

ISSN
0029-0629
CODEN:NFGZAD

JAPANESE JOURNAL OF FERTILITY AND STERILITY

Vol. 35 No.4

October
1990

日本不妊学会雑誌

第35卷 第4号

平成2年10月1日

日本不妊学会誌

第35巻 第4号

平成2年10月1日

——目 次——

原 著

- 排卵・卵成熟に及ぼす platelet activating factor の意義に関する研究 ……………菊川美一 …… 1
- 体外受精・胚移植例の妊娠に影響を与える因子についての検討……………新谷恵司・他 …… 7
- 子宮腺筋症に対するダナゾール療法の有効性についての検討……………高橋健太郎・他 …… 12
- プロモクリプチン経腔投与の臨床的評価——経口投与との比較検討——…小此木孝佳・他 …… 16
- 排卵障害の原因別分類とその治療……………合阪幸三・他 …… 22
- PCO に対する LHRHa+hMG 律動的皮下投与方法と hMG 単独投与方法の比較 ……山田春彦 …… 30
- マウス胚の透明帯脱却の機序に関する超微形態学的検討……………上原茂樹・他 …… 38
- 卵巣に於ける renin の存在と FSH 及び estrogen による発現調節機構(英文) ……白杵 愔 …… 44
- 簡易凍結法による性状不良精液の凍結保存……………小林俊文・他 …… 56
- SOD 添加低酸素下培養胚の子宮内移植成績 ……………馬岡 陽・他 …… 61
- ハムスター・テスト——ヒト精子受精能検査としての
凍結保存ハムスター卵の臨床応用性に関する基礎的検討——……………川内博人 …… 67
- In Vitro* におけるヒト精子受精能獲得の検討 ……………福田 勝・他 …… 76
- 薬物療法により妊娠した造精機能低下症 33 例の検討 ……………太田博孝・他 …… 81
- Sulfasalazine 代謝産物による雄性ラット生殖能抑制作用に関する
実験的検討……………植野卓也・他 …… 87
- 精子無力症における精子の微細構造異常について。第6報。
多核多尾精子症の3例及び精子軸糸異常の1例について……………佐藤和宏・他 …… 93
- 閉塞性無精子症の治療としての精管延長による精管精管吻合術(英文) ……瀧原博史・他 …… 99
- 精索静脈瘤の手術成績——妊娠例と非妊娠例の比較——……………角谷秀典・他 ……104
- 糖尿病に合併した精管石灰化症の非閉塞性について……………石津和彦・他 ……109
- Fucose および Fucoidin のハムスター精子の卵子透明帯表面への
接着抑制(英文) ……………佐藤嘉兵 ……113
- レセルピン投与ラットへの胚盤胞移植 2. 着床時期および胚盤胞の細胞数……………辻井弘忠 ……116
- ラットの生殖機能に及ぼすアルカリイオン水給与の影響(英文) ……渡部 敏・白井 弥 ……120
- 第35回日本不妊学会学術講演会抄録……………125

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 35, No. 4, 1990)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- The Role of Platelet Activating Factor in Ovulation and Oocyte Maturation. *Yoshiichi Kikukawa* 1
- The Factors Affecting the Results of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer *Keiji Shintani, Nobutaka Yoshida, Ichiro Shirakawa, Yukio Hirano, Takaaki Katayama, Shigeki Taga, Kazusuke Nagoshi & Kaoru Sekiba* 7
- The Study of the Effect of the Administration of Danazol on Patients with Adenomyosis *Kentaro Takahashi, Hiroko Nagata, Hiroyuki Yamasaki, Kazuo Yoshino & Manabu Kitao* 12
- Clinical Evaluation of Vaginal Administration of Bromocriptine —Comparative Studies with Oral Administration— *Takayoshi Okonogi, Yoshito Ibuki & Masao Igarashi* 16
- Clinical Study on the Classification and the Treatment of the Ovulatory Disturbances *Kohzo Aisaka, Sachie Kaneda, Hiroo Tsuzuki, Yohko Toriya, Michio Nojima, Kentaro Kokuho & Kohsuke Yoshida* 22
- A Comparative Study between LHRHa+hMG Pulsatile Subcutaneous Administration and hMG alone in PCO patients *Haruhiko Yamada* 30
- Ultrastructural Analysis about the Hatching Mechanism of Mice Blastocysts *Shigeki Uehara, Takashi Tsumuraya, Yumiyo Kurahayashi, Kunihiro Okamura, Toshifumi Takabayashi & Akira Yajima* 38
- Regulation of Renin Production by Follicle-stimulating Hormone and Estrogen in Rat Ovaries *Satoshi Usuki* 44
- Cryopreservation of Washed and Concentrated Human Sperm by Liquid-nitrogen Vapor Freezing. *Toshifumi Kobayashi, Satoru Kaneko, Park, Y. J., Izumi Hara, Toranoshin Ohono & Rihachi Iizuka* 56
- The Effects of SOD and Low Oxygen Culture on Mouse Embryos *Yoh Umaoka, Yoichi Noda & Takahide Mori* 61

Cryopreservation of Hamster Oocytes; Effects of Freezing and Vitrification on Hamster Test Results.....	<i>Hirohito Kawauchi</i>	67
<i>In Vitro</i> Capacitation of Human Spermatozoa ...	<i>Masaru Fukuda, Hiroyuki Takeuchi, Satoshi Itoh & Michio Takada</i>	76
A Retrospective Study of 33 Oligoasthenospermic Cases with Established Pregnancy after Drug Treatment	<i>Hirotaka Ota, Jun Fukuda, Masahiro Maki & Mineko Fukushima</i>	81
Antifertility Effect of the Metabolites of Sulfasalazine for Male Rats	<i>Takuya Ueno, Kazuhiko Ishizu, Yoshikazu Baba, Hiroshi Takihara & Jisaburo Sakatoku</i>	87
Fine Structure of Asterozoo—spermia in Infertile Men 6. Report of Three Cases of The Sperm with Multiple Nuclei and Flagella and A Case of The Sperm with Abnormal Axonemes.....	<i>Kazuhiro Satoh, Seiichi Orihara, Ikuo Maehara, Sigeaki Satoh, Masaru Takahashi & Masayosi Hiramatsu</i>	93
Vasovasostomy with Lengthening of the Vas Deferens for the Treatment of Obstructive Azoospermia ...	<i>Hiroshi Takihara, Jisaburo Sakatoku, Kazuhiko Ishizu, Yoshikazu Baba, Takuya Ueno & Kazuo Nagata</i>	99
Operative Results for Varicocele—Comparative Study between Pregnant and Impregnant Cases— ..	<i>Hidenori Sumiya, Tadashi Kotake, Yoshio Shiseki, Masanobu Takahara, Hiroyuki Ishii & Jun Shmazaki</i>	104
Non-obstruction by Calcification of the Vas Deferens Associated with Diabetes Mellitus	<i>Kazuhiko Ishizu, Yoshikazu Baba, Takuya Ueno, Rūchiro Isoyama, Hiroshi Takihara & Jisaburo Sakatoku</i>	109
Inhibitory Effects of Fucose and Fucoidin on Sperm Attachment to the Zona Surface in the Hamster	<i>Kahei Sato</i>	113
Blastocyst Transplantation in Reserpine-Induced Pseudopregnant Rats 2. Time of Implantation and Number of Blastocytes	<i>Hirotada Tsujii</i>	116
Influence of Alkaline Ionized water on Reproductive Functions in the Rat	<i>Toshi Watanabe & Wataru Shirai</i>	120

排卵・卵成熟に及ぼす platelet activating factor の意義に関する研究

The Role of Platelet Activating Factor in Ovulation and Oocyte Maturation.

旭川医科大学産婦人科学教室 (主任: 清水哲也教授)

菊川 美一

Yoshiichi KIKUKAWA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Asahikawa Medical College,
Asahikawa 078, Japan
(Director: Prof. Tetsuya Shimizu)

細胞膜リン脂質の代謝産物である、血小板活性化因子 (PAF) の排卵・卵成熟に及ぼす意義を検討した。過排卵処理した9~12週齢のICR雌マウスにPAFの特異的受容体拮抗剤であるCV3988を投与すると、排卵は対照に比し、CV3988の500 μ g投与量以上で有意に減少し、CV3988により用量依存的に排卵は抑制された。次に、CV3988を500 μ g投与し、排卵抑制されたマウスに、PAFを投与すると用量依存的に排卵は回復しPAFを0.5 μ g投与した際に排卵数は最大の回復を認めた。

過排卵処理マウスにCV3988を2500 μ g投与し、排卵抑制された卵胞卵子とCV3988無処理の排卵卵子の受精率を調べると、卵胞卵子と排卵卵子の受精率は、それぞれ、71.0%、72.7%、変性率は4.3%、2.8%となり両者間で有意差を示さなかった。以上より、PAFが排卵機構に促進的に作用し、卵成熟機構には必須の因子ではないことが判明した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 629—634, 1990)

緒 言

生殖生理における卵成熟、排卵の複合的な現象に prostaglandins (以後、PGsと略)、sex steroids, histamine, bradykinineなどのchemical mediatorや、gonadotropins, OMI (oocyte maturation inhibitorの略)などが関与していると考えられている。prostaglandin inhibitorであるindomethacinをマウス、ラット、ウサギ、ブタに投与すると排卵が抑制され、ラットに再度PGsを投与すると、排卵は回復する³⁾。また、細胞内PGsは排卵に向けて増加し、排卵抑制時には、卵胞内PGsの上昇も抑制されることから、卵胞内PGs上昇が排卵に関与していると考えられている。卵成熟においても、成熟とともに卵胞

内PGsが上昇したり¹⁾、indomethacinでラット卵成熟(極体保有率・PFK活性)が抑制され、PGE₂・PGF₂ α で回復する³⁾ことから、PGsが卵成熟にも関連しているといわれている。

1972年にBenveniste⁵⁾により命名され、1979年にDemopoulos⁹⁾により構造が決定された血小板活性化因子(platelet activating factor, 以後PAFと略)は、細胞膜を構築する物質として主に研究されてきたリン脂質の中で、生理作用を発揮するアルキルエーテル型リン脂質として注目され始めてきた。この物質には末梢血管拡張作用¹¹⁾、血管透過性亢進作用¹⁴⁾、好中球遊走作用²²⁾があり、この反応は、排卵期に起こる血管拡張、血管透過性亢進、卵胞壁の浮腫と類似した現象であり、PAFの排卵機構への関与が

推測される。卵の成熟、排卵、受精、着床の生殖生理におけるPAFの作用に関する検討は緒についたばかりで、着床時の血小板減少⁷⁾やmouse embryoからのPAF産生¹⁷⁾、着床時に子宮内PAF濃度が上昇する¹⁹⁾ことから、PAFが着床に関与しているとする可能性が報告されているのみである。そこで今回、本研究において排卵ならびに卵成熟機構におけるPAFの意義について検討した。

研究方法

I. PAFの排卵に対する影響の検討

1. 実験動物

供試動物は、Crj: CD-1 (ICR)マウス (日本チャールズ・リバー社) を使用した。雌は9~12週齢、雄は10週齢以後を用い、固型飼料(CE-2, 日本クレア社製)と水は常時、供与し、室温は23°C、湿度は50~60%、人工照明時間は午前5時~午後7時までの明期14時間の環境にて飼育した。実験への供試は購入1週間後より行なった。

2. 排卵卵子数の測定法

雌マウスに、PMSG (5IU)-HCG (5IU) を48時間間隔で腹腔内に投与し、過排卵処理を施行し使用した。HCG投与15時間後に卵管膨大部を切開し、卵子を採取し、排卵卵子数を測定した。

3. 薬品

(1) PAF

PAF, 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine は、Avanti Polar Lipid社製を使用した。PAFはC₁₆~C₁₈の複合体で、分子量は523.7である。

(2) CV3988^{13,23)}

CV3988, rac-3-(N-n-octadecyl carbamoyloxy)-methoxypropyl-2-thiazolio ethyl phosphate は武田薬品より提供されたPAFの特異的受容体拮抗剤である。

4. 実験方法

(1) CV3988の用量依存的効果の検討

過排卵処理したマウスに、HCGと同時にCV3988を50, 500, 1500, 2500($\mu\text{g}/\text{mouse}$)、腹腔内投与し、排卵卵子数を測定した。対照は同容量の生理食塩水を投与したマウスの排卵卵子数とした。

(2) CV3988の時間依存的効果の検討

HCG投与時間を0時間目とし、0時間後、3時間後、6時間後、9時間後に、それぞれCV3988を500 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ 腹腔内投与し、排卵卵子数を測定した。

(3) CV3988の作用に対するPAFの補正効果の検討

HCGとCV3988, 500 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ を同時投与して排

卵抑制されたマウスに、PAFを0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0($\mu\text{g}/\text{mouse}$)量、CV3988と同時に腹腔内投与し、排卵卵子数を測定した。

II. 卵成熟におけるPAFの意義に関する検討

1. 卵子の採取方法⁴⁾

CV3988で処置した卵胞卵子の採取は、過排卵処理マウスにHCGと同時にCV3988 (2500 μg) を投与した後、頸椎脱臼法で屠殺し、排卵抑制された大きな卵胞を18G針で穿刺して、卵丘細胞に包まれた卵胞卵を採取した。対照群の排卵卵子はCV3988無処理マウスの卵管膨大部を切開し、排卵卵子を採取した。

2. 体外受精の方法⁴⁾

培養液はToyoda-Yokoyama-Hoshi培養液⁴⁾ (TYH培養液) を用いた。精子は10週以後のICR系雄マウスの精巣上体尾部より採取し、1時間半、炭酸ガス培養装置内でpreincubationし、capacitationを獲得させた後に、最終濃度が $1\sim 2 \times 10^5/\text{ml}$ になるように精子を、ツベルクリン注射器で卵子に添加した。添加後、培養装置内で6時間、媒精した。

3. 卵子成熟度の検討

6時間媒精後の卵子をホールマウント標本²⁾を作製して卵子成熟度の観察を行なった。卵子を2.5%グルタルアルデヒド、次に10%中性ホルマリンに固定し、染色を0.1% aceto-lacmoidで施行し、卵子核相を検索した。この卵子成熟段階をCV3988で排卵抑制された卵胞卵子群と対照の排卵卵子群との間で比較検討した。

研究成績

I. PAFの排卵に対する影響の検討

1. CV3988の用量依存的効果

対照群の排卵卵子数は、 37.5 ± 5.9 (mean \pm S. D.) (n=13) 個であった。CV3988投与における排卵卵子数は、50, 500, 1500, 2500($\mu\text{g}/\text{mouse}$)投与で、それぞれ 32.9 ± 5.7 (n=8), 18.9 ± 5.4 (n=14), 13.8 ± 3.4 (n=6), 2.6 ± 4.7 (n=11) (個) となり、500 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ 投与量以上で対照と比べ排卵数は、有意(t-test, $P < 0.001$)な低下を示し(図1)、用量依存的な排卵の抑制を認めた($y = -0.013x + 32.261$, 回帰係数のFは、 $F = 149.57$) $F_{48} \frac{1}{0.01} = 7.19$).

2. CV3988の時間依存的効果

CV3988投与時間の変化による卵管内排卵卵子数はHCG投与後、0時間目、3時間目、6時間目、9時間目の投与で、それぞれ 18.9 ± 5.4 (n=14), 25.7 ± 8.1 (n=11), 19.0 ± 4.2 (n=7), 25.8 ± 8.3 (n=

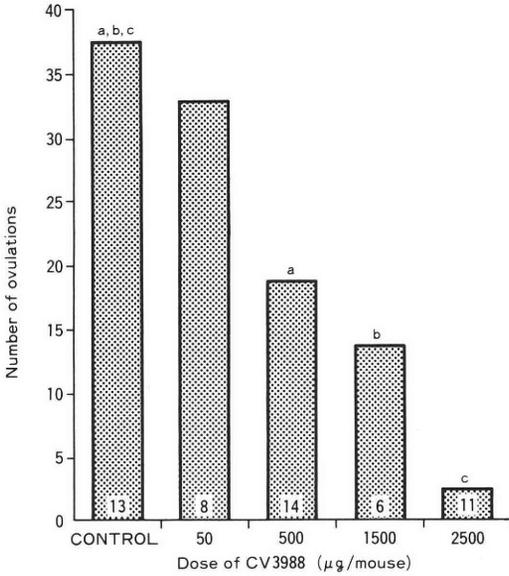


図 1 Effect of dose of CV3988 on ovulation. There are significant differences. a, b, c: $p < 0.001$. The numbers within the bars represent the number of mice. The values represent mean.

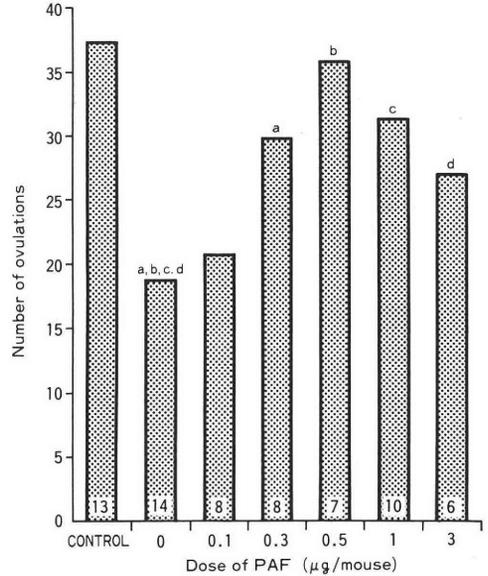


図 3 Ovulation after treatment with PAF plus CV3988 (500 µg/mouse). There are significant differences. a, d: $p < 0.01$. b, c: $p < 0.001$. The numbers within the bars represent the number of mice. The values represent mean.

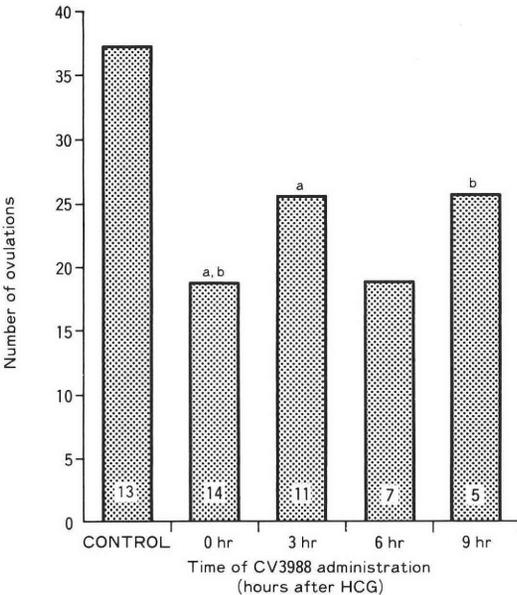


図 2 Effect of time of CV3988 administration (500 µg/mouse) on ovulation. There are significant differences. a, b: $p < 0.05$. The numbers within the bars represent the number of mice. The values represent mean.

5) (個)となり、一定の傾向を認めなかった。排卵卵子数はCV3988の0時間目投与に比べて3時間目、9時間目に、やや多かった(t-test, $p < 0.05$) (図2)。

3. CV3988の作用に対するPAFの補正効果

CV3988, 500 µg/mouse 腹腔内投与により抑制された排卵は、PAFとCV3988との同時腹腔内投与により回復し、排卵卵子数は、対照、PAF投与0, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0 (µg/mouse)で、それぞれ 37.5 ± 5.9 (mean \pm S.D.) ($n = 13$), 18.9 ± 5.4 ($n = 14$), 20.8 ± 3.5 ($n = 8$), 30.0 ± 11.3 ($n = 8$), 36.0 ± 8.8 ($n = 7$), 31.3 ± 6.2 ($n = 10$), 27.0 ± 4.9 ($n = 6$) (個)となり、PAF 0.3 µg/mouse 量以上でPAF未投与時に比べて、有意(t-test, $p < 0.01$)に回復し、0.5 µg/mouse で最大の回復を認めた。それ以上、PAFを投与すると逆に排卵数回復は低下した(図3)。

II. 卵成熟におけるPAFの意義

ホールマウント標本より卵子成熟像を観察すると、CV3988 (2500 µg) 投与により排卵抑制された卵胞胞子、対照の排卵卵子の受精率(表1)は66/93(71.0%), 104/143(72.7%)で、多精子受精率は7/93(7.5%), 17/143(11.9%)で、単為発生と思われる卵子の率は2/93(2.2%), 2/143(1.4%)と両者間に

表 1 Effect of CV3988 on fertilizability of ova

kinds of oocyte	No. of eggs					
	total	not fertilized	fertilized	polyspermic	parthenogenetic	degenerated
oocyte of blocked ovulation with treatment of CV3988	93	14(15.1%)	66(71.0%)	7(7.5%)	2(2.2%)	4(4.3%)
ovulated oocyte without treatment	143	16(11.2%)	104(72.7%)	17(11.9%)	2(1.4%)	4(2.8%)

有意差を認めなかった(受精率は Yates の修正 χ^2 検定, その他は χ^2 : Fisher 直接確率法にて検定).

考 案

過排卵処理した ICR 系雌マウスに PAF の特異的受容体拮抗剤 (CV3988)¹³⁾²³⁾ を投与する事により PAF と排卵との関連を検討した. CV3988 を投与すると, 排卵は用量依存的に抑制され, CV3988, 2500 μg 投与では卵子数は, ほぼ完全に抑制された. CV3988, 500 μg (対照の排卵数に比べて約 $\frac{1}{2}$ に排卵抑制される量) 投与と同時に PAF を投与すると, 排卵は用量依存的に回復し, PAF 0.5 μg 投与の時に最大の回復を示した. この回復効果の結果より CV3988 は単なる toxic な作用で排卵を抑制しているのではなく, PAF が排卵機構に促進的に関与していることが明らかになった.

Espey¹²⁾ は, 卵胞破裂という現象は炎症反応により惹起されていると述べている. リン脂質である PAF には, chemical mediator である PGs, histamine, bradykinin と同様に, 炎症反応としての血管拡張作用¹¹⁾²⁰⁾, 血管透過性亢進作用¹⁴⁾, 白血球遊走作用²²⁾ がある. この反応は排卵期に出現する現象と同じであり, その現象の結果, 卵胞壁の浮腫と卵胞増大が起こり, 卵胞破裂が起こると考えられる.

ラット血管の灌流実験で, PAF が tissue type の plasminogen activator を放出させる成績¹⁵⁾ から類推して, PAF により放出された plasminogen activator により plasmin が形成され, 卵胞壁の fibrolysis が起こり, 卵胞壁頂部結合組織の融解非薄化が起こると考えられる. また, PAF 自身に局所へ好中球の集合を促し²²⁾, 好中球浸潤を起こす¹⁰⁾ 作用があり, さらに, PAF は好中球を活性化させ, 脱顆粒を起こす²²⁾. 好中球の特殊顆粒には collagenase 活性を有するライソゾームを含んでいることから, 遊走された白血球も卵胞破裂に関与することが考えられる.

CV3988 の投与時間の差異による排卵抑制への効果を見てみると, 一定の傾向を認めなかったが, 3 時間目・9 時間目は, 0 時間目に比べて, やや多く排

卵された. また, 排卵に至るまでの卵巣内 PGs 産生には 2 つのパターンがあり, ウサギ¹⁶⁾ では, 第 1 段階は HCG 投与 2 時間後, さらに第 2 段階の顕著な上昇は卵胞破裂の約 3 時間前に始まるといわれている. 同様の PGs 産生パターンはヒトにも見られる¹⁸⁾. CV3988 の時間的効果において, 3 時間目, 9 時間目に排卵数が多いのは, この PGs の産生により, CV3988 の排卵抑制効果が減弱された結果とも類推される.

PAF の作用機点については, exogeneous の gonadotropins を投与していて排卵が抑制されていることと, PAF が生体内有効時間が 30 秒と短く⁶⁾¹²⁾, autacoid の特徴を持つことから, CV3988 は卵巣局所で排卵を抑制していると考えられる.

卵成熟を検討する際には核成熟のみならず, 細胞質の成熟も必要であるという概念が 1973 年にいわれている⁸⁾. 卵子が受精するためには, 核成熟と卵細胞質の成熟が必要であると想定されており²⁴⁾, 受精能を有した場合, 卵子は成熟しているといえる. そこで, 今回, 媒精後の卵子のホールマウント標本を作製し, 卵成熟に与える PAF の影響を検討した. CV3988 によって排卵抑制された卵胞卵子と対照の排卵卵子の受精率, 多精子受精率, 変性率, 単為発生の率に有意差を認めなかった. このことから, PAF は LH surge 後の卵成熟過程に卵子受精能獲得まで含めて, 排卵の際とは異なり必須の要因ではないことが示唆された.

稿を終えるにあたり, ご指導・御校閲を戴きました清水哲也教授に深謝いたします. また, 直接御指導いただきました石川睦男助教授に感謝の意を表します.

文 献

- 1) 菊川美一, 笠茂光範, 石川睦男, 清水哲也: ヒト卵成熟過程に伴う卵胞液中 prostaglandins 動態に関する検討, 日不誌, 34 (2): 85, 1989
- 2) 菅原七郎: 卵子核相の判定法, 図説, 哺乳動物の発生工学実験法, 147, 1986

- 3) 堤治, 他: 受精着床過程における卵の物質代謝, および, その microenvironment 形成の生化学的解析, 日産婦誌, 36: 1377, 1984
- 4) 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, 家畜繁殖誌, 16 (4): 147, 1972
- 5) Benveniste, J., Henson, P. N., Cochrane, C. G.: Leukocyte-dependent histamine Release from rabbit platelets, J. Exp. Med., 136: 1356, 1972
- 6) Blank, K. L. et al: In vivo metabolism of a new class of biologically active phospholipids: 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocoline, a platelet activating-hypotensive phospholipid, Life Sci., 29: 769, 1981
- 7) O'Neill, C.: Thrombocytopenia is an initial maternal response to fertilization in mice, J. Reprod. Fert., 73: 559, 1985
- 8) Thibault, C.: Hammond memorial lecture. Are follicular maturation and oocyte maturation independent process?, J. Reprod. Fert., 51: 1. 1977
- 9) Demopoulos, C. A., Pinckard, R. N., Hanahan, D. J.: Platelet-Activating Factor, J. Biol. Chem., 254: 9355, 1979
- 10) Humphrey, D. M., Hanahan, D. J., Pinckard, R. N.: Induction of Leukocyte Infiltrates in Rabbit Skin by Acetyl Glyceryl Ether Phosphorylcholine, Lab. Invest., 47: 227, 1982
- 11) Muirhead, E. E., Byers, L. W., Desiderio, D. M., Brooks, B., Brosius, W. N.: Antihypertensive lipids from the kidney: alkyl ether analogs of phosphatidylcholine, Fed. Proc., 40: 2285, 1981
- 12) Espey, L. L.: Ovulation as an Inflammatory Reaction-A Hypothesis. Biol. Reprod., 22: 73, 1980
- 13) Frank-Valone, H.: Inhibition of Binding of the Platelet-Activating Factor AGEPC to Platelet by the AGEPC Analog, rac-3-(N-n-octadecyl carbamoyloxy)-2-methoxypropyl-2-thiazolioethyl phosphate (CV-3988), Biochem. Biophys. Research com., 126: 502, 1985
- 14) Humphrey, D. M., McManus, L. M., Hanahan, D. J. and Pinckard, R. N.: Morphologic Basis of Increased Vascular Permeability Induced by Acetyl Glyceryl Ether Phosphorylcholine, Lab. Invest., 50: 16, 1984
- 15) Emeis, J.J. and Kluft, C.: PAF-Acether-Induced Release of Tissue-Type Plasminogen Activator From Vessel Walls, Blood, 66: 86, 1985
- 16) Lawrence-Espey, L., Catherine-Norris, and Diane-Saphire: Effect of Time and Dose of Indomethacin on Follicular Prostaglandins and Ovulation in the Rabbit, Endocrinol., 119: 746, 1986
- 17) Louise-Adamson, M., Cheng-Smart, Y., James-Stanger, D., Raymond-Murdoch, N. and Timothy-Roberts, K.: Mechanistic Studies of Early Pregnancy Associated Thrombocytopenia (EPAT), Amer. J. Reprod. Imm. and Microbiology, 13: 117, 1987
- 18) Lumsden, M. A., Kelly, R. W., Templeton, A. A., VanLook, P. F. A., Swanston, I. A. and Baird, D. T.: Changes in the concentration of prostaglandins in preovulatory human follicles after administration of HCG, J. Reprod. Fert., 77: 119, 1986
- 19) Angle, M. J., Jones, M. A., McManus, L. M., Pinckard, R. N. and Harper, M. J. K.: Platelet-activating factor in the rabbit uterus during early pregnancy, J. Reprod. Fert., 83: 711, 1988
- 20) Norbert-Voelkel, F., Shih-Wen-Chang, Kathy-Pfeffer, D., Scott-Worthen, G., Ivan-McMurtry, F. and Peter-Henson, M.: PAF antagonists: Different effects on platelets, neutrophils, guinea pig ileum and PAF-induced vasodilation in isolated rat lung, Prostaglandins, 32, (3): 359, 1986
- 21) Schlondorff, D. and Neuwirth, B.: Platelet-activating factor and the kidney, Am. J. Physiol., 251: 1, 1986
- 22) Shaw, J. O., Pinckard, R. N., Ferrigni, K. S., McManus, L. M. and Hanahan, D. J.: Activation of human neutrophils with 1-O-hexadecyl/octadecyl-2-acetyl-sn-glyceryl-3-phosphorylcholine (platelet activating factor), J. Immuno., 127: 1250, 1981
- 23) Terashita, Z., Tsushima, S., Yoshioka, Y., Nomura, H., Inada, Y. and Nishikawa, K.: CV3988-a specific antagonist of platelet activating factor (PAF), Life Sci., 32: 1975, 1983
- 24) Thibault, C., Gerard, M. and Menezo, Y.: Nuclea and cytoplasmic aspects of mammalian oocyte maturation in vitro in relation to follicle size and fertilization, Prog. Reprod. Biol., 1: 233, 1976

The role of platelet activating factor in ovulation and oocyte maturation

Yoshiichi Kikukawa

Department of Obstetrics and Gynecology,
Asahikawa Medical College,
Asahikawa 078, Japan
(Director: Prof. Tesuya Shimizu)

The mechanism of ovulation has been comp red
to an inflammatory reaction. Platelet activating

factor (PAF) is important mediator of inflammation as it may induce the production of prostaglandins and lysosomal enzyme.

We evaluated the potential role of PAF in PMSG-HCG induced ovulation using CV3988, a specific PAF receptor antagonist in the hyper-ovulated ICR mouse (9-12 weeks old). Furthermore, we investigated the effect of PAF on oocyte maturation.

CV3988 blocked the ovulation in a dose dependent manner, and the significantly reduced ovulatory efficiency was observed at more than 500 μ g dose ($P < 0.001$). The ovulatory efficiency

reduced by CV3988 (at dose of 500 μ g) was recovered by PAF in a dose dependent manner.

There is not significant difference between the fertilization rates of the follicular oocytes of CV3988-suppressed ovulation and that of ovulated ova without treatment.

These results suggest that PAF may involve in ovulation process and may not be essential for oocyte maturation.

(受付: 1990年1月8日)

体外受精・胚移植例の妊娠に影響を与える 因子についての検討

The Factors Affecting the Results of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer

岡山大学医学部産婦人科学教室

新谷 恵 司 吉田 信 隆 白 河 一 郎
Keiji SHINTANI Nobutaka YOSHIDA Ichiro SHIRAKAWA
平野 由 紀 夫 片 山 隆 章 多 賀 茂 樹
Yukio HIRANO Takaaki KATAYAMA Shigeki TAGA
名 越 一 介 関 場 香
Kazusuke NAGOSHI Kaoru SEKIBA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Okayama University Medical School,
Okayama 700, Japan

体外受精・胚移植を行なった27例33周期について妊娠に与える影響に関して検討した。排卵刺激方法として clomiphene citrate を月経開始3日目から5日間、hMGを月経開始4日目から150IU連日投与する方法を用いた。この方法でのキャンセルは1例1周期（キャンセル率3%）であり、胎嚢を確認できた妊娠例は8例8周期（対症例妊娠率31%）であった。妊娠例の平均年齢は29.3歳、非妊娠例は34.3歳と両者の間に年齢は有意の差を認め、続発不妊症例の方が妊娠率は高い傾向を認め、さらに子宮外妊娠後の症例において妊娠率が高い傾向を認めた。また不妊期間、卵胞穿刺日、穿刺卵胞数、回収卵数には差が認めなかった。しかし分割卵数は妊娠例では3.5個と非妊娠例の2.3個に比べると有意な差を認めた。今回の検討からCCとhMGを用いた我々の方法において年齢と不妊原因、分割卵数が妊娠に影響を与える因子であると思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 635—639, 1990)

はじめに

体外受精・胚移植は現在わが国においても広く行なわれるようになってきている。そして体外受精において、より多くの卵を回収するために排卵刺激法が一般的に用いられており、その方法としては clomiphene citrate (CC), human menopausal gonadotrophin (hMG), luteinizing hormone-releasing hormone analogs (LH-RH a)などを組み合わせて用いるのが一般的となっている。また排卵刺激の中止には血中

の種々のホルモンの値やその変動、卵胞の大きさ、数など種々の基準がある。さらに採卵後の黄体期の補充療法についても様々な方法が用いられている。この様に種々の方法が用いられているのは、高い妊娠率を得る最適な方法を模索しているためである。近年、体外受精・胚移植法も妊娠率が向上してきたため、妊娠例から最適な方法に関する検討が可能になってきた。そこで今回我々は当科において体外受精・胚移植を行った症例の内、排卵刺激方法、採卵基準、黄体期補充療法とも同一の症例に関して妊娠

に影響を与えると思われる因子について検討を加えてみた。

対象および方法

対象は当科において卵管性不妊を適応として1989年1月から9月までに体外受精および胚移植を行なった症例のうち以下の方法を用いた27例33周期とした。

方法としては、まず排卵刺激方法は月経開始3日目よりCC 1日100 mgを5日間経口投与し、さらに月経開始4日目よりhMG (pergonal) 150IUを連日筋注した。卵胞計測は経腔超音波断層法にて行ない、卵胞3方向を計測し、観察された全卵胞のうち2番目に大きい卵胞の3方向平均径が14 mmを越えた日にhMGの投与を中止、最終hMG投与から約40時間後にhuman chorionic gonadotrophin (hCG) 10,000IUを筋注した。

卵胞穿刺時刻はhCG投与後35時間後に開始し、穿刺方法は経腔超音波断層法を用いて経腔的に穿刺可能な卵胞はすべて穿刺を行ない、吸引された卵胞液より実体顕微鏡下に卵を回収した。なお超音波断層装置はアロカSSD650、穿刺針はテルモ社製の16G卵胞穿刺針(特別製)を用いた。

培養は培養液としてHuman Tubular Fluid (HTF)を用い、受精用には7.5%、卵分割用には15%の56°C、30分加熱処理後の患者血清を加えた。培養は37°C、5%CO₂、5%O₂、90%N₂の環境下に行なった。媒精は卵回収後6時間の成熟培養の後、7.5%血清添加の培養液にて2回洗浄後、swim up法により回収した夫精子を最終運動精子濃度50~100×10⁴/mlとして行なった。

胚移植は受精操作後約36時間に2細胞以上に卵分割を認めた卵を経頸管的に子宮腔内にすべて移植した。

また黄体期の補充療法としては、卵胞穿刺後3日

目より3日毎に、卵胞穿刺後15日目までhCG 1,000IU筋注する方法を行なった。

妊娠の診断は超音波断層法にて胎嚢を確認できた症例のみとした。

結果

今回検討した方法で1例1周期のみが卵胞の発育を認めないために結局卵胞穿刺を行なえず、この方法のキャンセル率は対症例あたり3.7%(1例/27例)、対周期あたり3.0%(1周期/33周期)であった。また卵胞穿刺を行ないえた26例32周期において検討すると、妊娠例は8例(対症例妊娠率31%)8周期(対周期妊娠率25%、対胚移植周期28%)であった。

つぎに不妊原因別に検討した。その結果原発不妊症例と続発不妊症例では年齢は33.6歳と32.5歳、不妊期間は6.9年と4.9年、また卵胞の成熟を示す穿刺日は12.7日と12.4日や穿刺卵胞数は10.5個と10.8個、回収卵数は5.8個と6.2個と両者の間には差が認められなかった。しかし2細胞以上の分割が認められた数は原発不妊例は2.1個であったのに対して、続発不妊例では3.1個と両者の間に有意の差が認められた。また妊娠率は原発不妊例が対症例あたり9.1%であったのに対して続発不妊例のそれは46.7%と、続発不妊例において妊娠率が高い傾向が認められた(表1)。また今回の対象例はすべて卵管性不妊症例であるため、その原因別に妊娠率を検討してみた。その結果、卵管閉塞の原因が子宮外妊娠であった例は11症例中6例(対症例あたり妊娠率54%)と、他の原因の例に比べて高い妊娠率を示した(表2)。

つぎに妊娠例と非妊娠例にわけて検討した結果、平均年齢は妊娠例で29.3歳と非妊娠例の34.3歳との間に有意の差が認められた。しかし平均不妊期間は妊娠例で3.6年と非妊娠例の6.6年との間に特に差は認められなかった。また年齢別の検討からは25

表1 不妊別の成績

	年 齢	不 妊 期 間	穿 刺 日	穿 刺 卵 胞 数	回 収 卵 数 (回収率%)	分 割 卵 数 (分割率%)	妊 娠 数 (妊娠率%)
原 発 不 妊 11例15周期	33.6±3.8	6.9±4.6	12.7±0.8	10.5±4.3	5.8±3.1 (56.3±14.1)	2.1±1.5* (40.3±28.3)	1 (9.1)
続 発 不 妊 15例17周期	32.5±4.3	4.9±3.2	12.4±0.6	10.8±3.6	6.2±2.3 (59.3±18.3)	3.1±1.2* (50.6±22.2)	7 (46.7)
26例32周期	33.0±4.1	5.9±4.0	12.5±0.7	10.7±3.9	6.0±2.7 (57.9±16.5)	2.6±1.5 (57.9±16.5)	8 (30.6)

mean±SD

* P<0.05

表2 不妊原因別の成績

卵管性不妊の原因	症例	周期	妊娠(対症例妊娠率%)
子宮外妊娠	11	13	6 (54)
卵巣卵管術後	1	1	0
炎症	1	2	0
その他不明	13	16	2 (15)
計	26	32	8 (31)

表3 妊娠例・非妊娠例の年齢・不妊期間・卵胞穿刺・卵回収および卵分割との関係

	年 齢	不妊期間	穿 刺 日	穿刺卵胞数	回収卵数 (回収率%)	分割卵数 (分割率%)	胚 移 植 症 例 数
妊 娠 例 8例8周期	29.3±2.7*	3.6±2.2	12.1±0.8	10.1±3.4	6.4±2.6 (64.9±17.6)	3.5±0.7* (61.8±19.9*)	8
非妊娠例 20例24周期	34.3±3.7*	6.6±4.2	12.6±0.6	10.8±4.1	5.9±2.7 (55.6±15.4)	2.3±1.5* (40.4±25.3*)	21
	33.0±4.1	5.9±4.0	12.5±0.7	10.7±3.9	6.0±2.7 (57.9±16.5)	2.6±1.5 (57.9±16.5)	29

mean±SD
* P<0.05

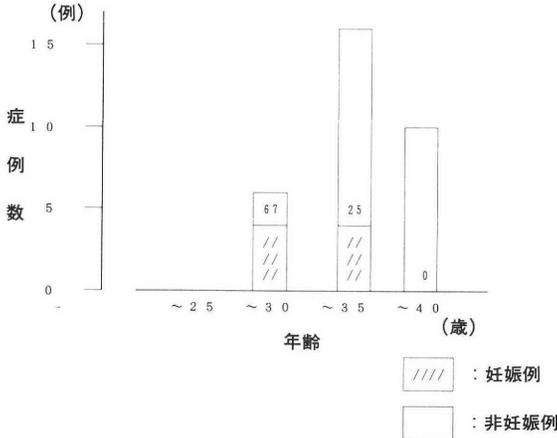


図1 体外受精施行時の年齢と妊娠の関係
斜線の部分は妊娠例を示しその上の数字は妊娠率を示す

歳から30歳までの間に6例中4例(妊娠率67%)と多くの妊娠例を認めていることから、妊娠には年齢が大きな要因となることが示された(表3, 図1)。

卵胞の発育に関して検討した結果、穿刺日は妊娠例で12.1日、非妊娠例で12.6日と差は認めなかった。また穿刺できた卵胞数も妊娠例で10.1個、非妊娠例で10.9個と両者の間には差は認めなかった。回収できた卵の数も妊娠例で6.4個、非妊娠例では5.8個と差は認めなかった。しかし、2細胞以上の分割を認めた数は妊娠例で3.5個(分割率61.8%)であ

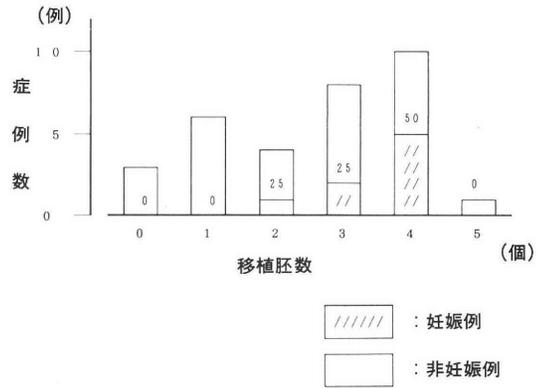


図2 移植胚数と妊娠の関係(斜線の部分は妊娠例を示し、その上の数字は妊娠率を示す)

ったのに対して、非妊娠例では2.1個(分割率39.7%)と有意に少なかった(表3)。

また胚移植した卵の数と妊娠の関係を検討した結果、胚移植数が1個もしくは5個の場合には妊娠例を認めていないが、2個と3個の場合に妊娠率25%、4個の場合には50%と、胚移植数が2から4個の場合に良好な結果がえられている(図2)。この事から妊娠には分割卵の数が大きく影響している可能性が示された。

考 察

体外受精・胚移植において妊娠率を向上させるために種々の改良がなされている。その一つは、より

多くの卵を得るために排卵刺激法を用いることである。その方法として、最近はCCとhMG併用法、hMG単独法、LH-RH a と hMG 併用法等が行なわれている^{1,2,3)}。今回我々はCCとhMGを併用する排卵刺激法を用いて体外受精・胚移植を行なった結果、この方法でのキャンセル率は3%、対症例あたりの妊娠率が31%と他の報告と比較して低いキャンセル率と高い妊娠率という良好な結果を得る事ができた^{2,4)}。

これらの症例について検討した結果、年齢、不妊原因、分割卵数が妊娠成立に影響を与える因子であることがわかった。まず年齢は若い方が高い妊娠率を示したが、しかし不妊期間の長さは妊娠に影響を与えないと思われ、従来の報告と同様な傾向であった^{5,6)}。さらに今回の検討から35歳以上の例には妊娠例が認められなかった事や、今までの報告では40歳以上の例では妊娠率が非常に低値であった事も⁶⁾考え合わせると、体外受精の適応があると思われる症例は不妊期間には関係なくなるべく早く体外受精を施行する方がよいと思われた。

つぎに不妊原因に関しては、原発不妊患者より続発不妊患者に妊娠例が多い傾向を認めた。さらに続発不妊患者のうち特に子宮外妊娠後の卵管性不妊例においてその妊娠率が54%と高値を示した。この事は従来の報告にも見られ⁷⁾、子宮外妊娠に対する保存療法など⁸⁾現在行なわれている種々の治療法の適応を変えていく可能性も示していると思われた。また原発不妊患者に妊娠例が少ないことは、今回の原発不妊患者は体外受精の適応が卵管性不妊であるが、それ以外にも着床障害などの不妊原因が隠されている可能性があると思われ、原発不妊患者においてはさらに種々の原因の検索が必要であると思われた。また同時に、体外受精の妊娠成立には年齢が重要な因子である事も考えてあわせると体外受精等の方法の適応も検討していく必要があると思われた。

つぎに卵の発育に関しては、穿刺実施日に妊娠例、非妊娠例両者の間には差が認められないことから、卵の発育を示すと思われる卵胞の形態的な発育速度は両者の間に差がないことを示していると思われた。さらに穿刺卵胞数、回収卵数、卵の回収率に関しても妊娠例、非妊娠例の両者の間に差が認められないことから卵の形態的な発育状態は差が認められなかった。また今までの報告でも、卵胞発育と回収卵数と妊娠の成立の間に相関を認めた報告や認めなかった報告があり、妊娠の成立と卵胞の発育の間には一定の関係が認めにくいと思われた^{6,7,9)}。しかし今回の検討や、今までの報告でも分割卵数が妊娠例において有意に多く得られたこと、また胚移植数がある程

度多いほど妊娠率が高くなったことから^{6,7)}、妊娠例、非妊娠例の両者の間には分割卵数が多く得られるような因子、すなわち卵の質に差があるのではないかと考えられた。この様な卵の質に関しては、卵の形態学的分類が卵の分割率や妊娠率、血中ホルモンの変動や子宮内膜への影響などが関係していると言われており^{9,10,11)}、今後さらに卵の質を中心に検討を加えていく必要があると思われた。

今回の検討からCCとhMGを用いた体外受精および胚移植法はキャンセル率が低く、妊娠率が高いことから体外受精・胚移植法における排卵刺激法として優れた方法であると思われた。さらにこの方法を用いた症例の検討から妊娠の成立に関して年齢、不妊原因および分割卵数と胚移植数すなわち卵の質が大きな影響を与えていると思われた。

文 献

- 1) 新谷恵司, 名越一介, 片山隆章, 多賀茂樹, 占部清, 吉田信隆, 関場 香: hMG-hCG 療法の採卵時, 黄体期に与える影響について, 日本受精着床学会雑誌, 6: 98, 1989
- 2) 谷 啓光, 織田和哉, 荒川 修, 七里和良, 佐藤芳昭, 竹内正七: 体外受精・胚移植における採卵成績の検討, 日本不妊学会誌, 34: 869, 1989
- 3) 白井 彰: 体外受精-胚移植/卵管内配偶子移植プログラムにおける GnRHagonist, pureFSH 併用法を用いた卵胞刺激法について, 日産婦誌, 41: 1431, 1989
- 4) 竹内一浩, 山元慎一, 森 明人, 福元清吾, 堂地勉, 永田行博: 排卵誘発法および培養条件からみた体外受精・胚移植の成績: 日本受精着床学会雑誌, 6: 129, 1989
- 5) Padilla, S. L. and Jairo-Gracia, E.: Effect of maternal age and number of in vitro fertilization procedures on pregnancy outcome, Fertil. Steril. 52: 270, 1989
- 6) Edward, G. H., Catriona, K. B. and Wood, E. C.: A prospective study of prognostic factors in in vitro fertilization and Embryo transfer, Fertil. Steril., 50: 838, 1989
- 7) 小林善宗, 井上正人, 本田育子, 淡路英雄, 津田朋男, 松山毅彦, 藤井明和: 超音波採卵による体外受精胚移植の成績, 日本受精着床学会雑誌, 6: 105, 1989
- 8) 藤本征一郎, 田中俊誠, 岩崎寛治: 卵管妊娠における卵管保存療法, 臨産産, 43: 575, 1989
- 9) 山野修司, 春名 充, 加川俊明, 坂東律男, 東敬次郎, 中山孝善, 松下光彦, 青野敏博: 体外受精・胚移植における卵胞発育状態および内分泌動態の妊娠率に及ぼす影響について, 日本受精着床学会雑誌, 6: 121, 1989
- 10) Gerge, A. H., Carl, M. H. III., Melanie, F., Kevin,

- G. O., Maria, C. B., Anne, C. W. and Rogers, B. J.: The influence of oocyte maturity and embryo quality on pregnancy rate in a program for in vitro fertilization-embryo transfer, *Fertil. Steril.*, 52: 801, 1989
- 11) Dunn, R. C., Gibbons, W. E. and Rossavik, I. K.: Comparison of growth curve analysis of follicular growth between pregnant and nonpregnant patients in an in vitro fertilization program, *Infertility*, 11: 245, 1988

**The factors affecting
the results of *In vitro*
fertilization and
embryo transfer.**

Keiji Shintani, Nobutaka Yoshida,
Ichiro Shirakawa, Yukio Hirano,
Takaaki Katayama, Shigeki Taga,
Kazusuke Nagoshi and Kaoru Sekiba
Department of Obstetrics and Gynecology,
Okayama University Medical School
Okayama 700, Japan

Twenty-seven patients underwent In Vitro Fertilization and Embryo-Transfer (IVF-ET) in 33 cycles. And the factors affecting the results of IVF-ET

were discussed in the present study. Ovarian hyperstimulation was performed by daily administrations of clomiphene citrate from day 3 to day 7 and human menopausal gonadotropin (hMG) 150 IU/day from day 4. By this regimen, 1 cycle was canceled (cancel rate 3%). Gestational sac was detected by ultrasonography in 8 cycles of 8 patients (pregnancy rate for patients 31%). The mean age of the patients was 29.3 for pregnant patients and 34.3 for nonpregnant patients. There was a significant difference between the two groups.

Also there were trends that the patients of secondary sterility had better pregnancy rate than the patients of primary sterility and that the patients after ectopic pregnancy had better pregnancy rate than the others. There was no significant difference between pregnant patients and nonpregnant patients for the period of infertility, the total dose of hMG given or the number of punctured follicles or retrieved oocytes. However, the mean number of cleaved gametes was 3.5 for pregnant patients and 2.3 for nonpregnant patients, revealing a significant difference. The present study suggested the age, the cause of infertility and the number of cleaved gametes affect the results of IVF-ET.

(受付：1990 年 1 月 29 日)

子宮腺筋症に対するダナゾール療法の 有効性についての検討

The Study of the Effect of the Administration of Danazol on Patients with Adenomyosis

島根医科大学医学部産婦人科学教室 (主任: 北尾 学教授)

高橋 健太郎 永田 裕子 山崎 裕行
Kentaro TAKAHASHI Hiroko NAGATA Hiroyuki YAMASAKI
吉野 和男 北尾 学
Kazuo YOSHINO Manabu KITAO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Shimane Medical University, Shimane 693, Japan

子宮腺筋症患者にダナゾール 400 mg/day を 4 ~ 6 カ月間投与し、その効果を自覚症状で判定し、血清マーカー (CA 125, E₂) と超音波計測値を用いて評価した。全症例 30 例中 20 例 (66.7%) は再発を認めず、その有効性が認められたが、他の 10 例 (33.3%) は再発し、追加治療を必要とした。ダナゾール有効例は治療前の CA 125 値 (Mean ± S. D.) が 62.6 ± 91.9 U/ml であり、無効例の 207.7 ± 127.9 U/ml と比較し統計的に有意差が認められ、治療前の CA 125 値が 150 U/ml を越える症例は予後が不良であることが示唆された。E₂ はダナゾール投与前、投与中には有意差は認められなかったが、投与終了後にはダナゾール有効例で有意に低値が認められた。また、超音波断層法による子宮長の測定では、ダナゾール有効例では有意に子宮長の減少が認められるのに対し、無効例では変化は認められなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 640—643, 1990)

緒 言

内性子宮内膜症の組織発生は、Cullen¹⁾の Direct extension 説があり、これは子宮内膜が子宮筋層内に直接進入して、発生したものと考えられている。一方、外性子宮内膜症は Sampson²⁾の Implantation 説のほかに、諸説³⁻⁵⁾があるが、内性子宮内膜症と外性子宮内膜症の etiology が異なっているという考え方が支配的である。子宮腺筋症に対する薬物療法は未だ確立されたものはなく、根本治療は子宮摘出術であるが、近年、不妊症分野の発達とともに子宮温存の希望者も多く、薬物療法の重要性がクローズアップされてきた。外性子宮内膜症の治療薬にダナゾール

ルが用いられ、その有用性は広く認められている⁶⁾と
ころであるが、異所性子宮内膜という病態のみで、
etiology の異なる子宮腺筋症に対し、ダナゾールの
治療効果を外性子宮内膜症と一元的に論ずることは
できない。そこで今回、子宮腺筋症患者に対するダ
ナゾール療法の有効性を客観的に臨床評価するため
に、血清マーカーと超音波計測値を用い、ダナゾール
有効例と無効例とで retrospective に比較検討し若
干の知見を得たので報告する。

対象および方法

昭和 62 年 5 月から平成元年 6 月までに島根医科大学産科婦人科および関連病院を受診した患者で月経

困難症などの自覚症状，内診所見，超音波断層法および血清 CA 125 値を総合して臨床的に子宮腺筋症と診断した 30 例に，ダナゾール 400 mg/日を 4～6 カ月間投与した．ダナゾール投与開始前，投与開始 2 カ月後，4 カ月後，投与終了後および最終診察日にそれぞれ，血清 CA 125，E₂を測定した．投与前，投与後の採血時期は卵胞期初期とした．効果判定の時期は最終診察日とし，効果判定は自覚症状の改善の有無のみで行なった．また同時に，超音波断層法で子宮の大きさ（子宮長）を測定しダナゾール投与前後の子宮の変化を判定した．子宮長は，子宮底と子宮頸部下端との長さとした．統計学的検討は Student's t-test により行なった．

結 果

1) 研究対象の follow up 期間

研究対象の follow up 期間はダナゾール投与終了後 3～17 カ月で，平均 12.6±4.1 カ月であった．自覚症状のみで効果を判定した場合，ダナゾール有効例は 30 例中 20 例 (66.7%)，無効例は 10 例 (33.3%) であった．ダナゾール有効例の follow up 期間は 8～17 カ月，平均 13.5±3.0 カ月であり，無効例の follow up 期間は 3～17 カ月，平均 10.8±5.1 カ月であった．

2) 研究対象の平均年齢

両群の平均年齢はダナゾール有効例で 36.8±8.4 歳，ダナゾール無効例で，34.9±6.1 歳と両群間に有意差は認められなかった．

3) 血清 CA 125 値の変化

ダナゾール投与前の CA 125 値 (Mean±S. D.) は図 1 に示すように，ダナゾール有効例では 62.6±91.9 U/ml であり，ダナゾール無効例の 207.7±127.9 U/ml と比較して 1%以下の危険率で有意にダナゾール有効例が低値であった．ダナゾール投与中の血清

CA 125 の変化は投与開始 2 カ月後でダナゾール有効例が 12.9±7.9 U/ml，無効例が 23.6±17.7 U/ml と両群間に統計的有意差は認められなかった．同様に投与開始 4 カ月後も，それぞれ 11.5±5.4 U/ml，20.0±11.4 U/ml であり，両群間に有意差は認められなかった．投与終了後の CA 125 はダナゾール有効例で 14.1±11.1 U/ml，無効例で 111.0±132.8 U/ml と，統計学的には有意差は認めないものの無効例が高値の傾向を示した．最終診察日の CA 125 は前者で 16.1±11.8 U/ml，後者で 200.1±93.1 U/ml と，0.1%以下の危険率でダナゾール無効例が高値を示した．ダナゾール有効例ではダナゾール投与前の CA 125 値は投与開始 2 カ月および 4 カ月，投与終了後，最終診察日の全ての時期における値と比較して有意に高値を示した．その他の群間では有意差は認められなかった．ダナゾール無効例ではダナゾール投与前の値と投与中の値は全てにおいて有意差が認められたが，投与終了後および最終診察日には有意差は認められなかった．

4) 血清 E₂値の変化

図 2 に示すようにダナゾール有効例では投与前の E₂値 (Mean±S. D.) は 108.8±109.9 pg/ml であり，無効例の 91.3±52.6 U/ml と比較して有意差は認められなかった．ダナゾール投与中の E₂値は投与開始 2 カ月後で有効例が 68.6±41.5 pg/ml，無効例が 103.8±82.3 pg/ml と，両群間に有意差は認められなかった．同様に 4 カ月後でも有意差は認められなかった．しかし，投与終了後の E₂値はダナゾール有効例で 34.5±16.1 pg/ml，無効例で 104.9±71.6 pg/ml と，有意に (P<0.05) 無効群が高値を示した．また，最終診察日は有効例で 34.0±17.2 pg/ml，無効例で 117.8±95.1 pg/ml であり有意差はないものの無効例が高値を示す傾向にあった．

5) 子宮長の変化

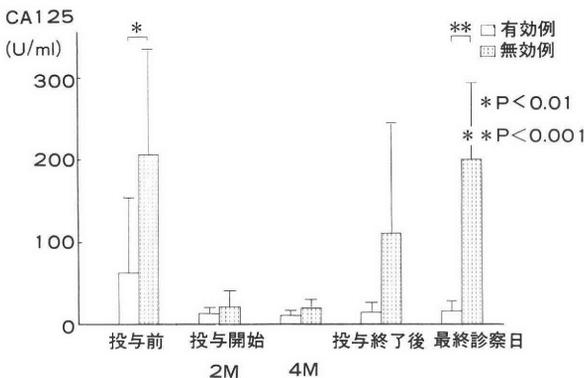


図 1 血清 CA125 値の変化

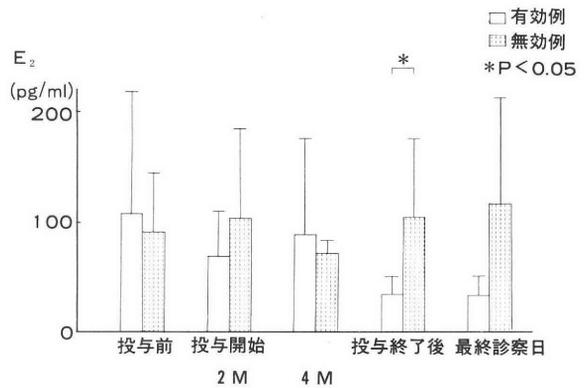


図 2 血清 E₂ 値の変化

ダナゾール有効例では投与後の値は 7.4 ± 1.2 cm であり、投与前の子宮長の値 8.7 ± 1.7 cm と比較して、有意 ($P < 0.05$) に減少した。一方、無効例では投与前が 7.9 ± 1.0 cm であり、投与後は 8.2 ± 1.5 cm であり、投与前後に有意差は認められなかった。有効例、無効例の両群で比較すると、投与前、投与後ともに有意差は認められなかったが、投与前は有効例の方がむしろ軽度高値を示すのに対し、投与後は無効例が高値を示す傾向にあった (図 3)。

6) ダナゾール無効例の予後

ダナゾール投与終了後自覚症状の悪化を認めたダナゾール無効例 10 例の再発時期は 3.1 ± 3.4 カ月で、最も短いのは投与終了後の初めて月経ですでに自覚症状の悪化を認めたものから、12 カ月後に外性子宮内膜症の形で再発した症例があった。ダナゾール投与後の再発例の治療はダナゾールの再投与が 2 例、Busereline 投与が 2 例、手術症例が 2 例、ダナゾール 2 course 投与後手術を施行した症例が 1 例、自覚症状の悪化を認めるも治療を拒否した症例およびその後の follow up が不可能であった症例が 2 例、今後の治療方針が未決定のものが 1 例であった。

考 察

子宮腺筋症にダナゾール療法を施行し、自覚症状のみで効果を判定した結果、30 例中 20 例 (66.7%) にその有効性が認められた。これは以前に報告した症例⁷⁾をさらに follow up したものである。前回の報告では 29 例中 23 例 (79.3%) が有効であったが、

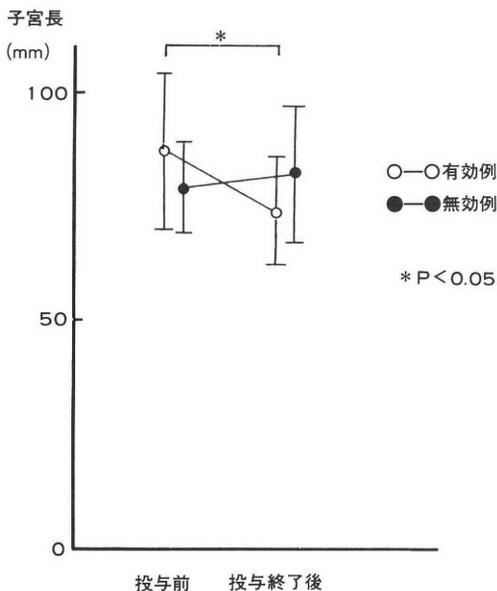


図 3 子宮長の変化

follow 期間の延長と共にダナゾール無効例の増加が認められた。子宮腺筋症に対するダナゾールの有効性についての文献は幾つか発表されているが⁸⁻¹⁰⁾、その評価は一定でない。これは子宮腺筋症の診断、治療効果判定に問診が重要視されており、我々の報告も含めてその治療効果の判定を自覚症状に置いているためと推定される。よって超音波断層法を施行し、その判定に客観性をもたせたり、ダナゾール投与後の摘出子宮での組織の変化等により、総合的に判定を行なうことより、その効果が明らかになると思われる。

今回は超音波断層法に加え、子宮腺筋症の診断に有効である血清 CA 125¹¹⁾と E₂を測定し、自覚症状の改善の有無との関係を検討した。その結果、自覚症状の再発したダナゾール無効例は血清 CA 125 の上昇、子宮長の増加が認められ、血清 CA 125、超音波断層法による子宮腺筋症の follow は有効であることが推察された。血清 E₂はダナゾール投与前、投与中には両群に差は認められなかったが、投与後は両群間に有意な差が認められた。このことはダナゾールの E₂の減少効果に差がある可能性も考えられるが、ダナゾール有効例でも排卵周期を回復しているものが多いので今後の課題と推察される。

このようにダナゾール投与は自覚的にも、他覚的にもかなり高い率で有効性が認められるので、外来で子宮腺筋症が疑われ、患者が挙児を希望する場合や子宮の温存を強く希望する場合は、まず薬物療法をすべきである。ただし、今回の結果からもわかるように、ダナゾール投与前の血清 CA 125 が 150U/ml 以上の高値を示す症例は予後が不良である。一方、子宮腺筋症患者の摘出子宮の重量と CA 125 は正の相関が認められるので¹²⁾、子宮腺筋症病変の広範囲なものは血清 CA 125 が高値を示し、薬物療法に抵抗を示す可能性が高い。よってこれらの症例に対してはダナゾールの投与量の増量、投与期間の延長を考慮すべきである。また、最初はダナゾールが有効であったにもかかわらず、その後再発した症例は自覚症状の悪化と共に血清 CA 125 の上昇、超音波断層法での子宮長の増加が認められたので、これらの他覚所見のある場合は、注意深く問診をし、早めに再発に対しての再治療を考慮すべきである。

(稿を終わるに臨み、本研究にご協力頂いた島根県立中央病院産婦人科 佐野正治先生、済生会江津総合病院産婦人科 帯刀哲夫先生、松江生協病院産婦人科 平山恵子先生、庄原赤十字病院産婦人科 田頭稔弘先生、江木産婦人科医院産婦人科 江木徹先生に謹んで謝意を表します。)

文 献

- 1) Cullen, T. S.: Adenomyoma of the uterus p222, Philadelphia, W. B., Saunders Co., 1908
- 2) Sampson, J. A.: Perforating hemorrhagic (chocolate) cysts of the ovary, their importance and especially their relation to pelvic adenoma of the endometrial type, Arch. Surg., 3: 245, 1921
- 3) Halben, J.: Hysteroadenosis metastasis (die Lymphogene Genese der sog. Adenofibromatosis heterotopica), Wien Klin. Wchnschr., 37: 1205, 1924
- 4) Greenhill, J. P.: The yearbook of Obst. and Gynec The Yearbook Publishers, 1942
- 5) Phillip, E. and Huber, H.: Entstehung der Endometriose gleichzeitig ein Beitrag zur Pathologie des interstitiellen Tubenabschnittes, Zbl. für Gynäk., 63, 1939
- 6) Jansen, R. P. S. and Russel, P.: Nonpigmented endometriosis clinical, laparoscopic, and pathologic definition, Am. J. Obstet. Gynecol., 155: 1154, 1986
- 7) 永田裕子, 高橋健太郎, 吉野和男, 北尾 学: 子宮腺筋症のダナゾール療法における形態学的変化と血清 CA 125 および E₂ の有用性の検討, エンドメトリオーシス研究会会誌, 10: 278, 1989
- 8) 塩塚幸彦, 小林一夫, 林茂一郎, 林 茂興, 藤井明和, 見常多喜子: 子宮内膜症の保存療法, danazol 投与による組織変化, 日不妊誌, 25: 180, 1980
- 9) 池田友伸, 丸田茂徳, 森田昭夫, 今村昭一, 儀保善英, 山田英一郎: 子宮内膜症のホルモン療法, 産婦治療, 45: 1, 1982
- 10) 玉舎輝彦, 川鱈一郎, 岡田弘二: Danazol による子宮腺筋症の治療, 日不妊誌, 33: 47, 1988
- 11) 高橋健太郎, 木島 聡, 吉野和男, 澁川敏彦, 森山政司, 岩成 治, 沢田康治, 松永 功, 村尾文規, 北尾 学: 新しい卵巣腫瘍マーカー CA 125 を

利用した子宮平滑筋腫と子宮腺筋症の鑑別, 日産婦誌, 37: 591, 1985

- 12) Takahashi, K., Nagata, H., Yamane, Y., Yoshino, K., Shibukawa, T. and Kitao, M.: Clinical usefulness of serum CA 125 in patients with endometriosis, Shimane J. Med. Sci., 9: 82, 1986

**The study of the effect
of the administration
of danazol on patients
with adenomyosis**

Kentaro Takahashi, Hiroko Nagata,
Hiroyuki Yamasaki, Kazuo Yoshino
and Manabu Kitao

Department of Obstetrics and Gynecology,
Shimane Medical University,
Shimane 693, Japan

For 30 patients with adenomyosis, 400mg/day of danazol was administrated for 4~6 months. We evaluated the effect of danazol by measurements of serum CA 125 levels, serum E₂ levels and ultrasonography. Twenty patients showed good prognosis. Adenomyosis recurred in ten patients. Serum CA 125 levels before treatment was 62.6 ± 91.9 U/ml and 207.7 ± 127.9 U/ml in patients with good prognosis and poor prognosis, respectively. There was significant difference between the two. The patients who had serum CA 125 over 150U/ml had poor prognosis. There were significant differences of serum E₂ levels before and during treatment between good and poor responders. And the uterine length of patients with good prognosis significantly decreased after treatment.

(受付: 1990年1月16日)

ブロモクリプチン経膣投与の臨床的評価 ——経口投与との比較検討——

Clinical Evaluation of Vaginal Administration of Bromocriptine ——Comparative Studies with Oral Administration——

群馬大学医学部産科婦人科学教室（主任：五十嵐正雄教授）

小此木孝佳 伊吹令人 五十嵐正雄
Takayoshi OKONOGI Yoshito IBUKI Masao IGARASHI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Gunma University School of Medicine,
Maebashi 371, Japan
(Director: Prof. M. Igarashi)

市販の内服用 Bromocriptine (BC) 錠を 20 例の高プロラクチン血症症例に経膣または経口投与し、2.5 mg 1 回投与における血中 BC、プロラクチン濃度の経時的変化、1 日 2.5 mg 連日投与における乳漏抑制、排卵、妊娠に対する成績を経口投与と比較検討した。10 例について行った 1 回投与では経膣投与は経口投与に比べ血中 BC 濃度の上昇は緩徐であるがピーク値は高く、24 時間後も高濃度を維持し、プロラクチン抑制効果が長く持続した。連日投与では、血中 BC 濃度は経膣投与で有意に高くなり、プロラクチン抑制効果には差がなかった。排卵、乳漏改善に対する成績は、経膣投与は経口投与に比べ遜色なく、妊娠率は経膣投与の方が優れていた。副作用のうち悪心の出現は経膣投与が有意差に少なく、程度も軽かった。以上より血中 BC 濃度、プロラクチン抑制効果の持続、妊娠率、副作用軽減などの点において、経膣投与が経口投与よりも優れているという新知見とその機序を証明できた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 644—649, 1990)

緒 言

Bromocriptine (以下 BC と略す) は高プロラクチン血症の治療に広く用いられている¹⁻⁶⁾。しかし、その経口投与はしばしば悪心、嘔吐などの副作用を伴い、服用を中止せざるを得ない例もある⁷⁻⁹⁾。また BC の血中濃度は 12 時間程度の持続しかない^{10,11)}、たとえ 1 日 1 錠しか必要とない場合でも 1/2 錠を 2 回に分服する必要があった。そこで消化器系の副作用軽減と血中濃度を比較的長く保つために特殊なカプセルを使用した徐放錠が開発され、現在治験が行われている段階である。1989 年 Kletzky ら¹²⁾は高ブ

ロラクチン血症患者に連日 BC の経膣投与を行い、プロラクチン値の正常化、副作用の軽減を報告している。今回われわれは市販の内服用 BC 錠を使用して、1 回投与における血中 BC、プロラクチン、卵胞刺激ホルモン (FSH)、黄体形成ホルモン (LH) 値の経時的変動、連日投与における乳漏、排卵、妊娠に対する成績、副作用を経口投与と比較検討したので報告する。

研究方法

当科外来を受診した高プロラクチン血症婦人 20 例を対象とした。内訳は Macroprolactinoma 非手術例

4 例, Microprolactinoma 非手術例 6 例, Macroprolactinoma 手術例 6 例, Microprolactinoma 手術例 1 例, 機能的な高プロラクチン血症 3 例で, 投与前プロラクチン値は 19.4~106.7 ng/ml であった.

1. 1 回投与と実験

月経のある例では卵胞期の午前 8~9 時に来院させ, 採血後, 市販の内服用 BC 1 錠 (2.5 mg) を経口投与または経腔投与 (医師が腔鏡をかけて後腔円蓋部に挿入) した. 以後 1, 3, 6, 12, 24, 48 時間後に採血した. 対象は 10 例で経腔投与と経口投与を交代で施行した.

2. 連日投与実験

投与前に採血後, 市販の内服用 BC を 1 日 1 錠連日, 経口または経腔投与し, 以後 1, 2, 4, 6 週後に来院させ, 採血した. 月経のある例では卵胞期初期から投与を開始した. 初回の投与は当院で行い, 2 日目以後の投与は朝起床時に自分で行わせた. 採血は午前 8~11 時に行った. 投与期間は経腔投与では 4~6 週間, 経口投与では 4 週間であった. その後 2~4 週間の wash out 期間において, 前回は行わなかった投与方法, すなわち経口投与か経腔投与のどちらかを行った. 全例 20 例のうち経腔投与を施行したのが 19 例, 経口投与を施行したのが 14 例で, 同一人で両方を交代で投与したのが 13 例, このうち 10 例については 24 時間後に投与をしないで, 上記の 1 回投与実験を施行した.

採血した検体の BC, prolactin, FSH, LH 濃度を Radioimmunoassay により定量した. 血中 prolactin, FSH, LH 値はアメリカ National Pituitary Agency より提供された定量キットにより定量, 血中 BC 濃度は BC の Radioimmunoassay 法により定量した. 統計処理は paired t-test, x²-test を用いて有意差検定を行い, P < 0.05 を有意とした.

その他, 基礎体温による排卵の有無, 乳漏の程度,

副作用の有無を調べ, 採血時座位で血圧, 脈拍を測定した.

研究成績

1. 1 回投与における BC の血中濃度の変動

BC 2.5 mg 1 回投与時の血中 BC 濃度の経時的変化を図 1 に示す. 血中 BC 濃度は経口投与では, 1 時間後から 3 時間後にかけてピーク値 143.2 ± 20.6 pg/ml (Mean ± SE) に達したが, 経腔投与では 1 時間値は極めて低く (有意差 P < 0.001), 3 時間後にやや上昇したが, 経口投与の値の約 1/2 であった. 6 時間後経口投与では既に下降し, ピーク値の約 1/2 となったのに対し, 経腔投与では上昇し, 12 時間後にピーク値 486.8 ± 194.0 pg/ml になり, 以後ゆっくりと下降し, 48 時間後でも経口投与のピーク値に近い高値を示した. 以上より, 経口投与は吸収は早く, 1~3 時間でピークを示すが, 6 時間で半減するのに対し, 経腔投与では吸収は緩徐であるが, 高いピーク値 (経口投与のピーク値の約 3 倍) を示し, 経腔投与が経口投与より優れた血中濃度の上昇を認めた.

2. 1 回投与における血中プロラクチン値の変動

図 2 に BC 2.5 mg 1 回投与時の血中プロラクチン値の経時的変化を示す. 経口投与ではプロラクチン値が 1 時間後から下降をはじめ, 3 時間後には 25.3 ± 4.1 ng/ml と投与前の約 1/2 になり, 6 時間後に最低値 17.0 ± 3.6 ng/ml となったが, 12 時間後にはすでに上昇をはじめ, 24, 48 時間後にはそれぞれ投与前の約 60%, 約 80% の値にまで上昇した. 経腔投与ではプロラクチンの下降は緩徐で, 3 時間後から下降をはじめ, 12 時間後に最低値 28.3 ± 7.3 ng/ml となり, 24 時間後もほぼ同値を維持した. 48 時間後は 48.7 ± 8.5 ng/ml と投与前の約 80% の値にまで上昇した. 3 時間後, 6 時間後の値は経口投与が有意

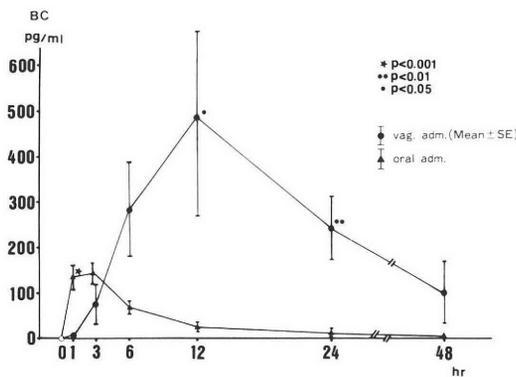


図 1 BC 2.5 mg 1 回投与における血中 BC 値の変動

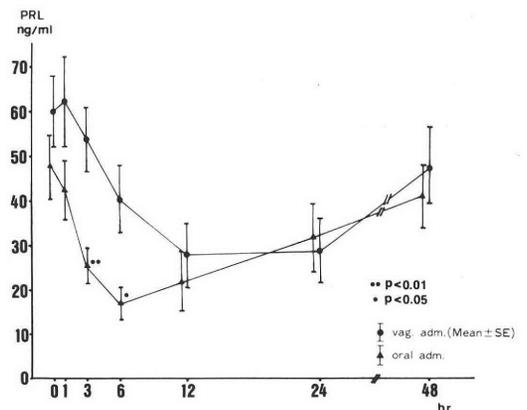


図 2 BC 2.5 mg 1 回投与における血中プロラクチン値の変動

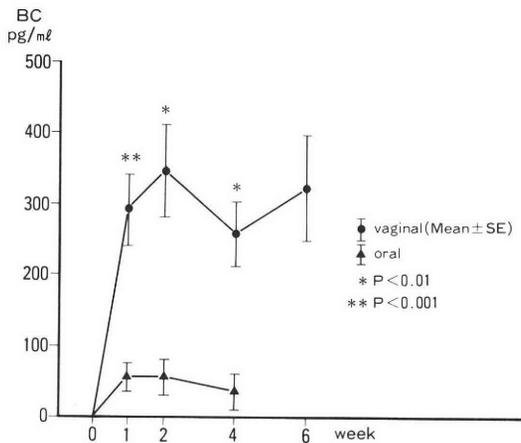


図3 BC2.5 mg連日投与における血中 BC 値の変動

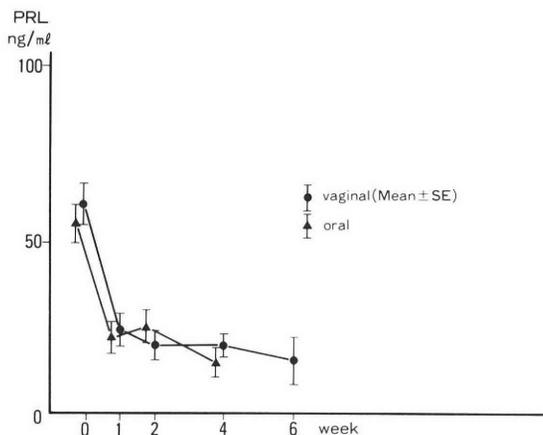


図4 BC2.5 mg連日投与における血中プロラクチン値の変動

($P < 0.01$, $P < 0.05$)に低値であった。つまり経口投与はプロラクチン下降は早く、6時間後には最低値となるが、12時間後には既に上昇するのに対し、経腔投与では下降は緩徐ではあるが、最低値が24時間後まで持続する。以上より、経腔投与は経口投与よりプロラクチン抑制効果が長く持続することが明らかとなった。

3. 連日投与時の血中 BC の変動

図3に1日2.5 mg連日投与時の血中 BC 値の変動を示す。経口投与に比べ、経腔投与では血中 BC は有

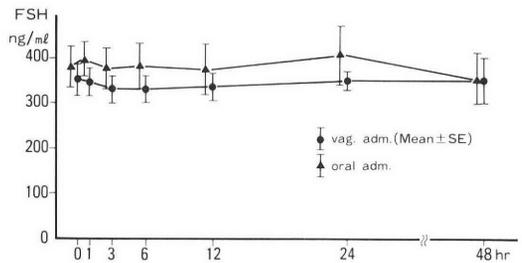


図5 BC2.5 mg 1 回投与における血中 FSH 値の変動

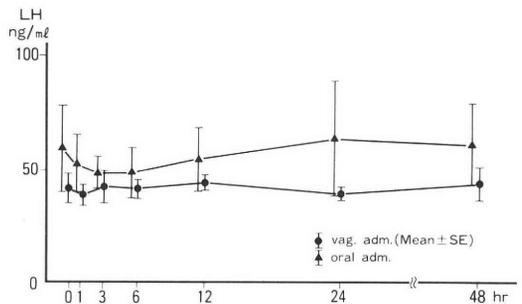


図6 BC2.5 mg 1 回投与における血中 LH 値の変動

意に高い値を示した。連日投与においても血中 BC 値は経腔投与が有意に高値であった。

4. 連日投与時の血中プロラクチン値の変動

1日2.5 mg連日投与時により、経口投与では13例中9例が、経腔投与では19例中18例において血中プロラクチン値が30 ng/ml以下に抑制された(表1)。経口投与、経腔投与の間で有意差はなかった。図4に全例の1日2.5 mg連日投与時の血中プロラクチン値の変動を示す。経口投与、経腔投与の間で有意の差を示さず、経腔投与のプロラクチン抑制効果は経口投与と比べ遜色なかった。

5. 血中 FSH, LH 値の変動

図5に示すように投与前から48時間後まで経口投与、経腔投与とも血中 FSH 値に有意の変動はみられなかった。図6に血中 LH 値の変動を示す。投与前から48時間後まで経口投与、経腔投与とも血中 LH 値に有意の変動はみられなかった。

6. 排卵、妊娠、乳漏改善(表1)

排卵状況をみると経口投与では、投与前に排卵の

表1 Effects of Oral versus Vaginal Bromocriptine Administration

	Oral	Vaginal	p
Prolactin 30ng/ml 以下に抑制	13例中 9 例 (69%)	19例中18例 (95%)	n.s.
Ovulation	8 例中 5 例 (63%)	17例中 9 例 (53%)	n.s.
Pregnancy	14例中 0 例 (0%)	19例中 2 例 (11%)	n.s.
Galactorrhea 改善(消失含む)	12例中 6 例 (50%)	14例中 9 例 (64%)	n.s.
Galactorrhea 消失	12例中 5 例 (42%)	14例中 6 例 (43%)	n.s.

表 2 Side effects of Oral versus Vaginal Bromocriptine Administration

	Oral	Vaginal	p
Nausea	初回投与時	13例中 7例 (54%)	n.s.
	after 1 week	12例中 4例 (33%)	p < 0.05
vomitting	13例中 3例 (23%)	13例中 0例 (0%)	n.s.
headache	13例中 4例 (31%)	13例中 3例 (23%)	n.s.
dizziness	13例中 4例 (31%)	13例中 2例 (15%)	n.s.
constipation	13例中 2例 (15%)	13例中 4例 (31%)	n.s.
drop out	14例中 3例 (23%)	19例中 0例 (0%)	p < 0.05

なかった 8 例のうち 5 例 (63%) が排卵した。妊娠例はなかった。経腔投与では、投与前に排卵がなかった 17 例のうち 9 例 (53%) が排卵し、2 例が妊娠した。排卵率に経口投与、経腔投与の間で有意差はなかった。

乳漏については、経口投与では 12 例中 6 例 (50%) に改善がみられ、このうち 5 例 (42%) は乳漏が消失した。経腔投与では 14 例中 9 例 (64%) に乳漏の改善がみられ、このうち 6 例 (43%) は乳漏が消失した。経口投与、経腔投与の間で改善率、消失率に有意差はなかった。

7. 副作用 (表 2)

副作用は悪心、嘔吐、頭痛、めまい、便秘などが認められた。経腔投与、経口投与の両方を施行し得た 13 例について、副作用の出現率を比較した。悪心は、初回投与時には経口投与で 13 例中 7 例 (54%)、経腔投与で 13 例中 3 例 (23%) に認められた。1 週間後には経口投与で 12 例 (1 例は初回投与のみで中止) 中 4 例 (33%) に悪心が残ったが、経腔投与ではすべて悪心が消失し、経腔投与が有意 (P < 0.05) に少なかった。嘔吐は経口投与で 3 例 (23%) に出現したが、経腔投与ではなかった。便秘は経口投与で 2 例 (15%)、経腔投与で 4 例 (31%) に認められた。経口投与 14 例中 3 例 (23%) は副作用がひどくて途中で投与を中止したが経腔投与 19 例では投与を中止するほどの副作用はみられなかった。経腔投与で腔粘膜に発赤等の異常は認められなかった。

8. 悪心の程度の経時的変化

悪心、嘔吐の程度を、なし：0 点、いくらか軽い嘔気：0.5 点、嘔気はあるが臥床を要さない程度：1 点、嘔気が強く臥床を要する程度：2 点、嘔吐のあるもの：3 点と点数化を試みた。その結果を図 7 に示す。経腔投与では 1 時間後、3 時間後は悪心の出現はなく 6 時間後から徐々に出現しはじめ、血中 BC 濃度ピークと一致して、12 時間後にピーク 0.35 ± 0.15 となり、以後下降した。経口投与では 1 時間後から出現し、6 時間後にピーク 1.20 ± 0.42 となり、以後

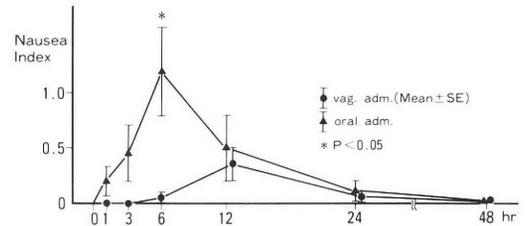


図 7 BC2.5 mg 1 回投与における Nausea Index の変動

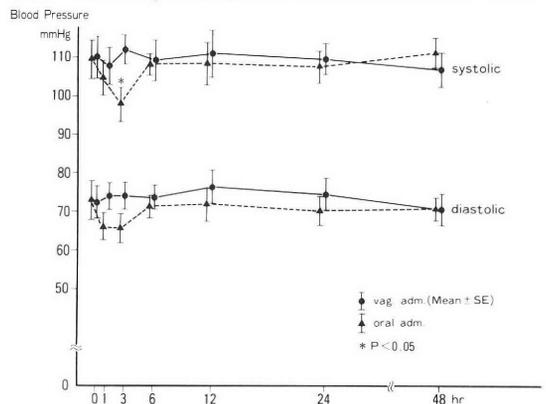


図 8 BC2.5 mg 1 回投与における血圧の変動

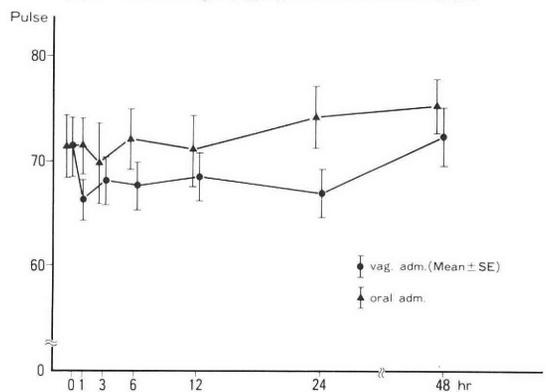


図 9 BC2.5 mg 1 回投与における脈拍の変動

急激に減少した。ピーク値と 6 時間後は経腔投与が有意 (P < 0.05) に低かった。以上より経腔投与では悪心の程度が軽くなるという結果を得た。

9. 血圧、脈拍

図8に示すように経口投与では3時間後に収縮期圧が有意に低下した。経腔投与では血圧に有意の変動はみられなかった。脈拍(図9)については経口投与、経腔投与とも有意差の変動はみられなかった。

考 察

BC 2.5 mgを1回経口投与したときの血中 BC 濃度の変動については、今までにいくつかの報告がある。1980年 Thorner ら¹⁰⁾は18人の高プロラクチン血症婦人にBC 2.5 mgを経口投与し、血中 BC 濃度、血中プロラクチン値を1時間毎に11時間後まで測定した。それによると血中 BC 濃度は1時間後から急激に上昇し、3時間後にピーク(730±70 pg/ml)となり、その後下降し、7時間後、11時間後はそれぞれピーク値の1/2、1/3となった。また、サンド社の社内資料¹¹⁾では、7例の健常成人男子にBC 2.5 mgを1回経口投与し、血中 BC 濃度、血中プロラクチン値を36時間後まで経時的に測定している。それによると血中 BC 濃度は1時間後から急激に上昇し、約3時間後にピーク(250.4 pg/ml)となり、その後下降し、6時間後にピーク値の1/2となり、24時間後にほぼ0となった。

以上より、われわれの成績では血中 BC 濃度のピーク値が上記の報告より低くなっていたものの、血中 BC 変動パターンは上記2つの報告とほぼ一致していた。またプロラクチンの変動パターンも上記2つの報告とほぼ一致していた。

BC 1回経腔投与における血中 BC 濃度の変動については、1988年 Vermesh ら¹⁰⁾が、5例の正常婦人にBC 2.5 mg, 5.0 mg, 7.5 mgを経腔投与し、血中 BC 濃度を測定している。Vermesh らの2.5 mg投与時の成績とわれわれの成績を比較すると、血中 BC 濃度の増加の開始がそれぞれ6時間後、3時間後であり、ピークに達する時間がともに12時間後、ピーク値がそれぞれ555±164 pg/ml, 486.8±194.0 pg/mlで、24時間後の値が316±65 pg/ml, 243±65 pg/mlとほぼ一致していた。Vermesh らは血中 BC 濃度を高プロラクチン血症例では測定していないが、われわれは測定しており、Vermesh らの報告にある正常女性と同じ傾向を認めた。

BC 1 H 2.5 mgの連日経腔投与については1989年 Kletzky ら¹²⁾の報告があり、それによると高プロラクチン血症患者15例のうち13例が血中 Prolactin 値が30 ng/ml以下に抑制された。今回のわれわれの成績でも19例中18例が血中プロラクチン値が30 ng/ml以下に抑制され、ほぼ同じ結果である。Kletzky らは血中 BC 濃度を測定していないが、われわれは測

定しており、連日投与でも経腔投与が経口投与より血中 BC 濃度が有意に高くなるという結果を得た。

経腔投与が経口投与より血中 BC 濃度が高くなり、有効血中濃度が長時間持続する理由として、1) 経腔投与では first pass として肝を通らないため、BC の代謝が遅くなる、2) 腔上皮からの BC 吸収速度は胃腸粘膜より緩徐であること、が考えられる。

これまで BC の消化器系副作用軽減のため投与経路の変更を試みた報告が散見される。1983年戸谷ら^{13,14)}は BC 肛門坐薬を考案し、直腸内投与を施行した。それによると副作用の出現率は経口投与で65.0%、直腸内投与で40.0%であり、直腸内投与で副作用が軽減されることを報告したが、広く用いられるには至らなかった。1986年 Montini ら¹⁵⁾は13例の Prolactinoma 患者に除放型 BC 50 mgを筋肉注射し、2例にめまいが、2例に軽い悪心が出現したのみであると報告している。1989年 Kletzky ら¹²⁾は10例の高プロラクチン血症の患者に BC の経腔、経口両方の投与を施行し、経口投与では7例、経腔投与では1例に副作用が出現したと報告している。

今回のわれわれの成績でも、1週間後の悪心の出現は経口投与で12例中4例(23%)、経腔投与で13例中0例(0%)で、経腔投与の方が有意(P<0.05)に少なかった。

経腔投与で悪心が軽減する理由として1) 胃腸粘膜への刺激がない、2) first pass として肝を通らないため、副作用を引き起こす BC の代謝産物が少ないことが考えられる。

乳漏、排卵、妊娠に関する成績は、経腔投与は経口投与に比べ遜色なかった。また経腔投与により妊娠した2症例があることから、BC の経腔投与は精子に悪影響を及ぼさないことも明らかになった。

経腔投与の問題点として、月経時に経血により薬剤が流出するおそれがあるということがある。

以上より BC 錠の経腔投与は経口投与に比べ悪心が軽減し、血中 BC 値のピーク値が高く、プロラクチン低値が持続する徐放効果があることが明らかになった。一方、乳漏、排卵、妊娠に関する成績は経口投与に比べ遜色なかった。また、4例の独身者でも投与可能であった。以上の結果より、少なくとも女性においては、普通錠を経腔投与することで BC 徐放錠の代用ができ、血中濃度が高くなることから、BC の投与量を軽減できることも期待される。

稿を終えるにあたり、FSH, LH, prolactin の RIA キットを提供されたアメリカ National Pituitary Agency および BC の RIA に御協力頂いたサンド社

研究開発部生物薬剤課の森川裕司氏に深謝する。

文 献

- 1) 伊吹令人, 小此木孝佳: PRL産生下垂腺腫の薬物療法, 産と婦, 56: 849, 1989
- 2) 伊吹令人, 吉田光典, 新川唯彦, 田口宏中, 高橋義孝, 五十嵐正雄: Prolactinomaの診断と治療, 東京医学, 89: 229, 1982
- 3) 伊吹令人, 田口宏中, 五十嵐正雄: Prolactin産生下垂体腺腫の治療別妊孕性と妊娠予後, 産婦の実際, 34: 263, 1985
- 4) 伊吹令人, 吉田光典, 新川唯彦, 田口宏中, 五十嵐正雄: Prolactinomaの長期予後, 産婦治療, 45: 771, 1982
- 5) Thorner, M. O., Besser, G. M., Hagen, C. and McNeilly, A. S.: Long term treatment of galactorrhea and hypogonadism with bromocriptine, Br. Med. J., 2: 419, 1974
- 6) Werder, K. V., Fahlbusch, R., Landgraf, R., Pickardt, O. R., Rjosk, H. K. and Scriba, P. C.: Treatment of patients with prolactinomas, J. Endocri. Invest., 1: 47, 1978
- 7) Cuellar, R. G.: Bromocriptine mysylate (Parlodel) in the management of amenorrhea/galactorrhea associated with hyperprolactinemia, Obstet. Gynecol., 55: 278, 1980
- 8) Friesen, H. and Tolis, G.: Use of bromocriptine in the galactorrhea-amenorrhea syndromes, The Canadian cooperative study, 6 (supple): 915, 1977
- 9) Kletzky, O. A., Marrs, R. P. and Davajan, V.: Management of patients with hyperprolactinemia and normal or abnormal tomograms, Amer. J. Obstet. Gynec., 147: 528, 1983
- 10) Thornor, M. O., Schran, H. F., Evans, W. S., Rogol, A. D., Morris, J. L. and MacLeod, R. M.: A broad spectrum of prolactin suppression by bromocriptine in hyperprolactinemic women: a study of serum prolactin and bromocriptine levels after acute and chronic administration of bromocriptine, J. Clin. Endocri. Metab., 50: 1026, 1980
- 11) パーロデル徐放性カプセル (PLO-MR) の概要, サンド社社内資料, 5, 1989
- 12) Kletzky, O. A. and Vermesh, M.: Effectiveness of vaginal bromocriptine in treating women with hyperprolactinemia, Fertil. Steril., 51: 269, 1989
- 13) 戸谷良造: Bromocriptine 肛門坐薬について, 産と婦, 50: 1221, 1983
- 14) 戸谷良造, 三輪 是, 黒木尚之, 唐沢哲郎, 鈴置洋三: Bromocriptine 肛門坐薬による妊娠例の解析, 日不妊会誌, 29: 570, 1984
- 15) Montini, M., Pagni, G. and Gianola, D.: Long-lasting suppression of prolactin secretion and

rapid shrinkage of prolactinomas after a long-acting, injectable form of bromocriptine, J. Clin. Endocri. Metab., 63: 266, 1986

- 16) Vermesh, M., Fossum, G. T. and Kletzky, O. A.: Vaginal bromocriptine: pharmacology and effect on serum prolactin in normal women, Obstet. Gynecol., 72: 693, 1988

Clinical evaluation of vaginal administration of bromocriptine —Comparative study with oral administration—

Takayoshi Okonogi, Yoshito Ibuki and Masao Igarashi

Department of Obstetrics and Gynecology,
Gunma University School of Medicine,
Maebashi 371, Japan
(Director: Prof. M. Igarashi)

In order to clarify which administration method of bromocriptine, oral or vaginal, is more effective in the treatment of hyperprolactinemia, the plasma concentration of bromocriptine and prolactin, the effects upon ovulation, establishment of pregnancy and galactorrhea and incidence of side effects were investigated between the vaginal and oral administration of 2.5mg of bromocriptine. The plasma concentration of bromocriptine increased rapidly and reached peak level (143.2 ± 20.6 pg/ml) at 3 hours after oral administration, but increased gradually and reached peak level (486.8 ± 194.0 pg/ml) at 12 hours after vaginal administration. The serum prolactin levels decreased more rapidly in 3 and 6 hours after oral administration than after vaginal administration, but it did not show any significant difference in 12 to 48 hours between oral and vaginal administration. In daily administration of 2.5mg of bromocriptine, blood bromocriptine levels were significantly higher in vaginal therapy than in oral therapy and blood prolactin levels did not show significant difference between the two. Effects upon decrease of blood prolactin, ovulation, pregnancy, decrease and loss of galactorrhea, blood FSH and LH, blood pressure and pulse were not different between the two. It is worthy that side effects such as nausea and vomiting were significantly less in vaginal administration. In conclusion, vaginal administration of bromocriptine showed much more effective and less side effects in the treatment of hyperprolactinemia than the oral administration.

(受付: 1990年3月19日特掲)

排卵障害の原因別分類とその治療

Clinical Study on the Classification and the Treatment of the Ovulatory Disturbances

賛育会病院産婦人科

合 阪 幸 三
Kohzo AISAKA
鳥 谷 葉 子
Yohko TORIYA

金 田 幸 枝
Sachie KANEDA
野 島 美 知 夫
Michio NOJIMA

吉 田 浩 介
Kohsuke YOSHIDA

都 築 浩 雄
Hiroo TSUZUKI
國 保 健 太 郎
Kentaro KOKUHO

Department of Obstetrics and Gynecology,
San-ikukai Hospital, Tokyo 130, Japan

当科不妊外来において排卵障害ありと診断された患者に対し、その原因別分類と各種排卵誘発療法の効果を検討し以下の成績を得た。

- 1) 364例の排卵障害患者のうち、PRL関連疾患は187例、内分泌学的PCO症例は70例といずれも多数を占めた。
- 2) 黄体機能不全201例のうち121例にPRL関連疾患が、25例にPCOが合併していた。
- 3) PRL関連疾患は25歳以上で既往妊娠歴を有する婦人に多くみられた。
- 4) PRL関連疾患、PCOにはbromocriptineが、これら2疾患の合併しない黄体機能不全にはclomipheneが有効であった。HMG-HCG療法は下垂体機能不全のみならず、全ての排卵障害や機能性不妊の治療としても有効であった。
- 5) 各種治療により37.1%に妊娠が成立した。

以上のことから、排卵障害の原因としてはPRL関連疾患や内分泌学的PCOが多数を占めることが明らかとなり、それらの原因別に治療方針を決定することが大切であると思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 650—657, 1990)

緒 言

不妊を主訴として産婦人科を受診する患者のうち、その原因が排卵障害である者の割合は少なくない。近年、各種血中ホルモンの測定が容易となり、一般病院においても排卵障害の原因について詳細に検討されるようになってきた。殊に潜在性高prolactin (PRL)血症¹⁻⁴⁾、内分泌学的PCO (polycystic ovary syndrome)症例⁷⁻¹⁵⁾などの概念が導入されて以来、それらの病態についての報告も数多くみられるように

なりつつある。以前著者らは、これらの新しい概念に基いて当科不妊外来患者の排卵障害の背景について統計的考察を行い、PRL関連疾患(潜在性高PRL血症、高PRL血症および乳汁漏出症)は排卵障害の62.1%を、内分泌学的PCO症例は9.5%を占め、両者あわせると排卵障害の約7割はこれらの新しい概念に基く疾患であると報告した^{5,6)}。今回は、前回の報告より更に症例数を増し、排卵障害の原因別分類とその治療について統計的考察を加えたので報告する。

表1 当科不妊外来における不妊因子

	原発性	続発性	Total
卵巣因子	179	144	323(65.4%)
卵管因子	14	5	19(3.8%)
子宮因子	11	3	14(2.8%)
子宮内膜症	39	21	60(12.1%)
男性因子	33	3	36(7.3%)
免疫因子	1	0	1(0.2%)
機能性不妊	29	12	41(8.4%)
Total	306	188	494(100%)

表4 プロラクチン関連疾患と PCO, 黄体機能不全症の合併

PRDc PCO	37/187	(19.8%)
PRDc LPD	121/187	(64.7%)
PCOc LPD	25/45	(55.6%)

PRD：PRL 関連疾患
LPD：黄体機能不全

表2 各疾患の診断基準

	旧法	新法
1) 高プロラクチン血症 (HPRL)	• PRL \geq 25ng/ml	• PRL \geq 15ng/ml
2) 潜在性高プロラクチン血症 (OHP)	• PRL < 25ng/ml • TRH500 μ g 負荷 PRL ₃₀ \geq 150ng/ml	• PRL < 15ng/ml • TRH500 μ g 負荷 PRL ₃₀ \geq 70ng/ml
3) 内分泌学的PCO症例	• FSH \leq 15mIU/ml LH \geq 30mIU/ml • LH ₃₀ \leq 250mIU/ml	• LH/FSH \geq 1 • LH ₃₀ \geq 60mIU/ml
4) 黄体機能不全症		• BBT 高温相 < 12日間 • 黄体中期 E ₂ < 200pg/ml P < 10ng/ml

表3 排卵障害患者の内訳 (機能性不妊症を含む)

	原発性	続発性	Total
プロラクチン 関連疾患 (PRD)	HPRL 19 OHP 68 Gal 4	12 44 40	31 112 44
内分泌学的PCO	45	25	70 (19.2%)
黄体機能不全	27	18	45 (12.4%)
下垂体性無排卵	12	5	17 (4.6%)
卵巣性無排卵	4	0	4 (1.1%)
機能性不妊症	29	12	41 (11.3%)
Total	208	156	364 (100%)

表5 黄体機能不全を呈する症例と PRD, PCO の合併

LPD c PRD	121/201	(60.2%)
LPD c PCO	25/201	(12.4%)
"Pure" LPD	45/201	(22.4%)

PRD：PRL 関連疾患
LPD：黄体機能不全

表6 プロラクチン関連疾患と初診時年齢

	25歳未満	25歳以上	Total
PRD	8	179	187
Others	25	111	136
Total	33	290	323

$\chi^2 = 17.08$
P < 0.005

表7 既往妊娠歴の有無とプロラクチン関連疾患

	妊 娠 既 往		Total
	あ り	な し	
PRD	96	91	187
Others	48	88	136
Total	144	179	323

$$\begin{cases} x^2 = 8.20 \\ P < 0.005 \end{cases}$$

表8 乳漏症の発生と既往妊娠歴 (PRD において)

	既 往 妊 娠		Total
	あ り	な し	
Gal(+)	40	4	44
Gal(-)	56	87	143
Total	96	91	187

$$\begin{cases} x^2 = 36.07 \\ P < 0.005 \end{cases}$$

表9 プロラクチン関連疾患の治療成績

	Br.	Br.+Cl	Cl	Br.+HMG	HMG	Br.+S
HPRL (31)	24/26 9	8/10 1		1/1 0	2/2 0	1/1 0
OHP (112)	82/93 23	37/39 8	8/10 1	8/8 3	2/2 1	11/12 1
Gal (44)	30/35 11	18/19 6		1/1 0	2/2 0	
Total (187)	136/154 43	63/68 15	8/10 1	10/10 3	6/6 1	12/13 1

排卵症例数/治療症例数
妊娠症例数

{ Br : bromocriptine
Cl : clomiphene citrate
S : cyclophenyl

表10 内分泌学的 P C O 症例の治療成績

	Br.	Br.+Cl	Cl	Br.+HMG	HMG	Br.+S
PCO (70)	35/41 16	55/57 13	7/9 2	3/3 1	2/2 0	1/1 0
PCO c PRD (37)	17/21 9	9/10 2	3/5 0	1/1 0	1/1 0	2/3 0
Total (107)	52/62 25	64/67 15	10/14 2	4/4 1	3/3 0	3/4 0

排卵症例数/治療症例数
妊娠症例数

表11 黄体機能不全症例の治療成績

	Br.	Br.+Cl	Cl	Br.+HMG	HMG	Br.+S
LPD (s PRD) (s PCO) (45)	6/10 0	9/13 3	31/34 6	10/10 3	8/8 2	8/11 2

排卵症例数/治療症例数
妊娠症例数

研究対象および研究方法

1984年7月より1989年10月末までの間に当科内分泌・不妊外来を受診した753例のうち、挙児を希望し、当科での一般的な不妊検査(BBT測定、卵管疎通性検査、LH-RH 100 μ g, TRH 500 μ gの同時静脈内投与によるLH-RH・TRH負荷テスト、黄体中期血中各種ステロイドホルモン測定、子宮内膜組織診、超音波断層法による卵胞発育の観察、精液検査、抗精子抗体の有無)を終了した494例を対象とした。まず、不妊因子別にこれらの症例を分類したところ、表1に示すように、各種内分泌学的検査および超音波断層法により排卵障害ありと診断された症例は323

例(65.4%)と多数を占めることが明らかとなった。そこで本研究では、排卵障害患者の内分泌学的背景を詳細に分析し、排卵障害の原因としてPRL関連疾患や内分泌学的PCO症例など、新しい概念の疾患がどの程度の重要性を有するか、そしてこれらの疾患が黄体機能不全症とどのように関係しているか等について統計的考察を加え、あわせて各種疾患別の治療成績についても検討を加えた。

なお、今回の研究では、定義のあいまいな各種疾患については、表2に示したような診断基準により分類した^{4,13,20,21)}。旧法とはNIHのstandardを用いRIAにて測定した第一ラジオアイソトープ社製の旧FSH, LH, PRLキットを用いた場合を示し(1988年7月以前)、新法とはWHOの新しいstandardを用い、IRMA法により測定した同社の新FSH, LH, PRLキットを用いた場合を示す^{20,21)}。また、いわゆる機能性不妊症としては、前述の当科のroutine検査により男女共に明らかな不妊因子の認められない場合とした。血中各種ホルモンの測定はSRL社に依頼して行った。推計学的処理はStudentのt検定および χ^2 検定による。

表12 下垂体性、卵巣性無排卵症の治療成績

	Br. + HMG	HMG	Kaufman
Pituitary (17)	14/14 3	10/11 2	4
Ovarian (4)		0/4 0	4

排卵症例数/治療症例数
妊娠症例数

表13 機能性不妊症例の治療成績

	Br.	Br. + Cl	Cl	Br. + HMG	HMG	Br. + S
Functional Sterility (41)	4/18	0/6	2/14	7/32	5/26	0/2

妊娠症例数/治療症例数

表14 妊娠症例の検討

	Br.	Br. + Cl	Cl	Br. + HMG	HMG	Br. + S
PRD (187)	43	15	1	3	1	1
PCO (70)	16	13	2	1	0	0
LPD (45)	0	3	6	3	2	2
P (17)				3	2	
FS (41)	4	0	2	7	5	0
Total	63	31	11	17	10	3

135/364 (37.1%)

PRD：PRL関連疾患
LPD：黄体機能不全
P：下垂体性無排卵
FS：機能性不妊

研究成績

1. 排卵障害患者の内訳

まず、いわゆる機能性不妊症を含む 364 例の患者をその原因別に分類した。この際、多くの症例で原因となる疾患が 2 つ以上重複していたので、分類に当り PRL 関連疾患、内分泌学的 PCO 症例および黄体機能不全の 3 疾患に関しては、この順序に沿って優先的に分類するようにした。すなわち、PRL 関連疾患で、かつ PCO も存在する症例は PRL 関連疾患に、PCO でかつ黄体機能不全のある症例は PCO というように分類した。その結果、PRL 関連疾患は表 3 に示すように、排卵障害患者の 51.4 % を占めることが明らかとなった。内分泌学的 PCO 症例もそれに次いで 19.2 % と少なからぬ頻度を占め、排卵障害におけるこの 2 つの疾患の重要性が明示された。

2. PRL 関連疾患と他の排卵障害の合併

PRL 関連疾患の合併しない黄体機能不全は表 3 にも示した通り 45 例であったが、PRL 関連疾患 187 例中黄体機能不全を合併していた症例は 121 例 (64.7 %) と多数を示した。これは以前から指摘されているように^{2,3)}、PRL が黄体の steroidogenesis に抑制的に作用した結果によるものと考えられた (表 4)。

次に内分泌学的に PCO 症例では、PRL 関連疾患に合併する症例は 187 例中 37 例 (19.8 %) に認められた。内分泌学的 PCO 症例では、視床下部における dopamine の代謝回転 (turnover) が亢進していると考えられており⁷⁻¹⁵⁾、その結果、dopamine により分泌抑制を受けている下垂体からの PRL 分泌もしくは分泌予備能が亢進し、その結果 PRL 関連疾患を呈するものと考えられた。また、PCO では黄体機能不全を合併する症例が 45 例中 25 例 (55.6 %) と過半数を占めることが明らかとなった。PCO では高 LH 血症が特徴的所見とされているが¹¹⁻¹³⁾、このような状態では原始卵胞からの卵の発育、成熟に支障を生じやすく、結果的に成熟卵胞にならないうちに卵胞発育が停止し LUF (luteinizing unruptured follicle) となることが多いとされているので¹⁶⁾、黄体機能不全を呈する症例が多かったものと推察された。

逆に黄体機能不全から考えると、表 5 に示すように、黄体機能不全を呈した症例は 201 例であったが、このうち 121 例 (60.2 %) が PRL 関連疾患を、25 例 (12.4 %) が内分泌学的 PCO を合併しており、いずれも合併しない“pure”な黄体機能不全は 45 例 (22.4 %) にしか認められないことが明らかとなった。黄体機能不全は、必ずしも黄体期における黄体細胞の機能のみが障害されて生じるとは限らず、むしろ前

述したように卵胞の発育が不十分な場合、結果として黄体機能不全を呈する場合の方が多いと考えられている¹⁶⁾。この点から、一般に黄体機能不全と診断されている排卵障害には、その背景として多種多様な原因が包括されているものと考えられる。今回の研究の結果からも、大部分の黄体機能不全に他疾患の合併が認められ、この疾患のもつ多様性が改めて確認された。

3. 加齢、既往妊娠に伴う PRL 関連疾患の割合

排卵障害患者における PRL 関連疾患の占める割合を、診断確定年齢により 25 歳未満および 25 歳以上の 2 群に分けて比較してみたところ、表 6 に示すように、25 歳未満では PRL 関連疾患は 33 例中 8 例 (24.2 %) であったのに対し、25 歳以上では 290 例中 179 例 (61.7 %) と有意に増加していることが明らかとなった。さらに、既往妊娠歴の有無と PRL 関連疾患の頻度を比較したところ、妊娠経験のある症例では 144 例中 96 例 (66.7 %) に、ない症例では 179 例中 91 例 (50.8 %) に PRL 関連疾患が認められ、前者の方がその割合は有意に高率であることが明らかとなった (表 7)。

以上のことから、加齢や妊娠により中枢が estrogen の影響を長期間受けることが PRL 関連疾患をひきおこす誘因となりうる事が示唆された。

4. 既往妊娠の有無と乳漏症

PRL 関連疾患 187 例中、乳漏を呈する症例は 44 例に認められたが、これらを既往妊娠歴のあるものとならないものと比較検討した。その結果、既往妊娠歴のある 96 例中 40 例 (41.7 %) に、既往妊娠歴のない 91 例中 4 例 (4.4 %) に乳漏症が認められ、前者の方がその割合は有意に高率であることが明らかとなった (表 8)。このことから、乳漏の有無は血中 PRL 値のみならず、妊娠によりもたらされる乳腺側の要因 (乳腺組織の発育、乳管の開通、乳腺における PRL receptor の活性化など) も大きく影響を及ぼしていることが明らかとなった。

5. 各種排卵障害における治療成績

各種排卵障害患者に対して種々の排卵誘発療法を行い、排卵の有無、妊娠の成立について検討した。排卵の有無は超音波断層法、尿中 estrogen 測定により確認した。

PRL 関連疾患では、表 9 に示したように、bromocriptine 療法は排卵率、妊娠率ともに最も高いことが明らかとなった。内分泌学的 PCO においても、PRL 関連疾患の合併の有無にかかわらず bromocriptine 療法が最も有効であることが明らかとなった (表 10)。

一方、これら 2 つの疾患を厳密に除外した“pure”

な黄体機能不全においては、bromocriptine は全く無効で、clomiphene や HMG 療法が有効であることが判明した (表 11)。

下垂体性無排卵症に対しては HMG (もしくは HMG-bromocriptine 併用) 療法が著効を示したが、卵巣性無排卵症には有効な治療法はなかった (表 12)。

いわゆる機能性不妊症例に対しても各種排卵誘発療法は施行したところ、表 13 に示すように、妊娠の成立する症例が認められた。殊に HMG (もしくは HMG-bromocriptine 併用) 療法により多数の妊娠例がみられた。これは、以前に報告したように、*in vivo* で過排卵を惹起することにより着床率が向上することによるものと考えられた¹⁷⁾。

以上のように、各種治療を施行することにより、本研究期間中に 364 例中 135 例 (37.1%) に妊娠が成立した。

考 察

昼間安静時の血中 PRL 値は正常であるが、日内変動で高値を示し、TRH 等の負荷により過剰反応を示す潜在性高 PRL 血症に関しては近年多くの報告がみられる¹⁻⁴⁾。一方、血中の各種ホルモン測定が容易となって以来、PCO に対する概念も旧来のものに比べて大きく変化しつつある。特に、個々の症例によって症状の出現がまちまちであること、卵巣の多嚢胞化といった一元的な病態のみならず、中枢や副腎などの他の内分泌学的病変と複雑なネットワークを形成していること、人種により臨床症状の発現に著明な差があること等により、ますます PCO の概念が混乱しているものと考えられる⁷⁻¹⁵⁾。最近、本邦では欧米に比較して男性化徴候、高 androgen 血症が著明でないことから、PCO を血中 gonadotropin 値を中心に診断する、いわゆる内分泌学的 PCO に関する報告が多くみられる^{7,9-13)}。現在のところ明確な診断基準はないが、いずれも高 LH、正常もしくは低 FSH 血症性排卵障害を主症状とするという点では一致している^{7,9-13)}。

以上の点を考慮し、今回我々は前述のような診断基準により PRL 関連疾患および内分泌学的 PCO を選択し、この両疾患が排卵障害の原因としていかなる重要性を有するかについて検討した。

まず、各種内分泌学的検査により排卵障害患者を分類したところ、PRL 関連疾患は 51.4% に認められ、この疾患の排卵障害の原因としての重要性が再確認された。また内分泌学的 PCO も 19.2% と PRL 関連疾患に次ぐ頻度を示し、排卵障害の原因として決して稀なものではないことが明らかとなった。

次に、PRL 関連疾患と他の排卵障害との合併について検討したところ、64.7% に黄体機能不全が合併していることが明らかとなった。逆に、黄体機能不全例からみると 60.2% に PRL 関連疾患を合併していることが明らかとなり、黄体機能不全患者の診察に際しては、PRL 関連疾患の合併の有無について十分な検索を行う必要があるものと考えられた。

一方、内分泌学的 PCO 症例においても、PRL 関連疾患の 19.8% にその合併が認められた。これは前述したように⁷⁻¹⁵⁾、両者とも視床下部の dopamine turnover の亢進した状態が原因として存在しているためであると考えられた。また PCO では黄体機能不全を呈する症例が 55.6% と過半数に認められた。高 LH 血症が慢性的に持続すると、排卵障害のみならず、卵巣の steroidogenesis にも影響を及ぼし、血中 estradiol 値の低下、 Δ_4 -androstenedione 値の高値を示すことが本邦の PCO 患者の内分泌学的特徴とされている^{12,13)}。そしてこのような状態が続くと子宮内膜腺の発育にも悪影響を与え、irregular ripening などの異常な像を呈し、将来的に子宮内膜癌発生の素因となり得るとされている^{3,5)}。従って、内分泌学的検索を行い、PCO を発見した場合に、挙児を希望しないからといって放置してよいというものではなく、Kaufmann 療法や bromocriptine の投与といった高 LH 血症を是正する治療が必要不可欠と考えられた。

また、本研究では PRL 関連疾患の発生要因として、加齢や既往結婚歴の有無がどの程度の重要性を有するかについても検討した。その結果、PRL 関連疾患は 25 歳以上で、既往妊娠歴を有する婦人に有意に多く発生していることが明らかとなった。このことから PRL 関連疾患の発生誘因として、加齢や妊娠により中枢が estrogen に長期間被曝されることが示唆された。

最後に治療成績について分析したところ、表 14 に示したように本研究期間中の全妊娠例 135 例中 bromocriptine 投与による妊娠例が 63 例 (46.7%) と約半数を占めていた。これは PRL 関連疾患や内分泌学的 PCO が排卵障害の約 70% と多数を占めており、その治療法として bromocriptine の投与が有効であったことによるものと思われた。しかしながら、これら 2 疾患の合併しない、“pure”な黄体機能不全では bromocriptine は全く無効で、clomiphene の方が有効であった。

一方、HMG 療法は、症例数の関係から妊娠数は少ないものの、治療数の割合から考えると全ての疾患で優れた妊娠率を示していることが明らかとなった。本来、HMG は下垂体機能不全に基づく排卵障害患者に

用いる薬剤で、安易な使用は OHSS の発生や多胎妊娠という点からも厳に慎むべきであるが、bromocriptine や clomiphene 投与によっても妊娠の成立しない長期間の不妊を訴える症例に対しては、他の因子（男性因子、卵管因子、子宮内膜症など）が合併していなければ慎重な投与により良好な成績が得られるものと考えられた。

なお、本研究では、原因不明のいわゆる機能性不妊症例においても、各種排卵誘発療法により 41 例中 18 例 (43.9%) に妊娠の成立をみた。これが如何なる作用機序によるものかは不明であるが、bromocriptine に関しては受精・着床時の一過性の PRL 値の上昇の抑制¹⁸⁾、中枢における feedback 機構の改善¹⁹⁾などが、clomiphene や HMG に関しては前述のように *in vivo* で過排卵を惹起することにより着床率が向上することによるという機序¹⁷⁾が推察される。これらの点に関しては今後さらに詳細な研究が必要であると思われた。

本論文の要旨は第 101 回日本不妊学会関東地方部会 (1990 年 2 月、東京) において発表した。血中各種ホルモンの測定に御協力を賜った SRL 社に深謝する。

文 献

- 1) 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婦人における bromocriptine の排卵誘発作用の機序——いわゆる正プロラクチン血性排卵障害における潜在性高プロラクチン血症の意義, 日内分泌会誌, 61: 38, 1985
- 2) 合阪幸三, 安藤三郎, 國保健太郎, 吉田浩介, 森宏之: いわゆる潜在性高 prolactin 血症の黄体機能に及ぼす影響, 日内分泌会誌, 62: 117, 1986
- 3) 水口弘司, 植村次雄, 白須和裕, 飛鳥井邦雄, 岡宮彦彦: 正常プロラクチン血性排卵障害の bromocriptine 療法——潜在性高プロラクチン血症と多嚢胞性卵巣症候群, 産婦実録, 36: 187, 1987
- 4) 合阪幸三, 安藤三郎, 國保健太郎, 金田幸枝, 多和田哲雄, 吉田浩介, 森 宏之: 潜在性高 prolactin 血症の診断法としての TRH 及び metoclopramide 負荷テストの意義, 日内分泌会誌, 63: 853, 1987
- 5) 金田幸枝, 合阪幸三, 國保健太郎, 安藤三郎, 吉田浩介: 当科不妊外来における不妊因子および治療成績に関する統計的考察, 日不妊会誌, 32: 608, 1987
- 6) 合阪幸三, 金田幸枝, 友成廉平, 國保健太郎, 多和田哲雄, 佐々木静子, 吉松 淳, 吉田浩介: 排卵障害の背景に対する統計的考察——Prolactin 関連疾患と内分泌学的 PCO 症例の重要性——, 臨産, 42: 767, 1988
- 7) 森 宏之, 合阪幸三, 松岡 良, 木川源則: 高 LH, 正プロラクチン血性排卵障害に対する bromocriptine の効果, 日内分泌会誌, 61: 48, 1985
- 8) Spruce, B. A., Taylor, P.K., Dunlop, W., Anderson, A. J., Watson, M. J., Cook, D. B. and Gray, C.: The effect of bromocriptine in the polycystic ovary syndrome, Clin. Endocrinol., 20: 481, 1984
- 9) 木下俊彦, 武谷雄二, 水野正彦: 単独高 LH 血性排卵障害例の臨床的特徴, 産と婦, 52: 1349, 1985
- 10) 泰井俊造: プロラクチンと多嚢胞性卵巣, 産と婦, 53: 1231, 1986
- 11) 森 崇英: 多嚢胞性卵巣症候群——概念の整理と最近の治療, 日内分泌会誌, 63: 1449, 1987
- 12) 合阪幸三, 吉田浩介: 多嚢胞性卵巣に対する排卵誘発法, 産婦治療, 56: 537, 1988
- 13) 合阪幸三, 金田幸枝, 都築浩雄, 多和田哲雄, 國保健太郎, 鳥谷葉子, 野島美知夫, 吉田浩介, 森宏之: 内分泌学的 PCO 症例の臨床的背景および bromocriptine の効果に関する研究, 日内分泌会誌, 66: 101, 1990
- 14) Minakami, H., Abe, N., Oka, N., Kimura, K., Tamura, T. and Tamada, T.: Prolactin release in polycystic ovarian syndrome, Endocrinol. Jap., 35: 303, 1988
- 15) Futterweit, W.: Polycystic ovarian disease, Springer-Verlag, 97, 1984
- 16) Katz, E.: The luteinized unruptured follicle and other ovulatory dysfunctions, Fertil. Steril., 50: 839, 1988
- 17) 合阪幸三, 友成廉平, 多和田哲雄, 吉松 淳, 安藤三郎, 國保健太郎, 佐々木静子, 吉田浩介, 金田幸枝, 森 宏之: いわゆる機能性不妊婦人に対する HMG を用いた過排卵療法の試み, 日産婦会誌, 41: 196, 1989
- 18) 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精, 分割能に関する研究——一過性高プロラクチン血症がヒト卵の受精, 分割に及ぼす影響, 日産婦会誌, 37: 2097, 1985
- 19) 合阪幸三, 森 宏之, 木川源則: ヒト間脳下垂体卵巣系に対する dopamine 作動薬 bromocriptine の作用, ホと臨, 31: 385, 1983
- 20) LH・FSH 研究会 (代表: 青野敏博): 下垂体性ゴナドトロピン標準品を用いた LH および FSH の Immunoradiometric 測定法 (スバックー S LH, スバックー S FSH) の多施設における臨床的検討, ホと臨, 36: 1087, 1988
- 21) PRL 研究会 (代表: 青野敏博): WHO 標準品を用いた血中プロラクチンの Immunoradiometric 測定法 (スバックー S プロラクチンキット) の多施設における基礎的および臨床的検討, ホと臨, 37: 441, 1989

**Clinical study on
the classification and
the treatment of
the ovulatory disturbances**

Kohzo Aisaka, Sachie Kaneda,
Hiroo Tsuzuki, Yohko Toriya,
Michio Nojima, Kentaro Kokuho
and Kohsuke Yoshida

Department of Obstetrics & Gynecology,
San-ikukai Hospital,
Tokyo 103, Japan

Statistical analysis on the infertile patients who visited our infertile clinic during the past five years (July '84-Oct. '89) was performed. Four hundred and ninety-four patients out of 753 had been checked up their BBT charts, Rubin test and/or hysterosalpingography, LH-RH and TRH loading test, mid-luteal serum estradiol and progesterone levels, endometrial biopsy, ultrasonic examination, serum anti-sperm antibody and semen analysis. Then, according to the results of these examinations, the patients were classified for analyzing the causes of the infertility, and the effects of various treatments for the ovulatory disturbances were also discussed.

Among various causes of the infertility, the ovarian factor showed the highest incidence (323/494, 65.4%). There were 187 cases of the prolactin related disease (PRD) which implied hyperprolactinemia, occult hyperprolactinemia and galactorrhea (51.4%), and 70 cases of the endocrinological PCO patients (19.2%). There were also 201 cases of the luteal phase defect (LPD), however, 121 cases of them (60.2%) complicated with the PRD, and 25 cases (12.4%) with the PCO. Only 45 cases of the LPD (22.4%) were thought to be the "pure" LPD. The patients of the PRD showed significant higher rate on the age over 25 years old, and on the patients who had the previous gestational history. The treatment with bromocriptine was effective for the PRD and the PCO patients, and the treatment with clomiphene citrate was effective for the "pure" LPD. HMG-HCG injection was effective not only for the pituitary type, but also for any types of the ovulatory disturbances, even for the patients of so-called the functional sterility. According to these treatments, 135 cases out of 364 (37.1%) conceived successfully. From these results, it is concluded that the PRD and the PCO are important diseases for the causes of the ovulatory disturbances, and it is necessary to decide the treatment methods by the precise examinations for the infertility.

(受付：1990 年 3 月 19 日特掲)

PCO に対する LHRHa + hMG 律動的皮下投与法と hMG 単独投与法の比較 A Comparative Study between LHRHa + hMG Pulsatile Subcutaneous Administration and hMG alone in PCO patients

杏林大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 鈴木正彦教授)

山田 春彦
Haruhiko YAMADA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyorin University School of Medicine,
Tokyo 181, Japan
(Director: Prof. M. Suzuki)

PCO 9例に対し LHRHanalogue を投与して LH, FSH を抑制後, hMG を律動的に皮下投与した排卵誘発法 (LHRHa 法) と, 同一症例に行った hMG 律動的皮下単独投与法 (hMG 法) とを比較し, 以下の成績を得た.

- 1) 排卵率は LHRHa 法 27/41 (65.9%), hMG 法 37/40 (92.5%), OHSS 発生率は LHRHa 法 3/41 (7.3%), hMG 法 11/40 (27.5%) であった.
- 2) LHRHa 法 2例 2周期, hMG 法 2例 4周期が妊娠し, 多胎はみられなかった.
- 3) hMG 投与後, LHRHa 法, hMG 法ともに LH 低下, FSH 上昇を示し, 結果として LH/FSH 比は正常化した.
- 4) hMG 投与後, 両法間の P 値に差はみられず, E_2 値は排卵前後および着床期に LHRHa 法は hMG 法より低値を示した.

以上, LHRHa 法は hMG 法より排卵率低下するも, OHSS 発生率少なく, また多胎発生の可能性も少なく, 重篤な OHSS 発生例や頻発例に対し有用な排卵誘発法といえる.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 658—665, 1990)

緒 言

多嚢胞性卵巣症候群 (PCO) に対する排卵誘発法として hMG-hCG 療法は, 排卵率が高い反面, 卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) 発生率, 多胎発生率が高いという欠点を有する^{1,2)}. 一方 LHRHa を律動的に投与すると自然のホルモン動態に近く, OHSS 発生率, 多胎発生率が低下する^{3,4)}といわれているが, PCO に対する排卵率は低い⁵⁾.

すでに著者らは, PCO に LHRHanalogue (LHRHa) の down regulation を利用して LH, FSH を低

下させ, ついで hMG を律動的に皮下投与し OHSS 発生率の低い排卵誘発法として発表している^{6,7)}.

今回は, さらに治療周期を増し, また同一対象に対し hMG 律動的皮下投与法 (hMG 法) を行い, 両者を比較し LHRHanalogue および hMG 律動的皮下投与組み合わせ法 (LHRHa + hMG 法) の意義につき検討を加えた.

対象および方法

1. 対象

対象は表 1 に示す 9 例の PCO 症例とした. PCO の

診断は、中村らの提唱した PCO 診断 criteria^{8,9)}に従った。すなわち、①第1度無月経、②自然に頸管粘液 0.2 ml に増量、結晶形成Ⅲ度になるも排卵せず、③ clomiphene citrate (C. C.)50~150 mg/日・5日間 (+hCGにて排卵せず、④ Prolactin (PRL)値正常、⑤ LHRHtestにて LH 前値やや高値(20mIU/ml以上)で反応良好、FSH は前値、反応とも正常である。

PRL は症例7を除き正常域 ($M \pm SE = 14.8 \pm 4.6$ ng/ml) であった。症例7は Bromocriptine 5 mg/日投与し、さらに C. C.50 mg/日・5日間投与して排卵しなかった。

PCO において卵巣の内葉膜細胞層および間質からの分泌が高まっていると思われる Testosterone (T) は、やはり卵胞期の正常域 (10.25 ± 0.06 ng/ml) より高値を示し、消退出血終了1週後の Estradiol (E_2) レベルは、正常卵胞期初期 ($-14 \sim -8$ 日; 49.1 ± 3.21 pg/ml) と同一か、やや高値を示した。いずれの症例も男性化徴候を示さず、最近6ヶ月以内に排卵は認められなかった。

2. LHRHtest

消退出血終了2週間以降の午前9時に LHRH100 μ g を筋注し、投与前、投与後30分、60分、120分、180分、24時間後に肘静脈より採血し、ただちに血清分離後凍結保存、後日 Radioimmunoassay (RIA)にて LH、FSH を測定した。

3. RIA 法

血清 LH、FSH、PRL、Estradiol (E_2)、Progesterone (P)、T はすでに発表した RIA 法によった¹⁰⁾。

4. hMG 律動的皮下投与方法 (hMG 法)

すでに報告した方法に従った^{11,12)}。すなわち hMG (Pergonal、帝国臓器) 75~225IU を 0.8ml の注射用蒸留水にて溶解、小型律動ポンプ(ニプロ SP31、ニ

プロ KK) を用い、90分毎に下腹部皮下に翼状針をもって律動的に排卵確認まで投与した。経腔プローブを用いた超音波断層法によって、最大卵胞径 20 mm 以上の成熟卵胞を認めた時点、または血清 E_2 が 300pg/ml 以上になったら、hCG (ゴナドトロピン、帝臓) 5,000~10,000 IU を連日、排卵確認まで筋注し排卵誘発を行った。排卵の確認は、BBT の上昇、成熟卵胞の消失、成熟卵胞の内部エコーの出現、ダグラス窩の腹水の貯留 (echo free space)、排卵時の下腹痛などを参考にした。排卵後は hCG 5,000IU を隔日に3~4回、黄体期中期まで投与し黄体機能を賦活化した。

5. LHRHanalogue および hMG 律動的皮下投与組み合わせ法 (LHRHa+hMG 法)^{6,7)}

消退出血終了直後より LHRHa (Buserelin、ヘキストジャパン) を1回 150 μ g/ml ずつ両側鼻腔に1日3回 (900 μ g/日) 排卵確認まで投与した。

hMG 律動的皮下投与は LHRHa 投与後、頸管粘液、羊歯状結晶形成消失、または血中 LH15mIU/ml 以下になった時点で、前述した hMG 法と同様に hMG を排卵確認まで律動的に皮下投与した。

6. 卵巣過剰刺激症候群 (OHSS)

OHSS は超音波断層法にて最大卵巣径 5 cm 以上、または内診上鶯卵大以上の卵巣を触知した場合とした。

7. 統計学的解析

Student t-test, paired t-test, χ^2 testにて $P < 0.05$ を有為差あり、 $P < 0.1$ を傾向ありとした。

成績

表2に PCO 9例に対する LHRHa+hMG 法の排卵、OHSS、妊娠成績を示した。9例全例が排卵、周

表1 対象症例

症例	年齢	LHRH test		PRL (ng/ml)	Testosterone (ng/ml)	* E_2 (ng/ml)
		LH (mIU/ml) 前値→ピーク値	FSH (mIU/ml) 前値→ピーク値			
1. Y.T.	33	32.0→210.0	11.9→23.5	13.3	0.585	44.3
2. Y.O.	31	47.0→250.0	9.6→18.0	12.0	0.660	82.8
3. K.T.	27	22.4→178.0	8.3→15.1	10.2	0.875	56.5
4. T.K.	29	44.0→272.0	11.0→19.0	12.0	0.200	70.3
5. T.A.	28	35.4→380.5	7.4→22.7	2.5	0.501	57.1
6. K.S.	26	20.2→184.0	9.5→18.0	4.1	0.726	90.4
7. Y.M.	33	34.2→211.7	7.0→26.5	34.6	0.718	113.0
8. K.A.	36	33.3→188.0	8.7→16.0	8.9	0.688	143.0
9. M.N.	28	24.5→331.8	12.2→32.9	25.5	0.456	49.0

* 消退出血終了1週間後 (非排卵期)

期別では27周期(65.9%)が排卵, OHSS発生は3例(33.3%)3周期(7.3%)にみられ, 全例軽症であり妊娠例にOHSSはみられなかった。妊娠は2例2周期にみられ, うち1例は高温24日で流産した。1例は妊娠41週で正常単胎児を分娩した。

表3にLHRHa+hMG法を施行した同一PCO症例にhMG法を行った時の排卵, OHSS, 妊娠成績を示した。排卵は9例全例排卵し周期別では37周期(92.5%)排卵し, LHRHa+hMG法より有意に高い排卵成績を示した。一方, OHSSは4例(44.4%), 11周期(27.5%)発生し, うち1周期(症例1)は症状強いため入院し, 安静にて自然軽快した。妊娠例ではOHSS発生した症例は存在しなかった。周期別でLHRHa+hMG法の方が有意にOHSS発生率低かった。妊娠例は2例4周期にみられ, 症例5は同一人が高温26日で1回流産し, 2回正常単胎児を分娩した。

排卵までに要したhMG総投与量は, LHRHa+hMG法で $M \pm SE = 2288 \pm 183IU$, hMG法で $2658 \pm 199IU$ と, hMG法の方が多量のhMGを必要としたが有意差はみられなかった($P < 0.2$)。

BBT高温日数はLHRHa+hMG法: 14.9 ± 0.2 日, hMG法: 14.3 ± 0.5 日でLHRHa+hMG法の方が長いが有意差はみられなかった($P < 0.2$)。

LHRHa+hMG法でhMGを投与するまでに要したLHRHa投与日数は, 全体で 13.3 ± 0.9 日, 排卵周期は 14.6 ± 1.1 日, 非排卵周期は 11.3 ± 1.3 日で排卵周期の方がLHRHaの投与日数が長かったが, 統計学的に有意差はみられなかった($P < 0.2$)。

図1にLHRHa+hMG法において, LHRHa投与前, LHRHa投与後hMG投与前, hMG投与後のLH, FSHの変化を示した。図の上段は絶対値, 図の下段はhMG投与前値を100%としてプロットしたものである。

表2 LHRHa+hMG法の排卵, OHSS, 妊娠成績

症 例	施行周期	排 卵	OHSS	妊 娠
1. Y. T.	8	5	1	0
2. Y. O.	6	6	0	0
3. K. T.	1	1	1	0
4. T. K.	2	2	0	1
5. T. A.	3	1	0	1 (流産)
6. K. S.	6	6	1	0
7. Y. M.	3	2	0	0
8. K. A.	5	3	0	0
9. M. N.	7	1	0	0
	9例41周期	9例27周期 (100) (65.9)	3例3周期 (33.3) (7.3)	2例2周期 (22.2) (4.9)
() 内%				

表3 hMG法の排卵, OHSS, 妊娠成績

症 例	施行周期	排 卵	OHSS	妊 娠
1. Y. T.	12	11	6	0
2. Y. O.	11	10	0	0
3. K. T.	2	2	2	0
4. T. K.	3	3	2	0
5. T. A.	3	3	0	3
6. K. S.	1	1	0	0
7. Y. M.	1	1	0	0
8. K. A.	1	1	1	0
9. M. N.	6	5	0	1
	9例40周期	9例37周期 (100) (92.5)	4例11周期 (44.4) (27.5)	2例4周期 (22.2) (10.0)
() 内%				

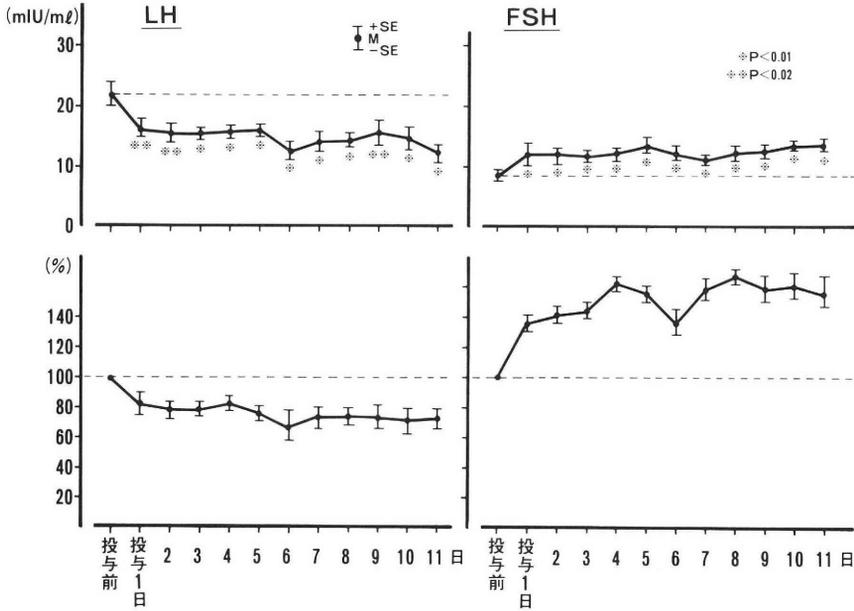


図1 LHRHa+hMG法における血中LH, FSH値の推移(16周期)

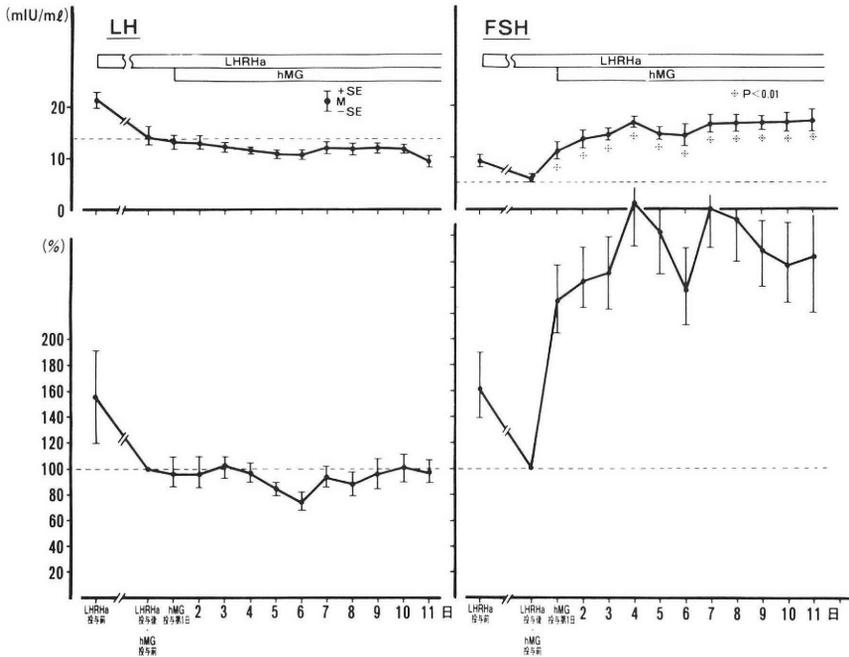


図2 hMG法における血中LH, FSH値の推移(17周期)

LHはLHRH投与前 22.4 ± 1.9 mIU/mlがLHRHa投与後 14.1 ± 1.6 mIU/mlと有意に低下、hMG投与後はやや低下するも有意な変化はみられなかった。

FSHはLHRHa投与前 9.5 ± 1.1 mIU/mlがLHRHa投与後 6.0 ± 0.5 mIU/mlと有意に低下、hMG投与後 $13.5 \pm 1.8 \sim 17.8 \pm 2.7$ mIU/ml、百分

率では $247.7 \pm 37.4 \sim 303.0 \pm 36.0$ %と有意に増加した。

図2にhMG法のLH, FSHの変化を示した。LHはhMG投与前 22.3 ± 1.8 mIU/mlが、hMG投与後 $15.3 \pm 1.2 \sim 15.9 \pm 1.3$ mIU/ml ($72.6 \pm 9.6 \sim 84.4 \pm 6.3$ %)と有意に低下、FSHはhMG投与前 8.1 ± 0.6 mIU/mlが、hMG投与後 $11.9 \pm 1.1 \sim 14.0 \pm 0.5$

mIU/ml ($141.3 \pm 7.6 \sim 160.2 \pm 9.9\%$) と有意に増加した。

図3にLH/FSH比の経日変動を示した。hMG投与後LHは低下、FSHは上昇を示す結果、LHRHa+hMG法では、LHRHa投与前 2.2 ± 0.5 、hMG投与前 2.9 ± 0.5 、hMG法では、hMG投与前 2.7 ± 0.2 と、いずれも2以上であったLH/FSH比がLHRHa+hMG法ではhMG投与後有意に低下し、投与3日目には 0.7 ± 0.1 となり以後1以下を示した。同様にhMG法でもhMG投与後LH/FSH比は有意な低下を示すも、 $0.9 \sim 1.7$ とLHRHa+hMG法より、その低下は少なかった。

図4に血清P ($M \pm SE$)の経日変動を示した。実線はLHRHa+hMG法、点線はhMG法を示す。いずれの方法でも血清Pは正常排卵周期の値より著しい

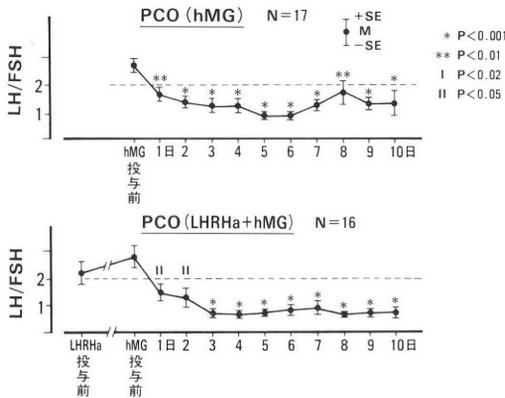


図3 hMG投与前後のLH/FSH比の変化

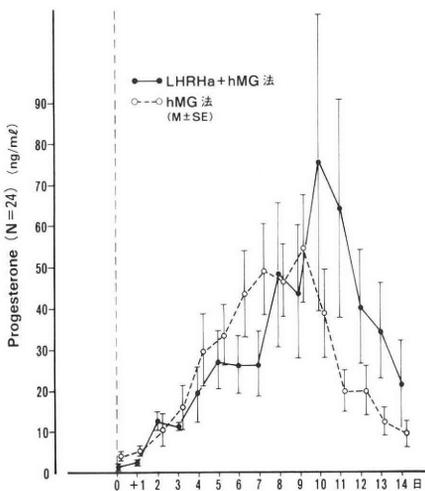


図4 LHRHaおよびhMG法における血中progesterone値の比較

高値を示した。着床期(+7~+8日)まではhMG法が、着床期以後はLHRHa+hMG法が高値を示すが、両者間に有意差はみられなかった。

図5に血清E₂ ($M \pm SE$)の経日変動を示した。血清Pと同様にE₂も正常排卵周期の値をはるかに越す高値を示した。+10日以降を除き、一般にLHRHa+hMG法はhMG法よりE₂値が低く、排卵前後の-1~0日かけてhMG法は高値傾向を示し、+2~+3日は有意に高値を示した。着床期にはhMG法が高値を示し、+6~+7日は有意差はないが高値傾向を示した。

考 察

PCOに対する排卵誘発法としてはclomiphene citrate、卵巣楔状切除、hMG-hCG療法などが行われている。中でもhMG-hCG療法は排卵率は高いが、OHSS、多胎発生率がきわめて高い欠点を有している。その対策としては、血中E₂の連日 monitoring^{1,3)}、自然のホルモン動態に近いLHRH律動的投与による排卵誘発法^{3,4)}などが試みられているが、PCOに対するLHRH律動的投与の排卵率は低く⁵⁾、今回の我々の症例もLHRH10~20 μ g/90minの律動的投与で、いずれも排卵せず、またLH含有の少ないhMG投与も必ずしもOHSS発生率低くなく¹⁴⁾、決定的な方法は存在しない。

PCOにおいては、末梢血の高LHがOHSS発生の主因を成すと考えられている^{15,16)}から、LHRHa投与によるLHの低下はOHSS発生低下に役立つと考えられる。またPCOにおいてhMG律動的皮下投与はLH低下、FSH上昇をきたし、結果としてLH/FSH比が低下することは、すでに著者らが発表している¹²⁾。

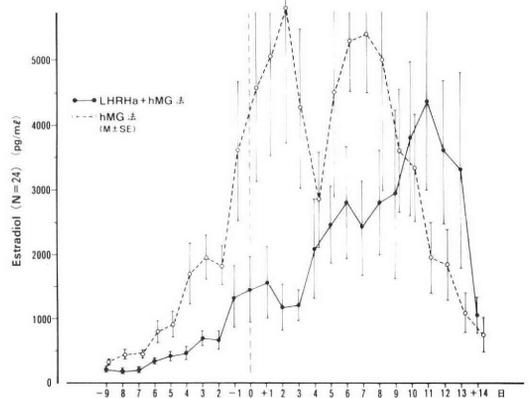


図5 LHRHaおよびhMG法における血中estradiol値の比較

そこで、これらを組み合わせ、まず LHRHa 投与により gonadotropin level を低下させ、その後 hMG 律動的皮下投与を行い、OHSS 発生率の低い排卵誘発法として発表してきた^{6,7)}。

本論文では、この LHRHa+hMG 法をさらに多周期につき試み、同一対象に行った hMG 法との比較検討を行った。

LHRHa+hMG 法の排卵率は著者らの先の論文では、9例12周期に施行し9例12周期にすべて排卵を認めた^{6,7)}が、治療周期数を増した今回の成績では、9例41周期中9例27周期(65.9%)に排卵と排卵率が低下、同一対象に行った hMG 法の92.5%より有意に排卵率が低下した。

また、OHSS 発生率は先の報告では2周期中1周期(8.3%)であった^{6,7)}が今回は41周期中3周期(7.3%)と OHSS 発生率は低く、同一対象に行った hMG 法の27.5%より有意に低かった。

LHRHa 投与中の卵巣の gonadotropin に対する反応性は変化しないという報告¹⁷⁾もみられるが、今回の排卵率、OHSS 発生率低下および血中 E₂ 低値の結果からみると、LHRHa 投与中の卵巣の gonadotropin に対する反応性は低下していないものと推定される。

PCO に対し、hMG を律動的に投与すると、LH は低下し、FSH は上昇する^{11,12)}が、今回も LHRHa+hMG 法では、すでに LHRHa 投与による down-regulation のため、hMG 投与前に LH は低下しており、hMG 投与後の LH 低下は有意ではないが、hMG 法では hMG 投与後 LH は有意な低下を示した。一方、FSH は hMG 投与後 hMG 中に含まれる FSH のため、LHRHa+hMG 法、hMG 法いずれも有意な上昇を示した。その結果、LH/FSH 比は hMG 投与前2以上であったものが、1前後の正常域に低下し、これが排卵誘発に大きく寄与したと考えられる。

血中 P と E₂ はともに正常排卵周期より著しい高値を示し、複数の黄体形成が示唆された。P 値は LHRHa+hMG 法、hMG 法間に差はないが、E₂ 値は両者間に大きな差がみられた。hMG 法では LHRHa+hMG 法より、hMG 投与直後よりすでに E₂ が高く、特に排卵前と着床期にその差は著しい。このことは LHRHa 投与下では、hMG に対する卵巣の反応性が抑制されていることを意味し、この結果 LHRHa+hMG 法では OHSS 発生率が低下すると考えられる。

多胎発生率に関しては、現在までに LHRHa+hMG 法で2例2周期、hMG 法で2例4周期、合計3例6周期(同一症例を含む)の妊娠をみたが、早期の流産のため胎数を確認できなかった2周期を除き、胎

数の確認のできた4周期はいずれも単胎であった。従来の hMG 連日筋注法によれば、我々のデータでは62例中15例(24.2%)が多胎、他の報告でも20~30%^{18,19)}と きわめて多胎発生率が高いが、すでに著者らが hMG の律動的皮下投与では、hMG の連日筋注法に比べて多胎発生率が低いことを発表してきた²⁰⁾ように、現在まで、第I度無月経、第II度無月経を含めた全体の成績では、胎数の確認できた19周期はすべて単胎であった。したがって、LHRHa+hMG 法を含め hMG 律動的皮下投与法の多胎発生率はきわめて低いといえる。

以上、LHRHa+hMG 法は hMG 法に比較して排卵率はやや低下するが、OHSS 発生率は有意に低く、重篤な OHSS 発生例や、OHSS が頻発する症例に対して、多胎発生の可能性の少ない有効な排卵誘発法といえる。

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました鈴木正彦教授に深謝し、また直接御指導いただいた中村幸雄教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Oelsner, G., Serr, D. M., Mashiach, S., Blankstein, J., Snyder, M. and Lunenfeld, B.: The study of induction of ovulation with menotropins: analysis of results of 1897 treatment cycles, *Fertil. Steril.*, 30: 538, 1987
- 2) 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
- 3) Reid, R. L., Leopold, G. R. and Yen, S. S. C.: Induction of ovulation and pregnancy with pulsatile luteinizing hormone releasing factor: dosage and mode of delivery, *Fertil.*, 36: 553, 1981
- 4) Schoemaker, J., Simons, A. H. M., van-Osnaburgge, G. J. C., Lugtenburg, C. and van-Kessel, H.: Pregnancy after prolonged pulsatile administration of luteinizing hormone-releasing hormone in a patient with clomiphene-resistant secondary amenorrhea, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52: 882, 1981
- 5) Loucopoulos, A., Ferin, M., Vande-Wiele, R. L., Dyrenfurth, I., Linkie, D., Yeh, M. and Jewelewicz, R.: Pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone for induction of ovulation, *Am. J. Obstet. Gynec.*, 148: 895, 1984
- 6) 中村幸雄, 吉村泰典, 玉岡有告, 山田春彦, 飯塚理八, 鈴木正彦: PCO に対する

- LHRHanalogue+hMG 律動的皮下投与による排卵誘発, 日産婦誌, 39: 2157, 1987
- 7) Nakamura, Y., Yoshida, K., Yamada, H., Iizuka, R. and Suzuki, M.: Treatment of polycystic ovarian disease by inducing ovulation with pulsatile subcutaneous administration of human menopausal gonadotropin associated with luteinizing hormone-releasing hormone analogue, *Clin. Endocrinol.*, 29: 395, 1988
 - 8) 中村幸雄, 吉村泰典, 杉村和男: 多嚢胞性卵巣症候群と月経異常, 産婦人科 Mook, 29(月経異常), 186, 金原出版, 1984
 - 9) Nakamura, Y., Tu, B. K., Shimizu, K., Kawamura, N., Tanaka, K. and Iizuka, R.: Hormone studies before and after wedge resection in Japanese patients with polycystic ovary syndrome (PCO), *Keio J. of Medicine*, 28:81, 1979
 - 10) Kasuga, Y.: Ovarian steroidogenesis in Japanese patients with polycystic ovary syndrome, *Endocrinol. Japan.*, 27: 541, 1980
 - 11) 中村幸雄, 木戸進, 強口芳明, 玉岡有告, 原澄子, 樋口泰彦, 白石悟, 吉村泰典, 飯塚理八: hMG の律動的皮下投与による排卵誘発, 日産婦誌, 37: 1169, 1985
 - 12) Nakamura, Y., Yoshimura, Y., Tanabe, K. and Iizuka, R.: Induction of ovulation with pulsatile subcutaneous administration of human menopausal gonadotropin in anovulatory infertile women, *Fertil. Steril.*, 46: 46, 1986
 - 13) Haning, R. V. Jr., Austin, C. W., Carlson, I. H., Kuzuma, D. L., Shapino, S. S. and Zweibel, W. J.: Plasma estradiol is superior to ultrasound and urinary estradiol glucuronide as a predictor of ovarian hyperstimulation during induction of ovulation with menotropins, *Fertil. Steril.*, 40: 31, 1983
 - 14) Couzinet, B., Lestrat, N., Brailly, S., Forest, M. and Schaison, G.: Stimulation of ovarian follicular maturation with pure follicle-stimulating hormone in women with gonadotropin deficiency, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 66: 552, 1988
 - 15) Kamrava, M. M., Seibel, M. M., Berger, M. J., Thompson, I. and Taymon, M. L.: Reversal of persistent anovulation in polycystic ovarian disease by administration of chronic low-dose follicle-stimulating hormone, *Fertil. Steril.*, 37: 520, 1982
 - 16) Wang, C. F. and Gemzell, C.: The use of human gonadotropins for the induction of ovulation in women with polycystic ovarian disease, *Fertil. Steril.*, 33: 479, 1980
 - 17) Fleming, R.: Induction of ovulation in polycystic ovarian disease. In *Gonadotropin Down-Regulation in Gynecological Practice* (eds. R. Rolland et al.), 401, Alan R. Liss, Inc., 1986
 - 18) 倉智敬一, 鈴木雅洲, 小林拓郎, 田中俊誠, 福島峰子, 平野陸男, 佐藤芳昭, 五十嵐正雄, 荒木重雄, 丸山正義, 飯塚理八, 貝原学, 古谷博, 水口弘司, 武久徹, 関光倫, 植村次雄, 見常多喜子, 中居光生, 浜崎睦, 米谷国男, 成田収, 山田幸生, 藤牧秀隆, 富田嘉昌, 麻生武志, 岡田弘二, 青野敏博, 奥田喜代司, 余語郁夫, 片山和明, 秋山暁久, 岡田悦子, 伊藤武久, 山下三郎, 森崇英, 門田徹, 石丸忠之, 中村雅弘: HMG (Humegon)—HCG 療法による排卵誘発効果と妊娠の転帰 (5 年間累計)——全国集計による 2,166 例 6,096 周期の成績——, 産と婦, 50: 274, 1983
 - 19) Schenker, J. G., Yorkoni, S. and Granat, M.: Multiple pregnancies following induction of ovulation, *Fertil. Steril.*, 35: 105, 1981
 - 20) Nakamura, Y., Yoshimura, Y., Yamada, H., Ubukata, Y., Yoshida, K., Tamaoka, Y. and Suzuki, M.: Clinical experience in the induction of ovulation and pregnancy with pulsatile subcutaneous administration of human menopausal gonadotropin: a low incidence of multiple pregnancy, *Fertil. Steril.*, 51: 423, 1989

A comparative study of LHRHa+hMG pulsatile subcutaneous administration and hMG alone in PCO patients

Haruhiko Yamada

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyorin University School of Medicine,
Tokyo 181, Japan
(Director: Prof. M. Suzuki)

Treatment with a combination of LHRH analogue (LHRHa) and pulsatile administration of hMG (LHRHa method) were used to induce ovulation in nine patients with polycystic ovarian syndrome (PCO). The same patients were also treated with pulsatile hMG administration alone (hMG method).

Ovulation was observed in 27 (65.9%) of 41 treatment cycles in the LHRHa method and in 39 (97.5%) of 40 cycles in the hMG method. Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) occurred in 3 (7.3%) of 41 cycle of LHRHa method and in 11 (25.0%) of 40 cycles of hMG method. Two treatment cycles of 2 cases in LHRHa method and 4 cycles of 2 cases in hMG method became pregnant. All six fetuses were singleton conceptions.

The concentration of LH decreased significantly after treatment with hMG by the both method and conversely the concentration of FSH increased. As a result, both treatments in patients with PCO were followed by a normalization of LH/FSH ratio. In periods from before to after ovulation and the mid-luteal phase, the levels of serum estradiol were significantly lower in the LHRHa method than those found in the hMG method, whereas the levels

of serum progesterone did not show difference between the two method.

The present data demonstrated that pulsatile subcutaneous administration of hMG associated with LHRH analogue was effective in inducing ovulation in patients with PCO owing to a low incidence of OHSS and multiple pregnancy.

(受付：1990年5月24日特掲)

マウス胞胚の透明帯脱却の機序に関する 超微形態学的検討

Ultrastructural Analysis about the Hatching Mechanism of Mice Blastocysts

東北大学医学部産科学婦人科学教室

上原茂樹 円谷隆 倉林由美代
Shigeki UEHARA Takashi TSUMURAYA Yumiyo KURAHAYASHI
岡村州博 高林俊文 矢嶋聡
Kunihiro OKAMURA Toshifumi TAKABAYASHI Akira YAJIMA

Department of Obstetrics and Gynecology
Tohoku University School of Medicine
Sendai 980, Japan

胚の透明帯脱却現象 (hatch) の機序を検索するために、妊娠4日目の胞胚 (未 hatch 胚) とそれを培養して得た hatch 開始胞胚 (hatch 胚) を透過型電子顕微鏡観察に供した。それによると、未 hatch 胚より hatch 胚で透明帯は薄くなるものの、hatch 胚における hatch 部位が相対的に透明帯の厚い embryonic pole においても認められたことから、透明帯の菲薄・脆弱化が hatch の直接的原因とは考えにくかった。hatch 部の超微形態的特徴として、細胞内に多数の空胞や Golgi 体が存在し、健全な trophoblast に隣接して変性あるいは変性に近い細胞質を呈する trophoblast が認められたことがあげられた。細胞内空胞は lysosome を含有すると考えられ、その産生に関与する Golgi 体の増加や自己融解によると考えられる変性細胞の出現としてその特徴が意義づけられることから、hatch の機序に trophoblast による蛋白分解作用の産生・分泌が関与することが強く推測された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 666—671, 1990)

緒言

ヒト、マウスを含む哺乳動物の胚は、それを保護していた透明帯を脱却することで着床の端緒とする^{1,2)}。この透明帯脱却現象 (以下、hatch と略す) は、種により幾分異なった様式をとる³⁾。たとえばヒトやマウスでは、子宮腔内で胞胚がフリーのまま進行するのに対して、ウサギやモルモットでは、胞胚が子宮壁近くに位置し、trophoblast の一部が透明帯を破り子宮内膜上皮に接着してから hatch が開始する。しかし、いずれにせよ透明帯は着床現象のためには妨げになるものであり、また、hatch なくしては着床も成

立しない。

この hatch の機序については、これまでに、糖タンパクより成る透明帯を胚が融解することによる報告⁴⁾と、胞胚の拡張および伸縮にともなう透明帯の機械的破壊によるとする報告^{5,6)}、そして子宮分泌物による透明帯の溶解も関与するという報告⁷⁾がみられる。しかし、これらのどれが主なのかという検討は不十分であり、また hatch を着床前の現象として考える場合、子宮内膜に侵入していく作用をこの時期には有していると推測でき、胚よりの積極的融解作用が透明帯におよんでいるとも類推された。そこで、本研究では、胞胚を *in vitro* 下に培養して hatch

を開始した胚(以下, hatch 胚と略す)を得て, それを超微形態観察に供するとともに, hatch 前の胞胚(以下, 未 hatch 胚と略す)の超微形態と比較することで, 胚自体の持つ透明帯融解作用に言及してみた。

研究方法

I 胚採取および培養法

ICR 系雌マウス(8~12 週齢)を同系雄マウスと自然交配させ, 翌朝陰栓形成が確認されたものを妊娠第1日とした。妊娠第4日にそれをエーテル麻醉下に頸椎脱臼で屠殺し, 子宮を摘出後2分割, 各子宮角を Hank's balanced salt solution にて flush することで胞胚を得た。得られた胞胚は実体顕微鏡下に健常と考えられるものを選別し, 5~6 個ずつを培養液(15%牛胎児血清添加 CMRL 1066+ABPC 100mg/L) 3 ml を含む径 3.5 cm の dish に加え, 37°C, 5% CO₂ 下の静置培養に供した。

II 形態観察

培養開始後経時的に倒立顕微鏡下に胚の形態を観察し, hatch 過程にある胚を抽出, それらを透過型電子顕微鏡(以下, 電顕と略す)による観察に供した。未 hatch 胚は, 妊娠4日目に採取した健常胞胚を培養せずに直接電顕観察に供した。

電顕観察のための前固定は, 0.1M cacodylate buffer 希釈の 2.5% glutaldehyde 中で, 冷所1時間行い, 次いで 0.1M cacodylate buffer 中で冷所 overnight の洗浄, さらに後固定は 1% osmium tetroxide (0.1M cacodylate buffer 希釈) 中で冷所1時間行った。続いてただちに alcohol 系列下に脱水し, propylene oxide により置換, そして Epon 樹脂中に包埋した。その後, 超薄切片を作製, 電子染色(酢酸ウラン, クエン酸鉛)を施し, 電顕観察を行った。

未 hatch 胚の前固定時には, 透明帯の観察を容易にするため, 0.5% tannic acid を追加した。

結 果

hatch 胚は培養開始後 48~72 時間で認められた。

1 透明帯の厚さ

未 hatch 胚は, 採取時で拡張の程度が異なるため, 2~4 μm と幅をもった厚さが計測された。それに対して hatch 胚では, 未 hatch 胚と比較して, 透明帯表面の平滑さが失われると共に非薄化していた。部位別に厚さをみると, mural trophoblast 部でとくに薄く, 0.8~1.2 μm であり, polar trophoblast 部(embryonic pole 部)では 2~3 μm であった。

2 透明帯断裂部(以下, hatch 部と略す)の形態(写真 1~8)

hatch 胚においてその hatch 部位を検討すると, mural trophoblast 部のみでなく, embryonic pole 部でも観察され, また, 1 箇所ばかりでなく, 複数箇所の透明帯断裂を起こしているものもあった。

mural trophoblast の hatch 部では, trophoblast が透明帯を包み込むように脱出し, 随所で透明帯表面に沿う突起状の胞体伸展を見せた。また, 健常細胞と隣接して, 粗な細胞質内部構造をとったり, 既に変性したと考えられる細胞が存在することが特徴的であった。embryonic pole の hatch 部でも, やはり polar trophoblast と考えられる細胞の変性がみられ, それより内部の細胞の脱出が観察された。いずれの部位においても, 透明帯断端は丸味をおび平滑な表面を呈した。

3 hatch 部における細胞内小器官の特徴(写真 3~13)

未 hatch 胚の細胞内小器官は, mural trophoblast においても, polar trophoblast においても, ある程度の mitochondria と僅かな endoplasmic reticulum を有するものの全般的には乏しく, Golgi 体, 空胞は認められなかった。

hatch 胚の小器官においては, 特に空胞の存在が, mural trophoblast の hatch 部, embryonic pole の hatch 部共に認められたこと, Golgi 体の出現が mural trophoblast の hatch 部に認められたこと, また mitochondria も hatch 部に増加していたことが特徴的であった。この部の空胞には内部に細胞の debris を含むものと何も含まないものが混在した。非 hatch 部では, 空胞はみられるものの少なく, Golgi 体の出現頻度も低く, 一見して小器官は乏しいと言ったことができ, 未 hatch 胚の小器官と同程度の分布を示すのみであった。

考 察

未 hatch 胚と hatch 胚の透明帯の厚さの比較で, 透明帯は hatch の時点までにかなり薄くなっていることが認識できる。これは, 子宮分泌液に透明帯を溶解する物質の存在する可能性も考えさせるが, 胞胚構成細胞の増殖, さらには胞胚腔の拡張に起因しているとも考え得る。胞胚構成細胞のうち trophoblast にはポンプ作用があり, 胞胚腔への水分流入を能動的に行うという報告⁵⁾, 胞胚の拡張にともない trophoblast 間の desmosome の増加があり, 細胞間接着を強固にしているという報告⁸⁾もみられ, 胞胚の拡大による透明帯の伸展, そのための脆弱化が hatch の一因ということではできよう。しかし, embryonic pole 部の透明帯は mural trophoblast より厚く保持

されているにもかかわらず hatch 部がみられたこと、複数箇所 hatch 部の生じていた胚があったことから、菲薄、脆弱な部位でのみ透明帯断裂が起こるとは限らないと言うことができ、他の因子の介在を考えざるを得ない。すなわち、胞胚の拡張にともなう透明帯の伸展は、hatch の前提として重要な現象であるが、直接的機序とはなっていないことが示唆されよう。

hatch 部では、細胞内に空胞が多く存在し、しかもその一部には内部に細胞の debris を含むものがあったこと、Golgi 体が豊富なこと、健常細胞に隣接して変性細胞あるいはそれに近い細胞質構造をとる細胞が存在することが特徴的であった。このような形態は、未 hatch 胚のみならず、hatch 胚における非 hatch 部でもみられないものであったことから、hatch との関連が強く推測された。空胞や細胞変性は、着床直後の時期に子宮を摘出して観察した胚の trophoblast にも認められ⁹⁾、また、dish や collagen gel を基質として順調に発育する胚の trophoblast にも存在する¹⁰⁾ ことから、単なる artifact ではないと言い得る。そこで細胞内空胞のもつ意味を考えると、lysosome との関連が指摘されており¹¹⁾、何も含んでいない空胞は Golgi 体より新生された直後のものとして、内部に debris を含むものは既に消化作用を行っているものとして位置づけされる。さらに変性細胞の存在も lysosome の作用による自己融解の産物と推測できる。従って、このような空胞あるいは変性細胞の存在と同時に観察された Golgi 体の増加は、trophoblast による何らかの蛋白分解作用をもつ物質の産生・分泌を示唆していると考えられ、この物質が透明帯融解に関与するものと類推できる。trophoblast が蛋白分解作用をもつ物質を産生することは、透明帯の融解を端緒として、それに続く着床過程の子宮内膜への侵入において合目的である。我々の着床胚の観察¹²⁾では、胚付着部の子宮内膜上皮は消失しており、脱落膜細胞が密に接合しあって胚を取り囲んでいた。この形態も trophoblast の分解作用によるものと言えよう。これまでに、胞胚の蛋白分解酵素分泌機能を生化学的に検索した報告が、mouse¹³⁾や pig¹⁴⁾で plasminogen activator を主としてなされているが、本研究の形態より、より強力な酵素の分泌を考慮してよいと考えられる。また、なぜ胞胚全体で hatch 部にみられた形態をとらないのか、hatch 部にみられるような形態に移行するシグナルは何なのかを検討することが今後の課題と言えよう。

文 献

- 1) Lewis, W. H. and Gregory, P. W.: Cinematographs of living developing rabbit eggs, *Science*, 69: 226, 1929
- 2) Dickman, Z. and Noyes, R. W.: The zona pellucida at the time of implantation, *Fertil. Steril.*, 12: 310, 1961
- 3) 菅原七郎: 着床前の妊卵-胚盤胞への分化から着床までの胚盤胞-,"着床(産婦人科Mook, No19)"坂元正一, 滝 一郎, 室岡 一, 相馬廣明編, 金原出版, 16, 1982
- 4) Kane, M. T.: Influence of the mucin coat on rabbit blastocysts in culture, *J. Physiol.*, 236: 30, 1973
- 5) Benos, D. J. and Biggers, J. D.: Sodium and chloride co-transport by preimplantation rabbit blastocysts, *J. Physiol.*, 342: 23, 1983
- 6) Borland, R. M., Biggers, J. D. and Lechene, C. P.: Fluid transport by rabbit preimplantation blastocysts *in vitro*, *J. Reprod. Fert.*, 51: 131, 1977
- 7) McLaren, A.: The fate of the zona pellucida in mice, *J. Embryol. exp. Med.*, 23: 1, 1970
- 8) 上原茂樹, 及川直弘, 千田 智, 八日市谷隆, 対木 章, 星合 昊, 矢嶋 聰: マウス胞胚の超微形態観察-とくに細胞間結合とランタンの細胞間侵入について, *日産婦会誌*, 38: 2187, 1986
- 9) 上原茂樹, 未報告
- 10) Uehara, S. and Yajima, A.: Morphology of mouse embryo cultured in a newly established culture system using collagen gel layer, *Tohoku J. exp. Med.*, 153: 245, 1987
- 11) Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D.: Internal membranes and the synthesis of macromolecules, In *Molecular Biology of The Cell*, Garland Publishing, 319, 1983
- 12) 上原茂樹, 岡谷 隆, 倉林由美代, 岡村州博, 高林俊文, 矢嶋 聰: 妊娠初期マウス子宮内膜間質細胞の脱落膜化についての超微形態学的検討, *日不妊学会誌*, 35: 455, 1990
- 13) Strickland, J., Reich, E. and Sherman, M. I.: Plasminogen activator in early embryogenesis: Enzyme production by trophoblast and parietal endoderm, *Cell*, 9: 231, 1976
- 14) Fazleabas, A. T., Geisert, R. D., Bazer, F. W. and Roberts, R. M. Relationship between release of plasminogen activator and estrogen by blastocysts and secretion of plasminogen inhibitor by uterine endometrium in the pregnant pig, *Biol. Reprod.*, 29: 225, 1983

Ultrastructural analysis about the hatching mechanism of mice blastocysts

Shigeki Uehara, Takashi Tsumuraya, Yumiyo Kurahayashi, Kunihiro Okamura, Toshifumi Takabayashi and Akira Yajima

Department of Obstetrics and Gynecology
Tohoku University School of Medicine
Sendai 980, Japan

We have ultrastructurally observed cultured mice blastocysts to investigate the mechanism of hatch-

ing. Hatching sites were found both on the embryonic pole of which zona pellucida was thick and on the abembryonic pole of which zona pellucida was thin. It is, therefore, indicated that neither thinning nor weakening of zona pellucida is direct causis of hatching. In the hatching site, there were trophoblasts including many vacuoles and Golgi apparatuses. Moreover, there were degenerated cells beside the intact cell. Those morphological features of the hatching site were not recognized either in the non-hatching site or the non-hatching blastocyst. Therefore, it is suggested that the hatching is induced by the trophoblast which synthesizes and secretes the substance exhibiting proteolytic action. (受付: 1989年12月5日)

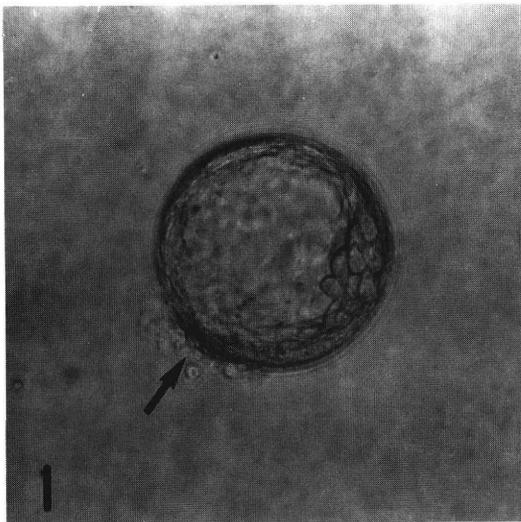


写真1 hatch 胚の倒立顕微鏡像 (×200)
mural trophoblast の透明帯脱却がみられる (arrow).

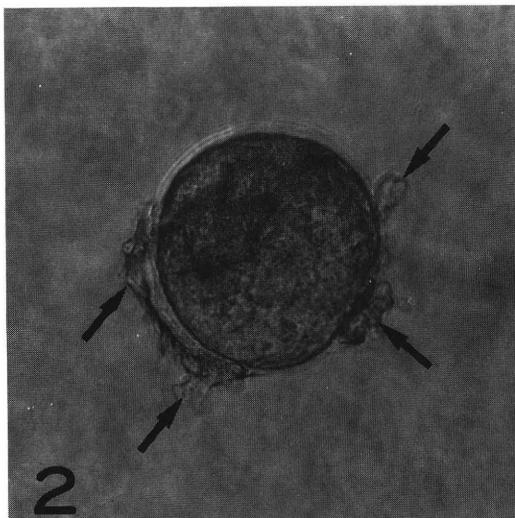


写真2 hatch 胚の倒立顕微鏡像 (×200)
複数箇所の透明帯脱却がみられる (arrow).

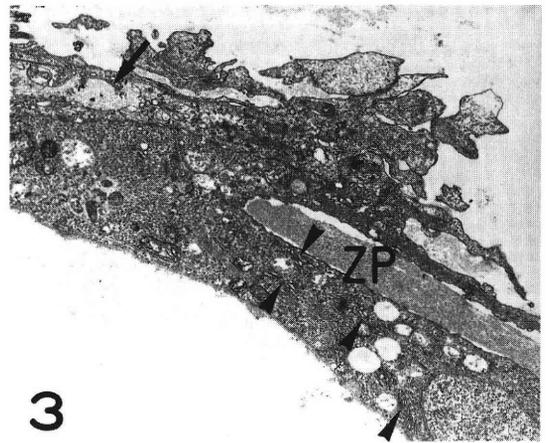


写真3 hatch 胚の hatch 部 (×6000)
mural trophoblast は zona pellucida (ZP) 上へ突起状に伸展している。空胞が豊富で、Golgi 体 (arrow head) が多数存在する。健常細胞に隣接して変性細胞 (arrow) がある。ZP は幅 0.85μm.

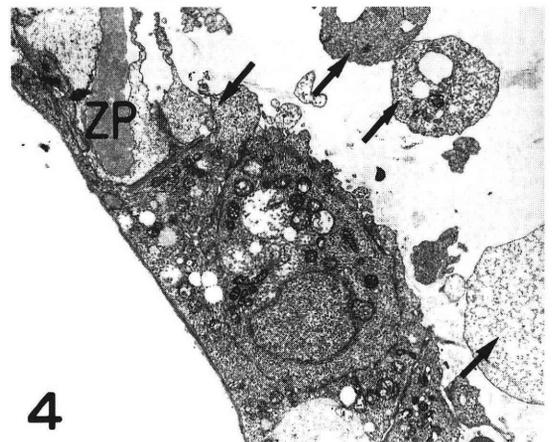


写真4 hatch 胚の hatch 部 (×3500)
空胞に富む mural trophoblast と変性細胞 (arrow) が隣接している。ZP: zona pellucida.

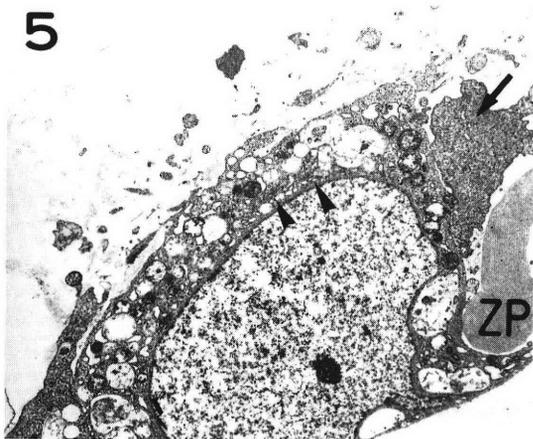


写真5 hatch 胚の hatch 部 ($\times 3500$)
空胞に富む mural trophoblast, Golgi 体 (arrow head). 変性細胞 (arrow).
ZP: zona pellucida.

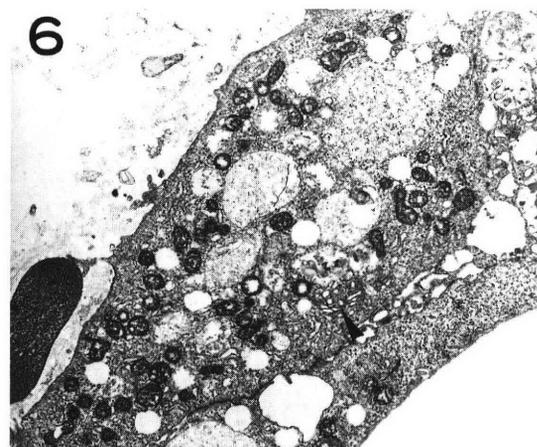


写真6 hatch 胚の hatch 部 ($\times 5000$)
空胞に富む mural trophoblast, Golgi 体 (arrow head).

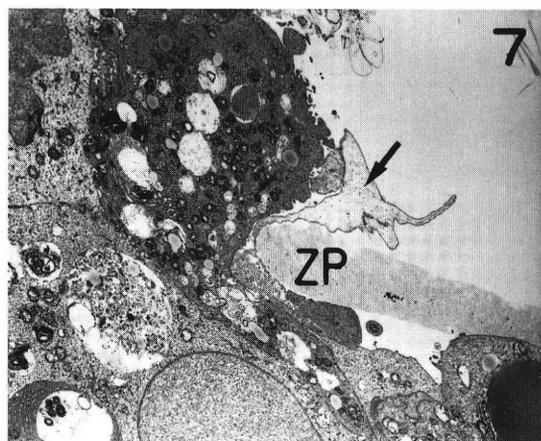


写真7 hatch 胚の hatch 部 ($\times 3500$)
embryonic pole の hatch 部. 小器官や空胞に富む細胞が hatch している.
ZP: zona pellucida.

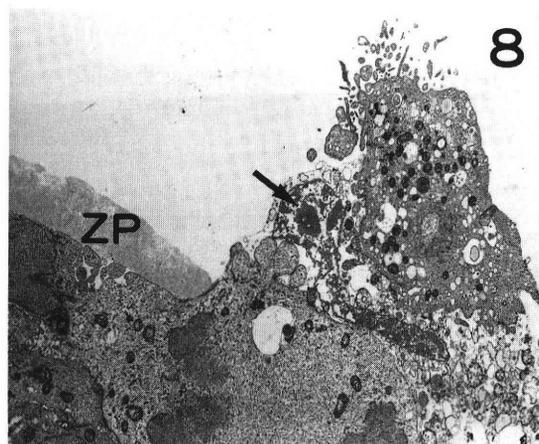


写真8 hatch 胚の hatch 部 ($\times 3000$)
embryonic pole の hatch 部. 変性細胞に隣接し, 空胞, 小器官に富む細胞. ZP は幅 $2.7\mu\text{m}$.
ZP: zona pellucida.

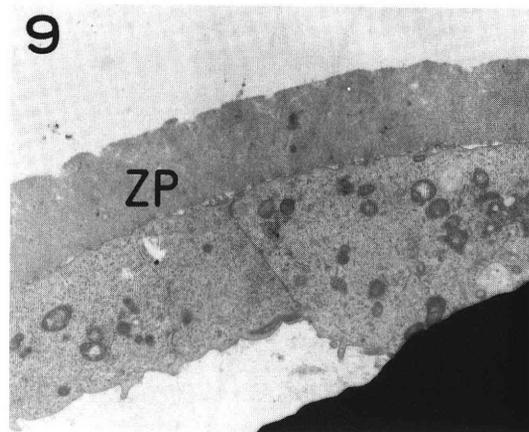


写真9 未 hatch 胚 ($\times 5000$)
mural trophoblast には mitochondria, endoplasmic reticulum が認められるが乏しい. ZP は幅 $3.8\mu\text{m}$.
ZP: zona pellucida.

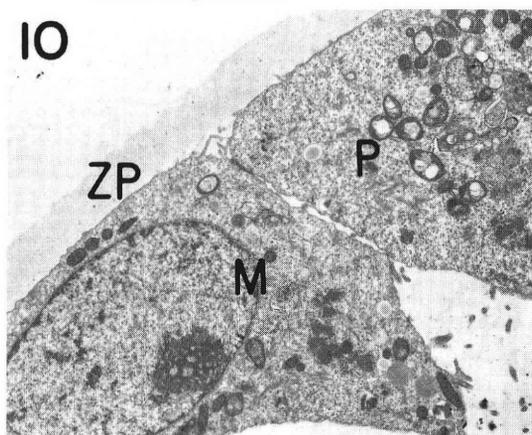


写真10 未 hatch 胚 ($\times 5000$)
mural trophoblast (M) と polar trophoblast (P) の境界部. mural trophoblast には小器官は乏しい. ZP は幅 $2.0\mu\text{m}$. ZP: zona pellucida.

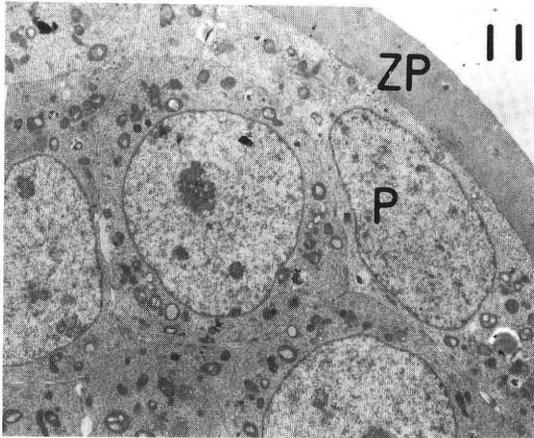


写真11 未 hatch 胚 (×3500)
embryonic pole. この部の polar trophoblast (P)には小器官は乏しい. ZPは幅 2.7 μ m.
ZP: zona pellucida.

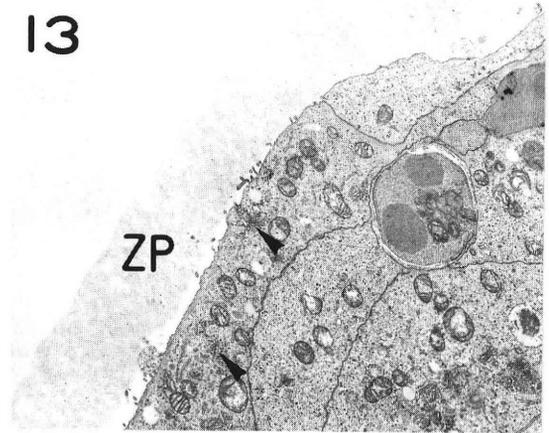


写真13 hatch 胚の非 hatch 部 (×5000)
embryonic pole. zona pellucida (ZP)はかなり厚く保持されている. この部の polar trophoblast (P)には少数の空胞, Golgi 体 (arrow head) がみられる. ZPは幅 2.8-3.0 μ m.

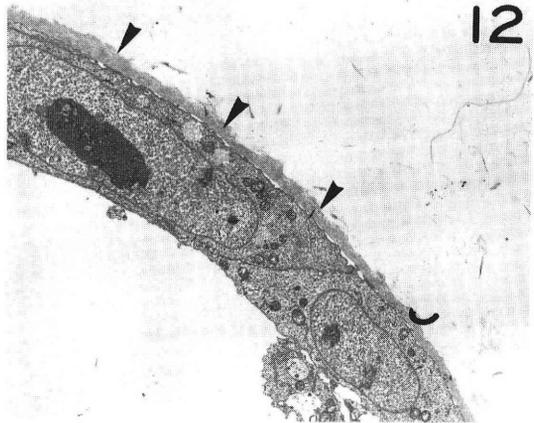


写真12 hatch 胚の非 hatch 部 (×2500)
zona pellucida (arrow head)は菲薄となっている. mural trophoblast には数個の空胞が認められる. 小器官は乏しい. ZPは幅 1.0-1.2 μ m.

REGULATION OF RENIN PRODUCTION BY FOLLICLE-STIMULATING HORMONE AND ESTROGEN IN RAT OVARIES

Satoshi USUKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

Abstract: The presence of renin and renin messenger ribonucleic acid (mRNA) in rat ovary and the effects of follicle-stimulating hormone (FSH) and estrogen on the expression of ovarian renin gene were confirmed. In adult 4-day cycling rats, the concentration of ovarian renin changed markedly during the unstimulated estrous cycle, being about 2.5 times higher at proestrus than at diestrus 2. Total Northern blot analysis with rat renin complementary RNA (cRNA) as a hybridization probe revealed the presence of renin mRNA in the ovary during the estrous cycle, the level being about 6 times higher at proestrus than at diestrus 2. The variations in the ovarian renin concentration and renin mRNA paralleled the serum estradiol-17 β (E₂-17 β) level. These results suggest that ovarian renin mRNA is under unique hormonal regulation through estrogen and a related hormone.

In PMS-treated immature rats, the total amount of renin in the ovary increased gradually after the administration of PMS, reached a peak at 36 hours, and then decreased to the control range. The renin mRNA content also showed a 3-fold increase after 36 hours and then decreased gradually, as renin activity did. In the same ovaries from rats primed with PMS for 36 hours, renin substrate, angiotensin I (A I), A I converting enzyme and angiotensin II (A II) were also significantly increased compared with at 0-hours, confirming the presence of all components of the renin-angiotensin system in the ovary. Furthermore, a large amount of completely inactive renin, prorenin, remained in the residual ovarian tissue after the granulosa cells and follicular fluid had been expressed, suggesting theca-interstitial localization of prorenin. In hypophysectomized rats, the administration of FSH increased the amount of total ovarian renin to 3 times the control value and E₂-17 β also increased the renin content to a similar level to that observed on FSH stimulation.

These results suggest that all components of the renin-angiotensin system are present in the ovary, and that the ovarian renin gene is regulated by FSH and estrogen.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 672—683, 1990)

Introduction

Renin (enzyme code 3. 4. 23. 15), which is classified as an aspartyl proteinase, is an endopeptidase that hydrolyzes renin substrate in the bloodstream to release decapeptidase A I, which

is subsequently converted to A II by a converting enzyme, the potent vasoconstrictor and stimulator of aldosterone. It is synthesized as preprorenin, which is converted to prorenin and then into mature renin through proteolytic cleavage. Renin is stored in the juxtaglomerular

cells of the kidney and is released into the bloodstream in response to a variety of physiological stimuli. Renin and its mRNA have also been shown to exist in various tissues other than plasma and the kidney, such as adrenal, brain, ovary, spleen, testis, uterus, and chorionic tissue of the placenta (1-4). The function and significance of renin in these extrarenal tissues are not well understood.

A large amount of prorenin has been detected in human plasma. This form of renin accounts for more than half of the total renin in normal human plasma. Circulating active renin appears to be exclusively of renal origin, as shown in nephrectomized rats, in which circulating active renin rapidly decreased to an undetectable level. On the other hand, plasma prorenin (5), renin-like substance (6), and angiotensin (7) in nephrectomized rats, and prorenin in the plasma of anephric subjects (8) continued to circulate. These data suggest that plasma prorenin is derived from the kidney and from other tissues as well. The source of plasma prorenin remains controversial.

The potential pertinence of renin to ovarian physiology has recently further been accentuated by the discovery that human ovarian follicular fluid from women who had undergone ovarian follicular stimulation contained a large amount of prorenin (1, 9). Renin mRNA from the rat ovary was also detected by us (2). Fernandez et al. (9) suggested that the ovarian follicle's production or concentration of renin may be estrogen-sensitive, because follicular fluid renin activity and $E_2-17\beta$ showed a positive correlation. The concentration of plasma prorenin also varies predictably during the menstrual cycle (10). A I and A II were also detected in the follicular fluid and their concentrations were much higher than in plasma (1, 9). Furthermore, Itskovitz et al. (11) indicated a direct correlation between the prorenin levels in blood and the number of maturing follicles in women hyperstimulated with human chorionic gonadotropin (hCG).

These findings suggest that the production of ovarian renin is a hormonally regulated phenomenon, and the ovarian renin-angiotensin system may play an important role in events

related to the reproductive process.

Despite much effort to elucidate the mechanism underlying the regulation of renin gene expression in renal and extra-renal tissues, few studies on renin genes have been reported.

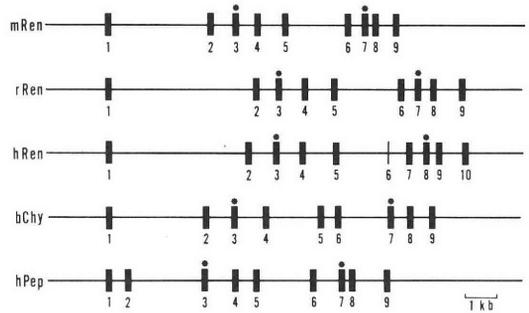


Fig. 1 Structures of renin genes.

Chymosin and pepsin, as well as renin, are well-known members of the aspartyl proteinase group. Since it has been proposed that the members of the aspartyl proteinase family are derived from a common ancestral gene generated by gene duplication and fusion, the structures of 5 aspartyl proteinase genes (rat, mouse, human and bovine) are compared. These genes, except for the human renin gene, consist of 9 exons interrupted by 8 introns. The two catalytically important aspartyl residues are encoded by exons 3 and 7, respectively (exons 3 and 8 in the human renin gene). The rat renin precursor consists of 402 amino residues, and shows 85%, 82% and 68% homology to the mouse Ren-1 and Ren-2, and human renins, respectively (12). The rat renin gene is about 11,000 bases long. The similarity in the structural organization of these genes indicates that they are evolutionally related, suggesting that the aspartyl proteinase gene family is arisen from a common origin.

mRen, mouse renin gene; rRen, rat renin gene; hRen, human renin gene; bChy, bovine chymosin gene; hPep, human pepsin gene; kb, kilobase (1,000 bases).

■, exon; *, encoding of the catalytically important aspartyl residue.

(This figure was kindly provided by A. Fukamizu, Ph. D.)

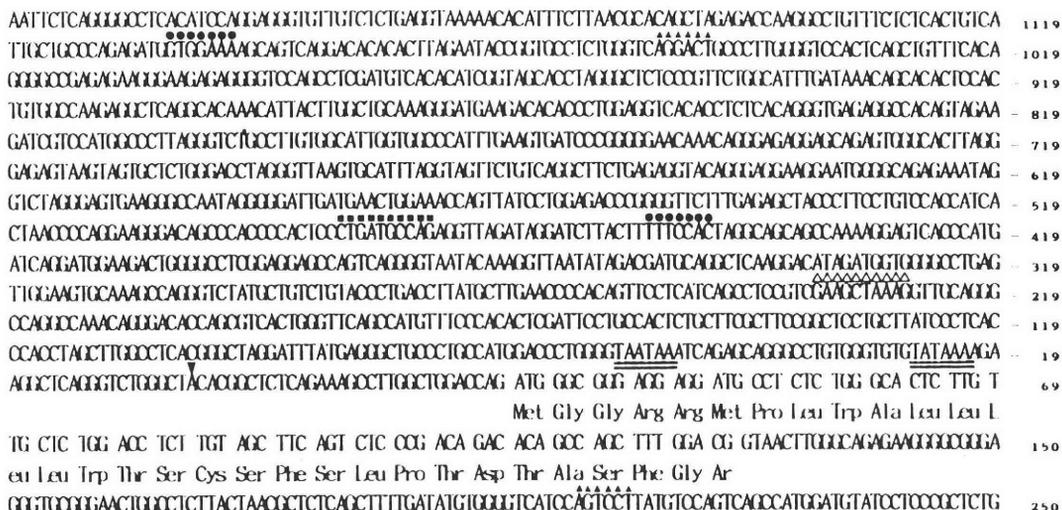


Fig. 2 Nucleotide sequence of the rat renin gene and its flanking regions.

The putative transcription start site (nucleotide 1) is indicated by an arrowhead. TATA boxes and polyadenylation signal are underlined by double lines. Filled and open tri-

angles indicate possible glucocorticoid and estrogen receptor-binding sequences, respectively. A filled circle and a filled square indicate the tentative enhancer core sequence and the cAMP-responsive element, respectively. (Fukamizu, et al., 1988) (12).

Recently, Fukamizu et al. (12) determined the estrogen regulatory sequence, from -50 to -60 base pairs, between the TATA box and the box upstream of the 5' end (flanking region) of the human renin gene, and suggested that estrogen and a related hormone may be involved in the induction of ovarian renin gene expression.

In addition, Fukamizu et al. (12) have isolated the rat renin gene and determined its complete nucleotide sequence (approximately 11,000 bases in length, with 9 exons and 8 introns), and several attractive regulatory sequences analogous to glucocorticoid, estrogen receptor-binding site, cyclic AMP-responsive element and SV40 enhancer core sequences were noted in the 5'-flanking region of the gene (Figs. 1 and 2).

In the present study, we examined the regulation of rat ovarian renin and renin mRNA levels to determine whether ovarian renin gene expression or the production of ovarian renin is controlled by estrogen or FSH.

Materials and Methods

Animals and treatments-Female rats of the Wistar-Imamichi strain were divided into the

three groups. Group 1 consisted of 10-week old rats with regular estrous cycles, as determined from vaginal smears. Vaginal smears were obtained daily, and those animals showing at least 3 consecutive 4-day cycles were used, being killed by decapitation under ether anaesthesia at 1100 hours proestrus, estrus, diestrus-1 and diestrus-2.

Animals in group 2 were injected subcutaneously with 20 IU pregnant mare serum gonadotropin (PMS; Teikokuzoki Co., Tokyo, Japan), the predominant component of which is FSH, at 27 days of age, and sacrificed by decapitation under ether anesthesia at 0, 12, 24, 36, 48 and 56 hours after injection. Group 3 consisted of rats hypophysectomized at 21 days of age via the parapharyngeal approach. Animals were treated daily with ovine FSH (NIADDK-oFSH-15, AFP-5529C; having a FSH potency 20 times that of NIH-FSH-SI, a LH (luteinizing hormone) potency 0.04 times that of NIH-LH-SI, and a prolactin potency less than 0.001 times that of NIH-prolactin) (2 µg/day in saline, subcutaneously) or E₂-17β (1 mg/day in sesame oil, subcutaneously; Teikokuzoki Co.) beginning at 25 days of age, respectively, for 4 days before autopsy at 29 days of age.

In the case of animals sacrificed 36 hours after PMS injection, granulosa cells were isolated in ice-cold saline in a petri dish by applying puncture with a 18-gauge needle and gentle pressure with a blunt spatula. The expressed granulosa cells and residual ovarian tissue were then isolated and assayed for renin activity. After autopsy, the ovaries, expressed granulosa cells, residual ovarian tissue and follicular fluid were rapidly removed and kept at -70°C until analyses. At the same time, blood for hormone analysis was collected.

Measurement of gonadotropins in serum-The FSH, LH and prolactin concentrations in the serum were determined with double-antibody radioimmunoassay kits supplied by the National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases (NIAMD) of the National Institute of Health. These radioimmunoassay immuno-reagents were elaborated by Dr. A. F. Parlow (Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, CA, U. S. A.).

The rat FSH (NIADDK-rFSH-1-15; AFP-4621B), LH (NIADDK-rLH-1-6; AFP-6833C) and prolactin (NIADDK-rPRL-1-5; AFP-4459B) had the biological potencies of $150\times$ NIH-FSH-SI, as determined by the hCG-Augmentation Assay $0.9\times$ NIH-LH-SI, as determined by the OAAD (ovarian ascorbic acid depletion) Assay, and 30 IU per mg, as determined by the pigeon local crop sac assay of Nicoll, respectively.

Contamination of rFSH by rLH and rat thyroid-stimulating hormone (rTSH) was less than 1%, and by rPRL and rat growth hormone (rGH) less than 0.1%, as determined by radioimmunoassays. Contamination of rLH by rFSH, rTSH, rPRL and rGH was less than 0.1%, as determined by radioimmunoassays. Contamination of rPRL by rGH was less than 0.3%, and by all other anterior pituitary hormones less than 0.1%, as determined by radioimmunoassays.

The FSH antiserum (NIADDK-anti-rFSH-S-11; AFP-C0972881), LH antiserum (NIADDK-anti-rLH-S-7) and prolactin antiserum (NIADDK-anti-rPRL-S-8) were prepared in rabbits. The antisera to rFSH, rLH and rPRL were used at final, tube dilutions of 1: 10,000, 1: 20,000 and 1: 12,500, respectively.

For use as "cold standards", for displacement curves, NIADDK-rFSH-RP-1 (AFP-180-sol), NIADDK-rLH-RP-2 (AFP-5666C) and NIADDK-rPRL-RP-3 (AFP-4459B) were prepared.

Radioimmunoassay for steroids-The serum estradiol- 17β , progesterone and testosterone concentrations were determined.

Renin assay-Renin activity was determined by radioimmunoassaying of A I generated in 1 hour from partially purified hog angiotensinogen at 37°C in a mixture comprising $380\ \mu\text{l}$ of phosphate buffer, pH 6.0, $10\ \mu\text{l}$ of 0.25 M ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), $10\ \mu\text{l}$ of 0.25 M phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 10 mg of hog angiotensinogen ($2.04\ \mu\text{M}$) and $100\ \mu\text{l}$ of a renin sample. Prorenin was determined as the increase in activity following activation with trypsin. The activation reaction was started by adding $10\ \mu\text{l}$ ($10\ \mu\text{g}$) of trypsin solution to the $90\ \mu\text{l}$ of solution containing ovarian prorenin. After 10 minutes at 4°C , the reaction was stopped by the addition of $10\ \mu\text{l}$ of soybean trypsin inhibitor solution (40 mg/ml) in 1 M Tris buffer, pH 6.0 (38).

RNA isolation-Total RNA was extracted from ovaries of at least 10 rats by homogenization in 5 M guanidine thiocyanate and centrifugation through 5.7 M cesium chloride. Poly (A)⁺ RNA was isolated by affinity chromatography on oligo (dT)-cellulose.

RNA-blot hybridization Analysis-Poly (A)⁺-containing RNA or total RNA was denatured with 1 M glyoxal/50% dimethyl sulfoxide. subjected to electrophoresis on a 1.5% agarose slab gels ($10\ \mu\text{g}$ poly (A)⁺ RNA/lane) and transferred onto nylon filters (Gene Screen, New England Nuclear, Boston, MA, U. S. A.). To identify renin mRNA, a 760-base pair fragment derived from the rat renin gene was subcloned into pSP 64 vector. This plasmid, pSPRRnRV9, was linearized and transcribed using SP6 RNA polymerase in the presence of α - ^{32}P -CTP (cytidine triphosphate) and used as a hybridization probe. After prehybridization for 2 hours at 60°C , the blot was hybridized with the ^{32}P -labelled rat renin cRNA for 16 hours, and then extensive washings were done in $2\times$ SSC at room temperature, $2\times$ SSC and 1.0% sodium dodecyl sulfate ($1\times$ SSC is 0.15 M

sodium chloride, 0.015 M sodium citrate, pH 7.4) at 60°C, and then 0.1×SSC at room temperature. The size markers used were *E. coli* rRNAs. The presence of ³²P-cRNA/mRNA hybrids was revealed by autoradiography with Fuji X-ray film with intensifying screen at -70°C. Exposure time was 48 hours at -70°C.

Determination of components of renin-angiotensin system-Renin substrate, A I, A II and A I converting enzyme were measured as described previously (13). Sample solutions were incubated with the synthetic substrate for 30 minutes at 37°C in 50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.3, containing 50 mM NaCl. The extent of the hydrolysis of the His-Leu was determined by fluorometric assay using ophthalaldehyde. In each case, the A I converting enzyme inhibitor SQ 14, 225 (10⁻³ M) blocked the enzyme activity of the samples.

Other methods-

The data were statistically analyzed using Student's *t*-test.

Results

1) Presence of renin and renin messenger RNA in rat ovary

Renin activities in rat ovaries were measured at all stages of the estrous cycle (Figs. 3 and 4). At the proestrus stage, the level of total renin activity was increased by 5-fold, compared with the values obtained at other stages of the estrous cycle.

The mean total renin activity during the diestrus-2 stage was 34±01 ng of A I per mg protein per hour. During the proestrus stage, the total renin activity doubled to an average of 74±03 ng of A I per mg protein per hour. It subsequently decreased to the value obtained at the diestrus-2 stage during the estrus or diestrus stage. The total renin activity paralleled the concentration of prorenin (inactive renin), but not that of active renin, during the estrous cycle (Fig. 3-A). In addition, the concentration of prorenin or total renin paralleled the serum E₂-17β level at all stages of the estrous cycle (Fig. 3-B, C).

The activity of active renin showed no significant change during the estrous cycle, while

the activity exceeded the concentration of prorenin at the diestrus-1, diestrus-2 or estrus stage (Fig. 3-A).

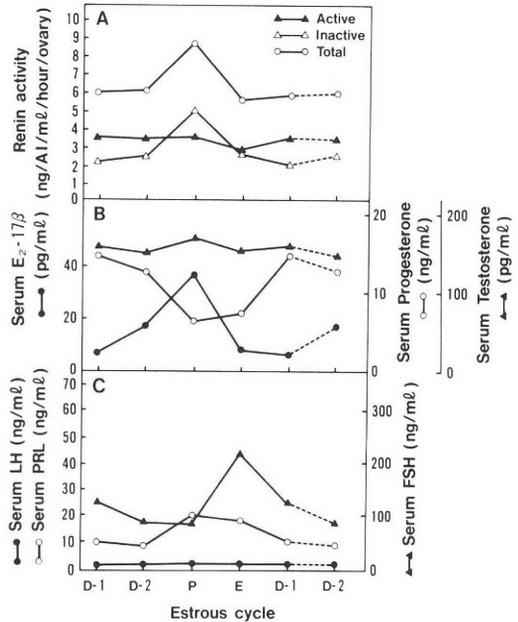


Fig. 3 Changes in ovarian renin activities during the 4-day estrous cycle.

Each point represents the mean for three particulate preparations.

P, proestrus; E, estrus; D-1, diestrus-1; D-2, diestrus-2.

The increase in the concentration of total renin at the proestrus stage appeared to be determined by the amount of renin mRNA, as judged on scanning laser densitometric analysis of autoradiographs, as the increase in renin paralleled that in its mRNA at the proestrus stage (Fig. 4).

As shown in Fig. 4 (right upper small figure), the RNA preparations from the kidney (A), uterus (B) and ovary (C) obtained at the proestrus stage exhibited the same single hybridization-positive band. Renin mRNAs in the ovary, uterus and kidney were indistinguishable as to size according to their migration (Fig. 4-A, B, C).

These data demonstrate an approximate 5-fold increase in the renin mRNA level at the proestrus stage. No significant changes in renin activity or renin mRNA were observed during the other stages of the estrous cycle (diestrus-1, diestrus-2 or estrus).

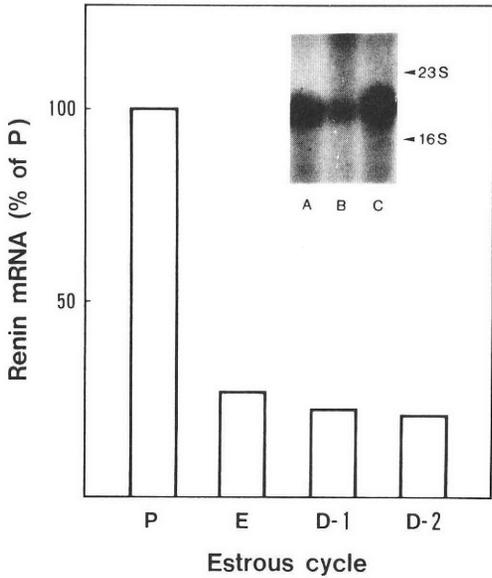


Fig. 4 Relative quantitation of renin mRNA from rat ovaries during the estrous cycle. Each peak area was integrated by scanning laser densitometric analysis of the Northern blot autoradiographs (48 hour exposure time) following hybridization to 100 mg of ³²p-labelled rat renin gene. The ratio is expressed as each stage *versus* proestrus (proestrus, estrus, diestrus-1 or diestrus-2/proestrus). The RNA preparations from the kidney (A), uterus (B) and ovary (C) are shown in the right upper quadrangle. P, proestrus; E, estrus; D-1, diestrus-1; D-2, diestrus-2.

2) Changes in ovarian renin activity and renin mRNA in PMS-primed immature rats

Changes in ovarian renin activity and renin mRNA, and serum E₂-17β, testosterone and progesterone levels during the first 56 hours after injection of PMS are illustrated in Fig. 5.

Prorenin levels, expressed per mg protein, increased with time up to 36 hours, reached a peak, and then showed a gradual decrease to the control range with time up to 56 hours, while the active renin level showed a gradual but small increase with time up to 56 hours (Fig. 5-A).

Renin mRNA also increased gradually after the injection of PMS, reached a peak at 36 hours, and then decreased to the control range. The changes

in ovarian renin mRNA almost paralleled the prorenin level. The total amount of renin (active renin+prorenin) also increased gradually after the injection of PMS with time up to 48 hours and then slightly decreased to the level at 36 hours by 56 hours (Fig. 5-A). These changes were also almost parallel with changes in the serum E₂-17β or testosterone level, and the levels were lower when the serum progesterone level was increased (Fig. 5-B).

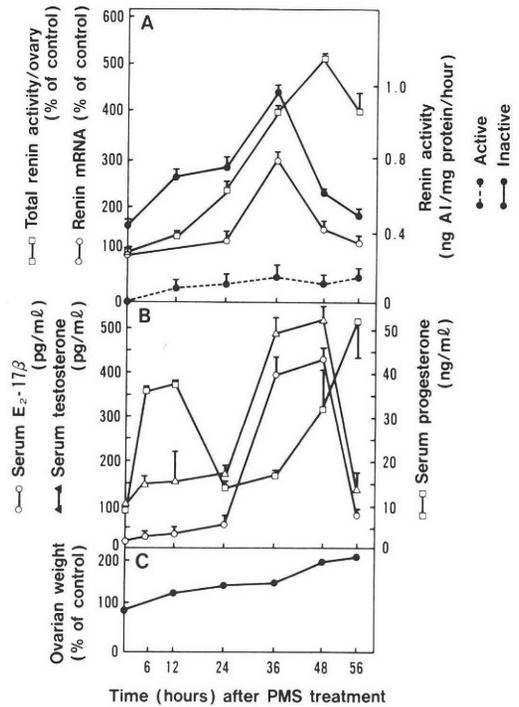


Fig. 5 Changes in ovarian renin activities and renin mRNA (A), and serum concentrations of estradiol-17β, testosterone and progesterone (B) in PMS-treated immature rats. The renin mRNA content is normalized to poly (A) +RNA and expressed as a percentage of the control value for ovaries of PMS-untreated immature rats. Each value is the mean ± S. E. M. for three to five determinations.

3) Renin localization in PMS-treated immature rat ovaries

Renin localization in ovaries is another intriguing problem that should be resolved. Prorenin was measured in both the expressed granulosa cells and remaining cells of ovaries resected 36 hours

after the injection of PMS when the ovarian prorenin or renin mRNA content was most remarkably increased. As shown in Table 1, a large amount of prorenin was present in the residual ovarian tissue after the expression of granulosa cells.

Table 1 Renin activity in different compartments of ovaries from PMS-treated immature rats.

Compartment	Prorenin activity (pg AI/mg protein/hour)	n
Whole ovary	80.8 ± 18.6	4
Granulosa cells	10.8 ± 0.4 ^a	4
Residual tissue	110.0 ± 22.8 ^b	4
Follicular fluid	37.5 ± 13.9 ^a	4

Each value is the mean ± S.E.M. for four determinations.

^a $p < 0.01$ compared to whole ovary.

^b Not significant compared to whole ovary.

4) Effects of follicle-stimulating hormone and estrogen on renin activity in ovaries of immature hypophysectomized rats

In immature hypophysectomized rats, the administration of FSH (2.0 μ g/day) or $E_2-17\beta$ (1 mg/day) stimulated the production of ovarian renin (Fig. 6). The ovarian renin level on stimulation with FSH was almost the same as that with $E_2-17\beta$, and the prorenin level after each stimulation was approximately 3 times that of active renin.

5) Renin-angiotensin system in PMS-treated immature rat ovaries

To confirm the presence of all components of the renin-angiotensin system in the ovary, renin substrate, A I, A II and A I converting enzyme were measured in the ovaries of the same immature rats primed with 20 IU of PMS for 36 hours when the amount of ovarian renin mRNA was most remarkably increased (Fig. 5).

As shown in Fig. 7, all components of the renin-angiotensin system were remarkably increased. Following injection of PMS, the amount of A II increased gradually, parallel with the increase of renin, and reached a peak of approximately 67 pg of A II per mg of protein by 36 hours. A I converting enzyme activity in the samples was totally inhibited by SQ 14, 225, a specific inhibitor of the

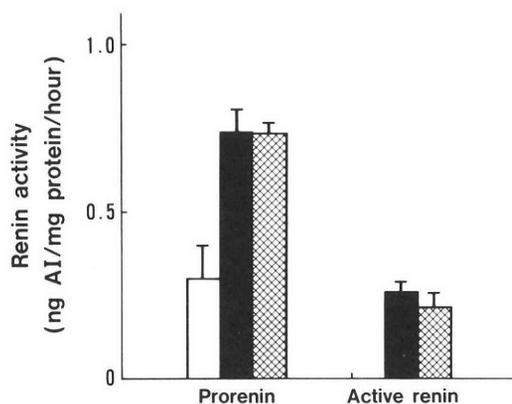


Fig. 6 Effects of estradiol-17 β and FSH on renin activities in ovaries of hypophysectomized, immature rats.

□, control; ■, FSH; ▨, estradiol-17 β . Each value is the mean ± S. E. M. for five determinations.

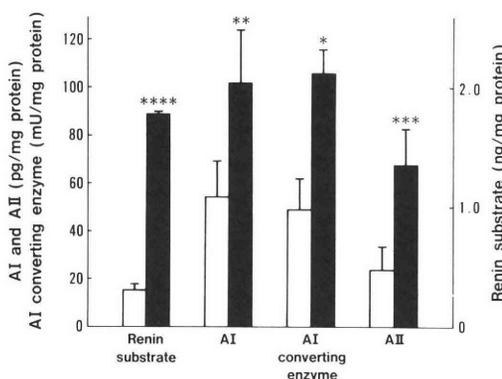


Fig. 7 Effect of FSH on renin substrate, angiotensin I, angiotensin I converting enzyme and angiotensin II levels in ovaries of PMS-treated immature rats.

Twenty-seven-day old rats were injected with PMS (20 IU) and sacrificed 36 hours after the PMS injection when the ovarian mRNA content reached a peak, as shown in Figure 4. The same ovaries as used in Figure 4 were assayed for renin substrate, angiotensin (A I), A I converting enzyme and angiotensin II (A II) as described under Materials and Methods. Each assay was performed in triplicate.

□, 0-hours; ■, 36-hours. Each value is the mean ± S. E. M. for three to five determinations.

* , $p < 0.05$; ** , $p < 0.02$; *** , $p < 0.01$; **** * , $p < 0.001$ compared to at 0-hours.

enzyme, suggesting a specific assay for the enzyme activity.

Discussion

The involvement of an ovarian renin-angiotensin system in regulation of reproductive physiology is attractive.

A variety of evidence is consistent with a role for gonadotropic hormones in the regulation of renin levels in ovarian follicular fluid. The concentration of plasma prorenin varies predictably during the menstrual cycle. This increase also occurs in women who receive hCG to induce ovulation (14). Fernandez et al. (9) reported that follicular fluid renin activity and estradiol showed a positive correlation, indicating that the ovarian follicle's production or concentration of renin activity may be estrogen-sensitive. Recently, Fukamizu et al. (12) reported that the rat renin gene has two "TATA" boxes, TATAAA and TAATAA, at 27 and 57 base-pairs upstream from the cap site, and that 9 out of 11 nucleotides, GAAGCTAAAG, at 228 and 237 base-pairs upstream, match the central box of the estrogen receptor-binding site detected in the chicken vitellogenin II gene, suggesting that the ovarian renin gene may have a regulatory sequence recognized by estrogen in its 5'-flanking region.

However, direct definitive evidence for local renin production in the ovary has been difficult to obtain. On biochemical detection of all components of the renin-angiotensin system, one cannot distinguish between contamination or uptake from plasma and *in situ* synthesis.

The present report describes the effects of FSH or estrogen on renin and renin mRNA, as determined by measuring the extent and time course of changes, which permits much more direct assessment of the mechanism responsible for the increase in the concentration of renin in the ovary or ovarian follicular fluid.

Using nucleic acid hybridization techniques, renin mRNA has been demonstrated to be synthesized within the ovary (2).

The present study demonstrated that the concentrations of renin and renin mRNA vary during the estrous cycle. Prorenin showed a pattern of

change dissimilar to that of active renin, with an increase at proestrus. At the estrous stages other than proestrus, active renin exceeds prorenin. During the 4-day estrous cycle of adult animals, a consistent pattern of the amount of ovarian renin and renin mRNA was observed. The highest values were observed at the proestrus stage. The increase in renin synthesis would be due to the increase in the number of renin mRNA molecules rather than an increase in the rate of translation of preexisting renin mRNA molecules. In this study, the variations in renin and renin mRNA paralleled the circulating level of $E_2-17\beta$.

The total amount of renin in the ovary increased gradually after the injection of PMS, reached a peak at 36 hours, and then decreased to the control range. In contrast, the total renin concentration in the rat uterus, on the other hand, gradually decreased (13). These data show that the production of ovarian renin and that of uterine renin are controlled by totally different mechanisms. Accumulation of renin in the ovary appeared to result from local synthesis, rather than that it was of renal origin. The increase in renin mRNA in the rat ovary indicated that gene expression is hormonally regulated through the control of transcription or mRNA stability. These rats showed a 3-fold increase in the renin mRNA content of the ovary at 12 hours and a peak of a 6-fold increase at 36 hours, and subsequently it decreased to the control range by 56 hours. The increase in the concentration of renin protein after the injection of PMS in the ovary appeared to be determined by the amount of renin mRNA, as the increase in renin roughly paralleled that in its mRNA during folliculogenesis.

Furthermore, the peak levels of ovarian renin and renin mRNA were observed at 36 hours after PMS administration in accordance with changes in plasma $E_2-17\beta$ or testosterone, and the levels tended to decrease after initiation of plasma progesterone elevation. This may support the regulation of local ovarian renin synthesis by estrogen in the ovary. The role of testosterone is unclear at present. Progesterone might act as a switchover factor in renin production. This hormonal regulation mechanism also remains to be

clarified.

To examine the localization of renin in the ovary, prorenin was measured in the granulosa cells, follicular fluid and residual tissue of ovaries at 36 hours after PMS injection. A large amount of prorenin was present in the ovarian residual tissue, suggesting predominant theca-interstitial localization of renin in the ovary. This is consistent with other reports (3, 4, 15, 16).

Considering the fact that theca cells appear to contain receptors for estradiol (17) and that estradiol acts directly on the theca interstitial cells to stimulate proliferation (18), the predominant localization of renin might be due to renin production mainly by estradiol-17 β within the theca interstitial cells.

In hypophysectomized immature rats, FSH and estrogen stimulate ovarian renin production, indicating that FSH or E₂-17 β triggers the increase in renin in the ovary. In hypophysectomized rats the plasma E₂-17 β level is not increased by FSH (19), and, in addition, receptors for FSH are restricted to granulosa cells (18) and FSH markedly stimulates granulosa proliferation in hypophysectomized rats (20). These results indicate that there may be different mechanisms for the regulation of renin production by FSH and estrogen. Or, since granulosa cells have receptors for estradiol (21), E₂-17 β may also stimulate the renin production in both granulosa cells and theca-interstitial cells.

We demonstrated the presence of renin mRNA in the rat ovary, hormone-stimulated or unstimulated, the level being almost the same as that in uterus and kidney, thus confirming the local synthesis of renin in the ovary.

In addition, we observed (unpublished data) that FSH slightly increased the production of renin in kidney at an early stage after administration, but the amount of renin rapidly decreased to about 15% of the control value by 36 hours after FSH administration. In sharp contrast, the plasma renin concentration had increased 3-fold by 36 hours. These data indicate the involvement of FSH or estrogen in the regulation of the production and secretion of renin in kidney. However, the regulation mechanisms for the production and

secretion of renal renin remain to be further investigated in detail.

Recently, angiotensinogen (1, 9, 22), angiotensinogen mRNA (23), prorenin (1, 9, 16, 22, 24, 25), active renin (1, 3, 9, 22—27), A I (1, 9, 22) A I converting enzyme (28—30), A II (1, 3, 9, 22, 24, 25, 29, 31, 32), A II receptors (30—36), and angiotensin III (25) were reported to be localized to several ovarian structures.

To examine the presence of the complete renin-angiotensin system in the ovary, we measured A I and A II by radioimmunoassays, and A I converting enzyme was measured by a fluorometric assay with Bz-Gly-His-Leu-H₂O as the substrate, and the presence of the enzyme was confirmed by inhibition with the converting enzyme inhibitor. Only a trace amount of A I was detected in the ovarian homogenate prepared from immature rats when incubated at 37°C either with or without the addition of exogenous substrate. In contrast, at 36 hours after injection of PMS, the ovarian homogenate contained approximately 69 pg of A I per mg of protein per hour. A II was also detected, and after injection of PMS the amount of A II gradually increased, paralleling the increase in renin, and reached a peak of approximately 60 fmol of A II per mg of protein at 36 hours. Angiotensin converting enzyme activity was determined using a synthetic substrate. At 36 hours after PMS treatment, the ovary showed a detectable level of the converting enzyme activity, but the activity was totally inhibited in the presence of SQ 14, 225, a specific inhibitor of the converting enzyme. These results suggest that all components of the renin-angiotensin system are present in the ovary and increased by FSH or estrogen.

The presence of all the components of the renin-angiotensin system suggests that through the production of A II, the renin-angiotensin system plays an important role in ovarian function. Previous reports have suggested the possibility of angiotensin-induced neovascularization (37). Ovarian extracts prepared from immature rats at 36 hours after injection with PMS were applied to an anti-A II immunoaffinity column and the pass-through fraction was injected into

rabbit corneas, which provided direct evidence that A II is involved in the process of ovarian neovascularization (38). A II, may stimulate proliferation of capillaries from the vascular wreath present in the theca layer and thereby promote follicular development. Other functions of A II, like steroidogenesis and oocyte maturation (34), regulation of the function of atretic follicles (16, 35), and regulation of intracellular calcium ion concentration (39), may also be involved in the ovary.

The stimulatory effect on renin production in the ovary of FSH or estrogen is an ovary-specific phenomenon, and the production of uterine renin could be controlled by a totally different mechanism or another kind of hormone. The decrease in the total amount of renin in the uterus after FSH injection (13) could be due to the secretion of uterine prorenin into the circulation, rather than the inhibition of the production of renin. In ovariectomized rats, the total amount of uterine renin after injection of FSH or estrogen gradually decreased (unpublished data). This finding suggests that FSH or estrogen has no effect on the regulation of uterine renin production and may be involved in the secretion of uterine renin. These results are consistent with the observations that prorenin increases in plasma soon after conception (40) and hCG administration (14), and suggest that the uterus may secrete a substantial amount of prorenin into the circulation, but the contribution of the uterine renin to the circulating renin is not clear.

In conclusion, we have demonstrated that ovarian renin and renin mRNA are under unique regulation by a gonadal steroid hormone, with estrogen or FSH acting to increase the number of renin mRNA molecules.

These changes are demonstrable during the estrous cycle and suggest that the renin-angiotensin system may play an important role in the reproductive process.

The author thanks Professor K. Murakami, Drs. S. J. Kim, M. Shinjo and A. Fukamizu, Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba, for their enthusiastic work.

This work was supported in part by Grants-in-

Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan, and the University of Tsukuba Special Project Research on Metabolism.

References

- 1) Glorioso, N., Atlas, S. A., Laragh, J. H., Jewelewicz, R., Sealey, J. E.: Prorenin in high concentrations in human follicular fluid, *Science*, 233: 1422, 1986
- 2) Kim, S. J., Shinjo, M., Fukamizu, A., Miyazaki, H., Usuki, S., Murakami, K.: Identification of renin and renin messenger RNA sequence in rat ovary and uterus, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 142: 169, 1987
- 3) Palumbo, A., Jones, C., Lightman, A., Carcangiu, M. L., DeCherney, A. H., Naftolin, F.: Immunohistochemical localization of renin and angiotensin II in human ovaries, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 160: 8, 1989
- 4) Howard, R. B., Pucell, A. G., Bumpus, F. M., Husain, A.: Rat ovarian renin: characterization and changes during the estrous cycle, *Endocrinology*, 123: 2331, 1988
- 5) Doi, Y., Franco-Saenz, R., Mulrow, P. J.: Evidence for an extrarenal source of inactive renin in rats, *Hypertension*, 6: 627, 1984
- 6) Cabrera, R. R., Guardia, D. C., De-Vito, E.: A renin-like enzyme in luteal tissue, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 47: 269, 1986
- 7) Aguilera, G., Schirar, A., Baukal, A., Catt, K. J.: Circulating angiotensin II and adrenal receptors after nephrectomy, *Nature*, 289: 506, 1981
- 8) Sealey, J. E., White, R. P., Laragh, J. H., Rubin, A. L.: Plasma prorenin and renin in anephric patients, *Cir. Res.*, 41 (Suppl 2): 17, 1977
- 9) Fernandez, L. A., Tarlatzis, B. C., Rzasca, P. J., Caride, V. J., Laufer, N., Negro-Vilar, A. F., DeCherney, A. H., Naftolin, F.: Renin-like activity in ovarian follicular fluid, *Fertil. Steril.*, 44: 219, 1985
- 10) Sealey, J. E., Atlas, S. A., Glorioso, N., Manapat, H., Laragh, J. H.: Cyclic secretion of prorenin during the menstrual cycle: synchronization with luteinizing hormone and progesterone, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 82: 8705, 1985
- 11) Itskovitz, J., Sealey, J. E., Glorioso, N., Rosenwaks, Z.: Plasma prorenin response to human chorionic gonadotropin in ovarian hyperstimulated women: correlation with the number of ovarian follicles and steroid hormone concentrations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 84: 7285, 1987
- 12) Fukamizu, A., Nishi, K., Cho, T., Saitoh, M.,

- Nakayama, K., Ohkubo, H., Nakanishi, S., Murakami, K.: Structure of the rat renin gene, *J. Mol. Biol.*, 201: 443, 1988
- 13) Kim, S. J., Shinjo, M., Tada, M., Usuki, S., Fukamizu, A., Miyazaki, H., Murakami K.: Ovarian renin gene expression is regulated by follicle-stimulating hormone, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 146: 989, 1987
 - 14) Sealey, J. E., Glorioso, N., Toth, A., Atlas, S. A., Laragh, J. H.: Stimulation of plasma prorenin by gonadotropic hormones, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, (letter) 153: 596, 1985
 - 15) Do, Y. S., Sherrod, A., Lobo, R. A., Paulson, R. J., Shinagawa, T., Chen, S., Kjos, S., Hsueh, W. A.: Human ovarian theca cells are a source of renin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 85: 1957, 1988
 - 16) Schultze, D., Brunswig, B., mukhopadhyay, A. K.: Renin and prorenin-like activities in bovine ovarian follicles, *Endocrinology*, 124: 1389, 1989
 - 17) Richards, J. S.: Content of nuclear estradiol receptor complex in rat granulosa cells during follicular development: modification by estradiol and gonadotropins, *Endocrinology*, 97: 1174, 1975
 - 18) Rao, M. C., Midgley, A. R. Jr., Richards, J. S.: Hormonal regulation of ovarian cellular proliferation, *Cell.*, 14: 71, 1978
 - 19) Usuki, S., Usuki, Y.: Follicle-stimulating hormone induces deoxyribonucleic acid polymerase α before deoxyribonucleic acid synthesis in immature rat ovarian follicles perfused in vitro, *Obstet. Gynecol.*, 171: 307, 1988
 - 20) Armstrong, D. T., Alan, K. G., Dorrington, J. H.: Regulation of follicular estrogen biosynthesis, Midgley, A. R., Sadler, W. A. (eds), *Ovarian Follicular Development and Function*, Raven Press, 169, 1979
 - 21) Goldenberg, R. L., Vaitukaitis, J. L., Ross, G. T.: Estrogen and follicle-stimulating hormone interactions on follicle growth in rats, *Endocrinology*, 90: 1492, 1972
 - 22) Culler, M. D., Tarlatzis, B. C., Lightman, A., Fernandez, L. A., DeCherney, A. H., Negro-Vilar, A., Naftolin, F.: Angiotensin II-like immunoreactivity in human ovarian follicular fluid, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 62: 613, 1986
 - 23) Ohkubo, H. G., Nakayama, K., Tanaka, T., Nakanishi, S.: Tissue distribution of rat angiotensinogen mRNA and structural analysis of its heterogeneity, *J. Biol. Chem.*, 261: 319, 1986
 - 24) Derkx, F. H. M., Albereda, A. T., Zeilmaker, F. H., Schalekamp, M. A. D. H.: High concentrations of immunoreactive renin, prorenin and enzymatically-active renin in human ovarian follicular fluid, *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 94: 4, 1987
 - 25) Lightman, A., Tarlatzis, B. C., Rzar, P. J.: The ovarian renin-angiotensin system: renin-like activity and angiotensin II/III immunoreactivity in gonadotropin-stimulated and unstimulated human follicular fluid, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 156: 808, 1987
 - 26) Deboben, A., Inagami, T., Ganten, D.: Tissue renin, Genest, J., Kuchel, O., Hamet, P., Cantin, M. (eds), *Hypertension, Physiopathology and Treatment*, McGraw-Hill, 194, 1983
 - 27) Lightman, A., Deschepper, C. F., Mellon, S. H., Ganong, W. F., Naftolin, F.: In situ hybridization identifies renin mRNA in the rat corpus luteum, *Gynecol Endocrinol.*, 1: 227, 1987
 - 28) Van-Sande, M. E., Scharpe, S. L., Neels, H. M., Van-Camp, K. O.: Distribution of angiotensin converting enzyme in human tissues, *Clin. Chim. Acta.*, 147: 255, 1985
 - 29) Brentjens, J. R., Matsuo, S., Andres, G. A., Caldwell, P. R. B., Zamboni, L.: Gametes contain angiotensin converting enzyme (kinase 11), *Experientia (Basel)*, 42: 399, 1986
 - 30) Speth, R. C., Husain, A.: Distribution of angiotensin converting enzyme and angiotensin II receptor binding sites in the rat ovary, *Biol. Reprod.*, 38: 695, 1988
 - 31) Husain, A., Bumpus, F. M., De Silva, P., Speth, R. C.: Localization of angiotensin II receptors in ovarian follicles and the identification of angiotensin II in rat ovaries, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 84: 2489, 1987
 - 32) Lightman, A., Jones, C. L., MacLusky, N. J., Palumbo, A., DeCherney, A. H., Naftolin, F.: Immunocytochemical localization of angiotensin II immunoreactivity and demonstration of angiotensin II binding in the rat ovary, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 159: 526, 1988
 - 33) Speth, R. C., Bumpus, F. M., Husain, A.: Identification of angiotensin II receptors in the rat ovary, *Eur. J. Pharmacol.*, 130: 351, 1986
 - 34) Pucell, A. G., Bumpus, F. M., Husain, A.: Rat ovarian angiotensin II receptors: Characterizations and coupling to estrogen secretions, *J. Biol. Chem.*, 262: 7076, 1987
 - 35) Daud, A. I., Bumpus, F. M., Husain, A.: Evidence for selective expression of angiotensin II receptors on atretic follicles in the rat ovary: an autoradiographic study, *Endocrinology*, 122: 2727, 1988
 - 36) Bumpus, F. M., Pucell, A. G., Daud, A. I., Husain, A.: Angiotensin II: an intraovarian regulatory peptide, *Am. J. Med. Sci.*, 295: 406, 1988
 - 37) Fernandez, L. A., Twickler, J., Mead, A.: Neovascularization produced by angiotensin II, *J. Lab. Clin. Med.*, 105: 141, 1985

- 38) Murakami, K., Kim, S. J., Shinjo, M., Fukamizu, A., Tada, M., Usuki, S., Usuki, Y., Miyazaki, H.: Regulation of ovarian renin gene expression by follicle stimulating hormone and estrogen, *Institute of Endocrinology, Gunma University (eds), Hormonal Regulation of Gene Expression VNU, Science Press BV, 24: 133, 1987*
- 39) Wang, J., Baimbridge, K. G., Leung, P. C. K.: Perturbation of intracellular calcium ion concentration in single rat granulosa cells by angiotensin II, *Endocrinology, 124: 1094, 1989*
- 40) Sealey, J. E., McCord, D., Taufield, P. A., Ales, K. A., Druzin, M. L., Atlas, S. A., Laragh, J. H.: Plasma prorenin in first trimester pregnancy: relationship to changes in human chorionic gonadotropin, *Am. J. Obstet. Gynecol., 153: 514, 1985*

**卵巣に於ける renin の存在と
FSH 及び estrogen による
発現調節機構**

筑波大学臨床医学系産科婦人科

白杵 愷

1)10週齢の成熟ラットを各期の午前11時に屠殺した群(G-I群), 2)27日齢にPMS 20I.投与後0, 12, 24, 38, 46および56時間目に屠殺した群(G-II群), および3)21日齢に下垂体を摘出し, FSHないし estradiol-17 β (E₂)を投与した群(G-III群)にわけた。G-I群に於いて, 卵巣組織中に active renin 活性および prorenin 活性の両者とも存在し, proestrus 期に於いて prorenin が多く存在し, total renin 活性とも相関した。Northern blot 法で renin mRNA も証明され, その存在は total renin 活性ないし prorenin 活性ともよく相関した。血中E₂濃度も prorenin 活性と相関した。G-II群では, 卵巣組織中の prorenin 活性は renin mRNA と相関して経時的に増加し, PMS 投与後36時間でPMS投与前含量の約3倍に達した。これらの変化は血中E₂および testosterone 濃度に相関して変化した。PMS 投与後36時間目の卵巣に於いて, prorenin は卵胞液ないし顆粒膜細胞除去後の莢膜・間質細胞群に大部分が存在した。また, 同時期の卵巣に於いて, renin 基質, angiotensin I (A I), A I 転換酵素, angiotensin II のいずれも著増した。G-III群に於いては, FSH 及びE₂の両者によって卵巣組織中の renin 活性は著増した。以上より, ラット卵巣に於いて renin 遺伝子は主として estrogen を介して転写レベルで調節されていることが推察され, renin-angiotensin 系の全ての構成要素が卵巣に存在することも明らかとなった。
(受付: 1989年7月6日)

簡易凍結法による 性状不良精液の凍結保存

Cryopreservation of Washed and Concentrated Human Sperm by Liquid-nitrogen Vapor Freezing.

1. 慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

2. 東京歯科大学市川総合病院産婦人科

小林 俊文¹ 兼子 智² 朴 俊英¹
Toshifumi KOBAYASHI Satoru KANEKO Park, Y. J.
原 唯純¹ 大野 虎之進² 飯塚 理八¹
Izumi HARA Toranoshin OHONO Rihachi IIZUKA

1. Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Keio University, Tokyo 160, Japan

2. Department of Obstetrics and Gynecology,
Ichikawa General Hospital,
Tokyo Dental College, Chiba 272, Japan

性状不良精液を対象とする配偶者間人工授精 (AIH) への凍結保存精子の応用を目的として、凍結、融解精子の精子妊孕性向上と凍結法の簡易化を試みた。

攪拌密度勾配法を用いて精子運動が不良な精液標本を洗浄濃縮した結果、精子濃度、精子運動率が改善され、精子妊孕性の指標である Fertility Index (精子数/ml×運動率%×10⁻⁸) は約6倍に向上した。

簡易凍結法により洗浄濃縮精子の凍結保存を試みた。簡易凍結器内に液体チッソを注いで数分間静置すると液体チッソ蒸気による温度平衡に達し、容器内は約-150°Cに冷却された。KS-II 保存液と混和した洗浄濃縮精子 (0.5 ml) を凍結チューブに充填し、液体チッソ液面上 2 cmの所に横置きにして凍結した。液体チッソタンク中で保存後、微温湯中で融解したところ約70%の精子蘇生率が得られた。融解後においても原精液の約2倍の FI を保持していた。

以上の結果から、性状不良精液においても精子凍結保存法を AIH に応用し得る可能性が示唆された。
(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 684—688, 1990)

緒 言

一般にヒト精子の凍結保存は卵黄、グリセリン等を主成分とする精子凍結保存液 (保存液) と精液を混和、直接液体チッソに投入するか、プログラムフリーザーを用いて凍結する方法が採られている^{1,2,3,4)}。

凍結に際して保存液による希釈、凍結融解過程における精子運動率の減少などから精子妊孕性が低下するため、その応用は主に良好精液を対象とする非配偶者間人工授精 (AID) に限られてきた。われわれは前報⁵⁾において、凍結保存に供する精子をあらかじめ洗浄濃縮しておくことにより保存液添加による精子

濃度低下を補償し得る、また新たに考案したKS-II精子凍結保存液(KS-II保存液)を用いてプログラムフリーザー凍結することにより高い精子蘇生率が得られることを明らかにした。この結果は性状不良精液も凍結保存の対象となりうる可能性を示唆している。

本論文は配偶者人工授精(AIH)への精子凍結保存法の応用を目的として、液体チッソ蒸気中における精子の簡易凍結法を試みるとともに本法を用いて性状不良精液、特に精子運動が不良な精液の凍結保存を行なった。

方 法

1. 精子の評価

精液は4日間禁欲した後に用手的に採取し、約30分間室温で液化させた。精子濃度、前進運動精子比率(運動率)、平均精子運動速度はHamilton-Thorn社製精子運動自動解析装置(Motility Analyzer HT-M2030)を用いて30°Cで測定した。精子性状の評価は飯塚のFertility Index (FI, 精子濃度/ml × 精子運動率% × 10⁻⁸)を指標とした。精子蘇生率は凍結、融解後の運動率/洗浄濃縮後運動率 × 100 から求めた。

2. 精子洗浄濃縮

80%等張化Percoll液の調製法は前報⁵に従った。Percoll (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden)は10倍濃度のHanks'液を添加して等張化した後、ミリポアフィルター(0.45 μm)で濾過滅菌して6.0mlづつ分注して4°C保存した。

精子洗浄濃縮は攪拌密度勾配法⁶により行なった。射精精液はその全量を80% Percoll, 6.0mlに層積した。液化不良精液は2~3倍量のHanks'液を加えてpumpingして粘度を低下させた後、またゲル状物質が混在する場合には希釈、静置して沈澱除去した後、層積した。精液とPercoll層の上半分をL型攪拌棒で数度攪拌して連続密度勾配を形成させ、スイングアウトローターを用いて400xg, 30分間遠心分離した。沈澱中に回収された精子を0.3mlとなるように再懸濁した。

3. 簡易凍結器による精子凍結

洗浄濃縮精子の凍結にはKS-II保存液⁷を用いた。図1は精子凍結に用いた簡易凍結器の写真およびその模式図を示している。簡易凍結器は自作し、断熱材として発砲スチロールを内張りしたプラスチック容器にステンレスパット(縦:横:高さ, 30×10×12 cm)を収納し、透明なプラスチック製の蓋をした簡単なものである。洗浄濃縮精子0.3mlにKS-II保存液0.2mlを加えて精子凍結用チューブ(セラムチュー

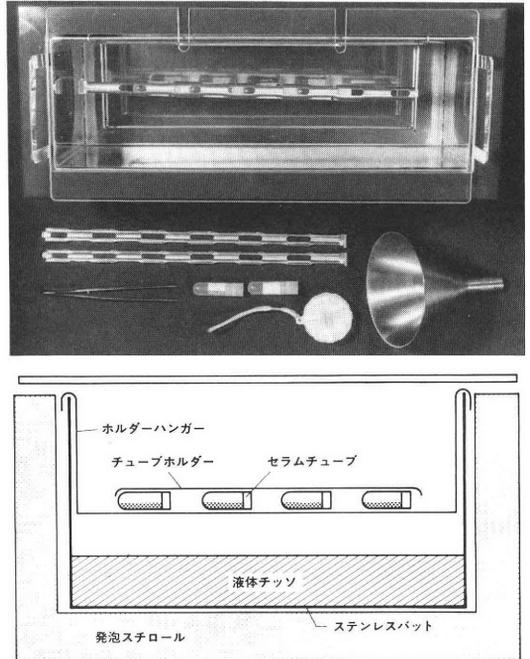


図1 簡易凍結器の概要

写真は簡易凍結器ならびに器材(セラムチューブ、チューブホルダー、タイマー、ロート)を示している。

ブ、容量2 ml, 住友ベークライト)に充填し、チューブホルダーに装着した。簡易凍結器にホルダーハンガーを懸架し、液体チッソをハンガーの下面より約2 cm下まで注いだ。プラスチックカバーをして3~4分間静置し、容器内を液体チッソ蒸気で冷却し、平衡化させた。セラムチューブを装着したチューブホルダーを水平になるようにハンガーに置き、液体チッソ蒸気中で精子凍結を行なった。約5分後、チューブを装着したホルダーを液体チッソ中に落下させて凍結を完了し、液体チッソタンクに移して保存した。融解はタンクから取り出したチューブを微温湯(約30°C)中で振盪して行なった。

結 果

簡易凍結器内の温度雰囲気、凍結、融解に伴う試料の温度変化はサーモセンサー(大阪酸素製)により記録した。容器内は液体チッソ蒸気による温度平衡に達した後、液面上4~5 cmまでは約-150°Cに冷却されていた。至適凍結条件を見いだすためKS-II保存液と80% Percollの等量混合液0.5mlをチューブに充填し、サーモセンサーを挿入して種々の条件下に凍結、融解を行なった(図2)。チューブを直接液体チッソに投入した場合(A)の凍結速度は約-300°C/

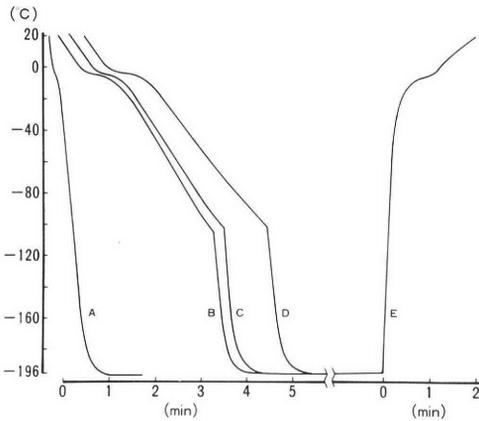


図2 簡易凍結器による凍結、融解曲線 (I)
セラムチューブに試料0.5mlを入れて横置きにし、直接液体チッソに投入(A)、液体チッソ水面上1 cm (B)、2 cm (C)、3 cm (D) で凍結した時、30°Cの温湯中で振盪して融解した時 (E) を示している。

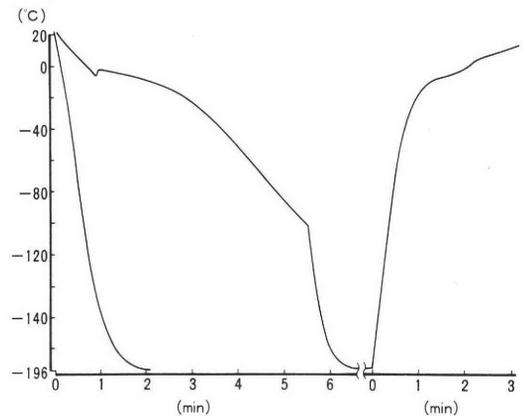


図3 簡易凍結器による凍結、融解曲線 (II)
セラムチューブに試料1.8mlを入れて横置きにして液体チッソ水面上2 cmで凍結、図3と同様に融解した。

を充填し、凍結時のチューブ位置は液体チッソ液面上2 cm程度とした。

分であった。チューブを液体チッソ液面上1, 2 cm (B, C) に置いて液体チッソ蒸気中で -100°C まで凍結した場合、 $-43, -38^{\circ}\text{C}/\text{分}$ と類似な凍結速度を与え、また3 cm (D) では $-27^{\circ}\text{C}/\text{分}$ であった。凍結はいずれの条件においても数分間で終了するので凍結時間は5分間とした。KS-II 保存液の氷点は -4.5°C であったが、氷点付近における潜熱の発生を認めなかった。チューブを液体チッソタンクから取り出し、ただちに微温湯中で振盪すると1分間で融解し、 20°C になるのに約2分間を要した (E)。一方、KS-II 保存液と80% Percollの等量混合液1.8 mlをチューブに充填し、液体チッソ液面上2 cmで凍結した場合、潜熱の発生が認められるとともに融解に約3分を要した (図3)。前報⁵⁾においてKS-II 保存液を用いてプログラムフリーザーによる精子凍結を行なった際、精子を充填したストローを超急速凍結 (直接液体チッソに投入) した場合には大幅な精子蘇生率低下を認め、 5°C 以下を $-30^{\circ}\text{C}/\text{分}$ 程度で凍結した時に最も良好な結果が得られた。

これらの知見にもとづきセラムチューブには0.5ml

簡易凍結法を用いて性状不良精液、特に運動率50%以下の精液標本の凍結保存を試みた。表Iは原精液および攪拌密度勾配法による洗浄濃縮、凍結、融解後の精子性状を示している。原精液 ($n=32$) は精子数 $41 \pm 13 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率 $17 \pm 11\%$ であったが、洗浄濃縮後沈澱中に回収された精子の性状は $68 \pm 29 \times 10^6/\text{ml}$ 、 $55 \pm 19\%$ に向上し、特に運動率の改善が顕著であった。この結果、FIは 7.1 ± 5.8 から 40 ± 22 へと約6倍になった。KS-II 保存液の添加により精子数は $40 \pm 20 \times 10^6/\text{ml}$ に低下したが、原精液とほぼ同程度の精子濃度が得られた。凍結融解後、運動率は $39 \pm 18\%$ に減少し、その結果FIも 16 ± 12 に低下した。しかし運動率、FI、とも原精液と比べ約2倍の値が得られ、精子蘇生率は約70%であった。凍結融解前後における精子運動速度に有意な差はなく、融解後においても蘇生した精子に対する運動障害は少ないものと考えられる。

以上の結果からAIHの対象となる性状不良精液でも、あらかじめ攪拌密度勾配法による洗浄濃縮しておくことにより凍結融解後においても原精液に匹敵する精子濃度が得られ、また高価なプログラムフリ

表1 簡易凍結法による運動不良精液の凍結保存

	精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	運動率 (%)	運動速度 ($\mu\text{m}/\text{秒}$)	精子妊孕係数
原精液	41 ± 13	17 ± 11	22 ± 6.0	7.1 ± 5.8
洗浄濃縮精子	68 ± 29	55 ± 19	23 ± 7.6	40 ± 22
凍結融解精子	40 ± 20	39 ± 18	23 ± 9.3	16 ± 12

精子妊孕係数：精子濃度 \times 運動率 $\times 10^{-8}$

$n = 32$

ーザーを使用しなくても KS-II 保存液を用いた簡易凍結法により充分高い精子蘇生率が得られることが明らかとなった。

考 察

本研究は、性状不良精液を対象とする AIH に精子凍結保存法を応用するという観点から、凍結精子の妊孕性向上と精子凍結法の簡易化を試みた。凍結後に高い精子妊孕性を得るための施策として、あらかじめ精子を濃縮しておくとともに精子蘇生率の向上が考えられる。AID と異なり広汎な施設で施行されている AIH においては精子凍結法が簡便かつ安価である必要がある。

これまでわれわれは AIH に供する精子の洗浄濃縮に単層 Percoll 法⁸と不連続密度勾配法⁹を用い、多くの妊娠例を得てきた¹⁰。本研究で用いた攪拌密度勾配法⁹は不連続密度勾配法を改良、簡易化したもので、運動精子の選択的濃縮が可能である。すでに AIH に応用され、47 例の妊娠例(妊娠率 31%)が得られている¹¹。これらの結果は精子洗浄濃縮が精子妊孕性向上に有用であることが示唆している。凍結保存に供する精子においても表 I に示したように、あらかじめ洗浄濃縮しておくことは精子妊孕性の指標である FI を約 6 倍に向上させ、精子保存液添加による希釈や凍結による運動率低下を補償し、融解後においても原精液の約 2 倍の FI を保持し得た。

従来当教室で使用されてきた KS 精子保存液は精液を対象としていたが、本研究で用いた KS-II 保存液は洗浄濃縮精子の凍結保存を目的としている。このためより複雑な塩組成を採用すると共に、主成分のひとつである卵黄フォスフォリピッドの可溶化を促進するため界面活性剤プルロニック F 68 を添加した。一般に性状不良精液は正常精液と比べて凍結融解過程における障害に対して脆弱であるが、表 I に示したように KS-II 保存液を使用することにより約 70% と高い蘇生率が得られた。さらに凍結融解前後における精子運動速度に有意な差を認めなかったことは、蘇生した精子の運動機能への障害が少なかったことを示唆している。

従来精子凍結保存には細いプラスチックストローが用いられてきた¹²。これは比表面積が広く均一な凍結速度が得られるために融解後の蘇生率が良好であることによるが、多くの患者精液を保存する必要のある AIH においては、プラスチックストローの使用は患者氏名等の記載、液体チッソ貯蔵タンク中における分類、管理という点で問題がある。本研究では凍結容器への氏名記載を考慮して内容 2 ml、直径約

8 mm のプラスチックチューブを用い、キャニスターおよびチューブホルダー番号により分類、管理した。AIH おける精液または精子懸濁液の授精液量は約 0.5 ml であり、また図 2, 3 に示したようにチューブ内の液量が 0.5 ml の時は潜熱が発生せず、1.8 ml では潜熱の発生を認めたことから、本研究では洗浄濃縮精子に KS-II 保存液を添加した時 0.5 ml となるように液量を調整した。また凍結に際してはチューブをホルダーに装着して横置きにすることにより、精子をチューブ内面に薄く広げて薄層となし、均一な凍結速度が得られるようにした。前報において検討したプログラムフリーザー凍結はコンピューターで温度制御した液体チッソガスを試料に吹きつける方法が採られていたが、氷点付近で潜熱が発生し、また凍結に約 20 分間を要した⁵。図 1 に示したように、約 -150°C のチッソ蒸気中で急速凍結を行なう簡易凍結法は方法が簡便であるにもかかわらず潜熱の発生を認めず、さらに数分間で凍結が完了するなど多くの利点を有しており、繁忙な日常診療において精子凍結保存法を応用するに際して有用な手段となり得ると考えられる。

文 献

- 1) Matheson, G. W., Carlborg, L., Gemzell, C.: Frozen semen for artificial insemination, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 104: 495, 1969
- 2) Tayler, P. J., Wilson, J., Laycook, R., Weger, J.: A comparison of freezing and thawing methods for the cryopreservation of human semen, *Fertil. Steril.*, 37: 100, 1982
- 3) Mahadevan, M., Torounson, A. O., Leeton, J. F.: Successful use of human semen cryobanking for in vitro fertilization, *Fertil. Steril.* 40: 340, 1983
- 4) Mahadevan, M., Torounson, A. O.: Effects of cooling, freezing and thawing rates and storage conditions on preservation of human spermatozoa, *Andrologia*, 16: 52, 1984
- 5) 翁文開, 小林俊文, 兼子 智, 李顕銳, 飯塚理八 洗浄濃縮精子の凍結保存に関する研究, *日不妊会誌*, 33: 639, 1988
- 6) Kaneko, S., Sato, H., Kobayashi, K., Oshio, S., Kobayashi, T. and Iizuka, R.: Continuous-step density gradient centrifugation for the selective concentration of progressively motile sperm for insemination with husband's semen, *Arch. Androl.*, 19: 75, 1987
- 7) 小林俊文, 兼子 智, 翁文開, 李顕銳, 青木類: 凍結精子による人工授精の妊娠率向上のポイント, *産婦人科の実際*, 36: 1897, 1987
- 8) 小埜 清: 人工授精, 体外受精に供する精子調整

- 法に関する研究, 慶応医学, 62:351, 1985
- 9) 兼子 智, 小堀 清, 小林俊文, 飯塚理八: 体外受精に供する精子の調整について, 受精着床 83, 51, 学会出版センター, 1984
- 10) Iizuka, R., Kaneko, S., Kobanawa, K., Kobayashi, T.: Washing and concentration of human semen by Percoll density gradients and its application on AIH, Arch, Androl., 20: 117, 1988
- 11) 真田利男: 攪拌密度勾配法による精子洗浄濃縮—とくに配偶者間人工授精への応用, 慶応医学, 66: 353, 1989
- 12) 真井徳幸: ストロー法によるヒト精子凍結保存法の研究, 日不妊誌, 26: 132, 1981

**Cryopreservation of washed
and concentrated human
sperm by liquid-nitrogen
vapor freezing**

Toshifumi Kobayashi¹, Satoru Kaneko²,
Park, Y. J.¹, Izumi Hara¹,
Toranoshin Ohono² and Rihachi Iizuka¹

¹ Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Keio University,
Tokyo 160, Japan

² Department of Obstetrics and Gynecology,
Ichikawa General Hospital,
Tokyo Dental College,
Chiba 272, Japan

Cryopreservation of human semen plays an important role in the field of clinical artificial insemination. Semen dilution with cryo-medium and decrease in sperm motility during freeze-thaw processes make lowering semen qualities. To improve the qualities of cryopreserved semen, it is effective to concentrate the sperm from whole ejaculate as well as to achieve higher survival rate after thawing.

The selective concentration of progressively motile sperm prior to freezing by the continuous-step density gradient centrifugation increased sperm density and sperm motility, giving 6 times improvement of fertility index (sperm density $\times 10^6$ /ml \times motility% $\times 10^{-8}$).

A simple liquid nitrogen vapor freezing was developed in the present study; the concentrated sperm was mixed with KS-II cryo-medium and placed in liquid nitrogen vapor at -150°C . The specimen was stored in a liquid nitrogen container. After thawing at 30°C , sperm survival rate was found to be about 70%. The post thaw fertility index was as twice as that of the original semen by the sperm concentration and higher survival rate.

(受付: 1990 年 1 月 16 日)

SOD 添加低酸素下培養 胚の子宮内移植成績

The Effects of SOD and Low Oxygen Culture on Mouse Embryos

京都大学医学部婦人科学産科学教室

馬 岡 陽 野 田 洋 一 森 崇 英
Yoh UMAOKA Yoichi NODA Takahide MORI

Department of Gynecology and Obstetrics,
Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto 606 Japan
(Director: Prof. Takahide Mori)

我々は SOD 添加低酸素下培養がマウス胚発生に対して促進的に作用することを既に明らかにしており、高い胚盤胞率を得るための有用性を確認している。ヒト体外受精に SOD 添加および低酸素下培養を応用する観点から、SOD 添加および低酸素下培養が、移植後の胚発生率、産仔の健全性、および継代繁殖による子孫に与える影響等を検討した。SOD 添加低酸素下培養で得られた胚盤胞を用いて移植実験を行ない、またその産仔の継代繁殖を行なった結果得られた移植胚および産仔合計 355 匹について各種のパラメーターについて比較検討した。In vivo から移植直前に回収した胚の対照群と、in vivo より回収した前核期胚を SOD 添加低酸素下で培養して得た実験群の 2 群について、着床率[実験群 65.0% (65/100); 対照群 72.5% (81/112)], 生存胎仔率 [46.0% (46/100); 51.8% (58/112)], 成長曲線、外表奇形、および平均同腹産仔数に関して検討したが、両群の間には全く差がないことが明らかとなった。以上より SOD 添加低酸素下培養が本質的に胚に悪影響を及ぼさないことが判明し、ヒト体外受精胚移植 (IVF-ET) に応用可能と思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 689—694, 1990)

序 論

SOD 添加低酸素下培養でマウス 2-cell block が解除され¹⁻⁷⁾、更に 2 細胞期以後のマウス胚の *in vitro* 発生に関しても著明な胚発育促進効果が得られることが実証された⁸⁾。これらのことは哺乳類胚培養において、一般的にみられる胚発生停止の原因の一つが O_2 を中心とした活性酸素による細胞障害に起因している可能性を示すと同時に、ヒト体外受精胚移植 (IVF-ET) においても培養成績を向上させ、ひいては妊娠率を向上させる可能性を示唆するものである。

しかし、これまで我々が明らかにしてきたこれらの事実をヒト体外受精胚移植に実際に応用するには、その有効性は証明されているものの安全性という観

点から考えて、胚に与える影響や産仔に及ぼす影響の有無を明らかにする必要がある。

本研究では、マウス前核期胚を回収して SOD 添加低酸素下培養を行ない、得られた胚盤胞を受卵雌 (recipient) に移植し、妊娠中期に開腹して個体妊娠率、着床率、生存胎仔率について対照群 (*in vivo* より回収して直ちに子宮内移植した胚) と比較すると共に、一部の移植胚は受卵雌を分娩させ、継代繁殖し子孫に与える影響をも検討した。

方 法

実験 1 : SOD 添加低酸素下前核期胚培養

4 週齢雌マウス (TUCK: outbred) に PMSG, hCG 各々 5 単位を 48 時間間隔で腹腔内投与して過排卵処

理を行ない、hCG 投与後に同系雄と同居させ翌朝膈栓を確認し妊娠 1 日目とした。培養胚は、hCG 投与後 18 時間に頸椎脱臼法にて屠殺し、卵管子宮還流法にて前核期胚を回収、変性卵を除去し実験に供した。培養液は Milli-Q 装置で作製した超純水を用い、各実験 12 時間前に調整し、0.3 % bovine serum albumin (BSA) および活性酸素の消去系酵素 SOD^{10,12~14)}のうち Recombinant human Cu·Zn-superoxide dismutase¹¹⁾ (r-hSOD, 500 μ g/ml) を BWW⁹⁾液に添加して培養液とした。

培養は 4-Well Multidish (Nunc) を用い、各々約 10 個の胚を 500 μ l の培養液に移して行なった。低酸素下で採卵から培養までを一貫して行なう目的で、外気との交通を遮断した装置内部に実体顕微鏡、恒温板、培養チャンバーを設置した低酸素下採卵培養装置を考案、作製した^{5,6)}。酸素濃度計 (アトム社: OX30) を用い酸素濃度 (%) を連続測定しながら混

合ガスを注入し、装置内の気相を 5 %酸素、5 %二酸化炭素、90 %窒素に安定させた。マウスを屠殺後、装置内で開腹して形態正常な前核期胚を回収し、あらかじめ気相を安定させた培養チャンバー内の培地に移し、以後途中で観察することなく 78 時間連続培養し、hCG 後 96 時間で *in vivo* より回収した胚の示す発育効率と比較した。

実験 2 : 子宮内胚移植 (図 1) ^{17,18)}

SOD および低酸素濃度が胚盤胞以後の胚発育および子孫に与える影響を検討するために以下の実験を行なった。

実験 1 の SOD 添加低酸素下で前核期胚から培養し hCG 後 96 時間に胚盤胞まで達した *in vitro* 胚を SOD 添加低酸素下培養群として移植実験に供した。対照群として、hCG 後 96 時間に *in vivo* から回収した胚盤胞を移植に用いた。

受卵雌 (recipient) は 6 週齢の雌マウス 20 匹を用

PROTOCOL

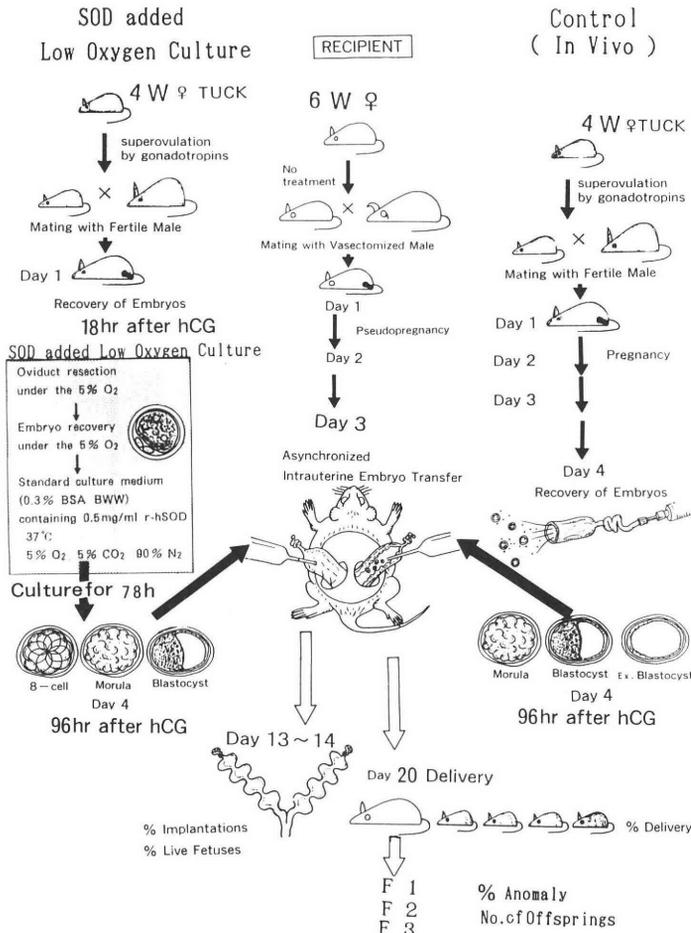


図 1 SOD 添加低酸素下培養および子宮内移植の手順



写真 1 SOD 添加低酸素下培養で得られた子宮内移植直前の胚盤胞

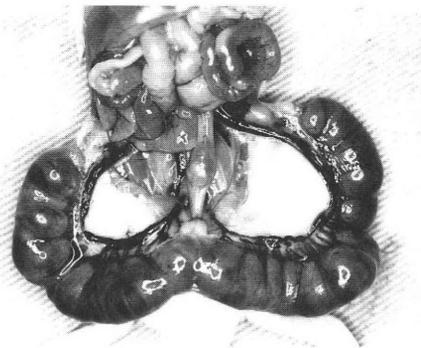


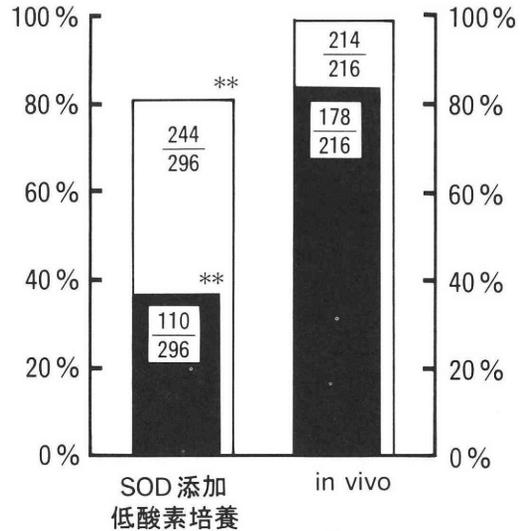
写真 2 偽妊娠13日目に開腹した recipient

い、発情前期に精管結紮雄との交配で偽妊娠誘起を行ない、翌朝陰栓形成を認めたものを偽妊娠 1 日目とし、偽妊娠 3 日目に移植を行なった。

胚移植は、Beatty¹⁵⁾, McLaren¹⁶⁾らの方法に準じて行なった。実体顕微鏡下でネブタールで麻酔をした recipient の背部切開創より子宮角を引出し、子宮卵管接合部近くの子宮壁にガラスピペットを挿入し、子宮内腔に少量の培養液とともに各子宮角当り 5 から 6 個の胚盤胞を注入した。

移植後 10 日後に開腹し、着床痕数と生存胎仔数により、着床率 (着床痕数/移植胚盤胞数)、生存胎仔率 (生存胎仔数/移植胚盤胞数) を算定とし、両群を比較検討した。更に 3 匹の recipient は、SOD 添加低

□ : 8 細胞期胚以上に发育した胚の割合
 ■ : 胚盤胞以上に发育した胚の割合



χ^2 test : ** p<0.01

図 2 SOD 添加低酸素下培養成績 (in vivo 胚との比較)

酸素下培養胚のみを両側子宮角に移植後分娩させ、産仔数、外表奇形の有無および生後 30 日目までの成長につき検討した。

実験 3 : 継第繁殖

実験 2 で分娩させた産仔は、その一部を同腹間で F5 まで継代繁殖し子孫にあたえる影響を、生殖能、外表奇形、行動について、同系の自然交配群 (対照群群) と比較検討した。

結 果

実験 1

hCG 後 96 時間における SOD 添加低酸素下で前核期胚から培養した *in vitro* の胚发育は、37.2% (110/296) が胚盤胞以上に達していた。同時刻に *in vivo* から回収した胚发育は、82.4% (178/216) が胚盤胞以上に发育しており发育効率に有意差が認められた。しかし偽妊娠 3 日目の recipient に移植可能な胚发育

表 1 SOD 添加低酸素下培養胚の子宮内移植成績

実験群	移植匹数	移植胚数	個体妊娠率 (%)	着床率 (%)	生存胎仔率 (%)
SOD 添加低酸素濃度	20	100 (5.0/子宮角)	100 (20/20) ^{N.S.}	65.0 (65/100) ^{N.S.}	46.0 (46/100) ^{N.S.}
コントロール (in vivo)	20	112 (5.6/子宮角)	100 (20/20)	72.5 (81/112)	51.8 (58/112)

recipient (偽妊娠 3 日目) 20 匹
 移植後 10 日目に開腹

χ^2 : test : N.S. not significant

である 8 細胞期胚以上に 82.4% (244/296) の胚が達しており、体外培養における SOD 添加低酸素の有用性が本研究においても再現された。

実験 2

偽妊娠 13 日目における SOD 添加低酸素下培養群の着床率は 65.0% (65/100)、生存胎仔率は 46.0% (46/100) であり、対照群の着床率 72.5% (81/112)、生存胎仔率 51.8% (58/112) との間に有意差を認めなかった。また分娩に至った recipient について検討すると、3 匹の recipient に 48 個の SOD 添加低酸素下培養胚を移植したが、22 匹の産仔が得られ、外表奇形も認めなかった。その結果胚移植の最終生存率 (出生産仔数/移植胚数) は 45.8% (22/48) であり、偽妊娠 13 日目の生存胎仔率 46.0% と比較しても有意差がないことより、妊娠後期の死産が少ないことが推測された。更に得られた産仔の生後 30 日目までの体重増加を、予備実験で得られた hCG 後 96 時間で回収した *in vivo* 胚移植後産仔の体重増加曲線と比較したが、その発育は正常であった (図 3)。

以上の実験結果より、SOD および低酸素濃度が胚盤胞以後の胚発育に対して阻害的に働くことがなく、この条件下で得られた胚が *in vivo* 胚に匹敵する発育能を有することが示された。

実験 3

実験 2 で得られた産仔のうち 5 組を同腹間で自然交配させ、その平均産仔数 (雌、雄)、外表奇形について、対照群群と比較検討したが、F1 の平均産仔数 14.6 (雌 6.7, 雄 7.8) であり対照群群の平均産仔数 13.3 (雌 6.7, 雄 6.6) と比べて有意差がなく、その生殖能は正常であった。更に外表奇形は認めなかつ

た。行動についても観察したが、異常を疑わせるものはなかった。同様に F2 から F5 までを検討したが、表 3 に示すようにその平均同腹産仔数に異常はなく、外表奇形も認めなかった。

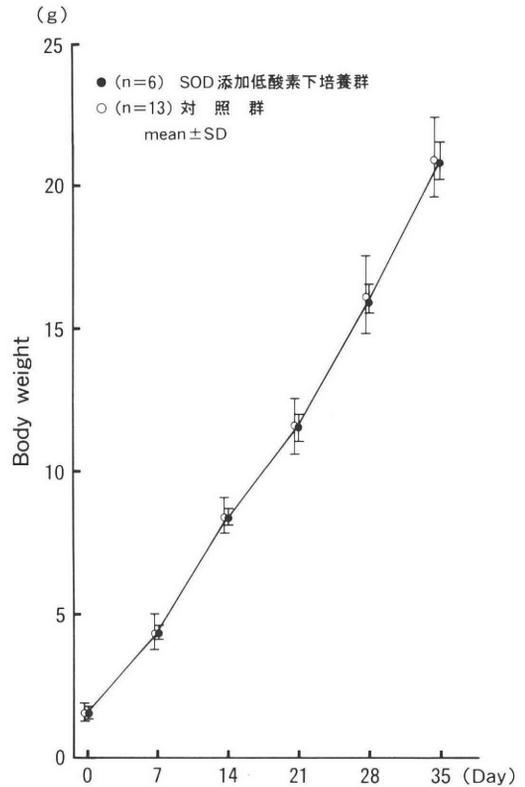


図 3 SOD 添加低酸素下培養胚の子宮内移植実験で得られた産仔の成長曲線

表 2 SOD 添加低酸素下培養胚の子宮内移植分娩成績

	移植匹数	移植胚数	産仔数 (%)	雄/雌	外表奇形産仔数 (%)
SOD 添加低酸素下培養 recipient (偽妊娠 3 日目) 3 匹	3	48	22 (45.8)	0.83	0 (0)

表 3 SOD 添加低酸素下培養系の及ぼす胚発生への影響 (継代繁殖実験)

系 統	継代繁殖	交 配 数 (♂ × ♀)	平均同腹産仔数 (mean ± SD)	性比 (雄/雌)	外表奇形仔数	外表奇形率 (%)
TUCK (outbred)	F ₁	5	14.60 ± 1.48	1.17	0	0
	F ₂	5	14.40 ± 1.67	0.90	0	0
	F ₃	5	13.60 ± 2.79	1.13	0	0
	F ₄	5	12.20 ± 1.92	0.91	0	0
	F ₅	5	11.80 ± 1.10	1.11	0	0
	コントロール	10	13.30 ± 2.63	0.99	0	0

以上の結果よりSOD添加低酸素下培養は胚に対して悪影響が観察されなかった。

考 察

SOD添加低酸素下培養で得られた胚盤胞を用いた移植実験の成績や産仔を用いた継代繁殖実験の結果から、本培養法は胚に対して評価しうるような悪影響を示さないことが判明した。この結果は当然のことであろう。なぜなら本研究で設定したSOD添加低酸素下培養は、結局 *in vivo* すなわち卵管内腔の環境を可及的に再現しているからである。

現在行なわれている胚培養法について *in vitro* と *in vivo* における胚を取り巻く微小環境について決定的に異なっているものは、*in vitro* では卵管上皮が存在しないことと、酸素濃度が高いことである。これらのうち酸素濃度に関しては、各種哺乳動物の卵管内酸素分圧は40-60 mmHgと報告^{19,20,21)}されており、およそ5%酸素濃度に相当する。またウサギ卵管液中にO₂の scavenger であるSOD活性が存在すること(2617±1171 mIU/mg)を野田ら⁴⁾が既に明らかにしている。我々の *in vitro* 胚培養実験でも5%酸素濃度下の培養条件で良好な培養成績が得られている⁵⁻⁷⁾。今回の移植実験で着床率、生存胎仔率に差が無かったことは明瞭な事実であり、移植胚および継代繁殖による産仔合計355匹に関しても、外表奇形、異常行動、生殖異常を示した個体を認めなかった。しかし移植胚により出生した産仔数は22匹と少数であるため、今後さらに検討を要すると思われる。継代繁殖実験ではF5まで追跡調査をしたが、出生産仔の健全性について異常はなく、対照群に比して繁殖力の極端な低下もなかった。その他、行動異常、発育、外表奇形などの項目をとってみても、対照群と比較して明瞭な差がなかった。

以上のことからSOD添加低酸素下培養は、本質的に胚に悪影響を及ぼしていないと考えられ、これまで報告してきたSOD添加低酸素下培養の有効性のみならず、本研究結果から考えて安全性についても問題がないと思われた。

以上より今後ヒト体外受精胚移植にSOD添加低酸素下培養が臨床応用可能と思われる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、r-hSODを提供して頂いた日本化薬株式会社に深謝致します。本研究は文部省重点領域(生殖系列)および科研費一般研究B(01480391)により補助を受けた。

文 献

- 1) 野田洋一, 松本 央, 森 崇英: Superoxide Dismutaseによるマウス2-cell blockの解除, 日産婦会誌, 41: 334, 1989
- 2) 野田洋一, 松本 央, 森 崇英: Superoxide Dismutaseによるマウス2-cell blockの解除, 日産婦会誌, 41: 751, 1989
- 3) 松本 央, 野田洋一, 馬岡 陽, 辰巳賢一, 岸 淳二, 森 崇英: Superoxide Dismutaseによるマウス2-cell blockの解除について, 哺乳動物卵子研究会誌, 6: 65, 1989
- 4) 松本 央, 野田洋一, 馬岡 陽, 森 崇英: Superoxide Dismutaseによるマウス2-cell blockの解除について, 日不妊会誌, 35: 293, 1990
- 5) 馬岡 陽, 野田洋一, 松本 央, 岸 淳二, 辰巳賢一, 森 崇英: 低酸素濃度培養系におけるマウス2-cellブロック解除について, 哺乳動物卵子研究会誌, 6: 67, 1989
- 6) 馬岡 陽, 野田洋一, 松本 央, 成本勝彦, 都倉隆, 辰巳賢一, 森 崇英: 低酸素濃度培養系におけるマウス2-cell blockの解除, 日本受精着床学会誌, 7: 154, 1989
- 7) 馬岡 陽, 野田洋一, 松本 央, 森 崇英: マウス前核期胚培養における酸素毒性の影響, 日不妊会誌, 35: 285, 1990
- 8) 馬岡 陽, 野田洋一, 森 崇英: マウス2細胞期以後の胚発育に及ぼすSOD添加低酸素下培養の効果, 日不妊会誌, 35: 469, 1990
- 9) Bigger, J. D., Whittin, W. K. and Whittingham, D. G.: The culture of mouse embryos in vitro: In Methods in mammalian embryology, J. C. Daniel, Jr. ed. Freeman Co., 86, 1971
- 10) Fridovich, I.: Superoxide radical and superoxide dismutase, Accts, Chem. Res., 5: 321, 1972
- 11) Kajihara, J., Enomoto, M., Seya, K., Sukehara, Y. and Katoh, I.: Physicochemical properties of charge isomers of recombinant human superoxide dismutase, J. Biochem., 104: 638, 1988
- 12) McCord, J. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase, J. Biol. Chem., 224: 6049, 1969
- 13) 浅田浩二: スーパーオキシドとスーパーオキシドジスムターゼ, 代謝, 17: 1705, 1980
- 14) 浅田浩二: 酸素毒性, 生化学, 48: 226, 1976
- 15) Beatty, R. A.: Transplantation of mouse eggs, Nature, 168: 995, 1951
- 16) McLaren, A. and Michie, D.: Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine foster-mothers, I. Factors affecting the implantation and survival of native and transferred eggs, J. Exp. Biol., 33: 394, 1956
- 17) 馬岡 陽, 福田愛作, 矢野樹理, 野田洋一, 森 崇英: マウス胚子宮内移植, Medical Way, 5: 3, 1988
- 18) 馬岡 陽, 野田洋一, 岸 淳二, 江見信之, 松本

央, 辰巳賢一, 福田愛作, 矢野樹理, 森 崇英:
マウス子宮内胚移植成績に及ぼす諸条件の検討,
産婦の進歩, 41:143, 1989

- 19) Bishop, D. W.: Oxygen concentration in the rabbit genital tract, In Proceedings of the Third International Congress of Animal Reproduction, Section I. Cambridge, 53, 1956
- 20) Mastroianni, L. Jr. and Jones, R.: Oxygen tension within the rabbit fallopian tube, J. Repro. Fertil., 9: 99, 1965
- 21) Mass, D. H. A., Storey, B. T. and Mastroianni, L. Jr.: Oxygen tension in the oviduct of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*), Fertil. Steril., 27: 1312, 1976

The effects of SOD and low oxygen culture on mouse embryos

Yoh Umaoka, Yoichi Noda
and Takahide Mori

Department of Gynecology and Obstetrics,
Faculty of Medicine, Kyoto University,
Kyoto 606, Japan
(Director: Prof. Takahide Mori)

We recently demonstrated that oxygen radicals are involved in impaired development of mouse embryos, and the superoxide dismutase (SOD) attenuated these effects especially when the cells are cultured under low oxygen tension. In this study, we examined the effects of SOD and low

oxygen culture examined by embryo transfer experiments and breeding study.

Pronuclear stage mouse (TUCK; outbred) embryos were collected and blastocysts cultured low oxygen tension in the presence of SOD or embryos from the uterus were transferred to the foster mother. Pregnancy rates in the foster mother, implantation rates and alive fetus rates were compared between cultured (experiment group) and recovered (control group) embryos. Twenty two young from the cultured embryos were examined for external malformation, growth rate and breeding.

Pregnancy rates were 100% in both groups. Implantation rates (65.0%, 65/100 in experimental group; 72.5%, 81/112 in control group), alive fetus rates (46.0%, 46/100 in exp.; 51.8%, 56/112 in control) were similar between the two groups. The mean body weight of the litter and weight gain curve were also similar. Breeding was repeated for five generations using five pairs of litter in each generation. No external malformation was observed in 332 litter, and there was no difference in mean litter size or sex ratio between them. No abnormal behavioral pattern was observed during rearing.

These observations suggest that low oxygen culture with SOD is applicable to human in vitro fertilization and embryo transfer programs in terms of safety of the culture conditions for embryos.

(受付: 1990年1月16日)

ハムスター・テスト

——ヒト精子受精能検査としての凍結保存ハムスター卵の 臨床応用性に関する基礎的検討——

Cryopreservation of Hamster Oocytes; Effects of Freezing and Vitrification on Hamster Test Results

北里大学医学部産婦人科学 (主任: 西島正博教授)

川内 博人

Hirohito KAWAUCHI

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Kitasato University, Kanagawa 228, Japan

ヒト精子の受精能力判定法であるハムスターテストについて、凍結卵を応用した再現性のある客観的臨床検査法としての基礎的検討を行なった。

凍結・融解法として、急速凍結・急速融解法、緩慢凍結・緩慢融解法、ガラス化法の3法を、精子受精能誘起法として、swim up法、Ca ionophore A₂₃₁₈₇処理法の2法を比較検討し、次の結果を得た。(1)凍結・融解卵への精子進入率は、Ca ionophore A₂₃₁₈₇処理精子を用いた場合、急速法、ガラス化法において、非凍結卵に匹敵する結果が得られ、手技の簡便さの点で急速法が最も優れていた。(2)急速法において、耐凍剤の種類と、緩慢冷却を打ち切る break point 温度について種々の条件下に実施して得られた結果から、1.5M DMSO を用い、-30°C を break point 温度とすることが最良であった。

以上から、Ca ionophore A₂₃₁₈₇により受精能を誘起した精子と、1.5M DMSO を用い、-30°C を緩慢冷却の break point 温度とする急速凍結・急速融解法による保存卵を利用したハムスターテストが、臨床応用に最適であると結論した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 695—703, 1990)

緒 言

透明帯除去ハムスター卵にヒト精子が進入可能であることが、1976年 Yanagimachi et al¹⁾によって初めて報告され、その後評価の困難なヒト精子の受精能力の最適な検査法(ハムスターテスト)として広く利用されるに至った^{2)~5)}。しかし、その成績(ヒト精子のハムスター卵中への進入率)は、報告者間で差が大きいため、正常基準値の範囲が未設定であるのが実情である。さらに、ハムスターテストの実施面では、卵採取のための過排卵処置の実施計画を、精液検体の入手の日時にあわせて行なう必要があるという矛盾する前後関係があるため、実地応用

性が極めて乏しい。従って、凍結保存卵を随時応用できるハムスターテストの臨床応用化が長らく期待されていた。

従って、哺乳動物胚の凍結保存は、1972年 Whittingham et al⁶⁾の Maus 胚での成功に始まり、その後ラット⁷⁾、家兎⁸⁾、牛⁹⁾、羊¹⁰⁾、ヤギ¹¹⁾等で報告された。近年、特に畜産領域においては、胚の凍結保存はすでに実用化の段階に入り、特に牛受精卵は企業化され、品種の改良や生産性の向上の手段として利用されている。さらにヒトにおいても体外受精卵の凍結保存後の胚移植、妊娠・分娩成功例が次々と報告されている^{12),13)}。

一方、未受精卵については、1958年に Maus 卵の一

10°Cでの保存が報告されたが¹⁴⁾、超低温(-196°C)での保存は、1976年 Tsunoda et al¹⁵⁾のマウスおよびハムスター卵の凍結に関する報告がはじめてである。

これまでの凍結保存卵を用いたハムスターテストの報告では^{16),17)}、いずれも精子進入率は正常精液においても50%前後と低率で、受精能の定量的評価を行なううえで実地応用性を欠いている。このような背景の下に、本研究では凍結・融解卵を用いた①高感度、②安定性、③随時応用可能性のあるハムスターテストの開発を目的として、凍結・融解卵を利用する際の諸条件(種々の精子受精能誘起法、ならびに卵の凍結・融解法その他)について検討した。

材料および方法

1) ハムスター卵の採取法

4~8週齢の雌ゴールデンハムスター(体重60~80g)にPregnant mare serum (PMS, 三共株式会社)50単位と、Human chorionic gonadotropin (hCG, 帝国臓器株式会社)30単位を48~54時間間隔で腹腔内に投与し、hCG投与12~14時間後に、ジエチルエーテル麻酔下に頸椎脱臼により屠殺し、卵管卵を採取した。採取卵をただちに0.1%ヒアルロンダーゼ加modified BWW中に移し、15分間静置して卵丘細胞を除去した後、mBWWで2回洗浄した。非凍結卵は続いて0.1%トリプシン加mBWW中で透明帯を除去し、後述の媒精操作を行なった。凍結保存実験には透明帯除去前の卵を用いた。

2) 凍結・融解法

凍結用の基礎媒液を表1に示す。20mM HEPESおよび3g/L Bovine serum albumin (Fraction V, Sigma)を加えた修正Dulbecco phosphate buffered

表1 凍結用基礎媒液
(modified Dulbecco phosphate buffered saline*)

Component	gm/L
NaCl	8.00
KCl	0.20
KH ₂ PO ₄	0.14
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.10
HEPES	4.77
CaCl ₂	0.12
Glucose	1.00
Bovine serum albumin	3.00
Na pyruvate	0.036
Na penicillin	100u/ml

* Final pH adjusted to 8.00 with 2N NaOH

saline (m-PBS)を用いた。凍結・融解法は原理上3種類の方法が可能であるので、それら3法について以下に検討を加えた(図1)。

①急速凍結・急速融解法(以下急速群)

(a)凍結法:室温(約20°C)で卵丘細胞を除去した15~20個の卵を含む50μlのm-PBSに、50μlの1M Dimethylsulfoxide (DMSO, 半井化学)を加え、10分間平衡させ、その後さらに100μlの1.5M DMSO、ついで200μlの2M DMSOを加え、DMSOの最終濃度を1.5Mとした。卵を含む100μlの溶液をプラスチックストロー(0.5ml, 富士平工業)に封入した。凍結方法は、ドライアイス・アルコール法¹⁸⁾により、室温から-7°Cまでを4°C/分で冷却し、予めドライアイス中で冷却した金属針をプラスチックストローの外壁に接触させ、強制植水し、この温度を10分間維持し、続いて-40°Cまで0.3°C/分で下降させた後、液体窒素(-196°C)に投入した。

(b)融解法:液体窒素から取り出した試料を含むストローを37°Cの温湯中で振とうしながら融解した(約360°C/分)。DMSOの除去は、sucroseを用いたLeiboのone step法¹⁹⁾に依った。すなわち、まず卵を1.5M DMSOと0.5M sucroseを含む約0.02mlのm-PBSに移し、5分間平衡、次いで0.5M sucroseのみを含む約0.02mlのm-PBSに移し、再び5分間静置、さらに約0.02mlのm-PBS、次いで約0.02mlのmBWW中で洗浄した。その後実体顕微鏡下に融解卵の形態学的観察を行ない、0.1%トリプシン加mBWW中で透明帯を除去し媒精に供した。

②緩慢凍結・緩慢融解法(以下緩慢法)

(a)凍結法:DMSOの添加方法は①と同様とした。

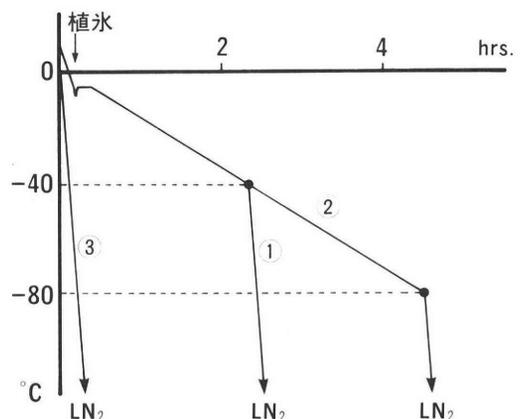


図1. 卵の凍結プログラム

①急速凍結法 ②緩慢凍結法 ③ガラス化法
LN₂, 液体窒素

凍結は、植氷までは①と同様で、0.3°C/分の緩慢凍結を-80°Cまで続けた後、液体窒素に投入した。

(b)融解法：融解は、液体窒素から取り出したストローを空气中で約3分間振とうすることにより緩慢に行なった(約60°C/分)。DMSOの除去は①と同様とした。

③ガラス化 (vitrification) 法 (以下ガラス化群)

Rall and Fahy²⁰⁾によるガラス化法を行なった。そのガラス化溶液 (vitrification solution, VS) の組成を表2に示す。

(a)凍結法：室温で卵を約1 mlの25% VS中に移し、15分間静置する。4°Cで、順にその濃度を50%、75%、100% VSと上げた液中に卵を移し、各段階で10分間の平衡時間をおいた。卵を含む100μlの100% VSをプラスチックストローに封入し、4°Cから直接液体窒素に投入した。

(b)融解法：液体窒素から取り出したストローを0°Cの氷水浴中で融解した後、4°Cで、その濃度を100% VSから、75%、50%、25%と下げた約1 mlのVS中に卵を移し(各段階で10分間静置)、さらに室温で12.5%、6.25%と下げたVSに移し(各段階で10分間静置)、最後に約0.02mlのm-PBSに移した後、約0.02mlのmBWW中で洗浄し、形態学的観察を行なった。透明帯の除去は①と同様に行なった。

3) 形態学的正常性の判定法

融解後、耐凍剤を除去した卵について実体顕微鏡下に形態学的正常性の判定を行なった。判定には、Quinn et al¹⁷⁾の提唱した基準を用いた。すなわち、①正常な透明帯を有する、②細胞質が均一で、細胞質内に顆粒様変性を認めない、③明瞭で円形の卵細胞質膜を有する、の3項目を正常の基準として判定

表2 vitrification solution: VS in m-PBS*

Component	/L
DMSO	187.2ml
Acetamide	155.0gr
Propylene glycol	100.0ml
Polyethylene glycol	60.0gr

* Final pH adjusted to 8.00 with 2N NaOH

した。この際、さらに卵の変性変化についても検討した。

4) 凍結保存期間

各凍結法とも、液体窒素中での保存期間は1日から7日とした。

5) 精液処理法

妊孕性を有する健常男子から得られた精液を室温で充分液化させた後、一般精液性状(精子数、運動率、奇形率、pH、精液量)を検査し、10mlのmBWWで2回洗浄(300g, 5分)後、①swim up法、②Ca ionophore A₂₃₁₈₇処理法の2つの方法により受精能を誘起した。

①swim up法 (以下S群)

mBWWによる2回の洗浄後の沈渣に0.1mlのmBWWを加え再懸濁し、2mlのmBWWを重層、37°C、5% CO₂ in airの培養器内で、チューブを30°Cに傾け、30分間静置した。上層のmBWW中に遊走上昇した精子を回収し、さらに受精能誘起のため培養器内で追加培養を施した。

②Ca ionophore A₂₃₁₈₇処理法 (以下C群)

前述の2回目の洗浄沈渣に1.0mlのmBWWを加え再懸濁し、培養器に1時間静置した。10μMのCa ionophore A₂₃₁₈₇ (Hoechst)を加え、混和し、再び培養器内で1時間静置後、300g、5分間遠心し、沈渣に1.0mlのmBWWを加えさらに30分間培養した。

6) 媒精

プラスチックシャーレ (Falcon 3037) に、最終濃度を5~10×10⁶/mlに調整した精子浮遊液0.2mlをとり、パラフィンオイルで覆い、30~40個の卵を加え媒精した。3時間培養後、卵は10%ホルマリンで24時間固定し、0.25%酢酸ラクモイド染色を行ない、位相差顕微鏡下(×400)に膨化精子頭部の有無をendpointとして観察した。

結 果

I. ①急速群②緩慢群③ガラス化群の3群の凍結・融解法の卵回収率について

各凍結・融解法における卵の回収率を表3に示す。回収率は、凍結に供した卵数に対する、融解後の回

表3 凍結・融解後の卵回収率

凍結・融解法	凍結卵数	融解後回収卵数(%)
急速凍結・急速融解法	215	197 (91.6)
緩慢凍結・緩慢融解法	251	237 (94.4)
ガラス化法	220	184 (83.6)

(*1~3, N.S.)

表4 凍結・融解後の卵の変性部位

凍結・融解法	変性卵数	透明帯に異常を認めた卵 (%)	細胞質に異常を認めた卵 (%)	卵膜に異常を認めた卵 (%)
急速凍結・急速融解法	26	15(57.7)	5(19.2)	6(23.1)
緩慢凍結・緩慢融解法	59	1(1.7)	49(83.1)	9(15.2)
ガラス化法	12	1(8.3)	8(66.7)	3(25.0)

表5 凍結・融解後の形態学的正常率

凍結・融解法	回収卵数	形態学的正常卵数 (%)
急速凍結・急速融解法	179	171 (86.8)
緩慢凍結・緩慢融解法	237	162 (68.4)
ガラス化法	184	172 (93.5)

(*1, 3, N.S., *2, P < 0.05)

収卵数の割合で示した。これによると、急速群と緩慢群では、それぞれ91.6%、94.4%と良好な回収率が得られたが、ガラス化群では、統計学的に有意な差はないものの、前2群に比較して83.6%と低率で、卵の散逸が多い傾向がみられた。

II. 回収卵の形態学的観察

1) 変性内容

各群の変性卵の障害部位を表4に示した。急速群では透明帯の破碎や欠損、卵細胞膜の異常などの卵の外郭の構造に変性のみられたものが多かったのに対し、急速群およびガラス化群では、細胞質の収縮や粗大顆粒などの変化が多くみられた。

2) 形態学的正常性

凍結・融解後、回収された卵のうち形態学的に正常と判定した卵の割合を表5に示した。正常率は、回収卵に対する正常卵の割合で示した。3群の中では、ガラス化群が93.5%と最も良好で、次いで急速群の86.8%、緩慢群の68.4%の順であった。前2群の間に有意差はなく、ガラス化群と緩慢群の間にはそれぞれ有意差を認めた(P < 0.05)。このことから、ハムスター卵に対する緩慢凍結・緩慢融解法は不適であることが明らかとなった。

III. 非凍結卵への精子進入率について

非凍結卵に対するS群およびC群処理精子の進入率を図2に示した。S群では、受精能獲得のための追加培養時間を、1.5、3.5、5.5、7.5時間として、至適培養時間を求めた。

追加培養時間の推移による進入率の変化をみると、1.5時間では進入率は21.3%と最も低く、3.5時間では55.5%となり、その後は5.5時間で59.2%、7.5時間で52.1%と増加傾向は明らかでなく、5.5時間以上の時間区では有意差を認めなかった。従って、以後の実験ではS群の追加培養時間は3.5時間を採

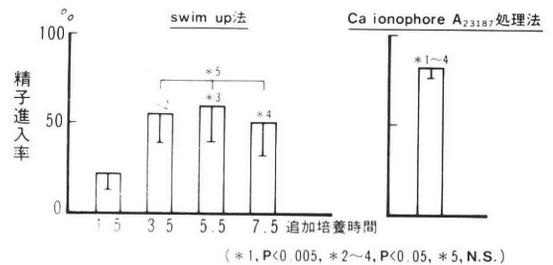


図2. 各受精能誘起操作別非凍結卵に対する精子進入率の比較

用した。

C群では、82.0%と高い進入率が得られ、S群の各時間区との間に有意差を認めた(P < 0.005, P < 0.05)。従って、非凍結卵に対しては、S群よりC群の方が優れていることが判った。

IV. 凍結・融解卵への精子進入率

急速群、緩慢群、ガラス化群の各凍結・融解卵に対するS群(追加培養3.5時間)、C群の受精能誘起精子の進入率を表6に示した。S群の精子の進入率は26.7~51.9%と低率であったが、特に緩慢群では他の2群と比し有意に低く(P < 0.01)、一方、C群ではいずれの凍結・融解群でもS群と比べ有意に高率で、かつ安定した進入率を示し、良好な成績が得られた。殊に急速群、ガラス化群では各々78.9%、87.1%と、非凍結卵(81.8%)に匹敵する良好な成績を示したが、緩慢群では53.7%と低率だった。従って、凍結・融解法については急速群、ガラス化群が、緩慢群より優れていることが判った。

[小括1]

上記I~IVの結果をまとめると、次のことが明らかとなった。

① 3群の凍結・融解法の中では、卵回収率は急速

表6 非凍結卵および凍結・融解卵への精子進入率

凍結・融解法	精子進入率 (mean% ± SD)	
	Swim up 法	Ca ionophore A 23187 処理法
非凍結卵	78/140 (55.7 ± 7.1)	104/127 (81.9 ± 4.7)
急速凍結・急速融解法	21/65 (32.0 ± 3.9)	71/90 (78.9 ± 5.9)
緩慢凍結・緩慢融解法	16/59 (26.7 ± 6.5)	44/82 (53.7 ± 7.1)
ガラス化法	37/71 (51.9 ± 4.9)	74/85 (87.1 ± 4.3)

(*1, 3, 4, 6, P < 0.05, *2, P < 0.005, *5, 7, N.S.)
 (各法とも Triplicates による平均を示した)

表7 実験計画

急速凍結・急速融解における凍結速度および耐凍剤の精子進入率に対する影響

- break point 温度の変化と精子進入率
 (break point を -10, -20, -30, -40, -50, -60°C に設定)
- 耐凍剤の種類と精子進入率
 - 1.5M DMSO
 - 1.5M DMSO + 0.25M Sucrose
 - 10% Glycerol + 0.25M Sucrose
 ①~③について、1) の如く break point 温度を変化させ、精子進入率を検討

群 (91.6%), 緩慢群 (94.4%) が優れ、形態学的正常率は急速群 (86.8%), ガラス化群 (93.5%) が優れていた。

②非凍結卵に対する精子進入率でみたS群の至適培養時間は3.5時間であった。しかし、非凍結卵、凍結卵のいずれにおいてもC群処理精子の進入率が優れていた。

以上の結果より、ハムスター卵の凍結保存法としては急速法が最も望ましく、精子処理はC群が優れていることが判明した。そこで次に、急速凍結・急速融解法において凍結の条件を種々に変化させることによって、最適の保存法について検討した。

V. 凍結速度の変化および耐凍剤の種類と精子進入率について

1) 凍結速度の変化

急速凍結法において、植水後毎分0.3°Cの緩慢冷却を急速冷却に切りかえる温度(break point 温度、以下BPT)を、-10, -20, -30, -40, -50, -60°Cの如く変化させて凍結保存した後、C群の精子と媒精し、精子進入率を検討した。

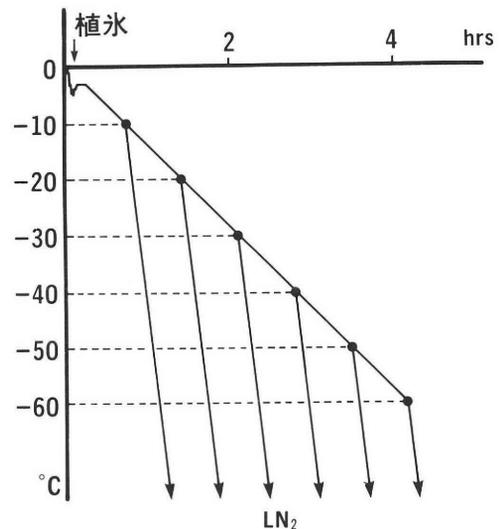


図3. break point 温度を変化させた凍結プログラム LN₂, 液体窒素

2) 耐凍剤の種類

上記1)の各BPTによる凍結プログラムについて、耐凍剤として、①1.5M DMSO, ②1.5M DMSO + 0.25M sucrose, ③10% Glycerol + 0.25M sucroseの3種を用いた場合の精子進入率を検討した。

1) 凍結速度の変化, 2) 耐凍剤の種類の実験計画の詳細を表7, 図3にそれぞれ一括して示した。

この実験計画で得られた結果を、それぞれ表8, 図4に示した。その結果から、1.5M DMSO 単独の①群では、BPT を -30°C とした時の進入率が最も良好だったのに対し、1.5M DMSO + 0.25M sucrose の②群および 10% Glycerol + 0.25M sucrose の③群では、-20°C を BPT とした時に最良であることが判った。

表8 break point 温度および耐凍剤の変化と精子進入率

耐凍剤の種類	break point 温度(°C)					
	-10	-20	-30	-40	-50	-60
① 1.5M DMSO	20/30(66.7)	23/31(74.2)	26/30(86.7)	26/33(78.8)	23/30(76.7)	20/29(69.0)
② 1.5M DMSO +0.25M Sucrose	20/29(69.0)	24/28(85.7)	21/34(67.7)	20/31(64.5)	16/30(53.3)	14/32(43.8)
③ 10% Glycerol +0.25M Sucrose	18/31(58.1)	20/30(66.7)	17/28(60.7)	19/30(63.3)	15/32(46.9)	13/31(41.9)

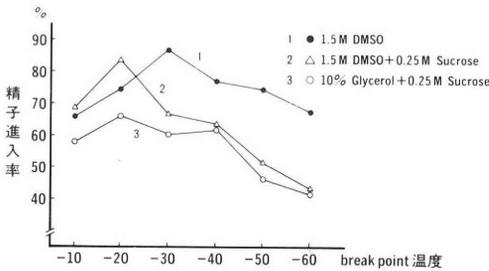


図4. break point 温度および各耐凍剤と精子進入率

た、また3群とも、BPTが -40 、 -50 、 -60°C と低くなるにつれて進入率も低下する傾向がみられた。

[小括2]

急速凍結における最適の凍結条件は、耐凍剤1.5M DMSO, break point 温度 -30°C であることが判った。

考 察

受精能獲得、先体反応を完了したヒト精子が、透明対除去ハムスター卵に進入することが、Yanagimachi et al¹¹⁾により報告され、ヒト精子の受精能力を、入手困難なヒト卵の代用として *in vitro* の条件下で詳細に検討しうることが始めて示唆された。その後、数多くの臨床応用報告がなされ^{2)~5)}、その臨床有用性が高いことが確認されたが、各報告書によって実施条件が異なり、妊孕性判定基準についての統一的な見解を欠いているのが現状である。その理由として、まず第一には、精子進入率に影響を与える要因として、卵については、卵の卵胞内、卵管内、培養液内での老化、精子については、受精能獲得溶液の組成、pH、受精能獲得時および媒精時の精子濃度、培養時間、受精能獲得時間の個人差などが報告されている²¹⁾。これらのうち精子については、本質的に受精能獲得の機序に関わる問題であり、*in vitro* においては種々の過程で獲得される受精能の差が、進入率の良否を生むと考えられる。しかし、元来女性々管内(*in vivo*)においては、精子が獲得する受精能には個人差はないと考えられており²²⁾、従って、ハムスターテストに

よってヒト精子の妊孕性を正確に評価するためには、*in vitro* で獲得される受精能が一定になるような諸条件の設定が、まず不可欠な必要条件である。Ca イオンは受精能獲得に不可欠であるが、Ca ionophore A₂₃₁₈₇は、Ca イオンと特異的に結合し、容易に細胞膜を通過し、牛²³⁾、羊、家兔、モルモット²⁴⁾、ヒト精子²⁵⁾に先体反応を誘発し、受精能を獲得させる。Jamil et al²⁶⁾は電子顕微鏡による観察で、Ca ionophore A₂₃₁₈₇は精子頭部の赤道筋から前方の原形質膜と先体外膜に空胞化をおこさせると報告している。この変化は *in vivo* で先体反応をおこした精子の変化に極めて近似している。Ca ionophore A₂₃₁₈₇処理による精子の受精能獲得率は、対照群の約3倍と高率であるといわれ²⁷⁾、ハムスター卵への進入率も良好なことが報告されている²⁸⁾。

一方、ハムスターテストにおいては、精液検体の入手、その後の受精能獲得操作過程の完了時刻と、非凍結ハムスター卵の採取の時刻が予め調整されていることが不可欠であり、この全く別個の過程を時間的に調整するという難題が、ハムスターテストの実地臨床応用の大きな障壁となっていた。従って、要時使用可能な卵を用いるハムスターテストの幅広い活用が大きく期待されていた。

さらに第2の問題点として、精子進入率に影響を与える可能性のある卵の質についても、同一条件下に多数の卵を採取し、保存が可能であれば、結果のバラツキの一原因となる検査要因を安定化するための一助となりうる。卵の質を損うことなく長期間保存する方法は、現在のところ凍結保存以外に無く、特に液体窒素中での超低温下では、半永久的な保存が可能である¹⁸⁾。

以上の理由から行なった本研究では、Ca ionophore A₂₃₁₈₇を用いて誘起した一定の受精能をもつ精子と、凍結保存後の一定の質を保持する卵の組合せ手法により、随時臨床応用の可能な、ヒト精子受精能力検査法の開発に満足すべき結果を得た。

凍結・融解後の卵の回収率は、表3に示したように、共通の凍結用媒液を用い、プラスチックストロ

への封入までの操作が同一である急速群と緩慢群では、回収率に差はなかった。高張の媒液を用いるガラス化群では、有意ではないが卵の散逸が多い傾向がみられた。これは、前2群で用いた媒液中では卵が沈んでいるのに対し、ガラス化群で用いた13Mという高張な溶液中では、卵は溶液表面に浮上し、かつ管壁に偏在するため、その回収に技術的な困難性があるためと考えられた。

融解・蘇生後の形態学的正常卵は、急速群、ガラス化群で各々86.8%、93.5%と高率を示した。これに対し緩慢群では68.4%と低率で、ハムスター卵の凍結・融解法としては、急速法、超急速法が適しているといえる。細胞の冷却速度と細胞内外の氷晶形成の関係については、緩慢冷却では脱水が十分に行なわれるが、細胞膜や細胞質は高塩分濃度にさらされ、しかも脱水による細胞の収縮のため、浸透圧衝撃も受ける。一方、急速凍結では十分な細胞内自由水の脱水が行なわれないため、細胞内氷晶形成を生じ、細胞を物理的に破壊するといわれている²⁹⁾。未受精卵は1個の大きな細胞であるため、細胞内自由水の十分な脱水は短時間では困難であるとされているが²⁹⁾、本実験の結果からは、ハムスター卵は極めて脱水性が良好で、急速凍結によっても十分な脱水が可能で、逆に、緩慢凍結では細胞が高浸透圧、高塩濃度にさらされるため、細胞が障害をうけるものと考えられた。このことは、凍結・融解後の変性卵の障害部位の検討で、緩慢群で特に細胞質の異常が高率であったことと一致する。

精子処理法についてみると、S群では、追加培養時間を3.5時間以上としても、非凍結卵への進入率の改善に効果はなく、C群と比較すると、いずれの時間区においても有意に進入率は低かった。また、S群では検体間の差が大きく、受精能獲得に個人差のあることが推察され、これは斉藤ら³⁰⁾の報告と一致する。従って、swim up 処理精子を用いる限りは、精子の受精能力の定量的な検体間の比較は不可能である。これに対し、C群での進入率は、 $82.0 \pm 5.5\%$ と極めて高率、かつ検体間の差も少なく、受精能力検査法としての必要条件を満足させるものといえる。

凍結・融解卵のうち、緩慢群ではS群、C群とも低率で、ハムスター卵には緩慢冷却法は適さないことが明らかとなった。急速群、ガラス化群ではS群の精子はいずれも50%程度の進入率であったが、C群では78.9%、87.1%と良好で、非凍結卵に匹敵する結果が得られ、凍結・融解の影響をほぼ無視することが可能となった。急速群、ガラス化群の両者の得失について検討すると、精子進入率は後者がわず

かに良好であるが、有意差はなく、操作手順の点から考えると、前者は比較的簡便であるのに対し、後者は凍結操作こそ単純なものの、凍結前の高張媒液間の卵の移しかえが極めて繁雑で、従って卵の回収率も低値となる傾向がある。凍結卵を用いたハムスターテストを臨床実地応用する際に最も問題となる簡便性、省力化という観点からすると、急速群を選択すべきことが明らかである。

次に、急速凍結法における至適凍結条件の検討から、1.5M DMSOを耐凍剤として用い、 -30°C をbreak point 温度とするのが最良であることが判った。このことは、DMSOあるいはGlycerolとショ糖を併用した場合には、ハムスター卵の脱水は極めて容易に行なわれ、冷却脱水温度域を緩慢冷却する際に、その下限を低くしすぎると、脱水された細胞質が高浸透圧、高塩濃度により長くさらされることになり生存率が低下することをあらわすものと考えられた。3群の中では、DMSOのみの群で、 -30°C をbreak point 温度として急速冷却に移るプログラムが最も進入率が良好で、ハムスター卵に対しては、1.5M DMSOは、 -30°C までの冷却脱水温度域を設定するのが望ましいことが明らかとなった。

稿を終えるにあたり、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜った故新井正夫教授、西島正博教授並びに直接のご指導を賜った中居光生教授に深甚なる謝意を表します。

また、貴重な御助言を頂いた慶應大学鈴木秋悦助教授、東海大学井上正人助教授に感謝の意を表します。さらに本研究に対し御協力を頂いた産婦人科リプロダクション研究室の諸兄に感謝いたします。

なお、本論文の一部は、第39回日本産科婦人科学会学術講演会(昭和62年、東京)、およびVIth World Congress on Human Reproduction (1987, Tokyo)において発表した。

文 献

- 1) Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. and Rodgers, 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
- 2) Aitken, R. J.: The zona-free hamster egg penetration test. In Hargreave, T. B. (ed): "Male Infertility" Berlin/Heiderberg, Springer-Verlag, 75, 1983
- 3) Rodgers, B. J.: Hamster egg: Evaluation of human sperm using in vitro fertilization. In

- Crosgnani, P. G., Rubin, B. L. (ed): In Vitro Fertilization and Embryo Transfer, Academic Press, 101, 1983
- 4) Campana, A., Gatti, M. Y., Ruspa, M., Van Kooij, R., Buetti, G., Perberger, U. and Balerna, M.: Relationship between fertility, semen analysis and human sperm penetration of zona-free hamster eggs, *Acta. Europ. Fertil.*, 14: 331, 1983
 - 5) Junca, A. M., Plachot, M. and Mandelbaum, J.: Evaluation of human sperm fertility by interspecific (human spermatozoa-hamster oocytes) in vitro fertilization, *Acta. Europ. Fertil.*, 14: 191, 1983
 - 6) Whittingham, D. G., Leibo, S. P. and Mazur, P.: Survival of mouse embryos frozen to -196°C and -269°C , *Science*, 178: 411, 1972
 - 7) Whittingham, D. G.: Survival of rat embryos after freezing and aerial transport of frozen mouse embryos, *J. Reprod. Fertil.*, 36: 433, 1975
 - 8) Banks, H. and Maurer, R. R.: Survival of frozen rabbit embryos, *Exp. Cell Res.*, 89: 188, 1974
 - 9) Wilmut, I. and Rawson, L. E. A.: Experiments on the low temperature preservation of cow embryos, *Vet. Res.*, 92: 686, 1973
 - 10) Willadsen, S. M., Polge, G., Rawson, L. E. A. and Moor, R. M.: Deep freezing sheep embryos, *J. Reprod. Fertil.*, 46: 151, 1976
 - 11) Biltou, R. J. and Moor, N. W.: In Vitro culture, storage and transfer of goat embryos, *Aust. J. Biol. Sci.*, 29: 125, 1976
 - 12) Trounson, A. and Mohr, L.: Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo, *Nature*, 305: 707, 1983
 - 13) Zeilmaker, G. H., Alberda, A. T., van Gent, I., Rijkmans, C. M. P. M. and Drogendijk, A. C.: Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos, *Fertil. Steril.*, 42: 293, 1984
 - 14) Shermann, J. K. and Lin, T. P.: Survival of unfertilized mouse eggs during freezing and thawing, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 98: 902, 1958
 - 15) Tsunoda, Y., Parkening, T. A. and Chang, M. C.: In vitro fertilization of mouse and hamster eggs after freezing and thawing, *Experientia*, 32: 223, 1976
 - 16) Fleming, A. D., Yanagimachi, R. and Yanagimachi, H.: Fertilizability of cryopreserved zona-free hamster ova, *Gamete Res.*, 2: 357, 1979
 - 17) Quinn, P., Barros, C. and Whittingham, D. C.: Preservation of hamster oocytes to assay the fertilizing capacity of human spermatozoa, *J. Reprod. Fertil.*, 66: 161, 1982
 - 18) Whittingham, D. G.: Principles of Embryo preservation In "Low Temperature Preservation in Medicine and Biology" Ashwood-Smith, M. J. (ed) Pitman Medical Tumbidge Wells, 65, 1980
 - 19) Leibo, S. P.: A one-step method for direct nonsurgical Transfer of frozen thawed bovine embryos, *Theriogenology*, 21: 767, 1984
 - 20) Rall, W. F. and Fahy, G. M.: Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification, *Nature*, 313: 573, 1985
 - 21) Yanagimachi, R.: Zona-free hamster eggs: their use in assessing fertilizing capacity and examining chromosome of human spermatozoa, *Gamete Res.*, 10: 187, 1984
 - 22) 井上正人, 小林善宗, 本田育子, 金子みつ恵, 藤井明和: 精子の受精能力検査—透明帯除去ハムスター卵子貫通試験, *ペリネイタルケア*, 4(3): 247, 1985
 - 23) Peterson, R. N., Russel, L., Bundman, D. and Freund, M.: Presence of microfilaments and tubular structures in boar spermatozoa after chemically inducing the acrosome reaction, *Biol. Reprod.*, 19: 459, 1978
 - 24) Summers, R. G., Talbot, P., Koeough, E. M., Hylander, B. L. and Franklin, L. E.: Ionophore A_{23187} induces acrosome reaction in sea urchin and guinea pig spermatozoa, *J. Exp. Zool.*, 198: 383, 1976
 - 25) Jamil, K. and White, I. G.: Induction of acrosome reaction in sperm with ionophore A_{23187} and calcium, *Arch. Andrology*, 7: 283, 1981
 - 26) Jamil, K., White, I. G. and Dware, D. M.: Calcium ionophore A_{23187} as a probe for freeze-fracture studies of membrane changes in the head of human spermatozoa, *Arch. Andrology*, 8: 1, 1982
 - 27) 岡田 弘: 男性不妊に関する研究——*in vitro* におけるヒト精子 acrosome reaction——泌尿紀要, 31(3): 429, 1985
 - 28) 井上正人他: Zona free ハムスター卵子を用いたヒト精子受精能力の検討 (III) ——Ca ionophore A_{23187} を用いた受精系について, *日産婦誌*, 33: 1581, 1981
 - 29) Mazur, P.: Cryobiology: The freezing of Biological systems, *Science*, 168: 939, 1970
 - 30) 斎藤 晃, 星 和彦, 鈴木雅州, 林 恵子, 柳町隆造: ヒト精子の受精能獲得時間の個人差, *日不妊会誌*, 29(1): 90, 1984

**Cryopreservation of hamster
oocytes; Effects of
freezing and vitrification
on hamster test results**

Hirohito Kawauchi

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Kitasato University,
Kanagawa 228, Japan

The zona-free hamster oocytes in a test system for evaluating the fertilizing capacity of human spermatozoa has come to be widely used for diagnosing male infertility.

For the application of such a system, the cryopreservation of hamster oocytes should prove beneficial such as by lessening the time for assay and scheduling of lead time.

In this study, a comparison was made of the results for three freezing methods and two sperm treatments.

Sperm penetration rates were higher in the rapid freezing and rapid thawing method and vitrification method than in the slow freezing and slow thawing method.

The use of Ca ionophore A_{23187} for preparing spermatozoa made the sperm penetration rates high and stable in the three freezing and thawing methods.

The rapid freezing and rapid thawing method was simple and most easily performed. Spermatozoa capacitated by Ca ionophore A_{23187} and oocytes preserved by the rapid freezing and rapid thawing method, (break point temperature -30°C , 1.5M DMSO), were found to provide a highly sensitive and stable assay system.

(受付: 1990年1月17日)

In Vitro におけるヒト精子 受精能獲得の検討

In Vitro Capacitation of Human Spermatozoa

順天堂大学医学部産婦人科学教室

福田 勝 武内 裕之 伊藤 哲
Masaru FUKUDA Hiroyuki TAKEUCHI Satoshi ITOH
高田 道夫
Michio TAKADA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Juntendo University School of Medicine, Tokyo 113, Japan

ヒト卵胞液は受精能を獲得したヒト精子に対してのみ先体反応を誘起すると言われている。卵胞液を用いて受精能獲得精子を判定可能な先体反応精子に移行させ、その先体反応発生率から受精能獲得精子の発生について検討し、*in vitro* における精子の受精能獲得の時間的推移について以下の結果を得た。

1. Percoll 法により回収された直後の精子中には受精能獲得精子と先体反応精子はほとんど存在しなかった。培養3時間、6時間、10時間、24時間目の精子では自然先体反応発生率はそれぞれ 0.4 ± 0.5 , 1.6 ± 0.8 , 3.3 ± 1.5 , 6.0 ± 1.6 (%) であるが、ヒト卵胞液により誘起された先体反応発生率は 2.4 ± 1.9 , 10 ± 3.6 , 25 ± 4.6 , 41 ± 12 (%) と培養時間の経過とともに増加した。
2. 培養時 (3-24時間)、常に、受精能獲得精子は先体反応精子の5-6.5倍存在していた。
3. ヒト精子の受精能獲得時間は3-6時間と考えられた。しかし個人差も認められた。
4. 精子培養条件として精子濃度が低いほど受精能獲得精子の発生は高い傾向を示した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 704-708, 1990)

緒 言

ヒト精子前培養は受精において、非常に重要な役割をもつ。この培養により精子は受精能獲得 (capacitation)^{1,2)}、先体反応 (acrosome reaction)^{3,4)} を起こすことが知られている。受精能獲得が細胞の機能的変化であること、またヒト精子には他の哺乳動物で認められている受精能獲得精子の特徴的運動変化である hyperactivation⁵⁾ が明らかでないことより、精子の受精能獲得の有無を知る方法として卵子との受精により確認する方法が用いられている^{6,7)}。しかし卵子との受精により確認する方法は、その結

果が精子の運動性など他の因子により影響されるため、精子の *in vitro* の受精能獲得の発現の検討に用いられるには無理がある。

近年、ヒト受精能獲得精子がヒト卵胞液により先体反応が誘起されることが報告されている⁸⁻¹⁰⁾。ヒト精子の *in vitro* での受精能獲得に要する時間に関しては一定していない。今回我々は *in vitro* におけるヒト精子の受精能獲得の時間的推移を知るため、ヒト卵胞液で受精能獲得精子を判定可能な先体反応精子に移行させ、その先体反応発生率から受精能獲得精子の発生について検討した。また培養時の精子濃度の先体反応発生に及ぼす影響についても検討した。

材料と方法

I. 精子の回収

精液を正常男子より得、室温で30-60分間静置し、液化した。下層80% Percoll (Sigma, Chemical Co.), 上層40% Percoll よりなる2層密度勾配 Percoll 液上に精液を層積し、 $300 \times g$, 20分間遠心し運動精子を得た^{9,11}。精子を0.3% bovine serum albumin (B S A, Fraction V, Sigma Chemical Co.) を含む modified Tyrode's (NaCl 117.5mM, NaH₂PO₄ 0.3mM, KCl 8.6mM, NaHCO₃ 25mM, CaCl₂ · 2H₂O 2.5mM, MgCl₂ · 6H₂O 0.5mM, Glucose 2.0mM, Pyruvate 0.25mM, Lactate 19.0mM, pH:7.4) で2回、 $500 \times g$ で5分間遠心洗浄した。

II. 精子の培養

a). 精子を濃度 10×10^6 /ml に2.6% BSA を含む modified Tyrodes で再懸濁し、37°C, 5% CO₂, 95% air で24時間培養した。培養前、培養3時間目、6時間目、10時間目、24時間目に自然およびヒト卵胞液により誘起された先体反応の発生率を調べた。受精能獲得精子の発生率は卵胞液により誘起された先体反応の発生率から自然に起きた先体反応の発生率を除いたものとした。またその時の精子の運動率も調べた。

b). 精子濃度を 10×10^6 /ml, 20×10^6 /ml, 30×10^6 /ml に調整し、24時間培養し各精子濃度の先体反応の発生率を調べた。

III. 精子先体反応の誘起と判定

先体反応を誘起させるために各培養時間精子にヒト卵胞液 (hFF: 20% v/v) を加えた。5分後、死滅精子をラベルするため supra vital stain である 1 μ g/ml Hoechst 33258 (H258: Sigma Chemical Co.) を加え、さらに10分間インキュベーションした。非結合 H258 も除去するため精子を4% polyvinylpyrrolidone-40-PBS 上に層積し $900 \times g$, 5分間遠心した。精子を100%エタノール内に入れ、4°Cで、少なくとも30分間静置し精子を固定、透過化させた。これら精子を顕微鏡スライド上で乾燥させ、10v FITC-conjugated Pisum Sativum Agglutinin (PSA) lectin (Vector Laboratories, Inc.) に10分間反応させた。

非結合 FITC-PSA を PBS で洗浄除去し、Jahnson & Nogueira 液¹²でマウントし、蛍光顕微鏡で先体反応の有無を判定した¹³。死滅精子は細胞膜が壊れているため H258 が容易に細胞内に入り、核の DNA に結合し、核が青色の蛍光を発する。しかし生存精子は細胞膜が正常のため H 258 でラベルされない。先体

反応を起こしていない精子は先体部に先体内容物が存在しているので FITC-PSA と結合し、先体部が、FITC でラベルされ緑色の蛍光を発する。しかし先体反応を起こした精子は赤道部のみラベルされるか、頭部全体がラベルされない。以上、各精子に対して生存精子か死滅精子かを判定し、200個の生存精子をカウントし、そのうち何個の精子に先体反応が起きているかにより先体反応発生率を求めた。ヒト卵胞液は体外受精プログラムに従って hMG-hCG 排卵誘発を受けた患者より採卵時に採取され、研究まで-80°C で保存された。

結 果

a) 受精能獲得精子と先体反応精子の発生率に対する培養時間

Percoll 法により回収された直後の精子、培養3時間目、6時間目、10時間目と24時間目の精子の自然に起きた先体反応発生率はそれぞれ 0.1 ± 0.3 , 0.4 ± 0.5 , 1.6 ± 0.8 , 3.3 ± 1.5 , 6.0 ± 1.6 % で培養時間とともに増加した。しかし培養24時間目でさえ、その発生率は 6.0 ± 1.6 % と低かった。ヒト卵胞液により誘起された先体反応発生率はそれぞれ 0.1 ± 0.3 , 2.4 ± 1.9 , 10 ± 3.6 , 25 ± 4.6 , 41 ± 12 % と培養3時間以後の各培養時間精子の先体反応発生率は自然の発生率の6倍から7.5倍に増加した。このことは精子中に自然に発生した先体反応精子の5倍から6.5倍の受精能獲得精子が存在していることになる。すなわち培養24時間精子培養液では全精子の約6%が先体反応精子で、約35%が受精能獲得精子である。しかし Percoll 法により回収された直後の精子には先体反応精子も受精能獲得精子もほとんど存在しなかった (Table 1)。

ヒト卵胞液により誘起された先体反応発生率、自然先体反応発生率、精子運動率の時間的推移を Fig. 1 に示した。0-3時間の先体反応発生率は単位時間あたり0.77%であったが、3-6時間では2.5%と急激に増えていた(●-●)。従ってヒト精子受精能獲得時間は3-6時間と推論されたが、1例受精能獲得時間が6-10時間と思われるものがあった。精子運動率は Percoll 法により回収された直後は 93 ± 3 % であったが、培養24時間目では 62 ± 14 % と低下していた (Table 1)。3-6時間の単位時間あたりの低下は2.3%と、他の培養時間での低下(0.6-1.1%)に比べ大きかった (Fig. 1, ×-×)。

b) 受精能獲得精子と先体反応精子の発生率に対する培養時の精子濃度

24時間培養の自然の先体反応発生率は精子濃度

Table 1 The Incidence of Spontaneous or hFF-Induced Acrosome Reaction and Sperm Motility during Incubation.

incubation (hr)	%AR		%motility
	no hFF	hFF	
0	0.1±0.3	0.1±0.3	93±3
3	0.4±0.5	2.4±1.9	91±2
6	1.6±0.8	10±3.6	84±6
10	3.3±1.5	25±4.6	80±13
24	6.0±1.6	41±12	62±14

Average ± SD (N = 5). 200 sperm counted for each measurement.

%AR: Percentage of acrosome-reacted sperm among living sperm.

hFF : Human follicular fluid.

$10 \times 10^6/\text{ml}$, $20 \times 10^6/\text{ml}$, $30 \times 10^6/\text{ml}$ で、それぞれ 6.0 ± 1.6 , 5.3 ± 2.2 , $4.1 \pm 1.4\%$ であった。ヒト卵胞液により誘起された先体反応発生率は、それぞれ 33 ± 5 , 26 ± 4 , $20 \pm 3\%$ と、精子濃度が $10 \times 10^6/\text{ml}$ において先体反応の発生率が高く、受精能獲得精子が多くなる傾向を示した ($P < 0.05$: $10 \times 10^6/\text{ml}$ vs $20 \times 10^6/\text{ml}$, $30 \times 10^6/\text{ml}$)。

考 案

哺乳動物の精子は卵子と受精するためには受精能獲得とそれに続いて先体反応を起こす必要がある。一般に雄性生殖器官から放出された精子は受精能を持たず、*in vivo* では雌性生殖器官内で、また *in vitro* では培養液内で幾ばくかの時間を過すことにより受精能を持つようになる¹⁻⁴。受精能獲得が誘起されたか否かは精子の運動性の変化、形態的变化である先体反応の発生から推測され、最終的には卵子への侵入で判定されている。

ハムスター精子において受精能を獲得し、先体反応開始直前の頃から精子運動パターンが変わり、非常に活発に運動することが証明され¹⁴、この変化は hyperactivation と呼ばれている⁵。その後 hyperactivation はモルモット¹⁵、イヌ¹⁶、マウス¹⁷、ヒツジ¹⁸、などの多くの哺乳動物精子において観察されているが、ヒトでは明らかではない⁵。ヒト精子の先体反応は *in vitro* での長時間培養にもかかわらず、その発生率は低いと言われている¹⁹。従ってヒト精子の場合、運動性の変化や先体反応により受精能獲得を推測することは困難であった。そのため受精能獲得時間は卵子への受精率と精子侵入までの時間から間接的に判断せざるを得なかった。

ヒト卵子を使った報告⁶は卵子の入手が困難である

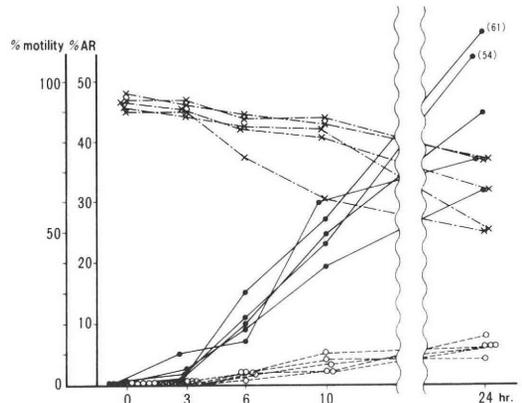


Fig. 1 The incidence of spontaneous or hFF-induced acrosome reaction and sperm motility during incubation

:%AR: Percentage of acrosome-reacted sperm among living sperm.

○: Spontaneous acrosome reaction, ●: hFF-induced acrosome reaction, ×: Percentage of sperm motility.

ため少なく、代わりに透明帯除去ハムスター卵子を使った報告⁷がある。しかし受精率や精子侵入率は受精能獲得・先体反応以外、精子運動性など他の因子によっても影響を受ける。ヒト卵胞液が受精能獲得精子に対して先体反応を誘起すること⁸⁻¹⁰や透明帯除去ハムスター卵子への侵入を高めること^{9,10,20}が報告されている。また、ヒト卵胞液により精子侵入数とその精子の先体反応発生率から推察される侵入数をはるかにこえて増幅されていることから、ヒト卵胞液が先体反応ばかりでなく精子運動など他の因子にも関与していることが示唆されている¹⁰。このことは受精率や精子侵入率が精子の受精能獲得・先体反応のみを反映しているとは言えないことを示している。

本研究では受精能獲得精子をヒト卵胞液により判定可能な形態的变化である先体反応に移行させ、その発生率より受精能獲得精子を数量的に求め、*in vitro* でのヒト精子の受精能獲得の推移について検討した。さらに受精能獲得時間についても考察した。Percoll 法により得られた直後の精子には、先体反応精子と受精能獲得精子はほとんど存在せず、培養の時間経過と共に増加し、培養 24 時間目には先体反応精子は 6%、受精能獲得精子は 35% に達した。ヒト卵胞液により誘起された先体反応の発生率と自然の先体反応発生率より先体反応精子の 5 倍から 6.5 倍の受精能獲得精子が存在していることが証明された。

ヒト卵胞液による先体反応発生率は 0 - 3 時間の

単位時間あたり0.77%であったものが、3-6時間では2.53%と急激に増加した。このことから精子受精能獲得時間は3-6時間であろうと推測された。

ヒト卵子を使ったLopataらの受精能獲得時間の研究では、5 mg/ml BSAを含むmodified Tyrodes液で1.5時間前培養した精子で受精し、3時間以内で卵子に進出し始めたことより、この条件下では3-4時間で受精能を獲得すると報告している⁶⁾。人工培養液での受精能獲得時間は培養液の組成とくにアルブミンの種類とその濃度に影響される、0.3%と3.5%のhuman serum albumin (HSA) またはBSAを含んだ培養液で培養したヒト精子の透明帯除去ハムスター卵子への受精率を比較検討した報告がある²¹⁾。その結果では高濃度のHSAを含む培養液で培養された精子において、より高い卵子への受精が認められている。しかし同一条件にもかかわらず受精率の変動、特に受精開始時間には大きな差があり、その要因として精子運動性の影響も考えられるが、主に受精能獲得に個人差があるためとする報告もある⁷⁾。本研究では運動性を考慮に入れる必要がないにもかかわらず、1例に受精能獲得時間が6-10時間と考えられるものがあり、受精能獲得時間に個人差があるものと考えられた。さらに精子培養条件として培養液の組成以外に精子濃度が受精能獲得に影響を与え、精子濃度が低いほど精子は受精能を得易い傾向を認めた。

近年、6時間培養ヒト正常形態精子にhyperactivation類似の精子運動変化が認められている²²⁾。この培養液は0.3% BSAを含むmodified BWWで本研究での培養液とは異なるが、正常精子は培養6時間で受精能を獲得するものと推察される。さらに興味あることは、異常形態精子にはこのような運動変化が培養6時間、24時間でも認められていないこと²²⁾、そして正常形態精子と異常精子ではヒト卵胞液による先体反応発生率に相違があること¹¹⁾であり、これらが異常形態精子を有する男性不妊症の受精異常と関係しているのかもしれない。

培養の時間的経過とともに精子の運動率は徐々に低下した。単位時間あたりの低下率が最も大きいのが培養3-6時間であった。この時間は精子の受精能獲得時間と一致していることより、受精能獲得という細胞の機能的変化とその細胞の運動との間に何らかの時間的関連があるのかもしれない。

文 献

1) Austin, C. R.: Observations on the penetration of the sperm into the mammalian egg, *J. Sci.*

Ser., B4: 581, 1951

- 2) Chang, M. C.: Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes, *Nature*, 168: 697, 1951
- 3) Austin, C. R. and Bishop, M. W. H.: Role of the rodent acrosome and perforatorium in fertilization, *Proc. R. Soc. London Ser.*, B149: 234, 1958
- 4) Barros, C., Bedford, J. M., Franklin, L. E. and Austin, C. R.: Membrane vesiculation as a feature of the mammalian acrosome reaction, *J. Cell Biol.*, Cl, 1967
- 5) Yanagimachi, R.: Mechanisms of fertilization in mammals, *Fertilization and Embryonic Development In Vitro*, 81, Plenum, New York, 1981
- 6) Lapata, A., McMaster, R., McBain, J. C. and Johnston, W. H. I.: In vitro fertilization of preovulatory human eggs, *J. Reprod. Fert.*, 52: 329, 1978
- 7) 齊藤 晃, 星 和彦, 鈴木雅洲, 林 恵子, 柳町隆造: ヒト精子の受精能獲得時間の個人差, *日不妊誌*, 29: 90, 1984
- 8) Tesarik, J.: Comparison of acrosome reaction-inducing activities of human cumulus oophorus, follicular fluid, and inophore A23187 in human sperm populations of proven fertilizing ability in vitro, *J. Reprod. Fert.*, 74: 383, 1985
- 9) Suarez, S. S., Wolf, D. P. and Meizel, S.: Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid, *Gamete Res.*, 14: 107, 1986
- 10) Fukuda, M., Cross, N. L., Cummings, P. L. and Yee, B.: Correlation of acrosomal status and sperm performance in the sperm penetration assay, *Fertil. Steril.*, 52: 836, 1989
- 11) Fukuda, M., Morales, P. and Overstreet, J. W.: Acrosomal function of human spermatozoa with normal and abnormal head morphology, *Gamete Res.*, 24: 59, 1989
- 12) Johnson, G. D. and Nogueira-Araujo, G. M. C.: A simple method of reducing the fading of immunofluorescence during microscopy, *J. Immunol. Methods*, 43: 349, 1981
- 13) Cross, N. L., Morales, P., Overstreet, J. W. and Hanson, F. W.: Two simple methods for detecting acrosome reacted human sperm, *Gamete Res.*, 15: 213, 1986
- 14) Yanagimachi, R.: The movement of golden hamster spermatozoa before and after capacitation, *J. Reprod. Fert.*, 23: 193, 1970
- 15) Barros, C., Berrios, M. and Herrera, E.: Capacitation in vitro of guinea pig spermatozoa in a saline solution, *J. Reprod. Fert.*, 34: 547, 1973
- 16) Mahi, C. A. and Yanagimachi, R.: Maturation and sperm penetration of canine ovarian

- oocyte in vitro, J. Exp. Zool., 196: 189, 1976
- 17) Phillips, D. W.: Comparative analysis of mammalian sperm motility, J. Cell Biol., 53: 561, 1972
 - 18) Cummins, J. M.: Hyperactivated motility patterns of ram spermatozoa recovered from the oviducts of mated ewes, Gamete Res., 6: 53, 1982
 - 19) Fukuda, M. and Cross, N. L.: Incidence of acrosome reactions and sperm binding to oocytes in the sperm penetration assay (Abstr. 076) Presented at the Forty-Third Annual Meeting of the American Fertility Society, Reno, Nevada, September 28-30, 1987. Published by The American Fertility Society in the Preliminary Program, 32, 1987
 - 20) Yee, B. and Cummings, L. M.: Modification of the sperm penetration assay using human follicular fluid to minimize false negative results, Fertil. Steril., 50: 123, 1988
 - 21) Rogers, B. J.: The sperm penetration assay: its usefulness reevaluated, Fertil., 43: 821, 1985
 - 22) Morales, P., Overstreet, J. W. and Katz, D. F.: Changes in human sperm motion during capacitation in vitro, J. Reprod. Fert., 83: 119, 1988

In vitro capacitation of human spermatozoa

Masaru Fukuda, Hiroyuki Takeuchi,
Satoshi Itoh and Michio Takada

Department of Obstetrics and Gynecology,
Juntendo University School of Medicine,
Tokyo 113, Japan

Human follicular fluid (hFF) can elicit the acrosome reaction only in capacitated sperm. In vitro capacitation of human sperm was studied by determining the incidence of acrosome reaction induced by hFF. Sperm were selected by centrifugation through a two-step Percoll gradient and incubated in capacitation media for 0h, 3h, 6h, 10h, and 24h.

At each time, the incidence of either spontaneous or hFF-induced acrosome reactions were determined by the method of Cross et al.

Sperm (0h) was not capacitated and acrosome reacted. Capacitated sperm were 5-6.5 times more than acrosome reacted sperm in media for 3-24h. The data demonstrate that the capacitation time of human sperm may be 3-6h in vitro in capacitation media.

(受付: 1990年1月18日)

薬物療法により妊娠した 造精機能低下症 33 例の検討

A Retrospective Study of 33 Oligoasthenospermic Cases with Established Pregnancy after Drug Treatment

秋田組合総合病院産婦人科

太田博孝 福田淳
Hirotaka OTA Jun FUKUDA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Akita Kumiai General Hospital, Akita 011, Japan

秋田大学医学部産婦人科教室

真木正博
Masahiro MAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Akita University School of Medicine, Akita 010, Japan

秋田大学医療技術短期大学部

福島峰子
Mineko FUKUSHIMA

Akita University College of Allied
Medical Science, Akita 010, Japan

薬剤投与期間中に妊娠が成立した 33 例の造精機能低下症例につき、妊娠成立に及ぼす各因子について検討した。症例は補中益気湯による妊娠 13 例、牛車腎気丸 8 例、八味地黄丸 6 例、プロモクリプチン 5 例等であった。10 例は薬物服用のみで妊娠し、23 例は非濃縮・濃縮人工授精 (AIH) の併用で妊娠した。AIH 併用の有無にかかわらず、服用 1 カ月以内に 13 例 (39.4%)、3 カ月以内に計 24 例 (72.7%) が妊娠し、薬剤の効果が裏づけられた。妊娠例の治療前精子運動率は全例 20% を超えていた。精子運動率が 20% 台 (5 例) の例では薬物療法のみによる妊娠例はなく、すべて AIH による妊娠例であった。AIH を行なった 21 例で運動精子濃度は薬物療法前の $16 \times 10^6/\text{ml}$ から療法後 $21 \times 10^6/\text{ml}$ と、精液 1 ml あたり 5×10^6 増加した。薬物療法後運動精子濃度が $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満は 3 例、特に $5 \times 10^6/\text{ml}$ 未満は 1 例のみであった。以上、造精機能低下症の治療に薬物療法は極めて有用であることが明らかとなった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 709—714, 1990)

表1 妊娠成立時の夫婦の年齢と平均不妊期間

	夫の平均年齢 (歳)	妻の平均年齢 (歳)	平均不妊期間 (月)
I 群 (自然妊娠群)	32.6±3.6	28.5±2.6	35
II 群 (非濃縮 AIH 群)	31.4±2.1	28.3±2.6	41
III 群 (濃縮 AIH 群)	33.6±2.9	32.1±2.3	57
平均	32.4±3.0	30.1±2.8	46

緒 言

不妊症のうち、造精機能低下症の治療は難しい。現在まで数多くの薬物療法が行なわれてきた。しかし、今まで妊娠成立例での retrospective な検討はあまり見られない。最近、人工授精時その精液処理に幾つかの改良が加えられ、より高い妊娠率が得られるようになってきた。例えば、Percoll¹⁻³⁾、Ficoll^{4,5)}、swim up⁶⁾法などである。さらに我々は造精機能低下症に牛車腎気丸⁷⁾、八味地黄丸⁸⁾、補中益気湯⁹⁾などの漢方療法を、また高プロラクチン血症合併例にはプロモクリプチン療法¹⁰⁾を行ない、従来の薬剤に勝る臨床効果の見られることを報告してきた。

今回、これら薬剤の投与期間中に妊娠成立した 33 例について retrospective な検討を加えたので報告する。

対象と方法

対象は薬物療法中に妊娠した 33 例である。使用した薬剤は補中益気湯、牛車腎気丸、八味地黄丸、芍薬甘草湯とプロモクリプチン (パーロデル[®]) である。漢方薬は 1 日量 7.5 g を分 3 で投与した。プロモクリプチンは 1 日量 2.5 mg を分 2 で投与した。

33 例の妊娠例はその治療内容から 3 群に分けられた。すなわち、10 例は薬物投与のみで妊娠し、これを第 I 群 (自然妊娠群) とした。9 例は精液処理を行わない通常の人工授精で妊娠した (II 群、非濃縮 AIH 群)。残り 14 例は単層 Percoll 法により運動精子を選別後 AIH を行なった (III 群、濃縮 AIH 群)。

精液は 4 日以上禁欲後、手動的に採取した。室温で約 30 分間十分に液化させた後、Makler 計算盤を用いて精子濃度、精子運動率を測定した。精液の濃縮には単層 Percoll 法を用いた。すなわち、50% Percoll 6ml を遠心用試験管に入れ、十分に液化した精液を層積後 600×g で 20 分間遠沈した。上清に残る精漿および Percoll 液を除去し、沈澱した精子に少量の 10% 患者非働化血清含有 Ham's F-10 を加え、全量で 600 μ l に調整後 AIH に供した。

AIH は人工授精針を装着した 1 ml の注射筒に精

子懸濁液を吸引し、子宮腔内に注入した。排卵時期の推定は基礎体温、頸管粘液量・羊歯状結晶形成度、あるいは経膈超音波断層法による卵胞計測を指標とした。なお、濃縮 AIH 例での施行回数は非濃縮 AIH の施行回数を含めて記載した。

また、得られた値は平均値とその標準偏差 (mean±SD) で示した。

結 果

1) 年齢と不妊期間

妊娠成立時の夫婦の年齢と平均不妊期間を表 1 に示した。妻の平均年齢は I、II、III 群で、それぞれ 28.5、28.3、32.1 歳で、夫の群と同様に III 群で最も高齢であった。I 群の中で妻の最高年齢は 33 歳であったが、III 群では 35 歳が 2 例存在した。

平均不妊期間は I、II、III 群で、それぞれ 35、41、57 カ月で、III 群の不妊期間が最も長かった。

2) 各薬剤の妊娠例数と妊娠成立までの期間

各薬剤投与による妊娠例数は補中益気湯群で最も多く 13 例、次に牛車腎気丸 8 例、八味地黄丸 6 例の順であった (表 2)。また、プロモクリプチン投与例では 5 例に妊娠成立した。

薬剤服用開始後と妊娠成立までの期間には大きな特徴があった (図 1)。すなわち、AIH 施行の有無にかかわらず、薬剤服用開始後 1 カ月以内に 13 例 (39.4%) に、3 カ月以内には 24 例 (72.7%) に妊娠が成立した。

3) 妻の薬剤使用の有無

妊娠成立周期での妻の薬剤使用の有無を表 3 で示した。全体では 17 例 (51.5%) が薬物投与を受け、

表2 薬剤とその妊娠例数

薬 剤	投与量 (日)	妊娠例数
補 中 益 気 湯	7.5g	13
牛 車 腎 気 丸	7.5g	8
八 味 地 黄 丸	7.5g	6
芍 薬 甘 草 湯	7.5g	1
Bromocriptine	2.5mg	5

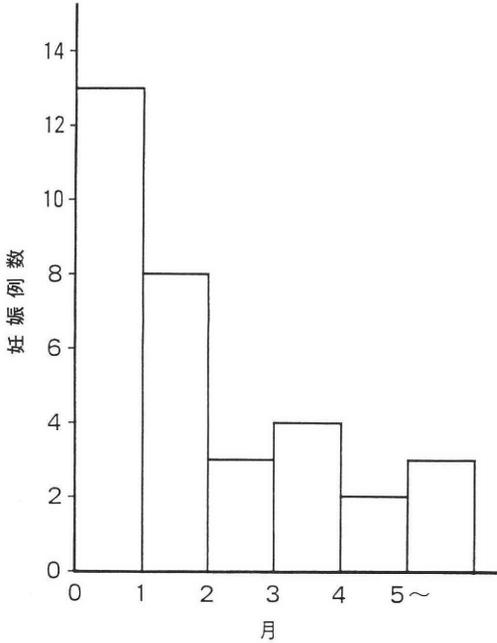


図1 薬剤服用後妊娠成立までの期間

表3 妊娠成立周期での妻の薬剤服用の有無
CC; clomiphene citrate, hMG; human menopausal gonadotropin, BC; bromocriptine

薬剤	I	II	III	計
CC	1	2	2	5
CC-hMG	0	0	5	5
CC+BC	1	1	0	2
他の薬剤	1	1	3	5
なし	7	5	4	16

16例(48.5%)が自然排卵により妊娠した。各群別に見てみると、I群で10例中7例は薬物を使用せずに妊娠した。II群では9例中4例にクロミフェン等の薬物を用いた。一方、III群では14例中6例がゴナドトロピン療法を受け、4例が薬物を服用していた。従って残り4例のみが自然排卵周期で妊娠した。

4) AIHの回数

図2はAIHの回数と妊娠例数を示す。全体として平均4.9回のAIHで妊娠した。II群では1例を除き、4回目までのAIHで全例妊娠した。一方、III群では平均4.0回で、最高11回目で妊娠した。

5) 精子運動率と妊娠例数

全体で見ると妊娠例の治療前精子運動率は全例20%を越え、最低の例でも25%であった(図3)。精子運動率が20%台では5例妊娠した。このうち薬物療法のみによる妊娠例はなく、全例濃縮AIH併用例

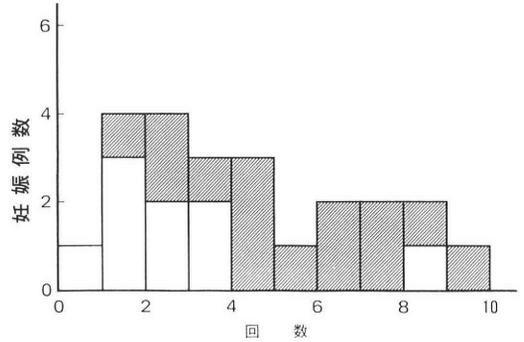


図2 人工授精の回数と妊娠例数
□; I群, ▨; III群

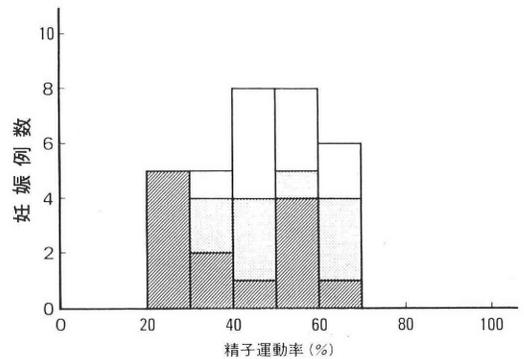


図3 治療前の精子運動率と妊娠例数
□; I群, ▨; II群, ▩; III群

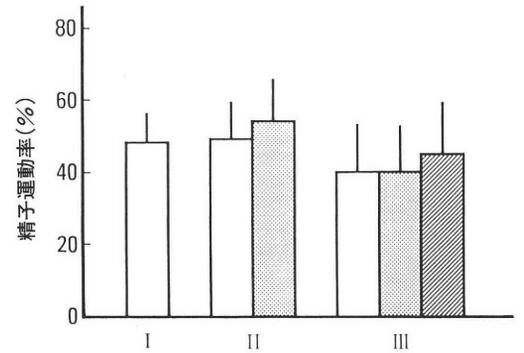


図4 治療による精子運動率の変動

□; 薬物療法前の値, ▨; 薬物療法中の値, ▩; Percoll後の値

であった。精子運動率が30%台ではI群で1例、II群で2例、III群で2例に妊娠した。40-50%台では妊娠例数も増え、8例ずつの妊娠例があった。

6) 精子運動率の変動

治療前後の精子運動率の変動を図4に示した。治療前の精子運動率はI, II, III群でそれぞれ、47.9 ± 7.9, 48.9 ± 10.9, 40.1 ± 13.8%であり、III群で最も低率であった。薬物療法によりII, III群でそれぞれ

54.3±11.9, 40.2±11.8%となり, II群で軽度上昇した。また, III群で Percoll 法による精子濃縮後精子運動率は 44.8%と治療前より 4.7%上昇した。

7) 精子濃度の変動

治療前精子濃度は I, II, III群でそれぞれ 29±13, 23±10, 29±21×10⁶/mlであった(図5)。薬物療法により II, III群でそれぞれ 32±15, 41±27×10⁶/mlとなり, 両群ともよく増加した。III群で Percoll 法による精子濃縮後, 精子濃度は 81±60×10⁶/mlとなり, 約2倍に濃縮された。

薬物治療と同時に濃縮,あるいは非濃縮 AIHを受けた 21 例の精子濃度の変動について検討した。21 例のうち治療前精子濃度が 10×10⁶/ml 未満の例は 4 例であった。薬物治療により精子濃度は上昇し, 10×10⁶/ml 未満であったのは症例 3 の 1 例のみとなった。

さらに運動精子濃度について検討した(図6)。21 例の治療前平均運動精子濃度は 16±14×10⁶/mlであった。このうち, 10×10⁶/ml 未満は 8 例, 5×10⁶/ml 未満は 3 例であった。薬物療法により運動精子濃度は 21×10⁶/ml と精液 1 ml あたり 5×10⁶増加した。特に症例 21 では 9×10⁶/ml から 33×10⁶/ml と著増した。従って妊娠成立周期で運動精子濃度が 10×10⁶/ml 未満は 3 例のみで, 特に 5×10⁶/ml 未満は 1 例のみであった。

8) 妊娠・分娩結果

現在までの分娩例は 25 例で, うち正常分娩は 17 例(51.5%)であった(表4)。異常分娩は 4 例であり, うち鉗子分娩 2 例, 吸引分娩, 帝王切開術による分娩が各 1 例であった。早産は現在まで I 群での 1 例のみであった。

一方, 流産は I 群にはなく, II, III群に各 3 例(計 18.2%) ずつ認められた。

考 察

造精機能低下症の治療は難しい。従来から数多くの薬剤が本症に試みられてきた。しかし, それらの有効率はゴナドトロピン療法で, せいぜい 5-6 割であり, 満足のいく成績ではなかった。我々は造精機能低下症の薬物療法に牛車腎気丸⁷⁾, 八味地黄丸⁸⁾, 補中益気湯⁹⁾などの漢方薬やプロモクリプチン¹⁰⁾を導入し, その臨床効果を報告してきた。それによると各薬剤の効果には大きな特徴があり, 補中益気湯は精子運動率を上昇させるが, 精子濃度にはあまり影響を与えない⁹⁾。一方, 牛車腎気丸, 八味地黄丸には強い精子濃度増加作用のあることがわかってきた。特に牛車腎気丸の作用は強力で, 我々の成績⁷⁾では精子濃度は最高投与前の 2.6 倍に達した。また, プロ

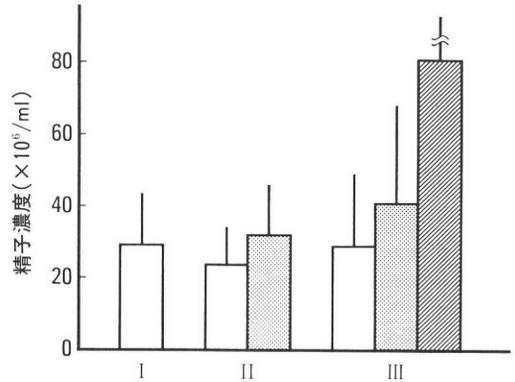


図5 治療による精子濃度の変動
□; 薬物療法前の値, ▨; 薬物療法後の値, ▩; Percoll 後の値

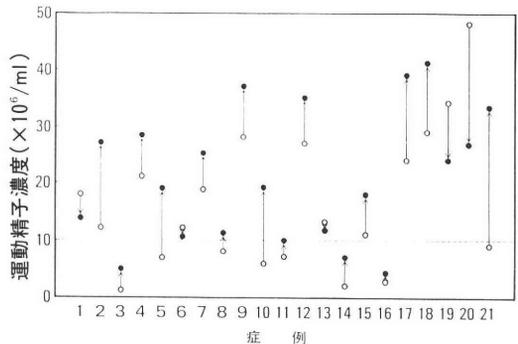


図6 AIHを受けた21症例における薬物服用前後の運動精子濃度の変動
○; 薬物療法前の値, ●; 薬物療法後の値

表4 妊娠および分娩結果

分娩様式	I	II	III	計	(%)
自然分娩	6	5	6	17	(51.5)
異常分娩	2	1	1	4	(12.1)
流産	0	3	3	6	(18.2)
早産	1	0	1	2	(6.1)
妊娠中	1	0	3	4	(12.1)

モクリプチンは高プロラクチン血症合併例に使われ, 精子運動率, 精子濃度の両者に奏効する¹⁰⁾。

本研究から薬物服用後妊娠成立までの期間には AIH の有無にかかわらず大きな特徴のあることがわかった。すなわち, 薬物服用後 39.4%が 1 カ月以内に, 72.7%が 3 カ月以内に妊娠した。すでに報告したように薬物の効果は 1 カ月以内に見られ, 2-3 カ月で最高となる。また, 今回用いた薬剤のうち補中益気湯は精子運動率を上昇させるのみならず, 精子運動性を保持したり¹¹⁾, 精子先体反応率を高める¹²⁾などの作用のあることがすでに知られている。従っ

て、服用1カ月目ですでに多くの妊娠例が見られたことは、これら漢方薬の作用が単に運動精子濃度を増やしているのみならず、精子の受精能をも改善していると考えられた。

薬物療法のみで妊娠した10例の精子濃度は平均 $29 \times 10^6/\text{ml}$ で、最低の例は $6 \times 10^6/\text{ml}$ 、精子運動率は50%であった。しかし、精子運動率が40%未満で妊娠したのは1例のみであった。本研究では精子運動率はII群で微増したが、全体でみるとあまり変わらなかった。しかし、精子濃度、あるいは運動精子濃度でみると薬剤の効果は明らかで、平均 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 増加し、精液全体としては 10×10^6 以上の増加となった。今回の成績から造精機能低下症に対する薬物単独療法の適応としては精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ で、かつ精子運動率が40%以上ある例では治療を試みる価値があろう。しかし、同時に患者、特に妻の年齢や不妊期間等を考慮する必要がある。これは妻の最高歳がI群で33歳であるが、III群では35歳であったことから示唆される。

薬物療法で妊娠しない時はAIHによる治療が必要となる。従来、AIHは液化した精液をそのまま子宮腔内に注入していた。この方法では精漿中に含まれるプロスタグランジンなどの物質による子宮痛や細菌感染の危険がある。さらに図2に示したように9例の非濃縮AIHでは8例が4回目以内で妊娠しており、AIHをただ単に続けるだけでは治療効率も大きく低下する。従って、非濃縮AIHを行なう場合でも2-3周期位とし、不成功ならPercoll法などの濃縮AIHに切り替えるべきと考えられる。

Percollは修飾コロイドシリカゲルであり、培養液の浸透圧に影響を及ぼさず、任意の密度に調節できる。また、物質そのものは精子の妊孕性に全く影響を及ぼさない¹³⁾などの特徴を有しているため、AIH^{1,2)}や体外受精時³⁾の精子の調整に広く用いられるようになってきた。今回、単層Percoll法の使用により精子運動率は軽度上昇し、精子濃度は2.7倍に濃縮された。実際、Percoll法などの濃縮AIHの使用により非濃縮AIH例と比べて妊娠率が向上することは諸家の報告^{2,14)}と一致する。

AIHの適応とする最低精子濃度をどの位とするべきかの判断は難しい。飯塚ら¹⁵⁾は1mlあたり運動精子濃度が $8 \times 10^6/\text{ml}$ 以上ある例が望ましいとしている。一方、Pardoら²⁾はAIH時より少量の精子濃度でも妊娠成立例のあることを報告している。本成績では運動精子濃度が $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満では3例、特に $5 \times 10^6/\text{ml}$ 未満では1例のみであった。以上よりPercoll後の運動精子が全量で $5-10 \times 10^6$ 未満であ

る時、薬物療法とAIHによる妊娠の確率はかなり低くなる。このような症例で4-5周期の治療を行なっても妊娠しないときはその受精能を検討し、体外受精による治療を考慮する必要がある。

33例中すでに22例が生児を分娩、6例が流産に終わった。今回の対象例の平均年齢は30歳とやや高齢であるが、異常分娩は4例のみで、それほど多くなかった。しかし、流産率は18.2%で非不妊例と比べてやや高く、他の報告と一致した^{16,17)}。この理由としてII, III群では60.9%がホルモン療法を受けていたこと、III群での平均年齢が32.1歳とやや高齢であったことなどによると考えられた。

(なお、本論文の要旨は第41回日本産科婦人科学会総会(岡山)にて発表した。)

文 献

- 1) 飯塚理八, 兼子 智, 小埜 清, 小林俊文: 配偶者間人工授精へのPercoll精子洗滌濃縮法の応用, およびその分娩例の検討, 産婦の世界, 39: 993, 1987
- 2) Pardo, M., Barri, P. N., Bancells, N., Coroleu, B., Buxaderas, C., Pomerol, J. M. Jr. and Sabater, J.: Spermatozoa selection in discontinuous Percoll gradients for use in artificial insemination, Fertil. Steril., 49: 505, 1988
- 3) Guerin, J. F., Mathieu, C., Lornage, J., Pinatel, M. C. and Bouliou, D.: Improvement of survival and fertilizing capacity of human spermatozoa in an IVF programme by selection on discontinuous Percoll gradients, Human Reprod., 4: 798, 1989
- 4) Bongso, A., Ng, S.-C., Mok, H., Lim, M. N., Teo, H. L., Wong, P. C. and Ratnam, S.: Improved sperm concentration, motility, and fertilization rates following Ficoll treatment of sperm in a human in vitro fertilization program, Fertil. Steril., 51: 850, 1989
- 5) 眞田利男, 小林俊文, 兼子 智, 小埜 清, 飯塚理八: 密度勾配遠心用蔗糖重合体を用いた精子洗滌法のAIHへの応用, 日不妊会誌, 28: 267, 1983
- 6) 星 和彦, 長池文康, 桃野耕太郎, 京野広一, 村木 章, 齊藤 晃, 鈴木雅洲, 林 恵子, 柳町隆造: われわれの行っている精液静置“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
- 7) 太田博孝, 福島峰子, 真木正博: 乏精子症に対する牛車腎気丸の効果, 産婦人科漢方研究のあゆみVI, 診断と治療社, 35, 1989
- 8) 太田博孝, 福島峰子: 乏精子症に対する補中益気湯・八味地黄丸の効果, 産婦人科漢方研究のあゆみV, 診断と治療社, 60, 1988
- 9) 太田博孝, 福島峰子, 児玉英也, 真木正博: 乏精

子症に対する補中益気湯の効果, 日不妊会誌, 32: 624, 1987

- 10) Ota, H., Fukushima, M. and Maki, M.: Bromocriptine administration for oligospermic infertility in men with marginal hyperprolactinemia, *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 35: 334, 1990
- 11) 光川史郎, 木村正一, 石川博夫, 折笠精一: 男子不妊症患者に対する補中益気湯の使用経験, 日不妊会誌, 29: 458, 1984
- 12) 水谷哲也, 小栗久典, 石原 豊, 菅沼信彦, 松澤克治, 友田 豊, 中村潔史, 近藤育代, 林 隆行, 木村敏雄, 大沢正巳, 成田 収: 八味地黄丸, 人參湯, 補中益気湯のヒト精子アクトゾーム反応に及ぼす影響, 産婦人科漢方研究のあゆみV, 診断と治療社, 97, 1988
- 13) Forster, M. S. and Stenchever, M. A.: Selection of human spermatozoa according to their relative motility and their interaction with zona-free hamster eggs, *Fertil. Steril.*, 40: 655, 1983
- 14) 小林俊文, 兼子 智, 眞田利男, 佐藤博久, 小嶋清, 大野虎之進, 飯塚理八: 攪拌密度勾配法による精子洗滌濃縮—配偶者間人工授精における妊娠成績の検討一, 日不妊会誌, 34: 863, 1989
- 15) 飯塚理八, 小林俊文, 遠藤勝英: 人工授精の実際, 産婦治療, 53: 264, 1986
- 16) 山田紳介, 占部 清, 清水健治, 関 正明, 長川富保, 林 伸旨, 早田幸司, 吉田信隆, 秋本暁久, 関場 香: 不妊症治療後妊娠とその子後, 日不妊会誌, 27: 54, 1982
- 17) 米谷邦男, 高橋正明, 千原 哲, 越智正憲: 当大学病院開設後10年間における不妊症患者妊娠・分娩例の産科学的検討, 日不妊会誌, 31: 278, 1986

Hiroataka Ota, Jun Fukuda

Department of Obstetrics and Gynecology,
Akita Kumiai General Hospital,
Akita 011, Japan

Masahiro Maki

Department of Obstetrics and Gynecology,
Akita University School of Medicine,
Akita 010, Japan

Mineko Fukushima

Akita University College of
Allied Medical Science
Akita 010, Japan

A retrospective study was performed on the 33 oligoasthenospermic cases with established pregnancy after drug administration. The drugs used are Hochu-ekki-to in 13 cases, Gosha-jinki-gan in 8 cases, Hachimi-jio-gan in 6 cases and bromocriptine in 5 cases. Ten cases conceived only by the administration of the drugs. While the remained 23 cases conceived after artificial insemination (AIH). Regardless of AIH, 13 cases (39.4%) conceived within one month since the beginning of each drug, and 24 cases (72.7%) within 3 months. Sperm motility before the treatment exceeded 20% in all cases. Mean motile sperm concentration in 21 cases performed AIH increased approx. 5×10^6 /ml by the drugs. Seventeen out of 21 cases showed motile sperm concentration more than 10×10^6 /ml when conceived, while only one case had less than 5×10^6 /ml. In conclusion, treatment with the drugs and AIH are quite useful in oligoasthenospermic patients.

(受付: 1990年4月6日特掲)

**A retrospective study of 33
oligoasthenospermic cases
with established pregnancy
after drug treatment**

Sulfasalazine 代謝産物による 雄性ラット生殖能抑制作用に関する実験的検討

Antifertility Effect of the Metabolites of Sulfasalazine for Male Rats

山口大学医学部泌尿器科教室 (主任: 酒徳治三郎教授)

植野 卓也 石津 和彦 馬場 良和
Takuya UENO Kazuhiko ISHIZU Yoshikazu BABA
瀧原 博史 酒徳 治三郎
Hiroshi TAKIHARA Jisaburo SAKATOKU

The Department of Urology.
Yamaguchi University, School of Medicine, Ube 755, Japan
(Director: Prof. J. Sakatoku)

潰瘍性大腸炎の治療薬である sulfasalazine (SASP) の代謝産物である sulfapyridine (SP) および、5-aminosalicylate (5-ASA) の雄性ラット妊娠性抑制作用および作用機序、作用部位についても若干の実験的考察を加えた。

SD 系雄性ラットに対し、SP および 5 ASA を SASP 相当量として 400, 200, 100, 50 mg/kg, day 5 週間連日経口投与して mating を施行した結果、SP の SASP 400, 200 mg/kg 相当量群のみに、control 群に対して有意な妊娠率の低下がみられたが、精巣重量、精細管直径値には全群とも有意の低下はみられなかった。

雄ラットに SP を 250 mg/kg/day 5 週間連日経口投与して SP の血清、精巣、精巣上体各部位の組織中濃度を HPLC 法を用いて測定、比較したところ精巣上体の頭部において、他の部位よりも AcSP 濃度が有意に高値を示した。

以上より、SASP の妊娠性抑制作用の主体は SP で、その main target portion は精巣よりも精巣上体頭部である可能性が示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 715-720, 1990)

緒 言

潰瘍性大腸炎の治療薬である salicylazosulfapyridine (SASP) が雄ラットの妊娠性を低下させることは報告されてきている。しかし、その作用部位、作用機序についてはまだ不明な点が多い。また SASP の代謝産物である sulfapyridine (SP) と、もう 1 つの代謝産物である 5-aminosalicylate (5-ASA) のどちらにこの妊娠性低下作用が存在するかということもまだ明確にはされていない。今回我々は、SD 系雄ラットに SP および 5 ASA を dose 別に

経口投与し、これに SD 系雌ラットを交配させてその妊娠率から妊娠性を、比較検討した。さらに SP の作用部位を検索する目的で SP 投与ラットの精巣および精巣上体の組織中 SP 濃度を測定して比較した。

実験方法

9 週齢の SD 系雄ラット (体重 260 g - 320 g) を用いた。薬剤は Sigma 社製 sulfapyridine, 5-aminosalicylate を蒸留水で溶解したもの、control には蒸留水を用い、これらを連日 5 週間ゾンデにより強制経口投与を行った。

1. 妊孕性の検討

SP 投与, 5 ASA 投与, control 群に大きく分類した上, さらにその各々を dose により 4 群に分類して全 12 群とした. Dose は SASP 相当量で体重 1 kg あたり 1 日 400 mg, 200 mg, 100 mg, 50 mg となるよう, SP では 250 mg/kg/day, 125 mg/kg/day, 62.5 mg/kg/day, 31.3 mg/kg/day, 5ASA では, 153 mg/kg/day, 76.5 mg/kg/day, 38.3 mg/kg/day, 19 mg/kg/day のおのおの 4 種類とした. ラット 36 匹を無作為にこの 12 群に分類した. ラットのケージ, 投与順序等も群とは関係なく無作為に行った.

1-1 妊娠率

気温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 照明時間を 5 時から 19 時に調整したラック中に置いたケージ内で約 2 週間飼育した雌ラットを用いて, 雄ラットと交配させた. 交配も同ラック内で行った. 雌ラットは交配終了後 2 週間目に屠殺して胎児数と黄体数を数え, 妊娠率(胎児数/黄体数)を算出した.

1-2 精巢

雄ラットは交配直後屠殺し, 精巢と精巢上体を摘出して各重量を測定した. 精巢の一部はボアン液で固定したのち HE 染色し, 精細管直径を測定した. 測定に際しては円形のもの無作為に 25 個測定して平均値を比較した.

2. 組織内濃度

体重約 300 g の 9 週齢 SD 系雄ラット 8 匹に前述したと同じ方法で SP 250 mg/kg/day を 5 週間連日投与した後屠殺し, 精巢および精巢上体を摘出して精巢の一部と精巢上体の頭部と尾部を分離して -20°C で凍結させた. この標本を Fischer & Klotz¹⁾の方法に準じて, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法を用いて SP の組織中濃度を測定した. SP, および主要代謝産物である N⁴-acetylsulfapyridine (AcSP) の精巢, 精巢上体頭部および尾部の 1 g あたりに換算した組織中濃度を測定比較した. なお, 同ラットの血清中の SP および AcSP 濃度も同様に HPLC 法で測定した.

検体処理の手順は Fig. 1 の如くである. 検体に pH 8, 0.1 M リン酸 buffer 液 2 ml を加えて溶解した後, 10°C , 3000 rpm で 10 分間遠心し, 上清 100 μl を用いた. これに 0.2 mg/ml スルファジミンメタノール溶液 10 μl を加え, さらに 1N 酢酸緩衝液 (pH 4.7) を 500 μl , クロロホルム 8 ml を加え, 室温で 10 分間緩やかに振盪させ, 室温 1500 rpm で 3 分間遠心し, 下層となるクロロホルム層を抽出し, これを遠心濃縮機で減圧乾固した. この残渣に HPLC 移動層溶媒 100 μl を加え, Fig. 2 の如くの HPLC 条件で SP 濃度,

精巢または精巢上体組織

— 0.1M リン酸 Buffer, PH 8 (2 ml)

バイオトロンで溶解

—

遠心分離 (10°C , 3000rpm, 10分間)

—

上清 100 μl

— 0.2mg/ml スルファジミン・メタノール溶液 (10 μl)

— 1 N 酢酸緩衝液, PH 4.7 (500 μl)

— クロロホルム (8 ml)

緩やかに振盪 (室温, 10分間)

—

遠心分離 (室温, 1500rpm, 3分間)

—

クロロホルム層 (下層; 7 ml)

—

減圧乾固

—

残渣

— HPLC 移動層溶媒 (100 μl)

HPLC 分析

Fig. 1 Treatment of specimen for the HPLC analysis.

ポン プ: Millipore/Waters Model-510

カラム: C18 型の逆相カラム

移動層溶媒: 0.1w/v% トリフロロ酢酸含有 15v/v%
アセトニトリル

流速: 0.8ml/min

検出: UV_{254nm}, 0.05AUFS

Fig. 2 Conditions for the HPLC analysis.

AcSP 濃度を測定した.

結 果

1-1 妊娠率

Table 1 に各群の妊娠率を示す. SP 250 mg/kg. day, SP 125 mg/kg/day 投与群で control 群に対する有意な低下がみられた. また前者と後者を比較した場合, 前者の方に後者より有意な低下がみられた. dose が SP 62.5 mg/kg/day 以下の 2 群では妊娠率の有意な低下はみられなかった. 5 ASA 投与群は全 4 群とも control と比べて妊娠率の有意な低下はみられなかった.

1-2 精巢

Table 2 に精巢の重量を示すが, 全群間に有意の差はみられなかった. Table 3 に精細管の平均直径

Table 1 Mean % fertility of each group is shown in this table

SASP EQUIVALENT DOSE (mg/kg/day)	SP	% FERTILITY (MEAN ± SE)	
		5ASA	CONTROL
50	93.19 ± 0.88	94.19 ± 2.91	97.44 ± 2.56
100	100.00 ± 0.00	95.24 ± 4.76	94.59 ± 2.76
200	68.72 ± 7.96*	97.44 ± 2.56	97.44 ± 2.56
400	37.70 ± 7.85*	96.20 ± 2.22	93.94 ± 6.06

* ; P < 0.01 when compared to the controls.

Table 2 Mean testicular weight of each group is shown in this table. All weights are pairs of each group.

SASP EQUIVALENT DOSE (mg/kg/day)	TESTICULAR WEIGHT (g MEAN ± SE)		
	SP	5ASA	CONTROL
50	1.639 ± 0.102	1.602 ± 0.025	1.767 ± 0.118
100	1.714 ± 0.022	1.693 ± 0.113	1.574 ± 0.040
200	1.847 ± 0.074	1.676 ± 0.090	1.520 ± 0.032
400	1.624 ± 0.095	1.565 ± 0.064	1.724 ± 0.078

All weights are pairs of each group.

Table 3 Mean diameter of the seminiferous tubules of the testes of each group is shown in this table. All length are pairs of each group.

SASP EQUIVALENT DOSE (mg/kg/day)	MEAN DIAMETER (μm MEAN ± SE)		
	SP	5ASA	CONTROL
50	266.5 ± 3.24	266.0 ± 3.01	269.5 ± 7.03
100	269.7 ± 3.40	269.3 ± 3.72	265.3 ± 8.71
200	265.7 ± 3.58	266.1 ± 7.43	264.4 ± 3.82
400	266.8 ± 11.45	270.1 ± 3.21	277.5 ± 16.88

All length are pairs of each group.

測定値を示す。これも全群間で有意の差はみられなかった。

2. 組織中 SP 濃度

各組織とも SP は代謝物である AcSP として検出された。精巣上体頭部、尾部、精巣の組織 1 g 相当量の AcSP 濃度平均 (μg/g) は、(34.34 ± 4.148, 11.08 ± 2.370, 2.981 ± 0.600) で、精巣上体頭部および尾部の組織中濃度が精巣中濃度に比べて有意に高値であった (Fig. 3)。精巣上体で部位別に組織中濃度 (μg/g) を比較すると、尾部よりも頭部の方が AcSP 濃度が有意に高値を示し、また同ラットの血清 1 ml の AcSP 濃度は 0.238 ± 0.072 μg/ml であった。

考 察

1979 年に Levi²⁾, Toth³⁾らが、少数例での潰瘍性大腸炎の治療目的で SASP を投与された男性患者の可逆的な妊孕性の低下を報告し、著者らも 1984 年に SASP 投与患者 10 名の精液性状の可逆的抑制を報

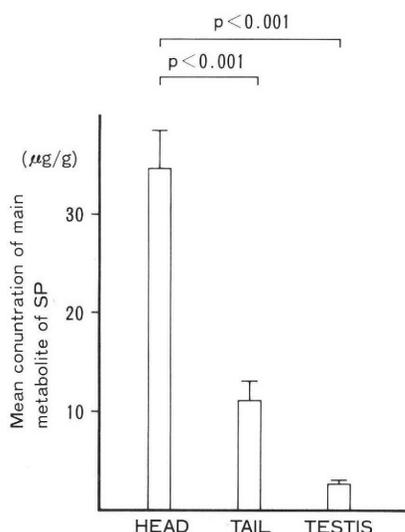


Fig. 3 Mean Ac-SP concentration of the three organs (epididymal head, epididymal tail and testis) are compared.

告し、同時に血中中性ホルモン、精液中 prostaglandin に抑制のないことをヒトにおいて初めて証明している⁴⁾。しかしその作用部位についてはまだ明確には解明されておらず、作用機序についてもこれまでにホルモン関与説、抗葉酸作用説、prostaglandin 産生阻害説、精子への直接作用説など諸説のあるところである。

SASP は sulfapyridine (SP) と salicylate がジアゾカップリングした構造を有する化合物で、経口投与した場合、一部が小腸でそのままの形で吸収されるが、大部分は大腸で腸内細菌によって SP と 5 ASA に分解されることが判っており、妊孕性の抑制にはこのいずれか、もしくは両方が関与していると思われるが、この点に関しても諸説の報告がなされているのみで、いまだ確立した報告はない。

5 ASA には prostaglandin 産生阻害作用があることが判っており、最近になって潰瘍性大腸炎に対する薬効の主体は SP ではなく 5 ASA であるとする説が有力となってきている⁵⁾。また Collier⁶⁾、Horton ら⁷⁾ は、5 ASA の類似体である aspirin 投与をうけたヒト精漿中の prostaglandin 濃度の低下を報告しており、Toth⁸⁾ および Brinie ら⁸⁾ は 5 ASA が SASP の妊孕性抑制作用に関与していると報告している。これに対して、その後、O'Morain ら^{9,10)} は SASP 投与患者の精漿中 prostaglandin E₂ レベルは control と差がなかったこと、雄ラットに 5 ASA 296 mg/kg/day を 8 週間投与しても妊孕性の低下がみられなかったことから SP が妊孕性抑制作用をもつのであって、5 ASA はこれに関与しないとしている。また著者らの検討⁴⁾でも、SASP 投与患者の精漿中 prostaglandin E & F₂- α は正常範囲もしくは、むしろ高めであり、本剤投与中止後にもさらに高値を示したことから、これは基礎疾患のためであろうと著者らは考えている。また White ら¹¹⁾ は SASP の大量投与で prostaglandin catabolising enzyme である 15-hydroxy-prostaglandin dehydrogenase 活性が抑制されるとしているが、これも避妊作用を起こすほどではないであろうと結論づけている。今回われわれの実験では SP 250 mg/kg/day, 125 mg/kg/day 5 週投与で妊娠率の低下がみられたのに対し、同相当量の 5 ASA では全く妊孕性の抑制がみられず、今回の我々の検討から、やはり SP が妊孕性抑制作用の主体と結論づけて良いと思われる。

そこで以下、妊孕性抑制作用の主体と確認された SP の作用部位、作用機序について検討した。これまでに作用部位、作用機序についても諸説があり、精巣、精巣上体、またはその両者に対する可能性が報

告されている。精巣に対する作用の報告としては、Ragni ら¹²⁾ が SASP 投与患者の血清 testosterone 濃度の低下を報告しているが、最近では低下をみないとする報告が大部分を占める^{4,9,10,13,14)}。また今回我々の検討で妊孕性の低下がみられる用量、用法での SASP 投与ラットの精巣重量の低下がみられないことが確認されたが、これまでも同様な結果の報告がある^{8,14)}。さらに、今回の検討で、精巣での造精能の状態を反映するラット精巣の精細管直径値において、妊孕性の低下のみられた用量、用法で低下をみなかったが、Pholpanol ら^{14,15)} は雄ラットの精巣上体よりの穿刺液および同臓器をホモジネートして測定した結果、SASP 投与ラットの精子運動率は control に対して有意に低下したものの、精子濃度に低下はみられなかったと報告しており、これは我々の結果を支持するものである。また O'Morain ら¹⁶⁾ は U-¹⁴C glucose を SP 投与ラットの精巣と incubate して energy production を算出したが、control と有意の差はみられなかったと報告している。以上より、SP の妊孕性抑制作用の主体は精巣での造精能の過程での障害というより、それ以降の精子成熟過程において精子に対してなんらかの直接または間接作用を及ぼしているのではないかと推測され、その意味からも SP の main target organ は精巣よりも精巣上体等である可能性が十分予想される。事実、ヒトをも含めた多くの報告^{4,14,15)} で精子運動率の低下が指摘されていること、さらにヒトならびにラットにおいても投与中止後の妊孕性の回復が一ヶ月以内と速いこと^{4,10,14)} 等も、上記の仮説を支持する所見と考えられよう。

このように妊孕性の低下がみられ、かつ精巣のみが必ずしも唯一の main target organ ではないと考えられる場合、特定の臓器を target organ と同定するのは方法論上、かなりの困難が予想される。理論的にいえば、精巣上体、もしくはそれ以降での精子の質的成熟過程での障害、または精巣等の精子の外部環境の変化などが予想され、この点に焦点をあて、今回我々は、これらの仮説を検討する第 1 ステップとして、SP 250 mg/kg/day, 5 週間連日経口投与した雄ラットの精巣、精巣上体、血清中の drug 濃度を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法を用いて測定し、比較した。SP はアセチル化した AcSP として測定されたが、これは SP 投与終了後、屠殺までに交配等の関係で 1 日以上経過しているため、SP が AcSP まで代謝されたものと考えられる。各組織 1 g あたりの組織内濃度を比較すると、精巣に比べ精巣上体の方が極めて有意に高値を示し、また精巣上体にお

いても尾部に比較して頭部の方が有意に高値を示した。またこれらの測定値は、同ラット血清1 ml中濃度と比較しても有意に高値であった。以上のことよりSPは精巣よりも精巣上体、また精巣上体では尾部よりも頭部に親和性を示すことが判明した。Wongら¹⁷⁾は、精巣上体管内液中SP濃度と血中SP濃度を比較して前者の方が高値であると報告しているがこれも著者らの結論と矛盾しない。

今回、SPの主要な作用部位が精巣よりも精巣上体であることを確認しえたが、その作用機序についてはさらに検討されなければならない。O'Morainら¹⁰⁾も記しているが、SASP投与患者精液中の megalohed sperm の出現と関連して、acrosomal reactionの過程での障害の有無についても検討していく必要があると考えられる。

結 語

SD系雄ラットにSP, 5ASAを5週間連日経口投与することにより以下の結果を得た。

- 1) SP 250 mg/kg/day, SP 125 mg/kg/day 投与により dose dependent な妊孕性の抑制がみられた。
- 2) Dose が SP 62.5 mg/kg/day 以下の群では妊孕性の抑制はみられなかった。
- 3) 5 ASA 投与群には妊孕性の抑制はみられなかった。
- 4) SP 250 mg/kg/day, 5週投与ラットの1gあたりの薬物濃度を比較すると、精巣に比べて精巣上体が有意に高値であることからSPの主体となる作用臓器は精巣というよりも精巣上体であると推定された。

文 献

- 1) Fischer, C. and Klotz, U.: Determination of sulfapyridine and its major metabolites in plasma by highpressure liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, 146: 157, 1978
- 2) Levi, A. J., et al.: Male infertility due to sulphasalazine, *Lancet*, 2: 276, 1979
- 3) Toth, A.: Reversible toxic effect of salicylazosulfapyridine on semen quality, *Fertil. Steril.*, 31: 538, 1979
- 4) Cosentino, J. M., Chey, W. Y., Takihara, H. and Cockett, A. T. K.: The effects of sulphasalazine on human male fertility potential and seminal prostaglandins, *J. Urol.*, 132: 682, 1984
- 5) 小野泰蔵, 他: 5-Aminosalicylic Acid moiety を主体とする Salazopyrin の代謝研究, 基礎と臨床, 17: 51, 1983
- 6) Collier, J. G. and Flower, R. J.: Effect of aspirin on human seminal prostaglandins, *Lancet*, 2: 852, 1971

- 7) Horton, E. W., Jones, R. L. and Marr, G. G.: Effects of aspirin on prostaglandin and fructose levels in human semen, *J. Reprod. Fert.*, 33: 385, 1973
- 8) Birnie, G. G., McLeod, T. I. F. and Watkinson, G.: Incidence of sulphasalazine-induced male infertility, *Gut*, 22: 452, 1981
- 9) O'Morain, C., et al.: Further studies on sulphasalazine induced male infertility, *Gastroenterol.*, 82: 1140, 1982
- 10) O'Morain, C., Smethurst, P. and Levi, A. J.: Reversible male infertility due to sulphasalazine; studies in man and rat, *Gut*, 25: 1078, 1984
- 11) White, D. R. and Aitken, R. J.: Sulfasalazine as a male contraceptive agent, *Male Contraception*, 227, Harper & Row, 1985
- 12) Ragni, G., et al.: Abnormal semen quality and low serum testosterone in men with inflammatory bowel disease treated for a long time with sulfasalazine, *Andrologia*, 16: 162, 1984
- 13) Toovey, S., et al.: Sulphasalazine and male infertility: reversibility and possible mechanism, *Gut*, 22: 445, 1981
- 14) Pholpramool, C. and Srikhao, A.: Antifertility effect of sulfasalazine in the male rat, *Contraception*, 28: 273, 1983
- 15) Pholpramool, C., et al.: Lack of effects of some antifertility sulfonamides on testicular functions in the male rats, IVth international congress of Andrology, 27, Monduzzi Editore, 1989
- 16) O'Morain, C., et al.: Reversible infertility induced by sulphasalazine, *Male Fertility and Regulation*, 49, MTP Press Limited, 1985
- 17) Wong, P. Y. D., Lau, S. K. D. and Fu, W. O.: Antifertility effects of some sulphonamides and related compounds and their accumulation in the epididymides of male rats, *J. Reprod. Fert.*, 81: 259, 1987

Antifertility effect of the metabolites of sulfasalazine for male rats

Takuya Ueno, Kazuhiko Ishizu,
Yoshikazu Baba, Hiroshi Takihara
and Jisaburo Sakatoku

The Department of Urology,
Yamaguchi University, School of Medicine,
Ube 755, Japan
(Director: Prof. J. Sakatoku)

Antifertility effect of Sulfasalazine (SASP) has been known, however, its mechanism has not been

clear, and the target organ has not been detected. Our purpose of this experiment was to study the antifertility effect of both metabolites of SASP (Sulfapyridine and 5-Aminosalicylate) in male rats and to detect the main target organ of Sulfapyridine.

Nine-week-old male Sprague Dawley rats, assigned at random to 12 groups, were treated with Sulfapyridine (SP) at 250, 125, 62.5, 31.3mg/kg. body wt/day, and 5-Aminosalicylate (5-ASA) at 153, 76.5, 38.3, 19.0mg/kg. body wt/day and distilled water, for a period of 5 weeks in addition to a normal diet. Mean %fertility, testicular weight and diameter of the seminiferous tubules in each group was compared. There was a dramatical suppression in fertility in the groups with SP 250mg/kg. day and 125mg/kg. day, however, no suppression was observed in

the other groups. No suppression was observed in the mean testicular weight and the mean diameter of the seminiferous tubules in all groups.

The concentration of Acetyl-sulfapyridine (Ac-SP), a metabolite of Sulfapyridine, in the testis, epididymal head and epididymal tail of the rats treated with SP (250mg/kg. day, for 5 weeks), were investigated by high pressure liquid chromatography. The concentration of Ac-SP was confirmed to be highest in the epididymal head and lowest in the testis.

These findings strongly support the hypothesis that SP is the metabolite of SASP, suppressing male fertility and that main target portion of SP is epididymal head.

(受付：1990年5月25日特掲)

精子無力症における精子の微細構造
異常について. 第6報. 多核多尾精子症の
3例及び精子軸糸異常の1例について

Fine Structure of Asteno-zoo-
spermia in Infertile Men
6. Report of Three Cases of
The Sperm with Multiple Nuclei
and Flagella and A Case of
The Sperm with Abnormal Axonemes

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 折笠精一 前原郁夫
Kazuhiro SATOH Seichi ORIKASA Ikuo MAEHARA
佐藤滋彰 高橋勝 平松正義
Sigeaki SATOH Masaru TAKAHASHI Masayosi HIRAMATSU

Department of Urology, Tohoku University
School of Medicine, Sendai 980, Japan

精子無力症を呈した症例の内, 多核多尾精子症の3例と精子軸糸異常の1例を報告した. 多核多尾精子症の精液所見では乏精子症, 精子生存率の低下, 奇形精子(4核4尾精子など)の増加, 精子運動性の著しい低下などが見られた. 精巣, 精子の観察では巨大, 多核精祖細胞, 多核精子細胞, 核や尾の形成異常を伴う後期精子細胞, 精子などが見られ, 減数分裂と精子形成過程の障害が原因と推察した.

軸糸異常の例では9+0, 9+1軸糸や軸糸自体の欠損が観察され, この事が精子運動性欠如の原因と考えられた.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 721—726, 1990)

緒言

日常の精液検査において双頭や双尾の精子をみる事は希ではなく, intercellular cytoplasmic bridgeの解離に問題があるためと一般に考えられている. しかし多核多尾の精子が多くの割合を占め, 精子の運動性が殆どないといった症例は極めて希である. 今回はこのような3症例を経験したのでその臨床所見, 精子, 精巣の光顕, 電顕像などを報告し, 本症の発生原因について考察を加えたので報告する.

また精子軸糸(axoneme)の構造異常は正常人の精子でもみられるが, 殆どの精子軸糸が異常構造を呈し, 精子運動性が全くない例の報告も希である. このような1症例の精子の微細構造についても報告したい.

対象と方法

対象および精子, 精巣の電顕を得る方法などについては既報¹⁾のごとくであるので省略する.

結 果

まず多核多尾精子症の3例について述べる。

症例1：(34歳, ID:13-9238-2)不妊期間5年。既往歴に特記すべきものはない。精液検査所見($n=4$):量, 平均2.2 ml (1.4-3.2), 運動率0.8%, 運動能(SMEI)0, 精子濃度 $9 \times 10^6/\text{ml}$ (2-13), 生存率56% (41-74), 奇形率77% (59-90), 精巣容量: 右25 ml, 左25 ml, 血清ホルモン値: LH7.9 mIU/ml, FSH6.4 mIU/ml, PRL9.6 ng/ml, T612 ng/dl, Fig. 1に精子の光顕像を示すが, 巨大な頭部に約20個の核がみられ, それに続く約20尾が見られる。この精子像は極端な例であるが, 本症では4-5核, 4-5尾の精子が多くみられる傾向がみられた。Fig. 2に精巣の光顕像を示すが, 3核を有する精祖細胞がみられる。Fig. 3に精子の電顕像を示す。固定条件のためか原形質膜の保存状態が悪く詳しい所見は控えたいが, やや横幅の広いように思える核(縦 $2.5 \mu\text{m}$, 横 $2.7 \mu\text{m}$)から2尾が伸長している。Fig. 4はlate spermatidと思われるが, 共通の原形

質膜の中に3核, 1尾が存在している。このような核や尾の形成異常を伴うlate spermatidは比較的多く見られた。fig. 5に精巣の電顕観察時にみられたgiant spermatogonia (核の大きさ: $21 \times 14 \mu\text{m}$)を示す。光顕観察時と同様に時にgiant spermatogoniaやmultinucleated spermatogoniaがみられた。

症例2：(29歳, ID:18-6559-8)不妊期間3年。家族歴では3人兄弟の末子で姉2人は子供を有する。既往歴に特記すべきこと無し。精液検査所見($n=3$):量, 平均1.7 ml (1.2-2.0), 運動率3.3% (0-6), 運動能(SMEI)0, 精子濃度 $25 \times 10^6/\text{ml}$ (16-32), 生存率54% (51-59), 奇形率93% (90-100), 精巣容量; 右側16 ml, 左側16 ml, 血清ホルモン値; LH10.2 mIU/ml, FSH4.1 mIU/ml, PRL10.4 ng/ml, T588.0 ng/dl,

Fig. 6に精子の光顕像を示す。4核4尾がみられ

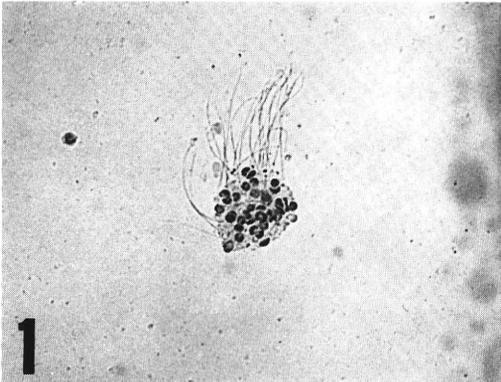


Fig. 1 LM of the sperm with multiple nuclei and flagella. About 20 nuclei and flagella are seen.

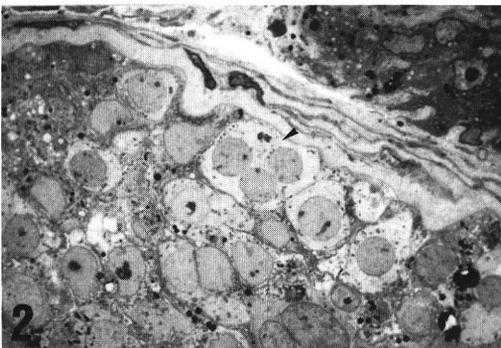


Fig. 2 LM of testicular tissue. Spermatogonia with three nuclei (arrow) is observed.

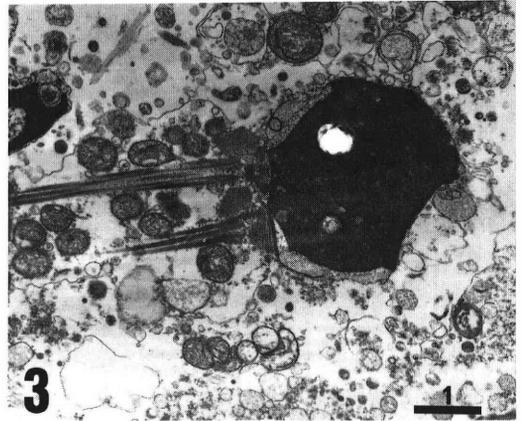


Fig. 3 TEM of the spermatozoon with two axonemes. (bar: μm)



Fig. 4 The late spermatid in semen. Decondensed three nuclei and malformed tail are seen. (bar: μm)

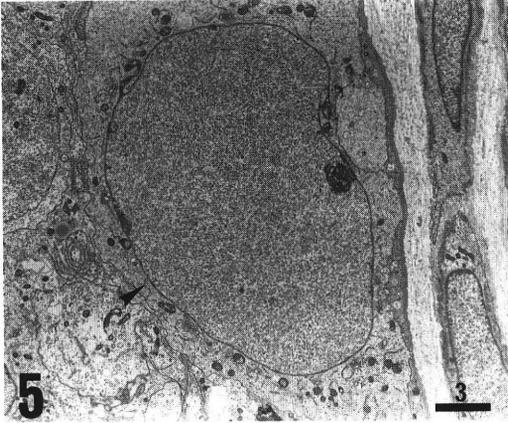


Fig. 5 TEM of giant spermatogonia (arrow) (bar: μm)

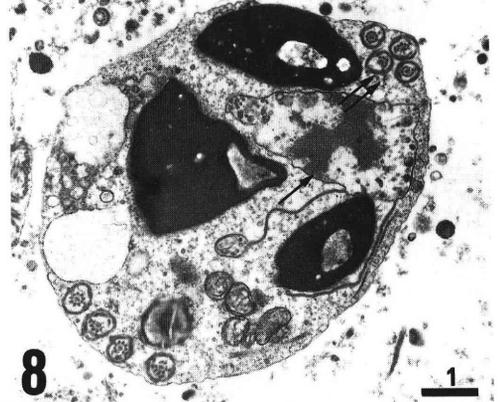


Fig. 8 Late spermatid seen in semen. Three nuclei with vacuoles, malformed acrosome (arrow) and four coiling tails (double arrow) are seen. (bar: μm)

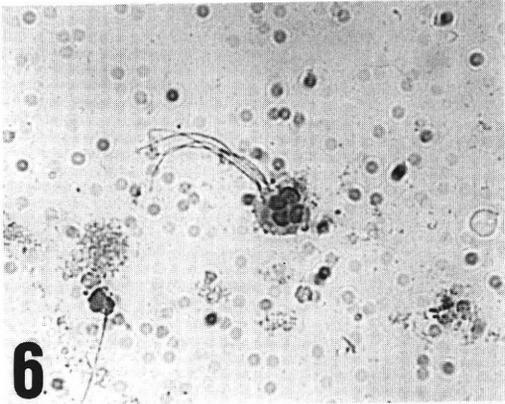


Fig. 6 LM of the sperm with four nuclei and tails.

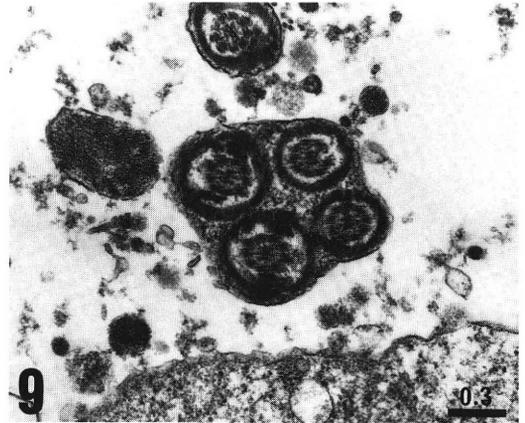


Fig. 9 Oblique view of four axonemes seen in common cytoplasm. (bar: μm)

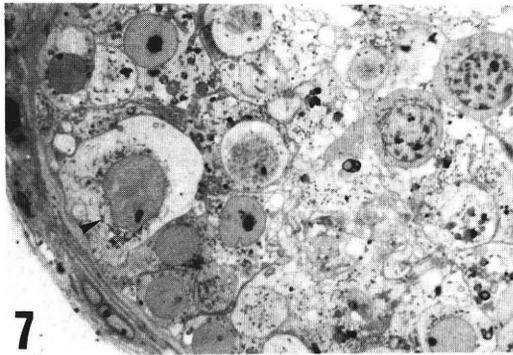


Fig. 7 Giant spermatogonia seen in the testis.

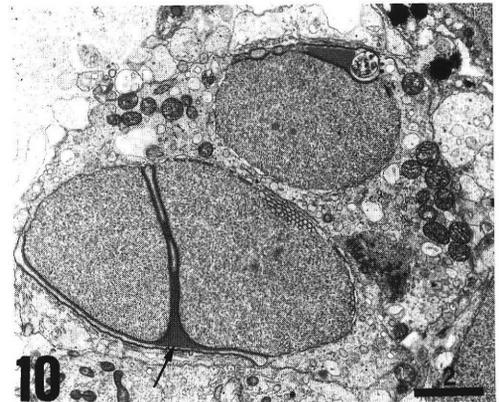


Fig. 10 Early spermatid seen in testis. Three nuclei are present and two of them share common acrosome (arrow). (bar: μm)

る。症例 1 と同様にこのような精子が多くの割合を占めていた。Fig. 7 に示すようにに精巣の光顕像では時に giant spermatogonia がみられた。Fig. 8 に late spermatid とと思われる細胞を示す。共通の原形質膜に囲まれた細胞質膜中に 3 核と acrosome とと思われる構造物、coiling していると思われる 4 尾の断面像、ミトコンドリアなどが認められる。核内には vacuole が

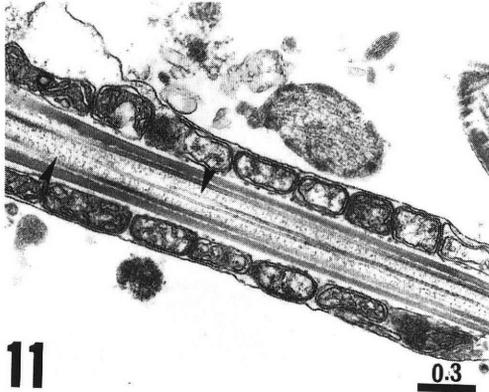


Fig. 11 Longitudinal section of the middle piece of sperm. Central microtubules show "9+1" and "9+0" structures (arrow). (bar: μm)

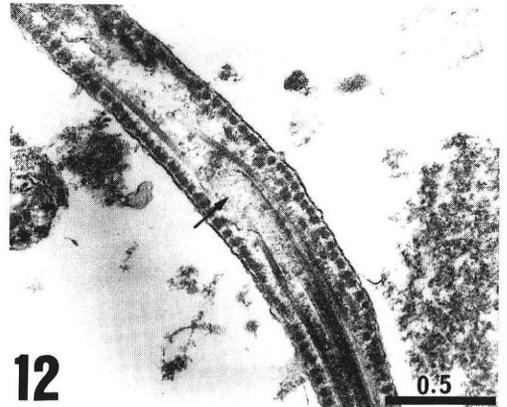


Fig. 12 Longitudinal section of principal piece of the sperm. Fibrous sheath is present but axonemal structures are incomplete (arrow). (bar: μm)

認められ、acrosome の部分はこの断面では核と一部で接触しているのみである。coiling している4尾の断面像では axoneme の $9+2$ の構造は保たれていない。fig. 9 では共通の原形質膜中に4尾が見られる(斜め切れのため、 $9+2$ 構造の詳細は不明である)。fig. 10 は step 2 位の early spermatid と思われるが、この写真では3核が見られ、内2核は acrosome を共有している。精子細胞では step 1 から多核の精子細胞が認められ、acrosome を共有する像もしばしば見られた。

症例3：(28歳、ID：14-5913-5)不妊期間4年。家族歴；弟は1人子供あり。既往歴；特記すべきことなし。精液検査所見 ($n=3$)：量、平均4.3 ml (4.0-4.9)、運動率0%、運動能 (SMEI) 0、精子濃度 $4 \times 10^6/\text{ml}$ (3-5)、生存率33% (26-41)、奇形率86% (62-100)・血清ホルモン値；LH8.8 mlU/ml、FSH8.2 mlU/ml、PRL4.5 ng/ml、T376.0 ng/dl。精巣容量；右13 ml、左15 ml。本症例の精子も前2症例と同様に4核4尾などの多核多尾精子が殆どであったが、精子、精巣の電顕的観察は未検である。

次に精子軸系異常の一例について述べる。

症例4：(25歳)不妊期間2年。精液検査所見；量3.5 ml、運動率0%、運動能 (SMEI) 0、精子濃度 $195 \times 10^6/\text{ml}$ 、生存率67%、奇形率7%。Fig. 11, 12 に精子尾部中間部および主部の電顕像を示す。中間部軸系では双微細管が1本または0本のところがあり、主部軸系では fibrous sheath の構造はみられるものの、 $9+2$ の軸系構造を全く欠く所もみられる。電顕観察上、精子尾部軸系の殆どにこのような異常が観察された。

考 察

今回多核多尾精子症として紹介したような例は、家畜では古くから知られており、遺伝性も示唆されている²⁾。ヒトでは現在まで8件の報告があり²⁾、最近では Nistal ら³⁾、Escalier ら⁴⁾、Zukerman ら⁵⁾が報告している。内でも Escalier らは "large head and multiple flagella" (巨頭多尾精子症)として6例を報告し、その臨床像、精子の電顕像などについて詳細に検討している。精液所見では今回の結果と同様に、乏精子症、精子生存率の低下、奇形精子の増加、精子運動性の著しい低下などが指摘されており、核の大きさは通常の約3倍、尾部は平均3.6本であったと報告している。頭部では核の空胞、核染色質の濃縮不全、acrosome 形成不全など、尾部では軸系の構造異常が指摘されている。精子運動性の低下の原因として精子生存率の低下、軸系の構造異常、複数尾の協調運動不全などが想定されている。そして実験動物での結果の類推から、これらの異常は精子発生の減数分裂と精子形成過程の異常に起因するものとしている。

今回の3症例は精液検査所見は Escalier らの報告とほぼ同様であったが、頭部は光顕、電顕上、巨大核というより多核といったほうが適当と思われたので、多核精子症とした。尾部の詳細な検討は施行していないが、精子運動性の低下の原因は Escalier らの述べるごとくであろう。

このような奇形精子が発生する真の原因は不明と言わざるを得ない。しかし精巣の電顕的観察で共通の acrosome を有する多核の spermatid が早い stage から見られたことから、少なくとも spermiogenesis

の初期からこのような変化がおこっていると思われる。今回のように多核精子細胞が giant spermatogonia や multinucleated spermatogonia とともに観察されることは、老人や不妊症の精巣で報告されており⁶⁾、一般的には精子発生の退行的変化 (degenerative process) と考えられている⁷⁾。しかし本例のような極めて特異的な形態異常を、aging testis などで見られる退行的変化と同列に処理していいものかについては疑問である。本来的に精祖細胞の形態異常がみられる精巣で、減数分裂異常 (核の分裂に伴う細胞質の分裂が無いなど) があり、精子形成異常も伴うと本症例のような奇形精子が生まれると想定できるが、更に今後の検討が必要である。

本症例のような奇形は、頭部、尾部共に異常が見られるため、臨床的に治療は困難と思われる。Escalier⁴⁾は原因を遺伝的なものと想定しているが、Zukerman⁵⁾は外的要因を述べており、原因が明らかになれば、あるいは治療も可能なのかもしれない。

次に症例4のような精子軸系異常についてであるが、同様の例は“9+0 Immotile spermatozoa in an infertile man”として Baccetti⁸⁾により報告されている。すなわち、気管支線毛は正常で、精子軸系の central microtubules, central sheath のみを欠き (dynein arm は正常) 精子運動性を全く欠く例である。又 Baccetti⁹⁾は immotile cilia syndrome とされる例で、精子軸系を全く欠く例 (axonemeless case) を報告している。本症例は必ずしも検索が充分でないが、9+1, 9+0 軸系、軸系欠損をみたことから上記の報告例と近縁の例と思われる。

今回も含めた一連の報告から、精子運動性が著しく減弱している例では、精子の構造異常が高率に見られることが判明した。しかし以上の例の他にも男性不妊症の原因となりうる精子構造異常は存在し、今後更に検討されるべきである。現在まで判明している遺伝が予想されるヒトおよび家畜の精子構造異常は、小島の総説を参照されたい^{2,10)}。現在の所、遺伝が予想されるものに対しては有効な治療法は無い。しかし以前我々が指摘したごとく¹⁾、顕微受精 (microfertilization) は尾部の構造異常例に対し、有効な方法となり得るし、本来的にはこのような症例が顕微受精の真の適用例であろう。又膿精液症で精子運動性の低下がみられるものに対しては薬物療法が有効である場合もある。従って精子無力症をみた場合、漫然と治療を行う前に光顕、電顕による精液の詳細な観察が必要とされ、場合によっては治療の道を開く第一歩となると思われる。

文 献

- 1) 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: 338, 1987
- 2) 小島義夫: 遺伝が予想される精子の形態異常: 尾部, 日不妊会誌, 33: 438, 1988
- 3) 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
- 4) Escalier, D.: Human spermatozoa with large heads and multiple flagella: a quantitative ultrastructural study of 6 cases, Biol. Cell, 48: 65, 1983
- 5) 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
- 6) Holstein, A. F. and Eckmann, C.: Multinucleated spermatocyte and spermatid in human seminiferous tubules, Andrologia, 18: 5, 1986
- 7) Nistal, M., Codesal, J. and Paniagua, R.: Multinucleate spermatid in aging human testes, Arch. Androl., 16: 125, 1986
- 8) Baccetti, B., Burrini, A. G., Maver, A., Pallini, V. and Renieri, T.: “9+0” immotile spermatozoa in an infertile man, Andrologia, 11: 437, 1979
- 9) Baccetti, B., Burrini, A. G. and Pallini, V.: Spermatozoa and cilia lacking axoneme in an infertile man, Andrologia, 12: 525, 1980
- 10) 小島義夫: 遺伝が予想される精子の形態異常: 頭部, 日不妊会誌, 33: 187, 1988

Fine structure of asthenozoospermia in infertile men 6. report of three cases of the sperm with multiple nuclei and flagella and a case of the sperm with abnormal axonemes

Kazuhiro Satoh, Seiichi Orikasa,
Ikuro Maehara, Sigeaki Satoh,
Masaru Takahashi and Masayosi Hiramatsu

Department of Urology, Tohoku University
School of Medicine,
Sendai 980, Japan

Three cases of the spermatozoa with multiple nuclei and flagella and a case of the spermatozoa with axonemal abnormalities were presented. In the former cases, sperm concentration, proportion of live spermatozoa and sperm motility were low. Fine structures of testes and spermatozoa revealed

giant and multinucleated spermatogonia, multinucleated early spermatids and abnormalities of acrosomal, nuclear, flagellar structures. These findings suggest that the origin of the sperm defects might be in meiosis and spermiogenesis.

In the latter case, axonemal abnormalities such as "9+0", "9+1" axonemes and "axonemeless" tail were observed and spermatozoa were completely immotile.

(受付: 1989年10月21日)

VASOVASOSTOMY WITH LENGTHENING OF THE VAS DEFERENS FOR THE TREATMENT OF OBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA

Hiroshi TAKIHARA, Jisaburo SAKATOKU, Kazuhiko ISHIZU,
Yoshikazu BABA, Takuya UENO and Kazuo NAGATA

Department of Urology, Yamaguchi University
School of Medicine, Ube 755, Japan

Abstract: Vasovasostomy is a valuable procedure for the treatment of obstructive azoospermia. However, anastomosis of the distal and proximal ends of the vas deferens is difficult to perform when the defect is long, e. g., due to injury during previous inguinal surgery or the congenital partial absence of the vas deferens. We have documented that it is possible to compensate for a vas deferens defect of than 10 centimeters by mobilizing the convoluted initial segment of the vas deferens together with the epididymal tail. One of 5 patients achieved a normal sperm count with positive motility postoperatively, and this patient impregnated his wife, and a normal, healthy, full-term girl (2820g) was born.

Thus, our clinical experience suggests that this method is safe and effective for the treatment of obstructive azoospermia in some patients with a large defect in the vas deferens.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 727—731, 1990)

Introduction

Vasovasostomy is a valuable procedure for the treatment of obstructive azoospermia¹⁻³.

However, anastomosis of the distal and proximal ends of the vas deferens is difficult to perform in patients with a long defect, e. g., due to an injury during previous inguinal surgery⁴⁾ or the congenital partial absence of the vas deferens. To treat such patients, we have devised a new surgical technique involving lengthening of the vas deferens by mobilization of the convoluted initial segment of the vas together with the epididymal tail. This technique allowed us to perform a microscopic end-to-end anastomosis of the vas deferens with relative ease.

Materials and methods

The possibility of microsurgical mobilization of the convoluted initial segment of the vas deferens and the epididymal tail initially was examined using a castrated testis obtained from a patient with prostatic cancer, and vas lengthening by more than 10 cm following mobilization of the convoluted initial segment and epididymal tail was achieved (Fig. 1). This encouraged us to attempt vasovasostomy with lengthening of the vas in patients with obstructive azoospermia due to extensive defects of the vas deferens in whom no other alternative for restoring fertility was available. Four illustrative case reports are presented.

Case 1. A 36-year-old man presented with the complaint of infertility. He had undergone bilat-

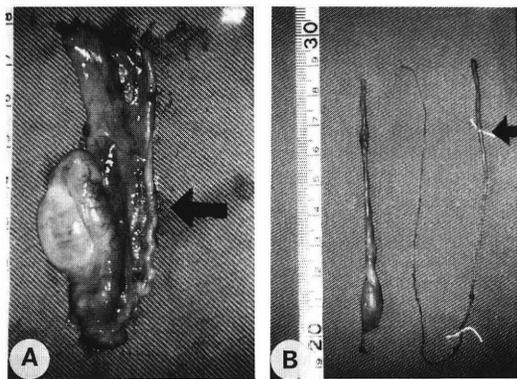


Fig. 1 Experimental vasovasotomy with lengthening of the vas in a surgical specimen resected for prostatic carcinoma. A, The initial segment of the vas deferens, the epididymis, and the testis before mobilizing the convoluted segment of the vas. B, Mobilization of the convoluted initial segment of the vas deferens and the epididymal tail allowed the advancement of the vas for more than 10 centimeters.

eral inguinal herniorrhaphy at the age of 1 year. Semen analysis showed azoospermia. Both testes were normal size as measured by the punched-out orchimeter⁵⁾.

Bilateral testicular biopsies were performed, and Johnsen's score⁶⁾ was 9.4 for the left testis and 9.0 for the right testis. Vasography revealed bilateral obstruction of the vas deferens. At operation a large defect was found of the inguinal vas deferens which made conventional end-to-end anastomosis difficult. However we were able to perform a microscopic end-to-end two-layer anastomosis successfully using 9-0 nylon monofilament sutures without any tension by mobilizing the convoluted initial segment of the vas deferens and the epididymal tail (Figs. 2 and 3).

Case 2. A 34-year-old man presented with infertility. He had undergone bilateral inguinal herniorrhaphy and right orchiectomy at 5 years of age. Vasography revealed obstruction of the left vas. Left testicular biopsy showed slight hypospermatogenesis but the size was normal.

At surgery a long defect of the left inguinal vas deferens was found. A microscopic, end-to-end, two-layer anastomosis was performed by mobilizing the initial segment of the vas deferens and the epididymal tail (Fig. 4).

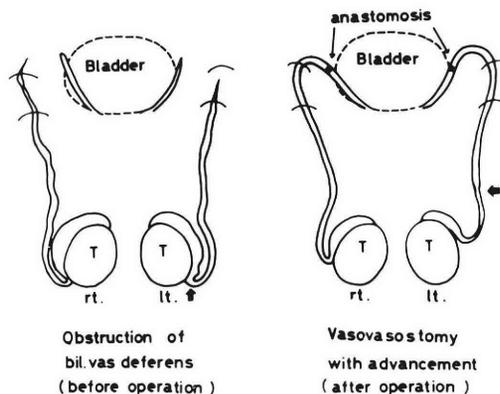


Fig. 2 Diagram showing bilateral obstruction of the vas deferens and vasovasostomy by mobilization of the convoluted initial segment of the vas deferens and the epididymal tail (Case 1).

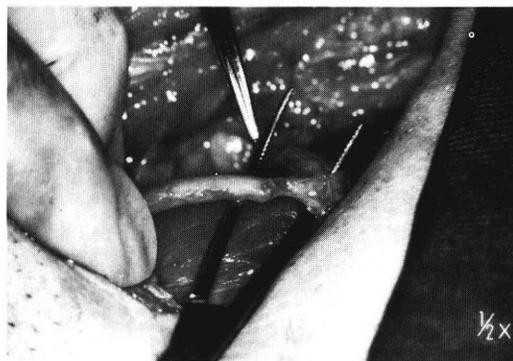


Fig. 3 Operative photograph showing vasovasostomy performed using a 2-layer microsurgical anastomosis performed with 9-0 nylon monofilament (Case 1).

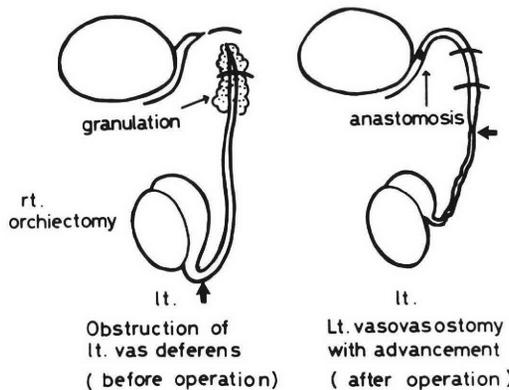


Fig. 4 Diagram showing right orchiectomy and left ductal obstruction after previous bilateral herniorrhaphy. Left vasovasostomy was performed by mobilizing the vas deferens and epididymal tail (Case 2).

Case 3. A 33-year-old man was referred to our clinic with the diagnosis of obstructive azoospermia following bilateral inguinal herniorrhaphy performed in childhood. Previous bilateral vasovasostomies had failed to restore fertility. Bilateral testicular biopsies showed normal spermatogenesis.

At operation, a long segment of obstruction of both ducts was noted, but we were able to perform a microscopic, end-to-end, two-layer anastomosis by mobilizing the initial segment of the vas and the epididymal tail (Fig. 5).

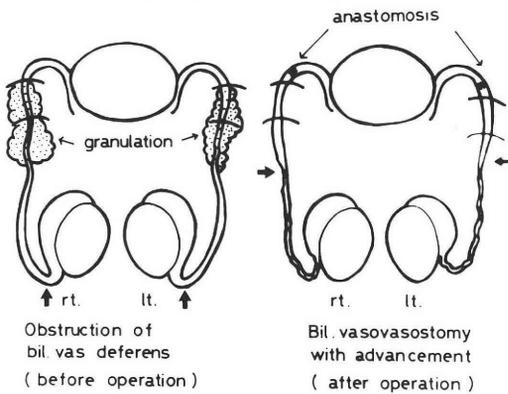


Fig. 5 Diagram showing bilateral ductal obstruction of the vas deferens. Bilateral vasovasostomy was performed using the vas lengthening technique (Case 3).

Case 4. A 32-year-old man presented with infertility. He also had a history of bilateral inguinal herniorrhaphy and left orchietomy at 1 year of age. Semen analysis showed azoospermia. Right testicular biopsy revealed slight hypospermatogenesis although the testicular size was normal. No sperm were present in the right vas deferens and only scattered sperm were present in the body of the epididymis. Multiple segments of obstruction of the right seminal tract made ipsilateral vasoepididymostomy impossible. Since the contralateral vas deferens was confirmed to be patent, transseptal vasoepididymostomy was performed without tension by partially separating the right epididymal body from the testis (Fig. 6).

Results

Among these four patients, examination of fluid from the testicular end of the vas deferens showed

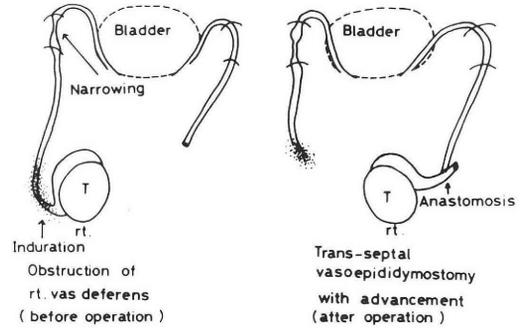


Fig. 6 Diagram showing right ductal obstruction and left orchietomy after bilateral herniorrhaphy. Transseptal vasoepididymostomy was performed by partially separating the right epididymal body from the testis (Case 4).

complete sperm in one case and only the heads of sperm in three cases. Testicular biopsy revealed Johnsen's score to be more than 9.0 in two cases and between 8.0 and 9.0 in two cases (Table).

Postoperative semen analysis demonstrated a normal sperm count with positive motility in one case (Case 1), the presence of immotile sperm in two cases (Cases 2 and 3), and azoospermia in one case (Case 4). The wife of the patient in Case 1 became pregnant thirteen months postoperatively (Table 1).

Comment

Obliteration of the vas deferens can occur as a result of its inadvertent severing or ligation during herniorrhaphy^{3,4)}. Inguinal wound infection or extensive scar formation also can lead to obstruction of the vas. It often is not fully appreciated how tiny and delicate a structure the vas deferens is in infants and young children, and these patients are at greatest risk for this complication. Indeed, bilateral herniorrhaphy in infants has been reported to result in ductal obstruction in 2% of cases, a statistic related to the inclusion of the vas deferens in the hernia sac in about 15% of cases⁴⁾.

Vasovasostomy to repair the vas subsequent to herniorrhaphy is more difficult than after elective vasectomy because the ends of the vas almost invariably are entrapped in scar tissue, and their anatomic relations obscured. Sometimes the vas has been ligated, cut, or obliterated at several

Table 1 Summary of testicular biopsy and semen analysis results in patients undergoing vasovasotomy with vas lengthening for obstructive azoospermia

Smear from cut end of vas deferens	Testicular biopsy (Johnsen's score)	Postoperative semen analysis (M = motility)
Case 1. complete sperm	almost normal spermatogenesis (lt. : 9.4 rt. : 9.0)	after 2 months 17.2 × 10 ⁶ /ml, M = 0% after 6 months 31.8 × 10 ⁶ /ml, M = 10% after 12 months* 58 × 10 ⁶ /ml, M = 10%
Case 2. sperm heads only	hypospermatogenesis (lt. : 8.9)	after 1 months 1.0 × 10 ⁶ /ml, M = 0% after 12 months scattered sperm
Case 3. sperm heads only	normal spermatogenesis	after 1 month 4 × 10 ⁶ /ml, M = 0% (lost to follow up)
Case 4. sperm heads only	hypospermatogenesis (rt. : 8.7)	azoospermia

* Wife was impregnated.

points and resection of these segments is necessary. It had been thought that vasovasostomy without tension could be performed only by mobilization of the vas from the lateral pelvic wall and by partial testicular elevation. Silber⁷⁾ even has proposed autotransplantation of the contralateral vascularized vas, if the vas of the better testicle was partially resected or is unusable for some other reason.

We have documented that it is possible to compensate for a vas deferens defect of more than 10 centimeters by mobilizing the convoluted initial segment of the vas deferens together with the epididymal tail. One of 4 patients showed a normal sperm count with positive motility postoperatively, and he impregnated his wife; a normal, healthy, full-term girl (2820g) was born. This pregnancy rate of 25% is rather low in comparison to other reports of vasovasostomy after vasectomy¹⁾.

However, our series was composed of patients with long-standing iatrogenic obstruction and marked damage to the vas deferens.

Ductal recanalization by mobilizing the convoluted segment of the vas in three patients with obstructive azoospermia resulted in sperm in

the ejaculate in all cases (one with normozoospermia and two with oligozoospermia). One other patient who underwent vasoepididymostomy with vas lengthening by partial separation of the epididymis from the testis, had no sperm postoperatively.

Thus, our clinical experience suggests that elongation of the vas deferens by mobilizing the initial convoluted segment and the epididymal tail to allow vasovasotomy to be performed without tension is safe and effective for the treatment of obstructive azoospermia in some patients with a large defect in the vas deferens.

References

- 1) Cos, L. R., Valvo, J. R., Davis, R. B. and Cockett, A. T. K.: Vasovasostomy: current state of the art, *Urology*, 22: 567, 1983
- 2) Urry, R. L., Thompson, J. and Cockett, A. T. K.: Vasectomy and vasovasostomy. II. A comparison of two methods of vasovasostomy: Silastic versus chronic stents, *Urology*, 27: 945, 1976
- 3) Urry, R. L., Dougherty, K. A. and Cockett, A. T. K.: Vasectomy and vasostomy. I. Timing of histologic changes in immature and mature dog testis after vasectomy, *Fertil. Steril.*, 27: 937, 1976

- 4) Wagenknecht, L. V.: Vasovasostomy after herniotomy, *Microsurgery in Urology*, 264, Thieme Inc., 1985
- 5) Takihara, H., Sakatoku, J., Fujii, M., Nasu, T., Consentino, M. J. and Cockett, A. T. K.: Significance of testicular size measurement in andrology. I. A new orchimeter and its clinical application, *Fertil. Steril.*, 39: 836, 1983
- 6) 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
- 7) Silber, S. J.: Epididymal extravasation following vasectomy as a cause for failure of vasectomy reversal, *Fertil. Steril.*, 31: 309, 1979

閉塞性無精子症の治療としての 精管延長による精管精管吻合術

山口大学医学部泌尿器科

瀧原博史 酒徳治三郎 石津和彦
馬場良和 植野卓也 永田一夫

閉塞性無精子症の外科的治療として精管精管吻合術が施行されて来たが、鼠径部の手術歴や部分的精管欠損を有する症例では、精管の近位側と遠位側の吻合が困難な場合が経験される。これらの症例への対処として、我々は屈曲部精管および精巣上体尾部を延長することにより、十分に10 cm以上の精管の不足を代償することが可能であることを実証した。当科で経験した5例の上記症例に対して本術式を臨床応用し、1例に術後、運動性を有する正常精子濃度を確認し、正常な挙児を得た。したがって、本術式は上記の様な閉塞性無精子症への外科的治療として臨床上有用と考えられた。

(受付: 1990年5月1日特掲)

精索静脈瘤の手術成績 ——妊娠例と非妊娠例の比較——

Operative Results for Varicocele ——Comparative Study between Pregnant and Impregnant Cases——

千葉大学医学部泌尿器科教室 (主任: 島崎淳教授)

角 谷 秀 典	小 竹 忠	始 関 吉 生
Hidenori SUMIYA	Tadashi KOTAKE	Yoshio SHISEKI
高 原 正 信	石 井 弘 之	島 崎 淳
Masanobu TAKAHARA	Hiroyuki ISHII	Jun SHMAZAKI

Department of Urology, Chiba University
School of Medicine, Chiba 280, Japan
(Director: Prof. J. Shimazaki)

千葉大学泌尿器科において、10年間に不妊を主訴とし精索静脈瘤に対して手術療法を施行し、術後1年以上経過を追えた112例を対象とし、妊娠の予後因子について検討した。

- 1) 妊娠率は36.6%であった。精子濃度別にみると無精子症の成績は不良であった。
- 2) 非妊娠群では長い不妊期間のものが多く含まれていた。
- 3) 術前血清FSH・プロラクチン値の上昇例が、非妊娠群で多くみられた。
- 4) 術後3カ月・6カ月の精液所見の改善は、妊娠の有無と関連をみとめたが、12カ月の改善とは関連をみなかった。

以上より、術後の改善が期待できる因子として、短い不妊期間、FSHやプロラクチンの正常範囲、術後早期の精液所見の改善が挙げられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 732—736, 1990)

緒 言

精索静脈瘤は造精機能障害をきたし、男子不妊症の基礎疾患の一つとして重要である¹⁾。また本症は、高位結紮術などの手術療法や血管カテーテルを用いた内精静脈塞栓術により造精機能の改善がみられ高い妊娠率が報告されている²⁾。しかし妊娠例と非妊娠例について比較した報告は少ない³⁾。今回、われわれは術後1年以上経過を追えた112例について、妊娠例と非妊娠例について比較し、本症の予後因子について検討した。

対象および方法

千葉大学泌尿器科において、1979年4月より1989年3月までの10年間に不妊を主訴とした精索静脈瘤手術施行例は167例であり、精索静脈瘤の診断は、立位バルサルバ法をとらせ視・触診にて行なった。精索静脈瘤の分類は鈴木⁴⁾の分類による。手術法はmodified Palomo法による内精静脈の高位結紮術⁵⁾を行なった。術前精液所見が、精子濃度 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 未満または精子運動率50%未満を手術対象とした。このうち、術後1年以上妊娠の有無について経過を追えた112例について、男性側因子を検討した。女

側因子について産婦人科的に異常のある例は除外した。妊娠例 41 例，非妊娠例 71 例であった。非妊娠例では無精子症は 10 例であった。手術より初回妊娠成立までの期間は，一年以内 13 例 (36%)，一年以上 2 年以内 14 例，2 年以上 14 例であり，平均 20.1 カ月であった (図 1)。

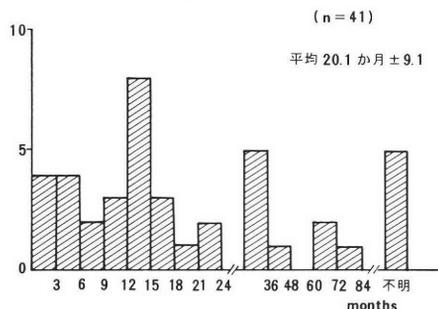


図 1 手術より初回妊娠成立までの期間

睾丸容積の測定は山口大式 orchimeter を用い，精液検査は 5 日以上禁欲させた後，用手法で採取させ，室温に 30 分放置後鏡検した。血清 LH・FSH・プロラクチン・テストステロンの測定はそれぞれ HLH 栄研キット (正常値 4-20 mIU/ml)，HFSH 栄研キット (2-15 mIU/ml)，プロラクチンリアビーズ II キット (ダイナボット社) (30ng/ml 以下)，テストステロン I¹²⁵ キット (栄研) (4-7ng/ml) によった。1989 年 2 月以降は，スパクー S LH, FSH キットをもちい旧法に換算した。なお，睾丸容積の計測は，112 例中 104 例に，LH・FSH・テストステロンは 92 例，プロラクチンは 75 例に行なった。術後 3 カ月・6 カ月・12 カ月の精液所見を飯塚らの治療効果判定基準⁹⁾を用いて判定した。

結 果

手術時年齢は，妊娠群 30.9 歳，非妊娠群 31.7 歳であり，両者で差をみとめなかった (図 2)。不妊期

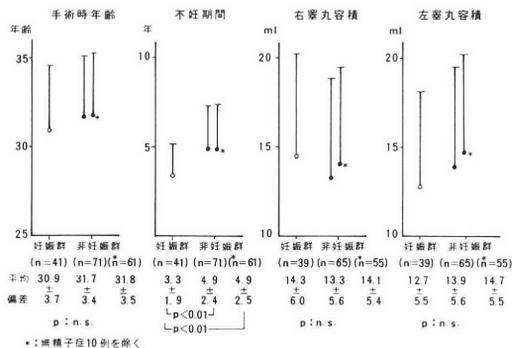


図 2 妊娠の有無と手術時年齢・不妊期間・睾丸容積との関係

間は，妊娠群 3.3 年，非妊娠群では無精子症の有無によらず 4.9 年であった。左右の睾丸容積とも，妊娠群と非妊娠群・無精子症を除いた非妊娠群との間に差をみなかった。左精索静脈瘤の分類は，妊娠群 I 度 1 例，II 度 17 例，III 度 23 例であり，非妊娠群 I 度 3 例，II 度 17 例，III 度 51 例 (うち無精子症 II 度 3 例，III 度 7 例) であり有意差はなかった。また両側精索静脈瘤は，妊娠例 3 例 (右 I 度 1 例，II 度 2 例)，非妊娠例 10 例 (右 I 度 3 例，II 度 5 例，III 度 2 例) であり，左右の精索静脈瘤の分類で両群で差をみなかった。

術前精液所見は，妊娠群の精液量 3.7 ml，非妊娠群 3.8 ml であり両群に差を見なかった (図 3)。精子

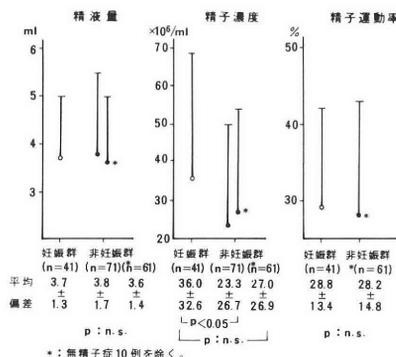


図 3 妊娠の有無と術前精液所見との関係

濃度は，妊娠群で 36.0 × 10⁶/ml，非妊娠群 23.3 × 10⁶/ml であり，妊娠群では 27.0 × 10⁶/ml と，妊娠群に比し低い傾向であった。精子運動率は妊娠群 28.8%，無精子症を除いた非妊娠群 28.2% であった。

術前血清ホルモン値は，血清 LH・テストステロン値は妊娠群と非妊娠群・無精子症を除いた非妊娠群で差をみとめなかったが，血清 FSH 値は妊娠群 11.2 mIU/ml，非妊娠群 15.4 mIU/ml，無精子症を除いた非妊娠群 13.3 mIU/ml であり，非妊娠群では高値であった (図 4)。血清プロラクチン値も FSH と同

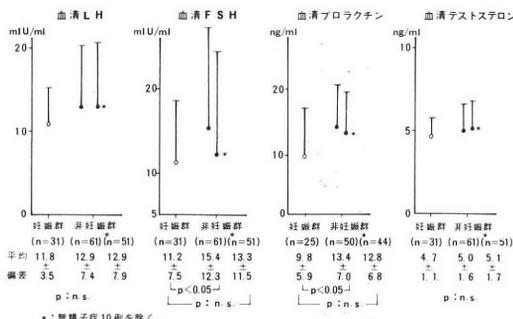


図 4 妊娠の有無と術前血清ホルモン値との関係

様、非妊娠群で高値であった。

飯塚らの治療効果判定基準のうち、著効・有効を有効、不変・悪化を無効とした。精子濃度の改善は、術後3カ月では妊娠群のうち有効21例・無効18例、非妊娠群では有効12例・無効53例（無精子症を除いた場合44例）であり、妊娠群で有意の改善をみた。術後6カ月でも同様に妊娠群で改善を多くみとめたが、術後12カ月では両群間で精子濃度の改善で差が

なかった。術後12カ月で非妊娠群の改善率が高まっているのは、改善するが妊娠に至っていない例が含まれていると考えられた。精子運動率の改善は、術後6カ月では妊娠群のうち有効15例・無効16例であり、妊娠群で高い有効率を示した。術後3カ月・12カ月では精子運動率の改善と妊娠との間に一定の関係をみとめなかった（表1）。

表1 妊娠の有無と術後精液所見の改善との関係

	精子濃度の改善					
	術後3カ月		術後6カ月		術後12カ月	
	有効	無効	有効	無効	有効	無効
妊 娠 群	21	18	20	11	15	10
	(n = 40)		(n = 31)		(n = 25)	
非 妊 娠 群	12	53	16	47	19	33
	(n = 65)		(n = 63)		(n = 52)	
無精子症を除いた非妊娠群	12	44	16	38	19	25
	(n = 56)		(n = 54)		(n = 44)	

* : p < 0.01 (x²検定)

	精子運動率の改善					
	術後3カ月		術後6カ月		術後12カ月	
	有効	無効	有効	無効	有効	無効
妊 娠 群	17	22	15	16	8	17
	(n = 39)		(n = 31)		(n = 25)	
非 妊 娠 群	14	42	14	40	12	32
(無精子症を除く)	(n = 56)		(n = 54)		(n = 44)	

* : P < 0.05 (x²検定)

考 案

精索静脈瘤と男子不妊症との関係については、正常男性において10~15%に精索静脈瘤がみとめられ⁷⁾、不妊症を伴う本症において術後に必ずしも妊孕性が回復するとはいえないことから両者の関連に否定的な考えもある⁸⁾。しかし、精索静脈瘤では精液所見の異常、術後の精液所見の改善をみる事が多く、さらに術後6~8カ月に妊娠をみる事が多いことから不妊症との関連を肯定するのが一般的である^{9,10)}。また、手術群との無治療群を比較し、前者で精液所見の改善（特に精子濃度・前進運動精子の割合）・妊娠率が有意に良好であったと報告している¹¹⁾。精索静脈瘤不妊の成因としては、睾丸温度の上昇^{12,13)}、プロスタグランディンの腎よりの逆流^{14,15)}などが挙げられており、男子不妊症の原因として21~41%を占めており^{2,16)}、精索静脈瘤術後の妊娠率は8~53%と報告されているが¹⁷⁾、対象症例の精液所見・術後観察期間

は一定ではない。自験例では、36.6%の妊娠率であり諸家の報告とほぼ一致していた。手術適応については、Comhaire¹⁸⁾は正常精液所見・無精子症・血中FSH高値例は除外すべきであり、またCockettら¹⁹⁾は、睾丸容積の低下・stress pattern (20%以上)・運動率低下・乏精子症を適応としている。術後3~5カ月経過して乏精子症の改善しないものは、クエン酸クロミフェン療法¹⁶⁾、HCG療法²⁰⁾の併用を提唱しており、自験例でも1年経過して改善しない例では種々の薬物療法を併用した。広川ら¹⁹⁾は、術後3年半で精液所見の改善した例を報告しているが、術後6カ月で改善するのが多く²⁰⁾1年で薬物療法を併用するのが妥当と考える。

年齢は妊娠群30.9歳、非妊娠群31.7歳と両者に差はなく、不妊期間が妊娠例のほうが有意に短いのは、田中ら³⁾の6大学の集計と同じであった。睾丸容積については、右睾丸に比し左睾丸で低下しているという報告が一般的である²¹⁾。自験例では妊娠群で左

睾丸容積の低下を認めたが、非妊娠群では左右差を認めなかった。Manchini-Fabrisら²²⁾は左睾丸容積が対象として精子濃度 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上で低運動率の例を含んでいるためと考える。

をみなかった。また睾丸容積について比較する場合、正常人で米国は左 23.1 ml, 右 26.4 ml, 日本は左右とも 17.5 ml と報告されており¹⁶⁾、人種差を考慮する必要がある。術前精子濃度は妊娠群で高値であり、対象として精子濃度 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上で低運動率の例を含んでいるためと考える。

精索静脈瘤では血清 LH・FSH・テストステロン値は正常であるという報告もあるが²³⁾、LH・FSH は軽度上昇し LH—RH に対し過大反応を示すといわれている²⁴⁾。またテストステロンも軽度低下しており Leydig 細胞の機能低下が指摘されている²⁵⁾。非妊娠群では FSH が有意に上昇しているのは、既に存在している造精機能の低下によると考えられた。プロラクチンと睾丸機能との関係は十分明らかにはされていないが、睾丸機能障害ではプロラクチンの過剰分泌が報告されており²⁶⁾、自験例で非妊娠群が高値をとったものと考えられた。

術後の精液所見の改善は、報告者により症例・判定基準に違いがあるが 58%~71% と良好な成績が報告されており^{2,17,27)}、自験例では3カ月では精子濃度 31%、精子運動率 33% の改善率であった。妊娠の有無と3カ月・6カ月の精液所見の改善が関連し、12カ月では関連しなかったことから、術後早期に造精機能の回復の見られる症例の予後は良好であると考えられた。

不妊を主訴とした精索静脈瘤手術例のうち、妊娠について1年以上の経過を追えた 112 例のうち妊娠を見たものは 41 例 (36.6%) であった。非妊娠群では、より長い不妊期間であり、術前 FSH、プロラクチン値の上昇をみとめた。術後3カ月・6カ月の精液所見の改善は妊娠の有無との関連をみとめ、12カ月の改善とは関連をみとめなかった。

文 献

- 1) 伊藤晴夫, 柳 重行, 川村健二, 片海善吾, 五十嵐辰男, 角谷秀典, 布施秀樹, 宮内大成, 島崎 淳: 精索静脈瘤不妊症の成因, 精索静脈瘤は男性不妊の原因か, 西日泌尿, 48: 1105, 1986
- 2) Dubin, L. and Ameler, R. D.: Varicocelectomy: Twenty-five years of experience, Int. J. Fertil. Steril., 33: 226, 1988
- 3) 田中啓幹, 木内弘道, 酒徳治三郎, 瀧原博史, 岩本晃明, 吉田謙一郎, 藤尾幸司, 伊藤晴夫: 精索静脈瘤の治療成績, 西日泌尿, 48: 1147, 1986

- 4) 鈴木良徳: 精索静脈瘤の研究, 日泌尿会誌, 58: 1105, 1967
- 5) Palomo, A.: Radical cure of varicocele by a new technique: preliminary report, J. Urol., 61: 604, 1949
- 6) 飯塚理八, 己斐秀豊, 高橋輝雄, 仁科進弘: 男性不妊に対する Cyanocobalamin の効果, 臨産婦, 20: 488, 1966
- 7) Clarke, B. G.: Incidence of varicocele in normal men and among men of different ages, JAMA, 198: 1121, 1966
- 8) Vermeulen, A. and Vandeweghe, M.: Improved fertility after varicocele correction: fact or fiction?, Fertil. Steril., 42: 249, 1984
- 9) Spark, R. F.: The infertile male: 222, Plenum Medical Book Co., 1988
- 10) Aafjes, J. H. and van-der-Vijver, J. C. M.: Fertility of men with and without a varicocele, Fertil. Steril., 43: 901, 1985
- 11) Okuyama, A., Fujise, H., Matsui, T., Doi, Y., Takeyama, M., Nakamura, M., Namiki, M., Fujioka, H. and Matsuda, M.: Surgical repair of varicocele: Effective treatment for subfertile men in a controlled study, Eur. Urol., 14: 298, 1988
- 12) 松下當巳, 島谷 昇, 広岡九兵衛, 守殿貞夫, 岡伸俊, 浜口毅樹, 岡田 弘, 羽間 稔, 松本 修, 石神襄次: 赤外線サーモグラフィを用いた精索静脈瘤の臨床的研究, 日不妊会誌, 30: 103, 1985
- 13) 河原弘之: 赤外線 thermography による精索静脈瘤の臨床的研究, 西日泌尿, 50: 135, 1988
- 14) Ito, H., Fuse, H., Minagawa, H., Kawamura, K., Murakami, M. and Shimazaki, J.: Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients, Fertil. Steril., 37: 218, 1987
- 15) Fuse, H., Sumiya, H. and Shimazaki, J.: Varicocele and male infertility. Human reproduction, Current status/Future prospect, 585, 1988
- 16) Cockett, A. T. K., Takihara, H. and Cocentino, M. J.: The varicocele, Fertil. Steril., 41: 5, 1984
- 17) Greenberg, S. H.: Varicocele and male infertility, Fertil. Steril., 28: 699, 1977
- 18) Comhaire, F. H.: Varicocele infertility an enigma, Int. J. Androl., 6: 401, 1983
- 19) 広川 信, 岩本晃明, 藤井 浩, 松下和彦: 高度の精子形成障害をともなった精索静脈瘤の1例, 日不妊会誌, 23: 113, 1978
- 20) Glezerman, M., Rakowszczyk, M., Lunefeld, B., Beer, R. and Goldman, B.: Varicocele in oligospermic patients: Pathophysiology and results after ligation and division of the internal spermatic vein, J. Urol., 115, 1976
- 21) Spark, R. F.: The Infertile Male: 240, Plenum Medical Book Co., 1988
- 22) Manchini-Fabris, G. F., Canale, D., Basile-Fasolo, C., Di-Coscio, M., Izzo, P. L., Giannotti,

- P., Marino, P., Servadio, L., Baldassari, S. and Fratta, M.: Varicocele and male subfertility: prognostical criteria in the surgical treatment, *Andrologia*, 17:16, 1985
- 23) Swerdloff, R. S. and Walsh, P. C.: Pituitary and gonadal hormones in patients with varicocele, *Fertil. Steril.*, 26: 1006, 1975
- 24) Nagao, R. R., Plymate, S. R., Berger, R. E., Perin, E. B. and Paulson, C. A.: Comparison of gonadal function between fertile and infertile men with varicoceles, *Fertil. Steril.*, 46: 930, 1986
- 25) Weiss, D. B., Rodrigues-Rigau, L. J., Smith, K. D. and Steinberger, E.: Leydig cell function in oligospermic men with varicocele, *J. Urol.*, 120: 427, 1987
- 26) Hudson, R. W.: The endocrinology of varicoceles, *Fertil. Steril.*, 49: 199, 1988
- 27) Saypol, D. C.: Varicocele, *Seminars in Urology*, 2: 82, 1984

**Operative results for
varicocele—Comparative
study between pregnant
and impregnant cases—**

Department of Urology, Chiba University
School of Medicine, Chiba 280, Japan
(Director: Prof. J. Shimazaki)

One hundred and twelve cases of varicocele, who complained male infertility recieved varicocelectomy and pregnancy was obtained at 36.6%. The patients were divided into two groups, pregnant and nonpregnant, and compared with male factors.

Pregnant group showed shorter infertile interval. Higher plasma FSH and prolactin levels were observed in nonpregnant after the operation was well correlated to the pregnancy, but twelve months later pregnancy was not correlated with seminal changes.

In conclusion, factors expecting pregnancy were short infertile interval, low plasma FSH and prolactin, and early changes of seminal findings.

(受付: 1990 年 1 月 17 日)

糖尿病に合併した精管石灰化症の 非閉塞性について

Non-obstruction by Calcification of the Vas Deferens Associated with Diabetes Mellitus

山口大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 酒徳治三郎)

石津和彦 馬場良和 植野卓也
Kazuhiko ISHIZU Yoshikazu BABA Takuya UENO
磯山理一郎 瀧原博史 酒徳治三郎
Riichiro ISOYAMA Hiroshi TAKIHARA Jisaburo SAKATOKU

Department of Urology, Yamaguchi University
School of Medicine, Ube 755, Japan
(Director: Prof. J. Sakatoku)

糖尿病に罹患した25歳未婚男性に尿路結石の検査中偶然に両側精管の石灰化がみとめられた。精管が両側とも閉塞しているか否かを調べる目的で精液検査を行ったところ、精液所見は正常であった。そのためと患者の年齢等から精嚢造形は不必要であるばかりか禁忌であると考え施行しなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 737-740, 1990)

諸 論

精管の石灰化は結核や非特異性炎症等により生じることがあるが、糖尿病患者に合併することが多く¹⁾、本邦では糖尿病患者の4.8~5.9%^{2,3)}に精管の石灰化を合併すると報告されている。しかし、本症は臨床症状を伴うことが少ないために他の疾患の検査時に偶然発見されることが多く⁴⁾、糖尿病に合併した精管石灰化症本邦症例はわれわれが集計した限りでは自験例を含め10例が報告されているにすぎない。今回われわれは、25歳の糖尿病患者に尿路結石の検査をおこなったところ偶然に精管の石灰化をみとめたので若干の文献的考察を加え報告する。

症 例

患者 25歳、未婚男性
主訴 右側腹部痛
初診 昭和63年9月16日

家族歴 特記すべきことなし

既往歴 4歳時に右鼠径ヘルニアのため、10歳時に斜視のため手術を受けた。24歳時に糖尿病を指摘されたが、特に治療は行っていない。輸血歴なし。

現病歴 昭和63年7月30日、右側腹部痛にて某医を受診し、KUBにて両腎結石および右尿管結石を指摘された。明かな結石の自排はなかったが疼痛は消失したため、確認の目的でDIPを行なところ、両腎結石および両側腎盂尿管移行部狭窄がみとめられたために当科紹介となった。

入院時現症 身長164cm、体重72.4kg。血圧120/70mmHg、脈拍74/分整、体温36.4°C。頭部、頸部、および胸部に異常をみとめなかった。肝臓、腎臓および脾臓は触知しえず、両側腎部に叩打痛もみとめなかった。外性器、精管および前立腺に異常をみとめず、精嚢腺は触知しえなかった。

入院時検査成績 末梢血: RBC 523×10^4 /

mm³, WBC 7500/mm³, 白血球分画正常, Plt, 18.3×10⁴/mm³. 尿所見: 淡黄色, 糖(-), 蛋白(-), 潜血(+++), pH 5. 尿沈渣: RBC 20-30/hpf, WBC 2-3/hpf. 血液生化学検査: T. P. 7.3g/ml, FBS 102mg/dl, T-Bil 0.7mg/dl, GOT 78 U, GPT 151 U, LDH 284 U, γ -GTP 185 U, LAP 94 U, BUN 14mg/dl, Cr 1.2mg/dl, UA 7.7mg/dl, Ccr 92.6l/day, Na 141mEq/l, K 4.1mEq/l, Cl 109mEq/l, LH 8.7mIU/ml, FSH 4.3mIU/ml, testosterone 573ng/dl. 75g-glucose tolerance test (BS): 前値 106mg/dl, 30 分値 190mg/dl, 60 分値 262mg/dl, 90 分値 273mg/dl, 120 分値 262mg/dl.

X線検査 KUBにて両腎に小結石を, 両側精管と思われる部位に逆八字状に長さ 35 mm, 直径 3 mmの管状の石灰化陰影をみとめた (Fig. 1). DIPにて両側腎盂腎杯の中程度の拡張と両側腎盂尿管移行部の狭小化をみとめた (Fig. 2)

CTおよび超音波検査 脂肪肝をみとめた.

精液検査 精液量 2.5ml. 顕微鏡的には, 精子数 102×10⁶/ml, 精子運動率 84%, 精子奇形率 25%, RBC(-), WBC(-). 精子自動分析装置 (Motility Analyzer HTM-2030) を用いて測定した精子運動能⁵⁾は, mean path velocity 43 μ m/sec (正常 35-40),

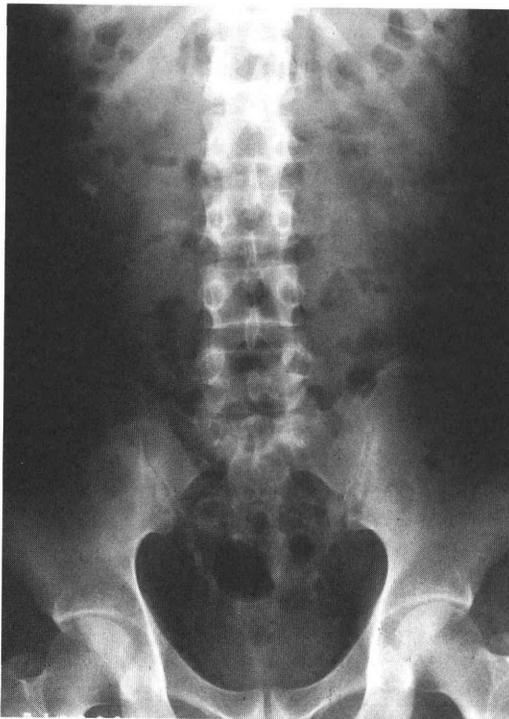


Fig. 1 KUB shows bilateral renal stones and calcification of the vas deferens.

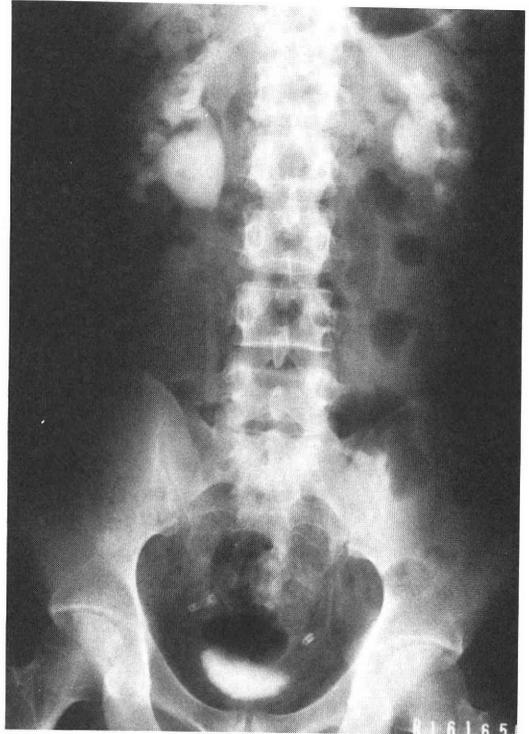


Fig. 2 DIP shows hydronephrosis and ureteropelvic stenosis in both sides.

mean progressive velocity 38 μ m/sec (正常 30-40), mean track speed 51 μ m/sec (正常 45-50), mean linear index 86%, mean linearity 75%, mean lateral head displacement 2.7 μ m.

以上の所見より, 両腎結石を伴った両側腎盂尿管移行部狭窄症および脂肪肝, 両側精管石灰化を伴った糖尿病と診断した. 昭和 63 年 11 月 17 日, 右腎結石および右腎盂尿管移行部狭窄に対して, 経皮的腎盂尿管切石術 (PNL) および内視鏡的腎盂形成術 (Endopyelotomy) を施行した. 現在, 右腎に結石の再発なく, 右腎盂尿管移行部の通過良好で, 左腎に対して PNL および Endopyelotomy を予定している. 脂肪肝および糖尿病に対しては食事療法を施行し良好にコントロールされている. 両側精管石灰化症に対しては, 症状なく精液所見も良好であったため, 精嚢造影は施行せず経過観察中である.

考 察

精路の石灰化は, 1830 年に Clement が最初に剖検により初めて発見し, X線の石灰化陰影としては 1922 年に Kretchmer が初めて報告した⁶⁾. 本邦では 1960 年並木⁷⁾の報告を第 1 報として, われわれが集計しえ

た限りでは自験例を含め27例が報告されている。

精路の石灰化は病因により、結核や慢性非特異的炎症に続発する炎症性・非炎症性に分類されている⁴⁾。非炎症性のものとしては、慢性腎不全⁸⁾や悪性リンパ腫⁹⁾に合併した症例も報告されているが、糖尿病に合併した症例が多い¹⁾。本邦精路石灰化27例中自験例を含む10例(37%)^{1-3,10)}は糖尿病に合併したものであり、欧米では精管石灰化の70~93%^{6,11)}は糖尿病患者であったと報告されている。しかし、本邦では4.8~5.9%^{2,3)}の、欧米では11%⁶⁾の糖尿病患者に精路の石灰化をみとめた報告されていることを考えると、実際には報告されているよりもはるかに多くの精路の石灰化を有した糖尿病患者が存在するものと思われる。

本邦の精路の石灰化を有した10例の石灰化部位は全例精管で、25~66歳、年齢分布は20歳代1例、40歳代1例、50歳代5例、60歳代3例で中高年に多かった。しかし、糖尿病患者の罹患期間・重症度と精路の石灰化の程度は関連性がないとされ⁶⁾、全ての年齢の糖尿病に精路の石灰化が生じる可能性があると考えられる。本邦症例が中高年に多い理由として、中高年に糖尿病に罹患する率が高く、また精路の石灰化はときに血尿、血精液症あるいは疼痛を示すこともあるが大部分は無症状である¹⁾ために他の疾患の検査を受ける機会の多い中高年に偶然に発見されることが多いためと考えられる。自験例は25歳と若年であったが、精管の石灰化による症状はなく尿路結石の検査時に偶然発見されたものであった。

精管の石灰化の診断は、骨盤部X線撮影で精管の走行に一致する特有な管状の逆八字陰影によって可能であるが、精嚢造影を施行すれば確実であるとされている⁴⁾。一般的には炎症性の場合には粘膜層にも石灰化がおよび管腔を閉塞するのに対して、非炎症性の場合には筋層のみ石灰化し管腔は保たれると考えられている⁶⁾。事実、精嚢造影の記載のある糖尿病に合併した精管石灰化本邦2症例は精管は開存していたと報告されている^{1,10)}。しかし、糖尿病患者の易感染性を考えると、糖尿病患者にみられる精管の石灰化が必ずしも非炎症性ものとは断定できない。自験例は若年者であったために、精管が両側とも閉鎖しているか否かを調べる目的で精液検査を施行した。精液検査の結果が良好であったため、精嚢造影は不要であるばかりか、医原性の精管閉塞を生じる可能性もあるため¹²⁾に施行しなかった。

結 語

尿路結石の検査中に偶然発見された糖尿病患者に

合併した精管石灰化症例の1例を報告するとともに若干の文献的考察を加えた。

文 献

- 1) 浜口毅樹, 後藤紀洋彦, 藤原正保, 奥田喜啓, 篠崎雅史, 藤沢正人, 岡本恭行, 岡 伸俊, 岡田 弘, 羽間 稔, 松本 修, 守殿貞夫: 糖尿病患者にみられた精管の石灰化陰影, 日不妊会誌, 34: 148, 1989
- 2) 藤田 進, 常田孝和, 鈴木キミ, 地原洋子: 糖尿病患者の精管石灰化について(第1報), 糖尿病, 13: 42, 1968
- 3) 坂本静男, 氷室一彦, 太田明生: 糖尿病患者のレ線写真にみられる精管石灰化像について, 糖尿病, 22: 1035, 1976
- 4) 和田郁生, 木津典久, 鈴木隆志, 大矢 晃, 能登宏光, 森田 隆: 男性不妊症患者にみられた精管の石灰化, 西日泌尿, 49: 927, 1987
- 5) 石津和彦, 林田英嗣, 山川弦一郎, 磯山理一郎, 瀧原博史, 酒徳治三郎: 精子自動分析装置を用いて測定した精子の運動能の保持性, 日不妊会誌, 33: 769, 1988
- 6) Culver, J. L. and Tannenhaus, J.: Calcification of the vas deferens in diabetes, J. A. M. A., 173: 648, 1960
- 7) 並木徳重郎: 精嚢線石灰化の1例, 日泌尿会誌, 51: 115, 1960
- 8) Silber, S. J. and McDonald, F. D.: Calcification of the seminal vesicles and vas deferens in a uremic patient, J. Urol., 105: 542, 1971
- 9) 小松 潔, 時 修一, 井上幹夫: 悪性リンパ腫患者にみられた精管の石灰化, 西日泌尿, 44: 1231, 1982
- 10) 中山 実: 両側精管石灰化の1例, 西日泌尿, 43: 859, 1981
- 11) Wilson, L. L. and Marks, J. H.: Calcification of vas deferens; its relation to diabetes mellitus and atherosclerosis, New England J. Med., 245: 321, 1951
- 12) Gordon, A. D. and Clahassey, E. B.: Evaluation of stricture formation as a complication of vasopuncture and vasography in the guinea pig, Fertil. Steril., 29: 180, 1987

Non-obstruction by calcification of the vas deferens associated with diabetes mellitus

Kazuhiko Ishizu, Yoshikazu Baba,
Takuya Ueno, Riichiro Isoyama,
Hiroshi Takihara and Jisaburo Sakatoku

Department of Urology, Yamaguchi University
School of Medicine, Ube 755, Japan
(Director: Prof. J. Sakatoku)

Calcification of the vas deferens was incidentally found during the examination of urolithiasis in a 25-year-old man suffering from diabetes mellitus.

Semen analysis, which was done in order to investigate whether the vas deferens was bilaterally obstructive or not, showed normal findings. Therefore, seminal vesiculography was thought to be not only unnecessary but contraindicated and was not performed.

(受付: 1989 年 10 月 20 日)

INHIBITORY EFFECTS OF FUCOSE AND FUCOIDIN ON SPERM ATTACHMENT TO THE ZONA SURFACE IN THE HMASTER

Kahei SATO

Department of Cell Biology, College of
Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Fujisawa 252, Japan

Abstract: In the present study, experiments were designated to examine the effect of simple sugar and complex polysaccharides on the attachment of hamster spermatozoa to the zona pellucida. L-fucose inhibited markedly the attachment of spermatozoa compared to other sugars at the concentration of 50 mM. D-fucose, on the other hand, reduced partially the number of spermatozoa attachment to the zona. Fucoidin, an algal polysaccharide rich in sulfated L-fucose, was a very potent inhibitor, completely blocking attachment at the concentration of 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Several other highly glycosaminoglycans showed noninhibitory effect, suggesting that the inhibitory effect of fucoidin was not simply due to its charge or sulfate. L- or D-fucose and fucoidin had no effect on sperm motility under the present experiment conditions.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 741—743, 1990)

Introduction

Mammalian spermatozoa must undergo capacitation and the acrosome reaction before they contact with egg investiments (Yanagimachi, 1981). Because spermatozoa first attach to and penetrate through a glycoprotein coat, the zona pellucida, it is of interest to postulate that the sperm-egg interaction involves complementary surface molecules on the gametes' surfaces. Huang et al. (1982) have reported evidence that a coformation in common with L-fucose and/or L-fucose polymer, fucoidin, may be part of the recognition signal between gametes of guinea pigs. Further, they have suggested the possibility of the inhibition of fucoidin for hamster and human gametes attachment. In the present study, effects of fucose and fucoidin on hamster sperm-egg interactions were investigated.

Materials and Methods

Chemicals

Fucose and galactan were purchased from Aldrich chemical Co. Fucoidin and heparin was purchased from Sigma chemical Co.

For experiments of the gametes interaction, a modified Tyrode's solution with bovine serum albumin (mTALP, Yanagimachi, 1982) was employed.

Zona Attachment Assay

Hamster gametes were prepared as described previously (Sato et al, 1984). Zona attachment assay was performed, according to the method of Huang et al (1982). Briefly, cauda epididymis spermatozoa were incubated for 4 hr at which 60-70% of motile spermatozoa were acrosome reacted. An aliquot (30 μl) of this population was mixed with 0.3 ml mTALP with or without reagents to a final concentration of 2×10^6 sperm/ml. Twenty min later, cumulus-free, zona-intact

hamster eggs were introduced into each drop of the medium. The number of spermatozoa attached to individual zonae was evaluated visually by counting at various time intervals up to 30 min with the phase-contrast optic at 100 x magnification.

Results

Effect of Simple Sugar on Sperm-Zona Attachment in the Hamster

Results obtained are shown in Table 1. Under conditions used in this study, in control groups the number of spermatozoa attached to each zona reached a plateau value 15-26 at 30 min after insemination. L-fucose tested inhibited markedly sperm attachment to the zona. D-fucose also inhibited partially sperm attachment. At the concentrations of D-fucose used sperm motility was not noticeably impaired in any of the test groups. On the other hand, D-glucose at the concentration used reduced the number of spermatozoa attached to the zona at 30 min.

Effect of fucoidin, a polymer high in sulfated L-fucose on spermzona attachment in the hamster

As shown in Table 2, fucoidin showed the high potential of inhibition of sperm attachment. in the presence of 0.2 mg/ml, spermatozoa were vigor-

ously motile and repeatedly collided zonae, but none attached.

Effect of Fucoidin on Sperm-Egg Attachment in the Hamster

Fucoidin is a sulfated heteropolysaccharide containing a high proportion of L-fucose sulfated at the 4-position (Bernardi and Springer, 1982; Medocalf and Larsen, 1977). This substance was the most potent inhibitor of sperm attachment (Table 2). In the presence of 0.2 mg/ml, the spermatozoa showed vigorously motile and collided with zonae, but they were none attached.

To determine which gamete was affected, either eggs or spermatozoa were separately tested with fucoidin before insemination. When spermatozoa preincubated 4 hr were tested with 0.1 or 0.01 mg/ml for 20 min, rinsed these thoroughly, and mixed them with eggs in fucoidin-free medium, spermatozoa attached barely to the zona. Pretreatment of eggs identically, prior to mixing with untreated spermatozoa, did not reduce attachment.

To know effect of other polysaccharides (heparin and galactan) were examined. These substances had no inhibitory activity on sperm-egg attachment.

Table 1 Effect of simple sugars on hamster sperm zona-attachment

Sugar added of medium	Concentration (mM/ml)	Number of sperm attached to each zona	Inhibition (%)
None (control)	—	25—29	0
L-Fucose	25	15—18	25
L-Fucose	50	0	100
D-Fucose	50	0	68
D-Glucose	50	24—17	0
D-Galactose	50	26—28	0

Table 2 Effect of fucoidin and other polysaccharides on hamster sperm-zona Attachment

Sbstance added to medium	Concentration (mg/ml)	Number of sperm attached to each zona	Inhibition (%)
Fucoidin	0.1	1—14	77
Fucoidin	0.2	0	100
Fucoidin	1.0	0	100
Heparin	2.0	24—29	10
Galactan	2.0	22—28	0

Discussin

The present data provide evidence suggesting that fucoidin and/or L-fucose inhibits attachment of spermatozoa to the zona at the site of sperm surface. The present result confirmed the result of Huang et al (1982). Also, it is suggesting that L-fucose may be part of a recognition signal of sperm-zona pellucida attachment in the hamster. L-fucose has been reported to block fertilization in the acidian (Rosait and DeSant, 1980). On the other hand, we observed in the present study that D-fucose inhibited significantly sperm attachment to the zona pellucida. According to Huang et al (1982), D-fucose can reduce the number of spermatozoa attached at 30 min by 30-40%. Inhibition of the present result was higher than that of them. At the present time, this discrepancy is explained clearly. perhaps, it may be depended upon differences of experimental conditions. The study on involvement of D-fucose on problem of sperm-egg attachment are expected.

Fucoidin also has found to be an inhibitor of fertilization in the brown alga (Bolwell et al (1979). In addition, fucoidin has been known to inhibit the bidin-mediated agglutination of sea urchin eggs (Glabe et al., 1981). From these results including the present observation raise the possibility that L-fucose is conserved as part of gamete recognition signal. Were L-fucose to be involved in fertilization of such diverse species and, then does one account for speciality of gamete binding? At the present time, however, sufficient data is not yet available in any system to answer this problem. Further studies are required.

References

- 1) Yanagimachi, R.: Mechanisms of fertilization in mammals. In fertilization and embryonic development in vitro, Mastoroiani, L. and Bigers, J. D., eds, Plenum press, 171, 1981

- 2) Huang, T. T. F., Ohzu, E. and Yanagimachi, R.: Evidence suggesting that L-fucose is part of a recognition signal for sperm-zona pellucida attachment in mammals, Gamete Res., 5: 355, 1982
- 3) Huang, T. T. F. and Yanagimachi, R.: Fucoidin inhibit attachment to the zona pellucida through binding to the inner acrosomal membrane and equatorial domains, Exp. Cell Res., 153: 363, 1984
- 4) Sato, K.: Effects of epinephrine, taurine and retinol on in vitro fertilization in the hamster, Jpn. J. Fert. Ster., 30: 489, 1985
- 5) Rosati, F. and De-Santis, R.: Role of the surface carbohydrate in sperm-egg interaction in *Ciona intestinalis*, Nature, 283, 1980
- 6) Bowlwell, G. P., Callow, M. W. and Evans, L. V.: fertilization in brown algae, II. Evidence for lectin-sensitive complementary receptors involved in gamete recognition in *Fucus serratus*, J. Cell Sci., 36: 19, 1979
- 7) Glabe, C. B., Grabel, L. B., Vacquier, V. D. and Rosen, S. D.: Carbohydrate specificity of sea urchin sperm binding: A cell surface lectin mediating sperm-egg adhesion, J. Cell Biol., 94: 123, 1982

Fucose および Fucoidin の ハムスター精子の卵子 透明帯表面への接着抑制

日本大学農獣医学部動物細胞学教室

佐藤嘉兵

ハムスター精子の卵子透明帯表面にたいする接着におよぼす fucose および fucoidin の影響について調べた。その結果、L-fucose は顕著な抑制効果を示した。また、D-fucose においても L-fucose よりも若干低率ではあるが抑制効果が見られた。さらに、L-fucose の polymer である fucoidin は強力な抑制効果を示した。しかし、heparin あるいは galactan は精子-卵子透明帯接着に影響を与えなかった。これら実験に用いた simple sugar あるいは complex polysaccharides は精子の運動性に対しては影響を与えなかった。

(受付: 1990年1月19日)

レセルピン投与ラットへの胚盤胞移植 2. 着床時期および胚盤胞の細胞数

Blastoyst Transplantation in Reserpine-Induced Pseudopregnant Rats 2. Time of Implantation and Number of Blastocytes

信州大学農学部家畜種繁殖学教室

辻井 弘 忠
Hirotada TSUJII

Laboratory of Animal Breeding and Reproduction,
Faculty of Agriculture, Shinshu University,
Nagano 399-45 Japan

ラットの受精卵移植において、レシピエントの偽妊娠誘起法の違いが、移植後の胚の発育および着床時期に及ぼす影響について調べた。

偽妊娠誘起は、①レセルピン投与 (1 mg/kg) ②精管結紮雄の2群で行った。偽妊娠4日に妊娠5日の胚盤胞を移植し、翌日2時間ごとにポンタミンスカイブルー反応で着床時期を観察した。また、妊娠5日午前8時に移植後24時間目の胚盤胞を回収して細胞数を調べた。その結果、全ての個体が着床した時期は①レセルピン投与群は、妊娠5日午後2時、②精管結紮雄群は、妊娠5日午後6時と、レセルピン投与群の方が精管結紮雄群に比べて2-8時間着床が早かった。また、胚盤胞の細胞数は①レセルピン群83.4、②精管結紮雄群61.5とレセルピン投与群の方が有意に多かった。

着床時期および胚の細胞数の違いは、子宮内膜の感受性の違いによってもたらされ、さらには胎児重量の増加につながるものと思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 744-747, 1990)

諸 論

著者ら^{1,2)}はレセルピン投与による偽妊娠誘起ラットと精管結紮雄による偽妊娠誘起ラットの脱落膜反応について比較したところ、子宮内膜の感受状態に差異があることを見出した。次いで、子宮内膜の感受状態に差異があるレセルピン投与、精管結紮雄による偽妊娠ラットに受精卵を移植した場合、偽妊娠誘起法の違いが移植後の胚の発育に及ぼす影響を調べた³⁾。その結果、両群の偽妊娠4日に妊娠5日の胚盤胞を移植した場合、レセルピン投与群の胎児重量は精管結紮雄群より有意に重かった。また、レセル

ピン投与群および精管結紮雄群において、偽妊娠5日に移植した場合よりも偽妊娠4日に移植した場合の方が胎児重量が有意に重かった。これら胎児重量増加の原因は、子宮内膜の感受性による差の違い、すなわちエストロジェンサージーおよび着床時期に影響しているのではないかと推察した³⁾。そこで、本実験はレセルピン投与、精管結紮雄に移植した胚盤胞の着床時期ならびに胚盤胞の細胞数について調べることを目的とした。

材料および方法

当研究室において、系統維持しているウィスター

系雌ラット、4日周期を2回以上示した90-150日齢(体重210-370g)のものを用いた。飼育条件は、12時間明/暗(午前6時点燈)、 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、市販の固形飼料ならびに水は自由摂取とした。

ラットの偽妊娠誘起は、前報³⁾と同様に、レセルピン群：レセルピン(半井化学)をBennett and Kendle⁴⁾による方法で調整し、発情後期の午前9-10時に体重1kgあたり1mg皮下注射を行った。レセルピン投与前日の発情期を偽妊娠第1日とした。精管結紮雄群：発情前期像を示した雌を同系統の精管結紮雄と一晚同居させ、翌日膈栓を確認し、確認した日(発情期)を偽妊娠第1日とした。

胚盤胞の採取ならびに移植は前報³⁾と同様に行い、レセルピン群と精管結紮雄群の偽妊娠4日の子宮に妊娠5日の胚盤胞を移植した。

ポントaminsカイブルー反応：ポントaminsカイブルー(東京化成工業製)を生理食塩水に溶かした1%溶液を体重100g当たり0.5ml静脈内注射した。注射15分後に放血し、直ちに開腹した。子宮に青く染まったものを陽性とした。対照として正常妊

娠群と、レセルピン群、精管結紮雄群の3群について、妊娠5日目の午前6時から2時間毎に午後8時まで、各5-13例ずつ調べた。

胚盤胞の細胞数の検査：レセルピン群と精管結紮雄群の子宮に胚盤胞を移植後24時間目(偽妊娠5日午前8時)に子宮を灌流して、胚盤胞を回収した。胚盤胞の形態を観察後、Tarkowski⁵⁾の方法に準じて、酢酸オルセイン染色で核染色標本を作製し、光学顕微鏡(400倍)で細胞の核を調べた。なお、対照として妊娠5日午前8時の胚盤胞を回収して、細胞数を検査した。各群7-10匹ずつ計24匹用いて調べた。

有意差検定は分散分析またはt検定で行い、5%の有意水準をもって有意差とした。

結 果

—ポントaminsカイブルー反応—

レセルピン群、精管結紮雄群および正常妊娠群の各時刻において、ポントaminsカイブルー反応を示した個体数をTable 1に示した。

Table 1 The rate of positive reaction by pontamine skyblue test in normal pregnant rats and in pseudopregnant rats into which blastocysts were transferred 4 days following induction of pseudopregnancy by administration of reserpine and by mating with vasectomized male.

Time of autopsy	The rate of positive reaction by pontamine skyblue test (%)		
	Reserpine	Group Copulation	Normal pregnancy
Day 5 6:00	4/9 (44)	—	—
8:00	9/13 (69)	—	—
10:00	2/5 (40)	—	—
12:00	3/5 (60)	—	—
14:00	5/5 (100)	2/6 (33)	0/8 (0)
16:00	—	4/6 (67)	4/8 (50)
18:00	—	7/7 (100)	6/8 (75)
20:00	—	—	9/9 (100)

Table 2 The number of cells per blastocyst at 24 hours after transplantation in rats with pseudopregnancy induced by administration of reserpine and by mating with vasectomized male and at 8 p.m. on Day 5 of pregnancy in normal pregnant rats.

Group	No. of rats	No. of corpora lutea	No. of blastocysts		No. of cells per blastocyst (M \pm S.D.)
			transferred	recovered (%)	
Reserpine	10	—	196	75 (38)	83.4 \pm 17.6
Copulation	7	—	84	58 (69)	61.5 \pm 11.8
Normal pregnancy	7	101	—	83 (82)	40.5 \pm 6.8

—胚盤胞の細胞数—

レセルピン群および精管結紮雄群の移植胚盤胞ならびに正常妊娠群の胚盤胞の平均細胞数を Table 2 に示した。各群の胚盤胞の平均細胞数はレセルピン投与群が 83.4, 精管結紮雄群が 61.5, 正常妊娠群が 40.5 であった。これら 3 者間には有意な差がみられた ($F_{164}^2=119.7$)。

レセルピン群, 精管結紮雄群および正常妊娠群から回収した胚盤胞の核の顕微鏡写真を Fig. 1 に示した。

考 察

ラットの着床の初期において, 胚盤胞が子宮上皮に接着し, 胚盤胞からの刺激が子宮内膜に加えられると, 子宮内膜の間質細胞は増殖を続け, やがて脱落膜を形成すると同時に子宮内膜の毛細血管の透過性が増す^{6,7)}。この時期にポンタミンスカイブルーなどの巨大分子色素を投与すると, 子宮内膜の胚盤胞から刺激を受けた部位のみが沈着する。この性質を利用して胚盤胞と子宮内膜を接着の指標に使用されている⁷⁾。また, Ljungkvist & Nilsson⁸⁾はラットを用いて, ポンタミンスカイブルー反応陽性部位に胚盤胞が子宮腔上皮と接着していることを確かめている。

本実験において, 胚と子宮内膜との接着はレセルピン群は正常妊娠に比べて 4-10 時間早く起こり, 精管結紮雄群も正常妊娠より 2 時間早く起こった。また, 胚の細胞数の比較においても, レセルピン群は精管結紮雄群より意義に多く, 精管結紮雄群は正常妊娠群より意義に多かった。

ラット胚盤胞の透明帯の消失時期は, 妊娠 5 日目

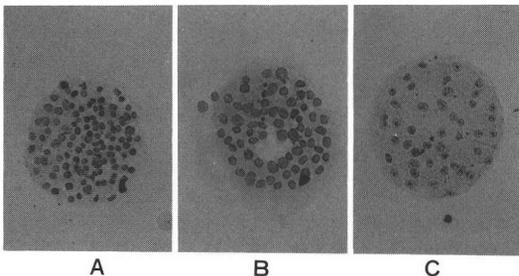


Fig. 1 The number of cells per blastocyst at 24 hours after transplantation in rats with pseudo-pregnancy induced by administration of reserpine (Photo A, 108 nuclei and 3 metaphase plates), by mating with vasectomized male (Photo B, 68 nuclei and 1 metaphase plate) and at 8 p. m. on Day 5 of pregnancy in normal pregnant rat (Photo C, 45 nuclei).

の午後 1 時から 6 時までの間で起こりうるが^{9,10)}, 本実験のレセルピン群および精管結紮雄群の透明帯の消失は妊娠 5 日午前 8 時にはすでに消失していた。特にレセルピン群では胚盤胞が子宮内膜と接着を開始していた。

人為的な着床遅延ラットにおいて, 胚盤胞の成長ならびに細胞数の増加はエストロゲン投与によって促進される^{11,12)}ことが知られている。レセルピン群の胚盤胞の細胞数が, 精管結紮雄群より多いことは, レセルピン投与群の方が精管結紮雄群より着床時のエストロゲンサージーが早いものと推測された。これらのことから, レセルピン群は精管結紮雄群より, また, 精管結紮雄群は正常妊娠群より子宮内膜の感受性が早いと推察された。

ラットの脱落膜形成過程はプロゲステロンとエストロゲンによって制御されている。すなわち, プロゲステロンが十分供給された子宮内膜にエストロゲンが作用すると子宮内膜の腔上皮は分裂せず, 間質細胞が分裂する。この時期を準備期細胞増殖と呼ばれている。その後, 胚盤胞あるいは人為的刺激に反応した脱落膜化を引き起こす感受状態となる⁶⁾。既報のレセルピン投与ラットの子宮内膜の準備期細胞増殖²⁾ならびに脱落膜反応¹¹⁾は, 精管結紮雄群より早く起こっていた。これらのことから上述のようにレセルピン群の子宮内膜の感受性が早いと推察された。

Noyes and Dickmann¹³⁾は, ラット妊娠 5 日齢の胚盤胞の移植において, 胎児発生率ならびに胎児重量は偽妊娠 5 日より 4 日に移植した方が高いと報告している。著者ら³⁾もレセルピン投与および精管結紮による偽妊娠誘起ラットの移植において同様の結果を得た。さらに, レセルピン群および精管結紮雄群において, 偽妊娠 5 日目に胚盤胞を移植したものは胎児重量には差がみられなかったが, 偽妊娠 4 日目に胚盤胞を移植した場合に胎児重量に差異がみられたことを報告した。これら胎児重量が増加することについて, Noyes et al¹⁴⁾は, 妊娠 5 日齢卵子は偽妊娠 4 日の子宮に移植されても着床時期は早まらず, 移植胚が着床前に付加された 1 日の間に成長したためと推察している。しかし, 本実験の結果, レセルピン群は精管結紮雄群より, また, 精管結紮雄群は正常妊娠より胚盤胞の細胞数が多く, 着床時期が早かった。このことから, レシピエントの子宮内膜の感受性の違い, すなわちエストロゲンサージーならびに着床時期の違いが, 移植された胚盤胞の一時的な成長を招き, 胎児重量に差異を生じさせたものと思われた。

文 献

- 1) 辻井弘忠：レセルピン投与ラットにおける脱落膜反応について，日不妊会誌，34(2)：165, 1989
- 2) 辻井弘忠：レセルピン投与ラットにおける子宮内膜の細胞増殖について，日不妊会誌，34(3)：474, 1989
- 3) 辻井弘忠：レセルピン投与ラットへの胚盤胞移植，1. 胎児重量について，日不妊会誌，35(3)：438, 1990
- 4) Bennett, J. P. and Kendle, K. E.: The effect of reserpine upon the rate of egg transport in the fallopian tube of the mouse, *J. Reprod. Fert.*, 13: 345, 1967
- 5) Tarkowski, A. K.: An air-drying method for chromosome preparations from mouse eggs, *Cytogenetics*, 5: 394, 1966
- 6) 舘 鄰, 舘 澄江：脱落膜の形成機構，代謝，16, 臨時増刊号「性」：1321, 1979
- 7) Psychoyos, A.: Methods for studying changes in capillary permeability of the rat endometrium. in *Methods in Mammalian and Embryology*, ed. Daniel, J. C., 334, W. H. Freeman and Company, 1971
- 8) Ljungkvist, I. and Nilsson, O.: Blastocyst-endometrial contact and pontamine blue reaction during normal implantation in the rat, *J. Endocr.*, 60: 149, 1974
- 9) Dickmann, Z. and Noyes, R. W.: The zona pellucida at the time of implantation, *Fertil. Steril.*, 12: 310, 1961
- 10) 菅原七郎, 辻井弘忠, 竹内三郎：ラット卵子における透明帯の消失について，1. 正常妊娠時における透明帯の消失期とその形態的観察，家畜繁殖誌，15：99, 1969
- 11) Yasukawa, J. J. and Meyer, R. K.: Effect of progesterone and oestrone the preimplantation and implantation stages of embryo development in the rats, *J. Reprod. Fert.*, 11: 245, 1966
- 12) Takeuchi, S., Sugawara, S. and Takahashi, Z.: The effect of ovarian hormones on the growth and the differentiation of the rat blastocyst during delayed implantation, II. Estrone, *Tohoku J. Agr. Res.*, 19: 39, 1968
- 13) Noyes, R. W. and Dickmann, Z.: Survival of ova transferred into the oviduct of the rat, *Fertil. Steril.*, 12: 67, 1961
- 14) Noyes, R. W., Doyle, L. L. and Bentley, D. L.: Effect of preimplantation development on foetal weight in the rat, *J. Reprod. Fert.*, 2: 238, 1961

**Blastocyst transplantation
in reserpine-
induced pseudopregnant rats
2. Time of implantation
and number of blastocytes**

Hirotada Tsujii

Laboratory of Animal Breeding and Reproduction,
Faculty of Agriculture, Shinshu University,
Nagano 399-45 Japan

This study was designed to examine the effects of different modes of pseudopregnancy induction on the embryonic development and the time of implantation following transplantation.

Pseudopregnancy was induced by administration of reserpine (1mg/kg) (Reserpine Group) or by mating with vasectomized male (Copulation Group). Blastocysts from 5-day-pregnant rats were transferred on Day 4 of pseudopregnancy and the time of implantation was examined at intervals of 2 hours the following day by pontamine skyblue reaction test. Embryos at 24 hours after transplantation were recovered at 8:00 a.m. on Day 5 of pregnancy to count the number of cells per blastocyst. Implantation of all the blastocysts transferred was confirmed at 2 p.m. on Day 5 of pregnancy in the Reserpine Group and at 6 p.m. on Day 5 of pregnancy in the Copulation Group. Thus, implantation occurred 2 to 8 hours earlier in the Reserpine Group compared to the Copulation Group. The number of cells was significantly larger in the Reserpine Group (83.4 cells) than the Copulation Group (61.5 cells).

The results of our previous and present studies indicate that the preparatory cell multiplication and decidual reaction in the endometrium occurred earlier in the rats with reserpine-induced pseudopregnancy than those with pseudopregnancy induced by mating with vasectomized male. It was considered that the enhanced endometrial sensitivity in the Reserpine Group promoted the development of blastocysts and increased the fetal weight due to the differences in the estrogen surge and the time of implantation.

(受付：1990年1月22日)

INFLUENCE OF ALKALINE IONIZED WATER ON REPRODUCTIVE FUNCTIONS IN THE RAT

Toshi WATANABE and Wataru SHIRAI*

Department of Veterinary Physiological Chemistry and

*Department of Veterinary Pathology,

College of Agriculture and Veterinary Medicine,

Nihon University, Kanagawa 252, Japan

Abstract: The effects of alkaline ionized water on body weight of the mother rat during gestation and after delivery, duration of gestation, litter size and sex ratio of the young were tested. No significant difference was noted in these parameters between animals supplied with alkaline ionized water and those supplied with tap water ($P > 0.05$). Body weight of the young in the same litter 3 weeks after birth from 10 mothers supplied with alkaline ionized water during pregnancy and lactation were significantly heavier both in males and females ($P < 0.0001$). Alkaline ionized water is produced by electrolysis of electrolyte solution through movement of the cation to the cathode. The concentration of cation was therefore higher in the alkaline ionized water given to these animals. The cations which moved to the cathode were mostly hydrated with water molecule, readily absorbed and utilized *in vivo* as a physiologically active form. Whether such increase in body weight of the young was physiological or pathological remained undecided according to the results of the present experiment. Further studies regarding this point are necessary.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 35 (4), 748—751, 1990)

Introduction

Recently, refreshment mainly consisting of alkaline ionized water became commercially available to supplement electrolytes lost due to sweating during exercise, becoming quite popular for sports and leisure.

Alkaline ionized water is produced by electrolysis of electrolyte solution through movement of cations to the cathode. Most of the cations which moved to the cathode is hydrated with water molecule. Such water-hydrated cations are physiologically active type rapidly absorbed and utilized by the living organism.

The effect of alkaline ionized water on the body weight of mother rat during gestation and after delivery, duration of gestation, litter size, sex

ratio of the young and growth of the young was tested.

Materials and Methods

Animals, housing and feeding

Rats of Jcl. Sprague-Dawley strain were purchased at 8 weeks of age and maintained at the room temperature of $23 \pm 1^\circ\text{C}$, humidity of 40-60%, 14 hour illumination, and food (CE-2, Nihon Clea, Tokyo) and water intake *ad libitum*. Five females with regular estrous cycles by prior vaginal smears at 12 weeks of age and 1 male of the same strain at 12 weeks of age were placed in 1 cage for copulation. The smear was studied daily under the microscope to confirm copulation. The smear was studied daily under the microscope to confirm copulation. On the day sperm appeared in the

smear, males were separated from females and this day was called day zero of gestation. From this day, alkaline ionized water was given to mother rats (test section). In the control animals, the day of appearance of the sperm in the smear was also defined as day zero of gestation, but tap water was given as before (control section). Copulated females were divided daily approximately equally into the test and control section. The removed female rats were replaced by new female rats to keep 5 female rats per 1 male rat at all times.

Electrolytic water ionizer

Alkaline ionized water was produced by an apparatus for the production of ionized water. This apparatus is based on the principle of electrolysis of electrolyte solution, bringing cation to the cathode and anion to the anode. Alkaline ionized water is produced by moving cation to the cathode. The amount of ions transferred varies according to the amount of reacting substances, hydrogen ion concentration, and flow speed. The pH of the alkaline ionized water given to the rats in the present experiments was 9.0, as measured by pH meter (M-7E II, Hitachi-Horiba Co., Tokyo). The maximum flow-speed was 140 l/h. Acidic water made by the flow of anions to the anode, on the other hand, was discarded immediately. In the purification of alkaline ionized water, consequently, tap water was simply electrolyzed without a use of any drugs.

Gestation length, sex ratio and body weight

Duration of gestation was calculated by defining the day of detection of sperm in the smear of rats as day zero of gestation. Body weight of the mother rat during gestation and after delivery was measured by using an automatic balance for rat (Shin-Maiko, Yamato Co., Tokyo). Body weight was determined on day 0, 5, 10, 15 and 20 by defining the day of detection of the sperm in the smear as day zero of gestation. Even after the delivery, alkaline ionized water was supplied to the test section, and tap water to the control section continuously. At 3 weeks after delivery, the mother animal was weighed, and weaning was performed on the same day. Sex ratio (Male/Female) of weanlings and body weight of the

young were estimated 3 weeks after birth after dividing a litter born from 10 mother animals in the test and control section into males and females. The reason why the body weight of the young was not weighed until 3 weeks of age is that mother rat occasionally eats the young if we touch the young by hands immediately after the delivery and during lactation. Consequently, the body weight of the young was not weighed by the time of weaning (during 3 weeks after delivery).

Results

The changes of body weight of mother rats given alkaline ionized water and tap water during gestation and after delivery are shown in Figure 1. Animals were weighed on day 0, 5, 10, 15 and 20

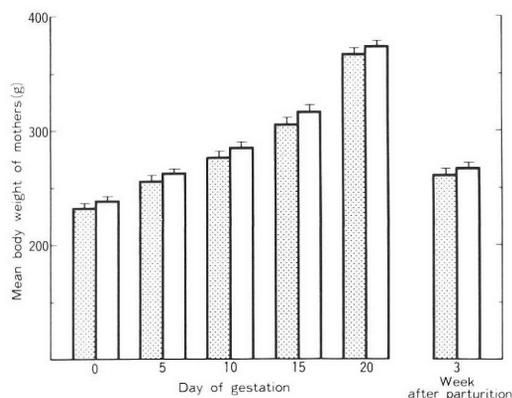


Fig. 1 Body weight of mother rat given alkaline ionized water and tap water during gestation and after delivery. : Test section given alkaline ionized water (n=10). : Control section given tap water (n=10). Bars indicate mean \pm SEM. As the result of *t* (Welch)-test, no significant difference was noted in the body weight during gestation and after delivery between the two sections ($P > 0.05$).

of gestation and 3 weeks after delivery. No significant difference was noted in the body weight between the test and control sections by student's *t* (Welch)-test ($P > 0.05$).

Duration of gestation was calculated by assuming the day of appearance of the sperm in the smear as day zero of gestation. Duration of gestation was 21.3 ± 0.5 days (n=10) in mother rats given alkaline ionized water and 21.2 ± 0.4 days (n=10) in those given tap water. No difference

was statistically significant at 5% level between these 2 groups in the paired *t* (*Welch*)-test.

The litter size was 6.9 ± 1.6 in females and 7.5 ± 1.5 in males born from the mother rats ($n=10$) and the sex ratio (Male/Female) of weanling was 1.19 ± 0.57 in the test section. No abnormalities were noted in the female and male young macroscopically. In the control section ($n=10$), female and male litter size were 6.9 ± 1.6 and 6.3 ± 1.4 and the sex ratio was 0.95 ± 0.32 , respectively. According to χ^2 -test, no significant differences were noted between the test and control sections ($P > 0.05$), respectively.

Body weight of the young born from mothers given alkaline ionized water and those given tap water during gestation and lactation was determined three weeks after birth, as shown in Figure 2. Female young weighed 34.9 ± 3.2 g ($n=69$) and male young 38.1 ± 3.8 g ($n=75$) in the test section compared to 31.2 ± 3.0 g ($n=69$) and 33.0 ± 3.1 g

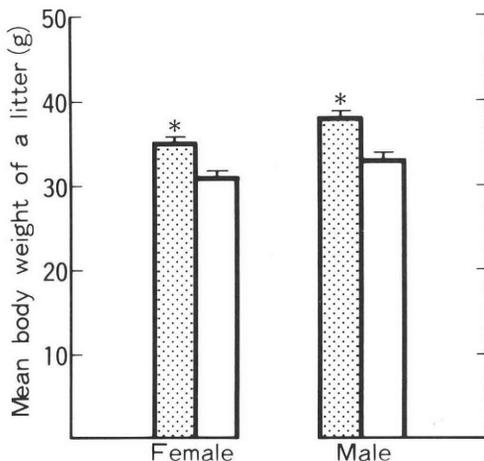


Fig. 2 Body weight of the young in the same litter born from 10 mother animals given alkaline ionized water and those given tap water during gestation and lactation 3 weeks after birth. ■: Females ($n=69$) and males ($n=75$) given alkaline ionized water in the test section. □: Females ($n=69$) and males ($n=63$) given tap water in the control section. Bars indicate mean \pm SEM. * indicates a significant difference in the body weight of the young in the same litter between the test and control section by student's *t* (*Welch*)-test, with $P < 0.0001$ in both males and females.

($n=63$) respectively in the control section. In the test sections supplied with alkaline ionized water, body weight of the female and male young was significantly lower than that in the control section supplied with tap water, paired *t* (*Welch*)-test ($P < 0.0001$).

Changes of body weight, sexual maturation, organ weight, blood test, and patho-anatomical findings of the organs are now being tested.

Discussion

Body weight of the mothers given alkaline ionized water during gestation and after delivery was slightly lower than that of the mothers given tap water, probably because the body weight of mother rat in the test section was slightly lower than that in the control section at the beginning of the supply of alkaline ionized water. Throughout the gestation and after delivery, similar tendency of body weight persisted, without a significant difference between the test and control section. Supply of alkaline ionized water to the mother animal through gestation until after delivery thus scarcely appears to influence the body weight of the mother animal.

The duration of gestation¹⁻³), litter size⁴) and sex ratio⁵⁻⁶) of weanlings of the young was within normal range in mother animals given alkaline ionized water from the day of detection of sperms in the smear, without a statistically significant difference from the corresponding value in mother animals in the control section. Although the litter size appeared to be greater, this may be explained by the largest litter size usually found in the first delivery in SD rats, followed by a gradual decrease, as is well known⁷). Since virgin SD rats were used in the present experiment, the litter size probably became large. No abnormalities of the young were noted macroscopically. According to these findings, supply of alkaline ionized water scarcely influences the reproductive events in female rats.

As the results of body weight measurement of the young born from 10 mother rats given alkaline ionized water during gestation and lactation indicated a significant increase in both male and female young compared to the corresponding

value in the young born from mothers given tap water ($P < 0.0001$). This may be explained as follows. Alkaline ionized water is produced by movement of cations in tap water towards the cathode through electrolysis. The amount of transferred ion depends on the quantity of electrolytes, in the tap water on the production of ionized water, pH, and the flow rate. In fact, all cations are transferred to the alkaline water, increasing the total amount of the cation in the alkaline ionized water considerably. Increased alkalinity of the alkaline ionized water compared to that of tap water may support such hypothesis. Consequently, alkaline ionized water given to the mother animal contained higher concentration of cations. Since most of the cations transferred to the alkaline ionized water are hydrated with water molecule through electrolysis, they are rapidly absorbed and readily utilized as a physiologically active form.

Such water-hydrated active cations are not only useful for the maintenance of health in pregnant rats, but also effective to support fetal growth, because of the relatively easy passage through the placenta. They will also stimulate milk production, milk secretion and improve quality of milk.

References

- 1) Long, J. A. and Evans, H. M.: The phenomena of reproduction and their effect on the normal rhythm, In *The Oestrous Cycle in the Rat and Its Associated Phenomena*, Edited by J. A. Long, H. M. Evans and A. O. Leuschner: University of California Press, 6: 54, 1922
- 2) Baker, D. E. J.: Reproduction and breeding, In *The Laboratory Rat-Biology and Diseases*, Edited by H. J. Baker, J. R. Lindsey and S. H. Weisbroth: Academic Press, 1: 156, 1979
- 3) Sugawara, S., Umezu, M., Hasegawa, H., et al.: Gestation, In *Laboratory Animal Science-Rat*, Edited by M. Ishibashi, J. Takahashi, S. Su-

- gawara, et al., Kodansha Ltd., 144, 1984
- 4) Ogawa, S. and Uematsu, Y.: Physiology of reproduction, In *Laboratory Animal Science-Rat*, Edited by M. Ishibashi, J. Takahashi, S. Sugawara, et al., Kodansha Ltd., 126, 1984
- 5) Nisida, S. and Nakama, K.: The sex ratio of offspring in the rat, *Japan J. Anim. Reprod.*, 17: 74, 1971
- 6) Nishida, S., Nakama, K. and Inaba, N.: Seasonal changes in sex ratio of offspring in rats, *Japan J. Anim. Reprod.*, 19: 147, 1971
- 7) Ezaki, K.: Reproduction, In *Laboratory Animal Science*, Edited by Y. Tajima, Asakura Publishing Co., 20, 1980

ラットの生殖機能に及ぼす アルカリオン水給与の影響

日本大学農獣医学部獣医生理化学教室
*獣医病理学教室

渡部 敏 *白井 弥

水道水を電気分解してアルカリオン水を精製した、このアルカリオン水を妊娠時および分娩後のラットに給与し、母親の体重、妊娠期間、産仔数および性比に及ぼす影響について試験した結果、何れも有意差は認められなかった。妊娠時および授乳期にアルカリオン水を給与した10匹の母ラットから生まれた生後3週令の同腹の産仔の体重を測定した結果、雌および雄の産仔の体重は、何れも有意($P < 0.001$)に増加した。この原因、理由として、1) アルカリオン水の陽イオン濃度が高かったこと、2) 電気分解によって水分子と水和した陽イオンは、生理的活性型になっていること、3) この水和した活性型陽イオンは、妊娠ラットの健康維持に有効なばかりでなく胎盤を比較的容易に透過出来るので胎仔の発育にも有効に働くこと、4) 乳腺における乳の産生、乳汁分泌の増加および乳質の向上を促すこと、以上のようなことから産仔の体重が有意に増加したものと考えられる。

(受付: 1990年4月24日特掲)

第 35 回

日本不妊学会学術講演会

プログラム・講演抄録集

会 期 平成 2 年 11 月 16 日 (金), 17 日 (土)
会 場 日本コンベンションセンター国際会議場
(幕張メッセ)

会 長 島 崎 淳

(千葉大学泌尿器科)

御 挨 拶

このたび第 35 回日本不妊学会および学術講演会をお世話させていただくことは、千葉大学泌尿器科学教室にとってまことに光栄に存ずる次第でございます。当教室におきましては第 15 回日本不妊学会および学術講演会を千葉の地で百瀬剛一名誉教授が開催して以来のことでございます。前回とくらべ千葉市は急激に大きくなり、先生方をおむかえする会場の幕張メッセという立派な会場が昨年建設されました。不慣れな私共でございますが先生方の御協力を得て、みのりある学会にしたいと存じますのでよろしく御高配お願い申し上げます。

生殖生理の発展は目ざましく、これにもとづいた不妊学会の領域である生殖医学もまた急速な進歩をとげました。これらにつき多数の成果を御発表いただき、活発な討議とともに本学の進歩に貢献していただきたく存じております。

多数の先生方の御参加を重ねてお願い申し上げます。

千葉大学医学部泌尿器科学教室

島 崎 淳

日 程 概 要

学術講演会

会 期：平成2年11月16日（金）、17日（土）

会 場：日本コンベンションセンター国際会議場（幕張メッセ）

〒260 千葉市中瀬2-1 TEL 0472-96-0001

第I会場（コンベンションホール）特別講演，シンポジウム，一般講演（口頭）

第II会場（国際会議室）……………一般講演（口頭発表）

第III会場（201）……………一般講演（口頭発表）

第IV会場（301）……………一般講演（口頭発表）

第V会場（304）……………一般講演（口頭発表）

第VI会場（302）……………一般講演（示説発表）

第VII会場（303）……………一般講演（示説発表）

第VIII会場（202・204）……………一般講演（示説発表）

商業展示（1Fファンクションルーム）

総 会

日 時：平成2年11月16日（金）12時50分～13時20分

会 場：日本コンベンションセンター国際会議場

第I会場（コンベンションホール）

評 議 員 会

日 時：平成2年11月16日（金）12時10分～12時50分

会 場：日本コンベンションセンター国際会議場

第II会場（国際会議室）

理 事 会

日 時：平成2年11月15日（木）16時～17時30分

会 場：ホテルサンガーデン千葉（4階）天平の間

千葉市中央1-11-1 TEL 0472-24-1131

幹 事 会

日 時：平成2年11月15日（木）15時～16時

会 場：ホテルサンガーデン千葉（4階）天平の間

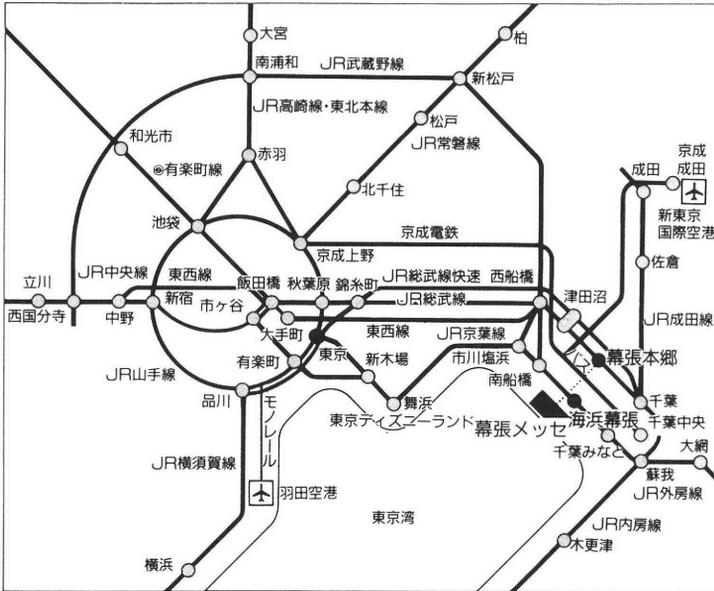
総懇親会

日 時：平成2年11月16日（金）18時30分～20時
会 場：日本コンベンションセンター国際会議場
第II会場（国際会議室）

新理事会

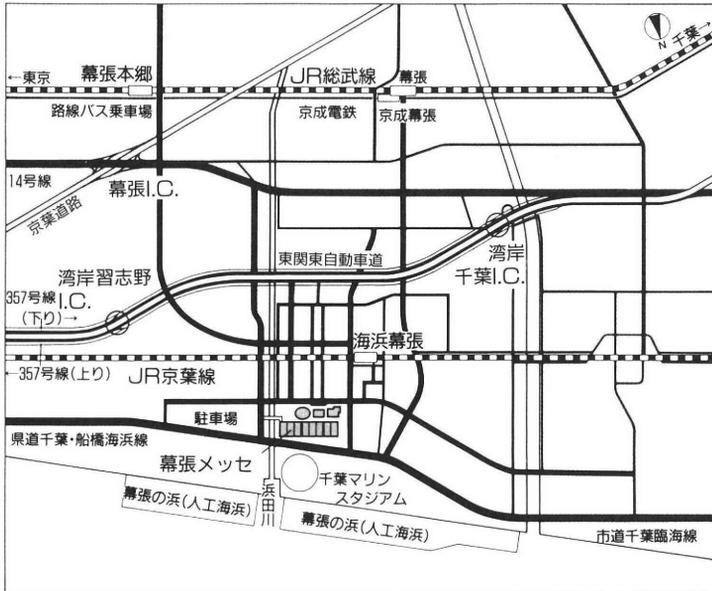
日 時：平成2年11月17日（土）12時～13時
会 場：幕張プリンスホテル（2階）プリンスホール
TEL 0472-96-1111

交通案内



■電車でご来場の場合

- JR京葉線—海浜幕張駅下車（東京駅から約40分・蘇我駅から約15分）
徒歩約5分
- JR総武線—幕張本郷駅下車（秋葉原駅から約40分）バス約15分



■お車でご来場の場合

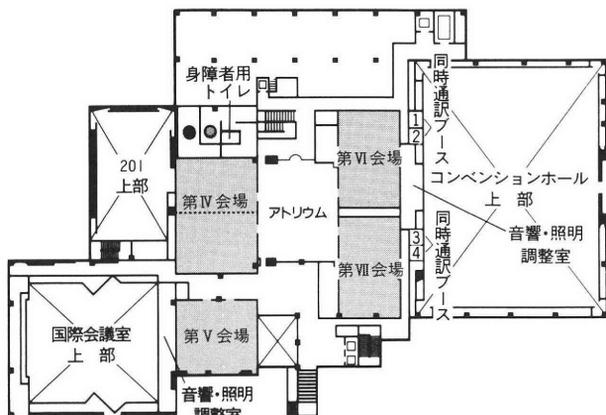
- 東京都心・羽田空港から（約40分）
 - ① 東関東自動車道 湾岸習志野I.C
 - ② 京葉道路 幕張I.C
- 成田空港から（約30分）
 - ① 東関東自動車道 湾岸千葉I.C

会場案内図

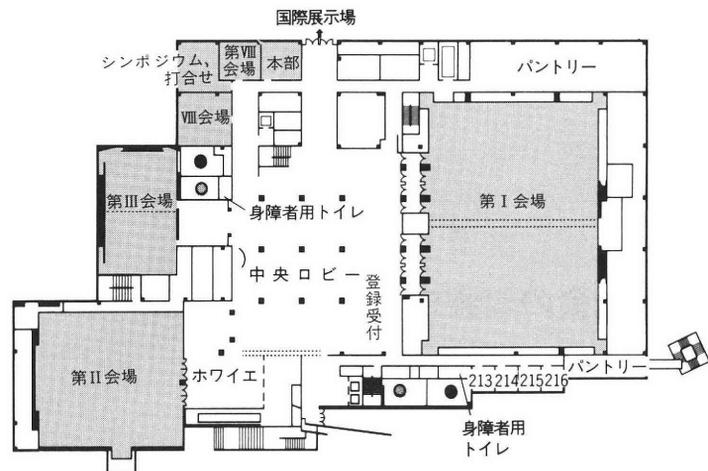
日本コンベンションセンター国際会議場

■国際会議場

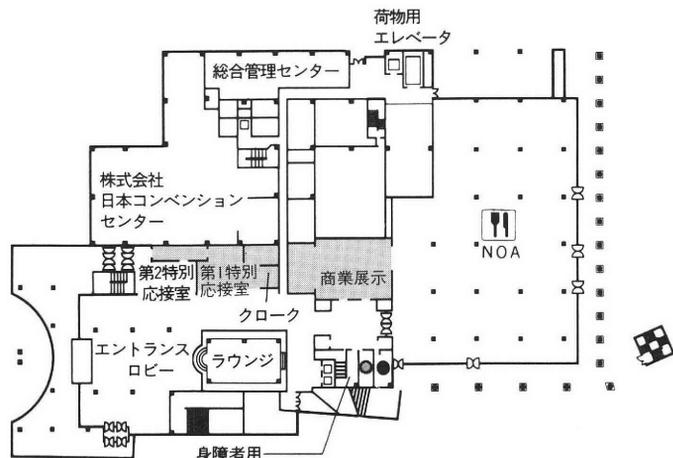
- 第 I 会場 コンベンションホール(2F)
- 第 II 会場 国際会議室(2F)
- 第 III 会場 201(2F)
- 第 IV 会場 301(3F)
- 第 V 会場 304(3F)
- 第 VI 会場 302(3F)
- 第 VII 会場 303(3F)
- 第 VIII 会場 202・204(2F)
- 本 部 205(2F)
- 商業展示 ファンクションルーム(1F)
- シンポジウム打合せ 203(2F)



3F



2F



1F

学会参加者へのお知らせ

受付・参加費

参加者は学会参加費として7,000円を二階ロビーの参加費受付でお納め下さい。受付時間は両日とも午前8時30分より行なっております。領収書兼用の名札を参加費と引き換えにお渡ししますので、各自所属・氏名をご記入のうえ、左胸におつけ下さい。

会期中名札のない方の入場はお断りしますので、入場の際は必ず着用願います。

プログラム・予稿集

学会誌(本号)は講演抄録集を兼ねていますので、当日必ずご持参下さい。お忘れの場
合は受付で実費でおわけしますが、部数に限りがあります。

呼び出し

原則として行いませんが、緊急の場合には会場の受付係または、大会事務局まで申し出て下さい。

総懇親会のご案内

日 時：平成2年11月16日(金)18時30分～20時
会 場：日本コンベンションセンター国際会議場
国際会議室(第II会場)
会 費：7,000円

一般講演者へのお知らせ

1. 口頭発表

講演時間

- 1) 一般講演は8分です。1分前に青ランプで予告し、講演時間終了は赤ランプでお知らせします。講演時間は厳守して下さい。
- 2) スライドの送りは口頭で、明確に指示して下さい。
- 3) 次演者は、所定の席にご着席下さい。
- 4) 討論は座長の指示に従って下さい。討論は各群の講演終了後にまとめて行なうことがありますので、座長の指示があるまで最前列席でお待ち下さい。

スライド

- 1) スライドは35mm判、標準マウント(50mm×50mm)に入れ、各自でスライドホルダーに挿入して下さい。スライド試写を行なってから、スライド受付にご提出下さい。
- 2) スライドプロジェクターは1台で、一般演題のスライド枚数は特に制限はありません。
- 3) スライドは講演時間の1時間前までにスライド受付にご提出下さい。
- 4) スライドは各群の終了後、速やかに受領証と引き換えにお受け取り下さい。

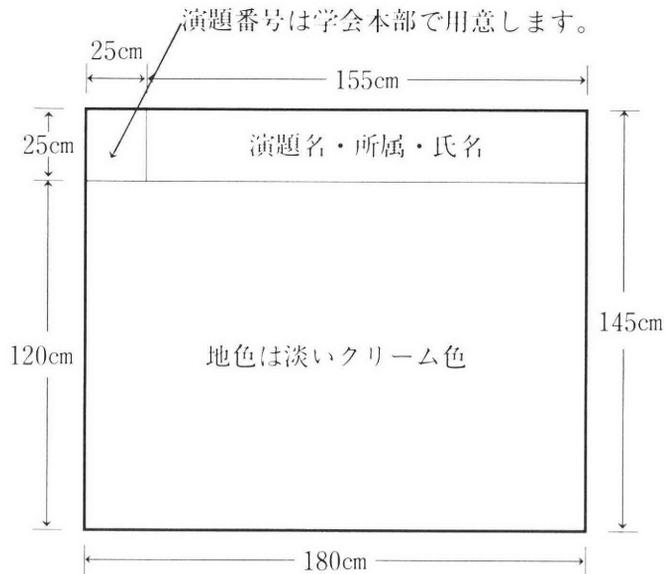
質疑応答について

- 1) 一般演題の討論は、座長の許可を受けてから所属、氏名を明らかにした上で発言して下さい。
- 2) 発言は討論用のマイクを使用し、演者の回答が終わるまでマイクの傍でお待ち下さい。
- 3) 質疑応答の時間は、1演題につき4分を予定しております。時間の足りない時は、ロビーにて交見をお願いします。

2. 示説発表

準備

- 1) 第1日(11月16日)に発表の方
 掲示時間 11月16日(金) 8時30分～9時30分
 撤去時間 11月16日(金) 14時～16時
- 2) 第2日(11月17日)に発表の方
 掲示時間 11月17日(土) 8時30分～9時30分
 撤去時間 11月17日(土) 14時～16時
- 3) 掲示板の最上段に演題名, 所属, 氏名を表示して下さい。演題の掲示スペースは, 120cm×180cm(縦×横)です。地色は淡いクリーム色です。掲示に必要なセロテープや画鋏は当方で用意します。
- 4) 掲示物の撤去時間が過ぎても撤去されない場合は, 不要とみなし, 当方で処分しますので, 忘れずにお持ち帰り下さい。



発表・討論

- 1) 示説発表は3分です。座長の指示に従い, 発表時間を厳守して下さい。
- 2) 討論時間は2分です。座長の許可を受けてから, 所属, 氏名を明らかにした上で発言して下さい。尚, 発表者は各群終了まで各自のポスター前で待機して下さい。

プログラム

学会進行予定表

特別講演

シンポジウム

一般演題

(口頭発表

示説発表

日 程 表

第 1 日 (11月16日・金)

	第 I 会場 (コベンションホール)	第 II 会場 (国際会議室)	第 III 会場 (201)	第 IV 会場 (301)	第 V 会場 (304)	第 VI 会場 (302)	第 VII 会場 (303)	第 VIII 会場 (202・204)
9:00	開 会							
9:10	9:10～9:58 I. 1～4 IVF (I) 座長:友田 豊	9:10～9:58 II. 1～4 妊娠・流産(I) 座長:水口弘司	9:10～9:46 III. 1～3 卵子・排卵(I) 座長:谷澤 修	9:10～9:58 IV. 1～4 睾丸・ 性ホルモン(I) 座長:三宅弘治	9:10～9:58 V. 1～4 子宮内膜症(I) 座長: 高見澤裕吉	9:30～10:00 VI. 1～5 卵管・子宮 モデレーター: 桑原惣隆	9:30～10:05 VII. 1～6 精子・排精(I) モデレーター: 吉田英機	9:30～10:00 VIII. 1～5 受精・着床(I) モデレーター: 星合 昊
10:00	9:58～10:46 I. 5～8 IVF (II) 座長:石島芳郎	9:58～10:34 II. 5～7 妊娠・流産(II) 座長:岩崎寛和	9:46～10:22 III. 4～6 卵子・排卵(II) 座長:玉田太郎	9:58～10:34 IV. 5～7 睾丸・ 性ホルモン(II) 座長: 酒徳治三郎	9:58～10:34 V. 5～7 子宮内膜症(II) 座長:玉舎輝彦	10:00～10:30 VI. 6～11 妊娠・流産(I) モデレーター: 鈴木 薫	10:05～10:40 VII. 7～12 精子・排精(II) モデレーター: 岡田耕市	10:00～10:30 VIII. 6～10 受精・着床(II) モデレーター: 星 和彦
	10:46～11:22 I. 9～11 IVF (III) 座長:藤井明和	10:34～11:10 II. 8～10 妊娠・流産(III) 座長:麻生武志	10:22～11:10 III. 7～10 卵子・排卵(III) 座長:関場 香	10:34～11:22 IV. 8～11 睾丸・ 性ホルモン(III) 座長:町田豊平	10:34～11:10 V. 8～10 子宮内膜症(III) 座長:西田悦郎	10:30～11:00 VI. 12～16 妊娠・流産(II) モデレーター: 桑原慶紀	10:40～11:15 VII. 13～19 精子・排精(III) モデレーター: 友吉唯夫	10:30～10:55 VIII. 11～14 卵巣・ 性ホルモン(I) モデレーター: 落合和徳
11:00	11:22～11:58 I. 12～14 IVF (IV) 座長:清水哲也		11:10～11:58 III. 11～14 卵子・排卵(IV) 座長:森 憲正	11:22～11:58 IV. 12～14 インターセックス・ 先天異常 座長:大島博幸	11:10～11:58 V. 11～14 子宮内膜症(IV) 座長: 藤本征一郎	11:00～11:30 VI. 17～21 妊娠・流産(III) モデレーター: 鈴木秋悦	11:15～11:45 VII. 20～24 検査・診断(I) モデレーター: 久保春海	10:55～11:25 VIII. 15～19 卵巣・ 性ホルモン(II) モデレーター: 石丸忠之
12:00	12:10～12:50 評議員会 (第II会場:国際会議室)							
13:00	12:50～13:20 総会							
14:00	13:20～14:10 特別講演 I 座長:角田幸雄 S.P. Leibo							
15:00	14:10～15:00 特別講演 II 座長:飯塚理八 大野虎之進							
16:00	15:10～16:00 特別講演 III 座長:水野正彦 野田洋一							
17:00	16:10～18:10 シンポジウム I 座長:永野俊雄 片山 喬							
18:00	(1)永野俊雄 (2)佐藤和宏 (3)角谷秀典 (4)広川 信 (5)三浦一陽 (6)篠崎雅史							

18:30～ 総懇親会 (第II会場:国際会議室)

特別講演 I

座長 角田 幸雄 教授 (近畿大学農学部)

11月16日(金) 13:20~14:10

「配偶子および胚の凍結保存—基礎—」

S.P. Leibo 助教授 (ペイラー医科大学産婦人科)

特別講演 II

座長 飯塚 理八 理事長

11月16日(金) 14:10~15:00

「配偶子および胚の凍結保存—臨床—」

大野 虎之進 教授 (東京歯科大学市川総合病院
産婦人科)

特別講演 III

座長 水野 正彦 教授 (東京大学産婦人科)

11月16日(金) 15:10~16:00

「哺乳類初期胚発生に及ぼす環境因子の解析」

野田 洋一 助教授 (京都大学産婦人科)

特別講演 IV

座長 阿曾 佳郎 教授 (東京大学泌尿器科)

11月17日(土) 15:10~16:00

「射精障害に対する人工射精法」

牛山 武久 医長 (国立身体障害者
リハビリテーションセンター泌尿器科)

シンポジウム I

11月16日(金) 16:10~18:10

「精子形態異常の基礎と臨床」

座長 永野 俊雄 教授 (千葉大学解剖)

片山 喬 教授 (富山医科薬科大泌尿器科)

[1] 基礎

(1) 精上皮における細胞骨格性アクチン mRNA の発現とアクチン細系の局在

永野 俊雄 (千葉大学解剖)

(2) ヒト精子の微細構造, 正常及び異常例について

佐藤 和宏 (東北大学泌尿器科)

[2] 臨床

(1) 運動能低下精子の検討

角谷 秀典 (千葉大学泌尿器科)

(2) 精子形態と精索静脈瘤の予後

広川 信 (藤沢市民病院泌尿器科)

(3) 精子形態と妊孕性

三浦 一陽 (東邦大学泌尿器科)

(4) 抗精子モノクローナル抗体と精子抗原

篠崎 雅史 (神戸大学泌尿器科)

シンポジウム II

11月17日(土) 16:10~18:10

「Microfertilization (顕微受精法)」

座長 入谷 明 教授 (京都大学農学部)

広井 正彦 教授 (山形大学産婦人科)

(1)精子の前処置と Microfertilization

細井 美彦 (京都大学農学部)

(2) zona opening

小田原 靖 (慈恵医科大学産婦人科)

(3) zona drilling

井上 正人 (東海大学産婦人科)

(4) 卵胞腔内精子注入法

斉藤 英和 (山形大学産婦人科)

(5) 卵細胞質内精子注入法

佐藤 嘉兵 (日本大学農獣医学部)

一 般 演 題

(口頭発表)

第 I 会場 (コンベンションホール)

第 1 日 11 月 16 日 (金)

IVF (I)

[演題 I - 1 ~ 4] (9:10~9:58) 座長 友田 豊 (名古屋大・産婦)

IVF (II)

[演題 I - 5 ~ 8] (9:58~10:46) 座長 石島 芳郎 (東京農大・生物産業部・生物生産学科)

IVF (III)

[演題 I - 9 ~ 11] (10:46~11:22) 座長 藤井 明和 (東海大・産婦)

IVF (IV)

[演題 I - 12 ~ 14] (11:22~11:58) 座長 清水 哲也 (旭川医大・産婦)

第 2 日 11 月 17 日 (土)

受精・着床 (I)

[演題 I - 15 ~ 17] (9:00~9:36) 座長 矢嶋 聰 (東北大・産婦)

受精・着床 (II)

[演題 I - 18 ~ 20] (9:36~10:12) 座長 杉本 修 (大阪医大・産婦)

受精・着床 (III)

[演題 I - 21 ~ 23] (10:12~10:48) 座長 杉山 陽一 (三重大・産婦)

受精・着床 (IV)

[演題 I - 24 ~ 26] (10:48~11:24) 座長 佐藤 章 (福島医大・産婦)

受精・着床 (V)

[演題 I - 27 ~ 29] (11:24~12:00) 座長 八神 喜昭 (名古屋市大・産婦)

受精・着床 (VI)

[演題 I - 30 ~ 32] (13:00~13:36) 座長 岡村 均 (熊本大・産婦)

受精・着床 (VII)

[演題 I - 33~35] (13:36~14:12) 座長 高田 道夫 (順天堂大・産婦)

受精・着床 (VIII)

[演題 I - 36~40] (14:12~15:00) 座長 百瀬 和夫 (東邦大・産婦)

第II会場 (国際会議室)

第1日 11月16日 (金)

妊娠・流産 (I)

[演題 II - 1~4] (9:10~9:58) 座長 水口 弘司 (横浜市大・産婦)

妊娠・流産 (II)

[演題 II - 5~7] (9:58~10:34) 座長 岩崎 寛和 (筑波大・産婦)

妊娠・流産 (III)

[演題 II - 8~10] (10:34~11:10) 座長 麻生 武志 (東京医歯大・産婦)

第2日 11月17日 (土)

精子・排精 (I)

[演題 II - 11~13] (9:00~9:36) 座長 荒木 勤 (日本医大・産婦)

精子・排精 (II)

[演題 II - 14~16] (9:36~10:12) 座長 寺島 芳輝 (慈恵医大・産婦)

精子・排精 (III)

[演題 II - 17~19] (10:12~10:48) 座長 守殿 貞夫 (神戸大・泌尿)

精子・排精 (IV)

[演題 II - 20~22] (10:48~11:24) 座長 吉田 謙一郎 (埼玉医大医療センター・泌尿)

精子・排精 (V)

[演題 II - 23~25] (11:24~12:00) 座長 久住 治男 (金沢大・泌尿)

精子・排精 (VI)

[演題 II - 26~28] (13:00~13:36) 座長 熊本 悦明 (札幌医大・泌尿)

精子・排精 (VII)

[演題 II - 29~31] (13:36~14:12) 座長 岡田 清己 (日本大・泌尿)

精子・排精 (VIII)

[演題II-32~36] (14:12~15:00) 座長 毛利 秀雄 (東京大・教養学部・生物学)

第III会場 (201)

第1日 11月16日 (金)

卵子・排卵 (I)

[演題III-1~3] (9:10~9:46) 座長 谷澤 修 (大阪大・産婦)

卵子・排卵 (II)

[演題III-4~6] (9:46~10:22) 座長 玉田 太朗 (自治医大・産婦)

卵子・排卵 (III)

[演題III-7~10] (10:22~11:10) 座長 関場 香 (岡山大・産婦)

卵子・排卵 (IV)

[演題III-11~14] (11:10~11:58) 座長 森 憲正 (宮崎医大・産婦)

第2日 11月17日 (土)

検査・診断 (I)

[演題III-15~17] (9:00~9:36) 座長 矢内原 巧 (昭和大・産婦)

検査・診断 (II)

[演題III-18~20] (9:36~10:12) 座長 北尾 學 (島根医大・産婦)

検査・診断 (III)

[演題III-21~23] (10:12~10:48) 座長 松浦 俊平 (愛媛大・産婦)

検査・診断 (IV)

[演題III-24~26] (10:48~11:24) 座長 矢追 良正 (独協医大越谷病院・産婦)

検査・診断 (V)

[演題III-27~29] (11:24~12:00) 座長 川島 吉良 (浜松医大・産婦)

卵巣・性ホルモン (I)

[演題III-30~32] (13:00~13:36) 座長 岡田 弘二 (京都府立医大・産婦)

卵巣・性ホルモン (II)

[演題III-33~36] (13:36~14:24) 座長 望月 真人 (神戸大・産婦)

卵巣・性ホルモン (III)

[演題III-37~40] (14:24~15:00) 座長 永田 行博 (鹿児島大・産婦)

第IV会場 (301)

第1日 11月16日 (金)

睾丸・性ホルモン (I)

[演題IV-1~4] (9:10~9:58) 座長 三宅 弘治 (名古屋大・泌尿)

睾丸・性ホルモン (II)

[演題IV-5~7] (9:58~10:34) 座長 酒徳 治三郎 (山口大・泌尿)

睾丸・性ホルモン (III)

[演題IV-8~11] (10:34~11:22) 座長 町田 豊平 (慈恵医大・泌尿)

インターセックス・先天異常

[演題IV-12~14] (11:22~11:58) 座長 大島 博幸 (東京医歯大・泌尿)

第2日 11月17日 (土)

手術・統計 (I)

[演題IV-15~17] (9:00~9:36) 座長 長田 尚夫 (聖マリアンナ医大・泌尿)

手術・統計 (II)

[演題IV-18~20] (9:36~10:12) 座長 白井 将文 (東邦大・泌尿)

手術・統計 (III)

[演題IV-21~23] (10:12~10:48) 座長 永田 一郎 (防衛医大・産婦)

手術・統計 (IV)

[演題IV-24~26] (10:48~11:24) 座長 佐藤 和雄 (日本大・産婦)

手術・統計 (V)

[演題IV-27~29] (11:24~12:00) 座長 貝原 学 (帝京大市原病院・産婦)

家畜繁殖・その他

[演題IV-30~32] (13:00~13:36) 座長 正木 淳二 (東北大・農学部・畜産学科)

機能性不妊・免疫 (I)

[演題IV-33~36] (13:36~14:24) 座長 磯島 晋三 (兵庫医大・産婦)

機能性不妊・免疫 (II)

[演題IV-37~40] (14:24~15:00) 座長 須川 侑 (大阪市大・産婦)

第V会場 (304)

第1日 11月16日 (金)

子宮内膜症 (I)

[演題V-1~4] (9:10~9:58) 座長 高見澤 裕吉 (千葉大・産婦)

子宮内膜症 (II)

[演題V-5~7] (9:58~10:34) 座長 玉舎 輝彦 (岐阜大・産婦)

子宮内膜症 (III)

[演題V-8~10] (10:34~11:10) 座長 西田 悦郎 (金沢大・産婦)

子宮内膜症 (IV)

[演題V-11~14] (11:10~11:58) 座長 藤本 征一郎 (北海道大・産婦)

第2日 11月17日 (土)

間脳・下垂体

[演題V-15~17] (9:00~9:36) 座長 武田 佳彦 (東京女子医大・産婦)

LH-RH (I)

[演題V-18~20] (9:36~10:12) 座長 荒井 清 (帝京大・産婦)

LH-RH (II)

[演題V-21~23] (10:12~10:48) 座長 熊坂 高広 (獨協医大・産婦)

LH-RH (III)

[演題V-24~26] (10:48~11:24) 座長 五十嵐 正雄 (群馬大・産婦)

プロラクチン

[演題V-27~29] (11:24~12:00) 座長 青野 敏博 (徳島大・産婦)

卵管・子宮 (I)

[演題V-30~33] (13:00~13:48) 座長 橋本 正淑 (札幌医大・産婦)

卵管・子宮 (II)

[演題V-34~36] (13:48~14:24) 座長 富永 敏朗 (福井医大・産婦)

卵管・子宮 (III)

[演題V-37~40] (14:24~15:00) 座長 野澤 志朗 (慶応大・産婦)

(示説発表)
第VI会場 (302)

第1日 11月16日 (金)

卵管・子宮

[演題PVI 1~5] (9:30~10:00) モデレーター 桑原 惣隆 (金沢医大・産婦)

妊娠・流産 (I)

[演題PVI 6~11] (10:00~10:30) モデレーター 鈴森 薫 (名古屋市大・産婦)

妊娠・流産 (II)

[演題PVI 12~16] (10:30~11:00) モデレーター 桑原 慶紀 (東京大・産婦)

妊娠・流産 (III)

[演題PVI 17~21] (11:00~11:30) モデレーター 鈴木 秋悦 (慶応大・産婦)

第2日 11月17日 (土)

受精・着床 (III)

[演題PVI 22~26] (9:30~10:00) モデレーター 木下 勝之 (埼玉医大医療センター・産婦)

受精・着床 (IV)

[演題PVI 27~31] (10:00~10:30) モデレーター 小林 俊文 (慶応大・産婦)

受精・着床 (V)

[演題PVI 32~36] (10:30~11:00) モデレーター 相良 祐輔 (高知医大・産婦)

受精・着床 (VI)

[演題PVI 37~41] (11:00~11:30) モデレーター 西島 正博 (北里大・産婦)

統計

[演題PVI 42~47] (11:30~12:00) モデレーター 伊藤 晴夫 (帝京大市原病院・泌尿)

第VII会場 (303)

第1日 11月16日 (金)

精子・排精 (I)

[演題P VII 1~6] (9:30~10:05) モデレーター 吉田 英機 (昭和大・泌尿)

精子・排精 (II)

[演題 P VII 7 ~ 12] (10:05 ~ 10:40) モデレーター 岡田 耕市 (埼玉医大・泌尿)

精子・排精 (III)

[演題 P VII 13 ~ 19] (10:40 ~ 11:15) モデレーター 友吉 唯夫 (滋賀医大・泌尿)

検査・診断 (I)

[演題 P VII 20 ~ 24] (11:15 ~ 11:45) モデレーター 久保 春海 (東邦大・産婦)

第2日 11月17日 (土)

プロラクチン

[演題 P VII 25 ~ 29] (9:30 ~ 10:00) モデレーター 武谷 雄二 (東京大・産婦)

卵子・排卵 (I)

[演題 P VII 30 ~ 34] (10:00 ~ 10:35) モデレーター 田辺 清男 (慶応大・産婦)

卵子・排卵 (II)

[演題 P VII 35 ~ 40] (10:35 ~ 11:05) モデレーター 石川 睦男 (旭川医大・産婦)

機能性不妊・免疫

[演題 P VII 41 ~ 45] (11:05 ~ 11:35) モデレーター 牧野 恒久 (慶応大・産婦)

検査・診断 (II)

[演題 P VII 46 ~ 50] (11:35 ~ 12:05) モデレーター 竹内 久彌 (順天堂大浦安病院・産婦)

第VIII会場 (202・204)

第1日 11月16日 (金)

受精・着床 (I)

[演題 P VIII 1 ~ 5] (9:30 ~ 10:00) モデレーター 星合 昊 (近畿大・産婦)

受精・着床 (II)

[演題 P VIII 6 ~ 10] (10:00 ~ 10:30) モデレーター 星 和彦 (福島医大・産婦)

卵巣・性ホルモン (I)

[演題 P VIII 11 ~ 14] (10:30 ~ 10:55) モデレーター 落合 和徳 (慈恵医大・産婦)

卵巣・性ホルモン (II)

[演題 P VIII 15 ~ 19] (10:55 ~ 11:25) モデレーター 石丸 忠之 (長崎大・産婦)

第2日 11月17日(土)

睾丸・性ホルモン (I)

[演題PⅧ 20~26] (9:30~10:10) モデレーター 穂坂 正彦 (横浜市大・泌尿)

睾丸・性ホルモン (II)

[演題PⅧ 27~33] (10:10~10:50) モデレーター 岩本 晃明 (聖マリアンナ医大・泌尿)

子宮内膜症 (I)

[演題PⅧ 34~37] (10:50~11:15) モデレーター 杉並 洋 (愛媛大・産婦)

子宮内膜症 (II)

[演題PⅧ 38~42] (11:15~11:45) モデレーター 佐治 文隆 (大阪大・産婦)

一 般 演 題

(口頭発表)

第 1 日 11 月 16 日 (金)

第 I 会場 (コンベンションホール)

IVF (I) :

[演題 I-1~4] (9:10~9:58) 座長 友田 豊 (名古屋大・産婦)

I-1. IVF-ET における hMG 反応不良例および内因性 LH サージ出現例に対する
GnRHa 併用の有効性について

医療法人社団スズキ病院 ○小田原 靖, 飯田 修一, 千田 智
森 滋, 立花 郁雄, 鈴木 雅洲

I-2. IVF-ET 時の卵巣刺激法(Gn-RH analogue-hMG-hCG)における hMG の追加投与の必要性
名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

生田 克夫, 鈴木 真史, 岡田 英幹
貝田 清隆, 万歳 稔, 花田 征治
八神 喜昭

I-3. pure-FSH を用いた過排卵による IVF-ET の成績

名古屋大学医学部分院産婦人科² 山口 一雄,¹ 前田 修,² 稲垣 資郎²
名古屋大学医学部産婦人科¹ 柴田 均,² 中村 潔史,² 近藤 育代²
大沢 政巳,² 塚原慎一郎,¹ 石原 豊¹
浅田 義正,¹ 菅沼 信彦,¹ 成田 収²
友田 豊¹

I-4. Clomiphene citrate-hMG または hMG 単独による卵巣刺激周期における
内因性 LH サージの意義

京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○辰巳 賢一, 野田 洋一, 神崎 秀陽
愛媛大学医学部産科婦人科学教室* 矢野 樹理*, 泰井 俊造, 森 崇英

IVF (II) :

[演題 I-5~8] (9:58~10:46) 座長 石島 芳郎 (東京農大・生物)

I-5. 当院における不妊症治療の 3 本柱

—AIH, GIFT, IVF-ET—の臨床成績

セントマザー産婦人科医院¹ ○田中 温,¹ 岡部 親宜,² 田中威づみ,¹
順天堂大学医学部産婦人科² 吉田 一郎,¹ 竹本 洋一,¹ 高田 道夫,²

I-6. 内視鏡下採卵と超音波採卵の比較検討

東邦大学第1産科婦人科学教室 ○白井 彰, 久保 春海, 安部 裕司
 雀部 豊, 片山 進, 森田 峰人
 大高 究, 矢野 義明, 小島 栄吉
 百瀬 和夫

I-7. 加齢マウスの体外受精と産仔への発生能について

中外製薬実験動物センター ○鈴木 宏志, 富樫 守, 森口 佳之
 安達 二郎

I-8. IVF-ETにおける精液処理法の検討

—swim up法とPercoll法の比較

岡山大学医学部産科婦人科学教室 ○多賀 茂樹, 吉田 信隆, 中塚 幹也
 平野由紀夫, 白河 一郎, 片山 隆章
 名越 一介, 清水 健治, 関場 香

IVF (III) :

[演題 I-9~11] (10:46~11:22) 座長 藤井 明和 (東海大・産婦)

I-9. 体外受精・胚移植における再授精の意義

虎の門病院産婦人科 ○笠井 剛, 高橋 敬一, 塩津 英美
 児島 孝久, 佐藤 孝道

I-10. 射精障害患者に対する体外受精胚移植併用治療

群馬大学医学部産科婦人科学教室, 泌尿器科学教室*

○篠崎 博光, 関 守利, 土屋 清志
 伊藤 理廣, 伊藤 郁朗, 竹内 巧
 伊吹 令人, 五十嵐正雄, 神保 進*
 小林 幹男*, 伊藤 善一*, 山中 英寿*

I-11. 子宮外妊娠既往のある卵管性不妊に対するIVF-ET治療の成績

東海大学医学部産婦人科 ○小林 善宗, 本田 育子, 井上 正人
 宗 完子, 鈴木 隆弘, 藤井 明和

IVF (IV) :

[演題 I-12~14] (11:22~11:58) 座長 清水 哲也 (旭川医大・産婦)

I-12. 体外受精—胚移植における子宮内膜像の検討

東海大学医学部産婦人科 ○本田 育子, 小林 善宗, 井上 正人
 藤井 明和

I-13. 体外受精における多精子(多卵核)受精卵の検討

旭川医大産婦人科 ○千石 一雄, 玉手 健一, 石川 睦男
 清水 哲也

I-14. 多角的評価によるヒトIVF-ET用培地の比較について

東邦大学第1産科婦人科学教室 ○雀部 豊, 久保 春海, 安部 裕司
 白井 彰, 片山 進, 百瀬 和夫

第II会場 (国際会議室)

妊娠・流産 (I) :

[演題 II-1~4] (9:10~9:58) 座長 水口 弘司 (横浜市大・産婦)

- II-1. 不妊外来における妊娠成功例の精子運動能の検討
横浜市立大学医学部産婦人科学教室 ○八ッ橋良三, 植村 次雄, 水口 弘司
- II-2. 不育症の原因と流産時期の分析
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○原 崇文, 牧野 恒久, 板倉 伊吹
岡 親弘, 丸山 哲夫, 野澤 志朗
- II-3. 自然流産の経過と流産胎児の染色体異常
虎の門病院産婦人科 ○佐藤 孝道, 児島 孝久, 塩津 英美
高橋 敬一, 笠井 剛
- II-4. 習慣流産患者に対する TRH テストの臨床的意義
長崎大学医学部産科婦人科学教室 ○河野 雅洋, 石丸 忠之, 山辺 徹
長崎市立市民病院産婦人科 田川 博之

妊娠・流産 (II) :

[演題 II-5~7] (9:58~10:34) 座長 岩崎 寛和 (筑波大・産婦)

- II-5. 原因不明流産における血液凝固系の意義に関する検討
旭川医科大学産婦人科学教室 ○石川 雅嗣, 石川 睦男, 清水 哲也
- II-6. 習慣流産における chemical abortion の研究
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○岡 親弘, 牧野 恒久, 原 崇文
板倉 伊吹, 野澤 志朗
- II-7. リンパ球交差試験から見た習慣性流産患者に対する免疫療法の効果
筑波大学臨床医学系産婦人科 ○岡本 一, 岡根 真人, 宗田 聡
佐々木純一, 目崎 登, 岩崎 寛和

妊娠・流産 (III) :

[演題 II-8~10] (10:34~11:10) 座長 麻生 武志 (東京医歯大・産婦)

- II-8. 胎盤における EGF 放出機構の研究
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○板倉 伊吹, 牧野 恒久, 岡 親弘
原 崇文, 酒井 淳, 野澤 志朗
- II-9. 妊娠・分娩・産褥期における, 血漿中ならびに羊水中 Insulin-like Growth Factor-II (IGF-II) 動態に関する検討
東京医科歯科大学産婦人科, SRL 特殊検査部* ○久保田俊郎, 鎌田 周作, 田口 誠
千且 寧*, 麻生 武志
- II-10. 妊娠血清中における抗イディオタイプ抗体の意義
名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○水野 俊彦, 青木 耕治, 八神 喜昭

第III会場 (201)

卵子・排卵 (I) :

[演題 III-1~3] (9:10~9:46) 座長 谷澤 修 (大阪大・産婦)

- III-1. 多嚢胞性卵巣症候群患者に対する GnRH を併用した pureFSH 療法有用性の検討
 徳島大学医学部産婦人科学教室 ○横山 裕司, 井川 洋, 斎藤誠一郎
 松崎 利也, 植田 敏弘, 安井 敏之
 三宅 敏一, 苛原 稔, 青野 敏博
- III-2. 高ゴナドトロピン血症無排卵症に対する排卵誘発効果の検討
 大阪大学医学部産科婦人科学教室 ○直原 広明, 山田美津子, 山本 敏也
 森重健一郎, 藤田 善子, 甲村 弘子
 倉智 博久, 三宅 侃, 谷澤 修
- III-3. 排卵障害と卵巣の multiple biopsy の適応について
 岡山大学産婦人科 ○平野由紀夫, 吉田 信隆, 谷 政明
 白河 一郎, 中塚 幹也, 片山 隆章
 多賀 茂樹, 名越 一介, 清水 健治
 関場 香

卵子・排卵 (II) :

[演題 III-4~6] (9:46~10:22) 座長 玉田 太朗 (自治医大・産婦)

- III-4. ラット未分化顆粒膜細胞の Steroidogenesis に及ぼす Androgen antiandrogen および Epostane の効果
 帝京大学医学部産婦人科教室 ○神戸川 明, 磯部 聡, 伊豫 正人
 吉村 幸子, 冲永 莊一, 荒井 清
- III-5. マウス初期胚の超急速凍結保存
 新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○七里 和良, 谷 啓光, 平沢 浩文
 倉林 工, 織田 和哉, 荒川 修
 田中 憲一
- III-6. GnRH analogue-pureFSH・hMG-hCG による個別的調節卵巣刺激法について :
 IVF-ET・GIFT 療法への応用
 自治医科大学産婦人科学教室 ○本山 光博, 荒木 重雄, 近沢幸嗣郎
 佐山 雅昭, 赤堀 彰夫, 玉田 太朗

卵子・排卵 (III) :

[演題 III-7~10] (10:22~11:10) 座長 関場 香 (岡山大・産婦)

- III-7. 卵巣刺激周期における卵胞期後期のプロゲステロン値上昇時期と卵成熟・卵分割, 妊娠成立との関連

鳥取大学医学部産科婦人科 ○原田 省, 関島 秋男, 岩部 富夫
 谷川 正浩, 大野原良昌, 寺戸 博文
 戸田 稔子, 見尾 保幸, 寺川 直樹

III-8. Gonadotropin と Estradiol のウサギ卵の体外成熟に及ぼす影響

相模原協同病院産婦人科 ○三宅 崇雄, 佐藤 芳昭, 望月 愛郎
 松信 晶, 大沢 章吾

III-9. 卵胞液中 HCG 濃度測定とその卵成熟における意義の検討

東京大学産科婦人科学教室 ○成 鑑非, 堤 治, 藤原 敏博
 大須賀 穰, 宮内 彰人, 百枝 幹雄
 林 直樹, 綾部 琢哉, 三橋 直樹
 武谷 雄二, 水野 正彦

III-10. clomiphene citrate 投与周期における卵胞の発育と排卵

岡山大学医学部産科婦人科学教室 ○片山 隆章, 清水 健治, 平野由紀夫
 白河 一郎, 多賀 茂樹, 名越 一介
 新谷 恵司, 吉田 信隆, 関場 香

卵子・排卵 (IV) :

[演題 III-11~14] (11:10~11:58) 座長 森 憲正 (宮崎医大・産婦)

III-11. 体外受精および LUF 卵胞液中 Prostaglandin E₂, F_{2a} 濃度の検討

宮崎医科大学産婦人科学教室 ○渡辺 裕之, 小池 弘幸, 戸枝 通保
 野田 俊一, 金子 政時, 森 憲正

III-12. Thecal growth factor と basic FGF との相似性についての検討

山梨医科大学産婦人科 ○安水 洗彦, 長坂 正仁, 長坂 久司
 加藤 順三

III-13. 排卵過程における活性酸素代謝の意義

熊本大学産科婦人科学教室・第2生化学教室 ○小山 秀樹, 井上 正康, 伊藤 昌春
 森野 能昌, 岡村 均

III-14. 排卵過程における血小板の役割に関する検討

社会保険埼玉中央病院産婦人科 ○北井 啓勝, 大庭三紀子*伊藤 仁彦
 慶應大学医学部産婦人科* 金子 宜淳, 鈴木 秋悦*野澤 志朗*

第IV会場 (301)

睾丸・性ホルモン (I) :

[演題 IV-1~4] (9:10~9:58) 座長 三宅 弘治 (名古屋大・泌尿)

IV-1. 男子不妊症の精巣組織における DNA 合成能の検討

東京大学泌尿器科 国武 剛, 養和田 滋, 長瀬 泰
 森山 信男, 篠原 充, 東原 英二
 阿曾 佳郎

IV-2. 特発性男子不妊症における精細管基底膜肥厚についての検討

名古屋大学医学部泌尿器科学教室 ○高羽 秀典, 長井 辰哉, 辻 克和
三宅 弘治

IV-3. 男性不妊症例の睾丸生検組織における造精機能に関する組織化学的検討

浜松医大・泌尿器科¹ ○大田原佳久¹, 山口 安三¹, 鈴木 和雄¹
東大医・泌尿器科² 田島 惇¹, 河邊 香月¹, 阿曾 佳郎²

IV-4. 特発性男性不妊症における精巢生検 61 例の検討

獨協医科大学病院泌尿器科 ○迎 圭一郎, 荒井 哲也, 金子 克美
鈴木 徹, 高崎 悦司
東京大学医学部付属病院分院泌尿器科 村橋 勲

睾丸・性ホルモン (II) :

[演題 IV-5~7] (9:58~10:34) 座長 酒徳治三郎 (山口大・泌尿)

IV-5. Sulfasalazine の雄性ラット妊孕性抑制作用に関する内分泌学的検討

山口大学医学部泌尿器科 ○植野 卓也, 石津 和彦, 林田 英嗣
磯山理一郎, 馬場 良和, 瀧原 博史
酒徳治三郎

IV-6. X線照射により惹起した精巢障害に及ぼすメチルビタミン B₁₂ の効果

帝京大学医学部泌尿器科学教室 ○押尾 茂, 矢崎 恒忠, 梅田 隆
エーザイ(株)東京研究所薬理 尾崎 覚, 大川 功, 田島 鉄弥
放射線医学総合研究所生物研究部 山田 武
東京大学教養学部生物学教室 毛利 秀雄

IV-7. 障害精巢における kallikrein の spermatogenesis 回復促進効果

札幌医科大学泌尿器科 ○斉藤 誠一, 南部 明民, 三熊 直人
伊藤 直樹, 熊本 悦明

睾丸・性ホルモン (III) :

[演題 IV-8~11] (10:34~11:22) 座長 町田 豊平 (慈恵医大・泌尿)

IV-8. ヒト正常及び不妊精細管におけるカルモデュリンの局在に関する研究

名古屋大泌尿器科 ○辻 克和, 長井 辰哉, 高羽 秀典
三宅 弘治

IV-9. ラット精巢内におけるカルシニューリン

(カルシウム-カルモデュリン依存性脱リン酸化酵素) について

香川医科大学第一生理学教室 ○杉元 幹史*, 松井 秀樹, 江藤 誠司
泌尿器科学教室* 西尾 元, 竹中 生昌*, 畠瀬 修

IV-10. 実験的アルコール性精巢障害の光顕的, 電顕的研究

慈恵医大泌尿器科¹ ○白井 尚¹, 西田 篤¹, 御厨 裕治¹
富士市立中央病院² 池本 庸¹, 小寺 重行¹, 町田 豊平¹
羽野 寛², 上田 正山²

IV-11. ウサギ実験的精索静脈瘤の外科的修復

鳥取大学医学部泌尿器科 ○ニコラオス ソフィキティス, 高橋 千寛
中村 勇夫, 嶋本 司, 宮川 征男

インターセックス・先天異常：

[演題 IV-12~14] (11:22~11:58) 座長 大島 博幸 (東京医歯大・泌尿)

IV-12. アンドロゲン不応症における Androgen receptor の分子生物学的検討

兵庫医科大学産科婦人科 ○霞 弘之, 沢井 英明, 小森 慎二
山崎 則行, 磯島 晋三

IV-13. 最近1年間に睾丸摘出術を行った睾丸女性化症候群の3例

——手術所見を中心として——

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○熊谷 正俊, 児玉 尚志, 竹中 雅昭
上田 克憲, 大浜 紘三, 藤原 篤

IV-14. 停留睾丸に合併する副睾丸形態異常の臨床並びに実験的検討

獨協医科大学越谷病院小児外科 ○土屋 博之, 長島 金二, 川満 富裕
杉山 直史, 小笠原忠彦, 大橋 忍
山形 健一, 小川 由紀, 根本 貴史

第V会場 (304)

子宮内膜症 (I)：

[演題 V-1~4] (9:10~9:58) 座長 高見澤裕吉 (千葉大・産婦)

V-1. 不妊を主訴とした子宮内膜症 109 例の検討

恵生産婦人科病院 ○山辺 晋吾, 古川 和典, 林 茂樹
永田 典昭, 林 要
神戸大学医学部産科婦人科学教室 片山 和明, 望月 真人

V-2. 子宮内膜症と妊孕性との関連の一考察

東京大学医学部産婦人科 ○国府田きよ子, 武谷 雄二, 水野 正彦

V-3. 当科における腹腔鏡施行 300 例の臨床的検討 (子宮内膜症例を中心に)

川鉄千葉病院産婦人科 ○内藤 正文, 板橋光司郎
千葉大学産婦人科 木村 博昭, 布山 隆史, 稲葉 憲之
高見沢裕吉

V-4. 子宮内膜症性不妊に対する電気焼灼療法の成績

東海大学医学部産婦人科 ○淡路 英雄, 井上 正人, 小林 善宗
本田 育子, 鈴木 隆弘, 藤井 明和

子宮内膜症 (II)：

[演題 V-5~7] (9:58~10:34) 座長 玉舎 輝彦 (岐阜大・産婦)

V-5. 末梢血中の単球のエストロゲン結合部位に対するダナゾールの影響

岐阜大学医学部産婦人科学教室 ○伊藤 俊哉, 中川 美紀, 操 良
森 秀弘, 和田 圭介, 玉舎 輝彦

V-6. コラーゲン膜上培養子宮内膜間質細胞形態に対するダナゾールの影響

- 東京医科歯科大学産婦人科 ○田口 誠, 久保田俊郎, 鎌田 周作
同第一解剖¹ 妹尾 春樹, 和気健二郎, 麻生 武志
- V-7. 子宮内膜症 danazol 療法における子後子測因子の検討
北里研究所病院産婦人科 ○福田 良夫, 田村 昭蔵*, 和泉 滋**
慶應義塾大学医学部産婦人科* 李 顕銚, 野澤 志朗*
国立東京第二病院産婦人科**

子宮内膜症 (III) :

[演題 V-8~10] (10:34~11:10) 座長 西田 悦郎 (金沢大・産婦)

- V-8. 子宮内膜症III・IV期合併不妊に対する待機療法の適応と限界
東海大学医学部産婦人科 ○村松 俊成, 本田 育子, 小林 善宗
井上 正人, 鈴木 隆弘, 藤井 明和
- V-9. IVF-ET 治療における刺激前チョコレート嚢胞吸引の有効性
東海大学医学部産婦人科 ○宗 完子, 小林 善宗, 本田 育子
井上 正人, 津田 朋男, 藤井 明和
- V-10. Gn-RH analogue 療法時における血中副腎性アンドロゲンの動態について
金沢大学医学部産科婦人科学教室 ○村上 弘一, 山城 玄, 赤祖父一知
鈴木 信孝, 中川 俊信, 荒木 克己
富田 嘉昌, 西田 悦郎

子宮内膜症 (IV) :

[演題 V-11~14] (11:10~11:58) 座長 藤本征一郎 (北海道大・産婦)

- V-11. 子宮内膜症の末梢血中免疫能に関する検討
秋田組合総合病院産婦人科 ○太田 博孝, 福田 淳
秋田大学医学部産婦人科 五十嵐信一
- V-12. 子宮内膜症患者におけるNK細胞機能
山形大学医学部産科婦人科学教室 ○田中 栄一, 広井 正彦
- V-13. 子宮内膜症における異所性内膜の組織所見およびステロイドホルモン・レセプターについて
札幌医大産婦人科 ○井上 雄子, 中町 悟子, 山本 弘
遠藤 俊明, 藤井 美穂, 田中 昭一
橋本 正淑
- V-14. 子宮内膜症性卵巣嚢胞(チョコレート嚢胞)に対するエタノール固定後の嚢胞摘出術について
北海道大学医学部産婦人科学教室 ○桜田 芳弘, 林 正路, 田中 俊誠
藤本征一郎

第2日 11月17日(土)

第I会場(コンベンションホール)

受精・着床(I):

[演題I-15~17](9:00~9:36) 座長 矢嶋 聰(東北大・産婦)

I-15. 偽妊娠ラット脱落膜培養細胞とラット初期胚の接着

東北大学医学部産科学婦人科学教室 ○大井 嗣和, 永沼 孝子, 陳 偉業
 吉田 仁秋, 角田千恵子, 戸澤 秀夫
 村上 節, 村木 章, 深谷 孝夫
 矢嶋 聰

I-16. ラット初期胚発生に影響を及ぼす諸因子の検討

京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○岸 淳二, 野田 洋一, 成本 勝彦
 馬岡 陽, 森 崇英

I-17. レセルピン投与マウスにおける脱落膜反応誘起とプロスタグランジンE₂投与の影響について

信州大学農学部 ○辻井 弘忠
 日本レダリー株式会社 茂田 哲哉

受精・着床(II):

[演題I-18~20](9:36~10:12) 座長 杉本 修(大阪医大・産婦)

I-18. 体内受精及び体外受精由来胚の発生能(viability)の検討

スズキ病院産婦人科 ○千田 智, 立花 郁雄, 小田原 靖
 Kiel 大学産婦人科* 森 滋, 飯田 修一, 鈴木 雅洲
 L. Mettler*, K. Semm*

I-19. IVF-ETによる妊娠症例における初期胚の発育速度について

岡山大学産婦人科 ○名越 一介, 吉田 信隆, 中塚 幹也
 平野由紀夫, 片山 隆章, 多賀 茂樹
 新谷 恵司, 清水 健治, 関場 香

I-20. 刺激周期別にみた体外受精・胚移植妊娠例の内分泌動態

大阪医科大学産婦人科学教室 ○宮崎 和典, 鈴木 佳彦, 金子 卓嗣
 奥田 弘賢, 太田 栄, 杉山 修成
 杉本 修

受精・着床(III):

[演題I-21~23](10:12~10:48) 座長 杉山 陽一(三重大・産婦)

I-21. EGFレセプターの初期胚における発現と変動

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○細谷 岩生, 堤 治, 郭 宗明
 横浜市立大学医学部生化学教室* 三橋 直樹, 武谷 雄二, 水野 正彦
 加藤 尚彦*

I-22. マウス初期胚発生過程における Epidermal growth factor (EGF) の生理作用に関する検討
 三重大学医学部産科婦人科学教室 ○西山 真人, 菅谷 健, 寺田 厚
 山本 稔彦, 杉山 陽一

I-23. ラット胚のガラス化保存に関する研究
 京都大学農学部畜産学教室 ○内海 恭三, 入谷 明

受精・着床 (IV) :

[演題 I-24~26] (10:48~11:24) 座長 佐藤 章 (福島医大・産婦)

I-24. 精子形態とヒト体外受精
 慶應義塾大学医学部産婦人科 ○大澤 淑子, 小林 俊文, 神野 正雄
 荻窪病院産婦人科* 杉村 和男, 岩田 壮吉, 赤星 晃一
 北村 誠司, 岩田利恵子, 野澤 志朗
 杉山 武*, 片山恵利子*, 飯田 悦郎*

I-25. ヒト精子の Zona induced acrosome reaction と顆粒膜細胞群の影響
 福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○吉松 宣弘, 菅野 孝子, 星 和彦
 佐藤 章

I-26. 凍結ハムスター卵を用いたハムスターテストとヒト体外受精成績の相関
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○北村 誠司, 小林 俊文, 杉村 和男
 神野 正雄, 赤星 晃一, 岩田 壮吉
 大澤 淑子, 岩田利恵子, 名取 道也
 森定 優, 野澤 志朗

受精・着床 (V) :

[演題 I-27~29] (11:24~12:00) 座長 八神 喜昭 (名古屋市大・産婦)

I-27. 非極性アミノ酸の相互作用を利用した early pregnancy factor 精製法の検討
 済生会神奈川県病院産婦人科 ○末岡 浩, 黒田優佳子, 伊藤 仁彦**
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室* 小西 康弘, 小林 淳一, 中野真佐男
 社会保険埼玉中央病院産婦人科** 森定 優*, 小林 俊文*, 野澤 志朗*
 飯塚 理八*

I-28. マウス凍結精子の受精能について—体外受精及び顕微受精試験—
 明治大学農学部家畜繁殖 藤本 午郎, 奥山 学, 佐賀 正彦*
 聖マリアンナ医大産婦人科* 浜田 宏*, 尾川 昭三

I-29. 受精卵に対する凍結保存の影響について
 —发育速度および染色体への影響を中心に—
 名古屋市立大学産科婦人科学教室 ○飯田 忠史, 鷺見 整, 生川 剛史
 足立 立子, 岡田 節男, 生田 克夫
 鈴森 薫, 八神 喜昭

受精・着床 (VI) :

[演題 I-30~32] (13:00~13:36) 座長 岡村 均 (熊本大・産婦)

- I-30. 卵胞期血中プロゲステロン値の卵成熟, 受精・分割および妊娠予後に及ぼす影響
鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○見尾 保幸, 関島 秋男, 岩部 富夫
大野原良昌, 谷川 正浩, 寺戸 博文
戸田 稔子, 原田 省, 寺川 直樹
- I-31. 低プロラクチン血症の受精・分割, 着床に及ぼす影響
慶應義塾大学産婦人科 佐野 陽子, 小田 高久,¹ 吉村 泰典²
東京歯科大学産婦人科¹ 竹原 祐志,¹ 田辺 清男, 小林 俊文
杏林大学産婦人科² 中村 幸雄,² 大野虎之進,¹ 野澤 志朗
- I-32. 卵胞成熟の指標としてのヒト卵胞液中の Plasminogen Activator および
Plasminogen Activator Inhibitor レベルの検討
熊本大学産科婦人科学教室 ○田中 信幸, 松浦 講平, 本田 賀裕
神戸市立中央市民病院産婦人科* 岡村 均, 島田 逸人*, 高島 英世*

受精・着床 (VII) :

[演題 I-33~35] (13:36~14:12) 座長 高田 道夫 (順天堂大・産婦)

- I-33. 4~8細胞期胚卵管内移植 (Embryo Intrafallopian Transfer, EIFT) の臨床成績
セントマザー産婦人科医院¹ ○岡部 親宜,² 田中 温,¹ 田中威づみ¹
順天堂大学医学部産婦人科² 吉田 一郎,¹ 竹本 洋一,¹ 高田 道夫²
- I-34. 体外受精における前核期細胞子宮内移植の検討
琉球大学医学部産婦人科 ○佐久川政男, 山城 一也, 佐久本哲郎
稲福 薫, 前浜 俊之, 新崎 盛雄
東 政弘, 中山 道男
- I-35. マウス体外受精時の polyploidy の成因についての検討
山形大学医学部産科婦人科学教室 ○杉内 明子, 佐藤 文彦, 広井 正彦

受精・着床 (VIII) :

[演題 I-36~39] (14:12~15:00) 座長 百瀬 和夫 (東邦大・産婦)

- I-36. 重症造精機能障害に対する Microfertilization による体外受精率の向上について
東邦大学第1産科婦人科学教室 ○久保 春海, 安部 裕司, 白井 彰
雀部 豊, 片山 進, 百瀬 和夫
- I-37. ヒト卵子の囲卵腔内精子注入
東海大学医学部産婦人科 ○松井 素子, 井上 正人, 淡路 英雄
小林 善宗, 本田 育子, 宗 完子
藤井 明和
- I-38. Partial zona dissection 2法の比較
山形大学医学部産科婦人科学教室 ○斉藤 英和, 佐藤 文彦, 小池 数与
斉藤 隆和, 西川 結香, 広井 正彦

I-39. 2細胞期胚に対する Partial zona dissection が胚の発育に及ぼす影響

山形大学医学部産科婦人科学教室 ○榎 真理子, 齊藤 英和, 佐藤 文彦
齊藤 隆和, 広井 正彦

第II会場 (国際会議室)

精子・排精 (I) :

[演題 II-11~13] (9:00~9:36) 座長 荒木 勤 (日本医大・産婦)

II-11. 種々の swim up 法における精子運動率について

長崎大学医学部産科婦人科学教室 ○岡本 純英, 布施 正樹, 山下 隆則
梶村 秀雄, 黄 宏駿, 石丸 忠之
山邊 徹
国立長崎中央病院産婦人科 重松 潤

II-12. Swim up 法, Percoll 2層法, Glass wool法によるヒト精子回収法の比較検討

順天堂大学医学部産婦人科 ○福田 勝, 飯田 信, 武内 裕之
伊藤 哲, 高田 道夫

II-13. 当院における精子 Swim up 洗浄濃縮法を用いた AIH の成績

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○吉沢 久, 村田 均, 土用下麻美
国部 久也, 旭 敏秋, 桑原 惣隆

精子・排精 (II) :

[演題 II-14~16] (9:36~10:12) 座長 寺島 芳輝 (慈恵医大・産婦)

II-14. 精子因子不妊に対する percoll-AIH の有用性と限界

東京慈恵会医科大学産科婦人科学教室 ○後藤 誠, 安江 育代, 川勝 雅秀
八街病院* 秋山 芳晃, 村江 正始, 落合 和彦
楠原 浩二, 寺島 芳輝, 篠塚 正一*

II-15. Triple Stain Technique, Hypoosmotic Test によるヒト精子機能検査法の比較検討

慶応義塾大学医学部泌尿器科学教室 ○大橋 正和, 石川 博義, 橘 政昭
田崎 寛
国立埼玉病院泌尿器科 織田 孝英

II-16. 男性不妊夫婦における妻側不妊因子の検討

—腹腔鏡検査所見による分析—

東海大学医学部産婦人科 ○林田 研一, 小林 善宗, 井上 正人
本田 育子, 淡路 英雄, 鈴木 隆弘
藤井 明和

精子・排精 (III) :

[演題 II-17~19] (10:12~10:48) 座長 守殿 貞夫 (神戸大・泌尿)

II-17. ヒト精子糖代謝酵素のアデニンヌクレオチドによる活性調節

帝京大学医学部産科婦人科 ○菅 隆一, 中村 正久, 沖永 莊一
荒井 清

II-18. ヒト精漿蛋白のゴシポールに対する影響

I. ヒト精漿蛋白はゴシポールの LDH 活性阻害を抑制する

帝京大学医学部産科婦人科 ○池田 誠, 中村 正久, 沖永 莊一
荒井 清

II-19. ヒト精漿蛋白のゴシポールに対する影響

II. ゴシポール作用抑制蛋白の精製

帝京大学医学部産科婦人科 ○中村 正久, 池田 誠, 沖永 莊一
荒井 清

精子・排精 (IV) :

[演題 II-20~22] (10:48~11:24) 座長 吉田謙一郎 (埼玉医大医療センター・泌尿)

II-20. Sperm survival test で自然妊娠成立を予知できた高度異常精液の一例

長崎大学医学部産婦人科 ○布施 正樹, 岡本 純英, 山下 隆則
梶村 秀雄, 黄 宏駿, 石丸 忠之
山辺 徹
国立長崎中央病院産婦人科 重松 潤

II-21. 新しい精子機能評価法 (Sperm Wandering Test)

河内総合病院体外受精室 ○森本 義晴, 牧野 滋, 桑名 博士
関西医大産科学婦人科学教室* 森本 武晴, 堀越 順彦*, 榎木 晋*
榎木 勇*

II-22. 子宮内膜症患者の腹水中における精子の移動距離

群馬大学産科婦人科学教室 ○中島 敬和, 宇津木利雄, 水沼 英樹
山田 清彦, 伊吹 令人, 五十嵐正雄

精子・排精 (V) :

[演題 II-23~25] (11:24~12:00) 座長 久住 治男 (金沢大・泌尿)

II-23. 骨盤骨折に伴う後部尿道外傷性狭窄の形成術後の妊孕能について

聖マリアンナ医科大学泌尿器科 ○岩本 晃明, 長田 尚夫, 星野 孝夫
田中 宏樹, 矢島 通孝, 原口 千春
馬場 克幸, 井上 武夫

II-24. 精子運動能は精巣上体内で獲得されるか?

帝京大学医学部泌尿器科学教室¹ ○石田 克美¹, 友政 宏¹, 矢崎 恒忠¹
東京大学教養学部生物学教室² 梅田 隆¹, 奥野 誠²

II-25. 重症乏精子症に対する障害部位の診断と精巣上体精子採取の有効性について

済生会神奈川県病院産婦人科 ○黒田優佳子, 末岡 浩, 小西 康博
同泌尿器科* 小林 淳一, 中野真佐男, 小林 俊文**
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室** 野澤 志郎**, 飯塚 理八**
同泌尿器科学教室*** 中島 洋介*, 田崎 寛***

精子・排精 (VI) :

[演題 II-26~28] (13:00~13:36) 座長 熊本 悦明 (札幌医大・泌尿)

- II-26. 高齢者精巣における Spermatogenesis の組織化学的検討
札幌医科大学泌尿器科 ○新田 俊一, 南部 明民, 伊藤 直樹
熊本 悦明
- II-27. 抗 BrdU 抗体を用いた Rat spermatogenesis における DNA 合成能の検討
札幌医科大学泌尿器科 ○南部 明民, 新田 俊一, 伊藤 直樹
三熊 直人, 塚本 泰司, 丸田 浩
熊本 悦明
- II-28. シクロスポリンのラット造精機能へ及ぼす影響
富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室 ○岩崎 雅志, 布施 秀樹, 風間 泰藏
片山 喬

精子・排精 (VII) :

[演題 II-29~31] (13:36~14:12) 座長 岡田 清己 (日本大・泌尿)

- II-29. 精子運動と浸透圧に関する検討
横浜市立大学泌尿器科 ○齋藤 和男, 佐藤 和彦, 岩崎 皓
木下 裕三, 穂坂 正彦
- II-30. 凍結保存精子の受精機能——HOS test を中心にして——
東北大学医学部産科婦人科学教室 ○吉田 仁秋, 深谷 孝夫, 陳 偉業
村上 節, 萬代 泰男, 角田千恵子
大井 嗣和, 対木 章, 矢嶋 聰
- II-31. ヒト精子受精能の検査の検討
——ハムスターテストと Hypoosmotic swelling test に対するわれわれの見解——
防衛医科大学校産科婦人科学教室 ○牧村 紀子, 市川 秀志, 堀江 稔
壽圓 裕康, 古谷 健一, 星原 孝幸
永田 一郎

精子・排精 (VIII) :

[演題 II-32~35] (14:12~15:00) 座長 毛利 秀雄 (東京大・生物)

- II-32. 哺乳動物精子核の雄性前核形成における安定性
福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○榊田 薫, 矢沢 浩之, 片寄 治男
星 和彦, 佐藤 章
ハワイ大学解剖・生殖生物学教室 柳町 隆造
- II-33. Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , energy substrates が, ヒト精子の運動能及び受精能に与える影響
福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○月川 奏, 星 和彦, 矢沢 浩之
佐々木宏子, 佐藤 章
- II-34. マウス精子プロテインキナーゼCアイソザイムの免疫化学的解析

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室¹ ○小松 節子,¹ 遠藤 芳広,¹ 平井 雅道²
 分子生物学教室² 福山 隆一,² 清水 信義,² 鈴木 秋悦¹
 野澤 志朗,¹

II-35. Triton X-100 処理ヒト精子の ATP+cAMP による運動再開と genistein による抑制
 立川共済病院産婦人科¹ ○遠藤 芳広,¹ 小松 節子,² G. S. Kopf³
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室² 鈴木 秋悦²
 ペンシルバニア大学³

第III会場 (201)

検査・診断 (I) :

[演題 III-15~17] (9:00~9:36) 座長 矢内原 巧 (昭和大・産婦)

- III-15. 不妊症における子宮鏡の有用性
 琉球大学医学部産婦人科 ○稲福 薫, 佐久本哲郎, 新崎 盛雄
 東 政弘, 中山 道男
- III-16. 不妊症患者に対するヒステロファイバースコープ施行の意義についての検討
 富山県立中央病院産婦人科 ○舟本 寛, 佐竹紳一郎, 小嶋 康夫
 館野 政也
- III-17. 子宮内灌流液デキストランの血糖値に及ぼす影響
 東邦大学第1産婦人科学教室 ○大高 究, 矢野 義明, 森田 峰人
 小島 栄吉, 百瀬 和夫

検査・診断 (II) :

[演題 III-18~20] (9:36~10:12) 座長 北尾 學 (島根医大・産婦)

- III-18. 尿中 LH 簡易測定キットの基礎的および臨床的検討
 ——酵素免疫吸着測定とゾル粒子免疫測定法の比較——
 島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○吉野 和男, 高橋健太郎, 永田 裕子
 溝口さおり, 北尾 學
- III-19. AID の妊娠成功例と不成功例の解析による LH カラーの有用性と限界
 假野クリニック ○假野 隆司
- III-20. 1日1回の血中 LH 測定による排卵予知
 順天堂大学産婦人科学教室 ○伊藤 哲, 飯田 信, 武内 裕之
 福田 勝, 高田 道夫

検査・診断 (III) :

[演題 III-21~23] (10:12~10:48) 座長 松浦 俊平 (愛媛大・産婦)

- III-21. 全自動 EIA システム (IMx) を用いた血中 LH, FSH 測定法の検討
 山口大学医学部産科婦人科学教室 ○中村 康彦, 田村 晴代, 杉野 法広
 川本 和則, 石松 正也, 加藤 紘

III-22. サンドイッチ法を利用した EIA に基づく LH・ダイナパック FSH・ダイナパックの
検討と臨床応用

帝京大学医学部産婦人科学教室 ○竹下 茂樹, 大川 とみ, 荒川 聡子
吉村 幸子, 粟田松一郎, 神戸川 明
沖永 莊一, 荒井 清

III-23. 多嚢胞卵巣症候群における血中 testosterone 濃度について

—使用 testosterone キットの比較及び free testosterone との関連性について—

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○高橋健太郎, 吉野 和男, 江田 芳美
山崎 裕行, 北尾 学

検査・診断 (IV) :

[演題 III-24~26] (10:48~11:24) 座長 矢追 良正 (獨協医大越谷・産婦)

III-24. 卵巣刺激周期における着床期子宮内膜の形態学的所見と卵巣性ステロイドホルモンの
関連性について

東京医科大学産婦人科教室 ○清水 洋一, 内海 靖子, 佐藤 妙子
入江 宏, 山田 悦郎, 山縣 邦彦
中村 文武

III-25. 排卵周期における経膈超音波による子宮内膜像の変化

聖マリアンナ医大産婦人科 大野 祐子, 石塚 文平, 近藤 俊彦
渡辺 研一, 堀越 裕史, 栗林 靖
高橋 誠治, 斉藤寿一郎, 浜田 宏

III-26. 尿中 Pd-3G 測定法 (LA-Pd-3G-2) の検討と体外授精後の動態について

獨協医科大学越谷病院産婦人科 ○榎本 英夫, 加藤 晴美, 生山 博
松永 啓伸, 瀬川 裕史, 林 雅敏
矢追 良正

検査・診断 (V) :

[演題 III-27~29] (11:24~12:00) 座長 川島 吉良 (浜松医大・産婦)

III-27. スコアリングによる卵管形成術の予後分類の考案

大阪労災病院産婦人科¹ 亀田 隆¹, 谷口 武, 佐治 文隆
大阪大学医学部産婦人科² 谷澤 修²

III-28. 拳児希望筋腫核出例の妊孕性回復における画像診断の意義

国立横浜東病院産婦人科 ○田中 宏一, 高野 昇, 上杉 健哲
千葉大産婦人科* 漢那磨理意, 田嶋 達矢, 田中 尚武*

III-29. 当院における反復流産患者に対する検査と治療

済生会神奈川県病院 ○小林 淳一, 黒田優佳子, 小西 康博
末岡 浩, 中野真佐男

卵巣・性ホルモン (I) :

[演題 III-30~32] (13:00~13:36) 座長 岡田 弘二 (京都府医大・産婦)

- III-30. ヒト卵巣における dopamine の免疫組織学的局在について
 北海道大学医学部産婦人科学教室 ○古田伊都子, 昆 泰寛*, 田中 俊誠
 北海道大学獣医学部家畜解剖学教室* 藤本征一郎
- III-31. 多嚢胞性卵巣 (PCO) における aromatase および 17α -hydroxylase の発現について
 京都府立医科大学産婦人科 ○田村 尚也, 北脇 城, 大野 洋介
 山本 宝, 岡田 弘二
- III-32. 多嚢胞性卵巣症候群と糖代謝異常について
 大分県立病院産婦人科 ○宇津宮隆史, 岩里桂太郎, 谷口 一郎
 溝口 洋一, 貞永 明美, 寺脇 信二
 肥田 木孜

卵巣・性ホルモン (II) :

[演題 III-33~36] (13:36~14:24) 座長 望月 真人 (神戸大・産婦)

- III-33. PCO 患者におけるアンドロゲンと糖・脂質代謝
 神戸大学医学部産科婦人科学教室 ○猶原まゆみ, 片山 和明, 山辺 晋吾
 阿江 孝, 望月 真人
- III-34. ウシインヒビンの大量精製法の開発
 群馬大学医学部産婦人科, SRL 特殊検査部* ○長谷川喜久, 高木 司* 福田 正樹
 屋内美津江, 伊吹 令人, 五十嵐正雄
- III-35. 女性アルコール依存患者における内分泌動態と治療経過について
 産業医科大学産婦人科 ○石 明寛, 岡村 靖
- III-36. 各種排卵誘発法における血中 E_2 迅速測定法の意義
 順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○武内 裕之, 伊藤 茂, 豊成 由佳
 飯田 信, 伊藤 哲, 福田 勝
 高田 道夫

卵巣・性ホルモン (III) :

[演題 III-37~40] (14:24~15:12) 座長 永田 行博 (鹿児島大・産婦)

- III-37. EDF のブタ大卵胞由来培養顆粒膜細胞ステロイド産生に及ぼす影響
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○芝 徹, 田辺 清男, 結城 清美
 斉城 綾子, 朴 俊英, 小林 俊文
 野澤 志朗
- III-38. 顆粒膜-莢膜細胞相互作用によるホルモン産生分泌調節機構
 福井医科大学産科婦人科* ○小辻 文和* 富永 敏朗*, 長谷川善久**
 群馬大学医学部産科婦人科** 五十嵐正雄**
- III-39. 卵巣顆粒膜細胞に対する血管収縮物質エンドセリン-1 の関与について

東京医科歯科大学産婦人科 ○鎌田 周作, 久保田俊郎, 田口 誠
同第二内科* 西 望, 麻生 武志, 平田結喜緒*
丸茂 文昭*

III-40. Progesterone (P), Estradiol (E₂), P/E₂ 比の着床における意義について

杏林大学医学部産科婦人科学教室 ○生方 良延, 中村 幸雄, 吉村 泰典
山田 春彦, 吉田 圭子, 南野 智徳
安藤 索, 鈴木 正彦

第IV会場 (301)

手術・統計 (I) :

[演題 IV-15~17] (9:00~9:36) 座長 長田 尚夫 (聖マリアンナ医大・泌尿)

IV-15. 精索静脈瘤の手術治療成績の検討

神戸大学医学部泌尿器科 ○林 晃史, 今西 治, 奥田 喜啓
篠崎 雅史, 中川 泰始, 岡 伸俊
松本 修, 守殿 貞夫

IV-16. 男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績

滋賀医科大学医学部泌尿器科 ○石田 章, 友吉 唯夫

IV-17. 男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績

名古屋大学医学部泌尿器科 ○坂田 孝雄, 長井 辰哉, 高羽 秀典
岐阜県立多治見病院泌尿器科* 平田 能史, 金城 勤*, 三宅 弘治

手術・統計 (II) :

[演題 IV-18~20] (9:36~10:12) 座長 白井 將文 (東邦大・泌尿)

IV-18. 当科における開院以来 10 年間の男性不妊の臨床統計

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○里見 定信, 風間 泰藏, 寺田 為義
布施 秀樹, 片山 喬

IV-19. 閉塞性無精子症に対する人工精液瘤の経験

川崎医科大学泌尿器科 河原 弘之, 田中 啓幹
松村総合病院泌尿器科 木内 弘道

IV-20. 腹腔鏡下内精血管高位結紮術の経験

京大泌尿器 ○松田 公志, 堀井 泰樹, 吉田 修

手術・統計 (III) :

[演題 IV-21~23] (10:12~10:48) 座長 永田 一郎 (防衛医大・産婦)

IV-21. AIH 施行 214 例に関する不妊因子からみた統計的検討

名古屋大学医学部分院産婦人科 ¹	前田 修 ¹	稲垣 資郎 ¹	柴田 均 ¹
名古屋大学医学部産婦人科 ²	中村 潔史 ¹	近藤 育代 ¹	大沢 政巳 ¹
名古屋大学医療短大 ³	成田 収 ¹	中西 勉 ³	山口 一雄 ²
	菅沼 信彦 ²	友田 豊 ²	

IV-22. 当科における不妊症外来の現状

信州大学医学部産科婦人科学教室	○吉沢 徹	吉川 文彦	中山 邦章
	塚本 隆是	福田 透	

IV-23. 不妊症の臨床統計 10年前との比較検討

西恵会 西川婦人科内科クリニック	○中村 享史	下山 勝己	栗林 裕之
	西川 潔		

手術・統計 (IV) :

[演題 IV-24~26] (10:48~11:24) 座長 佐藤 和雄 (日本大・産婦)

IV-24. 当科における体外受精胚移植法の成績

京都府立医科大学産婦人科	○大野 洋介	田村 尚也	北脇 城
	北川 一郎	福岡 正晃	岡田 弘二

IV-25. 接着剤 (フィブリン) を使用した微小血管吻合及びハムスター子宮吻合の実験的研究

カーネギー産婦人科	○印牧 義孝
-----------	--------

IV-26. 当科における術後早期腹腔鏡の成績

九州大学医学部婦人科学産科学教室	○森 俊介	松口 博之	内海 善夫
	野崎 雅裕	中村 元一	中野 仁雄

手術・統計 (V) :

[演題 IV-27~29] (11:24~12:00) 座長 貝原 学 (帝京大市原・産婦)

IV-27. 反復マイクロサージェリーによる卵管形成術の妊娠例とその意義について

日本大学医学部産科婦人科学教室	○山田 祐士	長田 尚夫	津端 捷夫
	佐藤 和雄		

IV-28. マイクロサージェリーによる卵管形成術後の卵管妊娠例に関する検討

愛知医科大学産婦人科学教室	○保條 説彦	野口 昌良	岡本 俊充
	澤口 啓造	藪下 廣光	正橋 鉄夫
	中西 正美		

IV-29. 新しい卵管移植術式と卵管間質部の構造

筑波大学臨床医学系産婦人科	○西田 正人	岡本 一	辻 泰二
	山内 宏	岩崎 寛和	

家畜繁殖・その他 :

[演題 IV-30~32] (13:00~13:36) 座長 正木 淳二 (東北大・畜産)

IV-30. 超音波による牛・豚・マウス・鶏精子の尾部切断

鹿児島大学農学部	○後藤 和文	木之下明弘	中西 喜彦
	小川 清彦		

- IV-31. 抗プロゲステロン製剤 (RU486) による家兔の分娩調節に関する検討
 日本大学農獣医学部獣医生理学教室 ○谷口 清, 遠藤 克, 金山 喜一
 佐久間勇次
- IV-32. 黄体化無排卵卵胞 (LUF) 現象を有する不妊症例に対する Needle Puncture (NP) の効果
 社会保険徳山中央病院産婦人科 山下 三郎, 道岡 享, 小林 正幸
 成松 昭夫, 伊東 武久

機能性不妊・免疫 (I) :

[演題 IV-33~36] (13:36~14:24) 座長 磯島 晋三 (兵庫医大・産婦)

- IV-33. 3-sulfogalactose が精子不動化抗体の認識抗原決定基である可能性について
 兵庫医科大学産科婦人科学教室 辻 芳之, 福田 洋, 居内 彰子
 磯島 晋三
- IV-34. 精子不動化抗体陽性不妊婦人血清のサル精子に対する反応性
 兵庫医科大学産婦人科 ○亀田 絹, 居内 彰子, 福田 洋
 繁田 実, 辻 芳之, 香山 浩二
 磯島 晋三
 滋賀医科大学医学部附属動物実験施設 鳥居 隆三
- IV-35. 精子不動化抗体を保有する不妊婦人に対する不妊治療指針についての一考察
 大阪大学医学部産婦人科 加藤 宗寛, 大橋 一友, 脇本 昭憲
 谷口 武, 木村 正, 佐治 文隆
 谷澤 修
- IV-36. 長期不妊症例に対する superstimulation 療法
 藤田学園保健衛生大学産婦人科学教室 ○吉田麻里子, 澤田 富夫, 神谷 貴之
 樋口 泰彦, 廣田 稔, 河上 征治
 福島 稔

機能性不妊・免疫 (II) :

[演題 IV-37~39] (14:24~15:00) 座長 須川 侑 (大阪市大・産婦)

- IV-37. ブタ透明帯抗原に対するモノクローナル抗体 (5H4) の種属間交差性と組織特異性について
 兵庫医科大学産婦人科学教室 ○井上みゆき, 長谷川昭子, 香山 浩二
 磯島 晋三
- IV-38. 低用量経口避妊薬 NDS-1 および NDS-3 の避妊効果と安全性に関する検討
 横浜市立大学産婦人科 多賀 理吉, 水口 弘司, 寺川 直樹*
 大阪大学産婦人科* 谷沢 修*
- IV-39. GYNE-T380 S (銅付加T字型 IUD) の臨床成績—第1報—
 旭川医科大学産婦人科学教室 ○石川 睦男, 石川 雅嗣, 清水 哲也

第V会場 (304)

間脳・下垂体：

[演題 V-15~17] (9:00~9:36) 座長 武田 佳彦 (東京女子医大・産婦)

- V-15. インシュリン様成長物質 (IGF) のゴナドトロピン分泌に及ぼす作用
 徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○三宅 敏一, 兼松 豊和, 横山 裕司
 井川 洋, 斎藤誠一郎, 松崎 俊也
 植田 敏弘, 安井 敏之, 苛原 稔
 青野 敏博
- V-16. 内因性摂食調節物質 2-buten-4-olide のゴナドトロピン分泌抑制作用に関する検討
 徳島大学産科婦人科学教室 ○斎藤誠一郎, 横山 裕司, 井川 洋
 松崎 利也, 植田 敏弘, 安井 敏之
 三宅 敏一, 苛原 稔, 青野 敏博
- V-17. ヒト胎盤組織におけるオキシトシン様物質および CRF の存在について
 慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 ○酒井 淳, 牧野 恒久, 岩崎 賢一
 斎藤 優, 野澤 志朗

LH-RH (I)：

[演題 V-18~20] (9:36~10:12) 座長 荒井 清 (帝京大・産婦)

- V-18. 下垂体遊離細胞 LH 分泌に対する Interleukin-1 の作用の検討
 慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 ○斉藤 優, 牧野 恒久, 和泉俊一郎
 豊島 究, 杉 俊隆, 野澤 志朗
- V-19. 視床下部神経細胞における LHRHmRNA の組織学的局在
 帝京大 ○味香 勝也, 深沢みゆき, 土橋 一慶
 高野 栄子, 荒井 清, 冲永 荘一
- V-20. TAP-144-SR 6ヶ月投与による子宮筋腫縮小効果の検討
 九州大学医学部婦人科学産科学教室 ○渡辺 良嗣, 内海 善夫, 野崎 雅裕
 中村 元一, 中野 仁雄

LH-RH (II)：

[演題 V-21~23] (10:12~10:48) 座長 熊坂 高広 (獨協医大・産婦)

- V-21. IVF-ET, GIFT program における GnRH analog (GnRHa) 併用の有用性と
 問題点に関する研究
 鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○関島 秋男, 岩部 富夫, 大野原良昌
 谷川 正浩, 寺戸 博文, 戸田 稔子
 原田 省, 見尾 保幸, 寺川 直樹
- V-22. 中枢神経症状を呈した卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) の一症例

東北大学医学部産科学婦人科学教室 ○戸沢 秀夫, 陳 偉業, 村上 節
C. マンスフィールド, 角田千恵子
吉田 仁秋, 大井 嗣和, 村木 章
深谷 孝夫, 矢嶋 聡

V-23. シアル酸含有量の異なる2種類のHMG製剤の臨床効果の比較

賛育会病院産婦人科 ○合阪 幸三, 都築 浩雄, 金田 幸枝
野島美知夫, 鳥谷 葉子, 國保健太郎
吉田 浩介

LH-RH (III) :

[演題 V-24~26] (10:48~11:24) 座長 五十嵐 正雄 (群馬大・産婦)

V-24. LH-RH の間歇的静脈内投与によって排卵・妊娠に至った難治性排卵障害の一例

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○鈴木 真史, 岡田 英幹, 貝田 清隆
生田 克夫, 万歳 稔, 花田 征治
八神 喜昭

V-25. PCOD に対する LH-RHa-HMG-HCG 療法における内分泌的検討

信州大学産科婦人科 ○中山 邦章, 吉川 文彦, 吉澤 徹
平林 稔之, 福田 透

V-26. クロミッド療法無効の PCO に対する LH-RHa, hMG-hCG 療法

千葉大学産婦人科 ○木村 博昭, 布山 隆史, 稲葉 憲之
高見澤裕吉
川鉄千葉病院産婦人科 内藤 正文, 板橋光司郎

プロラクチン :

[演題 V-27~29] (11:24~12:00) 座長 青野 敏博 (徳島大・産婦)

V-27. ラット視床下部培養系におけるプロラクチンの Gn-RH および

ドーパミン分泌に及ぼす影響について

大阪大学医学部産科婦人科学教室 ○沢田 雄至, 小池 浩司, 廣田 憲二
門脇 浩三, 池上 博雅, 増本 伸之
大道 正英, 三宅 侃, 谷澤 修

V-28. 高 TSH 血症を示す不妊 (育) 症患者的検討—第2報—

東京女子医科大学産婦人科 ○安達 知子, 岩下 光利* 吉井 大介
同母子総合医療センター* 三室 卓久, 中山 摂子, 武田 佳彦
坂元 正一*

V-29. ヒト黄体 life span の調節機構

—ヒト顆粒膜・黄体細胞の培養系におけるプロラクチンの作用—

大分医科大学産科婦人科学教室 ○檜原 久司, 河野 康志, 松井 尚彦
村田 博久, 早田 隆, 宮川 勇生

卵管・子宮 (I) :

[演題 V-30~33] (13:00~13:48) 座長 橋本 正淑 (札幌医大・産婦)

V-30. レセルピン投与ラットにおける脱落膜反応と血中ホルモン濃度について

日本レダリー株式会社 ○茂田 哲哉
 信州大学農学部 辻井 弘忠
 防衛医科大学校 橋爪 一善

V-31. 経膈超音波断層法による子宮体部および子宮内膜の月経周期変動について

藤田学園保健衛生大学産科婦人科学教室 ○吉村 俊和, 廣田 稔, 白木 誠
 杏林大学産科婦人科学教室* 澤田 富夫, 河上 征治, 福島 稔
 吉村 泰典*

V-32. ヒト子宮内膜間質細胞の Growth factor について

札幌医科大学産婦人科 ○福江ひろみ, 山本 弘, 遠藤 俊明
 田中 昭一, 橋本 正淑

V-33. ヒト女性生殖器における Superoxide Dismutase (SOD) の発現とその生理的意義

京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○成本 勝彦, 野田 洋一, 塩谷 雅英
 森 崇英

卵管・子宮 (II) :

[演題 V-34~36] (13:48~14:24) 座長 富永 敏朗 (福井医大・産婦)

V-34. 当科における卵管間質部閉鎖に対する体外受精胚移植の治療成績について

群馬大学産科婦人科学教室 ○伊藤 郁朗, 関 守利, 土屋 清志
 伊藤 理廣, 竹内 巧, 篠崎 博光
 伊吹 令人, 五十嵐正雄

V-35. 子宮内膜ポリープと不妊症

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○吉田 勝彦, 上田由生子, 金子 利朗
 池田 裕也, 桑原 惣隆

V-36. AIH の検討

福井県済生会病院産婦人科* ○根上 晃*, 金嶋 光夫*, 富永 敏朗**
 福井医科大学産科婦人科学教室**

卵管・子宮 (III) :

[演題 V-37~39] (14:24~15:00) 座長 野澤 志朗 (慶応大・産婦)

V-37. 卵管内人工授精法 (HIT 法) の適応決定のための卵管内精子上行検査に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○岩田 壮吉, 小林 俊文, 神野 正雄
 東京歯科大市川病院* 大澤 淑子, 北村 誠司, 赤星 晃一
 杉村 和男, 野澤 志朗, 郡山 智*

V-38. 子宮鏡下卵管内人工授精法 (HIT 法) の妊娠例および妊娠率に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室
東京歯科大市川病院*

○杉村 和男, 小林 俊文, 神野 正雄
赤星 晃一, 岩田 壮吉, 大澤 淑子
北村 誠司, 野澤 志朗, 郡山 智*

V-39. 当科における子宮鏡下卵管内人工授精法 (HIT 法) の成績

京都第一赤十字病院産婦人科

○田村 秀子, 佐伯 美幸, 原田 清行
山田 俊夫, 横関 正一, 中田 好則

一 般 演 題

(示説発表)

第1日 11月16日 (金)

ポスター第VI会場 (302)

卵管・子宮

[演題 PVI-1~5] (9:30~10:00) モデレーター 桑原 惣隆 (金沢医大・産婦)

PVI-1. 頸管粘液分泌不全症の成因と治療に関する研究 (第4報)

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室 ○許山 浩司, 楠原 浩二, 松本 和紀
川勝 雅秀, 安江 育代, 寺島 芳輝

PVI-2. ヒト卵管におけるエストロゲンレセプターとプロゲステロンレセプターに関する免疫組織化学的検索

山梨医科大学産婦人科 ○池上 淳, 加藤 順三
社会保険山梨病院 吉田 孝二

PVI-3. 実験的卵管留水症のマウス初期胚発生に及ぼす影響

東邦大学医学部第1産婦人科教室 ○松島 弘充, 勝見 千明, 斎藤 真一
百瀬 和夫

PVI-4. 自然排卵周期及び排卵誘発周期における子宮内膜の厚さと輝度の変化

岡山大学医学部産科婦人科学教室 ○白河 一郎, 平野由紀夫, 片山 隆章
多賀 茂樹, 名越 一介, 新谷 恵司
清水 健治, 吉田 信隆, 関場 香

PVI-5. ウシならびにブタ卵管における中間径フィラメントの免疫組織化学的分布

バイオ科研¹ ○小野寺政一¹, 及川 胤昭^{1,2}
機能性ペプチド研²

妊娠、流産 (I)

[演題 PVI-6~11] (10:00~10:30) モデレーター 鈴森 薫 (名古屋市大・産婦)

PVI-6. 肥満婦人のオプティファースト70による very low calorie diet 療法にて妊娠にいたった症例

宮崎医科大学産婦人科学教室 ○金子 政時, 池田 智明, 渡辺 裕之
野田 俊一, 戸枝 通保, 小池 弘幸
森 憲正

PVI-7. 当院における腎移植後の妊娠分娩例—多胎妊娠を含む—

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○羽根 淳治, 丹野 治郎, 高木 弘明
吉沢 久, 高林 晴夫, 桑原 惣隆

PVI-8. 子宮体癌の保存的治療後妊娠に成功した一例

- 信州大学医学部産科婦人科学教室 ○吉川 文彦, 中山 邦章, 吉沢 徹
塚原 嘉治, 福田 透
- PVI-9. 子宮奇形に対する Metroplasty 後に妊娠, 分娩に至った症例
金沢医科大学産科婦人科学教室 ○上田由生子, 土用下麻美, 金子 利朗
高木 弘明, 国部 久也, 吉沢 久
安沢 紀夫, 桑原 惣隆
- PVI-10. 不妊治療後妊娠の転帰について
山梨医科大学産婦人科 ○水野 薫子, 安水 洸彦, 木下 俊彦
加藤 順三
- PVI-11. 当科不妊外来における妊娠例の検討
福岡大学医学部産科婦人科学教室 ○小山 雅子, 澄井 敬成, 池田 景子
詠田 由美, 吉満 陽孝, 白川 光一

妊娠・流産 (II)

[演題 PVI-12~16] (10:30~11:00) モデレーター 桑原 慶紀 (東京大・産婦)

- PVI-12. 習慣流産の原因としての先天性子宮奇形の臨床的および病理組織学的検討
慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 ○梅内 正勝, 牧野 恒久, 酒井 淳
斉藤 優, 野澤 志朗
- PVI-13. 反復流産患者夫婦の染色体異常に関する統計学的検討
慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 ○岩崎 賢一, 牧野 恒久, 豊島 究
梅内 正勝, 野澤 志朗
- PVI-14. 自然流産胎児染色体検査成績とその臨床的意義
慶應義塾大学医学部産婦人科 ○藤田 則子, 田村 昭蔵, 鈴木早百合
野澤 志朗
- PVI-15. レゼクトスコープによる中隔子宮の治療法
—TCR—
川崎市立川崎病院 ○林 保良, 水原 浩, 大池ひとみ
蛭原 照男, 福田 俊子, 宮本 尚彦
坂倉 啓一, 曾山 嘉夫, 関 賢一
岩田 嘉行
- PVI-16. ヒト精子凍結保存におけるウリナスタチンの影響
回収率の向上を目指して
国立下関病院産婦人科 ○林 公一, 宮崎 博章, 冬野幾久男
延谷寿三郎

妊娠・流産 (III)

[演題 PVI-17~21] (11:00~11:30) モデレーター 鈴木 秋悦 (慶応大・産婦)

- PVI-17. 経膈超音波早期診断による子宮外妊娠外来 MTX 治療の試み
東海大学医学部産婦人科 ○鈴木 隆弘, 本田 育子, 小林 善宗
井上 正人, 藤井 明和
- PVI-18. 体外受精・胚移植における子宮外妊娠の検討

- 荻窪病院産婦人科 ○宮崎 豊彦, 久慈 直昭, 菅原 正人
片山恵利子, 杉山 武, 飯田 悦郎
- PVI-19. IVF-ET における黄体期および妊娠初期の血中インヒビンの分泌動態と妊娠予後について
群馬大学産科婦人科学教室 ○竹内 巧, 関 守利, 土屋 清志
伊藤 理廣, 伊藤 郁朗, 篠崎 博光
山田 清彦, 長谷川喜久, 伊吹 令人
五十嵐正雄
- PVI-20. 原因不明習慣流産における父系由来胎児抗原に対する抗体産生能の検討
徳島大学医学部産婦人科学教室 ○苛原 稔, 安井 敏之, 漆川 敬治
大頭 敏文, 青野 敏博
- PVI-21. Lupus anticoagulant (LAC) の自然消長と胎児予後の関連
——LAC が自然陰性化した後生児を得た1症例を含めた検討——
京都大学産婦人科 ○伊東 宏晃, 伊原 由幸, 佐川 典正
森 崇英
兵庫県立尼崎病院産婦人科 万代 昌紀, 丹羽 隼人

ポスター 第VII会場 (303)

精子・排精 (I)

[演題 PVII-1~6] (9:30~10:05) モデレーター 吉田 英機 (昭和大・泌尿)

- PVII-1. マウス精子受精能獲得過程に対するサイクリックヌクレオチド及びTPAの作用
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○古屋 悟, 遠藤 芳広, 小松 節子
鈴木 秋悦, 野澤 志朗
- PVII-2. 精子頭部および尾部形態と精子運動能, 受精能
荻窪病院産婦人科 ○久慈 直昭, 武田 公位, 藤沢 洋子
慶応大学医学部産婦人科* 宮崎 豊彦, 菅原 正人, 片山恵利子
杉山 武, 飯田 悦郎, 神野 正雄*
杉村 和男*, 小林 俊文*
- PVII-3. IVF-ET における精子処理法としての3層 Percoll 密度勾配法の有用性に関する検討
——Swim up 法と比較して——
鳥取大学医学部産婦人科学教室 ○谷川 正浩, 関島 秋男, 岩部 富夫
大野原良昌, 寺戸 博文, 戸田 稔子
原田 省, 見尾 保幸, 寺川 直樹
- PVII-4. 精液検査結果の時間的变化
群馬大学医学部産科婦人科学教室 ○宇津木利雄, 中島 敬和, 五十嵐正雄
- PVII-5. Makler chamber および disposable chamber “20micron μ -Cell” を用いた
精液自動分析装置による精液検査の比較検討
神戸大学医学部泌尿器科 ○奥田 喜啓, 青木 文, 神足 佳子
林 晃史, 今西 治, 篠崎 雅史
中川 泰始, 松本 修, 守殿 貞夫
- PVII-6. 人精子の Free Radical (活性酸素) 産生について

その2 正常男子および不妊症, 脊損患者の検討

横浜赤十字病院泌尿器科 ○岩崎 皓
 McGill University, Royal Victoria Hospital, Claude Gagnon
 Urology Research Laboratory

精子・排精 (II)

[演題 PVII-7~12] (10:05~10:40) モデレーター 岡田 耕市 (埼玉医大・泌尿)

P VII-7. Leukocytospermia における Acrosin proteolytic activity の検討

山形県立河北病院産婦人科 ○長谷川剛志, 木原 香織, 高橋 一広
 小田 隆晴

P VII-8. 男子不妊症における膿精液症の検討

昭和大学藤が丘病院泌尿器科 ○坂本 正俊, 浜島 寿充, 池内 隆夫
 甲斐 祥生

P VII-9. 精液感染と精液性状の関連について

相模原協同病院産婦人科 ○佐藤 芳昭, 三宅 崇雄, 望月 愛郎
 松信 晶, 大沢 章吾

P VII-10. ハムスターテスト (凍結保存卵使用) の男子不妊症患者に対する有用性の検討

東京医科歯科大学泌尿器科 ○竹内 信一, 後藤 修一, 東 四雄
 大島 博幸

春日部市立病院泌尿器科 根岸 壮治

日本農産工業中研 加納 宏, 下郡洋一郎

P VII-11. 妊孕性判定におけるハムスターテストの有用性

筑波大学臨床医学系産婦人科 ○山内 宏, 西田 正人, 岡本 一
 辻 泰二, 久保 武士, 岩崎 寛和

P VII-12. 直接 Immunobead test (IBT) と間接 IBT の不一致に関する検討

虎の門病院産婦人科 ○高橋 敬一, 笠井 剛, 塩津 英美
 児島 孝久, 佐藤 孝道

精子・排精 (III)

[演題 PVII-13~19] (10:40~11:15) モデレーター 友吉 唯夫 (滋賀医大・泌尿)

P VII-13. 漢方薬剤の精子運動能に対する直接作用の解析

常滑市民病院産婦人科¹ ○広渡 恒治¹, 小栗 久典¹, 東郷市太郎¹
 名古屋大学医学部産婦人科² 塚原慎一郎², 山口一雄², 石原 豊²
 同分院産婦人科³ 浅田 義正², 水谷 哲也², 菅沼 信彦²
 友田 豊², 近藤 育代², 大沢 政巳³
 成田 収³

P VII-14. Effect of Prostaglandin E-2 and F-2 α on Motility of Mouse Epididymal Sperm

Department of Urology, ○Ming-Chung Lin, Tadashi Matsuda,
 Kyoto University Hospital Yasuki Horii and Osamu Yoshida

P VII-15. 運動良好精子回収時の培養液への薬剤添加の効果に関する研究

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○内田 昭弘, 高橋健太郎, 溝口さおり
Antoine Abu Musa, 永田 裕子
吉野 和男, 北尾 学

P VII-16. 精索静脈瘤の手術効果

千葉大学泌尿器科

○始関 吉生, 小竹 忠, 高原 正信
角谷 秀典, 島崎 淳

P VII-17. 尿潜血反応試験紙を用いた逆行性射精発見の簡便法

東邦大学泌尿器科学教室¹

○原 啓, 桑原 孝, 松橋 求

同薬理学教室²高波真佐治, 柳下 次雄, 石井 延久
三浦 一陽, 白井 将文,¹ 押尾 茂²

P VII-18. 攪拌密度勾配法による逆行性射精例を含む精子洗浄 AIH 妊娠例の検討と

その他各種精子洗浄法による妊娠例の統計

小埜病院

○小埜 清, 兼子 智,* 小埜 寛

東京歯科大学市川病院*

小林 俊文,* 野沢 志朗**

慶応大学産婦人科**

P VII-19. Epididymal sperm における受精能について

永遠幸マタニティクリニック

○加藤 修, 高塚 亮三

恵愛会恵愛病院

林 政宏

富山医科薬科大学泌尿器科*

寺田 為義* 片山 喬*

検査・診断 (I)

[演題 P VII-20~24] (11:15~11:45) モデレーター 久保 春海 (東邦大・産婦)

P VII-20. 子宮卵管造影法 (HSG) の不妊症に対する治療効果の検討

九州大学医学部婦人科学産科学教室

○緒方 りか, 中村 元一, 内海 善夫

横山 幹文, 渡辺 良嗣, 野崎 雅裕

佐野 正敏, 中野 仁雄

P VII-21. 不妊症領域に於ける画像診断法の改良

日本医科大学産婦人科学教室

○可世木久幸, 明楽 重夫, 荒木 勤

P VII-22. カラー Doppler 法を用いた超音波卵管疎通性検査の試み

聖マリアンナ医科大学産婦人科

○堀越 裕史, 石塚 文平, 田口 泰之

同臨床検査部*

近藤 俊彦, 渡辺 研一, 栗林 靖

斉藤寿一郎, 佐賀 正彦, 浜田 宏

永井 学*

P VII-23. 基礎体温法利用の現状

芝パーククリニック

○村山 茂

P VII-24. 不妊婦人 (PCO) における子宮内膜細胞診の意義

富山県立中央病院産婦人科

○小嶋 康夫, 佐竹紳一郎, 舟本 寛

館野 政也

第VIII会場 (202・203)

受精・着床 (I)

[演題 PVIII-1~5] (9:30~10:00) モデレーター 星合 昊 (近畿大・産婦)

- PVIII-1. GnRHa-hMG-hCG 法を用いた体外受精・胚移植の妊娠例と非妊娠例の比較
徳島大学産科婦人科学教室 ○村山 眞治, 南 晋, 加川 俊明
山野 修司, 青野 敏博
- PVIII-2. pure FSH の体外受精——胚移植における応用
群馬大学産婦人科教室 ○関 守利, 竹内 巧, 土屋 清志
伊藤 理廣, 伊藤 郁朗, 篠崎 博光
山田 清彦, 伊吹 令人, 五十嵐正雄
- PVIII-3. 卵巣刺激法別にみた血中プロラクチン (PRL) 値の動態と内因性の LHsurge
大阪医科大学産婦人科学教室 ○太田 栄, 宮崎 和典, 奥田 弘賢
杉山 修成, 金子 卓嗣, 鈴木 佳彦
岡崎 審, 杉本 修
- PVIII-4. ヒト脱落膜細胞における α -Atrial Natriuretic Peptide (α -ANP) receptor の検討
三重大学産婦人科 ○松野 忠明, 浜口 元昭, 寺田 厚
二村 典孝, 西山 真人, 山本 稔彦
杉山 陽一
- PVIII-5. BSA 無添加 BWW 培地における SOD および各種蛋白質のマウス前核期胚発育に及ぼす影響
京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○夏山 知, 野田 洋一, 馬岡 陽
成本 勝彦, 森 崇英

受精・着床 (II)

[演題 PVIII-6~10] (10:00~10:30) モデレーター 星 和彦 (福島医大・産婦)

- PVIII-6. 超微形態学的に見たマウス胞胚の透明帯脱却現象
東北大学医学部産科学婦人科学教室 ○村上 節, 上原 茂樹, 陳 偉業
萬代 泰男, 角田千恵子, 戸沢 秀夫
大井 嗣和, 吉田 仁秋, 対木 章
深谷 孝夫, 矢嶋 聰
- PVIII-7. propanediol および sucrose を用いた
急速凍結プログラムのヒト体外受精への応用
名古屋大学医学部分院産婦人科¹ ○大沢 政巳¹, 近藤 育代¹, 中村 潔史¹
名古屋大学医学部産婦人科² 柴田 均¹, 前田 修¹, 稲垣 資郎¹
成田 收¹, 山口 一雄², 石原 豊²
菅沼 信彦², 友田 豊²
- PVIII-8. マウス初期胚発育に及ぼす子宮内環境の解析
——子宮内移植胚の運命——
京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○後藤 康夫, 野田 洋一, 野々垣多加史
馬岡 陽, 森 崇英

P VIII-9. 胚の自家蛍光測定による、非侵襲的生存能評価の試み

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○青木 類, 名取 道也, 森定 優
小林 俊文, 野澤 志朗

P VIII-10. 体外受精・胚移植施行患者におけるクラミジア抗体価の検討

大阪医科大学産婦人科学教室 ○金子 卓嗣, 宮崎 和典, 鈴木 佳彦
奥田 弘賢, 猪木 千春, 太田 栄
杉山 修成, 杉本 修

卵巣・性ホルモン (I)

[演題 PVIII-11~14] (10:30~10:55) モデレーター 落合 和徳 (慈恵医大・産婦)

P VIII-11. ヒト黄体 life span の調節機構

—ヒト顆粒膜・黄体細胞の培養系における hCG の作用—

大分医科大学産科婦人科学教室 ○河野 康志, 梶原 久司, 廣田 佳子
吉松 淳, 早田 隆, 宮川 勇生

P VIII-12. 培養顆粒膜細胞における細胞膜流動性に対する hCG の影響について

北大産婦人科 ○根岸 広明, 牧野田 知, 奥田 俊幸
田中 俊誠, 藤本征一郎

北大応用電気研究所 金城 正孝, 小山 富康

P VIII-13. 多嚢胞性卵巣症候群にみられる排卵障害と糖代謝異常の関係

山梨医科大学産婦人科 ○木下 俊彦, 端 晶彦, 今西由紀夫
安水 洗彦, 加藤 順三

P VIII-14. 高アンドロゲン血症に対する各種排卵誘発法の検討

名古屋大学医学部分院産婦人科¹ ○近藤 育代,¹ 中村 潔史,¹ 柴田 均¹
名古屋大学医学部産婦人科² 前田 修,¹ 稲垣 資郎,¹ 大沢 政巳¹
中部労災病院産婦人科³ 成田 収,¹ 浅田 義正,² 菅沼 信彦²
宮田 敬三,³ 林 治生,³ 友田 豊²

受精・着床 (II)

[演題 PVIII-15~19] (10:55~11:25) モデレーター 石丸 忠之 (長崎大・産婦)

P VIII-15. ラット卵巣におけるゴナドトロピンによるプロトンコジーンの発現調節

名古屋大学医学部分院産婦人科¹ ○柴田 均,¹ 妹尾 久雄,³ 村田 善晴³
名古屋大学医学部産婦人科² 前田 修,¹ 稲垣 資郎,¹ 中村 潔史¹
名古屋大学環境医学研究所第二部門³ 近藤 育代,¹ 大沢 政巳,¹ 石原 豊²
菅沼 信彦,² 成田 収,¹ 友田 豊²
松井 信夫³

P VIII-16. 卵巣機能を温存しえた未分化胚細胞腫 (Dysgerminoma) の治療経験

東京都老人医療センター婦人科 ○曾 栄輝
虎の門病院産婦人科 佐藤 孝道

P VIII-17. 女性重症心身障害者の内分泌機能について

産業医科大学産婦人科 ○石 明寛, 密山 高宏, 岡村 靖

P VIII-18. 家系内に多発した睾丸性女性化症候群と考えられる症例

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○森 明人, 堂地 勉, 山元 慎一
沖 利通, 永田 行博

PVIII-19. 卵胞発育における血中 α -tocopherol および carotenoids 濃度の推移について

滋賀医科大学産科学婦人科学教室 ○須戸 龍男, 竹中 章, 横江 保彦
吉田 吉信

第2日 11月17日(土)

ポスター 第VI会場(302)

受精・着床(III)

[演題 PVI-22~26] (9:30~10:00) モデレーター 木下 勝之
(埼玉医大医療センター・産婦)

- PVI-22. ヒト妊娠初期絨毛間質のマクロファージの phenotype について
東京慈恵会医科大学産婦人科学教室 ○松本 和紀, 楠原 浩二, 寺島 芳輝
- PVI-23. 非妊時子宮内膜における接着性蛋白および組織マクロファージの局在
浜松医科大学産婦科学教室 ○朝比奈俊彦, 寺尾 俊彦, 川島 吉良
- PVI-24. ヒト正常絨毛上皮由来細胞株(NHT)の樹立と性状
福井県済生会病院産婦人科* ○根上 晃*, 紙谷 尚之**, 富永 敏朗**
福井医科大学産科婦人科学教室**
- PVI-25. ヒト脱落膜性 Prolactin (PRL) の産生促進因子についての検討
三重大学医学部産婦人科学教室 ○浜口 元昭, 松野 忠明, 寺田 厚
二村 典孝, 中 義尚, 矢納 研二
西山 真人, 山本 稔彦, 杉山 陽一
- PVI-26. ウサギ精巣精子核を用いた Microfertilization
福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○矢沢 浩之, 柳田 薫, 片寄 治男
菅野 孝子, 藤森 淑, 星 和彦
佐藤 章

受精・着床(IV)

[演題 PVI-27~31] (10:00~10:30) モデレーター 小林 俊文(慶応大・産婦)

- PVI-27. 当科における IVF-ET の年度別成績と改良点について
獨協医科大学産婦人科 ○星合 明, 正岡 薫, 北澤 正文
渡部 秀哉, 井澤 慶子, 熊坂 高弘
- PVI-28. 当教室における IVF-ET の成績
大阪大学医学部産婦人科 ○谷口 武, 亀田 隆, 竹村 昌彦
古山 将康, 木村 正, 佐治 文隆
谷澤 修
- PVI-29. 凍結保存精子を用いて妊娠に成功した体外受精・胚移植の3症例
セントマザー産婦人科医院¹ ○吉田 一郎,¹ 田中 温,¹ 岡部 親宜,²
順天堂大学医学部産婦人科² 田中威づみ,¹ 竹本 洋一,¹ 高田 道夫²
- PVI-30. 体外受精の成績に関する検討
——採卵針の改善による妊娠率の向上——
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○赤星 晃一, 小林 俊文, 神野 正雄
北村 誠司, 大澤 淑子, 岩田 壮吉
杉村 和男, 野澤 志朗

PVI-31. 体外受精—胚移植施行回数と着床期子宮動脈血流波形分析の検討

東海大学医学部産婦人科 ○善方 菊夫, 本田 育子, 小林 善宗
井上 正人, 藤井 明和

受精・着床 (V)

[演題 PVI-32~36] (10:30~11:00) モデレーター 相良 祐輔 (高知医大・産婦)

PVI-32. ヒト体外受精における新しいhCGの投与時期決定法

—血清LH迅速測定的重要性—

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○神野 正雄, 杉村 和男, 小林 俊文
同中央臨床検査部内分泌* 北村 誠司, 大澤 淑子, 赤星 晃一
岩田 壮吉, 岩田利恵子, 野澤 志朗
伊藤 節子*, 竹下 栄子*

PVI-33. Gn RH agonist の卵核成熟促進作用の意義

杏林大学産婦人科 ○安藤 索, 中村 幸雄, 吉村 泰典
藤田学園保健衛生大学産婦人科* 白木 誠*, 廣田 穰*, 沢田 富夫*
河上 征治*, 鈴木 正彦

PVI-34. 体外受精—胚移植における卵巣刺激初期反応不良例に対するhMG増量投与について

名古屋大学医学部産婦人科¹ ○中村 潔史¹, 大沢 政巳¹, 前田 修¹
稲垣 資郎¹, 柴田 均¹, 近藤 育代¹
成田 收¹
名古屋大学医学部産婦人科² 塚原慎一郎², 山口 一雄², 石原 豊²
浅田 義正², 菅沼 信彦², 友田 豊²

PVI-35. ヒト精子の受精能力に対するCa²⁺の影響

徳島大学産婦人科学教室 ○西田 壮哉, 村山 眞治, 南 晋
加川 敏明, 板東 律雄, 山野 修司
青野 敏博

PVI-36. トリプシン処理ハムスター卵透明帯とヒト精子の認識

東邦大学大橋病院第2産婦人科学講座* ○三島眞喜子*, 川村 良*, 岩城 章*
同第2解剖学講座** 岡田 詔子**

受精・着床 (VI)

[演題 PVI-37~41] (11:00~11:30) モデレーター 西島 正博 (北里大・産婦)

PVI-37. マウス体外受精を用いたGamete Preparation Medium (GPM, serono) のIVF-ET培養液としての有用性の検討

帝京大学医学部付属市原病院臨床研究部¹ ○太田 昭彦¹, 五味淵秀人², 貝原 学²
同産婦人科²

PVI-38. ヒト卵巣癌細胞を用いたマウス2細胞期胚の共培養に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○山元 慎一, 竹内 一浩, 森 明人
沖 利通, 福元 清吾, 堂地 勉
永田 行博

PVI-39. マウス初期胚培養における低酸素・superoxide dismutase (SOD) 添加の効果

—超微形態学的検討—

京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○都倉 隆, 野田 洋一, 成本 勝彦
馬岡 陽, 森 崇英

PVI-40. 超微形態学的に見た妊娠初期マウスの子宮内膜間質細胞の脱落膜化について

—predecidualization, decidualization にもなう変化の検討—

東北大学医学部産科婦人科学教室 ○陳 偉業, 上原 茂樹, 村上 節
萬代 泰男, 角田千恵子, 戸沢 秀夫
大井 嗣和, 吉田 仁秋, 村木 章
深谷 孝夫, 矢嶋 聰

PVI-41. 精子受精能の評価における超生体染色法の有用性

虎の門病院産婦人科 ○塩津 英美, 笠井 剛, 高橋 敬一
児島 孝久, 佐藤 孝道

統計

[演題 PVI-42~47] (11:30~12:00) モデレーター 伊藤 晴夫 (帝京大市原・泌尿)

PVI-42. 男子不妊症の治療成績

—治療不適格例の検討を中心として—

慈恵医大泌尿器科 ○西田 篤, 町田 豊平, 小寺 重行
池本 庸, 白井 尚, 御厨 裕治
中条 洋, 金子 立

PVI-43. 男子不妊外来5年間の臨床統計学的観察

日本大学泌尿器科 ○佐藤 安男, 逸見 一之, 山口 健哉
林 志隆, 岡田 清己

PVI-44. 当科における男子不妊症の臨床統計的観察

聖マリアンナ医科大学泌尿器科 ○原口 千春, 長田 尚夫, 岩本 晃明
星野 孝夫, 田中 宏樹, 矢島 通孝
馬場 克幸, 井上 武夫

PVI-45. 無精子症の臨床統計

千葉大学泌尿器科 ○小竹 忠, 始関 吉生, 高原 正信
角谷 秀典, 島崎 淳

PVI-46. 当科不妊外来における無精子症の臨床的検討

長崎大学泌尿器科 ○西村 直樹, 野俣浩一郎, 金武 洋
齊藤 泰
光晴会病院泌尿器科 湯下 芳明
桜町病院 広瀬 建

PVI-47. 男性不妊症患者の性生活調査

東邦大学医学部泌尿器科学教室 ○北角 嘉徳, 佐藤 稔, 原 啓
高波真佐治, 松橋 求, 石井 延久
三浦 一陽, 白井 将文

ポスター 第VII会場 (303)

プロラクチン

[演題 PVII-25~29] (9:30~10:00) モデレーター 武谷 雄二 (東京大・産婦)

P VII-25. Bromocriptine の長期投与により下垂体機能低下を来したと考えられた症例について
—case report

明石市立市民病院産婦人科 ○草西 洋, 佐藤 昌平, 水谷不二夫

P VII-26. プロラクチノーマ治療後妊娠例における妊娠中および産後のプロラクチン値の推移について
群馬大学医学部産科婦人科学教室 ○小此木孝佳, 伊吹 令人, 五十嵐正雄P VII-27. Hyperprolactinemia 症例における夜間 Melatonin 並びに Prolactin 分泌動態について
高知医科大学産科婦人科学教室 ○岡谷 裕二, 岡田 真尚, 相良 祐輔

P VII-28. TRH 負荷試験における PRL 分泌予備能と黄体機能との関連に関する検討

群馬大学産婦人科 ○安藤 一道, 道下 正彦, 山田 清彦
高木 剛, 水沼 英樹, 伊吹 令人
五十嵐正雄

P VII-29. Prolactin 分泌異常に対する bromocriptine 療法の理想的な用法の確立

北茨城市立総合病院産婦人科 ○辻 泰二, 西田 正人*, 岡本 一*
筑波大学臨床医学系産婦人科* 山内 宏*, 伊藤 俊一, 岩崎 寛和*

卵子・排卵 (I)

[演題 PVII-30~34] (10:00~10:35) モデレーター 田辺 清男 (慶応大・産婦)

P VII-30. Hypergonadotropic hypogonadism 症例における Gn RH agonist 投与の排卵誘発効果

聖マリアンナ医大産婦人科 ○渡辺 研一, 石塚 文平, 近藤 俊彦
齊藤寿一郎, 大野 祐子, 堀越 裕史
栗林 靖, 高橋 誠治, 浜田 宏

P VII-31. マウスにおける RU486 の排卵抑制効果に関する検討

日本大学農獣医学部獣医生理学教室 ○木田 まや, 遠藤 克, 金山 喜一
佐久間勇次

P VII-32. GnRHa 併用排卵刺激法の検討

—hMG 単独療法と GnRHa 各種投与との比較—

横浜市立大学産婦人科 ○吉邨 泰弘, 植村 次雄, 水口 弘司

P VII-33. 多嚢胞性卵巣症候群 (PCO) における卵胞液除去の内分泌学的効果

聖マリアンナ医大産婦人科 ○近藤 俊彦, 石塚 文平, 高橋 誠治
渡辺 研一, 大野 祐子, 堀越 裕史
栗林 靖, 齊藤寿一郎, 浜田 宏

P VII-34. パルス超音波照射のマウス初期胚に及ぼす影響

鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○岩部 富夫, 関島 秋男, 谷川 正浩
大野原良昌, 寺戸 博文, 戸田 稔子
原田 省, 見尾 保幸, 寺川 直樹

卵子・排卵 (II)

[演題 PVII-35~40] (10:35~11:05) モデレーター 石川 睦男 (旭川医大・産婦)

- P VII-35. プログラム凍結器によるガラス化凍結, 融解時の氷晶観察とマウス胚の生存性について
元日本大学農獣医学部畜産学科 ○吉田 重雄, 高村真由美
- P VII-36. 種々の卵管上皮培養細胞が初期胚に及ぼす影響
鹿児島大学医学部附属病院産婦人科 ○沖 利通, 竹内 一浩, 山元 慎一
森 明人, 福元 清吾, 堂地 勉
永田 行博
- P VII-37. Mouse 受精卵の分割に及ぼす Lidocaine の影響
国立長崎中央病院産婦人科 ○重松 潤
長崎大学医学部産科婦人科学教室 岡本 純英, 梶村 秀雄, 布施 正樹
山下 隆則, 黄 宏駿, 石丸 忠之
山辺 徹
- P VII-38. マウス受精卵凍結融解後の cell viability 評価
——¹²⁵I-BSA uptake を指標として——
鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○大野原良昌, 岩部 富夫, 関島 秋男
谷川 正浩, 寺戸 博文, 戸田 稔子
原田 省, 見尾 保幸, 寺川 直樹
- P VII-39. ヒト凍結初期胚解凍後の生存率について
医療法人社団スズキ病院 ○立花 郁雄, 武田 信好, 小田原 靖
千田 智, 飯田 修一, 森 滋
鈴木 雅洲
- P VII-40. 非過排卵処理カニクイザルからの卵胞卵の回収と体外受精
国立予研・霊長類センター ○山海 直, 藤崎 正美*, 井田 聡**
(現所属) 榎ほくさん* 若林 庸夫**
エーザイ(株)** 長 文昭, 本庄 重男

機能性不妊・免疫

[演題 PVII-41~45] (11:05~11:35) モデレーター 牧野 恒久 (慶応大・産婦)

- P VII-41. 習慣流産免疫治療による免疫能の変動
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○杉 俊隆, 牧野 恒久, 丸山 哲夫
梅内 正勝, 野澤 志朗
- P VII-42. 免疫療法で無効であった反復流産症例の臨床的ならびに免疫学的検討
国立大蔵病院産婦人科 ○田中 忠夫, 堤 紀夫, 倉島 富代
瀬尾 宏, 伊藤 治英
- P VII-43. 習慣流産に対する免疫治療の成功例と不成功例における疫学的因子の検討
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○丸山 哲夫, 杉 俊隆, 岩崎 賢一
牧野 恒久, 野澤 志朗
- P VII-44. 免疫療法による治療効果判定としての遮断抗体活性と効果増幅のための BRM 併用療法

大阪大学医学部産婦人科 ○藤野 直子, 古山 将康, 竹村 昌彦
 菊池 知之, 木村 正, 鮫島 義弘
 佐治 文隆, 谷澤 修

P VII-45. 精子不動化抗体に対する抗イディオタイプ抗体の作製

兵庫医科大学産婦人科 ○繁田 実, 阪田 和子, 磯島 晋三

検査・診断 (II)

[演題 PVII-46~50](11:35~12:05) モデレーター 竹内 久彌 (順天堂大浦安・産婦)

P VII-46. 体外受精・胚移植患者におけるクラミジア感染症について

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○平沢 浩文, 谷 啓光, 七里 和良
 倉林 工, 織田 和哉, 荒川 修
 田中 憲一

P VII-47. Fitz-Hugh-Curtis 症候群 6 例の臨床的検討

十和田市立中央病院産婦人科 ○佐々木裕之, 新宅 裕子
 東北大学産婦人科 陳 偉業, 土岐 利彦, 星合 昊

P VII-48. Chlamydia 感染と骨盤内病変の関係について

長崎大学医学部産婦人科 ○中村 恒一, 石丸 忠之, 范 育仁
 藤下 晃, 一瀬 俊介, 鮫島 哲郎
 増崎 英明, 山辺 徹
 日赤長崎原爆病院産婦人科 倉田須和子

P VII-49. 不妊症外来における抗クラミジア抗体測定の意義

東京大学産科婦人科学教室 ○大須賀 穰, 鈴木 尚子, 島内 昌仁
 宮内 彰人, 成 鑑非, 郭 宗明
 林 直樹, 綾部 琢哉, 堤 治
 三橋 直樹, 武谷 雄二, 水野 正彦

P VII-50. 当科不妊症及び不育症症例におけるクラミジア抗体法の検討

横浜市立大学産婦人科 ○越後谷 朋子, 植村 次雄, 安藤 紀子
 堀 裕雅, 町田 稔文, 高安 義弘
 吉邨 泰弘, 平原 史樹, 白須 和裕
 多賀 理吉, 水口 弘司

ポスター 第VIII会場 (202・204)

睾丸・性ホルモン (I)

[演題 PVIII-20~26] (9:30~10:10) モデレーター 穂坂 正彦 (横浜市大・泌尿)

P VIII-20. Ethane dimethanesulphonate (EDS) 投与によるラット造精機能障害の検討

—testosterone 局所投与の防御的役割について—

- 岡山大学医学部泌尿器科学教室
日本鋼管福山病院泌尿器科,¹
岡山赤十字病院泌尿器科,²
帝京大学医学部産婦人科学教室³
- PVIII-21. hCG に対するラット精巣の加齢における変化
東邦大学第1産婦人科
東邦大学生化学*
- PVIII-22. 両側精索静脈瘤の臨床的検討
千葉大学医学部泌尿器科学教室
- PVIII-23. 男性不妊症に対する補中益気湯, コウジン末併用療法の経験
徳島大学医学部泌尿器科
- PVIII-24. 牛車腎気丸の男性不妊への効果
帝京大学医学部付属市原病院産婦人科¹
同臨床研究部²
- PVIII-25. 凍結蓄積法を用いた濃縮精子の調製
慶応義塾大学医学部産婦人科
東京歯科大学市川総合病院産婦人科*
- PVIII-26. 乏精子症における low reactive level laser therapy (LLLT)
永遠幸マタニティクリニック
恵愛会恵愛病院
- 山根 亨, 大枝 忠史, 吉田 光宏
大森 弘之, 永井 敦,¹ 大橋 輝久²
神戸川 明,³ 荒井 清³
- 町澤 一郎, 跡部 一郎, 伊藤 元博
平野 治伸*, 天野 久夫*
- 高原 正信, 小竹 忠, 始関 吉生
角谷 秀典, 島崎 淳
- 稲井 徹, 浜尾 巧, 梶本 昌昭
香川 征
- 五味淵秀人,¹ 太田 昭彦,² 貝原 学¹
- 原 唯純, 小林 俊文, 兼子 智*
朴 俊英, 名取 道也, 森定 優
大野虎之進*, 野澤 志朗
- 加藤 修, 高塚 亮三
林 政宏

睾丸・性ホルモン (II)

[演題 PVIII-27~33] (10:10~10:50) モデレーター 岩本 晃明
(聖マリアンナ医大・泌尿)

- PVIII-27. ヒト男性生殖器における Superoxide Dismutase (SOD) の発現
京都大学医学部婦人科学産科学教室
泌尿器科学教室*
- PVIII-28. 男子不妊症の臨床統計学的観察
東北大学医学部泌尿器科
- PVIII-29. 男子不妊外来における妊娠率の臨床的検討
京都大学泌尿器科
- PVIII-30. 男子不妊を主訴とした 46XX/46XY モザイク型染色体異常の1例
富士宮市立病院泌尿器科
浜松医科大学泌尿器科
東京大学医学部泌尿器科
- 野々垣多加史, 野田 洋一, 今井 公俊
塩谷 雅英, 馬岡 陽, 成本 勝彦
森 崇英, 松田 公志*
- 高橋 勝, 前原 郁夫, 佐藤 和宏
佐藤 滋彰, 蓮田 精之, 平松 正義
折笠 精一
- 堀井 泰樹, 松田 公志, 吉田 修
- 山口 安三
大田原佳久, 太田 信隆, 田島 惇
河辺 香月
阿曾 佳郎

- P VIII-31. 脳腫瘍治療後の続発性性腺機能不全症に対する治療
 大阪医大泌尿器科 ○清水 篤, 平井 景, 上野 信之
 砺波 博一, 高崎 登
- P VIII-32. 精漿を含まない高純度精子の選択的調製
 慶応義塾大学医学部産婦人科 ○朴 俊英, 小林 俊文, 兼子 智*
 東京歯科大学市川総合病院産婦人科* 原 唯純, 森定 優, 青木 類
 大野虎之進*, 野澤 志朗
- P VIII-33. Testicular hypogenesis に対する LH-RH analog. + HMG 拮抗療法
 永遠幸マタニティクリニック ○加藤 修, 高塚 亮三
 恵愛会恵愛病院 林 政宏

子宮内膜症 (I)

[演題 P VIII-34~37] (10:50~11:15) モデレーター 杉並 洋 (愛媛大・産婦)

- P VIII-34. プセリン投与中および投与後の骨量の変動
 愛知医科大学産婦人科, 同中検* ○根来 良材, 正橋 鉄夫, 鈴木 正利
 加茂病院産婦人科** 野口 昌良, 中西 正美, 富田 明夫*
 稲村 鋁三,**北川 武司**
- P VIII-35. LHRH AGONIST (Buserelin) のヒト子宮内膜における 12-HETE 産生に及ぼす影響
 埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○飯野 好明, 鈴木代志子, 高田 真一
 石原 理, 関 博之, 竹田 省
 木下 勝之
- P VIII-36. 子宮内膜症組織に及ぼす酢酸 Buserelin の効果に関する電顕的観察,
 とくに Danazol の効果との比較について
 国立大蔵病院産婦人科 ○倉島 富代, 田中 忠夫, 堤 紀夫
 伊藤 治英
- P VIII-37. 子宮内膜症進行期と各種自己抗体との関連及びダナゾール療法の効果について
 鳥取大学医学部産科婦人科教室 ○寺戸 博文, 岩部 富夫, 関島 秋男
 大野原良昌, 谷川 正浩, 原田 省
 見尾 保幸, 寺川 直樹

子宮内膜症 (II)

[演題 P VIII-38~42] (11:15~11:45) モデレーター 佐治 文隆 (大阪大・産婦)

- P VIII-38. 機能性不妊患者における子宮内膜症の関与について
 賛育会病院産婦人科 ○都築 浩雄, 合阪 幸三, 鳥谷 葉子
 金田 幸枝, 野島美知夫, 國保健太郎
 吉田 浩介
- P VIII-39. 外性子宮内膜症と血清フィブロネクチン
 鹿児島大学医学部産科婦人科学教室, 他関連 8 施設 ○堂地 勉, 飯尾 一登, 山元 慎一
 森 明人, 沖 利通, 永田 行博, 他
- P VIII-40. 子宮内膜症に対する各種薬物療法前後の比較

大阪医科大学産婦人科学教室 ○佐伯 理男, 奥田喜代司, 好川 元庸
宮崎 和典, 前田 隆義, 杉本 修

P VIII-41. 鑑別診断が困難であった性器外子宮内膜症の4例

京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○塩谷 雅英, 野田 洋一, 成本 勝彦
京都桂病院産婦人科* 森 崇英, 南部 吉彦*, 木下 幹久*

P VIII-42. チョコレート嚢胞をともなう不妊症例に対する嚢胞内エタノール注入と
Buserelin 投与の併用療法

聖マリアンナ医大産婦人科 ○岩田美智恵*, 石塚 文平, 近藤 俊彦
同東横病院* 堀越 裕史, 斉藤寿一郎, 塩崎 一正*
佐藤 宏樹*, 豊田 正治*, 浜田 宏

特 別 講 演

特別講演 I

CRYOPRESERVATION OF GAMETES AND EMBRYOS:
FUNDAMENTAL ASPECTS

S. P. Leibo, Ph.D.

Center for Reproductive Medicine and Surgery
Department of Obstetrics and Gynecology
Scott Department of Urology
Baylor College of Medicine
Houston, Texas, U.S.A.

The cryopreservation of spermatozoa and of ova and embryos of many feral and domestic species is a well-established procedure. Literally tens of millions of bovine calves and tens of thousands of human children have been born as a result of artificial insemination with frozen-thawed spermatozoa. Thousands of live young animals and hundreds of human babies have been born as a result of the transfer of frozen-thawed ova and embryos. Initially, the procedures for cryopreservation were derived empirically; later, they were improved by an emerging understanding of the responses of cells to alterations of solutions produced by freezing and thawing. More recently, especially as the efficacy of methods of rapid cooling were demonstrated, the cryopreservation of gametes and embryos has evolved into a generalized theory. This understanding of fundamental principles, in turn, has led to simpler and faster methods of cryopreservation.

The physiological characteristics of cells and the physical-chemical properties of solutions that influence their survival during freezing and thawing have been partially identified. It is known that functional survival of mammalian cells subjected to freezing and thawing generally requires that the cells be suspended in molar concentrations of solutions of compounds referred to as cryoprotective additives (CPA's). Effective CPA's have low molecular weights, high solubility, and low toxicity. Most effective CPA's permeate mammalian cells, although it is unresolved whether permeation is an absolute requisite for protection. If a CPA has permeated a cell before it is frozen, however, then the cell becomes susceptible to osmotic shock when diluted out of the CPA after it is thawed. Recent evidence has demonstrated that mouse and human ova exhibit a time- and temperature-dependent sensitivity to osmotic shock when diluted out of concentrated solutions of CPA's. Systematic studies of the permeability characteristics of ova of different species have resulted in extremely efficient methods to dilute them out of very concentrated solutions of CPA's without damage. This, in turn, has led to the development of simple procedures to cryopreserve ova by rapid cooling and a single-step dilution of the ova out of the CPA. These new methods have now been applied to practical problems. For example, cryopreserved hamster ova can be used to assay the functional properties of human sperm. And cryopreserved mouse ova can be used to produce transgenic mice at high efficiency. Despite these successes, there remain unsolved problems in the cryopreservation of gametes and embryos, such as the low survival of oocytes, the sensitivity of in vitro matured and fertilized embryos, and the differential sensitivity of spermatozoa from different males.

特別講演 II

配偶子および胚の凍結保存—臨床—

東京歯科大学市川総合病院産婦人科教授

大野虎之進

われわれは1958年以来、凍結保存ヒト精液を不妊症治療、特に非配偶者間授精(AID)に応用し、300例以上の分娩例を得ている。また出生した児の発育をFollow Upした結果、知的、身体的発育に異常を認めていない。従来、凍結精液によるAIDの妊娠率は新鮮精液と比べ必ずしも高くなかった。これは凍結保存液添加による精子濃度減少、融解後の運動率低下などによる。われわれは、精子をあらかじめPercoll洗浄濃縮することにより精子濃度低下を保障するとともに新たに開発したKS-II精子保存液を用いた液体チッソ蒸気凍結法により精子蘇生率改善を図ることが、凍結精子の妊孕性向上策として有用であり、本法により性状不良精液を対象とする配偶者間授精(AIH)にたいしても凍結保存精子の応用が可能であることを報告した。

一方、胚の凍結保存は1972年にWhittinghamらがマウスで成功して以来、詳細な研究が行なわれ、1983年にはTrounson, Mohrによりヒトにおける妊娠例が報告された。凍結保存胚の体外受精への応用は、余剰胚の有効活用、採卵による侵襲の低減、胚着床環境の改善など、妊娠率向上に関し多くの利点を有している。

一般に胚の凍結保存はDMSO、ショ糖などの凍結保護剤を段階的に添加、平衡化し、プログラムフリーザーを用いた緩速冷却により行なわれる。われわれは始めにマウス胚を用いた基礎研究により凍結条件が胚の生存性に及ぼす影響を解析し、その知見をふまえ、ヒト胚の凍結を試みた。倫理委員会の承認を得た後、患者のinformed consentを得て体外受精・胚移植における余剰胚42個を凍結保存し、融解後21個を7症例に胚移植した。その結果、2例のchemical pregnancy、2例のclinical pregnancyを認め、うち1例は双胎を帝王切開にて分娩した。小児科による経過観察において児に異常を認めなかった。

特別講演III

哺乳類初期胚発生に及ぼす環境因子の解析

京都大学産婦人科助教授

野田 洋一

ヒト生殖過程の一部分を人工的環境下で行うことが実現したのはおよそ12年前の事である。この時用いられた手法は体外受精胚移植法であったが、この方法が原理からみて極めて優れている為、挙児を希望する不妊患者には大きな福音となる事が期待されている。しかし、胚移植あたりの挙児率は世界的にみても15%前後にすぎず、本法が広く日常臨床に応用されるにはまだ解明すべき生物学上の諸問題が残されている。

排卵から着床に至る過程は雌性配偶子が体細胞との密な相互作用から開放され、卵巣から子宮へとおよそ5日をかけて体液中に浮遊しながら異なった臓器へ移動するという一連の精緻な細胞現象が生ずる過程である。この体液中に浮遊している時期の胚を卵管や子宮から回収して培養に供する事が出来るが、人工的に設定した環境下での発生効率は極めて低い。たとえばマウス(ICR)においては排卵された卵の92%が産仔となる事を我々は確認しているが、同じ系統のマウスで試験管内受精の結果得られた胚は、通常用いられる培養条件下では胚盤胞に達しない。この「in vitro 胚発生停止」の厳密さは種によって異なるが、いずれの種においてもin vitroの胚発生効率は低いので、この現象には種を越えた共通の原因が存在すると思われる。我々はこれまでマウスの2-cell blockが培養時の酸素濃度を低くする事(5%)、および活性酸素 O_2 の消去系酵素であるSuperoxide Dismutaseを培養液に添加する事によって解除され高い胚盤胞率が得られる事を明らかにしている。本講演ではマウスで観察された酸化的ストレスからの胚の保護による効果がラット、ハムスター或はヒト等でも認められるのかどうか、in vivoでもこの様な機序が働いているのかどうか等について検討し、さらにこの原理をヒト体外受精・胚培養に応用しうるのかどうかについても考察を加えてみたい。

特別講演IV

射精障害に対する人工射精法

国立身体障害者リハビリテーションセンター泌尿器科部長

牛山 武久

1) 射精できない病気：射精できない病気は端から数えれば十個位はあると思われるが、取り分け大きく問題になるのは子供が欲しい時期、即ち青年期の射精障害である。この意味において若い人に発生する睾丸腫瘍の後腹膜リンパ節廓清後及び脊髄損傷や若年性糖尿病による射精障害が問題である。演者は脊髄損傷者に対する人工射精の経験を基にこの問題に言及したい。

2) 人工射精：人工射精の定義は受精に必要なと思われる精子を人工的に射精させることであり、例えば1000万の生きている精子を人工的に射精させることを言う。ほんの少量の精液や死んでいる精子をやっと射精させても残念ながら成功とはいえない。

i) 脊髄くも膜下薬物注入法：腰部くも膜下に副交感神経刺激剤であるネオスチグミンを注入すると射精が起こる。本邦でも出産例があるが、自律神経過反射を誘発し副作用が強いため欧米では現在行われていない。

ii) Vibrator法：陰茎をVibratorで刺激すると射精が起こる。現在の所、誰が施行しても成功するものではないが我々は最近ようやく成功例をみた。欧米ではこの方法による出産例があり、副作用のない点から今後推奨される方法である。

iii) 電気刺激法：直腸から刺激する方法と陰茎から刺激する方法がある。動物での人工射精によく試みられる。欧米での出産例はあるが本邦で人でこの方法による成功例はなく、我々も2年前より試みているが充分な量の精液が得られない。

Vibratorや電気刺激による人工射精が最近欧米で盛んに報告されるようになり、出産例も増えている。本邦ではこれらの技術移入が多少遅れているがこれまでの我々の経験を基に人工射精の現状について報告したい。

シンポジウム I

シンポジウム I

精子形態異常の基礎と臨床

千葉大学医学部解剖教授

永野俊雄

富山医科薬科大学泌尿器科教授

片山 喬

ヒト精子とその形成にかんする形態は十分に解明されているが、精液性状（精子数、運動率、奇形率等）の“正常値”の変異は、我々が取扱う実験動物のそれよりも高いように思われる。ヒトの場合、妊娠可能な最低精子数は明言出来ない。したがって精子と精子形成の“正常”と“異常”を区別することは容易でない。今日の基準は(1)を参照されたい。

このシンポジウムでは、精液および精巣生検による形態変異、精巣静脈瘤や不妊患者の精液所見、さらに精子抗体の診断的応用について各演者より発表をお願いしたい。前座として、精子形成と密接に関係すると思われるアクチンについて、ゲッ菌類精上皮のアクチン mRNA の発現をのべる。

- (1) WHO: WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge Univ, Press. (1987)

シンポジウム I [基礎]

(1) 精上皮における細胞骨格性アクチン mRNA の発現と
アクチン細糸の局在

千葉大学解剖
永野俊雄

精子形成 (spermiogenesis) の主な形態変化は①核の濃縮と変形、②先体形成、③鞭毛形成、④細胞形態の変化である。

細胞形態と密接に関係するアクチンの mRNA 発現を in situ hybridization 法を用いて、ゲッ菌類の精上皮でしらべた。またアクチンを phalloidin および抗体法でしらべた。

アクチン mRNA の強い発現は精子発生の段階特異的にみられ、ラットでは XII 期に特に強い。この時期の伸長している精子細胞とその近傍のセルトリ細胞質に mRNA の強い発現がみられた。同様な所見は他のゲッ菌類(マウス、モルモット、ハムスター)でみられた。ラット精子細胞(ステップ 11~13)の頸部にアクチン mRNA の強い発現がありクロマチド体との関係が示唆された。アクチン細糸の局在分布も精子発生段階との関係が認められた。精子細胞核がセルトリ細胞に陥入している部分にアクチンの染色性を認め、精子細胞とセルトリ細胞との接着部のアクチン細糸を示すものと思われる。

精上皮におけるアクチン mRNA 発現およびアクチン細糸は精子発生段階に応じて動的に変化する。このことはアクチン mRNA とアクチン細糸のターンオーバーを示すものと考えられる。

シンポジウム I [基礎]

(2) ヒト精子の微細構造, 正常および異常例について

東北大学泌尿器科

佐藤 和宏

緒 言

ヒト精子の微細構造異常の観察結果をまとめた小島によれば、遺伝が予想される形態異常としては現在まで 17 種が挙げられている。今回はその内 10 種類の観察、後天的要因が考えられる精子形態異常、健常者精子の形態異常等の検討を通して、ヒト精子微細構造異常の分類、原因等について考えてい。

対象と方法

対象は精液検査において精子運動能指数 (SMEI) が常に 30 以下の精子無力症例及び光顕にて形態異常を指摘されていた例である。精子無力症 47 例中 27 例及び頭部形態異常を疑われていた 2 例の精子、精巣の電顕的検索を行なった。更に control として健常者 10 名の精子の微細構造の検索を施行した。

結 果

コントロール 10 例の結果では、平均 28.9% に軸糸の微細構造異常 (双微細管の欠損, 過剰, 中心微細管の欠損等) が見られた。精子無力症では、短尾精子症, 多核多尾精子症, 中間部の形成不全, 異常伸長, immotile cilia syndrome, 軸糸自体の構造異常 (9 + 0, 他) 等の特異的構造異常, 膿精液症における非特異的な軸糸の構造異常等が観察された。

考 察

不妊と関係するヒト精子の構造異常は、精子形成 (spermiogenesis) 過程の異常に起因する特異的構造異常と、健常人でも見られる非特異的構造異常が大部分の精子に起こった場合に大別できると思われる。前者は先天的であり、通常の治療は不能、後者は後天的であり、治療可能と推定されるが、これらの点については更に検討が必要である。

シンポジウム I [臨床]

(1) 運動能低下精子の検討

千葉大学泌尿器科

角 谷 秀 典

Immotile Cilia 症候群を含む Immotile Spermatozoa を 6 例に経験した。これは同期間の不妊患者の約 0.6 % にあつた。また、同期間の運動率 10 % 以下 61 例の 9.8 % にあつた。年齢は、16 歳から 38 歳であり、Kartagener 症候群精査目的の 1 例を除くと他の 5 例は、不妊を主訴としており全例 30 歳以上であつた。右胸心・内臓逆位を 2 例に、精索静脈瘤を 1 例にみたが、全例睾丸容積、血清 LH、FSH、テストステロン値は正常であつた。精子濃度は $8 \sim 88 \times 10^6/\text{ml}$ であり、運動率は Kartagener 症候群例で 22 % を示した以外は、0 であつた。電顕的に、dynein arm の欠損を 3 例に、microtubules の数・位置の異常を 4 例にみとめた。

運動率の低下した症例の妊孕性を高めるために、パーコール法による検討をした。80 % 単層パーコール法により、精子濃度は約 2 倍になり、percent motility, velocity, ALH の有意の上昇をみたが、linearity, beat/cross frequency は変わらなかつた。WHO 分類による精子頭部の光顕的分類による形態のパーコール法による変化をみた。oval head の割合は、パーコール処理により 64.7 % から 87.1 % に有意に上昇し、他の large head, small head, tapering head, amorphous head, immature germ cell の割合は低下したが、duplicate head の割合は変わらなかつた。以上より、パーコール法は良好運動能精子を増し、奇型精子を減少させるのに有効な方法と考えられた。

シンポジウム I [臨床]

(2) 精子形態と精索静脈瘤の予後

藤沢市民病院泌尿器科

広川 信

精子形態の解析を当院では、パパニコロ染色標本で精子頭部の形により区分している。光学顕微鏡下での解析には限界があり、ヒト精子には high natural variation があり正常型精子の診断にむづかしさがある。正常型精子を drop-shaped head, spherical head, elongated head の軽度例まで含めると正常精子の比率は高くなる。スムーズな輪郭をもつ oval head のみを正常精子として検討する。妊孕例の健康男子では、正常型精子 $61.6 \pm 11.8\%$ 病的精子 $3.7 \pm 2.0\%$ 、一方、46 例の精索静脈瘤では、正常型精子の出現率 $41.7 \pm 11.5\%$ 、病的精子 $8.3 \pm 5.6\%$ で、正常型精子は 50% 以上の例は少なく、病的精子、先細小 (tapering) 型精子、cytoplasmic droplet の付着をみる精子などの出現が多い。しかし、自然妊娠をみている精索静脈瘤 30 例の検討では、86% が比較的良好な精子形態を示した。不妊で来院し、手術適応のみとめられた 58 例をみると、病的精子が多く、正常型精子の少ない分布をみる群、19 例と精子形態の比較的良好な群、39 例である。手術後の妊娠率に、前者で 26%、後者で 69% と差をみる。手術前の精子形態で oval head 25% 以下、病的精子 20% 台の出現率は予後が不良な傾向を示す。手術後、精子濃度の改善がみられても妊娠しない例では、正常型精子の出現率に手術後も差をみない。精子形態の観察では、奇形精子より oval head の出現率をみるのが、容易であり大切な指標である。なお、精巢生検像との関係も言及したい。

シンポジウム I〔臨床〕

(3) 精子形態と妊孕性

東邦大学泌尿器科

三 浦 一 陽

精子形態が正常型か異常型かの判定は検査する施設や検査者によっても相当な差が生じるのが現状である。かつて我々は精子形態の検査法として papanicolaou 染色法を用いていた。しかしこの染色法は大変複雑で日常診療面にはそぐわないので我々はより簡便で即座に行える Eosin-Nigrosin staining technique (Emilson, 1978) を用いて検査するようになった。この方法は精子の生存、死滅も同時に判定でき大変便利である。我々はこの方法を用いて、過去 10 年間に扱った 1980 症例の男性不妊症患者（特発性造精機能障害患者や精索静脈瘤を合併した患者）について治療前後の精子形態の変化を検討した。

その結果、特発性造精機能障害患者 491 例の治療前後の変化では精子形態に統計的有意差はみられなかった。一方、精索静脈瘤合併症例で手術を行った 240 症例の術後の精子形態は有意差をもって改善を示した。また精索静脈瘤を合併していたにもかかわらず何らかの理由で手術をせず薬物療法のみを行った 93 症例も投薬後に有意に改善を示した。また特発性造精機能障害患者での妊娠成立症例では精子形態に妊娠しなかった症例との間に有意差を示さなかったが、精索静脈瘤を合併した手術症例や非手術症例の妊娠成立症例では、いずれも治療後に精子形態が有意に改善を示していた。

以上の結果をさらに詳細に分析し、精子形態が妊孕性にどう影響するかを報告する。

シンポジウム I [臨床]

(4) 抗精子モノクローナル抗体と精子抗原

神戸大学泌尿器科

篠崎 雅史

精子抗原は精子表面に存在する細胞膜抗原，精子付着抗原および先体反応により出現する先体部抗原等に分類される。これらの精子抗原に対して数多くのモノクローナル抗体が作製されているが，その多くは精子表面抗原を認識したものである。

我々は精子先体部細胞質タンパクを認識する抗ヒト精子モノクローナル抗体 HS 4-10 を作製し，その性状を検討してきた。HS 4-10 の isotype はマウス IgG₁ で，精子不動化作用，凝集作用は認めなかった。この認識抗原は精子細胞，精子に特異的な分化抗原で，精巣以外の組織には分布を認めず，ヒト，マウス，ウサギと，種属を越えて共通に認められた。HS 4-10 認識 epitope は，精子先体部細胞質タンパク分子上に存在し，acrosome reaction により露出されることが示唆され，その分子量は約 160 kD と推定された。間接蛍光抗体法による精子先体部蛍光陽性率は，不妊男性精子では正常男性精子に比して有意に低く，HS 4-10 は精子授精能を検索するうえで有用な手段となりうることが示唆された。今回我々は，この抗ヒト精子モノクローナル抗体 HS 4-10 を用いて精子形態，特に精子頭部の形態異常について先体部抗原との関連を検討した成績を報告するとともに，round head spermia など興味ある症例についても言及する。

シンポジウム II

シンポジウムII

「Microfertilization」(顕微受精法)

京都大学農学部教授

入 谷 明

山形大学産婦人科教授

広 井 正 彦

近年、不妊症に対する新しい技術がつぎつぎと開発され、臨床に応用されてきている。とくに精子数が極端に少かったり、運動性が極めて低い場合や、精子と卵子の膜の相互作用に何らかの障害がある場合には、体外受精・胚移植 (IVF・ET) を行っても妊娠の成立が期待出来ない。これを解決する手段として、卵の透明帯に顕微鏡下で小切開を加え、精子の透明帯通過を容易にさせる方法や、精子を直接囲腔や卵細胞質内に注入して強制的に受精させる方法が動物の生殖生理の研究領域で開発され、最近では臨床的にも注目されるようになってきた。

このように顕微鏡下で未受精卵に何らかの操作を加え、自然または人工的に精子を侵入させて受精を補助、促進する方法を「顕微受精法 (microfertilization)」と総称することにした。このシンポジウムでは精子の前処理の問題から、透明帯を機械的に開孔する zona opening、化学的に開孔する zona drilling、囲腔内または細胞質内に精子を注入するなどの方法により、受精の成立とその後の発生にどのような影響があるかを明らかにして、臨床応用の可能性を検討することにした。

シンポジウムII

(1) 精子の前処置と Microfertilization

京都大学農学部

細井美彦

精子の細胞質内への顕微注入は、精子の運動性を必要とせず重度の乏精子症における受精の可能性を示すものであり、また生理学的には受精に際して精子の様々な処理の影響を検討することを可能にした。本研究では、ウサギの夏季不妊を利用し、自然発生的な雄性不妊をモデルにしてその正常受精の可能性を検討した。さらに種々の精子の前処理が正常受精に及ぼす影響を検討した。

ウサギは、夏期の気温上昇により、一過性ではあるが一射精中の精子数の極端な減少とそれに伴う未成熟精子数の増加、さらに運動精子数の減少と運動性の早期減退を示し、交尾させても受精に至らない雄が頻繁に出現する。このような雄ウサギの産する精子を使って受精させる方法として囲卵腔内注入と細胞質内注入を行い、強制的な受精の可能性を検討した。これらの精子は、細胞質内注入では、正常な前核形成を示したが、囲卵腔内注入では現在まで受精を確認していない。

さらに、細胞質内注入の際に精子膜を前処理することによって、より効率的に受精させる条件を検討した。また抗精子抗体によって引き起こされる不妊症のモデルとして、精子の運動性を阻害する抗精子抗体で処理された精子の顕微注入による前核形成の有無を検討した。これらの結果は、細胞質注入法の受精生理学研究への応用、ならびに臨床応用への可否を判断する上で役立つと考えられる。

シンポジウムII

(2) Zona Opening

慈恵医大産婦人科 スズキ病院

小田原 靖

IVF-ET は男性因子不妊患者の治療法として広く用いられているが、高度の精子無力症、乏精子症の場合その受精率は極めて低い。この問題を解決するために近年マイクロマニプレーターを用いた顕微操作法が注目されている。現在までにヒト男性因子不妊に対して臨床応用が報告されている方法として①精子囲卵腔内注入法、②ZONA DRILLING, ZONA OPENING などの透明帯に穴をあける方法があるが、両者を比較して卵に対するダメージや精子の自然選択性から現時点では後者の方法がより Acceptable と考え、我々はガラス製微小フックを用いた ZONA OPENING 法を独自に開発した。本法の利点として①精子所見により Opening のサイズを調節できる。②卵に対する損傷が少なく、Sucrose 処理を必ずしも必要としない。③操作に要する時間が短い、などが挙げられる。スズキ病院では、前回までの IVF-ET で受精卵が全く得られなかった高度男性因子不妊症例に対して患者の同意が得られた場合、卵の一部を Zona Opening 法にて処理し、その効果を検討している。その結果 Zona Opening 法を用いた場合の受精率は 25.9% と、通常媒精法の 8.8% に比べ高率であり、卵の損傷率は 1.7%、多精子受精率は 3.4% と共に低値であった。

本シンポジウムでは通常 IVF および Zona Opening 法による受精の可否について精子性状、Zona binding test との相関を中心に述べる。

シンポジウムII

(3) Zona Drilling

東海大学産婦人科

井上 正人

男性不妊の予後が悪いのは、その多くが精子の機能障害を伴うためである。Caionophore A23187 を用いた ZSPT を行うと、乏精子症の過半数に精子の受精能力障害 (ZSPT 0%) や受精能力異常 (ZSPT ≤ 30%) が認められる。最近、男性不妊の新たな治療法として透明帯開孔術が注目されている。今回我々はヒト卵子の透明帯開孔術について基礎的検討を行った。卵子は IVF で受精しなかったものを、精子は夫の精子を患者の同意を得て使用した。酸性溶液 (PH 2.2) による開孔術では 86.2% (50/58) の卵子が生存し、44.0% (22/50) が受精した。多精子受精は 68.2% (15/22) と高率であった。PH 3.2 の酸性溶液では多精子受精は 34.6% (9/26) に減少したが、受精率も 24.8% (26/105) と低率であった。走査電顕による観察では透明帯にすり鉢状の大きな穴が形成され、周辺には広い範囲に酸性溶液の影響が認められた。また開孔部直下の卵子微絨毛にもかなりの変化が観察された。これに対して、micropipette を用いた機械的な開孔術 (串刺し法) では 98.9% (178/180) の卵子が生存し、44.4% (79/178) が受精した。多精子受精は 5.1% (4/79) で通常の IVF と変らなかった。走査電顕で見ると、精子の通過には十分過ぎる程の大きな穴が 2 個形成されていた。開孔部周辺の透明帯には異常なく、また卵子表面の微絨毛にもとくに変化は認められなかった。ヒト卵子の透明帯開孔術としては機械的な方法ですぐれており、十分臨床応用可能な方法と思われる。

シンポジウム II

(4) 囲卵腔内精子注入法

山形大学産婦人科

齊 藤 英 和

重症の男性因子による不妊症は、体外受精胚移植法をしても、なお低い成績にとどまっている。しかし最近このような症例に対して受精を補助する種々な方法が開発された。今回我々は囲卵腔注入法の安全性、臨床応用の可能性について検討した。まずマウス 2 細胞期胚を用いて高張液の影響について検討した。0.5 モルショ糖を加えた HEPES HTF 培養液にて 0 分、10 分、50 分間暴露した後培養を開始すると、50 分間暴露した群において培養後 24 時間目の 8 細胞期以上の胚発育率がやや低値を示しかつ、培養後 48 時間目のハッチング率が低値を示した。しかし 72 時間目では各群に有意な発育差を認めなかった。また染色体への影響を姉妹染色分体交換にて検討してみると、姉妹染色分体交換数は各条件間に有意な差を認めなかった。そこで高張液下に精子を注入できる太さの針を囲卵腔まで挿入する処理を 10 分間以内にした胚の発育、姉妹染色分体交換について検討を加えたが対照群と有意な差を認めなかった。

ヒトにおいては、体外受精の通常の媒精法を施行しても 1 個の卵も受精を認めなかった症例に対して承諾を得て囲卵腔注入法を検討した。80 個の卵に精子を囲卵腔に注入したが 2 前核を認めたのは 13 個、16%、さらに分割をした卵は 7 個、9%であり、この検討と同時に施行された通常の媒精では 1 個の卵も受精していないことを考慮すると、囲卵腔精子注入法は、受精を補助する方法と考えられた。

シンポジウムII

(5) 卵細胞質内精子注入法

日本大学農獣医学部

佐藤 嘉兵

我々はウサギ卵の細胞質内に不動化精子を注入して受精させた卵を4-8細胞期まで体外で発生させ、これを偽妊娠雌ウサギの卵管内に移植して正常な個体が得られることを報告してきた(Sato et al., 1988; 1989)。しかし、精子注入後の卵の生存率および移植後の発生率は低い。それらの原因は明かではないが、その一つの原因と思われるのはピペットによる卵細胞膜の物理的破壊である。現在市販されている micromanipulator はその駆動力を油圧-手動システムに依存しているため膜破壊は避けて通れない。この点を解決するために最近開発された圧電素子の急速変形を駆動力とした piezo micromanipulator を用いて実験を行なった。この機種の特長は細胞膜を瞬間にピペットを通過させる為、大きな膜の破壊がない。注入する精子は先体反応が誘起されていることが必要であるので、lysophosphatidyl choline 処理を行なって先体反応を誘起し、その後不動化したものを用いた。

その結果、精子注入後の卵の生存率は明らかに油圧式の micromanipulator に比べて piezo タイプのものが優れていた。また、受精率、発生率においても同様であった。受精卵子のいくつかを偽妊娠雌の卵管内に移植してその体内発育についても検討を加えた。

一 般 演 題
(口 頭 発 表)

I-1

IVF-ETにおけるhMG反応不良例および内因性LHサージ出現例に対するGnRHa併用の有効性について

医療法人 社団 スズキ病院

○小田原 靖、飯田 修一、千田 智、森 滋、立花 郁雄
鈴木 雅洲

【緒言】体外受精・胚移植(IVF-ET)では複数の成熟卵子を採取することが必要である。しかしhMGに対する反応不良例や内因性LHサージを認めた症例ではその成績は著しく不良である。IVF-ETでのGnRHa併用の効果については多くの報告があるが、hMG反応不良例に対する効果については評価は様々である。今回我々はhMG反応不良例、内因性LHサージ出現例に対するGnRHa併用の有効性について検討した。

【対象および方法】対象は、採取卵子数が3個以下のhMG反応不良例18例(A群—平均年齢 37.5 ± 2.6 才)および内因性LHサージ出現例11例(B群—平均年齢 35.1 ± 3.0 才)の計29例である。両群とも前周期ではhMGをDay4より投与し、次周期ではDay2よりGnRHa $900 \mu g$ を連日投与し、Day4よりhMGを同様に投与した。hMG投与量は卵巣の反応性により適時増減し、hMG中止時期およびhCG投与時期の決定は、卵胞径、尿中エストロゲン、頸管粘液のBiological Siftにより同一基準で行なった。採卵は超音波下に経陰的に施行し、ETはDay2にファイコンカテーテル(フジシステム製)を用いて行なった。

【結果】GnRHa併用により、A群では採取卵数は $1.3 \pm 1.2 \rightarrow 4.8 \pm 3.7$ に増加し($0.001 > P$)、ET数も $1.1 \pm 1.0 \rightarrow 2.3 \pm 1.2$ に増加した。($0.01 > P > 0.001$) ETし得た周期は50%(9/18) \rightarrow 100%(18/18)に増加し、妊娠率も5.6%(1/18) \rightarrow 22.2%(4/11)に向上した。B群では採取卵数は $1.9 \pm 2.0 \rightarrow 4.7 \pm 3.0$ に増加し($0.001 > P$)、ET数も $0.7 \pm 1.0 \rightarrow 2.2 \pm 1.0$ に上昇した($0.001 > P$)。ETし得た周期は54.5%(5/11) \rightarrow 100%(11/11)に増加し、妊娠率も0.0%(0/11) \rightarrow 27.3%(3/11)と向上した。しかしB群ではGnRHa併用でもLHが 20 mIU/ml 以上を示すものが5例あり、これらの症例では妊娠例はなかった。

【結論】以上の結果より、GnRHa併用によりhMG反応不良例、LHサージ出現例でのIVF治療成績は向上すると考えられた。

I-2

IVF-ET時の卵巣刺激法(Gn-RH analogue-hMG-hCG)におけるhMGの追加投与の必要性

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

生田克夫、鈴木真史、岡田英幹、貝田清隆、万歳 稔、花田征治、八神喜昭

体外受精胚移植における様々な卵巣刺激方法のなかにGn-RH analogueを併用する方法があり、卵胞発育のsynchronizationやLH surgeの抑制に有効であるとして広く使用されている。しかしGn-RH analogueを使用中は下垂体からの内因性gonadotropin分泌が抑制されるためhMGの中止よりhCG投与までの時間が従来のGn-RH analogueを用いない刺激法と同様の設定でよいか問題となる。この期間の長短が卵子の成熟や以後の治療成績に影響を及ぼす可能性も考えられるためhMG中止よりhCGの投与までの間隔を24時間以内(A群, $n=10$), 25時間より36時間(B群, $n=35$), 37時間より48時間(C群, $n=48$), 49時間以上(D群, $n=15$)の4群に分けて採取卵子数、成熟卵子の率、受精率について比較検討した。hCG投与日のestradiol値はA, B, C, Dの各群でそれぞれ 505.9 ± 334 , 1362 ± 1311 , 1289 ± 1146 , $1218 \pm 913.2 \text{ pg/ml}$ (mean \pm SD)であった。平均採取卵子数は 2.8 ± 1.7 , 6.6 ± 5.0 , 6.6 ± 5.1 , 7.1 ± 4.6 であった。この採取卵子のうち成熟卵子の比率は 78.2 ± 28.4 , 60.9 ± 26.5 , 55.7 ± 30.0 , $52.4 \pm 34.1\%$ であった。男性因子による治療症例を除いた受精率は60.7, 63.9, 60.5, 63.4%であり、胚移植あたりのclinical pregnancyは12.5, 17.4, 17.6, 40%であった。これらの結果はhMG-hCG間隔が長くなるにつれ採卵卵子数はやや増加するものの、成熟卵子の占める割合は低下していく傾向を示し、受精率においてはhMG-hCG間隔の長短による差は認められず、胚移植後の妊娠率も投与間隔の長い群においても良好に保たれていることが確認された。これらよりGn-RH analogueを併用した卵巣刺激方法においても分泌が抑制された内因性のgonadotropinを補充する目的でhCG投与までの間にhMGの追加投与を行う必要性のないことが確認された。

I-3

pure-FSHを用いた過排卵によるIVF-ETの成績

名古屋大学医学部分院産婦人科² 名古屋大学医学部産婦人科¹
 山口一雄¹、前田修²、稲垣資郎²、柴田均²、中村潔史²、近藤育代²、
 大沢政巳²、塚原慎一郎¹、石原豊¹、浅田義正¹、菅沼信彦¹、成田收²、
 友田豊¹

【目的】近年、LHを殆ど含まないpureFSH製剤が無月経症、多嚢胞性卵巣をはじめとする種々の排卵誘発に用いられている。今回我々は、正常月経周期を有するIVF-ETの症例に pureFSH (p-FSH) 単独または、buserelinと併用して過排卵刺激を行い、従来のhMG製剤と比較検討した。

【対象と方法】1989年7月より1990年6月までに当科で行ったIVF-ETの症例を対象とした。月経周期3日目よりhMG又はp-FSH単独で卵巣刺激を300IUにて開始し、5日目より150IUとして続けるhMG群、p-FSH群そしてbuserelin900 μ g/日を黄体中期から用いて下垂体抑制の後にhMG又はp-FSHの投与を300IUにて開始し刺激3日目以降150IUを連日投与するbuserelin-hMG(b-hMG)群、buserelin-p-FSH(b-p-FSH)群の4種の刺激法を行った。平均卵胞径15mm以上のもの2個以上、これら卵胞あたりE₂250pg/ml以上となった時点でhCG投与に切り替え、以後は通常のIVF-ETのprotocolに準じて採卵、媒精、胚移植を行った。

【結果】hMG群9例、p-FSH群8例、b-hMG群18例、b-p-FSH群15例で年齢、不妊期間には差はなかった。総投与量はそれぞれ1477 \pm 360, 1635 \pm 480, 1710 \pm 547, 2272 \pm 945 (mean \pm SD, IU) peak E₂は、1214 \pm 808, 1663 \pm 718, 1886 \pm 1123, 1506 \pm 853pg/ml 採卵数5.0 \pm 4.1, 6.5 \pm 3.6, 7.4 \pm 4.9, 5.9 \pm 3.1, 受精数2.9 \pm 2.5, 5.2 \pm 3.2, 5.6 \pm 4.2, 4.4 \pm 2.6, 移植数2.6 \pm 1.0, 3.0, 3.1 \pm 1.1, 2.7 \pm 0.8であり、臨床妊娠はそれぞれ移植あたり2/9(22%), 3/5(60%), 6/18(33%), 6/15(40%)でいずれもhMG群とp-FSH群、b-hMG群とb-p-FSH群では有意差はみられなかった。

【結論】p-FSHを用いた卵巣刺激は、投与量は増加する傾向はあるものの従来のhMG製剤とほぼ同様の成績が得られた。

I-4

Clomiphene citrate-hMG またはhMG 単独による卵巣刺激周期における内因性LHサージの意義

京都大学医学部婦人科学産科学教室、愛媛大学医学部産科婦人科学教室*

○辰巳賢一、野田洋一、神崎秀陽、矢野樹理*、泰井俊造、森 崇英

<目的>体外受精・胚移植法(IVF-ET)のためにclomiphene citrate(CC)-hMG、またはhMG単独による卵巣刺激を行った周期における内因性LHサージがIVF-ET成績におよぼす影響を解析し、過排卵周期における内因性LHサージの意義を検討した。<方法>IVF-ETのための卵巣刺激法としてclomiphene citrate(CC)-hMG法を用いた42周期、およびhMG法を用いた40周期を対象とした。CC-hMG法では月経周期2日目(CD2)より5日間CC、CD6より連日hMGを投与し、hMG法ではCD3より連日hMGを投与した。CD8より卵胞径の計測および12時間毎の血中LH値の測定を開始し、卵胞径が18mmに達した日にhMGを中止、最終hMGの52時間後にhCGを投与、その36時間後に採卵を行った。hCG投与前に50mIU/mlを越えると予想されるLHサージが起こった場合にはLHサージ開始時刻の36時間後に採卵を行った。採卵の2日後にETを行い、ET14日後のテストパック陽性例を妊娠とした。<結果>CC-hMG周期の48%、hMG周期の55%に、hCG投与前に内因性LHサージを認めた。採取卵の受精率、および妊娠率は、CC-hMG周期においてはLHサージ群と非LHサージ群との間に差を認めなかったが、hMG周期においてはLHサージ群の方が非LHサージ群より悪い成績となった。LHサージがピーク値を示したCD、およびそのピーク値は、CC-hMG周期ではそれぞれ12.3 \pm 0.2(mean \pm SE)、114.1 \pm 1.4 mIU/mlと自然周期とはほぼ同様であったが、hMG周期では、10.2 \pm 0.3、47.3 \pm 3.5 mIU/mlと、自然周期より早くかつ小さいLHサージが起こっていた。<考察および結論>hMG周期においてLHサージ群の受精率、妊娠率が悪かったのは内因性LHサージが早く起こりすぎ、かつ起こったLHサージが小さいことに起因すると考えられた。IVF-ET、GIFT、AIH等のために過排卵刺激を行う際には、卵巣刺激法により、起こる内因性LHサージの性質が異なり、この事が治療成績に影響を与える可能性があることを念頭に置いて卵巣刺激を行う必要がある。

I-5

 当院における不妊症治療の3本柱
 — AIH, GIFT, IVF・ET — の臨床成績

セントマザー産婦人科医院¹, 順天堂大学医学部産婦人科²
 ○田中 温¹, 岡部親宜², 田中威づみ¹, 吉田一郎¹, 竹本洋一¹,
 高田道夫²

【目的】1989年4月より我々は不妊症専門クリニックを開設し, AIH, GIFT, IVF・ETを不妊症治療の3本柱と考え, 不妊原因に応じてこの3つの治療法を施行してきた。今回我々はこれら3法による1990年6月までの治療成績について報告する。【方法】排卵誘発法は症例に応じ, ①Clomiphene単独, ②Clomiphene+HMG+HCG, ③GnRH-a+HMG+HCG (Original法, Short法, Long法)を使用した。AIHのタイミングは①Clomiphene単独群では排卵推定2日前より8時間毎の尿中LH濃度をオルガノンLHカラーで判定し, 陽性出現時間より12~20時間の間にAIH (percoll AIH, Swim up AIH, FF AIH)を施行した。HMG投与群ではHCG投与24~30時間後に施行した。腹水貯溜を認める症例はダグラス窩AIHを行った。HCGの切換は血中E₂値が1000~1500pg/cc以上に漸増し, 卵胞直径が20~22mm, 緊満度が約80%の時点で行った。HCG投与36~38時間後に超音波探卵(経陰, 経腹)を施行した。採卵後4~12時間の卵子の前培養を行い, 30~50万/cc (IVF・ET), 50~100万/cc (GIFT)の精子と媒精した。GIFTは媒精後約1時間以内に施行した。媒精4~12時間後にGrowth Mediumに移した。採卵2日後にETを行った。【結果】AIH, GIFT, IVF・ETの妊娠率, 流産率, 多胎妊娠発生率, 子宮外妊娠発生率はそれぞれ [対周期妊娠率9% (175/1944), 对患者妊娠率17% (175/1029), 12% (21/175), 8% (14/175, 双胎12, 品胎2), 1% (4/175)], [32% (81/253), 11% (10/81), 23% (19/81), 双胎13, 品胎5, 四胎1), 2% (2/81)], [対周期妊娠率23% (121/526), 対ET妊娠率36% (121/333), 14% (17/121), 22% (27/121), 双胎21, 品胎5, 四胎1), 3% (4/121)]であった。IVF・ETにおいて4細胞期胚以上に発育した胚を3個以上移植した際の妊娠率は53% (64/121)であった。卵管が少くとも一側が正常な症例で, GIFTまたはIVF・ET失敗の後, AIHで13例, 自然周期で4例の妊娠を認めた。重症の男性不妊症(精子数500万/cc以下, 最活発前進運動精子10%以下)高令者(40才以上)でのAIH, GIFT, IVF・ETの妊娠率は[2% (4/161), 11% (11/63), 5% (78)], [3% (3/88), 11% (11/61), 4% (3/77)]であった。【結論】不妊症治療にはAIH, GIFT, IVF・ETの3本柱が必要である。

I-6

内視鏡下採卵と超音波採卵の比較検討

東邦大学第1産科婦人科学教室

○白井 彰, 久保春海, 安部裕司, 雀部 豊, 片山 進, 森田峰人,
 大高 究, 矢野義明, 小島栄吉, 百瀬和夫

【目的】超音波経陰採卵法が開発されて以来採卵は比較的容易となり, GIFT法においても超音波下で採卵し前培養を加え内視鏡下で卵管内移植する方法を取り入れている施設が多くなってきた。そこで, 今回我々は超音波経陰採卵法と内視鏡下採卵法の採卵率の差について検討した。【対象および方法】1989年1月より1990年7月までの間に当科においてIVF-ET/GIFTプログラムを実施した83症例90周期 (IVF-ET=44症例, 49周期, GIFT=34症例, 36周期, IVF-ETR 5症例, 5周期)を対象とした。IVF-ET 44症例の適応は, 卵管性不妊20例, 卵管性不妊+乏精子症18例, 乏精子症4例, 頻回GIFT不成功例2例, GIFTの適応は, 子宮内膜症18例, 乏精子症+子宮内膜症12例, 乏精子症3例, 原因不明1例, IVF-ETRの適応は, 乏精子症5例であった。卵胞刺激法は, すべてGnRH-aを併用したhMG, hCG周期であった。hCG投与の34時間後に原則としてIVF-ET, IVF-ETRは超音波経陰的に, GIFTは, 内視鏡的に採卵操作をおこなった。hCG投与時に経陰超音波法にて全例卵胞数を確認した。これらの症例に対して卵胞数, 穿刺数, 採卵数, 採卵率について比較検討した。【結果】IVF-ET施行時における卵胞数: 442 (9.02±4.45), 穿刺数: 402 (8.20±4.25), 採卵数: 300 (6.12±3.55), 採卵率: 74.6±13.7であった。一方GIFT施行時では卵胞数: 294 (8.65±4.02), 穿刺数: 201 (5.91±3.55), 採卵数: 146 (4.29±2.87), 採卵率: 72.64±21.5であった。また, GIFT施行時骨盤内癒着のため内視鏡下採卵ができず同時に超音波経陰採卵した症例が3例あった。各々の妊娠率はIVF-ET=25.5%, IVF-ETR=20%, GIFT=38.2%であった。【結論】内視鏡下採卵と超音波経陰採卵の採卵率は有意な差を示さなかった。また, GIFT法では前培養の有無による妊娠率の差を認めなかったため我々の施設では原則的にGIFT法には超音波による採卵法を用いていない。

I-7

加齢マウスの体外受精と産仔への発生能について

○鈴木宏志, 富樫 守, 森口佳之, 安達二朗(中外製薬実験動物センター)

目的: マウスの加齢に伴う妊孕能の変化を観察するとともに, 体外受精技術の適用による老齢マウスの繁殖の可能性について検討した。方法: 2~15カ月齢 ($n=5\sim12$) のIVCS系処女雌および同月齢の雄マウスを4日間連続同居し, plug形成率, 排卵数, 受精率, 着床数および産仔数を観察して, 加齢に伴う妊孕能の変化を検討した。次に, 2~11カ月齢の処女雌に性周期とは無関係にPMSGおよびhCG各5 i. u.の過排卵処理を施し, 同月齢の雄の精巢上体精子を用いて体外受精を行った。また, 体内および体外受精由来胚を前核期から体外培養して, 胚盤胞までの発生率および移植後の産仔への発生能についても検討した。結果: 4日間同居の自然交配によるplug形成率は, 3~8カ月齢では60~80%であったが, 9カ月齢以降は50%以下に低下した。2~9カ月齢の繁殖係数(産仔数/交配数)は, 4カ月齢の7.0をピークとして減少し, 9カ月齢に至ると生存産仔は観察されなかった。着床以後の胚死亡率については, 2~4カ月齢で11~14%であったが, 6~8カ月齢では52~68%に増加した。これらのことより, IVCS系マウスにおいては, 6カ月以降になると急速に妊孕能の低下が認められ, 9カ月齢以後に不妊となることが知られた。しかしながら, 9および10カ月齢においても自然交配により, それぞれ, 平均6.3個および2.0個の受精卵子が得られ, これらの体外培養による胚盤胞への発生率は92~100%であった。体内および体外受精卵の胚盤胞への発生率は, 2~11カ月齢のすべてにおいて良好な成績(70~100%)であり, 10および11カ月齢の体外受精由来胚(胚盤胞)の移植により, それぞれ25%および21%の産仔が得られた。9カ月齢以降のマウスに観察された不妊の原因は, 胚よりはむしろ子宮側の要因による着床不全によるものと考えられた。また, 体外受精技術を用いることにより, すでに妊孕能を失った老齢マウスにおいても, その繁殖が可能であることが知られた。

I-8

IVF-E Tにおける精液処理法の検討

-swim up法とPercoll法の比較

岡山大学医学部産科婦人科学教室

○多賀茂樹, 吉田信隆, 中塚幹也, 平野由紀夫, 白河一郎
片山隆章, 名越一介, 清水健治, 関場 香

【目的】IVF-E Tにおける精液処理は, 当科においてはswim up法(S法)を用いてきたが, 乏精子症においては媒精に十分な数の精子が得られないことが多かった。そこで従来よりA I Hの精液処理法として用いられているPercoll法(P法)の, IVF-E Tに転用しうる可能性を検討した。【方法】平成2年2月から6月まで22例23周期にIVF-E Tを行い, 各周期に採取した卵を, 半数ずつ2群に分け, それぞれS法, P法によって処理した精子を用いて媒精を行い, 回収精子運動率, 全運動精子回収率, 卵1個当りの添加精子数, 受精率について比較検討した。【結果】精子数4000万/ml以上の17周期では, 回収精子運動率はS法 $76 \pm 20\%$ (mean \pm SD), P法 $88 \pm 11\%$ と差を認めなかったが, 全運動精子回収率はそれぞれ $7.8 \pm 6.4\%$, $31 \pm 20\%$ とP法で有意($p < 0.05$)に高値を示した。しかし卵1個当りに添加可能であった添加運動精子数はそれぞれ 44 ± 22 万, 44 ± 12 万, 受精率はそれぞれ62%, 67%, と差を認めなかった。精子数4000万/ml未満の6周期では, 回収精子運動率はS法 $75 \pm 19\%$, P法 $78 \pm 21\%$ と差を認めなかったが, 全運動精子回収率はそれぞれ, $6.4 \pm 3.9\%$, $29 \pm 19\%$ とP法が有意($p < 0.05$)に高値を示し, そのため卵1個当りの添加運動精子数はそれぞれ, 15 ± 15 万, 28 ± 22 万, 受精率はそれぞれ, 24%, 64%と, いずれもP法が高値を示した。また卵1個当りの添加運動精子数が30万未満の場合の受精率は, S法16%, P法25%といずれも低値であったが, 30万以上の場合の受精率はそれぞれ65%, 76%と良好であった。【結論】授精操作には, 卵1個当り30万以上の運動精子を添加した方が受精率が高値であった。そして, 精子数4000万/ml以上の場合はS法, P法のいずれを用いても差を認めないが, 精子数4000万/ml未満の場合にはP法を用いた方が良いと思われた。

I-9

体外受精・胚移植における再授精の意義

虎の門病院産婦人科

○笠井 剛、高橋敬一、塩津英美、児島孝久、佐藤孝道

【目的】体外受精・胚移植において、受精しなかった卵に対して再授精を試み、その意義について検討した。【方法】1989年2月から1990年6月までの17カ月間に、体外受精を施行し授精16時間後の観察で受精しなかった卵が存在した41周期を対象として再授精を施行した。その結果、2回とも受精しなかったA群14周期、初回の授精で受精しなかったが再授精で受精したB群5例、初回の授精で受精例は存在したが未受精卵も存在しそれに対する再授精で受精しなかったC群12例、2回とも受精したD群10例に分け、hCG切り替え時の血中E2値/卵胞数、P値、原精液、再授精時の原精液の濃度、運動率、精子運動速度、直進性、妊娠率を比較検討した。血中ホルモン値はRIAで、精子検査はComputer assisted semen analyzer (CASA)で行った。研究対象症例の体外受精の適応は男性不妊が大部分を占めた。【結果】妊娠に到ったのは3周期で、C群で2周期、D群で1周期であった。7周期の妊娠の転帰は未知である。血中E2値/卵胞数はそれぞれ 134 ± 51 (N=12)、 153 ± 30 (N=5)、 123 ± 48 (N=11)、 152 ± 67 (N=10)、血中P値は 0.34 ± 0.27 (N=12)、 0.28 ± 0.07 (N=5)、 0.39 ± 0.30 (N=11)、 0.56 ± 0.32 (N=10)であった。各群において原精液の濃度、運動率、運動速度、直進性、swim up後の運動速度、直進性に有意差は無かった。また初回授精時と再授精時の精液所見を比較してみると、精子数の低下傾向は認められた以外、有意差はみられなかった。【結論】初回授精16時間後の観察で、受精していなくても、再授精をすることで受精する卵が存在するが、再授精で受精しない卵との間に、ホルモンのにも、精子所見にも大きな差異を認めず、再授精時の受精能を規定する因子として明かなものは存在しなかった。

I-10

射精障害患者に対する体外受精胚移植併用治療

群馬大学医学部産科婦人科学教室、泌尿器科学教室*

○篠崎博光 関 守利 土屋清志 伊藤理廣 伊藤郁朗 竹内 巧

伊吹令人 五十嵐正雄 神保 進* 小林幹男* 伊藤善一* 山中英寿*

近年、体外受精胚移植(IVF-ET)が、女性因子の不妊症のみならず、男性因子の不妊症にも適応されるようになったが、脊髄損傷等で神経傷害に陥った患者は、射精不能以外にも、その多くの精液所見は程度の差こそあれ、乏精子症、精子無力症を伴っており従来のAIHによる治療では困難な症例も多い。今回我々は、夫が高所からの転落による脊髄損傷(症例1)および直腸癌根治手術後の神経障害(症例2)により、射精不能となった男性不妊の治療として薬剤投与により採取した精子を用いてIVF-ETを施行し、妊娠に成功した2例を経験したので報告する。

症例1は夫34歳、23歳で転落事故により、脊髄損傷(Th₇~Th₈)を受けた。射精不能に加え乏精子症、精子無力症射精障害を合併。妻は35歳、主婦で卵巣機能不全(希発排卵)を認めた。結婚後8年の原発不妊のため1988年12月、体外受精胚移植(IVF-ET)を試み、経腔的超音波採卵にて6個の成熟卵を得て、ワグスチグミン髄腔内投与により採取した精子(濃度 37×10^6 /ml、運動率38%)を媒精させ6個の分割卵を子宮内に移植し、双胎妊娠に成功した。症例1は、ワグスチグミン髄腔内投与方法による採精とIVF-ETの組み合わせによる妊娠分娩例の本邦における第1例目と考えられ、世界においても本方法による双胎の妊娠分娩例の報告はない。症例2、夫は直腸癌根治手術後の神経障害により射精障害、逆行性射精を主訴として、塩酸エド[®]リンの皮下注射により精液を採取。妻は内膜症合併のためAIHを15回施行するも妊娠成立しないため1990年4月、体外受精胚移植を行い単体妊娠が成立した。

(考察)障害男子にとって精液採取は負担となるため、精液量および質について著明な異常所見を認める場合は、いたずらにAIHを繰り返さず、受精能力を検査するためにもIVF-ETを治療法として選択試行するべきと考えられる。

I-11

子宮外妊娠既往のある卵管性不妊に対する IVF-ET 治療の成績

東海大学医学部産婦人科

○小林善宗, 本田育子, 井上正人, 宗 完子, 鈴木隆弘, 藤井明和

【目的】 不妊症領域では、子宮外妊娠の取り扱いが重要で、さげられない問題である。外妊に対する治療法の選択は、その後の不妊治療成績によって決定されるべきであろう。IVF-ETは、難治性卵管性不妊に対する治療としてすでに確立された観がある。とくに両側卵管切除後の不妊では、IVF-ETでしか妊娠は望めない。今回、外妊の既往のある卵管性不妊に対する IVF-ET の成績を分析し、その有効性を検討した。【対象・方法】 主にエコーガイド採卵にきりかえた 1985年 12月から 1989年の期間の IVF-ET 治療のうち、対象の外妊既往のある患者は 101名で、161回の IVF-ET を行なった。対象の平均年齢は 32.4 才 (22~40才)、結婚後の平均年数は 8.0年 (2~17年)で、平均外妊回数は 1.6回 (1~3回)であった。【成績】 対象期間の IVF-ET 全体の成績は、393名 (578回)で 154名 (168妊娠)の妊娠成立で、対患者妊娠率 39.2%、対 ET 妊娠率 29.1%であった。外妊既往のある対象 101名では 42名 (41.6%)が妊娠し、IVF-ET 161回では 47妊娠 (29.2%)であった。患者あたりの最終妊娠の予後は継続 (分娩を含む)は 26名 (61.9%)、流産は 8名 (19.5%)、外妊は内外同時妊娠の 1名を含み 9名 (22.2%)であった。回数あたりの 47妊娠の予後でみると、継続 26回 (55.3%)、流産 12回 (25.5%)、外妊 10回 (21.3%)であった。分娩率 (推定)は対患者で 25.7%、対 ET で 16.1%であった。外妊発生 9名中、8名は卵管妊娠 (卵管存在)であった。【結論・考察】 外妊既往のある卵管性不妊の IVF-ET 成績は、分娩率を含めて他の適応の成績と同様であったが、外妊発生率は高かった。卵管存在例に対しては、IVF-ET といえども外妊発生に十分注意が必要と思われた。

I-12

体外受精一胚移植における子宮内膜像の検討

東海大学医学部産婦人科

○本田育子, 小林善宗, 井上正人, 藤井明和

体外受精一胚移植 (IVF-ET) 例では受精の確認や移植胚の評価が行なえるため移植までの状態が良好であって妊娠しない場合には着床不全が原因の一つとして考えられる。今回、採卵前及び採卵後 7 日目の子宮内膜の肥厚 thickness 及び子宮内膜構造 texture と妊娠成立の有無を検討し着床環境の評価における子宮内膜像の有用性を考察した。対象は複数個の卵子が採取され、その 50%以上が受精し正常胚を移植した IVF-ET 260周期で、原発性不妊 115、続発性不妊 145周期である。卵巣刺激方法は GnRHa-HMG を用いた。妊娠周期は 89、非妊娠周期 171である。子宮内膜像は経腔走査法にて採卵前日及び採卵 7 日目の thickness、texture を記録した。thickness は子宮縦断像で前後壁内膜の厚みの和とした。texture は hypoechoic type 及び echogenic type に分類し両者の中間を mixed type とした。thickness 及び texture を妊娠、非妊娠群で比較検討した。装置は横河メディカルシステム RT 3600、5 MHz の TV 型プローブを使用した。採卵前日の子宮内膜 thickness (mean±S.D.)mm は妊娠、非妊娠群間で有意差を認めた (9.9 ± 2.5 vs 8.8 ± 2.6 , $P < 0.01$) が、採卵 7 日目では二群間で差はなかった。更に妊娠群では採卵前、7 日目とも原発性不妊群で有意に thickness は増したが、非妊娠群では原発性、続発性不妊の間で差は認められなかった。また続発性不妊では妊娠、非妊娠群間で差はなかった。妊娠群の採卵前日の texture は mixed type が 73% を占め、7 日目では echogenic type が 56% と最も多かったが、非妊娠群も同様の分布を示した。7 日目の各 type における妊娠率に差はなかった。GnRHa-HMG 周期を用いた原発性不妊例では子宮内膜の厚い群で妊娠率は高かった。子宮内膜の texture は各 type 間で妊娠率に差がなく、着床環境の指標とはなり得ないと思われた。

I-13

体外受精における多精子（多卵核）受精卵の検討

旭川医大 産婦人科

○千石 一雄、玉手 健一、石川 睦男、清水 哲也

【目的】体外受精・胚移植（IVF-E T）は近年不妊治療として確立されつつある。しかし着床率は未だ十分とはいえ、その原因の1つとして多精子（多卵核）受精など受精時の異常による異常胚の移植があげられる。今回 Polypronuclear embryos の発生要因に関し、各種排卵誘発法、不妊因子、卵成熟度などとの関連性を検討した。

【方法】1987年11月より1989年12月までに当科においてIVF-E T施行症例102名115周期を対象とした。排卵誘発法別内わけはcc/hMG 35周期、hMG/hCG 45周期、GnRha/hMG 35周期である。採卵は経腔超音波下又は腹腔鏡下で施行し、卵成熟度は採取卵の形態により分類した。媒精は卵成熟度と無関係にhCG投与40時間後に行ない、媒精16～20時間後に卵丘細胞を機械的に除去し、前核の数により多精子（多卵核）受精を判定した。

【結果】①採取卵数493卵中受精卵数345卵（70.0%）で、その内の25卵（7.25%）に多精子受精を認めた。②排卵誘発法別多精子受精率はcc/hMG 5.5%、hMG/hCG 8.2%、GnRha/hMG 7.2%で各群間に有意差は認められなかった。③卵成熟度、年齢と多精子受精率は相関を示さなかった。④媒精精子数の検討では5～15万/卵の場合多精子受精率は4.5%とそれ以上の群に比し有意な減少を認め、さらに不妊因子別では男性因子症例に多精子受精を認めなかった。

【結論】以上より多精子受精（polypronuclear embryos）率は卵成熟度、排卵誘発法、年齢と有意な相関を示さず、媒精精子数ならびに精子自体の受精能が多精子受精発生に関与している可能性が示唆された。

I-14

多角的評価によるヒトIVF-ET用培地の比較について

東邦大学第1産科婦人科学教室

○雀部 豊、久保 春海、安部 裕司、白井 彰、片山 進、百瀬 和夫

ヒトIVF-ETに使用される培養液のquality controlのために、マウス2細胞期胚を用いてその胞胚形成率によって評価する方法や、ヒト精子を培養しそのsurvival rateを経時的に観察して評価する方法が一般的に行われている。今回我々は、3社のHam's F10（A, B, C社）、HTFおよび新しく精子調製培地として開発されたGPM培地をこれらの方法を用いて評価した。さらにマウスIVF法によってこれらの培地が受精から初期発生に与える影響とヒト精子の活力精子回収率を検討した。マウスを用いた実験では、マウスIVF用培地であるWhitten's medium（以下WM）と比較した。GPMは、ヒト血清アルブミンを含んでいるためHTF、Ham's F10、WMにも0.3～0.5%濃度に添加した。

(1) マウス体内受精卵の胞胚形成率は、排卵後96時間でHam's F10 A 28.6%、B 36.0%、C 48.7%、HTF 97.3%、GPM 28.2%、WM 96.3%であった。(2) マウスIVF法による受精率は、媒精後24時間でHam's F10 A 93.3%、B 100%、C 90.0%、HTFで90.7%、GPM 93.3%、WM 93.3%であった。(3) ヒト精子の活力精子回収率はswim up 1時間後でHam's F10 A 47.4%、B 49.4%、C 33.7%、HTFで44.7%、GPM 47.6%であった。

(1) 胞胚形成率は、HTF、WMがそれぞれ97.3%、96.3%と良好であった。(2) マウスIVF法による受精率は、すべての培地でWMと同程度の成績が得られた。(3) 精子回収率はC社のHam's F10でやや悪かったが他の培地では、ほぼ同程度の回収率が得られた。

これらの評価方法から、HTFが最も優れた培地であると思われるが、マウスを用いた方法に関しては、種特異性の点からその成績をヒトにあてはめるのは、慎重な態度で臨むべきであろう。

I-15

偽妊娠ラット脱落膜培養細胞とラット初期胚の接着

東北大学医学部産科学婦人科学教室

大井嗣和, 永沼孝子, 陳 偉業, 吉田仁秋, 角田千恵子, 戸澤秀夫,
村上 節, 対木 章, 深谷孝夫, 矢嶋 聡

【目的】偽妊娠ラットに脱落膜腫を形成し, その培養細胞と胚を共培養することにより, in-vitro で妊娠成立の出発点ともいうべき, 着床の機序の一端を解明することを目的とした。【方法】偽妊娠Wister系成熟雌ラットに脱落膜反応を誘起後, 経日的に子宮を摘出しestrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR)の変化を測定した。同時に脱落膜腫を0.25% Trypsinで処理, 細胞数 5×10^6 cells/mlに調整後, collagen (type 1) coated dishを用いて培養した。培養液はWaymouth (FCS 10% 添加)を用いた。また過排卵処理後の交配により得られた同系ラット胚を培養脱落膜細胞と共培養した。培養細胞並びに胚の観察には透過型電顕を用いた。【結果】①脱落膜のERは脱落膜腫形成2日目に 2.77×10^{-10} Mを示したが, 7日目には 0.53×10^{-10} Mまで減少した。PRは3日目に 3.37×10^{-10} M, 5日目に 3.49×10^{-10} Mを示したが7日目には 1.63×10^{-10} Mであった。4日目の培養細胞が最もconfluentな状態になった。②培養細胞は, 電顕的にjunction complex, microvilliの欠如した, 分泌顆粒に富む円形の細胞であり, 脱落膜間質細胞由来であることが確認された。③blastocystをこの培養細胞へ静置すると, hatching 途上の時期に60% (18/30)が, 間質細胞由来と思われる培養細胞に接着した。④培養細胞と共培養したmorula中74% (28/38)がblastocystに, さらに26% (10/38)がhatched blastocystに発育した。これに対しcontrol (培養液中に静置したmorula)のblastocystへの発育率は14% (5/34)であり, 両者に有意差を認めた。【結論】偽妊娠ラット脱落膜細胞を用いたin-vitro 着床モデルを作成した。初期胚の内膜への接着は, 胚と腺上皮細胞の相互作用と考えられているが, blastocyst 自身の直接作用によるものと思われる培養細胞への接着を確認した。また胚の発育に関して促進的影響を及ぼすこのin-vitro 着床モデルは, 今後, 妊卵着床機序を解明するのに有用と思われる。

I-16

ラット初期胚発生に影響を及ぼす諸因子の検討

京都大学医学部婦人科学産科学教室

○岸 淳二, 野田洋一, 成木勝彦, 馬岡 陽, 森 崇英

【目的】ラットのin vitroでの初期胚培養は極めて困難であり, 2-cellおよび4-cellでのほぼ完全な胚発生の停止が知られている。今回, 我々はdisulfide bond還元剤であるdithiothreitol (DTT)添加培養法および, マウスで2-cellブロック解除効果が認められている, superoxide dismutase (SOD)添加培養法, 低酸素濃度下(5%O₂)SOD添加胚培養法を用いて, ラットのin vitroでの胚発生停止が解除できるか否かを検討した。【方法】PMSG20単位を4週齢のWistar系雌ラットの皮下に投与し, その48時間後にhCG20単位を腹腔内に投与した後に, 同系雄ラットと交配させ, 翌朝腔栓の認められたものを実験に用いた。hCG投与の18~20時間後に屠殺, 開腹し, 卵管膨大部より前核期胚を採取して培養を行った。培養液には0.4%のBSAを添加したmodified KRB液を用い, DTT添加群では1, 10, 100 μ g/mlのDTTを培養液に添加し, SOD添加群では0.1, 0.5, 1, 2mg/mlのBovine Cu-Zn SODを添加した。培養条件は37°C, 5%CO₂ in airとした。低酸素濃度下培養群では, 5%O₂の気相下で採卵を行い, 5%CO₂, 5%O₂, 90%N₂の気相下で培養を行った。また, 5%O₂下でのSOD添加群では1mg/mlのSODを添加した。【結果】DTT添加培養群では10 μ g/mlの濃度で対照群(0%)に比べ有意に高い4-cellへの発育率(12%)を得た。SOD添加培養群では, 通常酸素濃度(20%O₂)および低酸素濃度下(5%O₂)での培養の両者で, 非添加群に比べ有意に高い4-cellへの発育率を得た。また, 酸素濃度別に比較すると, 5%O₂下でのSOD添加群は20%O₂下でのSOD添加群よりも4-cellへの発育率が高い傾向があったが, 有意差は認められなかった。しかし, 上記のいずれの群でも8-cell以降への発育は認められなかった。【考察】DTTおよびSODによって2-cellブロックの解除効果が認められたことから, in vitroでのラット胚培養におけるSH基の保護や, 酸素毒性からの保護の必要性が強く示唆された。しかし, 4-cellブロックでは他の要因も大きく関与していると考えられ, 今後の検討課題とされる。

I-17

レセルピン投与マウスにおける脱落膜反応誘起とプロスタグランジンE₂投与の影響について

○辻井弘忠(信州大学農学部), 茂田哲哉(日本レダリー株式会社)

マウスの人為的な偽妊娠誘起法は未だ確立されていないように思える。そこで、演者らはマウスにレセルピン投与を行い、偽妊娠誘起後の脱落膜反応ならびにプロスタグランジンE₂を子宮腔内に投与した場合の脱落膜反応について調べたので報告する。

(材料および方法) 8週齢のICR系処女マウスを用いた。レセルピンは発情後期の午前9-10時に体重1kgあたり1mg皮下投与した。脱落膜反応の誘起は偽妊娠5日目に以下の処理を行った。(1)左子宮角にマイクロシリンジを用いて50μlの生理食塩水を注入した。(2)左子宮角にマイクロシリンジを用いて50μlのプロスタグランジンE₂を注入した。(3)左子宮角を針金で創傷を与えた。これらの処理後3日目に剖検し、脱落膜反応の有無ならびに各子宮角重量をトーションバランスで測定した。統計処理はt検定で行った。

(結果) (1)生理食塩水注入群において、左右の子宮角の重量に差はみられなかった。(2)創傷を与えた群において、左子宮角重量が右子宮角重量に比べて有意に増加していた。これらのことから、レセルピン投与によってマウスの偽妊娠誘起ならびに脱落膜反応誘起は可能であること、子宮角にプロスタグランジンE₂を注入することによって脱落膜反応が起こることが判った。

I-18

体内受精及び体外受精由来胞胚の発生能(viability)の検討

スズキ病院産婦人科、 Kiel大学産婦人科*

○千田 智、立花 郁雄、小田原 靖、森 滋、飯田 修一
鈴木 雅洲、 L. Mettler*、 K. Semm*

【目的】従来、培養液や培養環境の検定に2細胞期から胞胚期までの発生率をもって検討してきた。しかし、その胞胚の発生能力の標価はされていない。我々は、形態的に正常に見える胞胚のその後の発生について、体内受精卵と体外受精卵について比較検討した。

【方法】CB6F1雄雌マウスを用いて、(a)体外受精・体外培養、(b)体内受精・体外培養、(c)体内受精、体内発育、の3群より得た胞胚について次の2項について検討した。(i)各群胞胚をin vitroにてさらに48時間培養し、dish上での、trophoblast (Tb)、inner cell mass (ICM)への発生率。(ii)各群胞胚を、偽妊娠雌マウス子宮へ胚移植し、in vivoにおける生存胎仔への発育率。

【結果】体外受精・体外培養で得た胞胚のin vitroでのTb、ICMへの発生率は他の2群より有意に低く、体内受精・体内発育胞胚の発生率が有意に高く、3群間に有意差を認めた。偽妊娠雌マウスへの移植の結果では、体内受精、体内発育胞胚の生存胎仔への発育率が他の2群より高率であった。しかし、有意差を認めなかった。

【考察・結論】光学顕微鏡下に形態的に正常と思える胞胚でも、その発生能力には違いがある。胎仔への発育をみるには、胞胚を偽妊娠雌マウスに移植しなくてはならないが、この方法は子宮内膜環境に影響され、また正確に胚移植されたか不明であり、着床数にもバラツキを認め検定には適当ではない。しかし、in vitroにてTb、ICMを観察する方法は簡便であり、短時間に多数卵について検討できるので、培養環境や胞胚のquality controlには有用である。Hatchingからtrophoblastの増殖へかけては胞胚内のエネルギーが必要であり、この現象は胞胚の発育成熟の指標となるものと思われる。

I-19

I V F - E T による妊娠症例における初期胚の発育速度について

岡山大学産婦人科

○名越一介、吉田信隆、中塚幹也、平野由紀夫、
片山隆章、多賀茂樹、新谷恵司、清水健治、関場 香

【目的】我々は基礎体温上排卵日をほぼ特定できる症例でも胎嚢の発育の差異を臨床上よく経験する。しかしそれが初期胚の発育速度の差によるものか、排卵が遅延しているものか特定するのは困難である。このことを解明するために受精時期の明かなIVF-ET症例を用いて検討した。【対象及び方法】当科においてIVF-ET後妊娠にいたった14人15周期（単胎妊娠8周期、双胎妊娠1周期、品胎妊娠2周期、子宮内胎児死亡(IUFD)1周期、子宮外妊娠3周期）を対象とし、尿中hCG titer及び経膈超音波法により測定した胎嚢の大きさと採卵日をday=0とした採卵後の日数との関係、及び胎児心拍(FHM)確認の時期について検討した。【結果】胎児の生存を確認し得た妊娠11周期では初めて尿中hCG titerが200IU/lに達したのはday14~21（単胎妊娠；day18~21、多胎妊娠；day14~21）、初めて200IU/lに達したのはday17~24（単胎妊娠；day 19~23、多胎妊娠；day17~24）でありかなりのばらつきを認めた。また経膈超音波断層法でFHMを確認し得た症例において（胎嚢数=16）、初めて胎嚢を確認できた時期はday18~27(22.2±2.1)であり、初めてFHMを確認した時期はday27~37(30.9±3.4)(mean±SD)であった。正常単胎妊娠に於いては尿中hCGが200IU/lに達してから経膈超音波断層法で胎嚢を確認するまでに2~6日(3.9±1.4, mean±SD)を要した。品胎の1周期においては胎嚢はday18, 21, 27に、FHMの確認はday30, 37, 37に別々に確認でき3つの初期胚の発育速度が異なっていた。IUFDとなった1周期は尿中hCG titer1000IU/l陽性日がday 33、初めてGSを認めた日がday35で正常妊娠に比べて遅延していた。子宮外妊娠となった3症例の尿中hCG titerは200IU/l陽性となった時期はday18, 21, 26、1000IU/l陽性となったのは、day26, 29, 30で、正常妊娠と比べてやや遅延していた。【結論】受精時期の確実なIVF-E Tによる妊娠においてもFHMが確認できる時期までに初期胚発育速度は既に10日程度の差があることが明らかになった。

I-20

刺激周期別にみた体外受精・胚移植妊娠例の内分泌動態

大阪医科大学産婦人科学教室

○宮崎和典、鈴木佳彦、金子卓嗣、奥田弘賢、太田 栄、杉山修成、
杉本 修

【目的】体外受精・胚移植の成功率を高めるために、卵巣刺激周期の検討は重要な意義をもつが、各周期の利点や相違は必ずしも明確にされていない。そこで、各刺激周期の内分泌動態の特異性を知ることが目的として、全経過が良好であったと判断できる妊娠例でその内分泌動態を比較検討した。

【方法】当科で体外受精・胚移植のうえ妊娠に至った症例のうちClomid-hMG(C1)周期20周期、hMG(h)周期10周期、GnRHa-hMG(G)周期4周期、計34周期につき、卵胞発育状態やエストラジオール(E2)、プロゲステロン(P)、LH、FSH、プロラクチン(PRL)等のホルモンを測定し内分泌動態を比較検討した。

【結果】hCG投与時の発育卵胞数(≥15mm)はC1周期6.0、h周期6.1、B周期6.3個と差はなかったがE2値は2053, 1351, 1077pg/mlで卵胞当りのE2値も352, 213, 148pg/mlとC1周期で最も高値を示した。移植胚数は、2.7, 3.7, 3.5個とC1周期が最も少なかった。黄体中期のE2、P値はそれぞれ1507, 1317, 752 pg/ml, 64.8, 110.9, 96.8 ng/mlでE2値とP値は必ずしも正の相関を示さなかった。E2/P比は25.3, 17.5, 7.9とC1周期、h周期、B周期の順に高かった。

【考察】卵巣刺激方法が異なっても受精、分割などには大きく影響しないが、内分泌動態は大きく異なり、卵胞および黄体におけるホルモン産生能に差があることが推察された。また、妊娠に必要な共通の因子は明白にはならなかった。

I-21

EGFレセプターの初期胚における発現と変動

東京大学医学部産科婦人科学教室, 横浜市立大学医学部生化学教室*
 ○細谷岩生, 堤 治, 郭 宗 明, 三橋直樹, 武谷雄二, 水野正彦,
 加藤尚彦*

【目的】epidermal growth factor=EGFは分子量約6000のポリペプチドからなる, 細胞増殖調節因子の1つであり, 生殖生理にも深く関わっていることが示唆されている。今回, 我々は初期胚の発育分化へのEGFの関与について, EGF Binding Assayにより初期胚におけるEGFレセプターの存在を検討した。

【方法】B6C3F1マウス6~8週齢のメスをPMS, HCGにて過排卵させ, オスとmating後, 膣栓を確認したマウスより卵を回収した。培養はマイクロビレットを用いることにより開発した超微量培養法を用いて, 様々の発育段階にある初期胚をmBWW及び¹²⁵I-EGF約20 μ lの培養液中にて2時間培養しwashingの後, ガンマカウンターにてEGF Binding量を測定した。

【成績と考察】①超微量培養によっても様々の段階での初期胚の発育分化を検討することが可能であることが示された。またこの培養法は経済的のみならず放射性物質処理の点からも秀れた培養法と思われる。

②初期胚にはEGFレセプターが存在し, 卵1個当りのレセプター数は4 cell stageにおいては, 約 6.9×10^8 個であった。

③EGFレセプターの量は初期胚においては変動しMorula stageでピークとなった。初期胚の発育分化の上でEGFレセプターが関与していることが示唆された。

④EGFレセプター量はBlastocystでは低下傾向を示した。初期胚の発育分化の過程でEGFレセプターの発現は変動することが示唆された。

I-22

マウス初期胚発生過程におけるEpidermal growth factor (EGF)の生理作用に関する検討

三重大学医学部産科婦人科学教室
 ○西山真人, 菅谷健, 寺田厚, 山本稔彦, 杉山陽一

【目的】Epidermal growth factor(EGF)は, 種々の細胞培養系において, その増殖・分化を調節する因子として重要な役割を果たしているが, マウス初期胚の発生過程において如何なる作用を発揮しているかについては今のところ明らかではない。そこで我々は, マウス初期胚発生過程におけるEGFの作用につき検討した。

【方法】7-10週齢のICR系雌マウスを過排卵処置(7.5IU PMSG, 7.5IU hCG: 48時間間隔にて腹腔内投与)後, 同系雄マウスと交配し, 翌朝膣栓を確認し得たものを実験に供した。hCG投与40時間後に卵管還流法により2細胞期胚を採取した。採取した2細胞期胚は, EGF非添加培養液(100nM EDTA-2Na, 4mg/ml BSA含有HTF)あるいはEGFを種々の濃度(1pg/ml-500pg/ml)で添加した培養液60 μ l内にて微小滴培養した。なお, 1微小滴あたりの培養胚数は, 8-10個となるように調整した。培養は, 95%air, 5%CO₂, 37°Cの環境下で継続し, 24時間毎に卵割の状態を倒立顕微鏡下で観察し, 胚盤胞期までの発育率を検討した。

【結果】培養24時間目にはEGF添加の有無にかかわらず, ほぼ全ての胚が3-4細胞期胚へと発育したが, 培養48時間目に5細胞期以上および培養72時間目に胚盤胞に達した胚は, 対照群で96.9%および71.9%であったのに対し, EGF 1pg/ml-500pg/ml添加群では有意に低値を示した。

【考察・結論】EGFは, マウス初期胚発生過程において調節因子として生理作用を発揮している可能性が示唆された。

I-23

ラット胚のガラス化保存に関する研究

京都大学農学部畜産学教室
○内海恭三、入谷 明

目的：従来の胚の凍結法では、1~2Mの凍害保護物質とともに共晶点近くまで緩慢に冷却して細胞内自由水を脱水後に液体窒素へ浸漬する2段階冷却法が中心に行われてきた。最近、高濃度の保護物質中で冷却前に前もって脱水した後に室温から直接液体窒素に投入するガラス化保存法がマウス胚を中心に開発されてきた。しかしながら、高濃度の保護物質の細胞毒性や浸透圧衝撃など胚に対する細胞障害が指摘されている。本研究ではラット胚のガラス化保存に対する凍害保護物質の効果を検討した。方法：自家繁殖したWistar系ラットの自然発情・交配雌から回収した桑実期胚を実験に供した。グリセリン(G1)、プロピレングリコール(PG)、1,3-ブタンジオール(Bd)の3種類のホリオール(P1)溶液の胚細胞に対する細胞毒性と氷晶の内眼的検査によるガラス化傾向を調べた。1/4濃度のP1を組み合わせた媒液(4mg/ml BSA+PBS)中に室温20分、さらに最終P1濃度の媒液中へ移した胚を25mlプラスチックボトル内へ封入して10分後に直接液体窒素に投入した。液体窒素から氷水中へ加温し、3mlの1/2濃度P1液に10分、1/4濃度液に10分静置後、室温でさらに10分、続いて1/8濃度に10分静置後、PBSで洗浄し、20%CSを含んだKRB液中で桑実胚から胚盤胞への発育性を調べてP1の低温保護効果を検討した。併せて、非透過性物質のガラス化安定性も調べた。結果：ホリオール(P1) (濃度：10~50%)への室温浸漬はG1では何等影響は見られなかったが、PGとBdでは50%では1分で、40%でも5分で胚の生存性に影響し、それらとG1との等量の50%濃度混合液では生存性の改善がみられた。各P1(30~50%)のガラス化能はPG, Bd, G1の順に高いことが示された。ガラス化保存胚は50%P1液ではPG+G1、Bd+G1及びG1区で70~80%の生存胚が得られ、さらに40%P1液ではPG+G1とG1区で86~88%の生存胚が得られたが、30%液になるといずれの区も生存胚は得られなかった。H₂O-コルやPVP (MW, 4,000)を50% P G+G1区に添加した場合5%添加区で85~90%の胚生存率を示し、有意な差ではないが生存性が改善された。

I-24

精子形態とヒト体外受精

慶應義塾大学医学部産婦人科，荻窪病院産婦人科*

○大澤淑子，小林俊文，神野正雄，杉村和男，岩田壮吉，赤星晃一

北村誠司，岩田利恵子，野澤志朗，杉山 武*，片山恵利子*，飯田悦郎*

【目的】ヒト体外受精で術当日の精子クオリティを迅速かつ簡単に評価するには、精子濃度と運動率が用いられているが、体外受精の結果予測にはしばしば不十分である。そこで新しい精子形態分析法と体外受精の結果との関係を検討した。【方法】体外受精123周期につき、精子正常形態率(%SNM, strictly normal morphology)と胚分割率、妊娠率、流産率との関係を検討した。精子標本は、精液1滴でストリッヒを作り、乾燥後、Diff-Quik固定液・染色液I, IIにて固定(15秒)、染色(I液, 10秒; II液, 5秒)した。SNMの定義は、(1)精子頭部がなめらかな卵形で、長さ4.0~6.0μm、巾2.4~3.5μmであり、(2)acrosomeが明瞭で、頭部の40~70%を占め、(3)midpiece, tailに異常がなく、(4)頭部の1/2以上の大きさのcytoplasmic dropletを持たないとした(修正Kruger's criteria, 1986)。油浸1000倍で、400匹の精子を観察し、%SNMを決定した。卵巣刺激はhMG, hCG(±GnRH agonist)で行ない、媒精24~48時間後に子宮に胚移植した。【結果】周期あたりの胚移植率、妊娠率、および妊娠あたりの流産率は、83%, 41%, 24%(%SNM≥40%, 42周期); 75%, 22%, 33%(40%>%SNM≥12%, 68周期); 62%, 8%, 0%(%SNM<12%, 13周期); 76%, 27%, 27%(計123周期)であった。【結論】%SNMは、12%, 40%をcut-offとして、その上昇とともに胚移植率、妊娠率が上昇し、ヒト体外受精の結果を予測するのに有効なparameterと示唆された。また%SNMは、簡単・迅速に決定できるため、媒精の条件調整にも役立つと考える。

I-25

ヒト精子の Zona induced acrosome reaction と顆粒膜細胞群の影響

福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○吉松宣弘, 菅野孝子, 星 和彦,
佐藤 章

目的：哺乳動物精子の acrosome reaction には、spontaneous acrosome reaction と zona induced acrosome reaction が知られているが、ヒト精子に関する報告は少ない。そこで、ヒト精子の zona induced acrosome reaction を、ヒトの salt stored egg を用いて検討すると共に、zona induced acrosome reaction に及ぼす顆粒膜細胞群の影響についても合わせて検討した。

方法：手術で得られた卵巣より回収処理した salt stored egg に 10×10^6 cell/ml の精子を媒精し、3 時間の co-incubation の後、透明帯を別の dish に移し、更に 3 時間培養する。この後、micropipette を用いて、透明帯上の精子を離脱回収する。又、同時間培養した、培養液中の精子の spontaneous acrosome reaction と、回収精子の zona induced acrosome reaction の割合を、FITC labelled PSA を用いて染色し蛍光顕微鏡下で検討した。又、顆粒膜細胞群をガラス管に吸引し、これを通過した精子を回収して、spontaneous acrosome reaction 及び zona induced acrosome reaction の割合を検討した。

結果：Spontaneous acrosome reaction は、培養 3 時間で $0.5 \pm 0.3\%$ 、6 時間で $4.9 \pm 2.4\%$ であるのに対し zona induced acrosome reaction は $48.3 \pm 18.2\%$ と有意な差を認めた。又、顆粒膜細胞群通過直後の精子の spontaneous acrosome reaction は $3.8 \pm 2.6\%$ で、通過処理に要した 1 時間、培養していたコントロール群の $1.1 \pm 0.5\%$ と有意差を認めず、顆粒膜細胞群通過精子を用いて検討した zona induced acrosome reaction は 44.7% (対コントロール 40.4%)、 22.3% (対コントロール 22.0%) と顆粒膜細胞群の関与しないコントロール群と有意差を認めなかった。

考察：ヒト精子にも zona induced acrosome reaction は存在し、これに対する顆粒膜細胞群の影響は認められなかった。今後は頸管粘液の影響をも検討してみたいと考える。

I-26

凍結ハムスター卵を用いたハムスターテストとヒト体外受精成績の相関

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○北村誠司, 小林俊文, 杉村和男, 神野正雄, 赤星晃一, 岩田壮吉
大澤淑子, 岩田利恵子, 名取道也, 森定 優, 野澤志朗

ヒト体外受精において、男性因子不妊の有無は、成功を左右する重要なポイントの 1 つである。男性因子の判定に、ハムスターテストが有用であるが、必要なハムスター卵を随時得るためには、ハムスターの飼育・排卵誘発などが負担となる。そこで今回我々は、体外受精の術前に、凍結ハムスター卵を用いてハムスターテストを行い、ヒト体外受精の結果との関係を検討した。【方法】体外受精前 2-3 ヶ月以内に、凍結ハムスター卵(日本農産)を用いてハムスターテストを施行した。凍結卵を 38°C の温湯中にて急速融解し、3 段階洗浄にて耐凍剤を除去した。0.1% トリプシンにて透明帯を除去し、洗浄後媒精に供した。精子は遠沈洗浄・スィムアップ後 2 時間前培養し、直接または $5 \mu\text{M}$ カルシウム・イオノフォア処理後に媒精に供した。媒精 4 時間後に、膨化精子頭部および前核を観察し、精子進入率(受精卵数/媒精卵数)を決定した。ヒト体外受精は、以下の如く行った。月経周期第 3 日より hMG $150 \sim 300$ 単位を連日投与した後、hCG 10000 単位を筋注した。36 時間後、経腔に採卵し、既報の如く体外受精を行い、36-48 時間後に胚移植した。移植後連日プロゲステロン 25mg を投与した。【結果】カルシウム・イオノフォア無処理法での結果は、精子進入率 $\geq 10\%$ (13 例) の時、胚移植率 77%、妊娠率 23%、進入率 $< 10\%$ (10 例) の時、胚移植率 60%、妊娠率 0% であった。 $5 \mu\text{M}$ カルシウム・イオノフォア処理法では、進入率 $\geq 80\%$ (11 例) の時、胚移植率 82%、妊娠率 27%、進入率 $< 80\%$ (9 例) の時、胚移植率 56%、妊娠率 0% であった。【結論】凍結ハムスター卵を用いたハムスターテストは、カルシウム・イオノフォア処理法で進入率 80% を、無処理法で 10% を境界値として、それ以上では胚移植率・妊娠率とも良好で、逆に境界値未満では妊娠を得ず、ヒト体外受精の成績を良く反映した。さらに簡便性の点からも、凍結卵を用いたハムスターテストは、ヒト体外受精のための術前男性因子検査として有用と示唆された。

I-27

非極性アミノ酸の相互作用を利用した early pregnancy factor 精製法の検討

済生会神奈川県病院産婦人科, 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室*, 社会
 保険埼玉中央病院産婦人科** ○末岡 浩, 黒田優佳子, 伊藤仁彦**小西
 康弘, 小林淳一, 中野真佐男, 森定 優*, 小林俊文*, 野澤志朗*, 飯塚理八*

受精後超早期に出現する early pregnancy factor (EPF)は, その生物学的活性の解明や検出系の改善を目的として, 単クローン抗体の作製努力が払われると同時に, 生化学的検討が多くの研究者によってなされてきた。しかし, 検出法の複雑性, 微量産生量などの理由から完全抽出は困難を極めてきた。

Sueoka et al. が既に報告した妊婦尿由来の部分精製ヒトEPF (Development of preimplantation embryo and their environment; 317-329, 1989)をさらに完全なものとする為の試みとして, HPLC及びオープンカラムの疎水性クロマトグラフィーを用い, 有効な知見を得たので報告する。

タンパク分子が高次構造をとった際に, 非極性のアミノ酸は分子表面に疎水性スポットとして表われ, 疎水性基質と相互作用が生じる。その性質を利用した疎水性クロマトグラフィーとして(1)Phenyl Superose fast protein liquid chromatography (Pharmacia)及び(2)Phenyl Sepharose CL-4B chromatographyの2種類のカラムを用いた。(1)では部分精製EPFを1M(NH₄)₂SO₄でカラムに吸着させ, 1M→0Mへ下降させてEPFの溶出を行なったが, preliminary dataとしてgradient法より1M→0.5M→0Mと段階的に下降させるstepwise法がより有効な分解能を示した。(2)では, (1)での微量分離によって得た結果を元にCL-4Bカラム(1.3cmφ×11.3cm:15ml)に対して, 予め1M(NH₄)₂SO₄-Tris-HCl溶液で透析した部分精製EPFを添加し, 次いで0.5M, 0M溶液で溶出を行なった。この結果, EPF画分としてタンパク量97.3%, hCG含有量として98.4%の複雑タンパク及びhCGの除去に成功した。

逆相HPLCの溶媒によるタンパク構造の化学的変化, SDS処理時の加熱変化はEPF精製上, 大きな限界となり, 生物活性を失うことなく完全精製を行なう上で疎水性クロマトグラフィーが極めて有効であることが示唆された。

I-28

マウス凍結精子の受精能について—体外受精及び顕微受精試験—

藤本午郎, 奥山 学, 佐賀正彦*, 浜田 宏*, 尾川昭三
 明治大学農学部家畜繁殖, *聖マリアンナ医大産婦人科

マウス凍結保存精子の受精能を検討するため, 保存精子による体外受精及び顕微受精試験を行った。そして処置卵子を培養して雄性前核形成を指標とし受精の有無を調べたので報告する。

<方法>(1)ICR系マウス精巣上体尾部を保存溶液中0.4-0.6ml<ラフィノース18%(W/V)脱脂粉乳3%(W/V)を蒸留水に溶解したもの>に投入細切した。(2)得られた精子懸濁液を各0.2mlずつクライオチューブに分注し, 室温にて50mlのアルコールで満たされたバイレックス試験管に挿入, (3)これを-80℃アルコールバスに浸漬後, 液体窒素(LN)に浸漬して保存した。(4)融解はLNから取り出したチューブを37℃水浴に投入して行った。保存精子による体外受精(IVF)は, 豊田ら(1971)の方法に準じて行った。顕微受精はメチルセルロース2%(W/V in HER)中に浮遊させた精子(1-2時間前培養後)を内径8-10μmのガラスキャピラーに吸引, 保持した。この注入用ピペットで透明帯を串差しにし, ピペット先端が保定用ピペット内に届くようにする操作を採用し未受精卵の卵胞腔内へ精子をきわめて簡単かつ効率的に注入した。

<結果および考察>凍結保存精子によるIVFでは供試卵233個中97個(41.6%)に前核形成があり, 未凍結精子によるIVFでは供試卵79個中70個(88.6%)に雌雄両前核形成があった。顕微受精では凍結精子注入卵31個中3個(9.6%)に受精が, そして対照の非凍結精子注入卵では20個中7個(35%)に受精が認められた。IVF, 顕微受精ともに凍結精子による受精成績は対照のものに比して低い。この原因として凍結融解による精子への傷害ならびに受精培地に少量混入する凍結保護剤の影響などが考えられる。しかしながら改良を加えることによりラフィノース保存液によるマウス精子の凍結保存は充分実用化が可能であると考えられる。

I-29

受精卵に対する凍結保存の影響について
— 発育速度および染色体への影響を中心に —

名古屋市立大学産科婦人科学教室

○飯田忠史, 鷺見 整, 生川剛史, 足立立子, 岡田節男, 生田克夫,
鈴森 薫, 八神喜昭

(目的)本邦においても凍結保存された受精卵からの生児獲得が報告され, 不妊症治療の新しい道が開けたといえる。しかしながら凍結保存・融解過程において受精卵が受ける細胞遺伝学的影響については, 若干の知見があるのみで十分な検討がなされていない。そこで我々は, 発育速度が安定しており, 染色体の形態的特徴が明確なため, 分析に最適とされるチャイニーズハムスターの受精卵を用い, 凍結保存融解処理が受精卵に及ぼす影響について, 分割細胞数からみた発育速度, および染色体異常の出現頻度に関し検討した。(方法)チャイニーズハムスター近交系の8細胞胚を採取し, 最終濃度が1.2Mとなるように4段階に分けてdimethylsulfoxideを添加した後, プログラムフリーザーを使用して凍結を行なった。保存期間は1週間から4カ月で, 急速法による融解後, 培養を行なった。培養時間は8時間と40時間の2群を設定した。この2群について標本作製し, 分割細胞のカウントを行なうとともに染色体の分析を行なった。対照は凍結せずに同時間培養後, 標本作製し, 同様に分析を行なった。(結果)311個の胚を凍結・融解後, 培養した。そのうち120個について約8時間で標本作製し対照群と比較したが, 分割細胞数からみた発育速度および染色体異常の出現頻度に差は見られなかった。40時間培養した群では143個のうち121個(84.6%)が胚盤胞に達していたが, 分割細胞数からみた発育速度は対照群と比較して明らかに遅延していた。染色体の分析率は66.4%で, 異常は8.4%(8/95)に認められ, 対照群の2.9%(3/102)と比較してやや高い値を示した。さらに発育速度と染色体異常の出現頻度について検討したが, 分割細胞数が20以下の発育速度低下群において染色体異常が高い傾向を示した。(結論)凍結保存により発育速度に影響を受ける受精卵の存在が認められ, これらの発育速度低下群において染色体異常の出現頻度が高い傾向が見られた。

I-30

卵胞期血中プロゲステロン値の卵成熟、受精・分割および妊娠予後に及ぼす影響

鳥取大学医学部産科婦人科学教室

○見尾保幸, 関島秋男, 岩部富夫, 大野原良昌, 谷川正浩, 寺戸博文,
戸田稔子, 原田 省, 寺川直樹

[目的] IVF-ETやGIFT治療周期の卵巣刺激の際に於ける卵胞期血中 P値の卵成熟、受精・分割及び妊娠成立とその予後におよぼす影響を検討した。[方法] 1989年 5月より1990年 4月までの1年間に実施した160周期を対象とし, 卵巣刺激には, Clomiphene+hMG(Standard regime; SR)、GnRH analog (GnRHa)+hMG(Flare regime; FR、Midluteal regime; MR)及びpure FSH(pFSH)の4種類を症例に応じて選択使用した。卵胞発育観察は, 月経第3日目より隔日または連日12時間ごとに血中Estradiol(E2)、P、LH値をRIA及びEIAにて測定し, 卵胞径も第7日目より隔日にTV scanにて計測した。卵胞成熟を確認後hCGを投与し, 当科の操作手順に従いIVF-ET、GIFTを施行した。Early luteinizationやPremature LH surgeを除外し, 各卵巣刺激法においてP値がLH surgeと無関係に1 ng/ml以上を示したP上昇周期の頻度とその後の治療成績を, 非P上昇周期との間で相互に比較検討した。[成績] P上昇は, いずれの刺激法においても, 27.2%~50.0%と極めて高頻度に認められた。P上昇周期では, 非P上昇周期と比較し, E2最大値は高く, 発育卵胞数, 採取卵数も有意に多かった。形態学的卵成熟度評価では, P上昇の影響は明らかでなかったが, 受精率, 妊娠率は明らかに非P上昇周期で良好であった。Ongoing妊娠はすべて非P上昇周期に集中した。[結論] P上昇は, いずれの卵巣刺激周期においても高頻度に出現し, 卵成熟, 受精能に重大な影響を与え, 妊娠予後を左右する因子であることが推察された。また, P上昇は, 中枢との関連よりむしろ卵胞内環境異常によると考えられ, これらの結果は, P上昇(Subtle P rise)の判定基準の作成, 発生機序さらに防止法の解明の必要性を強く示唆するものであった。

I-31

低プロラクチン血症の受精・分割、着床に及ぼす影響

慶應義塾大学産婦人科、東京歯科大学産婦人科¹、杏林大学産婦人科²
 ○佐野陽子、小田高久¹、吉村泰典²、竹原祐志¹、田辺清男、小林俊文、
 中村幸雄²、大野虎之進¹、野澤志朗

【目的】排卵期には血中 prolactin (PRL) が比較的高値になることが知られており、既に我々は過排卵周期において、排卵期一過性高PRL血症は卵の受精、分割に影響を与えないことを報告した。そこで排卵期のPRLの意義を解明するため、体外受精・胚移植 (IVF-ET) の過排卵周期において血清PRLレベルと受精、分割、着床成績との関連について検討した。

【方法】卵管性不妊を適応としてIVFを施行した45症例、47周期を対象とし (年齢40歳以上、男性不妊、精子不動化抗体陽性、子宮内膜症、高PRL血症、premature luteinization, premature LH rise, poor responder, 高度卵巣過剰刺激症例は除外)、これらを採卵直前、採卵1日前、2日前の3日間の血清PRL値を平均した値により、PRL<10ng/ml (NIH VLS#2) の低PRL群 (8周期)、10ng/ml ≤ PRL<30ng/ml の正PRL群 (8周期)、30ng/ml ≤ PRLの高PRL群 (31周期) に分類した。過排卵刺激法としては、hMG法 (37周期)、bromocriptine-hMG法 (10周期) を用いた。

【結果】排卵期血清PRL平均値 (ng/ml)、E₂最大値 (pg/ml)、採取卵数 (個/周期) の平均は各々、低PRL群 3.5, 1960, 5.9, 正PRL群 21.8, 1376, 5.8, 高PRL群 47.8, 1951, 5.1であり、卵胞発育に差は認められなかった。受精率、分割率は各々、低PRL群 55.3%, 25.5%, 正PRL群 65.2%, 52.2%, 高PRL群 79.0%, 66.9%であり、低PRL群の分割率は他の2群に比し有意に低かった。着床率 (着床胚数/移植胚数) は、低PRL群 16.7%, 正PRL群 23.8%, 高PRL群 14.9%であった。

【結論】排卵期一過性高PRL血症は卵の受精分割を障害しないのに対し、低PRL血症は卵胞発育、着床には影響を与えないが、卵の分割を障害することが明らかとなった。以上より、卵の成熟、受精分割能獲得にPRLが何らかの生理的役割を果たしている可能性が示唆された。

I-32

卵胞成熟の指標としてのヒト卵胞液中の Plasminogen Activator および Plasminogen Activator Inhibitor レベルの検討

熊本大学産科婦人科学教室・神戸市立中央市民病院産婦人科*

○田中信幸、松浦講平、本田賀裕、岡村 均、島田逸人*、高島英世*

〔目的〕動物実験モデルにおいては、排卵過程に伴い卵巣中の Plasminogen Activator (PA) 活性が有意に上昇し、排卵に重要な役割を果たしていることが示されてきているが、ヒトにおける報告は未だ少ない。今回我々は、IVF-ET目的で採取したヒト卵胞液中の PAおよび PA Inhibitor (PAI) 抗原量の測定を行ない妊娠成立との関連につき解析し、卵胞成熟の指標としての有用性に関して検討した。〔方法〕男性因子と免疫因子を除く5名のIVF-ET施行婦人より得られた卵胞液15検体につき、卵胞液中のtissue-type PA (tPA)・urokinase-type PA (uPA)・PAI-1およびPAI-2抗原量をEIAを用いて測定した。〔結果〕各症例につき3-4個のETを行なった結果、3例に妊娠が成立した。妊娠例3例はいずれも単胎で、1例は妊娠6週で流産に終わったが、残り2例は正期産で分娩に至っている。卵胞液中のPAI-1レベルは末梢血レベルに比べてかなり高く、これを妊娠例から得られた検体 (N=9) と非妊娠例からの検体 (N=6) に分けて検討すると、非妊娠群 (110.6 ± 11.9 ng/ml 以下同単位) に比し、妊娠群 (61.1 ± 5.9) では有意に低いレベルであった。一方、tPAレベルでは妊娠群 (2.7 ± 1.4) と非妊娠群 (7.7 ± 4.4) とともに末梢血のレベルと同じレベルであり、両者間に有意差はみられなかった。uPA・PAI-2については、両者とも極微量か感度以下であった。〔結論〕卵胞液中のtPA濃度は末梢血レベルと同様であるが、PAI-1レベルは末梢血に比べ高濃度に存在し、しかも非妊娠例では妊娠例と比較して有意に高い値が得られた。このことは卵胞成熟に伴い顆粒膜細胞によるPAI-1の産生が強く考えられ、この産生能の違いが卵胞成熟の指標になりうる可能性が示唆された。

I-33

4～8細胞期胚卵管内移植(Embryo Intrafallopian Transfer, EIFT)の臨床成績

セントマザー産婦人科医院¹, 順天堂大学医学部産婦人科²
 ○岡部親宜², 田中 温¹, 田中威づみ¹, 吉田一郎¹, 竹本洋一¹,
 高田道夫²

【目的】卵管内は受精, 卵割の最適の環境であり, 4～8細胞期胚までの移植は子宮内より, 卵管内の方が妊娠率が高いという動物実験の報告がある。今回我々は, 多胎妊娠の発生率を減少させ, また体外受精後の妊娠率を上昇させる目的で本法を臨床に応用し, 有用と思われる結果を得たので報告する。【方法】症例はH.S.G透視下で少くとも一側の卵管の正常な通過性を確認しえ, なおかつ卵管采及び卵管膨大部に強度の癒着のないものに限定した。対象はIVF・ETでETチューブが円滑に挿入できなかった症例(12例), IVF・ET失敗例(4例), GIFT失敗例(4例)の20症例であった。排卵誘発法はGnRH-a+HMGを症例に応じ, Long, short, Original protocolで施行した。血中E₂値が1500pg/cc以上に漸増し, 主席卵胞の直径が20～22mm, 緊満度が約80%の時点でHMG投与を中止し, その翌日にHCG6000単位を投与した。HCG投与37～38時間後に超音波下に採卵した。採卵後卵子の成熟状態に応じ4～12時間の前培養を行い, 30～50×10⁴/ccの精子と媒精した。精子の処理はSwim up法, percoll+Swim up法, F・F法(卵胞液添加法)を症例に応じて使用した。媒精4～12時間後にGrowth Mediumに移した。採卵後2～3日目に卵子を観察し, Fragmentationは認めず, 割球の大きさが均等に発育した4～8細胞期胚を20～100%非働化母体血清内に移し, 10～30分後にギフト法と同様の手技で卵管内に5～6cm挿入し移植した。移植胚数は4個以内とした。【結果】20症例にEIFTを施行し, 13症例で妊娠に成功した(妊娠率65%), 13症例のうち2例のclinical abortion(流産率15%), 5例の多胎妊娠(双胎3, 品胎2, 多胎妊娠率38%)を認めた。子宮外妊娠は認めなかった。症例別における妊娠率は, ETチューブ挿入困難例75%(8/12), IVF・ET失敗例75%(3/4), GIFT失敗例25%(1/4)であった。【結論】EIFTはGIFT, ZIFT, IVF・ETの成績と比較し, 移植卵子(胚)1個あたりの妊娠率, 着床率は最も高いことが判明した。ETチューブ挿入困難例や, IVF・ET失敗例ではEIFTが有用であり, GIFT失敗例ではIVF・ETの方が成功率が高くなることが示唆された。

I-34

体外受精における前核期細胞子宮内移植の検討

琉球大学医学部産婦人科

○佐久川政男, 山城 一也, 佐久本哲郎, 稲福 薫,
 前浜 俊之, 新崎 盛雄, 東 政弘, 中山 道男

【目的】当院不妊症外来患者中, 体外受精胚移植の適応となった症例に前核期での子宮内胚移植を行いその成績を分割胚移植と比較検討した。【方法】当科を受診した体外受精治療患者67例に対して採卵し, 内35例を分割胚移植(A群), 32例を前核期移植(B群)を施行し, 両者の妊娠率を比較検討した。卵巣刺激方法はGnRH-a(黄体期より使用)+hMG+hCG療法を行い, A, B群間の成績を比較検討した。

【成績】A, B群はそれぞれ患者年齢36.5±3.4才, 36.2±3.9才, 平均採卵数4.6±3.3個, 5.3±3.3個, 平均受精卵数3.5±2.6個, 4.2±2.7個, 平均移植細胞数3.6±1.5個, 2.9±1.1個, 対周期妊娠率35例中9例25.7%, 32例中9例28.1%, 流産率9例中5例55.6%, 9例中2例22.2%であり, A, B群間に有意差はなかった。

【結論】前核期移植は分割胚移植と同様な妊娠率が得られるため, 移植までの時間や経費の面で利点があると考えられる。

I-35

マウス体外受精時の polyploidy の成因についての検討

山形大学医学部産科婦人科学教室

○杉内明子、佐藤文彦、広井正彦

〔目的〕体外受精時には2個以上の前核が認められ、胚移植できないことがしばしばある。これらの受精卵は polyploidy になるが、polyploidy の原因を探り、防止することにより移植胚数を増やすことができ、体外受精における妊娠率の向上につながるものと思われる。そこでマウス卵を用いて体外受精時の精子数、排卵誘発時の PMS 用量の polyploidy への影響を検討し、polyploidy 防止の方法を検討した。

〔方法〕B6C3F₁ マウスに 5.0, 10.0, 20.0i, u の PMS を投与し、HCG 投与後15時間の未受精卵を卵管より取り出し、2時間前培養しておいた、T6マーカーを染色体に持つ精子と培精した。培精時の運動精子濃度を 10×10^4 、 50×10^4 、 100×10^4 /ml の3群とした。培養後、5時間後より受精卵を vinblastine と podophyllotoxin を含んだ培養液中で培養した後、固定・染色して polyploidy の割合について検討した。

〔結果〕体外受精を行なった場合 PMS の用量が多くなるほど polyploidy の割合が増加し、5.0 PMS・10.0 PMS 群では polyploidy が 7.5%, 5.1% であったのに対して 20.0 群では 17.9% と増加していた。染色体異数性については増加していなかった。また、培精時の精子濃度の変化では、運動精子濃度が 50×10^4 /ml になると polyploidy の率が増加した。しかし、 10×10^4 /ml の精子濃度では polyploidy は増加せず至適濃度であると思われる。精子濃度 1×10^4 /ml では染色体数 n の卵子が増加し、受精率が減少するものと思われた。

〔考察〕polyploidy のは過剰な排卵誘発、過剰な精子濃度が関係するものと思われた。いずれも polyploidy は多精子受精が原因のほとんどであったが、20 PMS 群で雌性前核によるものも認められた。体外受精時には過剰な hMG の使用を避け、精子濃度を適切に調節することが重要であると思われた。

I-36

重症造精機能障害に対する Microfertilization による体外受精率の向上について

東邦大学第1産科婦人科学教室

○久保春海、安部裕司、白井 彰、雀部 豊、片山 進、百瀬和夫

体外受精・胚移植 (IVF-ET) が日本で臨床応用を認可されて以来6年余が経過した。この間に多くの難治性不妊患者が IVF によって救済されたが、IVF をもってしても救済困難な症例が増えてきている。そのひとつは重症造精機能障害であり臨床的に精子減・無力症に代表される群である。通常の IVF-ET による成績では原精液中運動精子数が 20×10^6 /ml 以上群と以下群に分けると、受精率、分割率は 74.8 ± 26.4 , 57.9 ± 37.8 および 72.7 ± 26.6 , 54.3 ± 38.8 と各々以上群、以下群で有意差 ($P < 0.01$) を認めた。同様に臨床的妊娠率は 20×10^6 /ml 以上群が 27.5% (14/51) であるのに対して、 5×10^6 /ml 以下群では妊娠例は認められなかった (0/11)。このため原運動精子数 20×10^6 /ml 以下群に対して採卵数5個以上の場合、5個には通常媒精法を行い、余剰卵子には囲卵腔内媒精による顕微受精法 (microfertilization) を行った。これによってこの群の受精・分割率の向上を試みた。余剰卵子を前培養 (4-6h) 後、0.1% ヒアルロニダーゼにて卵丘細胞を除去した。洗浄後 0.1 モル蔗糖液に入れ、卵実質を収縮させてからマイクロマニピュレーター (成茂製) にセットしたホールディングピペットに固定した。精子注入用ピペットに 1~5 匹程度の精子を吸引し、囲卵腔内に注入した。注入卵はハム F₁₀ + 10% 血清で洗浄後、培養を継続した。受精の確認は雌雄前核形成、平等分割の観察出来た場合に限った。この結果、顕微受精法による survival rate は 90%、受精率は 37% であり、分割率は 21% であった。また受精卵のうち多精子受精率は 16% に見られた。この群における通常 IVF 法による分割率は 54% であり、顕微受精分割卵を加えることにより高い分割率が得られ正常精子群と比較して差を認めなかった。このうち 5×10^6 /ml 以下群では通常 IVF 法で 5.4% の分割率であったが、顕微受精法では 11.5% が分割した。この結果、顕微受精法が重症精子減・無力症の治療に有効な手段であると考えられる。

I-37

ヒト卵子の囲卵腔内精子注入

東海大学医学部産婦人科

○松井素子, 井上正人, 淡路英雄, 小林善宗, 本田育子, 宗完子, 藤井明和

IVF, GIFTの開発により女性不妊の治療は大幅に進歩した。これに対して男性不妊の予後は相変わらず不良である。男性不妊の予後が悪いのは、単に精子の数や運動率の問題ではなく、その多くが精子の機能障害を伴うためである。

最近、男性不妊に対する新たな治療法として顕微操作 micromanipulation が注目されている。なかでも囲卵腔内精子注入は、安全性が高く、しかも注入する精子数を自由にコントロールできるという利点がある。また透明帯開孔術の適応とならない、運動性のない精子 (immotile cilia syndrome) でも、囲卵腔内に注入すれば受精は十分可能といわれている。今回、我々はヒト卵子を用いて囲卵腔内精子注入の有効性について検討した。卵子は IVF で受精しなかったものを患者の同意を得て使用した。精子は insemination mixture 中の夫精子を適宜選んで使用した。卵子はまず囲卵腔を広くするため、0.5M sucrose を加えた PBS で 15 分間処理してから実験に供した。micromanipulator (ナリシゲ) を用いて、卵子を固定後、透明帯開孔術の要領で micropipette を斜めに囲卵腔内に刺入し、精子を注入した。術後の卵子はただちに培養液に移し、18~24 時間培養した。結果は、93 個の卵子中 81 個 (87.1%) が生存し、うち 42 個 (51.9%) が受精した。多精子受精は 16 個 (38.1%) に認められた。注入精子数は平均 3.3 個 (1~10) で、受精卵のそれは 3.7 個であった。運動精子を注入した場合と、非運動精子を使用した場合とでは、受精率にとくに差は認められなかった。透過型電子顕微鏡による観察では、受精卵の細胞質内に精子の尾部を確認し、囲卵腔内には先体反応を起こした精子頭部が認められた。

囲卵腔内精子注入は、今後男性不妊に対する有力な治療法の一つになるものと思われる。また IVF における非受精卵の再受精にも十分活用できるのではないかと思われる。

I-38

Partial zona dissection 2 法の比較

山形大学医学部産科婦人科学教室

○斉藤英和, 佐藤文彦, 小池数与, 斉藤隆和, 西川結香, 広井正彦

〔目的〕重度の男性因子による不妊症症例では、体外受精・胚移植の通常の媒精法を施行しても受精率が極度に低い。このような症例に対して機械的に透明帯に穴をあける方法 (Partial zona dissection) (PZD) が開発された。マイクロマニピュレーターを使用する従来の PZD (M-PZD) と我々が考案した 26 ゲージの針を使用して実体顕微鏡下に透明体に裂け目をあける方法 (26G-PZD) とを比較検討した。〔方法〕以前体外受精の通常の媒精法にて受精を全く認めなかった症例に対して PZD を施行した。採卵 2 時間後、ヒアルロナーゼを 0.1% 含む HTF 培養液中で機械的に顆粒膜細胞を除去された卵を 0.2 または 0.5 モルのショ糖を含む HTF 液に入れ卵細胞質を収縮させた。この状態で PZD を施行した。PZD 施行後、洗浄運動精子を最高濃度 1×10^5 /ml で媒精したが、この濃度を媒精できた症例は少なかった。培精後 16 時間目に前核の有無にて受精を判定した。〔成績〕PZD する際 M-PZD では 100% (40/40) 無傷であるのに対して 26G-PZD では 86% (51/59) が無傷であった。しかし 0.5 モルショ糖中の 26G-PZD では 96% (43/45) が無傷となった。受精率は M-PZD で 8% (3/40)、26G-PZD で 24% (12/51)、0.5 モル 26G-PZD で 44% (19/43) であった。このうち 2 前核を認めた正常受精は、M-PZD で 8% (3/40)、26G-PZD で 12% (6/51)、0.5 モル 26G-PZD で 14% (6/43) であった。〔結論〕26-PZD は操作器具が安価であり、操作時間も短かく卵は短時間で良い培養条件下にもどすことができる。また処理された透明帯の裂け目も大きく、受精率も M-PZD に比較して高い。しかし処理の際に、卵への損傷が M-PZD に比較して高いが、より高い高張液を使用することによって卵への損傷は低下した。また 26G-PZD では受精率の上昇を認めたが、多精子受精率も増加した。しかし正常受精率は 26G-PZD に高く臨床応用の可能性を認めた。

山形大学医学部産科婦人科学教室

○榎真理子、斉藤英和、佐藤文彦、斉藤隆和、広井正彦

[目的] ヒト体外受精・胚移植の着床率の低値は体外受精胚の透明帯の厚さが厚い可能性が指摘され、胚に対して Partial zona dissection (PZD) が試みられている。今回我々は、2細胞期胚に PZD を施行し、その後の胚の発育についてマウス胚を用いて検討した。[方法] 妊馬血清性腺刺激ホルモンとヒト絨毛性腺刺激ホルモンによって過排卵刺激をしたマウスより2細胞期胚を採取した。胚は採取後直ちに培養液に入れた対照群、0.5モルシヨ糖を含むHTF培養液に10分間暴露の後に培養を開始した群 (Su10)、0.5モルシヨ糖を含むHTF培養液中にて30分間暴露中にPZDをした胚群 (PZD群)、0.5モルシヨ糖を含むHTF培養液に50分間暴露した後に培養を開始した群 (Su50) の4通りに分けて、培養液後24, 48, 72時間目に胚の形態を観察した。[成績] 培養24時間目の観察においては、胚の発育が8細胞期からCompaction期であったのは、対照群で100%, Su10で93%, PZD群で86%, Su50群で89%であり、胚発育が4細胞期であったのは、対照群で0%, Su10群で7%, PZD群で14%, Su50群で11%であった。48時間の観察においては、胞胚後期以上に発育していたのは、対照群で100%, Su10群で100%, PZD群で86%, Su50群で58%であった。また胚の発育が胞胚前期にあったのは、対照群で0%, Su10群で0%, PZD群で7%, Su50群で36%であった。また48時間目でのハッチング率を観察すると、対照群で45%, Su10群で50%, PZD群で93%, Su50群で11%であった。72時間のハッチング率は対照で95%, Su10で95%, PZDで100%, Su50で95%であったが、完全に胚が透明帯より脱出している率では対照で15%, Su10で5%, PZDで88%, Su50で15%であった。[結論] 2細胞期におけるPZDは胚の発育には影響を与えない。またPZDは胚のハッチングを促進し透明帯の厚い症例には有効な手段であると考えられた。高濃度のシヨ糖液に長時間暴露されると胚の発育は一時抑制された。

II-1

不妊外来における妊娠成功例の精子運動能の検討

横浜市立大学医学部産婦人科学教室

○ハツ橋良三, 植村次雄, 水口弘司

【目的】従来より、妊孕性に関連する運動特性について報告例はみられるが、精子運動振幅、直進性、振動頻度まで含めて検討された報告例は少ない。今回我々は不妊症例で妊娠に成功した50例と、1年半以上妊娠成功していない群、67例について、各種精子運動能を比較検討した。【方法】当科不妊外来を1988年7月より1990年6月までの期間に受診した患者を対象に精子自動分析装置Cell Softを施行し、このうち50例が妊娠成功した(妊娠群)。一方、検査後1年半以上治療をしても妊娠成功していない群67例(以下非妊娠群)を対照とした。ただし、高度な精子減少例、卵管閉鎖例、卵巣性無月経症例は除外した。【結果】妊娠群では精子濃度 $80.3 \pm 53.9 (\times 10^6/ml)$ (mean \pm SD)、運動率 $55.6 \pm 62.2 (\%)$ 、運動速度 $36.6 \pm 9.4 (\mu/sec)$ 、運動直進性(回帰運動を0直進を10として) 4.8 ± 1.3 、平均精子頭部振動振幅 $2.2 \pm 0.7 (\mu)$ 、精子頭部振動頻度 $13.8 \pm 3.1 (HZ)$ 、奇形率 $23.0 \pm 16.6 (\%)$ であった。これに対し、非妊娠群では、精子濃度 $67.2 \pm 47.7 (\times 10^6/ml)$ 、運動率 $33.6 \pm 19.6 (\%)$ 、精子運動速度 $32.5 \pm 10.0 (\mu/sec)$ 、運動直進性 4.9 ± 1.2 、平均精子頭部振動振幅 $1.9 \pm 0.6 (\mu)$ 、頭部振動頻度 $13.2 \pm 2.8 (HZ)$ 、奇形率 $26.8 \pm 21.8 (\%)$ であった。妊娠群と非妊娠群間で、運動率($P < 0.01$)、運動速度($P < 0.05$)、平均振動振幅($P < 0.05$)が有意を示した。判別分析を施行し、妊娠群は、運動率42.5%、運動速度 $34 \mu/sec$ 、平均振動振幅 2.1μ の値で、判別された。【まとめ】妊娠群では運動率、運動速度、振動振幅が有意に高値を示し、これらの精子運動能の妊孕性への関与が示唆された。

II-2

不育症の原因と流産時期の分析

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○原 崇文, 牧野恒久, 板倉伊吹, 岡 親弘, 丸山哲夫, 野澤志朗

流産とは妊娠24週未満での分娩と定義されているが、今回不育症の中の流産の原因とその流産時期の関係の分析を試みた。

対象は慶應義塾大学病院 不育症外来において検査を終了した1000例で、これらの不育症患者の既往流産のうち流産時期の記録のあるものについて検討を行った。この群の既往流産の合計は2898件あり、963件は週数で、2049件は週数または月数で流産時期が記録されていた。両者の間に流産時期の分布の差はなく、不育症全体の2049件の流産時期の分布は7週以前31.9%、8~11週52.3%、12~15週11.5%、16~19週2.5%、20~23週2.2%と、全体の84.2%を12週未満の初期流産が占め、12週以後の後期流産は15.8%であった。これらのうち既往、検査上特に異常を認めない1388件の流産についても流産時期の分布は全体とほぼ同様であった。流産の原因別にみると子宮筋腫では後期が11.9%、甲状腺機能異常が後期10.4%と少ない傾向を認め、抗リン脂質抗体陽性側では後期が20.8%と高率であった。

次に流産の時期別に原因の頻度を検討した。対象は同様の2049件の流産で、84.2%を占める初期流産と、15.8%の後期流産について各々原因の頻度を検討した。不育症全体では子宮奇形11.8%、染色体異常7.4%、子宮筋腫3.0%、抗リン脂質抗体陽性2.3%、甲状腺機能異常2.3%という頻度であり、初期、後期に分けても原因の頻度は不育症全体と同様で両者に差はなかった。同様に15週以前と16週以後に分けて原因の頻度をみても両者に差はなかったが、既往、検査上異常を認めないものの割合が不育症全体で67.7%、12週以前で67.7%、12週以後で67.8%、15週以前で68.3%と差がないのに対し、16週以後では56.3%と少なく、16週以後の流産では何らかの異常を有する症例の頻度が高いことが示唆された。

II-3

自然流産の経過と流産胎児の染色体異常

虎の門病院産婦人科

○佐藤孝道、児島孝久、塩津英美、高橋敬一、笠井 剛

〔目的〕自然流産の経過から染色体異常の種類が推定可能か否かについて検討した。〔方法〕染色体分析は絨毛組織を培養後行い、G分染法によった。妊娠経過は、可能な限り経腔超音波断層法によって観察した。〔結果〕135例の自然流産の絨毛の培養を開始し、134例が染色体分析可能であった。分析可能だった134例中89例(66%)に、常染色体トリソミー(以下TRと略する:52例)、45、XO(10例)多倍体(11例)などが見られた。染色体分析が可能であった134例中74例は妊娠6週から8週に2回以上経腔超音波断層法を行っており、この症例を対象に妊娠経過と染色体異常との関連を検討した。経過中に胎児心拍が認められたものは40例、認められなかったものは34例であった。4番染色体のTRでは0例/2例、15番TRでは6/7、16番TRでは0/7、21番TRでは2/2、22番TRでは3/5の症例で胎児心拍が証明された後に流産に至った。また、45、XOでは5/6、3倍体では2/3、4倍体では1/4の症例が胎児心拍が証明された後に流産に至った。〔考察〕経腔超音波断層法で観察すると胎児心拍が証明された後に流産に至る症例は従来報告されていたよりも頻度が高い。これら、胎児心拍が証明された後に流産に至る症例の染色体異常は、15番TR、21番TR、45、XOなど、生産児でもしばしば観察される染色体異常が多い。また、稀に生産児でも観察される22番TRや3倍体では、約半数の症例で胎児心拍が観察された。一方、生産児ではまず観察されない4番TR、16番TR、4倍体では胎児心拍が証明される頻度は極めて低いことが明らかになった。このことは、染色体異常の種類によって胎児発育が障害される時期が異なっており、逆に胎児発育の障害された時期によっておよそ染色体異常の種類が推定可能であることを示している。

II-4

習慣流産患者に対するTRHテストの臨床的意義

長崎大学医学部産科婦人科学教室
長崎市立市民病院産婦人科

○河野雅洋、石丸忠之、山辺 徹
田川博之

〔目的〕習慣流産の原因は多様であり、治療を行うためにはまず総合的な原因検索を含んだスクリーニング検査が必要である。長崎大学産婦人科では習慣流産患者に対するスクリーニング検査の中にTRHテストも含めている。そこで、これまでの治療成績より、習慣流産患者に対するTRHテストの臨床的意義について検討した。〔対象および方法〕1987年4月から1990年6月までに長崎大学産婦人科で検査および治療を受けた習慣流産患者42例を対象とした。TRH500 μ gを静注し、TRH負荷後のPRLのpeak値が150ng/ml以上のものをPRL分泌異常とした。そしてPRL分泌異常の患者に対してはプロモクリプテン療法を行った。

〔結果〕PRL分泌異常は4例(9.5%)にみられた。症例1:33歳、6妊未産(すべて自然流産)。症例2:27歳、4妊未産(すべて自然流産)。症例3:31歳、4妊1産(1回正常分娩後3回連続して自然流産)。症例4:28歳、5妊未産(2回人工妊娠中絶後3回連続して自然流産)。症例1、2、3および4のPRLの基準値はそれぞれ60.4、16.0、19.6 および16.3ng/mlであり、peak値はそれぞれ207.0、154.6、172.0 および194.6ng/mlであった。なお、症例1は α -メチルドーパによる薬剤性的高PRL血症であった。4例とも妊娠前よりプロモクリプテン2.5mg/日を投与し、プロモクリプテン投与周期に全例妊娠した。症例1はプロモクリプテンに不応であり、プロモクリプテン投与後にもPRLが高値を持続し、胎芽が確認されないまま流産となった。症例2、3および4は挙児成功例であり、妊娠13~17週までプロモクリプテンを連日投与した。プロモクリプテン中止後の妊娠経過にはとくに異常を認めなかった。〔考察〕PRL分泌異常が習慣流産の原因になりうるかどうかは不明である。しかし、TRHに対し過剰反応を示した症例にはプロモクリプテンが有効であり、習慣流産患者のうちプロモクリプテン療法適応例のスクリーニングにTRHテストが役立つと考えられた。

II-5

原因不明流産における血液凝固系の意義に関する検討

旭川医科大学産婦人科学教室

○石川 雅嗣、石川 睦男、清水 哲也

〔目的〕 続発性の習慣流産に対してアスピリンなどの抗血栓療法が行われるようになったが、血液凝固系が流産とどのように関連しているかを検討した。

〔方法〕

1. 高い流産率が報告されているCBA/J雌マウスとDBA/2J雄マウスの組み合わせをmatingさせ、排卵当日より生食（コントロール）、AT-III（1倍、2倍、4倍）、thrombin（5単位）をそれぞれ5日間投与した。排卵後12日目に屠殺し流産率を検討した。
2. コントロールとAT-III投与例の生存例、流産例のそれぞれについて胎盤の組織学的検討を行った（HE染色、PTAH染色）。

〔成績〕

1. CBA/J雌マウスとDBA/2J雄マウスの流産率のcontrolは19.4%（36/186）であった。AT-III投与群の流産率は、1倍投与が10.1%（20/199）、2倍投与が6.9%（6/87）、4倍投与が8.9%（8/90）で、コントロールと比較して有意に減少した（それぞれ $p < 0.01$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.05$ ）。thrombin投与群の流産率は6.5%（8/123）で0.5%レベルで有意な減少であった（ $p < 0.005$ ）。
2. 流産例にはフィブリン血栓を証明したが、生存例には証明できなかった。

〔結論〕 AT-IIIの投与によりCBA/J雌マウスの流産率を有意に減少させることができた。またtrombinを投与しても流産率が有意に減少した。このことより血液凝固が流産と密接に関連していることが示唆された。さらに胎盤の組織学的検討より胎盤のフィブリン血栓が流産の原因となっている可能性が推察された。

II-6

習慣流産における chemical abortion の研究

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○岡 親弘、牧野恒久、原 崇文、板倉伊吹、野澤志朗

従来より全妊娠の15%は自然流産に終わるとされてきたが、近年ホルモン測定法の感度、特異性の進歩により、従来臨床的に診断し得なかった超早期流産の診断が可能になってきており、かなりの頻度で超早期流産が存在することが知られてきた。我々は当院不育症外来において、不育症の多枝にわたる検査を行ない、さまざまな治療を行ってきたが、流産の実態やその原因についての細部の解明については、なお不十分な部分が多く存在している。今回、hCGに対するモノクローナル抗体を用いた、高感度で特異性の高い尿中微量hCG測定法を用いて、超早期流産さらにchemical abortionの研究を行なったので報告する。

対象となる患者はすべて繰り返す流産の既往をもつ不育症の患者であり、全員基礎体温を毎日測定しており、基礎体温上低温期の最終日を排卵日として、主に排卵後5日目、10日目、12日目、15日目、18日目の早朝尿をそれぞれ採取して、 -20°C にて保存し測定した。測定は、hCGに対する2種類のモノクローナル抗体を用いたラテックス凝集法とhCGに極めて特異性の高い抗hCG- β carboxyl terminal peptide抗体を用い、サンドイッチの原理に基づいた酵素免疫測定法により測定を行なった。前者は最小検出感度が2 IU/lで63症例に、後者は最小検出感度が0.2m IU/mlで月経が遅れることなく発来した10症例について2重測定法にて測定した。

極早期流産と考えられる症例は、全妊娠30例中3例に認められ、いずれも高温期が延長した。いわゆる自然流産は11例、残りの16例が正常妊娠であった。遅れることなく生理が発来した10症例について2重測定法により酵素免疫測定法にて測定を行ない、4例をchemical abortionと推察した。

II-7

リンパ球交差試験から見た習慣性流産患者に対する免疫療法の効果

筑波大学臨床医学系産婦人科

○岡本 一, 岡根真人, 宗田 聡, 佐々木純一, 目崎 登, 岩崎寛和

〔目的〕原因不明初期反復流産患者に対する免疫療法は、その治療効果の判定法について議論の多いところである。今回われわれは、抗 Warm T-cell 抗体 (TW), 抗 Warm B-cell 抗体 (BW), 抗 Cold B-cell 抗体 (BC) について、免疫療法前後の陽性率と妊娠継続の関係について報告する。

〔対象〕当院における習慣性流産の原因のうちわけは、HLA 適合 (Class I で 2 つ以上または Class II で 1 つ以上) 53.6%, (潜在性) 高プロラクチン血症 21.4%, 染色体異常 7.1%, ループスアンチユアグラント陽性 7.1%, 抗 SS-A 抗体陽性 3.6%, 子宮奇形 3.6% であり、原則として HLA 適合例に対してもリンパ球皮内接種による免疫療法を施行した。これらのうち、免疫療法を施行した 16 例を対象として検討した。

〔方法〕① TW, BW, BC について、それぞれ免疫療法前後の陽性率を検討した。② blocking antibody が陽性化して妊娠継続したものを A 群、陽性化したが流産したものを B 群、陽性化したが妊娠に至らないものを C 群、陽性化せず妊娠継続したものを D 群とし、TW, BW, BC につきそれぞれ検討した。

〔結果〕① TW は免疫療法施行前では陽性率が 16 例中 0 例 (0%), 1 回免疫後 16 例中 14 例 (25%), 2 回免疫後 14 例中 11 例 (68.8%), 3 回免疫後 13 例中 13 例 (100%) が陽性化した。BW, BC についても TW とほぼ同様に陽性化した。② TW について A 群 4 例, B 群 1 例, C 群 10 例, D 群 1 例であった。BW, BC について A 群 3 例, B 群 1 例, C 群 10 例, D 群 2 例であった。

〔考察〕免疫療法を追加するごとに TW, BW, BC の陽性率が上昇したこと、TW, BW, BC のそれぞれにつき A ~ D 群の経過をたどるものがあることより、TW, BW, BC は免疫療法の効果判定に有用である可能性および他の検査が必要である症例の存在することが示唆された。

II-8

胎盤における EGF 放出機構の研究

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○板倉伊吹, 牧野恒久, 岡 親弘, 原 崇文, 酒井 淳, 野澤志朗

〔目的〕ひと妊娠における Epidermal Growth Factor の動態を胎盤を中心に検討し、その存在の証明と、胎盤における放出機構を解明すべく、実験を試みた。

〔方法〕ひと満期胎盤を酢酸抽出して得た上清を RIA にて測定した。また PAP 染色にてその局在を検討した。次に無菌的に得た胎盤を細切し、器官培養を行い培養液中の EGF 濃度を測定した。ついで、培養液中に EGF 放出刺激物質 - Testosterone, α -stimulator, KCL などに加え、また、放出抑制物質 - Cyclohexamid など - を加えて、その放出の増減をみた。

〔結果〕胎盤抽出物中 EGF 濃度は 74.33 ± 6.4 SEpg/ml, PAP 染色では Syncytiotrophoblast の細胞質に局在がみられた。また、器官培養ではその培養液内 EGF 濃度は経時的に増加し、1~1.5 時間で Platou に達しその濃度は 105.68 ± 10.5 SEpg/ml であった。また、刺激した系では KCL の添加により EGF の放出増加、Verapamil の添加によりその抑制がみられた。また、各種ステロイドホルモンによる刺激で有意差はみられなかった。

〔考察〕EGF はその多彩な作用からみてもヒト胎児の成長に何らかの働きをしている可能性がある。胎盤において EGF receptor が豊富に存在していることは諸家の報告にもみられ、EGF の標的臓器としては論を待たないが、同時に貯蔵、または産生している可能性も考えられた。また、今回の検討では細胞膜の Calcium channel がその放出機構に関与している可能性が示唆された。

II-9

妊娠・分娩・産褥期における、血漿中ならびに羊水中Insulin-like Growth Factor-Ⅱ (IGF-Ⅱ) 動態に関する検討

東京医科歯科大学産婦人科，*SRL特殊検査部
○久保田俊郎，鎌田周作，田口 誠，*千且寧，麻生武志

【目的】ヒト胎児の成長・発育に深く関与することが知られるIGFの中で、IGF-Ⅱに関する報告は少ない。今回、IGF-ⅡのRIA系を確立し、妊娠・分娩・産褥期における血中ならびに羊水中IGF-Ⅱを測定し、同時に測定したIGF-Iと比較・検討した。【方法】Human IGF-Ⅱ recombinant(Eli Lilly社)、IGF-Ⅱ monoclonal抗体(天野製薬)並びに¹²⁵I標識IGF-Ⅱを用いIGF-ⅡRIAを確立した。正常周期卵胞期8例・黄体期7例、正常妊娠初期13例・中期15例・後期19例、正常産褥期(60日以内)13例の婦人より静脈採血し、その中で妊娠中期8例より羊水を採取し、妊娠後期10例より分娩時羊水及び臍帯血を採取した。検体中のIGF-Ⅱ濃度を上記の方法にて測定し、IGF-I濃度も特異的RIAにて測定した。【成績】IGF-ⅡRIA系のinter- and intra-assay variationは13.3%と6.1%、IGF-Iとの交叉率は1.5%であった。母体血漿中IGF-Ⅱ値は、卵胞期758.8±45.2ng/ml(Mean±SE)、黄体期775.7±50.8；妊娠初期858.5±43.1、中期890.7±37.8、後期998.7±53.9と妊娠期間中漸増し、妊娠後期には非妊娠時に比し有意に(p<0.01)上昇した。産褥期には、864.6±38.9とやや低下した。母体血漿中IGF-Ⅱ値は同IGF-I値と有意な相関がみられた(r=0.346, p<0.05)。分娩時臍帯血漿中IGF-Ⅱ値(363.8±34.3ng/ml)は母体血中値に比し有意に(p<0.001)低く、臍帯血漿中IGF-I値との相関はなかった。羊水中IGF-Ⅱ値は妊娠中期(291.4±63.4ng/ml)が後期(120.0±10.4)に比し有意に(p<0.02)高く、羊水中IGF-I値と有意に相関した(r=0.879, p<0.001)。IGF-Ⅱ値はIGF-I値より有意に高く、前者の後者に対する比は、母体血漿中8.3；臍帯血漿中13.6；羊水中3.2であった。【結論】母体血漿中IGF-ⅡはIGF-Iに比し有意に高く、妊娠後期に漸増した。この2種類のIGF濃度の比率は母体血・臍帯血・羊水中で異なり、各compartmentでの独立した分泌機構の存在が示唆された。

II-10

妊娠血清中における抗イディオタイプ抗体の意義

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室
水野俊彦，青木耕治，八神喜昭

近年、妊娠維持機構に対して数多くの免疫学的アプローチがなされ、少しずつではあるが解明されてきている。その中で、免疫学的妊娠維持機構の重要な因子と考えられているblocking factorsについては、多くの施設で検索がなされ、報告されている。今回われわれは、そのblocking factorsの一つと考えられている抗イディオタイプ抗体の存在およびその意義について、Na₂⁵¹CrO₄ release assayを用いて検討した。被検対象として、I群：過去に3回以上連続した自然流産歴を有し、免疫療法を施行された原因不明習慣流産患者5症例(そのうち、3例は妊娠維持に成功し、2例は妊娠初期に流産した)。II群：過去に2回の連続した自然流産歴と有し、安静療法のみで、免疫療法を施行されなかった5症例(そのうち4例は妊娠維持に成功し、1例は妊娠初期に流産した。)の2群を選び比較検討した。各症例において夫婦間one-way MLRを行ない、Na₂⁵¹CrO₄を取り込ませた後、妊娠中に経時的に採取した被検血清と家兔補体を加え反応させ、血清中に抗イディオタイプ抗体が存在するならば、そこに補体依存性細胞障害反応が起こり、上清中に遊離された⁵¹Crを測定することにより%cytolysisを算出し、被検血清中の抗イディオタイプ抗体の存在を検討した。全症例において、妊娠前および妊娠初期(妊娠4週時)での%cytolysisは低値であり、抗イディオタイプ抗体の存在は認められなかった。そのうち、妊娠継続した7例(I群…3例、II群…4例)において、%cytolysisの有意な上昇がみられ、抗イディオタイプ抗体の存在が認められた。一方、妊娠初期に流産した3症例(I群…2例、II群…1例)においては、抗イディオタイプ抗体の存在を示唆する%cytolysisの上昇がみられなかった。以上の検索により、妊娠初期における抗イディオタイプ抗体の産生は、免疫学的妊娠維持機構の重要な因子の一つであることが強く示唆された。

II-11

種々のswim up法における精子運動率について

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○岡本純英、布施正樹、山下隆則、
梶村秀雄、黄 宏駿、石丸忠之、山邊 徹
国立長崎中央病院産婦人科 重松 潤

Assisted reproductionにおいてswim up法による運動精子の回収はきわめて重要な手技となっている。原理的には、このswim up法をもってすれば、重層した培地上清中に運動精子のみを回収することが可能ならずである。しかしながら、精液の性状、swim upの方法および検者の手技などの条件により、まれに運動精子のみの回収が困難な場合も存在する。万一、運動精子のみを回収したはずの培地の中に非運動精子の混在を認めた場合、細菌を含む沈渣を巻き上げていないかとの懸念も生じ臨床では深刻な問題となりかねない。なお swim up法では運動精子のみの回収は至難であるとする意見もみられ、その評価は一致していない。そこで各種swim up法で得られた精子の運動率について再検討を加えたので報告する。「方法」当科で精液検査を施行した20例を対象に、遠心による精漿除去後に精子をswim upさせる遠心法、精液に直接培地を重層して swim upさせる精液静置法、および Ficolを培地界面に置き swim upさせる Ficol界面法(Monash)の3つの方式によるswim up後の精子の運動率について検討した。さらに同一検体について3名の検者が行った場合の手技の影響を比較した。また当科で実施した体外受精・胚移植80例の精液所見およびswim up法による回収後の運動率についても検討を加えた。「結果」習熟者の場合、精子がswim upする限りは、3方法とも運動精子のみの回収は可能であった。Ficol界面法では、検者の別なく、全例において運動精子のみの回収が可能であった。一方遠心法および精液静置法では、手技の影響がみられ1名の検者が取り扱った5例において 10-15%の非運動精子の混在を認めた。また体外受精・胚移植実施例での検討では、高度の異常精液所見を有しswim upしない4例を除き、swim up法による運動精子のみの回収は可能であった。「結論」適正な方法を用いれば、いずれの場合も精子がswim upする例では、運動精子のみの回収は可能である。

II-12

Swim up法, Percoll 2層法, Glass wool法によるヒト精子回収法の比較検討

順天堂大学医学部産婦人科
○福田 勝、飯田 信、武内裕之、伊藤 哲、高田 道夫

〔目的〕配偶者人工授精、体外受精・胚移植において、いかに運動良好精子を回収するかは非常に重要である。今回、いくつかの精子回収法の内、その方法がまったく異なる Swim up法、Percoll 2層法、Glass wool法で回収された精子の数、運動率、運動精子数、正常形態精子率および運動精子の回収率、さらに回収精子の受精能について比較検討した。

〔方法〕15ml 遠心チューブに精子培養液(GPM:セロノ)を入れ、管底に精液を注入し、37°Cのインキュベータ内に30度の傾斜で1時間静置し、上清内にswim upした精子を回収するSwim up法、80% Percollを下層に、40% Percollを上層に、その上に精液を層積し、1000 r.p.m., 20分間遠心後沈澱した精子を回収するPercoll 2層法、さらに精液をGPMで遠心洗浄し、その浮遊液をGlass woolに通し精子を回収するGlass wool法により得られた精子に対しMakler counting chamberを用いて、精子数、運動率を求め、運動精子数を、さらにパバニコロ染色後、精子の形態を観察し正常形態精子率を求めた。次に各方法で得られた精子を37°C, 5% CO₂, 95% airの条件下で20時間培養後Sperm Penetration Assay (SPA)を行った。SPAには凍結ハムスター卵(日本農産工業)を用いた。

〔結果〕Swim up法、Percoll 2層法、Glass wool法により回収された精子の数、運動率、運動精子数、正常形態精子率には統計学上有意な差が認められなかった。また運動精子回収率でも差が認められなかった。各方法で回収、培養された精子の受精能においても有意な差は認められなかった。

〔考察〕Glass wool法は精子回収処理時間が短く簡便な方法で、また他の方法のようなピペッティング操作による精子の損失がないことより煩雑な外来診療時のIUIに対する精子回収法として有用であると考えられた。

II-13

当院における精子Swim up 洗浄濃縮法を用いたAIHの成績

金沢医科大学産科婦人科学教室

○吉沢久, 村田均, 土用下麻美, 国部久也, 旭 敏秋, 桑原惣隆

男性不妊因子の大きな要因である乏精子症や精子運動率低下に対して、IVF-ETのプログラム中で開発されたSwim up 法やPercoll 法といったSperm preparation 法がAIHにも応用され、AIHの成功率も大幅に向上してきている。

今回我々は、 α -MEM+HepesにUmbilical cord Serumを添加した培養液を用いてSwim up 法をAIHに応用して、良好な成績を得たので報告する。精子に3倍量の培養液を加え、よく混和し2000 r.p.m. で10分間遠心し、上清を除き、新たに0.5-1 mlの培養液を加え、37°Cで40分-60分程incubateし、その上清を使用した。

成績は、乏精子症や精子運動率低下を認めた11症例に対して施行して、4例妊娠成功例があった。処理前の精子濃度は最低のもので $10 \times 10^6/ml$ 、精子運動率は29.5%であった。処理後は精子濃度は平均で $17 \times 10^6/ml$ 、精子運動率は平均で88%であった。今回、我々の施行した精子Swim up 洗浄濃縮法は α -MEM培養液中に40-60分静置し、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為に精子数は減少したが、運動率は有意な上昇を認め、妊娠率も上昇した。AIHは最近では種々な改良が試みられており、各施設も良好な成績を報告している。今回、我々の施行した精子swim up洗浄濃縮法を用いたAIHは、男性不妊症に対して有用な方法であると思われたのでここに報告する。

II-14

精子因子不妊に対するpercoll-AIHの有用性と限界

東京慈恵会医科大学産科婦人科学教室,*八街病院

○後藤 誠, 安江育代, 川勝雅秀, 秋山芳晃, 村江正始, 落合和彦, 楠原浩二, 寺島芳輝, *篠塚正一

【目的】精子因子が原因と考えられる不妊症例に対し、その妊娠率向上をはかる為、80%percollによる精子洗浄濃縮法を用いたAIH(以下P-AIH)を施行し、精子因子不妊に対する本法の有用性と限界について検討した。

【対象および方法】対象は精子濃度が $40 \times 10^6/ml$ 以下あるいは精子運動率が50%以下を示す精子因子による不妊couple 48症例である。不妊因子が複数の症例は除外し、単に精子因子のみが原因と考えられる不妊症例を対象とした。全ての症例に排卵stimulationを行ない、主に経膈プローブを用いた超音波による卵胞のモニターによりP-AIHの施行日を決定した。対象は少なくとも3回以上のP-AIHを行なった症例とした。

【成績】精子減少症、および精子無力症のうちもっとも不良であった症例は、それぞれ $0.1 \times 10^6/ml$ および5%の症例であった。妊娠例は48例中10例で、その妊娠率は症例数あたり20.8%であった。妊娠群のうち、処理前の精子減少例の平均は $16.1 \times 10^6/ml$ で、精子無力症の平均は35%であり、もっとも不良な症例はそれぞれ $9 \times 10^6/ml$ および5%であった。処理後は平均がそれぞれ $38.2 \times 10^6/ml$ 、52%に改善した。妊娠の予後は、正常分娩5例、妊娠継続中2例、流産3例であり、いずれも多胎は認められなかった。

【結論】精子因子による不妊に対するP-AIHの妊娠率はなお満足し得るものではなく、改善の余地は残されている。しかし、かなりの不良例に対しても本法による精子性状の改善が期待でき、妊娠例も認められており、他に確実に簡便な治療法の無い現在、さらに用いるに値する方法と考える。

II-15

Triple Stain Technique, Hypoosmotic Test によるヒト精子機能検査法の比較検討

慶応義塾大学医学部泌尿器科学教室

○大橋正和, 石川博義, 橋 政昭, 田崎 寛

国立埼玉病院泌尿器科

織田孝英

受精のための精子側の条件として、受精能獲得、先体反応、尾部の活発なる運動性があり、これらは精子が卵子の保護層を通過するために必須である。今回我々は精子の生死、先体反応の有無を染色し分けることができるTriple Stain Techniqueと、精子尾部細胞膜の機能を反映するといわれるHypoosmotic Testを当科男性不妊患者に施行し、その比較検討を行ったので報告する。対象は無精子症を除いた当科不妊外来患者58名と、妊孕性が証明されている正常者ボランティア8名である。正常者8名の精液所見は全員正常範囲内であつた。(濃度 $40 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上、運動率50%以上)。不妊外来患者58名の精子濃度は $3 \times 10^6 / \text{ml} \sim 62 \times 10^6 / \text{ml}$ 、運動率は0%~40%にわたっていた。Triple Stain Techniqueは洗浄精子をm-BWW液中媒精6時間後トリパンブルー、ビスマルクブラウン、ローズベンガルにて染色し、ローズベンガルにより先体がピンクに染まる先体反応陽性精子の率を測定した。Hypoosmotic Testは液化精液と150mOsmの低浸透圧液を1:10の割合で混合し、60分間インキュベート後膨化精子の率を算定した。Triple Stain Techniqueにおける先体反応陽性精子率は精液濃度と $r=0.66$ の相関が認められた。また先体反応陽性精子率は正常群が20%であるのに対して不妊群では13%であった。一方Hypoosmotic Testの膨化精子率は精子濃度とは相関が $r=0.45$ であった。しかし膨化精子率は正常群が52%であるのに対して不妊群では33%であった。以上のごとく両方法ともに正常群と不妊群で“精子の質”の差異が示された。また先体反応陽性精子率と膨化精子率との間には $r=0.63$ の相関が認められ、精子頭部の機能と尾部細胞膜の機能にはなんらかの関連があることが示唆された。

II-16

男性不妊夫婦における妻側不妊因子の検討
—腹腔鏡検査所見による分析—

東海大学医学部産婦人科

○林田研一, 小林善宗, 井上正人, 本田育子, 淡路英雄, 鈴木隆弘, 藤井明和

【目的】 一般不妊検査において、男性不妊以外に異常のない夫婦では、すべて夫側の問題とされることが少なくない。もちろん男性不妊に対しては、精子受精能力検査や精子運動能検査などは必要不可欠であり、予後を左右する重大な因子として積極的な治療が行われなくてはならない。しかし、妻側が一般不妊検査で異常がなくても不妊因子を持っている可能性は否定できない。今回、男性不妊のみが不妊原因とされた夫婦に対して、妻側に行なった腹腔鏡検査による腹腔内所見を分析し、妻側不妊因子を検討した。【対象・方法】 一般不妊検査で妻側に異常のない男性不妊夫婦384組を対象に、1982年~1989年の期間に行なった妻側腹腔鏡検査における腹腔内所見を検討した。男性不妊の対象は、夫精液検査での乏精子症(精子数 $20 \times 10^6 / \text{ml} \leq$) または精子無力症(精子数 $20 \times 10^6 / \text{ml} >$ 、運動率 $40\% \leq$)とした。また不妊の予後もあわせて検討した。対象夫婦の平均不妊期間は7.1年で、原発性不妊308組(80.2%)であった。妻の平均年齢は32.6才であった。【成績】 妻側腹腔鏡所見では、正常腹腔は66例(17.2%)にすぎず、異常腹腔は318例(82.8%)であった。異常腹腔では、子宮内膜症が253例(全対象の65.9%)と大半を占め、付属器周囲癒着40例(全対象の10.4%)、その他25例であった。腹腔鏡検査後の予後は、314組(1988年までの検査例)のうち113組(36.0%)に妊娠が成立したが、そのうち92組(全対象の29.3%)は自然・AIH妊娠であり、21組(全対象の6.7%)は配偶子操作治療妊娠であった。

【結論・考察】 男性不妊といえども、妻側の妊孕性を無視することはできない。夫に対する治療とともに、妻側不妊因子の積極的な検索とそれに対する治療を併用することが、妊娠率向上には必要不可欠と思われる。

II-17

ヒト精子糖代謝酵素のアデニンヌクレオチドによる活性調節

帝京大学医学部産科婦人科

○菅 隆一, 中村正久, 沖永荘一, 荒井 清

【目的】ヒト精子の運動と糖代謝には密接な関係があると思われる。我々はヒト精子の糖代謝調節機構を明らかにする為糖系の律速酵素, グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素(GA3PDH)に対するアデニンヌクレオチドの影響を検討した。

【対象及び方法】当科外来患者の精液からパーコール法によって運動率85%以上の良好精子を得, 試料として用いた。GA3PDH活性はNADの340 nm吸光度の変化によって測定した。

【結果】GA3PDH活性(K_m GA3P=0.23 mM)はアデニンヌクレオチド; cAMP(K_i = 0.7 mM), 5'-AMP(K_i = 1.6 mM), 5'-ATP(K_i = 2.1 mM), 5'-ADP(K_i = 3.5 mM), アデノシン(K_i = 9.5 mM)の順に阻害を受けた。阻害はNAD(K_m = 0.13 mM)と拮抗的であった。2'-AMP, 2'-デオキシアデノシン, 5'-CTP, 5'-GTP, 5'-UTP, NADPの阻害は弱かった。

【結論】以上の結果から, GA3PDHはアデニンヌクレオチドで活性が調節されており, 活性調節にはリボースの2'-OH基が重要で, 特に5'-AMP, 5'-ADP, 5'-ATPによってNADと拮抗的に阻害を強く受けることから, これらのアデニンヌクレオチドの細胞内濃度によってヒト精子の解糖系が調節されている可能性がある。

II-18

ヒト精漿蛋白のゴシポールに対する影響

I. ヒト精漿蛋白はゴシポールのLDH活性阻害を抑制する

帝京大学医学部産科婦人科

○池田 誠, 中村正久, 沖永荘一, 荒井 清

【目的】男性避妊薬の開発が急がれているにもかかわらず可逆的で副作用もない薬剤はまだない。ゴシポールは幅広い研究が行なわれているにもかかわらず, 現在のところ作用機序も不明で安全な避妊薬と言えないようである。今回はゴシポールの作用機序を明らかにするため, 精漿の蛋白との関連を検討した。

【対象及び方法】当科外来患者の精液からパーコール法によって運動率85%以上の良好精子を得, 試料として用いた。精子を50mM Tris-HCl(pH 7.4)中に攪拌し, 超音波で破砕後, 試料として用いた。LDH活性はNADHの340 nm吸光度の変化によって測定した。

【結果】(1)ヒト精子LDH活性はゴシポール50 μ M添加で25%まで低下した。(2)ヒト血清アルブミン(>100 μ g/ml)ヒト γ -グロブリン(100 μ g/ml), BSA(100 μ g/ml), ヒト精漿蛋白(20 μ g/ml)を添加することによってゴシポールのLDH活性阻害は完全に消失した。次にLDH活性に対する精漿蛋白のKineticsについて検討したところ, (3)ゴシポールはLDH活性をピルビン酸と非拮抗的に阻害した。(4)ゴシポール15 μ M添加によるLDH活性阻害は精漿蛋白(1 μ g/ml)を付加することによって完全に消失した。

【結論】ヒト精漿蛋白はゴシポールのLDH活性阻害作用を完全に抑制した。避妊薬としてゴシポールを投与した場合, この蛋白がゴシポールに拮抗的に働き, この薬剤の作用を抑制する可能性がある。精漿蛋白がゴシポールの男性不妊誘起に重要な役割を果たしている可能性がある。

II-19

ヒト精漿蛋白のゴシポールに対する影響

II. ゴシポール作用抑制蛋白の精製

帝京大学医学部産科婦人科

○中村正久, 池田 誠, 沖永莊一, 荒井 清

【目的】ゴシポールのLDH活性阻害を完全に阻害する蛋白が精漿中に存在することが明らかとなったので、この蛋白を分離精製し、その性質を検討した。

【対象及び方法】当科外来患者の精液から精漿を得、試料として用いた。蛋白はゲルろ過法、硫酸沈殿分画法、イオン交換クロマトグラフ法を用いて精製した。精製蛋白の純度はSDS-PAGE法で検討し、アミノ酸分析、そしてLDH活性に対するKineticsを検討した。

【結果】(1)分子量16 kDa蛋白を精製し、“Gossact”と命名した。(2)アミノ酸分析によってGossactはロイシンに富むことが明らかとなった。(3)Gossactは、男性血清蛋白とhSAに比べ少くとも10倍以上の比活性であった。(4)Gossactは血清中に見出せなかった。(5)GossactはゴシポールのLDH活性に対する非拮抗的阻害を完全に抑制した。

【結論】以上の結果から、ヒト精漿中にゴシポールのLDH活性阻害を抑制する分子量16 kDaの蛋白、Gossactが存在することが明らかとなった。Gossact分子中のロイシンが有する $[(CH_3)_2CHCH_2-]$ 基がゴシポールの $[(CH_3)_2CHCH_2-]$ 基と拮抗的に働くものと思われる。ゴシポールを男性不妊の目的で投与した場合、この蛋白がゴシポールの作用を抑制する可能性があることから、投与に先立ち、副作用を軽減するためにも、精漿中の16 kDa蛋白を定量する必要がある。

II-20

Sperm survival testで自然妊娠成立を予知できた高度異常精液の一例

長崎大学医学部産婦人科 ○布施正樹、岡本純英、山下隆則、梶村秀雄、
黄 宏駿、石丸忠之、山辺 徹
国立長崎中央病院産婦人科 重松 潤

男性不妊症の検査としては、一般に精子数、運動率および正常形態率などをみる精液検査法が行われている。しかしながら、この検査法では、精子の異常は検出できるものの、その結果は必ずしも精子妊孕能を正しく反映しているとはいいがたい。私どもは精子妊孕能予知法として sperm survival test (SST) を考察し、第34回不妊学会総会で報告した。精子妊孕能を予知するためのSSTの判定は36時間で100%の運動率を保存している場合を陽性とし、妊孕能良好、36時間陰性ならば不良とする。今回、私どもは高度異常精液所見を有するものの、SST結果では精子妊孕能良好と判定され、その後自然妊娠が成立した症例を経験したので報告する。本症例における2回の一般的精液検査およびSSTの結果は以下のとおりであった。1989年8月2日の検査結果、精液量6ml、精子数 $0.8 \times 10^6/ml$ 、運動率25%および正常形態率50%、8月18日の検査では、それぞれ6ml、 $1.1 \times 10^6/ml$ 、54.5%および正常形態率63.6%であった。すなわち、2回の検査結果より、乏精子症および一過性の精子無力症と判定された。なお同時に行われたSSTの結果は2回ともに36時間陽性であった。一方、配偶者の不妊症検査の結果、高プロラクチン血症を伴う第一度無月経であることが判明した。したがって、一般的精液検査所見より、本症例には乏精子症および精子無力症の傾向はあるものの、SST結果からはAIHの必要はなく自然妊娠が十分に期待できると判断した。そこで、クロミフェンおよびプロモクリプチンを投与し、排卵日の推定によりタイミングの設定を行う治療を行った。この結果、治療第3周期に自然妊娠が成立し、現在、順調に妊娠継続中である。

高度異常精液所見を呈していても、sperm survival test によって精子妊孕能が良好である例では、自然妊娠が可能であったことから、SSTの有用性がうかがわれた。

II-21

新しい精子機能評価法 (Sperm Wandering Test)

河内総合病院体外受精室 関西医大産科学婦人科学教室*

○森本義晴、牧野 滋、桑名博士、森本武晴

堀越順彦*、樫木 晋*、樫木 勇*

【目的】我々は、簡単に施行でき、的確な精子機能の評価によって、体外受精を含む不妊治療の一助となる検査を考案し、Sperm Wandering Test (以下SWAT) と名付け実施しているので報告する。

【方法】被検者の精液を的手法により採取し、37℃にて、30～60分間液化させ、十分に液化したことを確認し、これを小カップに0.5ml入れ保温する。次に配偶者の新鮮血清を毛细管に満たし、片側を密封し、開放側をカップに立てる。104回の精子検査について、5分、15分、30分、60分、および120分後に毛细管精液表面よりの最高位の精子の位置までの遊走距離を測定し、SAWT値とした。これらの値と、原精液とSWIM UPおよびPERCOLL法処理後の精子濃度、運動精子濃度、運動率との関係を見た。また、体外受精・胚移植法を実施した33周期について、受精率、分割率との関係を見た。さらに、他の検査法との関係を見るため、Hypoosmotic Swelling Test (以下HOST)およびウシ頸管粘液を利用したPENETRAK TESTを同時に実施した。

【結果】まずこの検査の、同時再現性につき検討した。変動係数(C.V)平均4.93で、特にSWAT 120分値では、3.01と良好で、SWATは臨床検査として有効であることが確認された。SWATと原精液との関係を見ると、SWAT 5分値と運動精子数、運動率との関係が最も高かった。処理後の精子では、SWIM UPよりも、PERCOLL処理後の運動精子濃度、運動率との相関が最も高かった。体外受精・胚移植法においては、SWATは受精率との間に正の相関を示した。また、HOST、PENETRAK TESTとの間にも正の相関関係があった。

【結論】SWATは、精子の運動機能、受精能を示す有用な検査と考えられた。

II-22

子宮内膜症患者の腹水中における精子の移動距離

群馬大学産科婦人科学教室

○中島敬和、宇津木利雄、水沼英樹、山田清彦、伊吹令人、五十嵐正雄

【目的】子宮内膜症が不妊原因となることはよく知られているが、不妊となる機序については不明な点が多い。今回我々は、子宮内膜症と診断した患者の腹水中の精子移動距離を測定し、若干の知見を得たので報告する。

【対象および方法】不妊原因を究明する目的でラパロスコピーを施行し、R-AFS SCOREで子宮内膜症と診断した患者8例について腹水中のCA-125を測定した。つぎに採取した腹水をヘマト管に充填し、男性不妊外来を受診し承諾を得た9例の患者の精液中に立てて、90分後に鏡検し、精子の最高移動距離を測定した。

【結果】1.腹水中CA-125値は $146.8 \pm 67.6 \text{ U/ml}$ (mean \pm SD), R-AFS SCOREは 17.1 ± 13.5 点 (mean \pm SD), 精子移動距離は $23.5 \pm 2.7 \text{ mm}$ (mean \pm SD)であった。2.腹水中CA-125値とR-AFS SCOREとの間には、 $R_s = 0.72$, $P < 0.05$ で正の相関を認めた。3.R-AFS SCOREと精子移動距離との間には、 $R_s = -0.76$, $P < 0.05$ で負の相関を認めた。4.腹水中CA-125値と精子移動距離とは、 $R_s = -0.79$, $P < 0.01$ と負の相関関係にあった。

【結論】1.子宮内膜症の程度(R-AFS SCORE)と腹水中CA-125値には弱いながら正の相関があり、腹水中CA-125測定により子宮内膜症の客観的評価が可能と考えられた。2.子宮内膜症患者の腹水中精子移動距離は、子宮内膜症の程度(R-AFS SCORE)および腹水中CA-125値と負の相関がみられ、子宮内膜症における不妊原因として精子の運動能への影響が示唆された。

II-23

骨盤骨折に伴う後部尿道外傷性狭窄の形成術後の妊孕能について

聖マリアンナ医科大学 泌尿器科

○岩本晃明 長田尚夫 星野孝夫 田中宏樹 矢島通孝
原口千春 馬場克幸 井上武夫

＜目的＞ 交通事故、労働災害などにより骨盤骨折を伴うと後部尿道断裂そして狭窄を来しその治療ははなはだ困難となる。私たちは数多くの症例の手術経験から尿道狭窄に対しての治療はほぼ満足のいく成績となってきた。しかし患者は若年者が多いことから本症の形成術後の性機能、妊孕能については大変気にかかるところである。性機能についてはすでに報告している。今回症例を重ねて妊孕能について検討したので報告する。

＜対象＞ 患者は、交通事故7例、労働災害2例、ホームと電車にはさまれた者1例、飛降自殺1例の計11例である。形成術時の年齢は、18歳から42歳 平均25.5歳である。後部尿道狭窄に対して、Badenoch法（pull through法）を8例にend to end形成術を3例に行った。なお手術回数は性機能に関係深い会陰部の手術を私たちが行った形成術を1回含めて1回から3回受けている。精液検査は術後3カ月から2年目に行っている。症例の中には遠隔地からの紹介患者が含まれておりlibido、勃起、射精の状態、精液検査をお願いしその結果を問い合わせた。

＜結果＞ libidoの欠如は1例もない。術後数カ月で夢精も認める。勃起については若年者では術後比較的早期から認めてはいるが不完全であり、2年以上経過した5例中1例を除いて勃起力は完全に回復している。精液検査については：精液量は1例0.5 ml（術後3カ月目）と減少していたが他の例は1.5～5 mlと正常量であった。精子濃度は $40 \times 10^6/ml$ 以上7例、 $40-20 \times 10^6/ml$ 1例、 $20-10 \times 10^6/ml$ 2例、 $10 \times 10^6/ml$ 以下1例であった。運動率は、50%以上7例、50-30% 1例、30%以下3例であった。精液中に白血球を認めたものは3例であった。

＜まとめ＞ 正常の精液所見を示した症例は5例もあり、11例中8例 73%は妊孕可能な結果であった。後部尿道外傷形成術後の性機能障害、妊孕能低下を危惧していたが比較的少ないものと考えられた。

II-24

精子運動能は精巣上体内で獲得されるか？

1) 帝京大学医学部泌尿器科学教室, 2) 東京大学教養学部生物学教室

○石田克美¹⁾, 友政 宏¹⁾, 矢崎恒忠¹⁾, 梅田 隆¹⁾, 奥野 誠²⁾

従来、哺乳類精子は精巣上体を通過時に運動能を獲得し、射精後はじめてそれが発揮されると考えられてきた。それならば、精巣内精子はもとより、精巣上体の頭部や尾部の精子でも精巣上体液中では運動能を示さないはずである。そこでまず我々はマイクロフラッシングアッセイ法を用いてゴールドンハムスター、ラット、ウサギ、スナネズミの精巣上体内各部位から得られた精子を各部位毎の精巣上体液中で希釈してみたところ、鞭毛振動数こそ非常に低いが、明瞭で、精巣上体部位による差異のない精子運動を観察した。この鞭毛運動はカルシウムイオンに対して感受性があり、精子外フリーカルシウムイオンの濃度を $10 \mu M$ 以上になると激変し、約10倍となり、精子運動のパターンはハイパーアクティベーション誘起時のそれと酷似していた。精子外フリーカルシウムイオンの $10 \mu M$ 以上の添加は精子内アデニル酸サイクラゼの活性化を促しており、カルシウムイオンフリーの状態では精子に8-ブromoサイクリックAMPを添加しても生じ、ハイパーアクティベーションとは精子外からのカルシウムイオンの精子内流入が精子内でのサイクリックAMP量増加を引き起し、それが何らかのリン酸化反応を通して鞭毛の屈曲率や振動数の変化を招いた結果であることを示唆している。一方、精巣から得られた未熟な精子や鞭毛を持った精子細胞は、カルシウムイオンに対する感受性が著しく欠けてはいるものの、二種類の異なった、明確な運動パターンを示した。形態的にはかなり完成された精子では屈曲率の小さい高速の振動を示したが、アウトターデンスファイバーを欠くと思われる、細い鞭毛を持つ精子細胞や精子では屈曲率が大きくて振動数の低い運動を示した。従って、従来言われてきたように、精子の運動能は精巣上体通過によって獲得されるものではなく、精子細胞が鞭毛を得た時から生じているのであって、精巣上体通過時にはカルシウムイオンに対する感受性の差異が付与されるものと考えられる。

II-25

重症乏精子症に対する障害部位の診断と精巣上体精子採取の有効性について

済生会神奈川県病院産婦人科, 同泌尿器科*, 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室**, 同泌尿器科学教室*** ○黒田優佳子, 末岡 浩, 小西康博, 小林淳一, 中野真佐男, 小林俊文**, 野澤志朗**, 飯塚理八*, 中島洋介*, 田崎 寛***

重症乏精子症は不妊症治療において最も難治性といわれ, 体外受精を施行しても受精に至らない例も多い。通常の射精精子を用いた精子調整法が効果的といえない例に対し, 精巣から精囊に至る過程での障害部位の診断および, 有効な精子回収部位として精巣上体からの観血的精子採取法の検討を行なった。射精精子濃度 $3 \times 10^6 / \text{ml}$ 以下, 運動率 30% 以下の重症乏精子症につき, ①精巣生検②精巣上体頭部または体部からの精子採取③精管造影④精管造影後の射精精子採取と精囊収縮・逆行性射精の有無を検討した。精巣生検にて全例に造精機能障害を認め, 障害の程度により, (1)群: 両側共に著明な精子低形成 (2)群: 片側は著明, 他側は軽度～中等度の精子低形成 (3)群: 両側共に軽度～中等度の精子低形成の3群に分類し検討した。(1)群では, 精巣上体精子, 膀胱内精子, 射精精子全て, 運動率低下を伴う乏精子症であった。(2)群および(3)群では, 精巣上体から良好な運動精子を回収した症例があり, その中で, 精管に障害を認めた例では精子採取は極めて有効であった。しかし, 両側精索静脈瘤・停留睾丸手術など外科的治療後の症例で, 精巣および精巣上体への手術的アプローチが困難であり, 精子採取できない例を認めた。また, 術後症例で精管にも閉鎖を認めた例があった。造精機能障害が両側で著明な男性不妊に対しては, 極めて治療が困難と結論せざるを得ないが, 軽度～中等度の障害または片側の障害について, 精巣上体精子採取が極めて有効な例を認めた。しかし, 外科的治療後に精巣・精管周囲に強い癒着を生じ, 精巣上体精子採取が困難となったことが示唆された例を認めた。特に, 精索静脈瘤に関し, 慎重な手術法の選択の必要性と, 術後精液所見の改善が必ずしも期待できないと判断した場合に, 体外受精の施行を前提として精巣上体精子の生検を優先して考えるべきと示唆された。また, 精巣上体までの精子の運動性が良好にも拘わらず, 精管内で悪化する症例に対してもこの方法は有効と考えられた。

II-26

高齢者精巣における Spermatogenesis の組織化学的検討

札幌医科大学 泌尿器科

新田俊一、南部明民、伊藤直樹、熊本悦明

高齢者の睾丸組織を incubation し Thymidine analogue である BrdU (Bromodeoxyuridine) の取り込みを行い, 免疫組織化学的に精細胞の DNA 合成能を検討した。

【方法】生検で得られた精巣組織を材料とし, 組織細切した後 BrdU を含む組織培養液で 34°C 6 時間の incubation を行なった。Bouin 液で精巣組織を固定後パラフィン包埋切片にし, 抗 BrdU 抗体を用い免疫組織化学的に BrdU 取り込み細胞を標識した。標識された精細胞を含む精細管の全体の精細管に対する割合を DNA 合成能の指標とし, 精細胞の DNA 合成能を検討した。

【結果】精巣組織所見の定量的な指標として従来より当教室で用いている germinal cell index と BrdU 標識精細管割合との間には, ある程度の相関関係が認められると考えられた。また, 加齢に伴う造精能障害の原因のひとつとして重要と考えられている精細管壁の厚さと BrdU 標識精細管割合の関係について検討したところ, 精細管壁の肥厚が増すほど BrdU 標識精細管割合が小さくなる傾向にあった。

【考察】DNA 合成能を評価するため精巣を incubation し BrdU で精細管を標識した。BrdU 標識精細管割合は精巣組織所見の定量的な指標である germinal cell index と相関関係を示し, DNA 合成能が低下している症例ほど 1 精細管当りの germ cell 数が少ない傾向が認められた。また, 精細管壁の肥厚に伴い DNA 合成能が低下していることから, 高齢者の spermatogenesis 障害の原因のひとつとして精細管壁肥厚による spermatogonia の DNA 合成能低下が示唆された。

II-27

抗BrdU抗体を用いたRat spermatogenesisにおけるDNA合成能の検討

札幌医科大学 泌尿器科

南部明民、新田俊一、伊藤直樹、三熊直人、塚本泰司、
丸田 浩、熊本悦明

【目的】Spermatogenesisの評価は各精細胞の個数、構成比率などを組織学的に検討する方法が一般的であるが、ratなどの実験動物においてはhumanとは異なり詳細な検討は困難である。またspermatogenesisをDNA合成能の点から検討する試みはautoradiographyによる方法があったが、radioisotopeを使用すること、評価までに時間がかかることなど問題があった。今回我々は抗BrdU抗体を用いて、rat spermatogenesisでのDNA合成能の検討を試みた。さらに抗腫瘍薬剤を用いspermatogenesisに障害を与え、その時点、および回復過程でのDNA合成能について検討した。

【方法】成熟齢SD-ratにbromodeoxyuridine (BrdU)を40 mg/kg腹腔内投与を行い、24時間後辜丸を摘出し、連続切片を作製、H-E染色による組織学的評価と共にAbitin-biotin-peroxydase complex (ABC)法にて免疫組織学的に評価した。さらにcis-platinum, adriamycinを投与した群と対照群とでのBrdU取り込み率を検討した。

【結果・考察】BrdUはspermatogoniaに取り込みが認められ、その抗原性はspermatocyte, spermatidまで保たれた。また抗腫瘍剤投与群では対照群に比しBrdUの取り込みは低下しており、これは薬剤による障害、つまりDNA合成能の低下の反映であり、抗BrdUを用いてspermatogenesisのDNA合成能を評価することは可能であると考えられた。抗BrdUを用いたspermatogenesisのDNA合成能の評価は簡便であり、再現性も高く、spermatogenesisの研究に有用な方法であると考えられた。

II-28

シクロスポリンのラット造精機能へ及ぼす影響

富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室

○岩崎雅志・布施秀樹・風間泰蔵・片山 喬

〈目的〉シクロスポリン(Cs)は新しい免疫抑制剤で、種々の臓器移植の著しい治療成績の向上をもたらしている。しかしながら、その副作用も無視しえぬものがあり、特に造精機能障害は生殖期の男性にとって重大と考えられる。我々はCsのラット造精機能への影響を検討した。

〈方法〉8週齢のSprague-Dawley系雄ラットを用いてCsを2週間連日皮下注射した。実験群として無処置群、コントロール群(Vehicleのみ投与)、Csの10mg/kg, 20mg/kg, 40mg/kgおよび60mg/kg投与群の6つのグループに分けた。Csの投与前、投与終了時、投与終了後2週、4週、および6週の各時点の血中LH, FSHおよびテストステロン値を測定した。また前述の各時点において、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、肝、腎の重量測定を行い、体重100gあたりに換算して各群間の比較検討を行なった。精巣上体尾部の精子を観察し、精子数および精子運動率を算定した。さらに、それぞれの時点での精巣の組織像も検討した。

〈結果〉投与終了時にCs投与のいずれの群においても有意の体重減少がみられた。精巣上体尾部の精子数は、投与終了後6週においてdose dependentに低下傾向がみられた。精子運動率は、投与終了時にいずれの投与群においても有意に低下しており、以後6週まで低下傾向をみた。また、投与終了後6週において40mg/kgおよび60mg/kg投与群で軽度の精細管の障害を示す組織像を認めた。血中LH値は投与終了時に10mg, 40mg, 60mg投与群で、やや高値の傾向を認め、血中FSH値は投与終了時、有意に高値で投与終了後4週まで高い傾向を示した。一方血中テストステロン値は、いずれの時点でも各群間に差を認めなかった。

〈結語〉ラットにおいてCsが造精機能に障害を与えることが示唆されたが、本実験では軽度であった。一方、投与終了時の精子運動率の低下よりCsの精巣上体への影響が考えられた。

II-29

精子運動と浸透圧に関する検討

横浜市立大学泌尿器科 ○齋藤和男, 佐藤和彦, 岩崎 皓, 木下裕三,
穂坂正彦

【目的】逆行性射精患者より妊孕性を十分満たす精子の回収は難しい。これは精子と尿との接触がおき、そのpHと浸透圧により、精子に傷害が起きるためだと考えられている。とくに尿の浸透圧は100 mOsm/kg H₂Oより1200 mOsm/kg H₂Oまで変化するため精子に対する損傷は大きい。今回我々は、精子と浸透圧の関係について検討したので報告する。

【方法】不妊外来患者および健常男子のうち、精液所見の良好なものを対象とした。各精液を30分間液化させたのち、30% percoll液を用いて、300×g、15分間速沈して得た精子にFCS添加F12を0.8ccに加えsampleとした。FCS添加F12にマニトールを加え150 mOsm/kg H₂Oより710 mOsm/kg H₂Oまで段階的に浸透圧差をつけた培養液0.5ccにsample 0.05ccを加え、1時間放置した後、精子自動分析装置(Cellsoft™ 3000)にて、精子運動率、Velocity、Linearityなどを測定し検討した。

【結果】150 mOsm/kg H₂Oより210 mOsm/kg H₂Oでは精子尾部の膨化、運動率の低下が見られた。270 mOsm/kg H₂Oより390 mOsm/kg H₂Oまでが運動率、運動速度ともに良好であった。460 mOsm/kg以上では、運動率の低下と、とくに50 μm/sec. 以上で運動する精子の比率の著明な低下が見られた。

【結論】270 mOsm/kg H₂Oより390 mOsm/kg H₂Oまでが精子に対する傷害が少なく、それ以下では精子の尾部の膨化と運動率の低下、それ以上では精子運動速度の低下が認められた。これより逆行性射精患者より精子を回収する場合、尿の浸透圧を調整することが重要であると考えられる。

II-30

凍結保存精子の受精機能 —HOS testを中心にして—

東北大学医学部産科学婦人科学教室

吉田仁秋, 深谷孝夫, 陳 偉業, 村上 節, 萬代泰男, 角田千恵子,
大井嗣和, 対木 章, 矢嶋 聡

【目的】精子の凍結保存は既に臨床応用されているが、融解後の受精機能に関しては十分な評価が成されていない。今回我々は、凍結融解前後の精子機能をHOS test法(Hypo-osmotic swelling test)を中心にして評価し、凍結保存による受精能を検討した。

【方法】対象は正常及び不妊症患者の計97例とし、採取された精液は37℃にて60分間液化した。一般精液検査後半量を用いてHOS testを施行し、残量は凍結保存用とした。凍結保存は、KS-II液を使用し、Program freezerにより凍結後、液体窒素中に保存した。全ての精液は融解後蘇生率を算出し、凍結前と同様にHOS testにより精子機能を評価した。尚、対象は精子濃度により A) 20×10⁶/ml 未満 B) 20-40×10⁶/ml C) 40×10⁶/ml 以上の3群に分類した。

【成績】1) 凍結融解後の平均蘇生率は、A) B) 群がC) 群より低い傾向を認めた。2) 凍結前後のGtype 膨化率は精子濃度との間に各々R=0.57 (p<0.01)及びR=0.42 (p<0.01)と有意の相関を認めた。3) 凍結前後のGtype 膨化率は運動率とも各々R=0.58 (p<0.01)及びR=0.53 (p<0.01)と有意の相関を認めた。4) 凍結前の総膨化率は精子濃度とR=0.59 (p<0.01)と有意の相関を認めた。5) 凍結前後で精子濃度が高くなるに従って、Gtype 膨化率、総膨化率が高値となる傾向を示した。6) 凍結前後の各群でのGtype 膨化率及び総膨化率は、凍結後において低下する傾向を認めるが、有意な差は認められなかった。【結果】以上の結果より、Gtype 膨化率は凍結後でも運動率と相関を示すが、総膨化率では相関を示さなかった。更にA) 群では凍結により機能面での脆弱性が増し、受精能が低下する傾向を示した。従って乏精子症では、凍結融触の臨床応用が、困難であることが示唆された。正常者では、臨床応用が充分可能であることが、本研究により明らかとなった。

II-31

ヒト精子受精能の検査の検討

—ハムスターテストとHypoosmotic swelling testに対するわれわれの見解—

防衛医科大学校産科婦人科学教室

○牧村紀子、市川秀志、堀江 稔、壽圓裕康、古谷健一、星原孝幸、永田一郎

【目的】IVF-ETの施行にともない、精子の検査は一般検査から精子受精能の検索へと研究が進んできている。今回、当院において体外受精・胚移植を施行するに当たり、透明帯除去ハムスター卵子を用いるハムスターテストと低浸透圧負荷による精子尾部細胞膜の形態学的変化を観察するHypoosmotic swelling testを行い、その有用性について検討した。

【方法】当院不妊外来を受診した患者8名の精子と正常群として妊孕性の明らかな2名の精子について、検討した。ハムスターテスト：Yanagimatiらの方法に従い、透明帯除去ハムスター卵子とヒト精子を培養し卵への精子侵入率を判定した。Hypoosmotic swelling test：Jeyendranらの方法に従い、低浸透圧溶液と精液を混合、培養した後、精子の形態をtotal-typeとg-typeとに分類し、各々の%を算出した。

【結果】運動率の高い精子のハムスターテストでの卵子内への侵入率の平均は48%で、運動率の低い精子の21%よりも有意に高い値を示した。また、運動率のよい精子はhypoosmotic swelling testでも高い値を示した。しかし、ハムスターテストでは低値を示したにもかかわらず、swelling testでは高い値を示した症例もあり、両検査間に相関はみられなかった。妊娠した症例では両検査値ともに高値を示した。

【考察】以上の結果より、片方のみではなく、両者の検査を行うことで、精子受精能を知るための有力な手段になり得るものと考えられる。また、これら2つの検査が精子の妊孕能のどの作用機序を反映しているかについて検討を加える予定である。

II-32

哺乳動物精子核の雄性前核形成における安定性

福島県立医科大学産科婦人科教室

○柳田 薫、矢沢浩之、片寄治男、

星 和彦、佐藤 章

ハワイ大学解剖・生殖生物学教室

柳町隆造

【目的】精子核を配偶子として保存する場合の基礎研究として、精子核の雄性前核形成能がそのおかれる環境によって受ける影響と、精子核の安定性を支えている構造について、まず熱を加えて調べた。

【方法】用いた精子の動物種はハムスター・マウス・ヒトそして魚のテラピア・鳥のルースターで、これらの精子からsonicationによって精子核を分離し、熱処理を加えた精子核の1個をハムスター未受精卵の中にmicroinjectionを行ない、5時間の培養の後に精子核の雄性前核形成能を調べた。

【結果】ハムスター精巣上体尾部精子で90℃30分加熱した時の雄性前核形成率は95% (control: 95%) で、100℃30分間では18%であった。

125℃20分では精子核は不変であったが、fleeze-dryにした精子核に同じ熱処理をするとその12%に初期の前核形成を認めた。マウスの精巣上体尾部精子とヒト射出精子でも同じ結果であった。テラピアの精巣精子・ルースターの精管精子、ハムスターとマウスの精巣精子ではいずれも90℃30分間の加熱では雄性前核形成が強く障害され0%であった。以上のことから精子核中のDNA-protamine complex内のSS結合が少ない精子では熱に対する安定性が無いことが分かった。そこで熱耐性のあるハムスター精巣上体尾部精子をDTTで処理をしてから90℃30分の処理をすると熱耐性が消失した(雄性前核形成率0%)。

【考察】ハムスターとマウスの精巣上体尾部精子とヒト射出精子では90℃30分の加熱後でも雄性前核形成能を保持していた。この安定性は精子核にSS結合を多く持つものだけに認められ、DTTでSS結合を解除した精巣上体尾部精子では熱安定性が消失することから、SS結合がその安定性を發揮していると思われる。またfleeze-dryにした精子核では熱耐性が増強することから、精子核を配偶子として保存する場合fleeze-dry法の有用性が示唆された。

II-33

Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , energy substrates が、ヒト精子の運動能及び受精能に与える影響

福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○月川 奏, 星 和彦, 矢沢浩之,
佐々木宏子, 佐藤 章

目的; 体外受精用培養液に含まれている Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ および energy substrates がヒト精子の運動性、acrosome reaction、透明帯通過能に及ぼす影響を検討した。

方法; 基本培養液 (mBWW) より検討すべき物質を除去した培養液を用意し、①精子運動率と hyperactivation の観察、②ハムスターテスト、③透明帯精子通過試験、を行い control と比較した。

成績; ①精子の運動性 (運動率) は、 Ca^{++} 除去および glucose 除去で抑制されたが、特に glucose 除去で著明に抑制された。②ハムスターテストでは Ca^{++} 除去そして K^+ 除去の培養液で抑制された。③透明帯精子通過試験では Ca^{++} 除去、 K^+ 除去、そして glucose 除去の培養液で著明な抑制をうけ、Na-pyruvate 除去、Na-lactate 除去で軽度に抑制された。

結論; 以上の成績により、ヒト精子においては運動性維持に Ca^{++} が hyperactivation 発現には glucose が不可欠な要素であり、acrosome reaction については Ca^{++} と K^+ が不可欠である事が示唆された。また、精子の透明帯の通過には acrosome reaction と motility が不可欠である事が示された。

II-34

マウス精子プロテインキナーゼ C アイソザイムの免疫化学的解析

慶應義塾大学医学部 産婦人科学教室¹⁾、分子生物学教室²⁾
○小松節子¹⁾、遠藤芳広¹⁾、平井雅道²⁾、福山隆一²⁾、清水信義²⁾
鈴木秋悦¹⁾、野澤志朗¹⁾

【目的】 マウス精子の先体反応過程が腫瘍プロモーターである 12-o-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (TPA) によって修飾されることから、受精時におけるプロテインキナーゼ C (PKC) の関与が示唆されている。本研究では、3種類のPKCの各々に対する特異抗体を用いて、マウス精子における各アイソザイムの発現の有無を免疫化学的に検討した。

【方法】 DDY系マウスの精巣上体尾部精子を牛血清アルブミン含有 m-KRB 培養液中に採取し、20ng/ml の TPA で 5 分間処理した。まず、精子を Tris-HCl 緩衝液にて homogenize し、細胞質・膜・核に分画後、PKC アイソザイム I・II・III 型にそれぞれ特異的な単クローン抗体 MC-1a・MC-2a・MC-3a を一次抗体とし、¹²⁵I-抗マウス Ig 抗体を用いて Western blot 法により検討した。なお、対照としてラット脳からの部分精製 PKC I・II・III 型を用いた。分画前後の精子の細胞質・膜の分離状態は電子顕微鏡にて形態学的に確認した。次に、精子をカバーガラスに塗抹、4% paraformaldehyde で 30 分間固定し、0.1% Triton X-100 で 15 分間、さらに 5% 牛血清アルブミンで 20 分間処理した。引き続き、MC-1a・MC-2a・MC-3a を一次抗体として免疫蛍光染色後、レーザー顕微鏡で蛍光強度を測定した。また、精子核部分は propidium iodide 染色で確認した。

【結果】 Western blot 法により、精子抽出液中に MC-2a 抗体で特異的に反応するバンドを認めた。また、各画分に関しては細胞質画分に TPA により減少し MC-2a と反応するバンドを認めた。さらに、免疫組織学的方法では、精子頭部細胞質部分に MC-2a 抗体との反応による蛍光が観察され、TPA 処理によりこの部位での蛍光は減弱した。

【結論】 以上の結果、マウス精子では主に PKC II 型が発現していることが示唆された。

立川共済病院 産婦人科¹⁾, 慶応義塾大学医学部 産婦人科学教室²⁾, ペンシルバニア大学³⁾
○遠藤芳広¹⁾, 小松節子²⁾, G.S. Kopf³⁾, 鈴木秋悦²⁾

【目的】Triton X-100 で permeabilized ヒト精子モデルを作成し、鞭毛運動の調節機構を解明することを目的とした。ATP+cAMP による運動再開における A キナーゼとチロシンリン酸化の関与を検討した。

【方法】ヒト射精精液を20分間の室温液化後、精液の3倍量の3mg/ml human serum albumin 含有 Ca²⁺ free BWW 液にて、600g で10分間遠心洗滌を2回繰り返し、更に、2ml の同培養液にて600g で8分間遠心洗滌後、精子ペレットに1ml の同培養液にて、精子サスペンションを作成し、実験に供した。50 μ l の精子サスペンション (5-50 \times 10⁶ sperm/ml) を450 μ l の0.01% Triton X-100 を含有する extraction buffer (10 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 1 mM β -mercaptoethanol, pH7.4) に添加し、permeabilized ヒト精子モデルを作成し、10分後に運動率10%以下であることを光学顕微鏡下で確認して、ATP, cAMP, H8 (A キナーゼ阻害剤), genistein (チロシンプロテインキナーゼ阻害剤) を添加し、運動率を算定した。

【結果】500 μ M ATP と1 μ M cAMP の同時添加にて、30-40% の運動再開が認められた。100 μ M H8, 及び30 μ g/ml genistein を ATP+cAMP とともに添加しその作用をみたが、5 \times 10⁶ sperm/ml では ATP+cAMP による運動再開は影響されないが、5 \times 10⁵ sperm/ml では、H8 では変化はなかったが、genistein では ATP+cAMP による運動再開の抑制が認められた。

【結論】permeabilized ヒト精子モデルにおける cAMP による鞭毛運動再開は、チロシンリン酸化を介することが強く示唆された。

III-1

多嚢胞性卵巣症候群患者に対するGnRHを併用したpureFSH療法
有用性の検討

徳島大学医学部産婦人科学教室

横山裕司、井川 洋、斎藤誠一郎、松崎利也、植田敏弘、
安井敏之、三宅敏一、苛原 稔、青野敏博

【目的】Clomiphene無効の多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)患者に対して、本症に有用性が高いpureFSH療法(単独療法)と、それにGnRHを併用する療法(併用療法)を比較し、本症に対するpureFSH-GnRH併用療法の効果を検討した。

【方法】PCOS12例29周期にpureFSH単独療法を行った後、そのうちの6例15周期にGnRH併用療法を行って、両療法の臨床成績を比較した。単独療法では消退出血の4～6日目からpureFSH(75IU～150IU/日)を投与開始し、主席卵胞の平均径が18mmを越えた時点でhCGを投与して排卵を誘発した。一方併用療法では、消退出血の1～2日目からGnRHaを900 μ g/日投与開始し、さらに15日目からpureFSH(75IU～150IU/日)を併用した。いずれの場合も、超音波断層法、各種血中ホルモン測定などで卵胞発育モニタリング、および排卵後の追跡調査を行った。

【成績】両療法を比較すると、周期別排卵率(単独:75.9%,併用:66.7%)、周期別妊娠率(単独:20.7%,併用:20.0%)、平均FSH総投与量(単独:1500 \pm 660IU,併用:1621 \pm 195IU)、平均発育卵胞数(単独:3.6個,併用:3.5個)には差はなかったが、併用療法でOHSS発生率が有意($p<0.05$)に低く(単独:24.1%,併用:13.3%)、またFSHの総投与量も個人差が少なかった。さらに投与開始前とhCG切替時の血中LF/FSH比の変化は、単独療法では差がないのに対して併用療法では低下していた。

【結論】高LH状態を呈するPCOS患者の排卵誘発において、GnRH-FSH併用療法はFSH単独療法に比較してOHSの発生率が低く、管理もしやすい可能性があり、PCOSの治療法として有用であることが示唆された。

III-2

高ゴナドトロピン血症性無排卵症に対する排卵誘発効果の検討

大阪大学・医学部・産科婦人科学教室

直原広明、山田美津子、山本敏也、森重健一郎、藤田善子、甲村弘子、
倉智博久、三宅 侃、谷澤 修

【目的】高ゴナドトロピン血症性無排卵症の病態把握と本症に対する排卵誘発法を確立する目的で、クロミフェン療法とhMG-hCG療法を施行し、その排卵誘発効果と血中ゴナドトロピン値との関係を検討した。

【方法】挙児希望のある婦人で、血中FSH値30mIU/ml以上の27例を対象として、クロミフェン療法とhMG-hCG療法を行ない、基礎体温表と血中プロゲステロン値より排卵の有無を判定した。これらの症例を血中FSH値30～50mIU/ml(1群)、50～100mIU/ml(2群)、100mIU/ml以上(3群)に分け、比較検討した。これらの3群における年齢には有意差はなかったが、3群に原発無月経例が3例含まれていた。

【成績】①排卵率は全体としてクロミフェン療法で14.8%、hMG-hCG療法で22.0%であった。②治療前の血中FSH値別にみると、30～50mIU/ml群(1群)では、両療法ともに50%が排卵し、50～100mIU/ml群(2群)ではクロミフェン療法で17.0%で、hMG-hCG療法では33.0%であった。最も高値である100mIU/ml以上群(3群)では各々6.0%と12.0%であった。

【結論】以上のように①血中FSH値が高値である卵巣機能低下のすすんだ症例ほど、両療法による排卵率が低下するのは当然である②血中FSH値が100mIU/ml以上の症例でも両療法で排卵する場合もある。

以上の結果から、高ゴナドトロピン血症であっても挙児希望があれば積極的に排卵誘発を行なうべきである。

III-3

排卵障害と卵巣のmultiple biopsyの適応について

岡山大学産婦人科

○ 平野由紀夫 吉田信隆 谷 政明 白河一郎 中塚幹也
片山隆章 多賀茂樹 名越一介 清水健治 関場 香

【目的】従来より排卵障害、特に多嚢胞性卵巣(PCO)に対して種々の外科的処置の有効性が論じられており、最近では腹腔鏡下multiple biopsy、経腔超音波ガイド下卵胞穿刺等、より侵襲の少ない治療法が考案され、良好な成績が報告されている。今回我々はPCOの診断基準とは関係なく、clomid 200mgを月経5日目より5日間投与で排卵し、100mgで無排卵であった16症例について卵巣のmultiple biopsyを行ない、排卵誘発効果と妊娠成立を検討した。【方法】昭和61年1月～平成2年3月までに当科で腹腔鏡検査を施行した症例にWolf社製Crocodile-forcepsを用いて卵巣のmultiple biopsyを行い排卵、妊娠及びLH-RH testとの関係を調べた。【結果】LH-RH testでLHのpeakがmean+SDを越えた症例(hyper-reactive)は12/16例(75%)で、そのうちbiopsy施行周期で排卵を認めたのは9/12例(75.0%)であった。治療前のtestosterone値は $0.96 \pm 0.49 \text{ ng/ml}$ (mean \pm SD, n=12)、治療後は $0.87 \pm 0.36 \text{ ng/ml}$ (n=9)であり、妊娠例は8/12例(66.7%)であった。妊娠例での妊娠までの期間は、 8.0 ± 5.0 ヶ月(mean \pm SD)であった。一方、LHがmean+SD内に入った症例(normo-reactive)は4/16例(25%)で、そのうちbiopsy施行周期で排卵を認めたのは4/4例(100.0%)であった。治療前のtestosterone値は $0.53 \pm 0.13 \text{ ng/ml}$ (n=4)、治療後のtestosterone値は $0.73 \pm 0.15 \text{ ng/ml}$ (n=3)であり、妊娠例は4/4例(100.0%)であった。この群の妊娠までの期間は、 3.0 ± 1.2 ヶ月(mean \pm SD)であった。【結論】LH-RH testで正常反応を示した例でも高い排卵誘発効果を認め、良好な経過を取ったことより、今後、LH-RH testによる診断基準のみにとらわれず、clomid無排卵例に対し、multiple biopsyを行なっていくことが、治療の向上につながっていくと考えられた。また、治療前後のtestosterone値の変動は今回の検討では認められなかった。

III-4

ラット未分化顆粒膜細胞の Steroido genesis に及ぼす Androgen antiandrogen および Epostane の効果

帝京大学医学部 産婦人科教室

○神戸川 明, 磯部 聡, 伊豫正人, 吉村幸子, 沖永荘一, 荒井 清

【目的】ラット未分化顆粒膜細胞はFSHによって活性化されてFSH, LH, EGF等の膜 receptorが増え、steroid合成とそのreceptorが増加して、自己が合成したprogesterone(P)や E_2 によって細胞が活性化即ちautocrineをすることが知られている。この外に夾膜細胞から移行してくるandrogenによっても増強することが報告されているが不明な点が多い。【方法】23日令SDラットの下垂体摘出後diethylstilbestrol 0.5 mgを4日間注射し、翌日卵巣顆粒膜細胞をとり、 $10^5 \text{ cell} / 1 \text{ ml} / \text{well}$ にFSH 30 mgを加え、これらにtestosterone(T), androstenedione(A), DHT, 4-OHA, cyproterone acetate (CypA)および 3β -HSD阻害剤Epostaneを $10^{-8} \sim 10^{-6} \text{ M}$ 加えてDMEM中で5% CO_2 , 37°C, 44時間培養してmedium中のpregnenolone(P_5)とP及びc-AMPをRIAで測定した。【結果】T, A, DHTは 10^{-6} M , 4-OHAは $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ でc-AMPは対照11 pM/mlに対して34, 30, 32及び14 pM/mlと増し、 P_5 値は対象1.2 ng/mlに対して4.2, 3.7, 3.8及び1.7 ng/mlと増加し、P産生量も対象1.2 ng/mlに対し6.4, 5.5, 6.7, 2.8 ng/mlと増加した。またCypAは単独またはTに加えても P_5 とP値は7.2, 8.7 ng/mlと高値でありこれはantiA作用による抑制よりもGestagenとしての増強作用によることを示した。Epostaneの添加はc-AMPを1.5~2倍に増加させ、 P_5 の産生は5.5倍と激増させたが、Pは殆んど0と顕著に抑制した。【考察】未分化顆粒膜細胞はFSHによって増殖しステロイドを産生し、各種ホルモンのreceptorを増やす過程でT, A及び芳香化不能androgenであるDHT, aromatase inhibitorの4-OHAも全てARと結合して細胞を活性化の方向に働き、androgenがすべてestrogenになって細胞の活性化をするものでないことが判明した。前回報告のP 10^{-6} M 添加でcAMPを3.5倍に $E_2 10^{-7} \text{ M}$ で1.5倍、今回のTやAは対照にくらべて、cAMPを2倍に増したことから内夾膜細胞からのAndrogenのParacrineの効果は無視できないと思われた。

III-5

マウス初期胚の超急速凍結保存

新潟大学医学部産科婦人科学教室

○七里 和良・谷 啓光・平沢 浩文・倉林 工
織田 和哉・荒川 修・田中 憲一

【目的】受精卵の凍結保存においては、従来より耐凍剤の段階的添加を行う緩慢凍結法が広く行われている。近年、凍結機器を要せず、簡易にしかも極めて短時間のうちに凍結が完了し比較的良好な生存性の得られる超急速凍結法が注目されている。今回、超急速凍結法を用いてマウス初期胚の凍結保存を行い凍結融解後の胚の形態学的正常性及び培養後の胚発生率について検討した。

【方法】PMS-HCGにより過排卵処理したB6C3F1成熟雌マウスを雄と交配させ、HCG投与20-24時間、42-44時間後にそれぞれ前核期胚、2細胞期胚を卵管より回収した。凍結保存液としてDMSO(2.0M, 3.5M)+0.25Msucroseを使用し、2-3分以内に液体窒素中に直接投入した。2-7日間保存後、37°Cの微温湯中で融解した。凍結保護剤除去は、0.25Msucrose液にて行った。融解直後の形態学的正常性を観察した後、培養後の分割・発育を観察した。

【結果】①凍結融解後に正常形態を示した受精卵の割合はDMSOの濃度(2.0M, 3.5M)により差を認めず前核期胚 90.9%(130/143) 2細胞期胚86.7%(85/98)と良好であった。②しかしながら、24時間後の分割率及び胚盤胞への発生率は前核期胚で77.1%(91/118), 50.0%(59/118) 2細胞期胚で88.2%(75/85), 77.5%(60/85)であった。

③3.5MDMSO群が2.0MDMSO群に比べ、前核期および2細胞期胚ともに発生率が高かった。

【考案】超急速凍結法によって凍結保存されたマウス初期受精卵を使用し、良好な生存性が得られた。現在、ヒト多精子受精卵を用い検討中で、その成績も併せて報告する。

III-6

GnRH analogue-pureFSH・hMG-hCGによる個別的調節卵巣刺激法について：
IVF-ET・GIFT療法への応用

自治医科大学産科婦人科学教室

○本山光博, 荒木重雄, 近沢幸嗣郎, 佐山雅昭, 赤堀彰夫, 玉田大朗

(目的)多数の良好成熟卵の採取を目的とした個別的調節卵巣過剰刺激法(Individualized Controlled Ovarian Hyperstimulation-ICOH法)を考案しIVF-ET・GIFT療法に応用しその有用性を確認せんとした。

(方法) (1)対象:a)正常婦人10名を対象に今回開発したICOH法あるいは従来からのhMG療法を施行しホルモン動態及び卵胞発育動態を検討した。b)IVF-ET及びGIFT患者86名、111周期にICOH法を用いた。(2)卵巣刺激法:a)hMG群:ブセレリンを投与下に、月経3日目からはhMG(ヒュメゴン)300IUを連日筋注し、主席卵胞の直径がほぼ18~20mmに達した時にhCG10000単位を投与した。b)ICOH群:ブセレリンを投与下に月経3日目からpureFSH(HMG日研)300単位を、主席卵胞が直径8~12mmに達したらpureFSH 150単位とhMG 150単位、14~16mmに至った時からhMG300単位の単独投与とし18~20mmに達したらhCG10000単位を投与した。c)ICOH法を用いたIVF-ET及びGIFT群:上述のICOH法に原則として従ったが、この際、最大卵胞が過大になっても無視し、数個の主席卵胞が成長するのを待つのを原則とした。(結果)ICOH法では、LHは常に5mIU/ml以下の低値を維持したが、hMG法ではLHレベルは斬増しhCG投与日には 7.7 ± 2.0 mIU/mlに達した。FSHは両群とも卵胞がほぼ成熟に達した時期には20mIU/ml前後のレベルに達する漸増パターンを示した。両群で刺激開始後3~4日目から明らかなEdの上昇が起り、hCG投与時にはICOH法で 1534 ± 342 pg/ml、hMG法では 1196 ± 166 pg/mlの値を示した。両群において主席卵胞の発育速度に明らかな差は認められなかった。しかし、hCG投与時の成熟卵胞(直径>16mm)の数はICOH法で 10.2 ± 1.5 個とhMG法の 6.2 ± 0.7 個に比較し有意($p < 0.05$)に多くの成熟卵胞の発育が認められた。直径18mm以上の卵胞を穿刺し得られた卵は平均 7.5 ± 0.38 個であった。過去1年半程のGIFTで周期当り53.7%(51/95)、患者当り72.9%(51/70)、IVF-ETでもそれぞれ37.5%(6/16)、37.5%(6/16)と満足すべき結果を得た。

III-7

卵巣刺激周期における卵胞期後期のプロゲステロン値上昇時期と
卵成熟・卵分割、妊娠成立との関連

鳥取大学医学部産科婦人科

○原田 省、関島秋男、岩部富夫、谷川正浩、大野原良昌、寺戸博文、
戸田稔子、見尾保幸、寺川直樹

〔目的〕自然周期ではプロゲステロン(P)の上昇がLH surgeに先行するか同期するといわれている。我々は、Clomid-hMG刺激によるIVF周期においてLH surgeあるいはhCG投与前後のP上昇の時期が、卵の成熟度、分割率、妊娠率に与える影響を検討した。

〔方法〕対象は当科で1989年1月から1990年2月までClomid-hMGにてIVFを施行した59例、70周期とした。estradiol(E_2)、P、LHは月経第3周日より隔日、または連日12時間毎に測定した。LH値が基礎レベルの180%以上上昇したときをLH surgeとした。hCG投与の基準は、主席卵胞が20mm、卵胞あたりの E_2 値が300pg/ml以上、2個以上の卵胞が発育していることとした。LH surgeあるいはhCG投与12時間前から24時間後までのP値の上昇(1.0ng/ml以上)時期を各周期毎に検討した。

〔結果〕LH surgeは19周期(27%)に認められ(surge群)、hCG投与は31周期(44%)であり(hCG群)、20周期をキャンセルした。hCG群(男性因子を除く)では、成熟卵の採取数が多く、胚移植周期も高率であったが、妊娠率に差はなかった。LH surgeあるいはhCG投与12時間前から24時間後までのP値の上昇(1.0ng/ml)時期を検討すると、surgeあるいはhCG投与と同時におよび12時間後にP値が上昇した周期で成熟卵の割合、分割率が高く、妊娠例もこの周期にのみみられた。

〔考察〕LH surge・hCG投与に連動したP値の上昇が、卵胞後期における卵成熟の完成、その後の卵分割、妊娠に重大な影響を与えることが示唆された。

III-8

Gonadotropin と Estradiol のウサギ卵の体外成熟に及ぼす影響

相模原協同病院産婦人科

○三宅 崇雄、佐藤 芳昭、望月 愛郎、松信 晶、大沢 章吾

まだ十分に成熟していない卵胞卵が正常に受精することは困難とされている。そこで、14週齢の性的未成熟なメスウサギより卵胞卵(antral follicular oocytes)を採取し、体外成熟後、体外受精を試みた。Cumulus enclosed oocytesを次に述べる5群のホルモンを含むBovine serum albumin加Ham's F10の中で培養した。1) 0.1 IU/ml human FSH(Metrodin); 2) 0.1IU/ml HCG; 3) 100 ng/ml 17β -estradiol; 4) 0.05 IU/ml HCG + 100 ng/ml 17β -estradiol; 5) 無添加。15から16時間培養後、成熟ウサギ体内で受精能を獲得した精子を $1-5 \times 10^6$ 媒精した。媒精から24と48時間後に卵の受精と分割を判定した。コントロールとして、体内で受精直後に採取した卵の分割率は88%(60/68)、排卵した卵の体外受精後の分割率は86%(52/60)であった。体外成熟した卵の体外受精後の分割率はそれぞれ、1) 39%(44/114); 2) 58%(88/153); 3) 48%(27/56); 4) 56%(38/68); 5) 22%(25/116)であった。さらに、0.05% hyaluronidaseによりcumulusを除去した卵はすべて媒精後24時間以内に变性した。以上より、性的未成熟ウサギより採取した未成熟卵胞卵は、体外にて成熟させた後受精させ分割し得ることがわかった。最も高い分割率は、HCGを含む培養液内で体外成熟させた群においてみられた。さらに、これらのホルモンはcumulus細胞に作用して卵の成熟と受精に影響を与えると考えられた。

III-9

卵胞液中HCG濃度測定とその卵成熟における意義の検討

東京大学産科婦人科学教室

○成 鑑非、堤 治、藤原敏博、大須賀穰、宮内彰人、百枝幹雄、
林 直樹、綾部琢哉、三橋直樹、武谷雄二、水野正彦

〔目的〕IVF-ETプログラムにおいて卵子成熟度の評価は重要である。しかし、その方法としては血中E₂値の測定、経腔超音波による卵胞sizeの画像的計測、採卵後卵子の形態的gradingなどがあるが十分ではない。今回、われわれは新しく開発され微量定量が可能なEIA法により卵胞液中のHCGを定量し、その意義の検討を試みた。

〔対象及び方法〕当科のIVF患者10名を対象とした。プロトコールはLH-RH analog併用しHMGで卵巣刺激し、HCG10,000単位筋注後33~34hrに経腔採卵を行い、卵胞液の容量を測定し、試料とした。HCG測定はHCG-CTP test (武田薬品; HCGモノクローナル抗体使用し、測定感度は0.1miu/ml, LH交差反応は0.1%以下、測定所要時間は短時間法で約2hr)を用い、その他のホルモン測定はRIAによった。

〔成績と考察〕

- ①卵胞中にはHCG抗体と用量反応的かつ競合的に結合する物質が存在した。これは外因性に投与したHCGそのものと考えられる。
- ②卵胞液中のHCGは高濃度 $105 \pm 39.27 \text{miu/ml}$ (mean \pm SD, n=77)であり、かつ卵胞により濃度の変化が認められた。
- ③卵胞中のE₂値は $327 \pm 111 \text{ng/ml}$ (meas \pm SD, n=70)であった。同一個体内ではHCG濃度と正の相関が認められた。HCG濃度は卵の成熟と相関をもつと考えられる。
- ④本法によるHCG測定は簡便かつ短時間であり、卵胞液中HCG測定が新たな卵成熟の指標となり得ると考えられる。

III-10

clomiphene citrate 投与周期における卵胞の発育と排卵

岡山大学医学部産科婦人科学教室

○片山隆章 清水健治 平野由紀夫 白河一郎 多賀茂樹
名越一介 新谷恵司 吉田信隆 関場 香

【目的】clomiphene citrate (clomid) 投与周期には複数の卵胞が発育すると言われている。しかしそれらがすべて排卵に至るのか否かが充分解明されていない。そこで自然排卵周期およびclomid投与周期における卵胞の発育および排卵を、経腔超音波断層法により観察し、両群の排卵に至る過程の差を比較検討した。【方法】対象は自然排卵周期15例およびclomid投与による排卵周期11例であり、月経終了直後より次回月経開始まで経日的に経腔超音波断層法による卵胞の観察、血中estradiol (E₂)の測定を行った。排卵日は超音波上成熟卵胞の消失した日とし、day0と表した。【結果】E₂は自然排卵周期、clomid投与周期ともにday-2にピークを形成し、その値はそれぞれ $286 \pm 145 \text{pg/ml}$ (mean \pm SD)、 $573 \pm 402 \text{pg/ml}$ であり、clomid投与周期の方が有意(p<0.01)に高値を示した。経腔超音波上描出可能であった卵胞の総数は、自然排卵周期ではday-10の 11.2 ± 1.9 個 (mean \pm SD) からday-1の 6.2 ± 3.2 個へと減少し、clomid投与周期でもday-10の 10.8 ± 4.4 個からday-1の 6.8 ± 3.4 個へと減少した。自然排卵周期に排卵した卵胞のday-1での平均径は $19.6 \pm 2.3 \text{mm}$ であった。そこでmean-2SDである15mmを成熟卵胞の基準値として検討したところ、両周期とも15mm未満では排卵を認めなかった。また自然排卵周期ではday-1で成熟卵胞数、排卵数ともにすべての例で1個であったが、clomid投与周期では、day-1で7/11例(64%)に複数の成熟卵胞を認め、このうち複数の排卵を認めたのは3/7例(43%)であり、4/7例(57%)は単数の排卵であった。clomid投与周期において、排卵した卵胞のday-1での平均径は $23.3 \pm 3.5 \text{mm}$ 、成熟卵胞となりながら排卵しなかった卵胞のday-1での平均径は $18.6 \pm 2.9 \text{mm}$ であり、排卵した卵胞の平均径が有意(p<0.01)に高値であった。【結論】clomid投与周期には64%に複数の成熟卵胞を認めたが、そのうち複数の排卵を認めたのは43%であった。また排卵した卵胞は、排卵しなかった卵胞よりも平均径が高値であった。

III-11

体外受精時およびLUF卵胞液中Prostaglandin E₂, F_{2α}濃度の検討

宮崎医科大学産婦人科学教室

○渡辺 裕之, 小池 弘幸, 戸枝 通保, 野田 俊一, 金子 政時,
森 憲正

〔目的〕卵胞液中にはPGsが存在し、卵胞の発育や排卵に関係していることが報告されている。今回、我々は体外受精時採取した卵胞液中およびLUF卵胞液中PGE₂, F_{2α}濃度を測定し、検討したので報告する。

〔対象と方法〕対象は宮崎医科大学産婦人科で体外受精を試みた18例の卵胞液 27検体、LUF症例 5例、10検体について、超音波下で卵胞の穿刺を行い、卵胞液中のPGE₂, F_{2α}の濃度をラジオイムノアッセイを用いて測定した。抽出は酢酸エチルを用いて行った。なお、LUFの診断はLHサーージ、基礎体温上昇後3日以上たっても卵胞の存在したものとし、月経周期の23日～27日の間に採取した。

〔結果〕卵胞液中PGE₂濃度は卵採取卵胞で14,079±4,942pg/ml (n=10)、卵未採取卵胞で7,135±917pg/ml (n=17)、LUF卵胞で888±136pg/mlであり、LUF卵胞中では前2者より有意に低値を示した。卵胞液中PGF_{2α}濃度は卵採取卵胞で3,424±1,137pg/ml (n=10)、卵未採取卵胞で1,956±458pg/ml (n=17)、LUF卵胞中で81.2±258pg/ml (n=10)であり、やはり前2者に比べ、LUF卵胞中では有意に低値を示した。体外受精時採取した卵胞液中では、排卵誘発法および卵の肉眼的所見と卵胞液中PGE₂, F_{2α}濃度の関係を検討したが、排卵誘発法ではクロミッド+hMG+hCGとスプレキュア+hMG+hCGでPGE₂, F_{2α}ともに有意差を認めなかった。卵の肉眼的所見に関しては、肉眼的に卵の成熟が進むにつれ、卵胞液中PGE₂, F_{2α}ともに高値をとる傾向にあった。

〔結論〕肉眼的に成熟が進むにつれ、卵胞液中PGE₂, F_{2α}濃度が上昇したことは、卵の成熟に対しPGsが重要な役割を果たしているものと考えられた。また、LUFの成因に対してもPGsの関与を示唆するものと思われた。

III-12

Thecal growth factor と basic FGF との相似性についての検討

山梨医科大学産婦人科

○安水洗彦, 長坂正仁, 長坂久司, 加藤順三

Basic fibroblast growth factor (bFGF) 研究の進歩とともに、以前に報告された内因性成長因子のいくつかはb-FGFおよびその類縁体であることが解明されつつある。本研究では卵巣莢膜由来のthecal growth factor (TGF) とbFGFの相似性を検討した。

〔方法〕TGFの粗抽出、精製は既報のごとく行った。すなわちブタ卵胞期卵巣cytosolを透析、凍結乾燥後、Sephadex G-100カラム (1.5×40cm) にて4℃下で1M ammonium acetate buffer (PH6.4) で溶出。分子量15,000～20,000相当の分画 (溶出量にして40-50ml間) を採取し、透析、凍結乾燥した。次に、Gospodarowiczの方法に従い、本試料をheparin-sepharose CL-6B affinity chromatography を使用し、0.6～2.5Mの濃度勾配でNaCl添加10mM Tris-HCl (PH7.4) にて、bFGF分画 (2.5M NaCl分画) を採取。再度透析、凍結乾燥して研究に供した。bFGFのTGF中への混在は、BALB/C 3T3細胞DNAへの³H-methyl thymidine取り込み (4μCi/ml, 48h) と、ウサギ抗bFGF抗体を用いたbFGF RIAキット (Amersham) によって検討した。

〔結果〕Heparin affinity chromatographyにより、TGFの3T3細胞増殖活性のhalf maximal activityは、9.6 μg蛋白量/mlから0.8ng/mlまで上昇した。またRIAの結果、粗TGF分画中bFGFは0.3 fmol/mg蛋白、bFGF分画は11.3 fmol/mg蛋白と明らかな上昇が認められた。

〔結論〕BioassayおよびRIAの結果は、thecal growth factor中にbFGFの混在を示唆している。

III-13

排卵過程における活性酸素代謝の意義

熊本大学産科婦人科学教室・第2生化学教室

○小山秀樹、井上正康、伊藤昌春、森野能昌、岡村 均

近年、広範な生命現象や各種病態に活性酸素種が関与する可能性が示唆されている。排卵、授精、着床、そして出産にいたる生命誕生の過程において、特にその周生期における動態が詳しく解析されているがその初期過程である排卵期の酸素代謝動態については詳しい解析は行われていない。排卵時には卵巣の血流動態や種々の酵素活性がダイナミックに変化し、過排卵刺激を施したラットの卵巣では GSH - Peroxidase活性や、Superoxide Dismutase活性などが増加することが知られている。これらのことは、排卵時に活性酸素種やその関連酵素が重要な働きをする可能性を示唆するが、その生理的意義については不明である。【目的】排卵過程における活性酸素種の生理的意義について知るために、活性酸素種の代謝と密接な関係を持つGlutathione(GSH)の卵巣局所、及び全身の代謝輸送動態と活性酸素消去酵素動態を動力学的に解析した。【方法】22日令のWistar系雌性ラットにPMMSG, 48時間後にhCGを皮下投与し過排卵刺激を施し、これを排卵モデルとし以下の解析を行った。(1)hCG投与後の卵巣、子宮、肝臓、腎臓、副腎、血漿中のGSH濃度、 γ -Glutamyl Transpeptidase(γ -GTP)の活性の変化。(2) GSH代謝の特異的阻害剤BSO、長時間作動型のSOD(SMA-SOD)の排卵に対する影響を観察した。(3) 血液の活性酸素産生能を化学発光により測定した。【結果】卵巣、肝臓、腎臓の GSH濃度、卵巣、腎臓、副腎の γ -GTP活性は著明に増加し、BSO投与により卵巣の GSH濃度は減少し排卵は抑制された。SMA-SODは容量依存性に排卵を抑制し、hCG投与後10時間後の投与が排卵を最も抑制した。またhCG投与後には血液の活性酸素産生量も増加する傾向を示した。

以上のことより活性酸素種及びその消去系は卵胞発育、卵胞破裂に不可欠な役割を担っていると考えられる。

III-14

排卵過程における血小板の役割に関する検討

社会保険埼玉中央病院産婦人科、慶應大学医学部産婦人科*

○北井啓勝、大庭三紀子*、伊藤仁彦、金子宜淳、鈴木秋悦*、野澤志朗*

排卵時には血小板血栓が卵胞壁の血管内に認められ、卵胞壁の破裂に関与すると推測されている。しかし、血小板血栓により卵胞壁の崩壊が起きる機序については不明の点が多い。卵巣灌流法を用いて、排卵における血小板の役割を検討した。ウサギ卵巣の動脈にガラスカニューレをいれて体外で灌流し、排卵過程を直視下で12時間連続的に観察した。灌流液には5 mg/mlのアルブミン、抗生物質、インスリンおよびヘパリンを含むMedium 199を150 ml使用し、酸素を流した1 mm径のテフロン管により酸化して、毎分1.5 mlで循環させた。輸血用に分離したヒト血小板浮遊液3 mlを灌流液中に注入すると、投与5から10時間後に38%の卵胞に破裂を認めたが、排卵された卵の卵核胞の消失率は36%と低値であった。灌流後の卵巣には浮腫がみられ、残った卵胞内の卵の卵核胞消失率は46%であった。同じ動物の対側の卵巣を、血小板を投与しない対照群として灌流したが、排卵は認められなかった。血小板を投与した時の、カニューレの直前で測定した卵巣の灌流圧は、投与直後より上昇して灌流終了時には100から120 mmHgに達した。血小板活性化因子(PAF)1 μ g/mlを投与した場合には、投与後5から11時間に卵胞の破裂がみられ、排卵効率は50%であった。排卵された卵の卵核胞消失率は22%と低かった。灌流後の卵巣には浮腫が認められ、卵胞内に残った卵の卵核胞消失率は67%であった。一方、溶媒であるエタノールを投与した対照群には排卵は認められなかった。血小板およびPAFは卵胞破裂を起こすが、卵の成熟促進作用はない。また灌流卵巣ではPAFまたは他の炎症反応物質により卵胞破裂がおこり、血小板血栓による血流遮断などの変化は、卵胞の破裂には必ずしも必要ではないことが示唆された。

III-15

不妊症における子宮鏡の有用性

琉球大学医学部産婦人科

○稲福 薫、佐久本哲郎、新崎 盛雄、東 政弘、
中山 道男

不妊症検査における内膜の評価は従来、内膜組織診を中心に行われてきた。子宮鏡は内膜組織診に比べ、より全体を観察できること、非破壊的操作であること、反復施行できるとなどの利点があり、新しい内膜評価の手段になり得る。われわれは不妊症例に子宮鏡を用いて内膜の評価を検討したので報告する。

対象は昭和63年8月より平成2年2月までの不妊症症例213例である。使用した子宮鏡は改良型灌流式子宮鏡か小児用膀胱鏡を用いた。灌流液は5%糖液を用いた。施行した日は原則として高温相4日ないし9日目とした。全213例の子宮鏡所見は正常内膜137例、*dys*hormonal endometrium 42例、内膜ポリープ8例、黄体機能不全5例、粘膜下筋腫5例、子宮腺筋症4例、アッシャーマン症候群3例、単純性内膜増殖症3例、子宮腔内癒着2例、無排卵性周期症2例、閉経1例、結核1例であった。不妊症の原因として子宮内腔病変を検索した結果、治療経過の観察手段や着症機能の評価に有用と考えられる。

III-16

不妊症患者に対するヒステロファイバースコープ施行の意義についての検討

富山県立中央病院産婦人科

○舟本 寛、佐竹紳一郎、小嶋康夫、館野政也

子宮鏡は腹腔鏡と同様、婦人科領域においては欠く事のできない検査である。しかし不妊症患者において腹腔鏡が routine の検査として各施設で行なわれているのに対し、子宮鏡を施行している施設はそれほど多くないと思われる。当院では1986年5月より従来の外径の太い硬性鏡にとって代わって、外径の細いヒステロファイバースコープを使用し、不妊症患者にも積極的にこなされている。

現在までのところヒステロファイバースコープを施行した患者は約600例であるが、適応としては過多月経、不正性器出血、内膜細胞診異常症例などがあり、不妊症患者は約100例であった。検査はほとんどの症例を外来で無麻酔で行ない、ヘガールで頸管拡張を必要とした症例も10例にすぎなかった。一方疼痛、出血などのため検査不能は1例もなかったが、スコープ挿入不能例が2例に認められた。

不妊症患者の観察所見としては、正常子宮内膜がもっとも多かったものの、粘膜下筋腫、内膜ポリープ、頸管ポリープ、子宮腔内癒着などの異常所見もかなりの症例に認められ、不妊婦人に対するヒステロファイバースコープの有用性が示唆された。

III-17

子宮内灌流液デキストランの血糖値に及ぼす影響

東邦大学第1産婦人科学教室

○大高 究, 矢野義明, 森田峰人, 小島栄吉, 百瀬和夫

不妊症診療において子宮鏡検査はますます盛んになり、最近では検査法のみならず、種々の子宮鏡下手術が行なわれるようになった。子宮鏡における観察や手術の際に最も大切な点は子宮腔を十分に拡張し、良好な視野を確保することである。われわれは灌流液に低分子デキストランを使用している。しかし、最近、子宮鏡施行中にデキストランが血中に移行したことによるとされる高血糖や低ナトリウム血症の発症が報告されている。そこで今回われわれは、子宮鏡施行中に血糖値、電解質、ヘマトクリット値を経時的に測定し、若干の知見を得たので報告する。

【方法】子宮鏡検査を行なう直前、およびデキストランの使用開始後30分間隔に採血を行なった。また、観察のみの症例で30分以内に処置を終了する症例には検査終了直後に採血した。検査項目は血糖値、電解質、ヘマトクリット値とした。なお、デキストランの注入はSTORZ社製のインサフレーターを用い、注入圧を測定しながら行なった。また、排出されたデキストランを回収し、inとoutの差から血中移行量を推定した。

【成績】子宮鏡施行中、血糖値は経時的な上昇を認めた。特に短時間で終了する観察のみの症例に比べ、長時間を要する子宮鏡下手術の症例において上昇率は高かった。一方、電解質、ヘマトクリット値において有意な変化は認められなかった。また、デキストランの回収率は各症例間において有意差を認めなかった。

【結論】灌流液にデキストランを使用した子宮鏡検査において、デキストラン注入量が増加するにつれ、血糖値が上昇することが判明した。子宮鏡検査を安全に行なうためには、手技時間をできるだけ短縮することが望ましいと思われた。

III-18

尿中LH簡易測定キットの基礎的および臨床的検討
—酵素免疫吸着測定法とゾル粒子免疫測定法の比較—

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○吉野和男、高橋健太郎、永田裕子、溝口さおり、北尾学

排卵時期の予測は、不妊症治療において重要な要素となってきたり、従来その予測には尿中estrogenの微量定量や超音波断層法による卵胞計測が行われていたが、近年尿中LH値の測定も行われるようになってきた。今回、排卵時期における尿中LHの簡易測定キットの2つの方法(酵素免疫吸着測定法、ゾル粒子免疫測定法)で比較検討したので報告する。研究対象は当科を受診した10名(正常月経周期8名、無排卵周期症2名)とし、計73検体を用いて基礎的および臨床的検討を行った。使用した尿中LH簡易測定キットは、ゴナール「LH」(ゴナール)とDiscre test (Discre)である。また、尿中および血中LHをRIA(スパックスS LHキット)を用いて測定した。結果は、1)ゴナール陰性例の尿中LHは0.5~27.5mIU/ml、血中LHは0.2~30.5mIU/ml、陽性例の尿中LHは4.2~93.0mIU/ml、血中LHは8.1~104.7mIU/mlであり、Discre陰性例は尿中LHが0.5~9.1mIU/ml、血中LHが0.2~30.5mIU/ml、陽性例の尿中LHは0.5~93.0mIU/ml、血中LHは0.3~104.7mIU/mlであった。2)ゴナール陰性、Discre陽性が31例に認められたが、その逆は1例もなかった。3)尿中LHのcut off値を10mIU/mlに設定すると、ゴナールのsensitivityは64.6%、specificityは94.6%、Discreのsensitivityは100%、specificityは50%であった。4)ゴナールとDiscre陽性が超音波で排卵を確認する何日前かを検討してみると、ゴナールでは1日前が6例、2日前が2例であり、Discreでは2日前2例、3日前3例、4日前3例であった。また、無排卵周期症で、ゴナールが陽性となる例はなかったがDiscre陽性となる例が認められた。以上のことより、尿中LHの測定は測定法により感度が異なり、ゴナールがより排卵日に近い日に陽性となることが示唆された。

III-19

A I Dの妊娠成功例と不成功例の解析による
L Hカラーの有用性と限界

假野クリニック
○假野隆司

＜目的＞保険診療の枠内でL HカラーがA I HやA I Dの治療成績向上に有用か否かを検討すること。
 ＜対象と方法＞排卵日に5日以上差があり卵管に異常がない20例39周期を対象とした。過去1年間の基礎体温の最も早い低温最終日の1日前から、早朝尿、深夜尿で3日間連続してL Hカラー検査を施行、初めて陽性が認められた当日あるいは翌日とその翌々日の午前中にA I Dを2回施行した。陰性の場合にはL Hカラーが終了した翌日に1回目のA I Dを施行した。A I D施行日に経膈プローベ超音波断層法で首席卵胞の最大径、血中estradiolを、BBT+5～+8 DayにProgesteroneを測定した。＜結果＞L Hカラー以外の方法で排卵を予知、妊娠が成立、生児分娩を確認した20例のA I D施行周期は最低1周期、最高20周期、平均9.7周期であった。これに対して、L Hカラー群では生児分娩は7例で、A I D施行周期は最低1周期、最高7周期、平均3.7周期であった。妊娠不成功30例の原因を推測すると、卵胞（黄体）機能不全16例（53.3%）、黄体機能不全7例（23.3%）、実施時期不適切4例（13.3%）、不明3例（10.0%）であった。＜結論＞A I HやA I Dの治療成績向上にL Hカラー、は極めて有用で、治療期間を短縮できる。しかし、自然のL Hサージで排卵する卵は必ずしも成熟卵とはいえないので、更なる妊娠率の向上のためには卵のモニタリングと卵胞（黄体）賦活療法が重要である。

III-20

1日1回の血中LH測定による排卵予知

順天堂大学産婦人科学教室
○伊藤 哲、飯田 信、武内裕之、福田 勝、高田道夫

不妊治療における排卵予知にLHの測定は不可欠であり、種々の方法が行なわれている。我々は、外来における1日1回の血中LH測定で排卵の予知が正確に行えるかどうかについて検討した。

〔対象〕不妊症患者56例、96周期—うち自然周期群（以下S群）15例、22周期、Clomiphene投与周期（以下C群）41例、73周期—について検討した。

〔方法〕排卵確認日をDay 0とし、Day 0, Day -1, Day -2, Day -3の午前10時に採血し、血中LH値をエルモテック持田（EIA法）により測定した。卵胞計測および排卵の確認には経膈超音波装置を使用した。

〔結果〕血中LH値（M±S.D. mIU/ml）はDay -3, -2, -1, 0の順にS群で34.1±10.9, 87.9±44.2, 114.9±56.6, 34.6±14.5, C群では23.6±11.0, 105.3±73.8, 106±62.9, 36±17.4と両群ともにDay -1に高値を示したが、有意差はなかった。排卵前日の首席卵胞径（M±S.D.）はS群で20.5±2.3mm, C群で30.2±5.2mmと有意差を認めた。

血中LH値50 mIU/ml以上をLH surgeと判定し、その翌日に排卵(+)であった症例はS群で22周期中13周期（59.1%）、C群で73周期中39周期（53.4%）であり、翌々日排卵(+)例はS群9周期（40.9%）、C群34周期（46.6%）と全例で48時間以内に排卵を認めた。両群とも翌日排卵例、翌々日排卵例のLH値に有意差は認めなかった。また retrospective に見て Day -1に高値を示した症例はS群で15周期（68.2%）、C群42周期（60%）、Day -2に高値を示した症例はS群7周期（31.8%）、C群28周期（40%）で、両群ともDay -1, -2のLH値に有意差はなかった。

〔考察〕両群の総計では surge 後24時間以内に排卵を認めた周期は54.7%、48時間以内では100%に排卵を認めた。このことから1日1回の血中LH値測定による排卵予知は有効な方法であると考えられた。

III-21

全自動 EIA システム (IMx) を用いた血中 LH, FSH 測定法の検討

山口大学医学部産科婦人科学教室

○中村康彦, 田村晴代, 杉野法広, 川本和則, 石松正也, 加藤 紘

近年, ホルモンや腫瘍マーカーに対する全自動 EIA システム (IMx) が開発された。今回我々は, 同システムを用いた血中 LH, FSH 測定の基礎的, 臨床的検討を行なったので紹介する。

【測定原理】本法は, LH および FSH の β サブユニットに対するモノクローナル抗体と α サブユニットに対するポリクローナル抗体を用いたサンドイッチ法による酵素抗体法である。標準品は, スパック-S (IRMA) 法と同じ WHO 1st IRP 68/40 (LH), WHO 2nd IRP 78/549 (FSH) である。本法では, 検体としては血清を用い, 測定時間が短く, 一度標準曲線を作製すればコンピューター処理により 2 週間は同一標準曲線を使用できることなどが特徴である。

【成績】本法の測定感度は, LH: 0.5 mIU/ml, FSH: 0.2 mIU/ml であった。測定内および測定間再現性試験 (CV%) は, LH: 2.5-3.5%, FSH: 3.4-4.0%; LH: 3.8-4.3%, FSH: 3.0-4.1% と良好であった。希釈試験, 回収率試験でも良好な成績が得られた。本法による測定値をスパック-S (IRMA) 法のそれと比較したが, LH: $Y = 1.083 X + 3.832$, $r = 0.962$, FSH: $Y = 0.924 X - 2.235$, $r = 0.991$ とよく相関していた。19 名の正常月経周期を有する婦人の LH ピーク値 (Mean \pm SD) は 28.0 ± 18.7 mIU/ml, FSH 値は 10.0 ± 4.8 mIU/ml であり, また LH-RH テストの成績 (Mean \pm 2SD) は, LH 前値 4.8 ± 5.4 mIU/ml, LH ピーク値 18.7 ± 13.4 mIU/ml, FSH 前値 6.4 ± 2.2 mIU/ml, FSH ピーク値 9.8 ± 4.8 mIU/ml であった。

【考察】全自動 EIA システム (IMx) は, 短時間で測定が出来, また放射性物質を使用しない。更に, 一度標準曲線を作製すれば 2 週間は使用可能で小数検体でも無駄なく測定できるなど, 今後広く使用される有用なシステムと考えられた。

III-22

サンドイッチ法を利用した EIA に基づく LH・ダイナパック FSH・ダイナパックの検討と臨床応用

帝京大学医学部産科婦人科学教室

○竹下茂樹, 大川とみ, 荒川聡子, 吉村幸子, 栗田松一郎, 神戸川 明, 沖永荘一, 荒井 清

【目的】血中 gonadotropin の測定は現在二抗体法 RIA による各種簡便測定キットが汎用されている。しかしながらこれらの RIA 法は放射性物質を使用すること, 迅速性に欠けることなど問題点がある。今回我々は, サンドイッチ法を利用した EIA により血中 LH, FSH を自動測定する LH, FSH ダイナパックの臨床応用について検討した。

【方法】検体中の LH, FSH は, マイクロパーティクルに固定化した抗 LH, FSH マウスモノクローナル抗体に結合し, グラスファイバーディスクでマイクロパーティクルを吸着後アルカリフォスファターゼ標識抗 LH, FSH 抗体を加えサンドイッチ型の結合物を形成した。さらに, 4-メチルウンベリフェリルリン酸を加えアルカリフォスファターゼにより分解された 4-メチルウンベリフェロンに 365nm の励起光をあてて発する蛍光強度の変化率を測定した。

【結果】本法の測定内変動を低, 中, 高濃度で検討したところ, LH で 3.8% 3.5% 2.1%, FSH で 3.7% 4.6% 4.1%, 測定間変動は LH で 5.6% 4.3% 6.2%, FSH で 3.3% 2.8% 3.5% であり再現性に優れていた。また LH, FSH 共に良好な希釈直線が得られた。添加回収率は LH で 101.8 ~ 105.1%, FSH で 98.8 ~ 101.2% であった。two step sandwich RIA 法と本法の相関関係は LH で $r = 0.991$ ($n = 40$) FSH で $r = 0.981$ ($n = 40$) といずれも高い相関性を示した。本キットを用いて正常月経周期, 正常婦人及び各種婦人科疾患症例について LH, FSH 基礎値, LH-RH test, 更年期症例, 卵巣摘出症例について検討し従来の報告と同様の結果を得た。

【結論】本測定系は, IMx を使用した完全自動測定であり, 24 検体で約 40 分と短時間で測定結果が得られ, 検量線は 2 週間安定である等, 臨床応用への価値は高いと思われた。

III-23

多嚢胞卵巣症候群における血中testosterone濃度について
 -使用testosteroneキットの比較及びfree testosterone との関連性について-

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○高橋健太郎、吉野和男、江田芳美、山崎裕行、北尾学

血中testosterone (T) 濃度は測定キットの種類により値が異なり、また、血中T の大部分が結合蛋白と結合し、ごく微量が活性型ホルモンとして存在しているため高androgen血症の診断のためにはfree testosterone (free-T) の測定が必要である。今回、経腔超音波断層法で両側に多嚢胞卵巣 (PCO) が認められた61例 (正常月経周期を有するreg-PCO 群、23例; 無排卵性月経周期を有するirreg-PCO 群、38例) を研究対象とし、血中T 及びfree-Tを測定し、PCO 症例における血中T 測定の使用キットの臨床的意義について検討した。なおcontrol としてPCO の認められない正常月経周期婦人16例を用いた。使用T キットは無抽出法であるDPC total testosterone kit (T-DPC) と抽出法であるTestosterone・栄研キット (T-栄研) を用い、血中free-TはCoat-A-Count Free Testosterone測定キットを用いた。結果は (1) T-栄研、T-DPC、free-Tの値は、reg-PCO 群でそれぞれ 73.9 ± 20.5 ng/dl、 0.33 ± 0.12 ng/dl、 1.12 ± 0.37 pg/ml、irreg-PCO 群でそれぞれ、 94.8 ± 31.7 ng/dl、 0.48 ± 0.20 ng/ml、 1.85 ± 0.98 pg/ml であった。(2) control 群より正常値の上限 (T-栄研: 108.7 ng/dl、T-DPC: 0.46 ng/ml、free-T: 1.39 pg/ml) を設定し、陽性率を検討すると、T-栄研、T-DPC、free-Tはそれぞれreg-PCO 群で4.3%、17.4%、21.7%、irreg-PCO 群で28.9%、52.6%、57.9% であった。(3) PCO全体で、free-Tが異常高値を示すものは27例 (44.3%) に認められたが、そのうちでT-栄研、T-DPC 共に異常高値である例は5例 (18.5%) にすぎなかった。またT-栄研が異常高値で、T-DPC が正常であるのは3例 (11.1%)、T-DPC が異常高値で、T-栄研が正常であるのは11例 (40.7%) であった。(4) free-TとはT-栄研 ($r=0.44$)、T-DPC ($r=0.63$) 共に有意な正の相関関係が認められた。以上のことより、PCO の診断において血中T 濃度を測定する場合、測定法により値が異なり、free-Tをより反映しているのは無抽出法であることが示唆された。

III-24

卵巣刺激周期における着床期子宮内膜の形態学的所見と卵巣性ステロイドホルモンの関連性について

東京医科大学産婦人科教室

○清水洋一、内海靖子、佐藤妙子、入江 宏、山田悦郎、山縣邦彦、中村文武

【目的】卵巣刺激周期では、自然排卵周期とは異なったホルモン環境が形成されると考えられるが、これらの周期における着床期子宮内膜の形態と卵巣性ステロイドホルモンとの関係について検討した。【対象と方法】当科不妊外来を受診した患者のうち自然排卵周期 (S群) 40症例、clomiphene 卵巣刺激周期 (C群) 20症例、hMG-hCG 卵巣刺激周期 (H群) 10症例の計70症例を対象とした。各群ともBBT及び超音波法等により排卵を確認し排卵後 (7~8日) 日に内膜日付診を施行同時に血中 E_2 PをRIA法にて測定した。【結果】着床期内膜日付診、S群では一致型22/40 (55%) 遅延型14/40 (35%) 分離型4/40 (10%)、C群では一致型7/20 (35%) 遅延型7/20 (35%) 分離型5/20 (25%)、H群では一致型7/10 (70%) 遅延型3/10 (30%) 血中 E_2 値 (pg/ml) と内膜形態上、一致型ではS群 (244.9 ± 80.9) C群 (285.0 ± 96.6) H群 (525.0 ± 161.0) でH群が有意に高値を示し遅延型ではS群 (192.5 ± 89.7) C群 (281.7 ± 111.2) H群 (1162.0 ± 202.2) で、H群が有意に高値を示した。分離型ではS群 (206.5 ± 89.2) C群 (115.5 ± 62.1) で有意な差は認められなかった。血中P値 (ng/ml) と内膜形態上一致型ではS群 (12.9 ± 4.2) C群 (13.7 ± 6.1) H群 (28.4 ± 6.7) でH群で有意な高値を示したが遅延型分離型ではS群 (9.6 ± 3.1) C群 (8.5 ± 2.1) S群 (9.6 ± 2.1) C群 (7.1 ± 2.1) で有意な差は認められなかった。P/ E_2 比では一致型S群 (55.3 ± 14.5) C群 (70.4 ± 21.2) H群 (82.4 ± 24.5) 遅延型S群 (55.3 ± 14.5) C群 (70.4 ± 21.2) H群 (21.8 ± 5.6) 分離型S群 (47.1 ± 8.9) C群 (31.3 ± 7.9) でS群においては有意な差は認められないがH群C群においては一致型と遅延型とに有意な差が認められた。【結論】①着床期子宮内膜の形態は、hMG-hCG卵巣刺激周期においては、腺間質伴に一致型を示した症例が多く認められたが、clomiphene 周期では腺間質伴に、遅延型を示す例が多く認められた。②自然排卵周期においては、黄体中期の血中 E_2 P値の分泌動態は子宮内膜の形態を推移する指標となりえたが、卵巣刺激周期においては、形態異常内膜の成因となる内分泌動態を把握し得なかったが、今後着床期内膜診を示標とした不妊治療を検討したい。

III-25

排卵周期における経腔超音波による子宮内膜像の変化

聖マリアンナ医大産婦人科

大野祐子, 石塚文平, 近藤俊彦, 渡辺研一, 堀越裕史,
栗林 靖, 高橋誠治, 齊藤寿一郎, 浜田 宏

【目的】経腔超音波(TVP)の導入により, 子宮内膜像, 特に子宮内膜の厚さ(EMT)が容易に測定可能になった。今回, 我々は排卵周期内のTVPによるEMTの変化を主に性ステロイド値との相関において検討した。

【方法】当科不妊外来通院中の婦人で, 自然排卵周期96周期において, LHを経日的に測定した周期においてはLHピークより, 他の周期においてはBBT低温相最終日よりの子宮内膜の厚さ(EMT)および血中 E_2 , P値の変化を経日的に検討した。うち7周期は妊娠周期であった。

【結果】平均(±SD)EMTは, LHピークまたはBBT低温相最終日前3日間で 10.5 ± 2.4 mm, LHピーク後またはBBT高温相5~7日目が 13.2 ± 4.9 mm ($P < 0.01$)で, 黄体期に有意に厚かった。妊娠周期, 非妊娠周期間の平均EMTに有意差はなかった。排卵前期EMTと黄体中期EMTの間には $r = 0.434$, $P < 0.05$ で有意な相関が認められた。排卵前期EMTと黄体中期血中 E_2 値と有意な正の相関($r = 0.392$, $P < 0.05$)を示したが, 排卵前期EMTと排卵前期 E_2 値, 黄体期P値とは有意な相関を示さなかった。また, 黄体期 E_2 値, P値と黄体期EMTにも有意な相関が認められなかった。

【考察】卵胞後期のEMTは, その時点での血中 E_2 値とは相関しないが, 卵胞期全体を通じての E_2 分泌を反映し, 黄体期の E_2 分泌とも相関することが示された。

【結論】卵胞後期EMTは, 卵胞期, 黄体期を通じての E_2 分泌を反映する可能性が示唆された。

III-26

尿中Pd-3G測定法(LA-Pd-3G-2)の検討と体外授精後の動態について

獨協医科大学越谷病院産婦人科

○榎本英夫, 加藤晴美, 生山 博, 松永啓伸, 瀬川裕史, 林 雅敏, 矢追良正

(目的) 排卵から着床周辺に至る時期でのProgesterone値は, 特に不妊症治療にあつては, その成否を決する重要因子であり, 従来RIA法では長日時を要し, 迅速な対応が困難であった。今回開発されたLA-Pd-3G-2は, 検体に血液を要さず, 従来のLA-Pd-3G法に比し, 尿中プレグナンジオール-3アルファ-グルクロニドを短時間且つ簡便に測定可能なラテックス凝集阻止反応による免疫測定法である。今回体外授精を行なった症例に就き尿中Pd-3Gを測定し, 血中PROGESTERONE値と比較し, その有用性に就き検討した。

(方法) 卵管性因子不妊, IVF-ETを行なった12例を対象とした。HMG投与に先立ち, 前周期黄体期中期より月経第3日迄連日Gn-RH ANALOG 900 μ gを経鼻投与し, 卵胞径が16 mmに達した時点でHCG投与, 36時間後に採卵するIVF-ETのプロトコールに従った。採卵後連日採尿, 適宜採血し尿中Pd-3G, 血中PREGNANEDIOLを測定し比較した。

(成績) 検量曲線は $0.7 - 50 \mu\text{g/ml}$ CRE.内にあり, スケールアウトしたものは, 更に希釈し測定した。血中Pとは, $r = 0.936198$, $y = 1.42073x - 1.89588$ と極めて高い相関が得られた。本測定法には測定装置が必要であるが, 更に改良を加えて, より簡便安価な方法の開発が望まれる。

III-27

スコアリングによる卵管形成術の予後分類の考案

亀田 隆¹⁾, 谷口 武, 佐治文隆, 谷澤 修²⁾
 大阪労災病院産婦人科¹⁾ 大阪大学医学部産婦人科²⁾

【目的】卵管性不妊患者の治療は、卵管形成術が第一選択であるが、手術の難しい症例ではIVF-ETが先行して行われる場合もある。しかしその判断に明確な基準の無いのが現状である。我々は昨年の本学会で、卵管形成術後の妊娠率が、年齢、手術術式、付属器周囲癒着の程度、及び卵管水腫の有無と関連することを報告した。今回はこれら4つの要因に得点を配し、合計得点を3段階に分類し、妊孕性に関する予後推定が可能かどうか、卵管形成術42症例をretrospectiveに検討した。【方法】年齢、手術術式、付属器周囲癒着剥離、卵管水腫の4つの要因の各々の項目に、0-60点の範囲で任意に得点を配した。各要因の項目得点を加算した合計を3段階(Good, Fair, Poor)に分類した。Goodは加算得点0-29点、Fairは加算得点30-59点、Poorは加算得点60点以下の場合に分類した。この予後分類を用いて、昭和57年11月より昭和63年8月まで大阪大学産婦人科において卵管形成術を施行した42症例をretrospectiveに解析した。【結果】予後分類を用いて、卵管形成術施行例42症例を解析した結果、Goodに分類されたのは12例で、そのうち妊娠に成功したのは8例(67%)であった。同様にFairは7例、そのうち妊娠に成功したのは3例(43%)であった。一方Poorに分類されたのは23例であったが、そのうち妊娠に成功したのは2例(9%)にすぎず残る21例(91%)は妊娠しなかった。従ってこの3段階の予後分類は、42症例の予後と相関が認められた(χ^2 検定: $P < 0.01$)。また妊娠に成功した13例中11例がGoodまたはFairに分類され、その妊娠予後に対するsensitivityは85%であった。一方妊娠しなかった29例中21例がPoorに分類され、そのspecificityは72%であった。従って妊孕性の評価として有用と考えられた。【結論】以上のことより、我々の考案した卵管形成術の予後分類は、卵管形成術を施行するに際して、その妊娠予後を決定する上で、簡便かつ有用な方法と考えられた。

III-28

挙児希望筋腫核出例の妊孕性回復における画像診断の意義

国立横浜東病院産婦人科、千葉大産婦人科*

○田中宏一、高野 昇、上杉健哲、漢那磨理意、田嶋達矢、田中尚武*

目的：機能保存手術に対しては、手術適応決定のためより適切、かつ確実な術前診断、予後判定基準となり得るより正確な術後診断が望まれる。挙児希望子宮筋腫核出例のHSG、超音波画像を中心に術前の治療指針の適否、妊孕性回復に於ける画像診断の意義について検討を行なった。

対象ならびに方法：当院婦人科開設以来13年間(1977~1989)に施行した筋腫核出術は135例で、この中挙児希望49例に対し、術前術後のHSG、超音波画像を中心に臨床経過の検討を行った。

結果：①挙児希望子宮筋腫核出術例は、卵管形成術、卵巣部分切除(内膜症性嚢胞を含む)など他の挙児希望例に対する機能保存手術に比べ、49例中24例49.0%と比較的高率に妊娠の成立がみられ、子宮腔の拡大、変形のないHSG像を示す筋腫例も含め、他に明かな不妊因子のみられない筋腫例に対しては機能保存手術の積極的な適応と考えられた。②術前のHSG、超音波で確認された筋腫核の大小、数、位置にとくに関係なく妊娠の成立がみられているが、術前診断に於けるHSG像については、側面像も加え、子宮腔の変形、拡大、辺縁不整などの所見に加え、子宮陰影の「ねじれ」、子宮頸部陰影の延長、欠損などの所見にも注目、読影し、よりの確かな適応選択にはHSG、超音波画像併用読影が望まれた。③術前診断で注意すべきことは内膜症の合併であり、とくに腺筋症例に対しては両像からの診断のみでは正確性を欠き、他の検査成績も加え、慎重な検討を必要とした。④術後妊娠成立までの期間は他の手術例に比べ長く、術後半年のHSG、超音波像に異常所見のみられる例、とくに子宮陰影に異常所見の残存する例では妊娠成立は遅れる傾向がみられ、長期の術後観察が必要であった。⑤なお術後のHSG像に新たな癒着像の出現が23例中6例26.1%に観察され、さらに徹底した癒着発生予防への配慮の必要性を認めた。

III-29

当院における反復流産患者に対する検査と治療

済生会神奈川県病院

○小林淳一, 黒田優佳子, 小西康博, 末岡 浩, 中野真佐男

済生会神奈川県病院産婦人科では、1988年10月より反復流産患者のための特殊外来を設置し、系統的な検査と治療を行っている。不妊症に関する検査と治療は各施設とも近年IVFの技術の普及に伴い格段の進歩を遂げている。しかし、反復流産患者は頻度も少なくその原因も複雑多岐のために、検査と治療はまだ一般の病院では系統的に行われてはいない。そこで当科では、試みとして反復流産外来を設け、以下の検査を行った。①血液型・感染症検査②出血・凝固検査・③甲状腺・卵巣機能検査④リウマチ検査⑤ウイルス抗体価検査⑥子宮内膜診検査⑦月経血結核菌培養検査⑧子宮卵管造影検査⑨抗リン脂質抗体検査⑩抗凝集素抗体検査⑪夫婦染色体検査⑫夫婦HLA検査⑬夫婦間微量細胞毒テスト⑭空腹時血糖検査。今回当科では、60組の反復流産患者を登録した。平均既往流産数 3.04 ± 0.24 回。平均年齢は、夫 33.2 ± 0.3 歳 妻 32.0 ± 0.4 歳(mean \pm S. E.)。

主な検査結果の異常は、子宮奇形3(双角子宮1, 弓状子宮2)。染色体異常2(相互転座1, 腕間逆位1)。抗核抗体陽性2。抗凝集素抗体陽性1であった。

当科では、他に大きな異常がなく、HLA適合異常と妻血清中に夫リンパ球に対しての抗体のない例に対して、夫リンパ球免疫治療を行っている。末梢血30ccよりFicoll-conray比重遠心法にて抽出し生理食塩水で洗浄した夫リンパ球 $4 \times 10^7 \pm 0.5 \times 10^7$ 個/mlを、非妊時に2週間隔で4回、妊娠初期に2回妻に皮内接種をする方法をとっている。その成果は、27組に施行し、21例が妊娠し、出産11例流産3例で、流産率は約14%と良好な結果を得ている。妊娠経過と出産様式、および出生児には特記すべき異常はない。この治療法はまだ確立はしていないが、現在のところ有効と考えられる。

III-30

ヒト卵巣におけるdopamineの免疫組織学的局在について

北海道大学医学部産婦人科学教室, 北海道大学獣医学部家畜解剖学教室*

○古田伊都子, 昆 泰寛*, 田中俊誠, 藤本征一郎

【目的】ヒト卵巣におけるdopamine(DA)の局在を明らかにする。

【研究方法】北大産婦人科において各種の開腹手術を受けた7例を対象とした。手術時に得られた卵巣の一部をブアン固定後にパラフィン切片を作成し、抗DA血清(2000~4000倍)を用いてPAP法により免疫染色した。コントロールには正常ウサギ血清(1000倍希釈)を用いた。なお、卵巣の一部を実験に用いることについては手術前にそれぞれの患者より同意を得た。

【結果】①対象とした7例中6例の卵巣において陽性反応が認められた。②閉経後2年経過している52歳の婦人においては陽性反応が認められなかった。③陽性反応の部位は内卵胞膜(3/6)、黄体細胞(2/6)、および卵細胞細胞質(1/6)であった。

【結論】DAが生殖年齢にある婦人の卵巣、ことに内卵胞膜および黄体細胞に存在することが初めて証明された。

III-31

多嚢胞性卵巣 (PCO) における aromatase および 17α -hydroxylase
の発現について

京都府立医科大学産婦人科

○田村尚也, 北脇 城, 大野洋介, 山本 宝, 岡田弘二

【目的】多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) の病態を理解する上で顆粒膜細胞における aromatase の欠乏または欠如の可能性が論じられている。そこで今回我々は抗 17α -hydroxylase polyclonal 抗体 (小南思朗博士供与) および抗 aromatase polyclonal 抗体を用い免疫組織学的に検討した。

【方法】内分泌学的に PCOS と診断され wedge resection により得られた卵巣組織片を上記抗体とそれぞれ incubate し, ABC 法にて染色の後, 観察検討した。

【結果】正常卵巣では aromatase は顆粒膜細胞に, また 17α -hydroxylase は卵胞膜細胞に局在した。PCO では顆粒膜細胞層が菲薄化していたが, 酵素の局在および染色性に変化はなかった。

【結論】PCO の卵胞膜細胞, 顆粒膜細胞においてそれぞれ 17α -hydroxylase, aromatase は正常に発現されていた。しかし, 顆粒膜細胞数の減少あるいは kinetical な変化による estrogen 合成能の低下の可能性は否定できないことが示唆された。

III-32

多嚢胞性卵巣症候群と糖代謝異常について

大分県立病院産婦人科

○宇津宮隆史, 岩里桂太郎, 谷口一郎, 溝口洋一,
貞永明美, 寺脇信二, 肥田木孜

(目的) 多嚢胞性卵巣症候群 (PCO) と糖代謝異常, インスリン分泌異常の関係を検討する。(対象) 内分泌学的に PCO と診断された 12 例, および高 LH 性無排卵症群 (高 LH 群) 8 例。(方法) PCO 群は 1) 無排卵症, 2) LH 高値, FSH 正常値, 3) LH/FSH 比 1 以上, 4) テストステロン (T) 値 50 ng/dl 以上とし, 高 LH 群は 1) 無排卵症, 2) LH 高値, FSH 値正常値 3) LH/FSH 比 1 以上, 4) T 値は正常域とした。また両群ともに肥満例は除外した。それらの症例に対し, 75 g 経口的糖負荷テスト (75 g GTT) を行い, 血中, 尿中糖, 血中インスリン値の測定を行った。その結果は日本糖尿病学会診断基準に従って分析した。(結果) PCO 群の平均年齢は 25.4 ± 3.6 歳 (mean \pm SD)、高 LH 群 29.0 ± 2.7 歳と高 LH 群がやや高かった。血中ホルモン値は LH は PCO 群 12.9 ± 5.0 , 高 LH 群 $10.9 \pm 2.3 \text{ mIU/ml}$, FSH は PCO 群 7.9 ± 1.9 , 高 LH 群 7.6 ± 1.6 , LH/FSH PCO 群 1.6 ± 0.3 , 高 LH 群 1.4 ± 0.2 といずれも差はなかった。血中 T 値は PCO 群 87.3 ± 32.2 , 高 LH 群 $32.3 \pm 7.2 \text{ ng/dl}$ と PCO 群が有意に高かった。GTT テストの結果, 高 LH 群は糖尿病型はなく, 境界型 1 例, 正常型 7 例であったのに対し, PCO 群では糖尿病型はなかったが, 境界型 9 例, 正常型 3 例と異常を認める例が多かった。またインスリン値の平均値は前, 30 分, 60 分, 60 分, 120 分値が PCO 群では $12.7 \pm 8.4, 94.7 \pm 68.4, 189.6 \pm 195.9, 100.5 \pm 61.3 \text{ uIU/ml}$ であり, この値は, 高 LH 群の $6.0 \pm 2.7, 40.5 \pm 9.0, 39.0 \pm 12.2, 38.5 \pm 14.0$ に比べ, 反応が著明に遅延し, 過剰に反応していた。以上の結果は PCO 群はインスリン抵抗性の存在が考えられ, さらにこれは高 LH 群には認められなかったことからみて, 高アンドロゲン血症と深い関係があることが推察された。

III-33

PCO患者におけるアンドロゲンと糖・脂質代謝

神戸大学医学部産科婦人科学教室

○ 猶原まゆみ、片山和明、山辺晋吾、阿江 孝、望月真人

〔目的〕多嚢胞性卵巣症候群(PCO)患者においては高アンドロゲン血症、高インスリン血症が特徴的であるが、これらに付随して脂質代謝の異常も予想される。そこで、今回われわれは、本症患者の糖・脂質代謝に検討を加えた。〔方法〕当科内分泌外来通院中の PCO患者16名を対象とした。患者は12時間絶食の後来院させ、肘静脈より血液を採取し、一部は直ちに糖、脂質の測定に供し、残りは血清分離、凍結の後ホルモンの測定に供した。脂質としては総コレステロール (T-Chol)、遊離コレステロール (F-Chol)、HDL-コレステロール (HDL-Chol)、 β -リポ蛋白(β -Lipo)、遊離脂肪酸 (FFA)、トリグリセリド (TG)などを測定し、ホルモンとしては、LH、FSH、E2、テストステロン (T)、DHA、DHAS、アンドロステンジオン (Δ^4 A)、IRI、GHなどを測定した。なおホルモンの測定はすべてRIAによった。〔成績〕①PCO患者における T-Chol、F-Chol、FFAの値は正常月経周期をもつ対照群との間に有意の差はなかったが、 β -Lipo、TG は対照群に比し PCO群で有意に高値であり、また HDL-Cholは PCO群で有意に低値であった。② PCO群におけるBody Mass Index (BMI)と脂質との関係を見ると T-Chol ($r=-0.72$)、F-Chol ($r=-0.69$)、HDL-Chol ($r=-0.78$)などは BMIといずれも強い負の相関関係にあったが、TG、FFAなどは有意差はないものの正の相関関係にあった。③BMIとT、DHAおよびIRIの間には有意差はないもののBMIが大であるほどアンドロゲンや IRIが高値となる傾向がみられた。④アンドロゲンと脂質との関係を見ると、Tと T-Chol ($r=-0.70$)、F-Chol ($r=-0.65$)、HDL-Chol ($r=-0.42$)とはいずれも負の相関関係にあったが、他のアンドロゲンとこれらの脂質の間には相関関係はみられなかった。〔結論〕PCO患者には糖代謝に加えて脂質代謝異常が存在し、この異常はアンドロゲン、中でも Tと密接な関係のあることが推測された。

III-34

ウシインヒビンの大量精製法の開発

群馬大学医学部産婦人科,* SRL 特殊検査部

○長谷川喜久・高木司*・福田正樹・屋内美津江・伊吹令人・五十嵐正雄

生殖生理学の分野における近年の最大のトピックはインヒビンの精製とその構造決定の成功であると考えられる。しかしながらその精製法がむずかしく、収率があまりにも低いため生理実験や抗体作成に供することができないため、その後の研究の進展が妨げられている。私共は1985年にブタ、続いて1986年にウシの卵胞液中のインヒビンを、種々のクロマトを駆使し精製することに成功した。今回はさらに単クローン抗体を用いた免疫吸着クロマトと多クローン抗体によるRIAにより簡便でかつ迅速なインヒビンの大量精製法を開発したので報告する。〔方法〕ウシ卵胞液1リットル (L)をMatrex Red Aカラム (9×30cm) にかき、洗浄後5Lの1M Urea、1.5M KClトリス緩衝液 (PH7.5) で溶出した。ウシインヒビンの α 鎖に特異的な単クローン抗体約0.5gを100mlのAffi-gel10と結合させた。このゲルを2.5×50cmのカラムに充填し、0.5M NaClトリス緩衝液に置換した。Matrex Red Aの溶出液を濃縮し緩衝液を交換した後にこのカラムにかき、0.1M glycine HCl 緩衝液 (PH2.0) でインヒビン分画を溶出した。濃縮後8M Ureaで一昼夜処理した後にSephacryl S200を用いてゲルロカを行なった。さらにインヒビン分画を逆相のHPLCで純化した。インヒビン活性の測定は多クローン抗体によるRIAと下垂体の単層培養法により行なった。〔結果〕1L中に含まれている immuno reactive (IR) インヒビンは10.13 μ gであった。各クロマトのIRインヒビンの収率はMatrex Red Aが83%、免疫吸着クロマトが89%であった。ゲルロカにより高分子のIRインヒビンを除いた時の収率が80%であった。この段階での全体の収率は約60%であり、蛋白質の殆んどがIRインヒビンであった。次にRP-HPLCにより生物活性を持つ32KDaのインヒビンと26KDaのインヒビン α モノマーを分離した結果、2.48 μ gの純化されたウシインヒビンを得ることができた。この32KDaのウシインヒビンはラットの下垂体培養法による測定の結果、強い生物活性を持っていた。

III-35

女性アルコール依存患者における内分泌動態と治療経過について

産業医科大学産婦人科

○石 明 寛
岡 村 靖

女性の社会的進出に伴って、女性のアルコール依存症が年々増加の傾向にある。このような社会事象は20才代から40才代の女性の間脳一下垂体-卵巢系への障害を惹起する恐れを有するものと考えられる。

今回、私たちは女性アルコール依存症11名(年齢構成29才~40才、年齢平均:36.0±3.8才)について内分泌学的検討を行なったのでその成績について報告する。

これら11名の患者の中、9名は入院治療を行なった女性アルコール依存症であり、2名は外来通院で挙児希望の女性アルコール依存患者であった。全例が第II度無月経を示し、入院の9名中5名は妊娠の既往があった。外来通院の2名は未産婦であった。これらいずれの症例も KAST、SAAST、DSM III などによるアルコール依存症診断基準を満していた。

血中 FSH、LH、PRL および E₂ の測定、そして LH-RH tect の成績から診断すると、hypergonadotropic hypogonadism を呈し、視床下部の高度の障害は否定された。

治療に関しては断酒および hMG-hCG 療法による排卵の回復経過について報告する。

III-36

各種排卵誘発法における血中 E₂ 迅速測定法の意義

順天堂大学医学部産婦人科学教室

○武内裕之、伊藤 茂、豊成由佳、飯田 信、伊藤 哲、福田 勝、高田道夫

【目的】排卵誘発のモニタリングに血中 Estradiol (E₂) の迅速測定法を用い、その有用性について検討した。

【対象と方法】当教室不妊外来を受診し、Artificial Insemination with Husband (AIH) 施行予定の患者のうち、自然周期群 (S群) 10例、clomiphen 群 (C群) 42例、hMG群 (H群) 40例を対象とした。血中 E₂ 値はチューブ固相法(日本DPC社)を用い、37°C 1時間の反応で測定した。各群ともに、経腔超音波検査(Aloka SSD 620)により卵胞径を計測し、S群、C群においては、酵素抗体法(エルモテック:持田製薬)により血中 LH 値の測定を行った。

【成績】排卵直前の血中 E₂ のピーク値は、S群では 163±14 pg/ml であり、C群では 573±46 pg/ml であった。C群における卵胞1個当りの E₂ 値は、N群よりも高い傾向が認められた。S群、C群では、E₂ 値は経腔超音波検査における排卵確認日の48時間前にピークをとり、24時間前には減少する傾向が認められた。両群における排卵の予測に E₂ ピークを用いた場合、その24~48時間後の排卵率は72%であった。一方、LHサージ(100mIU/ml以上)は排卵の24時間前に認められることが多く、その24時間後の排卵率は79%であり有意差を認めなかった。H群におけるHCGの切り替え基準は直径12mm以上の卵胞1個当りの E₂ 値が 150 pg/ml 以上で、leading follicleの直径が20mm以上のもとした。H群においては、HCG投与48時間後までに92%に排卵が認められた。また、HCG投与時における E₂ 値が、4000 pg/ml 以上であった7例にはWHO分類によるGrade 2以上のOHSS(Ovarian Hyperstimulation syndrome)を認め、うち2例は入院加療が必要であった。

【結論】排卵のモニタリングにおいて、血中 E₂ 迅速法による E₂ 値の測定は、H群におけるHCG切り替えの時期決定のみならず、S群、C群における排卵の予測、H群におけるOHSSの発生の子知に有用であると思われた。

III-37

EDFのブタ大卵胞由来培養顆粒膜細胞ステロイド産生に及ぼす影響

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○芝 徹, 田辺清男, 結城清美, 斉城綾子, 朴 俊英, 小林俊文
野澤志朗

【目的】Erythroid Differentiation Factor (EDF)は、Activinと同じ物質であり、卵巣内においてはautocrine作用を有している事が知られている。昨年我々は、ブタ小卵胞由来培養顆粒膜細胞のプロゲステロン(P)産生に及ぼすEDFの影響を検討し、報告した。そこで今回は、より発育した卵胞である大卵胞由来の顆粒膜細胞に対するEDFの影響を検討したので報告する。【方法】ブタ大卵胞(6-12mm)より顆粒膜細胞(GC)を吸引採取し、遠心して卵胞液を除去後、培養液(TCM 199+10% FCS)にてよく洗浄した。trypan blueにて細胞数をカウント後、培養皿に植え、LH 20 ng/ml, FSH 30 ng/ml, EDF 0, 30, 50, 100 ng/mlの割合で単独あるいは一緒に培養細胞に添加して、6日間培養した。medium changeは、2日毎に行い、2, 4, 6日後の培養液中のPをRIAにて測定した。【成績】EDFを単独でGCに添加すると、培養細胞数(^3H -thymidine uptake)並びにP値には何ら影響は認められなかった。FSH 30 ng/mlと共に添加すると、FSHによってP産生は有意に促進されたが、EDFを加えることにより濃度依存性にP産生は抑制された(コントロール群、FSH添加群、更にEDF 30, 50, 100 ng/ml添加群の順で、培養6日後のP値は237 ng/ml, 980, 593, 527, 399, であった)。LHを20 ng/ml添加することにより同様にP産生は促進されたが、EDFを加えることによりP産生は有意に抑制された。【結論】前回並びに今回の我々の成績より、EDFはブタ顆粒膜細胞においてはP産生を抑制することが明らかとなった。EDFはヒト赤芽球細胞の分化を促進する作用を有しているが、ブタ顆粒膜細胞においてはEDFは分化も増殖も促進しないことが強く示唆された。

III-38

顆粒膜-莢膜細胞相互作用によるホルモン産生分泌調節機構

○小辻文和*, 富永敏朗*, 長谷川善久**, 五十嵐正雄**

*福井医科大学産科婦人科, **群馬大学医学部産科婦人科

目的: 生体器官においては上皮細胞と間質細胞との相互作用が本来の組織構築と機能の発現維持に不可欠の要素とされる。我々は卵胞発育における顆粒膜(G)細胞と莢膜(T)細胞間相互作用の意義を知る目的でコラーゲン膜の両面にG・T両細胞を同時培養するsystemを考案、前学会ではG-T interactionが両細胞の形態と増殖の調節に与ることを報告した。今回は両細胞のホルモン産生・分泌能への影響を検討した成績を紹介する。

方法: コラーゲン膜の両面にウシG cellとT cellを同時培養し、10日目の培養液中Progesterone (P), Estradiol (E_2), Androstenedione (A-dione), Testosterone量をG cellあるいはT cellを単独で培養したControl群との間で比較した。

結果: (1)本実験条件下では E_2 は培養液中に検出できず、PはG cellの存在下、A-dioneとTestosteroneはT cellの存在下でのみ検出できた。(2)G cellのP産生能は単独培養群、両面培養群で各々 43.61 ± 2.42 および $17.33 \pm 0.40 \text{ ng}/1 \times 10^5 \text{ cells}/24\text{h}$ ($P < 0.01$)であった。(3)T cellのA-dione産生能は単独群、両面群で各々 174 ± 3 および $427 \pm 27 \text{ pg}/1 \times 10^5 \text{ cells}/24\text{h}$ ($P < 0.01$)であり、Testosterone産生能は各々 10.6 ± 1.4 および $15.8 \pm 1.4 \text{ pg}/1 \times 10^5 \text{ cells}/24\text{h}$ ($P < 0.05$)であった。

結論: (1)G cell, T cellのSteroid hormone産生能はG-T interactionの修飾を受け、(2)G cellのP産生能はT cellの共存により抑制されるが、(3)T cellのAndrogen産生能はG cellの共存により促進する。

考察: (1)両面培養群のP産生減少量はAndrogen産生増加量に比べ著しく大きく、P産生量低下はAndrogenへのconversionの結果ではなく、P産生能自体の低下に起因すると考えられる。(2)現在G cellのInhibin産生能をも検討中であり、あわせ発表の予定である。

III-39

卵巣顆粒膜細胞に対する血管収縮物質エンドセリン-Iの関与について

東京医科歯科大学産婦人科, 同 第二内科*

○鎌田周作, 久保田俊郎, 田口 誠, 西 望, 麻生武志,
平田結喜緒*, 丸茂文昭*

【目的】エンドセリン(ET)は、血管内皮細胞から産生される強力な血管収縮物質として知られている。我々は、ET-Iの妊娠各期における母体血中動態についてはすでに報告したが、今回、卵巣顆粒膜細胞に対するET-Iの関与について検討した。【方法】1) 正常周期婦人7名より、排卵前期と黄体期に採血した末梢静脈血中、並びにIVF-ET施行時の8症例19卵胞(卵胞径、15~28mm)より採取した卵胞液中のET-Iを特異的RIAにて測定した。2) 大, 中, 小卵胞由来のブタ顆粒膜細胞を卵胞液と共に採取し、 2×10^5 viable cell/well (ファルコン3047), $3 \sim 5 \times 10^7$ viable cell/bottle (ファルコン3084)となるように inoculate し、10% FCS加 DMEM培地を用いて細胞培養を行った。この培養系を用いて、48時間培養後の培養液中のET-Iを特異的RIAにて測定した。また、inoculate後6日目に、F-2000日立分光蛍光光度計を用いて、ブタET-I 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M各添加後の細胞内 $[Ca^{2+}]$ 濃度(Cai)をFura-2-AM法にて測定した。【結果】1) 正常周期婦人の排卵前期並びに黄体期中期の血中ET-Iレベルは、各々、 4.1 ± 0.3 , 3.8 ± 0.3 pg/ml (mean \pm S.E.M.)であり、両者に有意差はなかった。IVF-ET施行時のヒト卵胞液中のET-Iレベルは 6.6 ± 1.6 pg/ml (0.7~29.2)であった。2) ブタ培養顆粒膜細胞の培養液中ET-Iレベルは、 103.0 ± 11.1 pg/mlであり、かなりの高値を示した。ブタ顆粒膜Caiは、ET 10^{-7} M添加直後より急激に上昇し20秒でピークとなり2526 nMの変化を示した後、漸減した。ET 10^{-8} M添加後では同様の変化を示し、20秒後942 nMの上昇を示したが、 10^{-9} M添加後には変化がみられず、ブタET-Iは、容量依存性にブタ培養顆粒膜Caiを上昇させた。【結論】顆粒膜細胞からET-Iが産生分泌されている可能性が示唆された。また、ET-Iは顆粒膜細胞に対してCaiの変動を介し、局所因子として何らかの生物学的作用の発現に関与していることが示唆された。

III-40

Progesterone(P), Estradiol(E₂), P/E₂比の着床における意義について

杏林大学医学部産科婦人科学教室

○生方良延, 中村幸雄, 吉村泰典, 山田春彦, 吉田圭子, 南野智徳,
安藤 索, 鈴木正彦

(目的) 自然排卵非着床周期, 着床周期間, 及び非着床周期における黄体期前半のhCG投与, 非投与期間の血中Progesterone(P), Estradiol(E₂), 及びP/E₂比の経日的変動を比較し, 着床におけるこれらのパラメーターの意義及び黄体期前半におけるhCG投与の意義について検討した。

(対象及び方法) 自然排卵非着床周期22例, 着床周期15例を対象とし, 経日的に血中P, E₂値をRIAにて測定し, P/E₂比を比較した。また黄体期前半(+1, +3, +5 day)においてhCG5000 IU/day投与を行い非投与周期との比較検討を行った。

(成績) 着床周期, 非着床周期間の比較では, P, E₂ともに+5 dayの黄体期初期までは非着床周期の方が着床周期より高値を示した。しかし+10 day以降では着床周期の方が非着床周期より高値を示した。P/E₂比は+5 dayまでは非着床周期の方が着床周期より高値を呈したが, +6 day以降では着床周期の方が非着床周期より高値を示した。黄体期前半におけるhCG投与周期と非投与周期との比較では, Pは+4 day以降, E₂は+10 day以降hCG投与周期の方が非投与周期より高値を呈した。その結果P/E₂比は全黄体期にわたりhCG投与周期の方が, 非投与周期より高値を呈した。

(結論) 着床にとって, 黄体期前半のP, E₂値の高値は必ずしも必須のものではなく, 着床期中期以降のP/E₂比の高値が着床にとって適切な条件であると考えられた。この意味で黄体期前半のhCG投与は非投与周期よりP/E₂比の増大をもたらし, 着床にとって治療的效果を発揮するものと推論される。

IV-1

男子不妊症の精巣組織におけるDNA合成能の検討

東京大学泌尿器科：国武 剛、簗和田 滋、長瀬 泰、森山 信男、
篠原 充、東原 英二、阿曾 佳郎

【目的】男子不妊症の患者の睾丸生検材料で、精細管内精上皮細胞のDNA合成能を抗BrdU (Bromo deoxy-uridine) モノクロナール抗体を用いて、免疫組織学的に測定し、造精機能障害との関連性を検討した。

【方法および対象】無精子症5例(血清FSH高値2例、正常値2例、低値1例)、高度乏精子症2例に睾丸生検を行った。生検材料の一部を、人工血液(Fc-43emulsion, ミドリ十字)とBrdU液(ラジパッド, 武田)の混液に入れ、37℃で120分間incubationした。その後ABC法で染色し検鏡した。

【結果】生検精巣組織のうち、精細管内のSpermatogoniaの一部で、核にBrdU陽性所見がみられた。全精上皮細胞中におけるBrdU陽性細胞の割合は、3.6-17.3%であった。Sertoli細胞は染色されなかった。精上皮細胞のBrdU陽性率と精巣容積、血清LH、FSH、T値、精巣病理組織所見(Johnsen score)との関連性を検討したが、いずれも有意の相関はみられなかった。少数例の検討であるが、精巣容積とBrdU陽性率には関連性が示唆された。また、血清FSH正常例で陽性率が高い傾向が認められた。さらに症例を追加して検討を加えたい。

IV-2

特発性男子不妊症における精細管基底膜肥厚についての検討

名古屋大学医学部泌尿器科学教室
○高羽秀典, 長井辰哉, 辻 克和, 三宅弘治

【目的】特発性男子不妊症の精巣生検組織像において、精細管基底膜の肥厚は特徴的な所見の一つである。今回我々は、精細管基底膜の肥厚と特発性男子不妊症の病態との関連性を追求するために、精細管の光顕的基底膜の厚さと精液所見、精巣生検所見、および血清ホルモン値との関係を比較検討したので報告する。【対象】名古屋大学泌尿器科不妊外来を受診し、特発性男子不妊症と診断され精巣生検を施行された40例を対象とした。光学顕微鏡にて精細管基底膜の厚さを測定し、精細管基底膜の非肥厚群(16例)と肥厚群(24例)に分類した。【結果】精液所見については両群間に有意差を認めなかった。精巣容量は非肥厚群が 15.1 ± 6.40 ml、肥厚群が 12.1 ± 5.93 mlと肥厚群が有意に小さかった。またJohnsen's scoreは有意差を認めたが、Leydig cell indexは有意差を認めなかった。精細管の直径は非肥厚群が $156 \pm 19.5 \mu\text{m}$ 、肥厚群が $138 \pm 29.7 \mu\text{m}$ と肥厚群が有意に小さかった。精細管直径と基底膜の厚さの比(T/W比)は非肥厚群 24.1 ± 8.85 、肥厚群 11.0 ± 5.8 と肥厚群が有意に小さかった。血清ホルモン値との検討では、FSHは非肥厚群が 14.4 ± 8.76 mIU/ml、肥厚群が 27.0 ± 14.8 mIU/mlと、LHは非肥厚群が 16.0 ± 6.99 mIU/ml、肥厚群が 30.1 ± 25.5 mIU/mlと有意に肥厚群が高値を示した。しかしプロラクチン、テストステロン、FSH/LH比、テストステロン/LH比については有意差を認めなかった。さらに精細管基底膜の厚さと各パラメーターとの相関関係の検討では、精細管基底膜の厚さは精巣容量、Johnsen's score、精細管直径、T/W比と相関関係を認めた。また血清ホルモン値との検討ではFSHのみと相関関係を認め、他のホルモンとは相関を認めなかった。【まとめ】精細管の光顕的基底膜の肥厚が特発性男子不妊症における造精機能障害や血清ゴナドトロピンの異常に関与していることが示唆された。

IV-3

男性不妊症例の睾丸生検組織における造精機能に関する組織化学的検討

¹浜松医大・泌尿器科 ²東大医・泌尿器科

○大田原佳久¹, 山口安三¹, 鈴木和雄¹, 田島 惇¹, 河邊香月¹,
阿曾佳郎²

男性不妊症患者の睾丸生検組織を使用し、免疫組織化学的に精細管上皮細胞の BrdU (5-Bromo-2'-deoxyuridine and 5-fluoro-2'-deoxyuridine) の取込みを検討した。【材料と方法】男性不妊を主訴として受診し、診断、治療の目的で睾丸生検を行った組織を材料とした。対照として前立腺癌で睾丸摘除術を行った睾丸組織を用いた。新鮮睾丸組織片は直ちに BrdU を含む組織培養液中で 37°C、1 時間振盪培養した。その後 70% アルコール固定、パラフィン切片とし、抗 BrdU モノクローナル抗体にて免疫組織化学的に BrdU 取込み細胞の検出を行い、睾丸精細管上皮細胞の造精機能との関係を検討した。【結果】精細管上皮細胞の BrdU 取込み程度を多い方から高度、中等度、低度、陰性と 4 段階に分けて検討した。BrdU 陽性を示す細胞の局在は精細管基底部の精原細胞が主体であった。対照睾丸組織は高齢者のためその程度は様々であるが、H. E. 染色組織像で明らかに精子形成機能が良好な例では BrdU 取込み細胞の検出は高度であった。不妊症例の乏精子症例は対照造精機能良好例と比較すると、精細管上皮細胞は BrdU 取込みは全体に中等度であったが、H. E. 染色組織像で精細管基低膜の肥厚程度が低く、精細管の構造がよく保持されている症例では高度から中等度であった。無精子症例でも精細管上皮細胞の BrdU の取込みは中等度から陰性であることが多かったが、小数ではあったが BrdU 取込み高度を示した症例もみられた。【考案・結語】男性不妊症患者の睾丸生検組織に対し、免疫組織化学的に BrdU 取込み細胞の検出を行い、睾丸の造精機能を検討した。本法による BrdU 取込みの検出は、精子形成能とは直接関係無く精原細胞の増殖のみをみていると考えられる。しかし乏精子症例で精子数は少ないが精原細胞の増殖が旺盛な例では治療有効性が高いものと考えられ、乏精子症例の治療有効性の判断の一助になることが示唆された。

IV-4

特発性男性不妊症における精巣生検 61 例の検討

獨協医科大学病院泌尿器科 ○迎圭一郎・荒井哲也・金子克美・鈴木徹・高崎悦司
東京大学医学部付属病院分院泌尿器科 村橋 勲

(目的) 男性不妊症患者における精巣生検組織像と精液所見、血中ホルモン (LH, FSH, Testosterone)、治療効果の関係について臨床統計的観察を行った。(対象および方法) 対象としたのは、昭和 55 年 9 月から平成 2 年 7 月までの間に当泌尿器科を受診した特発性男性不妊症患者のうち、初診時の精子数が $60 \times 10^6 / \mu\text{l}$ 以下で精巣生検を受けた 61 名である。生検は、乏精子症に関しては通常右側精巣、無精子症は両側の生検を行い、標本はブアン氏液にて固定した。精巣標本の組織学的分類は Colgan らの分類に準じた。血中ホルモンの測定は RIA 法により行った。精液所見は精子数 $10 \times 10^6 \sim 60 \times 10^6 / \mu\text{l}$ のものを軽度乏精子症、 $10 \times 10^6 / \mu\text{l}$ 以下を高度乏精子症、精子の認められないものを無精子症とし、精子運動率が 60% 以下のものを精子活性低下とした。治療効果判定は寺田らの方法に準じた。(結果) 組織分類は normal 4 例、mild hypospermatogenesis 20 例、severe hypospermatogenesis 15 例、maturation arrest 9 例、Sertoli cell only syndrome 13 例で、また 9 例が両側精巣の生検を受けたがその組織像に左右差はなかった。精子数では normal と mild hypospermatogenesis において無精子症と乏精子症の比率は同じで、severe hypospermatogenesis では無精子症が乏精子症に比し約 2 倍の比率であった。Maturation arrest と Sertoli cell only syndrome ではほぼ 100% が無精子症であった。運動率が 60% 以上を示した症例は、normal と severe hypospermatogenesis で各 1 例、mild hypospermatogenesis で 4 例のみであった。血中ホルモン値は、Sertoli cell only syndrome において FSH が他と比し優位に高値を示した。治療効果は mild hypospermatogenesis において多く認められ、その治療法はすべて非ホルモン療法であった。以上につき他の組織分類法にて再評価を行いさらに検討を加える予定である。

IV-5

Sulfasalazine の雄性ラット妊娠性抑制作用に関する内分泌学的検討

山口大学医学部泌尿器科

○植野卓也, 石津和彦, 林田英嗣, 磯山理一郎, 馬場良和, 龍原博史,
酒徳治三郎

【目的】潰瘍性大腸炎の治療薬である Sulfasalazine (SASP) の男子妊娠性抑制作用の機序については未だ定説がなく, SASP 投与患者の Leydig 細胞への障害を示唆する報告もある。今回我々は, SASP の代謝産物である Sulfapyridine (SP) と, 5-Aminosalicylate (5ASA) の妊娠性抑制効果と下垂体-Leydig 細胞系に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】9週齢のSD系ラットを無作為に全12群に分類し, SASP相当量で体重1kgあたり1日50mg, 100mg, 200mg, 400mgにあたるSP, 及び5ASAを, 対照群には蒸留水を連日5週間経口投与した後, 雌ラットと交配させて妊娠率(胎児数/黄体数)を算定して比較した。雄ラットは交配終了後, 心臓採血して屠殺し, 精巣および精巣上体を摘出した。精巣組織に対しては組織学的評価とDNA解析を施行した。次にSASPの下垂体-Leydig細胞系に及ぼす影響を検討する目的で, 血清LH, FSH, Prolactin, Testosterone濃度をRIA(二抗体法)にて2重測定した。

【結果】SP投与群及び5ASA投与群ともに精巣及び精巣上体重量は投与量によらず対照群に対する有意な減少は見られず, 造精機能(平均精細管直径値, 精巣組織内Haploid cell比率)も各群間に有意な差は見られなかった。妊娠率においては, 5ASA投与群には有意な低下は見られなかったが, SPでSASP換算量200mg, 400mg/kg/day投与群において有意な用量依存的低下を見た。血清ホルモン濃度は, 妊娠性低下の見られたSP投与群においても顕著な変化を見ず, 組織学的にLeydig細胞等に顕著な変化を見なかった。

【結論】SASPの妊娠性抑制作用の主体はSPであり, SPは用量依存的に妊娠性を抑制するものの, 造精機能や下垂体-Leydig細胞系には抑制作用を示さなかった。

IV-6

X線照射により惹起した精巣障害に及ぼすメチルビタミンB₁₂の効果

帝京大学医学部 泌尿器科学教室 ○押尾 茂, 矢崎恒忠, 梅田 隆
エーザイ(株) 東京研究所薬理 尾崎 寛, 大川 功, 田島鉄弥
放射線医学総合研究所 生物研究部 山田 武
東京大学 教養学部 生物学教室 毛利秀雄

<序> メチルビタミンB₁₂(メコバラミン, 以下MBL)は, 乏精子症治療薬として注目され, 現在, 二重盲検試験が進行中である。MBLの造精機能に及ぼす影響は, 主としてアドレマイシン投与によって惹起した実験的造精機能障害動物を用いて検討が行われている。今回我々は, 精巣障害惹起法としてX線照射に注目し, マウス精巣にX線を照射して精巣障害を惹起し, その動物にMBLを経口投与して, 造精機能に及ぼす影響についての検討を行った。

<方法> ICR系8週齢の雄マウスを麻酔し, その精巣局部に4GyのX線を照射した。照射翌日よりMBLを体重1kgあたり, 0.01, 0.1, 1.0mg, 週6回経口投与した。対照には生理食塩水を投与した。また, 無処置群として, 麻酔のみを行ったマウスをおいた。照射後, 4, 6, 8週に頸椎脱臼死させ, 精巣重量, 精巣組織, 精巣上体尾部精子性状について検討を加えた。

<結果> 観察期間を通じて, 体重や一般状態に, 照射あるいはMBL投与による影響は認められなかった。投与開始後4週にMBL1mg/kg投与群で精巣重量の増加する傾向が認められ, 同時に, 精子性状(精子数, 運動率, 奇形率)の改善が観察された。6週目以降, 生食投与群の精巣重量は回復する傾向にあったが, 精子性状ではMBL投与群で生食群に比べて改善する傾向がみられた。精巣組織像およびパーコール密度勾配遠心法による精子密度分布分析の結果も併せて報告する。

<考察> 我々はすでにアドレマイシン投与やビタミンB₁₂欠乏によりマウスに造精機能障害を惹起し, それにMBLを投与して, MBLが造精機能賦活作用を持つことを報告している。今回は新たな精巣障害惹起法としてX線照射に注目し, MBL投与によって精子性状の改善を認めた。これらの結果より, MBLは乏精子症による男子不妊症治療薬として有用である可能性が示唆された。

IV-7

障害精巣におけるkallikreinのspermatogenesis回復促進効果

札幌医科大学 泌尿器科

斉藤誠一、南部明民、三熊直人、伊藤直樹、熊本悦明

kallikreinは男子不妊症治療薬として用いられているが、その作用機序としては精巣血流の増加と共に直接Sertoli細胞機能を刺激するとも考えられている。そこでその作用を確認するためにkallikreinが障害精巣の回復をいかに促進できるかを実験的に検討してみた。

【対象と方法】7週令S.D.ratに3週間、adriamycin 0.5 mg/kg 週3回腹腔内投与し、一過性の障害精巣を作成した。1週間の休薬後、生食投与のcontrol群、kallikrein 5 IU/kg 3/W投与（腹腔内）群、50 IU/kg 3/W投与群と3つの治療群に分けてfollow upした。その後、4, 6, 8週でsacrificeし、精巣の精子形成能を組織学的に検索した。なお、sacrifice 24時間前にbromodeoxy Uridine (BrdU)を投与することで、分裂した細胞にlabellingを行い、ABC染色の後、精細胞分裂能を検討した。

【結果と考察】① 精巣重量では3群間に差はみられなかった。② しかし、組織学的に精巣障害度をacrosomal spermatid数/Sertoli細胞数で比較検討したところ、4週目では群間に有意な差はないが8週目でkallikrein 5, 50 IU/kg投与群により大きな減少傾向を認めた。③ 一方、BrdU取り込みのある精細胞数の比較では、4週でkallikrein50IU投与群のみであるがcontrol群を有意($p < 0.05$)に上回った。④ BrdUの取り込まれたspermatogonia/Sertoli細胞の4週での比較ではkallikrein50IUと5IU投与群が有意に増加した。以上より、kallikreinには障害精巣の回復を促進する作用のあることが推測された。

IV-8

ヒト正常及び不妊精細管におけるカルモデュリンの局在に関する研究

名古屋大泌尿器科 ○辻 克和、長井辰哉、高羽秀典、三宅弘治

【目的】カルモデュリンはカルシウム結合蛋白のひとつで、カルシウム依存性の多くの細胞機能に介在することが知られている。また中枢神経系と並んで精巣では、カルモデュリン量が特に多いことが知られている。今回抗カルモデュリン抗体を用いて免疫組織化学的にヒト正常及び不妊精細管におけるその局在を比較検討した。【方法】男性不妊を主訴に名古屋大泌尿器科を受診し精巣生検を施行した43例(Hypospermatogenesis26例, Maturation arrest 4例, Sertoli-cell-only tubule12例, Hyalinized tubule 1例)を用いた。正常成年男子精巣組織5例を対照とした。採取後直ちにブアン液で固定、ウシ脳カルモデュリンより作成した抗ウサギカルモデュリン抗体を用いて間接法を行った。DABで発色し核染はヘマトキシリンで行った。【結果】正常精細管における染色性はspermatogonia・preleptotene primary spermatocyte(-), leptotene spermatocyte~early pachytene spermatocyte(±)~(+), late pachytene spermatocyte~round spermatid(++), sperm(±)~(-), Sertoli cell(+)であった。不妊精細管でも精細胞の染色性は正常と同じであったが、造精細胞の減少に伴いカルモデュリン強陽性細胞(++)の数は減少した。maturation arrest 4例のうちspermatocyte arrest 1例でカルモデュリン強陽性細胞が殆ど存在しないものがあった。Sertoli-cell-only tubuleではSertoli cellは強陽性であった。【考察】カルモデュリンは減数分裂に深く関わっていると考えられ、primary spermatocyteで染色性が異なることは、HE標本で区別のつきにくい減数分裂のstageの同定に有用である。特にspermatocyte arrestの一症例でカルモデュリンが殆ど染まらなかったことはlate pachytene以前のstageで成熟停止していると思われた。

IV-9

ラット精巣内におけるカルシニューリン（カルシウム・カルモデュリン依存性脱リン酸化酵素）について

○※杉元幹史、松井秀樹、江藤誠司、西尾 元、※竹中生昌、畠瀬 修
香川医科大学、第一生理学教室、※泌尿器科学教室

近年、C-Kinaseをはじめとする種々のリン酸化酵素が多くのホルモン産生や発現に関与していることがわかってきた。しかし、脱リン酸化機構の研究はほとんど進んでいないというのが現状である。反応系の恒常性維持のためにはswitch offの中心的役割を担う脱リン酸化酵素の作用は非常に重要と考えられる。

カルシニューリンは脳内に存在するカルシウム・カルモデュリン依存性の脱リン酸化酵素である。最近脳内以外の組織にもこの酵素のアイソザイムが存在することがあきらかとなった。これらの酵素がテストステロン産生や精子産生に関与しているといういくつかの報告もある。今回我々は、この酵素が、ラット精巣内に存在することを免疫学的手法を用いて初めて明らかにした。さらに、ラット精巣gene libraryから、抗カルシニューリン抗体を用いて、そのサブユニット遺伝子のクローニングを行った。また、カルシニューリンの精巣内における局在をあわせて報告する。

IV-10

実験的アルコール性精巣障害の光顕的、電顕的研究

慈恵医大・泌尿器科¹，富士市立中央病院²

○白井 尚¹，西田 篤¹，御厨裕治¹，池本 庸¹，小寺重行¹
町田豊平¹，羽野 寛²，上田正山²

〔目的〕過度のアルコール摂取は妊孕性のある成人男性において精巣障害を招く。そこで実験的アルコール精巣障害モデルを作製し、特にその精細管障害について光顕的、電顕的に形態学的検討した。

〔方法〕アルコール含有液体飼料（エタノールを飼料総カロリーの46%含む）を200g雄性SD系ラット11匹に7週間与え、屠殺。対照群にはisocaloricにpair feedingした10匹を実験に供した。麻酔下、両側精巣を摘出し、その一部をBouin液固定後、PAS-Hematoxyline染色、また一部は10%ホルマリン固定後、Sudan Black染色し、光顕的に観察し、障害部位、程度を組織定量的に検討した。さらに1mm角の組織片をリン酸緩衝液加グルタルアルデヒド及びオスミウム酸により二重固定し、エタノール系列で脱水、Epon樹脂包埋し超薄切片を作製、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色後、JEM-120EX透過型電顕で観察した。なお、電顕標本作製の際のtoluidine blue染色の標本も光顕的に観察し、比較検討した。

〔結果〕光顕的に精細管直径、精細管内総細胞数ともに有意にアルコール投与群で低値を示した。しかし、明かな未熟精細胞（精祖細胞、一次精母細胞）の変性、消失は認めなかった。また電顕的には、アルコール投与群でSudan Black染色で脂肪と確認できなかったものの、Sertoli細胞細胞質内の基底膜より対照群より明らかに大きな脂肪滴様沈着を認めた。さらに精細管壁では基底膜においてinfoldingや多層化、蛇行がみられ、固有層では膠原繊維の増生がみられた。

〔考案〕アルコール性精巣障害における精細管の変性は精細管壁から起こり、続いてSertoli細胞に変性が起き、最終的に精細胞障害が引き起こされるものと推定された。Sertoli細胞細胞質内の大きな脂肪滴様沈着は実験的停留精巣や薬剤性精巣障害でも認められ、外因性障害の共通した所見と思われる。

IV-11

ウサギ実験的精索静脈瘤の外科的修復

鳥取大学医学部泌尿器科

ニコラオス ソフィキティス、高橋千寛、中村勇夫、嶋本司、宮川征男

〔目的〕精索静脈瘤下の精巣機能改善を目的とした外科的修復の有用性とその病態生理について検討するため以下の実験を施行した。

〔方法〕18匹の兔に左腰精巣静脈(LLT)を部分的に結紮することにより精索静脈瘤を作成した。コントロール群として4匹の兔に開腹術のみを施行した(A群)。6週後9匹に対し、拡張した左精巣静脈(LTV)をLLT合流部直前で結紮切断して外科的修復術を施行した(B群)。残り9匹は無治療群とした(C群)。精索静脈瘤作成手術から3ヶ月後、各群において、両側精巣内及び腹腔内温度、HCG 5000IU投与前及び投与3.5時間後の血中テストステロン値、精液量、精子濃度、精子運動能を測定した。A群とC群においては、LTVより採取した血中のピルビン酸、乳酸濃度を測定した。またその後屠殺し、左右の精巣重量を測定した。

〔結果〕C群とA、B群間では、精液量、HCG投与前テストステロン値、左右精巣重量には有意差を認めなかった。しかし、C群の精子濃度、精子運動能、HCG投与後テストステロン濃度、腹腔内温度に対する両側精巣内温度比は、A群、B群に対し有意に低かった。またピルビン酸、乳酸濃度は、C群においてA群よりも有意に低下していた。

〔考察〕以上より、精索静脈瘤においてはHCGに対する精巣のLeydig細胞の反応性が障害されており、また糖代謝系が変化していることが示唆された。さらに本実験モデルにおいては外科的修復が精巣機能の改善に有用であると考えられた。

IV-12

アンドロゲン不応症における Androgen receptorの分子生物学的検討

兵庫医科大学 産科婦人科

○霞 弘之、沢井 英明、小森 慎二、山崎 則行、磯島 晋三

Androgenは、男女の分化誘導に強い影響をあたえている。このホルモンが正常に作用しない疾患の中に、遺伝的には46XYであるのに表現型が全く女性であるアンドロゲン不応症と呼ばれる疾患がある。原因の1つとして Androgen receptor (AR)の量的、質的異常が指摘されている。最近LUBAHNらは、AR遺伝子の point mutationにより、この疾患が引き起こされることを報告した。ARは他のステロイドホルモンレセプターと同じくN末端ドメイン、DNA結合ドメイン、ヒンジドメイン、ステロイド結合ドメインより成る蛋白である。またARゲノム遺伝子は、AからHまでの8つのエクソンより構成されている。今回我々は、アンドロゲン不応症の患者で testosterone 高値であり、ホルモンレセプター結合能が低下を示した症例について検索を行なった。患者の線維芽細胞よりDNAを抽出し合成した primer を用いて polymerase chain reaction法により、ステロイド結合ドメインを中心に各エクソンを増幅分離し、M13にクローニングし、シーケンシングを行なった。

その結果、患者のDNAでは、ステロイド結合ドメインを構成するGエクソンに異常が認められた。つまり13番目のグアニンがシトシンに変異していた。この変化により、本来は親水性アミノ酸であるグリシンが、疎水性アミノ酸であるアラニンに置換され、その結果ホルモン結合ドメインの高次構造に変化をきたし、アンドロゲン結合活性が低下したものと思われる。

我々の見出した異常は、すでにLUBAHNらが報告している point mutation の部位とは異なっており、第2の新たな point mutation の部位を発見したことになる。

IV-13

最近1年間に睾丸摘出術を行った睾丸女性化症候群の3例
—手術所見を中心として—

広島大学医学部産科婦人科学教室

熊谷正俊、児玉尚志、竹中雅昭、上田克憲、大浜紘三、藤原 篤

睾丸女性化症候群では、年齢とともに精巣の悪性化の頻度が上昇し、MorrisとMaheshは30才以上の本症の22%に悪性腫瘍化がみられたと報告している。したがって、本症では、睾丸摘出術が必要となるが、患者が思春期の女性であるため手術の同意を得ることは必ずしも容易ではなく、また、その実施に際しては時期、美容的術式などの点に留意する必要がある。

今回我々は、平成元年以降3例の睾丸女性化症候群に対して睾丸摘出術を施行したので、その概要を報告する。3例の手術時年齢はそれぞれ16才、24才、25才であり、いずれも鼠径ヘルニア手術の既往があった。16才の例では、腹腔鏡により両側の精巣がともに腹腔内にあることが確認されたため、Pfannenstiel横切開にて開腹し、両側精巣(12g, 14g)を摘出した。24才の例では、両側の精巣を鼠径管内に触知したため、ヘルニア手術の癒痕に一致した小切開を加え、両側精巣(20g, 30g)を鼠径管から引き出した後、摘出を行なった。25才の例では、腹腔鏡下では大網の癒着のため左精巣の有無が確認できなかったため、Pfannenstiel横切開にて開腹し、内鼠径輪付近にあった右精巣(10g)を腹腔側から摘出した。なお、左精巣は鼠径ヘルニア手術時に摘出されていたことが判明した。

摘出した精巣では、いずれも、精細管にSertori cellのみを認め、精子形成は認められなかった。また、間質にはLidig cellの増生が認められた。いずれも悪性所見は認められなかった。

術前→術後の血中テストステロン値は、それぞれ8.0ng/ml→0.6ng/ml、16.0ng/ml→0.5ng/ml、4.0ng/ml→0.2ng/mlといずれも術後、正常女性の値まで低下した。

IV-14

停留睾丸に合併する副睾丸形態異常の臨床並びに実験的検討

獨協医科大学越谷病院 小児外科

○土屋博之、長島金二、川満富裕、杉山直史、小笠原忠彦、
大橋 忍、山形健一、小川由紀、根本貴史

〔目的〕停留睾丸(以下本症)に合併する副睾丸形態異常は、将来の妊孕能力にかかわる重要な合併奇形でありながら、それに関する詳細な報告は少ない。今回、新たな肉眼的副睾丸形態異常分類を提唱し、自験症例246例を分析、さらにその治療法についても実験的検討を加えたので報告する。

〔結果および考察〕

I. 本症に合併する副睾丸形態異常の新たな肉眼的分類を行った。つまり無形成Agenesis、接合異常Disconnection、分離Discontinuity、固定異常Abnormal attachment並びにループ副睾丸Loop epididymisと大きく5つに分類し、さらにDiscontinuityをmidとtailの2つに、又Abnormal attachmentをheadとtailの2つに分ける分類法である。

II. この分類法に従い本症246例を検討すると、副睾丸形態異常を認めた症例は47例19%で、その内訳は重複例を含め、Disconnection 3睾丸、Discontinuity 2睾丸、Abnormal attachment 39睾丸、又Loop epididymis 14睾丸を認めている。

III. これらの副睾丸形態異常のうち特にDisconnectionにおける手術法を、成熟ラットを使用し検討した。つまり、睾丸・副睾丸接合部を一旦切離した後に、顕微鏡下に再縫合(epididymo-testiculostomy)を行い、その妊孕能力、睾丸形態の変化、並びに手術前後の血清テストステロン値の変化を検討した。17例の実験では9例53%に妊孕能力が認められたが、術後長期の17例ではその妊孕能力は無くなり、又術後2ヶ月の剖検では程度の差こそあれ睾丸萎縮、並びにテストステロン値の低下を認めた。

以上、停留睾丸に合併する副睾丸形態異常分類と治療法について述べたが、今後、特にDisconnectionにおける手術方法や手術時期並びに手術効果について、更に実験的検討を加えたい。

IV-15

精索静脈瘤の手術治療成績の検討

神戸大学医学部泌尿器科

○林 晃史、今西 治、奥田喜啓、篠崎雅史、
中川泰始、岡 伸俊、松本 修、守殿貞夫

精索静脈瘤は、男性不妊の主要な原因の一つであると考えられている。その障害発生機序に関しては不明な点も少なくないが、内精静脈高位結紮術等の治療法により、精液検査所見の改善等の有用性が示唆されている。今回我々は最近9年間の男性不妊専門外来における精索静脈瘤症例についての手術治療成績を中心として、臨床統計的検討を行ったので報告する。

【対象】 1980年1月～1988年12月までの間に、当科男性不妊専門外来を受診した男子患者3071例のうち、精索静脈瘤と診断された642例(20.3%)である。

【方法】 精索静脈瘤と診断された症例のうち、手術施行例と非施行例につき、その精液検査所見の改善度、妊娠率等を比較検討した。

【結果】 初診時年齢は21～55才(平均33.0±4.2才)であった。患側は左側593例(92.4%)、右側5例(0.7%)、両側44例(6.9%)であった。初診時精液検査ではAzoospermiaが59例(9.1%)、Oligozoospermiaが68例(10.6%)、Oligoasthenozoospermiaが270例(42.1%)、Asthenozoospermiaが118例(18.3%)、Normozoospermiaが111例(17.3%)であった。これら症例のうち精液検査所見に異常を認めた症例を中心に248例(38.6%)に対して積極的に内精静脈高位結紮術を施行した。手術施行例では非施行例に対して精液検査所見において改善を認め、特に精子濃度 5×10^6 /ml未満の症例では手術施行例と非施行例との間に有意差を認めた。

以上の詳細を報告するとともに、妊娠成立との関係についても報告する。

IV-16

男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績

滋賀医科大学医学部泌尿器科 ○石田 章、友吉唯夫

【目的】 昨年の不妊学会において滋賀医科大学泌尿器科不妊外来における10年間の男子不妊症の臨床統計を報告し、その中で精索静脈瘤に対する高位結紮術施行症例群が、薬物治療群にくらべ有意に高い妊娠率を得ることができたと発表した。一般に高位結紮術後は精子濃度、運動率ともに改善するといわれておりそれが妊娠に密接に関与しているとも報告されている。今回、精索静脈瘤の手術成績について、妊娠群と非妊娠群に分け、どのような因子が妊娠成立に関与しているのかを明らかにするためにこの2群について統計的に比較検討をおこなった。【対象・方法】 1979年より1989年までの11年間に不妊を主訴とした精索静脈瘤を有する乏精子症患者に対して、高位結紮術を行い、術後少なくとも4ヵ月経過観察のできた40例を対象とした。妊娠群・非妊娠群で、年齢・不妊期間・手術前後の精液検査(精液量・精子濃度・運動率)について、また、術後の精液検査は術後4～12ヵ月の平均値を用いた。)・精巣容量・術前血清LH・FSH・テストステロン・プロラクチンを比較検討した。【結果】 40例中妊娠例は15例(37.5%)であった。妊娠群と非妊娠群とを比較すると、年齢、不妊期間、Grade、精巣容量、血清LH、FSH、テストステロン、プロラクチン値に差を認めなかった。術前の精液検査は、妊娠群で精液量4.1ml、精子濃度 7.9×10^6 /ml、運動率56%、非妊娠群では、精液量4.1ml、精子濃度 8.7×10^6 /ml、運動率33%であり、妊娠群の方が運動率において有意に高値であった。術後の精液検査は妊娠群で精液量4.7ml、精子濃度 22.8×10^6 /ml、運動率57%であり、非妊娠群では精液量4.2ml、精子濃度 16.2×10^6 /ml、運動率42%であった。妊娠群では精液量、精子濃度が術前よりも有意に増加したが、精子運動率は不変であった。非妊娠群でも精子濃度は術前よりも有意に増加したが、精液量、運動率では有意差は認めなかった。従って、術前より運動率のよい症例が成績が良好で、精子濃度の改善および精液量の増加が妊娠に関与したと思われる。

IV-17

男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績

名古屋大学医学部泌尿器科, *岐阜県立多治見病院泌尿器科

○坂田孝雄, 長井辰哉, 高羽秀典, 平田能史, 金城 勤*, 三宅弘治

〔目的〕我々は男子不妊症の外科的治療法としての精索静脈瘤の手術効果を第30回および第33回の当学会で報告してきた。今回、当教室における不妊を主訴とした精索静脈瘤症例に対し、手術後の長期経過観察のための予後調査を行ない、その長期成績につき臨床的検討を試みた。

〔対象〕患者は、昭和56年11月から平成元年12月までの9年間に名古屋大学泌尿器科にて精索静脈瘤根治術を施行した106例である。手術時の患者の年齢は23歳より46歳までで平均32.8歳(SD; 4.5)であった。〔手術方法〕106例のうち、最っとも多ク行なわれた方法は、Olson-Stone根岸の変法で62名に、Palomo法は43名に、精巣静脈塞栓術は1名のみに行なわれた。

〔結果〕平成2年7月15日現在、106名のうちアンケートが回収され予後調査が可能な症例は、64名であった(尚現在、アンケートが回収されつつあり、検討症例の増加する可能性あり)。AIHによるもの6名を含め26名で妊娠を認めた。妊娠率40.6%。23名は出産、1名は現在妊娠継続中。残り2名は流産した。手術日から初回出産日までの期間は平均2.41年(SD; 1.31)であり、3年以内の出産が18名(78.3%)であり、最長は、6.56年であった。手術術式による妊娠は、Olson-Stone根岸の変法で、33名中15名(45.5%)、Palomo法で30名中10名(33.3%)、塞栓術で1名中1名(100%)であった。

IV-18

当科における開院以来10年間の男性不妊の臨床統計

富山医科薬科大学泌尿器科学教室

○里見定信, 風間泰蔵, 寺田為義, 布施秀樹, 片山 喬

〔目的〕近年男性不妊患者は増加傾向にあり、当院泌尿器科においても同様である。当科におけるここ10年間の男性不妊患者の臨床統計を行ない若干の知見を得たので報告する。

〔対象と方法〕1979年10月の富山医科薬科大学附属病院泌尿器科開設以来、1989年12月までに当科を受診した男性不妊患者884名を対象とした。これらにつき、初診時年齢、不妊期間、原因疾患等について検討した。治療は、薬物療法として、(I)非内分泌療法(カリジノゲナーゼ, メコバラミン, 補中益気湯)(II)内分泌療法(クエン酸クロミフェン, HCG+HMG)を行なった。手術療法としては、精索静脈瘤に対する内精静脈高位結紮術や精路通過障害に対する精管精管吻合術等を行なった。なお治療効果は、治療後3カ月の時点で判定し、妊娠の有無については、アンケートにて調査を行なった。

〔結果〕初診時年齢は、22歳~52歳、平均32.3歳であり、30歳~34歳にピークがあった。不妊期間は、4ヶ月~20年、平均4.5年であった。原因疾患としては、精索静脈瘤が165例、20.5%を占め、その他性染色体異常、精路通過障害、低ゴナドトロピン性性腺不全症があったが、原因不明のいわゆる特発性のものが581例、69.2%と最も多くを占めた。治療別の有効率と妊娠率は、薬物療法ではそれぞれ、カリジノゲナーゼ35.5%、12.9%、メコバラミン24.6%、8.9%、補中益気湯20.0%、0%、クエン酸クロミフェン15.1%、5.8%、HCG+HMG 0%、0%であり、非内分泌療法の方の方が良好であった。一方、精索静脈瘤手術では、それぞれ46.7%、33.3%であり薬物療法に比し、優れていた。

IV-19

閉塞性無精子症に対する人工精液瘤の経験

川崎医科大学 泌尿器科 河原 弘之, 田中 啓幹
松村総合病院 泌尿器科 木内 弘道

男子不妊症の原因として、精路通過障害は不妊患者の約10%といわれ、その40~50%が先天性精管欠損症であるとされる。従来これらに対する治療はなかったが、最近では人工精液瘤の造設による治療が試みられ、妊娠成功例の報告もきかれるようになってきた。今回、我々も先天性精管欠損症を含む12例に対し、延べ19回人工精液瘤の造設を行なったのでその経験を報告する。《対象および方法》対象は先天性精管欠損症8例、精巣上体管閉塞2例、Young症候群、脊椎損傷が各々1例であった。年齢は26歳~39歳、不妊期間は1年~12.5年であった。人工精液瘤の初回手術はGore-tex 1例、Wagenknecht 1例であり、残り全例に昭和式人工精液瘤を造設した。手術は、精管につないだ1例を除き全例精巣上体に microsurgery 下に造設した。精巣上体管は初期には8-0~10-0 Ethiconにて3~4本開いていたが最近では術中に精巣上体をよくマッサージし、最後まで精巣上体液の流出の見られる1本のみを開いている。《結果》手術時間は、初期には3時間前後かかっていたが、最近では2時間以内に終わることが多くなってきた。また、全例術後の穿刺において精子の出現が認められたが、手術方法の改善前では精子数 $0.01 \sim 7 \times 10^6/ml$ 、運動率0~52%であったものが改善後は精子数 $52 \sim 126 \times 10^6/ml$ 、運動率8~24%と著明に精子数の改善を見た。穿刺可能期間は1~12か月であり、洗浄液はAIHに供する際はHAM F-10を使用し、その他の際はウロキナーゼを用いることにより穿刺期間の延長を見た。《考案》今回の対象症例中残念ながら妊娠成功例は見られなかったが、以下の疑問および問題点を感じた。(1)術中には、運動精子は多く見られるのに対し、なぜ穿刺液中には少ないのか。(2)それは、graftの材質に問題があるのかまたは装着部位が精巣上体の頭部や尾部であるため epididymal maturation が起こらないためなのか。(3)採取した精子の運動率を高める方法はないのかである。

IV-20

腹腔鏡下内精血管高位結紮術の経験

京大泌尿器 ○松田公志, 堀井泰樹, 吉田 修

【目的】精索静脈瘤の手術は種々の術式が報告されてきたが、われわれは腹腔鏡を用いた内視鏡手術を行い、その有用性と問題点を検討したので報告する。

【対象】27歳から37歳(平均32.0歳)の不妊症を主訴とする10症例。不妊期間2年から10年。両側性2例、左側のみ8例。精液所見は、乏精子症4例、無力精子症4例、正常2例。

【手術方法】全身麻酔下、CO₂による気腹のもと、臍直下より ϕ 5mmの腹腔鏡で腹腔内を観察、内鼠径輪より約3cm頭側、外腸骨動脈の外側、腰筋上の内精血管を確認する。恥骨上4~5cm正中より ϕ 11mmの外套管を挿入、内視鏡用鉗を用いて内精血管に添って腹膜を約1cm切開し、Ethicon社製クリップを用いて内精血管を腹膜と共にクリッピングする。

【結果】10例中8例で内精血管のクリッピングが行えたが、2例では気腹に際し腹膜外気腫が生じ腹腔鏡操作が行えなかった。8例のうち、手術直後の1例を除く7例でドップラーにて血液の逆流は消失、5例で精液所見が改善した。術後に精巣萎縮、陰嚢水腫などをきたした症例はない。

【考察と結論】①腹腔鏡を用いた内精血管高位結紮術は、1cm以下の小切開で手術可能であり、特に両側性精索静脈瘤の症例では有用性が高いと思われる。②気腹に用いるガスの選択、麻酔法の選択、手術器具(特にクリップ)の開発などにより、より安全で侵襲の少ない手術として発展が期待される。③特に腹壁の厚い症例では、気腹に際し腹膜外気腫に留意すべきである。

IV-21

AIH施行214例に関する不妊因子からみた統計的検討

名古屋大学医学部分院産婦人科¹、名古屋大学医学部産婦人科²、名古屋大学医療短大³
前田修¹、稲垣資郎¹、柴田均¹、中村潔史¹、近藤育代¹、大沢政巳¹、
成田收¹、中西勉²、山口一雄²、菅沼信彦²、友田豊²

【目的】AIHは一般に性交及び射精障害のある例、精液性状の悪い例、性交後試験（PCT）異常例、長期不妊例で適応となるが、実際に治療中の患者は他の不妊因子も重複することが多いため、AIHの治療効果だけを反映しているものではない。そこで他の不妊因子やその治療の影響も加え当科のAIHの成績を検討した。【対象及び方法】平成元年1月から12月までに名古屋大学医学部附属病院分院産婦人科にてAIHを施行した214例について検討した。AIHは80%パーコールを使用した連続密度勾配法にて得られた濃縮精子を使用し、主に超音波断層法により排卵日を推定し施行した。女性因子に関しては、子宮卵管造影法、超音波断層法、Laparoscopy、各種ホルモン測定などにより評価を行った。【結果及び考察】全症例のうち妊娠したのは34例（15.9%）で、原発性不妊169例（79.0%）中妊娠21例（12.4%）、続発性不妊45例（21.0%）中妊娠13例（28.9%）であり続発性で妊娠率が高かった。男性因子のある症例は121例（56.5%）で妊娠は19例（15.7%）、うち女性因子の重複するものは80例（66.1%）で、その中で妊娠したのは11例（13.8%）、そのうち女性因子に対する治療が有効で妊娠したと推察される症例は9例あった。男性因子のみで女性因子のない症例は41例（33.9%）で、妊娠は8例（19.5%）と女性因子のある症例より高率であった。PCT異常は45例あり妊娠は9例（20.0%）であった。男性因子がなくPCT異常もない症例は75例（35.0%）で、うち女性因子のみ存在する60例（80.0%）に対し女性因子を治療した後にAIHを施行したところ7例（11.7%）が妊娠し、女性因子もない原因不明不妊は15例中3例（20.0%）が妊娠した。以上の結果より、男性因子に女性因子が合併する症例に対しては、AIHと平行して女性因子に対する治療を十分に行っていくことが重要であり、逆に女性因子の治療のみで妊娠しない症例に対しては、男性因子を合併していなくてもAIHを併用していくことが有効であると思われる。

IV-22

当科における不妊症外来の現状

信州大学医学部産科婦人科学教室

○吉沢 徹，吉川文彦，中山邦章，塚本隆是，福田 透

当科における不妊症患者の実態を把握し、その背景因子および治療成績について検討を行った。対象は、昭和62年6月から平成2年6月の間に当科不妊症外来を受診した患者233名。うち原発性不妊は169名（72.5%）、続発性不妊は64名（27.5%）。平均年齢は30.2才。平均不妊期間は3.5年。年度別の検討では、年齢及び不妊期間に有意差は認められなかったが、受診患者数は年々増加傾向にあり、また既往に不妊治療歴のある患者の増加が認められた。原因別に検討すると、排卵障害23.6%、男性因子19.7%、卵管通過障害13.7%、高プロラクチン血症12.9%、子宮因子8.6%、機能性不妊15.5%であったが、超音波断層法や腹腔鏡検査などが日常的に診断に利用されるようになって、前述の他にLUFや子宮内膜症が不妊原因として見つかることが多くなり、原因の多様化の傾向が認められた。また、原発性不妊の原因として排卵障害が多く、続発性不妊では卵管因子に原因がある場合が多かった。受診患者のうち68名（29.2%）が妊娠し、排卵障害が原因である患者に最も高い妊娠成功例が得られた。また、原発性不妊と比較して続発性患者の方が妊娠率が有意に高い傾向にあった。当科で管理し得た50の妊娠例（現在妊娠継続中者は除く）の転帰は、正期産31例（62%）、早産4例（8%）および流産11例（22%）であり一般妊娠例と比較すると流産例が多い傾向にあった。また、不妊治療により妊娠に至った症例のうち、約5割は妊娠中に出血などの訴えがあり入院治療を必要とした。

IV-23

不妊症の臨床統計
10年前との比較検討

西恵会 西川婦人科内科クリニック

○中村亨史 下山勝巳 栗林裕之 西川 潔

不妊症の統計に関する報告は多数あるが、研究者間で必ずしも一致せず、その違いは各医療施設の特異性や、地域的、時代的背景によると思われる。今回我々は、1988年以降の当院受診不妊患者1000例（うち妊娠500例）について統計し、10年前に行った統計（第24回日本不妊学会にて報告）と比較検討を加えた。また妊娠例について分析し若干の知見を得たので報告する。

前回の統計と比較して、1) 不妊患者の受診時年齢及び不妊期間に関して、10年前では、30才以上が51%、不妊期間5年以上が47%と比較的高齢受診、長期不妊が特徴であったが、今回の統計では、20才代が56%、不妊期間4年以内が71%と受診患者の若年化が認められた。2) 続発性不妊患者の既往妊娠を分析したところ、流産率が44%から52%に増加しており、人工妊娠中絶例も29%から32%に増加し依然多く認められた。3) 不妊因子の分析では、頸管因子が16%から33%に、排卵因子が22%から37%に増加しており、逆に卵管因子が31%から19%に、子宮因子が13%から2%と減少していた。4) 既往歴としては、虫垂炎が12%で依然として最多であった。5) 精子数においては、5000万/ml以上が76%から68%に減少し、活動精子数も4000万/ml以上が61%から50%に減少し、悪化傾向が認められた。

妊娠例の検討において、1) 不妊因子に関して、頸管因子を比較的多く認めた。2) 活動精子数においては、6000万/ml以上を多数認めた。3) 既往妊娠においては、人工妊娠中絶例が比較的低率であった。

IV-24

当科における体外受精胚移植法の成績

京都府立医科大学産婦人科

○大野洋介, 田村尚也, 北脇 城, 北川一郎, 福岡正晃, 岡田弘二

昭和63年11月から平成2年3月までの当科における体外受精胚移植の成績について報告する。対象症例は51例で、その内訳は卵管因子によるものが27例と最も多く、続いて男性因子(乏精子症, 精子無力症)10例, 原因不明9例, 免疫因子(抗精子抗体保有婦人)3例, 卵管因子を伴わない初期子宮内膜症2例であった。これらの症例のうち39例(76%)は体外受精胚移植実施前に当科にて腹腔鏡検査をおこなっている。95周期における総吸引卵胞数は772, 総採卵数は439(採卵率は57%)であった。採卵された卵で受精成立をみた卵は165(受精率38%), 卵割にいたった卵は144(卵割率33%), うち125の胚が移植された。採卵周期95周期のうち58周期に胚移植が実施された(移植率61%)。採卵率は不妊原因別に大きな差を認めなかったが、受精率では卵管因子群で53%の受精率に対し男性因子群ではわずかに6%の受精率しか得られなかった。さらに胚移植周期率(移植周期/採卵周期)は卵管因子群で80%と高く、男性因子群ではわずかに21%で、かつ平均移植胚数もそれぞれ2.2, 1.3と大きな差が認められた。症例の年齢増加は採卵率や受精率の低下をきたし、この結果妊娠率の低下をきたしていた。妊娠成立8例のうち7例が卵管因子による不妊症で、残る1例は抗精子抗体保有婦人であった。卵管因子群での妊娠率は移植周期あたり17%, 採卵周期あたり14%, 症例あたりでは26%であった。卵管因子にかぎってみれば移植胚数の増加は妊娠率を高めているようであった。妊娠例で分娩に至ったものが3例, 妊娠継続中が2例でこれらはすべて単胎妊娠(多胎率0%)で、分娩例はすべて正期産, 経膈分娩にて正常新生児を得ている。流産は3例で、流産率は38%であった。

IV-25

接着剤（フィブリン）を使用した 微小血管吻合及び
ハムスター子宮吻合の実験的研究

○ カーネギー産婦人科 印 牧 義 孝

研究目的 いかなる動物実験も常に臨床へ Feed back されねばならない。婦人科マイクロサージャリーの基本的手技は、微小血管吻合の練習を徹底的にすべきであると演者は常に強調してきた。医学の進歩と共に、接着剤が開発され、それを応用し、臨床に如何に貢献しているか否か、接着剤を使用した実験を行い、いささか新知見を得たので報告する。

実験方法 ① rat の腹部大動脈の血管吻合を従来の方法と、接着剤を使用した方法とを比較した。

② ハムスターの子宮を横切開後、11-0 2針又は3針にて縫合し、その間を接着剤で完全吻合し、術後1週で交尾させ、子宮破裂せず正常分娩するか観察した。

成績 a) rat の腹部大動脈 11-0 2針法、3針法後、その間をティシール使用により、全例100%吻合に成功した。

b) ハムスターの子宮横切開 11-0 2針、3針縫合後ティシール接着吻合して、術後1週で交尾させ、子宮破裂することなく3週後六匹の正常産を得た。

結論 従来の方法、即ち接着剤を使用しない方法より、接着剤使用により、血管吻合は手術時間的にも短縮され、全例100%吻合可能にした。ハムスターの子宮横切開、ティシール使用後妊娠させ、子宮破裂もなく分娩可能であった。

以上の実験より、卵管端々吻合も以前より短時間で確実に吻合されることと思ひ、症例を重ね次回に報告する。

IV-26

当科における術後早期腹腔鏡の成績

九州大学医学部婦人科学産科学教室

○ 森 俊介・松口博之・内海善夫・野崎雅裕・中村元一・中野仁雄

（緒言）我々は、術後妊孕性を温存する必要性のある症例に対して、術後2週間以内の早期に腹腔鏡検査（以下、ESSL; Early Second Look Laparoscopy）を行い術後癒着の評価ならびに癒着剥離を行っている。現在までの当科におけるESSLの成績をまとめたので報告する。

（対象）対象は当科において、昭和63年4月から平成2年5月までの間に開腹手術を行った後、ESSLを施行した42例である。初回手術の内訳は卵管形成術37例、癒着剥離術7例、子宮形成術・筋腫核出術6例、卵巣嚢腫摘出術9例であった。初回手術時に癒着防止の目的で腹腔内にデキストラン70 200ml～500ml 及びハイドロコーチン500mg を注入した。術後2週間以内（7～12日）にESSLを行い術後癒着の発生部位、程度、剥離の可否について検討した。癒着の程度については、AFS のスコアリングにもとづき、軽度、中等度、高度の3群に分類した。

（結果）42例中41例に術後癒着が認められた。癒着部位では卵巣に癒着の認められたものは26例61.9%、卵管に癒着の認められたものは33例78.6%で、この中には卵巣、卵管に直接手術操作を加えていないものも含まれていた。癒着の程度は、軽度であったもの20例、中等度であったもの13例、高度であったもの8例であった。また、術前の癒着の状態と術後癒着の程度は、必ずしも相関しなかった。卵巣、卵管の癒着に対し腹腔鏡下の癒着剥離を試みたが、卵巣で22例84.6%、卵管で26例78.8%が剥離可能であった。育児希望のある症例で、術後6か月以上経過観察のできた20例中11例に妊娠が成立している。

（結論）ESSL時の所見で高頻度に卵管や卵巣に術後癒着が認められ、これらの癒着はESSL時腹腔鏡下に容易に癒着剥離が可能であった。このことより、妊孕性の温存を目的とする場合には、ESSLは必要な検査・治療と考えられた。

IV-27

反復マイクロサージェリーによる卵管形成術の妊娠例とその意義について

日本大学医学部産科婦人科学教室
o山田祐士、長田尚夫、津端捷夫、佐藤和雄

卵管性不妊の治療には、マイクロサージェリー (MS) による卵管形成術と体外受精による胚移植法 (IVF & ET) があるが、どちらを優先して行うかは施設によって異なる。われわれの施設では、前者を最優先とし、それでも妊娠に至らない場合のみ、IVF & ETが許されることを院内倫理規定によって定めてある。その大きな理由は、1)前者の方が妊娠率もあきらかに高いこと、2)妊娠の成立過程が自然であることから倫理的、医学的諸問題が発生しないこと、3)反復妊娠が可能であること、4)手術によって90~96%以上の患者の卵管が妊娠する状態まで回復することから日常生活を送るうえで患者に与える心理的治療効果は、計り知れないものがある等があげられる。

われわれは、1990年3月までにMSによる卵管形成術を312例施行し、3月現在、139例(45%)に妊娠の成立を認め、最終的には60%以上の妊娠を期待しているが、妊娠に至らなかった残りの症例で卵管性不妊の再発例について再度MSによる卵管形成術を施行すべきか、IVF & ETを選択すべきか迷うところである。われわれは、患者の同意が得られた8例の患者に再度卵管形成術を行ない妊娠に至った症例を4例経験しているので報告し、その意義について考察する。

症例1は、32才の未妊未産婦。近医にて卵管性不妊のもとに通水治療を受けていたが通水のたびに、下腹痛と発熱を繰返し抗生物質を服用していた患者で、本院に1985年6月入院、両側の卵管留症にて開腹術施行、卵管溜膿腫を認めこれをMSにより排膿、卵管開口術を施行す。その後再度卵管性不妊を認め、再度MSによる卵管形成術を施行、その後妊娠分娩 (本年5月) に至る。

MSによる卵管形成術の各術式のなかで、卵管留症に行う卵管開口術は、予後も不良であることから体外受精が行われているのが現実であるが、本症のごとく積極的に卵管形成術を繰返し妊娠を認めたことは意義深いことである。

IV-28

マイクロサージェリーによる卵管形成術後の卵管妊娠例に関する検討

愛知医科大学・産婦人科学教室
○保條説彦、野口昌良、岡本俊充、澤口啓造、
藪下廣光、正橋鉄夫、中西正美

1981年11月、東京において開催されたInternational workshop on gynecological microsurgery以来、本邦においても卵管のマイクロサージェリーはきわめて日常的な不妊症の手術療法として定着して来た。この間10年の経過があり手術手技、手術器具の進歩も大きくさらに術後の癒着防止のための研究なども行われ妊娠率の向上に役立って来た。また近年発展のめざましい、体外受精の前段階としての卵管、卵巣の周囲癒着の剥離術としても採卵のための準備を可能にする対策としてマイクロサージェリーは欠かせないものとなっている。今回われわれは教室で行った卵管マイクロサージェリー後に子宮外妊娠に至った5症例について今後の卵管マイクロサージェリーのためのなんらかの参考になる点を模索する目的で検討を加えたので報告する。対象は愛知医科大学産婦人科学教室において1982年1月より7年間にHSGと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判定されてマイクロサージェリーによる卵管形成術を受けた105例であり、すべてHSG及び腹腔鏡により卵管とその周辺の状況を把握確認し、マイクロサージェリーを実施した。このうちの5症例(4.8%)に卵管妊娠が発症しうち2例は適応外として手術を見合わせて手術的処置を施さなかった側の卵管の妊娠であり、1例は間質部吻合術の後の間質部妊娠であり、手術の難しさが認識されるが、他の2例のうち1例はマイクロサージェリー後2回の子宮内妊娠後の2回の流産の後に発症した卵管妊娠であり、マイクロサージェリーのみで結果を考えるべきではないと思われる。さらに残る1例は卵管形成術後の卵管膨大部妊娠であり、その発症に関する根拠を探ることは困難であった。以上マイクロサージェリー後の卵管妊娠5例にはいずれも手術手技、症例、手術方法に関する共通点を見いだすことができなかつたが、今後はなおこのような症例をさらに集積することによりマイクロサージェリー後の妊娠率の向上に役立てたいと考えている。

IV-29

新しい卵管移植術式と卵管間質部の構造

筑波大学臨床医学系産婦人科

○西田正人、岡本 一、辻 泰二、山内 宏、岩崎寛和

間質部閉鎖に対する卵管移植術式は卵管のmicrosurgeryの中でも最も難しい手技とされている。卵管の移植は閉鎖卵管を子宮筋層と共に切除し、卵管と子宮腔を吻合することになるが、この筋層の切除を多くすれば、手技は易くなるが妊娠時に子宮破裂の危険を生じる可能性があり、また分娩様式は帝王切開を余儀なくされる。もし、この切除を少なくすれば、開放された子宮腔と卵管の吻合が擦り鉢の底で行うような形になって、縫合は極めて難しい。我々はこの時に子宮角部筋層から閉鎖部卵管のみを単離切除する術式を考案し、発表してきた。この術式は間質部の筋層内卵管が周囲の子宮筋から剥離可能であることを見出した時点で画期的であり、しかも、子宮腔と卵管の吻合は従来の術式に比して遥かに簡単になった。更に、本術式は切除した卵管のあった部位に疎通性ある卵管を置換するため卵管に余計な圧迫が加わらず疎通性が高く保たれ、子宮筋の欠損が無いので帝王切開の必要がないなどの利点を備えている。

卵管筋層は内側から縦走筋、輪状筋、斜走筋の3層に区別されるが、本術式におけるこの卵管剥離がどの層において行われているかは不明である。そこで今回正常子宮の間質部の組織所見と切除卵管の病理所見を対比することによって、本術式における間質部卵管の剥離部位を検討した。子宮筋層の手術標本から卵管をふくめて子宮角部を摘出し、卵管の走行と直角方向に切片を作成し、HE染色および各種特殊染色によって子宮筋層と卵管筋層を染色した。また、本術式によって切除された卵管に同様の染色を行い、両者を比較した。その結果、切除卵管には3層の卵管筋層が保持されており、この外側即ち子宮筋と卵管筋層の境界が剥離部であることが判明した。また、間質部卵管においては子宮漿膜方向では子宮筋層と卵管筋層は明瞭に区別されたが、子宮方向に近づくにつれこの境界が不明瞭になった。

IV-30

超音波による牛・豚・マウス・鶏精子の尾部切断

鹿児島大学農学部

○後藤和文・木之下明弘・中西喜彦・小川清彦

【目的】演者らは殺した牛精子一個を牛体外成熟卵の卵細胞質中に顕微注入後、体外培養で桑実胚～胚盤胞まで発育させ牛の子宮に移植して2頭の子牛を作出した(第78回家畜繁殖学会, 1990年10月)。本研究では将来精子頭部のみを卵子に注入してその発生能を調べる前実験として、超音波による各種動物精子の尾部切断を行い適切な切断条件をみつけたすことを目的とした。

【方法】牛・豚・マウス・鶏の新鮮あるいは凍結-融解精子を生理食塩水で希釈し、超音波装置(クボタ, Isomator, 200M型)で100wの条件下で0, 5, 10, 30, 60, 90秒間処理した。処理後顕微鏡下で精子を観察して尾部切断率を計算した。

【結果】新鮮精子, 凍結-融解精子のいずれにおいても豚精子が最も切断され難く、続いて牛, マウス, 鶏の順であった。90秒処理において新鮮精子は豚で77.9%, 牛で96.7%, マウスと鶏で100%の尾部切断率であった。凍結精子でもほぼ類似した値であった。以上の結果より超音波による精子尾部切断には動物種による差があることがわかった。

IV-31

抗プロゲステロン製剤 (RU486) による家兎の分娩調節に関する検討

日本大学農獣医学部獣医生理学教室

○谷口 清、遠藤 克、金山 喜一、佐久間 勇次

【目的】抗プロゲステロン製剤 (RU486) についての臨床応用が各方面で検討されているが、演者らは、前報でRU486による家兎の分娩誘発について検討を試み、その結果、分娩の人為的コントロールに応用できる可能性を示唆した。今回は、さらに詳細な分娩調節を試みる目的でプロゲステロンと抗プロゲステロン製剤 (RU486) を用いて計画分娩を試みたので報告する。

【方法】供試家兎は、体重2.8~3.2kgの日本白色種で成熟雄と交配し、その直後にhCG 75iuを静脈内に投与し妊娠を誘起した。なお、交配日を妊娠0日とし、妊娠11日目に麻酔下で着床胎仔数及び卵巢所見について検索した。その後、妊娠29~31日目にプロゲステロンを5mg/head頸部皮下にそれぞれ毎日1回投与した。なお、対照群には、溶媒のゴマ油2.5mlを同様に投与した。観察は、RU486投与後分娩を確認するか、または交配後35日目まで経時的に行い、RU486投与から分娩までの経過時間、産仔数および体重について検討した。そして妊娠35日目に卵巢および子宮について検索した。

【結果】家兎の分娩調節を試みた結果、①分娩までの時間は、試験群ではRU486投与後 42.6 ± 4.42 時間、対照群ではゴマ油投与後 69.4 ± 7.65 時間であり、両群間には有意差 ($P < 0.01$) が認められた。②対照群の産仔 (体重 60.9 ± 12.5 g) は分娩遅延のため死産または出生後の発育の過程で全例が死亡したが、試験群の産仔 (体重 57.7 ± 14.2 g) は正常のもの (産仔体重 47.8 ± 14.3) に比べ有意に大きかったが死亡率は低く、その後の発育は正常のものと同様であった。③試験区7例中1例に、35日目の検索時に微弱陣痛によると思われる残存胎仔を認めた。

以上のことからプロゲステロンによって妊娠期間を延長しても、RU486の投与によって一定時間内に分娩を誘発することができた。このことは家畜における計画分娩の可能性を示唆するものである。

IV-32

黄体化無排卵卵胞 (LUF) 現象を有する不妊症例に対する Needle Puncture (NP) の効果

社会保険徳山中央病院 産婦人科

山下三郎、道岡 亨、小林正幸、成松昭夫、伊東武久

正常婦人においてもLUFは、低頻度かつ散発的に生じる事が報告されている。不妊症例、殊に長期不妊例においては排卵誘発剤の使用もやむを得ない場合が多く、それによって二次的にLUFが生じ、これが新たな不妊原因となっている可能性も否めない。今回、排卵誘発剤使用周期でのLUFの頻度を低減させ、かつ妊娠率を向上させる目的で、LH surge後、早期に首席卵胞に対してNPを加え、併せてその後のEndocrinological profileの変化を検討した。対象は1990年5月までの2年間に当科にて排卵誘発剤使用にて妊娠成立のみられない長期不妊症例で、Kerinらの基準にてLUFと診断された17例である。全例、月経周期第7日目頃より、血清 E_2 測定、超音波断層法による卵胞発育モニターを行った。

LH surgeは、LHカラーにて検索し、LHカラー陽性の当日、AIHまたは性交指導を行った。24時間後に卵胞存続の認められる場合には、LUF(+)としてNPを行い、卵胞消失までfollow upし、NP後血清 E_2 、progesterone (prog.)を測定した。一方、卵胞存続を認めない場合は、排卵周期と考えNPの対象としなかった。以上より次の結論を得た。①NPにて1例(5.9%)は翌周期までの卵胞が存続したが、12例(70.6%)は24時間以内に、又4例(23.5%)は48時間以内に消失した。②黄体期血清prog.最大値は、NP周期で排卵周期に比して有意に低値を示した($p < 0.05$)が、他の測定値には差を認めなかった。③妊娠例は、17例中7例(41.2%)に認めたが、全例NP非施行の周期であり、その内訳は、最初のNPから数えて、第2周期目に4例、第3周期目に1例、第4周期目に2例であった。以上より、LUF周期では、NPを行っても排卵の遅れのため、timingの良い受精は期待しがたく、かつ、黄体機能にも変動が認められるため妊娠に結びつきにくい。しかし、NPによりそれ以降の排卵周期で早期に妊娠例が得られた事より、LUFを有する不妊例には、試みる価値があるものと思われる。

IV-33

3-sulfogalactoseが精子不動化抗体の認識抗原決定基である可能性について

辻 芳之、福田 洋、居内 彰子、磯島 晋三
兵庫医科大学産科婦人科学教室

不妊婦人血中に存在する精子不動化抗体は新鮮精子を用いた蛍光抗体法では非常に弱い蛍光しか得られず、また補体を必要としない精子凝集活性は補体存在下での精子不動化活性に比べ弱い傾向が見られる。これらの性状は異種動物にヒト精子を免疫して作られる精子不動化抗体とは異なったものである。そこで患者の精子不動化抗体の認識する抗原を検討するために患者精子不動化抗体と類似した反応性を示す精子不動化抗体の作成を試みた。ヒト絨毛癌培養株でBALB/cマウスを免疫していくつかのモノクローナル抗体を作成したが、その中で、2H12は強い精子不動化活性を有するが、前述の患者精子不動化抗体にきわめて類似した性格を有していた。ヒト胎盤から粗抽出した糖脂質の簿層クロマトグラフィをこのモノクローナル抗体2H12を用いて免疫染色したところ3-sulfogalactosyl ceramideの部分に強い染色バンドが得られた。そこで純粋な3-sulfogalactosyl ceramideを用いて不妊患者の精子不動化抗体陽性血清の45例を吸収したところ、全例に於て精子不動化抗体がほぼ完全に吸収された。また対照として用いた抗羊赤血球抗体の溶血活性は同様に3-sulfogalactosyl ceramideによっては吸収されなかった。これらの結果は、大部分の患者の血中精子不動化抗体が認識する精子上の抗原物質は、既に1973年石塚らにより精子上の特異硫酸糖脂質として発見されかつ3-sulfogalactosyl ceramideと抗原構造がきわめて類似する3-sulfogalactoglycerolipid (seminolipid)であると考えられ患者血中精子不動化抗体は、この抗原と3-sulfogalactose部分で交差反応する抗体であると考えられる。

IV-34

精子不動化抗体陽性不妊婦人血清のサル精子に対する反応性

兵庫医科大学 産婦人科
○ 亀田絹、居内彰子、福田洋、繁田実、辻芳之、香山浩二、磯島晋三
滋賀医科大学 医学部附属動物実験施設 鳥居隆三

ヒト精子に対して作成したモノクローナル抗体の中には他種動物精子と交差反応を示すものが存在する。本研究では不妊婦人血中に特異的に検出される精子不動化(SI)抗体に関してサル精子との交差反応性について検討した。

ヒト精子は射精精子を、サル精子はニホンザルから電気刺激にて採取した精子を用いて精子不動化試験を行なった。抗体吸収実験は、血清をヒトまたはサル精子と混合し、4℃一晩反応させた後、その遠沈上清の抗体活性を調べた。過ヨウ素酸処理精子と同様の抗体吸収実験を行ない、サル精子との交差反応性に糖鎖抗原の関与があるか否かを調べた。

その結果、ヒト精子不動化抗体陽性血清10検体中、9検体にサル精子に対する精子不動化作用を認めた。一方、陰性血清10検体はいずれもサル精子に対しても陰性であった。ヒト精子に対する不動化作用はヒト精子でのみ吸収されサル精子では吸収できなかったが、同様に、サル精子に対する不動化作用はサル精子でのみ吸収されるがヒト精子では吸収されなかった。また、精子の過ヨウ素酸処理により抗体吸収活性は低下または消失した。教室で作成したヒト型(H6-3C4)および免疫マウス由来ヒト精子不動化モノクローナル抗体はサル精子に対してSI活性を示さなかった。

以上のことから、精子不動化抗体陽性患者血中には、ヒト精子のみならずサル精子に対する抗体も存在するが、両者の認識する抗原エピトープは異なっており、その特異性の発現に糖鎖抗原が強く関与しているものと思われる。

IV-35

精子不動態抗体を保有する不妊婦人に対する不妊治療指針についての一考察

大阪大学医学部産婦人科

加藤宗寛、大橋一友、脇本昭恵、谷口 武、木村 正、佐治文隆、谷澤 修

【目的】難治性不妊の原因の一つとして、女性における抗精子抗体の存在が示唆されている。我々は抗精子抗体の中でも不妊との相関が高い精子不動態抗体を保有する女性の妊娠にいたる経過を調査し、その治療方針について考察を加えた。(方法)大阪大学医学部産婦人科で精子不動態化試験を行った564名の不妊婦人科について検討した。精子不動態化試験は磯島の方法に従って行った。抗体価(SIV)の決定は精子不動態化試験を時期を変えて行い、その最大値を用いた。(結果)1)精子不動態化抗体陽性者は不妊婦人の12.9%(73/564)であった。特にSIVが10以上の強陽性者は4.5%(28/564)存在した。2)精子不動態化抗体陽性者は陰性者と比較して、年齢分布に差がなかったにもかかわらず、不妊期間で平均79ヶ月と陰性者の66ヶ月に比して長期を示した。3)又、不妊治療期間は抗体陰性者、陽性者では差を認めなかったが、妊娠は陰性者で491名中110名、22.4%に成立したにもかかわらず、陽性者では73名中、わずか5名、8.2%にのみ成立した。4)精子不動態化抗体陽性の不妊婦人のうち、妊娠が成立した5名について検討を行った。SIVが10以上を示した2例はいずれもIVF-ETによる妊娠であった。又、残り3例は比較的抗体価の低い患者であり、うち2例は抗体価が自然低下した後のAIHによる妊娠成立であり、1例はGIFTによる妊娠であった。

【結論】今回の検討により、精子不動態抗体を保持する婦人が、長期の不妊であること、又従来からの不妊治療には抵抗性であることを証明した。これらの結果よりSIVが10以上を示す不妊婦人では、AIHなどの治療よりむしろ早期にIVF-ETを行うよう治療方針を変更すべきではないかと考えられた。又、抗体価が比較的低い症例では、抗体価の自然低下を期待しながら、AIHなどの治療を一定の期間続けてもよいのではないかと考えられた。

IV-36

長期不妊症例に対する superstimulation療法

藤田学園保健衛生大学産婦人科学教室

○吉田麻里子、澤田富夫、神谷貴之、樋口泰彦、廣田 稷、
河上征治、福島 稷

【目的】長期不妊症例に対する治療は不妊症治療の中でも特に困難を伴ない、原因不明不妊に関しては現在のところ有効な治療法が解明されていない。最近では原因不明不妊患者に積極的にGIFT、IVF-ER等の方法が選択される場合も多いが、これらの選択にはやはり十分な患者理解が必要と考えられる。これに対し近年頻度が増してきた superstimulation(superovulation)による排卵刺激は、AIH等を併用することにより良好な妊娠率を示すことが報告される様になった。我々も3年前より同法による治療を続けているが、未だ同法による治療成功のメカニズムは解明されていない。今回我々は、現在までの同法による治療成績を分析し、いかなる原因不明不妊に同法が有効であるかを検討した。【対象及び方法】昭和63年より平成2年までの約3年間に当院産婦人科外来受診の不妊症新患々者約400例を含む長期治療患者を対象とした。初診までの平均不妊期間は4.76年(0.5-13年)、平均年齢30.18才(24-42才)である。このうち60症例に superstimulationを試みた。superstimulationは月経開始後第3日目よりhMG150IUを筋注にて連日投与した。超音波エコーによる卵胞径計測を連日行ない、最大卵胞径が18~20mmで投与を中止し、翌日もしくは翌々日にhCG5000IUを投与しその翌日にAIHないし自然性交とした。【成績】① superstimulationを行なった症例からみて長期不妊の原因が全く存在しなかったものは5例(8%)のみであった。②卵管因子、排卵因子、子宮因子、男性因子、両性因子に多少とも不妊原因と考えられる異常を有したものはそれぞれ28.3%, 46.7%, 31.5%, 45%, 21.7%であった。③ superstimulationによるこれらの症例の妊娠率は23.3%であり、うち5%は流産に終わった。外妊例は0例であった。④これら妊娠例における長期不妊の原因は種々にわたり、LUFを含む排卵因子、卵管因子、内膜症等であった。⑤本治療におけるOHSSの発生はなかった。【結論】① superstimulationは長期不妊患者の治療法として有効な方法であった。②原因が極めて軽度であっても長期不妊の原因と考えられる因子を有する場合は試みるべき治療法と考えられる。③治療中はOHSSの発生に留意することにより頻度を減少させることが可能である。

IV-37

ブタ透明帯抗原に対するモノクローナル抗体 (5H4) の種属間交差性と組織特異性について

兵庫医科大学 産科婦人科学教室
○井上 みゆき、長谷川 昭子、香山 浩二、磯島 晋三

【目的】透明帯に対する抗体には強い受精阻害作用があり、またブタ透明帯にはヒト透明帯と共通の抗原が含まれることから、これを応用して避妊ワクチンの開発が研究されている。最近、我々はブタおよびヒト透明帯と反応し、ヒト精子の透明帯への結合を阻害するモノクローナル抗体 (5H4) を作成し、その対応抗原の分析を行なった。そして 5H4 が認識するのは、ブタ透明帯構成糖蛋白質 (ZP1、ZP2、ZP3、ZP4) の ZP1 と ZP4 で、ZP4 のトリプルアラギン (分子量 < 5,000) にエピトープが存在することを報告した。今回 5H4 の他の動物種における交差反応性ならびに卵巣以外のヒト組織との反応性について検討を加えた。

【方法】種属間交差反応性は、ブタ、ヒト卵胞卵のほか、ウサギ、ネコの卵胞卵、ハムスター、マウスの排卵卵、およびイヌ卵巣の凍結切片を用い、間接蛍光抗体法により調べた。ブタ卵巣およびヒト主要組織との反応性は、ホルマリン切片を ABC 染色することにより調べた。

【結果】5H4 は、ブタ、ヒト透明帯のみならず、ウサギ、イヌ、ネコの透明帯とも反応した。ハムスター、マウス透明帯とは反応しなかった。ブタ卵巣切片の ABC 染色では、透明帯と卵細胞質が特異的に反応し、卵の成熟に伴い透明帯の染色性は増加した。一方、ヒト組織切片を用いた実験では、5H4 は、肝臓、腎臓、脾臓、肺、唾液腺、心臓の組織と全く反応しなかった。

【考察】5H4 は種属を越えて広い範囲の動物の透明帯と反応したが、ネズミ科の動物の透明帯とは反応しなかった。また 5H4 の反応は組織特異的で、卵巣内の卵細胞と透明帯にのみ反応したことから、5H4 の対応抗原は卵細胞内で合成され分泌されると考えられた。特に卵成熟の後期に著明に発現されることが明らかになった。以上より、5H4 の対応抗原エピトープは、避妊ワクチンの有望なターゲットになることが示された。

IV-38

低用量経口避妊薬 NDS-1 および NDS-3 の避妊効果と安全性に関する検討

横浜市立大学産婦人科、大阪大学産婦人科*
多賀理吉、水口弘司、寺川直樹*、谷沢 修*

【目的】経口避妊薬は避妊法の 1 つとして重要であるが、我国においてはその臨床効果や安全性に対する検討が未だ十分なされていない。そこで、NSD-1 (単相性) および NSD-3 (3 相性経口避妊薬) の避妊効果と安全性について検討した。

【方法】NSD-1 はノルエチステロン (NET) 0.5 mg / エチニルエストラジオール (EE) 0.035 mg 含有錠 (21 日間) と不活性錠 (7 日間) の服用を、また NSD-3 は NET 0.5 mg / EE 0.035 mg (7 日間)、NET 1.0 mg / EE 0.035 mg (9 日間)、NET 0.5 mg / EE 0.035 mg (5 日間) と不活性錠 (7 日間) の服用を、各々 1 周期として、NSD-1 は 385 症例、5595 周期に、NSD-3 は 435 症例、6148 周期に各々投与し、それらの有効性と安全性につき解析した。

【結果】NSD-1 および NSD-3 の有効率、妊娠例数、無効率、パール指数は、各々 99.7%、1 例、0.3%、0.24、および 99.2%、3 例、0.8%、0.66 であった。妊娠例には服薬状況不良例が多かった。何らかの副作用が認められた例は、NSD-1、NSD-3 で各々全症例の 45.4%、33.2% であった。主な副作用は、各々、不正出血 16.9%、10.7%、悪心 7.5%、6.2%、頭痛 3.0%、3.3% であり、これを周期当りの発生率で見ると、各々順に、3.2% と 2.0%、0.9% と 0.9%、そして 0.4% と 0.5% であった。NSD-3 で不正出血の頻度が低い傾向が認められた。両薬剤とも血栓症、心筋梗塞、脳卒中などの重篤な副作用は認められず、また臨床検査値にも特記すべき異常はなかった。投与終了後の再開月経の追跡調査では、104 例中 102 例で (NSD-1)、また 118 例中 117 例で (NSD-3)、3 ヶ月以内の月経回復が確認された。総合評価で有用以上と判定された症例は、NSD-1 で 80.8%、NSD-3 で 84.4% であった。

【結論】以上より、低用量経口避妊薬 NSD-1 および NSD-3 の経口避妊薬としての有用性が明らかにされた。

旭川医科大学 産婦人科学教室

○石川睦男・石川雅嗣・清水哲也

【目的】受胎調節におけるIUDは、副作用が少なく信頼性が高いため、可逆的な避妊法として世界的に広く使用されている。現在わが国においては不活性IUDのみ使用されてきているが、世界的には活性IUDの中で銅付加IUDがそのPearl indexの低いことから主流となっている。今回、銅付加IUDを使用する機会を得たので、その有効性につき検討を加え報告する。

【方法】使用した銅付加IUDはGYNE-T 380 S (Ortho, Canada)で、対照としてリップスループ(カヤクグループ)を用いた。GYNE-T 380 SはT字型支持体(軟質ポリエチレン樹脂製)の縦軸に180 mgの銅線(長さ265 mm、直径0.25 mm、露出面積320 mm²)が巻きつけてあり、さらに横の両端に70 mgの銅環(長さ6.35 mm、直径1.6 mm、露出面積30 mm²)が取り付けられている。GYNE-T 380 Sの検討は1987年9月から1990年6月の間に行われた。挿入後1ヶ月、6ヶ月、12ヶ月、24ヶ月に外来受診時に調査した。このGYNE-T 380 Sとリップスループの比較は歴史的対照を用いた臨床試験として行われた。すなわちリップスループの検討は1975年1月～1977年1月の間の成績を使用した。また、妊娠率や中止率などの生命表解析をTietzeの方法に従って行った。

【成績】対象は366例がリップスループ、GYNE-T 380 Sが40例であり、各々6958、764ウーマン、マンスである。リップスループの24ヶ月の妊娠率2.2%、脱出5.8%、純累積中止率27.0%、純累積継続率73.0%であった。一方、GYNE-T 380 Sは、妊娠率0%、脱出4.8%、純累積中止率20.9%、純累積継続率79.1%であった。また、GYNE-T 380 Sの挿入者の中、3例は以前にリップスループの自然脱出の既往のあった症例である。以上、GYNE-T 380 Sの妊娠例はなく、今回の症例数では結論的には言えないが、リップスループに比べて良好な避妊効果であった。

V-1

不妊を主訴とした子宮内膜症 109例の検討

恵生産婦人科病院 ○山辺晋吾, 古川和典, 林 茂樹, 永田典昭, 林 要
神戸大学医学部産科婦人科学教室 片山和明, 望月真人

[目的] 不妊を主訴とする子宮内膜症症例を妊孕性という面より, retrospective に検討し, 今後の子宮内膜症に対する治療方針につき考察を加えた。

[対象および方法] S.60年~H.1年の間に恵生産婦人科病院で開腹手術あるいは腹腔鏡により確定診断のなされた挙児希望のある子宮内膜症 109 例を対象とした。進行期分類は r-AFS に従った。

[結果] 対象とした患者全体の確定診断時での平均年齢は 30.9 ± 3.2 (Mean \pm SD) 歳, 平均不妊期間は 5.8 ± 2.7 年であり, 各 stage間に有意の差は認めなかった。全体での妊娠率は 36.7% で, stage I では 30.8%, stage II では 44.4%, stage III では 42.1%, stage IV では 18.2% であった。確定診断後, 妊娠に至るまでの期間は, 平均が 11 カ月で, 各 stage間に有意の差を認めなかった。妊娠に至った症例の 90% は 2 年以内であった。子宮内膜症の発症部位としては左卵管が最も多く 72.4% の症例に認められ (tortuous tube, fimbria の病変を含む), 次いで右卵管 (60.4%), 左卵巢 (47.6%) の順であった。病変部位と妊娠率では posterior Cul-de-sac に病変が認められた場合は 34.1% の妊娠率であり, 病変が認められなかった症例は 36.9% であった。また, 卵管の病変では両側が正常である場合は 52.6% の妊娠率であるのに対して片側では 45.4%, 両側では 26.3% であった。卵巢では両側が正常である場合の妊娠率は 43.8%, 片側に病変が認められた場合は 44.4%, 両側では 20.5% であった。これらの症例に対して行なった GIFT あるいは IVF-ET における採卵個数は stage I では 9.0 ± 5.4 , stage II では 5.2 ± 3.2 , stage III では 3.6 ± 2.5 , stage IV では 3.4 ± 2.9 であり, stage I, II と stage III の間に有意の差が認められた。

[考察] 子宮内膜症においては両側の付属器の病変, および卵胞発育が不良であることが妊娠を妨げる要因として考えられた。

V-2

子宮内膜症と妊孕性との関連の一考察

東京大学医学部産婦人科

○国府田きよ子, 武谷雄二, 水野正彦

<目的・方法> 若年未婚婦人及び不妊婦人において子宮内膜症治療後の妊娠の成否につき追跡調査を行い, 子宮内膜症と妊孕性との関連を検討した。

<対象> 当科において卵巢嚢腫摘出術を受けた 35 才以下の未婚婦で, 現在挙児希望がある者を対象とし, それを以下の 4 群に分けた。①診断時は未婚, または結婚後半年以内で避妊中であった子宮内膜症性嚢腫例 ②不妊期間 1 年以上で不妊精査にて診断された子宮内膜症性嚢腫例 ③①と同様で他の良性卵巢嚢腫例 ④②と同様で他の良性卵巢嚢腫例

各群の症例数, 診断時年齢 (M \pm S. E), 追跡期間 (M \pm S. E) はそれぞれ① 19 例, 25.4 \pm 3.2 才, 6.2 \pm 2.6 年 ② 14 例, 30.3 \pm 3.5 才, 7.0 \pm 2.7 年 ③ 20 例, 23.6 \pm 3.3 才, 6.6 \pm 3.4 年 ④ 3 例, 27.8 \pm 3.5 才, 6.5 \pm 5.7 年であった。

<結果> 各群の妊娠率は① 14/19 (73.7%) ② 2/14 (14.3%) ③ 12/20 (60.0%) ④ 0/3 (0%) であり, 症例数の少ない④を除き①は③とほぼ同等の妊娠率を示したが, ②は他の 2 群に比し有意 ($p < 0.01$) に妊娠率が低かった。この結果は男性不妊例 (① 1 例 ② 3 例 ③ 1 例 ④ 1 例) を除いても同様であった。また①において薬物療法の併用の有無は妊娠率と関連が無かった。術式別の妊娠率では①で片側例が両側例に比し有意に高率であったが, 他の群では同等であった。①③の妊娠例のうち結婚後不妊症として不妊治療を要した者は, それぞれ 1/14 (7.0%), 2/12 (16.7%) と少なかった。

<考察> 未婚婦人の子宮内膜症性嚢腫治療後の妊娠率は比較的高率であり, 他の良性卵巢嚢腫例とに差を認めなかった。しかし不妊婦人では治療後の妊娠率は低かった。以上の結果は子宮内膜症合併不妊婦人における子宮内膜症と不妊との因果関係を否定するものである。

V-3

当科における腹腔鏡施行300例の臨床的検討(子宮内膜症例を中心に)

川鉄千葉病院産婦人科 ○内藤正文, 板橋光司郎

千葉大学産婦人科 木村博昭, 布山隆史, 稲葉憲之, 高見沢裕吉

【目的】近年産婦人科診療, 特に不妊症や子宮内膜症例に対して腹腔鏡が多用されるようになった。また子宮内膜症例では診断と同時に, 治療としても腹腔鏡が使われ, その有用性が広く認められている。今回, 当科での腹腔鏡施行300症例をretrospectiveに検討し, 不妊症, 子宮内膜症例における腹腔鏡の診断・治療的意義について若干の考察を加えた。

【方法】1984年より1990年7月までの間に我々の施設で施行した腹腔鏡症例305例(そのうち子宮内膜症例が125例)を対象として臨床的検討を行なった。子宮内膜症例では他の臨床的診断法(内診, USG, HSG, 血液学的診断法)との相関を検討した。次に腹腔鏡施行時の治療的処置の不妊症および月経困難症に対する有効性について検討を加えた。

【結果および考察】①腹腔鏡施行症例305例中, 不妊症例が224例, 73%で, そのうち子宮内膜症を合併しているものが90例, 40%を占めていた。また, 不妊を伴わない子宮内膜症例が35例あった。②腹腔鏡施行前に臨床的に内膜症と診断された症例中, 約10%で内膜症が否定された。それらの腹腔鏡的診断はPID, 機能的月経困難症等であった。③原因不明不妊の約50%に子宮内膜症が発見された。④不妊を伴う子宮内膜症例では腹腔鏡施行後の妊娠率は約38%(I期36%, II期18%, III期57%, N期35%)であった。⑤チョコレート嚢腫を伴う例では嚢腫の穿刺, 吸引, アルコール注入療法を行ない, さらに薬物療法を併用することによって, 不妊, 月経困難症に対して比較的良好な成績が得られた。⑥腹腔鏡の手術, 薬物療法等の後にも妊娠が得られなかったり, 月経困難症が再発したりしてsecond look laparoscopyを行なった例が15例存在したが, その後の治療には非常に難儀している。

V-4

子宮内膜症性不妊に対する電気焼灼療法の成績

東海大学医学部産婦人科

○淡路英雄, 井上正人, 小林善宗, 本田育子, 鈴木隆弘, 藤井明和

子宮内膜症(以下EM)と不妊症との関係は密接であり, 中でも初期の病変(R-AFS分類Stage I, II)が多いことから治療に際しては様々な方法が試みられそれぞれ良好な成績が報告されている。

腹腔鏡下手術はEMの診断の際同時に行なえること, 内性器に対する侵襲が少ないこと, 病変に対して直接アプローチできることなどから不妊症合併のEMに対して近年広く用いられるようになってきた。中でも腹腔鏡下電気焼灼療法は比較的容易な操作で既設の機器を用いて行なえることから初期のEM病変に対しては施行しやすい手術である。しかし我々の検討では焼灼の施行例と非施行例の間に妊娠率に差が認められていない事(第33回本学会)からその予後には別の因子の関与が考えられる。今回我々は腹腔鏡下電気焼灼療法の治療効果を検討し, その予後に年齢, 不妊期間が関与するか否か検討したので報告する。

対象はS59・1月よりS63・12月までに当院で診断した不妊症合併EM症例1263例中R-AFS Stage I 587例, Stage II 348例である。

対象の平均年齢は32才, 平均不妊期間は約6年でStage間に差はなかった。電気焼灼療法はStage I 47.0%(276/587), Stage II 47.7%(166/348)の症例に対して行なった。最低1年間の経過観察, 治療の後に妊娠した症例はStage I 95例(34.4%), Stage II 44例(26.5%)であった。年齢より妊娠率を検討したところ加齢による妊娠率の低下が確認できた。特に35才以上ではStage I 11.8%(8/68), Stage II 19.4%(7/36)と低値を示した。又, 不妊期間から検討したところ不妊期間が長くなるほど妊娠率が低下した。特に9年以上の症例ではStage I 13.5%(7/52), Stage II 18.2%(6/33)と低値を示した。以上よりその予後に加齢, 不妊期間が関与することが理解できた。これらのことから, 電気焼灼療法の適応と術後治療の選択・開始には年齢, 不妊期間を考慮して決めることが必要であると考えられた。

V-5

末梢血中の単球のエストロゲン結合部位に対するダナゾールの影響

岐阜大学医学部産婦人科学教室

○伊藤俊哉 中川美紀 操良 森秀弘 和田圭介 玉舎輝彦

子宮内膜症患者の腹水中に活性化マクロファージから多く分泌されるモノカインは子宮内膜症組織を刺激し、内膜症を増悪させる可能性や受精や受精卵の分割に悪影響を与え妊孕力を低下させる可能性があるといわれている。活性化マクロファージからのモノカインの放出はin-vivoではエストロゲンにより刺激され、またダナゾールはこれを抑制することがよく知られている。ダナゾールはエストロゲンレセプター (ER:type I 結合部位) にはそれほど大きな影響を与えないが、ERよりも親和性はやや劣るが容量の大きいエストロゲンtype II 結合部位数の減少とこの結合部位への結合阻害によりエストロゲン効果に影響を与えること、また末梢血中の単球にもエストロゲンtype I、type II 結合部位が存在することを我々は以前に報告した。そこでこの活性化マクロファージに対するダナゾールの効果をエストロゲン結合部位の面から検討した。【方法】正常月経周期を有する婦人の卵胞期初期に採血した血液及びダナゾール投与中の婦人の血液を用いた。比重遠心法、dish付着法によりこれらの血液から単球を分離し、超音波ホモゲナイザーで破碎後通常のレセプターアッセイをおこなった。また正常婦人の単球を12時間ダナゾール中で培養した後同様にエストロゲン結合部位を測定した。【結果】1. ダナゾール投与中の婦人の末梢血中の単球のエストロゲン結合部位数はtype I には正常婦人と差を認めなかったが、type II 結合部位数が有意に減少していた。2. 正常婦人の末梢血中の単球にダナゾールを加えて培養した群のエストロゲン結合部位数は無添加群に比べてtype II 結合部位数の減少がみられた。【考案】ダナゾールがウサギ子宮のエストロゲンtype II 結合部位に結合し、またその結合部位数を減少させ抗エストロゲン効果に関与することを報告したが、人の末梢血中の単球でも同様の現象がみられた。単球においてもエストロゲンtype II 結合部位を介してダナゾールが作用している機構が考えられた。

V-6

コラーゲン膜上培養子宮内膜間質細胞形態に対するダナゾールの影響

東京医科歯科大学産婦人科, 同 第一解剖¹○田口 誠, 久保田俊郎, 鎌田周作, 妹尾春樹¹, 和気健二郎¹, 麻生武志

(目的) 子宮内膜間質細胞に対するダナゾールの作用を解明するために、コラーゲン膜上培養子宮内膜間質細胞に、ダナゾールを作用させ、形態学的変化を検討した。(方法) 単純子宮全摘術による摘出子宮から正常ヒト子宮内膜間質細胞を単離精製した後に、一枚のコラーゲン膜 (type 1) 上に 4×10^5 /ml の細胞浮遊液 1 ml を加え、5% CO₂, 95% air, 37°C 下で培養した。ダナゾール 10^{-5} /ml 添加群, 10^{-7} /ml 添加群, 対照群に分け検討し、培養液は3日ごとに交換し、40日後に位相差倒立顕微鏡、透過電子顕微鏡による形態観察を行った。(結果) 1. 光学顕微鏡による観察所見: 対照群では細胞は繊維芽細胞様に細長い紡錘形を呈しており、細胞間は密であるが contact inhibition が認められ、ある規則性・方向性をもって増殖した。一方、ダナゾール添加群では、 10^{-5} と 10^{-7} 添加の間で差は見られなかったが、対照群と比較すると confluence は同様に維持されているが、細胞配列の規則性・方向性の異なった敷石状を呈した。2. 電子顕微鏡による観察所見: 対照群では細胞質によく発達した粗面小胞体、ゴルジ装置、フリーリボソーム、ミトコンドリア、ライソソームが観察された。これより、蛋白質の生合成・分泌が旺盛で、外界の物質の取り込み・分解が盛んであると示唆された。コラーゲン基質に面した細胞膜の一部は小突起状に基質の中へ入り込み、細胞を基質へ固定するのに有効な形態を呈していた。一方、ダナゾール添加群では、対照群と比較し細胞小器官に変化が見られず、また観察し得たところでは、コラーゲン基質へ入り込む細胞突起は観察されず、ダナゾール添加量による違いも認められなかった。(結論) コラーゲン膜上における培養正常ヒト子宮内膜間質細胞を対象とした形態的検討より、ダナゾール添加培養系では、細胞内微細構造に著変を認めず、細胞接着様式や細胞骨格様式に変化を生じていることが示唆された。

V-7

子宮内膜症 danazol 療法における予後予測因子の検討

北里研究所病院産婦人科，慶應義塾大学医学部産婦人科*

国立東京第二病院産婦人科**

○福田良夫，田村昭蔵*，和泉 滋**，李 顕鈺，野澤志朗*

子宮内膜症薬物療法は長期にわたりかつ副作用も多いことから，治療時に薬剤の効果をよく反映する parameter があれば，治療の適正化や効率化がはかれよう。そこで今回 danazol (D) 療法を行った長期 follow-up 症例より，特に腔細胞診，内膜細胞診，内膜組織診，E₂ および CA125 値を中心に retrospective に検討してみた。【対象および方法】子宮内膜症患者 17 名に D200・400mg/日を月経第 5 日より 4~6 カ月投与し，投与前卵胞期，投与開始後は 4 週ないし 3 カ月毎，綿棒により腔細胞を，エンドサイトにより子宮内膜細胞を，キュレットにより内膜組織を採取し，細胞診は Pap. 染色，組織診は H.E. 染色標本を作製鏡検し，また成熟指数 (MI) を測定，さらに内膜細胞診では核面積の計測も行った。また同時に採血，E₂・CA125 値を測定した。これらの成績と投与終了後の改善度から，予後との関連につき検討した。【成績】D 投与中 MI は中層細胞が増加し，表層細胞(表)が減少する中央移動を示し，特に小型中層細胞(小)が目立った。内膜細胞診は標本上の細胞数が減少，細胞の重積性が低下，核間距離が明瞭となり，核の大きさに縮小傾向がみられた。内膜組織診は採取量が減少，腺管の小型化がみられ，上皮細胞の偽重層化が減少して一層の立方性を呈する萎縮像を示した。E₂ 値は卵胞期の基礎値を，CA125 値は低値を示した。一方改善度は良好群で初回排卵性月経時 59%，3 カ月後 53%，6 カ月後 47%，1 年後 43% であった。このうち 6 カ月後における良好群は投与前と投与 12 週との比較で，12 週で小の増加，表の減少，核間距離の明瞭化，偽重層化の減少が，不良群では小の増加，表の減少が有意にみられた。一方良好群と不良群との間に有意差のみられた因子はなく，唯一核間距離が有意の傾向 ($p < 0.1$) をもって前者で明らかとなる傾向を示した。【結論】D 投与下では内膜細胞診で核間距離の明瞭な症例ほど予後良好となる可能性が高く，内膜細胞診は予後予測の重要な parameter となり得ると思われた。

V-8

子宮内膜症Ⅲ・Ⅳ期合併不妊に対する待機療法の適応と限界

東海大学医学部産婦人科

○村松俊成，本田育子，小林善宗，井上正人，鈴木隆弘，藤井明和

【目的】子宮内膜症Ⅲ・Ⅳ期 (R-AFS 分類) 合併不妊症では，付属器周囲の癒着とチョコレート嚢胞の存在が重大な問題で，腹腔鏡下手術による癒着剥離と嚢胞内容吸引が十分有効な治療法であることが判ってきた。開腹手術を行なうことなく妊娠が成立すれば，そのメリットは大きい。しかし待機療法を選択した場合，内膜症は進行する可能性があり，経時的観察が必要であり，経腔走査法による超音波検査は，卵巣周囲の癒着状態やチョコレート嚢胞の診断に優れており，子宮内膜症管理に有用である。今回，待機療法の限界を知る目的で，自然妊娠の成立した子宮内膜症Ⅲ・Ⅳ期症例の妊娠初期の卵巣周囲癒着，チョコレート嚢胞の有無を検討した。【対象・方法】腹腔鏡下診断・治療後に自然(含 AIH) 妊娠の成立した 42 例 (Ⅲ期 25，Ⅳ期 17) を対象に，妊娠 5~6 週の経腔超音波検査で，卵巣の位置，癒着状態とチョコレート嚢胞最大径を計測した。【成績】卵巣の癒着状態では，少なくとも一側卵巣が癒着なしが 29 例 (69%) で，両側卵巣とも癒着ありは 13 例 (31%) であったが，両側卵巣ともダグラス窩に癒着している症例はなかった。チョコレート嚢胞は 19 例 (45%) に認められ，その平均最大径は 29 (10~70) mm であった。そのうち両側卵巣に嚢胞が存在したものは 3 例にすぎず，最大径は平均 21 (10~30) mm と小さかった。【結論・考察】不妊を主訴とした子宮内膜症では，腹腔鏡下癒着剥離術やチョコレート嚢胞吸引，アルコール固定は有効な治療法である。しかし実際に妊娠が成立した症例から検討すると，両側卵巣がダグラス窩に癒着したり，両側卵巣に 40~50 mm 以上のチョコレート嚢胞を有する症例では，待機療法中の自然妊娠の可能性は極めて低く，積極的に嚢胞吸引や配偶子操作治療を行なうなどの治療法を考慮すべきであろう。

V-9

IVF-ET治療における刺激前チョコレート嚢胞吸引の有効性

東海大学医学部産婦人科

○宗 完子, 小林善宗, 本田育子, 井上正人, 津田朋男, 藤井明和

子宮内膜症Ⅲ、Ⅳ期合併の不孕症においてIVF-ETは極めて有効な治療法であるが、チョコレート嚢胞を有している場合は、過排卵刺激を行っても採卵に至らずキャンセルになることが多い。我々は、この様な症例に対してあらかじめ外来で経腔的に嚢胞穿刺、吸引を行い、再刺激を試みている。1989年2月より1990年6月までに行った、12症例計14回の経腔的チョコレート嚢胞穿刺吸引処置の効果について、その後のIVF-ET成績を検討した。症例は平均年齢34.2才(30~40才)、平均不妊期間6.6年(1~13年)であり、内膜症Ⅲ期が7例、Ⅳ期が5例であった。12例中11例は、今回の嚢胞穿刺吸引前に卵胞発育不良またはモニタリング困難の理由でIVF-ETがキャンセルとなっている。吸引したチョコレート嚢胞は1~3個、平均吸引量37.7ml(6~107ml)であった。嚢胞穿刺吸引前後でhCG注射決定時の血中estradiol(E_2)値および最大径14mm以上の卵胞数を比較すると、嚢胞吸引前は平均 E_2 値975.8pg/ml、卵胞数3.0個、嚢胞吸引後は平均 E_2 値1266.6pg/ml、卵胞数5.6個と改善が認められた。 E_2 値500pg/ml未満のpoor responderは、嚢胞吸引前は4例であったが、吸引後は1例と減少した。嚢胞吸引後の過排卵刺激でも採卵がキャンセルとなったのは2例で、このうち1例は同一周期に行ったAIHで妊娠が成立した。嚢胞吸引後10例に17回のIVF-ETを行い、4例(40.0%)に5回(29.4%)の妊娠が成立した。4例はいずれも多胎妊娠(双胎3例、品胎1例)で2例は分娩に至り健児を得た。IVF-ET治療に際して、刺激前チョコレート嚢胞穿刺吸引処置は、極めて有効と思われた。

V-10

Gn-RH analogue 療法時における血中副腎性アンドロゲンの動態について

金沢大学医学部産科婦人科学教室

○村上 弘一、山城 玄、赤祖父 一知、鈴木 信孝、
中川 俊信、荒木 克己、富田 嘉昌、西田 悦郎

【目的】下垂体-卵巣系の機能はGn-RH analogueの投与によって抑制されるが、本療法時における副腎性アンドロゲンの分泌動態を明らかにするため本研究を行った。【方法】対象は、1989年1月より1990年2月までに金沢大学医学部附属病院産婦人科を受診した子宮内膜症患者で、Gn-RH analogue(Buserelin)を投与した9例である。Buserelinの投与量は900 μ g/日とし、投与前、投与開始後1、2、3、4、5、6ヶ月目および投与終了後1ヶ月の午前9-10時に安静状態で採血を施行した。血中ホルモンの測定は、LH、FSH、PRL、ACTH、estradiol(E_2)、testosterone(T)、androstenedione(ASD)、cortisol(F)、dehydroepiandrosterone(DHA)、DHA-sulfate(DHA-S)について、RIA法で行った。【成績】LH、FSH、 E_2 は、Gn-RH analogue投与開始1ヶ月以後いずれも有意に低下した。PRL(ng/ml)は、投与前の19.4 \pm 4.4(M \pm SEM)から投与開始後低下傾向を示し、5ヶ月目では13.5 \pm 2.3と低下した。ACTHには投与期間を通して有意の変化は認められなかった。T(ng/ml)は、投与前の0.53 \pm 0.07より投与開始後1ヶ月で0.39 \pm 0.05と低下し、3ヶ月0.43 \pm 0.10、6ヶ月0.40 \pm 0.06と変化した。ASD(ng/ml)は、投与前の1.26 \pm 0.20より投与開始後1ヶ月で0.66 \pm 0.14と有意に低下し($p<0.05$)、3ヶ月0.57 \pm 0.22、6ヶ月0.73 \pm 0.29であった。F(μ g/dl)は、投与前13.1 \pm 1.4で、投与開始後3ヶ月までは変化を認めなかったが、4ヶ月以後漸減し6ヶ月で8.7 \pm 1.5と有意に低下した($p<0.05$)。DHA-S(μ g/dl)は、投与前201.8 \pm 11.0であったが、投与開始後低下傾向を示し、6ヶ月で153.6 \pm 13.9と低下した。

【結論】Gn-RH analogueの投与によって血中副腎性アンドロゲン値の低下することが認められた。その分泌抑制は、本療法時におけるestrogen分泌の低下とGn-RH analogueの副腎に対する直接的作用に起因するものと考えられた。

V-11

子宮内膜症の末梢血中免疫能に関する検討

秋田組合総合病院産婦人科 ○太田 博孝、福田 淳

秋田大学医学部産婦人科 五十嵐 信一

〔目的〕子宮内膜症では自己免疫現象がみられる。すなわち、外性子宮内膜症や子宮腺筋症では自己抗体（抗磷脂質抗体）が50-75%にみられること、さらにその子宮内膜症組織中では免疫グロブリンや補体の沈着が極めて高頻度に見られ、局所免疫反応が存在することをすでに報告した。そこで今回、本症においてこれら免疫異常に関与する液性、細胞性免疫の動態につき、末梢血中レベルで検討した。

〔方法〕対象は外性子宮内膜症(E)15例、子宮腺筋症(A)16例、正常婦人(C)45例である。検討項目は免疫グロブリンとしてIgG, IgM, IgA, 補体としてC3, C4, およびT細胞分画としてヘルパー、サプレッサー、細胞傷害性細胞等(Th, Ts, Tc)をフローサイトメトリーで測定した。

〔結果〕血中IgG, IgM, IgAはC群でそれぞれ、 1627 ± 343 , 242 ± 110 , $212 \pm 110 \text{ mg/dl}$ でE, A群との差はなかった。C3, C4はC群で 70 ± 12 , $19 \pm 7 \text{ mg/dl}$ でE, A群との有意の差はなかった。また、Th, Ts, Tc, Th/TsはC群でそれぞれ、 $22.6 \pm 5.9\%$, $5.8 \pm 2.8\%$, $24.3 \pm 6.1\%$, 5.50 ± 5.43 で、E, A群との差はなかった。

〔結論〕子宮内膜症には自己免疫現象が認められる。しかし、本症の末梢血中レベルでは量的異常より、むしろ機能的異常の存在する可能性が示唆された。

V-12

子宮内膜症患者におけるNK細胞機能

山形大学医学部産科婦人科学教室

○田中栄一、広井正彦

NK細胞は発癌の免疫監視機構にかかわる細胞であり、生体内で腫瘍発生の初期に働いてその予防や抑制に関与するといわれている。今回、我々は、異所性の組織増殖容認という点で腫瘍増殖的な側面をもつ子宮内膜症に関し、NK細胞機能の点から検討を加えたので報告する。〔対象と方法〕①内膜症患者血清のNK機能修飾：腹腔鏡下に診断しえた内膜症患者の血清を25%含有する培養液で健常人リンパ球（エフェクター細胞）を24時間培養し、K562細胞を標的細胞としてNK活性を検定した。

NK活性測定は、FDAでラベルした標的細胞をフローサイトメトリーで解析する方法と、アガロースを用いたSingle cell cytotoxicity assayの2つの方法で検討した。②実験的子宫内膜症モデルを用いての検討：対照群として雌10週齢C3Hマウスの腎被膜下に子宮内膜片を移植し、2～4週間後に、移植片の生着率とサイズを観察した。実験群としては、同系マウスに抗アシアロGM1抗体を継続投与し、生体内よりNK細胞を排除した状態のマウスの群と、遺伝的にNK活性機能が欠損しているBeigeマウスの群の2つの実験群を設定した。〔結果〕①内膜症患者血清で処理したリンパ球は、健常人群に比較しNK活性の有意な低下が見られた。（FDA法での% cytotoxicityは内膜症群で11%、健常人群で25%であった。）このNK活性の抑制効果は、血清添加量の増加に伴い、増強した。②内膜症モデルマウスにおいては、対照群に比較し、抗アシアロGM1抗体投与群と、Beigeマウスの群の2群において、生着率の上昇と、移植片の増殖が見られた。〔考察〕内膜症患者血清中にNK活性を抑える物質が存在すること、また、動物実験の結果により生体内においてNK細胞が、内膜移植片の生着や増殖を修飾していることが示唆された。内膜症患者のNK細胞機能が抑制されている可能性が考えられるため、患者自身の血中および腹水中のNK細胞活性を現在検討中である。

V-13

子宮内膜症における異所性内膜の組織所見およびステロイドホルモン・レセプターについて

札幌医大産婦人科

○井上雄子、中町悟子、山本 弘、遠藤俊明、藤井美穂、田中昭一、橋本正淑

【目的】一般的に子宮内膜症における異所性内膜は月経周期に同調する変化がないといわれている。HE染色により異所性内膜の組織構造を観察し、併せてホルモン応答性を類推するため免疫組織染色によりエストロゲン・レセプター（以後ER）、およびプロゲステロン・レセプター（以後PR）の存在を検索した。

【方法】手術摘出時、子宮腺筋症、腹膜、卵巣腫瘍壁の外性子宮内膜症の病巣を採取しPLP固定後-80℃で凍結保存した。5μの凍結連続切片を作製し、HE標本およびダイナボットER-ICA kit、PR-ICA kitを用いER、PRの免疫組織染色標本を作製した。

【結果】異所性内膜は増殖期内膜に類似した所見のみならず分泌期内膜に類似した旺盛な分泌像を示した。内膜腺細胞は核下空胞、核内空胞をもち、腺腔内にアポクリン様分泌像を示していた。また同一標本であっても腺腔によって増殖期内膜に類似した所見を示すものと、分泌期内膜に類似した所見を示すものとが認められた。この所見は子宮腺筋症で特に著明であったがチョコレート嚢腫の腫瘍壁にも同様所見が認められた。また、ER、PRの免疫組織染色では異所性内膜は腺腔の高さも低く萎縮内膜様であり、ERおよびPR陽性細胞も少なかったが、子宮腺筋症における異所性内膜の陽性細胞はやや多かった。

【考察】異所性子宮内膜も分泌像所見を示すことが認められ、またステロイドホルモン・レセプター陽性細胞も存在した。これらよりホルモン応答性が存在していると考えられたが、その変化は必ずしも月経周期に同調しておらず、むしろ自律性に増殖している可能性が示唆された。

V-14

子宮内膜症性卵巣嚢胞（チョコレート嚢胞）に対するエタノール固定後の嚢胞摘出術について

北海道大学医学部産婦人科学教室

○桜田芳弘、林 正路、田中俊誠、藤本征一郎

【目的】チョコレート嚢胞に対するエタノール固定後の嚢胞摘出術の臨床的有用性を検討する。

【対象方法】1) 対象：1990年4月～7月の期間にエタノール固定後の嚢胞摘出術を受けた年齢23～27歳の6例を対象とした。2) 方法：以下の順に従って嚢胞摘出術を施行した。(i)開腹、(ii)チョコレート嚢胞内容を21Gの注射針で吸引、(iii)数回の生理的食塩水（生食）による嚢胞内洗浄、(iv)99.9%無菌エタノール（嚢胞内吸引量の50～70%）注入、(v)5～10分間固定、(vi)エタノール吸引、(vii)生食による洗浄、(viii)エタノール注入、(ix)5分間固定(x)嚢胞摘出術(xi)閉腹

【結果】全例において、1)エタノール固定中および嚢胞摘出術施行中に嚢胞内容液の腹腔内への流出はなかった。2)嚢胞壁は卵巣健常組織より容易に剝離できた。3)嚢胞摘出術施行後に下腹部痛や腰痛の自覚症状は消失した。4)嚢胞摘出術施行後に自然排卵周期が認められている。なお、エタノール注入直後に顔面紅潮を示した1例以外は副作用は認められなかった。

【結論】エタノール固定後の嚢胞摘出術は、挙児を希望する婦人にとって安全で、良好な成績が期待できる治療法であると考えられた。

V-15

インシュリン様成長物質(IGF)のゴナドトロピン分泌に及ぼす作用

徳島大学医学部産科婦人科学教室

三宅敏一、兼松豊和、横山裕司、井川 洋、斎藤誠一郎、松崎俊也、
植田敏弘、安井敏之、苛原 稔、青野敏博

【目的】下垂体前葉からのゴナドトロピン分泌に各種の成長因子が様々な調節作用を果たしていることが報告されている。今回我々は、下垂体前葉にレセプターが存在するインシュリン様成長物質(IGF)について下垂体前葉からのゴナドトロピン分泌に及ぼす作用をin vitroの実験系を用いて検討した。

【方法】Wistar系雌ラットを用いた視床下部・下垂体連続還流系および下垂体前葉初代培養系を用いて下垂体からの(1)LHの基礎分泌および(2)LHRH刺激によるLH分泌に及ぼすIGFの影響を検討した。また培養系ではFSHについても検討した。

【成績】連続還流系を用いた検討では、(1)IGF-I 200~2000ng/ml添加では、視床下部・下垂体および下垂体単独のいずれの場合もLHの基礎分泌値には有意な影響を及ぼさなかったが、(2)IGF-I存在下でのLHRH刺激によるLH分泌は亢進し、IGF-I 2000ng/ml存在下でのLHRH2ng/mlによるLH分泌は、基礎値を100%とした場合1165.6%と、LHRH単独によるLH分泌506.4%に対して有意($p < 0.05$)に高値を示した。一方、下垂体前葉初代培養系では(1)IGF-I 2000~5000ng/mlを添加するとLH、FSHの基礎分泌値は有意($p < 0.05$)に上昇した(対照に対してそれぞれ198%、158%)。(2)IGF-I存在下でのLHRH刺激によるLH、FSH分泌は亢進した。さらに(3)これらのIGF-Iの下垂体からのゴナドトロピン分泌促進効果は、抗IGF-Iレセプター抗体の添加により低下した。

【結論】IGF-Iは下垂体からのゴナドトロピン基礎分泌を促進し、さらにLHRHにたいする下垂体の感受性を高めることがわかり、生理的濃度範囲で下垂体からのゴナドトロピン分泌機構の調節に関与している可能性が示唆された。

V-16

内因性摂食調節物質 2-buten-4-olideのゴナドトロピン分泌抑制作用に関する検討

徳島大学産科婦人科学教室

斎藤誠一郎、横山裕司、井川 洋、松崎利也、植田敏弘、
安井敏之、三宅敏一、苛原 稔、青野敏博

【目的】高度の体重減少により月経周期が停止するが、その機序は明らかではない。前回、我々はin vitroのラット実験系を用いて、絶食により体内に増加する内因性摂食調節物質 2-buten-4-olide (2-B4O) がラットの視床下部・下垂体に影響を及ぼし、エストロゲンのポジティブ・フィードバックによる下垂体からのLH放出を抑制し、性機能を低下させることを報告した。そこで、今回は、同様のin vitroラット実験系を用いて2-B4OのGnRH刺激による下垂体からのLH放出、及びin vivoでのLHのパルス状分泌に及ぼす影響について検討した。

【方法および結果】ラット視床下部・下垂体連続還流系：ラット視床下部・下垂体還流系をもちいたin vitroの実験系に、 $100 \mu\text{M}$ の2-B4Oを還流しながら、下垂体を $2\text{ng}/\text{ml}$ のGnRHで30分間刺激し、採取した流出液のLH濃度を測定した。その結果、2-B4Oを添加すると下垂体からのLH分泌は、 $89 \pm 44\%$ (対照群： $380 \pm 171\%$)の増加にとどまり、2-B4OはGnRH刺激によるLH放出を有意($p < 0.05$)に抑制した。ラットLHパルス状分泌の測定：発情休止期の雌ラットを、無麻酔、無拘束下に、血液 0.3ml を15分毎に採取し、採血開始90分後に、2-B4Oを静脈内投与(体重 1kg あたり 50mg 及び 100mg)すると、LHのパルス状分泌の頻度は有意に抑制された(対照群： 0.96 ± 0.1 回/時間、 50mg 及び 100mg 投与群： 0.42 ± 0.1 回/時間、 0.66 ± 0.2 回/時間、 $p < 0.01$)。パルスのamplitudeには有意な変動は認められなかった。

【結論】2-B4OはGnRH刺激に対するLH放出を著明に抑制し、LHのパルス状分泌についてもその頻度を減少させた。以上の成績から、2-B4Oは、視床下部及び下垂体の両者に作用して、性機能を低下させる可能性が示唆された。(784/828字)

V-17

ヒト胎盤組織におけるオキシトシン様物質およびCRFの存在について

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○酒井 淳, 牧野恒久, 岩崎賢一, 斉藤 優, 野澤志朗

胎盤は子宮筋に隣接するという解剖学的位置関係と、分娩終了と共にその使命を終えるという時間的關係において、分娩への深い関与が推測されている。また近年、異所性ホルモン産生臓器としての報告も相次いでいる。その中でも特に、オキシトシン様物質は子宮筋を収縮させる生理活性を有し、CRFもオキシトシンとの共同作用で子宮筋収縮に関与しているとの報告もあり、陣痛発来メカニズムを解明する上で、この両者は非常に重要な役割を担っているものと思われる。

本研究では、オキシトシン様物質及びCRFの胎盤組織内における存在とその濃度・総量などを検討した。

胎盤 homogenate の dilution curve は synthetic oxytocin の dose response curve と 10-1000 pg/tube 間で平行であった。胎盤組織 homogenate の CMC column による溶出パターンは合成OTのそれと類似した。胎盤組織 1g 中の immunoreactive oxytocin 濃度は妊娠初期から中期にかけて急増し、以後末期まで同一レベルであった。胎盤 1 個あたりの immunoreactive oxytocin の総量は妊娠末期で 15 μ g であった。

一方、CRF でも胎盤組織抽出物の dilution curve は ovine-CRF の dose response curve と 10²-10⁴ pg/tube 間で平行であった。満期胎盤における Ir-CRF 濃度は 28 ng/g、胎盤 1 個あたりの総量は 15 μ g であった。

以上の結果に基づいて、遺伝子工学的手法を用いて妊娠期別の mRNA の変動などについて検討を加えた。

V-18

下垂体遊離細胞 LH 分泌に対する Interleukin-1 の作用の検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○斉藤 優, 牧野恒久, 和泉俊一郎, 豊島 究, 杉 俊隆, 野澤志朗

免疫関連物質である cytokine が内分泌作用を有するとの報告が、内外で以前よりなされているが、とりわけ Interleukin-1 (以下 IL-1) および Interleukin-6 (以下 IL-6) に下垂体-副腎皮質系の ACTH 分泌効果・CRF 分泌効果があるとの研究が、広く報告されている。

近年わが国でも、IL-1 および IL-6 にラット下垂体細胞 LH 放出を促進する効果を認めたとの報告がなされているが、なお不明の点も多い。われわれは、ラット下垂体遊離細胞単層培養系に IL-1 を投与し培養液中の LH 量を測定し、その他若干の知見をえたので報告する。

【方法】 SD 系体重 200~250g 雌ラットをドライアイス下で断頭し下垂体を摘出、トリプシン処理にて遊離した下垂体細胞を 4 日間短期単層培養後、培養液中に種々の濃度の GnRH・IL-1 を投与し、4 時間の培養にて培養液中に放出された LH 量を RIA にて測定した。

【結果】 Control 群の LH 分泌を 1.58 \pm 0.28 ng/ml とすると GnRH 10⁻⁶~10⁻¹⁰ M の用量で LH の放出量は 3~4 倍に増加した。一方 IL-1 10⁻²~10⁻⁶ ng の用量での LH 放出量は 1.5~2.0 倍に増加した。

【結論】 われわれの実験においては、同時に投与した GnRH と比較して IL-1 でも有意な LH の放出を認めた。

V-19

視床下部神経細胞におけるLHRH mRNAの組織学的局在

帝京大

○味香勝也, 深沢みゆき, 土橋一慶, 高野栄子, 荒井 清, 冲永荘一

【目的】視床下部におけるLHRH mRNAの局在を種々の長さの合成オリゴヌクレオチドプローブを用いた *in situ hybridization* (ISH)法および免疫組織化学的方法によって検討した。【方法】成熟雌ラット(体重180~250g)を4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し、直ちに視床下部組織片を採取、30% sucrose 溶液に浸漬した後、Cryostatで約15 μ mの切片を作製した。Seeburgらによって明らかにされたLHRHの遺伝子構造に従ってLHRHの decapeptide をコードする部分を含む20, 27, 34, 72 merの4種類のオリゴヌクレオチドプローブとコントロールとしてこれらと相補的塩基配列をもつ66merのオリゴヌクレオチドプローブをApplied Biosystems社の381 A DNA synthesizerを用いて作製した。精製はHPLCとOPCカラム法によって行なった。プローブは[γ -³²P]ATPおよびT4ポリヌクレオチドキナーゼを用いて5'末端に標識した。ISH法は凍結浮遊切片を50%ホルムアミド存在下で $1 \times 10^7 \sim 10^8$ cpm/ml, 37°C, 24時間の条件で行なった。免疫組織化学的染色はABC酵素抗体法を用いた。用いた抗体はLHRH decapeptide に対する家兔抗血清である。【成績】視床前野(preoptic area)あるいは終板器官(organum vasculosum lamina terminalis)には合成DNAによってオートラジオグラム上に明瞭な粒子で標識された神経細胞内のmRNAが認められる。免疫組織化学的方法では同様の部位にLHRH抗体で染色される神経細胞が局在する。今回使用した4種類のプローブにおいては、短いプローブは非特異反応が起り易い。また、長い塩基配列をもつプローブは短いものに比較して合成と精製が困難であることから30mer前後が適当であると考えられる。【結論】視床下部の神経細胞におけるLHRH mRNAの局在を適当な長さの合成オリゴヌクレオチドプローブを用いたISH法により容易に証明することが出来る。

V-20

TAP-144-SR 6ヶ月投与による子宮筋腫縮小効果の検討

九州大学医学部婦人科学産科学教室

○渡辺良嗣、内海善夫、野崎雅裕、中村元一、中野仁雄

<目的>子宮筋腫の治療の原則は手術的摘出であるが、更年期・不妊婦人においては他の有効な保存的療法が期待されている。子宮筋腫の発育はエストロゲン依存性であると考えられており、GnRH analog による治療は筋腫縮小に効果的であるという報告が多い。我々は手術の前治療または保存治療目的でD-Leu6-[des-Gly10-NH2]-LH-RH ethylamide acetate sustained release(TAP-144-SR)2用量による6ヶ月の投与を行い、その筋腫縮小効果について検討した。<方法>子宮筋腫による症状を持つ婦人および子宮筋腫が不妊症の原因と考えられた婦人で、同意の得られた40例を対象とした。TAP-144-SRの1.88mgまたは3.75mgを4週毎24週間側腹壁に皮下注射し、子宮および筋腫結節の径を超音波断層法にて、血中E2・LH・FSHをRIA法にて経時的に観察測定した。<結果>(1)投与終了時、子宮の体積は前値の52.1 \pm 20.5%にまで縮小した。投与中月経は認められず、下腹痛は消失した。貧血のみられた例では鉄剤の併用により改善が認められた。(2)投与終了後平均70日に排卵が認められ、初回月経が観察できた症例では治療前にみられた過多月経、月経困難症は消失または軽快していた。(3)治療中の副作用として熱感(75%)、肩こり(55%)が高頻度に出現し、他に関節痛、しびれ感、不眠が認められた。(4)投与開始後4週目には血中E2は低値となり、LH・FSHの基礎値は卵巣周期初期レベルに抑制されていた。<考案>従来の報告のごとく、TAP-144-SRによる子宮筋腫縮小効果は低エストロゲン状態に関連するものと考えられた。子宮の縮小に伴って過多月経・月経困難症が著明に改善したことより、閉経直前の婦人における保存的治療の可能性が示唆された。また子宮および筋腫結節の縮小は、子宮摘出術または筋腫摘出術における術前投与として有用であると考えられた。

V-21

IVF-ET, GIFT programにおけるGnRH analog(GnRHa)併用の有用性と問題点に関する研究

鳥取大学医学部産科婦人科学教室
 ○関島秋男、岩部富夫、大野原良昌、谷川正浩、寺戸博文、戸田稔子、
 原田 省、見尾保幸、寺川直樹

〔目的〕 GnRHaを併用したIVF-ET, GIFT周期における内分泌学的環境や GnRHaの至適投与法、卵のqualityに対する影響の解明を目的とした。〔方法〕 1989年5月より1990年4月までに当科で血中Estradiol(E2), Progesterone(P), LH の連日測定と卵胞径計測による卵胞期管理のもとにIVF-ET, GIFTを実施した191周期を対象とした。対象をClomiphene+hMG群(Standard regime; SR, 99例)と、2種類のGnRHa+hMG群(Midluteal regime; MR, 46例、Flare regime; FR, 46例)の3群に分類し、各群における血中ホルモン動態、卵胞発育及びIVF-ET, GIFTの成績を比較検討した。〔結果〕 緊急採卵周期率はSRにおいて高かったが、MR, FRでも少なからず認められた。異常反応周期率は有意差はないもののFRで高い傾向にあり、そのうちpremature LH surge率はGnRHa併用群で有意に抑制されたが、血中P値の上昇した周期率はFRで高かった。採卵に要した日数に差はなかったが、血中E2はMR, FRで高値であり、卵胞1個あたりの血中E2値はFRで高い傾向にあった。hCG投与時の血中LH値はMR, FRで有意に抑制されたが、血中PはFRで有意に高値であった。平均採卵数はMR, FRで多かったが、成熟度、受精率、ET周期率、妊娠率に差を認めなかった。〔考察〕 GnRHaの併用によりpremature LH surgeは抑制されたが、P値の上昇は抑制されずFRではかえって増加した。GnRHa併用周期では採卵に要した日数に差はないにもかかわらず血中E2値が有意に高かったことより、血中E2値の急激な上昇がこの血中P値上昇の誘因と考えられた。またGnRHaの併用により採卵数は多くなるものの卵のquality改善については一様でないことが示され、これらの点の改良がさらなる妊娠率の向上につながると考えられた。〔結論〕 GnRHa併用卵巣刺激周期においても頻回の血中ホルモン測定を加えた卵胞期管理が極めて重要であり、症例によってより適正な卵巣刺激法の設定が必要であると考えられた。

V-22

中枢神経症状を呈した卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の一症例

東北大学医学部産科学婦人科学教室
 戸沢秀夫、陳 偉業、村上 節、C. マンスフィールド、角田千恵子、
 吉田仁秋、大井嗣和、対木 章、深谷孝夫、矢嶋 聡

卵巣過剰刺激症候群(OHSS)はおもにHMG-HCGによる排卵誘発の際に発生し、卵巣の多嚢胞性腫大、腹水・胸水の貯留、循環血液量の減少、電解質異常、血液濃縮を呈し、重症ではショック、腎不全、呼吸困難、血栓症などを起こすに至る重篤な副作用である。その発生機序は高エストロゲン状態によって毛細血管の透過性が亢進するためとする説があるが、十分には解明されていない。今回われわれは一過性の失語症を呈したOHSSの一症例を経験したので報告する。症例は35歳の続発性不妊症の患者で、GIFTを目的として平成2年3月30日よりブセレリン900ug/日、4月1日よりHMG150IU/日の投与を開始した。HMGは7日間、計1,050IU投与し、首席卵胞径23×20mmの時点でHCG10,000IUを投与した。4月10日にGIFTを施行し4月12日に退院としたが、4月14日より腹部膨満・嘔吐、翌日には水様性下痢・乏尿が出現し、4月16日に外来を受診した。収縮期血圧60mmHg、超音波断層所見で両側卵巣の腫大と多量の腹水を認め、OHSSによるショックの診断で入院となった。Ht52.9%, Na118mEq/mlと血液濃縮・低Na血症を認め、補液・新鮮凍結血漿投与を行って循環血液量の回復と電解質の補正をはかった。全身状態と諸検査値は次第に改善したが、4月17日より失語が出現し失語について言語の理解が困難となった。この状態は4月19日頃より次第に改善に向かったが完全には回復せず、4月27日に脳神経内科紹介となった。右の錐体外路症状と失語があり、5月7日のMRIで左中大脳動脈域に病変が認められたが6月7日の脳血管造影では異常を認めなかった。この間に失語症はほぼ回復した。脳神経内科の診断は脳梗塞で、血栓による一過性の虚血によるものと考えられた。重症のOHSSでは時に血液濃縮と凝固系の異常によって血栓を生じ、まれには死亡の報告もある。HMG-HCG療法の際には慎重なモニターと投与量の調節によってOHSSの発症予防に努めると同時に早期の適切な管理が重要と思われる。

V-23

シアル酸含有量の異なる2種類のHMG製剤の臨床効果の比較

賛育会病院 産婦人科

○合阪幸三, 都築浩雄, 金田幸枝, 野島美知夫, 鳥谷葉子,
國保健太郎, 吉田浩介

HMG製剤は無排卵を原因とする不妊症に対して広く用いられている。しかしHMGは生物製剤であることから、用いる製剤によって卵巢の感受性が変化するため、症例に応じてきめ細かい対応が重要となる。最近、HMG製剤に含有されるシアル酸の濃度がFSHの半減期に影響を及ぼし、生物学的活性に重要な生理的意義を有するとされている。そこで本研究では、HMG製剤に含まれるシアル酸の濃度により成熟卵胞数や妊娠率にどのような差異が生じるかを検討した。

〔方法〕排卵障害を有する不妊婦人8例(下垂体性:2例、黄体機能不全:3例、内分泌学的PCO:3例)に対して、シアル酸含有量の異なるヒュメゴン®(シアル酸 $8.6 \pm 0.5 \text{ mg/dl}$)およびパーゴナル®(同: $1.6 \pm 0.6 \text{ mg/dl}$)を周期毎に交互に用い、成熟卵胞数、妊娠率およびOHSS発生頻度について比較検討した。卵胞の発育は超音波断層法を用いて観察し、直径2cm以上のものを成熟卵胞とした。観察周期はヒュメゴン®:14周期(A群)、パーゴナル®:17周期(B群)であった。

〔成績〕①HMGの総投与量は、A、B群でそれぞれ 1873.5 ± 216.2 vs. $2124.7 \pm 247.6 \text{ iu}$ と、A群で有意に減少していた($P < 0.01$)。②成熟卵胞発育数は、A群: 3.4 ± 1.8 、B群: 3.9 ± 2.2 と有意差はなかった。③OHSSはA群:7/14(50%)、B群:9/17(52.9%)に出現した。PCOで比較するとA群:3/6(50.0%)、B群:6/7(85.7%)と、A群で減少する傾向が得られた。④妊娠率はA群:2/14(14.3%)、B群:2/17(11.8%)とほぼ同等であった。⑤卵胞期の血中FSH値は、A群: 10.1 ± 1.9 、B群: $8.0 \pm 2.2 \text{ mIU/ml}$ とA群で有意に高かった($P < 0.02$)。

〔結論〕ヒュメゴン®はシアル酸含有量が多いため、FSHの生物活性が低下しにくく、このことが卵胞発育に有利に作用する可能性が示唆された。

V-24

LH-RHの間歇的静脈内投与によって排卵・妊娠に至った難治性排卵障害の一例

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

鈴木真史, 岡田英幹, 貝田清隆, 生田克夫, 万歳 稔, 花田征治,
八神喜昭

不妊症の原因のうちの排卵障害はhMGや最近のLH-RH、FSHを用いた治療法の発達により良好な治療成績が得られている。今回我々は原発性無月経、第2度無月経で、過去にhMGにて妊娠分娩の既往があるにも関わらず、その後は大量のhMGにもほとんど反応しなくなり、LH-RHの静脈内への間歇的投与によってのみ初めて排卵・妊娠に成功した一例を報告する。

症例は40歳、身長162cm、体重57kg、核型46, XX。当科初診は昭和55年30歳であった。第2度無月経にてhMG-hCG療法、clomid-hMG-hCG療法により3回妊娠に成功(流産:2回、分娩1回)したが、その後hMG(総投与量7000~9000IU)の筋肉内投与への反応が認められなくなった。昭和60年8月の腹腔鏡検査では卵巢は萎縮して小さく、組織検査で極めて少数の原始卵胞が認められた。LH、FSHは低値でLH-RH(100 μg 負荷)テストではlow poor型の反応を示した。hMGの持続的皮下投与(300~450IU/day, 総投与量14,550IU)を行ったが卵胞発育は認められず無効と判定した。LH-RH 10 μg ~20 μg /90min., 6週間の間歇的静脈内投与では卵胞発育・排卵が認められた。しかしその後におこなったhMGの間歇的皮下投与(150~300IU/day, 90分間隔, 総投与量4800IU)では卵胞の発育は認められなかった。再び昭和63年よりhMGの筋肉内投与・間歇的皮下投与、LH-RHの間歇的皮下投与(20 μg /pulse, 2週間)を行ったが卵巢に反応は認められなかった。今回平成2年5月よりLH-RH(20 μg /120min.)の間歇的静脈内投与を行ったところ8週間目に血中E₂の上昇、卵胞発育、排卵を認め妊娠に至った。現在祝床下部性無排卵に対してはLH-RHの間歇的投与方法がもっとも生理的な排卵誘発法に近いとされているが、携帯pumpを用いhMGを間歇的あるいは持続的に投与しても効果は同等であるといわれている。今回の症例はLH-RHの間歇的静脈内投与のみに反応し卵胞発育、排卵、妊娠に至った難治性の排卵障害例であり、その治療法・経過につき報告する。

V-25

PCODに対するLH-RHa-HMG-HCG療法における内分泌的検討

信州大学産科婦人科

○中山邦章, 吉川文彦, 吉澤 徹, 平林稔之, 福田 透

多嚢胞性卵巣症候群(PCOD)に対するHMG-HCG療法は、高い排卵率が得られるが、卵巣過剰刺激症候群(OHSS)などの重篤な副作用に苦慮することが多い。そこで、過剰な内因性LHを抑制し外因性ゴナドトロピンのみで排卵させるため、HMG-HCGにLH-RHaを併用して、OHSSの発生とその際の内分泌的動態につき検討した。対象は、HMG-HCG療法にてOHSS発症の既往があるも、妊娠成立を見なかったPCOD 5例(9周期)。月経第1日よりプセリリン900 μ g/日経鼻投与し、第15日目よりHMG日研150IUを連日投与した。超音波断層法にて最大卵胞径18mm以上で、LH-RHaを中止し、HCG 10000IUを1回投与した。周期中2回/週RIAにてE₂, P, LH, FSH, PRLを測定した。卵巣最大径が、6cm以上に腫大したものをOHSSとした。9周期中、排卵8例(89%), 妊娠1例(単胎)(11%), OHSS発症3例(33%)であった。OHSS例は、平均最長径89.3mmの卵巣腫大を認め下腹部痛や腰痛を訴えたが、腹水貯留は認めず加療を必要とした症例は1例もなかった。プセリリン開始後、血中LH値は低下推移を示し、平均16.1日めには2mIU/ml以下となった。LH/FSH比は正常化し、HCG切り換え時には、OHSSを生じた群0.24 \pm 0.15(Mean \pm SE)、生じなかった群0.15 \pm 0.10という値を示した。HMGの使用量は、OHSS群9Vial(平均)、非OHSS群14.5Vで、必ずしもOHSS群のほうが多くはなかった。OHSS群のE₂値は、誘発開始前は非OHSS群と大差なかったが、HCG投与時には、非OHSS群131.3 \pm 18.6pg/mlに対し、2516.7 \pm 910.3pg/mlと高い傾向にあった。排卵後BBT高温相は、妊娠例を除き、全例8~10日間でshort luteal phaseを示した。

PCODに対するLH-RHa-HMG-HCG療法は、加療を要するような重症OHSSの発症を防ぐ、有用な誘発法であると考えられた。しかし、多数の卵胞発生は同様に見られ、HCG投与時のE₂値やLH/FSH比が高値ほど卵巣腫大を生じ疼痛の原因となった。また、黄体機能賦活のためのLuteal supportの必要性が示唆された。

V-26

クロミッド療法無効のPCOに対するLH-RHa, hMG-hCG療法

千葉大学産婦人科 ○木村博昭, 布山隆史, 稲葉憲之, 高見澤裕吉

川鉄千葉病院産婦人科 内藤正文, 板橋光司郎

PCOに対する排卵誘発法として、クロミッドを中心とした方法が採用されているが、クロミッド無効のPCOも存在し、またhMG-hCG療法におけるOHSSの発生率が高いことより、最近LH-RHa, hMG-hCG療用が用いられている。今回、当科にてクロミッド無効のPCO 5例(9周期)に対し、LH-RHa, hMG-hCG療法(黄体期中期よりプセリリン900 μ g/day使用)を施行し、排卵の有無、hMGの使用量、hCG切替時の血中E₂値、高温期7日目前後の血中E₂, progesterone値、黄体期の長さ、OHSSの有無につき検討した。

(結果) 1.排卵率は7/9(78%)であり、妊娠率は、対周期2/9(22%)、対症例2/5(40%)であった。2.hMG総投与量は1550 \pm 581(900~2700)単位であり、排卵周期・非排卵周期ではそれぞれ、1479単位、1800単位であった。3.hCG切替時の血中E₂値は9846 \pm 1246pg/mlであり、排卵周期・非排卵周期ではそれぞれ、1279pg/ml, 101pg/mlであった。4.排卵後7日目前後における最大卵巣径は6.1 \pm 2.6cm(4.5cm~11cm)であり、軽度の腹水貯留が3例に認められた。また血中E₂, progesterone値はそれぞれ2909 \pm 3993pg/ml, 51.3 \pm 398ng/mlであった。妊娠例については、血中E₂, progesterone値はそれぞれ2110pg/ml, 65.5ng/mlであった。5.排卵周期における黄体期の長さは10.2 \pm 1.8日であった。(結論)クロミッド療法無効のPCOに対し、LH-RHa, hMG-hCGによる排卵誘発法を行なった。排卵率、妊娠率とも良好であり、またかなりの腹水を伴うOHSSの発生は認められなかった。しかしながら黄体期の長さは10.2 \pm 1.8日と短かい傾向にあり今後の改善点と考えられた。

V-27

ラット視床下部培養系におけるプロラクチンのGn-RHおよびドーパミン分泌に及ぼす影響について

大阪大学・医学部・産科婦人科学教室
 沢田雄至、小池浩司、廣田憲二、門脇浩三、池上博雅、増本伸之、
 大道正英、三宅 侃、谷澤 修

【目的】高プロラクチン(PRL)血症では排卵が障害されており、高PRL血症ラットを用いた *in vivo*の実験において視床下部dopamine(DA)の代謝回転とGn-RH含量の低下、門脈血中のGn-RH濃度の低下及び下垂体からのLH放出抑制が認められることを報告してきた。今回視床下部神経細胞培養系を用いてPRLの視床下部DAおよびGn-RH分泌に及ぼす影響について検討を加えた。

【方法】雌ラット視索前野領域を含む視床下部(Gn-RHニューロン培養系)あるいは弓状核室周囲核を含む正中隆起部(DAニューロン培養系)を用い酵素処理にて得た単離細胞を3日間(Gn-RHニューロン培養系)あるいは5日間(DAニューロン培養系)初代培養し①免疫組織化学法にてGn-RH産生細胞やDAニューロンの存在と②培養系へcalcium ionophore(Io)やラットPRLを添加した際のGn-RHおよび $[^3\text{H}]$ DA分泌刺激効果をRIAなどで測定した。

【成績】①視床下部培養系に抗Gn-RH抗体に特異的に染まる細胞群およびtyrosine hydroxylase陽性細胞群を認めた。よってGn-RHおよびDAニューロンの存在が確認できた。② $50\mu\text{M}$ Ioは投与後30秒以内 $[^3\text{H}]$ DA放出を、投与後1分以内にGn-RH放出を有意に促進し、その効果は濃度依存的であった。③PRLはDAニューロンからの $[^3\text{H}]$ DAの放出を濃度依存的に促進し、DAはGn-RH分泌に抑制的に作用した。④PRL投与はGn-RH分泌には影響を及ぼさなかった。

【結論】今回の成績から、高PRL血症の排卵障害の機序としてPRLがDAニューロンに作用し活性させ、その結果Gn-RH分泌を抑制し排卵障害が招来されるものと推察される。

V-28

高TSH血症を示す不妊(育)症患者の検討 一第2報一

東京女子医科大学産婦人科, 同母子総合医療センター^{*}
 ○安達知子, 岩下光利^{*}, 吉井大介, 三室卓久, 中山摂子, 武田佳彦,
 坂元正一^{*}

【目的】我々はTSH $3.6\text{uU}/\text{ml}$ 以上で臨床的に甲状腺機能低下症状を示さない潜在性甲状腺機能低下合併不妊不育症患者について検討し、これら患者に高PRL血症の合併率が高いこと、治療としてT4製剤投与が有効であることを報告した。今回、これら患者のTSH値とプロラクチン(PRL)値の関係およびT4製剤投与後におけるPRL値の変動についてさらに検討を加えた。【方法および結果】3年間に来院した高TSH合併不妊(育)症患者は51例でこれは全体の8.0%を示した。内訳は原発不妊29例、続発不妊17例、習慣性流産5例であり、バセドウ病手術後3例、橋本病8例を含み、全体のTSHの平均値 $\pm\text{SE}$ は $10.8\pm 3.5\text{uU}/\text{ml}$ であった。高PRL血症(PRL $20\text{ng}/\text{ml}$ 以上、TRH負荷テスト過大反応)合併率は70.6%であった。しかし、血中TSHとPRL値の間に相関は認められなかった。T4製剤を投与した患者19例についてその治療開始前と治療4~8週後のTSH、PRL値を比較するとTSH値治療前 $16.7\pm 9.4\text{uU}/\text{ml}$ 、後 $1.8\pm 0.2\text{uU}/\text{ml}$ 、PRL値治療前 $22.3\pm 2.5\text{ng}/\text{ml}$ 、後 $14.1\pm 1.2\text{ng}/\text{ml}$ でT4製剤投与によってTSH値が正常範囲に下降するにつれPRL値も有意($p<0.05$)に低下することが示された。しかし、PRL値がその後原因不明に再上昇するもの、または、十分に低下しきれないもの、PRL基礎値は正常範囲に下降してもTRHテストの反応では過大反応を示したものがみられた。治療はT4製剤を中心にPRL値の低下が十分でなかったものにはプロモクリプチンを併用し、28例中8例が妊娠し、妊娠中もT4製剤を継続して順調な経過を得ている。【考案】潜在性原発性甲状腺機能低下患者では間脳からのTRH分泌促進によって高PRL血症をきたす可能性もあるが、両ホルモン値の間に相関はなく、T4製剤投与の治療によって必ずしもTSHと相伴ってPRL値低下を認めなかったことより 相互の調節系にはさらに複雑な機構が関与していると考えられた。

V-29

ヒト黄体life spanの調節機構
—ヒト顆粒膜・黄体細胞の培養系におけるプロラクチンの作用—

大分医科大学産科婦人科学教室
 ○ 榎原久司, 河野康志, 松井尚彦,
 村田博久, 早田 隆, 宮川勇生

ヒト黄体のlife spanの調節機構を明らかにすることを目的として、ヒト顆粒膜・黄体細胞の分化と増殖との関連を考察するため、その長期培養系において、hCG刺激下におけるestradiol (E₂)とprogesterone (P₄)の各産生能および細胞増殖能の経時的变化を測定するとともに、これに及ぼすprolactin (PRL)の影響について検討した。

直径15 mm以上の大卵胞より顆粒膜細胞を採取し、37°C, 5% CO₂, 95% air下にて培養を行ない、48時間ごとに培地を交換した。hCG 10 IU/mlおよびPRLの種々の濃度の存在下における48時間のE₂, P₄産生能および4日ごとの細胞増殖能をRIAおよび³H-thymidine (TdR)の取り込みによりそれぞれ測定し、1 x 10⁵ viable cells当たりの量に換算した。

PRL添加群は非添加群に比べ4日目および6日目において有意(P<0.01)にE₂産生が低かった。P₄産生では、4日目から12日目において有意(P<0.01)な低値を示した。細胞増殖能では、PRL添加群は非添加群に比べ8日目(P<0.05), 12日目(P<0.01)において有意な取り込みの低値を示した。さらに、これらのE₂産生, P₄産生および細胞増殖能に対するPRLの抑制作用は濃度依存性を示した。また、E₂産生, P₄産生および細胞増殖能の経日的変動パターンにはhCGおよびPRLによる差はなく、peak値の順は、E₂産生(2日目), P₄産生(8日目)次いで細胞増殖能(12日目)となった。

これらの結果より、PRLは卵巣に直接働いて、そのE₂, P₄産生および細胞増殖能を抑制することが示唆された。また、今回のin vitroの実験系において、E₂, P₄の産生能および細胞増殖能の経日的変動パターンにはhCGのみならずPRLも影響を及ぼさないことより、in vivoで認められるこれらのhormoneの黄体に対する作用発現には、他の細胞または因子の関与が必要であることが示唆された。

V-30

レセルピン投与ラットにおける脱落膜反応と血中ホルモン濃度について

○ 茂田哲哉(日本レダリー株式会社) 辻井弘忠(信州大学農学部)
 橋爪一善(防衛医科大学校)

ラットに偽妊娠を誘起するには種々の方法が知られているが、今回われわれは、レセルピン投与による方法と精管結紮雄との交尾による方法を用いてラットに偽妊娠を誘起し、その後の脱落膜反応誘起刺激に対する子宮の反応性ならびに血中ホルモン濃度について比較を試みた。

(材料と方法)実験には体重210g~300gのWistar Imamichi系雄ラットで4日性周期を2回以上示したものをを用いた。レセルピンによる偽妊娠は、レセルピンを発情後期の午前9時~10時に体重1kgあたり3mg皮下投与し、レセルピン投与前日の発情期を偽妊娠第1日とした。精管結紮雄による偽妊娠は、発情前期像を示した雌を精管結紮雄と一晚同居させ、翌日の腔栓確認日を偽妊娠第1日とした。脱落膜反応は偽妊娠第4日の午前10時~11時にラットをエーテル麻酔下で開腹し、左子宮角に針金を挿入して反子宮間膜側の子宮内膜をひかくくことにより誘起した。脱落膜反応誘起の一定時間後に動物を剖検し、左右子宮角の重量測定後、左子宮角をカルノワ固定、H-E染色標本を作成し、子宮角横断面における細胞分裂像を数えた。また、血清中のエストロゲンおよびプロジェステロン濃度をラジオイムノアッセイ法により測定した。なお、剖検の3時間前にコルヒチンを体重1kgあたり2mg腹腔内投与した。

(結果)脱落膜反応誘起時にはレセルピン投与群と精管結紮雄交尾群の間に子宮重量の差はみられなかった。脱落膜反応誘起後100時間では子宮重量、子宮の細胞分裂像、脱落膜反応スコア、血中プロジェステロン濃度ともに後者の方が高い値を示した。エストロゲン濃度については両群の間に明らかな差は認められなかった。この結果から、レセルピン投与群の偽妊娠黄体は交尾刺激により活性化された黄体に比べプロジェステロン産生能が低いことが推察された。

V-31

経腔超音波断層法による子宮体部および子宮内膜の月経周期変動について

藤田学園保健衛生大学産科婦人科学教室, 杏林大学産科婦人科学教室*

○吉村俊和, 廣田 稔, 白木 誠, 澤田富夫, 河上征治, 福島 稔,
吉村泰典*

【目的】経腔走査probeの開発は, 卵胞成熟のmonitoring 以外にも子宮および子宮内膜のより詳細な観察を可能とした。そこで経腔超音波断層法による子宮体部および子宮内膜の月経周期における変動を検討したので報告する。【方法】対象は, 自然排卵周期婦人34例45周期である。月経周期をLH peak により, P1(〜-4day), P2(-3〜±0 day), S1(+1〜+4 day), S2(+5〜+8 day), S3(+9 day〜)の5期に分類し, 1.子宮体部体積, 子宮内膜体積の変動, 2.子宮体部および子宮内膜エコーレベルのヒストグラム分析, 3.子宮内膜の形態変化について検討した。子宮体部および子宮内膜に関心領域を設定し, 各々の縦・横断面での最大面積を求め, 同時にその形態観察を行った。ヒストグラム分析は各走査面でのエコーレベルの平均諧調を算出し評価の対象とした。これらは, 同一検者, 同一条件(gain 66dB, dynamic range 60dB)により測定し, 再現性の追求に努めた。【成績】子宮体部体積は, P1→P2→S1期にかけ順次増加したが, progesteroneの増加するS2期において減少し, S2→S3期で再び増加する2峰性の変動を示した。子宮内膜体積は, S1→S2期にかけ急増し(増加率3.7倍/day), S3期に若干減少した。その結果, 内膜体積/体部体積比は, 分泌期中期にあたるS2期で最大値(23.9±5.9)を示した。また, 子宮体部と子宮内膜echoの平均諧調は, S2期にpeakを認めるparallelな変動を示した。内膜形態を, 1:線条, 2:木葉状, 3:木葉状+内部echo, 4:homogenous echo, 5:分類不能の5型に分類し, 各月経周期日との間に回帰分析を適応した結果, 両者間には高い相関($r=0.780$)が認められ, 子宮内膜組織診でのみ可能であった内膜の評価が, 経腔走査法により簡便に行える可能性が示唆された。【結論】経腔走査法により, 月経周期における内性器の微小な形態的变化の捕捉が可能となった。特に子宮内膜での経日的変化は, 着床機能の評価につながることから, 今後の運用に十分期待がもたれるものと考えられた。

V-32

ヒト子宮内膜間質細胞のGrowth factorについて

札幌医科大学産婦人科

○福江ひろみ, 山本 弘, 遠藤俊明, 田中昭一, 橋本正淑

子宮内膜の脱落膜への増殖分化過程においては, 性ステロイドが重要な働きをしている事は従来から知られているが, それ以外の因子についての報告は極めて少ない。今回われわれは, 従来他の細胞においてgrowth factorと考えられている諸因子に関して, ヒト子宮内膜間質細胞の単層細胞培養を行い, DNA合成への影響を検討した。またgrowth factorの一部はphospholipase Cを活性化する事も知られているので, この点についても検討した。(実験方法・成績)黄体期初期の子宮内膜を採取し, collagenaseとdispaseで細胞消化し, discontinuous Parcoll gradient法により間質細胞を分離した。96 well dishに植えた細胞がconfluentになった時点でmedium changeし, control および各種growth factorを加えたmediumにかえ, それぞれに $[^3\text{H}]$ -thymidineを添加した。24時間培養しcellharvesterでDNAへの取り込みを検索した。EGF, bombesin, bradykininはcontrolに比べて約2倍の取り込みを示した。PDGF, prostagrandin $F_{2\alpha}$, vasopressinは有意の影響を及ぼさなかった。つぎに細胞がconfluentになってから $[^3\text{H}]$ -myoinositolで48時間ラベルし, 各growth factorで15分間刺激し蓄積したinositol phosphates (inositol monophosphate+inositol bisphosphate+inositol trisphosphate)をAG1-X8カラムで検索した。bombesin, bradykininで刺激するとcontrolの1.7, 1.9倍のinositol phosphatesが生成された。PDGFでも1.3倍になったが有意の差ではなかった。(結論)ヒト子宮内膜間質細胞の増殖分化には, 性ステロイドの他にEGF, bombesin, bradykininが関与している。そのうちbombesin, bradykininはphospholipase Cを活性化作用がある事が示唆された。その他の因子についても現在検討中である。

V-33

ヒト女性生殖器におけるSuperoxide Dismutase (SOD)の発現とその生理的意義

京都大学医学部婦人科学産科学教室

○成本 勝彦、野田 洋一、塩谷 雅英、森 崇英

【目的】生体内において O_2^- による細胞・組織障害の防御因子として重要な役割を担っているSODは、感染・炎症の防御や細胞の分化にも関与することが知られているが、女性生殖器におけるその役割については十分に解明されているとは言えない。今回我々は女性生殖器におけるSODの局在を明かにし、その生理的役割を解明することを目的とし、ヒト子宮・卵管・卵巣・胎盤におけるSOD活性を免疫組織化学的に検討した。【方法】手術により摘出した各月経周期の子宮・卵管・卵巣および胎盤を免疫組織標本に供した。recombinant human CuZn-SODを家兎に免疫し、得られた抗血清より精製した免疫グロブリンを第一抗体として免疫組織染色(ABC法)に用いた。【結果】①卵管では、月経全周期を通じて間質細胞に比べ上皮細胞に強いSOD活性が認められ、その活性は繊毛細胞で強い傾向を示した。②卵巣では、顆粒膜細胞に比べ卵胞膜細胞、特に内卵胞膜細胞に強い活性が認められ、卵胞発育・黄体形成過程でその発現傾向に変動はみられなかった。また、原始卵胞の卵母細胞にも強い活性が認められた。③子宮では月経全周期を通じて粘膜・腺上皮細胞に強い活性が認められ、特に、分泌期前期～中期の腺上皮細胞の核上・核下空胞や腺腔内物質にも活性が観察された。一方、間質細胞は偽脱落膜化と共に強い活性を示すようになり、妊娠脱落膜細胞においてもその活性は著明であった。④子宮頸部上皮の予備細胞に強い活性が認められた。【考察】以上の結果から①女性生殖器においてSODは感染・炎症の際に発生する O_2^- による組織障害の防御因子として働いている可能性が示唆された。②SODは卵及び卵胞の発育、および黄体形成過程において重要な役割を担っている可能性が示唆された。③子宮内膜においてはprogesteroneがSODの発現に関与し、SODは臨床的に脱落膜化の指標となりうる可能性が示唆された。更に、④子宮頸部の予備細胞に強いSOD活性が認められたことより、SODが細胞の分化にも関与している可能性が示唆された。

V-34

当科における卵管間質部閉鎖に対する体外受精胚移植の治療成績について

群馬大学産科婦人科学教室

○伊藤郁朗、関 守利、土屋清志、伊藤理廣、竹内 巧、篠崎博光、伊吹令人、五十嵐正雄

【目的】卵管間質部閉鎖の診断はその後の治療方法を決定する上で、とくに正診率の高い診断が要求される。当科における診断および治療は原則として腹腔鏡下大量通水療法を最初に行い、更に妊娠成立が難しいものに対して体外受精一胚移植を行った。この診断治療法選択の是非について、当科における治療成績より検討してみる。

【方法】通気法と子宮卵管造影では卵管間質部閉鎖の診断はfalse negativeが多く、子宮卵管造影でさえ閉鎖と診断された症例で、大量通水の治療後には60%以上に卵管通過性を認めた。1983年6月より1990年4月までに大量通水装置によって、大量通水治療後も両側卵管間質部閉鎖と診断された症例は、20例のみであり、当科ではこのような卵管間質部閉鎖の症例に対してはマイクロサージャリーを行わず、体外受精一胚移植を第一選択とした。

【結果】20例のうち当科において体外受精胚移植治療を希望したものは16例であった。体外受精による治療を受けた15例の内妊娠したものは8例53%で、内外同時妊娠が1例であった。双胎分娩1例、早産1例を含む6例が分娩、2例がon going pregnancyで経過順調である。片側卵管閉鎖で体外受精一胚移植を行ったものは10例でそのうち5例50%が妊娠しており子宮外妊娠が1例あった。

【考察】卵管間質部閉鎖における卵管手術では20例以上の報告を検討してみると、1983年のGomezの最高63%から1979年のDiamondの最低14%の間の妊娠率の報告であった。当科における妊娠率と比較してみると、妊娠率に関する限り同等またはそれ以上であり、当科における治療方針は妥当であると考えられる。

V-35

子宮内膜ポリープと不妊症

金沢医科大学産科婦人科学教室

○吉田勝彦, 上田由生子, 金子利朗, 池田裕也, 桑原惣隆

子宮内膜ポリープは、臨床的に少ない疾患であるが、妊孕能に関しては不妊や習慣性流産の原因になることが知られている。今回我々は、当院における不妊と習慣性流産の患者に子宮内膜ポリープを認め、子宮鏡下に診断、治療を行い、その後の成績をまとめ検討を加えた。

当院で、昭和59年より平成2年6月までに不妊症および不育症の患者で、ルーチン検査上子宮内膜ポリープを認め、子宮鏡観察下に子宮内膜搔爬術を施行した患者は5例で、その後妊娠した症例は2例であった。子宮内膜ポリープは、子宮卵管造影法を施行時に診断され、子宮鏡を行い、内視鏡的に診断を行ったのち子宮内膜搔爬術を施行し、内視鏡的に完全に切除されたかを確認した。その後IUDを挿入し、子宮腔内癒着を防止しながら、Kaufmann療法を3-5クール施行後、経過観察を行った。そのうち、妊娠に成功した1症例は骨盤位、高年初産にて帝王切開術施行したが、その後も再妊娠となり、帝切にて分娩を行った。

子宮内膜ポリープは不妊症、不育症などに認められた場合は、子宮鏡にて内視鏡的に子宮内膜搔爬術のみで妊娠する症例もあり、積極的に検査を行い、治療を行うことが必要であると考えられた。

V-36

A I Hの検討

○根上 晃*、金嶋光夫*、富永敏朗**

(*福井県済生会病院産婦人科、**福井医科大学産科婦人科学教室)

【目的】A I Hによる妊娠率向上のために、A I H針、体位の検討を行った。また透視下で模擬A I Hを行い子宮腔内への精液の流入状態の検討を行った。

【方法】A I H針は塩化ビニール製(1.6mm×65mm,北里サプライ社)を使用し、側孔数は1または2コのものを用いた。体位は膀胱充満時、非充満時での子宮前屈角を検討した。模擬A I Hは少量(0.2-0.5ml)のリビオドールを透視下でA I H針で注入後、卵管角部までのリビオドール注入量の検討、安静10分後の造影剤の子宮内の残存状態の検討を行った。

【結果】(1)授精に伴う副作用(疼痛,感染,出血)が減少した。(2)患者個々に合わせたA I H器具が必要であった。(3)骨盤高位の状態は膀胱充満である程度つくり得ることができ、これに骨盤高位を加えると子宮前屈角はほぼ0度になった。(4)模擬A I Hにより通常体位では大部分の造影剤が子宮腔内から腔内に逆流していることが判明した。

【考察ならびに結論】A I H法には改善、改良点があり今後その成功率を上昇させる工夫が必要である。患者個々に合わせたA I Hの方法(A I H針、体位)の選択が可能であると思われた。

V-37

卵管内人工授精法(HIT法)の適応決定のための卵管内精子上行検査に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室, 東京歯科大市川病院*

○岩田壮吉, 小林俊文, 神野正雄, 大澤淑子, 北村誠司, 赤星晃一
杉村和男, 野澤志朗, 郡山 智*

【目的】頻回の人工授精不成功症例の原因の一つとして、子宮腔内に注入した精子が卵管内に到達していない可能性が考えられる。そのような症例に対しては、直接卵管内に精子を注入する子宮鏡下卵管内人工授精法(HIT法)が適応となる。そこで、卵管内への精子の上行障害の有無を明らかにする目的で、ヒステロファイバースコープを用いた精子の上行検査を考案、施行し、その結果に関し検討を行った。

【方法】対象は、AIHを10回以上行っても妊娠の成立しなかった症例とした。膣式の超音波法にて、主席卵胞の最大計が18~20mmに達した日の翌日を検査施行日とした。洗浄濃縮AIH施行1時間後、HIT法と同様の手技にて、子宮鏡下に精子回収用カテーテルを非排卵側の卵管へ挿入し、Hanks液100ℓを卵管内に注入し、直ちに吸引回収した。子宮鏡を抜去したのち、人工授精針を用いHanks液200ℓにて子宮腔内を洗浄し、洗浄液を吸引回収した。

【結果】41症例中、検査不能例11例を除く30例につき検討を行い、3群に分類した。6例(20.0%)は、子宮腔内に運動精子と非運動精子の両者を認め、卵管内には運動精子のみを認めた。これらは、運動精子のみが選択的に卵管内へ侵入したと考え、精子の上行障害は無いと判断し、正常群とした。5例(16.7%)は、卵管内に運動精子と非運動精子の両者を認めたため、カテーテル挿入操作中に子宮腔内の精子が卵管内に流入した可能性も考え、判定不能群とした。19例(63.3%)は、卵管内に全く精子を認めず、精子の上行障害が示唆され、不良群とした。

【結論】HIT法の適応を決定する目的で、子宮鏡を用いた卵管内精子上行検査を考案、施行し、検査施行例の約60%で精子上行障害が存在する可能性が示唆された。

V-38

子宮鏡下卵管内人工授精法(HIT法)の妊娠例および妊娠率に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室, 東京歯科大市川病院*

○杉村和男, 小林俊文, 神野正雄, 赤星晃一, 岩田壮吉, 大澤淑子
北村誠司, 野澤志朗, 郡山 智*

不妊症の臨床を取り扱う者にとって、AIH、AID等の人工授精法を頻回行っても妊娠の成立しない、難治性の不妊症症例の取扱は、常に悩まされる問題である。AIH等の人工授精法で妊娠が成立する場合、5~6回目ぐらいまでの授精で妊娠する例が多く、10回前後人工授精を行っても妊娠に至らない症例は、それ以上回数を重ねても妊娠率は非1に低値である。頻回のAIH不成功例に対しては、GIFT法が適応となり、さらにGIFT法不成功例に対してはIVF-ET法を考慮する治療方針もあるが、費用が未だに健康保険の適応とならない点や、過排卵処理および採卵のタイミングのモニタリングのため月経周期3日目より連日通院およびHMGの筋注を必要とする点、入院、麻酔、手術が必要である事より、すぐには希望しない症例もかなり存在する。また、AIHを行っている精子減少症の症例で、精子の洗浄濃縮法を施行しても精子濃度、運動率がかなり低く、通常の子宮腔内へのAIHではあまり妊娠が期待できない症例もあり、そのような症例に対し、現在我々は外来通院のみで実施可能な子宮鏡下卵管内人工授精法(HIT法)の臨床応用を行っている。平成2月7月現在AIHのHIT法(H-HIT)で8例、AIDのHIT法(D-HIT)で7例の計15例の妊娠例を得ている。症例あたりの妊娠率は、H-HITで対象が99例中妊娠が8例で8.1%、D-HITで対象30例中妊娠が7例で23.3%であった。これは、10回以上の人工授精で妊娠に至らなかった症例で、そのまま人工授精を続行したコントロール群の妊娠率、AIHで3.4%、AIDで13.9%より高値を示している。よって、10回以上人工授精法を施行しても妊娠の成立しない難治性の不妊症症例に対しては、そのまま人工授精法を続行するよりは、HIT法に方針を変更する方が、より高い妊娠率を得られることが明らかとなった。

京都第一赤十字病院産婦人科

○田村秀子, 佐伯美幸, 原田清行, 山田俊夫, 横関正一, 中田好則

近年の不妊症の増加に伴い, 配偶子操作を必要とする症例も増加している。そこで当科不妊外来では本年4月より子宮鏡下卵管内人工授精法 (HIT法) 及び経腔的配偶子卵管内移植法 (経腔的GIFT法) の施行を開始した。

対象としたのはAIH無効例, 乏精子症, 精子無力症, 不妊歴5年以上の原因不明例, あるいは精子生存試験 (洗浄精子をCO₂インキュベーター内で24時間培養) 不良例などで, 少なくとも一側の卵管通過性が保たれている症例である。

運動良好精子の回収方法としては静置法, 遠心洗浄法, 単層Percoll法, Percoll-swim up法の4法を症例ごとに使い分けた。正常精液症例に対してはHIT法ではより簡便な静置法を, GIFT法ではより運動率の高い遠心洗浄法を用いた。乏精子症や精子無力症の場合はPercoll-swim up法を用いたが, 重症例においてはswim up法にて回収できる率は低く, 単層Percoll法を用いた。

当科でHIT法あるいは経腔的GIFT法に使用している子宮鏡はhysterofiberscope及び視野角30°の硬性鏡で, 子宮内腔の拡張にはCO₂を用い子宮内圧が80~110 mmHgとなるように, またCO₂流量が70 ml/min以下となるように調節しながら卵管口の確認を行う。次に精子あるいは配偶子を入れた3Fr.のカテーテルを卵管口より約1 cm挿入する。その後CO₂灌流を中止し, 子宮内圧が0 mmHgになるまで待機した後精子あるいは配偶子を卵管内に注入する。

平成2年4月より6月までの間にHIT法を18例23周期に施行し, うち3例が妊娠継続中である。また経腔的GIFT法を2例に施行したが, 妊娠には至っていない。HIT法および経腔的GIFT法ともに簡便かつ患者への侵襲は少なく, 反復施行可能であり, 有意義な不妊治療法であると考えられる。

一 般 演 題
(示 說 発 表)

P VI-1

頸管粘液分泌不全症の成因と治療に関する研究(第4報)

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室

○許山浩司, 楠原浩二, 松本和紀, 川勝雅秀, 安江育代, 寺島芳輝

【目的】頸管粘液が分泌不全のため精子の通過が障害される不妊例すなわち頸管粘液分泌不全は不妊の中で決して稀なものではない。従来より我々は本症の成因と治療について検討してきた。その結果、本症の成因は卵胞期における estrogen 分泌が不良のため粘液分泌不全になるのではなく、むしろ頸管腺の estrogen に対する反応性が機能的に時に器質的に低下しているためである事を明らかにした(第39回日産婦学会総会)。さらにその治療には estrogen 補充療法や hMG 刺激法は有効とは言えず、通常の AIH も期待した程妊娠率が高くない事が明らかにした(第33回不妊学会総会)。そこで今回本症の治療に 80% Percoll AIH を行ない妊娠率向上に有用か否かを検討した。

【方法】本症に対し AIH を以下の3法で行ないその妊娠率を検討した。方法(I): 無処理精液による通常の AIH を28例・142周期に、方法(II): clomid あるいは clomid+hMG/hCG, hMG/hCG による排卵刺激周期に無処理精液による AIH を13例・32周期に、方法(III): clomid 単独, clomid+hMG, hMG/hCG の排卵刺激周期に 80% Percoll による prepared AIH を7例・25周期に行ないその妊娠率を比較した。

【成績】①方法(I)28例・142周期中5例に妊娠成立し、その妊娠率は症例あたり(/case)17.8%, 周期あたり(/cycle)3.5%であった。②方法(II)の13例, 32周期では6例が妊娠し、妊娠率は/caseで46.1%, /cycleで18.8%に上昇し、さらに③方法(III)の7例・25周期では5例が妊娠し、妊娠率は/caseで71.4%, /cycleで20.0%と著明に向上した。なお方法(III)で妊娠した5例の内訳は clomid+hMG・P・AIH によるものが4例, hMG/hCG・P・AIH によるものが1例であった。

【結論】以上の成績より頸管粘液分泌不全による不妊の治療には clomid, clomid+hMG などの排卵刺激剤での Percoll AIH が有用であると考えられた。

P VI-2

ヒト卵管におけるエストロゲンレセプターとプロゲステロンレセプターに関する免疫組織化学的検索

山梨医科大学産婦人科○池上 淳、加藤順三
社会保険山梨病院 吉田孝二

ヒト卵管は子宮と同様にステロイドホルモン標的臓器の1つである。今回我々はエストロゲンレセプター(ER)とプロゲステロンレセプター(PR)に対するモノクローナル抗体を使用し、ヒト卵管におけるERとPRの組織局在と性周期に伴う変化について検討した。

方法: ER-ICA, PR-ICA キットにて免疫染色を実施した。閉経前でホルモン投与などを受けていない婦人の手術検体10例を使用した。採取された卵管をすみやかに凍結し、クリオスタットにて薄切し、4%ホルムアルデヒドにて固定し、免疫染色を施行した。また同一患者の子宮内膜日付診にて、性周期を決定した。上記方法にて峽部、膨大部、采部の各部を免疫組織学的に比較検討した。免疫染色の評価は、鏡頭にて5視野を調べ細胞陽性率を算出した。細胞陽性率は0~30%(-)、30~60%(+)、60%以上(++)とした。

結果: ER, PR共に、卵管上皮細胞核、平滑筋細胞核が特異的に染色された。血管内皮細胞や炎症細胞には染色されなかった。10例のうち増殖期例は6例、分泌期例は4例であった。卵管上皮はER, PR共に増殖期に陽性率が高く、分泌期に低くなる傾向が認められた。峽部、膨大部、采部での差は認められなかった。間質細胞はERに関しては、増殖期に陽性率が高く、分泌期に低くなる傾向が認められたが、PRは増殖期も分泌期も陽性率に差を認めなかった。

考察: 以前我々は子宮内膜組織におけるER・PRの局在について検討したが、核に局在することが認められ、卵管においても同様であった。また性周期によっても細胞陽性率は変化し、子宮内膜組織と類似していた。卵管はステロイドホルモンに影響を受け、ERやPRの動態を解明することはその機能、形態を理解するうえで重要と思われた。

P VI-3

実験的卵管留水症のマウス初期胚発生に及ぼす影響

東邦大学医学部第1産婦人科教室

○松島弘充, 勝見千明, 齋藤真一, 百瀬和夫

【目的】卵管閉塞症の治療は *microsurgery* を応用し形成術が行われているが、術後の妊娠率はなお不良である。特に卵管留水症では疎通性が90%近く改善されても、術後の妊娠率は極めて低い。今回、卵管留水症における卵管機能の解析を目的として実験的卵管留水症を作製し、その卵管上皮組織とマウス初期胚との共培養を行い、卵管因子の初期胚に及ぼす影響を検討した。

【方法】実験的卵管留水症は家兎卵管峡部の子宮側と膨大部の采側を絹糸で結紮し作製した。共培養は非処置卵管膨大部組織(コントロール)、結紮後4・8・16・48週の留水症組織の5群について行った。1mm³の各組織片を培地199+10%FCS液で培養し、培養4日後に培地をBWV+0.4%BSA液と交換し、6週齢ICR系雌マウスを過排卵処理し同系雄と交配、HCG投与17時間後に回収した前核期胚と37.0℃、5%CO₂ in airの気相下で培養し、前核期胚から胚盤胞までの発生過程を観察した。

【成績】4細胞胚までの分割率は、非共培養群で109/283(38.5%)なのに対して、共培養のコントロール群では301/403(74.7%)、結紮48週群でも146/234(62.4%)と上昇し有意差(P<0.01)を認めた。胚盤胞率は非共培養群では6/283(2.1%)なのに対し、共培養のコントロール群・結紮4週・8週群ではそれぞれ97/403(24.1%)、23/154(14.9%)、12/143(8.4%)と週数が長期に及ぶほど低下したものの有意(P<0.01)に上昇を示した。しかし結紮16週群では8/158(5.1%)、結紮48週群では6/234(2.6%)と非共培養群と有意差(P<0.01)を認めなかった。

【結論】正常卵管膨大部組織にはマウス前核期胚発生を促進する因子が存在することが示唆されたのに対し、卵管留水症の上皮組織では前核期胚発生への促進的効果が認められず、留水症膨大部の機能低下が示唆された。また機能低下は卵管結紮後の期間が長期なほど著明であった。

P VI-4

自然排卵周期及び排卵誘発周期における子宮内膜の厚さと輝度の変化

岡山大学医学部産科婦人科学教室

○白河一郎 平野由紀夫 片山隆章 多賀茂樹 名越一介
新谷恵司 清水健治 吉田信隆 関場香

【目的】排卵刺激方法の一つであるhMG-hCG療法を用いると、short luteal phaseになる傾向がある。この原因を解明するために、経腔超音波による子宮内膜の測定と、血中progesterone(以下P)の測定を行い以前発表した自然排卵周期との比較検討を行った。【方法】hMG投与周期11例中hMG-hCG群(hMG群)7例にはhMG 150IUを月経5日目から連日投与、主席卵胞の3方向平均径が18mmとなった時点で投与中止、翌日hCG1000IUを投与した。また残りのGnRHα hMG-hCG群(Gn群)4例にはそれに加えて月経2日目からGnRHα 900μg/dayをhCG投与前日まで投与した。経腔超音波ならびに血中P測定は、hCG投与5日後まで連日、以後隔日に行った。【結果】排卵日における子宮内膜の厚さはhMG群 11.2±2.9mm(mean±SD)、GnRH群 12.2±2.2mmであり自然排卵周期の 10.7±2.9mmと差は認められず、また黄体期にも厚さの差はほとんど認めなかった。しかし卵胞期における内膜の発育速度は、hMG投与周期では排卵5日前まで急速に発育しその後緩徐に発育する事が認められ自然排卵周期での経日的な発育とは異なっていた。子宮内膜の輝度の変化は自然排卵周期と同様に卵胞期後期より基底層の部分から高輝度となり(hyperechoic endometrial area: HEA)黄体期初期にかけて子宮内腔にむけて広がることが認められた。しかし子宮内膜全体の厚さに対するHEAの厚さの割合(HEA ratio)は、hMG群、Gn群では排卵後2日目に既に92±10%、89±14%(mean±SD)と急速な輝度の変化が認められ、これは自然排卵周期において排卵後2日目では54.1±11%、9日目に100%に達する緩徐な輝度変化の速度とは異なっていた。またhMG周期では自然排卵周期と同様にHEA ratioと血中Pとの間に正の相関(r=0.79)が認められた。【結論】排卵誘発周期例は自然排卵周期例に比べ、子宮内膜の急速な発育、HEA ratioの早期上昇が見られ、short luteal phase(黄体期平均9日)との関連が示唆された。

P VI-5

ウシならびにブタ卵管における中間径フィラメントの免疫組織化学的分布

○小野寺政一¹、及川胤昭^{1, 2} (¹バイオ科研、²機能性ペプチド研)

〈目的〉中間径フィラメントは、細胞骨格系タンパク質の一種で、上皮細胞中のサイトケラチン(CK)、結合組織や血管内皮細胞などの間葉系由来の細胞に認められるビメンチン(V)、筋細胞にあるデスミン(D)、グリア細胞にあるグリア繊維酸性タンパク質(GFAP)およびほとんどのニューロンに存在するニューロフィラメント(NF)から成る。本実験の目的はウシならびにブタ卵管における中間径フィラメント(CK, VおよびD)の分布を知る目的で行った。

〈材料および方法〉ウシならびにブタ卵管は屠場より採取し、采部(F)、膨大部(A)ならびに峡部(I)に分けてカルノア液で固定した。酵素抗体法は、家畜繁殖学会第78回大会で報告した方法に従った。1次抗体には、各中間径フィラメントに対するモノクローナル抗体(結果参照)を、また2次抗体には、肝臓のアセトン粉末で再吸収したパーオキシダーゼ標識抗マウスIgG抗体を用いた。核染色はメチルグリーンで行った。

〈結果〉CK(PKK1、2、3)：両種共に上皮細胞に反応が観察された。特にPKK2で染色した場合に強い反応が認められた。また、ウシ卵管をPKK1で染色した場合には染色パターンに部位差が認められた。すなわち、FおよびA部では、細胞膜表面直下に弱い反応が観察されたに過ぎなかったが、I部では細胞質全体が染色されているものも認められた。V：両種共に粘膜層および筋層に反応が観察された。しかしながらブタ卵管においては、FおよびA部の上皮細胞にも反応が認められた。D：両種共に、筋層ならびに粘膜層の一部に反応が観察された。上皮細胞に観察された部位差(ウシ：PKK1、ブタ：V)は大変興味深い現象である。

P VI-6

肥満婦人のオプティファースト70によるvery low calorie diet 療法にて妊娠にいたった症例

宮崎医科大学産婦人科学教室

○金子 政時、池田 智明、渡辺 裕之、野田 俊一、戸枝 通保、
小池 弘幸、森 憲正

正常な月経周期を有していた女性が肥満するとその約50%に肥満後月経異常が認められる。この異常の多くは肥満治療による体重減少とともに改善されることがある。今回、我々はオプティファースト70(サンド薬品)を使用したvery low calorie diet(VLCD)療法を行ない排卵性月経周期を回復し妊娠にいたった症例を経験したので報告する。

〔症 例〕25歳、農業、未経妊。Body mass index(BMI) 32.2。高校卒業後、就職したのを契機に体重が62kgから70kgに増加した。これと同期して20歳頃より、月経周期が延長してきた。22歳で結婚し以後体重が85kgまで増加し、月経は年に1~3回と無月経になった。

〔方 法〕入院後、まず1600カロリーから治療を開始し以後体重減少の程度をみながら1200カロリー、オプティファースト療法へと進むプロトコールに従い治療を行なった。オプティファースト療法は4週間行ない、以後1200カロリー、1600カロリーと栄養摂取量を増やしていった。また、治療による体格の変化判定のためにBMI, waist/hip 比を測定した。同時にtestosterone, androstendione, DHEA, DHEA-Sを測定し性ホルモンの変化を調べた。

〔結 果〕体重減少は14kgでそのうちオプティファースト療法による減少は7kgであり、週あたり1.2kgの体重減少が得られた。もとの体重に対する減少率が12.2%(79kg)の時点で約1年ぶりに月経が発来した。また、血中testosterone濃度は体重減少に伴って低下した。退院後、定期的に排卵が確立し、退院7ヶ月後に妊娠した。

〔まとめ〕今回我々はVLCD療法による急速な体重減少にて排卵、月経周期を回復し妊娠にいたった症例を経験した。

P VI-7

当院における腎移植後の妊娠分娩例—多胎妊娠を含む—

金沢医科大学産科婦人科学教室

○羽根淳治, 丹野治郎, 高木弘明, 吉沢 久, 高林晴夫, 桑原惣隆

腎移植患者における性機能の回復と妊娠能の向上は患者ならびに家族にとり大きな喜びであるが、妊娠の移植腎に対する影響も重大であるので、妊娠許可条件としてはDavisonの基準が広く利用されている。今回、我々は国内外で極めて稀な腎移植者における自然排卵による品胎妊娠、分娩例を含め、当院における5例の妊娠・分娩成功例を経験したので報告する。症例1: 26歳。腎移植後3年目に妊娠。経過は順調であったが妊娠37週で水腎症となり無尿を呈した為38週にて帝切施行3114gの女児娩出。水腎症は産褥18日目に消失したが、BUNは31mg/dlと8日目頃に上昇。1カ月後23mg/dlに復帰した。その3年7カ月後、再び妊娠し経過は順調であったが37週で水腎症。BUNの上昇29mg/dl, Cr 1.7mg/dlとなり38週で帝切にて3256gの男児娩出。産褥9日目にBUNは更に上昇40mg/dlとなり、一方Cr 1.7mg/dlで24日目にBUN 33mg/dl, Cr 1.3mg/dlとなり71日目に正常値に回復した。症例2: 32歳。腎移植後6年2カ月に妊娠。38週で帝切にて2838gの男児分娩。妊娠、分娩、産褥期を通じBUNやCr値に異常を認めていない。更に1年後再妊娠となり、妊娠経過中異常なく38週で2862gの男児娩出。症例3: 37歳。腎移植後4年5カ月に妊娠し順調に経過したが高齢初産、骨盤位を考慮し、39週で帝切となり3236gの男児出産。症例4: 30歳。腎移植後3年5カ月に妊娠。経過は良好だったが高齢初産、軟産道強靱症の為、37週で帝切にて2910gの男児出産。症例5: 34歳。腎移植後2年目32歳の時帝切にて女児一人(3185g)出産。3年10カ月に妊娠となり、品胎妊娠で経過は比較的順調であった。妊娠33週、帝切にて第1子は1686gの男児、第2子は1954gの男児、第3子は2118gの男児を分娩。肺の成熟も良好。IRDSも起こさず予想以上に順調に発育。以上の如く腎移植者の妊娠は移植腎や尿路系への影響、拒絶反応、精神的負担などの問題があり、妊娠許可に際し慎重な対応が必要となる。

P VI-8

子宮体癌の保存的治療後妊娠に成功した一例

信州大学医学部産科婦人科学教室

○吉川文彦, 中山邦章, 吉沢 徹, 塚原嘉治, 福田 透

エストロゲン依存性腫瘍である子宮体癌は閉経後婦人の疾患として高齢者に多い傾向がみられるが、近年、比較的稀とされていた若年者の頻度が高くなってきている。若年者の子宮体癌は高齢者のそれと組織型を異にし、治療方針も異なってくることはよく知られているが、特に未婚・不妊婦人の場合には妊孕性の問題などがあり治療方法の選択に苦慮する場合が多い。最近子宮体癌にmedroxyprogesterone acetate (MPA) 大量療法の有効性が示され、保存的に治療し得たという報告も散見されるようになった。今回我々は不妊を主訴として通院中に子宮体癌が発見され、MPA大量療法により保存的に治療し、さらに妊娠に至った症例を経験したので報告する。

【症例】35才, 0G, 初経14才, 26日型整, 166cm, 68kg, DMなし。31才時, 不妊を主訴に来院。内膜日付診にてadenomatous hyperplasiaを認め要経過観察。超音波断層法, 内分泌検査等ではPCOは否定された。3ヶ月後の内膜組織検査でadenocanthomaを認め子宮体癌と診断。強い挙児希望と, 諸検査で筋層浸潤も認められなかったため, MPA大量療法(600mg/day)開始。1年間に及ぶMPA療法とその間4回にわたる子宮内膜全面搔爬により萎縮性の内膜を認めるのみになった。その後1ヶ月の休業期間の後, HMG-HCG療法2cycleで妊娠成立。現在妊娠31週, 経過は順調である。

【考察】社会や生活様式の変化にともない今後さらに子宮体癌の症例が多くなっていくことが予想される。本症例のように妊孕性温存の希望の強い若年不妊患者の場合には, 癌の浸潤度・組織型を検討の上, 厳密な経過観察を行うならば, MPA大量投与法は有効であると考えられる。また, 完治後には速やかに妊娠の成立をさせるべく積極的に治療を行うべきと考えられる。

P VI-9

子宮奇形に対するMetroplasty 後に妊娠、分娩に至った症例

金沢医科大学産科婦人科学教室

○上田由生子, 土用下麻美, 金子利朗, 高木弘明, 国部久也, 吉沢久,
安沢紀夫, 桑原惣隆

子宮奇形による反復流産や不妊となった9例に対しMetroplastyにより妊娠分娩に至った症例及び子宮奇形なるも、自然に妊娠分娩に至った症例を経験したので報告する。(対象)単頸または双頸双角子宮5例, 弓状子宮4例を対象とし双角子宮の2例はJones手術, 3例にTompkin手術を施行。4例の弓状子宮Strassmann手術を施行した。(成績)双角子宮5例中2例は妊娠分娩に至り、1例は反復して成功した。弓状子宮4例中1例は反復妊娠、分娩に至っている。一方、双頸双角子宮4例および単頸双角子宮3例はMetroplastyを受けず、妊娠、分娩に至っている。以下、成功例を述べる。症例1:25歳, 単頸双角子宮, 既往に3回の流産ありTompkin手術にて術後9カ月に妊娠し帝切にて3060gの女児を得た。さらに3年8カ月に再び妊娠し3300gの男児を娩出した。症例2:23歳, 単頸双角子宮, Jones手術を施行しDanazol療法で3カ月間治療す。3年後に結婚し、術後4年8カ月に妊娠し帝切で3116gの女児を得ている。症例3:36歳, 弓状子宮, 既往に4回の流産あり、Strassmann手術にて術後8カ月に妊娠となり帝切にて2460gの女児を得た。さらに3年後に再度妊娠して2628gの女児を分娩した。

(結論)子宮奇形による16例の不妊または不妊症例となった9例にMetroplastyを施行し3例に妊娠分娩の成功を認め、この中2例は反復妊娠分娩に成功した。そのほか、Metroplasty非施行の双頸双角子宮4例、単頸双角子宮3例は特に異常なく妊娠分娩に至っており、Metroplastyの適応は症例毎に検討すべきと考えられる。

P VI-10

不妊治療後妊娠の転帰について

山梨医科大学産婦人科

○水野薫子、安水洗彦、木下俊彦、加藤順三

不妊治療後の妊娠は母児双方にhigh riskと考えられており、そのため妊娠・分娩、新生児の転帰に不安をもつ患者は少なくない。そこで当科不妊症患者妊娠例の転帰について検討した。

[方法]1987年5月より2年間に妊娠が成立した不妊外来登録患者のうち、ある程度明確な不妊原因とそれに対する治療歴をもつ103名を対象とした。各症例を不妊原因、妊娠成立時治療内容により分類し、不妊症全体および各分類群ごとに、妊娠異常、分娩異常、胎児・新生児異常の発生率を対照(同期間の非不妊症例)と比較した。分類方法、検討項目の概略は以下の如くである。原因別分類:①男性因子(乏精子症、精子無力症)、②卵管因子(卵管閉塞・通過障害、卵管・卵管癒着)、③排卵障害(PCO、高プロラクチン血症、卵胞発育不全等)。検討項目:①妊娠異常:流産、外妊、OHSS、多胎、切迫早産・早産、妊娠中毒症、胎盤異常。②分娩異常:分娩遅延、分娩時多量出血、産科手術(帝切、鉗子・吸引)の施行。③胎児・新生児異常:IUGR、胎児仮死、新生児仮死、新生児先天異常。

[結果ならびに考察]1.不妊症患者全体では外妊(4%)OHSS(7%)多胎(9%)の妊娠異常および胎児仮死の発生(8.4%)、産科手術(帝切13.7%、鉗子4.2%)が対照群に比し有意に高率であった。外妊は卵管因子群、OHSS、多胎は排卵障害群とくにhMG-hCG使用群に帰因する所が大である。分娩時異常の好発は不妊原因自体より、不妊群の多胎と高年初産婦の多さに関係していた。2.一方、妊娠中毒症、IUGRの発生は不妊群で有意に低く、単胎群のみの比較では早産、切迫早産率も低い。以上より不妊症患者の妊娠は確かにhigh riskと考えられるが、初期異常を除くと多胎と高年初産にその因を求めることができる。また中毒症等の低発生は、不妊群の妊娠に対する意識の高さの反映と推察される。

PVI-11

当科不妊外来における妊娠例の検討

福岡大学医学部産婦人科学教室

○小山雅子, 澄井敬成, 池田景子, 詠田由美, 吉満陽孝, 白川光一

【目的】不妊症の治療成績の向上をはかる目的で、当科不妊外来を受診後に妊娠した症例を分析し、有効な治療方法の選択について検討した。【方法】1989年1月から1990年4月までの間に不妊外来を受診し、検査・治療を行なった132例（原発不妊80例、続発不妊52例）を対象に、retrospectiveに統計学的解析を行なった。【成績】①132例中の妊娠例は58例（43.9%）で、原発不妊群（36.3%）に比べて、続発不妊群（55.8%）の妊娠率が高かった。②不妊因子別では、排卵障害・黄体機能不全など卵巣機能因子46例（34.8%）、次いで高プロラクチン血症23例（17.3%）の頻度が最も多く、それぞれの妊娠率も45.7%、60.1%と良好であった。一方、卵管因子および男性因子はいずれも原発不妊例に多く認められ、妊娠率はそれぞれ17.6%、5.9%と低率であった。③妊娠例の治療内容では、31例（53.4%）が排卵誘発剤を使用していた。しかしclomiphene（またはcyclofenil）については、単独投与の10例（17.5%）はすべて投与早期の妊娠であり、一方投与中止後の妊娠が10例（17.5%）あった。さらに、単独投与後にhMGの併用やhMG療法への変更による妊娠が16例（28.1%）あった。また13例（23.2%）がbromocriptineを使用していた。④19例（32.8%）はHSG後3周期以内に妊娠しており、HSG検査の有効性が示唆された。⑤従来のAIHに比べ、hMGによる卵巣刺激を併用した、洗浄精子によるAIHの妊娠率（42.9%）が高かった。⑥延べ妊娠62周期中、流産は8周期（12.9%）であった。【結論】当科不妊外来の妊娠成績は、妊娠率、流産率ともに良好であったが、これらの結果より排卵誘発剤とくにclomipheneなどの使用方法の選択が重要であると思われる。また成績向上のために、卵管因子や男性因子に対する治療法の改善の必要性が示唆された。

PVI-12

習慣流産の原因としての先天性子宮奇形の臨床的および病理組織学的検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○梅内正勝, 牧野恒久, 酒井 淳, 齊藤 優, 野澤志朗

1981年2月から1990年3月までの10年間に当院不育症外来に受診した習慣流産患者1000名のうち、子宮造影にて先天性子宮奇形と診断された147例について臨床的および病理組織学的検討を加えた。

独自に考案した $\frac{X}{M}$ ratioに基づき、147例の患者を分類すると、弓状子宮($0 < \frac{X}{M} < \frac{1}{3}$)95例(64.6%)、部分中隔子宮($\frac{1}{3} \leq \frac{X}{M} < 1$)40例(27.2%)、完全中隔子宮($\frac{X}{M} = 1$)8例(5.4%)、その他4例(2.8%)であった。そのうち弓状子宮患者26例、部分中隔子宮患者33例、完全中隔子宮患者4例、計63例に対して子宮形成術を行なった結果、31例の生児を得、弓状子宮にて子宮形成術をうけ生児を得た症例は19例であった。元来弓状子宮は妊娠、出産が可能なが多く手術適応となる症例は少ないとされているが、他に習慣流産の原因が発見できない弓状子宮患者には積極的に手術を行なうべきであると考えられる。

ついで子宮形成術を行なった際に摘除した中隔の病理組織学的特徴について検討を加えた。組織検体は上記63例のうちから6例を選び、病理組織学的に血管の分布状態、子宮筋の構造等について分析した。また形態異常のない正常子宮の底部筋を対照とした。その結果、中隔の血管分布は正常子宮の底部筋に比して粗であることが証明された。中隔子宮が習慣流産を引き起こす原因としては子宮内容への機械的圧迫、中隔部分へ着床した場合の胎盤への血液供給の不足等の考察がなされているが我々の得た結果からは後者が流産の原因となっている可能性が示唆された。

P VI-13

反復流産患者夫婦の染色体異常に関する統計学的検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○岩崎賢一, 牧野恒久, 豊島 究, 梅内正勝, 野澤志朗

慶應義塾大学産婦人科 不育症外来においてこれまでに登録した反復流産患者は1000名を越えるが、今回そのうち夫婦の染色体検査の終了した775組 1550名に関して、統計学的検討を加えた。

正常変異とされるものを含め何らかの染色体異常を認めたものは、妻が50例(6.5%)、夫が33例(4.3%)で諸家の報告と一致しており、一般集団に比すると約10~15倍の発現頻度を示す。その内訳としては、相互転座、ロバートソン転座といういわゆる均衡型転座が約4割を占め、他には性染色体モザイク、逆位、正常変異とされる付随体異常などを認めた。相互転座に関与している染色体の内訳としては、C群が最も多く、次いでE群、D群、A群の順となっている。ロバートソン転座に関しては、D群どうしの転座が7例で最も多く、D群G群間の転座が3例、G群どうしの転座は認めなかった。また、理論的には正常核型の配偶子を得ることができない相同染色体間の転座も認めなかった。第9染色体逆位に関しては、習慣流産と関係があるという説もあるが、今回の統計では、妻12例(1.5%)、夫11例(1.4%)という頻度であり、一般集団での頻度にはほぼ一致しており、有意差は認めなかった。他の逆位としては、第7、11、12染色体の逆位をそれぞれ1例ずつ認めた。性染色体異常としては、ターナー症候群のモザイクが7例、モザイクを含むsuperfemaleが5例であった。

また、流産回数別にみると、正常変異を含めた染色体異常の頻度は、流産歴2回の群では5.3%で、流産歴3回以上の群では5.4%であり、両者の間に有意な差は認めなかった。正常変異を除いた場合の頻度はそれぞれ2.7%、3.2%となり、やはり有意差は認めなかった。このことから考えると、2回の流産歴を持つ症例に対しても積極的に染色体検査を行うべきであると思われる。

P VI-14

自然流産胎児染色体検査成績とその臨床的意義

慶應義塾大学医学部産婦人科

○藤田則子・田村昭蔵・鈴木早百合・野沢志朗

自然流産原因としての染色体異常に関して過去8年間に行った胎児・付属物の染色体分析結果をもとにその臨床的意義について検討した。

〔対象・方法〕当院及び関連施設で妊娠6~17週に自然流産し、検査を試みた248例中、分析しえた244例。染色体標本の作成は、流産胎児・付属物を直接法、培養法ないし両者併用法で行った。

〔結果〕核型分析の結果、正常78例(32%)、異常166例(68%)で、異常の種類別頻度は、トリソミー(67%)、三倍体(13%)、モノソミー(9%)であった。核型異常と流産時妊娠週数との関連では12週までが77%に対し13週以降は55%、超音波検査上の胎児存否との関連では不存例77%に対し存在例では42%と少なく、母年齢40才以上ではすべて異常核型であった。また、流産回数2回以下の核型異常率が78%に対し3回以上では60%と少なく、次回の妊娠の成立した核型異常群77例中再び流産を繰り返す例が12%に対し、正常群では34%と高値を示した。今回の症例中習慣性流産に対する免疫療法施行例が17例あったが、核型異常は10例(59%)で、免疫療法未施行の3回以上の流産群84例中の異常48例(57%)との間に差を認めなかった。反復検査例16例中、同一核型異常を反復したのは1例のみであった。

また、夫婦の染色体検査でいずれかが染色体異常(主に構造異常キャリア)と判明したものが9組あったが、論理的に当該構造異常から考えられる異常だけではなく通常型のトリソミーも認められた。この事実は逆に、流産胎児がトリソミーでもキャリアを否定できず、その意味で興味深い相互転座t(2;3)(p37;q25)の症例を経験したのであわせて報告したい。

P VI-15

レゼクトスコープによる中隔子宮の治療法
- T C R -

川崎市立川崎病院 ○林 保良, 水原 浩, 大池ひとみ, 蛭原照男,
福田俊子, 宮本尚彦, 坂倉啓一, 曾山嘉夫,
関 賢一, 岩田嘉行

【目的】習慣性流産または不育症の一つ原因である中隔子宮の治療は従来ほとんど開腹による子宮形成術であった。しかし開腹に伴う侵襲は大きく、術後の疼痛または合併症の可能性は患者にとってかなりの負担となるものがあった。さらに術後癒着は新たな不妊原因にも発展しかねない。また、幸いにして妊娠に至り、順調に経過したとしても分娩時に創部破裂への配慮から帝王切開に至ることがほとんど必然ともみなされてきた。一方子宮腔は外より内視鏡で到達しやすいところであり、内視鏡下にこれらの病変を切除すれば上記の開腹に伴う不利益を避けることができる。われわれはレゼクトスコープを用いて中隔子宮を切除しこの方法を経頸管的切除術 Transcervical resection (TCR) と名付けたので報告する。

【対象と方法】1985年1月から1990年5月までの中隔子宮19例、弓状子宮3例の計22例を対象とした。手術の時期は月経終了直後の初期内膜増殖期が最も適した時期である。患者は手術前日入院させ、就寝前に子宮内にラミナリア桿を1本挿入し、頸管の拡張をはかる。手術は腹腔鏡の監視下で行い、主に婦人用レゼクトスコープを用いて中隔を切除した。

【結果】TCRの手術時間はほとんど30分以内で、出血はごく少量であった。術後4日目腹腔鏡の創部を抜糸し退院とした。10例再妊娠、3例経膈分娩、4例は他の適応で帝切を行った。

以上の結果ではTCR手術の侵襲が少なくしかも有効であるので中隔子宮の第一選択の治療方法と考えられる。

P VI-16

ヒト精子凍結保存におけるウリナスタチンの影響
回収率の向上を目指して

国立下関病院産婦人科

林 公一、宮崎博章、冬野幾久男、延谷寿三郎

精子の凍結保存による不妊症治療は、特に男性因子が認められる場合に有効な手段として現在臨床の場に広く利用されている。しかし、凍結保存精子における精子回収率は、未だ十分に満足行くものではない。そこで我々は、生体物質であるウリナスタチン(商品名:ミラクリッド)を使用することで凍結保存精子の回収率改善に有効性を認めたので報告する。精子の凍結保存には、KS-II液を使用し、ウリナスタチンの濃度は1単位/mlと10単位/mlの2群に分けて解凍時の精子運動率を%で示した。又、凍結前の精子は運動率によりA群(0%-30%:4例)、B群(30%-60%:3例)、C群(60%以上:6例)の3群に分類した。精子数はすべて 5.0×10^6 /ml以上の正常症例である。精子運動率は、凍結前、凍結後コントロール、ウリナスタチン1単位/ml使用例、ウリナスタチン10単位/ml使用例においてそれぞれA群では、 $89.5 \pm 5.7\%$ 、 $48.3 \pm 3.4\%$ 、 $61.2 \pm 5.1\%$ 、 $59.1 \pm 4.2\%$ 、B群では $47.5 \pm 5.5\%$ 、 $17.1 \pm 3.4\%$ 、 $27.6 \pm 2.4\%$ 、 $25.5 \pm 3.2\%$ 、C群では $14 \pm 3.7\%$ 、 $3.1 \pm 2.1\%$ 、 $2.6 \pm 1.5\%$ 、 $2.1 \pm 1.0\%$ であった。ウリナスタチンによる凍結精子の回収率の向上は運動率良好のA群、B群では認められるものの、運動率不良のC群では認められなかった。又、濃度による変化は1単位/mlと10単位/mlの両群間では差は認められなかった。従って、精子の凍結保存にあたりウリナスタチンの使用は、症例を選ぶことにより回収率を向上させることに有効であることが示唆された。

P VI-17

経腔超音波早期診断による子宮外妊娠 外来MTX治療の試み

東海大学医学部産婦人科

○鈴木隆弘, 本田育子, 小林善宗, 井上正人, 藤井明和

【目的】 挙児希望患者における子宮外妊娠の治療は、妊孕性の温存をも含めて慎重にしかも早く決定されなければならない。外妊に対するMTX治療は、非観血的に行ないうる有力な方法であるが、早期診断が治療成功の決め手である。経腔超音波検査は外妊の早期診断に極めて優れており、ごく初期の卵管内胎嚢像や卵管内血腫像を示す外妊に対しては、開腹手術に至ることなくMTX治療を完了することが可能であった。今回、経腔走査法による十分な管理下に、外来ベースによる外妊MTX治療を試み、不成功例を含みその経過分析から、管理のポイントを検討した。【対象・方法】 平成2年3月から7月の期間に、外来MTX治療を試みた外妊5例を対象とした。初回外妊3例、反復外妊2例で、患者の住居が病院近辺であることを条件に、MTX 25mg 5日間投与を行なった。MTX開始時期は、初期外妊4例(5週1日, 2日, 3日, 3日)と、その他に他医より紹介の8週3日が1例であった。

【結果】 初期外妊4例はすべてMTX投与により入院なしに治療を完了したが、8週3日の1例はMTX投与と終了するも開腹手術となった。成功例、不成功例の比較を行なってみると、治療開始時の尿中hCG値は、初期外妊群で256~3200 IU/lに対し、開腹例でも256 IU/lであった。治療開始時の経腔超音波所見は、初期外妊群がいずれも最大径4~6mmの卵管内胎嚢像であったが、開腹例は卵管血腫像であった。治療中~後の所見の変化をみると、初期外妊群では胎嚢像の変形や血腫像への変化が早期に起こり、同時に尿中hCGは急激に下降したが、開腹例では尿中hCG 64 IU/lへと下降と同時に急激な腹腔内出血量の増加が認められた。

【結論・考察】 外来MTX治療の選択は、6週までの初期外妊で卵管内胎嚢が小さいことといえよう。卵管血腫像の出現時の慎重な経腔超音波観察が管理のポイントと思われる。

P VI-18

体外受精・胚移植における子宮外妊娠の検討

荻窪病院産婦人科

○宮崎豊彦, 久慈直昭, 菅原正人, 片山恵利子, 杉山 武, 飯田悦郎

【目的】 子宮外妊娠はIVF-ETによる妊娠の5~10%に発生するといわれ、重要な合併症の1つにあげられている。今回、我々は当科IVF-ET programにおける子宮外妊娠例を検討し、その発生を予測する因子につき考察を加えた。【対象】 1985年より1989年までの5年間の採卵施行581例における子宮外妊娠5例につき、その臨床的特徴、HSG所見、IVF-ET、estradiol (E₂)、progesterone (P) 値、及びその予後につき検討し、正常妊娠例との比較を行なった。【結果】 採卵施行581例のうち妊娠成立は75例で、そのうちの5例(6.7%)が子宮外妊娠であった。IVFの適応はいずれも卵管因子で、HSGでは卵管溜水腫4例、両側卵管遠位端閉鎖3例であった。IVFでの卵巣刺激法は、clomiphene + hMG 2例、pure FSH 1例、hMG 3例で、投与量は正常妊娠例と差を認めなかった。採卵法は腹腔鏡2例、経腔超音波下採卵3例、採卵数は4.2±0.8個であった。ETは受精後48時間で行い、移植胚数は2~5個(3.4±0.5)、stageは2 cellから8 cell、使用培養液量は30~100 μlで、いずれも正常妊娠例と差を認めなかった。ET後7日目のE₂ (1322±127 pg/ml)、P (91.1±25.9 ng/ml) いずれも正常妊娠及び流産例と比較し低値ではあったが有意差は認められなかった。5例中3例がET後15日以内に月経様出血、BBT下降をきたし、5例の子宮外妊娠診断確定までの平均日数はET後47±4日であった。4例は溜水腫側卵管妊娠で1例は間質部妊娠であった。3例が子宮外妊娠後IVF-ETを行い、2例が生児を得ている。

【結論】 5例の検討においては、正常妊娠例と明らかな差異は認められなかったが、病的卵管を持つ症例においては、その発生に注意を払うべきと考えられ、また妊娠不成立と考えられる場合においても子宮外妊娠を考慮に入れるべきと思われる。

P VI-19

I V F - E T における黄体期および妊娠初期の血中インヒビンの分泌動態と妊娠予後について

群馬大学産科婦人科学教室

○竹内 巧、関 守利、土屋清志、伊藤理廣、伊藤郁朗、篠崎博光、山田清彦、長谷川喜久、伊吹令人、五十嵐正雄

〔目的〕体外受精胚移植 (I V F - E T) 周期での胚移植後の黄体期から妊娠初期の血中ホルモン、特にインヒビンの分泌動態を調べ、妊娠の予後との関連を比較検討した。妊娠初期は特に超音波断層法で胎嚢、胎芽が確認される以前のホルモン動態について妊娠継続症例と流産症例とを比較検討した。

〔方法〕対象はI V F - E T後、単胎妊娠 (S群) 15例、双胎 (T群) 6例、流産 (A B群) 5例及び非妊娠例 (N群) 25例で、採卵時より妊娠5週までの連日の血中ホルモンを測定した。血中インヒビン (I) はRadioimmuno assay法にて測定した。

〔成績〕S群、T群、A B群およびN群とも血中I値は採卵後黄体期中期にかけ上昇し採卵後4~8日目に頂値を示し以後漸減傾向を認めた。S群、T群とA B群は黄体期後期 (採卵後10~15日目) より血中I値は再び上昇傾向を認め、S群とT群はN群に比べ採卵後12日目より有意に高値を示した。A B群は採卵後15日目頃より緩やかな上昇傾向をみたが、S群に比較して採卵後15日目より有意に低値を示した。T群は黄体期後期の再上昇の時期が他の群より早く、採卵後13日目よりS群に比べ有意の高値を認めた。血中エストロゲン (E2) 値も採卵後黄体期にIと同様な推移を認めたが、T群がS群に比して有意の高値を示したのは採卵後15日目からであった。血中プロゲステロン (P) 値も同様に採卵後15日目からT群とS群の間に有意差をみとめた。

〔結論〕I V F - E T後の黄体期の血中I値を測定したことで妊娠初期のインヒビンの分泌動態と妊娠の予後との間に有意の関連があることを示した。このことはインヒビンが妊娠初期の重要な制御因子であること、さらに妊娠初期の検査に血中インヒビン値の測定も導入すれば超音波断層法よりも早期の妊娠予後の診断が可能となることが示唆された。

P VI-20

原因不明習慣流産における父系由来胎児抗原に対する抗体産生能の検討

徳島大学医学部産科婦人科学教室

荻原 稔、安井敏之、漆川敬治、大頭敏文、青野敏博

〔目的〕原因不明習慣流産 (習流) の一因として、いわゆる遮断抗体として働くと考えられている抗H L A抗体の産生低下が示唆されている。そこでその機序の一端を解明する目的で、習流患者およびマウス習流モデルについて父系由来胎児抗原に対する免疫応答性を調べた。

〔方法〕習流患者の夫婦のH L A型およびA B O式赤血球抗原型を調べ、妻血中の抗H L A抗体活性および抗A・抗B抗体活性を測定した。さらにH-2系の発現型が同一の組み合わせ (雄: H-2D x H-2K) であるマウス習流モデル (雌CBA/J x 雄DBA/2J : H-2抗体低下) と、正常モデル (雌CBA/J x 雄BALB/C : H-2抗体正常) での赤血球抗体活性を凝集法により測定した。

〔成績〕15例の習流患者では抗H L A抗体活性はいずれも低下していたが、夫婦間のH L A型一致率 (Class I : 26.7%, Class II : 30.0%, Total : 28.2%) は正常夫婦の一致率 (Class I : 28.2%, Class II : 32.4%, Total : 28.9%) と差異を認めず、抗H L A抗体の低下の原因として夫婦間のH L A類似性是否定的であった。一方、夫婦間で赤血球型の異なる9例の習流患者での赤血球抗体活性の陽性率 (66.7%) は正常夫婦の陽性率 (50.0%) と差がなく、またマウス習流モデルと正常モデルにおける赤血球抗体陽性率も各々63.2%、50.0% とH-2抗体活性に差のある両モデルにおいても赤血球抗体活性に差がなく、習流患者およびマウス習流モデルでの赤血球抗原系の免疫応答性は正常と考えられた。

〔結論〕習流患者における抗H L A抗体の産生低下の原因として、父系由来H L A抗原に対して特異的に母体の免疫反応性が低下していることが示唆された。

P VI-21

Lupus anticoagulant (LAC) の自然消長と胎児予後の関連 — LACが自然陰性化した後生児を得た1症例を含めた検討 —

京都大学産婦人科 ○伊東宏晃, 伊原由幸, 佐川典正, 森 崇英
兵庫県立尼崎病院産婦人科 万代昌紀, 丹羽隼人

Lupus anticoagulant (LAC) はリン脂質に対する自己抗体で, LAC陽性妊婦には子宮内胎児死亡 (IUGR), 子宮内胎児発育遅延 (IUGD) が多いといわれる。2回以上の IUGD または IUGR の既往を有し, かつ原因として子宮因子, 内分泌因子, 感染, 染色体異常が否定された LAC陽性患者4例について, LACの消長と胎児予後の関連について検討した。【症例1】28歳 3G1P。23歳時, 妊娠8ヶ月で1560g男児を分娩し児は生後1ヶ月で死亡した。26歳時, 妊娠6ヶ月でIUGDとなった。27歳時, 妊娠20週で190gのIUGR男児を流産し, この時LAC陽性と判明した。1年4ヵ月後もLAC陽性であり, まだ妊娠していない。

【症例2】32歳 4G1P。29歳時, 妊娠13週でIUGDとなった。30歳時, 妊娠36週に2274gのIUGR児を帝切で分娩した。この妊娠中, 妊娠30週に左上肢の血栓症が発症し, 分娩後の検査でLAC陽性と判明した。その後一旦LACが自然陰性化した。32歳時に妊娠12週, 14週のIUGDを2回繰り返し, その時の検査でLACの再陽性化が認められた。【症例3】37歳 4G1P。33歳時, 妊娠29週にて888g IUGR男児を分娩し児は生後直後に死亡した。36歳時, 妊娠8週で流産した。同年妊娠16週でIUGDとなりLAC陽性と判明した。その後LACの自然陰性化を認め, その1ヵ月後に双胎妊娠した。妊娠36週に帝切にて, ともに2215g, Apgar score 9点の双胎女児を娩出した。妊娠34週および産後2週間の検査でもLACは陰性であった。

【症例4】30歳 2G0P。28歳時, 妊娠17週でIUGDとなった。30歳時, 妊娠16週でIUGDとなりLAC陽性と判明した。4ヵ月後LAC陽性のまま妊娠し, 妊娠12週よりプレドニン, アスピリン療法を開始した。現在妊娠24週であるがIUGRは認められていない。

以上の結果から, 一般の自己免疫疾患がその経過中に増悪と緩解を繰り返すように, LACも自然に消長する可能性が考えられる。

P VI-22

ヒト妊娠初期絨毛間質のマクロファージの phenotype について

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室
松本和紀, 楠原浩二, 寺島芳輝

妊孕現象に於ける生理的免疫寛容機構の一端を明らかにすべく, ヒト妊娠初期絨毛10例の凍結切片を作製し, 免疫組織化学的に, その間質に存在するマクロファージ (mφ) の phenotype を検討した。

その結果, 絨毛間質細胞の約40%はEBM-11 (CD 68) 陽性でmφと考えられた。しかしながらCD 14陽性細胞は約12%でCD 68の陽性率と解離した。10例全例共CD 3陽性細胞はまったく認めず, 絨毛間質にT細胞は存在しなかった。20~30%の間質細胞がCD 64, CD w 32陽性で, Fcγ Receptor type I 及び type II を持っていたが, type III は10例中1例に認めただけであった。これらの細胞に存在するIgG の subtype を検討すると, 10~15% (Fcγ Receptor 陽性細胞の50%) の細胞にIgG 1, 2, 3, 4の全てのIgG subtype が陽性であった。このことは未知のFcγ Receptor の存在を示唆し興味深い。

HIV-1 receptorとしても知られるCD 4は10例中5例に陽性で, 陽性例では20%前後の間質細胞 (mφの50%) に陽性であった。文献的にはHIV-1 seropositive 妊婦における子宮内母児垂直感染率は30~50%とされ, 今回の我々のCD 4陽性率とはほぼ一致した。このことは絨毛間質mφのCD 4陽性細胞が, HIV-1の子宮内母児垂直感染の成立に重要な役割を果たしていることを示している。

HLA-DRはBulmerらの指摘の如く妊娠初期には陰性でありfirst trimesterからsecond trimesterに入るあたりから陽性化する傾向が認められた。この事実がなぜ起こるのかは不明であるが, GM-CSFとcsf-1がこれを制御しているとする報告もある。

絨毛間質mφ (Hofbauer cell) の機能的役割は大変興味深いものがあり今後の研究課題としたい。

P VI-23

非妊時子宮内膜における接着性蛋白および組織マクロファージの局在

浜松医科大学産婦人科学教室

○朝比奈俊彦、寺尾俊彦、川島吉良

【目的】我々はこれまで、妊娠の成立・維持に必須の物質であることが臨床的に判明している血液凝固第XIII因子(XIII因子)、fibrinogen(FG)、これらとの接着性蛋白であるfibronectin(FN)の初期妊娠着床部における局在を酵素抗体法にて検索してきた。その結果これらの因子はほぼ一致した部位に存在することが判明し、相互作用により初期胚と子宮内膜とを接着させている可能性が強く示唆された。そこで今回は着床前の子宮内膜におけるこれらの因子および子宮内膜の組織マクロファージ(t-mφ)の局在を同様の方法にて検索し、着床機構への関与様式について考察を加えた。

【方法】子宮筋腫手術検体より採取した健常子宮内膜をホルマリン固定し、酵素抗体法を用いてXIII因子subunitA(XIII A)、FG、FNの染色を行った。また、同様に採取した子宮内膜の凍結切片を、ABC法を用いてt-mφの染色を行った。

【成績】①XIII A：(子宮内膜基底層)紡錘形の単核細胞にのみ陽性染色された。(同機能層)大量の単核細胞および間質部に陽性染色された。(上皮)染色は陰性であった。一部の上皮表面に漏出様所見を認めた。②FG：(基底層)血管内にも陽性。(機能層)間質部に陽性。特に上皮直下に著明。(上皮)陰性。③FN：FGの局在所見とはほぼ一致した。機能層の間質部において一部の単核細胞に陽性染色された。④t-mφ：(基底層)間質部に散在。(機能層)間質部に部分的に密集所見あり。(上皮)一部上皮内侵入所見あり。t-mφはXIII A陽性細胞と形態的にほぼ一致した。

【考察】①XIII Aは非妊時子宮内膜においてt-mφおよびその周囲の間質部に局在を示し、t-mφにより産生・分泌されている可能性が示唆された。②XIII A、FG、FNの上皮直間質部での局在所見は分娩期内膜でより著明であり、これらが着床時に接着物質として作用している可能性が強く示唆された。

P VI-24

ヒト正常絨毛上皮由来細胞株(NHT)の樹立と性状

○根上 晃*、紙谷尚之**、富永敏朗**

(*福井県済生会病院産婦人科、**福井医科大学産科婦人科学教室)

【目的】妊娠初期ヒト胎盤絨毛組織構築の研究のために正常絨毛上皮由来細胞株を樹立し、その性質を検討した。

【方法】妊娠8週の正常妊娠婦人より得られた絨毛を材料として継代可能なヒト正常絨毛上皮由来の細胞株の樹立に成功し、NHT株と命名し、現在15代目を継代中である。

【結果】細胞は数石状に配列し、コンフルエントになるとpile upし、偽絨毛構造をとる傾向がみられた。染色体数は57, 59の2型が存在した。本株の妊娠依存性蛋白質の培養液への分泌能を検索したところ、hCG, β-hCG およびSP-1陽性であった。しかし、hPLやSP-3は陰性であった。ヌードマウスへの移植も可能であった。ヌードマウス腫瘍より新たな細胞株(NHT-Nu)を樹立した。胞体は親株より小さく、増殖能も大であった。本株を基底膜をコーティングした条件下で培養すると、絨毛構造を示した。

【考察】現在他のマーカーの検索や電顕的検討を進めているが、本株を用いれば初期着床時の絨毛細胞の役割や、内膜細胞との相互作用から生理的な意義の不明なSP-1物質の検討に役立つものと思われる。

P VI-25

ヒト脱落膜性Prolactin (PRL)の産生促進因子についての検討

三重大学医学部産婦人科学教室

浜口元昭, 松野忠明, 寺田 厚, 二村典孝, 中 義尚, 矢納研二,

西山真人, 山本稔彦, 杉山陽一

〔目的〕ヒト脱落膜細胞における prolactin (PRL)の分泌は, dopamineやTRHに非依存性であり, 独自の分泌調節機構を有しているものと考えられるが, その詳細は必ずしも明らかとはなっていない, そこで本機構をadenylate cyclase作動系との関連から解明しようとして試みた.

〔方法〕①脱落膜細胞分離法: 妊娠初期脱落膜を酵素処理(collagenase・DNase)した後, Percoll不連続比重遠心分離法にて得られた30% Percoll分画(PRL分泌脱落膜細胞分画)中の細胞を培養した.

②PRL産生量・cAMP分泌量: 各種agentsを種々の濃度で添加し, 培養上清分画のPRL産生量をEIAで, cAMP分泌量をRIAで測定した. ③特異的受容体の解析にはScatchard plotsを用いた. ④蛋白燐酸化反応については, Feuersteinの方法に準拠し, 二次元電気泳動法(一次元: isoelectronic focusing, pH3.5-10.0; 二次元: 12% SDS-PAGE)を施行した後, autoradiographyにて検討した.

〔成績〕①progesterone 100ng/ml添加により脱落膜細胞は 10日間以上にわたり良好な PRL産生を維持した(150~250 ng/5x10⁵cells/48h). ②脱落膜細胞には vasoactive intestinal polypeptide (VIP)の特異的受容体(Kd=5nM, Bmax=110pM/5x10⁵cells)が存在することが明らかとなった.

③VIPの脱落膜細胞培養系への添加では用量依存性にcAMPの産生が促進されるとともに, 3種の20KDa中性蛋白が燐酸化され, PRLの分泌も170%まで促進された. ④dibutyryl cAMP, forskolin, cholera toxinの添加でも同様の反応が惹起された.

〔結論〕ヒト脱落膜細胞において, VIPが特異的受容体を介してadenylate cyclaseを賦活化し, PRL産生調節に関与していること, さらにこの作用の発現には20KDa中性蛋白の特異的燐酸化が関与していることが示唆された.

P VI-26

ウサギ精巢精子核を用いたMicrofertilization

福島県立医科大学産科婦人科学教室

○矢沢浩之, 柳田 薫, 片寄治男,
菅野孝子, 藤森 淑, 星 和彦,
佐藤 章

精巢精子は, 運動性が獲得されていない未成熟精子であるため, 一般的には受精能力がないとされている。しかし, 射出精子及び精巢上体精子が得られない男性不妊症の場合, 精巢精子を用いた受精が必要となる。今回はその基礎実験として, ウサギ精巢精子核をmicroinjection によって卵子内に注入することで, その運動性を補えば受精が可能であるかどうかを検討した。

ウサギは, Newzealand Whirte Rabbitを使用した。まず, 雄ウサギから精巢を摘出し, 生理食塩水中で乱切を加え, 精巢精子を得, homogenization にて精巢精子核を尾部より分離した。次に, 雌ウサギにFSHとHCG による過排卵処理を行い, HCG 投与15時間後に卵管より未受精卵を回収した。これらの卵子に精巢精子核を1個ずつ cytoplasmic microinjection をおこなった。injection後の卵子は, 5% CO₂ in air 37°Cで24時間培養し, 卵子を観察後2細胞以上の受精卵を雌ウサギの卵管内に移植した。

結果は4回の実験で, 65個の精巢精子核をmicroinjection を行った卵子のうち変性を起こした卵は6個であり, 生存率は90.8%であった。24時間の培養後, 2細胞以上の初期胚は19個, 29.2%であった。これらの卵を3羽のウサギに移植したが, いずれも妊娠には至らなかった。

これらのことより, 精巢精子核のmicroinjection によって, 初期胚発生が認められ, 未熟精子である精巢精子にも受精能力があることが示唆されたと思われる。

P VI-27

当科における IVF-ET の年度別成績と改良点について

獨協医科大学産婦人科

○星合 明, 正岡 薫, 北澤正文, 渡部秀哉, 井澤慶子, 熊坂高弘

〔目的〕当教室において1988年4月から1990年4月までに施行したIVF-ETの年度別成績と妊娠率向上のための改良点について報告する。

〔対象と方法〕主として卵管性不妊患者を対象としたが、約30%の男性不妊例も対象に加えた。'88年度14例38周期, '89年度39例61周期, '90年度36例38周期に採卵を行った。卵巣刺激法は GnRH agonist (Buserelin 900 μ g/日, 黄体期中期より開始) と hMG (225単位/日, 持続皮下注射ないし連日筋注, Day 2より開始) の併用としたが、反応不良例では Buserelin を Day 2 より開始した。採卵は hCG 10,000単位投与後35時間目に全例経腔的に行った。

〔結果〕平均採卵数および分割率は'88年度3.9個, 39.3%, '89年度4.6個, 61.9%, '90年度6.3個, 62.2%であった。臨床的妊娠率は'88年度患者当り14.3% (2/14), ET当り9.1% (2/22), '89年度10.3% (4/39), 9.3% (4/43), '90年度27.8% (10/36), 33.3% (10/30)であった。前臨床的妊娠は'88~'89年度0, '90年度4例であった。また臨床的妊娠('88~'90)16例の予後は分娩3例(単胎), 妊娠継続10例(品胎1例, 双胎3例), 流産1例, 子宮外妊娠2例であった。

〔考察〕前臨床的妊娠を含めた全妊娠例は20例であるがそのうち17例が'89年11月から'90年4月までの半年間のものであり、原因の1つに luteal support を progesterone (P)の連日投与から hCG (3日毎)に変更したことが考えられる。この結果黄体期中期の血中 P/E₂ ratio は50.8 \pm 26.6から94.0 \pm 39.6 (P<0.01)へ上昇し着床に適した内分泌環境となった。さらに胚移植法をそれまでの slow injection から flush injection に変更したことで胚の子宮内への replacement がより確実になったと考える。

〔結論〕胚移植後の luteal support の良否は IVF-ET の成否を決定する重要なポイントである。適切な P/E₂ ratio を維持するには hCG による luteal support が適当と考える。

P VI-28

当教室におけるIVF-ETの成績

大阪大学医学部産婦人科

谷口 武, 亀田 隆, 竹村昌彦, 古山将康, 木村 正, 佐治文隆, 谷澤 修

体外受精・胚移植(IVF-ET)は卵管性不妊, 免疫性不妊患者などの女性不妊患者に対する確立された治療法の一つとなってきた。今回当教室における平成2年1月からのIVF-ETの成績を報告する。

【方法】対象は当科不妊外来受診中の患者で、一般不妊検査ならびに腹腔鏡検査施行の上、IVF-ETの適応と考えられた症例8例である。腹腔鏡検査によって卵管マイクロサージェリー可能と考えられた症例に対してはIVF-ETによる治療前に卵管マイクロサージェリーを施行し、一定期間観察した後IVF-ETによる治療に切り替えた。不妊原因の内訳は、卵管性不妊7例, 精子不動化抗体陽性不妊1例であった。8例に対し13周期にIVF-ETを行った。排卵誘発はhMG-hCG法(6周期), LH-RH analogue-hMG-hCG法(7周期)であった。

【結果】採卵は1例あたり3-16卵胞(平均5.7卵胞)計74卵胞に対して施行され、59個の卵の回収に成功した(採卵率79.7%)。このうち卵割が観察されたのは、25個であった(卵割率42.4%)。対象患者の内、4例が妊娠に成功しそのうち1例は双胎妊娠であった。妊娠例はすべて卵管性不妊であった。妊娠例の年齢は24歳から34歳で平均28.8歳, 非妊娠例の年齢は25歳から36歳で平均31.5歳で両者のあいだに差を認めなかった。誘発法で見ると、妊娠例はhMG-hCG法によるものが2周期, LH-RH analogue併用法が2周期, 非妊娠例では、hMG-hCG法が4周期, LH-RH analogue併用法が5周期で、両者のあいだに有意差を認めなかった。

【結論】当科において卵管性不妊および精子不動化抗体陽性不妊患者8例(13周期)に対しIVF-ETを施行し、4例の妊娠例を得た(妊娠率30.8%)。以上よりIVF-ETは卵管性不妊, 特にマイクロサージェリー無効例および不能例に対しては有効な治療法の一つと考えられた。

P VI-29

凍結保存精子を用いて妊娠に成功した体外受精・胚移植の3症例

セントマザー産婦人科医院¹, 順天堂大学医学部産婦人科²○吉田一郎¹, 田中 温¹, 岡部親宜², 田中威づみ¹, 竹本洋一¹, 高田道夫²

【目的】不妊症の原因の中に、夫の長期不在（海外出張、遠洋漁業など）がある。精子凍結はこのような夫婦には最適の治療法である。今回我々は、凍結した精子を用いて体外受精・胚移植で妊娠に成功した3症例を経験したので報告する。【方法】精液はPercoll密度勾配遠心法により洗浄濃縮した後、KS-II精子保存液と等量混合し、凍結保存用チューブに充填した。液体窒素を凍結用器に注ぎ、蒸気平衡に達した後、チューブを液面上2cmに横置にして凍結し、2分後に液体窒素内に浸漬し、凍結を完了した。融解は液体窒素タンクよりとり出し、ただちに約30℃の微温湯につけて行った。融解後、10%非働化血清添加HTFで希釈、遠心し、凍結保存液を除去した後前培養に供した。【結果】①夫37才、妻32才、両側卵管閉鎖（両側卵管妊娠のため）、夫は海外出張となったため、精子を凍結。GnRH-a+HMG (Long protocol)で成熟卵8ヶ採取、凍結精子融解後2時間の前培養の後、6時間の前培養を行った卵子と媒精した。媒精時の精子濃度60万/cc、運動率60%、採卵2日後、4細胞期胚2個、2細胞期胚2個を移植し妊娠に成功した。単胎妊娠、現在妊娠26週。②夫33才、妻29才、両側卵管水腫。夫は遠洋漁業に就業、長期不在の為精子を凍結した。GnRH-a+HMG (Long protocol)で成熟卵12個採取。精子は融解後1時間の前培養の後5時間の前培養を施した卵子と媒精した。媒精時精子濃度80万/cc、運動率70%、採卵2日後4細胞期胚4個を移植し、妊娠に成功した。双胎。現在妊娠20週。③夫35才、妻31才、両側卵管閉鎖（卵管形成術後）。漁業就業のため採卵日に来院できず、精子を凍結した。Clomiphene+HMGで成熟卵5個採取、精子は融解後1時間の前培養の後、6時間前培養を施した卵子と媒精。媒精時精子濃度100万/cc、運動率50%、採卵2日後、4細胞期胚2個を移植し妊娠に成功した。単胎、現在妊娠11週。【結論】KS-II精子保存液を用いた精子の急速凍結法は簡便で再現性も高く、臨床上有用であることが判った。同法を用いたIVF・ETで3例の妊娠に成功した。

P VI-30

体外受精の成績に関する検討

— 採卵針の改善による妊娠率の向上 —

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○赤星晃一, 小林俊文, 神野正雄, 北村誠司, 大澤淑子, 岩田壮吉
杉村和男, 野澤志朗

【目的】体外受精・胚移植法の妊娠率をさらに向上させる目的にて、過去約1年間の当院における体外受精・胚移植法に関し、採卵針の改善を行った前後の、採卵率、妊娠率に関し検討を加えた。

【方法】平成元年7月より、平成2年5月までに当院にて施行した体外受精症例、52周期に関し検討した。患者の年齢分布は26才～42才であった。排卵誘発法は、HMG単独にて月経周期3日目より225 I.U.～300 I.U.を連日筋注した。採卵のタイミングのモニタリングは、経膈プローブによる超音波法と血中LH、血中Eの迅速測定法により、首席卵胞の最大径が16mm前後に達し、血中LHが至適濃度まで上昇した時点でHCG 1万I.U.の筋注を行い、36時間後に採卵を行った。培養液は、modified KRBを使用し、患者血清を添加した。また培養の操作は、体外受精用に改造を加えたクベース内で行った。採卵は、経膈プローブによる超音波法を用いた。採卵針は、当初は野上器械店のシングルルーメンの採卵針を使用していたが、採卵不可能であった症例が多かったため、WILLIAM A. COOK AUSTRALIA PTY. LTD.のダブルルーメンの採卵針K-OPSD-1635(16ゲージ、35cm)に変更して、変更前後の採卵率、妊娠率に関し比較検討を行った。

【結果】採卵針変更前は、14周期中採卵可能であった周期が10周期で、採卵率は、71%であった。変更後は、38周期中37周期で採卵が可能で、採卵率は97%に改善された。また、妊娠率は、変更前14周期中妊娠が3周期で21%、変更後は38周期中妊娠が11周期で29%と改善が見られた。

【結論】採卵針の変更という一因子により、採卵率、妊娠率をかなり改善することが可能であった。今後も更に成績の向上を目指し、検討を行いたい。

P VI-31

体外受精一胚移植施行回数と着床期子宮動脈血流波形分析の検討

東海大学医学部産婦人科

○善方菊夫, 本田育子, 小林善宗, 井上正人, 藤井明和

複数個の正常胚を移植したにもかかわらず妊娠成立しない周期をくり返す体外受精一胚移植(IVF-ET)例では着床障害の存在が強く疑われる。今回 IVF-ET 施行回数とドプラー法を用いた子宮動脈血流波形分析の結果を検討し、本検査法の着床障害診断における有用性を検討した。対象は IVF-ET で妊娠成立しなかった 114 症例で、IVF-ET 回数は 1 回目が 41 例、2 回目が 32 例、3 回目が 17 例、4 回目が 9 例、5 回目が 6 例、6 回以上が 9 例である。IVF-ET 周期外の自然周期、または Clomid などによる卵巣刺激周期の高温 5～7 日目に膀胱充満下に経腹的に子宮動脈上行枝を捉え血流波形を測定した。得られた波形は拡張期の波形の出現程度により Type O, A, B, C に分類し、Type O, A を poor perfusion, Type B, C を good perfusion とし、この O (最も不良)～C (最も良好)までの波形出現頻度と IVF-ET 施行回数を比較検討した。装置は TOSHIBA SSA 250, 2.75 MHz Pulsed Wave Doppler を使用した。IVF-ET 1 回, 2 回, 3 回群では good perfusion の割合は各々、78%, 72%, 88% であるのに対し、4 回, 5 回, 6 回以上群では各々 67%, 50%, 33% と低下した。IVF-ET 施行 3 回以内群では Type O は 8%, A は 14%, B は 18%, C は 60% で、good perfusion が 78% を占めた。これに対し 4 回以上群では Type O は 25%, A は 25%, B は 17%, C は 33% で、poor perfusion が 50% を占めた。IVF-ET 4 回以上群では回数が増加するに従い poor perfusion の占める割合が高くなり、特に 6 回以上群では Type O は 44% (44%) であった。4 回以上 IVF-ET を行なっても妊娠が成立しない症例では子宮動脈の poor perfusion の状態が考えられ、IVF-ET 不成功の原因として着床障害の存在が示唆された。子宮動脈血流波形分析は着床環境の評価に有用であると思われる。

P VI-32

ヒト体外受精における新しい hCG 投与時期決定法

—血清 LH 迅速測定の重要性—

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室, 同 中央臨床検査部内分泌*

○神野正雄, 杉村和男, 小林俊文, 北村誠司, 大澤淑子, 赤星晃一
岩田壮吉, 岩田利恵子, 野澤志朗, 伊藤節子*, 竹下栄子*

ヒト体外受精において、hCG 投与のタイミングは、妊娠を得るための極めて重要なポイントの 1 つである。今回我々は、血清 LH の変化に基づいた、新しい hCG 投与時期決定法を考案・検討し、優良な成績を得たので報告する。【方法】ヒト体外受精 51 周期において、血清 LH 変化に基づく hCG 投与時期決定法と妊娠率との関係を prospective に検討した。排卵誘発は、月経周期第 3 日より毎日 hMG 150～300 単位を投与し、後述の如く、hCG 10000 単位を投与した。月経周期第 3 日より毎日、血清 LH を迅速測定した (Stratus, Baxter 社)。結果は採血後 1 時間以内に得られた。LH は、E₂ の上昇とともに、最初徐々に低下して行き、次に上昇に転じた。そこで、最低値 + (第 3 日値 - 最低値) × $\frac{1}{3}$ を LH の域値 (T 値) と暫定し、LH が T 値を越える前、越えた日、またはそれ以後の日の 3 通りの protocol で hCG を投与した。hCG 投与後 34～36 時間に採卵し、既報の如く卵成熟培養・媒精・胚培養を行った。媒精後 36～48 時間に胚移植し、黄体期には毎日プロゲステロン 25mg を投与した。【結果】3 通りの hCG 投与時期に対する周期あたりの妊娠率は、以下の如くであった。LH が T 値を越える前 (17 周期) : 18% (妊娠 3 例), LH が T 値を越えた日 (30 周期) : 33% (妊娠 10 例), LH が T 値を越えた日の翌日以後 (4 周期) : 25% (妊娠 1 例)。【結論】血清 LH が T 値を越えた日に hCG を投与した時、それ以前または以後の投与に比し、最も高い妊娠率 (採卵あたり 33%) を得た。この LH 変化に基づく新しい hCG 投与時期決定法は、簡便・迅速でありながら優良な妊娠率が得られ、その有用性が示唆された。

P VI-33

Gn RH agonist の卵核成熟促進作用の意義

杏林大学産婦人科, 藤田学園保健衛生大学産婦人科*

○安藤 索, 中村幸雄, 吉村泰典, 白木 誠*, 廣田 穰*, 沢田富夫*, 河上征治*, 鈴木正彦

〔目的〕 Gn RH agonist が卵巣直接作用を有しており, 家兎の follicle-enclosed oocyte の卵核成熟を促進することを既に我々は報告した。Gn RH agonist は成熟卵胞の PG 産生を有意に促進するものの, 卵核成熟促進効果は PG 以外のメカニズムを介して惹起されるものと考えられている。今回 Gn RH agonist により卵核成熟させた卵胞内卵子の受精・初期胚発生能について検討を加えた。

〔方法〕 日本白色家兎卵巣より成熟卵胞を摘出し, Buserelin (10^4 ng/ml), Leuprolide (10^4 ng/ml) 及び positive control として hCG (10^2 ng/ml) で 12 時間培養した。卵胞より cumulus-enclosed oocyte を回収し, 4 時間の前培養を追加した。その後精巣上体精子を用い, in vitro fertilization (IVF) を施行した。IVF 後 12 時間で前核期胚 36 時間で 2~4 細胞期胚, 72~84 時間で morula, 120~132 時間で blastocyst への発育を倒立位相差顕微鏡で観察した。

〔結果〕 hCG 投与群においては, 80.4% (45/56) に正常受精が確認され, morula 及び blastocyst 形成率は各々 71.4%, 57.1% であった。しかしながら Buserelin 及び Leuprolide 投与群の受精率は, 各々 9.6%, 17.2% であり, hCG 投与群に比し有意な低値を示していた。また Gn RH agonist 投与群の受精後発育は全く認められなかった。

〔結論〕 Gn RH agonist によって刺激される卵核成熟は, 正常受精, 受精後発育に至らなかったことより, gonadotropin による卵成熟機構とは異種のメカニズムを介して惹起される可能性が示唆された。

P VI-34

体外受精-胚移植における卵巣刺激初期反応不良例に対する

hMG 増量投与について

名古屋大学医学部分院産婦人科¹ 中村潔史¹、大沢政巳¹、前田修¹、
稲垣資郎¹、柴田均¹、近藤育代¹、成田收¹、
名古屋大学医学部産婦人科² 塚原慎一郎²、山口一雄²、石原豊²、
浅田義正²、菅沼信彦²、友田豊²

〔目的〕 体外受精-胚移植 (IVF-ET) において, 卵巣刺激に対する反応不良例は刺激中にキャンセルされる場合がある。このような症例を減らすため刺激第 5 日目の estradiol (E_2) 値を基準とし, 低値のものに対し hMG 量を増量投与し, その成績について検討した。

〔方法〕 1989 年 9 月より, 90 年 6 月まで当科にて行った IVF-ET の症例で卵巣刺激開始後 5 日目の E_2 値が 100 pg/ml 未満である 17 症例を対象とした。刺激法は, 黄体中期より buserelin $900 \mu\text{g}$ /日 を投与する long protocol で下垂体の desensitization を確認の後, hMG 投与を開始した。hMG は, 刺激第 1, 2 日目は 300 IU とし, 3 日目より 150 または 225 IU を連日投与した。刺激第 6 日目からは適宜増量し投与続行し, 15 mm 以上の卵胞あたり E_2 250 pg/ml 以上となった時点で hCG に切りかえた。採卵・媒精・胚移植は通常のプロトコールに準じて行った。

〔結果〕 これら 17 例の刺激第 5 日目 E_2 値は 5.9 ± 2.4 (Mean \pm S. D) pg/ml 、刺激日数 10.9 ± 1.6 日、hMG 総投与量 $3345 \pm 1035 \text{ IU}$ 、peak E_2 $1413 \pm 935 \text{ pg/ml}$ であり、採卵数 5.3 ± 3.4 、受精卵数 3.4 ± 3.0 、移植数 2.3 ± 0.9 、臨床妊娠数 8 例 (47%、双胎 2 例) でこのうち 2 例は流産に終わった。

〔考察と結論〕 buserelin を用いた long protocol による卵巣刺激法では, 前半低反応であってもその後の hMG の増量投与を行えば比較的良好な反応が得られ, その後の成績も劣ることはなく, キャンセルする必要はないものと思われた。

P VI-35

ヒト精子の受精能力に対するCa²⁺の影響

徳島大学産科婦人科学教室

○西田莊哉, 村山眞治, 南 晋, 加川敏明, 板東律雄,
山野修司, 青野敏博

【目的】モルモット精子をCa²⁺除去培地で培養し、Ca²⁺を添加していくとacrosome reaction (AR) が誘起されることが報告されているが、ヒト精子では未だ不明な点が多い。今回我々は、ヒト精子をCa²⁺除去培養液中で培養した後Ca²⁺含培養液中に移した場合の、ARおよびSperm penetration assay (SPA) に及ぼす影響について検討した。【方法】正常精液所見を示す群15例と、異常精液所見群20例を対象とした。採取精液を3群(A群:1時間のswim-up法とその後6時間の培養をすべてCa²⁺含(1.71mM)mBWW液中で培養、B群:swim-up法はCa²⁺除去mBWW液中で、その後の培養はCa²⁺含mBWW液中で培養、C群:swim-up法とその後の培養をすべてCa²⁺除去mBWW液中で培養)に分け、swim-up前後および培養2, 4, 6時間後の①live acrosome-reacted spermの割合(%AR)を検討した。また、②Ca²⁺除去およびCa²⁺を含む培養液でswim-upした精子に4時間前培養を加えSPAを施行し、侵入率(%P)、Fertility index (FI) 及び前核形成卵の割合(%PN)を算出した。【成績】①正常精液群では培養4および6時間後の%ARはB群5.0±0.5%(Mean±SE)、6.0±0.5%であり、A群の3.2±0.3%、4.2±0.3%に対して有意に高値であった。②正常精液群における%P, FIおよび%PNはCa²⁺含培地でswim-upした群で42.7±8.1%、1.34±0.11、12.5±5.1%、Ca²⁺除去培地でswim-upした群では66.4±9.0%、1.69±0.19、30.7±9.2%であり、いずれも有意にCa²⁺除去培地群が高値を示した。③SPAの侵入率15%未満の症例は15例あり、これらの症例の精子に対しCa²⁺除去培地でswim-upした後、SPAを施行したところ、4例(26.7%)が侵入率15%以上に改善した。【結論】ヒト精子をCa²⁺除去培養液中で培養した後Ca²⁺含培養液中に移すことにより、短時間にARが誘起されることが判明し、人工授精や体外受精への応用が期待できる。

P VI-36

トリプシン処理ハムスター卵透明帯とヒト精子の認識

* 東邦大学大橋病院第2産婦人科学講座, ** 同第2解剖学講座

○三島眞喜子*, 川村 良*, 岩城 章*, 岡田詔子**

ヒト卵のhemi-zona assay法により、透明帯に付着出来ないために不妊である精子群の存在が報告されている。さらにヒト精子は、マウス、ハムスター、兎卵の透明帯に対しては付着が認められず、種特異性の認識が特に強い事をSwensonらが報告している。しかしながら演者らは、ハムスター卵透明帯にトリプシン処理を施すことにより、ヒト精子が付着することを見出した。そこでこの実験系を用いて(ヒト)精子の透明帯への認識機構について調べた。つまり受精能獲得の有無、先体の有無、pH等の種々の条件の精子を用いてトリプシン処理卵と供培養して、付着する条件を検討した。【方法】日令6週のゴールデンハムスターにPMSG・HCG処理により過排卵誘起を行ない、0.1%ヒアルロニダーゼで卵丘細胞を除去後、0.01%トリプシンにて約4分間透明帯を処理した。このトリプシン処理卵とヒト精子を一定時間培養し付着精子を位相差顕微鏡、走査型電顕像、レクチンのFITCラベル法による先体反応の有無等を観察した。【結果】トリプシン未処理のハムスター卵の透明帯にはヒト精子の付着は観察されなかった。しかしトリプシン処理透明帯には先体の有る精子も、無い精子もどちらも付着がみとめられた。また付着精子数は供培養時間の延長に伴い増加するが、死滅精子では付着は観察されなかった。走査電顕では透明帯の中へ侵入している精子は観察されず、そのほとんどが付着であった。付着精子の先体の有無はFITC染色観察では、付着精子の先体反応率が精子浮遊液中よりやや高い傾向があった。【結論】ハムスター卵にトリプシン処理を行なうと、透明帯蛋白のペプチド結合が分解されてZP₃も消失し、裸出された糖末端の残基構造が変化するために異種間での付着が成立するものと思われる。さらにレクチンによる糖末端について検討中である。

P VI-37

マウス体外受精を用いた Gamete Preparation Medium (GPM, serono) の IVF-ET 培養液としての有用性の検討

1) 帝京大学医学部付属市原病院臨床研究部 2) 同産婦人科
○太田昭彦¹⁾ 五味淵秀人²⁾ 貝原 学²⁾

【目的】0.5% ヒト血清アルブミンを含み、常温で長期保存が可能な精子選別用メディウムとして開発された Gamete Preparation medium (GPM, serono) が IVF-ET 培養液として用いることができるかどうかをマウス体外受精における前核の出現および 2 細胞胚へ発達を指標として検討した。

【方法】未受精卵は、ICR マウスに PMSG 5 IU 投与、48 時間後に hCG 5 IU を投与し、hCG 投与 15 時間後に卵管膨大部より採取した。精子は、精巣上体より採取し、1 時間前培養した後、最終濃度 1×10^5 /ml になるように卵の入った培養液に添加した。培養は、90% N₂-5% O₂-5% CO₂, 37°C, 湿度 100% で行なった。媒精 6 時間後で雌性および雄性前核の有する卵を算定し、さらに 18 時間培養を継続し 2 細胞胚に発達した卵を算定した。対照培養液として、Ham's F-10 (Gibco) および Human Tubal Fluid (HTF, Irvine Scientific) に 10% ヒト血清を添加したものをを用いた。

【結果】雌性前核および雄性前核の出現率 (受精率) は、GPM 82.6% (86/104), Ham's F-10 86.9% (86/99), HTF 92.5% (99/107) であった。これら前核が出現した卵のうち GPM で 96.5% (83/86), Ham's F-10 100% (86/86), HTF 100% (99/99) が 2 細胞胚に発達した。前核の出現率及び 2 細胞胚への発生率とも GPM と対照培養液との間に有意差を認めなかった (χ^2 検定)。

【結論】マウス体外受精において、GPM は、ヒト血清を添加して使用される Ham's F-10 および HTF と同等の高い受精率を示し、IVF-ET 用培養液としての有用性が示唆された。

P VI-38

ヒト卵巣癌細胞を用いたマウス 2 細胞期胚の共培養に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室
○山元慎一, 竹内一浩, 森 明人, 沖 利通
福元清吾, 堂地 勉, 永田行博

【目的】マウス 2 細胞期胚をヒト卵巣癌細胞と共培養することにより、その効果及び培養液内の酸素分圧濃度の変化について検討した。また、共培養細胞上清中に BGF が産生されるか検討をした。【方法】①共培養細胞は、アドリアマイシン耐性ヒト卵巣癌細胞株である。細胞が confluent になるまで 10% 濃度 NCS (Newborn calf serum) 添加 HTF で培養した。②confluent の後、過排卵誘発した ICR 系雌マウスから 2 細胞期胚を回収し、ヒト卵巣癌細胞との共培養を行い 96 時間までの発育を 37°C・5%CO₂ in air 下で形態学的観察をした。また、卵巣癌培養上清を用いて同様のマウス 2 細胞期胚の形態学的観察を施行した。③96 時間の形態学的観察の後、培地内の酸素分圧濃度を測定した。④卵巣癌細胞培養上清内の BGF 濃度を ELISA 法にて測定した。【結果】①培養開始 96 時間後のマウス 2 細胞期胚の blastocyst への発育率は、コントロールの 22.7% に対し共培養により 62.5% と有意 ($P < 0.01$) の高発育を示した。②共培養細胞上清を用いた培養では、blastocyst に達したものは 60.9% とコントロールに比較して有意の発育 ($P < 0.01$) を示した。③hatching 率は、コントロールの 4.8% に対し共培養群で 53.1%, 上清群で 7.6% と共培養することで高い hatching 率を得られた。④マウス 2 細胞期胚培養開始 96 時間後の培地内培養液最下層の酸素分圧は、コントロールの 144.9 ± 3.9 mmHg に対し共培養群では 129.7 ± 3.5 mmHg と有意 ($P < 0.01$) の低下を示した。上清群では、コントロールと比較して酸素分圧濃度の変化は認めなかった。⑤細胞培養上清中の BGF 濃度は、NCS の 0.2 pg/ml に対し測定感度以下であった。【結論】ヒト卵巣癌細胞を用いた共培養により受精卵発育を促進できたが、これは共培養により培養液内酸素分圧濃度が低下し、そのために酸素毒としての酸素の作用が低下し受精卵の発育が高まり、かつ共培養細胞から BGF 以外の『embryo growth and hatching promoting factors』が産生されていることが示唆された。

P VI-39

マウス初期胚培養における低酸素・superoxide dismutase(SOD)添加の効果
—超微形態学的検討—

京都大学医学部婦人科学産科学教室

○都倉 隆、野田 洋一、成本 勝彦、馬岡 陽、森 崇英

【目的】ほ乳類初期胚培養はいまなお一般に困難で、*in vitro*胚発生停止あるいは遅延が生ずる事が知られている。マウス初期胚培養では、2-cell stageでの胚発生停止(2-cell block)が起こり、我々は活性酸素(O_2^-)のscavengerであるSODを添加した低酸素濃度培養系を用いることにより、このマウス2-cell blockが解除され、胚の発育も促進されることを明らかにしてきた。このような培養条件下で得られた胚の健全性を形態学的に確認するため、マウス胚盤胞の超微形態学的検討を行ったので報告する。【方法】酸素濃度を5%に維持できる閉鎖系(37℃、5% O_2 、5% CO_2 、90% N_2)を作製し、同閉鎖系でマウス前核期胚の回収及び培養を行い、得られた胚盤胞を電顕標本に供した。尚、培養液はBWW液に0.3% BSA及び0.5mg/mlのSODを添加したものとした。又、*in vivo*より回収した胚盤胞を対照とし、比較検討した。得られた胚盤胞を4%paraformaldehydeと4%glutaraldehydeの混液中で60分間の浸漬固定をした後、1%OsO₄で30分間の後固定を行い、脱水後、spurr's resinに包埋した。LKB-Ultratomeにて超薄切片を作製し、酢酸ウラニールと酢酸鉛の二重染色を施し、JEM-100CXにて電顕観察を行った。【結果】この培養系で得られた胚盤胞の内細胞塊は、細胞相互がgap結合で接合しており、細胞質内にはannular gap junctionやマウス胚に特徴的なfibrous及びcrystalloid inclusion、空胞を持つmitochondria、豊富なribosomeなどが観察され、健全な超微形態像を示した。又、*in vivo*から回収した対照胚盤胞との比較においても、超微形態学的に差異は認められなかった。【結語】SOD添加低酸素濃度下培養で得られた胚盤胞は、超微形態学的に*in vivo*胚と差異がなく、健全であると思われた。更に、この培養系で得られた産仔が健全であり、生殖機能などにも異常の無いことを既に報告している。よって、酸化的ストレスから胚を防御することが胚培養にとって基本的に必要であると考えられる。

P VI-40

超微形態学的に見た妊娠初期マウスの子宮内膜間質細胞の脱落膜化について
—predecidualization, decidualization にもなう変化の検討—

東北大学医学部産科婦人科学教室

陳 偉業、上原茂樹、村上 節、萬代泰男、角田千恵子、戸沢秀夫、大井嗣和、吉田仁秋、対木 章、深谷孝夫、矢嶋 聡

【目的】子宮内膜は性ステロイドの作用を受けて、その時々で異なった機能の形態を示す。一方妊娠成立のためには、子宮内膜間質細胞が脱落膜化する必要がある、胚の着床による局所作用で子宮内膜間質細胞が大きく変化する。すなわち性ステロイドの刺激や胚の着床によって、間質細胞はpredecidualization, decidualizationという一連の変化に導かれるわけである。今回、predecidualization, decidualizationにもなう子宮内膜間質の変化、間質細胞よりpredecidualized stromal cellへ、さらに脱落膜細胞へと進行する一連の分化現象をマウスを用いて超微形態学的に検索した。

【方法】ICR系雌マウスを用い、両側卵巣摘出群、非妊娠群、妊娠第1日群、妊娠第4日群、妊娠第6日群の5群を作成し、子宮内膜間質細胞の上皮下部、筋層近接部の2部位を透過型電子顕微鏡で観察した。

【結果】妊娠第4日群では、細胞断面の形状、細胞の配列、細胞形、細胞内小器官の分布において、卵巣摘出、非妊娠、妊娠第1日、の各群と差異をみた。しかもその差異は上皮下部でも筋層近接部でも認められたことから、predecidualizationは卵巣由来する性ステロイドによる間質細胞の変化であると示唆された。また妊娠第6日群では、妊娠第4日群と比較してさらに異なった細胞形態をとり、胚との距離によってその形態も変化した。これよりdecidualizationは胚自体による直接作用が関与する間質細胞の分化であると考えられる。

P VI-41

精子受精能の評価における超生体染色法の有用性

虎の門病院産婦人科

○塩津英美 笠井 剛 高橋敬一 児島孝久 佐藤孝道

精子受精能の評価における超生体染色法の有用性

〔目的〕超生体染色法とは0.5% Foshin Y溶液で精子を染色することにより、より正確に精子の生存率を測定する方法である。今回我々は本法を体外受精症例に施行し受精能評価における有用性について検討した。〔方法〕1988年～1990年の当科における体外受精症例について超生体染色並びに他の精液検査を実施した72症例103周期の受精率と超生体染色、精子運動率、Penetrak testなどの結果を比較検討した。〔結果〕103周期のうち受精が認められたのは91周期で12周期には受精が認められなかった。超生体染色でみた精子生存率は受精群 $67 \pm 19\%$ 、非受精群 $48 \pm 17\%$ で受精群の方が有意に高かった($P < 0.01$)。また受精卵数/全媒精卵数を受精率とした場合、超生体染色と受精率の間には0.235の相関係数をもって正の相関が認められた。超生体染色は精子運動率と比べて受精率との相関が高いと考えられた。〔考察〕超生体染色の成績は精子数や精子運動率よりも精子受精能を反映していることが示唆された。また、Penetrak testの有用性についても、我々はすでに発表しているが今後これらを組み合わせることにより、より正確に精子受精能の評価ができるものと考えられた。

P VI-42

男子不妊症の治療成績

— 治療不適格例の検討を中心として —

慈恵医大・泌尿器科

○西田 篤, 町田豊平, 小寺重行, 池本 庸

白井 尚, 御厨裕治, 中条 洋, 金子 立

〔目的〕男子不妊症患者のうち数年間にわたり治療を続ける例があるが、こうした治療は患者にとっても、また医療上も問題が大きい。我々は治療早期に治療不適格例を選別し、患者の精神的、経済的負担を軽減させようと考え、治療を反省した。

〔対象及び方法〕1979年から1989年までの10年間に当科で治療を受けた男子不妊症患者のうち、精路通過障害、染色体異常、明かな内分泌異常を認めず、精子数2000万/ml以下の乏精子症患者172例と無精子症患者73例を対象とした。電話による追跡調査を行い、妊孕性の有無を確認した。これらの症例を妊娠群、妊娠に至らないものの、精液所見の改善した群、妊娠にもいならず、精液所見に改善のみられなかった群の3群で治療前後の内分泌所見、精液所見から治療不適格例の選別が可能かどうかをretrospectiveに検討した。

〔結果及び考察〕特発性の乏精子症患者のうち精子数500万/ml以下の男子不妊症例では各種治療法による長期の治療にも拘わらず、1例の妊娠例も認められなかった。これらの症例は2000万/ml以下の乏精子症の36%、無精子症例の100%を占めた。妊娠群と妊娠に至らなかった群の治療前FSH及びLH/FSHの関係には有意差はみられなかったが、不妊でかつ治療後精液所見の改善がみられなかった群ではLH/FSHが不変か、上昇してくる傾向があった。

P VI-43

男子不妊外来 5 年間の臨床統計学的観察

日本大学泌尿器科

○佐藤安男, 逸見一之, 山口健哉, 林 志隆, 岡田清己

1990年6月までの5年間に泌尿器科不妊外来を受診した症例は特発性男子不妊症 111例, 精索静脈瘤 6例(既婚2例), 流行性耳下腺炎性精巣炎後6例, 勃起不全5例, 射精障害4例, クラインフェルター症候群3例, 精路閉塞2例, その他精巣性女性化症候群, ターナー症候群などで, 特発性男子不妊症と診断した症例について検討を加えた。年齢は23~49才, 平均34.0±4.8才, 30才台前半と後半にピークを認め, 30才台が多く, 不妊期間は6カ月~20年, 平均3.7±3.0年, 2~3年で受診した症例が多かった。配偶者年齢は22~47才, 平均30.2±5.3才であった。既往歴としては流行性耳下腺炎, 鼠径ヘルニア, 配偶者では流産, 卵巣嚢腫が多かった。精液所見として精子数は① $40 \times 10^6/ml$ 以上29例, ② $40 \times 10^6/ml \sim 20 \times 10^6/ml$ 以上12例, ③ $20 \times 10^6/ml \sim 10 \times 10^6/ml$ 以上12例, ④ $10 \times 10^6/ml$ 未満35例, ⑤無精子症23例であり, 運動率は, 50%以上27例, 50%未満84例, 非奇形率50%以上23例, 50%未満88例であった。治療は非内分泌療法を主体として行っており, 酢酸トコフェロール(ユベラ^R), カリジノゲナーゼ(カリクレイン^R), ユビデカレノン(ノイキノ^R), メコバラミン(メチコバル^R)などを, 漢方製剤として八味地黄丸, また α -blockerとして塩酸ブナゾシン(デタントール^R)2mg, β -stimulantとして塩酸プロカテロール(メプチン^R)100 μ gを13例に投与したが, 副作用として血圧低下, 悪心, 手指の振るえ, 鼻炎, 動悸, などを6例に認めた。内分泌療法は2例に施行し, HCG 1500Uを週1回, HMG 75Uを週3回4カ月間投与した。111例中妊娠した症例は6例で, 妊娠までの期間は3~23カ月, 平均8.5±7.2カ月であった。さらにLH, FSH, テストステロン, プロラクチン, 精巣生検施行例ではJohsen スコアーについての考察も加える。

P VI-44

当科における男子不妊症の臨床統計的観察

聖マリアンナ医科大学 泌尿器科

○原口千春 長田尚夫 岩本晃明 星野孝夫 田中宏樹
矢島通孝 馬場克幸 井上武夫

1974年以来15年間に男子不妊症外来を受診した372名について臨床統計を行ったので報告をする。原発性不妊は341例で91.7%, 続発性不妊は31例で8.3%であった。初診時年齢は31才~35才までが最も多く平均32.9才であった。不妊期間は2年以内が最も多く141例(39.6%), 2~4年が116例(32.6%), 4年~6年が48例(13.5%), 6~8年が25例(7%), 8年以上が26例(7.3%)であり, 平均すると4年10ヶ月であった。既往歴では流行性耳下腺炎が最も多く35例あり, そのうち15例が精巣炎を伴っていた。ついで, 鼠径ヘルニア6例, 精巣回転症5例の順であった。精液所見では, 精子濃度が $40 \times 10^6 \sim 20 \times 10^6/ml$ のものが39例(12.8%), $20 \times 10^6/ml$ 以下のものが111例(36.6%), 無精子症が54例(17.8%)であった。運動率をみると, 50~30%のものが61例(20%), 30%以下のものが145例(47.5%)であった。また, 精子濃度 $40 \times 10^6/ml$ 以上かつ運動率50%以上の正常所見を示したものは52例(15.1%)であった。不妊の原因として明らかなものでは精索静脈瘤が51例(13.8%)と最も多く, ついで, 閉塞性無精子症10例(2.7%)であった。また, 染色体検査上Kline felter syndromeを6例(1.6%)に認めた。妊娠例は19例あり(アンケート調査は行っていないので自験例の妊娠実数を示すものではない), そのうち9例が各種薬物療法により, 5例が精索静脈瘤術後(2例は術後薬物療法を併用)に妊娠に至った。

以上の詳細について報告を行う。

P VI-45

無精子症の臨床統計

千葉大学泌尿器科

○小竹 忠, 始関吉生, 高原正信, 角谷秀典, 島崎 淳

対象：1980年4月から1990年3月までの10年間に千葉大学泌尿器科不妊外来を受診し、無精子症と診断された212人について臨床的に検討した。

方法：患者の年齢、不妊期間、既往歴、睾丸の大きさ、血清FSH、LH、テストステロン、プロラクチン値をみた。また染色体検査を169例に施行し、染色体異常の有無を調べた。精嚢腺造影、睾丸生検は149例に施行し、閉塞の有無と睾丸の組織像について検討した。108例に治療を行い、その成績についても検討した。

結果：年齢は22才から49才、平均32.9才。不妊期間は3カ月から19年、平均4.4年であった。精索静脈瘤は28例に認められた。1例に停留睾丸をみた。染色体異常は、32例に認め、25例がクラインフェルター症候群であった。両側の精管閉塞が35例に、右側の閉塞が3例に、左側が4例に認められた。このうち15例が精管結紮術後、5例に鼠径ヘルニア根治術、3例に睾丸固定術、結核、2例に副睾丸炎の既往をみた。両側の閉塞症例では30%にFSHの上昇をみたが、非閉塞症例では87%と高率にFSHの上昇をみた。高プロラクチン血症が3例みられた。睾丸容量は、非閉塞症例では小さく、特にクラインフェルター症候群で著明であった。睾丸生検を施行した両側閉塞症例のうち50%が正常睾丸組織であった。一方非閉塞症例ではgerminal aplasiaが49%を占め、全症例で造精過程での様々な障害をみた。治療では、15例に精管精管吻合術を、2例に人工精液嚢造設術を施行した。1例に精嚢腺嚢腫摘出術を施行した。精管精管吻合術を施行した15例のうち13例に精子の出現をみた。精索静脈瘤根治術は18例に施行し、薬物療法を併用した1例に精子の出現をみた。また睾丸固定術施行例も、薬物療法併用にて精子の出現を認めた。高プロラクチン血症の1例も薬物療法により精子の出現をみたが、薬物療法を施行した他の原発性無精子症例全において効果は認めなかった。

P VI-46

当科不妊外来における無精子症の臨床的検討

長崎大学泌尿器科 西村直樹、野俣浩一郎、金武 洋、斉藤 泰

光晴会病院泌尿器科 湯下芳明。桜町病院 広瀬 建。

1988年4月より1990年6月末までの間に長崎大学医学部泌尿器科不妊外来を受診した患者数は88名であるが、そのうち精液検査が行われた85名中39名(45.9%)が無精子症である。今回、我々はこの39名に対し臨床的検討を行ったのでこれを報告する。

患者年齢は18歳から42歳(平均31.7歳)、不妊期間は10ヶ月から10年3ヶ月であった。無精子症の原因としては造精機転障害が原因となる症例が31例(79.5%)であり、この中では特発性が22例(56.4%)、Klinefelter症候群が6例(15.4%)、両側停留精巣が2例(5.1%)、hypogonadotropic hypogonadismが1例(2.6%)であった。また、精子輸送路障害が原因となる症例は8例(20.5%)であり、この中では両側精管欠損症が3例(7.7%)、精巣上体レベルでの閉塞と考えられる症例が5例(12.8%)であった。

オーキドメーターで測定した精巣容量は造精機転障害の症例では平均12.0ml、精子輸送路障害の症例で18.6mlであり、各種ホルモン検査ではLH、FSHの値は前者ではそれぞれ平均18.7mIU/ml、36.1mIU/ml、後者では平均7.9mIU/ml、8.0mIU/mlであった。

39例中睾丸生検を施行した症例は30例であり、Johnsen's scoreは造精機転障害の症例の平均は3.9点、精子輸送路障害の症例の平均は8.9点であった。外科的治療は両側停留精巣1例に精巣固定術を、両側精管欠損症2例、4回に人工精液嚢造設術を、精巣上体レベルでの閉塞症例1例に顕微鏡下精管精巣上体吻合術を施行した。

P VI-47

男性不妊症患者の性生活調査

東邦大学医学部泌尿器科学教室

○北角嘉徳・佐藤 稔・原 啓・高波真佐治・松橋 求・石井延久・
三浦一陽・白井将文

【目的】 男性不妊症の原因となる性機能障害の有無を知る目的で、患者の性生活面のアンケート調査を行った。

【対象】 東邦大学大森病院リプロダクションセンターへ、1990年1月から6月の半年間に来院した100例の男性不妊患者で、すべてmasturbationにより精液採取可能な症例に限った。調査項目は、性欲・勃起・射精・orgasmの状態に関して夫側にアンケート調査をした。性交回数については、夫婦同席時に質問した。

【結果】 性欲・勃起・射精・orgasmのすべてに正常と答えたのは48例で、半数以下であった。

性欲に関する質問では全く正常が84例で、やや減退が14例、ほとんどないが2例であった。

勃起に関する質問では、正常が92例、異常と答えたのが8例で、内2例は勃起力が弱く膣内挿入が不可能と答えている。

射精に関しては、23例が精液量の減少を訴えている。また射精までの時間に異常ありと答えたのが38例で、その内の32例は射精までの時間が長いと答えている。また6例は射精までの時間が短く、内2例はかなり短いと答えている。

orgasmはやや減退が21例、かなり減退と答えたのが1例いた。

性交回数についてはかなりバラツキがあったが、ほとんどの症例が3-7日に1回であった。中には、3-4週間に1回の症例も数例認められた。以上の結果を正常者群と比較しながら報告する。

P VII-1

マウス精子受精能獲得過程に対するサイクリックスクレオチド及びTPAの作用

慶應義塾大学医学部 産婦人科学教室

○古屋 悟, 遠藤芳広, 小松節子, 鈴木秋悦, 野澤志朗

【目的】マウス精子は、雌生殖器内又は培養液中における一定時間の受精能獲得過程を経たのち、卵子透明層に結合し、先体反応が誘起される。しかし受精能獲得過程の調節機構はいまだに解明されていない。本研究ではマウス精子を用いて受精能獲得過程への dbcAMP, dbcGMP と C キナーゼを活性化する 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (TPA) の作用を検討した。【方法】DDY 系マウスを用い、精巢上体尾部精子塊を 0.4% BSA 含有 modified Krebs Ringer bicarbonate buffer (m-KRB) 培養液中で、採取後 5 分間培養し、精子懸濁液を作成した。次に培養液上層に swim-up した精子を収集し、濃度と運動率を測定し、運動率 60% 以上のものを使用した。そしてこの swim-up させた精子を、0.1-10mM dbcAMP, 0.1-10mM dbcGMP, 0.1mM dbcAMP+0.1mM H-8 (A キナーゼ阻害剤), 20ng/ml TPA 含有培養液 drop 中に 5×10^5 - 1×10^6 sperm/ml となる様に精子濃度を調節して加え、この時点をもととして経時的に 90 分までの精子の受精能獲得過程を観察した。観察には chlortetracycline (CTC) 蛍光法を用いた。前述の各 drop より $5 \mu\text{l}$ を 37°C のスライド上にのせ、500 μM CTC 溶液を $5 \mu\text{l}$ 加え 20 秒間混和後、12.5% glutaraldehyde $0.1 \mu\text{l}$ にて固定した。カバーガラスをのせ、透過型顕微鏡下に各時点で精子を 100 カウントし、受精能獲得を示すパターンである B パターンの経時的な増加傾向を対照群と比較検討した。【結果】対照群に比較して B パターンの経時的増加、すなわち受精能獲得過程は、0.1mM dbcAMP, 0.1mM dbcGMP によって促進、0.1mM dbcAMP+0.1mM H-8 では対照群よりも抑制され、又 TPA によっても抑制されるという結果を得た。【結論】マウス精子受精能獲得過程は、dbcAMP, dbcGMP によって促進され、特に dbcAMP による促進は H-8 によって抑制されるため、A キナーゼを介した調節作用であることが強く示唆された。又 TPA による抑制が見られたため、C キナーゼによる調節機構の関与の可能性も示唆された。

P VII-2

精子頭部および尾部形態と精子運動能、受精能

荻窪病院産婦人科、慶応大学医学部産婦人科*

○久慈直昭、武田公位、藤沢洋子、宮崎豊彦、菅原正人、片山恵利子、杉山 武、飯田悦郎、神野正雄*、杉村和男*、小林俊文*

〔目的〕ヒト精子頭部、尾部の形態と精子運動能、受精能の関係を、体外受精時に採取した精液性状、swim up 後の回収精子数、媒精後の卵の受精率、分割率より検討した。

〔方法〕平成 2 年 1 月から 4 月までに施行した体外受精患者 45 例を対象とした。精子形態は Papanicolaou 染色を用い、modified-Kruger's criteria にて 1 検体につき各 400 個の精子を判定し、頭部 (acrosome, post-acrosomal region)、尾部 (midpiece, tail) とも正常 (A)、頭部のみ正常 (B)、尾部のみ正常 (C)、頭部、尾部とも異常 (D) の 4 群にわけ、A を全体正常群、A+B を頭部正常群、A+C を尾部正常群とした。この 3 群の正常率と原精液の精子運動率、運動精子数 (精子濃度 \times 運動率)、swim up 後の回収精子数、および卵の受精率、良好分割率の相関を検討した。

〔結果〕45 例中 7 例の妊娠がみられたが、全体正常率 10% 以下では妊娠例はみられなかった。全体正常率、頭部正常率、尾部正常率とも原精液の運動率、運動精子数と正の相関がみられた。また、頭部正常率と swim up 後の回収精子数も相関する傾向がみられたが、尾部正常率と swim up 後の回収精子数には相関がみられなかった。精子正常率 (全体、頭部、尾部) と受精率、良好分割率には相関はみられなかった。

〔結論〕精子形態と精子運動能には相関があることが示唆された。また、受精率、良好分割率と精子形態には相関がなく、精子以外の (特に卵側) 因子の関与が大きいことが示唆された。

P VII-3

IVF-ETにおける精子処理法としての3層Percoll密度勾配法の有用性
に関する検討 - Swim up 法と比較して -

鳥取大学医学部産科婦人科学教室

○谷川正浩、関島秋男、岩部富夫、大野原良昌、寺戸博文、戸田稔子、
原田省、見尾保幸、寺川直樹

(目的) IVF-ETの精子処理における3層Percoll密度勾配法(Percoll法)の有用性をSwim up法との比較により検討した。(方法) Percoll液の作成法はPercoll(Pharmacia, Sweden) 9容に1容の10倍濃度HEPES緩衝化BWW培養液を加えて等張化した後、HEPES緩衝化BWW培養液を加えて90%、70%、40%濃度に調整した。5%患者血清添加した各濃度Percoll液1mlをプラスチックチューブに高濃度順に層積した後、液化精液2mlを重積し、1500rpmで30分間遠心分離した。遠心分離後、上層を除去し沈殿した精子を10%患者血清添加BWW培養液で1回洗浄し精液所見を観察後媒精に供した。Swim up法は従来の方法に従った。原精液所見から精子濃度 $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 、運動率50%を基準に4群に分類し、各群での運動精子回収率、精子処理後の運動率改善度、受精率、分割率、胚移植時(媒精後40時間)のblastomere数を比較検討した。また精子前進運動性を5段階にスコア化(FPスコア)し、精子処理後のFPスコア改善度を比較検討した。(結果) 運動精子回収率は両精子処理法において各群間に一定の傾向を認めなかった。精子処理後の運動率改善度は各群でSwim up法でやや高値を示したが、精子FPスコア改善度は乏精子症、精子無力症群においてPercoll法で良好な成績が得られた。受精率、分割率はPercoll法でより高く、とくに原精子濃度 $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以下、精子運動率50%以下の群で有意に高かった。(結論) 運動精子回収率、運動率改善度では両精子処理法間に一定の傾向を認めなかったが、精子FPスコア改善度、受精率、分割率、胚移植時のblastomere数ではPercoll法で良好な成績を示し、精子機能面から3層Percoll密度勾配法の有用性が確認された。

P VII-4

精液検査結果の時間的変化

群馬大学医学部産科婦人科学教室

○宇津木利雄、中島敬和、五十嵐正雄

目的：精液自動分析装置を用いて精液検査を行なう場合、時間経過と共に検査結果がどの様に変動するか検討した。方法：当科不妊外来に通院中の不妊夫婦の夫精液6例を用いて、顕微鏡下での肉眼的精液検査が終了後、Hamilton-Thorn社のmotility analyzer HT-M2030を使用して、 $5 \mu \text{l}$ の精液をマクラー精子分析カウントチャンパーに滴下し、滴下後5分毎に格子の見える中央付近で 37°C にて1時間測定した。Total sperm concentration, motile sperm concentration, progressive ($v > 25$, $s > 80$) sperm concentration, motility, progressive motility, path velocity及びvelocityのrapid ($v > 25$), medium ($10 < v < 25$), slow ($0 < v < 10$), static ($v = 0$)のパーセントを時間経過と共に検討した。結果：Total sperm concentrationは20分までに15%減少した。Motile sperm concentrationは20分で50%減少し60分後にはゼロと直線的に減少した。Progressive sperm concentrationは20分で約70%減少した。Motilityは直後37%が60分でゼロまで緩やかに減少した。Progressive motilityは直後23%が55分でゼロまで緩やかに減少した。Path velocityは20分で20%減少した。Velocityのうち、Rapidは直後30%が60分でゼロまで緩やかに減少した。MediumとSlowは時間経過と共にあまり変化を認めなかったが、60分後には殆どゼロになった。Staticは直後63%が徐々に上昇し、20分で76%、60分で100%近くまで上昇した。考案：VelocityのStaticを除き精液所見は時間経過と共に減少した。Total sperm concentration, Motility, Progressive motility, Path velocity, rapidは緩やかに減少し、Motile sperm concentrationとprogressive sperm concentrationは急速に減少した。Mediumとslowは変化が少なかった。精子自動分析装置とマクラー板を用いて精液検査を行う場合、精液滴下後直後の測定がよいと思われる。

P VII-5

Makler chamberおよびdisposable chamber "20micron μ -Cell"
を用いた精液自動分析装置による精液検査の比較検討

神戸大学医学部泌尿器科

○奥田喜啓、青木 文、神足佳子、林 晃史、今西 治、
篠崎雅史、中川泰始、松本 修、守殿貞夫

〔目的〕 精液検査は、男性側の妊孕力を評価するうえで必須の検査である。近年、客観的な評価法として精液自動分析装置がいくつか開発され、広く臨床応用されている。この測定には従来Makler chamberが用いられていたが、最近ディスボタイプのchamberが市販され、簡便な点等からその有用性が期待されている。今回これら2種のchamberの特徴についてその成績を比較検討した。

〔方法〕 対象は、神戸大学附属病院泌尿器科不妊外来を受診した70例で、精液採取後、室温で30分放置の後評価した。今回使用した精液自動分析装置は、Hamilton-Thorn Research社製 Motility analyzer HT-M2030で、それぞれの検体につきMakler chamber (以下Makler) およびdisposable semen analysis chamber "20micron μ -Cell" (以下 μ -Cell)を用いて、精子濃度、運動率、平均運動速度等の精子パラメーターを評価した。また、直径 $8.25\mu\text{m}$ のLatex beadsの濃度をMakler、 μ -CellおよびHemocytometerを用いて顕微鏡的に算定することにより、各々のchamberの特性を比較した。

〔結果〕 精子濃度、運動率については、両者とも強い相関を示したが、 μ -CellにくらべMaklarを用いたほうが精子濃度を有意に高く算定した。平均運動速度に関しては、両者ともほぼ同一の値を示した。また再現性については、 μ -Cellのほうが各パラメーターともバラツキが少なかった。一方、Latex beads濃度の測定に関しても、Maklarを用いたほうが μ -Cellに比べ有意に高く算定した。

〔結論〕 μ -Cellはより客観的な測定が可能で、簡便かつ汚染、感染も防止できるなど有用なchamberと考えられたが、精子濃度評価においてMaklarに比べ低く算定する傾向が見られ、今後も検討を要するものと思われた。

P VII-6

人精子のFree Radical (活性酸素) 産生について

その2 正常男子および不妊症、脊損患者の検討

○岩崎 皓 (横浜赤十字病院 泌尿器科)

Claude Gagnon (McGill University, Royal Victoria Hospital,
Urology Research Laboratory)

すべての細胞は酸素を利用する限り、酸化酵素による触媒反応の中間体として産生される Oxygen Free Radical (活性酸素: 以下F.R.と略) の毒性にさらされる危険から免れない。そのため生体は細胞の内外にこれらF.R.を捕捉する Scavenging System を有し、その危険を未然に防いでいる。細胞膜内に多量の脂質を持つ精子は、このF.R.による脂質の過酸化に対し非常に脆く、そのため精子内あるいは精漿中に多量の Scavenger を含むことが知られている。私達は、特発性男子不妊症の成因にF.R.が関与している可能性を探るために精液中のF.R.を測定した。そして不妊患者の40%に精液中よりF.R.が検出され、これが精子より産生されること、またこの値が精液量や精子運動率と逆相関をもつことなどを明らかにした。今回、不妊症患者に加え、正常男子および脊損患者の精液中のF.R.を測定し、更に検討を加えたので報告する。

〈対象および方法〉 対象は不妊症患者42例 (71検体)、正常男子10例 (17検体)、脊損患者4例 (6検体) である。方法はLuminometer (LKB Wallac 1251)を用い、未処理精液 $500\mu\text{l}$ にルミノール $25\mu\text{l}$ を添加し、F.R.の存在により発生するLuminescenceを測定した。測定値の最高値 (mV/sec) が $0.05\text{mV}/\text{sec}/500\mu\text{l}$ 以上を示した時、これを陽性例とした。

〈結果〉 (1) 正常男子精液17例中陽性例0に対し、不妊症患者71例中36例 (51%)、脊損患者6例中6例 (100%) が陽性例を示した。(2) 不妊症患者陽性例は、いずれも射精直後より陽性値を示し、以後2, 4, 6時間後で漸減するものはほぼ同様の値を示すのに対し、射精直後の陰性例では2, 4, 6時間後でもいずれも陰性を示じ、陽性に転ずるものは認められなかった。(3) 同一症例が常に同じ値を示すとは限らず、測定日によって陽性あるいは陰性を示す例を認めた。

P VII-7

Leukocytospermia における Acrosin proteolytic activity の検討

山形県立河北病院産婦人科

○長谷川剛志 木原 香織
高橋 一広 小田 隆晴

【目的】近年、男性不妊の原因の1つとして leukocytospermia が注目されており、leukocytospermiaでは精子濃度、精子運動率、精子速度、総運動精子数が有意に低下するとの報告もある。また、精子妊孕能検査の1つであるハムスターテストにおいて貫通率が有意に低下するとの報告もあるが、その不妊のメカニズムについては不明の部分も多い。そこで今回我々は、その解明の手始めとして leukocytospermia における acrosin proteolytic activity (APA) を我々が開発した Gelatin substrate slide test (GSST) を使用し検討した。【方法】①精液は当科外来受診の男性不妊患者 (n=53) より用手的に採取し、精液 1 ml 中の白血球数が 10^6 以上を leukocytospermia group (n=21)、 10^6 未満を control group (n=32) とした。精液を buffer にて2回洗浄後、精子濃度 $10 \times 10^6/ml$ の精子浮遊液を作成した。②GSST ; スライド上に 3% gelatin-溶液にて薄膜を作成し固定した。このスライド上に前述の精子浮遊液を $20 \mu l$ 滴下し塗抹後、 $37^\circ C$ 、2時間培養し、位相差顕微鏡にて精子頭部周囲に出現する円形の光輪 (protein free halo) の直径を 100 sperm 測定して mean halo diameter (MHD) を算出し、APA の指標とした。【成績】Leukocytospermia group の MHD は $17.31 \pm 0.68 \mu m$ で、control group の $20.03 \pm 0.56 \mu m$ に比較し、有意に低値を示した。【結論】Leukocytospermia では、精子妊孕能の指標の1つである APA が有意に低下しており、このことが不妊をひきおこす一因となっている可能性が示唆された。

P VII-8

男子不妊症における膿精液症の検討

昭和大学藤が丘病院 泌尿器科

坂本正俊・浜島寿充・池内隆夫・甲斐祥生

〔目的〕 精液検査中に、しばしば白血球の混在が認められる。我々も精液中に白血球の認められる不妊症患者について、治療と妊娠面より検討してみた。

〔対象と方法〕 最近の2年間に当院不妊外来を受診した126名を対象とし、このうち、精液中に白血球を数個以上認めた21名(16.7%)について精液量、精子濃度、精子運動率、細菌について、治療前後の比較検討を行った。年齢は24才~41才、平均

32.9才。不妊期間は3年以上が50%と一番多かった。

〔結果〕 精液量、精子濃度に関しては治療前と白血球消失時ではほとんど変化が見られなかった。精子運動率では前値が平均41.05%後値45.26%と治療後がやや良い成績であった。精液培養にて *Ureaplasma urealyticum* や *Mycoplasma hominis* 等の不妊に関与が疑われるものも同定された。

〔考案〕 精液中の白血球の存在は当然精路に炎症の存在を示唆するものであるが、不妊とのかわりかは、今1つ判然としていない。しかし、膿精液症例21例中4例(19.05%)が妊娠をみており、いずれも精液中に白血球が認められていない時期であったことにより、関与が大きいと思われる。また、慢性前立腺炎患者の精液所見との関係についても言及したい。

P VII-9

精液感染と精液性状の関連について

相模原協同病院産婦人科

○佐藤 芳昭、三宅 崇雄、望月 愛郎、松信 晶、大沢 章吾

不妊症カップルのルーチン検査法として精液感染の有無の検討を行うことに臨床的意義があるか否かについては、多くの議論がなされている。しかし、経験的にみて精液感染が存在すると、精子数の減少や、精子運動に異常を示す例が少なくないことはよく知られている。そこで、今回は精液における感染の有無と、精液性状の変化について、治療の効果を含めて検討した。

対象は 109例の不妊症カップルであり、うち30例については、抗菌剤 (NFLX, OFLX) 投与において、前後での変動も検討を加えた。一般菌については 10^3 /ml以上の colonyの存在を陽性とし、Ureaplasma Urealyticumは、検出されれば陽性と判定した。

結果は 109例中 64%に細菌の存在をみとめたが、陽性と判断したのは 57%であり、ほとんどが尿道の常在菌であり、また Ureaplasmaは13%に陽性であった。特に3種以上の菌種が検出されたものが40%であった。抗菌剤の投与で菌数の有意の減少は65%にみられ、かつ精液所見では、精液量、PH、精子数には変化を認めなかったものの、運動率およびgradeには明らかな改善を認めた。

以上より、不妊カップルにおける男性側の精液一般菌の培養と、 10^3 /ml以上の菌の存在を認めた場合のその治療は不妊治療の1つとして有意義なものと推測された。

P VII-10

ハムスターテスト（凍結保存卵使用）の男子不妊症患者に対する有用性の検討

東京医科歯科大学 泌尿器科 ○竹内信一、後藤修一、東 四雄、大島博幸
 春日部市立病院 泌尿器科 根岸壮治
 日本農産工業 中研 加納 宏、下郡洋一郎

〔目的〕現在、男子不妊症患者において、一般精液検査のみでヒト精子の受精能を判定するには限界がある。ヒト精子の受精能を判定する方法のひとつにハムスターテストがあるが、最近、新鮮卵のかわりに凍結卵を使用し、前者を用いた場合とほぼ同様の結果が得られたとする報告がある。そこで、今回、現在の男子不妊症外来で一般に用いられている精液パラメーター（精子濃度、運動率）と、凍結卵を使ったハムスターテストとの関連を検討した。特に、今まで報告の少ない乏精子症における関連性をみることに主眼をおいた。

〔対象および方法〕1989年4月から1990年4月までに不妊外来を受診した特発性男子不妊患者の123検体を対象とした。精子濃度は 14.8×10^6 /ml ~ 74.4×10^6 /ml (平均 27.6×10^6 /ml)、運動率 5% ~ 70% (平均 49.2%) であった。凍結保存卵（日本農産工業）を38℃の湯温にて急速融解させた後、0.1%トリプシンにより透明帯を溶解させ、ハムスターテストに供し、精子侵入率をみた。

〔結果および考察〕1. 精子濃度と侵入率の間には相関は認められなかった。但し、精子濃度2000万以下ではほとんど侵入率30%以下であった。2. 運動率と侵入率の間にも相関はなかった。が、運動率40%以下の群で侵入率50%を越えるものは少なかった。3. 総運動精子数（または運動精子濃度）と侵入率の間には相関は認められなかった。4. 何例かの個人において数回侵入率を測定したが、バラツキがみられるものがあった。

以上の結果より、4000万以下の症例では侵入率に低い傾向がうかがわれるものの、精子濃度および運動率とハムスターテストの結果の間に相関はみられなかった。

P VII-11

妊孕性判定におけるハムスターテストの有用性

筑波大学臨床医学系産婦人科

○山内 宏、西田正人、岡本 一、辻 泰二、久保武士、岩崎寛和

〔目的〕不妊症診断において精液検査が重要であることは言うまでもない。Zona-free hamster egg sperm penetration test (ハムスターテスト) はヒト精子受精能検査として知られている。当科不妊外来においてルーチン精液検査の際にハムスターテストを行い、その有用性を検討した。

〔対象・方法〕1989年9月から1990年6月までの間に当科不妊外来通院患者102例に対し、同意を得た後、一般精液検査及びハムスターテストを行った。一般精液検査は精子自動分析装置 (CellSoft 3000) を用い、精子濃度、運動率、平均精子速度、直進性を測定した。ハムスターテストに際しては精子の先体反応を誘起し、感度を高めるためCa-ionophoreによる処理を行い未処理のものと比較を行った。またハムスター卵は日本農産工業の協力により凍結ハムスター未受精卵を用いた。

〔結果〕102例のハムスターテストの平均侵入率は $45.98 \pm 38.03\%$ であった。Ca-ionophore $5\mu\text{M}$ で処理することにより侵入率は平均 $65.83 \pm 36.84\%$ と有意に向上した。これまでに102例中8例が自然妊娠し、妊娠例の平均侵入率はCa-ionophore処理にて $73.83 \pm 37.84\%$ と高値を示した。妊娠成立例の最低侵入率は7.5%でこの症例はCa-ionophore未処理では侵入率は0%であった。妊娠の既往を持つ症例は102例中18例で高い侵入率を示したものが多く傾向を認めたが、Ca-ionophore処理でも侵入率5%未満であったものが3例あった。一般精液検査の結果では妊娠例と非妊娠例との間に有意な差は認められなかった。精液濃度と侵入率の間には、有意な相関($r=0.5577$)が認められた。

〔結論〕不妊症ルーチン検査におけるハムスターテストは不妊予後の判定に有用であると考えられた。ハムスターテストの判定に際しては、Ca-ionophore $5\mu\text{M}$ 処理で5%以上を陽性とするのが妥当と考えられた。

P VII-12

直接 Immunobead test (I B T) と間接 I B T の不一致に関する検討

虎の門病院産婦人科

○高橋敬一 笠井 剛 塩津英美 児島孝久 佐藤孝道

〔目的〕精子表面付着抗精子抗体の検出方法として Immunobead test (I B T: I g G · I g A) を当科では施行しており、直接 I B T と間接 I B T の信頼性と有用性についてはすでに発表している。しかし、直接 I B T が陽性の検体に間接 I B T も陽性を示すか否か、つまり直接 I B T と間接 I B T の結果が完全に一致するかについては外国文献でも報告がない。今回われわれはこの点について疑問を抱き、直接 I B T と間接 I B T の一致・不一致について検討した。

〔対象及び方法〕直接 I B T 陽性を示す精液を同じ日にその精漿を用いて間接 I B T を行った。また、コントロールとして直接 I B T 陰性の精漿についても同様に間接 I B T を施行した。

〔結果〕1) 直接 I B T 陰性6例はすべて間接 I B T 陰性であった。2) 直接 I B T 陽性例は4例認められた。4例とも I g G 付着率は60%以下で、I g A 付着率は40%以下であり、精子不動化抗体は陰性であった。3) 直接 I B T 陽性であった4例の精漿による間接 I B T はすべて陰性であった。

〔結論〕直接 I B T と間接 I B T は同じ精液であっても結果は必ずしも一致しない。

〔考察〕検討症例は少数であるが、今回の結果で直接・間接 I B T の結果を同一のものとして扱えないことが明かとなった。直接 I B T で認められる精子表面付着抗精子抗体の本態が問題となるが、精子に対する臨床的意義をもたないものも含まれる可能性がある。また過去の自験例と照らし合わせると、直接 I B T は間接 I B T に比べ簡便に行えるが、精子不動化抗体のスクリーニングとしてみると疑陽性が多くなる可能性が示唆された。

P VII-13

漢方薬剤の精子運動能に対する直接作用の解析

常滑市民病院産婦人科¹、名古屋大学医学部産婦人科²、同分院産婦人科³
 広渡恒治¹、小栗久典¹、東郷市太郎¹、塚原慎一郎²、山口一雄²、石原豊²
 浅田義正²、水谷哲也²、菅沼信彦²、友田豊²、近藤育代³、大沢政巳³、成田収³

(目的) 男性不妊症に対し漢方薬は臨床的に広く使用されているが、その作用機序に関しては不明の点も多い。今回我々は、洗浄精子に漢方薬剤を添加することによる精子運動能の変化を観察し、漢方薬剤の精子に対する直接作用を検討した。

(対象・方法) 配偶者間人工授精に用いた精子運動率60%以下の精液、30検体を対象とした。パーコール法にて精子を濃縮・洗浄後、八味地黄丸(TJ-7)、人參湯(TJ-32)、補中益気湯(TJ-41)、牛車腎気丸(TJ-107)のエキスを、あるいは対照として生理食塩水を添加し、直ちに精子の運動率、運動速度、直進性、精子頭部の振幅などを運動能自動分析装置(HT-M2030)で測定した。また、薬剤添加後の経時的变化も観察した。

(結果) ①精子運動率上昇に対し、TJ-32群(44.2±4.3%, mean±SEM)およびTJ-107群(41.3±4.0%)は、対照群(35.1±2.9%)に比して有意に効果を示した。②薬剤添加後4時間までの観察において、精子運動率の減少率に関しては、対照群と明らかな差異を認めなかった。③精子運動速度、直進性等に関しては、薬剤添加による明らかな変化は認められなかったが、mean beat frequencyが、TJ-107群(8.5±0.7Hz)で対照群(7.3±0.6Hz)より有意に高値を示した。

(結論) 以上の結果より、漢方薬剤、TJ-32およびTJ-107は精子運動能上昇に直接効果を有するものと考えられた。その効果は運動能保持よりも即効性で、また運動能の質的な改善にも関与すると推察され、今後、臨床応用への可能性も示唆された。

P VII-14

Effect of Prostaglandin E-2 and F-2 α on Motility of Mouse Epididymal Sperm

Ming-Chung Lin, Tadashi Matsuda, Yasuki Horii, and Osamu Yoshida
 Department of Urology, Kyoto University Hospital

One important function of seminal prostaglandins is supposed to initiate and stimulate sperm motility, however, experimental evidence to support such an effect is still rare and inconsistent. Therefore, twenty-two semen specimens were taken from caudad epididymidis of mice, and the effect of prostaglandins on sperm motility was evaluated.

Prostaglandin E-2 & F-2 α were added to the sperm suspension to provide various concentrations (12.5 μ g/ml, 25 μ g/ml, 125 μ g/ml, 250 μ g/ml and 375 μ g/ml of PGE-2, and 1.25 μ g/ml, 2.5 μ g/ml, 12.5 μ g/ml, 25 μ g/ml and 37.5 μ g/ml of PGF-2 α). After incubation at 37°C for 1 hour, the motility of epididymal sperm in each aliquot was compared with that of control group.

An analysis of variance indicated that the presence of low concentration of PGs (12.5 & 25 μ g/ml of PGE-2 and 1.25 μ g/ml of PGF-2 α) was associated with a significant increase in sperm motility; on the other hand, high concentration of PGE-2 (375 μ g/ml) significantly inhibited the motility of mouse sperm.

The data which will be presented suggest that the enhancing effect of low concentration of PGs on sperm motility needs reaction time; however, the depressing effect of high concentration seems to work immediately after the addition of PGs.

P VII-15

運動良好精子回収時の培養液への薬剤添加の効果に関する研究

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○内田昭弘、高橋健太郎、溝口さおり、Antoine Abu Musa、永田裕子、
吉野和男、北尾学

【目的】ヒト精子受精能に及ぼす caffeine と kallikrein の影響を精子受精能検査である hypoosmotic swelling test (HOST) を用いて検討した。

【方法】当科不妊・内分泌外来において配偶者間人工授精を施行した40例を対象とした。(尚、対象は運動精子濃度により正常群、軽度異常群、高度異常群の3群に分類した。)運動良好精子は swim up-洗淨濃縮法を用いて回収し、その際の培養液は Whittingham's T6 (培養液W)、caffeine 7.5 mM/l + Whittingham's (培養液C) 及び kallikrein 1.0 ku/ml + Whittingham's T6 (培養液K) の3種類とした。それぞれの培養液での回収精子に対して HOST を施行し、3群間で比較検討した。

【成績】1) 培養液Wにおける HOST の結果は3群間でそれぞれ差があり、正常群では有意な高値、高度異常群では有意な低値が認められた。2) 軽度及び高度異常群の培養液C及びKにおける HOST の結果は培養液Wに比較して有意な高値が認められた。3) 培養液Cにおけるg type精子膨化率は軽度異常群 $39.8 \pm 6.5\%$ 、高度異常群 $32.7 \pm 6.6\%$ であり、培養液Wにおけるg type精子膨化率($37.8 \pm 8.6\%$)と比較して有意な差は認められなかった。また、培養液Kにおいても同様の傾向が認められた。

【結論】swim up-洗淨濃縮法の際にcaffeine及び kallikrein を培養液に添加する事により異常精液群における精子受精能を上昇させる事が示唆された。

P VII-16

精索静脈瘤の手術効果

千葉大学泌尿器科

○始関吉生、小竹 忠、高原正信、角谷秀典、島崎 淳

対象および方法：1988年4月から、1990年3月までに、不妊を主訴として、千葉大学泌尿器科を受診し、精索静脈瘤を認めたため、高位精索静脈結紮術を施行し、精子運動能の解析が可能であった32名を対象とした。方法は、用手法にて精液を採取し30分放置後、Cell Soft シリーズ3000(CRYO Resources社)にて、精子運動能を解析した。手術前、術後3ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月に精液検査を施行した。精子濃度、精子運動率、運動精子濃度、精子速度、精子直進性、平均Amplitude of Lateral Head displacement (ALH)、Beat/Cross frequencyについて、経時的に、比較検討した。

結果：精子濃度は、術前平均 $34.7 \times 10^6/ml$ で3ヶ月で、 $5 \times 10^6/ml$ 、6ヶ月で、 $11.5 \times 10^6/ml$ 、9ヶ月で、 $26.4 \times 10^6/ml$ 、12ヶ月で、 $26.0 \times 10^6/ml$ の改善を認めた。運動率は、術前平均32.3%で、術後3ヶ月で7.5%、6ヶ月で5.3%、9ヶ月で8.4%、12ヶ月で8.1%の改善を認めた。運動精子濃度も同様に9ヶ月までは、手術前と比較して改善傾向を示した。平均精子速度、平均精子直進性、平均ALH、Beat/Cross frequencyは、手術前後で、特に変化を認めなかった。以上より、精索静脈瘤の手術療法による精液所見の変化は、精子濃度と精子運動率の上昇であり、運動精子全体としての運動能の改善は、認めなかった。

P VII-17

尿潜血反応試験紙を用いた逆行性射精発見の簡便法

東邦大学泌尿器科学教室¹⁾、同薬理学教室²⁾○原 啓、桑原 孝、松橋 求、高波真佐治、柳下次雄、石井延久、
三浦一陽、白井将文¹⁾、押尾 茂²⁾

【目的】 逆行性射精の多くはorgasumはあるがejaculationがない、いわゆるdry ejaculationと呼ばれているもので、男性不妊症の原因として重要である。本疾患の診断はmasturbation後の尿の遠沈により精子の有無を判定することにより行われているが、無精子症の場合は簡単には診断がつかず、尿中果糖やアミノ酸分析等で判断されているのが現状である。そこで我々は、もっと簡便に尿における精液の混入が判定できないかと考えた。

【方法】 我々が日常診療で用いている尿中の潜血反応を測定する試験紙（我々が使用したのは、エームス尿検査試験紙とウロペーパー[®]“栄研”UHAG-2の2種類）を尿中に混入した逆行性射精液に浸したところ、一様に潜血反応が陽性になることが判明した。そこで潜血反応陰性の30症例の尿を用いて、尿に精液を、10:1、100:1の割合で希釈したものに、両方の試験紙を浸し、どのように反応するかを検討した。

【結果】 10:1希釈のものでは両試験紙とも全例が著明陽性となり、100:1のものでは、エームス試験紙で全例が陽性、ウロペーパーで12例が陽性、18例が偽陽性であった。

【考案】 尿潜血反応試験紙の原理は、試薬部分の過酸化物がヘモグロビンのペルオキシダーゼ様作用によって活性酸素を遊離し、試薬部分の還元型色原体が酸化されて発色することにある。したがって精液中のペルオキシダーゼ様作用を持つ物質が試薬に反応しているものと推測される。この物質が一般の尿中に存在せず、精液中に存在するものであれば、結果の如く鋭敏な反応も示しており、逆行性射精の簡便でかつ経済的な試薬として、本試薬を使用することができると思われる。なお現在詳細な検討を行っており、併せて報告する。

P VII-18

攪拌密度勾配法による逆行性射精例を含む精子洗浄A I H妊娠例の検討とその
他各種精子洗浄法による妊娠例の統計

小嶋病院、東京歯科大学市川病院*、慶応大学産婦人科**

○小嶋 清、兼子 智*、小嶋 寛、小林俊文**、野沢志朗**

攪拌密度勾配法により調製した選択的洗浄濃縮運動精子を精子減少症、精子運動不良例さらに逆行性射精例、マスターベーション不可による腔内回収精液例のA I Hに臨床応用した。72症例中21例に妊娠が成立し、施行周期数は1回～16回、1回の施行で5例、3回施行内に10例の妊娠が成立した。

妊娠症例中の逆行性射精2例、マスターベーション不可による腔内回収精液例（フナーテスト陰性、軽度精子減少症、不妊歴16年）は前者は射精後回収尿、後者は腔内回収精液を単層パーコール法にて精子濃縮化をはかり、その後攪拌密度勾配法で運動精子を選択採取しA I Hに供した。それぞれ17、4、3周期で妊娠を得た。

女性側不妊因子は21例すべて存在し、全例に排卵誘発を行った。5例はL H-R Hアゴニスト+HMG、HCG療法、8例はクロミフェン+プロモクリプチン+HMG、HCG療法で施行した。

なお、精子洗浄A I H、無洗浄A I Hでの妊娠成立時の排卵日とA I H施行日の時差を比較検討した結果、臨床的には有意の差を認めなかった。

単層パーコール法で185例中61例、多層パーコール法で64例中41例、簡易GPM-カリクレイン法で44例中18例の妊娠を認めている。

P VII-19 Epididymal sperm における受精能について

永遠幸マタニティクリニック 加藤 修、高塚 亮三
 恵愛会恵愛病院 林 政宏
 富山医科薬科大学 泌尿器科 寺田 為義、片山 喬

〔目的〕閉塞性無精子症には、従来、人工精液溜造設術が行われているが、採取精液の血液・雑菌汚染、運動率の低いこと、術後、ある期間後の採取不能、感染等があり、見直し検討の要ありと考える。今回、先天性精管欠損症2例に対し epididymal sperm collectionの機会を得たので報告したい。

〔症例・方法〕症例Ⅰは、2.5倍ルーペ肉眼下で精巢上体頭部より採取、洗浄液に10% Pt.serum 加 TALP-HEPES を用い、180万/ml運動率80%を採取、swim upは行わず2回洗浄濃縮後、78万/totalの精子を回収、6hr培養(Ham's F10)後、12コのeggに媒精した。翌日6コ(1コdispermy)に受精が確認され、即Zift法を試みるもSSには至らなかった。症例Ⅱは、手術顕微鏡下に先ず上精上体尾部より試みるも、運動率10%↓、奇形70%↑と良好な精子は得られず体部に移行。ここでは540万/ml運動率24%の精子を得、症例Ⅰの如く、6hr後、採取卵5コに50万/total媒精した。翌日、受精は明確なものはなかったが、翌々日4cell 2ヶ、2cell 1ヶ 計3コの分割卵が確認され、Eiftを施行。現在経過観察中である。

〔結果〕最も心配された epididymal sperm における運動性と受精能は今回確認された。睾丸に近い頭部に運動良好精子が得られ、閉塞部に近い尾部では、白血球も多く媒精は難しいと考える。今回の受精率は、症例Ⅰでは50%(6/12)、症例Ⅱでは60%(3/5)であったが、今後、精子採取の経験を積み、採取法の検討を行えば採取卵の多少に関わらず80%前後の受精率確保は可能と思われる。

〔考察〕超乏精子症・精子無力症に対するmicro fertilizationの必要が急務の今、精子輸送障害、慢性感染症等によるこれらの症例は、epididymal collectionによって、全てIVFの範疇で解決できるものと考えます。更には脊髄損傷その他の射精障害等、応用範囲は無限と思われる。今後、更に検討を重ね、報告したいと思えます。

P VII-20

子宮卵管造影法(HSG)の不妊症に対する治療効果の検討

九州大学医学部婦人科学産科学教室

○緒方 りか 中村 元一 内海 善夫 横山 幹文
 渡辺 良嗣 野崎 雅裕 佐野 正敏 中野 仁雄

〔目的〕子宮卵管造影法(HSG)は不妊症の重要な検査のひとつであるが、同時に治療法としても有効であると言われている。しかし、HSGは不妊症の検査開始後早期に行なわれることが多く、同時に他の検査・治療も行なわれるためHSGのみが治療におよぼす効果の判定は困難である。我々は不妊を主訴とした症例を初診後速やかにHSGを施行する群(HSG群)と初診後4周期以内には施行しない群(対照群)に分け、HSGの妊娠成立におよぼす効果についての検討を行った。

〔方法〕当科不妊外来を1987年11月から1989年2月までに初診した症例を上記の2群に分け、HSG群のHSG後4周期以内の妊娠率と対照群の初診後4周期以内の妊娠率を比較した。観察期間が4周期にみえない症例は除外し、この間のHSG以外の検査・治療は同等に行った。HSGは油性の造影剤を用いて透視下で行い、検定にはカイニ乗検定を用いた。

〔成績〕HSG群116例・対照群97例の平均年齢はそれぞれ31.8歳および30.9歳であり、両群の不妊期間ならびに原発・続発不妊の割合などその背景には有意差はなかった。HSG群の妊娠率は116例中26例(22.4%)、対照群の妊娠率は97例中11例(11.3%)で、両群間に $P < 0.05$ の有意差が認められた。対照群のうち4周期までに妊娠しなかった37例に5周期以降にHSGを施行したところ、その後4周期内に8例(21.6%)に妊娠が成立した。

〔結論〕HSG群の妊娠率が対照群に比べて有意に高かったことから、HSGが妊娠成立に何らかの治療的意義を持つことが示唆された。

P VII-21 不妊症領域に於ける画像診断法の改良

日本医科大学産婦人科学教室
可世木久幸、明楽重夫、荒木勤

【目的】産婦人科領域の不妊症の診断には画像診断法が重要な役割を占める。今回、我々は画像診断法として従来よりなされて来た腹腔鏡検査、経膈プローブ超音波検査、子宮鏡検査（子宮卵管通過性検査）に若干の改良を加えた。【方法】(1) 腹腔鏡検査の改良（腹腔鏡下超音波検査）：腹腔鏡ビデオ検査を施行中に高周波超音波プローブを腹腔内に挿入して直接骨盤内臓器に当てて臓器の観察を行なった。(2) 経膈プローブ超音波検査の改良（子宮腔内超音波検査）：子宮頸管を拡張後、超音波プローブを子宮腔内に挿入して子宮筋層の微細な内部構造の変化を捉えた。(3) 子宮鏡検査（子宮鏡下卵管通過性検査）：子宮鏡にて卵管子宮口を確認後灌流液用チャンネルに0.1 - 0.3 mlの空気を注入し、気泡が卵管内に注入されていくことにより卵管通過性を確認した。更に、インジゴカルミンを卵管口に注入して色素の卵管内注入にても卵管通過性を確認した。【結果と考察】(1) 腹腔鏡下超音波検査：子宮腺筋症と子宮筋腫の鑑別困難な症例、強度の子宮内膜症性癒着の症例の2例に本検査を施行した。その結果、子宮腺筋症と子宮筋腫の鑑別は本検査では出来なかった。強度の子宮内膜症性癒着の例では癒着部位に超音波プローブを当てることにより腹腔鏡単独では観察できなかった卵巣を超音波検査にて明確に捉え得た。(2) 子宮腔内超音波検査：子宮腺筋症と子宮筋腫の鑑別困難な症例、不妊を主訴として受診した若年者子宮体癌の症例に本検査を施行した。その結果、子宮腺筋症と子宮筋腫の鑑別、子宮筋層への子宮体癌組織の浸潤の有無の診断が行ない得た。(3) 子宮鏡下卵管通過性検査：卵管通過性の診断に関してはHSGとほぼ同等の結果を得た。本検査は放射能被曝がなく、被験者に対する侵襲性がないので優れた検査法と考えられる。

P VII-22

カラードプラー法を用いた超音波卵管疎通性検査の試み

聖マリアンナ医科大学産婦人科、同・臨床検査部*
○堀越裕史、石塚文平、田口泰之、近藤俊彦、渡辺研一、栗林 靖、
斎藤寿一郎、佐賀正彦、浜田 宏、永江 学*

画像上に、流体の存在をカラー表示する、カラードプラー法を用いた超音波卵管疎通性検査(CDTP)を開発し、その有用性を検討した。CDTPは、気泡を作成した生理食塩水を留置バルーンカテーテルを用いて通水して行なった。15例の不妊症例に試み、疎通性の有無に関して子宮卵管造影法(HSG)所見と比較して92.0%、腹腔鏡下および開腹下の色素通水法として81.0%の高い一致率を得た。本法とHSG各々の色素通水法との一致率は、81.0%と78.9%と同様の成績が得られ、False positive rateは、44.4%、62.5%、False negative rateは、0%、0.9%であり、Specificityは、75.0%、76.9%、Sensitivityは、100%、83.3%であった。HSG、腹腔鏡検査で卵管溜水腫を示した3例中2例では卵管内に反転流像が認められた。X線被曝・ヨード過敏症の心配がなく、簡便で、外来で反復して施行できるという、従来の超音波卵管疎通性検査の利点に加えて、流体の方向がカラー表示され、リアルタイムで鮮明な画像が観察でき、反転流の状態により、部位診断や卵管溜水腫の診断にも有用なことから、CDTPは卵管疎通性のスクリーニング検査として、また、卵管手術後等のFollow upの手段として有用であると思われる。

P VII-23

基礎体温法利用の現状

芝パーククリニック 村 山 茂

基礎体温法(BBT法)は不妊症の治療をはじめとして、日常の診療に欠くことが出来ない。本法が山口哲、松本清一等先人の業績によりわが産婦人科領域に導入されてから40年が経過しているが、現在どのように利用されているか、又将来はどうか、これらの点について考察を行ったのでBBTと関連する2,3の事項と共に併せて報告したい。対象は最近1年間にP.クリニックを健康診断の目的で訪れた千数百例である。全症例にBBT法の利用の有無その他の事項につき問診を行いこれを分析した。

1. BBT記入の経験は対象例の約半数に認められたが、その比率は年代的に若年者に多く、高令者に少なかった。(36~40才、48%、51~55才、40%) 2. BBT記入の目的は児希望253例(37%)、周期を見るため221例(32%)、避妊147例(21%)、その他67例(10%)の順であった。(計688例)

3. BBTの記入期間は全般的に短く、長続きしない傾向が見られた。即ち6か月以内に中止する者の比率は、周期観察例では64%、児希望者では50%、避妊では44%の順であった。逆に2年以上の長期記入者は、周期観察例ではその17%、児希望29%、避妊37%で前述の数値とは逆の傾向を示し、避妊希望者に長期の利用者が多かった。4. BBTと関連のある荻野式の実施について考察すると、BBT経験者ではその中の42%(36~40才)~44%(51~55才)の割合で荻野式の実施者が見られ、年令的な差異はなかった。又正確に荻野式を実行している者は殆んど見られなかった。5. 外陰部の粘液徴候の自覚はBBT経験者では78%、非経験者では69%に見られた。この数値の差については検討を要する。何れにしろこの粘液徴候を排卵との関連で自覚している者は少なかった。尚BBT利用の将来についてもふれたい。

P VII-24

不妊婦人(PCO)における子宮内膜細胞診の意義

富山県立中央病院産婦人科

○小嶋康夫, 佐竹紳一郎, 舟本 寛, 館野政也

不妊婦人のなかで不正性器出血やPCOなどが認められる場合、子宮体癌や子宮内膜増殖症などの病変を伴っていることがある。したがってこれらの不妊患者においては、時に内膜細胞診や組織診を施行し悪性新生物などを否定しておくことが重要である。

今回我々は、6年間にわたり不妊症で治療を行っている患者で、子宮内膜増殖症の病変が引き続き認められるため、MPAなどによる治療を行った症例を経験したので報告する。

症例は31才(初診時25才)。挙児希望のため近医受診していたが、昭和58年10月頃より不正性器出血が断続するようになり、内膜組織診でendometrial hyperplasiaと診断された。昭和59年4月の検査では、atypical endometrial hyperplasiaと診断されたため当科紹介となり、以後慎重に経過観察された。BBTは一相性で、内分泌検査、超音波検査などからPCOが疑われ、クロミフェロン投与開始したが容易に排卵に至らず、子宮卵管造影、子宮鏡、腹腔鏡などの検査を経て、昭和61年1月両側卵巣楔状切除術が施行された。

一方子宮内膜細胞診、組織診は定期的に検査されたがendometrial hyperplasiaの所見は持続し、細胞の異型性、腺管密度の上昇などが認められるようになったため、平成元年1月より、medroxyprogesteron acetateの投与を開始した。MPA投与中は、腺管密度も低下し、細胞の異型性も消失したが投与終了2か月後の内膜組織診では再び腺管密度の上昇や、腺上皮の重積性などの所見が認められるようになった。

相変わらず不妊であるが、今後の対応について悩むところも多く、検討を加えてみる。

P VII-25

Bromocriptine の長期投与により下垂体機能低下を来したと
考えられた症例について—case report

明石市立市民病院 産婦人科

○草西 洋、佐藤昌平、水谷不二夫

Bromocriptine は血中プロラクチン (PRL) の高値を伴う排卵障害に対し優れた成績を示すことが数多く報告されています。また、正常プロラクチン血性黄体機能不全症例でもbromocriptine が有効であることが報告されています。そのために日常の不妊外来診療においてbromocriptine を投与する機会が増えていると思われます。このたびプロラクチン軽度上昇を示した無月経婦人に対して bromocriptine を長期間投与し、その結果下垂体機能低下を来したと考えられる症例を経験しましたので報告します。症例は、34才の未婚婦人で、1986年10月left paraovarian cyst のために cystectomy の手術を受けています。術後に無排卵性月経が続き、clomipheneを投与していましたが、1987年5月プロラクチン値が軽度上昇していたことからbromocriptine の投与が開始されました。1988年10月からはclomiphene投与は中止され、bromocriptine 2.5mg/day 単独投与が続けられていました。しかし、bromocriptine 投与にもかかわらず1989年1月から第2度無月経となり、1989年7月の LH-RH負荷テストの結果 LH,FSH ともに抑制された状態でした。4か月間 bromocriptineを休薬したのちに再度LH-RH 負荷テストを実施したところ、下垂体機能は正常に回復していました。このことから、本症例ではbromocriptine の長期投与が二次的に下垂体機能を抑制したものと推測され、bromocriptineの投与にあたってはこのような副作用の存在も考慮する必要があると考えられます。

P VII-26

プロラクチノーマ治療後妊娠例における妊娠中および産後のプロラクチン値の
推移について

群馬大学医学部産科婦人科学教室

○小此木孝佳、伊吹令人、五十嵐正雄

〔目的〕プロラクチノーマによる高プロラクチン血症の治療には経蝶形骨洞の腫瘍摘出術による手術療法、ドーパミン作動薬であるブロモクリプチン (BC) による薬物療法、あるいはその併用療法などが行われており、妊娠、分娩に至る例も多い。今回われわれはこれらの妊娠成功例で妊娠中および産後にプロラクチン分泌がどのような経過をとるのかを明らかにするため以下の検討を行った。〔方法〕当科を受診したプロラクチノーマ患者で上記の治療により妊娠し、分娩に至った75例において、治療前、妊娠中、産後の血中プロラクチン値を二抗体法によるラジオイムノアッセイで測定した。また産後排卵の有無を調べた。BC投与は妊娠が判明した時点で中止し、以後BC投与を行わなかった。〔成績〕Ope群 (11例) ではプロラクチン値が妊娠中の正常域以下の値をとり続け、産後も30ng/ml以下であった。分娩後は全例に排卵がみられた。Ope+BC群 (16例) では、妊娠初期にBC中止によりプロラクチン値が術後のBC投与前値近くまで上昇し、その後はおおむね横ばいであった。産後は100ng/ml以上の群7例と100ng/ml以下の低値群9例の2群に分かれた。低値群のうち3例に自然排卵の回復をみた。BC群 (48例) では妊娠初期にBCの中止以後プロラクチン値が治療前値近くまで上昇した。その後はA高値持続形30例、B上昇形10例、C下降形8例に分かれた。産後自然排卵の回復はA4例 (13%)、B0例 (0%)、C3例 (38%) であった。〔結論〕妊娠、分娩後にプロラクチン値が正常化し、自然排卵の回復する例があることより、妊娠分娩という現象がプロラクチノーマに対して好影響をもたらすことが示唆された。

P VII-27

Hyperprolactinemia 症例における夜間Melatonin並びにProlactin分泌動態について

高知医科大学産科婦人科学教室
岡谷 裕二、岡田 真尚、相良 祐輔

(目的) Melatonin (Mel) は夜間に増量する日内変動を有し、正常成熟婦人並びに nocturnal hyperprolactinemia 症例においては、夜間に増量するprolactin(PRL)分泌パターンと密接な関連のあることを明らかにし報告してきた。そこで今回、明条件下で30ng/ml以上~100ng/ml以下の軽度の高プロラクチン血症を示す症例に注目し、夜間のMel分泌およびPRL分泌パターンとの関連を検討した。(方法)対象は明条件下で血中PRL値が37.5~67.5ng/ml示したmild hyperprolactinemia(MH)症例 5例で、21時に消灯し、翌朝6時に点灯起床させる明条件下で20時より翌朝8時まで2時間毎に採血した。control群は正常月経周期を有し、夜間の血中PRL値が30ng/ml以下で推移した5例とし、上記と同様の条件下で採血した。(成績)control群の血中Mel値は22時より増量し、平均値のピークは2時で109.8±14.1pg/mlを示し、以後8時まで減少した。血中PRL値はMelの増量より2時間遅れた0時より増量し、平均値のピークもMelより2時間遅れた4時で22.3±2.3ng/mlを示し、以後8時まで減少した。一方、MH群では、血中Mel分泌動態はcontrolを極めて類似したパターンを示し、両群間に差は認められなかった。PRLについては、20時で54.6±9.0ng/mlの高値を示し、24時に著増し79.0±20.6ng/mlに達し、以後8時まで同一レベルで推移した。さらに20時のPRL値に対する各時刻のPRLの% change値と、2時間前のMel値との間には、control群では、相関係数 $r=0.455(p<0.01)$ と有意の相関が認められたが、MH群では有意の相関は認められなかった。(結論)MH群においても夜間にPRL分泌の増量が示されたが Mel-PRL分泌間にはcontrol群と異なり、明らかな関連が認められないことから、MH群における夜間のPRL分泌増量はMelを介さない他の要因が強く示唆された。

P VII-28

TRH負荷試験におけるPRL分泌予備能と黄体機能との関連に関する検討

群馬大学産婦人科

○安藤 一道、道下正彦、山田清彦、高木 剛、水沼英樹、伊吹令人、五十嵐正雄

目的：TRH負荷試験におけるPRL分泌予備能と黄体機能との関連について検討した。方法：当科不妊外来を受診した不妊婦人の内、自然排卵周期を有し乳漏を認めない51症例を対象とした。連日の早朝尿中LHの測定により尿中LHサージ(day0)を把握し、day3-5、day6-8、day9-11に血中progesterone(P)を測定し、同時にday9-11に子宮内膜組織診を施行した。更に、次回月経第2-5日目の午前中にTRH負荷試験(500 μ g)を行い、負荷前、負荷後15分、30分に採血し血中PRLを測定した。尿中LHの測定はオルガノンLHカラー(オルガノン社)、血中P・PRLの測定は、PROGESTERONE KIT(DPCコーポレーション)・スパッターS PRLキット(第一ラジオアイソトープ社)にて測定した。結果：1) 51症例のTRH負荷試験におけるPRLのpeak値(X)と Δ PRL値(peak値-負荷前値/負荷前値, Y)には、 $Y=0.069X+5.4$ ($P<0.001$)と有意の相関が認められた。今回我々は、 $X \geq 70\text{ng/ml}$ または $Y \geq 10.3$ を満たす例を過剰群($n=27$)、これら以下を正常群($n=24$)とした。2) 高温相持続期間は正常群：12.4±0.3日(Mean±SE)、過剰群：12.8±0.3日で有意差を認めなかった。3) 血中P値は、正常群の場合10.7±0.9、15.3±1.6、11.0±1.3ng/ml、過剰群の場合9.7±0.7、14.7±0.8、10.9±1.1ng/mlでいずれの時期にも有意差は認められなかった。4) 子宮内膜のmorphometric analysisにより核下・核上空胞数、最大螺旋動脈数を比較検討したがday9-11のいずれの時期にも2群間で有意差は認められなかった。5) 高温相持続期間・血中P値・子宮内膜日付診より評価した黄体機能異常の出現頻度は、正常群：7/24(29%)、過剰群：4/27(15%)でありCHI-SQUARE TESTで有意差は認められなかった。結論：自然排卵周期を有し乳漏を認めない不妊婦人においては、TRH負荷試験によるPRL分泌過剰群が正常群に比べいわゆる黄体機能異常を発症しやすいとは言えず、これらの病態解明については今後更に検討が必要と思われた。

P VII-29

Prolactin 分泌異常に対するbromocriptine 療法の理想的な用法の確立

北茨城市立総合病院産婦人科, 筑波大学臨床医学系産婦人科*
 ○辻 泰二, 西田正人*, 岡本 一*, 山内 宏*, 伊藤俊一, 岩崎寛和*

prolactin(以下PRL)分泌異常は、現在、高PRL血症や潜在性高PRL血症として認識され、その治療薬としてbromocriptine(以下B)が有効であることは周知の事実である。しかし、Bについては作用機序に未だ不明な点も多く、その理想的な用法は確立されていない。すなわち、どのような条件下での投与が最も有効なのか、症例毎の至適投与量はいかにして決定すべきか、有効でない場合治療方針の再評価はいつ為すべきか、と言った疑問に対して適切な回答を与えられる研究者は少ないと言っても過言ではない。我々は、これらの疑問に答えるべく、過去5年間に渡り、PRL分泌異常に対するB療法の再検討を行ってきた。今回、その結論を総括し報告する。【投与基準】これまで一般的に採用されてきた血中PRL基礎値いくつ、ないしTRH負荷後反応頂値いくつ以上という投与基準では投与する必要の無い症例に対する投与(偽陽性)・投与する必要のある症例に対する非投与(偽陰性)と言った誤った判断を下す可能性があることが判明した。臨床的に最も有益な基準は、RIAによる測定値において、 $\log[\text{基礎値}] + 1.96 \log[\text{反応頂値}] - 11.95 > 0$, $\log[\text{基礎値}] + 4.14 \log[\text{反応頂値}] - 22.09 > 0$ の2式を同時に満たす場合であることを導いた。一方、多嚢胞性卵巣症候群を伴う場合、Bは有効な治療とは言いがたいことも判明した。つまり、多嚢胞性卵巣症候群を伴わず、上記2式を満たす症例に対してB療法を選択することが望ましいことを導いた。【投与量】投与基準を逸脱するまで、TRH負荷試験と内服量の段階的な増量を繰り返す事により至適内服量を決定でき、至適内服量であれば、Bの多少に関係なく一定の妊娠率が得られることを導いた。【投与期間】以上の条件を満たした治療であっても、2年を越えた連続投与は、逆に卵巣機能を障害する可能性があることを導いた。治療方針の再検討は、投与開始1年ないし1年半で開始することが必要である。

P VII-30

Hypergonadotropic hypogonadism症例におけるGnRH agonist 投与の
 排卵誘発効果

聖マリアンナ医大産婦人科

○渡辺研一, 石塚文平, 近藤俊彦, 斉藤寿一郎, 大野祐子,
 堀越裕史, 栗林 靖, 高橋誠治, 浜田 宏

Hypergonadotropic hypogonadism(h.h)症例にGnRH agonistを投与し、ゴナドトロピン(Gn)分泌を抑制すると、反跳的に卵胞発育の見られる症例があると報告されている。我々はhMGに反応しないh.h症例4例に、ブセレリン(900 $\mu\text{g}/\text{day}$, 6週間)を投与し、Gn分泌を一定期間抑制したのちのホルモン動態を検討し、うち3症例に卵胞発育を認め、そのうち1例は自然排卵し、他の2例はHMG-HCG投与後に排卵をみた。4症例とも初潮年齢、第2次性徴は正常であった。排卵をみたh.h症例の基礎血中ホルモン値は、症例1(39才, 無月経4年)では、LH 78.4 mIU/ml, FSH 95.2 mIU/ml, E₂ 14.8 pg/ml, 症例2(38才, 無月経3年)では、LH 48 mIU/ml, FSH 75 mIU/ml, E₂ 20 pg/ml, 症例3(25才, 無月経2年)では、LH 21 mIU/ml, FSH 77 mIU/ml, E₂ 20 pg/mlであった。卵胞発育がほとんど認められなかった症例(症例4. 38才, 無月経2年)の基礎血中ホルモン値は、LH 263 mIU/ml, FSH 238 mIU/ml, E₂ 10 pg/ml以下であった。ブセレリン投与前に1週1回づつ4週にわたり血中Gn, E₂値を測定した結果では、ブセレリン投与後に卵胞発育をみた3症例では散発的な血中E₂値の軽度上昇が認められたのに対し、症例4ではE₂値は常に10 pg/ml以下であった。

以上、今回検討した症例は全てRebarのgroup 2に属するh.hであったが、そのうちのかなりの症例がブセレリン投与により一定期間Gn分泌を抑制すると、その後に卵胞発育を認めることが示された。また、卵胞発育を認めた症例は、散発的に自然の卵胞発育、軽度血中E₂値上昇を認める症例であることが示唆された。

P VII-31

マウスにおけるRU486の排卵抑制効果に関する検討

日本大学農獣医学部獣医生理学教室

○木田まや、遠藤 克、金山喜一、佐久間勇次

【目的】GTHサーージ開始後にプロゲステロンの合成阻害薬を投与すると排卵が阻止されること、また、hCGを投与して排卵を誘起する際に抗プロゲステロン血清を投与すると排卵が阻止されることが動物実験で明らかにされている。さらにまた、プロゲステロンは間接的に卵胞壁の伸展性を増加させ、排卵現象に関与していると推察されている。今回演者らは、プロゲステロンの競合拮抗薬であるRU486が幼若マウスの排卵誘起に及ぼす影響について検討を試みた。

【方法】供試動物は、ddY系(SPF)の3週齢のマウスで、体重が 10.0 ± 1.0 gのものをを用いた。排卵誘起は、PMSG 2 iuを投与し48時間後にhCG 2 iuを皮下投与した。RU486はゴマ油で溶解し、50mg/kgを背側皮下に投与した。RU486の投与は、hCGの投与時間を基準に、3時間前、同時、および3、4、5、6、7、5、9時間後の7試験区を設けた。排卵卵子の検索は、hCG投与後20時間目に卵管を摘出し圧扁標本を作成し、卵管膨大部内の卵子数を算定した。

【結果】RU486の排卵抑制効果について検討した結果、対照群では平均排卵数が28.4個であるのに対し、RU486投与群ではhCG投与の3時間前で16.8個、同時で17.5個、3時間後で20.4個、4.5時間後で9.9個、6時間後で4.4個、7.5時間後で24.5個、9時間後で25.5個であり、RU486による排卵の抑制が認められた。RU486による有意な排卵抑制作用が認められた試験区は、hCG投与の4.5時間後($P < 0.05$)および6時間後($P < 0.01$)の2試験区であった。残りの5試験区では対照群との間に差は認められなかった。

以上のことより、プロゲステロンの競合拮抗薬であるRU486に排卵抑制効果があることが認められた。したがって、GTHで誘起される排卵過程の一時期においてRU486の投与は排卵を阻止するのに有効であることが示唆された。

P VII-32

GnRHa 併用排卵刺激法の検討

- hMG 単独療法とGnRHa 各種投与方法との比較 -

横浜市立大学産婦人科

吉邨泰弘, 植村次雄, 水口弘司

【目的】GnRHa 併用による排卵刺激法には long protocol 及び short protocol があり、これらの卵胞発育過程を hMG 単独療法と比較検討した。【方法】hMG 単独療法(hMG 群 N=10)は月経3日目(D₃)より hMG 150 iu にて刺激。long protocol 法はGnRHa (ナファレリン) 400 μ g/日 in をD₂-D₅ (卵胞期群 N=9)又は黄体期中期(黄体期群 N=8)より開始、3週間目に尿E低値を確認し、hMG 225 iu にて刺激。short protocol 法(short 群 N=10)はGnRHa (プセリリン) 900 μ g/日 in をD₁より開始、D₃より hMG 255 iu にて刺激。D₃より連日経膈超音波により卵胞計測を行なった。【結果】① hMG 投与日数は4者間で有意差を認めないが、投与量は卵胞期群・黄体期群に比して short 群で少ない傾向がある。一方 hMG 群は前3者に比べ有意に少量であった。②卵胞数はGnRHa 併用により刺激初期より多く認められ、hCG 投与6日前では、hMG 群に比べ short 群の方が有意に多く、long protocol 法でも同様の傾向を認めた。卵胞総数では hCG 切換日で有意差はないが、15 mm 以上の卵胞は、hMG 群に比べ卵胞期群・黄体期群で有意に多く、short 群にも同様の傾向を認めた。③ hCG 切換日の主席卵胞最大径は、4者間で差を認めないが、hCG 切換前日、前々日には short 群・黄体期群に比べ hMG 群で有意に小さい。④ atretic follicle と思われる cyst 形式は short 群・hMG 群では認められないが、卵胞期群・黄体期群では各々 80%・62% に認められた。⑤ hCG 切換日の主席卵胞に対する次席卵胞・次々席卵胞・次々々席卵胞の比をみると、黄体期群で有意差がなく、synchronous に卵胞発育することが認められた。【結果】① GnRHa 併用による long protocol・short protocol では同様な卵胞発育がみられ、hMG 単独療法に比べ 15 mm 以上の卵胞が多数発育する。②黄体期中期より long protocol でGnRHa を併用することでより synchronous な卵胞発育が認められた。

P VII-33

多嚢胞性卵巣症候群 (PCO) における卵胞液除去の内分泌学的効果

聖マリアンナ医大産婦人科

○近藤俊彦, 石塚文平, 高橋誠治, 渡辺研一, 大野祐子,
堀越裕史, 栗林 靖, 齊藤寿一郎, 浜田 宏

【目的】PCOに対する手術的排卵誘発法として、侵襲の少ない経腔的卵胞穿刺術 (FP) の可能性が注目される。FPの排卵誘発効果およびその背景となるゴナドトロピン、性ステロイド分泌への急性効果を知る目的で以下の検討を行った。【方法】対象はクロミッド無効でhMG-hCGにて排卵誘発中の不妊PCO症例7例で、FP施行周期には周期6日目よりhMG 150~300IUを連日または隔日に投与、超音波断層法上20mm以上の卵胞が数個以上認められる段階で静脈麻酔下に経腔超音波ガイド下FPを施行した (採取量30~200cc)。FP直前および翌日に血中 E_1 、 E_2 、androstenedione (Δ_4) DHEA-S, testosterone (T) 値を測定した。【成績】各症例とも卵胞初期LH値30mIU/ml以上、LH/FSH比3以上でLHRH testではLHの過剰反応を示した。FP後、全例ともBBT高温相に移行したが、うち4例は高温相10日以内のshort luteal phaseを示した。FP後初回月経5~8日目のLHRH testでは、全例LH基礎値の低下、LHの反応正常化の傾向を示した。7例中2例は、2周期後にhMG投与により妊娠成立した。FP前後の血中性ステロイド値 (平均±SD) は E_1 , 1738±896→1144±437pg/ml, E_2 , 5444±4592→3483±2616pg/ml ($P<0.05$), Δ_4 , 4.05±1.91→4.03±1.98ng/ml, DHEA-S, 1283±764→1243±685ng/ml, T, 1.25±0.58→1.4±0.56ng/mlと E_2 のみが有意な低下を示した。

【結論】①FPはPCO不妊症例において治療効果を有することが示唆された。

②FP直後の変化としては血中 E_2 値の低下が認められるが、androgen値は変化しない。

P VII-34

パルス超音波照射のマウス初期胚に及ぼす影響

鳥取大学医学部産科婦人科学教室

○岩部富夫、関島秋男、谷川正浩、大野原良昌、寺戸博文、戸田稔子、
原田省、見尾保幸、寺川直樹

(目的) 近年、ヒト配偶子操作に超音波断層法が広く用いられるに至り、その卵胞内卵子、未受精卵及び初期胚に対する影響や安全性に対する再評価の必要性が指摘されている。そこで、超音波生体作用研究の一環として、in vitro 実験系にてマウス1細胞胚及び2細胞胚にパルス超音波を照射し、その初期胚発生に及ぼす影響を検討した。

(方法) B6C3F1雌マウスを、PMSG、hCGで、過排卵処理し1細胞胚及び2細胞胚を採取後、プラスチック製ストロー精液管0.5ml中に培養液と共に密封した。培養液には、BWW培養液を用い、超音波照射時には、HEPESを添加したものを用いた。超音波発生装置は、USP-1パルス超音波発振器で、本実験におけるパルス超音波は、周波数2.0MHz、パルス繰り返し周波数1.0KHz、パルス幅10 μ sとした。振動子はPZT製の15mm径の2種類の円形平板振動子を用い、平均音響強度は、1細胞胚には110mW/cm²、2細胞胚には、12mW/cm²を用いた。照射時間は、1細胞胚は15分間、2細胞胚は60分及び90分間とした。照射後5%CO₂ in air 37℃にて培養し、Expanded blastocyst以上への発生率を検討した。

(成績) Expanded blastocyst以上への発生率は、1細胞胚では、非照射58/87(66.7%)であり、照射123/179(68.7%)であった。2細胞胚60分間照射では、非照射51/63(81.0%)に対して、照射108/135(80.0%)であり、90分間照射群では、非照射66/86(76.7%)、照射52/82(63.4%)と、各群間において有意差を認めなかった。

(結論) この音響強度におけるパルス超音波照射においてマウス初期胚発生は抑制されず、パルス超音波照射の安全性を強く示唆する結果であった。

P VII-35

プログラム凍結器によるガラス化凍結、融解時の氷晶観察と、
マウス胚の生存性について

元日本大学農獣医学部畜産学科

○吉田重雄、高村真由美

目的：演者はさきにKKホクサンと協同して、家畜精子や胚を任意の速度で凍結、融解時の細胞の収縮、氷晶のダイナミックな変化過程を観察する装置の開発に成功し、昨秋の第3回家畜繁殖技術研究会大会において発表した。最近Rall & Polgeにより実験動物胚のガラス化凍結法が開発され、方法の簡便性と高い胚の生存性により注目を浴びているので、本装置を用いてガラス化凍結、融解、並びに、緩慢融解時における脱ガラス化現象について観察し、興味ある知見を得たので報告する。

方法：dd系マウスを過排卵誘起後交配し、8～16細胞胚を採取し、毛細管内に透化溶液（30%グリセリン、15%エチレングリコール、15%DMSO加PBI）と共に胚を吸入し、封入後、低温顕微鏡上でProgram Freezerを用いて急速冷却（約85°C/分）することにより、ガラス化凍結を行った。次いで急速融解（約85°C/分）、緩慢融解（10°C/分、2°C/分）を行い、その間のガラス融解、脱ガラス化による氷晶の形成、融解の観察を行った。融解後の胚は培養により生存性を調べた。

結果：冷却過程で氷晶形成はなく、-100°C付近でガラス転移が認められた。融解過程では、急速融解の際は-100°C付近でガラス融解が認められ、そのまま氷晶形成無しに+4°Cまで到達した。一方緩慢融解では、昇温速度10°C/分、2°C/分共に一旦-100°C付近でガラス融解が起こるが、-80°C付近で脱ガラス化（失透）が起こり始め、胚の周囲又は毛細管壁に沿って次第に針状の氷晶を形成し、それぞれ-60～-40°C、-60～-54°Cにおいて雪様の結晶はピークに達し、以後再び融解し始め、それぞれ-47～-31°C、-52～-45°Cで完全融解した。なお、凍結融解後の胚で正常形態を示した割合は、それぞれ63.8%、46.9%、29.8%であったが、培養による生存性は極めて悪かった。

P VII-36

種々の卵管上皮培養細胞が初期胚に及ぼす影響

鹿児島大学医学部付属病院産婦人科

○沖 利通 竹内一浩 山元慎一 森 明人

福元清吾 堂地 勉 永田行博

〔目的〕受精卵発育に於ける卵管の役割が近年重要視されるようになり、既に我々はマウスの2細胞期胚とヒト卵管上皮培養細胞との共培養を行い、その結果を報告してきた。今回、ヒト・ブタの卵管を部位別（卵管采部・卵管膨大部・卵管峡部）に培養し、それぞれの上皮培養細胞をfeeding layerとしてマウス初期胚との共培養を行った。このように受精卵発育に及ぼす種族間及び部位の差を比較検討し、若干の知見を得たので報告する。〔方法〕過排卵処置し交配させたマウス(ICR)の卵管から2細胞期胚を採取した。ブタの卵管は屠殺場にて採取し、ヒト卵管は子宮摘出時患者の同意のもとに採取した。それぞれ卵管采部・膨大部・狭部にわけて適宜コラゲナーゼ・トリプシン処理し、medium-199(10%NCS)で培養した。卵管上皮培養細胞がconfluentな状態の時にHam's-F10(10%NCS)に培地交換した後、マウス2細胞期胚と共培養をした。〔結果〕培養液のみの受精卵培養を行った群に比較して何れの卵管上皮培養細胞との共培養群もblastocystへの発育率・hatching率が同程度に優れていた。しかし、部位別ではヒト・ブタの何れも有意差は認められなかったが、卵管膨大部の培養細胞との共培養群に於てblastocystへの発育率・hatching率が優れている傾向にあった。〔考察〕①種族間を越えて受精卵発育を促進する何らかの因子が存在することが示唆された。②卵管でも特に卵管膨大部の卵管上皮が初期胚発育に於て最も重要な役割を果している可能性が示唆された。

P VII-37

Mouse受精卵の分割に及ぼすLidocaineの影響

国立長崎中央病院産婦人科 ○重松 潤
 長崎大学医学部産科婦人科学教室 岡本純英、梶村秀雄、布施正樹、
 山下隆則、黄 宏駿、石丸忠之、山辺 徹

〔目的〕体外受精・胚移植の採卵術時、硬膜外麻酔で用いるlidocaineの卵への影響を知る目的で、mouse受精卵に対するlidocaineの影響について検討した。〔方法〕生後6週の雌mouse (C57BL) にPMSG 5IUを腹腔内に投与した。その48時間後にさらに HCG 5 IUを腹腔内投与し、生後8週の雄mouse (CBL) と matingさせ 48時間後に開腹して卵管内より受精卵を採取した。得られた 2-4細胞期受精卵を、腫々の濃度のlidocaineを含む培地中で培養した。すなわち、lidocaineを含まないcontrol群、lidocaine 1 μ g/ml群、5 μ g/ml、10 μ g/ml群、100 μ g/ml群および 1,000 μ g/ml群の6群に分けて培養した。そして、培養開始後72時間目にblastocystに到達した卵の数および比率を算定し、各群間で比較した。〔結果〕Blastocystまで到達したものは、control群では21個中20個 (95%)、lidocaine 1 μ g/ml群では8個中8個 (100%)、5 μ g/ml群では 20個中20個 (100%)、10 μ g/ml群では、23個中23個 (100%)、100 μ g/ml群では、11個中0個 (0%)、1,000 μ g/ml群では12個中0個(0%)であった。Blastocyst到達率について比較すると、lidocaineの濃度が10 μ g/ml以下までの群では対象群との間に有意の差は認めなかった。一方、100 μ g/ml以上の群では、明らかにlidocaineの影響が観察された。〔結論〕Mouse受精卵において10 μ g/ml以下の濃度ではlidocaineの影響は認められなかった。ヒト体外受精・胚移植において、硬膜外麻酔を行った時の卵液中のlidocaine濃度は 2 μ g/ml以下であることから、少なくとも採卵術時の硬膜外麻酔で用いるlidocaineでは卵分割に与える影響は少ないものと思われた。

P VII-38

マウス受精卵凍結融解後の cell viability 評価
 - 125 I-BSA uptakeを指標として-

鳥取大学医学部産科婦人科学教室
 ○大野原良昌、岩部富夫、関島秋男、谷川正浩、寺戸博文、戸田稔子、
 原田 省、見尾保幸、寺川直樹

〔目的〕受精卵凍結融解後の胚の生存性は形態学的に評価されるが、形態学的正常性を有する胚でも、その発育の回復にtime lagがみられ、subliminal damage が存在すると考えられる。そこでBovine serum albumin (BSA) uptake を指標として、マウス凍結融解卵の正常性を機能的側面から検討した。

〔方法〕B6C3F1雌マウス 2細胞胚、及び、採取した 2細胞胚を48時間培養して得られた胚盤胞を対照群とした。一方、新鮮 2細胞胚を凍結融解後の 2細胞胚、及び、同様に凍結融解後48時間培養して得られた胚盤胞を凍結融解群として実験に用いた。それぞれの胚を 125 I-BSA (specific activity 2.3~2.5 μ Ci/ μ g) を含むBWW (125 I-BSA 濃度77~87 μ g/ml、total BSA 濃度 165~175 μ g/ml) micro drop内で0時間または4時間培養した。培養後、胚を PBS (phosphate buffered saline) にて洗浄し、3~5個ずつチューブに入れ、automatic gamma counter にて測定した。

〔結果〕 125 I-BSA uptake (CPM/embryo) は、培養0時間では対照群、凍結融解群共にbackgroundと同等で、培養4時間では対照群の 2細胞胚で25.8 \pm 4.2、凍結融解群の 2細胞胚で24.9 \pm 2.2と有意差は認めなかった。一方、胚盤胞の4時間培養では対照群 220.9 \pm 45.1で、凍結融解群 117.1 \pm 20.4と 125 I-BSA uptakeは凍結融解後の胚盤胞において有意に抑制された。

〔考察〕凍結融解胚においては、2細胞胚では新鮮 2細胞胚と有意の差を認めなかったが、胚盤胞で新鮮胚盤胞に比べ低値を示したことより、凍結融解の操作が胚のviability に深く関与していることが示唆された。

P VII-39

ヒト凍結初期胚解凍後の生存率について

医療法人 社団 スズキ病院

○立花 郁雄、武田 信好、小田原 靖、千田 智、飯田 修一
森 滋、鈴木 雅洲

【目的】体外受精・胚移植法で余剰の受精卵が得られた場合、それらを凍結保存し後日受精卵を子宮内に移植することは、一回の採卵当りの妊娠率を向上させ、同時に患者の卵巣刺激及び採卵時における負担をも軽減することができる。しかし、ヒト受精卵を凍結・解凍する技術はいまだに確立していない。今回我々は当院での凍結受精卵解凍後の生存率について検討した。

【方法】前核期から8細胞期までの受精卵をD-PBSで洗浄後次のプロトコルで凍結保存した。1.5MPROH→1.5MPROH+0.1MSuc→0.25mlストローに充填→プログラムフリーザー→液体窒素にて保存。凍結プログラムの内容は次の通りである。①-2°C/min from room temp. to -8°C②hold for 10 min (seeding) ③-0.3°C/min to -30°C④-50°C/min to -150°C。Seedingの位置はストローの上部から約2cmの部分に設けた小空気層の直下(A群)と直上(B群)との2種類で行なった。解凍はストローを室温で30秒、32~37°C温水に40秒浸して行なった。耐凍剤(PROH)の除去は①1.0MPROH+0.2MSuc②0.5MPROH+0.2MSuc③0.2MSuc④D-PBSの順に段階的に行なった。

【結果】1990年6月までに凍結件数60件、受精卵235個の凍結を行ない16件54個の受精卵を解凍した。解凍後受精卵の生存率(解凍後の割球数が1/2以上のものを生存と判定した)は58.9%(2cell-66.7%, 3cell-50.0%, 4cell-60.7%, 5cell-50.0%, 6cell-54.5%, 8cell-40.0%)となった。Seedingの位置による生存率はA群で48.8%(21/47)、B群で90.9%(10/11)とB群で高率であった。更に1例の胚移植による妊娠成立をみた。

【結論】①受精卵凍結・解凍での生存率は8cellで低い傾向にあるが他の細胞期では差は見られなかった。②Seedingの位置による生存率は小空気層の上部に行なうことにより高くなることが示唆された。

P VII-40

非過排卵処理カニクイザルからの卵胞卵の回収と体外受精

国立予研・霊長類センター、*(現所属)株ほくさん、**エーザイ株

○山海 直、藤崎正美*、井田 聡**、若林庸夫**、長 文昭、本庄重男

カニクイザル(*Macaca fascicularis*)を対象とした発生工学的技術開発に関する一連の研究の中で、体外受精・胚移植等の検討を試みている。本来、採卵する個体はPMSGなどのホルモン処理により多数の卵胞を发育させたのちに供試する。しかし、ホルモン処理により抗体が産生されるため、反復して過排卵を誘起することが困難である。そこで、過排卵処理を行わないで、自然月経周期の中でhCGのみを投与して、採卵を試みたのでその成績を報告する。また、回収した卵胞卵を用いた体外受精の成績もあわせて報告する。

【方法】供試したカニクイザルは、月経出血が定期的に確認されたものであり、野生由来のもの3頭、当センターで繁殖・育成されたもの6頭である。これらの個体は、月経初発日から数えて11日目にhCG(帝国臓器)4000IUを筋注し、27~29時間目に採卵した。採卵は、全身麻酔下で開腹し、21Gの注射針を接続したシリンジで卵胞卵を吸引した。卵胞の吸引は、卵胞の大きさにかかわらず吸引可能なすべての卵胞で試みた。その後、回収した卵子の検索を行い、体外受精に供試した。

【結果】供試9例から計45個(平均5個)の卵子を回収した。回収卵子の約20%が成熟卵子であり、複数の成熟卵子を回収した個体もあった。他の卵子は未成熟卵子であった。また、採卵時にすでに排卵していた個体からも残存小卵胞から卵子を回収することができた。回収した卵胞卵を体外受精に供した結果、計9個の受精卵が得られた。2例において、採卵した同じ個体に胚移植を試みたが妊娠しなかった。

以上のことから、過排卵処理しない個体の小卵胞からも卵子を回収することができ、未成熟卵子を成熟培養することで多数の受精卵が得られる可能性が示唆された。

P VII-41

習慣流産免疫治療による免疫能の変動

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○杉 俊隆, 牧野恒久, 丸山哲夫, 梅内正勝, 野澤志朗

【目的】近年 習慣流産患者に対していわゆる免疫療法が行なわれ、効果をあげているが、その免疫学的機序に関する基礎的な検討は十分ではない。今回我々は習慣流産患者の免疫治療前後のリンパ球サブセットおよびMLC反応の変動について検討した。【方法】当院 不育症外来にて諸検査施行し、免疫学的流産と思われる習慣流産患者の妻末梢血を用い、 $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD19^+$, $CD56^+$, $CD57^+$, $CD4^+Leu8^+$, $CD4^+Leu8^-$, $CD8^+11b^+$, $CD8^+11b^-$, $CD4^+DR^+$, $CD8^+DR^+$, $CD4^+45RA^+$, $CD4^+29^+$, $CD3^+56^+$ 細胞について、Flow Cytometry を用いた全血法にて測定した。その後、夫リンパ球を妻に皮内注射する免疫療法を4回施行し、妻より採血して再度各リンパ球サブセットの割合を測定し、免疫療法前と比較した。さらに、夫あるいは第三者(男性)からも採血して夫リンパ球あるいは第三者のリンパ球をMMC処理してstimulatorとし、妻リンパ球をresponderとして一方向MLRを施行し、免疫前妻血清を加えた系と、免疫後妻血清加えた系で 3H -thymidineの取り込みを比較し、免疫療法によるblocking effectを調べた。【成績】免疫治療前後のT細胞サブセットの変化では、免疫治療後において $CD8^+11b^+$ (Ts)細胞の有意な増加、 $CD8^+11b^-$ (Tc)細胞の有意な減少が認められた。また、免疫治療後の妻血清を使ったMLRは、免疫治療前に比べて抑制率約50%と明らかに低下していた。stimulatorとして第三者を用いた場合には、20%程度の抑制率を示し、免疫療法後の妻血清中には夫細胞との反応を特異的に抑制する因子が存在するものと思われた。さらに、夫と第三者間のHLA-DR抗原が1つ以上一致した群と全く一致しなかった群に分けて検討すると、前者では約40%の抑制率が認められたのに対し、後者では約10%の抑制率しか認められなかった。【結論】免疫治療により、液性免疫についても細胞性免疫についても特異的免疫抑制が働く事が示唆された。

P VII-42

免疫療法が無効であった反復流産症例の臨床的ならびに免疫学的検討

国立大蔵病院 産婦人科

○田中忠夫, 堤 紀夫, 倉島富代, 瀬尾 宏, 伊藤治英

原因不明の反復流産患者に対する夫リンパ球を用いた免疫療法の有効性は既に確立されているが、治療にもかかわらず流産を繰返す症例も依然として存在する。それら症例、特に原発性反復流産では、夫HLA抗原に対して母体が低免疫応答性であり、その結果、免疫抑制性の機構を誘導し得ないことが流産の原因の1つであろうと報告してきた。

今回、症例数を追加し、臨床的背景を整理すると共に、夫リンパ球接種の無効であった症例の夫HLA抗原に対する免疫応答性の変化を、特に原発性反復流産と続発性反復流産との間で比較した。また、それら症例に対する第三者リンパ球接種の適用の可能性も検討した。

対象は、原因不明の2回以上の反復流産のために夫リンパ球接種療法を施行し、妊娠の成立した原発性反復流産(61例・64妊娠)、続発性反復流産(21例・24妊娠)である。母体の免疫応答性の変化の指標として、夫リンパ球接種開始時より、妊娠初期(あるいは流産時)までの間に経時的に得た血清中の抗HLA抗体価の推移をcytotoxicity testを用いて、また、母体自己のT細胞受容体のイディオタイプ(Id)に対する抗Id抗体をMLR-inhibition testを用いて検出した。

流産絨毛が染色体異常であった3例を除き、それが正常核型あるいは検査不能であった症例についての夫リンパ球接種の無効例は、原発性反復流産10例・11妊娠、続発性反復流産4例・6妊娠であり、その流産率は、各々17.5%、27.3%であった。原発性反復流産の流産例では、抗HLA抗体は全く産生されないか、されてもその抗体価は低かった。しかし、続発性反復流産の中には、夫HLA抗原に対する免疫応答性が高くとも流産する症例が多く、免疫学的流産発症の機序の違いが示唆された。このような症例に対して第三者リンパ球接種を施行し、妊娠維持に成功した例の免疫学的検討も併せて報告する。

P VII-43

習慣流産に対する免疫治療の成功例と不成功例における疫学的因子の検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○丸山哲夫, 杉 俊隆, 岩崎賢一, 牧野恒久, 野澤志朗

平成2年3月の時点で、慶應義塾大学病院産婦人科不育症外来総登録患者数は1120名を数え、このうち393名に夫リンパ球皮内接種による免疫治療を施行した。その結果約80%という高い奏功率を得ているが、免疫治療に抵抗して流産を繰り返す例も少なくない。今回われわれは、流産回数が3回以上で分娩歴が無くかつ他に反復流産の原因の見いだせない免疫治療患者を対象に、免疫治療後の初回妊娠で生児を得た群(以下A群)と流産に終わった群(以下B群)とに分け、両群の疫学的因子等を比較検討した。上記対象群の中で初回妊娠成立例は130例でありそのうちA群が83例、B群が37例であった。ちなみに10例は現在妊娠中であるため、今回は除外した。またB群には流産後も免疫治療を続行し、うち20例に2回目の妊娠が成立し6例が生児を得て12例が再度流産に終わった。A群とB群で初診時の年齢を比較すると、それぞれ31.1才と32.2才であったが有意差は認められなかった。流産回数は、それぞれ3.54回と4.59回でB群に有意に多かった($p=0.05$)。HLAに関しては、平均共有数がA群でclass I 1.58, class II 2.65およびclass I+class II 4.17であるのに対して、B群ではそれぞれ1.72, 2.45および4.2であった。妊娠を移植免疫の観点からみて、妻に対する夫アロ抗原数(非共有数)を調べると、A群でclass I 2.95, class II 1.89およびclass I+class II 4.79である一方、B群ではそれぞれ3.13, 2.07および5.1であったが、HLAはいずれに関しても2群で有意差は認められなかった。また最終免疫治療後から妊娠するまでの期間とその子後について検討したところ、A群では平均43.7日でありB群では58.1日とA群の方が短い期間である傾向はあるものの有意な差は得られなかった。

P VII-44

免疫療法による治療効果判定としての遮断抗体活性と効果増幅のためのBRM併用療法

大阪大学医学部産婦人科

藤野直子, 古山将康, 竹村昌彦, 菊池知之, 木村 正, 鮫島義弘,
佐治文隆, 谷澤 修

原因不明の初期流産を反復する習慣流産患者に対して、夫リンパ球を用いた感作免疫療法はその作用機序は未だ不明な点も多いが、有効性については多数の施設から肯定的な報告がなされている。しかし、免疫療法施行したにも拘らず、再び流産を反復する症例も存在する。当科において原発習慣流産患者28例に免疫療法後妊娠が成立し、6例が再流産した。リンパ球免疫療法の治療効果を判定する目的で、夫婦間リンパ球混合培養遮断抗体活性(blocking effect, BE)測定法を用いて、治療後妊娠維持成功例5例と再流産例5例の治療前後のBEの推移について検討した。10症例のうち免疫治療前にすでにBEの認められたものは成功例の1例のみで、他の9例にはBEは観察されなかった。免疫治療(夫リンパ球 1×10^8 個の免疫を少なくとも2回以上)の後、妊娠成功例5例にはそれぞれ32%, 81%, 86%, 73%, 27%のBEが誘導されたのに対して、再流産例5例中3例は妊娠成立時-11%, -46%, -17%とBEが観察されず、残りの2例も10%, 25%と有意に低いBEであった。正常経産婦の中には夫婦間リンパ球混合培養反応遮断抗体活性の認められない症例も多くBEそのものが妊娠維持にとって必ず必要なものであるかは不明であるが、免疫療法後のBEの誘導はリンパ球免疫の効果判定には重要な因子であると考えられる。さらに我々は夫リンパ球のみによる免疫では十分なBEが誘導されず再流産となった2症例に対して夫リンパ球に対する免疫効果を増強する目的で、Biological Response Modifierのうちヒトへの投与の安全性が最も確立しているOK-432とリンパ球の局所同時投与による免疫によって免疫効果を増強・維持することを試みた。2例とも0.2KEのOK-432の併用2回でリンパ球単独で得られたBEの2-4倍のBEの増強効果が確認され、うち1例は妊娠が成立し、順調に経過、妊娠39週にて3,394gの男児を正常分娩した。副作用に関しては2例とも投与当日に発熱を認めたが、血液像、肝機能には異常を認めなかった。

P VII-45 精子不動化抗体に対する抗イディオタイプ抗体の作製

兵庫医科大学産婦人科
○繁田 実、阪田 和子、磯島 晋三

抗精子抗体は作用機序、対応抗原の局在部位などにより種々の抗体群に分けられるが、中でも精子不動化抗体(SI-Ab)はその臨床的解析から原因不明不妊症に特異性が高いことが認められている。SI-Ab保有不妊婦人は不妊症である事以外は全く健康であることから、人工的にこのSI-Abのみを誘起できる抗原が精製できれば、非常に安全な避妊ワクチンと成りうる。本研究では我々がすでに樹立した不妊患者由来のヒト型モノクローナルSI-Ab(H6-3C4)に対する抗イディオタイプ抗体(α id)が、代用抗原として避妊ワクチンに応用可能か否かを分析する目的で、まず α idの作製並びにその特異性分析を行なったので報告する。

精製H6-3C4抗体[IgM(λ)]をアジュバントと共にBalb/cマウスに免疫し α idを作製した。得られた抗血清はヒト γ -globulin結合セファロースカラムにて吸収した後、その特異性をELISA及び精子不動化試験にて分析した。吸収 α id血清は免疫に用いたモノクローナル抗体 MabH6-3C4及び MabH6-3C4と同じ特異性を持ちながら IgG₁に遺伝子工学的手法で class switch した抗体 En46A4 へのみ反応し、特異性の異なるヒト型 MabH9-1C₂ [IgM(λ)] やプールのヒト IgM及び プールのヒト IgG₁ には反応しなかった。さらに、この α id血清は精子不動化試験において MabH6-3C4及び En46A4 の不動化活性は中和するが、他の精子不動化モノクローナル抗体 (1C4, 2C6, 2E5, 2B6, 1A11, 1G12, YTH-3, S-1) のそれはいずれも中和しなかった。これらの結果は MabH6-3C4に対する α id血清中には MabH6-3C4の Variable region に対する特異性の高い α id抗体が含まれている事を示しており、この α id抗体を用いれば抗 α id抗体(Ab3)すなわち不動化抗体を誘起する代用抗原としてワクチンに応用できると考えられる。

P VII-46

体外受精・胚移植患者におけるクラミジア感染症について

新潟大学医学部産科婦人科学教室
○平沢浩文、谷 啓光、七里和良、倉林 工、
織田和哉、荒川 修、田中憲一

【目的】不妊症における卵管閉塞の原因としてSTD、特にC. trachomatisによるクラミジア感染症が注目されている。また、同症は産科領域においても流早産の原因としての重要性が示唆されている。今回、当科に体外受精・胚移植を施行した患者のうち卵管因子群(以下T群)における同症の頻度、妊娠率、流早産率等につき検討した。また、その他の適応群(以下NT群)についても、同様の検討を行い、比較を行った。

【対象と方法】1988年2月より1990年5月までの間に当科にて体外受精・胚移植を施行した患者の各周期における保存血清を用い、血清抗クラミジアIgA、IgG抗体値をIspzyme Chlamydiaキット(イバザイム・クラミジアAG, 明治乳業)を用いて測定した。判定は、IgAに関しては希釈倍率16倍以上を、IgGに関しては希釈倍率128倍以上を各々活動陽性とした。

【結果】T群では、IgA16倍以上の陽性率が27.3%(12/44)、IgG128倍以上の陽性率は54.5%(24/44)と高い陽性率が見られたが、IgA16倍以上群およびIgG128倍以上群における妊娠率は各々16.7%(2/12)、20.8%(5/24)であった。また、IgA16倍、IgG64倍が共に陰性の患者は20.5%(9/44)であったが、その妊娠率は22.2%(2/9)であった。NT群に関しても同様の測定を行い、比較検討を行った。

【結論】T群では、非活動陽性なクラミジア感染症を加えると、約8割が同症に罹患している(したことがある)ことが血清中の抗クラミジア抗体値を調べることにより推測された。しかし、クラミジアの罹患の有無による妊娠率には有意の差を認めなかった。

P VII-47

Fitz-Hugh-Curtis 症候群 6 例の臨床的検討

十和田市立中央病院 産婦人科
 ○佐々木 裕之 新宅 裕子
 東北大学 産婦人科
 陳 偉 業 土岐 利彦 星合 昊

産婦人科領域における *Chlamydia trachomatis* (以下 CT) 感染症は母児垂直感染のみならず不妊症や骨盤腹膜炎の起原菌として近年特に注目されるようになってきた。とくに CT 感染による骨盤腹膜炎に肝周囲炎の合併した、いわゆる Fitz-Hugh-Curtis 症候群 (以下 FHCS) は一般に自覚症状が強く他科受診の機会もあることから臨床的に問題となることが多い。当科では 1987 年 4 月から 1990 年 4 月までの 3 年間に 6 例の FHCS を経験したので今回臨床的検討を加えてみた。6 症例全例において子宮頸管のクラミジア抗原が陽性 (EIA 法)、確定診断のため全例に腹腔鏡検査を施行した。年齢は 17 才~37 才で平均は 26 才であった。下腹部痛 (6/6)、右季肋部痛 (6/6) は必発の症状であり、初めに下腹部痛が出現したもの (5/6)、右季肋部痛が出現したもの (1/6) であった。下腹部痛に加えて帯下の増量 (2/6) や不正性器出血 (4/6) など訴えるものも多かった。症状が出現して当科を最初に受診したもの (2/6)、内科を受診後紹介されたもの (4/6) と全体の 2/3 は他科からの紹介であり関連他科が FHCS の存在を知っていることが早期発見、早期治療につながると考えられた。右季肋部痛は体動時や呼吸時に強くなり独特の牽引痛、牽引感を伴うのが特徴的であった。またこの痛みは腹腔鏡下に肝病変部と壁側腹膜や周辺臓器との癒着 (いわゆる violin-string 状癒着) を剝離すると完全消失する場合が多く腹腔鏡検査は診断のみならず治療効果も期待できることが示唆された。抗クラミジア抗体を検査した 3 例では IgG 640 倍~2560 倍といずれも高値を示した。follow up できた 1 例は発症後 2 年経過しても IgG 抗体陽性であり抗体の消退にはかなりの時間がかかると推察された。

P VII-48

Chlamydia 感染と骨盤内病変の関係について

長崎大学医学部産婦人科 ○中村恒一、石丸忠之、范 育仁、藤下 晃
 一瀬俊介、鮫島哲郎、増崎英明、山辺 徹
 日赤長崎原爆病院産婦人科 倉田須和子

〔目的〕 *Chlamydia trachomatis* は STD の起原菌として注目されており、その易感染部位が子宮頸管内膜であることから不妊との関連が指摘されている。しかしながら、*Chlamydia* 感染時の不妊機序についてはまだ明確にされていない。そこで、不妊症患者について、*Chlamydia* 抗原および抗体価を測定、同時に腹腔鏡検査を施行し、*chlamydia* 感染と不妊の関係を骨盤内病変の観点から検討した。〔方法〕頸管内 *Chlamydia* 抗原・血中抗体価の測定および腹腔鏡検査が施行された不妊症患者 38 例 (68 卵管) を対象とした。抗原は蛍光抗体法 (Micro trak) および酵素抗体法 (Test Pack)、また抗体価は酵素抗体法 (イバザイム・クラミジア AG) を用いて測定した。*Chlamydia* 陽性の診断基準は抗原、IgA 抗体 16 倍あるいは IgG 64 倍のいずれかを認めるものとした。また、骨盤内病変は R-AFS 分類を一部修正した教室分類に基づいて点数を配分し評価した。〔成績〕 *Chlamydia* 陽性例における骨盤内病変 score は 24.7 ± 14.8 であり、陰性例の 11.7 ± 13.6 に比較し有意に高かった ($p < 0.01$)。骨盤内病変の中でも、骨盤腹膜および卵巣における score はとくに差は認めなかったが、卵管では、陽性群で 19.1 ± 12.8 、陰性群で 7.7 ± 10.9 と陽性群で有意に高かった ($p < 0.01$)。 *chlamydia* 陽性例で卵管に病変が認められたものは 86% (32/37 卵管) であり、陰性例の 39% (12/31 卵管) に比べ有意に高い結果が得られた ($p > 0.01$)。この傾向は卵管病変の種類別 (卵管采癒着、卵管周囲癒着、卵管閉塞) にみても同様であったが、ことに卵管采癒着において著明であった。また、*chlamydia* 陽性例を抗原陽性の有無に分け卵管病変を比較すると、卵管采癒着は陽性例で 12 卵管中 11 卵管 (92%)、陰性例で 25 卵管中 13 卵管 (52%) と陽性群で有意に多かった ($p < 0.01$)。〔結論〕 *chlamydia* 感染時の骨盤内病変としては卵管障害が多く、なかでも卵管采癒着が最も多く認められた。この傾向は *chlamydia* 陽性例の中でも、頸管内抗原陽性例において著明であった。

P VII-49

不妊症外来における抗クラミジア抗体測定の意義

東京大学産科婦人科学教室 ○大須賀穰、鈴木尚子、島内昌仁、
宮内彰人、成鑑非、郭宗明、林直樹、綾部琢哉、堤治、三橋直樹、
武谷雄二、水野正彦

【目的】近年、不妊症の原因の一つとして、クラミジア感染が注目され、特に卵管性不妊との関係が報告されている。また子宮外妊娠の原因としても重要であると考えられ、今後、不妊症を抜っていく上でクラミジア感染は重要性をまして行くものと思われる。今回我々は、不妊外来における血中クラミジア抗体価測定の有用性を検討した。

【方法】1990年5月より7月までに当科不妊外来受診した129名につき抗クラミジアIgA, IgG抗体をイバザイムAG法により測定した。この結果をHSGが施行されていた77例については異常群と正常群に分け比較検討し、また、子宮外妊娠の既往の有無との関係についても検討した。

【結果】全体においては、IgG抗体価64倍以上陽性が43%、128倍以上が22%、IgA抗体価16倍以上が13%であった。HSG正常群では各々18%、10%、5%、HSG異常群では、58%、33%、23%であった。また、子宮外妊娠既往の群では各々64%、64%、36%であった。

【考察】IgG64倍以上、128倍以上、IgA16倍以上陽性例の頻度は、いずれも、子宮外妊娠既往群、HSG異常群、HSG正常群の順に高く、卵管障害に対するクラミジア感染の関与が強く示唆された。また、IgG陽性例の中で抗体価の高いものは、特に子宮外妊娠既往の群で多く、この様な症例では卵管障害が広範囲に及んでいることも考えられた。

【まとめ】今後、prospectiveな検討を追加することにより、抗クラミジアIgG, IgA抗体のスクリーニングは、不妊治療に役立て得ると思われる。

P VII-50

当科不妊症及び不育症症例におけるクラミジア抗体法の検討

横浜市立大学 産婦人科
○越後谷 朋子、植村次雄、安藤紀子、堀 裕雅、町田稔文、高安義弘、
吉嶋泰弘、平原史樹、白須和裕、多賀理吉、水口弘司

【目的】最近、不妊原因としての卵管因子とクラミジア感染との関連が注目されてきている。今回我々は、不妊症及び不育症症例を対象に、抗クラミジアIgA, IgG抗体の測定を行い、若干の知見を得たので報告する。

【方法】対象は当科不妊症、不育症外来受診者180例で、間接酵素抗体法によるイバザイム、クラミジアAGキット（明治乳業）を用いて、血清IgA及びIgG抗体価を測定した。尚、抗クラミジアIgA抗体は16倍、IgG抗体は64倍をもって陽性とした。それらの陽性症例については、子宮頸管からの抗原検査（EIA法によるテストバック）を行い、同時に内服薬を2週間投与して、再度IgA及びIgG抗体価を測定した。

【成績】対象180例のうち、抗体法にて陽性と認めたものは、60例（33.3%）で、その内訳は、IgA抗体陽性率7.8%、IgG抗体陽性率33.3%、IgA, IgG共に陽性のものは7.8%であった。IgA抗体のみ陽性のものは認めていない。又、陽性例のうち13例について抗原法を施行した所、陽性例は認められなかった。不妊、不育症原因別に抗体陽性率を見るとHSGで異常所見の認められた卵管性不妊の陽性率は低く、黄体機能不全、PCOを含む卵巣性不妊、不育症などに多いという結果を得た。更に180例中、27例が、クラミジア検査後一年以内に妊娠しており、その内訳は陰性例20/120（16.7%）、陽性例非治療群5/45（11.1%）、陽性例治療群2/15（13.3%）であった。

【結語】当院においては、卵管因子よりむしろ卵巣性及び機能性不妊、不育症において陽性率が高いという結果を得た。又、潜在的感染に対して治療を行い妊娠率との関係を検討したが、治療群と非治療群で差を認めていない。今後さらに症例を増やして、クラミジア抗体価の臨床的意義を検討したい。

P VIII-1

GnRHa-hMG-hCG 法を用いた体外受精・胚移植の妊娠例と非妊娠例の比較

徳島大学産科婦人科学教室

○村山眞治, 南 晋, 加川俊明, 山野修司, 青野敏博

近年体外受精・胚移植法の過排卵刺激法としてGnRHa(フェリン)-hMG-hCG法が注目を浴びている。今回我々は、本過排卵刺激法を用いた体外受精・胚移植症例の妊娠例と非妊娠例における各種ホルモン値、精液の性状ならびに受精、分割率を比較検討したので報告する。【対象および方法】対象は徳島大学産科婦人科において、両側卵管閉塞のため体外受精・胚移植法を受けた16症例である。妊娠例および非妊娠例はそれぞれ8例であり、年齢も妊娠例32.1歳、非妊娠例31.4歳と両者に差はない。前周期の高温相7日目よりブセレリン600ug/日をhCG投与日まで連日投与した。月経周期の3日目よりhMG日研225IU/日を、7日目からはヒュメゴン150IU/日を連日投与した。主席卵胞の平均卵胞径が18mmに達したらヒュメゴンの投与を中止し、ヒュメゴン最終投与から50時間後にhCG5000単位を筋注した。hCGを投与してから36時間後に採卵手術を施行した。また黄体賦活法として、hCG1500単位をET日、ET後3・6・9日目に投与した。月経周期3日目、hCG投与日およびET日のFSH、LH、estradiolおよびprogesterone値、媒精に用いた精液の性状ならびに受精率、分割率を妊娠群と非妊娠群で比較検討した。【成績】①血中FSH、estradiolおよびprogesterone値はいずれの時期も両者間で有意差を認めなかった。hCG投与日におけるE₂/Pは非妊娠群で高い傾向にあったが有意差はなかった。②血清LH値は、hCG投与日において妊娠群で0.7mIU/ml、非妊娠群では1.7mIU/mlであり、妊娠群が有意に低値を示した。(P<0.01)③精液の性状、受精率、分割率は両者で差を認めなかった。【結論】非妊娠群においてhCG投与日のLH値が妊娠群に比し有意に高値を示した。しかし、このLH値が卵胞成熟に悪影響を及ぼすか否かは不明であり今後の検討を要す。

P VIII-2

pure FSHの体外受精—胚移植における応用

群馬大学産科婦人科教室

○関 守利、竹内 巧、土屋 清志、伊藤 理廣、伊藤 郁朗、
篠崎 博光、山田 清彦、伊吹 令人、五十嵐正雄

(目的) フェルチノーム (Metrodin) はFSHのみでLH活性のほとんどないpureFSH(pFSH)で高LHで低および正常なFSH levelのPCO患者や clomiphene citrateに反応しない患者に用いられている。今回我々は、pure FSH(pFSH)を体外受精—胚移植の卵胞刺激においてどのような症例に対して使用すれば有効であるかについて検討した。(方法) 昭和62年 9月から平成2年6月までの2年間に施行したhMG単独 36例、pFSH+hMG 55例、pFSH単独 18例、GnRHa+hMG 183例、GnRHa+pFSH 6例の体外受精胚移植298周期の中でpFSHのホルモン動態に与える影響について同一患者において比較検討した。

(結果) hMG周期とpFSH+hMG周期の両者を経験した9症例の比較では、刺激を開始した翌日のDay4、Day5のFSH、LHが有意差をもってhMG周期で高値を示した。pFSH+hMG周期で採卵数は有意に減少したが、それ以外の胚移植数等では有意差を認めなかった。このことはpFSHをLH高値のPCO症例に使う根拠に通じる。この期間でのGnRHa+hMG刺激群で妊娠率(44/155ET, 28.4%)は高値であったが、それでも妊娠しなかった症例のうち、pFSHを利用すると理論的に効果があると考えられるMultiple ovarian response(MOR)群の症例4例、normal responder1例、それに加えて初回刺激患者1例について GnRHa+pFSHにて刺激した。そのうち両刺激法を経験した同一患者5例について、体外受精の成績、ホルモン値を比較検討した。Day4、Day5のFSH、Day4のLH値は、GnRHa+pFSH周期で有意に低値を示した。このうち4例のMOR群全てに妊娠が成立した。(結論) MOR症例におけるGnRHa+pFSHとGnRHa+hMGの比較では採卵数、受精卵数、ET数に変化はなく、pFSH使用により卵の分割速度は促進されていた。pFSHは Day4、Day5のFSH、Day4のLH値を低下させる。また過剰なE₂値をGnRHa+hMG群と比べると低下傾向に導く。これらのホルモン環境がMOR症例の妊娠成立に良好な働きをすると予想された。

P VIII-3

卵巣刺激法別にみた血中プロラクチン(PRL)値の動態と内因性のLH surge

大阪医科大学産婦人科学教室

○太田 栄, 宮崎和典, 奥田弘賢, 杉山修成, 金子卓嗣, 鈴木佳彦,
岡崎 審, 杉本 修

【目的】体外受精・胚移植における卵巣刺激に際し、一過性の高PRL血症を伴う例が知られているが、このPRLの上昇が内分泌動態に及ぼす影響について、卵巣刺激法別に比較し、LH surgeとの関連を検討した。

【方法】平成元年より当科で施行したIVF・ET例の卵巣刺激法別にcIomid-hMG(CL)周期22例、hMG(H)周期44例、GnRHa-HMG(B)周期24例の計90例について、可及的連日に採血し血中LH、FSH、E₂、PRL、卵胞液中PRLを測定し、受精、分割の結果との関連性も検討した。

【結果】卵巣刺激前のPRL値は全例正常であったが、hCG投与時のPRL値はCL周期19.1、H周期30.1、B周期23.7 ng/mlとH周期が最も高値を示した。この時のE₂値はそれぞれ1913、1355、1103 pg/mlでPRLの低値であったCL周期で逆に高値を示した。P、LH、FSH値とPRL値には相関関係を認めなかった。各刺激法での受精、分割率に有意差はなく、同一症例における受精卵と未受精卵の卵胞液中PRL濃度を比較したが、差はなかった。卵胞液中PRLは、血中値と良く相関したが、刺激法により差はなかった。内因性LH surgeの有無による血中PRL値を比較すると、LH surge(+)群では平均値16.8 ng/mlであったが、LH surge(-)群は26.5の高値を示した。

【考察】一過性の高PRL血症は、その刺激法により動態が大きく異なるが、受精・分割への影響は認められなかった。しかし内因性LH surgeのなかったものではPRLの上昇が高度で、この上昇したPRLがLH surgeに抑制的に働く可能性が示唆された。

P VIII-4

ヒト脱落膜細胞における α -Atrial Natriuretic Peptide(α -ANP)receptorの検討

三重大学産婦人科

○松野忠明, 浜口元昭, 寺田厚, 二村典孝, 西山真人, 山本稔彦
杉山陽一

[目的]ヒト脱落膜細胞における α -ANPの特異的受容体とその細胞内刺激伝達系について解析を試みた。[方法]1)妊娠初期脱落膜細胞分離培養法: 妊娠初期脱落膜を無菌的に採取し、collagenase typeI, DNaseを含有するDMEM中にて6時間digestion後、Percoll不連続密度勾配遠心法にて30%Percoll1分画(脱落膜細胞分画)を回収した。2) α -ANP receptorの検討: 脱落膜細胞 1×10^6 個を、 $[^{125}\text{I}]\alpha$ -ANP 10^{-11} M、及び α -ANP(10^{-6} ~ 10^{-12} M)と60分incubation(pH7.4, 15°C)し、Scatchard plotsにより解析した。3)cGMPの測定: 脱落膜細胞を 5×10^5 viable cells/wellとなるようにplatingし、 α -ANP添加後2時間目における培養上清分画中のcGMPをRIAにより測定した。4)Thymidine uptake: 脱落膜細胞 1×10^6 個に α -ANP(10nM~1 μ M)および $[^3\text{H}]\text{thymidine}$ (1 μ Ci/well)を添加し、48時間培養後における酸不溶性分画のradioactivityをフィルター法により測定した。[成績]1)脱落膜細胞において、 $K_d=135\text{pM}$ 、 $B_{\text{max}}=81\text{pM}/10^6$ cellsの特異的結合部位が同定された。2)脱落膜細胞培養系への α -ANPの添加では、上清分画中のcGMPは濃度依存性に約15倍まで増加した。3)thymidine uptakeの検討では、 α -ANP添加群においてcontrol群に比し約1.5倍の増加を認めた。[結論]脱落膜細胞には、 α -ANPの特異的受容体が存在し、cGMPの産生とthymidine uptakeを亢進させることが明らかとなった。

P VIII-5

BSA無添加BWW培地におけるSODおよび各種蛋白質の
マウス前核期胚発育に及ぼす影響

京都大学医学部婦人科学産科学教室

夏山 知〇 野田洋一 馬岡 陽 成本勝彦 森 崇英

<目的>我々はヒト体外受精胚移植法の胚培養条件改善を目指してマウス初期胚培養実験を行い、低酸素、SODによる2cell block解除効果を報告してきた。今回初期胚培養における添加蛋白質の役割を明らかにする目的でBWWを基本培地とし、BSA、SOD、その他数種類の蛋白質を加えて培地を作成しマウス胚発生に及ぼす効果を検討した。<方法>マウス（Tuck 4週齢）を過排卵処理し同系雄と交配、hCG投与後18時間に卵管膨大部から前核期胚を採取し以下の培地条件で培養した。①BWW+0.3%BSA添加群とBSA無添加群にSOD(bovine, 200 μ g/ml)、EDTA(30 μ M/ml)を添加。②BSA無添加培地に10~5000 μ g/mlのSODを添加。③脱脂BSA, ovalbumin, β -lipoprotein, transferrin, ceruloplasminを3mg/ml濃度でBSA無添加培地に添加。各条件の培地spot(80 μ l)に10-15個の前核期胚を入れ37 $^{\circ}$ C5%CO $_2$ で培養、24時間毎に胚発生を形態的に判定した。<結果>BSA無添加のEDTA、SOD群はいずれもBSA単独の群に比し有意に高いblastocyst(BL)率(day5:BSA無添加0.0%, BSA3.7%, EDTA49.2%, SOD30.4%)を示した。またBSA同時添加では、無添加に比しEDTAではBL率(D5:49.2-66.7%)hatchingBL率(D6:3.1-20.6%)、SODではexpandedBL率(D6:12.5-31.6%)が有意に改善した。用量実験ではSODは100 μ g/mlからBSA単独より有意に高いBL率(D5:19.2-49.1%)を示した。各種蛋白質では脱脂BSAは通常のBSAとほぼ同等の効果を示したが、他はほとんど胚発生を認めなかった。<考察>初期卵割期の添加蛋白質の意義は現在も不明である。BSA結合性の脂肪酸や小分子ペプチドが初期胚発生を促進するとの報告があるが、今回のBSA無添加でのSOD、EDTA、脱脂BSAの効果はこれに否定的である。初期胚発育遅延、block現象の原因として、我々は酸化的ストレスによる細胞傷害を考慮しており、SODの酵素活性、EDTAの β 価金属イオンキレート能がミトコンドリア障害防止に働くとするれば包括的に機能を説明しうると思われる。

P VIII-6

超微形態学的に見たマウス胞胚の透明帯脱却現象

東北大学医学部産科学婦人科学教室

村上 節, 上原茂樹, 陳 偉業, 萬代泰男, 角田千恵子, 戸沢秀夫,
大井嗣和, 吉田仁秋, 対木 章, 深谷孝夫, 矢嶋 聡

【目的】胚の着床が起こるためにはそれに先だって透明帯脱却現象を経る必要がある。この現象の主たる機序に関して超微形態観察から若干の知見を得たので報告する。

【方法】ICR系雌マウス(8~12週齢)を自然交配させ、妊娠第4日目に屠殺し、子宮内還流により得られた胞胚を、15%牛胎児血清添加CMRL 1066+ABPC 100mg/lの培養液、3ml内にて37 $^{\circ}$ C、5%CO $_2$ 下で静置培養した。その後、透明帯より脱却しつつあるもの(hatch胚)を透過型電子顕微鏡によって経時的観察に供した。また同じく妊娠第4日目に採取した健常胞胚(未hatch胚)を、培養することなく観察に供し、これらを比較した。

【結果】hatch胚では透明帯表面の平滑さが失われると共に菲薄化していた。この菲薄化ないし透明帯の断裂は複数箇所に観察された。また断裂部位は丸みを帯び、そこからトロホプラストが脱出しているのが観察された。また健常なトロホプラストに隣接して変性あるいはそれに近い変化を呈するトロホプラストが認められた。細胞小器官においては、hatch胚で、多数の空胞が見られ、ゴルジ体が多数出現し、ミトコンドリアの増加も認められた。

【考察】細胞内の空胞はライソゾームを含有すると考えられ、ゴルジ体の増加はその産生に関与する可能性がある。また変性細胞の出現は自己融解によるものと考えられ、トロホプラストによる何らかの蛋白分解作用を持つ物質の産生・分泌が胚の透明帯脱却に関与することが示唆された。

P VIII-7

propanediolおよびsucroseを用いた
急速凍結プログラムのヒト体外受精への応用

名古屋大学医学部分院産婦人科¹、名古屋大学医学部産婦人科²
大沢政巳¹、近藤育代¹、中村潔史¹、柴田均¹、前田修¹、稲垣資郎¹、
成田收¹、山口一雄²、石原豊²、菅沼信彦²、友田豊²

【目的】体外受精—胚移植における胚凍結保存法の応用は、患者にとって負担の大きな採卵回数を減らし、多胎発生の可能性を少なくするなど利点が多いが、どのような凍結保存法が最も優れているかについてはいまだ議論の多いところである。今回我々はマウス胚を用いて凍結融解条件を検討し、その結果をふまえて臨床例に応用したところ2例に妊娠の成立を認めたので報告する。【方法】B₆C₃F₁マウスより得られた2細胞期胚から胚朏までを実験に使用した。浸透性凍結保護剤のうちdimethylsulfoxide (DMSO)とpropanediol (PROH)の有用性および添加法を検討するために、それぞれを最終濃度1.5Mとなるように、一段階または多段階で添加し、さらに非浸透性凍結保護剤として添加するsucroseの濃度を検討するために、凍結前、融解後のsucrose濃度を様々に変化させ、融解後の拡張胚盤胞以降への発育率を検討した。凍結は、室温から-7℃まで-2℃/minで冷却、植水後15分間温度を保持、-30℃まで-0.3℃/minで冷却、さらに15分間温度保持後急速冷却し、融解は、室温に40秒間保持後30℃の温水中へ10秒間投入することにより行なった。【結果】浸透性凍結保護剤の添加法としては、PROH（一段階添加）> PROH（多段階）> DMSO（多段階）> DMSO（一段階）の順に良好な結果を得た。PROH（一段階添加法）+ sucroseで凍結融解を行なった時の発育率は、sucrose濃度（凍結前(M)－融解後(M)）が、0.1M-0.2M > 0M-0M > 0.2M-0.1M > 0M-0.1M の順で良好であった。各細胞期における発育率は、blastocyst > 8cell ~ morula > 2~4cellの順に良好であった。これらの結果をふまえて、PROHおよびsucroseを用いての急速凍結法を臨床応用したところ、これまでに2例の妊娠に成功し、1例は現在妊娠10週で経過良好である。【考察】PROHおよびsucroseを用いた急速凍結プログラムの臨床応用により体外受精の妊娠率がさらに向上するものと思われる。

P VIII-8

マウス初期胚発育に及ぼす子宮内環境の解析
— 子宮内移植胚の運命 —

京都大学医学部婦人科学産科学教室

後藤康夫、野田洋一、野々垣多加史、馬岡 陽、森 崇英

【目的】ヒト体外受精胚移植法は、今日不妊治療において重要な位置を占めているが、治療法としては未熟な側面を持っている。現在では、ヒト胚の長期体外培養が困難であるので、2Cell、4Cellといった比較的早い時期に胚移植がおこなわれており、このことが低着床率の一因であると考えられる。そこで今回我々は、マウス胚子宮内移植実験をおこない、移植された胚を回収し形態を観察することにより、初期胚発育に及ぼす子宮内環境の解析を試みた。【方法】胚のDonorとしてはICR系4週齡雌マウスを用いた。PMSG及びHCGにより過排卵処理した後、同系雄マウスと交配させ、HCG投与70時間後にMorulaeを灌流法により回収し、回収直後に移植実験に供した。RecipientとしてはICR系8週齡雌マウスを用い精管結紮雄交配法で偽妊娠誘起した。腔栓確認日をDay 1とし、Day 2夕方及びDay 3夕方に移植実験に供した。一側の子宮当り4~6個のMorulaeを極少量のBWW液とともに両側子宮内上部に移植した。移植後24時間にRecipientより子宮を摘出し胚を回収し、その発生形態を観察した。【結果】偽妊娠3日目のRecipientにMorulaeを移植した場合は、移植胚89個に対して回収できた胚は59個(66.3%)で、うち49個がBlastocystsであった。(移植胚に対して55.1%、回収胚に対して83.1%)一方、偽妊娠2日目のRecipientにMorulaeを移植した場合は、移植胚70個に対し回収できた胚は1個(1.4%)のみで、Blastocystsへ発生した胚はなかった。【考察】胚移植法においては、胚—子宮内膜相関における移植時期が重要であると報告されているが、着床しなかった胚の行方に関してはその詳細は不明である。今回の我々の実験からは、偽妊娠2日目に移植された胚は子宮外に排除されたと考えられ、このことが、至適でない時期の胚移植における低着床率の原因の一つと考えられた。

P VIII-9

胚の自家蛍光測定による、非侵襲的生存能評価の試み

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○青木 類, 名取道也, 森定 優, 小林俊文, 野澤志朗

【目的】体外受精・胚移植の成績は、対象となる胚の生存能に大きく依存しており、生存能の高い胚を非侵襲的に選別して子宮内移植することにより妊娠率の向上が期待できる。しかし、現時点では、胚の形態学的観察以外に非侵襲的評価の有効な手段はない。我々は胚のエネルギー利用と生存能との関係に着目し、細胞内ビリジヌクレオチド(以下PNと略)の自家蛍光強度と生存能との関連を検討し、新しい評価法の確立を目的とした。

【方法】過排卵処置と交配により得られたICR系マウスの初期胚を対象として、*in vitro*でPNの自家蛍光を測定した。340nmの励起光を単一の胚細胞に照射し、450nmのバンドパスフィルターを用いて得られたPNの蛍光をフォトマルチプライアーで計測し、マイクロコンピュータで処理して相対蛍光強度を算出した。生存能については、形態学的評価と*in vitro*での発生能を従来からのパラメーターとして、相対蛍光強度がこれら従来からの評価法と関連があるかどうかを検討した。

【結果】第1に、照射後の胚の発生率は対照群と比較して差を認めなかった。第2に、細胞内呼吸鎖の遮断剤であるフェノバルビタールを胚に添加すると、PNの蛍光強度は短時間で明らかに増加し、測定後の胚は変性に陥った。第3に、測定後の体外培養において、蛍光強度の高値群の胚は変性や発生を停止を認めたのに対し、低値群では高率に正常発生した。

【考察】PNの蛍光強度と測定後の発生能との間に関連性をみとめ、形態学的判定と同様に胚の発生能に関する有用な情報が本法により得られる可能性が示唆された。

P VIII-10

体外受精・胚移植施行患者におけるクラミジア抗体価の検討

大阪医科大学産婦人科学教室

○金子卓嗣, 宮崎和典, 鈴木佳彦, 奥田弘賢, 猪木千春, 太田 栄, 杉山修成, 杉本 修

【目的】卵管性不妊の原因の一つとしてChlamydia trachomatis(C.trachomatis)感染症が注目されている。今回我々は、IVF-ET施行患者の血清抗クラミジア抗体価とその陰性、陽性別による臨床的背景、IVF-ETによる妊娠・流産率について比較検討したので報告する。【対象と方法】1989年1月から1990年5月の間に当科においてIVF-ETを施行した卵管性不妊患者42名について、間接免疫ペルオキシダーゼ法によりクラミジア抗体価を測定し、同時に既往歴、既往妊娠および妊娠・流産率について検討した。

【結果】42名中16名(38.1%)にクラミジア抗体陽性を認め、そのうち8名(19.0%)が活動性感染を示した。既往妊娠に関しては、原発性不妊症21名中7名(43.8%)が陽性で14名(53.8%)が陰性であった。子宮外妊娠の既往を持つものは陽性16名中5名(31.3%)に対し、陰性26名中9名(34.6%)に認めたが両者には有意差を認めなかった。既往歴に関しては、子宮外妊娠、虫垂炎、子宮内膜症などの他の卵管を障害すると思われる既往を持つものが陽性16名中8名(50.0%)に対し、陰性26名中16名(61.5%)と既往歴に差を認めなかった。IVF-ETによる妊娠・流産率は、陽性16名中5名(31.3%)が妊娠、うち2名(40.0%)が流産したが、陰性26名中8名(30.8%)が妊娠、うち1名(12.5%)が流産した。この両群間の妊娠率・流産率ともに有意差は認めなかった。【考察】卵管因子の適応でIVF-ETを施行した患者において血清クラミジア抗体価陽性が38.1%と高率であり、卵管病変とC.trachomatis感染症の関連が推察された。しかし、血清クラミジア抗体価が陽性、陰性のいずれの場合もIVF-ETによる妊娠・流産率は同等であった。すなわちC.trachomatis感染が着床に関して大きな影響を与えないと考えられたが、術前のスクリーニングが必要と思われた。

P VIII-11

ヒト黄体 life span の調節機構

—ヒト顆粒膜・黄体細胞の培養系におけるhCG の作用—

大分医科大学産科婦人科学教室

○河野康志, 榎原久司, 廣田佳子,

吉松 淳, 早田 隆, 宮川勇生

ヒト黄体の life span の調節機構を明らかにすることを目的として、ヒト顆粒膜・黄体細胞の分化と増殖との関連を考察するため、その長期培養系において、estradiol (E_2)と progesterone (P_4)の各産生能および細胞増殖能の経時的变化を測定するとともに、これに及ぼすhCG の影響について検討した。

直径15 mm 以上の大卵胞より顆粒膜細胞を採取し、10% FCSを含むDMEM/F-12 培地で、37 °C, 5 %CO₂, 95 % air下にて培養を行ない、48時間ごとに培地を交換した。hCG の種々の濃度の存在下における 48時間の E_2 , P_4 産生能および4日ごとの細胞増殖能を RIAおよび³H-thymidine(TdR) の取り込みによりそれぞれ測定し、 1×10^5 viable cells当たりの量に換算した。

E_2 産生、 P_4 産生および細胞増殖能の経日的変動パターンには hCGによる差はなく、peak値の順は、 E_2 産生(2日目)、 P_4 産生(8日目)次いで細胞増殖能(12日目)となった。hCG の刺激により、 E_2 産生は2日目に有意($P < 0.05$)な高値を示したが、6日目、8日目では逆に低値傾向を示した。 P_4 産生は、hCG 刺激により4日目から10日目まで有意($P < 0.01$)な高値を示した。hCGによるこれらの E_2 産生、 P_4 産生能への作用は濃度依存性を示した。一方、細胞増殖能には、hCG 刺激による有意差は認められなかった。

これらの結果は、ヒト顆粒膜・黄体細胞の長期培養系において、 E_2 から P_4 への産生能の変化と細胞増殖能が異なったlag timeをもって活性化すること、hCG は E_2 と P_4 の産生を促進するが細胞増殖能には影響を与えないことを示唆する。また、今回の in vitro の実験系において、 E_2 , P_4 の産生能および細胞増殖能の経日的変動パターンには、hCG は影響を及ぼさないことより、in vivo で認められるこの hormone の黄体に対する作用発現には、他の細胞または因子の関与が必要であることが示唆された。

P VIII-12

培養顆粒膜細胞における細胞膜流動性に対するhCG の影響について

北大産婦人科 ○根岸広明 牧野田 知 奥田俊幸

田中俊誠 藤本征一郎

北大応用電気研究所 金城正孝 小山富康

細胞膜の構造はシンガーとニコルソンによって提唱された流動モザイクモデルが有名である。細胞膜の基本構造であるリン脂質二重層においてリン脂質分子はたえず分子運動を繰り返しながら膜の構造を保持しているのみならず、細胞膜の重要な機能である情報伝達にもリン脂質が直接作用しており、機能的分子としての役割も明らかにされている。リン脂質二重層の分子運動は膜流動性としてとらえられることができる。膜流動性は、脂質親和性の高い棒状の蛍光物質ジフェニルヘキサトリエン(DPH)を膜中に取り込ませておき、偏光した光で励起(340nm)し、発生する蛍光(428nm)の異方度(γ°)として求めることができる。一般的に γ° の値が大きければ流動性は低く、小さければ流動性は高いといえる。

今回、顆粒膜細胞へ及ぼすhCG の影響を追求する目的で、培養ブタ顆粒膜細胞を用い、hCG 添加群(hCG群)と無添加群(control群)における細胞膜流動性の変化について比較、検討した。

〔方法〕ブタ卵巣より摂取した顆粒膜細胞 $10^6 / ml$ を無血清培地にて培養し、hCG 添加群にはhCG を30 mlU/ml加えた。両群ともに培養6時間毎に顆粒膜細胞膜の異方度 γ° を求めた。また培養液中のProgesterone(P_4)濃度はRIA法により求めた。

〔結果〕培養開始6時間前の γ° は0.148, 0時間で0.149, 12時間でcontrol群0.145, hCG群0.136, 24時間でそれぞれ0.141, 0.126, 36時間で0.141, 0.126, 48時間で0.140, 0.130と培養時間の経過とともに γ° は低下する傾向にあり、また各時間とも、control群よりhCG群が低い傾向にあった。また各群における培養液中の P_4 濃度は培養開始24時間でcontrol群 15.6 ± 6.6 ng/ml, hCG群 61.0 ± 28.8 ng/ml, 48時間でそれぞれ 118.3 ± 43.3 , 461.1 ± 166.7 であった。

〔考察〕今回の実験より、顆粒膜細胞はhCG投与により黄体化を受けることによって細胞膜流動性が上昇する傾向にあることが示された。細胞膜流動性上昇の原因としては、細胞膜中のcholesterol濃度、phospholipidの組成の変化等が考えられるが、 P_4 産生の為の基質として細胞膜cholesterolが使われている可能性が示唆された。現在細胞膜中のcholesterol, phospholipidの変化について検討中であるが、hCG投与による代謝回転が生体膜への動的構造にも影響を与えることが示唆された。

P VIII-13

多嚢胞性卵巣症候群にみられる排卵障害と糖代謝異常の関係

山梨医科大学産婦人科

○木下俊彦、端 晶彦、今西由紀夫、安水洗彦、加藤順三

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)に糖代謝異常がしばしば合併することは既に報告した。しかしPCOSの臨床症状と糖代謝異常の関連性は不明であったため、今回その関連性を検討する目的で以下の研究を行った。(対象、方法)無月経ないし稀発月経婦人で、血中LH/FSH比が2.5以上かつ、LH-RH投与に対してLHが過剰反応を示し、FSHは正常であった例をPCOSと診断した(n=15)。PCOSのうちクロミッド投与に対し無排卵であった例をA群とし排卵した例をB群とした。A、B群に糖負荷試験を施行し、負荷前、負荷後30分、60分、90分、120分の各々の血糖値およびインスリン値(IRI)を測定し、臨床症状との相関を検討した。(成績)①A群はB群に比べ肥満傾向がみられた。②A群の基礎インスリン値は $8.4 \mu\text{U/ml}$ 、B群は $5.4 \mu\text{U/ml}$ であり有意差は認められず、糖負荷後の各測定時でも両群間に差はみられなかった。③糖負荷後30分の $\Delta\text{IRI}/\Delta\text{BS}$ は両群ともに抑制され、インスリン反応の低下が認められた。(A=1.1, B=1.7)④糖負荷後の血糖値はA、B両群間に有意差は認められなかったが、軽度の耐糖能低下(境界型)を示す例がA群の71.4%、B群の50.0%にみられた。(結果)PCOSにおいてはかならずしも高インスリン血症は合併しない。PCOSではインスリン反応の低下がみられるが、クロミッド投与に対する反応性の相違とインスリン反応の低下は相関しなかった。耐糖能障害はクロミッドに対する反応性にかかわらずPCOSに分布していた。このことから、PCOSの排卵障害とインスリン値及び耐糖能異常は相関しないことが示唆された。

P VIII-14

高アンドロゲン血症に対する各種排卵誘発法の検討

名古屋大学医学部産婦人科¹、名古屋大学医学部産婦人科²、中部労災病院産婦人科³
近藤育代¹、中村潔史¹、柴田均¹、前田修¹、稲垣資郎¹、大沢政巳¹、
成田收¹、浅田義正²、菅沼信彦²、宮田敬三³、林治生³、友田豊²

【目的】高アンドロゲン血症と排卵障害の関係を考察するために、アンドロゲンの産生部位により高アンドロゲン血症を分類し、各々に適した排卵誘発法を検討した。【方法】対象は排卵障害をともなう高アンドロゲン血症91例、うちPCO 32例(高アンドロゲン血症 — ①Testosterone (T) $\geq 0.8\text{ng/ml}$ ②Androstenedione (A) $\geq 1.5\text{ng/ml}$ ③Dehydroepiandrosterone-sulfate (DHA-S) $\geq 2000\text{ng/ml}$ これらの1つ以上を満たすもの、PCO—①LH (0') $\geq 30\text{IU/ml}$ ②LH/FSH (0') ≥ 2.5 ③LH (30') $\geq 150\text{IU/ml}$ これらすべてを満たすもの)であり、これらの症例を、副腎型(DHA-S高値)、卵巣型(A高値)、混合型(A及びDHA-S高値)の3群に分類し、排卵誘発を試みた。【結果】clomiphene単独での排卵率〔全症例(PCO例)〕は、副腎型33%(50%)、卵巣型50%(50%)、混合型50%(33%)、clomiphene無効例に対するDexamethasone併用による排卵率は、副腎型100%(100%)、卵巣型50%(50%)、混合型50%(33%)であった。そこでbromocriptineを単独、もしくはclomipheneとの併用で使用したところ、卵巣型92%(75%)、混合型33%(33%)と卵巣型で高い排卵率を示し、また治療後のアンドロゲン値も低下した。【考察】bromocriptineはドーパミン作動薬として、LH高値のPCOに対して有効であるだけでなく、LH高値をとらない高アンドロゲン血症、特にA高値例に対しても有効であった。

P VIII-15

ラット卵巣におけるゴナトロピンによるプロトオンコジーン発現調節

名古屋大学医学部分院産婦人科¹ 名古屋大学医学部産婦人科²
 名古屋大学環境医学研究所第二部門³
 柴田均¹、妹尾久雄²、村田善晴³、前田修¹、稲垣資郎¹、中村潔史¹、
 近藤育代¹、大沢政巳¹、石原豊²、菅沼信彦²、成田收¹、友田豊²、
 松井信夫³

〔目的〕 gonadotropinは卵巣でgranulosa cell及びtheca cellの細胞増殖並びにステロイド合成の調節に関与している。一方、TSH、ACTHなどのtrophic hormoneは、c-fos、c-jun、c-mycなどの遺伝子発現を促進することにより、その作用を発現する事が知られている。今回、gonadotropinの作用にprotooncogeneの発現調節が関与しているかを明らかにするため、以下の検討を加えた。〔方法〕Wistar系雌ラット10週令、体重約200gに、GnRHagonistであるTAP144SRを0.6mg皮下投与し、2週間後膈スミアにてゴナドトロピン分泌が完全に抑制されたことを確認した後、PMSを30IU 静注した。静注後経時的に卵巣を摘出し、RNAを抽出、Northern Blot、Dot Blot解析により、c-fos、c-jun、scc(side chain cleavage enzyme) m RNAを定量した。〔結果〕c-fos m RNAは、PMS投与前には検出されず、15分後に前値の5.3倍となり、30分後には前値の3.9倍と減少し、60分後には検出されなくなった。c-jun m RNAは、PMS投与前より認められ、15分後に前値の1.8倍となり、30分後に投与前のレベルに復した。一方、scc m RNAは15分後、30分後には変化せず、60分後1.5倍に増加した。〔考察〕c-fos、c-jun m RNAのgonadotropinによる早期の増加は、その作用発現に重要な役割を果たしていると考えられた。

P VIII-16

卵巣機能を温存しえた未分化胚細胞腫(Dysgerminoma)の治療経験

東京都老人医療センター 婦人科 曾 栄輝
 虎の門病院 産婦人科 佐藤孝道

未分化胚細胞腫(Dysgerminoma)は充実性卵巣腫瘍の約5%を占め、20歳代の若い女性に多いといわれている。腫瘍の発育は急速かつ悪性の経過を辿り、予後不良の疾患であり、また、放射線感受性が強いため、術後の放射線治療によって予後の改善が期待できるとされている。

しかし、放射線療法には女性としての妊育機能を失い、永久的な不妊症にならざるを得ないことが現状である。われわれは、術後の放射線治療の変わりに cisplatin, 5-FU, adriamycin(CAF)の化学療法によって卵巣機能を温存し、良好な経過をえたので報告します。

症例は23歳の未婚女性で、家族歴は特記すべきことがなく、既往歴は15歳、虫垂切除および右卵巣嚢腫の部分切除術をうけた。月経歴としては、初潮は12歳、月経周期は28日型、規則正しいであった。現病歴では、88年10月頃、不正性器出血のため、近医を受診し、左卵巣腫瘍が指摘され、精査目的で紹介来院となった。超音波断層法では左卵巣83×82×64mmの充実性腫瘍が認められ、腫瘍マーカーのCA125、CA19-9、CEA、AFPともに正常範囲にとどまっていた。89年1月12日に開腹、表面凹凸、割面乳白色の左卵巣腫瘍を摘出した。その病理組織は未分化胚細胞腫であった。右卵巣の生検は正常、腹水細胞診はclass 4であった。術後CAF(C:80mg, F:250mg, A:ビノルビン50mg)を5クール投与した後、同年7月18日に second look laparoscopyを行い、腹腔内再発が認められず、洗浄細胞診もclass 2であった。

その後、バスタチン、5-FUによる維持療法を行い、90年5月頃、Kaufmann療法、Clomid療法を4クール施行後、手術以来、初めての排卵を示す典型的なBBTが認められ、LHRH試験やestradiol, progesteronなどが正常patternを呈する。現在では、再発徴候がなく、ホルモン療法なしに自然の月経周期が発来し、外来通院中である。

P VIII-17

女性重症心身障害者の内分泌機能について

産業医科大学産婦人科

○石 明 寛 窓 山 高 宏
岡 村 靖

女性の重症心身障害者（身体的・精神的障害が重複し、且つ、それぞれの障害が重症である児童および満18才以上の者）の思春期の指導、および結婚・妊娠・分娩の適応に関して、内分泌機能の検討は大切な意義を有している。これら患者の社会的理解は近年深まりつつあるが、内分泌機能についての報告は少ない。今回、私たちは、女性の重症心身障害者15名（年齢構成：28.2±4.7年、重症者分類II型の者）について内分泌学的検討を行なった。初潮に関しては、15名中12名において、14才以後に発来した。2名は不明で、残り1名は12才であった。続発性無月経となった者は9名（60%を占める）で、その中、第I度無月経は6名、第II度無月経は3名であった。また、稀発月経は4名、正常性周期は2名であった。続発性無月経患者9名の血中FSH、LH、PRL、およびE₂測定成績から診断すると、いずれのケースも hypogonadotropic hypogonadism であった。なお、向精神薬長期内服例において血中PRL値の上昇が見られた。以上、女性の重症心身障害者の内分泌機能について、その検討成績を述べたが、更に視床下部-下垂体-卵巣系の精査を進め、これらの患者の内分泌治療に努力したいと考える。

P VIII-18

家系内に多発した睾丸性女性化症候群と考えられる症例

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室

○森 明人, 堂地 勉, 山元慎一
沖 利通, 永田行博

睾丸性女性化症候群(Testicular feminization syndrome)はアンドロゲンレセプター異常にもとづく性分化異常であり、最も特異な臨床像を示す男性半陰陽の一つのタイプである。今回、われわれは原発性無月経を主訴に来院した患者が睾丸性女性化症候群であり、さらにその姉および母親の同胞計4人も同様に睾丸性女性化症候群ではないかと考えられた症例を経験したので報告する。

患者は25歳、未婚。原発性無月経を主訴に当科受診す。既往歴として10才時、両側鼠径ヘルニアの手術歴あり。身長163cm、体重52kg、外見的には典型的な女性型で外表奇形はなし。乳房はTanner分類のV度で发育良好。腋毛は欠如しているが陰毛は薄くTanner分類のIII度。両側鼠径部には手術痕が認められるが腫瘍は触知しない。大陰唇、小陰唇の発達は良好であるが陰核はやや小。膣は7cmで盲端。終わり子宮腔部を認めない。内診と超音波で子宮を認めず、右付属器に35×20mmの性腺らしきものを認めた。LHは26.1mIU/mlと上昇、FSH10.0mIU/ml、PRL16.5ng/ml、E₂とProgesteroneはそれぞれ44.4pg/ml、0.8ng/mlで卵胞期女性の正常範囲内である。Testosteroneは7.4ng/mlと女性の正常値をはるかに上回り正常男性のレベルである。DHEA、DHEA-Sも21、4380ng/mlと高値を示した。染色体検査は46XYの男性型であった。また家系内に血族結婚はないが3親等以内の女性7人のうち4人が原発性無月経であり、その内3人に鼠径ヘルニアの手術歴ある。以上より患者を含めこの家系内の5人はいずれも睾丸性女性化症候群と考えられた。未だ充分な検索を行っていないが、発症者、保因者の診断を確実にする必要があると思われる。それにより確立されていない本疾患の遺伝形式がより明確になる可能性がある。また本疾患の性腺の悪性化は30才を越えると高率化するといわれており、診断が確定したものは早急に性腺の摘出が必要と考えている。

P VIII-19 卵胞発育における血中 α -tocopherolおよびcarotenoids 濃度の推移について

滋賀医科大学産科学婦人科学教室

○須戸 龍男 竹中 章 横江 保彦 吉田 吉信

【目的】我々はすでにヒト黄体および黄体期血中における α -tocopherol(α -toc.) および carotenoids (CR)の変動について検討し、黄体期において α -toc. が大量に卵巣中に取り込まれる事より、抗酸化物質が黄体期卵巣に重要である事を示唆した。今回は、卵胞発育過程において α -toc.およびCar. がどのような役割を果たすのかを検討する目的で、不妊患者中 hMG-hCG療法を行った症例について血中 α -toc. およびCar. 濃度の変動を明らかにしたので報告する。

【対象と方法】当科不妊外来受診者のうち、hMG-hCG 療法を受けている患者を対象とし、hMG 投与前、投与中、hCG 投与時における血中 α -toc.およびCar. 濃度をHPLCで測定した。同時にestradiol (E_2)をRIA で測定し、さらに超音波B モードにて卵胞数、主席卵胞径を観察した。

【結果】血中 α -toc. およびCar. 濃度は卵胞数、主席卵胞径、血中 E_2 濃度と反比例し、排卵時に最低値を示した。このことは卵胞発育に伴う α -toc. およびCar.の卵胞中への取り込みのみでは説明がつかず、卵胞での大量消費があるものか、もしくは E_2 の末梢作用による影響とも考えられた。以上より、卵胞発育時にも α -toc. などの抗酸化剤が必須のものである事が示された。

P VIII-20

Ethane dimethanesulphonate (EDS)投与によるラット造精機能障害の検討
— testosterone局所投与の防衛的役割について —

岡山大学医学部泌尿器科学教室 日本鋼管福山病院泌尿器科¹⁾
岡山赤十字病院泌尿器科²⁾ 帝京大学医学部産婦人科学教室³⁾
○山根 享・大枝忠史・吉田光宏・大森弘之
永井 敦¹⁾ 大橋輝久²⁾ 神戸川明³⁾ 荒井 清³⁾

目的: Ethane dimethanesulphonate(EDS)投与ラットにおける造精機能障害に対し、防御因子としての精細管内 testosterone(T)濃度の重要性を検討する目的で、EDSとともにhCGを投与しその効果を検討し報告したが、今回さらにラット精巣内に男性ホルモン懸濁液を投与し、検討を行なった。

対象および方法: 11週齢のSD系雄性ラットを使用した。対照群としてEDSの溶解剤であるdimethyl sulfoxide(DMSO)を0.5ml/kg、EDS群としてEDS 75mg/kgを腹腔内単一投与した。さらにT懸濁液、即ちT結晶を界面活性剤であるTween 添加生食に溶解した、いわゆるT microcrystal suspension(Tmcs)群にT結晶を界面活性剤であるTween 添加生食に溶解した、いわゆるT microcrystal suspension(Tmcs)群については、0.75, 1.5, 3.125, 6.25mg/NS 0.25mlをEDS腹腔内投与1週間前に精巣内へ直接注入し、4週後に屠殺し精巣、副性器を摘出した。さらにTmcs精巣内注入による侵襲を検討するために、Tmcsのみを6.25, 12.5, 25mg/NS 0.25mlを精巣内へ注入し、3週後に屠殺した。

成績および結語: 精巣重量においてはEDS群に比し、Tmcs群では1.5mg以上で増加を認めた。しかしTmcs単独群では対照群と差は認めなかった。精細管直径においてはEDS群に比しTmcs群では1.5mg以上で有意の増加を示し、精細管障害に対する防御効果を認めた。尚、Tmcs単独群は対照群と有意差はなく、Tmcs注入による精巣への直接障害はないことが判明した。血中LH濃度ではTmcs群はEDS群と同様の値を示し、また血中T濃度もEDS群と同様の傾向を認めた。次に精細管内TおよびDHT濃度については、Tmcs群はEDS群よりも有意の上昇を認めた。以上から、Tmcs精巣内単独注入による直接精巣障害は認められなかったことより、Tmcs精巣内注入は血中T濃度に影響を与えず、精細管内T濃度を上昇させ、EDSによる精細管障害に対する防衛的効果を示すと考えられた。尚、EDSとTmcs同時投与の結果についても言及する。

P VIII-21

hCG に対するラット精巣の加齢における変化

東邦大学第1産婦人科, *東邦大学生化学

○町澤一郎, 跡部一朗, 伊藤元博, 平野治伸*, 天野久夫*

【実験目的】ラット精巣機能が加齢に伴ない human chorionic gonadotropin (hCG) によってどのような変化を示すか, 精巣重量, テストステロン, グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6P-DH) を指標として実験した。【方法】Wistar 系ラットの5日齢, 13日齢, 19日齢, 44日齢, 59日齢に hCG (600 IU/kg BW) を single injection し, 処置後1日, 3日の精巣を実験に供した。ラット精巣は塩酸ケタミンの麻酔下で摘出し, その重量を測定後, 直ちに G6P-DH 活性を測定した。テストステロン測定のための精巣は -80°C で保存した。尚20日齢以降の精巣はカプセルを除去し使用した。テストステロンはRIA法により測定し, ペントースサイクルの鍵酵素である G6P-DH 活性は, 2', 5'ADP-Sepharose 4B による affinity chromatography にて測定した。【結果】5日齢ラットに hCG 処置後, 6日齢精巣重量は, コントロール群より有意に減少したが, 8日齢精巣重量は有意差を認めなかった。13日齢, 19日齢ラットの hCG 処置では, 処置後1日, 3日目の精巣重量は各1日目, 3日目のコントロール群と比較し有意に増加した。44日齢, 59日齢ラットの hCG 処置群では, 44日齢処置精巣の3日目精巣重量でコントロール群より有意な減少を示したが, 他群では有意差は認めなかった。テストステロン値は, すべての日齢の hCG 処置群でコントロール群より有意に増加した。また hCG 処置3日後のテストステロン産生の割合を比較すると, 5日齢, 13日齢 hCG 処置ラット群が19日齢以降の hCG 処置ラット群より有意に高かった。G6P-DH 活性は, 5日齢, 13日齢 hCG 処置ラットの3日後精巣でコントロール群より有意に減少したが, 他群では有意差を認めなかった。【結論】精巣重量は13日齢, 19日齢 hCG 処置群でコントロール群より有意に増加した。hCG による long term な効果は, 13日齢以前のラットで顕著であった。G6P-DH 活性は, 5日齢, 13日齢 hCG 処置群でコントロール群と比較し有意に減少した。

P VIII-22

両側精索静脈瘤の臨床的検討

千葉大学医学部泌尿器科学教室

○高原正信, 小竹 忠, 始関吉生, 角谷秀典, 島崎 淳

【目的】両側精索静脈瘤の臨床的特徴および, 手術の有用性を検討した。【対象および方法】千葉大学泌尿器科を来院し, 視診・触診法によって両側精索静脈瘤と診断された34例に対して, ドブラ法, サーマグラフィ (以下, サーマ), 陰嚢シンチグラフィ (以下, シンチ) を施行した。そのうち, Palomo 法にて左側のみ手術を施行し, 術後3ヶ月以上追跡できた17例について, 手術前後の精液所見を飯塚らの判定基準にもとずき, 効果を判定した。又, これらの所見を, 同時期の左精索静脈瘤80例と比較した。不妊が主訴のもの26例。左鈴木の分類の1 (以下, G1) 右G1: 5例, 左G2右G1: 4例, 左G2右G2: 2例, 左G2右G3: 1例, 左G3右G1: 2例, 左G2右G2: 8例, 左G3右G3: 4例。19例が手術施行。術後追跡出来たもの: 14例。その他を主訴に来院したもの8例。左G2右G2: 1例, 左G3右G1: 4例, 左G3右G2: 1例, 左G3右G3: 2例。6例が手術施行。術後精液所見を判定出来たもの: 3例。【結果】ドブラ法にて左側は22例中15例 (63%) が安静時逆流 (+) (以下, 安静時型)。右側は17例中2例 (11%) のみが, 安静時型。サーモにて17例中10例 (58%) が, 精索又は睾丸で1°C以上の温度差 (+) であった。シンチにて16例中13例 (81%) が, 急峻型または漸増型 (以下, 片側型) であった。精子濃度改善の有効率は35%。精子運動率改善の有効率は47%。術後ドブラ法にて, 右の逆流が消失したもの9例中6例。3例は立位Valsalva時のみ逆流 ⊕ であった。ドブラ法およびサーモの結果は, 左精索静脈瘤と比べて有意差がなかった。シンチでは両側例の方が片側型が多かった ($P < 0.05$)。精子濃度改善率は両側例の方が低かった ($P < 0.01$ フィッシャーの直接確率)。妊娠率は14例中4例で28%であった。【結論】両側精索静脈瘤では, 左側の逆流の程度が強かった。術後の精子濃度改善率は, 左精索静脈瘤に比べ, 低かったが, 運動率の改善では有意差はなかった。

P VIII-23

男性不妊症に対する補中益気湯、コウジン末併用療法の経験

徳島大学医学部泌尿器科

稲井 徹, 浜尾 巧, 梶本 昌昭, 香川 征

【目的】男性不妊症に対する薬物治療の1つとして漢方製剤があげられる。今回、男性不妊症にツムラ補中益気湯、コウジン末の併用療法を行ったので報告する。

【対象】1988年10月～1990年3月の間に、徳島大学泌尿器科不妊症外来を受診した患者のうち、無精子症を除いた男性不妊症25例を対象とした。年齢は26～41才(平均 33.6±3.8)で不妊期間は1年1ヵ月～10年(55.1±38.2ヵ月)であった。25例の投与前の精子数($\times 10^6/ml$)は、1～9 9例、10～19 3例、20～39 8例、40～ 5例であった。薬剤はツムラ補中益気湯7.5g、コウジン末6gを3ヵ月以上投与した。投与前後に精液検査、LH、FSH、テストステロン、PRL、妊娠成立の有無を検討した。治療前後の精液所見の変化については、熊本らの効果判定基準に準じて改善度を検討した。

【結果】精子数は投与前平均26.5±26.5、投与後29.7±39.1で、運動率は投与前38.3±23.0、投与後39.1±22.0といずれも差は認めなかった。期間中の妊娠成立は3例(12%)に認めた。精子数効果判定では著明改善 2例、改善 2例、不変 12例、悪化 3例で、累積改善率は著明改善以上 10.5%、改善以上 21%、悪化 15.8%であった。運動率効果判定では著明改善 6例、改善 2例、不変 6例、悪化 3例で、累積改善率は著明改善以上 35.3%、改善以上 47.1%、悪化 17.6%であった。全般改善度は著明改善 1例、改善 3例、やや改善 2例、不変 3例、悪化 4例で、累積改善率は著明改善以上 7.7%、改善以上 23.1%、やや改善以上 46.2%であった。また、投与前後の血中ホルモン値に差はなかった。副作用は認めなかった。

【結論】ツムラ補中益気湯、コウジン末併用療法は、男性不妊症に対して有用であることが示唆された。

P VIII-24

牛車腎気丸の男性不妊への効果

- 1) 帝京大学医学部付属市原病院産婦人科 2) 同・臨床研究部
○五味淵秀人¹⁾・太田昭彦²⁾・貝原 学¹⁾

乏精子症・精子無力症の治療法として様々な薬物療法が行われておりクロミフェン、カルナクリンを始め、補中益気湯、人參湯や八味地黄丸などの漢方製剤が有効であったとの報告も多い。そこで、八味地黄丸に牛膝および車前子を加えた製剤である牛車腎気丸の精子に対する効果について検討した。

【対象および方法】当科不妊外来受診中の患者 29 例にツムラ牛車腎気丸 7.5 g/day を原則的に 6 週間投与し 3 週間毎に精液検査を施行した。

【結果】投与前に精子濃度 $40 \times 10^6/ml$ 未満の群では投与前 $22.7 \pm 9.9 \times 10^6/ml$ であった精子濃度が投与 3 週目において $38.0 \pm 32.0 \times 10^6/ml$ 、6 週目では $22.5 \pm 5.2 \times 10^6/ml$ と有意な変化は認められなかった。運動率 60% 未満の群では前値 $27.6 \pm 13.3\%$ であったものが投与 3 週目で $46.6 \pm 23.0\%$ 、6 週目で $52.9 \pm 21.9\%$ と有意に上昇した。この群の 16 例中 11 例は 3 週目で前値を上回り、6 週目ではさらに 3 例が前値に比し改善をみた。経過中に 2 例に妊娠が成立した。しかし、投与終了 3 週目では $39.6 \pm 23.3\%$ と低下しほぼ前値に復した。精子濃度正常群では前値 $129.4 \pm 56.1 \times 10^6/ml$ が投与 3 週目では $87.8 \pm 47.6 \times 10^6/ml$ 、運動率正常群では前値 $84.5 \pm 7.6\%$ であったものが 3 週目では $58.0 \pm 13.3\%$ と逆に低下傾向を示した。

【考察】男性不妊症例における精子の運動率は本剤投与 3 週目の時点で既に有意な ($p < 0.01$) 上昇が認められ、投与中はほぼ同様の運動率が維持された。以上より、牛車腎気丸は男性不妊症とくに精子無力症例に対して有用な効果を示すものと考えられた。

P VIII-25

凍結蓄積法を用いた濃縮精子の調製

慶応義塾大学医学部産婦人科, 東京歯科大学市川総合病院産婦人科*

○原唯純, 小林俊文, 兼子智*, 朴俊英, 名取道也, 森定優, 大野虎之進*, 野澤志朗

【目的】 1 排卵周期に数回採精して凍結保存し, これらをまとめて融解, 濃縮して人工授精等に供する精子の性状改善をはかる精子凍結蓄積法を試みた。

【方法】 精液は液化後, ハンクス液で希釈し, ゲル状物質を沈殿除去した。希釈精液を遠心管に入れ, 85% Percoll 0.1ml をカテラン針を用いて管底に導入し, 遠心分離した。精子は Percoll 層上に濃縮されるので, 0.3ml となるように再懸濁した (クッション法)。KS-II 精子保存液と等量混合してセラムチューブに充填し, 液体チッソ液面上 2 cm に横置きして蒸気凍結し, 液体チッソタンク中に保存した。約 30°C の微温湯中で融解後, さらに 4 検体ずつまとめて攪拌密度勾配法により蘇生精子を選択的に再濃縮した。精子性状はハミルトン社製精子運動解析装置により測定した。

【結果】 性状不良精液 ($27 \pm 11 \times 10^6/\text{ml}$, $34 \pm 13\%$, $n=24$) をクッション法で濃縮することにより精子性状は $64 \pm 23 \times 10^6/\text{ml}$, $42 \pm 17\%$ に向上した。凍結, 融解後の運動率は $30 \pm 9\%$ であった。4 検体ずつまとめて攪拌密度勾配法で再濃縮すると, 精子性状は $57 \pm 18 \times 10^6/\text{ml}$, $55 \pm 21\%$ ($n=6$) となった。

【結語】 凍結前における精子濃縮は精子回収率を重視して, ほぼ定量的に精子濃縮を行ない得るクッション法を用い, 融解後における再濃縮には蘇生精子を選択的に回収できる攪拌密度勾配法を用いた。性状不良精液であっても凍結蓄積法を行なうことにより, 十分な精子数を確保し得ることが示された。

P VIII-26

乏精子症における low reactive level laser therapy

(L L L T)

永遠幸マタニティクリニック 加藤 修、高塚 亮三
恵愛会恵愛病院 林 政宏

【目的】 精子数 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の乏精子症に対しては, 和漢洋薬などの投与や percoll 法 swim up 法による濃縮洗浄 A I H が試みられているが, 乏精子につきものの運動率の低下もあって, 十分に満足な結果が得られない。今回, 持田製薬 LUKETRON MLD-2001 laser を用い, 短期間に精子数, 運動率の大幅な良化を得たので報告したい。

【方法】 常時精子数 7×10^6 以下の乏精子症 5 例に対し, 両側睾丸に各 20sec. $\times 6$ ヶ所 最低 level 量にて照射を隔日 3 週間行った。更に laser 治療前後に, 患者の F S H testosterone 値をチェックし, 睾丸実質の機能変化をも検討した。

【結果】 F S H testosterone 正常な 3 症例は共に 3 週間後, 精子数 治療前 $2.1 \sim 6.3 \times 10^6/\text{ml}$, 治療後 $12 \sim 23 \times 10^6/\text{ml}$, 運動率, 治療前 $27 \sim 35\%$, 治療後 $56 \sim 72\%$ と, 大幅な良化が見られた。うち 1 例は, 婦人の両側卵管閉塞にて I V F を過去 4 回施行せるも受精が得られず, 今回 laser 治療後, 9ヶの egg に 5ヶ受精して E T, S S に成功している。F S H 30 mIU/ml \uparrow 精子数 $1 \times 10^6/\text{ml}$ \downarrow の超乏精子症 2 例では, わずかに精子数運動率の良化は見られたものの, A I H に耐えうる程の良化はなく, 当然 F S H の低下, testosterone の上昇もなかった。

【考察】 laser 治療における, 精子良化の原因は不明であるが, 治療良化後の精液性状を見ると, 治療前に見られたゼリー状物質や不純浮遊物が減少しており, laser 照射による超音波が, 精巣上体管内の不要妨害物を破壊しているのではと考えるが, 今後の課題でもある。ともあれ border line の乏精子症に, 安全かつ短期間に行える治療法として画期的であると思われる。

P VIII-27

ヒト男性生殖器におけるSuperoxide Dismutase(SOD)の発現

京都大学医学部婦人科学産科学教室、*泌尿器科学教室
 ○野々垣多加史、野田洋一、今井公俊、塩谷雅英、馬岡 陽、
 成本勝彦、森 崇英、松田公志*

【目的】活性酸素による細胞の障害が一般に知られており、近年、生殖領域でも注目されて来ている。我々は既に、マウス初期胚培養において低酸素下培養並びに O_2^- のscavengerであるSuperoxide Dismutase(SOD)添加による胚発育促進効果を明らかにした。また、女性生殖器におけるSODの局在についても検討してきた。今回我々は、ヒトにおいて精漿中のCu・Zn-SODをELIZA法を用いて測定し、また、男性生殖器における局在を免疫組織化学的に同定することにより、男性生殖器系におけるSODの意義を検討した。

【方法】1)精漿は、当科妊孕外来で精液検査のため用手的に採取した精液を遠心分離して得た。ELIZA法によるhuman Cu・Zn-SOD測定キット(宇部興産)で28検体の精漿中の濃度を測定した。2)recombinant human Cu・Zn-SODを家兎に免疫して得られた抗血清より精製した免疫グロブリンを第一抗体として、手術により摘出した男性生殖器の免疫組織染色(ABC法)を行なった。【結果】1)精漿中には平均307ng/mlのCu・Zn-SODが存在した。精漿中のSOD濃度と、精子運動率、精子濃度との間には有意の相関を認めず、無精子症の精漿中にも存在した。2)免疫組織化学的に、精巣では、精細管の基底膜直上の精祖細胞に活性が認められた。精巣上体中では精巣上体管の基底細胞および主細胞の不動毛に強い活性が認められた。

【考察】ヒト精漿中や精子中にはSOD活性が存在するとの諸家の報告がある。今回我々は、ELIZA法にて直接に精漿中にCu・Zn-SODの存在を示した。その由来に関しては、無精子症の精漿中にも存在すること及び免疫組織化学的所見より、精子からではなく、精路からであると考えられた。精漿中のSODは精子を酸素障害から保護していると考えられるが、さらに、精細胞系で精祖細胞のみに強いSOD活性の見られることより、精子形成の初期の過程に関与している可能性も考えられた。

P VIII-28

男子不妊症の臨床統計学的観察

東北大学医学部泌尿器科
 ○高橋 勝、前原 郁夫、佐藤 和宏
 佐藤 滋彰、蓮田 精之、平松 正義
 折笠 精一

【目的】東北大学医学部附属病院泌尿器科における、最近6年間の男子不妊症患者について臨床統計学的観察を行ったので報告する。

【対象】1984年1月より1989年12月までの6年間に当科外来を受診した男子不妊症患者1055名を対象とした。

【方法】問診は初診時年齢、不妊期間、既往歴、配偶者の年齢、配偶者の産婦人科的異常の有無等につき行った。精巣容量測定はオーキドメーターを用いて行い、精巣上体、精管、前立腺の触診並びに精索静脈瘤の有無の検討を行った。精液検査は精液量、運動率、奇形数、精子濃度、運動能(SME1)、pH、赤血球数、白血球数の測定を行った。内分泌学的検査、SVG、病理組織学的検査、染色体検査は必要に応じて行った。

【結果】患者総数は1055名で、外来新患総数10403名の10.1%、男子新患総数7358名の14.3%を占めていた。初診時年齢は24才~48才、平均32.4才、不妊期間は6ヶ月~240ヶ月、平均54.5ヶ月であった。理学的所見で精索静脈瘤が認められたものは199名であった。精液検査で無精子症を呈していたものは134名で不妊症患者総数の12.7%であった。精液中白血球数が1視野に10個以上認められたものは62名であった。これらの結果を検討し報告する。

P VIII-29

男子不妊外来における妊娠率の臨床的検討

堀井泰樹, 松田公志, 吉田 修 (京都大学泌尿器科)

【はじめに】わが国においては乏精子症・精子運動率の定義がまちまちであり、研究成績の比較を困難にしている。その原因の一つとして、わが国において、精液検査結果の妊娠に及ぼす影響の臨床的検討成績の乏しいことが上げられる。今回我々は、男子不妊外来における妊娠率の臨床的検討を行なったので報告する。

【対象及び方法】1984年1月より1988年12月までの5年間に、不妊を主訴として京都大学泌尿器科男子不妊外来を受診した患者の内精液検査を施行できた1021例に対し、妊娠の有無・妊娠方法・女性因子の有無などについて追跡調査を施行した。回答数は416例であった。年齢・不妊期間・女性因子の有無・精液検査結果・ホルモン値等の、妊娠曲線に及ぼす効果を検討した。有意差の検定は一般化ウィルコクソン法により行った。

【結果及び結論】初診時平均年齢32.8才(21~47才)、平均不妊期間3年10ヶ月(1ヶ月~18年5ヶ月)であった。精子濃度0/ml 131例, 1/ml以上2000万/ml未満 305例, 2000万/ml以上4000万/ml未満163例, 4000万/ml以上 422例であった。1021例中217例(21.3%), 追跡調査回答416例中188例(45.2%)で妊娠が報告された。妊娠曲線の解析では女性因子の有無に関わらず、精子濃度2000万/ml以上の群もしくは精子運動率50%以上の群では妊娠率の有意な増加を認めた。運動率により層別化すると、精子濃度2000万/ml以上4000万/ml未満の群と4000万/ml以上の群では有意差を認めなかった。運動率の中でもPROGRESSIVE MOTILITYは重要で、NORMOZOOSPERMIA(精子濃度2000万/ml以上・運動率50%以上)での検討では、PROGRESSIVE MOTILITY 50%以上の群で妊娠率の有意な増加を認めた。

P VIII-30

男子不妊を主訴とした46XX/46XYモザイク型染色体異常の1例

富士宮市立病院泌尿器科 ○山口安三
 浜松医科大学泌尿器科 大田原佳久 太田信隆 田島 稔 河辺香月
 東京大学医学部泌尿器科 阿曾佳郎

当科では、男子不妊患者に対し全例染色体検査を施行しているが、今回乏精子症患者に46XX/46XY型染色体異常を経験したので若干の文献的考察を加え報告する。

症例は33歳、男性。結婚後6年の不妊を主訴に昭和62年11月18日当科初診。家族歴に血族結婚はなかった(父30歳、母23歳時の出生)。既往歴に特記すべきことなし。初診時現症では体格中等度、頭部、胸腹部、四肢に異常なし。陰毛発育は女性型。陰茎の大きさ、形には異常なし。精管、副睾丸は正常に触知し、両側睾丸は左右差なく15g相当であった。初診時精液検査所見は、精液量2.5 ml、精子濃度 $21 \times 10^6/ml$ 、運動率40%、奇形率10%であった。末梢血液像、血液生化学検査、検尿所見、胸部X線、心電図に異常は認めなかった。内分泌検査では、血中LH, FSH, testosterone, Prolactin, Estradiol, Progesteroneは全て正常範囲内であった。染色体検査上46XX/46XY(6/50)モザイク型を認めた。両側睾丸生検では、精巣成分のみが認められ、卵巣成分を認めなかった。睾丸組織像はHypospermatogenesisを示し、Johnsen's scoreは右8.4、左8.6であった。LH-RH test, HCG負荷試験は正常反応を示した。試験開腹を考慮したが患者の希望で施行しなかった。逆行性尿道造影、腹部エコー、CT上卵巣、子宮、膣と思われるものは認めなかった。以上の検査より、真性半陰陽を伴わない46XX/46XYモザイク型染色体異常と診断した。XX/XYモザイク型染色体異常はChimeraという重複授精によって起こるとされており、特に本症例のような46XX/46XYモザイク型染色体異常は、文献上欧米では20例、本邦では3例の報告しか見られず非常に稀である。またこれらはほとんどの報告例が身体や生殖器の異常を合併し、真性半陰陽を伴っているのに対し、本症例は身体、生殖器の異常はなく、真性半陰陽を伴わない46XX/46XYモザイク型染色体異常の1例である。

P VIII-31

脳腫瘍治療後の続発性性腺機能不全症に対する治療

大阪医大泌尿器科

清水 篤, 平井 景, 上野信之, 波博一, 高崎 登

【はじめに】：下垂体もしくはその周辺の腫瘍に対する治療後、性腺機能不全をきたす場合がある。これに対しては、一般にゴナドトロピンの投与が行われている。今回われわれは4例の治療経験から続発性性腺機能不全症の治療法について検討した。【対象および方法】：症例は脳腫瘍に対して治療を受けた後に性腺機能不全をきたした16～32歳の4例の男性患者で、腫瘍摘除術を受けたもの3例、放射線治療のみを受けたもの1例である。主訴は3例が2次性徴発来遅延、1例が性欲減退である。脳腫瘍の種類は頭蓋咽頭腫1例、下垂体腺腫1例、トルコ鞍上部胚芽細胞腫2例である。いずれも性腺機能不全に対する治療前の血清LH、FSH、testosterone値は低値であり、LH-RH testは無反応であったが、HCG testでは反応がみられた。精巢生検では全例maturation arrestであった。治療としてHCG投与を行った。投与量および方法は、はじめHCG3000単位または5000単位を週1回注射投与し、3カ月後に血清testosterone値の変動を考慮して投与回数を増減した。【結果】：HCG投与開始後3カ月目より効果が現われたが、4例中3例は投与6カ月～1年の間に肝機能障害および高尿酸血症をきたし投与を中止した。他の1例は3年経過してなお治療中であるが、この間2次性徴が出現し精液中に精子が認められるようになった。【結語】：脳腫瘍治療後の続発性性腺機能不全症に対する治療としてHCGの長期間投与を行ったが、4例中3例に肝機能障害および高尿酸血症がみられた。HCGの長期間投与を行うに際しては、このような副作用も充分考慮した上で、血清testosterone値の変動を指標として投与方法（投与量、投与間隔）を症例ごとにきめる必要がある。

P VIII-32

精漿を含まない高純度精子の選択的調製

慶応義塾大学医学部産婦人科, 東京歯科大学市川総合病院産婦人科*

○朴俊英, 小林俊文, 兼子智*, 原唯純, 森定優, 青木類, 大野虎之進*, 野澤志朗

【目的】 精液は運動精子のみならず非運動精子, 他細胞, 精漿など多様な成分から構成されている。精漿を含まない運動精子を選択的に調製することは精子生理に関する基礎的検討, また体外受精などにおいても重要な意義を有している。これまでAIHに供する精子の調製に用いてきた攪拌密度勾配法を改良し, 精漿を含まない運動精子を選択的に洗浄濃縮し得たので報告する。

【方法】 精液は液化後, ハンクス液で2倍に希釈し, 約5分間静置してゲル状物質を沈殿除去した。遠心管に85% Percoll, 5ml入れ, ここにガラスキャピラール(コーニング社)を挿入した。希釈精液全量をPercollに層積し, L型攪拌棒で精液, Percoll層を数度攪拌した後, 600 Xg, 30分間遠心分離した。運動精子は選択的に沈殿中に濃縮されるので, キャピラール上端に注射筒を装着し, 精子を吸引, 回収した。精子性状はハミルトン社製精子運動解析装置により測定し, 精漿残存率は精漿酸性フォスファターゼ活性, SDS電気泳動法により評価した。

【結果】 精液 ($52 \pm 9.5 \times 10^6/\text{ml}$, $54 \pm 14\%$, $n=14$) は遠心分離後, 精子性状は $34 \pm 64 \times 10^6/\text{ml}$, $87 \pm 4.1\%$ に向上した。酸性フォスファターゼ活性は $53 \pm 34 \times 10^4 \text{U}/\text{ml}$ から $5.1 \pm 2.2 \text{U}/\text{ml}$ に減少し, 精漿残存率は $2 \times 10^{-3}\%$ であった。またSDS電気泳動法により精漿蛋白の除去を観察した結果, ほぼ完全に精漿Freeであることを認めた。

【結語】 遠心分離後, 沈殿した精子分画を管底に挿入したキャピラールより吸引, 回収することにより, 精漿の混入をほぼ完全に防ぐことが可能となった。

P VIII-33

Testicular hypogenesis に対する
LH-RH analog. + HMG 拮抗療法

永遠幸マタニティクリニック
恵愛会恵愛病院

加藤 修、高塚 亮三
林 政宏

〔目的・方法〕精子数 $1 \times 10^6/ml \downarrow$ FSH $30\text{miu/ml} \uparrow$ の超乏精子症患者の中には、原始精細胞はある程度存在するものの、睾丸の発育障害のため乏精子になっているものがあると考えられる。これら未発育睾丸の成熟化を目的に、今回 hypergonadotropic hypogonadism の超乏精子 2 症例に対し、Buserelin 900mg 連日投与、1 週間後 FSH の低下を確認して、Buserelin 投与を続けながら HMG $150\text{in} \times 3 \text{回}/W \times 4 \text{w}$ を行った。

〔症例〕症例 I は、治療前 FSH 32.0miu/ml testosterone 328mg/dl 精子数 $1 \times 10^5/ml \downarrow$ 睾丸は左右 32×15 , $32 \times 15\text{mm}$ 柔軟。症例 II は、治療前 FSH $33.5\text{miu/ml} \times 1.5\text{ml}$ testosterone 177mg/dl 精子数 $3 \times 10^5/ml$ 睾丸は 32×10 , $32 \times 8\text{mm}$ 、索状やや硬であった。

〔結果〕症例 I では、Buserelin 投与 1 週間後に FSH の低下 testosterone の半減 (178mg/dl) 睾丸のやや縮小 (29.7×16.6 , $30.6 \times 15.3\text{mm}$)。精子数不変なるも、HMG 投与 4 週間目には睾丸の増大 (35×15.5 $34 \times 15.5\text{mm}$)、精子数も $1.3 \times 10^6/ml \times 4\text{ml}$ motil. 77% と好転し、percoll 洗浄後、 $5.2 \times 10^6/ml$ 80% \uparrow にて A I H 可であった。症例 II は、治療終了後も、精子数・運動率の改善は見られなかった。

〔考察〕FSH 高値の超乏精子症患者には、Gift, I V F 等の治療法でも難しく、microfertilization のみが唯一の方法と考えられてきた。睾丸の性状、ホルモン値の検討による本治療法患者の選択は必要であるが、原始精細胞の存在する睾丸発育不全の新しい治療法として、今後 更に検討してみたい。

P VIII-34

ブセレリン投与中および投与後の骨量の変動

愛知医科大学・産婦人科、*同・中検、**加茂病院・産婦人科
根来良材，正橋鉄夫，鈴木正利，野口昌良，中西正美，*富田明夫
梅村諒三，北川武司

子宮内膜症の治療薬であるブセレリン投与により、エストロゲンは閉経期レベルまで抑制されることから、ブセレリン投与中は閉経期と同様の変化がおこることが予想される。今回我々はブセレリン投与前後及び投与終了後 6 ヶ月の時点で第三腰椎海綿骨の骨量を測定し、ブセレリン投与に伴う骨量の変化について検討した。

対象としたのは Ca 代謝に影響を及ぼすような基礎疾患を有さず、臨床的に子宮内膜症と診断してブセレリンを投与した 22~39 才の 12 例である。治療前後に骨代謝の指標として血中オステオカルシン (BGP)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、副甲状腺ホルモン (PTH)、カルシトニン (CT) を測定し、12 例中 7 例において骨量ファントムを用い、CT により第三腰椎海綿骨骨量を測定してこれを CaCO_3 相当量 (QCT 値) とし、定量化した。投与期間は 5~9 ヶ月 (平均 6.4 ± 1.1 ヶ月) であった。

投与前後の QCT 値を比較すると、投与前は $219 \pm 16 \text{ CaCO}_3 \text{ mg/cm}^3$ (Mean \pm SD) であったのに対し、投与終了時には $199 \pm 30 \text{ CaCO}_3 \text{ mg/cm}^3$ と有意に減少し、投与前を 100% としたときの平均減少率は 9.1% であった。さらに 7 例中 4 例において投与終了後 6 ヶ月の時点で QCT 値を測定したところ、その Mean \pm SD は $195 \pm 19 \text{ CaCO}_3 \text{ mg/cm}^3$ であった。

投与前後の血中 PTH、CT 値には差を認めなかったが、BGP、ALP はそれぞれ投与後有意な上昇を認め、骨形成能の亢進が推測された。

以上の結果よりブセレリン投与に伴い、高回転型の骨量減少がおこっていることが示唆された。

P VIII-35

LHRH AGONIST (Buserelin) のヒト子宮内膜における 12-HETE
産生に及ぼす影響

埼玉医科大学総合医療センター 産婦人科

○飯野好明, 鈴木代志子, 高田真一, 石原 理, 関 博之, 竹田 省, 木下勝之

〔目的〕分泌期ヒト子宮内膜では、アラキドン酸代謝物である 12-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (12-HETE) は、プロスタグランディンの約 5 倍も多量に産生されるが、その役割の詳細は不明である。そこで、今回は、LHRH-AGONIST (Buserelin) 投与患者の子宮内膜を用いて、低エストロゲン条件下における、12-HETE の産生能につき検討したので報告する。

〔方法〕Buserelin を 6 ヶ月以上投与した症例と非投与例につき、手術時に採取した子宮内膜組織を 199 培養液中 (PH7.4) で 24 時間インキュベーションし、上清中の 12-HETE を酢酸エチルにて抽出し高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により展開分離した。12-HETE の同定は、GCMS で行った。次いで 12-HETE を HPLC で分離した Peak より定量した。また Buserelin 使用例では、血中の estradiol の産生量を投与前と投与後に測定した。

〔成績〕24 時間の 12-HETE 産生量は、Buserelin 非使用群は、子宮内膜増殖期で、 165 ± 123.4 (ng/mg · protein)、分泌期で 502.3 ± 127.2 であった。これに対し Buserelin 使用例では、 109.8 ± 75.1 (mean \pm S.D.) であり、増殖期より少なく、分泌期に対しては優位に減少した。また、Buserelin 使用例はいずれも、Buserelin 使用后著明な血中 estradiol の低下を認めた。

〔結論〕Buserelin 投与による低エストロゲン条件下の子宮内膜では、12-HETE の産生は抑制された。これは、Buserelin の子宮内膜 Lysoxygenase の直接作用によるものか、低 estradiol によるものかの詳細は不明であるが、12-HETE 産生調節機構を考える上に意義ある知見と思われた。

P VIII-36

子宮内膜症組織に及ぼす酢酸 Buserelin の効果に関する電顕的観察、とくに
Danazol の効果との比較について

国立大蔵病院産婦人科

○倉島富代, 田中忠夫, 堤 紀夫, 伊藤治英,

【目的】酢酸 Buserelin (以下 Buserelin) の子宮内膜症に対する効果について形態学的、とくに電顕レベルで観察した報告は皆無に近い。そこで Buserelin 投与時における子宮内膜症組織を電顕的に観察すると共に、Danazol 投与時のそれとの比較を行い、形態面よりその有効性について検討する。

【方法】対象は Buserelin 900 μ g/日投与 12 例で、いずれも投与後剔出した子宮より病巣を採取し、型のごとく透過電顕標本作製し、鏡検した。なお、Danazol 投与症例 15 例について同様の検索を行った。

【成績】Buserelin 投与後の病巣の光顕像は 1 カ月投与では子宮内膜の増殖期像に類似する所見が 3 例に無機能内膜に類似する所見が 1 例にみられた。2 カ月投与では増殖期内膜類似所見が 1 例に、無機能内膜類似所見が 3 例にみられた。4 カ月以上の投与では全例に無機能内膜類似所見が全例に出現し、萎縮傾向にあるものと認められた。電顕像では、1 カ月投与で基底膜上に配列する細長形の腺細胞相互間に離開の傾向がみられ、核は類円形から不正形を呈し、Chromatin は豊富で、細胞質には糸粒体と r-ER が多く、小胞体は散在し、分泌顆粒、lysosome も見受けられた。2 カ月投与では nuclear channel system 大型糸粒体、glycogen 顆粒の集積がみられ、分泌期内膜所見に類似する所見も出現するようになった。4 カ月以上の投与では細胞壁は直線となり、核は萎縮状、小器管、とくに糸粒体に変性所見が出現していた。

一方、Danazol 投与例では核の変形、分泌顆粒、lysosome の集積、糸粒体の変性などの所見が投与後早期より著明に出現するのが認められた。

【結論】Danazol 投与では直接作用を示す所見が観察されたが、Buserelin 投与では下垂体一性腺機能抑制に基く変化が次第に出現し、両者の作用機序の差が確認された。

P VIII-37 子宮内膜症進行期と各種自己抗体との関連及びダナゾール療法の効果について

鳥取大学医学部産科婦人科教室
○寺戸博文、岩部富夫、関島秋男、大野原良昌、谷川正浩、原田 省、
見尾保幸、寺川直樹

〔目的〕R-AFS 分類に基づく子宮内膜症進行期と自己抗体陽性率との関連とこれらに対するダナゾール療法の効果を検討した。〔方法〕1989年5月より1990年4月までの期間に、当科及び関連病院において子宮内膜症と推定診断された症例及び原因不明不妊症例の合計142症例を対象とした。この内、腹腔鏡検査の施行されていない子宮内膜症（非確診子宮内膜症、A群、62症例）では、CA-125および抗核抗体のみ測定し、原因不明不妊症（B群、48症例）、非子宮内膜症（C群、15症例）及びR-AFS 分類により進行期が確定された確診子宮内膜症（D群、17症例）では、CA-125、抗核抗体に加え、抗カルジオリピン抗体（IgG、IgM）も合わせて測定した。また、非確診子宮内膜症及び確診子宮内膜症では、ダナゾール治療を行い、各測定値の推移を検討した。〔結果〕各群のCA-125は、C群で低値を示したが、A、B、D群間には差異を認めず、抗核抗体においても一定の傾向を認めなかった。CA-125陽性率（50U/ml以上）では、C群で低値を示し、B群、A群、D群の順で高値となる傾向を認めた。一方、D群のCA-125陽性率は、R-AFS スコア40点以上の重症子宮内膜症と比較し、40点以下の軽症子宮内膜症において明らかに高値を示し、この傾向は抗核抗体でも同様であった。また、A群及びD群の軽症子宮内膜症におけるダナゾール治療中のCA-125の推移では、いずれも低下傾向を示した。抗核抗体値の推移では、A群及びD群の重症例では一定の傾向を認めなかったが、逆にD群の軽症例では低下傾向を認めた。D群における抗カルジオリピン抗体（IgG、IgM）においては、一定の傾向を認めなかった。〔結論〕今回の検討から、子宮内膜症と抗カルジオリピン抗体の関連性に、明らかな傾向は認めなかったが、CA-125及び抗核抗体に関しては、active lesion を有すると考えられる軽症例で高値となる傾向が認められ、これらの症例に対するダナゾール療法の有効性が示唆された。

P VIII-38 機能性不妊患者における子宮内膜症の関与について

賛育会病院 産婦人科
都築 浩雄、合阪 幸三、鳥谷 葉子、金田 幸枝、野島美知夫、
國保健太郎、吉田 浩介

〔目的〕原因不明のまま長期間不妊が継続する、いわゆる機能性不妊は、日常不妊外来の中でも相当の頻度を占めることが知られている。また腹腔鏡検査も、既に一般化した検査方法となり、現在は治療手段として積極的に利用されてきている。我々は機能性不妊に子宮内膜症が合併する可能性、特にその微小病変の存在について検討し、積極的に治療を加えることで妊娠率の向上につながるかどうか検討した。

〔方法〕当院不妊外来患者で、一般の不妊症検査では原因を特定しがたいか、あるいは子宮卵管造影、超音波等の器質的検査で、わずかに病変を推察させる程度の症例12例を対象とした。腹腔鏡にて骨盤内を精査し、子宮内膜症の有無を判定し、Stagingした。また存在例はすべて6ヶ月間の内膜症治療を施行した。

〔成績〕対象年齢は26-38才、平均32.8才。不妊期間は3-8年、平均4.4年であった。全症例に内膜症の治療歴はなかった。なお検査前に何らかの器質的病変が推定されたもの5例、全く認めなかったもの7例であった。12例中、内膜症は6例（50%）に存在しており、病変推定例では4/5に、また全く認めない群で2/7であった。6例のstagingは、5例がrAFS I°、1例がII°であった。内膜症合併6例に、検査後Danazol 400mg/日を6ヶ月間のスケジュールで開始したが、治療終了した1症例で妊娠が成立している。

〔結論〕機能性不妊が多くに子宮内膜症の存在することが判った。従って、長期不妊例や機能性不妊に積極的に腹腔鏡検査および治療を行う必要があることが示唆された。

P VIII-39 外性子宮内膜症と血清フィブロネクチン

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室, 他関連 8 施設

○堂地 勉, 飯尾一登, 山元慎一
森 明人, 沖 利通, 永田行博, 他

腹腔鏡あるいは臨床的に診断した外性子宮内膜症患者で, 治療経過に伴う血清fibronectin(FN) 値の推移を検討した。

1) 臨床的性子宮内膜症患者21例の血清FN値はBeecham II期で平均 331 ± 43.7 (ug/ml) (N=9), III期で 329 ± 49.6 (ug/ml) (N=8), IV期で 278 ± 12 (ug/ml) (N=4)でありボランティアの 324 ± 47.7 (ug/ml) (N=15) と有意の差はなかった。しかし低値を示したものが, それぞれII期で 1/9例, III期で 2/8例, IV期で 3/4例あった。

2) 腹腔鏡で診断した子宮内膜症患者 5例のFN値は r-AFS I期で245(ug/ml)および332(ug/ml), II期で325(ug/ml)であった。しかし, IV期の例は261(ug/ml)および244(ug/ml)であり明らかに低値を示した。

3) ダナゾール療法や手術療法で血清 CA125値は速やかに低下したが, FN 値は変化しなかった。また腹腔鏡下手術後 2例が妊娠した。

以上より血清FN値を測定しても子宮内膜症の治療効果の判定, 再発の予知には役立たず, また診断への応用もあまり期待出来ない。

P VIII-40 子宮内膜症に対する各種薬物療法前後の比較

大阪医科大学産婦人科学教室

○佐伯理男, 奥田喜代司, 好川元庸, 宮崎和典, 前田隆義,
杉本 修

(目的) 子宮内膜症に対するホルモン療法は, 最近各種の薬剤が開発されその有効性が報告されている。しかし, それらの薬剤が有効な内膜症病変の部位や程度についてはあまり知られていない。今回我々は, 不妊症患者のうち腹腔鏡で子宮内膜症と診断された20例に対しホルモン療法終了後, second look laparoscopy を行ない所見の変化を比較検討した。

(対象および方法) 腹腔鏡検査で子宮内膜症と診断された不妊症患者20例に対し, LH-RH analog 14例, 合成ステロイド剤であるDanazol 400mg/day, R-2323 5mg/week を各3例にそれぞれ6か月間投与し, 再来月経後, second look laparoscopy を行ない所見の変化を比較検討した。

(結果) 薬物療法前後のR-AFS total score は, 平均33.8から25.1へと有意に減少した。各病変部位別のscore でも腹膜の内膜症と卵管の癒着の二項目で有意に低下し, 他の項目においても改善傾向が見られた。しかし, 腹膜の内膜症のscore は有意に低下したが, 腹膜の内膜症病変が消失した例は21% と低かった。卵巣の内膜症病変のうち治療後消失したのは表在性の内膜症と膜様の癒着例のみであり, 特に卵巣が1/3以上の強固な癒着を伴っている症例は卵巣が外見上正常であっても, 深層の内膜症を伴っており, ホルモン療法による治療効果が低かった。また, 薬剤による差は明らかではなかった。治療後の妊娠率は20例中6例 33%で, そのうちの2例はsecond look laparoscopy時に両側付属器に病変を認めため開腹手術を行なった症例で, 他の3症例は片側または両側付属器の病変が軽度であった。

(考察) 子宮内膜症に対するホルモン療法には限界があり, 薬物療法終了時にsecond look laparoscopy を行ない, その後の治療方針を考える必要があると思われた。

P VIII-41

鑑別診断が困難であった性器外子宮内膜症の4例

京都大学医学部婦人科学産科学教室、*京都桂病院産婦人科
 ○塩谷 雅英、野田 洋一、成本 勝彦、森 崇英、
 南部 吉彦*、木下 幹久*

【緒言】子宮内膜症は近年増加傾向にあり、その診断および治療は不妊症診療において重要性を増しつつある。本症の好発部位は子宮、卵巣、仙骨子宮靱帯、ダグラス窩腹膜であるが、他の腹腔内臓器や腹腔外臓器にも発生することが知られている。我々は、大腸に発生した3例と鼠径管内円靱帯に発生した1例を経験したので報告する。【症例1】45才女性、3回経産、子宮腺筋症の既往あり。近医で便潜血反応陽性を指摘され、外科を受診す。直腸腫瘍の診断で前方切除術を受けたが、病理診断は直腸子宮内膜症であった。【症例2】32才女性、2回経産。下血を主訴として外科を受診す。直腸腫瘍の診断で前方切除術及び子宮全摘術を受けたが、病理診断は直腸および仙骨子宮靱帯の子宮内膜症であった。【症例3】44才女性、下血、下痢、嘔吐を主訴に外科を受診す。S状結腸子宮内膜症の診断で開腹術を受け、術中所見より結腸癌が疑われS状結腸全摘・リンパ節廓清術を受けた。病理診断はS状結腸子宮内膜症であった。【症例4】32才女性、未婚、妊娠歴無し。小指頭大の痛性の腫瘤を右鼠径部に自覚し外科を受診したが、月経時に痛みが増強するために当科を紹介された。鼠径部子宮内膜症の診断のもと縮小効果を期待して薬物療法を行い、引き続き摘出術を施行した。病理診断で鼠径部円靱帯に発生した子宮内膜症を確定した。【考察】大腸子宮内膜症は本邦で過去23年間に56例しか報告のない稀な疾患であり、しかも、下血などの消化器症状を主訴とすることが多いため、大腸癌との鑑別が困難である。しかし、下血などの消化器症状を主訴とする性成熟期婦人の診療にあたっては、妊孕能を温存する観点からも、過大な手術がなされることのないよう、本症も念頭においておく必要があると考える。また、鼠径部子宮内膜症の本邦における報告は現在までにわずか15例にすぎず、極めて稀な疾患であるが、月経時に増強する痛性の腫瘤を鼠径部に認めた場合にも、本症を念頭におき診断・治療にあたる必要があると考える。

P VIII-42

チョコレート嚢胞をとまなう不妊症例に対する嚢胞内エタノール注入と
 Buserelin 投与の併用療法

聖マリアンナ医大産婦人科、同・東横病院*

岩田美智恵*, 石塚文平, 近藤俊彦, 堀越裕史, 斉藤寿一郎
 塩崎一正*, 佐藤宏樹*, 豊田正治*, 浜田 宏

【緒言】卵巣子宮内膜症は嚢胞が一定以上の大きさになると各種ホルモン療法によっても縮小しないことが多く、不妊を主訴とする症例では、手術療法に踏み切れず、治療が困難である。本研究では、チョコレート嚢胞を有し、卵管疎通性検査、精液所見の正常な26~32才の不妊婦人6名(原発性不妊5名、続発性不妊1名、不妊期間2~5年)に腹腔鏡下嚢胞内エタノール注入後、Buserelinを投与し、著効を得、うち2例がBuserelin投与終了後早期に妊娠成立したので報告する。

【方法】全例とも不妊を主訴として来院、うち3例は月経痛も訴えた。いずれも内診および超音波診断で超鶏卵大~鶯卵大の片側卵巣腫瘍を認め、血中CA125値は50 u/ml以上であった。腹腔鏡下に嚢胞内容吸引および無水エタノール(約50cc)の注入を行い、直後よりBuserelin 900 µg/day 16週間の投与を行った。

【成績】Buserelin投与終了後、全例速やかに排卵の再開を見た。嚢胞内容吸引後、超音波断層法上、全例著明な縮小を示したが、うち4例ではBuserelin投与6~12週目に完全な消失を認めた。血中CA125値はBuserelin投与中下降し続ける傾向が見られた。月経痛を訴えた3例では、全例症状の軽減を見た。1例はBuserelin投与後初回排卵で、1例は3回目の排卵で妊娠成立し、他の3例もBuserelin投与終了後3~7周期までのfollowで嚢腫の再発を認めていない。

【結論】卵巣子宮内膜症の薬物療法には限度があると思われるが、腹腔鏡下手術とBuserelin投与の併用は他に不妊因子のないチョコレート嚢胞不妊症例に有用な治療法と思われる。

第 35 回日本不妊学会総会および 学術講演会ご参加の皆様へ

第 35 回日本不妊学会総会・学術講演会への皆様のご参加を心よりお慶び申し上げます。日本不妊学会事務局では、本講演会ご出席の皆様のご便宜をおはかりするため、宿泊のお世話をさせていただくことになりました。

期間中は、宿泊可能な施設が限られておりますので、お早めにお申し込みくださいませうようお願い申し上げます。

1. 宿泊のご案内（税・サービス料込の料金を加えましたので、先の学会雑誌にてお知らせした料金とは異なりますことをご了承下さい。

ランク	予定ホテル名	ルームタイプ	料 金 (単位：円)
A	シェラトングランデ ホテル&タワーズ	ツイン	30,740(11/15) 朝食付 38,160(11/16,17) 朝食付
		シングル	25,970(11/15) 朝食付 34,980(11/16,17) 朝食付
B	ホテルニューツカモト	ツイン	16,995
		ダブル	12,463
		シングル	9,064
C	サンガーデン千葉	シングル	78,497
D	千葉グランドホテル	ツイン	12,566
		シングル	6,901

*上記料金は、1室1泊料金（税・サービス料を含む）です。

*食事料金は含まれておりません。（シェラトングランデホテル&タワーズは朝食付きとなります。）

2. お申し込み締切日：平成2年10月20日（土）

3. お申し込み・お問い合わせ先

(株)日本不妊学会事務局「(株)アイシーエス企画」

〒103 東京都中央区日本橋2-14-9 加商ビル2F

TEL：03-272-7077

担 当：小松，島村

*お電話をいただき次第、折り返し申込用紙兼用振替用紙をお送り致します。

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入れて括弧で囲む、すなわち

著者名：題名、誌名、巻数(号数)：ページ数、

年次

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, 日不妊会誌, 4: 13, 1956

b. 単行本の場合

著者名：著書名、ページ数、発行所、年次

例1. Rovinsky, J. J. and Guttmacher, A. F.: Medical, Surgical and Gynecological Complications of Pregnancy, 68, 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、別刷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は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 事務局とする。

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

百瀬和夫(委員長)
味香勝也 石島芳郎 遠藤克
小林俊文 佐久間勇次 白井将文
平川舜 穂坂正彦

EDITORIAL BOARD

Kazuo MOMOSE (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA Yoshiro ISHIJIMA Tuyoshi ENDO
Toshihumi KOBAYASHI Yuzi SAKUMA Masafumi SHIRAI
Shun HIRAKAWA Masahiko HOSAKA

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 35巻4号

1990年9月25日印刷
1990年10月1日発行

編集兼発行者 百瀬和夫
印刷者 安永修
印刷所 東京都文京区関口1-43-5
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