a-26

ISSN
0029-0629
CODEN:NFGZAD

JAPANESE JOURNAL OF FERTILITY AND STERILITY

Vol. 36 No.1
January
1991

日本不妊学会雑誌

第36巻 第1号
平成3年1月1日

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

会　告

第36回日本不妊学会総会および学術講演会

(第　1　回　予　告)

下記により第36回日本不妊学会総会ならびに学術講演会を開催いたしますので多数の方々がご参加下さいますようお願い申しあげます.

記

期　日：平成3年11月19日（火）役員会
11月20日（水）学術講演会
11月21日（木）　〃

会　場：名古屋国際会議場（白鳥センチュリープラザ）
〒456　名古屋市熱田区西町1－1
（TEL　学術期間中は学会用の専用電話を設置いたします）

なお演題募集要項，特別講演，シンポジウム，その他，詳細につきましては次号(36巻2号，平成3年4月発行予定）に掲載いたします．一般演題の締め切りは平成3年6月下旬の予定です.

第36回日本不妊学会会長
八　神　喜　昭

連絡先：〒467 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄1
名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室内
第36回日本不妊学会総会事務局
TEL 052-851-5511（代表）内線2220（医局）
FAX 052-842-2269

平成２年度第２回通常総会

平成２年度第２回通常総会は下記の如く千葉市において開催され，飯塚理事長を議長として各議案につき慎重審議の上採決を行った．

日　時　　平成２年11月16日（金）12時50分～13時20分
場　所　　千葉市　日本コンベンションセンター　国際会議場
開会当時の会員数　　3662名
当日の出席会員数　　1973名（含委任状1615）

議　事

第１号議案　名誉会員推薦の件

理事会および評議員会より推薦の別記６名につき審議の結果，全員一致にて名誉会員とすることを承認した．

第２号議案　役員改選の件

評議員会の決定した候補者につき審議の上，全員一致にて別記の如く次期理事(20名)，監事（３名）を選出した．

第３号議案　評議員改選の件

定款第19条に定める評議員の支部別定数については理事会，評議員会の原案通り下記の如く定めることを全員一致で承認した．

北海道支部　５名，東北支部　４名，関東支部　16名，中部支部　５名，北陸支部　４名
関西支部　８名，中国・四国支部　５名，九州支部　８名

第４号議案，次々期学術講演会および総会に関する件

平成４年度学術講演会および総会は理事会，評議員会の原案通り，下記の如く開催することを全員一致で承認した．

担当支部　関東支部
会　　長　荒井　清
開催地　　東京都

新名誉会員および新役員について

11月16日開催された平成2年度第2回通常総会において次の6名の方々が新たに名誉会員として推薦，承認された．また役員(理事および監事)の改選が行なわれたので，11月17日新理事会を開き，互選により下記の如く理事長，副理事長，常任理事を選出するとともに，新評議員および幹事を選任した．

名誉会員

一戸喜兵衛（北海道支部），五十嵐正雄（関東支部），坂元正一（関東支部），
竹内正七（関東支部），倉智敬一（関西支部），前田一雄（中国四国支部）

理　事

理事長	飯塚理八	(関東支部)
副理事長	入谷　明	(関西支部)
〃	島崎　淳	(関東支部)
〃	高木繁夫	(〃)
理事(常任)	荒井　清	(〃)
〃 (〃)	石田一夫	(〃)
〃 (〃)	白井将文	(〃)
〃 (〃)	玉田太朗	(〃)
〃 (〃)	水野正彦	(〃)
〃 (〃)	毛利秀雄	(〃)
〃 (〃)	百瀬和夫	(〃)
〃 (〃)	清水哲也	(北海道支部)
〃 (〃)	森　崇英	(関西支部)
〃 (〃)	片山　喬	(北陸支部)
〃	広井正彦	(東北支部)
〃	八神喜昭	(中部支部)
〃	友吉唯夫	(関西支部)
〃	青野敏博	(中国四国支部)
〃	岡村　均	(九州支部)
〃	永田行博	(〃)

監　事

酒徳治三郎	(中国四国支部)
木下　佐	(関東支部)
佐久間勇次	(〃)

定款評議員

北海道支部

金川弘司	河田啓一郎	熊本悦明	橋本正淑
藤本征一郎			

東北支部

折笠精一	高橋克幸	平野睦男	正木淳二

関東支部

阿曽佳郎	岩崎寛和	大島博幸	加藤順三
佐藤和雄	高見沢裕吉	寺島芳輝	豊田　裕
百目鬼郁男	中原達夫	浜田　宏	藤井明和
穂坂正彦	町田豊平	森沢正昭	矢内原巧

中部支部

川島吉良	杉山陽一	友田　豊	福田　透
三宅弘治			

北陸支部

泉　徳和	舘野政也	富永敏朗	久住治男

関西支部

礒島晋三	岡田弘二	守殿貞夫	樋木　勇
杉本　修	谷沢　修	森　純一	吉田　修

中国・四国支部

大森弘之	北尾　学	関場　香	竹中生昌
丹羽晧二			

九州支部

大井好忠	杉森　甫	立山浩道	中野仁雄
中山道男	宮川勇生	宮崎康二	山辺　徹

なお，定款評議員上記55名については，1991年1月1日より1992年12月31日まで評議員を委嘱します．本誌面をもって委嘱状とさせていただきます．また，支部評議員については，次号（36巻2号）に掲載致します．

幹　事

味香勝也　伊藤晴夫　苛原稔　内海恭三
遠藤克　岡田清己　楠原浩二　小林俊文
田中昭一　津端捷夫　堂地勉　百目鬼郁男
中村元一　野田洋一　花田征治　平川舜
平野睦男　布施秀樹　穂坂正彦　松本修
三橋直樹　森沢正昭　矢内原巧

日本不妊学会誌

第36巻　第1号

平成3年1月1日

――目　　次――

原　著

奇形子宮の妊孕性に関する臨床的研究……張　素瑛 …… 1
産褥性乳汁濡出性無月経で低プロラクチン血症とトルコ鞍の
　empty sella が認められた一症例 ……和田圭介・他 …… 10
妊娠と endothelin-renin-angiotensin-aldosterone-ANP system について …白杵　悊・他 …… 15
多嚢胞卵巣症候群の内分泌学的および超音波形態学的診断の
　有用性に関する研究……西垣　新 …… 28
低用量経口避妊薬 Org 5187 の第Ⅰ相試験（薬物動態学的検討）……水野正彦・他 …… 35
低用量経口避妊薬 Org 5187 の第Ⅰ相試験（臨床薬力学的検討）……石川元春・他 …… 49
Hydroxypropylcellulosum を用いた danazol ゼリーの作製と
　その薬物動態について……山本　宝・他 …… 58
子宮頚管粘液分泌不全の治療成績……田中昭一・他 …… 63
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……堀越裕史・他 …… 69
下垂体−卵巣−子宮内膜機能連関からみた黄体期子宮内膜不全の総合的解析 …塩谷雅英・他 …… 77
Clomiphene citrate の黄体機能に及ぼす影響 ……小池弘幸・他 …… 83
左右卵巣からの排卵の規則性について経腟超音波断層法による検討……幡　洋・他 …… 88
体外受精・胚移植における卵胞径計測による HMG 中止基準の検討 ……谷　啓光・他 …… 93
卵管性不妊の体外受精・胚移植における精液所見からみた予後……白河一郎・他 …… 99
当院における IVF-ET の試み ……山下正紀・他 ……105
体外受精・胚移植でも妊娠に至らなかった症例の非 IVF-ET 周期妊娠例 …森　明人・他 ……111
3種類の異なった測定キットによる体外受精における血中 LH の測定 ……関根和子・他 ……119
体外受精・胚移植における子宮内外同時妊娠の一症例……岩部富夫・他 ……123
当院における卵管妊娠保存手術例の臨床検討……高野　昇・他 ……127
マイクロサージャリーによる卵管形成術後の妊娠率に及ぼす予後決定因子…亀田　隆・他 ……136
子宮内膜症と血清フィブロネクチン……永田行博・他 ……141
精子不動化抗体と精子凝集抗体の Immunobeads の
　結合様式から見た相違点……加藤充弘・他 ……147
運動精子回収ができなかった逆行性射精における AIH による妊娠例 ……布施正樹・他 ……153
男性不妊症における染色体異常の検討……立木　仁・他 ……157
特発性男性不妊症における Genital Skin Androgen Receptor の研究……大橋洋三・他 ……165
ラット精巣の発育過程における Leydig 細胞機能の変化 ……伊藤元博・他 ……172

ビタミン B_{12} 欠乏食飼育で惹起したマウス造精機能障害に及ぼす
　メコバラミンの効果……押尾　茂・他 ……178
ラット子宮腔へのラット卵巣の同種間移植……利部　聰・他 ……185
培養マウス胚発育についての超微形態観察
　——コラーゲン膜を基質とした培養系において——……上原茂樹・他 ……189
マウス胞胚の活力の指標
　——*in vitro* における Hatching 後の胞胚の発育—— ……千田　智 ……196
卵管内人工授精による卵管閉塞モデル家兎の妊娠と分娩……金山喜一・他 ……200
ウサギ受精卵子の囲卵腔より回収した精子による体外受精について……佐藤嘉兵・他 ……207
抗プロゲステロン製剤（RU 486）による家兎の妊娠阻止と
　その後の妊孕性について……山海　直・他 ……211
ホルスタイン搾乳牛の嚢胞性卵巣に関する母系遺伝について……管　徹行・他 ……216
地方部会講演抄録 ……222

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 36, No. 1, 1991)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

Uterine Malformation and Fertility ……*S. Chang* …… 1

A Case of Puerperal Galactorrheal Amenorrhea and Hypoprolactinemia with Empty Sella Turcica ……*K. Wada, M. Nakagawa & T. Tamaya* …… 10

Levels of Endothelin in Maternal Blood during Pregnancy and on the Postpartum Day, Amniotic Fluid and Umbilical Cord Blood, and their Relationship to Renin Activity, Angiotensin I, Angiotensin II, Aldosterone and Atrial Natriuretic Peptide Levels, Fetal Sex, Fetal Birth Weight, Placental Weight, Umbilical Cord Length and Apgar Score ……*S. Usuki & S. Kubota* …… 15

Study on Endocrinological and Ultrasonographic Diagnosis for Polycystic Ovary Syndrome ……*A. Nishigaki* …… 28

Clinical Pharmacokinetic Study of Org5187 as a Low-dose Oral Contraceptive. ……*M. Mizuno, Y. Kuwabara, Y. Taketani, A. Yazima, H. Hoshiai, T. Fukaya, M. Ishikawa, T. Kobayashi, R. Iizuka, K. Tanabe, Y. Izumi, S. Takagi, K. Tsubata & S. Takeuchi* …… 35

Clinical Pharamacodynamic Studies of Org5187 as a Low-dose Oral Contraceptive. ……*M. Isikawa, A. Yajima, H. Hosiai, T. Fukaya, M. Mizuno, Y. Kuwabara, Y. Taketani, R. Iizuka, K. Tanabe, S. Takagi, K. Tsubata & S. Takeuchi* …… 49

Drug Delivery of Hydroxypropylcellulosum Jelly for Drug Delivery of Danazol in Rats and Rabbits ……*T. Yamamoto, Y. Ohno, J. Kitawaki, M. Urabe, M. Fukuoka, T. Tamura, H. Honjo, H. Okada & S. Fushiki* …… 58

Results of Treatment on Infertile Women with Poor Cervical Mucus ……*S. Tanaka, H. Fukue, M. Mizunuma, M. Kanaya, M. Fujii, T. Endo, H. Hata & M. Hashimoto* …… 63

Evaluation of Fallopian Tube Patency by Ultrasonography with Color Flow Imaging ····· *H. Horikoshi, B. Ishizuka, Y. Taguchi, T. Kondo, K. Watanabe, Y. Kuribayashi, J. Saito, M. Saga, H. Hamada & M. Nagae* ····· 69

Pituitary-Ovarian-Endometrial Axis in Luteal Phase Defect ····· *M. Shiotani, K. Takakura, Y. Noda, H. Fujiwara, K. Narimoto, T. Mori & M. Kinoshita* ····· 77

Effect of Clomiphene Citrate on Corpus Luteum Function ····· *H. Koike, K. Taniyama, N. Mori & I. Miyakawa* ····· 83

Occurrence of Ovulation from the Right and Left Ovaries: The Observation of Successive Cycles Using Transvaginal Ultrasonotomography ····· *H. Hata, T. Hayashi, T. Syukuta, M. Kanaya, M. Mizunuma, M. Fujii, T. Endo, S. Tanaka & M. Hashimoto* ····· 88

Proper Timing for Discontinuing Human Menopausal Gonadotropin Determined by Follicular Monitoring with Ultrasound in an *in Vitro* Fertilization Program ····· *H. Tani, K. Oda, K. Shichiri, O. Arakawa, Y. Sato & K. Tanaka* ····· 93

Relationship between Result of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer and the Finding of Ejaculate ····· *I. Shirakawa, N. Yoshida, Y. Hirano, T. Katayama, S. Taga, K. Nagoshi, Y. Kawahara, K. Shintani & K. Sekiba* ····· 99

Experience with IVF-ET at Maizuru Municipal Hospital ····· *M. Yamashita, E. Takashima, H. Oki, Y. Kitaoka, Y. Noda & T. Mori* ·····105

Pregnancies after Unsuccessful IVF-ET Attempts with Additional Non-IVF-ET Therapy or without Therapy ····· *A. Mori, T. Douchi, S. Yamamoto, K. Takeuchi, S. Fukumoto, T. Oki & Y. Nagata* ·····111

Determionation of Serum Luteinizing Hormone Levels during *in Vitro* Fertilization by Three Different Kits····· *K. Sekine, H. Kodama, M. Kato, Y. Matsui, S. Takeda & M. Maki* ·····117

A case of Heterotopic Pregnancy Associated with *In Vitro* Fertilization and Embryo Transfer··· *T. Iwabe, A. Sekijima, Y. Oonohara, M. Tanikawa, H. Terado, T. Harada, T. Toda, Y. Mio & K. Maeda* ·····123

A Clinical Study on Cases of Conservative Surgical Treatment of Tubal Pregnancy at this Hospital ····· *N. Takano, K. Uesugi, A. Yamaga, T. Tazima, H. Tanaka & N. Tanaka* ·····127

Prognostic Factors of Tubal Microsurgery ···*T. Kameda, H. Kurachi, T. Taniguchi, A. Wakimoto, M. Ohmichi, A. Miyake, F. Saji, O. Tanizawa, K. Maruo & T. Yanagida* ·····136

Serum Fibronectin Levels in the Patiens with Endometriosis
·····*Y. Nagata, T. Douchi, K. Iio, N. Arima, S. Yamamoto, A. Mori, T. Oki, K. Takeuchi, M. Nakamura, R. Shinmura, A. Kawakami, Y. Kawahara, Y. Unoki, S. Fukumoto & S. Go* ·····141

Difference of Immunobead Binding Pattern between Sperm Immobilization Antibody and Sperm Agglutination Antibody·····*M. Kato, H. Kodama, T. Matsui, K. Sekine & M. Maki* ·····147

A Case of Retrograde Ejaculation with the Recovery of Only the Immotile Sperms whose Wife Conceived by AIH ···*M. Fuse, S. Okamoto, T. Ishimaru & T. Yamabe* ·····153

Chromosomal Investigation in Male Infertile Cases
·····*H. Tachiki, Y. Kumamoto, S. Saito, N. Miyao & H. Maruta* ·····157

A Study on Genital Skin Androgen Receptor in Idiopathic Male Infertility·····*Y. Ohashi, T. Ohashi, Y. Yamashita, S. Irie, A. Nagai & H. Ohmori* ·····165

Change in Leydig Cell Function during Sexual Maturation of Male Rats·····*M. Ito, I. Atobe, I. Machizawa, H. Hirano & H. Amano* ·····172

Effects of Mecobalamin on Oligozoospermia Induced by Feeding a Vitamin B_{12} Deficient Diet in Mice ·····*S. Oshio, T. Yazaki, T. Umeda, S. Ozaki, I. Ohkawa & H. Mohri* ·····178

Homoplastic Graft of Rat Ovary into Uterine Cavity
·····*S. Kagabu, K. Mamba & T. Ishida* ·····185

Ultrastructural Study of In Vitro Cultured Embryo Developing on Collagen Membrane·····*S. Uehara, T. Tsumuraya, Y. Kurahayashi, K. Okamura, T. Takabayashi & A. Yajima* ·····189

Murine Cytotrophobiastic Outgrowth *In Vitro*: an Index of Embryonal Vitality. ·····*S. Chida* ·····196

Gestation and Delivery of the Rabbit Model with Tubal Obstruction by Means of Tubal Insemination
·····*K. Kanayama, T. Endo & Y. Sakuma* ·····200

In Vitro Fertilization of Rabbit Eggs, using Spermatozoa Recovered from the Perivitelline Space of Fertilized Eggs ·····*K. Sato & T. Goto* ·····207

Interruption of Pregnancy by Antiprogesterone Compoud RU486
and Subsequent Fertility in Rabbits ..... *T. Sankai, T. Endo, K. Kanayama, Y. Sakuma, M. Umezu & J. Masaki* 211
Genetic Factor of Dams Incident of Cystic Ovaries
in HOLSTEIN Milking Cows ..... *T. Suga, A. Nkagawa, H. Yoshimura & H. Ueta* 216

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

奇形子宮の妊孕性に関する臨床的研究

Uterine Malformation and Fertility

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室
(主任：百瀬和夫教授)
張　素瑛
Su-Ying CHANG

1st. Dept. of Obstetrics & Gynecology,
School of Medicine, Toho University, Tokyo 143, Japan
(Director: Prof. Kazuo Momose)

奇形子宮と診断された516例をAFS[1]の分類に基づいて，その妊孕性を検討した．516例中216例(41.9％)は原発不妊であった．不妊原因として，子宮因子のみの症例は43例(19.9％)であり，他の症例は内分泌異常，子宮内膜症，卵管通過障害などを合併していた。排卵誘発，卵管通水，Bonzol内服，子宮形成術などの治療を施行し，その後に追跡調査できた症例の累積妊娠率は予想妊娠率と大幅に相違していた．

HSGによる子宮奇形の頻度は2回流産13.6％であり，1回流産と比べ，有意に高かったが，1回流産でも9.0％に奇形が見られることより，1回流産でもHSGの適応と考えられた．

不育症例に対し，子宮形成術を行ったところ，流産率は96.4％から11.1％へと激減した．不妊例では，術後の妊娠は2例で，いずれも子宮因子のみによる症例であった．

治療後に流産率の減少と早産率の増加により，妊娠期間が延長し，児の体外生存は可能になり，奇形子宮の妊孕能を向上しうるものと考えられた．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 1-9, 1991)

緒　言

子宮は受精卵を着床させ，体外生活可能な時期まで養育し，娩出させるという，生殖過程において重要な役割を担っている．しかしながら，性周期に伴う子宮内膜の変化を除き，これまで研究の対象となることは比較的少なかった．

ヒト内性器の構造は複雑で，発生学的にも左右Müller管の融合，泌尿生殖洞との接合などの過程を経て形成され，微妙な変形が起こり易い器官である．とくに子宮には形成異常－子宮奇形の頻度が高く，これら形成異常が妊孕能にどのように影響するのかについて，新しく設定されたAFS[1](American Fertility Society)の基準に従って分類し，不妊，不育症との関係および治療予後について比較，検討した．

対象ならびに研究方法

1975年1月から1988年12月までの14年間に，当科外来を受診し，子宮奇形と診断された516例を対象とした．

子宮内腔は子宮卵管造影法，子宮鏡などにより，外形は腹腔鏡，開腹所見を参考とし，更に超音波，CTを加えた諸検査により総合的に診断し，AFSのMüllerian anomalyの分類基準[1]に基づき，5群に分類した(図1)．妊孕能がほとんど無い第Ⅰ群のHypoplasia/Agenesisと、わが国では報告されていないDiethyl-stilbestrolに起因する第Ⅶ群は削除した．一側Müller氏管の低形成によるⅡ群a，b，cは一括して副角子宮，無形成によるⅡ群dは単角子宮とし，Ⅳ群aは従来より，双角双頸子宮，bは双角単頸子宮と呼ばれていたものである．

不妊症例に対しては排卵誘発，卵管通水，Bonzol内服，AIHなどの重複治療を加え，中隔切断術，Strassmann, Jones & Jones法の子宮形成術を施行した．その後，累積妊娠率を算定し，理論上推定された妊娠率と比較した．

人工妊娠中絶になった例や，1989年12月までに妊娠継続中で分娩に至っていない例や，妊娠中に追跡不能となった転帰不明例を除き，各症例を1989年12月までfollow upし，診療前，後の妊孕能を検討した．

なお，有意差の検定はカイ2乗法を使用した．

結　果

（i）頻度および内訳

当教室における過去14年間の不妊外来総数5,911例中に占める子宮奇形の頻度は516例（8.7％）であり，原発性不妊症3,798例中の奇形子宮の頻度は216例（5.7％）を占めていた．既往妊娠は291例で分娩例が144例あり，同期間中の分娩総数11,538に対する奇形子宮の頻度は1.2％であった．

奇形子宮516例の内訳は副角合併単角子宮8例（以下，副角子宮と略す），副角を合併しない単角子宮26例（以下，単角子宮と略す），重複子宮6例，完全双角子宮14例，不完全双角子宮51例，完全中隔子宮42例，不完全中隔子宮14例，弓状子宮355例であった．

（ii）年齢分布

患者年齢は外来初診日を基準とし，その分布は

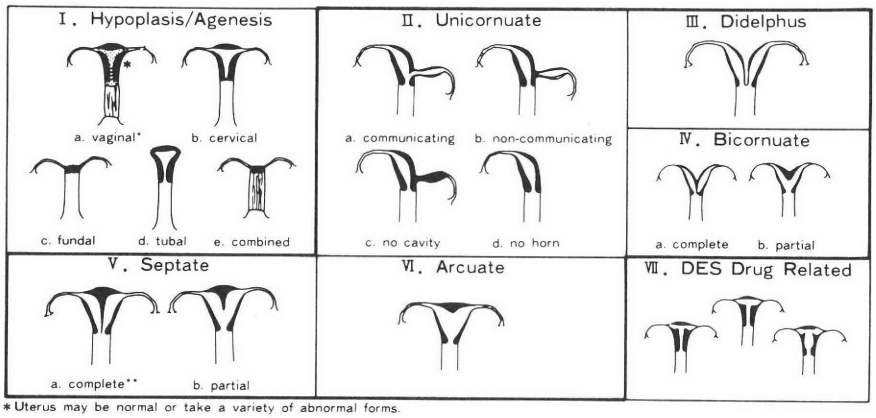


図1　奇形子宮の分類（AFS，1988による）

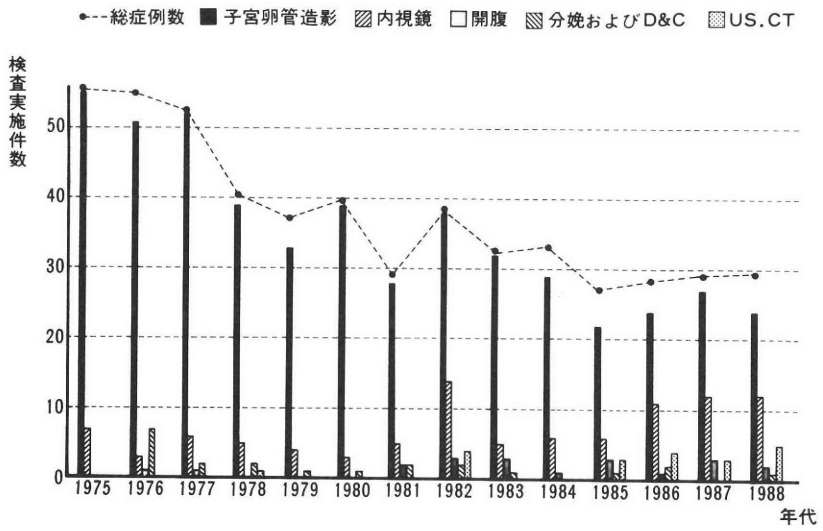


図2　子宮奇形診断法の年代変遷

14～55歳までと幅広く，20～40歳に集中しており，平均年齢は30.6歳であった．

(iii) 検査および診断方法

主な検査の実施率（重複を含む）は子宮卵管造影法が92.2％と最も高く，次いで腹腔鏡の15.1％、子宮鏡6.0％，開腹4.0％，分娩時診察あるいは人工妊娠中絶時ゾンデ診の4.7％，超音波断層法4.3％およびCT 0.6％などであった．

診断方法の年代別変遷を見ると，子宮卵管造影法が毎年82～100％の高い実施率であるのに対し，近年腹腔鏡や子宮鏡などの積極的な検査が増加している（図2）．

(iv) 原発性不妊症との関連

奇形子宮を有する症例516例中の原発不妊は216例(41.9％)であり，その不妊期間は1～13年，平均3.6年であった．奇形子宮各群の不妊率を見ると，副角子宮および単角子宮ではそれぞれ50％(4/8)，61.5％(16/26)と高く，重複子宮および不完全双角子宮ではそれぞれ16.7％(1/6)，29.4％(15/51)とやや低率であった（表1）．

原発不妊216例中，子宮因子－子宮奇形のみが不妊原因と思われる症例は43例(19.9％)であり，他の症例は何らかの不妊因子を合併していた．その内訳（重複を含む）は内分泌異常86例（39.8％），子宮内膜症39例(18.1％)，卵管通過障害29例(13.4％)，男性因子29例（13.4％）であった．

副角子宮および単角子宮は子宮内膜症の合併率がそれぞれ50％（2/4），37.5％（6/16）と高く，また卵管通過障害の合併は、それぞれ25％(1/4)，37.5％（6/16）と高率であった．

重複子宮の不妊症例は1例のみで，卵管不妊によるものであった．

完全双角および不完全双角子宮では，子宮内膜症の合併による不妊がそれぞれ33.3％(2/6)，33.3％(5/15)であるが，完全双角子宮では奇形子宮のみによる不妊が33.3％（2/6）と高かった．

不完全中隔の不妊症例のうち子宮因子は40％(2/5）であり，完全中隔および不完全中隔子宮の子宮内膜症合併はそれぞれ42.9％（6/14），40％（2/5）と高率であった．

また，弓状子宮の不妊症例では内分泌異常が45.8％（71/155）と高い頻度を示している．

表1　奇形子宮の不妊率および不妊原因

奇形子宮	例数	不妊例数(%)	子宮因子(%)	子宮外因子(%)			
				内分泌異常	子宮内膜症	卵管性不妊	男性不妊
副　角(II, abc)	8	4(50)	1(25)	1(25)	2(50)	1(25)	
単　角(II, d)	26	16(61.5)	3(18.8)	5(31.3)	6(37.5)	6(37.5)	
重　複(III)	6	1(16.7)				1(100)	
完全双角(IV, a)	14	6(42.9)	2(33.3)	1(16.7)	2(33.3)	1(16.7)	1
不完全双角(IV, b)	51	15(29.4)	3(20)	4(26.7)	5(33.3)	1(6.7)	2
完全中隔(V, a)	42	14(33.3)	3(21.4)	3(21.4)	6(42.9)		4
不完全中隔(V,b)	14	5(35.7)	2(40)	1(20)	2(40)		
弓　状(VI)	355	155(43.7)	29(18.7)	71(45.8)	16(10.3)	19(12.3)	22
計	516	216(41.9)	43(19.9)	86(39.8)	39(18.1)	29(13.4)	29(13.4)

原因重複含

表2　原発性不妊症治療後妊娠に至った奇形子宮症例

奇形子宮	妊娠例(%)	分娩例	妊娠回数	流産回数(%)	児獲得数(%)
副　角(II, abc)	1/4　(25)	1	2	1(50)	1(50)
単　角(II, d)	4/16　(25)	2	5	2(40)	3(60)
完全双角(IV, a)	2/6　(33.3)	1	3	1(33.3)	2(66.7)
不完全双角(IV, b)	3/15　(20)	2	5	3(60)	2(40)
完全中隔(V, a)	3/14　(21.4)	2	4	1(25)	3(75)
不完全中隔(V, b)	2/5　(40)	2	3	1(33.3)	2(66.7)
弓　状(VI)	43/155(27.7)	29	57	22(38.6)	35(61.4)
計	58/216(26.9)	39	79	31(39.2)	48(60.8)

(註)重複子宮(III)では妊娠例なし

不妊症例に対しては原因に応じて，重複治療を加えた結果，58例（26.9％）に妊娠が成立した．不完全中隔および完全双角では，それぞれ40％（2/5），33.3％（2/6）とやや高い妊娠率が得られた（表2）．妊娠58例中で分娩に至った症例は39例であった．総妊娠回数79回のうち，分娩回数は48回，児獲得率は60.8％であった．完全中隔子宮は児獲得率が75％（3/4）と高く，不完全双角および副角子宮では流産率がそれぞれ60％（3/5），50％（1/2）と高く，さらに児獲得率はそれぞれ40％（2/5），50％（1/2）と低率であった．

全妊娠58例における妊娠成立までの総治療月数は1,452か月であった．毎月の平均妊娠率（monthly fecundability）[9,10,11]が0.04（58/1452）となることから，理論上，1か月目の推定累積妊娠率は0.04，2か月目の推定累積妊娠率は0.04＋0.04×（1－0.04）＝0.078，3か月目では0.078＋0.04×（1－0.078）＝0.115となり，1年目の推定累積妊娠率は0.388，6年目では0.94となるはずである．しかし実際に1年目に妊娠に至った症例は40例であり，妊娠率は0.185（40/216）と低下していた．全妊娠例は6年以内に成立しており，6年目の累積妊娠率0.269（58/216）は予想妊娠率の0.94から大きく相違していた．また各奇形子宮群間に差は認められなかった（図3）．

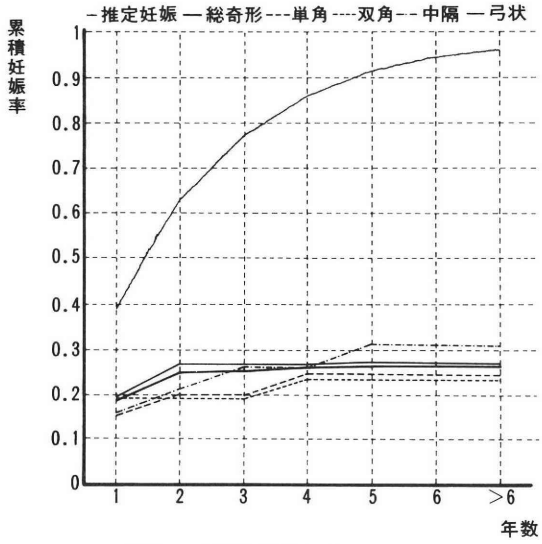


図3　不妊治療後累積妊娠率

（v）産科的既往歴，不育症との関係

流産既往のある症例1,395例におけるHSG検査では，その150例（10.8％）に子宮奇形が観察された．表3に示すごとく，流産回数が増すにつれ，奇形子宮の頻度が増加する傾向が見られた．1回の流産既往では9.0％（89/993）の症例に子宮奇形を有しており，2回の流産例における子宮奇形の発見率13.6％（36/265）とに有意差が認められた（$P<0.05$）．しかし2回流産例と3回流産例での奇形率15.0％（15/100）とに有意差がなく，3回の流産例では，4回以上の流産例の奇形発現率27.0％（10/37）とも有意差がなかった．

奇形子宮516例中，妊娠歴のある症例は291例（56.4％）であり，そのうち，重複子宮の83.3％（5/6）および不完全双角の70.6％（36/51）に対し，単角子宮では34.6％（9/26），完全双角では35.7％（5/14）と既往妊娠は低率であった（表4）．

妊娠歴のある291例中，流産既往のある症例は150例，既往妊娠回数は518回であり，そのうち251回

表3　流産回数別における奇形子宮の発現頻度

流産回数	1回	2回	3回	4回以上	計
例　数	993	265	100	37	1,395
奇形なし	904	229	85	27	1,245
子宮奇形(%)	89(9.0)[a]	36(13.6)[b]	15(15.0)	10(27.0)	150(10.8)
副角(II, abc)		1			1
単角(II, d)	1	2			3
重複(III)	1				1
完全双角(IV, a)	3		1		4
不完全双角(IV, b)	11	6	3	5	25
完全中隔(V, a)	4	1	2	3	10
不完全中隔(V, b)	1	2		1	4
弓状(VI)	68	24	9	1	102

$P<0.05$，a対b

(48.5％)は流，死産であった．流，死産率の高い子宮奇形は不完全中隔の75％(9/12)，不完全双角の58.9％(53/90)であり，重複子宮では14.3％(1/7)と低率であった．

なお，妊娠歴のある291例のうち61例(21.0％)は反復流産を経験しており，反復流産は不完全中隔の42.9％(3/7)および不完全双角子宮の38.9％(14/36)で高率に認められた．

518回の妊娠中，早産は19回(3.7％)であり，副角子宮で12.5％，重複子宮では14.3％と高率であった．児獲得率は47.7％(247/518)であり，重複子宮で85.7％と高率であるのに対し，不完全中隔では25％と低率であった．

また，奇形子宮の20例(3.9％)に子宮外妊娠の既往歴があり，単角子宮では15.4％(2/13)と高率であった．

子宮形成術を23例に施行し，その内訳は原発不妊の12例および不育症の11例であった．手術方法としてはStrassmann法7例(不完全双角6例，完全中隔1例)であり，Jones & Jones法は5例(不完全中隔4例，不完全双角1例)であり，中隔切断術は11例(完全中隔と不完全中隔とも5例，不完全双角が1例)であった．23例の術前妊娠回数は28回でそのうち，流産は27回(96.4％)であった．術後の妊娠回数は9回で，そのうち流産は1回(11.1％)のみであった．児獲得率は術前の3.6％(1/28)から術後の88.9％(8/9)へと上昇した(表5)．なお，不妊症例で形成術を施行した12例中，術後に妊娠の成立した症例は2例(16.7％)のみで，いずれも子宮因子による症例であった．他の反復流産など不育症例では形成術を施行した11例中，妊娠に至った症例は7例(63.6％)であった．

(vi) 奇形子宮診療前，後の妊孕性

当科受診の後，奇形子宮516例中106例が妊娠し，総妊娠回数158回に対し，流，死産は33回であった．

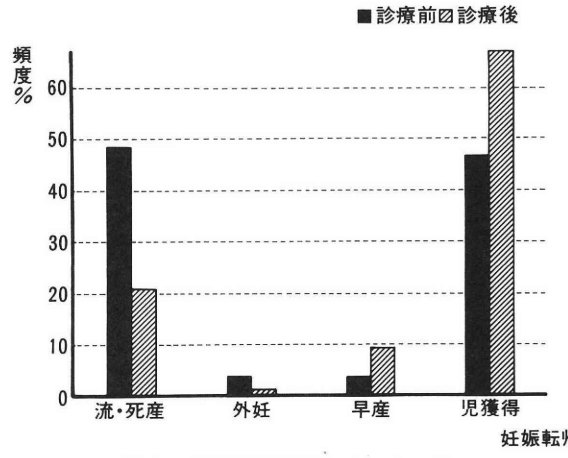


図4　奇形子宮診療前，後の妊孕性

表4　子宮奇形の産科的既往

奇形子宮	妊娠例(%)	流産例	反復流産(%)	妊娠回数	流・死産(%)	外妊(%)	早産(%)	児獲得(%)
副　角(II, abc)	3/8 (37.5)	1	1/3 (33.3)	8	4(50)		1(12.5)	4(50)
単　角(II, d)	9/26 (34.6)	3	2/9 (22.2)	13	5(38.5)	2(15.4)	1(7.7)	6(46.2)
重　複(III)	5/6 (83.3)	1		7	1(14.3)		1(14.3)	6(85.7)
完全双角(IV, a)	5/14 (35.7)	4	1/5 (20)	13	6(46.2)		1(7.7)	7(53.8)
不完全双角(IV, b)	36/51 (70.6)	25	14/36 (38.9)	90	53(58.9)	3(3.3)	4(4.4)	34(37.8)
完全中隔(V, a)	26/42 (61.9)	10	6/26 (23.1)	50	26(52)		1(2)	24(48)
不完全中隔(V, b)	7/14 (50)	4	3/7 (42.9)	12	9(75)		1(8.3)	3(25)
弓　状(VI)	200/355(56.3)	102	34/200(17)	325	147(45.2)	15(4.6)	9(2.8)	163(50.2)
総　数	291/516(56.4)	150	61/291(21)	518	251(48.5)	20(3.9)	19(3.7)	247(47.7)

表5　子宮形成術および形成前，後の妊娠，児獲得率

奇形子宮	例数	形成前			形成後		
		妊娠数	分娩数	児獲数	妊娠数	分娩数	児獲得
不完全双角(IV, b)	8	11	0	0	2	2	100%
完全中隔(V, a)	6	8	0	0	1*	1*	100%
不完全中隔(V, b)	9	9	1	11.1%	6*	5*	83.3%
計	23	28	1	3.6%	9	8	88.9%

＊原発不妊1例ずつ含む

流，死産率は治療前の48.5％から20.9％へと減少し，特に不完全中隔では治療により75％から14.3％へと激減した（表6，図4）．

治療後の早産率は9.5％（15/158）であり，診療前の3.7％よりやや上昇した．子宮奇形別に見ると，弓状子宮の3.2％に対し，副角子宮では50％，不完全中隔で57.1％、完全中隔では75％と高い早産率を示した．

全子宮奇形の既往の児獲得率は47.7％であったが，診療後には77.8％（123/158）へと上昇した．特に児獲得率の低かった不完全中隔では，受診後25％より85.7％へと著増した．

考　察

奇形子宮は，性成熟期に達し，月経，妊娠，分娩の異常経過あるいは不妊，反復流産など，fertilityの障害によって始めて診断される場合が多い。したがって，一般婦人における奇形子宮の正確な頻度は不明といわざるを得ない．特に弓状子宮などminor Müllerian anomalyでは臨床症状を欠き，正常子宮と診断される場合が多く，見逃され易い．

当教室における過去14年間の症例数と検査方法の変遷を見ると，戦後のベビーブームの影響で1978年前後に診断された症例が多く，その後，一時減少するが，1986年以後再び増加している．子宮卵管造影法は毎年82～100％の症例に実施されており，卵管疎通性の判定を含め子宮形態と妊孕性の情報を得るためには欠かせない手段である．一方，器具の開発と手技の向上が相まって，内視鏡検査が年々増加しており，より正確な診断が下せるようになった．

一般婦人の不妊率は約9％とされており，不妊症のうち，子宮因子によるものは5％程度と言われている．本研究における不妊症患者の奇形子宮の発見率は8.7％であり，Kesslerら[2]の1.1～12％，貴家[3]の8.47％とほぼ同程度であった．

奇形子宮と原発性不妊に関する報告は少ないが，本研究では全症例の41.9％が原発性不妊症であった．不妊原因は多岐にわたっており，Heinonen & Pystynen[4]によると，奇形子宮合併不妊症の約18.5％が子宮奇形のみによるものであるとされており，本研究でも子宮因子は19.9％のみで，他の症例は何らかの子宮外因子を合併していた．不妊患者に奇形子宮が認められても，系統的な不妊検査により奇形以外の因子を検索することが，治療方針の決定に重要である．

女性の妊孕性が最も高い時期は20歳代で，性機能を中心とした老化現象はすでに30歳代からみられると言われている[5]．本研究の不妊症例では不妊期間が長く，生殖年齢として比較的高齢婦人が多い．その加齢現象による卵巣機能低下[5]，内分泌異常を伴う症例は本研究では不妊例の39.8％を占めていた．

子宮内膜症の発生機序は未だ不明であるが，月経血逆流、腹腔内手術などによる子宮内膜転移説，および腹膜化生説などである[6]．奇形子宮では子宮内膜症を併存することが多く，本研究では副角子宮，中隔子宮の場合に内膜症を合併する頻度が高かった．非交通性の副角，膣と頚管の閉鎖，狭窄および子宮腔内の中隔などの障害物により，月経血の逆流を起こすことにより内膜症が発生することが推測された．子宮内膜症は骨盤腔内癒着の原因となり，不妊症を引き起こす．また，近年自然流産[7,8]との関係も報告されている．

単角子宮で不妊症であった症例の37.5％に卵管通過障害が見出された．単角子宮の場合，唯一の卵管が閉塞すると，正常婦人子宮の両側卵管閉塞に相当する．非交通性の副角が存在する症例では，子宮内膜症を合併し易く[4]，さらに主角側の卵管が閉塞すると，同様に不妊症となる．

表6　奇形子宮診療後妊娠の転帰

奇形子宮	妊娠例	妊娠回数	流・死産(%)	外妊(%)	早産(%)	児獲得(%)
副　角 (II, abc)	2	4*			2(50)	3(75)
単　角 (II, d)	5	6	2(33.3)		2(33.3)	4(66.7)
完全双角 (IV, a)	2	3	1(33.3)			2(66.7)
不完全双角 (IV, b)	6	8	3(37.5)			5(62.5)
完全中隔 (V, a)	3	4	1(25)		3(75)	3(75)
不完全中隔 (V, b)	5	7	1(14.3)		4(57.1)	6(85.7)
弓　状 (VI)	83	126	25(19.8)	1	4(3.2)	100(79.4)
総　数	106	158	33(20.9)	1(0.6)	15(9.5)	123(77.8)

＊副角妊娠1回含む

不妊，不育治療の確実な効果判定は妊娠の成立，さらには生児獲得である．最近，monthly fecundability および予想妊娠率の算定が不妊症治療の評価として使用されている[9,10,11]．奇形子宮における原発不妊治療の困難さは本研究に示すごとく，治療後の累積妊娠率は推定妊娠率に遠く及ばず，とくに治療後1年以上経過した症例における妊娠率の低さに問題がある．子宮外の不妊因子に対する治療を検討の上、子宮形成術，IVF-ET，GIFT など積極的治療法の導入が望まれる．

一般妊婦の自然流産率は10～15％程度であり，本研究では奇形子宮の妊婦約2人に1人は少なくとも1回の自然流産を経験し，また，約5人に1人は反復流産患者であった．流産既往婦人ほど次回妊娠の流産頻度が高くなるとされている．[12]．反復流産婦人は何らかの流産因子保有者と思われる．流産症例から流産因子の奇形子宮の screening は表3に示したごとく，流産回数が増すごとに，HSG での奇形子宮発現率は上昇する．2回，3回の流産症例では奇形率に有意差は認められず，Portuondo ら[13]も指摘するごとく，2回流産例でも HSG 検査の適応であると考えられた．しかし1回流産歴のある症例でも9％に奇形子宮が見出されたので，より積極的な検査が勧められる．

妊卵の順調な発育には，血液循環の良好な場所に着床することが必要であるが，奇形子宮では中隔部分における動脈の分布異常[14]と毛細血管数の著しい減少[15]に伴う血流障害により，妊卵の着床や発育が妨げられる．また子宮容積の不足と伸展性の欠如など，さらに頚管筋層の弾性線維減少による頚管無力症[16]に加え，子宮内膜症の合併が流，早産の原因となる．

一般に分娩例における子宮奇形の頻度は0.2～0.5％とされている[17]．本研究では1.2％とやや高頻度であり，弓状子宮の占める割合が比較的高いことが妊娠例に対する子宮奇形の頻度を上昇させた可能性があるが，田崎ら[18]の1.24％とほぼ一致していた．また，受精卵の着床が subclinical abortion に終わり，原発不妊と間違われる症例のあることが知られるようになり，実際の妊娠，流産率はさらに高いことを Tulandi ら[19]は指摘している．特に奇形子宮の場合，妊婦初期でも周期的月経血の排出を見られることより，妊娠を見逃され易い．BBT の記録，高感度 hCG 検査薬の普及などによる妊娠の早期診断も考えられるが，必ずしも実際的でなく，月経時排出物の病理学的検索なども再検討し，患者への教育指導も必要であろう．

反復流，死産などの不育症は，子宮形成術後に減少し，生児獲得率では術前の3.6％から術後の88.9％へ上昇した．諸家の報告[15,20,21]も示すごとく，子宮形成術は子宮奇形を伴う習慣性流，死産の治療法として優れている．しかし，子宮形成術を受けた原発性不妊症例では，術後の妊娠率が僅か16.7％に過ぎず，治療効果は十分とは言えない．子宮中隔部の内膜組織を温存し，中隔を最少限に摘出する子宮形成術式が報告されており[15]，本研究では子宮因子のみの不妊症例においては，中隔子宮で子宮形成術によく反応し，予後は比較的良好であった．ほかの不妊原因治療後1，2年経っても妊娠に至らない症例には積極的に施行しても良いと言われている[4]．

奇形子宮各群の妊孕性を比較して見ると，単角と副角子宮はともに過半数が不妊を主訴に受診しているが，既往妊娠例では副角子宮の流，死産率は単角子宮より高率で，早産率は約2倍であった．受療後でも副角子宮妊娠例の50％が早産になっており，副角の存在が流，早産に関係し，妊孕能に与える影響は大きいと思われた．

重複子宮の内腔形態は完全双角子宮と類似するが，本研究では妊孕能に若干の相違が認められた．妊娠率は前者で高く，諸家の報告[22,23]とは異なる結果である．厚い isthmocervical septum を有し，頚管無力症になりにくい[23]ことより，流産率は正常子宮と大差がなく，児の獲得率も高い．完全双角子宮では腟奇形を合併し易く[24]，性交困難を訴え，子宮奇形因子による不妊率は高く，妊娠例でも流産に終わる場合が多い．

不完全中隔と不完全双角子宮も内腔の構造が相似し，鑑別には漿膜面の観察を必要とする．子宮卵管造影法では左右子宮角の角度(90°以上：双角，90°以下：中隔)をもって便宜的に区別している[24]．本研究では両者の流産や，また反復性流産は他の子宮奇形に比べ，ともに著しく高率で，児獲得率は低かった．しかし形成術後の児獲得率は不完全中隔の83％，不完全双角の100％とそれぞれ上昇した．

なお，完全中隔の子宮不妊因子は比較的低率で，流・死産率も不完全中隔ほど高くなかった．中隔子宮における中隔の長径が妊孕性に影響を与えると思われる．

弓状子宮はもっとも軽度な子宮奇形で，頻度も高く，妊娠，分娩時の問題も報告されているが，[22]，本研究では，むしろ内分泌異常の合併による不妊が高頻度に認められており，子宮底の凹みにより，流産率は高いが，奇形子宮の中では軽症といえる．

副角妊娠は極めて希な異常で，文献にも極く少数の報告が見られるに過ぎない．しかし妊娠初期には

子宮外妊娠と間違われる症例もあり，著者らも外妊を疑いつつ，10週で副角妊娠と診断しえた症例を報告した[25]．しかし奇形子宮が原因で外妊が疑われたとの報告は希である．本研究では奇形子宮における外妊の合併頻度は3.9％であり，一般妊婦の0.5％と比較すると，約8倍であった．またRudigozら[26]も8％という高い外妊合併頻度を指摘しており，子宮内膜症の発生や開腹などによる腹腔内操作，子宮中隔など子宮内障害物および異常卵管の存在が原因と考えられており，子宮奇形が外妊の間接的な誘因になりうることが示唆された．

まとめ

教室における516例の奇形子宮をAFSによる奇形子宮の分類に基づいて，その妊孕性を検討した．

子宮因子のみによる奇形子宮の不妊率は19.9％のみであり，その妊孕性は必ずしも低くはないと考えられる．反復流産例および子宮因子のみの不妊例では子宮形成術などの治療により流産率が減少し，早産率が増加した．このように妊娠持続期間が延長することにより，奇形子宮の妊孕性が向上するものと考えられる．子宮外因子合併症例に対しては，治療方法の再検討が必要であり，より効果的な診療の確立が望まれる．

長期不妊，反復性流産，子宮外妊娠，月経困難症などfertilityの低下が疑われる症例に対しては，従来の子宮造影法に加え腹腔鏡，経腟プローブによる超音波断層法などのより積極的な応用を試み，子宮奇形の早期診断を心掛ける必要がある．

(稿を終わるに臨み，ご懇篤な御指導，御校閲を賜りました恩師百瀬和夫教授に深謝するとともに，ご協力をいただいた教室員各位に深く感謝します。

なお，本論文の要旨は1989年13 th Asian & Oceanic Congress of Obstetric & Gynecologyおよび第101回日本不妊学会関東地方部会に発表した．)

文　献

1) AFS: The American Fertility Society classification of adnexal adhesion, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, müllerian anomalies and intrauterine adhesion, Fertil. Steril., 49: 944, 1988
2) Kessler, I., Lancet, M., Appelman, Z. and Borenstein, R.: Indication and results of metroplasty in uterine malformation, Int. J. Gynaecol. Obstet., 24: 137, 1986
3) 貴家寛而：子宮卵管造影法の実際，金原出版，1966
4) Heinonen, P. K. and Pystynen, P. P.: Primary infertility and uterine anomalies, Fertil. Steril., 40: 311, 1983
5) 仲野良介：排卵障害の診断と治療，永井書店，大阪，1981
6) Clement, P. B.: Endometriosis, lesions of the secondary müllerian system, and pelvic mesothelial proliferations. Blaustein's pathology of the female genital tract, Kurman, R. J., Springerverlag, New York Inc., 516, 1987
7) Groll, M.: Endometriosis and spontaneous abortion, Fertil. Steril., 41: 933, 1984
8) Wheeler, J. M., Johnston, B. M. and Malinak, L. R.: The relationship of endometriosis and spontaneous abortion, Fertil. Steril., 39: 656, 1983
9) Guzick, D. S.: Statistical analysis of infertility data. Infertility a comprehensive text, Seibel, M. M., Appleton & Lange. Norwark, Connecticut, 571, 1990
10) Cramer, D. W., Walker, A. M. and Schiff, I.: Statistical methods in evaluating the outcome of infertility therapy, Fertil. Steril., 32: 80, 1979
11) Guzick, D. S. and Rock, J. A.: Estimation of a model of cumulative pregnancy following infertility therapy, Am. J. Obstet. Gynecol., 140: 573, 1981
12) 桑原慶紀，藤井知行，五味淵秀人，藤井恭一，水野正彦：不育症－特に習慣性流産の診断をめぐって，産婦の世界，39：509，1987
13) Portuondo, J. A., Camara, M. M., Echanojauregui, A. D. and Caionge, J.:Müllerian abnormalities in fertile women and recurrent aborter, J. Repro. Med., 31: 616, 1986
14) 牧野恒久：不育症の総合的検索とその治療，Acta Obstet. Gynaec. Jpn., 41: 1015, 1989
15) 水野金一郎，万歳　稔，生田克夫，奥村　豊：子宮の形態異常と不妊症，産婦の世界，39：527，1987
16) Leppert, P. C., Yu, S. Y., Keller, S., Cerrta, J. and Mandl, I.: Decreased elastic fibers and demosine content in incompetent cervix, Am. J. Obstet. Gynecol., 157: 1134, 1987
17) 五味淵秀人，大神美子，竹田　省，桑原慶紀，水野正彦：奇形子宮と分娩－当科における過去16年間の統計，産と婦，52：1052，1985
18) 田崎清広，松本敏博，松永隆元，森永英徳，長末直樹，薬師寺道明：当教室過去5年間における子宮奇形合併の分娩例，医学研究，51：98，1981
19) Tulandi, T., Arronet, G. H. and McInnes, R. A.: Arcuate and bicornuate uterine anomalies and infertility, Fertil. Steril., 34: 362, 1980
20) Gray, S. E., Roberts, D. K. and Franklin, R. R.: Fertility after metroplasty of the septate uterus, J. Repro. Med., 29: 185, 1984
21) 杉並　洋：習慣性流産と子宮形態異常，産婦治療，60：265，1990
22) Jarcho, J.: Malformations of the uterus, Amer.

J. Surg., 71: 106, 1946
23) Fedel, L., Zamberletti, D., D' Alberton, A., Vercellini, P. and Candiani, G. B.: Gestational aspects of uterus didelphys, J. Reprod, Med., 33: 353, 1988
24) 百瀬和夫，宮崎知子：子宮奇形のX線像，産婦の実際，27：979，1978
25) 張　素瑛，小島栄吉，渡辺　肇，西村順一，大村　剛，平川　舜，百瀬和夫：奇形子宮の妊孕性について－とくに副角子宮において，産婦の実際，38：1235，1989
26) Rudigoz, R. C., Gaucherand, P. and Dargent, D.: Le pronostic obstetrical des malformations uterines, J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. Paris., 18:185,1989

A clinical research of malformed uterus and fertility

Su-Ying Chang

1st. Dept. of Obstetric & Gynecology,
School of Medicine, Toho University,
Tokyo 143, Japan
(Director: Kazuo Momose)

516 cases of Müllerian anomaly were studied. 41.9% of those was suffered from primary infertility and 19.9% of the infertility was caused by uterine factor. Others were combined with endocrine disorder (39.8%), endometriosis (18.1%), tubal factor (13.4%) and male factor (13.4%). After treatment of induction of ovulation, bonzol, hydrotubation, metroplasty etc, the observed cumulative pregnancy rate (0.269) was far below predicted (0.940).

The uterine anomaly found by HSG showed no significancy between 2 times (13.6%) & 3 times (15.0%) abortion, but even in one time abortion, 9% of the anomaly was found, it will be the indication of HSG.

After metroplasty, in repeated abortion cases, abortion rate decreased from 96.4% to 11.1%, and in the primary infertility both pregnant cases were combined with no other factor but uterine anomaly.

Comparing the fertility of all cases before and after visiting our hospital, the abortion rate decreased from 48.5% to 20,9% but the premature delivery rate increased from 3.7% to 9.5% and the duration of pregnancy was thought to be lengthened. The fetal survival rate then araised from 47.7% to 77.8% after treatment.

We think, in proper treatment, the fertility of uterine anomaly may be restored.

(受付：1990年7月20日特掲)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

産褥性乳汁漏出性無月経で低プロラクチン血症とトルコ鞍のempty sellaが認められた一症例

A Case of Puerperal Galactorrheal Amenorrhea and Hypoprolactinemia with Empty Sella Turcica

岐阜大学医学部産婦人科学教室
和田圭介　中川美紀　玉舎輝彦
Keisuke WADA　Miki NAKAGAWA　Teruhiko TAMAYA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Gifu University School of Medicine, Gifu 500, Japan

empty sella syndrome (ESS)は原発性のものはトルコ鞍横隔膜の先天的な欠損によるとされ，大部分は無症状であるが，ときに乳汁漏出や月経異常をきたすものがあることが知られている．今回低プロラクチン性の産褥性乳汁漏出無月経にESSを合併した症例を経験したので報告する．本患者は，今回の分娩前は、正常月経で妊娠しており，分娩後にESSを発症したものと考えられる．原発性のESSは女性，殊に経産婦に多いと言われており，ESSの発生機序を考える上で興味深い．

またこの症例をドーパミン作動薬の単独投与で治療したが，その結果，LH, FSH系の改善とともに，血中E_2の著明な分泌の上昇がみられ，排卵，妊娠に至った．ドーパミン作動薬による視床下部－下垂体－卵巣系に対する顕著な改善効果が確認された．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 10—14, 1991)

はじめに

産褥性乳汁漏出性無月経は，非腫瘍性のものは，Chiari-Frommel症候群ともいわれよく知られている．今回産褥性乳汁漏出性無月経であるが，トルコ鞍がいわゆるempty sellaの状態であり，低プロラクチン血症，低ゴナドトロピン血症を認め，さらにブロモクリプチンにより排卵，妊娠した症例を報告する．

症　例

患者は26歳（G1P1）で産後の無月経を主訴として昭和63年11月16日来院した．既往歴，家族歴に特記すべきことはなく，以前の月経歴では初潮が13歳で，月経は32日型，順調，持続7日間で，経血量は中等量で軽度の下腹痛，腰痛を伴っていたとのことである．

産科歴では今回の妊娠，分娩が始めてで，妊娠経過に異常はなく，患者は昭和62年3月28日2720 gの女児を満40週にて正常分娩し，授乳を分娩後10ヵ月間行なっていた．

入院時の理学的所見では体格正常，栄養中等度，身長160 cm，体重47 kg，血圧106／78，脈拍56／分，甲状腺，胸部打聴診，腹部触診，腱反射に異常所見が認められなかった．ただ両側の乳房を軽く圧迫すると，糸をひく程度の乳汁の漏出がみられた．また内診所見にも異常は認められなかった．

初診時血液検査所見では表1に示したように，一般血液検査，生化学的検査，尿検査に異常はなかった．内分泌学的な検査では，血中エストラジオール（E_2，E2キット第一；第一ラジオアイソトープ社：女性の卵胞前期の正常値35～150 pg/ml），プロラクチン（スパック－Sプロラクチン；第一ラジオアイ

表１　初診時検査成績

末梢血液検査及び血液生化学的検査			
RBC	$421\times10^4/\mu l$	LDH	270IU/l
WBC	$5500/\mu l$	T-Bil	0.1mg/dl
Hb	12.7g/dl	GOT	14IU/l
Ht	39.4%	GPT	8IU/l
Plt	$23.7\times10^4/\mu l$	ALP	121IU/l
尿検査：異常なし		T-CHO	260mg/dl
内分泌学的検査		TG	73mg/dl
E_2	38.6pg/ml	Na	138mEq/l
PRL	1.3ng/ml	K	4.3mEq/l
LH	1.2mIU/ml	Cl	103mEq/l
FSH	5.8mIU/ml	BUN	16.8mg/dl
FT_3	2.8pg/ml	Cr	0.7mg/dl
FT_4	1.02ng/dl	Ca	9.6mg/dl
TSH	$2.5\mu U/ml$	P	3.2mg/dl
GH	0.8ng/ml		
Cortisol	$14.9\mu g/dl$		

ソトープ社，女性の正常値　1.4～14.6 ng/ml)，LH (スパック－S　LH；第一ラジオアイソトープ社、女性の正常値 1.4～7.4 mIU/ml) は低値を示したが，FSH (スパック－S　FSH；第一ラジオアイソトープ社，女性の正常値 3.0～10.2 mIU/ml) $F\text{-}T_3$, $F\text{-}T_4$, TSH, GH，コーチゾールは正常範囲内であった．しかし，LH-RH テストによる LH, FSH や TRH テストによるプロラクチンは低反応を示した（図１）．

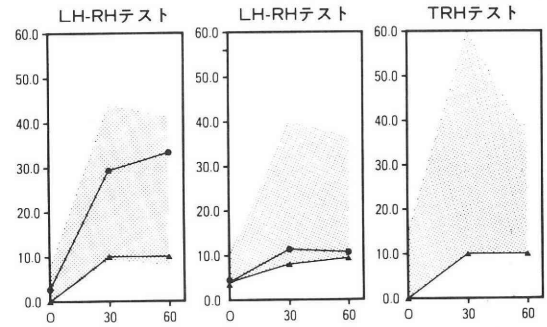


図１　治療前（●－●）およびターグライドにて治療後（▲－▲）の LH-RH test, TRH test に対する LH, FSH, PRL の反応

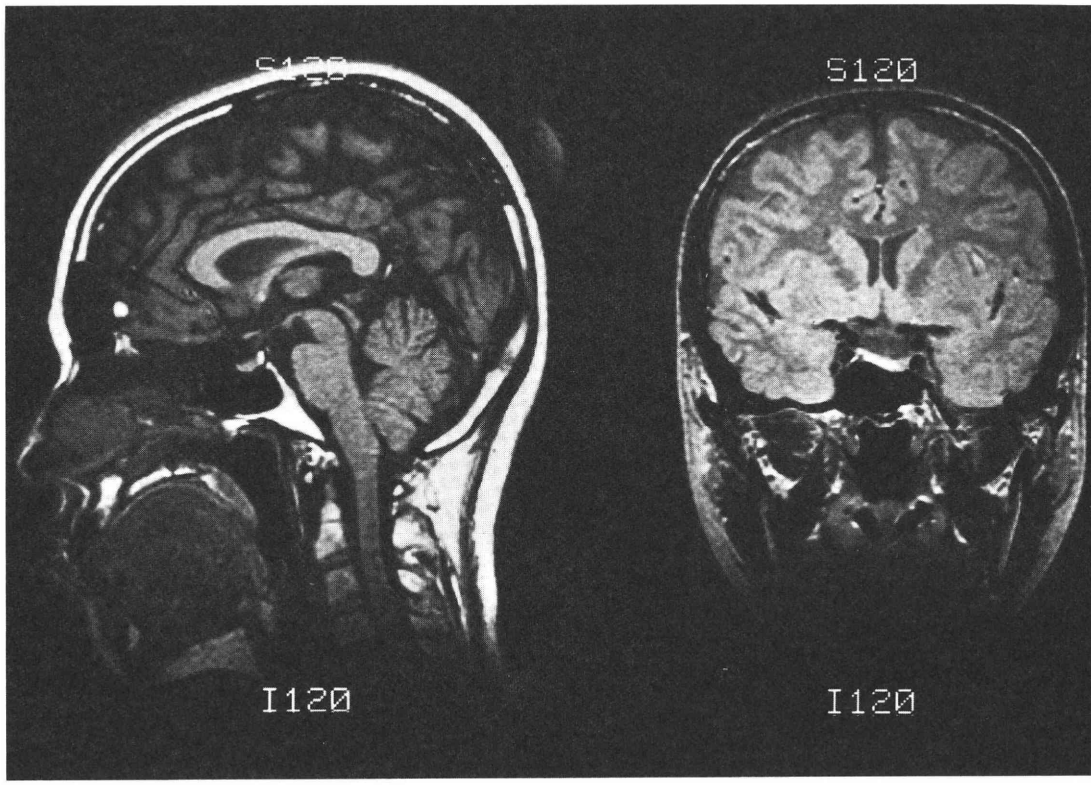


写真１　初診時のＭＲＩによるトルコ鞍所見
矢状断像（左）と冠状断像（右）

またトルコ鞍の核磁気共鳴装置（MRI）による所見では写真1にみられるように，トルコ鞍内に下垂体および下垂体茎がみられるが，下垂体は下後方へ偏移し，トルコ鞍は髄液と同一の像で占められており，いわゆるempty sellaの状態を呈していた．

治療経過は図2に示したように低プロラクチン血症であるが，乳汁漏出があり，無月経であることからドーパミン作動薬であるZK-31224(ターグライド：シェーリング社製）による治療を昭和63年12月10日から開始した．血中プロラクチン値は投与2週後で感度以下の低値となったが，乳汁分泌は投与1ヵ月で止った．ターグライド投与中，LHの基礎値は正常化し，またターグライドの投与前と投与12週後にLH-RH test（100 μg），TRH test（500 μg）を行なったところ，LHの反応性は正常化していた(図2)．しかし，血中のE_2の値には変化がみられなかった．患者にはターグライド投与終了の約1ヵ月後，基礎体温の上昇から排卵が推測され、その後月経の発来がみられた．しかし再びターグライド投与後2ヵ月で乳汁の漏出を認めるようになり，同じドーパミン作動薬であるが，やや構造式の異なる徐放性ブロモクリプチン製剤であるパーロデルーMR(PLO-MR；サンド社製)を投与した．投与2週後に乳漏は止り，図2，3に示すように投与前，投与8週後ではLH, FSHの基礎値，ならびにLH-RHテストのLH, FSHの反応性も正常であった．TRHテストによるプロラクチンの反応性も正常下限となった．また血中E_2は治療中に著明な上昇をした．基礎体温上昇より排卵は投与10週後にみられ，12週目にPLO-MRの投与を終了したが投与終了後1週間目に妊娠反応陽性(テストパック；ダイナボット社製感度501U/L)となった．妊娠満8週となった現在(平成元年12月1日)、妊娠経過は良好である．

考　察

empty sella syndrome (ESS)は一般に，原発性のものと，続発性のものに分けられる．原発性ESSはトルコ鞍横隔膜の先天的な欠損により，クモ膜がトルコ鞍内に髄液とともに陥入しその結果下垂体が下方に圧排され，トルコ鞍が空虚にみえるものを言う．これは剖検例の約5.5％に認められるといい[1]，無症状に経過することも多いと思われている．また近年，核磁気共鳴装置（MRI）によりトルコ鞍内の観察がより容易になされるようになり，原発性ESSもそれほど珍しいものでないことがわかってきたようである．このような先天的な解剖学的なトルコ鞍の横隔膜の欠損は約6倍の頻度で女性に多く，また女性のESSの75％が経産婦であると言われている[2,3]．症状は頭痛，視野障害が最も多く，内分泌学的異常，髄液漏などがあり，原発性ESSは肥満，高血圧症と関係するといわれている[4,5]．一方続発性ESSは下垂体手術後，放射線治療後，下垂体あるいは下垂体腫瘍の梗塞，壊死によりひきおこされるものである．

さて本症例は分娩後に乳汁漏出を伴う無月経を主

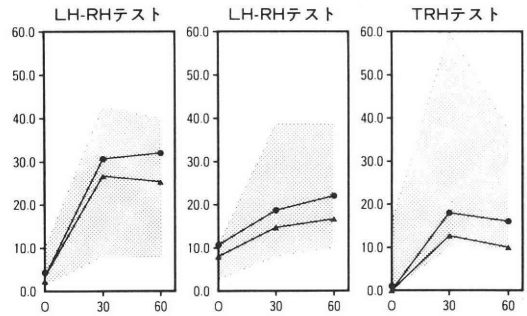


図3　PLO-MR治療前（●－●）および治療後（▲－▲）のLH-RH test, TRH testに対するLH, FSH, PRLの反応

	11月	ターグライド 12月	1月	2月	3月	5月	徐放性ブロモクリプチン 6月	7月	8月	9月
PRL (ng/ml)	0.7	感度以下	感度以下		感度以下	0.8	1.3 4.1	1.0> 1.0> 1.0>	1.2 1.0	
LH (mIU/ml)	0.6以下	0.6以下	0.9	0.6以下 1.0	1.4	3.2		3.5	0.9	妊娠反応陽性
FSH (mIU/ml)	4.2	3.6	4.4	3.3 3.9	3.6	6.1		10.3	7.6	
E_2 (pg/ml)	38.6	37.0	43.8	26.5 29.6	39.2	22.1		62.1	16.2	
TSH (μU/ml)	2.5				1.2	2.6		1.0	1.1	
Free-T_3 (pg/ml)	2.8				3.2	2.2			3.0	
Free-T_4 (ng/dl)	1.02				0.97	0.83			1.24	
GH (ng/ml)	0.8				1.2	2.0		7.1	5.3	
Cortisol (μg/ml)	14.3				9.2	6.4		6.9	7.8	
乳汁分泌	##	#	－ －	－ －	－	＋	－ －	－ － －	－ －	

図2　治療経過表および内分泌データ

訴として来院し，LH，プロラクチンが低値であり，かつ下垂体のMRIでトルコ鞍がempty sellaの状態であることが判明した症例である．

妊娠により下垂体の容量が増加することはよく知られており，妊娠後期には主にlactotrophの大きさと数の増加によって下垂体は非妊時の約2倍になるといわれている[6]．これが分娩後急速に萎縮，縮小してゆく．トルコ鞍横隔膜の先天的な欠損が女性に多く，また女性の原発性ESSの75％が経産婦である．これらのことを考え合わせると，妊娠がESSの発生機序に密接に関連することは容易に想像される．この症例ではこの妊娠以前には月経歴にも異常はなく，患者は自然に妊娠し，分娩に至っている．妊娠，分娩を契機として内分泌学的データに示されるような状態になり，その原因となるトルコ鞍内の異常が起こったものと思われる．すなわち，トルコ鞍横隔膜にそういう素因があって妊娠分娩を引金として症状のあるESSの状態になったと考えられる．

乳汁漏出症でプロラクチン値が正常範囲内にあるものは約24％あると報告されているが[7]，本症例でもプロラクチン値が0.7 ng/mlというむしろ低値であり，またTRH-testでも低反応であった．乳漏がみられたが，分娩後20ヵ月，授乳中止後10ヵ月ということを考慮に入れる必要がある．産褥中期以降の乳汁分泌にはプロラクチン値が高値であることを必要としないと言われ[8]，また出産に継続した乳汁漏出性の無月経の67％は正常プロラクチンであるという報告もある[9]．この様な時期の乳漏はプロラクチン基礎値とかTRHに対する反応とかには無関係である可能性がある．

一方，原発性ESSは下垂体の機能異常を伴わないものが約85％にみられ，機能異常を伴う15％のうちプロラクチン値の高低にかかわらず乳汁漏出を認めるものは約4％から8％あるといわれている[10,11]．正常範囲内のプロラクチン値で乳漏をきたしたものは現在までのところ一例の報告があるのみである[12]．David等によると[13]正プロラクチン血症のESSの患者では，TRHやL－ドーパにたいする反応性に異常はないが，クロルプロマジンにたいする反応低下があり，プロラクチンの調節機構に障害があるのではないかとしている．またJames等は[12]気脳写のみで乳漏が止り，月経が回復した正プロラクチン血症のESS患者の報告をしている．これなどはESSによって惹起された，おそらく物理的な要因による視床下部－下垂体のプロラクチン系の異常を示している．

したがってESSの場合にはこうしたことも考慮に入れねばならず本症例の乳漏の説明をつけることは非常に難しい．

本症例にドーパミン作動薬にて治療を試みた．その結果，ターグライド0.5 mg／日の投与では，投与後4週間で乳漏の停止，12週間の投与終了後4週後に排卵がみられ，またLH-RHテストでLHは反応性の回復を示したが，FSHは示さなかった．この時，排卵にいたったが妊娠にはいたらなかった．2ヵ月後に再び乳漏がみられ，徐放性パーロデル2.5 mg／日を投与すると2週間後に乳漏は停止し，10週間後に排卵があり，この周期に妊娠が成立した．投与前よりLH，FSHなどの基礎値の改善がみられ，LH-RHテストによるLH，FSHの反応性の改善もみられた．最近ブロモクリプチンは卵巣でのテストステロンからE_2への芳香化を直接刺激する可能性があるとの報告もある[14]．これらにより卵巣機能が改善し，その結果排卵がみられ，これが妊娠成立へとつながったと思われた．したがって，最初に投与したターグライドにより視床下部－下垂体系が改善され，つづいて徐放性パーロデルにより，視床下部－下垂体－卵巣系が改善されたものと考えられた．

文　献

1) Busch, W.: Die Morphologie der Sella Turcica and ihre Beziehungen zur Hypophyse, Arch. f. Path. Anat., 320: 437, 1951
2) James, R. H. and Grant, G.: The Empty Sella Syndrome, J. Oral Maxillofac, Surg., 41: 463, 1983
3) Raymond, R.: Empty Sella Syndrome, Comprehensive Therapy, 10 (4): 57, 1984
4) Robert, M. M.: The Empty Sella Syndrome. A Review of 14 Cases, Trans. Ophthal. Soc. U. K., 103: 537, 1983
5) Stanhope, R. and Adlard, P.: Empty Sella Syndrome, Develop. Med. Child Neurol., 29: 394, 1987
6) Samuel, S. C. Y. and Robert, B. J.: Reproductive Endocrinology, ed 2, 238, W. B. Saunders Company, 1986
7) 倉智敬一：プロラクチン，314，南山堂，1984
8) Tyson, J. E. and Friesen, H. G.: Human lactational and ovarian response to endogenous prolactin release, Science, 177: 897, 1972
9) 今井龍幸，安田圭吾，三浦　清：Galactorrhea-Amenorrhea Syndrome (GAS)に関する臨床的研究，日内分泌会誌，64：1，1988
10) Brismar, K. and Efendic, S.: Pituitary Function in the Empty Sella Syndrome, Neuroendocrinol, 32: 70, 1981
11) Walter, F., Harry, S. Jr. and James, E. H.:

Dissociation of serum prolactin response to sequential thyrotropin-releasing hormone and chlorpromazine stimulation in patients with primary empty sella syndrome, Fertil. and Steril., 42: 573, 1984

12) James, R. J., Patricia, A., Conard, H., Ekkehard. K. and Michael, S. T.: Galactorrhea and Amenorrhea in a Patient with an Empty sella, Obstet. Gynecol., 49: 9, 1977

13) David, L. K., Gordon, L. N. and Andrew G. F.: Galactorrhea: A Study of 235 Cases, Including 48 with pituitary tumors, The New Eng. J. MED., 296: 589, 1977

14) Hannu, M., Juha, T., Lars, R., Mauri, O., Ulla, P. and Antti, K.: Prolactin supression by bromocriptine stimulates aromatization of teststerone to estradiol in women, Fertil. Steril., 52: 51, 1989

A case of puerperal galactorrheal amenorrhea and hypoprolactinemia with empty sella turcica

Keisuke Wada, Miki Nakagawa and Teruhiko Tamaya

Department of Obstetrics and Gynecology, Gifu University School of Medicine, Gifu 500, Japan

Primary empty sella syndrome (PESS) is caused by the congenital defect of the diaphragma of the sella turcica, allowing herniation cerebral spinal fluidcontaining cistern into the sella and the pituitary gland is flattend and displaced.

A report of a 26-year-old patient with amenorrhea, galactorrhea and hypoprolactinemia who was shown, by MRI, to have an empty sella is presented. Endocrinologic testing revealed hypogonadism, hypoprolactinemia, and low LH, FSH, PRL response to LH-RH test and TRH test. TSH, T_3, T_4, GH, and Cortisol were in normal range.

Before her previous delivery, she had normal menses and no galactorrhea, there fore this ESS was suggested to be triggered by the pregnancy and delivery.

After the treatment with only Dopamine agonists for 12 months, spontaneous ovulation occurred and she has conceived now. We ascertained that these dopamine agonists (ZK31224; terguride and PLO-MR; Parlodel modified release capsule) solely improved the hypothalamus-pituitary-ovarian axis significantly.

(受付：1990年2月5日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

LEVELS OF ENDOTHELIN IN MATERNAL BLOOD DURING PREGNANCY AND ON THE POSTPARTUM DAY, AMNIOTIC FLUID AND UMBILICAL CORD BLOOD, AND THEIR RELATIONSHIP TO RENIN ACTIVITY, ANGIOTENSIN I, ANGIOTENSIN II, ALDOSTERONE AND ATRIAL NATRIURETIC PEPTIDE LEVELS, FETAL SEX, FETAL BIRTH WEIGHT, PLACENTAL WEIGHT, UMBILICAL CORD LENGTH AND APGAR SCORE

Satoshi USUKI, Sayuri KUBOTA,

Yoshihito ICHIKAWA and Masato OKANE

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

Abstract: As compared with the endothelin-1 (endothelin) levels in age-matched normal cycling nonpregnant women, the levels before 16 weeks of gestation decreased significantly ($p<0.01$), but increased later to the same levels as in nonpregnant women. The levels of endothelin were significantly ($p<0.05$) correlated with renin activity during normal pregnancy, but not significantly interrelated with the angiotensin I (Ang-I), angiotensin II (Ang-II), aldosterone and ANP levels. The endothelin levels in amniotic fluid and umbilical cord blood were not significantly interrelated with the renin activity, Ang-I, Ang-II, aldosterone and ANP levels. The plasma and amniotic fluid endothelin levels were also found not to be significantly interrelated with fetal sex, fetal birth weight, umbilical cord length or Apgar score at 1 or 5 minutes, as well with those of renin activity, Ang-I, Ang-II, aldosterone or ANP. The maternal plasma endothelin level on the postpartum day decreased rapidly after delivery, as well as the renin activity, Ang-I, Ang-II, aldosterone and ANP levels. However, the big endothelin (1-38) concentration was remarkably lower in amniotic fluid compared with the endothelin concentration.

As for complicated pregnancies, the plasma endothelin level before 28 weeks of gestation in toxemic pregnancy was significantly ($p<0.001$) higher compared with that in non-complicated pregnant women. Furthermore, three severe cases, one with severe toxemia of pregnancy and IgA nephropathy, which caused intrauterine fetal death (IUFD), and two who received massive blood transfusions, followed by disseminated intravascular coagulopathy (DIC), due to uterine atonic bleeding or abruptio placentae, had relatively higher levels of plasma endothelin during and/or

after pregnancy. However, the plasma endothelin levels after 29 weeks of gestation in toxemic pregnancy or other complicated pregnancies (placenta praevia, idiopathic thrombocytopenia (ITP), Banti's syndrome, Hashimoto's disease, epilepsy, twins, triplets, hydramnios and hydrops fetalis) were not significantly different from those in non-complicated pregnant women, and amniotic fluid and umbilical cord blood at term delivery. In addition, the grade or severity of toxemia of pregnancy did not have a primary effect on the endothelin concentration.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 15—27, 1991)

Introduction

Recently, it was reported that endothelin inhibits renin release[1], as well as several vasoconstrictor hormones, such as Ang-II, vasopressin and noradrenaline[2]. In addition, endothelin increases the total peripheral resistance, atrial pressure, left atrial pressure, hematocrit, and the plasma levels of vasopressin, renin, aldosterone, norepinephrine, epinephrine and atriopeptin[3]. During pregnancy, renin, angiotensin (Ang), aldosterone and ANP are well known to be closely interrelated with each other as to the regulation of electrolytes and blood pressure[4,5]. Recently, we[6] reported increased maternal plasma concentration of endothelin during labour pain or on delivery and the existence of a large amount of endothelin in amniotic fluid. These results lead us to suggest that endothelin is also closely related with renin, Ang, aldosterone and ANP during pregnancy.

As a step toward understanding the role of endothelin during pregnancy, the present study was performed to determine the concentrations of endothelin in maternal blood during normal gestation, and to compare its relationships to the renin activity, Agn-I, Ang-II, aldosterone and ANP levels, fetal sex, fetal birth weight, placental weight, umbilical cord length and Apgar score at 1 or 5 minutes. Furthermore, the endothelin concentrations were also determined in toxemic or other complicated pregnancies.

Materials and Methods

Samples

Blood and amniotic fluid were obtained during gestation, delivery and the post-partum period as described previously[6], and three fetal urine samples were also obtained from fetuses at the time of delivery. Blood was collected from forty-six non-pregnant healthy female volunteers exhibiting cyclic menstruation, as a control. The samples were centrifuged at 3,000 x g for 10 minutes at 4℃ immediately and each supernatant was stored at -80℃ until endothelin, renin activity, Ang-I, Ang-II, aldosterone and ANP were assayed.

Sandwich-enzyme immunoassay for endothelin-1 and big endothelin-1

Immunoreactive endothelin and big endothelin-1 were measured by the sandwich-EIA method after concentration with Sep-pak C-18 cartridges. The assay procedure will be described in detail elsewhere[6].

Measurement of renin activity, angiotensin I, angiotensin II, aldosterone and atrial natriuretic peptide

Renin activity, Ang-I and Ang-II were assayed by means of a radioimmunoassay[7]. Aldosterone was assayed by means of a radioimmunoassay using a commercial kit (Aldoc TK 125; Midori Juji, Tokyo, Japan). The coefficients of intra-assay and inter-assay variance were 6.9±2.2 and 10.7±3.0% (n=13), respectively. Radioimmunoassaying of ANP was performed with synthetic ANP (Peptide Institute Inc., Osaka, Japan) and ^{125}I-labeled ANP (Amersham International Ltd., London, England). The coefficients of intra-assay and inter-assay variance were 6.5±1.3 and 6.2±0.0% (n=30), respectively.

Others

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

Results

Endothelin levels during pregnancy, and their relationship to the renin, aldosterone, and atrial natriuretic peptide levels during pregnancy

The maternal venous plasma endothelin levels (mean±SD) during normal pregnancy without labour pain were as follows: before 16 weeks, 0.77±0.17 pg/ml (n=22); 17-28 weeks, 1.05±0.17 pg/ml (n=18); before 29 weeks, 0.83±0.21 pg/ml (n=40); and 29-41 weeks, 0.98±0.33 pg/ml (n=62), being not significantly correlated with gestational age (Fig. 1). The value at 29-41 weeks of pregnancy was significantly higher than that before 16 weeks or before 29 weeks of pregnancy ($p<0.01$ and $p<0.05$, respectively), being not significantly different from that at 17-28 weeks of pregnancy. The levels in amniotic fluid, and umbilical cord arterial and venous blood were significantly ($p<0.001$, $p<0.001$ and $p<0.001$, respectively) higher than those at term delivery or during pregnancy with labour pain, while the level in maternal blood at term delivery was not significantly different compared with that in term pregnancy with labour pain.

As for the relationship to renin, aldosterone and ANP, the endothelin level was significantly ($p<0.05$) interrelated with the renin activity (before 16 weeks of pregnancy, 5.96±0.54 ng/ml/hour; 17-28 weeks, 7.20±1.06 ng/ml/hour; and 29-41 weeks, 6.41±0.94 ng/ml/hour), whereas it was not significantly related with the aldosterone level (before 16 weeks of pregnancy, 329.67±30.50 pg/ml; 17-28 weeks, 570.45±39.97 pg/ml; and 29-41 weeks, 746.12±43.48 pg/ml) or the ANP level (before 16 weeks of pregnancy, 41.52±11.14 pg/ml; 17-28 weeks, 49.13±10.35 pg/ml; and 29-41 weeks, 65.51±16.84 pg/ml) (Fig. 1). The endothelin level was, furthermore, not significantly interrelated with the maternal plasma Ang-I or Ang-II level (data not shown).

Time course of the endothelin concentration dur-

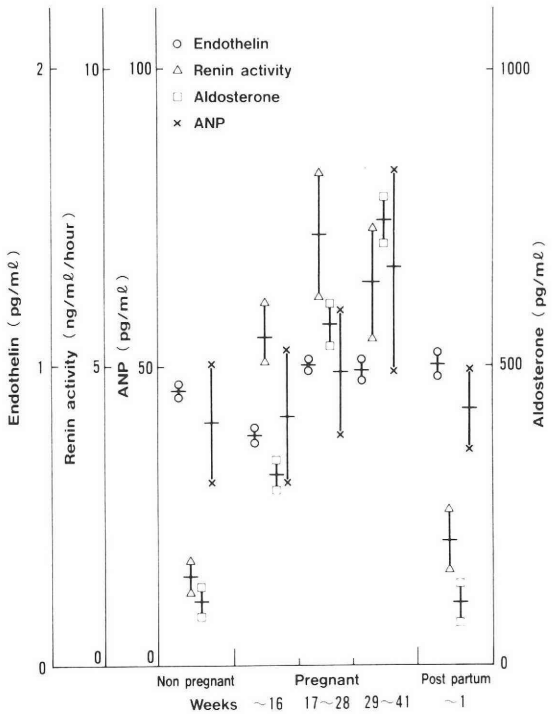


Fig. 1 Plasma endothelin, renin, aldosterone and ANP concentrations in normal pregnant women without labour pain, and nonpregnant and postpartum women. ○, endothelin; △, renin activity; □, aldosterone; ×, ANP; the vertical lines indicate the range of each concentration and the horizontal lines the mean.

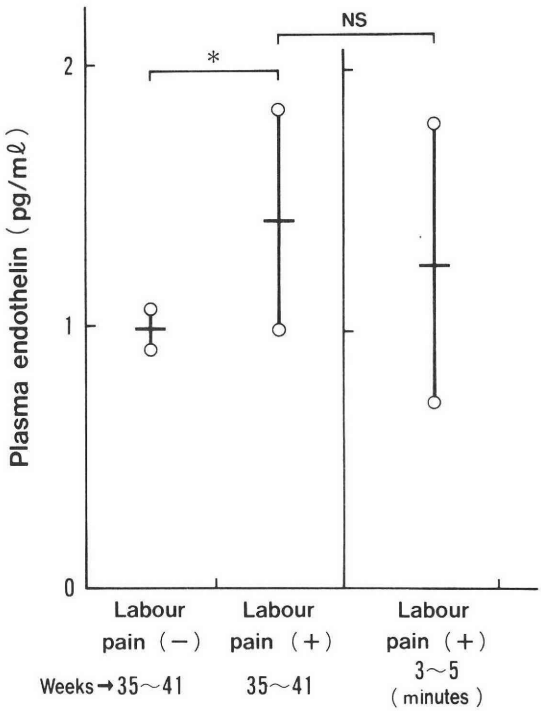


Fig. 2 Comparison of the endothelin concentrations in normal pregnant women without labour pain with those in women with labour pain. Circles connected by lines indicate the range of endothelin concentrations in each time period and the bars the means. *, $P<0.02$; NS, not significant.

ing labour pain

The endothelin concentration varied with advancing delivery, not significantly differing as to the intervals or strength of labour pains (Fig. 2).

Endothelin levels in maternal blood, umbilical cord blood, amniotic fluid at term delivery and infant urine just after delivery, and their mutual relationships to the levels of renin, angiotensin I, angiotensin II, aldosterone and atrial natriuretic peptide, fetal sex, fetal birth weight, placental weight, umbilical cord length and Apgar score (1 or 5 minutes)

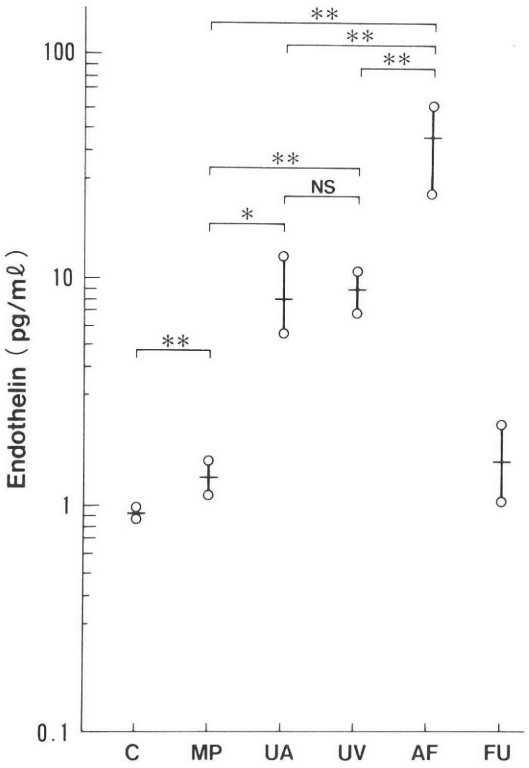


Fig. 3 Endothelin concentrations in maternal plasma, umbilical cord arterial and venous plasma, and amniotic fluid on normal term delivery and in infant urine just after delivery. C, control plasma from normal non-pregnant female volunteers (n=46); MP, maternal plasma (n=9); UA, umbilical cord arterial plasma (n=8); UV, umbilical cord venous plasma (n=8); AF, amniotic fluid (n=18); FU, fetal urine. Each sample was subjected to endothelin measurement as described in the text. Note the logarithmic endothelin concentration scale. Circles connected by lines indicate the range of endothelin concentrations and the horizontal bars the means. *, $P<0.01$; **, $P<0.001$; NS, not significant.

The endothelin levels in the plasma of umbilical cord arterial and venous blood (8.04 ± 2.37 and 8.61 ± 1.67 pg/ml, n=8 each, respectively) and in amniotic fluid (43.30 ± 16.03 pg/ml, n=18) were significantly ($p<0.001$, $p<0.01$ and $p<0.001$, respectively) higher than that in the maternal blood at delivery (1.52 ± 0.32 pg/ml) or with labour pain (1.42 ± 0.44, n=10) (Fig. 3). The level in amniotic fluid was, furthermore, significantly higher than those in the umbilical cord arterial and venous blood ($p<0.001$ and $p<0.001$, respectively), while there was no significant difference in the endothelin level between umbilical cord arterial and venous blood. In addition, the levels in maternal blood at normal term, amniotic fluid and umbilical cord blood were also not significantly interrelated with fetal sex, fetal birth weight or

Table 1. Endothelin concentration in amniotic fluid, and fetal sex, fetal birth weight and placental weight.

	Case	Age	GW	FS	BW	PW	AF(pg/ml)	LP
1	M.T.	34	25	F	944	230	35.00	+
2	T.S.	35	26	M	904	216	122.00	+
3	I.Y.[a]	30	33	F	2,680	890	53.00	−
4	M.H.	28	35	F	2,117	276	27.00	−
5	K.K.	33	35	F	2,290	290	50.00	+
6	Y.N.	24	38	M	2,666	350	34.80	+
7	C.T.	36	39	F	2,600	348	57.00	+
8	N.I.	24	39	F	3,315	440	28.00	+
9	N.M.	33	39	F	2,907	454	33.70	−
10	K.H.	31	40	F	3,420	480	30.20	−
11	M.O.	29	40	M	3,675	700	24.70	+
12	Y.H.	30	40	M	2,366	330	31.00	+
13	M.K.	33	40	F	3,112	650	19.30	+
14	A.S.	27	41	F	3,245	442	42.00	+
15	K.T.	28	41	F	2,823	406	75.50	+
16	M.H.	27	41	F	3,514	425	75.00	+

[a]Banti's syndrome.
GW, gestational weeks;
FS, fetal sex; F, female; M, male;
BW, fetal birth weight;
PW, placental weight;
AF, amniotic fluid;
LP, labour pain; +, positive; −, negative.

placental weight, as well as with renin, Ang-I, Ang-II, aldosterone or ANP (Tables 1 and 2). The same results were obtained for the umbilical cord length and Apgar score at 1 or 5 minutes (data not shown).

The endothelin level in amniotic fluid was also high (64.38±33.90, n=4) between 25 and 33 weeks of gestation, being not significantly different from that at term delivery. In addition, there were no significant differences in the amniotic fluid endothelin level between normal vaginal delivery, amniocentasis and operative delivery, such as cesarean sectioning, forceps delivery and so on (data not shown). The endothelin level in urine taken from babies just after delivery was 1.80±0.65 pg/ml (n=3) (Fig. 3), however, no endothelin was detected in adult urine.

Levels of endothelin, renin, angiotensin I, angiotensin II, aldosterone and atrial natriuretic peptide on the postpartum day and their mutual relationships

The maternal plasma endothelin level rapidly decreased after delivery, reaching the level before 16 weeks of pregnancy within 12 postpartum days. The levels during the postpartum period were as follows: within the lst postpartum day, 1.36±0.44 pg/ml (n=8, not significantly different from that at delivery); lst postpartum day, 0.97±0.22 pg/ml (n=8, $p<0.01$ compared with that at delivery); 3rd postpartum day, 1.05±0.5 pg/ml (n=5, not significantly different compared with that at delivery); 4-5th postpartum day, 0.94±0.11 pg/ml (n=8, $p<0.01$ compared with that at delivery); and 12-33th postpartum day, 0.78±0.08 pg/ml (n=9, $p<0.001$ compared with that at delivery). The endothelin level on the postpartum day was significantly ($p<0.05$) correlated to those of renin, Ang-I, Ang-II, aldosterone and ANP (Fig. 1 and Table 2).

Endothelin and big endothelin concentrations in maternal plasma at delivery and on the postpartum day, amniotic fluid and umbilical cord plasma

The concentration of big endothelin was higher than that of endothelin in maternal plasma at delivery and on the postpartum day, and umbilical cord plasma, while the concentration of big endothelin was definitely lower than that of endothelin in amniotic fluid (Table 3).

Tissue concentration of placental endothelin

The endothelin concentrations in placental tissue with poor and rich decidual tissue were 270±50 pg/g tissue (n=5) and 910±100 pg/g tissue (n=5), respectively, there being a significant ($p<0.001$) difference between the two. In addition, the endothelin concentration was significantly ($p<0.05$) higher in the decidual membrane than that in the amniotic and chorionic membranes (data not shown). Furthermore, these membranes in monolayer culture have shown the continued

Table 2. Renin activity, and angiotensin I, angiotensin II, aldosterone and ANP concentrations in maternal plasma at term delivery and on the postpartum day, umbilical cord plasma and amniotic fluid.

	MP	UA	UV	AF	Postpartum	
					1[a]	3[a]
Renin (ng/ml/hour)	6.58±3.95	17.08±7.98	16.27±9.36	10.16±3.30	2.39±0.17	3.05±1.57
Angiotensin I (ng/ml)	4.33±2.75	8.12±4.35	9.82±5.17	3.54±1.86	0.15±0.10	0.11±0.06
Angiotensin II (pg/ml)	306.28±101.37	452.87±410.19	663.91±587.87	644.78±545.39	6.80±0.70	6.94±4.71
Aldosterone (pg/ml)	582.48±274.58	1032.90±444.48	887.05±394.40	477.10±421.76	131.50±19.7	80.14±54.99
ANP (pg/ml)	72.40±13.76	58.50±17.80	40.60±11.31	7.63±3.80	43.43±9.97	42.92±6.72

MP, maternal plasma; UA, umbilical cord arterial plasma; UV, umbilical cord venous plasma; AF, amniotic fluid. [a]postpartum day.

Table 3. Comparison of the endothelin (1-21) and big endothelin (1-38) concentrations in maternal and umbilical cord plasma, and amniotic fluid.

	MP		AF[a]			UA	UV	PPD[b]	
	Term	Delivery	1	2	3			1	3
Endothelin (1-21) (pg/ml)	1.3	1.5	42.0	50.5	28.0 (40.2±9.3)	6.0	8.3	1.2	1.0
Big endothelin (1-39) (pg/ml)	5.5	6.1	11.5	3.7	2.9 (6.0±3.9)	7.9	12.8	4.9	3.9

MP, maternal plasma ; AF, amniotic fluid ; UA, umbilical cord arterial plasma ; UV, umbilical cord venous plasma ; PPD, postpartum days.

[a] numbers indicate different samples.

[b] numbers denote postpartum days.

All samples except for AF 2 and 3 were obtained from the same woman.

[c] Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp-Val-Asn-Thr-Pro-Glu-His-Val-Val-Pro-Tyr-Gly-Leu-Gly-Ser-Pro-Arg-Ser (Human, M.W. 4282.9)

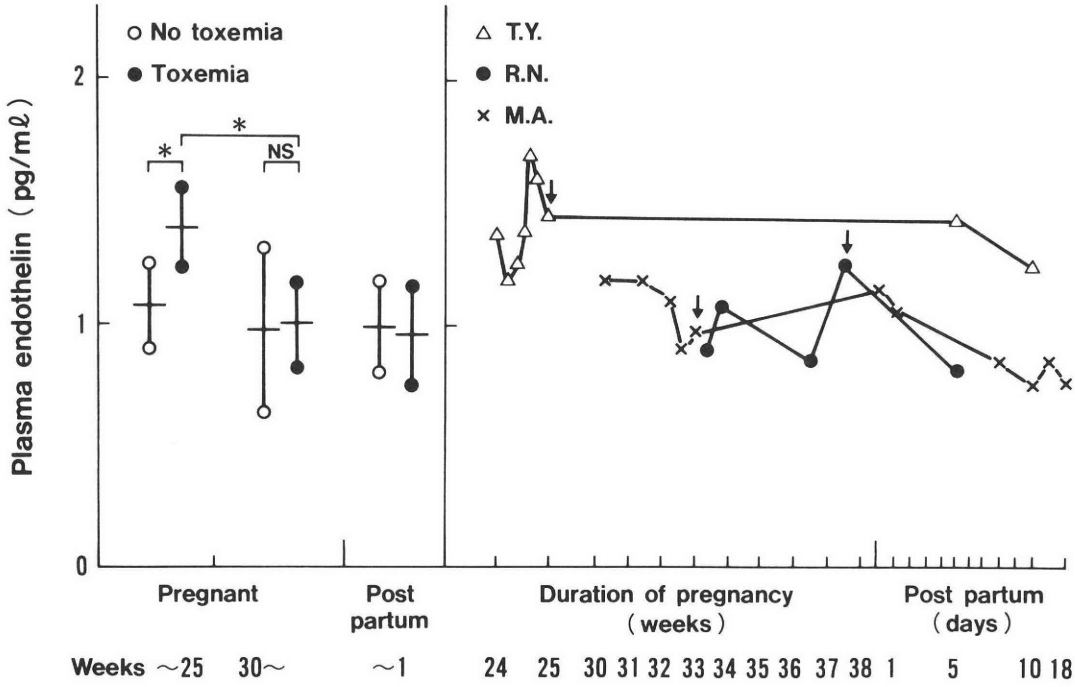


Fig. 4 Comparison of the plasma endothelin concentration in normal and toxemic pregnant women, and serial plasma endothelin concentrations. in two severe cases of toxemia.

The circles indicate the range of endothelin concentrations and the bars the means. The three severe cases are shown on the right.

T. Y., 30 years old, had IgA nephropathy and severe toxemia of pregnancy with hypertension (140-190/systolic and 90-130 mmHg/diastolic), proteinuria (316-696 mg/dl) and edema (+). Her creatinine clearance (CCr) ranged from 12.1 to 56 before delivery. On March 17, 1989, labour pain was induced with prostaglandin $F_{2\alpha}$ (Ono Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) for maternal safety, IUFD occurred during delivery and she gave birth to a female infant (590g) at 24 weeks and 6 days of pregnancy. Her toxemic state impoved gradually after delivery and she was discharged on April 17, 1989. The

plasma endothelin, renin and aldosterone concentrations were 1.24 pg/ml, 2.4 ng/ml/hour and 32.5 ng/dl, respectively, on the 11th postpartum day.

M. A., 33 years old, had pure severe toxemia of pregnancy with hypertension (140-176/systolic and 90-110 mmHg/diastolic), proteinuria (260-944 mg/dl) and edema (+). Her CCr ranged from 102.5 to 144.6 before delivery. She was treated with hydralazine (Apresoline ®, 30 mg/day), antithrombin III (Anthrobin, AT III, BI 2.013, diluted 1500 times/day) plus heparin (5000 IU/day) from March 3 to March 16 (14 days) without efficacy. On March 17, 1989, she gave birth to a male appropriate-for-date infant (1650g) at 33 weeks of pregnancy, by means of cesarean sectioning. The plasma endothelin, renin and aldosterone concentrations were 1.18, and 0.98 pg/ml, 0.3 and 1.04 ng/ml/hour and 5.5 and 10.02 ng/dl at 31 and 33 weeks of pregnancy, respectively, and the plasma Ang-I and Ang-II levels at 33 weeks of pregnancy were 37.3 ng/ml and 71.8 pg/ml, respectively. A renal biopsy 2 weeks after delivery showed pure toxemia (focal proliferation glomerulonephritis [IgA nephropathy]). Her toxemic state improved after delivery and she was discharged on April 13, 1989.

R. N., 27 years old, had severe toxemia of pregnancy with hypertension (130-168/systolic and 76-110 mmHg/diastolic), proteinuria (16-80 mg/dl) and marked edema (+++). Her CCr ranged from 64.8 to 117 before delivery. She was treated with hydralazine (30 mg/day) plus heparin (5000 IU/day) from January 31 to February 13 (14 days), 1989, with efficacy. However, she developed eclampsia on four occasions at 37 weeks and 3 days of pregnancy on February 28, 1989, and then cesarean sectioning was carried out. The infant was a male appropriate-for-date healthy infant (3082g). The plasma endothelin, renin, Ang-I, Ang-II and aldosterone concentrations were 1.24 pg/ml, 0.76 ng/ml/hour, 18.0 ng/ml, 3.5 pg/ml and 19.5 ng/dl, respectively, on February 28, 1989, just after the eclampsia. She recovered after delivery and was discharged on March 13, 1989. Vertical arrows indicate the time of delivery. *, $P<0.001$; NS, not significant.

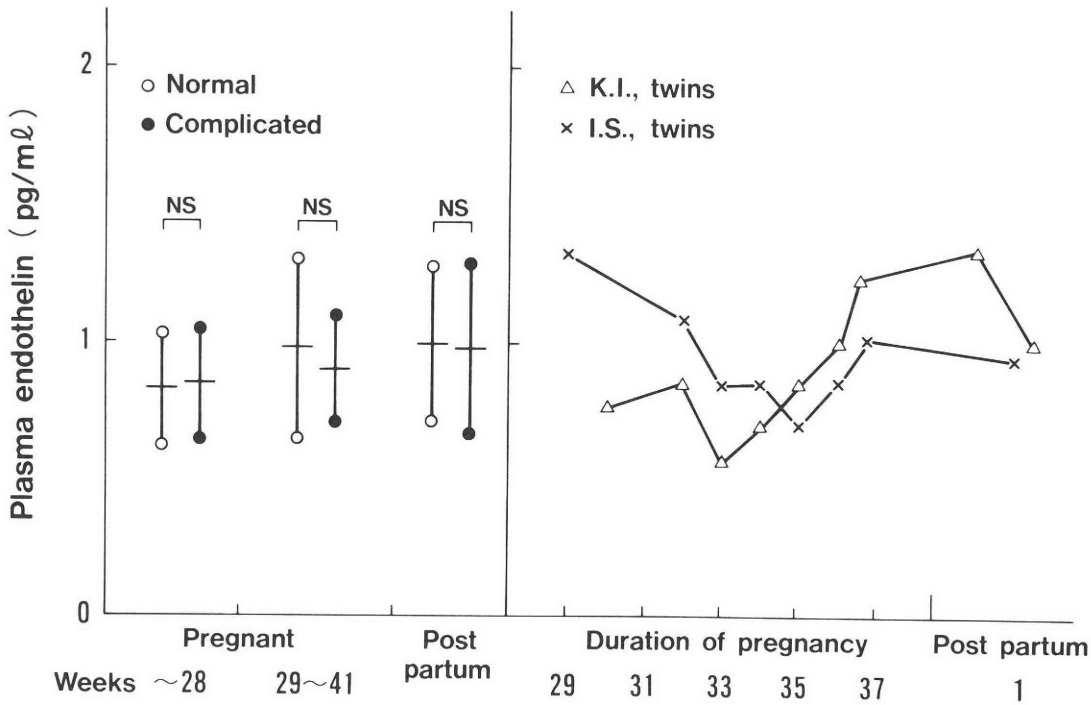


Fig. 5 Comparison of the plasma endothelin concentrations in normal pregnant women, and pregnant women with the complications of ITP, Banti's syndrome, Hashimoto's disease, epilepsy, partial and total placenta praevia, hydroamnion, twins, triplets, hydrops fetalis and hydrocephalus. The circles indicate the range of endothelin concentrations and the horizontal bars the means. The serial plasma endothelin concentrations in the two women with twins

are shown on the right.

K. I., 33 years old, gave birth to two healthy female infants (2002 and 2262g) at 36 weeks and 2 days of pregnancy.

I. S., 21 years old, gave birth to two healthy infants (2507 and 2822g) at 36 weeks and 4 days of pregnancy because of fetal collision. NS. not significant.

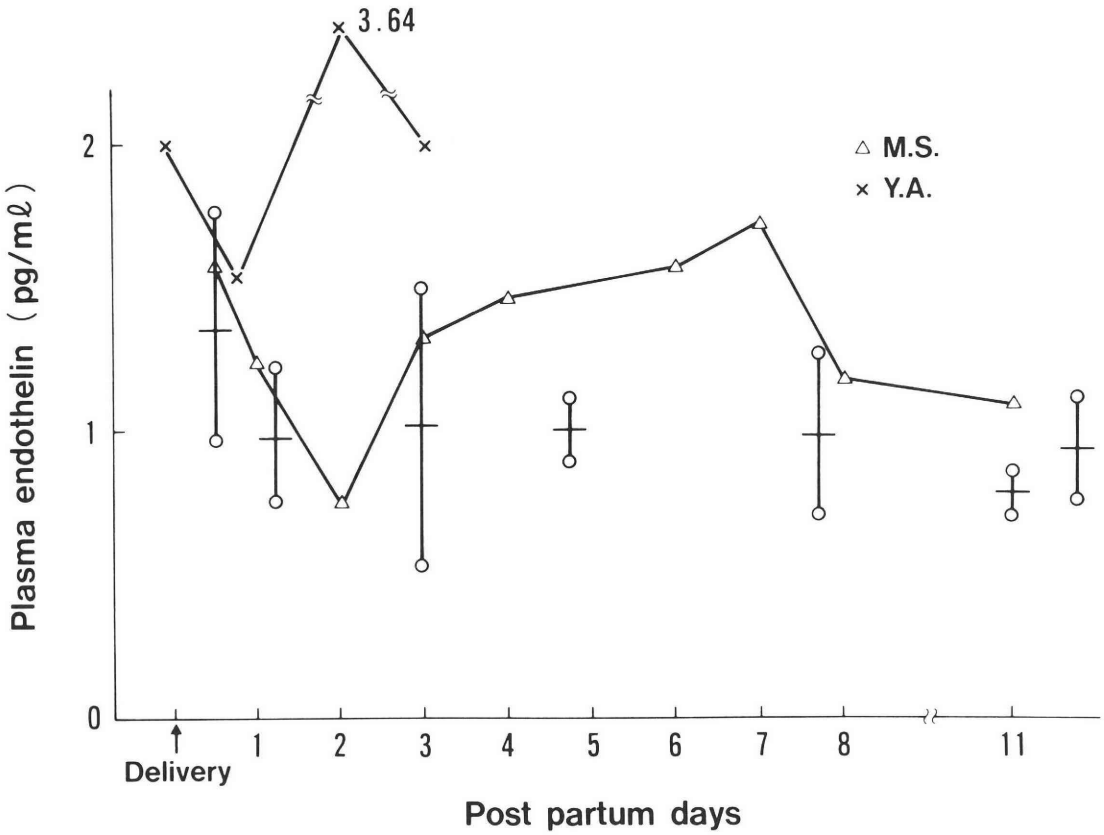


Fig. 6 Changes in the plasma endothelin concentration before and after medical treatment in two women who developed massive blood loss and received blood transfusions. Open circles connected by lines indicate the range of plasma endothelin concentrations in normal women and the horizontal bars the means.

M. S., 25 years old, developed uterine atonic bleeding just after delivery of a normal female infant (2545g) without any use of instruments at 40 weeks of pregancy on September 6, 1989, the blood loss reached 5689 ml in total, DIC appeared, and she received 4000 ml of blood by transfusion and several drugs (prostaglandins, oxytocin, fibrinogen, FOY and so on). She recovered completely and was discharged on September 21, 1988.

Y. A., 32 years old, developed abruptio placentae with IUFD after external rotation of the fetus at 29 weeks and 5 days of pregnancy on September 18, 1988, and subsequently cesarean sectioning was performed. The infant was male (1615g). She lost 2593 ml of blood, developed DIC, and received 600 ml of blood by transfusion and several drugs (prostaglandins, FOY, fibrinogen and so on). She recovered after the treatment and was discharged on October 1, 1988.

release of endothelin (data not shown).

Complicated pregnancies

In toxemic pregnancy, the endothelin levels before 25 weeks of pregnancy and at 30-39 weeks of pregnancy were 1.40 ± 0.16 pg/ml ($n=8$) and 1.04 ± 0.30 ($n=71$), respectively, the level of the former, but not the latter, being significantly ($p < 0.001$) higher than that in normal pregnant women

(Fig. 4). Treatment for toxemia, such as hydralazine (Apresoline®; Ciba-Geigy, Tokyo, Japan), antithrombin III (Anthrobin®, AT III, BI 2.013; Hoechst, Tokyo, Japan) and heparin sodium (NOVO Industry A/V, Bagsvaerd, Denmark), also had no influence on the plasma endothelin concentration. In one case with severe toxemia and IgA nephropathy, in whom IUFD occured at 24 weeks of pregnancy, the endothelin level was higher during and after delivery. However, the endothelin concentration in toxemic pregnancy was not significantly interrelated with renin activity, or the Ang-I, Ang-II, aldosterone or ANP concentration (data not shown).

In pregnancies associated with other complications, such as placenta praevia, ITP, Banti's syndrome, Hashimoto's disease, epilepsy, twins, triplets, hydramnios and hydrops fetalis, the endothelin concentration tended to somewhat decrease, being not significantly different compared with that in normal pregnancy (Fig. 5). In contrast, in two women who received blood transfusions or extensive drug therapy, such as cabexate mesilate (FOY; Ono Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan) and so on, due to uterine atonic bleeding or abruptio placentae with DIC and IUFD, the endothelin concentration was comparatively high during and after the treatment, becoming within normal range within one week postpartum (Fig. 6). The endothelin concentration in maternal plasma during the puerperal period in complicated pregnancies, except for in the three cases described above, was not significantly different from that in normal women (Figs. 4, 5 and 6). Additionally, as to the endothelin concentrations in amniotic fluid and fetal cord blood, there were no significant differences between normal and complicated pregnancies (data not shown).

Discussion

In this study, the endothelin concentration in maternal plasma during labour pain or at delivery was found to be significantly increased compared with that in maternal plasma during pregnancy without labour pain, although there were no significant differences at to the intervals and strength of uterine contractions. These results suggest that the increased endothelin level in maternal plasma at normal term or in amniotic fluid may cause at least the induction of uterine contractions directly or indirectly[6]. The endothelin concentration, which was increased in the maternal plasma at delivery, rapidly decreased after delivery, reaching the level in nonpregnant normal women within lst postpartum day, in accordance with that of renin activity, Ang-I, Ang-II, aldosterone or ANP. This also indicates that the increase in the maternal plasma endothelin concentration reflects the production of endothelin within the fetal membranes or placenta or due to remarkable changes in endocrine circumstances. The endothelin concentration in the amniotic fluid on preterm delivery due to premature rupturing of the membranes or obtained by amniocentasis was not significantly different from that on term delivery, being significantly higher than that in maternal blood. This implies that endothelin exists at a high level in the amniotic fluid from earlier in the pregnancy. This implication also suggests that endothelin might play an important role in fetal development in addition to its role in the onset of labour. This awaits future study for confirmation.

The endothelin level in infant urine just after delivery was significantly higher than that in the maternal plasma, however, it was significantly lower than that in the umbilical cord blood or amniotic fluid, indicating that the endothelin in fetal urine plays at least an important role in the accumulation of endothelin in the amniotic fluid. In addition, no endothelin is detectable in adult urine. This mechanism or role also remains to be clarified.

The plasma endothelin level in normal nonpregnant young female volunteers exhibiting regular cyclic menstruation was 0.92 ± 0.18 pg/ml, being related to changes in plasma LH (negative correlation, $p < 0.05$; a negative feedback), but not estrogen, progesterone, testosterone, other gonadotropins or growth hormone, during the menstrual cycle (unpublished data). This level was significantly higher compared with that in the first trimester of pregnancy, however, it was not significantly different compared with the level

in the second and third trimesters of pregnancy. However, the reason for the decreased endothelin concentration in the first trimester of pregnancy remains to be determined. As for big endothelin (38-residue peptide, M. W. 4,282.9), the concentration in amniotic fluid was remarkably low compared with that of endothelin. The significance of this difference in concentration between endothelin and big endothelin also remains to be investigated.

Recently, changes in the renin-angiotensin system, aldosterone and ANP were studied extensively in normal or toxemic pregnancies[4,5]. Renin is an enzyme, an endopeptidase, which is synthesized chiefly in the juxtaglomerular cells of the afferent arterioles of the kidneys, and renin production or renin liberation into the blood is thought to be induced due to major factors such as hypovolemia or constriction of the renal artery, a negative sodium balance, decreased potassium, decreased Ang and sympathetic nerve stimulation[8]. Renin acts upon a substrate (angiotensinogen) to form Ang-I, an inactive decapeptide, through hydrolysis at a leucyl-leucyl bond, and the Ang-I is rapidly converted by a converting enzyme in plasma to Ang-II, an active octapeptide which is sometimes converted to Ang-III, the COOH-terminal heptapeptide of Ang-II which stimulates aldosterone secretion but apparently has a much shorter biological half-life than Ang-II does[10], by aminopeptidase, an active heptapeptidase. Ang is rapidly destroyed by angiotensinases, Ang-II inactivators, which are increased in pregnancy. Ang-II is not only a potent pressor agent but also a major physiological regulator of aldosterone secretion which stimulates the reabsorption of sodium and the secretion of potassium in the distal tubules of the kidneys. Namely, a major role of the renin-angiotensin-aldosterone system is as a physiological regulator of peripheral vascular resistance due to the direct action of Ang-II upon a peripheral blood vessel or of extracellular fluid via aldosterone secretion.

In this study, renin activity was found to be elevated early in pregnancy, after which it remained elevated and tended to decrease in the last few weeks in the normal pregnant subjects, the activity at each stage of pregnancy being higher than that in nonpregnant subjects, which is consistent with the previous report[4]. The Ang-I and Ang-II levels were also higher in the third trimester of normal pregnancy than those in nonpregnant subjects, being consistent with the report of Talledo et al.[10]. Why the increased circulating renin and Ang in normal pregnant subjects does not usually induce hypertension can be explained by the decreased peripheral vascular sensitivity to Ang-II due to the increased vascular resistance induced by the elevated basal level of Ang-II in plasma[11], or the increased production of prostaglandins within the uterus or placenta[12], and the increased level of angiotensinase[10]. In contrast to plasma renin activity, the plasma aldosterone concentration increased gradually with advancing gestation, in accordance with the previous reports[4,13]. Aldosterone is synthesized in the zona glomerulosa, the outer zone of the adrenal gland, and stimulated by Ang, especially Ang-II, sodium depletion, potassium loading and ACTH. There seems to be a discrepancy between the renin activity (decreasing tendency) and aldosterone levels (increasing tendency) in the third trimester of normal pregnancy. One explanation for this discrepancy has just been given; the plasma aldosterone secretion rate might be intricately regulated by many aldosterone-controlling factors such as the response of the zona glomerulosa, sodium depletion, potassium loading, ACTH and other substances. The increase in aldosterone secretion might serve to compensate for maintenance of a normal sodium balance to protect the pregnancy from a chronic sodium depletion state[14].

ANP has potent natriuretic, diuretic and smooth muscle relaxant properties, resulting in the increased excretion of sodium and water, and decreased blood pressure, respectively[15]. Recently, changes in the concentration of ANP during pregnancy have been extensively studied[5,16]. The maternal plasma concentration of ANP increased gradually with advancing gestation. The levels were significantly higher than those in nonpregnant subjects (40.56 ± 10.10 pg/ml). The increase in the concentration of ANP during preg-

nancy might be due to the increase in blood volume, which increases to about 40-50% above the level in nonpregnant women[16], and the cardiac output during pregnancy, as the plasma concentration of ANP increases with intravascular volume expansion. According to Weidmann et al.[17], synthetic ANP injection induced natriuresis, a decrease in the plasma aldosterone level and a decrease in blood pressure, indicating a possible interrelationship between ANP and aldosterone, although ANP secretion is probably little influenced by aldosterone and ACTH.

Several vasoconstrictor hormones, such as Ang-II, vasopressin and noradrenaline, are known to inhibit renin release by increasing the intracellular calcium concentration[2]. In addition, Rakugi et al.[1] and Takagi et al.[18] suggested that endothelin is an inhibitory regulator of renin secretion from rat juxtaglomerular cells via a calcium entry mechanism. Furthermore, endothelin increases the total peripheral resistance, atrial pressure, left atrial pressure (an increase in ventricular afterload) and hematocrit (presumably caused by an increase in the circulating red cell mass induced by splenic contraction), while it decreases the heart rate and cardiac output[3]. It also increases the plasma levels of renin, aldosterone, vasopressin, norepinephrine, epinephrine and atriopeptin[3]. The increase in plasma renin activity may be caused by vasoconstriction of the renal vessels proximal to the juxtaglomerular cells, by a reduction in the amount of sodium reaching the macula densa, or by an increase in circulating cathecolamines[3], and changes in plasma aldosterone follow the changes in plasma renin activity and may be caused by them[3]. Although endothelin appears to be more potent than other constrictor peptides *in vitro*[6], it possesses pressor activity similar to that of Ang-II and vasopressin in conscious dogs[3]. These results suggest that endothelin, renin, Ang, aldosterone and ANP are closely interrelated with each other during pregnancy, as to the control of sodium, potassium and blood pressure, influencing the kidneys and several endocrine organs. In normal, but not complicated, pregnancy the plasma endothelin concentration was significantly interrelated with renin activity. However, the mechanism remains to be elucidated.

After delivery, the endothelin, renin, Ang-I, Ang-II, aldosterone and ANP levels rapidly decreased and reached the nonpregnant levels in a similar way within 2-3 days, indicating that these substances have a close relationship to the uteroplacental unit and maternal hormonal changes. However, endothelin showed no significant relationship to fetal sex, fetal birth weight, umbilical cord length or Apgar score at 1 or 5 minutes, as well to renin activity, Ang-I, Ang-II, aldosterone or ANP. As for toxemic pregnancy, the endothelin concentration before 28 weeks of pregnancy was significantly higher than that after 29 weeks of toxemic pregnancy, or on the postpartum day of normal pregnancy, while the level after 29 weeks of toxemic pregnancy was not significantly different from that in the case of normal pregnancy. In one woman, with IgA nephropathy, who had severe toxemia of pregnancy and in whom IUFD occurred after 24 weeks of pregnancy, the endothelin concentration continued to be higher during pregnancy and on the postpartum day. This may explain the varied changes in the endothelin concentration due to the time of appearance or the severity of toxemia of pregnancy. However, the plasma endothelin concentration was within normal range even in the severe toxemic woman, with hypertension, proteinuria and generalized edema, who developed eclampsia on four occasions despite extensive treatment with hydralazine plus heparin. The plasma endothelin concentration appears to be unrelated to the grade of blood pressure, proteinuria or edema (unpublished data). This mechanism also remains to be elucidated. In the case of other-complicated pregnancies, such as placenta praevia, Banti's syndrome, ITP, Hashimoto's disease, eclampsia, twins, triplets, hydramnios and hydrops fetalis, the concentration was not significantly different compared with that in normal subjects, although the level tended to somewhat decrease. In contrast, two women, who lost much blood with DIC due to uterine atony just after delivery or abruptio placentae and received massive blood transfusions or exten-

sive drug therapy, had somewhat higher levels of plasma endothelin. Furthermore, the endothelin concentrations in the amniotic fluid, umbilical cord plasma, maternal plasma at delivery or during the postpartum period in complicated pregnancies, except for in the three cases mentioned above, were similar to those in normal subjects. These results suggest that the endothelin level may be influenced only by limited special conditions, such as severe toxemia of some type or massive blood loss which does vital damage to the mother or fetus because of its extraordinarily strong action on the vascular system or endocrine organs. There may exist two types (higher and normal types) of the plasma endothelin concentrations in toxemia of pregnancy. These mechanisms also remain to be investigated. The results of a study on the mechanism underlying the endothelin action may lead to a better understanding of the physiology and pathology during pregnancy, delivery and the puerperium.

This work was supported in part by grants from the University of Tsukuba Project Research, the University of Tsukuba Special Project Research on Metabolism and the Ministry of Education, Science and Culture of Japan.

References

1) Rakugi, H., Nakamura, M., Saito, H., Higaki, J. and Ogihara, T.: Endothelin inhibits renin release from isolated rat glomeruli, Biochem. Biophys. Res. Comm., 155: 1244, 1988
2) Hackenthal, E. and Taugner, R.: Hormonal signals and intracellular messengers for renin secretion, Mol. Cell. Endocrinol., 47: 1, 1986
3) Goetz, K. L., Wang, B. C., Madwed, J. B., Zhu, J. L. and Leadley, R. J. Jr.: Cardiovascular, renal, and endocrine responses to intravenous endothelin in conscious dogs, Am. J. Physiol. 255 (Regulaory Integrative Comp. Physiol. 24): R1064, 1988
4) Takahashi, T., Furuhashi, N., Tanaka, N., Hikita, M. and Suzuki, M.: Toxemia and renin-angiotensin-aldosterone system, Sanka-Fujinka, 50: 1811, 1983 (in Japanese)
5) Miyamoto, S., Shimokawa, H., Sumioki, H. and Nakano, H.: Physiologic role of endogenous human atrial natriuretic peptide in preeclamptic pregnancies, Am. J. Obstet. Gynecol., 160: 155, 1989
6) Usuki, S., Saitoh, T., Sawamura, T., Suzuki, N., Shigemitsu, S., Yanagisawa, M., Goto, K., Onda, H., Fujino, M. and Masaki, T.: Increased maternal plasma concentration of endothelin-1 during labor pain or on delivery and the existence of a large amount of endothelin-1 in amniotic fluid, Gynecol. Endocrinol., 4: 85, 1990
7) Usuki, S.: Effects of follicle-stimulating hormone and estrogen on the regulation of ovarian renin production. In Frontiers in Reproduction Research. (ed. National Institute of Health), in press, VCH Publishers, New York, 1990
8) Davis, J. O. and Freeman, R. H.: Mechanisms regulating renin release, Physiol. Rev., 56: 1, 1976
9) Peach, M. J.: Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action, Physiol. Rev., 57: 313, 1977
10) Talledo, O. E.: Renin-angiotensin system in normal and toxemic pregnancies. IV. Inactivation of angiotensin in toxemic pregnancy, Am. J. Obstet. Gynec., 101: 254, 1968
11) Gant, N. F., Daley, G. L., Chand, S., Whalley, P. I. and MacDonald, P. C.: A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy, J. Clin. Invest., 52: 2682, 1974
12) Everett, R. B., Worley, R. J., MacDonald, P. C. and Gant, N. F.: Effects of prostaglandin synthetase inhibitors on pressor response to angiotensin II in human pregnancy, J. Clin. Endocrinol. Metab., 46: 1007, 1978
13) Pedersen, E. B., Christensen, N. J., Christensen, P., Johannesen, P., Kornerup, H. J., Kristensen, S., Lauritsen, J. G., Leyssac, P. P., Rasmussen, A. and Wohlert, M.: Urinary prostaglandin excretion, the renin-aldosterone system, and circulating catecholamines in preeclampsia, Hypertension, 5: 105, 1983
14) Ehrlich, E. N.: Heparinoid-induced inhibition of aldosterone secretion in pregnant women. The role of augmented aldosterone secretion in sodium conservation during normal pregnancy, Am. J. Obstet. Gynecol., 109: 963, 1971
15) Gracia, R., Tibaualt, G., Cantin, M. and Genest, J.: Effect of purified atrial natriuretic factor on rat and rabbit vascular strips and vascular beds, Am. J. Physiol. 247: R34, 1984
16) Hays, P. M., Cruikenhank, D. P. and Dunn, L. J.: Plasma volume determination in normal and preeclamptic pregnancy, Am. J. Obstet. Gynecol., 151: 958, 1985
17) Weidmann, P., Hellmueller, B., Uehlinger, D. E., Lang, R. E., Gnaedinger, M. P., Hasler, L., Shaw, S. and Bachmann, C.: Plasma levels and cardiovascular, endocrine, and excretory effects of atrial natriuretic peptide during differ-

ent sodium intake in man, J. Clin. Endocrinol. Metab., 62: 1027, 1986
18) Takagi, M., Matsuoka, H., Atarashi, K. and Yagi, S.: Endothelin: A new inhibitor of renin release, Biochem. Biophys. Res. Comm., 157: 1164, 1988

妊娠と endothelin-renin-angiotensin-aldosterone-ANP system について

筑波大学臨床医学系産科婦人科
白杵 慥 窪田早百合
市川喜仁 岡根真人

正常妊娠及び産褥の母体血中，羊水，臍帯血中ないし尿中の endothelin-1 (ET)濃度を sandwich-enzyme immunoassay 法にて測定し，renin-angiotensin-aldosterone-ANP 濃度と比較した．同時に妊娠合併症の ET 値についても検討を加えた．妊娠中の母体血中 ET 値は，正常婦人に比べて，初期で下降し，中期に増加し以後プラトーな値を示した．妊娠中期ないし後期の ET 値は初期の値に比べ有意（$P<0.01$）に増加した．また，陣痛時の ET 値は非陣痛時のものに比べ，有意（$P<0.02$）な増加を示した．羊水中の ET 値は母体血中ないし臍帯血中の ET 値に比べ著しく高く（$P<0.001$），臍帯血中の ET 値も母体血中に比べ有意（$P<0.01$）に高かった．また，臍帯静脈血中の ET 値は，動脈血中のものに比べ高い傾向にあった．分娩終了後の ET 値は産褥1日目より下降した．母体血，羊水ないし臍帯血中の ET 値のいずれも児の体重，性差，胎盤重量，臍帯長ないし Apgar score と相関しなかった．妊娠中の母体血中 ET 値は renin 活性と，産褥中の ET 値は renin, angiotensin, aldosterone 及び ANP 濃度と相関したが，他での相関は認められなかった．合併症妊娠では母児の生命に重篤な危険を及ぼした特殊例を除いて，ET 値は正常域にあった．

（受付：1989年8月31日）

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

多嚢胞卵巣症候群の内分泌学的および超音波形態学的診断の有用性に関する研究

Studies on Endocrinological and Ultrasonographic Diagnosis for Polycystic Ovary Syndrome

島根医科大学医学部産科婦人科学教室
(主任：北尾　学教授)
西　垣　　新
Arata NISHIGAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Shimane Medical University, Izumo 693, Japan
(Director: Prof. Manabu Kitao)

今回，当科不妊・内分泌外来を受診した患者552名を対象とし，超音波学的に両側卵巣が多嚢胞卵巣（PCO）であるPCO群（79名）と，両側卵巣にPCOが認められず正常月経周期を有するcontrol群（115名）に分類し，次にPCO群を正常月経周期を有するRM-PCO群（23名）と異常月経周期であるIM-PCO群（56名）に分け、PCOSの内分泌学的診断基準の設定と超音波検査によるPCOの形態について検討し，以下の結果を得た．

1）PCO群は552名中79名，14.3％に認められ，超音波学的にgeneral cystic pattern（GCP）とperipheral cystic pattern（PCP）に分けると，GCPが32.9％，PCPが67.1％に認められた．2）PCO群の卵巣面積はcontrol群に比べて有意に大きかった．3）内分泌学的にはPCO群のLH, LH/FSH比，E_1，E_1/E_2比，およびtestosteroneはcontrol群に比べて有意に高い値であった．そしてLH，E_1，E_1/E_2比はIM-PCO群がRM-PCO群に比べて有意に高値であった．4）臨床症状で男化徴候，肥満傾向の占める割合は共にIM-PCO群がRM-PCO群に比べて有意に高い割合であった．5）当科のPCOSの内分泌学的診断基準を①血中LH≧25 mIU/mlあるいはLH/FSH比≧2.5 ②血中E_1≧80 pg/mlあるいはE_1/E_2比≧2.1 ③血中testosterone≧1.10 ng/mlと設定すると，PCO群ではcontrol群に比べて診断基準を満たす割合が高かった．またRM-PCO群とIM-PCO群を比べると，IM-PCO群が診断基準を満たす割合は高かった．6）超音波学的に分類してみると，androstenedioneの異常値を示す割合はGCPがPCPに比べて有意に高かった．以上のことより月経異常あるいは不妊症患者でPCOを超音波学的にチェックすることはPCOSの診断に非常に有効であった．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 28—34, 1991)

緒　言

1935年にStein and Leventhal[1]が両側卵巣腫大と無月経ないしは稀発月経、不妊，多毛および男化徴候を有する7症例を報告して以来，多嚢胞卵巣症候群（Polycystic ovary syndrome, PCOS）の典型例はStein-Leventhal syndromeと呼ばれてきた．しかしこのような典型例は日本では稀で，現在ではPCOSは一連のspectrumをもった疾患であろうと理解されており，不妊症患者の中でも日常よく認められる疾患である．しかし，内分泌学的にはいまだ明確な診断基準は定まっておらず，各施設でまちまちの診断基準を用いているのが現状であり，形態学的に卵巣の組織学的所見を得ることなく最終診断がなされる

ことも多い.

近年, 超音波装置の進歩により多嚢胞卵巣 (polycystic ovary, PCO) の診断が容易に行われるようになってきている[2~9]. 今回, 当科不妊・内分泌外来を受診した患者を対象とし, PCOSの内分泌学的診断基準の設定と超音波検査によるPCOの形態について検討したので報告する.

研究対象及び方法

島根医科大学医学部附属病院産科婦人科不妊・内分泌外来を受診した552名を対象とし, 超音波断層検査と内分泌検査を施行した. 超音波断層検査と内分泌検査は月経周期を有する場合は月経期または卵胞期初期に, 無月経の場合は随時 full bladder tequnique を用いて施行した. 使用した超音波診断装置は Sonovista PH, Sonovista SL および Aloka SSD-650 である. 超音波学的に 2 ~15 mm の嚢胞を 10 個以上包含している卵巣を PCO と定義[10]し, 両側卵巣が PCO であるものを PCO 群 (79 名) とし, 両側卵巣に PCO が認められず正常月経周期を有する群を control 群 (115 名) とした.

まず超音波学的な卵巣の断面積 (3／4・π・ab, a：長径, b：短径) および内分泌学的検査値を PCO 群と control 群で比較検討し, 次に PCO 群を正常月経周期を有する群 (regular menstrual PCO 群：RM-PCO 群, 23 名) と異常月経周期を有する群 (irregular menstrual PCO 群：IM-PCO 群, 56 名) の 2 群に分類し, 同様に超音波による卵巣断面積の比較および Matsunaga et al.[5]の提唱する 2 種類の多嚢胞卵巣〔①卵巣内全体に microcyst の認められる general cystic pattern (GCP, 図1), ②卵巣辺縁にのみ microcyst の認められる peripheral cystic pattern (PCP, 図2)〕において内分泌学的に比較検討した. なお, 測定した内分泌検査は luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), prolactin (PRL), estrone (E_1), estradiol-17β (E_2), testosterone (T), androstenedione (ASD), および dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S) であり, LH は LH キット「第一」, FSH は FSH キット「第一」(両者共 WHO 2nd International Reference Preparation-Human Menopausal Gonadotropin を使用), PRL は第一プロラクチンキット II, E_1は非妊婦より SRL 社が自家調整したもの, E_2は第一 RI のE_2RIA キット, T は

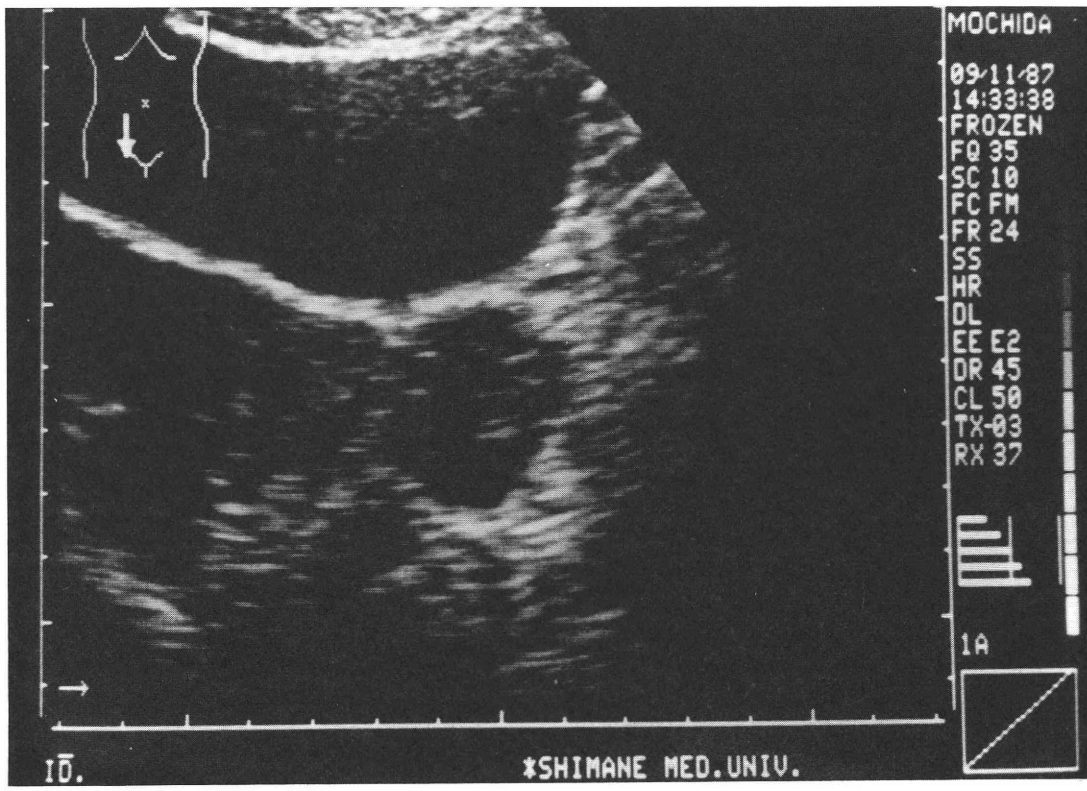


図1　general cystic pattern の超音波断層図

テストステロン栄研キット，ASDはバクスター社，アンドロステンジオンテストセット，DHEA-Sはバクスター社DHEA-サルフェートテストセットで測定した．また肥満度はbody mass index[11]を使用した．統計学的な有意差検定はStudent's t-testを用いた．

研究結果

1）PCO群は552名中79名（14.3％）に認められた．またPCO群のうちGCPが26例（32.9％），PCPが53例（67.1％）に認められた．

2）PCO群の卵巣断面積

卵巣断面積はPCO群で平均578±193 mm²（mean±S.D.）であり，control群（432±178 mm²）に比べて有意に（$p<0.05$）高値であった．次にRM-PCO群とIM-PCO群で比較してみると，RM-PCO群は477±113 mm²で，IM-PCO群は614±202 mm²であり，統計学的に超音波による形態別の卵巣断面積には有意差は認められなかった．

3）PCO群の内分泌学的検査値

表1に示すように，PCO群のLH値は平均31.2±13.4 mIU/mlであり，control群の16.8±5.3 mIU/mlに比較して有意に（$p<0.001$）高値であった．またLH/FSH比，E_1，E_1/E_2比，T値も同様にPCO群がcontrol群に比べて有意に（$p<0.001$）高値であった．

4）PCO群における内分泌学的検査値の比較

PCO群においてRM-PCO群とIM-PCO群とで比較してみると，LH，E_1，E_1/E_2比はIM-PCO群がRM-PCO群より有意に高値を示した（表2，3）．

5）PCO群における臨床症状および超音波学的分類の比較

表4に示すように，IM-PCO群の方がRM-PCO群

表1　PCO群およびcontrol群の内分泌検査値

	PCO群	control群
LH (mIU/ml)	31.2 ±13.4[a]	16.8 ± 5.3[a*]
FSH (mIU/ml)	10.7 ± 3.6	10.3 ± 4.4
LH/FSH比	2.98± 1.15[b]	1.75± 0.50[b*]
E_1 (pg/ml)	76.3 ±33.4[c]	49.2 ±18.7[c*]
E_2 (pg/ml)	46.1 ±26.6	41.9 ±16.1
E_1/E_2比	1.99± 1.07[d]	1.28± 0.54[d*]
T (ng/ml)	1.14± 0.40[e]	0.68± 0.27[e*]

a-a*, b-b*, c-c*, d-d*, e-e*：$p<0.001$



図2　peripheral cystic patternの超音波断層図

表2　PCO群における下垂体ホルモン値の比較

	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	LH/FSH 比	PRL (ng/ml)
RM-PCO 群	23.7±10.8[a]	9.2±1.7	2.57±1.09	19.6± 9.1
IM-PCO 群	34.2±13.1[a*]	11.3±4.0	3.14±1.13	18.8±14.3

a-a* : $p < 0.01$

表3　PCO群におけるステロイドホルモン値の比較

	E_1 (pg/ml)	E_2 (pg/ml)	E_1/E_2 比	T (ng/ml)	ASD (ng/ml)	DHEA-S (ng/ml)
RM-PCO 群	58.5±29.2[a]	46.5±27.8	1.51±0.83[b]	1.06±0.37	1.69±0.59	2,740±1,210
IM-PCO 群	82.7±32.5[a*]	45.9±26.1	2.16±1.10[b*]	1.18±0.37	2.14±1.25	2,870±1,710

a-a*, b-b* : $p < 0.05$

表4　PCO群における臨床症状および超音波学的分類の比較

	臨床症状		超音波学的分類	
	男性化徴候 (%)	肥満傾向 (%)	GCP (%)	PCP (%)
RM-PCO 群	8.7[a]	4.3[b]	26.1	73.9
IM-PCO 群	30.4[a*]	23.2[b*]	35.7	64.3

a-a*, b-b* : $p < 0.05$

表5　当科におけるPCOS内分泌学的診断基準の設定

1) 血中 LH ≧ 25mIU/ml あるいは LH/FSH 比 ≧ 2.5
2) 血中 E_1 ≧ 80pg/ml あるいは E_1/E_2 比 ≧ 2.1
3) 血中　T ≧ 1.10ng/ml

に比べて男化徴候，肥満傾向共に有意に($p < 0.05$)高い割合であった．しかし超音波学的に2つのpattern (GCP，PCP)に分けた場合，それぞれの群のGCP，PCPの占める割合に大きな差は認められなかった．

6）PCOSの内分泌学的診断基準の設定

control群の血中LH，LH/FSH比，E_1，E_1/E_2比，Tの値よりmean＋3／2・S. D.を求めると，それぞれ24.8 mIU/ml，2.5，77.3 pg/ml ，2.1，1.09 ng/mlとなるので，①gonadotropin分泌異常としてLH≧25 mIU/ml，あるいはLH/FSH比≧2.5，②estrogen産生異常としてE_1≧80 pg/ml，あるいはE_1/E_2比≧2.1，③androgen産生異常としてT≧1.10 ng/mlの3項目を当科のPCOSの内分泌学的診断基準と設定した（表5）．

7）PCO群およびcontrol群におけるPCOSの内分泌学的診断基準について

設定したPCOSの内分泌学的診断基準を用いてPCO群およびcontrol群で比較してみると，表6に示すように，全てにおいてPCO群とcontrol群とで有意差を認めるものの，1項目以上を満たすものはPCO群で87.3％と高率であったが，control群でも26.1％を占めていた．逆に3項目すべてを満たす割合はPCO群で34.2％と低いが，control群では0％であった．次にPCO群の中でRM-PCO群とIM-PCO群で比較してみると，3項目すべてを満たすのはIM-PCO群は42.9％であり，RM-PCO群の13.0％に比べて有意に高い値であった．

8）内分泌が異常値を示す割合

PCOSの内分泌学的診断項目以外の内分泌検査であるPRL，ASD，DHEA-Sについて検討してみると，全て異常値を示す率はGCPが高く，特にASDは統

表6　PCO群およびcontrol群におけるPCOSの内分泌学的診断基準を満たす割合(%)

PCOSの内分泌学的診断基準	PCO 群	RM-PCO 群	IM-PCO 群	control 群
1項目以上	87.3[a]	69.6[a*]	94.6[a**]	26.1[a***]
2項目以上	60.8[b]	34.8[b*]	71.4[b**]	1.7[b***]
3 項目すべて	34.2[c]	13.0[c*]	42.9[c**]	0[c***]

a-a***, a*-a***, a**-a***, b-b***, b*-b***, b**-b***, c-c***, c*-c***, c**-c*** : $p < 0.001$
a*-a** : $p < 0.01$
a-a*, b-b*, b*-b**, c*-c** : $p < 0.05$

表7．PCO群における内分泌値の異常値を示す率(%)

	PRL (正常25ng/mℓ以下)	ASD (正常2.4ng/mℓ以下)	DHEA—S (正常3000ng/mℓ以下)
GCP	19.2	50.0[a]	38.2
PCP	17.7	17.0[a]*	37.7

a－a*：p＜0.01

計学的にもPCPよりも高率であった（表7）．

考　察

PCOSは無排卵の一型であるが，その診断基準，概念には統一見解がなく，その治療法も統一されていないのが現状である．1935年Stein and Leventhal[1]が両側卵巣の多嚢胞性腫大に月経異常，不妊，男性型多毛，肥満などの症状を随伴することを報告し，そして症候群としての概念の確立がなされた．しかし，日本女性では多嚢胞性変化を伴う卵巣に男性化徴候を合併する頻度は6.9％と少なく[12]，森[13]は，本邦では形態上多嚢胞が認められ無排卵にもとづく月経異常，肥満および男化徴候を3つの基本徴候と考え，男化徴候のあるもののみをStein-Leventhal症候群と呼ぶべきであるとしている．さらに，森[14]は内分泌学的には潜在性の卵巣性hyperandrogenemiaのあるものをPCOSと呼ぶべきであり，逆に卵巣腫大があってもandrogen過剰の証明されていないものは本症例に入れるべきではないと提唱している．

このようにPCOSの診断基準はいまだ確定しておらず，卵巣の病理組織学的所見においてのみ診断が確定するのであるが，PCOSが疑われる症例全てに腹腔鏡あるいは開腹手術を行うことは不可能に近い．しかし，近年，超音波断層法の発達により，短時間で無侵襲な診断法が各臓器で行われるようになってきており，PCOの診断がより容易になってきている[2~9]．

そこで今回，当科不妊・内分泌外来を受診した患者552名に超音波断層法を施行し，PCOの有無で内分泌学的な検討を加えてみると，不妊症患者の全体の14.3％にPCOが認められた．これはParisi et al.[7]が月経異常を有する不妊の患者の12.8％がPCOであったとする報告と類似している．一方，超音波法によるPCOの形態に関する報告は，Venturoli et al.[9]やOrsini et al.[6]らの研究があるが，ともに正常例に比べPCO症例では卵巣体積が約2倍に増大していると報告している．

本研究では同時に超音波装置を使用し，卵巣の断面積を比較したところ，PCO群の卵巣は正常大のものもあるが，平均すると正常なものよりも約1.5倍腫大していた．PCOSの内分泌学的動態についてはgonadotropin分泌異常，性steroid分泌異常が一般に認められるとされている．gonadotropin分泌異常に関してはLHとFSHの分泌解離現象が基本にあり，LH-RHによってこの解離が増幅されることが特徴である[13]．その分泌解離現象の程度については種々の報告があり，LH/FSH比が2.5以上[15]，3.0以上[16]と報告されている．また性steroid分泌異常に関してはTとASDがPCOSで有意に高く，副腎性androgenであるDHEA-Sも高い症例がかなり含まれていると報告されている[14]．Tに関しては血中で1.0 ng/ml以上であれば高値とすると森[13]は報告している．また，一般にPCOSではASDの末梢の転換によって産生されるE_1の増加およびE_1／E_2比の上昇が指摘されている[14]．

以上のことと，当科を訪れた不妊・内分泌外来患者のcontrol群における内分泌学的平均値を考慮し，当科ではPCOSの内分泌学的診断基準を設定した(表5)．そして，当科におけるPCOSの内分泌学的診断基準の3項目すべてを満たす例はPCO群では34.2％であり，control群では認められなかった．また逆に内分泌学的PCOSのうち全例形態学的に超音波でPCOSが認められた．形態学的なPCOはPCOSに限らず正常卵巣の一部にも観察され，また種々の内分泌疾患においても認められるが，今回の結果よりPCOSの診断において，超音波診断による形態学的なPCOの検索は非常に有用な検査方法であると推定された．

次に，PCO群を正常月経周期を有する群(RM-PCO群）と，そうでない群（IM-PCO群）に分け，内分泌学的および臨床症状で比較してみると，内分泌学的には今回設定したPCOSの内分泌学的診断基準の3項目すべてを満たす症例は，IM-PCOで42.9％と，RM-PCO群に比べて高い値であった．そして臨床症状においても肥満度，男化徴候ともにIM-PCO群が有意に高い割合であった．また，PCOSの超音波断層像の研究では，Parisi et al.[8]はPCOS患者26例の超音波断層所見として3つのタイプに分類している．すなわち，①卵巣が同じ大きさの多数のsmall cystで占められているもの，② predominant cystを特徴とするもの，③卵巣が平行線に沿って区切られているタイプである．今回のMatsunage et al.[5]による分類では，GCPが①，PCPが③に相当するものと思われる．また，Hann et al.[4]はPCOSの中で29％が正常大の卵巣、71％は両側卵巣が腫大していて，後者では超音波学的にばらばらに嚢胞が存在するタイプ，hypoechoicで直径1 cm以下の小嚢胞が認められるタイプ，hypoechoicで直径1 cm以上の単嚢胞が認

められるタイプの3つに分類し，20例中15例に卵巣の腫大が認められ，臨床症状，内分泌学的なデータとの関連性については，卵巣が腫大した群では血中PRL，T，DHEA-Sの高値が認められ，肥満，無月経，多毛が高率であり，逆に正常大の卵巣の群ではLH/FSH比の上昇，血中ASD，E_1の高値と稀発月経が高率に認められたと報告している．

予後との関係では河野ら[2]はPCOSを4つに分類（I型：内部を淡いhomogenous echoが満たしているもの，II_a型：I型の卵巣内に小嚢胞が散在しているもので卵胞径が3～5 mmで輪郭がやや不鮮明なもの，II_b型：I型の卵巣内に小嚢胞が散在しているもので輪郭が比較的鮮明で大きさも5～7 mmあり卵巣髄質の部分がhigh echogenicになっているもの，III型：中央部分がhigh echogenicとなり卵巣被膜も厚く被膜下に3～7 mm大の卵胞が規則正しく配列しているもの）し，I型およびII_a型はclomiphene療法にて排卵誘発効果を望めるが，II_b型およびIII型は効果が期待できず，速やかに手術療法あるいは他の薬物療法を開始することが有効であると述べている．

今回の検討ではMatsunaga et al.[5]が提唱するGCPとPCPに分け，内分泌学的に比較検討したが，今回設定したPCOSの内分泌学的診断基準を占める割合は両者間で大きな差はみられなかった．しかし，ASDはGCP群でPCP群に比べて異常値を示す率が有意に高く，DHEA-Sは大きな差は認めなかった．DHEA-Sの90％以上が副腎由来であり，ASDは主要な卵巣性アンドロゲンであること[14]を考えると，2つのpatternで副腎由来か卵巣由来かでPCOSの成因が異なるのではないかと思われる．このことは武谷ら[17]がPCOSをアンドロゲンの分泌臓器により卵巣型と副腎型に分類し，卵巣型ではbromopcriptineにより，副腎型ではclomiphene＋prednisoloneにより高率に排卵が得られたと報告しており，PCOSの病態分析に関係していると思われる．

以上のことより月経異常あるいは不妊症患者のPCOを超音波的にチェックすることはPCOSの診断に非常に有効であり，またそのパターン分析により，その病態分析，治療法を考慮するうえで非常に有用となると推察される．

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜った島根医科大学医学部産科婦人科学教室北尾　学教授に深甚なる謝意を表するとともに，御指導，御助言を頂いた同教室高橋健太郎講師および吉野和男博士に御礼申し上げます．

なお本論文の要旨は第8回国際内分泌学会（於京都，1988年）において発表した．

文　献

1) Stein, I. F. and Leventhal, M. L.: Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries, Am. J. Obstet. Gynecol., 29: 181, 1935
2) 河野美香，福家義雄，中山孝善：多嚢胞性卵巣の臨床的研究－超音波画像を中心に－，日産婦誌，39：56，1987
3) el-Tabbakh, G. H., Lotfy, I., Azab, I., Rahman, H. A., Southren, A. L. and Aleem, F. A.: Correlation of the ultrasonic appearance of the ovaries in polycystic ovarian disease and the clinical, hormonal, and laparoscopic findings, Am. J. Obstet. Gynecol., 154: 892, 1986
4) Hann, L. E., Hall, D. A., McArdle, C. R. and Seibel, M.: Polycystic ovarian disease: Sonographic spectrum, Radiology, 150: 531, 1984
5) Matsunaga, I., Hata, T. and Kitao, M.: Ultrasonographic identification of polycystic ovary, Asia-Oceania J. Obstet. Gynaecol., 11: 227, 1985
6) Orsini, L. F., Venturoli, S., Lorusso, R., Pluchinotta, V., Paradisi, R. and Bovicelli, L.: Ultrasonic findings in polycystic ovarian disease, Fertil. Steril., 43: 709, 1985
7) Parisi, L., Tramonti, M., Derchi, L. E., Casciano, S., Zurli, A. and Rocchi, P.: Polycystic ovarian disease: Ultrasonic evaluation and correlations with clinical and hormonal data, J. Clin. Ultrasound., 12: 21, 1984
8) Parisi, L., Tramonti, M., Casciano, S., Zurli, A. and Gazzarrini, O.: The role of ultrasound in the study of polycystic ovarian disease, J. Clin. Ultrasound, 10: 167, 1982
9) Venturoli, S., Paradisi, R., Saviotti, E., Barnabe, S., Porcu, E., Fabbri, R. and Flamigni, C.: Ultrasound study of ovarian morphology in women with polycystic ovary syndrome before and during treatment with an oestrogen/progestogen preparation, Arch. Gynecol., 234: 87, 1983
10) Adams, J., Franks, S., Polson, D. W. Mason, H. D., Abdulwahid, N., Tucker, M., Morris D. V., Price, J., Jacobs, H. S.: Multifollicular ovaries: Clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin releasing hormone, Lancet, Dec. 21/28: 1375, 1985
11) 内藤周幸：肥満の判定基準，医学のあゆみ，141：233，1987
12) 井林　博：「ステロイドホルモン産生異常症」調査研究班，昭和54年度研究報告書（昭和55年3月），13，1980
13) 森　崇英：多嚢胞性卵巣症候群の診断基準，日産婦誌，36：637，1984

14) 森　崇英：多嚢胞卵巣症候群－概念の整理と最近の治療，日内分泌会誌，63：1449，1987
15) Marynick, S. P., Chakmakjian, Z. H., McCaffree, D. L. and Herndon, J. H.: Androgen excess in cystic acne, N. Engl. J. Med., 308: 981, 1983
16) 青野敏博，寺川直樹：多嚢胞卵巣症候群，産と婦，53：1061，1986
17) 武谷雄二，石川弘子，木下俊彦，水野正彦：多嚢胞性卵巣の分類とbromocriptineの有用性の検討，日産婦誌，38：1697，1986

Study of endocrinological and ultrasonographic diagnosis for polycystic ovary syndrome

Arata Nishigaki

Department of Obstetrics and Gynecology, Shimane Medical University, Izumo 693, Japan
(Director: Prof. Manabu Kitao)

In the present sutdy, I have compared the ultrasound results of 552 women who were examined at our outpatient infertility and endocrine clinic. The 79 cases with bilateral PCO were compared with 115 control subjects without PCO on either side and with regular menstrual cycles. Moreover, the PCO subjects were subdivided into those with regular menstrual cycles (RM-PCO group, 23 women) and those with irregular cycles (IM-PCO group, 56 women). Study was then made of the PCO on the bases of ultrasound examination and the endocrinological diagnostic criteria for PCOS.

The following results were obtained: (i) PCO was identified in 79 of the 552 women (14.3%). When the 79 cases were classified ultrasonographically as general cystic pattern (GCP) or peripheral cystic pattern (PCP), it was found that 32.9% were GCP and 67.1% were PCP. (ii) The ovarian areal measure was significantly larger in the PCO group than in the control group. (iii) The PCO group had significantly higher LH, LH/FSH ratio, E_1, E_1/E_2 ratio, and testosterone levels than the controls. Moreover, the LH, E_1, and E_1/E_2 ratio levels were significantly higher in the IM-PCO group than in the RM-PCO group. (iv) Among clinical symptoms, masculinization and a tendency toward obesity were significantly greater in the IM-PCO than in the RM-PCO group. (v) Using our endocrinological diagnostic criteria for PCOS [i. e., (1) blood LH≧25 mIU/ml or LH/FSH ratio≧2.5; (2) blood E_1≧80pg/ml or E_1/E_2 ratio≧2.1; and (3) blood testosterone≧1.10 ng/ml], the percentage of PCO women meeting the diagnostic criteria for PCOS was greater than that of the controls. Moreover, a greater percentage of IM-PCO women met the criteria than the RM-PCO women. (vi) With regard to the ultrasound classification, the percentage showing abnormally high androstenedione values was greater in the GCP than in the PCP group.

From the above results, I conclude that ultrasonographic checking of PCO among infertile women or those with menstrual irregularities is extremely effective for diagnosis of PCOS.

(受付：1990年6月25日特掲)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

低用量経口避妊薬 Org5187 の第Ⅰ相試験
(薬物動態学的検討)

Clinical Pharmacokinetic Study of Org5187 as a Low-dose Oral Contraceptive.

東京大学医学部附属病院産婦人科
水野正彦* 桑原慶紀** 武谷雄二**
Masahiko MIZUNO Yoshinori KUWABARA Yuji TAKETANI

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

東北大学医学部附属病院産婦人科
矢嶋聰* 星合昊** 深谷孝夫
Akira YAZIMA Hiroshi HOSHIAI Takao FUKAYA
石川元春
Motoharu ISHIKAWA

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

帝京大学医学部附属病院産婦人科
小林拓郎*
Takuro KOBAYASHI

Dipartment of obstetrics and Gynecology, Teikyo University, School of Medicene

慶応義塾大学医学部附属病院産婦人科
飯塚理八*1) 田辺清男** 泉康史
Rihachi IIZUKA Kiyoo TANABE Yasusi IZUMI

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

日本大学医学部附属板橋病院産婦人科
高木繁夫*2) 津端捷夫
Shigeo TAKAGI Katsuo TSUBATA

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

新潟大学医学部附属病院産婦人科
竹内正七
Shoshichi TAKEUCHI

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

＊　世話人
＊＊幹事
1）現：クリニック飯塚プロダクション・アカデミー
2）現：日本大学総合科学研究所
3）現：帝京大学医学部附属病院産婦人科

1錠中にdesogestrel 150 μgとethinylestradiol 30 μgを含有するOrg5187を健常女性17例（単回投与8例，連続投与9例）に投与し，3-Keto-desogestrel及びethinylestradiolの薬物動態並びに安全性を検討した．

3-Keto-desogestrelの単回投与時のTmaxは1.8±0.7 hourで，Cmaxは3.39±1.36 pmol/ml，T 1/2 (β)は19.1±13.0 hour，AUCは28.6±22.9 pmol･h/mlであり，連続投与時のTmaxは1.2±0.6 hour，Cmaxは12.12±5.49 pmol/ml，T 1/2 (β)は22.0±9.6 hour，AUCは97.2±36.8 pmol･h/mlであった．

Ethinylestradiolの単回投与時のTmaxは1.69±0.96 hour，Cmaxは0.638±0.205 pmol/ml，T 1/2 (β)は20.0±12.3 hour，AUCは7.0±4.12 pmol･h/mlであり，連続投与時のTmaxは1.11±0.55 hour，Cmaxは1.180±0.315 pmol/ml，T 1/2 (β)は23.7±8.8 hour，AUCは11.7±3.3 pmol･h/mlであった．

3-Keto-desogestrel及びethinylestradiolはともに，投与後15日目にはほぼ定常状態に達した．

日本人とヨーロッパ人の血中薬物動態パラメーターには3-keto-desogestrel，ethinylestradiolともに人種差は認められなかった．

連続投与中の不正出血はみられず，また投与を中止しなければならない副作用は認められなかった．

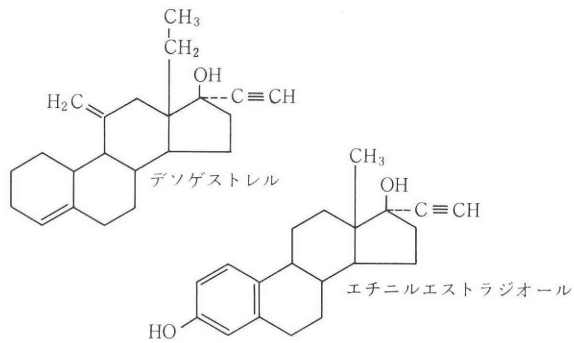
(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 35—48, 1991)

Ⅰ．はじめに

大量の黄体ホルモン・卵胞ホルモンが妊娠時に分泌され，それにより排卵が抑制される現象に基づいて1955年に，Pincusは体外からの黄体ホルモン投与による新しい避妊法を提唱し研究が進められた．また黄体ホルモンの合成法も確立され，経口避妊薬（以下ピル）の開発がなされるようになった．Garciaは，プエルトリコでの多数例での長期にわたる臨床試験の結果を初めて報告し，それらの結果に基づいて，米国FDAは1960年にピルの発売を許可した．それ以来，諸外国においてピルは受胎調節法の一つとして今日広く普及している．

我が国では，かつて臨床試験も行なわれたが，副作用のおそれ等の理由で承認されるには至らなかった．その後諸外国において，安全性の向上を目的として更に研究が進められ，新しい黄体ホルモンの合成や，ホルモン含量を極力減らした，いわゆる低用量ピルが開発され，従来のピルに比べ副作用が少ないことが明らかになった．また，retrospectiveな研究から，逆にピルを服用することにより卵巣癌，子宮内膜癌等の発生が減少するとの利点もあることが分かってきており，現在世界中で6,000万人以上の女性が使用していると推定される．

このような経緯をふまえ，厚生省による「経口避妊薬の医学的評価に関する研究班」が組織され，国内外の報告をもとにピルの評価がなされた[1]．それに



Org5187：1錠中
デソゲストレル0.15mg
エチニルエストラジオール0.03mg含有

図1　Desogestrel およびethinylestradiolの構造式

基づいて，我が国でも低用量ピルの有用性の臨床評価のためのガイドライン『経口避妊薬の臨床評価方法に関するガイドライン』[2]が作成され，ピル開発への方向に動きだした．

Org5187は，オランダ・オルガノン社の開発した新しい合成黄体ホルモンであるdesogestrel 0.15 mgと，合成卵胞ホルモンであるethinylestradiol 0.03 mgを含有する製剤である．Desogestrelは図1に示すように，3位に酸素原子を欠き，11位にメチレン基，13位にエチル基を有する新しい黄体ホルモンである．Desogestrelは服用後速やかに代謝され，その代謝物である3-keto-desogestrelが主活性物質である．Org5187は，その薬理学的作用の特性からヨーロッパを初め世界37カ国において経口避妊薬として，既に10年以上にわたって使用されている．

今回，前述のガイドラインに基づき，第I相臨床試験のうち，薬物動態学について単回投与時および連続（1周期）投与時の3-keto-desogestrelおよびethinylestradiolの血中濃度を測定して検討を行なった．なお，連続投与時の血中濃度と単回投与時の成績によるシミュレーションパターンとの比較や，ヨーロッパ人の結果とも比較検討したので報告する．

II．試験方法

1．対象

対象は，昭和62年1月より3月に，慶応義塾大学医学部附属病院産婦人科および東北大学医学部附属病院産婦人科での臨床試験に志願した健常女性17例(単回投与8例，連続投与9例)であり，試験に先立ち問診および臨床検査を実施，対象としての適性の確認を行なうとともに，薬剤の特性，試験の内容等を説明し，参加への同意を書面にて得た。

2．投与方法

1）単回投与試験：不正出血の発現を考慮して，月経周期の黄体期後半に，投与前の採血をすませた直後（午前9時）に1錠を投与した．なお，投与前日の午後9時から投与後2時間まで飲食をさせなかった．

2）連続投与試験：本剤の臨床投与法に準じ，月経周期の第1日目より連続21日間1日1回1錠を朝9時に投与した．最終投与の21日目は，前日の午後9時から投与後2時間まで飲食をさせなかった．

3．薬物動態の検討

1）採血法

(1)単回投与試験：図2に示すように，投与直前および投与後30分，1，2，3，4，8，12，24，48時間目の合計10ポイントについて，血液10 mlを採血し，血清に分離後凍結保存（−20℃）した．

(2)連続投与試験：図2に示すように，投与第1日目の投与直前および投与2，3，6，10，15日目の投与直前（午前9時）に，また最終投与日である21日目の投与直前及び投与後30分，1，2，3，4，8，12，24，48時間目の合計6ポイントについて，血液10 mlを採血し，血清に分離後凍結保存（−20℃）した．

2）測定法

Desogestrelは投与後，肝で速やかに活性物質である3-keto-desogestrelに代謝されるので，測定は未変化体ではなく3-keto体を測定した．凍結された単回および連続投与の血清検体は，オランダ・オルガノン社に空輸され，3-keto-desogestrelについてはオランダ・オルガノン社にて，またethinylestradiolについては，フィンランドのStenman教授の研究所にてTimmerら[3]の測定法に準じ，ラジオイムノアッセイ法（RIA法）にて測定された．

3）薬物動態学的パラメーターの算出と統計解析

全ての計算において，投与前値はブランク値として個々の測定値から差し引いた．薬物動態学的パラメーターとして，最高血中濃度(Cmax)，最高血中濃度到達時間(Tmax)は実測値を採用した．その他のパラメーターとしての血中半減期（T 1/2）の算出は，Cmaxを示した後の排泄相における各濃度値から最小二乗法により求めた．血中濃度−時間曲線下面積(AUC)は，単回投与時は$t_{0\sim\infty}$，連続投与時は21日目の$t_{0\sim24}$について台形法によって求めた．連続投与時の3-keto-desogestrelとethinylestradiolが定常状態に達したか否かについては，定常状態における最低血中濃度(Css. min)をTrend-testにて検討した．得られた結果は平均±標準偏差で示し，Student t-testを用いて有意差検定を行った．

4．臨床検査

単回投与については，投与前1週間以内および最

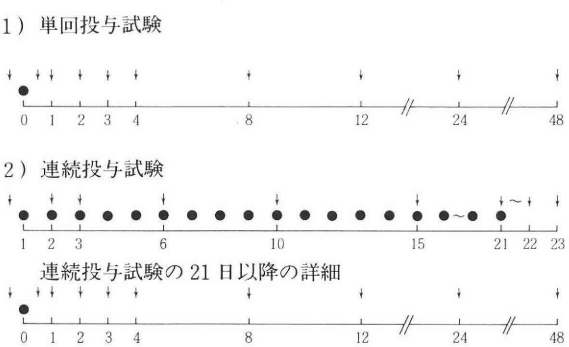


図2　採血スケジュール

終採血時，即ち投与後48時間目に，また連続投与については，投与開始前1週間以内及び最終の投薬終了後48時間目に採血した．

検査の項目は，血液一般（RBC, WBC Hb, Ht, 血小板数），血液生化学（GOT, GPT, LDH, ZTT, 総蛋白，総コレステロール，BUN，総ビリルビン），

表1　症例一覧表（単回投与）

症例番号	氏名	年齢 歳	身長 cm	体重 kg	結婚 歳	月経 初経	月経 周期 日	月経 経血量	月経 持続日数 日	月経 月経障害	月経 前緊張	既住歴	妊娠歴 妊娠（回）	妊娠歴 出産（回）	妊娠歴 自然流産（回）	妊娠歴 人工流産（回）	妊娠歴 悪阻	妊娠歴 黄疸	食欲	便通	喫煙（本）	飲酒量 回／週	飲酒量 本／回	飲酒量 種類＊	睡眠	健康状態	胃腸の状態	備考
A	[redacted]	29	154	52	22	11歳 8月	28	中	5	有	有	虫垂炎 腸閉塞	3	3	0	0	弱	無	有	1	5	0			良	良	正常	
B		33	162	50	32	12歳 0月	28	中	5	無	無		4	4	0	0	強	無	有	1	無				良	良	正常	
C		39	155	46	21	12歳 4月	32	中	5～6	無	無		4	3	1	0	中	無	有	1	無	2	0.3	B	良	良	正常	
D		30	154	44		13歳 3月	31	少	4～5	有	無		0	0	0	0			有	1/3日	無	3	1	B	良	普通	弱い	
E		23	160	49		12歳 9月	30	中	6	有	有		0	0	0	0			有	1/2～3日	無	0.5	1.5	B	良	良	正常	
F		24	151	50		12歳10月	32	中	7	無	無		0	0	0	0			有	1/2日	無				良	良	正常	
G		24	160	51		11歳 0月	40	中	6	無	無		0	0	0	0			有	1	無	1	少量	S	良	良	正常	
H		27	145	45		11歳 0月	28～30	中	7	有	無		0	0	0	0			有	1/1～3日	無	0-2	少量	BSW	良	普通	正常	

＊：B：ビール，S：酒，W：ウィスキー

表2　症例一覧表（連続投与）

症例番号	氏名	年齢 歳	身長 cm	体重 kg	結婚 歳	月経 初経	月経 周期 日	月経 経血量	月経 持続日数 日	月経 月経障害	月経 前緊張	既住歴	妊娠歴 妊娠（回）	妊娠歴 出産（回）	妊娠歴 自然流産（回）	妊娠歴 人工流産（回）	妊娠歴 悪阻	妊娠歴 黄疸	食欲	便通	喫煙（本）	飲酒量 回／週	飲酒量 本／回	飲酒量 種類＊	睡眠	健康状態	胃腸の状態	備考（副作用）
P	[redacted]	24	152	43		12歳 0月	30～31	中	6	有	無		0	0	0	0			有	1	無	1	0.5	B	良	普通	正常	内服中，軽度眠気あったが継続可能
Q		39	150	48		14歳 0月	28	中	5	無	無		0	0	0	0			有	1	10	3		S	良	良	正常	内服前半に軽度吐き気，軽度倦怠感があったが継続可能
R		23	156	45		13歳 4月	28	中	5	無	無		0	0	0	0			有	1	無				良	良	正常	
S		31	156	48		12歳 2月	28	中	6	無	無		0	0	0	0			有	1/1～2日	無	0.5	少量	W	良	良	正常	極軽度の体重増加と軽度の乳房緊満感
T		29	165	55		12歳 0月	29	中	6	無	無		0	0	0	0			有	1/2日	無				良	良	正常	
U		23	161	48		11歳11月	30	中	7	無	無		0	0	0	0			有	1	無	0.5	少量	W	良	良	正常	極軽度の体重増加
V		30	161	54	26	12歳 0月	31	中	7	無	無		2	2	0	0	強	無	有	1	無	3	1合	S	良	良	正常	内服中全期間に吐き気（夕方），倦怠感を訴えたが，継続可能
W		26	154	44	25	11歳 5月	30	多	6	無	無		0	0	0	0			有	1	5	1	0.5	B	良	普通	正常	
X		24	158	53		12歳 0月	30	中	7	無	無		0	0	0	0			有	1/2日	無				良	良	正常	

＊　B：ビール，S：酒，W：ウィスキー

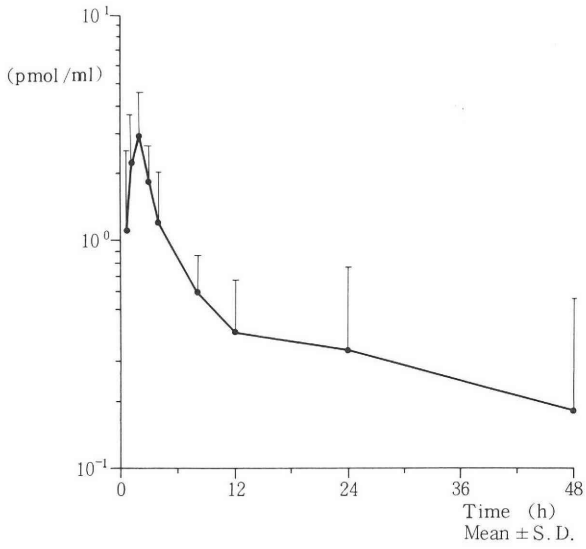


図3　単回投与時の3-keto-desogestrelの血清中濃度の推移

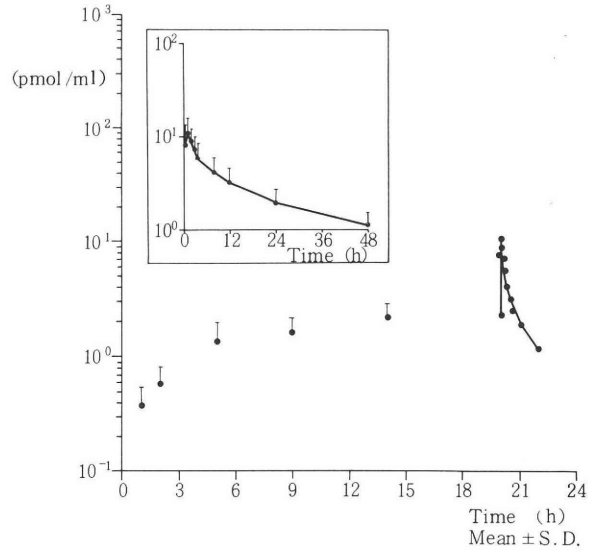


図4　連続投与時の3-keto-desogestrelの血清中濃度の推移

表3　単回投与時の血清3-keto-desogestrelの薬物動態パラメーター

症　例	$AUC_{0\sim\infty}$ (pmol・h/ml)	T1/2 (β) (h)	Cmax (pmol/ml)	Tmax (h)
a	23.0	13.7	4.36	1.0
b	15.3	10.0	1.78	3.0
c	62.9	42.3	4.28	2.0
d	10.7	7.7	2.48	1.0
e	19.9	7.9	3.58	1.0
f	13.8	18.4	2.36	2.0
g	15.8	17.3	2.47	2.0
h	67.5	35.4	5.80	2.0
mean±SD	28.6±22.9	19.1±13.0	3.39±1.36	1.8±0.7

表4　連続投与時の血清3-keto-desogestrelの薬物動態パラメーター

症　例	$AUC_{0\sim24}$ (pmol・h/ml)	T1/2 (β) (h)	Cmax (pmol/ml)	Tmax (h)
p	86.2	38.3	11.66	1.0
q	50.8	14.1	8.78	0.5
r	108.9	16.5	14.18	2.0
s	102.7	25.5	9.09	2.0
t	56.9	18.6	7.29	2.0
u	74.0	32.5	7.99	1.0
v	108.0	18.9	13.53	0.5
w	173.6	14.3	25.27	1.0
x	114.0	19.0	11.26	1.0
mean±SD	97.2±36.8	22.0±9.6	12.12±5.49	1.2±0.6

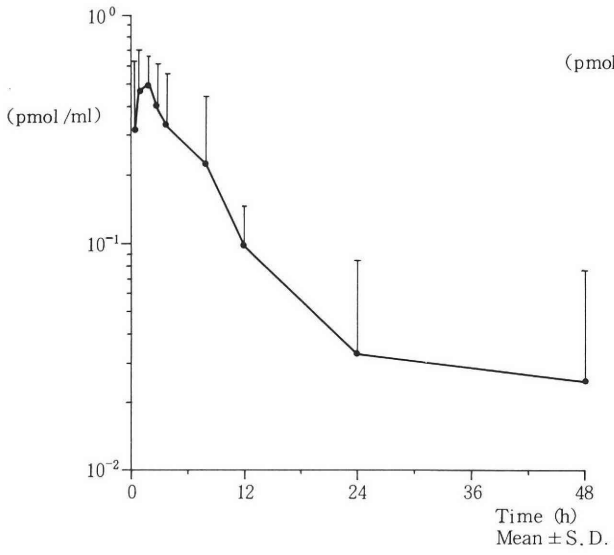


図5　単回投与時の ethinylestradiol の血清中濃度の推移

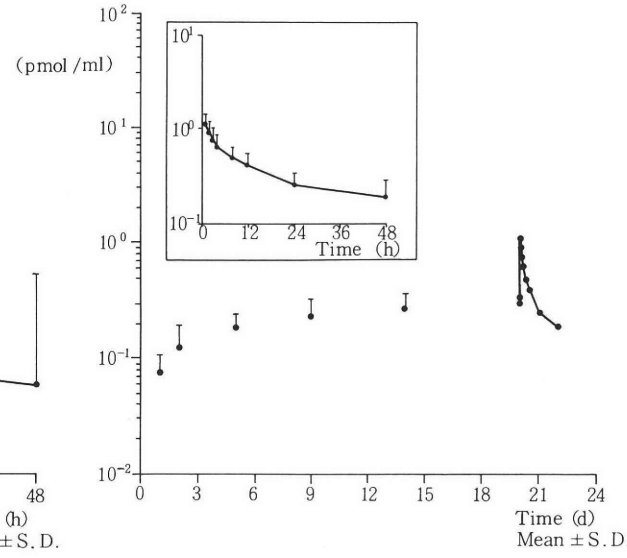


図6　連続投与時の ethinylestradiol の血清中濃度の推移

表5　3-keto-desogestrel の定常状態時の血清中レベル

症　例	Css. min (pmol/ml)			
	10日目	15日目	21日目	22日目
p	1.8	2.5	2.7	1.9
q	1.0	1.7	0.9	0.9
r	2.7	2.8	3.6	1.3
s	1.9	2.4	2.5	2.6
t	0.8	0.8	1.4	1.2
u	1.5	2.1	1.8	2.0
v	1.9	2.6	2.8	2.8
w	1.1	2.7	2.8	2.9
x	2.0	2.6	2.8	2.1
mean±SD	1.6±0.6	2.2±0.6	2.4±0.8	2.0±0.7

表6　単回投与時の血清 ethinylestradiol の薬物動態パラメーター

症　例	$AUC_{0\sim\infty}$ (pmol・h/ml)	T1/2 (β) (h)	Cmax (pmol/ml)	Tmax (h)
a	8.4	15.0	0.835	0.5
b	6.2	24.1	0.325	3.0
c	14.9	38.9	0.936	3.0
d	2.6	3.0	0.535	1.0
e	9.0	28.4	0.656	1.0
f	4.0	17.8	0.481	2.0
g	2.9	4.7	0.547	2.0
h	8.1	28.2	0.792	1.0
mean±SD	7.0±4.12	20.0±12.3	0.638±0.205	1.69±0.96

電解質（Na, K, Cl, Ca）とし，合わせて血圧，脈拍についても測定した．

III. 結果

1．症例および臨床症状

1）単回投与試験：表1に示す8例で行なわれた．未婚者5例，既婚者3例（全例妊娠，出産の経験あり）からなり，年令は23～39歳であった．月経周期は1例が40日型であったが，他は28～32日型の正常周期であった．

服用に伴う副作用の発現は全例に認められなかった．

2）連続投与試験：表2に示す9例で行なわれた．未婚者7例，既婚者2例（1例妊娠，出産の経験あり）で年令は23～39歳であった．月経周期は28～31日型の範囲で全例正常であった．服用中の副作用は，吐き気2件，倦怠感2件，体重増加2件(48 → 49.5 kg, 48 → 49 kg)，乳房緊満感1件，眠気1件の計8件が5例に認めれらたが，いずれも軽度であり投与継続が可能であった．また，不正出血は1例も認められなかった．（表1，表2）

2．薬物動態

1）3-Keto-desogestrel

3-Keto-desogestrelの血中濃度の経時的変化について，単回投与時の結果を図3に，連続投与時の結果を図4に示す．また，血中濃度曲線より求めた薬物動態パラメーターについて，単回投与時を表3に，連続投与時を表4に示す．（図3，図4，表3，表4）

単回投与時のTmaxは1.8±0.7 hour，Cmaxは3.39±1.36 pmol/ml，T 1/2 (β) は19.1±13.0 hour，AUCは28.6±22.9 pmol・h/mlであった．連続投与時のTmaxは1.2±0.6 hour，Cmaxは12.12±5.49 pmol/ml，T 1/2 (β) は22.0±9.6 hour，AUCは97.2±36.8 pmol・h/mlであった．

3-Keto-desogestrelのほぼ定常状態に達したと思われる血中濃度を表5に示す．Css. minは10日目が1.6±0.6 pmol/ml，15日目が2.2±0.6 pmol/ml 21日目が2.4±0.8 pmol/ml，22日目が2.0±0.7

表7　連続投与時の血清ethinylestradiolの薬物動態パラメーター

症　例	$AUC_{0\sim24}$ (pmol・h/ml)	T1/2 (β) (h)	Cmax (pmol/ml)	Tmax (h)
p	18.3	25.1	1.750	0.5
q	7.1	16.6	0.927	1.0
r	13.6	12.5	1.324	2.0
s	10.6	28.3	0.942	2.0
t	9.5	32.4	0.944	1.0
u	9.4	31.4	1.004	1.0
v	10.9	36.2	1.088	0.5
w	14.3	15.2	1.634	1.0
x	11.9	15.8	1.011	1.0
mean±SD	11.7±3.3	23.7±8.8	1.180±0.315	1.11±0.55

表8　Ethinylestradiolの定常状態の血清レベル

症　例	Css. min (pmol/ml)			
	10日目	15日目	21日目	22日目
p	0.436	0.466	0.566	0.470
q	0.248	0.393	0.305	0.194
r	0.440	0.484	0.457	0.333
s	0.277	0.358	0.383	0.341
t	0.195	0.247	0.283	0.265
u	0.256	0.243	0.287	0.318
v	—	0.256	0.324	0.323
w	0.342	0.273	0.347	0.302
x	0.173	0.308	0.343	0.307
mean±SD	0.296±0.101	0.336±0.094	0.366±0.092	0.317±0.073

pmol/ml であり，15日目以後には有意差は認められなかった．

連続投与の最終投与後の血中濃度の推移をみると，1.2時間でピークに達し，単回投与時と比較してCmax は3倍で，その差は有意であった．

2）Ethinylestradiol

Ethinylestradiol の血中濃度の経時的変化について，単回投与時の結果を図5に，連続投与時の結果を図6に示す．また，血中濃度曲線より求めた薬物動態パラメーターについて，単回投与時を表6に，連続投与時を表7に示す．(図5，図6，表6，表7)

単回投与時の Tmax は1.69±0.96 hour，Cmax は0.638±0.205 pmol/ml，T 1/2 (β) は20.0±12.3 hour, AUC は7.0±4.12 pmol･h/ml であった．

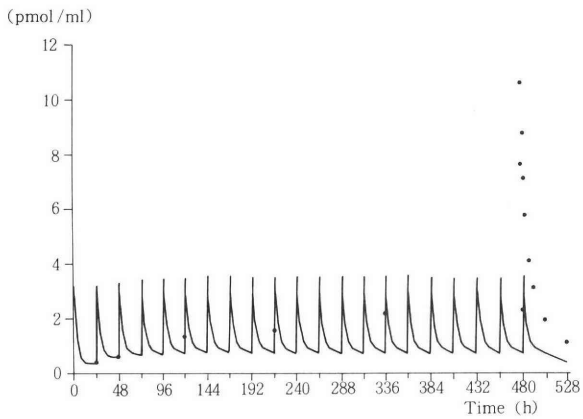


図7　3-Keto-desogestrel の単回投与時の血中の薬物動態パラメーターから算出した定常状態レベルと連続投与時の実測値

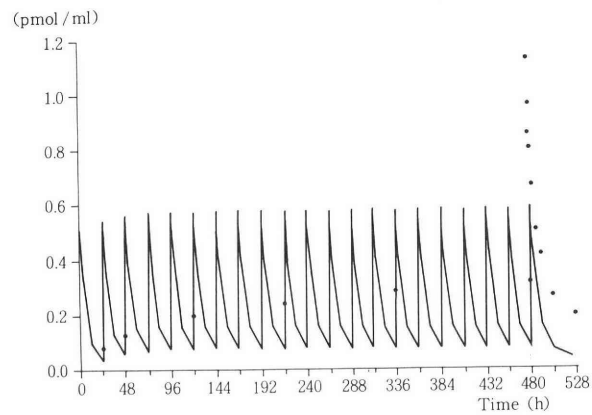


図8　Ethinylestradiol の単回投与時の血中の薬物動態パラメーターから算出した定常状態レベルと連続投与時の実測値

連続投与時の Tmax は1.11±0.55 hour，Cmax は1.180±0.315 pmol/ml，T 1/2 (β) は23.7±8.8 hour，AUC は11.7±3.3 pmol･h/ml であった．

Ethinylestradiol のほぼ定常状態に達したと思われる血中濃度を表8に示す．Css. min は10日目が0.296±0.101 pmol/ml，15日目が0.336±0.094 pmol/ml，21日目が0.366±0.092 pmol/ml，22日目が0.317±0.073 pmol/ml であり，15日目以後には有意差は認められなかった．

連続投与の最終投与後の血中濃度の推移をみると，30分から2時間でピークに達し，単回投与時と比較して2倍で，その差は有意であった．

3．単回投与時のパラメーターからのシミュレーション

単回投与時の薬物動態パラメーターを用いて，連続投与時の濃度推移をシミュレーションし，その図に実際の連続投与時の実測値をプロットした．3-Keto-desogestrel については図7に，ethinylestradiol については図8に示す。シミュレーションによる濃度に比べ，実測値は高濃度を示した．(図7，図8)

4．臨床検査

連続投与の投与前と投与後の値の変動を図9－a～pに示す．投与前やや貧血傾向であった1例も投与後特に異常は認められなかった．症例全体の変動を平均値の差の検定でみると単回投与時に血小板数，Ca に有意な減少がみられ，連続投与時には BUN の減少と，総コレステロールの上昇に有意差がみられたが，いずれも正常値内のわずかな変動にすぎなかった．(図9－a～p)

IV．考察

Org5187は，オランダ・オルガノン社にて開発された一相性の経口避妊薬で，1981年に西ドイツで初めて発売されて以来，欧州を中心に現在世界37カ国で既に発売されている．

本剤に黄体ホルモンとして含有される desogestrel の活性物質である3-Keto-desogestrel は，プロゲステロン・レセプターに極めて強い親和性を示し[7]，desogestrel 60 μg の単独投与でも十分排卵抑制作用が認められている[8]．したがって，ホルモン量は従来のものに比べて約1/10に減じられている．Desogestrel のアンドロゲン作用は，norethisterone と同程度の力価であるが投与量が1/10であり，結果的にアンドロゲン作用は非常に弱くなっている．

今回，我々は臨床第Ⅰ相試験の一部として Org5187の薬物動態学的検討を行なった．投与量は全世界共通の臨床投与量である1日1回1錠とし，その単回

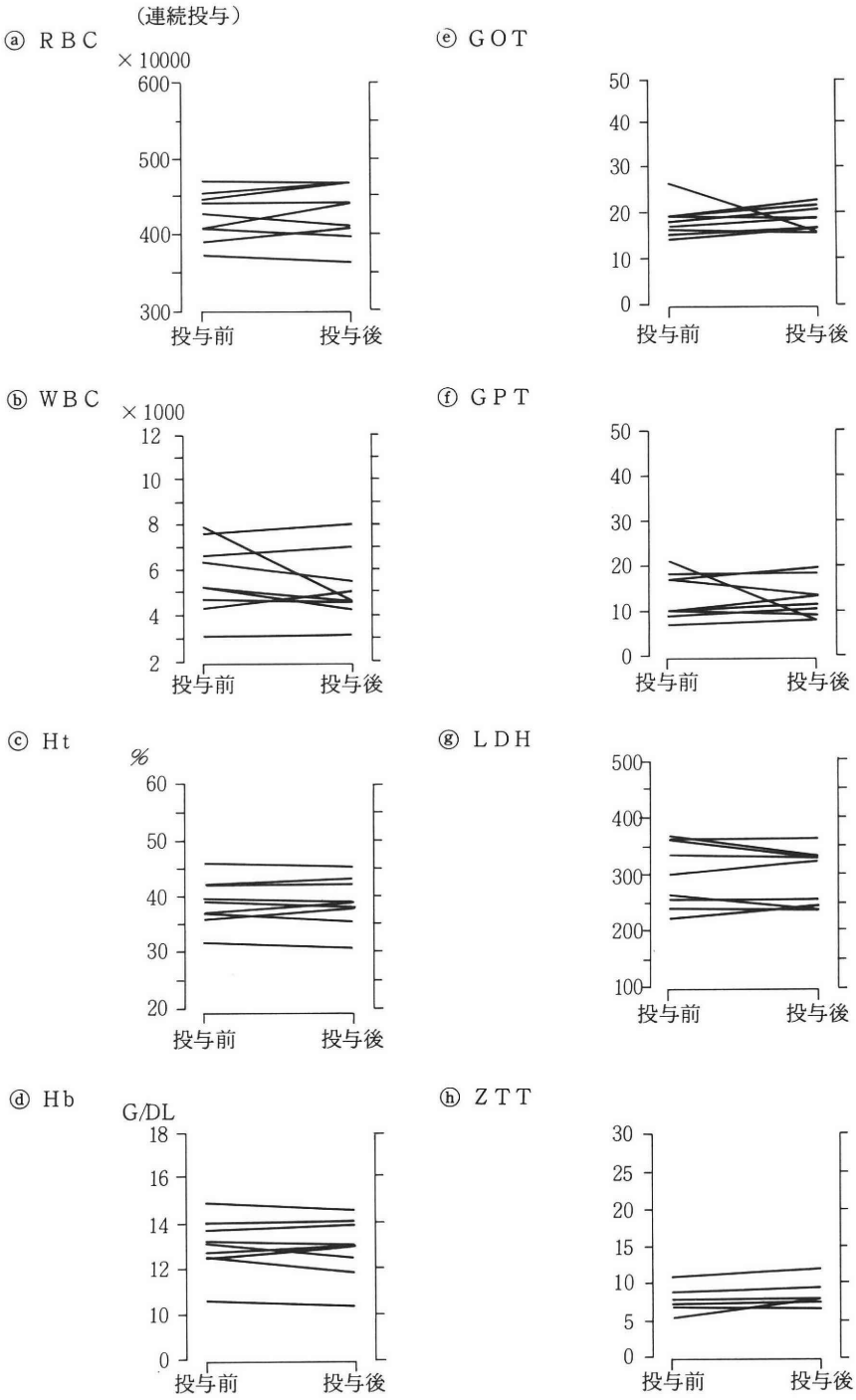

(連続投与)
ⓐ RBC
×10000
600
500
400
300
投与前
投与後
ⓑ WBC
×1000
12
10
8
6
4
2
投与前
投与後
ⓒ Ht
%
60
50
40
30
20
投与前
投与後
ⓓ Hb
G/DL
18
16
14
12
10
0
投与前
投与後
ⓔ GOT
50
40
30
20
10
0
投与前
投与後
ⓕ GPT
50
40
30
20
10
0
投与前
投与後
ⓖ LDH
500
400
300
200
100
投与前
投与後
ⓗ ZTT
30
25
20
15
10
5
0
投与前
投与後

図９　臨床検査(1)

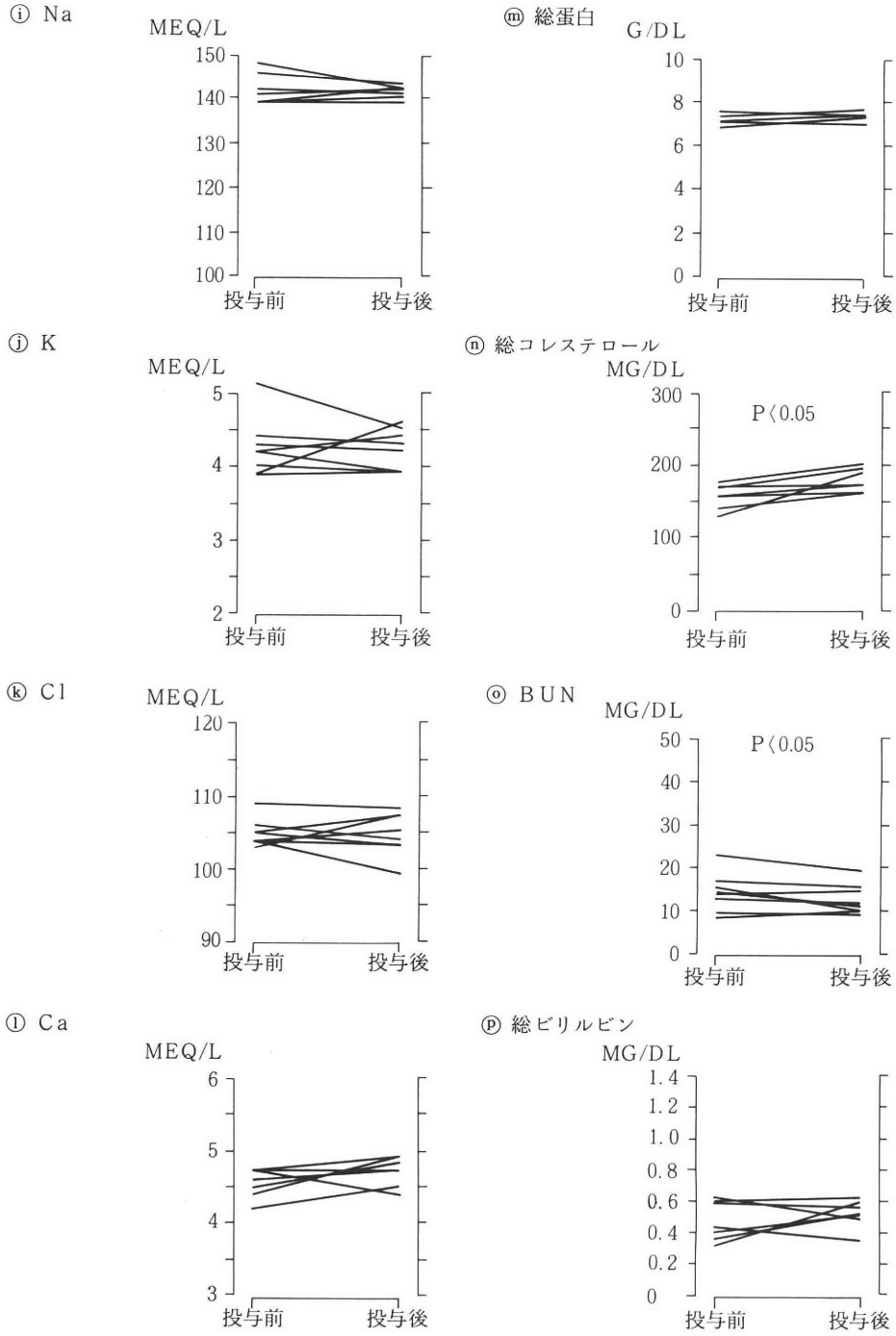

ⓘ Na
MEQ/L
150
140
130
120
110
100
投与前
投与後
ⓙ K
MEQ/L
5
4
3
2
投与前
投与後
ⓚ Cl
MEQ/L
120
110
100
90
投与前
投与後
ⓛ Ca
MEQ/L
6
5
4
3
投与前
投与後
ⓜ 総蛋白
G/DL
10
8
6
4
2
0
投与前
投与後
ⓝ 総コレステロール
MG/DL
300
200
100
0
P〈0.05
投与前
投与後
ⓞ BUN
MG/DL
50
40
30
20
10
0
P〈0.05
投与前
投与後
ⓟ 総ビリルビン
MG/DL
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
投与前
投与後

図9　臨床検査(2)

投与時の血中濃度の推移と，避妊の目的で投与される1周期21日間の連続投与時における，血中濃度の推移および投与終了後の血中からの消退について検討を行なった．測定に当たっては，desogestrelがほとんど薬理作用を有さないことから，主要活性代謝物である3-keto-desogestrelについて測定を行なった．

前述のようにdesogestrelは肝で速やかに代謝され，3-keto体となる．このことについてHasenak[10]は次のような実験からこの事実の確認を行なった．即ち，desogestrelまたは3-keto-desogestrelをcross overで1周期(21日間)ずつ連続投与し，両周期の21日目の最終投与後の3-keto体の血清濃度の推移について比較した．3-keto体を投与すると，投与後30分には有意に高濃度を示し，1時間にてピークに達するのに対し，未変化体のdesogestrelを投与するとピークが現われるのは2時間目である．しかし，Cmaxは3-keto体の7.70±2.31 $\mu g \cdot l^{-1}$に対し，未変化体投与時は6.36±3.71 $\mu g \cdot l^{-1}$とやや低いものの，ほぼ同レベルであり，投与されたdesogestrelが速やかに肝で3-keto体に代謝されることが分かる．

21日間の連続投与中3-keto-desogestrelの血中濃度は，6日目までに急上昇し，以後カーブは緩やかになり，15日目以降はTrend-testでも有意差はなく，ほぼ定常状態に達したと考えられる．

単回投与時の薬物動態パラメーターから連続投与時の血中濃度の推移をシミュレーションしたものと，実際の連続投与時の値とに差が認められ，動態パラメーターにも差が認められた．この理由についてはKuhl[5]も述べているように，本剤に含有されるethinylestra diolによって性ホルモン結合グロブリン(SHBG)の増加が誘発され，3-keto-desogestrelのSHBGに対する結合が増大するためと推測される．一方，連続投与の場合の排泄半減期は単回投与時に比べわずかに高いが，その差は有意でない(P＝0.295

表9　血清中3-keto-desogestrelの薬物動態パラメーター(ヨーロッパ人との比較)

mean±SD

	日本人 n＝8(単回) n＝9(連続)	ヨーロッパ人 D. J. Back (n＝9)	G. Voortman (n＝25)	C. Timmer (n＝22)	H. Kuhl (n＝11)
AUC (単回) (pmol・h/ml) (連続)	29±23 97±37[1)]	44±17 —	— 107±24	— 81±27[1)]	37±15[2)] 99±44[2)]
T1/2 (単回) (h) (連続)	19±13[3)] 22±10	12± 4[3)] —	— 23.8±5.3	— 22± 7	— —
Cmax (単回) (pmol/ml) (連続)	3.4±1.4 12.1±5.5	2.3±0.9 —	— 11.0±3.0	— —	— —
Tmax (単回) (h) (連続)	1.8±0.7 1.2±0.6	1.3±0.5 —	— 1.6±1.0	— —	— —
Css. min (連続) (pmol/ml)	2.1±0.7	2.0±0.7	—	2.5±1.1	—
採血ポイント	0，0.5，1，2，3，4，8，12，24，48 (10ポイント)	0，0.5，1，1.5，2，3，4，6，8，11，14，24 (12ポイント)	0，0.5，1，1.5，2，2.5，3，4，5，6，8，12，16，24，48，72 (16ポイント)	0，8，12，24 (4ポイント)	0，0.5，1，1.5，2，3，4，24 (8ポイント)

1)：Timmerの成績は，今回の試験と採血スケジュールが異なっているので，日本のデーターをこの基準で計算するとAUCは82±32pmol・h/mlとなり極めて近い値となる。

2)：この実験は投与1，3，6，12周期にそれぞれ測定されているが，単回投与については1周期目の投与1日目の$t_{0\sim24}$の値を，連続投与については1周期目の投与21日目$t_{0\sim24}$の値を採用した。ng・h/mlをpmol・h/mlに換算した。

3)：Backの成績は，24時間以後は採血はなく$t_{0\sim24}$での計算，日本のデーターを$t_{0\sim24}$の値で計算すると13.3と近い値となる。

t-test) ことから，SHBGの産生の誘発は3-keto-desogestrelの排泄にはあまり影響を与えないようである．

Ethinylestradiolも同様に，単回投与時の薬物動態パラメーターから連続投与時の血中濃度をシミュレートしたものと比較した場合，実際の連続投与時の値は高く，またAUCについても単回投与と連続投与に有意差（P＝0.0092　t-test）がみられた．しかしその差は3-keto-desogestrelほど顕著ではない．このAUCの差は，単回投与時の2例のT 1/2が非常に低い値を示し，結果的にAUCが低く算出されているとも考えられるが，2例を除いても8.4±3.7 pmol・h/mlとなり，まだ有意な差が認められる（P＝0.046 t-test）．Ethinylestradiolは，エストラジオールやプロゲステロンほどSHBGに特異的に強い親和性を示さないと言われているが[11]，弱いながらもSHBGの上昇が影響しているのかもしれない．

次にヨーロッパ人と日本人の3-keto-desogestrelの薬物動態パラメーターを表9に示す．RIA法による測定でのヨーロッパ人の単回投与時の結果は，T 1/2が日本人が19±13 hourであるのに対して，Back[4]の報告では12± 4 hourと低いが，Backらの採血は24時間までであり，今回の結果を24時間までの値で計算すると，T 1/2は平均13.3 hourとほぼ等しい値となる．またAUCは，日本人が29±23 pmol・h/mlであるのに対し，Backが44±17 pmol・h/ml，kuhl[5]らのが37±15 pmol・h/mlと大きい．（表9）

連続投与後の血中濃度の推移のパラメーターで比較すると，T 1/2は22±10 hourに対し，Timmer[3]の22± 7 hour，Voortman[6]らの23.8±5.3 hourの結果とほぼ一致し，AUCは97±37 pmol・h/mlに対して，kuhlは99±44 pmol・h/mlと一致する．Timmer[3]の結果はそれに比べ81±27 pmol・h/mlと低いが，この差は採血のスケジュールが異なるためと考えられ，今回の結果のうちTimmer[3]の採血ポイントのみを採用して計算すると82±32 pmol・h/mlとなり，ほぼ等しい値となる．また，Voortman[6]との比較において，Tmaxは1.2±0.6 hourに対し1.6±1.0 hour，Cmaxは1.2±5.5 pmol/mlに対し11.0±3.0 pmol/mlと，いずれもほぼ等しい．これらのことより，日本人とヨーロッパ人の3-keto-desogestrelの薬物動態はほぼ等しいと結論して良いと考える．

Ethinylestradiolの薬物動態については表10に示す．Desogestrelとの配合剤としてethinylestradiolが投与された報告の内，ヨーロッパ人の単回投与の

表10　血清中ethinylestradiolの薬物動態パラメーター（ヨーロッパ人との比較）
mean±SD

		日本人 (n＝8（単回） n＝9（連続）)	ヨーロッパ人 G. Voortman (n＝25)	ヨーロッパ人 C. Timmer (n＝22)
AUC (pmol・h/ml)	(単回)	7.0±4.1	—	—
	(連続)	11.7±3.3	16.3± 5.1	7.9±2.5
T1/2 (h)	(単回)	20.0±12.3	—	—
	(連続)	23.7± 8.8	29.1±13.0	22.8±8.3
Cmax (pmol/ml)	(単回)	0.64±0.21	—	
	(連続)	1.18±0.32	2.4±1.0	
Tmax (h)	(単回)	1.69±0.96	—	
	(連続)	1.11±0.55	1.4±0.8	
Css. min (pmol/ml)	(連続)	0.32±0.07	—	0.22±0.08
採血ポイント		0，0.5，1，2，3，4，8，12，24，48 (10ポイント)	0，0.5，1，1.5，2，2.5，3，4，5，6，8，12，16，24，48，72 (16ポイント)	0，8，12，24 (4ポイント)

ものはない．しかし，21日間連続投与後の報告があり，Tmax及びCmaxは日本人ではそれぞれ1.11±0.55 hour，1.18±0.32 pmol/mlに対して，Voortman[6]では1.4±0.8 hour，2.4±1.0 pmol/mlといずれもやや高い値を示す．T1/2は日本人の23.7±8.8 hourに対して，Voortman[6]は29.1±13.0 hourとやや長いが，Timmer[3]は22.8±8.3 hourとほぼ一致する．AUCは11.7±3.3 pmol・h/mlに対して，それぞれ7.9±2.5 pmol・h/ml，16.3±5.1 pmol・h/mlと，日本人のデーターは中間に位置した．(表10)

以上に述べたように，3-keto-desogestrelおよびethinylestradiolの薬物動態に関して，今回の日本での成績とヨーロッパの成績とを比較した場合，同じヨーロッパ人での成績でも相違が認められることなどを考慮すると，人種間の差はないと考えられる．

連続投与時に不正出血はみられなかったが，吐き気，倦怠感，乳房緊満感，眠気の症状および2例に体重増加の副作用がみられた．しかしいずれも軽度であり，投与継続が可能であった．

文　献

1) 経口避妊薬の医学的評価に関する研究班報告
2) 経口避妊薬の臨床評価方法に関するガイドライン
3) Timmer, C.: Pharmacokinetics of Org 3236 and ethinylestradiol released from different types of contraceptive vaginalrings, in comparison with an oral preparation containing 150μg Org 2969 and 30μg ethinylestradiol, Organon SDG Release Report, No. 2096, 1987
4) Back, D. J., Grimmer, S. F. M. Shenoy, N. and Orme, M. L'E.: Plasma concentration of 3-keto-desogestrel after oral administration of desogestrel and intravenous administration of 3-keto-desogestrel, Contraception, 35: 619, 1987
5) Kuhl, H., Jung-Hoffmann, C. and Heidt, F.: Serum levels of 3-keto-desogestrel and SHBG during 12 cycles of treatment with 30μg ethinylestradiol and 150μg desogestrel, Contraception, 38: 381, 1988
6) Voortman, G. and Timmer, C.: Bioequivalence testing of two Marvelon tablets in healthy female volunteers; present 6mm tablet formulation versus a new 5mm tablet formulation, Organon SDG Release Report, No. 2477, 1987
7) Bergink, E. W., Hamburger, A. D., Jager, De E. and Van-Der-Vies, J.: Binding of a contraceptive progestogen Org 2969 and its metabolites to receptor protein and human sex hormone binding globulin, J. Steroid Biochem, 14: 175, 1981
8) Viinikka, L., Ylikorkala, O., Nummi, S., Virkkunen, P., Ranta, T., Alapiessa, U. and Vihko, R.: Biological effect of a new and potent progestagen, A clinical study, Acta Endocr. (KBN) 83: 429, 1976
9) Vies, J., Van-Der-Visser de J.: Endocrinological studies with desogestrel, Arzneimittelforsch, 33: 231, 1983
10) Hasenack, H. G., Bosch, A. M. G. and Kaar, K.: Serum levels of 3-keto-desogestrel after oral administration of desogestrel and 3-keto-desogestrel, Contraception, 33: 591, 1986
11) Akpoviroro, J. and Fortheby, K.: Assay of ethynyloestradiol in human serum and its binding plasma proteins, J. Steroid Biochem, 13: 773, 1980

Clinical Pharmacokinetic Study of Org5187 as a Low-dose Oral Contraceptive.

Masahiko Mizuno, Yoshinori Kuwabara and Yuji Taketani

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

Akira Yazima, Hiroshi Hoshiai, Takao Fukaya and Motoharu Ishikawa

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

Takuro Kobayashi

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

Rihachi Iizuka, Kiyoo Tanabe and Yasushi Izumi

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

Shigeo Takagi and Katsuo Tsubata

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

Shoushichi Takecuhi

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

The phamacokinetics of 3-keto-desogestrel and ethinylestradiol (EE) and the safety of Org5187 (150μg desogestrel and 30μg EE) in 17 healthy Japanese women (single dose: 8, multiple dose: 9) were studied after oral administration.

After single dose administration, Tmax, Cmax elimination half life (tl/2β) and the area under the curve (AUC) of 3-keto-desogestrel were 1.8±0.7hour, 3.39±1.36pmol/ml, 19.1±13.0hour and 28.6±22.9pmol・h/ml, respectively, On the other hand, those after multiple dose were 1.2±0.6hour (Tmax), 12.12±5.49pmol/ml (Cmax), 22.0±9.6hour (tl/2β) and 97.2±36.8pmol・h/ml (AUC), respectively.

Pharmacokinetic parameters of EE were 1.69±0.96hour (Tmax), 0.638±0.205pmol/ml (Cmax), 20.0±12.3hour (tl/2β) and 7.0±4.12pmol・h/ml (AUC) after single dose, and 1.11±0.55 (Tmax), 1.180±0.315pmol/ml (Cmax), 23.7±8.8hour (tl/2β), 11.7±3.3pmol・h/ml (AUC) after multiple dose.

The serum concentrations of 3-keto-desogestrel and EE reached the steady state on 15th day after the start of the administration.

No differences were obsered between Japanese and European female volunteers in the pharmacokinetics of 3-keto-desogestrel and EE.

During the period of the multiple dose treatment neither irregular bleedings nor side effects which led to "drop-outs" were observed.

(受付：1990年7月20日特掲)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

低用量経口避妊薬 Org5187 の第 I 相試験
(臨床薬力学的検討)

Clinical Pharamacodynamic Studies of Org5187 as a Low-dose Oral Contraceptive.

東北大学医学部附属病院産婦人科

石川元春 Motoharu ISIKAWA　矢嶋聰 Akira YAJIMA　星合昊 Hiroshi HOSIAI
深谷孝夫 Takao FUKAYA

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

東京大学医学部附属病院産婦人科

水野正彦 Masahiko MIZUNO　桑原慶紀 Yoshinori KUWABARA　武谷雄二 Yuhji TAKETANI

Department of obstetrics and Gynecology,
Tokyo University, School of Medicine.

慶応義塾大学医学部附属病院産婦人科

飯塚理八 Rihachi IIZUKA　田辺清男 Kiyoo TANABE

Department of obstetrics and Gynecology,
Keiou University, School of Medicine.

日本大学医学部附属病院産婦人科

高木繁夫 Sigeo TAKAGI　津端捷夫 Katsuo TSUBATA

Department of obstetrics and Gynecology,
Nihon University, School of Medicine.

新潟大学医学部附属病院産婦人科

竹内正七 Shoushichi TAKEUCHI

Department of obstetrics and Gynecology,
Niigata University, School of Medicine.

1錠中に desogestrel 150μg と ethinylestradiol 30μg を含有する Org5187 を健常婦人8例に投与し

て，その薬力学的作用および安全性について検討した．血清蛋白，視床下部－下垂体－卵巣系，副腎，腎および甲状腺機能への影響を，投薬しない観察周期と投薬周期に分けて検討した．観察周期では8例中6例に排卵が認められ，2例は無排卵周期症であった．投与周期ではluteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol, progesteroneはそれぞれ抑制されており，またcortisolは有意に増加し，dehydroepiandrosterone-sulfateは有意に低下した．Free triiodothyronine, thyroid-stimulating hormoneは投与前後で変化しなかった．Sex hormone-binding globulin, ceruloplasminは投与後有意に上昇した．排卵群，無排卵群ともに投与周期には排卵を認めず，投与周期中に，8例中5例に不正性器出血を認めたが，重篤な副作用はみられなかった．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 49—57, 1991)

緒　言

避妊法として経口避妊薬がアメリカで認可されてから二十数年が経過しているが，本邦においては，その有用性は認識されているものの，まだ一般に広く使用されていないのが現状である．昭和60年に厚生省は，“経口避妊薬の医学的評価に関する研究班－班長：小林拓郎，帝京大学教授”を発足させ，その研究成果に従って“経口避妊薬の臨床評価方法に関するガイドライン”が昭和62年に厚生省から発表された．

このガイドラインに沿って，いわゆる低用量経口避妊薬のひとつであるOrg5187(1錠中にdesogestrel 150μgとethinylestradiol 30μgを含有する錠剤)を使用して，本剤服用時の視床下部－下垂体－卵巣系，副腎，腎，甲状腺機能，および血清蛋白に関する薬力学的作用と安全性を日本人女性を対象として検討した．

対象と方法

過去3カ月以内にホルモンを投与されていない健常日本人婦人で，正常月経周期(28－30日型)をもつ8例を対象に昭和62年2月より，6月までの間に行なった(表1，平均年齢27.6歳，range 24－35歳)．第1周期目(control cycle)は投薬しない観察周期とし，第2周期(treated cycle)の月経周期の第1日目から，本錠を就眠前に21日間連続して経口投与した．試験中は基礎体温表(BBT)を記録させた．

検査項目は，下垂体－卵巣系機能「luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol (E_2), progesterone (P)」，血清蛋白「sex hormone-binding globulin (SHBG), ceruloplasmin」，副腎機能「cortisol, dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S)」，腎機能「レニン活性」，甲状腺機能「free triiodothyronine (T_3), thyroid-stimulating hormone (TSH)」，凝固線溶系「プロトロンビン時間，fibrinogen, antithrombin III, プラスミノーゲン」，一般検査すなわち血液一般「白血球数，赤血球数，血色素量，ヘマトクリット値，血小板数」，肝機能検査「GOT, GPT, Al-p, ZTT, LDH, 総ビリルビン」，腎機能「BUN, cretinine」，血清電解質「Na, K, Cl, Ca」，尿検査「蛋白，唐，

表1　対象婦人の背景およびOrg 5187内服後の副作用

	イニシャル	年齢(歳)	身長(cm)	体重(kg)	妊娠歴	既往歴	自覚的副作用	他覚的副作用
排卵群	N.M.	30	158	50	0	無	情緒不安定 両側乳房痛	点状出血
	S.F.	27	163	53	0	アレルギー	無	無
	K.T.	27	160	49	0	無	無	無
	Si.T.	24	165	59	0	無	無	点状出血
	T.N.	30	154	44	0	無	無	点状出血
	Sa.T.	35	155	47	0	アレルギー	無	点状出血
無排卵群	T.S.	24	153	47	0	無	無	点状出血
	S.E.	24	158	51	0	無	軽度全身倦怠感	無

ウロビリノーゲン」，代謝機能「空腹時血糖，insulin」を測定し，同時に心電図も調査した．原則として，下垂体－卵巣系は，control cycle の1，7，10，12，14，16，18，20，23日目および treated cycle の7，10，12，14，16，18，20日目に，血清蛋白，副腎機能，腎機能，甲状線機能，凝固線溶系，一般検査は control cycle の27日目および treated cycle の21日目にそれぞれ測定した(表2)．各種ホルモンおよび血清蛋白の測定法：LH，FSH，E_2，P，Free-T_3，DHEA-S，レニン活性は RIA (radioimmunoassay) 法で，TSH，SHBG は IRMA (immunoradiometric assay) 法で cortisol は FPIA (fluorescence polarization immunoassay) 法で，ceruloplasmin は SRID (single radial immunodiffusion) 法で，それぞれ測定した．有意差検定は paired t-test で行なった．

結　果

Control cycle において，BBT，LH，FSH，E_2，P を retrospective に総合的に検討すると，8例中6例に排卵が認められ(排卵群)，2例は無排卵周期症(無排卵群)であった(表1，図1)．したがって，視床下部－下垂体－卵巣系は2群に分けて検討した．

BBT：BBT は control cycle において二相性を示した排卵群でも，低温一相性を示した無排卵群でも，treated cycle では両群ともに高温一相性を示した(図1)．

I．視床下部－下垂体－卵巣系への影響

ゴナドトロピン：Control cycle のゴナドトロピンは，排卵群では LH，FSH ともにほぼ典型的な周期性変動を示したが，無排卵群では不規則な無排卵周期症のパターンを示した．Treated cycle では，両群ともに，LF，FSH は低値に抑制されていた(図1，2)．

性ステロイド：Control cycle の性ステロイドは，排卵群では E_2，P ともに典型的な周期内変動を示したが，無排卵群では不規則な変動を示し，特に P は周期内を通じて低値を示した．

Treated cycle では，両群ともに E_2，P は低値を持続しており，排卵は完全に抑制されていた(図1，2)．

II．血清蛋白への影響

Control cycle では，SHBG は 55.9±8.09 nmol/l(mean±SE，以下同じ)であったのに対し，treated cycle では 162.6±15.92 nmol/l と有意に上昇した($p<0.01$)．また ceruloplasmin は，それぞれ 22.70±1.520 mg/dl，40.31±1.808 mg/dl と有意に上昇した($p<0.01$)．

III．副腎，腎機能への影響

Cortisol：Control cycle の cortisol は 12.52±1.456 μg/dl であったのに対し，treated cycle では 26.10±3.966 μg/dl と有意に上昇していた($p<0.05$)．

DHEA-S：Control cycle の DHEA-S は 2206.0±671.46 ng/ml であったのに対し，treated cycle では 1652.0±605.14 ng/ml と有意に低下していた($p<0.01$)．

表2　検査スケジュール

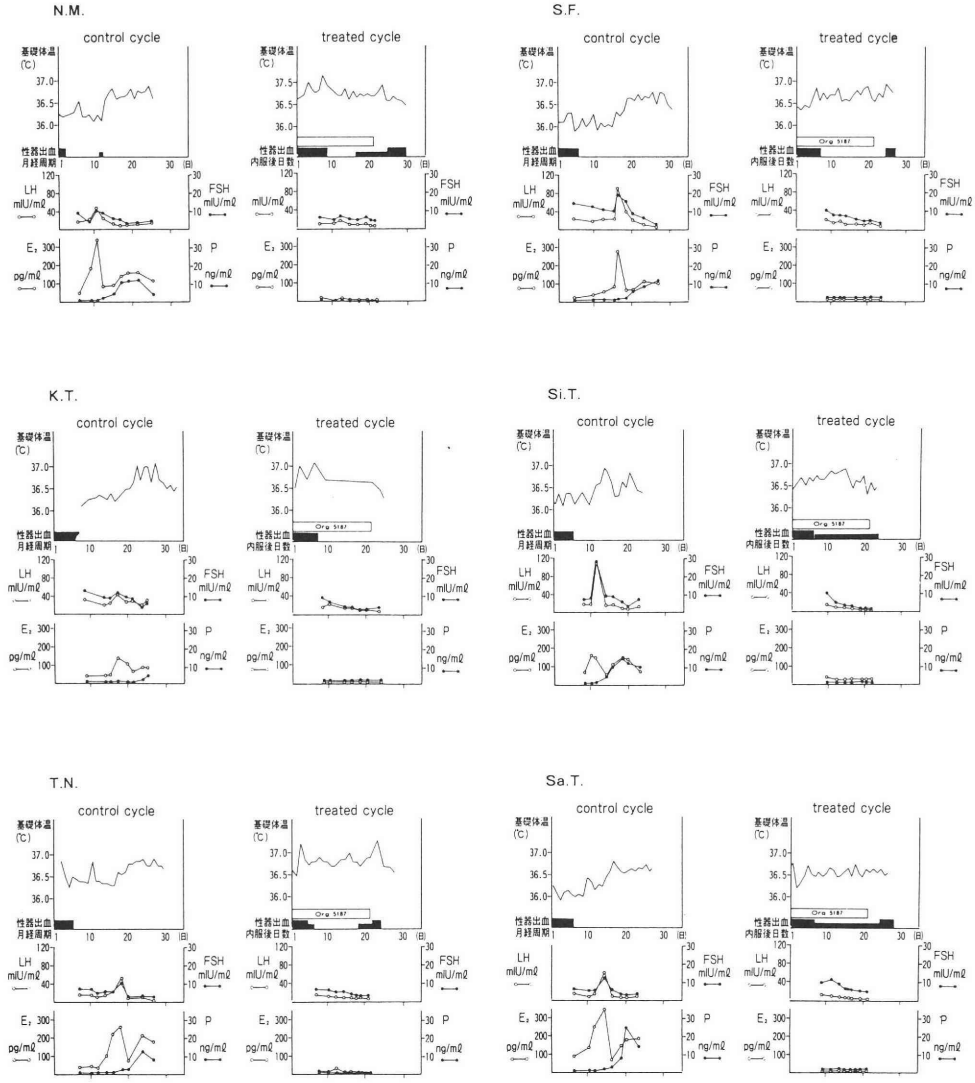
a. control cycle

月経周期(日)	1…	7	10	12	14	16	18	20	23	25	27…
LH, FSH, E_2, P	○	○	○	○	○	○	○	○	○		
血清蛋白											○
副腎機能											○
甲状腺機能											○
凝固線溶系											○
一般検査											○

b. treated cycle

内服開始後日数	1…	7	10	12	14	16	18	20	21
LH, FSH, E_2, P		○	○	○	○	○	○	○	
血清蛋白									○
副腎機能									○
甲状腺機能									○
凝固線溶系									○
一般検査									○

I．排卵群



II．無排卵群

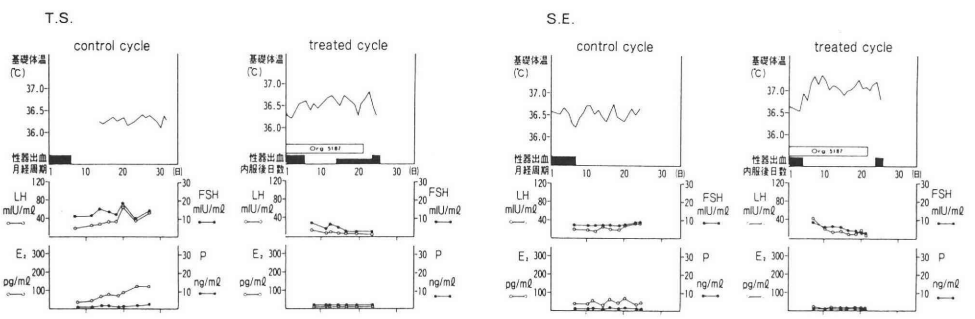


図1　Control-treated cycle における基礎体温，LH，FSH，E_2，P の推移

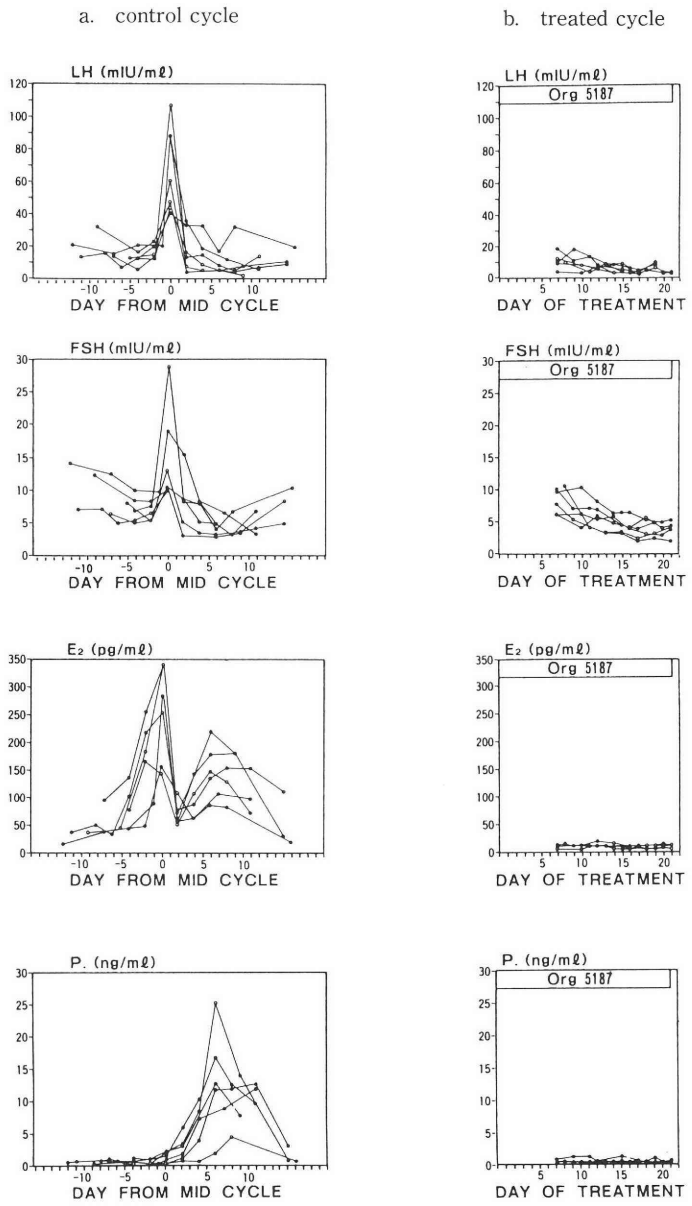


図2　排卵日の control 及び treated cycle における血中 LH, FSH, E_2, P の推移

レニン活性：Controlとtreated cycle間に有意差は認められなかった．

IV．甲状腺機能への影響

Control cycleのTSHは1.31±0.97 μg/dl, free-T_3は3.5±0.25 ng/dl，teated cycleではそれぞれ1.11±0.88 μg/dl，3.3±0.08 ng/dlと，周期間で有意差は認められなかった．

V．凝固線溶系への影響

凝固線溶系では，プロトロンビン時間，fibrinogen，antithrombin IIIは，有意な変動がなかったが，プラスミノーゲンは100.3±5.71％から136.4±5.56％へと有意に上昇していた（P＜0.01）．

VI．その他一般検査値への影響

血液一般（白血球数，赤血球数，血色素量，ヘマトクリット値，血小板数）では，controlとtreated cycle間に有意差を認めなかった．

肝機能検査では，control cycleでZTTが8.60±0.838 U，総ビリルビンが0.81±0.083 mg/dl，treated cycleではそれぞれ7.74±0.829 U，0.58±0.059 mg/dlと正常範囲内で有意に低下した（いずれもP＜0.01）．その他のGOT，GPT，Al-p，LDHは周期間で有意な変動は認められなかった．腎機能のうちcreatinineは変化しなかったが，BUNは9.3±1.97 mg/mlから14.5±2.02へと有意に上昇した（P＜0.01）．血清電解質（Na，K，Cl，Ca）は周期間で有意差は認められなかった．代謝機能として，空腹時血糖，insulinは周期間で有意差を認めなかった．その他，心電図所見，尿検査（蛋白，糖・ウロビリノーゲン）は，投与前後で変化しなかった．

VII．副作用

自覚的副作用を表Iに示したが，いずれも重篤なものではなく，服用を中止したものはなかった．他覚的副作用としては，点状出血が8例中5例に認められた（排卵群6例中4例，無排卵群2例中1例）．その他，臨床上重篤な副作用は認められなかった．

考　察

Org5187は，Organon社（オランダ）で開発され

表3　一般臨床検査項目の内服前後の推移（その1）
(mean±SE)

検査項目	単　位	control cycle	treated cycle	有意差注)
血液一般				
白血球数	$\times 10^3$	5.214±0.221	5.062±0.357	NS
赤血球数	$\times 10^4$	422.4±11.08	417.6±7.37	NS
血色素量	g/dl	12.6±0.23	12.8±0.22	NS
ヘマトクリット	%	38.3±0.78	37.9±0.67	NS
血小板数	$\times 10^3$	251.7±11.29	247.8±16.42	NS
血液生化学				
GOT	U	13.8±1.67	15.4±0.84	NS
GPT	U	9.3±0.80	10.5±1.45	NS
Al-p	U	65.3±7.70	64.1±4.00	NS
ZTT	U	8.60±0.838	7.74±0.829	$p < 0.01$
LDH	IU/l	359.9±13.72	366.5±16.21	NS
総ビリルビン	mg/dl	0.81±0.083	0.58±0.059	$p < 0.01$
BUN	mg/dl	9.3±1.97	14.5±2.02	$p < 0.01$
creatinine	mg/dl	0.7±0.03	0.6±0.02	NS
Na	mEq/l	137.9±0.97	138.8±0.41	NS
K	mEq/l	3.9±0.12	4.1±0.14	NS
Cl	mEq/l	102.6±0.86	103.9±0.74	NS
Ca	mEq/l	9.1±0.14	9.2±0.10	NS

注）有意差検定は，paired t-testにて行なった。
NS：not significant

た合成黄体ホルモン作用物質であるdesogestrel 150μgと合成卵胞ホルモン作用物質であるethinylestradiol 30μgを含む低用量の経口避妊薬である.

Desogestrel(図3)は速やかに3-keto desogestrelに代謝され,これが強力なprogesterone様活性を持ち,estrogenicな作用はほとんどなく,またandrogenic作用は弱い.そのprogesterone様作用のため,経口単独投与すると家兎[1]およびヒト[2]において排卵を抑制する.また,家兎の受精能を抑制し[1],ヒトの頸管粘液の粘性を低下させ,精子通過性を抑制する[2]ことから経口避妊薬への臨床応用に用いられている.一方,ethinylestradiol(図3)は,経口投与で有効な卵胞ホルモンで,経口投与ではestradiolの数倍の効力がある[3].これらの合剤であるOrg5187は,1986年現在,世界37ヵ国において承認,発売されている薬剤であるが,日本人婦人を対象とした臨床薬力学的検討は報告されていない.

今回の結果から,Org5187内服中のLH,FSH,E_2,Pは排卵群,無排卵群ともに低値となっており,排卵は認められなかった(図1,2).すなわち,Org5187は下垂体,卵巣機能を完全に抑制していた.

また,cortisolは本剤内服後に有意に上昇していたが,Meulenbergらによる同様の臨床試験でも同じ結果が得られている[4].彼らによると,totalのcortisolはethinylestradiolの作用によるCBG (cortisol binding globulin)の上昇によるとしている.

しかし遊離cortisolも上昇するとしている.この上昇については採血時間が午前9:00～9:30であり,日内変動するcortisolの早朝ピークのシフトによるものか,Org5187中のethinylestradiolの持つ下垂体と標的器官に対する抗糖質corticoid作用であると推論している。

DHES-Sは内服によって有意に減少したが,Haefeliら[5]の報告でも同様の現象が述べられており,彼らはOrg5187がmetabolic clearance rateに影響していると推論している.

また,レニン活性はOrg5187によって影響は受けなかった.以上のようにOrg5187は,副腎機能の検査値にある程度の影響を与えるものの,今回の症例の中には臨床的にその徴候がみられた例は認められ

表3　一般臨床検査項目の内服前後の推移(その2)
(mean±SE)

検査項目	単　位	control cycle	treated cycle	有意差注)
血清蛋白				
SHBG	nmol/l	55.9±8.09	162.6±15.92	$p < 0.01$
ceruloplasmin	mg/dl	22.70±1.520	40.31±1.808	$p < 0.01$
副腎,腎機能				
cortisol	μg/dl	12.52±1.456	26.10±3.996	$p < 0.05$
DHEA-S	ng/ml	2206.0±671.46	1652.0±605.14	$p < 0.01$
レニン活性	ng/ml/hr	4.1±1.24	2.8±0.60	NS
甲状腺機能				
TSH	μg/dl	1.31±0.97	1.11±0.88	NS
Free T3	ng/dl	3.5±0.25	3.3±0.08	NS
血液凝固機能				
プロトロンビン時間	秒	13.0±0.52	11.7±0.12	NS
fibrinogen	mg/dl	224.4±21.24	259.7±13.37	NS
antithrombin III	%	24.6±1.17	23.8±0.73	NS
プラスミノーゲン	%	100.3±5.71	136.4±5.56	$p < 0.01$
糖				
空腹時血糖	mg/dl	88.3±2.62	86.5±1.95	NS
insulin	μU/ml	5.6±1.21	6.0±0.89	NS

注) 有意差検定は,paired t-testにて行なった。
NS : not significant

なかった.

甲状線機能は，本剤内服によって影響を受けなかった.

凝固線溶系の検査値の中でプラスミノーゲンは100.3±5.71％から136.4±5.56％と正常値上限を越え有意に上昇した. この上昇はOrg5187を含む他の経口避妊薬でも認められている[6]. しかし他のプロトロンビン時間，fibrinogen，antithrombin IIIは影響を受けなかった.

血清蛋白のうち，SHBGは平均値で約3倍に増加していた. Haefeliら[5]も同様の傾向を指摘しており，このSHBGの上昇は，ethinylestradiolによるものと推定している. SHBGの上昇は，遊離テストステロンを低下させ，androgen-estrogenのバランスを良い方向に保つため，内服によって痤瘡，脂漏，多毛などの症状を改善する[5]. また，黄体ホルモンとしてOrg5187に用いられているdesogestrelはlevonorgestrelと異なり，ethinylestradiolの持つSHBG上昇作用を妨げないので，よりandrogen作用は抑えられるとしている[5]. 一方，ceruloplasminも内服によって増加したが，この作用もethinylestradiolによるものと考えられる[7].

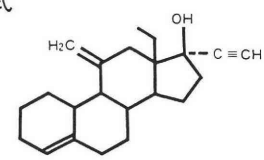
血液一般（白血球数，赤血球数，血色素量，ヘマトクリット値、血小板数），creatinineおよび電解質（Na，K，Cl，Ca）はOrg5187内服によって影響をうけなかった. 肝機能は，ZTT，総ビリルビン値が内服後に有意に低下し，またBUNは上昇したが，いずれも正常範囲内の変化にとどまり臨床的に問題とはならなかった.

自覚的な副作用では(表1)，両側乳房痛，情緒不安定（以上症例N.M.），軽度全身倦怠感（症例S.E.）を訴えた例があったが，いずれも日常生活に支障はなく，内服を継続できた. これらの自覚症状に加え頭痛，吐気，鬱症状などが経口避妊薬内服時にしばしば発現するが，この様な症状は投与1周期目にもっとも多く発現し，服用を続けるにつれて発現率は低下するとされている[8].

他覚的な副作用では(表1)，8例中5例(62.5％)に点状出血が認められた（排卵群6例中4例，無排卵群2例中1例）. この発現率は，他国の集積結果[8]（第Ⅰ周期目の点状出血発現率14.5％）と比べて高値となっているが，症例数が少ないため日本人に特有の現象かどうかは，今回の試験からは判断できず，今後の臨床試験の結果を待たなければならない.

a) desogestrel

構造式



分子式：$C_{22}H_{30}O$

分子量：310.5

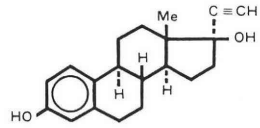
融　点：165－173

性　状：白色、結晶性粉末

化学名：(+)-17α-ethinyl-18-methyl-11-methylene-4-estren-17-ol

b) ethinylestradiol

構造式



分子式：$C_{20}H_{24}O_2$

分子量：296.4

融　点：181－185

性　状：白色又は淡黄白色の結晶性粉末

化学名：19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)trien-20-yne-3,17β-diol

図3　Desogestelおよびethinylestradiolの構造式と化学名

今後さらに症例数，投与周期数を増やした低用量経口避妊薬の安全性，有用性の臨床検査の結果が待たれる．

(謝辞：今回の臨床試験に使用したOrg5187を，提供して頂いた日本オルガノン株式会社に感謝いたします。)

文　献

1) Vies, J.: Endocrinological studies with desogestrel, Arzneimittelforsch, 33: 231, 1983
2) Skouby, S. O.: The influence on the pituitary-ovarian function, cerevical mucus and vaginal cytology of a new progestational compound, Contraception, 14: 529, 1976
3) Soule, T.: A clinical trial of ethinylestradiol, Am. J. Obstet. Gynecol., 45: 315, 1943
4) Meulenberg, P. M. M., Ross, H. A., Swinkels, L. M. J. W. and Benraad, T. J.: The effect of oral contraceptives on plasma-free and salivary cortisol and cortisone, Clinica Chimica' Acta., 165: 379, 1987
5) Haefeli, M. M., Zodrow, I. W., Huber, P. and Weilers M. J.: Klinische und biochemische Resultate bei der Behandlung mit Marvelon-einem neuen steroidalen Ovulationshemmer, Geburtsh. Frauenheilk., 42: 215, 1982
6) Vekemans, M., Grippa, J., Capel, P. and Fondu, P.: The effect of two low-dose contraceptives containing ethinylestradiol and desogestrel or d-norgestrel on blood clotting factors, Curr, Ther. Res., 42: 1109, 1987
7) Cullberg, G., Dovre, P. A., Lindstedt, G. and Steffensen, K.: On the use of plasma proteins as indicators of the metabolic effects of combined oral contraceptives, Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl, 111: 47, 1982
8) Org5187 概要：日本オルガノン株式会社，1987

Clinical pharamacodynamic studies of Org5187 as a low-dose oral contraceptive.

Akira Yazim*, Hiroshi Hosiai**,
Takao Fukaya** and Motoharu Isikawa***

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

Masahiko Mizuno*, Yoshinori
Kuwabara** and Yuhji Taketani**

Department of obstetrics and Gynecology,
Tokyo University, School of Medicine

Rihachi Iizuka* and Kiyoo Tanabe**

Department of obstetrics and Gynecology,
Keiou University, School of Medicine

Sigeo Takagi* and Katsuo Tsubata**

Department of obstetrics and Gynecology,
Nihon University, School of Medicine

Shoushichi Takeuchi*

Department of obstetrics and Gynecology,
Niigata University, School of Medicine

*: organizing managers,
**: managers,
***: the author ln charge.

Org5187 (desogestrel 150μg+ethinylestradiol 30μg) was administered orally to eight healthy Japanese female volunteers to evaluate its pharmacodynamic features and its safety. Pituitary-ovarian axis (LH, FSH, E2, P), serum proteins (SHBG, ceruloplasmin), adrenal function (cortisol, DHEA-S, renin activity), thyroid function (free t3, TSH) and general clinical examination ware evaluated through control cycle and sequential treated cycle in which volunteers had Org5187 one tablet a day for twenty one days. During control cycle, six volunteers had ovulatory cycle and two had anovulatory one. Compared with control cycle. LH, FSH, E_2 and P were suppressed completely in treated cycle. SHBG, ceruloplasmin and cortisol were increased, and DHEA-S was decreased, respectively. As for thyroid function (free-T3 and TSH) and renin activity were not effected by Org5187. Ovulation was completely suppressed during treated cycle in both ovulatory and anovulatory volunteers. Spotting were observed in 5 cases in treated cycle, but there was no major side effect during treated cycle.

(受付：1990年7月20日特掲)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

Hydroxypropylcellulosumを用いたdanazolゼリーの作製とその薬物動態について

Drug Delivery of Hydroxypropylcellulosum Jelly for Drug Delivery of Danazol in Rats and Rabbits

京都府立医科大学産婦人科学教室

山本 宝 Takara YAMAMOTO
大野洋介 Yosuke OHNO
北脇 城 Jo KITAWAKI
卜部 諭 Mamoru URABE
福岡正晃 Masaaki FUKUOKA
田村尚也 Takaya TAMURA
本庄英雄 Hideo HONJO
岡田弘二 Hiroji OKADA

同第2病理学教室

伏木信次 Shinji FUSHIKI

Department of Obstetrics and Gynecology, 2nd Department of Pathology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto 602, Japan

danazol (DZと略) のターゲッティング療法を考える目的で，滅菌水100 mlにhydroxypropylcellulosum(HPCと略)2.5 gを添加し，十分に撹拌混和後，DZ 50 mg/gを添加，溶解し，2.5％HPC-DZゼリーを作製し，以下の実験を行った．

6週齢のCrj; CD (SD) 系雌ラットおよび日本白色種雌ウサギ（体重約3 kg）を麻酔下で開腹し，子宮腔内にHPC-DZゼリー (DZ 30 mg/kg) を単回注射により投与した．その結果，ラットでは投与後DZは血中に4日目で1.6±1.6 ng/ml，8日目で4.2±0.5 ng/ml検出された．一方，ウサギでは投与後血中に1日目で30.5±5.9 ng/ml，2日目で18.4±3.1 ng/ml，4日目で4.6±2.3 ng/ml，6日目で1.2±1.2 ng/mlであり，投与後8日目には全くDZは検出されなかった．また，いずれの群においても，子宮，卵巣について組織学的検索を行ったが，炎症，変性などの所見は全く認められなかった．また，HPC-DZゼリーをラット腹腔内に投与しても全身状態，腹腔内肉眼所見上，全く異常は認められなかった．以上，今回，HPCをキャリアーとしてHPC-DZゼリーを作製し，薬物毒性，子宮卵巣への影響，血中へのDZの移行について基礎的検討を行った．今後，この種の基剤が内膜症の局所療法に臨床応用できることを期待する．
(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 58—62, 1991)

緒言

17α-ethynyl testosteroneの誘導体であるdanazol (DZと略) は抗ゴナドトロピン作用を有し，また種々の卵巣ステロイド産生酵素活性を阻害する[1]．そして，この様な作用機序に基づいて，すでに子宮内膜症に対する有効な治療薬として広く臨床的に使用されている．しかし，子宮内膜症の中でも卵巣内膜症（いわゆるチョコレート嚢腫）の症例や，内膜症の密接な関連疾患として考えられる子宮腺筋症や子宮筋腫

では，通常のDZ経口投与量では効果の乏しい場合もあり，治療効果を上げるには投与量が多くなる傾向は否めず，副作用の発現を抑える為に一層の注意が必要となる．すなわち，DZの投与量が多くなると，このステロイドのもつ蛋白同化作用により，極く少数ではあるが，体重増加や痤瘡，肝機能異常などが認められる場合もあり，治療中に止むなく休薬を強いられることがある．

一方，近年の研究報告[1,2]によれば，DZの作用は中枢系や卵巣系を介する以外に，子宮内膜への直接効果が主であるとする意見も多く，今後DZによる内膜症や筋腫病変部への局所投与の可能性についても検索をすすめてゆかなくてはならない．そこで，今回，DZのターゲッティング療法ともいうべき1つのpreliminaryな実験として，主薬（DZ）のキャリアーとして最も適当と考えられるhydroxypropylcellulosum（HPCと略；Fig 1）に着目し，HPC-DZゼリーを新たに作製したので，その薬物動態を中心に基礎的成果につき報告する．

実験材料および方法

［1］HPC-DZゼリーの作製

滅菌水100 mlにHPC 2.5 gを添加し，十分に撹拌混和後，DZ 50 mg/gを添加，溶解後，DZ含有2.5% HPCゼリー（HPC-DZゼリー）を作製した．作製したゼリーはガス滅菌して実験に使用した．

［2］HPC-DZゼリーのラット，ウサギ子宮腔内への投与

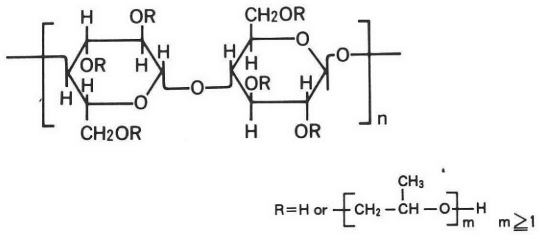


Fig. 1 The chemical structure of hydroxypropylcellulosum (HPC)

Table .1 Body weight (g) of rat

Group	Animal No.	day 0	day 4	day 8	Anatomico-pathological finding
Control	1	144	160	—	normal
	2	140	170	—	hypertrophy of rt-ovary
	3	154	166	—	normal
	11	160	172	180	normal
	12	154	170	182	normal
	13	152	168	180	normal
	mean±SE	151±3	168±2	181±1	
Base	4	136	156	—	normal
	5	165	174	—	normal
	6	170	184	—	normal
	14	156	168	180	normal
	15	160	158	163	normal
	16	156	166	188	normal
	mean±SE	157±5	168±4	177±7	
2.5%DZ	7	150	160	—	normal
	8	164	178	—	normal
	9	145	160	—	normal
	17	136	156	160	normal
	18	155	170	185	normal
	19	152	166	184	normal
	mean±SE	150±4	165±3	176±8	

Control : operation alone without administration of HPC or HPC-DZ jelly
Base : administration of HPC jelly
2.5%DZ : administration of 2.5% HPC-DZ jelly

(1) HPC-DZゼリーのラット子宮に及ぼす影響

ラットは生後6週齢のCrj：CD (SD) 系雌ラットを選び，あらかじめ膣スメアにて性周期が4日であることを確認した上で使用した．先ず，性周期が休止期のラットをエーテル麻酔下で開腹し，HPC-DZゼリー (DZ 30 mg/kg) を注射により子宮腔内に投与し，4日間ないし8日間全身状態を観察した．ラットは観察期間終了後断頭し，採血後速やかに子宮及び卵巣を摘出した．血液は血漿に分離しDZ濃度を測定した．また，子宮，卵巣は湿重量を測定後，10％中性緩衝ホルマリンにて固定し，鏡検にて組織学的に検索した．尚，コントロールには，開腹し，投与操作のみを施行した群と，DZ非含有HPCゼリー(HPCゼリーと略) のみを投与した群について検討した．

(2) HPC-DZゼリーのラット腹腔内投与による刺激性の検討

6週齢のCrj：CD(SD)系雌ラットにHPC-DZゼリー (DZ 30 mg/kg) あるいはHPCゼリーを単回腹腔内に投与し，7日間一般症状を観察した．また観察期間終了後にラットは解剖し，腹腔臓器の癒着及び炎症の程度を肉眼的に観察した．

(3) HPC-DZゼリーのウサギ子宮腔内投与後の血漿中DZ濃度の推移

日本白色種雌ウサギ（体重約3 kg）をペントバルビタール麻酔下で開腹，注射針を用いてHPC-DZゼリー (DZ 30 mg/kg) を子宮腔内に投与し，投与後1，2，4，6，8日目に耳静脈より採血し，血漿中のDZ濃度を測定した．

実験成績

［1］HPC-DZゼリーをラット子宮腔内に投与した結果

(1) 一般症状

HPC-DZゼリー投与群及びHPCゼリー投与群のいずれにおいても，特に変化は観察されなかった．

(2) 体重推移

HPC-DZゼリー及びHPCゼリー投与群のいずれにおいても，投与後順調に体重は増加し，薬物投与による影響は認められなかった．(Table 1)

(3) 解剖及び組織学的所見

HPC-DZゼリーを子宮腔内投与後，4日間及び8日間観察群のいずれも、薬剤投与による影響は認められなかった．また観察期間終了後に摘出した子宮及び卵巣について，両群共HE染色による組織学的検索を行ったが，いずれの群も炎症，変性などの異常所見は観察されなかった．

(4) 子宮及び卵巣重量

HPC-DZゼリー投与によると考えられる影響は認められなかった．なお4日間観察群において，HPC-DZゼリー及びHPCゼリーいずれの投与群においても増加が観察されたが，片側のみであり，両群を比較し

Table 2. Absolute organ weight (mg) of rat

Group	Observation period							
	4 days				8 days			
	Animal No.	Uterus	Ovary L	Ovary R	Animal No.	Uterus	Ovary L	Ovary R
Control	1	214	19	20	11	255	30	28
	2	393	15	45	12	259	24	23
	3	382	19	23	13	281	30	27
	mean±SE	330±58	18±1	29±8	mean±SE	265±8	28±2	26±2
Base	4	213	20	28	14	301	32	41
	5	394	30	34	15	527	31	29
	6	410	28	28	16	357	25	20
	mean±SE	339±63	26±3	30±2	mean±SE	395±68	29±2	30±6
2.5%DZ	7	249	20	14	17	447	33	42
	8	454	31	27	18	256	27	36
	9	262	24	21	19	437	33	26
	mean±SE	322±66	25±3	21±4	mean±SE	380±62	31±2	35±5

Control : operation alone without administration of HPC or HPC-DZ jelly
Base : administration of HPC jelly
2.5%DZ : administration of 2.5% HPC-DZ jelly

ても差は認められなかった．(Table 2)

(5) 血漿中DZ濃度について

4日間観察群では1/3例，8日間観察群では3/3例に観察期間終了直後に血漿中にDZが微量検出された．(Table 3)

［2］HPC-DZゼリーをラット腹腔内に投与した結果

HPC-DZゼリーあるいはHPCゼリーをラット腹腔内に投与したいずれの群も，投与後7日間，一般症状に変化はなく，体重増加も順調であった．投与後7日間の解剖所見ではHPC-DZゼリー投与群において，脂肪組織に薬物と思われる白色物質の付着がみられた以外に，異常は認められなかった．またHPCゼリーのみ投与群では何ら変化は認められなかった．

［3］HPC-DZゼリーのウサギ子宮腔内投与後の血漿中DZ濃度の推移について

HPC-DZゼリーをウサギ子宮腔内に投与後，血漿中DZ濃度は投与1日目に約30 ng/mlに達したが，以後徐々に減少し，投与6日目には検出限界以下となった．(Table 4)

考　察

DZは子宮内膜症の治療薬として臨床的に広く使用されている．しかし，卵巣のチョコレート嚢腫のように深在性の内膜症に対しては，従来のDZ経口による全身投与の場合，高用量，長期間に及ぶことも多く，副作用の面に一層の注意を払わなくてはならない．

Table 3. Plasma DZ concentration (ng/ml) in rat

Observation period			
Animal No.	4 days	Animal No.	8 days
7	4.7	17	3.3
8	ND	18	4.2
9	ND	19	5.1
mean±SE	1.6±1.6	mean±SE	4.2±0.5

ND ; not detected

一方，最近の診療において，診断法としての腹腔鏡検査を使用することが多くなり，中でもかなりの頻度で内膜症が発見され，腹腔鏡下での薬物の罹患部局所への投与を試みる機会も多くなっている．しかも，DZには子宮内膜への直接作用が強く，その使用により，内膜症病変が治癒されるとの説[1,2]もあり，このようなDZの局所投与は理想的とも考えられる．このDZによる子宮局所療法については，最近，五十嵐[3]はDZが内膜症に奏効するには，中枢抑制は不要であり，DZが内膜症組織に直接作用して萎縮させることを，子宮腺筋症の不妊婦人の子宮腔内にDZ(2～3.5 g)を含有するsilasticなT型IUDを4ケ月間挿入し，その効果より明らかにしている．DZ含有IUDを挿入後，ダグラス内膜症は7～78日の平均29.4日で萎縮を開始し，萎縮の認められなかったものは2例のみで，94.4％に有効であった．またDZの4か月間経口療法無効例14例中，7例がDZ含有IUD挿入中に妊娠し，6例が内膜症の萎縮を認めたことは注目に値する．しかも，このDZのIUD装着中に副作用はなかったと報告している．

一方，田島ら[4]は卵巣チョコレート嚢腫に対して，嚢胞穿刺し，排液後，DZのエタノール溶解液(10 mg/ml)を注入し，妊娠率の向上したことを報告している．しかし，エタノールのみ注入しても6例全例が排卵し，3例の妊娠の成立をみた為，DZによる直接効果か否かについては証明できなかったと言及している．

我々はかねてより，子宮筋腫や子宮腺筋症局所でのエストロゲン産生能（アロマターゼ活性並びにエストロンスルファターゼ活性）が亢進していることを報告しており[5,6]，DZがこれらの酵素活性に対して10^{-5}M以上の濃度で濃度依存性に抑制効果を示すことを明らかにしている．しかし，DZは通常の400 mg/日投与した場合，血中濃度は10^{-6}M程度ともいわれ，DZの局所投与も併用してゆくことが望ましいと考えている．

今回，内膜症罹患部へのDZのターゲッティング療

Table 4. Plasma DZ concentration (ng/ml) in rabbit

Animal No.	Observation period (day)					
	pre	1	2	4	6	8
1	ND	25.8	17.6	ND	ND	ND
2	ND	42.3	24.2	7.3	3.5	ND
3	ND	23.5	13.5	6.0	ND	ND
mean±SE	0	30.5±5.9	18.4±3.1	4.6±2.3	1.2±1.2	0

ND ; not detected

法に着目してみた．すなわち，病変部でDZの効果を最大限に発揮させ，副作用を最小限に抑える為に，DZのキャリアーとして，hydroxypropylcellulosum (HPC) を選び，HPC-DZゼリーを作製した．HPCは日本薬局方にも収載されており，天然の繊維系セルロースに化学的に手を加えたセルロース誘導体である．しかも，目的とする患部に薬剤を正確に配送し，そこで徐々に効果を発揮させるが，それ自体は無味，無臭であり，薬理効果はない．すなわち，HPCにはキャリアーとして最適な3つの大きな特徴である粘膜付着性，局所被覆性，徐放性のいずれの性質も有している．このような性質をもつHPCは，分子構造は長い鎖状になっている為，その溶液は一般に高い粘度を示し，腹腔鏡下で薬剤を投与することも可能である．しかも化学的に不活性であり，生体内では無害である．現在このような性質を利用して口腔外科をはじめ臨床的に広く試みられており，[8]今後婦人科領域でも考慮されよう．

謝　辞

今回の研究に際し，御協力して頂きました東京田辺製薬並びに京都府立医科大学附属病院薬剤部に対し感謝致します．

文　献

1）武谷雄二，水野正彦：danazolの子宮内膜組織への直接効果，産と婦，52：1363，1985
2）Rock, J. A. and Schweppe, K. W.: Recent advances in the management of endometriosis, The Parthenon Publishing Group, 1988
3）五十嵐正雄：子宮内膜症の新しい治療法，タナゾールの局所療法の効果と作用機序，日不妊会誌，34：598，1989
4）田島達矢，高野　昇，上杉健哲，山賀明弘，田中尚武：子宮内膜症性不妊に対する局所薬物療法に関する臨床的検討，日不妊会誌，34：597，1989
5）Urabe, M., Yamamoto, T., Kitawaki, J., Honjo, H. and Okada, H.: Estrogen biosynthesis in human uterine adenomyosis, Acta Endocrinologica (Copenh.)., 121: 259, 1989
6）山本　宝，卜部　諭，本庄英雄，北脇　城，岡田弘二：danazolによる子宮筋腫及び腺筋症組織中estrone sulfatase活性の阻害効果について，医学のあゆみ，152：671，1990
7）Williams, T. A., Edelson, J. and Ross, R. W. Jr.: A radioimmunoassay for danazol, Steroid, 31: 205, 1978
8）上田公介，増井靖彦，岡村武彦，大田黒和生，井上和彦：膀胱腫瘍に対する粘膜付着性抗癌剤の研究，日泌尿会誌，79：44，1988

Drug delivery of hydroxypropylcellulosum jelly for drug delivery of danazol in rats and rabbits

Takara Yamamoto, Yosuke Ohno, Jo Kitawaki, Mamoru Urabe, Massaki Fukuoka, Takaya Tamura, Hideo Honjo, Hiroji Okada and Shinji Fushiki

Department of Obstetrics and Gynecology, 2and Department of Pathology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto 602, Japan

We evaluated the usefulness of hydroxypropylcellulosum (HPC) jelly as a delivery system for danazol (DZ) in rats and rabbits. The jelly was prepared by mixing 2.5 g of HPC with 100 ml of sterilized water to which 50 mg/g of DZ was added. 2.5% HPC-DZ jelly was sterilized and used in the following experiments.

Six week-old female rats and adult female rabbits underwent laparotomy under anesthesia, and HPC-DZ jelly (DZ concentration, 30 mg/kg) was applied to the uterine cavities. The serum DZ concentration on Day 4 was 1.6±1.6 ng/ml and on Day 8 it was 4.2±0.5 ng/ml. In rabbits, the serum DZ concentration on Days 1, 2, 4 and 6 was 30.5±5.9, 18.4±3.1, 4.6±2.3 and 1.2±1.2 ng/ml, respectively. No pathological changes were noted in the uterine and ovarian tissues following application of HPC-DZ jelly.

These findings indicated that only a small amount of DZ entered the blood for 8 days after its administration.

(受付：1990年3月7日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

子宮頚管粘液分泌不全の治療成績

Results of Treatment on Infertile Women with Poor Cervical Mucus

札幌医科大学産婦人科学講座

田中昭一 Shoichi TANAKA　福江ひろみ Hiromi FUKUE　水沼正弘 Masahiro MIZUNUMA

金谷美加 Mika KANAYA　藤井美穂 Miho FUJII　遠藤俊明 Toshiaki ENDO

幡洋 Hiroshi HATA　橋本正淑 Masayoshi HASHIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Sapporo Medical College Sapporo 060, Japan

過去7年間に当科不妊外来を受診した子宮頚管粘液分泌不全の治療成績について検討した．不妊期間2年以上の症例は1479例で，このうちInslerの頚管粘液スコアが5点未満の症例は112例で，不妊夫婦の7.6％であった．

この112例のうち77例に各種治療を行なった．投与した薬剤はestriol, conjugated estrogen, bromocriptine, sexovid, hMGなどである．AIHを施行した症例もある．

75例に数種の薬剤投与(計114例)を行なったがInslerスコアから有効であったと判定したのはhMG療法で57.1％と最も良く，以下bromocriptine, estriol, conjugated estrogenの順で，平均有効率は41.2％であった．

22例が妊娠し，妊娠率は19.3％であった．また有効例中の妊娠率は46.9％であった．

35例は無治療であったが5例（14.3％）が妊娠した．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 63—68, 1991)

緒　言

不妊症における頚管因子の割合は5％[1]，2～8[2]％などであり，それほど高くはない．そのためか頚管因子に対する関心は比較的薄い。しかし子宮頚管は受精現象において精子の通過経路であるという意義ばかりではなく，種々の機能を持っている．

すなわち，1）頚管粘液は排卵期を中心として，その性状を変えて精子通過を容易にし，かつ至適な精子を選別する．2）精子にcapacitationを起こさせる．3）精子をcervical crypts（腺窩）内に貯蔵し持続的に放出する．4）頚管粘液中に種々の免疫グロブリンが認められ精子に対する免疫応答の場となる．などの積極的な機能も果たしている．

不妊症における頚管因子の大部分は頚管粘液分泌不全が原因となっているが，粘液分泌不全の原因，治療など未だ不明の部分が多く残されている．

今回，頚管因子のうち粘液分泌不全が原因と思われる不妊症症例について各種薬剤の粘液不全に対する治療効果について検討した．

対象および方法

対　象

1982年1月より1988年12月までの満7年間に当

科不妊症外来を受診した不妊期間満2年以上の患者を対象とした．これら症例中から排卵・卵管・子宮・男性などに不妊因子は認めず，頸管因子が主たる不妊因子と考えられた症例は112例であり，これを対象として各種薬剤の頸管粘液分泌不全に対する効果を検討した．

頸管粘液分泌不全の診断はInslerの頸管粘液スコア[3]（表1）を用い，スコアーが5点未満の症例とした．

表1　頸管粘液スコア[3]

1	Amount
	0 = 0
	1 = 0.1ml
	2 = 0.2ml
	3 = 0.3ml or more
2	Spinnbarkeit
	0 = < 1 cm
	1 = 1 ~ 4 cm
	2 = 5 ~ 8 cm
	3 = ≥ 9 cm
3	Fering (Crystallization)
	0 = No crystallization
	1 = Atypical fern formation
	2 = Primary and secondary stems
	3 = Tertiary and quarternary stems

方　法

各種薬剤の投与方法は原則として月経5日目より投与を開始し，排卵直後に投与を中止した．

投与薬剤は（A）Estrogen (Estriol, conjugated estrogen, mestranol),（B）Bromocriptine,（C）Sexovid,（D）Gonadotropin (hMG-hCG)などである．

基本的には（A),（B）を第一選択として用い，これらが無効の場合（C),（D）を用いた．さらに(C),(D)も無効の場合は洗浄精子を用いたAIHも施行した．

効果判定はInslerの頸管粘液スコアが5点以上となった場合に有効とした．また2～3周期間の投与でInslerスコアが5点未満の場合は無効として他剤に変更した．

成　績

1．頸管因子の頻度

1982～1988年の7年間に不妊外来を受診した2年以上不妊の患者数は1479例で，このうち粘液分泌不全の症例は112例（7.6％）であった．

2．既往妊娠の有無

分泌不全の112例の症例中妊娠の既往のあったも

表2　当科における頸管粘液分泌不全に対する各種薬剤の成績

	投与例	有効例	有効率 (%)	妊娠例	投与例に対する妊娠率 (%)	有効例に対する妊娠率 (%)
estriol	54	21	38.9	9	16.7	42.9
conjugated estrogen	7	3	42.9	3	42.9	100
bromocriptine	13	7	53.8	2	15.4	28.6
mestranol	1	1	100	1	100	100
計	75	32	42.7	15	20.0	46.9

表3　当科における頸管粘液分泌不全に対する成績

治療法	投与剤	有効例	有効率 (%)	妊娠例	投与例に対する妊娠率 (%)	有効例に対する妊娠率 (%)
estriol	56	22	39.3	10	17.9	45.5
conjugated estrogen	18	5	27.8	4	22.2	80.0
bromocriptine	17	9	52.9	4	23.5	44.4
sexovid	5	0	0	0	0	0
HMG	14	8	57.1	1	7.1	12.5
AIH	5	2	40.0	2	40.0	100
mestranol	1	1	100	1	100	100
	114	47	41.2	22	19.3	44.4

のは7例であり，分泌不全の6.3％であった．

3．各種薬剤の効果

治療を行なった症例は112例中77例であり，その方法は表2に示した．このうちAIH 2例を除く75例に各種薬剤による治療を行なった．薬剤投与を行なったのは75例に数種類であり，薬剤別では114例であった(表3，図1)．このうち妊娠したのはAIHを含めた治療例77例中の22例（28.6％）と，無治療例35例中の5例（14.3％）であった（表2，3）．各種薬剤の効果を検討する（表3）と（A）Estriol（1～2 mg/day)投与例は56例で頚管粘液スコアが5点以上になったのは22例(39.3％)，うち10例(有効例の45.5％）が妊娠した．Conjugated estrogen (1.25～2.5 mg/day) 投与で有効であったのは18例中5例（27.8％）で4例（有効例の80％）に妊娠が認められた．Mestranol (40 γ/day) は早期排卵で頚管因子を合併した1症例に投与し妊娠に成功した．（B）Bromocriptine（1.25～5.0 mg/day）は17例に投与し有効例は9例（52.9％）で4例（有効例の44.4％）の妊娠を認めた．（C）Sexovidは Estriol, conjugated estrogenなどの無効例5例に投与したが，粘液不全の改善を認めず妊娠例もなかった．(D) Gonadotropin (hMG；75～150単位／day 連日あるいは隔日投与）は（A），（B）が無効であった症例を中心として投与した．14例中8例（57.1％）は粘液スコアが増加し，その内1例（有効例の12.5％）が妊娠した．残り6例は無効で，このうち3例は洗浄精子によるAIHを併用し2例が妊娠した．（E）AIH単独：洗浄精子によるAIHのみ施行した症例は子宮頚癌0期で子宮頚部円錐切除をした症例の2例であったが妊娠例は認めなかった．（F）無処置例；112例中，上記の薬剤投与もせずAIHも施行せず，無処置のままであった症例は35例で，この内5例（14.3％）が自然妊娠した（表2，3，図1）．

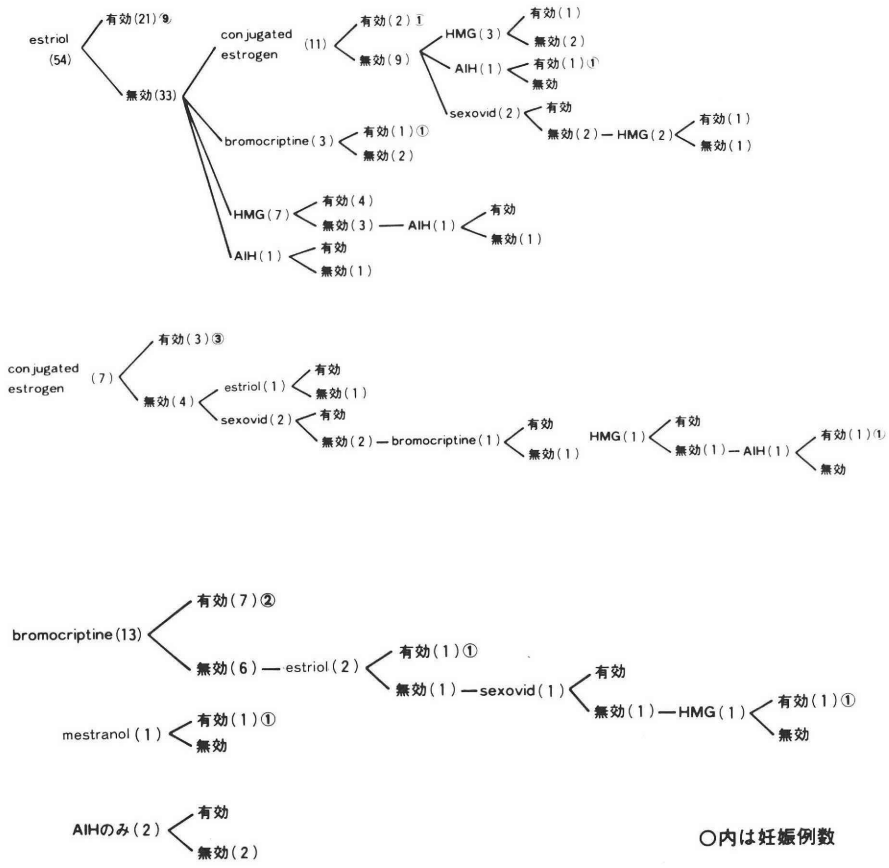


図1　当科における頚管粘液分泌不全に対する各種薬剤の投与順序とその成績

考　案

不妊症における頚管因子の占める割合はあまり高くはない．5％[1]，2～8％[2]といわれているが30％という報告[4]も見られる．今回の検討では当科においては7.6％であり，諸家の報告と一致した．

この頚管因子のうち頚管粘液分泌不全によるものが大部分を占め，その指標としてInslerの頚管粘液スコア[3]が用いられている．頚管粘液は月経周期に伴い，質的にも量的にも大きく変動するが，この変動は主に卵胞から分泌されるエストロゲン，特にエストリオールによって起こる．すなわち子宮頚管腺にエストリオールが作用し粘液の分泌を刺激する．したがって頚管粘液分泌不全の症例ではエストロゲン濃度が低いために頚管腺が十分に刺激されないことが考えられる．

この頚管粘液分泌不全と血中エストロゲン濃度に関しては杉田らの報告[5]があり，頚管粘液分泌正常例と異常例との間には血中エストロゲン濃度に有意差はなかったとしている．そして分泌異常の原因として頚管腺の形態異常によるものと頚管腺のエストロゲンに対する反応性の異常によるものと分類している．しかし桧垣ら[6]は粘液分泌量と血中エストロゲン濃度とは相関するとし，血中エストロゲンや各種薬剤（エストロゲン，hMGなど）に対する頚管粘液や頚管腺の形態学的変化から，頚管粘液分泌不全の原因を（1）エストロゲン不足群，（2）頚管腺のエストロゲンに対する感受性低下群，（3）エストロゲンに対する反応性低下群，と3群に分類した．これらの報告はいずれも血中エストロゲンを高めても頚管粘液分泌が改善しない症例の存在を認め，その原因として頚管腺のエストロゲン・レセプターの関与を推定している．Abuzeidら[7]も頚管粘液分泌不全の症例に頚管腺のエストロゲン・レセプターの不足が原因するものがあると報告し，Soto-Alborsら[2]もconjugated equine estrogen (CEE)に反応しない症例では頚管腺の解剖学的異常やエストロゲン抵抗性の頚管のいずれかであるとしている．われわれは頚管粘液分泌不全症例の子宮頚管腺のエストロゲン・レセプターを免疫組織学的に検討し，頚管粘液分泌不全症例においても必ずしもエストロゲン・レセプターは低くはないこと，エストロゲン・レセプター陽性であっても外来性に投与されたエストロゲンにより頚管粘液分泌不全が改善されるとは限らないことなどを報告[8]し（図2，3），頚管粘液分泌不全の病態解明にはさらに検討が必要であると考えている．

この頚管粘液分泌不全に対する治療しとては一般

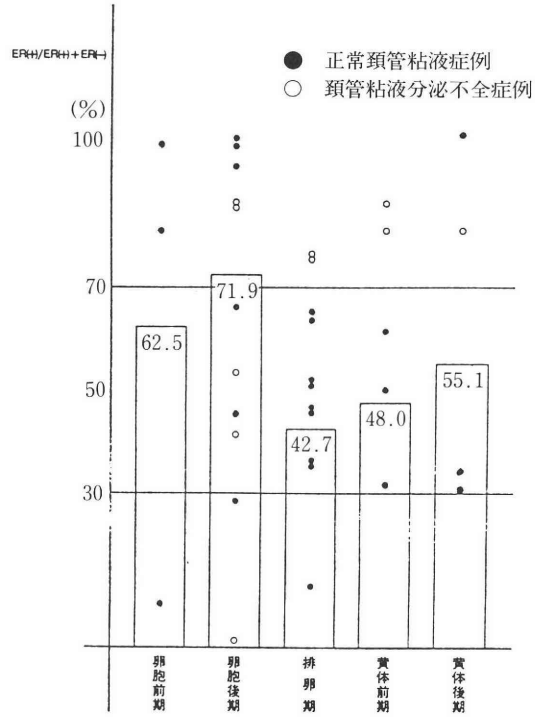


図2　月経周期におけるER陽性細胞の割合

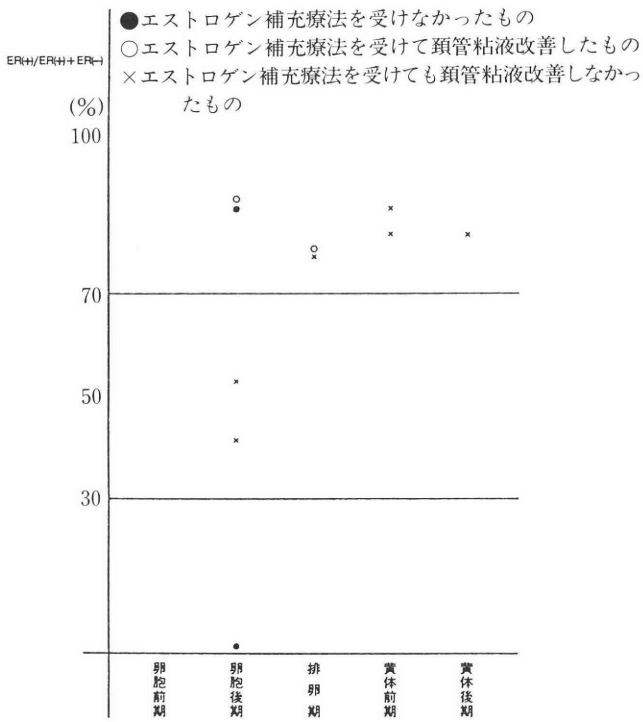


図3　CM不全症例とエストロゲン補充療法

には低濃度のエストロゲン剤，抗エストロゲン剤，bromocriptine, gonadotropin 療法などがある．また最近は洗浄精子による AIH[9]，Gamete intrafallopian transfer (GIFT)や in vitro fertillization (IVF)を行なうという報告[2]も見られるようになった．

ここで頚管粘液分泌不全が不妊の原因としてどれほど問題となるのか再度考えてみたい．今回の症例で妊娠の既往のあるものは6.3％であり，今回の無治療例の妊娠率は14.3％であった．また無治療で2回連続して妊娠した例は3例見られた．すなわち頚管粘液分泌不全の自然妊娠率は5～15％であった．Collins ら[10]は無治療56例中の妊娠率は44％と非常に高い成績を報告している．これらの報告などを考えると頚管粘液分泌不全の全てが不妊の原因となるとは言えない．しかし，今回の成績では治療例の妊娠率は28.6％であり，各種薬剤で粘液スコアの改善の見られた症例の46.9％が妊娠した．これは無治療例の14.3％よりも有意に高い妊娠率であり，本症に対する治療の意義を示している．

分泌不全例にエストロゲン療法を行なう場合はあらかじめ頚管腺のエストロゲン・レセプターの有無を検索してから症例を選ぶべきであるが，臨床上，頚管粘液分泌不全患者全例の頚管腺エストロゲン・レセプターを測定することは不可能であることや，われわれの成績[8]でもレセプターの有無と粘液分泌不全の改善とは必ずしも相関しないことから，われわれは粘液分泌不全症例には第一選択としてエストロゲン療法を施行している．エストロゲンの投与方法はいろいろあるが，一般には排卵を抑制しないよう低量のエストロゲンが用いられるが，Check & Adelson[11]は低量のエストロゲンよりも多量のエストロゲンのほうがより効果的であり，多量では排卵を抑制するので多量のエストロゲンと hMG を併用し，34例に投与し82％に postcoital test の改善が認められ，他の治療で改善しなかった患者の56％が妊娠し，併用療法の有効性を報告している．

われわれはエストロゲン無効5例にセキソビットを投与した．これはセキソビット投与によりエストロゲンのうちエストリールが増加するが[12]，このエストリールが頚管腺に作用し粘液分泌を刺激することを期待して投与したが5例とも無効であった．

一方，Bromocriptine の分泌不全症に対する使用については小田らは[13]Clomid 投与時に Bromocriptine を併用することにより Clomid の頚管粘液分泌動態を改善することが出来たと報告し，その作用機序として Bromocriptine が血中プロラクチンを下降させることにより卵胞の発育・成熟が促進しステロイド産生が亢進により内因性のエストロゲンが上昇し頚管粘液の量，質の向上が起こる結果であり，さらに Bromocriptine の直接作用も考えられるとしている．当科でも同様の考えから頚管粘液分泌不全の症例に本剤を投与し，52.9％に有効であり，妊娠率は有効例の44.4％と高い妊娠率が得られた．

Gonadotropin 療法の有効性については Soto-Albors[2]は CEE に反応した17例に hMG (75～150 u/day) を投与し14例 (82.4％) の妊娠例を報告し，hMG は CEE に反応する頚管粘液分泌不全の治療として有効としている．しかし CEE に反応する症例は，それのみでも妊娠するので，われわれは CEE 反応例に gonadotropin 療法を行なうのは副作用，経済性などから必要ないと考えている．むしろ CEE に反応しない症例が gonadotropin 療法の適応と考えており，今回の成績もこの考えで治療した結果である．従って投与対象が各種薬剤が無効であった最も難治の症例に投与しているためか妊娠率は低かった．また gonadotropin 療法も無効の症例には洗浄精子による AIH も試み，3例中2例が妊娠した．Confino ら[9]は洗浄精子による AIH により頚管粘液分泌不全の68％に妊娠を得たと報告している．この方法は手技の簡便さ，経済性などから，今後試みられるべき方法と思われる．

頚管粘液分泌不全に対しては種々の治療法が試みられているが，未だ満足すべき成績を得ていない．血中ホルモンとレセプターとの関係，卵管粘液との関係をも含めさらに検討しなければならない不妊因子である。

文　献

1) Speroff, L., Glass, R. H. and Kase, N. G.: Investigation of the infertile couple. p. 317 In: Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility 2nd ed, Williams & Wilkins Co., 1978
2) Soto-Albors, C., Day, D. C. and Ying, Y.: Efficacy of human memopausal gonadotropins as therapy for abnormal cervical mucus, Fertil. Steril., 51: 58, 1989
3) Insler, V., Melmed, H., Eichenbrenner, I., Serr, D. M. and Lunenfeld, B.: The cervical score. A simple semiquantitative method for monitoring of the menstrual cycle, Int. J. Gynecol. Obstet., 10: 223, 1972
4) Moghissi, K. S.: Postcoital test: Physiologic basis, technique, and interpretation, Fertil. Steril., 27: 117, 1976
5) 杉田　元：不妊における頚管粘液分泌不全の機序に関する研究，日不妊会誌，26：36，1981
6) 桧垣敬二：頚管粘液分泌不全に関する内分泌及び

組織学的研究，日不妊会誌，28：116，1983
7) Abuzeid, M. I., Wiebe, R. H., Aksel, S., Shepherd, J. and Yeoman, R. R.: Evidence for a possible cytosol estrogen receptor deficiency in endocervical gland of infertile women with poor cervical mucus, Fertil. Steril., 47: 101, 1987
8) 水沼正弘，藤井美穂，田中昭一，橋本正淑：頚管粘液分泌不全における子宮頚管腺エストロゲンレセプターの免疫組織学的検討，日不妊会誌，34：795，1989
9) Confino, E., Friberg, J., Dudkiewicz, A. and Gleicher, N.: Intrauterine insemination with washed human spermatozoa, Fertil. Steril., 46: 55, 1986
10) Collins, J. A., Wrixon, W., Janes, L. B. and Wilson, E. H.: Treatment-independent pregnancy among infertile couples, N. Eng. J. Med., 309: 1201, 1983
11) Check, J. H. and Adelson, H. G.: Improvement of cervical factor by high-dose estrogen and human menopausal gonadotropin therapy with ultrasound monitoring, Obstet. Gyhecol., 63: 179, 1984
12) 関　光倫，高柳博海，吉原　文，白石真人，関　克義：Sexovid(F 6066)投与時の尿中 Hormone 動態，産と婦，37：769，1970
13) 小田隆晴，平山寿雄，佐藤　聡，長谷川剛志，広井正彦：子宮頚管分泌動態よりみた Bromocriptine (CB−154) の作用，産と婦，53：276，1986

Results of treatment on infertile women with poor cervical mucus

Shoichi Tanaka, Hiromi Fukue, Masahiro Mizunuma, Mika Kanaya, Miho Fujii, Toshiaki Endo, Hiroshi Hata and Masatoshi Hashimoto

Department of Obstetrics and Gynecology Sapporo Medical College, Sapporo 060, Japan

We studied the results of treatment on patients with poor cervical mucus who have visited our infertility outpatient clinic during the past 7 years. The number of patients coming to the clinic due to infertility of more than 2 years reached 1479 cases in these 7 years. Among them, 112 cases or 7.6% of the infertile women rated less than 5 points on Insler's cervical mucus test.

Various drug treatments were conducted on 75 of these 112 patients. The drugs administered included Estriol, conjugated estrogen, bromocripine, sexovid and hMG. AIH without drug therapy was carried out in 2 cases.

The best result evaluated by Insler's score was obtained with hMG treatment (57.1%) followed by bromocriptine, Estriol, conjugated estrogen in this order. The average efficacy rate was 41.2%.

With 22 of the treated patients becoming pregnant, the conception rate was 19.3%. The conception rate of those with improved Insler's scores was 46.9%.

Though no treatment was given to 35 patients, 5 became pregnant (14.3%).

(受付：1990年3月23日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

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

Evaluation of Fallopian Tube Patency by Ultrasonography with Color Flow Imaging

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室

堀越裕史 Hiroshi HORIKOSHI
石塚文平 Bunpei ISHIZUKA
田口泰之 Yasuyuki TAGUCHI
近藤俊彦 Toshihiko KONDO
渡辺研一 Kenichi WATANABE
栗林靖 Yasushi KURIBAYASHI
斉藤寿一郎 Juichiro SAITO
佐賀正彦 Masahiko SAGA
浜田宏 Hiroshi HAMADA

Department of Obstetrics and Gynecology, St. Marianna University, School of Medicine, Kanagawa 213, Japan

同 臨床検査部

永江学 Manabu NAGAE

Department of Clinical Laboratory, St. Marianna University, School of Medicine, Kanagawa 213, Japan

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．11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94.7％，腹腔鏡下および開腹下の色素通水法と比較して80.0％の高い一致率を得た．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線被爆・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．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 69—76, 1991)

緒　言

従来，卵管疎通性検査法としては，卵管通気法，卵管通水法、子宮卵管造影法（以下HSGと略），腹腔鏡下あるいは開腹下の色素通水法が行われてきた．しかし，通気法，通水法では，部位診断が不可能であり，HSGでは，X線被爆やヨード過敏症の問題がある．また，腹腔鏡検査は，その侵襲の大きさゆえに頻回の再検査には不適当である．そのため，通気法，通水法のように外来で繰り返し，簡便，安全に施行でき，部位診断の可能な疎通性検査法として，超音波断層法を用いた卵管通水法[1~7]が試みられてきた．

我々も，気泡が超音波に反応しやすいことを利用して，生理食塩水とリピオドール・ウルトラフルイドとの4：1の混合液内に気泡を作成して卵管通水を行い，超音波断層法にて観察する方法[1]を試みてきたが，この方法では，疎通性の有無に関して，HSG所見と検討して一致率90％の結果であった．しかし，一般に，超音波断層法を用いた卵管通水法では，コントラストが不充分なため，画像が不明瞭になりやすいという問題点があった．

一方，カラードプラー法は，断層エコー上に血流の存在をカラー表示し，その方向を色彩により認識する装置で，とくに心疾患を中心とした循環器領域に応用され，産科領域でも，すでに胎児心疾患の診断等に応用[8]されている．カラードプラー法では，通常，トランスデューサーに近づく血流は赤，遠ざかる血流は青に表示され，流体のイメージングをリアルタイムで行なう．しかし，カラードプラー法は，従来，ほとんど血流の認識手段としてのみ用いられてきており，造影剤等の外因性の液体の流れを認識して何らかの診断に供する目的には用いられていない．

表1　症　　例

	症例	年齢	不妊歴	通気所見	HSG所見	腹腔鏡・開腹下色素通水法所見	CDTP所見
1	[redacted]	30	P　4年	正常型	l-OCC	r（+）　l（−）	
	通気・通水治療後				normal		r（+）　l（+）
2	[redacted]	28	P　4年	正常型	l-OCC	r（+）　l（−）	r（+）　l（−）
3	[redacted]	30	S　2年	狭窄型	bil-OCC	r（+）　l（+）	r（−）　l（−）
					bil-HYD	bil-HYD	子宮腔内乱流像
4	[redacted]	35	P　10年	痙攣型	l-HYD	r（+）　l（+）	r（+）　l（+）
					r-ELN	bil-HYD	r-HYD
					bil-PTA	r-Chocolate Cyst	
5	[redacted]	28	P　1年	未	未	r（+）　l（−）	r（+）　l（−）
	子宮内膜症					bil-PTA	
6	[redacted]	26	S　1年	痙攣型	r-PTA	r（+）	r（+）
	左外妊手術後				r-OCC		
7	[redacted]	36	P　2年	正常型		r（+）　l（+）	r（−）　l（+）
	子宮内膜症					r-HYD	l-HYD
						bil-PTA	
						bil-PFA	
8	[redacted]	36	P　2年	癒着型	l-PTA	r（+）　l（+）	r（+）　l（+）
9	[redacted]	36	S　2年	正常型	r-OCC	r（+）　l（+）	r（+）　l（+）
					l-PTA		
10	[redacted]	32	S　2年	正常型	bil-PFA	未	r（+）　l（+）
11	[redacted]	35	S　2年	正常型	r-PTA	未	r（+）　l（+）
	両側卵巣嚢腫核出術後						

P：原発性　S：続発性
r：右側　l：左側　bil：両側
+：疎通性あり　−：疎通性なし
OCC：卵管閉塞
HYD：卵管溜水腫
ELN：卵管延長
PTA：卵管周囲癒着
PFA：卵管采周囲癒着

今回，我々は，リビオドールを用いずに生理食塩水中に気泡を作成し卵管通水を行い，カラードプラー法にて観察する方法(Color Doppler Tubal Patency Test. CDTP) を試み，若干の知見を得たので報告する．

研究方法

対象は，聖マリアンナ医科大学病院産婦人科外来受診中の不妊症患者で，すでに行なってあるHSG，腹腔鏡下あるいは開腹下の色素通水法により卵管疎通性を評価し得た11名であり，その内訳は表1のごとくである．

方法は，膀胱充満下に子宮腔内にアトム社製通水バルーンカテーテルを留置し，気泡を作成した生理食塩水10～60 mlを用手的に注入して，子宮腔内および卵管内での流体動態をカラードプラー法にて観察した．いずれの症例も，CDTP施行前に，白血球数・CRP血沈値を測定し，炎症所見のないことを確認し行なった．また，HSGにて卵管溜水腫像を示した症例では，注入量を10 ml以内に限定した．超音波診断装置は，東芝メディカル社製カラードプラーSSA-270-Aを使用した．

成　績

表1に示す11例の不妊症例に試み，疎通性の有無に関して，HSG所見，腹腔鏡下あるいは開腹下の色素通水法所見と比較検討した．疎通性の診断は，卵管采よりダグラス窩への気泡液の流入・貯留の有無また卵管内での反転流の有無により，良否を診断した．すなわち，卵管采よりダグラス窩への気泡液の流入・貯留が認められ，卵管内で反転流の認められない場合を疎通性良好と診断した．

今回，我々の検討したCDTPでは，卵管疎通性の有無をall or noneで評価すると，HSGとの比較では，10症例の19卵管のうち18卵管，94.7％の一致率を，また，腹腔鏡下あるいは開腹下の色素通水法との比較では，8症例の15症例のうち12卵管，80.0％の一致率を得た．また，HSG上卵管溜水腫像を呈した3例中2例では，卵管内で反転流像が認められた．以下に，興味深い所見を示した5症例を供覧する．

図1（症例1）は，HSGおよび腹腔鏡にて一側卵管閉鎖が認められ，通気・通水治療後，疎通性の確認された症例である．図1－aは，治療前のHSG左側卵管閉鎖像で，図1－bは，治療後の疎通性の得られたHSG像である．CDTPでは，図1－c，d，e，fの順に左側卵管像，右側卵管像，つづいて，ダグラス窩への気泡液の流入・貯留の状態が鮮明に観察された．描出の時間差などにより，左右差の観察し得た1例である．

図2（症例2）は，HSGでの一側卵管閉鎖例で，CDTPでも疎通性の確認は，一側のみで，同様の結

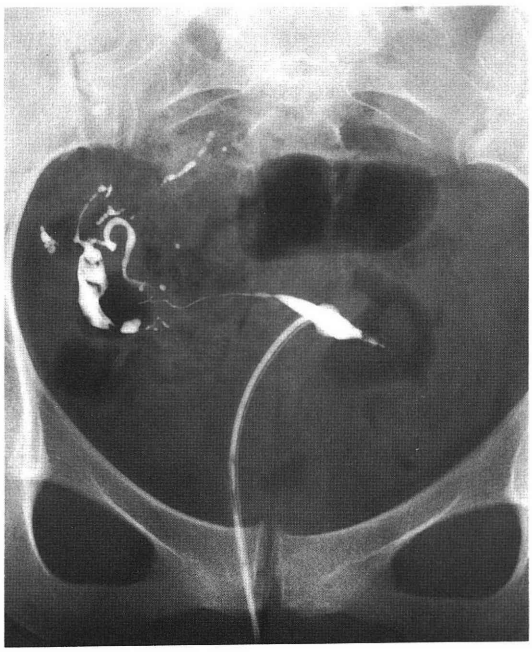


図1－a　HSG
治療前の左側卵管閉鎖像

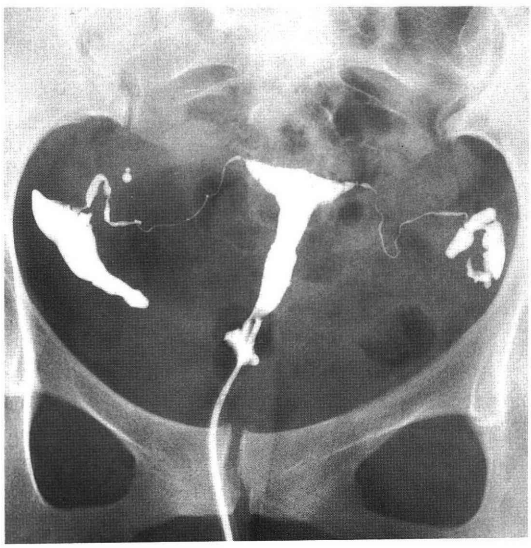


図1－b　HSG
通気通水治療後両側卵管通過性が確認された



図1－c　CDTP

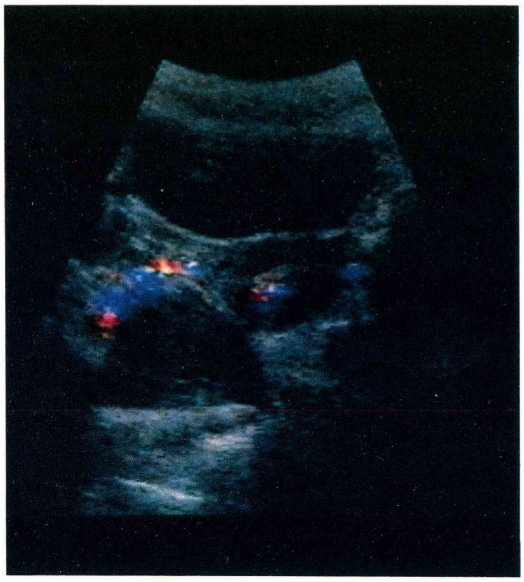


図1－d　CDTP

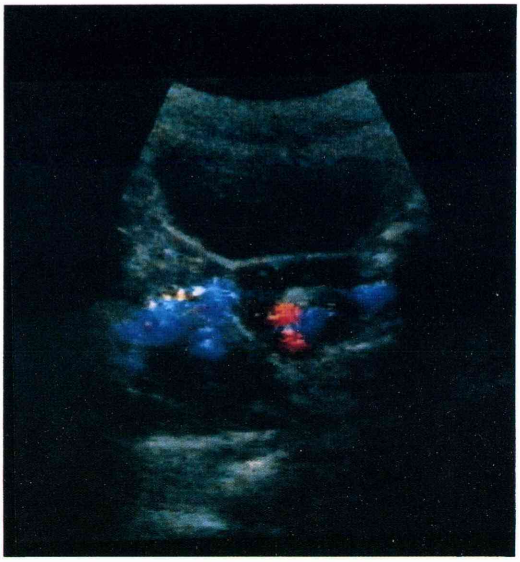


図1－e　CDTP



図1－f　CDTP

図1　症例1

c，d，e，fの順に左側卵管像．右側卵管像．ダグラス窩への気泡液の流入・貯留の状態が観察された

果が得られた．

図3（症例3）は，HSG両側卵管溜水腫例で，CDTPでは，図3－bのように，子宮腔内で気泡液の乱流像が観察され，両側卵管像は，描出されていない．CDTP後に施行した腹腔鏡下の色素通水法においては，両側卵管溜水腫像が観察され，CDTPと他の2法との間に閉塞部位の診断において相違のみられた症例である．

図4（症例4）は，子宮内膜症症例で，HSGでは，図4－aのように，右卵巣チョコレート嚢胞による右卵管延長像，左卵管溜水腫像が認められる．CDTPでも，図4－bのように右側卵管が腫大した卵巣によって挙上された様子，そして，卵管内での気泡液の反転流の状況が鮮明に観察され，疎通性の障害され

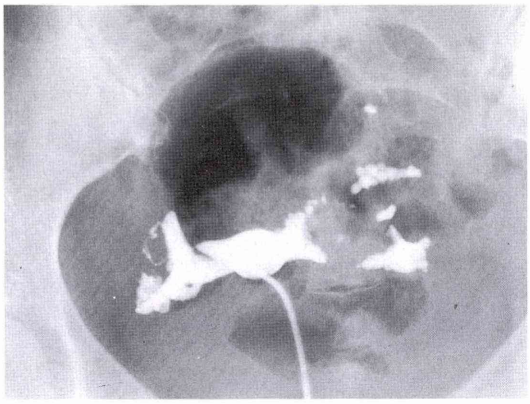


図2－a　HSG
左側卵管閉鎖像

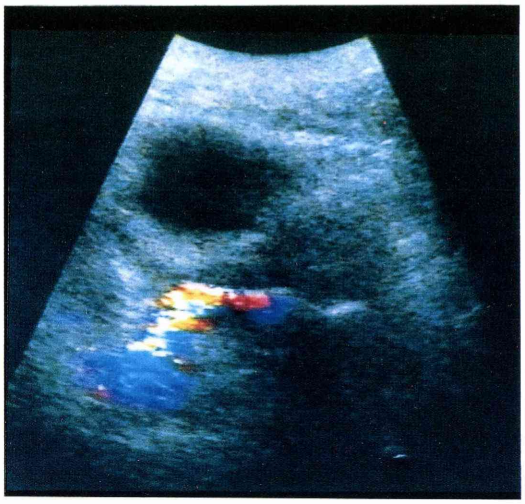


図2－b　CDTP
左側卵管は描出されていない

図2　症例2

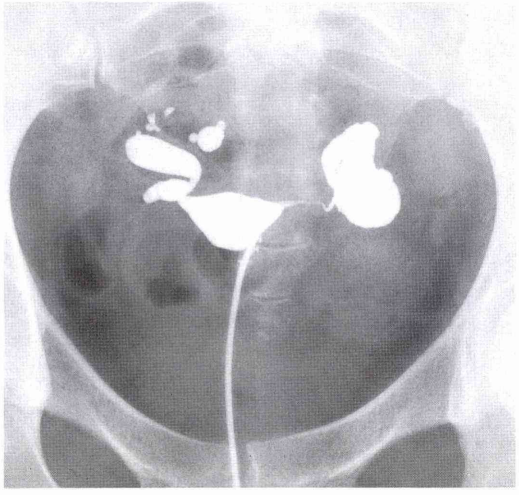


図3－a　HSG
両側卵管溜水腫像



図3－b　CDTP
子宮腔内での気泡液の乱流像，両側卵管は描出されていない

図3　症例3

ている様子がはっきり確認できた．CDTP後の開腹手術では，両側の卵管溜水腫が確認されている．

図5（症例5）は，子宮内膜症症例で，CDTPでは，右側卵管の挙上された様子，卵管内での反転流の状況が観察された．CDTP直後に施行した腹腔鏡で，右側卵管が著しい癒着のため，子宮の前方に挙上している様子が観察され，癒着剝離後の色素通水にて癒着側の卵管の疎通性が認められた．

いずれの症例においても，CDTP施行後1～3日目の超音波断層検査では，注入した生理食塩水10～60 mlの貯留像は消失していた．

考　察

女性不妊の原因としては，卵管因子がその半数以上をしめる[9]と言われ，卵管機能の正確な把握が不妊診療上重要であることは言うまでもない．卵管疎通性の診断法としては，部位診断が可能で，ある程度内腔の状態を観察し得る点より，HSGが最も汎用されているが，近年，腹腔鏡の普及とともに，腹腔鏡下卵管色素通水法も頻用されつつある．この方法で

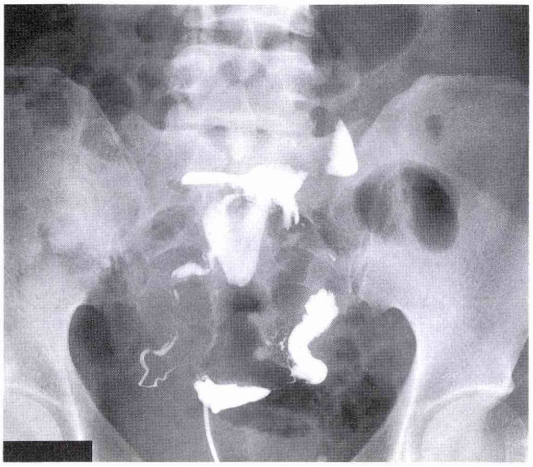


図4－a　HSG
右側卵巣チョコレート嚢胞による右側卵管延長像．左側卵管溜水腫像



図4－b　CDTP
右側卵管が腫大した卵巣により挙上．卵管内での気泡液の反転流像が観察された

図4　症例4

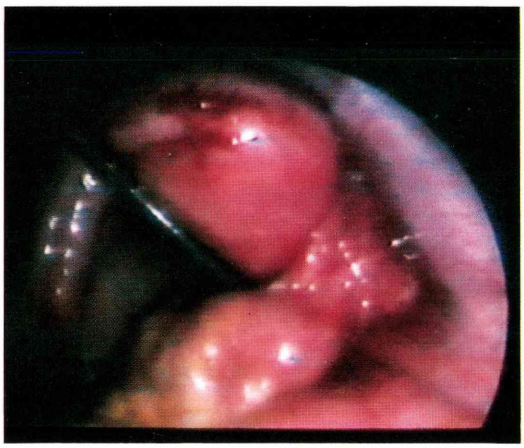


図5－a　腹腔鏡
鉗子にて子宮体部を挙上させているが，右側卵管が著明に癒着している

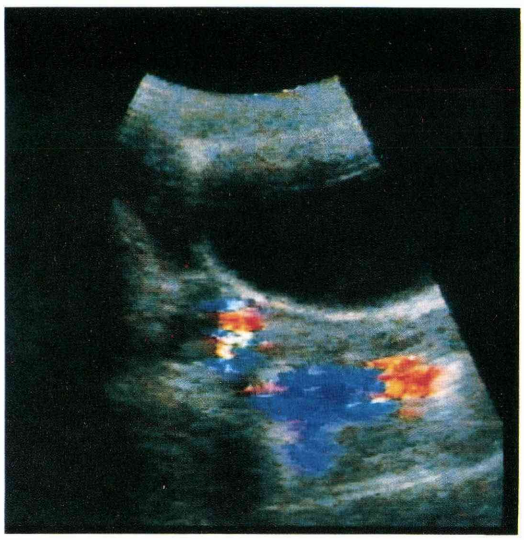


図5－b　CDTP
右側卵管が挙上し，卵管内での気泡液の反転流像が観察された

図5　症例5

は，卵管周囲の癒着の有無，卵の pick up 障害の原因となり得る微細な病変，子宮内膜症の有無などに関しては，HSG より確実に診断し得る．これらの検査法により，体外受精，GIFT，卵管手術等の治療法の選択，卵管手術後の follow up，通水法等による卵管機能の改善の把握などが行われている．

不妊治療法の進歩とともに，より微細な卵管機能の臨床的な把握が，ますます重要になりつつあり，通水，HSG の治療的効果[19~13]も考慮すると，診断と治療を兼ねて，外来で安全かつ簡便に行いうる検査法の開発は，今日でも大きな臨床的意義を持つものと思われる．

近年，超音波診断法の進歩にともない，これを用いた卵管疎通性検査の開発が試みられつつあり，表

表2　超音波断層法を用いた卵管疎通性の評価

	症例数	一致率(疎通性の有無)	比較対象
1 Richman[2]	35	97%	HSG
2 Rasmussen[3]	25	87.5%	HSG
3 高田[4]	34	88.2%	腹腔鏡下色素通水
4 大野[5]・岡田[6]	19	63%	腹腔鏡下色素通水
5 清水[7]	56	92.9%	HSG
6 田口[1]	30	87%	HSG

2のような報告がある．従来，超音波卵管疎通性検査は，主としてダグラス窩への液体貯留をもって通過性の有無を判断している．1984年，Richmanら[2]は，高粘稠デキストランを用いて，少なくとも一側の通過性の有無の診断において，HSGとの一致率96%であったと報告した．生理食塩水のダグラス窩貯留を指標としたRasmussenら[3]の報告では，卵管疎通性をall or noneで検討したHSGとの一致率は87.5%，false negative率10%，false positive率25%であったと言う．高田ら[4]は，腹腔鏡下あるいは開腹下の色素通水法を基準として，ダグラス窩貯留像の観察によく超音波卵管疎通性検査を行ない，一致率88.2%であったと言う．大野[5]，岡田[6]らは通水曲線を超音波画像と同一画面に表示するシステムを用いて，HSG所見との比較を行ない，HSG異常所見例においては，90%でこのシステムでも異常を認めたと記載している．この報告では，超音波画像上，最も著明な所見が子宮腔内のバルーニングであったとされており，これまでの報告がダグラス窩への液体貯留の有無を唯一の指標としていたのに対して，生理食塩水の卵管内の通過状況を超音波にて観察している点で興味ある報告である．

一方，我々は，気泡が超音波に反応しやすいことを利用して，従来用いられてきた生理食塩水にかわり，生理食塩水とリピオドールとの混合液内に気泡を作成して用いる方法[1]を開発した．この方法によれば，超音波画像は従来の方法より鮮明に観察でき，卵管からの流入・貯留の状態もある程度観察し得た．しかし，リピオドールを使用するため，ヨード過敏症に関する問題が残ること，ダグラス窩への貯留が生理食塩水より遅く30～60分かかること，そして，卵管峡部の観察がほぼ不可能なことなどの欠点があった．

清水ら[7]は，これまでの経腹法にかわり，経腟プローブを用いた超音波卵管疎通性検査の成績を報告し，従来の経腹法での，ダグラス窩液体貯留像に加えて，卵管采からの液体の流出像より，左右それぞれの疎通性の評価を試み，HSG所見との比較において92.9%の一致率であったと報告している．

我々も，経腟プローブを用いた方法を試みたが，液体とのコントラストが不充分な場合，画像が不明瞭となり，部位診断等が困難になる場合があった．そこで，今回我々は，カラードプラー法を用いて，流体動態をカラー表示することにより，より容易に観察することが可能であることに着目してCDTPの開発を試みた．

我々の検討したCDTPでは，従来の超音波卵管疎通性検査よりも鮮明な画像が得られ卵管疎通性の有無をall or noneで評価すると，HSG所見との比較では，10症例の19卵管のうち18卵管，94.7%の一致率を、また，腹腔鏡下および開腹下の色素通水法との対比では，8症例の15卵管のうち12卵管，80.0%とこれまでの方法と同様の一致率を得た。さらに，子宮腔内・卵管内での液体の流れの方向が観察でき，HSG上卵管溜水腫像を呈した3例中2例では，卵管内で反転流像が認められ，卵管溜水腫の有無の診断にも応用されうる可能性が示された．

本法の利点としてあげられるのは，X線被爆のないこと，造影剤を使用せずヨード過敏症などの心配のないこと，簡便で外来で反復して施行できることなどの従来の超音波断層法を用いた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，リアルタイムではっきり確認できるため，症例1のように経時的な変化により左右差を確認することができること，また，症例4・5のように，閉塞例では，カラー画像上，青と赤の乱流が観察され，閉塞部位の診断，卵管溜水腫の診断も可能であることがあげられる．

なお，11例の不妊症例のうち，2例がCDTP施行後2周期目（症例2）と3周期目（症例10）に妊娠成立している．

以上，CDTPは，卵管疎通性のスクリーニング検査として，ある程度，HSGにとってかわる可能性のある検査であり，また，繰り返し簡便に行ないうることにより，症例1のように治療通水時における効果判定の手段として，とくに，卵管手術症例の術後

のfollow up等に有用であると思われる．

しかし，カラードプラーという特別な装置を必要とすること，卵管周囲の癒着の診断は不可能なこと，膀胱充満を必要とし，条件によっては，画像が不明瞭な場合もあることなど今後克服されるべき問題点が存在する．カラードプラー法を経腟的に用いることが可能になれば，さらに鮮明な画像が得られるようになる可能性があり，この点は今後の開発を待ちたい．また，卵管カテーテルを用いて，片側ずつの卵管をCDTPにより，観察することも，とくに治療通水時には検討されるべきであろう．

本論文の要旨の一部は，第101回日本不妊学会関東地方部会（於東京）において発表した．

文　献

1）田口泰之，石塚文平，堀越裕史，丸岡充，浜田宏：卵管疎通性検査－超音波による－産と婦，4：809，1989
2）Richman, T. S., Viscomi, G. N., deCherney, A. and Alcebo, L. O.: Fallopian tubal patency assessed by ultrasound following fluid injection, Radiology, 152: 507, 1984
3）Rasmussen, F., Larsen, C. and Justesen, P., Fallopian tube patency demonstrated at ultrasonography, Acta. Radiol. Diag., 27: 61, 1986
4）高田久士，千石一雄，浅川竹仁，石川睦男，清水哲也：超音波による卵管疎通性の評価，日不妊誌，32：291，1987
5）大野洋介，藤林秀子，富岡恵，福岡正晃，山元貴雄，岡田弘二：通水圧同時表示法を用いた超音波断層法による卵管機能評価の試み，日不妊誌，33：27，1988
6）岡田弘二，大野洋介：超音波断層法による卵管疎通検査，産婦治療，58：423，1989
7）清水哲也，千石一雄、水上明保，石川睦男：経腟プローブを用いた超音波断層法による卵管疎通性の評価，産婦の実際，39：127，1990
8）伊藤治英，倉島富代，山田清春：産婦人科におけるカラードプラー法の臨床的応用，産婦の実際，38：1257，1989
9）飯塚理八：Management of tubal´disease in human infertility，第8回マイクロサージェリー研究会学術講演会講演集，38，1985
10）Schwabe, M. G., Shapiro, S. S. and Haning, R. V.: Hysterosalpingography with oil contrast medium enhances fertility in patients with infertility of unknown etiology, Fertil. Steril., 40: 605, 1983
11）田巻勇次：水溶性造影剤と油性造影剤による子宮卵管造影術後の妊娠率の比較，産婦の実際，38：233，1989
12）Whitelaw, M. J., Foster, T. N. and Graham, W. H.: Hysterosalpingography and insufflation, J. Reprod. Med., 4: 56, 1970
13）Paimer, A.: Ethiodal hysterosalpingography for the treatment of infertility, Fertil. Stertil., 11: 311, 1960

Evaluation of fallopian tube patency by ultrasonography with color flow imaging

Hiroshi Horikoshi, Bunpei Ishizuka, Yasuyuki Taguchi, Toshihiko Kondo, Kenichi Watanabe, Yasushi Kuribayashi, Juichiro Saito, Masahiko Saga and Hiroshi Hamada

Department of Obstetrics and Gynecology, St. Marianna University, School of Medicine, Kanagawa 213, Japan

Manabu Nagae

Department of Clinical Laboratory, St. Marianna University, School of Medicine, Kanagawa 213, Japan

Although the diagnostic usefulness of hysterosalpingography (HSG) is generally accepted, there is still the clinical need for a simple, repeatable test for tubal patency which avoids radiation and is more accurate than Rubin's test.

Color Flow Imaging (CFI) is a system which detects the directions of blood flow and indicates them by colors on Ultrasonograph. In the present study, we attempted to demonstrate tubal patency by CFI after transcervical injection of sterile isotonic solution of NaCl in 11 infertile women and compared the results with those obtained at HSG and/or laparoscopy.

Consequently, the results at this method of 18 out of 19 fallopian tubes (94.7%) of 10 cases were equivalent with those at HSG. Also, corresponding results were obtained in 12 out of 15 tubes (80.0%) of 8 patients with those at laparoscopy. With CFI tubal patency test, bidirectional fluid flows in the tubes were obsere ved in 2 cases with HSG diagnosis of bilateral hydrosalpinx, and sites of tubal obstruction were detectable in 3 cases with tubal obstruction previously demonstrated at HSG.

Thus, the present sutdy demonstrated that CFI can be used for a screening test of tubal patency before HSG and for a follow up method following various treatment for tubal dysfunciton.

（受付：1990年3月3日）

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

下垂体－卵巣－子宮内膜機能連関からみた黄体期子宮内膜不全の総合的解析

Pituitary-Ovarian-Endometrial Axis in Luteal Phase Defect

京都大学医学部婦人科学産科学教室

塩谷雅英　高倉賢二　野田洋一
Masahide SHIOTANI　Kenji TAKAKURA　Yoichi NODA
藤原浩　成本勝彦　森崇英
Hiroshi FUJIWARA　Katsuhiko NARIMOTO　Takahide MORI

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

京都桂病院産婦人科

木下幹久
Mikihisa KINOSHITA

Department of Gynecology and Obstetrics,
Kyoto Katsura Hospital, Kyoto 606, Japan

黄体期の生殖臓器は，妊卵の受容とその維持に向けて，視床下部－下垂体－卵巣－子宮内膜系(H-P-O-E系)の精緻な機能連関のもとに劇的な変化をとげる．従って，H-P-O-E系のいずれの部位の不全によっても黄体期不全はひきおこされると考えられる．従来，黄体機能不全という言葉に代表されるように，黄体期不全は黄体の機能からとらえられることが多かったが，今回，P-O-E系の機能連関から黄体期不全を総合的に解析し，若干の知見を得たのでここに報告する．症例は当科妊孕外来通院中の挙児希望を主訴とする患者25例である．方法は黄体中期に下垂体機能の指標としてGnRH/TRH同時負荷テストを行い，黄体化ホルモン（LH），卵胞刺激ホルモン（FSH），プロラクチン（PRL）の反応性検討し，同時に卵巣機能の指標として血中エストラジオール（E_2）とプロゲステロン（P）の測定，子宮内膜の指標として血中CA-125の測定および子宮内膜日付診を施行した．また，次回発来月経2日目に血中CA-125を測定した．内膜日付診でout of phase群（OOP群）とin phase群（IP群），高温相持続期間からshort luteal群（SL群）とnormal luteal群（NL群）に分類して解析し，以下の結果を得た．①OOP群あるいはSL群においてはそれぞれIP群，NL群に比較して有意にTRH負荷に対するPRLの反応性が低かった．②OOP群あるいはSLにおいては，それぞれIP群，NL群に比較して有意に黄体中期血中CA-125値が低かった．月経期血中CA-125についても同様の傾向が認められた．③黄体中期血中P値はOOP群とIP群，あるいはSL群とNL群の間で差を認めなかった．以上より，黄体期不全の指標として黄体中期におけるTRHに対するPRLの反応性および血中CA-125値が有用と考えられた．また，黄体中期のP値はこれらに比べて，感度が低いものと考えられた．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 77－82, 1991)

緒　言

黄体期の生殖臓器は妊卵の受容とその維持に向けて，視床下部－下垂体－卵巣－子宮内膜系(H-P-O-E系)の精緻な機能連関のもとに劇的な変化を遂げる．視床下部のコナドトロピン放出ホルモン(GnRH)に制御されて下垂体からゴナドトロピンが放出され，このゴナドトロピンにより卵胞の発育・成熟，排卵が惹起され，これに伴って分泌される卵巣の性ステロイドにより子宮内膜は増殖期・分泌期変化を来し，妊卵の受容に備える．したがって，H-P-O-E系のいずれの部位の不全によっても黄体期着床不全は引き起こされると考えられる．従来，「黄体機能不全」という言葉に代表されるように，黄体期着床不全は，黄体の機能からとらえられることが多かったが，今回，H-P-O-E系の機能連関の観点から黄体期着床不全を黄体中期の下垂体機能，卵巣機能，子宮内膜機能に分けて総合的に解析し，若干の知見を得たのでここに報告する．

対象と方法

対象は当科妊孕外来通院中の挙児希望婦人25例(25～38歳，平均年齢33.2歳)で，すべて基礎体温表にて規則的に排卵性周期を有する症例である．子宮内膜症や顕在性高プロラクチン血症を合併する症例は除外した．この25症例に対して，黄体中期(高温相6～9日目)に，下垂体機能の指標としてGnRH/TRH同時負荷テスト(GnRH 100 μg，TRH 250 μg，いずれも田辺製薬，静脈内注射)における黄体化ホルモン(LH)，卵胞刺激ホルモン(FSH)，プロラクチン(PRL)の反応性を検討し，同時に卵巣機能の指標として血清エストラジオール(E_2)とプロゲステロン(P)の測定，子宮内膜機能の指標として血清CA125の測定のおよび子宮内膜日付診を施行した．また，次回発来月経2日目にも血中CA125を測定した．子宮内膜日付診はNoyesら[1,2]の診断基準に従って行った．判定の方法は続いて発来する月経の第1日目をDay 28とし，これから逆算したretrospective dateとhistological dateとのずれを求め[3,4]，このずれが3日以上の場合Out of Phase

表1　黄体中期GnRH/TRH同時負荷試験

		LH			FSH			PRL		
		基礎値 (mIU/ml)	ピーク値 (mIU/ml)	反応率*	基礎値 (mIU/ml)	ピーク値 (mIU/ml)	反応率*	基礎値 (ng/ml)	ピーク値 (ng/ml)	反応率*
黄体中期内膜日付診	OOP群	5.7±2.3	43.8±5.1	10.4±2.8	4.5±1.4	7.3±1.5	1.0±0.9	21.0±2.1	134.2±0.8	4.6±0.8
	IP群	4.6±1.8	47.2±5.7	12.0±2.8	3.8±1.0	6.6±1.3	0.8±0.4	16.7±1.9	153.4±20.5	9.6±1.9
有意差検定		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	$P<0.05$
高温相持続期間	SL群	5.5±1.4	42.2±3.9	7.4±1.4	4.0±0.9	8.5±0.8	1.2±0.6	17.6±5.4	97.4±19.4	4.1±1.2
	NL群	5.0±2.1	49.1±5.7	12.5±2.9	4.1±1.3	6.7±1.4	0.8±0.6	17.7±1.5	152.0±17.3	7.7±1.1
有意差検定		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	$P<0.05$	$P<0.05$

反応率*：(ピーク値－基礎値)/基礎値
N.S.: not significant

表2　黄体中期の血中E_2・P値

		E_2		P		
		基礎値 (pg/ml)	60分値* (pg/ml)	基礎値 (ng/ml)	60分値* (ng/ml)	P/E_2**
黄体中期内膜日付診	OOP群	124.9±6.6	123.6±7.0	10.4±1.3	11.6±1.4	76.7±6.8
	IP群	138.3±6.9	141.4±6.7	10.4±1.2	12.2±1.5	108.6±18.6
有意差検定		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
高温相持続期間	SL群	126.1±6.6	130.2±6.3	10.1±1.6	11.8±1.6	80.8±6.3
	NL群	129.0±6.0	133.0±6.5	10.6±0.9	13.1±1.2	79.1±7.6
有意差検定		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

60分値*：GnRH100μg負荷後60分の値
P/E_2**：P基礎値/E_2基礎値

(OOP群)，2日以内の場合In Phase (IP群) とした．また，各患者の基礎体温表より高温相の持続期間を求め，10日以内の場合Short Luteal (SL群)，11日以上の場合Normal Luteal (NL群) とした[5]．

LH, FSHおよびPRLは第一ラジオアイソトープ社のRIAキット (それぞれ，SPAC-S LHキット，SPAC-S FSHキット，PRLキット「第一」II)，E_2とPはミドリ十字社のRIAキット，CA125はセントコア社のRIAキットをそれぞれ用いて測定した．

得られた数値データはStudent's t testを用いて有意差検定を行った．

結　果

前述したように，OOP群(9例) とIP群(16例)，SL群 (5例) とNL群 (20例) に群別して以下の検定を行った．

1．黄体中期GnRH/TRH同時負荷試験

黄体中期のGnRH/TRH同時負荷試験におけるLH，FSH，PRLの基礎値，ピーク値，反応率を表1にまとめた．ゴナドトロピン分泌動態はOOP群とIP群，SL群とNL群の間で全く差異は認められなかったが，PRL分泌をみるとTRHに対する反応性に明らかな差異を認め，反応率((ピーク値－基礎値)／基礎値) がOOP群、SL群でそれぞれ4.6±0.8 (mean±SE，以下同様)、4.1±1.2であるのに対し，IP群，NL群においてはそれぞれ9.6±1.9，7.7±1.1とIP群およびNL群において有意差をもって高反応を示した．基礎値には有意差を認めなかった．

2．黄体中期のE_2とP

GnRH/TRH負荷試験の際，負荷前と負荷後60分に得られた血清についてE_2とPを測定したが，表2に示すように，GnRH負荷後60分のP値がIP群とNL群においてやや高い傾向を示したものの有意差は認められなかった．基礎値，P／E_2比についても同様に有意差を認めなかった．

3．黄体中期および月経期血清CA125

黄体中期の末梢血中CA125は，OOP群，SL群でそれぞれ9.4±1.3 U／ml，9.9±1.2 U／mlであったのに比べ，IP群およびNL群ではそれぞれ16.6±2.0 U／ml，16.0±1.7 U／mlと有意に高い値を示した (表3)．次回発来月経期末梢血中CA125値についても同様にIP群およびNL群で高値をとる傾向を示したが，月経期のCA125値には個々の症例間でのばらつきが大きく，有意差はOOP群とIP群の間にのみ認められるにとどまった．月経血においても同様で，症例間のばらつきが大きく，有意差は認められなかった (表3)．

表3　黄体中期・月経期CA125値

		黄体中期	月経期	
		末梢血中CA125 (U/ml)	末梢血中CA125 (U/ml)	月経血中CA125 ($\times10^4$U/ml)
黄体中期内膜日付診有意差検定	OOP群	9.4±1.3	16.4±3.4	16.8±3.3
	IP群	16.6±2.0	41.0±6.7	11.3±2.6
		P＜0.05	P＜0.05	N.S.
高温相持続期間有意差検定	SL群	9.9±1.2	25.1±5.7	13.3±4.0
	NL群	16.0±1.7	37.4±8.6	14.1±2.8
		P＜0.05	N.S.	N.S.

表4　Luteal Phase Adequacyと内分泌パラメーター

		Normal	Dysfunction
PITUITARY	PRL Response to TRH in Mid-luteal Phase	→	↓
CORPUS LUTEUM	Length of High Phase	normal	short
	Serum Progesterone Levels	→	↓
ENDOMETRIUM	Serum CA-125 in Mid-luteal Phase	→	↓
	Endometr ial Dating	in phase	out of phase
	Progesterone Receptor	→	↓
	PRL	→	↓

考　察

黄体期には，子宮内膜腺の分泌活動や子宮内膜間質の脱落膜化が進行し，妊卵の受容と維持が円滑に行われるよう制御されている．従来より黄体機能が不十分な結果，あるいは子宮内膜の黄体ホルモンに対する感受性が不十分である結果，不妊症となることが知られており，黄体期不全(Luteal Phase Defect, LPD)と総称され，不妊症の約10％，習慣性流産の約25％がLPDによるものと考えられている[6,7]．

LPDは1949年にJonesによって初めて報告され[8]，その後LPDに関して数多くの報告がなされたが，臨床の場におけるその診断や治療に関しては現在なお明解な基準は設定されていない．その診断に関していうと，基礎体温表から求めた高温相持続期間が11日以下の場合をShort Luteal Phase（以下SL）としてLPDのextreme patternととらえる報告もあるが[5]，基礎体温の測定は環境条件に左右され，またその解釈そのものにもあいまいな点が多いと考えられる．また，連日の血清P値の測定が最も信頼できるとの報告もあるが[9]，臨床の場で実際に行うことは困難を伴い，また，子宮内膜のP receptorに問題がある病態も考えられており[4,10]，血清P値が必ずしも内膜の機能を反映するとは限らないと考えられる．

基礎体温表や血清P値の測定は本来，卵巣機能を評価するものであって，子宮内膜機能を直接反映しているものではない．妊卵を受容し，維持するのは直接的には子宮内膜であり，その機能の評価が最も重要である．子宮内膜機能の低下の一因として黄体機能低下が存在するものであり，この両者は異なる次元に位置づけられるべきものと考える．子宮内膜の状態を評価する方法として子宮内膜日付診が実際の臨床の場でよく用いられるが，患者の苦痛を伴うこと，1回の検査では判定が困難であること[11]，解釈の難しい場合の存在することなどの欠点を有している．これらの欠点を補うべく近年，子宮内膜がP依存症に産生する物質に注目し，その血清中あるいは，子宮液中の濃度を測定することにより内膜の機能を直接評価しようとする試みがなされている．Joshi et alは，子宮内膜がP依存性にprogestagen associated endometrial protein（PEP）を産生し，その血中濃度を測定することにより子宮内膜の機能を評価することが可能であると報告している[12]．Maier et alは，ヒト子宮液中のPRL濃度が子宮内膜機能を反映する可能性があると報告している[13]．腫瘍関連抗原であるCA125は[14]，卵胞期・黄体期の両期を通して内膜腺で産生されるだけでなく，脱落膜化した内膜能の発現には一定量のPRLが必要であると考えられている．このように，PRLが黄体機能あるいは子宮内膜機能に深く関係していると考えられる中で，正常例にくらべ，OOP群あるいはSL群においてPRL分泌予備能が有意に低下していたという今回のわれわれの結果は着床期のPRLの生理的意義を考える上で示唆に富むものと考えられる．

IP群とOOP群，NL群とSL群において黄体中期間質でも産生されることが知られている[15,16,17]．Jager et alの報告によれば，血中CA125値は，自然排卵周期において、卵胞期には卵胞の発育に伴って徐々に上昇し，黄体期にはプラトーに達するといわれている[18]．また，月経期には血中CA125値が一過性に上昇し，ピークを形成するという報告が相次いでなされている[19,20,21]．このようなことからCA125は卵巣あるいは子宮内膜機能と密接に関連した物質であろうと考えられる．今回の検討において，黄体中期の血中CA125値がIP群およびNL群において，それぞれOOP群あるいはSL群に比べて有意に高値を示し，月経期血中CA125値もIP群においてOOP群より有意に高値を示したことは，血中CA125値が黄体期子宮内膜機能の指標になる可能性を示唆している．黄体期においてCA125が特に脱落膜化した子宮内膜間質から産生されることと考え合わせると，黄体期血中CA125が子宮内膜の脱落膜化の程度を反映している可能性も考えられる．

今回の検討において，血中CA125値と並んで群間で顕著な相違を示したのは黄体中期のPRLの分泌動態である．基礎値でみると差は認められないが，TRH負荷に対するPRLの反応性は，IP群あるいはNL群において，それぞれOOP群あるいはSL群と比べて有意に高いことが示された．これまで，高PRL血症がLPDの原因となりうることについて数多く報告されているが[22]，黄体中期のPRL分泌予備能についての検討はほとんどなされていない．子宮内膜自身，脱落膜化とともにPRLを産生するようになり[23,24]，LPDにおいては子宮内膜からのPRL産生が低下しているとの報告もある[25]．また，in vitroにおいて子宮内膜はPにより脱落膜化を来すが，その時，同時にPRLも産生されるようになり，脱落膜化の指標として用いられている[26]．この子宮内膜から産生されるPRLの機能については不明であるが，脱落膜化とともに産生されて来ることは着床現象に深く関係しているものと想像される．黄体機能にもPRLは関係し，ヒト卵巣顆粒膜細胞の培養系において，PRLがP産生を調節することが報告されており[27]，正常な黄体機のP基礎値に差が認められないにもかかわらず，血

中CA125値およびPRL分泌予備能に顕著な差異を認めたことは，血中P測定よりも鋭敏な着床期子宮内膜の機能的指標として用いられる可能性を示唆するものと考えられる．

最後に，これまでの報告と今回の結果を総合して，われわれが現在考えている着床期子宮内膜機能の内分泌パラメーターを表4にまとめた．40年以上を経過した現在なお，Noyesらの子宮内膜日付診の形態学的基準がそのまま用いられているが，今後，着床現象の機序の解明とともに子宮内膜の機能的指標に関する研究が求められていると考える．

本論文の要旨は第63回日本内分泌学会総会学術集会（1990年5月19日）にて発表した．

文　献

1) Noyes, R. W., Hertig, A. T. and Rock, J.: Dating the endometrial biopsy, Fertil. Steril., 1: 3, 1950
2) Noyes, R. W. and Haman, J. O.: Accuracy of endometrial dating: correlation of endometrial dating with basal body temperature and menses, Fertil. Steril., 4: 504, 1953
3) Wentz, A. C.: Progesterone therapy of the inadequate luteal phase, In: Current Problems in Obstetrics and Gynecolgy, 6 (4) (Eds: Leventhal, J. M.): 28, Year Book Medical Publishers, 1982
4) Spirtos, N. J., Yurewicz, E. C., Moghissi, K. S., Magyar, D. M., Sundareson, A. S. and Bottoms, S. F.: Pseudocorpus luteum insufficiency: a study of cytosol progesterone receptors in human endometrium, Obstet. Gynecol., 65: 535, 1985
5) Downs, K. A. and Gibson, M.: Basal body temperature graph and the luteal phase defect, Fertil. Steril., 40: 466, 1983
6) Rosenberg, S. M., Luciano, A. A., Riddick, D. H.: The luteal phase defect: the relative frequency of, and encouraging reaponse to, treatment with vaginal progesterone, Fertil. Steril., 34: 17, 1980
7) Tho, P. T., Byrd, J. R. and McDonough, P. G.: Etiologies and subsequent reproductive performance of 100 couples with recurrent abortion, Fertil. Steril., 32: 389, 1979
8) Jones, A. E. S.: Some newer aspects of management of infertility, J. A. M. A., 141: 1123, 1949
9) Gautray, J. P., DeBrux, J., Tajchner, G., Robel, P., Mouren, M.: Clinical investigation of the menstrual cycle. III. Clinical, endometrial and endocrine aspects of luteal defect, Fertil. Steril., 35: 296, 1981
10) Keller, D. W., Wiest, W. G., Askin, F. B., Jhonson, L. W. and Strickler, R. C.: Pseudocorpus luteum insufficiency: a local defect of progesterone action on endometrial stroma, J. Clin. Endocrinol. Metab., 48: 127, 1979
11) Balasch, J., Vanrell, J. A., Creus, M., Marquez, M. and Gonzalezmerlo, J.: The endometrial biopsy for diagnosis of luteal phase deficiency, Fertil. Steril., 44: 699, 1985
12) Joshi, S. G., Rao, R., Henriques, E. E., Raikar, R. S. and Gordon, M.: Luteal phase concentrations of a progestagenassociated endometrial protein (PEP) in the serum of cycling women with adequate or inadequate endometrium, J. Clin. Endocrinol, Metab., 63: 1274, 1986
13) Maier, D. B. and Kuslis, S. T.: Human uterine luminal fluid volumes and prolactin levels in normal menstrual cycles, Am. J. Obstet. Gynecol., 159: 434, 1988
14) Bast, R. C., Feenex, M., Lazartus, H., Nadler, L. M., Colvin, R. B. and Knapp, R. C.: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma, J. Clin. Invest., 68: 1331, 1981
15) Scharl, A. and Crombach, G.: CA125 in normal tissues and carcinomas of the uterine cervix, endometrium and fallopian tube. I. Immunohistochemical detection, Arch. Gynecol. Obstet., 244: 103, 1989
16) Dietel, M., Arps, H., Klapdor, R., Muller-Hagen, S., Sieck, M. and Hoffman, L.: Antigen detection by the monoclonal antibodies CA199 and CA125 in normal and tumor tissue and patients'sera, J. Cancer. Res. Clin. Oncol., 111: 257, 1986
17) Jacobs, I. and Bast, R. C.: The CA125 tumor-associated antigen: a review of the literature, Hum. Reprod., 4: 1, 1989
18) Jager, W., Sauerbrei, W., Meier, M. D., Lang, N. and Wildt, L.: CA125 serum concentrations during the menstrual cycle, Fertil. Steril., 50: 223, 1988
19) Pittaway, D. E. and Fayez, J. A.: Serum CA125 antigen levels increase during menses, Am. J. Obstet. Gynecol., 156: 75, 1987
20) Masahashi, T., Matsuzawa, K., Ohsawa, M., Narita, O., Asai, T. and Ishihara, M.: Serum CA125 levels during menstruation, Obstet. Gynecol., 72: 328, 1988
21) 松井義明，村上雅義，加納英男，奥平吉雄：子宮組織に存在する諸物質，アミラーゼ，CA-125を中心に，産婦人科の世界，39：739，1987
22) Seppala, M., Hirvonen, E. and Ranta, T.: Hyperprolactinemia and luteal insufficiency, Lancet, 1: 229, 1976
23) Riddick, D. H. and Kusmik, W. F.: Deciuda: a possible source of amniotic fluid prolactin, Am. J. Obstet. Gynecol., 127: 187, 1977

24) Maslar, I. A. and Riddick, D. H.: Prolactin production by human endometrium during the normal menstrual cycle, Am. J. Obstet. Gynecol., 135: 751, 1979
25) Daly, D. C., Maslar, I. A., Rosenberg, S. M., Tohan, N. and Riddick, D. H.: Prolactin production by luteal phase defect endometrium, Am. J. Obstet. Gynecol., 140: 587, 1981
26) Huang, J. R., Tseng, L., Bischof, P. and Janne, O. A.: Regulation of prolactin production by progestin, estrogen, and relaxin in human endometrial stromal cells, Endocrinology, 121: 2011, 1987
27) McNatty, K. P., Sawers, R. S. and McNeilly, A. S.: A possible role for prolactin in control of steroid secretion by the human Graafian follicle, Nature, 250: 653, 1974

Pituitary-ovarian-endometrial axis in luteal phase defect

Masahide Shiotani, Kenji Takakura, Yoichi Noda, Hiroshi Fjuiwara, Katsuhiko Narimoto and Takahide Mori

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

Mikihisa Kinoshita

Department of Gynecology and Obstetrics, Kyoto Katsura Hospital, Kyoto 606, Japan

Transformation of endometrium during periimplantation and decidualization is believed to be a prerequisite for successful implantation and subsequent development of the embryo. And the transformation is regulated under the intimate interrelation among the hypothalamic-pituitary-ovarian-endometrial (H-P-O-E) functions. We investigated the endometrial dysfunction during the luteal phase or luteal phase defect (LPD) from a viewpoint of H-P-O-E axis.

Twenty-five women with regular menstrual cycles were divided into in-phase (IP; n=16) or out-of-phase (OOP; n=9) group based on midluteal endometrial dating. They were also subgrouped into normal luteal (NL; n=20) or short luteal (SL; n=5) group according to the luteal length of basal body temperature charts. On the same day of endmetrial biopsy in the midluteal phase, serum levels of LH, FSH, and PRL were measured before and after simultaneous administration of GnRH and TRH. Serum levels of progesterone (P), estradiol (E_2), and CA125 were also determined by RIA. Although secretory patterns of gonadotropins were not different among subgroups, the responsiveness of PRL to TRH administration was augmented in IP or NL group. Midluteal CA125 levels were significantly higher in IP or NL group. There was no difference among the subgroups in midluteal P or E_2 levels. These findings suggest that the resposiveness of PRL to TRH and serum CA125 level might be served as sensitive functional parameters in evaluating the luteal phase adequacy.

(受付：1990年8月2日特掲)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

EFFECT OF CLOMIPHENE CITRATE ON CORPUS LUTEUM FUNCTION

Hiroyuki KOIKE, Keiichi TANIYAMA, Norimasa MORI and *Isao MIYAKAWA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Miyazaki Medical College, Miyazaki 889-16, Japan
*Department of Obstetrics and Gynecology,
Ohita Medical College, Ohita 879-56, Japan

(Director: Prof. N. Mori)

Abstract: Effect of clomiphene citrate, an estrogen antagonist, on corpus luteum function was evaluated. Serum estradiol-17β and progesterone in midluteal phase were remarkably increased in clomiphene citrate treatment cycles. These results suggest that clomiphene citrate not only induces ovulation but also stimulates corpus luteum function, necessary for achievement of conception.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 83—87, 1991)

Introduction

More than 30 years ago, Greenblatt et al. first reported the induction of ovulation by clomiphene citrate. Since then, this drug has been widely used for treatment of anovulatory disorders. Although clomiphene citrate induces ovulation with high success in anovulatory women, its pregnancy rate is not as satisfactory as could be expected. Since corpus luteum function after ovulation is essential for pregnancy, the effects of clomiphene citrate, an estrogen antagonist, on the corpus luteum should be evaluated.

In the present study, an attempt was made to determine whether clomiphene citrate favorably affects corpus luteum function in infertile women.

Materials and Methods

Clinical subjects

Eighteen patients, apparently suffering from functional sterility for no definite cause of infertility could be detected, were studied. Three became pregnant during the study period. Mean age of the remaining was 30.4 yr (25-42yr), average period of sterility was 4.9yr (2-14yr). Ten of the 15 (66.7%) had primary sterility and 5 (33.3%) were secondary.

Administration of clomiphene citrate

No treatment was given in the control cycle for all patients. From the 5th day of the treatment cycle, clomiphene citrate (Clomid, Shionogi, Co. Ltd., Osaka, Japan) was given 50 mg/day for 5 days in the 1st treatment cycle and 100 mg/day for 5 days in the 2nd cycle.

Blood samples were collected between day 21 and 23 in the pretreatment and treatment cycles, and serum LH, FSH, PRL, estradiol (E_2) and progesterone (P) were measured by radioimmunoassay[1]. (Fig. 1)

Before the study was inhibited, informed consent was obtained from all patients.

Results

I. Effect of clomiphene citrate on serum values of LH, FSH and PRL during luteal phase

Results are shown in Figs. 2 to 4. LH, FSH and

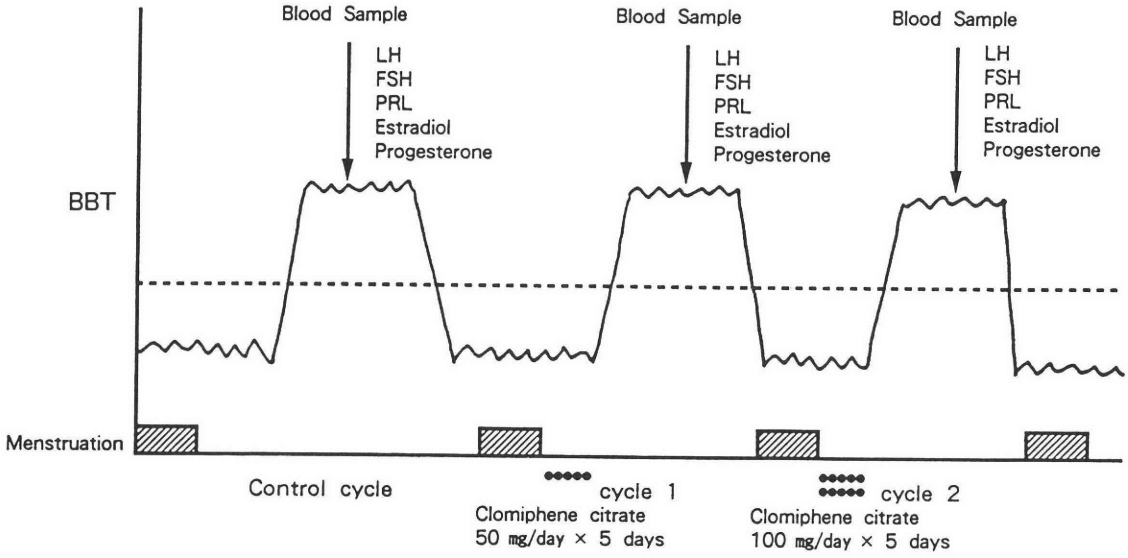


Fig. 1 Menstruation, BBT and experimental schedules.

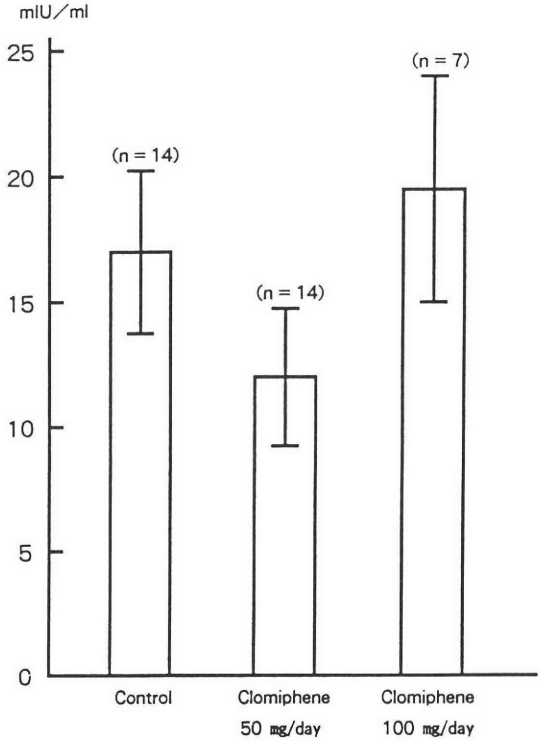


Fig. 2 Serum LH levels of infertile patients before and after midluteal 5 day so and 100 mg/day clomiphene citrate treatment. Vertical bars indicate mean±SEM.

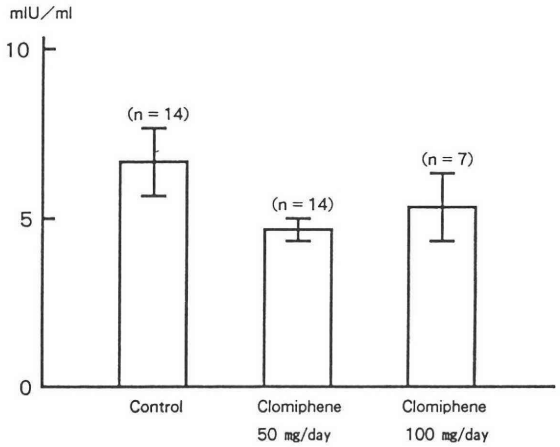


Fig. 3 Serum FSH levels of infertile patients before and after same as Fig, 2. Vertical bars indicate mean±SEM.

PRL were 16.91±3.1 mIU/ml (n=14), 7.3±0.9 mIU/ml (n=14) and 11.6±1.9 ng/ml (n=10) in the control cycle, 11.7±2.7 mIU/ml (n=14), 4.4±0.5 mIU/ml (n=14) and 12.1±1.5 ng/ml (n=10) in the first treatment cycle (50 mg/day), 19.3±4.2 mIU/ml (n=7), 5.6±1.1 mIU/ml (n=7) and 14.0±1.3 ng/ml (n=5) in the second treatment cycle (100 mg/day). There was no significant difference in the levels of LH, FSH and PRL between pretreatment and treatment cycles.

II. Effect of clomiphene citrate on serum values of E_2-17β and progesterone during luteal phase

Results are shown in Figs. 5 and 6. Serum E_2 in the control cycle was 183.2±21.7 pg/ml (n=13). That in the first treatment cycle increased to

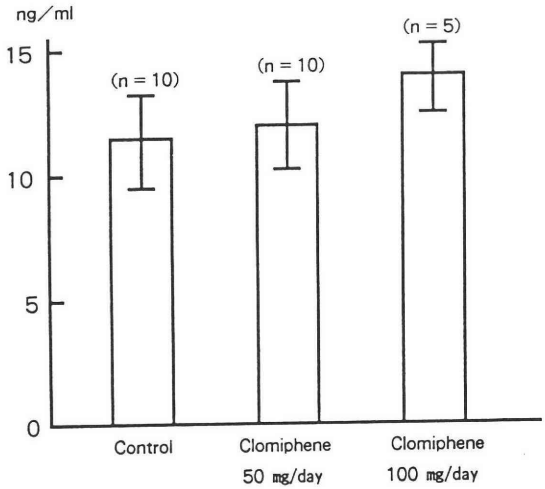


Fig. 4 Serum PRL levels of infertile patients before and after same as Fig. 2 and 3. Vertical bars indicate mean±SEM.

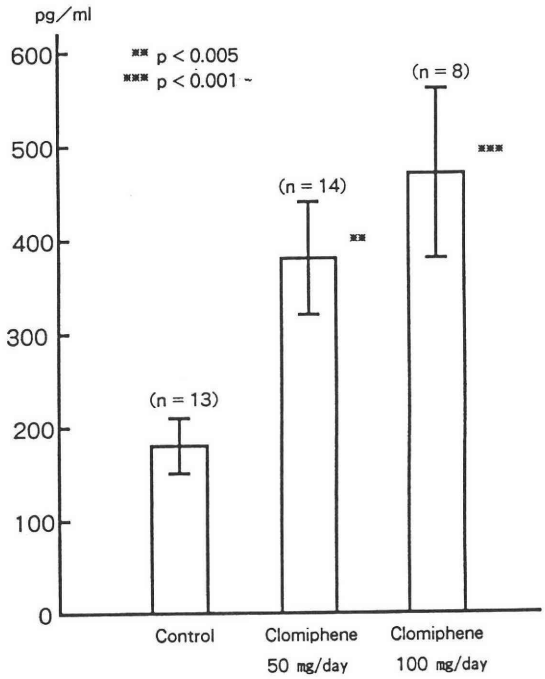


Fig. 5 Serum estradiol levels of infertile patients before and after same as Fig. 2, 3 and 4. Vertical bars indicate mean±SEM.

385.6±65.6 pg/ml (n=14) being significantly higher ($p<0.005$) than that in the control cycle, and in the second treatment cycle to 474.1±82.2 pg/ml (n=8), significantly higher ($p<0.001$) than that in

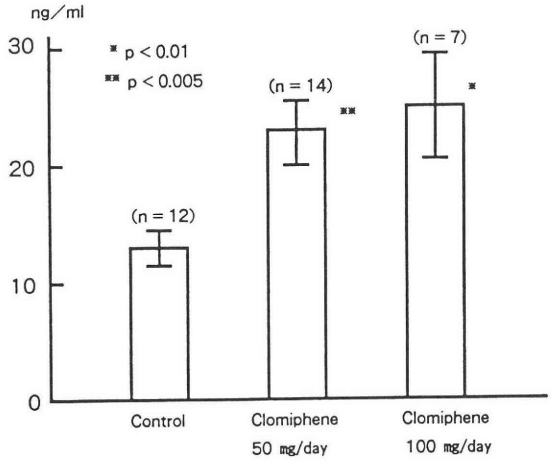


Fig. 6 Serum progesterone levels of infertile patients before and after same as Fig. 2, 3, 4 and 5. Vertical bars indicate mean±SEM.

the control cycle.

serum Ps in the control cycle, and the first and second treatment cycles were 13.1±1.6 ng/ml (n=12), 24.1±3.6 ng/ml (n=14) and 25.8±4.6 ng/ml (n=7), respectively. P levels in the two treated cycles were significantly higher ($p<0.005$ and $p<0.01$, respectively) than that in the control cycle.

Mean levels of serum E_2 and P in midluteal phase were markedly increased in the clomiphene citrate treated cycles. However, there was no significant difference between the two treated cycles.

Discussion

Clomiphene citrate has been very widely used to induce ovulation. Laufer and Downs reported that clomiphene citrate treatment induced ovulation in 70% of women but the resulting pregnancy rate was only 27% to 40% with an associated abortion rate of 25%[2,3]. In addition, 50% of women treated by clomiphene citrate were found to have an "out of date" endometrial biopsy[4].

Our results indicate that serum LH, FSH and PRL levels were not significantly different between the control cycle and treated cyclces. Judging from PRL values, clomiphene citrate, unlike bromocriptine, seems to have no apparent dopaminergic effects.

Increased E_2 and P levels in clomiphene citrate

treated cycles showed stimulation of follicular growth. Similar results have been reported by others[5-8]. However, endometrial histologic findings by Cook et al. indicated that clomiphene citrate was not effective in improving luteal function[9]. Dadson et al. showed that clomiphene citrate apparently improved follicular growth as assessed by increased E_2 levels[6]. It is believed that clomiphene citrate interferes with estrogen receptor replenishment at the hypothalamic level, resulting in secretion of gonadotropin-releasing hormone[10]. The pituitary responds with a rapid increase in the secretion of FSH and, to a lesser degree, in that of LH. The resulting follicular stimulation raises the level of endogenous E_2[9].

Hammond and Talbert recently found that luteal phase deficiency, as defined by midluteal P levels of less than 20 ng/ml, was highly responsive to clomiphene citrate administered in an escalating fashion to assure levels greater than 20 ng/ml. They concluded that clomiphene citrate was effective in treating luteal defects[11].

In our study, the value of P was increased to 24.1±3.6 ng/ml in the first cycle and 25.8±4.6 ng/ml in the second cycle compared to 13.1±1.6 ng/ml before treatment. Levels of E_2 and P, as an expression of luteal function, were remarkably increased in the midluteal phase of the treated cycle. These results suggest that clomiphene citrate favorably stimulates the corpus luteum to increase E_2-17β and P. Corpus luteum function after clomiphene citrate induced ovulation does not seem to be responsible for the low rate of pregnancy following clomiphene citrate treatment.

References

1) Miyakawa, I., Taniyama, K., Koike, H., Mori, N., Nagamine, M., Kuribayashi, T., Araki, S.: Successful pregnancy in an acromegalic patient during 2-Br-α-ergocryptine (CB-154) therapy, Acta Endocrinologica, 101: 333, 1982

2) Laufer, N., Pratt, B. M., Decherney, A. H., Naftolin, F., Merino, M., Markert, C. L.: The in vivo and in vitro effects of clomiphene citrate on ovulation fertilization, and development of cultured mouse oocytes, Am. J. Obstet. Gynecol., 147: 633, 1983

3) Downs, K. A., Gibson, M.: Clomiphene citrate therapy for luteal phase defect, Fertil. Steril., 39: 34, 1983

4) Garcia, J., Jones, G. S., Wentz, A. C.: The use of clomiphene citrate, Fertil. Steril., 28: 707, 1977

5) Lobo, R. A., Granger, L. R., Davajan, V., Mishell, D. R. Jr.: An extended regimen of clomiphene citrate in women unresponsive to standard therapy, Fertil. Steril., 37: 762, 1982

6) Dodson, K. S., MacNaughton, M. C., Coutts, J. R. T.: Infertility in women with apparently ovulatory cycles, II. The effects of clomiphene treatment on the profiles of gonadotropin and sex steroid hormones in peripheral plasma, Br. J. Obstet. Gynaecol., 82: 625, 1975

7) Robertson, D. M., Mester, J., Kellie, A. E.: The measurement of oestradiol and progesterone in plasma from normal, infertile and clomiphene treated women, Acta Endocrinologica, 68: 523, 1971

8) Fukuma, K., Fukushima, T., Matsuo, I., Mimori, H., Maeyama, M.: A graduated regimen of clomiphene citrate: Its correlation to glycogen concent of the endometrium and serum levels of estradiol and progesterone in infertile patients at the midluteal phase, Fertil. Steril., 39: 780. 1983

9) Cook, C. L., Schroeder, J. A., Yussman, M. A., Aanfilippo, J. S.: Induction of luteal phase defect with clomiphene citrate, Am. J. Obstet. Gynecol., 149: 613, 1984

10) Clark, J. H., Peck, E. J., Anderson, J. N.: Oestrogen receptors and antagonism of steroid hormone action, Nature, 251: 446, 1974

11) Hammond, M. G., Talbert, L. M.: Clomiphene citrate therapy of infertile women with low luteal phase progesterone levels, Obstet. Gynecol., 59: 275, 1982

Clomiphene citrateの黄体機能に及ぼす影響

宮崎医科大学産科婦人科学教室
小池弘幸　谷山圭一　森　憲正
大分医科大学産科婦人科学教室
宮川勇生

目的：Clomiphene citrate (以下CLと略す) の黄体機能へ及ぼす影響について検討した.

方法：宮崎医科大学産科婦人科不妊外来を訪れた25歳から42歳までの不妊患者15名を対象とした. その平均年齢は30.4±1.2歳, 不妊期間は66.5±12.8ヵ月だった. そのうち原発不妊10／15 (66.7%), 続発不妊5／15 (33.3%) であった. 月経周期21～23日に採血し, この周期をcontrol周期とした. 続いて月経周期

の第5日目よりCLを1周期目は50㎎／日，2周期目は100㎎／日を5日間就寝前に投与した．この各周期21日～23日に採血し，血清LH, FSH, PRL, estradiol (E_2), progesterone (P)を測定した．

成績：このCL投与中3例が妊娠したが，これらの症例は除外して検討した．血清LH, FSH, PRLはCL投与前後において有意差はなかった．しかし，血清E_2は前値183.2±21.7 pg/ml（n＝13），50㎎投与後385.6±65.6 pg/ml（n＝14），100㎎投与後474.1±82.2 pg/ml(n＝8)となりCL投与後は著増を示した．血清Pは前値13.1±1.6 ng/ml(n＝12)，50㎎投与後24.1±3.6 ng/ml（n＝14），100㎎投与後25.8±4.6 pg/ml(n＝7)となりCL投与後は増加傾向を示した．

結論：以上の成績は，CLの排卵誘発作用のみならず，投与周期の黄体期の内分泌環境に，何らかの好影響を与えていることを示唆するものである．

(受付：1990年6月4日特掲)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

左右卵巣からの排卵の規則性について
経腟超音波断層法による検討

Occurrence of Ovulation from the Right and Left Ovaries: The Observation of Successive Cycles Using Transvaginal Ultrasonotomography

札幌医科大学産婦人科講座

幡　洋　林　卓宏　宿田孝弘
Hiroshi HATA　Takuhiro HAYASHI　Takahiro SYUKUTA
金谷美加　水沼正弘　藤井美穂
Mika KANAYA　Masahiro MIZUNUMA　Miho FUJII
遠藤俊明　田中昭一　橋本正淑
Toshiaki ENDO　Shoichi TANAKA　Masayoshi HASHIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Sapporo Medical College,
Sappporo 060, Japan

卵胞成熟，排卵が左右の卵巣においてどのような順序で起こるかについて，経腟超音波断層法を用いて左右の卵巣を観察し検討した．

対象は，左右に卵巣を持ち，排卵誘発剤を使用せずに正常性周期を示す成熟期婦人とした．

連続して2周期以上観察し得た52症例の194周期について検討した．単一周期についてみると，左右卵巣での排卵率はそれぞれ47.9％と52.1％であった．連続した2周期について観察すると，初めの周期とあとの周期が，同側であった場合が52.8％，他側であった場合が47.2％であった．初めの周期またはあとの周期を，左または右と限定した場合にも左右差は同様にまったく認められなかった．

以上の事から左右卵巣からの排卵率は同じであるが排卵の順番は不規則であり，前周期の卵胞成熟，排卵、黄体形成等は，今周期の卵胞成熟及び排卵が左右どちらの卵巣で起こるかについては影響しないことが示された．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 88—92, 1991)

緒　言

左右両側に卵巣が存在し，正常性周期を有する婦人では，排卵は1排卵周期に1個ずつ左または右の卵巣から交互に起こる[1]と言われてきたが，このことを実際に確かめた報告は散見されるにすぎず[2-5]，多くは開腹により調べた結果である．しかし，一側の卵巣を摘出した場合には，残存した卵巣から毎周期排卵がおこることは，臨床上よく経験する．

どちらの卵巣から排卵されるかを知ることは不妊症で一側の卵管の通過障害がある場合に問題となる．すなわち，通過障害卵管側の卵巣からの排卵の場合，卵の外遊走の可能性は少なく，その周期の妊娠率は低下することが予想される．またAIHを施行する場合には通過障害卵管側の卵巣から排卵すると考えられる周期でのAIHの成功率は低下すると思われる．

AIHによる感染の危険性を考えるとこのような周期ではAIHを行なうべきか否か疑問が残る．したがって，左右どちらの卵巣からの排卵かをあらかじめ知ることは不妊症治療に際しては重要なことと思われる．

近年，経腟プローブの出現等の超音波断層法の発達により，卵巣での卵胞成熟が精細に観察できるようになり，排卵時期の推定等に非常に役立つようになってきた[6]．さらに卵胞径の増大の経過を観察できるばかりでなく，その卵胞が左右どちらの卵巣に存在するのかの診断も可能となってきた．

そこで今回，我々は経腟プローブを用いて卵胞径の増大による排卵時期の推定を行なう際に主席卵胞の成熟が左右どちらの卵巣において起こっているのかをチェックし，卵胞成熟及び排卵が左右交互におきているか否かを検討した．

対象及び方法

当科不妊外来に通院中の22歳から41歳の婦人のうち，排卵誘発剤を使用せずに自然に排卵する正常性周期症例を対象とした．次のような症例は対象から除外した．1）黄体機能不全のためhCGクールを施行しいてる婦人，2）高プロラクチン血症のために，ブロモクリプチンを服用している婦人，3）正常性周期を示す婦人においても，排卵のタイミングをはかるためにHCGを投与した場合には，その周期と次の周期．

排卵の確認は，基礎体温の高温相への移行，血中プロゲステロン値の上昇，経腟超音波断層所見での成熟卵胞の消失およびその後の黄体の形成，で行なった．

この正常性周期を有する婦人のうち経腟超音波断層法で単一の卵胞成熟を連続2周期以上観察し得た52症例について検討した．

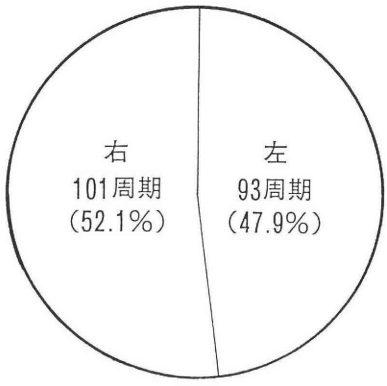


図1　単一の卵胞成熟を認めた周期での卵胞成熟側全観察週数＝194周期

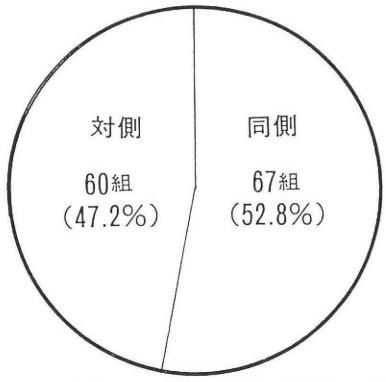


図2　連続した2周期の卵胞成熟側の変化
観察組数＝127組

超音波断層法は，アロカSSD-650を用いて行い，経腟プローブはUST-945P-5（5MHz）を使用した．最大径が16 mm以上に成長した卵胞を排卵可能な成熟卵胞とした[6]．

連続して2周期，経腟超音波断層法で単一の卵胞成熟を認めた場合，これを1つの組と数えた．

成　績

1）単一周期について見てみると，左右どちらかの卵巣に単一の卵胞の成熟を認めた周期は全部で194周期であった．このうち右卵巣で卵胞の成熟を認めたのは101周期（52.1％）であり，左卵巣で認めたのは93周期（47.9％）であった．成熟卵胞の左右出現頻度には有意な差は認めなかった（図1）．

2）連続した2周期を観察した組数は全部で127組あった．第1周期と第2周期に排卵が、同側（右または左）で起きたのは67組（52.8％）であり，第1周期と第2周期の排卵が左右異なる卵巣で起きたのは60組（47.2％）であり，この2者の出現頻度には有意な差は認めなかった（図2）．

3）連続した2周期の卵胞成熟が同側であった67組のうち，左側の卵巣で成熟が起きたのは33組（49.3％）であり，右卵巣で起きたのは34組（50.7％）であった．すなわち有意な左右差は認めなかった（図3）

4）前述したごとく，連続した2周期の卵胞成熟が第1周期と第2周期で異なったのは，60組であった．このうち図4に示すように，第1周期が左側で，第2周期が右側で卵胞成熟を認めたのは31組（51.7％）であった．逆に，第1周期が右で，第2周期が左であったのは29組（48.3％）であった．上記2者の間には，有意な差は認めなかった．

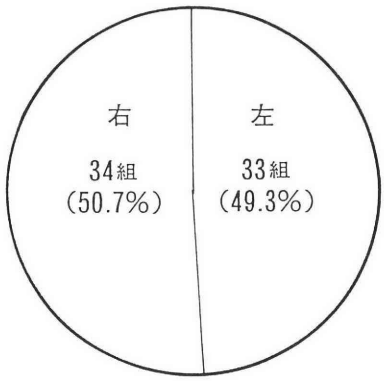


図3　連続した2周期が同側であった場合の卵胞成熟側
観察組数＝67組

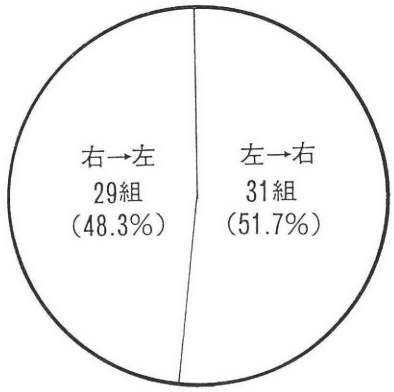


図4　連続した2周期が左右異なった場合の卵胞成熟側の変化
観察組数＝60組

5）図3および図4を第1周期を中心に分類しなおした(図5)．第1周期の排卵が左卵巣であった組は64組(50.4％)あった．この場合に，続いて起こる第2周期の排卵が同じ左卵巣であった組は33組(51.6％)，反対側の右卵巣であった組は31組(48.4％)であった．第1周期の排卵が左卵巣で起きた場合，第2周期の排卵側について有意な差は認めなかった．

6）5）と同様な方法で，第1周期の排卵が右卵巣であった組は，63組(49.6％)であった(図6)．第1周期の卵胞成熟について有意な左右差はなかった．

第1周期の卵胞成熟が右側であった場合，第2周期が反対側の左になったのが29組(46.0％)あった．逆に，第2周期が同側の右になったのは34組(54.0％)であり，第2周期の左右の頻度に有意な差は認めなかった．

7）次に，第2周期に着目して整理すると以下の通りとなった(図7，8)．

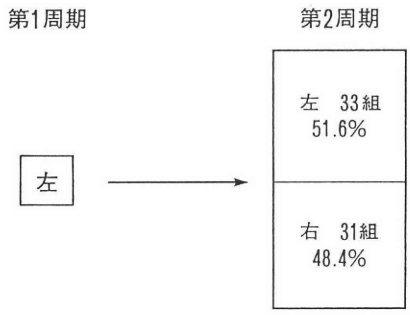


図5　連続した2周期において第1周期が左であった場合の第2周期の卵胞成熟側
観察組数＝64組

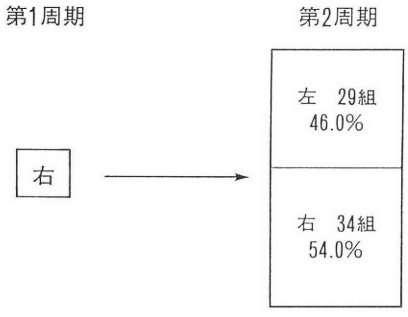


図6　連続した2周期において第1周期が右であった場合の第2周期の卵胞成熟側
観察組数＝63組

第2周期が左であったのは62組(48.8％)であり，右で成熟していた65組(51.2％)と比較して有意差はなかった．

第2周期が左であった62組のうち，第1周期に左で成熟が起きていたのは33組(53.2％)であった．右で成熟が起きていたのは，29組(46.8％)であり，有意な差は認めなかった．

8）第2周期が右であった65組のうち(図8)，第1周期が，左であったのは31組(47.7％)であり，右で卵胞成熟を認めたのは34組(52.3％)であった．第1周期の卵胞成熟について有意な左右差はなかった．

9）52症例中，連続して同一側で卵胞成熟が観察されたのは，最高で5連続周期であった．

考　察

ヒトの正常成熟婦人では，一定の周期で原則として1つの卵子のみが成熟し排卵される．そして，卵巣は右と左に1個ずつ計2個あるため，卵胞成熟，

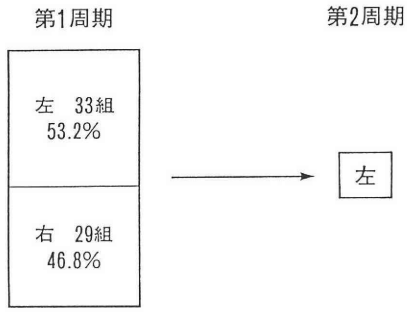


図7　連続した2周期において第2周期が左であった場合の第1周期の卵胞成熟側
観察組数＝62組

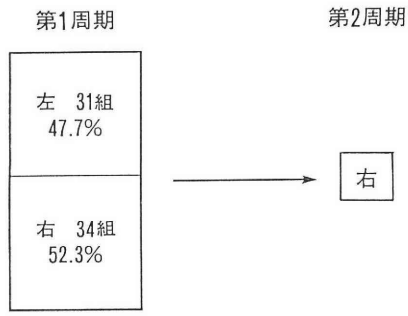


図8　連続した2周期において第2周期が左であった場合の第1周期の卵胞成熟側
観察組数＝62組

排卵は左右の卵巣で周期毎に交互に起きると考えられてきた．しかし，このことを実際に確かめた文献は少ない．種々の教科書においても排卵は交互に起こると明記しているもの[1]，左右均等に起こるとのみ記載しているもの[7]，明言を避けて言及していないもの[8]に大別される．

この排卵の左右側について本邦の詳しい報告はIchinoeら[2,3]，荒木ら[4]があるにすぎない．

Ichinoeら[2]は470例のヒトの妊娠黄体の出現の左右差について調べた結果を報告している．それによると，妊娠回数が少なく年齢も若い群では右側に，逆に分娩回数が多く年齢も高い群では左側に妊娠黄体が有意差をもって多く存在することを認めて，ヒトの排卵形式は交互性でないとした．さらに，ヒトでは黄体の連続観察か不可能なため，月経周期がヒトとよく似たHolstein系乳牛135例について連続した2周期以上の発情周期を観察し，連続した2周期とも同側に黄体を認めた場合と，対側で認めたた場合では全く近似した出現率を示すため，発情周期で排卵は交互性ではないと推定した[2]．また，Ichinoe[3]は子宮頸癌の手術時に，両側卵巣を上腹部に移植し，以後30ヶ月にわたり性周期における卵巣の大きさを観察した症例について，卵巣の腫大は両側で不規則に起きたことを報告している．これらの成績は今回の我々の超音波断層法を用いて得た卵巣からの排卵には左右の規則性はないという結果と同じであった．

さらに荒木ら[4]は，卵管通過障害のため腹腔鏡を行い，次周期に開腹，卵管形成術を行った11例において成熟卵胞または新鮮黄体がどちらの卵巣に存在するか観察した．その結果，同側6例，他側5例であり，排卵が左右交互に起こるという説は否定されるとした．症例数が少ないが我々やIchinoeら[2,3]の成績と一致した．たしかに，超音波断層法が発達するまでは，卵胞成熟または排卵がどちらの卵巣で起きたのかについては開腹し実際に肉眼で確認するほかに方法がなかったので，荒木ら[4]の方法は連続した2周期の排卵側を観察するのには有効な方法である．しかし，腹腔鏡もしくは開腹による観察では2周期以上の長期にわたる連続観察や症例数を積み重ねることは非常に難しい．

近年，超音波断層法の発達により，産婦人科領域の画像診断は長足の進歩を遂げてきた[6]．

さらに，腹壁を通しての超音波断層法に比較して，経腟プローブの出現は非常に詳細な画像を簡単に得ることを可能にした．このため卵巣での卵胞の精細な観察が臨床レベルで可能になり，排卵時期の推定，排卵の有無の確認，多嚢胞卵巣，卵巣過剰刺激症候群の診断等に非常に役立つようになってきた．

今回我々は，経腟超音波断層法により卵胞の成熟，排卵がどちらの卵巣で起きているかを観察した．その結果，左右の卵巣での卵胞成熟および排卵の出現頻度に有意な差はないことを確認した．さらに，その周期と前後の周期の卵胞成熟及び排卵側について検討し，卵胞成熟及び排卵は前周期の排卵が左右どちらの卵巣で起きていようとそれとはまったく関係なく右または左の卵巣で同頻度で起きていた．また，今周期の排卵が左右どちらの卵巣でおきていようとも次周期の卵胞成熟及び排卵はそれには影響されずに左右均等に起きていた．これはIchinoe[2,3]，荒木ら[4]と同様の結果である．

Werlinら[5]は超音波断層法で6周期連続して卵巣を観察し，同一卵巣のみからの排卵が39症例中9症例(23.1％)に認められたと報告している．しかし，我々の成績では同一卵巣からの連続排卵は最長5周期が1例のみであり，Werlinらの報告とは異なった結果であった．さらに，Werlinらは次周期の排卵側は75％の確率で今周期と同側になると報告している

が，我々の成績とは左右交互には排卵は起きないという点では同じであるが，同側になる頻度は我々の成績の50％とは差が認められた．この頻度に差があった原因については今後の検討が必要と思われる．

まとめ

卵巣からの排卵率は左右ほぼ等しいが排卵は従来から言われていたように左右の卵巣で交互に起きるのではなく，左右不規則に起こり，前周期の卵胞成熟，排卵，黄体形成等は今周期の卵胞成熟及び排卵が左右どちらの卵巣で起こるかについては影響しないことが示唆された．

本論文要旨は第34回日本不妊学会総会（旭川，1989）において発表した．

文　献

1）川上博：新婦人科学，P85，文光堂，1988
2）Ichinoe, K. and Kojima, S.: Does ovulation really occur alternately from the left and right ovary? J. Jpn. Obstet. Gynecol. Soc., 5: 257, 1958
3）Ichinoe, K.: Functional preservation of gynecologic reproductive organs by operative and non-operative procedures, p. 14, Hokkaido University School of Medicine, 1986
4）荒木重雄：ヒトにおける卵胞成熟から単一排卵への調節機序とその異常，日産婦誌，31：956，1979
5）Werlin, L. B., Weckstein, L., Weathersbee, P. S., Parenicka, K., White, D. and Atone, S. C.: Ultrasound: a technique useful in dermining the side of ovulation, Fertil. Steril., 46: 814, 1986
6）千石一雄，石川睦男，山下幸紀，溝口久富，笠茂光範，清水哲也，田中邦雄：超音波断層法による卵胞発育モニタリングならびに排卵時期予測，日産婦誌，34：2205，1982
7）加藤宏一，古谷博，一戸喜兵衛：産科婦人学，P12，へるす出版，1987
8）Jones, III H. W., Wentz, A. C. and Burnett, L. S.: Novak's textbook of gynecology (11th edition), Williams and Wilkins, 1988

Occurrence of ovulation from the right and left ovaries: The observation of successive cycles using transvaginal ultrasonotomography

Hiroshi Hata, Takuhiro Hayashi, Takahiro Syukuta, Mika Kanaya, Masahiro Mizunuma, Miho Fujii, Toshiaki Endo, Shoichi Tanaka, and Masayoshi Hashimoto

Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Medical College, Sappporo 060, Japan

To investigate in what order follicular maturation occurs in the right and left ovaries, the present study was carried out on both ovaries using transvaginal ultrasonotomography.

Females who had right and left ovaries and who demonstrated normal menstral cycles without the induction of ovulation were selected as the subjects.

The investigation was made on 194 cycles from the 52 cases for whom observation of more than 2 successive cycles was possible. Regarding individual cycles, the ovulation rates in the left and right ovaries were 47.9% and 52.1%, respectively. When the 2 successive cycles were regarded as a pair, the first and second cycles occurred on the one side in 52.8% of the pairs while they were observed on the other side in 47.2%. Similarly no difference in incidence was observed between the right and left ovaries even when the successive cycles alternated left and right. From the above, it was suggested that, although the ovulation rate is similar in the left and right ovaries, the order of ovulation is irregular and that follicular maturation, ovulation and luteinization in the previous cycle have no influence over which ovary will have the next follicular maturation and ovulation.

（受付：1990年3月31日）

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

PROPER TIMING FOR DISCONTINUING HUMAN MENOPAUSAL GONADOTROPIN DETERMINED BY FOLLICULAR MONITORING WITH ULTRASOUND IN AN *IN VITRO* FERTILIZATION PROGRAM

Hiromitsu TANI, Kazuya ODA,
Kazuyoshi SHICHIRI, Osamu ARAKAWA,
Yoshiaki SATO and Kenichi TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Niigata University,
Niigata 951, Japan

Abstract: In in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) programs, follicular monitoring and determination of the proper timing of the HMG discontinuation are critical for success. They are generally achieved by daily measurements of serum estradiol levels and follicular diameters. But serum hormone assays are relatively complicated and expensive. The purpose of this study was to determine by ultrasound the appropriate criterion for discontinuing HMG.

The records of all patients undergoing IVF-ET in Niigata University between February 1988 and June 1989 were reviewed. Ovarian stimulation was carried out with HMG-HCG with or without Buserelin. Follicular developments were monitored by ultrasound. HMG injection was discontinued when the largest follicle had a diameter of 18mm in phase I, and of 15～16mm in phase II. The serum estradiol levels were measured on the day of HCG administration afterward, and patients were divided into three groups according to those values: patients with estradiol＜600pg/ml in group L, those with 600pg/ml≦estradiol＜1200pg/ml in group M, and those with 1200pg/ml≦estradiol in group H.

The mean normal fertilization rate and the mean embryo grade were significantly highest in group M, in both of phases I and II. The percentage of patients in group M was significantly greater in phase II (27.8% in phase I, and 47.8% in phase II, $p<0.05$). Therefore, HMG injection should be discontinued when the largest follicle becomes 15～16mm to increase the percentage of patients in group M, in which the oocyte and the embryo quality is thought to be best.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 93—98, 1991)

Introduction

It has been the custom in in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) programs to stimulate normally menstruating women with ovulation-inducing agents, such as human menopausal gonadotropin (HMG), to recover multiple oocytes. Since there are individual differences in patients' responses, follicular monitoring and determination of the proper timing of the HMG discontinuation are critical for success. Follicular monitoring is generally achieved by daily mea-

surements of serum estradiol concentrations and follicular diameters. Estradiol levels are measured by radioimmunoassay, so daily assays are relatively complicated and expensive. On the other hand, follicular diameters are measured with ultrasound, which has been easy and simple technics with the development of vaginal tranducers.

In a few IVF-ET programs including ours, follicular monitoring has been performed with ultrasound without daily estradiol measurements[1,2]. From Februay to December 1988 in Niigata University, HMG injection was discontinued when the largest follicle had a diameter of 18mm. There results were retrospectively analyzed and were found to be unsatisfactory. So from January to June 1989, the criterion for discontinuing HMG was changed to improve the results of IVF-ET. The purpose of this study was to determine by ultrasound the appropriate criterion for discontinuing HMG and to discuss follicular monitoring by ultrasound.

Materials and Methods

The records of all patients undergoing IVF-ET in Niigata University between February 1988 and June 1989 were reviewed. Patients whose oocyte retrieval was cancelled were excluded from the study.

Details of the IVF-ET programs in Niigata University were previously described[2]. Ovarian stimulation was carried out with HMG (Nikken Co., Tokyo) with or without Buserelin (Hoechst Japan, Tokyo). In the stimulation protocol without Buserelin, two ampules of HMG per day were given starting on day 3 of the cycle. From day 8, follicular development was monitored by ultrasound; the follicular diamters were measured in three planes and the means were calculated. HMG injection was discontinued when the largest follicle had a mean diameter of 18mm in 1988 (phase I), and of 15～16mm in 1989 (phase II). Human chorionic gonadotropin (HCG; HCG Mochida, Mochida Pharmaceutical Co., Tokyo), 10,000IU, was administered one or two days after the last HMG injection. In the stimulation protocol with Buserelin, it was given intranasally starting on day 21 of the previous cycle and continuing until HCG injection[2]. HMG injections, the criterion for HMG discontinuation, and the timing of the HCG administration were the same as in the protocol without Buserelin.

Blood samples were collected on the day of the HCG administration, and serums were stored at 20℃ until assayed. Serum estradiol levels were measured afterward with commercially available radioimmunoassay kits (E_2 kit, CDP Co., Tokyo). Then patients were divided into three groups according to the estradiol levels: patients with estradiol＜600pg/ml in group L, those with 600pg/ml≦estradiol＜1200pg/ml in group M, and those with 1200pg/ml≦estradiol in group. H.

Thirty-six hours after the HCG injection, oocytes were retrieved transvaginally by transvaginal ultrasound. Recovered oocytes were incubated for 3～6 hours, then were inseminated with $1\sim5\times10^5$ motile sperms/ml. Sixteen hours after the sperm addition, normal fertilization was verified by the presence of two pronuclei. Forty-eight hours after the oocyte retrieval, the morphological appearance of the fertilized embryos was assessed according to the grading system (Table 1) to evaluate the embryo quality, then embryos were transferred into the uterine cavity.

Progesterone, 50mg, was administered intramuscularly on the next day after the oocyte retrieval, then 30mg was injected daily for 13 days. Twelve days after the embryo transfer (ET), serum β-HCG was measured by fluorometric enzyme immunoassay (Stratus, Baxter

Table 1. Embryo grade

Grade	Characteristics
4	Even blastomeres, sharp borders, no fragmentation, no granularity in ooplasm.
3	Even blastomeres, sharp borders, slight fragmentation, no granularity in ooplasm.
2	Moderately irregular blastomeres, modest fragmentation, slight granularity in ooplasm.
1	Arrested cleavage, or severely irregular blastomeres, severe fragmentation, significant granularity in ooplasm.

Healthcare Co., Miami, USA). If it was elevated, ultrasound examination was applied four weeks after the ET, and pregnancy was diagnosed when a gestational sac was shown to be present in the uterine cavity.

Statistical analysis was performed using Student's t test and chi-square analysis. All data are expressed as means±SD.

Results

Of the 157 patients in this study, 86 were in phase I and 71 in phase II.

In phase I (Table 2), the mean serum estradiol level on the day of the HCG administration was 1226±1041pg/ml, the number of oocytes recovered per retrieval was 4.14±3.45, the mean fertilization rate (excluding male factor cases) was 58.6±36.6%, the embryos transferred per ET were 2.63±1.17, and seven pregnancies occurred (pregnancy rate per ET was 13.7%).

Table 2. Results of IVF-ET in phase I

Oocyte retrieval	86 patients
Estradiol levels[a)]	1,226±1,041pg/ml
Oocytes recovered	4.14±3.45
Fertilization rate[b)]	58.6±36.6%
ET	51
Embryos/ET	2.63±1.17
Embryo grade	2.75±0.76
Pregnancies/ET	7 (13.7%)

a) Serum estradiol levels on the day of HCG-administration.
b) Male factor cases were excluded.

The serum estradiol levels on the day of the HCG administration were measured in 72 patients of phase I. As shown in Table 3, in the groups of phase I, most of the patients were in group H. The number of oocytes recovered per retrieval and the number of embryos transferred per ET were significantly greatest in group H. On the other hand, the mean normal fertilization rate (excluding male factor cases) and the mean of the embryo grade were significantly highest in group M. Though the number of embryos transferred was significantly greatest in group H, the pregnancy rate per ET was not significantly different.

In phase II (Table 4), the mean serum estradiol level on the day of the HCG administration was 967.6±591.7pg/ml, the number of oocytes recovered per retrieval was 5.27±3.70, the mean fertilization rate (excluding male factor cases) was 70.7±25.6% , embryos transferred per ET were 3.00±1.64, and sixteen pregnancies occurred (pregnancy

Table 3. A comparison of the results of IVF-ET according to the estradiol levels on the day of the HCG administration in phase I

	Estradiol Levels		
	group L	group M	group H
Oocyte retrieval	22	20	30
Oocytes recovered	1.77±1.27	3.25±2.22	6.73±3.78
Fertilization rate[a)]	49.4±39.2%	76.9±27.6	53.5±36.5%
ET	11	14	19
Embryos/ET	1.82±1.17	2.50±1.02	3.25±1.02
Embryo grade	2.55±0.91	3.18±0.73	2.58±0.71
Pregnancies/ET	1 (9.1%)	2 (14.3%)	4 (21.1%)

* $p<0.05$, ** $p<0.01$
a) Male factor cases were excluded.

rate per ET was 28.1%).

The serum estradiol levels on the day of the HCG administration were assayed in 67 patients of phase II. In the groups of phase II (Table 5), most of the patients were in group M. The number of oocytes recovered per retrieval and the number of embryos transferred per ET were significantly greatest in group H. But the mean normal fertilization rate (excluding male factor cases) and the mean of the embryo grade were significantly higher in group M than in group H. As in phase I, though the numger of embryos transferred was significantly greater in group H, the pregnancy rate per ET tended to be higher in group M than in group H. The percentage of patients in group M was significantly greater in phase II ($p<0.05$). (Table 6)

Table 4. Results of IVF-ET in phase II

Oocyte retrieval	71 cycles
Esrtadiol levels[a)]	967.6±591.7pg/ml
Oocytes recovered	5.27±3.70
Fertilization rate[b)]	70.7±25.6%
ET	57
Embryos/ET	3.00±1.64
Embryo grade	2.69±0.73
Pregnancies/ET	16 (28.1%/ET)

a) Serum estradiol levels on the day of HCG administration.
b) Male factor cases were excluded.

Discussions

In phase I, HMG injection was discontinued when the largest follicle had a diameter of 18mm. Retrospective analysis of these results showed that though the most oocytes recovered and the most embryos transferred were significantly in group H, the pregnancy rate in group H was not significantly high. Furthermore, the normal fertilization rate and the embryo grade, which are thought to be associated with oocyte and embryo quality, were highest in group M. These suggested that excessive estradiol concentrations affected

Table 6. A comparison of numbers of patients in each groups in phases I and II

groups	phase I	phase II
Group L	22(30.6%)	17(25.4%)
Group M	20(27.8%) *	32(47.8%) *
Group H	30(41.7%)	18(26.9%)
Total	72(100%)	67(100%)

* $p < 0.05$

Table 5. A comparison of the results of IVF-ET according to estradiol levels on the day of the HCG administration in phase II

	Estradiol Levels		
	group L	group M	group H
Oocyte retrieval	17	32	18
Oocytes recovered	1.59±1.23	3.78±1.68	9.83±3.20
	**	**	**
Fertilization rate[a)]	75.0±35.4%	77.3±18.9%	52.6±12.0%
			**
ET	12	29	16
Embryos/ET	1.50±0.80	3.10±1.11	4.46±2.00
	**	*	
Embryo grade	2.47±0.98	2.93±0.56	2.60±0.48
			*
Pregnancies/ET	0 (0%)	12(41.4%)	4 (25.0%)
	**		

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$
a) Male factor cases were excluded.

the oocyte and embryo quality, and that quality was best when the serum estradiol levels on the day of the HCG administration were 600～1200pg/ml (group M). In phase I, only 27.8% of patients was in this range, and 41.7% was beyond it. It appeared that if HMG injection was discontinued earlier, the rate of group H patients would decrease, and the mean of the embryo grade would improve. It is important to transfer the embyos with high grade, since the morphological appearance of the embryo is assumed to be asocciated with the pregnancy rate[3]. So in phase II, the HMG injection was discontinued when the largest follicle had a diameter of 15～16mm, then the percentage of patients in group M significantly increased (47.8%), and only 26.9% was in group H.

Since this study was not distinctly case-controlled, comparison of results of IVF-ET between phases I and II is not of significance. But the change of the criterion for the HMG discontinuation could be responsible for the increase in the patient rate in group M, in which the oocyte and embryo quality appeared to be good.

There are few IVF-ET programs published in which follcular monitoring is performed by ultrasound without daily estradiol measurements[1,2]. It was demonstrated that HCG should be injected in anovulatory women to induce ovulation with HMG when the largest follicle had a diameter of 18～19mm[4]. If this principle is adapted in IVF-ET programs and the largest follicular diameter is to be 18～19mm at the time of the HCG administration, it should be approximately 2～4mm smaller when HMG is discontinued, since the HMG discontinuation is 1～2 day prior to HCG injection and the growth rate of the largest follicles are about 2mm/day in this period.[5]. Mantzavinos et al[5]. demonstrated that when follicles were considered to be mature by the clinical evaluation of the response of the estrogen target tissues in the HMG-HCG stimulation protocol in IVF-ET, those diameters were smaller than that in natural cycles or in cycles stimulated with clomiphene citrate, and the mean size of the largest follicle one day prior to oocyte retrieval was 16.2mm. So we concluded that HMG should be discontinued when the largest follicule had a diameter of 15～16mm.

It has been reported that high serum estradiol levels subsequent to ovarian stimulation have a detrimental effect on the results of IVF-ET[6,7]. Excessive estradiol may exert adverse effects on several parts: on the endometrium, the corpa lutea and the oocytes and embryos. This study shows that excessive estradiol levels decreases the oocyte and embryo quality. Though this study does not allow us to identify the mechanisms responsible for this, there may be two factors. One may be a direct toxity of estradiol to the oocytes and embryos. Using an experimental model of perfused rabbit ovary, Yoshimura et al[8]. demonstrated that high estradiol levels may exert cytotoxic effects on follicle-enclosed oocytes. The other mechanism may be postmaturity of oocytes. Garcia et al[9]. reported that there was postmatuarity in some of their patients who were high estradiol responders.

Previous reports have demonstrated that follicular monitoring by ultrasound alone is inadequate in IVF-ET programs[5,10]. Buttery et al[10]. pointed out that there may be technical difficulties in ultrasound. But this problem has been resolved by the development of vaginal tranducers, with which follicles can be clearly visualized without great skill. They also emphasized that ultrasound could not predict LH surge. But clomiphene citrate was used in their stimulation protocol, in which spontaneous LH surge occurred frequently. But in HMG-HCG protocols like ours, LH surge is unusual (only 20～30% of stimulated cycles)[2,11]. and it is almost never seen in protocols with Buserelin[2]. Recently, stimulation protocols with clomiphene have been abandoned, and those with Buserelin have been popular. So the importance of predicting LH surge has decreased.

In recent years, IVF-ET has been widely practiced in many hospitals and clinics which do not have substantial assay laboratories and staffs. There, ultrasound measurements would be increasingly of significance. In those institutes, HMG injection should be discontinued when the largest follicle becomes 15～16mm in HMG-HCG

protocols, with or without Buserelin.

References

1) Takeuchi, K., Yamamoto, S., Mori, A., Fukumoto, S., Douchi, T., Nagata, Y.: Comparative study of IVF-ET by various ovulation stimulation methods and culture media, J. Fertil. Implant, 6: 129, 1989
2) Tani, H., Sato, Y., Oda, K., Shichiri, K., Arakawa, O., Takeuchi, S.: Ovarian Stimulation after Desensitization with Buserelin in In Vitro Fertilization and Embryo Transfer, Jpn. J. Fertil. Steril., 34: 413, 1989
3) duPlessis, Y., Bowne, H., Abramczak, J., Lopata, A.: Morphological assessment of human embryos in relation to the success of in vitro fertilization, Abstract presented at the Fourth World Conference on In Vitro Fertilization, Melbourne, 1985
4) Ishimaru, T., Okamoto, S., Kajimura, H., Masuzaki, H., Hung, J. H., Fuchi, T., Yamashita, T., Imamura, S., Imamichi, S., Hata, T., Morisaki, M., Nakano, T.: Monitoring of follicles by ultrasonography during induction with HMG-HCG treatment, Acta Obst. Gynaec. Jpn., 37: 721, 1985
5) Mantzavinos, T., Garcia, J. E., Jones, H. W.: Ultrasound measurement of ovarian follicles stimulated by human gonadotropins for oocyte recovery in vitro fertilization, Fertil. Steril., 40: 461, 1983
6) Gidley-Baird, A. A., O'Neill, C., Sinosich, M. J., Porter, R. N., Pike, I. L., Saunders, D. M.: Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients; the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice, Fertil. Steril., 45: 69, 1986
7) Forman, R., Belaisch-Allart, J., Fries, N., Hazout, A., Testart, J., Frydman, R.: Evidence for an adverse effect on elevated serum estradiol concentrations on embryo implantation, Fertil. Steril., 49: 118, 1988
8) Yoshimura, Y., Adachi, T., Hosoi, Y., Santulli, R., Atlas, SJ., Wallach, E. E.: Estradiol reverses the limiting effects of clomphene citrate on early embryonic development in the in vitro perfused rabbit ovary, Fertil. Steril., 48: 1030, 1987
9) Garcia, J. E., Jones, G. S., Acosta, A. A., Wright, G.: Human menopousal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase II, 1981, Fertil. Steril., 39: 174, 1983
10) Buttery, B., Trounson, A., McMaster, R., Wood, C.: Evaluation of diagnostic ultrasound as a parameter of follicular development in an in vitro fertilization program, Fertil. Steril., 39: 458, 1983
11) Stanger, J. D. and Yovich, J. L.: Reduced in vitro fertilization of human oocytes from patients with raised basal luteinizing hormone levels during follicular phase, Br. J. Obstet. Gynecol., 93: 385, 1985

体外受精・胚移植における卵胞径計測によるHMG中止基準の検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室

谷　啓光　織田和哉
七里和良　荒川　修
佐藤芳昭　田中憲一

体外受精・胚移植では，適切な卵胞モニタリングと卵巣刺激の中止時期の決定が重要である．しかし，連日のリアルタイムによる血中ホルモン測定は困難なことが多い．そこで，超音波断層法を用いて卵胞径計測を行い，これによる適切なHMG中止基準を検討した．

HMG-HCG法で卵巣刺激を行った．経腟プローブで卵胞径計測を行い，主席卵胞径が，Phase 1 (n＝86)では18 mm，Phase 2 (n＝71)では15～16 mmに達した時点でHMG投与を中止した．さらにHCG投与日の血中エストラジオール値を測定，これにより患者をL群(≦600 pg/ml)，M群(600～1200)，H群(1200≦)に分類した．

Phase I, IIともに受精率，胚形態学的正常性はM群が良好だった．M群の割合は，Phase Iでは27.8％，Phase IIでは47.8％と，Phase IIで多かった．したがって，主席卵胞径が15～16 mmに達した時点でHMG投与を中止することにより，全患者に占めるM群の割合が増加し，妊娠率の向上が期待できると考えられた．

(受付：1990年3月30日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

卵管性不妊の体外受精・胚移植における精液所見からみた予後

Relationship between Result of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer and the Finding of Ejaculate

岡山大学医学部産婦人科

白河一郎 Ichiro SHIRAKAWA
吉田信隆 Nobutaka YOSHIDA
平野由紀夫 Yukio HIRANO
片山隆章 Takaaki KATAYAMA
多賀茂樹 Shigeki TAGA
名越一介 Kazusuke NAGOSHI
河原義文 Yoshifumi KAWAHARA
新谷恵司 Keiji SHINTANI
関場香 Kaoru SEKIBA

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

体外受精・胚移植を行った症例のうち卵管性不妊23例27周期について，その精液所見（精子数，運動精子数，運動率）が，分割率，妊娠率の予後にどの様に影響しているかを検討した．排卵刺激方法としてclomiphene citrate 100mgを月経周期3日目から5日間，hMG150単位を月経周期4日目より連日投与する方法を用いた．全体で167個の卵が採取され（卵の回収率57.6％），全症例の卵の分割率は45.5％，対胚移植あたりの妊娠率は29.6％であった．Swim-up法による処理後精子数，運動精子数では，分割率，妊娠率いずれも有意差は認められなかった．しかしながら処理後運動率で検討すると，分割率では運動率が50％を境にして有意な差を認めた．また妊娠率でも運動率が50％未満では0％と，妊娠例を認めなかった．以上の検討から卵管性不妊の症例において，精子回収後の運動率が，分割率，妊娠率の予後に重要と思われた．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 99—104, 1991)

緒　言

当初，高度卵管性不妊など女性因子に対する治療法として開発された体外受精・胚移植法（In Vitro Fertilization and Embryo Tranfer, IVF-ET)は，IVF-ETがその操作上の過程において，運動精子濃度を30−100×10^4／mlと正常からみると低濃度で受精操作を行うため，最近では男性因子をも含む不妊症夫婦においてもその適応が拡大されてきている[1,2]．しかし，実際には乏精子症などの治療法として行ってみると，分割率が低いなど充分な治療効果はない[1]．また卵管性不妊の症例においても精液所見が，IVF-ETにおける卵の分割率，妊娠率にどの様に影響するのか，未だ充分に分かっていない．そこで今回我々は，卵管性不妊において，精液所見（回収精子数，回収運動精子数，回収精子運動率）がIVF-ETの場合において分割率，妊娠率の予後にどの様に影響しているのか検討した．

方　法

対象は岡山大学医学部附属病院において，卵管性不妊を適応として平成元年1月より9月までに，clomiphene-hMG-hCG法を用い体外受精および胚移植を行った23症例27周期とした．なお，この23症例は原発不妊10例13周期，続発不妊13例14周期で，全体では年齢32.7歳±3.9(mean±SD)（最低26歳，最高39歳），不妊期間は5.6年±3.5(mean±SD)（最低1.7年，最高15.6年）であった．

排卵刺激法はclomiphene 100mg/dayを月経周期3日目から5日間，hMG150単位を月経周期4日目より連日筋注した．卵胞計測は経膣超音波断層法にて行い，卵胞三方向径を計測し観察された全卵胞の内2番目に大きい卵胞の三方向平均径が14㎜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hMG10000IUを筋注した．卵胞穿刺はhCG投与35時間後とし，経膣超音波断層法を用いて穿刺可能な卵胞はすべて穿刺を行い，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SSD620，穿刺針はテルモ社製の16G卵胞穿刺針（特注品）を用いた．

培養液は，Human Tubal Fluid (HTF)を用い，受精用には7.5％，卵分割用には15％の患者不活化血清を加えて用いた．培養環境は，37℃，CO_2 5％，O_2 5％，$N_2$90％とした．

卵回収3時間後に用手法にて精液を採取させ，液化したのち一部分を用いて精液検査（原精子数，原運動精子数，原運動率）を行った．原精液の残りに7.5％血清添加の培養液を加えて2回洗浄遠沈後，ペレットに培養液を加え0.5 ccとした．その上に培養液1 ccを静かに重層し，30分以上Swim-upさせたのち上層を約0.8 cc回収した．回収した一部分を検査(回収精子数，回収運動精子数，回収精子運動率)とし，残りを最終運動精子濃度30－100×10^4／mlとなるように調整し媒精を行った．胚移植は媒精の約36時間後に，2細胞以上の分割卵を経頸管的に子宮腔内にすべて移植する方法で行った．また黄体期の補充療法としては，卵胞穿刺後3日目から15日目まで，3日毎にhCG1000IU筋注する方法で行った．

表1　精子数よりみたIVF-ETの予後

精子数 (10^7/ml)	周期	採卵数	分割数 (分割率)	胚数/ET	妊娠/ET〔周期〕 (妊娠率)
0－5※	3	22	8 (36.4%)	2.7 ±0.5	0/3 (0%)
5－10	12	73	41 (56.2%)	3.4 ±1.2	6/12 (50.0%)
10－15	8	48	20 (41.2%)	2.5 ±1.1	2/8 (25.0%)
15－	4	24	7 (53.6%)	1.8 ±0.8	0/4 (0%)

(mcan±SD)

※最低精子数4200×10^4/ml

表2　運動精子数よりみたIVF-ETの予後

運動精子数 (10^7/ml)	周期	採卵数	分割数 (分割率)	胚数/ET	妊娠/ET〔周期〕 (妊娠率)
0－20※	3	21	7 (33.3%)	2.3 ±0.9	0/3 (0%)
20－40	6	37	18 (48.6%)	3.0 ±1.2	4/6 (66.6%)
40－60	7	39	22 (56.4%)	3.1 ±1.1	2/7 (28.6%)
60－	11	70	29 (41.4%)	6.4 ±3.2	2/11 (18.2%)

(mean±SD)

※最低運動精子数1000×10^4/ml

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

今回の対象症例では穿刺卵胞数は290個で167個の卵(卵回収率57.6%)が採取された. 回収した卵の分割率は45.5%, 妊娠率(妊娠数/ET(周期))は29.6%であった.

最初に原精液について検討した. まず精子数について検討した. 精子数は最低で4,200万/ml, 最高で19,600万/mlであった. 卵の分割を認めた精子数は最低で4,200万/ml, また妊娠を認めた精子数は最低で5,200万/mlであった. 精子数を5,000万/mlずつ4段階に区切り検討すると(表1), 分割率は29.2%(15,000万/ml～)から56.2%(5,000～10,000/ml), 妊娠率は0%(0～5,000万/ml, 15,000万/ml～)から50.0%(5,000～10,000万/ml)と, 一定の関係は認められなかった.

つぎに運動精子数について検討した. 運動精子数は最低で1,000万/ml, 最高で11,500万/mlであった. 卵の分割を認めた運動精子数は最低で1,000万/mlで, また妊娠を認めた運動精子数は最低で3,000万/mlであった. 運動精子数を2,000万/mlずつ4段階に区切り検討すると(表2), 分割率は33.3%(0～2,000万/ml)から56.4%(4,000～6,000万/ml), 妊娠率は0%(0～2,000万/ml)から66.6%(2,000～4,000万/ml)と, 一定の関係は認められなかった.

つぎに精子運動率について検討した. 精子運動率は最低で13.3%, 最高で82.1%であった. 卵の分割を認めた精子運動率は最低で13.3%で, また妊娠を認めた精子運動率は最低で33.7%であった. つぎに精子運動率を25%ずつ4段階に区切り検討すると(表3), 分割率は33.3%(0～25%)から53.8%(75～100%), 妊娠率は0%(0～25%)から33.3%(50～75%)と, 一定の関係は認められなかった.

つぎにSwim-up法により回収した回収精子数, 回収運動精子数, 回収精子運動率と分割率, 妊娠率(妊娠数/ET(周期))の間の関係を検討した.

表3　精子運動率よりみたIVF-ETの予後

精子運動率(%)	周期	採卵数	分割数(分割率)	胚数/ET	妊娠/ET〔周期〕(妊娠率)
0－25※	1	3	1 (33.3%)	1.0	0/1 (0%)
25－50	10	74	27 (36.5%)	2.7 ±1.0	3/10 (30.0%)
50－75	12	64	34 (53.1%)	2.8 ±1.3	4/12 (33.3%)
75－100	4	26	14 (53.8%)	3.5 ±1.1	1/4 (25.0%)

(mean±SD)

※最低精子運動率13.3%

表4　回収精子数よりみたIVF-ETの予後

回収精子数(10^6/ml)	周期	採卵数	分割数(分割率)	胚数/ET	妊娠/ET〔周期〕(妊娠率)
0－5※	2	7	4 (57.1%)	2.0 ±0	1/2 (50.0%)
5－10	6	31	16 (51.6%)	2.7 ±1.5	1/6 (16.7%)
10－15	5	41	16 (39.0%)	3.2 ±1.2	2/5 (40.0%)
15－	14	88	40 (45.5%)	2.9 ±1.1	4/14 (28.6%)

(mean±SD)

※最低回収精子数500×10^4/ml

まず回収精子数について検討した．回収精子数は最低で500万／ml，最高で10,600万／mlであった．卵の分割を認めた回収精子数は最低で500万／ml，また妊娠を認めた回収精子数は最低で500万／mlであった．回収精子数を500万／mlずつ4段階に区切り検討すると(表4)，分割率は39.0％(1,000～1,500万／ml)から57.1％(0～500万／ml)，妊娠率(妊娠数／ET)は16.7％(500～1,000万／ml)から50.0％(0～500万／ml)と，一定の関係は認められなかった．

つぎに回収運動精子数について検討した．回収運動精子数は最低で200万／ml，最高で9,000万／mlであった．卵の分割を認めた回収運動精子数は最低で200万／mlで，また妊娠を認めた回収運動精子数は最低で280万／mlであった．回収運動精子数を500万／mlずつ4段階に区切り検討すると(表5)，分割率は39.6％（500～1,000万／ml）から54.3％(1,500／ml～)，妊娠率(妊娠数／ET)は16.7％(0～500万／ml，1,000～1,500／ml）から42.9％(500～1,000万／ml)と，一定の関係は認めなかった．

つぎに回収精子運動率について検討した．回収精子運動率は最低で22.7％，最高では100％であった．卵の分割を認めた回収精子運動率は最低で22.7％で，妊娠を認めた回収精子運動率は最低で55.0％であった．回収精子運動率を25％ずつ4段階に区切り検討すると（表6），分割率は23.5％（0～25％）から50.0％（75～100％）と運動率が良くなるに従い分割率も高くなり，運動率50％未満と50％以上で比較するとP＜0.05で有意差を認めた．また妊娠率（妊娠数／ET）は，運動率が50％未満では0％であったのに対して運動率が50～75％では57.1％，75～100％では28.6％と，運動率が50％未満では妊娠を認めた症例はなかった．

考　察

当初，高度卵管性不妊などの治療法として開発されたIVF-ETは，その治療成績を見ると未だ充分満足出来るものではない．また卵管性不妊の症例における精子数は，正常範囲内でも様々である．さらに精子数は良好でも運動精子数，運動率が悪い場合な

表5　回収運動精子数よりみたIVF-ETの予後

回収運動精子数 (10^6/ml)	周期	採卵数	分割数 (分割率)	胚数/ET	妊娠/ET〔周期〕 (妊娠率)
0－5※	6	33	14 (42.4%)	2.3 ±1.4	1/6 (16.7%)
5－10	7	53	21 (39.6%)	3.0 ±1.1	3/7 (42.9%)
10－15	6	35	16 (45.7%)	2.7 ±1.4	1/6 (16.7%)
15－	8	46	25 (54.3%)	3.1 ±1.1	3/8 (37.5%)

(mean±SD)

※最低回収運動精子数 200×10^4/ml

表6　回収精子運動率よりみたIVF-ETの予後

回収精子運動率 (%)	周期	採卵数	分割数 (分割率)	胚数/ET	妊娠/ET〔周期〕 (妊娠率)
0－25※	2	17	4 (23.5%)	2.0 ±1.0	0/2 (0%)
25－50	4	15	5 (33.3%)	1.3 ±0.4	0/4 (0%)
50－75	7	43	21 (48.8%)	3.0 ±1.1	4/7 (57.1%)
75－100	14	92	46 (50.0%)	3.3 ±1.0	4/14 (28.6%)

(mean±SD)

※最低回収精子運動率 22.7%

どがある．そこで卵管性不妊の症例のうち，精液因子がどの程度IVF-ETに影響するのか検討してみた．

最初に原精液で分割率，妊娠率について検討してみたが，今回の検討では精子数，運動精子数，運動率いずれも分割率，妊娠率に対して一定の関係は見いだせなかった．運動精子数が少ない場合，分割率，妊娠率が悪くなるという報告があり[1]，また運動率が低いと受精，妊娠を認めなかったという報告もある[2,3,4]．さらに今回は奇形率，運動精子の質に対しては検討していないが，運動率が低く奇形率が高い場合，妊娠率が低いという報告や[5]，運動精子の質が受精に重要な因子であるという報告もある[2,6,7]．今回の検討では原精液と分割率，妊娠率の間には一定の関係は認められなかったが，その理由として対象が卵管性不妊のみで男性不妊を対象に入れなかったためと思われた．

また今回の検討には，精液のパラメータとして採取した全精液を処理し回収した精子も用いてみた．これはIVF-ETにおける受精には，一般的には洗浄，Swim-up後の精子が用いられており，媒精には原精液ではなく回収後の精子の状態が大きく影響していると考えられたためである．

まず洗浄2回後Swim-upして回収した回収精子数，回収運動精子数と分割率，妊娠率(妊娠数／ET(周期))との間には，原精液と同様に一定の関係は認められなかった．

しかし回収精子運動率に関しては，分割率は回収精子運動率が高率になるに従い高くなり，回収精子運動率が50％未満では妊娠例は認めなかった．回収後の精液を用いてIVF-ETの予後を検討した報告は見られないが，今回の検討では回収精子運動率は分割率，妊娠率（妊娠数／ET（周期））に対して重要な因子であった．

以上より，卵管性不妊の症例においては，原精液，回収精子数，回収運動精子数は分割率，妊娠率（妊娠数／ET（周期））と直接の関係は見出せず，回収精子運動率が分割率，妊娠率(妊娠数詞／ET(周期))に重要な因子と考えられた．

現在当科ではSwim-up法を用いている．乏精子症，精子運動低下症など運動率の低い症例に対して，Percoll法などによって運動率を増加させ受精を得たと言う報告がある[8,9,10]．卵管性不妊の症例でも今後回収精子運動率をいかに良くするかが，分割率，妊娠率の向上にとって重要であると思われた．

参考文献

1）吉村慎一，小田高久，松本千秋，矢作みき，河野八朗，原利夫，原澄子，泉康史，大野虎之進，飯塚理八：精液所見からみた体外受精胚移植の予後について，日本受精着床学会誌，5：39，1988

2）織田和哉，谷啓光，荒川修，七里和良，佐藤芳昭，竹内正七：精液性常よりみたIVF-ETの予後，日本不妊学会誌，34：129，1989

3）Mahadevan, M. M. and Trounson, A. O.: The infuluence of seminal characteristic on the success rate of human in vitro fertilization, Fertil. Steril., 42: 400, 1984

4）竹内功，関守利，土屋清志，伊藤理廣，伊藤郁朗，篠崎博光，五十嵐正雄：体外受精における卵子の受精率と媒精前の精液性状の検討，日本受精着床学会講演抄録集：1989

5）Mahadevan, M. M., Trounson, A. O. and Leeton, J. F.: The relationship of tubal blockage, infertility of unknown cause, suspected male infertility, and endometriosis to success of in vitro fertilization and embryo transfer, Fertil. Steril., 40: 755, 1983

6）Don,P. W.: In vitro fertilization and embryo transfer, 89, Plenumpress, 1988

7）Jeulin, C., Feneux, D., Serres, C., Jouannet, P., Guillet-Rosso, F., Balaisch-Allart, J., Frydman, R., Testart, J.: Sperm factors related to failure of human in vitro fertilization, J. Reprod. Fertil., 76: 735, 1986

8）吉村慎一，小田高久，河野八朗，原利夫，原澄子，泉康史，松本千秋，矢作みき，大野虎之進，小林俊文，飯塚理八：体外受精，胚移植における精子調整法の検討，日本受精着床学会誌，6：79，1988

9）藤井好孝，本山洋明，安藤正明，山崎史行，吉岡保：ＩＶＦにおける精子調整法の比較検討，日本受精着床学会講演抄録集：1989

10）布施秀樹，始関吉生，高原正信，石井弘之，角谷秀典，島崎淳：特発性男子不妊症に対する内分泌療法，日本不妊学会誌，35：175，1990

Relationship between result of in vitro fertilization and embryo transfer and the finding of ejaculate

Ichiro Shirakawa, Nobutaka Yoshida, Yukio Hirano, Takaaki Katayama, Shigeki Taga, Kazusuke Nagoshi, Yoshifumi Kawahara, Keiji Shitani, and Kaoru Sekiba

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

We evaluated 27 cycles of 23 women with tubal infertility in in vitro fertilization and embryo transfer program. The relationship between the finding of ejaculate and cleavage and pregnancy rate. We employed clomiphene citrate-hMG protocol. One hundred and sixty seven oocytes were retrieved from those 23 patients (oocyte-recovery rate 57.6%). Cleavage rate was 45.5% and pregnancy rate per ET was 29.6%. Cleavage and pregnancy rate were not affected by either sperm count or the number of motile sperm both before and after swim-up procedure. But cleavage rate was significantly higher ($p<0.05$) in the group with sperm motility more than 50% than in the group with sperm motility less than 50% only after swim-up procedure. And no patient became pregnant in the group with sperm motility less than 50% only after swim-up procedure. As mentioned above, we concluded that sperm motility only after swim-up procedure was important to cleavage and pregnant rate in in vitro fertilization and embryo transfer program for the patients with tubal infertility.

(受付：1990年3月31日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

当院におけるIVF-ETの試み

Experience with IVF-ET at Maizuru Municipal Hospital

市立神戸中央市民病院産婦人科
山下正紀　高島英世
Masanori YAMASHITA　Eisei TAKASHIMA
Department of Obstetrics and Gynecology,
Kobe City General Hospital, Kobe 650, Japan

市立舞鶴市民病院産婦人科
沖一
Hajime OKI
Maizuru Municipal Hospital

京都大学婦人科学産科教室
北岡有喜　野田洋一　森崇英
Yuhki KITAOKA　Yoichi NODA　Takahide MORI
Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyoto University, Kyoto 606, Japan

1988年9月より1989年12月までの1年4か月間に当科にてIVF-ETによる不妊治療を36例(63周期)に行った．Phase 1でと36周期Phase 2では27周期に施行し，治療の経験を通じて以下の知見を得た．
1）小規模公立病院での試みで，スタッフ・設備とも十分ではなかったが，プログラムを簡略化することにより施行可能であった．2）GnRHa併用の卵巣刺激法にてやや高率のOHSSの発生をみとめた．3）男性不妊症では受精率が低くIVF-ETは重症の男性不妊症に対する有用な治療法であるとは認められなかった．4）妊娠の成立はPhase 1では36周期中1例（4.3％／胚移植），Phase 2では27周期中5例（26.3％／胚移植）に認めた．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 105—110, 1991)

緒　言

体外受精胚移植法(IVF-ET)は現在本邦においても数多くの施設で行われるようになり，不妊治療法の一つとして定着しつつある．初期の段階においてはIVF-ETは，人的な制約や設備・検査体制等の問題のため通常大学を中心とした大病院や，比較的容易に体制づくりの出来る私的施設でのみ可能なことで，一般病院にとっては困難な治療法であると考えられていた．しかしながら近年開発されたTVプローブを用いた採卵法やGnRH併用の卵巣刺激法等の導入によってプログラムの設定は以前に比して容易に行えるようになってきている．全病床数209，常勤産婦人科医2名と小規模な公的病院である当院にて1988年9月よりIVF-ETを試みてきた．IVF-ETのプログラムを簡略化することにより小規模施設におけるIVF-ETプログラムの施行は可能と思われるので，我々が舞鶴市民病院で行った経験と成績について述べてみたい．

研究方法

対象は1988年9月より1989年12月までの1年4

か月間に市立舞鶴市民病院において，IVF-ETの適用と考えられ施行された36例(63周期)である．1988年9月より1989年8月までの26例(36周期)と1989年9月より同12月までの27例(27周期)は使用した培養器の機種が異なり，その培養条件が著しく異なったため，便宜上前者をPhase 1後者をPhase 2とした．尚Phase 2の27例中16例はPhase 1で治療を受けたが妊娠に到らなかった症例である．

適　応

表1に示すように卵管性不妊症，男性不妊症，子宮内膜症，免疫性不妊症，原因不明不妊症を適応とした．決定に際しては一般不妊検査に加えて，精子不動化試験および腹腔鏡検査を行うことを原則とし，腹腔鏡にても異常所見の認められないものを原因不明不妊症とした．またGIFT法を始めるに際し1986

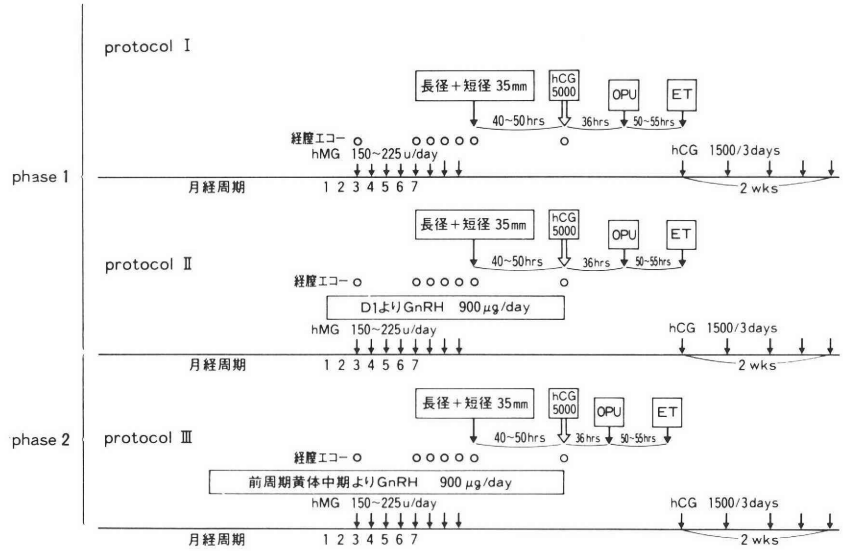


図1　卵巣刺激法

表1　適応基準

A	1．卵管性不妊症……両側卵管が失われたもの及び，卵管の疎通性が保たれなかったり，卵管周囲の癒着等により正常な卵管機能が失われていると考えられるもの。
	2．男性不妊症……7回以上AIH施行にても妊娠しないもの。
	3．子宮内膜症……通常の治療にても妊娠しないもの。
	4．免疫性不妊症……精子不動化試験陽性にて通常の方法では妊娠しないと考えられるもの。
	5．原因不明不妊症……3年以上の不妊期間を有するもの。
B	妊娠可能な子宮を有し，規則的な排卵を示すか，または排卵誘発に反応する卵巣を少なくとも一側に保有し，採卵しうるもの。
C	実施は，戸籍上婚姻関係にある夫婦間に限る。

年に設置された院内倫理委員会でIVF-ETについても，各症例ごとに承認を受ける手順を踏むことを当院独自の約束事とした．

卵巣刺激法

卵巣刺激は図1のごとくhMG-hCG法，短期GnRHa＋hMG-hCG法，長期GnRHa＋hMG-hCG法の3つのprotocolに沿って行った．Phase Iではprotocol I及びII，Phase 2ではprotocol IIIを使用した．

卵胞発育のmonitoring及び採卵時期の決定は，経腟超音波断層胞による卵胞径計測によってのみ行い他のparameterは一切用いなかった．いずれのprotocolにても，月経周期3日目に経腟超音波にて両側卵巣・卵胞の状況を把握した後にhMG～225単位の投与を開始した．月経周期7日目より毎朝卵胞径の計測を行い，主席卵胞の長径＋短径が35mmを越えた日をhMGの最終投与日とした．最終hMG投与

40～50時間後にhCG 5000単位を筋注し，その36時間後に採卵術を行った．

採　卵

アロカ社SSD 650及び経腟プローブを使用し経腟的採卵術を施行した．静脈麻酔下で17ゲージ25cmエラスター針(八光)，延長チューブ，三方活栓，ディスポシリンジよりなる採卵システムを用いて用手的に行った．

Medium及び精子調整

Mediumは10％患者血清或は臍帯血清添加のHam's F10を使用した．精子の調整は200 G 10分間の遠心操作を一回加えた後Swim up法によって行い，媒精精子数は5～10×10^4/mlとなるようにした．採取した卵は小シャーレ内で3～6時間前培養した後同シャーレ内に媒精した．媒精14～20時間後に卵丘細胞を除去し，雌雄の前核を確認した．培養にはPhase 1ではHirasawa Model WJ3F型炭酸ガス培養器を使用しPhase 2ではHirasawa CPO2-171型混合ガス培養器を使用した．

胚移植及び黄体期管理

媒精48時間後に，受精卵の分割状況を確認し分割卵のみを富士システム社のET用カテーテルを用いて子宮底より1 cm頚部寄りの子宮腔内に移植した．

移植胚数は，患者夫妻との話合いにて決定したが一応6個を上限とした．尚卵や胚の観察，操作は総てCO_2濃度5％に設定したクベース（写真1）内にて行い，これにて培養液の温度，pHの変化が最小限となるよう工夫した．黄体期の補充療法として胚移植当日よりhCG 1500単位を3日毎に約2週間筋注投与した．妊娠判定に関しては，黄体期にhCGの投与を行ったためGSの確認できたいわゆるclinical pregnancyのみを妊娠成功例と診断した．

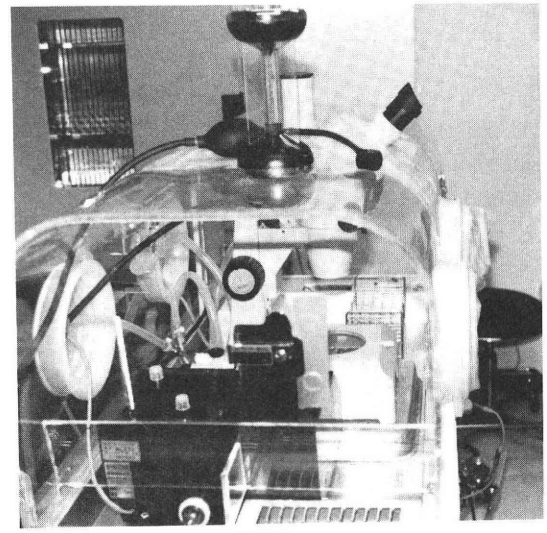


写真1

結　果

卵巣刺激にても卵胞の発育不良のため以後の操作を中止したいわゆるcancellationは，Phase 1では2周期(5.6％)，Phase 2では1周期(3.8％)であった．hCG 5000単位投与後36時間の時点で排卵終了のため採卵術を中止しなければならなかった症例は全protocolで1例も認められなかった．また採卵術を施行したにもかかわらず一個の卵も得られない症例もなかった．Phase 1で2周期(5.6％)，Phase 2で2周期(7.4％)にOHSS(卵巣過剰刺激症候群)の発症が認められたがいずれも保存的療法のみで軽快した．OHSS以外の合併症は特に認められなかった．

患者背景

患者背景は表2に示す通りである．Phase 1では平均年齢は妻32.7±4.1夫35.8±3.9，平均不妊期間

表2　患者背景

		phase I	phase II
症例数		26(36 cycle)	27(27 cycle)
平均年齢	妻	32.7±4.1	33.4±3.9
	夫	35.8±3.9	36.4±3.5
平均不妊期間		7.6±3.4	7.9±3.8
既往妊娠	原発性	22(81.8%)	17(63.0%)
	続発性	4(18.2%)	10(37.0%)

表3　原因別治療周期数及び治療成績

	phase I		phase II	
	治療周期	妊娠例	治療周期	妊娠例
卵管性不妊症	9(25.0%)	0(0%)	11(40.8%)	4(36.4%)
男性不妊症	11(30.6%)	0(0%)	9(33.3%)	1(9.1%)
免疫性不妊症	4(11.1%)	1(25%)	3(11.1%)	0(0%)
子宮内膜症	2(5.5%)	0(0%)	1(3.7%)	0(0%)
原因不明不妊症	10(27.8%)	0(0%)	3(11.1%)	0(0%)
計	36		27	

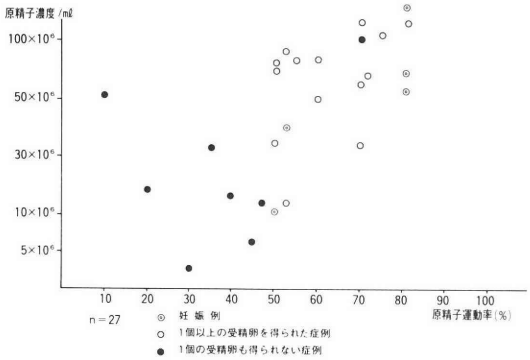


図2　phase IIにおける精液所見及び受精状況

は7.6±3.4であった．またPhase 2ではそれぞれ33.4±3.9，36.4±3.5，7.9±3.8であり両者間に有意差を認めなかった．

表3は原因別治療周期数を示したものである．精子不動化試験にてSIV 2.0以上のものを免疫性不妊症としたが[1]，今回対象となった症例はSIV 27.0～∞までの強陽性患者ばかりであった．

治療成績

図2では精液所見と受精状況との関係を示した．精液所見の良好な殆どの症例では1個以上の受精卵が得られたのに対して，大半の精液所見不良例では受精卵を得ることができなかった．Phase 2で精液所見良好で受精卵の得られなかった例はSIV∞の症例1例のみであった．表4は治療成績をまとめたものである．平均採卵数はPhase 1　6.75±4.05，Phase 2　6.54±2.42と両者間に有意差を認めなかった．受精率ではPhase 2の方がやや高い傾向が認められたにすぎないが，妊娠成立の条件と考えられる良好胚移植率ではPhase 2の方が有意差をもって高かった．妊娠成功例はPhase 1　1例，Phase 2　5例でそれぞれ4.3％，26.3％であった．Phase 1での唯一の妊娠症例は3胎妊娠で，1989年7月に無事出産を終了している．Phase 2での5例中3例は妊娠継続中であるが，1例は臨床的流産，1例は卵管妊娠であった．

表4　治療成績

	phase I	phase II
採卵周期数	36	27
平均採卵数	6.8±4.1	6.5±2.4
受精率[a]	48.1%	62.2%
受精率[b]	54.4%	83.1%
受精率[c]	66.7%	70.4%
胚移植周期数	23	19
良好胚移植率[d]	39.1%	89.4%
妊娠数	1	5
妊娠率[e]	4.3%	26.3%

a：全受精卵数/全採取卵
b：aの男性因子を除く
c：1個以上の受精周期数/採卵周期数
d：1個以上の良好胚移植周期/胚移植周期数
e：妊娠数/胚移植周期数

考　察

1978年にIVF-ETによる世界最初の誕生が報告されてより[2]この治療法は世界各地で広く行われるようになり，また急速な発展を遂げてきた．まだ発展途上の治療法で完全に確立されたものとは言いがたいが，現在までに一定の成果が報告され，不妊治療法の一つとして定着しつつあるように思われる．本邦においても現在多数の施設で行われており，安定した良好な成績の報告もみられるようになってきている[3,4]．しかしながら一施設で取り扱える患者数は限られており，先発の施設では治療を受けられるまでの順番待ちの期間が数年にも及ぶのが現状のようである．このような状況の中で今回我々もIVF-ETのプログラムをスタートさせた．スタッフ・施設とも決して満足と言える状態でなかったが，手順の簡略化に努めた結果，十分に対応することが可能であったし，評価しうる成果も挙げることできた。今後このIVF-ETが不妊治療法の一つの柱としてさらに広

く普及し定着するためには，プログラム自体の簡略化により患者側にとっても医療者側にとっても受け入れ易いものとする努力が必須と考えられる．また簡略化によりコストダウンを図ることは，総医療費が加速度的に膨張し続ける中での高次医療に課せられた責務であると考えられる．簡略化の第一は経腟的採卵法の採用である．経腟採卵の有用性と安全性については諸家により既に数多くの報告がなされ[5,6]，本邦でも現在では殆どの施設でこの方法による採卵がなされているものと思われる．我々も全ての症例に対してこの方法を試みた．実際上多少の習熟期間を必要としたが，卵胞当り80％以上の高率に卵採取が出来，また一例の合併症も認めなかった．またHammarberg らが報告している通り患者側の苦痛も軽微で十分受け入れ可能な程度であった[7]．我々の経験にても経腟採卵胞は安全で，極めて有用な方法であることが確かめられた．採卵のシステムは用手式でシリンジ内へ直接卵が吸引される簡便な方法を用いた．この方式は卵を損傷する危険があるとの報告が認められるが[8]，吸引速度を落とすことにより対処できる問題と考えている．今後の検討課題としたい．簡略化の第二はGnRHa 併用の卵巣刺激法採用であろう．我々の施設では迅速な血中内分泌データを得ることが出来ない．そのためGIFT 法を開始して以来CC-hMG 法使用時より卵胞発育の monitoring 及びhCG 投与の timing 決定をほぼ卵胞径によってのみ行ってきた．その結果内因性LH surge の発来を招き採卵時既に卵胞が消失していたり，またそのことを恐れるあまり未熟卵を採取することも多く良好な卵を得ることが出来ない頻度が高かった[9]．GnRH 併用の卵巣刺激法によればLH surge の発来をほぼ抑制出来ると報告されている[10,11]．今回の我々の経験でもGnRH 併用群で一例も採卵前の排卵終了例を認めず，また採取した卵の成熟度が形態的に概ね良好と判断されたことから臨床的には卵胞径計測のみによる monitoring で十分であると考えられた．その上GnRH 併用法では卵胞発育が同調化することにより均一化した卵が得られるという報告や，特にlow responder に対して cancellation の率が低くなると言う利点が報告されている[12]．ただし注目すべき点としてGnRHa 併用法ではOHSS の発生頻度がやや高いとする報告がある[13,14]．今回我々もPhase 1 で2例，Phase 2 で2例のOHSS を経験した．発症した4例は幸いいずれも中等度のもので，対症療法のみにて軽快した．しかしながら一旦重症のOHSS が発症すればその有効な治療手段が見あたらず，これを予防することが大切であろう．OHSS の発症が予想されるような卵胞の過剰発育例には，血中 E_2 値を測定して参考にするか，或はhCG の投与を中止しcancellation とするなどの検討が必要であろう．妊娠成績でみるとPhase 1 では僅か4.3％であった胚移植術当りの妊娠率がPhase 2 では26.3％と飛躍的に上昇している．これは精度の高い培養器を購入し培養条件を著しく改善出来たことが最大の原因であると考えられる．Phase 1 で使用のHirasawa Model WJ3F は流量式の炭酸ガス培養器で庫内の CO_2 濃度は極めて不安定で，そのため培養液のpH コントロールが不良であった．このプログラムにとって培養条件の重要なことは言うまでもないことである．さらに種々の工夫により温度，湿度，pH の恒常化はもとより，卵や胚に対する損傷を最小限にする努力が必要であろう[15]．長期不妊患者の中に男性不妊症の占める割合が高いのはどこの施設も同じであろうと思われる．今回我々も7回以上のAIH にても妊娠に到らなかった男性不妊症をIVF-ET の適応に加えた．結果は男性不妊症では臨床的流産に終わった一例を除いて妊娠例が認められず，図2に示したように正常精液所見を有する群とは受精状況に明かな差を認めた．男性不妊症に対するIVF-ET の報告は数多くなされている．精子の調整等に工夫すれば良好な成績を挙げることが出来，有用な治療法であるとするものも見られるが[16,17]，治療成績は著しく低くその有用性に否定的な考えの報告も少なくない[18,19]．我々の成績も有効な治療法とは程遠いもので，現状においては重症の男性不妊症をIVF-ET 適応に加えることには慎重であるべきであると考えられる．実際の経験を通じて，小規模病院では婦人科医が忙しい臨床の合間をぬって培養室の業務まで全面的に行うことは無理であり，ラボラトリー専任の技術者の参加が必要条件であり今後の課題であると考えられた。

おわりに

当院にてIVF-ET を試み，63 周期治療した．小規模な公立病院であるがプログラムを簡略化することにより十分に対応することが出来た．技術的な習熟と培養条件の改善により成績を向上させることが出来，Phase 2 では現段階においてほぼ満足できる成果が得られたのもと考えている．今後さらに治療法の簡略化と成績向上にむけての検討が必要であると考えている．

参考文献

1）沢井英明，他：微量精子不動化試験による血中抗精子抗体の簡易測定，産婦人科の進歩，39：630，

1987
2) Edward, R. G., Steptoe, P. C., Purdy, J. M.: Establishing full term pregnancies using cleaving embryos grown in vitro, Brit. J. Obstet. Gynecol., 87: 737, 1980
3) 片山恵利子，他：良好な妊娠成績の得られる体外受精・胚移植のプロトコール，日産婦誌，42：211，1990
4) 谷　啓光，他：体外受精・胚移植における採卵成績の検討，日不妊会誌，34：123，1989
5) Gembruch, U., Diedrich, K., Welker, B.: Transvaginal sonografically guided oocyte retrieval for in vitro fertilization, Human Reproduction, 3: 59, 1988
6) Lenz, S., Leeton, J., Renou, P.: Transvaginal recovery of oocytes for IVF using vaginal ultrasound, J. In Vitro Fert, Embryo Transfer, 4: 51, 1987
7) Hammarberg, K., Enk, L., Nilsson, L.: Oocyte retrieval under the guidance of a vaginal transducer; evalution of patient acceptance, Human Reproduction, 2: 487, 1987
8) Cohen, J., Avery, S., Campbell, S., et al.: Follicurar aspiration using a syringe suction system may damage the zona pellucida, J. IVF/ET, 3: 224, 1986
9) 山下正紀，北岡有喜，野田洋一，森崇英：乏精子症，原因不明不妊に対するGIFTの試み，日受着床誌，5：50，1988
10) Smitz, J., Devroey, P., et al.: Addition of buserelin to human menopausal gonadotropin in patients with failed stimulations for IVF or GIFT, Human Reproduction, 3: 35, 1988
11) Meldrum, D. R., Gutlay, A. L., et al.: Routine pituitary supression with leuprolide befor ovarian stimulation for oocyte retrieval, Fertil. Steril., 51: 455, 1989
12) Awadalla, S. G., Dodds, W., et al.: Follicular stimulation for in vtro fertilization using pituitary supression and human menopausal gonadotropin, Fertil. Steril., 48: 811, 1987
13) Walmar, D. K., Haney, A. F., et al,: Ovarian hyperstimulation in polycystic ovary syndrome during therapy with leuprolide acetate, Fertil. Steril., 52: 858, 1989
14) Caspi, E., Herman, A., et al.: Result of in vitro fertilization and embryo transfer by combined long-acting gonadotropin-releasing hormone analog D-Trp-6-luteinizing hormon-releasing hormon and gonadotropins, Fertil. Steril., 51: 95, 1989
15) Richard-Marrs, P.: Laboratory condition for human in vitro fertilization procedures, Clinical Obst. Gynecol., 29: 180, 1986
16) Bongso, A. Ho-Lian-Teo, et al.: Improved sperm concentration, motility, and fertilization rate following Ficoll treatment of sperm in a human in vitro fertilization program, Fertil. Steril., 51: 850, 1989
17) Cohen, J., Jean-Purdy, et al.: In vitro fertilization; a treatment for male infertility, Fertil. Steril., 43: 422, 1985
18) Maha-Mahadevan, M., Alan-Trounson, O.: The influence of seminal charactristics on the success rate of human in vitro fertilization, Fertil. Steril., 42: 400, 1984
19) Jan-VanUem, F. H., Burkman, L. J., et al.: Male factor evaluation in vitro fertilization: Norfork experience, Fertil. Steril., 44: 375, 1985

Experience with IVF-ET at maizuru municipal hospital

Masanori Yamashita and Eisei Takashima

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kobe City General Hospital,
Kobe 650, Japan

Hajime Oki

Maizuru Municipal Hospital

Yuhki Kitaoka, Yoichi Noda
and Takahide Mori

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

During 16 months, from September 1988 to December 1989, 63 cycles of 36 couples were treated with IVF-ET at Maizuru Minucipal Hospital. We treated 36 cycles in Phase1 series and 27 cycles in Phase2 series. The following evidences were revealed through our experiences. 1. It was quite possible to carry out IVF-ET program even in a small hospital with few staffs and poor equipments by introducing a simple system. 2. Rather high rate of OHSS was recognized in using GnRH protocol for ovarian stimulation. 3. The fertilization rate was very low in a group of male factor, IVF-ET could not recognized as reasonable method for the treatment of severe male infertitity. 4. One patient of 36 cycles in Phasel series (4.3%/transfer)and five patients of 27 cycles (26.3%/transfer)became pregnant.

(受付：1990年3月31日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

体外受精・胚移植でも妊娠に至らなかった症例の非IVF-ET周期妊娠例

Pregnancies after Unsuccessful IVF-ET Attempts with Additional Non-IVF-ET Therapy or without Therapy

鹿児島大学医学部産婦人科

森　明人　Akito MORI
堂地　勉　Tsutomu DOUCHI
山元慎一　Shinichi YAMAMOTO
竹内一浩　Kazuhiro TAKEUCHI
福元清吾　Seigo FUKUMOTO
沖　利通　Toshimichi OKI
永田行博　Yukihiro NAGATA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Faculty of Medicine, Kagoshima University
Kagoshima 890, Japan

体外受精・胚移植（IVF-ET）後の非IVF-ET周期に妊娠した症例をわれわれは3例経験したので報告する．症例1は年齢38歳．13年間の原発性不妊で，IVF-ETを行ったが妊娠成立には至らなかった．しかし，その次のclomiphene-AIH周期に妊娠した．症例2は34歳，10年間の続発性不妊で，2回の人工流産歴あり．HSGにて右卵管水腫，左卵管の炎症性癒着があり，卵管因子が不妊の原因と考え，IVF-ETを行ったがIVF-ET 2回施行後のclomiphene周期で妊娠した．症例3は33歳．両側卵管閉塞のためIVF-ETを4回行い不成功に終わったが，その後の2周期目に自然妊娠した．IVF-ET後の非IVF-ET周期に妊娠した3例は単なる偶然とは考えられない。卵管閉鎖例は卵胞の穿刺過程で癒着が偶然に剝離されたかも知れない．しかし2例は高齢かつ長期不妊であったことから，卵胞の穿刺が妊娠を促進する方向，つまり排卵を促す方向に働いたと思われる．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 111—116, 1991)

緒　言

不妊の治療法の進歩は著しく，従来では想像も出来なかったような治療法が登場しつつある．殊に体外受精・胚移植（IVF-ET）の技術は長足の進歩を遂げた．IVF-ETは当初，両側卵管閉鎖の患者に適応されたが，現在ではそれ以外の乏精子症や子宮内膜症あるいは原因不明の長期にわたる重症不妊患者に対しての応用が試みられている．

ところで，不妊症治療においては無治療周期に妊娠することは時々経験することである．これらは不妊期間の短い症例であったり[1]，それまでの治療の繰り越し効果によって妊娠に至ったものと解釈されている[2]．

しかし，重症の不妊患者がIVF-ETによって妊娠せず，IVF-ET後の無治療周期に妊娠することは驚くべき事実であり，不妊症治療上何らかの示唆を与えてくれると考える．

今回われわれはIVF-ET周期に妊娠せず非IVF-ET周期に妊娠した症例を3例経験したので症例を呈示し，文献的考察を加え報告する．

対象と方法

1987年2月から1989年3月までの間に鹿児島大学医学部付属病院産婦人科でIVF-ET治療群のなかで非IVF-ET周期に妊娠した3例を対象とした(表1)．3例の妊娠に至るまでの治療経過を詳細に分析し，IVF-ETの操作(排卵誘発，採卵，胚移植など)がその後の妊孕能にどのように影響を及ぼしたかを検討した．(表1)

症例1

年齢38歳．13年間の原発性不妊である．昭和51年結婚，以後2年間不妊のため昭和53年当科受診．子宮卵管造影では弓状子宮であった以外は特に異常を認めず，両側卵管は開存していた．精液検査，フーナーテスト正常であった．約2年間AIH等の治療を受けるも妊娠せず．その後，転勤のため，他医にて同様の治療を受けていた．昭和63年3月，体外受精を希望して再診す．再診後施行したHSG(写真1)では弓状子宮を呈していたが，両側卵管疎通性良好，フーナーテスト・精液検査に異常はなく，抗精子抗体検査も陰性であった．(写真1)

年齢と長期不妊であることを考慮し，IVF-ETの適応と考え，平成元年3月，IVF-ETを施行した．月経周期1日目(Day 1)よりBuserelin 900 γ/dayを連

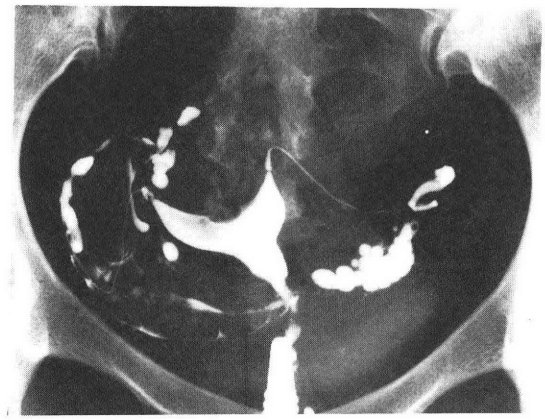


写真1

表1　対　　象

症例	年齢	妊娠分娩歴	不妊期間	不妊原因	IVF回数	妊娠成立
1. [redacted]	38歳	0-0-0-0	13年 (原発性)	軽度排卵障害	1回	IVF後1周期目 (AIH)
2.	34歳	0-0-2-0	10年 (続発性)	卵管因子	1回	IVF後1周期目 (clomiphene)
3.	33歳	1-0-1-1	1年5ヶ月 (続発性)	卵管因子	4回	IVF後2周期目 (自然周期)

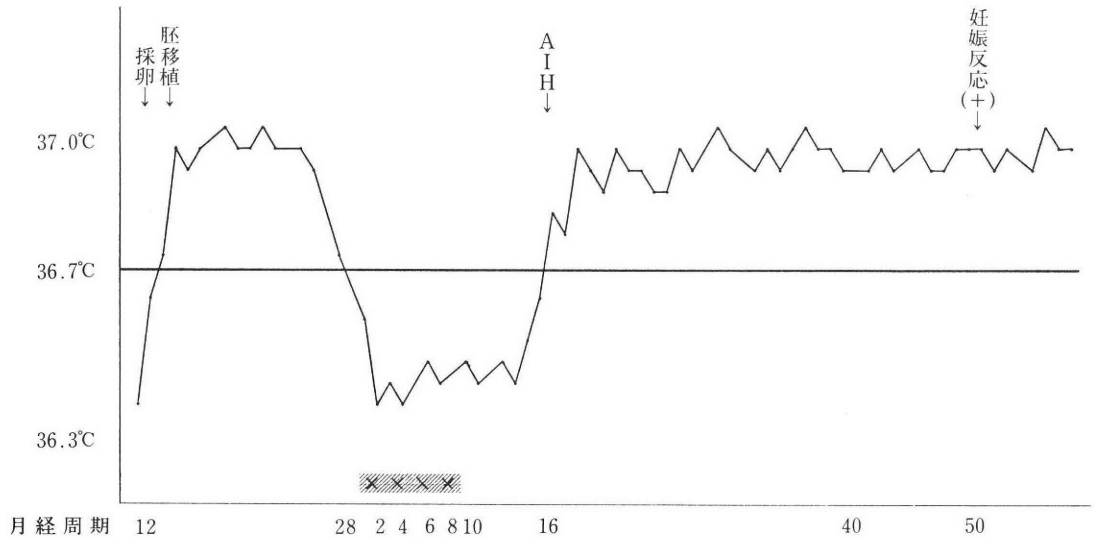


図1　症例1の臨床経過

日投与，Day 3 より HMG 150 単位を連日筋注し，主席卵胞径が 18mm に達した時点で Buserelin と HMG を中止し，HCG1 万単位を筋注した．HCG 投与後 35 時間後に超音波下経膣採卵を行い 3 個の成熟卵を回収し，媒精を行った．その際の精液所見は精子濃度 65×10^6/ml，運動率 80 %であった．媒精後 40 時間目に 3 個の分割卵 (4-cell 1個，2-cell 2個) を胚移植したが妊娠成立には至らなかった．しかし，その次の月経周期の 15 日目の夜に LH カラーが陽性となり翌日 AIH を行ったところ妊娠が成立した(図1)．



写真 2

症例 2

年齢 34 歳．10 年間の続発性不妊で当科を受診す．結婚前に人工妊娠中絶術の既往が 2 回 (19 歳と 21 歳) ある．昭和 53 年 23 歳で結婚．以後不妊のため某産婦人科受診．HSG で片側卵管閉塞を指摘されたが，放置さる．昭和 60 年 8 月より乏精子症のため AIH 10 回施行するも妊娠に至らず，昭和 61 年 11 月当科受診．当科での精液検査は精子濃度 50×10^6/ml，運動率 80 %と正常であったが，HSG (写真 2) で右卵管溜水腫と左卵管の炎症が考えられ，通水療法 3 回，AIH をさらに 10 回施行したが妊娠に至らなかった．(写真 2)

HSG 所見では両側卵管とも通過性は保たれていたが(写真 3)，右卵管溜水腫および左卵管も水腫様変化と卵管周囲の炎症性癒着を疑わせる所見がみられたため，卵管因子が不妊の原因と考え，IVF-ET を行った．昭和 63 年 8 月，HMG-HCG で排卵誘発後に経膣超音波下に 4 個採卵し，うち 3 個を胚移植したが妊娠には至らなかった．この際，McArdel ら[3]によるところの mild OHSS (Ovarian hyperstimulation syndrome) を伴っていた．ところが IVF-ET 不成功後 2 回目の clomiphene 周期で妊娠した (図 2)．

症例 3

年齢は 33 歳．昭和 57 年結婚し，すぐ妊娠する．妊娠 39 週で胎児仮死のため帝王切開にて分娩する．さらに昭和 59 年 11 月，左卵管妊娠破裂で左卵管切除術をうける．その後 1 年間妊娠しないため当科受診した．HSG では子宮外妊娠部位だけでなく対側卵

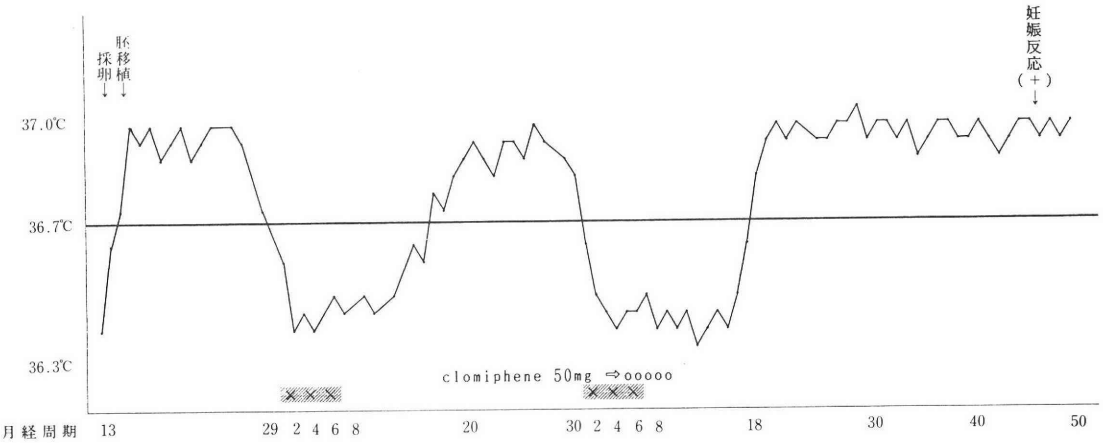


図 2　症例 2 の臨床経過

管も完全閉塞していた.

昭和62年2月，4回目のIVF-ETを行った．排卵誘発はHMG-HCG，経膣採卵後2個の受精卵を胚移植した．OHSSの所見は認められなかった．結果は再び失敗に終わったが，この4回目の不成功周期後の2周期目に自然妊娠した(図3)．写真4は子宮外妊娠で左卵管切除した1年後のHSGである．右卵管も完全に閉塞しており，造影剤注入には抵抗がありこれ以上注入困難であった．

本症例の妊娠成立までの経過の経過を図3に示す．胚移植後14日目に月経発来し，その次の周期は基礎体温上かなり排卵が遅延しているが，この周期に妊娠が成立した．

考　察

不妊症治療において，無治療周期に妊娠成立をみることは日常経験するところである．これらの症例は不妊期間が短かったり，不妊の程度が軽症である[1]ことから偶然もあり得る．また，それまでの治療の繰り越し効果もあるかもしれない[2]．一方，体外受精・胚移植は両側卵管閉塞や重症の乏精子症や不妊期間の長い所謂unexplained infertilityの患者に適応されるため，無治療周期に妊娠することは殆ど期待出来ない．すなわち，体外受精・胚移植は不妊症治療のfinal optionとして位置付けられる．このような体外受精・胚移植の症例が無治療周期に妊娠成立することは，驚くべき事実であると同時に妊娠に至った経緯・理由に興味が持たれる．これらの症例の詳細を検索することは不妊のメカニズムや不妊治療に

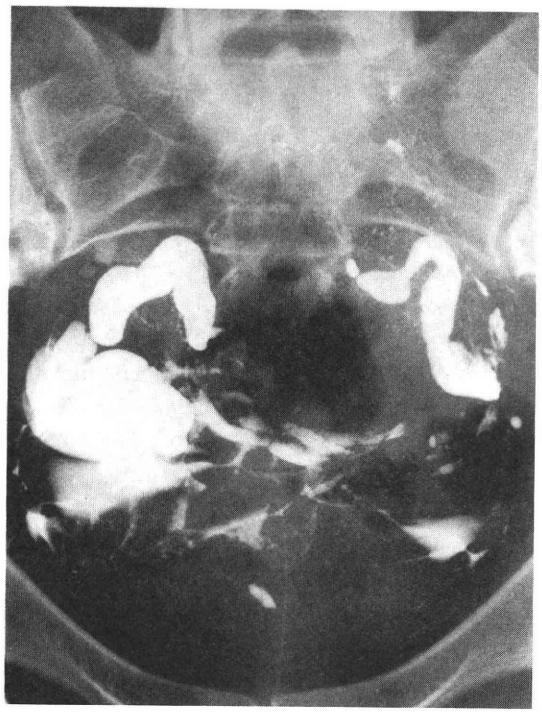


写真3

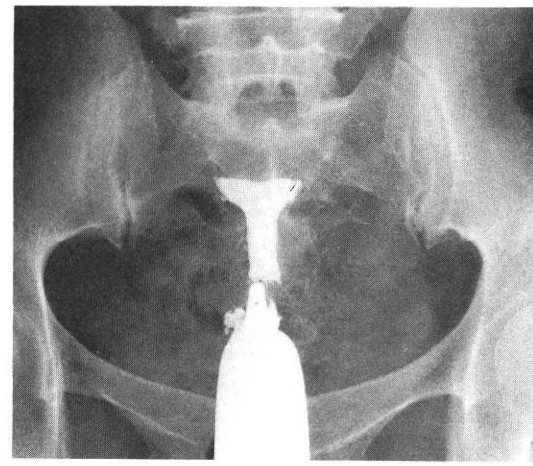


写真4

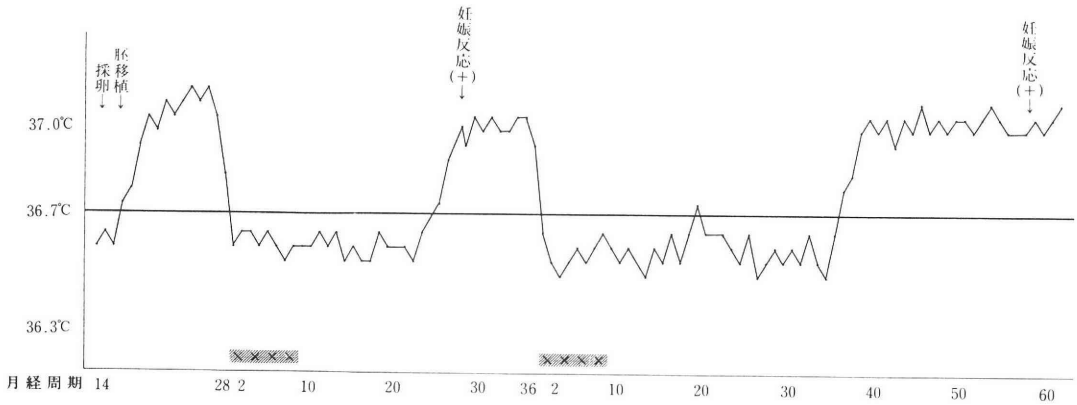


図3　症例3の臨床経過

何らかの示唆を与えるからである．

われわれの3症例は（表1），症例1は38歳で13年にも及ぶ原発性不妊であった．不妊原因としては軽度の排卵障害があるのみである．症例2は不妊期間は10年，不妊原因は卵管溜水腫および卵管の炎症性癒着と思われた症例である．また，症例3は不妊期間こそ短いものの，子宮外妊娠で左卵管摘出，右側卵管も癒着のため閉塞したものであった．すなわち3例とも極めて重症の不妊症であり，いずれも偶然に妊娠したとは言い難く，IVF-ETプログラムの一連の操作が非IVF-ET周期の妊娠成立に何らかの影響を与えたものと考える．

IVF-ETの操作の中で，その後の妊孕能の獲得に影響を及ぼすものがあるとすれば，過排卵誘発，採卵，胚移植などである．妊娠に至った3症例をこれらの操作と関連させて一つ一つ検証してみる．

症例1は月経周期は35日型であり，通常Day 20～22で排卵をみていたが，IVF-ET不成功後の次の周期（妊娠成立周期）ではDay 16で排卵した．戸田ら[4]は，PCO患者に卵巣への最少限の侵襲である超音波ガイド下穿刺術による排卵誘発を試み，排卵誘発率は92％であり，LH-RH testにおいても穿刺術後にLH基礎値およびLH過剰反応が正常化したことから，卵胞穿刺による排卵誘発作用は，卵巣に対する直接作用の他，性中枢一卵巣系正常化を介していると推論している．また田中ら[5]もPCOに対してwedge resectionをせずに嚢胞穿刺だけでも血中LHレベルの低下が起こると報告している．これらの報告から，われわれの症例は必ずしもPCOとは言い切れない面もあるが，卵胞を穿刺したことが次の周期で排卵を促すように働いたのではないかと考えられる．

症例2は，2回の人工妊娠中絶後，続発不妊になったことやHSGで卵管水腫が見られたことから，卵管の炎症や卵管周囲の炎症性癒着が不妊の原因であったと考えられる．また症例3は過去に子宮外妊娠の既往があり，HSG上両側卵管が閉塞していたことにより，症例2と同様不妊の原因は卵管や卵管周囲の炎症が考えられる．Aboulghar et al[6]は卵管周囲癒着が不妊原因と考えられる52症例にclomiphene/HMG/HCGの過排卵誘発を行い22例（52％）が妊娠成立したと報告している．妊娠した理由として，①卵巣が腫大することにより，卵巣と卵管系が近づく，②数多く排卵することにより，卵管の卵の取り込む率が高くなる，③排卵誘発することにより，血管の血流が増加し，運動性が増し，卵管の卵の取り込むメカニズムが増強するとしている．またHaney et al[7]は245例の体外受精・胚移植の中で5例が体外受精・胚移植失敗後に人工授精のみで妊娠したと報告した．その内訳は子宮内膜症4例，PID 1例である．症例2や3は子宮内膜症の所見は無く，不妊の原因としてPIDが考えられ，Aboulghar et al[6]の言う卵巣が腫大することにより，血管の血流が増加し，運動性が増し，卵管の卵の取り込むメカニズムが増強したとも考えることができる．しかし，卵巣が腫大することにより卵管周囲の軽度の癒着が剥離した可能性もある．

体外受精胚移植は不妊症治療の最後の切り札として位置づけられる．そのような症例は到底自然妊娠は期待出来ない．今回IVF-ET後の無治療周期に妊娠した3例は重症の不妊症であったことより単なる偶然とは思えない．IVF-ETの操作が妊娠成立の引きがねになった可能性がある．すなわち，卵管閉鎖例では卵胞刺激すなわち卵巣を腫大させることで癒着が偶然に剥離されたかも知れない．またPCOやLuteinized unruptured follicle (LUF)症候群で卵胞穿刺により排卵が惹起されたとの報告[8]があることから，PCOやLUFでない場合でも卵胞を穿刺することが排卵を促す方向に働くのではないかと考えられる．

以上のことはBBT上排卵していると思われる症例でも本当に排卵しているかどうかを確かめることが重要で，内分泌学的検査に加えて超音波で排卵の有無を確認する必要があることを示唆する．

参考文献

1）堂地勉，横山幹文，谷口二郎，小坂孝弘，立山浩道：当科不妊外来における妊娠成功例の検討，宮崎医会誌，7：195，1984

2）堂地勉，大久保信之，津田知輝，中村正彦，永田行博：不妊患者の無治療周期妊娠例の検討，日不妊会誌，25：413，1980

3）McArdel, C. R., Seibel, M., Hann, L. E., Weinstein, F., Tamor, M.: The diagnosis of ovarian-hyperstimulation (OHS): The impact of ultrasound, Fertil. Steril., 39: 464, 1983

4）戸田稔子，岩部富夫，関島秋男，大野原良晶，谷川正浩，寺戸博文，原田　省，見尾保幸，前田一雄：多嚢胞性卵巣症候群に対する治療的超音波ガイド下卵胞穿刺術による排卵誘発の試み，日不妊会誌，34：407，1989

5）Tanaka, T., Fujimoto, S. and Kutsuzawa, T.: The effect ovarian wedge resection and incision on circulating gonadotropin in patients with polycystic ovarian disease, Int. J. Fertil., 23: 93, 1978

6）Aboulghar, M., Mansour, R., Serour, G.: Ovarian superstimulation in the treatment of infer-

tility due to peritubal and periovarian adhesions, Fertil. Steril., 51: 834,1989
7) Haney, A., Hughes, C., Whitesides, D., Dodson, W.: Treatment-independent,-treatment-associated, and pregnancies after additional therapy in a program of in vitro fertilization and embryo transfer, Fertil. Steril., 47: 634,1987
8) 加藤　修，高塚亮三，林　政宏：LUFにおけるNeedle Puncture療法，日不妊会誌，33：923，1988

Pregnancies after unsuccessful IVF-ET attempts with additional non-IVF-ET therapy or without therapy

Akito Mori, Tsutomu Douchi,
Shinichi Yamamoto, Kazuhiro Takeuchi,
Seigo Fukumoto, Toshimichi Oki
and Yukihiro Nagata

Department of Obstetrics and Gynecology,
Faculty of Medicine, Kagoshima University
Kagoshima 890, Japan

In vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) is now applied to couples having not only untreatable tubal infertility, but also male-related or unexplained infertility. In couples, with such infertile factors, who were enrolled in the IVF-ET program at our hospital between February 1987 and March 1989, we experienced three pregnancies after an unsuccessful IVF-ET attempt with additional non-IVF-ET therapy or without therapy. Patient 1.: this patient who was infertile for thirteen years without any known causes was enrolled in our IVF-ET program. But she conceived in clomiphene-AIH cycle following unsuccessful IVF-ET cycle. Patient 2.: her past history includes two artificial abortions at age of 19 and 21. In the subsequent ten years, she was infertile. Although hysterosalpingography revealed both oviducts to be patent, bilateral hydrosalpinx and peritubal adhesions were suspected. This patient became pregnant in clomiphene cycle following unsuccessful second. IVF-ET cycle. Patient 3.: in this last case, left salpinx was removed because of tubal pregnancy at age of 30. In hysterosalpingography after the operation, right tubal occulusion was also detected. Despite of failure of IVF-ET, pregnancy was established spontaneously following four unsuccessful IVF-ET cycles and one subsequent menstruation. These observations suggest that additional non-IVF-ET therapy can result in pregnancy despite failure of IVF-ET in couples and that a number of treatment-independent pregnancies will occur in couples clinically deemed appropriate for IVF-ET. Follicular puncture and ovarian enlargement may result in restoration of pituitary-ovarian axis and peritubal enviroment in infertile woman.

(受付：1990年2月20日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

3種類の異なった測定キットによる体外受精における血中LHの測定

Determination of Serum Luteinizing Hormone Levels during *in Vitro* Fertilization by Three Different Kits

秋田大学医学部産科婦人科学教室

関根和子 Kazuko SEKINE
児玉英也 Hideya KODAMA
加藤充弘 Mitsuhiro KATO
松井俊彦 Toshihiko MATSUI
武田志保 Shiho TAKEDA
真木正博 Masahiro MAKI

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

体外授精における卵胞期後期の血中LH測定の測定方法には，その有用性に関して必用な条件がある．この観点から，酵素抗体法(エルモテックLH，持田)，時間分解蛍光免疫測定法(デルフィアLH，ファルマシア)，放射拡散蛍光酵素免疫測定法（ストラタスLH，バクスター）の3種類のLH測定キットの有用性につき，比較検討した．10-50 mIU/mlの測定範囲における再現性試験(intra-and interassay)のcoefficient of variationは，エルモテックLHで12.7％と6.9％，デルフィアLHで7.1％と9.9％，ストラタスLHで4.0％と6.6％であった．標準品の違い(WHO lst IRPまたは2nd IRP)から，エルモテックLHの測定値は他の2つのキットより2.8倍大きかった．デルフィアLHの測定値は，ストラタスLHのそれより約1.0 mIU/ml (WHO lst IRP) 大きかった．どのキットも若干の習熟で測定が可能であり，採血から2時間以内で結果が得られた．また，キットの価格にも大きな差は認められなかった．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 117—122, 1991)

緒　言

刺激周期における体外授精では，卵胞期後期におけるestrogenの産生は，過剰な卵胞発育を反映して周期の早期より高値を示す場合が多い．その場合，卵胞が十分に成熟する前にそのestrogenの上昇に呼応して血中luteinizing hormone（LH）が上昇する現象がしばしば観察される．この早期のLHの上昇はpremature LH riseまたはpremature LH surgeと呼ばれており，この現象が生じた体外授精周期は採卵率，受精率，妊娠率が共に低下することが報告されている[1,2]．したがって体外授精の治療成績を向上させるためには，卵胞期後期の血中LHの変動をモニタリングすることが，非常に重要な要素と考えられている．

血中LHの測定は，従来はradioimmunoassay (RIA)が主であり，最近の固相法RIAの開発によりその有用性は改善された[3]．そして，最近ではisotopeを用いなくてもよい，酵素免疫測定法（enzyme immunoassay, EIA)等による測定キットが開発されている[4]．これらキットは，通常の研究室でも比較的簡便に扱え，迅速性および簡便性に優れており，体外授精の血中LH測定においては非常に好都合である．我々はこれまでおもに酵素免疫測定法に基づくキットを使用して体外授精を行ってきたが，最近では，時間分解蛍光免疫測定法（time resolved fluoroim-

munoassay, TR-FIA)や，放射拡散蛍光酵素免疫測定法 (radial partition fluorometric enzyme immunoassay, RP-FEIA) による測定キットを使用する経験も得ている．今回は，我々の体外授精の治療周期における3種類の血中LH測定キットの使用経験から，それらの有用性につき比較検討を加えたので報告する．

研究方法

1）研究対照

1989年3月より1989年5月までに施行した体外授精施行周期より，卵胞期後期に頻回に血中LHが測定された36例38周期を対照とした．36例の平均年齢は32.6±3.2歳，平均不妊期間は6.5±3.4年であり，全例正常な月経周期を有していた．卵巣刺激法は，human menopausal gonadotropin (hMG) 単独刺激周期22周期，BuserelinとhMGの併用周期16周期であった．

2）卵巣刺激法

hMG刺激周期では，hMG製剤 (Pergonal，帝国臓器またはhMG日研，日研化学) を，一日150 IUの使用量で周期の3日目より連日筋注した．Buserelin併用周期では，治療周期の前周期の黄体期中期より900 μgを連日経鼻投与した後，月経周期の2日目よりhMG 225IUの筋注を行った．超音波断層法による観察で最大卵胞経18mm，子宮内膜の肥厚10mm以上に達した晩にhCG 10,000 IUを投与し，そのおよそ34時間後に経腟的に採卵を行った．当科における体外授精法の詳細については，以前に報告した[5]．

原則として主席卵胞の最大径が14mmに達した日より，hCG投与日まで連日血中LHを測定した．血中LHは，午前中の外来で患者の肘静脈より採血し，血清分離後直ちに酵素抗体法(エルモテックLH，持田[6])により測定した．また，一部の患者は，同時に時間分解蛍光免疫測定法(デルフィアLH，ファルマシア[7]) または放射拡散蛍光酵素免疫測定法 (ストラタスhLH，バクスター[8])による測定も試みた．3種類のキットの測定原理，使用機材，測定感度等の違いを一括して表1に示す．

研究結果

今回の検討周期38周期の卵胞期後期の血中LHの変動のうち，血中LHの有意な変動がなく経過した29周期のmean±SDの範囲，および血中LHが25 mIU/ml以上に上昇した9周期のLHの変化を図1に示す．血中LHの有意な変動がなく経過した周期では，全周期で良好な卵子が採取され，血中LHは，刺激期間中を通じてほぼ20 mIU/ml以下で推移していた．血中LHの上昇は，hMG単独刺激周期8周期およびGnRHa併用周期1周期に認められており，その内4周期は直ちにhCGを投与しその24時間後

表1　各種LH測定キットの測定原理と方法

	エルモティックLH (ELMOTEC LH) 持田	デルフィアLH (DELFIA LH) ファルマシア	ストラタスLH (Stratus hLH) バクスター
測定原理	酵素免疫測定法 (EIA)	時間分解蛍光免疫測定法 (TR-FIA)	放射拡散蛍光酵素免疫測定法 (RP-FEIA)
測定方法	モノクローナル抗LH抗体を固相し，標識酵素にパーオキシダーゼを使用した，サンドイッチ法による。	モノクローナル抗LH抗体を固相し，ユウロピウム標識抗体を使用した，サンドイッチ法による。遊離したユウロピウム・キレートの蛍光を測定。	モノクローナル抗LH抗体を固相し，アルフォス標識抗体を使用した2-サイトサンドイッチ法による。標識抗体の酵素による蛍光基質の分解反応をカイネティック分析で濃度換算。
測定機材	分光光度計にて測定する。専用の洗浄機器と反応機器があるが，それがなくとも用手的に測定可能。	専用の洗浄機器，反応機器および専用の蛍光光度計にて測定。	専用の蛍光酵素免疫測定装置にて測定。
感度	5.0mIU/ml*	0.6mIU/ml	0.3mIU/ml
標準品	WHO 2nd-IRP hMG	WHO 1st IRP ヒト下垂体性LH 68/40	WHO 1st IRP ヒト下垂体性LH 68/40

＊標準品の違いから，他の2キットと比較して測定値が約3倍となる。

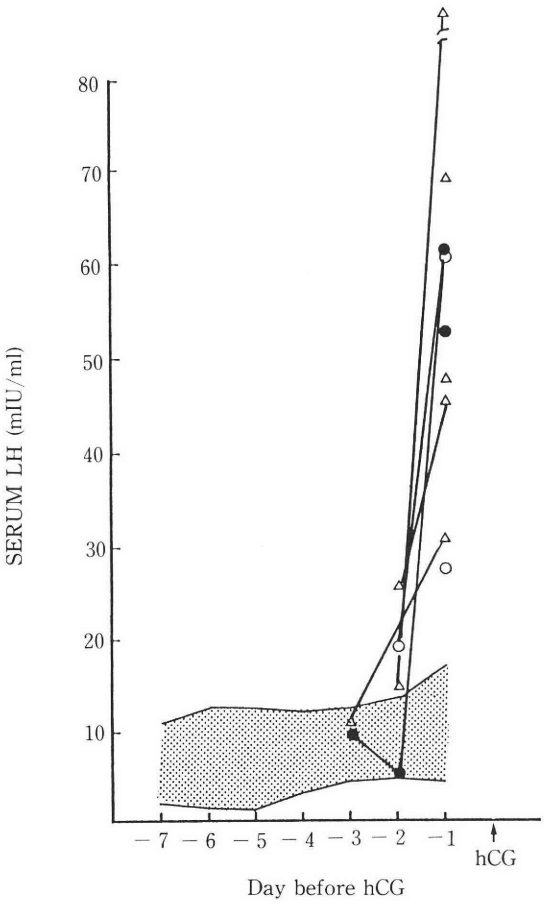


図1　体外受精のための刺激周期38周期における血中LHの推移。血中LHの有為な変動が認められなかった29周期のmean±SDを，範囲で示し，経過中に血中LHが25 mIU/ml以上に上昇した9周期を，折れ線で示した(△：キャンセル周期，○：採卵された周期，●：採卵を施行したが，採卵できなかった周期)．

に採卵を行った．その結果，2周期は卵子が採取されたが他の2周期は，採卵ができなかった．今回検討した治療周期においては，平均6.5±3.9個の卵子が採取され，平均3.3±1.6個の胚が移植され，6例の臨床的妊娠が認められた．

3つのLH測定キットの再現性試験のintraassay varianceを表2に，interassay varianceを表3に示す．Low control（LHの値が10 mIU/ml以下の範囲）においては，intraassay varianceでエルモテックLHのcoefficient of variation（CV）が32.6％と高値であった．interassay varianceは，ストラタスLHが他の試薬と比較して低いCVを示した．Medium control（LHの値が10-50 mIU/ml）では，エルモテックLHのintraassayにおけるCVが12.7％と若干高かった他は，いずれのキットのCVも10％以下の良好な値を示した．High control(LHの値が50 mIU/ml以上）では，3キットとも10−15％のCVを示した．

エルモテックLH(X)とデルフィアLH(Y)にはY＝0.28 X＋0.52(r＝0.827，n＝45，p＜0.001)，また，エルモテックLH（X）とストラタスLH（Y）にはY＝0.28 X−0.5(r＝0.850，n＝60，p＜0.001)の相関が認められた．同一検体を測定した場合，標準品の違いから，エルモテックLHと他の2つのキットには，値に約3倍の違いがあり，デルフィアLHの測定値が約1 mIU/ml（WHO lst international reference preparation, IRP），ストラタスLHの測定値より高くなる傾向が認められた．

考　察

今回使用した3種類のキットは，いずれも抗原抗体反応を固相法によるサンドイッチ法に基づいて行っている．しかし，その測定過程には，検査の精度増強と安定性のために，それぞれ独自の方法が用いられている．エルモテックLHの場合，LHを結合する固相にガラス管を使用し，標識酵素にパーオキシダーゼを用い，通常の分光光度計にて測定する酵素抗体法である[6]．一方，デルフィアLHは時間分解蛍光免疫測定法という原理に基づいている．すなわち，LHと結合したマイクロタイトレーションストリップを固相として，独自開発のユウロピウム標識抗体を用い，液中にユウロピウムキレートを生成する．このユウロピウムキレートは極めて安定であり，その蛍光測定によって検査の特異性と感度の増強を行っている[7]．ストラタスLHは，グラスファイバータブを固相に用い，タブ上で抗原抗体反応，およびアルカリフォスファターゼ標識抗体の蛍光基質分解反応等の一連の操作を全自動で行っている．生成された蛍光物質による蛍光増加速度をカイネテック分析で測定し濃度に換算しており，その測定原理は放射拡散蛍光酵素免疫測定法と呼ばれる[8]．

今回の3つのキットを使用してみた経験では，基本的にはいずれの測定法も体外授精の場合に必要とされる条件をかなり満足するものであるといえる．体外授精の場合に最も重要視される10-50 mIU/mlの範囲の再現性試験では，エルモテックLHのintraassayが若干高値であったが，その他は3キットともinterassayも含めてCVは10％以下を示した．LHの値が10 mIU/ml以下の範囲では，intraassayおよびinterassayの成績からストラタスLHの値が比較

表2　各種LH測定キットのintra assay variance

	Mean±SD*(mIU/ml)	CV**(%)
Low control（範囲 10mIU/ml 以下）		
エルモティック LH (n = 8)	4.1±1.35	32.6
デルフィア LH (n = 8)	2.3±0.15	6.4
ストラタス LH (n = 7)	2.7±0.33	12.0
(n = 8)	5.5±0.34	6.1
Medium control（範囲 10-50mIU/ml）		
エルモティック LH (n = 8)	44.1±5.57	12.7
デルフィア LH (n = 8)	15.3±1.08	7.1
ストラタス LH (n = 10)	33.0±1.35	4.0
High control（範囲 50mIU/ml 以上）		
エルモティック LH (n = 7)	159.0±21.5	13.5
デルフィア LH (n = 8)	161.0±20.8	12.9
ストラタス LH (n = 10)	96.4±9.9	10.2

*standard deviation.　**coefficient of variation.

表3　各種LH測定キットのinterassay variance

	Mean±SD*(mIU/ml)	CV**(%)
Low control（範囲 10mIU/ml 以下）		
エルモティック LH (n = 9)	5.67±1.37	24.1
デルフィア LH (n = 8)	1.70±0.39	22.6
ストラタス LH (n = 9)	3.34±0.42	12.6
Medium control（範囲 10-50mIU/ml）		
エルモティック LH (n = 8)	37.0±2.56	6.9
デルフィア LH (n = 8)	10.6±1.05	9.9
ストラタス LH (n = 9)	32.7±2.14	6.6

*standard deviation.　**coeffitient of variation.

的再現性に優れると思われた．現在のところ，エルモテック LH の標準品は WHO 2nd-international reference preparation (IRP) hMG であり他の2つは WHO 1st IRP human pituitary LH 68/40 を使用している．従ってエルモテック LH と他の2つの測定法には約3：1の開きがある．エルモテック LH の感度が他の2つと比較して低く示されるのはそのためであって，実際にはそれほど大きな感度の差は無いものと考えられる．LH の標準品は，世界的には WHO 1st IRP ヒト下垂体 LH が使用されており，エルモテック LH の標準品も，近日中にそのように変更される予定である．

また，体外授精では，一般に連日にわたる検査が必要となってくることから，検査の精度と共に，結果が迅速，簡便に得られ，経済的に優れることも重要である．迅速性の点ではいずれのキットも採血から2時間以内で結果が得られ，検査の簡便性についても若干の習熟で検査可能であった．その中でもストラタス LH は全自動化されており，最も簡便に測定可能であった．経済性に関しては，いずれのキットも duplicate assay で測定する場合，一検体 1,000－2,000 円のコストとなり，キットそのものの価格には大きな差は認められなかった．しかし，デルフィア LH は，一日小数の検体を処理する場合，キットの消費が多いことからやや割高となり，大量の検体を同時に測定する場合は逆に最もコストが安くなるという特徴を有していた．またデルフィア LH とストラタス LH は，測定に専用の機器を必用とし，ストラタス LH の測定機械は非常に高価であった．この点，エルモテック LH は，専用の機器が無くとも研究室で測定できるという利点を有している．以上，我々の，3種類の血中 LH 測定キットに関する有用性の評価を，まとめて表4に示す．

体外受精において，現在当科では，諸家の報告に

表4　各種LH測定キットの有用性の比較

	エルモティックLH	デルフィアLH	ストラタスLH
簡便性	比較的簡単。	機械操作がやや多く，若干の習熟を要す。	全自動化されており簡便。
経済性	反応管が無駄なく使用できる点で経済的だが試薬そのものの価格は若干高い。	少数検体連日測定の場合ややコスト高。多数検体同時処理では逆に安い。	キットそのものは，比較的安く，使用法による違いもあまり無い。
迅速性	回転法：採血後約60分 静置法：採血後約160分	採血後約100分	採血後約40分（機械の可動まで30分測定に8分）
正確性	RIA程度の感度，精度を有する。低値での測定値が不安定。	感度，精度ともにすぐれているが，高値で不安定な場合がある。	感度，精度ともにすぐれている。
総合評価	一般的な臨床応用としては，十分な実用性を有するといえるが，他の測定法と比較して低値での測定値が，不安定。	感度，精度ともにすぐれているが，経済性，簡便性にやや難点がある。検体が同時処理可能な場合は，好都合である。	感度，精度ともにすぐれており，実用性は高いが，専用機器がかなり高価である。

基づき[9]，hCG投与前にエルモテックLHで測定した血中LHが25 mIU/ml以上になった場合は，内因性のLHによる影響が出現しうると考え対処している．これは他の2つのキットにあてはめると7 mIU/ml以上に相当する．ただ，境界値である25-30 mIU/ml（7-9 mIU/ml）の範囲では，数時間の間隔で何回か再検して，方針を決めている．現在汎用されているGnRHaの併用周期では，premature LH riseは殆ど抑制され，したがって血中LHの測定を省略してもほとんどの場合で採卵は可能と考えられる[10]．しかし，最近は過排卵周期における問題点である多胎妊娠や過剰刺激症候群，及びそれに起因する受精卵凍結保存の倫理的問題等の認識から，自然周期に戻って体外受精を行おうとする試みがなされている[11]．そのような場合，血中LHのモニタリングは必須であり，そのモニタリングの重要性が再認識されると考えられる．

稿を終えるに当たり，御協力を頂いた児玉智子氏に，深謝いたします．

文　献

1) Lehmann, F., Baban, N. and Webber, B.: Ovarian stimulation for in-vitro fertilization: clomiphene and hMG, Hum. Reprod., 3 (Suppl. 2): 11, 1988

2) Glasier, A., Hillier, S. G., Thatcher, S. S., Baird, D. T. and Wickings, E. J.: Superovulation with exogenous gonadotropins does not inhibit the luteinizing hormone surge, Fertil. Steril., 49: 81, 1988

3) Santner, S. J., Santen, R. J., Kulin, H. E., and Demers, L. M.: A model for validation of radio-immunoassay kit reagents: measurement of follitropin and lutropin in blood and urine, Clin. Chem., 27: 1892, 1981

4) Van Steirteghem, A. C., Van Waesberghe, L., Camus, M., Deschacht, J., Devroy, P., Smithz, J. and Wisanto, A.: Hormonal monitoring for in-vitro fertilization and related procedures, Hum. Reprod., 3 (suppl. 2):1, 1988

5) Kodama, H., Kato, M., Fukuda, J., Sekine, K. and Maki, M.: Initial experience of in vitro fertilization at Akita university, Akita J. Med., 16: 631, 1989

6) 斉藤憲康，木村和彦，鈴木利明，広井正彦：モノクローナル抗体を用いたEIA（MS-8001）によるhLHの測定と婦人科における応用，産婦の世界，39：1133，1987

7) Hemmila, I., Dakubu, S., Mukkala, V. M., Sutari, H. and Lovgren, T.: Europium as a label in time-resolved immunofuluorometric assays, Anal. Biochem., 137: 335, 1984

8) Giegel, J. L., Brotherton, M. M., Cronin, P., D, Aquino, M., Evans, S., Heller, Z. H., Knight, W. S., Krishnan, K. and Sheiman, M.: Radial partition immunoassay, Clin. Chem., 28: 1894, 1982

9) 辰巳賢一，野田洋一，矢野樹理，神崎秀陽，松本央，圓山悠子，馬岡陽，福田愛作，恵美信之，高井一郎，泰井俊造，森崇英：Clomiphene-HMG-HCGによる体外受精・胚移植法の卵巣刺激周期における血中LH迅速測定の有用性，日本受精着床学会雑誌，5：22，1988

10) Droesch, K., Simonetti, S., Muasher, S. J., Liu, H. C., Brzyski, R. G., Rosenwaks, Z. and Jones, G. S.: Value of suppresion with a gonadotropin-releasing hormone agonist prior to gonadotropin stimulation for in vitro fertiliza-

tion, Fertil. Steril., 51: 292, 1989
11) Foulot, H., Ranoux, C., Dubuisson, J. B., Rambaud, D., Aubriot, F. X. and Poirot, C.: In vitro fertilization without ovarian stimulation: a simplified protocol applied in 80 cycles, Fertil. Steril., 52: 617, 1989

Determination of serum luteinizing hormone levels during in vitro fertilization by three different kits.

Kazuko Sekine, Hideya Kodama, Mitsuhiro Kato, Toshihiko Matsui, Shiho Takeda and Masahiro Maki.

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

The methods used to determine serum luteinizing hormone (LH) levels must fulfil certain conditions to be applicable in a daily routine examination during in vitro fertilization (IVF). From this point of view, we evaluated several commercially available LH kits based on emzyme immunoassay (ELMOTEC LH, Mochida), time-resolved fluoroimmunoassay (DELFIA LH, Pharmacia) and radial partition fluorometric enzyme immunoassay (Stratus LH, Baxter). Coefficient of variation in the intra-or interassay within the range of 10 to 50mIU/ml was 12.7% or 6.9% for Elmotec LH, 7.1% or 9.9% for DELFIA LH, and 4.0% or 6.6% for Stratus LH. Due to the difference of LH used for reference preparation (WHO 1st IRP or WHO 2nd IRP), the levels of LH determined by ELMOTEC LH was 2.8 times higher than those by other two kits. The levels of LH determined by DELFIA LH was about 1mIU/ml (WHO 1st IRP) higher than those by Stratus LH. Each kit could be available with a little skill and the results could be obtained within two hours. There was no significant difference in the price of each kit: it cost about ¥1,000 to 2,000 to measure one sample by duplicate assay.

(受付：1990年3月31日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

体外受精・胚移植における子宮内外同時妊娠の一症例

A case of Heterotopic Pregnancy Associated with *In Vitro* Fertilizstion and Embryo Transfer

鳥取大学医学部産科婦人科学教室

岩部富夫 Tomio IWABE
関島秋男 Akio SEKIJIMA
大野原良昌 Yoshimasa OONOHARA
谷川正浩 Masahiro TANIKAWA
寺戸博文 Hirofumi TERADO
原田省 Tasuku HARADA
戸田稔子 Toshiko TODA
見尾保幸 Yasuyuki MIO
前田一雄 Kazuo MAEDA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tottori University School of Medicine,
Yonago 683, Japan

子宮内外同時妊娠は，自然発生的には極めて希な疾患である．今回，体外受精・胚移植による子宮内外同時妊娠の一例を経験したので，若干の考察を加えて報告する．

症例は，29歳，主婦，昭和61年11月に原発不妊を主訴として来院．その後，当科不妊外来にて経過観察後，長期間原因不明不妊を適応として，平成元年7月に体外受精・胚移植を行った．体外受精・胚移植実施1周期目に妊娠成立し経過観察中，妊娠7週5日に軽度下腹部痛を訴え，経腟超音波断層法にて，子宮内外同時妊娠と診断し，緊急手術にて左卵管切除を施行した．術後経過及び妊娠経過は順調であり，妊娠38週6日に正常経腟分娩した．

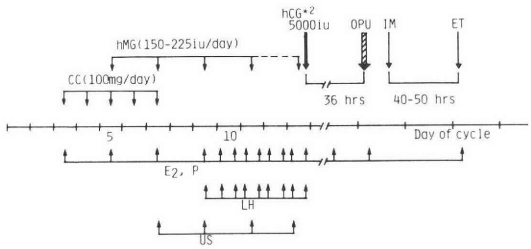
(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 123—126, 1991)

緒　言

体外受精・胚移植は，Steptoe ら[1] (1976) により最初の妊娠例が報告されて以来，卵管不妊を中心とした重症不妊症の新たな治療法として，世界中で広く実施されてきた．しかし，その妊娠率は決して満足できるものとは言えず，様々な角度から広範な検討が加えられ成績向上のための改良が成されてきた．Kerin ら[2]は，妊娠率の向上が移植胚数に依存していると報告し，現在では，採取卵数ひいては移植胚数の増加を目的とした種々の過排卵処理が広く行われる様になったが，一方で，体外受精・胚移植において，複数の受精卵移植が原因と考えられる多胎妊娠や子宮外妊娠などの異常妊娠の頻度が高くなっている事も事実である．今回我々は，自然発生的には，3万例に1例の頻度と言う希な子宮内外同時妊娠[3]を，体外受精・胚移植にて経験したのでここに若干の考察を加えて報告する．

症例

患者：29歳　無職
主訴：挙児希望
月経歴：初経12歳，周期30日型，整，月経痛；軽度
妊娠・分娩歴：0妊0産
家族・既往歴：特記すべきことなし．
現病歴：25歳で結婚し，その後1年6か月間の不妊期間を経て，昭和61年11月当科を初診した．当科



*1. Modified regimes are available for the patient with poor and abnormal responses in previous treatment cycle
*2. Criteria for hCG administration
1. More than half follicles developing exceed 18mm in diameter
2. No rise in LH and progesterone values
3. More than 200pg/ml in E_2 value per developing follicle

図1　当科におけるIVF-ETの排卵刺激法及びその管理

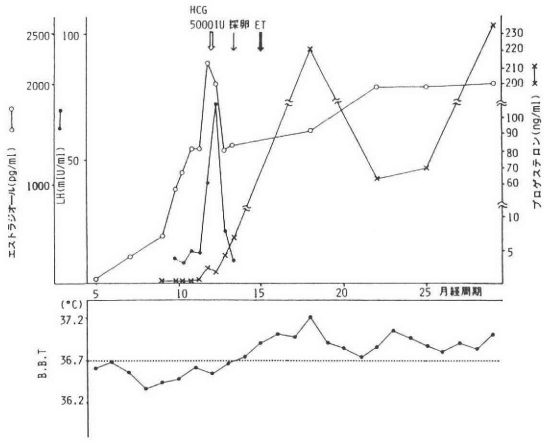


図2　血中ホルモン測定値と基礎体温の推移

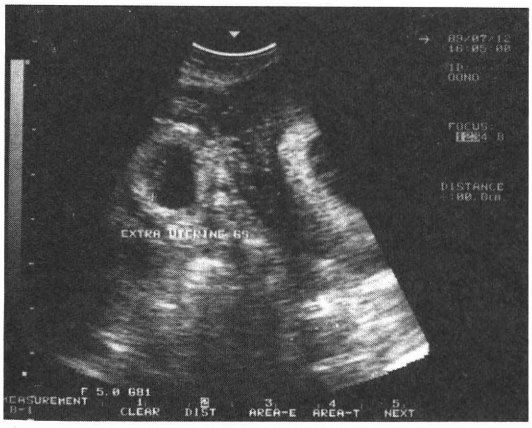


図3　子宮内外同時妊娠の経腟超音波断層法像

への受診に至るまで，不妊症に関する治療および検査を受けていなかった．

外来経過：当科不妊外来における一般的検査では，軽度乏精子症を認めた以外に特に異常を認めず，原因不明不妊として治療してきた．主要な治療法としては，clomiphene citrateによる排卵誘発と超音波断層法による卵胞発育観察を行った後のAIH(Swim up洗浄精子によるAIHを含む)であるが，合計10回以上の施行においても妊娠には至らず，長期間原因不明不妊のため体外受精・胚移植をおこなった．

体外受精・胚移植周期：当科における体外受精・胚移植のプロトコールに従い排卵誘発及び卵胞期管理を行った（図1）．

血中ホルモン値測定結果とBBTの推移を図2に示した．月経周期11日目に，経腟超音波断層法により，右卵巣内に平均卵胞径19mmの主卵胞及び数個の発育卵胞，左卵巣内に2個の次卵胞（2方向平均卵胞径18mm）及び数個の発育卵胞を確認した．同日午後の血中ホルモン測定で，E_2値1350 pg/ml，P値0.83 pg/ml，LH値12.0 mIU/mlであり，当科のhCG投与基準を満たしていたため，月経周期12日目午後hCG投与予定にしていた．しかし，12日目午前のホルモン測定結果から，E_2値2200 pg/ml，P値2.5 pg/ml，LH値40.4 mIU/mlと明らかなLH surge開始を認めたため，直ちにhCG 5000 IUを投与し，13日目午後に緊急経腟超音波採卵を実施した．8個の成熟卵胞より7個の成熟卵を採取し，Swim up洗浄精子0.1×10^6にて媒精後36時間に4個の2細胞胚を確認し，全ての胚を超音波断層法下に子宮内へ移植した．その後，luteal supportとして，hCG 1000 IU投与を3～4日毎に継続した．胚移植後14日目に簡易尿中HCG測定法(テストパック®：ダイナボット)陽性，胚移植後17日目に尿中HCG定量で200 mIU/mlを検出し，妊娠を確認した．胚移植後21日目に，経腟超音波断層法にて子宮内にGSを確認し，外来で経過観察中，妊娠6週3日に，軽度不正出血を認め切迫流産と診断し，安静目的で入院となった．妊娠6週6日，経腟超音波断層法で2個のGSを認め，双胎妊娠と診断したが，妊娠7週5日に，軽度の下腹部痛を訴え，再度経腟超音波断層法を実施した(図3)．両方のGS共に発育胎児を認め，児心拍も確認したが，この時点で子宮内外同時妊娠と診断し，緊急手術を施行した．

手術時所見：腹水は少量で，腹腔内出血は認めなかったが，左卵管狭部に示指頭大の暗赤色腫張を確認し，左卵管狭部妊娠と確定診断され，同時に卵管保存手術は不可能と診断されたため，同部位の摘出術

を施行した．摘出した左卵管狭部標本の術後切開時には，1.2cmの胎児が確認され超音波断層法（水浸法）にて胎児心拍も認めた．

術後経過：経過は順調であり，術後32日目妊娠12週2日に子宮内胎児頭殿長（Crown rump length, CRL）は57mmで当科で使用している胎児発育基準値とよく一致しており，胎児発育は正常と判断し退院となり，以後外来にて経過観察とした．妊娠経過中は何ら妊娠合併症もなく子宮内の胎児発育も順調であった．妊娠38週6日に，3015 gの女児を正常経腟分娩し，母児共々健康である．

考　察

子宮内外同時妊娠は，自然発生的には3万例に1例と極めて希であると言われている．しかし，排卵誘発後ではその頻度が増加するとの報告もあり[3]，体外受精・胚移植後の子宮内外同時妊娠は，過去5年間に7例報告されている[3~9]．体外受精・胚移植における子宮内外同時妊娠の頻度が増加する原因としては，まず妊娠率向上のために複数個の移植胚を得るために実施する過排卵刺激が考えられ，その他には，胚移植時の刺激による子宮収縮や胚を含む培養液の子宮内への注入圧の程度に関連した胚の卵管へ逆流，骨盤内炎症性疾患による卵管の機能的変化，胚移植時の培養液の過量，さらに培養技術の進歩による移植胚の質の向上によるもの，などが考えられる．当科では従来から，胚移植時の培養液の量を可能なかぎり少量（5 μl程度）とし，経腹超音波断層法にて胚移植チューブを誘導し，子宮底より1cm下方に胚移植を行うように工夫し，胚の卵管への逆流を防ぐよう注意を払ってきた．しかし今回，充分な配慮下においても卵管機能の残存する症例に対して子宮内外同時妊娠の可能性は除去しきれない事が判明し大きな問題を投げ掛けられる結果となった．従って現在広く行われている妊娠率向上を期待しての複数個の胚移植法では，ある程度この様な異常妊娠を回避することは困難と考えられた．

しかし一方で，現在広く普及している経腟超音波断層法は，探触子の発振周波数に5～7.5 MHzを用いているため，近距離の対象物に対しより鮮明な画像が得られることから，経腹超音波断層法よりも早期に子宮外妊娠を確認することが可能であり，かりに今回の様な問題が生じたとしても未破裂状態の子宮外妊娠を早期に診断できることとは大きな救いとなるであろう[10]．本症例も確定診断は，経腟超音波断層法によるものであり，未破裂状態で診断し治療することができた．

いずれにしても，体外受精・胚移植において，妊娠率向上を期待し複数個の胚移植が行われた際は，この様な異常妊娠の発生を念頭において，経腟超音波断層法によりGSの存在部位を早期に確認することが重要であり，また今回の経験から今後の体外受精・胚移植の分野において，受精卵凍結保存，培養技術や子宮内着床条件の改良により，至適な胚移植数の再検討の必要性が強く示唆された．

参考文献

1) Steptoe, P. C., Edwards, R. G.: Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy, Lancet, 1: 880, 1976
2) Kerin, J., Quinn, P., Kirby, C., Steamark, R., Warnes, G., Jeffry, R., Matthews, C., Cox, L.: Incidence of multiple pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer, Lancet, 1: 537, 1984
3) Sondoheimer, S. J., Tureck, R. W., Blasco, L., Strauss, J., III-Arger, P., Mennuti, M.: Simultaneous ectopic pregnancy with intrauterine twin gestations after in vitro fertilization and embryo transfer, Fertil. Steril., 43: 313, 1985
4) Bearman, D. M., Vieta, P. A., Snipes, R. D., Gobien, R. P., Garcia, J. E., Rosenwaks, Z.: Heterotopic pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer, Fertil. Steril., 45: 719, 1986
5) Rein, M. S., Di-Saivo, D. N., Friedman, A. J.: Heterotopic pregnancy associated with in vitro fertilization and embryo transfer: a possible role for routine vaginal ultrasound, Fertil. Steril., 51: 1057, 1989
6) Dicker, D., Goldman, G., Feldberg, D., Ashkenazi, J., Goldman, J. A.: Heterotopic pregnancy after IVF-ET: report of a case and review of the literature, Hum. Reprod., 4: 335, 1989
7) Poter, R., Smith, B., Ahuja, K., Tucker, M., Craft, I.: Combined twin ectopic pregnancy and intrauterine gestation following in-viyro fertilization, J. In Vitro Fertil. Eembryo Ttransfer, 3: 330, 1986
8) Yonich, J. L., McColm, S. C., Turner, S. R., Matson, P. L.: Heterotopic pregnancy from in vitro fertilization, J. In Vitro Fertil. Embryo Transfer, 2: 146, 1985
9) Breen, T. M., Fuller, S. M., Harrison, K. L., Wilson, L. M., Hennessey, J. F., Shaw, J. M., Shaw, G.: Combined twin ectopic pregnancy and intrauterine gestation following in vitro fertilization and embryo transfer, J. In Vitro Fertil. Embryo Transfer, 3: 330, 1986
10) Shapiro, B. S., Cullen, M., Taylor, K. J. W.,

DeCherney, A. H.: Transvaginal ultrasonography for the diagnosis of ectopic pregnancy, Fertil. Steril., 50: 425, 1988

A case of heterotopic pregnancy associated with in vitro fertilization and embryo transfer

Tomio Iwabe. Akio Sekijima.
Yoshimasa Oonohara. Masahiro Tanikawa.
Hirofumi Terado. Tasuku Harada.
Toshiko Toda. Yasuyuki Mio
and Kazuo Maeda

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tottori University School of Medicine,
Yonago 683, Japan

Heterotopic pregnancy is a very few events. It has been thought that the incidence is approximately 1/30,000 pregnancies. However, according to the spread of IVF-ET and GIFT program, the incidence of this abnormal pregnancy has rapidly increased. So far several cases of heterotopic pregnancies following IVF-ET program have been reported throughout the world, since the first successful pregnancy in IVF-ET by Steptoe and Edwards in 1976. In this paper, we reports a case of heterotopic pregnancy (combined intra and extra-uterine pregnancy) following IVF-ET.

29-year-old, married nulligravida woman with infetility history for 2 years visited our clinic to consult about a desire for child. Routine investigations for infertility revealed no abnormal findings except for mild oligospermia.

Artificial insemination with husband's sperm (AIH) was carried out more than 10 times after the ovulation induction by clomiphene citrate and the follicular monitoring by ultrasonography as well as measurement of urinary estrogen. IVF-ET program was indicated for further treatment because of failed AIH. IVF-ET procedure were performed under the protocol for IVF-ET in our department. Four out of 7 oocytes retrieved were developed to 2-cell embryos and put back into the uterus. On 16 days after oocyte pick up (OPU), successful pregnancy was confirmed by the measurement of urinary hCG. At 7 weeks and 5 days of gestation, heterotopic pregnancy (a normal intrauterine pregnancy and a left tubal pregnancy) was diagnosed by transvaginal ultrasonography. On the emergent laparotomy, a ectopic pregnancy was confirmed in the left tube which was resected. The postoperative and pregnancy course were uneventful. The patient was delivered through vagina a living 3015g, female infant in good condition at 38 weeks of gestion.

(受付：1990年3日5日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

当院における卵管妊娠保存手術例の臨床検討

A Clinical Study on Cases of Conservative Surgical Treatment of Tubal Pregnancy at this Hospital

国立横浜東病院産婦人科

高野 昇 Noboru TAKANO　上杉健哲 Kentetu UESUGI　山賀明弘 Akihiro YAMAGA

田嶋達矢 Tatuya TAZIMA　田中宏一 Hirokazu TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology,
National Yokohama Higashi Hospital,
Yokohama 215, Japan

千葉大学医学部産婦人科

田中尚武 Naotake TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Chiba University,
Chiba 280, Japan

過去10年間に取り扱った子宮外妊娠35例中11例に卵管機能保存手術を施行し、術後妊娠の成立をみたもの2例18.2％，反復子宮外妊娠，流産例なく，2例とも正常分娩であった。9例に卵管通気試験，HSGにより術後の経過を観察し得たが4例は疎通性良好，3例は疎通性はあるものの不良，2例は全く疎通性がみられず、卵管の疎通性からみて9例中7例は妊娠成立可能と考えられたが，妊娠の成立をみたのは良好な疎通性を示した4例の中2例のみであった。なお妊娠例の通気曲線は2例とも術後早期より正常なパターンを示した．

体外受精の成功率，その一般化に，なお問題のある現在11例中2例とは云え生児を得た意義は大きいと考えられた。とくに挙児希望，若年例には卵管温存可能な早期に確診が得られるよう心掛け，手術に際しては，マイクロサージェリー的発想で処理，術後は卵管疎通性の有無とともに卵管周囲の異常所見の検出にも留意し，術後処理になお一層の工夫を加えるべきものと考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 127—135, 1991)

緒　言

卵管妊娠に対して，患側卵管の妊孕性を保存しようとの試みは古くから行われて来たが，救命を第一として，一般には積極的に行なわれなかった．しかし医療の進歩に伴い，安全な手術が可能となり，とくに1970年代からのマイクロサージェリーの普及とともに保存治療が行なわれるようになった．

最近は超音波機器の目ざましい進歩，また免疫学的な技術の開発により，微量のホルモン定量が可能となり，さらには腹腔鏡検査の普及により卵管妊娠が中絶以前に発見され，卵管の損傷の少ない保存し易い早期の症例が増える傾向にある。近年IVF-ETの応用により卵管妊娠に対して保存手術は従来ほどの必要性はなくなってきたとの考えもあるが，IVF-ETについて解決されなければならない問題も多く，現

時点では，とくに挙児を希望する者，将来妊娠を期待しなければならない例については卵管を保存する手術が当然考慮されなければならない．今後の卵管妊娠の取り扱いについての指針を得るため臨床検討を行った．

I　対象ならびに臨床研究方法

1）過去10年間（1977～1986）に当院で取り扱った子宮外妊娠は35例，この中，卵管妊娠は30例85.7％，卵巣妊娠2例5.7％，その他3例8.6％であった。この中，卵管機能保存手術を施行したもの11例31.4％で，この11例を対象に検討を行った．

2）術前，危険のない限り，一般の術前検査に加え、超音波検査施行後，開腹，原則として術後早期および定期的な卵管通気試験、6カ月後にHSGを施行し，臨床経過を観察した．

II　臨床研究結果

1）対象卵管機能保存手術例の予後

卵管機能保存手術施行11例の一覧を表1に示した．対象11例の年齢は22～42歳，平均29.6歳，手術時の妊娠週数は6～10週で，11例の中2例(18.2％)，1例は6カ月，1例は1年半後に妊娠成立，反復外妊，流早産例なく，2例とも正常分娩であった．

2）卵管機能保存手術例の適応

対象11例中不妊を主訴とする者4例，3例は未婚(術後全例結婚)，1例は外妊，卵管形成術後，1例は再婚，卵管結紮復元手術後の外妊例で11例中9例81.8％は当然卵管機能保存手術を考慮すべき症例で，他の2例も，1例は未産婦で強く挙児を希望した例であった．

3）妊卵着床部位とその中絶様式

取り扱った30例の卵管妊娠の中，右卵管妊娠21例，左卵管妊娠9例，卵管采から卵管膨大部にかけての着床は21例，峡部着床9例，中絶様式は破裂13例，流産例は17例であった．対象11例の妊卵着床部位は卵管采から膨大部8例72.7％，流産例は7例63.6％，その殆どが卵管采から膨大部にかけての着床で，中絶様式は流産が多く，温存しやすい例であった．

4）術前超音波像ならびに妊娠反応

取り扱った子宮外妊娠35例中20例に，術前，超音波で検討できたが，20例中17例85％に，子宮外に腫瘤エコーを認め，とくに卵管膨大部に着床した例では流産，破裂の別なく全例子宮外に腫瘤エコーが観察された，子宮外GS，fetal echoについても膨大部に着床した例ではそれぞれ75％，58.3％と高率に観察され，20例中17例85％は超音波像から子宮外妊娠を強く疑うことができた．なお妊娠反応は20例中17例85％が陽性で，両検査併せることにより，20例中19例95％とほぼ全例術前に子宮外妊娠を強く疑うことができた．

対象11例中8例に術前超音波検査を施行し得たが，両側附属器癒着，子宮底部，後面に妊卵着床の

表1　子宮外妊娠機能保存手術症例一覧

n＝11

症例	年齢	既往歴	妊娠歴 経妊 経産(中絶/流産)	手術時妊娠週数	開腹所見 着床部位	中絶様式	腹腔出血量 ＋＜1000 ＋1000～2000 ＋＋＞2000	卵管腫大 母指頭大	卵管腫大 母指頭大以上	反対側附属器所見 その他	術式	予後 ( )妊娠成立までの期間
1. [redacted]	30	不妊	0－0	7	(右)膨大部	破裂	＋		●	異常なし	内容清掃 破裂部位縫合	正常分娩 (6カ月)
2.	29	不妊 左卵巣摘出	0－0	7	(右)峡部	破裂	＋		●	(左)附属器なし	着床部位切除 靖々吻合術	
3.	28	外妊 卵管形成術	2－0 (0/1)	7	(右)膨大部	流産	＋		●	(左)卵管なし	内部清掃 圧迫止血	
4.	34	不妊	0－0	10	(左)采部	流産	＋＋	なし		異常なし	采部切除 側壁開窓術	
5.	22	不妊	0－0	8	(右)峡部	流産	＋		●	(左)卵管采閉塞	(右)緻切開→内容除去→縫合 (左)側壁開窓術	
6.	25	／	3－0 (2/1)	6	(右)膨大部↕采部	流産	＋		●	異常なし	内容清掃 圧迫止血	正常分娩 (帝切)
7.	27	(未婚)	0－0	9	(右)膨大部	流産	＋		●	異常なし	内容清掃 圧迫止血	(1年5カ月)
8.	28	虫垂切除	1－1	?	(右)采部	流産	＋＋	なし		軽度癒着	(右)卵巣部分切除 采部癒着剝離	
9.	27	(未婚)	1－0 (1/0)	?	腹腔妊娠		＋＋			両側附属器癒着	両側附属器癒着剝離	
10.	42	卵管結紮復元手術 (再婚)	4－3 (0/1)	7	(右)膨大部	流産	＋		●	(左)卵管萎縮	内容清掃 外反縫合	
11.	34	(未婚)	2－0 (2/0)	8	(右)膨大部	破裂	＋＋	●		(左)チョコレート嚢腫	(右)内容清掃 破裂部縫合 (左)卵巣部分切除	

みられた症例⑨の1例を除き，表2の如く8例中7例は超音波診断で子宮外にGS，腫瘤あるいは子宮外にecho free space（EFS）などが観察され，8例全例が妊娠反応陽性で，妊娠6週1例，7週4例と比較的早期に外妊が確診された．

5）対象機能保存手術例の開腹所見と術式

開腹所見と術式についての検討結果も表1に示したが，反対側附属器に異常所見の無いもの4例で，他の7例63.6％は卵管，卵巣無し，それぞれ1例を含め反対側卵管による妊娠の可能性の少ない症例であった．卵管破裂3例，流産7例で，母指頭大以上の着床部位腫大例は2例のみであった．応用術式は，卵管内清掃，圧迫止血のみ3例，内容清掃，破裂部縫合2例，着床部切除に端々吻合術，開窓術を加えたものそれぞれ1例，また内容除去時切開を加え，縫合したもの2例，癒着剝離術のみのもの2例である．妊娠成立は内容清掃に圧迫止血，内容清掃と破裂部縫合例の比較的手術侵襲の少ない2例にみられた．

6）機能保存手術例の術後HSG所見

対象11例中術後施行し得た9例のHSG像の分析結果を表3に示したが，患側9卵管中4卵管は術後疎通性が保たれていたが，3卵管は疎通性あるも不良，2卵管は全く疎通性が認められなかった．疎通性の有無からみれば9例中7例は妊娠可能であるが，妊娠の成立は疎通性良好4例の中2例のみであった．術式と術後の卵管疎通性，妊娠成立との関係については少数例のため明らかにし得なかった．

以下実際例を呈示する．図1は妊娠の成立をみた症例①の術後のHSGで，右卵管峡部着床，卵管に縦切開を加えた例で患側卵管陰影拡大，疎通性不明瞭で健側卵管による妊娠が優位と考えられた．図2は同様妊娠の成立をみた症例⑥の術後のHSGで，右卵管膨大部から采部に妊卵着床，内容清掃，圧迫止血した例で，患側卵管陰影全く正常で，左右いずれの卵管による妊娠かHSG像からでは不明であった．図3は症例⑪，未婚例のHSG像で，開腹時癒着など異常所見のみられなかった左罹患側卵管も陰影拡大し，卵管周囲癒着が予想され，卵管形成術を必要とした．術後妊娠成立の可能性，その予後の判断は卵管の疎通性の有無のみにては不十分であり，表3に示す造影剤の卵管流出，拡散状態に注目，卵管周囲の異常所見の検出にも留意し，積極的に腹腔鏡検査を施行，対策をたてる必要性が示唆された．

7）機能保存手術例の術後卵管通気試験

対象11例中10例について，卵管通気試験で術後経過を観察できたが，図4の如く，妊娠成立2例とも術後早期から正常曲線を示し，HSG所見と合わせると，ある程度予後の予測が可能で，術後癒着予防処置など必要性の有無への補助診断になり得ると考えられた．

考　察

医療機器の長足の進歩，ホルモンの微量定量法の開発などにより，疾患によってはその診断方法や手順に変化がみられるようになってきた．従来から外妊の診断として行われてきたダグラス窩穿刺は，必ずしも行わなくても，妊娠反応陽性，超音波診断で，子宮内にGSなく，子宮外に腫瘤エコーあるいはダグラス窩にEFSを認めれば，子宮外妊娠の診断がほぼ

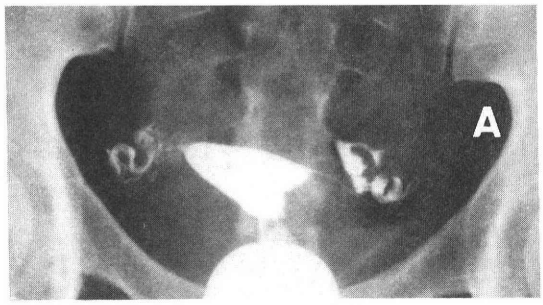
表2　子宮外妊娠機能保存手術症例の術前超音波像　　n＝11

症例	妊娠週数	妊卵着床部位	中絶様式	超音波所見						妊娠反応	超音波診断↓疑い
				子宮内膜肥厚	子宮外腫瘤	子宮外GS	Fetal echo	FHB	子宮外EFS		
1. [redacted]	7	(右)膨大部	破裂	(未施行)						+	
2.	7	(右)峡　部	破裂	(未施行)						+	
3.	7	(右)膨大部	流産	(未施行)						+	
4.	10	(左)采　部	流産	−	+	+	−	−	+	+	+
5.	8	(右)峡　部	流産	−	+	+	+	+	−	+	+
6.	6	(右)膨大部↕采部	流産	+	+	−	−	−	+	+	+
7.	9	(右)膨大部	流産	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	?	(右)采　部	流産	+	+	−	−	−	+	+	+
9.	?	腹腔妊娠	／	−	−	−	−	−	±	+	±
10.	7	(右)膨大部	流産	+	+	+	+	−	+	+	+
11.	8	(右)膨大部	破裂	+	+	+	−	−	+	+	+

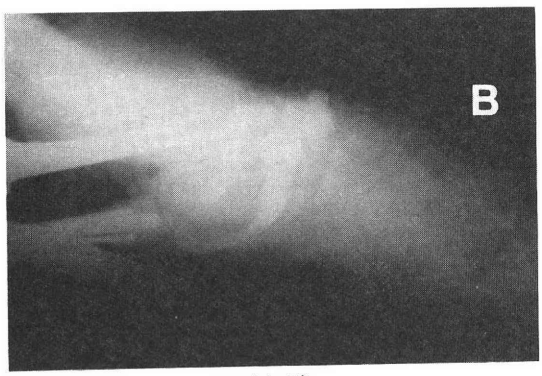
確定する．患者への負担も少なく，救急の状況下では，現在超音波診断は外妊に対するfirst choiceの診断法とも言えよう．なお高感度の妊娠反応の応用，さらに腹腔鏡の積極的な応用により，流産，破裂前の状態で卵管妊娠を確認，腹腔鏡下で保存手術[1)2)]も行われるようになってきた．当院で取り扱った30例の卵管妊娠中20例について，術前超音波で検討し，17例85％が超音波像から子宮外妊娠を強く疑い，超音波診断のない時代に比べ，簡単に，しかも早期に対策をたてることができた．とくに膨大部着床例で

表3　子宮外妊娠機能保存手術例の術後HSG像

症例	No.	①	2	3	4	5	⑥	9	10	11
	着床部位	右，膨大部	右，峡部	右，膨大部	左，采部	右，峡部	右，膨→采	腹腔妊娠	右，膨大部	右，膨大部
	中絶様式	破裂	破裂	流産	流産	流産	流産	／	流産	破裂
	反対側所見	異常なし	左，附属器なし	左，卵管なし	異常なし	左，采部閉塞	異常なし	軽度癒着	左，卵管萎縮	左，チョコレートのう腫
HSG像所見 術式		内容清掃 破裂縫合	端々吻合	内容清掃 圧迫止血	采部切除 側壁開窓	右，切開，内容除去縫合 左，側壁開窓	内容清掃 圧迫止血	剝離術	内容清掃 反転縫合	内容清掃 破裂縫合
子宮陰影										
位置偏位		+	−	−	−	−	−	−	−	+
陰影異常		−	−	±	+	−	±	−	−	±
卵管陰影										
疎通性	外妊側	±	−	±	+	+	+		−	±
	反対側	+	欠損	欠損	+	+	+	+ +	−	±
走行形態	正常					●	● ●	● ●	●	
	異常	● ●		●	● ●	●				● ●
陰影異常	無	●			●	● ●	● ●	● ●	●	
	有	●		●	●					● ●
造影剤卵管通過様式										
膨大部正常→流出							● ●	● ●		
膨大部拡大→流出		●				● ●				
膨大部充満→流出										
噴出状				●						●
のう胞状					●					●
jet気流状										
卵管周囲陰影										
囲繞限局		●								
雲状限局					●					●
のう胞状限局					●					●
異常なし，その他				●		● ●	● ●	● ●		
腹腔陰影										
拡散 著明						●	●	●		
拡散 限局		●		●	●					
拡散 なし										●
ダグラス窩 著明					●	●	●	●		
ダグラス窩 浅い										
ダグラス窩 欠損		●		●						●



A：造影剤注入直後

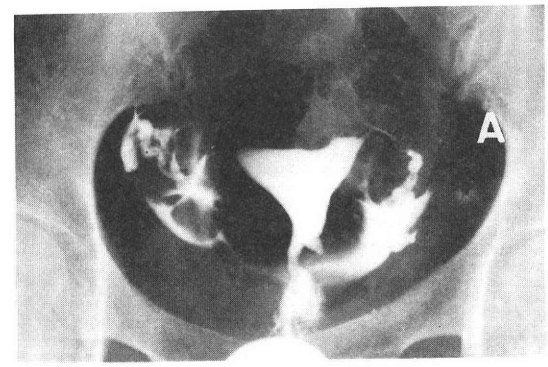


B：側面像

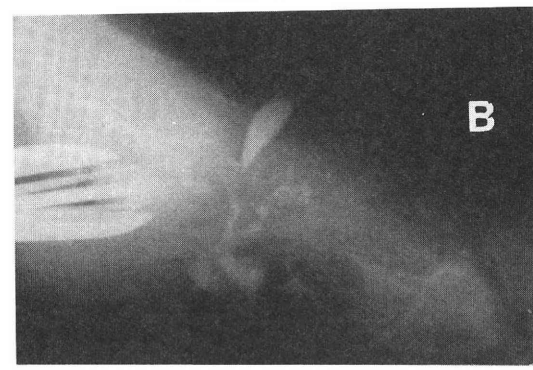


C：造影剤注入5分後

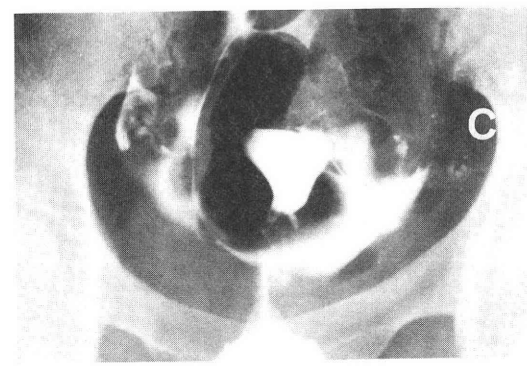
図1　妊娠成立をみた症例①の術後 HSG 像



A：造影剤注入直後



B：側面像



C：造影剤注入5分後

図2　妊娠成立をみた症例⑥の術後 HSG 像

は流産，破裂の別なく全例子宮腔内に GS なく，子宮外に腫瘤エコー，ダグラス窩に EFS を認め，これらの超音波像に妊娠反応の結果を併せれば，その診断はほぼ確実となり，今後，さらに卵管の損傷の少ない保存可能な症例が増加するものと考えられた．

外妊の超音波診断基準として，島ら[4]は，①子宮内胎嚢像，②子宮外胎嚢像，胎芽胎児像および心拍動，③子宮外腫瘤像，④腹腔内，骨盤腔内貯留液像の検索をあげ，これらの所見に臨床経過，妊娠反応の結果を加え検討すれば，ほぼ診断は確定し，実際に外妊23例中11例に超音波検査施行，10例90.9％が開腹前に外妊の診断を下すことが出来たと報告している。また卵管妊娠例の尿中 HCG 濃度について，吉田ら[4]は一般の妊娠反応（1,000 IU/l の order）では，子宮外妊娠の妊反陽性率は23例中14例60.9％であったが，異常値を160 IU/l 以上とすれば23例中21例，80 IU/l 以上とすると22例が尿中に HCG が証明され，高感度測定試薬を用いれば卵管妊娠のほとんどの例で HCG を証明することが可能であると報告している．

子宮外妊娠保存手術の意義について，浜田ら[5]は文



A：造影剤注入直後



B：側面像



C：造影剤注入5分後

図3　妊娠不成立、症例⑪の術後HSG像

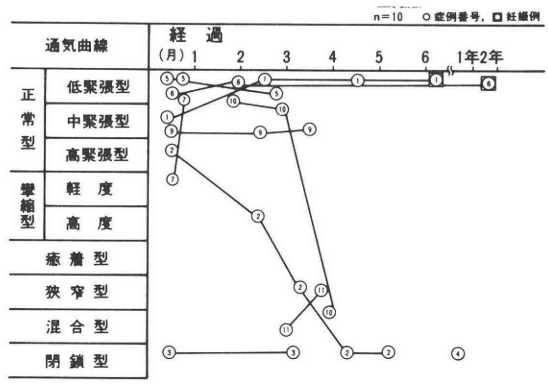


図4　子宮外妊娠機能保存手術例の通気曲線

献的に検討し，根治後の子宮内妊娠は28～58％，正常分娩19～48％，保存手術では16～100％，14～50％と変わらず，反復外妊の頻度も根治後0～28％，保存手術後0～16％とほぼ変わらず，またSiegler[6]の保存手術後の外妊反復率が卵管形成術後の反復率と変わらないなどの報告から判断し，保存手術によりとくに反復外妊が増加する傾向はなく，卵管妊娠保存手術はマイクロサージェリーの導入によりより効果的となり，今後の保存手術の意義が高まることが期待されると報告している．また野口ら[7]は卵管保存手術45例中追求し得た28例のうち妊娠16例，分娩8例，とくに非患側に妊孕性のない16例の中3例に生児を得，必ずしも満足すべき結果ではないが，数値的な価値判断でなく保存手術により永久不妊を回避し，生児を得る可能性を評価すべきであると報告している．

当院での成績も11例中2例18.2％と少数例ではあるが妊娠成立，当院のマイクロサージェリー導入以前の卵管形成術時代の妊娠成立率とほぼ同等の妊娠成立率[8]で，2例ではあるが生児を得た意義は大きいと考えている．

手術については，妊卵着床部位によって当然保存手術法の適応が限定され，卵管采から膨大部にかけては卵管内容圧出法，卵管峡部では卵管切開，端々吻合術，卵管間質部では卵管移植が適当と考えられる．保存手術の方法別妊娠成立率については，Timonenら[9]は切開法が圧出法，端々吻合に比べ妊娠率高く，Järvinen[10]は反対側卵管欠損卵管妊娠例で圧出法は50％，切開法35.7％，部分切除では8.7％であったと報告しているが，状況判断の上，適切な，より侵襲の少ない方法を選択すべきと考える．

マイクロサージェリーの導入によりStangelら[11]は2例中2例に子宮内妊娠，Chernerら[12]は6例中4例の分娩例を報告，少数例であるが治療成績の向上を認め，最近のOelsnerら[13]の報告では両側卵管のある卵管妊娠30例，反対側卵管のない卵管妊娠28例にマイクロサージェリーによる保存手術を行い，それぞれ17例（68％），12例（46％）の高率な妊娠の成立を認め，両側卵管保存例は卵管摘出例に比べ高い妊娠率で，外妊率低く，なお反対側卵管のない例においても子宮内妊娠率はIVF-ETの妊娠率より良好であったとしている．術中，とくに問題になるのは

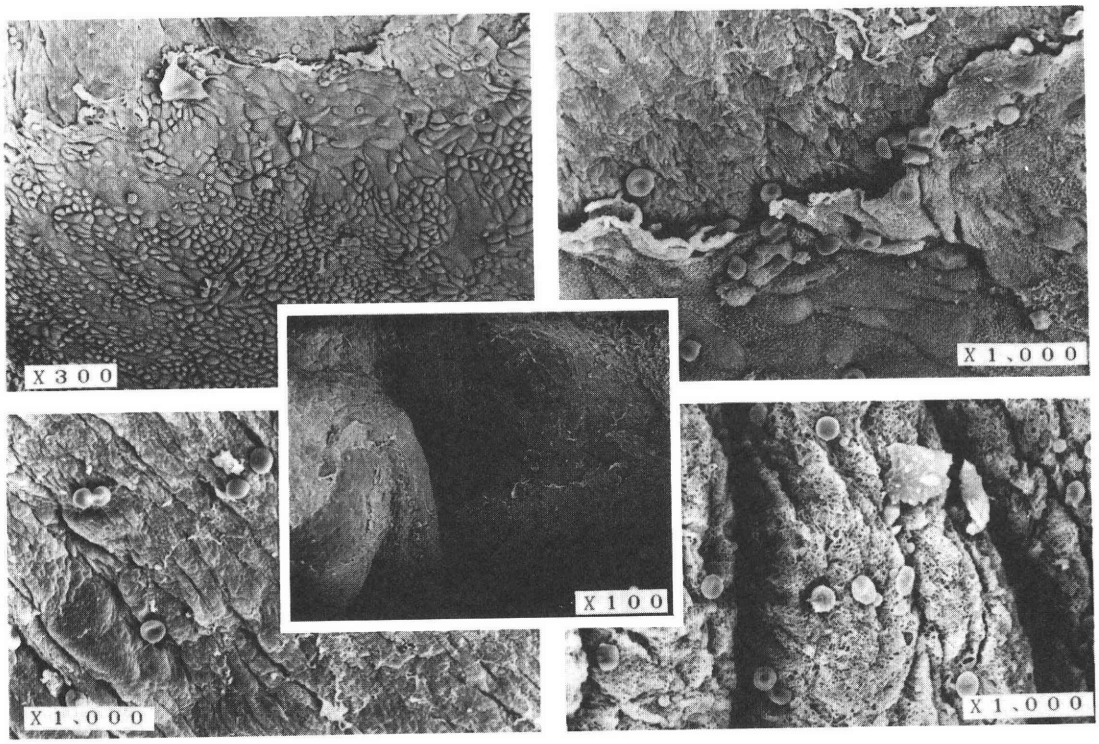


図5　卵管妊娠着床部周辺の卵管内膜走査型電子顕微鏡像

止血で，Kelly ら[14]は卵管切開法による保存手術後18日目に再開腹を必要とした2例の腹腔内出血例を報告している．術中の止血について，宮崎ら[15]は手術時卵管に付着した絨毛をより早く退縮させる目的でmethotrexate (MTX) の局所使用も考えられるとしているが，とくに圧出法応用時の止血には試してみる価値があるもと考えている．

図5に摘出した卵管妊娠，妊卵着床周辺の卵管粘膜上皮の走査型電子顕微鏡像の1例を呈示したが，妊卵着床部，その周辺の内膜上皮に比較的広範囲の剝離が観察され，卵管内膜上皮剝離が比較的容易であることが示唆された．また Dietl ら[16]は卵管妊娠の trophoblast は extraluminal subperitoneal に発育し，卵管の拡大は凝血のためで，卵管保存に際しては，この事を念頭に行う注意が肝心であるとしているが，凝血塊の除去には慎重さが必要と思われる．なお最近，腹腔鏡下での保存手術の報告[17][18]が散見されるが，とくに Cartwright ら[19]は，27例の径4 cm以下，未破裂卵管膨大部妊娠例を腹腔鏡下で保存手術を行い，検査し得た8例中6例に術後卵管の疎通性，妊娠を希望した8例中5例に妊娠の成立を認め，症例を選べば安全に，効果的な治療法となり得ると報告している．しかし腹腔鏡下での手術は，技術を必要とし，症例を選ばねばならず，現況では一般化に，なお問題が多いと思われる．

宮崎ら[20]は MTX による非観血的な卵管妊娠の治療例15例中11例に治療後 HSG 施行，卵管手術の既往のない7例では1例のみに卵管閉塞がみられ，他の6例 (85.7％) は全例疎通性良好であったと報告しているが，当院の術後施行し得た9例の HSG の検討では，患側卵管陰影に全く異常のみられなかったのは1例のみで，他の HSG 施行7例の患側卵管の中5例71.4％は疎通性はあるも，卵管走行方向の異常，卵管膨大部の拡大など卵管周囲の癒着を予想させる陰影が4例80.0％にみられた．なお反対側卵管が正常であった3例中2例に，卵管走行異常，卵管周囲癒着など異常所見の出現が観察された．術後早期に癒着の起こる事を考え，川内ら[21]の提唱する術後比較的早期の腹腔鏡による癒着剝離，また術後早期に通気，薬物注入などを応用，術後処置に，なお一層の工夫が必要と考えられた．なお卵管妊娠の保存手術の今後について，藤本ら[22]は MTX 療法施行後の保存手術は，病巣からの出血も少なく，予後良好で，卵管妊娠に対して MTX 局注もしくは静脈内大量療法後の開腹，切開術が一般に行われるようになるかも知れないと述べている．

体外受精の成功率，一般化になお問題のある現時点では，外妊の疑いある場合，とくに未婚，挙児希望例に対しては，高感度妊娠反応，超音波診断などを応用し早期に外妊を発見するよう心がけ，手術に際しては入念にマイクロサージェリー的発想での処理は勿論であるが，術前にMTXの使用，また術後癒着についての対策としての術後腹腔鏡の応用も今後の課題として検討を進めたいと考えている．
(本論文の要旨は第96回日本不妊学会関東地方部会で発表した．)

文　献

1) 亀田　隆，竹村昌彦，笠原幹司，根来孝夫，三宅侃，佐治文隆，谷沢　修：子宮外（卵管）妊娠の腹腔鏡診断と卵管保存手術，産婦進歩，40：291，1988
2) 須藤寛人，加藤政美，上田宏之，望月雅子，古谷元康：卵管未破裂妊娠に保存手術を施行した症例の予後，日産婦新潟地方部会誌，48：4，1988
3) 島　功，池野暢子，渡辺正昭，遠藤　紘，高橋克幸，丹野　修：子宮外妊娠における超音波断層所見の検討，産婦治療，48：141，1984
4) 吉田　威，佐藤博信，服部　浩，星合　昊：卵管妊娠例の尿中HCG濃度，産と婦，43：106，1976
5) 浜田和孝，迫　久男，岡本吉夫：子宮外（卵管）妊娠の保存的，産婦の世界，34：25，1982
6) Siegler, A. M.: Salpingoplasty: Classification and report of 115 operations, Obstet, Gynecol., 34: 339, 1969
7) 野口昭二，室井克夫，前田光士，渡辺　肇，向井治文：卵管妊娠の保存手術(その適応と限界)，産婦実際，29：1303，1980
8) 高野　昇：卵管通過障害の治療，産婦人科MOOK No. 5，182，金原出版，1979
9) Timonen, S. and Nieminen, U.: Tubal pregnancy choice of operative method of treatment, Acta Obstet. Gynecol. Scand., 46: 327, 1967
10) Järvinen, P. A.: The value of conservative surgery in the treatment of tubal pregnancy, Internat. J. Fertil., 6: 269, 1961
11) Stangel, J. J. et al.: Conservative surgical management of tubal pregnancy,Obstet. Gynecol., 48:241, 1976
12) De-Cherney, A. et al.: The conservative surgical management of unruptured ectopic pregnancy, Obstet. Gynecol. , 54: 451, 1979
13) Oesner, G. et al.: Reproductive performance following conservertive microsurgical management of tubal pregnancy, Br. J. Obstet. Gynecol., 94: 1087, 1987
14) Kelly, R. W., Martin, S. A. and Stricler, R. C.: Delayed hemorrhage in coservative surgery for ectopic pregnancy, Am. J. Obstet. Gynecol., 133: 225, 1979
15) 宮崎幸雄，椎名美博，一戸喜兵衛：子宮外妊娠における卵管保存治療，産婦の世界，36：39，1984
16) Dietl, J., Buchholz, F. and Kindler, P. A.: Histopathology of tubal pregnancy, Int. J. Gynecol. Obstet., 27: 385, 1988
17) Decherney, A. M., Romero, R. and Ntofolin, F.: Surgical management of unruputured ectopic pregnancy, Fertil. Steril., 35: 21, 1981
18) 岩田善行，宮本尚彦，山元　浩：子宮外妊娠の保存手術，産婦治療，44：275，1982
19) Cartwright, P. S., Herbert, C. M. and Maxson, W. S.: Operative laparoscopy for the management of tubal pregnancy, J. Reprod. Med., 31: 589, 1986
20) 宮崎幸雄，椎名美博，和気徳雄，岡田雄一，山崎秀博，竹田和市，一戸喜兵衛：卵管妊娠の非観血的治療法の検討，日産婦誌，35：489，1983
21) 川内博人，中居光生，石川雅一，飯野譲二，新井正夫：マイクロサージェリーおよび術後早期second look laparosopy下の癒着剝離，産婦人科診療上の問題点，376，診断と治療社，1988
22) 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，臨婦産，43：575，1989

A clinical study on cases of conservative surgical treatment of tubal pregnancy at this hospital

Noboru Takano, Kentetu Uesugi, Akihiro Yamaga, Tatuya Tazima and Hirokazu Tanaka

Department of Obstetrics and Gynecology, National Yokohama Higashi Hospital, Yokohama 215, Japan

Naotake Tanaka

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Chiba University, Chiba 280, Japan

Preoperative diagnosis, findings of laparotomy, surgical technique and prognosis in connection with conservative operation for tubal pregnancy at this hospital were studied and results obtained were used as a therapeutic guide for the future.

Cases of extrauterine gestation treated at this hospital in the past 10 years numbered 35. Conservative operation with the fallopian tubes left intact was performed in 11 cases of them. According to observations hitherto made, gestation was established in 2 cases, 18.2%. Both cases had normal delivery and no repetition of extrauterine gestation was noted. After operation, tubal insufflation and

HSG were performed in 9 out of 11 cases, and the presence or not of patency of the fallopian tubes after conservative treatment and conditions around the fallopian tubes were studied. The patency was well kept in 4 cases; the patency was present but poor in 3 cases; and, patency was not observed at all in 2 cases. Judging from the patency of the fallopian tubes, gestation was considered possible in 7 out of 9 cases, but it was in only 2 out of 4 cases with good patency that gestation was established. As for the insufflation curve in pregnant cases, it had shown a normal pattern in both cases from early after operation. It was considered of great significance to have obtained a live baby, though in only 2 out of 11 cases, at present when there still is something to be desired about the rate of successful gestation in and popularization of external fertilization. Particularly for the young who desire to have a child, efforts to make an established diagnosis should be made by carrying out a highly sensitive pregnancy test and ultrasonic diagnosis in the early stage when the conservative surgical treatment is possible in the case of extrauterine gestation being suspected. On surgical operation, the tubal pregnancy should be treaed on the basis of the same idea as in microsurgery. After operation, attention should be paid to not only confirmation of the presence or not of patency of the fallopian tubes but also detection of abnormal findings around the fallopian tubes. Further ingenuity should be exerted in improving the postoperative treatments such as prevention of tubal stenosis and adhesion around the fallopian tubes.

(受付：1990年3月26日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

マイクロサージャリーによる卵管形成術後の妊娠率に及ぼす予後決定因子

Prognostic Factors of Tubal Microsurgery

大阪大学医学部産婦人科学教室

亀田 隆 Takashi KAMEDA　倉智博久 Hirohisa KURACHI　谷口 武 Takeshi TANIGUCHI
脇本昭憲 Akinori WAKIMOTO　大道正英 Masahide OHMICHI　三宅 侃 Akira MIYAKE
佐治文隆 Fumitaka SAJI　谷澤 修 Osamu TANIZAWA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Osaka University Medical School,
Osaka, 553, Japan

大阪厚生年金病院産婦人科

丸尾 薫 Kaoru MARUO　柳田隆穂 Takao YANAGIDA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Osaka Kosei-Nenkin Hospital
Osaka, 553, Japan

マイクロサージャリーによる卵管形成術を施行した卵管性不妊42例を対象として，年齢，手術術式，付属器周囲癒着の程度，卵管留水腫の有無と妊娠率との関連性について検討した．
（1）対象42例中13例（31％）が妊娠し，34歳以下の群では有意（$P<0.05$）に妊娠率が高かった．（2）妊娠率は手術術式で異なり，卵管吻合術および卵管采形成術では各々37％，50％と高率であったが卵管開口術では10％，と低率であった．（3）付属器周囲癒着の程度をGomelの方法で分類した場合，癒着がないか軽度の症例の妊娠率は各々41％，50％と高率であったが，中等度または重度の妊娠率は各々22％，10％と低率であった．（4）卵管留水腫は42例中14例（33％）に認められたが，妊娠に成功したのは1例（7％）に過ぎず，残る13例は妊娠しなかった．
以上の結果より年齢，手術術式，付属器周囲癒着の程度および卵管留水腫の有無は術後成績に重大な影響を及ぼす予後決定因子と考えられた．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 136－140, 1991)

緒　言

卵管性不妊患者に対する治療方針は，マイクロサージャリーを用いた卵管形成術が第一選択である．卵管形成術施行の最終判定は，子宮卵管造影および腹腔鏡による内性器の評価などから総合的にされる．腹腔鏡による内性器の評価は付属器周囲癒着の判定という点で重要なだけでなく，子宮卵管造影検査や通気検査だけでは誤った判定を下しやすい卵管通過性の最終確認という点でも重要である[1]．しかし，総

合的な評価判定法とは言え，その方針決定に迷う症例も多い．一方体外受精・胚移植（以下IVF-ETと略）の臨床応用に伴い，卵管形成手術不能例や卵管形成術後も疎通性の確保できなかった症例に対し，IVF-ETが行われることによって良好な成績を得つつある．このため技術的に困難な卵管形成術を行うよりも，IVF-ETを優先させた方が良い場合も起こり得ると考えられる．このような場合，卵管形成術後の妊娠率を左右する予後決定因子にはどの様なものがあり，どの程度に影響するのか，さらに卵管形成術後の観察期間をどの程度にするのかを知ることは，重要な課題である．

我々は，マイクロサージャリーによる卵管形成術を施行した卵管性不妊42例を対象としてretrospectiveに，年齢，手術術式，付属器周囲癒着の程度，および卵管留水腫の有無が妊娠率に及ぼす影響，さらに手術後の妊娠までの期間について検討したので報告する．

対象および方法

昭和57年11月より昭和63年8月までに大阪大学医学部付属病院および大阪厚生年金病院で，マイクロサージャリーによる卵管形成術を施行した卵管性不妊患者42例を対象とした．42例の平均年齢は31.5±4.7歳，平均不妊期間は5.8±3.8年，原発不妊30例，続発不妊12例である．

マイクロサージャリーには，Zeiss社製のOPMI7DまたはOPMI6SDFCを用いた．卵管形成術の手術術式は卵管吻合術，卵管開口術，卵管采形成術，子宮卵管移植術および付属器周囲癒着剝離術の5つに分類した．付属器周囲癒着程度の判定にはGomelの分類を用い[2]，付属器周囲癒着の全くないものを「なし」，卵管または卵巣の癒着1cm以下で薄い膜様癒着のものを「軽度」，卵管または卵巣の癒着がその全体に及ぶものを「重度」，軽度と重度の中間の癒着の程度のものを「中等度」とした．卵管留水腫の診断は，最大卵管径1.5cm以上のものとした．また手術終了時に，全例に癒着防止のためにデキサメタゾン20mgを腹腔内に投与した．退院後の外来における卵管疎通性の確認は，通気検査または子宮卵管造影を用いて行った．そなわち手術3か月以内は手術後の治癒過程を障害しないように通気検査を行い，手術後3か月以後は主に子宮卵管造影検査を行った．

なお統計学的処理には，t検定を用いた．

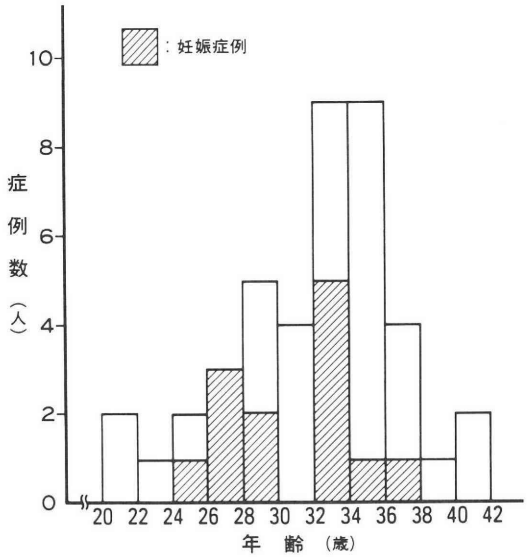


図1　手術症例および妊娠症例の年齢分布

結　果

1．対象症例の年齢分布と妊娠症例の成績

手術施行42例のうち35例（83％）に術後卵管疎通性を確認した．42例中妊娠に成功したのは13例(31％）であった．13例の妊娠経過は，8例が満期産，1例が妊娠中期まで順調に経過している．自然流産は2例（15％）に認められ．子宮外妊娠も2例（15％）に認められた．

42症例のうち妊娠に成功した13例の平均年齢は30.2±3.7歳，妊娠に成功しなかった29例の平均年齢は32.1±5.0歳と妊娠例が若かったが，両者の間に有意な差はなかった（図1）．しかし42症例を34歳で区切り，34歳未満26例の群と34歳以上の16例の群との妊娠率を比較すると，34歳未満の群の妊娠率が有意（$P<0.05$）に高いことが判明した．

2．手術術式別の妊娠率（表1）

手術術式別に妊娠率の検討を行った．卵管吻合術は27例に行われ，10例（37％）が妊娠に成功した．この27例には，卵管結紮手術後の再疎通術症例が6

表1　マイクロサージェリー術式別手術数と妊娠数(率)

マイクロサージェリー術式	手術数(％)	妊娠数(％)*
卵管吻合術	27 (64)	10 (37)
卵管開口術	9 (22)	1 (11)
卵管采形成術	4 (10)	2 (50)
卵管移植術	1 (2)	0 (0)
付属器周囲癒着剝離術	1 (2)	0 (0)
計	42 (100)	13 (31)

＊該当術式における妊娠率

例含まれており，4例（67％）が妊娠に成功した．卵管采形成術は4例に行われ，2例（50％）が妊娠に成功し，卵管吻合術ともあわせて良好な成績であった．一方卵管開口術は9例に行われたが，妊娠に成功したのは1例（11％）のみであった．子宮卵管移植術および付属器周囲癒着剝離術のみを行った例は，各々1例ずつであったが，妊娠例はみられなかった．従って，卵管吻合術や卵管采形成術の術後妊娠率は良好であったが，卵管開口例の妊娠率は低率であったことから，手術術式によって妊娠率に大きな相違を認めた．

表2　付属器周囲癒着の程度と妊娠率

癒着程度	術式	手術数（%）		妊娠数（%）*	
なし	卵管吻合術	12	17（40%）	5	7（41%）
	卵管開口術	3		0	
	卵管采形成術	2		2	
軽度	卵管吻合術	4	6（14%）	3	3（50%）
	卵管開口術	1		0	
	卵管采形成術	1		0	
中等度	卵管吻合術	6	9（21%）	1	2（22%）
	卵管開口術	2		1	
	卵管采形成術	1		0	
重度	卵管吻合術	5	10（25%）	1	1（10%）
	卵管開口術	3		0	
	卵管移植術	1		0	
	卵管癒着剝離術	1		0	
計		42（100%）		13（31%）	

＊癒着程度による手術数毎の妊娠率

表3　卵管留水症が妊娠率におよぼす影響

卵管留水症	症例数	妊娠数
(＋)	14	1（ 7%）
(－)	28	12(43%)

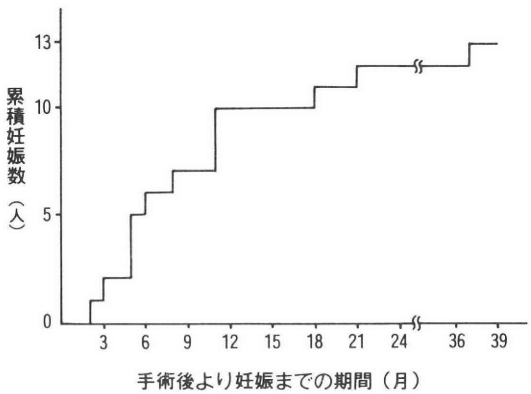


図2　手術後より妊娠までの期間

3．付属器周囲癒着の程度と妊娠率（表2）

Gomelの方法に従って付属器周囲癒着の程度を分類し，妊娠率と比較検討した．付属器周囲癒着が「なし」の17例のうち，7例（41％）が妊娠に成功した．癒着が「軽度」の6例でも3例（50％）が妊娠し良好な成績であった．しかし，癒着が「中等度」の9例では，2例（22％）が妊娠したのみであり，癒着が「重度」の10例で1例（10％）が妊娠したに過ぎなかった．同様の傾向は卵管吻合術に限った場合でも認められた．すなわち，癒着が「なし」または「軽度」の群では，妊娠率は各々41％または75％と良好であったが，癒着が「中等度」または「重度」の群では，妊娠率は各々17％または20％と低かった．従って，付属器周囲癒着は術後妊娠率を低下させる大きな原因の1つと考えられた．

4．卵管留水腫の有無と妊娠率（表3）

卵管留水腫の有無と妊娠率について検討を行った．卵管径1.5cm以上の卵管留水腫は，42例中14例(33％）に認められ，残る28例（67％）には認められなかった．14例の卵管留水腫の中で，妊娠に成功したのは1例（7％）のみで，残る13例（93％）は妊娠しなかった．また妊娠に成功した1例の卵管留水腫も，卵管径が1.5cmと比較的軽症のものであった．一方，卵管留水腫を認めなかった28例の中で，妊娠に成功したのは12例(43％）と高率であった．従って卵管留水腫の有無は，術後妊娠率に重大な影響を及ぼす因子と考えられた．

5．手術後より妊娠までの期間（図2）

手術後より妊娠までの期間は，手術日より妊娠確認までの期間として計算した．最も短い症例の妊娠までの期間は2か月，最も長い症例の妊娠までの期間は3年1か月であり，平均11±9.2か月であった．手術後1年（12か月）の累積妊娠数は13例中10例(77％）であり，大部分が1年以内に妊娠していた．また手術後2年(24か月）では13例中12例(92％）とほとんどの症例で妊娠していた．

考　察

卵管性不妊患者の治療は，マイクロサージャリーを用いた卵管形成術が第一選択である．またマイクロサージャリーによる卵管形成術施行前に，腹腔鏡を行うことで術後妊娠率に関与する因子の推測が可

能となってきた.

我々は.42例のマイクロサージャリーによる卵管形成術をretrospectiveに検討した結果.年齢,手術術式,付属器周囲癒着の程度,卵管留水腫の有無が,術後の妊娠率と一定の関連性のあることを示した.すなわち手術術式においては,卵管吻合術や卵管采形成術の術後妊娠率は良好であったが,卵管開口術や子宮卵管移植術では不良であることを示した.または付属器周囲癒着の程度がGomelの分類で重いほど術後妊娠率は不良であり,卵管留水腫(直径1.5cm以上)を有する場合妊娠率は不良であることを示した.

また妊娠症例の年齢に関して,34歳未満と34歳以上の2群でその妊娠率を比較すると,34歳以下の群で有意($P<0.05$)に妊娠率が高かった.従って,手術の予後がこれら4つの因子によって左右されたことから,これら4つの因子は腹腔鏡所見を含めた術前評価により推測できるマイクロサージャリーの予後決定因子と考えられた.卵管形成術の予後には,従来までは特定の因子に限った予後評価の報告が多かった[3)4)5)].しかし今後患者の妊孕性に関する因子を総合してその予後を推測する評価法が必要になると考えられる.

卵管形成術の予後因子の中でも,付属器周囲癒着は極めて重要と考えられている[6)].事実妊娠率と関連づけて付属器周囲癒着の分類を創案している報告も数多く見られる[7)~10)].しかし1988年にAmerican Fertility Societyが付属器周囲癒着や卵管閉塞について,新たに分類基準を設定[11)]するなど,その評価法について一定の見解が得られていないのが現状である.一方,今回使用したGomelの分類は,妊娠に関連が深いだけでなく,簡便で利用しやすいため,我々はこのGomel分類が付属器周囲癒着の程度の判定に最も有用な分類法と考えている.

年齢と妊娠率の関連性について,一般に35歳を越えると,卵巣機能が若干低下するため妊娠率もやや低下し,40歳以上ではその低下が明らかになると考えられている[6)].今回の検討においても,34歳未満と34歳以上の群で妊娠率に有意差を認めた.従って,予後不良と考えられる付属器卵管周囲癒着が重度の症例や,重度の卵管留水腫を有する開口術症例などでは,IVF-ETを先行させても良いと考えられた。

卵管形成術後の妊娠までの期間は,1年以内にそのほとんどが集中し,2年以降では見られなくなる.ただし卵管開口術では,妊娠までの期間は2～3年の長期間を要すると報告されている[12)].その理由として,卵管留水腫を伴う卵管開口術を行う症例では,卵管の機能回復に時間がかかるためと考えられている[6)].しかし我々の妊娠症例の成績では,手術後2年間で卵管開口術症例を含むそのほとんどが妊娠し,以後1年間の追跡期間中に妊娠例を認めなかったことから,また卵管開口術は一般に他の術式に比べて妊娠率が低いことから,卵管形成術後2年を経過して妊娠しない場合は,IVF-ETも含めた他の治療法に変更すべきと考えられた.

卵管形成術の失敗の主要原因の一つとして,術後の再癒着がある[13)14)].一般に,手術後の再癒着を防止するためには,組織損傷や不必要な組織操作を避けることが重要である.また従来ステロイド剤やデキストラン製剤を使用し,炎症の抑制や組織間の接触回避に広く用いられてきたが,その有用性には疑問も多い.従って今後は再癒着の防止対策が重要な課題と考えられている.長田らは,以前より行われてきた自己腹膜移植に,生物学的組織接着剤を使用することによって,癒着剝離後に行われる自己腹膜移植がより簡便で確実なものとなったと報告している[15)].また手術後早期のsecond look laoparoscopyを行い,形成された再癒着部位を剝離し,良い成績を得たことが報告されている[16)].さらに最近では癒着剝離部位に貼付するだけで,容易に癒着防止可能な材料も考案され,今後の成果が期待される.

文　献

1) 亀田　隆,鮫島義弘,信永敏克,加藤宗寛,東　千尋,松崎　昇,根来孝夫,佐治文隆,谷澤　修:卵管通過性に関する通気検査,子宮卵管造影,腹腔鏡検査の比較検討,日不妊会誌,33:564,1988
2) Gomel, V.: Classification of operations for tubal and peritioneal factors causing infertility, Clinical Obstet. Gynecol., 23: 1259, 1980
3) Boer-Meisel, M. E., Te-Velde, E. R., Habbema, J. D. F. and Kardaum, J. W. P. F.: Predicting the pregnancy outcome in patients treated for hydrosalpinx: A prospective study, Fertil. Steril., 45: 23, 1986
4) Donnez, J. and Casanas-Roux, F.: Prognostic factors of fimbrial microsurgery, Fertil. Steril., 46: 200, 1986
5) Rock, J. A., Katayama, P., Elizabeth, J. M., Woodruff, J. D. and Johnes, H. W.: Factors influencing the success of salpingostomy techniques for distal fimbrial obstruction, Obstet. Gynecol., 52: 591, 1978
6) 藤井明和,井上正人,小林善宗:Microsurgery卵管形成術の適応と予後,産婦の実際,34:973,1985
7) Caspi, E., Halperin, Y. and Bukovsky, I.: The importance of periadnexal adhessions in tubal

reconstructive surgery for infertility, Fetil. Steril., 31: 296, 1979
8) Brosens, I. A. and Degraef, R.: Microbiopsy of the fallopian tube as a method for clinical investigation of tubal function infertility, Int. J. Fertil., 20: 55, 1975
9) Mage, G., Pouly, J. L.,de-Joliniere, J. B., Chabrand, S., Riouallon, A. and Bruhat, M. A.: A preoperative classification to predict the intrauterine and ectopic pregnancy rates after distal tubal microsurgery, Fertil. Steril., 46: 807, 1986
10) Wu, C. H. and Gocial, B.: A pelvic scoring system for infertility surgery, Int. J. Fertil., 33: 341, 1988
11) The American Fertilily Society: The American Fertility Society classfications of adnexal adhessions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, Müllerian anomalies and intrauterine adhessions, Fertil. Steril., 49: 944, 1988
12) Swolin, K.: Electro microsurgery and salpingostomy: long-term results, Am. J. Obstet. Gynecol., 121: 418, 1975
13) Gomel, V.: Causes of failure of reconstructive infertility microsurgery, Clinical Obstet. Gynecol,. 23: 1269, 1980
14) 星合　昊，森良一郎，今泉英明，上原茂樹，京野広一，鈴木雅洲：マイクロサージャリーによる卵管形成術の成績，日不妊会誌，30：451，1985
15) 長田尚夫，津端捷夫，高木繁夫：いわゆる生理的接着剤の外科的臨床応用，産婦治療，50：261，1985
16) 山田裕士，長田尚夫，赤嶺和成，津端捷夫，高木繁夫：産後早期に行う second look laparoscope の有用性について，日産婦内視鏡誌，4：97，1988
17) Interceed (TC7) Adhesion Barrier Study Group: Prevention of postsurgical adhesions by INTERCEED (TC7), an absorbable adhesion barrier: a prospective, randomized multicenter clinical study, Fertil. Steril., 51: 933, 1989

Prognostic factors of tubal microsurgery

Takashi Kameda, Hirohisa Kurachi, Takeshi Taniguchi, Akinori Wakimoto, Masahide Ohmichi, Akira Miyake, Fumitaka Saji and Osamu Tanizawa

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka University Medical School, Osaka, 553, Japan

Kaoru Maruo and Takao Yanagida

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka Kosei-Nenkin Hospital Osaka, 553, Japan

The influence of patient's age, methods of microsergery, the degree of periadnexal adhesion and the existance of hydrosalpinx, on the postoperative prognosis of fertility was examined in 42 patients with tubal infertility who received microsurgery. Postoperative pregnancy rate was higher in the patients below 35 yesrs old than on those above 35 years old. More than 35% of the patients who received tubotubal anastomosis or fimbrioplasty conceived within one year after operation. However, the pregnancy rate was less than 10% in patients after salpingostomy or tubo-uterine implantation. Periadnexal adhesion and hydrosalpix were also related to the prognosis. The pregnancy rate of the patients without adhesion and with minimum, moderate and severe adhesion classfied according to Gomel's classfication were 41%, 50%. 22% and 10%, respectively. Only 7% of the patients with hydrosalpinx (more than 1.5cm in diameter) became pregnant whereas 43% of those without hydrosalpinx got successful in pregnancy.

In conclusion, these four factors were important to assess the prognosis of microsurgery for tubal infertility.

(受付：1990年3月22日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

子宮内膜症と血清フィブロネクチン

Serum Fibronectin Levels in the Patiens with Endometriosis

鹿児島大学医学部産婦人科

永田行博　堂地勉　飯尾一登
Yukihiro NAGATA　Tsutomu DOUCHI　Kazuto IIO
有馬直見　山元慎一　森明人
Naomi ARIMA　Shinichi YAMAMOTO　Akito MORI
沖利通　竹内一浩
Toshimichi OKI　Kazuhiro TAKEUCHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine,
Kagoshima University, Kagoshima 890, Japan

愛育病院

中村雅弘
Masahiro NAKAMURA

Aiiku Hospital

国立指宿病院産婦人科

新村亮二
Ryouzi SHINMURA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Ibusuki National Hospital

川内済生会病院産婦人科

川上明之　川原隆
Akiyuki KAWAKAMI　Yutaka KAWAHARA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Sendai Saiseikai Hospital

国立南九州中央病院産婦人科

鵜木康資　福元清吾
Yasusi UNOKI　Seigo FUKUMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Minami-Kyushu Chuo National Hospital

出水市立病院産婦人科

呉錫堯
Shyakugyou GO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Izumi City Hospital

県立鹿屋病院産婦人科
何沢智恒　西宣行
Tomotune KAZAWA　Nobuyuki NISHI
Department of Obstetrics and Gynecology,
Kanoya Prefectual Hospital

国立都城病院産婦人科
前田正一郎　渕脇和男
Shoichiro MAEDA　Kazuo FUCHIWAKI
Department of Obstetrics and Gynecology,
Miyakonojyo National Hospital

鹿児島逓信病院産婦人科
吉永光裕
Mituhiro YOSHINAGA
Department of Obstetrics and Gynecology,
Kagoshima Teishin Hospital

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）臨床的子宮内膜症患者21例の血清FN値はBeecham II期で平均331±43.7（N＝9），III期で329±49.6（N＝8），IV期で278±12（N＝4）であり，ボランティアの324±47.7（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のFN値はr-AFS I期で245および332 μg/ml，II期で325であった．しかし，IV期の例は261および244であり明らかに低値を示した．

3）ダナゾールや手術で血清CA 125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値測定は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．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 141—146, 1991)

緒　言

フィブロネクチンは1948年にMorrison et al.によって血液中に発見された糖蛋白で，細胞接着作用を介して，細胞の形態保持，粘着，分化増殖に関与していることが知られている．しかし最近では，胚発生や受精卵の着床にも深く関わっていることが明らかになりつつある[1]．

一方，フィブロネクチンの持つ細胞接着作用は病態によっては生体に悪影響を及ぼしているようでもある．外性子宮内膜症などの癒着を伴う疾患でフィブロネクチンが癒着の原因に関与しているという報告[2~4]が散見される．そこで，フィブロネクチンが子宮内膜症にどのように関わっているかを知る目的で，鹿児島大学医学部産婦人科を含めた9関連施設で共同研究を行ない，若干の知見を得たので報告する．

対象と方法

対象は詳細な問診，内診，双合診，超音波断層法，computed tomography（CT）などで総合的に診断した外性子宮内膜症21例（Beecham II期9例，III期8例，IV期4例）（臨床的子宮内膜症群）と腹腔鏡により診断，治療（電気焼灼，チョコレート嚢胞穿刺・吸引・洗浄）した5例（r-AFS I期2例，r-AFS II期1例，r-AFS IV期2例）（腹腔鏡子宮内膜症群）である．臨床的子宮内膜症群21例ではダナゾール400 mg/日を4～6か月投与中の，腹腔鏡子宮内膜症5例では腹腔鏡下手術後の，それぞれの血清フィブロ

ネクチン値，CA 125 値，estradiol (E_2) 値などを経時的に測定して治療効果との関連性をみた．ボランティア 15 例（平均年齢 21 歳）から得られた血清フィブロネクチン値の Mean± 1 SD である 324±47.7 μg/ml, すなわち 276～372 μg/ml を正常域と設定した．

血清フィブロネクチン値は免疫比濁法(TIA: Turbidimetric immunoassay 法)を用いて測定した．血清 CA 125 値は enzyme immunoassay（EIA）法，血清 E_2 値は radioimmunoassay (RIA)法を用いて測定した．

成　績

1．外性子宮内膜症患者の血清フィブロネクチン値と CA 125 値

臨床的子宮内膜症群 21 例の Beecham stage 別の血清フィブロネクチン値と血清 CA 125 値を表 1 に示す．血清フィブロネクチン値は Beecham II期(N＝9) で 331±43.7 μg/ml (平均± 1 SD)，III期 (N＝8) で 329±49.6 μg/ml，IV期 (N＝4) で 278±120 μg/ml であり，いずれも有意の差は認めなかった．しかし，正常域を逸脱している症例をみると，Beecham II期で低値を示したもの 1 / 9 例，Beecham III期で 2 / 8 例，Beecham IV期で 3 / 4 例と子宮内膜症の stage が進むと低値を示すものが多かった．

血清 CA 125 値は Beecham の stage II で 42.3± 5 U/ml，stage III で 39.5±39.2 U/ml，stage IV で 164±178 U/ml と子宮内膜症の進行度と必ずしも相関しなかったが，全体では 21 例中 9 例 (42.9 %) が 35 U/ml 以上を示した．

腹腔鏡子宮内膜症群 5 例の血清フィブロネクチン値は r-AFS 分類 I 期(N＝2)でそれぞれ 245 μg/ml, 332 μg/ml，II期(N＝1)で 325 μg/ml，IV期(N＝2)でそれぞれ 261 μg/ml, 244 μg/ml であり，外性子宮内膜症が重症の症例で低値を示す傾向にあった．

5 例の血清 CA 125 値は子宮内膜症の程度の軽い症例からそれぞれ 29，16，47，28，66 U/ml であり 2 例が 35 U/ml 以上を示した（表 2）．

2．ダナゾールや腹腔鏡下手術に対する血清フィブロネクチンと血清 CA 125 の反応

臨床的子宮内膜症群 21 例にダナゾール 400 mg/日を 4 ～ 6 か月投与した時の血清フィブロネクチン値と CA 125 値の推移をみた．ダナゾール投与中の血清フィブロネクチン値は明らかな低下傾向や上昇傾向を示さなかった(図 1)．血清フィブロネクチン値の推移を Mean± 1 SD でみると(図 2)，前値が 320± 70 μg/ml，2 週目で 309±60 μg/ml，4 週目で 308± 47 μg/ml，8 週目で 325±57 μg/ml, 12 週目で 308± 57 μg/ml，16 週目で 301±57 μg/ml であり，ダナゾール投与中の血清フィブロネクチン値は有意な変化を示さなかった．

ダナゾール投与中の血清 CA 125 値 (図 3) は子宮内膜症の進行にかかわらずダナゾールに良く反応し，ダナゾール投与後 4 週目で低下傾向を示し，8 週目

表 1　Beecham 分類別の血清 FN 値と CA125 値

Beecham 分類	FN (μg/ml)	高値	低値	CA125 (U/ml)
II 期(N＝9)	331±43.7		1/9	42±51
III期(N＝8)	329±49.6	1/8	2/8	40±39.2
IV期(N＝4)	278±120	1/4	3/4	164±178
対 照(N＝15)	324±47.7			27±8.2

表 2　r-AFS 分類別の血清 FN 値と CA125 値

r-AFS 分類	FN (μg/ml)	CA125 (U/ml)
I 期 (N＝2)	245[a], 332	29，16
II 期 (N＝1)	325	47
III期		
IV期 (N＝2)	261[a], 244[a]	28，66
対 照 (N＝15)	324±47.7	27±8.2

[a] 正常値以下

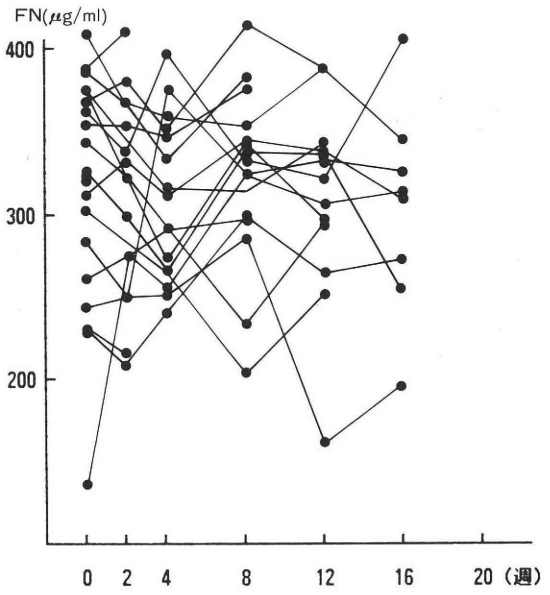


図 1　ダナゾール投与中の血清フイブロネクチン (FN) の推移

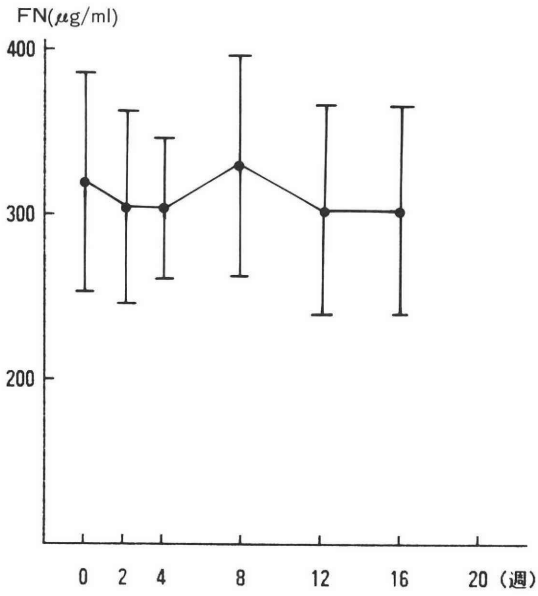


図2　ダナゾール投与中の血清フイブロネクチン(FN)の推移

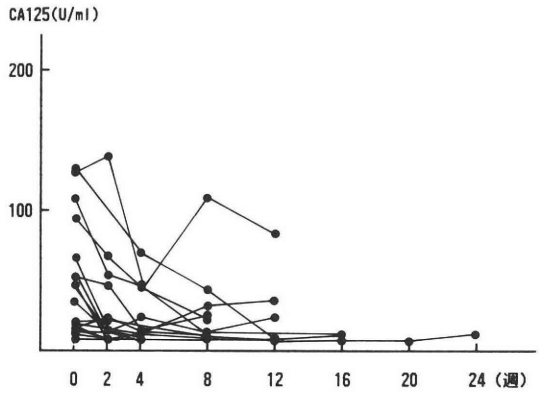


図3　ダナゾール投与中の血清CA125値の推移

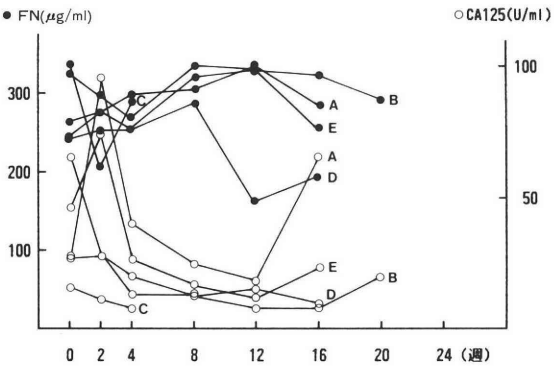


図4　腹腔鏡下手術後の血清 FN(●), CA125(○)値の推移

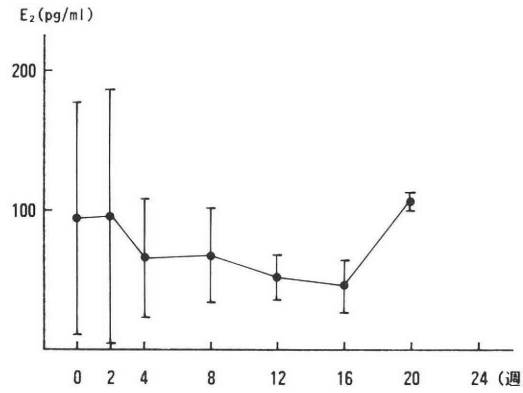


図5　ダナゾール投与中の血中 Estradiol (E_2) の推移

になると1例を除いて正常域に低下した.

腹腔鏡で blueberry spot の電気焼灼やチョコレート嚢胞の穿刺，吸引，洗浄を行った5例の血清フィブロネクチン値は術後，全く低下傾向を示さなかった(図4)．これに対して血清 CA 125 値は速やかに低下した．症例BとD(いずれも r-AFS の stage IV 期) は腹腔鏡下手術半年以内に妊娠成立した．子宮内膜症の軽快に伴い血清 CA 125 値は速やかに低下したが，血清フィブロネクチン値は全く低下しなかった.

また，血清 CA 125 値と血清フィブロネクチン値の関係は $Y=-63.73+0.39X$ ($r=0.29$) であり相関を認めなかった.

3．ダナゾール投与中の血清 E_2 値の推移(図5)

ダナゾール 400 mg/日投与中の血清 E_2 値の推移を示す．ダナゾール投与前の血清 E_2 値は 94.8±84.3 pg/ml であったが，2週目で 96.6±98.4 pg/ml，4週目で 68.4±41 pg/ml，8週目で 69±35 pg/ml，12週目で 52±16 pg/ml，16週目で 45±19 pg/ml とダナゾール投与が長期になると SD が小さくなり，E_2 値は一定するが，ダナゾール投与前の血清 E_2 値に比較して有意差はなかった(図5)．

考　察

フィブロネクチンが生殖生理に密接に関与していることが知られるようになったのは比較的最近である．とりわけ，フィブロネクチンが子宮内膜症と何らかの関わりを持っているという報告が見られるようになったのはごく最近のことである．Kauma et al[2] は子宮内膜症患者の腹水中のフィブロネクチン濃度は非子宮内膜症患者のそれに比較して 30 %であったとし，逆に腹水中 macrophage のフィブロネクチン産生能は非子宮内膜症患者のそれに比較して3倍高

く，このことが腹腔内癒着の原因となり，さらに子宮内膜細胞の着床を容易にしていると報告している．また，清川ら[3]は子宮内膜症患者は血清中フィブロネクチン値は非子宮内膜症に比較して有意に高く，またダナゾール投与終了後1か月目の血清フィブロネクチン値は，再発例が非再発例に比較して明らかに高値を示したことから，血清フィブロネクチン値は子宮内膜症の診断，治療効果の判定や予知に有用であると報告している．さらに，武谷[4]は子宮内膜症患者の血清中のフィブロネクチン値は非子宮内膜症患者より有意に増加し，また腹水中のフィブロネクチン値は増殖期，分泌期とも非子宮内膜症より3.5倍の増加がみられたと報告している．

これらの報告やフィブロネクチンの最も重要な性質が細胞接着作用であることを考えると，フィブロネクチンは外性子宮内膜症の癒着と密接に関係しているのではないかと推察される．

われわれはフィブロネクチンと子宮内膜症の関わりを研究する手始めとして，まず清川ら[3]と同様の方法で子宮内膜症患者の血清中のフィブロネクチン値を測定した．しかし，血清中のフィブロネクチン値が外性子宮内膜症で高いという結果や癒着の強度な子宮内膜症でさらに高くなるという結果は得られなかった．むしろ，子宮内膜症が進行すると血清フィブロネクチン値は低下する傾向を示した．一方，ダナゾール投与や腹腔鏡手術などの治療によって血清フィブロネクチン値が正常域に復するというような事実も認めなかった．なお，血清CA 125値はダナゾール投与や手術などの治療によく反応して速やかに低下した．腹腔鏡下手術後に妊娠した2例(r-AFS IV期) でも血清フィブロネクチン値は一定の傾向を示さなかった．

これらの結果は，血清フィブロネクチン値測定は子宮内膜症の治療効果の判定，再発の予知には役立たないことを示唆する．さらに診断への応用もあまり期待出来ず，今後，子宮内膜症以外の他の婦人科疾患患者の血清フィブロネクチンを測定し比較検討する必要がある．すなわち血清CA 125値ほどの有用性はないものと言える．今回のわれわれの結果は清川ら[3]や武谷[4]の報告と極めて対照的で，異なった結果が得られたと言える．

ところで，今回の検討は多施設の共同研究であるため症例の大部分が総合的に診断した臨床的子宮内膜症であった．この点に問題がないわけではない．しかし，腹腔鏡で子宮内膜症と診断したr-AFS IV期の2例で血清フィブロネクチン値は低値を示した．さらに重症の外性子宮内膜症といえるBeecham IV期の4例中3例の血清フィブロネクチン値も低値を示したことから，血清フィブロネクチンが子宮内膜症では低値傾向を示すのが特徴的なことではないかと考えられる．

Kauma et al[2]は子宮内膜症患者の腹水中macrophageのフィブロネクチン産生能は非子宮内膜症患者のそれに比較して有意に高いと報告している．フィブロネクチンと子宮内膜症の関わりを追求するのであれば，子宮内膜症組織中のフィブロネクチン濃度を測定する必要がある．今後この方面からの検討も行いたい．

子宮内膜症組織中のCA 125濃度は血中より高い．そして血中に流入してくる．したがって，血清CA 125値は子宮内膜症の補助診断に有用であることが知られている[5]．清川ら[3]は子宮内膜症で血清フィブロネクチン値は高く，切迫流産予後不良例のそれも高いとしている[6]．一方子宮内膜症のCA 125値は一般に高く，切迫流産予後不良例では低いことが報告[7]されている．血清CA 125と血清フィブロネクチンの反応態度に解離がみられる．

子宮内膜症が重症になると血清フィブロネクチン値が低下傾向を示したことに関しては，次のような説明が可能である．外傷，火傷，敗血症および手術後の患者では，血清中のフィブロネクチン値が低くなるという[8]．これは血中のフィブロネクチンが手術創や外傷部位に動員されてその部位にdepositされるためと考えられる．子宮内膜症組織においては出血があり，それに対する組織反応があると考えることが可能で，その部位にフィブロネクチンがdepositされるため，血中のフィブロネクチンが動員されて血中フィブロネクチンは低くなる．なおフィブロネクチンには細胞外マトリックスに存在する細胞型フィブロネクチンと血液中の血漿型フィブロネクチンとがあり，両者にはわずかの相違が認められる[9]．細胞型フィブロネクチンは溶解性が低いのに対して，血漿型フィブロネクチンは溶解性が高いという特徴を持つ．このことからすると，フィブロネクチンが外性子宮内膜症組織中から血中へ流入するのは極めてわずかであって，血漿から組織中へ動員されるフィブロネクチンの方がより大きな役割を担っている可能性がある．しかし，今回は少数例の検討であるため今後さらに症例の集積が必要である．

文　献

1) Takeuchi, K. and Nagata, Y.: Localization and significance of fibronectin in periimplantation mouse embryos, Asia-Oceania J. Obstet.

Gynecol., 15: 191, 1989
2) Kauma, S., Clark, M. R., White, C. and Halme, J.: Production of fibronection by peritoneal macrophage and concentration of fibronection in peritoneal fluid from patients with or without endometriosis, Obstet. Gynecol., 72: 13, 1988
3) 清川　尚，田中敏文，山縣邦彦，林　敏：子宮内膜症再発予知因子としての血中フィブロネクチンの動態，日産婦誌，41：S-290，1989
4) 武谷雄二：子宮内膜症の生化学的特性に関する基礎ならびに臨床的研究——正常子宮内膜との対比ー，日産婦誌，41：S-95，1989
5) 堂地　勉，竹内一浩，飯尾一登，鵜木康資，山元慎一，有馬直見，永田行博，住吉　稔：子宮内膜症におけるCA 125 の消長に関する検討，エンドメトリオージス研究会会誌，8：62，1987
6) 清川　尚，田中敏文：切迫流産予後後判定因子としての血中フィブロネクチンの動態，日産婦誌，40：S-227，1988
7) Yamane, Y., Takahashi, K. and Kitao, M.: Prognostic potential of serum CA125 and pregnant makers in threatened abortion, Acta. Obst. Gynaec. Jpn., 41: 1999, 1989
8) Scovill, W. A., Saba, T. M., Blumenstock, F. A., Bernard, H. and Powers, S.: Opsonic α_2 surface binding glycoprotein therapy during sepsis, Ann. Surg., 188: 521, 1978
9) 関口清俊：フィブロネクチンーその細胞接着因子としての分子的基礎ー，細胞工学，4：485，1985

Serum fibronectin levels in the patients with endometriosis

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima 890, Japan

Yukihiro Nagata, Tsutomu Douchi, Kazuto Iio, Naomi Arima, Shinichi Yamamoto, Akito Mori Toshimichi Oki and Kazuhiro Takeuchi

Aiiku Hospital

Masahiro Nakamura

Department of Obstetrics and Gynecology, Ibusuki National Hospital

Ryouji Shinmura

Department of Obstetrics and Gynecology, Sendai Saiseikai Hospital

Akiyuki Kawakami and Yutaka Kawahara

Department of Obstetrics and Gynecology, Minami Kyushu Chuo National Hospital

Yasusi Unoki and Seigo Fukumoto

Department of Obstetrics and Gynecology, Izumi City Hospital

Shakugyo Go

Department of Obstetrics and Gynecology, Kanoya Prefectual Hospital

Tomotune Kazawa and Nobuyuki Nishi

Department of Obstetrics and Gynecology, Miyakonojyo National Hospital

Shoichiro Maeda and Kazuo Fuchiwaki

Department of Obstetrics and Gynecology, Kagoshima Teishin Hospital

Mituhiro Yoshinaga

Serum fibronectin (FN) levels were determined in the patients with clinically suspected or laparoscopically diagnosed endometriosis.

1) Serum FN mean levels in the patients with endometriosis were 331±43.7 (μg/ml) in Beecham II, 329±49.6 in Beecham III, 278±12 (μg/ml) in Beecham IV, respectively. There were no significant differences in FN levels between endometriosis and control. However, in 3 out of 4 patients in Beecham IV, serum FN levels were below normal range.

2) Serum FN levels in two cases with laparoscopically diagnosed endometriosis as r-AFS IV were significantly low.

3) serum CA125 rapidly decreased after danazol treatment or laparoscopic surgery, however, Serum FN levels were unchanged.

From these results, it can be concluded that serum FN is not useful as a predictive parameter for the efficacy of medical treatment and recurrence of endometriosis. And serum FN is unexpectable parameter for the diagnosis of endometriosis.

(受付 1990 年 6 月 21 日特掲)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

精子不動化抗体と精子凝集抗体のImmunobeadsの結合様式から見た相違点

Difference of Immunobead Binding Pattern between Sperm Immobilization Antibody and Sperm Agglutination Antibody

秋田大学産科婦人科教室

加藤充弘　児玉英也　松井俊彦
Mitsuhiro KATO　Hideya KODAMA　Toshihiko MATSUI

関根和子　真木正博
Kazuko SEKINE　Masahiro MAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
Akita Universitiy School of Medicine,
(Directer: Prof. Masahiro Maki) Akita 010, Japan

精子不動化抗体と精子凝集抗体の精子への結合様式の相違点を，indirect immunobead test (I-IBT) により検討した．抗精子抗体保有不妊患者を，両抗体保有群(IA群：女5，男6名)，不動化抗体単独保有群(I群：女21，男9名)，凝集抗体単独保有群(A群：女12，男10名)に分類した．各群のI-IBT陽性率は，それぞれ81.8％，53.3％，40.9％であり，陽性例のbeadsの結合率は，IA群はI群，A群に比べ有意に高率であった（60.0±28.7％ vs 21.3±3.4％ or 22.2±6.7％，$P<0.001$ or $P<0.01$）．beadsのimmunoglobulin classには各群間に差は認められなかったが，結合部位に関しては，I群はA群に比べ精子尾部への結合が有意に高率であった(100％ vs 55.6％，$P<0.01$)．以上，beadsの結合様式には二つの抗体に大きな違いは認められないが，不動化作用の発現においては精子尾部への抗体の結合が重要であると考えられた．両者の作用が発現するのは，40％以上の精子にbeadsが結合した場合と考えられた．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 147—152, 1991)

緒　言

精子不動化試験[1]と精子凝集試験[2]は，抗精子抗体を生物作用で検出する基本的な検査方法である．精子凝集作用は抗体単独で引き起こされるが，精子不動化作用はさらに補体の存在が必要でありその発現のメカニズムは異なっている．そこで，この二つの検査は同じ抗体を異なった二つの生物作用で検出しているとも考えられる．しかし，実際に不妊症患者の検討をしてみると，精子不動化試験が単独で陽性の場合や，精子凝集試験が単独で陽性の場合が少なからず存在する．また，精子不動化抗体は不妊患者に特異的に認められるが，精子凝集抗体は妊孕性のある患者にも認められるとも報告され[1]，臨床的に異なった意義を有する抗体と位置づけられている．そこで，何故抗精子抗体の二つの生物作用が患者間で異なって発現するのかが問題となる．本研究はこの問題に関して，immunobead test[4]を用いて抗体の精子に対する結合様式に両抗体間で差があるのかについて検討し，二つの抗体の相違点の解明を試みた．

研究方法

1．対象患者

1988年4月より1989年8月まで当科不妊外来通院中の女性患者276名，男性患者140名に対して精子不動化試験および精子凝集試験により抗精子抗体のスクリーニングを行った．このスクーリング方法の詳細については過去に報告した[3]．その結果が陽性であった，精子不動化試験かつ精子凝集試験陽性者(両抗体保有群) 11名（女5名，男6名)，精子不動化試験単独陽性者(不動化抗体単独保有群) 30名(女21名，男9名)，精子凝集試験単独陽性者(凝集抗体単独保有群) 22名（女12名，男10名）を対象とした．表1に，これらの患者の臨床的因子を一括して示す．

2．精子不動化抗体および精子凝集抗体における抗精子抗体の結合様式の検討

1．Indirect immunobead testの方法

1）血清

患者の肘静脈より採集した血清は56℃で30分間非働化後，−20℃にて凍結保存した．

2）Immunobeadsの調製

ウサギ抗ヒトIgG，IgM，IgAでcoatingされたimmunobeads (Biorad社) は，phosphate buffered saline(PBS)で洗浄後5 mg/mlに調製し4℃で保存した．使用時，0.5％ bovine serum albuminを含んだPBS（0.5% BSA-PBS）にて2 mg/mlに調製した．

3）被験者血清処理精子浮遊液の調製

妊孕性の確かめられている健康男性donorより用手法にて採取した精液を室温でゲル化後，0.5% BSA-PBS約10 mlを加えて400×gで10分間遠心した．沈澱精子を再び0.5% BSA-PBSで洗浄，遠心後，約30分間室温に放置し，上清中にswim upしてきた活動精子を20×10^6/mlに調製して使用した．被験者血清200 μlを0.5% BSA-PBS 600μlで希釈後，精子浮遊液50 μl（1×10^6個）を混合し37℃で1時間培養した．精子は培養後，洗浄し20×10^6/ml（50 μl）に調製した．

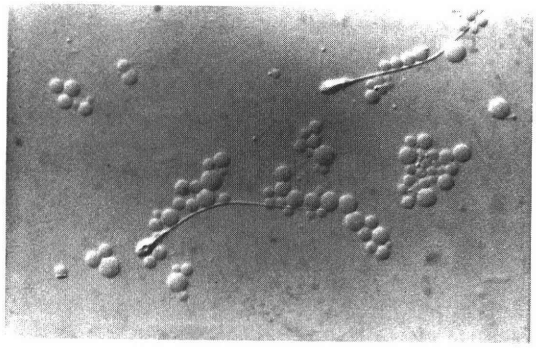


写真1　immunobead test (×400)
精子尾部へのimmunobeadsの結合
(実際の顕微鏡下では，immunobeadsを結合したままで運動する精子が認められる。)

4）Immunobead test

血清処理した精子浮遊液5 μl（2×10^6個）と各immunobeads調製液 (IgG，IgM，IgA) 20 μlをそれぞれプレパラート上で混合しカバーガラスをかぶせて10分間反応させ位相差顕微鏡（400倍）でimmunobeadsの結合部位及び結合率について算定した．運動精子の中でimmunobeadsの結合している精子の存在が20％以上のものを陽性とした．写真1は，精子尾部にimmunobeadsの結合している状態を示す．

研究成績

1．精子不動化試験，精子凝集試験とindirect immunobead testとの関連

両抗体保有群11名，不動化抗体単独保有群30名，

表1　抗精子抗体保有患者の臨床所見

	女性側			男性側		
	両抗体保有群 (n＝5)	不動化抗体単独保有群 (n＝21)	凝集抗体単独保有群 (n＝12)	両抗体保有群 (n＝6)	不動化抗体単独保有群 (n＝9)	凝集抗体単独保有群 (n＝10)
平均年齢(範囲)	33.0(31-36)	34.0(29-42)	32.0(27-37)	33.4(28-38)	32.9(27-37)	32.6(30-40)
平均不妊期間	6.4(5-9)	8.6(4-18)	8.0(2-14)	7.2(3-10)	6.6(4-9)	7.3(4-14)
精液所見						
精子濃度 ($x10^6$/ml)	—	—	—	50.3±42.4	64.4±41.9	49.7±40.0
精子運動率(%)	—	—	—	46.7±22.3	47.3±30.3	52.5±20.3
性交後試験不良例数	4 (80%)	18(85.7%)	9 (75 %)	5 (83.3%)	9 (100%)	10(100%)
妊娠	0 (0%)	1(4.8%)	1 (8.3%)	0 (0 %)	1 (11.1%)	0 (0%)

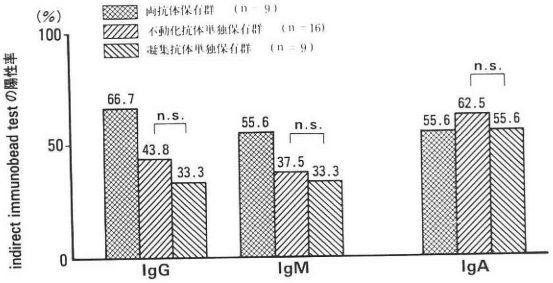


図1　両抗体保有群，不動化抗体単独保有群および凝集抗体単独保有群の，indirect immunobead test における，各immunoglobulin class の陽性率の比較(抗体単独保有群間での有意差検定を行った)

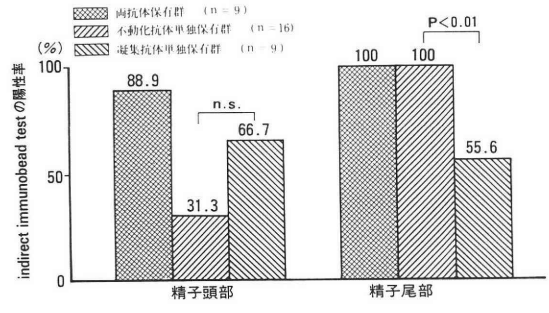


図2　両抗体保有群，不動化抗体単独保有群および凝集抗体単独保有群の，indirect immunobead test における，抗体の各結合部位の陽性率の比較(抗体単独保有群間での有意差検定を行った)

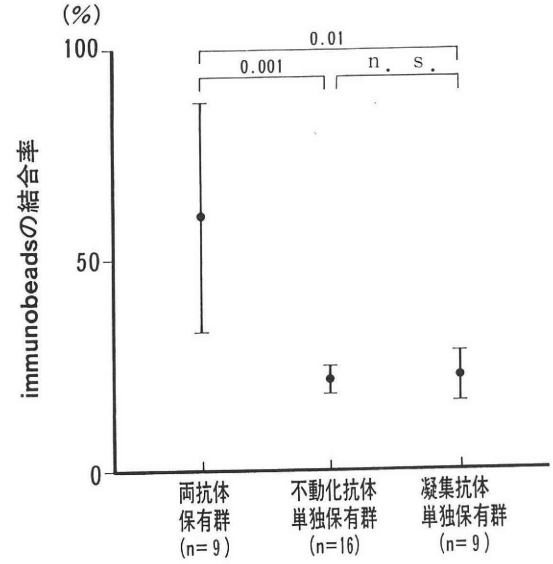


図3　両抗体保有群，不動化抗体単独保有群，凝集抗体単独保有群の，immunobeads の結合率 (mean±s.d.)

凝集抗体単独保有群22名と，両試験が陰性であった対照群33名について indirect immunobead test を行った．その結果，両抗体保有群，不動化抗体単独保有群，凝集抗体単独保有群，対照群の陽性率は，それぞれ81.8％(9/11)，53.3％(16/30)，40.9％(9/22)，6.0％(2/33)であった．両抗体保有群の indirect immunobead test の陽性率は，凝集抗体単独保有群，対照群に比べて有意に高値であった($p<0.05$ および $p<0.001$)．

2．精子不動化試験および精子凝集試験陽性例の immunobeads の immunoglobulin class と結合部位の検討

I-IBT 陽性であった両抗体保有群9例，不動化抗体単独保有群16例，凝集抗体単独保有群9例について，immunobeads の immunoglobulin class を比較検討した結果を，図1に示す．各 immunoglobulin class に関しての3群の陽性率は，IgG で両抗体保有群：66.7％(6/9)，不動化抗体単独保有群：43.8％(7/16)，凝集抗体単独保有群：33.3％(3/9)，IgM でそれぞれ55.6％(5/9)，37.5％(6/16)，33.3％(3/9)，IgA でそれぞれ55.6％(5/9)，62.5％(10/16)，55.6％(5/9)であった．各 immunoglobulin class に関しては3群間に差は認められなかった．

Immunobeads の結合部位に関して比較検討した結果を図2に示す．各結合部位における3群の陽性率は，精子頭部で両抗体保有群：88.9％(8/9)，不動化抗体単独保有群：31.3％(5/16)，凝集抗体単独保有群：66.7％(6/9)，精子尾部でそれぞれ100％(9/9)，100％(16/16)，55.6％(5/9)であった．精子尾部への結合は，両抗体保有群および不動化抗体単独保有群の総てに認められ，不動化抗体単独保有群においては凝集抗体単独保有群に比べ有意に高率であった($p<0.01$)．精子頭部への結合に関しては，3群間に差は認められなかった．

3．精子不動化試験および精子凝集試験陽性例の immunobeads の結合率の検討

I-IBT 陽性であった両抗体保有群9例，不動化抗体単独保有群16例，凝集抗体単独保有群9例の immunobeads の結合率を図3に示す．3群の immunobeads の結合率は，それぞれ60.0±28.7％，21.3±3.4％，22.2±6.7％であった．両抗体保有群のそれは，不動化抗体単独保有群，凝集抗体単独保有群に比べ有意に高率であった($p<0.001$，$p<1.01$)．

また，両抗体保有群および不動化抗体単独保有群の，SI_{50} と凝集抗体の有無，immunobeads の結合率

の関係につき検討した結果を図4に示す．SI_{50}とimmunobeadsの結合率には強い相関が認められ（$r=0.747$，$P<0.01$），SI_{50}で4以上，immunobeadsの結合率で40％以上である6例は総て，精子凝集試験が陽性であった．両抗体保有群の平均SI_{50}値は15.21±20.7であり，不動化抗体単独保有群の1.89±0.8に比べ有意に高値であった（$P<0.02$）．

考　察

Immunobead testは，抗ヒトIgG，IgM，IgAでcoatingされたそれぞれのimmunoglobulin classのアクリルアミドビーズを抗体と結合した精子と反応させることにより，精子と抗体の結合様式について検討できる検査方法である[4]．すなわちimmunobead testが陽性であることはbeadsの結合に必要十分な抗体が精子に付着していることを意味する．今回の検討では両抗体保有群が，凝集抗体単独保有群，陰性群に比べてimmunobead testの陽性率が高値であり，immunobead test陽性であった両抗体保有群は，不動化抗体単独保有群，凝集抗体単独保有群に比べてimmunobeadsの結合率が高率であった．また，精子不動化抗体の抗体価を意味するSI_{50}とimmunobeadsの結合率は強い相関関係を示し，SI_{50}値とimmunobeadsの結合率が高値の症例では精子凝集抗体も陽性となった．以上より，精子不動化作用，精子凝集作用の両方の生物作用が発現される症例には，単独の作用が発現される症例に比べ，多くの抗体が精子に結合していると考えられる．

抗精子抗体の生物作用の発現に，特異的なimmunoglobulin classおよび抗体の結合部位が存在するかという点については，過去に多くの報告がある．精子不動化作用のimmunoglobulin classに関して，1972年にIsojimaは不妊婦人血中に存在する精子不動化抗体がIgGならびにIgM分画に属していると報告した[1]．1982年にBronsonらは，特異的なimmunoglobulin classは認めないが，強い不動化作用が認められる症例ではIgG抗体またはIgM抗体の結合を認めたと報告した[4]．1988年にCarsonらは，特定のimmunoglobulin classには関連性はないが，IgA抗体単独では生物作用は発現しなかったと報告した[5]．Bronsonらや，Carsonらは，IgA抗体の関連はIgG抗体，IgM抗体に比べ少ないと報告しているが，我々の検討では，SI_{50}高値の症例の多くにIgA抗体の結合が認められており，またIgA抗体が単独で存在した症例でも精子不動化作用が認められた．以上より，精子不動化作用に特異的なimmunoglobulin classとの関連性は認めないと考えられた．

精子凝集作用のimmunoglobulin classに関して，

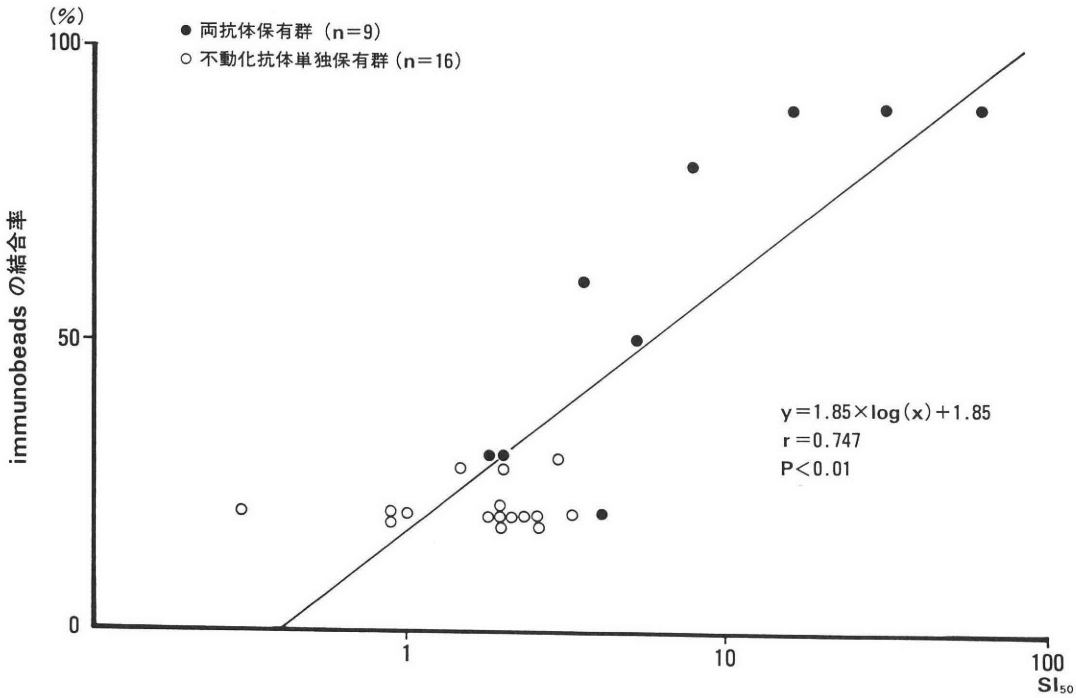


図4　SI_{50}とimmunobeadsの結合率との関係，および精子凝集抗体の有無

1974年にFribergは血清中の精子凝集抗体がIgM分画に属していると報告した[2]. Carsonらは，精子不動化作用と同様に，特定のimmunoglobulin classに関連性は無いが，IgA抗体単独では生物作用は発現しなかったと報告した[5]. しかし我々の検討では，IgA抗体が単独で存在した症例でも精子凝集作用が認められており，やはり精子不動化作用と同様に特異的なimmunoglobulin classとの関連性は認められなかった.

精子不動化作用の精子に対する抗体の結合部位に関しては，Bronsonらは，精子尾部の2/5から3/5にIgG抗体に結合した場合，またはIgM抗体が精子尾部終末部に結合した場合に精子不動化作用が顕著であると報告した[4]. 1984年にClarkeらは，精子尾部に抗体が結合した場合に頚管粘液の通過性を阻害すると報告している[6]. われわれの検討でも，精子不動化作用の認められた症例の総てに精子尾部に抗体の結合を認めており，精子凝集作用に比べ特異的な現象と考えられた. これらより，精子不動化作用の発現には抗体の精子尾部への結合が重要であると推定された.

精子凝集作用の精子に対する抗体の結合部位に関して，Carsonらは，頭部または尾部のみの単独の結合例は非常に少ないと報告した[5]. しかし我々の検討では，それぞれの部位に単独で結合した症例でも凝集作用を認めており，特異的な結合部位は認められなかった.

今回の対象患者の臨床的背景には，いずれの群においても大きな差は認められなかった. また，1年半の観察期間中の妊娠の成立は，精子不動化抗体，精子凝集抗体のいずれにおいても極めて低率であった. しかし僅かではあるが，自然妊娠の成立した患者が認められた. 妊娠例は，不動化抗体単独保有群または凝集抗体単独保有群に認められており，そのSI_{50}およびimmunobeadsの結合率は低値であった. Ayvaliotisらは，direct immunobead testの検討から自己抗体保有患者の妊娠率は，精子への抗体の結合率が50％以上の場合は，50％未満の場合に比べ有意に低値であったと報告している[7].

以上より，それぞれの生物作用の発現には，抗体のimmunoglobulin classには差は無いが，精子不動化作用の発現には精子尾部への抗体の結合が重要と考えられた. また，40％以上の精子にimmunobeadsの結合が認められる症例には，二つの生物作用が発現すると考えられた. 臨床的には，どちらの抗体にせよ抗体保有患者の一般的な治療による妊娠の可能性は低く，これらの患者を早期に同定して体外受精[8,9]等の治療計画を立てることが必要と考えられた.

稿を終えるにあたり，本研究に御協力を戴いた当教室研究室，児玉智子氏に深謝致します.

文　献

1) Isojima, S., Tsuchiya, K., Koyama, K., Tanaka, C., Naka, O. and Adachi, H.: Further studies on sperm-immobilizing antibody found in sera of unexplained cases of sterility in women, Am. J. Obstet. Gynecol., 112: 199, 1972

2) Friberg, J.: Immunological studies on sperm agglutination sera from men, Acta. Obset. Gynecol. Scand. Suppl., 36: 43, 1974

3) 加藤充弘，児玉英也，松井俊彦，関根和子，真木正博：頚管因子または原因不明不妊女性における抗精子抗体スクリーニングの意義，秋田医学，16：159，1989

4) Bronson, R. A., Cooper, G. W. and Rosenfeld, D. L.: Correlation between regional specificity of antisperm antibodies to the spermatozoan surface and complement-mediated sperm immobilization, Am. J. Reprod. Immunol., 2: 222, 1982

5) Carson, S. A., Reiher, J., Scommegna, A. and Prins, G. S.: Anitbody binding patterns in infertile males and females as detected by immunobead test, gel-agglutination test, and sperm immobilization test, Fertil. Steril., 49: 487, 1988

6) Clarke, G. N., Stojianoff, A., Cauchi, M. N., McBain, J. C., Speirs, A. L. and Johnston, W. I. H.: Detection of antispermatozoal antibodies of IgA class in cervical mucus, Am. J. Reprod. Immunol., 5: 61, 1984

7) Ayvaliotis, B., Bronson, R., Rosenfeld, D. and Cooper, G.: Conception rates in couples where autoimmunity to sperm is detected, Fertil. Steril., 43: 739, 1985

8) Ackerman, S. B., Graff, D., Van Uem, J. F. H. M., Swanson, R. J., Veeck, L. L., Acosta, A. A. and Garcia, J. E.: Immunologic infertility and in vitro fertilization, Fertil. Steril., 42: 474, 1984

9) Yovich, J. L., Stanger, J. D., Kay, D. and Boettcher, B.: In vitro fertilization of oocytes from women with serum antisperm antibodies, Lancet, 1: 369, 1984

Difference of Immunobead binding pattern between sperm immobilization antibody and sperm agglutination antibody

Mitsuhiro Kato, Hideya Kodama,
Toshihiko Matsui, Kazuko Sekine and
Masahiro Maki

Department of Obstetrics and Gynecology,
Akita Universitiy School of Medicine,
(Directer: Prof. Masahiro Maki)
Akita 010, Japan

We evaluated a binding pattern of sperm antibodies in the infertile patients having either sperm immobiliization antibody (SIA) and/or sperm agglutination antibody (SAA). The incidence of positive result by indirect immunobead test was 81.8% for the patients having both antibodies (IA group, female 5, male 6), 53.3% for SIA only (I group, female 21, male 9) and 40.9% for SAA only (A group, female 12, male 10). The patients of IA group showed a significantly higher percent of spermatozoa bound to immunobeds than I or A group (60.0±28.7% vs 21.3±3.4%, or 22.2±6.7%, $p<0.001$ or $p<0.01$, respectively). There were no significant differences in the immunoglobulin classes of immunobeads between the 3 groups. However, the incidence of immunobeads bound to the tail of spermatozoa was significantly higher in I or IA group, compared with A group (100% or 100% vs 55.6%, $p<0.01$). In summary, there was no difference between SIA and SAA, excluding that the antibodies bound to tail of spermatozoa was important for sperm immobilization activity. The patients, in which more than 40% of their spermatozoa bound to immunobesds, showed both sperm agglutination activity and sperm immobilization activity.

(受付：1990年2月5日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

運動精子回収ができなかった逆行性射精におけるAIHによる妊娠例

A Case of Retrograde Ejaculation with the Recovery of Only the Immotile Sperms whose Wife Conceived by AIH

長崎大学産科婦人科教室
布施正樹　岡本純英　石丸忠之
Masaki FUSE　Sumihide OKAMOTO　Tadayuki ISHIMARU
山邊徹
Tooru YAMABE

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagasaki University School
of Medicine, Nagasaki 852, Japan

精子を回収できたものの運動精子を認めない逆行性射精例において，精子培養により運動能の回復を認め，AIHによって生児を得た症例を経験した．症例すなわち夫は39歳で，不妊期間は7年である．5回の精液検査では，精子数1.8～3.8×10^6/ml，奇形率18～35％および運動率0％であったが，一過性の運動能低下であることも考慮して，トリパンブルー生体染色を行なったところ生存精子は68～83％存在していた．そこで回収精子の培養を行なったところ，3時間後には運動率5～16％と精子運動能の回復を認めた．すなわち，回収時点での精子運動能の欠如は死滅によるものではなく，一過性の運動能低下であることが確認できたので，AIHを行ない妊娠が成立し，生児を得ることができた．非運動精子のみしか回収できない逆行性射精例では，死滅精子との鑑別および精子運動能の回復の確認をすることが，治療および予後にとって重要である．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 153—156, 1991)

緒　言

逆行性射精は男性不妊症の原因のひとつであり，比較的まれな疾患とされている．最近，逆行性射精例に対して配偶者間人工授精（AIH）の適用が報告されており，また精子の回収法についても種々の試みがされている．私どもは，最近，精子は回収できたものの運動精子を認めない逆行性射精例を経験した．しかし死滅精子と即断せず一過性の運動能低下である可能性も考え，配偶者非働化血清を10％含む培地中で培養したところ運動能の回復を認めたので，AIHを行ない，その結果，妊娠の成立をみた．非運動精子を培地中で培養することにより，運動能の回復がみられたことは，今後の逆行性射精例の不妊治療に対して重要な示唆を与えたものと考える．そこで，若干の文献的考察を加えて報告する．

症　例

夫39歳，妻32歳で妊娠の経験はない（不妊期間7年）．

夫婦ともに既往歴には特記すべきことはない．昭和61年11月，挙児を希望して当科を受診した．妻

に対しては無排卵周期症の診断でclomiphene citrateの投与を行なった．一方，夫は射精感はあるが無精液症であり，導尿により膀胱より精子が回収されたため逆行性射精と診断した．順行性射精への改善を目的としてα-adrenergic stimulatorであるephedrinを経口投与したが奏効せず，副作用もあり投薬を中止した．さらに膀胱を充満させ立位で射精させる方法も試みたが，順行性射精とはならなかった．そこでAIHの適応とした．

AIHのtiming: Mclntosh法[1]により予定LH上昇日を算出し，超音波断層法による卵胞径および尿中LHの測定によりAIH施行日を決定した．

精子回収：AIH予定3日前より尿のアルカリ化を目的として重曹4g／日を内服させた．AIH施行当日は尿量の減少を目的として飲水を制限した．ネラトンカテーテルで導尿後，Ham's F10 10mlを膀胱内に注入し，用手的に射精感を自覚させた後，ふたたびネラトンカテーテルを挿入し膀胱内容液を回収した．その回収液に等量のHam's F10を混和し100×g 5分間で遠心後上清を除去し，沈渣にHam's F10 1mlを加えてAIHに供した．

上記方法によって回収した精子はすべて非運動精子であった．しかし，非運動精子が死滅精子ではなく可逆的に運動を停止した精子ではないかとの疑いをもって以下の検討を行なった．

回収精子の所見：5回の精子回収による所見は精子数1.8～3.8×10^6/ml，奇形率18～35％および運動率0％であったが，それぞれの回収精子の生死をトリパンブルー生体染色により判定すると，生存精子の割合は68～83％であった（表1）．すなわち，回収精子の運動率は0％であったが，死滅精子ではないことが確認できた．

回収精子の培養による運動能回復：そこで精子運動能の回復をみるために，配偶者非働化血清を10％含むHam's F10中（37℃，5％CO_2 in air）で回収精子を培養した．すなわち，精子運動率は培養開始時点では0％であったが，3時間後には5～16％と回復した（図1）．

そこで，昭和63年2月21日，AIHを施行した．この際の精液所見は，精子数2×10^6/ml，奇形率25％および運動率0％であった．

妊娠および分娩経過：3月16日超音波断層法で子宮内に胎嚢を認め，また尿中HCG 1,000iu/l以上陽性であり妊娠と診断した．以後，妊娠経過は順調であり，11月10日，妊娠39週で経膣分娩した．児は2,860 gの男児でApgar scoreは9点であった．

表1　5回の膀胱内回収における精子所見

検体	精子数 (x10^6/ml)	奇形率 (％)	運動率 (％)	生存精子* (％)
1	2.1	20	0	83
2	3.8	35	0	75
3	1.8	23	0	68
4	2.2	21	0	72
5	3.5	18	0	81

＊トリパンブルー生体染色による

考　察

逆行性射精は後部尿道に排出された精液が内尿道口の閉鎖不全のため外尿道口より射出されることなく，膀胱内へ逆流する現象である[2]．したがって，内尿道口の閉鎖不全を起こす器質的および機能的障害により逆行性射精が発現する．器質的障害の原因としては，経尿道的前立腺切除術が代表的なものである．機能的障害の原因としては，後腹膜リンパ節廓清術，椎間板ヘルニアの手術および糖尿病性神経障害などが挙げられる．

本症の診断は射精感を伴う無精液症で，射精後，膀胱内に精子が認められることにより確定する．

逆行性射精の治療法としては，まず順行性射精になるような方法がとられる．内尿道口の閉鎖にはα-adrenergic receptorが関与するため，薬物療法としてα-adrenergic stimulator，交感神経賦活剤，COMT阻害剤およびL-DOPAなどの使用が報告されている．本症例はα-adrenergic stimulatorである

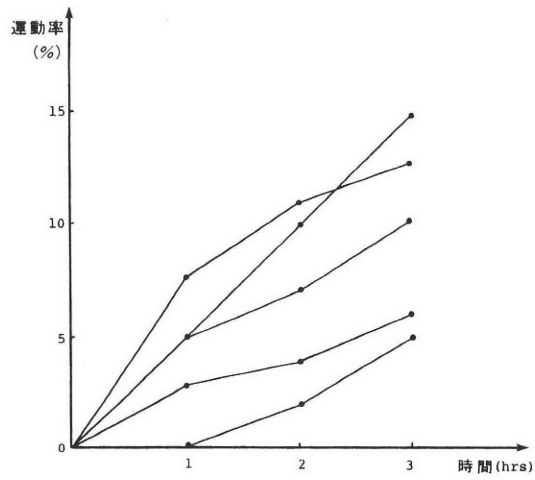


図1　精子運動能回復の時間的経過

ephedrinを投与したが，順行性射精とはならなかった．また，膀胱を充満し立位で射精すると順行性射精になる例も報告されている[3]．この方法についても試みたが，順行性射精には至らなかった．以上の方法で順行性射精に至らない場合はAIHの適応とされる．

Hotchkiss et al.[4]は逆行性射精例にAIHを行ない，最初の妊娠成立例を報告した．わが国においても同様の妊娠成功は，白石ら[5]の報告以来，本症例を含めて25例が認められている．しかしAIHによる妊娠時の精子数および運動率が記載されている14例についてみると，本症例のように非運動精子のみしか回収できなかったという報告は見当たらない（表2）．

逆行性射精例でのAIHの問題点はいかに良好な運動精子を回収できるかということである．Mahadevan et al.[6]およびMakler et al.[7]は尿浸透圧が尿pHよりも精子の運動率に影響を与えると述べている．このため，本症例において尿pHに対しては重曹を経口投与し[8]，また尿浸透圧については膀胱内に培養液を注入して精子回収を試みたが運動精子は回収できなかった．Vijayakumar et al.[9]は尿の精子に対する影響を電顕的に検索し，精子中片部のミトコンドリアの膨化および融解が特徴的所見であると述べている．すなわち，ミトコンドリアの形態学的変化により精子運動能の低下を起こすことが考えられる．このことは少量の尿に精子がさらされても，運動能が低下する可能性を示唆している．本症例における可逆的運動能低下は少量の尿にさらされたためと推測される．

表2　AIHにより妊娠した逆行性射精例

報告者	年度	精子数 ($x10^6$/ml)	運動率(%)
白　石	1971	不明	30
勝　岡	1973	50	55
遠　藤	1975	不明	20～30
藤　原	1978	32	31
布　施	1980	86	4
三　浦	1983	111	56
対　木	1983	34	58
鎌　田	1983	11	10～20
寺　田	1983	18	34
吉　田	1983	143	54
藤　井	1985	不明	50
三　浦	1986	104	80
三　浦	1986	156	45
勝　岡	1986	6.5	40
自験例	1988	2	0

Urry et al.[10]は，逆行性射精例で回収された精子のprogressive sperm motilityが少なくとも20～30%でないと妊娠の成立は期待できないので，運動率がこれより低い例はAIDの適応となると論じている．しかし，今回，一過性の運動能低下により非運動精子のみしか回収できない逆行性射精例のあることを経験した．したがって，非運動精子のみしか回収できない逆行性射精例では，死滅精子との鑑別および運動能回復の確認をすることが治療および予後にとって重要であると考える．

(本論文の要旨は第33回日本不妊学会において発表した．)

文　献

1) Mclntosh, A. J., Matthews, D. C., Crocker, M. J., Broom, J. T. and Cox, W. L.: Predicting the luteinizing hormone surge: relationship between the duration of the follicular and luteal phases and the length of the human menstrual cycle, Fertil. Steril., 34: 125, 1980

2) 木村行雄：射精のメカニズム，臨泌，34：103，1980

3) Crich, J. and Jequier, A.: Infertility in men with retrograde ejaculation: The action of urine on sperm motility and a simple method for achieving antegrade ejaculation, Fertil. Steril., 30: 572, 1978

4) Hotchkiss, R. S., Pinto, A. B. and Kleegman, S.: Artificial insemination with semen recovered from the bladder, Fertil. Steril., 6: 37, 1955

5) 白石祐逸，須藤　進，高村郁世：逆行性射精の一例，臨泌，25：823，1971

6) Mahadevan, M., Leeton, J. F. and Trounson, A. O.: Noninvasive method of semen collection for successful artificial insemination in a case of retrograde ejaculation, Fertil. Steril., 36: 243, 1981

7) Makler, A., David, R., Blumenfeld, Z. and Better, O. S.: Factors affecting sperm motility Ⅶ,Sperm viability as affected by change of PH and osmolarity of semen and urine specimens, Fertil. Steril., 36: 507, 1981

8) Garcea, N., Caruso, A., Campo, S. and Siccardi, P.: Retrograde ejaculation: a more convenient method for artificial insemination, Europ. J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol., 14: 175, 1982

9) Vijayakumar, R., Usun, O., Swope, R., Leon, F. D. and Heine, W.: Fine structure of spermatozoa retrieved from retrograde ejaculates, Arch. Androl., 17: 25, 1986

10) Urry, R. L., Middleton, R. G. and McGavin, S.: A simple and effective technique for increasing

pregnancy rates in couples with retrograde ejaculation, Fertil. steril., 46: 1124, 1986

A case of retrograde ejaculation with the recovery of only the immotile sperms whose wife conceived by AIH

Masaki Fuse, Sumihide Okamoto, Tadayuki Ishimaru and Tooru Yamabe

Department of Obstetrics and Gynecology, Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki 852, Japan.

The case of retrograde ejaculation which recovered only the immotile sperms conceived by AIH. The patient was 39 years of age and infertile for 7 years. Although all of the recovered sperms were immotile, these immotile sperms were expected the transient reduction of motility. The recovery of the sperm was performed in the following manner. A catheter was passed, the urine emptied and 10ml of Ham's F10 leaved in the bladder before the removal of the catheter. Following the above manner, 5 specimens from the case were collected within 5 minutes after self-masturbation. These semen parameters showed sperm concentration 1.8 ~3.8×10^6/ml, abnormal morphology 18~35% and motility 0%. Furthermore, live sperm showed 68 ~83% by trypan blue vital stain. When the specimens mixed with 10% heat-inactivated serum were incubated for 3 hours at 37℃, 5% CO_2 in air, the immotile sperm recovered the motility (5 ~16%). These results showed that most immotile sperm was not dead and reduced the motility transiently. It is important to discriminate immotile sperm from dead one and to assess the recovery of sperm motility for the treatment and the prognosis in retrograde ejaculation.

(受付：1990年3月26日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

男性不妊症における染色体異常の検討

Chromosomal Investigation in Male Infertile Cases

札幌医科大学泌尿器科学教室（主任：熊本悦明教授）
立木 仁　熊本悦明　斉藤誠一
Hitoshi TACHIKI　Yoshiaki KUMAMOTO　Seiichi SAITO
宮尾則臣　丸田浩
Noriomi MIYAO　Hiroshi MARUTA

Department of Urology, Sapporo Medical College,
Sapporo 060, Japan
(Director: Prof. Y. Kumamoto)

不妊を主訴に当科を受診した874例に対し染色体分析を施行し，31例（3.5％）に性染色体異常を，7例（0.8％）に常染色体異常を，26例（3.0％）に正常変異を認めた．これは他の文献的報告と比較して，ほぼ同程度の頻度であった．常染色体転座は7例に認めた．このうち精子数 40×10^6/ml 以上のものは皆無であり，睾丸組織を検討し得た4例では，程度の差こそあれ全例に精子形成障害を認めた．したがって，常染色体転座は男性不妊症の原因として重要であると考えられた．正常変異のうち，9番染色体の腕間逆位は14例に認めた．このうち12例が精子数 40×10^6/ml 以上であり，9番染色体の腕間逆位が造精障害の原因となっている可能性は否定的であった．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 157—164, 1991)

緒　言

染色体異常は男性不妊症の原因のひとつとして重要な位置を占めている．

染色体異常は大きく分類すると性染色体異常，常染色体異常の2つに分けられるが，特定の遺伝的発現には関与しないとされる正常変異という核型も存在する[1,2]．

性染色体異常はKlinefelter症候群に代表されるように，一般に高度な睾丸障害を来す．一方，常染色体異常は近年，染色体分析が盛んに行われるようになってきたのに伴い，男性不妊の原因となっている可能性の高い症例が多数報告され，注目を集めるようになった．

また，正常変異と呼ばれる核型については，睾丸の造精能に影響を及ぼすか否か議論のあるところである[3]．

そこで今回我々は，男性不妊症患者において見られる染色体異常についてまとめるとともに，その精液所見および組織学的特徴について検討したので報告する．

対象および方法

対象は1980年1月より1989年8月までの間に，不妊を主訴に当科を受診した外来患者874例である．染色体同定は，末梢血リンパ球培養法を用い，エスアールエルで行った．

結　果

1）男性不妊症における染色体異常の頻度（Table 1）

874例中64例（7.3％）に染色体異常または正常変異を認めた．精子濃度によって4群に分けると，azoospermiaで153例中32例（20.9％），精子数 20×10^6/ml 未満の oligozoospermiaで206例中14

例(6.8％)，20×10^6/ml 以上 40×10^6/ml 未満で 128 例中 5 例 (3.9％)，40×10^6/ml 以上の normal 群では，387 例中 13 例 (3.4％) であり，精子濃度が低い群ほど染色体異常が高頻度に出現するという結果であった

2) 性染色体異常 (Table 2)

性染色体異常は 31 例 (3.5％) に認め，このうち 26 例は azoospermia であった．残る 5 例のうち 4 例は精子数 20×10^6/ml 未満の oligozoospermia であった．精子数 20×10^6/ml 以上の 1 例は Y 染色体の腕間逆位であり遺伝子の過剰欠失はなかった．

47, XXY の Klinefelter 症候群は 31 例中 21 例 (67.7％) と性染色体異常の大半を占め，全例が azoospermia であった．その睾丸組織は，hyalinization ないし Sertoli cell only tubules の所見であり，著しい睾丸組織障害を認めた．

46 XX は 2 例で，いずれも Klinefelter 症候群と同様の著しい睾丸組織障害を示していた．

そのほか 46 X　dicentric　Y を 1 例，47, XYY を 2 例，mosaic を 3 例に認めた．

3) 常染色体異常 (Table 3)

常染色体異常は 7 例 (0.8％) に認め，2 例が azoospermia，4 例が精子数 20×10^6/ml 未満の oligozoospermia であった．残る 1 例も精子数 40×10^6/ml 未満であり，精子数 40×10^6/ml 以上の症例はなかった．

常染色体異常の 7 例は全て常染色体転座であり，全く同じ核型のものは認めなかった．7 例中 5 例が相互転座 (reciprocal translocation) であり，残る 2 例が Robertson 型転座 (Robertsonian translocation) であった．相互転座の 1 例で 1 番染色体の腕間逆位を伴っていたがこれは正常変異であった．

7 例中 4 例で睾丸組織を検討したが，Sertoli cell only tubules がほとんどのものから，spermatid をみ

Table 1. 男性不妊を訴える症例における染色体異常の頻度

Sperm count	No. of case	Sex chromosomal abnormality	Autosomal abnormality	Normal variants	Total
Azoospermia	153	26(17.0%)	2(1.3%)	4(2.6%)	32(20.9%)
20×10^6/ml	206	4(1.9%)	4(1.9%)	6(3.0%)	14(6.8%)
$40\times10^6\sim20\times10^6$/ml	128	0	1(0.8%)	4(3.1%)	5(3.9%)
40×10^6/ml≦	387	1(0.3%)	0	12(3.1%)	13(3.4%)
Total	874	31(3.5%)	7(0.8%)	26(3.0%)	64(7.3%)

(札幌医科大学泌尿器科，1980.1～1989.8)

Table 2. 性染色体異常の核型と睾丸組織所見

Karyotype	No. of cases	Hyalinization	Sertoli tubules	Severe hypo	not examine
Azoospermia					
47, XXY	21	2	5		14
46, XX	2	1	1		
47, XYY	1				1
46, X, dic (Y)	1			1	
46, X+mar/45, X	1		1		
20×10^6/ml					
47, XYY	1				1
46, XY/45, X/47, XXY	2				2
46, XY/45, X	1				1
20×10^6/ml～40×10^6/ml					
46X, inv (Yp^+q^-)	1				1

(hypo = hypospermatogenesis)

とめるものまで，睾丸組織障害の程度はさまざまであった．

4）正常変異（Table 4）

正常変異は26例（3.0％）に認めた．精子数で分けるとazoospermiaが4例，精子数20×10^6/ml未満のoligozoospermiaが6例，精子数20×10^6/ml以上40×10^6/ml未満が4例であり，精子数40×10^6/ml以上の症例は12例であった．これらの症例の核型もさまざまであったが，腕間逆位が16例と最も多く，第二次狭窄あるいは非染色部の延長が5例，付随体を認めるものが3例，断片を認めるもの，標識染色体を伴うものがそれぞれ1例であった．

正常変異26例のうち，9番染色体の腕間逆位が14例（53.8％）と高頻度に認められ，精子数40×10^6/ml以上の症例は12例すべてがこの核型であった．

正常変異症例のうち睾丸組織を検討したものは9例で，このうち8例がmild hypospermatogenesisであり，睾丸組織障害は比較的軽度であった．

Table 3. 常染色体異常の核型と睾丸組織所見

Karyotype	No. of cases	Histological classification
Azoospermia		
46, XY, t (1 ; 4)	1	Sertoli tubules > severe hypo
46, XY, inv ($1p^+q^-$), t (2 ; 3)	1	mild hypo > moderate hypo
20×10^6/ml>		
46, XY, t ($6p^-$; $18p^+$)	1	not examined
45, XY, t (21q ; 22q)	1	mild hypo
46, XY, t ($1q^-$; $13p^+$)	1	mild hypo > moderate hypo
46, XY, t ($6q^+$; $7q^-$)	1	not examined
$20\times10^6\sim40\times10^6$/ml		
45, XY, t (13q ; 14q)	1	not examined

(hypo = hypospermatogenesis)

Table 4. 正常変異の核型と睾丸組織所見

Karyotype	No. of cases	Histological classification
Azoospermia		
46, XY, inv ($1p^+q^-$)	1	severe hypo
46, XY, inv ($9p^+q^-$)	1	mild hypo
46, XY, $22ps^+$	1	not examined
46, XY, 14pss	1	mild hypo
20×10^6/ml		
46, XY, inv ($9p^+q^-$)	1	mild hypo
46, XY/46, XY, Fra (17)	1	not examined
46, XY, $17ph^+$	2	not examined
46, XY, $1qh^+$	1	not examined
47, XY, $^+$mar	1	mild hypo
$20\times10^6\sim40\times10^6$/ml		
46, XY, inv ($16p^+q^-$)	1	mild hypo
46, XY, $9qh^+$	1	mild hypo
46, XY, 13pss	1	mild hypo
46, XY, $10qh^+$	1	mild hypo
40×10^6/ml ≦		
46, XY, inv ($9p^+q^-$)	12	not examined

(hypo = hypospermatogenesis)

考　察

1）染色体異常の出現頻度

不妊を主訴に受診した外来患者について，原則として全例に染色体検査を施行し，874例中64例(7.3%)に染色体異常および正常変異を認めた(Table 1)

対象症例を精子濃度によって4群に分けると，精子濃度が低い群ほど染色体異常が高い頻度でみられるという結果であった．ことに，azoospermiaでは153例中32例(20.9%)と，5人に1人が染色体異常を有するという結果であった．

男性不妊を訴えて受診した症例の染色体異常出現頻度については現在までにTable 5のような報告がある[4~7]．これらの報告をまとめると，性染色体異常は4.2%，常染色体異常は1.2%，合計5.3%に染色体異常を認めるという結果であった．なお，これらの報告では正常変異については言及していない．今回の我々の結果は性染色体異常3.5%，常染色体異常0.8%，計4.3%であり，やや低い頻度であったが，男性不妊を訴え受診する症例の4～5%に染色体異常が存在するものと考えられた．

さらに，男性不妊を訴え受診した症例の染色体異常頻度を一般集団の染色体異常発生率と考えられる新生児の頻度と比較した(Table 6)[8~11]．その結果，一般集団に比べて不妊を訴え受診した症例では染色体異常で約15倍，常染色体異常で約2倍高いという結果であった．

2）性染色体異常

男性不妊症の染色体異常の中で，Klinefelter症候群は頻度の高い染色体異常であり，我々の検討では21例（67.7%）に認めた．

Klinefelter症候群の睾丸組織は，精細管壁の肥厚・硝子化および精細管内細胞の減少・消失が特徴である．Fig. 1は当科における思春期前後の

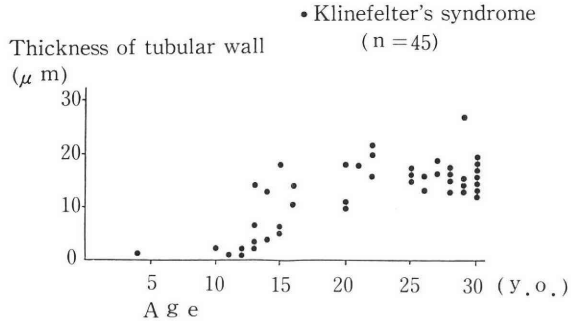


Fig. 1　クラインフェルター症候群における思春期前後での精細管壁の厚さの変化

Table 5. 男性不妊を訴える症例における染色体異常の頻度～文献報告例との比較～

Reporter	No. of cases	Sex chromosomal abnormalities	Autosomal abnormalities	Total
Kjessler (1974)	1,363	70(7.2%)	20(1.5%)	90(6.6%)
Koulischer (1975)	1,000	27(2.7%)	6(0.6%)	33(3.3%)
Chandley (1979)	2,372	33(1.4%)	18(0.7%)	51(2.1%)
Tiepolo (1981)	2,247	163(7.2%)	37(1.6%)	200(8.9%)
Total	6,982	293(4.2%)	81(1.2%)	374(5.3%)
Present survey (1989)	874	31(3.5%)	7(0.8%)	38(4.3%)

Table 6. 新生児における染色体異常の頻度～文献報告例の検討～

Reporter	No. of cases	Sex chromosomal abnormalities	Autosomal abnormalities	Normal variants	Total
Bochkow (1974)	2,500	8(0.3%)	11(0.4%)	38(1.5%)	57(2.3%)
Hamerton (1975)	13,939	20(0.1%)	46(0.2%)	215(1.5%)	281(2.0%)
Nielsen (1975)	11,148	29(0.3%)	65(0.6%)	187(1.7%)	281(2.5%)
Total	27,567	57(0.2%)	122(0.4%)	440(1.6%)	619(2.3%)
		0.6%			
UNSCEAR*(1980)	833,000	1,890(0.2%)	3,269(0.4%)	unknown	?
		0.6%			

*United Nation Scientific Committie of Effect of Atomic Radiation

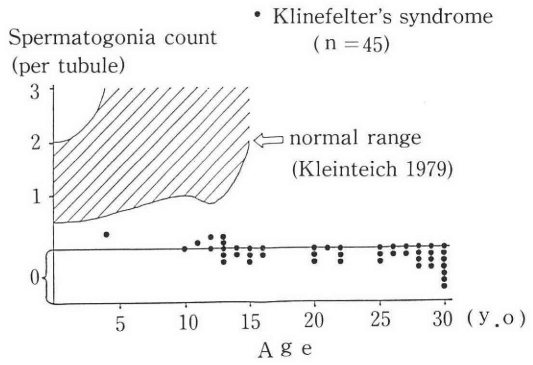


Fig. 2　Klinefelter 症候群における思春期前後での精祖細胞数の変化

Klinefelter 症候群 45 例の，精細管壁の厚さを検討したものであるが，思春期を境に急激な壁の厚さの増大がみられた．これは，思春期の gonadotropin 分泌上昇と一致しており，このことが急激な睾丸組織変化に関与しているものと考えられる．一方，精祖細胞の数は Fig. 2.に示すごとく，思春期前より著明に減少ないし消失していた．

このように Klinefelter 症候群の特徴的な睾丸組織所見は，精細管壁の肥厚・硝子化が思春期を境に明らかになるが，精祖細胞の発生障害は潜在的に存在しているものと考えられる[12]．

3）常染色体異常

常染色体異常は，数の異常と構造異常の 2 つに大きく分けることができる[1]．

このうち数の異常には trisomy や monosomy といったものがあるが，このような染色体異常は重篤な表現型の異常をもたらし，生殖年齢まで生きることがまれであるため，臨床的にその妊孕能が問題となることはない[12]．

構造異常には転座，逆位，環状染色体など多くの種類がある．このうち最も高頻度に認められるのは転座である．今回の検討でも常染色体異常の 7 例全例が転座であった．

常染色体転座は均衡型転座と不均衡型転座に分けられ，不均衡型転座は遺伝子の損失があるため多くの場合流産となり産まれても重篤な表現型の異常を伴う[13]．これに対し均衡型転座は遺伝子の損失はないので表現型は正常である．ただし親が均衡型転座の場合胎児が同じ核型の均衡型転座，もしくは不均衡型転座となることがある．

均衡型転座には，相互転座と Robertson 型転座の 2 つがある．新生児集団における両者の頻度はほぼ 0.1％と同じである．

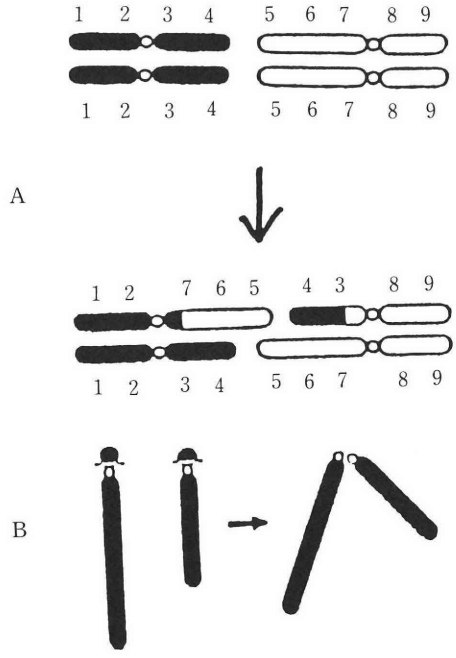


Fig. 3　常染色体転座の模式図（文献 1 より引用）
A：相互転座
B：ロバートソン型転座

相互転座は 2 個の染色体で部分的な取り換えが起こり，その結果 2 個の新しい染色体が形成されたものである．

一方，Robertson 型転座は 2 個の非相同な端部動原体型染色体において，それぞれ先端部（短腕部）が切断されて失われ，動原体同士で融合して新しい 1 個の染色体が形成されたものである（Fig. 3）．端部動原体型染色体とはD群およびG群染色体，すなわち 13，14，15，21，22 番染色体を指す．これらの染色体の先端部（短腕部）は遺伝的な活性を持たないと考えられており，このため先端部（短腕部）が失われても表現型は正常となる．

常染色体転座が精子形成に障害をきたす機序として，従来は次のように考えられていた．すなわち，常染色体転座では減数分裂の過程で核学的に均衡な配偶子を持つ精子細胞と，不均衡な配偶子を持つ精子細胞とができるが，このうち不均衡な配偶子をもつものは正常な精子に成熟することができないというものである．

しかし，近年は次のように考えられている．すなわち常染色体転座では，第一減数分裂に際し正常ではみられない多価染色体の形成が認められる．これは相互転座の場合 4 倍体であり，Robertson 型転座

の場合3倍体である．多価染色体は，減数分裂染色体分析を行うと，形態学的に ring type と chain type に分けられるが，ことに chain type の多価染色体は異常な分離を起こしやすく，その後の精子形成が障害される原因となっているというものである[14]．事実，常染色体転座の睾丸組織においては，primary spermatocyte での arrest を認める頻度が高いとされており，前述の仮説を裏付けるものである．

しかし，我々が経験した7例の常染色体転座のうち，4例で睾丸組織を検討し得たが，arrest の症例はなく，Sertoli cell only tubules がほとんどのものから，spermatid をみとめるものまで，睾丸組織障害の程度はさまざまであった．

特定の常染色体上に精子形成に関与する遺伝子があり，転座に伴い微細な欠失が起こり精子形成障害が発症するという可能性も考えられる．そこで，どの常染色体に関係した転座か多いかを現在までの報告例について検討したが，特定の常染色体に関係した転座が多いという結果は得られなかった(Table 7)[15)-32)]．

以上より，常染色体転座による造精障害は，

①特定の染色体の転座によるものとは考えにくいこと．

②減数分裂の障害が存在する可能性が高いが，必ずしもすべての症例であてはまるわけではない．

とまとめることができた．常染色体転座による造精障害の本態は依然として不明であり，今後の検討が必要である．

4）正常変異

正常変異とはいわば正常変異の個人差といったものであり，表現型には影響を及ぼさないものである．Chromosome polymorphism とも呼ばれる．

正常変異にはC－バンドの長さの変異や，付随体の大きさの変異など染色体の特定部位の微細な変化のほかに，1，9，16番正常変異の腕間逆位も含まれる[2)]．

Table 7. 男性不妊症における常染色体転座～文献報告例とその核型～

Reciprocal translocations			
46, XY, t (9 ; 22)	Chandley (1972)	46, XY, t (2 ; 4)	Abyholm (1981)
46, XY, t (9 ; 22)	Chandley (1976)	46, XY, t (1 ; 3)	Micic (1981)
46, XY, t (9 ; 14)	〃	46, XY, t (6 ; 10)	Micic (1984)
46, XY, t (5 ; 6)	〃	46, XY, t (2 ; 10)	Faed (1982)
46, XY, t (1 ; 18)	〃	46, XY, t (6 ; 12)	Abramsson (1982)
46, XY, t (10 ; 13)	Laulent (1977)	46, XY, t (2 ; 13)	Lyberatou (1983)
46, XY, t (1 ; 21)	Loludice (1977)	46, XY, t (14 ; 21)	Matsuda (1986)
46, XY, t (9 ; 11)	San Roman (1979)	46, XY, t (1 ; 19)	〃
46, XY, t (2 ; 11)	〃	46, XY, t (3 ; 16)	〃
46, XY, t (8 ; 15)	Leonard (1979)	46, XY, t (1 ; 4)	Present study
46, XY, t (13 ; 18)	Blattner (1980)	46, XY, t (2 ; 3)	〃
46, XY, t (1 ; 3)	Marmor (1980)	46, XY, t (6 ; 18)	〃
46, XY, t (11 ; 12)	〃	46, XY, t (1 ; 13)	〃
46, XY, t (6 ; 9)	〃	46, XY, t (6 ; 7)	〃
46, XY, t (9 ; 21)	〃		
Robertsonlan translocations			
45, XY, t (13 ; 15)	Kjessler (1964)	45, XY, t (13 ; 14)	Abyholm (1981)
45, XY, t (13 ; 14)	Plymate (1976)	45, XY, t (13 ; 14)	〃
45, XY, t (14 ; 22)	Marmor (1980)	45, XY, t (13 ; 14)	Abramsson (1982)
45, XY, t (13 ; 15)	〃	45, XY, t (14 ; 15)	〃
45, XY, t (13 ; 14)	〃	45, XY, t (13 ; 14)	Faed (1982)
45, XY, t (13 ; 14)	〃	45, XY, t (13 ; 15)	Hori (1987)
45, XY, t (13 ; 21)	〃	45, XY, t (21 ; 22)	Present study
45, XY, t (13 ; 14)	〃	45, XY, t (13 ; 14)	〃
45, XY, t (13 ; 14)	〃		

男性不妊と正常変異との関連について述べた報告は極めて少ないが，Giraldo ら[33]は正常変異とされる1番染色体の腕間逆位をもった不妊症の3兄弟例を報告し，腕間逆位と造精障害との関連性を示唆している．腕間逆位では減数分裂の際に置換部とそれに相同な正常部との間で交叉が起こり，組換え染色体と呼ばれる構造異常が新たに生じることがある．これが造精障害の原因となっているという可能性は考えられる．しかし我々の検討では腕間逆位による正常変異例は16例に認め，このうち14例は9番染色体の腕間逆位であり，14例中12例は精子数 40×10^6/ml 以上であった．したがって，正常変異を9番染色体の腕間逆位とそれ以外とに分けて考えると，後者についてはさまざまな核型が含まれており個々の症例数も少なく造精障害との関連の有無を明らかにすることはできないが，少なくとも前者については造精障害の関連性はないものと考えられた．

文　献

1) 牧野佐二郎：染色体－人類の細胞遺伝，医学書院，1979
2) 祖父尼俊雄：染色体の異形性(個人差)，医学のあゆみ，121：582，1982
3) Dutrillaux, B., Rotman, J. and Gueguen, j.: Chromosomal factors in the infertile males, In: lnternational aspects of male infertility, lnternational Perspectives in urology, 89, Williams and Wilkins, 1982
4) Kjessler, B.: Chromosomal constitution and male reproductive failure, ln: Male Fertility and Sterility, 231, Academic press 1974
5) Koulischer, L. and Shoysmann, R.: Etude des chromosomes mitotiques et meiotiques chez les hommes infertiles, J. Genet. Hum., 23: 50, 1975
6) Chandley, A. C.: Chromosomal basis of human infertility, Br. Med. Bull., 35: 181, 1979
7) Tiepolo, L., Zuffardi, O., Fraccaro, M. and Giarola, A.: Chromosomal abnormalities and male infertility, In: Oligozoospermia: Recent Progress in andrology, Raven Press, 1981
8) Bochkov, N. P., Kulfshov, N. P. and Chebotarev, A. N.: Population cytogenetic investigation of newborns in Moskow, Humangenetik, 22: 139, 1974
9) Hamerton, J. L., Canning, N., Ray, M. and Smith, S.: A cytogenetic survey of 14,069 newborn infants; lncidence of chromosome abnormalities, Clin. Genet., 8: 223, 1975
10) Nielsen, J. and Sillesen, l.: Incidence of chromosomal aberrations among 11148 newborn children, Humangenetik, 30: 1, 1975
11) UNSCEAR: 29th session of UNSCEAR, United Nations, 1980
12) 池内達郎：染色体異常の遺伝的荷重，外村晶(編)染色体異常，168，朝倉書店，1978
13) Palmer, C. G., Schwartz, S. and Hodes, M. E.: Transmission of a balanced homologues t (22q: 22q) transloocation from mother to normal daughter, Clin. Genet., 17: 418, 1980
14) Lyon, M. F. and Meredith, R.: Autosomal translocations causing male sterility and viable aneuploidy in the mouse, Cytogenetics, 5: 335, 1966
15) Kjessler, B.: Meiosis in a man with D/D translocation and clinical sterility, Lancet, 27: 1421, 1964
16) Chandley, A. C., Christie, S., Fletcher, J., Frackiewicz, A. and Jacobs, P. A.: Translocations heterozygosity and associated subfertility in man, Cytogenetics, 11: 516, 1972
17) Chandley, A. C., Seuanez, H. and Fletcher J.: Meiotic behaviour of five human reciprocal translocations, Cytogenet Cell Genet., 17: 98, 1976
18) Laurent, C., Biemont, M-C. l., Cognat, M. and Dutrillaux, B.: Studies of the meiotic behaviour of a translocation t (10; 13) (q25; q11) in an oligospermicman, Hum. Genet., 39: 123, 1977
19) Loludice, T. A.: Male infertility and 21/1 translocation, Southern Med. J., 70: 615, 1977
20) San-Roman, C., Sordo, M. and Garcia-Sagredo, J. M.: Meiosis in two human translocations, J. Med. Genet., 16: 56, 1979
21) Leonard, C., Bisson, J. P. and David, G.: Male sterility associated with familial translocation heterozygosity: t (8; 15) (q22; p11) , Arch. Androl., 2: 269, 1979
22) Blattner, W. A., Kistenmacher, M. L., Tsai, S., Punnett, H. H. and Giblett, E. R.: Clinical manifestations of familial 13; 18 translocation, J. Med. Genet., 17: 373, 1980
23) Marmor, D., Taillemite, J. L., Akker, J. V. D., Portnoi, M. F., Porrier, N. L., Joye, N., Delafontaine, D. and Roux, C.: Semen analysis in subfertile balanced translocation carriers, Fertil. Steril., 34: 496, 1980
24) Abyholm, T. and Stray-Pedersen, S.: Hypospermatogenesis and chromosomal aberrations, A. clinical study of azoospermic and oligozoospermic men with normal and abnormal karyotype, lnt. Androl., 4: 546, 1981
25) Mićic, M. D. and Mićic, S. R.: Meiotic findings in human reciprocal 1; 13 translocation, Hum. Genet., 57: 442, 1981
26) Mićic, M. D. and Mićic, S. R.: Meiotic studies in two infertile males with autosomal translocations, Hum. Genet., 65: 308, 1984
27) Faed, M. J., Lamont, M. A. and Baxby, K.:

Cytogenetic and histological studies of testicular biopsies from subfertile men with chromosome anomaly, J. Med. Genet., 19: 49, 1982
28) Abramsson, L., Beckman, M., Duchek, M. and Nordenson, I.: Chromosomal aberrations and male infertility, J. Urol., 128: 52, 1982
29) Lyberatou-Moraitou, E., Grigori, P., Goulandris, N. and Lyberatos, C.: An azoospermic male with presumably balanced translocation, Clin. Genet., 23: 391, 1983
30) 松田公志，真田俊吾，大森孝平，堀井泰樹，高橋陽一，枝村節子，小池荘一，佐々木正道，男子不妊症における常染色体転座，泌尿紀要，32：809，1986
31) Plymate, S. R., Bremner, W. J. and Paulsen, C. A.: The association of D-group chromosomal translocations and defective spermatogenesis, Fertil. Steril., 27: 139, 1976
32) 堀　夏樹，山本逸夫，林　宣男，杉浦芳樹，鈴木泉，桜井正樹，荒木富雄，塚本勝己，山川謙輔，川村寿一，無精子症における染色体異常の検討，泌尿紀要，33：187，1987
33) Giraldo, A., Sliva, E., Martinez, I., Campos, C. and Guzman, J.: Peericentric inversion of chromosome 1 in three sterlie brothers, Hum. Genet., 58: 226, 1981

Chromosomal investigation in male infertile cases

Hitoshi Tachiki, Yoshiaki Kumamoto, Seiichi Saito, Noriomi Miyao, and Hiroshi Maruta

from the Department of Urology, Sapporo Medical College, Sapporo 060, Japan
(Director: Prof. Y. Kumamoto)

Chromosomal analyses in 874 Patients visited at infertility clinic revealed that 31 patients (3.5%) had sex chromosomal abnormalities, 7 patients (0.8%) autosomal abnormalities, and 26 patients normal variants. In 7 patients with autosomal abnormalities, all of them had sperm counts less than 40 million per ml and various spermatogenic faliures were observed in 4 patients histologically. Therefore, autosomal abnormalities may important causes of male infertility. ln 26 patients with normal variants, pericentric inversions of chromosome 9 were observed in 14 patients and 12 of the 14 had sperm counts of more than 40 million per ml. Therefore, Pericentric inversions may not be a definite factor of spermatogenic failure.

(受付：1990年3月30日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

特発性男性不妊症における Genital Skin Androgen Receptor の研究

A Study on Genital Skin Androgen Receptor in Idiopathic Male Infertility

岡山大学医学部泌尿器科学教室（主任：大森弘之教授）

大橋洋三 Yozo OHASHI　大橋輝久 Teruhisa OHASHI　山下良孝 Yoshitaka YAMASHITA
入江伸 Shin IRIE　永井敦 Atsushi NAGAI　大森弘之 Hiroyuki OHMORI

Department of Urology, Okayama University Medical School, Okayama 700, Japan
(Directoe: Prof. H. Ohmori)

男性不妊症において，外陰部皮膚 androgen receptor（AR）を測定し，androgen 不応症との関係を検討した．AR は，ligand として ^{3}H-R1881 を用いて，tissue homogenate より cytosol fraction, nuclear fraction を作成して DCC 法にて測定した．

外陰部皮膚 AR の Bmax は，azoospermia，oligozoospermia とも同レベルで，精子濃度による差を認めなかった．特発性不妊症 83 例のうち，Bmax 低値群は 8 例あり，Plasma LH は Bmax 低値群が正常群に比し高い傾向を示したが，Plasma T, FSH, TxLH に有意差を認めなかった．Androgen insensitivity index（TxLH）高値群の Bmax も正常群と差がなかった．また，精細管内 testosterone, 5-αdihydrotestosterone 濃度と，外陰部皮膚 AR との関連性は認めなかった．

以上より，特発性男性不妊症における androgen 不応症を検討するためには，精細管内 AR の測定が必要であることが示唆された．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 165—171, 1991)

緒　言

男性不妊症の一部に，androgen insensitivity による不妊症の存在することが報告されている．これは，表現型は正常男性であるが，cultured genital skin fibroblast を用いて測定した androgen receptor（AR）の最大結合部位数（Bmax）が正常群に比し低値であるものが存在すること，さらにそれら Bmax 低値群の androgen insensitivity index，即ち plasma testosterone（T）xLH が高値を示すことが報告されている[1~2]．しかし正常な発育を遂げている外陰部皮膚が，果たして精巣内の AR level 異常の指標と成り得るか否かは疑問である．我々は，既に外陰部皮膚の tissue homogenate を用いて年齢による AR の変化および性分化異常における Bmax 低値群の報告を行ってきた[3~4]．今回，我々は特発性男性不妊症患者に対して tissue homogenize 法にて外陰部皮膚 AR を測定し，末梢血中 T，LH，FSH および TxLH との関連性について検討した．また，同時に精巣生検にて得られた組織より精細管内 androgen 濃度を測定し，両者の関連性についても検討を加えたので報告する．

対象並びに方法

対象は1986年4月から1987年7月までに当科不妊外来を受診した特発性無精子症27例，4×10⁷/ml未満の特発性乏精子症56例（精子濃度1×10⁶/ml未満の高度乏精子症9例，1×10⁶以上4×10⁷/ml未満47例），精索静脈瘤9例，精管異常9例，精管結紮3例，精管欠損6例である．外陰部皮膚ARのコントロール群としては同時期におこなった子供を有する正常成人男子包皮28例を用いた．外陰部皮膚ARの測定は，³H-R1881をligandとし，既に報告した細胞分画法にてcytosol fraction, crude nuclear fractionを調整し[3~4]，DCCを用いたexchange assayにてspecific bindingを求め，Scatchard plot analyais[5]にて解離定数（Kd），最大結合部位数（Bmax）を蛋白濃度で補正し求めた．cytosol Bmax（C Bmax）とnuclear Bmax（N Bmax）を加えたものをtotal Bmax（T Bmax）とした．また精巣生検により得られた組織の一部より，穂坂らの報告したcollagenase法[6]にて精細管を分離し，精細管内T，5-αdihydrotestosterone（DHT）をRIA法にて測定した[7]．血中LH，FSH，Tの測定は二抗体法によるRIAキットにより測定した．測定データの有意差検定はt-testにより行った．

成　績

1）各グループにおけるC Bmax，N Bmax及びT Bmax値（Table 1）

正常成人男性のT Bmaxは13.6～47.09（28.34±8.11，mean±S.D.）fmol/mg protein（p）であり，T Bmaxのcut-off値を13.6 fmol/mgpとした．精索静脈瘤9例のT　Bmaxは34.59±9.57 fmol/mgp，精管異常9例のT　Bmaxは25.54±6.32 fmol/mgpで，全例13.6 fmol/mgp以上であった．精子濃度1×10⁶未満の高度乏精子症9例のT Bmaxは26.28±6.50 fmol/mgpでARが13.6 fmol/mgp未満の低値のものは認めなかった．また精子濃度1×10⁶/ml以上4×10⁷/ml未満の特発性乏精子症47例では，T Bmaxは25.56±10.89 fmol/mgpで正常群と有意差は認めなかったが，13.6 fmol/mgp未満のBmax低値のものが4例認められた．特発性無精子症29例のT　Bmaxは25.32±10.06 fmol/mgpでcontrol群とは有意差がなかったが，低値例を4例認めた．なおcytosol frtactoinのKdはcontrol群0.56±0.28，　oligo群0.57±0.25，azoo群0.59±0.23 nM，またnuclear fractionのKdはcontrol群0.35±0.17，oligo群0.32±0.14，azoo群0.30±0.10 nMといずれも各群間に有意差を認め

Table 1. Bmax of the cytosol, nuclear and total (cytosol+nuclear) fractions in various group

	N	Bmax (fmol/mg p)		
		cytosol	nuclear	total
Control	28	9.29±4.89	19.00±7.01	28.34± 8.11
Varicocele	9	11.87±5.04	22.71±6.43	34.59± 9.57
Vas disorder	9	9.28±4.16	16.26±3.49	25.54± 6.32
Idiopathic				
oligo high grade	9	6.81±2.11	19.47±5.30	26.28± 6.50
low grade	47	7.62±4.53	17.93±8.46	25.56±10.89
Azoospermia	27	9.13±5.14	16.19±7.06	25.32±10.06

oligo high grade: $< 1 \times 10^6$/ml, oligo low grade: 1×10^6/ml$\leqq$, 4×10^7/ml$>$

Table 2. T, LH, FSH and TxLH levels (mean±S.D.) in the low and the normal Bmax group

Bmax	T (ng/ml)	LH (mIU/L)	FSH (mIU/L)	TxLH
low group　n = 8				
(< 13.6 fmol/mg p)	4.38±2.14	29.90± 8.77	18.41±11.29	115.15±52.27
normal group n = 72			*	
(≧ 13.6 fmol/mg p)	4.63±1.74	21.72±10.08	23.02±16.37	106.20±66.9

*$p < 0.05$

なかった．またC Bmax，N Bmax も各群間に有意差を認めなかった．

2）特発性男性不妊症 T Bmax 低値群と T Bmax 正常群における末梢血中T，LH，FSH，及び TxLH 値の比較（Table 2，3）

外陰部皮膚 T Bmax 低値群8例の末梢血中Tは4.38±2.14 ng/ml，LH は29.9±8.77 mlU/ml，FSH は18.41±11.29 mlU/ml であり，一方，Bmax 正常群72例のTは4.63±1.74 ng/ml，LH 21.72±10.08 mlU/ml，FSH は23.02±16.37 mlU/ml であり，LH が Bmax 低値群で高い傾向を認めるのみで，他はいずれも両群間に有意差を認めなかった．また，いわゆる androgen insensitivity index（TxLH）についても，T Bmax 低値群は115.15±52.27 正常群106.20±66.92 で有意差を認めなかった．なお，Bmax 低値群の一覧を Table 3 に示したが，LH が上昇傾向を認める以外，一定の傾向はみられなかった．

3）特発性男性不妊症 T Bmax 低値群と T Bmax 正常群における精細管内T，DHT 濃度の比較（Table 4）

T Bmax 低値群の精細管内Tは174.10±161.40 ng/g.t.w.，DHT は13.28±11.60 ng/g.t.w.，正常群の精細管内Tは184.5±166.4 ng/g.t.w.，DHT は13.69±13.72 ng/g.t.w.と2群間に有意差はなく，両者とも外陰部皮膚 AR との関連性は認められなかった．

4）Androgen insensitivity index（TxLH）高値群と正常群における AR（T Bmax）の比較（Fig. 1）

Androgen insensitivity index（TxLH）が高値，即ち200以上を示すものは azoospermia 群に2例，oligozooapermia 群に3例の計5例認められた．TxLH 高値群の T Bmax は23.26±6.77 fmol/mg.p.，正常群の T Bmax は23.21±7.02 fmol/mg.p.であり，両群間に有意差を認めなかった．なお，高値群5例の精巣生検における Johnsen's score count（JSC）は各々2.0，2.0，8.7，7.6，8.7と一定の傾向は認めなかった．

5）精細管内T，DHT 濃度と外陰部皮膚 AR（T Bmax）の関係（Fig. 2，3）

精細管内T濃度と AR の関連性をみるために精細管内Tが100 ng/g.t.w.を基準にそれ以上の群と未満の群に分けた．100 ng/g.t.w. 以上の群は47例あり，これらの T Bmax は25.87±9.19 fmol/mgp であった．一方，精細管内Tが100 ng/g.t.w.未満の群は36例あり，これらの T Bmax は25.14±11.91 fmol/mgp であり，両群間に有意差を認めなかった．また精細管内 DHT は10 ng/g.t.w.を基準にすると，それ以上の群は37例あり，これらの T Bmax は24.78±

Table 3. Summary of the Low Bmax Group

No.	Age	Sperm density	JSC	Plasma				T Bmax
				T	LH	FSH	TxLH	
1	29	0	6.4	2.7	31.5	24.9	85.1	8.21
2	30	0	8.0	1.5	40.4	32.0	60.0	6.50
3	36	0	2.2	4.2	22.8	26.8	95.7	8.23
4	38	470	8.4	6.1	28.9	24.3	176.2	10.11
5	27	970	8.4	4.7	18.3	5.5	86.0	6.01
6	29	380	9.3	5.0	39.4	14.4	197.0	7.79
7	31	0	2.0	2.0	38.0	32.7	144.0	7.17
8	28	180	8.7	8.7	20.3	4.4	77.1	7.11

Sperm density : $\times 10^4$/ml, T : ng/ml, LH : mIU/ml, FSH : mIU/ml, T Bmax : fmol/mg p

Table 4. Intratubular T and DHT levels in the low and normal Bmax group

	N	Intratubular T (ng/g.t.w.)	Intratubular DHT (ng/g.t.w.)
Low Bmax Group (< 13.6 fmol/mg p)	8	174.1±161.4	13.28±11.60
Normal Bmax Group (≧ 13.6 fmol/mg p)	72	184.5±166.4	13.69±13.69

9.38 fmol/mgp で，精細管内 DHT が 10 ng/g.t.w.未満のものは 46 例あり，これらの T Bmax は 26.17±11.22 fmol/mgp と，これも両群間に有意差を認めなかった．

考　察

男性ホルモン作用は，末梢血中の androgen が標的臓器の細胞内レセプター蛋白に結合し，androgen の結合したレセプターは活性化され DNA に対する親和性を得，遺伝子に作用して各臓器特有の蛋白合成を誘導することにより発現される．これらの段階のいずれかに異常がある場合に androgen 不応症となり，その程度により完全型精巣性女性化症から，種々の程度の男性化徴候の認められる不全型，外見上は男性型である Reifenstein 症候群，無精子症あるいは乏精子症のみ認められる男性不妊症まで広いバリエーションがあるといわれている[1,2,8~10]．これらのことは，外陰部皮膚を対象とした AR の量的，質的異常を検討することにより証明されており，著者らも外陰部皮膚の tissue homogenate[3,4]及び cultured genital skin fibroblast を用いて[12]，性分化異常における外陰部皮膚 AR を検討してきた．表現型が正常の男性

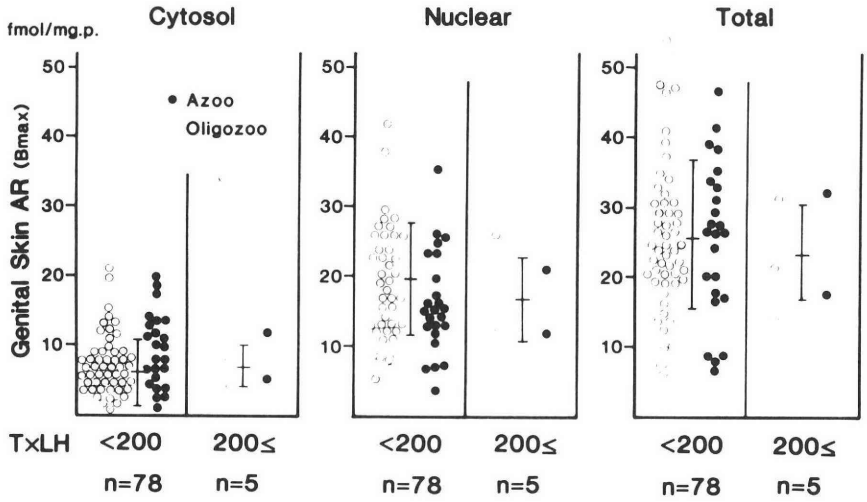


Fig. 1 Relationship between genital skin AR and TxLH

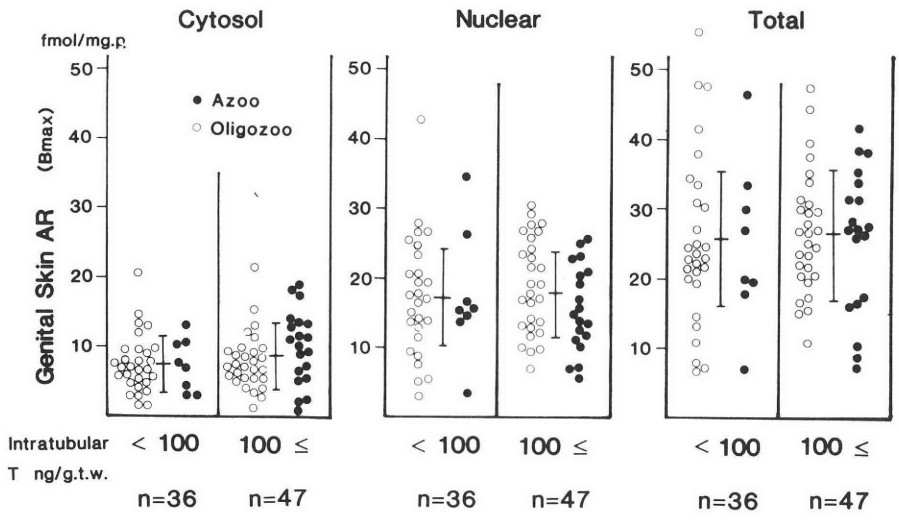


Fig. 2 Relationship between genital skin AR and intratubular T levels in two groups

型を呈する無精子症，乏精子症の患者の中に，androgen 不応症の存在することを最初に報告したのは Aiman[1]らであり，その後症例を追加して，特発性男子不妊症の 40％異常に AR 低値例が存在することを報告している[2]．しかし Bouchard ら[13]は乏精子症患者において，TxLH が高値であるにもかかわらず，外陰部皮膚 AR は正常であったと報告し，Eil ら[14]も外陰部皮膚 AR は whole cell, nuclei とも control と差がなかったと報告している．また Morrow ら[15]の報告でも一定の報告を認めず，外陰部皮膚 AR と男性不妊症の関係は一致した見解を得ていないのが現況である．

今回著者らは，男性不妊症において外陰部皮膚 AR を tissue homogenize 法にて測定した．control 群の T Bmax は 28.34±8.11 fmol/mgp であり，前回の報告[3,4]，梅原ら[16]，Fichman ら[17]の報告と一致している．精索静脈瘤群および精管欠損，精管結紮術後を含む精管異常群は全例 control 群と差がなかった．さらに，特発性乏精子症，特発性無精子症においても control 群と有意差を認めなかった．しかし無精子症の 4 例，精子濃度 1.8×10^6～9.7×10^6/ml の乏精子症の 4 例が cut-off 値より低値を示した．

T Bmax 低値群と正常群の各種パラメーターを比較してみると，JSC,末梢血中T，FSH，及び TxLH に有意差は認めず，LH のみ T Bmax 低値群が高い傾向を認め，Morrw ら[15]の報告に一致するものであった．一般に，androgen 不応症の場合，間脳，下垂体レベルでフィードバック機構が十分に働かないために androgen insensitivity index（TxLH）が高値を示すと言われている．Aiman らは最初の報告で，AR 低値群の不妊症においては，2/3 の症例において TxLH が 200 を越える高値を示したと報告した[1]が，その後の検討で必ずしも高値を示す訳ではないと述べている[2]．著者らの結果でも外陰部皮膚 total Bmax が低値の群では plasma T は 6.26±2.7 ng/ml と正常範囲であり LH は 29.90±8.77 mIU/ml と Bmax 正常群 23.72±12.08 mIU/ml に比し高い傾向を認めるものの両群間にに有意差はなく，また TxLH が 200 を越えるものは 1 例もなかった．逆に TxLH が 200 以上の群 5 例とそれ未満の群 78 例の間でも Bmax に差は認められなかった．ゆえに，外陰部皮膚 AR 低値群では視床下部，下垂体レベルでの何らかの異常の存在が示唆されるものの精巣機能とは直接関連性を認めないものと思われる．一方，造精の行われる精巣とくに精細管に関しては，ラットにおける検討で Sertoli 細胞に AR が存在すること[18]，さらには androgen の投与によって核内の AR 濃度が増加し，造精過程の第 9－12，および 13－1 期が刺激されることが知られている[19]．また androgen の精細管内 AR に対する役割としては，Sertoli 細胞に存在する AR の維持作用といわれている[20]．この造精の場である精細管内 AR レベルを外陰部皮膚 AR が代用可能であるか否かは問題がある．そこで外陰部皮膚と精細管との関連性を検討するために，精細管内T，DHT の高いグループと低いグループに分けて，外陰部皮膚 AR の C Bmax，N Bmax，T Bmax をそれぞれ比較検討した．しかし，いずれも有意差を認めず，外陰部皮膚 AR は精細管内 androgen レベル

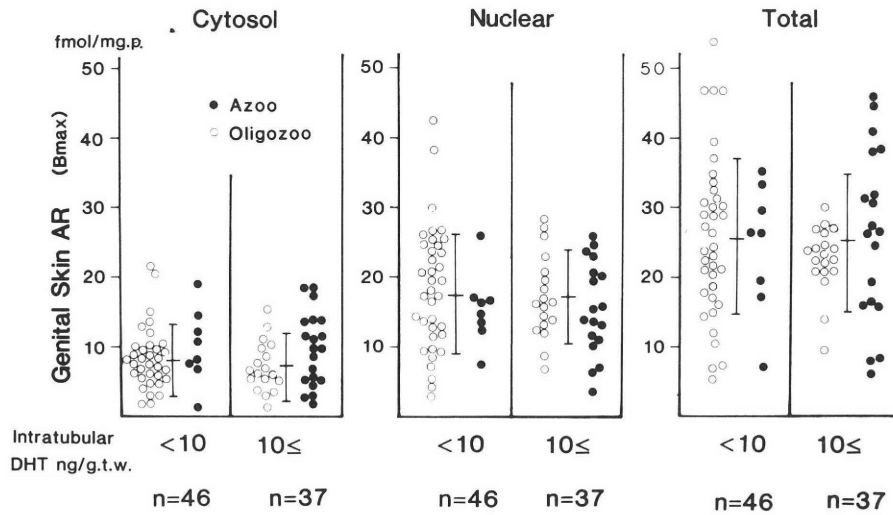


Fig. 3 Relationship between genital skin AR and intratubular DHT levels in two groups

と関連性を認めなかった.

これらのことより，特発性男性不妊症における androgen 不応症の検討のためには，精細管内 AR の測定が必要であることが示唆された.

結　語

男性不妊症患者に対して外陰部皮膚 AR を測定し，以下の結果を得た.

1）精子濃度による外陰部皮膚 AR の Bmax に差は認めなかった.

2）plasma LH は，外陰部皮膚 AR 低値群が正常群に比し，高い傾向を示したが，plasma T, FSH, TxLH は有意差を認めなかった.

3）Androgen insensitivity index (TxLH) 高値群と低値群の間で，外陰部 AR の Bmax に有意差を認めなかった.

4）外陰部皮膚 AR レベルと精細管内 androgen 濃度との間には関連性を認めなかった.

5）男性不妊症における androgen 不応症の証明には，精細管内 AR の測定が必要であることが示唆された.

本論文で要旨は第 31 回日本不妊学会総会において発表した.

文　献

1) Aiman, J., Griffin, J. E., Grazac, J. M., Wilson, J. D. and Mcdonald, P. C.: Androgen insensitivity as a cause of infertility in otherwise normal man, N. Engl. J. Med., 300: 223, 1979

2) Aiman, J. and Griffin, J. E.: The frequency of androgen deficiency in infertile men, clin. endocrinol. Metab., 54: 725, 1982

3) 大橋洋三，森岡政明，藤田幸利：Genital skin androgen receptor に関する研究第 1 報，日不妊会誌，30：293，1985

4) 竹田克治，大橋洋三，東条俊司，入江　伸，古川雅人，大橋輝久，大森弘之：性分化異常におけるヒト外陰部皮膚 androgen receptor の検討，日泌尿会誌，78：477，1987

5) Scatchard, G.: The attractions of proteins for small molecules and ions, Annal New York Academy of Science, 51: 660, 1941

6) 穂坂正彦，西村隆一，高井修道，原田昌興：ヒト分離精細管における testosterone の代謝，日不会誌，28：143，1979

7) 入江　伸，大橋輝久，大橋洋三，古川雅人，永井敦，山下良孝，大森弘之：精細管内 Androgen 濃度の研究第一報，日不妊会誌，33，236，1988

8) Keenan, B. S., Meyer－III W. J., Hadjian, A. J., Jones, H. W. and Migeon, C. J.: Syndrome of androgen lnsensitivity in man: Absence of 5-αdihydrotestosterone binding protein in skin fibroblast, J. Clin. Endocrinol. Metab., 38: 1143, 1974

9) Amrhein, J. A., Meyer, W. J., Jones, H. W., Migeon, C. J.: Androgen lnsensitivity in man: evidence for genetic heterogenecity, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 73: 891, 1976

10) Griffin, J. E., Punyashthiti, K. and Wilson, J. D.: Dihydrotestosterone binding by cultured human fibroblasts, J. Clin. lnvest., 57: 1342, 1976

11) Amrhein, J. A., Klingensmith, G. J., Walsh, P. C., Mckusickv, A. and Migeon, C. J.: Partial androgen insensitivity, the Reifenstein syndrome revisited, N. Eng. J. Med., 297: 350, 1977

12) 大橋洋三，森岡政明，山本志雄，戦　泰和，藤田幸利，大橋輝久，大森弘之：Genital skin androgen receptor に関する研究第 2 報，Cultured skin fibroblast を用いた androgen receptor の測定，日不妊会誌，31：506，1986

13) Bouchard, P., Wright, F., Portos, M. C., Couzinet, B., Chaison, G. and Mowszowicz, I.: Androgen insensitivity in oligospermic man: A reappraisal, J. Clin Endocrinol. Metah., 63: 1242, 1986

14) Eil, C., Gamblin, G. T., Hodge, J. W., Clark, R. V. and Sherins, R. J.: Whole cell and nuclear androgen uptake in skin fibroblast from infertile men, J. Androl., 6: 365, 1985

15) Morrow, A. F., Gyorki, S., Warne, G. C., Burger, H. G., Bangah, M. L., Ouch, K. H., Mirovics, A. and Baker, H. W. G.: Variable androgen levels in infertile man, J. Androl., 6: 365, 1985

16) 梅原次男，熊本悦朗，大野　一：外性器奇形及び発育異常症例に於ける外陰部皮膚組織中 androgen receptor の研究，日泌尿会誌，77：379，1986

17) Fichman, K. R., Nyberg, L. M., Bujnovszky, P., Brown, T. R. and Walsh, P. C.: The ontogeny of the androgen receptor in human fore skin, J. Clin. Endocrinol. Metab., 52: 919, 1981

18) Grootegoed, J. A., Peters, M. J., Mulder, E., Rommerts, F. F. G. and Van-der-Molen, H. J.: Abscence of a nuclear androgen receptor in isolated germinal cell of rat testis, Mol. Cell. Endocrinol., 9: 159, 1977

19) Isomaa, V., Parvinen, M., Janne, O. A. and Bardin, C. W.: Nuclear androgen receptors in different stages of the rat testis, Endocrinology, 116: 132, 1985

20) Sanborn, B. M., Wagle, J. R. and Steinberger,: A control of androgen cytosol recceptor concentration in Sertoli cells: effect of androgens, Endocrinology, 114: 2388, 1984

A study on genital skin androgen receptor in idiopathic male infertility

Yozo Ohashi, Teruhisa Ohashi,
Yoshitaka Yamashita, Shin lrie,
Atsushi Nagai and Hiroyuki Ohmori

Department of Urology, Okayama University
Medical Scool, Okayama 700 Japan
(Director: Prof. H. Ohmori)

The androgen receptor (AR) contents of genital skin were measured in 83 patients with idiopathic male infertility, 9 with varicocele and 9 with vas disorders. The cytosol and nuclear fractions were prepared from skin homogenates and measured by the exchange assay with DCC methods using tritiated R1881 as a ligand.

No significant difference was noted in ARs among the control group and varions lnfertilities.

Plasma LH levels slightly higher in the low AR group than in the normal AR group. However, there was no significant difference in plasma testosterone (T) , FSH and TxLH levels between the two groups. The Bmax of the high TxLH group, so-called high androgen insensitivity index group, were also compared with that of the normal TxLH group, but no significant difference was noted in ARs between the two groups. Moreover, there was no correlation between intratubular androgen levels and genital skin ARs.

Therefore, it was suggested that the genital skin ARs wasnt able to demonstrate the androgen insensitivity in male infertility, and the measurement of intratubular ARs might be necessary.

(受付：1990年2月15日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

ラット精巣の発育過程における Leydig 細胞機能の変化

Change in Leydig Cell Function during Sexual Maturation of Male Rats

東邦大学第1産科婦人科学教室
伊藤元博　跡部一朗　町澤一郎
Motohiro ITO　Ichiro ATOBE　Ichiro MACHIZAWA

1st. Department of Obstetrics and Gynecology,
Toho University School
of Medicine, Tokyo 143, Japan

東邦大学生化学教室
平野治伸　天野久夫
Harunobu HIRANO　Hisao AMANO

Department of Biochemistry,
Toho University School of Medicine,
Tokyo 143, Japan

外因性 estradiol-17β（E_2）負荷により，Leydig 細胞のテストステロン産生能に幼若期と成熟期精巣で違いがあるかどうかを知る目的で，6日齢，45日齢ラット精巣を用いて実験した．同時にステロイド合成に NADPH を供給するペントースサイクルの鍵酵素であるグルコース－6－リン酸脱水素酵素（G6P-DH）を測定した．

1）6日齢無処置群精巣重量は 9.91±0.7 (mg)，E_2負荷群は 8.56±0.35 (mg) で，後者は減少傾向を示した．45日齢精巣重量は，無処置群 1013.6±14.6 (mg)，E_2負荷群 713.2±15.2 (mg) と負荷群で有意に減少した．

2）6日齢精巣のテストステロン値は，無処置群 10.1±1.1 (ng/g)，E_2負荷群 11.2±0.74 (ng/g) と両者に有意差は認めないが，45日齢精巣では無処置群 58.6±17.3(ng/g)，E_2負荷群 15.2±1.5(ng/g) と後者が有意に減少した．

3）6日，45日齢精巣の無処置群 G6P-DH 活性は各々，333.1±16.9(mu/ml/g)，178.0 ±8.7(mu/ml/g)，E_2負荷群は各々，200.2±32.0 (mu/ml/g)，96.2±1.9 (mu/ml/g) と各日齢で両者群に有意差が認められた．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 172－177, 1991)

緒　言

われわれは精子形成とペントースサイクルとの関連について研究してきた．ペントースサイクルは，組織で生成されるステロイド，脂肪酸合成系に NADPH を供給し，またリボースの供給は核酸の合

成，ひいては核酸の働きにもとづく蛋白質の合成に欠くことはできない．この核酸と蛋白質の合成は，細胞の増殖，肥大，個体の成長などに結びついている．このような生理的機能を有するペントースサイクルが，精子の発育過程，ことに精細胞の初期発生に関与している可能性をわれわれは示唆した[1]．ラット精細胞は出生直後よりすでに精子の完成へ向けて分化，増殖を始めている．この初期発生過程を抑制し，前述の結果を一層明確にする目的で，われわれはestradiol-17β (E_2) をラット出生1日齢より5日齢までの5日間投与し，その後の精細胞の発育を組織学的に観察し，さらにペントースサイクルの鍵酵素であるG6P-DH活性およびテストステロンの変化を無処置群と比較した(図1)．その結果，E_2負荷ラットでは精子形成阻害を示す精巣重量の減少が認められ，G6P-DH活性も有意に減弱した．また45日齢精巣の組織所見でも明らかな精子形成の遅延が認められた．それにもかかわらず，精子形成に必須のホルモンであるテストステロン産生の阻害は認められていない．これらの結果は，われわれが以前提示した精子の初期発生にはテストステロンは関与しないとする説[1]を支持するものである．一方，外因性E_2による精巣機能の抑制は視床下部－下垂体前葉によって仲介され，また細胞レベルでも直接的に抑制される[2,3]ことは周知の事実である．精巣機能抑制による顕著な変化はテストステロン産生の阻害である．今回の研究は，ラット出生1日齢より毎日5日間E_2を投与した実験で，何故テストステロン産生が抑制されなかったのかを探究する目的で行った．6日齢ラットと45日齢ラットに各々50 μg E_2を投与し，6時間後の精巣を実験に供した．

実験方法

1）精巣

6日齢，45日齢のWistar系ラットに各々50 μg/20μl estradiol-17β をsingle injectionし，塩酸ケタミンの麻酔下で6時間後に精巣を摘出し，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℃で保存した．尚45日齢精巣はカプセルを除去し使用した．

2）G6P-DHの分離，精製

(1) 各精巣の粗抽出液の作成

精巣はKRBG (pH7.4) 中で十分洗浄し，付着した血液を取り除き，同KRBG中で細片した．細片後10 mM メルカプトエタノール，5m MEDTA3Naを含む0.1 M Tris-HCl buffer pH 7.6を精巣細片沈澱物に対し等量加え，発振周波数20 kHz，200 Wの出力で1分間づつ3回超音波処理をした．この際，熱の発生を抑えるため，冷水中で操作し，1分間のインターバルをおいて行なった．超音波処理後，4℃，105,000 g，50分間冷却遠心し，得られた上清を東洋濾紙No. 7で濾過した．この濾液を精巣の粗抽出液とした．

(2) 2', 5' ADP-Sepharose 4BによるG6P-DHの分離方法は本誌既報[4,5]に準じた．

3）蛋白量および各酵素活性の測定法

(1) 蛋白量

Marion[6]の方法にもとづき測定した．

(2) LDH活性

Hill変法[7,8]にもとづき測定した．

(3) G6P-DH活性

Löhr-Wallerの方法[9]にもとづき測定した．

4）テストステロンの測定[10]

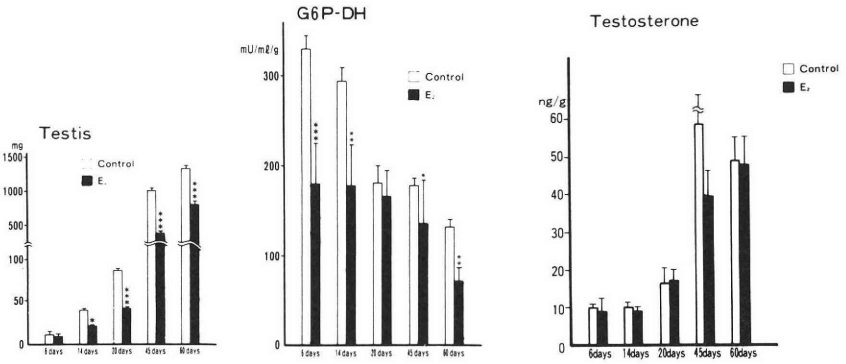


図1　G6P-DH activities, concentrations of testosterone and testis weights in control rats and those treated with E_2 between I and 5 days of age.
The results represent the mean ± SEM. Significant differences between the control and treatment groups is indicated by asterisks. (＊P＜0.05, ＊＊P＜0.02, ＊＊＊P＜0.001)

試料に回収率補正用 T-^{3}H 1000dpm 添加後，エーテルで抽出した．Chromatography は Sephadex LH-20 (Pharmacia Uppsala, Sweden) を micro colum に 2 ml 充填し，system は hexane：benzene：MtOH (90：5：5) を用いた．テストステロンの溶出部分を採取し，その 1/2 を回収率補正用に，残り 1/2 に T－^{3}H を 10,000 dpm 添加し assay に用いた．

実験結果

1）精巣重量（表1）

表1は無処置群とE_2処置群の各日齢の精巣重量を示す．6日齢精巣では，両者間に有意差は認められないが，E_2処置群の精巣重量は減少傾向を示した．45日齢精巣では，E_2処置群の精巣重量は有意に減少した．

2）テストステロン値（表2）

表2は各日齢の無処置群およびE_2処置群の精巣テストステロン値を示す．6日齢精巣のテストステロン値は，無処置群，E_2処置群で有意差はみられなかった．45日齢精巣では，E_2処置群のテストステロン値は無処置群の約1/4に減少した．

3）G6P-DH 活性（表3）

G6P-DH 活性は，6日齢，45日齢精巣で，いづれもE_2処置群で有意な減弱がみられた．

4）精巣組織所見（写真1）

左が45日齢精巣の無処置群精巣，右がE_2処置群である．無処置群では精子形成の完了が認められるが，E_2処置群では pachytene 精母細胞の段階で停止しているか，精子形成が認められてもその数は極めて少なかった．

考　察

われわれは以前の研究で，ペントースサイクルが精子形成の全過程および次の精細胞の分化を維持してゆくために必要な代謝系であり，ことに精細胞の

表1　Testis weights (mg) in control rats and those treated with a single injection of E_2 (50μg/20μl)

	6 days old	45 days old
Control	9.91±0.7 (n = 7)	1,013.6±14.6 (n = 24)
	NS	
E_2 (50μg/20μl)	8.56±0.35 (n = 30)	713.2±15.2**** (n = 36)

The results represent the Mean±S.E.M. Significant difference between the control and treatment groups is indicated by asterisks (＊＊＊＊P < 0.001, NS: no significant difference).

表2　Concentration of testosterone (ng/g) in control rats and those treated with a single injection of E_2 (50μg/20μl)

	6 days old	45 days old
Control	(n = 4) 10.1±1.1	(n = 5) 58.6±17.3
E_2 (50μg/20μl)	NS (n = 3) 11.2±0.74	(n = 18) ****15.2±1.5

The results represent the mean±S.E.M. Significant difference between the control and treatment groups is indicated by asterisks (＊＊＊＊P < 0.001, NS: no significant difference).

表3　G6P-DH activity (mu/ml/g) in control rats and those treated with a single injection of E_2 (50μg/20μl)

	6 days old	45 days old
Control	(n = 4) 333.1±16.9	(n = 4) 178.0±8.7
E_2 (50μg/20μl)	*(n = 3) 200.2±32.0	***(n = 3) 96.2±1.9

The results represent the mean±S.E.M. Significant differences between the control and treatment groups are indicated by asterisks (＊P<0.1, ＊＊＊P<0.01).

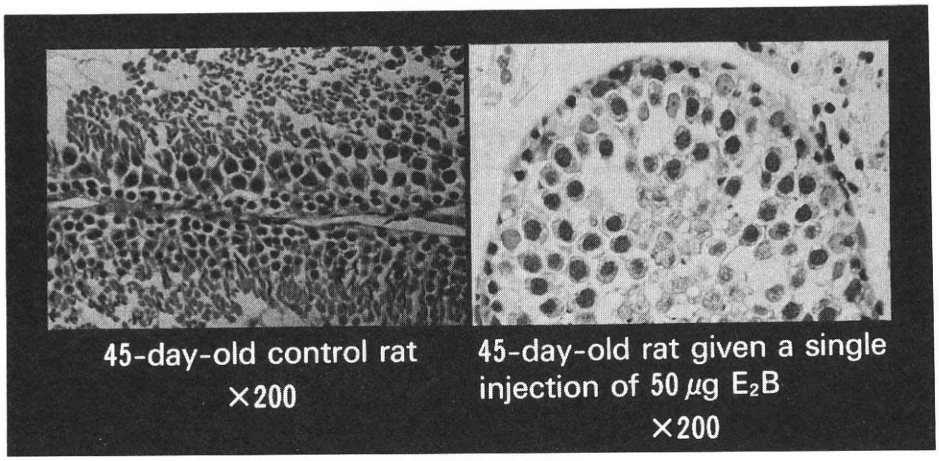


写真1　Histology of rat testis

初期発生に大いに関与している可能性を示唆した[1]．この仮説を一層明確にする目的で，出生1日齢より5日間，5日齢までのラットにE_2を負荷し，その精細胞の初期発生過程を抑制したところ，組織学的には明らかな精子形成の遅延が認められるにもかかわらず，テストステロン産生は阻害されなかった．Roosen-Runge[11]，Lording[12]らはLeydig細胞の構造面で，またHuhtaniemi[13,14]らはsteroidogenic capacityの面で，ラット精巣Leydig細胞には出生15日齢と20日齢の間を境にして，その機能に明らかな相違があることを指摘し，15日齢以前のLeydig細胞をfetal Leydig細胞，20日齢以降のLeydig細胞をadult Leydig細胞と命名した．従って，われわれの精巣機能抑制実験で，テストステロン産生が抑制されなかった理由は，出生1日齢から5日齢という極めて早い時期にE_2処置が行なわれたためと考えられる．そこで本実験はE_2投与時期および投与法を変えて，E_2によるLeydig細胞のテストステロン産生能に幼若期と成熟期精巣で違いがみられるかどうか，即ち，E_2に対するLeydig細胞の反応が性成熟の過程で変化するのか否かを知る目的で行なった．対象は6日齢ラットと既に精子形成の完了がみられる45日齢ラットで，両者に各々50 μg E_2を投与し，6時間後の精巣重量，G6P-DH活性，テストステロン値を測定した．

6日齢精巣重量は，無処置群とE_2処置群では有意差はみられないが，後者に減少傾向が認められた．これは，この時期の精巣重量が10 mg以内という有意差の表われにくい重量のためと考えられる．45日齢精巣は，E_2処置群で精子形成阻害を示す明らかな重量減少が認められた．G6P-DH活性は6日齢，45日齢ともに$E_2$1回処置により有意に減弱し，1日齢から5日齢までのE_2処置の結果と同一傾向を示した．一方，テストステロン値は$E_2$1回投与の6日齢では，5日間E_2処置した場合と同様無処置群のそれと有意差はなかったが，45日齢ラットでは，E_2処置ラットのテストステロン産生は，無処置群の約1/4に減弱した．また組織学的にも精子形成の阻害が認められた．これらの結果は，Huhtaniemi[13,14]らのラット精巣の成熟過程で，Leydig細胞の機能面で大きな相違が出現するとする説を支持する．即ち，新生児期ラットの精巣は，Leydig細胞機能に関してE_2の阻害作用に反応しない可能性が強い．一般に外因性E_2が直接精巣に作用してテストステロン産生を抑制する機構は，E_2がLeydig細胞に局在するE_2受容体に結合し，エストロジェン受容体機構を介して17 α－hydroxylaseとC_{17}-C_{20}lyaseの活性を減少させるとする説[3]が大勢を占めている．従って，6日齢ラットの精巣には，未だE_2受容体が出現していないのか，出現していたとしても正常に機能していないかのどちらかであろう．同時に，この時期血中のα-Fetoproteinが高濃度を示す．α-Fetoproteinはエストロジェンと極めて結合しやすい蛋白で，20日齢までは血中で主要なエストロジェン結合成分として存在している．新生児精巣のエストロジェン作用に対する防御機構は，少なくともこの2つの因子，即ちE_2受容体の欠如とエストロジェン－結合α-Fetoproteinの存在による可能性が極めて強い．E_2受容体の出現時期は研究者[15]によってそれぞれ違いがあるが，今後さらに追試する必要がある．

ペントースサイクルの鍵酵素であるG6P-DHは，6日齢精巣でE_2処置により有意に減弱したが，テストステロン値は無処置群で低値を示し，E_2処置によってもその産生は抑制されない．従ってペントースサイクルが，この時期のLeydig細胞に作用してテス

トステロン合成に関与している割合は極めて少ないと考えられる．一方，45日齢精巣では，G6P-DHはE_2処置により1/2に減弱し，テストステロン値も1/4に低下していることより，この時期におけるペントースサイクルはテストステロン合成に関与している可能性が示唆される．

(本論文の要旨は第34回日本不妊学会総会で報告した．)

文　献

1) 伊藤元博，跡部一朗，天野久夫：ラット精巣の発育過程におけるペントースサイクル活性の推移，日不妊会誌，34：134，1989
2) Jones, T. H., Fang, V. S., Landau, R. L. and Rosenfield, R.: Direct inhibition of Leydig cell function by estradiol, J. Clin. Endocr., 47: 1368, 1978
3) Moger, W. H.: Direct effects of estrogens on the endocrine function of the mammalian testis, Can. J. Physiol. Pharmacol., 58: 1011, 1980
4) 有沢克夫，中岡義明，渡辺　仁：アフィニティークロマトグラフィーによるブタ精子のグルコース－6－リン酸脱水素酵素，6－ホスフォグルコン酸脱水素酵素の分離，日不妊会誌，42：30，1985
5) 伊藤元博，中岡義明，渡辺　仁，江川恵基，天野久夫：ブタ精巣におけるペントースサイクルと解糖，日不妊会誌，31：22，1986
6) Marion, M. B.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Anal. Biochem., 72: 284, 1976
7) Hill, B. R. and Levi, C.: Elevation of a serum component in neoplastic disease, Cancer Res., 14: 513, 1954
8) Hill, B. R.: Some properties of serum lactic dehydrogenase, Cancer Res., 16: 460, 1956
9) Löhr, G. W. and Waller, H. D.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase. In methods of enzymatic analysis, Vol.2. Bergmeyer, H. U. ed., 636, Academic press, New York, 1974
10) 牧野拓雄，稲富顕二，吉田孝雄，田根　培，高木繁夫，神戸川明：性ステロイドホルモンのradioimmunoassay（その4）—— Testosteroneのradioimmunoassay ——，ホルモンと臨床，21：107，1973
11) Roosen-Runge, E. C. and Anderson, D.: The development of the interstitial cells in the testis of the albino rat, Acta Anat., 37: 125, 1959
12) Lording, D. W. and de Kretser, D. M.: Comparative ultrastructural and histochemical studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development, J. Reprod. Fertil., 29: 261, 1972
13) Huhtaniemi, I. P., Katikineni, M. and Catt, K. J.: Regulation of luteinizing-hormone-receptors and steroidogenesis in the neonatal rat testis, Endocrinology, 109: 588, 1981
14) Huhtaniemi, I. P., Nozu, K., Warren, D. W., Dufau, M. L. and Catt, K. J.: Acquisition of regulatory mechanisms for gonadotropin receptors and steroidogenesis in the maturing rat testis, Endocrinology, 1711: 111, 1982
15) Abney, T. O. and Melner, M. H.: Characterization of estrogen binding in the developing rat testis. Ontogeny of the testicular cytoplasmic estrogen receptor, Steroids, 34: 413, 1979

Change in Leydig cell function during sexual maturation of male rats

Motohiro Ito, Ichiro Atobe, Ichiro Machizawa, Harunobu Hirano and Hisao Amano

Ist. Department of Obstetrics and Gynecology, Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan

Department of Biochemistry Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan

The Leydig cells of the rat testis are present during development as two distinct populations, the fetal and the adult generations. We sought to identify functional differences in the two generations of rat testis Leydig cells.

Intact male rats (6 and 45 days old) were injected with 50μg estradiol-17β (E_2) to suppress Leydig cell function. No significant changes in testosterone production were observed after an injection of E_2 in the neonatal testis, in contrast to adult animals where similar treatment caused a decrease in testosterone production. From this results, the development of estrogen-mediated inhibitory action may contribute to differences observed between neonatal and adult rat Leydig cells. It is possible that the neonatal testis is unresponsive to inhibitory action of estrogen on Leydig cell function, due to insensitivity of the testis to estrogen.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) activity the key enzyme of the pentose phosphate pathway was suppressed on day 6 and 45 of life, compared to controls, by hormone treatment. In contrast, 45-day-old estrogenized rats showed the tubules with maturation arrest, These data demonstrate that the pentose phosphate pathway may be

important providing ribose for DNA and NADPH for steroid synthesis.

(受付：1989年2月26日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

ビタミンB_{12}欠乏食飼育で惹起したマウス造精機能障害に及ぼすメコバラミンの効果

Effects of Mecobalamin on Oligozoospermia Induced by Feeding a Vitamin B_{12} Deficient Diet in Mice

帝京大学医学部泌尿器科学教室

押尾 茂* 矢崎恒忠 梅田 隆

Shigeru OSHIO Tsunetada YAZAKI Takashi UMEDA

Department of Urology, Teikyo University School of Medicine, Tokyo 173, Japan

エーザイ㈱東京研究所薬物評価

尾崎 覚 大川 功

Satoru OZAKI Isao OHKAWA

Department of Pharmacology, Tokyo Research Laboratories, Eisai Co., Ltd. Tokyo 112−88, Japan

東京大学教養学部生物学教室

毛利秀雄

Hideo MOHRI

Department of Biology, College of Arts and Sciences, University of Tokyo, Tokyo 153, Japan

＊現所属：東邦大医学部薬理学教室
Present address: Department of Pharmacology, Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan

要 約

マウスをビタミンB_{12}（以下B_{12}）欠乏食飼料で10週間飼育し，実験的造精機能障害を惹起した．B_{12}欠乏食飼育で，体重の増加は普通食飼育群とほとんど同じであるが，生殖器重量は減少し，血中および精巣中B_{12}濃度の低下が認められた．また，精子性状のうち精子数および運動精子数は普通食飼育群に比べて低下していた．このマウスにメコバラミン（以下CH_3-B_{12}）を経口投与すると，用量に相関して血中および精巣中B_{12}濃度の上昇，および精子性状の改善が認められ，1 mg/kg投与群では普通食飼育群と同程度まで回復した．一方，欠乏したB_{12}の補給源として，5, 6-dimethyl-benzimidazolyl cobamide coenzyme（以下DBCC）を1 mg/kg投与した群では，血中および精巣中B_{12}濃度の改善

は認められるものの，精子性状は変化しなかった．このことより，B_{12}欠乏によりマウスに造精機能障害が惹起され，その回復にはCH_3-B_{12}が有効であることが示された．以上の結果は，CH_3-B_{12}が造精機能障害治療薬として有効である可能性を示唆している．

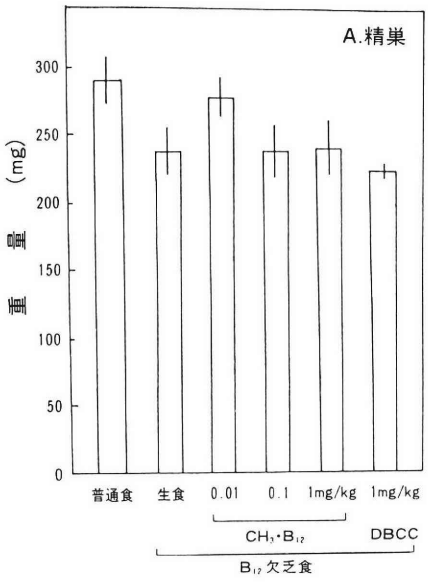
(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 178—184, 1991)

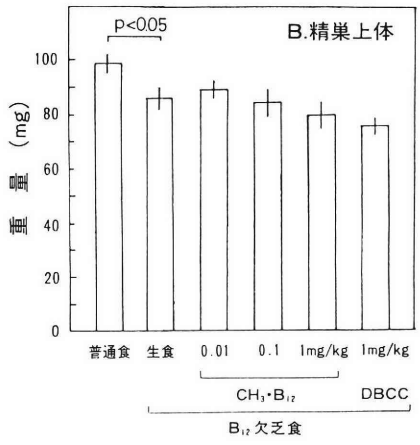
緒　言

精子形成過程に影響を及ぼす因子として栄養，ホルモン，温度等が考えられ[1]，栄養物質としてはビタミンA，E，B群の欠乏が精子形成を障害することが知られている[2]．梅村[3]はビタミンB_{12}（以下B_{12}）欠乏飼料で飼育したラットにおいて，主として精巣組織像の観察により，B_{12}欠乏によって精子形成過程の異常が認められると報告している．

乏精子症を伴う悪性貧血患者にB_{12}を投与すると，貧血とともに精液性状も改善されることが報告[4]されて以来，B_{12}は男子不妊症，とくに乏精子症の治療薬として注目を集めている[5)~8)]が，その作用機序については不明の点が多い．我々は抗悪性腫瘍薬アドリアマイシン投与により惹起した精巣障害マウスに，B_{12}誘導体の中で最も生体内活性の高いメコバラミン(mecobalamin：以下CH_3-B_{12})を経口投与することにより，精子性状を始めとする精巣機能全般が改善されることを報告している[9]．

今回我々はCH_3-B_{12}の造精機能に及ぼす影響を検討する一環として，B_{12}欠乏飼料飼育によりマウスに造精機能低下を惹起させ，そのマウスにCH_3-B_{12}を経口投与することにより，CH_3-B_{12}の精巣機能に及ぼす影響を検討すると同時に，他のB_{12}供給源として5, 6-dimethyl-benzimidazolyl cobamide coenzyme（以下DBCC）を選び，その影響をCH_3-B_{12}と比較検討した．





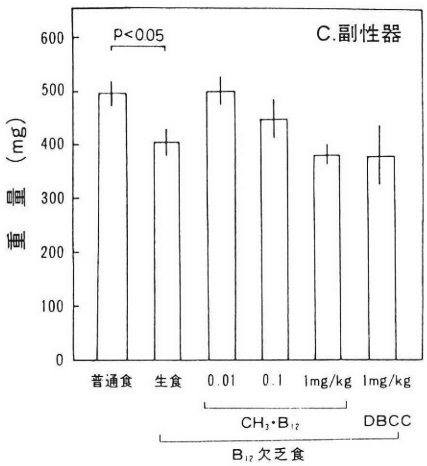


図1　生殖器重量に及ぼす影響
A　精巣　　B　精巣上体
C　副性器（精嚢，凝固腺，前立腺）
mean±SE（n＝5）

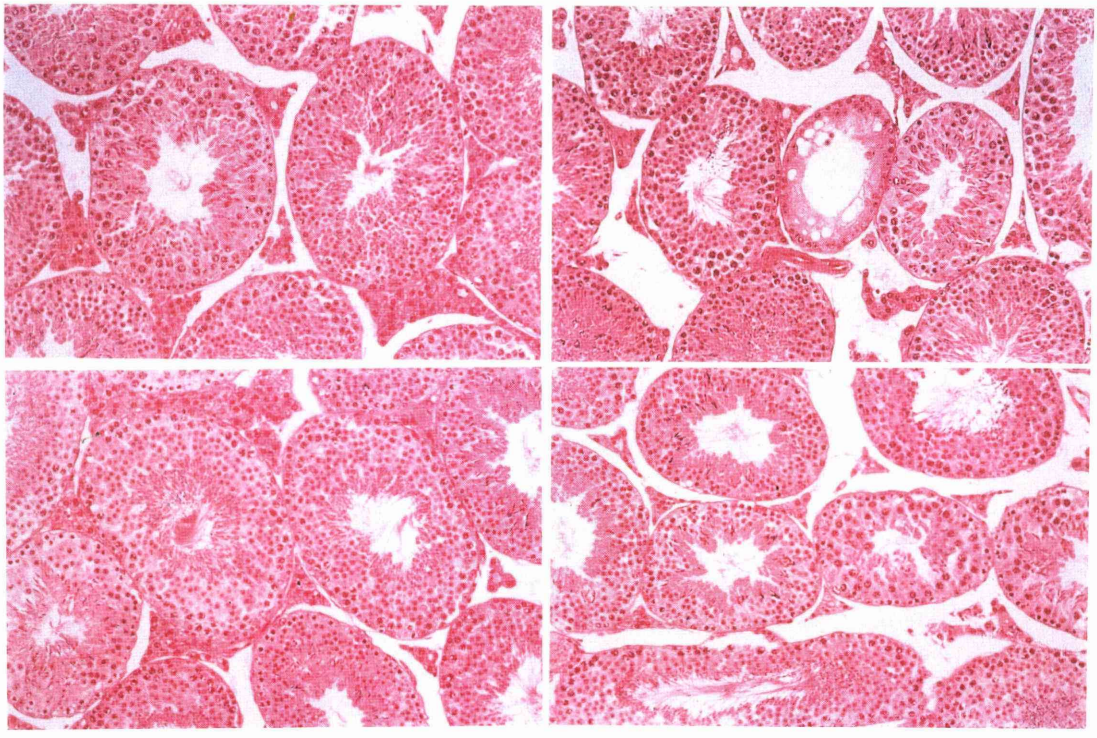


図2　精巣組織像に及ぼす影響
左側は普通食飼育群，右側はビタミンB_{12}欠乏食で10週間飼育した群の精巣組織像を示す．

実験材料および実験方法

動物：ddY系雄マウスを静岡県実験動物農業協同組合（現，㈱SLC）より購入し，1週間予備飼育をした後，生後10週齢より実験を開始した．

飼料：B_{12}欠乏食飼料は日本クレア社製(Lot. No. F6047)粉末飼料を用い，普通食飼料としては，オリエンタル酵母製固型飼料MFを用いた．なお，飼料中のB_{12}含量は普通食中では1 gあたり40 ng（シアノコバラミン換算）であり，一方，欠乏食中では1 gあたり約0.3 ngと普通食の1/124程度の含量であった[10]．

薬物：CH_3-B_{12}およびDBCCは，共にエーザイ㈱製を用い，日局注射用蒸留水で10 mlあたり0.01 mg, 0.1 mg, 1 mgに用時調製し，マウス体重10 gあたり0.1 mlを1日1回，週6回経口投与した．

方法：B_{12}欠乏食飼料あるいは普通食飼料を自由摂食させ，同時にB_{12}欠乏食飼育群(以下，B_{12}欠乏食群)にはCH_3-B_{12}を体重1 kgあたり，0.01 mg, 0.1 mg, 1 mg，あるいはDBCC 1 mgを1日1回，10週間経口投与した．B_{12}欠乏食群と普通食群に各々生理食塩水（以下，生食）を体重10 gあたり0.1 ml投与し，対照とした．

10週後，マウスをエーテル麻酔下で採血し，引き続き精巣，精巣上体，副性器（精嚢，凝固腺，前立腺）を摘出し，臓器重量の測定を行った．右側精巣上体尾部をTYH溶液[11]1.5 ml中で細切し，精子浮遊液を作製した．直ちに，浮遊液中の精子運動率，精子数を測定した．精子奇形率は，塗沫標本を用いて算定した．また，右側精巣はBouin液で固定後，ヘマトキシリン・エオジン染色を行って組織標本を作製し，各標本の精細管直径の測定を行った．さらに，左側精巣ホモジネートと血清についてビタミンB_{12}含量の測定を行った[12]．

結　果

体重および生殖器重量に対する影響

10週間にわたるB_{12}欠乏食飼育およびCH_3-B_{12}またはDBCC投与による体重の増加に対する影響は認められなかった．精巣，精巣上体，および副性器

(精嚢，凝固腺および前立腺)の各臓器重量に及ぼす影響を観察すると(図1)，B_{12}欠乏食群の各重量は，普通食群に比べて精巣，副性器では約80％に，精巣上体重量では約90％に減少していたが，CH_3-B_{12}またはDBCC投与による影響は認められなかった．

精巣組織像および精細管直径に対する影響

B_{12}欠乏食で10週間飼育すると，精細胞数の減少や精細胞の不規則な配置が観察され(図2)，精細管直径は普通食飼育群に比べて有意に減少した(図3)．しかし，CH_3-B_{12}またはDBCC投与による精巣組織像に及ぼす影響はほとんど認められなかった．

精子数に対する影響

B_{12}欠乏食で10週間飼育すると，精巣上体尾部1個あたりの精子数は普通食飼育群に比べて有意に減少していた(図4)．CH_3-B_{12}投与群では，1 mg/kg投与で精子数の増加が生食投与群に比して有意であり，普通食飼育群と同程度まで回復していた．一方，DBCC 1 mg/kg投与群では精子数は生食投与群と同程度であった．

精子運動率および運動精子数に対する影響

B_{12}欠乏食飼育によって精子運動率はほとんど変化しなかった(図5)．受精に直接関与すると考えられる運動精子数（精子数×運動率）について検討を加えると（図6），B_{12}欠乏強いる飼育群は普通食飼育群に比して有意に運動精子数の減少が認められた．この減少は，CH_3-B_{12}投与により増加し，1 mg/kg投与群ではほぼ普通食飼育群と同程度まで回復した．一方，DBCC 1 mg/kg投与群は，生食投与群とほぼ同程度であった．

精子奇形率に対する影響

B_{12}欠乏飼料で飼育したマウスの精子奇形率は，普通食飼料群と同程度であり，B_{12}欠乏による影響およびCH_3-B_{12}またはDBCC投与による影響は認めら

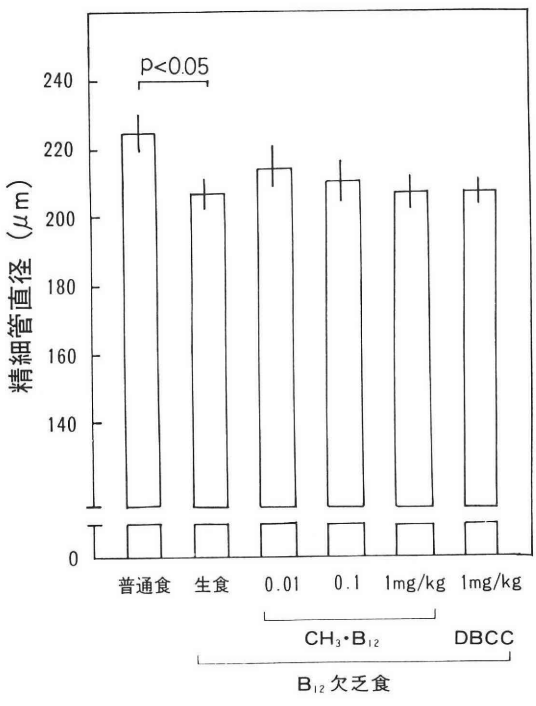


図3　精細管直径に及ぼす影響
真円形に切られた精細管を選び，各個体について20個の直径を測定した．
mean±SE（n＝5）

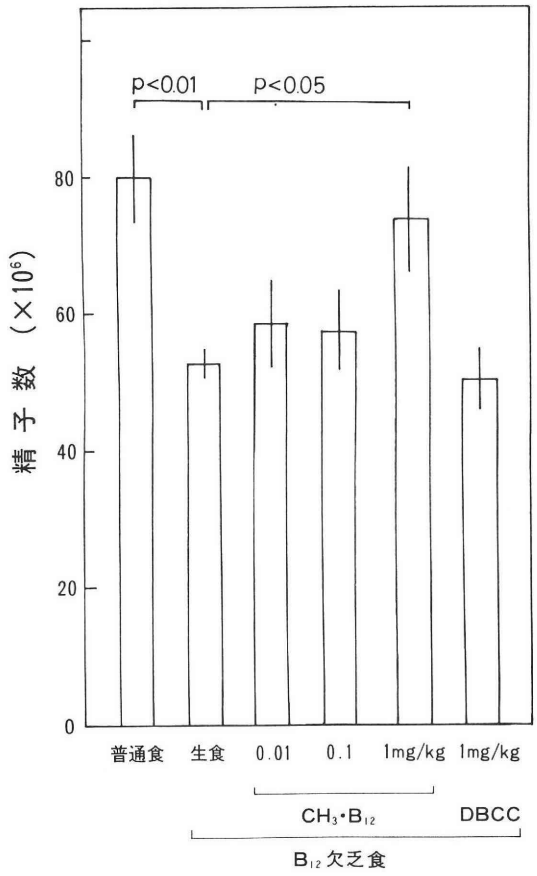


図4　精子数に及ぼす影響
mean±SE（n＝5）

れなかった.

血清中および精巣中ビタミンB_{12}量

10週間B_{12}欠乏食で飼育すると,血中のB_{12}量は約15 ng/mlと正常食飼育群の約1/3まで低下した(図7).CH_3-B_{12}の投与により用量に相関してB_{12}量の増加が認められ,CH_3-B_{12}, DBCCともに1 mg/kg投与群では,普通食群と同程度にまで回復していた.精巣B_{12}量も同様の傾向を示し(図8),B_{12}欠乏食飼育群では普通食群の約1/2の含量であったが,CH_3-B_{12}およびDBCC 1 mg/kg投与群ではともに,普通食群と同程度まで回復した.

考　察

男性不妊症の大部分は特発性男性不妊症とされ,原因が特定しにくい[13].従来,ホルモンやビタミン,アミノ酸等を用いた薬物療法が臨床応用されているが,その効果には議論が多い[14].

ビタミンB_{12}の男性不妊症治療薬としての可能性は,乏精子症を伴った悪性貧血患者にビタミンB_{12}を投与

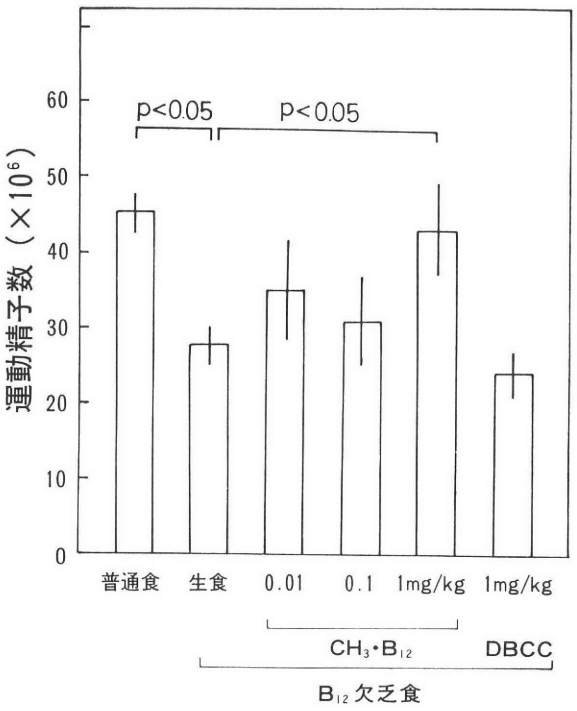


図6　運動精子数に及ぼす影響
精子数×精子運動率＝運動精子数
mean±SE (n＝5)

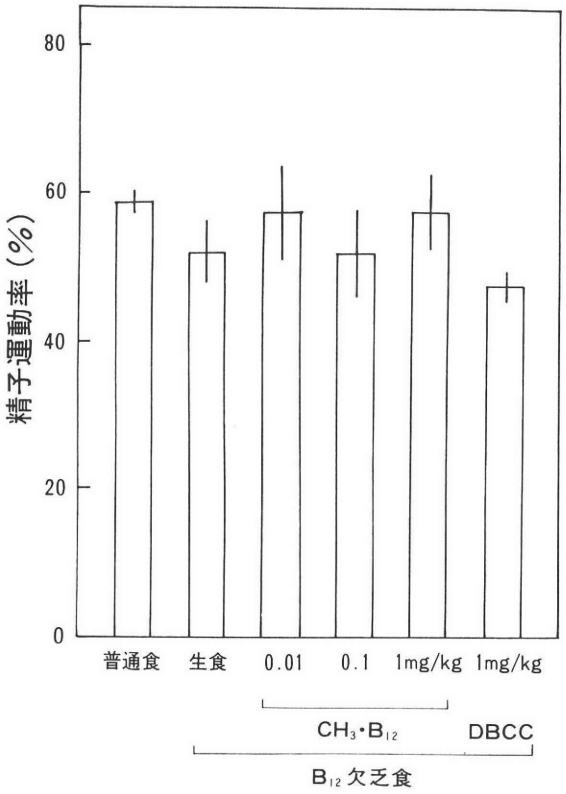


図5　精子運動率に及ぼす影響
mean±SE (n＝5)

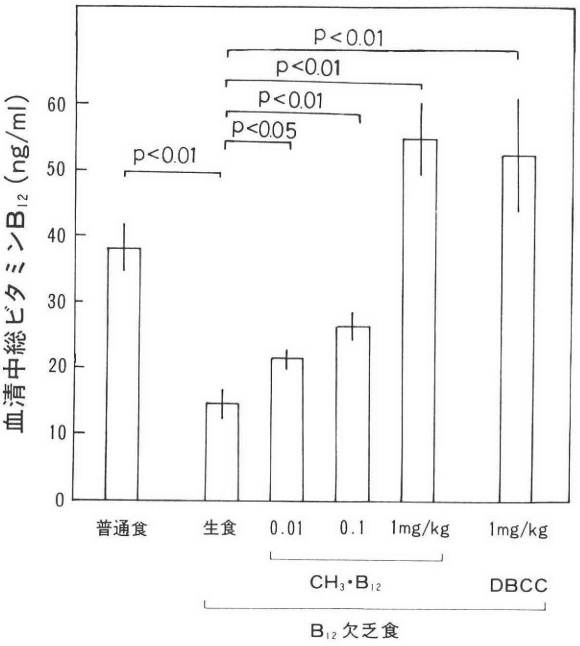


図7　血清中総ビタミンB_{12}量に及ぼす影響
mean±SE (n＝5)

すると，貧血所見と共に精液性状が改善し挙児にいたったという報告[4]以来，注目されている．最近，我が国において，4つのビタミンB_{12}誘導体の中で補酵素活性を有し，最も高い生体内活性を示すCH_3-B_{12}が精液性状不良による男性不妊患者に応用され，有効な臨床効果が報告されている[5~8]．その作用機序として，アドリアマイシンで惹起した実験的精巣障害動物を用いて，精子形成過程[15]（ラット），精子成熟過程[9]（マウス），精細胞DNA合成過程[16]（ラット）に対するCH_3-B_{12}の影響が検討され，それぞれの障害にCH_3-B_{12}が有効な作用を示すことが報告されている．

本研究において，我々は雄性生殖器系におけるビタミンB_{12}の役割を研究する目的でビタミンB_{12}欠乏食でマウスを10週間飼育し，実験的ビタミンB_{12}欠乏マウスを作製した．このモデル動物にCH_3-B_{12}を投与すると，精子性状，特に精子数がCH_3-B_{12} 1 mg/kg投与で普通食飼育群と同程度に回復した．この時，血中，精巣中B_{12}濃度も増加しており，CH_3-B_{12} 1 mg/kg投与群では，精子性状と，同時にB_{12}濃度も普通食飼育群と同程度に回復していた．これらの結果より，今回認められた造精機能障害は血中ならびに精巣中B_{12}濃度の低下によって惹起されたと考えられる．

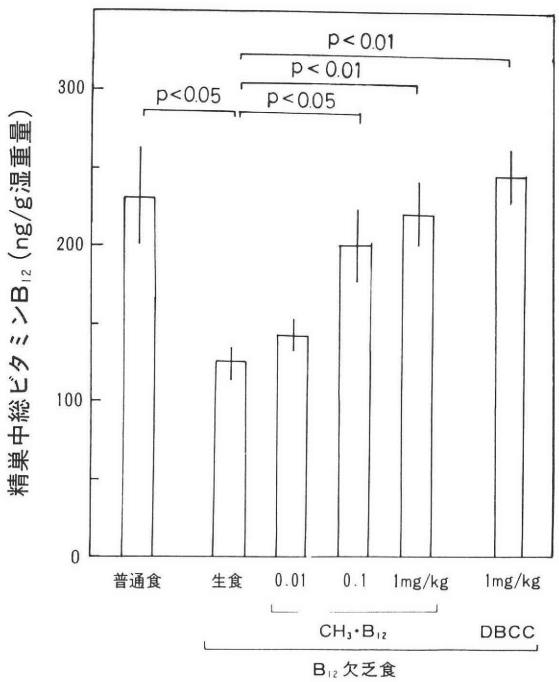


図8　精巣中総ビタミンB_{12}量に及ぼす影響
mean±SE（n＝5）

一方，B_{12}の供給源として，B_{12}誘導体であるDBCCを投与すると，血中および精巣中B_{12}濃度は対照群と同程度まで回復していたものの，精子性状の回復はみられなかった．

DBCCはビタミンB_{12}の4つの誘導体（シアノコバラミン，ヒドロキシコバラミン，DBCC，CH_3-B_{12}）の中でCH_3-B_{12}に次いで生体内活性が高いと言われているが，B_{12}欠乏食飼育時にこれを投与すると，血中および精巣中B_{12}濃度は上昇するものの，造精機能には影響を与えないことが明らかとなった．また，白井ら[17]はX線照射により惹起した精巣障害ラットに治療目的でB_{12}（DBCC）を投与したところ，造精機能に改善が認められないばかりか，却ってその抑制が観察されたという報告をしている．以上より，実験的精巣機能障害を回復させるには，B_{12}としてCH_3-B_{12}が有効であることが示唆された．

本研究で明らかにされたCH_3-B_{12}投与による精子数の増加は，精巣組織像の有意な改善は伴わないものの，CH_3-B_{12}が精細胞に対しても神経細胞で認められているように核酸代謝[18]やリン脂質代謝[19]に作用して，精子形成あるいは成熟過程の活性化を引き起こしたためではないかと考えられる．

このように，CH_3-B_{12}は血中および精巣中によく移行し，ビタミンB_{12}欠乏による造精機能障害を改善することが明らかにされた．このことは，CH_3-B_{12}が造精機能に何らかの役割を果たし，造精機能障害治療薬として有用である可能性を示唆している．

文　献

1）中村正久：造精機能と温度，実験生殖生理学の展開（鈴木善祐編），p．333，ソフトサインス社，1982
2）Leathem, J. H.:"Nutritional influences on testicular composition and function in mammals" In Handbook of Physiology, section 7: Endocrinology vol, V Male Reproductive system (Greep R. O et. al. eds.), p. 225, American Physiological Society, 1975
3）梅村泰一：実験的ビタミンB_{12}欠乏症の病理組織学的研究，ビタミン，31：26，1965
4）Sharp, A. A. and Witts, L. J.: Seminal vitamin B_{12} and sterility, Lancet II: 779,1969
5）木村正一，光川史郎，松田尚太郎，石川博夫，折笠精一：乏精子症の精子数，精子運動率に対するmethylcobalaminの効果，日不妊誌，26：408，1981
6）飯塚理八ら：Methylcobalamin（CH_3-B_{12}）の男性不妊症に対する投与成績，産婦の世界，38：171，1986

7) 熊本悦明ら：男子不妊症に対するMethylcobalamin (Ea-0302) の多施設共同研究による臨床検討，西日泌尿，50：331,1988
8) 熊本悦明ら：Oligozoospermiaに対するMecobalaminの臨床効果——二重盲検試験による検討——，泌尿紀要，34：1109,1988
9) 押尾茂，尾崎覚，大川功，田島鉄弥，毛利秀雄：実験的精巣障害マウスに及ぼすメコバラミンの影響，日不妊会誌，33：159,1988
10) 尾崎覚：未発表
11) Toyoda, Y., Yokoyama, M., Hoshi, T.: Studies on the fertilization of mouse eggs in vitro 1. In vitro fertilization of eggs by fresh epidiymal sperm, Jpn. J. Anim. Reprod., 16: 152, 1971
12) 安田和人，池田律子，鈴木絹代：ビタミンB_{12}一葉酸ラジオアッセイキット（バクスタートラベノール社）の検討，機器試薬，5：975，1987
13) 石神襄次：不妊症における男子因子，新臨床泌尿器科全書8A，睾丸機能とその異常，1，金原書店，1979
14) Bain, J., Schill, W. B., Schwarzstein, L.: Treatment of Male Infertility, Springer-Verlag, 1982
15) 尾崎　覚，大川　功，加藤義則，田島鉄弥，木村正一，折笠精一：実験的造精機能障害ラットの作製ならびにその障害におよぼすMecobalaminの効果，日薬理誌，91：197,1988
16) 山川弦一郎，酒徳治三郎，磯山理一郎，瀧原博史，尾崎　覚，田島鉄弥：DNA量分布よりみた可逆的造精機能障害ラットの造精機能回復過程におよぼすメコバラミンの効果，西日泌尿，50：1163,1988
17) 白井将文，松下三郎，一条貞敏，竹内睦男，佐々木桂一：泌尿器科領域におけるビタミンの研究，第一報ビタミンと性腺機能，日泌尿会誌，60：321,1969
18) 中沢恒幸，小宮英靖，菅野剛史：ビタミンB_{12}および葉酸欠飼育シロネズミの脊髄神経細胞内RNA，DNAの動態（予報），ビタミン，42：275,1970
19) 中沢恒幸，鈴木孝尚，井上収司：メチルビタミンB_{12}の神経系におけるリン脂質合成「神経系とメチルB_{12}」（黒沢義五郎編），協和企画通信，54,1981

Effects of mecobalamin on oligozoospermia induced by feeding a vitamin B_{12} deficient diet in mice

Shigeru Oshio, Tsunetada Yazaki, and Takashi Umeda

Department of Urology,
Teikyo University School of Medicine,
Tokyo 173, Japan

Satoru Ozaki and Isao Ohkawa

Department of Pharmacology,
Tokyo Research Laboratories,
Eisai Co., Ltd.
Tokyo 112−88, Japan

Hideo Mohri

Department of Biology,
College of Arts and Sciences,
University of Tokyo,
Tokyo 153, Japan

Mice were fed a vitamin B_{12} (B_{12})-deficient diet for 10 weeks (B_{12}-deficient group). The B_{12}-deficient diet did not cause any change in the body weight but caused decreases in the weight of the reproductive organs and the content of total B_{12} in the serum and testis. The sperm count and motile sperm count in the epididymis of the B_{12}-deficient mice decreased compared with those in the control mice. When mecobalamin (CH_3-B_{12}) was orally administered to the B_{12}-deficient group, the content of total B_{12} in the serum and testis and the sperm count and motile sperm count increased dose-dependently. CH_3-B_{12} at a dose of 1mg/kg was returned these parameters to the levels similar in the stock diet group. On the other hand, when 5, 6-dimethyl benzimidazolyl cobamide coenzyme (DBCC) at a dose of 1mg/kg orally administered to the B_{12}-deficient group, the content of total B_{12} in the serum and testis increased to the levels similar to those in the CH_3-B_{12} group, but the sperm count and motile sperm count did not change. In the present study, we observed that mice fed the B_{12}-deficient diet for 10 weeks showed a marked testicular atrophy and a reduced epididymal sperm count, and when CH_3-B_{12} was administered, the sperm parameters recovered to the control levels. These results indicate that CH_3-B_{12} plays an important role in regulating testicular function in mice and might have potential for use in pharmacological therapy of male infertility, especially in cauces due to oligozoospermia.

（受付：1990年8月15日特掲）

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

ラット子宮腔へのラット卵巣の同種間移植

Homoplastic Graft of Rat Ovary into Uterine Cavity

山口大学農学部獣医学科家畜解剖学教室
利部 聰　萬場光一　石田哲也
Satosi KAGABU　Kouichi MAMBA　Tetsuya ISHIDA

Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture,
Yamaguchi University, Yamaguchi 753, Japan

子宮は，移植片にたいして一時期「治外法権」になることを応用して，卵巣の子宮腔内への異系同種間移植を試みた．発情周期の各段階に移植された卵巣は，全く生着しなかったが，妊娠あるいは偽妊娠ラットに移植した卵巣は生着し，移植前の非閉鎖卵胞の形態と同様な組織像が観察された．子宮腔内移植法では，レシピエントの卵巣を除去しなくともよいという長所のほか，拒絶反応抑制剤を投与の必要もなく，脾臓被膜下や皮下への移植に比べて簡単であるとの結論を得た．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 185—188, 1991)

緒　言

ラットの卵巣には卵細胞が70000/頭も存在する[1]と言われているように，卵巣は卵子の宝庫である．近年著しい進展を見せている受精卵移植を始めとした発生工学で用いられる卵子は膨大な数にのぼっている．その際使用される卵子は，自然排卵や過剰排卵処理によって得られるほか成熟した大型卵胞から卵母細胞を吸引して得られる．最近では後者の方法による卵子を材料とした研究も多くなっており，そのために卵巣の屠場材料の入手が困難な状況になりつつある．

卵巣が保有する卵細胞のうち0.01％が排卵するだけで残りの99.99％は排卵に至らず卵巣から消失する[2]ことから，卵巣のもつ能力をうまくひきだせば卵子不足は解消される可能性もある．

子宮腔内は一種の「治外法権」と考えられる．着床胚は，母体に対して一般に遺伝的に異なるものであるので，母体の免疫機構を刺激するものと思われる．しかし，胚および胎児は分娩に至るまで母体の免疫拒絶反応で除去されることなく存続するので，成功した同種異系移植(allograft)とも考えられる[3]．胚は卵子と精子からなる雑種細胞であり，胚は母体にとって自家移植片にはなりえず，何らかの特殊な生物学的機構で拒絶反応を逃れているわけである．

このように非自己移植片に対して特殊な性質を持つ子宮腔内に，皮膚を移植[4]したり培養細胞を生着させた報告がある[5]が，この方法の応用により卵巣を子宮腔内に移植して生着させられればほとんど捨てられている卵細胞の有効利用という観点からは意義のあることである．さらに卵巣の子宮腔内移植は，レシピエントの卵巣をあらかじめ除去しておかなくてもよいという他の移植法にはみられない優れた点がある．また，子宮頸管を経由しての卵巣移植ができれば，移植を通じていっさい非観血で完了することも可能である．

以上のように，卵巣の子宮腔内移植法は完成すれば応用される面が多い．この技術を確立するために，その手始めとして本実験ではラット卵巣をラット子宮に他家移植するばあいのレシピエント側の条件を種々検討したものである．

材料および方法

動物

ドナー，レシピエントとも九動㈱から導入し，当教室で繁殖育成したウイスター・今道系ラットを用いた．ドナーとして21日齢，レシピエントには12週齢・未経産の，4日型発情周期を3回以上繰り返した健康な雌ラットを用いた．

移植方法

実験区として［A区］発情周期を回帰しているラットへの移植，［B区］妊娠ラットへの移植，［C区］偽妊娠ラットへの移植の3実験区を設けた．［A区］は発情周期の各段階(発情前期，発情期，発情後期，発情休止期)，［B区］腟垢像が発情前期を示した日の夕方に精管切除雄と同居させ，翌日腟栓を確認した偽妊娠ラットに移植した．なお，腟栓確認日を偽妊娠0日とした．［C区］正常雄と同居させ，翌日腟栓を確認したものまたは腟垢像中に精子を確認した日を妊娠0日とした妊娠ラットを実験に供した．［B区］［C区］では，妊娠および偽妊娠0，1，2，3，4日目に卵巣を移植した．

ペントバルビタール・ソディウム（5 mg/ラット）で前麻酔，ジエチルエーテルで追麻酔したレシピエントの子宮角を露出して，子宮角中央部反間膜側に小孔をピンセット(INOX，7番)で開けさらに，縫合糸を子宮腔内に通して子宮内膜壁を刺激しておいたものに，移植直前に麻酔下で摘出した卵巣をそのまま挿入した．挿入後直ちに眼科用縫合糸で子宮角の小孔を縫い合わせ，つづいて腹壁を縫合し移植を終了した．

観察

観察時期は移植後，［A区］3，6，12，18，24，36，48時間，［B区］［C区］とも6，18，24，48，72，96，108時間後とした．ペントバルビタール・ソディウム麻酔下で放血後，移植卵巣を子宮角とともに摘出し，定法によりパラフィン連続切片としヘマトキシリン・エオジン染色をして検鏡した．生着の判定は，おおむねBraw & Tsafriri[6]の基準によった．すなわち，果粒層細胞に核濃縮が認められないこと，同細胞に分裂増殖像が認められるもの，および卵母細胞の核膜が崩壊していないことをもって生着卵巣とした．閉鎖卵胞，黄体など卵巣のほかの構成物を観察対象から除外し非閉鎖細胞だけに注目した理由は本研究の目的が，最終的には卵母細胞の採取だからである．

結　果

発情回帰ラットに卵巣を移植したものでは，発情周期のどの時期の移植でも生着が認められなかった．

表1　ラット卵巣の子宮腔内同種間移植後の生着

移植～観察(時間)	レシピエント													
	発情回帰ラット＊				妊娠ラット＊＊					偽妊娠ラット＊＊＊				
	P	E	M	D	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
3	0/5†	0/5	0/5	0/5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
6	0/5	0/5	0/5	0/5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
12	0/5	0/5	0/5	0/5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
18	0/5	0/5	0/5	0/5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
24	0/5	0/5	0/5	0/5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
36	0/5	0/5	0/5	0/5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
48	0/5	0/5	0/5	0/5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
6	−	−	−	−	3/5	3/5	2/5	4/5	4/5	2/5	2/5	3/5	5/5	5/5
18	−	−	−	−	2/5	3/5	1/5	4/5	5/5	1/5	2/5	1/5	4/5	5/5
24	−	−	−	−	1/5	1/5	3/5	4/5	4/5	0/5	0/5	4/5	3/5	3/5
48	−	−	−	−	1/5	1/5	3/5	1/5	4/5	1/5	0/5	4/5	2/5	3/5
72	−	−	−	−	1/5	1/5	2/5	2/5	4/5	0/5	1/5	3/5	3/5	4/5
96	−	−	−	−	0/5	2/5	2/5	4/5	2/5	0/5	0/5	2/5	3/5	3/5
108	−	−	−	−	1/5	3/5	2/5	3/5	3/5	0/5	0/5	4/5	2/5	3/5

＊；P＝発情前期，E＝発情期，M＝発情後期，D＝発情休止期
＊＊；腟スメア中に精子を確認した日を0日，
＊＊＊；腟栓を確認した日を0日とした
†；生着卵胞を保有していたラット数/供試ラット数

移植12時間後までは，移植卵巣は子宮腔内に一部認められるものの腔内に存在した卵巣にはすべてに壊死像が観察された．移植後36～48時間以降では，移植卵巣は子宮腔では認められなかった．

正常雄と交配させた妊娠ラットに移植した［B区］で卵巣の生着が認められた．移植後96～108時間での卵巣の生着は，妊娠3～4日レシピエントに認められた．

精管切除雄ラットと交配させた［C区］でも偽妊娠3～4日レシピエントに生着が確認された．

考　察

卵巣移植は，前眼房内，脾臓被膜下，皮下などにされ内分泌の研究に用いられたり，卵管に欠陥のある婦人が産児を目的として自分の卵巣を子宮に移植して不妊の治療をしたというドイツでの古い記録があるほか，家畜では優秀な子孫をふやすために高能力家畜の卵巣を移植することが考えられたように以前から行われていたが，動物生産分野における卵巣移植の基礎的な研究はほとんど行われていない．

卵巣には膨大な数の卵細胞が存在するが[1]，そのごく一部のみが排卵されるだけでほとんどの卵細胞は排卵に至らないで消失してしまう[2]．卵巣に存在する多数の卵胞をより有効に利用しようということも理由の一つとなって卵巣の常温での保存法，凍結保存法，移植法，培養法の研究がなされている．卵巣の【解凍保存⇨移植または培養⇨卵胞の成熟または排卵⇨卵子採取】の一連の技術が確立されれば卵子の有効利用は一挙に解決するかもしれないが，この技術体系が確立するには未解決の問題が山積している．この技術体系の中で凍結保存・培養に関しては一応のメドが付いたが，移植に関しては皮下移植・脾臓被膜下など観血法移植は成功しているもののレシピエント側の外科手術を伴わない非観血法移植は成功していない．

子宮は一時期同種異系移植片に対して「治外法権」となること，および子宮頸管を介して外部と連絡しているので移植卵巣を子宮頸管経由で子宮腔内に移植すれば卵巣移植および卵巣の回収を通じて非観血で行われる可能性があること，そしてレシピエントの卵巣を除去しなくてもよいことの3つの理由から，本実験では卵巣の子宮腔内移植実験を行った．その

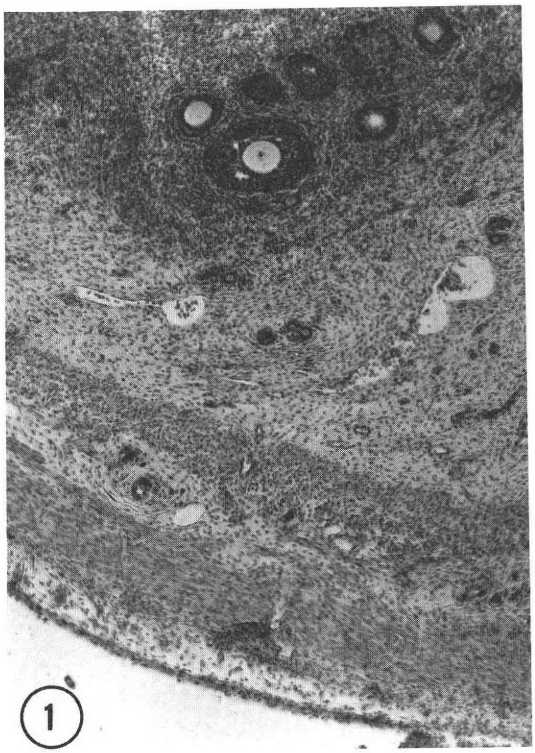


写真1　ラット卵巣を偽妊娠4日目ラット子宮腔内へ移植し、108時間後に観察．生着した卵胞が認められる．

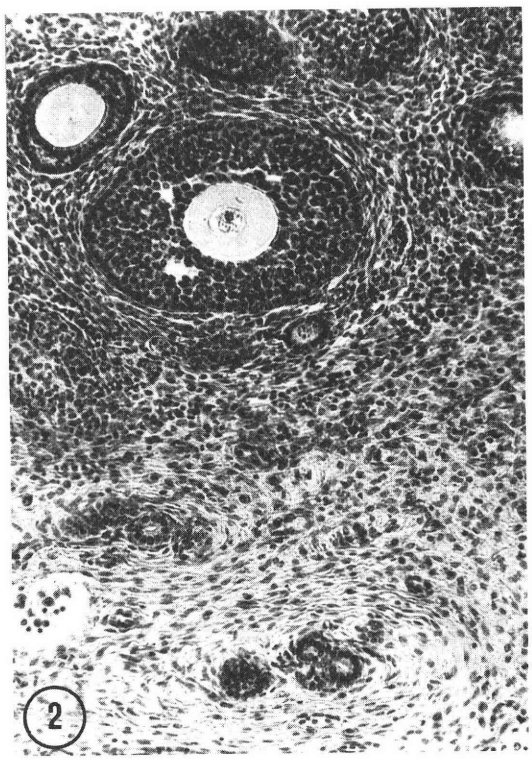


写真2　同一切片の強い拡大像．

結果，移植卵巣はレシピエント側の条件が整えば生着することが確認された．

Beer et al.[4]は別系統ラット間の子宮腔内への皮膚移植を試み，非妊娠時の子宮内膜は移植片にたいして特別な反応を示さなかったが，妊娠時の子宮腔内に移植して脱落膜が形成された場合には，宿主動物の感作は妨げられることから生着の成否は脱落膜の有無と関係があると考えられた．しかし，子宮外着床（子宮外妊娠）の成立が認められるので脱落膜，脱落膜腫形成など子宮側因子を妊卵着床における絶対条件と認めるわけにはいかない．事実，未成熟ハムスターにエストロジェンとプロデェステロンを連続投与して子宮腔内に培養細胞を生着させることができる[5,7]ので生着の成否は，脱落膜あるいは脱落膜腫形成の有無とは無関係かもしれない．子宮とは，卵巣性ホルモンの支配下に妊卵着床あるいは同種異系移植片生着に対して最も適切な条件を備えた組織であると考えたほうが良いのかもしれない．

このように，条件さえ整えば同種異系移植片はもとよりマウス卵巣のような異種移植片に対しても子宮腔内移植は成立する[8]．絶滅の危機にひんしている動物種がいくつかあり，発生工学を応用してこのような動物を繁殖させようとする努力がなされつつある．この場合排卵された卵子を回収して異種レシピエントに受精卵を移植するが，今後卵細胞を多数保有する卵巣を用いての種の保存技術も検討されることになろう．卵巣の培養による卵子採取も考えられるが，その際培養では最初にメディウムの組成が問題となりメディウムが完成するまでに絶滅するということもありえるが，卵巣の子宮腔内移植では，培養液の組成をさしあたって考慮しなくてもよいと予想され，これは本法の優れた点と考えられる．

さらに，子宮腔内移植では臓器移植で一般に用いられているアザチオプリンやシクロスポリンなどの拒絶反応抑制剤を投与しなくてもよい利点がある．

文　献

1）Arai, H.: On the postnatal development of the ovary (albino rat), with special reference to the number of ova, Amer. J. Anat., 27: 405, 1920

2）Hirshfield, A. N. and Midgley, A. R. Jr.: Morphometric analysis of follicular development in the rat, Biol. Reprod., 19: 597, 1978

3）舘　鄰，舘　澄江：哺乳動物の初期発生，53，理工学社，1981

4）Beer, A. E., Billingham, R. E. and Hoerr, R. A.: Elicitation and expression of transplantation immunity in the uterus, Transplant Proc., 3: 609, 1971

5）Moriyama, I. and Sugawa, T.: Progesterone facilitate implantation of xenogenic cultured cells in hamster uterus, Nature new biology, 236: 150, 1972

6）Braw, R. H. and Tsafriri, A.: Effect of PMSG on follicular atresia in the immature rat ovary, J. Reprod. Fert., 56: 267, 1980

7）須川　佶：哺乳動物の初期発生，75，理工学社，1981

8）利部　聰，石田哲也，萬場光一，牧田登之：マウスおよびラット卵巣のラット子宮への移植，第76回家畜繁殖学会，1989

Homoplastic graft of rat ovary into uterine cavity

Satosi Kagabu, Kouichi Manba and Tetsuya Ishida

Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Yamaguchi 753, Japan

We have studied the viability of rat ovarian tissue after homoplastic graft into the uterine cavity of rat. In the recipient of pregnant or pseudopregnant rat, after 3-4 days mated with intact male or vasectomized male, there was no histological evidence of rejecton at the sites of implantation. On the other hand, no ovaries were implanted in the cyclic animals in any estrous stage.

Intrauterine ovary homografts survive in the uterus of the rat for duration of 3-4 days pregancy or pseudpregnancy.

（受付：1990年2月13日）

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

培養マウス胚発育についての超微形態観察
——コラーゲン膜を基質とした培養系において——

Ultrastructural Study of In Vitro Cultured Embryo Developing on Collagen Membrane

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　聰
Kunihiro OKAMURA　Toshifumi TAKABAYASHI　Akira YAJIMA

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

着床後1－2日に相当する胚の形態を観察する目的で，マウス胞胚を組織培養用透過性コラーゲン膜を基質とした培養に供した．また同時に一部のコラーゲン膜付着胚については基質を逆転させて培養しその形態変化をみた．

胞胚は培養開始後96時間で卵円筒期まで達し，基質付着部，胎盤円錐，卵円筒の3部分により形成された．基質逆転群では非逆転群と比べて基質付着部にのみ形態差が認められた．胎盤円錐と卵円筒はともに内部・外周の2部分に区別できる細胞群によって構成され，その形態的特徴として，胎盤円錐内部に出現した類円形断面を示す濃染された小細胞と卵円筒外周細胞の多数の空胞があげられた．しかし他に顕著な形態分化は見いだせなかった．

以上，コラーゲン膜を基質として卵円筒期まで発育した胚の超微形態を示すと同時に，胚を構成する各部分の形態上の分化につき言及した．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 189—195, 1991)

緒　言

胚を形態観察することは胎生学の面はもとより，奇形学などへの貢献も考えられる．しかし胚が着床前で卵管や子宮腔内にfreeの状態にある胞胚までの時期ではそれも容易であるが，着床後より暫くの間は着床部位の同定に手間を要し容易とは言い難い．その点を克服する方法として，Hsuは*in vitro*下にマウス胞胚を培養しその発育を観察した[1,2]．この報告をふまえ，我々は子宮内膜に近い*in vitro*環境を得るためにコラーゲンゲル層を基質として用いた胚培養系を確立し，とくに基質付着部のtrophoblastの形態について報告してきた[3]．コラーゲンは細胞外マトリックスとして細胞接着に関与する線維性蛋白質で，その分布は皮膚・腱・骨・子宮壁をはじめとする各細胞間間質と広い[4]．このようなコラーゲンを基質として用いた場合は細胞が極性を保持でき，本来の分化機能を維持した培養が可能となる[5]．そこで今回は，基質として新たに組織培養用透過性コラーゲン膜を基質とした培養を行い，そこで発育する胚の

形態を透過型電子顕微鏡による超微形態観察を含めて検討し，コラーゲンゲル層上に得られた胚発育と比較した．また一部で胚の付着が完了したコラーゲン膜を逆転して胚付着面を下面とする工夫をし，培養環境の変化がおよぼす胚の形態変化についても観察を加えた．

研究方法

1　胞胚の採取

ICR系雌マウス（8－12週齢）と同系の雄を自然交配させ，翌朝膣栓が確認されたものを妊娠第1日とした．妊娠第4日目にエーテル麻酔下にそれを屠殺し，無菌的に子宮を摘出して中央部で切断，個々の子宮角にHanks液を注入することで胞胚を得た．採取された胞胚は実体顕微鏡下に健常と認めたものを選別し培養に供した．

2　培養方法

組織培養用透過性コラーゲン膜(type I，ペプシン可溶化コラーゲン，高研）を培養用プラスチックディシュ内におき，そこに15％牛胎仔血清添加CMRL1066培養液（AB-PC 100mg/l 含，GIBCO）を加え，コラーゲン膜が支持体ごと浸漬されるようにした．そこに採取されたばかりの胞胚を3－5個コラーゲン膜上に載せるように加え，37℃，5％ CO_2 下の静置培養に供した．（図1－1）

培養開始後48時間でコラーゲン膜上に胚の付着を確認し，一部のディシュにおいてコラーゲン膜を支持体ごと逆転させ，胚付着面が下面となるように設定し培養を続けた．（図1－2）

3　胚の形態観察

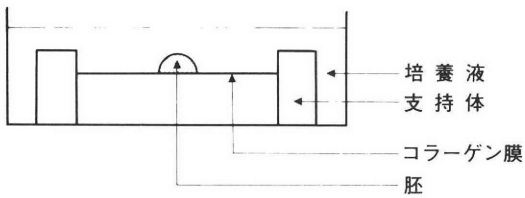


図1－1　コラーゲン膜上の胚培養（模式図）

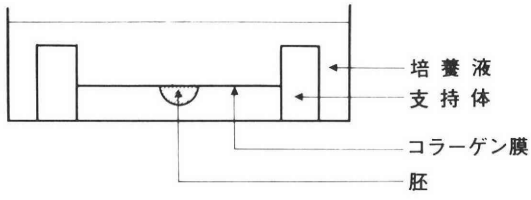


図1－2　コラーゲン膜を逆転させた胚培養（模式図）

胚のコラーゲン膜への付着の有無やそれ以降の発育は倒立顕微鏡を用いて随時観察した．また卵円筒期に達した胚については透過型電子顕微鏡（電顕と略す）による超微形態観察に供した．

透過型電顕観察のためには，まず胚を含むように切り取ったコラーゲン膜片を2.5％グルタルアルデヒド(0.1Mカコジル酸緩衝液希釈）中に冷所1時間浸漬し(前固定)，次いで0.1Mカコジル酸緩衝液中で冷所over nightの洗浄，さらに1％四酸化オスミウム(0.1Mカコジル酸緩衝液希釈）中に冷所1時間おき後固定とした．つづいてアルコール系列下に脱水し，酸化プロピレンで置換後エポキシ樹脂中に包埋，超薄切片作製後に酢酸ウラン，クエン酸鉛による電子染色を施し電顕観察に供した．

結　果

1　培養胚の発育

培養に供した胞胚は一部に脱落するものが認められたものの，培養開始後24時間で透明帯脱却の途中にあり，48時間でそれを終了しコラーゲン膜上に付着した．基質付着細胞は扁平な広がりを示し，その上に内細胞塊由来の細胞群が存在した．この時点で一部のディシュにおいてコラーゲン膜の逆転を行った．

逆転したことにより胚の発育には差異はみられなかったものの，基質付着細胞の形態には大きい差異がみられ，非逆転群における細胞の扁平な拡がりは逆転することによって退縮し全体に丸みをもった細胞に変化していたことが特徴的であった．(写真1－3）

今回の発育目標とした卵円筒期までは培養開始後96時間で到達した．そのため超微形態観察はすべて卵円筒期胚で行った．

2　コラーゲン膜付着細胞の超微形態

コラーゲン膜に直接付着する細胞は，非逆転群・逆転群とも，一部に僅かに小突起を有するものの，ほとんどは基質とmicrovilliや細胞突起を介さない接し方をしていた．これらの細胞には反付着側に僅かにmicrovilliを有し，また細胞間には結合装置が随所にみられた．非逆転群のこの部の細胞は全体にわたり扁平で小器官に乏しいと言えたのに対して，逆転群ではendoplasmic reticulum（ERと略す）を豊富に有する丸みを帯びた細胞が特徴的で，また中央では扁平な基質付着細胞上にmitochondria（Mと略す）やGolgi体（Gと略す）などの小器官に豊む細胞が散在した．さらにその扁平な細胞の一部には線維状構造物やmicrotubuleを有するものも認めら

れた．(写真4－9)

3　胎盤円錐構成細胞の超微形態

この部分の形態については逆転群・非逆転群で大きな差異はみられなかった．

まず基質付着細胞群からの移行部にはmicrovilliを有する細胞が含まれたものの，それより離れるにつれて外周はmicrovilliをもたない扁平な細胞が僅かな結合装置を介し隣接した．内部には不定形を示す細胞が多少の間隔をもって少ない結合装置を介して接していた．小器官は外周・内部の細胞とも総じて乏しく，分化を示唆する形態的特徴は観察されなかった．しかし内部細胞の一部に核・細胞質ともに濃染された細胞が混在して観察され，しかもそれらは円形に近い断面を示す小型かつ小器官に乏しいもので無秩序な出現をしていたことが特徴的であった．(写真10－14)

4　卵円筒構成細胞の超微形態

この部の細胞についても逆転群・非逆転群で大きい差異はなかった．

この部の外周はmicrovilliを有した扁平な形状の細胞によって構成され，その細胞内にはどれにも多数の空胞が存在して一部には自己消化の形態を示していたことが特徴的であった．G，M，ERの小器官は胎盤円錐の外周細胞より多く分布していた．内部は不定形の細胞の不規則な配列によって構成され，ほとんど間隙をとらずに隣接していた．またその小器官は総じて乏しく，一部にGやmicrotubuleを有するものが認められたにとどまった．(写真15－17)

考　察

本研究において胚はコラーゲン膜上においても付着し発育することが確認され，その発育速度も，本研究で到達点とした卵円筒期までは，これまでに報告されてきているプラスチィックディシュ面[1,2]やコラーゲンゲル層[3]を基質とした場合と同程度であると認められた．従って，胚の培養にあたりコラーゲン膜を利用することは可能であり，さらにこの膜の持つ物質透過性を応用すれば子宮内膜との共培養なども考えられる．

本研究で得られたコラーゲン膜上の胚の発育様式は，特に基質付着細胞において，コラーゲンゲル層上で観察されたもの[3]と大きく異なっていた．すなわちコラーゲンゲル層上には存在していた空胞を有する細胞は認められず，またゲル内に侵入するように発達していた多数のmicrovilliや細胞突起もほとんど存在せず，とくに非逆転群ではプラスチックディシュを基質とした場合と同様の発育様式をとった．

これらの成因としては，コラーゲン線維のゲルと膜という存在様式の差異により胚のそれに対する適応にも差異が生じたことがまず考えられる．次にコラーゲン膜との付着に関わる扁平な細胞に相当するものがコラーゲンゲル上では観察されず，それに加えてコラーゲンゲルに接する細胞はlysozymeの産生を類推できる空胞[6]が存在し，その周辺には破壊された細胞があったことから，基質付着細胞が消化された可能性もある．またコラーゲン膜を逆転して得られた基質付着細胞の形態変化は，非逆転群と比較して，重力の関与に差異が生じたためにおこったものと推測される．従ってこれらを総合すると，trophectodermを由来とする基質付着細胞は，おかれた*in vitro*環境に応じた形態的あるいは機能的分化をする潜在能を有していることが示唆された．ひいては，このことは，子宮内膜のみでなく，他の部位にも着床が成立する裏付と言える．さらにコラーゲンを基質として用いることは，培養乳腺細胞が分化を示して発育したという報告[7]から，胚培養もディシュ面よりコラーゲンを基質としたほうがin uteroの発育をより反映しているといえるが，コラーゲン膜あるいはコラーゲンゲル上の胚のどちらがin uteroに近いかの結論は下せなかった．

これまでの発生学的研究によって，基質付着細胞は反胚盤極のtrophectodermに由来し，胎盤円錐細胞は胚盤極・反胚盤極の両極のtrophectodermに，さらに卵円筒細胞は内細胞塊に由来することがわかっている[8]．また卵円筒の外側は内胚葉，内側は外胚葉を形成してくるとされている[8]．これらのことより，本研究で観察された胎盤円錐内部の濃染される小型の細胞はtrophectodermに由来する細胞がさらに分化したものである可能性が大きく，また卵円筒外周の空胞を有する細胞は内胚葉と考えられる．しかし胎盤円錐や卵円筒内部を構成する細胞は，観察した時点で小器官がほとんど発現していなかったことから，機能的にはほとんど分化していないことが推測できたが，これらの細胞のもつ潜在能については本研究のような形態的アプローチのみでは明確にできないと考えられた．

文　献

1) Hsu, Y. C.: Post-blastocyst differentiation in vitro, Nature (Lond.), 231: 100, 1971
2) Hsu, Y. C.: Differentiation in vitro of mouse embryos beyond the implantation stage, Nature (Lond.), 239: 200, 1972
3) 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
4) 大池康照：細胞外マトリックス成分の生物化学，細胞工学，8：5，1989
5) Yang, J. and Nandi, S.: Growth of cultured cells using collagen as substrate, Int. Rev. Cytol., 81: 249, 1983
6) Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Ratt, M., Roberts, K. and Watson, J. D.: Internal membranes and the syntheis of macromolecules. In Molecular Biology of The Cell, New York and London Garland Publishing, 319, 1983
7) 榎並淳平：乳腺分化における細胞外マトリックス，細胞工学，8：33，1989
8) 成瀬一郎：着床前から初期体節期までの胚培養，哺乳類の発生工学(NAMEの会編)，246，ソフトサイエンス社，1984

Ultrastructural study of *In Vitro* cultured embryo developing on collagen membrane

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

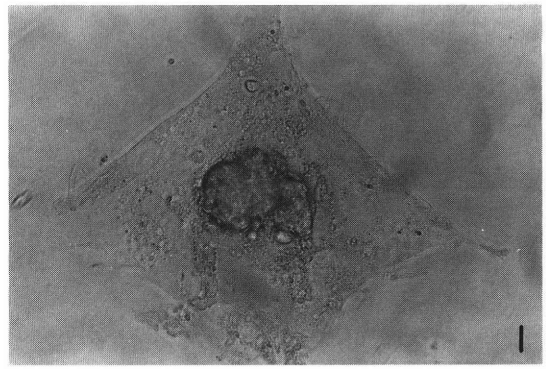
Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University School of Medicine, Miyagi 980, Japan

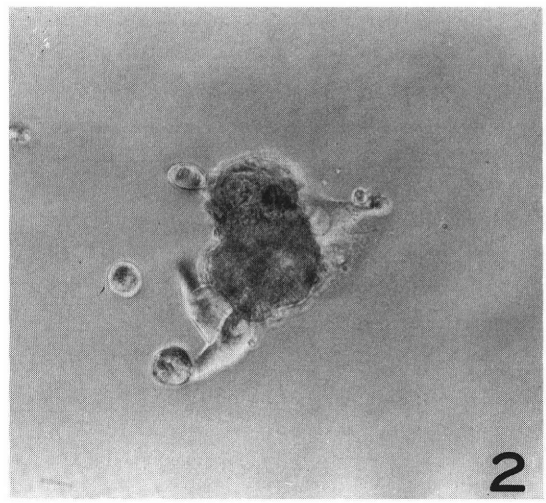
In order to morphologically analyze the early implantation stage embryo, mice blastocysts were in vitro cultured on the collagen membrane and ultrastructurally observed. Furthermore, a part of embryos attaching on the membrane was continued to culture after inverting the substrate (inverted group) and then observed the morphological differences.

Blastocysts developed to the egg cylinder stage 96 hours after culture and differentiated to three organ parts, the substrate attaching part, the placental cone and the egg cylinder. Compared with the control group, only the substrate attaching cells of the invered group showed morphological differences. The placental cone and the egg cylinder consisted of two morphologically differentiated cells, the inner cells and the surrounding cells. Well electro-stained round cells in the inner cells of placental cone and vacuoles in the surrounding cells of egg cylinder were found as morphological features expecting some functions. No other features could not be detected at the stage.

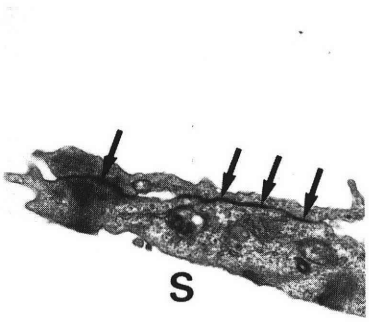
Finally, this experiment shows the growth of mice embryo attaching on the collagen membrane and the morphological differentiation in each part forming the embryo.

(受付：1990年2月27日)

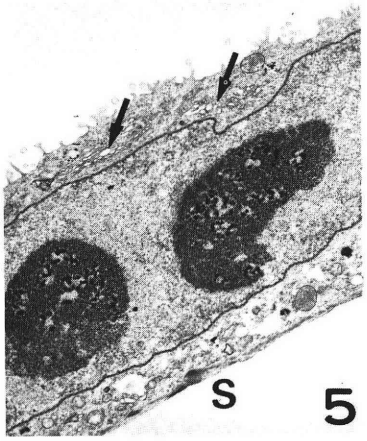




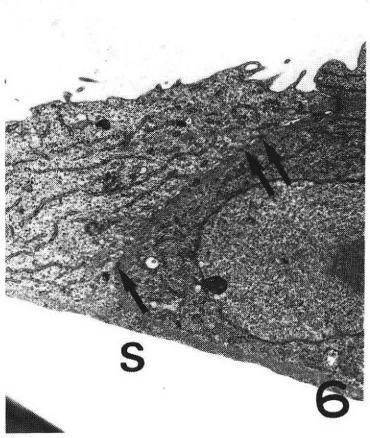




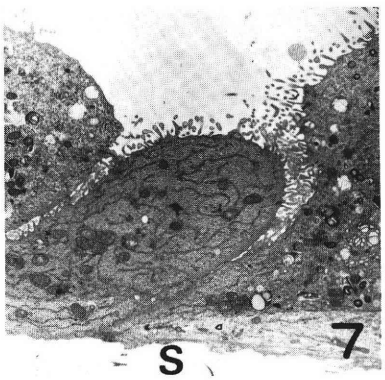
4



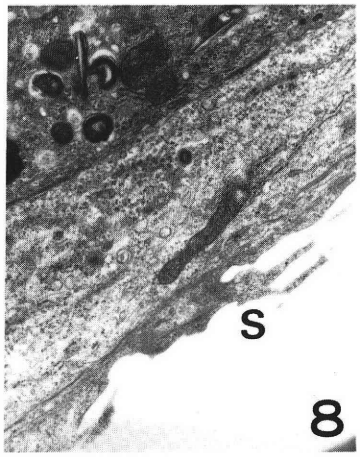
5



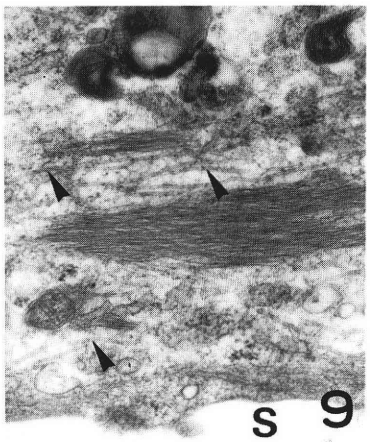
6



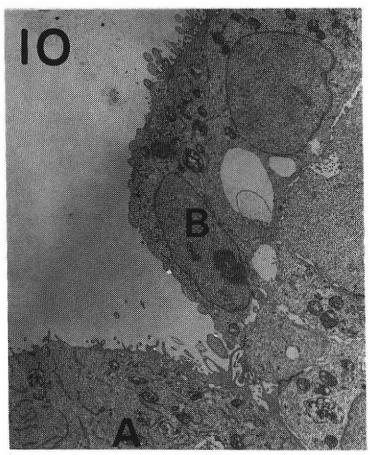
7

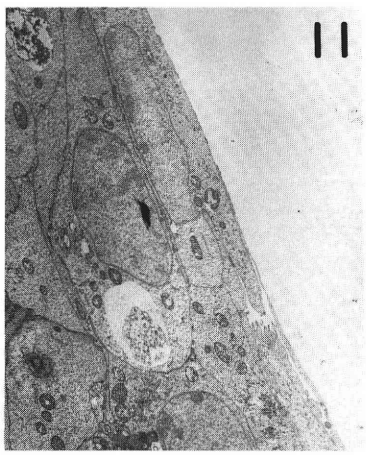


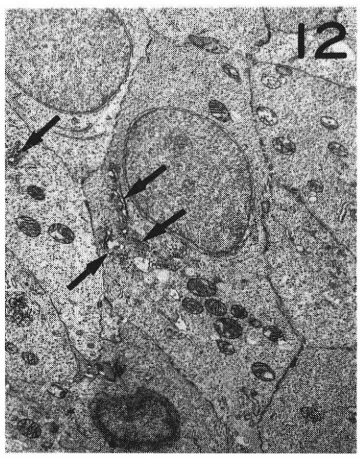
8

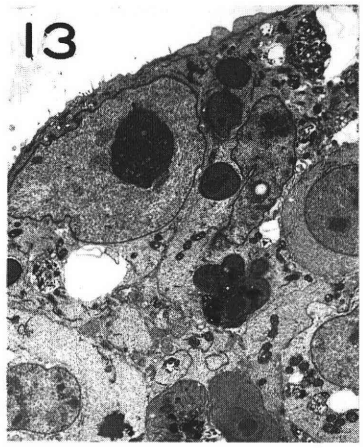


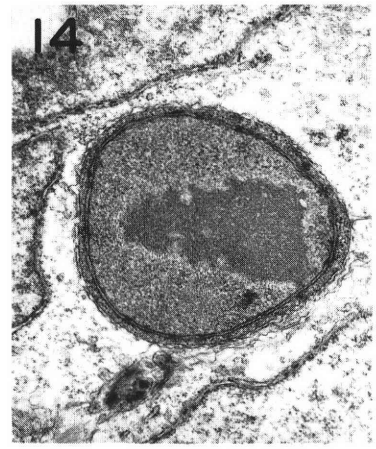
9

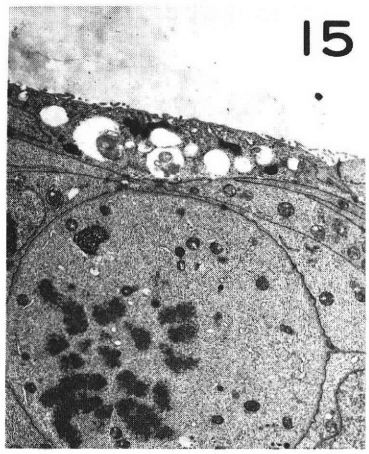


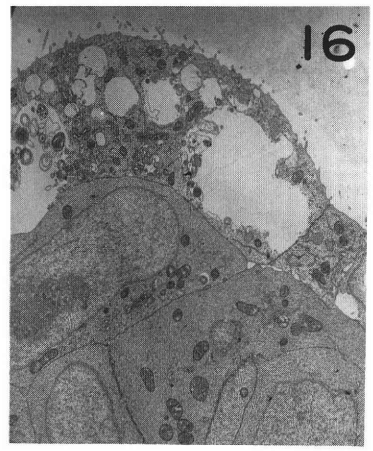


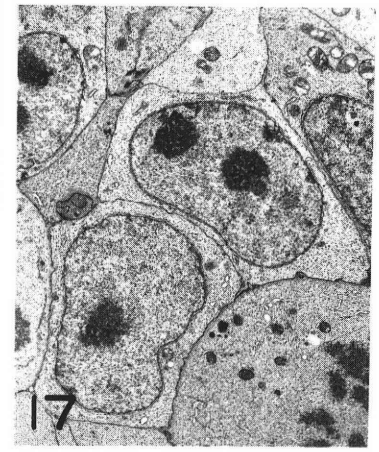












写真説明

1　非逆転群における初期卵円筒期胚の倒立顕微鏡像．培養開始72時間後．
基質付着細胞は扁平な拡がりを示し，その上に初期円筒期胚を発育している．

2，3　逆転群における卵円筒期胚の倒立顕微鏡像．培養開始96時間後．
基質付着細胞は丸味をもち，拡がりは退縮している．その上には卵円筒期胚が発育している．

4　非逆転群における辺縁部の基質付着細胞．×10000
扁平な細胞が結合装置(arrow)をもって重層している．基質に侵入するmicrovilliや細胞突起はない．

5　非逆転群における基質付着細胞．×4000
扁平な細胞で，Golgi体(arrow)は認められるものの，mitochondriaやendoplasmic reticulumの分布は乏しい．S：基質

6　逆転群における基質付着細胞．×6000
非逆転群に比較して細胞は丸味をおび，endoplasmic reticulumに富む．細胞間には結合装置(arrow)がみられる．基質（S）内に侵入するmicrovilliや細胞突起はない．

7　逆転群における基質付着細胞．×3500
小器官に富む巨細胞が扁平な基質付着細胞の上に観察される．S：基質

8，9　逆転群における基質付着細胞．8－×30000，9－×12000
小器官に富む巨細胞下の扁平な細胞には基質(S)に侵入する突起をわずかに有するものがあり，また細胞内線維（arrow）やmicrotubule(arrow head)を有するものもある．

10　基質付着部と胎盤円錐の移行部．×3000
基質付着部の細胞（A）にはendoplasmic reticulumが多数存在し，microvilliを有する。胎盤円錐細胞(B)にもmicrovilliが認められるものがある。

11　胎盤円錐外周細胞．×3000
microvilliをもたない扁平な細胞が僅かな結合装置を介して隣接している．小器官には特徴はない．

12　胎盤円錐内部細胞．×4000
不定形の細胞が多少の間隙をもって隣接している．結合装置は所々にみられる．中央の細胞には

Golgi 体 (arrow) がみられるが、小器官は総じて乏しい.

13, 14　胎盤円錐部の濃染された小型細胞とその拡大像. 13－×2500, 14－×17000
核・細胞質ともに濃染され, 類円形の断面を示す小型細胞で小器官は乏しく, また無秩序な出現をしている.

15, 16　卵円筒外周細胞. 15－×4000, 16－×3500
microvilli を有する扁平な細胞の内部には空砲が存在する. 写真16には自己消化の像もあり, 小器官も豊富である.

17　卵円筒内部細胞. ×4000
不定形の細胞の不規則な配列によって構成され, それらはほとんど間隙をとらずに隣接している. 小器官は総じて乏しい.

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

MURINE CYTOTROPHOBIASTIC OUTGROWTH *IN VITRO*: AN INDEX OF EMBRYONAL VITALITY

Satoru CHIDA (Director: Prof. Dr. med. Kurt Semm)

Department of Obstetrics and Gynecology,
Christian-Albrechts-University Kiel, F. R. G.
Infertility Unit of Obstetrics and Gynecology,
Suzuki Hospital, Miyagi 989-24, Japan

Abstract: The attachment and spreading of cytotrophoblast cells upon blastocyst-hatching in culture was studied using blastocysts from three sources which comprised: (a) full in vitro development after IVE, (b) culture of 2-cell cleavage stages obtained from tubal flushings and (c) blastocysts obtained from uterine horn flushing after full in vivo development. Blastocysts from the same three sources were also transfered in utero in adequately prepared recipients and the development of embryos was assayed 11 days later after sacrifice. The results indicate that the vitality of embryos based on the spread of the cysotrophpblast was best for blastocysts developed in vivo and poorest for those of pure in vitro origin blastocysts of moxed heritage were intermediate. The ultimate viability based on the assay of 14 day old embryos in utero correlated with the cytotrophoblast outgrowth test. The suitability of the cytotrophoblast outgrowth assay for the quality control of culture media used in IVF is discussed.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 196—199, 1991)

Introduction

Development of the murine two-cell cleavage stage to blastocysts has been used as a means of quality-control of culture media in human *in vitro* fertilization (IVF) programmes. The sensitivity of this test-system has been questioned because of the purported resistance conferred by the presence of the zona pelucida[3].

Althoufh it has been reported that variable frequencies of normal development are achieved following embryo transfer[1,2,4], the best assessment of embryo viability is undoubtedly the birth of healthy offspring after transfer to surrogate mothers. Despite its value, the tedius feasibility of such a test makes it of low practical value. Short *in vitro* assays which can give reliable predictions of embryo viability are, therefore, of interest.

This study was performed in order to investigate *in vitro* the viability of mouse blastocysts. The cytotrophoblastic outgrowth of blastocysts from three sources (a) *in vitro* fertilization and embryo culture (b) *in vivo* fertilization and culture (two-cell stage from tubal flushings) (c) *in vivo* fertilization compared. Further, blastocysts from the three sources were also transferred into adequately prepared recipient mice, and the number of developing fetuses assayed 11 days later. The significance of the *in vitro* assessment of the cytotrophoblastic outgrowth of blastocysts post-hatching as a potential predictive assay of embryo vitality and ultimate viablilty is discussed.

Materials and Methods

Culture media:

Hams F-10 medium (Flow Labs.) for insemination was supplemented with 2.2mg/ml $NaHCO_3$,0.25 mg/ml calcium lactate, and 30mg/ml bovine serum albumin (BSA). Medium for embryo culture was the same, but lacked in BSA. After 3 days of culture from the 2-cell cleavage stage, the number of blastocysts was evaluated. Microscopically normal appearing blastocysts were transferred into 4-well plastic multidishes (Nunc) with CMRL-1066 medium (Gibco) supplemented with 2.2 mg/ml $NaHCO_3$,1mM L-qlutamine and 10% fetal calf serum (Boehringer Mannheim) at 37℃ with 5% CO_2 in air at saturated humidity. After 48 hours culture, trophpblastic outgrowths were microscopically observed[6](Figure 1). Using Spindles criterion[5], outgrowths were defined as the moderate to extensive spreading of cytotrophoblast cells.

In vitro fertilization:

Female CB6F1 mice (Charles River wiga, Sulzfeld, FRG) superovulated with pregnant mare serum fonadotrophin (PMSG) and human chorionic gonadotrophin (hCG, Sigma) were sacrificed 15 hours after hCG injection and the oocyte-cumulus complexes collected from the ampulles of oviducts. Sperms were obtained from the vasa deferentia of CB6F1 males. After preincubation for 1 hour, sperms ($8x10^5$ cells/ml) were added to the medium containing the oocytes. At 24 hours after insemination, 2-cell cleavage stages were collected and transferred into fresh Hams F-10 medium.

Collection of in vivo fertilized eggs:

Superovulated female mice were mated with males. Two-cell cleavage stages were collected by tubal flushing 2 days later while blastocysts were obtained by flushing the uterine hours 4-days later. Day 1 was set as the day on which vaginal plugs were observed.

Transfer of embryos to pseudopregnant mice:

Eight blastocysts were transferred to each uterine horn of BALB/C uniparous recipient mice (Charles River Wiga) through a dorsal incision. The mice had been mated with vasectomised males 3 days earlier. Eleven days later, the number of viable fetuses was determined.

Statistical significance was estimated by using the chi-square test,

Results

Cytotrophoblastic outgrowth in vitro

Table 1 gives the results obtained from the cytotrophoblastic outgrowth assay *in vitro* (see Figure) in actual numbers and the corresponding percentages. Blastocysts which had a complete *in vivo* origin i. e. fertilization as well as further development up to the blastocyst atage, performed best (89.7%). The poorest performance was observed for blastocysts from full *in vitro* origin i. e. fertilization and further culture (20.2%). The blastocysts which were obtained through *in vivo* fertilization followed by culture from the 2-cell stage was intermediate in performance (47.9%). The differences between the individual groups is statistically significiant.

Fetal development after embryo transfer

Blastocysts from the same three groups were transferred into pseudopregnant recipients as a check on viability. The percentage of fetuses which were counted for three groups tallied with the results obtained for the cytotrophoblastic

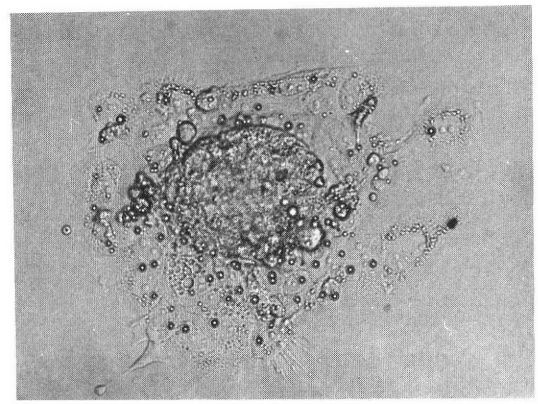


Fig. 1 Microphotograph of the surface view (X 300) of a hatched blastcyst after 48 h culture. The cytotrophoblast cells attach and spread.

Table 1. Fraction of blastocysts which development from the three groups of early embryos, and the fraction of blastocysts whose cytotrophoblast cells attached and spread, respectively.

Embryo Source	Blastocysts	Spread Cytotrophoblasts
IVF	84/149 (56.4%)	17/84 (20.2%)[a]
2-cell stage (Tubal Flushing)	165/206 (80.1%)	79/165 (47.9%)[b]
Blastocysts (Uterine Flushing)	87	78/87 (89.7%)

a : $P < 0.005$ compared with the 2-cell stage group.
$P < 0.001$ compared with the blastocysts group.
b : $P < 0.001$ compared with the blastocysts group.

Table 2 Fraction of blastocysts which developed from the three groups of early embryos, and the fraction of blastocysts which developed into 14-day fetuses after transfer *in utero*.

Embryo source	Blastocysts	Fetuses
IVF	74/127(58.3%)	9/48(18.8%)
2-cell stage (Tubal Flushing)	142/184(77.2%)	14/48(29.2%)
Blastocysts (Uterine Flushing)	48	19/48(38.6%)

outgrowth assay, which was best for full *in vivo* development poorest for the *in vitro* group and intermediate for those of mixed origin. Owing to the small numbers, statistical signifcance could not be established.

Discussion

In vitro inadequacies

Culture conditions employed for IVF as well as for other cell cultures systems are in general bound with inherent inadequacies, since the exact physiological requirements of different cell types is not known. Therefore, the difference in performance observed for the three experimental groups representing either full *in vitro* or *in vivo* development and an intermediate one of mixed origin, is not surprising. Furthermore, the frequency of blastocysts developing from 2-cell cleavage stage obtained by tubal flushings after *in vivo* fertilization was significantly higher that resulting from IVF (Tables 1 and 2), pointing, once again, to deficiencies of culture conditions. Interestingly blastocysts of mixed origin yielded an intermediate performance in both assays (cytotrophoblastic outgrowth and embryo development after transfer *in utero*, respectively), supporting the content that IVF suffers from inadequacies.

Viability test by offspring birth

As much as the birth of healthy offspring may be the ultimate test on the vitality and viability of embryos, the test has drawbacks which are not only of technical nature. Besides its infeasibility as a test for the adequacy of culture media, inviable embryos which may be resorbed escape detection. In addition, maternal cannibalism of neonatal offspring can severely distort evaluations. To overcome these two problems, the development of potential offspring was assayed on day 11 post-embryo-transfer.

Merits of the cytotrophoblast assay

The advance of the early pre-implantation embryo from the morula to the blastocyst stage is associated with the initiation of morphogenetic events. The manifestitation of different cell types is the net result of an array of gene expressions causing morphological changes which are accomplished through precise cytoskeletal configurations. The hatching of the blasocyst followed by attachment and apreading of the cytotrophoblast are further events which demand unperturbed cellular function[9,10]. It is conceivable that early embryonal cells going through morphogenesis may be more sensitive to noxal agents and/or inadequacies of culture media, than cells of the preceeding stages. The extent of cytotrophoblastic spreading is certainly an indication of vitality, and the probability for such hatched, aggressively

spreading blastocysts to grow into healthy embryos if they were *in utero* must certainly be higher than those displaying retarded hatching coupled with poor cytotrophoblast outgrowth. An assay at this stage of development might, therefore, be indeed an index of viability[7,8].Quality control of media for IVF may, therefore, be more reliable exploiting these properties of the developing blastocyst.

Acknowledgments

The abiding support of the director of the Department of Obstetrics and Gynecology Professor K. Semm and professor L. Mettler is gratefully acknowledged. This work was supported by a grant from the "Alexander von Humboldt Foundation"in Federal Republic of Germany.

References

1) Arny, M., Nachtigall, L. and Qualiarello, J.: The effect of preimplantation culture conditions on murine embryo implantation and fetal development, Fertil. Steril., 48: 861, 1987
2) Caro, C. M. and Trounson, A.: The effect of protein on preimplantation mouse embryo development *in vitro*, J. In vitro Fert. Embryo Transfer, 1: 183, 1984
3) Fleming, T. P., pratt, H. P. M. and Braude, P. R.: The use of mouse preimplantation embryos for quality control of culture reagents in human *in vitro* fertilization programs: a cautionary note, Fertil. Steril., 47: 858, 1987
4) Han, H. D. and Kiessling, A. A.: In vitro development of transferred mouse embryos conceived *in vitro* in simplex and complex media,Fertil. Steril., 50: 159, 1988
5) Spindle, A. I. and Pedersen, R. A.: Hatching, attachment, and outgrowth of mouse blastcysts *in vitro*: Fixed nitrogen requirements, J. Exp. zool., 186: 305, 1972
6) Chida, S. and Mettler, L.: Effects of indomethacin, prostaglandin E_2 and prostaglandin $F_2\alpha$ on mouse blastocyst attachment and trophoblastic outgrowth in vitro, prostaglandins, 37: 411, 1989
7) Chida, S. and Mettler, L.: Screening test for mouse blastocysts as an index of the vitality of embryos, J. In vitro Fert. Embryo Transfer, 6: 310, 1989
8) Chida, S. and Mettler, L.: Lebensfähigkeit von Mausblastozysten nach In-vivo-und In-vitro-Fertilisation, Fertilität, 6: 40, 1990
9) Chida, S., Uehara, S., Hoshiai, H. and Yajima, A.: Time sequential observation on hatching of mouse blastocysts by sacnning and transmission electron microscopy, Jpn. J. Fertil. Steril., 32: 228, 1987
10) Chida, S., Grillo, M. and Mettler, L.: Beobachtung der Schlüpvorgänge bei Mäuseblastozsten durch Raster (REM) und Transmissionselektronen-mikroskopie (TEM), Fertilität, 5: 204, 1989

マウス胞胚の活力の指標 ——*in vitro* における Hatching 後の胞胚の発育——

Kiel 大学産婦人科

(現) スズキ病院産婦人科

千田 智

マウス受精卵の2細胞期から胞胚期までの培養系がquality contral として一般的に用いられているが，正常に見える胞胚の活力，及び胎仔への発生能については検討が難しい．胞胚を偽妊娠受容雌の子宮に移植し生存胎仔について検討することが最良の手段であるが，時間と技術を要し，また正確性に欠ける．さらに受容雌の子宮内膜環境に大きく左右される．この実験では胞胚の活力を *in vitro* で検討する目的で次の3群よりなる胞胚をさらに48時間追加培養し，dish 上に接着発育する trophoblast を観察した．一方で，各群より得た胞胚を受容雌に移植し，胎仔への発生について比較検討した．子宮内より得た胞胚は IVF や体内受精2細胞期から *in vitro* で発育した胞胚より trophoblast への発育率は高く，受容雌への移植でも高率に胎仔へ発生した．さらに2細胞期から発育した胞胚は IVF より発育した胞胚より *in vitro* での trophoblast への発育率は高く，活力も高いと標価された．この方法は短時間に多数の胞胚の活力を手軽に検討ができ，また顕微鏡下に直接胞胚の発育が観察できる利点があり，胞胚の quality control として有用と思われた．

(受付：1990年2月23日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

GESTATION AND DELIVERY OF THE RABBIT MODEL WITH TUBAL OBSTRUCTION BY MEANS OF TUBAL INSEMINATION

Kiichi KANAYAMA, Tuyoshi ENDO and Yuzi SAKUMA

Department of Veterinary Physiology,
College of Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University, Kanagawa 252, Japan

We studied on rabbits the applicability of tubal insemination to the treatment of sterility originating from tubal obstruction. More than one month prior to the experiment, the animals' utero-tubal junctions were ligated or severed. Then 0.05ml of semen diluted to 1/100 was injected into the oviducts from the tubal fimbria. The number of live sperms injected ranged from 2.96×10^5 to 1.82×10^6. One hour after the insemination, hCG was intravenously injected to induce ovulation. Thirty-seven to 81 hours after the hCG administration, the animals were laparotomized under general anesthesia and the oviducts were irrigated from the obstructed ends toward the tubal fimbria to collect the embryos. Of these, embryos in the stage of morula or blastocyst were immediately transferred to the same animals' uteri. On the other hand, some embryos were incubated for the purpose of growth observation.

Embryos were obtained from 12 out of the 20 subjects; all the incubated embryos developed into blastocysts. Of the eight animals that had received the embryo transfer, three had one implanted fetus respectively, and of these, two progressed to delivery either spontaneously or by Caeserean section.

Our present study consists of providing a bypass for embryos by irrigating the oviducts. Our results strongly suggests that tubal insemination can be utilized to fertilize sterile women as well as female domestic animals with tubal obstruction, if embryos are transferred to the uterus bypassing the obstructed site in the oviduct.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 200—206, 1991)

Introduction

We have already reported that the injection of diluted semen into the rabbit's tubal fimbria results in normal fertilization[1,2] and that the injection of 10^3-10^4 of sperms is enough to achieve fertilization by this procedure[3]. We have further demonstrated that the embryos thus fertilized can normally implant in the uterus and that tubal insemination does not affect the descent of the fertilized eggs in the oviduct[2].

In these reports, we have indicated the possibility of applying this method to the treatment of sterility in both human and domestic animals resulting from oligozoospermia. Particularly when semen of superior sire is to be used in artificial insemination, tubal insemination is economically a very promising technique in the field of animal production, in that the amount of semen used can be greatly reduced.

In 1984, Asch et al. devised the technique of gamete intrafallopian transfer (GIFT)[4], which

has been used to treat sterility in women with the unobstructed oviduct as well as oligospermia in men. This method cannot, however, be used when any part of the oviduct is obstructed.

In our present study, we prepared experimental models with obstructed oviducts and carried out a tubal insemination. Later, the animals were laparotomized again and the oviducts were irrigated from the ligated ends toward the tubal fimbria to obtain the embryos, which were immediately transferred to the uterus by means of bypassing the obstructed site in the oviduct. Some of these embryos were shown to have implanted and developed into live offspring. Thus, in this study, we examined the applicability of tubal insemination to the treatment of human and animal sterility due to tubal obstruction.

Materials and Methods

The subjects were 20 mature female Japanese white rabbits, weighing 2.7kg-3.4kg. The procedure of the present experiment is shown on Fig. 1. Under general anesthesia with a pentobarbital derivative, the animals were laparotomized by a midline abdominal incision. Then the utero-tubal junctions were ligated or severed after the ligation (Fig. 2). The incision was subsequently closed and the animals were kept for more than a month to serve as the models with tubal obstruction. After this preliminary period they were laparotomized again following the same procedure as before. On the other hand, semen was obtained from mature males by means of the artificial vagina method and diluted to 1:100 with a Tyrode's solution modified by Brackett and Oliphat[5], which had been kept at 37℃. After the presence of mature follicles in the ovaries was confirmed, 0.05ml of the diluted semen was injected into the oviducts from the tubal fimbria with a glass capillary. Utmost care was taken during the injection process so as not to cause bleeding from the fimbria. Then the abdominal muscles and the skin were sutured and one hour after the insemination 75IU of human chorionic gonadotrophin (hCG) was injected into the auricular vein to induce ovulation. Part of the remaining diluted semen was used to calculate the number of the injected

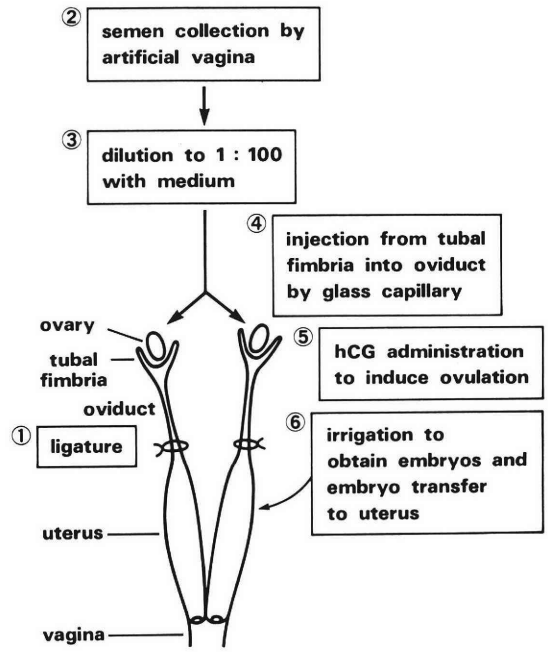


Fig. 1 Procedure of the experiment

live sperms on the basis of the number of sperms in the semen and their viability.

Thirty-seven to 81 hours after the hCG administration, the animals were again laparotomized under general anesthesia. Then the oviducts were irrigated ascendingly with 10ml of perfusate through a 24G indwelling blood vessel needle inserted into the oviduct above the ligated end toward the tubal fimbria. On the other hand, a glass capillary connected to a silicone tube was inserted into the fimbria, and the perfusate was retrieved in a laboratory dish (Fig. 3). The collected fluid was immediately studied aseptically for embryos under a stereoscopic microscope.

The cleaved eggs thus obtained from three of the subjects were incubated at 37℃ under 5%CO_2 to study their ability to develop into blastocysts. The cleaved eggs from eight rabbits were transferred to their own uteri (Fig. 4). These eight animals were laparotomized on Day 11 of gestation or insemination for implanted fetuses; if gestation was confirmed, the animals were kept under observation until delivery so that we could study the length of gestation and the number of offspring.



Fig. 2 Ligation and severance of the utero-tubal junction

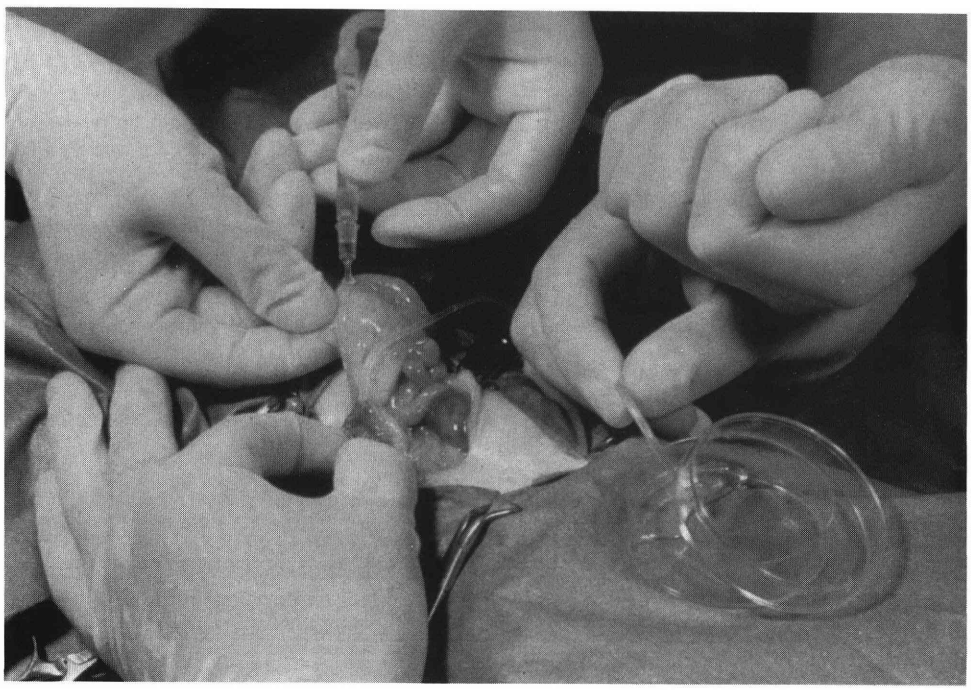


Fig. 3 Irrigation of the oviduct from the ligated end toward the tubal fimbria to collect embryos

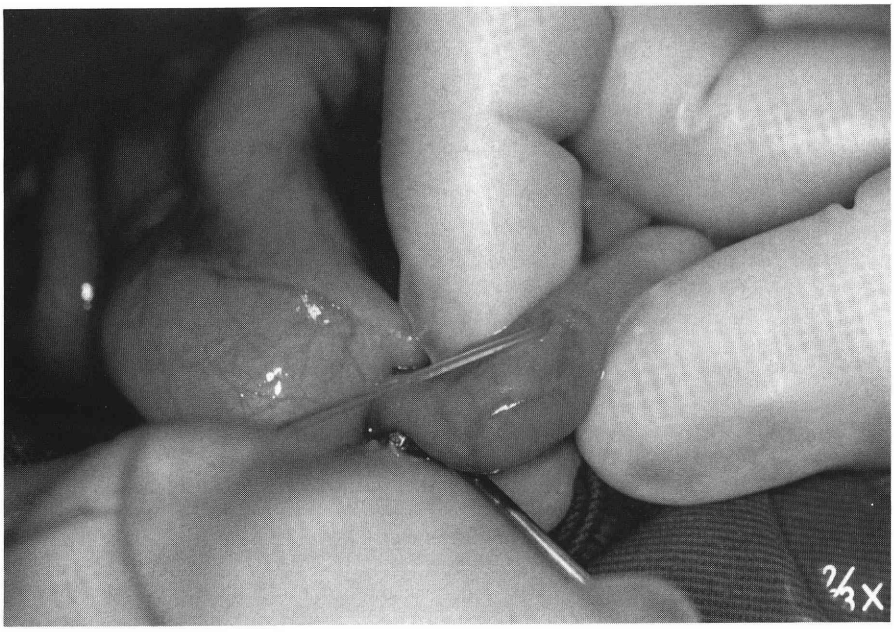


Fig. 4 Intrauterine transfer of the embryos obtained by tubal irrigation

Table 1. Number of living sperm deposited into the oviduct

Amim. No.	Semen dilution	Deposited volume (ml)	Number of sperm deposited
22			5.89×10^5
23			2.96×10^5
24			3.14×10^5
25			3.40×10^5
26			3.32×10^5
27			3.24×10^5
28			1.82×10^6
29			1.13×10^6
30			5.04×10^5
31	$\times10^2$	0.05	1.32×10^6
32			6.86×10^5
33			6.88×10^5
34			1.37×10^6
35			8.56×10^5
36			8.56×10^5
37			1.37×10^6
38			6.38×10^5
39			5.16×10^5
40			6.14×10^5
41			1.68×10^6

For the perfusate and the medium for incubating the embryos, TCM-199 supplemented with 30% inactivated rabbit serum was used in this study.

Results

In the present experiment, the number of live sperms in the diluted semen injected into the oviduct was between 2.96×10^5 and 1.82×10^6, as shown in Table 1.

Table 2 shows the recovery of ova by irrigation of the oviduct. A total of 85 ova were obtained from 12 out of the 20 subjects, and of these, 51 were cleaved eggs. At 37 hours after the hCG administration, all seven eggs recovered were in the 8-cell stage; at 48-51 hours, one egg was in the 8-cell stage and 20 were morula; at 65-81 hours, of the 50 eggs recovered, 19 were morula and 4 eggs were blastocysts. During this period, 18 degenerated eggs were also recovered.

Three animals were chosen at random from the 12 that had yielded cleaved eggs, and 11 cleaved eggs out of the 12 ova collected from them were incubated. As a result, all of them developed into blastocysts (Table 3).

Table 4 shows the result of the transfer of the cleaved eggs, obtained by irrigation of the oviducts, to the same animal's uterus. That is, of the eight rabbits that had had morula or blastocysts transferred to their own uteri, three were found to have one implanted fetus each on Day 11 of gestation. One of them (No. 31) delivered a single offspring, and its length of gestation was 33 days (The day the tubal insemination was carried out is Day 0). As No. 33 showed no sign of giving birth even after coming to term, the offspring was delivered on Day 35 by Caeserean section. Both

Table 2. Development stage of eggs recovered from the oviduct in tubal insemination

Interval from hCG injection to eggs recovery (hr)	Number of Anim. examined	Number of Anim. that yielded cleaved eggs	Number of eggs recovered	Stage of egg development				
				1	8	M[a]	B[b]	D[c]
37	1	1	7		7			
48～51	6	5	28	7	1	20		
65～81	13	6	50	9		19	4	18

[a]M : Morula
[b]B : Blastocyst
[c]D : Degenerating

Table 3. Development of recovered eggs in culture

Anim. No.	Number of eggs recovered	Number of eggs cultured	Stage at the beginning of culture	Number of eggs developing in culture[a]
23	1	1	morula	1
24	8	7	8-cell : 1 morula : 6	7
25	3	3	morula	3

a) Eggs developed to blastocyst in culture

Table 4. Results of the gestation achieved by transferring the embryos obtained by irrigating the ligated oviducts

Anim. No.		Number of eggs transferred	Development stage of eggs transferred	Implantation	Number of implanted fetuses or litter size
22	R	4	8 cell	(−)	0
	L	3	8 cell		
27	R	3	morula	(−)	0
	L	2	morula		
28	R	3	morula	(−)	0
	L	2	morula		
31	R	2	morula	(+)	1
	L	2	morula		
33	R	2	blastocyst	(+)	1
	L	2	morula : 1, blastocyst : 1		
37	R	1	blastocyst	(−)	0
	L	1	morula		
38	R	3	morula	(−)	0
	L	1	morula		
41	R	3	morula	(+)	1
	L	3	morula		

the newborn were morphologically as well as functionally quite normal, and grew up normally thereafter. No. 41 was also laparotomized on Day 35, but the fetuses which had been implanted on Day 11 of gestation were stillborn.

Discussion

Adams has reported that rabbit embryos can grow to the stage of blastocyst even in the oviduct ligated at the utero-tubal junction after copulation, and that, when such blastocysts are transferred to a recipient with a synchronized estrus cycle, the recipient is impregnated[6]. It has thus been demonstrated that embryos can grow in the ligated oviduct. In the present experiment, it was established that the tubal fimbria could take in the ovulated eggs into the oviduct even when the oviduct had been ligated at the utero-tubal junction. In view of these facts, we studied the applicability of tubal insemination to the treatment of human and animal sterility resulting from tubal obstruction.

We have already demonstrated that the injection of a small amount of diluted semen from the tubal fimbria into the oviduct can lead to fertilization, implantation, gestation, and delivery of normal young. This semen injection from the fimbria into the oviduct has been performed as a research means in the field of reproductive physiology[7~11]. Chang[7], applying this method in rabbits, found a clue to elucidating sperm capacitation.

In our present attempt, we carried out tubal insemination on oviduct-ligated rabbit models and later obtained cleaved eggs by laparotomizing the animals and irrigating their oviducts. The viability of the cleaved eggs was confirmed by an incubation test. In addition, we transferred the cleaved eggs thus collected from the oviduct-obstructed rabbits to their own uteri, and obtained implanted fetuses and then offspring. Our report is the first of this kind, and our results appear to strongly indicate the possibility of clinical application of tubal insemination to the treatment of sterility resulting from tubal obstruction in women and female domestic animals.

In tubal insemination, only a small number of sperms are requied because they are directly sent into the oviduct where fertilization takes place[3]. This fact has led us to conclude that tubal insemination can be used to treat sterility resulting from oligozoospermia, one of the causes of sterility in men and male domestic animals. We assumed, however, that this method, as well as GIFT, was unapplicable to females with tubal obstruction.

In our present study, we conducted tubal insemination on the rabbit models with their oviducts ligated at the utero-tubal junctions, and confirmed that the tubal fimbria can indeed take in the ovulated ova into the oviduct in spite of the tubal obstruction, leading to fertilization. Furthermore, we obtained cleaved eggs from the animals by irrigating the oviducts under laparotomy, transferred them immediately to the same animals' uteri, and let them grow into implanted fetuses and then into viable offspring. Thus, we showed that tubal insemination could be used to treat female sterility due to tubal obstruction, by surgically taking the cleaved eggs tentatively out of the oviduct and by transfering them to the uterus, bypassing the obstruction.

We have already reported that, in tubal insemination of the rabbit, the embryos are at the 4-cell to 8-cell stage 35-42 hours after the ovulation inducement with hCG[1]. When the same procedure is carried out with the oviduct ligated at the utero-tubal junction, the cleavage of the eggs was shown to progress smoothly with the lapse of time (Table 2).

That is, when 60 hours or more passed after the hCG administration, most of the embryos had developed into morula or blastocysts. It has been well estabished that in rabbits ovulation is induced some 10 hours after copulation[12,13] or hCG administration[10], and that subsequently the eggs descend in the female reproductive tract in a similar way whether the ovulation was induced by copulation or hCG administration[13]. As seen in Table 2, therefore, the embryos' development observed in the present experiment appears to be similar to that following normal copulation[14].

In our attempt to transfer embryos to the uteri of eight animals, bypassing the obstructed sites in the oviduct, one embryo was implanted in each of

three animals. This can not be called a high implantation rate. During the surgical irrigation of the oviduct, as seen on Fig. 3, the uterine horn is subjected to a substantial mechanical stimulus. If we were able to improve our technique by reducing the time for oviduct irrigation and embryo transfer and by minimizing the physical strain to the uterus, then the implantation rate would be substantially improved.

The occurrence of tubal pregnancy is a major concern in tubal insemination, but we have not experienced any up to the present. Though it was quite possible in our experiment that there were some embryos left in the oviduct after the irrigation, no tubal pregnancy was noted in the 16 oviducts of the eight rabbits.

We have thus demonstrated that tubal insemination can be very effective in treating human and animal sterility due to tubal obstruction, by surgically irrigating the oviduct following the tubal insemination and by providing a bypass for the embryo transfer.

References

1) Kanayama, K., Endo, T., Kobayashi, G. and Sakuma, Y.: Studies on artificial insemination into the oviduct through the tubal fimbria in rabbits, Jap. J. Fertil. Steril., 30: 65, 1985
2) Kanayama, K., Sankai, T., Endo, T. and Sakuma, Y.: Pregnancy in rabbits artificially inseminated into the oviduct, Jap. J. Fertil. Steril., 32: 157, 1987
3) Kanayama, K., Sankai, T., Endo, T. and Sakuma, Y.: A study on the number of spermatozoa required in artificial insemination into the oviduct in rabbits, Jap. J. Fertil. Steril., 32: 659, 1987
4) Asch, R. H., Ellsworth L. R., Balmaceda, J. P. and Wong, P. C.: Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer, Lancet, 2: 1034, 1984
5) Brackett, B. G. and Oliphant, G.: Capacitation of rabbit spermatozoa in vitro, Biol. Reprod., 12: 260, 1975
6) Adams, C. E.: The development of rabbit eggs in the ligated oviduct and their viability after re-transfer to recipient rabbits, J. Embryol. exp. Morph., 29: 133, 1973
7) Chang, M. C.: Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes, Nature, 168: 697, 1951
8) Chang, M. C.: Capacitation of rabbit spermatozoa in the uterus with special reference to the reproductive phases of the female, Endocrinology, 63: 619, 1958
9) Adams, C. E. and Chang, M. C.: Capacitation of rabbit spermatozoa in fallopian tube and in the uterus, J. Exp. Zool., 151: 159, 1962
10) Overstreet, J. W.: Sperm numbers and fertilization in the rabbit, J. Reprod. Fert., 21: 279, 1970
11) Adams, C. E.: Loss of eggs associated with tubal insemination in the rabbit, J. Reprod. Fert., 35: 405, 1973
12) Walton, A., Hammond, J.: Observation on ovulation in the rabbit, Brit. J. Exp. Biol., 6: 190, 1928
13) Greenwald, G. S.: A study of the transprot of ova through the rabbit oviduct, Fertil. Steril., 12: 80, 1961
14) Ishijima, Y., Ito, M., Hirabayashi, T. and Sakuma, Y.: Effect of the estrogen pretreatment on the induced superovulation by PMS in rabbits. II. Experiments on the speed of desceending the genital tract and cleavage-rate of ova, Jap. J. Animal Reprod., 13: 71, 1967

卵管内人工授精による卵管閉塞モデル家兎の妊娠と分娩

日本大学農獣医学部獣医生理学教室

金山喜一　遠藤　克　佐久間勇次

卵管内人工授精が卵管閉塞に由来する不妊症の妊娠手段として応用できるかどうか，その可能性について家兎を用いて検討した．卵管・子宮接合部を実験の1ヶ月以上前に結紮または切断した家兎の卵管采から卵管内に100倍に希釈した精液，0.05 mlを注入した．注入した生存精子数は2.96×10^5～1.82×10^6の範囲であった．精液注入の1時間後に排卵誘起のためhCGを静脈内に投与した．hCG投与後37～81時間目に全身麻酔下で卵管を結紮部位から卵管采に向かって灌流して受精卵子を回収した．これらの卵子のうちで桑実期胚または胚盤胞を直ちに同一供試家兎の子宮内へ移植した．なお一部の回収卵子は培養に供して *in vitro* での発育について観察を行った．

供試20頭のうち，12頭から受精卵子を回収した．培養に供した卵子は，その全部が胚盤胞に発育した．回収した胚を子宮に移植した8頭のうち3頭にそれぞれ1頭ずつの着床胎児を認め，自然分娩あるいは帝王切開により，このうち2頭から産子を得た．

本研究は，手術下で卵管を灌流することによって，卵管の一部にバイパスを形成したものである．このように卵管における閉塞部位を迂回して胚を子宮内へ移植すれば，卵管内人工授精が卵管閉塞に起因するヒト・家畜の雌性不妊症における妊娠手段として応用できる可能性を強く示唆した．

（受付：1990年3月7日）

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

IN VITRO FERTILIZATION OF RABBIT EGGS, USING SPERMATOZOA RECOVERED FROM THE PERIVITELLINE SPACE OF FERTILIZED EGGS

Kahei SATO and Tutomu GOTO

Depertment of Cell Biology, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Fujisawa 252, Japan

Abstract: We have examined the behavior of perivitelline spermatozoa of the rabbit towards the rabbit zona pellucida and their fetilizability. Experiments were designated to determine whether spermatozoa collected from the perivitelline space of fertilized rabbit eggs could attach to the zona. When perivitelline spermatozoa (acrosome-reacted spermatozoa) from 1-cell embryos were mixed with ovulated cumulus-intact or -free eggs, the spermatozoa rapidly and firmly attached to the zona. On the other hand, Freshly ejaculated spermatozoa are acrosome intact (uncapacitated) could not attach to the zona. The fertilizing ability of perivitelline spermatozoa was evaluated by in vitro fertilization. Fourty-three (86.0) of 65 eggs were fertilized. Of these, 10 (28.6%) developed to 2-cell or more embryonic stages.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 207—210, 1991)

Introduction

Mammalian spermatozoa must undergo the acrosome reaction beforo they fertilize eggs, particularly, in order to fuse with vitelline membrane and initiate the events of fertilization[1,2]. The specific site of the acrosome reaction and particularly where in relation to sperm penetration of the eggs's investiments is an area of some disagreement. It is reported evidence that acrosome-intact spermatozoa can bind to the zona pellucida in mice[3], in hamster[4].

By contrast, only acrosome-reacted spermatozoa can bind and then penetrate the zona in guinea pigs[5]. While, the status of hamster spermatozoa at the time of binding to the zona pellucida is both acrosome-intact and reacted[1].

Recently, it has been reported that rabbit spermatozoa recovered from the perivitelline space can fertilize fresh intact eggs[6] and further, rabbit eggs fertilized by the supplementary spermatozoa recovered can develop to normal offspring after the transfer[7]. The rabbit has been known to be an excellent model for the study of the ability of acrosome-reacted spermatozoa to bind and penetrate the zona pellucida, because a number of supplementary spermatozoa penetrate the zona pellucida, but do not fuse with the vitelline membrane[8]. These spermatozoa are acrosome-reacted[9,10] and highly matile[11], thus providing a pure population of motile, acrosome-reacted spermatozoa. The present study was carried out to examine the behavior of supplementary perivitelline rabbit spermatozoa to the zona pellucide under in vitro conditions.

Materials and Methods

Female Zealand White rabbits (5-6 months of age) were used. They were superovulated with pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG, Teikoku Zoki Co.) and human chorionic gonadotropin (hCG, Teikoku Zoki Co.). Does were given intravenously with 80 IU PMSG followed by an intravenous injection of70 IU hCG 72 hr later. At the same time of hCG injection females were mated with adult fertile males. At 15.5 hr after hCG and mated oviducts were removed to collect fertilzed eggs. Unfertilized normal eggs were collected from oviducts 13.5 hr after hCG injection. Collected eggs, unfertilized and fertilized eggs, were placed in droplets of the medium coverd with mineral oil under 5% CO_2 in air at 37℃ and were supplied for experiments.

One-cell embryos were denuded from the corona cells with hyaluronidase and mechanica manipulation and observed at a maginification of 200 x to chect motile spermatozoa in the perivitelline space. For each experiment, 10 to 20 1-cell embryos were used as perivitelline sperm donors. Eggs were treated with 0.01% trypsin (Sigma Chemical Co.) for 2 min, washed 3 times with the fresh medium, and transferred to droplets of the medium under mineral oil. The trypsin treatment is necessary to remove spermatozoa on the surface of the zona pellucida and to prevent perivitelline spermatozoa from rebinding to the external surface of the zona after rupturing the zona. To collect perivitelline spermatozoa, the zonae pellucidae were ruptured with fine needles and one-cell embryos (the viteli) were broken by this process. Ovulated cumulu-intact or -free eggs were added to the sperm suspensions, in as small a volume as possible, and incubated sperm suspensions, in as small a volume as possible, and incubated at 37℃ under 5% CO_2 in air. At varions intervals after insemination, eggs were examined using the phase-contrast microscope. When two pronuclei were seen in the vitellus with two polar bodies in the perivitelline space, we detected, as "fertilized".

Results

Perivitelline spermatozoa were released into the medium after rupturing the zona pellucida. Some of the spermatozoa released from the perivitelline space rebund the surface of the external surface of the zona. At the time of the release of spermatozoa from the perivitelline space, all spermatozoa showed motile activitiy, and they attached rapidly and firmly to the zona pellucida of cumulus-free eggs. While, in cumulus-intact eggs perivitelline spermatozoa attached rapidly to the cumulus cells and penetrated into the cumuluc layers. Within 15-20 min after insemination in most of cumulus-citact eggs the spermatozoa contacted and adhered to the zona using the tipis of their heads. Further, Following this sperm sttachment to the zona, sbsequently, spermatozoa were lie flat on the zona surface. At 5 to 6 hr of exposure to perivitelline spermatozoa (10^2-10^3/ml), there was no significant alteration in the appearence or extent of the cumulus investment. On the other hand, fresh ejaculated spermatozoa (acrosome-intact spermatozoa) could not firmly attached, at least, persistently to the zona.

At the time of egg collection, spermatozoa in the perivitelline space displayed movement. The spermatozoa maintained their motility by 2 hr. Initially all of them displayed relative active motile, but rapidly declined thereafter.

Fertilization results are summarized in Table 1 and 2. Perivitelline spermatozoa fertilized both cumulus-intact and -free eggs under in vitro conditions used. We also observed that a considerable percentage of fertilized eggs developed to 2-cell or more embryonic stages and during 48-hr incubation period no embryos fertilizde in vitro fragmented or degenerated.

Discussion

In the present study, we confirmed results reported previously[6,7]. Also, from our observations it is demonstrated that the rabbit is a species in which the plasma membrane over the acrosomal region is not required for sperm biding to the zona pellucida. This observation is in agreement with studies of Bedford[9,10] on rabbit eggs fertilized in

vivo, and with observations such as the guinea pig[5,12] and hamster[1], but by contrast to sperm-zona interactions of the mouse[3]. Haung et al[5] have observed evidence that in guinea pig spermatozoa, acrosome-reacted spermatozoa can attach to and penetrate the zonae. In the present study, at least, acrosome-reacted rabbit spermatozoa can clearly attach (bind) to and penetrate the zonae of rabbit eggs. According to Yanagimachi[1], when cumulus-free hamster eggs are inseminated in vitro with both acrosomeintact and -reacted hamster spermatozoa, there two types of spermatozoa equally bind to the zona. However, some investigators remain that fertilizing spe matozoa must undergo their acrosome reaction on the surface of the zona pellucida immediately before penetrating it[3,4,13]. Thus, at the present time, two type situations for sperm-egg interaction have been reported. Further studies are required as requirment for successful zona bind ng in other species, so that the appropriate model systems can be utilized in the study of mechanisms of fertilization in vivo and in vitro.

We also observed successful fertilization in vitro at low concentration of spermatozoa (10^2 to 10^3/ml. Similar results have been reported by two studies[6,7]. This result have demonstrated that supplementary rabbit spermatozoa recovered from the perivitelline space have normal fertilizing ability.

In fertilization of cumulus-intact eggs, the failure of perivitelline spermatozoa to alter or disperse the cumulus layer suggests that hyaluronidase and other acrosome enzymes are absenct or precent in very lower concentrations. Perhaps, it is possible to think that acrosome enzymes which may facilitate cumulus and zona penetration can remain associated with the inner acrosome membrane or within the equatorial segment and exert only a very local effect at the leading edge of the penetrating spermatozoon, although that fertilization still occurred raised question as to the necessity of these acrosomal enzymes in the fertilization process remains.

References

1) Yanagimachi, R.: Mechanisms of fertilization in mammals. In: Fertilization and Embryonic Development In Vitro (Eds. Mastoroianni, L. and Biggets, J. D.), 81, Plenum Press, 1981
2) Yanagimachi, R.: Mammalian Fertilization. In: The physiology of Reproduction, (Eds. Knobil, E. and Neill, J. et al.), 135, Raven Press, 1981

Table 1. Fertilizing Ability of Perivitelline Spermatozoa Exposed to Ovulated Eggs (Cumulus-Intact Eggs)

Experimantal No.	No. of eggs inseminated	No. of eggs fertilized (%)	No. of eggs cleaved (%) at 48 hours
1	18	11 (61. 1)	8 (72. 7)
2	22	16 (72. 7)	8 (50. 0)
3	13	9 (69. 2)	5 (55. 6)
4	12	7 (58. 3)	5 (71. 4)
Total	65	43 (86. 0)	26 (60. 5)
Unfertilized eggs (Control)	20	–	2 (10)

Table 2. In Vitro Fertilization of Cumulus-Free Rabbit Eggs by Perivitelline Spermatozoa

Experimetal No.	No. of eggs inseminated	No. of eggs fertilized (%)	No. of eggs cleaved (%) at 48 hours
1	25	18 (72. 0)	11 (61. 1)
2	30	28 (93. 3)	20 (71. 4)
3	28	23 (82. 1)	17 (73. 9)
Total	83	69 (83. 1)	48 (62. 3)
Unfertilized eggs (Control)	20	–	1 (5)

3) Saling, P. M., Sowinski, J. and Storey, B. T.: An ultrastructural study of epididymal mouse spermatozoa binding to the zona pellucida in vitro: Sbsequential relationship to the acrosome reaction, J. Exp. Zool., 209: 229, 1979
4) Gwatkin, R. B. L., Carter, H. W. and Patterson, H.: Association of mammalian sperm with the cumulus cells and the zona pellucida studied by scanning electron microscopy. In Scanning electron microscopy, Johari, H. and Becker, R. P. eds, ITT res. Inst., 2, 379, 1976
5) Haung, T. T. F., Fleming, A. T. and Yanagimachi, R.: Only acrosome reacted spermatozoa can bind to and penetrate zona pellucida: A study using the guinea pig, J. Exp. Zool., 217: 287, 1981
6) Kuzan, F. B., Fleming, A. D. and Seidel, G. E.: Successful fertilization in vitro of fresh intact oocytes by perivitelline (acrosome-reacted) spermatozoa of rabbit, Fertil. Steril., 41: 766, 1984
7) Shirai, K., Yoshida, T., Yoshida, T., Takagi, S., Goto, T., Shiota, K. and Sato, K.: Successul fertilization in vitro of rabbit ova by spermatozoa recovered from the perivitelline space of fertilized ova, J. Fertil. Implant., 6: 27, 1989
8) Pincus, G. and Enzmann, E. V.: fertilization in the rabbit, J. Exp. Zool., 9: 403, 1932
9) Bedford, J. M.: Ultrastructual changes in the sperm head during fertilization in the rabbit, Am. J. Anat., 123: 329, 1968
10) Bedford, J. M.: An electron microscopis study of sperm penetration into the rabbit egg after natural mating, Am. J. Anat., 133: 213, 1972
11) Brackett, B. G.: In vitro fertilization of rabbit ova: time sequence of events, Fertil. Steril., 21: 169, 1970
12) Fleming, A. D. and Yanagimachi, R.: Fertile life of acrosome-reacted guinea pig spermatozoa, J. Exp. Zool., 220: 109, 1982
13) Florman, H. M. and Storey, B. T.: Mouse gamete interactions: the zona pellicida is the site of acrosome reaction leading to fertilization in vitro, Dev. Biol., 209: 121, 1982

ウサギ受精卵子の囲卵腔より回収した精子による体外受精について

日本大学農獣医学部動物細胞学教室

佐藤嘉兵　後藤　勤

成熟雌ウサギの卵管から回収した1細胞期の受精卵子の透明帯をヒアルロニダーゼに感作させた後，細針で透明帯を破り囲卵腔内の精子を培養液中に放出させた．この囲卵腔から回収した精子を含む培養液中にcumulus-intactあるいはcumulus-freeの未受精卵子を加えて体外受精を行った．精子は卵子透明(cumulus-free)あるいは卵丘細胞層(cumulus-intact)と直ちに接近してcumulus-freeの卵子においては速やかに透明帯に接着を開始した．また，cumulus-intactの卵子においては卵丘細胞層に進入を示した．一方，射精後洗浄したのみの精子では透明帯への接着あるいは卵丘細胞層への進入はできなかった．囲卵腔精子はcumulus-freeおよびcumulus-intact卵子ともに高率に受精させることが明らかになった．尚，受精卵子は両群とも正常に発生を示した．

(受付：1990年2月7日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

抗プロゲステロン製剤（RU486）による家兎の妊娠阻止とその後の妊孕性について

Interruption of Pregnancy by Antiprogesterone Compoud RU486 and Subsequent Fertility in Rabbits

日本大学農獣医学部獣医生理学教室
東北大学農学部家畜繁殖学教室*

山海 直[1)] 遠藤 克 金山喜一
Tadashi SANKAI Tuyoshi ENDO Kiichi KANAYAMA
佐久間勇次 梅津元昭* 正木淳二*
Yuzi SAKUMA Motoaki UMEZU Junji MASAKI

Department of Veterinary Physiology,
College of Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University, Kanagawa 252, Japan
Laboratory of Aminal Reproduction, Faculty of Agriculture,
Tohoku University, Miyagi 980, Japan

抗プロゲステロン製剤，RU486の妊娠阻止作用および妊娠阻止後の妊孕性について，家兎を用いて検討した．実験は，交配後11日目に妊娠を確認した家兎11例にRU486を10～180 mg/rabbit皮下投与した．さらに，妊娠阻止を確認した5例において再び交配して，正常な妊娠・分娩が可能であるか否かについて検討した．

その結果，供試家兎の全例に完全な妊娠阻止が認められ，さらに，分娩予定日を経過した交配後35日目の検索では，黄体の退行と多数の卵胞の発育が認められた．また，妊娠阻止後の妊孕性について検討した結果，全例に正常な妊娠および分娩を認めた．なお，実験をとおして副作用は認められなかった．

以上のように，RU486は確実に家兎の妊娠阻止を誘起できる合成ステロイドであり，かつ，妊娠阻止後の母体の妊孕性に影響を及ぼさないことが明らかとなった．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 211—215, 1991)

諸　論

近年，プロゲステロンに対して競合的に拮抗してプロゲステロン作用を抑制する製剤，RU486が開発され世界的に注目されている．プロゲステロンの拮抗ステロイドの開発は，雌の複雑な生殖現象を人為的にコントロールできる可能性を示唆するものであり，産科婦人科領域および獣医畜産領域においてその応用が期待されている．

RU486は，プロゲステロンのレセプターに対してプロゲステロンの約5倍の親和性を有しており，その作用に対する基礎的研究がアカゲザル[1~4]，カニクイザル[5~7]，ラット[8~10]およびヒト[2,11~15]などで試みられている．また，RU486は，糖質コルチコイドのレ

セプターに対してデキサメサゾンの約3倍の親和性があり，抗糖質コルチコイド作用があることが知られている[16~18]．このことは，RU486の抗プロゲステロン作用を期待するとき，その副作用についても十分考慮する必要があることを示唆するものである，さらに，RU486の臨床への応用を考慮した時，抗プロゲステロン作用の発現後における妊孕性について十分検討されなければならない．Umezuら[8]は，ラットを用いてRU486による妊娠阻止後の性周期の回帰について詳細な検討を報告している．

本研究では，供試動物に家兎を用いてRU486の妊娠阻止作用および妊娠阻止後における妊孕性について検討を試み，さらに，RU486の副作用の有無について検討を加えた．

材料および方法

供試家兎は，日本白色種11例で，いずれも正常な妊孕性があることを確認した2.8~3.2 kgの成熟経産雌を用いた．

供試家兎を交配し，その直後にhCG（ゴナトロピン）75 iuを耳静脈より投与して妊娠を誘起した．これらの家兎は，交配後11日目にペントバルビタール酸誘導体で全身麻酔を施し，正中線切開で開腹して着床胎児および機能黄体により妊娠を確認したのち(Fig. 1)，抗プロゲステロン製剤，RU486を頚部皮下に投与した．RU486は，20 mg/mlの濃度になるようにゴマ油に溶解して，3例に10 mg/rabbit，2例に15 mg/rabbit，2例に30 mg/rabbit，3例に60 mg/rabbitを1回投与した．また，1例は60 mg/rabbitを交配後11日目から3日間連続して投与した．RU486投与後，膣からの出血，流産，早産などについて観察を続けたのち，すべての家兎において分娩予定日を経過した交配後35日目に開腹して，卵巣所見および子宮の残存胎児などについて検索した．

上記の実験において妊娠阻止を認めたもののうち5例を用いて，RU486による妊娠阻止後の妊孕性について検討した．これらの家兎は，RU486による人工流産の誘発試験の検索から約1ケ月経過したのちに供試した．供試家兎は，雄と交配し，その直後にhCG75iuを静脈内投与した．その後観察を続け妊娠および分娩の有無，妊娠期間，産子数などについて検索した．

実験成績

妊娠家兎にRU486を10~180 mg/rabbit皮下投与したときの妊娠阻止成績は，Table 1に示すとおりである．

交配後11日目，すなわちRU486投与時の着床胎児数は4~11胎であり，妊娠黄体数は8~14個であった．これらの家兎にRU486を投与したところ，全例に分娩が認められず，完全な妊娠阻止が確認された．分娩予定日を経過した35日目の検索では，RU486を15 mg投与した2例と30 mg投与した1例において黄体が認められた．しかし，これらの黄体は，RU486投与時に認めた黄体より明らかに小さく退行黄体であった．また，その際全例に多数の卵胞の存在が確認された．

これらの家兎は，実験期間をとおして観察を行ったが，外観上とくに副作用は認められなかった．

以上のように，全例にRU486による妊娠阻止が認

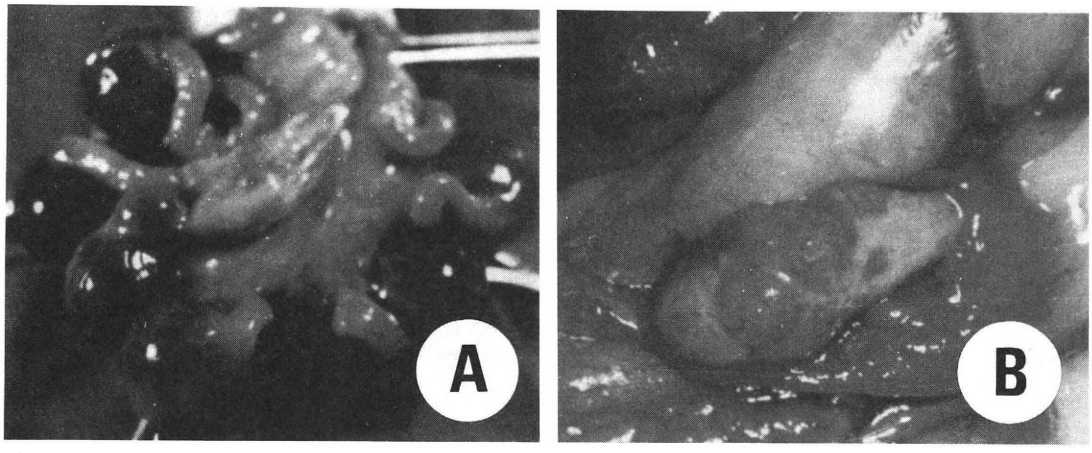


Fig. 1 Implanted fetus (A) and functional CL (B) were confirmed under laparotomy on 11 days after mating. And then the subjects were received single injection of RU486 subcutaneously.

められた．また，RU486投与後の妊孕性について検討した結果は，Table 2に示すとおりである．供試した5例全例に妊娠・分娩が認められた．そのうち4例においては，1回目の交配で妊娠を認めることができたが，残りの1例は，1回目の交配では妊娠は認められず，2回目の交配で妊娠した．産子数は，供試4例で7～10匹であったが，RU486の投与量が最も多かった60 mg×3日投与の個体においては，産子数が1匹と少なかった．また，妊娠期間は，30日が1例，31日が3例であり，60 mgを3日間連続して投与した個体は34日であった．なお，得られた産子はすべて正常に発育した．

考　察

本研究において，RU486を皮下投与した妊娠家兎の全例に完全な妊娠阻止が認められ，これらの家兎は，その後も正常な妊孕性を持っていることが確認された．著者らは，これまでに家兎の妊娠阻止を目的としたRU486の皮下投与において，投与量2.5 mg/rabbitの投与で供試家兎の全例に妊娠阻止を認めており[19]，本研究での投与量10～180 mg/rabbitはその4～72倍の投与量であり，供試全例に妊娠阻止が認められた．これらの結果をアカゲザル[1~3]，カニクイザル[5,6]，ラット[8]，ヒト[2,11~13]の報告と比較すると，研究者によって目的，投与方法が幾分異なるが，家兎はRU486に対する感受性が極めて高い動物と考えられる．

本研究における投与量は，妊娠阻止を目的とした最小有効投与量より極めて多量であることから，その副作用について検討するには十分な投与量と考えられる．本研究においてRU486投与後，膣からの出血，胎盤および胎児の娩出などの妊娠阻止にかかわる諸現象を認めたが，肉眼的観察においては特記すべき副作用は認められなかった．これまで，RU486

Table 1. Pregnancy interruption induced by subcutaneous injection of RU486 after 11 days of mating

Anim. No.	Dose of RU486 (mg/rabbit)	No. of implanted fetuses	No. of corpus luteum	Interruption of pregancy	No. of corpus luteum (35 days after mating)	No. of follicles (35 days after mating) (over 1mm ϕ)
7	10	10	13	(+)	0	57
12	10	9	9	(+)	0	9
15	10	9	13	(+)	0	26
6	15	10	10	(+)	3 *	12
8	15	6	9	(+)	2 *	11
5	30	4	10	(+)	3 *	13
11	30	5	8	(+)	0	18
1	60	10	14	(+)	0	9
2	60	6	8	(+)	0	21
3	60	11	11	(+)	0	18
4	180(60×3)	8	8	(+)	0	24

*：All of them were regressive stage of corpus luteum

Table 2. Fertility after pregnancy interruption induced by subcutaneous injection of RU486

Anim. No.	Dose of RU486 (mg/rabbit)	Interruption of pregnancy	Fertility after interruption of pregnancy*	Litter size	Gestation period (days)
6	15	(+)	(+)	10	30
5	30	(+)	(+)	8	31
2	60	(+)	(+)	9	31
3	60	(+)	(+)	7	31
4	180(60×3)	(+)	(+)	1	34

*：mated about one month after confirmation of interrupting pregnancy

の副作用に関して大きな問題を提起した報告はないが，RU486には抗糖質コルチコイド作用があり，Bertagnaら[17]，Healyらは[16]血中コルチゾンがフィードバック作用によって上昇することを報告しており，Niemanら[18]はクッシング症候群の治療にRU486が十分応用できることを示唆している．このような抗糖質コルチコイド作用による副作用が懸念されるが，Vervestら[11]を初めとする多くの研究者は，RU486による顕著な副作用は認められないと報告している．また，RU486はプロゲステロンおよびデキサメサゾンに対してレセプターレベルで拮抗する製剤であるため，RU486を投与する際のレセプターの分布量が抗プロゲステロン作用と抗糖質コルチコイド作用の発現に大きく関与しているものと考えられる．すなわち，抗プロゲステロン作用を期待してRU486を使用する場合には，プロゲステロンのレセプターが多く分布している時であり，抗糖質コルチコイド作用が発現しない投与量で抗プロゲステロン作用が期待できるものと考えられる．よって著者らは，RU486の副作用よりもむしろプロスタグランジン，オキシトシンなどを併用したときの副作用を考慮する必要があるものと考えている．RU486と他の製剤の併用については，Xiruiら[13]がRU486とPGの併用により単独投与より良好な成績を得ており，Juanら[9]はanordrinを併用することで，それぞれの単独投与よりもRU486およびanordrinが少量ですむことを報告しているが，いずれも現段階では副作用は報告されていない．

RU486による妊娠阻止後の妊孕性についてはUmezuら[8]がラットで検討しており，性周期の回帰は10日以降で認められ，回帰後，多くのラットが最初の交尾で妊娠し，RU486による妊娠阻止後の繁殖機能の回帰に副作用は認められなかったと報告している．本研究においても供試家兎の全例に妊娠，分娩が認められた．なお，RU486の投与量が最も多い個体で産子数が1匹と少なく，妊娠期間が34日と長かった．しかし，この個体の妊娠阻止試験における交配後35日目の検索では完全な黄体の退行と多数の卵胞の発育が認められており，産子数とRU486との間には関係はないものと考えている．また，産子数が少ない個体ほど妊娠期間が延長することが知られており，この個体においても同様のことが考えられる．このように，家兎においてもラットと同様に妊娠阻止後に正常な妊孕性を持っていることが明らかになった．従って，RU486による妊娠阻止作用は一過性のものであり，永久的な避妊効果は期待できない．

以上のように，RU486はプロゲステロンに対して確実に拮抗する作用を示す合成ステロイドであり，その副作用，特に妊娠阻止後の妊孕性に対して影響を及ぼさないことが明らかとなった．よって，RU486は獣医畜産および産科婦人科領域において広く応用できる可能性が示唆された．

稿を終わるに臨み，RU486を御提供頂いたRoussel-UCLAF社およびhCG製剤を御提供頂いた帝国臓器K.K.に感謝致します．

文　献

1) Shortle, B., Dyrenfurth, I. and Ferin, M.: Effects of an antiprogesterone agent, RU-486, on the menstrual cycle of the rhesus monkey, J. Clin. Endocrinol. Metab., 60: 731, 1985
2) Nieman, L. K., Choate, T. M., Chrousos, G. P., Healy, D. L., Morin, M., Renquist, D., Merriam, G. R., Spitz, I. M., Bardin, C. W., Baulieu, E. E. and Loriaux, D. L.: The progesterone antagonist RU486 a potential new contraceptive agent, N. Engl. J. Med., 316: 187, 1987
3) Asch, R. H. and Rojas, F. J.: The effect of RU486 on the luteal phase of the rhesus monkey, J. Steroid Biochem., 22: 227, 1985
4) Hodgen, G. D.: Pregnancy prevention by intravaginal delivery of a progesterone antagonist: RU486 tampon for menstrual induction and absorption, Fertil. Steril., 44: 263, 1985
5) Healy, G. D., Baulieu, E. E. and Hodgen, G. D.: Induction of menstruation by an antiprogesterone steroid (RU486)in primates: site of action, dose-responce relationship, and hormonal effects, Fertil. Steril., 40: 253, 1983
6) Collins, R. L. and Hodgen: Blockade of the spontaneous midcycle gonadtrophin surge in monkeys by RU-486: a progesterone antagonist or agonist?, J. Clin. Endocrinol. Metab., 63: 1270, 1986
7) Chillik, C. F., Hsiu, J. G., Acosta, A. A., Uem, F. H. M. and Hodgen, G. D.: RU486-induced menses in cynomolgus monkeys: uniformity of edometrial sloughing, Fertil. Steril., 45: 798, 1986
8) Umezu, M., Tadano, M., Furusawa, T., Ishii, S., Masaki, J., Sankai, T., Endo, T. and Sakuma, Y.: Interruption of pregnancy by RU486, an antiprogesterone compound and subsequent reproductivity in rats, Jpn. J. Fertil. Steril., 33: 431, 1988
9) Juan, S. P., Xian, Q. Y., Ying, X. R. and Ming, L. G.: Antifertility effects of RU486 in combination with anordrin in sprague-dawley rats,

Advances in Contraception, 4: 23, 1988
10) Singh, G., Singh, M. M., Maitra, S. N., Elger, W., Kalra, V., Upadhyay, S. N., Chowdhury, S. R. and Kamboj, V. P.: Luteolytic action of two antiprogestational agents (RU38486 and ZX-98734)in the rat, J. Reprod. Fert., 83: 73, 1988
11) Vervest, H. A. M. and Haspels, A. A.: Preliminary results with the antiprogestational compound RU486 (mifepristone)for interruption of early pregnancy, Fertil. Steril., 44: 627, 1985
12) Schaison, G., George, M., Lestrat, N., Reinberg, A. and Baulieu, E. E.: Effects of the antiprogesterone steroid RU486 during midluteal phase in normal women, J. Clin. Endocrinol. Metab., 61: 484, 1985
13) Xirui, W., Ning, X. and Xinli, Y.: Clinical pharma cokinetics and phamacodynamics studies on RU486 for termination with PG-05, Advances in Contraception, 4: 26, 1988
14) Couzinet, B., Strat, N. L., Ulmann, A., Baulieu, E. E. and Schaison, G.: Termination of early pregnancy by the progesterone antagonist RU486, N. Engl. J. Med., 315: 1565, 1986
15) Grimes, D. A., Mishell, D. R. Jr., Shoupe, D. and Lacarra, M.: Early abortion with a single dose of the antiprogestin RU486, Am. J. Obstet. Gynecol., 158: 1307, 1988
16) Hearly, D. L., Chrousos, G. P., Schulte, H. M., Gold, P. W. and Hodgen, G. D.: Increased adrenocorticotropin, cortisol, in primates after the antiglucocorticoid steroid RU486: dose response relationships, J. Clin. Endocrinol. Metab., 60: 1, 1985
17) Bertagna, X., Bertagna, C., Luton, J. P., Husson, J. M. and Girard, F.: The new steroid analog RU486 inhibits glucocorticoid action in man, J. Clin. Endocrinol. Metab., 59: 25, 1984
18) Nieman, L. K., Chrousos, G. P., Kellner, C., Spitz, I. M., Nisula, B. C., Cutler, G. B., Merriam, D. R., Bardin, C. W. and Loriaux, D. L.: Successful treatment of cushing's syndrome with the glucocorticoid antagonist RU486, J. Clin. Endocrinol. Metab., 61: 536, 1985
19) Sankai, T., Kanayama, K., Endo, T. and Sakuma, Y.: Effective dose, time and route of RU486 administration to prevent gestation in the rabbit, Advances in Contraception, 4: 25, 1988

Interruption of pregnancy by antiprogesterone compound RU486 and subsequent fertility in rabbits

Tadashi Sankai, Tsuyoshi Endo, Kiichi Kanayama and Yuzi Sakuma

Department of Veterinary Physiology, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University Kanagawa 252, Japan

Motoaki Umezu and Junji Masaki

Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Miyagi 980, Japan

RU486 was administered to eleven pregnant rabbits in order to trace the interruption of pregnancy and subsequent fertility. It was administered subcutaneously with 10～180mg/rabbit after confirmation of functional corpus luteum and implanted fetuses at the 11th day of pregnancy. Five rabbits indicating interrupted pregnancy were mated in order to confirm fertility after the interruption of pregnancy. All of the rabbits showed indicating interrupted pregnancy. Regressive stage of corpus luteum and a lot of follicles were confirmed in the ovary at 35 days after mating. Normal pregnancy and delivery occured in all of five rabbits examined fertility after interruption of pregnancy, and no serious side effects were seen in this study. It was concluded the RU486 exerts a remarkable action in the interruption of pregnancy in rabbits and shows no side effects in the recurrence of fertility after the interruption of pregnancy.

(受付：1990年3月7日)

日本不妊学会雑誌
第36巻 第1号 1991

ホルスタイン搾乳牛の嚢胞性卵巣に関する母系遺伝について

Genetic Factor of Dams Incident of Cystic Ovaries in HOLSTEIN Milking Cows

山口大学農学部家畜臨床繁殖学教室
菅　徹行　中川　明　吉村博文
Tetsuyuki SUGA　Akira NAKAGAWA　Hirofumi YOSHIMURA
植田　等
Hitoshi UETA

Laboratory of Veterinary Reproduction,
Faculty of Agriculture, Yamaguchi University,
Yamaguchi 753, Japan

抄　録

ホルスタイン搾乳牛で，母－娘における卵巣機能および繁殖成績が共に明らかな130組を供試して，嚢胞性卵巣に関する母系遺伝の可能性を検討した．

嚢胞性卵巣の経歴を持たなかった母牛45頭の娘牛51頭は15頭（29.4％）が嚢胞性卵巣を示し，延分娩回数139回中23回（16.6％）が，分娩から受胎するまでの期間中に発症した．一方，嚢胞性卵巣の経歴を持った母牛73頭の娘牛79頭は49頭（62.0％）が発症し，前者よりも有意に高かった（$p<0.001$）．また，延分娩回数227回中81回（35.7％）発症して，前娘牛群のそれよりも有意に高かった（$p<0.001$）．

本牛群の嚢胞性卵巣発症率に関する母系遺伝力[4]の推定値は0.484であった．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (1), 216—221, 1991)

緒　言

牛は分娩後に嚢胞性卵巣を示すものが比較的多く，牛における不妊症の主因であり，肉用牛よりも乳用牛に多発する傾向がある[1]．Kesler ら (1982) [1]は牛の嚢胞性卵巣について総説し，その発病率は5.6～26.8％であり，治療によってあるいは自然に回復して受胎することもあるが不受胎のまま淘汰されるものも少なく，回復したとしても分娩間隔が延長し，産乳量が低下して経済的損耗率が高くなると述べている．

牛の嚢胞性卵巣に関する病因を分析して，Roberts (1955) [2]は牛舎内で飼養されていた冬期に多発したといい，Marrion ら (1968) [3]は高泌乳牛に，Casida ら (1951) [4]は母牛系統により，Wiltbank ら (1953) [5]は主として父牛の系統によって支配されたと報告している．けれども後者の遺伝説には異論があり，他の要因として高蛋白飼料，栄養不足によること等が考えられているが，嚢胞性卵巣の原因とその発生機序についてはまだ不明な点が多い[1]．

また発病に関する検査期間が分娩後60日間の短期に限定したもの[6]あるいは調査対象が行動や性周期に異常を伴うもの[4]，応診の依頼があったもの[2]など，調査方法についても研究者の間で相違しており，そ

の発病率は十分明らかでないように思われる.

著者ら[7]はホルスタイン種の搾乳牛を,分娩後から受胎までの期間に亘って調査して,その発病率は21～42％で,冬季分娩したものに有意に高かった.また,発病期間は分娩後40～70日間に多発したが,その後300日間にも亘って分散していたので,今回は同様に検査して,牛の嚢胞性卵巣の発生が母系遺伝に原因する可能性があるか検討したので報告する.

実験材料および方法

1．実験牛

本実験に供した牛群はいずれもホルスタイン種の搾乳中の雌牛で,山口市近郊のN地区における7戸の酪農家で各10～25頭,合計常時約100頭飼養されていた牛群のうち,1980年1月から1989年12月末までの10年間に飼養されていた,母と娘牛の卵巣機能と繁殖成績がともに明らかな130組のものである.家畜改良事業団の牛群改良事業に参加して,生涯乳量検定を受けていた娘牛125頭の305日,成牛補正,4％FCM乳量の平均は7,228 kg (SD 823 kg) であり,いずれも山口県酪連指導所の指示により,ほぼ一様に飼養管理されているもので,栄養状況は優良と判断でき,卵巣機能に異常を示すものが含まれていた他には,健康状態その他に異常を認めなかったものである.実験期間中に淘汰された個体については,胃腸障害あるいは蹄病などの疾病に原因したものがあったため,最終産次の資料は実験材料から除外した.

2．方法

1）資料の採取

卵胞の直径を,直腸検査法によって指巾と比較して推測した値と超音波診断装置を用いて測定した結果と比較して,約10％の誤差の範囲内で一致していたので以下の調査を行った.

2週間間隔に農家を回診して,牛群全頭数について,直腸検査を分娩直後から胎膜を触診して妊娠を確認するまで継続して実施し,卵巣および子宮を触診してその形状を図示して,その他に発情徴候,授精状況および健康状態を聞き取り調査して記録して分析資料を採取した.なお,本報で嚢胞性卵巣とは直径25 mm以上の卵胞が片側あるいは両側卵巣に1～数個存在し,10日間以上排卵がなく,黄体を触診しなかったものである.また15 mm以上の卵胞が3個以上存在し,10日間以上排卵がなく,黄体も認めなかったものは小型多嚢胞性卵巣として前者と区別して資料を採取した.

触診によって卵胞と黄体との区別が困難な場合には,18 G注射針を用いて膣壁を介して穿刺することによって両者を区別した.

2）統計処理

(1)母牛に嚢胞性卵巣の経歴があったか否かによって区分した,各娘牛群の産次に伴う分散は,同数のn個を持つ,対応の無い場合の分析法によってF検討を行った.

(2)娘牛群の産次の変動に伴う嚢胞性卵巣発症率の相関は,積率相関係数を求めて評価した.

(3)各産次間における初回発病率の差に関する異質成分の検定は,異質性のためのX^2検定法：$X^2=(\Sigma ai\ pi-A\bar{p})/\bar{p}\ \bar{q}$,ただし,Aは発病総頭数,aiは各産次の発病頭数,piは各産次の発病頭数比,$\bar{p}$は発病頭数比の加重平均；によって行った.

(4)遺伝力に関する分析は,Casidaら(1951)[4]が,Lush (1950)の乳房炎に関する遺伝的素因分析法を応用して,嚢胞性卵巣に関する分析を行ったので,その適応性を検討して実施した.

実験結果

1．娘牛の産次別頭数の分散と嚢胞性卵巣発病率の変動

母－娘牛130組のうち,姉妹あるいは3姉妹が含まれていたため,その内訳は,母牛がしばしば嚢胞性卵巣を示したもの73頭に関するその娘牛は79頭で,実験期間中に延227回分娩した.一方,嚢胞性卵巣の経歴が無かった45頭の娘牛51頭は延139回分娩した.

しかし10年間の実験期間中に1産不妊,2産不妊のために淘汰されたものがあり,実験開始時にすでに経産であったものあるいは妊娠中に実験期間が終了したものがあり,実験期間中における各個体の分娩回数は同一ではなかった.したがって,母牛の嚢胞性卵巣経歴の有無によって2群に区分し,両群の娘牛に関する産次別延分娩回数の分散を分析した結果は表－1に示したとおり,嚢胞群（B）は初産60例～8産次は3例,非嚢胞群(C)は初産次34例～8産は1例まで相違していた.両群の分散を比較した結果は$F=3.092$, $P>0.05$で,同一母集団に属すると見て良いことが示されたので次の分析を行った.

BとC群の娘牛をこみにし,嚢胞性群bとcを加えてこみにして,娘牛頭数に対する嚢胞性卵巣牛発病率の産次に伴う変動を調べた結果は表－1のaに示したとおり,初産次18.1％から8産次の50％まで,産次数が増加するに伴って発病率が高くなり,両者の相関係数は$\gamma=0.878$であった.

2．嚢胞性卵巣経歴の有無別母牛群の各娘牛発病率

の比較

嚢胞性卵巣発病率は産次が増加するに伴って高くなったが，両娘牛群の産次別分散には5％水準で有意差を認めなかったので，両娘牛群の頭数別および総分娩回数別発病率の差異をカイ自乗検定によって2×2表を作製して比較した結果は表－2に示した．

嚢胞性卵巣の経歴を持った牛の娘79頭，同経歴を持たない牛の娘牛51頭の実験期間中における発病率はそれぞれ62.0％，29.4％であり，前者が有意に高かった（$P<0.001$）．また前者の総分娩回数227回のうち，分娩後から受胎するまでの期間内に嚢胞性卵巣を認めた回数は81回であった．後者の発症は139回中23回であり，両者の発病率はそれぞれ35.7％，16.5％で前者が有意に高かった（$P<0.001$）．

3．産次に伴う嚢胞性卵巣の初回発病率の比較

初産次から実験に供した娘牛113頭について，前産次までに発病したものを除外して，各産次間における初回発病率の変化を調べた結果は表－3に示した．

延分娩回数307回のうち発病した回数は56回であった．各産次における発病率は1産次から6産次まで最高25％から10％まで変動し，7，8産次に発病したものは無かった．初回発病率の加重平均は18.2％であった．しかし初回発病率とともに娘牛の頭数も各産次間で大きく相違していたため，各産次における初回発病率の差について異質成分に関する検定を行った．その結果は$X^2=4.97$，$P=0.67$であり，その成分値は大きくなかった．このことは，産次数が増加することに伴ってあるいは生存時間が延長することによって発病率が高くなることを示しており，

Table 1. Proportion of cystic ovarian disease and variance in daughter cows from cystic and non-cystic dams classified on the basis of parities.

Order no. parity (A)	Cystic dams		Non-cystic dams		Proportion cystic
	Total no. daughters (B)	Total no. cystic (C)	Total no. daughters (b)	Total no. cystic (c)	(a = C+c/B+b)
1	60	16	34	1	0.181
2	54	20	32	4	0.279
3	42	21	25	5	0.388
4	28	8	19	7	0.319
5	22	8	16	5	0.342
6	12	3	9	1	0.191
7	6	3	3	0	0.333
8	3	2	1	0	0.500
All no. of parities	227	81	139	23	0.284

Comparison of B and b variances ; $F = 3.092$　$P > 0.05$.
Product moment correlation coefficient, A and a ; $r = 0.878$.

Table 2. Chi-squares comparisons between the two proportions of cystic daughter cows from cystic and non-cystic dams.

Cystic dams			Non-cystic dams		
Daughters (no.)	Cystic (no.)	Proportion (%)	Daughters (no.)	Cystic (no.)	Proportion (%)
79	49	62.03***	51	15	29.42
Total no. parities	Total no. cystic	Proportion (%)	Total no. parities	Total no. cystic	Proportion (%)
227	81	35.68***	139	23	16.55

＊；a significant difference（＊＊＊：$P < 0.001$）
The condition of the ovaries were checked at regular bi-weekly for postpartum intervals to conception in each parity.

Casida ら[4]が明らかにした成績と傾向が一致していた．

4．嚢胞性卵巣の母系遺伝力の推定

嚢胞性卵巣の発病率は産次の増加に伴って高くなることが明らかになったので，母－娘牛の産次数を同数に調整して，すなわちいずれか産次数の少ない方に合わせて，過剰な産次は材料から除外して，各組における母牛の嚢胞性卵巣経歴の有無によって区分し，両群における娘牛の発病率を比較した結果は表－4に示した．

Table 3. Daughter cows showing initial occurrence of cystic ovaries by a given number of parity in the herds.

Order no. of parity	Total no. of dauters (a)	No. of cystic (b)	Proportion cystic
1	113	17	0.150
2	84	17	0.202
3	49	13	0.256
4	24	4	0.148
5	19	4	0.211
6	10	1	0.100
7	4	0	0.0
8	1	0	0.0
All total	307	56	0.182

Heterogeniety X^2 test : $X^2 = 4.97$, $P = 0.67$.
(a) : No. cows passing through a given parity, excluding those which had become cystic prior to that a parity.
(b) : No. cows not previously cystic becoming cystic for first time in a given parity.

嚢胞性群の娘牛53頭は初産時に発病しなかったが，2産次から8産次までは発病し，発病頭数比の加重平均値は0.623であった．非嚢胞性群の娘牛60頭に関する発病頭数比の加重平均値は0.400であり，両平均値の偏差0.242を2倍して，娘牛の嚢胞性卵巣発病に関する母系遺伝力を推定[4]した結果は0.484であった．

考　察

本実験の結果では，牛の嚢胞性卵巣に関する病原の1つに母系遺伝によるものの存在が示された．同様な知見はCasida ら (1951) [4]も得ており，彼らが得た遺伝力0.432は本報における同推定値0.484とほぼ一致している．しかし，初回発病頭数比0.058，嚢胞性母牛群の娘牛に関する発病率31％，非嚢胞性母牛群の娘牛の発病率9.4％と比較して，本報の成績では，それぞれ0.182，62.3％，および40.0％で，前者の値よりも約2倍以上高かった点Casida らの成績と相違していた．この相違は，著者らは分娩後2週間間隔に受胎を確認するまで継続して検査したのに対して，Casida らは交配期間中において，発情徴候あるいは性周期に異常が認められたものについてのみ供試したことによる検査方法の相違に関係しているように思われる．Whitmore ら (1974) [8]は乳牛の嚢胞性卵巣が発生する時期について，その71％は分娩後45日以内に発生し，多くは初回排卵前に起こったと述べている．Marrion ら (1968) [3]の報告では，初回発情時に20％発生したが，2周期目では7％，3周期目には6％に減少している．この発病時期に

Table 4. Daughter cows from cystic and non-cystic dams using equal numbers of parities in the herds for dams and daughters.

No. of parities used in classifying daughters and dams	Cystic dams			Non-cystic dams		
	Daughters (no.)	Cystic (no.)	Proportion cystic	Daughters (no.)	Cystic (no.)	Proportion cystic
1	4	0	0.0	14	3*	0.214
2	11	8*	0.727	16	3	0.188
3	17	11	0.706	10	6	0.600
4	5	3	0.600	5	4	0.800
5	8	4	0.500	8	6	0.750
6	5	4	0.800	4	2	0.500
7	2	1	0.500	2	0	0.0
8	1	1	1.000	1	0	0.0
All no. of parities	53	33	0.623	60	24	0.400

＊：daughters which became cystic at least once during the span of life she had spent in the herds.
Heritability of the occurrence of cystic ovaries was estimated[4] as 0.484.

ついて著者らの分析では，本報の目的ではなかったので示さなかったが，発病率の50％は分娩後100日以内に，残る50％は101日から300日間に発病している（未発表）．

Morrowら[6]は分娩60日間，Whitmoreら[8]は初回授精までの期間に限って検査しているので，その後の発症例については明らかでない．本報では，前者のそれらよりも本症発病の実態をより詳細に明らかにできたように思われる．

Wiltbankら（1953）[5]は父系遺伝した例を報告している．本報の結果では，非嚢胞性母牛群の娘牛が40％発病した．このことを母系遺伝以外にも病因が存在することを示唆しているように推察される．本症に関するその他の病因として，Casidaら[4]は高蛋白飼料あるいは低栄養に原因したGarmら（1949）の成績を引用している。Johnsonら(1966)[9]，Marrionら（1968）[3]は高泌乳牛に多発したと述べている．

栄養との関連において，近年，牛の飼料事情は著しく好転しており，飼料不足に原因するよりもむしろ高泌乳能力のために産乳量に見合った栄養を摂取できない実態がある．

本実験牛群では不定期であるが，血中グルコース，BUN，PおよびCa値ならびに蛋白濃度を測定しており，これらはおおむね正常値の範囲内にあるが，高泌乳時のHT値はしばしば25～28％に低下している．吉目木ら(1986)[10]は1日当り30 kg以上泌乳している乳牛では飼料要求量に対して栄養摂取量がDCP，TDN共に負になることを明らかにしている．

しかし，最高日量40～55 kg泌乳する牛であっても5年間に5産するものもまれでないので，泌乳量や栄養原因説には異論がある．Roberts（1955）[2]は冬季間に牛舎内で飼養されている牛群に多発したと述べている．著者ら（1987）[7]も9月から翌年の2月までに分娩した牛に発病率が有意に高かったことを報告している．

Keslerら(1982)[1]は牛の嚢胞性卵巣について総説し，高泌乳が嚢胞性卵巣の原因であることよりも，発病した結果として起こるホルモン異常に継続して泌乳量が増加すると推考している．また牛の嚢胞性卵胞はGn-RH，LHあるいはHCGを投与すれば排卵することから，卵巣あるいは下垂体前葉の異常に原因するよりもむしろ視床下部の機能不全に主な原因があり，この点については多くの研究者によって意見が一致しているが，後者の視床下部に機能異常が起こる原因についてはまだ究明されていないと述べている[1,11]．しかし本報の結果では，母牛が嚢胞性病歴を持っていたものと持っていなかった両群の娘牛に関する発病率を比較して，発病頭数比においてあるいは延分娩回数に関する発病回数比においていずれも前者が有意（$P<0.001$）に高かったこと，遺伝力推定値も0.484であったことからみて，母系遺伝性も本症発病に関する一原因であることは確信して良いように思われる．なお本報では小型多嚢胞性卵巣例を含めたが，小型例の発生は微かに3例であり，いずれも産次間で大型と交互に発症したために発病頭比に影響しなかった．

文　献

1）Kesler, D. J. and Garverick, H. A.: Ovarian cysts in dairy cattle (a review), J. Animal Sci., 55: 1148, 1982

2）Roberts, S. J.: Clinical observations on cystic ovaries in dairy cattle, Cornell Vet., 45: 497, 1955

3）Marrion, G. B. and Gier, H. T.: Factors affecting bovine ovarian activity after parturition, J. Animal Sci., 27: 1621, 1968

4）Casida, L.E. and Chapman, A. B.: Factors affecting the incidence of cystic ovaries in a herd of Holstein cows, J. Dairy Sci., 34: 1200, 1951

5）Wiltbank, J. N., Tyler, W. J., Casida, L. E., Fosgate, O. T . and Sprain, O. G.: A study of atretic large follicles in six sire-groups of Holstein-Friesian cows, J. Dairy Sci., 36: 1077, 1953

6）Morrow, D. A., Roberts, S. J., McEntee, K. and Gray, H. G.: Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle, J. A. M. A., 149: 1596, 1966

7）菅　徹行，中嶋純男：ホルスタイン搾乳牛における卵巣機能と受胎力に及ぼす分娩季節の影響，西日本畜産学会報，30：60，1987

8）Whitmore, H. L., Tyler, W. L. and Caside, L. E.: Incidence of cystic ovaries in Holstein-Friesian cows, J. A. V. M. A., 165: 693, 1974

9）Johnson, A. D., Legates, J. E. and Ulberg, L. C.: Relationship between follicular cysts and milk production in dairy cattle, J. Dairy Sci., 49: 865, 1966

10）吉目木勝策，中尾繁彦，森好政晴，河田敬一郎：高泌乳牛における分娩後の栄養水準と卵巣機能回復状態との関係，日畜会報，57：553，1986

11）Kesler, D. J., Garverick, H. A., Bierschwal, C. J., Elmore, R. G. and Youngquist, R. S.: Reproductive hormones associated with normal and abnormal changes in ovarian follicles in postpartum dairy cows, J. Dairy Sci., 62: 1290, 1979

Genetic factor of dams on incident of cystic ovaries in Holstein milking cows

Tetsuyuki Suga, Akira Nakagawa, Hirofumi Yoshimura and Hitoshi Ueda

Laboratory of Veterinary Reproduction, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Yamaguchi 753, Japan

An attempt was made to evaluate the daughter-dam association for the occurrence of cystics ovaries.

The study was based on the ovarian activities during postpartum period to conception of 130 daughters from cystic and non-cystic dams in 7 Holstein-Friesian herds for a 10-yr. interval. These were all commercial dairy herds that varied in size from 10 to 25 milking cows. The condition of the ovaries were checked by rectal examination at regular bi-weekly for intervals from postpartum to conception.

Ovarian cysts were detected as follicular structures of at least 2.5 cm in diameter that persist for at least 14d. in the sbsence of a corpus luteum.

The incidence of cystic-ovary increased significantly as 35.68 percent of a total 227 parities in the group of daughters from cystic dams ($p<0.001$)and 62.03 percent of 79 animals that were cystic at least once in the span of each individual spent in the gruop ($p<0.001$)when compaered with the group of daughters from non-cystic dams that had shown cystic ovaries in 16.55 percent of 139 parities and 29.42 percent of 51 animals.

Heritability of the occurrence of cystic ovaries sometime during life was estimated for these herds as 0.484.

(受付：1990年2月20日)

地方部会講演抄録

第108回　関西不妊集談会

日　　時：平成2年3月10日（土）
場　　所：三和科学研究所

1．腹腔鏡検査後の自然妊娠について

足立和繁・倉智博久・西山　茂
天川一郎・渡辺明敏・中室嘉郎
（大阪府立病院産婦）

腹腔鏡検査は不妊症の検査として必須の検査となりつつあるが，検査後の自然妊娠も最近注目されている．

今回1989年3月から10月までに当科で施行した20例の不妊症患者に対する腹腔鏡検査の成績について報告する．症例の内訳は原発性不妊16例，続発性不妊4例で平均年齢29.8歳，平均不妊期間は3.3年であった．

検査の適応は① HSGまたはRubin test上，異常所見を認めたもの13例，②長期不妊症例4例，③PCOに対する卵巣焼灼目的2例，④その他1例であった．①②の適応で検査を施行した17例中11例には異常所見を認めなかった．この11例のうち4例に術後自然妊娠が成立した．また③のうち1例にも術後自然排卵，妊娠が成立した．しかし，①②のうち残り6例には卵管周囲癒着，子宮内膜症や子宮筋腫等の不妊原因を認め，この6例には術後妊娠成立を認めていない．

2．卵胞発育モニタリングの検討

山辺晋吾・古川和典・林　茂樹
永田典昭・林　　要
（恵生産婦人科）
片山和明・望月眞人
（神戸大産婦）

IVF-ET患者のモニタリングを通じて発育卵胞の評価につき検討した．

対象・方法：昭和63年～平成1年に当院で行ったIVF-ETの中でclomid＋HMG（CC：31例）およびbuserelin＋HMGのlong term法（LT：22例）を用いた53例を対象とした．モニタリングは外来にて簡便に行える経腟超音波による最大卵胞の直径(FD)の計測と早朝尿中estrogen(UE：ハイエストロテック）を指標とした．

結果・考察：受精卵の得られた症例では，hCG投与日から逆算してFDは約2.0 mm/dayの発育速度を示し，UEは26.5 ng/dayで上昇し，受精卵の得られなかった症例に比べ，成長速度の早い傾向があった．また，CCの症例ではFDは2.1 mm/day，UEは23.1 ng/dayで上昇を示すのに対し，LTではFDは1.8 mmg/dayでCCに比べて発育速度が緩やかであるにもかかわらず，UEは31.3 ng/ml/dayと，早い上昇速度を示した．これはLTではCCに比べ採卵個数が多いことにも示されるように，発育卵胞数の違いが原因であると考えられた．

3．LH-RH agonistを使用したIVF・ET

脇本　博・須野成夫・佐田博之
徐　東舜・加藤浩志・深見和之
（愛染橋病院産婦）
鈴木敏之　　（鈴木産婦）

体外受精・胚移植法による妊娠成立の鍵はまず第1に良質の卵を得ることと言われている．一般には広くhMG-hCG療法によって排卵誘発を行い，卵胞径，血(尿)中E_2，血(尿)中LHを測定して，hCG投与時期，採卵時期を決定している．しかし厳密に卵胞のモニターを行っているにもかかわらず，premature LH surgeが症例の約20％に発生する．そのため，採卵時期を逸したり，採卵しえても過熟卵であったり，またそれを恐れるあまり，早い時期に未熟卵を採取したりする事がある．卵の質を明示するパラメーターが明らかでない現在，未熟卵に対する前培養の時間をどの程度にするか判然としないのが現状である．今回，私達はLH-RH agonist(Buserelin）を使用し，上記のような困難を感ずる事なく，成熟卵を7個採取し，胚移植を行い，双胎妊娠の成立をみた症例があるので報告する．

4．京都大学におけるウシIVM-IVF-ET

加藤博己・内海恭三・入谷　明
（京都大農学部畜産）

目的：近年ウシ体外受精法の発達に伴い，卵胞卵子から産子が得られているが，その率はまだまだ低く安定していない．本研究は高率で安定して胚盤胞が得られる体外受精系の確立を目指して行った．

材料および方法：卵巣よりGV期卵胞卵子を採取し，M199＋10％FCS＋Hormone(LH 10μg/ml，E_2 1μg/ml)の成熟培地で26時間培養して成熟させた．凍結融解精液をヘパリン10μg/mlを含むパーコール液で1回洗浄し，成熟卵子を含む受精培地(BO液＋BSA 3 mg/ml＋ヘパリン10μg/ml)に3×10^6精子/mlの濃度に調整した精子を入れて受精した．受精後18時間に卵子に付着している精子および卵丘細胞を除去した．さらに，その卵子をM 199＋10％FCSの発生培地中で1×10^6cell/mlの濃度で単層培養した顆粒膜細胞と10日間共培養して胚盤胞を得た．
結果：成熟率は，100％，受精率は98％であった．受精後48時間での3－4 cellへの発育は30％，6－8 cellへの発育は25％であった．また，胚盤胞への発育は13％であった．

5．体外受精・胚移植報における培養液の分析（Human Tubal Fluidを用いて）

森本義晴・桑名博士・牧野　滋
高司　豊・宮田広敏・長尾幸一
小山竜一・森本武晴
(河内総合病院産婦体外受精室)
堀越順彦・椹木　晋・椹木　勇
(関西医大産婦)

体外受精プログラム上，成功の鍵を握る幾つかの要因のうちでも，最も重要なのは培養液作製である．当院では，逆浸透装置，2段蒸留装置，ミリQ-SP，限外濾過膜を使って得られた18MΩ程度の超純水を用いてHuman Tubal Fluidを作製している．Bufferとしては，Hepesを加えたHTF液を用い，媒精用，培養用，胚移植用には各々，10％，20％，50％の非働化血清を添加して使用している．

1989年2月から11月までに，体外受精・胚移植法を施行した症例について培養液の分析を行った．すなわち，各段階での培養前と培養後の液および卵胞液について浸透圧，pH，PO_2，PCO_2，Glucose，Na，K，Cl，Ca，Mg，Pの各要素について測定した．

今回，これらのデータを分析し，超純水作製法について若干の考察を加えたので報告する．

6．抗精子抗体保有不妊婦人の長期予後調査

加藤宗寛・大橋一友・脇本昭憲
谷口　武・亀田　隆・古山将康
松崎　昇・佐治文隆
(大阪大産婦)
都竹　理　　(都竹産婦)

目的・方法：不妊症の中で，抗精子抗体を有する患者は，難治性であるといわれている．我々は，当院で精子不動化試験を行った564名の不妊婦人の不妊歴，治療経過，治療成績について検討を加えた．
結果：(1)不妊婦人564名中，73名(12.9％)が精子不動化抗体陽性であった．(2)精子不動化抗体陽性患者は不妊期間，治療期間ともに陰性患者に比べて有意に長期にわたる者が多かった．不妊期間100か月以上の長期不妊患者についてみると，20.9％が精子不動化抗体陽性であった．(3)陽性患者の妊娠率は6.8％で，陰性患者の22.4％に比して低かった．(4)精子不動化抗体陽性患者の中で，5例が妊娠した．その内容は，2例がIVF-ET，1例がGIFT，2例が抗体価自然低下後のAIHによる妊娠であった．
考察：精子不動化抗体を有する不妊婦人は難治性で，通常の不妊治療では妊娠しにくい．抗体化の推移を追いながら，IVF-ET等を積極的に行うことが望ましい．

7．当科におけるIVF-ETの受精率に与える男性因子の影響について

福岡正晃・大野洋介・北脇　城
田村尚也・岡田弘二
(京都府立大産婦)

1988年11月より1989年12月までに行ったIVF-ET 72回の採卵例につき，その受精率に与える男性因子の影響につき検討を加えた．採取卵のすべてに受精の成立しなかった症例の割合は，精子数でみると5000万/ml未満(15例)で67％，5000万/ml以上(57例)で32％であった．運動率では，これらの割合は，50％以下(28例)で57％，55％以上では32％であった．swim up処理後の精液所見からは，精子数1000万/ml未満(21例)で67％がまったく受精せず，1000万/ml以上5000万/ml未満(33例)ではこれらは36％，5000万/ml以上(20例)ではこれらはわずかに10％であった．swim up処理後の精子運動率から見ると，60％以下の例(5例)では1例も受精卵を得ることができなかった．また個々の受精率に与えるこれらの因子の相関行列からみても，処理後の精子数・精子運動率により影響されると考えられた．受精率には男性因子の影響の強いことが示唆された．

8．体外受精時の乏精子症例における受精成績の検討

奥田弘賢・宮崎和典・鈴木佳彦
太田　栄・杉山修成・金子卓嗣
坪倉省吾・福田吉彦・杉本　修
(大阪医大産婦)

目的：体外受精・胚移植（IVF-ET）の適応の一つとして乏精子症が挙げられるが，成績は必ずしも良くない．そこで，当科のIVF-ET症例のうち乏精子症例について，その受精に影響を及ぼす因子について検討した．
方法：当科のIVF-ET症例のうち乏精子症16例22周期を，受精不成功群9例13周期〔(−)群〕と受精群9例9周期〔(＋)群〕に分け，両群の精液所見，採卵受精成績，内分泌動態を比較検討した．
結果：回収卵数の平均は(−)群3.5個，(＋)群は4.0個で差はなく，(＋)群の受精率は45％であった．HCG投与時のLH値は(＋)群の9.5に比し，(−)群は31.3 mIU/mlと高値であった．精子濃度，運動率は，(＋)群の10.9×10^6/ml，45.3％に比べ，(−)群では9.7×10^6/ml，35.5％と，さらに不良であった．swim up処理後の運動率は，(＋)群では53.1％まで上昇したが，(−)群では処理後も運動率の改善を認めなかった．
結語：(−)群では何例かでLH surgeが関与したと考えられた．(＋)群では不良ながらも精液所見が(−)群より良好であり，今後の精子処理方法の改善が望まれた．

9．マウス初期胚発育に与えるマウス子宮腔液の影響

後藤康夫・野田洋一・森　崇英
(京都大婦産)

目的：初期胚発育の場である子宮内環境を解析することを目的として，マウス子宮腔液のマウス初期胚発育に与える影響を検討した．
方法：①，ICR系幼若雌マウスを過排卵処理し，同系雄マウスと交配させたのち8-cellおよびblastocystを採取した．②，同系雌マウス子宮のPBSによる灌流液を純水に対して透析したのち，凍結乾燥し，macromolecular componentsを得た．③，②で得たmacromolecular componentsを0.1％およびBSAを0.3％含んだBWW液で胚を培養し，24時間毎に胚の形態を観察した．対照群として，0.4％BSA添加BWW液で胚を培養した(37℃，5％CO_2 in air)．
結果：①，8-cellの培養：培養後48 h，72 hにおける胚の孵化率は，実験群で各44.7％，70.8％と，対照群の各19.7％，53.9％に比し有意に高かった($P<0.01$)．②，blastocystの培養：培養後24 h，48 hにおける胚の孵化率は，実験群で各60.2％，91.4％と対照群の各33.3％，70.4％に比し有意に高かった($P<0.01$)．
考察：マウス子宮腔より得たmacromolecular componentsは，8-cell以降の胚に対しては促進的に働くと考えられた．

10．ヒト黄体中vitamine Eおよびcarotene濃度の推移について

横江保彦・竹中　章・笠原一彦
須戸龍男・吉田吉信
(滋賀医大産婦)

緒言：我々は既に，過排卵処理幼弱ラットの黄体形成過程で多量のvitamine E（V. E.）が卵巣中に取り込まれる事を明らかとした．今回，この様な抗酸化物質の卵巣における役割を明らかとする目的で，ヒト黄体を用い，V. E.と共に抗酸化物質として知られるcarotene（CR）濃度を測定したので報告する．
材料および方法：子宮単純全摘術を受けた月経周期が正常と考えられた婦人より黄体を得た．黄体はhomogenize後，hexane-ethanol（1：5）でV. E.およびcaroteneを抽出し，HPLCで分離・定量した．
結果および方法：赤体期には，V. E.およびCR濃度は共に低いが，その後V. E.濃度は急激に増加し，early luteal phaseで既にmid-luteal phaseと同様の濃度を示し，CR濃度はmid-luteal phaseで初めて最大となった．late luteal phaseには両者とも，急激に減少した．以上から，これらの抗酸化物質はステロイド合成および黄体の退縮に関連するものと考えられた．

11．ウシ顆粒層細胞のLHレセプター数およびステロイドホルモン分泌に及ぼすコルチゾールの影響

川手憲俊・稲葉俊夫・森　純一
(大阪府大農学部獣医学教室)

ウシ卵巣嚢腫の発生原因の一つとしてストレスの関与が報告されている．今回の報告ではコルチゾールの卵胞機能への直接的影響を調べるために，ウシ卵胞顆粒層細胞の培養系を用いて検討した．
食肉処理場において解体直後の雌ウシから卵巣を採取した．顆粒層細胞は直径が7 mm以下の小型卵胞から採取し，Dulbecco変法のEagleとHam F-12の混合培養液にFSH(100 ng/ml)，テストステロン

(2 μM) およびコルチゾール (0～10μM) を添加して，8日間培養を行い，細胞のLHレセプター数ならびに培養液中にエストラジオール－17βおよびプロジェステロン量を調べた．

その結果，LHレセプター数は0.1および10μMのコルチゾール添加群で有意に減少した (P＜0.05)．培養液中エストラジオール－17β量は0.1μMのコルチゾール添加群で減少する傾向を示し，10μMの添加群では有意に減少した(P＜0.05)．一方，プロジェステロン量は0.1μMのコルチゾール添加群では対照群に比較して有意な差は認められなかったが，10μMの添加群ではやや増加する傾向を示した．

以上の結果より，コルチゾールは卵胞の顆粒層細胞のLHレセプター数を減少させ，同時にエストラジオール－17βを分泌を抑制することが示唆された。

12. 精巣腫瘍患者における後腹膜リンパ節郭清術と射精機能障害との関係について

高崎　登・栃波博一・清水　篤
上野信之・平井　景・福原雅之
宮崎　重　　(大阪医大泌尿器)

はじめに：精巣腫瘍患者に対する後腹膜リンパ節郭清術の最大の合併症は術後の射精障害である．われわれは，術後射精機能を調べえた49例(両側郭清40例，右側郭清5例，左側郭清4例）の精巣腫瘍患者を対象として，郭清範囲と射精機能および後腹膜腔交感神経（左側方線維群，右側方神経群，上－下腹神経叢）損傷との相互関係について調べ，射精機能を保存した後腹膜リンパ節郭清術について検討した．

結果：上－下腹神経の損傷を受けたと考えられるものではseminal emissionの消失がみられた．一側の側方線維群のみ損傷したと考えられるものでは射精障害は起こらなかった．両側の側方線維群の損傷を受けたと考えられるものはseminal emissionは保存されるが，前方射出は起こらず逆行性射精が起こった．

結語：射精機能を保存するためには，上－下腹神経と少なくとも一側の側方線維群を損傷しないようにすることが必要である．

13. Young症候群の2例

松田公志・堀井泰樹・吉田　修
(京都大泌尿器)

精巣上体での閉塞による閉塞性無精子症に，副鼻腔炎や気管支拡張症などの気道疾患を合併するYoung症候群2例を経験したので報告する．

症例1：34歳，副鼻腔炎の既往あり．閉塞性無精子症の診断にて精巣上体精管吻合術 (Silber's specific tubule法) を施行．両側とも精巣上体頭部で精子を確認したが運動性(－)，術後も無精子症である．気管支造影にて両肺野に瀰慢性の気管支拡張症を認めたが，気道線毛の構造は正常であった．

症例2：30歳，気道疾患の既往なし．閉塞性無精子症にて精巣上体管吻合術 (Side-to-end法) 施行．両側とも精巣上体頭部にて運動性ある精子を確認，術後8×10^6/mlの運動性ある精子を得た．手術直後に喀痰多く，気管支造影にて左下葉に限局する気管支拡張症を認め，Young症候群と診断した．なお，2症例とも血清中精子不動化抗体陰性であった．

【特別講演】

男性不妊症診断の現況

松本　修（神戸大泌尿器）

不妊夫婦の男性側の原因検索の手順について，精液所見別に考察する．

① 無精子症は大部分が造精機能障害によるが，約15％は精路通過障害が原因であり，両者の鑑別が治療方針決定のために重要である．精巣容積が16 ml以上で，かつ血清FSHが正常の場合には閉塞性の無精子症が強く疑われる．精巣上体・精管の触診，精のう・射精管部の超音波検査および精管精のう造影を行って閉塞部位を検索する．精巣生検で造精機能が良好なことを確認し，適切な手術療法を選択する．また特殊な例として部分逆行性射精による無精子症が存在するので，とくに精液量が少ない症例では射精後尿の検査が必要である．

② 無精子症以外の症例では精液の判定基準が問題となる．われわれは，妊孕性の確認された正常男子での検討結果をふまえ，現在世界的に広く用いられているWHOの基準(精子濃度20×10^6以上，運動率50％以上，精子奇形率50％未満など)を正常基準として用いるのが適当と考えている．精子凝集の認められる症例では血清抗精子抗体（凝集抗体，不動化抗体）の検索が不可欠である．膿精液症の場合には化学療法をまず施行するので，精液中の白血球も慎重に観察する．精索静脈瘤は精液所見が異常である症例の約30％に存在し，手術療法により精液所見の改善が望めるので，触診と陰のうシンチ，赤外線サーモグラフィーによって診断し，手術療法を積極的に行う．血清ホルモン値測定も薬物療法選択の指標となるので必ず施行する．精液所見上異常の認められない症例では精子機能検査が重要と考えられる．われわれはハムスターテストが妊孕性とよく相関するという成績を得ているが，ルーチンには施行でき

ていない.
③　精液が採取できない症例では，完全逆行性射精を疑いマスターベーション後の尿を検査する．射精障害によると考えられる無精液症では，精のう前立腺マッサージを行って圧出液中の精子を検索する．

35回日本不妊学会春季九州支部会

（第7回　生殖内分泌懇話会）

日　　時：平成2年3月11日（日）
場　　所：福岡メディカルホール

1．当科不妊外来における過去3年間の無治療周期妊娠例の背景

古木義弘・松浦講平・本田賀裕
松井幹夫・岡村　均
（熊本大産婦）

過去3年間に挙児希望にて当科不妊外来を受診し，妊娠が成立した231症例のうち，不妊の原因検査中あるいは妊娠成立が無治療周期であった62症例について検討した．既往妊娠歴から原発不妊が32例，続発不妊が30例と分類された．不妊（不育）期間は平均3年（4か月から15年），当科通院期間は平均5か月（1か月から5年）であった．不妊因子については機能性不妊あるいは妊娠成立までの通院期間が短いために原因不明が46例であったが，判明しているものでは，子宮因子が3例，子宮内膜症が7例，卵管因子が1例，PCOが1例，高PRL血症が1例，男性因子が2例であった．卵管疎通性に関する検査では3周期以内のHSGあるいはRubin Testがそれぞれ30例と3例であった．また，妊娠周期のPCTが18例であった．少なからぬ症例が検査中あるいは無治療周期に妊娠が成立することより，不妊因子の原因検索のための検査ならびに治療は自然妊娠の可能性を考慮して行われる必要がある．

2．正プロラクチン（PRL）血性不妊症に対するBromocriptine（BRC）併用療法の検討
——妊娠例123例の転帰——

道岡　亨・山下三郎・小林正幸
成松昭夫・伊東武久
（徳山中央病院産婦）

1986年1月～1988年12月までの3年間に正PRL血性不妊症263例に対し，BRC単独（B法）または，clomiphene併用（B-C法）あるいはclomiphene＋hMG併用療法（B-C-H法）を行い，123の妊娠例（妊娠率46.4％）を得た．それらの妊娠例の転帰について検討し以下の結論を得た．

①自然流産は8例（6.5％：B法で5例，B-C法で2例，B-C-H法で1例）であり，早産は4例（3.3％：B-C法で1例，B-C-H法で3例）であった．②多胎妊娠については，双胎が9例（7.3％：B法で1例，B-C法で1例，B-C-H法で7例）であり，品胎は1例（B-C-H法）認められた．③奇形については，1例（B法）に先天性エプーリスが認められた．

以上，BRCおよびその併用療法は，自然排卵後の妊娠例に比べ，多胎妊娠率は高いものの，流産率，早産率，奇形率等については差を認めず，その高い妊娠率からも有用な治療法と思われる．

3．パーコール連続密度勾配法による洗浄濃縮精子を用いたAIHにより妊娠の成立した高度の乏精子症の2例

藤原孝恵・松口博之・中村元一
中野仁雄　　（九州大産婦）
小松　潔・山口秋人
（三信会原病院泌尿器）
山名寛孝・高田大陸・浜崎康夫
（同産婦）

我々は，現在男性不妊因子に対する治療として，パーコール連続密度勾配法による洗浄濃縮精子を用いた配偶者間人工授精（AIH）を行っているが，最近高度の乏精子症の2症例で妊娠を経験した．

症例1は不妊期間7年の原発性不妊患者で，女性側には異常なかったが，性交渉検査陰性．精液検査で精子数5×10^6/ml，運動率65％と高度の乏精子症の所見であった．無処理精液によるAIHを32回行うも妊娠に至らなかった．そこで，洗浄濃縮精子を用いたAIHに切り替えたが，5回目のAIHにおいて妊娠成立した．なお妊娠成立周期の精液所見は，精子数7→37×10^6/ml，運動率52→62％（処理前→処理後）と著明に改善していた．

症例2は不妊期間4年の高度乏精子症の症例で，3回目の洗浄濃縮精子AIHで妊娠成立した．妊娠周期の精液所見は，精子数7→23×10^6/ml，運動率42→47％であった．現在までの同法によるAIHの成績を加えて報告したい．

4．クラミジア感染と骨盤内病変の関係について

范　育仁・倉田須和子・一瀬俊介
梶村秀雄・重村　潤・山下隆則
石丸忠之　　（長崎大産婦）

Chlamydia trachomatisはSTDの起炎菌として最近とくに注目されており，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．しかしながらクラミジア感染時の不妊機序については，いまだ明確にされていない．PIDを惹起することから，性器に何らかの形態的変化がもたらされるものと推察される．そこで，不妊症患者について，クラミジア抗原および抗体価を測定，同時に腹腔鏡検査を施行し，クラミジア感染と不妊の関係を骨盤内病変の観点から検討し，若干の知見を得たので報告する．なお骨盤内病変はAFS類を改変した教室分類にもとづいて点数を配分した．クラミジア陽性群におけるscoreを比較すると，抗原(+)群，23.8±13.2，IgA 16倍(+)群，30.1±10.1およびIgG 64倍(+)群，24.1±13.4であった．クラミジア感染時の骨盤内病変としては卵管障害が多く，中でも卵管采癒着が最も多く認められた．

5．多毛と原発性無月経を伴った高インシュリン血症の1例

沖　利通・堂地　勉・松元　保
中村行彦・森　明人・山元慎一
永田行博　　(鹿児島大産婦)

我々は，稀な疾患とされるインシュリンレセプター異常症患者で無月経と多毛を主訴とする症例を経験した．

症例は19歳，当院内科にて高血糖の精査中であったが，原発性無月経のため当科に紹介された．当科初診時，身長159 cm，体重58 kgで，声は低音，多毛と腋窩の色素沈着を認めた．乳汁分泌無く，乳房・恥毛はそれぞれTanner分類のStage II・Vであった．内診上，子宮は鳩卵大で陰核肥大はなかった．経腟超音波で両側卵巣は5×4 cmと腫大し，PCO様であった．染色体は46 XX，血中E_2，P，LH，FSH，Prolactinは正常，LH-RHテストも正常反応で，副腎・甲状腺系の諸検査は異常なく，Testosterone等の男性ホルモンが高値を示した．また，E＋P投与で消退出血をみた．

以上から主に卵巣由来のアンドロゲン分泌増加を伴う第2度無月経と診断し，現在治療中である．また，高インシュリン血症が性機能に及ぼす影響などについて文献的考察も加え検討したので報告する．

6．Gn-RH analogueを併用したhMG-hCG療法にて妊娠に至ったPCO症例

本田賀裕・松浦講平・古木義弘
松井幹夫・岡村　均
(熊本大産婦)

PCO患者の病態は高androgen，高gonadotropin血症により特徴づけられている．今回，我々は，Gn-RHaを併用し，down regulationを確認した後にhMG療法を行い，妊娠が成立した症例を経験したので，その臨床経過を報告する．

症例は33歳で不妊期間3年10か月の原発不妊婦人である．LH，FSHの基礎分泌値は33.3 mIU/ml，7.1 mIU/ml，LH-RH testはLHがhigh-good，FSHがnormo-good反応，testosterone値は91 ng/dlであった．既往治療は，clomiphene療法7周期とhMG-hCG療法が2周期で，それぞれ2周期(計4周期)に重症OHSSを発症している．buserelin(900μg)を投与し，低LH状態を確認した後hMG 150 iuの連日投与を開始し，2周期目に妊娠が成立した．妊娠経過中に重症のOHSSが発症したが軽快し，妊娠34週にて早産したが，現在正常に発育している．

7．副腎皮質ホルモン，アスピリン併用療法により生児を得たLupus anticoagulant陽性習慣流産患者の1例

高島　健・濱田政雄・横山幹文
佐野正敏・中原博正・前田博敬
中村元一・中野仁雄
(九州大産婦)

妊娠中期での胎児死亡歴7回のLupus anticoagulant (LAC) 陽性患者に，副腎皮質ステロイドと低用量アスピリン投与を行い，正期産児を得た症例を経験したので若干の文献的考察を加えて報告する．

症例は30歳，経妊8経産2．過去7回の妊娠は全て妊娠18週より25週での胎児死亡であった．昭和63年7月28日，挙児希望のため当科を初診した．部分トロンボプラスチン時間(APTT)延長(52.8秒)と抗カルジオリピン抗体陽性を認めたため，LAC陽性の自己免疫疾患と診断した．プレドニソン20 mg/日，アスピリン100 mg/日の投与後，昭和63年11月29日を最終月経として妊娠した．以後も同剤の投与を継続した．妊娠34週より胎児発育遅延を認めたが，胎児心拍数陣痛図に異常を認めなかった．妊娠38週6日，オキシトシンによる分娩誘導を行い，頭位経腟分娩にて2340 g，1分Apgar score 9点，臍帯動脈血pH 7.197のSGA児を娩出した．胎盤病理組織学的検査では胎盤血管内に血栓形成を認めなかった．

8．IVF-ETにおけるhMG製剤に強アレルギー反応を呈した1例について

新崎盛雄・佐久本哲郎・山城一也
前浜俊之・東　政弘・中山道男
（琉球大産婦）
宮里　肇（同皮膚）

IVF-ETにおいては多卵胞発育のためhMG製剤が広く用いられている．今回我々はこのhMGに対し強いアレルギー反応を呈した1例を経験したので報告する．

患者は37歳の原発性不妊で，両側卵管閉塞である．平成元年3月より当科にて2回IVF-ETを施行した．卵巣刺激法はいずれもGnRH analogとhMGの併用である．1回目はhMG製剤として日研HMG，パーゴナルを，2，3回目はヒュメゴンを用いた．最初の2回のIVF-ET時には著変なく経過するも，3回目の刺激周期において，10日目より全身掻痒感，11日目には全身紅斑，嗄声，眼瞼浮腫が出現した．抗ヒスタミン剤，ステロイド剤を投与するも症状は持続した．12日目にhMGを中止したところ症状は徐々に改善し，15日目にhMGを投与して17日目に採卵を施行した．

hMGに対する免疫学的検査，皮内テスト，生検等の皮膚科学的検索により，症例は蕁麻疹型薬剤性発疹と診断した．

9．培養ヒト顆粒膜・黄体細胞のステロイド産生能と細胞増殖能に及ぼすprolactinの影響

楢原久司・吉松　淳・宮村研二
村田博久・早田　隆・宮川勇生
（大分医大産婦）

ヒト顆粒膜・黄体細胞の分化と増殖におけるprolactin（PRL）の役割を明らかにすることを目的として，その長期培養系におけるE_2，P_4産生能，細胞増殖能に及ぼすPRLの影響について検討した．

筋腫手術時に直径15 mm以上の大卵胞より顆粒膜細胞を得，10％ FCSおよびhCG，100 ng/mlを含むDMEM/F-12培地にて長期培養を開始した．ヒトPRL 100 ng/ml添加，非添加群における2日ごとのE_2，P_4の産生および4日ごとの細胞増殖能をPIAおよび^{3}H-Thymidineの取り込みにより測定した．

PRLは培養顆粒膜・黄体細胞のE_2，P_4産生および細胞増殖のいずれも抑制した．経日的には，その有意な抑制作用は，E_2産生，P_4産生，細胞増殖能の順となった．

以上の結果より，PRLは，ヒト顆粒膜・黄体細胞の分化と増殖の両面において抑制的に作用することが示唆された．

10．Superovulation時における血清CA125の動態に関する検討

森　明人・山元慎一・沖　利通
福元清吾・竹内一浩・堂地　勉
有馬直見・永田行博
（鹿児島大産婦）

血清CA-125が卵巣過剰刺激症候群（OHSS）でも上昇することが報告されている．そこでわれわれは体外受精・胚移植で排卵誘発を受けた不妊症患者の血清CA125の推移を経時的に検討した．

対象は当科で体外受精・胚移植を施行した不妊症患者でBuserelin-hMG-hCGまたはhMG-hCGで排卵誘発を行った29例である．うちBuserlin群で2例，腹水の伴わないOHSSの発生を認めた．hCG投与直前のCA-125値は平均10.5±4.5 U/mlであり，その後，上昇傾向を示し，採卵後5日目には平均36.0±19.3 U/mlと有意な上昇をみた．Buserelin群とhMG群で有意差はなかった．CA-125値と血中LH，FSH，PRL，E_2や穿刺卵胞数との間には有意の相関は認めなかった．一方，血清CA-125とProgesterone値の間には採卵後，正の相関が認められた．またOHSS発生例では非発生例と比較してもCA-125は高い傾向になかった．以上より採卵後上昇した血清CA125は黄体期子宮内膜に由来している可能性が示唆された．

11．Gn-RHa（Buserelin）による下垂体脱感作の評価について

一瀬俊介・梶村秀雄・石丸忠之
（長崎大産婦）

目的：Buserelin（Gn-RHa）を連日投与すると，約3～4週で下垂体が脱感作され，内因性gonadotropinが抑制されることが報告されている．そこで，Gn-RHa投与時の下垂体のgonadotropin分泌能の変化について検討した．

方法：視床下部性無月経4例に対して，Gn-RHa（900μg/day）を経鼻投与し，gonadotropin濃度，外因性Gn-RHおよびGn-RHaに対する下垂体の反応の変化，gonadotropinのpulse状分泌の変化などについて検討した．

成績：Gn-RHa投与開始後LHおよびFSHは一過性に増加し，それぞれ3週以内および1週以内にGn-RHa投与前値まで下降した．Gn-RHa投与開始後3週では，外因性Gn-RHおよびGn-RHa投与に対する下垂体の反応は認められなくなった．しかし

ながら，gonadotropinのpulse状分泌は認められた．

12．GIFT法およびIVF-ETの臨床成績

戸枝通保・田中　温・田中威づみ
吉田一郎・田中壮介
(田中産婦医院)

当院におけるGIFT法および体外受精・胚移植の臨床成績を報告する．排卵誘発法はGnRHa＋HMGを症状に応じLong protocolまたはShort protocolを用いた．HCG切換時期は血中E_2値が1500～4000 pg/ml，卵胞直径が約20 mmとし，HCG投与37～38時間後に経腟採卵を行った．平均採卵数は，7.3個であった．GIFTおよび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(34％－150/441，11％－17/150，22％－33/150，3％－4/150)，(対周期妊娠率：28％－58/207，対ET妊娠率：42％－58/140，18％－10/58，23％－13/58，3％－2/58) であった．

両法における妊娠率を症例別に検討した結果，高年齢患者(40歳以上)や精子性状の劣悪な症例では，GIFT法の方が妊娠率は高値を示した．HSGで通過性は認めるが卵管周囲癒着や卵管等に変形を認める症例では，GIFT法の妊娠率は低く，IVF-ETに切りかえることが多かった．成熟した卵子を多数採取した症例では多胎妊娠を防ぐためIVF-ETとすることが多かった．

13．体外受精・胚移植卵の取扱い時に用いるclean bench内簡易培養装置に関する検討

岡本純英・山辺　徹
(長崎大産婦)

体外受精・胚移植では，clean bench内で卵を取り扱う際に，清浄空気流曝露により培地の温度およびpHが変化し，卵への影響が懸念される．従来のdish底面を温めるplate方式は蒸発による培地の浸透圧上昇が問題となる．そこでclean bench内で用いる簡易培養装置を考案し検討した．

方法：事務用letter　caseを改造して上下2段のchamberとし，試料の出し入れの際gasの流出が少なく，しかも操作の容易な引出しにdishを納める構造とした．これをplasticのwater jacketで覆い，37度の温水を恒温槽より還流させた．chamberの上段にはairを，下段には5％CO_2および95％airの混合gasを37度に加温加湿し供給した．上段にflushing bufferに用いているHTF modified液を，下段にはgrowth mediaに用いているHTF液を35 mm dishに入れて配置し，testを行った，庫内湿度(dish上蓋の結露の有無)，培地の温度，pHおよび浸透圧の変化を定期的に測定した．

結果：各因子とも従来より著明な改善をみた．

14．体外受精失敗例の検討
――卵子の染色体および透明帯付着精子数の検討――

田中　温・戸枝通保・田中威づみ
吉田一郎・田中壮介
(田中産婦医院)

体外受精・胚移植において2～6細胞期に発育した胚を複数個（2～4個）移植した場合の妊娠率は42％(58/140)に達し，分割卵を確認できた症例における体外受精・胚移植の不妊症治療における有用性は確立されたものと考えられる．しかし，一方採卵に至るモニターの段階では十分な血中E_2値を示し，超音波検査で良好な卵胞の発育を認め，また精子の性状も問題ないと思われる症例で，全く受精を認めない体外受精の症例を数多く経験している．今回我々はこのような体外受精失敗例に対し，卵子の染色体および透明帯に付着した精子数の2点より検討を行い，若干の所見を得たので報告する．

①卵子の染色体の多くは第II成熟分裂中期に達していない，染色体がscatterとなっている，第1極体を放出していない段階の染色体が認められた．②透明帯付着精子数は分割卵の付着精子数に比べ少数である傾向を認めた．

特別講演

卵をめぐる最近の諸問題

鈴木秋悦（慶応大産婦）

日本不妊学会中部支部学術集会

日　時：平成2年5月26日（土）
場　所：

1．Kallmann症候群の1例

坂田孝雄・辻　克和・高羽秀典
長井辰哉・三宅弘治
(名古屋大泌尿器)

症例は18歳，男，二次性徴の欠如を主訴に受診．既往歴，3歳，肺動脈弁狭窄症の手術，5歳，両側精巣固定術．家族歴，弟，右停留精巣．現症，身長163 cm体重51 kg，指極間距離166 cm，恥毛無し，前立腺ふれず，両側精巣ふれず，陰茎の長さ3 cm，径1.7 cm，染色体は46 XY，頭部X-Pにてトルコ鞍部に変化なし，アリナミンテストで嗅覚なく中枢性

嗅覚障害．内分泌学的検査では，血漿LH，FSH，テストステロンの基礎値は低値を示した．クロミフェンテストにてFSH，LHともに反応性無し．LH-RHテストに反応性あり．(FSHの前値1.4 mIU/mlで60分値は6.8．LHの前値は0.1で60分値は1.5．)HCGテストも反応性あり．(テストステロン前値0.19 ng/mlで，3日目0.72．)視床下部の障害が疑われ，嗅覚異常も明らかに存在し，Kallmann症候群と診断した．

2．Gn-RH analogue＋hMG療法により排卵を認めたhypergonadotropic hypogonadismの2例

大谷嘉明・西垣　新・岡田　久
鳥居裕一・青木　智
(聖隷浜松病院産婦)

挙児希望のあるhypergonadotropic hypogonadismの2症例に対し，Gn-RH analogue＋hMG-hCG療法を施行し排卵を認めたので報告する．
(症例1)チョコレート嚢腫摘出前後にダナゾール療法を受け，その後より排卵障害きたす．clomiphen，hMGによる排卵誘発に全く反応せず．Kaufmann療法による効果もみられないため受診．LH＝68 mIU/ml，FSH＝181.9 mIU/ml，E_2＜10 pg/ml．D 3よりブセレリン開始，D 5よりhMG(ヒュメゴン)投与しhCGに切り換えたところD 15に排卵を認めた．
(症例2)従来より月経不順であった．挙児希望にて受診．LH＝109.5 mIU/ml，FSH＝111.7 mIU/ml，E_2＝12 pg/ml．Kaufmann療法を施行したが効果が見られないため，D 7よりブセレリン開始，D 14よりhMG(ヒュメゴン)投与しhCGに切り換えたところD 24に排卵を認めた．

3．治療により妊娠した不妊婦人の妊娠初期胎のう径の検討

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　(名古屋市立大産婦)

治療により妊娠した不妊症患者妊娠例57例の妊娠初期GS径を調査し，正常月経周期を有する妊娠症例84例のGS径の分布との間で比較検討をした．

正常月経周期を有する妊娠例では，修正妊娠週数とGS径の間にはY＝1.108 X－25.151の回帰直線が認められた．不妊症患者妊娠例のGS径は正常例のGS径より有意差はないものの，低い値を示すものが多い傾向が認められた．また不妊症患者妊娠例のうち排卵誘発を行わなかった自然排卵例では，正常例とGS径分布の差はあまり認められなかったが，排卵誘発を行った症例では，正常例と有意差はないものの，GS径は低い値を示すものが多い傾向が認められ，さらにこのうちhMGを使用した症例でのGS径に著明な差が認められた．このことから，hMGを使用した場合にみられるP/E_2の低下が，初期胚発育に関し着床子宮内膜レベルに何らかの影響を及ぼしていることの可能性が示唆された．

4．同一患者AIHの妊娠周期と非妊娠周期における比較
—卵胞発育，運動精子，estradiol値について—

横沢協子・朝比奈俊彦・林　賛育
寺尾俊彦・川島吉良
(浜松医大産婦)

人工授精の成績向上に精子の状態，卵胞発育，血中ホルモン値は重要な因子となる．しかし，これらを症例間で比較するのは，不妊原因や重症度が異なるため困難である．今回我々は同一症例の非妊娠周期と妊娠周期において運動精子数，卵胞径，卵胞1個当りの血中estradiol(E_2)値を比較し人工授精の成績を検討した．

対象は人工授精によって妊娠した31例で，不妊原因は主に乏精子症，精子無力症，排卵障害，機能性不妊であった．また排卵誘発はclomid-hCG法またはhMG-hCG法により，精子は洗浄・遠沈操作を2回施行した後swim upさせた洗浄精子を用いた．

妊娠周期では，swim up後の運動精子数15×10^6/ml以上，卵胞径17～25 mm，卵胞1個当りの血中E_2値220～530 pg/mlの範囲内に大部分の症例が含まれたが，非妊娠周期ではこの範囲外の症例が多くみられた．

5．精子運動能に対する漢方薬剤の直接作用の検討

広渡恒治・塚原慎一郎・石原　豊
浅田義正・菅沼信彦・友田　豊
(名古屋大産婦)
前田　修・柴田　均・中村潔史
近藤育代・大沢政巳・成田　収
(名古屋大分院産婦)

目的：男性不妊症に対し漢方薬は広く臨床的に使用されている．そこで，今回これらの漢方薬剤の精子運動能に対する直接作用を検討した．
方法：八味地黄丸(TJ－7)，人参湯(TJ－32)，補中益気湯(TJ－41)，牛車腎気丸(TJ－107)のエキスを洗浄精子に添加し，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，コントロール（生理食塩水）群と比較検討した．
結果および考察：1）精子運動率上昇に対し，TJ－32およびTJ－107が明かな直接作用を示した．2）その作用はエキス添加直後に認められ，漢方薬剤の精子に直接作用は非常に短期間で発現するものと考えられた．3）精子運動能の質的解析においては，TJ－107がsperm beat frequencyを有意に上昇させた．

以上の結果より漢方薬剤が精子運動能改善に直接的効果も有すると考えられ，今後臨床応用への可能性が示唆された．

6．受精卵凍結保存における凍結諸条件の基礎的検討

近藤育代・前田　修・柴田　均
中村潔史・大沢政巳・成田　収
（名古屋大分院産婦）
塚原慎一郎・石原　豊・浅田義正
広渡恒治・菅沼信彦・友田　豊
（名古屋大産婦）

目的：受精卵凍結保存の臨床応用に必要な諸条件を，凍結保護剤・受精卵細胞期の点から検討した．
方法：B6C3F1マウスの受精卵を使用し，細胞内滲透性の凍結保護剤としてDimethyl sulfoxide (DMSO)とPropanediol (PROH)の細胞毒性を比較した．各1.5 Mの溶液に25分間受精卵を浸し，後，培養して胞胚化率を，また，非滲透性のSucroseを添加して耐凍能の変化を検討した．さらに以上の結果から凍結に適する細胞期を検討した．
結果：DMSOおよびPROH滲透後の胞胚化率は，DMSO多段階添加57.1％＜PROH一段階添加67.3％と細胞毒性の点でPROHの方が良好であった．Sucrose添加と無添加の場合，PROH 1.5 M Sucrose凍結時0.1 M，融解後0.2 M　52.4％＞PROH単独45.7％であった．さらに，細胞期は，2，4 cell＜8 cell, morula＜blastocystの順で胞胚化，ふ化率が高かった．
考察：受精卵の発育は*in vivo, in vitro*で異なるため，臨床統計からも再度検討を加える必要があると考える．

7．経腟超音波によるLuteal Support時の子宮内膜

藤原義倶・松永要一
(静岡市藤原産婦人科)

Luteal supportは各施設により種類，方法が異なり一定したものがない．Luteal supportの子宮内膜に及ぼす影響を調べる一環として，経腟超音波により子宮内膜を測定した．内膜の厚さは時に卵胞ホルモンが関与している事を考えsupportは主としてestrogen添加による変化を中心に検索した．

約16種類のsupportに対して排卵期，着床期，黄体期後期の各々の内膜を測定した結果，卵胞期から着床期にかけては内膜の増生を示したが，着床期から黄体期後期にかけては，ほとんど影響を及ぼさなかった．この事は外因性のステロイドホルモンは妊娠に関与するほど子宮内膜に影響しない事を示唆した．しかし黄体期初期に行う，①pure FSHと②スプレキュア，hMG, hCG投与法では子宮内膜qualityを変化させると考えられるため，受精着床の改善に関する有力な方法の1つである事が示された．

今後のluteal supportの一方向を示すものと思われる．

8．非妊時子宮内膜における接着性蛋白（fibronectin, fibrinogen, factor X III A）の局在

朝比奈俊彦・林　賛育・寺尾俊彦
川島吉良　　(浜松医大産婦)

目的：我々はこれまで初期妊娠着床部における接着性蛋白の局在を証明し，これらの初期胚接着機構への関与の可能性を示してきた．今回は非妊時子宮内膜における該物質の局在を検索した．
方法：ヒト正常排卵周期子宮内膜（主に分泌期）をホルマリン固定し，酵素抗体間接法を用いfibronectin, fibrinogen,X III因子subunit A(X III A)の染色を行った．
成績：①fibronectin：機能層において上皮直下の間質部に強く陽性染色された．②fibrinogen：機能層において上皮直下の間質部に強く陽性染色された．③X III A：機能層において上皮直下の大量の単核細胞群に陽性染色された．fibronectin, fibrinogen, X III Aはともに基底層には特異的な陽性染色部位はなく，また上皮細胞における染色も陰性であった．
結論：fibronectin, fibrinogen, X III Aは上皮直下の間質部に大量に存在し，これらはblastocystにより上皮が融解された後の最初の接着に作用している可能性が示された．

9．Clomipheneの卵胞成熟および子宮内膜に及ぼす影響について

吉田麻里子・廣田　穣・服部公博
白木　誠・吉村俊和・神谷貴之
友松守彦・丸山邦之・澤田富夫
吉村泰典・河上征治・福島　穣
（藤田学園保健衛生大産婦）

Clomiphene排卵周期（38周期）と自然排卵周期（128周期）を比較し，Clomipheneの卵胞成熟と子宮内膜に及ぼす影響を検討した．

Clomiphene投与群（以下CC群）では，成熟卵胞数，最大卵胞径，尿中estrogen peak値は，ともに自然群より有意の高値を示した．卵胞発育速度は，両群間に興味ある差異を認めた．すなわち，CC群ではLH peakの当日に急激にその速度が停滞するのが特徴的であった．因子分析の結果，CC群でのestrogen高値は，Clomiphene投与による成熟卵胞数の増加により二次的に惹起された結果と考えられた．Clomipheneの子宮および子宮内膜に及ぼす影響を経腟超音波断層法より得られた形態的所見から評価した．その結果，follicular phaseにおいて，両群間で内膜エコーレベル値と子宮体部体積に解離が認められた．また排卵後の内膜体積は，CC群が低値をとる傾向にあり，Clomipheneのanti-estrogen effectにより，子宮体部・内膜が抑制を受ける可能性が示唆された．

10．不妊症患者とクラミジア感染の既往

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　　（愛知医大産婦）

愛知医科大学産婦人科学教室などで不妊を主訴とし，その治療の目的で受診中の患者67名を抗クラミジア抗体価について検討した．抗Chlamydia IgG抗体価は1280倍と高値を示すものもあり，その値の広がりにばらつきが認められた．抗Chlamydia IgM抗体価は急性期の感染時に出現し，速やかに消失することが知られているが，わずかに10倍の境界領域において数例が認められたが，ごく少数であった．抗Chlamydia IgA抗体価に関してはIgMほどではないが，やはり有意に陽性例が対照群と比べ高値であった．

以上のことから不妊症患者においては，卵管因子によるものばかりか卵管因子以外の原因により不妊症となっているものであっても，Chlamydia感染の既往があるものが有意に多いことが示唆された．

11．当科における腹腔鏡施行90症例の解析

川口欽也・北村公也・朝比奈俊彦
林　賛育・寺尾俊彦・川島吉良
（浜松医大産婦）

浜松医大産婦人科不妊外来にて施行された腹腔鏡検査88症例において，検査前後の診断病名の相違について検討した．

対象は，当科不妊外来発足から平成2年4月までの88症例，診断名の内訳は，機能性不妊（女性側因子が疑われない男性不妊も含む）42例，排卵障害3例，子宮内膜症17例，癒着性不妊13例，卵管閉塞9例，卵巣嚢腫2例，その他2例であった．

不妊原因別にみると，機能性不妊症の40％に内膜症または炎症性子宮周囲癒着が認められた．また，検査前に卵管疎通性不良が疑われた例の1/3は腹腔鏡検査により異常なしと診断された．子宮内膜症に関しては，正診率は高いが，逆に検査後，子宮内膜症と診断された例の内40％は前診断はされていなかった．

検査時に腹腔内温生食洗浄を施行しているが，その内4例が2周期以内に妊娠した．

不妊症では，腹腔鏡は重要であり，検査の1つとしてルーチン化する必要があると思われた．また腹腔内洗浄は，不妊治療としてもその可能性が示唆された．

12．ダナゾールのサイトカイン産生能に及ぼす影響について

伊藤直樹・澤入美穂・中川美紀
和田圭介・森　秀弘・玉舎輝彦
（岐阜大産婦）

子宮内膜症の発生機序およびその治療原理の解析にあたって考慮すべき問題として，性ステロイドの免疫系細胞に対する影響が重要である．今回は，ダナゾール（D），Estradiol（E_2）およびProgesterone（P）のOK−432刺激マクロファージのサイトカイン産生能（IL−1およびTNF）と末梢血単核球の増殖性反応に対する影響について検討した．

IL-1βおよびTNF産生能の基礎値において個体差が存在し，高低2群に分類された．生理的濃度のE_2，Pは低産生群において濃度依存性のIL-1β，TNF産生増強効果を発揮した．ダナゾールは，全例において濃度依存性のIL-1β，TNF産生抑制効果を発揮した．また，単核球の増殖性反応を用量依存性に抑制した．

以上，ダナゾールの子宮内膜症に対する抑制効果

は，ステロイドホルモンとしての直接効果に加え，モノカインすなわちマクロファージを経由した免疫抑制効果による可能性が示唆された．

第102回　日本不妊学会関東地方部会

日　　時：平成2年6月2日（土）
場　　所：埼玉県県民健康センター

1．子宮卵管造影法1818例の統計的観察 —特に再疎通例の予後について—

山田祐士・長田尚夫・石川久直
津端捷夫・佐藤和雄
（日本大産婦）

近年，内視鏡や超音波断層装置などによって器質性不妊の正確な診断が可能となった．一方，不妊症の中で卵管性不妊症の占める割合は増加傾向にあり，その治療法について残された課題も多い．我々は子宮卵管造影法によって特に卵管間質部閉塞と診断された症例に対し，非観血的卵管疎通術である選択的卵管造影法（SSG），子宮鏡下卵管形成術（HTT）を行い，その再疎通率について検討した．子宮卵管造影法によって，卵管閉塞と診断された196例に，SSG, HTTなどによって再検したところ，88例44.9％に再疎通を認め，そのうち25例37％が自然妊娠に至った．卵管閉塞，特に卵管間質部閉塞例の中には，いわゆるfalse positiveの症例や一時的な卵管閉塞も多く含まれていることから，HSGなどの卵管疎通検査のみによって，その全てを診断することには限界がある．さらに高率に再疎通が得られることから，SSG，HTTは卵管閉塞の診断，治療法として非常に有用であると言える．

2．当院における不妊外来の現状

竹原祐志・原　利夫・松林秀彦
小穴正博・松本千秋・矢作みき
兼子　智・吉村慎一・泉　康史
小田高久・大野虎之進
（東京歯科大市川総合病院産婦）

平成元年11月1日から平成2年4月30日までの6カ月間における東京歯科大学市川総合病院産婦人科不妊外来で妊娠した患者90名について検討を加えた．

患者は23歳から40歳までの平均31.5±3.9歳の女性で，当院外来受診までの不妊期間は1年から10年の平均3.37±2.04年であった．当院における妊娠までの期間は1か月から5年10か月の平均1.07±1.13年で比較的早期に妊娠が成立していた．妊娠の内訳は，Huhner検査周期の妊娠が9例（10％）で，通気，HSG，腹腔鏡後の妊娠が5例(5.6％)，ルーチン検査終了後の自然妊娠が19例（21.1％），ルーチン検査前の指導のみで妊娠したのが5例（5.6％）と，ルーチン検査が重要であることが明らかであった．人工授精が18例（20％），体外受精が9例（10％）で，その他がホルモン療法単独であった．人工授精群とホルモン治療単独群で，HCG使用が25例，ブロモクリプチン使用が21例，クロミッド16例，HMG 6例，GnRH治療後4例であった．ホルモン治療では潜在性高プロラクチン血症の治療が改めて着目すべき点であると思われた．

3．流産期別にみた習慣流産原因の解析

原　崇文・牧野恒久・岡　親弘
板倉伊吹・酒井　淳・杉　俊隆
豊島　究・岩崎賢一・梅内正勝
斉藤　優・丸山哲夫・野沢志朗
飯塚理八　　（慶応大産婦）

不育症患者1000例について既往流産の時期と原因の関連を検討した．既往流産の合計は2898回で，週数で記録のある流産963回の流産週数のピークは8週にあった．週数または月数で記録された流産は2049回で，その分布は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％と週数で記録された流産時期の分布と差はなかった．全体では11週以前の初期流産が84.8％，12週以降の後期流産が15.2％であったが，原因別にみると子宮筋腫，甲状腺機能異常例では他に比べ初期流産の比率が高く，抗リン脂質抗体陽性例では後期流産の比率が8％と高い傾向を認めた．流産の時期別で検討すると，16週以降の流産歴を有する94例のうち，抗リン脂質抗体陽性例RA，SLE，静脈血栓症等自己免疫異常の関与するものが12％と高い傾向を示した．

4．妊娠ラット下垂体細胞LH分泌におよぼすRU486の作用について

粟田松一郎・大川とみ・神戸川明
荒井　清　　（帝京大産婦）

目的：妊娠ラット下垂体細胞のLH分泌に対する性ステロイドantagonistの作用を *in vitro* で観察した．
方法：妊娠14日目Wister系ラットの下垂体をdisperseし，48時間の培養後GnRHで刺激して放出LHを測定した．(前培養の48時間あるいは最後の4時間のみにRU486, Keoxifene等を適宜添加処置した．)

結果：妊娠ラット下垂体のLH分泌は抑制されており，Keoxifene単独では有意な変化をもたらさなかった．RU486 4時間投与でLH分泌の増加を認めたが，48時間処置では最大効果濃度は10^{-6}Mから10^{-7}Mへと移動した．Keoxifeneも同時添加するとさらにLH分泌の上昇を認めた．
結論：妊娠によって長期間，高エストロゲン，高プロゲステロン環境下にさらされ，ERやPRを介してGonadotrophsのLH分泌は抑制されるが，抗P剤および抗E剤がそれぞれレセプターに働くことによって，その作用が解除されたことが示唆された．

5．培養ブタ顆粒膜細胞の性ステロイド産生に対するブロモクリプチンの影響

鎌田周作・久保田俊郎・田口　誠
大庭美和子・黒沢美穂子・西　望
麻生武志　（東京医歯大産婦）

卵巣からの性ステロイド産生に対するブロモクリプチン（BRC）の直接効果について培養ブタ顆粒膜細胞を用いて検討した．ブタ卵胞由来の顆粒膜細胞を採取し2×10^5cell/ml/wellに調整し，10％FCS加DMEMを培養液に用い細胞培養を行った．この培養系にBRC 10^{-6}～10^{-8}Mを添加し，48時間培養後の培養液中のP_4をMS-17(EIA，持田製薬)にて，$\triangle^4$-A 10^{-6}M同時添加後のE_2をRIAにて測定し，BRCを添加しないcontrol（C）群と比較検討した．さらに顆粒膜細胞内のCa^{2+}濃度をFura 2 fluorescence法により日立分光蛍光光度計にて測定した．BRC添加群ではC群に比し10^{-6}，10^{-7}，10^{-8}MでP_4産生は各々2.23倍，1.99倍，1.69倍，E_2産生は各々0.62倍，0.61倍，0.56倍となり，P_4産生は促進，E_2産生は抑制された．またBRC刺激後の細胞内Ca^{2+}濃度の変動は見られなかった．以上の結果より，BRCは培養ブタ顆粒膜細胞の性ステロイド産生に影響を与え，しかもPとE_2の産生に異なった作用をすることが示唆された．

6．高感度妊娠診断補助試薬セロテスト50の基礎的・臨床的検討

田口　誠・久保田俊郎・大庭美和子
鎌田周作・西　望・麻生武志
（東京医歯大産婦）

高感度な妊娠診断補助試薬セロテスト50（帝国臓器製薬）の基礎的，臨床的検討を行った．92名の婦人より採尿し，セロテスト50を用いて尿中hCG定性検査を行い，同時にゴナビスライド（持田製薬）陰性例46名については，ハイゴナビス（持田製薬）やhCGテトスパック（ダイナボット社）にて検査した．また正常月経周期婦人5例について，その黄体期にhCG 10,000単位を1回筋注し，その後5日間の尿中hCGをセロテスト50ならびにhCGテストパックにて測定した．セロテスト50の測定感度は50　IU/Lで，臨床的検討ではfalse positiveを示した例はなく，50　IU/L前後で疑陽性を示す例も少数見られたが，hCGテストパックと殆ど同じ精度であった．またhCG投与後4日目まで全例陽性を示した．

セロテスト50は高感度で取り扱いが非常に簡単であり，かつ判定時間も短く，しかも今回の基礎的・臨床的検討により，その有用性が確認された．

7．高感度尿中LH測定キット（ハイツインクロンLH）によるLH surgeの検出

百枝幹雄・鈴木尚子・郭　宗明
塩津英美・成　鑑非・久具宏司
石原智子・綾部琢哉・矢野　哲
堤　治・三橋直樹・武谷雄二
水野正彦　（東京大産婦）

LHに特異的なmonoclonal抗体を用い高感度（5 IU/l）に尿中LHを測定できる簡易測定キット（ハイツインクロンLH）により卵胞期の尿中LHの基礎値とLH surgeを分析し，その臨床的有用性について検討した．対象は当院不妊外来患者の自然周期および排卵誘発周期の21周期．月経10日目より排卵確認まで連日，朝夕2回の尿についてハイツインクロンLHによりLHを測定した．その結果，卵胞期のLH基礎値は全例20 IU/l以下であり，10 IU/l未満であったものは52％であった．1日以内に尿中LHが4倍以上かつ20 IU/l以上に上昇した場合をLH surge開始の判定基準と設定すると，全例で排卵あるいは黄体化の前日までにLH surge開始を確認し得，超音波検査で排卵が確認された症例（17例）では排卵前日に53％，排卵2日前は47％の症例にLH surge開始が検出された．なお，surgeのpeak値は20～320 IU/lで，その90％は40 IU/l以上であった．以上より本キットは排卵予知に極めて有用であると考えられた．

8．卵巣灌流法の応用と最近の知見

北井啓勝・伊藤仁彦・金子宜淳
（埼玉中央病院産婦）
大庭三紀子・鈴木秋悦（慶応大産婦）

動脈に入れたガラスカニューレによりウサギ卵巣を灌流し，排卵過程を直視下で経時的に観察した．灌流液にはインスリンおよびヘパリンを含む

Medium199 を 150 ml 使用し，酸素を流した小テフロン管により酸素化して，毎分 1.5 ml で循環させた．灌流装置に入れた卵巣には，灌流液に hCG100 単位を投与した後 4 から 11 時間の間に排卵が起こり，卵の成熟が観察された．また灌流液中には 2 から 4 時間をピークとするプロゲステロンの放出が見られた．この装置を用いて排卵における血小板の役割を検討した．排卵時には卵胞頂部の血管の血流が低下し，卵胞側壁の血管に血小板血栓がみられる．灌流液にヒト血小板浮遊液を投与すると，卵胞の破裂が起きたが，卵の成熟は認められなかった．血小板活性化因子 (PAF) を投与すると，同様に卵胞の破裂がみられた．排卵時の血小板血栓は微量であり，血小板は血栓よりも PAF などの炎症反応の因子を介して卵胞破裂に関与することが推定された．

9．先天性陰茎彎曲症

角谷秀典・小竹　忠・始関吉生
高原正信・島崎　淳
(千葉大泌尿器)

性交時の挿入不全を主訴とした 33 歳の 1 例と陰茎屈曲を主訴とした 20 歳の 1 例の先天性陰茎彎曲症の 2 例を経験した．この 2 例とも陰茎の屈曲方向は腹側であり，前例には，陰茎海綿体白膜を楔状に切開し横に縫合する Nesbit 法を行い，術後性交可能となり満足のいく結果が得られた．後例は，性交可能であり，陰茎屈曲による精神的問題も有さないため，手術は未施行である．

10．精巣腫瘍患者における化学療法後の性腺機能について

小田島邦男・村井　勝・中村　宏
(防衛医大泌尿器)

精巣摘除術後に化学療法を施行し，射精障害が 6 例の患者において，精液検査および内分泌学的検査を行い，報告した．6 例の病理診断は精上皮腫以外の germ cell tumor であった．化学療法は全例とも PVB 療法を 3 クール施行した．精液検査では，精子数については 1 ml 中に 2000 万以上であった症例が 3 例，oligozoospermia が 2 例，azospermia が 1 例であった．azospermia の症例に関しては化学療法から 8 か月と比較的短期間であることが影響しているのではないかと思われた．内分泌学的検索としてテストステロン，LH，FSH，プロラクチンを測定したが，azospermia の患者において FSH の上昇を認めた以外はすべて正常範囲内であった．

11．停留睾丸に合併する副睾丸形態異常の検討

土屋博之，長島金二，小笠原忠彦
大橋　忍
(獨協医大越谷病院小児外科)

今回，停留睾丸に合併する副睾丸形態異常の新たな肉眼的分類を提唱した．自験例 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，重複例を含め，Disconnection 3 睾丸，Discontinuity 2 睾丸，Abnormal attachment 39 睾丸，また Loop epididymis を 14 睾丸認めている．

12．Swim Down 法による運動精子の選択的濃縮

原　唯純・小林俊文・兼子　智
朴　俊英・境田通泰・吉田丈児
野沢志朗　　(慶応大産婦)

成熟運動精子の分離は，人工授精，体外受精などの不妊治療において重要な意義を有している．しかし，従来の方法では性状不良精液からの精子分離効率は十分なものとは言えなかった．我々は，密度勾配担体 Percoll に精液を層積し，Percoll 液中に精子を swim-down させることにより効率よく運動精子を回収できることを見出した．swim-up 法との比較では，平均精子濃度 4100 万/ml，運動率 27 %の精液から精子濃度はほぼ同じであるものの，精子運動率 22 %に対し，75 %と有意に高い運動精子の分離が行えた．また運動速度も速い傾向にあり，精液中の他細胞の混入率も少なくなかった．この結果から，さらに swim-down しやすいように，1)精子濃縮を行う，2) 精子，Percoll 層の接触面積の増大，3) 精子運動を賦活し swim-down を促す，などの方法を考え実験を行い，さらに良好な精子回収率を得ることができた．

13．ヒト精子選別法の検討

豊成由佳・福田　勝・武内裕之
伊藤　哲・高田道夫
(順天堂大産婦)

Swim up 法，Percoll 2 層法，Glass wool 法で回収された精子の数，運動性，運動精子数，正常形態精子率および運動精子の回収率について比較検討した．Swim up 法とは 15 ml 遠心チューブに GPM を入れ，管底に精液を注入し，37℃のインキュベータ内に 30 度の傾斜で 1 時間静置，Percoll 2 層法とは 80 % Percoll を下層に，40 % Percoll を上層に，その上に精液を層積し，遠心，Glass wool 法とは精液を 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方法である．各方法で回収された精子に対しMakler counting chamberを用いて，精子数，運動率を求め，さらにパパニコロ染色後，精子の形態を観察し正常形態精子率を求めた．Swim up法，Percoll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．Glass wool法は精子回収処理時間が短く簡便な方法であることより外来診察時のIUIに対する精子回収法として有用であると考えられた．

14．攪拌密度勾配精子洗滌法により妊娠を得た逆行性射精例と多層パーコール法により妊娠を得た慢性クラミジア症患者についての検討

小塙　清・小塙　寛・松本和美
（玉里メディカル小塙病院産婦）
兼子　智
（東京歯科大市川総合病院産婦）
山口禎章（総合太田病院産婦）

目的：AIHの方法は，近年，多彩な工夫がなされ，妊娠率も向上している．私どもは不連続密度勾配遠心分離法（多層Percoll法），攪拌密度勾配遠心法を用いて精子無力症を中心とする慢性クラミジア症，逆行性射精例を含む症例に対してAIHを施行し，検討した．

方法：多層Percoll法は密度1.07～1.10（濃度56～80％）に調製したPercollを順次層積し，4層での密度差，密度界面を利用，攪拌密度勾配は80％Percollをもとに精液層とPercoll層を攪拌することにより自然に任意の密度界面を作製しうる原理により施行した．

結果：多層Percoll法でIVFを含め42例の妊娠，35の分娩例を得た．慢性クラミジア症例に対しても，精子のクラミジア除去，無菌化により妊娠例を得た．攪拌密度勾配法で64症例中に検討し，21例の妊娠を得た．逆行性射精例2例の妊娠も，それぞれ17，4周期のAIH施行で妊娠を得た．

15．当科における精子自動分析装置の使用経験

山内　宏・高山典子・沖　明典
大沢夏美・佐藤豊実・細川明美
岩崎寛和　　（筑波大産婦）

精子自動分析装置は判定の客観性，迅速性，各種精子運動能パラメーター測定が可能なことから，多施設に導入されつつある．

当科不妊外来ルーチン検査で，精子自動分析装置（Cell Softシリーズ3000，CRYO Resources社製）を用い，271検体について測定を行った．

装置導入に先立ち，従来行われてきたMakler chamberによる精子濃度および運動率の検鏡測定と比較したところ，極めて高い相関が得られた．精子濃度は精液量が多いほど減少する傾向がみられたが，運動率，精子速度，直進性は精液量と明らかな傾向は認められなかった．精子の運動率は精子濃度が多いほど高い傾向がみられた．精子濃度60×10^6未満では精子の直進性は明らかに良くないことがわかった．

16．配偶者間人工授精にて妊娠に成功した逆行性射精の1例

宮内彰人・酒井英明・島内昌仁
梁　英治・根岸方雄
（佐久市立国保浅間総合病院産婦）

我々は夫が逆行性射精，妻が多のう胞性卵巣症候群（PCO）である不妊夫婦に対し，HMG-hCG療法による排卵誘発および配偶者間人工授精（AIH）を施行し，妊娠・出産に成功したので報告する．

症例は原発性不妊2年間の夫婦．夫33歳，逆行性射精に対する薬物療法は無効．Hotchikiss法に準じて尿中より精子回収（精液所見正常）し，AIHを施行した．妻30歳，PCOによる排卵障害あり．Clomid-hCG療法では妊娠せず，HMG-hCG療法に変更したところ，通算9回目のAIHにて妊娠．19週で子宮内胎児死亡により流産となったが，その後2回目のAIHで再び妊娠し，無事，生児（3370 g男）を得た．

逆行性射精のAIHによる妊娠例は本邦でも自験例を含めて32例が報告されているが，女性側にも排卵障害があり，intensiveに排卵誘発を行いつつ妊娠に成功した例としては，本例が本邦初の報告であると考える．

17．hMGによるPCO患者の排卵誘発時の卵胞発育と排卵の観察

朴　俊英・田辺清男・斎城綾子
小林俊文・野沢志朗
（慶応大産婦）

Pure FSHによる排卵誘発後妊娠したPCOS患者において卵胞発育，排卵およびOHSSなどを超音波断層法により観察し，非妊娠周期と比較検討した．対象は不妊期間1年から7年のPCOS患者6人，15周期でそのうち非妊娠周期は9周期であった．観察期間は1989年6月から1990年3月までとした．使用薬剤はpure FSHで，投与量は75 IUから300 IUで，投与方法は間欠皮下投与12周期，皮下投与2周

期，筋肉内投与1周期であった．

間欠皮下投与はNIPRO社Infusion pump SP-31を用い，投与間隔は90分，部位は下側腹部とした．卵胞の観察にはYokogawa medical systems Model RT-3600, 5MHZ．の経腟プローブを使用した．

観察はpure FSH投与前から月経前，または妊娠確認まで毎日，あるいは2日毎にTomographyの如く卵巣全体の超音波写真をとって比較観察した．

その結果，非妊娠例では新しい卵胞が発育して排卵する例もあるが，その頻度および卵胞数ともに少なく，すでにあった卵胞が発育して排卵した例も観察された．しかし，排卵しないままhCGを投与後に，OHSSになったりLUFになった例が多かった．

これに対して妊娠例では，すでにあった卵胞が発育して排卵した例も観察されたが，6例全部で2－3個以上の新しい卵胞の発育がみられ，さらに排卵も確認された．すでにあった卵胞で排卵せずに残りhCG投与後OHSSになった卵胞も観察されたが，非妊娠例より多くはなかった．結果として，PCOS患者ですでにある卵胞の発育，排卵より排卵誘発剤で発育された新しい卵胞の排卵が妊娠につながっている可能性が高いと思われる．

18．PCOの排卵誘発におけるOHSSの分析

後藤　誠・秋山俊晃・許山浩司
川勝雅秀・落合和彦・安江育代
楠原浩二・寺島芳輝
(東京慈恵医大産婦)

目的：PCOを排卵誘発する際に生ずるOHSSに関して，hMG製剤やブセレリン併用による違いを比較検討する．

方法：対象は23例103周期であり，A群はヒュメゴン，B群は日研hMG，C群はブセレリン＋日研hMG使用により行った

成績：(1)排卵率は周期あたり90.3％，妊娠率は症例あたり43.5％で周期あたり10.7％であった．(2) OHSS発生率は周期あたりA群12.1％，B群40.9％，C群21.4％であり，OHSSの程度はWHOの分類でA群はII度2例，III度3例，B群はII度5例，C群はI度2例，II度1例であった．(3) OHSS発生周期と非発生周期の間でhMG投与量と投与期間を比べると，3群ともに発生周期の方が少量で短期間であった．

結論：(1) hMG使用による排卵誘発効果は良好，(2) OHSSの発生は3群間に差はないが，ブセレリン/hMG併用により重症化しにくい．(3) OHSS発生はhMGの過剰投与よりも個々の感受性に関係する．

19．PCOに対するbuserelin-hMG-hCG療法について

竹田　省・飯野好明・高田真一
小島俊行・木下勝之
(埼玉医大総合医療センター産婦)

Clomiphene無効PCO症例に対する排卵誘発はhMG-hCG療法が主流であるが，その妊娠率やOHSS，早朝黄体化多胎等の問題も多い．今回PCO症例に対してbuserelin-hMG-hCG療法を施行し，その内分泌学的変化および臨床成績につき検討したので報告する．

対象および方法：clomiphene無効PCO症例11例に対し，short protocol 8周期，long protocol 9周期を施行した．

成績：妊娠例4例(36.4％)，うち多胎3例であった．II度以上のOHSSは7周期（41.2％）であった．buserelin投与前後のLH, testosterone (T), free-T値は各々9.1±1.3→2.8±0.9 min/ml, 1.2±0.1→0.7±0.1 ng/ml, 2.1±0.3→1.2±0.2 pg/mlであり，いずれも有意に下降した．E_1，E_2値は下降傾向があるも有意差はなかった．

結語：buserelin-hMG-hCG療法はLH, T, free-T値を下げることにより，良好な妊娠率が得られたが，多胎，OHSSの頻度は高かった．

20．OHSSの臨床的検討

飯野好明・竹田　省・高田　真一
小島俊行・木下勝之
(埼玉医大総合医療センター産婦)

hMG-hCG療法を行い，卵胞径が20 mmでhCGにきりかえる方法で，OHSSの発生について検討した．対象はWHOの重症度分類grade IIまたはIIIとなった8例で，hMG-hCG療法total 31回行った．

hCG投与時の最大卵胞径，卵胞数，E_2についてみると，1　最大卵胞数とOHSSは関係が認められなかった．2　E_2が高値ではOHSSの頻度は高い．3卵胞数が多いほどOHSSの頻度は高い．

また8例中6例が妊娠し，そのいずれも，hMG投与中またはhCG投与後数日以内にOHSS(grade II以上）となり，1例は双胎，2例が品胎であった．さらにgrade IIIとなった5例はすべて妊娠したが，3例は双胎以上の多胎妊娠であった．以上よりOHSSになった症例は妊娠例が多く，また多胎妊娠の頻度が高いことが認められた．

現在のhMG-hCG投与法では妊娠のためにはOHSSも止むをえないと思われる．

21. 無排卵周期症に対する温経湯，芍薬甘草湯，当帰芍薬散の順次併用投与の検討と妊娠例について

鈴村早百合・田村昭蔵・野沢志朗
（慶応大産婦）
小塙　清
（玉里メディカルセンター小塙病院）
隅田能男・山口禎章
（総合太田病院産婦）

目的：IVF数回施行後も妊娠を得られない症例，AIHを96回施行後も妊娠を得られていない症例，HMG-hCG療法を10年間施行も妊娠成立をみない長期難治性不妊症例に対し，その排卵誘発，黄体期にかけてT－106(温経湯)，T－23(当帰芍薬散)，T－68(芍薬甘草湯)の3者を順次併用投与し経過観察を行った．なお無排卵周期症，高プロラクチン血症例26例に対して基礎検討を行った．

方法：第1度無月経，無排卵周期症，(クロミフェン無効例を含む)に対し，T－106，T－68を卵胞期に，T－23を黄体期に投与した．ブロモクリプチン経口不可高プロラクチン血症例10例に対しT－68投与で基礎検討した．

結果：T－106，T－68の卵胞期投与における症例別排卵率43.8％，周期別排卵率は48.6％であった．長期難治性不妊症例10例に対し，5例の妊娠を得た．

22. 黄体機能不全診断におけるプロゲステロン2回測定の試み

佐久間　洋・亀井俊郎・小倉博子
川嶋一成・吉成　勉・小倉一仁
平野正子・堀切　浩・池田秀造
相馬廣明・畑　俊夫
（埼玉医大産婦）

プロゲステロンのpulsatile secretionにおける平均値，振幅に関し，正常婦人と黄体機能不全例との間に有意差があることが報告されている．臨床的に応用すべく，不妊または不育を主訴に当院を受診した患者で治療を加える前の原発不妊6例，続発不妊4例に対し，高温相4～6日目に2時間間隔で測定を試みた．測定周期の高温相持続日数とプロゲステロン値の関係は比較したところ，高温相12日未満と高温相12日以上では，1回目，2回目各々では有意差は認められなかったが，1回目と2回目の値の平均値を，各々比較してみたところ，12日未満では14.08±5.12 ng/ml，12日以上では20.12±13.96 ng/mlであり，危険率5％で有意差を認めた．また，1回目と2回目の差に関しては検討したところ，高温相持続日数12日未満では2.92±1.56 ng/ml，12日以上では3.96±4.04 ng/mlであり，両者間に有意差を認めなかった．プロゲステロン測定における数回の測定は有用であると思われた．

23. Occult hyperprolactinemiaにおける黄体機能に関する検討

道下正彦・安藤一道・山田清彦
水沼英樹・伊吹令人・五十嵐正雄
（群馬大産婦）

今回我々は当科不妊外来を受診した婦人にTRH負荷試験（500 μg）を行い，負荷前，負荷後15分，30分に採血し，血中PRL値をスパックーsPRLキットにて測定し，これらの黄体機能を検討した．対象者は，自然排卵周期を有し乳漏を認めない正PRL血症性不妊婦人36名である．その結果，最大血中PRL値が50 ng/ml未満の正常型が8例，50～70 ng/mlの境界型が12例，70 ng/ml以上の過剰型が16例であった．またTRH負荷試験後の最大血中PRL値と負荷前値の比を反応率としてみると，正常型の7.0±2.3に比べ，境界型12.9±4.7，過剰型14.9±4.1と有意の高値を示し，境界型と過剰型が同じ病態を示すことが示唆された．これらの黄体機能不全発生率は28例中7例（25％）であり，他21例（75％）では明らかな黄体機能異常を認めないことから，このような病態を解明するためには，卵胞発育や，より精度の高い黄体機能の評価など今後さらに検討が必要と思われた．

24. 抗癌剤治療により一過性に卵巣性無月経となった症例

久具宏司・藤井知行・武谷雄二
水野正彦　（東京大産婦）

抗癌剤による化学療法により卵巣性無月経となり，2年間のKaufmann療法の後，排卵性月経周期を回復した症例を報告する．

症例は31歳，5回の妊娠は全て初期の流産である．習慣性流産の診断で当科初診となり，4回のリンパ球皮内輸血を行ったが，妊娠には至らなかった．血小板数が100×10^4/ml前後であり，精査により原発性血小板血病と診断された．Busulfan 1～2 mg/day，5か月間の服用により，血小板数は30×10^4/mlと寛解し休薬となったが，休薬前より無月経となった．ホルモン検査(LH：149mIU/ml，FSH：148mIU/ml，E_2：7pg/ml)により，卵巣性無月経と診断し，Kaufmann療法を2年間断続的に行った．2年間の

後，自然周期で二相性の基礎体温となり，超音波検査上も卵胞発育，排卵が観察された．ホルモン検査でも，LH：6.8mIU/ml，FSH：15.9mIU/ml，E_2：79pg/mlで，E_2上昇に続くLH surgeおよび黄体期のP_4上昇が認められ，排卵性月経周期の回復がうかがえた．

25．GnRH agonistの持続皮下注法と徐放剤投与法（TAP-144SR）における子宮内膜症治療の内分泌学的変動の検討

北澤正文・正岡　薫・星合　明
熊坂高弘　　(獨協医大産婦)

目的：GnRH agonistを用いた子宮内膜症の治療において，持続皮下注法と徐放剤でホルモン動態について比較検討した．

方法：子宮内膜症患者5例に対しBuserelin 200 μg/dayを持続皮下注し，他の20例に対してはTAP144-SR（3.75 mg）を4週間に1度，計6回皮下に投与した．

結果：持続皮下注法では，LH, PRLは一過性に上昇した後4週以降漸減したが，FSHはすみやかに低下し12週以降上昇傾向をみせた．E_2は4週以降10～20 pg/mlの間で変動した．徐放剤においては，持続皮下注法に比べ同様の変動を示したが，投与終了から排卵までは持続皮下注法に比べ遅延した．

結論：持続皮下注法に対しTAP144-SRの徐放効果は，Buserelinの持続皮下注法と同様な内分泌的効果をもたらすことが判明した．

この意味でTAP144-SRは簡便かつ強力な治療といえる．

26．GIFT時，内視鏡採卵困難例に対する超音波採卵

臼井　彰・安部裕司・雀部　豊
大高　究・森田峰人・小島栄吉
久保春海・百瀬和夫
(東邦大第1産婦)

1978年IVF-ETによる妊娠例が報告されて以来その臨床応用は急速に普及した．

今回我々はGIFT適応例であったにもかかわらず内視鏡施行時卵巣を確認できず，同時に超音波下採卵しGIFT法を施行した2例を経験したので報告した．

症例1．32歳主婦，8年不妊，他院にて両側卵管周囲ゆ着および左卵管留水症と診断され癒着剥離術，卵管形成術施行されるも妊娠にいたらず当科受診．AIH 8回施行後GIFT適応となる．GIFT施行時両側卵巣は癒着著明にて確認できず，右卵管のみ確認できた．超音波経腟採卵にて10コの卵を回収し右卵管に配偶子移植を行った．

症例2．30歳主婦，5年不妊，月経困難症，不妊を主訴として当科受診．両側卵巣のう腫および腹腔内ゆ着強度のため腫瘍摘出ゆ着剥離術施行．その後のsecond look laparoscopyにて両側卵管疎通性を確認しGIFT適応となった．

GIFT時左卵巣，卵管は強度癒着のため確認できず右卵管のみ確認できたため同時に経腟超音波採卵を行い4コの卵を回収配偶子移植を行った．この症例は妊娠に至った．

27．男性不妊症に対するGIFT療法の有用性について

本山光博・荒木重雄・佐山雅昭
赤堀彰夫・玉田太朗
(自治医大産婦)
臼井謙一　　(臼井医院)

新しく発売されたSerono Gamete Preparation Medirem (GPM，セロノ社)を用い，活動精子と分離卵管内人工授精およびGIFT療法に応用したところ，臨床上極めて高い有効性を認めたので報告する．GPM 8mlと精液3 ml（または全量）を混和し，遠心後，精子ペレットから精子浮遊液を作製（第1操作），それをSM管(ケンメディカル社)でswim-up沈降を行い，活動精子を分離した(第2操作)．第1操作では，精子濃度比は207％と上昇したが，運動率比は108％と殆ど変化しなかった．第2操作では，120～150分インキュベーションを行い，精子浮遊液下層½を用いた場合，混度比では142％，運動率比では281％と著明な改善を認めた．乏活動精子症(活動精子数20×10^6以下)にこれを応用し，GIFTを行ったところ17名中9名の妊娠に成功した．妊娠例中最少活動精子濃度は，3×10^6/mlであった．卵管内人工授精では，21名中6名の妊娠に成功した．

28．当院における人工授精の現況

古谷健一・市川秀志・石川尚顕
壽圓裕康・堀江　稔・牧村紀子
永田一郎　　(防衛医大産婦)

目的：AIH（配偶者間人工授精）を行う際の精子調整法として，Percoll法(P法)およびswim-up法(S法)の2種類を比較し，その特徴と適応を検討した．

方法：対象は当院不妊外来で，通常のAIHが無効な12例で，計73回（P法：41回，S法：32回）の精子調整を行った．P法：20％Percollに2倍希釈精

液を重層，300 G×15分遠沈後，管底の精子を得る．S法：SCM 3 mlの管底に精液1 mlを置き，傾斜30度，37℃，15分静置し，上層のSCM中の運動良好精子を得る．
成績：(1) P法では精子濃度は2.8倍に濃縮され，運動率は1.3倍に増加した．(2) S法では運動率は1.4倍に改善したが，精子数は60％に減少した．(3) 調整後のバックグランドはS法がP法よりも優れていた．
結論・考察：(1) P法，S法ともに精子運動率の改善が認められた．(2) 調整法の選択に関しては，S法は精子数は比較的多いが，運動率の低い症例に適し，P法は精子数が絶対的に少ない症例に敵すると思われた．

29. 経腟超音波所見よりみた子宮外妊娠MTX療法の適応と限界

鈴木隆弘・本田育子・小林善宗
井上正人・藤井明和
(東海大産婦)

経腟走査法による外妊の診断率とその所見による治療方法の選択，ことにMTX療法の適応と限界について検討した．
①外妊診断の有用性について
80例中64例（80％）に着床部の描出が可能であり，子宮外胎嚢像を認めた36例中7例(19.5％)に児心拍を認めた．子宮外胎嚢像は5～6週で十分描出可能で，7週以後は子宮外胎嚢像か卵管血腫像のいずれかは，必ず描出された．
②MTX療法の適応と限界について
MTX療法を施行した43例について検討した．経腟超音波所見で子宮外胎嚢像を認めた症例では，MTX療法は2クール以上に長びき，さらに開腹手術に至る症例も多く，一方卵管血腫像を主要所見とする外妊早期流産例は，MTX療法は予想以上に有効で，良い適応と考えられた．経腟超音波診断は，外妊の診断のみならず，治療方法の選択およびその予後の推測に非常に有用であった．

30. 反復外妊等により3回の卵管保存手術後自然妊娠した1症例

西出　健・辻　泰二・山内　宏
細川明美・本部正樹・大谷早百合
岡根真人・宮川創平・西田正人
岩崎寛和　　(筑波大産婦)

28歳の主婦，未妊婦．左卵管膨大部妊娠にて手術の際，右卵管采閉鎖があったため，左卵管部分切除後，肉眼下端端吻合術，および右卵管采開口術を施行した．その後，約1年4か月の間に自然流産1回，対側（右卵管）にも膨大部妊娠を繰り返し，今度は，顕微鏡下右卵管端端吻合術を行った．術後，両側卵管留水症となったため再開腹し，更に，両側卵管開口術，および癒着剝離術を加えた．
3回の卵管形成術を行ったが，その後，自然妊娠に至らず，GIFTも試みたが不成功に終わった．IVF-ET以外には生児を得る方法はないと判断していたところ，自然妊娠し，初回手術より4年後に無事生児が得られた．
当院で卵管microsurgeryを行った患者のうち，63％の者が妊娠し，うち62.5％が生児を得ており，良好な成績と考えている．今後も両側卵管閉鎖や，卵管の温存が望まれる子宮子宮外妊娠症例などに，積極的に卵管温存手術を行っていきたい．

31. 排卵周期における経腟超音波による子宮内膜像の検討

大野祐子・石塚文平・近藤俊彦
渡辺研一・栗林　靖・堀越裕司
斉藤寿一郎・浜田　宏
(聖マリアンナ医大産婦)

目的：経腟超音波（TVP）の日常診療への導入により，外来での子宮内膜像の観察が容易になった．そこで今回私達は排卵周期における，TVPによる子宮内膜の厚さ（EMT）の変化を主に卵巣性ステロイド値との相関において検討した．
対象：不妊外来通院中の排卵周期を有する患者71名で，hMG-hCG投与周期5例，妊娠周期4例を含む．
方法：LHピークまたはBBT低温相最終日前3日以内およびBBT高温相5～7日にEMTを測定，同時に血中E_2，P値を測定した．
結果：EMTは卵胞後期10.54±2.7 mmより，黄体中期13.86±5.0 mmと有意($P<0.01$)に増大した．両者の間には$\gamma=0.793$, $P<0.05$の有意な相関が見られた．卵胞後期EMTは黄体中期血中E_2値（$\gamma=0.594$, $P<0.05$），およびP値($\gamma=0.514$, $P<0.05$)と有意な正の相関を示した．これらの結果は，妊娠周期，hMG-hCG投与周期でも同様に認められた．
考察：卵胞後期EMTは，排卵後の黄体機能を予測する手段として用い得る可能性が示唆された．

32. Iopamidolによる HSGの試み

田巻勇次・江口　修
(松戸市立病院産婦)

水溶性子宮卵管造影剤であるエンドグラフィンが

製造中止となったため，新たな水溶性造影剤を求めて，尿路血管造影や脊髄造影に用いられている非イオン性低浸透圧性造影剤であるイオパミロンによるHSGを試みた．20例に施行．6～10 mlのイオパミロン注入直後に正面像と側面像，5分後に正面像を撮影した．

成績：子宮腔像は粘稠度が低いため内膜拡張は油性造影剤に比べ少ないが，contrast densityは充分である．卵管像は卵管間質部，峡部，膨大部レリーフ像もよく造影された．拡散像は組織親和性が高く注入直後からよく拡散するが，粘稠度が低いため拡散が早く，診断至適時間が短い．検査後の疼痛は20例中1例にみられたが，エンドグラフィン施行時の疼痛に比べ明らかに軽度であった．副作用は認められなかった．

Iopamidol（イオパミロン）は粘稠度が低いという点で多少の問題はあるが，副作用も少なく造影効果も良好で，子宮卵管造営剤として有用である．

特別講演

The relationship between sexual dysfunction and Infertility

Wabrek, A. J.
Director Medical Sexology
Hartford Hospital
Hartford, Connecticut U.S.A.
and
Professor OB-GYN
University of Connecticut
School of Medicine
Farmington, Connecticut U.S.A.

The relationship between sexual dysfunction and infertility may be as follows:

1) Sexual dysfunction is the only cause of the infertility.
2) Sexual dysfunction is a consequence of the infertility-either the workup, the infertility diagnosis, or the infertility treatment.
3) Sexual dysfunction and infertility are not related.

Every infertile couple needs to have a sexual history taken. This may be very difficult because many many physicians received virtually no training in medical school or during their residencies to get comfortable asking these personal questions. When the physician's discomfort is combined with patient reticence and a cultural norm that discourages talking about sex, it is easy to see why sexual matters rarely get discussed. Physicians have learned by training how to get comfortable asking very personal questions in other areas of patient's lives and, obviously, can get comfortable asking sexual questions with some practice and experience. Ten basic questions about sexual functioning need to be asked during an infertility evaluation. They are:

1) Is the couple able to have intercourse?
2) Is the man able to get an erection?
3) Is the man able to penetrate the vagina with that erection?
4) Is the man able to maintain that erection during intercourse?
5) Is the man able to ejaculate?
6) Does ejaculation occur before vaginal penetration?
7) Are there times during intercourse where the man is unable to ejaculate?
8) During intercourse does the man have a sensation of ejaculation but no semen actually comes out of the penis?
9) Are vaginal penetration and intercourse painful for the woman?
10) What is the approximate frequency of intercourse?

The most prevalent female sexual dysfunction causing infertility is vaginismus. It is defined as a muscular spasm of the levator ani and pubococcygeal (PC) muscles. The diagnosis of vaginismus covers a spectrum from painful penetration in mild cases to an inability to have intercourse in severe cases. Mild cases may not be so apparent to the physician but may be contributing to a relatively low sexual frequency because of the pain and discomfort the woman is experiencing. If vaginismus is present, treatment options may be either:

1) Vaginal dilators and counseling.
2) Artificial insemination by husband.

It is always most helpful to give a choice to the couple on how they would like the condition treated. If they decide on vaginal dilators and counseling, it is most helpful to give a woman either a

small vaginal dilator or a plastic test tube, or some other non-breakable dilator-shaped object that could be placed by the woman in her own vagina in the privacy of her own home. It is important to emphasize that she use copious amounts of lubricant. Outcome studies have demonstrated that success is much more likely when the woman herself takes responsibility for inserting the dilator into the vagina rather than the husband or gynecologist doing it.

If the couple decides on artificial insemination by husband, the semen can be collected in the privacy of the couple's home, either by 1) masturbation, 2) the woman's hand rubbing the penis to orgasm or, 3) rubbing the penis against the clitoris or the vaginal opening until ejaculation occurs. After ejaculation, the semen may either be injected into the vagina at home or brought into the physician's office for insemination there. Most couples, in the author's experience, feel that physicians have intruded enough into their personal lives and prefer to do the insemination at home. A small syringe is used to draw up the semen and eject it into the vagina. It does not get injected into the cervical os. It is interesting to note that Dr. John Hunter in the late 1700's advised a male with hypospadias to inject seminal fluid into his wife's vagina using a syringe. Anormal pregnancy resulted from that.

Sexual dysfunction may also occur as a consequence of infertility testing. Approximately 10% of males develop a sexual dysfunction when a physician requests a post-coital test. In approximately half the cases the male becomes impotent, or in the other half are unable to ejaculate. Typically, these sexual difficulties were not present prior to the infertility workup.

Some sexual dysfunctions develop as a consequence of an infertility diagnosis. After a diagnosis of azoospermia, over half of the males developed erection problems. The onset typically occurred within one week of the diagnosis and lasted from one to three months with a mean duration of five weeks. Being supportive of the male and assuring the couple that this is a selflimiting problem is often the only treatment that is needed. The diagnosis of azoospermia may also have a significant impact on the female. Approximateiy 40% of the wives became quite upset and angry over this diagnosis and severe marital difficulties occurred in about three months.

Emotional stress may also lead to oligospermia. Testicular biopsies performed on males awaiting sentencing for rape and impregnation showed complete spermatogenic arrest. Try to be as patient and understanding of the psychological and sexual aspects of infertility difficulties as you are of the medical aspects.

第3回　Microfertilization Seminar

日　時：平成3年4月20日（土）13：00～17：00

会　場：日本都市センター
東京都千代田区平川町2－4－1
Tel. 03-3265-8211

内　容：Microfertilizationおよびその関連の研究

演題募集：上記に関する一般演題を募集します
演題名，演者名（所属），要旨（400字以内）

一般演題締切：平成3年2月末日

連絡先：東京都港区西新橋3－25－8
東京慈恵会医科大学産婦人科学教室
Tel. 03-3433-1111（内線3521）
（担当　楠原浩二）

日本アンドロロジー学会第10回学術大会

日本アンドロロジー学会第10回学術大会を下記の通り開催致しますので御案内申し上げます。

日本アンドロロジー学会第10回学術大会
会長　三宅弘治

1．会　期：1991年6月21日（金）・22日（土）

2．会　場：名古屋市中小企業振興会館（吹上ホール）
名古屋市千種区吹上2－6－3
Tel　052(735)2111

3．学術大会：

1）招請講演　「精索静脈癌の診断と治療」(仮題)
Stuart S. Howards M. D.（ヴァージニア大学泌尿器科教授）

2）特別講演　「前立腺と男性ホルモン」
碓井　亜（広島大学泌尿器科教授）
「陰茎勃起における VIP (Vasoactive intestinal polypeptide)
の果たす役割について」
青木　光（岩手医科大学泌尿器科講師）
「精巣および精巣上体におけるアンドロジェン微小環境」
山本雅憲　（名古屋大学泌尿器科講師）

3）シンポジウム「精巣障害性実験動物モデル」
司会　　西宗義武　（大阪大学微生物研究所教授）

4．演題募集要項

(1)　演題申込み期限は1991年3月20日です。申込書一式は下記へ御請求下さい。

(2)　(A)演題申込書・(B)演題受領書・(C)演題採用通知書に必要事項を御記入の上予稿集原稿（コピー3部添付），厚紙と共に同封の返信用封筒にて書留郵便にして下記へお送り下さい．

送付先：〒466　名古屋市昭和区鶴舞町65
名古屋大学医学部泌尿器科学教室内
日本アンドロロジー学会第10回学術大会事務局
岡　村　菊　夫
TEL (052)741-2111 内線2270
FAX (052)741-3040

第14回産婦人科マイクロサージャリー学会・学術講演会

I　会　期：平成3年7月18日（木）

II　会　場：大阪国際交流センター
〒543 大阪市天王寺区上本町8－2－6
Tel　06－772－5931
Fax　06－772－7600

III　特別講演：
「形成外科の婦人科領域への応用」
演者：大阪警察病院
形成外科　　前田　求部長
座長：大阪大学　　谷澤　修教授

IV　シンポジウム：
「卵管留水腫の診断と治療」
座長：名古屋市立大学　　八神喜昭教授

V　一般講演募集要項：
1．演　題：演題名・所属・氏名（演者に○印）
400字以内の抄録をお送り下さい。
2．締切日：平成3年4月27日（土）
3．宛　先：〒553 大阪市福島区福島1－1－50
大阪大学医学部産科婦人科学教室
マイクロサージャリー学会係　　三宅　侃宛
Tel　06－451－0051　内線2289

第14回産婦人科マイクロサージャリー学会
学術講演会
会長　　谷澤　修

第31回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会

Ⅰ　会　期：平成3年7月19日（金）・20日（土）

Ⅱ　会　場：大阪国際交流センター
〒543 大阪市天王寺区上本町8－2－6
Tel　06－772－5931
Fax　06－772－7600

Ⅲ　会長講演：
「子宮体癌診断における子宮鏡検査」
演者：大阪大学　　谷澤　修教授
座長：横浜市立大学　　水口弘司教授

Ⅳ　特別講演：
「卵管鏡の実際」
演者：藤田学園名古屋保健衛生大学　　河上征治教授
座長：大阪医科大学　　杉本　修教授

Ⅳ　シンポジウム：
「内視鏡下手術」
座長：日本大学　　佐藤和雄教授

Ⅴ　一般講演募集要項：
1．演　題：演題名・所属・氏名（演者に○印）
400字以内の抄録をお送り下さい。
2．締切日：平成3年4月27日（土）
3．宛　先：〒553 大阪市福島区福島1－1－50
大阪大学医学部産科婦人科学教室
内視鏡学会係　　佐治文隆宛
Tel　06－451－0051　内線2289

第31回日本産科婦人科内視鏡学会
学術講演会
会長　　谷澤　修

日本医学会だより

1990年10月　No. 4

1．日本医学会幹事会

去る1990年9月11日に，第16回幹事会が開催され，主に①第23回総会の準備状況，②日本医師会シンポジウム，③医学用語管理，④認定医制について報告および審議された（2～6の各項目参照）．

なお，席上会長から，総会ありかた委員会の答申に基づいた学術活動の新しい形に関して慎重に準備を開始する段階にきている．また，最近の医学の急速な進歩，社会的要請やそれに対する分科会の種々の活動などに鑑みて，日本医学会としてはその基本的な性格や方針について，この際，深く検討しておく必要があるとの見解が述べられ了承されたのち，別個に委員会等を設置して検討すべきだとの意見が出された．

2．第23回日本医学会総会の準備状況

明1991年4月5日～7日の3日間，京都において開催，メインテーマは「転換期に立つ医学と医療―創造と調和と信頼―」で，準備は全面的に集行中．

学術プログラムは，演題および演者の全容が決定し，癌，老化，脳，心血管，免疫など17分野についてのテーマ，講演26，医学の進歩シリーズ257，テーマシンポジウム・パネル126などの準備が完了した．

海外招聘者は，利根川進，T. Starazl博士ら7名，開会講演は福永光司元京都大学人文科学研究所長に，閉会講演は作家の司馬遼太郎氏に決定．

展示については，学術，医用機器，薬品，医療情報，医療サービス，医学史の会場が設定され最新和洋医学書展示即売会も企画されている．

総会の成功は，ひとえに多数の参加にあり，医師会員の登録促進に努力しているが，一方，各分科会会員の登録申込み（第23回日本医学会総合登録室：京都市左京区吉田牛の宮町11－1　TEL 075-752-4747）に期待している．なお，すでに26分科会が認定医の更新条件に，総会出席を取入れている．

3．日本医学会シンポジウム

第90回シンポジウムは，次のとおり開催される．

主題：動脈硬化'90
　　―その発生要因・機構・進展―
日時：1990年11月20日（火）
　　10：00～17：00
場所：日本医師会館大講堂
組織委員：京極方久（東北大・病理）
　　吉田洋二（山梨医大・病理）
　　北　　徹（京大・老年医学）

参加は無料．予め本会に葉書で申込みのこと．

☆日本医学会シンポジウム記録集：第85回「血管内皮細胞の機能と障害」，第86回「前癌病変」，第87回「スポーツ医学の今日的課題」を希望の方は，本会に葉書で申込みのこと．無料頒布．

4．日本医学会シンポジウム企画委員会

委員は5名（遠藤　實，京極方久，尾形悦郎，桜井健司，桜井治彦）で，年間企画を行っている．次回開催は12月11日，日本医師会館の予定．

5．医学用語管理委員会

現在，草間委員長の許で9委員が1991年3月中の医学用語辞典欧和版刊行を目指して，努力中．辞典の名称および装丁の検討段階にある．引き続き，和欧版の初校にとりかかる予定．

6．認定医制についての三者懇談会

第10回三者懇談会を，8月14日（火）に開催．

主に，1．医療法の改正と診療科目名の問題について，2．基本的科目について，3．認定医の公認方法について等が検討された．

日本医学会からは「認定医制度に対する日本医学会の考え方（案）」を提示した．新たな発展が期待される．

7．医学賞・医学研究助成費選考委員会

第2回医学賞・医学研究助成費選考委員会が，9月11日（火）午前・午後にわたり開催された．

1990年度日本医師会医学賞は，推薦27件中，基礎・社会部門から，岸本忠三阪大教授の「インターロイキン6（IL-6）に関する研究」，臨床部門からは，垂井精一郎阪大教授の「筋肉の酵素異常に関する臨床的ならびに分子生物学的研究」，阿曽佳郎東大教授の「腎盂尿管鏡の開発に関する基礎的・臨床的研究」に決定．

1990年度日本医師会医学研究助成費は，推薦65件中，基礎・社会・臨床部門を通じて，次の15名が選考された．

基礎部門：熱海佐保子（山梨医大）「脊髄後角における痛覚制御機構―免疫細胞化学的研究―」，石川栄治（宮崎医大）「生体物質および病因物質の超高感度測定法の開発と臨床応用」，稲垣千代子（関西医大）「脳の記憶機構のクロライドイオン関連シグナルによる解析」，名倉　宏（東北大）「ヒト消化管における免疫機構の神経内分泌による制御機構の研究」，渋谷正史（東大）「がん遺伝子の活性化とシグナル伝達の異常の研究」

社会部門：重田定義（東海大）「脳の発育期における化学物質暴露の高次神経障害の発生機序に関する研究」

臨床部門：牧野英一（千葉大）「糖尿病発症とインスリン受容体遺伝子異常に関する研究」，松本俊夫（東大）「骨粗鬆症の発症機序および治療に関する基礎的研究」，友池仁暢（九大）「冠動脈攣縮の成因と病態生理に関する研究」，松本脩三（北大）「免疫不全症候群の病態と治療に関する研究」，吉野肇一（慶応大）「癌の生物学的悪性度の指標としての癌辺縁組織内蛋白分解酵素活性値の利用」，越智隆弘（阪大）「重症慢性関節リウマチ患者の臨床的および病態的解明」，田野保雄（国立大阪病院）「眼内血管新生と手術」，和氣徳夫（九大）「絨毛性疾患の発症機構に関する分子遺伝学的研究」，西沢　理（秋田大）「ネコの橋における蓄尿神経機構に関する研究」に決定．

なお，11月1日の第43回日本医師会設立記念医学大会の席上，表彰される．

8．複写権センターについて

複写権センター設立については，日本医学会としては，積極的対処を手控えているが，最近分科会宛に情報を配布する段階に致っている．

日本医学会
〒113 東京都文京区本駒込2-28-16
日本医師会館内　TEL 03-3946-2121（代表）
FAX 03-3946-6295

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，平がなを用い，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の実費は著者負担とする．

14．投稿先および諸費用の送付先は，東京都中央区日本橋2丁目14番9号 加商ビル(株)アイシーエス企画内 社団法人 日本不妊学会　事務局とする．

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　白井将文　平川舜
穂坂正彦　毛利秀雄

EDITORIAL BOARD

Kazuo MOMOSE (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA　Yoshiro ISHIJIMA　Tuyoshi ENDO
Toshihumi KOBAYASHI　Masafumi SHIRAI　Shun HIRAKAWA
Masahiko HOSAKA　Hideo MORI

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　㈱アイシーエス企画内
（Tel. 03-3272-7077）

日本不妊学会雑誌　36巻1号

1990年12月25日　印刷
1991年1月1日　発行

編集兼発行者　百瀬和夫
印刷者　安永修
東京都文京区関口1－43－5
印刷所　有限会社ループ社
東京都文京区関口1－43－5
発行所　社団法人　**日本不妊学会**
東京都中央区日本橋二丁目14-9
加商ビル㈱アイシーエス企画内
Tel（03）3272－7077
振替口座番号　東京　7－93207