣  
竹中生昌(香川医大泌尿器)

prepubertal stageでのhypopituitarismによるhypogonadotropic hypogonadismでは、妊娠能獲得に至る有効例の報告はほとんどない。私たちはirradiation後発症したpanhypopituitarismの症例に対して、hCG/hMG療法を施行したので、経過・方法について報告する。

患者は19歳男子。13歳の時、尿崩症発症し、suprasellar germinomaの診断を受け、irradiation

(5100rad)を受けた後、panhypopituitarismを来し、各種ホルモン補充療法を受けた。第2次性徴が見られないため内科にてhCG/hMG療法・LH-RH療法を受けたが効果なく、当科受診した。Leydig cell desensitizationが考えられ、第2次性徴発現と造精機能改善を目的に、hCG/hMG療法(hCG2000IU、hMG150IU/W i.m.)ならびにTestosterone(エンルモンデポー 250 mg/M i.m.)療法を行ない外性器の発育を認めている。

#### 12. 精索静脈瘤の治療成績(サーモグラフィーの有用性について)

亀井 修・横山雅好・竹内正文  
(愛媛大泌尿器)

当科において昭和57年7月より不妊を主訴とした精索静脈瘤患者35例に対し高位結紮術を施行し、術後1年以上経過した30例の臨床的検討を行なった。平均年齢31.8歳、手術までの不妊期間は平均4.6年であった。患側は、左側が26例、両側が4例であった。grade1が19例、2が12例、3が3例であった。治療は高位結紮術を施行した。治療成績は、妊娠成功例が10例33%、精液所見改善例が11例37%、不変例9例30%であった。術前、濃度が1000万/ml以下の患者でも、8例中5例が4000万/ml以上に改善し、運動率、奇形率も全般に改善した。この成績は諸家の報告と同様であり、有効率70%は他の治療法に比べ高く、本症の手術療法の有効性を示したと考えた。精索静脈瘤の診断のみならず、予後推測に冷負荷サーモグラフィーが有用であった。

#### 13. 停留精巣に見られた性染色体異常の2例

戦 泰和・谷村正信・渡辺裕修・山本志雄  
小浜吉照・森岡政明・藤田幸利(高知医大泌尿器)

停留精巣を主訴として性染色体異常が発見された2症例について報告する。症例1は2歳1カ月、染色体分析で47XYY、YY症候群の核型を認めた。症例2は5歳6カ月、染色体検査にて47XXY、Klinefelter症候群と判明した。両症例ともに尿道下裂等の合併奇形はみられず、内分泌学的にもLH-RH負荷、HCG負荷テストは年齢相応の正常反応を認めた。当科における停留精巣症例で染色体検査を行ない得たのは1986年12月までで59例で、このうち今回報告の2例を含め7例、12%に染色体異常を認めた。小児尿路性器奇形における染色体異常は稀ではなく、治療、予後判定からも染色体検査は有意義であると考えられた。

#### 14. 種々の HMG 製剤中に含有される FSH および LH の免疫学的活性と生物学的活性

浜田 雄行・杉並 洋・松浦俊平  
(愛媛大産婦)

FSH 含量が 75IU/A とされているパーゴナル、ヒュメゴン、ゴナドリール、HMG「日研」および LH 含量を少なくした新 HMG「日研」の 5 種類の HMG 製剤を用い、各製剤中に含有される FSH 及び LH 含量を in vivo bioassay 法、in vitro bioassay 法により測定し比較検討した。immunoreactivity (immuno.) において FSH はゴナドリール>HMG「日研」>ヒュメゴン=新 HMG「日研」>パーゴナル、LH はヒュメゴン>ゴナドリール=パーゴナル>HMG「日研」>新 HMG「日研」、FSH/LH ratio は新 HMG「日研」>HMG「日研」=ゴナドリール>パーゴナル>ヒュメゴンの順であった。in vivo bioactivity (in vivo) においては、FSH に製剤間の差はなく、LH および FSH/LH ratio は新 HMG「日研」と他の 4 製剤との間に著明な差が認められた。LH の in vitro bioactivity (in vitro) はヒュメゴン>パーゴナル>HMG「日研」>ゴナドリール>新 HMG「日研」の順であった。LH の in vivo>in vitro ratio と in vitro/immuno. ratio には負の相関が認められた。

#### 15. 無排卵症に対する hMG 連日投与ならびに連続投与による排卵誘発

北川博之・矢野浩史・杉並 洋  
松浦俊平 (愛媛大産婦)

クロミフェン抵抗性の無排卵症 37 症例 (130 周期) に対して、hMG の連日投与または連続投与による排卵誘発を施行し、投与期間中の各種ホルモンの検討、また治療効果の検討を行なった。

1) 排卵は連日投与法と連続投与法においてそれぞれ 90 周期中 64 周期 (71.4%)、40 周期中 29 周期 (72.5%) に認められた。連日投与法に抵抗性の症例においても連続投与法により排卵が認められる症例が多く存在し、連続投与法の有用性が示唆された。

2) 投与期間中の FSH/LH 比の平均はそれぞれ 0.62, 1.38 であり連続投与法において有意の上昇が認められた。

3) 妊娠はそれぞれ 64 排卵周期中 16 周期 (25.0%)、29 排卵周期中 5 周期 (17.2%) に認められた。妊娠群と非妊娠群の間には hMG 投与量の差は認められなかった。多胎妊娠はそれぞれ 5/16, 2/5 であった。

4) OHSS の発生に関して hMG 投与量の関連は認め

られなかった。一方、妊娠の成立した群において OHSS の発生率は有意に高いことが示された。

#### 16. 体重減少性無月経患者の視床下部一下垂体機能の検討

塚原優己・岡谷裕二・相良祐輔  
(高知医大産婦)

近年、体重の減少に伴う無月経が目ざされているが、その詳細な機序については未だ明確ではない。そこで今回 2 kg より 19 kg までの平均  $10.4 \pm 4.5$  kg の体重減少性無月経患者 12 例 (第 1 度: 2 例, 第 2 度: 10 例) を対象とし、LH-RH test, TRH test, premarin test を施行し検討した。LH, FSH の基礎値は  $9.2 \pm 10.9$  mIU/ml,  $5.2 \pm 5.5$  mIU/ml で control 群に比し低値を示した。さらに、30 分, 60 分値も control 群に比し極めて低値であった。prolactin, TSH の基礎値は正常範囲内であったが、prolactin については過剰反応する傾向が示された。premarin test では LH, FSH の 48h, 72h 後の値は基礎値の  $110.8 \pm 87.5\%$ ,  $99.2 \pm 26.7\%$ ,  $87.5 \pm 64.2\%$ ,  $81.4 \pm 56.9\%$  であった。さらに 72 h 後の LH の変化率と体重減少量および体重減少率の間に有意の負の相関性が認められた。従って、本症例においては LH-RH に対する下垂体の反応性の低下とともに、体重減少度に対応した estrogen の positive feedback 機構が障害されていることが示された。

#### 17. Bromocriptine による妊娠例の検討

——特に妊娠の転帰、新生児について——

高橋 晃・夏山 知・木花敏雅・布谷隆明  
浮田昌彦 (倉敷中央病院産婦)

Bromocriptine (Br) が高 Prl 血症のみならず正常 Prl 血症性不妊症に対しても用いられるようになり、良好な結果が報告されている。しかし、特に後者における妊娠例の転帰、出生児についての報告はまだ少ない。そこで当院において昭和 60 年 2 月からの 2 年 2 カ月間に Br 単独あるいは Br と他剤との併用で妊娠の成立をみた 47 症例 50 妊娠 (同時期の不妊治療による妊娠の 32.9%) について検討を行なった。

対象の中で高 Prl 血症は 9 例であり、残りの正常 Prl 血症 38 例の治療前平均 Prl 値は 13.0 ng/ml であった。50 妊娠周期の治療薬剤は Br 単独 24 例, Br + clomiphene 22 例, Br + clomiphene + predonine 4 例であり、AIH を併用したものが 9 例あった。流産などによる胎児の喪失は 9 例 (18.0%) で、分娩を終了した 28 例の平均分娩週数は 39.1 週、平均出生時体重は 2970 g、男女比は 16:12 であった。これら

は他の不妊治療による妊娠例と差はなく、出生児の有病率、奇形の発現にも特に際立つものはなかった。

### 18. 精子静置法で妊娠をみた抗精子抗体陽性1不妊夫婦例

河原弘之・渡辺慶太・徳永 葉

田中啓幹 (川崎医大泌尿器)

本山洋明 (倉敷成人病センター南くらしき病院産婦)

藤井好孝 (同, 医科学研究所)

男子不妊症の原因の1つとして免疫の関与は確立されつつあるが、不明の点も多い。また、免疫学的男子不妊症における妊娠報告例は少なく、本邦において過去2例しかみあたらない。今回われわれは精子静置法によるA I Hにて妊娠、出産に成功した1例を経験したので報告する。

症例：36歳，男性，医師，不妊期間8年，既往歴，家族歴，特記すべきことなし 現病歴，昭和52年，結婚後児に恵まれず，京都在職中，不妊外来受診するも異常なしとのことで経過観察していた。今回，倉敷転勤を機に当科不妊外来受診した。Hormone 検査異常なく，精液検査では精子数，運動率に異常はないが，一部に自己凝集がみられた。凝集抗体は16X，不動化抗体は陰性であった。以上より免疫学的男子不妊症と診断し，洗浄精子および精子静置法によるA I Hを行なったところ4回目妊娠を確認。7月6日39週2850gの女児を出産した。本邦3例目と考えられ，若干の文献的考察を加えて報告した。

### 19. 乏精子症患者における精子SWIM UP法の改良とその評価

東敬次郎・加川俊明・坂東律雄・春名 充

山野修司・中山孝善・松下光彦

青野敏博 (徳島大産婦)

乏精子症患者に体外受精・胚移植を実施する際，精液から運動良好精子を選択的にしかも効率的に回収することが重要である。今回われわれは乏精子症患者の精子を種々の条件下にswim upさせ，運動良好精子を最も効率的に回収し得る条件を検討するとともに，精子受精能との関連についても検討した。

対象は精子無力症患者3人，乏精子症患者33人である。患者の精液0.6mlを2回遠心，洗浄した後，培養液(T6液；0.5~3.0ml)を層積し37°Cで培養(15~300分)した。培養終了後，培養液の上層0.3mlを回収し運動良好精子濃度を算定した。次にこの運動良好精子を用いて体外受精を行ない，その濃度および原精液の運動率と受精，分割状態との関連について検討した。

以上の結果，①乏精子症患者では層積培養液量0.5ml，培養時間60分間の条件で，乏精子症患者の精子をswim upさせたとき，最も効率的に運動良好精子を回収することができ，②原精液の精子運動率が20%未満または回収運動良好精子濃度が20万/ml未満の時，媒精した成熟卵の大部分は受精しないことが判明した。

### 20. Makler算定盤の使用経験

林田英嗣・石津和彦・山川弦一郎・磯山理一郎

瀧原博史・酒徳治三郎 (山口大泌尿器)

Makler算定盤と従来より当科で使用しているImproved Neubauer Hemocytometerによる精子濃度及び運動率について比較検討し，若干の知見を得たので報告した。

対象は当不妊外来受診患者32名とした。精子濃度について，Makler算定盤，Hemocytometerで測定。運動率について，スライドガラスによる直接検鏡(以下Direct)，Hemocytometer，Makler算定盤で測定した。精子濃度において両者間で相関係数 $r=0.9344$ の有意の相関を示した。運動率において，HemocytometerとMakler算定盤の間で $P<0.001$ の有意差を認め，DirectとMakler算定盤の間で有意差を認めなかった。これらは算定盤の構造および算定液の影響と考えられ，Makler算定盤が有用であると考えられた。

### 21. Triple stain対比走査電顕法を用いたtriple stain法の信頼性の検討

坂東律雄・森 一正・加川俊明・大頭敏文

春名 充・東敬次郎・山野修司・中山孝善

松下光彦・青野敏博 (徳島大産婦)

Triple stain法の信頼性を，今回われわれが新たに開発したTriple stain対比走査電顕法を用いて検討した。本法は，triple stainを施した精子を光顕で観察した後，同試料を走査電顕用に作製し直したもので，同一精子のacrosome reactionの有無を光顕と走査電顕の両者で観察し得る方法である。pHを4.3，5.3および6.3に調整したrose Bengal液でtriple stainを施行した場合，各pHにおけるaccuracy，sensitivity，specificityは，pHが4.3の時，70.5%，100%，21.4%，pHが5.3の時95.5%，94.5%，97.6%，pHが6.3の時，61.8%，38.7%，97.5%であり，pHが5.3の時，triple stainと走査電顕の判定が最も一致した。これらの結果より，pH5.3のrose Bengal液を用いたtriple stain法は，ヒト精子のacrosome reactionの有無を観察するのに実用的で

信頼性のある方法であると考えられる。

## 22. ハムスターテストと一般精液検査との関連性についての検討

吉野和男・白井孝昭・西垣 新・草刈万寿夫  
山崎裕行・高橋健太郎・北尾 学  
(島根医大産婦)

ハムスターテストはヒト精子の姓孕能判定法として近年利用されつつある。今回、我々は当科不妊外来を訪れた 30 名の不妊男性患者を対象とし、ハムスターテストと一般精液検査との関連性について検討を行ない、以下の結果を得た。

1) 11 名が正常精液所見(精子濃度  $60 \times 10^6/\text{ml}$  以上、運動率 60% 以上)で 19 名が異常精液所見であり、正常精子の平均侵入率は 50.2%、異常精子の平均侵入率は 25.0% で、統計的に侵入率に有意な差 ( $p < 0.001$ ) が認められた。

2) 精子濃度と侵入率及び運動精子濃度と侵入率との間には総計的に比較的強い正の相関関係 ( $p < 0.001$ ) が認められたが、運動率と侵入率との間の相関関係は認められなかった。

以上より、ハムスターテストと一般精液検査との関連性は比較的強く認められた。

## 23. 個別化黄体機能検査法

——特に妊孕能の臨床的病態鑑別を目的に——

田村成一郎・向田哲規・相良祐輔  
(高知医大産婦)

黄体機能評価は妊孕性との関連から評価すべきと考え、黄体期 7~10 日目に外因性 hCG を投与し、子宮内膜日付診、血中 estradiol (E), progesterone (P) を測定し、臨床的黄体機能検査法の開発を試みた。

[方法] BBT 上高温期 7~10 日目に一掻き子宮内膜と血液を採取後 hCG5000IU を 3 日間投与しその翌日に同様に試料を採取し、内膜日付診および血中 P, E を測定した。内膜日付診では特に hCG 投与後内膜で日付の 2 日以上の上昇の有無に注目し、促進例を脱落膜化能良とした。

[成績] 正常例の  $m \pm SD$  に比較すると、 $m + SD \leq$ : E37 例, P34 例,  $m \pm SD$ : P2 例,  $m + SD \leq$ : E3 例, P5 例であった。E, P 共に  $m + SD \leq$  で良 24 例, 不良 9 例, E, P 共に  $m - SD \leq$  で良 0, 不良 2 例であった。

[結論] 黄体機能と内膜反応の判別に加えて黄体形成維持過程診断の個別化には、hCG 刺激後の E, P レベルを正常例の  $m \pm SD$  規準に判定し、また日付診判定法も有用であった。

## 24. マウス着床前期における末梢血中血小板数の変動

安藤雅章・杉並 洋・松浦俊平(愛媛大産婦)

マウス着床前期における末梢血中血小板数の変動を検討した。3 × 6 匹の同腹雌マウスを妊娠群、偽妊娠 A 群(精管結紮雄マウス交配群)、偽妊娠 B 群(卵管結紮雌マウス群)の 3 群に分割した。各群において、自然交配後経時的に末梢血中血小板数を測定した。妊娠群において、妊娠第 1 日 0600 h に  $117.4 \times 10^4/\text{mm}^3$  であった平均血小板数が 1000 h 以降減少し始め、妊娠第 2 日には  $92.9 \times 10^4/\text{mm}^3$  となり、この減少は妊娠第 6 日まで続いた。血小板数は妊娠第 7 日には旧に復した。両偽妊娠群では血小板数の変化は認められなかった。次いで、受精卵培養液を脾臓摘出マウス腹腔内に投与し、血小板数の変動を検討した。受精卵培養液の投与により、用量依存性の血小板数の減少が認められた。また、妊娠第 5 日の血小板数と着床数との間に高い負の相関が認められた。以上の結果、受精卵は母体末梢血中血小板数を減少させる因子を分泌し、その分泌は着床期まで続くことが示唆された。

## 25. 受精現象における卵透明帯糖鎖構造の役割

森 一正・大頭敏文・植田敏弘・漆川敬治  
安井敏之・坂本康紀・板東律雄・苛原 稔  
山野修司・鎌田正晴・青野敏博  
(徳島大産婦)

精子が卵を認識する際の透明帯糖鎖構造の役割を解明するために、レクチンの透明帯に対する反応性および受精系に及ぼす影響について検討した。ブタ卵透明帯と蛍光標識レクチンとの反応性について検討した結果、ConA, RCA, SBA, WGA が結合し、ブタ卵透明帯には D-mannose, D-galactose, GalNAc, GlcNAc を末端に有する糖鎖構造の存在が明らかになった。さらに成熟卵と未熟卵との間にレクチンの反応性の差異は認められず、卵の成熟過程における糖鎖構造の変化はないと考えられた。ヒト卵については未熟卵を用いて同様の検討を行なったところ、ConA, RCA, WGA のみが結合した。レクチンのヒト受精系に及ぼす影響についてはレクチン処理したヒト成熟卵を用いた透明帯貫通試験で検討した。その結果、ヒト卵透明帯と結合した ConA, RCA, WGA は全て精子の透明帯への結合および貫通を阻害し、D-mannose, D-galactose, GlcNAc を末端に有する糖鎖構造の受精現象への関与が示唆された。

## 26. 卵管妊娠におけるマイクロサージャリーによ

### 卵管保存手術の成績

伊東武久・矢壁昭人・山下三郎・木梨憲夫  
杉野法広 (社会保険徳山中央病院産婦)

昭和53年よりマイクロサージャリーを93例に施行した。そのうち16例は卵管妊娠に対する手術であった。両側卵管の同時妊娠を含むその16例、17卵管の妊娠率は6/16 (37.5%)、平均年齢は27.1歳 (22~35歳)、平均妊娠週数は8週1日 (4週2日~13週5日)、平均出血量503g (50~2137g)であった。1回産婦2例を除くすべてが未産婦であった。卵管妊娠部位は膨大部9、峡部6、卵管采1、間質部1例で卵管不全流産13、破裂3、妊娠中1であった。手術々式はlinear salpingostomy 10 (妊娠4)、anastomosis 6 (妊娠2) (反復子宮外妊娠1)であった。術後Rubin testにてnormal pattern 9/12 (75.0%)。HSG疎通6/7 (85.7%)であった。

### 27. 尿中エストロゲンおよびLH測定による卵胞成熟モニタリング：血中レベルとの比較による検討

山中研二・松元 隆・新田次郎・矢野浩史  
北川博之・杉並 洋・松浦俊平  
(愛媛大産婦)

尿中エストロゲン(E)測定による卵胞成熟モニタリングの可否を検討した。37例、61周期の自然排卵周期および排卵誘発周期において経日的に採尿採血し、尿中E、LHをそれぞれHi-EstrotecおよびHi-Gonavisにて、血中E<sub>2</sub>、LH、FSHをCIS RIA kitにて測定した。尿中E値と血中E<sub>2</sub>値、および尿中・血中LH値は互いに正の相関を示した。(r=0.655およびr=0.410)。11例のhMG排卵誘発周期において血中E<sub>2</sub>値は卵胞成熟とともに上昇した。尿中E値も全体的には同様に上昇した。しかし、個々の症例での変動を検討すると尿中E値と血中E<sub>2</sub>値とは必ずしも平行せず、明らかに卵胞が成熟した時点でも尿中E値が低値であった症例も見られた。

結論。1) Hi-EstrotecおよびHi-Gonavisによる尿中EおよびLH測定値はある程度血中E<sub>2</sub>およびLH値を反映する。2) 個々の症例での尿中E値と血中E<sub>2</sub>値の変動の不一致は、尿中E値での卵胞成熟推定の危険性を示唆している。

### 28. 当科不妊外来におけるPCO症例の検討

名越一介・清水健治・占部 清・林 伸旨  
新谷恵司・林 耀庭・関場 香  
(岡山大産婦)

多嚢胞性卵巣症候群(PCO)は無月経・無排卵を合併しやすく、かつ排卵の誘発治療に対して卵巣過剰刺激症状を呈しやすいなど多くの問題を含んでいる。そこで今回われわれは、不妊症および月経障害症例でLH-RH testによりPCO patternを示した症例を更に無月経群(I群)、無排卵周期群(II群)、排卵遅延群(III群)に分類し、正常排卵および妊娠に至った治療などについて検討した。

治療後正常排卵に至った割合はI群で24/34 (clomid)+6/34 (HMG)、II群で18/22 (clomid)+1/22 (HMG)、III群で15/18 (clomid)+3/18 (その他)であり、重症例ほどclomidによる排卵率が低下していたが、妊娠率はI群10/25、II群で6/18、III群で9/24と有意差を認めなかった。次に各群における内分泌学的背景を検討したが、LH-RH testにおけるLH基礎値及びpeak値、血中testosterone値、血中prolactin値は3群間に有意差を認めなかった。

### 29. 当科不妊外来における臨床的統計の推移

高橋健太郎・西垣 新・白井孝昭・荒木芳美  
永田裕子・草刈万寿夫・内田昭弘・山崎裕行  
迫田良一・吉野和男・北尾 学  
(島根医大産婦)

昭和54年10月15日より62年3月31日までに当科不妊外来を受診した挙児希望患者432名を対象とし、最近の4年間(昭和58~61年度)の群(A群)と以前の4年間(昭和54~56年度)の群(B群)とを比較検討し、以下の結果を得た。

①初診時年齢は原発性、続発性ともに両群間で差は認められなかった。②初診時不妊期間はA群の方が短い傾向であった。③不妊原因では男性因子の占める割合がB群では14.4%であったが、A群では24.9%と増加した。④妊娠率は24.1%(B群)から35.4%(A群)へと上昇が認められ、原発性、続発性の別では続発性の方が両群とも妊娠率は高率であった。不妊原因別の妊娠率では全ての因子においてA群の方が高値であった。⑤初診時不妊期間と妊娠率では5年未満の群でA群の方が妊娠率は高かった。⑥初診より妊娠までの期間は大半が2年以内に妊娠しており、両群間に差は認められなかった。

### 30. Mayer-Rokitansky-Küster 症候群の2症例

草刈万寿夫・吉野和男・永田裕子・内田昭弘  
高橋健太郎・北尾 学  
(島根医大産婦)

原発性無月経の原因の1つである腔欠損症は的確な診断を要する先天性疾患である。われわれは原発

性無月経を主訴として来院し、Mayer-Rokitansky-Küster 症候群と診断した 2 症例を経験したので報告する。患者は 2 名とも外陰部の發育や 2 次性徴は正常であり、基礎体温は 2 相性で排卵を認め、内分泌学的検査は正常女性範囲内であり、染色体は 46 XX で、正常であった。双合診、超音波断層法、腹部 CT などの結果より Mayer-Rokitansky-Küster 症候群を強く疑い、腹腔鏡検査を行なった。腹腔鏡検査では痕跡的子宮、正常な卵巣と卵管を認め、Mayer-Rokitansky-Küster 症候群と確診した。同症候群では、泌尿器系の奇形との合併例が多数報告されているが、1 症例で、右側重複腎盂が認められた。本症例はいずれも学生であるため、造腔術等の治療は現在行っていない。

昭和 62 年度日本不妊学会 東北支部総会・学術講演会

会 期：昭和 62 年 9 月 5 日（土）

会 場：福島ビューホテル

1. ヒト精子の運動形態と受精能に関する研究

柳田 薫・会田都美子・星 和彦

佐藤 章（福島県立医大産婦）

受精成立のための精子の条件として、尾部の運動性は重要である。ヒト精子での hyperactivation の存在は不明であったが、われわれはすでにその存在を示唆してきた。今回は、その運動形態の変化と精子の受精能との関連性を検討した。妊孕力のある健康成人男性 6 人（対照群）と不妊症治療中の患者 17 人（不妊群：A I H と I V F 例）から精液を採取し精液静置法（m B W W 液使用）を行ない、swim up した精子について、swim up 開始 5 時間後まで、その動きを顕微鏡ハイスピードビデオで解析した。その際、精子の運動形態を A、B、C、D に分類した。対照群ではその割合が経時的に A、B、C、D と増加し、D はリズミカルでダイナミックな動きが特徴である。対照群では、D は 120 分後から出現し、以後著増し、300 分後のタイプ D の割合は 1 例を除き 60 % 以上で、不妊群ではその 3/4 が 300 分後のタイプ D の割合が 30 % 以下であった。タイプ D への変化は精子尾部の運動の大きな変化で、精子の受精能力と深いかかわりがあることが示唆された。われわれは、この変化をヒト精子の hyperactivation として良いのではないかと考えている。

2. Spermac stain<sup>®</sup>による精子形態の評価について

佐藤和宏・前原郁夫・佐藤滋彰・木村正一

折笠精一（東北大泌尿器）

精子先体の形態を評価する一方法として、不妊を主訴とした 52 名の患者精子に spermac stain 法を施行し、その結果について報告した。slide glass 上に液化精液を塗抹し、固定液、A、B、C 液に入れ、標本を作製し、油浸 1000 倍で 200 個の精子を観察した。染色に 10 分、判定に 15~20 分を要した。本法によれば先体は淡い緑、核は赤、尾部は緑に染色される。判定は先体の染色性が良好なものを陽性、裸核状に見えるものを陰性、その中間は保留とした。正常者 5 名の陽性率は 81.5 % であった。染色陽性率と精子濃度の対数との相関をみると、0.1 % の危険率で有意の正の相関がみられた。原因不明不妊 8 名のうち 4 名の陽性率は 60 % 未満であり、今後 S P A 法等との対比が必要と思われる。なお 2 例の round-headed spermatozoa の精子、精巣の微細構造についても報告した。

3. 骨盤内手術後のインポテンスに対するプロスタグランジン E<sub>1</sub> の陰茎海绵体注射

石井延久・渡辺博幸・入沢千晶

菊地悦啓（山形大泌尿器）

骨盤内手術後のインポテンスは末梢の神経や血管の損傷が原因で起こり、従来はシリコン製の陰茎プロステーシスの手術が主として行なわれている。われわれはプロスタグランジン E<sub>1</sub>（以下 P G E<sub>1</sub>）を陰茎海绵体に注射して、神経損傷のある患者にも安全に勃起が起こることを明らかにした。今回は骨盤内手術をうけたインポテンスの 37 例に P G E<sub>1</sub> を使用してみた。結果は P G E<sub>1</sub> の陰茎海绵体注射により 24 例が完全勃起、11 例が不完全ではあるが性交可能な勃起がみられた。全く反応のない症例は 2 例で約 95 % の症例に有効であった。

本治療法は観血的手術を好まないわが国の国民性を考えると、今後器質的インポテンスの治療として注目に値する方法と考えている。

4. 配偶者間人工授精（AIH）の臨床的検討

高浜一宏・深谷孝夫・星合 昊

矢嶋 聡（東北大産婦）

GIFT の適応を検討するために A I H 妊娠例について分析を試みた。当院での A I H 成功率は患者あたり 10.6 %、周期あたり 4.6 % であり、効率の良い治療とはいえないが、手技的な簡便さから最初に施行されるべき治療と考えられる。昭和 59 年以降に A I H 妊娠を確認した 38 症例で妊娠までに要した A I H

の回数は6回までに84% (32例)が含まれていた。自然周期で妊娠しない症例に対して、clomiphene, HCG, HMGを積極的に使用しているが、これらの併用で同一形式について検討すると、すべて5回以内に妊娠成立に至っていた。これらの各形式についての妊娠率で、clomiphene併用は26.4% (n=53)、使用しない場合は19.2% (n=73)とclomipheneの有効性が示唆された。clomiphene投与群でHCG 1万単位36.4% (n=26)、5000単位7.1% (n=14)と有意差を認めた。GIFTの前に積極的排卵誘発を併用したAIHを試みることは意義があるものと考えられた。

### 5. Clomid-hMG 刺激周期を利用した Percoll 洗浄 AIH, その成績と問題点

児玉英也・太田博孝・一関和子・児玉智子  
福島峰子 (秋田大産婦)

男性不妊や頸管因子による不妊に対して通常のアIHを施行してもなかなか妊娠しない夫婦に対して、Clomid-hMG 刺激周期を利用して、Percoll (単層法) 洗浄精子によるAIHを施行した。28例59周期の治療の結果、稽留流産1例、子宮外妊娠1例、化学的流産2例を含む9例に妊娠が成立し、妊娠率は症例当り32.1%、周期当り15.2%であった。正常妊娠は全て単胎妊娠であった。Percoll法では、運動率の改善が大きな特徴であると考えられ、男性不妊の妊娠例6例はいずれも調整後の運動精子濃度の改善率の高い周期に妊娠しており、妊娠周期における平均改善率は3.6倍、調整後の運動精子濃度は全例 $35 \times 10^6/\text{ml}$ 以上 (範囲 $38 \times 10^6$ から $99 \times 10^6$ )であった。卵巣刺激法では、hCG切り換え時の血中E<sub>2</sub>値が1000-2500 pg/mlの範囲で妊娠例が認められ、またClomid投与後hMGを隔日投与したほうが連日投与よりも過剰刺激徴候が少なかった(21.4 vs 38.4%)。

### 6. 乏精子症に対する自律神経作動薬の投与効果

平山寿雄・斉藤英和・佐藤文彦・長谷川剛志  
広井正彦 (山形大産婦)  
小田隆晴 (山形県立河北病院産婦)

不妊症領域で男性側因子の関与する症例は多く、各種薬物療法および、AIH、配偶者卵管内移植(GIFT)が臨床的に応用されている。しかし、重症な乏精子症においては、それらの効果はあまり好ましいものではないのが現状である。今回われわれは、IVF、ET、GIFTの適応症例のうち重症乏精子症を対象に、自律神経作動薬の $\alpha_1$ -blocker (Bunazosin 2 mg/day)、 $\beta$ -Stimulator (Procaterol 100 $\mu\text{g}/\text{day}$ )

を3か月前後投与し、精液所見の変動について検討した。

精子数は $8.9 \pm 1.7 \times 10^6/\text{ml}$ が $12.3 \pm 3.2 \times 10^6/\text{ml}$ と増加し、精子運動率は $42.1 \pm 3.8\%$ が $45.5 \pm 4.2\%$ と軽度の増加を示した (m $\pm$ S.E.M.)。 $\alpha_1$ -blocker、 $\beta$ -Stimulatorは精細管の拡張作用を示し、有効な精細管内流動を保ち、精子輸送等に好ましい影響を与えるものと思われる。以上、重症乏精子症の精子数の改善に自律神経作動薬が多少なりとも有効であり、精子運動率を改善する薬剤との併用により更に効果を期待できるものと思われる。

### 7. 男子不妊症における膿精液症の臨床的検討

佐藤滋彰・佐藤和宏・前原郁夫・木村正一  
折笠精一 (東北大泌尿器)

精液中に白血球が多くみられる膿精液症と男子不妊との関係は不明な点が多い。われわれは最近3年6カ月間に当科不妊外来を受診した患者747名を対象に、膿精液症に関する臨床的検討を施行した。膿精液症の定義をWBC $\geq 10/\text{hpf}$ とすると、これに合致するものは68名、9.1%であった。精液中白血球はエオジン染色、トリパンブルー染色にて確かめた。12例の白血球の生存率を算定すると、平均61.2%であった。29名の分割射精の結果では大部分の症例が慢性前立腺炎に起因すると思われた。747名中、評価可能であった正常者群530名と膿精液症者群61名の精子運動能(SMEI)を比較するとカイ2乗検定で両群の運動能の分布には有意の差が認められ、膿精液症者の運動能は正常者に比べ低い傾向がみられた。

治療法としては、doxycycline、抗炎症剤の投与、前立腺マッサージを行っており3カ月以上の治療で運動能は改善する傾向がみられた。

### 8. マイクロサージェリーによる人工精液造設法

木村正一・浪間孝重・佐藤滋彰・前原郁夫  
佐藤和宏・折笠精一 (東北大泌尿器)

精路通過障害に対して、マイクロサージェリーによる人工精液造設を行ない良好な精子回収を得ているので、その概要を報告した。両側精管欠損症例では、精巣上体頭にカップ型の精液瘤を造設した。頭部被膜を切開、3本の精巣上体管を露出し、それぞれに約7mmの縦切開を加えて管腔内を露出する。隣接する精巣上体管の切開縁を10-0ナイロンで側々縫合、残った1、3本目の切開縁を精巣上体被膜に縫合、その部位に精液瘤を設置した。管腔以外の組織が精液瘤内面に入らないように工夫した。術

後 146 日の現在まで良好な精子が回収されている。他の方法はケラミ型の変型で精巣上体尾部管に設置する方法であるが、本症例も 107 日の現在まで良好な精子が回収できている。両者の精子で最近 A I H を施行した。

### 9. 子宮内膜症保存手術に対する人硬膜 (Lyodura) の使用

古橋信之・伊藤 潔・田村みどり  
渡辺英子 (太田総合病院産婦)  
星合 昊・平野睦男 (東北大産婦)

重症子宮内膜症 4 例に対し、漿膜欠損面に Lyodura (人硬膜) を用いた保存手術を施行、術後の状態について 2nd look Laparoscopy にて観察した。

4 例とも両側チョコレート嚢腫を認める A F S I V 期群で、ダグラス窩の癒着剥離術後、ウエプスター & バルデー、円帯固定術等を併用したが漿膜欠損部を主にダグラス窩に生じ、同部に人硬膜製剤 (Lyodura) (4 ~ 4 cm, 4 ~ 6 cm) を使用した。

術後 8 ~ 16 か月目に 2nd look Laparoscopy を施行し、骨盤腔の状態を観察したが、全症例とも強度の再癒着を認め、術前より改善を思わせる所見は認められなかった。

また、術前には少なくとも通過性の維持は保たれていた 4 卵管においても 2nd look 時に intact であった卵管は 1 卵管のみであった。

### 10. 腹膜欠損後の修復過程に関する研究 (特に走査電顕学的研究)

立崎達夫・高野 敦 (弘前大産婦)

家兔の壁側腹膜をメスで強く擦過して、欠損部を作成し、コントロール群、キセラン群、ソルコーテフ群の 3 群に分け、修復過程を走査電顕および光顕で観察した。またキセランの溶血作用を疑い、キセラン群は耳静脈より採血し、赤血球形態を走査電顕で観察した。

結果：各群術後 1 h, 3 h, 6 h, 12 h, 24 h, 3 日目, 6 日目と経時的に観察したが、今回は 6 日目で比較してみた。SEM 所見は、コントロール群では一部に epidermization の様子がうかがわれるが、未だ epidermization には程遠いと思われた。キセラン群は光顕で phagocyte, fibroblast, collagen, plasma cell がみられ、epidermization がなされていた。SEM 所見でも、コントロール群に比し epidermization が進んでおり、macrophage と思われる球形の細胞が多数みられた。ソルコーテフ群は、きれいに上皮化がなされていた。SEM でも波状、瓦状に

表面形成され、正常腹膜に類似していた。

### 11. 卵管形成術の術式別予後の検討-2

斉藤佳孝・戸沢秀夫・星合 昊  
矢嶋 聡 (東北大産婦)

われわれは 1982 年 6 月よりマイクロサージェリーを導入し、東北大学医学部産婦人科またはその関連病院において、現在までに約 250 例に本術式を施行している。このうち 1985 年 7 月までの 3 年 1 か月の間に手術を行なった 128 例は、現在まで最低 2 年間の follow up を経たことになるので、今回その術式と妊娠率および術後妊娠までの期間について検討を加えたのでここに報告する。

術式の分類は International Federation of Fertility and Sterility によって 1980 年に作られた分類にはほぼ従った。総数 128 例のうち、34 例 27% が妊娠した。そのうち 5 例が子宮外妊娠、5 例が自然流産、1 例が胎状奇胎妊娠で、残りの 23 例 18% が現在妊娠中を含めた正常妊娠例であった。

付属器に限定した癒着剥離後の妊娠例は 8 例全てが術後 1 年半以内に起こった。卵管開口術、卵管形成術後の妊娠は全て、術後半年以上経過してからのものであった。

### 12. 超音波採卵による体外受精

斉藤英和・佐藤文彦・平山寿雄・斉藤隆和  
楊 美貴・広井正彦 (山形大産婦)

体外受精-胚移植は卵管性不妊症の治療法として普及してきた。当初その採卵法は腹腔鏡による採卵が主流であったが、1982 年 Lenz らによって超音波下採卵が紹介されるに至り、その手術侵襲も腹腔鏡に比較し軽度のため急速に普及した。当科でも 34 周期に超音波下採卵法を用いて体外受精-胚移植を施行した。経尿道的採卵 10 例、経腔的採卵 20 例、経腹的採卵 1 例、経尿道と経腔的採卵 2 例、経腹と経腔的採卵 1 例であった。採卵数は、経尿道的採卵で  $3.3 \pm 0.5$  個 ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ )、経腔的採卵で  $2.5 \pm 0.4$  個、経腹的採卵で 1 個、経尿道と経腔的採卵で  $1.5 \pm 0.5$  個、経腹と経腔的採卵で 2 個であった。このうち、胎児心拍を認めた症例は 6 例あり、経尿道的採卵で 3 例、経腔的採卵で 3 例であり、経尿道的採卵法の方が、経腔的採卵法に比較し、採卵数も、妊娠率も高いが、有意の差ではなく、卵巣に一番到達しやすい方法であればどの方法を用いてもよいと考えられた。

### 13. MS8001 を用いた血中 LH 測定による卵胞発育のモニタリング

斉藤隆和・斉藤英和・佐藤文彦・平山寿雄  
川越慎之助・広井正彦 (山形大産婦)

体外受精-胚移植, 配偶子卵管内移植は不妊症の治療法として登場してきたが, これらの採卵の最適時期を決定するためのモニタリングに, 超音波断層装置, 血中・尿エストロゲン, 血中 LH が用いられている。今回, 血中 LH の測定に MS 8001 (持田) を用い, その有用性について検討した。血中 LH の最高値の分布は採卵手術前々日 (-2 D) が 12 周期 (17%), 手術前日 (-1 D) が 15 周期 (21%), 手術日 (0 D) が 41 周期 (57%), 手術後日 (+1 D) が 4 周期 (5%) であった。また, 胎児心拍を確認した妊娠は 10 例あり, その分布は -2 D が 3 例 (25%), -1 D が 3 例 (20%), 0 D が 4 例 (9.7%), +1 D が 0 例であった。また LH サージを認めた周期は 42 周期 (58%) であり, この群の妊娠例は 5 周期 (12%) であった。また, LH サージを認めない周期は, 30 周期あり, このうち 5 周期 (16%) に胎児心拍を認めた。

#### 14. 未受精卵の凍結保存について

佐藤文彦 (山形大産婦)

体外受精の普及に伴い卵子の凍結保存の必要性が増している。余剰卵や精子所見の悪い症例では未受精卵の凍結が必要になるが, これまで未受精卵の凍結成績は受精卵に比して良くなかった。そこで今回われわれは DMSO および sucrose を用いて未受精卵を凍結し, 成績を検討した。

室温にて 1.5M の DMSO を培養液に添加し, sucrose (0.2M) 添加群と非添加群を設けた。室温より 1°C/min で -7°C まで冷却し, 植氷した。その後 0.3°C/min で -35°C まで冷却 (急速凍結群) あるいは -80°C まで冷却 (緩徐凍結群) して液体窒素につけた。これらの未受精卵は融解後精子と培養し体外受精を行ない, 変性卵の割合を観察し, 受精率および胞胚期まで発育した率を観察した。この結果急速凍結群では sucrose 添加群, 非添加群で受精率 36.8%, 21.9% と sucrose 添加群で有意に高くなったが, 緩徐凍結群では 55.4% 対 59.3% と差を認めなかった。従って未受精卵の凍結では緩徐に凍結するか sucrose を添加する方が成績は良いと思われる。

#### 15. 当院における hMG-hCG 療法の検討

京野広一・渡辺 尚 (古川市立病院産婦)

LH 含有量が少なく FSH/LH が一定な hMG 「日研」を使用した hMG-hCG 療法の治療成績ならびに

妊娠成功例, 不成功例の種々の因子について分析した。第 1 度無月経, 第 2 度無月経 9 症例, 25 周期に hMG 「日研」を等量投与方法にて連日注射し, CM, 尿中エストロゲン, 血中 E<sub>2</sub>, 卵胞最大径を目安に hCG を投与した。その結果, 症例あたり 89% の排卵率, 67% の妊娠率を得た。多胎は 0 例, 流産は 1 症例 2 周期にみられた。OHSS は卵巣長径が 7 cm 以上のものとする, 症例あたり 67%, 周期あたり 41% にみられた。

これらの結果を分析すると ① OHSS は妊娠例に多い。② OHSS 発生には血中 E<sub>2</sub>, 15 mm 以上の卵胞数, 頸管粘液量が関与する。③ hCG 投与は卵胞最大径 22 mm 以上のとき, last hMG 翌日のとき妊娠成功率が高い。今後症例を重ね, 妊娠率の向上, 多胎を起さない criteria を検討していきたい。

#### 16. 当院における習慣流産の診療

八重樫伸生・倉本雅規・小菅周一・中山千冬  
中野盛夫 (八戸市立市民病院産婦)

当院における習慣流産の症例をまとめた。対象は妊娠 12 週未満の自然流産を 2 回以上反復し, 当院で習慣流産の検査を受けた 23 例。

原因, 治療, 結果は, 子宮腔内癒着のため癒着剝離を施行した 2 例は 1 例が出産し, 1 例が妊娠 34 週。頸部筋腫で筋腫核出した 1 例は現在妊娠 18 週。双角子宮に筋腫が合併しており頸管縫縮術施行した 1 例は出産。抗核抗体 20 倍で subclinical な SLE が疑われた 1 例は転勤のため未治療。夫婦間で HLA-DR 抗原が 1 つ以上一致しており免疫学的原因が推定された 5 例中 2 例に免疫感作療法を施行し, 1 例が出産し, 1 例が妊娠 29 週, 3 例は未治療。また検査途中で妊娠した例が 7 例あり, 4 例が出産し 3 例が妊娠中。検査途中 6 例。流産した症例はない。免疫感作療法は特殊な設備のない一般病院でも可能であり, しかも非常に有効と思われる。そのためにも習慣流産の原因を系統だって検索していく姿勢が大切と思われる。

#### 17. 双胎で 1 児が胎内死亡した無脳児の 1 例

鈴木孝子 (永井病院)

近年, 産科領域において, 超音波断層法の発展はめざましく, 多胎妊娠や胎児奇形の出生前診断も妊娠初期から可能になってきている。

今回われわれは, 双胎の I 児が妊娠 16 週で胎内死亡を起し, II 児は無脳児であった症例を経験したので, 報告する。

双胎では単胎に比して, 先天性形態異常の頻度が

50%も高いといわれ、また、その発生は、1卵性において高率であるといわれているため、超音波断層法による早期診断は重要であると思われる。

一方、双胎において、胎児死亡を起こした際、単胎と同様に胎児死亡症候群の発生に注意しなければならないが、双胎においては、さらに、生存児のDIC、臓器障害、胎児仮死の発生に留意しての経過観察、および、対応が必要であると思われる。

## 18. 牛の人工妊娠について

鈴木達行 (農林水産省福島種蓄牧場)

性周期の9~14日目に卵胞刺激ホルモン(FSH: 24~36 mg)とプロスタグランディン(PGF<sub>2α</sub>: 30 mg)との組み合わせで過剰排卵処理し、発情の7日目に非手術的に受精卵を回収する。供卵牛1頭当たりの平均正常卵数は6個前後である。回収された受精卵は修正したリン酸緩衝液(PBS)に入れられ、性周期の7日目の受卵牛の黄体側子宮角へ非手術的に移植される。新鮮卵移植の場合は50~70%の受胎率である。

回収された大部分の受精卵は凍結保存される。受精卵は10%グリセロール加PBS液内に1段階で浸漬され、10分間保持したのち12.5%シュクロース液との組み合わせで0.25ml容量のストロー内に注入される。ストローは室温から-6℃に保持したプログラミングフリーザーに入れられ、5分後に植氷し、同温度で5分間保持する。次いで毎分0.3℃/minの速度で-30℃まで冷却し-196℃の液体窒素中へ浸漬する。融解は+38℃の温水中で行い、ストロー内の受精卵の入ったグリセロール液とシュクロース液とを混ぜ合わせ、そのままストローから受精卵を取り出すことなく直接受卵牛へ移植する(1段階ストロー法)。この方法での受胎率は30~60%の範囲である。

受胎率を向上させるために同期化された母体血清が移植液に添加して用いられる。受精卵の体外培養では同期化された母体血清の有効性が示唆されている。

肉資源の増産と育種改良を目的に1卵性双子が作出される。筆者ら(1985)は凍結融解卵をマイクロブレイドで分離後、細胞を同一透明帯内に残したまま受卵牛へ移植し1卵性双子の作出に成功した。

肉資源の増産や受精卵の発生のメカニズムを解明するために体外受精が行なわれる。廃用となった卵巣から未成熟の卵子を取り出し、5%CS加TCM-199培地で24時間培養後、5時間前後BO液内で前培養した精子で3~5時間媒精する。その後5%CS加

TCM-199液内に戻し5日間培養する。細胞は培養24時間後になると2~4細胞期にまで発育し、培養5日目には細胞腔を形成した胚盤胞にまで発育する。しかし、この割合は3~5%程度でしかない。またインビトロでの受精卵の発育には卵丘細胞が重要な役目を果たしていることが判る。筆者ら(1986)は凍結した体外受精卵の移植で双子の作出に成功している。

パーコール液を用いた精子の分離では、比重差が1.06~1.12の範囲で9つの液層を作製し、1.4mlの精液を重層して毎分1,250rpmで15分間遠心した。試験管の底に沈んだ精子による受精試験では、雌と雄の割合が76.4%と23.6%となり、雌になる割合の高い傾向がみられている。

## 第32回日本不妊学会九州支部会

日時:昭和62年11月28日(土)

会場:佐賀県職員互助会館

### 1. 急性腹症を呈した子宮内膜症腹腔鏡下処置の有効性

本田賀裕・松浦講平・古木義弘・藤崎俊一  
岡村 均 (熊本大産婦)

当科不妊外来に3回受診後、急性腹症を呈して救急搬送され、卵巣endometriosisの破裂と診断し、腹腔鏡下に癒着剥離術ならびに腹腔内洗浄を行ない、術後5か月目に妊娠が成立した症例を報告する。

症例は31歳の1回経産婦。最終分娩後2年半の不妊を主訴に昭和61年11月19日、当科を初診、骨盤内所見および超音波断層(42×32×36mmのcystic echo)にて子宮内膜症と診断。以後2度検査のため外来受診後、昭和62年1月16日の早朝、突然左下腹部痛が出現し、近医での鎮痛剤に反応せず当科へ救急車にて搬送されてきた。搬送時、顔面は苦悶状、腹部全体は板状硬で圧痛著明、ググラス窩の圧痛ならびに子宮腔部の移動痛も著明であった。対症療法にて腹部の痛みは軽快し5日目に腹腔鏡を施行した。骨盤内臓器は緑黒色泥状の組織にて癒着していたが、癒着剥離は容易で、ほぼ完全に解剖学的位置矯正ができ、遊離組織塊を除去した。術後5か月目に自然妊娠が成立したが、8週で流産した。

### 2. Noonan 症候群と考えられる1症例

小池弘幸・宮川勇生・森 憲正  
(宮崎医大産婦)

Noonan 症候群とは、Turner 症候群類似の身体的特徴と先天性心疾患をもち、しかも染色体は正常核

型を示す症候群をいう、今回われわれは不育症を伴った Noonan 症候群と考えられる 1 症例を経験したので報告する。

症例は、2 回自然流産の既往をもつ 30 歳のマッサージ師。主訴は無月経、挙児希望。網膜色素変性症、白内障、視野狭窄、近視などの眼疾患、low hair line、low set ear、翼状頸、聾啞、軽度の両眼隔離症などの身体的特徴をもち、心電図では、不完全右脚ブロック、心エコーでは、右心腔の軽度拡大、右室壁の軽度肥厚を示した。染色体検査では、46, XX の正常核型を示し、基礎体温は低温一相性であった。視床下部、下垂体、卵巢系の内分泌学的検査では LH-RH test で LH の基礎値は 31.2mIU/ml とやや高く、その反応性は亢進していた。その他の検査成績は正常域にあった。

### 3. 単クローン製抗 PRL 抗体を用いたプロラクチン測定試薬 (MS-8701) の検討

高島正樹・馬場伸二・吉田耕治  
岡村 靖 (産業医大産婦)

近年プロラクチン (PRL) と排卵障害との関連が注目され、とくに潜在性あるいは一過性高 PRL 血症と呼ばれる病態のあることが臨床的に問題となっている。

現在、血中 PRL の測定は Radioimmunoassay (RIA) で行なわれているが、これには放射性物質を使用するため特殊な設備を必要とし、また結果が得られるまでに相当の日時を必要とする欠点を有する。

今回、持田製薬 KK で開発された MS-8701 は、単クローン性抗 PRL 抗体を用いた逆受身赤血球凝集反応の原理に基いた測定試薬であり、PRL に高い特異性を有するとともに、特別の機器を用いることなく、簡便な操作で、しかも短時間に (2 時間)、微量 (15ng/ml) の血中 PRL を測定出来る。

筆者らはこの新しい測定法について基礎的および臨床的に 2, 3 の検討を行なったので報告する。

### 4. 着床前期胚のフィブロネクチン (FN) の局在と培養の及ぼす影響

竹内一浩・森 明人・中村佐知子・鶴木康資  
永田行博 (鹿児島大産婦)

フィブロネクチン (FN) と着床前期胚との関連を検討するため次の実験を行なった。ICR マウスより経時的に 2 細胞期より胚盤胞および円筒胚まで採取し、2 細胞期胚の一部は採取時 MWM (10% NCS) にて追加培養した。各 stage の in-vivo 胚および in-vitro 培養胚は、透明帯を除去したのち直ちにエ

タノール固定し、酸素抗体法 (ABC 法、モノクローナル抗体) にて FN の局在を染色固定した。

in-vivo 胚では 2 細胞期から桑実胚までは FN の局在はなく、初期胚盤胞で初めて内部細胞塊に FN の局在が認められた。さらに後期胚盤胞および円筒胚では内部細胞塊と栄養外胚葉にその局在が強くみられた。しかし培養胚ではどの時期の胚にも FN の局在はなく、後期胚盤胞の時期になっても認められなかった。以上より FN の局在は胚盤胞期より出現することが判明したが、培養胚では着床において不利な状態にあることが示唆された。

### 5. 尿中微量エストロゲン測定試薬 (ハイエストロテックスライド) の臨床的意義

井村睦規・中村元一・中野仁雄  
(九州大産婦)

測定時間が 3 分間と短く、操作も簡便な、尿中微量エストロゲン (E) 測定試薬であるハイエストロテックスライドを臨床応用し、以下のことが示された。

1) 本キットにより測定した尿中 E 値は、従来より用いられているハイエストロテックスライドにて測定した尿中 E 値と、相関係数  $r = 0.986$  と有意な相関を示した。

2) 正常月経周期婦人 6 名の早朝尿を連日測定した結果、尿中 E 値が、10ng/ml を越えれば排卵が近いと考えられた。

3) hMG-hCG 療法を行なった 11 例での検討では、尿中 E 値が急速な増加を示した場合や、200ng/ml 以上になって hCG に切りかえた場合には、卵巢過剰刺激症候群を発生する頻度が高かった。

以上より本キットは日常臨床への応用が充分期待できることが示唆された。

### 6. ハイモニター E による尿中エストロゲン測定法

#### —尿比重による補正値の意義—

今村登志子・宮川勇生・江川久枝・野田俊一  
森 憲正 (宮崎医大産婦)

抗エストロゲンモノクローナル抗体を用い、ラテックス凝集阻止反応の原理を応用したハイモニター E による簡易尿中エストロゲン測定法で、正常月経婦人のエストロゲン動態および尿比重による補正値の臨床的意義について検討した。

対象は、正常月経婦人の 9 例で、月経周期 2 日目より次月経周期 1 日目までの早朝尿のエストロゲンを連日ハイモニター E 法で測定し、さらにわれわれ

の作製した尿比重の予測尿量に対する補正係数を用いて補正值を求めた。

ハイモニターE法とRIA法による測定値の月経周期におけるパターンはほぼ一致し、両測定法による相関係数は卵胞期で0.9107、黄体期で0.8686であった。また、ハイモニターE法による補正值が60ng/mlに達すると、2～0日後にLHピークがみられることにより卵成熟の指標に応用できると考えられた。さらに、随時尿の測定では、われわれの作製した補正係数を用いることの重要性が強調された。

#### 7. 黄体機能不全に対する Progesterone 補充療法について

三原直子・佐久川政男・新崎盛雄・佐久本哲郎  
東 政弘・中山道男 (琉球大産婦)

黄体機能不全(LPD)は不妊原因の3～10%に認められるが、その治療法として各種排卵誘発剤の投与やProgesterone(P)の補充が行なわれている。今回われわれはLPDと診断した不妊患者に天然型P腔座薬を投与し若干の成績を得たので報告する。

対象は当科不妊外来にて治療中の患者で、LPD以外に不妊因子の認められない4例にP補充療法を行なった。LPDの診断は黄体期日数、子宮内膜組織日付診および血中P値により行なった。P腔座薬の投与はP 25mgを1日2回、排卵確認の翌日より行ない、出血が開始するまでとした。出血がない時は尿妊娠反応を施行し、妊娠が成立していれば12週まで投与した。P補充後1時間で血中P値はすでに上昇しており、3時間でほぼ最高値(25～40ng/ml)となり、以後漸減し、投与後12時間でほぼ前値に戻り、P補充療法期間中に4例中2例に妊娠が成立した。

#### 8. 当科における腹腔鏡検査の成績について

鮫島哲郎・増崎英明・石丸忠之  
山辺 徹 (長崎大産婦)

〔目的〕当科では、昭和57年より主に不妊診療に腹腔鏡検査を導入している。今回はこれらの施行例について統計的検討を加えた。

〔成績および考察〕腹腔鏡検査は、昭和57年9月より62年8月までの5年間に220例施行されて、麻酔は迷妄麻酔と局所麻酔を併用し、気腹は主として笑気ガスを用いている。対象は、不妊症が187例(85%)を占め、他に子宮外妊娠、骨盤内腫瘍、性器奇形の診断などの目的に用いられている。

不妊症例中94例(50%)が子宮内膜症であった。ことに機能性不妊症77例中、内膜症49例(63%)と頻度が高く、腹腔鏡検査を施行するまでは、不妊

検索は終了していないものと考えられる。今後は、診断のみならず治療の面でも腹腔鏡の有用性が高まるものと思われる。

#### 9. 多のう胞性卵巣に対する卵巣楔状切除術および腹腔鏡下卵巣パンチ切除術の効果について

宇津宮隆史・角沖久夫・是永 進・松岡幸一郎  
是永迪夫 (九州大生体防御医学研究所産婦)

当科不妊外来を受診した卵巣機能不全症で、臨床症状、ホルモン検査で多のう胞性卵巣を疑われた61例で、開腹卵巣楔状切除術を行なった50例、腹腔鏡下卵巣 Multiple Punch Resection (MPR) を行なった11例について、術前、術後にわたり連日採血して、手術の内分泌機能に与える影響を検討した。その結果、手術によりテストステロンが著明に低下したが1週間後には旧に復した。エストラジオールも下降する傾向がみられた。FSH、LHは連日採血では著明な変動はみられなかった。しかしLHのパルス状分泌はMPRにより3～5日後は著明な振幅、頻度、基礎値の低下がみられた。そして楔状切除術の50例中26例50%、MPRの11例中4例が妊娠に成功した。PCOでは楔状切除術にかぎらずMPRでも同様の効果が期待されること、MPRの効果は中枢に働いてLH分泌の低下をきたすことが明らかとなった。

#### 10. 片側腔閉鎖を伴う重複子宮、重複腔の3症例

加藤圭次・中村元一・浜田政雄・吉満陽孝  
江口冬樹・中野仁雄 (九州大産婦)

ミューラー管発生異常に由来する子宮奇形は、多くの種類があるが、臨床症状に乏しい症例では診断が困難な場合も多い。今回われわれは、異常帯下を主訴とした片側腔閉鎖型重複子宮、重複腔の3症例を経験したので若干の考察を加え報告する。3症例とも重複子宮、重複腔で片側の閉鎖腔は健常側の腔と小孔を介して交通していた。

症例1は23歳未婚で、子宮卵管造影で診断され、腔中隔切除術を行ない経過順調である。症例2は症例1と同様子宮卵管造影で診断したが、その後閉鎖側子宮に妊娠し、妊娠24週まで経過順調である。症例3は26歳既婚で閉鎖側に妊娠したが流産し、その後、腹腔鏡および腔壁切除術を行ない現在再び同側に妊娠中である。3症例とも腔閉鎖側の腎欠損を合併していた。

診断には子宮卵管造影が有用であり、治療としては腔中隔切除術を行ない症状の消失をみている。また、既婚婦人において閉鎖側子宮に計3回妊娠して

おり、本症は妊孕性には関与しないと思われた。

### 11. IVF-ET 時の採卵法に関する検討

森 明人・竹内一浩・福元清吾・山本慎一  
堂地 勉・有馬直見・永田行博（鹿児島大産婦）

体外受精・胚移植 (IVF-ET) の採卵方法には現在、種々の手技が用いられている。われわれは、これまで腹腔鏡採卵、経膀胱採卵、経膣採卵と採卵方法を変えてきた。今回この3つの採卵法を比較検討した。

対象は昭和61年1月より62年7月までの腹腔鏡採卵9例、経膀胱採卵13例、経膣採卵17例である。

穿刺卵胞数、卵回収、受精率、採卵に要した時間等を検討した。排卵誘発法は一貫して clomiphene + hMG + hCG であり、首席卵胞が 16~18 mm で hMG 中止し、40~50hr 後 hCG5000IU 筋注し、30~36hr で採卵した。穿刺卵胞数は腹腔鏡、経膀胱、経膣でそれぞれ、 $3.3 \pm 1.41$ ,  $2.7 \pm 1.13$ ,  $6.5 \pm 0.41$  個であった。卵回収はそれぞれ平均で 0.4, 0.8, 3.6 個/患者であった。受精率はそれぞれ 50%, 80%, 74%/卵であった。採卵に要した時間は経膣が最短で平均 20 分であった。

以上より経膣採卵は卵胞が至近距離にあるため明瞭に identify でき、かつ侵襲が少なく、採卵法としては最もすぐれた方法であると言える。

# 関連学会開催のお知らせ

## 第6回国際受胎調節学会

(Society for the Advancement of Contraception: SAC)

### (第2回予告)

**会期:** 昭和63年5月23日(月)~26日(木)

**会場:** 笹川記念会館 東京都港区三田3-12-12

**会長:** 高木繁夫(日本大学医学部産婦人科主任教授)

#### 主な内容:

海外招待講演

E. Diczfalusy, S. McCann, E-E. Baulieu, J. Strauss, H. Hasson, J. Zatuchini,  
M. Elstein, 他

#### セッション:

WHO シンポジウム, 神経内分泌, 内膜機能, 卵巣機能, 腹腔鏡(workshop), IUD, Oral  
contraceptive and Barrier method (workshop), 家族計画, 性行為感染(STD), 経  
口避妊薬の基礎と臨床, 新しい受胎調節, vaginal contraception, 男性避妊, surgical  
contraception, Basic research in reproduction, その他

**演題応募締切:** 昭和63年4月末日(口演, ポスター)

**応募, 登録要項請求先:** 〒173 東京都板橋区大谷口上町30-1

日本大学医学部産婦人科学教室

SAC 学会事務局

TEL: 03-972-8111 Fax: 03 972 0011

## 第6回日本受精着床学会学術講演会 (第2回予告)

第6回日本受精着床学会学術講演会について、下記のごとく御案内申し上げます。  
多数の御出題ならびに御参加をお願い申し上げます。

会 期：昭和63年7月27日(水)・28日(木)

会 場：高輪プリンスホテル

〒108 東京都港区高輪3-13-1 (TEL 03-447-1111)

### 特別講演

豊田 裕教授 (東京大学医科学研究所 獣医学研究部)

「体外受精研究の歩み」

長濱嘉孝教授 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)

「多細胞動物における卵成熟の誘起機構」

### シンポジウム

「配偶子の成熟と受精をめぐる最近の知見」

石川博通 筑波大学泌尿器科 講 師

久保春海 東邦大学産婦人科 助教授

野田洋一 京都大学産婦人科 助教授

星 和彦 福島大学産婦人科 助教授

堤 治 東京大学産婦人科 助 手

一般演題の締切りは、4月30日(土)です。

連絡先：〒113 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学医学部産婦人科学教室内

第6回日本受精着床学会事務局宛

(TEL 03-815-5411 内8493)

日本受精着床学会 会長

水野 正彦

# 第7回日本思春期学会

## 主題：“人間の性を考える”

会長 札幌医科大学 熊本悦明

I. 会期：1988年7月28日（木）、29日（金）、30日（土）

II. 会場：札幌市教育文化会館

### III. 主要プログラム

#### (A) Precongress meeting：性教育研究会（7月28日、午前9時より）

主題「学校教育の中で性をどう捉えるか」

特別講演（I）「男の生理」白井将文

（II）「女の生理」広井正彦

（III）「性感染症」熊本悦明

パネルディスカッション 「性教育のすすめ方」

#### (B)日本思春期学会（7月29日～30日）

a) シンポジウム（I）「性はどの様にして創られるか」

司会 新井康充，熊本悦明

①性染色体と性決定因子 永井幸史      ②体の性分化 大島博幸

③脳の性分化 新井康充      ④男の性成熟 熊本悦明

⑤女の性成熟 玉田太郎

b) シンポジウム（II）「性はどの様に捉えられ、扱われてれているか」

司会 田能村祐麒，熊本悦明

①性教育的立場から 田能村祐麒      ②泌尿器科学的立場から 渡辺 泷

③産婦人科学的立場から 小六義久      ④社会学的な立場から 石川弘義

⑤社会心理学的立場から 池上千寿子

⑥ジャーナリズムの立場から 深尾勝子

IV. 演題申込み締切：昭和63年4月30日（土）（当日消印有効）

V. 事務局：〒060 札幌市中央区南一条西16丁目 札幌医科大学泌尿器科教室  
第7回日本思春期学会事務局  
TEL: 011-(611)-2111  
(内線3472)

## 第 28 回日本産科婦人科内視鏡学会総会ならびに学術講演会

- I 会期：昭和 63 年 7 月 30 日（土），31 日（日）  
II 会場：コクヨホール 〒108 東京都港区港南 1-8-35  
TEL 03-450-5730

### III 主な内容

#### 1. 会長講演

「生殖の摂理と倫理」 演者 慶応大学教授 飯塚理八  
座長 鹿児島大学教授 永田行博

#### 2. 招請講演

「Diagnostic laparoscopy in gynecologic disorders」  
演者 ソウル大学教授 張潤錫  
座長 東京大学教授 水野正彦

#### 3. Panel Discussion

「内視鏡の現況」 座長 川崎市立川崎病院院長 林茂  
(1) Hysteroscopy 演者 川崎市立川崎病院部長 岩田嘉行  
(2) Laparoscopy 演者 東北大学講師 星合昊  
(3) Culdoscopy 演者 東邦大学講師 小島栄吉  
(4) Tubalscopy 演者 藤田学園保健衛生大学助教授 河上征治

### IV 演題募集要項

一般演題ならびにビデオ演題を募集致します。演題名，所属，氏名（演者に○印）を記載し，官製はがきにてお送り下さい。

締切：昭和 63 年 4 月 30 日（土）

宛先：〒160 東京都新宿区信濃町 35

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室  
第 28 回日本産科婦人科内視鏡学会  
会長 飯塚理八

### V 懇親会

昭和 63 年 7 月 30 日（土）講演会終了後，懇親会を予定しております。奮ってご参加ください。

第 28 回日本産科婦人科内視鏡学会  
会長 飯塚理八

## 第 33 回日本不妊学会総会および 学術講演会 ご宿泊のご案内

このたび首記学会に出席されます皆様方の便宜を図る為、宿泊のお世話を日本交通公社京都支店にて取り扱わせていただくことになりました。通常の個人料金よりお得な学会料金にて御案内させていただきます。この時期は観光シーズンでもありますので、お早目にお申し込みいただきますよう御案内申し上げます。

1. 宿泊期日 昭和 63 年 11 月 14 日 (月) ~17 日 (水)

2. 宿泊ホテル・料金 (1 泊, 税金・サービス料込の料金です)

ランク	ホテル名	お一人様一泊料金		地下鉄駅までの徒歩所要時間
		シングルルーム	ツインルーム	
S	宝池プリンスホテル	* 19,000円	11,000円	
A	京 都 ホ テ ル	10,000円	8,500円	御池駅より徒歩10分
	京都ロイヤルホテル	10,500円	8,500円	御池駅より徒歩11分
	京都全日空ホテル	10,500円	9,500円	御池駅より徒歩10分
B	からすま京都ホテル	9,500円	7,500円	四条駅より徒歩 1 分
	ホリディイン京都	8,000円	7,500円	北大路駅よりバス 5 分
C	ホテルアルファ京都	7,200円	6,800円	御池駅より徒歩11分
	京都セントラルイン	6,000円	5,500円	四条駅より徒歩10分

\* ツインルームのシングル使用

3. お申込み方法

申込書にご記入のうえ、宿泊合計金額及び通信費用 (1 件につき 500 円) を添えて現金書留 (クレジットカードも利用できます) にてご送金下さい。折り返し、宿泊予約確認書をご送付いたします。

4. お申し込み締切日 昭和 63 年 10 月 31 日 (月)

5. お取消料

宿泊日の 14 日前まで	無 料
13 日前以後 4 日前まで	1,000 円
3 日前以後前日まで	3,000 円
宿泊日の当日以後	宿泊料金全額

ご返金は、お取り消し料および郵送実費 (500 円) を差し引いてお返しいたします。2 泊以上のお申し込みで 1 泊目が無断不泊の場合は、2 泊目以後を自動的に取り消させていただきます。

6. お申込み 及び お問合わせ先

〒 600 京都市下京区東塩小路町（京都駅前）

(株)日本交通公社京都支店

「第 33 回日本不妊学会総会」係（担当：平井・奥村・湯本）

TEL. 075-361-7241 FAX. (075) 341-1028

.....キ・リ・ト・リ・線.....

第33回不妊学会総会 宿泊申込書

No. \_\_\_\_\_  
お申込日 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

代表者氏名		TEL	
郵便物送付先	〒		

氏名	宿 泊 日			泊			宿泊代金
	11/14	15	16	第1希望ホテル	第2希望ホテル	※ 部屋タイプ	
						T U S	
						T U S	
						T U S	
						T U S	

宿 泊 金	¥
通 信 費	¥ 500
合 計	¥

※T…ツインルーム U…ツインルームのお1人使用  
S…シングルルーム 該当する欄に○印をご記入下さい。  
希望ホテルは第2希望までお書き下さい。

わたくしは、支払いを下記カードにて行ないます。

利 用 カ ー ド 会 社 名		有 効 期 間	引 落 し カ ー ド 番 号
(1) YES JTB カード	(5) VISA	19 年 月 日 まで	
(2) ダイナースクラブ	(6) ユニオンクレジット		
(3) 日本信販	(7) ダイヤモンドクレジット		
(4) JCB	(8) ミリオンカード		

お名前

Ⓜ

## 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原著、総説、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
  3. 1論文は、原則として刷り上り6ページ以内とし、超過は4ページ(計10ページ)までを認める。超過ページならびに特に費用を要する図、表、写真は実費を著者負担とする。
  4. 原著、総説、論説、臨床報告などは必ず、400字以内の和文抄録ならびに、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。
  5. 図表ならびに写真は稿末に一括してまとめ、符号を記入し、かつ本文中に挿入すべき位置を明示する。
  6. 記述は和文または欧文とし、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：ページ数、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名に従うこと。特に号数を必要とする場合は巻数とページ数との間に括弧で囲む、すなわち  
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：ページ数、年次
    - b. 単行本の場合  
著者名：題名、巻数：ページ数、発行所、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カ年間のわが教室における外来不妊患者の統計的観察, 日不妊誌, 4: 13, 1956
  - 例1. Rovinsky, J. J. and Guttmacher, A. F.: Medical, Surgical and Gynecological Complications of Pregnancy, ed 2: p68, Baltimore, Williams & Wilkins Co. 1965
  9. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編のみとする。
  10. 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。
  11. 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する。
  12. 特別掲載を希望する論文は、受付順序によらず、速やかに掲載される。この場合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。
  13. 掲載原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。これ以上を必要とする場合は、原稿に別刷総部数を朱記する。なお、30部を越す分についての実費は著者負担とする。
  14. 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)アイシーエス企画内 社団法人 日本不妊学会 事務所とする。

### 編集会議からのお知らせ

原稿用紙はB5判横書き400字詰のものを使用し、組版に差支えないよう  
清書して下さい。ワープロを使用しても結構です。(昭和62年9月)  
ランニング・タイトル(和文で25字以内、英文では40 letters以内)を記載してください。(昭和63年1月)

編 集 委 員

飯 塚 理 八 (委員長)

味 香 勝 也	百 目 鬼 郁 男	穂 坂 正 彦
石 島 芳 郎	小 林 俊 文	百 瀬 和 夫
佐 久 間 勇 次	和 久 正 良	

EDITORIAL BOARD

Rihachi IIZUKA (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA	Ikuo DOMEKI	Masahiko HOSAKA
Yoshiro ISHIJIMA	Toshihumi KOBAYASHI	Kazuo MOMOSE
Yuzi SAKUMA	Masayoshi WAKU	

事務局からのお知らせ

日本不妊学会の業務委託をしている(株)国際会議事務局の社名が(株)アイシーエス企画と変わりました。従って日本不妊学会事務局の住所は下記のとおりになります。

社団法人 日 本 不 妊 学 会  
〒103 東京都中央区日本橋2-14-9  
加商ビル (株) アイシーエス企画内  
(Tel. 03-272-7077)

日本不妊学会雑誌 33 巻 2 号

昭和 63 年 3 月 25 日 印 刷  
昭和 63 年 4 月 1 日 発 行

編集兼発行者	飯 塚 理 八
印 刷 者	安 永 修 東京都文京区関口1-43-5
印 刷 所	有 限 会 社 ル ー プ 社 東京都文京区関口1-43-5
発 行 所	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)アイシーエス企画内 Tel (03) 272-7077 振替口座番号 東京 7-93207