

ISSN  
0029-0629  
CODEN:NFGZAD

# JAPANESE JOURNAL OF FERTILITY AND STERILITY

*Vol. 36* No.4

October  
1991

# 日本不妊学会雑誌

第36卷 第4号

平成3年10月1日

# 日本不妊学会誌

## 第36巻 第4号

平成3年10月1日

### —目 次—

#### 原 著

- Growth hormone のラット黄体に於ける Progesterin 産生分泌能 (英文) ……白杵 愨 …… 1  
全自動 EIA システム「IMx」を用いた血中、LH、FSH 測定法の  
基礎的検討……………石松正也・他 …… 6  
スポーツ活動時 prolactin 分泌亢進に対する L-Dopa の抑制効果 (英文) ……目崎 登・他 …… 13  
灌流ラット下垂体前葉細胞からのパルス状 LH 分泌に及ぼす  
ゲスターゲン剤とそのアンタゴニストの影響について (英文) ……栗田松一郎 …… 19  
黄体の消長における aromatase 局在の変化 ……黄 宏駿・他 …… 28  
ウサギ偽妊娠黄体における superoxide dismutase 活性と過酸化脂質 ……宮崎豊彦・他 …… 34  
排卵誘発後の卵胞残存に対する Buserelin 投与の臨床効果について……………竹田 省・他 …… 40  
過排卵処理ラット卵巣における血小板の活性化について……………李 小梅 …… 48  
当科における最近2年間の体外受精・胚移植法(IVF-ET)実施成績の解析…福岡正恒・他 …… 55  
体重減少性排卵障害に対する温経湯の投与による内分泌変動  
—とくにゴナドトロピンの律動性分泌について—……………後山尚久・他 …… 61  
高い分析率で観察した自然流産胎児の染色体異常 (英文) ……佐藤孝道・他 …… 66  
外性子宮内膜症および子宮腺筋症の診断における自己抗体測定の有用度 (英文) 太田博孝 …… 73  
Danazol のヒト培養子宮内膜間質細胞の機能形態におよぼす影響について…田口 誠・他 …… 79  
子宮筋腫におけるグリコサミノグリカンの検討……………武井成夫 …… 85  
S字状結腸間膜内に腫瘤を形成した polypoid endometriosis の1例  
—超微形態学的観察からの一考察—……………中村正也・他 …… 92  
配偶者間人工授精(AIH)後経ダグラス窩精子回収試験の有用性 ……栗林 靖・他 …… 99  
ブタ精子中に見いだされるアクロシンおよび  
新しい塩基性アルギニアミダーゼについて……………小林俊文・他 ……105  
hCG 投与によるラット精巣のテストステロン産生の調節と  
ペントースサイクルへの影響……………町澤一郎 ……110  
補中益気湯の乏精子症に対する効果……………夏山 知・他 ……117  
ラットの精巣間質におけるマクロファージとライディッヒ細胞の  
生後発育齢に伴う形態学的変化……………徳江章彦・他 ……121  
視床下部-下垂体-精巣系の老化 第二報:下垂体機能の老化の研究……………三熊直人・他 ……128  
実験的精索静脈瘤ラットにおける精子形成及び精子成熟におよぼす  
clomiphene citrate の効果 (英文) ……ニコラオス・ソフィキティス・他 ……133  
精索静脈瘤の睾丸組織像の検討……………角谷秀典・他 ……140  
電気刺激によるラット精巣上体尾部精子の大量回収法……………川上 寧・他 ……146  
超音波カラードップラー法により測定した勃起能正常者の陰茎血流動態……………鎌田清治・他 ……150  
抗癌化学療法後に精子を得た精巣腫瘍の1例  
—当科にて治療を受けた精巣腫瘍患者の精液所見について—……………山本秀和・他 ……156

# Japanese Journal of Fertility and Serility

(Vol. 36, No. 4, 1991)

Japan Society of Fertility and Sterility

## CONTENTS

### Originals

- Growth Hormone Stimulates Ovarian Progesterin Production  
by the Corpus luteum ..... *S. Usuki* ..... 1
- Value of Automatic Enzyme Immunoassay System "IMx"  
for Serum LH and FSH ..... *M. Ishimatsu, Y. Nakamura, N. Sugino,*  
*H. Tamura, K. Kawamoto & H. Kato* ..... 6
- Suppression by L-dopa of Prolactin Secretion During Exercise  
in Female Athletes ..... *N. Mesaki, J. Sasaki, S. Sohda,*  
*Y. Nabeshima & H. Iwasaki* ..... 13
- Effects of Progestogens and its Antagonist on the Beads Attached  
Dispersed Rat Pituitary Cells in the Perfusion System ..... *S. Awata* ..... 19
- Changes in Cellular Localization of Aromatase during Formation  
and Regression of the Corpus Luteum ..... *H. J. Huang & T. Yamabe* ..... 28
- Superoxide Dismutase Activity and Lipid Peroxide  
in the Rabbit Corpus Luteum During Pseudopregnancy ..... *T. Miyazaki, T. Kobayashi,*  
*M. Natori & S. Nozawa* ..... 34
- Efficacy of LH-RH Analogue on Residual Follicles Persisting  
after hMG-hCG Therapy in Infertile Women ..... *S. Takeda, Y. Inoh,*  
*S. Takada, H. Seki,*  
*K. Kinoshita & S. Sakamoto* ..... 40
- Platelet Activation in the Rat Ovary During Gonadotropin-induced Ovulation ..... *X. Li* ..... 48
- Retrospective Studies of Recent Two Years' Practice  
and Outcome of In Vitro Fertilization-Embryo  
Transfer in Our Hospital ..... *M. Fukuoka, Y. Noda, K. Tatsumi,*  
*K. Takakura, H. Kanzaki, S. Taii,*  
*K. Narimoto, Y. Umaoka, Y. Goto, J. Kishi,*  
*T. Nonogaki, S. Natsuyama & T. Mori* ..... 55
- Endocrinologic Studies of Unkei-to (TJ-106)  
in Young Females with Weight Loss Amenorrhea  
—With an Effect on Pulsatile Secretion  
of Gonadotropins— ..... *T. Ushiroyama, S. Tsubokura, M. Saeki,*  
*K. Okuda, T. Kaneko, M. Ueki & O. Sugimoto* ..... 61

Cytogenetic Study of Spontaneous Abortion with High Rate of Success in Chromosome Analysis .....	<i>K. Sato, T. Kojima, M. Izuta, T. Miyakawa, K. Ando, H. Shiotsu, K. Takahashi, K. Shioda, S. Tametika, K. Ogawa, T. Kasai &amp; Z. Imamura</i> .....	66
Autoantibody Sensitivity in the Diagnosis of Endometriosis and Adenomyosis .....	<i>H. Ota</i> .....	73
The Influence of Danazol on Cultured Human Endometrial Stromal Cells .....	<i>M. Taguchi, T. Kubota, S. Kamada, T. Aso, H. Senoo &amp; K. Wake</i> .....	79
Biochemical and Histochemical Analysis of Glycosaminoglycans in Human Uterine Tissues and Leiomyomas .....	<i>S. Takei</i> .....	85
Ultrastructural Study of the Polypoid Endometriosis in the Mesenterium of Sigmoid Colon .....	<i>M. Nakamura, H. Katabuchi, H. Mizutani, Y. Kitano, K. Matsuura &amp; H. Okamura</i> .....	92
Clinical Significance of Transvaginal Sperm Recovery Test after Artificial Insemination with Husband's Semen .....	<i>Y. Kuribayashi, J. Saito, T. Kondo, K. Watanabe, H. Horikoshi, Y. Ohno, B. Ishizuka &amp; H. Hamada</i> .....	99
Detection of Acrosin and New Basic Arginine Amidase in Boar Sperm .....	<i>T. Kobayashi, I. Hara, S. Nozawa, Y. Matsuda, S. Akihama, S. Oshio &amp; S. Kaneko</i> .....	105
Regulation of the Testosterone Production and Pentose Phosphate Pathway in Maturing Rat Testis Treated with HCG .....	<i>I. Machizawa</i> .....	110
Effects of Hotyū-ekki-tō on Male Infertility .....	<i>S. Natsuyama, Y. Noda, T. Nonogaki, Y. Umaoka, K. Takakura, K. Narimoto, S. Taii, H. Kanzaki &amp; T. Mori</i> .....	117
Age-related Changes of Testicular Interstitial Macrophages and Leydig Cells in the Rat .....	<i>A. Tokue, S. Ookawara &amp; M. Mato</i> .....	121
The Aging of Hypothalamo-Pituitary-Testicular Axis. II: Anterior Pituitary Function in Male Senescence .....	<i>N. Mikuma, Y. Kumamoto &amp; H. Maruta</i> .....	128
The Effect of Clomiphene Citrate on Spermatogenesis and Sperm Maturation in Varicocele Rats .....	<i>N. Sofikitis, I. Nakamura &amp; I. Miyagawa</i> .....	133
Histological Study on the Testes of the Patients with Varicocele .....	<i>H. Sumiya, Y. Shiseki, T. Kotake, M. Takahara &amp; J. Shimazaki</i> .....	140

Bulk Collection of Spermatozoa from Epididymal Cauda by Electric Stimulation .....	<i>Y. Kawakami, Y. Kinoshita, K. Saito, K. Sato, M. Takeda, A. Iwasaki &amp; M. Hosaka</i> .....	146
Evaluation of the Penile Blood Flow of Potent Men Using Color Doppler Ultrasonography .....	<i>K. Kamada, H. Takihara, T. Ueno, Y. Baba, S. Shirataki &amp; Y. Koshido</i> .....	150
Fertility After Chemotherapy in Men with Testicular Tumor: A Case Report .....	<i>H. Yamamoto, K. Nagano, K. Naito &amp; H. Hisazumi</i> .....	156

# GROWTH HORMONE STIMULATES OVARIAN PROGESTIN PRODUCTION BY THE CORPUS LUTEUM

Satoshi USUKI

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

**Abstract:** The effect of growth hormone (GH) on the corpus luteum in rats was examined *in vitro*. In an incubation study, GH stimulated progesterone, but not  $20\alpha$ -OH-progesterone, production. GH also stimulated the tissue cyclic AMP accumulation. In contrast, the IGF-1 content was not stimulated with GH treatment.

These data indicated an accumulative effect of GH on the corpus luteum through cyclic AMP-mediated events independent of IGF-1.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 727-731, 1991)

## Introduction

It is now recognized that GH exerts several physiological and pharmacological effects on ovarian cell proliferation and differentiation<sup>1~11)</sup> through GH-mediated events independent of IGF-1 or via an intraovarian mediator IGF-1<sup>2,12)</sup>.

The influence of GH on ovarian function, especially on follicular regulation, is one of their important effects.

However, the exact mechanism of luteal stimulation by GH on the corpus luteum remains uncertain. The role of GH on the corpus luteum was examined in the present study to clarify whether GH can directly affect steroidogenesis by the rat corpus luteum *in vitro*.

## Materials and Methods

### *Animals and animal treatments*

Immature female rats of the Wistar-Imamichi strain purchased from the Imamichi Institute for Animal Reproduction (Saitama) were used as experimental animals. The animals were maintained in an air-conditioned room with controlled light-dark cycle (light 0800 and 2000 h), and they

were injected subcutaneously with 20 IU of PMS at 27 days of age and followed in 56 h by 40 IU of hCG. The animals were sacrificed by decapitation under anesthesia 7 days after the hCG injection and then the ovaries were removed to a sterile dish containing cold saline, cleaned of the periovarian bursa, and cut into halves. Furthermore, each half tissue was cut by a dermatone blade into slices approximately 0.5mm thick.

Twenty ovarian slices were preincubated for 60 min in the synthetic TC-199 media containing 1% glucose and 0.2% NaHCO<sub>3</sub>, at 37°C in an atmosphere of 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>, and they were incubated for 2 h under the same condition, with 2 ml of 0.2-20 μg/ml of ovine GH. The medium was agitated throughout the incubation period.

### *Hormones*

PMS and hCG were from Teikokuzoki Co. and Mochidaseiyaku Co. (Tokyo), respectively. Ovine GH (NIADDK-oGH-12, AFP-4015A, biopotency=1.5 IU/mg, as determined in hypophysectomized female rats by means of the weight gain bioassay; FSH potency of less than 1% by weight, LH potency of less than 2% by

weight, prolactin potency of less than 2% by weight and TSH potency of less than 2% by weight) was kindly supplied by the NIAMDD, NIH, Torrance, CA, U.S.A.

*Radioimmunoassay for progestins, cyclic AMP and insulin-like growth factor-1*

Medium concentrations of progesterone and 20 $\alpha$ -OH-progesterone were measured using specific antisera as described previously<sup>13</sup>. Tissue cyclic AMP and IGF-1 were also assayed as described previously<sup>2,14</sup>.

*Immunohistochemical study*

The immunohistochemical localization of progesterone was examined according to the method of Usuki<sup>3</sup> using a highly specific anti-progesterone serum (1:70 dilution in PBS).

*Transmission electron microscopy (TEM)*

The ovaries were the same as these for light microscopy, as described above, and TEM was performed by the method of McLean et al.<sup>15</sup>. The ovaries were cut into 1 to 2  $\mu$ m square pieces in 2.5% glutaldehyde in distilled water and then placed on a shaker at 4°C for 3 h. After postfixation for 1 h in a 1% solution of osmium tetroxide in 0.1 M sodium phosphate buffer, pH 7.3, the samples were dehydrated in graded alcohol solutions and propylene oxide, and then embedded in a mixture of epon and araldite<sup>15</sup>. Ultra-thin sections were counterstained with uranyl acetate and lead citrate before observation under an electron microscope.

*Representation and analysis of data*

The data are presented as the mean  $\pm$  SEM of fifteen determinations. Student's *t* tests were carried out. Comparisons with  $p < 0.05$  were considered significant.

**Results**

As shown in Fig. 1A, 0.2, 2 and 20  $\mu$ g of GH significantly ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$  and  $P < 0.02$ , respectively) stimulated progesterone production, with a maximum increase of 2.1-fold at 2  $\mu$ g/ml. Contrary to progesterone production, 20 $\alpha$ -OH-

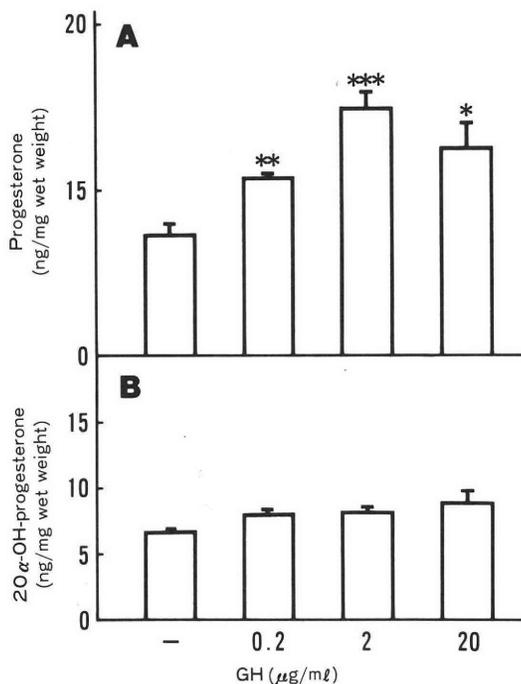


Fig. 1 Effect of GH treatment on progesterone (A) and 20 $\alpha$ -OH-progesterone (B) concentrations in incubation media *in vitro*. Immature rats were treated with PMS-hCG. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM of fifteen determinations. \* $P < 0.02$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$  (Student's *t* test)

progesterone tended to slightly increase, but showed no substantial changes in the incubation media (Fig. 1B). The ratios of progesterone to 20 $\alpha$ -OH-progesterone were  $1.11 \pm 0.18$ ,  $1.26 \pm 0.19$ ,  $1.82 \pm 0.09$  and  $1.61 \pm 0.15$  (mean  $\pm$  SEM) with 0, 0.2, 2 and 20  $\mu$ g/ml GH, respectively. The ratio was significantly increased with 2 and 20  $\mu$ g/ml GH ( $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ , respectively). There was significant increase in tissue cyclic AMP with the GH treatment:  $215.23 \pm 4.13$ ,  $232.33 \pm 6.28$ ,  $258.80 \pm 8.52$  and  $252.37 \pm 11.31$  fmol/mg ovarian wet weight (mean  $\pm$  SEM,  $n = 10$ ) with 0, 0.2, 2 and 20  $\mu$ g/ml GH, respectively ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  and  $P < 0.02$ , respectively). However, there was no significant increase in the medium IGF-1 level with the hormone treatment:  $105.01 \pm 2.62$ ,  $108.98 \pm 3.26$ ,  $110.62 \pm 2.98$  and  $109.78 \pm 2.84$  pg/mg ovarian wet weight (mean  $\pm$  SEM,  $n = 10$ ) with 0, 0.2, 2 and 20  $\mu$ g/ml GH.

The progesterone-antibody complexes were

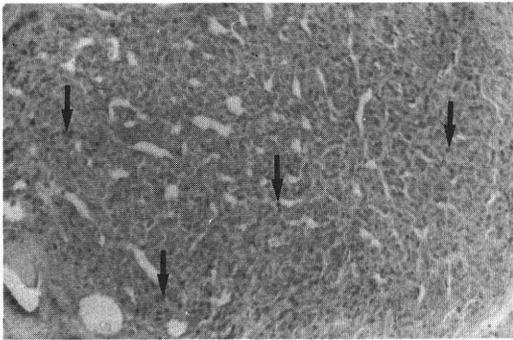


Fig. 2 Immunohistochemical localization of progesterone in ovary of rat primed with PMS-hCG (arrows).  $\times 200$

abundantly observed as black or brown finely stained areas in the cytoplasm of luteinized cells (Fig. 2).

The TEM findings revealed no features characteristic of GH (data not shown).

#### Discussion

The concept of factors regulating the life-span of the corpus luteum is well known. However, the actual mechanism of the corpus luteum function remains unclear. Lately, GH has drawn much attention as one of factors which regulate ovarian follicle function. Although there are several reports on the direct effect of GH on the ovary, there are very few reports on the direct effect of GH on the corpus luteum function. Rat corpus luteum tissue is well known to produce two major progestin products, progesterone and  $20\alpha$ -OH-progesterone<sup>16)</sup>.

Since substances that increase progesterone production and secretion in the ovary containing the corpus luteum are regarded as luteotropic, GH stimulated progesterone production in this incubation study, followed by a significant increase in the progesterone/ $20\alpha$ -OH-progesterone ratios, indicating the possible luteotrophic effect of GH. The present data further demonstrated that GH also stimulated tissue cyclic AMP in accordance with the increase in progesterone production. Since cyclic analogues stimulate steroid biosynthesis<sup>17~22)</sup>, the action of GH on progesterone production may be partially mediated through an

increase in cyclic AMP production.

In contrast, concentrations of IGF-1 in the medium were undetectable in this experiment. IGF-1 has been recently shown to be produced in the ovary<sup>23)</sup>, and to participate in ovarian steroidogenesis<sup>23~26)</sup>. Although this, of course, does not exclude an intraovarian mediating role of IGF-1 in GH actions, these data indicate that IGF-1 is not a mediator of the effect of GH on progestin production by the corpus luteum. It may be that GH brings about a direct steroidogenic effect on the corpus luteum via the partial mediation of cyclic AMP.

All of these data suggest that GH may directly stimulate rat corpus luteum function.

#### Acknowledgements

The author thanks Miss Junko Tanaka and Miss Yuko Hayakawa for excellent technical assistance, Mrs. Yoshie Tsuji for typing the manuscript, and the National Pituitary and Hormone Distribution Program for ovine GH.

This study was supported in part by a Tsukuba University Project Research Grant, and Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan (62570741, 02670731).

#### References

- 1) Usuki, S.: Study on mechanism of action of growth hormone in ovaries, Report of Research, Grant-in Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan, pp 1-127, 1990
- 2) Usuki, S., Kubota, S. and Miyakawa, S.: Is induction of DNA polymerase  $\alpha$  activity in immature rat ovaries by growth hormone independent of somatomedin C/insulin-like growth factor 1?, *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 35: 475, 1990
- 3) Usuki, S.: Role of growth hormone in ovarian physiology, Proceedings of the 11nd Sapporo International Symposium on Ovarian Function, Raven Press, in press, 1990.
- 4) Ojeda, S. R. and Jameson, H. E.: Developmental patterns of plasma and pituitary growth hormone (GH) in the female rat, *Endocrinology*, 100: 881, 1977
- 5) Advis, J. P., White, S. S. and Ojeda, S. R.: Activation of growth hormone short loop nega-

- tive feedback delays puberty in the female rat, *Endocrinology*, 108: 1343, 1981
- 6) Ramaley, J. A. and Phares, C. K.: Delay of puberty onset in females due to suppression of growth hormone, *Endocrinology*, 106: 1989, 1980
  - 7) Bartke, A.: Histology of the anterior hypophysis, thyroid and gonads of two types of dwarf mice, *Anat. Rec.*, 149: 225, 1964
  - 8) Swerdloff, R. S. and Odell, W. D.: Modulating influences of FSH, GH and prolactin on LH-stimulated testosterone secretion. In *The Testis in Normal and Infertile Men*, Edited by P. Troen, H. R., Nankin, Raven Press, p395, 1977
  - 9) Zipf, W. B., Payne, A. H. and Kelch, R. P.: Prolactin, growth hormone and luteinizing hormone in the maintenance of testicular luteinizing hormone receptors, *Endocrinology*, 103: 595, 1978
  - 10) Jia, X. C., Kalmijn, J. and Hsueh, A. J. W.: Growth hormone enhances follicle-stimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells, *Endocrinology*, 118: 1401, 1986
  - 11) J Q rgensen, K. D. and Nowak, J.: Interaction of human growth hormone and gonadotrophins on the function of rat ovaries, *Pharmacol. Toxicol.*, 65: 278, 1989
  - 12) Mason, H. D., Martikainen, H., Beard, R. W., Anyaoku, V. and Franks, S.: Direct gonadotrophic effect of growth hormone on oestradiol production by human granulosa cells *in vitro*, *J. Endocrinol.*, 126: R1, 1990
  - 13) Usuki, S.: Effects of Hachimijiogan, Tokishakuyakusan and Keishibukuryogan on the corpus luteum function and weights of various organs *in vivo*, *Am. J. Chin. Med.*, XV: 99, 1987
  - 14) Usuki, S.: Tokishakuyakusan stimulates cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate accumulation and progesterin production by corpora lutea, *Am. J. Chin. Med.*, XVI: 21, 1988
  - 15) Mclean, I. W. and Nakane, P. K.: Periodate-Lysine-paraformaldehyde fixative, A new fixative for immunoelectron microscopy, *J. Histochem. Cytochem.*, 22: 1084, 1974
  - 16) Hashimoto, I., Henricks, O. M., Anderson, L. L. and Melampy, R. M.: Progesterone and pregn-4-en-20 $\alpha$ -ol-3-one in ovarian venous blood during various reproductive states in the rat, *Endocrinology*, 82: 333, 1968
  - 17) Channing, C. P.: Influences of the *in vivo* and *in vitro* hormonal environment upon luteinization of granulosa cells in tissue culture, *Recent Prog. Horm. Res.*, 26: 589, 1970
  - 18) Channing, C. P.: Effects of stage of the menstrual cycle and gonadotrophins on luteinization of rhesus monkey granulosa cells in culture, *Endocrinology*, 87: 49, 1970
  - 19) Channing, C. P. and Seymour, J. P.: Effects of dibutyryl cyclic-3', 5'-AMP and other agents upon luteinization of porcine granulosa cells in culture, *Endocrinology*, 87: 165, 1970
  - 20) Gospodarowicz, D.: Epidermal and nerve growth factors in mammalian development, *Ann. Rev. Physiol.*, 43: 251, 1981
  - 21) Usuki, S. and Iwasaki, H.: Effects of LH and FSH on estrogen, progesterone and testosterone secretion by rat preovulatory follicles incubated or perfused *in vitro*. In *Growth and Differentiation of Cells and Defined Environment*, Edited by H. Murakami, I. Yamane, D. W. Barnes, J. P. Mather, I. Hayashi and G. H. Sato, Springer-Verlag, pp. 285, 1985
  - 22) Hsueh, A. J. W., Adashi, E. Y., Jones, P. B. C. and Welsh, Jr. T. H.: Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells, *Endocr. Rev.*, 5: 76, 1984
  - 23) Hammond, J. M., Baranao, J. L. S., Skaleris, D., Knight, A. B., Romanus, J. A. and Rechler, M. M.: Production of insulin-like growth factors by ovarian granulosa cells, *Endocrinology*, 117: 2553, 1985
  - 24) Adashi, E. Y., Resnick, C. E., D'Ercole, A. J., Svoboda, M. E. and Van-Wyk, J. J.: Insulin-like growth factors as intraovarian regulators of granulosa cell growth and function, *Endocr. Rev.*, 6: 400, 1985
  - 25) Steinkampf, M. P., Mendelson, C. R. and Simpson, E. R.: Effects of epidermal growth factor and insulin-like growth factor 1 on the levels of mRNA encoding aromatase cytochrome P-450 of human ovarian granulosa cells, *Molec. Cell. Endocrinol.*, 59: 93, 1988
  - 26) Erickson, G. F., Garzo, G. and Magoffin, D. A.: Insulin-like growth factor-1 regulates aromatase activity in human granulosa and granulosa luteal cells, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 69: 716, 1989

## Growth hormone の ラット黄体に於ける Progesterin 産生分泌能

筑波大学臨床医学系産科婦人科

白杵 愨

Growth hormone (GH) の黄体に於ける Progesterin 産生能について、ラットを用いて検討を加えた。

Wistar-Imamichi 系雌ラットを用い、生後 27 日令に PMS 20IU を皮下投与し、56 時間後に hCG 40IU を腹腔内投与し、hCG 投与後 7 日目に卵巣を摘出し、黄体を GH でインキュベーションし、Progesterone, 20 $\alpha$ -

平成3年10月1日

S. USUKI

(731) 5

OH-progesterone, Cyclic AMP 及び IGF-1 を RIA にて測定した。

GH は Progesterone の産生分泌を有意に増加させたが,  $20\alpha$ -OH-progesterone の産生分泌には有意な変化は認められなかった。

Progesterone/ $20\alpha$ -OH-progesterone 比も GH の投

与で増加した。組織内 Cyclic AMP も増加したが, IGF-1 濃度には変化が認められなかった。

以上の事実は, GH が黄体に直接的に Luteotrophic に作用することを示唆している。

(受付: 1990年11月19日)

## 全自動 EIA システム「IMx」を用いた 血中 LH, FSH 測定法の基礎的検討

### Value of Automatic Enzyme Immunoassay System "IMx" for Serum LH and FSH

山口大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 加藤紘教授)

石松 正也      中村 康彦      杉野 法広  
Masaya ISHIMATSU   Yasuhiko NAKAMURA   Norihiro SUGINO  
田村 晴代      川本 和則      加藤 紘  
Haruyo TAMURA      Kazunori KAWAMOTO      Hiroshi KATO

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Yamaguchi University School of Medicine, Yamaguchi 755, Japan  
(Director: Prof. H. Kato)

全自動 EIA システム (IMx, ダイナボット社) による LH および FSH 測定法につき、基礎的検討を加えた。

本測定系の測定範囲は LH: 0.5~250 mIU/ml, FSH: 0.2~150 mIU/ml であり、測定内及び測定間再現性はいずれも変動係数 10% 未満と良好であった。またコンピューターに記憶された標準曲線は約二週間安定であり、この間は測定毎に標準曲線を作製する必要がない。さらに IRMA 法による測定値との比較においても、よい相関関係を示した (LH:  $r=0.898$ , FSH:  $r=0.969$ )。

IMx による LH および FSH 測定は、実用的であり、日常臨床において有用に活用しうると考えられた。  
(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 732-738, 1991)

#### 緒 言

今日、血中 LH および FSH 値の測定は、内分泌疾患や不妊症を取り扱ううえで、欠かせない日常検査の一つである。例えば排卵の trigger となる LH surge を正確に捉えることなどは不妊症の治療上、必要不可欠である。現在血中 LH, FSH の測定には Immunoradiometric assay (IRMA) が多く用いられているが、IRMA 法は放射性物質を用いるため使用できる施設には限りがあり、また 1 検体を測定するにもその都度標準曲線の作製が必要であることなど経済的に問題が多い<sup>1,2)</sup>。

最近、Enzyme immunoassay (EIA) による全自動測定システム IMx を用いた測定系 LH ダイナパック、FSH ダイナパックがダイナボット社より発売された。この測定系は IRMA 法よりもさらに簡便性、

迅速性に優れており、また、全自動のため測定者間誤差が少ない。さらに、一度作製された標準曲線はコンピューターに記憶されて二週間は安定に使用でき、次回の測定からは標準曲線を作製することなく 1 検体でも測定できるなどの利点が挙げられている。今回この IMx 法を用いて血中 LH, FSH を測定し、基礎的検討を行ったので報告する。

#### 対象および方法

##### 1. 構成

LH 及び FSH 測定キットの構成を表 1 及び表 2 に示す。標準品 LH 及び標準品 FSH はそれぞれ WHO 1st-IRP 68/40 及び WHO 2nd-IRP 78/549 を用いている。また固相化抗体に抗  $\beta$ -LH (または抗  $\beta$ -FSH) モノクローナル抗体、酵素標識抗体にアルカリフォスファターゼ標識抗 LH (または抗 FSH) ポリクロー

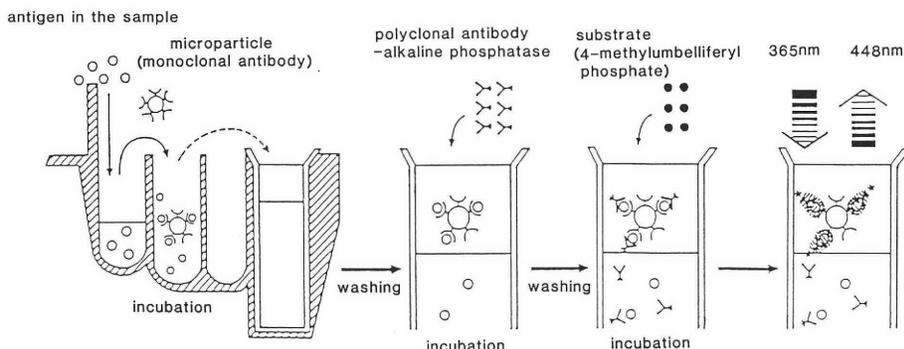


図1 IMxの測定原理

ーナル抗体を使用している。

2. 測定原理

本法による測定原理を図1に示す。まずリアクション・セルと呼ばれる容器の所定のウェルに検体を入れ、試薬パックと共にアナライザーにセットする。第一段階で検体とモノクローナル抗体が一定の割合で混合され、その後反応液はグラスファイバー上へ移され抗原・抗体結合物以外の余分な成分が洗浄さ

れる (B・F分離)。第二段階ではさらにアルカリフォスファターゼ標識抗体が添加され、被検(不要)物質とサンドイッチを形成する。この結合物に4-メチルウンベリフェリリン酸を加えると、アルカリフォスファターゼにより分解されメチルウンベリフェロンが産生される。これに励起光を当てて発せられる蛍光強度の変化率により被検物質の測定は行われる。なお、以上の過程はすべて全自動で、一回に24

表1 LH ダイナパックの構成 (100回用)

1) 標準 LH 試薬	6 バイアル	
0, 2, 10, 25, 100, 250 mIU/ml (各 4 ml/バイアル)		
WHO 1st-IRP 68/40 により検定		
2) 試薬パック		
試薬① 抗βLH マウスモノクローナル抗体固定化マイクロパーティクル	6.5 ml	1 バイアル
試薬② アルカリフォスファターゼ標識抗 LH ヤギ抗体	8.5 ml	1 バイアル
試薬③ 4-メチルウンベリフェリリン酸 (1.2 mM)	10 ml	1 バイアル
3) LH コントロール試薬		
L (5 mIU/ml) M (40 mIU/ml) H (80 mIU/ml)	各 8 ml	1 バイアル
4) モード1 キャリブレーション (25 mIU/ml)	4 ml	3 バイアル
5) リアクション・セル	100 個	

表2 FSH ダイナパックの構成 (100回用)

1) 標準 FSH 試薬	6 バイアル	
0, 1, 10, 50, 100, 150 mIU/ml (各 4 ml/バイアル)		
WHO 2nd-IRP 78/549 により検定		
2) 試薬パック		
試薬① 抗βFSH マウスモノクローナル抗体固定化マイクロパーティクル	6.5 ml	1 バイアル
試薬② アルカリフォスファターゼ標識抗 FSH ヤギ抗体	8.5 ml	1 バイアル
試薬③ 4-メチルウンベリフェリリン酸 (1.2 mM)	10 ml	1 バイアル
試薬④ 緩衝液	13 ml	1 バイアル
3) FSH コントロール試薬		
L (5 mIU/ml) M (25 mIU/ml) H (75 mIU/ml)	各 8 ml	1 バイアル
4) モード1 キャリブレーション (10 mIU/ml)	4 ml	1 バイアル
5) リアクション・セル	100 個	

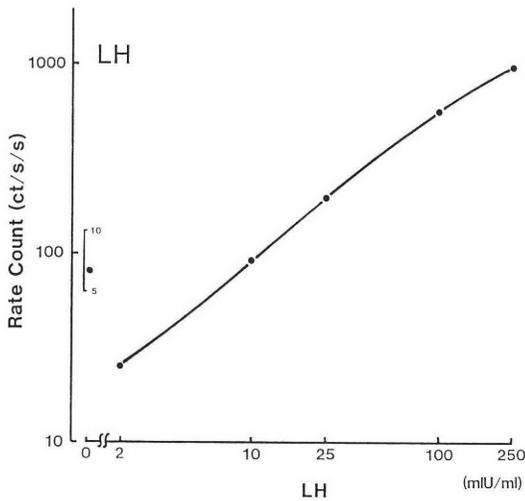


図2 LH ダイナパックの標準曲線

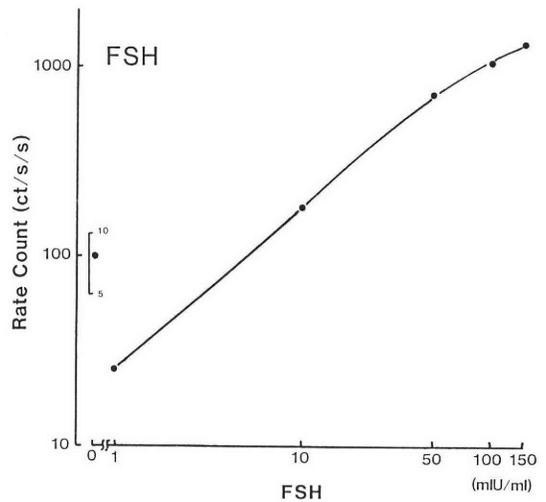


図3 FSH ダイナパックの標準曲線

表3 LH ダイナパックの測定内再現性

測定回数	測定値 (mIU/ml)		
	L	M	H
1	5.5	41.9	82.7
2	5.6	43.9	88.3
3	5.5	42.7	84.5
4	5.8	45.4	81.8
5	5.5	43.9	85.3
6	5.7	42.0	86.3
7	5.8	42.4	84.7
8	5.9	43.0	87.5
9	5.8	44.9	87.0
10	5.4	43.3	85.8
Mean	5.7	43.3	85.4
SD	0.2	1.2	2.1
CV(%)	3.5	2.8	2.5

表4 FSH ダイナパックの測定内再現性

測定回数	測定値 (mIU/ml)		
	L	M	H
1	5.4	26.0	89.1
2	5.1	26.5	89.0
3	5.1	24.4	94.7
4	5.0	26.7	97.5
5	4.9	26.9	88.7
6	4.9	27.3	89.5
7	4.9	27.3	91.2
8	5.0	26.5	90.5
9	5.1	27.1	84.9
10	5.0	27.4	93.1
Mean	5.0	26.6	90.8
SD	0.2	0.9	3.5
CV(%)	4.0	3.4	3.9

検体測定でき、測定時間は約 40 分である。また標準曲線は標準 LH 試薬(または標準 FSH 試薬)を同様の手順で測定することにより描かれ、その結果はコンピューターに自動的に記憶される。よって以後の測定はキャリブレーションによる補正のみでよく、毎回標準曲線を作製する必要はない。

3. 検討項目

これら LH 及び FSH 測定系について、標準曲線、測定内再現性、測定間再現性、希釈直線性、回収率をそれぞれ検討した。また IRMA 法による測定値との相関についても検討を加えた。

結 果

1. 標準曲線

本測定法による LH 及び FSH の標準曲線をそれぞれ図2及び図3に示した。標準曲線における測定範囲はそれぞれ LH : 2~250 mIU/ml, FSH : 1~150 mIU/ml であるが、計算上は LH : 0.5 mIU/ml, FSH : 0.2 mIU/ml より測定可能である。

2. 測定内再現性

LH 及び FSH 濃度の異なる 3 検体をそれぞれ 10 回ずつ測定し、測定内の精度を検討した。その結果を表3及び表4に示した。変動係数は、それぞれ LH :

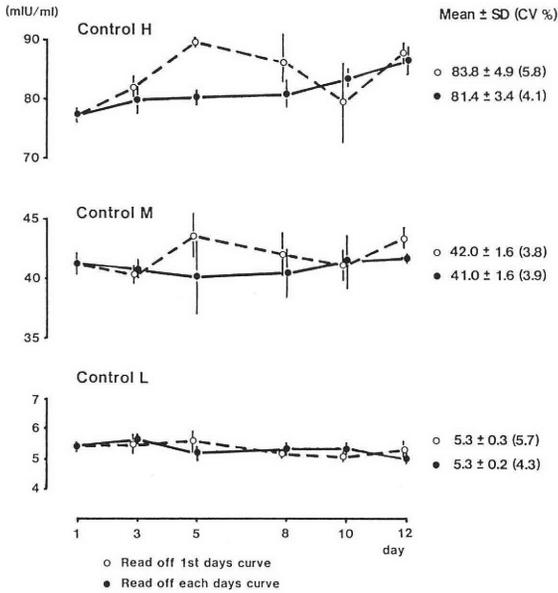


図 4 LH ダイナパックの測定間再現性

2.5~3.5%, FSH: 3.4~4.0%であった。

### 3. 測定間再現性

測定間の再現性を検討するため、LH 及び FSH 濃度の異なる 3 検体を用いて、日を変えてそれぞれ 6 回測定した。また、コンピューターに記憶された標準曲線の安定性を調べるため、各々の測定につき測定第一回目の標準曲線で算出された値と、毎回標準曲線を作製して算出された値の二通りの測定値を出し、比較検討した(図 4, 5)。LH の測定において、測定値が高値になるとやや測定値間のばらつきが出てくる傾向にあったが、変動係数は 3.8~5.8%と良好な結果が得られた。FSH においても変動係数は 1.0~4.1%と、同じく良好な結果であった。また標準曲線は初回のみで作製によりほぼ安定した測定値が得られ、毎回作製する標準曲線による測定値と比較しても良好であると考えられた。

### 4. 希釈直線性

LH, FSH 両測定系について濃度の異なる 5 種類の検体を段階的に希釈し、LH および FSH 濃度を測定した。その結果を図 6 及び図 7 に示した。1:1 から 1:32 までの希釈で各測定値はほぼ直線上に並んだ。

### 5. 添加回収率

異なる濃度の標準 LH 及び FSH を血清に添加し、その測定値より回収率を算定した。その結果を表 5 及び表 6 に示した。いずれの平均回収率もほぼ 100%

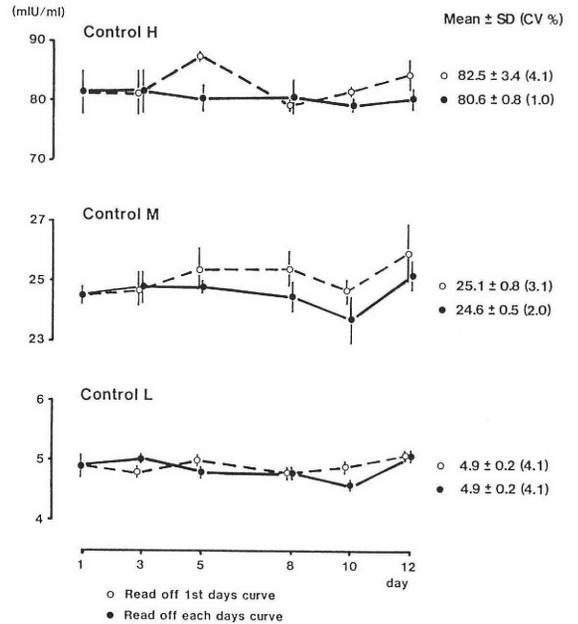


図 5 FSH ダイナパックの測定間再現性

に近い結果が得られたが、高濃度の標準 LH を添加した場合のみ平均回収率 110.1%とやや高め の値を示した。

### 6. IRMA 法との相関

IRMA 法による測定値との相関を調べるため、血清検体 (LH: 175 検体, FSH: 180 検体) を用いて両測定系による測定値の相関関係を検討した。その結果を図 8 に示した。LH においては相関係数  $r = 0.898$ , 回帰式  $y = 1.413x - 0.600$ , また FSH においては相関係数  $r = 0.969$ , 回帰式  $y = 0.847x - 1.201$  といずれも良い相関関係がみられた。

## 考 察

下垂体性ゴナドトロピンは月経周期内変動及び日内変動を有するという性質から、その測定値を実際の臨床に利用するためには測定の迅速性・簡便性が要求される。

不妊症患者の排卵時期の指標として LH surge を捉えるために、現在主として尿中 LH 値の定性的測定が行われている。この方法は簡便ではあるが、測定値の正確性に若干の問題があった<sup>3,4)</sup>。もちろん血中での LH surge を捉える方がより正確であるが、従来の測定系では測定に時間的な制限があり、また少数検体を測定することが多い日常臨床では経済的な無駄も多かった。

今回我々が使用したダイナボット社製測定器 IMx

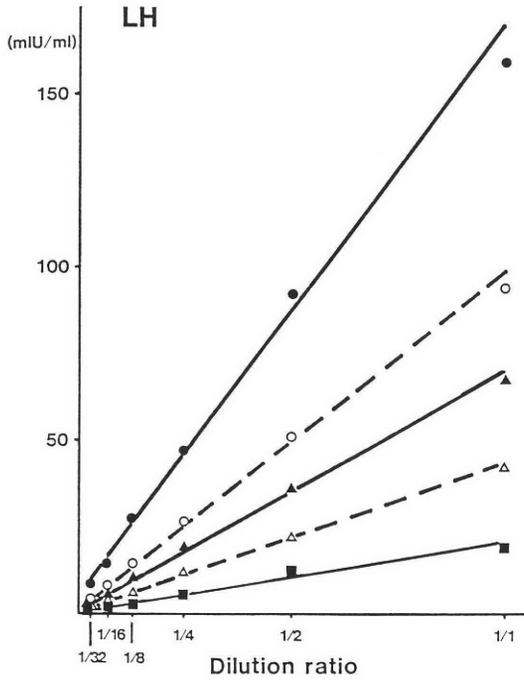


図 6 LH ダイナバックの希釈試験

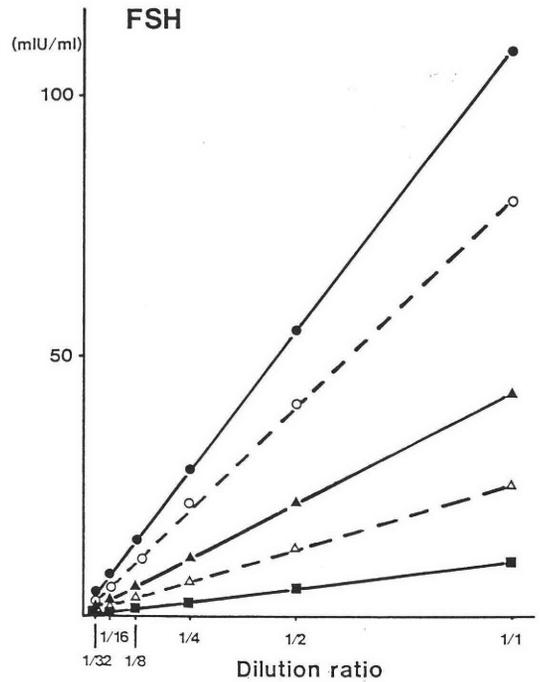


図 7 FSH ダイナバックの希釈試験

表 5 LH ダイナバックの添加回収試験

検体 No.	初濃度 (mIU/ml)	LH 添加濃度 (mIU/ml)					
		5.1		42.5		84.0	
		測定値	回収率 (%)	測定値	回収率 (%)	測定値	回収率 (%)
1	1.3	6.4	100.5	46.4	106.1	95.2	111.6
2	3.8	9.5	107.0	47.6	102.7	95.3	108.6
3	3.0	8.0	99.1	46.2	101.5	102.0	117.3
4	12.6	18.4	104.1	56.6	102.8	99.8	103.4
5	17.2	22.8	102.2	60.2	100.8	111.1	109.8
Mean ± S D (%)		102.6 ± 3.1		102.8 ± 2.0		110.1 ± 5.0	

表 6 FSH ダイナバックの添加回収試験

検体 No.	初濃度 (mIU/ml)	FSH 添加濃度 (mIU/ml)					
		5.1		24.4		80.6	
		測定値	回収率 (%)	測定値	回収率 (%)	測定値	回収率 (%)
1	14.4	18.9	96.9	38.3	99.0	92.7	97.7
2	2.3	7.2	97.6	26.9	100.9	80.2	96.8
3	12.9	17.9	99.3	37.0	99.3	93.8	100.4
4	16.5	20.9	96.6	40.0	97.8	93.3	96.1
5	2.4	7.8	104.2	28.1	105.1	83.2	100.4
Mean ± S D (%)		98.9 ± 3.1		100.4 ± 2.8		98.3 ± 2.0	

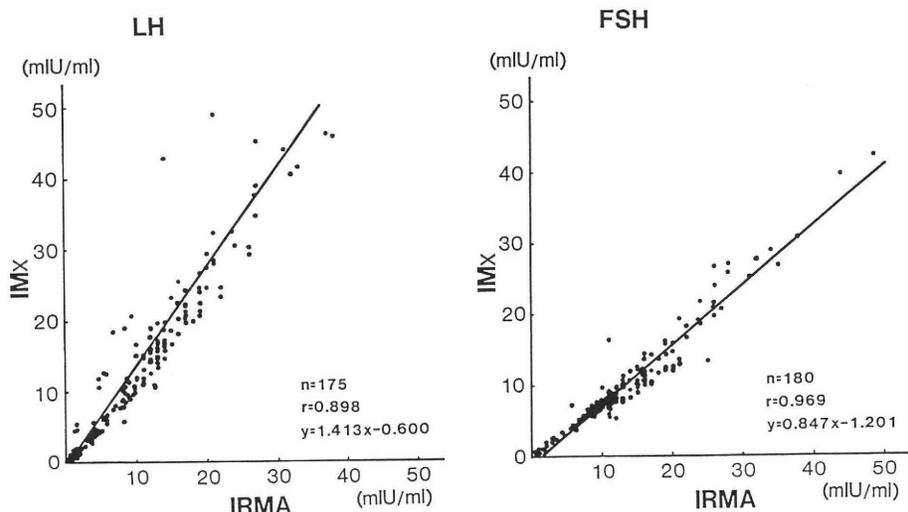


図 8 IMx と IRMA による各測定値間の相関

を用いる測定系 LH ダイナパック, FSH ダイナパックは Enzyme immunoassay (EIA) による全自動測定システムで, 全測定過程が約 40 分で終了し実動的であり, また精度も満足できるものであった. 本法の特徴の一つは, 測定器に内蔵されたコンピューターにより標準曲線が記憶される点である. 今回の検討ではこのコンピューターに記憶された標準曲線の安定性<sup>5)</sup>を調べるため, 測定間再現性試験において初回作製の標準曲線による測定値と毎回標準曲線を作製することによる測定値とで比較したが, いずれもほぼ同様の値が得られ, 標準曲線が約二週間安定であることが確認された.

IRMA 法との比較においては, 今回特に日常臨床的に出現頻度が高いと考えられる 50 mIU/ml 程度までの測定値で行ったが, LH では相関係数  $r = 0.898$ , 回帰式  $y = 1.413x - 0.600$ , また FSH では相関係数  $r = 0.969$ , 回帰式  $y = 0.847x - 1.201$  といずれも良い相関がみられた. よって, IRMA 法による測定値との比較も十分可能である.

今回報告した IMx を用いた測定系は, 放射性物質を使用しないので特別な施設を必要とせず, また全自動システムのため他の EIA 法による測定法<sup>6)</sup>と比較しても簡便かつ迅速に結果が得られた. さらに毎回標準曲線を作製する必要がないので, たとえ 1 検体でも無駄なく測定でき, 経済性という点においても優れており, 今後も幅広く臨床面に応用可能な測定系であると考えられた.

### 謝 辞

今回の検討にあたり, IMx LH ダイナパック, FSH

ダイナパックの試料を提供していただいたダイナボット株式会社に深謝いたします.

### 文 献

- 1) 苛原 稔, 安井敏之, 東敬次郎, 青野敏博: 下垂体性ゴナドトロピン標準品を用いた LH 及び FSH の Immunoradiometric 測定法 (スパック-S LH, スパック-S FSH) の基礎的検討, ホルモンと臨床, 36: 1223, 1988
- 2) 青野敏博, 他: 下垂体性ゴナドトロピン標準品を用いた LH 及び FSH の Immunoradiometric 測定法 (スパック-S LH, スパック-S FSH) の多施設における臨床的検討, ホルモンと臨床, 36: 1087, 1988
- 3) 吉松 淳, 合阪幸三, 友成廉平, 多和田哲雄, 金田幸枝, 國保健太郎, 吉田浩介: 排卵予知における LH カラーの臨床的有用性の検討, 日本不妊学会雑誌, 34: 425, 1989
- 4) 山元慎一, 堂地 勉, 竹内一浩, 森 明人, 福元清吾, 沖 利通, 永田行博: LH カラーの臨床的有用性に関する検討, 産婦人科の実際, 38: 1495, 1989
- 5) 高井 優, 池田勲夫, 久保恵宜, 時田 進, 東条百合子, 小幡公道, 倉田邦夫: 全自動マイクロパーティクル酵素免疫測定法, ホルモンと臨床, 36: 829, 1988
- 6) 田中俊誠, 古田伊都子, 松山倫子, 相原稔彦, 林 正路, 桜田芳弘, 岩城雅範, 工藤正尊, 藤本征一郎: 正常排卵周期を有する婦人, 多嚢胞卵巣症候群婦人, および早発卵巣不全婦人における磁気分離固相法を利用した非放射性 EIA 法 (セロザイム) による血中 LH, FSH の測定法について, ホルモンと臨床, 37: 1029, 1989

**Value of automatic enzyme  
immunoassay system "IMx"  
for serum LH and FSH**

Masaya Ishimatsu, Yasuhiko Nakamura,  
Norihiro Sugino, Haruyo Tamura,  
Kazunori Kawamoto and Hiroshi Kato

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Yamaguchi University School of Medicine,  
Yamaguchi 755, Japan  
(Director: Prof. H. Kato)

Automatic enzyme immunoassay systems (IMx,

DAINABOT Co. LTD.) of LH and FSH were tested for its basic and clinical usefulness.

The ranges of measurement in the assays were 0.5 ~250 mIU/ml for LH and 0.2~150 mIU/ml for FSH. The coefficients of variability of inter-assay and intra-assay were under 10 percents in both LH and FSH assay systems. Once a standard curve was constructed, it was stored in the computer of the apparatus, which avoided to reconstruct a curve in each assay for up to 2 weeks. Also, there was a nice correlation between the values measured by IRMA and IMx methods.

The IMx systems of LH and FSH were practical, and would be useful in clinical practice.

(受付: 1991 年 1 月 14 日)

## SUPPRESSION BY L-DOPA OF PROLACTIN SECRETION DURING EXERCISE IN FEMALE ATHLETES

Noboru MESAKI, Junichi SASAKI, Satoshi SOHDA,  
Yuichi NABESHIMA and Hirokazu IWASAKI

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

---

**Abstract:** It is well established that prolactin secretion during exercise is an important factor in exercise-induced menstrual dysfunction. The purpose of this study is to examine the suppressive effect of L-dopa on prolactin secretion during exercise.

Five female athletes measured their BBT every morning. They performed incremental exercise on a cycle ergometer, with or without L-dopa, on the 5th to 8th day of the follicular phase. After 60 minutes bed rest, 50 mg L-dopa was injected intravenously and after a further 30 minutes bed rest, the exercise was reinitiated. Blood samples were collected after 60 minutes bed rest (Rest) and after a further 30 minutes bed rest (A30') following L-Dopa injection, at the time when the heart rates reached 150 bpm (Submax), the point of exhaustion (Max) during exercise and after 60 minutes bed rest following exercise (After 1hr). The levels of prolactin in serum, dopamine,  $\beta$ -endorphin and VIP in the plasma were measured.

Whereas dopamine increased significantly after the administration of L-dopa, prolactin increased significantly during incremental exercise, but the increase of prolactin was suppressed by the administration of L-dopa. However, the administration of L-Dopa did not affect the increase of  $\beta$ -endorphin and VIP during exercise.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 739-744, 1991)

---

### Introduction

Recent evidence indicating a causal relationship between athletic activity and menstrual dysfunction has aroused interest<sup>1-3</sup>). However, the mechanisms of exercise-induced menstrual dysfunction have not yet been clarified. There are three hypotheses for the factors involved in exercise-induced menstrual dysfunction: 1) physical and/or psychological stress due to exercise, 2) loss of weight (body fat) due to a diet to control body profile and/or exercising condition, 3) acute and/or chronic hormonal changes due to exercise. As we considered that the third hypothesis is the

most important one, we investigated hormonal changes during exercise<sup>4-7</sup>) and hypothalamo-pituitary function<sup>8,9</sup>) in female athletes. We have already reported that prolactin is the only hormone which increases significantly during exercise in both the follicular and luteal phases<sup>4-6</sup>).

The relationship between prolactin secretion and the occurrence of menstrual dysfunction is well established. That is, it is believed that a significant, transient secretion of prolactin during exercise is an important factor in exercise-induced menstrual dysfunction. In this study, we examine the suppressive effect of L-dopa on prolactin secretion during exercise.

## Materials and Method

### A) Subjects and Blood Collection

Five female university athletes, aged 18 to 21 years old, were subjected to an investigation of endocrinological responses during exercise. All subjects gave their informed consent. None was presently using or previously used oral contraceptives. They measured their basal body temperature (BBT) every morning and then exercised incrementally using a cycle ergometer with L-dopa (levodopa, Sankyo Co. LTD., Tokyo, Japan), a precursor of dopamine, (L-Dopa(+)) group, or without L-Dopa (L-Dopa(-)) group as the control group, on the 5th to 8th day of the follicular phase. During the incremental exercise, electrocardiogram (ECG) and heart rates were monitored.

After 60 minutes bed rest, a venous catheter (18-G) was inserted into the left forearm vein. In the L-Dopa(+) group, after 60 minutes bed rest, 50 mg L-Dopa was injected intravenously and after a further 30 minutes bed rest, the incremental exercise 4) was reinitiated. Blood samples were obtained through an indwelling catheter after 60 minutes bed rest before exercise (Rest) and after a further 30 minutes bed rest (A30') following L-Dopa injection, at the time when the heart rates reached 150 bpm (Submax), the point of exhaustion (Max) during incremental exercise and after 60 minutes bed rest following exercise (After 1hr) (Fig. 1).

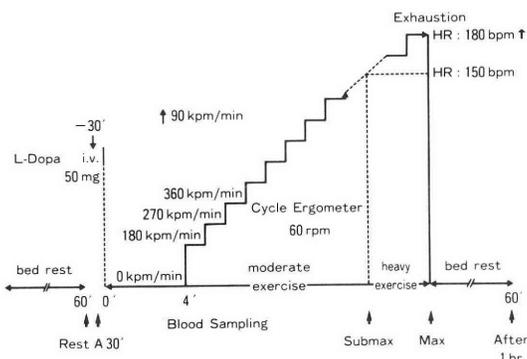


Fig. 1 Schedule of incremental exercise using cycle ergometer with or without the administration of L-dopa.

Table 1 Basal levels of hormone at rest before incremental exercise using cycle ergometer in follicular phase.

Hormone	L-Dopa(-)	L-Dopa(+)
Prolactin (ng/ml)	3.8±0.7	3.8±0.4
Dopamine (ng/ml)	3.9±0.6	4.3±0.7
$\beta$ -endorphin (pg/ml)	6.2±0.3	5.8±0.8
VIP (pg/ml)	20.6±0.8	19.4±0.9

Each value is expressed as the mean±SE.

There were no significant differences in both the L-Dopa(-) and L-Dopa(+) groups.

### B) Hormone assays

The measurement methods of prolactin in serum, dopamine,  $\beta$ -endorphin and vasoactive intestinal peptide (VIP) in plasma were described previously<sup>7)</sup>.

### C) Statistical Methods

Data are expressed as the mean±standard error (SE). The Student's t-test was conducted for statistical analysis and differences were considered to be significant at the level of  $p < 0.05$ .

## Results

### A) Basal Levels of Hormones

Table 1 shows the basal levels of hormones at Rest, after 60 minutes bed rest before incremental exercise, for both the L-Dopa(-) group as the control group and the L-Dopa(+) group.

In both groups, there were no significant differences in basal levels of hormones and none of the subjects showed signs of hyperprolactinemia.

### B) Hormonal Changes during Incremental Exercise

#### 1. Changes in Serum Prolactin Levels

In the control L-Dopa(-) group, serum prolactin levels increased significantly at Submax ( $p < 0.05$ ) and Max ( $p < 0.001$ ) during incremental exercise. However, the serum prolactin level decreased immediately after the end of exercise, and the level at After 1hr, 60 minutes bed rest following exercise, was not significantly different from the level at Rest.

On the other hand, in the L-Dopa(+) group, there were significant differences in serum prolactin levels during exercise compared with the L-Dopa(-) group. That is, the increases in the

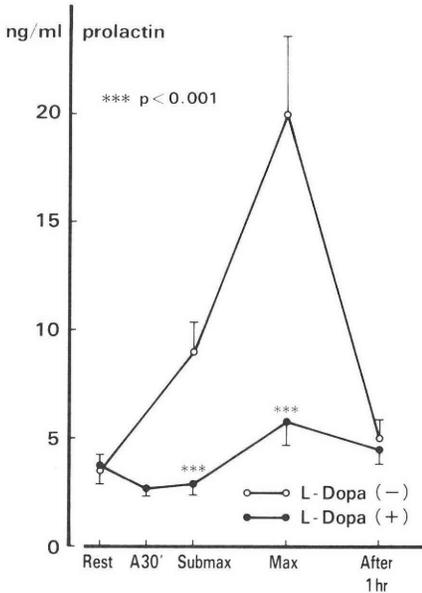


Fig. 2 Effect of L-dopa on serum prolactin levels during incremental exercise in follicular phase. Each value is expressed as the mean  $\pm$  SE. Differences were compared with L-Dopa(-) and L-Dopa(+) groups at each of the points that were examined.

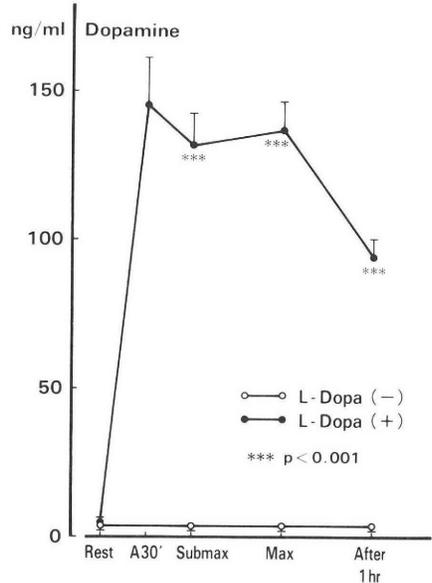


Fig. 3 Effect of L-dopa on plasma dopamine levels during incremental exercise in follicular phase. Each value is expressed as the mean  $\pm$  SE. Differences were compared with L-Dopa(-) and L-Dopa(+) groups at each of the points that were examined.

serum prolactin levels during incremental exercise were significantly suppressed ( $p < 0.001$ ) by the administration of L-dopa (Fig. 2).

### 2. Changes in Plasma Dopamine Levels

In the control L-Dopa(-) group, plasma dopamine levels showed no remarkable changes during incremental exercise.

On the contrary, in the L-Dopa(+) group, plasma dopamine levels increased significantly ( $p < 0.001$ ) at A30', 30 minutes after the administration of L-dopa. During exercise, plasma dopamine levels showed a decreasing tendency, but those were significantly higher compared to the L-Dopa(-) group at any of the points examined ( $p < 0.001$ ) during and after the exercise following the administration of L-dopa (Fig. 3).

### 3. Changes in Plasma VIP Levels

In the L-Dopa(-) group, plasma VIP levels increased significantly at Submax ( $p < 0.05$ ) and Max ( $p < 0.001$ ). However, there was an apparent decrease in plasma VIP level after the end of incremental exercise, and the value at After 1hr was not different from the value at Rest. These changing patterns were similar to those of

prolactin.

In the L-Dopa(+) group, plasma VIP showed significant increases during incremental exercise. Furthermore, there were no significant differences in both L-Dopa(-) and L-Dopa(+) groups at any of the points examined during exercise (Fig. 4).

### 4. Changes in Plasma $\beta$ -endorphin

Plasma  $\beta$ -endorphin levels showed a significant increase at Submax ( $p < 0.05$ ) and Max ( $p < 0.001$ ) during incremental exercise and decrease immediately after the end of exercise, the level at After 1hr was not significantly different from the level at Rest. These patterns of hormonal changes during exercise were similar to those of prolactin.

Furthermore, there were no significant differences in both L-Dopa(-) and L-Dopa(+) groups at any of the points examined during incremental exercise (Fig. 5).

## Discussion

It is well known that strenuous exercise induces menstrual dysfunction. We considered that acute and/or chronic hormonal changes due to exercise

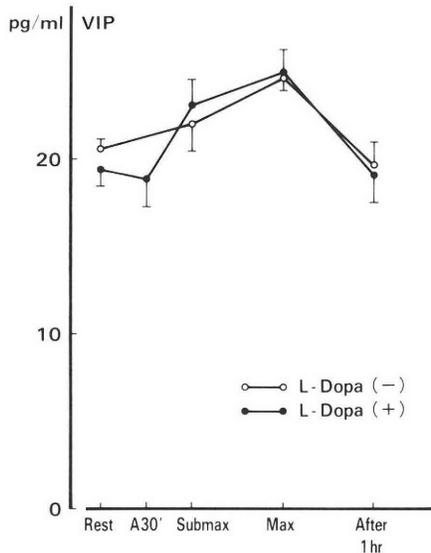


Fig. 4 Effect of L-dopa on plasma VIP levels during incremental exercise in follicular phase. Each value is expressed as the mean  $\pm$  SE. There were no significant differences in both the L-Dopa(-) and L-Dopa(+) groups at each of the points that were examined.

may be the most important factor causing exercise-induced menstrual dysfunction. The etiology of exercise-induced menstrual dysfunction is thought to be the hypothalamic insufficiency<sup>8-10</sup>.

We investigated hormonal changes during exercise and reported that prolactin is the only hormone which increased significantly in both follicular and luteal phase<sup>4-6</sup>.

The relationship between hyperprolactinemia and secondary amenorrhea/anovulatory cycle has been well documented in patients with functional hyperprolactinemia or bearing a prolactin-secreting pituitary adenoma. Recently, it is believed that transient hyperprolactinemia and occulted hyperprolactinemia at night are important to infertility<sup>11</sup> and anovulatory cycle<sup>12</sup>. In transient hyperprolactinemia, they showed an increased prolactin secretion capacity after the administration of thyrotropin-releasing hormone (TRH)<sup>12</sup>. These responses are similar to those in athletes with menstrual disorders<sup>8</sup>. These data suggested that prolactin secretion during exercise is an important factor for exercise-induced menstrual dysfunction in female athletes. Mori et al.<sup>12</sup> reported that dopamine antagonist (bromo-

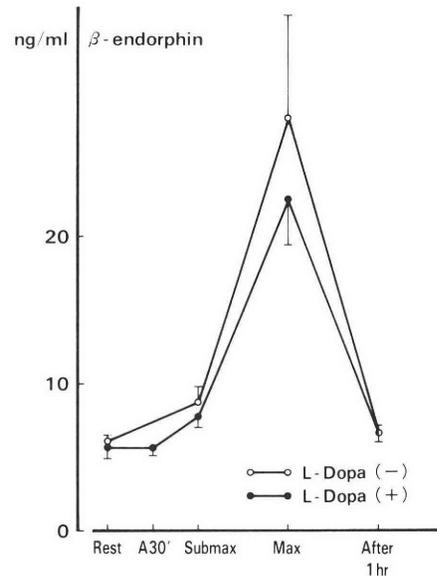


Fig. 5 Effect of L-dopa on plasma  $\beta$ -endorphin levels during incremental exercise in follicular phase. Each value is expressed as the mean  $\pm$  SE. There were no significant differences in both the L-Dopa(-) and L-Dopa(+) groups at each of the points that were examined.

riptine) is effective to induce ovulation in the cases of transient hyperprolactinemia.

It is well known that prolactin release from the pituitary anterior lobe is regulated by two mechanisms: the prolactin releasing factor (PRF) and the prolactin inhibitory factor (PIF). The clear requirement for a prolactin stimulating mechanism has been difficult to demonstrate unambiguously. The growing list for PRF includes TRH<sup>13</sup>, VIP<sup>14</sup>,  $\beta$ -endorphin<sup>15</sup>, methionine enkephalin, leucine enkephalin<sup>16</sup>, serotonin<sup>17</sup>, neurotensin<sup>18</sup>, gonadotropin-releasing hormone (GnRH)<sup>19</sup>, vasopressin<sup>20</sup>, oxytocin<sup>21</sup>, substance P<sup>22</sup> and epidermal growth factor<sup>23</sup>. Even though these substances have the capacity to effect the release of prolactin, this fact alone does not establish a physiological role for the substance as a prolactin-releasing hormone. It is thought that the major PRFs are endogenous opiate peptide  $\beta$ -endorphin and VIP. On the contrary, there is growing skepticism of the view that dopamine is the sole PIF mediating tonic hypothalamic inhibition. Furthermore, it is thought that dopamine tonically stimulates the secretion of an unidentified

fied PIF<sup>24</sup>). However, Peters and coworkers<sup>25,26</sup>) reported that the extracts of pituitary posterior lobe contained a significant prolactin-inhibiting activity that could be attributed to dopamine since inhibition was reversed by cotreatment with a dopamine antagonist. In addition, the control of dopamine release or turnover in the central nervous system, therefore, may be mediated by  $\beta$ -endorphin<sup>27-29</sup>). Furthermore, the interaction between  $\beta$ -endorphin and gonadotropin release is complex and appears to involve GnRH with a modulating effect on ovarian sex steroids<sup>30</sup>).

In this study, we measured the concentration of serum prolactin, plasma dopamine as PIF, and plasma  $\beta$ -endorphin and VIP as PRFs during incremental exercise with or without L-dopa in female athletes in the follicular phase. The data on hormonal changes indicated the following. During incremental exercise without L-dopa as control study, serum prolactin and plasma PRFs ( $\beta$ -endorphin and VIP) levels increased significantly. On the other hand, plasma dopamine (PIF) levels showed no remarkable changes. The administration of L-dopa resulted in significant changes in serum and plasma hormonal levels during incremental exercise. This indicated that serum dopamine levels increased significantly following the administration of L-dopa at any of the points examined during exercise, however serum prolactin levels were significantly suppressed by the administration of L-dopa. On the contrary, there were no significant changes in PRFs ( $\beta$ -endorphin and VIP).

In conclusion, these data suggest that the precursor of dopamine (L-dopa) and/or dopamine antagonist (bromocriptine) may be useful to prevent the prolactin secretion during exercise. However, the increase of  $\beta$ -endorphin during exercise may be one of the important factors for the etiology of exercise-induced hypothalamic insufficiency in female athletes. It is necessary to conduct more detailed studies to answer this questions.

We thank Prof. Katsumi Asano and Prof. Masasuke Eda, Institute of Sports and Science, University of Tsukuba, for their comprehensive

cooperation. This work was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan (No. 01570915), by the University of Tsukuba Research Project, and by the Uehara Memorial Foundation.

## References

- 1) Frish, R. E., Gotz-Welbergen, A. V., McArthur, J. W., Albright, T., Witschi, J., Bullen, B., Birnholz, J., Reed, R. B. and Herman, H.: Delayed menarche and amenorrhea of college athletes in relation to age of onset of training, *J. A. M. A.*, 246: 1559, 1981
- 2) Mesaki, N., Sasaki, J., Shoji, M., Iwasaki, H. and Eda, M.: Delayed menarche followed by early onset of athletic sports training, *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 36: 49, 1984
- 3) Mesaki, N., Sasaki, J., Shoji, M., Iwasaki, H. and Eda, M.: Menstrual characteristics in college athletes, *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 36: 247, 1984
- 4) Mesaki, N., Sasaki, J., Shoji, M., Iwasaki, H., Asano, K. and Eda, M.: Hormonal changes during incremental exercise in athletic women, *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 38: 45, 1986
- 5) Mesaki, N., Sasaki, J., Shoji, M., Iwasaki, H., Asano, K. and Eda, M.: Hormonal changes during continuous exercise in female athletes, *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 39: 63, 1987
- 6) Sasaki, J., Mesaki, N., Shoji, M. and Iwasaki, H.: Hormonal changes during athletic activity in female badminton players, *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 32: 5, 1987
- 7) Mesaki, N., Sasaki, J., Motobu, M., Nabeshima, Y., Shoji, M., Iwasaki, H., Asano, K. and Eda, M.: Effect of naloxone on hormonal changes during exercise, *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 41: 1991, 1989
- 8) Mesaki, N., Motobu, M., Sasaki, J., Shoji, M. and Iwasaki, H.: Hypothalamic-pituitary function in female athlete, *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 33: 291, 1988
- 9) Mesaki, N., Sasaki, J., Nabeshima, Y., Asano, K. and Eda, M.: Decrease of pulsatile gonadotropin secretion in female athletes, *Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med.*, 40: 365, 1991
- 10) McArthur, J. W., Bullen, B. A., Beitins, I. Z., Pagano, M., Bädger, T. M. and Klibanski, A.: Hypothalamic amenorrhea in runners of normal body composition, *Endocr. Res. Commun.*, 7: 13, 1980
- 11) Ben-David, M. and Schenker, J. G.: Transient hyperprolactinemia: A correctable cause of

- idiopathic female infertility, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 57: 442, 1983
- 12) Mori, H., Aisaka, K., Matsuoka, R. and Kigawa, T.: The mechanism of induction of ovulation by bromocriptine in euprolactinemic anovulation--The role of occulted hyperprolactinemia in anovulation, *Folia Endocrinol.*, 61: 38, 1985
- 13) Tashjian, A. H. Jr., Barowsky, N. J. and Jensen, D. K.: Thyrotropin releasing hormone: Direct evidence for stimulation of prolactin production by pituitary cells in culture, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43: 516, 1971
- 14) Frawley, L. S. and Neill, J. D.: Stimulation of prolactin secretion in rhesus monkeys by vasoactive intestinal peptide, *Neuroendocrinology*, 33: 79, 1981
- 15) Grandison, L. and Guidotti, A.: Regulation of prolactin release by endogenous opiates, *Nature*, 270: 357, 1977
- 16) Lien, E. L., Fenichel, R. L., Garsky, V., Sarantakis, D. and Grant, N. H.: Enkephalin-stimulated prolactin release, *Life Sci.*, 19: 837, 1976
- 17) Wehrenberg, W. B., McNicol, D., Frantz, A. G. and Ferin, M.: The effects of serotonin on prolactin and growth hormone concentrations in normal pituitary stalksectioned monkeys, *Endocrinology*, 107: 1747, 1980
- 18) Enjalbert, A., Arancibia, S., Priam, M., Bluet-Pajot, M. T. and Kordon, C.: Neurotensin stimulation of prolactin secretion in vitro, *Neuroendocrinology*, 34: 95, 1982
- 19) Denef, C.: LHRH stimulated prolactin release from rat pituitary lactotrophs co-cultured with a highly purified population of gonadotrophs, *Ann. Endocrinol. (Paris)*, 42: 65, 1981
- 20) Shin, S. H.: Vasopressin has a direct effect on prolactin release in male rats, *Neuroendocrinology*, 34: 55, 1982
- 21) Lumpkin, M. D., Samson, W. K. and McCann, S. M.: Hypothalamic and pituitary sites of action of oxytocin to alter prolactin secretion in the rat, *Endocrinology*, 112: 1711, 1983
- 22) Kato, Y., Chihara, K., Ohga, S., Iwasaki, Y., Abe, H. and Imura, H.: Growth hormone and prolactin release by substance P in rats, *Life Sci.*, 19: 441, 1976
- 23) Johnson, L. K., Baxter, J. D., Vlodaysky, I. and Gospodarowicz, D.: Epidermal growth factor and expression of specific genes: Effects on cultured rat pituitary cells are dissociable from the mitogenic response, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 394, 1980
- 24) Gibbs, D. M. and Neill, J. D.: Dopamine levels in hypophyseal stalk blood in the rat are sufficient to inhibit prolactin secretion in vivo, *Endocrinology*, 102: 1895, 1978
- 25) Peters, L., Hofer, M. T. and Ben-Jonathan, N.: The posterior pituitary: Regulation of anterior pituitary prolactin secretion, *Science*, 213: 659, 1981
- 26) Ben-Jonathan, N. and Peters, L.: Posterior pituitary lobectomy: Differential elevation of plasma prolactin and luteinizing hormone in estrous and lactating rats, *Endocrinology*, 110: 1861, 1982
- 27) Deyo, S. N., Swift, R. M. and Miller, R. J.: Morphine and endorphins modulate dopamine turnover in rat median eminence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 3006, 1979
- 28) Meites, J., Bruni, J. F., Van-Vugt, D. A. and Smith, A. F.: Relation of endogenous opioid peptides and morphine to neuroendocrine functions, *Life Sci.*, 24: 1325, 1979
- 29) Van-Loon, G. R., Ho, D. and Kim, C.: Beta-endorphin induced decrease in hypothalamic dopamine turnover, *Endocrinology*, 106: 76, 1980
- 30) Ferin, M., Van-Vugt, D. and Wardlaw, S.: The hypothalamic control of the menstrual cycle and the role of endogenous opioid peptides, *Recent Prog. Horm. Res.*, 40: 441, 1984

## スポーツ活動時 prolactin 分泌亢進 に対する L-Dopa の抑制効果

筑波大学臨床医学系産科婦人科

目崎 登 佐々木純一 宗田 聡  
鍋島雄一 岩崎寛和

スポーツ活動時の prolactin (PRL) 分泌亢進に対する L-Dopa の効果を検討した。

女子運動選手 5 名を対象とし、月経周期の 5 ~ 8 日に自転車 ergometer を用いる最大運動負荷試験を L-Dopa 投与の有無により 2 回実施した。採血は安静臥床 60 分間後、運動負荷試験中は心拍数 150 bpm 時と最大運動負荷時に、さらに運動負荷試験終了後 60 分間の安静臥床後に行った。なお、L-Dopa は 60 分間の安静臥床後に 50 mg を静注し、30 分の安静臥床後に採血し、運動負荷試験を実施した。血清中 PRL、血漿中 dopamine (DA)、 $\beta$ -endorphin ( $\beta$ -EP) および vasoactive intestinal peptide (VIP) 濃度を測定した。

L-Dopa 投与により DA は著明に増加し、運動中も高値を持続した。運動負荷試験時の PRL の上昇は L-Dopa 投与により明らかに抑制された。しかし、 $\beta$ -EP および VIP には L-Dopa 投与による影響は認められなかった。

これら成績より、dopamine 作動薬 (bromocriptine) による女子運動選手の月経異常発現予防の可能性が示唆された。

(受付: 1991 年 2 月 25 日)

# EFFECTS OF PROGESTOGENS AND ITS ANTAGONIST ON THE BEADS ATTACHED DISPERSED RAT PITUITARY CELLS IN THE PERIFUSION SYSTEM

Shoichiro AWATA

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Teikyo University School of Medicine, Tokyo 173, Japan  
(Director: Prof. Kiyoshi Arai)

---

**Abstracts:** Dispersed anterior pituitary cells of ovariectomized adult female rats aged 8 wk were attached to Cytodex-1 beads, and packed into chambers in the perifusion system. Cells were preincubated in the medium containing estradiol for 48h before being packed. Pituitary cells were perifused with progesterone, or 3-keto desogestrel with or without RU486 in the same medium. The pulsatile secretions of LH were observed following intermittent GnRH stimulations at 50-min intervals, and the amounts of LH release of each single pulse were gradually increased. 3-keto desogestrel showed a much more significant facilitatory effect to provoke LH pulsatile releases than did progesterone. After 100 min (the second pulse) of perifusion by progesterone and 3-keto-desogestrel, an LH release was enhanced by 157 and 235%, respectively. RU486 suppressed the facilitatory effect of progesterone, but not of 3-keto-desogestrel. The results of static monolayer cell culture of rat pituitary cells showed some discrepancies to perifusion studies. This might be attributed to the differences in experimental conditions; a 3h continuous GnRH stimulation in the well culture on one hand, and pulsatile stimulations in the perifusion system on the other.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 745-753, 1991)

---

## Introduction

Estradiol facilitates or suppresses the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) stimulated luteinizing hormone secretion *in vitro*<sup>1,2</sup>, and progesterone modulates these effects<sup>3-7</sup>. Progestogenic modulation of LH release appears to be exerted at both hypothalamic and hypophysial sites *in vivo*<sup>8</sup>. Progestins are known to have biphasic actions on gonadotropin secretion, with a stimulatory effect on GnRH-induced LH release after short-term treatment and a suppressive effect after long-term treatment<sup>5</sup>. Such responses are elicited with steroid and GnRH concentrations in the physiologi-

cal range<sup>9</sup> and it is suggested that the function of gonadotrophs is affected directly by progesterone *in vitro* and *in vivo*. Anterior pituitary cells contain high affinity-low capacity binding proteins for progestins which are regulated by estrogen<sup>10,11</sup>. These proteins accumulate in cell nucleus following progesterone exposure. In these target tissues, progestin's modulation involve steroid-receptor complex mediated alterations in gene expression<sup>12</sup>. Pulsatile secretion of GnRH from the hypothalamus stimulates LH release, and the number of GnRH receptor and the amount of LH release varies in rat estrous cycles<sup>13,14</sup>. The role of the inhibitory effect of progesterone is believed to be to confine the LH surge to the day

of proestrous, while the stimulatory effect serves to increase the magnitude of the LH surge and synchronize its timing<sup>9</sup>. Sex steroid antagonists block these facilitatory and inhibitory effects *in vitro*<sup>5,21</sup>. The details of the cellular mechanisms of LH release or its steroidal modulation of gonadotrophs still remain to be clarified.

Desogestrel (Org2969) is a synthetic steroid used as a progestogenic compound for low dose oral contraceptives<sup>15</sup>. Desogestrel is rapidly converted in the liver into 3-keto-desogestrel, a strong and specific progestogen, as a major metabolite<sup>16~18</sup>. In the present experiments, dispersed anterior pituitary cells of ovariectomized rats were attached to Cytodex-1 beads and packed into chambers in the perifusion system<sup>19,20</sup>. Progesterone or 3-keto-desogestrel was added in the perifusion medium, and the results of pulsatile secretion of LH were compared each other. Anti-progestogenic agent, RU486, was used in this system to find out its effect. Although the contraceptive and contragestive action of RU486 are mainly due to its direct effects on the endometrium and in placenta<sup>22,23</sup>, modulation of gonadotropin secretion by the antiprogestin might also be involved in its antifertility effects. Conventional cell cultures<sup>24</sup> were also performed with these steroids to evaluate quantitative differences in LH secretions from the pituitary cells. A variety of secretagogues were challenged to activate Ca<sup>2+</sup> influx, elevate c-AMP levels, or stimulate protein kinase C activity for the purpose of clarifying the participation of these mechanism at the levels of intracellular transduction system in the progestogenic modulation of estrogen pretreated rat gonadotrophs.

### Materials and Methods

#### <Hormones and reagents>

Estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>), progesterone (P), and GnRH were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Desogestrel (Dg, Org 2969) [13-ethyl-11-methylene-18,19-dinor-17 $\alpha$ -pregn-4-en-20-yn-17-ol] and 3-keto-desogestrel (3k-Dg, 3-keto-Org 2969) [13-ethyl-17-hydroxy-11-methylene-18,19-dinor-17 $\alpha$ -pregn-4-en-20-yn-3-on] were provided by Organon Research laboratories (Oss, Nether-

lands). RU486 [17 $\beta$ -hydroxy-11 $\beta$ -(4-dimethylaminophenyl)-17 $\alpha$ -(1-propynyl) estro-4,9-dien-3-one] was provided by Roussel-UCLAF (Romainville, France). Steroids were prepared in ethanol, and GnRH was dissolved in PBS containing 1mg/ml BSA.

#### <Animals>

Anterior pituitary glands were obtained from the ovariectomized adult female rats of the Sprague-Dawley strain aged 8wk.

#### <Pituitary cell preparation and culture conditions>

Pituitary cells were dispersed in 1% ESA-HCMF, containing 40mg of collagenase and 50 $\mu$ g of DNase, at 37°C under a water-saturated atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> and 95% air, for 90 min. The cells were then washed twice in HCMF without collagenase or DNase. For cell culture Medium 199 with Hank's salts and L-glutamine (Gibco, Grand Island, NY) supplemented with 1.4g/liter sodium bicarbonate, 10 $\mu$ g/ml streptomycin, 100U/ml penicillin (Meiji Confectionary Company, Tokyo, Japan), 2.5% fetal calf serum and 10% horse serum (Grand Island Biological Co., Santa Clara, CA, USA) was used. These sera were pretreated with 2% charcoal (Norit A) and 0.2% Dextran T 70 (Pharmacia, Uppsala, Sweden) beforehand.

#### <Monolayer cell culture>

The incubation medium was poured to the multiwell culture dishes (CELL WELLS, Corning Co., NY) each containing 1.5 $\times$ 10<sup>5</sup> cells. The dishes were cultured in a water-saturated atmosphere of 95% air-5% CO<sub>2</sub> at 37°C for 3 days. Prior to the addition of hormonal agents, the cells were washed with the freshly prepared medium. The incubations lasting for more than 24h were performed in incubation medium (see above)

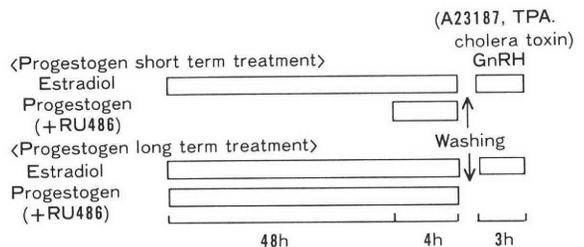


Fig. 1 The protocol of the hormonal treatment in the monolayer cell culture experiments.

while those lasting less than 4h were carried out in the same medium containing 1% BSA without sera.

The cells were then washed with the medium and further incubated for 3h with GnRH or other secretagogues (A23187, TPA, or cholera toxin) (Fig. 1). Upon completion of the incubation, the medium was collected and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until LH was assayed.

<Pituitary cell perfusion>

Pituitary cells were cultured on Cytodex-1 microcarrier beads (Pharmacia;  $1 \times 10^7$  cells per  $200\mu\text{l}$  beads) in 100ml of the incubation medium in Tissue Culture Flasks (Corning Co., NY). The cells were cultured for 3 days and estradiol ( $10^{-9}$  M) was added for the last 48h. The cells were then collected by centrifugation and transferred to the perfusion chambers (0.25ml MILLIPORE, Millipore Co., MA) followed by perfusion experiments. Perfusion was carried out with prewarmed ( $37^{\circ}\text{C}$ ) Medium 199 with Hank's salts and L-glutamine containing 0.5% BSA, pH7.4, at a flow rate of 0.5ml/min. After 2h of perfusion with the medium containing estradiol, a stable baseline

level of LH secretion was achieved, when hormones were added in the medium. The beads attached pituitary cells were stimulated with  $10^{-8}$  M of GnRH in a pulsatile fashion for 2 min every 50 min. Progestogenic agents were started to infuse immediately following the stimulation by GnRH. The sample medium was collected every 5 min, and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until LH was assayed.

<Radioimmunoassay (RIA)>

LH in the media was determined by the double antibody RIA method, using NIDDK kit with RP-3 as a rat LH standard.

<Data analysis>

Student's t-test was used for statistical analysis, and a P value of less than 0.05 was considered significant.

Results

1) Effects of progestogens and RU486 on LH release of the estradiol pretreated pituitary cells from ovariectomized rats in perfusion experiments

In this series of experiments, dispersed pituitary cells were preincubated with 1 nM of estradiol for 48h. Packed cells were perfused with the medium which contained either of these progestogens

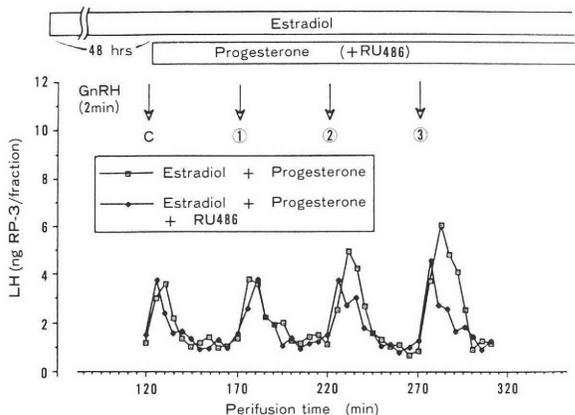


Fig. 2 Typical perfusion experiment showing LH release from rat pituitary cells cultured on the microcarrier beads in response to 2-min GnRH ( $10^{-8}$ M) pulses administered every 50 min. Cells were obtained from 3 wk ovariectomized rats. Prior to perfusion, cells were pretreated with  $10^{-9}$ M estradiol for 48h. After an initial control pulse of GnRH the cells were further perfused with the medium added with  $10^{-7}$ M progesterone (P) or P plus  $10^{-6}$ M RU486.

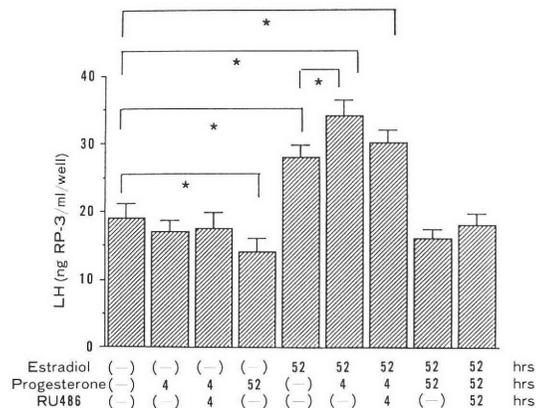


Fig. 3 Typical perfusion experiment showing LH release from rat pituitary cells cultured on the microcarrier beads in response to 2-min GnRH ( $10^{-8}$ M) pulses administered every 50 min. Cells were obtained from 3 wk ovariectomized rats. Prior to perfusion, cells were pretreated with  $10^{-9}$ M estradiol for 48h. After an initial control pulse of GnRH the cells were further perfused with the medium added with  $10^{-7}$ M 3-keto-dosogestrel (3kDg) or 3kDg plus  $10^{-6}$ M RU486.

Table 1 Effects of progesterone (P) and 3-keto-desogestrel (3kDg) with or without RU486 on LH release from perfused pituitary cells induced by  $10^{-8}$ M pulses of GnRH every 50 min throughout the experiments. The cells were obtained from ovariectomized rats and pretreated with  $10^{-9}$ M of estradiol ( $E_2$ ) for 48h.

	first pulse	second pulse	third pulse
Vehicle	97 ± 5	92 ± 11	96 ± 9
$E_2$ (48h)	121 ± 15	108 ± 10	116 ± 8
$E_2$ + P (48h)	119 ± 7	157 ± 13	182 ± 19
$E_2$ + P + RU (48h)	117 ± 11	111 ± 9	137 ± 14
$E_2$ + 3kDG (48h)	114 ± 6	235 ± 53	351 ± 64
$E_2$ + 3 kDG + RU (48h)	116 ± 12	242 ± 46	379 ± 73

All values are the means ± SE. Data of three separate perfusion experiments were combined, expressed as per cent of a control pulse (=100%). \*:  $p < 0.05$  vs.  $E_2$  control, \*\*:  $p < 0.05$  vs.  $E_2$  + P (t test).

(100nM) with or without RU486 (1 $\mu$ M), after application of the initial GnRH pulse (control pulse). The amounts of the released LH stimulated by subsequent GnRH pulses were expressed as per cent of the control pulse of each case. The cells perfused only with vehicle medium without any steroidal treatment did not show any changes of the gonadotropin responses to repeated GnRH administration (Table 1). Pretreatment of pituitary cells only with 1 nM of estradiol during the perfusion experiment induce a small increase of LH release responding to repeated GnRH stimuli, but the difference was not significant (Table 1). When the cells were primed with estradiol and subsequently perfused with progesterone the LH responses to GnRH pulses became significant after 100 min (the second pulse) and 150 min (the third pulse) by up to 182 ± 19% (Table 1, Fig. 2). A marked increase in LH release was observed as 3-keto-desogestrel was treated by up to 351 ± 53% (Table 1, Fig. 3). If RU486 was perfused with progesterone the stimulating effect of the latter on LH secretion was abolished. However, the stimulating effect of 3-keto-desogestrel was not inhibited by this compound (Table 1, Figs. 2 and 3).

## 2) Effects of progestogens and RU486 on LH release of pituitary cells in monolayer culture experiments

Treatment with estradiol for 52h increased the

GnRH stimulated LH release ( $p < 0.05$ , Fig. 4). Addition of progesterone in the medium for a short time (4h) further enhanced the LH secretion ( $p < 0.05$ ). Progesterone added in the medium alone for 52h brought the LH level down to the lowest value ( $p < 0.05$ ). A combined use of RU486 with progesterone showed a little effect, but the difference was not significant (Fig. 4). Short term incubation of the estradiol pretreated pituitary cells with 3-keto-desogestrel induced increased LH secretion ( $p < 0.05$ ). No difference was observed between the effects of progesterone and 3-keto-desogestrel. Desogestrel did not have such an effect. RU486 did not antagonize the effect of 3-keto-desogestrel under the present experimental conditions (Fig. 5).

Various secretagogues were challenged to the estradiol primed pituitary cells of short term progesterone treatment. The increased LH release was observed with each stimulant, but the effect of added steroids was not necessarily conspicuous (Fig. 6). When the pituitary cells had been treated with progesterone for 52h, the suppressive effect of steroids on LH release was observed in the GnRH-, A23187-, and cholera toxin-stimulated cases. The discrepancy was observed between progesterone and 3-keto-desogestrel in the TPA-stimulated results (Fig. 7). In these experiments, cholera toxin showed small but significant stimulatory effect as a se-

cretagogue compared with the LH basal secretion (no stimulation) (Figs. 6 and 7).

**Discussion**

In the present study, it was suggested that perfusion with 3-keto-desogestrel of the rat pituitary cells resulted in the more marked acute stimulatory effect than progesterone perfusion (Figs. 2 and 3, Table 1). As GnRH pulse amplitude and frequency were kept unchanged, the present results may indicate the positive feedback mecha-

nism of progestogens to the pituitary cells. This progestogenic action to the pituitary cells is considered to be exerted via the progesterone receptor<sup>25</sup>). Indeed, autoradiographic studies suggested that the nuclear receptor is present specifically in gonadotrophs<sup>26,27</sup>). 3-keto-desogestrel is a potent progestogen as compared to other 19-norsteroids<sup>15</sup>). It has high affinity to the progesterone receptor and relatively low affinity to the androgen receptor and human sex steroid binding globulin (SHBG). It displays very low or no affini-

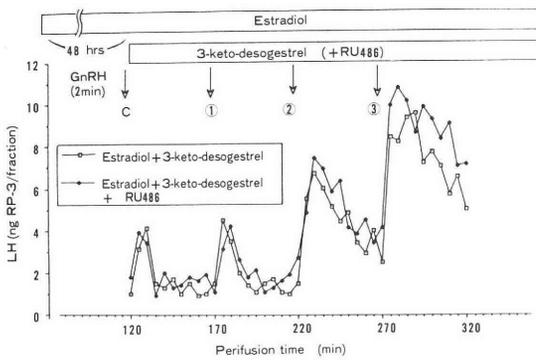


Fig. 4 Effects of acute (4h) and chronic (52h) exposures to progesterone with or without RU486 on GnRH-stimulated LH release from estradiol treated pituitary cells in culture. \*p<0.05 (t test). The values shown are the mean ± SE (n=4).

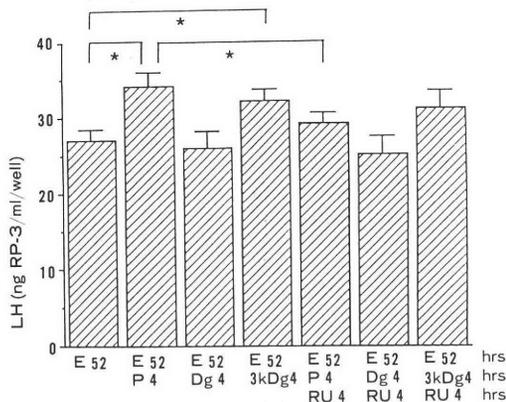


Fig. 5 Effects of acute (4h) and chronic (52h) exposures to progesterone, desogestrel, and 3-keto-desogestrel with or without RU486 on GnRH-stimulated LH release from estradiol treated pituitary cells in culture. \*p<0.05 (t test). The values shown are the mean ± SE (n=4).

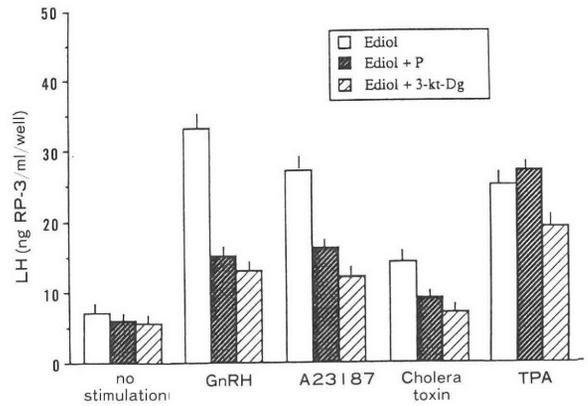


Fig. 6 Effects of acute exposures (4h) to progestogens on a variety of secretagogue-stimulated LH release from estradiol treated pituitary cells in culture. The values shown are the mean ± SE (n=4).

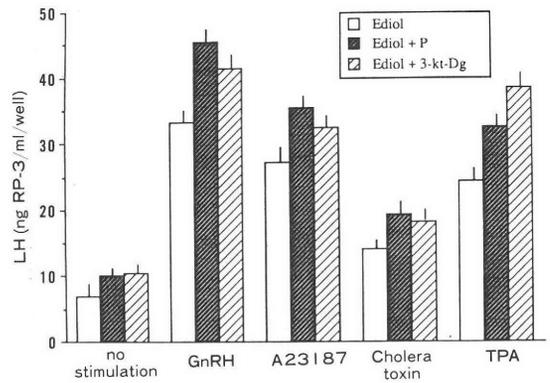


Fig. 7 Effects of chronic exposures (52h) to progestogens on a variety of secretagogue-stimulated LH release from estradiol treated pituitary cells in culture. The values shown are the mean ± SE (n=4).

ity to the estrogen receptor<sup>15)</sup>. The present results may be attributed to its higher affinity to progesterone receptor because 3-keto-desogestrel showed the stronger positive feedback effect than progesterone to the pituitary cells. Whereas the stimulating effect of progesterone to release LH was abolished by a combined use of RU486, a similar suppression of LH secretion by 3-keto-desogestrel was not observed. It is generally accepted that RU486 binds to progesterone receptor or glucocorticosteroid receptor<sup>28)</sup> instead of a progesterone or a glucocorticosteroid agonist and heat shock protein (hsp) 90 is not dissociated from the DNA-binding domain of the receptor which tends to remain in a non-DNA binding form<sup>29,30)</sup>.

Previous reports demonstrated that estrogen induces both positive and negative feedback effects on the GnRH-stimulated LH secretion from pituitary cells<sup>1,2)</sup>. The GnRH "self-priming effect"<sup>31,32)</sup> is observed in estrogen pretreated cells in the perfusion system. In the present study of well culture the estrogen dependency of the stimulating effects of progestogens was examined. No significant increase in LH responses was observed when these cells were treated with progestogens without estradiol priming. Krey et al. report that acute progesterone treatment enhances the GnRH-stimulated LH secretion only when the estradiol pretreatment significantly elevates the progesterone receptors which correlate to the size and duration of progesterone action<sup>7,25)</sup>. Progesterone receptors are fully induced 24h after the incubation with estradiol in these cells<sup>33,34)</sup>. Estradiol priming actions are not simply restricted to the induction of progesterone receptors, but involvement of cellular mechanism are also discussed especially in the case of maximal elevation of progesterone receptors<sup>25)</sup>, as it was demonstrated in several recent studies that steroids are able to act on different parts of the signal transduction system in the gonadotrophs<sup>35)</sup>. The number of GnRH binding sites of the anterior pituitary changes with the concentration of sex steroids<sup>13,14)</sup>. A recent study by Attardi and Happe shows that progesterone does not change the number of pituitary GnRH receptors in estrogen primed immature rats and considers the main site

of action of progesterone should be distal to the GnRH receptor<sup>36)</sup>. Krey and Kamel report that progesterone modulates basal and GnRH-stimulated LH release in similar percent alterations, suggesting that progesterone induced changes in GnRH receptor levels need not be involved<sup>7)</sup>. In contrast to the perfusion system, 3-keto-desogestrel and progesterone released similar levels of LH in the monolayer cell culture system. The discrepancy between the results may partly be due to different mode of GnRH applications, continuous stimulation for 3h vs. pulsatile stimulation every 50 min.

Although desogestrel itself has low affinity to the progesterone receptor, its active metabolite, 3-keto-desogestrel has high affinity to the progesterone receptor<sup>15)</sup>. In the present study, desogestrel had no effect on the LH release of estrogen primed pituitary cells.

To characterize the effects of progestogens various stimulants were applied to trigger LH release via different actions on cell function. GnRH binds to its receptor and as a result the intracellular  $Ca^{2+}$  levels increase<sup>37)</sup>. Ionophores like A23187 selectively open the  $Ca^{2+}$  channels on the cell membrane trigger an LH release in a similar quantitative way as GnRH, but its action is independent of the GnRH receptor<sup>38)</sup>. Although GnRH increased the c-AMP production in cultured pituitary cells<sup>39,40)</sup>, it is generally accepted that c-AMP is not necessarily involved in the GnRH stimulated LH release<sup>40,41)</sup>. Nonetheless an compounds which elevate the c-AMP level<sup>42)</sup> stimulates, albeit poorly, an LH release in cultured pituitary cells<sup>35,43)</sup>. In the present study, the biphasic modulation by progestogens, which was noted in GnRH-stimulated experiments, was also observed when cholera toxin was challenged.

GnRH also increases the intracellular level and extracellular release of inositol phosphates, diacylglycerol, and arachidinic acid<sup>44)</sup>. Although long term progesterone treatments suppressed LH secretion in most of the experimented cases, TPA-stimulated experiments of chronic treatment with natural progesterone still showed the tendency of increased LH secretion. The details of the role of protein kinase C activation in the

GnRH action of LH release and its modulation by gonadal steroids are also still in discussion<sup>45-48)</sup>.

### Conclusion

The estradiol pretreated ovariectomized rat pituitary cells showed significant increase of LH release by natural and synthetic progestogens' modulation in the perfused experimental system. The stronger acute facilitatory effect by 3-Keto-desogestrel was observed in this experiment, which was not apparently shown in the well culture system. Anti-progestogenic agent, RU486, could significantly inhibit this modulation of LH secretion by progesterone, but not the one by 3-Keto-desogestrel. The higher affinity of 3-Keto-desogestrel to progesterone receptor may be responsible for these results. These progestogenic effects were not observed in the study with desogestrel itself. The perfusion experimental system of microcarrier beads attached dispersed rat anterior pituitary cells represents an adequate model to examine rapid steroid hormone actions on pulsatile gonadotropin secretion.

### Acknowledgements

The author is grateful to the National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases (Bethesda, MD) for providing the LH RIA kit. Anti-rabbit goat serum was kindly supplied by Teikoku Hormone Co. (Tokyo). The author also wishes to thank Organon (Oss, Netherlands) for providing desogestrel and 3-Keto-desogestrel, and Roussel-UCLAF (Romainville, France) for RU486.

The author expresses deep appreciation to Prof. Kiyoshi Arai and to Associate Prof. Akira Kanbegawa for their appropriate advices.

This work supported in part by a grant in aid from the Japan Ministry of Education, Science and Culture.

### References

- 1) Tang, K., Martellock, A. C. and Horiuchi, J. K.: Estradiol stimulation of LH response to LHRH and LHRH binding in pituitary cultures, *Am. J. Physiol.*, 242: E392, 1982
- 2) Frawley, L. S. and Neill, J. D.: Biphasic effect of estrogen on gonadotropin-releasing hormone-induced luteinizing hormone release

in monolayer cultures of rat and monkey pituitary cells, *Endocrinology*, 114: 659, 1984

- 3) Hsueh, A. J. W., Erickson, G. F. and Yen, S. S. C.: The sensitizing effect of estrogens and catechol estrogen on cultured pituitary cells to luteinizing hormone-releasing hormone: its antagonism by progestins, *Endocrinology*, 104: 807, 1979
- 4) Drouin, J. and Labrie, F.: Interactions between  $17\beta$ -estradiol and progesterone in the control of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release in rat anterior pituitary cells in culture, *Endocrinology*, 108: 52, 1981
- 5) Ortmann, O., Emons, G., Knuppen, R. and Catt, K. J.: Inhibitory effects of the antiprogestin, RU486, on progesterone actions and luteinizing hormone secretion in pituitary gonadotrophs, *J. Steroid Biochem.*, 32: 291, 1989
- 6) Ortmann, O., Wiese, H., Knuppen, R. and Emons, G.: Acute facilitatory action of progesterone on gonadotropin secretion of perfused rat pituitary cells, *Acta Endocrinol. (Copenh)*, 121: 426, 1989
- 7) Krey, L. C. and Kamel, F.: Progesterone modulation of gonadotropin secretion by dispersed rat pituitary cells in culture. I. Basal and gonadotropin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 68: 85, 1990
- 8) Goodman, R. L. and Knobil, E.: The sites of action of ovarian steroids in the regulation of LH secretion, *Neuroendocrinology*, 32: 57, 1981
- 9) Freeman, M. E.: In *The physiology of reproduction Vol. 2* (Knobil, E. and Neill, J. D., eds), 1893, Raven Press, New York, 1988
- 10) Attardi, B. and Palumbo, L. A.: Effects of nafoxidine on the luteinizing hormone surge: temporal distribution of estrogen receptors, *Endocrinology*, 109: 1365, 1981
- 11) Kato, J. and Onouchi, T.: Specific progesterone receptors in the hypothalamus and anterior hypophysis of the rat, *Endocrinology*, 101:920, 1977
- 12) Clark, J. H. and Markaverich, B. M.: In *The physiology of reproduction, Vol. 1* (Knobil, E. and Neil, J. D., eds), 675, Raven Press, New York, 1988
- 13) Savoy-Moore, R. E., Schwartz, N. B., Duncan, J. A. and Marshall, J. C.: Pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors during the rat estrous cycle, *Science*, 209: 942, 1980
- 14) Clayton, R. N. and Catt, K. J.: Gonadotropin-releasing hormone receptors: characterization, physiological regulation, and relationship to reproductive function, *Endocrine Reviews*, 2: 186, 1981

- 15) Bergink, E. W., Hamberger, A. D., de Jager, E. and van der Vies, J.: Binding of a contraceptive progestogen ORG 2969 and its metabolites to receptor proteins and human sex hormone binding globulin, *J. Steroid Biochem.*, 14: 175, 1981
- 16) Vinikka, L., Klikkorkala, O., Nummi, S., Virkkunen, P., Ranta, T., Alapiessa, V. and Viik, R.: Biological effects of a new and potent progestogen; A clinical study, *Acta Endocr. Copenh.*, 83: 429, 1976
- 17) Ohkawa, T., Awata, S., Arakawa, S., Kanbegawa, A., Okinaga, S., and Arai, K.: The inhibitory effect of synthetic steroids on proestrous gonadotropin release in the rat, *Asia-Oceania J. Obstet. Gynaecol.*, 15: 183, 1989
- 18) Arai, K., Ohkawa, T., Arakawa, S., Mitsuma, M., Awata, S., Iyo, M., Takeshita, S., Ogino, M., Dobashi, K., Kanbegawa, A. and Okinaga, S.: Effects of synthetic progestogens on release of hormones in rats, In *The recent advances in hormonal contraception*, ed by Mizuno, M.: p1, (Satellite symposium of the 8th international congress of endocrinology), 1988
- 19) Smith, M. A. and Vale, W. W.: Superfusion of rat anterior pituitary cells attached to cytodex beads: validation of a technique, *Endocrinology*, 107: 1425, 1980
- 20) Smith, M. A. and Vale, W. W.: Desensitisation to gonadotropin-releasing hormone observed in superfused pituitary cells on Cytodex beads, *Endocrinology*, 108: 752, 1981
- 21) Awata, S.: Effects of RU486 and keoxifene on the dispersed pituitary cells of pregnant rats, (in press)
- 22) Baulieu, E. E.: RU486: An antiprogestin steroid with contraceptive activity in women. In *The antiprogestin steroid RU486 and human fertility control*, Plenum Press, 1985
- 23) Healy, D. L., Baulieu, E. E. and Hodgen, G. D.: Induction of menstruation by an antiprogestone steroid (RU486) in primates: site of action, dose response relationship, and hormonal effects, *Fert. Steril.*, 40: 253, 1983
- 24) Vale, W., Grant, G., Amoss, M., Blackwell, R. and Guillemin, R.: Culture of enzymatically dispersed anterior pituitary cells: functional validation of a method, *Endocrinology*, 91: 562, 1972
- 25) Krey, L. C., Kamel, F. and MacLusky, N. J.: Progesterone modulation of gonadotropin secretion by dispersed rat pituitary cells in culture. II. Intracellular metabolism and progestin receptors, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 68: 95, 1990
- 26) Sar, M. and Stumpf, W. E.: Progestin-target cells in brain and pituitary (Abstracts), *J. Steroid Biochem.*, 9: 877, 1978
- 27) Fox, S., Shivers, B., Harlan, R. and Pfaff, D. W.: Chemical characterization of neuroendocrine targets for progesterone in the female rat brain and pituitary, *Neuroendocrinology*, 51: 276, 1990
- 28) Gasc, J. M., Delahaye, F. and Baulieu, E. E.: Compared intracellular localization of the glucocorticoid and progesterone receptors: an immunocytochemical study, *Exp. Cell. Res.*, 181: 492, 1989
- 29) Pratt, W. B., Jolly, D. J., Pratt, D. V., Hollenberg, S. M., Giguere, V., Cadepond, F. M., Schweizer-Groyer, G., Catelli, M. G., Evans, R. M. and Baulieu, E. E.: A region in the steroid-binding domain determinations formation of the non-DNA-binding, 9S glucocorticoid complex, *J. Biol. Chem.*, 263: 267, 1988
- 30) Baulieu, E. E. and Catelli, M. G.: Steroid hormone receptors and heat shock protein M90,000 (hsp90): a functional interaction? In: *Pardue, M. L., Feramisco, J. R., Linaquist, S.*, eds. *Stress-induced proteins*, New York, Alan R Liss Inc., 203, 1989
- 31) Pickering, A. J. M. C. and Fink, G.: Priming effect of luteinizing hormone releasing factor: in vitro and in vivo evidence consistent with its dependence upon protein and RNA synthesis, *J. Endocr.*, 69: 373, 1976
- 32) Aiyer, M. S., Chappa, S. A. and Fink, G.: A priming effect of luteinizing hormone release factor on the anterior pituitary gland in the female rat, *J. Endocr.*, 62: 573, 1974
- 33) Attardi, B.: Progesterone modulation of the luteinizing hormone surge: regulation of hypothalamic and pituitary progestin receptors, *Endocrinology*, 115: 2113, 1984
- 34) Calderom, J. J., Muldoon, R. G. and Mahesh, V. B.: Receptor mediated interrelationships between progesterone and estradiol action on the anterior pituitary-hypothalamic axis of the ovariectomized immature rat, *Endocrinology*, 120: 2428, 1987
- 35) Krey, L. C. and Kamel, F.: Progesterone modulation of gonadotropin secretion by dispersed rat pituitary cells in culture. III. A23187, cAMP, phorbol ester and DiC8-stimulated luteinizing hormone release, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 70: 21, 1990
- 36) Attardi, B. and Happe, H. K.: Modulation of the estradiol-induced luteinizing hormone surge by progesterone or antiestrogens: effects on pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors, *Endocrinology*, 119: 274, 1986
- 37) Naor, Z.: Signal transduction mechanisms of  $Ca^{2+}$  mobilizing hormones; The case of

- gonadotropin-releasing hormone, *Endocrine reviews*, 1: 326, 1990
- 38) Jennes, L., Bronson, D., Stumpf, W. E. and Conn, P. M.: Evidence for an association between calmodulin and membrane patches containing gonadotropin-releasing hormone-receptor complexes on cultured gonadotropes, *Cell Tissue Res.*, 239: 311, 1985
- 39) Borgeat, P., Chavaney, G., Dupont, A., Labrie, F., Arimura, A. and Schally, A. F.: Stimulation of adenosine 3', 5' -cyclic monophosphate accumulation in anterior pituitary gland in vitro by synthetic luteinizing hormone-releasing hormone, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 69: 2677, 1972
- 40) Conn, P. M., Morrell, D. V., Dufau, M. L. and Catt, K. J.: Gonadotropin-releasing hormone action in cultured pituitocytes: independence of luteinizing hormone release and adenosine 3', 5'-monophosphate production, *Endocrinology*, 104: 448, 1979
- 41) Clayton, R. N., Shakespear, R. A. and Marshall, J. C.: LH-RH binding to purified pituitary plasma membranes: absence of adenylate cyclase activation, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 11: 63, 1978
- 42) Cassel, D. and Pfeuffer, T.: Mechanism of cholera toxin action: covalent modification of the guanyl nucleotide-binding protein of the adenylate cyclase system, *Proc. Natl. Acad. USA*, 75: 2669, 1978
- 43) Tang, L. K., Martellock, C. and Tang, F. Y.: Estradiol stimulation of pituitary c-AMP production and c-AMP binding, *Am. J. Physiol.*, 243: E109, 1982
- 44) Conn, P. M.: the molecular basis of gonadotropin-releasing hormone action, *Endocrine Reviews*, 7: 3, 1986
- 45) Johnson, M. S., Mitchell, R. and Fink, G.: The roles of protein kinase C in LHRH-induced LH and FSH release and LHRH self-priming in rat anterior pituitary glands in vitro, *J. Endocrinol.*, 116: 231, 1987
- 46) McArdle, C. A., Huckle, W. R. and Conn, P. M.: Phorbol esters reduce gonadotrope responsiveness to protein kinase C activators but not to  $Ca^{2+}$ -mobilizing secretagogues. Does protein kinase C mediate gonadotropin-releasing hormone action?, *J. Biol. Chem.*, 262: 5028, 1987
- 47) Stojilkovic, S. S., Chang, J. P., Ngo, D., Tasaka, K., Izumi, S. and Catt, K. J.: Mechanism of action of GnRH: the participation of calcium mobilization and activation of protein kinase C in gonadotropin secretion, *J. Steroid Biochem.*, 33: 693, 1989
- 48) King, J. A., Davidson, J. S., Mehl, A. E. I., Wakefield, I. K., Andersson, P. B. and Millar, R. P.: Gonadal steroid modulation of signal transduction and luteinizing hormone release in cultured chicken pituitary cells, *Endocrinology*, 124: 1830, 1989

**灌流ラット下垂体前葉細胞からの  
パルス状 LH 分泌に及ぼす  
ゲスターゲン剤とそのアンタゴニストの  
影響について**

帝京大学医学部産婦人科教室  
(主任：荒井清教授)  
粟田松一郎

ラット下垂体細胞からの LH 分泌はエストロゲンおよびプロゲステロンの条件によって様々に修飾を受ける。8 週令の卵巢摘出メスラットの下垂体細胞を分離培養し Cytodex-1 ビーズに付着させた。細胞は 48 時間エストラジオールで前処理したのち灌流実験装置へ移した。プロゲステロンあるいは 3 ケト・ゲソゲストレル投与の直前より 50 分間ごとに GnRH のパルス状刺激を加え、経時的に LH の放出量を測定した。プロゲステロン添加例において LH 分泌の段階的増強効果が認められたが、3 ケト・テソゲストレルではさらにそれが顕著に現れた。抗プロゲステロン剤である RU486 はプロゲステロンの作用を抑制したが 3 ケト・テソゲストレルに対しては抑制が認められなかった。これらの効果は単層培養における実験との間で相違する結果を認めたが、これはそれぞれの実験系での GnRH による刺激方法の違いに起因するものと考えられた。

(受付：1991 年 4 月 4 日特掲)

## 黄体の消長における aromatase 局在の変化

### Changes in Cellular Localization of Aromatase during Formation and Regression of the Corpus Luteum

長崎大学医学部産科婦人科学教室

黄 宏 駿 山 辺 徹  
Hung June HUANG Tooru YAMABE

Department of Obstetrics and Gynecology,  
School of Medicine, Nagasaki University,  
Nagasaki 852, Japan

卵胞および黄体における aromatase の活性と局在の変化について、ヒト胎盤マイクロゾム分画の aromatase に対する monoclonal 抗体を用いて、免疫組織化学的に検討した。

原始卵胞では、卵細胞原形質に aromatase 活性が認められ、estradiol 合成はこの時期にすでに行われている可能性が高い。三次卵胞で初めて顆粒膜細胞および内莢膜細胞に aromatase 活性の局在がみられ、estradiol 生成は両細胞において行われていることが考えられる。成熟卵胞、黄体初期または中期では、顆粒膜細胞および内莢膜細胞に aromatase の局在が認められ、ともにその活性が亢進していた。黄体後期では、顆粒膜細胞における aromatase の局在はほとんど消失し、estradiol 生成はかなり低下しているものと思われる。これに対して、黄体化内莢膜細胞の aromatase 活性はなお認められ、estradiol を生成し続けるものとみられる。また妊娠黄体の顆粒膜細胞における aromatase 活性はみられず、estradiol 生成が行われていないことが想定される。一方妊娠時の卵巣では、莢膜細胞および間質細胞における aromatase 活性が高く、顆粒膜細胞に代って estradiol 生成の場となることが示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 754-759, 1991)

#### 緒 言

ヒト卵巣において性ステロイド、蛋白ホルモン、細胞増殖因子または抑制因子などが産出される。性ステロイドのうち estradiol は排卵前では顆粒膜細胞、排卵後は黄体細胞より産出される。しかし黄体は形成期、開花期および退行期に区分され、それぞれの時期において、多少に拘らず estradiol が生成される。末梢血の estradiol 値も排卵直後はいったん低下し、その後、再び上昇し黄体中期で最高値を呈しながら、黄体後期に移行するにつれて低下し、黄体の運命に対応した変動を示す。一方、aromatase は顆粒膜細胞ないし黄体細胞において androstenedione を芳香化し estradiol へ変換させる合成酵素である。そこで、黄体における estradiol 生成について、黄体

細胞における aromatase 局在の変化をパラメーターとして免疫組織化学的に検討した。

#### 対象および方法

卵巣切除がなされた例のうち、発育卵胞または黄体を含むヒト卵巣組織について、月経周期の各時期、さらに妊娠初期の黄体を加えて計 26 個の卵巣を検体とした。なお卵胞発育の分類は「Erickson」の基準によった。

組織材料は formalin 固定、paraffin 包埋後、2  $\mu$ m の薄切切片を作製し、HE 染色および免疫組織化学染色を施した。すなわち、0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を加えた MeOH で内因性 peroxidase 活性を阻止した後に、ヒト胎盤 microsome 分画より精製した estrogen 合成酵素 aromatase に対する monoclonal 抗体を反応させた

(Oxygene, Texas, U.S.A.), さらに horseradish peroxidase 標識抗マウス IgG (KPL, U.S.A.) を用いた酵素抗体間接法により, aromatase の呈色反応を行った. なお妊娠6週の絨毛組織を positive control とし, aromatase 抗体を省略したものを negative control とした.

### 結 果

#### 1. 妊娠初期の胎盤絨毛

妊娠6週の絨毛では, syncytium 細胞のみが黄褐色に呈色され, aromatase 活性の局在が認められた. これに対して, Langhans 細胞および間質では陰性であった (図1).

#### 2. 原始細胞

組織学的には, 卵細胞とその周りを囲む一層の扁平な顆粒膜細胞からなる. 免疫組織化学的には, 卵細胞の原形質に, わずかに aromatase の局在が認められた (図2).

#### 3. 発育卵胞

一次卵胞では, 卵細胞は多少肥大し, 顆粒膜細胞は立方状または円柱状となり, 増大する. さらに二次卵胞では, 顆粒膜細胞の多層化が起こり, 卵胞周囲の間質から一層の莢膜細胞が分化してくる. 免疫組織化学的には, 両者および卵細胞ともに陰性であった.

三次卵胞 (early tertiary follicle) では, 顆粒膜細胞の多層化はさらに進み, 卵胞腔が形成されて胞状卵胞となる. 莢膜細胞は次第に重層化し, 紡錘形の外莢膜細胞と多稜形で lipid に富む大型の内莢膜細胞に分化する. その間を毛細血管と網状線維が走行する. 免疫組織化学的には, 顆粒膜細胞および内莢膜細胞に aromatase 活性の局在が認められたが, 顆粒膜細胞の方が著明であった (図3).

#### 4. 成熟卵胞

卵胞は増大して卵胞腔に豊富な卵胞液を入れる. 顆粒膜細胞の細胞質は狭少で, 核は小型であり, 顆粒膜細胞層では血管を欠き, 細胞相互の間隙は卵胞液を介して広がる. 内莢膜細胞は次第に増大して lipid を多量に貯蔵している. 免疫組織化学的には, 顆粒膜細胞および内莢膜細胞の細胞質にともに



図1 妊娠初期の胎盤絨毛. Syncytium 細胞が黄褐色に呈色され, Langhans 細胞および間質は陰性である

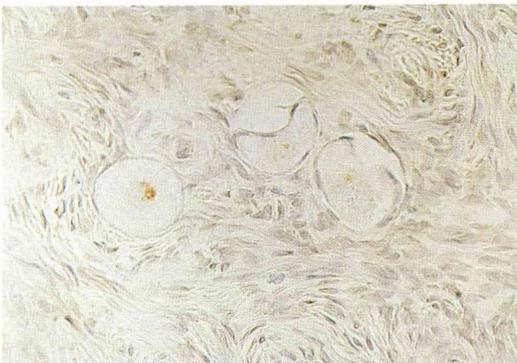


図2 原始卵胞. 卵細胞の原形質に黄色ないし黄褐色の反応生成物がみられ, aromatase の局在が認められる

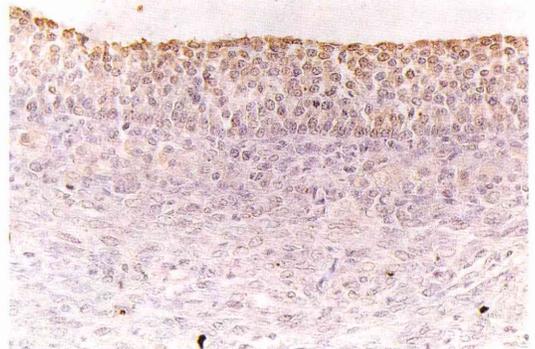


図3 三次細胞. 顆粒膜細胞および内莢膜細胞はともに aromatase 陽性である

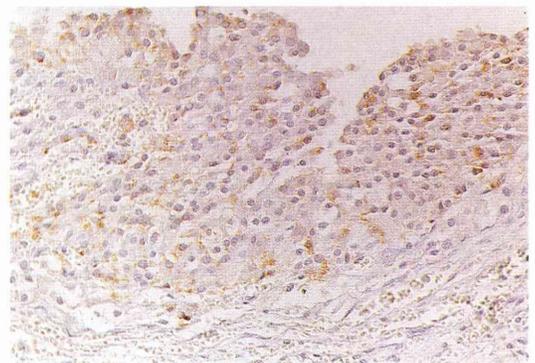


図4 成熟卵胞. 顆粒膜細胞および内莢膜細胞はともに aromatase 陽性である

aromatase の局在が認められたが、内莢膜細胞における反応は弱かった (図 4)。

#### 5. 排卵直後

内莢膜細胞層から顆粒膜細胞層への血管侵入が起こり、血液は卵胞中央へ進出する。一方、顆粒膜細胞層での毛細血管の新生とともに、これらの血管の吻合により洞様血管 (sinusoidal vessel) が形成され始める。免疫組織化学的には、黄体化顆粒膜細胞において強陽性で、内莢膜細胞は弱陽性であった (図 5)。

#### 6. 排卵後 1 日目

黄体中央に向かう血管の洞様構造がかなり密になり、黄体細胞は肥大してくる。免疫組織化学的に黄体細胞は強陽性であった (図 6)。

#### 7. 排卵後 4 日目

顆粒膜細胞は次第に大型化し、多稜形の黄体化顆粒膜細胞となる。内莢膜細胞では lipid によって細胞質は空胞化し、黄体化莢膜細胞となる。また顆粒膜細胞層への毛細血管の進入と増生が著しい。免疫組織化学的には、黄体化顆粒膜細胞および黄体化莢膜

細胞とともに aromatase 強陽性であった (図 7)。

#### 8. 排卵後 8 日目

黄体化顆粒膜細胞はかなり大型化し、黄体化莢膜細胞または間質細胞は増生し、黄体内毛細血管は豊富である。免疫組織化学的には、黄体細胞は強陽性であり、aromatase 活性の局在が認められた (図 8)。

#### 9. 排卵後 12 日目

黄体化顆粒膜細胞は著明に拡張し、核は濃縮傾向にあり、所々に脂肪変性が見とめられ、また毛細血管もほとんど認められなくなった。組織化学的には、数個の黄体化顆粒膜細胞にのみ陽性反応がみられ、その程度は黄体中期に比べてかなり減弱していた。辺縁部の黄体化莢膜細胞および間質細胞は増生し、少数ながら毛細血管が認められた。組織化学的には、黄体化顆粒膜細胞に比べて強い陽性反応がみられた (図 9)。

#### 10. 妊娠黄体

月経黄体に類似し、黄体化顆粒膜細胞は肥大しているが、形状は不整であり、毛細血管は欠如し、所々に細胞の変性、壊死または脂肪変性が見られる。一

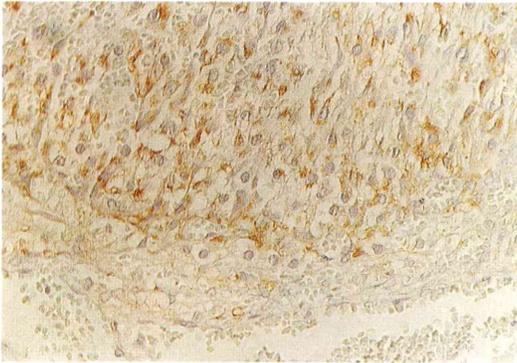


図 5 排卵直後、内莢膜細胞に比べて顆粒膜細胞が強陽性で、黄体内に血管が進入し洞様血管が形成される。

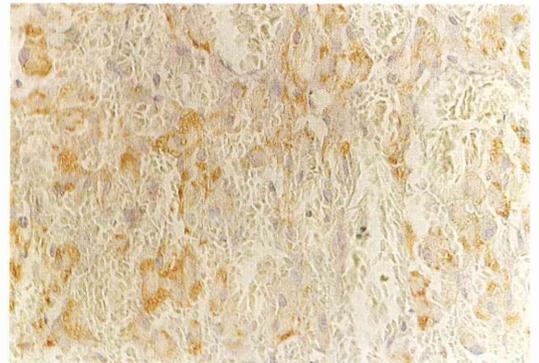


図 7 排卵後 4 日目、黄体内血管は増生し血流は旺盛となる。次第に大型化する黄体化顆粒膜細胞は強陽性である

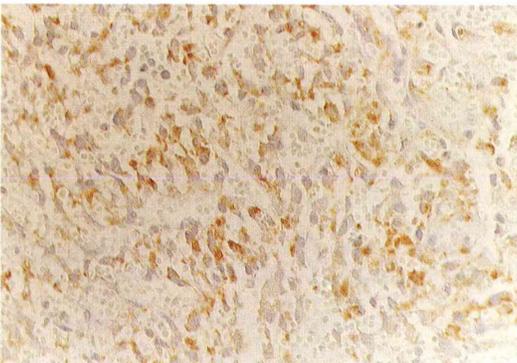


図 6 排卵後 1 日目、黄体内洞様血管はかなり密になり、黄体細胞は強陽性である

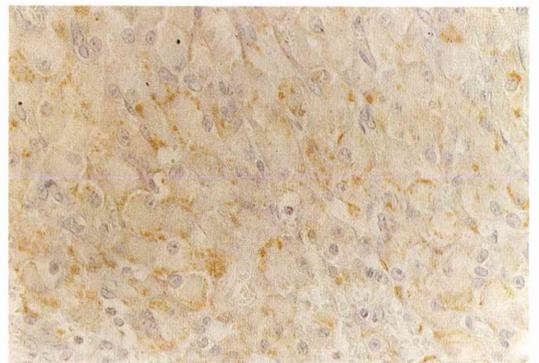


図 8 排卵後 8 日目、黄体化顆粒膜細胞はかなり大型化し、黄体細胞は強陽性である

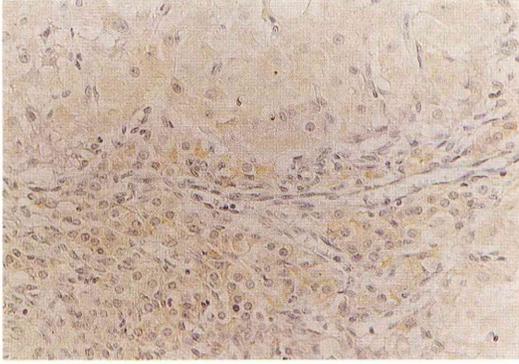


図9 排卵後12日目、拡大した黄体化顆粒膜細胞の諸所に脂肪変性、細胞壊死が生じ、数個の細胞にのみ aromatase 陽性反応が残存する。増生した黄体化莢膜細胞または間質細胞に、黄体化顆粒細胞に比べて強い陽性反応がられる

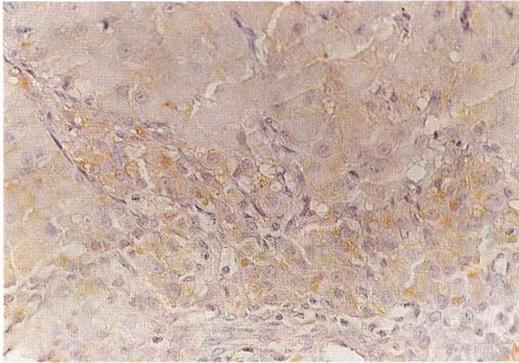


図10 妊娠黄体、黄体化顆粒細胞の拡張は著明で、aromatase 陽性細胞は少ない。増生する黄体化莢膜細胞または間質細胞は強い陽性反応を示す

方、黄体化莢膜細胞および間質細胞の増生は著明であり、毛細血管は依然認められる。免疫組織化学的には、黄体化顆粒膜細胞には陽性反応はほとんど認められなかった。これに対して、黄体化莢膜細胞および間質細胞は陽性であり、その程度は月経黄体に比べて著明であった(図10)。

#### 11. 閉鎖卵胞

顆粒膜細胞は消失し、内莢膜細胞の増生がみられる。免疫組織化学的には、内莢膜細胞に aromatase 活性の局在が認められた(図11)。

### 考 察

ヒト胎盤マイクロゾーム分画の aromatase に対する monoclonal 抗体を使用した免疫組織学的染色により、原始卵胞、発育卵胞、成熟卵胞、閉鎖卵胞、月経黄体および妊娠黄体における aromatase 活性の局在について検索することができた。原始卵胞では、

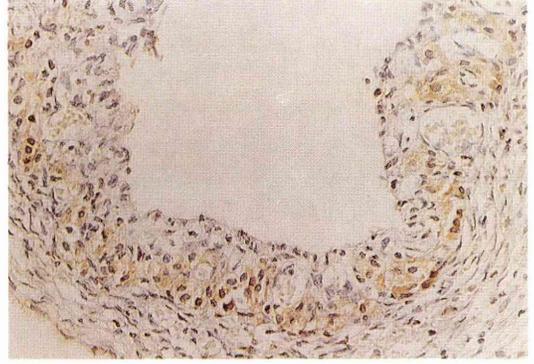


図11 閉鎖卵胞、顆粒膜細胞層が欠損し、多層化した莢膜細胞は aromatase 陽性である

卵細胞の原形質に aromatase が局在し、この段階ですでに steroidogenesis が開始している可能性が高い。一次および二次卵胞では、顆粒膜および内莢膜細胞に aromatase は証明されず、三次細胞において初めてその局在がみられた。成熟卵胞では、顆粒膜細胞および内莢膜細胞に aromatase 活性の局在が認められるが、顆粒膜細胞において著明であり、estradiol 合成は主にこの部で行われていることが考えられる。しかし閉鎖卵胞では、増生した内莢膜細胞にも aromatase 活性が認められる、estradiol を合成していることになる。

排卵後、黄体を形成するが、黄体初期および中期では、顆粒膜細胞における aromatase 活性は著明で、estradiol 合成が盛んに行われているものと思われる。一方、黄体化莢膜細胞および間質細胞にも aromatase が局在し、顆粒膜細胞ほどではないが、estradiol 合成がうかがわれた。黄体後期では、顆粒膜細胞における aromatase 活性はかなり低下し、少数の細胞にのみ残存していた。これに対して、黄体化莢膜細胞および間質細胞における aromatase 活性は高く、黄体化顆粒膜細胞に代って引き続き estradiol 合成を行っているものと考えられる。妊娠黄体では、顆粒膜細胞はすでに変性、壊死に陥り、aromatase 活性は認められず、黄体化莢膜細胞および間質細胞は増生しながら aromatase 活性を保持し、estradiol を合成し続ける所見が認められた。

三次卵胞において、初めて顆粒膜細胞または莢膜細胞に aromatase 活性の局在が認められたことから、ある程度以上に発育した卵胞では、顆粒膜細胞に FSH receptor を有し、FSH は receptor と結合して adenylyl cyclase を介する cAMP の産生効果を高めた<sup>2-4)</sup>、蛋白合成を促進して顆粒膜細胞の増殖とともに aromatase の活性化を activate することにより estradiol が生成される<sup>4,5)</sup>、さらに FSH と estradiol

の協同作用により、顆粒膜細胞に LH receptor が生成される<sup>3,4,6)</sup>。LH は receptor と結合し、aromatase 活性を高め estradiol 生成にも関与することになる。またこの段階の発育卵胞では、内莖膜細胞にすでに LH receptor が存在し、LH と結合して aromatase 活性を促進するので<sup>7,8)</sup>、ここで estradiol が生成されていることがうかがわれる。しかし私どもの成績から、この時期には、顆粒膜細胞における aromatase 活性が高く、estradiol は主として顆粒膜細胞で生成されることが考えられる。

成熟卵胞では、FSH と estradiol の協同作用によって顆粒膜細胞には FSH receptor のみならず、LH receptor が生成され、その数も増加しているといわれる<sup>9)</sup>。また内莖膜細胞は増生を続けながら、LH receptor を増やすことから、顆粒膜細胞とともに aromatase 活性は LH によって亢進され、estradiol 生成が旺盛に行われていることが示唆された。自験では、aromatase 活性は主に顆粒膜細胞に認められたが、Tanizawa らは逆に内莖膜細胞に局在していると報告しており、その理由は不明である。LH surge 後から排卵までは顆粒膜細胞と内莖膜細胞における LH receptor が増加し続け、LH は receptor と結合し aromatase 活性を増加せしめる。しかし内莖膜細胞の数が少ないことから、estradiol 生成は主に顆粒膜細胞で行われるものと思われる。またこの時期から、莖膜層より血管新生因子 (angiogenesis factor) が LH により誘導されるので、莖膜層から顆粒膜層内への血流が増加し、洞様血管 (sinusoidal vessel) が形成され、aromatase 活性が高まって estradiol 生成に寄与することが考えられる<sup>7,8)</sup>。

排卵後、黄体を形成するが、黄体化莖膜細胞より血管新生因子が分泌され続けて黄体血流を供給・維持する。そのためか、黄体細胞の呈色性が増強し、aromatase 活性は黄体形成とともに著しく亢進することがうかがわれた。一方、末梢血 estradiol 値は排卵直後に低値となるが、これは aromatase 活性の低下によるものではなく、排卵後、 $17\alpha$ -hydroxylase および  $C_{17-20}$  lyase 活性が低下するため、estradiol の前駆物質である androgen 生成が減少し、estradiol 生成の激減をきたしたものである<sup>10)</sup>。

黄体中期では、血管の新生および拡張が著明で黄体内血流が豊富となる。また黄体細胞が強陽性であることから、aromatase 活性が最も亢進し、estradiol 生成が盛んに行われていることが考えられる。

月経黄体の後期では、LH pulse が減少し<sup>11,12)</sup>、顆粒膜細胞は LH pulse に反応しなくなる<sup>13)</sup>。また aromatase 活性は殆ど認められなくなったことから、

黄体化顆粒膜細胞における aromatase 活性が急激に低下して、estradiol 生成が行われなくなることになる。一方、黄体化莖膜細胞および間質細胞は LH pulse に反応し、血管新生因子を誘導しながら血流を維持し<sup>7)</sup>、aromatase 活性を保持して少量ながら estradiol を合成するものと思われる。やがて黄体化顆粒膜細胞における oxytocin および prostaglandin 合成増加の影響で<sup>14)</sup>、血管の収縮が生じ、血流が低下・断絶して黄体化莖膜細胞および間質細胞の壊死をきたし<sup>15)</sup>、黄体は崩壊していく。このような黄体期における aromatase 活性の局在的变化は末梢血 estradiol 値の増減にほぼ一致していた。また血管新生因子は angiotensin II に類似するものと考えられているが<sup>7)</sup>、angiotensin II は血管収縮物質であることから、黄体における血管新生または血流維持との関連については、さらに検討を要する。

妊娠または hCG 投与の際、黄体血流に変化は認められないが、間質血流は著増する<sup>16)</sup>。黄体化顆粒膜細胞は hCG に反応せず、また私どもの成績では aromatase 活性の局在が認められなくなったことから、estradiol 合成が行われていないことが考えられる。しかし黄体化莖膜細胞および間質細胞は hCG の刺激を受けて増生し、aromatase の量ないし活性は増加し、estradiol を合成し続けるものと思われる。

以上の成績から、排卵まで aromatase は主に顆粒膜細胞に、黄体初期から中期までは顆粒膜細胞および莖膜細胞に局在していた。しかし月経黄体の後期または妊娠黄体では、aromatase の局在は莖膜細胞に限られ、estradiol 合成の場合は黄体の形成または退行の時期によって変化することが示唆された。また発育卵胞において顆粒膜細胞のみならず、内莖膜細胞にも aromatase の局在が認められ estradiol 合成が行われていることが考えられる。

## 文 献

- 1) Erickson, G. F., Magoffin, D. A., Dyer, C. A. and Hofeditz, C.: The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships, *Endocr. Rev.*, 6: 371, 1985
- 2) Jonassen, J. A., Bose, K., Richards, J. S.: Enhancement and desensitization of hormone-responsive adenylate cyclase in granulosa cells of preantral and antral ovarian follicles: effects of estradiol and follicle stimulating hormone, *Endocrinology*, 111: 74, 1982
- 3) Richards, J. S.: Maturation of ovarian follicles: action and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation,

- Physiol. Rev., 50: 51, 1980
- 4) Richards, J. S. and Bogovich, K.: Effects of human chorionic gonadotropin and progesterone on follicular development in the immature development in the immature rat, *Endocrinology*, 111: 1429, 1982
  - 5) Hseuh, A. J. W., Adashi, E. Y., Jones, P. B. C. and Welsh, T. H. Jr.: Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells, *Endocr. Rev.*, 5: 76, 1984
  - 6) Bogovich, K., Richards, J. S. and Reichert, L. E. Jr.: Obligatory role of luteinizing hormone (LH) in the initiation of preovulatory follicular growth in the pregnant rat: specific effects of human chorionic gonadotropin and follicle stimulating hormone of LH receptors and steroidogenesis in theca, granulosa and luteal cells, *Endocrinology*, 10: 860, 1981
  - 7) Fernandez, C. A., Twickler, J. and Mead, A.: Neurovascularization induced by angiotensin II, *J. Lab Clin. Med.*, 105: 141, 1985
  - 8) Pucell, A. G., Bumpus, F. M. and Husain, A.: Rat ovarian angiotensin II receptors: characterization and coupling to estrogen secretion, *J. Biol. Chem.*, 262: 7076, 1987
  - 9) Jones, G. S.: Corpus luteum: composition and function, *Fertil. Steril.*, 54: 315, 1990
  - 10) Eckstein, B. and Tsafiriri, A.: The steroid C-17, -20 lyase complex in isolated Graafian follicles: effects of human chorionic gonadotropin, *Endocrinology*, 118: 1266, 1986
  - 11) Ellinwood, W. E., Norman, R. L. and Spies, H. G.: Changing frequency of pulsatile luteinizing hormone and progesterone secretion during the luteal phase of the menstrual cycle of rhesus monkeys, *Biol. Reprod.*, 31: 714, 1984
  - 12) Reame, N., Sauder, S. E., Kelch, R. P. and Marchall, J. C.: Pulsatile gonadotropin secretion during the human menstrual cycle: evidence for altered frequency of gonadotropin-releasing hormone secretion, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 59: 328, 1984
  - 13) Alilo, H. W. and Hansel, W.: Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies, *Biol. Reprod.*, 30: 1015, 1984
  - 14) Fitts, T. A., Mock, E. J., Mayan, M. H. and Niswinder, G. D.: Interaction of prostaglandins with subpopulations of ovine luteal cells. II. Inhibitory effects of PGF<sub>2-α</sub> and protection by PGE<sub>2</sub>, *Prostaglandins*, 28: 127, 1984
  - 15) Harrison, L. M., Kenny, N. and Niswinder, G. D.: Progesterone production. LH receptors, oxytocin secretion by ovine luteal cell type on days 6, 10, and 15 of the estrus cycle and day 25 of pregnancy, *J. Reprod. Fertil.*, 79: 539, 1987
  - 16) Norjavaara, E., Olofsson, J., Gafvels, M. and Selstam, G.: Redistribution of ovarian blood flow after injection of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone in the adult pseudopregnant rat, *Endocrinology*, 120: 107, 1987

### Changes in cellular localization of aromatase during formation and regression of the corpus luteum

Hung June Huang and Tooru Yamabe

Department of Obstetrics and Gynecology,  
School of Medicine, Nagasaki University,  
Nagasaki 852, Japan

We have used immunohistochemistry to localize aromatase in the luteal compartment of human ovary during different luteal phase.

Follicular compartment was also examined to determine cellular localization of aromatase as control. A monoclonal antibody raised against human placental microsomal aromatase was used. Immunoreactivity of aromatase was detectable in the primordial follicle, the cytoplasm of oocyte. Immunoreactivity of theca interna cells was weak, but was more evident in the granulosa cells of antral follicle. Strong immunoreactivity was detectable in the granulosa and theca interna cells in the graafian follicle and in the corpora lutea during early and midluteal phase. Luteinized theca and small paraluteal cells displayed moderately immunoreactive in contrast to absent or weak immunoreactivity in large luteinized granulosa cells in the corpora lutea of late phase and early pregnancy.

Taken together, immunoreactivity of aromatase was observed in theca interna cells of atretic follicles and appeared to be related to the biosynthesis of estradiol. As such, these findings indicate that the enzyme aromatase has a widespread distribution in the follicular and luteal compartments of human ovary. But was confined to luteinized theca and interstitial cells in the corpora lutea of late stage and early pregnancy. The presence of aromatase in ovarian tissue correlate with its known estradiol biosynthesis.

(受付: 1991年3月15日特掲)

# ウサギ偽妊娠黄体における superoxide dismutase 活性と過酸化脂質

## Superoxide Dismutase Activity and Lipid Peroxide in the Rabbit Corpus Luteum During Pseudopregnancy

荻窪病院産婦人科

宮崎 豊彦

Toyohiko MIYAZAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Ogikubo Hospital Tokyo 167, Japan

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

小林 俊文

名取 道也

野澤 志朗

Toshifumi KOBAYASHI

Michiya NATORI

Shiroh NOZAWA

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Keio University School of Medicine, Tokyo 160, Japan  
(Director: Prof. Shiroh Nozawa)

活性酸素と黄体機能の関係を知る事を目的として、hCG 100IU 静注により偽妊娠状態としたウサギ黄体中の superoxide dismutase (SOD) 活性と過酸化脂質濃度を測定し、黄体より産生される progesterone (P) および prostaglandin F 代謝産物 (PGFM) との関係を検討した。P は hCG 投与により増加し、偽妊娠 11 日目で最高となり、以降 20 日目まで減少していった。Cu-Zn SOD 活性は 20 日目に最低値 ( $197 \pm 86$  U/mg protein) を示したが、P との間に相関を認めなかった。一方、Mn-SOD 活性は、11 日目に最高値 ( $178 \pm 39$  U/mg protein) を示し、その変動は P と有意な相関を示した。黄体中過酸化脂質と両 SOD 活性および P との間に相関は認められなかった。また、PGFM は SOD、P、過酸化脂質いずれとも相関を認めなかった。以上の結果から、Mn-SOD が偽妊娠家兎の P 産生すなわち黄体機能と関連があることが示され、黄体退縮における活性酸素の関与の可能性が示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 760-765, 1991)

### 緒 言

黄体の機能、発育、および退縮に関与する因子は、種々上げられているが、なお解明すべき点が多い。近年、その退縮に macrophage の関与があげられている。黄体中に macrophage が認められるといった報告や<sup>1,2)</sup>、それらが、黄体退縮の時期に一致して黄体中に侵入し、tumor necrosis factor  $\alpha$  を産生し、これが黄体の退縮に関与しているといった報告もある<sup>3)</sup>。一方、macrophage あるいは好中球が活性酸素

を産生することは良く知られた事実であるが<sup>4,5)</sup>、黄体の退縮と活性酸素の関係は未だ報告がない。過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) が luteolysis をもたらすという報告もあるが<sup>6)</sup>、活性酸素の黄体機能における明らかな役割は不明である。

活性酸素 ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH\cdot$ ) は生体内で細胞成分に直接障害を与え<sup>7,8)</sup>、脂質を過酸化して生体膜を破壊し、ひいては組織障害をきたすことが知られている<sup>9)</sup>。これに対し、生体は種々の防御酵素を持ち対応している。Superoxide dismutase (SOD) は活性

酸素のうち、過酸化脂質生成と関係の深い superoxide anion radical ( $O_2^-$ ) を特異的に除去する酵素であり<sup>8)</sup>、活性酸素によって誘導される<sup>10,11)</sup>。さらに、SOD はラット卵巣に局在し、黄体機能の制御に関係しているといった報告もある<sup>12)</sup>。

本研究では、黄体の退縮と活性酸素の関係を知る事を目的とし、ウサギ偽妊娠黄体中の SOD と、活性酸素の脂質への障害の結果生じる過酸化脂質を測定し、黄体機能の指標の一つと考えられる progesterone および prostaglandin F 代謝産物との関係を検討した。

## 方法

- 1) 実験動物：少なくとも3週間隔離飼育した、体重4 kg前後の雌性成熟家兔25羽を用いた。21羽の家兔の耳静脈より hCG 100 単位を投与し、偽妊娠状態とした。4羽の未処置家兔を対象群とした(図1)。
- 2) 黄体摘出および卵巣静脈血採取：hCG 投与当日を0日とし、4, 11, 15, 20日目にペントバルビタール静脈麻酔下に開腹の後、卵巣静脈を露出し、小切開を入れ、ヘパリンを満したポリエチレンチューブを用いて採血後、卵巣を摘出した。摘出した卵巣は、氷上にて肉眼的に黄体を皮質より分離し、重量測定後、SOD 活性および過酸化脂質測定に供した。採取した卵巣静脈血は、血清分離後、progesterone (P) および prostaglandin F 代謝産物 (PGFM) の測定に供した。
- 3) SOD 活性測定：摘出黄体は、5% wet weight tissue/volume の割合で 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 7.8) を加えて氷冷下に homogenize し homogenate を試料溶液とした。SOD 活性は xanthine-xanthine oxidase-nitroblue tetrazolium

(NBT)法を用いて測定した<sup>13)</sup>。すなわち、xanthine (0.1 mM; Sigma) と xanthine oxidase (Boehringer Mannheim) の反応によって生成された superoxide anion radical による NBT (56  $\mu$ M; Sigma) の還元を 50% 阻害する酵素活性を SOD 1 単位と定めたものである。NBT の還元は 560 nm における diformazan の吸光度の増加によって測定した。さらに、SOD 活性が Cu-Zn SOD あるいは Mn-SOD いずれによるものかを知るために、活性測定系に 5 mM NaCN を加えて測定した。SOD 活性は U/mg protein で表し、タンパク定量は Lowry 法を用いた<sup>14)</sup>。

4) 過酸化脂質測定：摘出黄体は、10% wet weight tissue/volume の割合で 1.15% KCl を加えて氷冷下に homogenize し homogenate を試料溶液とした。過酸化脂質濃度測定は Ohkawa et al<sup>15)</sup> の方法による thiobarbituric acid (TBA) 法も用いた。すなわち、過酸化脂質の分解で生じる malondialdehyde (MDA) が酸性条件下で 2 分子の TBA と結合して生じる赤色物質を 532 nm の吸光度で測定するものである。MDA 濃度は、1, 1, 3, 3-tetramethoxypropane を external standard として求め、黄体中過酸化脂質濃度は、MDA nmol/mg protein として表した。

5) progesterone および prostaglandin F 代謝産物 (PGFM) 測定：卵巣静脈血清中 progesterone および PGFM 濃度は radioimmunoassay にて測定した<sup>16,17)</sup>。測定結果は mean  $\pm$  SE で表し、Student's t-test により統計学的検討を行い、 $P < 0.05$  の場合を有意差ありとした。

## 結果

### 1) SOD 活性 (図2, 3)

図2に黄体中 Cu-Zn SOD 活性、図3に Mn-SOD 活性の変動を示した。Cu-Zn SOD 活性は、偽妊娠4日目 (day 4) に  $711 \pm 202$  U/mg protein と高値を示し、day 11 ( $360 \pm 53$ ) において有意に減少した後、day 15 ( $1066 \pm 145$ ) で最高となり、その後、day 20 ( $197 \pm 86$ ) で最低となった。

これに対し、Mn-SOD 活性は day 4 ( $96 \pm 3$ ) から増加を始め、day 11 で  $178 \pm 39$  U/mg protein と最高値を示し、以降 day 20 ( $34 \pm 11$ ) まで漸減していくという変動を示した。

### 2) 過酸化脂質濃度 (表1)

黄体中 MDA 濃度の変化は一定の傾向を示さなかった。Cu-Zn SOD あるいは Mn-SOD 活性の変動とは異なり、day 4 において他と比較し有意に ( $P < 0.01$ ) 高値を示し ( $73 \pm 4$  MDA nmol/mg protein)、以降減少し、Cu-Zn SOD 活性が最高となった day 15 に

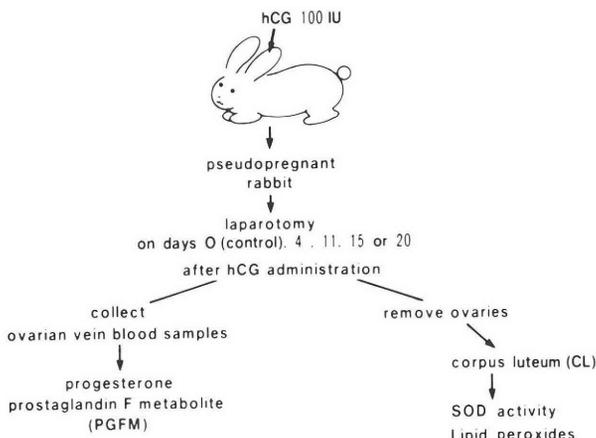


図1 実験方法

表 1 偽妊娠黄体中 malondialdehyde 濃度

	Days of pseudopregnancy			
	4	11	15	20
malondialdehyde (nmol/mg protein)	73.4±4 (6)	60.3±3*	52.6±4**	60.3±3*

\*; P<0.01 as compared to day 4 \*\*; P<0.005 as compared to day 4 mean±SE, ( )=n

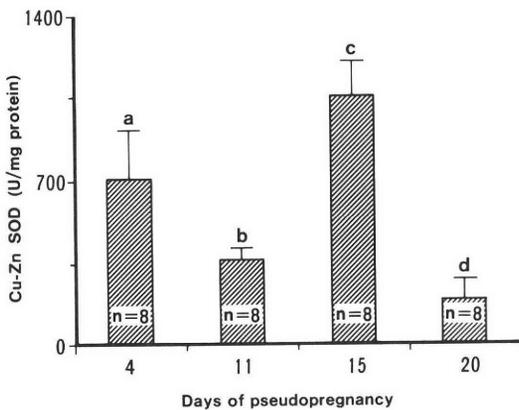


図 2 偽妊娠 4, 11, 15, 20 日目の黄体中 Cu-Zn SOD 活性 (mean±SE).

異なるアルファベットは各日付間での有意差 (P<0.05) があることを表している。

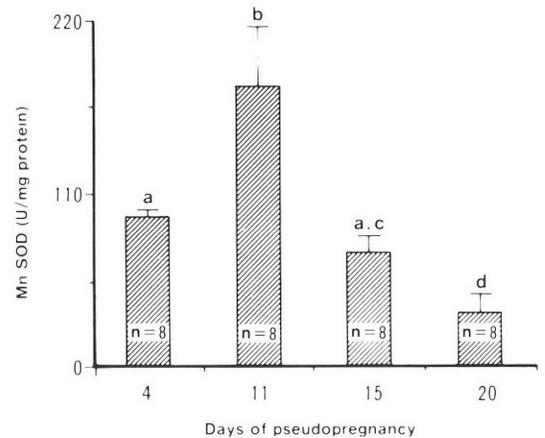


図 3 偽妊娠 4, 11, 15, 20 日目の黄体中 Mn-SOD 活性 (mean±SE).

異なるアルファベットは各日付間での有意差 (P<0.05) があることを表し、同一アルファベットは有意差なしを表している。

最低値を示し、再び day 20 には増加した。しかしながら、黄体中 MDA 濃度と両 SOD 活性との間に有意な相関は認められなかった。

### 3) 卵巣静脈血清中 progesterone および PGFM 濃度

偽妊娠状態家兔の血清中 P 濃度は、day 0 (62±29 ng/ml) から有意に増加し、day 11 (1107±135) でピークを示し、以降 P 値は漸減していった (図 4 A)。さらに、黄体の P 産生は、黄体中 Mn-SOD 活性と有意な正の相関を示した (図 5)。これに対し、PGFM は P とは逆の変動を示したが (図 4 B)、各日付間に有意差はなく、P および SOD 活性との相関も認めなかった。血清中 P および PGFM 濃度と、黄体中 MDA 濃度との間にも相関は認められなかった。

## 考 察

活性酸素は組織障害の重要な原因の一つとしてあげられており<sup>8,18)</sup>、最終的には細胞死をもたらす。また、細胞膜の脂質は、free radical によって過酸化を受けやすいことも良く知られた事実である<sup>9)</sup>。これに対し、生体は SOD, catalase, glutathione peroxidase といった消去酵素を持ちこれらの toxic oxygen metabolite に対する防御機構としている。近年、こ

の活性酸素の関与が排卵<sup>19)</sup>から受精<sup>20,21)</sup>、あるいは黄体機能<sup>12)</sup>に至るまで報告されているが、未だ解明すべき点が多い。

偽妊娠ウサギの卵巣機能に関しては多くの報告が成されており<sup>16,22,23)</sup>、偽妊娠黄体はおよそ 20 日で退縮することが知られている。その黄体機能を表す指標の一つである progesterone 産生は偽妊娠状態の開始から増加を始め、11 から 12 日目にピークを示し、以降漸減する。我々の実験結果における、卵巣静脈血清中 P 濃度の変動もこれらの報告を裏付ける結果を示した。

哺乳類の SOD は、cytosol に存在する Cu-Zu SOD と、mitochondria に存在する Mn-SOD とがあり<sup>24)</sup>、いずれも superoxide anion radical あるいは他の活性酸素種によって誘導されることが知られている<sup>10,11)</sup>。今回の実験に於いて day 15 で Cu-Zn SOD が最高値を示したということは、その時期に偽妊娠黄体が活性酸素に突然さらされた可能性を示唆していると考えられる。この活性酸素の増加の可能性の一つとして macrophage の黄体への侵入があげられる<sup>3-5)</sup>。SOD は O<sub>2</sub> を H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> と O<sub>2</sub> へと変換するので、その増加は、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生の増加をもたらす。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は、O<sub>2</sub> と同

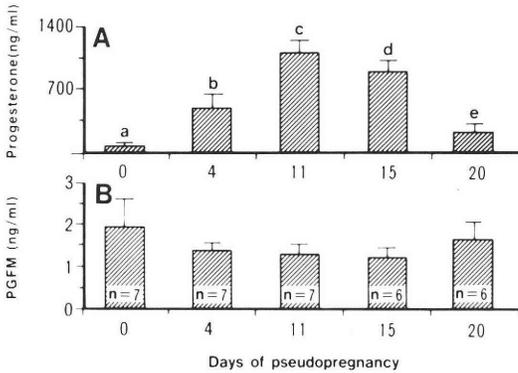


図4 偽妊娠 4, 11, 15, 20 日目の A: 卵巣静脈血清中 progesterone 濃度 (mean±SE) 及び, B: prostaglandinn F 代謝産物 (PGFM) 濃度 (mean±SE). 異なるアルファベットは各日付間での有意差 ( $P < 0.05$ ) があることを表している. PGFM 濃度は, 各日付間で有意差を認めなかった.

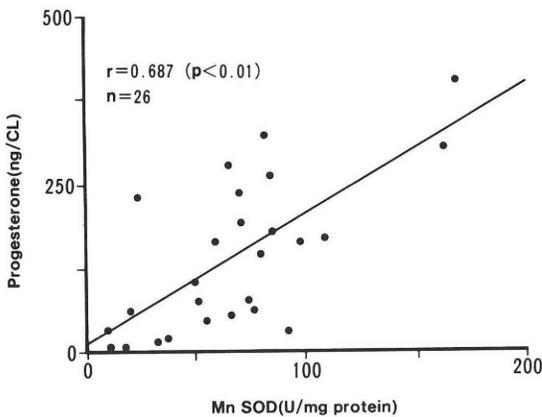


図5 偽妊娠黄体中 Mn-SOD 活性と黄体 progesterone 産生. CL; corpus luteum

様組織障害の原因となり<sup>25)</sup>, microsomal lipid peroxidation の要因となることも知られている<sup>26)</sup>. さらに,  $H_2O_2$  が luteolysis を引き起こすことも報告されている<sup>6)</sup>. この様に, SOD の増加がよりいっそうの活性酸素の増加をもたらす, この高濃度の活性酸素による暴露が, SOD による細胞の防御機構を上回り, 結果として組織障害をもたらす, 黄体退縮へと至らせたのではないかと推論した. また,  $H_2O_2$  あるいは  $O_2^-$  と  $H_2O_2$  とが Cu-Zn SOD を不活化する<sup>27,28)</sup> ことから, 高濃度の活性酸素によって, day 20, すなわち黄体退縮の時期に一致して SOD 活性が低下したとも考えられる.

Mn-SOD 活性が, 黄体機能の指標の一つである P 産生と有意な相関を認めたという事実は, Mn-SOD が, 黄体の P 産生能を活性酸素の攻撃から守ってい

ると考えられる. この事は, 卵巣灌流実験において, 排卵過程に於ける卵巣の P 産生が, SOD および catalase によって酵素無添加のものと比較して有意に増加するという事実<sup>19)</sup> と合致する. 一方, 活性酸素は macrophage や好中球からばかりでなく, mitochondria における電子伝達系や cytochrome  $P_{450}$  から産生される<sup>8,18)</sup>. Cytochrome  $P_{450}$  は P 合成の key enzyme であり, また, 活性酸素生成に関与することから, 以下のことが推測されうる. すなわち, steroid 合成の過程において活性酸素が産生され, この活性酸素が組織障害をもたらす, 結果として steroid 合成の低下をきたすという考えである. しかしながら, これに関してはさらなる研究が必要である.

黄体中過酸化脂質濃度は, 今回の実験では P 産生あるいは SOD 活性との間に相関が認められなかった. Sawada らは<sup>29)</sup>, ラットにおいて, 黄体退縮に伴い過酸化脂質の増加が認められたと報告しているが, 彼等の研究では黄体退縮は  $PGF_{2\alpha}$  によってもたらされたものであるのに対し, 我々の実験は黄体の自然退縮である点が異なっており, 両者を比較することは難しいと考えられる. *in vivo* における過酸化脂質生成の原因には superoxide anion radical だけでなく, hydroxyl radical や, 一重項酸素などの活性酸素種があり, SOD の量だけで過酸化脂質濃度が規定されているのではないと考えられる. また, 今回の実験では黄体すべての過酸化脂質濃度を測定したが, 細胞分画ごとの過酸化脂質量に関しては不明であり, 例えば mitochondria の過酸化脂質量を測定することにより異なった結果が得られたかもしれない.

以上のように, 本研究から, Mn-SOD がウサギ偽妊娠黄体機能の維持に関与していることが明らかとなり, SOD が superoxide anion radical を特異的に除去する酵素であることから, 活性酸素が黄体の退縮になんらかの役割を持つであろう事が, 間接的にはあるが示唆された.

## 文 献

- 1) Hume, D. A., Halpin, D., Charlton, H. and Gordon, S.: The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80: Macrophages of endocrine organs, Proc. Natl. Acad. Sci., 81: 4174, 1984
- 2) Kirsch, T. M., Friedman, A. C., Vogel, R. L. and Flickinger, G. L.: Macrophages of corpora lutea of mice: Characterization and effects on steroid secretion, Biol. Reprod., 25: 629, 1981
- 3) Bagavandoss, P., Kunkel, S. L., Wiggins, R. C.

- and Keyes, P. L.: Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production and localization of macrophages and T lymphocytes in the rabbit corpus luteum, *Endocrinology*, 122: 1185, 1988
- 4) Johnston, R. B., Lehmeier, J. E. and Guthrie, L. A.: Generation of superoxide anion and chemiluminescence by human monocytes during phagocytosis and on contact with surface-bound immunoglobulin G, *J. Exp. Med.*, 143: 1551, 1976
  - 5) Marcovitch, S. and Keisari, Y.: The synergistic tumoricidal activity of anticancer drugs and oxidative burst-triggered macrophages, *Cancer Immunol. Pharmacol.*, 20: 205, 1985
  - 6) Behrman, H. R. and Preston, S. L.: Luteolytic actions of peroxide in rat ovarian cells, *Endocrinology*, 124: 2895, 1989
  - 7) Slater, T. F.: Free-radical mechanisms in tissue injury, *Biochem. J.*, 222: 1, 1984
  - 8) Weiss, S. J.: Oxygen, ischemia and inflammation, *Acta. Physiol. Scand. Suppl.*, 548: 9, 1986
  - 9) Fridovich, I.: Superoxide radical: An endogenous toxicant, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23: 239, 1983
  - 10) Crapo, J. D. and McCord, J. M.: Oxygen-induced changes in pulmonary superoxide dismutase assayed by antibody titrations, *Am. J. Physiol.*, 231: 1196, 1976
  - 11) Dryer, S. E., Dryer, R. L. and Autor, A. P.: Enhancement of mitochondrial, cyanide-resistant superoxide dismutase in the livers of rats treated with 2, 4-dinitrophenol, *J. Biol. Chem.*, 255: 1054, 1980
  - 12) Laloraya, O. H., Kumar, G. P. and Laloraya, M. M.: Histochemical study of superoxide dismutase in the ovary of the rat during the oestrous cycle, *J. Reprod. Fert.*, 86: 583, 1989
  - 13) Oberley, L. W. and Spetz, D. R.: Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue, In *Method in Enzymology*, (ed. Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.) 457, 1984
  - 14) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. A. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193: 265, 1951
  - 15) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, 95: 351, 1979
  - 16) Dharmarajan, A. M., Sueoka, K., Miyazaki, T., Atlas, S. J., Ghodgaonkar, R. B., Dubin, N. H., Zirkin, B. R. and Wallach, E. E.: Prostaglandins and progesterone secretion in the in vitro perfused pseudopregnant rabbit ovary, *Endocrinology*, 124: 1198, 1989
  - 17) Dubin, N. H., Ghodgaonkar, R. B. and King, T. M.: Role of prostaglandin production in spontaneous and oxytocin-induced uterine contractile activity in in vitro pregnant rat uteri, *Endocrinology*, 105: 47, 1979
  - 18) Freeman, B. A. and Crapo, J. D.: Free radicals and tissue injury, *Lab. Invest.*, 47: 412, 1982
  - 19) Miyazaki, T., Sueoka, K., Dharmarajan, A. M., Atlas, S. J., Bulkeley, G. B. and Wallach, E. E.: Effect of inhibition of oxygen free radical on ovulation and progesterone production by the in-vitro perfused rabbit ovary, *J. Reprod. Fert.*, 91: 207, 1991
  - 20) Miyazaki, T., Kuo, T. C., Dharmarajan, A. M., Atlas, S. J. and Wallach, E. E.: In vivo administration of allopurinol effects ovulation and early embryonic development in rabbits, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 161: 1709, 1989
  - 21) 野田洋一, 松本 央, 森 崇英: Superoxide dismutase によるマウス 2-cell block の解除, *日産婦誌*, 41: 751, 1989
  - 22) Dharmarajan, A. M., Mastroiannis, C., Yoshimura, Y., Atlas, S. J., Wallach, E. E. and Zirkin, B. R.: Quantitative light microscopic analysis of corpus luteum growth during pseudopregnancy in the rabbit, *Biol. Reprod.*, 38: 863, 1988
  - 23) Holt, J. A.: Regulation of progesterone production in the rabbit corpus luteum, *Biol. Reprod.*, 40: 201, 1989
  - 24) Fridovich, I.: The biology of oxygen radicals, *Science*, 201: 875, 1978
  - 25) Scott, M. D., Meshnick, S. R. and Eaton, J. W.: Superoxide dismutase-rich bacteria, *J. Biol. Chem.*, 262: 3640, 1987
  - 26) Morehouse, L. A., Tien, M., Bucher, J. R. and Aust, S. D.: Effect of hydrogen peroxide on the initiation of microsomal lipid peroxidation, *Biochem. Pharmacol.*, 32: 123, 1983
  - 27) Hodgson, E. K. and Fridovich, I.: The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: Inactivation of the enzyme, *Biochemistry*, 14: 5294, 1975
  - 28) Sinet, P. M. and Garber, P.: Inactivation of the human Cu-Zn superoxide dismutase during exposure to  $O_2^-$  and  $H_2O_2$ , *Arch. Biochem. Biophys.*, 212: 411, 1981
  - 29) Sawada, M. and Carlson, J. C.: Association of lipid peroxidation during luteal regression in the rat and natural aging in the rotifer, *Experimental Gerontology*, 20: 179, 1985

## **Superoxide dismutase activity and lipid peroxide in the rabbit corpus luteum during pseudopregnancy**

Toyohiko Miyazaki

Department of Obstetrics and Gynecology  
Ogikubo Hospital,  
Tokyo 167, Japan

Toshifumi Kobayashi, Michiya Natori  
and Shiroh Nozawa

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

The objective of this study was to investigate the relationship of oxygen free radicals to corpus luteum function during pseudopregnancy in the rabbit. Indices of oxygen free radical generation included tissue levels of lipid peroxide and the

activity of two forms of superoxide dismutase (SOD). Rabbit received hCG (100 IU) intravenously to render them pseudopregnant. Cu-Zn SOD activity was lower on day 20 ( $197 \pm 86$ ) than on any of the other days examined. Although Cu-Zn SOD activity on day 11 ( $360 \pm 52.7$ ) was lower than day 4 ( $711 \pm 202$ ) and day 15 ( $1066 \pm 145$ ), Mn-SOD on day 11 was higher ( $P < 0.025$ ) than on day 4 and 15. Furthermore, Mn-SOD activity was significantly correlated with ovarian progesterone production ( $P < 0.01$ ). Lipid peroxide was lowest on day 15, when Cu-Zn SOD activity was highest. However, lipid peroxide level and progesterone production were not correlated. There was no correlation between concentrations of prostaglandin F metabolite in ovarian venous plasma and progesterone production.

These data suggest that Mn-SOD may be involved in maintaining corpus luteum function during pseudopregnancy in the rabbit and that oxygen free radicals appear to play an indirect role in corpus luteum regression.

(受付: 1991年5月23日特掲)

## 排卵誘発後の卵胞残存に対する Buserelin 投与の臨床効果について

### Efficacy of LH-RH Analogue on Residual Follicles Persisting after hMG-hCG Therapy in Infertile Women

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科

竹田 省 飯野 好明 高田 真一  
Satoru TAKEDA Yoshiaki IINOH Shin-ichi TAKADA  
関 博之 木下 勝之 坂元 正一  
Hiroyuki SEKI Katsuyuki KINOSHITA Shouichi SAKAMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Saitama 350, Japan

HMG-hCG 療法後の残存卵胞を有する不妊症患者 12 例に対し、Buserelin を 900 ないし 1200  $\mu\text{g}$  / 日投与し、卵胞に及ぼす効果および各種ホルモン値の推移、その後の hMG-hCG 療法の効果を検討した。

1) HMG-hCG 療法後の卵胞残存は 56.4% (22 / 39 周期) に認められ、OHSS の発症と関連して LUF の 2 例にも認められた。自然経過では最長 78 日間卵胞は残存した。

2) 卵胞残存症例に Buserelin 900 ないし 1200  $\mu\text{g}$  / 日投与すると 76.5% (13 / 17 症例) は 3 週間以内に消失し、うち 41.1% は 14 日以内に消失した。Buserelin-hMG-hCG 療法では黄体機能不全は 1 例のみであり、妊娠は 4 例に成立した。

3) 卵胞残存時は非卵胞残存時に比し、血中  $E_1$ 、 $E_2$  値がやや高値であり、progesterone 値は有意に高値を示した。Buserelin (1200  $\mu\text{g}$  / 日) 投与により血中 LH、FSH 値は低下する傾向にあり、Free-testosterone、 $E_1$ 、 $E_2$ 、progesterone 値は有意に低下した。

以上より hMG-hCG 療法後の卵胞残存には Buserelin 投与は有効であり、ホルモン環境を改善し、妊娠率の向上につながると考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 766-773, 1991)

#### はじめに

HMG-hCG 療法は種々の排卵障害に対して有力な治療法であり、その成果は周知の所であるが、卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) や多胎等の問題点も多い。また OHSS を起こさなくても HCG 投与後に排卵しない卵胞が発育してくることがあり、次周期まで残存し、その後の治療の際新たに発育してきた卵胞との鑑別が難しく、超音波断層検査による hCG 切り替え時期の決定に苦慮することがある。このような残

存した卵胞が存在する場合、OHSS の問題だけでなく、ステロイド環境の変化により卵の quality や受精、着床などにも悪影響を与える可能性もあると考えられる。

今回、卵胞残存症例の頻度を調査し、このような症例に対して Buserelin を投与し、残存卵胞や各種ホルモン値に対する効果を検討した。又その後の hMG-hCG 療法の効果、問題点にも検討を加えたので報告する。

表1 対象症例の不孕原因および先行治療と Buserelin 治療による残存卵胞への効果

症例	年齢 経妊-経産	不妊歴	不孕原因 合併症	先行治療 (治療周期)	ブセレリン投与例			
					ブセレリン投与量 ( $\mu\text{g}/\text{日}$ )	残存卵胞数と 直径 (mm)	ブセレリン 投与後の卵胞径 (投与日数)	本周期の hMG-hCG に よる妊娠の有無
1	33 0-0	8年	long follicular phase 黄体機能不全	クロミフェン (4) hMG-hCG (1)	1200	2 (15, 21)	消失 (21)	-
2	36 1-0	3年	子宮内膜症 高プロラクチン血症	hMG-hCG (1) プロモクリプチン (1)	900	2 (20, 26)	消失 (21)	+
3	31 0-0	7年	long follicular phase 黄体機能不全	クロフェミン (4) hMG-hCG (3)	1200	3 (36, 27, 15) 3 (36, 33, 32) 2 (22, 26)	消失 (14) 消失 (34) 消失 (14)	- - -
4	28 0-0	2年	稀発月経	クロフェミン (2) hMG-hCG (2)	1200	2 (35, 31) 3 (23, 28, 26) 2 (35, 31)	消失 (27) 消失 (21) 消失 (19)	- - + (双胎)
5	26 0-0	1年	第II度無月経 下垂体腫瘍術後	hMG-hCG (3)	1200	3 (28, 21, 18)	消失 (14)	+ (双胎)
6	36 0-0	5年	高プロラクチン血症	クロフェミン (5) hMG-hCG (4) プロモクリプチン (9)	1200	1 (32)	消失 (20)	-
7	39 1-1	12年	無排卵周期症 scleroderma	hMG-hCG (1)	1200	1 (23)	消失 (14)	-
8	40 1-0	12年	黄体機能不全	クロミフェン (6) hMG-hCG (6)	900	1 (25)	消失 (14)	-
9	37 0-0	9年	原因不明 子宮筋腫	hMG-hCG (5)	900	1 (22)	増大 31mm(14) 36mm(21)	hMG-hCG 療法中止
10	32 0-0	7年	PCO 高プロラクチン血症 oligospermia	hMG-hCG (4) プロモクリプチン (5) AIH (5)	1200	2 (44, 42)	消失 (21)	-
11	29 0-0	4年	第I度無月経 PCO oligospermia	hMG-hCG (1) AIH (1)	1200	2 (24, 23)	消失 (14)	-
12	28 0-0	3年	PCO 無排卵周期症 DM	クロフェミン (3) hMG-hCG (8) ブセレリン-hMG-hCG (4) (short protocol)	1200	2 (27, 19) 2 (20, 16)	消失 (28) 消失 (14)	- +

対象及び方法

対象は1989年1月から1990年12月までに当科でhMG-hCG療法を施行した不孕症患者12例である。年齢は26~40歳であり、不妊歴は1~12年の症例である。先行治療はいずれもhMG-hCG療法もしくはBuserelin-hMG-hCG療法を受けていた(表1)。いずれの症例もhMGからhCGへの切り替えは卵胞径19mm以上でおこなった。

1. HMG-hCG療法による卵胞残存症例の検討

12症例の先行治療であるhMG-hCG療法39周期につき、卵胞残存頻度および卵胞残存とhMG(パーゴナル, 75単位/A, 帝国臓器)投与量, 投与日数, hCG投与時の15mm以上の卵胞数, hCG投与量および投与回数, OHSSとの関係を検討した。卵胞残存はhMG-hCG療法後の月経発来時, 15mm以上を残存とした。

2. 卵胞残存症例に対するBuserelin-hMG-hCG

療法の検討

HMG-hCG療法後に卵胞残存した12症例, 17周期に対してBuserelin(スプレキュア, ヘキストジャパン)900 $\mu\text{g}/\text{日}$ もしくは1200 $\mu\text{g}/\text{日}$ を月経3~5日より卵胞消失(10mm以下)まで連日投与し, その後, hMG-hCG療法を開始した。BuserelinはhCG投与時まで使用した。Buserelin投与による残存卵胞の縮小効果, 妊娠の有無を検討した。

3. HMG-hCG療法とBuserelin-hMG-hCG療法の比較検討

Buserelin-hMG-hCG療法19周期とhMG-hCG療法(対象は前述1の項目と同じ)39周期との間でhMG総投与量, 投与日数, hCG投与時の卵胞数, hCG投与量および投与回数, OHSSの頻度および程度, 卵胞残存頻度を検討した。

4. 卵胞残存時の各種ホルモン検査値の検討

同一症例で6ヵ月以内の卵胞非残存時と卵胞残存時の血中各種ホルモン(LH, FSH, Prolactin(PRL),

testosterone (T), free-testosterone (F-T), androstenedione ( $\Delta_4$ A), estrone ( $E_1$ ), estradiol ( $E_2$ ), progesterone ( $P_4$ ) を各々月経時に採血し, 比較検討した. 測定は各測定キットで行なった.

5. 卵胞残存症例の Buserelin 投与における各種ホルモン検査値の推移

卵胞残存症例の Buserelin 投与(1200  $\mu$ g /日, 連日)時の上記各種ホルモン値を測定した. 投与前(月経時), Buserelin 投与中 hMG 投与開始時, Buserelin, hMG 投与中 hCG 投与時の各 3 点で採血し, その推移を検討した.

900  $\mu$ g /日の連日投与した症例は 3 例中 2 例は同

様に各種血中ホルモン値の測定を行なった.

OHSS の重症度は WHO の診断基準を用いた. 有意差検定は student's *t* テスト,  $\chi^2$  検定を用いた.

成績

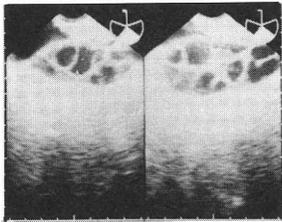
1. HMG-hCG 療法による卵胞残存症例の検討

HMG-hCG 療法による卵胞残存は 39 周期中 22 周期 (56.4%), OHSS は 22 周期 (56.4%) に認められた. 卵胞残存症例は hMG 総投与量や投与日数とは関係なく, また同一症例で見ると hCG 投与量や投与回数とも関係はなかった. しかし, OHSS の発症と卵胞残存は有意に関連していた ( $P < 0.01$ ). また

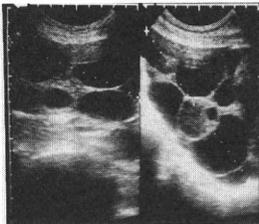
表 2 HMG-hCG 療法における OHSS, 残存卵胞の頻度とその後の治療

症例	hMG		卵胞数	hCG 投与量(単位)回数	OHSS	残存卵胞	再来月経後の治療 (残存卵胞の消失確認時期)
	総投与量(A)	投与日数					
1	18	9	5	1万, 5千, 5千	I	+	ブセレリン-hMG-hCG
2	16	8	4	5千	I (黄体機能不全)	+	ブセレリン-hMG-hCG
3	16	8	9	5千	I I (黄体機能不全)	-	hMG-hCG
	18	9	10	5千		+	中止 (1 周期後)
	20	10	11	1万, 3千, 3千		+	ブセレリン-hMG-hCG
4	14	7	14	1万, 3千, 3千	III	+	中止(78日目消失, 2 周期後)
	15	11	8	1万, 3千, 3千	II	+	ブセレリン-hMG-hCG
5	42	16	8	1万, 5千	II 無排卵 II	-	hMG-hCG
	30	10	5	1万		-	hMG-hCG
	41	12	20	1万, 3千, 3千		+	ブセレリン-hMG-hCG
6	14	7	4	1万, 5千	- (黄体機能不全) I (黄体機能不全)	-	hMG-hCG
	18	9	3	5千, 5千		+	中止 (1 周期後)
	16	8	3	1万, 5千		+	中止 (1 周期後)
7	14	7	2	1万, 3千, 3千	-	+	ブセレリン-hMG-hCG
	20	10	2	5千, 5千	-	+	ブセレリン-hMG-hCG
8	16	8	4	1万, 3千	I - - - - I (LUF)	+	hMG-hCG
	16	8	1	1万, 5千		-	hMG-hCG
	25	12	2	1万, 5千		-	hMG-hCG
	22	11	3	1万, 5千		-	hMG-hCG
	18	9	2	1万, 5千		+	hMG-hCG
	18	9	2	1万, 5千		+	hMG-hCG
9	18	9	4	1万, 3千	II I - - II	+	hMG-hCG
	16	8	2	5千, 5千, 5千		-	hMG-hCG
	18	9	2	1万, 5千		-	hMG-hCG
	18	9	4	1万, 5千		-	hMG-hCG
	20	10	7	1万, 5千, 3千		+	ブセレリン-hMG-hCG
10	12	6	4	5千	- I - I	-	hMG-hCG
	17	9	7	5千, 5千		+	中止 (1 周期後)
	9	6	4	5千		-	hMG-hCG
	14	7	6	1万		+	ブセレリン-hMG-hCG
11	14	7	2	1万, 5千	-	+	ブセレリン-hMG-hCG
12	14	7	2	5千	- (黄体機能不全) I - - (LUF) I - I	-	hMG-hCG
	16	8	4	5千, 5千, 5千		-	hMG-hCG
	12	6	3	1万, 5千, 5千		-	hMG-hCG
	14	7	4	5千		+	hMG-hCG
	24	12	8	5千, 5千		-	hMG-hCG
	27	9	2	5千		-	hMG-hCG
	27	9	5	5千, 5千		+	hMG-hCG
30	10	4	1万, 5千, 5千	+	中止 (1 周期後)		

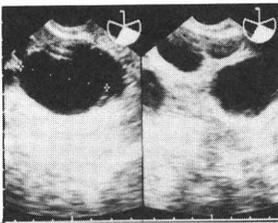
同一症例の検討では hCG 投与時 15 mm 以上の卵胞数の多いものほど卵胞残存する傾向にあった。2 例が luteinized unruptured follicle (LUF) で卵胞残存となった (表 2)。卵胞残存した 22 周期中 6 周期はその後の hMG-hCG 療法が中止され、残存した卵胞はその消失まで follow された。その 6 周期中 5 周期は次回月経発来時には消失していたが、1 例は 78 日後 (2 周期目) にやっと消失が確認された (表 2、写真 1)。



hCG 投与時



黄体期12日目



月経発来時

写真 1 経膈超音波断層検査による卵巢所見 (表 2 の症例 4)  
hMG-hCG 療法後 OHSS となり、月経時直径 46 mm の卵胞が残存し、78 日目に消失した。

## 2. 卵胞残存症例に対する Buserelin-hMG-hCG 療法の検討

12 例、17 周期の卵胞残存症例に対して Buserelin を 900  $\mu$ g / 日ないし 1200  $\mu$ g / 日を投与した所、症例中の 1 例を除き、14~34 日後には 10 mm 以下に消失した (写真 2、3)。17 例中 13 例、76.5% は 3 週間以内に消失し、うち 7 例 (41.1%) は 14 日以内に消失した。症例 9 は 900  $\mu$ g / 日使用例であり、月経時 22 mm の残存卵胞は 2 週後 31 mm、3 週後 36 mm と増大した。このため Buserelin 中止した所、2 回目の月経

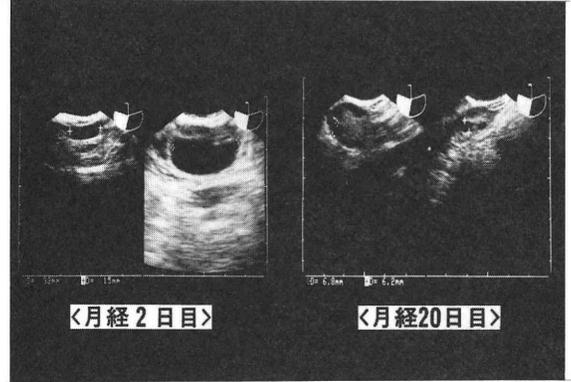


写真 2 超音波断層所見 (表 1 の症例 6)  
32 mm の残存卵胞は Buserelin 投与により 20 日目には 7 mm 以下となった。

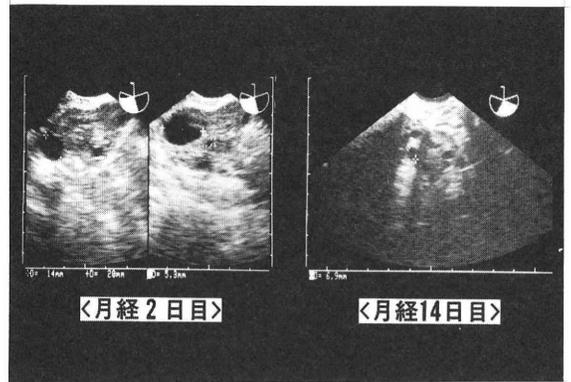


写真 3 超音波断層所見 (表 1 の症例 12)  
20 mm の残存卵胞は Buserelin 投与により 14 日目には 7 mm 以下となった。

時 (72 日後) その消失が確認された。妊娠は 4 例 (33.3%) であり、17 周期のうち 4 周期 (23.5%) に相当する。このうち 2 例は多胎で、いずれも流産することなく順調に経過している (表 1)。

## 3. HMG-hCG 療法と Buserelin-hMG-hCG 療法の比較検討

19 周期に施行した Buserelin-hMG-hCG 療法での卵胞残存頻度は妊娠例 4 周期を除くと 80% (12 / 15 周期) に認められ、有意差はないが hMG-hCG 療法より高率であった。4 例の妊娠例中 3 例は mid luteal 時に OHSS II 度となった症例であった。成績 1 の結果と同様、卵胞残存は OHSS の発症と関連している傾向にあった。また Buserelin-hMG-hCG 療法は OHSS が 73.7% (14 / 19 周期) と hMG-hCG 療法での頻度 56.4% (成績 1) に比し有意差はないが高い傾向にあった。また Buserelin-hMG-hCG 療法では黄体機能不全は 5% (1 / 19 周期) であった

が、hMG-hCG療法では黄体機能不全(5例)、無排卵(1例)、LUF(2例)と20.5%に何らかの異常を認めた(表2, 3)。

平均総hMG量, hMG投与日数, hCG投与時の発育卵胞数, 総hCG投与量の項目をhMG-hCG療

法, Buserelin-hMG-hCG療法の両者間同一症例で比較すると, hMG投与日数, 発育卵胞数は差はなかったが, 総hMG ( $P < 0.01$ ), 総hCG量 ( $P < 0.05$ ) はBuserelin-hMG-hCG療法の方が有意に多かった(表2, 3)。

表3 Buserelin-hMG-hCG療法症例のOHSS, 残存卵胞の頻度

症例	ブセレリン		ブセレリン-hMG-hCG療法				OHSS	残存卵胞
	一日投与量(μg)	投与日数	hMG総投与量(A)	投与日数	卵胞数	hMG投与量と(単位)回数		
1	1200	21	18	8	5	5千, 3千, 3千	I	-
2	900	21	16	8	2	5千	-	妊娠
3	1200	14	20	10	2	1万, 3千, 3千	-	+
		34	20	10	7	1万, 5千, 5千	I	+
		14	26	11	13	1万, 3千, 3千	I	+
4	1200	27	16	8	13	1万, 3千, 3千	II	+
		21	18	7	12	1万, 3千, 3千	II	+
		19	18	7	16	1万, 3千, 3千	II	妊娠(双胎)
5	1200	14	48	12	12	1万, 5千, 3千	II	妊娠(双胎)
6	1200	21	20	10	5	1万, 3千, 3千	-	-
		14	18	9	4	1万, 5千, 3千	-	+
7	1200	14	18	9	3	1万, 5千, 5千	-	+
8	900	14	24	10	2	1万, 5千	I 黄体機能不全	+
9	900	22	増大のため投与中止					
10	1200	21	16	9	7	1万, 5千, 5千	II	+
		14	15	9	4	1万, 3千, 3千	I	+
		14	20	10	5	1万, 3千, 3千	II	-
11	1200	14	15	8	13	1万, 5千, 5千	II	+
12	1200	28	33	11	8	1万, 3千, 3千	I	+
		14	28	11	7	5千, 5千, 3千	II	妊娠

4. 卵胞残存時の各種ホルモン検査値の検討

同一症例(n: 9)での卵胞非残存時と残存時の月経5日目の血中LH値(mean±SD)は各々4.9±4.9 mIU/ml, 3.3±3.7 mIU/mlであり, 残存時は有意差はないが低い傾向にあった。FSH値(mean±SD)は各々, 8.8±2.4 mIU/ml, 6.5±6.3 mIU/mlと変化なく, PRL値(mean±SD)も各々, 5.7±3.9 ng/ml, 5.2±3.0 ng/mlと同等であった。

Δ<sub>4</sub>A値(mean±SD)は0.9±0.4 ng/ml, 0.6±0.3 ng/mlと卵胞残存時有意差はないが低下する傾向にあった。T値(mean±SD)は各々0.8±0.3 ng/ml, 0.7±0.3 ng/ml, F-T値(mean±SD)は各々1.1±0.5 pg/ml, 1.0±0.7 pg/mlと変化は認められなかった。

E<sub>1</sub>値(mean±SD)は各々41.4±21.3 pg/ml, 53.4±13.4 pg/mlと有意差はないが卵胞残存時はやや高値を示す傾向にあった。E<sub>2</sub>値(mean±SD)も各々70.8±37.3 pg/ml, 82.0±19.3 pg/mlとE<sub>1</sub>値

同様有意差はないが卵胞残存時やや高い傾向にあった(図1)。

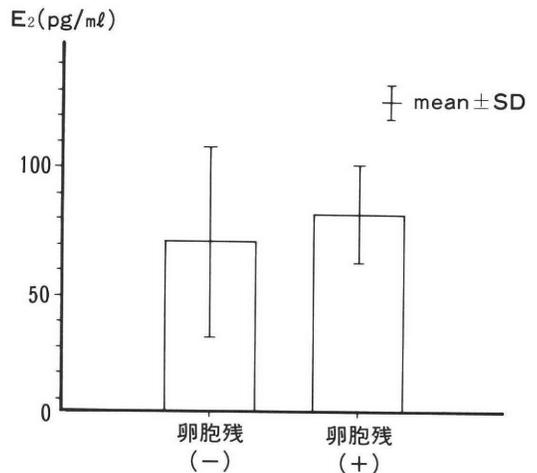


図1 卵胞残存の有無による血中E<sub>2</sub>値の変化

P<sub>4</sub>値(mean±S D)は各々0.3±0.1 ng/ml, 0.6±0.2 ng/ml であり, 有意に卵胞残存時は高値を示した(P<0.01) (図 2).

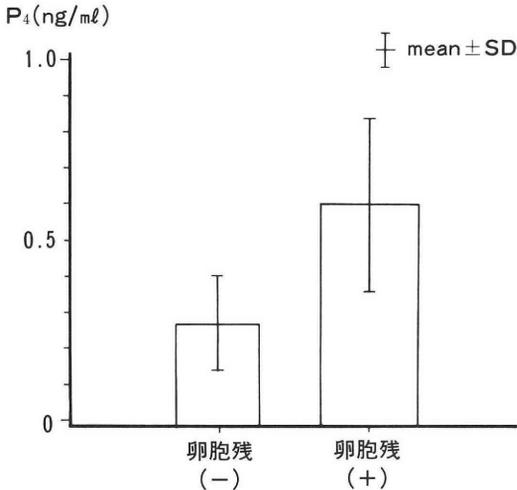


図 2 卵胞残存の有無による血中 P<sub>4</sub> 値の変化

### 5. 卵胞残存症例の Buserelin 投与における各種ホルモン検査値の推移

同一症例で Buserelin (1200 μg / 日, 連日) を投与した卵胞残存症例 (n ; 9) の投与開始時, 卵胞消失後 hMG 投与開始時, hCG 投与時の各 3 点の LH 値(mean±S D)は各々3.7±3.8 mIU/ml, 2.1±1.3 mIU/ml, 1.2±0.9 mIU/ml であり, 有意差はないが Buserelin 投与により低下する傾向にあった. F S H 値 (mean±S D) は各々8.2±5.8 mIU/ml, 4.8±2.6 mIU/ml, 9.8±4.7 mIU/ml であり, Buserelin 投与により低下する傾向にあり, hMG 投与によ

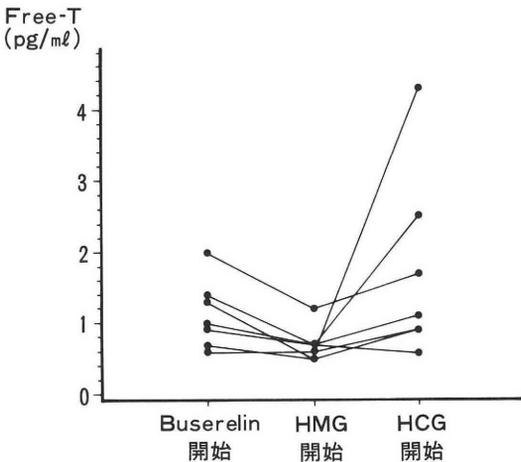


図 3 Buserelin-hMG-hCG 療法における血中 Free-testosterone 値の推移

り有意に上昇した (P<0.025). P R L 値 (mean±S D)は各々5.4±3.5 ng/ml, 5.1±2.9 ng/ml, 8.2±5.3 ng/ml と有意な変動は認められなかった.

Δ<sub>4</sub>A 値 (mean±S D) は各々0.7±0.2 ng/ml, 0.6±0.2 ng/ml, 1.8±1.0 ng/ml であり Buserelin 投与により変動は認められなかったが, hMG 投与により有意に上昇した (P<0.025). F-T 値 (mean±S D)は各々1.1±0.5 pg/ml, 0.7±0.2 pg/ml, 1.7±1.3 pg/ml であり Buserelin 投与により有意に低下し (P<0.01), hMG 投与により有意に上昇した (P<0.05) (図 3).

E<sub>1</sub> 値 (mean±S D) は各々49.7±13.4 pg/ml, 31.5±16.1 pg/ml, 676.3±732.9 pg/ml と Buserelin 投与により有意に低下し (P<0.01), hMG 投与により有意に上昇した (P<0.05). E<sub>2</sub> 値 (mean±S D)は各々76.3±23.3 pg/ml, 57.0±26.5 pg/ml, 2142.3±2004.4 pg/ml であり Buserelin 投与により有意に低下し (P<0.01), hMG 投与により有意に上昇した (P<0.05) (図 4).

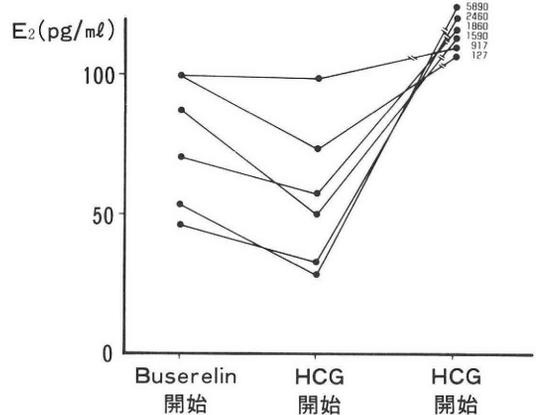


図 4 Buserelin-hMG-hCG 療法における血中 E<sub>2</sub> 値の推移

P<sub>4</sub> 値 (mean±S D)は各々0.6±0.2 ng/ml, 0.2±0.1 ng/ml, 0.6±0.2 ng/ml であり Buserelin 投与により有意に低下し (P<0.005), hMG 投与により有意に上昇した (P<0.005) (図 5). 卵胞残存例で Buserelin 900 μg / 日を連日投与した 2 症例では, Buserelin 投与前および Buserelin 投与後 hMG 投与時では, LH, F S H, P R L 値は変化なかったが, Δ<sub>4</sub>A 値は 0.4 から 1.1 ng/ml, 0.9 から 1.2 ng/ml, F-T 値は 0.6 以下から 0.8 pg/ml, 0.6 から 1.8 pg/ml といずれも Buserelin 投与により上昇した. E<sub>1</sub> 値も同様に 47.0 から 446 pg/ml, 54.1 から 128 pg/ml, E<sub>2</sub> 値は 91.4 から 1300 pg/ml, 59.6 から 290 pg/ml

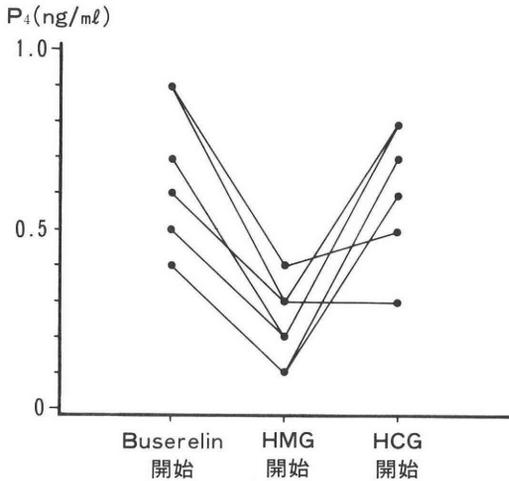


図5 Buserelin-hMG-hCG療法における血中 Progesterone 値の推移

mlといずれも Buserelin 投与により, 1200  $\mu\text{g}$  /日投与時と違って上昇した.  $\text{P}_4$ も同様に Buserelin 投与により 0.2 以下より 0.5 ng/ml, 0.4 から 2.6 ng/ml と上昇した.

### 考 察

HMG-hCG療法における卵胞残存頻度は 56.4% と高く, OHSS の発症と関連していた. また hCG 投与時の卵胞数の多いものほど卵胞が残存することから, 発育した卵胞数が多いものほど OHSS となりやすく<sup>1)</sup>, 卵胞残存が多くなると思われた. OHSS や卵胞残存は hMG 総投与量, hMG 投与日数, hCG 量, 投与回数とは関係なく, 個々の症例の感受性, 発育卵胞数に関係しており, 他の排卵誘発法の成績<sup>1)</sup>とも一致する.

残存した卵胞は, その後の治療の際新たに発育してきた卵胞との鑑別が困難なことも多く, また OHSS が助長されることもある. さらに月経時の卵胞残存例では  $\text{E}_1$ ,  $\text{E}_2$  値はやや高値を示し, progesterone 値は非卵胞残存時に比し, 有意に高値を示した. このことは, 卵胞が残存している場合, ステロイドなどのホルモン環境が変化しているため, その後の治療に何らかの影響があると思われる. 高エストロゲン, 高プロゲステロン状態が卵成熟過程や子宮内膜の増殖過程に働き, 受精, 着床にも何らかの悪影響を及ぼす可能性もある. 事実, Buserelin にて残存卵胞を消失させホルモン環境を改善した後 hMG-hCG 療法を行なった症例では, いままで妊娠に至らなかった症例が 4 例妊娠に至った.

卵胞残存した場合, hMG-hCG 療法を中止して自

然に放置すると, 次回の月経時までには大部分消失するが, 78 日後にやっと消失した症例もあり, 挙児希望が強い症例や高齢の不妊患者などでは治療中止期間の精神的苦痛や葛藤も多い. 経陰的超音波ガイド下の残存卵胞の穿刺は有効であるが, 麻酔や処置等煩雑である.

Buserelin-hMG-hCG 療法は, 体外受精・胚移植や PCO 症例の排卵誘発に使用され, その有効性は高く評価されている. その利点は early luteinization を起こさず, quality の高い卵が採取できること<sup>2,3)</sup>, PCO 症例では高 LH 血症, 高アンドロゲン血症が是正され<sup>4,5)</sup>, いずれも受精, 着床率や妊娠率が高くなることである. 卵胞残存症例においても Buserelin 1200  $\mu\text{g}$  /日を使用すると 2~3 週後には LH 値, FSH 値は下降し, free-testosterone,  $\text{E}_1$ ,  $\text{E}_2$ , progesterone 値はいずれも低下した. 残存した卵胞も 1 例を除き 2~3 週後には消失し, hMG-hCG 療法が開始できた. また, 黄体機能不全も 1 例しか認めず, 無排卵, LUF も認められず, 4 例が妊娠に至り, Buserelin-hMG-hCG 療法は残存卵胞に対しても, 不妊治療としても非常に有用と思われた. Buserelin 900  $\mu\text{g}$  /日を投与した 3 例では 2 例は 14 日と 21 日で消失したが 1 例は卵胞が増大した. これは Buserelin が LH-RH analogue として作用したか, 薬剤が確実に投与されていないことが考えられる. スプレーによる投与法は噴霧の仕方, 薬剤の吸収等に問題ある場合もあり, 子宮内膜症治療時でも問題になることがある<sup>6)</sup>. 900  $\mu\text{g}$  /日, 14 日及び 21 日間投与した時の血中ホルモン動態は, 2 症例共 androstenedione, free-testosterone,  $\text{E}_1$ ,  $\text{E}_2$ , progesterone 値は上昇し, 1200  $\mu\text{g}$  /日投与時と異なった変化を示した. この 2 例はいずれも残存卵胞は消失しており,  $\text{E}_2$  を抑制することだけが卵胞を消失させているのではなく, Buserelin の直接作用や他の機序が働いていると考えられ, 今後投与量を検討する必要がある. Buserelin の 2~3 週間投与では投与量によってはホルモン値に与える効果が異なり, 排卵誘発法と併用する際, 注意を要すると思われた.

Buserelin-hMG-hCG 療法と hMG-hCG 療法を同一症例で比較してみると, OHSS の頻度はやや Buserelin 併用群で多かった. Buserelin-hMG-hCG 療法は妊娠率は向上するが, OHSS の発生や残存卵胞発生を防止することはできず, かえって hMG-hCG 療法より高頻度である. これは IVF-ET 時に観察されるのと同様に, Buserelin 併用により発育する卵胞径がそろっており, hCG 投与時の卵胞数が多く, quality の高い卵が得られるためと思われる. こ

の結果 OHSS の頻度が高くなり、ひいては妊娠率も高くなっていると思われる。4例の妊娠中2例が双胎であったことから、これを裏付けていると思われる。総 hCG 投与量は Buserelin 併用群で多かったが、当科では Buserelin-hMG-hCG 投与例では short luteal が多いとの報告<sup>7)</sup>があるため、hCG を原則的に3回投与にしているためであり、この hCG 投与法では黄体機能不全は少なく、LUF、無排卵もなかった。総 hMG 量は Buserelin 併用群で多く、Buserelin により LH、FSH、E<sub>1</sub>、E<sub>2</sub> を低下させてからの hMG 開始であるため、hMG-hCG 療法より hMG 投与開始時の各種ホルモン値が低いと考えられた。

HMG-hCG 療法後の卵胞残存症例に対して Buserelin を投与し、その消失効果は良好であり、その後、hMG-hCG 療法が開始でき、妊娠率の向上に役立つと思われた。今後 Buserelin の投与量等をさらに検討したい。

#### 文 献

- 1) 竹田 省, 飯野好明, 木下勝之, 坂元正一: Pure FSH による排卵誘発治療成績の検討, 日産婦埼玉地方部会誌, 20: 239, 1990
- 2) Wildt, L., Diedrich, K., Van der Ven, H., Al Hasani, S., Hubner, H. and Klasen, R.: Ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization controlled by GnRH agonist administered in combination with human menopausal gonadotropins, Hum. Reprod., 1: 15, 1986
- 3) Neveu, S., Hedon, B., Bringer, J., Chinchole, J. M., Arnal, F., Humeau, C., Cristol, P. and Viala, J. L.: Ovarian stimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization, Fertil. Steril., 47: 639, 1987
- 4) Fleming, R., Haxton, M. J., Hamilton, M. P. R., McCune, G. S., Black, W. P., Macnaughton, M. C., Coutts, J. R. T.: Successful treatment of infertile women with oligomenorrhoea using a combination of a LHRH agonist and exogenous gonadotropins, Bri. J. Obstet, Gynecol., 92: 369, 1985
- 5) 竹田 省, 飯野好明, 木下勝之, 坂元正一: Polycystic Ovary Syndrome に対する Buserelin-hMG-hCG 療法の臨床効果について, 日不妊会誌, 36: in press, 1991
- 6) 竹田 省, 馬場一憲, 小島俊行, 木下勝之, 佐藤和雄: 月経困難症, 過多月経に対する Buserelin の効果, 日産婦埼玉地方部会誌, 17: 153, 1987
- 7) Hompes, P. G. A., van Weissenbruch, M. M., Burger, C. W., Schoemaker, J.: Gonadotropin Down-Regulation in Gynecological Practice, 391, Alan R. Liss, Inc., New York, 1986

### Efficacy of LH-RH analogue on residual follicles persisting after hMG-hCG therapy in infertile women

Satoru Takeda, Yoshiaki Iinoh,  
Shin-ichi Takada, Hiroyuki Seki,  
Katsuyuki Kinoshita and Shouichi Sakamoto

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Saitama Medical Center,  
Saitama Medical School,  
Kawagoe 350, Japan

Among the patients treated by hMG-hCG, the residual follicles of more than 15mm diameter detected by endovaginal ultrasonography during the following menstruation were treated by 900 or 1200  $\mu\text{g}/\text{day}$  of buserelin. Then, buserelin-hMG combination therapy was started after residual follicles had disappeared.

The incidence of residual follicles after hMG-hCG therapy were 56.4% (22/39 cycles). Residual follicles were related to the development of ovarian hyperstimulation. Residual follicles did not disappear until 78 days, in one case without any treatment.

Residual follicles in 76.5% of cases disappeared within 21 days after buserelin administration. Subsequent hMG-hCG therapy resulted in a 100% ovulation rate and no premature luteinization was noted. Luteal insufficiency was recognized in 1 case and in 4 cases pregnancy was confirmed.

Serum E1 and E2 levels were slightly higher in cases with residual follicles than those in cases with no follicles. Progesterone levels were significantly higher in such cases. LH, FSH levels were slightly decreasing and the production of free-testosterone, E1, E2, progesterone were significantly suppressed 2-3 weeks after the buserelin started.

The results shows that buserelin therapy is not only effective for disappearance of residual follicles but also improves an endocrine profile of elevated E1, E2 and progesterone levels and results in a rise of pregnancy rate.

(受付: 1991年5月1日特掲)

## 過排卵処理ラット卵巣における 血小板の活性化について

### Platelet Activation in the Rat Ovary During Gonadotropin-induced Ovulation

京都大学医学部婦人科学産科学教室 (主任: 森 崇英教授)

李 小 梅

Xiao-Mei LI

Department of Gynecology and Obstetrics,  
Kyoto University Faculty of Medicine, Kyoto 606, Japan  
(Chairman: Professor Takahide Mori)

PMSG と hCG 投与による過排卵処理を行った幼若ラットを用いて、排卵過程における血小板数の変化を検討した。卵巣静脈血中、下大静脈血中いずれの血小板数も過排卵処理群では対照群より有意の低値を示した。しかし、卵巣摘除ラットでは PMSG および hCG 投与後も血小板数の減少は認められなかった。また、P A F 拮抗剤 (Y 24180) の投与により排卵数は有意に抑制されたが血小板数の減少も阻止された。

以上より、ラットの排卵過程では何等かの機序により血小板の活性化が生じていること、およびこの血小板の活性化には卵巣の存在が必要であることが明らかとなった。さらに、この血小板の活性化には P A F の関与が示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 774-780, 1991)

#### 緒 言

排卵現象には様々な因子が関与しているが、Murdoch<sup>1)</sup>は、ヒツジにおいて排卵前後に未排卵の卵胞壁および卵胞液の thromboxane B<sub>2</sub> 高値となり、さらに夾膜の血管では内皮細胞への血小板の粘着や凝血塊が認められたと報告している。また、過排卵処理を行ったマウスに血小板活性化因子 (P A F) の拮抗剤を投与すると排卵数が抑制されることや、拮抗剤と同時に P A F を投与するとこの排卵抑制が回復したとの報告<sup>2,3)</sup>もあり、血小板が何等かの形で排卵現象に関与している可能性が考えられている。しかし、排卵時に実際に血小板が活性化されているか否か、血小板が活性化されているとしてもそれが排卵過程のどの時点で生じるか、さらには血小板の活性化が卵巣内で生じているか否かなどについての詳細は未だ明らかでない。これらの点を明らかにする

目的で、今回われわれはラットを過排卵処理した後、経時的に卵巣静脈血中および下大静脈血中の血小板数、白血球数、ヘマトクリット値を測定し排卵現象との関連について検討した。さらに、排卵過程における P A F の関与を検討する目的で、P A F の拮抗剤を用いて PMSG と hCG による排卵ならびに血小板減少に対する影響を検討した。

#### 研究方法

過排卵処理: 3 週齢 (40 g 前後) の Wistar 系雌ラット (オリエンタルバイオサービス) を人工照明下の動物室 (1 日 14 時間照明, 室温 20 ± 2 °C) にて飼育した。過排卵処理は既報の方法<sup>4,5)</sup>に準じて行った。すなわち、入室後 3 日目の午後 6 時に pregnant mare serum gonadotropin (PMSG: Serotropin<sup>®</sup> 帝国臓器) 7.5 I U (一部の実験では 5 または 10 I U) を皮下投与し、さらに 48 時間後に human chorionic

gonadotropin (hCG: Gonatropin<sup>®</sup>帝国臓器) 5 IU を皮下投与して過排卵処理を行った。対照群には PMSG と hCG の代わりに生理食塩水を皮下投与した。

また、PMSG と hCG の作用が卵巣を介したものであるか否かを検討するために、3 週齢の Wister 系雌ラットに両側卵巣切除術を施行し手術後 3 日目から上記と同様に PMSG, hCG を投与した群(卵巣切除群)と、開腹術のみ施行し卵巣を温存して PMSG と hCG を投与した群(開腹卵巣温存群)とを作成し、これらについても血小板数を測定比較した。

採血: PMSG 投与後 24 時間目, 48 時間目および hCG 投与後 16 時間目のラットを Nembutal(大日本製薬株式会社)の腹腔内投与による麻酔下に開腹し、左右の卵巣静脈を露出した。これらの血管を EDTA (0.1 M) にて管腔を湿したサフロ注射針 (24 G) にて穿刺した。注射針から流出する血液の最初の一滴を捨てたのちに、シリコン製延長管(内容量 0.4 ml, T O P 株式会社)に接続し血液を採取した。ついで下大静脈を露出し注射針 (18 G) にて 1 ml の血液を採取した。これらの血液は採取後直ちに 1 / 10 容量の EDTA 溶液 (0.1 M, PH 7.4) を加え、十分混和し、血小板数、白血球数およびヘマトクリット値の測定に用いた。対照群、開腹卵巣温存群および卵巣切除群からも同様に採血を行った。

血小板数、白血球数およびヘマトクリット値の測定: 血液 5  $\mu$ l をマイクロピペットにて採取し、2.5 % procain 塩酸塩 / 0.2 % NaCl 溶液にて 200 倍に希釈、十分混和した後、Burker-Turk 血球計算盤に注入した。室温で 15 分間静置した後、顕微鏡(倍率 400 倍)にて血小板数を算定した。白血球数は血液 20  $\mu$ l を Turk 溶液にて 10 倍希釈、室温にて 15 分静置した後、顕微鏡(倍率 100 倍)にて計算した。ヘマトクリット値は毛細管法(11,000rpm 5 分間遠心)にて測定した。

排卵数および卵巣重量の測定: 採血後、ラットの両側卵巣、卵管および子宮を一塊として摘出し、実体顕微鏡下で卵巣、卵管、子宮を分離した。ついで卵管采から子宮方向に向かって卵管腔を生理食塩水にて通水してシャーレ内に回収された卵子数を算定した。また、一部のラットでは卵巣表面の出血点数を実体顕微鏡下に算定し回収した卵子数と比較したが、ほぼ同数であったので回収卵子数を排卵数とした。卵巣湿重量は、卵巣表面の水分を濾紙にて吸収除去後マイクロバランスにて測定した。

P A F 拮抗剤 (Y 24180) の排卵数および血小板数に及ぼす影響の検討: P A F 拮抗剤の Y 24180(吉富製

薬株式会社提供) を polypropylene glycol (P P G) にて溶解し、PMSG 投与時から hCG 投与後 12 時間目まで 6 時間毎に 2.5 mg/kg を皮下注投与した。hCG 投与後 16 時間目にラットを開腹し、排卵数および下大静脈血中の血小板数を測定した。なお、この実験の対照群には Y 24180 を含まない P P G を投与した。

### 結 果

先ず最初に、PMSG 投与量と排卵数の関係を検じた。PMSG を 5 IU, 7.5 IU あるいは 10 IU 皮下注投与しその 48 時間後に hCG を 5 IU 投与すると、hCG 投与 16 時間後に測定した排卵数はそれぞれ  $13.0 \pm 5.3$  個 ( $n = 5$ ),  $33.3 \pm 14.3$  個 ( $n = 5$ ) および  $49.6 \pm 10.6$  個 ( $n = 7$ ) と PMSG 投与量が多くなるに従って増加した。なお、PMSG, hCG 非投与群では排卵は認められなかった (図 1)。

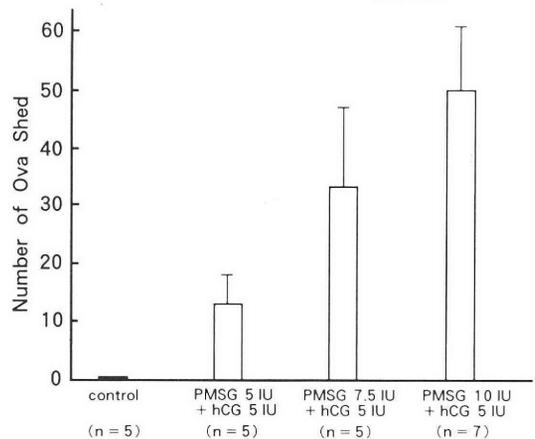


図 1 PMSG 投与量と排卵数の関係

また、過排卵処理後の卵巣重量を経時的に測定すると、PMSG 投与後 24 時間目以後対照群に比して有意に増加した。hCG 投与後 16 時間目の卵巣重量は、

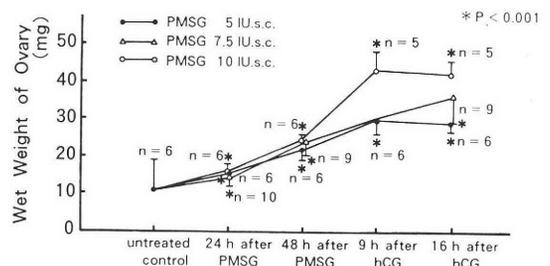


図 2 PMSG および hCG 投与による過排卵処理後の卵巣重量の推移

\* : P < 0.001

PMSG 5 IU, 7.5 IU および 10 IU 投与群でそれぞれ  $29.1 \pm 2.2$  mg (mean  $\pm$  SD,  $n = 6$ ),  $35.9 \pm 7.0$  mg ( $n = 9$ ) および  $41.5 \pm 3.8$  mg ( $n = 5$ ) まで増加し, PMSG の投与量が多いほど大きかった(図 2).

これらの結果を参考にして, 以後の PMSG 投与量は基本的に 7.5 IU とした.

次いで, PMSG 7.5 IU と hCG 5 IU 投与による過排卵処理後のヘマトクリット値 (%) と白血球数の経時的変化を卵巣静脈血と下大静脈血について検討した. いずれの静脈血においても, PMSG 投与後 24 時間目, 48 時間目および hCG 投与後 16 時間目に測定したヘマトクリット値は, 30~35% の間に分布しており過排卵処理を受けていない対照群の値との間に有意差を認めなかった(図 3 a). 白血球数についても同様で, PMSG および hCG 投与によって有意の変化を認めなかった(図 3 b). また, 卵巣静脈血中

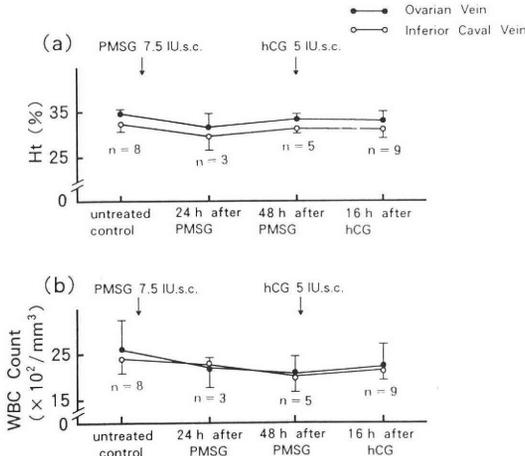


図 3 PMSG および hCG 投与による過排卵処理後の卵巣静脈ならびに下大静脈血中におけるヘマトクリット値 (a) および白血球数 (b) の推移

と下大静脈血中のこれらの値はほぼ同じで, 両者の間に有意差を認めなかった (図 3 a, b).

対照群の値と比較してそれぞれ  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  および  $p < 0.001$  の危険率で有意に低値であった. これに対して下大静脈血中の血小板数は PMSG 投与後 24 時間目では  $79.0 \pm 7.1 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 3$ ) と低下傾向を示すものの対照群との間に有意差はなかった. しかし, PMSG 投与後 48 時間目および hCG 投与後 16 時間目には  $67.2 \pm 4.8 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 5$ ) および  $63.0 \pm 8.1 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 9$ ) となり, いずれも対照群の値に比して有意に低値となった ( $p < 0.05$  および  $p < 0.005$ ). すなわち, 下大静脈血中における血小板数の変化は卵巣静脈血中における変化

より時間的にやや遅れて生じる傾向があるが, 基本的にはほぼ同じ変化をするので, 血小板数の変化を比較する場合には, 卵巣静脈血の代わりに下大静脈血を用いることが可能であると思われた.

つぎに, PMSG 7.5 IU と hCG 5 IU により過排卵処理した後, 卵巣静脈血中および下大静脈血中の血小板数を経時的に測定した(図 4). 対照群の卵巣静脈血中および下大静脈血中の血小板数は, それぞれ  $88.5 \pm 10.0 \times 10^4 / \text{mm}^3$  (mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ ), および  $86.0 \pm 14.9 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 8$ ) で両者間に有意差を認めなかった. しかし, PMSG と hCG による過排卵処理を行うと, 卵巣静脈血中の血小板数は, PMSG 投与後 24 時間目, 48 時間目および hCG 投与後 16 時間目に, それぞれ  $72.8 \pm 5.3 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 3$ ),  $73.2 \pm 2.9 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 5$ ) および

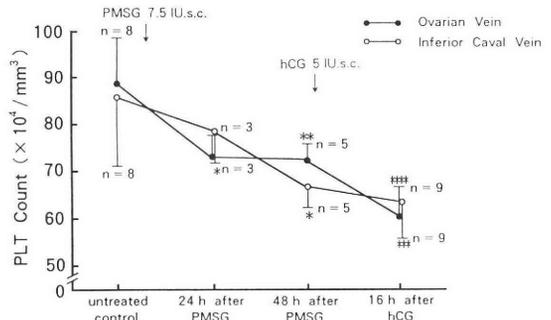


図 4 PMSG および hCG 投与による過排卵処理後の卵巣静脈ならびに下大静脈血中の血小板数の推移  
\* :  $P < 0.05$ , \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.005$  \*\*\*\* :  $P < 0.001$

$60.6 \pm 5.8 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 9$ ) となり, 時間経過と共に低下する傾向を認めた. また, これらの値は

そこで, 排卵過程における血小板数の減少と PMSG 投与量との関係を検討するため, PMSG を 5 IU, 7.5 IU, 10 IU 投与しその 48 時間後に hCG 5 IU を投与して経時的に下大静脈血中の血小板数を測定比較した. PMSG 投与前, 投与後 24 時間目, 48 時間目さらに hCG 投与後 9 時間目および 16 時間目における各群の血小板数は図 5 に示したように何れの群でも時間経過と共に減少した. PMSG 5 IU 投与群では, 血小板数の減少が 7.5 IU 投与群あるいは 10 IU 投与群よりやや遅れて生じる傾向がみられたが, hCG 投与後 9 および 16 時間目には 3 群ともほぼ同じ程度まで血小板数が減少した. すなわち, 過排卵処理によって生ずる血小板数減少の程度は, PMSG の量とは直接比例せず, 一定数以上の排卵があれば

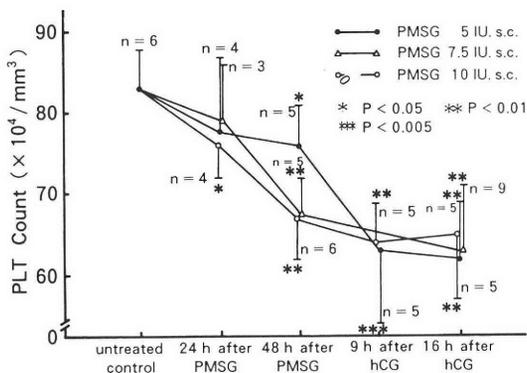


図 5 PMSG 投与量と過排卵処理後の血小板数の減少度との関係

起こるものと考えられた。

つぎに、この様な PMSG と hCG による過排卵処理に伴う血小板数の減少に卵巣の存在が関与しているか否かを検討した。すなわち、先に述べたごとく卵巣切除群と開腹卵巣温存群とを作成しこれらに PMSG と hCG 投与による過排卵処理を行い、hCG 投与後 16 時間目の血小板数を測定比較した (図 6)。開腹卵巣温存群の下大静脈血中の血小板数は、過排卵処理を行わなかった群では  $120 \pm 14.5 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 8$ ) であったが PMSG と hCG による過排卵処理を受けた群では  $96.9 \pm 5.9 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 6$ ) と有意の低値を示した ( $P < 0.01$ )。これに対して、卵巣切除群の下大静脈血中の血小板数は、PMSG と hCG 投与後も  $122.4 \pm 19.6 \times 10^4 / \text{mm}^3$  ( $n = 7$ ) で、過排卵処理を受けなかった群とほぼ同程度の値を示した。これは先の開腹卵巣温存群で過排卵処理を行った群の血小板数より有意の高値であった ( $P <$

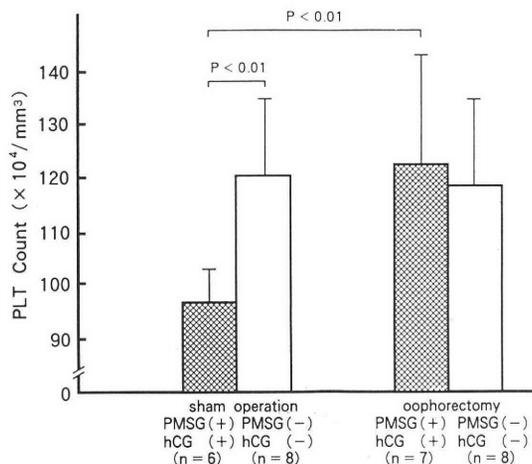


図 6 過排卵処理後の血小板数の減少におよぼす卵巣切除の影響 (開腹卵巣温存群との比較)

0.01)。すなわち、卵巣切除群では PMSG と hCG を投与しても血小板数の減少がみられなかった。なお、開腹卵巣温存群の hCG 投与後 16 時間目排卵数は  $28.5 \pm 16.3$  ( $n = 6$ ) であった。

最後に、この様な過排卵処理に伴う血小板数の減少が PAF を介した血小板の活性化によるものであるか否かを検討するため、PAF の拮抗剤である Y 24180 (2.5mg/kg) を PMSG 投与時から hCG 投与後 12 時間目まで連続的に 6 時間毎に投与し、hCG 投与後 16 時間目に排卵数と血小板数に及ぼす影響を検討した。図 7 に示したごとく、排卵数は対照群の  $21.7 \pm 15.2$  ( $n = 6$ ) から Y 24180 投与によって  $3.3 \pm 5.5$  ( $n = 6$ ) と有意に抑制された ( $P < 0.02$ )。一方、血小板数は対照群では  $68.6 \pm 9.5 \times 10^4 / \text{mm}^3$  と

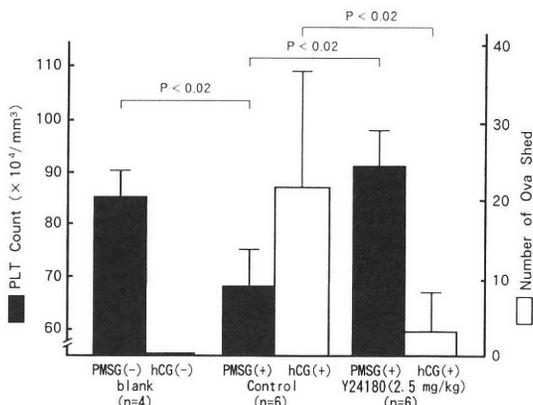


図 7 過排卵処理後の排卵数および血小板数におよぼす PAF 拮抗剤 Y 24180 の影響

過排卵処理をしなかった群 (図中左端 blank 群) より有意の低値を示したが、Y 24180 投与群では過排卵処理にも拘らず減少を示さず  $91.8 \pm 11.6 \times 10^4 / \text{mm}^3$  と blank 群とほぼ同じ値を示した。

### 考 察

ヒツジに LHRH を投与して排卵誘発を行うと、排卵周辺期に内夾膜細胞層の血管内膜に血小板が粘着し血管の内外に多数の凝血塊が認められるとの報告がある<sup>1,6)</sup>。この様に何等かの原因によって活性化された血小板から、血小板由来成長因子 (PDGF)、ヒスタミンあるいは、thromboxane<sub>A2</sub> などのアラキドン酸代謝物が放出されて、排卵過程に何等かの形で関与していることが推測されている。

今回の実験では、排卵期の卵巣において実際に血小板が活性化されているか否か、また活性化されるとすれば排卵のどの過程に関与しているかを検討す

る目的で、過排卵処理をした Wistar 系ラットを用いて経時的に卵巣静脈と下大静脈血中の血小板数を測定した。卵巣静脈、下大静脈いずれにおいても、PMSG 投与後 24 時間目から血小板数が減少し始めた。そして、この血小板数の減少は PMSG 投与後 48 時間目では更に顕著となり、hCG 投与後 16 時間目まで持続的に減少し続けた。この成績は、血小板の活性化が卵巣破裂の時だけでなく、卵巣の発育過程で既に開始していることを示している。したがって、血小板の活性化に伴って放出されると考えられる成長因子、ヒスタミン、アラキドン酸代謝物等は卵巣の破裂過程だけでなく、卵巣の発育過程にも関与している可能性が考えられる。一方、卵巣摘出ラットでは同様の過排卵処理によっても血小板数の減少が見られなかったことから、PMSG と hCG 投与による血小板の活性化には卵巣の存在が必要であることが明らかになった。さらに、下大静脈血中よりも卵巣静脈血中の血小板数の方がより早期 (PMSG 投与 24 時間目) に減少し始めたことを考え併せると、血小板の活性化の主な部位は、ある程度以上にまで発育した卵巣を有する卵巣であると推測される。

血小板の凝集は大別すると 3 つの機序が関与しているとされている<sup>7)</sup>。すなわち、ADP を介する機序、つぎにアラキドン酸代謝産物、特に thromboxane<sub>A<sub>2</sub></sub> を介する機序、さらに、トロンピンを介する機序である。ヒツジを排卵刺激すると排卵に向かって卵巣液内 thromboxane<sub>A<sub>2</sub></sub> の濃度が上昇するとの報告<sup>1)</sup>や、血小板活性化因子 (PAF) の拮抗剤を投与するとマウスの排卵が抑制されるとの報告<sup>2,3)</sup>があるが、今回の実験では、過排卵処理した Wistar 系ラットに PAF 拮抗剤を投与すると排卵数が有意に減少するだけでなく、過排卵処理に伴う血小板数の減少も阻止された。これらの成績を考え併せると、PMSG の刺激によりある程度発育した卵巣の周囲の血管内皮細胞で PAF が産生されるが、その PAF によって活性化された血小板から放出される各種物質あるいは PAF 自身が卵巣に作用してその発育を促進し、さらには卵巣の破裂にも関与している可能性が考えられる。すなわち、過排卵処理によって卵巣内で産生された PAF は卵巣破裂のみでなく血小板の活性化にも密接に関与していることを示している。

血小板から放出される物質のなかでも  $\alpha$  顆粒中にある PDGF は、血管内皮細胞の phospholipase A<sub>2</sub> 活性を亢進させることによって prostaglandin 産生を増加させることが知られている<sup>8)</sup>。一方、PMSG と hCG で過排卵処理したラット卵巣を prostaglandin (PG) synthetase について免疫染色すると、卵巣の発育と

共に夾膜細胞、顆粒膜細胞および間質の PG synthetase 染色性が増強、hCG 投与後は更に著明となり排卵時に最大となることから、prostaglandins は卵巣の破裂だけでなくその発育にも関与していると推測されている<sup>9)</sup>。これらを考え併せると、排卵過程で活性化された血小板から放出された PDGF は、卵巣での prostaglandin 合成系を介して排卵に関与している可能性が考えられる。

また、indomethacin は、幼若ラットにおいて PMSG と hCG 投与にて誘発される排卵数を用量依存的に減少させるだけでなく、排卵期の血漿中の progesterone および testosterone 濃度を減少させ<sup>4)</sup>、逆に、indomethacin の排卵抑制作用は prostaglandin と progesterone の同時投与によって完全に回復されることから、ラットの過排卵過程においては progesterone は prostaglandin と協調して何等かの重要な役割を果たしていると推測されている<sup>9)</sup>。一方、ラット顆粒膜細胞の LH 結合能やステロイド産生は PDGF によって亢進するとの報告<sup>10)</sup>があるので、今回の実験で観察された血小板の活性化が、血小板から放出された PDGF によるステロイド産生の調節を介して排卵に関与している可能性も考慮する必要がある。

また、PMSG と hCG で排卵誘発を行うと血中のヒスタミン濃度が上昇するし、ヒスタミンの拮抗物質 (compound 48-80) の投与によってヒスタミン濃度の低下と排卵数の減少が見られたとの報告<sup>11)</sup>があり、ヒスタミンは卵巣毛細血管の透過性の亢進、卵巣の発育、卵巣の破裂等に関与していると考えられている。卵巣におけるヒスタミン産生細胞としては、mast cell, basophil, 血管内皮細胞および血小板が考えられている<sup>12)</sup>が、今回の結果からは、過排卵処理により活性化された血小板からもヒスタミンが放出され、卵巣の発育と卵巣の破裂に関与している可能性が考えられる。

今回の実験から、過排卵処理を受けたラットでは血小板の活性化が生じていることが明らかにされ、これには卵巣で産生された PAF が密接に関与している可能性が示唆された。また、この PAF は排卵過程において平滑筋等へ直接作用することが推測されるが、その他にも、血小板を活性化し PDGF など各種生理活性物質を放出させることによって間接的に卵巣発育、ステロイド産生、卵巣破裂機序等に関与している可能性が考えられた。これらの点に関しては、今後の研究の発展が期待される。

#### まとめ

PMSG と hCG 投与による過排卵処理を行った幼若

ラットでは、卵巣静脈血中、下大静脈血中いずれの血小板数もhCG投与前から既に対照群より有意の低値を示し、hCG投与後は更に減少した。しかし、卵巣摘除ラットではこの様な血小板数の減少は認めなかった。また、血小板活性化因子(PAF)の拮抗剤(Y 24180)をPMSG、hCGと同時に投与すると排卵数は有意に抑制されたが、血小板数の減少も阻止された。

以上より、ラットの排卵過程では何等かの機序により血小板の活性化が生じていること、およびこの血小板の活性化には卵巣の存在が必要であることが明らかとなった。さらに、この血小板の活性化にはPAFの関与が示唆された。

#### 謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師森崇英教授に心から感謝致します。また、研究を直接御指導下さいました佐川典正講師ならびに伴千秋助手を始め御協力頂きました教室員の皆様に深謝いたします。

なお、本研究の一部は第43回日本産科婦人科学会総会にて発表した。

#### 参考文献

- 1) Murdoch, W. J.: Accumulation of thromboxane B<sub>2</sub> within periovulatory ovine follicles: Relationship to adhesion of platelets to endothelium, *Prostaglandins*, 32: 597, 1986
- 2) 菊川美一, 石川陸男, 千石一雄, 清水哲也: 排卵に及ぼす血小板活性化因子に関する研究, *日産婦誌*, 42: 573, 1990
- 3) Abisogun, A. O., Braquet, P. and Tsafirri, A.: The involvement of platelet activating factor in ovulation, *Science*, 243: 381, 1989
- 4) Cavender, J. L. and Murdoch, W. J.: Morphological studies of the microcirculatory system of periovulatory ovine follicles, *Biol. Reprod.*, 39: 989, 1988
- 5) Kohda, H., Mori, T., Nishimura, T. and Kambegawa, A.: Co-operation of progesterone and prostaglandins in ovulation induced by human chorionic gonadotrophin in immature rats primed with pregnant mare serum gonadotrophin, *J. Endocrinol.*, 96: 387, 1983
- 6) Coughlin, S. R., Moskowitz, M. A., Zetter, B. R., Antoniades, H. N. and Levine, L.: Platelet-dependent stimulation of prostacyclin synthesis by platelet-derived growth factor, *Nature*, 288: 600, 1980
- 7) Chignard, M., Le Couedic, J. P., Tence, M., Vargaftig, B. B. and Benveniste, J.: The role of platelet-activating factor in platelet aggrega-

tion, *Nature*, 279: 799, 1979

- 8) Mori, T., Kohda, H., Kinoshita, Y., Ezaki, Y., Morimoto, N. and Nishimura, T.: Inhibition by indomethacin of ovulation induced by human chorionic gonadotrophin in immature rats primed with pregnant mare serum gonadotrophin, *J. Endocrinol.*, 84: 333, 1980
- 9) Curry, T. E. Jr., Malik, A. and Clark, M. R.: Ovarian prostaglandin synthase: Immunohistochemical localization in the rat, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 157: 537, 1987
- 10) Mondschein, J. S. and Schomberg, D. W.: Growth factors modulate gonadotropin receptor induction in granulosa cell cultures, *Science*, 211: 1179, 1981
- 11) Krishna, A., Terranova, P. F., Matteri, R. L. and Papkoff, H.: Histamine and increased ovarian blood flow mediate LH-induced superovulation in the cyclic hamster, *J. Reprod. Fertil.*, 76: 23, 1986
- 12) Krishna, A., Beesley, K. and Terranova, P. F.: Histamine, mast cells and ovarian function, *J. Endocrinol.*, 120: 363, 1989

### Platelet Activation in the Rat Ovary During Gonadotropin Induced Ovulation

Xiao-Mei Li

Department of Gynecology and Obstetrics,  
Kyoto University Faculty of Medicine,  
Kyoto 606, Japan  
(Chairman: Professor Takahide Mori)

It has been reported that platelet aggregation is observed in the capillaries of peri-ovulatory follicles of sheep ovaries, and that the administration of platelet activating factor (PAF) antagonist reduces the number of ova shed during the ovulation induced by pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG) and human chorionic gonadotropin (hCG) in mice. In order to examine whether platelets are activated by PAF synthesized in the ovaries during ovulation and whether such platelet activation plays a role in the mechanism of ovulation, we examined changes in the platelet count in the ovarian vein and in the inferior caval vein of immature female rats after ovulation induced by the administration of PMSG (5-10 IU) followed by that of hCG (5 IU) 48 hours later. The number of ova shed and changes in hematocrit and leukocyte count in the ovarian vein and inferior caval vein were also

examined in these rats. We also examined the effects of the PAF antagonist Y24180 on the number of ova shed and platelet activation following PMSG and hCG injection.

Platelet count in the ovarian vein was  $88.5 \pm 10.0 \times 10^4/\text{mm}^3$  (mean  $\pm$  SD,  $n=8$ ) in the untreated control group, and significantly ( $p < 0.01$ ) less ( $73.2 \pm 2.9 \times 10^4/\text{mm}^3$ ,  $n=5$ ) 48 hours after the injection of PMSG (7.5 IU), and markedly ( $p < 0.005$ ) less ( $60.6 \pm 5.8 \times 10^4/\text{mm}^3$ ,  $n=9$ ) 16 hours after the injection of hCG. Similar changes in platelet count were observed in the inferior caval vein. Hematocrit and leukocyte count were not significantly altered following administration of PMSG and hCG in either the ovarian or inferior caval vein. PMSG dosage correlated well with the number of ova shed but not with the magnitude of decrease in platelet count. On the other hand, when both ovaries had been extirpated, there was no decrease in platelet count

following the administration of PMSG and hCG. When Y24180 (2.5 mg/kg) was administered to the rats every 6 hours after the time of PMSG injection throughout the experiment, the number of ova shed by 16 hours after hCG injection ( $3.3 \pm 5.5$ ,  $n=6$ ) was significantly ( $p < 0.02$ ) lower than that of the control group ( $21.7 \pm 15.2$ ,  $n=6$ ), and the platelet count was increased from  $68.6 \pm 9.5 \times 10^4/\text{mm}^3$  in the control group with PMSG and hCG ( $n=6$ ) to  $91.8 \pm 11.6 \times 10^4/\text{mm}^3$  ( $n=6$ ), which was similar to that in the blank group without gonadotropin treatment.

The results of the present study indicate that the platelet activation occurring during follicular development was induced by PMSG and was further enhanced by subsequent injection of hCG, that the presence of the ovary is indispensable for this platelet activation, and, finally, that this platelet activation may be mediated by the action of PAF.

(受付: 1991年4月11日特掲)

## 当科における最近2年間の体外受精・胚移植法 (IVF-ET) 実施成績の解析

### Retrospective Studies of Recent Two Years' Practice and Outcome of In Vitro Fertilization-Embryo Transfer in Our Hospital

京都大学医学部婦人科学産科学教室

福岡正恒	野田洋一	辰巳賢一
Masatsune FUKUOKA	Youichi NODA	Kenichi TATSUMI
高倉賢二	神崎秀陽	泰井俊造
Kenji TAKAKURA	Hideharu KANZAKI	Shunzo TAI
成本勝彦	馬岡陽	後藤康夫
Katsuhiko NARIMOTO	You UMAOKA	Yasuo GOTO
岸淳二	野々垣多加史	夏山知
Junji KISHI	Takafumi NONOGAKI	Satoshi NATSUYAMA
	森崇英	
	Takahide MORI	

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

体外受精・胚移植法 (IVF-ET) 治療の現状とその問題点をあきらかにする目的で、1988~89年の2年間における当教室でのIVF-ET治療の結果をretrospectiveに分析し、治療成績に影響を及ぼす諸因子の検討を行った。

- 1) 上記2年間における治療周期数、採卵周期数、胚移植(ET)周期数はそれぞれ165、146、123であり、妊娠周期数は38(妊娠率30.9%/ET)であった。
- 2) 妊娠率は患者年齢35歳を境として、以後直線的に低下し、逆に流産率は加齢とともに著明に上昇した。
- 3) 不妊因子のうち、男性因子を有する群のみ他の因子に比して妊娠率、受精率、分割率が著明に低かった。
- 4) 移植胚数による影響を検討した結果、妊娠率、多胎率とも3個以上で差はみられなかった。しかし3個では双胎のみで品胎はみられなかったことから、移植胚数は3個までとすることが望ましいと考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 781-786, 1991)

#### 緒言

1978年、Stephoe and Edwards<sup>1)</sup>により初めてIVF-ETによる出産例が報告されて以来12年が経過し、配偶子卵管内移植法(GIFT)や接合子卵管内

移植法(ZIFT)等の関連療法をも含めたこの治療法は、不妊症治療において重要な地位を占めつつある。本邦においても、1983年10月に初の体外受精児が誕生して以来、1988年末までにIVF-ETにより160例の出産が報告されている<sup>2)</sup>。当教室では1986年2月

よりIVF-ET療法を導入し、1987年末頃より妊娠例がしばしばみられるようになった。しかしその成績は、未だ十分満足できるものとは言えない。そこで、現時点における治療上の問題点や今後の課題をあきらかにする目的で、1988-1989年の2年間における当教室でのIVF-ET治療の結果をretrospectiveに分析し、治療成績に影響をおよぼす諸因子の検討を行った。とくに患者年齢や不妊原因、移植胚数といった因子に注目し検討を加えた。

### 対象および方法

1988年1月から1989年12月までの2年間に当教室においてIVF-ET治療を実施した症例(治療周期数)165例を対象とした。過排卵刺激法として、前半の約1/3の症例ではhMG単独療法、後半の2/3の症例ではGnRH analog (buserelin) と hMG の併用療法を用いた。具体的には、月経周期3日目よりhMG 150-300単位を連日筋注し、1つまたは複数の卵胞の卵胞径が18mmを超えた時点でhMGを中止し、その翌日にhCG5000単位を筋注した。GnRH analog 併用時には、いわゆるshort protocolを原則とし、GnRH analog (900 $\mu$ g/day)を月経周期1日目よりhCG投与の8時間前まで8時間おきに経鼻投与した。hCG投与の36時間後に超音波ガイド下、経腔的に採卵を行った。採取した卵は2-6時間前培養した後、swim-up法により回収した夫精子を用いて媒精を行い、5%CO<sub>2</sub> in airの環境下で2日間培養した。媒精17-20時間後に前核の有無および数の確認と培養液の交換を行い、媒精2日後に2-8細胞に分割した胚を子宮内に移植した。培養液としてはHam's F10を用い、非動化患者血清をET用には50%、それ以外には10%添加した。

なお、妊娠の診断にあたっては、HCGテストパック(ダイナボット、感度50mIU/ml)による尿中hCG定性反応陽性例を妊娠例とした。

### 成績

#### 1. 全体成績

上記期間中に、IVF-ET治療を開始した165例のうち、採卵が可能であった症例(採卵周期数)は146例(88.5%)、胚移植(ET)が可能であった症例(胚移植周期数)は123例(74.5%)、採卵可能例の84.2%であった。妊娠例は38例で、妊娠率は治療周期あたり23.0%、ETあたり30.9%であった。ただしこの中にはいわゆるchemical abortionに終わった症例が8例含まれており、これらを差し引いたいわゆるclinical pregnancyの率としては、治療周期

あたり18.2%、ETあたり24.4%ということになる。妊娠例の平均年齢は32.4歳で、全症例の平均(34.9歳)よりもかなり下回っていた。妊娠例について、妊娠に至るまでに施行したIVF-ETの回数を示したものが表1であるが、ほとんどの症例が、3回目のETまでで妊娠していることがあきらかである。

表1 妊娠に至るまでのIVF-ET施行回数

回数	例数
1	19
2	11
3	6
4	1
≥5	1*

\* 8回目

妊娠例38例のうち、出産に至った症例は20例で、挙児率は治療周期あたりで12.1%、ETあたりで16.3%であった。出産例20例のうち、12例が帝王切率出産しており、帝王切率は60%に上る。また20例中9例(45%)が多胎分娩であり、出生児は34名を数えた。多胎の影響で低出生体重児(2500g未満)が多く19名(56%)に上り、しかもそのうち14名が1500g未満であった。

#### 2. 患者年齢別治療成績

上記のごとく、妊娠例の平均年齢は全症例の平均を大きく下回っており、治療成績に患者年齢が大きな影響をおよぼしている可能性が示唆された。そこで全症例を年齢ごとに20代、30代前半、30代後半、40代の4段階に分類し、各年齢層ごとの治療成績を比較検討してみた(図1)。まず各年齢層ごとのET

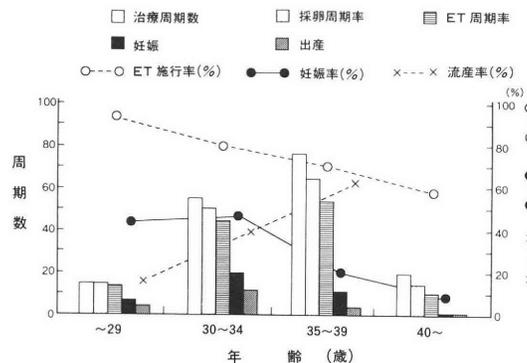


図1 患者年齢別治療成績

施行率(ET周期数/治療周期数×100)について検討してみると、20代では93.3%と高率であるのに対し、加齢とともにこの数値は減少し、40代ではわず

か57.9%であった。さらに、ETあたりの妊娠率を比較検討してみると、30代前半までは約45%と高率であるのに対し、30代後半では20%、40代では9%（1例）と、35歳を境として直線的な低下をみとめた。これに対し、流産率は逆に加齢に伴って著明に上昇し、20代では17%であったものが、30代後半では63%に達した。

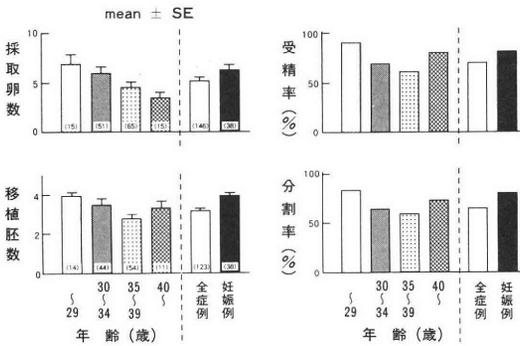


図2 患者年齢ごとの採取卵数・移植胚数・受精率・分割率

図2は上記各年齢層ごとの平均採取卵数、移植胚数、受精率、分割率について比較検討したものである。まず採取卵数についてみてみると、20代では平均7.0個であったものが、加齢とともに減少し、40代では3.4個と20代の約半数であった。受精率・分割率についても加齢による低下傾向をみとめ、20代ではそれぞれ90.5%、81.9%と高率であったのが、30代後半では63.2%、57.6%にとどまった。しかし40代では82.7%、73.1%と再び上昇がみとめられた。また平均移植胚数についても受精率・分割率と同様、20代（4.0個）から30代後半（2.8個）に向かって減少し、40代で再び上昇（3.3個）するというパターンが観察された。

### 3. 不妊原因別治療成績

次に、不妊因子が治療成績におよぼす影響について検討を加えた。全症例より不妊因子として、卵管因子、男性因子、免疫因子（抗精子抗体陽性）を有する群、ならびに原因不明不妊の計4群を抽出し、それぞれの治療成績を比較検討してみた。複数の因子を有する症例については、そのいずれの群にも含めた。その結果、表2に示したごとく、男性因子を有する群では受精率44.6%、分割率38.2%、妊娠率13.3%であり、いずれも他の因子と比較して著明に低い数値であった。しかも男性因子の妊娠例2例はいずれもいわゆる chemical abortion に終わっている。

表2 不妊原因別治療成績

	卵管因子	男性因子	免疫因子	原因不明不妊
治療周期数	120	25	12	14
採卵周期数	106	23	9	13
ET周期数	98	15	8	9
	(81.6%)	(60.6%)	(66.6%)	(64.3%)
受精率(%)	76.9	44.6	74.6	66.7
分割率(%)	65.7	38.2	64.4	66.7
妊娠	30	2	3	3
	(30.6%)	(13.3%)	(37.5%)	(33.3%)

### 4. 移植胚数と妊娠率および多胎との関係

前述のごとく、多胎分娩率は全分娩例の45%に上り、このことが低出生体重児数の増加や帝切率の増加などの弊害をもたらしていると考えられた。多胎率を低下させるためには、当然移植胚数の制限が必要であるが、そこには妊娠率の上昇という目的の間にジレンマの存在することが予想される。そこで移植胚数と妊娠率、ならびに移植胚数と多胎発生との関連について検討を加えた。

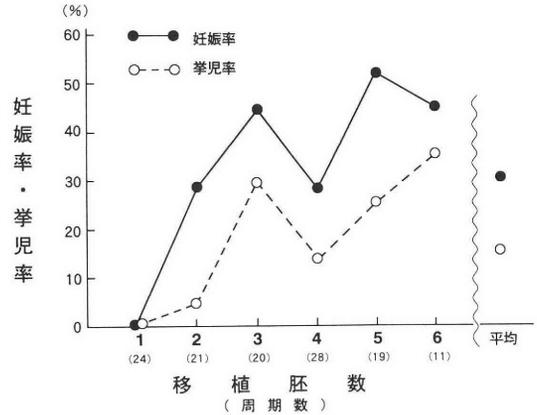


図3 移植胚数と妊娠率・拳児率との関係

図3は移植胚数と妊娠率・拳児率との関係を示したものである。移植胚数1個での妊娠例は1例もなかった。移植胚数の増加に伴い、おおむね妊娠率も上昇カーブを描き、移植胚数4個では意外に低い値になっているものの、3個で妊娠率はほぼピークに達すると思われた。拳児率も妊娠率とほぼ平行した動きを示したが、移植胚数2個の場合には、流産率が高いために拳児率は5%と低くなっており、やはり3個以上の胚を移植することが望ましいと考えられた。

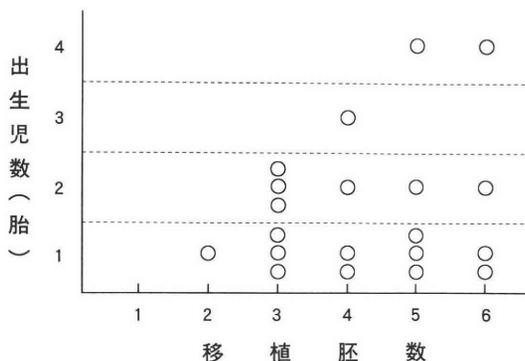


図4 移植胚数と多胎発生との関係

図4は移植胚数と多胎との関係を示したものである。多胎発生率は移植胚数3～6個いずれの場合でも40～50%と高く、移植胚数と多胎発生率との間に相関はみられなかった。しかし、移植胚数3個の場合の多胎は双胎のみで品胎はみとめられなかったのに対し、4個以上の場合には、品胎・要胎の発生がみとめられた。

### 考 察

最近の本邦における、IVF-ETの普及・技術向上はめざましいものがある。しかしその成績は、未だ十分満足できるものとは言えない。今回のわれわれの検討においても、chemical abortionをも含めた妊娠例こそET施行例の31%を占めているものの、分娩にまで至った症例はET施行例の16%という数字に留まっている。これは米国全体の成績<sup>3,4)</sup>等と比較して決して劣るものではないが、やはり流産率の高さが際だっていることを示すものと考えられる。

年齢がIVF-ETの治療成績に影響をおよぼすという報告は多いが、その程度に関する報告はさまざまである。Norfolk groupのRomeuら<sup>5)</sup>は40歳以上(40-44歳)の症例においても、流産率は高いものの、妊娠率は40歳未満と差はなかったと報告している。しかし一般的には、35歳を越えると妊娠率が低下するとの報告が多い<sup>6-8)</sup>。今回のわれわれの検討でも、妊娠成績に対する患者年齢の影響は顕著にみとめられた。すなわち、年齢の上昇にともなって、採卵・ETにまで至らないキャンセル例が増加するとともに、妊娠率は35歳を境として低下の一途を辿った。妊娠率とは逆に、流産率は加齢とともに著明に上昇した。こうした加齢による妊娠率低下の原因として、さまざまな要素が考えられている<sup>6-8)</sup>。そこで採取卵数、受精率・分割率、移植胚数に対する患者年齢の影響について検討を加えた結果、まず採取卵数につ

いて、加齢にともなうあきらかな減少がみとめられた。したがって、過排卵刺激に対する卵巣の反応性の低下がまず加齢による妊娠率低下の一因となっていると考えられた。次に、卵・精子のqualityを示す指標と考えられる受精率・分割率について年齢による影響を検討した結果、30代後半まではやはり加齢による著明な減少がみとめられた。したがって卵巣の反応性のみならず、卵のqualityについても、加齢によるqualityの低下が妊娠率の低下に関与している可能性が示唆された。ただし、患者年齢の上昇にともない、夫の年齢も上昇すると想像されるので、卵のみならず精子のqualityの低下も関与している可能性がある。意外なことに、40代の患者では受精率・分割率は予想外に高く、全症例の平均をも上回っていた。これを反映してか、移植胚数についても40代の症例の平均は30代後半のそれを上回り、30代前半とほぼ同程度であった。40代のこうした傾向については、過排卵刺激から採卵にかけてのステップで大きなselectionが行われた結果、ETにまで至った症例については予想外に受精率・分割率が高くなったものと考えられる。いずれにしても、今回の検討の結果は、受精率・分割率・移植胚数といった数値が高いにもかかわらず、着床率が低いところに40代の症例の最大の問題点があることを浮き彫りにしている。IVF-ET治療の年齢制限を何歳までとするかは、医師側にも患者側にも重要な問題である。当教室では現在のところ、年齢制限を41歳までとしているが、このあたりが現在の成績からみて妥当なところではないかと思われる。

年齢制限と並んでIVF-ET実施上興味ある問題として、成功するまでの実施回数に制限を設けるべきか否かという点が挙げられる。そうした観点から、妊娠例について、妊娠するまでのIVF-ET実施回数を検討したところ、ほとんどの例が3回目の治療までで妊娠していた。ただし、Padilla & Garcia<sup>9)</sup>やWilkesら<sup>9)</sup>はより多数例の検討において、われわれの結果と同様、妊娠例の大半は2～3回までで妊娠しているものの、妊娠率そのものは7回目の実施までかわらなかったと報告している。したがって3回目の治療で成功しない場合でも、患者リストから除外すべきではないとしている。

IVF-ETは男性因子に対する有効な治療法とされ<sup>10)</sup>、IVF-ETの適応として男性因子が挙げられているが、現在のところ男性因子に対する当教室での治療成績は甚だ不良である。逆に男性因子の存在は、IVF-ET治療において患者年齢と並んで大きな予後不良因子としてクローズアップされた。当教室では

精子濃度および運動率の正常値としてそれぞれ  $4000 \times 10^4 / \text{ml}$  以上、40%以上と定義している。たとえこのパラメータ両方を満たしていなくとも、媒精時の運動精子濃度(精子濃度 $\times$ 運動率)が  $1500 \times 10^4 / \text{ml}$  以上であれば妊娠には全く問題がないという印象を得ているが、これを下回る精液所見の症例については治療成績は不良であった。したがって男性因子に対するIVF-ETの有効性という点については現段階では否定的であり、精液所見改善への努力が不可欠であると考えられる。

培養技術の向上にともない治療成績は向上しつつあるが、同時に多胎妊娠の増加が大きな問題としてクローズアップされつつある。今回の検討でも分娩例のうち多胎率が45%に上り、文献的<sup>3,4,6)</sup>には20~25%という報告が多いのと比較しても、これをはるかに上回る高率であったのは衝撃的であった。このことは帝切率が60%と高率であることや、低出生体重児が多いことと決して無関係ではない、多胎防止という観点から、移植胚数のおよぼす影響について検討を加えた結果、米国での報告<sup>3)</sup>とは異なり、移植胚数3個以上で多胎率に差をみとめなかった。しかし4個以上では品胎や要胎の発生をみたのに対し、3個では双胎はみとめたものの、品胎はみられなかった。移植胚数3個と4個以上とでは、妊娠率には差をみとめなかったことと併せ、移植胚数は3個までとすべきであると考えられた。

#### 文 献

- 1) Steptoe, P. C. and Edwards, R. G.: Birth after the reimplantation of a human embryo, *Lancet*, 2 (8085): 366, 1978
- 2) 生殖医学の登録に関する委員会報告, 日産婦学会誌, 42: 393, 1990
- 3) Medical Research International and the Society for Assisted Reproductive Technology, the American Fertility Society: In vitro fertilization-embryo transfer in the United States: 1987 results from the national IVF-ET Registry, *Fertil. Steril.*, 51: 13, 1989
- 4) Medical Research International and the Society for Assisted Reproductive Technology, the American Fertility Society: In vitro fertilization-embryo transfer in the United States: 1988 results from the IVF-ET Registry, *Fertil. Steril.*, 53: 13, 1990
- 5) Romeu, A., Muasher, S. J., Acosta, A. A., Veeck, L. L., Diaz, J., Jones, G. S., Jones, H. W. Jr., Rosenwaks, Z.: Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older: the Norfolk experience, *Fertil. Steril.*, 47:

130, 1987

- 6) Wood, C., McMaster, R., Rennie, G., Trounson, A., Leeton, J.: Factors influencing pregnancy rates following in vitro fertilization and embryo transfer, *Fertil. Steril.*, 43: 245, 1985
- 7) Edwards, R. G., Fishel, S. B., Cohen, J., Fehilly, C. B., Purdy, J. M., Slater, J. M., Steptoe, P. C., Webster, J. M.: Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility, *J. in Vitro Fertil. Embryo Transfer*, 1: 3, 1984
- 8) Padilla, S. L. and Garcia, J. E.: Effect of maternal age and number of in vitro fertilization procedures on pregnancy outcome, *Fertil. Steril.*, 52: 270, 1989
- 9) Wilkes, C. A., Rosenwaks, Z., Jones, D. L., Jones, H. W. Jr.: Pregnancy related to infertility diagnosis, number of attempts, and age in a program of IVF, *Obstet. Gynecol.*, 66: 350, 1985
- 10) Yates, C. A., de Kretser, D. M.: Male-factor infertility and in vitro fertilization, *J. in Vitro Fertil. Embryo Transfer*, 4: 141, 1987

### Retrospective studies of recent two years' practice and outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in our hospital

Masatsune Fukuoka, Youichi Noda, Kenichi Tatsumi, Kenji Takakura, Hideharu Kanzaki, Shunzo Taii, Katsuhiko Narimoto, You Umaoka, Yasuo Goto, Junji Kishi, Takafumi Nonogaki, Satoshi Natsuyama and Takahide Mori

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

We analyzed the data obtained from 165 in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) cycles treated in our clinic between January 1988 and December 1989 to examine the influences of possible prognostic factors, including patient age, infertility diagnosis and number of embryos transferred, on the outcome of this treatment. During this period, oocytes were retrieved in 146 cycles, among which 123 went on to embryo transfer. There were 38 pregnancies, the pregnancy rates being 23.0% per treatment cycle and 30.9% per embryo transfer.

Whereas the pregnancy rate per ET for patients younger than 35 years of age was as high as 45%, increasing age reduced the rate in a linear fashion after the age of 35. The abortion rate, in contrast, was positively correlated with patient's age. Unlike other causes of infertility, male factor influenced the outcome of IVF-ET by markedly reducing pregnancy rate as well as fertilization and cleavage rates. Whereas the pregnancy rate increased as the number of transferred embryos increased from 1 to 3, it was not further enhanced by transfer of 4 or

more embryos. On the other hand, the multiple delivery rate was not influenced by increasing number of embryos when 3 or more embryos were transferred. However, transfer of 4 or more embryos occasionally resulted in triplet or quadruplicate deliveries which were not observed when 3 embryos were transferred. Therefore, it was suggested that the number of transferred embryos should be limited to 3.

(受付：1991年2月13日)

# 体重減少性排卵障害に対する温経湯の投与による内分泌変動 —とくにゴナドトロピンの律動性分泌について—

## Endocrinologic Studies of Unkei—to (TJ-106) in Young Females with Weight Loss Amenorrhea —With an Effect on Pulsatile Secretion of Gonadotropins—

大阪医科大学産科婦人科学教室

後山 尚久	坪倉 省吾	佐伯 理男
Takahisa USHIROYAMA	Shogo TSUBOKURA	Michio SAEKI
奥田 喜代司	金子 卓嗣	植木 実
Kiyoji OKUDA	Takuji KANEKO	Minoru UEKI
	杉本 修	
	Osamu SUGIMOTO	

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Osaka Medical College, Takatsuki, Osaka 569, Japan  
(Director: Prof. O. Sugimoto)

体重減少性排卵障害例に対し、温経湯を単独投与し、hormone 値の経日的変動、および gonadotropin の律動性分泌を検討した。

ツムラ温経湯 (7.5 g/日) の投与で、血中 LH 値は 8 週目に前値の 5.6 倍 ( $P < 0.1$ )、FSH 値は 2 週目、10 週目にそれぞれ、3.4 倍 ( $P < 0.05$ )、5.6 倍 ( $P < 0.01$ ) に増加した。血中 estradiol 値は投与 2 週目に 1.8 倍、6 週目に 2.1 倍に増加傾向を示した。一方、血中 prolactin 値は投与により 4 週目で、前値の 66% に有意 ( $P < 0.05$ ) に下降した。血中 TSH、 $T_3$  値は温経湯投与により変動はみられなかった。

また温経湯投与により、FSH 低値例の基礎値の上昇 (75% ; 3/4)、律動性分泌の出現 (20% ; 1/5) および LH 値の基礎値の上昇 (40% ; 2/5) 律動性分泌の出現 (40% ; 2/5) が認められた。

以上より、温経湯は体重減少性排卵障害例において、gonadotropin の律動性分泌を改善し、間脳-下垂体-卵巣系を正常化する可能性を示した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 787-791, 1991)

### 緒 言

精神的なストレスなどにより急激に体重減少をきたし、続発性無月経 (多くは第 2 度無月経) となることはよく知られている。最近では美容の目的で、減食し、体重減少性無月経となる例が増加している。

この体重減少性無月経は、若年者に多く、体重の回復後も卵巣機能がなかなか改善せず、有効な治療

を見出せない場合が多い。ゴナドトロピン療法や LH-RH<sup>1)</sup> などはある程度有効であるとの報告があるが、これらの治療法はさしあたって挙児希望のない若年者や未婚例では外来管理上困難と言わざるを得ない。

最近、排卵障害患者への漢方薬の投与が試みられ、効果があるとの報告がみられる<sup>2)</sup>。なかでも温経湯は、基礎的検討、臨床的検討ともにその有効性が確認されている<sup>3-5)</sup>。著者ら<sup>5)</sup>は排卵障害患者 9 例に温経湯

を10週間投与し、投与前後のゴナドトロピンの律動性分泌の変化を検討した結果、投与後には全例に頻度や振幅の増加などの改善が観察された。このことは温経湯の作用点の一つが少なくとも視床下部からのGnRH分泌促進であることを示している。

一方、体重減少に伴う排卵障害例ではゴナドトロピンの分泌低下とともにGnRHの分泌低下が報告されている<sup>6)</sup>。そこで、体重減少性排卵障害例に対しても温経湯の投与により、その内分泌環境の改善の可能性が期待される。

本研究では体重減少性排卵障害例に対する温経湯の効果を検討する目的で、温経湯投与による経日的なホルモン値の変動とともに、ゴナドトロピンの律動性分泌パターンを検討した。

### 対象および方法

対象は、大阪医科大学産科婦人科内分泌外来を訪れた排卵障害患者のうち体重減少を示した11例(第1度無月経2例、第2度無月経9例)である。平均年齢は $21.6 \pm 3.3$ 歳であり、平均減少体重は $9.3 \pm 2.4$  kg (最高14 kg, 最低6 kg)であった。体重減少の原因あるいは誘因としては5例がダイエット目的での減食、4例が仕事や受験などのストレスによるもの、2例は原因不明であった。また、治療開始時に体重減少が最も強かった例が6例、体重減少がまだ進行中であった例が1例、体重回復時期であった例が4例であった。これら症例には高プロラクチン血症、卵巣性無月経、肝、腎機能障害を伴う患者は含まれていない。

これら症例に消退出血7日目からツムラ温経湯(7.5 g/日)を10週間単独投与した。なお、本研究における症例の撰択では、いわゆる“証”は考慮に入らなかった。

上記症例に対しホルモン測定のため、薬剤投与前および原則として、治療中2週間ごとに午前9~11時に採血した。また11例中5例に対し、消退出血の5~8日目および、薬剤投与10週目に15分間隔で3時間にわたり採血し、ゴナドトロピンの律動性分泌を検討した。

血中LH, FSH, prolactin (PRL), TSHは第一ラジオアイソトープ社製の固相化IRMA法によるキットにより測定した。Estradiol ( $E_2$ )はSorin Biomedica社製の(仏)、 $T_3$ はダイナボット社製のキットにて2抗体法によるRIAにて測定した。ゴナドトロピンのpulseは前値から平均 $\times 2 \times$  intraassay C. V.以上急峻に上昇した場合に、pulseと定義した。各種ホルモン値はStudent t testより検定し、p valueが0.05

以下であるものを“有意”とした。

### 成績

#### 1. 体重減少性排卵障害例に対する温経湯投与によるホルモン値の経日的変化(図1)

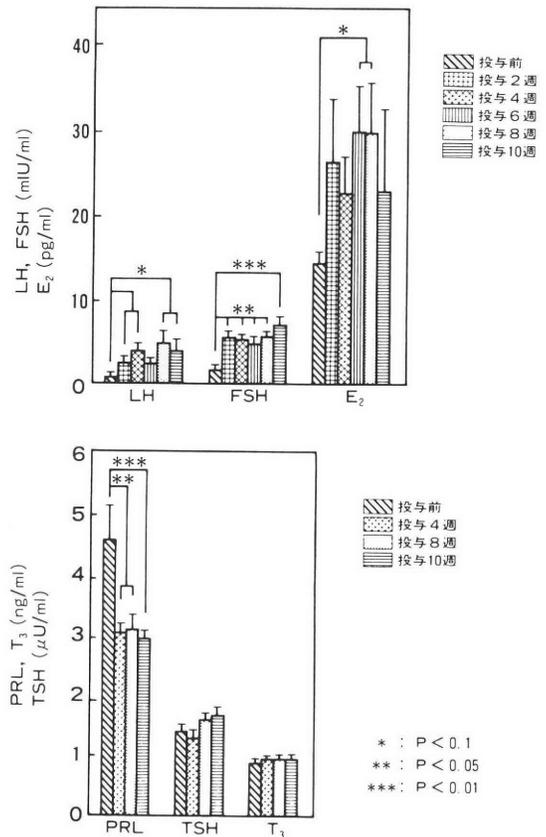


図1 体重減少性排卵障害例に対する温経湯投与によるホルモン値の経日的変化 (Mean $\pm$ SE)

温経湯投与前、投与中2週間ごとのホルモン値を比較した。血中LH値は投与前値が $0.9 \pm 1.3$  mIU/mlと低値で、投与2週目には $2.6 \pm 2.3$  mIU/mlに上昇したが、症例によるバラツキが大きく有意差はなかった( $P < 0.1$ )。しかし投与日数とともに血中LH値は上昇傾向を示し、8週目には $5.0 \pm 6.3$  mIU/mlとなり、投与前の5.6倍に達した。血中FSH値はLH値同様、投与前は $1.7 \pm 2.6$  mIU/mlの低値を示したが、投与2週目には $5.7 \pm 3.8$  mIU/ml ( $P < 0.05$ )で、10週目には $9.5 \pm 1.3$  mIU/ml ( $P < 0.01$ )といずれも有意に上昇し、投与前の5.6倍となった。血中E<sub>2</sub>値は、投与前値の $14.6 \pm 3.4$  pg/mlから投与2週目で $26.5 \pm 26.0$  pg/mlに増加(1.8倍)したが、症例によるバラツキが大きく、統計的には有

意差がみられなかった。しかし、投与6週目、8週目には増加傾向がみられた (P<0.1)。

血中 prolactin 値は 4.60±1.50 ng/ml の前値を示した。温経湯投与により4週目、8週目、10週目にそれぞれ 3.04±0.67 (P<0.05), 3.10±0.91 (P<0.05), 2.95±0.33 ng/ml (P<0.01) の値を示し、いずれも有意に低下していた。

神経性食思不振症ではTSHの基礎分泌の低下とTRHに対する下垂体の反応性の低下が知られているため、本研究でも体重減少性排卵障害例の血中TSHおよびT<sub>3</sub>値を測定し、温経湯投与によるそれらホルモン値の変化を検討した。血中TSH値は温経湯投与前は1.42±0.63 μU/mlであり、投与8週目に1.62±0.86 μU/ml, 10週目に1.70±0.61 μU/mlとわずかに増加したが、有意ではなかった。血中T<sub>3</sub>値は投与前0.91±0.16 ng/mlであり、温経湯の投与により少なくとも10週目までは、その値に変動は認めなかった。

### 2. 体重減少性排卵障害例に対する温経湯投与前後の血中ゴナドトロピンの律動性分泌の変化 (図2)

5例の排卵障害例に対し、温経湯投与前および10週間の投与後にゴナドトロピンの律動性分泌のパタ

ーンを検討した。5例中4例はLH, FSHとともにその基礎値は極めて低く(LH値0.2 mIU/ml以下, FSH値1.3 mIU/ml以下)、1例のみ(J.S.)がほぼ正常値を示していたが、律動性分泌はどの例にも認められなかった。温経湯投与後、LH値の基礎値は5例中2例(40%)で増加し、その例(J.S., M.M.)ではLHの律動性分泌が1~2回/3hの頻度で出現した。

一方、FSHの基礎値は温経湯投与前に低値を示した4例中3例(75%)に著明な増加(投与前値の平均33.1倍)を認めた。LH, FSHともに基礎値の上昇を認めた例(M.M.)では、LHとともにFSHの律動性分泌の出現(1回/3h)も認められた。

### 3. 温経湯投与による体重減少性排卵障害の治療成績

体重減少性排卵障害例への10週間の温経湯単独投与では排卵例は認められなかったが、投与中血中estradiol値が72.7%(8/11)の症例で増加し、また全例で血中LH, FSH値の上昇が見られたことは特筆に値する。本研究期間以後に、これら11例中9例にclomipheneの併用を行ったところ3例(33.3%)が排卵した。

## 考 察

排卵障害や更年期不定愁訴症候群の患者への漢方薬の効果はよく知られている。排卵障害の効果がある薬剤として、当帰芍薬散(カテコールアミン系への関与、桂枝茯苓丸(視床下部-下垂体系の促進作用)、芍薬甘草湯(プロラクチンの抑制作用)などが論じられている。最近では温経湯が基礎的および臨床的な検討から、GnRH-ゴナドトロピン系の促進作用を有することがほぼ明らかになった<sup>3-5,7)</sup>。三宅ら<sup>3)</sup>はラットの視床下部-下垂体連続還流実験により、in vitroで温経湯がLHの分泌を50~100%増加させることを観察している。一方、Taketaniら<sup>4)</sup>はラットの下垂体培養細胞で、温経湯がLHおよびFSHの産生、放出を増加させ、プロラクチンの分泌を抑制させることを報告している。ヒトでは、著者の検討で<sup>5,7)</sup>、温経湯が排卵障害例(第1度、第2度無月経ともに)においてゴナドトロピンの律動性分泌を改善し、LH, FSHともに、その分泌を促進することがわかった。

温経湯の排卵誘発に関する臨床的有効性も検討され始めている<sup>7,8)</sup>。著者ら<sup>7)</sup>は体重減少を伴わない排卵障害例に温経湯を投与した結果、単独投与では10週で22%、12週で33%の排卵率を得た。また温経湯単独投与で排卵しなかった症例に、clomipheneとの

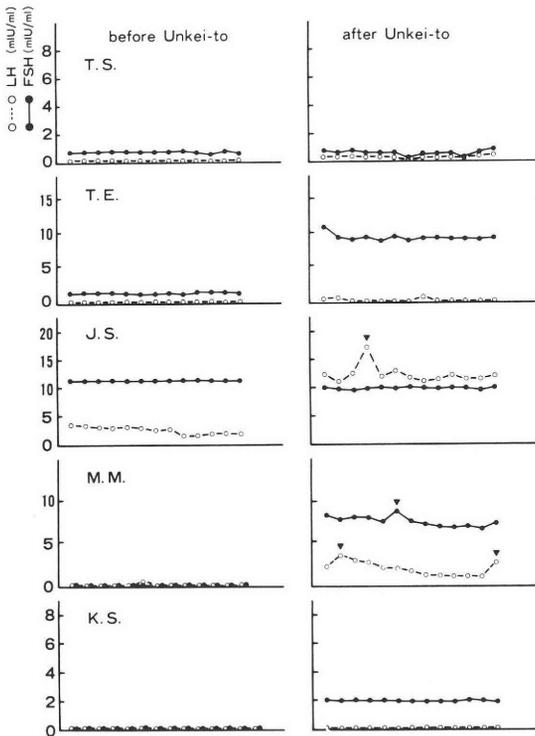


図2 温経湯投与前後の血中ゴナドトロピン値の律動性分泌の変化 (▼:律動性分泌)

併用療法を試みたところ、100%の排卵成績を得た。青野ら<sup>8)</sup>、吉本ら<sup>9)</sup>も視床下部性排卵障害のうち、clomiphene 無効例に対し、温経湯との併用療法を行い、それぞれ 57.1%、43.8%の排卵率を得たと報告している。

ストレス、環境の急激な変化などで体重減少を引き起こし、それを引き金として今までの整調であった月経周期が無月経になることはよく知られている。しかし最近では主に美容を目的として(ダイエット)、減食による短期間の急激な体重減少を行う若年未婚婦人あるいは思春期女子が増加している。田中ら<sup>10)</sup>の 92 名的女子大学生を対象とした調査では、標準体重の-15%を超えるやせが 64.1%にもみられ、そのうち 33.3%が無月経であったと報告している。

体重減少性無月経の性腺機能は、多くの場合 hypogonadotropic hypogonadism である。この疾患に対して、性腺機能を回復させるには、まず体重を標準体重まで増加させることはもちろんであるが、それに加えて今日までに試みられている治療法としては Holmstrom 療法、Kanfmann 療法、LH-RH の律動投与方法、さらにはゴナドトロピン療法などがあげられる。しかし、現在のところ有効な治療法は確立されていない。比較的効果があるとされる LH-RH 療法やゴナドトロピン療法などは、妊娠を望まない若年婦人、思春期女子の治療法としては適さないと思われ、治療法の撰択に苦慮することが多い。最近では、benzodiazepin 薬剤である tofisopam が、体重減少性無月経患者の視床下部-下垂体系の改善に有効であるとの報告も見られる<sup>11)</sup>が、十分なデータの集積があるとは言いがたい。

今回 11 例の体重減少性排卵障害例に対し、漢方薬である温経湯を 10 週間投与し、内分泌学的解析を試みた。これらの症例は Broca の桂変法により標準体重を算出した結果、不足体重体(標準体重の-15~-20%)が 4 例、るいそう(標準体重の-20%以下)が 7 例であった。温経湯の単独投与により血中 LH 値は徐々に上昇し、投与 8 週目に投与前値の 5.6 倍に達した。血中 FSH 値は投与により、2 週目に投与前値の 3.4 倍 ( $P < 0.01$ ) に上昇、さらに 10 週目に 5.6 倍 ( $P < 0.01$ ) に達した。血中  $E_2$  値は投与 2 週目に投与前値の 1.8 倍、6 週目には 2.1 倍に増加傾向を示したが、症例間の値のバラツキにより有意差はなかった。一方血中 prolactin 値は温経湯投与により、4 週目で投与前値の 66% ( $P < 0.05$ ) に有意に下降した。しかし、投与前値が 3 ng/ml 前後あるいはそれ以下の症例では温経湯の投与により、変化しないか、むしろ上昇の傾向を示した。同様の血中

prolactin 値の変化は、体重減少を伴わない排卵障害例 ( $n = 11$ ) の検討でも観察された。温経湯 7.5 g/日を 12 週間投与したところ、血中 prolactin 値は 6 週目で 84.4%、12 週目で 68.3% ( $P < 0.05$ ) に下降した(著者ら、未発表)。武谷ら<sup>12)</sup>はラットの下垂体細胞培養系を用いて、温経湯 0.5~500  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で prolactin 値の放出が dose-dependent に抑制されることを観察し、in vitro で温経湯が直接的あるいは間接的に lactotroph に作用することを明らかにした。本研究での成績はヒトでも、温経湯が prolactin 値に対して抑制的に作用する可能性を示している。

体重減少性無月経への甲状腺機能の関わりが議論されているが、本研究の対象となった 11 例においては血中 TSH、 $T_3$  は正常値を示した。さらに温経湯の投与により、血中ゴナドトロピン値の著明な上昇をみたが TSH 値のわずかな増加(有意差なし)のみで、 $T_3$  値は変化しなかった。小沼ら<sup>13)</sup>は体重減少性無月経例に tofisopam を投与したところ、血中 LH、FSH の基礎値の上昇はあるが、TSH の基礎値と TRH に対する TSH の反応には変化がみられないことを観察した。これは今回の温経湯投与によるわれわれの成績と一致するもので興味深い。望月ら<sup>13)</sup>は体重減少例では血中  $T_3$  値が低下している例が多く、これは何らかの形で無月経の病態と関連していると述べている。一方、黒川ら<sup>14)</sup>は減食性無月経例の 25%、神経性食思不振症の 17%に TRH に対する反応性の低下をみたが、これらの症例での LH-RH test と TRH test との間には、反応性の低下の程度に有意差がなく、両反応の間には平行関係が成り立たないことを示している。

このように体重減少性排卵障害への甲状腺機能の関わりは、いまだ議論の余地があるが、少なくとも温経湯の投与による血中ゴナドトロピン値、およびその律動性分泌の改善の機序には甲状腺ホルモンの関与の可能性は少ないと推察される。

今回、体重減少性排卵障害例への 10 週間の温経湯単独投与では、排卵例はなかったが、これは今回の研究対象の 64% (7/11) がるいそうの症例であり、高度の性腺機能障害が予想され、短期間の治療では排卵に十分な機構の回復が得られなかったものと思われる。今後、これらの症例に対し温経湯による治療期間の延長、あるいは効果があるといわれている clomiphene との併用療法などにつき症例を集積し、検討するつもりである。

(本研究に際し、御協力いただいた田辺恵子実験助手に深く感謝いたします。)

## 文 献

- 1) 中村幸雄, 塗 百寛, 上野 裕, 春日義生, 小林徹, 福永友明, 斎 鍾媛, 黒川博厚: 体重減少性無月経, ホと臨床, 27:747, 1979
- 2) 三宅 侃, 田坂慶一, 吉本泰弘, 大塚史郎, 西崎孝道, 谷澤 修, 青野敏博: 排卵障害, 産婦世界, 42 (増刊号): 91, 1990
- 3) 三宅 侃, 田坂慶一, 大塚史郎, 吉本泰弘, 青野敏博, 谷澤 修: 間脳-下垂体連続還流システムによる温経湯のLH分泌機構の検討, 産婦人科漢方研究のあゆみ, 2:105, 1985
- 4) Taketani, Y., Kugu, K., Hayashi, N. and Mizuno, M.: Action of Unkei-to (TJ-106) on cultured rat pituitary cells, in Recent advances in the pharmacology of Kampo (Japanese herbal) Medicines, 184, Excerpta Medica, 1988
- 5) 後山尚久, 坪倉省吾, 井本広済, 山下英俊, 岡崎審, 杉本 修: 排卵障害に対する温経湯の投与による内分泌変動について-ゴナドトロピンの律動性分泌を含めて-, 日不妊会誌, 35:80, 1990
- 6) 青野敏博, 三宅 侃: 厚生省特定疾患, 中枢性摂食異常調査研究班, 昭和57年研究報告書, 159, 1982
- 7) 後山尚久, 坪倉省吾, 奥田喜代司, 岡崎 審, 杉本 修: 排卵障害に対するツムラ温経湯による内分泌変動について, 産婦人科漢方研究のあゆみ, 8:49, 1991
- 8) 青野敏博, 安井敏之, 苛原 稔: clomiphene 無効の無排卵症に対する温経湯併用療法, 産婦世界, 42 (増刊号): 104, 1990
- 9) 吉本泰弘, 三宅 侃, 田坂慶一, 谷澤 修, 青野敏博: clomiphene 無効の無排卵症に対する温経湯-clomiphene 併用効果, 産婦人科漢方研究のあゆみ, 5:40, 1988
- 10) 田中たえ子, 谷川原絢子, 藤島アイ, 今瀬恵美子, 阿部恒男, 岩田正晴: 女子大学生の体重減少に伴う月経異常について(第2報), 思春期学, 6:147, 1988
- 11) 小沼誠一: 体重減少性無月経の新しい治療法, 思春期学, 6:151, 1988
- 12) 武谷雄二, 林 直樹, 久具宏司, 水野正彦: 下垂体前葉に対する温経湯の直接作用, 産婦人科漢方研究のあゆみ, 4:69, 1987
- 13) 望月真人, 片山和明: 若年婦人, 未婚婦人における排卵誘発, 産と婦, 55:1816, 1988
- 14) 黒川博厚, 松本 茂, 中村幸雄, 飯塚理八, 島袋嘉修, 土屋雅春: 神経性食思不振症と減食性無月経症におけるLH-RH・TRH test とLH-RH 賦活療法, ホと臨床, 22:1139, 1974

**Endocrinologic studies of  
Unkei-to (TJ-106)**

**in young females with  
weight loss amenorrhea  
- With an effect  
on pulsatile secretion  
of gonadotropins -**

Takahisa Ushiroyama, Shogo Tsubokura,  
Michio Saeki, Kiyoji Okuda,  
Takuji Kaneko, Minoru Ueki  
and Osemu Sugimoto

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Osaka Medical College, Takatsuki,  
Osaka 569, Japan  
(Director: Prof. O. Sugimoto)

Kampo (Japanese herbal) medicines have been reported to be effective in the treatment of menstrual disorders. The mechanisms of action involved, however, are not yet fully understood. In this paper, in order to investigate the effects of Unkei-to (TJ-106) in patients with weight loss amenorrhea, 11 patients have been studied variations in hormonal levels, and 5 out of 11 have been studied the pulsatile pattern of gonadotropin secretion after the administration of Unkei-to alone. They were given Tsumura Unkei-to at a dose of 7.5g/day for 10 weeks from 7th day of withdrawal bleeding.

Unkei-to induced significant increases of plasma FSH level 5.6 times ( $p < 0.1$ ) and LH level 5.6 times ( $p < 0.1$ ) in 10 and 8 weeks treatment, respectively. Plasma estradiol level increased 2.1 times in 6 weeks treatment with Unkei-to. Plasma prolactin level decreased by 66% in 4 weeks treatment, however no effects were observed in the levels of TSH and  $T_3$ . On the other hand, the patterns of pulsatile LH and FSH secretion remarkably changed by the treatment with Unkei-to. LH and FSH pulses appeared in 2 of 5 (40%) and 1 of 5 (20%) patients, respectively, who had no pulses before the treatment with Unkei-to. After 10 weeks administration, the raising of basal level of FSH was observed in 3 of 4 (75%) patients who had low plasma FSH level before treatment.

These results indicate that Unkei-to is effective on improvement of gonadotropin pulsatile secretion in the treatment of weight loss amenorrhea. This suggests that Unkei-to may enhance the pituitary response to LH-RH or improve the pulsatile secretion of LH-RH, inducing normalization of diencephalon-pituitary-ovary system in weight loss amenorrhea.

(受付: 1991年4月10日特掲)

# CYTOGENETIC STUDY OF SPONTANEOUS ABORTION WITH HIGH RATE OF SUCCESS IN CHROMOSOME ANALYSIS

Kodo SATO, Takahisa KOJIMA, Makoto IZUTA,  
Tomoyuki MIYAKAWA, Kazuto ANDO, Hidemi SHIOTSU,  
Keiichi TAKAHASHI, Kyoko SHIODA, Shinzi TAMETIKA,  
Keigo OGAWA, Tsuyoshi KASAI and Zyunko IMAMURA

Department of Obstetrics and Gynecology and Department of Hematology (ZI),  
Toranomon Hospital, Tokyo 105, Japan

---

**Abstract:** As part of cytogenetic study of the relationship between chromosome anomalies and spontaneous abortion, successful karyotypes were obtained with 167 (99.4%) of 168 tissue cultures of abortuses in spontaneous abortions occurring before the 12th week of pregnancy. This highly successful chromosome analysis formed the basis for the following conclusions:

- (1) An abnormal chromosome constitution was found in 110 (65.9%) of 167 abortuses.
- (2) Sixty-seven cases (40.1% of the total) were trisomic. Trisomy increased with maternal age, while the incidence of 45, XO decreased.
- (3) In women aged 40 and over, 20 of 23 abortuses were trisomic. Only 2 (8.7%) showed a normal chromosome constitution.
- (4) No significant relationship was observed between abnormal chromosome constitution and the subjects' histories of spontaneous abortion or live birth.
- (5) Repeated spontaneous abortion was frequent in subjects of advanced maternal age who also had histories of trisomic abortuses.

In consideration of these, chromosome analysis of the spontaneous abortus may be considered a useful indicator of the probable outcome of subsequent pregnancies.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 792-798, 1991)

---

## Introduction

The causative role of chromosome anomaly in spontaneous abortion has been well documented. It is also generally agreed that at least 15% of clinically recognizable pregnancies will end in spontaneous abortion, and since about half of these are associated with chromosome abnormalities, a total of 7-8% of early human pregnancies fail to reach term as a result of chromosome abnormalities.

On the other hand, several relatively large cytogenetic studies have produced conflicting

results in regard to the actual incidence of chromosome anomalies in human spontaneous abortion. Because one possible reason for such discrepancies is differences in the rate of success in karyotype analysis, the first purpose of this study was to determine the incidence of chromosome anomalies with a high degree of reliability. Special efforts were therefore made to ensure a high rate of success in both cell culture and karyotyping.

The second aim of the study was to examine the relationship between chromosome abnormalities and pregnancy history. As one important exam-

ple, it has recently been reported that lymphocyte transfusion is effective in preventing spontaneous abortion in patients with records of habitual abortion. The results of the present study, however, do not suggest a causative relation between habitual abortion and chromosome anomalies of the abortus, since the rates of spontaneous abortion to be expected in lymphocyte treatment patients if this were the case are far higher than the actual results (which would imply a conversely lower rate of chromosome abnormality in transfusion patients with abortion histories than in subjects with normal histories).

The third purpose of the study was to determine the clinical value of chromosome analysis of the abortus in predicting the outcome of subsequent pregnancies in women who had experienced spontaneous abortions.

#### Materials and Methods

Between January 1987 and December 1990, tissue cultures were taken from 168 abortuses following spontaneous abortions occurring before the 12th week of pregnancy. All cultures were taken at Toranomon Hospital in Tokyo, and efforts were made to obtain a consecutive series. The diagnosis of spontaneous abortion was made by ultrasonography or through clinical determination following unavoidable abortion.

Immediately after evacuation of the uterine cavity, chorionic villi were carefully selected using a dissection microscope. Only villi obtained directly from the uterine cavity by curettage were used. Specimens were washed in the culture medium (Chang medium) several times and then subjected to a Chang medium cell culture process which continued at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub> humidified atmosphere until an adequate sample of villi cells had been harvested. The period required for a culture was generally two weeks. Chromosome analysis was then conducted by the G-banding technique.

The average maternal age of the subjects was 32.0±5.5 years. Among the 168 cases were one with a known parental chromosome translocation and one with inversion 13. Sixteen cases were patients whose histories included habitual abor-

tion (more than two spontaneous abortions) and no live birth. The types of chromosome anomaly found were examined with special reference to pregnancy history and the outcome of subsequent pregnancies.

Statistical analysis of the data was performed using Student's *t* test or chi-square test.

#### Results

Fetal karyotypes were determined in 167 of 168 samples, for a success rate of 99.4%. The one failure was due to microbial contamination.

The cytogenetic results are summarized in Table 1. A normal karyotype was observed in 57

Table 1 Summary of cytogenetic results in 167 abortuses

Karyotype	No. of abortuses	%
Normal	57	34.1
46, XX	28	
46, XY	29	
Trisomy	67	40.1
45, XO	11	6.6
Triploidy	7	4.2
Tetraploidy	6	3.6
Mosaic	10	6.0
Structural abnormality	5	3.0
Others	4	2.4
Total	167	100.0

(34.1%) of the 167 cases. The sex ratio among the karyotypically normal abortuses was close to 1. Abnormal chromosome constitutions were found in 110 abortuses (65.9%), of which 67 (40.1% of the total examined) were trisomies, 11 (6.6%) were 45, XO, 7 (4.2%) were triploids, 6 (3.6%) were tetraploids, 10 (6.0%) were mosaics, and 5 (3.0%) were structural abnormalities. Among the trisomies, trisomy 16 was the most common numerical aberration, followed by trisomy 15 and trisomy 22 (Table 2). Double trisomy was identified in one case, and triple trisomy in one case, both of which were classified under the group of other abnormalities in Table 2.

The incidence of trisomies increased dramatically with maternal age, from 23.1% in subjects below 25 years of age to 87.0% in subjects of more

Table 2 Types and distribution of abnormal chromosome karyotypes

Type of abnormality	Total	No. of cases	% of each group
Trisomy	67		100
+ 2		1	1.5
+ 4		4	6.0
+ 6		1	1.5
+ 7		1	1.5
+ 8		3	4.5
+10		1	1.5
+12		2	3.0
+13		4	6.0
+14		2	3.0
+15		13	19.4
+16		18	26.9
+18		2	3.0
+20		1	1.5
+21		3	4.5
+22		11	16.4
45, XO	11		100
Triploidy	7		100
XXX		4	57.1
XXY		2	28.6
XYY		1	14.3
Tetraploidy	6		100
XXXX		2	33.3
XXYY		4	66.7
Mosaic	10		
46, XY/45, XY, -3.6p+		1	
46, XY/47, XY, +20/48, XY, -4, +7, +14		1	
46, XX/47, XX, +16		1	
46, XX/47, XX, +2		1	
46, XY/46, XY, 15q+/46, XY, 15q-		1	
45, XY, t(13:14)/46, XY, i (13q)		1	
45, X/47, XXX		1	
45, X/90, XXOO		1	
47, XX, +16/48, XX, +2, +16		1	
47, XY, +15/47, XY, +15, 1q-		1	
Structural abnormality	5		
46, XX, 13q-		2	
46, XX, 15q-		1	
46, XX, 7q-		1	
46, XY, 10p+		1	
Others	4		
47, XX, +mar		1	
46, XO, +2		1	
48, XX, +15, +22		1	
49, XX, +9, +21, +22		1	

than 40 ( $p < 0.01$ ; Table 3). On the other hand, the incidence of monosomy-X decreased from 23.1% to 0.0% with age. The mean maternal age for trisomy was significantly higher ( $p < 0.01$ ) than that of the karyotypically normal group, while the mean age for 45, XO was significantly lower ( $p < 0.05$ ; Table 4). Other chromosome abnormalities showed no clear relationship to maternal age.

Table 3 Maternal age and results of chromosome analysis

Maternal age	-24	25-29	30-34	35-39	40-
Normal	7 (53.8)	16 (36.4)	19 (31.4)	13 (36.1)	2* (8.7)
Trisomy	3 (23.1)	12 (27.3)	17 (33.3)	15 (41.7)	20* (87.0)
45, XO	3 (23.1)	6 (13.6)	1 (2.0)	1 (2.8)	0 (0.0)
Triploidy	0 (0.0)	3 (6.8)	2 (3.9)	2 (5.6)	0 (0.0)
Tetraploidy	0 (0.0)	2 (4.5)	4 (7.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
Mosaic	0 (0.0)	5 (11.4)	5 (9.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
Structural abnormality	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (3.9)	3 (8.3)	0 (0.0)
Others	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.0)	2 (5.6)	1 (4.3)
Total	13	44	51	36	23

Number in parentheses indicates % in each maternal age group.

\* significantly different from other groups ( $p < 0.01$ )

Table 4 Mean maternal age for karyotypically normal and abnormal spontaneous abortions

Karyotype	Maternal age (mean $\pm$ SD)
Normal	30.5 $\pm$ 4.8
Trisomy	34.5 $\pm$ 5.8 * *
45, XO	26.5 $\pm$ 3.6 *
Triploidy	29.9 $\pm$ 3.8
Tetraploidy	30.2 $\pm$ 2.0
Mosaic	28.8 $\pm$ 3.3
Structural abnormality	34.8 $\pm$ 1.2
Others	36.0 $\pm$ 4.6

\* significant difference when compared with normal group ( $p < 0.05$ )

\* \* significant difference when compared with normal group ( $p < 0.01$ )

In two of the five abortuses with structural abnormalities, the existence of maternal translocation was known before the abortion. Parental chromosome analysis was carried out for two couples in three other cases. One case revealed paternal translocation, and the other was a *de novo* translocation.

The relation between the history of previous pregnancy and the type of chromosome anomaly was examined (Table 5). In groups classified according to the number of previous spontaneous abortions and the number of live births, no significant difference was observed in the incidence of karyotypically abnormal abortuses.

The outcome of subsequent pregnancies in groups categorized by maternal age and chromosome abnormality is shown in Table 6. Among subjects 35 years or older, seven of 13 pregnancies following trisomic spontaneous abortions ended in another spontaneous abortion, and six of the seven were again trisomic.

Table. 5 Previous history of pregnancy and type of chromosome karyotype

No. of previous SA	0	0	≥ 1	≥ 1
No. of live birth	0	≥ 1	0	≥ 1
Normal	21 (31.3)	9 (28.1)	13 (43.3)	6 (24.0)
Trisomy	26 (38.8)	14 (43.8)	12 (40.0)	13 (52.0)
45, XO	5 (7.5)	3 (9.4)	2 (6.7)	0 (0.0)
Triploidy	5 (7.5)	1 (3.1)	0 (0.0)	1 (4.0)
Tetraploidy	2 (3.0)	2 (6.3)	0 (0.0)	2 (8.0)
Mosaic	7 (10.4)	0 (0.0)	2 (6.7)	1 (4.0)
Structural abnormality	0 (0.0)	3 (9.4)	0 (0.0)	2 (8.0)
Others	2 (3.0)	0 (0.0)	1 (3.3)	0 (0.0)
Total	67	32	30	25

SA indicates spontaneous abortion.

Table. 6 Type of chromosome abnormality and outcome of subsequent pregnancy

	SA	AA	Ongoing pregnancy		LB
			<11 week	≥12 week	
Normal karyotype					
Maternal age <34	2*1*5	0	0	1	9
Maternal age ≥35	1*2	0	0	0	2
Trisomy					
Maternal age <34	1*3*5	0	5	1	8
Maternal age ≥35	7*4	1	0	0	5

SA: spontaneous abortion, AA: artificial abortion, LB: live birth.

Karyotype for the following pregnancy:

\* 1 Karyotype not known

\* 2 Normal karyotype

\* 3 92, XXYY

\* 4 Normal: 1 case, Trisomy: 6 cases

\* 5 Significantly low incidence when compared with group of maternal age of 35 or over and previous abortuses with trisomy ( $p < 0.01$ )

### Discussion

The present study was undertaken to determine the frequency of chromosome abnormalities in spontaneous abortions. From the practical viewpoint, it is important to note that all cases were taken from a single facility (Toranomon Hospital, Tokyo), and that from the beginning of material

collection to the end of karyotyping, all procedures were under the full control of the chief author (KS) of this report. This was a key point in achieving a very high chromosome karyotyping success rate, since many previous studies involved materials collected from several hospitals and karyotyping performed by cytogenetists who were not also familiar with the dilatation and

Table. 7 Efficiency of chromosome analysis in determining incidence of chromosome abnormalities in some samples of spontaneous abortions and in present study

	Hassold et al <sup>1)</sup> (1980)	Kajii et al <sup>2)</sup> (1980)	Lin et al <sup>3)</sup> (1985)	Guerneri et al <sup>4)</sup> (1987)	Present study
Mean maternal age	?	29.5±6.3	26.0±?	?	32.0±5.5
Method employed	Culture	Culture	Culture	Direct	Culture
No. of specimens studied: A	1120	639	428	202	168
No. of specimens karyotyped: B	1000	447	215	189	167
B/A X 100 (%)	89.3	70.0	50.2	93.6	99.4
No. of normal karyotype	537	206	135	44	57
No. of abnormal karyotypes: C	463	241	80	145	110
C/B X 100 (%)	46.3	53.9	37.2	76.7	65.9
Trisomy (%*)	206 (44.5)	138 (57.3)	26 (32.5)	89 (61.4)	67 (60.9)
45, XO (%*)	111 (24.0)	44 (18.3)	15 (18.8)	13 (9.0)	11 (10.0)
Triploidy (%*)	70 (15.1)	29 (12.0)	25 (31.3)	13 (9.0)	7 (6.4)
Tetraploidy (%*)	33 (7.1)	8 (3.3)	3 (3.8)	3 (2.1)	6 (5.5)
Mosaic (%*)	18 (3.9)	1 (0.4)	2 (2.5)	4 (2.8)	10 (9.1)
Structural abnormalities (%*)	19 (4.1)	11 (4.6)	6 (7.5)	12 (8.3)	5 (4.5)
Others (%*)	11 (2.4)	10 (4.1)	3 (3.8)	11 (7.6)	4 (3.6)

\*indicates % among abnormal karyotypes

curettage procedure.

The incidence of chromosome abnormalities in the present sample was higher than in some previous reports<sup>1-3)</sup> (Table 7). Several reasons for this difference may be suggested, for instance, differences in the age breakdown of the subjects or the gestational stage at which abortion occurred. The high success rate of 99.4% in this study may also be a factor, since Guerneri et al.<sup>4)</sup> who obtained a precise delineation of the karyotype in 94% of their cases, also reported a high abnormality rate of 76.7% (based on a direct chromosome analysis method with or without short term cell culture).

Considerations include the possible difficulty of growing chromosomally abnormal villi cells under cell culture conditions, and a possible relation between higher success rates in chromosome analysis and a greater incidence of abnormalities. On the other hand, it is difficult to speculate on

the effect of the gestational stage at abortion, since the determination of gestational stage depends heavily on the diagnostic method used. Although ultrasonography has made positive diagnosis easier, differences in methods probably render discussion of this issue futile for the time being. From the present findings, it can clearly be said that maternal age is an important factor in spontaneous abortion, but not all papers give age breakdowns. It is, however, possible that the average age of 32 in this study is higher than that in other literature, which if true would explain some part of the difference in findings.

The present finding that trisomy 16 was the most frequent trisomy agreed with previous reports<sup>1-4)</sup>, and although the incidence of abnormal karyotypes and the frequency of trisomy were both higher here than in other studies, the distribution of the trisomic chromosome was

basically the same. Trisomy 1 has not yet been found in any study to date, the present one included, and is thought unlikely to develop beyond the stage of clinical pregnancy. In the present study, mosaic abnormalities were found with relatively high frequency (9.1% in comparison with under 4% elsewhere), a finding which is thought to relate to the high success rate of the chromosome analysis.

The proportion of chromosome anomalies increased with age from 46.2% in the under-25 age group to 91.3% in the over-40 age group. In contrast, monosomy-X appeared to decrease with age, which was in agreement with the findings of Kajii and Ohama<sup>5)</sup>. Polyploidy, mosaic, and structural abnormalities were seen only in the under-40 age group, although no significant difference was observed in the mean maternal age for these abnormalities in comparison with others.

The incidence of abnormal karyotypes was not related to previous history of pregnancy, and even subjects with a history of habitual abortion showed no difference in the incidence of chromosome abnormalities. The transfusion of husband or donor lymphocytes to habitual aborters has reportedly been effective in the prevention of spontaneous abortion<sup>6,7)</sup> but the results obtained in this study were inconsistent with a finding that lymphocyte transfusion is effective against spontaneous abortions related to chromosome abnormalities. On logical grounds, it was considered that the lymphocyte transfusion treatment is effective only with habitual aborters whose abortuses have shown normal karyotypes. More specifically, the possibility of spontaneous abortion after two consecutive abortions was estimated at 35%, and after three abortions, at 47%<sup>8)</sup>. Using these figures and the 65.9% rate of chromosome abnormality found here, it would be expected that when lymphocyte transfusion is used, the possibility of spontaneous abortions in women with chromosomally abnormal abortuses would be 24% (35% x 65.9%) after two previous abortions, and 31% (47% x 65.9%) in women with three abortions. (These figures, it should be noted, assume the live birth of 100% of the karyotypical-

ly normal fetuses as a result of the treatment.) However, with transfusion only about 15% of pregnancies end in spontaneous abortion, even in women with two or three consecutive abortions (based on unpublished data at Toranomon Hospital). Further investigation of this point is therefore required.

Finally, the present study found a high possibility of recurrent spontaneous abortion in subjects with an advanced maternal age of 35 years or more and a previous trisomy abortus. The probability was 80% that the complement of the second abortus would be abnormal if the complement of the first was abnormal, with the recurrent abnormality probably being trisomy<sup>9)</sup>. In the present study, seven of eight abortuses were chromosomally abnormal following previous spontaneous abortions of trisomic embryos, and six of these seven abnormalities were trisomic. Successive trisomic pregnancies were observed only in the advanced age group, but the number of samples was too small to serve as a basis for any conclusions. Although no study was made of the effects of maternal age on successive trisomic pregnancy, from the present work it can at least be suggested that chromosome analysis is an important tool for predicting the outcome of subsequent pregnancies.

(This study was supported by a grant from the Okinaka Memorial Institute for Medical Research and a grant from the Japan Motorcycle Racing Organization.)

## References

- 1) Hassold, T., Chen, N., Funkhouser, J., Jooss, T., Manuel, B., Matsuura, J., Matsuyama, A., Wilson, C., Yamane, J. A. and Jacobs, P. A.: A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions, *Ann. Hum. Genet.*, 44: 151, 1980
- 2) Kajii, T., Ferrier, A., Niikawa, N., Takahara, H., Ohama, K. and Avirachan, S.: Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses, *Hum. Genet.*, 55: 87, 1980
- 3) Lin, C. C., De Braekeleer, M. and Jamro, H.: Cytogenetic studies in spontaneous abortion: the Calgary experience, *Can. J. Genet. Cytol.*, 27: 565, 1985
- 4) Gueneri, S., Bettio, D., Simoni, G., Brambati, B., Lanzani, A. and Fraccaro, M.: Prevalence

- and distribution of chromosome abnormalities in a sample of first trimester internal abortion, *Hum. Reprod.*, 2: 735, 1987
- 5) Kajii, T. and Ohama, K.: Inverse maternal age effect in monosomy X, *Hum. Genet.*, 51: 147, 1979
  - 6) Taylor, C. and Faulk, W. P.: Prevention of recurrent abortion with leukocyte transfusions, *Lancet*, i 68, 1981
  - 7) Hofmeyr, G. J., Joffe, M. I., Bezwoda, W. R. and van Iddekinge, B.: Immunologic investigation of recurrent pregnancy loss and consequences of immunization with husbands' leukocytes, *Fertil. Steril.*, 48: 681, 1987
  - 8) Poland, B. J., Miller, J. R., Jones, D. C. and Trimble, B. K.: Reproductive counseling in patients who have had a spontaneous abortion, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 127: 685, 1977
  - 9) Kajii, K. and Ferrier, A.: Cytogenetics of aborters and abortuses, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 132: 33, 1978

自然流産胎児の染色体異常頻度は報告によってかなりの差がある。本研究では正確な頻度を算出するために、染色体分析率の向上に注意を払い、これによって細胞培養を開始した168例中167例(99.4%)の染色体分析が可能になった。その結果以下のことが明らかになった。1) 110例(65.9%)に染色体異常が認められた。2) 67例(全体の40.1%)はトリソミー型染色体異常であった。トリソミー型染色体異常は母体が高齢になるほど増加し、逆に45, X0の頻度は低下した。3) 40歳以上の婦人では23例中20例がトリソミー型の染色体異常で、正常のものは2例(8.7%)にすぎなかった。4) 既往の自然流産、生産回数と染色体異常頻度との間には特別な関係はなかった。5) 35歳以上で流産胎児にトリソミー型染色体異常があった場合は次回妊娠もトリソミー型の異常で流産する頻度が高かった。以上のように流産胎児の染色体分析が、次回妊娠の予後予測の上でも有用であることが明らかになった。

(受付: 1991年4月10日特掲)

### 高い分析率で観察した 自然流産胎児の染色体異常

虎の門病院産婦人科

佐藤孝道 児島孝久 伊豆田誠人  
宮川智幸 安藤一人 塩津英美  
高橋敬一 塩田恭子 為近慎司  
小川恵吾 笠井 剛

同血液学科

今村淳子

## AUTOANTIBODY SENSITIVITY IN THE DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS AND ADENOMYOSIS

Hirotaoka OTA

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

---

**Abstracts:** The diagnostic value of autoantibodies was evaluated in patients with endometriosis and adenomyosis and compared to serum CA125 levels. The subjects consisted of 43 patients with endometriosis and 48 patients with adenomyosis. Fifty nine (64.8%) of the 91 subjects showed positive for autoantibodies, breaking down as 25 (58.1%) of the 45 endometriosis patients and 34 (70.8%) of the 48 adenomyosis patients. Patient incidence (51.6%) exceeding 50 U/ml of serum CA125 was lower than that for autoantibodies. When patients with elevated CA125 levels and/or positive autoantibodies were included, incidence was high, up to 72.1% in endometriosis and 93.8% in adenomyosis subjects. These results clearly indicate that the measurement of autoantibodies in persons having these diseases is of considerable value for diagnosis or treatment.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 799-804, 1991)

---

### Introduction

Measurement of serum CA125 levels has proven very useful in the diagnosis of endometriosis and adenomyosis with several diagnostic techniques available, including hysterosalpingography, ultrasonography, computed tomography, hysteroscopy and laparoscopy. However, substantial numbers of endometriosis and adenomyosis patients frequently demonstrate normal serum levels of CA125 or show no noticeable symptoms, adding difficulty to diagnosis of the diseases.

Several studies have indicated that poor reproductive performance in endometriosis results from impaired immune function. In fact, evidence in support of this concept includes the presence of increased numbers of macrophages<sup>1,2)</sup> and lymphocytes<sup>3,4)</sup> in peritoneal fluid in endometriosis. Such inflammatory cells are also in a state of increased activation, and appear to secrete increased amounts of inflammatory medi-

ators such as interleukin-1<sup>5)</sup> and tumor necrosis factor<sup>6)</sup>. Further, Gleicher et al<sup>7)</sup> reported that autoantibodies against phospholipids, histones or nucleotides are present in patients with endometriosis. Preliminary findings have also shown autoantibody presence in peripheral serum in patients with adenomyosis<sup>8)</sup>. Therefore, we considered that it may be of diagnostic value to measure autoantibodies in these diseases, and thus examined autoantibodies in patients with adenomyosis and endometriosis, and evaluated their clinical efficacy in comparison with serum CA125 levels.

### Materials and Methods

Endometriosis patients numbered 43 and adenomyosis, 48. Control consisted of 56 healthy, nonpregnant women having normal pelvic organs and no evidence of either endometriosis or active inflammatory disease at the time of laparoscopic tubal sterilization, and a negative history of

autoimmune disease, drug abuse or recurrent abortion. Mean ages of the control group ( $35.6 \pm 6.3$  years) and the endometriosis group ( $36.1 \pm 7.3$  years) were slightly younger than that of the adenomyosis group ( $42.0 \pm 4.5$  years). Endometriosis was diagnosed by laparoscopy or laparotomy and staged in accordance with the American Fertility Society Staging Classification based on surgical reports<sup>9</sup>. Seven patients (28.0%) were stage 1, six (24.0%) stage 2, four (16.0%) stage 3, and eight (32.0%) stage 4. Adenomyosis was diagnosed using histological criteria after hysterectomy. The endometriosis and adenomyosis subjects were divided into three groups, respectively. Group I was composed of patients with only elevated CA125 levels; group II included patients with only positive autoantibodies; group III women presenting both positive findings.

Since preliminary examination<sup>10</sup> revealed that the positive autoantibodies were predominantly those against IgG isotype phospholipids, five IgG and one IgM antibodies against phospholipids were selected. They were IgG antibodies to the antigens (cardiolipin; CL-G, phosphatidylinositol; PI-G, phosphatidylserine; PS-G, phosphatidic acid; PA-G, phosphatidylglycerol; PG-G) and in part for IgM (CL-M).

Phospholipid antibodies were measured by enzyme-linked immunosorbent assays. Purified phospholipids were obtained from Sigma Chemical (USA) and used as antigens in the assays. The flat-bottom well of microtiter plates (Nunc, Denmark) were coated with 100  $\mu$ l of 5  $\mu$ g/ml protamine sulfate (Sigma) in phosphate-buffered saline (PBS; pH 7.2) and incubated for 30 min at room temperature. The wells were washed with PBS three times. Phospholipid suspension (20  $\mu$ g/ml) was added in each well and incubated for 2 hours at room temperature. Residual phospholipids were removed by washing the wells with 0.05% Tween-20 in PBS. Sera (100  $\mu$ l) were added at the dilution of 1:50 with excess with PBS (PBST) containing 0.5% normal rabbit serum and 0.05% Tween-20 (Nakarai, Japan) and incubated for 1.5 h at 37°C. The plates were then washed three times with PBST. Peroxidase conjugated

antiserum IgG or IgM (DAKO, Demark) was then added and incubated for 1.5 h and again washed with PBST. After washing three times with Tween-PBS buffer the plate was again shaken dry. Lastly, 100  $\mu$ l (40  $\mu$ g) of O-phenylenediamine dihydrochloride (Sigma, USA) in sodium citrate with 0.04% hydrogen peroxide (pH 5.0) was added to each reaction well. Incubation was conducted at room temperature for 0.5 h when the reaction was halted by the addition of 100  $\mu$ l of 2.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Optical density was recorded at 490 nm by an Immuno Reader NJ-2000 (Nippon InterMed, Japan). Appropriate positive and negative sera together with a "no serum" blank were incubated in each test batch.

Results were expressed as optical density (OD) values at 490 nm. A test was considered positive if the optical density exceeded 2 SD above the mean for assayed control sera from normal patients. The background indicates the count in wells without phospholipid as antigens. Enzyme-linked immunosorbent assays for antiphospholipid antibodies were run in duplicate and replicated in two to three experiments.

Serum CA125 levels were determined using an assay kit supplied by Centocor Inc. (Pennsylvania, USA) following the manufacturer's instructions. The assay used polystyrene beads (outer dia. 0.64 cm, Precision, Plastic Ball, Chicago) coated with OC125 antibody as a solid-phase immunosorbent to bind the CA125 contained in 100  $\mu$ l portions of serum. Bound antigen was detected using simultaneous incubation of the bead and serum sample with 130,000 dpm <sup>125</sup>I-labeled OC125 in 100  $\mu$ l of trace buffer (pH 5.9; 100 mM sodium chloride, 2g bovine serum albumin per liter, and 0.4g of murine IgG per liter). After incubating at room temperature for 20 h, serum and excess <sup>125</sup>I-labeled OC125 were washed from the system, and the activity associated with the immunosorbent was measured by gamma counter. Values obtained were considered positive when serum CA125 levels exceeded 50 U/ml.

Statistical analysis was performed using the  $\chi^2$  test and considered significant when  $P < 0.05$ .

**Results**

Control values for CL-G, CL-M, PI-G, PS-G, PA-G and PG-G were  $0.047 \pm 0.029$ ,  $0.060 \pm 0.059$ ,  $0.042 \pm 0.022$ ,  $0.057 \pm 0.049$ ,  $0.206 \pm 0.063$  and  $0.158 \pm 0.054$ , respectively. For endometriosis, group I, II and III were composed of 6 (14.0%), 17 (39.5%) and 8 patients (18.6%), respectively. Incidence in group II was significantly higher than that in group I or III ( $P < 0.05$ ). For adenomyosis, group I, II and III were composed of 11 (22.9%), 13 (27.1%) and 21 patients (43.1%), respectively. Thus, fifty-nine (64.8%) of the 91 subject patients were positive for autoantibodies, breaking down as 25 (58.1%) of the 43 endometriosis patients and 34 (70.8%) of the 48 adenomyosis patients showing positive (Fig. 1). The incidence (42.9%) of the patients exceeding 50 U/ml of CA125 in serum was lower

than that of autoantibodies, that is, 14 (32.6%) endometriosis patients and 32 (66.7%) adenomyosis patients. For endometriosis, when groups I, II and III were included, the incidence increased to 72.1%, which was significantly higher than that in each individual group ( $P < 0.001$ ). For adenomyosis, when groups I, II and III were included, the incidence increased to 93.8%, which was significantly higher than that in each individual group ( $P < 0.001$ ).

As shown in Figure 2, of various antibodies against phospholipids in endometriosis, PI-G was most frequently positive (17 patients, 39.5%;  $P < 0.05$ ), followed by antibodies to PA-G (8 patients, 18.8%), PG-G, PS-G, CL-M and CL-G. In contrast, incidence was differed in adenomyosis. That is, PG-G was most frequent (15 patients, 31.3%), followed by PS-G (13 patients, 27.1%), PA-G, PI-G,

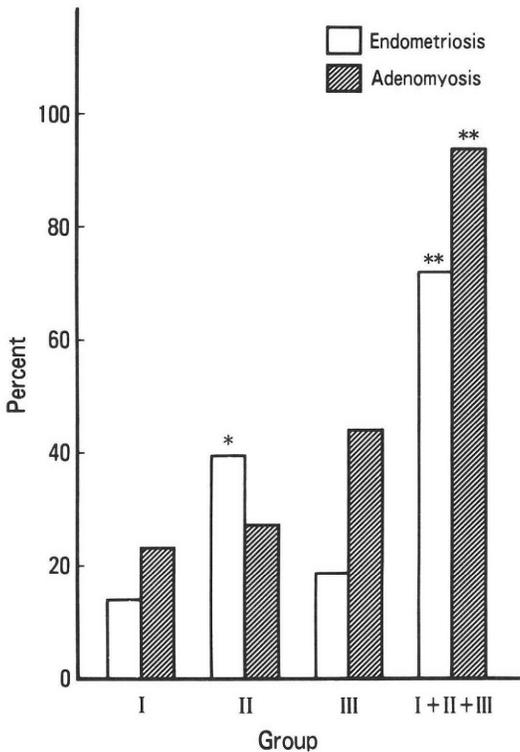


Fig. 1 Incidence of endometriosis or adenomyosis depending on the presence of elevated CA125 levels and/or positive autoantibodies. \*Group II is significantly different from group I or III ( $P < 0.05$ ). \*\*Group I + II + III is significantly different from each individual group ( $P < 0.001$ ).

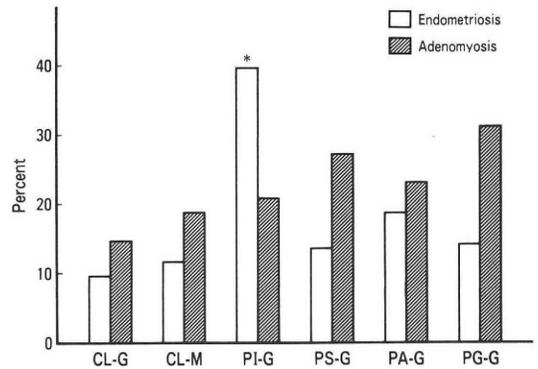


Fig. 2 Incidence of autoantibody positivity in endometriosis or adenomyosis. CL-G, anticardiolipin IgG antibody; CL-M, anti-cardiolipin IgM antibody; PI-G, anti-phosphatidylinositol IgG antibody; PS-G, anti-phosphatidylserine IgG antibody; PA-G, anti-phosphatidic acid IgG antibody; PG-G, anti-phosphatidylglycerol IgG antibody.

\*Incidence of PI-G is significantly different from all other antibodies ( $P < 0.05$ ).

CL-M and CL-G.

The number of positive IgG or IgM antibodies against phospholipids were examined in endometriosis and adenomyosis (Table 1). One antibody type was most often noted in 13 (30.2%) or 15 cases (31.3%), followed in order of frequency by two in 6 (14.0%) and 11 (22.9%) cases and then 3 in

Table 1. Number of positive autoantibodies for phospholipids in endometriosis or adenomyosis

Number of positive antibodies	Number of patients	
	Endometriosis n=43	Adenomyosis n=48
0	18	14
1	13	15
2	6	11
3	3	5
4	2	2
5	1	1
6	0	0

3 (7.0%) and 5 cases (10.4%), respectively. Thus, 31 cases (52.5%) of 59 positive-autoantibody patients showed at least two types of antibodies.

### Discussion

Diagnosis of endometriosis, especially in mild cases, is sometimes difficult. Diagnosis is more simple if patients have typical cul-de-sac implants or enlarged ovarian endometrial cysts. Since a substantial number of patients with endometriosis lack clinical symptoms or signs, laparoscopy consequently become necessary for accurate diagnosis. Moreover, the diagnosis of adenomyosis is more difficult than that of endometriosis. Several diagnostic techniques have proven useful to date. For example, serum CA125 levels, ultrasonography, computed tomography and hysteroscopy. Diagnosis is easier if patients show elevated levels of serum CA125 exceeding 100 U/ml without pelvic endometriosis or an enlarged, round uterus with no adenomyoma nodules. Nonetheless such cases still exist in which the above methods fail to show positive findings. If patients have CA125 levels under 100 U/ml and/or adenomyoma nodules, diagnosis prior to histological examination presents difficulty.

Recent study indicates that endometriosis is linked to abnormal immune function. These include the activation of macrophages in peritoneal fluid<sup>1,2)</sup>, secretion of interleukin-1<sup>5)</sup> altered subpopulations of T lymphocytes<sup>3,4)</sup> or abnormal levels of serum complements.<sup>11,12)</sup> Further, Gleicher et al<sup>7)</sup> reported that autoantibodies against phospholipids, histones or nucleotides are

frequently observed in patients with endometriosis. These findings strongly suggest that autoimmune phenomena are caused by the presence of ectopic endometriotic tissue.

The present study clearly indicates that autoantibodies are frequently positive in adenomyosis as well as endometriosis. To our knowledge this is the first report that has found a higher incidence of positivity in patients with adenomyosis than in patients with endometriosis. Positive antibodies are primarily against phospholipids, but not nucleotides<sup>10)</sup>. Positive incidence of antibodies were PI-G in endometriosis and PG-G in adenomyosis. Gleicher et al<sup>7)</sup> found that PS-G was most often positive in a portion different from the present study.

It should be noted that the incidence of the patients with elevated CA125 levels and/or positive autoantibodies reached 72.1% in endometriosis and 93.8% in adenomyosis. It is difficult to explain why the antibodies are so high in patients with adenomyosis as well as endometriosis. Histochemical studies have revealed that the glandular component of endometria in endometriosis showed a marked deposition of IgG antibody<sup>13~17)</sup> or the complements<sup>17,18)</sup>. We found that the deposition was more marked in the glandular epithelium in endometriotic tissue than that in endometria in adenomyosis<sup>19)</sup>. These findings suggest that local immune reaction is occurring in endometriotic tissue in adenomyosis as well as endometriosis. It is known that macrophages in peritoneal fluid in endometriosis are activated<sup>1,2)</sup>, and secrete various cytokines<sup>5,6)</sup>. Since the activation of macrophages is due to the presence of endometriotic tissue in the pelvis, it is tempting to speculate that the presence of endometriotic tissue in adenomyosis might also induce activation of macrophages present locally in the uterus. Such activated macrophages would cause polyclonal B cell activation, which in turn would produce various antibodies. Thus, the antibodies produced would be directed against endometriotic tissue, resulting in the deposition of IgG antibodies and complements. The wide variety of autoantibodies in the present study support this hypothesis.

In conclusion, various autoantibodies, espe-

cially against phospholipids are present in patients with adenomyosis at levels as high as those found in patients with endometriosis. These facts imply the clinical efficacy of such antibodies in the diagnosis of or in the treatment of patients with adenomyosis or endometriosis.

### References

- 1) Haney, A. F., Muscato, J. J. and Weinberg, J. B.: Peritoneal fluid cell populations in infertility patients, *Fertil. Steril.*, 35: 696, 1981
- 2) Halme, J., Becker, S. and Wing, R.: Accentuated cyclic activation of peritoneal macrophages in patients with endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 148: 85, 1984
- 3) Hill, J. A., Faris, H. M. P., Schiff, I. and Anderson, D. J.: Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis, *Fertil. Steril.*, 50: 216, 1988
- 4) Badawy, S. Z. A., Stizel, A., Cuensa, V., Thompson, M. and Kaufmann, L.: The regulation of immunoglobulin production by B cells in patients with endometriosis, *Fertil. Steril.*, 51: 770, 1989
- 5) Fakih, H., Baggett, B., Holtz, G., Tsang, K-Y., Lee, J. C. and Williamson, H. O.: Interleukin-1: a possible role in the infertility associated with endometriosis, *Fertil. Steril.*, 47: 213, 1987
- 6) Eisermann, J., Gast, M. J., Pineda, J., Odem, R. R. and Collins, J. L.: Tumor necrosis factor in peritoneal fluid of women undergoing laparoscopic surgery, *Fertil. Steril.*, 50: 573, 1988
- 7) Gleicher, N., El-Roeiy, A., Confino, E. and Friberg, J.: Is endometriosis an autoimmune disease? *Obstet. Gynecol.*, 70: 115, 1987
- 8) Ota, H. and Maki, M.: Evaluation of autoantibody and CA125 in the diagnosis of endometriosis or adenomyosis, *Med. Sci. Res.*, 18: 309, 1990
- 9) Buttram, V. C. Jr.: Evolution of the revised American Fertility Society classification of endometriosis, *Fertil. Steril.*, 43: 3, 1985
- 10) Ota, H., Fukuda, J., Igarashi, N., Murata, J., Fukushima, M. and Maki, M.: Efficacy of the measurement of autoantibody in the diagnosis of endometriosis, *Society for the Study of Endometriosis*, 11: 128, 1990 (Japanese)
- 11) Meek, S., Hodge, D. D. and Musich, J. R.: Autoimmunity in infertile patients with endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 158: 1365, 1988
- 12) Badawy, S. Z. A., Cuenca, V., Stitzel, A., Jacobs, R. D. B. and Tomar, R. H.: Autoim-

mune phenomena in infertile patients with endometriosis, *Obstet. Gynecol.*, 63: 271, 1984

- 13) Weed, J. and Arquembourg, P. C.: Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin. Obstet. Gynecol.*, 23: 885, 1980
- 14) Mathur, S., Peress, M. R., Williamson, H. O., Youmans, C. D., Maney, S. A., Garvin, A. J., Rust, P. F. and Fudenberg, H. H.: Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis, *Clin. exp. Immunol.*, 50: 259, 1982
- 15) Saifuddin, A., Buckley, C. H. and Fox, H.: Immunoglobulin content of the endometrium in women with endometriosis, *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 2: 255, 1983
- 16) Kreiner, D., Fromowity, F. B., Richardson, D. A. and Kenigsberg, D.: Endometrial immunofluorescence associated with endometriosis and pelvic inflammatory disease, *Fertil. Steril.*, 46: 243, 1986
- 17) Liu, J., Lian, L-J., Wang, Y-F., Han, M-L., Sun, A-D. and Huang, R-L.: The immunological study of patients with endometriosis, *Contr. Gynecol. Obstet.*, 16: 66, 1987
- 18) Bartosik, D., Damjanov, I., Viscarello, R. R. and Riley, J. A.: Immunoproteins in the endometrium: clinical correlates of the presence of complement fractions C3 nad C4, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 156: 11, 1987
- 19) Ota, H. and Maki, M.: Content of immunoglobulin G and complement components C3 and C4 in endometriotic tissue or endometrium in women with adenomyosis or endometriosis, *Med. Sci. Res.*, 18: 727, 1990

### 外性子宮内臓症および子宮腺筋症の診断における自己抗体測定の有有用度

秋田組合総合病院産婦人科

太田博孝

外性子宮内臓症および子宮腺筋症例における自己抗体測定の意味につき CA125 値と比較検討した。症例は外性子宮内臓症 43 例と子宮腺筋症例 48 例の計 91 例である。全症例のうち 59 例 (64.8%) に自己抗体が認められ、うち外性子宮内臓症 25 例 (58.1%)、子宮腺筋症 34 例 (70.8%) であった。CA125 値が 50U/ml を越えたのは全体で 47 例 (51.6%) で、自己抗体陽性の頻度より低かった。高 CA125 値と自己抗体のいずれか、あるいは両者が認められた例は外性子宮内臓症で 31 例 (72.1%)、子宮腺筋症で 45 例 (93.8%) に達した。これらの成績から自己抗体の測定は外性子宮内臓

症や子宮腺筋症の診断・治療に極めて有用であることが示唆された。

(受付：1991 年 5 月 13 日特掲)

# Danazol のヒト培養子宮内膜間質細胞の 機能形態におよぼす影響について

## The Influence of Danazol on Cultured Human Endometrial Stromal Cells

東京医科歯科大学医学部産婦人科学教室

田口 誠 久保田俊郎 鎌田周作  
Makoto TAGUCHI Toshiro KUBOTA Shusaku KAMADA  
麻生武志  
Takeshi Aso

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Tokyo Medical and Dental University,  
Faculty of Medicine, Tokyo 113, Japan

同第一解剖学教室

妹尾春樹 和気健二郎  
Haruki SENOO Kenjiro WAKE

1st Department of Anatomy

---

Danazol の子宮内膜間質細胞に対する直接作用を明らかにする目的で、コラーゲン膜 (type 1) 上でヒト子宮内膜間質細胞を 40 日間にわたり培養し、*in vitro* において生理的濃度の danazol を添加した際の機能形態学的変化の観察を行った。

コラーゲン膜上で 40 日間培養された子宮内膜間質細胞を観察すると、細胞小器官や細胞骨格がよく維持され、細胞質の小突起状構造物がコラーゲン基質内へ侵入し、細胞の接着を長期間維持する一因と考えられる所見が認められた。また、生理的濃度である danazol  $10^{-7}$ M を 40 日間添加して培養した細胞の形態学的変化を観察すると、danazol は子宮内膜間質細胞へ直接作用し培養細胞の一部の細胞質中ライソゾームの増加を来し、細胞に機能形態学的変化を及ぼすことが明らかとなった。さらに  $10^{-5}$ M を添加すると用量反応的に danazol の作用は増強して細胞質中の細胞小器官が消失し、遂には細胞融解へと進行した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 805-810, 1991)

---

### 緒 言

1971 年に Greenblatt 等により、子宮内膜症治療薬に danazol が使用されて以来、経口投与による臨床的有効性に関する報告は多数見られる<sup>1)</sup>。Danazol の作用機序として、LH 分泌の抑制<sup>2)</sup>、卵巣ステロイド産生の抑制<sup>3)</sup>、また血中遊離アンドロゲンの上昇等が

報告され<sup>4)</sup>、近年では、danazol の子宮内膜細胞に対する直接作用が明らかにされている<sup>5)</sup>。

子宮内膜症例に danazol を投与した際の子宮内膜上皮細胞の形態学的変化に関する報告は多くみられるが<sup>6,7)</sup>、子宮内膜の他の構成成分である間質細胞に関する報告は少なく、内膜症病変における間質細胞の形態学的変化の有無や danazol に対する反応性は

注目される点である。

今回、ヒト子宮内膜間質細胞に対する danazol の直接作用を解明するために、コラーゲン膜上で培養した子宮内膜間質細胞を用い、in vitro で種々の濃度の danazol を作用させ、その際の形態学的変化について検討した。

## 研究方法

### I. 試薬

Collagenase (type I), DNase は SIGMA から購入した。Fetal calf serum (FCS), RPMI 1640 および trypsin は GIBCO から得た。Danazol: 17 $\alpha$ -ethynyl-testosterone (Bonzol<sup>®</sup>) は東京田辺(株)より提供を受けた。組織培養用コラーゲン膜 (type I) は高研 CM-6、直径 33 mm を使用した。

### II. 方法

#### 1) ヒト子宮内膜間質細胞の培養

##### ①正常ヒト子宮内膜間質細胞の分離・培養

正常月経周期を有し、ホルモン剤等の投与を受けていない女性 (N=5) の良性疾患摘出子宮より黄体中期子宮内膜を無菌的に採取した後これらを細切し、collagenase 2mg/ml および DNase 50 $\mu$ g/ml で 37 $^{\circ}$ C, 60 分間酵素処理した。次いで 100 $\mu$ m nylon mesh にて濾過後 10% FCS を含む RPMI 1640 溶液で 2 回洗浄し、75 cm<sup>2</sup>T-フラスコ (FALCON) 内で細胞浮遊させ、37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub>, 95% air の条件下で 5 日間培養した<sup>8)</sup>。培養液としては 10% FCS 加 RPMI 1640 溶液を用い 2 日毎に培養液を交換した。この状態での間質細胞の純度は、位相差顕微鏡による観察で 99% と判定された。5 日後 0.05% trypsin にて T-フラスコより細胞を分離させ、4 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/well の子宮内膜間質細胞を、type-I 組織培養用コラーゲン膜上およびプラスチックプレート (直径 35 mm, FALCON) 上で上記の条件下で 40 日間培養した。この間培養液の交換は 2 日毎に行った。

##### ② Danazol の添加培養

コラーゲン膜上で培養した群では、対照群、danazol 10<sup>-7</sup>M 添加群、danazol 10<sup>-5</sup>M 添加群に分け観察した。Danazol 溶液の作成方法としては、3.38 mg の danazol を 99% エチルアルコール 0.1ml に完全に溶解させ、FCS を含む RPMI 1640 を 9.9ml 加え、danazol 10<sup>-3</sup>M 溶液を作成した。さらに、FCS を含む RPMI 1640 でこの溶液を 10<sup>2</sup>倍、10<sup>4</sup>倍し、それぞれ danazol 10<sup>-5</sup>M, 10<sup>-7</sup>M 溶液を得た。以上の調整により、エチルアルコールの最終濃度はそれぞれ約 10<sup>-2</sup>%, 10<sup>-4</sup>% となり、本培養系に対する影響は無視できると考えられた。

### 2) 形態学的観察

培養細胞の形態学的変化を位相差倒立顕微鏡 (IMT-2 オリンパス(株)) にて連日観察した。またコラーゲン膜上で培養した danazol 添加群および無添加対照群細胞を培養 40 日目に透過型電子顕微鏡による観察に供した。

電顕試料作成は以下のごとく行った<sup>9,10)</sup>。培養細胞はコラーゲン膜に接着させたまま、5ml PBS (phosphate buffered saline) で 3 回洗浄し、室温で 1% sucrose を添加した 1.5% glutar aldehyde/0.062M cacodylate buffer, pH7.4 で 30 分間、前固定した。次いで 1% osmic acid/0.1M phosphate buffer, pH7.4 により 2 時間、後固定し、エチルアルコール系 (50~100%) で脱水を施した。Poly-Bed 812 に包埋し、重合後 2 mm 角の小ブロックを切り出し、細胞培養面に垂直な面が観察できるように、Porter-Blum MT-2 ウルトラミクロトーム (Sorval Inc. Newtown, Conn) にて超薄切片を作成した。切片は 7% 酢酸ウランおよび 0.4% クエン酸鉛で染色、透過型電子顕微鏡 JEOL-100 CX (日本電子(株)) を用い電圧 100KV で観察した。また厚切り切片は 1% ホウ酸ナトリウムを含む 1% toluidine blue で染色して、光学顕微鏡で観察した。

## 研究成績

### I. 位相差顕微鏡所見

子宮内膜間質細胞はトリプシン酵素処理後培養 5 日目には、プラスチックプレート上 (写真 1 A) でも、コラーゲン膜上 (写真 1 B) でも共に confluent

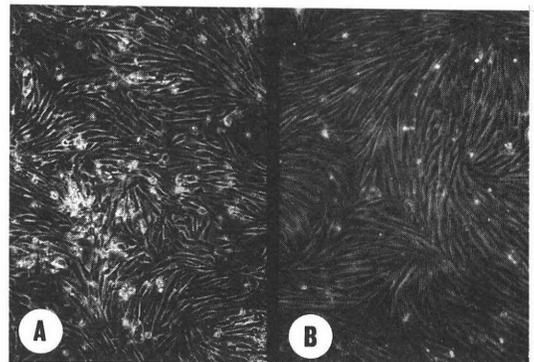


写真 1 プラスチックプレート (A) およびコラーゲン膜上 (B) における子宮内膜間質細胞培養 5 日目の位相差顕微鏡像  $\times$ 100

に達し、細胞は紡錘状を呈し細長い細胞質を持ち、線維芽細胞様の形態を呈した。細胞間には contact inhibition が認められ、一定の規則性と方向性を持つ

た増殖が見られた。この特色は、プラスチックプレート上よりコラーゲン膜上でより顕著であった。

各培養細胞の経時的な形態変化を観察すると、培養30日目までは、コラーゲン膜上で培養した子宮内  
膜間質細胞の対照群, danazol  $10^{-7}$ M 添加群,  $10^{-5}$   
M 添加群の細胞には明らかな差は認めず、培養40日  
目になるとプラスチックプレート上培養群では、ほ  
とんどの細胞がプレートより剥離し viability を失っ  
ていた。一方、コラーゲン膜上で培養した子宮内  
膜間質細胞は、培養40日目に至っても対照群, danazol  
 $10^{-7}$ M,  $10^{-5}$ M 添加群のいずれにおいても confluence  
を維持していた。この時期の対照群の細胞は線維芽  
細胞様で、細胞配列の規則性と方向性は一定で5日  
目の所見に比べ変化を認めなかった(写真2 A)が、  
danazol  $10^{-7}$ M 添加群では2つの部位がみられ、す  
なわち、対照群と同様に培養細胞の confluence が維持  
され規則性・方向性を保った部位と、それらが一  
部障害され、規則性の無い細胞配列を示し、不定形  
の細胞が多い部位に区別された(写真2 B)。さらに  
danazol  $10^{-5}$ M 添加群では、細胞配列の規則性と方  
向性は消失して、細胞の形態は不定形を呈していた  
(写真2 C)。

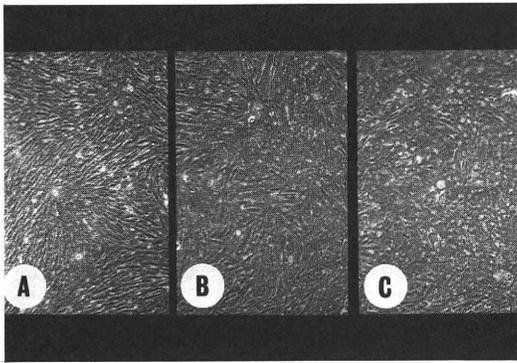


写真2 コラーゲン膜上で培養した子宮内  
膜間質細胞の  
培養40日目の位相差顕微鏡像  
A, 対照群; B,  $10^{-7}$ M Danazol 添加群; C,  
 $10^{-5}$ M Danazol 添加群 ×100

## II. 透過型電子顕微鏡所見

コラーゲン膜上で培養した対照群培養40日目の子  
宮内  
膜間質細胞の超微形態像(写真3)では、細胞  
は1~2層で細胞質内によく発達した粗面小胞体、  
ゴルジ装置、フリーリボソーム、ミトコンドリア、  
ライソソームが認められ、細胞が直接培養液と接す  
る面にはマイクロフィラメントが観察された。また、  
細胞間の接着部位にはデスマゾーム様構造が認めら  
れ、細胞どうしが強固に結合しており、細胞間隙は

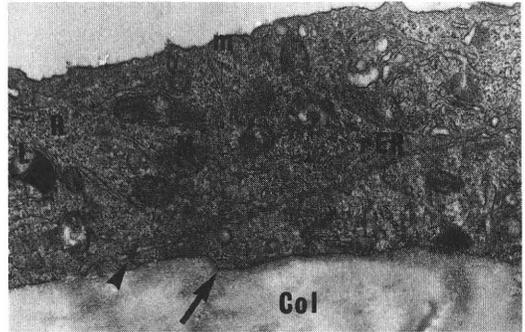


写真3 子宮内  
膜間質細胞の培養40日目の対照群の電  
顕像  
Col, コラーゲン膜; L, ライソソーム; M, ミトコ  
ンドリア; m, マイクロフィラメント; R, フリーリ  
ボソーム; rER, 粗面小胞体, 矢印はコラーゲン膜  
にくい込んだ細胞の小突起を示し, 矢じりはデ  
スマゾーム様構造を示す。 ×5100

狭小であった。コラーゲン基質に面した細胞膜の一  
部は小突起状に基質の中へ入り込み、細胞を基質へ  
固定するのに有効な形態を呈しており、突起様構造  
物に一致して豊富なりボソームが認められた。

danazol  $10^{-7}$ M 添加群で位相差顕微鏡下で不規則  
な細胞配列を示した部分の細胞はやはり1~2層で  
あったが、対照群と比較し超微形態学的に変化が認  
められ、粗面小胞体の管腔の膨化、粗面小胞体、フ  
リーリボソーム、ミトコンドリアの数が減少して  
おり、ゴルジ装置は増加してその周囲にはライソソ  
ームが豊富に存在した(写真4)。ゴルジ装置周囲のラ

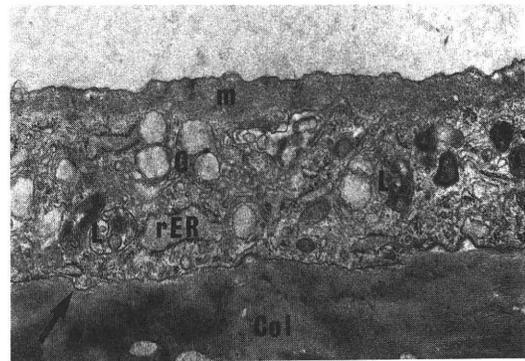


写真4 子宮内  
膜間質細胞の  $10^{-7}$ M Danazol を添加し  
ての培養40日目の電顕像(位相差顕微鏡下で不  
規則的配列を示した領域の細胞)  
Col, コラーゲン膜; m, マイクロフィラメン  
ト; rER, 粗面小胞体, 矢印はコラーゲン膜に  
くい込んだ細胞の小突起を示す。 ×5100

イソゾームは未消化のものが多く、ゴルジ装置より遠位のもの、消化物をライソゾーム内に認めることが多かった。また、細胞が培養液と接する面のマイクロフィラメントは対照群に比して増加していた。一方、位相差顕微鏡下で規則的配列を示す細胞の細胞質では粗面小胞体、フリーリボゾーム、ミトコンドリアが豊富で、細胞間にデスモゾーム様構造が認められ、細胞の極性もよく保たれており、対照群と比較し明らかな差は認められなかった(写真5)。

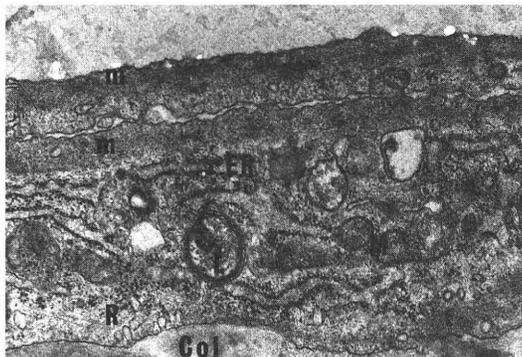


写真5 子宮内膜間質細胞の  $10^{-7}$ M Danazol を添加しての培養 40 日目の電顕像(位相差顕微鏡下で規則的配列を示した領域の細胞)

Col, コラーゲン膜; L, ライソゾーム; M, ミトコンドリア; m, マイクロフィラメント; R, フリーリボゾーム; rER, 粗面小胞体,  $\times 6900$

Danazol  $10^{-5}$ M 添加群(写真6)では、細胞小器官がほとんど消失し、粗面小胞体は管腔が浮腫状を呈していた。拡大した細胞間隙、デスモゾーム様構造の消失などの特徴的な所見がみられ、細胞の高度は不整でマイクロフィラメントは認めず、細胞骨格は失われていた。

### 考 察

生体内ではヒト子宮内膜間質細胞は豊富な細胞外マトリックスに含まれ星型をしている。細胞同士は突起によって互いに接し、巨大なネットワークを形成している<sup>11)</sup>。本研究ではまずこの生理的な子宮内膜間質細胞の培養環境を確立する目的で、細胞外マトリックスの成分である type I コラーゲン膜上での培養を試みた。今回用いた培養液および培養環境でヒト子宮内膜間質細胞の機能形態的变化を観察したところ、培養細胞は1~2層で細長く互いに接し、蛋白質の生合成・分泌が旺盛で、外界の物質の取り込み・分解が盛んであることが示唆され、40日間にわたり viability が維持されることが明らかとなった。

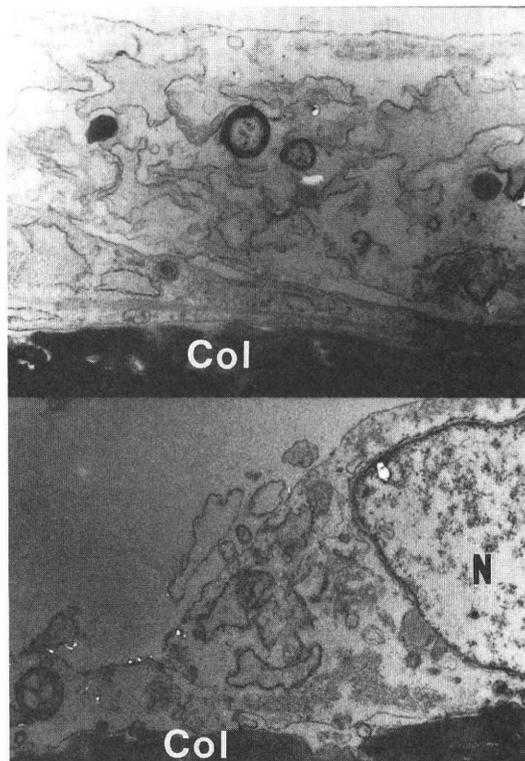


写真6 子宮内膜間質細胞の  $10^{-5}$ M Danazol を添加しての培養 40 日目の電顕像

Col, コラーゲン膜; N, 核;  $\times 5100$

プラスチックプレート上では子宮内膜間質細胞の基質に対する接着性の問題から、40日間にわたる培養実験は困難であったが、コラーゲン膜上で培養すると、細胞質から小突起状にコラーゲン膜内へくいだんだ構造物が出現し、細胞のコラーゲン基質への接着がより強固となって長期培養が可能となったと考えられる。従って40日間にわたり添加実験が可能である本実験系は danazol の in vitro での影響を検討するモデルとして適当であると言えよう。

Danazol 400mg/day 経口投与時の血中濃度は約  $10^{-7}$ M であり<sup>12)</sup>、in vivo での明らかな組織学的変化は約2カ月間の投与後に観察されると報告されている<sup>13)</sup>。また子宮内膜に danazol が作用して引き起こす代表的な形態学的変化として間質の萎縮が報告されている<sup>13,14)</sup>。本培養系に danazol  $10^{-5}$ M を添加すると、写真6のように細胞の背丈が不整になり、細胞骨格を形成するマイクロフィラメントは破壊されるので、in vivo で danazol によってもたらされる子宮内膜間質細胞の萎縮は、細胞内小器官と細胞骨格が障害されたためと考えられる。この細胞内小器官

に danazol が作用する機序としては、生理的濃度である danazol  $10^{-7}$ M 添加による形態学的変化の一部にすでにみられるように、核の周囲にゴルジ装置が増え、そのゴルジ装置によりライソゾームが多数誘導されており、danazol が核の androgen receptor を介する情報で細胞質中の諸変化が惹起されたことを示している<sup>15)</sup>。そしてさらに高濃度の danazol  $10^{-5}$ M を添加した群の細胞小器官が消失した所見は  $10^{-7}$ M 添加群の形態学的変化の延長上にあると言えよう。

danazol 長期投与の例では細胞小器官において粗面小胞体の管腔が膨化し、粗面小胞体、フリーリボソーム、ミトコンドリアの数が減少する一方、ライソゾームが増加し、細胞質が虚脱の状態になると報告されている<sup>16)</sup>。これらの in vivo の所見は本実験で得られた in vitro での成績によく一致し、in vivo における一連の形態学的変化は、主に danazol による直接作用が示唆された。

Danazol の直接効果については in vitro で細胞増殖抑制効果から報告されているが<sup>5)</sup>、本研究によりコラーゲン膜上で長期間子宮内膜間質細胞を培養することが可能となり、形態学的にも danazol の直接効果が明らかにされた。以上により今後子宮内膜症患者において、danazol の腹腔内投与やチョコレート嚢腫内注入等により臨床的にも直接的な効果を期待することも可能であり、本研究結果は子宮内膜症治療における danazol の有効性を確証するものと考えられた。

## 文 献

- Greenblatt, R. B., Dmowski, W. P., Mahesh, V. B. and Scholer, H. F. L.: Clinical studies with an antigonadotropin-danazol, *Fertil. Steril.*, 22: 102, 1971
- Colle, M. L. and Greenblatt, R. B.: Contraceptive properties of danazol, *J. Reprod. Med.*, 17: 98, 1976
- Barbieri, R. L. and Ryan, K. J.: Danazol: Endocrine pharmacology and therapeutic applications, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 141: 453, 1981
- Forbes, K. L., Dowsett, Rose, G., Mudge, J. E. and Jeffcoate, S. L.: Dosage-related effects of danazol on sex hormone binding globulin and free and total androgen levels, *Clin. Endocrinol.*, 25: 597, 1986
- 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
- Schweppe, K. W., Dmowski, W. P. and Wynn, R. M.: Ultrastructural changes in endometriotic tissue during danazol treatment, *Fertil. Steril.*, 36: 20, 1981
- Schweppe, K. W. and Wynn, R. M.: Endocrine dependency of endometriosis: an ultrastructural study, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 17: 193, 1984
- Satyawarop, P. G., Bressler, M. M., Pena, D. L. and Gurdip, E.: Isolation and culture of human endometrial glands, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48: 639, 1979
- Fawcett, D. W.: A textbook of histology, 11th ed., 1, W. B. Saunders, Philadelphia, 1986
- Hata, R. and Senoo, H.: L-Ascorbic acid 2-phosphate stimulates collagen accumulation, cell proliferation, and formation of a three-dimensional tissue like substance by skin fibroblasts, *J. Cell. Physiol.*, 138: 8, 1989
- Senoo, H., Tsukada, Y., Sato, T. and Hata, R.: Culture of fibroblasts and hepatic parenchymal cells induces metabolic changes and formation of a three-dimensional structure, *Cell Biol. Int. Rep.*, 13: 197, 1989
- Davison, C., Banks, W. and Fritz, A.: The absorption, distribution and metabolic fate of danazol in rats, monkeys and human volunteers, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 221: 294, 1976
- 塩塚幸彦, 小林一夫, 林茂一郎, 林茂典, 藤井明和, 見上多喜子: 子宮内膜症の保存療法 danazol 投与による組織変化, 日不妊会誌, 25: 180, 1980
- Fedele, L., Marchini, M., Bianchi, S., Baglioni, A., Bocciolone, L. and Nava, S.: Endometrial patterns during danazol and buserelin therapy for endometriosis: comparative structural and ultrastructural study, *Obstet. Gynecol.*, 76: 79, 1990
- Chamness, G. C., Asch, R. H. and Pauerstein, C. J.: Danazol binding and translocation of steroid receptors, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136: 426, 1980
- Brosens, I. A., Verleyen, A. and Cornillie, F.: The morphologic effect of short-term medical therapy of endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 157: 1215, 1987

## The influence of danazol on cultured human endometrial stromal cells

Makoto Taguchi, Toshiro Kubota,  
Shusaku Kamada, Haruki Senoo,  
Kenjiro Wake and Takeshi Aso

Department of Obstetrics and Gynecology,  
and 1st Department of Anatomy,  
Tokyo Medical and Dental University,

Faculty of Medicine, Tokyo, 113, Japan

The aim of this study was to evaluate the direct effect of physiological doses of danazol on morphological changes in human endometrial stromal cells cultured on the type-1 collagen membrane for 40 days.

Endometrial stromal cells maintained abundant cell organelles and regular cytoskeleton during 40

days. This was partially due to the strong attachment by the processes protruded from the cytoplasm into the collagen membrane.

The results of the present study indicated that danazol of  $10^{-7}$ M increased number of lysosomes of the cytoplasm, and that of  $10^{-5}$ M destroyed cell organelles and cytoskeleton followed by total cell collapse.

(受付：1991年2月21日)

## 子宮筋腫におけるグリコサミノグリカンの検討

### Biochemical and Histochemical Analysis of Glycosaminoglycans in Human Uterine Tissues and Leiomyomas

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)

武井成夫

Shigeo TAKEI

First Department of Obstetrics and Gynecology,  
Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan  
(Director: Prof. Kazuo Momose)

子宮筋腫とグリコサミノグリカン(以下GAGと略)の関係を明らかにすることを目的として、正常筋層、直径3cm以下の筋腫核(小)、直径3cm以上の筋腫核(大)の3群を対象に、生化学的および組織化学的な検討を行なった。

1. GAG含有量は筋腫核が大きくなるに従って増加傾向を示し、筋腫核(大)のGAG含有量は正常筋層に比べ有意な増加を示した。(P<0.05)
2. 筋腫核および正常筋層のGAG成分はデルマトラン硫酸、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸、ヒアルロン酸であった。
3. 筋腫核、正常筋層の主要構成GAGはデルマトラン硫酸であり、それぞれGAG組成比の55%、46%を占め、筋腫核と正常筋層との間に有意差を認めなかった。
4. 筋腫核ではコンドロイチン硫酸が正常筋層の約2倍に増加し(P<0.05)、逆にヘパラン硫酸(P<0.01)とヒアルロン酸(P<0.05)は約2分の1に減少していた。
5. 上記のGAG組成比の違いは放線菌ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼABC/ACを用いた組織化学的な検討でも証明された。

以上の成績より、筋腫核と正常筋層ではGAG含有量だけでなく、GAG組成比にも相違を持つことが明らかになるとともに、筋腫核の大きさによりGAGの含有量に差異があることが判明した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 811-817, 1991)

### 緒言

子宮筋腫は性成熟期婦人に好発する婦人科良性腫瘍の代表的疾患であり、30歳以上の婦人のおよそ20%<sup>1)</sup>、35歳以上の婦人の40%<sup>2)</sup>に存在するといわれる。このように日常よく遭遇する疾患でありながら、子宮筋腫の発生・発育機序に関しては未だ不明な点が多く、その理由として子宮筋腫細胞が通常の細胞と異なり培養実験がしにくい<sup>3)</sup>ことなどがあげられる。これまでの研究で子宮筋腫が卵巣ステロイドホルモン、主としてエストロゲン依存性であり、これによって調節されていること<sup>4)</sup>はほぼ明らかである。しか

しながら、筋腫を構成するどの部分に作用し、発育を促進しているのかについては未解明の点が多く、近年では細胞成長因子との関連からの研究<sup>5-7)</sup>が進められている。また、コラーゲン、エラスチン、ファイブロンネクチン、ラミニンなどとともに細胞外マトリックスを構成するプロテオグリカンの主要構成成分であり、細胞膜、細胞間隙、結合組織に存在するグリコサミノグリカンは従来その単純な構造から細胞間の単なる充填物質と考えられていた。最近ではGAGが、細胞の接着<sup>8)</sup>、凝集<sup>9)</sup>、増殖<sup>10)</sup>、さらには形態の形成や機能分化<sup>11)</sup>に重要な役割を持つことが明らかになるとともに、エストロゲン<sup>12)</sup>や細胞成長因子<sup>13)</sup>

などとの関連も明らかになりつつある。

現在までにモルモット、牛、ヒトなどにおける子宮筋腫や子宮内膜と GAG との関連については多くの研究が報告されている<sup>14,15)</sup>が、子宮筋腫と GAG の関係については Loewi らの 1 例報告<sup>16)</sup>を見るのみである。

前述のように GAG と細胞の増殖、分化に多くの新たな知見が見いだされ、また GAG 分析等の方法論も Loewi<sup>16)</sup> (1962) らの時代に比較して目覚ましい進歩を遂げているので、これらの技術を駆使して筋腫核の発生発育機序の一端の解明を試みた。

### 研究対象および方法

#### 研究対象

東邦大学大森病院において、39 歳から 46 歳までの正常月経周期を有する子宮筋腫患者で腹式子宮全摘術または筋腫核出術を施行した婦人 13 症例を対象とした。筋腫核は直径 3 cm 以上を large group (大)、それ以下を small group (小)、病理学的に筋腫組織を含まない正常筋層組織を対象とした。このうち 7 症例 (正常筋層 n = 5, 筋腫核・小 n = 4, 筋腫核・大 n = 7) についてはコラーゲンの前駆物質であるハイドロキシプロリンと、GAG の構成成分であるウロン酸とヘキササミンの定量、さらには一次元電気泳動法による GAG 分画とその構成比の比較検討を行なった。また、6 症例 (正常筋層 n = 6, 筋腫核・小 n = 5, 筋腫核・大 n = 4) については放線菌ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ ABC/AC を用いた酵素消化法による組織化学的な検討を行なった。検体調整

生化学定量用検体は 1 ~ 2 mm 角に細切、その約 3 g を取り正確に秤量後、20 倍量のアセトンで 3 回、さらにクロロホルム・メタノール (2 : 1 Vol./Vol.) で脱脂乾燥後常温で減圧乾燥、重量測定し水分含量を算定した。

組織化学用検体は 10 %ホルマリンで固定後、酵素消化法操作まで保存した。

#### ハイドロキシプロリン量

Kivirikko, K. I. らの方法<sup>17)</sup>を用いて測定した。減圧乾燥検体 100 mg に 6 N 塩素 0.5ml, 蒸留水 3.5ml を加え、110°C で 18 時間加水分解後、その一部を総量 4.0ml の水酸化カリウムにて中和、塩化カリウム 3.5 g と 10 %アラニン緩衝液 1.0ml を加え、常温にて 30 分攪拌静置した。ついで 5.5 %クロラミン T 溶液 1.0 ml を加え酸化した後、3.0ml の 3.6 M チオ硫酸ナトリウムにて反応を停止、5.0ml のトルエンを添加し、抽出後の残渣を 30 分間沸騰水浴中で処理後、トルエ

ン 5.0ml を加え抽出し、その 2.5ml にエールリッヒ試薬 1.0ml を混和、30 分間暗室に静置後 560nm で吸光度を測定した。

#### GAG 分離法

100 mg の減圧乾燥検体に 10ml の 50mM トリス HCl/10mM CaCl<sub>2</sub> (PH 7.8) を懸濁、これにアクチナーゼ E (科研製薬) 12 mg とトルエン数滴を加え 42°C で 24 時間静置後、さらにアクチナーゼとトルエンを追加し 42°C で 24 時間静置した。攪拌後 6 M 水酸化ナトリウムを加え、最終濃度 0.3 N 水酸化ナトリウムとなるよう調整後、室温で 4 時間静置した。これを 1 N 塩酸で中和後、60 % TCA を用いて最終濃度 10 % TCA となるように調整後、沈殿操作し 4°C で一晚静置して除タンパクを行ない、12,000 rpm で 20 分間遠心分離、上清を流水で 2 日間、さらに蒸留水にて低温室で 1 日間透析を行なった後、凍結乾燥を行なった。ついで乾燥物を 0.04 M 塩化ナトリウムに溶解後、2 % Cetylpyridinium Chloride (CPC) を加えて最終濃度 0.1 % (W/V) となるよう調整、室温で一晚静置後 25°C 10,000 rpm で 30 分間遠心分離し、この沈殿物を 5.0ml の 0.1% CPC/0.04M 塩化ナトリウムで洗浄後、同様に遠心分離、さらに沈殿物を 4 M 塩化ナトリウムに溶解し、80 % エタノールを加えて最終濃度 75 % エタノールとなるよう調整し、4°C で一晚静置した。先の処理法と同様にこの沈殿物を 75 % エタノールで洗浄、脱 CPC 後得られた粗 GAG を減圧乾固し、ウロン酸およびヘキササミンの定量用と、一次元電気泳動法による GAG 分画用試料とした。

#### ウロン酸、ヘキササミン量

ウロン酸の定量は Bitter-Muir 法<sup>18)</sup>を用い、波長 530nm で比色定量を行なった。また、ヘキササミンの定量は Elson-Morgan 変法<sup>19)</sup>を用い、波長 530nm でウロン酸と同様に比色定量を行なった。

#### GAG 組成比

Hata および Nagai らの方法<sup>20)</sup>に準じ、セルロース・アセテート膜電気泳動法にて GAG を各成分に分離した。溶液は 0.1 M 酢酸銅を用い、泳動条件は PH5.3, 0.5mA/cm, 1.5 時間で泳動を行なった。さらに分画された GAG はデンシトメーターを用いて描かれた二次元曲線から各 GAG 分画の面積比を算出した。

#### 酵素消化法による組織学的検討

##### ヒアルロニダーゼ消化試験

10 %ホルマリンにて固定した検体をパラフィンで封入、同一検体より得られた厚さ 4μm の 3 切片を山田の方法<sup>22)</sup>を用い、脱パラフィン後、水に入れ、①放線菌ヒアルロニダーゼ (天野製薬) を 100 TRU/ml 含

む 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH5.0) に 45°C, 4 時間浸漬したもの, ② 酵素溶媒のみで同様に処置したもの, ③ 無処置のもの, 3 検体を作成し, 水洗後アルシアンブルー (pH2.5) にて染色した. 切片②, ③ と比較して切片① で染色性を失う構造はヒアルロン酸を含む.

コンドロイチナーゼ消化試験

山田の方法<sup>23)</sup>を用い, 上記と同様の方法で同一検体より得られた厚さ 4μm の 5 切片を脱パラフィン後, 水に入れ, ① コンドロイチナーゼ ABC (生化学工業) 消化液中に 37°C, 4 時間浸漬したもの, ② コンドロイチナーゼ AC (生化学工業) 消化液中に 37°C, 4 時間浸漬したもの, ③ コンドロイチナーゼ ABC 消化液より酵素だけを除いた成分を含む液に 37°C, 4 時間浸漬したもの, ④ コンドロイチナーゼ AC 消化液より酵素だけを除いた成分を含む液に 37°C, 4 時間浸漬したもの, ⑤ 無処置のもの各々をアルシアンブルー (pH2.5) で染色した. 切片③, ⑤ と比較して切片① で染色性を失う構造はコンドロイチン硫酸, デルマトン硫酸, ヒアルロン酸, コンドロイチンを含み, 切片④, ⑤ と比較して切片② で染色性を失う構造はコンドロイチン硫酸, ヒアルロン酸, コンドロイチンを含む. コンドロイチナーゼ ABC と AC の消化反応効果の差は主としてデルマトン硫酸に基づく.

結 果

1. 水分量

水分量は筋腫核および正常筋層において約 80 % であり, 両者間に差を認めない.

2. ハイドロキシプロリン量

ハイドロキシプロリン含有量は正常筋層 3,641 ± 185 (μg/100mg 乾燥重量, mean ± SD), 筋腫核・小 4,021 ± 912 (μg/100mg 乾燥重量), 筋腫核・大 4,066 ± 442 (μg/100mg 乾燥重量) と筋腫核群に増加傾向が見られたが有意差は認めなかった (図 1).

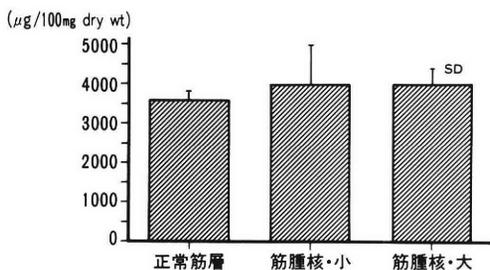


図 1 筋腫核と正常筋層におけるハイドロキシプロリン量

3. ウロン酸, ヘキササミン量

1) ウロン酸量

ウロン酸含有量は正常筋層 163 ± 19 (μg/100mg 乾燥重量, mean ± SD), 筋腫核・小 186 ± 51 (μg/100mg 乾燥重量), 筋腫核・大 220 ± 42 (μg/100mg 乾燥重量) である. 直径 3 cm 以上の筋腫核群 (大) のウロン酸含有量が正常筋層に比べ有意に増量している (P < 0.05) (図 2).

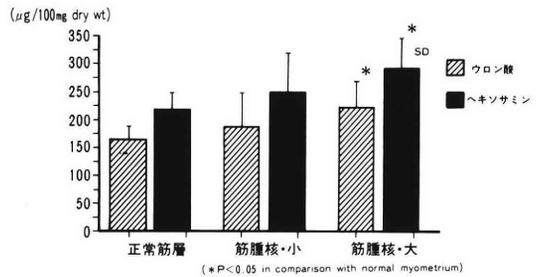


図 2 筋腫核と正常筋層におけるウロン酸, ヘキササミン含有量

2) ヘキササミン量

ヘキササミン含有量は正常筋層 218 ± 26 (μg/100mg 乾燥重量, mean ± SD), 筋腫核・小 247 ± 59 (μg/mg 乾燥重量), 筋腫核・大 291 ± 51 (μg/100mg 乾燥重量) でウロン酸と同様直径 3 cm 以上の筋腫核群 (大) でヘキササミン含有量が正常筋層に比べ有意に増量している (P < 0.05) (図 2).

4. GAG 組成比 (表 1)

1) コンドロイチン硫酸

コンドロイチン硫酸は正常筋層で 11.2 ± 3.4 % (mean ± SD), 子宮筋腫核では小 24.7 ± 13.8 %, 大 24.6 ± 15.8 % である. 小, 大いずれの筋腫核群も対照群の約 2 倍の組成比で, 筋腫核での増加が認められた (P < 0.05).

表 1 筋腫核と正常筋層における GAG 組成比

GAGs	正常筋層	筋腫核・小	筋腫核・大
	(n = 5)	(n = 4)	(n = 7)
			(%)
ChS	11.2 ± 3.4	24.7 ± 13.8	24.6 ± 15.8*
D S	46.3 ± 6.0	55.6 ± 12.9	54.6 ± 11.0
H S	30.6 ± 2.3	14.6 ± 4.5**	14.2 ± 7.0**
HA	11.9 ± 4.4	5.2 ± 2.9	6.6 ± 3.0*

(Values are mean ± SD. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 in comparison with normal myometrium)

2) デルマトン硫酸

筋腫核, 正常筋層ともにデルマトン硫酸は GAG 分

画中最大の構成成分であるが、正常筋層  $46.3 \pm 6.0\%$  (mean $\pm$ SD), 子宮筋腫核・小  $55.6 \pm 12.9\%$ , 大  $54.6 \pm 11.0\%$  と各筋腫核群および正常筋層の組成比との間に有意差を認めなかった。

3) ヘパラン硫酸

ヘパラン硫酸は正常筋層  $30.6 \pm 2.3\%$  (mean $\pm$ SD), 子宮筋腫核・小  $14.6 \pm 4.5\%$ , 大  $14.2 \pm 7.0\%$  と、筋腫核・小, 大の両群の組成比は対照の約 2 分の 1 に減少している ( $P < 0.01$ )。

4) ヒアルロン酸

ヒアルロン酸はヘパラン硫酸と同様に正常筋層で  $11.9 \pm 4.4\%$  (mean $\pm$ SD), 子宮筋腫核・小  $5.2 \pm 2.9\%$ , 大  $6.6 \pm 3.0\%$  で、筋腫核では正常筋層の約 2 分の 1 組成比を示し、筋腫核での減少が認められた ( $P < 0.05$ )

5) 筋腫核の大きさによる差異

全てのパラメーターにおいて、筋腫核の大きさの差異による有意差は認められなかった。

5. 酵素消化法による組織化学的検討 (表 2)

表 2 アルシアン青染色と酵素消化試験

	正常筋層	筋腫核・小	筋腫核・大
アルシアン青染色度	+	卅	+
H-dase 消化度	+	±	±
アルシアン青染色度	+	+	+
Ch-dase ABC 消化度	±	+	+
アルシアン青染色度	±	+	+
Ch-dase AC 消化度	-	+	+

染色度：濃染(卅) > 淡染(+) > わずかに青染(±) > 染色されず(-)

消化度：ほとんど消化(+) > わずかに消化(±) > 消化されず(-)

H-dase：ヒアルロニダーゼ, Ch-dase ABC/AC：コンドロイチナーゼ ABC/AC

1) ヒアルロニダーゼ消化試験

正常筋層はアルシアンブルーで淡染, 筋腫核・小は濃染, 筋腫核・大は淡染されたが、放線菌ヒアルロニダーゼによる消化試験では筋腫核群ではわずかにしか消化反応は見られないのに対し、対照群では明らかな消化反応が認められた(写真 1)。このことは Yamada らの軟骨成分を含まない組織においては、放線菌ヒアルロニダーゼ消化試験によりヒアルロン酸の存在を確定できるという報告<sup>24)</sup>から、筋腫核では正常筋層に比べヒアルロン酸が減少していることが組織化学的に確認された。

2) コンドロイチナーゼ消化試験

コンドロイチナーゼ ABC 消化試験(写真 2)では、

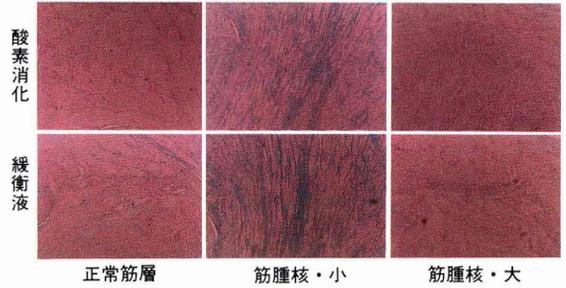


写真 1 放線菌ヒアルロニダーゼ消化試験 (× 8)

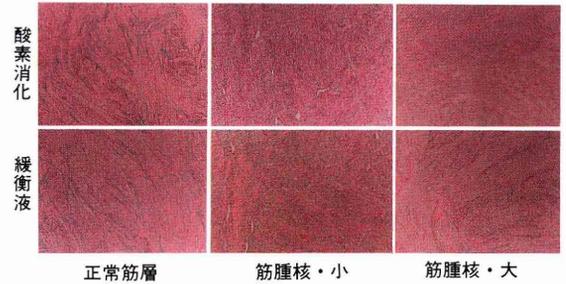


写真 2 コンドロイチナーゼ ABC 消化試験 (× 8)

緩衝液のみに浸漬していた切片は正常筋層, 筋腫核ともにアルシアンブルーにより淡染した。しかしながら筋腫核群ではコンドロイチナーゼ ABC により確実に消化されるのに対し、正常筋層ではわずかにしか消化されなかった。コンドロイチナーゼ AC 消化試験(写真 3)では緩衝液のみに浸漬していた切片

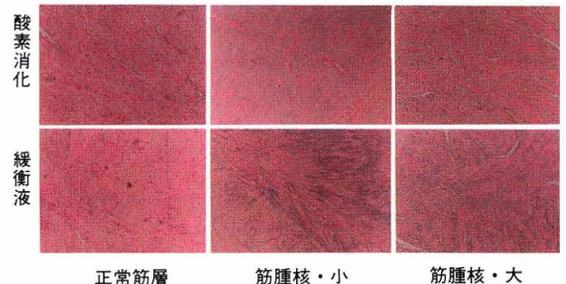


写真 3 コンドロイチナーゼ AC 消化試験 (× 8)

は筋腫核群ではアルシアンブルーに淡染するのに対し、正常筋層ではほとんど青染されない。また、コンドロイチナーゼ AC により筋腫核群は消化され、アルシアンブルーの青色がほぼ消失するのに対し、正常筋層では消化反応は認められなかった。このことより、筋腫核にはコンドロイチン硫酸, デルマトン硫酸が多く含まれ、また正常筋層にはコンドロイチン硫酸が少なく、デルマトン硫酸が比較的多く含まれることが組織化学的にも推察された。

## 考 察

ウロン酸、ヘキササミンはGAGの主要な構成糖であり、これらの糖の定量において子宮筋腫核にGAG含有量が高いことが明らかとなった。さらに、統計学的に有意な差は示さなかったが、筋腫核が大きいものにGAG含有量が増加している傾向が見られた。

Endoら<sup>25)</sup>は、去勢家兎の子宮のGAG代謝がエストロゲンによって促進されると報告し、Takataら<sup>26)</sup>は去勢ラットの子宮においてestradiol-17 $\beta$ の投与によりGAGが著増し、なかでもコンドロイチン硫酸がデルマトン硫酸よりも増加したと報告している。また、Tamayaら<sup>27)</sup>は子宮筋腫には正常筋層に比べエストロゲンレセプター濃度がやや高く、プロゲステロンレセプターやアンドロゲンレセプター濃度が有意に低く、このことが相対的にエストロゲン作用を増強し筋腫の増殖を促進していると報告している。

これらの成績はエストロゲンにより子宮筋腫でGAG含有量、とくにコンドロイチン硫酸が増加している著者の成績を支持する。エストロゲン投与によりGAGが減少するとする報告<sup>28)</sup>もあるが、今日では組織あるいは細胞におけるGAG生合成はエストロゲンにより促進されることが定説化している<sup>29)</sup>。著者の成績では子宮筋腫、子宮筋腫核のGAG主要構成成分はデルマトン硫酸であり、その他のGAG成分としてコンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパラン硫酸の存在することが判明した。この成績はラビット<sup>25)</sup>やラット<sup>26)</sup>での報告と一致する。しかしながら、Loewiら<sup>16)</sup>によれば子宮筋腫核と正常筋層のGAG含有量およびGAG組成比に差を認めなかったと報告している。この報告に対し、著者の成績ではデルマトン硫酸が正常筋層で全GAGの約45%、筋腫核で約55%とデルマトン硫酸が約50%前後を占める点では彼らの成績と一致している。しかし、その他のGAG分画中コンドロイチン硫酸は対照に比して筋腫核では約2倍の増加、一方、ヘパラン硫酸、ヒアルロン酸は約2分の1に減少している。著者のこれらの生化学的データは、組織化学的な酵素消化試験でも証明されているので、Loewiらの1症例のみを対象とした成績には、その再現性に疑問が残る。

Ninomiyaら<sup>30)</sup>は鶏胚の腱由来の線維芽細胞の培養において、細胞増殖の過程でヒアルロン酸生合成はほぼ一定しているが、コンドロイチン硫酸生合成は対数増殖期に活発であり、ヘパラン硫酸とデルマトン硫酸生合成は定常期にもっとも活発であることを報告している。したがって相対的にはヒアルロン酸生合成は細胞増殖に伴って低下し、全GAG生合成

は定常期に高くなることを示唆した。

今回の著者の成績により子宮筋腫ではヒアルロン酸が低く、コンドロイチン硫酸は著増し、デルマトン硫酸も増加傾向にあることが確認された。すなわち、Ninomiyaらのヒアルロン酸の占める割合が細胞増殖とともに低下し、コンドロイチン硫酸生合成が細胞増殖期に増加するという成績によく一致することより、子宮筋腫中でも細胞増殖の際には培養細胞と同様なGAG代謝が起きていることが推定される。さらに、子宮筋腫中に平滑筋細胞への分化を阻害する作用を持つヒアルロン酸<sup>31)</sup>の少ないことが、子宮筋腫組織中で平滑筋細胞がその形態を比較的良好に保っている理由の一つである可能性も示唆された。また、ヘパラン硫酸はepidermal growth factor (EGF)による血管平滑筋細胞の増殖を阻害する<sup>32)</sup>といわれ、子宮筋腫中のヘパラン硫酸含有量が減少していることは、筋腫核が増大するのに有利な環境を作り出している可能性も類推される。しかし、ヒト子宮筋腫ではEGFレセプターは少なくinsulin-like growth factor I (IGF-I)レセプターが増加しているという報告<sup>33)</sup>もあり、これらの細胞成長因子とGAGの関係については今後の研究を待たねばならない。

Ochiai<sup>34)</sup>は筋腫核の大きさの違いによるエストロゲンレセプターに注目し、直径3cm以上の筋腫核では外層1/3には内層1/3と比較しエストロゲンレセプターが多いと報告している。今回著者は筋腫核の大きさによりGAG含有量、組成比に違いがないかを検討したが、直径3cm以上と以下の筋腫核の間には統計学上有意差は認められなかった。しかしながら、ウロン酸、ヘキササミン含有量はともに筋腫核が大きくなるにしたがって増加傾向を示したことから、筋腫核の大きいものの方がエストロゲンの影響を強く受けていると思われた。

Sirbaskuら<sup>35)</sup>はエストロゲン依存性腫瘍細胞の培養実験において、培養細胞に直接エストロゲンのみ添加しても細胞分裂効果はなく、成長因子の存在下でステロイドはその効果を発揮するのではないかと推定している。また、前述したようにプロテオグリカンおよびGAGと細胞成長(抑制)因子との相互作用が解明されつつあり、卵巣ステロイドホルモン、GAG、細胞成長(抑制)因子が子宮筋腫発育にどのように関連するかの糸口が開かれつつあるように思われる。

今回の著者の成績から、筋腫核におけるGAG含有量は正常筋層に比べ高値を示すこと、筋腫核の増大に伴ってGAG含有量も増加傾向を持つことが明らか

となった。さらに、筋腫核における GAG 組成比は明らかに正常筋層とは異なり、テルマタン硫酸はほぼ一定であるが、コンドロイチン硫酸が正常筋層の約 2 倍の組成比を示す一方、ヒアルロン酸とヘパラン硫酸は約 2 分の 1 に減少していた。この事実は放線菌ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ ABC/AC を用いた酵素消化試験による組織化学的な検討でも証明された。

筋腫核を構築する平滑筋線維や、コラーゲン線維間の充填物質である GAG の動態を明らかにした今回の著者の成績は、子宮筋腫の発育の mediator と考えられるエストロゲンや発育成長因子 (EGF や IGF-I) の作用機序を解明する上で、指標として利用できる有意な成績である。

稿を終えるにあたり、御校閲を賜りました百瀬和夫教授に深謝いたしますとともに、直接御指導いただきました平川舜教授に深甚なる謝意を表します。また生化学実験に際し、終始御指導をいただきました東京薬科大学第 1 生化学教室森陽教授、同伊東晃助教授、および病理学的実験に際し御指導いただきました本教室大村剛講師ならびに本学中央検査室病理、長嶺一夫氏に深く感謝いたします。本論文の要旨は "The Extracellular Matrix and The Reproductive Tract" (Rochester, New York, 1990, May) で発表した。

#### 参考文献

- 1) Novak, E. R. and Woodruff, J. D.: Gynecologic and Obstetric Pathology, 8th ed., 260, Philadelphia, W. B. Saunders, 1979
- 2) Gompel, C. and Silverberg, S. G.: Pathology in Gynecology and Obstetrics, 3rd ed., 209, Philadelphia, J. B. Lippincott, 1985
- 3) Moss, N. S. and Benditt, E. P.: Human atherosclerotic plaque cells and leiomyoma cells, *Am. J. Pathol.*, 78: 175, 1975
- 4) 岡本弘二, 山本宝: 子宮筋腫と内分泌, 産婦人科 MOOK, 野田克巳篇, 98, 東京, 金原出版, 1986
- 5) Friedman, A. J., Rein, M. S., Pandian, M. R. and Barbieri, R. L.: Fasting growth hormone and insulin-like growth factor-I and-II concentrations in women with leiomyomata uteri treated with leuprolide acetate or placebo, *Fertil. Steril.*, 53: 250, 1990
- 6) Hofmann, G. F., Rao, C. V., Barrows, G. H., Schultz, G. S. and Sanfilippo, J. S.: Binding sites for epidermal growth factor in human uterine tissues and leiomyomas, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 58: 880, 1984
- 7) Rein, M. S., Friedman, A. J. and Heffner, L. J.: Decreased prolactin secretion by explant cul-

- tures of fibroids from women treated with a gonadotropin-releasing hormone agonist, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 70: 1554, 1990
- 8) Latterra, J., Silbert, J. E. and Culp, L. A.: Cell surface heparan sulfate mediates some adhesive responses to glycosaminoglycan-binding matrices, including fibronectin, *J. Cell Biol.*, 96: 112, 1983
- 9) Pessac, B. and Defendi, V.: Cell aggregation: Role of acid mucopolysaccharides, *Science*, 175: 898, 1972
- 10) Hata, R., Sunada, H., Arai, K., Sato, T., Ninomiya, Y., Nagai, Y. and Sendo, H.: Regulation of collagen metabolism and cell growth by epidermal growth factor and ascorbate in cultured human skin fibroblast, *Eur. J. Biochem.*, 173: 261, 1988
- 11) 木全弘治: 細胞間マトリックスによる細胞分化の制御, 代謝, 26: 245, 1989
- 12) Brigstock, D. R., Heap, R. B. and Brown, K. D.: Polypeptide growth factors in uterine tissues and secretions, *J. Reprod. Fert.*, 85: 747, 1989
- 13) Lembach, K. J.: Enhanced synthesis and extracellular accumulation of hyaluronic acid during stimulation of quiescent human fibroblasts by mouse epidermal growth factor, *J. Cell Physiol.*, 89: 277, 1976
- 14) Likar, I. N., Likar, L. J. and Robinson, R. W.: Mast cells and hyaluronic acid in the bovine endometrium, *Nature*, 203: 730, 1964
- 15) 大城正道: ヒト女性々器中の酸性グリコサミノグリカンの組成および分布について, 日不妊会誌, 21: 86, 1976
- 16) Loewi, G. and Consden, R.: Acid mucopolysaccharides of human uterus, *Nature*, 195: 148, 1962
- 17) Kivirikko, K. I., Laithinen, O. and Prockop, D. J.: Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine, *Anal. Biochem.*, 19: 249, 1967
- 18) Bitter, T. and Muir, H. M.: A modified uronic acid carbazole reaction, *Anal. Biochem.*, 4: 330, 1962
- 19) Blix, G.: The determination of hexosamines according to Elson and Morgan, *Acta Chem. Scand.*, 2: 467, 1948.
- 20) Hata, R. and Nagai, Y.: A rapid and micro method for separation of acidic glycosaminoglycans by two-dimensional electrophoresis, *Anal. Biochem.*, 45: 462, 1972
- 21) Burton, K.: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid, *Biochem. J.*, 62: 315, 1956
- 22) Yamada, K.: The effect of digestion with streptomycetes hyaluronidase upon certain histochemical reactions of hyaluronic acid-

- containing tissues, *J. Histochem. Cytochem.*, 21: 794, 1973
- 23) Yamada, K.: The effect of digestion with chondroitinases upon certain histochemical reactions of mucosaccharide-containing tissues, *J. Histochem. Cytochem.*, 22: 266, 1974
  - 24) Yamada, K.: Effects of *Streptomyces hyaluronidase* digestion on the histochemical reactions of proteoglycans in cartilage compared with its effects on certain non-cartilaginous tissues, *Histochem. J.*, 14: 149, 1982
  - 25) Endo, M. and Yoshizawa, Z.: Hormonal effect on glycoproteins and glycosaminoglycans in rabbit uteri, *Arch. Biochem. Biophys.*, 156: 397, 1973
  - 26) Takata, K. and Terayama, H.: Hormonal effect on glycosaminoglycans and glycoproteins in uteri of ovariectomized rats, *Biochim. Biophys. Acta*, 500: 333, 1977
  - 27) Tamaya, T., Motoyama, T., Ohono, Y., Ide, N., Tsurusaki, T. and Okada, H.: Estradiol- $17\beta$ -progesterone and  $5\alpha$ -dihydrotestosterone receptors of uterine myometrium and myoma in the human subject, *J. Steroid Biochem.*, 10: 615, 1979
  - 28) Kofoed, J. A., Houssay, A. B., Tocci, A. A. and Curbelo, H. M.: Effects of oestrogens upon glycosaminoglycans in the uterus of rats, *Acta Endocrinol.*, 69: 87, 1972
  - 29) Anderson, J. C.: Glycosaminoglycans and proteoglycans of the reproductive system, 97, Basel, Karger, 1982
  - 30) Ninomiya, Y. and Nagai, Y.: Modulation of glycosaminoglycan synthesis during cell growth as observed in an embryonic chick tendon cell culture, *J. Biochem.*, 86: 111, 1979
  - 31) Kujawa, M. J., Pechak, D. G., Fisman, M. Y. and Caplan, I.: Hyaluronic acid bonded to cell culture surfaces inhibits the program of myogenesis, *Dev. Biol.*, 113: 10, 1986
  - 32) Majack, R. A., Cook, S. C. and Bornstein, P.: Control of smooth muscle cell growth by components of the extracellular matrix: Autocrine role for thrombospondin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 9050, 1986
  - 33) Tommola, P., Pekonen, K. and Rutanen, E. M.: Binding of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I in human myometrium and leiomyomata, *Obstet. Gynecol.*, 74: 658, 1989
  - 34) Ochiai, K.: Cyclic variation and distribution in the concentration of cytosol estrogen and progesterone receptors in the normal human uterus and myoma, *Acta Obstet. Gynecol. Jap.*, 32: 945, 1980
  - 35) Sirbasku, D. A.: Estrogen induction of growth factors specific for hormone responsive mammary, pituitary, and kidney tumor cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75: 3786, 1978

## Biochemical and histochemical analysis of glycosaminoglycans in human uterine tissues and leiomyomas

Shigeo TAKEI

First Department of Obstetrics and Gynecology,  
Toho University School of Medicine,  
Tokyo 143, Japan  
(Director: Prof. Kazuo Momose)

In order to investigate the dynamics of connective tissue components in human uterine leiomyoma, concentrations of collagen and glycosaminoglycans (GAGs) were examined and compared with those found in the normal myometrium. Microscopic examination of these tissues was also performed using enzymatic digestion staining.

Samples of leiomyoma and normal myometrium were obtained from thirteen patients, and the leiomyoma samples were divided into two groups: leiomyoma with a diameter of over 3cm and that with a diameter of less than 3cm.

1. The uronic acid and hexosamine concentrations in the leiomyoma were higher than in the normal myometrium, especially in large leiomyoma nodules ( $p < 0.05$ ).
2. The components of GAGs found in uterine leiomyomas and normal myometrium were dermatan sulfate, chondroitin sulfate, heparan sulfate and hyaluronic acid.
3. Dermatan sulfate was the major component in both uterine leiomyomas and normal myometrium, accounting for 55% and 46% of GAGs, respectively. There was no significant difference found in the distribution of dermatan sulfate.
4. As for distributions of GAGs, chondroitin sulfate in uterine leiomyoma increased about twofold compared with that in the normal myometrium ( $p < 0.05$ ). In contrast, heparan sulfate ( $p < 0.01$ ) and hyaluronic acid ( $p < 0.05$ ) concentrations in leiomyoma decreased to about one-half.
5. Differences in the components of GAGs in uterine leiomyomas and normal myometrium were demonstrated by histochemical staining reaction, using *Streptomyces hyaluronidase* and chondroitinase ABC/AC digestion.

In conclusion, the concentration of GAGs in the leiomyoma studied was higher than that in the normal myometrium; moreover, distribution of GAGs was completely different. These results suggest that activation of GAG metabolism might be a clue to the elucidation of the pathogenesis of leiomyoma.

(受付: 1991年2月20日)

# S字状結腸間膜内に腫瘍を形成した polypoid endometriosis の1例—超微形態学的観察からの一考察—

## Ultrastructural Study of the Polypoid Endometriosis in the Mesentery of Sigmoid Colon

熊本大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 岡村 均教授)

中村 正也 片 渕 秀 隆 水 谷 洋  
Masaya NAKAMURA Hidetaka KATABUCHI Hiroshi MIZUTANI  
北野 洋一郎 松 浦 講 平 岡 村 均  
Yoichiro KITANO Kohei MATSUURA Hitoshi OKAMURA

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Kumamoto University Medical School, Kumamoto 860, Japan  
(Director: Prof. Hitoshi Okamura)

約11年間にわたる子宮内膜症の治療中に polypoid endometriosis を発症した1例を経験したので、超微形態学的観察を中心に報告する。

症例は29歳で、過去2度の開腹術にて、骨盤内性器以外にも及ぶ子宮内膜症が確認されている。今回、2回目のIVF-ETの3か月後、月経周期13日目より腹部膨満感、続いて腰痛・発熱が出現し、同28日目に骨盤腔内に手拳大の腫瘍を認めた。開腹すると、S字状結腸間膜内に白色不透明のゼリー状物と血液・血塊から成る腫瘍がみられ、摘除された腫瘍の重量は約150gであった。腫瘍はいずれの部位も光顕的に正常子宮内膜と類似の形態像をとり、超微形態学的には子宮内膜の分泌期に相当する所見が得られた。以上の臨床経過および組織学的所見から polypoid endometriosis と診断した。

今回の発症誘因の一つに、合併する不妊症への排卵調整による高エストロゲン環境が挙げられ、同様の症例への慎重な対応が望まれる。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 818-824, 1991)

### 緒 言

不妊症に対する診断技術の向上や集学的治療の進歩に伴い子宮内膜症と診断される症例が増加し、またその発生部位や発育形態が多形であることから、特異な病状を呈する症例を経験することがある。特に、良性的疾患であるにもかかわらず、生殖年齢という比較的若年期に発症して以来、長い経過を辿り、病状の変遷や病巣の蔓延をみることがある。

われわれは、19歳時の子宮内膜症の初発以来11年間の経過観察中、2回の開腹術と長期にわたる内分

泌療法を行なった後、S字状結腸間膜内に過手拳大の腫瘍を形成した1例を経験し、子宮内膜症の中でも特異な病態を示す polypoid endometriosis と診断、その超微形態学的観察を行なう機会を得たので、臨床病理学的検討を加え報告する。

### 症 例

患者: 29歳, 養護教諭。

主訴: 腹部膨満感とそれに続く腰痛および発熱。

家族歴: 父方祖母が乳癌, 父親が胃癌。

月経歴: 初経11歳, 月経周期は28日型で整順,

持続は5～7日間で、経時障害として15歳から中等度の腰痛、下腹部痛を自覚している。

妊娠・分娩歴：1回経妊，0回経産。17歳時に人工妊娠中絶術を受けている。

既往歴および現病歴（表1）：1979年10月（19

歳），下腹部左側の疼痛を主訴に近医産婦人科を受診し，腔後壁円蓋部に乳頭状の腫瘤を指摘された。同部の生検により子宮内膜症の診断が得られ，偽妊娠療法を受け縮小傾向を示したが，肝機能障害のために1年6か月後に中止されている。

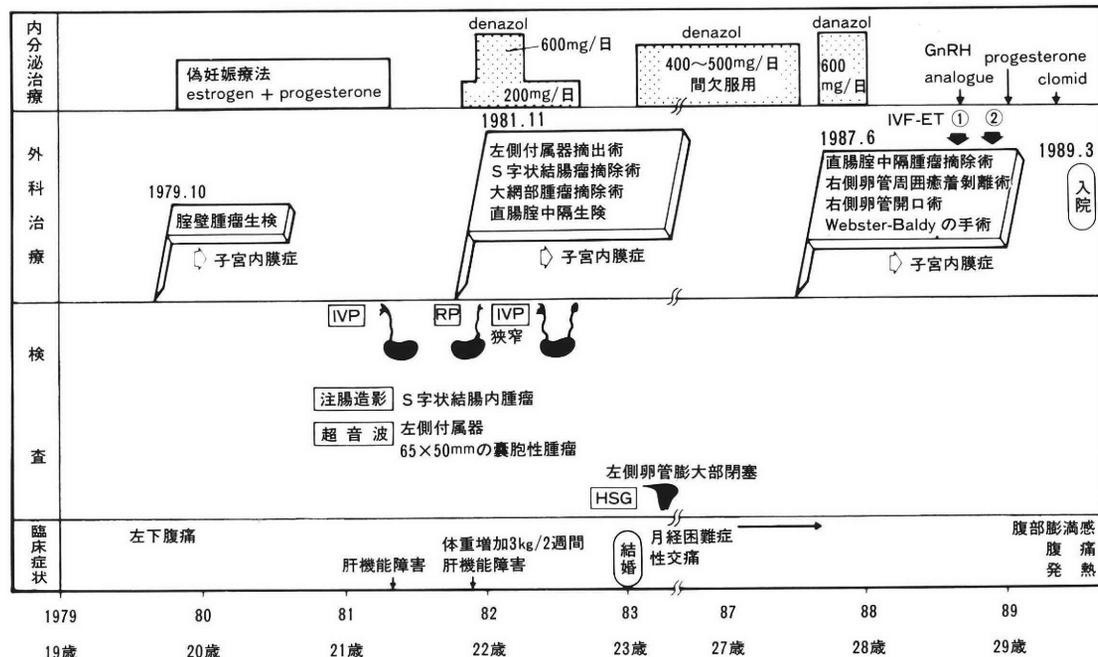


表1 臨床経過

1981年11月(21歳)，偽妊娠療法中止後，症状の改善をみないために当科へ紹介され，精査加療目的にて入院となった。経腹的超音波断層法により左側卵巣に65×50mmの嚢胞性腫瘤が認められた他，IVPおよびDIPにて左側腎盂・尿管は造影されず，RPにて尿管の狭窄が確認された。また，注腸造影にてS字状結腸壁内に腫瘤が認められ，開腹術となった。開腹時，左側卵巣は超鶯卵大のチョコレート嚢胞を形成し，左側基靭帯内・S字状結腸壁内・大網に示指頭大の硬結が認められたことから，左側付属器摘出術，S字状結腸内腫瘤摘除術，大網腫瘤摘除術および直腸腔中隔生検を受けた。組織学的にいずれも子宮内膜症であったことから，その後，外来にて症状に応じて約6年間にわたり danazol 400～600mg/日の間欠的内服を受け，左側尿管の狭窄は消失し，その間23歳で結婚している。

1987年6月(27歳)，HSGにて残存する右側卵管膨大部閉塞と，性交痛，月経困難症の治療目的で再度開腹術となり，直腸腔中隔内腫瘤摘除術，右側卵管周囲癒着剝離術，右側卵管開口術およびWeb-

ster-Baldy法による子宮位置矯正術を受けた。術後4ヶ月間，danazol 600mg/日を服用し，月経困難症は著明に改善した。1988年9月および12月にIVF-ETを受けたが，妊娠成立には至らなかった。

1989年2月14日から5日間の月経がみられ，クロミッド50mg/日を5日間内服，同月経周期(CD)の13日目より腹部膨満感が出現，基礎体温上高温相に移行したCD18日目から増強し，CD21日目に当科を受診した。双合診にて子宮の左上方に手拳大の圧痛のある腫瘤が認められた。CD27日目から腹部膨満感が増強し，腹痛と37℃台の発熱を伴うようになり，3月13日(CD28日目)当科入院となった。

入院時所見：身長165.0cm，体重57.0kg，体温37.6℃，血圧120/78mmHg，脈拍72/分整。下腹部正中に手術痕がみられ，外診にて下腹部にdefenceを認め，双合診で膈下1横指を頂点とする弾性軟な腫瘤を子宮後面に連続して触知し，右側付属器領域に小リング大の圧痛のある腫瘤を触知したが，両者間に間隙がみられた。さらに，ダグラス窩に結節状

の腫瘍を認め、左側子宮傍組織にも抵抗を触れた。検査所見では、血液像、血液生化学検査で、白血球数が $10,400/\text{mm}^3$ と上昇している他は異常はなかった。出血時間は3分30秒、胸部単純X線写真・心電図では異常は認められなかった。経腹的超音波断層法で、子宮後面に $75 \times 68 \times 90 \text{ mm}$ の腫瘍が子宮に接して存在し、その内部は一部 hyperechoic であった。

入院経過：入院同日、腹腔内出血の疑いにて開腹術を行った。腹腔内の約100gの血液を除去後、S字状結腸を挙上すると、S字状結腸間膜内に過手拳大の腫瘍が認められた(写真1)。腫瘍は左側骨盤壁

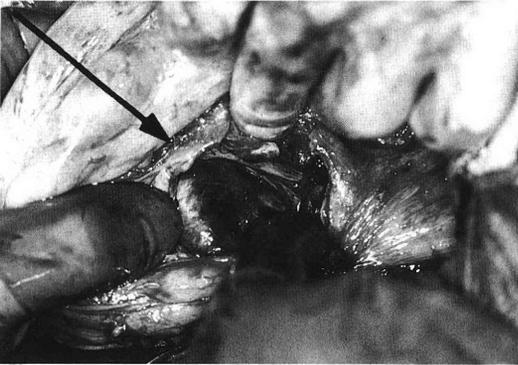


写真1 開腹時所見

から子宮後壁にかけて強固に癒着し、大網との癒着部位は一部破綻していた。右側卵巢は鶯卵大で嚢胞状を呈し、右側卵管は卵巣に癒着し、卵管間膜と卵管采は消失していた(図1)。S字状結腸間膜内腫瘍



図1 開腹時所見の模式図

除去術および右側卵巢腫瘍摘除術を行った。腸間膜内腫瘍は、白色不透明のゼリー状物と血液・血塊から成り、全重量は150g、右側卵巢腫瘍内容液は黄色透明で、一部に血腫を形成していた。

術後早期からGn-RH analogue  $900 \mu\text{g}/\text{日}$ の経鼻投与を行い、外来にて経過観察中である。

光顕的観察：ゼリー状物を構成する組織は、どの部位も腺管と間質から構成され、子宮内膜と同様の構造を呈していた。しかし、間質の全体に占める割合は大きく、毛細血管が豊富に認められた(写真2)。腺管の多くは迂曲、開大し、腺細胞には活発な分泌像が観察された。間質は浮腫状を呈し、その間にエオジン好性の絮状物が入り、炎症細胞の浸潤が認められた(写真3)。これらの所見から子宮内膜症と診

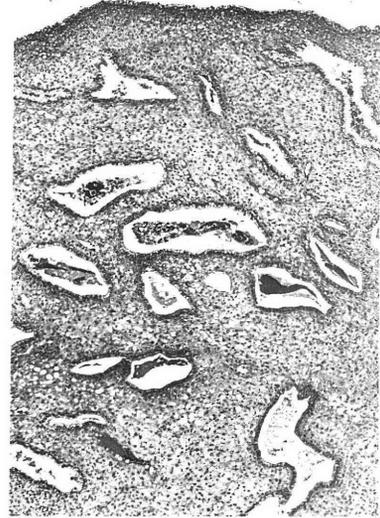


写真2 腺管と間質から成り、子宮内膜と同様の構造を呈している。(H&E染色 ×10)



写真3 腺管は迂曲、開大し、細胞は分泌像が著明で、間質は浮腫状を呈し、炎症細胞の浸潤がみられる。(H&E染色 ×40)

断した。なお、摘除した卵巣腫瘍には、黄体血腫が確認された。

電顕的観察：ゼリー状物は超微形態学的に、上皮細胞-基底膜-間質と規則的な配列を成していた(写真4)。上皮内には上皮細胞との間に接着装置を有しない大型の遊離状単核細胞が観察され、細胞質内に貪食顆粒やライソゾームが豊富に認められた(写真

5)。上皮細胞の多くは無線毛で、腺腔側に長短様々の微絨毛が不規則に配列し、中にはばち状を呈するものも見られた(写真6)。核は類円形で基底側へ偏在し、細胞質内は拡張した粗面小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ装置の小器官が発達し、脂質顆粒も散見され、細胞質の一部が腺腔側に強く膨隆し、アポクリン様分泌像を呈している像もみられた(写真6)。

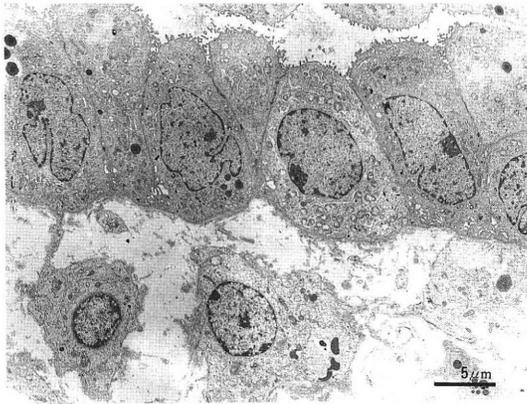


写真4 上皮細胞-基底膜-間質と規則的な配列を成す。(酢酸ウラン+クエン酸鉛染色)

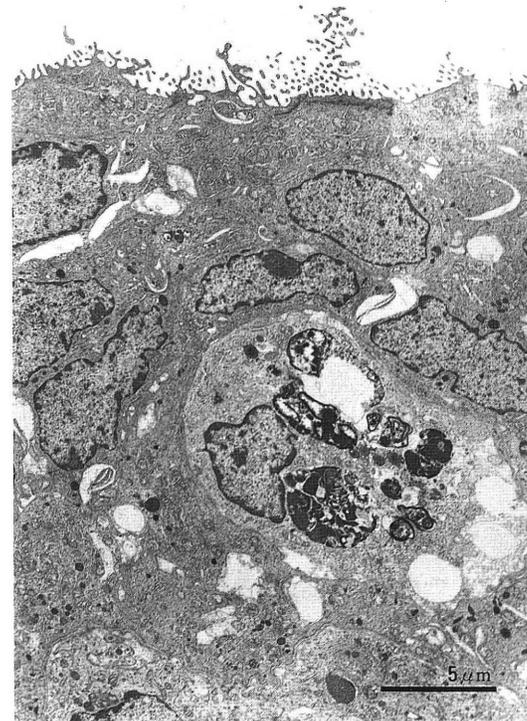


写真5 上皮内には遊離状単核細胞が観察され、細胞質内には貪食顆粒やライソゾームが豊富である。(酢酸ウラン+クエン酸鉛染色)

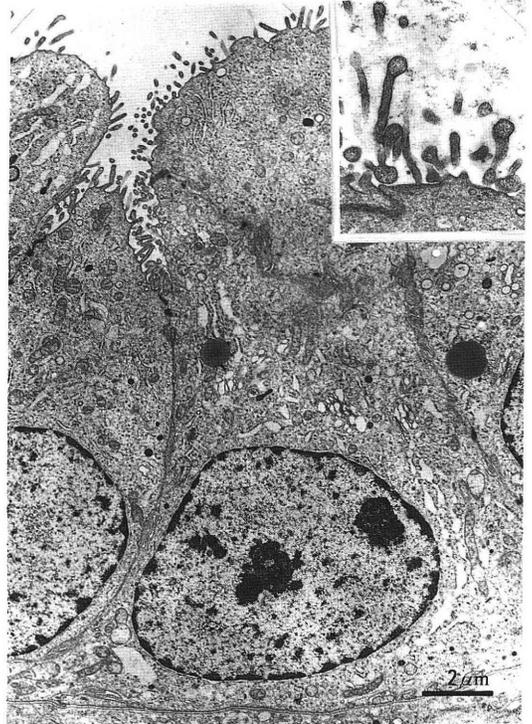


写真6 上皮細胞腺腔側には微絨毛が見られ、類円形の核は基底側に偏在し、細胞内小器官は発達している。右上：棍棒状の微絨毛がみられる。(酢酸ウラン+クエン酸鉛染色)

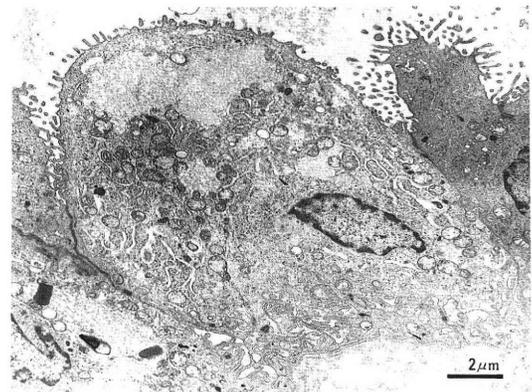


写真7 細胞質の腺腔側にグリコーゲン顆粒の密集を見る。(酢酸ウラン+クエン酸鉛染色)

6). また, 細胞質の腺腔側にグリコーゲン顆粒が密集している像も観察された(写真7). また, 一部の上皮細胞には線毛が観察され, その中心部には規則的に配置された microtubules, いわゆる axial filament complex が確認された(写真8). 一方, 間質細胞は

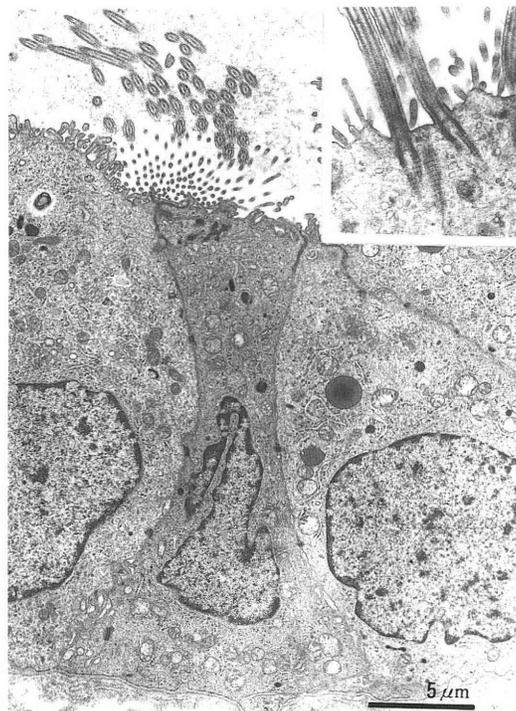


写真8 線毛を有する上皮細胞もみられる。右上: 線毛には axial filament complex が認められる。(酢酸ウラン+クエン酸鉛染色)

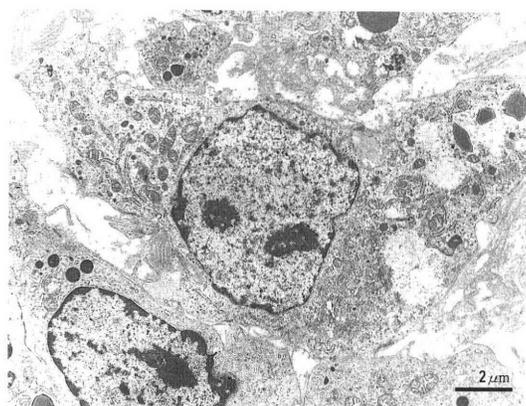


写真9 間質細胞の細胞質は豊富で, 細胞内小器官が発達し, フィラメントの減少が見られる。(酢酸ウラン+クエン酸鉛染色)

細胞質が比較的豊富で, リボゾーム, 粗面小胞体, 類円型のミトコンドリアが増加し, グリコーゲン顆粒や脂質顆粒も見られる反面, 通常の子宮内膜間質細胞にみられるフィラメントは殆んど認められなかった(写真9). 以上の超微形態学的所見は, 正常子宮内膜の分泌期の初期から中期にみられる特徴を備えていた.

## 考 察

子宮内膜症は組織学的には類腫瘍性病変として取り扱われる良性疾患でありながら, 時期を異にして新たに発生したり, また増殖と浸潤を繰り返す, 周囲組織を巻き込み破壊するという腫瘍的性格を有している. 一方, 限局した子宮内膜症の腫瘍や嚢胞に対して臨床的に“endometrioma”という語が用いられていることは, 子宮内膜症が決して腫瘍という概念から切り離して考えられない一面を示している. この様な特異な entity を有する子宮内膜症の特殊な病態のひとつとして, 1909年に Meyer<sup>1)</sup>が報告した polypoid endometriosis がある. 肉眼的には, 多発性の灰白色のポリープ様腫瘍として認められ, 組織学的には子宮内膜ポリープ類似の組織構築をとる. しかし, その摘除後も再発を繰り返したり, 消化管に潰瘍や閉塞を惹起する臨床的病態を示すことから, “malignant endometriosis” という概念の中で取り扱われる傾向にある<sup>2-5)</sup>.

今回われわれが経験した症例は, 肉眼的所見は Meyer の報告と趣きを異にするが, その初回の報告以来<sup>6)</sup>, 長期間にわたり子宮内膜症に伴った重篤な症状を繰り返す, 2回の外科的治療や内分泌療法にもかかわらず, 今回の様な病状を呈するに至った臨床像と病理組織学的所見から polypoid endometriosis と診断した.

これまでに polypoid endometriosis の報告は少なく<sup>2-5,7-10)</sup>, 超微形態学的にその構造を確認した報告はわれわれが渉猟し得た範囲では本例が最初と思われる. 本例の超微形態学的観察では, 病巣は上皮細胞-基底膜-間質という規則的な構築を成し, 上皮内には子宮内膜で認められる large granular lymphocytes (pit 細胞)<sup>11)</sup>と考えられる遊離状単核細胞も確認された. さらに, 上皮細胞には棍棒状のやや拡張した微絨毛がみられ, 細胞質内の小器官はよく発達し, アポクリン様の分泌像や主に腺腔側の細胞質内にグリコーゲン顆粒の密集が観察された. また, 間質細胞の細胞内小器官も発達が良好である一方で線維構造が殆んど認められなかった. これらの所見は子宮内膜の分泌期の初期から中期に見られる

超微形態像<sup>12,13)</sup>に一致し、発症した月経周期に比較的關係している。しかし、正常の子宮内膜で排卵後にみられる上皮細胞の giant mitochondria や nuclear channel systems は確認されなかった<sup>14,15)</sup>。

子宮内膜症の病巣がステロイドホルモンに依存し、正所にある子宮内膜と同様に月経周期に即した変化を起こすことは従来の形態学的検討のみならず、最近の受容体の解析<sup>16,17)</sup>からも明らかとなり、danazol や gestrinone, GnRH-analogue 等を用いた内分泌療法に反映されている。しかしながら、両者間に臨床的にも組織学的にもステロイドホルモンの依存性に相違が存在する例も多く認められる<sup>18)</sup>。今回の polypoid endometriosis の症例では、先に示した超微形態像からステロイドホルモンに依存した症例であることが間接的に示され、その発症の直接的・間接的誘因のひとつとして、合併する不妊症に対して行った排卵誘発療法が考えられる。しかしながら、それだけでは通常の子宮内膜症病変とは趣きを異にした今回の急激な腫瘤形成に至った経緯を説明できない。

近年、ヒトやサルの子宮内膜症の症例で細胞性免疫能が低下していることが指摘され<sup>19,20)</sup>。その発症には免疫能の抑制が関わっているのではないかと推測されている。そこで、本例の発症時の免疫能について、われわれが従来より子宮頸癌患者の細胞性免疫能の指標としている抗原特異的 HLA 拘束性キラー T 細胞活性 (K T 活性)<sup>21)</sup>を測定してみたが、Regression index は 26.7 (I R<sub>50</sub> × 10<sup>4</sup>/ml: Reedman-Munch 法) であり、子宮頸癌患者にみられる有意な低下は認められなかった。

子宮内膜症の 0.6~0.8% に上皮性悪性腫瘍が発症するとされているが<sup>22,23)</sup>、その組織学的証明が極めて難しいことから、実際はそれ以上の頻度で存在すると考えられる。一方、その中には内因性あるいは外因性のエストロゲンによって悪性化や増悪したと考えられる症例が存在することも指摘されている<sup>10,24)</sup>。従って、子宮内膜症患者の不妊症治療の一環として行われる排卵調整の際に高エストロゲン環境が招来されることは、特に danazol や GnRH-analogue 等による内分泌療法が奏効している子宮内膜症症例において、polypoid endometriosis, ひいては悪性腫瘍を人工的に発生せしめる可能性があり、慎重な対応が望まれる。本例は現在、主に GnRH-analogue を用いた子宮内膜症への対症療法を行い、不妊症に対する積極的な治療は行わず、経過観察中である。(本論文の要旨は第 11 回エンドメトリオーシス研究会 (1990 年 1 月 26 日, 東京) で発表した。)

## 文 献

- 1) Meyer, R.: Über entzündliche heterotope Epithelwucherungen im weiblichen Genitalgebiete und über eine bis in die Wurzel des Mesocolon ausgedehnte benigne Wucherung des Darmepithels, Virchows Arch. Path. Anat., 195: 487, 1909
- 2) Ferraro, L. R., Hetz, F. and Carter, H.: Malignant endometriosis, Obstet. Gynecol., 7: 32, 1956
- 3) Cantor, J. O., Fenoglio, C. M. and Richart, R. M.: A case of extensive abdominal endometriosis, Am. J. Obstet. Gynecol., 134: 846, 1979
- 4) Crum, C. P., Wible, J., Frick, H. C., Fenoglio, C. M., Richart, R. M. and Williamson, S.: A case of extensive pelvic endometriosis terminating in endometrial sarcoma, Am. J. Obstet. Gynecol., 140: 718, 1981
- 5) Clement, P. B.: Pathology of Endometriosis, Pathol. annual., 25: 245, 1990
- 6) Matsuura, K., Kawasaki, N., Oka, M., II, H. and Maeyama, M.: Treatment with danazol of ureteral obstruction caused by endometriosis, Acta Obstet. Gynecol. Scand., 64: 339, 1985
- 7) 上平謙二: Polypoid endometriosis, 第 1 回卵巢腫瘍症例検討会記事録, 1990
- 8) Benz, E. J., Dockerty, M. B. and Dixon, C. F.: Polypoid endometriosis of colon. Report of a case in which unusual pathologic features were present, Proc. Mayo. Clin., 27: 201, 1952
- 9) Scully, R. E., Richardson, G. E. and Barlow, J. F.: The development of malignancy in endometriosis, Clin. Obstet. Gynecol., 9: 384, 1966
- 10) Mostoufizadeh, M. and Scully, R. E.: Malignant tumors arising in endometriosis, Clin. Obstet. Gynecol., 23: 951, 1980
- 11) Kanada, K., Dan, C. and Wake, K.: Pit cells as natural killer cells, Biomed. Res., 4: 567, 1983
- 12) 榎木 勇, 竹口尚道, 島岡昌幸, 中島徳朗: 子宮内膜の構造, 産と婦, 43: 1, 1976
- 13) 明石英史: 人体組織学 6. 内分泌器・生殖器 (永野俊雄, 橋本正淑編), 371, 朝倉書店, 東京, 1985
- 14) Schweppe, K. W. and Wynn, R. M.: Ultrastructural changes in endometriotic implants during menstrual cycle, Obstet. Gynecol., 58: 465, 1981
- 15) Schweppe, K. W., Wynn, R. M., Beller, F. K.: Ultrastructural comparison of endometriotic implants and eutopic endometrium, Am. J. Obstet. Gynecol., 148: 1024, 1984
- 16) Tamaya, T., Motoyama, T., Ohono, Y., Ide, N., Tsurusaki, T. and Okada, H.: Steroid receptor levels and histology of endometriosis and adenomyosis, Fertil. Steril., 31: 396, 1979
- 17) Janne, O., Kauppila, A., Kokko, E., Lantto, T.,

- Ronnberg, L. and Vihko, R.: Estrogen and progestin receptors in endometriosis lesions: Comparison with endometrial tissue, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 141: 562, 1981
- 18) Kauppila, A., Isomaa, V., Ronnberg, L., Vierikko, P. and Vihko, R.: Effect of gestrinone in endometriosis tissue and endometrium, *Fertil. Steril.*, 44: 466, 1985
- 19) Dmowski, W. P., Steele, R. W. and Baker, G. F.: Deficient cellular immunity in endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 141: 377, 1981
- 20) Steele, R. W., Dmowski, W. P. and Marmer, D. J.: Immunologic Aspects of human endometriosis, *Am. J. Reprod. Immunol.*, 6: 33, 1984
- 21) 北野洋一郎, 藤崎俊一, 岡村 均: 子宮頸癌患者のキラーT細胞活性-Epstein-Barr virus 特異的キラーT細胞活性を指標として-, *日産婦誌*, 40: 647, 1988
- 22) Corner, G. W., Hu, C. Y. Jr. and Hertig, A. T.: Ovarian carcinoma arising in endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 59: 760, 1950
- 23) Scully, R. E., Richardson, G. S. and Barlow, J. F.: The development of malignancy in endometriosis, *Clin. Obstet. Gynecol.*, 9: 384, 1966
- 24) 山辺 徹, 今村定臣: 産婦人科 MOOK 子宮内膜症 (坂元正一, 滝 一郎編), 264, 金原出版, 東京, 1983

Masaya Nakamura, Hidetaka Katabuchi,  
Hiroshi Mizutani, Yoichiro Kitano,  
Kohei Matsuura and Hitoshi Okamura

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Kumamoto University Medical School,  
Kumamoto 860, Japan

We report a rare case of polypoid endometriosis in the mesenterium of sigmoid colon.

The patient was a 29-years-old woman, gravida 1, para 0, who had received danazol therapy followed by two cytoreductive surgeries for pelvic endometriosis during 11 years. She was admitted with complaints of acute abdominal distension, low back pain and a slight fever at 28th cycle date. On physical examination, an elastic soft mass, small apple in size, was found in the left adnexal region. At laparotomy, a whitish mass mixed with blood of over fist size, formed a jelly in the mesenterium of sigmoid colon. The light microscopic features resembled those of normal endometrium. Electron microscopy revealed the early and mid-secretory phase endometrium. From these findings, we diagnosed this case as polypoid endometriosis.

High estrogen environment by ovulation induction for IVF-ET in an infertile woman with endometriosis might be a causative factor for the present polypoid endometriosis.

(受付: 1991年1月28日)

**Ultrastructural study  
of the polypoid endomet-  
riosis in the mesenterium  
of sigmoid colon**

## 配偶者間人工授精 (A I H) 後経ダグラス窩 精子回収試験の有用性

### Clinical Significance of Transvaginal Sperm Recovery Test after Artificial Insemination with Husband's Semen

聖マリアンナ医科大学産婦人科教室

栗林 靖 齋藤 寿一郎 近藤 俊彦  
Yasushi KURIBAYASHI Juichiro SAITO Toshihiko KONDO  
渡辺 研一 堀越 裕史 大野 祐子  
Kenichi WATANABE Hiroshi HORIKOSHI Yuko OHNO  
石塚 文平 浜田 宏  
Bunpei ISHIZUKA Hiroshi HAMADA

Department of Obstetrics and Gynecology,  
St. Marianna University, School of Medicine  
Kanagawa 216, Japan

精子卵管通過性検査として、A I H後腹腔鏡下精子回収試験 (L-SRT) が行われている。しかし、精子卵管通過性は月経周期中の施行時期、精液所見の良否にともない変化する可能性がある。そこで、外来ベースで反復検査の行い得るA I H後経ダグラス窩精子回収試験 (TV-SRT) を試み、以下の結果を得た。

- 1) L-SRT, TV-SRT の陽性率は、それぞれ 41%, 54% で有意差はなかった。
- 2) L-SRT, TV-SRT および卵管内吸引を同日に施行した 10 例の結果は、精子回収の有無について 100% 一致した。
- 3) 推定排卵日 - 4 日以前, + 3 日以降において S R T 陽性例はなかった。
- 4) S R T 陽性群, 陰性群の平均運動精子濃度は、それぞれ  $90.08 \pm 71.92 \times 10^6 / \text{ml}$ ,  $11.46 \pm 12.63 \times 10^6 / \text{ml}$  で、陽性群が有意 ( $P < 0.01$ ) に高かった。
- 5) TV-SRT を反復施行した症例において、施行時期、精液性状の相違により S R T の結果が異なることが示された。

以上より、S R T 所見は種々の状況で変化する可能性があり繰り返し検査の行える TV-SRT は、A I H などの不妊治療の適応およびその timing を決定するうえで臨床上有用な検査と思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 825—830, 1991)

#### 緒 言

精子の子宮腔への移動を確かめる方法として広く postcoital test (PCT) が行われ、P C T 不良例に対しては、早期に配偶者間人工授精 (artificial insemination with husband's semen; AIH) が行われる傾向

にある。しかしながら、より適切な治療方針の選択のためには子宮腔から卵管膨大部への精子の輸送、すなわち精子卵管通過性の確認が必要である。

この点を評価する方法として以前より A I H 後腹腔鏡下精子回収試験 (Laparoscopic sperm recovery test; L-SRT) が行われており unexplained infer-

tility 症例において 50～80% の回収率が報告されている<sup>1)4)</sup>。

精子卵管通過性は、月経周期中の施行時期、精液所見の良否にともない変化する可能性がある。しかし、L-SRT は侵襲が大きく、全身麻酔を必要とすることなどより、施行の timing の調節がむずかしく、反復して行うことが困難である。そこで、今回我々は一般外来診療において行い得る A I H 後経ダグラス窩精子回収試験 (Transvaginal sperm recovery test; TV-SRT) を試み、その所見が L-SRT 所見と一致することを確認したうえで、これら両者による S R T 所見が、女性側の月経周期中の施行時期、男性側の精液所見の変化により異なるか否かを検討した。

### 対象と方法

対象は、聖マリアンナ医科大学病院不妊外来受診中の 53 例、101 周期、平均年齢は、32.8 歳 (25～45 歳)、平均不妊期間は、5.4 年 (1～15 年) であった。その内訳は、原発性不妊 40 例、続発性不妊 13 例、不妊原因は、排卵因子 6 例、卵管因子 10 例、着床因子 2 例、男性因子 22 例、原因不明 11 例、内膜症 21 例 (21 例中 19 例は R-AFS 分類 stage 1, 2 例は stage 2) であった。全例、子宮卵管造影法あるいは、腹腔鏡下色素通水法にて、少なくとも片側の卵管疎通性が確認されている。精液の性状は、正常精液 19 例、乏精子症 29 例、精子無力症 3 例、乏奇形精子無力症 2 例であった。

L-SRT は 38 例 38 周期施行、TV-SRT は 31 例 63 周期に施行し、TV-SRT を 2 回以上施行した症例は 21 例であった。

方法としては、排卵をコントロールするため原則として hMG-hCG による排卵誘発をおこない、排卵日の推定は、prospective には経陰超音波断層法 (東芝メディカル社製 Model. SSA-250A) による卵胞計測、尿中 LH 半定量にて、retrospective には R I A による血中 E<sub>2</sub>, progesteron の定量によりおこなった。精液は 4～5 日間禁欲後、手動的に採取した。精液の処理は、80% Percoll 攪拌密度勾配法 (Percoll 法)<sup>5)6)</sup> を用い、飯塚式授精針にて SRT 施行 2～4 時間前に 0.2 ml を子宮腔内に注入した。

1) TV-SRT: 卵胞計測は、月経周期第 8～9 日より開始し、主席卵胞径が 18 mm に到った時点で hMG を中止、中止 24 時間後に hCG を投与し 34～36 時間後、前述のごとく A I H を施行した。TV-SRT 施行直前に塩化ベソゼトニウム液 (0.02% ハイアミン液) で十分に腔内を洗浄、腔内容を検鏡し A I H の

際の精子の混入のないことを確認した後に、後陰門蓋により 20 G, 0.09×70 mm カテラン針 (テルモ社) にてダグラス窩を穿刺吸引または生理食塩液 10 ml にて flush し、直ちに検鏡した (図 1)。

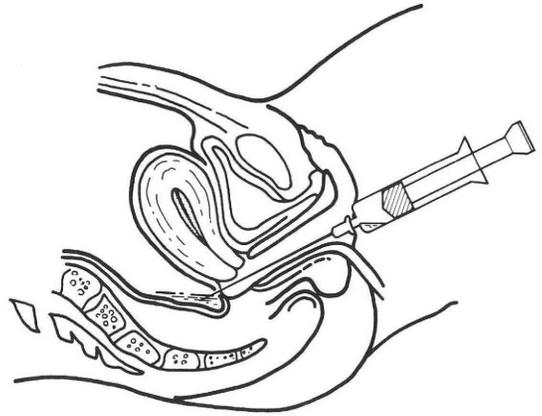


図 1 TV-SRT 施行法、後陰門蓋より 20 G, 0.90×70 mm カテラン針にてダグラス窩を穿刺吸引。

2) L-SRT: hMG による排卵誘発は同様に行った。気管内麻酔開始直後、気腹開始直前に前述のごとく TV-SRT 行い、腹腔鏡挿入直後ダグラス窩より腹水を吸引、または生理食塩液 10 ml にて flush し直ちに検鏡した。また GIFT Catheter (COOK 社 K-GIFT-1010, 1020, 103) および GIFT TUBE (富士システムズ社) を用いて卵管内を生理食塩液 50  $\mu$ l にて flush し吸引直ちに検鏡した。

S R T の判定法は吸引した腹水または flush した生理食塩液 7  $\mu$ l をスライドガラス上に滴下し 400 倍で検鏡、全視野に 1 個でも精子を認めれば陽性とし精子尾部の鞭毛運動を認めれば運動精子とした。また、赤血球の混入があり検鏡で不明なものは、10% KOH 1.0 ml を滴下し 500×g, 10 分間遠沈、上清除去後、蒸留水 15  $\mu$ l を添加し同様に検鏡した。

統計学的処理は、Student's test および Chis quare test を用いて行った。

### 結 果

卵管内吸引を含む L-SRT と TV-SRT を同日に施行した 10 例における 3 者の結果は、精子回収の有無につき 100% 一致した。S R T の腹水中精子回収率は、L-SRT 42.1% (16/38), TV-SRT 54.0% (34/63) で有意差はなかった。不妊原因別の S R T の腹水中精子回収率は、各施行周期につき、排卵因子 88.33% (10/12), 卵管因子 66.67% (10/15), 着床因子 100% (3/3), 男性因子 50.89%

(29 / 57), 原因不明 45.00 % (9 / 20), および内  
膜症 36.11 % (13 / 36) であり, 内膜症群の陽性率  
が最も低く, 排卵因子群の陽性率との間には有意差  
( $P > 0.02$ ) があつた.

推定排卵日よりの日数別に S R T の成績を検討す

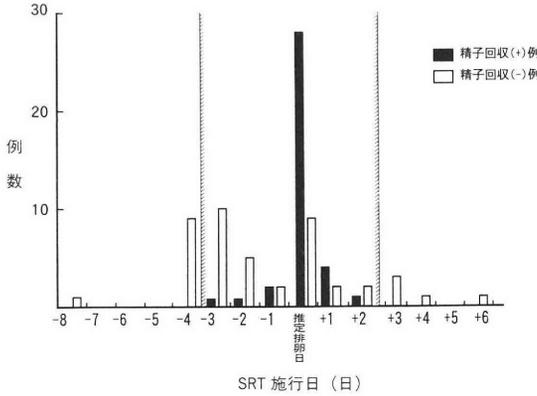


図2 推定排卵日よりの日数別の S R T 成績.

ると, -4日以前と+3日以降において S R T 陽性例  
はなかつた(図2). S R T 陽性率は, 日数別には, -  
3日 8.33 % (1 / 12), -2日 16.67 % (1 / 6), -  
1日 50.00 % (2 / 4), 推定排卵日 75.68 % (28 /  
37), +1日 60.00 % (3 / 5), +2日 33.33 % (1  
/ 3) であり, 陽性例の 77.78 % (28 / 36) は推定  
排卵日に施行した症例であり, 推定排卵日における  
陽性率は, -3日, -2日における陽性率よりも有意  
(それぞれ  $P > 0.01$ ,  $P > 0.02$ ) に高かつた. S R T  
施行日が推定排卵日-3日から+2日の間であつた  
群と-4日以前, +3日以降の群の平均精子濃度  
(mean  $\pm$  S. D.) と平均精子運動率 (mean  $\pm$  S. D.)  
は, それぞれ,  $115.36 \pm 88.89 \times 10^6 / \text{ml}$ ,  $63.63 \pm$   
 $32.31 \times 10^6 / \text{ml}$  と  $49.16 \pm 23.87 \%$ ,  $34.75 \pm 22.65$   
% で有意差はなかつた.

Percoll 処理後 A I H 時の精子濃度別の S R T の  
成績は, 精子濃度  $100 \times 10^6 / \text{ml}$  以上では S R T 陽性  
率が高く,  $80 \times 10^6 / \text{ml}$  以下では S R T 陰性率が高  
い傾向にあり, S R T 陽性例の精子濃度下限は  $17 \times$   
 $10^6 / \text{ml}$  であつた(図3). また, Percoll 処理による  
A I H 時の精子運動率別の S R T の成績は, 精子  
運動率が高いほど S R T 陽性率も高い傾向にあり,  
S R T 陽性例の精子運動率下限は 17% であつた(図  
4). S R T 陽性群と S R T 陰性群の平均運動精子濃  
度 (mean  $\pm$  S. D.) は, それぞれ  $90.08 \pm 71.92 \times 10^6$   
 $/ \text{ml}$ ,  $11.46 \pm 12.63 \times 10^6 / \text{ml}$  で, S R T 陽性例で  
有意 ( $P > 0.01$ ) に高かつた(図5).

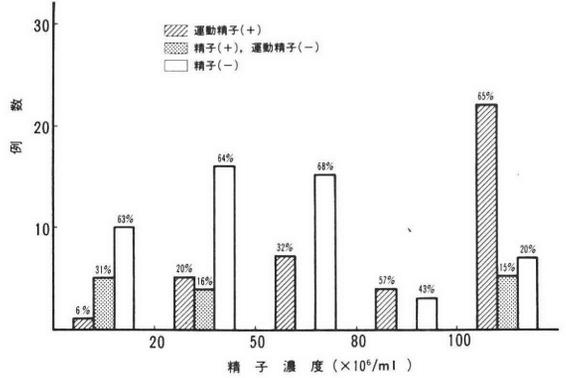


図3 Percoll 処理後 A I H 時の精子濃度別の S R T 成  
績.

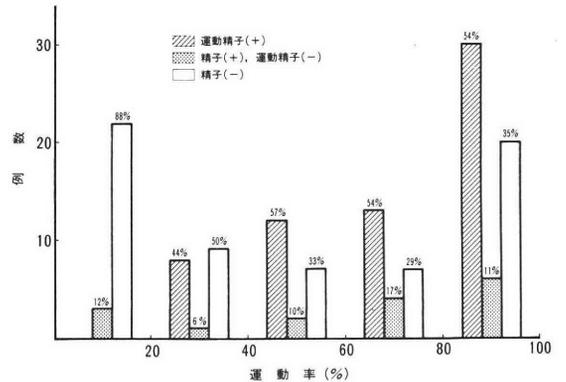


図4 Percoll 処理後 A I H 時の精子運動率別の S R T 成  
績.

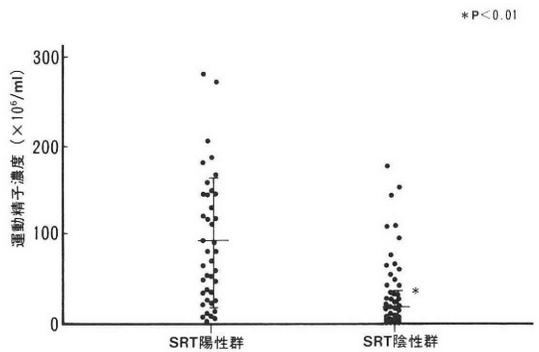


図5 S R T 陽性群と S R T 陰性群の運動精子濃度  
(Mean  $\pm$  S. D.).

次に, 同一患者において, S R T 施行日, 精液の  
性状の違いによって S R T の結果が異なつた症例を  
呈示する.

### 症 例

31歳, 続発性不妊, 不妊原因は男性因子で軽度乏  
精子症, 不妊期間は6.0年, 腹腔鏡では正常骨盤腔,

表1 異なる月経周期4サイクルにL-SRTを1回, TV-SRTを3回施行した症例

年月日	方法	推定排卵日との差(日)	精液所見 (Percoll 法処理後)			S R T	
			濃度 ( $\times 10^6/ml$ )	運動率 (%)	運動精子濃度 ( $\times 10^6/ml$ )	精子	運動精子
1990. 1. 23	L-SRT	+ 3	54	30	16.2	-	-
1990. 7. 13	TV-SRT	- 2	68	87	59.16	-	-
1990. 8. 9	TV-SRT	0	218	63	137.34	+	-
1990.11. 8	TV-SRT	+ 1	261	53	138.33	+	+

両側卵管疎通性を認めた。異なる月経周期4サイクルにL-SRT 1回, TV-SRT 3回施行した(表1)。推定排卵日と精液所見の変化により, S R Tの成績が異なることが示され, 1回のみS R Tでは, 正確に精子卵管通過性を評価できないことが示された。

### 考 察

1976年, Asch<sup>1)</sup>がSims-Huhner test 不良例における性交後L-SRTの成績を発表して以来精子卵管通過性検査としてのS R Tについてはいくつかの報告がある。Templetonら<sup>2)3)</sup>は, unexplained infertility 症例に性交後とA I H後の2通りの方法でL-SRTを施行し57%の精子回収率を認め, S R T陽性群はS R T陰性群より高い妊娠率であったと報告している。しかしながら一方ではS R T陰性群にも妊娠例が認められている。このことは, S R Tが女性側の月経周期, 男性側の精液所見など種々の要因により変化する可能性があり, 1回のS R T所見で精子卵管通過性を判断するのは危険であることを示している。この点TV-SRTは侵襲が比較的少なく, 外来ペースで施行可能であり, 種々の要因の変化に対応が可能であると思われる。今回の我々の検討では, TV-SRTとL-SRTを同日に施行したS R Tの成績は, 100%一致した。このことより, TV-SRTはL-SRTの代用として十分使用し得ると思われた。Kellyら<sup>7)</sup>は, TV-SRTの際, 腔内の精子の混入を指摘しているが, 今回の我々のdataは性交後でなくA I H後のS R Tであり, TV-SRT施行直前に腔内洗浄を十分行い, 腔内容を吸引検鏡し精子の存在の無いことを確認したことより腔内精子の混入によるfalse positiveの発生を回避し得たと考える。

L-SRTおよびTV-SRTを用いて月経周期中の施行時期別にS R T陽性率を検討すると, 推定排卵日-4日以前と+3日以降にS R T陽性例は認められず, 受精の場である卵管膨大部への精子の移動は女性側の周期的に変化する何らかの因子に左右されることが強く示唆された。推定排卵日-3日より+2日という期間は性ステロイドの分泌が劇的に変化する

時期であり<sup>8)</sup>, この現象をestrogen, progesteronなどの個々の性ステロイドの作用と単純に結びつけることは難しい。むしろ, S R T陽性例のほとんどが推定排卵日に集中している(77.78%)ことより, 精子卵管通過性が排卵現象と関連した何らかの局所的な因子に左右されているとも推察される。卵管子宮口より卵管膨大部への精子の移動はそのスピードより考えて, 単に能動的な精子の運動によるだけでなく卵管の蠕動運動, 線毛運動などの受動的因子に影響されているものと考えられ<sup>9)</sup>, 近年, これらの輸送機能は, 排卵前後に変化するとの報告もあり<sup>11)15)16)</sup>今回我々の得たdataとこれらの現象との関連性が注目される。佐藤<sup>11)</sup>は, 月経周期中に卵管内prostaglandin活性, oxytocin感受性が峡部および膨大部において大きく変化し, しかも, その変化は排卵期に急激に起こると報告している。この変化の時期は推定排卵日-3日から+2日に一致し, 我々の今回得た精子卵管通過性に関する所見と時期的に一致している。しかしながら, 今回のdataはhMG-hCG周期によるものであり自然排卵周期で同様の現象が認められるか否かは今後検討しなければならない。

柴原ら<sup>12)</sup>は, A I H後L-SRTを用いて子宮内膜症症例における卵管精子通過性を検討し, 対照群との間に有意差はなかったと報告している。我々の今回の検討では子宮内膜症(R-AFS分類stage 1, 2)における精子回収率は低く, 特に排卵因子による不妊症例に対しては有意差を得た。柴原らの報告には月経周期中の施行時期に関する記載はなく, 対照群の精子回収率が23.8%と低いことよりS R T施行時期によって結果が修飾されていることも考えられる。すなわち, 今回我々の得た結果はMuseら<sup>13)</sup>の言う, 子宮内膜症における精子輸送障害因子の存在を再び示唆するものと言える。

S R Tの結果を左右する男性側の因子に関して, Templetonら<sup>2)3)</sup>は精子運動率のみで精子濃度は影響しないとしている。また, 柴原ら<sup>14)</sup>は, A I H後L-SRTにおいてS R T陽性の精子濃度下限は $18 \times 10^6 / ml$ で精子運動率50%未満では精子回収率は認め

ず、精子回収には精子濃度  $20 \times 10^6 / \text{ml}$  以上、精子運動率 50% 以上を必要と報告し、精子運動率のみでなく精子濃度も関与していると述べている。今回の我々の検討は Percoll 法処理精液を用いたものであるが、精子濃度、精子運動率のいずれも SRT 陽性例で有意に高く、柴原らの報告と一致するものであった。SRT 陽性群の精子濃度、精子運動率、および運動精子濃度の下限は、それぞれ  $17 \times 10^6 / \text{ml}$ , 17%,  $5.95 \times 10^6 / \text{ml}$  であった。すなわち、Percoll 法処理 AIH の場合、卵管内を精子が通過するためには子宮腔内に少なくとも  $2.98 \times 10^6$  個以上の運動精子数が必要であることが示唆された。また、今回は異なる月経周期 4 サイクルに L-SRT 1 回、TV-SRT を 3 回施行し推定排卵日と精液の性状の違いで SRT の結果が異なった症例を呈示した(図 5)。この症例は、精子卵管通過性が、女性側の月経周期、とりわけ推定排卵日周辺に変化する何らかの因子、および男性側の精液の性状の 2 つの条件により規制されていることをさらに裏付けるものと思われる。

以上、TV-SRT は L-SRT の代用となり得るものであり、反復施行が可能な点より、精子卵管通過性を詳細に検討する上で貴重な手段であると思われた。また、臨床的にも AIH, DIPI (Direct intraperitoneal insemination), GIFT (Gamete intrafallopian transfer) などの治療法の選択、AIH, DIPI の施行時期の決定などに極めて有用であると考えられた。

本論文の要旨の一部は、第 103 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) Asch, R. H.: Laparoscopic recovery of sperm from peritoneal fluid in patients with negative or poor Sims-Huhner test, *Fertil. Steril.*, 27: 1111, 1976
- 2) Mortimer, D., Templeton, A. A.: Sperm transport in the human female reproductive track in relation to semen analysis characteristics and time of ovulation, *J. Reprod. Fert.*, 64: 401, 1982
- 3) Templeton, A. A., Mortimer, D.: The development of a Clinical test of sperm migration to the site of fertilization, *Fertil. Steril.*, 37: 410, 1982
- 4) 内村道隆, 小林善宗, 井上正人, 本田育子, 村上優, 松浦俊一, 金子みつ恵, 藤井明和: AIH 腹腔鏡による腹水中精子回収の意義について不妊患者 270 例の分析, *日産婦誌*, 38: s 295, 1986
- 5) 飯塚理八, 小林俊文, 小埜清: 精子洗浄法を用いた配偶者人工授精, *ホルモンと臨床*, 34: 193, 1986
- 6) 飯塚理八, 兼子智, 小埜清, 小林俊文: 配偶者人工授精の妊娠率向上へのポイント, *産婦の実際*, 36: 1987
- 7) Kelly, J. V.: Myometrial participation in human sperm transport: a Dilemma. *Fertil. Steril.*, 13: 84, 1962
- 8) Pollow, K., Inthraphuvsak, J., Manz, Grill, H. J., Pallow, B.: A comparison of cytoplasmic and nuclear estradiol and progesterone receptors in human fallopian tube and endometrial tissue, *Fertil. Steril.*, 36: 615, 1981
- 9) Ahlgren, M.: Sperm Transport to and survival in the human fallopian tube, *Gynecol. Invest.*, 6: 206, 1975
- 10) Templeton, A. A. and Mortimer, D.: Laparoscopic sperm recovery in infertile women, *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 87: 1128 1980
- 11) 佐藤信義: ヒト卵管組織内 sex steroids, prostaglandins および oxytocin receptors の月経周期における推移, *日産婦誌*, 40: 1432, 1988
- 12) 柴原浩章, 山田聖, 緒方高志, 巽利昭, 繁田実, 平省三, 香山浩二, 磯島普三: 初期外性子宮内膜炎と卵管精子通過性について, *産婦進歩*, 41: 275, 1989
- 13) Muse, K. N. and Wilson, E. A.: How dose mild endometriosis cause infertility, *Fertil. Steril.*, 38: 145, 1982
- 14) 柴原浩章, 松浦泰明, 子安保善, 小林真一郎, 平省三, 繁田実, 磯島普三: 抗精子抗体による生殖器管内精子輸送障害について, *産婦進歩*, 41: 129, 1989
- 15) 岡本吉夫: 卵管粘膜上皮とくに線毛細胞についての形態的, 機能的, 研究, *日不妊会誌*, 33: 739, 1988
- 16) Nozaki, M. and Ito, Y.: Menstrial cycle and sensitivity of human fallopian tube to prostaglandins, *Am. J. Physiol.*, 251: R1126, 1986

## Clinical significance of transvaginal sperm recovery test after artificial insemination with husband's semen

Yasushi Kuribayashi, Juichiro Saito  
Toshihiko Kondo, Kenichi Watanabe,  
Hiroshi Horikoshi, Yuko Ohno,  
Bunpei Ishzuka, and Hiroshi Hamada

Department of Obstetrics and Gynecology,  
St. Marianna University, School of Medicine  
Kanagawa 216, Japan

Laparoscopic sperm recovery test (L-SRT) following AIH has been used to test the sperm migration to the site of fertilization.

Successful L-SRT could be attributed to better semen quality or better timing of the procedure

during the menstrual cycle. Therefore, this paper describes the usefulness of Transvaginal Sperm Recovery Test (TV-SRT), which can be performed repeatedly as a routine procedure on the outpatient basis.

- 1) Sperm were recovered successfully in 41% of cases by L-SRT and in 54% of cases by TV-SRT.
- 2) In 10 patients who underwent both TV-SRT and L-SRT (including fimbrial aspiration), identical results were obtained as for the sperm recovery.
- 3) By neither L-SRT nor TV-SRT, sperm was recovered in the procedure performed before day-4 and after day +3 from estimated day of

ovulation.

- 4) Mean ( $\pm$ S. D.) concentration of motile sperm at the time of AIH were significantly ( $p > 0.01$ ) greater in the group with positive SRT than that with negative SRT ( $90.08 \pm 71.92 \times 10^6/\text{ml}$  versus  $11.46 \pm 12.63 \times 10^6/\text{ml}$ ).
- 5) In a patient to whom several TV-SRT were performed, recoveries of sperm seemed to be influenced by the time of the procedure during the menstrual cycle and sperm quality. Thus, the present investigation suggested that TV-SRT can be a useful clinical procedure for determining a better timing of AIH.

(受付：1991年3月25日特掲)

# ブタ精子中に見いだされるアクロシンおよび 新しい塩基性アルギニンアミダーゼについて

## Detection of Acrosin and New Basic Arginine Amidase in Boar Sperm

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

小林 俊文      原    唯 純      野 澤 志 朗  
Toshifumi KOBAYASHI      Izumi HARA      Shiro NOZAWA

明治薬科大学第一生化学教室

松 田 兆 史      秋 浜 澄 行  
Yosifumi MATSUDA      Sumiyuki AKIHAMA

帝京大学医学部泌尿器科学教室

押 尾    茂  
Shigeru OSHIO

東京歯科大学市川総合病院産婦人科

兼 子    智  
Satoru KANEKO

Department of Obstetrics and Gynecology,  
School of Medicine, Keio University, Tokyo 160, Japan  
First Department of Biochemistry, Meiji College of Pharmacy, Tokyo 154, Japan  
Department of Urology, School of Medicine, University of Teikyo, Tokyo 173, Japan  
Department of Obstetrics and Gynecology, Ichikawa General Hospital,  
Tokyo Dental College, Chiba 272, Japan

---

ブタ精子中よりアクロシンおよび新しく見いだされた塩基性アルギニンアミダーゼを、リマ豆トリブシンインヒビター (LBTI) およびアプロチニンを用いたアフィニティー吸着法を用いそれぞれ分離した。この2種の酵素の塩化カルシウムに対する態度、基質特異性およびインヒビターに対する態度等は異なっていた。また両酵素のLBTIに対する見かけの親和性には約12倍の差が認められ、この両酵素のLBTIに対する親和性の差が、LBTIカラムへの吸着能の差として表現され、両酵素が分離されたものと推察した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 831-835, 1991)

---

### 緒 言

精子中には先体反応に関与すると考えられているトリブシン (EC 3.4.21.4) 類似の塩基性プロティナーゼ、アクロシン (EC 3.4.21.11) の存在が知られている<sup>1-3)</sup>。一方、我々は Kaneko<sup>4)</sup> によって開発さ

れたパーコール・インナーカラム法によりほぼ完全に精製されたヒト精子を用い、ヒト精子中より、従来混在する精漿中に含まれるプロティナーゼインヒビター類<sup>5-6)</sup>によりマスクされ、検出することのできなかったアクロシンとは異なる新しい塩基性アルギニンエステラーゼの存在を見出し、その性質の検

討を行った<sup>7)</sup>。その後我々は、ブタ精子中より、従来存在が知られていなかった 2 種の酸性アルギニンアミダーゼを、リマ豆トリプシンインヒビター (LBTI) およびアプロチニンを用いたアフィニティー吸着法を用い分離し、その性質の追究を行った<sup>8)</sup>。この研究の過程でブタ精子中にも、ヒトの場合と同様にアクロシンとは異なる、塩基性アルギニンアミダーゼの存在することが示唆された。

本論文は、LBTI およびアプロチニン・アフィニティー吸着法を用い、ブタ精子中より 2 種の塩基性アルギニンアミダーゼ活性の分離を行い、さらにその性質の追究を試みたものである。

### 実験材料及と方法

**ブタ精子：**実験に用いたブタ精液は千葉県内の畜産農家より購入した。精子は遠心分離により精漿と分離され、その後数回、ハンクス液を用い洗浄および遠心分離を行った。得られた精子ペレットは使用時まで冷凍保存した。

**アルギニンアミダーゼ活性測定：**アルギニンアミダーゼ活性の測定は Amundsen<sup>9)</sup>らの方法を一部変更し、pH 8.5, 37°C で行った。酵素活性の表示は、基質濃度 0.5 mM および上記条件下で、酵素が 1 分間に加水分解した基質の量 (n mol/min) で表示した。タンパク質量の測定：タンパク質量はその 280 nm における吸光度を指標とし測定し表示した。

**試薬：**実験に使用した試薬、基質あるいはタンパク質を以下に示した。

DEAE-セルロース、フォルミル・セルロファイン、N- $\alpha$ -butyloxycarbonyl-L-leucyl-glycyl-L-arginine-p-nitroanilide (Boc-Leu-Gly-Arg-pNA) およびアプロチニン (生化学工業)、リマ豆トリプシンインヒビター (LBTI)、および N- $\alpha$ -succinyl-L-alanyl-L-alanyl-D-prolyl-L-leucine-p-nitroanilide (Suc-(Ala)<sub>2</sub>-Pro-Leu-pNA (Sigma chemical, U. S. A). N- $\alpha$ -tosyl-glycyl-D-prolyl-L-arginine-p-nitroanilide (Tos-Gly-Pro-Arg-pNA) (Boehringer Mannheim, Germany). D-Valyl-L-leucyl-L-arginine-p-nitro-anilide (Val-Leu-Arg-pNA) および D-Valyl-L-leucyl-L-lysine-p-nitroanilide (Val-Leu-Lya-pNA) (Serva chemical, Germany)。

### 結 果

**ブタ精子より塩基性アルギニンアミダーゼの分離：**ブタ精子よりの塩基性アルギニンアミダーゼの分離は、我々が既に報告した酸性アルギニンアミダーゼ

の分離<sup>8)</sup>の場合と同様に行った。

精子をポリトロンで粉碎したのち得られた精子抽出液は、透析を行ったのち、pH 7.0 およびコンダクティビティーを 1.0 mS/cm に調整したのち、CM-セルロースに吸着させた。約 3 時間の吸着ののち、1 M NaCl を含む 0.05 M Tris-HCl 緩衝液 pH 8.5 を用い酵素の溶出を行った。得られたアルギニンアミダーゼ活性画分は次にアクロシンを分取するため、上記緩衝液で平衡化された LBTI セルロファイン・アフィニティーカラムへの吸着を行った。同カラムに非吸着のアルギニンアミダーゼ活性は、さらに同緩衝液で平衡化されたアプロチニン・アフィニティーカラムへの吸着を試みた。両インヒビターを用いたアフィニティー吸着および溶出の結果は図 1 および図 2 に示した。LBTI およびアプロチニン・アフィニティーカラムの吸着画分からは、それぞれアクロシンおよび未知のアルギニンアミダーゼ活性が溶出された。なお本研究によりアプロチニン・アフィニティーカラムより新しく見いだされた酵素を、(Boar sperm basic arginine amidase: BSBA) と仮に命名した。得られたアクロシンおよび BSBA の Boc-Leu-Pro-Arg-pNA 水解活性の比活性はそれぞれ 3.3 および 11.4 n mol/min/A<sub>280</sub> であった。

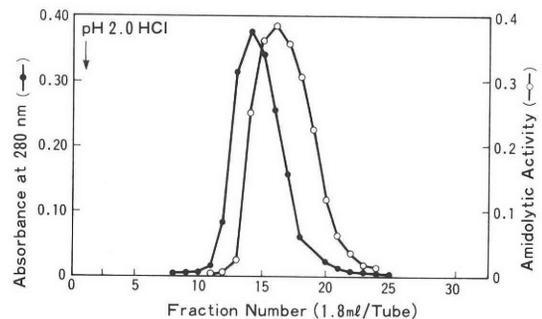


Fig. 1 LBTI-Cellulofine affinity adsorption of CM-cellulose adsorbed preparation from boar sperm. Elution to fraction 1 was done with HCl solution at pH 2.0. —●—, Protein; —○—, Amidolytic activity (n mol/min/ml).

**基質特異性：**ブタ・アクロシンおよび BSBA のアミダーゼ活性の基質特異性を測定し、結果を表 1 に示した。実験に用いた 5 種類の基質の中では両酵素ともに Boc-Leu-Pro-Arg-pNA を最も良く可水分解した。また両酵素の Val-Leu-Arg-pNA 水解活性は異なっており、BSBA が比較的良く水分解したのに対し、アクロシンは Boc-Leu-Pro-Arg-pNA の約 19 % のみの活性を示すに留まった。両酵素は共に Suc-

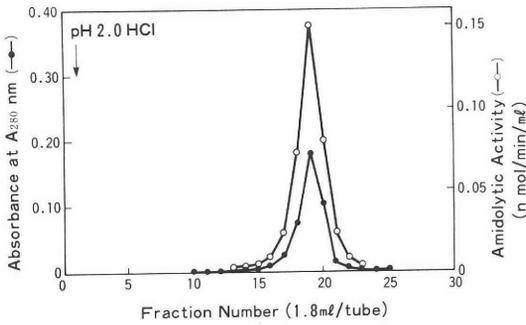


Fig. 2 Aprotinin-Cellulofine affinity adsorption of through and wash preparation from Fig. 1. Elution to fraction 1 was done with HCl solution at pH 2.0. —●—, Protein; —○—, Amidolytic activity (n mol/min/ml).

Table. 1 Amidolytic Substrate Specificity of Boar Acrosin and BSBA

Amidolytic activity was shown as n mol/min/A<sub>280</sub> and ratio of activity was given to relative standard Boc-Leu-Pro-Arg-pNA

Substrate	Enzyme			
	Acrosin		BSBA	
	Specific	Ratio	Specific	Ratio
Boc-Leu-Pro-Arg-pNA	3.30	1	22.3	1.0
Tos-Gly-Pro-Arg-pNA	2.26	0.79	16.1	0.72
Val-Leu-Arg-pNA	0.63	0.19	11.8	0.53
Val-Leu-Lys-pNA	0.10	0.03	0.15	0.01
Suc-(Ala) <sub>2</sub> -Pro-Leu-PNA	0	0	0	0

(Ala)<sub>2</sub>-Pro-Leu-pNA 水解活性を示さなかった。  
**インヒビターに対する態度：**アクロシンとBSBAのLBTIおよびアプロチニンに対する態度を検討し、その結果をまとめて図-3に示した。アクロシンはLBTIによって強く阻害を受けたが、アプロチニンは同酵素に対して弱い阻害活性を示したのみであった。一方BSBAについては、LBTIおよびアプロチニンは共に比較的強い阻害作用を示した。アクロシンおよびBSBAそれぞれのLBTIによる酵素活性の50%阻害時における見かけ上のインヒビターと酵素の比率 (mg インヒビター/A<sub>280</sub>酵素) は約0.013および0.15であり、アクロシンのLBTIにたいする親和性は、BSBAの同インヒビターに対する親和性に対して、見かけ上、約12倍高いことが明らかとなった。  
**カルシウムの効果：**アクロシンは塩化カルシウム (CaCl<sub>2</sub>) の添加により活性が増強されることが知ら

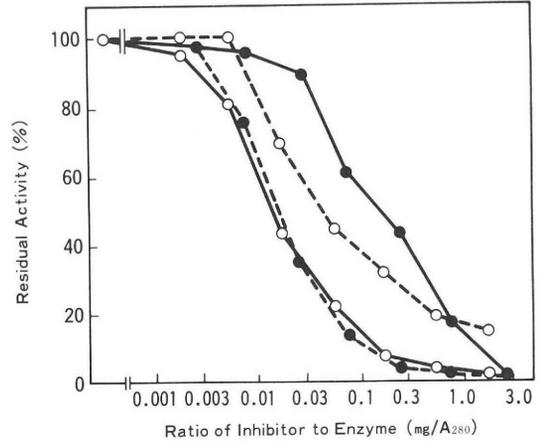


Fig. 3 Inhibitory action of LBTI and aprotinin on the Boc-Leu-Gly-Arg-pNA amidolytic activity of acrosin and BSBA

—●—, LBTI and BSBA; —○—, LBTI and acrosin;  
 ---●---, Aprotinin and BSBA; ---○---, Aprotinin and acrosin.

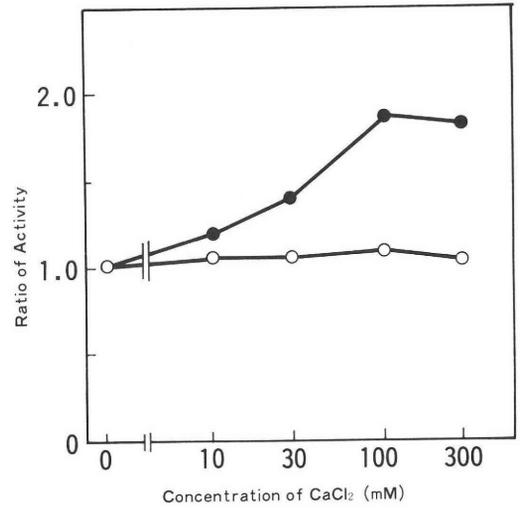


Fig. 4 Effects of calcium chloride on the Boc-Leu-Pro-Arg-pNA amidolytic activity of BSBA and acrosin

—○—, BSBA; —●—, Acrosin.

れている<sup>2,3)</sup>、そこで塩化カルシウムはBSBAとアクロシンに対して異なる効果を示すかどうかの検討を行い、その結果を図-4に示した。アクロシンは過去の知見<sup>2,3)</sup>と同様に、塩化カルシウムによりアルギニンアミダーゼ活性が約2倍に増強されたが、BSBAの場合には若干の活性増強効果は認められるものの、ほぼコントロールと同様であった。

## 考 察

本研究において、ブタ精子の弱塩基性抽出液中より、LBTI とアプロチニンを用いたアフィニティー吸着法によって分離される 2 種の塩基性アルギニンアミダーゼ (アクロシンおよびブタ精子塩基性アルギニンアミダーゼ: BSBA と略) を分取し、その存在を確認した (図 1 および図 2)。この両酵素の純度については検討を行ってはいないが、図 1 および図 2 に示したアフィニティー吸着および溶出の結果から、まだタンパク質化学的に純粋な標品ではないと推察され、今後さらに精製を行う必要があると考えられる。

本研究で得られたブタアクロシンおよび BSBA に対する LBTI およびアプロチニンの阻害作用の測定結果 (図 3) は、両酵素の LBTI およびアプロチニン・アフィニティー吸着および溶出による分離から得られた結果 (図 1, 2) を良く支持した。すなわち、アクロシンおよび BSBA は、それぞれ LBTI によって強く阻害されるものの、これら両酵素の LBTI に対する見かけ上の親和性には大きな差が認められ、アクロシンの方が、BSBA よりも約 12 倍高い親和性を示すことが明らかとなった (図 3)。この結果から、本研究で得られた両酵素については、この LBTI に対する両酵素の親和性の差が、LBTI カラムへの吸着能の差として表現され、両酵素を 2 種のアフィニティー吸着法を用い分離できたものと推察できる。同様な方法を用い、我々はすでにブタ精子中より 2 種の酸性アルギニンアミダーゼを分離し、これら酵素の性質の差異を明らかにしている<sup>8)</sup>。この場合にも本研究と同様に、得られた 2 種の酸性アルギニンアミダーゼ間で LBTI に対する親和性には、見かけ上約 14 倍の大きな差が認められることが明らかとなっている。

本研究で新たに見いだされたブタ精子中の塩基性アルギニンアミダーゼ (BSBA) は、同様に本研究中で分取されたブタアクロシンとはインヒビターに対する態度 (図 3) および塩化カルシウムに対する態度 (図 4)、あるいは基質特異性 (表 1) などの基本的諸性質が異なっていた。また BSBA のアルギニンアミダーゼ活性は、Boc-Leu-Pro-Arg-pNA 水解活性を基準とした場合には、アクロシンより高い比活性を示し、さらにその活性回収量もアクロシンを上まわっていた。この結果はブタ精子中に BSBA が、アクロシンと同等あるいはそれ以上に存在することを示すものと考えられる。これらのことから、ブタ精子中に新たに見いだされた、アクロシンとは異なる、

塩基性アルギニンアミダーゼは、アクロシンと同様に、受精時および先体反応開始時において、単独あるいはアクロシンと共同、または我々がすでにブタ精子中から見いだした 2 種の酸性アルギニンアミダーゼ<sup>8)</sup>等と共同で、なんらかの役割をはたしていることが考えられる。今後、これらブタ精子中に新たに見いだされた酸性および塩基性アルギニンアミダーゼ類の酵素化学的性質を追究し、さらにこれらの酵素の受精時における役割、あるいは先体反応との関連等について解明したいと考えている。

## 文 献

- 1) Zaneveld, L. D. J., Polasoski, K. L. and Williams, W. L.: Properties of proteolytic enzyme from rabbit sperm, *Biol. Reprod.*, 6: 30, 1972
- 2) Kaneko, S. and Moriwaki, C.: Studies on acrosin 1. Purification and characterization of boar acrosin, *J. Pharm. Dyn.*, 4: 20, 1981
- 3) Kobayashi, T., Matsuda, Y., Oshio, S., Kaneko, S., Nozawa, S., Mohri, H., Akihama, S. and Fujimoto, Y.: Human acrosin: Purification and some properties, *Arch. Andor.*, 27: 9, 1991
- 4) Kaneko, S., Oshio, S., Kobanawa, K., Kobayashi, T., Mohri, H. and Iizuka, R.: Purification of human sperm by a discontinuous Purcoll density gradient with an Innercolumn, *Biol. Reprod.*, 35:1059, 1986
- 5) Cechova, D. and Fritz, H.: Characterization of the proteinase inhibitors from bull seminal plasma and spermatozoa, *Hoppe Seyler's Z, Physiol. Chem.*, 357: 401, 1976
- 6) Meloun, B., Jonakoba, V. and Henschen, A.: Acidic acrosin inhibitor from bull seminal plasma, Structural differences, *Hoppe Seyler's Z, Physiol. Chem.*, 366: 1155, 1985
- 7) Kobayashi, T., Park, J.-Y., Matsuda, Y., Hara, I., Kaneko, S., Oshio, S., Akihama, S. and Fujimoto, Y.: Basic arginine esterase from human seminal plasma: Purification and some properties, *Arch. Andor.*, 27: 197, 1991
- 8) Kobayashi, T., Hara, I., Matsuda, Y., Park, J.-Y., Oshio, S., Kaneko, S. and Akihama, S.: Detection and separation of two kind of acidic arginine amidases from boar sperm using lima bean trypsin inhibitor and aprotinin affinity adsorption, *Arch. Andor.*, accepted
- 9) Amudsen, E., Putter, J., Firberger, P., Knos, M., Larsbraten, M. and Claseson, G.: Method for the determination of glandular kallikrein by means of a chromogenic substrate, In *Adv. Exp. Med. Biol.*, kinin II. ed by Fujii S., Moriya H., Suzuki T. Plenum Press, pp 83, 1979

**Detection of acrosin and  
new basic arginine  
amidase in boar sperm**

Toshifumi Kobayashi and Izumi Hara

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

Yoshifumi Matsuda and Sumiyuki Akihama

First Department of Biochemistry,  
Meiji College of Pharmacy,  
Tokyo 154, Japan

Shigeru Oshio

Department of Urology, School of Medicine,  
University of Teikyo,  
Tokyo 173, Japan

Satoru Kaneko

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

Newly found basic arginine amidases (boar sperm basic arginine amidase: BSBA) and acrosin were detected and Separated from boar sperm by a lima bean trypsin hibitor (LBTI) and an aprotinin affinity adsorptions. Great different affinity of a LBTI have been observed between acrosin and BSBA. The effect of  $\text{CaCl}_2$  and substrate specificity were also different between them.

(受付：1991年6月17日特掲)

## hCG 投与によるラット精巣のテストステロン産生の 調節とペントースサイクルへの影響

### Regulation of the Testosterone Production and Pentose Phosphate Pathway in Maturing Rat Testis Treated with HCG

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室

町澤 一郎

1st. hiro MACHIZAWA

1st Department of Obstetrics and Gynecology  
Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan

ラット精巣の成熟過程における steroidogenic capacity の相違および内因性エストロゲン ( $E_2$ ) のテストステロン産生への関与を調べる目的で、5~59日齢の Wistar 系ラットに hCG (600IU/KgcBW) 処置し、1日、3日後のテストステロン濃度、 $E_2$ レセプター、精巣 $E_2$ 濃度の変化を検索した。またステロイド合成に関与するペントースサイクル活性に対する hCG の影響について検討した。hCG 処置3日後の5日齢、13日齢ラットのテストステロン産生能は、19日齢以降のラットより有意に高く、両者間に hCG に対する Leydig 細胞の明らかな反応の相違がみられた。

テストステロン産生の調節を $E_2$ 受容体機構の面より検討すると、hCG 処置後の $E_2$ レセプターの解析および精巣内 $E_2$ 濃度から、5日齢ラットではテストステロン産生の調節機構は作用しておらず、13日齢、19日齢精巣では hCG 刺激により産生された $E_2$ の関与が示唆され、44日齢、59日齢精巣では $E_2$ 受容体機構より LHレセプターの脱感作が優先している可能性がある。13日齢以前のペントースサイクル活性は、hCG 処置3日後に有意な減弱を示したが、これは産生された高濃度のテストステロンによる酵素阻害が原因と考えられる。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 836-842, 1991)

#### 緒言

ラット精巣の性成熟過程において、Leydig 細胞は、形態学的<sup>1,2)</sup>、機能的<sup>3,4)</sup>に胎生期より残存する fetal Leydig 細胞と、adult Leydig 細胞に分類され、両者の移行期は生後15~20日齢といわれている<sup>3,4)</sup>。以前われわれが行った実験では、成熟ラットと異なり幼若ラット(6日齢)では Estradiol ( $E_2$ ) 負荷によるテストステロン産生の抑制がみられず、その原因として、同時期の Leydig 細胞質中の $E_2$ レセプターの不在を指摘した(未発表)。テストステロン産生の調節機序には、LH受容体機構以外に、テストステロンが芳香化により $E_2$ に変換され、 $E_2$ レセプターを介してステロイド合成酵素抑制を行うとする仮説が提唱

されている<sup>5,6)</sup>。しかし、この仮説に対する酵素学的研究は多いが、 $E_2$ レセプターに関する研究は皆無である。そこで今回の実験は、幼若期より性成熟期の各時期に高単位 hCG を投与し、Leydig 細胞の過剰なテストステロン産生をもたらす、精巣 $E_2$ レセプターおよび精巣内 $E_2$ 濃度の消長より、この仮説を一層明確にする目的で行った。また Leydig 細胞の hCG による反応の相違がどの日齢でみられるかを検討した。同時にステロイド合成に関与するペントースサイクルの hCG による影響も併せて検討した。

#### 実験方法

##### 1) 精巣

Wistar 系ラットの生後5日齢、13日齢、19日齢、

44日齢, 59日齢に各々 human chorionic gonadotropin (hCG) 600IU/KgBW/20 $\mu$ l を皮下注射し, 対照群には同量の生理食塩水を注射した. 注射24時間, 72時間後に塩酸ケタミン麻酔下で屠殺し, その精巣を実験に供した. 飼育条件は12時間, 明暗自動サイクルの室内で飼育し, 21日齢までは1ケージに母親1匹に対し3匹から9匹の子を入れ, その後は離乳させた. 摘出した精巣はその重量を測定後, 直ちに片側精巣をペントースサイクルの鍵酵素である glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) 活性の測定に使用し, 他側精巣はテストステロン測定に用い, 測定まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した.  $\text{E}_2$ 濃度, および $\text{E}_2$ レセプター測定には, 13日齢, 19日齢, 44日齢, 59日齢ラットを使用した. なお, 44日齢, 59日齢精巣はカプセルを除去し使用した.

## 2) テストステロン測定<sup>7)</sup>

精巣を10倍量の生理食塩水でホモジェナイズし, そのホモジェネート100 $\mu$ lに回収率補正用 $\text{T}-^3\text{H}1000\text{dpm}$ 添加後, 10倍量のジエチルエーテルで抽出した. ヘキサン:ベンゼン:メタノール(90:5:5)で膨潤させた Sephadex LH-20 (Pharmacia Uppsala, Sweden) を径7mmのカラムに2ml充填し, 精巣抽出物を同溶媒0.1mlで溶解後カラムに添加する. 次に2mlの同溶媒でテストステロン分画を溶出させ, 全溶出液を採取する. テストステロン分画の1/2を回収率補正用に, 残り1/2に $\text{T}-^3\text{H}$ を10,000dpm添加し, 約 $60^{\circ}\text{C}$ で $\text{N}_2$ ガスにより乾固後, assayに用いた.

## 3) 精巣 $\text{E}_2$ レセプター測定<sup>8,9)</sup>

各日齢のラット精巣0.5gをTED buffer (10mM Tris-HCl, 1.5mM EDTA 2NA)中でホモジェナイズし,  $0^{\circ}\text{C}$ , 105,000g, 1時間超遠心分離し, 可溶性分画を得た. 得られた可溶性分画に $\text{E}_2-^3\text{H}$ を加え, 40 $\mu\text{M}$ の合成エストロジェン(D.E.S.)の有無下で,  $0^{\circ}\text{C}$ , 24時間インキュベートした. D.C.C処理で未結合の $\text{E}_2-^3\text{H}$ を除去し, 上清中の $\text{E}_2$ レセプターと

結合した $\text{E}_2-^3\text{H}$ の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した.  $\text{E}_2$ レセプターの特異的結合は, D.E.S.過剰存在下での非特異的結合量を差し引いて求めた. Scatchard分析により $\text{E}_2$ レセプターの解離定数Kd, 最大結合部位数MBSを求め,  $\text{E}_2$ レセプターの判定は, Johnson, Nakamuraの方法<sup>8,9)</sup>に準じ, Kd  $5 \times 10^{-10}\text{mol/l}$ 以上のものは $\text{E}_2$ レセプターではないと考え, またMBS 3fmol/mg以下は測定感度以下とした(図1).

## 4) 精巣 $\text{E}_2$ 濃度測定<sup>10)</sup>

精巣0.2gを10倍量の生理食塩水でホモジェナイズし, そのホモジェネート500 $\mu$ lに回収率補正用 $\text{E}_2-^3\text{H}1000\text{dpm}$ を添加し, 10倍量のジエチルエーテルで抽出した. ベンゼン:メタノール(85:15)の溶媒で膨潤させた Sephadex LH-20 をマイクロカラムに2ml充填し, 抽出物に上記溶媒0.1mlを加え溶解後カラムに添加する. 次に同溶媒で $\text{E}_2$ 分画を溶出採取する.  $\text{E}_2$ 分画の1/2を回収率補正用に, 残り1/2に $\text{E}_2-^3\text{H}10,000\text{dpm}$ を加え,  $60^{\circ}\text{C}$ で $\text{N}_2$ ガスにより乾固し assayに用いた.

## 5) 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中で細切した. 細切後10mMメルカプトエタノール, 5mM EDTA3NAを含む0.1M Tris-HCl buffer pH7.6を精巣細切沈澱物に対し等量加え, 発振周波数20KHz, 200Wの出力で1分間づつ3回超音波処理をした. この際, 熱の発生を押さえるため, 冷水中で操作し, 1分間のインターバルをおいて行った. 超音波処理後,  $4^{\circ}\text{C}$ , 105,000g, 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による精製

方法は本誌既報<sup>11,12)</sup>に準じた. なお, (1), (2)の行程はすべて低温で操作した.

### (3) 蛋白量および各酵素活性の測定

#### (1) 蛋白量

Marionの方法<sup>13)</sup>により, 各フラクションの試料0.1mlにBradford試薬5mlを加え, 595nmにおける吸光度を測定した.

#### (2) LDH活性

Hill変法<sup>14,15)</sup>にもとづき測定した.

#### (3) G6P-DH活性

Löhr-Wallerの方法<sup>16)</sup>にもとづき測定した.

#### (4) 6PG-DH活性

Wolfsonらの方法<sup>17)</sup>にもとづき測定した.

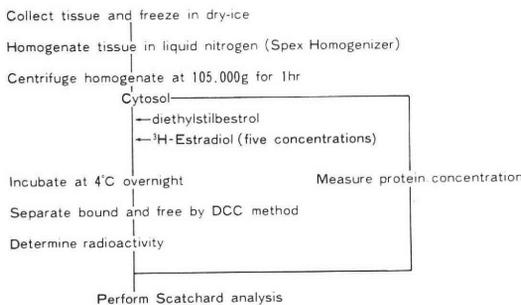


図1 Assay procedure for ER in cytosol

表 1 Testis weights (mg) in rats at different ages treated with hCG

Age (days)	Treatment	Days after treatment	
		1	3
5	Control	10.5±0.45 (n=22)	9.7±0.45 (n=20)
	hCG	9.2±0.41 (n=17) **	10.4±0.56 (n=20) NS
13	Control	32.6±1.5 (n=17)	54.5±1.3 (n=17)
	hCG	42.1±1.4 (n=16) *****	69.1±2.0 (n=17) *****
19	Control	86.9±1.1 (n=15)	116.9±3.3 (n=14)
	hCG	96.5±2.0 (n=14) *****	132.3±2.8 (n=14) *****
44	Control	986.3±16.7 (n=8)	1017.6±11.6 (n=8)
	hCG	990.9±15.3 (n=11) NS	974.3±14.2 (n=12) **
59	Control	1426.7±57.4 (n=6)	1455.5±23.8 (n=6)
	hCG	1429.1±20.6 (n=8) NS	1442.6±28.0 (n=8) NS

Each value is mean±SEM.  
Significantly different from the control (\*\*P<0.05, \*\*\*\*P<0.01, \*\*\*\*\*P<0.001)  
NS: no significant difference

実験結果

1) 精巣重量

精巣重量は、5日齢、59日齢を除き、hCG処置群で有意に増加している。hCG処置3日後の19日齢ラ

ット精巣重量 (132.3±2.8 mg) は、5日齢 (10.4±0.56 mg), 13日齢 (69.1±2.0 mg) の各々13倍, 2倍に増量している (表1)。

2) 精巣テストステロン値

hCG処置群のテストステロン値は、各日齢で無処置群より有意な増加を示した (表2)。hCG刺戟により産生されたテストステロンより基礎値を減じ、その産生能を調べた (表3)。5日齢、13日齢ラットのhCG処置3日後のテストステロン産生能は、19日齢、44日齢、59日齢のそれより有意に高く、13日齢を境にしてhCGに対するテストステロン産生能に相違がみられた。

表 3 Absolute changes in testosterone produced in response to hCG relative to basal levels

Age (days)	Days after treatment	
	1	3
5	365.5±103.4 (n=6)	230.8±29.7 (n=6)
13	186.2±19.9 (n=6) NS	192.5±17.0 (n=6) NS
19	185.7±20.7 (n=6) NS	131.5±17.9 (n=6) **
44	134.1±16.9 (n=6) *	135.2±7.3 (n=6) **
59	158.5±73.6 (n=6) NS	72.7±10.8 (n=5) ***

Each value is mean±SEM  
The asterisks indicate statistically significant differences between the two youngest age groups (5 and 13 days) and 19-to 59-day-old rats (\* P<0.1, \*\* P<0.05, \*\*\* P<0.01).  
NS: no significant difference.

表 2 Effect of a single injection of hCG (600IU/kgBW) on testicular testosterone production (ng/g) in rats of different ages

Days after treatment	Age (days)									
	5		13		19		44		59	
	Control	hCG	Control	hCG	Control	hCG	Control	hCG	Control	hCG
1	13.5±3.8 (n=6)	379.0±106.3 (n=6) ***	15.2±1.6 (n=6)	201.3±19.5 (n=6) *****	20.3±2.4 (n=6)	206.0±20.3 (n=6) *****	42.6±10.6 (n=6)	176.7±16.0 (n=6) *****	67.3±4.2 (n=5)	205.5±66.3 (n=6) *
3	15.4±3.0 (n=6)	246.2±31.3 (n=6) *****	17.0±1.9 (n=6)	209.5±16.9 (n=6) *****	23.5±2.2 (n=6)	155.0±16.0 (n=6) *****	37.6±1.2 (n=6)	172.8±7.7 (n=6) *****	72.3±6.5 (n=5)	137.4±12.8 (n=6) *****

The results represent the mean±SEM.  
Significantly different from the control (\* P<0.1, \*\*\* P<0.02, \*\*\*\*\* P<0.01, \*\*\*\*\* P<0.001)

3) hCG 負荷による精巢E<sub>2</sub>レセプターの変化

hCG 刺戟により過剰に産生されたテストステロンが芳香化によりE<sub>2</sub>に変換され、そのE<sub>2</sub>が細胞内で機能するか否かを調べる目的でE<sub>2</sub>レセプターのhCG

による変化を検索した。13日齢ラットではhCG 負荷後E<sub>2</sub>レセプターは消退し、19日齢では、hCG 負荷3日後に消退した。44日齢、59日齢ラットのレセプターはhCG 負荷後も、E<sub>2</sub>により占有されていない(表4)。

表4 Effect of a single injection of 600 IU/kg hCG on E<sub>2</sub> receptors of rat testes

Age (days)	After the hCG injection	Kd, ×10 <sup>-10</sup> M	MBS (fmol/mg protein)	Age (days)	After the hCG injection	Kd, ×10 <sup>-10</sup> M	MBS (fmol/mg protein)
13	1	5<	3>	44	1	3.65	5
		5<	3>			5<	3>
		4.10	5			3.71	5
	3	5<	3>		3	2.98	8
		5<	3>			4.13	5
		3.23	4			4.76	4
19	1	4.77	5	59	1	1.94	11
		4.72	7			2.27	9
		5<	3>			2.45	9
	3	5<	3>		3	3.06	10
		5<	3>			2.58	11
		5<	3>			2.21	7

4) 精巢内E<sub>2</sub>濃度

精巢E<sub>2</sub>レセプターとE<sub>2</sub>との関連を検討するため、13日齢、19日齢、44日齢、59日齢ラットに各々生理食塩水(対照群)、hCG(600IU/KgBW)を皮下注射し、注射1日、3日後の精巢内E<sub>2</sub>濃度を測定した。13日齢ラットのhCG処置1日後のE<sub>2</sub>濃度(178.0±67.8 pg/g)は対照群(135.3±11.7 pg/g)と有意差はないが、処置3日後(276.3±14.4 pg/g)では対照群(147.0±18.0 pg/g)より有意に増加した(P<0.01)。19日齢ラットでは、13日齢ラットとほぼ同じパターンを示し、hCG処置1日後のE<sub>2</sub>濃度(102.8±24.1 pg/g)と対照群(83.5±5.9 pg/g)とは有意差を認めず、処置3日後(50.8±5.3 pg/g)では対照群(12.8±7.4 pg/g)より有意な増加を示し(P<0.01)。芳香化が活性化されていることを示している。44日齢ラットのhCG処置1日、3日後のE<sub>2</sub>濃度(各々27.8±12.5 pg/g, 47.8±25.6 pg/g)は、各対照群(各々34.8±12.6 pg/g, 8.3±5.1 pg/g)と有意差は認めない。59日齢ラットでは、hCG処置1日後のE<sub>2</sub>濃度(7.0±5.7 pg/g)は対照群(51.0±10.2 pg/g)より有意に低く(P<0.02)精巢内でのE<sub>2</sub>利用を示唆している。hCG処置3日後のE<sub>2</sub>濃度(70.0±17.6 pg/g)は、対照群(18.3±5.0 pg/g)より有意に高く(P<0.1)、芳香化を刺戟している(図2)。

5) G6P-DH 活性

5日齢、13日齢ラットのhCG 処置3日後のG6P-

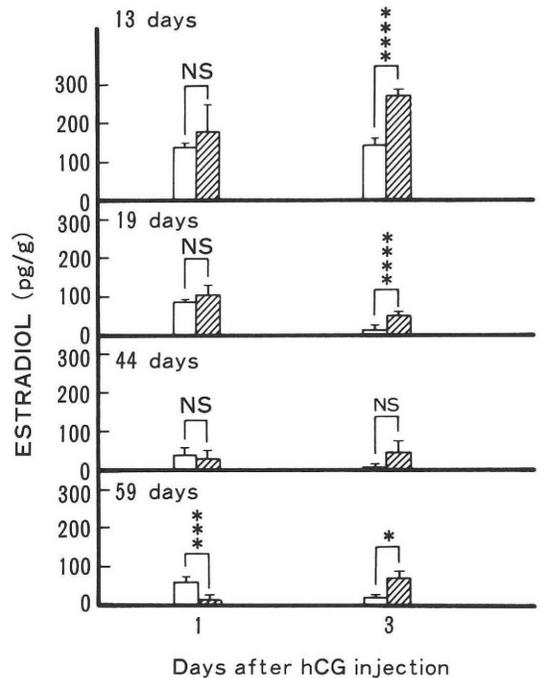


図2 Effects of a single injection of 600IU/kg hCG on estrogen production by testes of 13-, 19-, 44-, and 59-day-old rats.

The results represent the mean±SEM. The asterisks indicated statistically significant differences, (\* P<0.10, \*\* P<0.05, \*\*\* P<0.02, \*\*\*\* P<0.01). □, control; ▨, hCG

DH 活性は、無処置群より有意に減弱した(各々  $P < 0.05$ 、 $P < 0.02$ 、表 5)。

表 5 G6P-DH activities (mU/ml/g) in rats at different ages treated with hCG

Age (days)	Control <sup>a</sup>	After the hCG injection	
		Day 1	Day 3
5	333.1 ± 16.9 (n=4)	223.9 ± 37.0 <sup>NS</sup> (n=6)	206.5 ± 28.9 <sup>**</sup> (n=6)
13	294.3 ± 15.0 (n=4)	225.8 ± 42.0 <sup>NS</sup> (n=6)	204.7 ± 24.2 <sup>***</sup> (n=6)
19	182.6 ± 19.6 (n=4)	198.0 ± 26.2 <sup>NS</sup> (n=6)	186.9 ± 15.3 <sup>NS</sup> (n=6)
44	178.0 ± 8.7 (n=4)	128.6 ± 11.3 <sup>****</sup> (n=6)	186.4 ± 13.6 <sup>NS</sup> (n=6)
59	132.1 ± 12.6 (n=3)	129.0 ± 10.3 <sup>NS</sup> (n=6)	134.7 ± 20.3 <sup>NS</sup> (n=6)

a: Control animals were killed at the ages of 6, 14, 20, 45 and 60 days

Each value is mean ± SEM.

Significantly different from the control (\*\*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.02$ , \*\*\*\*  $P < 0.01$ )

NS: no significant difference

0.05,  $P < 0.02$ , 表 5)。

## 考 察

15 日齢以降のラット精巣 Leydig 細胞の増加は、精巣重量の増加と平行し<sup>4)</sup>、また精巣 LH レセプターの増加は 20 日齢までは僅かであるが、それ以降、急激な増加を示す<sup>19)</sup>。しかし今回の実験結果では、hCG 処置 3 日後の 19 日齢ラット精巣重量が、5 日齢ラットの 13 倍、13 日齢ラットの 2 倍であるにもかかわらず、5 日齢、13 日齢ラットのテストステロン産生能は、19 日齢、44 日齢、59 日齢のそれより有意に高かった。この結果は、hCG 刺戟に対する Leydig 細胞の反応が、13 日齢を境として明らかに異なることを示す。テストステロン合成調節機序には、Leydig 細胞膜における LH 受容体機構のほか、産生されたテストステロンが芳香化されて生じる  $E_2$  の存在が考えられる。

$E_2$  は Leydig 細胞質中に局在するレセプターを介してステロイド合成酵素を阻害するといわれており<sup>5,6)</sup>、テストステロン産生の調節に関与している可能性が推察される。そこで、前述したテストステロン産生能の相違を  $E_2$  の精巣に対する直接作用の観点から検討する目的で、hCG 処置後の精巣  $E_2$  レセプターと精巣内  $E_2$  濃度の変化を検索した。

以前に行った、ラット精巣の  $E_2$  レセプターの出現

時期を検索した実験(未発表)では、8 日齢ではその出現がみられず、11 日齢より出現していることより、5 日齢ラット精巣では、 $E_2$  受容体機構を介した調節作用は欠落していると考えられる。そこで今回の実験では、13 日齢、19 日齢、44 日齢、59 日齢各ラットの hCG 処置 1 日後、3 日後の  $E_2$  レセプターについて解析を行ったが、13 日齢ラットでは hCG 処置 1 日後で  $E_2$  レセプターは消失し、3 日後でもその回復はみられない。また精巣内  $E_2$  濃度は、 $E_2$  レセプターが  $E_2$  により占有されているにもかかわらず、なお高値を維持しており、hCG 処置 3 日後の  $E_2$  濃度の有意な増加はテストステロンの芳香化が活発であることを示している。従って、13 日齢ラット精巣では、hCG 刺戟によって産生された  $E_2$  が  $E_2$  受容体機構を介して、テストステロン産生の調節に関与している可能性が考えられる。

19 日齢ラット精巣では、hCG 処置 3 日後に  $E_2$  レセプターの占有を認め、精巣内  $E_2$  濃度も 13 日齢ラットと同じパターンを示していることから、13 日齢ラット同様  $E_2$  による阻害作用が発現している可能性が示唆される。

44 日齢、59 日齢ラットの  $E_2$  レセプターはいずれも hCG 処置により生成される  $E_2$  には完全に占有されておらず、またその精巣内  $E_2$  濃度より、この時期には一般に考えられるほど  $E_2$  受容体機構を介したテストステロン合成に対する直接阻害効果は発揮されていないようである。しかし、 $E_2$  レセプターの親和性は 20 日齢から 60 日齢ラットではそれ以前のラットと比べ高親和性であり、またその最大結合部位数も、無処置群(未発表)に比べ hCG 処置により減少傾向を示していることから、精巣内  $E_2$  濃度が低くても、 $E_2$  受容体機構の関与を完全に否定することはできない。

Valladares ら<sup>19)</sup>は、hCG あるいは cyclic AMP の負荷により、Leydig 細胞での芳香化は、25 日齢、60~70 日齢ラットでは刺戟されるが、15 日齢ラットでは変化を認めないと報告しており、われわれの得た結果と矛盾する。Cigorraga ら<sup>20)</sup>は成熟ラットに、静脈内より hCG を投与し、急激に性腺を刺戟した場合は、精巣 17~20 desmolase 活性の低下を示すが、hCG の皮下注射による緩徐な性腺刺戟では、同酵素の活性に変化を認めないと述べている。従ってこの結果の矛盾は hCG 投与法の相違によるものであろう。

LH 受容体機構に関しては、hCG(600IU/KgBW) 負荷後の LH レセプターは、すべての日齢のラットで投与後 12~24 時間ではほぼ完全に喪失するが、5 日齢および 10 日齢ラットでは、その後レセプターの急速な回復を示し、72 時間で完全に旧に復する。また

このレセプターの短時間での回復は、hCG 刺戟で増加した Leydig 細胞数によるものではなく、結合部位数の回復によるものである<sup>21)</sup>。20 日齢ラットでは 72 時間で結合能の約 20% が回復するにとどまり、60 日齢ラットでは、完全な結合能の回復に約 14 日を要する<sup>4,21)</sup>。

以上総括すると、5 日齢のラット精巣では、Leydig 細胞質中の  $E_2$  レセプターの不在、および LH レセプター脱感作機序の欠如により、テストステロン産生の調節機構は作用していないのではないかと考えられる。このことは、幼若ラットでは生殖器および中枢系の発育、分化に高濃度のテストステロンが必須であることから、成熟ラットにみられるような阻害機構は生理的に受け入れられないのであろう。13 日齢ラットでは、テストステロン産生の調節は LH レセプターの脱感作機序によるものでなく、テストステロンの一部芳香化によって産生された  $E_2$  によると推測され、19 日齢ラットでは、両者が関与し、44 日齢、59 日齢ラットでは  $E_2$  受容体機構よりむしろ LH レセプターの脱感作機序による調節が主導であると考えられる。しかし、45 日齢ラットへの外因性  $E_2$  単独投与では、テストステロン産性の抑制が顕著であることから<sup>22)</sup>、 $E_2$  それ自身が LH レセプターの脱感作に関与している可能性も否定できないが<sup>20,23)</sup>、同時に  $E_2$  投与後の血中  $E_2$  濃度は、生理的濃度を遙かに超えており、果たして内因性  $E_2$  濃度が同じ調節効果を有するか否かも疑問である。また 13 日齢を境としたテストステロン産生能の相違は、LH レセプターの脱感作機序の有無によるものと考えられ、 $E_2$  による直接阻害効果より LH レセプターの脱感作がテストステロン産生調節に優位に作用していることを示唆する。今後は経時的な変化を追跡し、さらに詳細な分析を必要とする。

G6P-DH 活性は、5 日齢、13 日齢ラットの hCG 処置 3 日後で対照群と比ベ有意に減弱している。Johnson ら<sup>24)</sup> は、ステロイドによる酵素阻害がペントースサイクルを抑制すると指摘しているが、hCG 刺戟により産生された高濃度のテストステロンが G6P-DH 活性を減弱させたと推測するのは、ペントースサイクルの生理的意義より妥当と思われる。19 日齢以降の G6P-DH 活性は、対照群と有意差がなく、この考察は困難であるが、精子成熟過程に相当するこの時期における精巣内の異なった内分泌環境および細胞増殖、分化という複雑な形態学的変化による影響であろう。

(本稿を終わるに臨み、御指導、御校閲下さった第 1 産科婦人科学教室百瀬和夫教授、生化学教室天野久

夫教授に深謝致します。なお本研究は伊藤元博教授との共同研究の一部であり、共同研究途上での御指導および御尽力に心より感謝致します。

本論文の要旨は、第 35 回日本不妊学会総会において発表した。) )

## 文 献

- 1) 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
- 2) 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
- 3) 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
- 4) 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*, 111: 1711, 1982
- 5) Brinkmann, A. O., Leemborg, F. G., Roodnat, E. M., De-Jong, F. H. and Van-Der-Molen, H. J.: A specific action of estradiol on enzymes involved in testicular steroidogenesis, *Biol. Reprod.* 23: 801, 1980
- 6) Moger, W. H.: Direct effects of estrogen on the endocrine function of the mammalian testis, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 58: 1011, 1980
- 7) 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*, 21: 107, 1973
- 8) Johnson, R. B., Nakamura, R. M. and Libby, R. M.: Simplified Scatchard-plot assay for estrogen receptor in human breast tumor, *Clin. Chem.*, 21: 1725, 1975
- 9) Johnson, R. B., Nakamura, R. M.: Improved estrogen receptor assay in human mammary cancer, *Am. J. Clin. Pathol.*, 67: 444, 1977
- 10) 神戸川明: 最近開発された Radioimmunoassay -エストロゲン-, *最新医*, 30: 790, 1975
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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
- 14) Hill, B. R. and Levi, C.: Elevation of a serum component in neoplastic disease, *Cancer Res.*, 14: 513, 1954
  - 15) Hill, B. R.: Some properties of serum lactic dehydrogenase, *Cancer Res.*, 16: 460, 1956
  - 16) 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
  - 17) Wolfson, Jr. S. K. and Ashman, H. G. W.: Isocitric and 6-phospho-gluconic dehydrogenase in human blood serum, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 96: 231, 1957
  - 18) Catt, K. J., Harwood, J. P., Clayton, R. N., Davies, T. F., Chan, V., Katikineni, M., Nozu, K. and Dufau, M. L.: Regulation of peptide hormone receptors and gonadal steroidogenesis, *Recent Prog. Horm. Res.*, 36: 557, 1980
  - 19) Valladares, L. E. and Payne, A. E.: Effect of hCG and cyclic AMP on aromatization in purified Leydig cells of immature and mature rats, *Biol. Reprod.*, 25: 752, 1981
  - 20) Cigorraga, S. B., Sorrel, S., Bator, J., Catt, K. J. and Dufau, M. L.: Estrogen dependence of a gonadotropin-induced steroidogenic lesion in rat testicular Leydig cells, *J. Clin. Invest.*, 65: 699, 1980
  - 21) Kuopio, T., Pelliniemi, L. J. and Huhtaniemi, I. P.: Rapid Leydig cell proliferation and lutenizing hormone receptor replenishment in the neonatal rat testis after a single injection of human chorionic gonadotropin, *Biol. Reprod.*, 40: 135, 1989
  - 22) 跡部一朗: ラット精巣の加齢におけるペントースサイクル活性およびテストステロンのエストロゲンによる影響, *日不妊会誌*, 35: 38, 1990
  - 23) Huhtaniemi, I. P., Leinonen, P., Hammond, G. L. and Vihko, R.: Effect of oestrogen treatment on testicular LH/hCG receptors and endogenous steroids in prostatic cancer patients, *Clin. Endocrinol.*, 13: 561, 1980
  - 24) Johnson, A. D. and Tirner, P. C.: Epididymal carbohydrate metabolism - I. Glucose - 1-<sup>14</sup>C and glucose - 6-<sup>14</sup>C metabolism by mouse, rat

and rabbit tissues, *Comp. Biochem. Physiol.*, 599: 39, 1971

## Regulation of the testosterone production and pentose phosphate pathway in maturing rat testis treated with hCG

Ichiro Machizawa

1st. Department of Obstetrics and Gynecology  
Toho University School of Medicine  
Tokyo 143, Japan

Changes in steroidogenic capacity and the effect of endogenous estradiol ( $E_2$ ) on testosterone (T) production were studied in maturing rat testis treated with human chorionic gonadotropin (hCG). Wistar strain rats, 5~59 days old, were injected with hCG (600 IU/Kg BW), and killed at 1 day or 3 days after the injection. Testicular concentrations of T and  $E_2$  were measured, and  $E_2$ -receptors were detected by Scatchard analysis. In addition, the activities of the pentose phosphate pathway which are related to steroid synthesis, were studied. The capacity of T production at 3 days after injection in 5-, 13-day-old rats was significantly greater than in 19-, 44-, and 59-day-old rats. This result indicates that steroidogenic capacity after hCG stimulation varies at different stages of maturation. Endogenous  $E_2$  increased by hCG stimulation, may regulate T production mediated by  $E_2$ -receptors in 13-, 19-day-old rats. However, in 44-, 59-day-old rats, the regulation of T production by down regulation of LH receptors is superior to the regulatory effect of endogenous  $E_2$ . The activities of the pentose phosphate pathway in 5-, 13-day-old rats were suppressed significantly at 3 days after hCG stimulation. This suggests that the enzymes of the pentose phosphate pathway were directly inhibited by increased T.

(受付: 1991年4月26日特掲)

## 補中益気湯の乏精子症に対する効果

### Effects of Hotyū-ekki-tō on Male Infertility

京都大学医学部婦人科学産科学教室

夏山 知	野田 洋一	野々垣多加史
Satoshi NATSUYAMA	Yoichi NODA	Takahumi NONOGAKI
馬岡 陽	高倉 賢二	成 本 勝 彦
Yoh UMAOKA	Kenji TAKAKURA	Katsuhiko NARIMORO
泰井 俊造	神崎 秀陽	森 崇 英
Shunzo TAI	Hideharu KANZAKI	Takahide MORI

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

当科妊孕外来における乏精子症（精子濃度  $40 \times 10^6 / \text{ml}$  未満または精子運動率 40% 未満）42 例に補中益気湯（7.5g/day, カネボウ）を投与し、投与前後の精液所見、妊娠例、副作用の有無を検討した。投与前後の精液所見が検討可能であった 22 例の平均精子濃度は投与前が  $28.0 \times 10^6 / \text{ml}$  であったのに対し、投与後は  $50.7 \times 10^6 / \text{ml}$  と改善し、平均精子運動率も投与前の 30.7% に対し、投与後は 45.1% と改善した。寺田らの効果判定基準により、精子濃度、精子運動率はともに 50.0% の有効率を示した。妊娠例は 3 例（7.1%）であり、うち 1 例は流産に終わったが、2 例は現在妊娠継続中である。特記すべき副作用は認められず、また、投与前後の血液所見の検討が可能であった 19 例の赤血球、白血球、血色素量、GOT、GPT、総コレステロール、アルブミン、BUM、クレアチニン値には特に異常を認めなかった。以上の結果は、補中益気湯が副作用の少ない乏精子治療薬として臨床的に有用であることを示すものと考えられる。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 843-846, 1991)

#### 緒 言

不妊症領域へのマイクロサージャリー、体外受精胚移植法 (IVF-ET) などの導入により、不妊症治療が飛躍的な進歩を遂げている現在、男性不妊治療はますます重要性が増している。しかし、男性不妊の大多数は原因不明の造精機能障害であり<sup>1,2)</sup>、他の不妊原因の治療に比べて、その治療法は殆ど確立されていないのが現状である。A I H、配偶子卵管内移植法 (GIFT)、IVF-ET でも、特発性造精機能障害による乏精子症では受精率の低下が治療成功への大きな障害となっている<sup>3-5)</sup>。したがって今後の不妊症治療においては、このような造精機能障害例に対する有効な治療法を確立することが極めて重要であ

ると考えられる。

近年、漢方薬の男性不妊症への効果が注目されるようになり、補中益気湯、八味地黄丸、人參湯などの臨床使用が報告されている<sup>6-12)</sup>。今回我々は補中益気湯を乏精子症例に使用し、その治療効果と副作用の有無につき検討を加えたので報告する。

#### 対象および方法

対象は当院妊孕外来を受診した不妊カップルのうち、不良精液所見（精子濃度  $40 \times 10^6 / \text{ml}$  未満または精子運動率 40% 未満）を認めた症例 42 名であり、補中益気湯（7.5g/day, カネボウ）を 12 週以上投与した。うち 22 名は投与前後の精液所見の検討が可能であり、寺田らの基準<sup>13)</sup>に従い、治療前後の精液所見

を比較検討した。妊娠率および副作用の有無についても検討した。19 名については治療前後の血液所見の検討が可能であったため、末梢血赤血球数、白血球数、血色素量、GOT、GPT、総コレステロール、アルブミン、BUN、クレアチニンの 9 項目について異常値出現の有無も検討した。

結 果

投与前後の精液所見の検討が可能であった 22 名の精子濃度および精子運動率を単純平均値で見ると、投与前の精子濃度 ( $28.0 \times 10^6 / \text{ml}$ )、精子運動率 (30.7%) に比べ、投与後はそれぞれ  $50.7 \times 10^6 / \text{ml}$ 、45.1% と精液所見の改善が認められた。これを寺田らの治療効果判定基準(表 1)<sup>13)</sup>に基づいて検討しても、精子濃度、精子運動率ともに 50.0% の有効率を示した(表 2)。精子濃度別に有効率をみると、精子濃度  $20 \times 10^6 / \text{ml}$  未満の群では 63.6% と高く、 $20 \times 10^6 / \text{ml}$  以上の群では 36.4% にとどまった。個々の精子濃度、精子運動率、運動精子濃度(精子濃度  $\times$  精子運動率)をプロットして変化をみると(図 1, 2, 3)、三項目ともに増加傾向が認められ、特に、運動精子濃度で著明な上昇を示す例が認められた。

治療成績をみると(表 3)、44 例中 3 例(7.2%)が妊娠し、3 例の治療開始から妊娠までの期間はそれぞれ 16, 4, 17 週間であった。うち 1 例は体外受精・胚移植法にて妊娠に至った例であるが、妊娠 5 週に流産の転帰となった。他の 2 例は現在妊娠継続中である。この妊娠 3 症例のうち精液所見を判定できた 2 例(表 4)は、投与前後で精子濃度と精子運動率の改善を認めている。

19 名の血液検査には異常値を示す例はなく、また全例において臨床的な副作用を認めなかった。

表 1 治療効果判定基準(寺田他1985)

判定	精子濃度		運動率
	$20 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満	$20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上	
有効	$10 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上増加	$20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上増加	20%以上増加
不変	$10 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満増加	$20 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満増加	20%未満増加
悪化	$10 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上減少	$20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上減少	20%以上減少

表 2 治療効果

	精子濃度(%)			運動率
	$20 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満	$20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上	計	
例数	11	11	22	22
有効	7 (63.6)	4 (36.4)	11 (50.0)	11 (50.0)
不変	4 (36.4)	6 (54.5)	10 (45.5)	9 (40.9)
悪化	0 (0.0)	1 (9.1)	1 (4.5)	2 (9.1)

表 3 妊娠症例

症例	年齢	治療期間	経過	転帰
1	夫37歳 妻34歳	16週間	LH-RH agonist, HMG-HCG 併用 下に AIH 施行	現在妊娠 継続中
2	夫35歳 妻34歳	4 週間	放射線治療後の 乏精子症、自然 周期での妊娠	現在妊娠 継続中
3	夫35歳 妻35歳	17週間	IVF-ET 併用	流産

表 4 妊娠症例の精液所見

症例	治療前濃度	運動率	妊娠時濃度	運動率
1	$15 \times 10^6 / \text{ml}$	40%	$50 \times 10^6 / \text{ml}$	61%
2	$11 \times 10^6 / \text{ml}$	65%	不明	
3	$37 \times 10^6 / \text{ml}$	71%	$117 \times 10^6 / \text{ml}$	82%

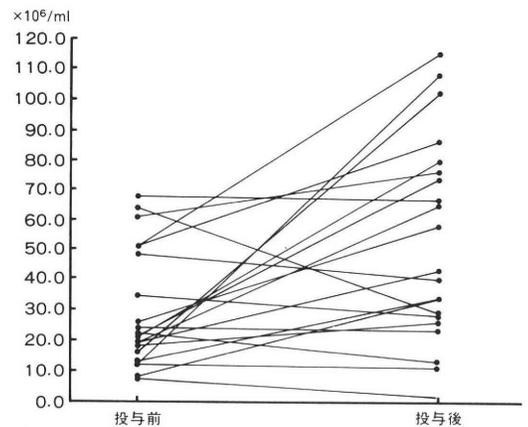


図 1 精子濃度の変化

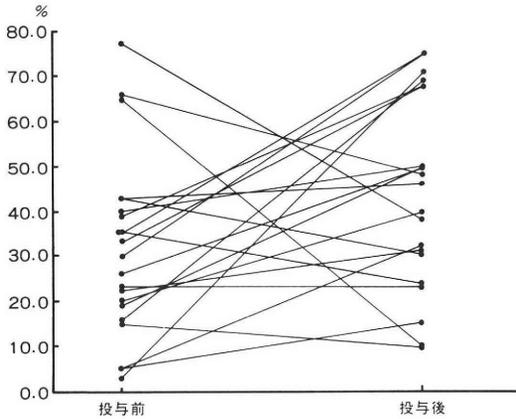


図2 精子運動率の変化

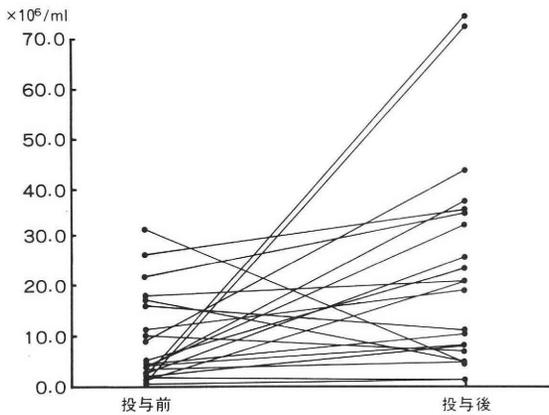


図3 運動精子数の変化

考 察

不妊症にしめる男性不妊の割合は30~50%であり<sup>1,2)</sup>、しかもそのうち70~90%が特発性の造精機能障害である<sup>1,2)</sup>。男性不妊治療として非薬物療法と薬物療法があり、非薬物療法としては、AIH, GIFT, IVF-ET, 最近では顕微受精(micro-fertilization)が応用されているが<sup>3,4,5)</sup>、受精率が低く、妊娠成績の飛躍的な向上はもたらされていない。当科でもAIHやIVF-ETの治療成績を向上させる目的で、運動精子のみを高率に回収できるMigration-Gravity Sedimentation Method (MS法)<sup>18)</sup>等の精子調整法を応用し、積極的に男性不妊症に取り組んできたが<sup>19,20)</sup>、その治療成績は極めて悪く、特発性の造精機能障害については治療の決め手を欠いているのが現状である。

特発性造精機能障害に対する薬物療法として内分

泌的治療と非内分泌的治療があり、内分泌的治療としては clomiphene, tamoxifen, hCG, hMG, LH-RH などが投与されているが、実際には、臨床的に内分泌的異常を示す症例は少なく、非内分泌的治療法が主体となっている<sup>1)</sup>。ステロイドが治療に用いられた時期もあるが、現在ではほとんど使用されていない。

造精機能賦活を目的とした非内分泌的治療法としてはカリクレイン製剤や Methylcobalamin, Vitamin E などが使用されており、その効果については現在も様々な見地から検討されているが、決定的な効果は得られていない<sup>13~16)</sup>。

男性不妊治療の混沌とした状況の中で、近年、漢方治療が注目されるに至り、現在までに補中益気湯、八味地黄丸、人參湯、牛車腎気丸による臨床効果が報告されている<sup>6~12)</sup>。補中益気湯は漢方医学的には虚証に使用されるものであるが、臨床的に乏精子症患者の血中テストステロン値を上昇させると報告されており、ステロイド代謝への影響を介して精子運動率を改善するのではないかという意見が出されている<sup>17)</sup>。

本研究により、補中益気湯による精子濃度、精子運動率のいずれにおいても改善傾向が認められ、血液所見、臨床所見いづれにおいても特記すべき副作用は認めなかった。効果の解析については二重盲検法を含め更に詳細な検討が必要であり、効果の機序についても精子の quality が改善されるのかどうかなど基礎的に検討する必要がある。特発性造精機能障害に対する特効治療法のない現在、副作用の少ない治療法として、補中益気湯は臨床的に有用であると考える。

文 献

- 1) 広井正彦, 小田隆晴, 長谷川剛志: 男性不妊の治療, 産科と婦人科, 56: 795, 1989
- 2) 堀 夏樹, 山本逸夫, 有馬公伸, 林 宣男, 加藤雅史, 多田 茂: 男性不妊の臨床 統計的観察 (II), 日不妊会誌, 31: 127, 1986
- 3) Matson, P. L., Turner, S. R., Blackledge, D. G., Yovich, J. M., Richardson P. A. and Yovich J. L.: The role of gamete intrafallopian transfer (GIFT) in the treatment of oligospermic infertility, Fertil. Steril., 48: 608, 1987
- 4) Cohen, J., Purdy, J., Edward R., Rowland, G., Fehilly, C., Steptoe, P., Fishel, S., Webster, J. and Hewitt, J.: In vitro fertilization: a treatment for male infertility, Fertil. Steril., 43: 422, 1985
- 5) Hirsch, I., Young, R. L., Gibbons, W. E., Poin-dexter, A. N., Lipshultz, L. I., Dodson, M. G.,

- Rossavik, K. K. and Findley, W. E.: In vitro fertilization in couples with male factor infertility, *Fertil. Steril.*, 45: 659, 1986
- 6) 吉田英機, 内藤善文, 藤井徳照, 渡辺政信, 田代博紹, 吉田 徹: カネボウ補中益気湯エキス顆粒の内服療法により妊娠に成功した1例, *医学と薬学*, 10: 769, 1983
- 7) 奥山明彦, 並木幹夫, 園田孝夫, 林 知厚: 男性不妊症に対する八味地黄丸及び人参湯の効果, *泌尿器紀要*, 30: 409, 1984
- 8) 光川史郎, 木村正一, 石川博夫, 折笠精一: 男性不妊患者に対する補中益気湯の使用経験, *日不妊会誌*, 29: 458, 1984
- 9) 吉田英機, 谷藤 匠, 桜井秀樹, 田代博紹, 小川肇, 今村一男: 乏精子症に対する補中益気湯の臨床的効果について, *泌尿器紀要*, 32: 297, 1986
- 10) 大橋一友, 上浦祥司, 鮫島義弘, 亀田 隆, 東 千尋, 松崎 昇, 根来孝夫, 佐治文隆, 谷澤 修: 補中益気湯の乏精子症に対する治療効果, *産婦人科の世界*, 11: 1189, 1987
- 11) 太田博孝, 福島峰子: 乏精子症に対する補中益気湯・八味地黄丸の効果, *産婦人科漢方研究の歩み*, 5: 60, 1988
- 12) 森 明人, 堂地 勉, 山元慎一, 竹内一浩, 福元清吾, 沖 利通, 永田行博: 八味地黄丸の乏精子症に対する効果, *日不妊会誌*, 35: 329, 1990
- 13) 寺田為義, 里見定信, 風間泰蔵, 石川成明, 片山喬: 男性不妊症の治療成績, *日不妊会誌*, 30: 481, 1985
- 14) 相良祐輔, 山中 恵, 岡谷裕二: 男性不妊の評価とその対応, *臨産婦*, 42: 558, 1988
- 15) 守殿貞夫, 岡伸 俊, 浜口毅樹, 岡田 弘, 羽間稔, 松本 修, 石神襄次: 男性不妊の臨床統計的観察, 特に妊娠成立例の検討, *ホルモンと臨床増刊号*, 34: 171, 1986
- 16) 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, *日不妊会誌*, 35: 175, 1990
- 17) 太田博孝, 福島峰子: 男性不妊と漢方, *産婦治療*, 57: 304, 1989
- 18) Tea, N. T., Jondet, M. and Sholler, R.: A "migration-gravity sedimentation" method for collecting human motile spermatozoa, *Pathol. Biol. (France)*, 31: 688, 1983
- 19) 辰巳賢一, 野田洋一, 松本 央, 馬岡 陽, 矢野樹理, 福田愛作, 江見信之, 高井一郎, 泰井俊造, 神崎秀陽, 森 崇英: Migration-Gravity Sedimentation Method を利用した運動精子回収法, 及び同法の A I H への応用, *日不妊会誌*, 33: 645, 1988
- 20) 野田洋一, 成本勝彦, 高倉賢二, 馬岡 陽, 泰井俊造, 神崎秀陽, 森 崇英: 体外受精胚移植法の現況, *産婦実際*, 投稿中, 1991

### Effects of Hotyū-ekki-tō on male infertility

Satoshi Natsuyama, Yoichi Noda,  
Takahumi Nonogaki, Yoh Umaoka,  
Kenji Takakura, Katsuhiko Narimoro,  
Shunzo Taii, Hideharu Kanzaki  
and Takahide Mori

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

To examine the effects of Hotyū-ekki-tō on male infertility, Hotyū-ekki-tō was administered 7.5g/day to 42 patients of male infertility for more than 12 weeks at Kyoto University. Seminal findings were compared between before and after the treatment. The clinical results such as the pregnancy rate and undesirable effects were analyzed in detail. The average sperm concentration and sperm motility rate were  $50.7 \times 10^6/\text{ml}$  and 45.1% after the treatment respectively, showing the remarkable improvement as compared with those ( $28.0 \times 10^6/\text{ml}$  and 30.7%) before the treatment. Pregnancy occurred in three cases (7.1%). One case resulted in abortion and the remaining 2 cases are now on-going. Symptomatically and hematologically, no undesirable findings were observed. These results suggest that Hotyū-ekki-tō is effective for the treatment of male infertility.

(受付: 1991 年 3 月 7 日特掲)

# ラットの精巣間質におけるマクロファージと ライディッヒ細胞の生後発育齢に伴う形態学的変化

## Age-related Changes of Testicular Interstitial Macrophages and Leydig Cells in the Rat

自治医科大学泌尿器科学教室

徳江章彦

Akihiko TOKUE

同解剖学教室

大河原重雄 間藤方雄

Shigeo OOKAWARA Masao MATO

Department of Urology

Department of Anatomy, Jichi Medical School, Tochigi, 329-04, Japan

精巣間質に分布するマクロファージの機能を解明することを目的として、幼若期、性成熟期、老齢期の各発育段階のラットの精巣を電顕的および免疫組織化学的に検索した。

幼若期の精巣間質では少数の Leydig cell が集塊を作っており、その集塊は数層に及ぶ fibroblastoid cell によって取り囲まれていた。大部分のマクロファージは、この fibroblastoid cell の取り囲みの外側にあつて、Leydig cell と直接接触することはなかったが、fibroblastoid cell の細胞間隙に突起を伸ばしたマクロファージも観察された。性成熟期になると、より多数の Leydig cell が集団をなして間質に分布した。これら Leydig cell の集団を取り囲む fibroblastoid cell は消褪して、Leydig cell はリンパ腔に直接露出していた。この発育段階のマクロファージは Leydig cell と接触したり、Leydig cell の集団の中に存在して、両細胞は密接な位置関係を示した。老齢期では、Leydig cell は減少し、変性に陥った Leydig cell の近くにリポフスチンを大量にもつマクロファージがしばしば観察された。

これらの所見は、精巣間質マクロファージが Leydig cell を取り囲む微細環境の、発育に伴う変化に深く関わっていることを示唆するものであり、両細胞は相互に作用しつつ精巣機能の発現、維持に働いていると推測された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 847-853, 1991)

### 緒言

細胞の分化において、細胞の相互作用 cell interaction が重要であることは、発生学の教えるところである。哺乳動物の精巣間質は、Leydig cell、線維芽細胞、マクロファージ、肥満細胞等の細胞と、血管およびリンパ系組織から構成されている<sup>1)</sup>。近年、精巣間質におけるマクロファージは、Leydig cell との相互作用の面から注目されている<sup>2-5)</sup>。

一般に定着型マクロファージは、それらが定着している組織に応じて、特有な機能を獲得している。例えば、肝の Kupffer cell、肺胞マクロファージ、破骨細胞および Mato の FGP 細胞<sup>6,7)</sup>などがその例である。精巣間質マクロファージも、特異な働きを通じて、Leydig cell の機能、ひいては精巣機能の発現あるいは維持に関与しているものと推測される。しかし現在までのところ、精巣間質に多数分布するマクロファージの機能は十分に解明されていない。

本論文は、精巢間質マクロファージと精巢機能との関係を明らかにする研究の一環として、ラットの精巢におけるマクロファージと Leydig cell の発育ないし加齢に伴う形態学的変化を、電子顕微鏡のならびに免疫組織化学的に検討した。

### 実験材料および方法

#### 1. 実験動物

この研究には 15 匹のウィスター系ラットを用いた。これらの生後 1～11 日の幼若群, 16～20 週齢の性成熟群, 24～30 月齢の老齢群の 3 群に分けた。各ラットは、エーテル麻酔下で精巢を摘出して、以下の実験に供した。

#### 2. 免疫組織化学的観察

マクロファージの検出：各群のラットから摘出した精巢を、直ちにドライアイスで凍結し、クライオスタットで薄切した。凍結切片を室温で風乾後、冷メタノールで固定し、間接免疫ペルオキシダーゼ法によって染色した。一次抗体として、浜松医科大学の山下昭教授<sup>8)</sup>より分与された抗マクロファージ・モノクローナル抗体を用いた。二次抗体として、HRP 標識羊抗マウス免疫グロブリン (Cooper Biochemical) を用いた。

Leydig cell の検出：ホルマリン固定・パラフィン包埋の精巢組織を対象として、作製した切片を ABC (avidin-biotin peroxidase complex) 法<sup>9)</sup>で染色した。一次抗体として、2 種類の抗テストステロン・モノクローナル抗体を用いた。これらは群馬大学の若林克己教授および帝国臓器製薬株式会社より分与されたものであり、それぞれの抗体の特異性はテストステロンの radioimmunoassay によって確認されている。以後の操作には Vectorstain ABC キット (Vector Lab.) を用いた。

ペルオキシダーゼ活性は DAB 法によって発色させ、Mayer のヘマトキシリンで核染色を施して光顕的に観察した。

#### 3. 電子顕微鏡的観察

電子顕微鏡的観察に供する精巢は、原則として、灌流固定によって固定した。灌流液として、2%パラフォルムアルデヒドと 2%グルタルアルデヒドの燐酸緩衝混合液を用い、胸部大動脈から灌流した。灌流固定の後精巢を摘出、細切し、同組成の固定液でさらに 12 時間浸漬固定した。幼若ラットの精巢は灌流固定をせず、原形のまま浸漬固定とした。いずれも 1%四酸化オスミウムで後固定し、エタノール系列で脱水した後エポキシに包埋した。超薄切片を酢酸ウランと水酸化鉛で二重染色して、日本電子

JEM-2000EX 型電子顕微鏡で観察した。

### 結果

#### 光顕的免疫組織化学的所見

幼若期、性成熟期および老齢期のラット精巢標本から得られた切片は、抗マクロファージ抗体に対して、同様の染色性を示したが、染色の強さは発育の段階によって差があった。いずれの発育段階においても、抗マクロファージ抗体で染色されて、マクロファージと同定された細胞は精巢間質のみに認められ、精細管にはみられなかった。これらマクロファージは散在性に、時には 2～3 個が集団をなして血管周囲に分布した (図 1 a-c)。マクロファージの数は、発育に伴って増加し、逆にそれらの大きさは減少する傾向があった。

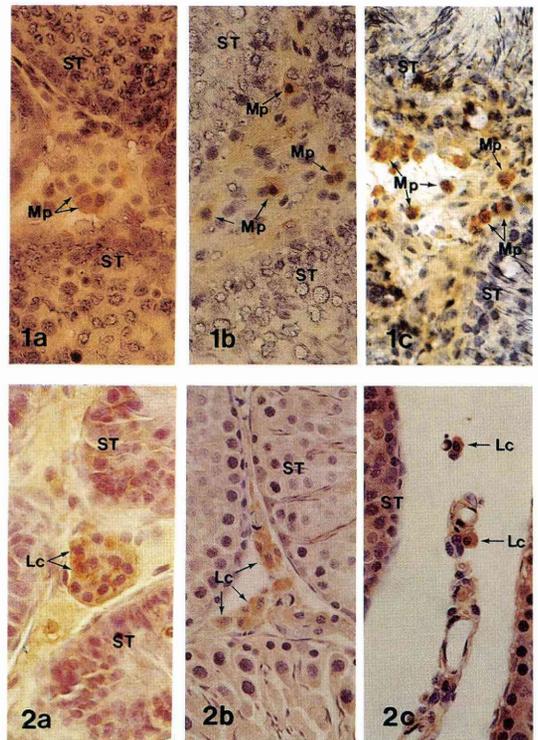


図 1 (a)幼若ラット, (b)性成熟ラット, (c)老齢ラットの精巢間質。抗マクロファージ抗体で染色されて、マクロファージと固定された細胞がみられる。Mp: マクロファージ, ST: 精細管, 間接免疫ペルオキシダーゼ法,  $\times 90$

図 2 (a)幼若ラット, (b)性成熟ラット, (c)老齢ラットの精巢間質。抗テストステロン抗体で染色されて、Leydig cell (Lc) と同定された細胞が認められる。ST: 精細管, ABC法,  $\times 110$

抗テストステロン抗体を用いた免疫組織化学では、いずれの発育段階の切片も、染色性に大きな差はなかった。しかし本報の条件下では、染色された Leydig cell の、精巣間質における存在様式には、発育の段階による差があった。すなわち幼若期では、数個の Leydig cell が集塊をなし、その集塊は薄い紡錘形の細胞で取り囲まれていた(図2 a)。性成熟期では、Leydig cell の数は多く、散在性あるいは集団となって血管周囲に密集していた(図2 b)。老齢期では陽性に染色される Leydig cell の数が著しく減少していた(図2 c)。すなわち Leydig cell の分布の状態と出現数には、発育の段階に従って差がみられた。

超微構造の変化

幼若期の精巣間質では紡錘型の Leydig cell が数個で集塊をつくり、この集塊は数層に及ぶ間葉性(mesenchmal)の扁平な細胞、すなわち fibroblastoid cell によって取り囲まれていた(図3, 4)。さらに fibroblastoid cell がその突起を、これら Leydig cell の細胞間に挿入している所見がしばしば観察された(図3, 6)。Leydig cell の核は類円型で、細胞質全体は暗調であった。中等量の滑面小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ装置がみられた。この発育段階の Leydig cell の特徴は脂肪滴を多数有していることであった(図3, 4)。この Leydig cell の集塊と fibroblastoid cell の近くには、少数のマクロファージが分布していた。この細胞には比較的多数のライソゾーム、ミトコンドリアが見られたが、細胞質の突起の比較的小さい

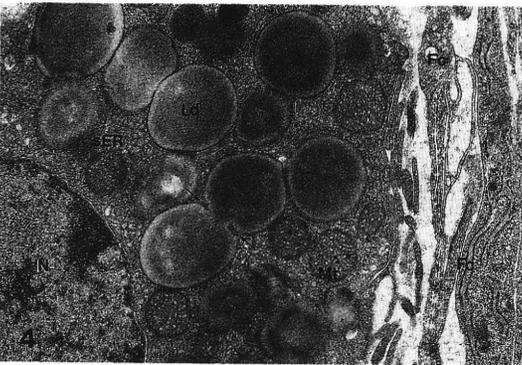
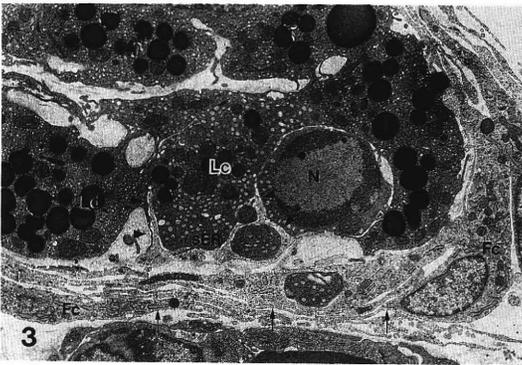


図3 幼若ラットの精巣間質。Leydig cell (Lc)の集塊が数層に及ぶ fibroblastoid cell によって取り囲まれている(矢印)。Leydig cell は多数の脂肪滴(Ld)をもっている。fibroblastoid cell (Fc)の細い突起が Leydig cell の細胞間隙へ伸びている(矢頭)。N:核, sER:滑面小胞体, ×4,100

図4 幼若ラットにおける Leydig cell。多数の脂肪滴(Ld)、滑面小胞体(sER)、ミトコンドリア(Mt)をもっている。連結している脂肪滴もみられる(矢印)。Leydig cell を fibroblastoid cell (Fc)が層状をなして取り囲んでいる。N:核, ×10,000

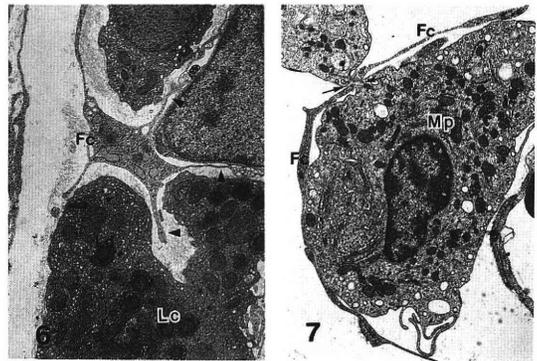
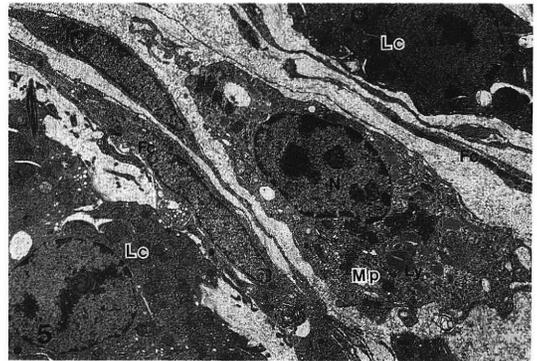


図5 幼若ラットの精巣間質。1個のマクロファージ(Mp)が Leydig cell (Lc)の集塊の間にみられる。両者の間には扁平な fibroblastoid cell (Fc)が介在している。マクロファージは紡錘型で、多数のライソゾーム(Ly)をもっている。N:核, ×2,800

図6 fibroblastoid cell (Fc)の細い突起が Leydig cell (Lc)の細胞間隙(矢頭)へ伸びている。Ld:脂肪滴, ×3,500

図7 1個のマクロファージ(Mp)が2個の fibroblastoid cell (Fc)の狭い間隙を貫いている(矢印), ×4,100

ものもあった(図5)。多くの場合、これらマクロファージは、Leydig cell に直接接触することはなく、両者の間には薄い fibroblastoid cell が介在した。しかしながら、時には fibroblastoid cell の間隙に突起を伸ばし、Leydig cell に接近しているマクロファージも観察された(図7)。

性成熟期の標本では、多数の Leydig cell が集塊をなして、血管の周囲に分布していた(図8)。この細胞は豊富な滑面小胞体、よく発達したゴルジ装置、多数のミトコンドリアをもっていた。脂肪滴はほとんどみられなかった(図8, 9)。この发育段階の Leydig cell の集塊は、もはや fibroblastoid cell に取りまかれることはなく、直接リンパ腔に露出していた。性成熟期のマクロファージは豊富な細胞内小器官を有

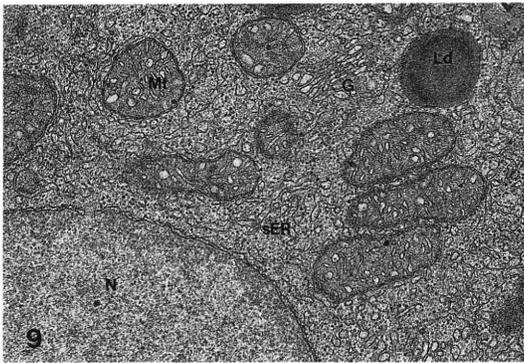
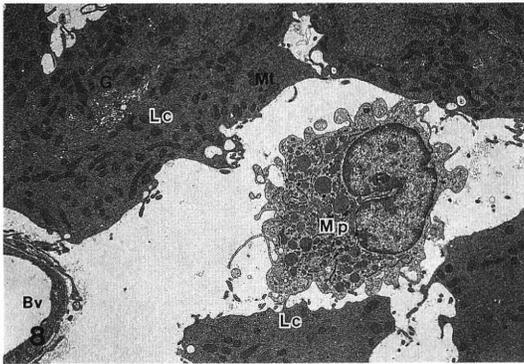


図8 性成熟ラットの精巣間質。Leydig cell (Lc)の集塊と小血管(Bv)が密接な距離にある。マクロファージ(Mp)がLeydig cellの集塊に接している。Leydig cellは豊富な滑面小胞体、良く発達したゴルジ装置(G)、多数のミトコンドリア(Mt)をもっている。×2,200

図9 性成熟ラットにおけるLeydig cell (Lc)の高倍率電顕写真。細胞質は豊富な滑面小胞体(sER)と多数のミトコンドリア(Mt)で満たされているが、脂肪滴(Ld)は少ない。G:ゴルジ装置、N:核。×16,300

し、特にライソゾームを多数もっていた。細胞表面には多くの糸状偽足(filopodia)をもっていた(図10)。これらのマクロファージは、Leydig cell に密着していたり、Leydig cell の集塊の中に存在するものも少なくなかった(図8)。

老齢期の精巣間質では、Leydig cell、マクロファージ共に、その細胞構造に著しい変化を示すものがみられた。すなわちLeydig cellの核は染色性が低下し、細胞質は乏しく、滑面小胞体の膨化がみられた

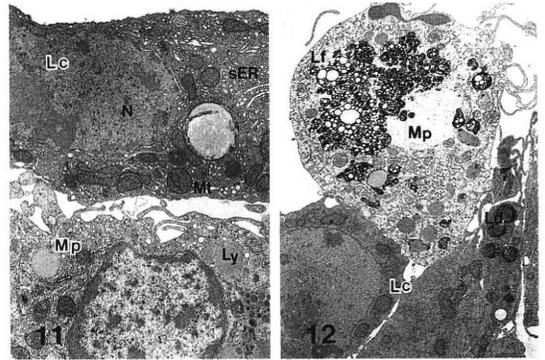
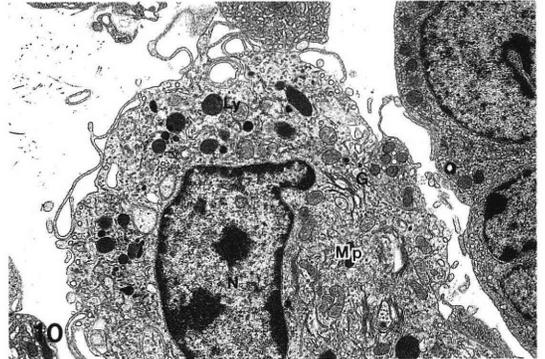


図10 性成熟期の精巣間質マクロファージ(Mp)。細胞はほぼ円形で、多数の糸状偽足を間質のリンパ腔に伸ばしている。良く発達したゴルジ装置(G)、ミトコンドリア、粗面小胞体、多数のライソゾーム(Ly)などがみられる。N:核。×4,200

図11 老齢ラットの精巣間質。Leydig cell (Lc)はやや萎縮し、その核(N)は染色性が低下している。ミトコンドリア(Mt)や滑面小胞体(sER)の膨化が認められる。Leydig cellは写真の下部のマクロファージ(Mp)と密に接している。Ly:ライソゾーム×4,000

図12 老齢ラットにおける精巣間質マクロファージ(Mp)。膨化したミトコンドリアをもつLeydig cell (Lc)に接して介在する。このマクロファージの細胞質には多数のリボスチン顆粒(Lf)と種々な空胞がみられる。Ld:脂肪滴。×2,900

(図11). Fibroblastoid cell は数が著しく減少し、Leydig cell に接して存在するマクロファージはやや小型になり、細胞質にはリポフスチンが充満しているものがしばしば見られた(図12).

### 考 察

本研究では、ラットの精巣を電顕的組織学および免疫組織化学によって検索し、Leydig cell 自身の形態と、Leydig cell を取り囲む微細環境が発育加齢の過程で変化すること、とりわけ精巣間質マクロファージの Leydig cell との相互関係が、発育に伴って変化することを確認した。

幼若期の精巣間質で、コンパクトに集塊を作っている少数の Leydig cell は、電顕的に観察すると、多数の脂肪滴を含んでいた。性成熟期になると、集団をなす Leydig cell の数は著しく増加し、著者らの実験条件下では個々の細胞は脂肪滴をほとんどみず、豊富な滑面小胞体、良く発達したゴルジ装置、多数のミトコンドリア等を有するようになった。性成熟期のこれらの所見は、ステロイドホルモン産生能の亢進を示唆するもので、同様の変化は、hCG で刺激された各種哺乳動物で観察されている<sup>10-12)</sup>。

幼若期の Leydig cell が、アンドロゲン分泌の盛んな成熟型の細胞に変化するに平行して(伴って)、Leydig cell を取りまく微細環境に著明な変化が観察された。すなわち幼若期の Leydig cell の集塊は、数層に及ぶ極めて薄く扁平な細胞によって取り囲まれていたが、性成熟期になると、これら数層の、被膜状に配列する細胞は認められず、Leydig cell の集塊が直接リンパ腔に露出するようになった。精巣間質のリンパ腔は、内皮で囲まれる<sup>2,13)</sup>が、幼若期に Leydig cell の集塊を取り囲んでいる数層の細長い突起をもった細胞は、接着装置の未発達なこと、基底膜を伴わない点から、すでに報告されている内皮細胞とは若干異なり間葉系の細胞と考えられ、著者らはこの細胞を仮りに fibroblastoid cell と呼ぶことにした。しかしこの fibroblastoid cell の少なくとも一部はリンパ管内皮に属する細胞である可能性は残っている。14種の哺乳動物の精巣間質を検索した Fawcett<sup>2)</sup>は、ラットにおいては臓側に内皮(visceral endothelium)を欠いているために、Leydig cell がリンパ腔に露出していると述べている。さらに Clark<sup>13)</sup>は、ラット精巣の間質組織中のリンパ腔を囲む内皮細胞は、2つの精細管の間の狭い間隙では存在するが、3つ以上の精細管で囲まれた三角形の間隙では認められず、Leydig cell の集塊はリンパ腔に露出していると記載している。上述のように著者らも性成熟ラットでは、

Fawcett らや Clark の報告と一致する所見を得たが、幼若期ラットの所見は彼らの報告と異なり、Leydig cell の集塊を包む薄く扁平な細胞は常に存在した。Leydig cell がリンパ腔に直接露出していることの意味は、Leydig cell から精細管へ、適切な濃度のテストステロンを直接供給できることであると推測されている<sup>13)</sup>。Fibroblastoid cell が性成熟につれて消滅して、集団をなした Leydig cell が間質リンパ腔に広く展開することが、内皮細胞の欠除と共に Leydig cell の機能の発現に必要な変化と考えられる。

一方性成熟期のラットの精巣間質には、間質全細胞の20~25%にあたる多数のマクロファージが存在する<sup>3-5)</sup>。このように高密度の分布は他の臓器では観察されておらず、この事はマクロファージの精巣機能への有意な関与を伺わせる。

間質マクロファージも発育の過程で大きく変化した。幼若期では、少数のマクロファージが Leydig cell の集塊の近くに存在したが、多くの場合、両者の間には fibroblastoid cell が介在して、両者が直接接することはなかった。しかしこの発育段階でも、fibroblastoid cell の細胞間隙に突起を伸ばしたマクロファージが観察されたことは注目し得る。性成熟期になると最早 fibroblastoid cell の取り囲みはなく、幼若期より数を増したマクロファージが、Leydig cell に直接接触し、あるいは Leydig cell の集団の中に深く取りこまれるように存在した。これらの所見は、マクロファージが fibroblastoid cell の消滅および Leydig cell の分化・成長に深く関与していることを示唆するものである。

Yee & Hutson<sup>14,15)</sup>は、精巣間質マクロファージが FSH (follicle stimulating hormone) に対するレセプターを有しており、FSH に反応して、Leydig cell のテストステロン分泌を刺激する因子を産出することを証明した。Bergh<sup>16)</sup>は停留精巣ラットに hCG を与えた時に、Leydig cell の肥大と共に、マクロファージも肥大することを報告した。このような Leydig cell と精巣間質マクロファージの機能的相互作用を示唆する形態学的根拠として、本研究でも観察された両細胞間の密接な位置関係があげられている<sup>2-5)</sup>。Miller ら<sup>3)</sup>はラット精巣間質において、Leydig cell の細胞質の突起が、マクロファージの特殊な構造をとる細胞膜の嵌入部に挿入されていることを電顕的に観察している。

また精巣には血液・精巣関門が存在することが証明されている<sup>17)</sup>。マクロファージはこの関門を有する特異な場において、異物処理<sup>3,5)</sup>や免疫応答<sup>18,19)</sup>の機能を有している可能性を示唆する報告もある。Leydig

cellを傷害するEDS (ethane dimethane sulfonate)の投与実験で、精巣マクロファージによるLeydig cellの貧食が観察されている<sup>20,21)</sup>。組織内異物をその場で摂取し分解するマクロファージ系の細胞は、脾臓、肝臓のみならず、脳にも存在する<sup>6,7)</sup>。この点から、Leydig cellが産出するステロイドホルモンの一部は、マクロファージによって処理されることも充分予想され、マクロファージが小規模とはいえ、アンドロゲン分泌の制御機構に関わっている可能性もあろう。

このように、精巣間質マクロファージは、精巣機能の発達、退行に関与する重要な因子の1つと考えられる。

本研究を遂行するにあたり、貴重な抗体を分与して下さい、浜松医科大学の山下 昭教授、群馬大学の若林克己教授および帝国臓器製薬株式会社へ深謝致します。

なお本研究は平成2年度文部省科学研究費補助金2670716によったことを付記します。

#### 文 献

- 1) Christensen, A. K.: Leydig cells. In Handbook of Physiology, section 7 (5), p57, American Physiological Society, 1975
- 2) Fawcett, D. W., Neaves, W. B. and Flores, M. N.: Comparative observations on intertubular lymphatics and organization of the interstitial tissue of the mammalian testis, Biol. Reprod., 9: 500, 1973
- 3) Miller, S. C., Bowman, B. M. and Rowland, H. G.: Structure, cytochemistry, endocytic activity, and immunoglobulin (Fc) receptors of rat testicular interstitial-tissue macrophages, Am. J. Anat., 168: 1, 1983
- 4) Bergh, A.: Effect of cryptorchidism on the morphology of testicular macrophages: Evidence for a Leydig cell-macrophage interaction in the rat testis, Int. J. Androl., 8: 86, 1985
- 5) Niemi, M., Sharpe, R. M. and Brown, W. R. A.: Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis, Cell Tissue Res., 243: 337, 1986
- 6) Mato, M. and Ookawara, S.: Influences of age and vasopressin on the uptake capacity of fluorescent granular perithelial cells (FGP) of small cerebral vessels of the rat, Am. J. Anat., 162: 45, 1981
- 7) Mato, M., Aikawa, E., Mato, T. and Kurihara, K.: Tridimensional observation of fluorescent granular perithelial (FGP) cells in rat cerebral blood vessels, Anat. Rec., 215: 413, 1986
- 8) 山下 昭: マクロファージと免疫, 戸部隆吉他 (編), 消化器と免疫, 18, p 258, 日本医学館, 1987
- 9) Hsu, S. M., Raine, L. and Fanger, H.: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures, J. Histochem. Cytochem., 29: 577, 1981
- 10) De Kretser, D. M.: Changes in the fine structure of the human testicular interstitial cells after treatment with human gonadotrophins, Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 83: 344, 1967
- 11) Russo, J. and Sacerdote, F. L.: Ultrastructural changes induced by HCG in the Leydig cell of the adult mouse testis, Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 112: 363, 1970
- 12) Hodgson, Y. M. and de Kretser, D. M.: Acute responses of Leydig cells to hCG: evidence for early hypertrophy of Leydig cells, Mollec. Cell Endocr., 35: 75, 1984
- 13) Clark, R. V.: Three-dimensional organization of testicular interstitial tissue and lymphatic space in the rat, Anat. Rec., 184: 203, 1976
- 14) Yee, J. B. and Hutson, J. C.: Biochemical consequences of follicle-stimulating hormone binding to testicular macrophages in culture, Biol. Reprod., 32: 872, 1985
- 15) Yee, J. B. and Hutson, J. C.: Effects of testicular macrophage-conditioned medium on Leydig cells in culture, Endocrinology, 116: 2682, 1985
- 16) Bergh, A.: Treatment with hCG increases the size of Leydig cells and testicular macrophages in unilaterally cryptorchid rats, Int. J. Androl., 10: 765, 1987
- 17) Sun, E. L. and Gondos, B.: Formation of the blood-testis barrier in the rabbit, Cell Tissue Res., 243: 575, 1986
- 18) Pöllänen, P. and Niemi, M.: Immunohistochemical identification of macrophages. Lymphoid cells and HLA antigens in the human testis, Int. J. Androl., 10: 37, 1987
- 19) Pöllänen, P. and Maddocks, S.: Macrophages, lymphocytes and MHC II antigen in the ram and the rat testis, J. Reprod. Fert., 82: 437, 1988
- 20) Kerr, J. B., Bartlett, J. M. S., Donachie, K.: Acute response of testicular interstitial tissue in rats to the cytotoxic drug ethane dimethanesulphonate, Cell Tissue Res., 243: 405, 1986
- 21) Morris, I. D., Phillips, D. M., Bardin, C. W.: Ethylene dimethanesulphonate destroys Leydig cells in the rat testis, Endocrinology, 118: 709, 1986

#### Age-related changes of testicular interstitial

## **macrophages and Leydig cells in the rat**

Akihiko Tokue, Shigeo Ookawara  
and Masao Mato

Department of Urology  
Department of Anatomy,  
Jichi Medical School,  
Tochigi 329-04, Japan

To clarify the developmental process of Leydig cells and functions of testicular macrophages, the testes of young, sexually mature, and old rats were examined by immunohistochemistry and electron microscopy.

In the testicular interstitium of young rats, clusters of a small number of Leydig cells were surrounded by several layers of fibroblastoid cells. Macrophages existed outside the fibroblastoid cell layers and did not directly contact with Leydig cells. Some macrophage extended their processes

into the intercellular space of fibroblastoid cell. With sexual maturation, small clusters of Leydig cells were distributed throughout testicular interstitium and lamellar fibroblastoid cells dissociated. Consequently, Leydig cells were exposed to the lymphatic space. At this stage, the macrophages were present inside the clusters of Leydig cells or directly contacted with them. This indicates a close relationship between these two cells. In old age group, Leydig cells decreased in number, and macrophages containing abundant lipofuscin granules and cell debris were frequently observed near degenerated Leydig cells.

These findings suggest that the microenvironment in testis composing testicular interstitial fibroblastoid cells and macrophages are closely associated with the development and growth of Leydig cells. The relationship between macrophages and Leydig cells appears to be important for the regulation and maintenance of testicular functions.

(受付：1991年1月7日)

## 視床下部—下垂体—精巣系の老化 第二報：下垂体機能の老化の研究

### The Aging of Hypothalamo—Pituitary—Testicular Axis. II: Anterior Pituitary Function in Male Senescence

札幌医科大学泌尿器科学教室（主任：熊本悦明教授）

三熊直人 熊本悦明 丸田浩  
Naohito MIKUMA Yoshiaki KUMAMOTO Hiroshi MARUTA

Department of Urology, Sapporo Medical College  
Chuo-ku, Sapporo 060, Japan

20歳～90歳の内分泌疾患を持たない343例の成人男子の gonadotropin 基礎値及び外因性 LH-RH に対する反応性を分析し、下垂体前葉機能の老化について検討した。

gonadotropin 基礎値は50歳以降上昇傾向にあったが、高齢に至るまで正常範囲内にある者も多かった。

LH-RH に対する LH 反応性は70歳以降、遅延反応を示した。またその反応の amplitude は50歳以降 heterogeneity が大きくなり、若年者の mean+2SD (182.6mIU/ml)以上の hyperresponse を示す者とともに、mean-2SD (34.2mIU/ml)以上の hyporesponse を示す者も認められた。

LH-RH に対する FSH の反応性は、高齢になるにつれて hyperresponse になる傾向にあったが LH のような遅延反応は認めなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 854-858, 1991)

#### 緒言

人における視床下部—下垂体—精巣機能の老化は、まず精巣において始まることが知られている。そして、中枢に対する negative feedback factor である testosterone の減少<sup>2,15,18)</sup>は、gonadotropin pulse の frequency, amplitude の増加<sup>8)</sup>を介して下垂体からの gonadotropin 分泌亢進<sup>1,13,16)</sup>を生じ、その結果老年者は hypergonadotropic hypogonadism 様の状態になる。

さらに下垂体 gonadotropin 分泌予備能について、外因性に LH-RH を投与することにより検討した報告では、下垂体の反応パターンが老化に伴い遅延反応となることが報告されている<sup>5,10,17)</sup>。一方、LH-RH に対する gonadotropin 反応量については過剰反応になる<sup>5,7,11)</sup>とする報告と低下反応になる<sup>6,9,14)</sup>とする報告の両者があり議論のあるところである。

そこで今回我々は、老化に伴う血中 LH, FSH 基礎値の変動、及び外因性 LH-RH に対する gonadotropin 反応性を分析することにより、下垂体の老化について詳細に検討した。

#### 対象

内分泌疾患を持たない50歳以上の老年男子267例(50歳代53例、60歳代76例、70歳代103例、80歳代34例、90歳代1例)及び対照として20～40歳代の男子76例(20歳代37例、30歳代27例、40歳代12例)の計343例について検討した。

#### 方法

##### 1) 血中 LH, FSH 基礎値の検討

採血は基本的に午前9時から12時の間に行なった。

##### 2) LH-RH test

下垂体機能検査法として本法を施行した。前採血

の後、LH-RH 100 $\mu$ g を bolus iv し、その後 30 分、60 分及び 120 分で採血し、血中 LH, FSH を測定し下垂体の反応性を検討した。

3) gonadotropin 測定法

LH, FSH の測定は第一ラジオアイソトープ社製 LH, FSH kit 第一を用いて、2 抗体法 R I A により施行した。

結 果

1) 血中 LH, FSH 基礎値

血中 LH, FSH 基礎値は、Fig. 1, 2 に示すごとく、老化に伴う上昇傾向が明らかであり、特に 50 歳以降、高値を示すものが認められた。しかし一方で、高齢に至るまで若年者と同様の値を維持する者も多く、高齢者では gonadotropin 基礎値の heterogeneity が大きかった。

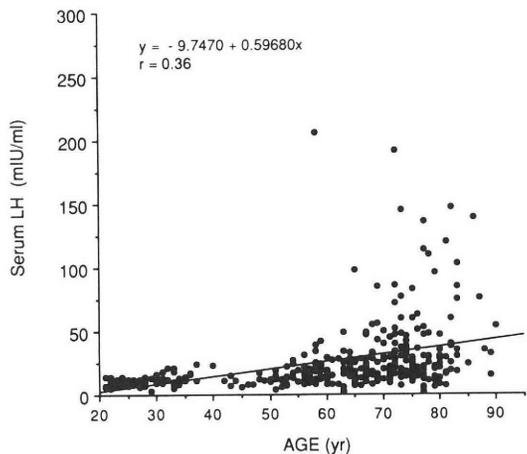


Fig. 1 Serum LH levels as a function of age in males

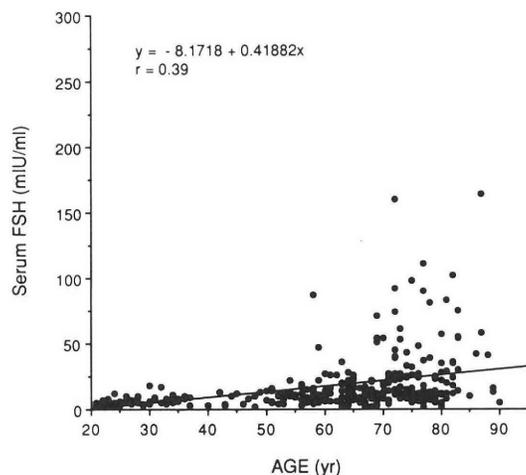


Fig. 2 Serum FSH levels as a function of age in males

2) LH-RH test

1. LH の LH-RH に対する反応性

LH の反応性は Fig. 3 に示すように、20 歳~50 歳までは反応の peak が 30 分にあり、その最大反応値は約 100mIU/ml 程度であったが 60 歳以降では過剰反応となる傾向にあった。また 70, 80 歳代では 30 分、60 分での反応値が同程度であり、反応性が遅延する傾向にあった。個々の LH-RH 投与後 30 分での LH 反応性の加齢に伴う変化をみると、Fig. 4 に示した

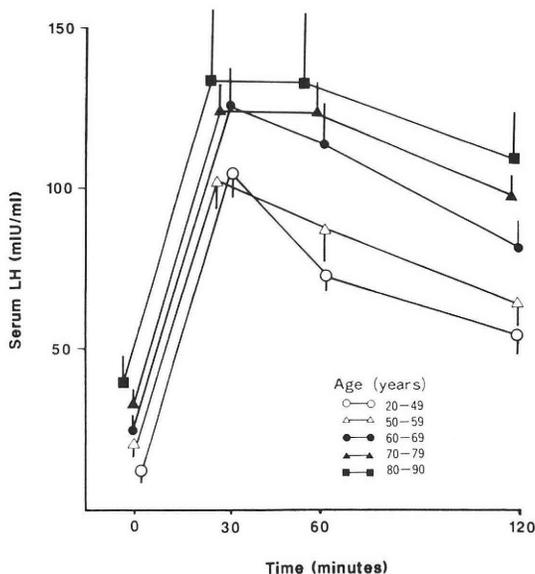


Fig. 3 Serum LH response to iv bolus of LH-RH Bars indicate S. E.

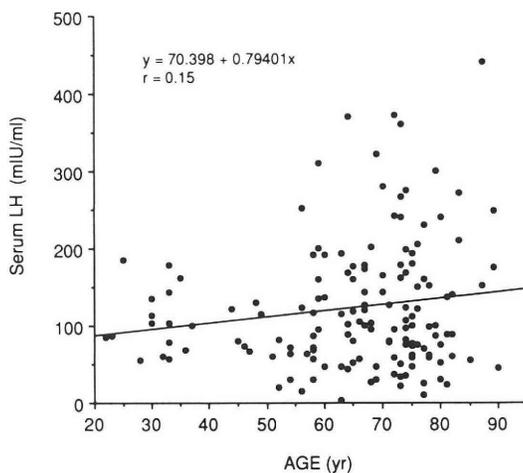


Fig. 4 Serum LH response at 30 minutes after LH-RH administration

ように、やはり 60 歳以降で過剰反応となる傾向にあった。また、その反応値は Fig. 5 に示すごとく、LH-RH 投与前の基礎値と正の相関性 (R=0.59) を有していた。

しかし LH の最大反応値を 20, 30 歳代の若年者の mean, SD を用いて Fig. 6 のごとく区切って詳細に検討すると、50 歳以降の老年者では確かに mean+2SD (182.6mIU/ml) 以上の過剰反応を示すものが認められ、かつ高齢になるに連れてその比率が高くなる傾向にあった。しかし、それと同時に mean-2SD (34.2mIU/ml) 以下の減少反応例も 50~70 歳代の年齢層で、7.7~17.4% の比率で認められ、これもまた老年者における特徴の一つと考えられた。

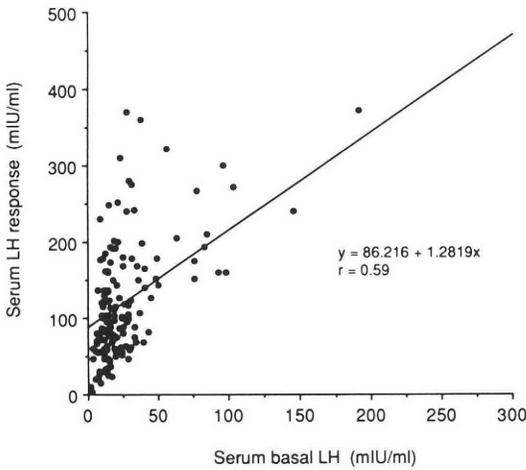


Fig. 5 Correlation of serum basal LH and LH response at 30 minutes after LH-RH administration

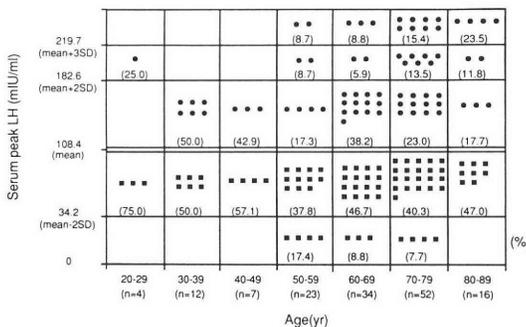


Fig. 6 Peak LH response to iv bolus of LH-RH

最大反応時間の検討では Fig. 7 に示すごとく、60 歳代までは約 80% が LH-RH 投与後 30 分に最大反応を示すのに対し、70, 80 歳代では 60 分に最大反応を示す者の比率が増加していた。反対に、30 分に

最大反応を示した者は、70 歳代では 63.6%, 80 歳代では 31.3% と減少しており、70 歳以降の高齢者では下垂体の外因性 LH-RH に対する反応性の遅延が明らかであった。

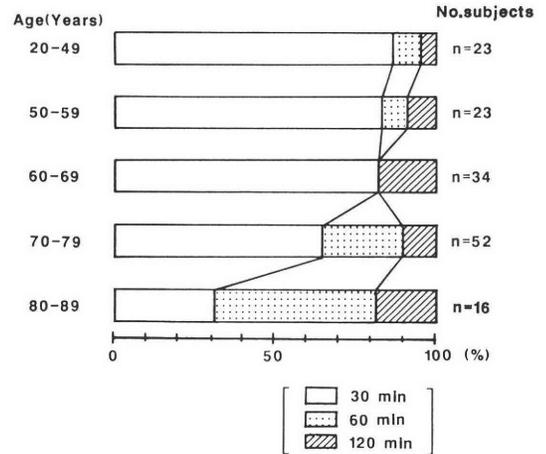


Fig. 7 Maximal response time of serum LH to iv bolus of LH-RH

## 2. FSH の LH-RH に対する反応性

FSH の反応性は Fig. 8 に示したごとく全年代で LH-RH 投与後 30 分或いは 60 分で peak となり、以後 plateau となっていた。そして、高齢になるに従い、基礎値と共に LH-RH 投与後の反応値も高くなる傾向にあった。また個々の FSH の LH-RH 投与後の反応値は Fig. 9 に示したように、やはり加齢に伴い過剰反応となる傾向にあった。またその反応値は Fig. 10 のごとく基礎値との間に正の相関性 (R=0.92) を有していた。

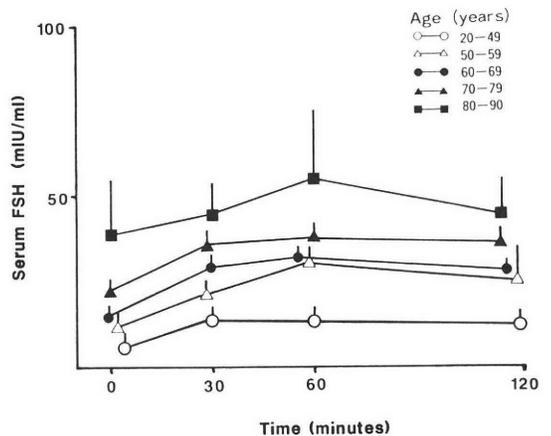


Fig. 8 Serum FSH response to iv bolus of LH-RH Bars indicate S. E.

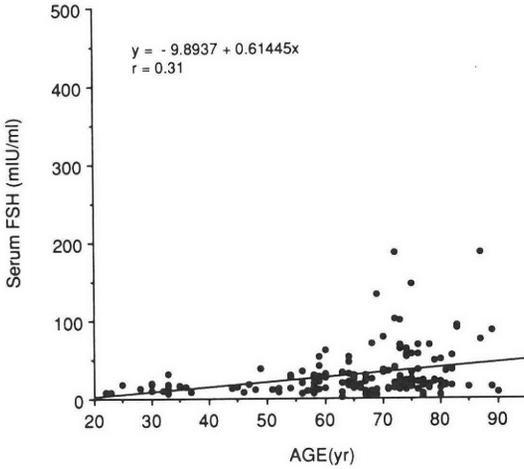


Fig. 9 Serum FSH response at 30 minutes after LH-RH administration

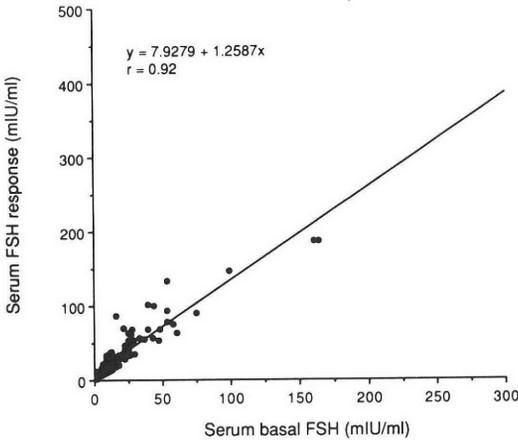


Fig. 10 Correlation of serum basal FSH and FSH response at 30 minutes after LH-RH administration

考 察

今回の我々の検討では、血中 gonadotropin 基礎値は 50 歳以降上昇傾向が明らかであり諸家の報告<sup>1,13,16)</sup>と同様の結果が得られた。しかし 50 歳以降の老年者の全例が gonadotropin の上昇をきたしている訳ではなく、老年者の gonadotropin 分布は heterogeneous であった。

LH-RH test による下垂体の刺激試験では、老化に伴う gonadotropin 反応性及び反応量の変化を認めた。

gonadotropin 反応性は、70 歳以降の高齢者で遅延していた。こうした老年者における下垂体の LH-RH

に対する反応性の遅延については、Winters ら<sup>17)</sup>も同様の報告をしている。

人における下垂体反応性遅延の機序は明らかとなっていない。老齢 rat<sup>3)</sup>, monkey<sup>12)</sup>では gonadotropin 分子量が増大し、その metabolic clearance rate が低下する為に見掛け上、遅延反応となることが報告されている。しかし人では老化に伴う LH 分子量の変化はないとされており<sup>17)</sup>、下垂体自体の LH 分泌機能障害が示唆される。

次に LH-RH test における LH 最大反応値を詳細に検討すると 50 歳以降の老年者で、若年者の mean + 2SD 以上の hyperresponse と同時に mean - 2SD 以下の hyporesponse が認められた。この事から gonadotropin はその基礎値のみでなく、LH-RH に対する下垂体反応性の上でも老化に伴い heterogeneous となることが明らかであった。

これまでの報告でも、老年者の下垂体の LH-RH に対する gonadotropin 反応性は、hyperresponse<sup>5,7,11)</sup> と hyporesponse<sup>6,9,14)</sup> の両方が報告されている。Meites ら<sup>9)</sup>は LH-RH に対する gonadotropin 反応性は老化に伴い減少し、その最終段階では hypogonadotropic hypogonadism 様の状態になるとしている。確かに我々の data でも hypogonadotropic hypogonadism 様の反応性を示したものが 50 歳～70 歳代で、7.7%～17.4% の比率で認められたが、80 歳代では 1 例も認められなかった。反対に、若年者の mean + 2SD 以上の hyperresponse を示すものが 50 歳～80 歳代で 8.7%～23.5% に認められ、高齢になるほどその比率が高くなる傾向にあり、Meites らの推論とは相反する結果が得られた。

今回の我々の検討の結果、下垂体自体にも老化に伴う機能的変化が生じる事が明らかであったが、老年者の LH-RH に対する反応性が最終的に hyperresponse であるのか、それとも hyporesponse であるのか、また老化に伴って生じる下垂体反応性の変化の機序は未だに明らかではなく、更に詳細な検討が必要であると考えられた。

文 献

- 1) Baker, H. W. G., Burger, H. G., DE-Kretser, D. M., Hudson, B., O'connor, S., Wang, C., Mirnovics, A., Court, J., Dunlop, M. and Rennie, G. C.: Changes in the pituitary-testicular system with age, Clin. Endocrinol., 5: 349, 1976
- 2) Bremner, W. J., Vitiello, M. V. and Printz, P. N.: Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with aging in normal men, J.

- Clin. Endocrinol. Metab., 56: 1278, 1983
- 3) Conn, P. M., Cooper, R., Mcnamara, C., Rogers, D. C. and Shoenhardt, L.: Qualitative change in gonadotropin during normal aging in the male rat, *Endocrinology*, 106: 1549, 1980
  - 4) Harman, S. M. C., Tsitouras, P. D., Costa, P. T. and Blackman, M. R.: Reproductive hormones in aging men II. Basal pituitary gonadotropins and gonadotropin response to luteinizing hormone-releasing hormone J, *Clin. Endocrinol. metab.*, 54: 547: 547, 1982
  - 5) Hashimoto, T., Miyai, K., Izumi, K. and Kumahara, Y.: Gonadotropin response to synthetic LH-RH in normal subjects: Correlation between LH and FSH, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37: 910, 1973
  - 6) Haug, E., Aakvaag, A., Sand, T. and Torjesen, P. A.: The gonadotropin response to synthetic gonadotropin-releasing hormone in males in relation to age, dose, and basal serum levels of testosterone, oestradiol 117 $\beta$  and gonadotropins, *Acta Endocrinol.*, 77: 625, 1974
  - 7) 村井裕夫, 加藤謙, 吉本祥生, 千原和夫, 吉見輝也: 加齢と下垂体機能—とくに下垂体性腺機能—, *医学のあゆみ*, 97: 552, 1976
  - 8) Matsumoto, A. M. and Bremner, W. J.: Modulation of pulsatile gonadotropin secretion by testosterone in man, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 58: 609, 1984
  - 9) Meites, J.: The neuroendocrinology of hypothalamic aging, *Neuroendocrine perspective*, 5: 179, 1986
  - 10) 森顕太郎, 佐古田雅弘, 日下孝明, 立岩 誠, 山田晃久, 内海正文, 馬場茂明: 男性高齢者における下垂体LH放出予備能—多容量のLH-RHに対するLH反応について—, *ホルモンと臨床*, 23: 53, 1975
  - 11) 本松利治, 赤嶺康雄, 名和田新, 上田太郎, 合馬紘, 梅田文夫, 土師正文, 牟田和夫: シンポジウムI, 老化とホルモン 2. 下垂体性腺系(男子), *日本内分泌学会雑誌*, 53: 1300, 1977
  - 12) Peckman, W. D. and Knobil, E.: Qualitative changes in the pituitary gonadotropins of the male rhesus monkey following castration, *Endocrinol.*, 98: 1061, 1976
  - 13) Rubens, R., Dhont, M. and Vermeulen, A.: Further studies on leydig cell function in old age, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39: 40, 1974
  - 14) Suyder, P. J., Reitano, J. F. and Utiger, R. D.: Serum LH and FSH response to synthetic gonadotropin-releasing hormones in normal men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41: 938, 1975
  - 15) Vermeulen, A., Rubens, R. and Verdonck, L.: Testosterone secretion and metabolism in male senescence, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 730, 1972
  - 16) Vermeulen, A. and Deslypere, J. P.: Testicular endocrine function in the ageing male, *Maturitas*, 7: 273, 1985
  - 17) Winters, S. J. and Troen, P.: Episodic luteinizing hormone (LH) secretion and the response of LH and follicular stimulating hormone to LH-releasing hormone in aged men: Evidence for coexistent primary testicular insufficiency and an impairment in gonadotropin secretion, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 55: 560, 1982
  - 18) Zumoff, B., Strain, G. W., Kream, J., O'connor, J., Rosenfeld, R. S., Levin, J. and Fukushima, D. K.: Age variation of the 24-hour mean plasma concentrations of androgens, estrogens, and gonadotropins in normal adult men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 534, 1982

## The aging of hypothalamo— pituitary—testicular axis II: Anterior pituitary function in male senescence

Naohito Mikuma, Yoshiaki Kumamoto  
and Hiroshi Maruta

Department of Urology Sapporo Medical College  
Chuo-ku, Sapporo 060, Japan

The aging of of pituitary gland was examined by analyzing serum basal gonadotropin levels and gonadotropin response to LH-RH in 267 aged men between the ages of 50 to 90, and 65 young men between the ages of 20 to 49, who had no endocrinological diseases.

Serum basal gonadotropin levels tended to increase after the age of 50.

LH responsiveness to LH-RH tended to be delayed after the age of 70. As for the amplitude of LH response to LH-RH, both of hyperresponsive subjects, whose maximal LH response exceeded the mean+2SD of young male subjects, and hyporeponsive subjects, whose maximal LH responses were less than mean-2SD of young male subjects, were observed after the age of 50.

FSH response to LH-RH also tended to increase with aging in proportion to its basal levels.

These results suggest the decline of the pituitary gland with aging. However, the final stage of pituitary responsiveness to LH-RH and the precise mechanism of the altered pituitary responsiveness still remains to to be elucidated.

(受付: 1990年8月24日)

# THE EFFECT OF CLOMIPHENE CITRATE ON SPERMATOGENESIS AND SPERM MATURATION IN VARICOCELIZED RATS

Nikolaos SOFIKITIS, Isao NAKAMURA and Ikuo MIYAGAWA

Tottori University School of Medicine, Department of Urology  
(Director: Prof. I. Miyagawa) Tottori 683, Japan

---

**Abstract:** Clomiphene citrate treatment in varicocele rats significantly improved spermatogenesis and sperm maturation and significantly increased the weight of the left and right testicle, epididymis, and accessory genital glands compared with untreated varicocele rats. Our results indicate that stimulation of the Leydig cells of a varicocele testicle can counteract some of the harmful consequences of the varicocele itself.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 859-865, 1991)

---

## Introduction

Clomiphene is a 1:1 mixture of *cis*-Clomiphene and *trans*-Clomiphene that binds competitively to estrogen receptors in the hypothalamus and pituitary gland<sup>1)</sup>. This interaction neutralizes the normal negative feedback control of estrogen and results in enhanced excretion of luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), LH-releasing hormone and FSH-releasing hormone<sup>1)</sup>. It has been clearly proved that clomiphene increases serum levels of FSH, LH, and testosterone<sup>1)</sup>.

Rodriguez et al. have demonstrated an abnormal *in vitro* testosterone biosynthesis by Leydig cells obtained from the testicles of patients with bilateral varicoceles<sup>2)</sup>. Additionally, Rajfer et al.<sup>3)</sup> proved that the induction of a left varicocele in rats leads to a prompt decrease in the biosynthesis of testosterone in both testicles. Therefore, the antispermatogenic effect that follows from a left varicocele may be partly due to defective testosterone production in the testicles. This theory provides an adequate explanation for the significant improvement of sperm parameters in var-

icocele patients after treatment with clomiphene<sup>4)</sup> which is known to stimulate testicular endocrine function<sup>1)</sup>. Considering that clomiphene treatment results in increases of gonadotrophins<sup>1)</sup> which have stimulatory effect on the function of Leydig effecton and Sertoli cells and that the detrimental effect of varicocele on spermatogenesis may be attributable to dysfunction of these cellular populations<sup>2,3,5)</sup> it seems interesting to evaluate the influence of clomiphene on the spermatogenesis, sperm maturation, and fertility of experimental animal varicocele models.

## Materials and Methods

Twenty 8-week-old adult male Wistar rats weighing 160–220g were anesthetized with intraperitoneal Nembutal (25 mg/kg). Partial left renal vein ligation was performed by the method of Saypol et al.<sup>6)</sup> at a point medial to the junction with the adrenal and spermatic veins so as to reduce the renal vein to an external diameter of 1 mm. Then the anastomotic branch between the left testicular vein (LTV) and the left common iliac vein was ligated, and all the small anastomotic branches of the LTV were also carefully

ligated. Seven other rats underwent dissection of the LTV and left renal vein medial to the drainage of the adrenal and spermatic veins, and they constituted the control group (group A). The varicocelectomized animals were randomly divided into two groups of ten rats each (group B and C). They received medical treatment (by intraperitoneal injections) from day 35 after the operation as follows. A dose of 0.5 ml of phosphate-buffered saline (PBS) was administered to group B animals twice a week. Clomiphene citrate, (30 mg) diluted in 0.5 ml of PBS was given to group C animals twice a week.

At 84 days after the operation (experimental period), all groups were examined to determine the temperature of both testicles and to evaluate fertility. Then, all the rats were sacrificed by cervical dislocation after slight anesthesia with ether. Dilation of the LTV was observed in seven rats of group B and eight rats of group C. The five LTV ligation rats in which dilation was not observed were excluded from the study. Bilateral epididymal sperm content and motility, body weight, bilateral testicular weight, left epididymal weight and the weight of the accessory genital glands were also measured.

#### *Determination of testicular temperature*

Left and right testicular temperature was assessed by percutaneous insertion of a 29-gauge needle probe attached to a digital thermometer (Unique Medical, PTC 201 model, Tokyo, Japan). Intraabdominal temperature was monitored with a rectal probe and body temperature was maintained between 36.7 and 37.3 °C with radiant heat throughout the procedure. The difference between the intraabdominal and intratesticular temperature was recorded.

#### *Fertility assessment*

Two fertile female Wistar rats (3 months old) in the first hours of estrus determined by vaginal smear examination were placed in a single cage with each male rat. The female rats were checked after mating to detect spermatozoa in their vagina by the microscopic examination of vaginal fluid. Females, in which spermatozoa were detect-

ed, were then checked three times daily from day 21 for parturition (day 1 was designated as the day of mating). A male rat was considered fertile if its matings resulted in at least one pregnancy. The weights of all offspring were determined and the litters were carefully examined for physical abnormalities both at birth and one month later. The proportion of male to female offspring was calculated in each group.

#### *Determination of the weight of the testicles, epididymis, and accessory genital glands*

The testes, left epididymis, prostate, left seminal vesicle, and left coagulating gland were excized free of surrounding tissue and weighed on a Mettler Basbal scale (Delta Range, Tokyo, Japan).

#### *Epididymal sperm content, quantitative sperm motility (% motility), and qualitative sperm motility (motility grade)*

Each epididymis was separated carefully from its testicle under 10 X magnification provided by a stereo zoom microscope (Olympus Corp., model TL2, Tokyo, Japan). The epididymis was divided into 3 segments: the head, the body, and the tail. The epididymal tail was trimmed and minced in 5 ml of Biggers-Whitten-Whittingham (BWW)<sup>7</sup> medium Biggers-Whitten-Whittingham titrated to pH7.4 at 37 °C with sodium hydroxide. The minced epididymal tissue was then separated from the liberated spermatozoa by filtration through a stainless steel wire mesh with a pore size of 80–100 μm. A drop of the filtrate was used for the sperm count (number of spermatozoa/ml BWW medium), which was determined with a Makler Counting Chamber (Sefi Medical Instruments, Haifa, Israel).

The chamber was placed on the slide of an ordinary microscope, and a 20-power objective and 10-power eyepiece were used. About ten droplets were counted to calculate the percentage of motile spermatozoa of the filtrate immediately after its preparation so that the estimate of motility became more accurate. The proportion of motile spermatozoa was determined by counting 100 cells in randomly selected fields. Motility

was also graded microscopically and assigned a value from 0 to 4, with 0 representing no movement and 4 representing the maximal perceived motility. Samples for motility evaluation were stored at 35 °C between viewings.

*Statistical analysis*

Statistical analysis was performed on all data using the paired t-test to compare parameters referring to paired organs within a group and one-way analysis of variance (p<0.05) followed by the Duncañs multiple range test (p<0.05) to analyze intergroup differences. All values are expressed as the Mean±SD. The chi-squared test with Yates correction (four-fold table) was used for analysis of differences in fertility and in the proportion of male to female offspring in the different groups. A probability <0.05 was considered to be statistically significant.

**Results**

*Testicular temperature*

The differences between the intraabdominal and intratesticular temperatures (Δ temperature) are summarized in Table 1. No significant differ-

ences (p>0.05) was seen) were found between the left and right testicular temperatures within each group. The varicocele plus PBS treatment group and the varicocele plus clomiphene treatment group showed significantly smaller Δ temperature values on both the right and the left sides when compared with those of the control group.

*Epididymal sperm content*

The sperm content data are shown in Table 2. Sperm content was significantly lower in the left epididymis than on the right side in groups B and

Table 1. Difference (Δ) between Intraabdominal and Intratesticular Temperature (Mean±SD)

Group	Δ Left Testicle	Δ Right Testicle
	(°C)	(°C)
Control (A) n ▲=7	4.2±0.4 <sup>a</sup> *	4.3±0.3 <sup>a</sup>
Varicocele+saline (B) n=7	2.4±0.4 <sup>b</sup>	2.5±0.5 <sup>b</sup>
Varicocele+clomiphene (C) n=8	2.5±0.4 <sup>b</sup>	2.6±0.4 <sup>b</sup>

▲ Number of animals in each group.  
\* Within columns, mean±SD values not sharing the same superscript are significantly different (p<0.05).

Table 2. Fertility, Epididymal Sperm Content, and Motility (Mean±SD)

Group	(L) Epididymis			(R) Epididymis			No of fertile rats
	SC (10 <sup>6</sup> /ml) #	SMP ↑	SMG ↓	SC (10 <sup>6</sup> /ml)	SMP	SMG	
Control (A) n ▲=7	52±7 <sup>a</sup> *	58±5 <sup>a</sup>	2.8±0.4 <sup>a</sup>	55±5 <sup>a</sup>	60±7 <sup>a</sup>	2.9±0.4 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
Varicocele+saline (B) n=7	15±8 <sup>b</sup>	29±6 <sup>b</sup>	1.4±0.4 <sup>b</sup>	29±5 <sup>b</sup>	29±7 <sup>b</sup>	1.3±0.4 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>
Varicocele+clomiphene (C) n=8	32±4 <sup>c</sup>	44±5 <sup>c</sup>	2.0±0.4 <sup>c</sup>	41±7 <sup>c</sup>	43±8 <sup>c</sup>	1.9±0.3 <sup>c</sup>	4 <sup>a,b</sup>

# SC: Sperm Content.

↑ SMP: Percentage of Motile Sperm.

↓ SMG: Sperm Motility Grade.

▲ Number of animals in each group.

\* Within each column, mean±SD values with at least one common superscript are not significant different from each other (p>0.05), whereas values not sharing the same superscript are significant different (p<0.05).

C (p<0.05). Sperm content on both the right and left sides was significantly lower in the varicocele plus PBS treatment group than in the control and in the varicocele plus clomiphene treatment groups. However, sperm content on both sides was significantly lower in the latter group (group C) than in the control group.

*Quantitative and qualitative assessment of sperm motility*

The effects on sperm motility are summarized in Table 2. No significant differences (p>0.05 was found) in the percentage of motile spermatozoa and in the motility grade were noted between the left and right side within each group. The per-

centage of motile sperm and the motility grade were significantly lower bilaterally in group B than in the control group and the group C. However, these parameters were significantly higher in the control group than in group C.

#### Fertility

The effects on fertility are summarized in Table 2. The number of fertile rats in group B was significantly lower than in the control group.

The clomiphene administration increased the number of fertile rats compared with that in group B, but the difference was not statistically significant.

#### Testicular weight

The testicular weight in all groups is shown in Table 3. Left testicular weight was significantly lower than right testicular weight in groups B and C ( $p < 0.05$ ). Left and right testicular weights in the

Table 3. Weight of the testicle, epididymis and accessory genital glands (Mean  $\pm$  SD)

Group	Weight (mg) of					
	(L) Testicle	(R) Testicle	(L) Epididymis	Prostate	SV #	CG $\nearrow$
Control (A) n $\blacktriangle$ = 7	1388 $\pm$ 55 <sup>a</sup> *	1399 $\pm$ 64 <sup>a</sup>	428 $\pm$ 39 <sup>a</sup>	316 $\pm$ 48 <sup>a</sup>	334 $\pm$ 39 <sup>a</sup>	89 $\pm$ 6 <sup>a</sup>
Varicocele + saline (B) n = 7	683 $\pm$ 62 <sup>b</sup>	1075 $\pm$ 43 <sup>b</sup>	318 $\pm$ 28 <sup>b</sup>	215 $\pm$ 36 <sup>b</sup>	201 $\pm$ 43 <sup>b</sup>	48 $\pm$ 7 <sup>b</sup>
Varicocele + clomiphene (C) n = 8	970 $\pm$ 64 <sup>c</sup>	1261 $\pm$ 76 <sup>c</sup>	383 $\pm$ 25 <sup>c</sup>	261 $\pm$ 38 <sup>c</sup>	257 $\pm$ 33 <sup>c</sup>	71 $\pm$ 6 <sup>c</sup>

# SV: Seminal vesicle.

$\nearrow$  CG: Coagulating gland.

$\blacktriangle$  n = Number of animals in each group.

\* Within each column, mean  $\pm$  SD values not sharing the same superscript are significantly different ( $p < 0.05$ ).

varicocele plus PBS treatment and varicocele plus clomiphene treatment group (groups B and C) were significantly lower than in the control group. The rats in group C showed a significantly higher testicular weight bilaterally compared with group B.

#### Epididymal weight

The epididymal weights are given in Table 3. The weights in group B and C were significantly lower than in the control group. The epididymal weight in group C was significantly higher than in the group B.

#### Weight of prostate, seminal vesicles and coagulating glands

The weights of prostate, left seminal vesicle and left coagulating gland are summarized in Table 3. All glands in groups B and C had significantly lower weights than in the control group. The weights of all these glands in group C were significantly higher than in the group B.

#### Dilation of the left testicular vein



photo 1 Left testicular vein (arrow) in control rats.



photo 2 Following partial occlusion of left renal vein, left testicular vein was noticeably distended (arrow).

Fifteen of the twenty LTV ligation rats had a grossly visible left varicocele with a dilation of more than 1 mm. The remaining five rats were excluded from this study.

#### *Litter weights*

There were not any significant differences in litter weights among the groups. Litter weight varied from  $4.99 \pm 0.41$  g in group C to  $5.15 \pm 0.35$  g in group A.

#### *Physical abnormalities*

No abnormalities were noticed in the litters of all groups either immediately or one month after delivery.

#### *Sex ratio*

No significant differences were found in the sex ratio of the offspring in the litters of the different groups. The proportion of male to female rats

varied between 0.95 in group A to 1.13 in group C.

#### *Body weight*

There were no significant differences in the mean body weight among the various groups. The body weight varied from  $440 \pm 49$  g in group C to  $472 \pm 55$  g in group A at the time of sacrifice.

#### **Discussion**

The present study confirms the earlier findings that the abdominal versus intratesticular temperature difference, the epididymal sperm content, and the motility of epididymal spermatozoa are reduced bilaterally 12 weeks after the development of a unilateral left varicocele<sup>8,9</sup>. The significant decrease in the weights of the epididymis, prostate, seminal vesicles, and coagulating glands in the untreated varicocele rats (group B) was indicative of lower blood levels of androgens in these rats because all these glands are androgen dependent<sup>10</sup>. The bilateral decrease in the testicular weight of the rats in group B is inconsistent with the results of similar studies by some other investigators<sup>6,11</sup>. However, it is compatible with findings of Shook et al.<sup>12</sup> who noted marked atrophy of the left testicle one month after the creation of a left varicocele in rats. These differences may be attributable to the different experimental observation periods or to the different species of rats used. The determined significant bilateral decrease in testicular weight indicates bilateral testicular dysfunction with respect to both spermatogenesis and androgen production, since it has been suggested that testicular size has a direct correlation with function<sup>13</sup>. Previous studies have provided significant evidence of a reduction in spermatogenesis in varicocele rats as determined by flow cytometric DNA analysis<sup>14</sup> or by the calculation of sperm concentrations in fluid from the tail of the epididymis<sup>8</sup>. However the effect of varicocele on fertility cannot be determined by simply studying the changes in spermatogenesis. In the present study, we confirmed the severe reduction of fertility caused by a left varicocele by breeding experiments.

Rajfer et al.<sup>3</sup> proved that the induction of a left varicocele in rats leads to a decrease in the

biosynthesis of testosterone in both testicles and they claimed that the bilateral antispermatogenic effect that follows from an experimental left varicocele may be partly due to defective testosterone production in the testicle. This aspect provides an explanation for the significant improvement of epididymal sperm content and motility in rats receiving clomiphene citrate. The significant increase in testicular weight (left and right) as well as the weight of the epididymis and accessory genital glands after administration of clomiphene citrate indicates that this drug increased testosterone production and secretion. It is well known that testosterone activates the spermatogenic process<sup>15)</sup> and the maturation of spermatids<sup>16)</sup>. The increase of the fertility rate in rats received clomiphene citrate (group C) compared with untreated varicocele rats (group B) may be attributed to the noted improvement in spermatogenesis and sperm maturation. Although the fertility rate in group C was higher compared with that in group B, the difference was not significant. The small number of animals in each group might have been responsible for the lack of a significant difference.

It has been demonstrated that clomiphene increases human serum levels of FSH<sup>1)</sup>. Such an action of clomiphene in the rat might contribute to the improvement of spermatogenesis in group C due to stimulation of the Sertoli cells by the FSH, since it has been proved that dysfunction of Sertoli cells participates in the development of the detrimental effect of varicocele on fertility<sup>5)</sup>.

Although clomiphene citrate significantly increased the epididymal sperm content and motility, and the weight of the testis (left and right), epididymis, and sex accessory genital glands compared with untreated varicocele rats, the values of these parameters in group C animals were significantly lower than those in the control rats (group A). However, as the efficacy of each drug is dose-dependent, it is possible that clomiphene might be more effective at higher doses. Additionally, the degree of testicular dysfunction prior to clomiphene administration may be an important factor for the prognosis of this treatment. Therefore, clomiphene might be

more effective if its administration started earlier.

The absence of physical abnormalities and of any significant differences in the body weight and sex ratio of the litters in the clomiphene treated group suggests that the drug used did not interfere with the normal process of fertilization.

Changes of body weight and effects on the health of the animals due to clomiphene were not noted in this report. However, whenever clomiphene treatment of a varicocele is performed, its dosage must be decided carefully and the patient must be reviewed periodically because side effects of clomiphene citrate therapy have been reported<sup>1)</sup>.

This study proved that stimulation of the Leydig cells in varicocele animals significantly improved spermatogenesis and sperm maturation. Therefore, when there is no improvement of sperm parameters after the surgical repair of a varicocele or when surgery is contraindicated, the stimulation of the Leydig cells may still improve fertility.

## References

- 1) Sorbie, P. J. and Perez-Marrero, R.: The use of clomiphene citrate in male infertility, *J. Urol.*, 131: 425, 1984
- 2) Rodriguez-Rigau, L., Weiss, D., Zuberger, A., Grotjan, H., Smith, K. and Steinberger, E.: A possible mechanism for the detrimental effect of varicocele on testicular function in man, *Fertil. Steril.*, 30: 577, 1978
- 3) Rajfer, J., Turner, T. T., Rivera, F., Howards, S. S. and Sicca, S. C.: Inhibition of testicular testosterone biosynthesis following experimental varicocele in rats, *Biol. Reprod.*, 36: 933, 1987
- 4) Check, J. H.: Improved semen quality in subfertile males with varicocele-associated oligospermia following treatment with clomiphene citrate, *Fertil. Steril.*, 33: 423, 1980
- 5) Shinoda, M.: A pharmacological manipulation of testicular function for rational therapeutic approach to male infertility: Experimental and clinical data, *Keio J. Med.*, 34: 31, 1985
- 6) Saypol, D. C., Howards, S. S., Turner, T. T. and Miller, E. D.: Influence of surgically induced varicocele on testicular blood flow, temperature, and histology in adult rats and dogs, *J.*

- Clin. Invest., 68: 39, 1981
- 7) Biggers, J. D., Whitten, W. K. and Whittingham, D. G.: The culture of mouse embryos in vitro. In *Methods in Mammalian Embryology*, Edited by J. C. Daniel, p 102, San Francisco, Freeman, 1971
  - 8) Hurt, G. S., Howards, S. S. and Turner, T. T.: Repair of experimental varicoceles in the rat. Long-term effects on testicular blood flow and temperature and cauda epididymal sperm concentration and motility, *J. Androl.*, 7: 271, 1986
  - 9) Sofikitis, N., Takahashi, C., Okazaki, T., Kawawaki, H., Nakamura, I., Shimamoto, T., Saeki, H. and Miyagawa, I.: Medical treatment versus surgical repair of experimental varicocele in rats. Presented at the 46th Annual meeting of The American Fertility Society, in Washington D. C., October 15 to 18, 1990. Published by The American Fertility Society, p S136, Program supplement 1990
  - 10) Price, D. and Williams-Ashman, H. G.: The accessory reproductive glands of mammals. In *Sex and Internal Secretions*, Edited by W. C. Young, p 366, Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1961
  - 11) Green, K. F., Turner, T. T. and Howards, S. S.: Varicocele: Reversal of the testicular blood flow and temperature effects by varicocele repair, *J. Urol.*, 131: 1208, 1984
  - 12) Shook, T. E., Nyberg, L. M., Collin, B. S. and Mathur, S.: Pathological and immunological effects of surgically induced varicocele in juvenile adult rats, *Am. J. Reprod. Immunol.*, 17: 141, 1988
  - 13) Takihara, H., Cosentino, M. J., Sakatoku, J. and Cockett, A. T. K.: Significance of testicular size measurement in andrology: II. Correlation of testicular size with testicular function, *J. Urol.*, 137: 416, 1987
  - 14) Takihara, H., Ishizu, K., Ueno, T., Isoyama, R., Baba, Y. and Sakatoku, J.: Pathogenesis of varicocele: experimental study using flow cytometric DNA analysis, *Andrologia*, 22: 137, 1990
  - 15) Steinberger, E., Root, A., Ficher, H. and Smith, K. D.: The role of androgens in the initiation of spermatogenesis in man, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37: 746, 1973
  - 16) Turner, T. T.: On the epididymis and its function, *Invest. Urol.*, 16: 311, 1979

**実験的精索静脈瘤ラットにおける  
精子形成及び精子成熟におよぼす  
clomiphene citrate の効果**

鳥取大学医学部泌尿器科

ニコラオス・ソフィキティス

中村勇夫 宮川征男

実験的に作成した精索静脈瘤ラットに clomiphene citrate を投与したところ、精子形成及び精子成熟の有意な改善、両側睾丸及び副性器重量の有意な増加が認められた。これは、ライディッヒ細菌刺激が、精索静脈瘤による障害性の一部に対し拮抗作用を及ぼすことを示唆している。

(受付：1991年1月9日)

## 精索静脈瘤の睾丸組織像の検討

### Histological Study on the Testes of the Patients with Varicocele

千葉大学医学部泌尿器科教室 (主任: 島崎淳教授)

角谷 秀典 始 関 吉生 小竹 忠  
Hidenori SUMIYA Yoshio SHISEKI Tadashi KOTAKE  
高原 正信 島崎 淳  
Masanobu TAKAHARA Jun SHIMAZAKI

Department of Urology, Chiba University School of Medicine,  
Chiba 280, Japan  
(Director: prof. J. Shimazaki)

手術療法をうけた左精索静脈瘤 111 例について睾丸組織像と臨床所見との関連について検討した。これらの大部分は男性不妊症であり、一部不妊以外の有痛性のため手術したものも含めた。

精索静脈瘤においては、左睾丸では右睾丸に比し、Johnsen's score count (JSC)の低値、精細管 1 個あたりの Leydig 細胞数 (L/ST) の増加をみとめた。左右の JSC および左 L/ST は精子濃度との相関をみとめたが、右 L/ST は関連をみとめなかった。左右の JSC とも 7 以下の低値をとるものあるいは左右の L/ST とも 7 以上の高値をとるものでは、 $20 \times 10^6/\text{ml}$  未満の乏精子症を有意に高率にみとめた。血清 FSH 高値例では、精子濃度の低下、LH 上昇、左右睾丸容積の低下、左右 L/ST 上昇、左右 JSC の低下をみとめた。

以上により、無精子症を除いた左精索静脈瘤の造精機能障害は、組織学的に左睾丸により高度にみられ、左右の JSC および左 L/ST がそれを反映していると考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4) ,866-871, 1991)

#### 緒 言

精索静脈瘤は、男性不妊症の原因のうちの 30-40% を占めると報告されている<sup>1)</sup>。不妊男性の精索静脈瘤は、手術により精液所見の改善、妊孕能の改善が期待できる<sup>2,3,4)</sup>。さらに思春期の精索静脈瘤においてもすでに造精機能の低下が指摘されており、手術適応と考えられている<sup>5)</sup>。今回われわれは、左精索静脈瘤患者の睾丸組織像を、精細管の障害および Leydig 細胞の数の変化に重点をおき検討した。さらにこれらと臨床所見との関係をしらべた。

#### 対象および方法

1979 年 4 月から 1989 年 9 月までの 10 年 6 月の

間に、千葉大学付属病院泌尿器科で、左精索静脈瘤の診断で手術療法をおこない、あらかじめ患者の承諾を得、手術時に両側睾丸生検をおこなった 111 例を検索した。精索静脈瘤の診断は、立位バルサルバ法で視触診により、手術は腰椎麻酔下に Palomo 法<sup>6)</sup>に準じておこなった。無精子症を呈するもの、両側精索静脈瘤例は本対象から除外した。不妊を主訴とするもの 103 例、不妊以外で有痛性もの 8 例であった。鈴木<sup>7)</sup>の分類による Grade は、I 度 6 例、II 度 35 例、III 度 70 例であった。

睾丸組織はブワン液にて固定後、アルコール系列にて脱水、パラフィン包埋を施行し、ミクロトームにて  $4 \mu\text{m}$  に薄切した。脱パラフィン後、HE 染色をおこなった。左右の睾丸組織について、Johnsen's

score count<sup>9)</sup> (以下JSCと略す) および精細管1個あたりのLeydig細胞数(以下L/STと略す)を算定した。それぞれ1睾丸につき20個以上の精細管について算定し、その平均を求めた。

臨床所見は、睾丸容積、精子濃度、精子運動率、および血清LH、FSH、テストステロン値について検討した。睾丸容積の測定は山口大式 orchimeter を用い、97例におこなった。精液検査は111例全例におこない5日以上禁欲の後用手法にて採取し肉眼的に算定した。血清ホルモン値は、LH、FSHの測定は、89例に行ない、LH栄研キット、FSH栄研キットを用いた。ただし、1989年2月以降の例は、スパッカーS LH、FSHキット用い旧法に換算した。テストステロンは、LH、FSHを測定した89例でテストステロンI<sup>125</sup>キット(栄研)を用いて行なった。

### 結 果

#### I) 左右睾丸の比較

左右の睾丸の容積、JSC、L/STを比較した。右睾丸容積は左睾丸容積に比し大きい傾向をみとめたが、両者間で有意差をみとめなかった(図1)。JSCは左睾丸では右側に比し有意に低下していた。L/STは、左睾丸では右側に比し有意に高値をしめた。

#### II) 左右JSCと精子濃度

左JSCは精子濃度の上昇とともに高値となり、精子濃度と左JSCとの相関をみとめた(図2)。右JSCも左と同様に、精子濃度の上昇とともに高値をとり、両者はよく相関していた(図3)。右JSCを横軸に、左JSCを縦軸に、個々の症例を精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 未満、以上に分けて検討した。(図4)。左右のJSCは互いによく相関していたが、左側では右側に比し低値であった。また、JSCが6以下になると、右側では左側以上のJSCの低下をみとめた。左右ともJSC7以下の37例と、左右いずれ

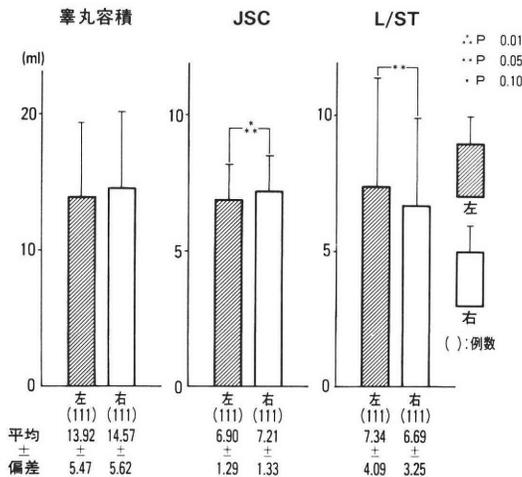


図1 左右睾丸の比較

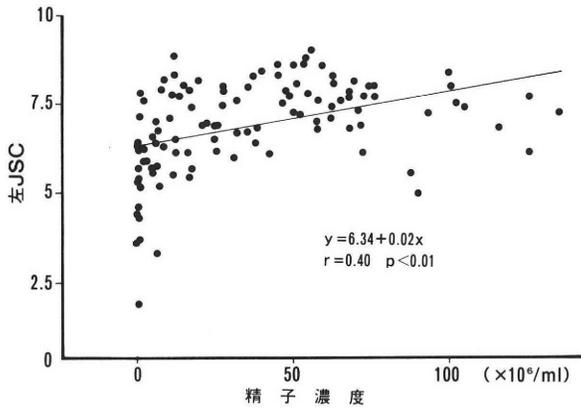


図2 左JSCと精子濃度との関係

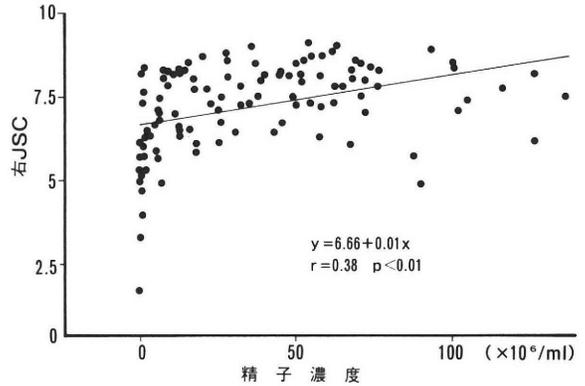


図3 右JSCと精子濃度との関係

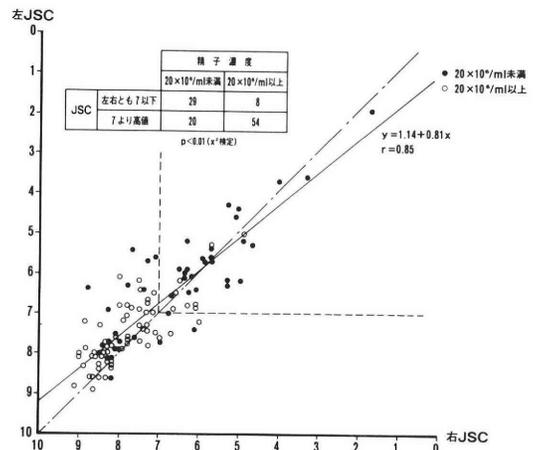


図4 左右のJSCと精子濃度との関係

かが7よりも高値の74例との間で、精子濃度  $20 \times 10^6/ml$  以上・未満の例数を比較した。左右ともJSC 7以下の例では、 $20 \times 10^6/ml$  未満29例、以上8例であり、左右いずれかが7よりも高値の例では、 $20 \times 10^6/ml$  未満20例、以上54例であった。したがって、共にJSC 7以下の場合、 $20 \times 10^6/ml$  未満の乏精子症を呈する割合が有意に上昇していた。

III) 左右L/STと精子濃度

精子濃度の低下と共に左L/STの上昇をみとめ、両者はよく相関していた(図5)。精子濃度と右L/STとは、両者間に一定の関係をみとめなかった(図6)。左右のL/STを縦横にとり、精子濃度  $20 \times 10^6/ml$  未満・以上に分けて検討した(図7)。左右のL/STは相互によく相関していた。左L/STは、右L/STに比し高値を示したが、L/ST値が8.8以上をとると右側が高値をとった。左右のL/STとも7以上の群では、31例中18例が精子濃度  $20 \times 10^6/ml$  未満であり、左右いずれかのL/STが7未満の群では、80例中30例が  $20 \times 10^6/ml$  未満であり、前者で有意に乏精子症となる割合が高かった。

IV) FSHと精液所見, LH, テストステロン, 辜丸容積, L/ST, JSC

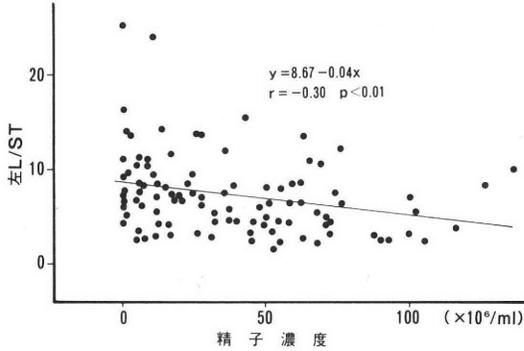


図5 左L/STと精子濃度との関係

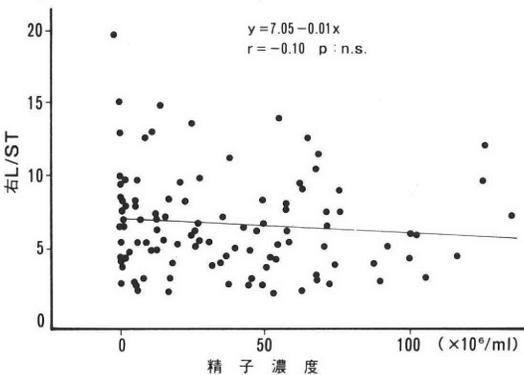


図6 右L/STと精子濃度との関係

血清 FSH 15mIU/ml 以上の異常高値例 20 例と FSH 正常例 69 例との間で比較した(図8)。FSH 高値例では、正常例と比較して、精子濃度は有意に低く、運動率も低値の傾向であった。異常例では、正常例と比べてテストステロン値は差をみなかったが、LHは有意に高い値であった。左右とも辜丸容積は小さく、左右L/STは高値をとり、左右JSC低値であった。

考 案

精索静脈瘤の左右辜丸容積の比較については患側が有意に小さいとする報告が一般的である<sup>9,10,11</sup>。瀧原ら<sup>10</sup>は、乏精子症を呈した精索静脈瘤 24 例の左辜丸容積は  $14.54 \pm 1.01ml$ 、右辜丸容積は  $17.00 \pm 1.07ml$  であり、正常対照に比し左右ともに減少してお

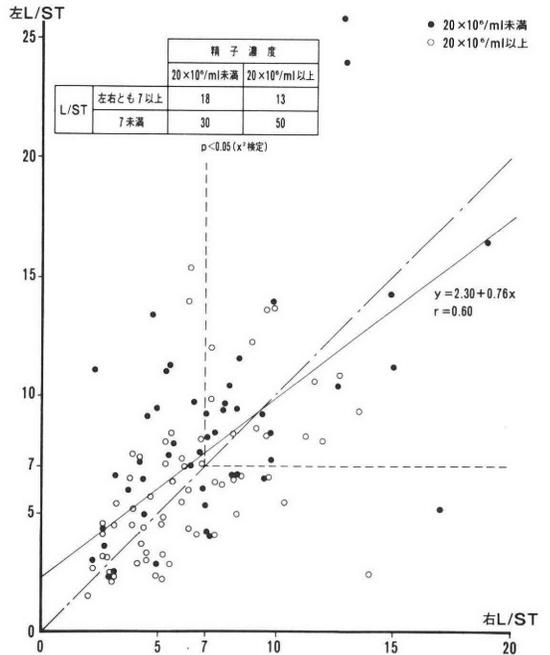


図7 左右L/STと精子濃度との関係

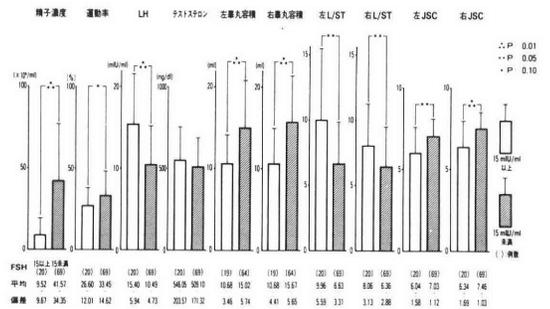


図8 血清 FSH 高値例と正常例との比較

り、さらに精索静脈瘤においても右に比し左では有意に減少していたと報告している。自験例では有意差はみとめなかったが患側睾丸容積の減少傾向をみとめた。

不妊を呈する精索静脈瘤睾丸の組織所見としては、約半数の症例で精細胞の減少、未熟精細胞の精細管への sloughing, 精細管の肥厚, Leydig 細胞の増生, maturation arrest がみられたと Dubin ら<sup>12)</sup>により報告されている。精細管の障害はまず精細管の内腔側にある Sertoli 細胞からはじまり、ついで Sertoli 細胞と精子細胞との接合部の障害から、精細胞の障害をきたす<sup>13,14)</sup>。造精能の評価として J S C が用いられているが、自験例同様、精索静脈瘤においては、両側睾丸とも J S C の低下をみとめ、左睾丸では右睾丸に比し有意に J S C は低下しているとする報告が一般的である<sup>5,10,15)</sup>。Hadziselimovic ら<sup>5)</sup>は 188 例について検討し、精細管障害は左側が有意に強く障害されていたのは 125 例、左右同程度 50 例、右側が強いもの 13 例であったとしている。また Johnsen は<sup>16)</sup>は、精索静脈瘤の術前と術後 1 年とで、患側の睾丸組織所見を比較しており、不妊患者では J S C は 7.7 から 8.4 へ有意に手術により改善したとしている。

精索静脈瘤の間細胞機能に関しては、血清 F S H の上昇をみてもテストステロンあるいは L H の値が正常対照に比し差を認めないことから、Leydig 細胞の機能障害は認めないとする報告もある<sup>17,18,19)</sup>が、血清 L H, テストステロンが正常でも、in vitro でのテストステロンの生合成の低下<sup>15,20,21)</sup>、免疫組織化学的に Leydig 細胞を抗テストステロン抗体で染色し染色の低下を認めること<sup>22)</sup>、組織学的に Leydig 細胞の空胞化、萎縮を認める<sup>23)</sup>ことから、機能障害を肯定するものが多い。自験例では、造精機能障害のより強いものでは、血清テストステロン値に差をみとめなかったが血清 L H の上昇をみた。組織学的に Leydig 細胞機能を定量的にみる方法として、1) 精細管一個あたりの Leydig 細胞数の平均、2) 精細管一個あたりの Leydig 細胞塊数の平均、3) Leydig 細胞塊あたりの Leydig 細胞数の平均、4) 視野あたりの Leydig 細胞数、5) Leydig 細胞数と Sertoli 細胞数との比が報告されている<sup>9,16,24,26)</sup>。Weiss ら<sup>9)</sup>は、1), 2), 3) の値は互いによく相関していたとしている。精細管一個あたりで Leydig 細胞機能をみる場合精細管径が問題となり、不妊を呈する精索静脈瘤では精細管径の減少が指摘されている。<sup>16,22,26)</sup>しかし、平均精細管径と Leydig 細胞数との間に関連をみとめないことから、Pujol ら<sup>23)</sup>は Leydig 細胞数の上昇は精細管径の減少によるものではなく、Leydig 細胞の増生

のためであるとしている。われわれは、Hadziselimovic ら<sup>26)</sup>の報告に準じて、精細管一個あたりの Leydig 細胞数の平均を用いた。Weiss ら<sup>21)</sup>は、16 例の乏精子症を呈する精索静脈瘤患者について検討し、精細管あたりの Leydig 細胞数、細胞塊数とも左右差をみとめていない。また吉田<sup>15)</sup>は、Leydig 細胞塊数は 10 例中 7 例で右側で高値をとったが、in vitro でのテストステロンの生合成能は左右差をみないとしている。Hadziselimovic ら<sup>5)</sup>も 95 % の症例で Leydig 細胞数に左右差をみとめていない。自験例では、諸家の報告と異なり、右側に比し左側により強く Leydig 細胞の増生をみとめた。

血清 F S H 高値例では、血清 L H も高値をとり左右の L/ST の上昇をみとめたのは Hadziselimovic ら<sup>26)</sup>の報告と一致していた<sup>27)</sup>。造精機能障害のより強い症例では、睾丸容積の低下、血清ゴナドトロピン値の上昇をきたし、組織学的にみると J S C の低下、Leydig 細胞の増生をみとめ、患側睾丸により強い変化をみとめた。血清テストステロン低値例では、ゴナドトロピン値の上昇はみとめず、Leydig 細胞数は低下しており手術により造精能の改善が期待できるとされている<sup>26,27)</sup>。したがって、Leydig 細胞の増生例では血清 L H の上昇をみとめるが、テストステロン生合成の低下により L H の分泌が増加し、L H の作用により Leydig 細胞の増生をきたしたものと考えられる。

## 文 献

- 1) Greenberg, S. H.: Varicocele and male fertility, *Fertil. Steril.*, 28: 699, 1977
- 2) Cockett, A. T. K., Takihara, H. and Cosentino, M. J.: The varicocele, *Fertil. Steril.*, 41: 5, 1984
- 3) Okuyama, A., Fuzise, H., Matsui, T., Doi, Y., Takeyama, M., Nakamura, M., Namiki, M., Fujioka, H. and Matsuda, M.: Surgical repair of varicocele: Effective treatment for subfertile men in a controlled study, *Eur. Urol.*, 14: 298, 1988
- 4) 角谷秀典, 小竹忠, 始関吉生, 高原正信, 石井弘之, 島崎淳: 精索静脈瘤の手術成績—妊娠例と非妊娠例の比較—, *日不妊会誌*, 35: 732, 1990
- 5) Hadziselimovic, F., Herzog, B., Liebundgut, B., Jenny, P. and Buser, M.: Testicular and vascular changes in children and adults with varicocele, *J. Urol.*, 142: 583, 1989
- 6) Palomo, A.: Radical cure of varicocele by a new technique: preliminary report, *J. Urol.*, 61: 604, 1949
- 7) 鈴木良徳: 精索静脈瘤の研究, *日泌尿会誌*, 58: 1105, 1967

- 8) Johnsen, S. G.: Testicular biopsy score count. A method for registration of spermiogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males, *Hormones*, 1: 2, 1970
- 9) Weiss, D. B., Rodriguez-Rigau, L., Smith, K. D., Chowdhury, A. and Steinberger, E.: Quantitation of Leydig cells in testicular biopsies of oligospermic men with varicocele, *Fertil. Steril.*, 30: 305, 1978
- 10) 瀧原博史, 磯山理一郎, 馬場良和, 原田宏行, 川井修一, 酒徳治三郎: 精索静脈瘤患者における睾丸機能 特に造精機能障害について西日泌尿, 48: 1118, 1986
- 11) Centola, G. M., Lee, K. and Cockett, A. T. K.: Relationship between testicular volume and presence of varicocele: A comparative study, *Urology*, 30: 479, 1987
- 12) Dubin, L. and Hotchkiss, R. S.: Testicular biopsy in subfertile men with varicocele, *Fertil. Steril.*, 20: 50, 1969
- 13) Cameron, D. F., Snyder, F. E., Ross, M. H. and Drylie, D. M.: Ultrastructural alteration in the adluminal testicular compartment in men with varicocele, *Fertil. Steril.*, 33: 526, 1980
- 14) Terquem, A. and Dadoune, J. P.: Morphological findings in varicocele: An ultrastructural study of 30 bilateral testicular biopsies, *Int. J. Androl.*, 4: 515, 1981
- 15) 吉田謙一郎: 精索静脈瘤患者の Leydig 細胞機能の検討, 西日泌尿, 48: 1123, 1986
- 16) Johnsen, S. G. and Agger, P.: Quantitative evaluation of testicular biopsies before and after operation for varicocele, *Fertil. Steril.*, 29: 58, 1978
- 17) Swerdloff, R. S. and Walsh, P. C.: Pituitary and gonadal hormones in patients with varicocele, *Fertil. Steril.*, 26: 1006, 1975
- 18) Rege, N., Phadke, A., Bhatt, J., Khatri, N., Sheth, A., Joshi, U. and Yaidya, R.: Serum gonadotropins and testosterone in infertile patients with varicocele, *Fertil. Steril.*, 31: 413, 1979
- 19) Micic, S., Illic, V. and Isvaneki, M.: Correlation of hormone and histologic parameters in infertile men with varicocele, *Urol. int.*, 38: 187, 1983
- 20) Oshima, H., Nankin, H. R., Troen, P., Yoshida, K. and Ochiai, K.: Leydig cell number and function in infertile men, In *The testis in Normal and Infertile Men*, p 445, Raven Press, New York, 1977
- 21) Weiss, D. B., Rodriguez-Rigau, L. J., Smith, K. D. and Steinberger, E.: Leydig cell function in oligospermic men with varicocele, *J. Urol.*, 120: 427, 1978
- 22) Sirvent, J. J., Bernat, R., Navarro, M. A., Rodriguez-Tolra, J., Guspi, R. and Bosch, R.: Leydig cell in idiopathic varicocele, *Eur. Urol.*, 17: 257, 1990
- 23) Pujol, A., Rodriguez-Tolra, J., Navarro, M. A., Bonnin, R., Sirvent, J. J., Pladellorens, M. and Bernat, R.: The hormonal pattern in varicoceles and its relationship with the findings of testicular biopsy: preliminary results, *Brit. J. Urol.*, 54: 300, 1982
- 24) 橋本純一, 山本雅憲, 三宅弘治, 星野洸: 特発性男子不妊症の精巣の形態学的研究—Leydig 細胞の定量化およびその超微細構造について—, 泌尿紀要, 34: 1995, 1988
- 25) Santemma, V., Francavilla, S., Bruno, B., Casasanta, P., Rosati, P. and Fabbrini, A.: Leydig cell hyperplasia in varicocele: Is a local regulatory mechanism involved? In *Recent Advances in Male Reproduction: Molecular Basis and Clinical Implications*, p 159, Raven Press, New York, 1983
- 26) Hadziselimovic, F., Leibundgut, B., Da-Rugna, D. and Buser, M. W.: The value of testicular biopsy in patients with varicocele, *J. Urol.*, 135: 707, 1986
- 27) McFadden, M. R. and Mehan, D. J.: Testicular biopsies in 101 cases of varicocele, *J. Urol.*, 119: 372, 1978

### Histological study on the testes of the patients with varicocele

Hidenori Sumiya, Yoshio Shiseki,  
Tadashi Kotake, Masanobu Takahara  
and Jun Shimazaki

Department of Urology,  
Chiba University School of Medicine,  
Chiba 280, Japan  
(Director: Prof. J. Shimazaki)

Bilateral testicular biopsies were done on 111 patients who underwent Palomo's operation for varicocele.

The left side had significantly lower Johnsen's score count (JSC) and larger number of Leydig cells per seminiferous tubule (L/ST) than those of the right side. Both left and right JSCs were separately correlated with sperm concentration. Moreover left L/ST was inversely correlated with sperm concentration. The patients with high FSH levels showed low sperm concentration, high LH level, bilateral decreased testicular volumes, and decreased JSC and increased L/ST in both testes.

In conclusion, damages on seminiferous tubules

平成 3 年 10 月 1 日

角谷 他

(871) 145

by varicocele were more prominent in the left when compared to the right.

(受付：1991 年 1 月 11 日)

## 電気刺激によるラット精巣上体尾部精子の大量回収法

### Bulk Collection of Spermatozoa from Epididymal Cauda by Electric Stimulation

横浜市立大学医学部泌尿器科教室

川上 寧	木下 裕三	斎藤 和男
Yasushi KAWAKAMI	Yuzo KINOSHITA	Kazuo SAITO
佐藤 和彦	武田 光正	岩崎 皓
Kazuhiko SATO	Mitumasa TAKEDA	Akira IWASAKI
	穂坂 正彦	
	Masahiko HOSAKA	

Department of Urology Yokohama City University,  
Yokohama 232, Japan

12週齢, wistar 系雄ラット4匹8精巣上体に対して, 精巣上体尾部と精管にピーク電圧平均70V, パルス幅250 $\mu$ s のパルス電圧刺激を20Hzで30秒間加え, 精管に留置したチューブより精巣上体尾部精子の回収を試みた. 刺激時のピーク電流は, 17mA, 1パルスあたりのエネルギー量は130 $\mu$ joureeに相当した. 回収できた精巣上体尾部管液量は10.5 $\pm$ 2.2 (SD)  $\mu$ l, 回収精子数は46 ( $\pm$ 14)  $\times$  10<sup>6</sup>, 運動率は10%FCS-F12溶液中で46 $\pm$ 8%であった. 精巣上体尾部管液内の精子濃度は4.6 ( $\pm$ 1.3)  $\times$  10<sup>9</sup>/mlに相当した. ラットにおいては, 電気刺激による精巣上体尾部精子の回収方法は効率的で確実な回収手段である.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4) ,872-875, 1991)

#### 緒 言

近年, 射精障害患者より精子を採取する方法として, 経直腸的電気刺激による人口射精が行われてきているが, この手法によっても, 十分な精子が得られない場合も知られており, これを解決する新たな精子採取法の開発も望まれている. 精巣上体は精子の成熟の場であると同時に精子の貯蔵の場でもあるため, ここより大量の精子が回収できれば, かならずしも射精によらないでも, 多数の運動精子を人工授精に供することができるであろう. 現に, I V F の分野では精巣上体精子による受精が既に試みられており, 尾部に到達していない精子によっても一定の成果を上げている. 一方, 精巣上体内の精子成熟については, 精巣上体が精子に何らかの働き掛けを行なっているとする考え方があ

るを立証する有力な根拠には乏しく, 精巣上体機能と精子成熟機構との関連性については, 今日, 不明とする部分が多い. したがって, 精巣上体管液と精巣上体精子の大量回収法は, 精巣上体管液の組成成分と精巣上体精子の質的評価を行なう上でも, 望まれる手法といえる. 我々は精管と尾部精巣上体管が厚い平滑筋層に覆われていることに着目し, 電氣的刺激によってこれを収縮させることで, 大量の精巣上体精子を採取できないかと考え, 検討を試みた.

#### 方 法

12週齢のwistar系ラット(体重280-340g)の精巣および精巣上体を, ネンプータル麻酔下に経腹的に露出し, 精巣上体尾部より約1cmの部位で精管より精巣上体尾部に向けて, 22Gジェルコ静脈留置カテーテル針を精管内に刺入し, 留置した.

電気刺激は、TOP社製ニュートレーサーを使用し、2本の電極針の先端は精巢上部尾部と精管上に1.5cmの距離で接触させて行ない、刺激電圧と刺激電流は図-1の回路で日立電子製デジタル・ストレージ・オシロスコープVC8240によりモニターした。電気刺激のエネルギー量は、刺激電圧と刺激電流の積の波形を時間軸に対して積分することによって求めた。実測刺激電圧パルスは図-2に示す波形で(ピーク電圧平均70V、ピーク電圧時パルス幅

の精巢上部尾部管液が流出される。留置カテーテルが正しく精管内に挿入されていれば、試行したほぼ全例において、大量の精巢上部尾部管液の回収が可能であった。カテーテル内に回収された精巢上部尾部管液をカテーテルより圧出した状態で図-3に示す。

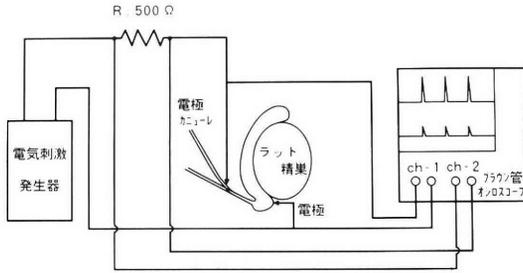


図1 刺激電圧・電流測定回路図

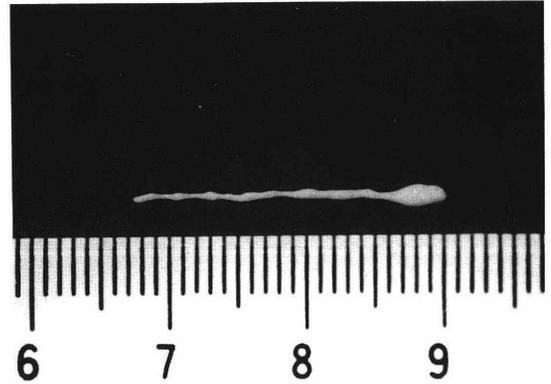


図3 回収した精巢上部尾部管液

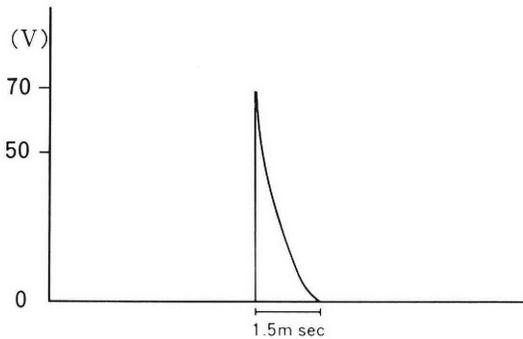


図2 電気刺激パルス波形

250μs),これを20Hz 30秒間にわたって、電気刺激を施行した。

回収した精巢上部尾部液は10%FCS-F12内に分散させ、37°C 5分インキュベーションの後、マクラーチャンバー上で精子数の算定を行なった。

結 果

パルス電圧負荷時に両電極間を流れた電流波形はピーク値平均17mAで、電圧とほぼ相似形かつ同期した波形を示した。1パルスあたりのエネルギー量は、約130μjouleで、20Hz 30秒間に負荷した総エネルギー量は、78mjouleであった。

電気刺激により、精巢上部尾部と精管は収縮をきたし、これに伴って、留置カテーテル内に、粘稠性

4匹のラット8精巢上部での精巢上部尾部管液回収量は、1精巢上部あたり平均10.5±2.2(SD)μl、精子数は4.6(±1.3)×10<sup>6</sup>でこれより推定された精巢上部尾部管液内の精子濃度は4.6(±1.3)×10<sup>9</sup>/mlであった(表-1)。採取原液では、精子が高濃度で互いに重層しているために(図-4)運動率を評価す

表1 回収量と精子所見

	採取量(μl)	回収精子数(×10 <sup>6</sup> )	精子濃度(×10 <sup>9</sup> /ml)	運動率(%)
1-R	6.3	32	3.6	47
-L	13.6	68	5.0	43
2-R	9.2	51	7.0	41
-L	13.9	45	3.2	38
3-R	9.8	51	5.2	56
-L	8.7	38	4.4	58
4-R	8.7	24	2.8	36
-L	11.2	59	5.3	50

ることはできないが、ほとんどの精子は静止状態にあり、一部の静止の鞭毛に極めてゆっくりとした運動性が認められた。10%FCS-F12溶液内に分散させると、精子は不純物の少ない状態で回収されていることが確認され(図-5)、運動率は46±8%であった。

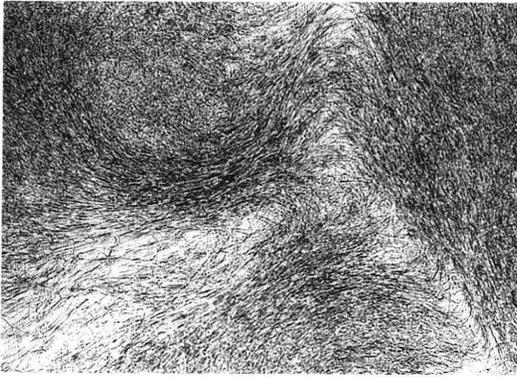


図4 精巣上部尾部管液（原液）の顕微鏡像



図5 希釈した精巣上部尾部管液の顕微鏡像

## 考 察

射精障害患者より精子を採取する方法として、一般的には Guttman, Walsh <sup>1)</sup> が報告した脊髄クモ膜下腔内ネオスチグミン注入による人口射精法, Chapelle 等 <sup>2)</sup> の報告した、フィソスチグミンの皮下注射法<sup>3)</sup>, 陰茎へのバイブレーター刺激による射精法<sup>4)</sup>, また、近年よく用いられている直腸内プローブによる electroejaculation 等があり、それぞれに妊娠成功例が報告されているが、これらの方法によっても良好な精子を回収できない場合も少なくない。また、射精障害患者の多くに逆行性射精が観察されるため、これらの既存の人工射精法によって射精に成功した場合にも、膀胱内に希釈されている精子の回収と洗浄、濃縮という過程が必要になり、これらの過程での生存精子数の減少はよく知られている。さらに、射精障害患者では、しばしば合併する尿路感染症のために、膀胱内より回収した精子に多くの不純物を認めたり、また精管の通過障害のために充分な量の活動精子が回収できない場合も認められており、こ

れらは人工射精法を用いた AIH による治療を困難にしている要因と考えられる。Linsenmeyer 等<sup>5)</sup>は、electroejaculation 時に採取した精子の運動率に影響を与える因子として、精子浮遊液の浸透圧、電流、潤滑目的で使用される導尿用ゼリーを挙げている。浸透圧は、253 mOsm が最適で、高浸透圧および低浸透圧環境に暴露されると精子の運動率は低下し、電流と潤滑用ゼリーは、量が増すにつれて、運動率を低下させる要因となっている。我々が行った精巣上部尾部と精管の電気刺激で得られた精子は、採取した原液中の精子濃度が  $4.6 (\pm 1.3) \times 10^9 / \text{ml}$  と極めて高濃度で不純物が少なかったため、回収精子の洗浄や濃縮は不必要であり、単に等張培養液で希釈するだけで、精子濃度の十分に高いサンプルを調製することが可能であった。この手法では、精子が尿や潤滑油と接触することを避けられる点で、運動率を低下させる要因が少ないものと考えられる。

電流が精子の運動性に与える影響については、Linsenmeyer 等<sup>5)</sup>が、100 mA, 20-30 Hz の電気刺激で、運動率の低下を認めたとしている。我々の行った電気刺激では、ピーク電流が平均 17mA と、これに比して少ないと言え、事実、この手法で採取した精子の運動率は、精巣上部尾部の切開により電氣的刺激を加えることなく採取した精子の運動率  $49 \pm 10\%$  (N=8) と、ほぼ同等であった。しかしながら、精子の運動性に及ぼす電気刺激の影響については、単に電流のみならず、電圧や刺激波のエネルギー量の観点から、今後さらに細かく検討されなければならない。

精巣上部尾部電気刺激法による精子の回収法は、従来の人工射精法では良好な精子を回収できない症例に対して、新たな精子回収手法を提供する可能性を有しているが、ヒトにおける精子の回収効率など、現時点ではまったく不明であり、将来、臨床的に応用できるが否かは、今後の研究を待たねばならない。

一方、我々が今回示した電気刺激による精巣上部管液と精巣上部精子の回収法は、精巣上部管液と精子成熟の関連性を調べる研究分野においても、容易に大量の試料が得られるという点で、役立つものと考えている。

## 文 献

- 1) Guttman, L. Walsh, A. T.: Prostigmin assessment test of fertility in spinal man, Paraplegia, 9: 39, 1971
- 2) Chapelle, P. A., Blanquart, F., Peuch, A. J. and Held, J. P.: Treatment of anejaculation in the total paraplegic by subcutaneous injection of

- physostigmine, *Paraplegia*, 21: 30, 1983
- 3) Tarabulcy, E.: Sexual function in the normal and in paraplegia, *para plegia* 10: 201, 1972
  - 4) Sarkarati, M., Rossier, A. B. and Fam, B. A.: Experience in vibratory and electroejaculation techniques in spinal cord injury patients: a preliminary report, *J. Urol.*, 138: 59, 1987
  - 5) Linsenmeyer, T., Wilmot, C. and Anderson, R. U.: The effect of the electroejaculation procedure on sperm motility, *Paraplegia*, 27: 465, 1989

### **Bulk collection of spermatozoa from rat epididymal cauda by electric stimulation**

Yasushi kawakami, Yuzo Kinoshita,  
Kazuo Saito, Kazuhiko Sato,  
Mitsumasa Takeda, Akira Iwasaki  
and Masahiko Hosaka

Department of Urology, Yokohama City University,  
Yokohama 232, Japan

The cauda epididymides of four male Wistar rats (12 week-old) were electrically stimulated for 30 s with 20 Hz electric pulse waves (peak voltage of a pulse, 70 V; pulse width, 250  $\mu$ s) in order to extrude the spermatozoa therein into the tubes canulated in the vas deferens. The peak current in each pulse was 17 mA and a burdened energy was 130  $\mu$ joule per pulse. Recovered epididymal fluids amounted to  $10.5 \pm 2.2$  (SD)  $\mu$ l and contained  $46 (\pm 14) \times 10^6$  spermatozoa which showed a motility rate of  $46 \pm 8\%$  when resuspended in a 10% FCS-F12 solution. The concentration of spermatozoa in the murine cauda epididymis was estimated to be  $4.6 (\pm 1.3) \times 10^9$ /ml. Electric stimulations on the cauda epididymis efficiently facilitate an output of epididymal fluid and serve as a useful method for bulk collection of spermatozoa in the cauda epididymis.

(受付: 1991年5月15日)

## 超音波カラードプラー法により測定した 勃起能正常者の陰茎血流動態

### Evaluation of the Penile Blood Flow of Potent Men Using Color Doppler Ultrasonography

山口大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 内藤克輔教授)

鎌田 清治 瀧原 博史 植野 卓也  
Kiyoharu KAMADA Hiroshi TAKIHARA Takuya UENO  
馬場 良和 白瀧 敬  
Yoshikazu BABA Satoshi SHIRATAKI

Department of Urology, Yamaguchi University School of Medicine, Ube 755, Japan  
(Chief: Prof. K. Naito)

山口労災病院泌尿器科 (主任: 越戸克和)

越戸 克和  
Yoshikazu KOSHIDO

Department of Urology, Yamaguchi Rosai Hospital, Onoda 756, Japan  
(Chief: Y. Koshido)

動脈性インポテンスの診断に Duplex Scanning が試みられるようになってきたが、我々は血流の色表示機能を有するカラードプラーを用いて、インポテンス患者に応用する前に正常値設定の目的で、勃起能正常者の勃起前後の陰茎血流を測定した。性機能異常なしと考えられた男子 10 例を対象とし、まず全例に弛緩時の血流測定を行い、うち 7 例から AVSS および Physical Stimulation による勃起直後の血流を測定した。陰茎背動脈血流は全例測定可能で、陰茎深動脈は弛緩時には 40 %、勃起時には 86 % の症例に測定可能であった。勃起時の陰茎深動脈の最高血流速度は  $57.23 \pm 4.94$  (Mean  $\pm$  S. E.) cm/s で、これを正常値と考えた。カラードプラー法は血流速度等の客観的パラメーターを定量的かつ短時間に測定でき、しかも血流を色で視覚的にとらえることができる点にその利点を有していた。これらの利点を生かせば本法は動脈性インポテンスの診断に応用可能と思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 876-881, 1991)

#### 緒 言

勃起は流入動脈の拡張、流出静脈の閉鎖、陰茎海綿体の弛緩により起こる神経血管現象である<sup>1)</sup>。したがって勃起の完全な惹起と維持には、動脈からの十分な血流供給と静脈からの流出量の減少が必要であり<sup>2)</sup>、血管性インポテンスの診断のためには静脈系および動脈系の両方の評価が要求されるがこの点、海

綿体造影では静脈系の所見しか得られず<sup>2)</sup>、動脈系については内陰部動脈造影、超音波ドプラー<sup>3-5)</sup>等が用いられている。

超音波ドプラーは非侵襲的な検査法だがどの血管を測定したのか確実性に乏しく、その欠点を克服した方法として近年超音波断層とドプラー波形を同時に測定可能な Duplex Scanning と用いた報告が増えている<sup>2,6-12)</sup>。我々はこれに加え、血流を色で視

覚的にとらえることのできるカラードップラーを用いてインポテンス患者に応用する前に正常値設定の目的で、勃起能正常者の陰茎背動脈と陰茎深動脈の血流を測定したので報告する。

対象および方法

対象として10例を撰択した。年齢は18~27歳(平均24.9歳)で、全例とも問診、既往歴、理学的所見、血中Luteinizing Hormone, Follicular Stimulating Hormone, Prolaction, Testosterone値は異常なく性機能正常と考えられた。

全例にPenile-Brachial Index測定を施行した。測定法は3cm幅の小児用マンシエットを陰茎根部に巻きつけドップラー血流計にて動脈音を聴取したのち水銀柱をあげ、再び動脈音を聴取する点を陰茎収縮期血圧とし、これと上腕収縮期血圧の比を算出した<sup>13)</sup>。

カラードップラーはアロカ社製SSD-680を用い、7.5MHzのリニア探触子を使用した。SSD-680はBモード超音波断層に加えて探触子に向かってくる血流を赤、遠ざかる血流を青でリアルタイムに表示する機能をもったFlow Modeと、血流の観察された部にサンプルマーク(ドップラー検出部)を合わせドップラー波形を検出するDoppler Modeからなっている。測定は被験者を仰臥位とし、陰茎背面正中中部よりやや外側に探触子をあて、陰茎縦断面にて行った。サンプルマークは1.0mmとし、得られた波形に角度補正を行ったのち、陰茎背動脈、陰茎深動脈の

最高血流速度(ドップラー波形のピーク)および動脈径を測定した。まず全例に弛緩時の血流測定を行ったのち7例にAVSSおよびPhysical Stimulationにて完全勃起が得られたので、この7例には勃起直後の陰茎背動脈、陰茎深動脈の最高血流速度および動脈径の測定を行った。弛緩時勃起時ともにパラメーターが得られた症例については以下の方法<sup>6,7)</sup>にて速度、径の増加率を算出した。

弛緩時の最高血流速度および動脈径をそれぞれv, d, 勃起直後のそれらをV, Dとすると  
% Velocity Change = (V-v)/v x 100  
% Diameter Change = (D-d)/d x 100

結 果

Penile-Brachial Indexは0.85~1.09で平均0.99(±0.02)と全例0.8以上<sup>14)</sup>を示し、正常範囲内であった。

弛緩時の陰茎背動脈については全例測定可能で、最高血流速度は16.38~43.13 cm/s, 平均32.55(±2.92) cm/sで、動脈径は0.5~1.2 mm, 平均0.87(±0.07) mmであった。勃起直後の陰茎背動脈については完全勃起の得られた7例とも測定可能で、最高血流速度は52.47~102.3 cm/s, 平均72.24(±5.76) cm/sで、動脈径は1.0~2.4 mm, 平均1.64(±0.16) mmであった。この7例については最高血流速度、動脈径ともに勃起直後において統計学的に有意に増加しており、速度増加率は30.0~340.4%, 平均138.97(±38.49)%で、径増

Table. 1 Blood flow in the dorsal arteries of 10 normal controls. 7 cases were measured both in the flaccid and erect states. a: n=10, b: n=7, \*: Statistically significant (Dependent t test)

No.	Age	PBI	Peak Flow Velocity (cm/s)		% Velocity Change	Diameter (mm)		% Diameter Change
			Flaccid	Erect		Flaccid	Erect	
1	26	1.09	40.36	52.47	30.0	0.9	1.5	66.7
2	25	1.09	30.32	65.06	114.6	0.5	2.4	380.0
3	26	0.95	30.16	not measured		1.0	not measured	
4	27	0.98	42.37	65.73	55.1	0.8	1.7	112.5
5	25	0.96	20.01	not measured		1.0	not measured	
6	27	0.85	16.38	72.14	340.4	1.1	1.5	36.4
7	18	0.98	43.13	not measured		0.9	not measured	
8	23	0.95	38.96	102.3	162.6	1.2	1.6	33.3
9	26	0.95	28.11	73.91	162.9	0.7	1.8	157.1
10	26	0.98	35.74	74.07	107.2	0.6	1.0	66.7
Mean (±S.E.)	24.9 <sup>a</sup> (0.85)	0.99 <sup>a</sup> (0.02)	32.55 <sup>a</sup> (2.92)	72.24 <sup>b</sup> (5.76)	138.97 <sup>b</sup> (38.49)	0.87 <sup>a</sup> (0.07)	1.64 <sup>b</sup> (0.16)	121.81 <sup>b</sup> (46.08)
			└ <sub>p</sub> <0.01(n=7)*┘			└ <sub>p</sub> <0.01(n=7)*┘		

加率は 33.3~380.0%, 平均 121.81 (±46.08)% であった (Table. 1). Fig. 1 に症例 6 の陰茎背動脈の

カラードップラーを示す.

弛緩時の陰茎深動脈については 10 例中 4 例, 40%

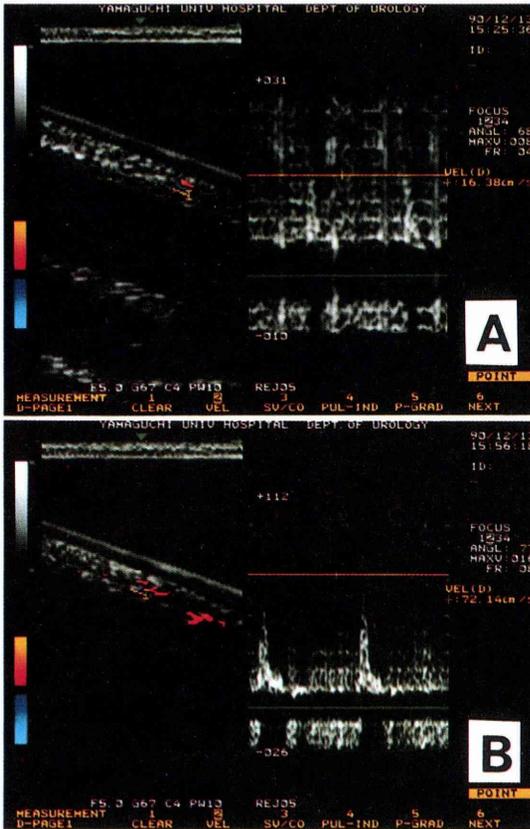


Fig. 1 Color Doppler scanning through the flaccid and erect penis (Case 6). The red flow indicates the dorsal artery. A, in the flaccid state. B, in the erect state, color Doppler shows markedly increased red flow and Doppler wave foam.

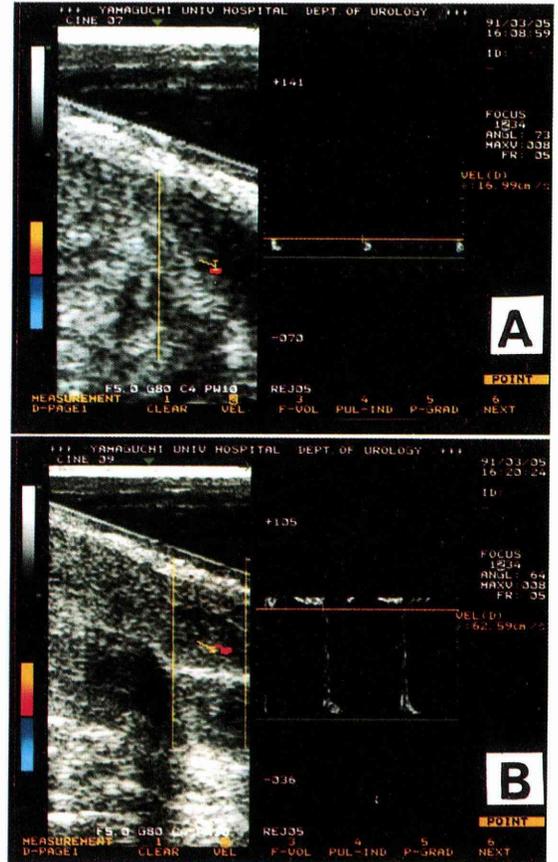


Fig. 2 Color Doppler scanning through the flaccid and erect penis (Case 2). The red flow indicates the deep artery. A, in the flaccid state. B, in the erect state, color Doppler shows increased red flow and Doppler wave foam.

Table. 2 Blood flow in the deep arteries of 7 normal controls.

3 cases were measured both in the flaccid and erect states.

a: n=4, b: n=6, c: n=3

No.	Peak Flow Velocity (cm/s)		% Velocity Change	Diameter (mm)		% Diameter Change
	Flaccid	Erect		Flaccid	Erect	
1	30.80	63.84	107.3	0.5	1.5	200.0
2	16.99	62.59	268.4	0.6	2.0	233.3
3	16.36	not measured		0.6	not measured	
4	56.65	75.12	32.6	0.7	1.5	114.3
8	not detected	42.32		not detected	1.1	
9	not detected	48.45		not detected	1.6	
10	not detected	50.98		not detected	1.2	
Mean (±S.E.)	30.2 <sup>a</sup> (9.43)	57.23 <sup>b</sup> (4.94)	136.15 <sup>c</sup> (69.58)	0.6 <sup>a</sup> (0.04)	1.48 <sup>b</sup> (0.13)	182.5 <sup>c</sup> (35.45)

に測定可能で、この4例については最高血流速度は16.36~56.65 cm/s、平均30.2(±9.43)cm/sで、動脈径は0.5~0.7 mm、平均0.6(±0.04)mmであった。勃起直後の陰茎深動脈については勃起の得られた7例中6例、86%に測定可能で、この6例については最高血流速度は42.32~75.12 cm/s、平均57.23(±4.94)cm/sで、動脈径は1.1~2.0 mm、平均1.48(±0.13)mmであった。弛緩時勃起時ともに測定可能であったのは3例で、3例とも最高血流速度、動脈径が勃起直後に増加しており、速度増加率は32.6~268.4%、平均136.1(±69.5)%で、径増加率は114.3~233.3%、平均182.5(±35.45)%であったが、症例数が少なく統計学的には検討をさし控えた(Table. 2)。Fig. 2に症例2の陰茎深動脈のカラードップラーを示す。

症例1, 4, 6, 8の4例については勃起直後の陰茎背静脈の測定を行い、血流速度は10.11~41.46 cm/s、平均24.06(±7.57)cm/s、静脈径は1.4~2.2 mm、平均1.83(±0.17)mmであった。カラードップラーではFig. 3の如く陰茎背静脈は青色で表示され、ドップラー波形は下向きで平坦な波形を示した。

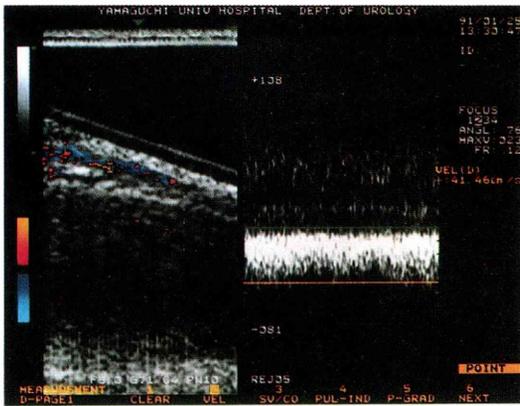


Fig. 3 Color Doppler scanning through the erect penis (Case 8).  
The blue flow indicates the dorsal vein. The Doppler wave foam is downward and flat.

### 考 察

血管性インポテンスの診断には、静脈性には海綿体造影、海綿体内圧測定が、動脈性にはDuplex Scanningを含めた超音波ドップラー法、Penile-Brachial Index、内陰部動脈造影が用いられ、動静脈を含めた血管の異常にはパパペリンテスト、Xenon-133などRIを用いた血流測定、陰茎サーモグラフィーなどが用いられている<sup>8,15)</sup>。

動脈性インポテンスの診断に超音波ドップラーを臨床応用したのは1975年に始まったがこれは陰茎背動脈血圧測定の目的で用いられていた<sup>9)</sup>。その後超音波ドップラーは血流速度、加速度といった血流パラメーターの測定に用いられるようになり、Velcek<sup>4)</sup>はドップラーにて陰茎背動脈と2本の陰茎深動脈の加速度の平均値をもとめ、これと橈骨動脈の加速度の比をPenile Flow Indexとし骨盤動脈造影にて所見のあったインポテンス患者群と所見のない正常群の間にその有意差を認めている。Mellinger<sup>5)</sup>は100例にPenile Flow Indexを測定したのちパパペリンテストを行いPenile Flow Indexが異常を示した群は正常群に比べパパペリンテストの陰性率が高かったと言っている。以上の方法に共通した欠点としてドップラー波形は得られるもののそれがどの血管を測定したのか確実性に乏しいものであった。

その後この欠点を克服するためにLue<sup>2)</sup>は初めてDuplex Scanningを用いて陰茎血管のBモード超音波断層とドップラー波形をリアルタイムに測定し、その後同様の試み<sup>6-12)</sup>がなされてきた。これらはいずれもインポテンス患者の陰茎深動脈の径および最高血流速度をパパペリン海綿体内注入前後で測定しており中には径、速度の増加率をみているものもある。Mellinger<sup>6,7)</sup>はさらに加速度を測定しそれが勃起の程度とよく相関していると言っている。

正常人についてはLue<sup>9)</sup>が18名にパパペリン注入前後の陰茎深動脈径の増加率および注入後の最高血流速度を測定している。Mellinger<sup>6)</sup>はAVSSにて勃起させ各パラメーターを測定している。Table. 3に正常人およびパパペリンテストにて完全勃起を示したインポテンス患者の陰茎深動脈のDuplex Scanningによる測定の報告例をまとめた。Table. 3において各報告に差がみられるのは、機種の違いや角度補正の有無によるものと思われる<sup>6)</sup>。Lue<sup>10)</sup>はパパペリン注入時の正常値として陰茎深動脈の最高血流速度30 cm/s以上、動脈径増加率100%としている。自験例では勃起時の陰茎深動脈最高血流速度は6例とも本基準を満たし、動脈径増加率を測定した3例もこれを満たしていた。我々の測定値はMellingerらの報告<sup>6,7)</sup>とはかなり違っているが、おそらく機種の違いによるものと考えられ、SSD-680による勃起時の陰茎深動脈最高血流速度の正常値を、57.23(±4.94)cm/sとしてもよいと考えられる。速度および動脈径の増加率については3例しか得られなかったので正常値決定はさし控えた。

自験例では弛緩時の陰茎深動脈は10例中4例しか測定できず、Lue<sup>2)</sup>らは23例測定し、全例とも測定で

Table. 3 Comparison of measured parameters between different studies using duplex scanning of the deep arteries.

	Mellinger and Vaughan <sup>6)</sup>	Mellinger and associates <sup>7)</sup>	Lue and associates <sup>9)</sup>	Collins and Lewandowski <sup>11)</sup>
Sexual Function	Normal	Impotence	Normal	Impotence
The Method for Erection	AVSS	Papaverine	Papaverine	Papaverine
Mean Peak Flow Velocity (cm/s) (During Erection)	275.8	147	34.8	21
Mean % Change in Peak Flow Velocity	181.2	—	—	—
Mean % Diameter Change	72	84	78.3	243
Mean Accelation (cm/s <sup>2</sup> ) (During Erection)	3279.9	1692	—	—
Instrument	Ultramark 8	Ultramark 8	DRF 400V	Ultramark 8
Angle Correct	+	+	+	—

きなかったと言っている。<sup>2)</sup>しかし Mellinger ら<sup>6)</sup>は 8 例中全例, Collins ら<sup>11)</sup>は 47 例中 35 例 75 % 測定しており, 技術的な熟練が必要と考えられた。我々はさらに陰茎深動脈の勃起前後の最高血流速度, 動脈径およびそれらの増加率や, Mellinger ら<sup>6,7)</sup>のように加速度についても正常人で測定する必要があると考えている。一方, 勃起時の陰茎深動脈血流は 7 例中 6 例, 86 % に測定可能であり, 今後熟練とともに全例に測定可能と思われた。

陰茎背動脈については弛緩時勃起時ともに全例測定可能であった。Lue ら<sup>2)</sup>はパパベリンテストにて勃起力の低下している患者においても陰茎背動脈血流のよいものがあるため, あまり測定する価値がないと報告している。また解剖学的にも陰茎背動脈は主に亀頭部の血流を支配し, 陰茎海綿体の血流は陰茎深動脈により支配されている。したがって勃起には主に陰茎深動脈が関与している訳であり<sup>16)</sup>, 陰茎背動脈のみでなく陰茎深動脈の測定が必要であろう。

Duplex Scanning と血管造影の相関については Mueller ら<sup>12)</sup>によれば 91 % にみられたと報告しており, かなり高い相関性があると思われる。

背静脈については他の報告<sup>2)</sup>にもあるように, 我々の経験でも弛緩時に波形および各パラメーターを得ることは困難であったが勃起時にはよく観察できた。カラードップラー法が静脈性インポテンスの診断に役立つかどうかは今後の問題であろう。

超音波カラードップラー法は血流のパラメーターが定量的に容易かつ迅速に測定可能であり, またカラーフローにより血流を視覚的にとらえることが可能で, しかも非侵襲的であることから動脈性インポテンスの客観的診断に臨床応用可能であると思われる。

る。

## 文 献

- 1) Lue, T. F., Takamura, T., Schmidt, R. A., Palubinskas, A. J. and Tanagho, E. A.: Hemodynamics of erection in the monkey, *J. Urol.*, 130: 1237, 1983
- 2) Lue, T. F., Hricak, H., Marich, K. W. and Tanagho, E. A.: Vasculogenic impotence evaluated by high-resolution ultrasonography and pulsed Doppler spectrum analysis, *Radiology*, 155: 777, 1985
- 3) Abelson, D.: Diagnostic value of the penile pulse and blood pressure: a Doppler study of impotence in diabetics, *J. Urol.*, 113: 636, 1975
- 4) Velcek, D., Sniderman, K. W., Vaughan, E. D. Jr., Sos, T. A. and Muecke, E. C.: Penile flow index utilizing a Doppler pulse wave analysis to identify penile vascular insufficiency, *J. Urol.*, 123: 669, 1980
- 5) Mellinger, B. C., Vaughan, E. D. Jr., Thompson, S. L. and Goldstein, M.: Correlation between intracavernous papaverine injection and Doppler analysis in impotent men, *Urology*, 30: 416, 1987
- 6) Mellinger, B. C. and Vaughan, E. D. Jr.: Penile blood flow changes in the flaccid and erect state in potent young men measured by duplex scanning, *J. Urol.*, 144: 894, 1990
- 7) Mellinger, B. C., Fried, J. J. and Vaughan, E. D. Jr.: Papaverine-induced penile blood flow acceleration in impotent men measured by duplex scanning, *J. Urol.*, 144: 897, 1990
- 8) Mueller, S. C. and Lue, T. F.: Evaluation of vasculogenic impotence, *Urologic Clinics of North America*, 15 (1): 65, 1988

- 9) Lue, T. F., Mueller, S. C., Jow, Y. R. and Hwang, T. I.-S.: Functional evaluation of penile arteries with duplex ultrasound in vasodilator-induced erection, *Urologic Clinics of North America*, 16 (4): 799, 1989
- 10) Lue, T. F., and Tanagho, E. A.: Physiology of erection and pharmacological management of impotence, *J. Urol.*, 137: 829, 1987
- 11) Collins, J. P. and Lewandowski, B. J.: Experience with intracorporeal injection of papaverine and duplex ultrasound scanning for assessment of arteriogenic impotence, *Brit. J. Urol.*, 59: 84, 1986
- 12) Mueller, S. C., W-Pachaly, H. V., Voges, G. E. and Schild, H. H.: Comparison of selective internal pharminoangiography, penile brachial index and duplex sonography with pulsed Doppler analysis for the evaluation of vasculogenic (arteriogenic) impotence, *J. Urol.*, 143: 928, 1989
- 13) 岩井武尚: 動脈性インポテンス, *泌尿器外科*, 3 (9): 1039, 1990
- 14) Wagner, G. and Green, R.: Penile blood flow measurement, *Impotence*, 99, Plenum Press, New York and London, 1981
- 15) 越戸克和: インポテンスの客観的診断法, *臨泌*, 39 (10): 811, 1985
- 16) Aboseif, S. R. and Lue, T. F.: Hemodynamics of penile erection, *Urologic Clinics of North America*, 15 (1): 1, 1988

### **Evaluation of the penile blood flow of potent men using color Doppler ultrasonography**

Kiyohada Kamada, Hiroshi Takihara,  
Takuya Ueno, Yoshikazu Baba and Satoshi Shir-  
ataki

Department of Urology, Yamaguchi University  
School of Medicine, Ube 755, Japan  
(Chief: Prof. K. Naito)

Yoshikazu Koshido

Department of Urology,  
Yamaguchi Rosai Hospital, Onoda 756, Japan  
(Chief: Y. Koshido)

Recent studies have described the use of duplex sonography with pulsed Doppler analysis of the penile arteries as a useful method in the evaluation of arteriogenic impotence. We evaluated the blood flow in the penile dorsal and deep arteries in the flaccid state of 10 normal controls by color Doppler scanning, which could indicate color flow and analyze the Doppler wave form. We also evaluated 7 cases in the erect state.

Both in the flaccid and erect states, we could evaluate the flow in the dorsal arteries of all 10 cases.

In the flaccid state, we could only evaluate the flow in the deep arteries of 4 cases (40%). However, we could evaluate 6 cases (86%) in the erect state. Mean peak flow velocity of the deep arteries in the erect state was  $57.23 \pm 4.94$  (mean  $\pm$  S. E.) cm/s.

As we can measure parameters, for example, peak flow velocity and at the same time, see blood flow as color flow, color Doppler ultrasonography seems to be a useful method for evaluating arteriogenic impotence.

(受付: 1991年4月9日特掲)

# 抗癌化学療法後に挙子を得た精巣腫瘍の1例 —当科にて治療を受けた精巣腫瘍患者の精液所見について—

## Fertility After Chemotherapy in Men with Testicular Tumor: A Case Report

金沢大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 久住治男教授)

山本 秀和 長野 賢一 内藤 克輔  
Hidekazu YAMAMOTO Ken-ichi NAGANO Katsusuke NAITO  
久住 治男  
Haruo HISAZUMI

Department of Urology, School of Medicine,  
Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan

青壮年層に多い精巣腫瘍に対する抗癌化学療法後の不妊症は重要な問題の1つである。われわれは、24歳の多数の肺転移を有する非セミノーマ (immature teratoma with choriocarcinoma) の男性で、3クルールのVAB-6療法後に挙子を得た1例を報告した。さらに、1982年以後金沢大学医学部泌尿器科で治療を受けた精巣腫瘍患者の妊孕性および精液所見について検討し、若干の文献的考察を加えて報告した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 36 (4), 882-886, 1991)

### 緒 言

精巣腫瘍に対する抗癌化学療法の進歩により、精巣腫瘍患者の生存率は著しく向上した。これに伴い、患者の quality of life の向上にも目がむけられるようになり、精巣腫瘍治療後の妊孕性に関する欧米の文献<sup>1-6)</sup>が散見されるが、本邦での報告は少ない。今回われわれは、抗癌化学療法の3年後に挙子を得た1例を経験したのでその経過を報告すると共に、1982年以後当科にて治療した精巣腫瘍患者の精液所見につき検討し、若干の文献的考察を加え報告する。

### 症 例

患 者: 24歳, 男性  
主 訴: 左陰囊内容の腫大  
既往歴: 特記すべきことなし  
家族歴: 特記すべきことなし  
現病歴: 1985年11月頃より左陰囊内容の腫大に

気付いていたが放置していた。1986年6月より咳、血痰、胸部痛を認め、近医より某院泌尿器科へ紹介された。同泌尿器科にて左精巣腫瘍および肺転移と診断され、治療目的に1986年7月3日当科紹介、即日入院となった。

現 症: 体格中等度、栄養良好、胸部および腹部理学所見に異常を認めず、表在性リンパ節も触知されなかった。左陰囊内には新生児頭大で弾性硬、表面平滑な腫瘤が触知された。左精巣に異常は認められなかった。

入院時検査成績: 末梢血液所見; WBC 7,800/mm<sup>3</sup>, RBC 453×10<sup>4</sup>/mm<sup>3</sup>, Hb 13.7g/dl, Ht 41.5%, PLT 30.7×10<sup>4</sup>/mm<sup>3</sup>

血液生化学所見; Na 138mEq/l, K 4.1mEq/l, Cl 101mEq/l, BUN 9mg/dl, Cr 0.9mg/dl, TP 6.6g/dl, GOT 25IU/l, GPT 6IU/l, ALP 148IU/l, LDH 98IU/l, AFP 24.4ng/ml, CEA 1.0ng/ml, HCG 300IU/ml 以上, HCG-β 600ng/ml, CRP 1.7mg/dl,

ESR 49mm/lh, 80mm/2h,

臨床経過：1986年7月4日、左高位精巣摘除術が施行された。摘出標本の重量は600g、病理組織学的診断はimmature teratoma with choriocarcinomaであった(図1)。胸部X線写真上直径6cmより1.3cmまでの少なくとも10個以上の肺転移巣が認められたが(図2)、他の臓器には明らかな転移巣は認められず、TNM治療前臨床分類は、 $T_2N_0M_1$ 、日本泌尿器科学会病期分類ではIII B 2と考えられた。

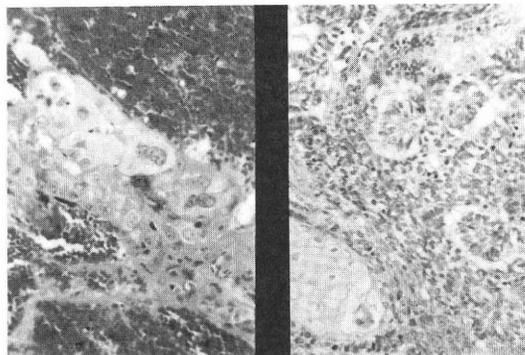


図1 病理組織所見 (H&E染色,  $\times 100$ ). immature teratoma with choriocarcinoma

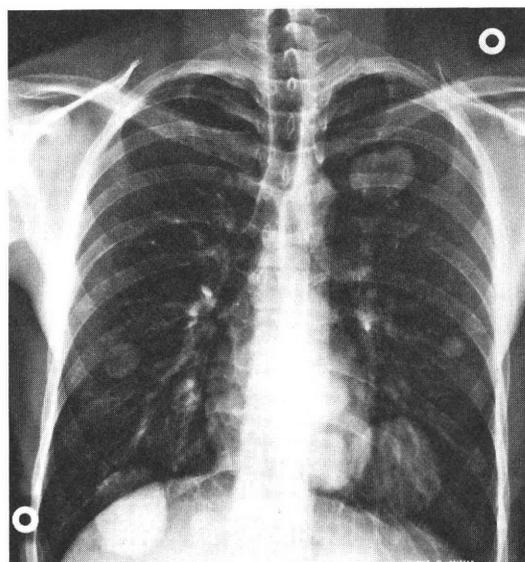


図2 抗癌化学療法前の胸部X-P. 多数の肺転移を認めた

1986年7月11日よりVAB-6療法<sup>7)</sup>を3クール施行し、肺転移巣の縮小率は約65%、HCG- $\beta$ の値は0.85ng/mlとなった。投与された抗癌剤のtotal doseはCyclophosphamideが3,000mg、Vinblastineが20.4mg、Dactinomycinが5.1mg、Bleomycinが

270mg、Cisplatinが600mgであった。副作用としての骨髄抑制が高度であり骨髄機能の回復を待っていたところ、無治療にもかかわらず肺転移巣はさらに縮小傾向を示し、HCG- $\beta$ などの腫瘍マーカーも正常値範囲内に下降したため外来にて経過観察することにした。外来での経過観察中に多くの肺転移巣は縮小消失し、抗癌化学療法2年後には胸部X線写真上肺転移巣は大きさ1.9 $\times$ 1.5cmの左下肺野の1個のみとなった(図3)。1989年1月、妻の妊娠が確認さ

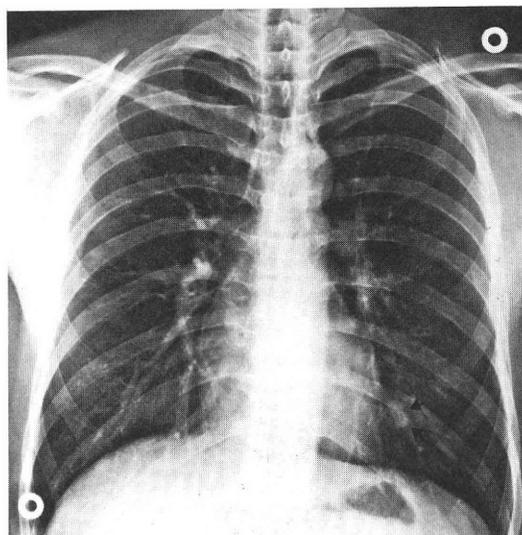


図3 抗癌化学療法2年後の胸部X-P. 肺転移巣は左下肺野の一個のみとなった

れた。しかしながら、同年6月よりHCG- $\beta$ 値が1.0ng/mlと再び上昇傾向を示したので再入院となった。1989年7月18日よりVP-16、Cisplatinを用いたsalvage療法<sup>8)</sup>を2クール施行した。しかし胸部X線写真上左下肺野の病変は不変であり、HCG- $\beta$ 値も正常値域に復しないため、1989年10月6日当院第1外科にて左下肺野の腫瘍を摘出した。摘出標本の病理組織学的診断はnecrosis of tumor cellsであり、HCG- $\beta$ も正常値域に低下したため再び外来にて経過観察となった。なお、1989年9月30日に出生した男児に奇形などは認められなかった。

精液所見の経過：表1に示すようにVAB-6療法後は高度の乏精子症であったが、3年後の再入院時には精子濃度2,800万/ml、運動率90%以上に回復していた。われわれの報告した精子DNAの加水分解曲線解析法<sup>9)</sup>では、 $k_1=0.299$ 、 $k_2=6.96 \times 10^{-3}$ と共に低値であり、精子DNAの微小障害は認められずクロマチンも濃縮しているとの結果が得られた。

すなわち、精子は十分に成熟しており、妊娠可能であると考えられた。なお、salvage 療法後1カ月の精液検査では無精子症であった。

当科にて治療を受けた精巣腫瘍患者の精液所見

表2に1982年以後、金沢大学医学部附属病院泌尿器科にて治療した精巣腫瘍患者38例のうち精巣摘除術直後に精液検査を施行できた12例の精液所見を示す。現在のところ精液所見の正常値に関する統一した見解はないが、今回は、精子濃度 $2,000 \times 10^4/ml$ 以上、精子運動率40%以上を正常とした<sup>10)</sup>。12例中7例は乏精子症または精子無力症であり、1例は後腹

膜リンパ節転移による神経障害が原因と考えられる逆行性射精が認められた。

表3に、当科にて抗癌化学療法を施行した症例の精液所見を示す。抗癌化学療法直後に精液検査を施行した8例のうち2例は射精不可能、4例は無精子症、2例は高度の乏精子症であった。長期予後は、前述した1例に妊娠をみたのであり、射精不可能1例、乏精子症1例であり、残りの5例の精液検査は未施行であった。

表4に、後腹膜リンパ節郭清術後の逆行性射精の

表1 精液検査および加水分解曲線解析法の結果

	VAB-6 直後	3年後
精液量 (ml)	4.0	4.4
精子濃度 (/ml)	$3 \times 10^4$	$2,800 \times 10^4$
運動率 (%)	20-30	90<
奇形率 (%)	20-30	<10
k 1	未施行	0.299
k 2	未施行	$6.96 \times 10^{-3}$

表2 精巣摘除術直後の精液検査結果

	患者数	乏精子症 又は 精子無力症	正常	逆行性 射精
セミノーマ	5	2	2	1
非セミノーマ	7	5	2	0

表3 抗癌化学療法直後の精液検査結果およびその経過

症例	RPLND	治療法	化学療法直後の 精液所見	経過
1	(-)	VAB-6	高度 乏精子症	16カ月後 乏精子症
2	(-)	VAB-6	高度 乏精子症	3年後妊娠
3	(-)	PVB	無精子症	未施行
4	(-)	PVB+ salvage	無精子症	未施行
5	(-)	PVB+ salvage	無精子症	未施行
6	(+)	PVB	射精不可能	3年後 射精不可能
7	(+)	PVB	射精不可能	未施行
8	(+)	PVB	無精子症	未施行

RPLND: retroperitoneal lymph node dissection

表4 後腹膜リンパ節郭清術後の逆行性射精の経過

症例	RPLND 直後の 逆行性射精	逆行性射精の経過
9	(+)	6カ月後に射精可能
10	(+)	1カ月後に射精可能
11	(+)	9カ月後に射精可能
12	(+)	2カ月後に射精可能
13	(+)	4年後に射精可能
14	(+)	1年後に射精可能
15	(+)	8カ月後も続く
16	(+)	2年後も続く

RPLND: retroperitoneal lymph node dissection

経過を示す。精液検査を施行した8例全例に逆行性射精が認められたが、8例中6例は1カ月から4年後に回復していた。

考 察

近年精巣腫瘍の治癒率の向上に伴い、治療後の妊孕性の問題が重要視されてきた。

Berthelsen ら<sup>11)</sup>は、精巣摘除術後73例の精液検査を施行したところ平均精子濃度は $750 \times 10^4/ml$ 、平均運動率は52%であったと報告している。また彼らによれば200例の対側精巣生検の結果、24%に強い造精機能障害が認められ、60%にlate spermatidの減少が認められている。われわれは対側精巣の生検は施行していないが、精液検査では12例中7例に乏精子症または精子無力症が認められた。対側精巣の造精機能障害の原因として、HCGの上昇、腫瘍による陰囊内温度の上昇、先天的な造精機能障害(停留精巣を含む)などが考えられている<sup>1)</sup>。また、Lange ら<sup>2)</sup>は、精巣腫瘍に対する精巣摘除術後の造精機能障害は永久的なものでなく約4分の3の症例にて妊孕性を期待できると述べている。今回われわれの症例には精巣摘除術のみで経過観察し、精液所見の推移をみた症例はなかった。

一方、抗癌剤特に alkylating agents は造精機能障害が強いことが知られており、抗癌化学療法後の多くの症例は無精子症となると報告されている<sup>3)</sup>。Hendry ら<sup>4)</sup>は、3年後に精子濃度  $1000 \times 10^4/\text{ml}$  以上に回復したのは24%に過ぎないと報告しているが、Nijman ら<sup>3)</sup>は2年後には約半数で精液所見は回復すると述べている。さらに抗癌化学療法を施行した54例中8例に妊娠が認められ、1例は流産したものの残り7例の出生児に奇形児は認められなかったと述べている。われわれの今回の検討では精液検査が可能であった症例が少なく十分な検討はできなかったが、吉田ら<sup>11)</sup>の報告によれば、本邦での抗癌化学療法後の精液所見は欧米の報告<sup>3,4)</sup>に比し不良である印象を受ける。

精巣腫瘍患者における後腹膜リンパ節郭清術後の逆行性射精も妊孕性に大きな影響を及ぼすものの1つである。最近われわれは、staging operation 時には Lange ら<sup>12)</sup>の方法に準じて交感神経を温存する術式を施行している。逆行性射精が回復しなかった2例は、いずれも交感神経を温存する術式に変更する以前の症例であり、術式を変更してからは全例逆行性射精より回復していた。

現在のところ、抗癌化学療法による造精機能障害に対し、精液を冷凍保存する方法<sup>3)</sup>や、動物実験ではあるが抗癌化学療法中 LH-RH analogue にて造精機能を保護する方法<sup>6)</sup>などが報告されている。しかし、前述したように精巣摘除術後には造精機能障害を認めることが多く精液の冷凍保存は必ずしも有効とは言えず、また、LH-RH analogue による造精機能の保護も確立された方法でない。抗癌化学療法による造精機能障害の程度は、抗癌剤の種類、総投与量、治療期間で異なると考えられており<sup>2)</sup>、抗癌化学療法の程度により妊孕性を回復する場合もあることが報告されている<sup>6)</sup>。今回のわれわれの症例では抗癌化学療法直後においては肺転移巣の縮小率は画像上約65%であったが、副作用のため治療の中断を余儀なくされた。幸運にも肺転移巣は徐々に縮小消失し抗癌剤投与量が最低限に抑えられたことが妊孕性の回復につながった1つの原因と考えられた。抗癌化学療法の第一の目的は精巣腫瘍を完治することであり治療効果を下げることがあってはならないが、可能であるならば必要最低限の治療にとどめておくべきであり、この点についての更なる研究が望まれる。また、抗癌化学療法後の男性不妊症に対し有効な対策が確立されていない現在、精巣腫瘍患者に対し治療後精子が得られない可能性について十分な説明が必要であり、人道的立場上完治する可能性がない場合には子供を作らないよう指導すべきであると

考える。青壮年層に多く精巣腫瘍における抗癌化学療法後の男性不妊症は、治癒可能である現在無視できない重要な問題であり、今後さらに検討が必要と考えられた。

## 結 語

抗癌化学療法後、精子を得た1例を報告すると共に、当科で治療した精巣腫瘍患者の精液所見をまとめた若干の文献的考察を加えて報告した。

本論文の要旨は、1989年12月第25回日本不妊学会北陸支部学術総会にて発表した。

## 参考文献

- Berthelsen, J. G. and Skakkebaek, N. E.: Gonadal function in men with testis cancer, *Fertil. Steril.*, 39: 68, 1983
- Lange, P. H., Chang, W. Y. and Fraley, E. E.: Fertility issues in the therapy of non-seminomatous testicular tumors, *Urol. Clin. North Am.*, 14: 731, 1987
- Nijman, J. M., Koops, H. S., Kremer, J. and Sleijfer, D. T.: Gonadal function after surgery and chemotherapy in men with stage II and III nonseminomatous testicular tumors, *J. Clin. Oncol.*, 5: 651, 1987
- Hendry, W. F., Stedronska, J., Jones, C. R., Blackmore, C. A., Barrett, A. and Peckham, M. J.: Semen analysis in testicular cancer and Hodgkin's disease: Pre- and post-treatment findings and implications for cryopreservation, *Br. J. Urol.*, 55: 769, 1983
- Glode, L. M., Robinson, J. and Gould, S. F.: Protection from cryophosphamide-induced testicular damage with an analogue of gonadotropin-releasing hormone, *Lancet*, 1: 1132, 1981
- Rustin, G. J., Pektasides, D., Bagshawe, K. D., Newlands, E. S. and Begent, R. H.: Fertility after chemotherapy for male and female germ cell tumors, *Int. J. Androl.*, 10: 389, 1987
- Vurgrin, D., Whitmore, W. F., Jr. and Golbey, R. B.: VAB-6 Combination chemotherapy without maintenance in treatment of disseminated cancer of the testis, *Cancer*, 51: 211, 1983
- Willams, S. D. and Einhorn, L. H.: Etoposide salvage therapy for refractory germ cell tumors: An update, *Cancer Treat. Rev.*, 9 (suppl A): 67, 1982
- 山本秀和, 内藤克輔, 久住治男, 三好憲雄, 福田優: 男子不妊症患者における加水分解曲線解析法を用いた精子DNAの検討(第1報), 日不妊誌,

35 : 131, 1990

- 10) Farley, T. M.: The WHO standardised investigation of the infertile couple: In INFERTILITY, male and female, Edited by Ratnam, S. S. et al., 123, The Parternon Publishing Group, New Jersey, 1987
- 11) 吉田 修, 山内民男, 飛田修一: 辜丸腫瘍の治療における問題点, 癌の臨床, 31 : 1046, 1985
- 12) Lange, P. H., Narayan, P. and Fraley, E. E.: Fertility issues following therapy for testicular cancer, Semin. Urol., 2: 264, 1984

### **Fertility after chemotherapy in men with testicular tumor: A case report**

Hidekazu Yamamoto, Ken-ichi Nagano,  
Katsusuke Naito and Haruo Hisazumi

Department of Urology,  
School of Medicine, Kanazawa University,  
Kanazawa 920, Japan

Fertility following chemotherapy for testicular tumors which occur at young generation is one of big associated problems. We report a 24-year-old man with nonseminomatous testicular tumor who got a child after 3 sessions of VAB-6 chemotherapy. We discuss the fertility and the results of seminal analysis in men with testicular tumor, who were treated at the Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa university since 1982.

(受付: 1990年10月25日)

# 第 36 回

## 日本不妊学会学術講演会

プログラム・講演抄録集

会 期 平成 3 年 11 月 20 日 (水), 21 日 (木)  
会 場 名古屋国際会議場 (白鳥センチュリープラザ)

会 長 八 神 喜 昭

(名古屋市立大学産科婦人科)

## 御 挨拶

名古屋市において第36回日本不妊学会総会ならびに学術講演会を開催させて頂くことになりました。学会会場となります国際会議場は、別名、白鳥センチュリープラザと称し、古き熱田、白鳥の地に建てられた新しい会場です。メイン会場等はやや広すぎる感もいたしますが、ゆったりとした気分で、学会を楽しんで頂けたらと考えております。

今回は種々の考えもあり一般演題は、口頭発表のみといたしました。会員各位の御支援により、322題と多くの演題数を頂きましたので、6会場にて行うことと致しました。活発な御討論をお願いする次第であります。

学会内容については多くの方々からの貴重な御意見を参考とさせて頂き、学際的な本会の特徴を少しでも生かすことを主眼といたしました。また基礎と臨床との調和も考え合わせ、メイン会場での第1日目は基礎的な面をとりあげ、基調講演的な招請講演を2題お願いし、ついで3題の特別講演を、続いてシンポジウムには5名のスピーカーの方々をお願い致しました。

第2日目には、「生殖医学の新しい展望」をメインテーマに、4つのワークショップを考え各座長の先生方に企画をお願い致しました。

この様に少しばかり欲の深い企画をたてましたので、ワークショップと一般講演が同時進行となってしまい、関係各位には大変御迷惑をおかけすることになると思いますが、何卒御寛容下さい。

多くの会員の方々に御参集願ひ名古屋の晩秋の学会を実り多きものにして頂きたく心より願っております。

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

八 神 喜 昭

## 日 程 概 要

### 学術講演会

会 期：平成3年11月20日（水）、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 052-683-7711

第I会場（2階センチュリーホール）……………総会，招請講演  
特別講演，シンポジウム，ワークショップ，一般講演

第II会場（4階レセプションホール西）……………一般講演

第III会場（403）……………一般講演

第IV会場（402）……………一般講演

第V会場（304・305）……………一般講演

第VI会場（302・303）……………一般講演

評議員会（4階レセプションホール東）

機器・医薬品展示（1階展示室）

### 総 会

日 時：平成3年11月20日（水）12時40分から13時10分

会 場：名古屋国際会議場

第I会場「2階センチュリーホール」

### 評 議 員 会

日 時：平成3年11月20日（水）12時00分から12時40分

会 場：名古屋国際会議場

「4階レセプションホール東」

### 理 事 会

日 時：平成3年11月19日（火）16時00分から17時30分

会 場：名古屋ヒルトンホテル「4階桜の間」

〒451 名古屋市中区栄1-3-3 TEL 052-212-1111

### 幹 事 会

日 時：平成3年11月19日（火）15時00分から15時50分

会 場：名古屋ヒルトンホテル「4階桜の間」

### 総 懇 親 会

日 時：平成3年11月20日（水）18時30分から20時

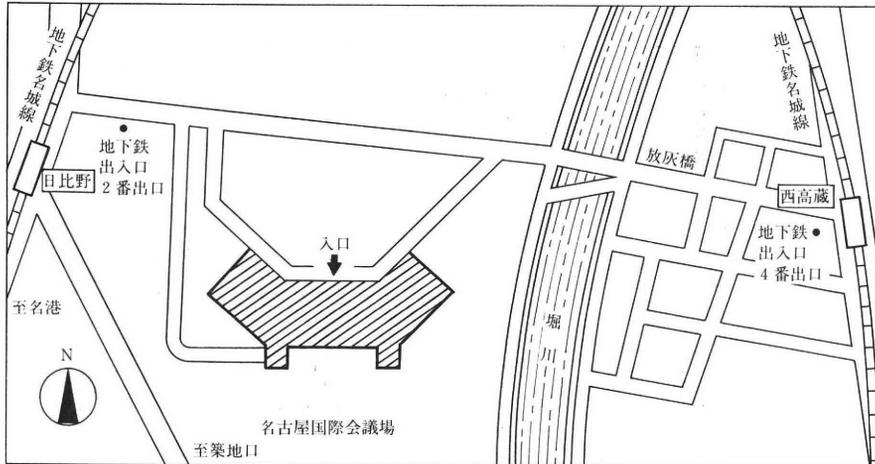
会 場：名古屋国際会議場 「1階イベントホール」



# 会場案内図

名古屋国際会議場（白鳥センチュリープラザ）

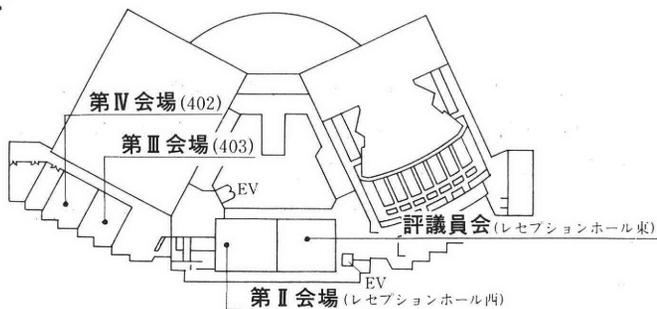
〒456 名古屋市熱田区西町1-1 TEL052-683-7711



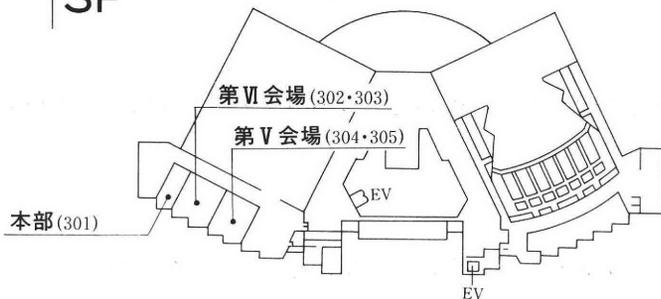
7F		エレベーター (展望レストラン行)	レストラン		
6F					
5F					
4F			評議員会会場 (レセプション ホール東)	第II会場 (レセプション ホール西)	エレベーター (4F迄)
3F				第V会場(304・305) 第VI会場(302・303) 本 部(301)	
2F	第I会場 (センチュリーホール)		ティーラウンジ		
1F	機器・医薬品 展示会場 (展示室)		総合受付 (アトリウム)		懇親会会場 昼食・休憩コーナー (イベントホール)

# 会場見取図

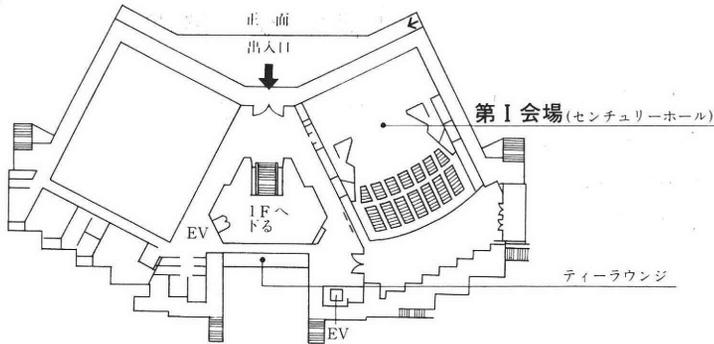
4F



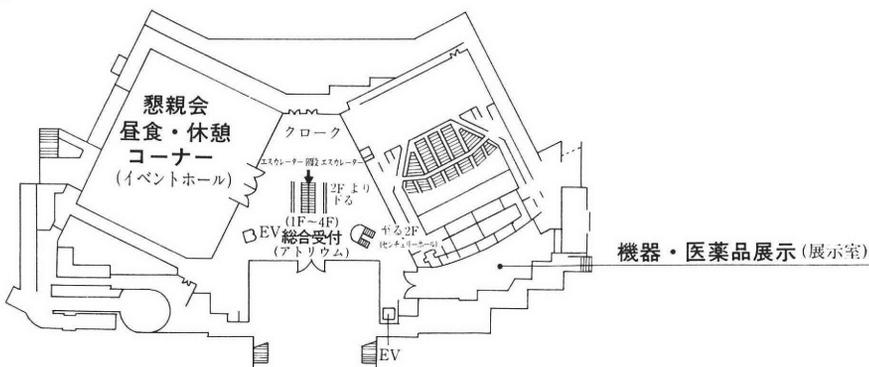
3F



2F



1F



## 学会参加者へのお知らせ

### 受付・参加費

参加者は学会参加費として7,000円を1階アトリウム参加費受付でお納め下さい。受付は両日とも午前8時30分より行なっております。領収書兼用の名札を参加費と引き替えにお渡ししますので、各自所属・氏名をご記入のうえ、左胸におつけ下さい。

会期中、名札のない方の入場はお断りしますので、入場の際は必ず着用願います。

### プログラム・予稿集

学会誌は講演抄録集を兼ねていますので、当日必ずご持参下さい。お忘れの場合は受付で実費でお分けしますが、部数に限りがあります。

### 呼び出し

原則として行ないませんが、緊急の場合には会場受付の総合案内（1階アトリウム）まで申し出て下さい。

### 昼 食

会場および付近には、食堂・レストランが少ないため会場内に昼食コーナー（1階イベントホール内）を設けましたのでご利用下さい。

## 総懇親会のご案内

日 時：平成3年11月20日（水）18時30分～20時  
会 場：名古屋国際会議場  
「一階イベントホール」  
会 費：7,000円

## 一般講演者へのお知らせ

### 講演時間

- 1) 一般講演は6分です。1分前に青ランプで予告し、講演時間終了は赤ランプでお知らせします。講演時間は厳守して下さい。
- 2) スライドの送りは口頭で、明確に指示して下さい。
- 3) 次演者は、所定の席にご着席下さい。
- 4) 討論は座長の指示に従って下さい。討論は各群の講演終了後にまとめて行なうことがありますので、座長の指示があるまで最前列でお待ち下さい。

### スライド

- 1) スライドは35mm判、標準マウント(50mm×50mm)に入れ、各自でスライドホルダーに挿入して下さい。スライドプロジェクターは1台で一般演題のスライド枚数は10枚以内とします。
- 3) スライドは講演時間の1時間前までに各会場のスライド受付にご提出下さい。
- 4) スライドは各群の終了後、速やかに受領証と引き替えにお受け取り下さい。

### 質疑応答について

- 1) 一般演題の討論は、座長の許可を受けてから所属、氏名を明らかにした上で発言して下さい。
- 2) 発言は討論用のマイクを使用し、演者の回答が終わるまでマイクの傍でお待ち下さい。
- 3) 質疑応答の時間は、1演題につき2分を予定しております。時間の足りない時は、交見室にてお願いします。

# プログラム

学会進行予定表

招 請 講 演

特 別 講 演

シンポジウム

ワークショップ

一 般 演 題

## 日 程 表

## 第 1 日 (11月20日・水)

	第 I 会場 (センチュリーホール)	第 II 会場 (レセプションホール西)	第 III 会場 (403)	第 IV 会場 (402)	第 V 会場 (304・305)	第 VI 会場 (302・303)
8:50	開 会					
9:00	9:00～9:32 I. 1～4 受精・着床(I) 座長：中山道男	9:00～9:40 II. 1～5 内膜症(I) 座長：藤本征一郎	9:00～9:32 III. 1～4 精子・排精(I) 座長：穂坂正彦	9:00～9:40 IV. 1～5 診断・検査(I) 座長：宮川征男	9:00～9:32 V. 1～4 間脳・下垂体(I) 座長：寺川直樹	9:00～9:40 VI. 1～5 免疫(I) 座長：寺島芳輝
10:00	9:32～10:04 I. 5～8 受精・着床(II) 座長：大野虎之進	9:40～10:12 II. 6～9 内膜症(II) 座長：武谷雄二	9:32～10:12 III. 5～9 精子・排精(II) 座長：友吉唯夫	9:40～10:20 IV. 6～10 診断・検査(II) 座長：北尾 学	9:32～10:20 V. 5～10 間脳・下垂体(II) 座長：佐藤和雄	9:40～10:20 VI. 6～10 免疫(II) 座長：磯島晋三
	10:04～10:36 I. 9～12 受精・着床(III) 座長：矢内原 巧	10:12～10:52 II. 10～14 内膜症(III) 座長：寺尾俊彦	10:12～11:00 III. 10～15 精子・排精(III) 座長：島崎 淳	10:20～10:52 IV. 11～14 診断・検査(III) 座長：清水哲也	10:20～10:52 V. 11～14 プロラクチン 座長：青野敏博	10:20～11:00 VI. 11～15 免疫(III) 座長：谷澤 修
11:00	10:36～11:08 I. 13～16 受精・着床(IV) 座長：岩崎寛和	10:52～11:32 II. 15～19 内膜症(IV) 座長：加藤順三	11:00～11:40 III. 16～20 精子・排精(IV) 座長：藤井明和	10:52～11:24 IV. 15～18 診断・検査(IV) 座長：百瀬和夫	10:52～11:24 V. 15～18 家畜・繁殖 座長：豊田 裕	11:00～11:40 VI. 16～20 感染症 座長：岡田弘二
	12:00～12:40 評議員会 (4F レセプションホール東)					
12:40～13:10	総会					
13:00	13:10～13:40 招請講演 1 座長：八神喜昭 坂元正一					
	13:40～14:20 招請講演 2 座長：飯塚理八 岡田節人					
14:00	14:25～14:55 特別講演 1 座長：中西正美 花田征治					
	14:55～15:25 特別講演 2 座長：大島博幸 山本雅恵					
15:00	15:25～15:55 特別講演 3 座長：入谷 明 角田幸雄					
	16:00～18:00 シンポジウム 司会：三宅弘治 廣井正彦					
17:00	1. 三浦一陽 2. 岩本晃明 3. 岡田節男 4. 菅沼信彦 5. 佐藤文彦					
18:00	18:30～20:00 懇親会 (1F イベントホール)					

## 日 程 表

### 第 2 日 (11月21日・木)

	第 I 会場 (センチュリーホール)	第 II 会場 (レゼプションホール西)	第 III 会場 (403)	第 IV 会場 (402)	第 V 会場 (304・305)	第 VI 会場 (302・303)
9:00	9:00~9:40 I. 17~21 受精・着床(V) 座長:富永敏朗	9:00~9:40 II. 20~24 妊娠・流産(I) 座長:水口弘司	9:00~9:40 III. 21~25 精子・排精(V) 座長:友田 豊	9:00~9:40 IV. 19~23 診断・検査(V) 座長:杉本 修	9:00~9:32 V. 19~22 卵子・排卵(I) 座長:毛利秀雄	9:00~9:32 VI. 21~24 精巢・性ホルモン(I) 座長:阿曾佳郎
10:00	9:40~10:20 I. 22~26 受精・着床(VI) 座長:中村幸雄	9:40~10:20 II. 25~29 妊娠・流産(II) 座長:桑原惣隆	9:40~10:12 III. 26~29 精子・排精(VI) 座長:田崎 寛	9:40~10:12 IV. 24~27 診断・検査(VI) 座長:永田行博	9:32~10:12 V. 23~27 卵子・排卵(II) 座長:麻生武志	9:32~10:04 VI. 25~28 精巢・性ホルモン(II) 座長:熊本悦明
	10:20~11:00 I. 27~31 受精・着床(VI) 座長:小林俊文	10:20~11:08 II. 30~35 妊娠・流産(III) 座長:西島正博	10:12~10:52 III. 30~34 精子・排精(VII) 座長:町田豊平	10:12~10:36 IV. 28~30 手術(I) 座長:白井將文	10:12~10:52 V. 28~32 卵子・排卵(III) 座長:岡村 均	10:04~10:36 VI. 29~32 精巢・性ホルモン(III) 座長:中田瑛浩
11:00	11:00~11:40 I. 32~36 受精・着床(VII) 座長:野田洋一	11:08~11:48 II. 36~40 妊娠・流産(IV) 座長:荻田幸雄	10:52~11:24 III. 35~38 精子・排精(VIII) 座長:梅田 隆	10:36~11:08 IV. 31~34 手術(II) 座長:関場 香	10:52~11:32 V. 33~37 卵子・排卵(IV) 座長:森 宏之	10:36~11:16 VI. 33~37 卵巣・性ホルモン(I) 座長:宮川勇生
				11:08~11:40 IV. 35~38 手術(III) 座長:齋藤良治		
12:00						
13:00	13:00~14:00 ワークショップ 1 司会:森 崇英 1) 香山浩二 2) 神崎秀陽 3) 青木耕治	13:00~13:40 II. 41~45 受精・着床(IX) 座長:武田佳彦	13:00~13:40 III. 39~43 精子・排精(IX) 座長:山中英寿	13:00~13:32 IV. 39~42 卵管・子宮(I) 座長:遠藤 克	13:00~13:40 V. 38~42 卵子・排卵(V) 座長:木下勝之	13:00~13:40 VI. 38~42 卵巣・性ホルモン (II) 座長:相良祐輔
14:00		13:40~14:20 II. 46~50 受精・着床(X) 座長:望月真人	13:40~14:20 III. 44~48 統計(I) 座長:吉田英機	13:32~14:12 IV. 43~47 卵管・子宮(II) 座長:荒木 勤	13:40~14:20 V. 43~47 LH-RH・性腺刺激 ホルモン(I) 座長:高田道夫	13:40~14:20 VI. 43~47 卵巣・性ホルモン (III) 座長:矢追良正
	14:05~15:05 ワークショップ 2 司会:守殿貞夫 1) 岡田 弘 2) 前原郁夫 3) 保田仁介 4) 佐藤博久	14:20~15:00 II. 51~55 受精・着床(XI) 座長:鈴木秋悦	14:20~15:00 III. 49~53 統計(II) 座長:館野政也	14:12~14:52 IV. 48~52 インターセックス・ 先天異常(I) 座長:大浜絃三	14:20~15:00 V. 48~52 LH-RH・性腺刺激 ホルモン(II) 座長:小林拓郎	14:20~15:00 VI. 48~52 卵巣・性ホルモン (IV) 座長:玉舎輝彦
15:00	15:10~16:10 ワークショップ 3 司会:片山 喬 1) 丸田 浩 2) 伊藤晴夫 3) 大橋輝久 4) 寺田為義	15:00~15:32 II. 56~59 受精・着床(XII) 座長:高木繁夫	15:00~15:40 III. 54~58 統計(III) 座長:浜田 宏	14:52~15:24 IV. 53~56 インターセックス・ 先天異常(II) 座長:久住治男	15:00~15:32 V. 53~56 LH-RH・性腺刺激 ホルモン(III) 座長:松浦俊平	15:00~15:40 VI. 53~57 卵巣・性ホルモン (V) 座長:西田悦郎
16:00						
17:15	16:15~17:15 ワークショップ 4 司会:河上征治 1) 長田尚夫 2) 杉村和男 3) 澤田富夫 4) 千石一雄					
	閉 会					

## 招 請 講 演 1

11月20日(水) 13:10~13:40

「国際不妊学会の歴史より学ぶ」

坂元 正一 教授(国際不妊学会会長)

座長 八神 喜昭 教授(名古屋市立大学産科婦人科)

## 招 請 講 演 2

11月20日(水) 13:40~14:20

「細胞同志は認識し合う」

岡田 節人 名誉教授(前岡崎国立共同研究機構機構長)

座長 飯塚 理八 名誉教授(日本不妊学会理事長)

## 特 別 講 演 1

11月20日(水) 14:25~14:55

「重症排卵障害の内分泌動態」

花田 征治 助教授(名古屋市立大学分娩部)

座長 中西 正美 教授(愛知医科大学産科婦人科)

## 特 別 講 演 2

11月20日(水) 14:55~15:25

「微小穿刺法による生殖管内アンドロジェン微小環境の解明」

山本 雅憲 助手(名古屋大学泌尿器科)

座長 大島 博幸 教授(東京医科歯科大学泌尿器科)

## 特 別 講 演 3

11月20日(水) 15:25~15:55

「哺乳動物生殖系列細胞核の全能性と多能性」

角田 幸雄 教授(近畿大学農学部畜産学)

座長 入谷 明 教授(京都大学農学部畜産学)

## シンポジウム

11月20日(水) 16:00~18:00

### 「配偶子および初期胚異常の成因をめぐって」

司会 三宅 弘治 教授 (名古屋大学泌尿器科)

廣井 正彦 教授 (山形大学産科婦人科)

1. ヒト精巢上体精子の妊孕能

三浦 一陽 (東邦大学泌尿器科)

岡田 詔子 (同第2解剖学)

2. 精漿と妊孕能

岩本 晃明 (聖マリアンナ医科大学泌尿器科)

3. 精子および卵子の細胞遺伝学的解析

岡田 節男 (名古屋市立大学産科婦人科)

4. 卵子と環境因子—加齢との関連

菅沼 信彦 (名古屋大学産婦人科)

5. 受精卵染色体異常の発現のメカニズム

佐藤 文彦 (山形大学産科婦人科)

## ワークショップ『生殖医学の新しい展開』

### ワークショップ 1

11月21日(木) 13:00~14:00

「生殖免疫の最近の知見」

司会 森 崇英 教授(京都大学婦人科産科)

1) 配偶子の免疫

香山 浩二(兵庫医科大学産科婦人科)

2) 子宮内膜の免疫

神崎 秀陽(京都大学婦人科産科)

3) 流産の免疫

青木 耕治(名古屋市立大学産科婦人科)

### ワークショップ 2

11月21日(木) 14:05~15:05

「不妊と最近の感染症」

司会 守殿 貞夫 教授(神戸大学泌尿器科)

1) 男性不妊と感染症

岡田 弘(神戸大学泌尿器科)

2) 膿精液症—多核白血球による精子運動性障害—

前原 郁夫, 折笠 精一(東北大学泌尿器科)

3) 女性不妊と感染症

保田 仁介(京都府立医科大学産婦人科)

4) パーコール法による細菌の分離と AIH

佐藤 博久(立川共済病院産婦人科)

### ワークショップ 3

11月21日(木) 15:10~16:10

「乏精子症・精子無力症の治療」

司会 片山 喬 教授 (富山医科薬科大学泌尿器科)

1) 薬物療法について

丸田 浩 (札幌医科大学泌尿器科)

2) 精索静脈瘤との関係について

伊藤 晴夫 (帝京大学市原病院泌尿器科)

3)  $\alpha$ -ブロッカー療法

大橋 輝久 (岡山赤十字病院泌尿器科)

特別発言 山本 雅憲 (名古屋大学泌尿器科)

4) 精巣上体精子の応用

寺田 為義 (富山医科薬科大学泌尿器科)

### ワークショップ 4

11月21日(木) 16:15~17:15

「不妊と卵管—新しいアプローチ」

司会 河上 征治 教授 (藤田保健衛生大学産婦人科)

1) 経子宮腔的卵管疎通障害の治療

長田 尚夫 (日本大学産婦人科)

2) 子宮鏡下卵管内人工授精法 (HIT 法)

杉村 和男 (慶應義塾大学産婦人科)

3) 経子宮腔的卵管内視鏡

澤田 富夫 (藤田保健衛生大学産婦人科)

4) 経腔超音波断層法による卵管疎通性検査法

千石 一雄 (旭川医科大学産婦人科)

# 一 般 演 題

## 第 I 会場 (センチュリーホール)

### 第 1 日 11 月 20 日 (水)

受精・着床 (I)

[演題 I—1~4] (9:00~9:32) 座長 中山 道男 (琉球大・産婦)

受精・着床 (II)

[演題 I—5~8] (9:32~10:04) 座長 大野虎之進 (東京歯大市川総合病院・産婦)

受精・着床 (III)

[演題 I—9~12] (10:04~10:36) 座長 矢内原 巧 (昭和大・産婦)

受精・着床 (IV)

[演題 I—13~16] (10:36~11:08) 座長 岩崎 寛和 (筑波大・産婦)

### 第 2 日 11 月 21 日 (木)

受精・着床 (V)

[演題 I—17~21] (9:00~9:40) 座長 富永 敏朗 (福井医大・産婦)

受精・着床 (VI)

[演題 I—22~26] (9:40~10:20) 座長 中村 幸雄 (杏林大・産婦)

受精・着床 (VII)

[演題 I—27~31] (10:20~11:00) 座長 小林 俊文 (慶應大・産婦)

受精・着床 (VIII)

[演題 I—32~36] (11:00~11:40) 座長 野田 洋一 (京都大・産婦)

## 第 II 会場 (レセプションホール西)

### 第 1 日 11 月 20 日 (水)

内膜症 (I)

[演題 II—1~5] (9:00~9:40) 座長 藤本征一郎 (北海道大・産婦)

内膜症 (II)

[演題II—6～9] (9:40～10:12) 座長 武谷 雄二 (東京大・産婦)

内膜症 (III)

[演題II—10～14] (10:12～10:52) 座長 寺尾 俊彦 (浜松医大・産婦)

内膜症 (IV)

[演題II—15～19] (10:52～11:32) 座長 加藤 順三 (山梨医大・産婦)

## 第2日 11月21日 (木)

妊娠・流産 (I)

[演題II—20～24] (9:00～9:40) 座長 水口 弘司 (横浜市大・産婦)

妊娠・流産 (II)

[演題II—25～29] (9:40～10:20) 座長 桑原 惣隆 (金沢医大・産婦)

妊娠・流産 (III)

[演題II—30～35] (10:20～11:08) 座長 西島 正博 (北里大・産婦)

妊娠・流産 (IV)

[演題II—36～40] (11:08～11:48) 座長 荻田 幸雄 (大阪市大・産婦)

受精・着床 (IX)

[演題II—41～45] (13:00～13:40) 座長 武田 佳彦 (東京女子医大・産婦)

受精・着床 (X)

[演題II—46～50] (13:40～14:20) 座長 望月 真人 (神戸大・産婦)

受精・着床 (XI)

[演題II—51～55] (14:20～15:00) 座長 鈴木 秋悦 (慶應大・産婦)

受精・着床 (XII)

[演題II—56～59] (15:00～15:32) 座長 高木 繁夫 (日本大総合科学研究所・産婦)

## 第III会場 (403)

### 第1日 11月20日 (水)

精子・排精 (I)

[演題III—1～4] (9:00～9:32) 座長 穂坂 正彦 (横浜市大・泌尿)

精子・排精 (II)

[演題III—5～9] (9:32～10:12) 座長 友吉 唯夫 (滋賀医大・泌尿)

精子・排精 (III)

[演題III—10~15] (10:12~11:00) 座長 島崎 淳 (千葉大・泌尿)

精子・排精 (IV)

[演題III—16~20] (11:00~11:40) 座長 藤井 明和 (東海大・産婦)

**第2日 11月21日(木)**

精子・排精 (V)

[演題III—21~25] (9:00~9:40) 座長 友田 豊 (名古屋大・産婦)

精子・排精 (VI)

[演題III—26~29] (9:40~10:12) 座長 田崎 寛 (慶應大・泌尿)

精子・排精 (VII)

[演題III—30~34] (10:12~10:52) 座長 町田 豊平 (慈恵医大・泌尿)

精子・排精 (VIII)

[演題III—35~38] (10:52~11:24) 座長 梅田 隆 (帝京大・泌尿)

精子・排精 (IX)

[演題III—39~43] (13:00~13:40) 座長 山中 英寿 (群馬大・泌尿)

統計 (I)

[演題III—44~48] (13:40~14:20) 座長 吉田 英機 (昭和大・泌尿)

統計 (II)

[演題III—49~53] (14:20~15:00) 座長 館野 政也 (富山県立中央病院・産婦)

統計 (III)

[演題III—54~58] (15:00~15:40) 座長 浜田 宏 (聖マリアンナ医大・産婦)

**第IV会場 (402)****第1日 11月20日(水)**

診断・検査 (I)

[演題IV—1~5] (9:00~9:40) 座長 宮川 征男 (鳥取大・泌尿)

診断・検査 (II)

[演題IV—6~10] (9:40~10:20) 座長 北尾 学 (島根医大・産婦)

## 診断・検査 (III)

[演題IV—11~14] (10:20~10:52) 座長 清水 哲也 (旭川医大・産婦)

## 診断・検査 (IV)

[演題IV—15~18] (10:52~11:24) 座長 百瀬 和夫 (東邦大・産婦)

**第2日 11月21日 (木)**

## 診断・検査 (V)

[演題IV—19~23] (9:00~9:40) 座長 杉本 修 (大阪医大・産婦)

## 診断・検査 (VI)

[演題IV—24~27] (9:40~10:12) 座長 永田 行博 (鹿児島大・産婦)

## 手術 (I)

[演題IV—28~30] (10:12~10:36) 座長 白井 將文 (東邦大・泌尿)

## 手術 (II)

[演題IV—31~34] (10:36~11:08) 座長 関場 香 (岡山大・産婦)

## 手術 (III)

[演題IV—35~38] (11:08~11:40) 座長 齋藤 良治 (弘前大・産婦)

## 卵管・子宮 (I)

[演題IV—39~42] (13:00~13:32) 座長 遠藤 克 (日本大・獣医生理)

## 卵管・子宮 (II)

[演題IV—43~47] (13:32~14:12) 座長 荒木 勤 (日本医大・産婦)

## インターセックス・先天異常 (I)

[演題IV—48~52] (14:12~14:52) 座長 大浜 紘三 (広島大・産婦)

## インターセックス・先天異常 (II)

[演題IV—53~56] (14:52~15:24) 座長 久住 治男 (金沢大・泌尿)

**第V会場 (304・305)****第1日 11月20日 (水)**

## 間脳・下垂体 (I)

[演題V—1~4] (9:00~9:32) 座長 寺川 直樹 (鳥取大・産婦)

## 間脳・下垂体 (II)

[演題V—5~10] (9:32~10:20) 座長 佐藤 和雄 (日本大・産婦)

プロラクチン

[演題V—11~14] (10:20~10:52) 座長 青野 敏博 (徳島大・産婦)

家畜・繁殖

[演題V—15~18] (10:52~11:24) 座長 豊田 裕 (東京大医科研・畜産)

## 第2日 11月21日(木)

卵子・排卵 (I)

[演題V—19~22] (9:00~9:32) 座長 毛利 秀雄 (放送大・動物学)

卵子・排卵 (II)

[演題V—23~27] (9:32~10:12) 座長 麻生 武志 (東京医科歯科大・産婦)

卵子・排卵 (III)

[演題V—28~32] (10:12~10:52) 座長 岡村 均 (熊本大・産婦)

卵子・排卵 (IV)

[演題V—33~37] (10:52~11:32) 座長 森 宏之 (帝京大・産婦)

卵子・排卵 (V)

[演題V—38~42] (13:00~13:40) 座長 木下 勝之 (埼玉医大総合医療センター・産婦)

LH-RH・性腺刺激ホルモン (I)

[演題V—43~47] (13:40~14:20) 座長 高田 道夫 (順天堂大・産婦)

LH-RH・性腺刺激ホルモン (II)

[演題V—48~52] (14:20~15:00) 座長 小林 拓郎 (帝京大・産婦)

LH-RH・性腺刺激ホルモン (III)

[演題V—53~56] (15:00~15:32) 座長 松浦 俊平 (愛媛大・産婦)

## 第VI会場 (302・303)

### 第1日 11月20日(水)

免疫 (I)

[演題VI—1~5] (9:00~9:40) 座長 寺島 芳輝 (慈恵医大・産婦)

免疫 (II)

[演題VI—6~10] (9:40~10:20) 座長 磯島 晋三 (兵庫医大・産婦)

免疫 (III)

[演題VI—11~15] (10:20~11:00) 座長 谷澤 修 (大阪大・産婦)

感染症

[演題VI—16~20] (11:00~11:40) 座長 岡田 弘二 (京都府立医大・産婦)

**第2日 11月21日 (木)**

精巣・性ホルモン (I)

[演題VI—21~24] (9:00~9:32) 座長 阿曾 佳郎 (東京大・泌尿)

精巣・性ホルモン (II)

[演題VI—25~28] (9:32~10:04) 座長 熊本 悦明 (札幌医大・泌尿)

精巣・性ホルモン (III)

[演題VI—29~32] (10:04~10:36) 座長 中田 瑛浩 (山形大・泌尿)

卵巣・性ホルモン (I)

[演題VI—33~37] (10:36~11:16) 座長 宮川 勇生 (大分医大・産婦)

卵巣・性ホルモン (II)

[演題VI—38~42] (11:00~11:40) 座長 相良 祐輔 (高知医大・産婦)

卵巣・性ホルモン (III)

[演題VI—43~47] (11:40~12:20) 座長 矢追 良正 (独協医大・産婦)

卵巣・性ホルモン (IV)

[演題VI—48~52] (12:20~13:00) 座長 玉舎 輝彦 (岐阜大・産婦)

卵巣・性ホルモン (V)

[演題VI—53~57] (13:00~13:40) 座長 西田 悦郎 (金沢大・産婦)

# 一 般 演 題

第 1 日 11 月 20 日 (水)

第 I 会場 (センチュリーホール)

受精・着床 (I):

[I-1~4] (9:00~9:32) 座長 中山 道男 (琉球大・産婦)

I-1. 当科における IVF-ET による治療経験

筑波大学臨床医学系産婦人科 ○山内 宏, 藤田 佳世, 小谷 衣里  
宗田 聡, 岡本 一, 辻 泰二  
西田 正人, 久保 武士, 目崎 登  
岩崎 寛和

I-2. 当科における卵巣刺激法別にみた IVF-ET の成績

琉球大学医学部産婦人科 ○高宮城直子, 佐久川政男, 新川 唯彦  
新崎 盛雄, 佐久本哲郎, 東 政弘  
中山 道男

I-3. 当院における IVF-ET, GIFT の成績

富山県立中央病院産婦人科 ○舟本 寛, 北 俊之, 谷村 悟  
大口 昭英, 佐竹紳一郎, 小嶋 康夫  
金井 浩明, 中野 隆, 南 幹雄  
館野 政也

I-4. 当科における子宮鏡下配偶子卵管内移植 (H-GIFT)

東京女子医科大学産婦人科 ○吉井 大介, 安達 知子, 松尾 明美  
同母子総合医療センター\* 瀬戸山琢也, 中山 撰子, 三室 卓久  
武田 佳彦, 岩下 光利\*, 坂元 正一\*

受精・着床 (II):

[I-5~8] (9:32~10:04) 座長 大野虎之進 (東京歯大市川総合病院・産婦)

I-5. 当科における IVF-ET の成績——特に精液性状の観点から——

聖隷浜松病院産婦人科 ○西村 満, 西垣 新, 岡田 久

I-6. 男性不妊症に対する体外受精・胚移植の成績

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○藤巻 尚, 谷 啓光, 安田 雅弘  
倉林 工, 山崎 俊彦, 田中 憲一

I-7. 体外受精成績を用いた通常精液検査と精子形態の有用性に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○大澤 淑子, 小林 俊文, 杉村 和男  
神野 正雄, 北村 誠司, 赤星 晃一  
岩田 壮吉, 野澤 志朗

## I—8. 精子不動化抗体保有不妊婦人に対する体外受精—胚移植の応用

兵庫医科大学産科婦人科学教室 ○池田 義和, 加藤 浩志, 子安 保喜  
香山 浩二, 磯島 晋三

## 受精・着床 (Ⅲ):

## [I—9~12] (10:04~10:36) 座長 矢内原 巧 (昭和大・産婦)

## I—9. 体外受精・胚移植 (IVF-ET) における pure FSH の使用経験

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○沖 利通, 堂地 勉, 森 明人  
山元 慎一, 竹内 一浩, 福元 清吾  
永田 行博

## I—10. 各種 Gn-RHa の併用療法の比較

宮崎医科大学産科婦人科学教室 ○戸枝 通保, 渡辺 裕之, 野田 俊一  
三部 正人, 小池 弘幸, 池ノ上 克  
森 憲正

## I—11. 当科における体外受精時の経腔採卵

筑波大学臨床医学系産婦人科 ○藤田 佳世, 小谷 衣里, 宗田 聡  
岡本 一, 山内 宏, 西田 正人  
久保 武士, 目崎 登, 岩崎 寛和

## I—12. 凍結ハムスター卵を用いたハムスターテストとヒト体外受精成績の相関

慶應義塾大学医学部産科婦人科学教室 ○北村 誠司, 小林 俊文, 杉村 和男  
神野 正雄, 赤星 晃一, 岩田 壮吉  
大澤 淑子, 野澤 志朗

## 受精・着床 (Ⅳ):

## [I—13~16] (10:36~11:08) 座長 岩崎 寛和 (筑波大・産婦)

## I—13. 体外受精・胚移植における Luteal support としての Progesterone 膣坐薬の意義に関する検討

大阪医科大学産科婦人科学教室 ○宮崎 和典, 太田 栄, 奥田 弘賢  
杉山 修成, 鈴木 佳彦, 金子 卓嗣  
高原 徳得, 山下 英俊, 杉本 修

## I—14. 体外受精・胚移植法における母体年齢の影響について

山形大学医学部産科婦人科学教室 ○斉藤 英和, 佐藤 文彦, 平山 寿雄  
杉内 明子, 斉藤 隆和, 広井 正彦

## I—15. IVF-ET 反復施行症例の検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室 ○多賀 茂樹, 吉田 信隆, 平野由紀夫  
片山 隆章, 名越 一介, 野間 純  
清水 健治, 関場 香

## I—16. IVF-ET 妊娠, 非妊娠周期の採卵後 7 日目及び 14 日目の子宮内膜像の検討

東海大学医学部産婦人科 ○本田 育子, 小林 善宗, 井上 正人  
藤井 明和

## 第II会場 (レセプションホール西)

### 内膜症 (I):

[II-1~5] (9:00~9:40) 座長 藤本征一郎 (北海道大・産婦)

II-1. 非観血的な方法による子宮内膜症実験モデルの作製

北海道大学医学部産婦人科 ○室城 宸一, 桜田 芳弘, 林 正路  
及川 衛, 山本 律, 田中 俊誠  
藤本征一郎

II-2. ダナゾールのウサギ子宮内投与による子宮内膜直接効果

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○山下 貞雄, 大野 洋介, 北川 一郎  
細田 修司, 小石 清子, 岡田 弘二

II-3. Gossypol のブタ顆粒膜細胞のアロマトラーゼ活性阻害作用

日本医科大学産婦人科 ○明楽 重夫, 可世木久幸, 家永 聡  
The Ohio State University\* 大村 浩, 三田 俊二, 荒木 勤  
Y. C. Lin\*

II-4. 子宮内膜症合併不妊に対する油性造影剤の治療効果の基礎的検討

近畿大学医学部産婦人科 ○猿渡 善治, 堀井 高久, 笠野 有里  
高瀬規久也, 星合 昊, 野田起一郎

II-5. 胚発育に及ぼす子宮内膜症患者血清の影響について

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○アントワン アブムサ, 高橋健太郎  
山崎 裕之, 迫田 良一, 北尾 学

### 内幕症 (II):

[II-6~9] (9:40~10:12) 座長 武谷 雄二 (東京大・産婦)

II-6. 子宮内膜症患者における腹水中サイトカインの検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○小山 伸夫, 松浦 講平, 本田 律生  
同免疫研・生物学部門\* 岡村 均, 菊池 雄士\*, 高津 聖志\*

II-7. 子宮内膜症腹腔マクロファージにおける interleukin  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) mRNA および IL-1 receptor antagonist mRNA の発現

岐阜大学医学部産科婦人科 ○伊藤 直樹, 澤入 美穂, 操 良  
中川 美紀, 和田 圭介, 森 秀弘  
玉舎 輝彦

II-8. 子宮内膜症の腹腔内貯留液の monokine 濃度と胚発生への関連——治療前後での検討——

東京大学産科婦人科教室 ○郭 宗明, 武谷 雄二, 水野 正彦

II-9. 子宮内膜症患者における腹水性状の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○西村 弘, 松浦 講平, 河野 哲郎  
本田 律生, 岡村 均

## 内膜症 (III) :

## [II-10~14] (10:12~10:52) 座長 寺尾 俊彦 (浜松医大・産婦)

- II-10. 機能性不妊における MRI 診断の意義—正常大子宮にみられた腺筋症を中心にして—  
滋賀医科大学産科婦人科教室 ○横江 保彦, 竹中 章, 笠原 一彦  
同大学放射線科教室\* 須戸 龍男, 吉田 吉信, 川上 光一\*
- II-11. Adenomyosis の酢酸 Buserelin による変化と閉経後子宮内膜変化との電顕的比較検討  
国立大蔵病院産婦人科 ○倉島 富代, 田中 忠夫, 伊藤 治英  
県立厚木病院産婦人科\* 大石 基夫\*
- II-12. 徐放性 GnRH Agonist TAP-144-SR の子宮内膜症に対する臨床効果の検討  
TAP-144-SR 子宮内膜症研究会 ○星合 昊, 武谷 雄二, 植村 次雄  
寺川 直樹, 矢嶋 聰, 水口 弘司  
川島 吉良, 岡田 弘二, 杉本 修  
谷澤 修, 中野 仁雄, 水野 正彦
- II-13. 子宮内膜症に対する danazol の局所投与法  
群馬中央総合病院\* ○五十嵐正雄,\*\*野上 保治\*,  
大宮赤十字病院\*\* 安藤 昭彦,\*\*田口 宏中,\*\*宮坂 牧宏\*\*  
群馬大附属病院薬剤部\*\*\* 小林 賀雄\*\*小片美美代\*\*,  
真木 義次\*\*\*
- II-14. 薬物療法後の卵巣チョコレート嚢胞経腔吸引症例の検討  
東京女子医科大学産婦人科 ○安達 知子, 中山 摂子, 三室 卓久  
同母子総合医療センター\* 吉井 大介, 黒島 淳子, 武田 佳彦  
岩下 光利\*, 坂元 正一\*

## 内膜症 (IV) :

## [II-15~19] (10:52~11:32) 座長 加藤 順三 (山梨医大・産婦)

- II-15. 当教室における子宮内膜症合併不妊症の治療成績  
金沢医科大学産科婦人科学教室 ○羽根 淳治, 丹野 治郎, 小泉 麻美  
吉田 勝彦, 井浦 俊彦, 高林 晴夫  
桑原 惣隆
- II-16. Galactorrhea-Endometriosis Syndrome における内分泌学的検討  
宮崎医科大学産婦人科学教室 ○小池 弘幸, 渡辺 裕之, 野田 俊一  
戸枝 通保, 三部 正人, 池ノ上 克  
森 憲正
- II-17. 肺・胸膜に発症した子宮内膜症の 6 症例  
東北大学医学部産科婦人科学教室 ○陳 偉業, 田村みどり, 千田 定則  
村上 節, 萬代 泰男, 村木 章  
深谷 孝夫, 矢嶋 聰
- II-18. 子宮内膜症に対するホルモン療法に伴う骨量低下—DIP 法, QCT 法を用いて—  
愛知県厚生連海南病院産婦人科 ○田中 博之, 川合 健之, 木口 幹雄

## II-19. 子宮内膜症治療薬の骨塩量に及ぼす影響

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○古謝将一郎, 森 明人, 松元 勇  
 山元 慎一, 沖 利通, 松元 保  
 野口 慎一, 中村 行彦, 飯尾 一登  
 堂地 勉, 永田 行博

## 第III会場 (403)

## 精子・排精 (I):

[III-1~4] (9:00~9:32) 座長 穂坂 正彦 (横浜市大・泌尿)

## III-1. 精液所見と妊娠率

国井産婦人科病院 ○国井兵太郎

## III-2. 当院における男性不妊症の段階的精子検査法について

河内総合病院不妊センター ○森本 義晴, 牧野 滋, 桑名 博士  
 関西医科大学産科学婦人科学教室\* 森本 武晴, 長尾 幸一, 宮田 広敏  
 小山 竜一, 上土井明子, 堀越 順彦\*  
 榎木 晋\*, 榎木 勇\*

## III-3. 男性不妊診療の新しい指針案とその実際

慶應大学医学部産婦人科学教室 ○末岡 浩, 黒田優佳子, 杉村 和男  
 同泌尿器科学教室\* 小林 俊文, 野澤 志朗, 飯塚 理八  
 済生会神奈川県病院産婦人科\*\* 中島 洋介\*, 大橋 正和\*, 田崎 寛\*  
 橋場 剛士\*\*, 小西 康博\*\*, 小林 淳一\*\*  
 吉村 慎一\*\*, 中野真佐男\*\*

## III-4. 男子不妊症患者精液における精子運動特性についての検討

横浜市立大学医学部泌尿器科 ○関口 由起, 斉藤 和男, 川上 寧  
 佐藤 和彦, 木下 裕三, 岩崎 皓  
 穂坂 正彦

## 精子・排精 (II):

[III-5~9] (9:32~10:12) 座長 友吉 唯夫 (滋賀医大・泌尿)

## III-5. ペントキシフィリンの精子運動能改善に対する影響について

済生会下関総合病院産婦人科 ○蔵本 武志, 高崎 彰久, 平塚 圭祐  
 森岡 均

## III-6. 凍結融解ヒト精子の運動性に及ぼすペントキシフィリンの影響

東京歯科大産婦人科\* ○兼子 智\*, 矢作 みき\*, 郡山 智\*  
 慶應大学産婦人科\*\* 吉田 丈兒\*, 小田 高久\*, 大野虎之進\*  
 明治薬大第一生化学\*\*\* 小林 俊文\*\*, 原 唯純\*\*, 野澤 志朗\*\*  
 松田 兆史\*\*, 秋浜 澄行\*\*\*

- III—7. ヒト精子受精能へのPentoxifyllineの影響  
 福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○佐々木宏子, 藤森 淑, 星 和彦  
 佐藤 章
- III—8. ハムスターテスト不良でIVFによる受精が認められた症例の検討  
 広島大学医学部産科婦人科学教室 ○上田 克憲, 新甲 靖, 熊谷 正俊  
 己斐産婦人科\* 竹中 雅昭, 大浜 紘三, 己斐 秀豊\*
- III—9. ハムスターテストにおける精子運動の検討  
 千葉大学泌尿器科 ○始関 吉生, 小竹 忠, 市川 智彦  
 高原 正信, 角谷 秀典, 島崎 淳

### 精子・排精 (III) :

[III—10~15] (10:12~11:00) 座長 島崎 淳 (千葉大・泌尿)

- III—10. 各種精子処理法における先体反応発生に関する検討  
 セントマザー産婦人科医院 ○田中威づみ, 田中 温, 出嶋 秀明  
 山田 義治, 吉田 一郎, 竹本 洋一  
 鷹野 和哉
- III—11. Sperma screenの使用経験  
 福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○菅野 孝子, 吉松 宣弘, 菅野 薫  
 星 和彦, 佐藤 章
- III—12. 男子不妊症におけるトリプル・ステイン法の検討  
 千葉大学医学部泌尿器科 ○角谷 秀典, 始関 吉生, 市川 智彦  
 小竹 忠, 高原 正信, 島崎 淳
- III—13. イムノビーズによる精子機能検査法: ハムスターテスト, 体外受精の成績との比較検討  
 大阪大学医学部産婦人科 ○大橋 一友, 加藤 宗寛, 脇本 昭憲  
 大阪大学薬学部\* 佐治 文隆, 谷澤 修, 岡部 勝\*  
 扶桑薬品\*\* 三村 務\*, 中沢 照喜\*\*, 岸 雄一郎\*\*
- III—14. 特発性男性不妊症におけるアクシロン活性  
 鳥取大学医学部泌尿器科 ○ソフィキティス ニコラオス, 宮川 征男  
 同産婦人科\* 戸田 稔子\*, 原田 省\*, 見尾 保幸\*  
 寺川 直樹\*
- III—15. 顕微受精のための新しい優良精子選別法: Pisum sativum agglutinin (PSA) を用いたアフィニティー・カラムの考案  
 杏林大学医学部産婦人科 ○神野 正雄, 吉村 泰典, 中村 幸雄  
 慶應義塾大学医学部産婦人科\* 大澤 淑子\*, 杉村 和男\*, 小林 俊文\*  
 野澤 志朗\*

### 精子・排精 (IV) :

[III—16~20] (11:00~11:40) 座長 藤井 明和 (東海大・産婦)

- III—16. 精子異常による不妊症に対する80% Percoll AIHの有用性と限界

東京慈恵会医科大学産婦人科 ○楠原 浩二, 後藤 誠, 秋山 芳晃  
 安江レディースクリニック (東京)\* 川勝 雅秀, 許山 浩司, 落合 和彦  
 村江 正始, 松本 和紀, 寺島 芳輝  
 安江 育代\*

III—17. Percoll 液 24 時間培養後の精子運動率と Percoll AIH の予後に対する検討

東京都済生会中央病院産婦人科 ○玉岡 有告, 亀井 清, 大柴 葉子  
 慶應義塾大学医学部産婦人科\* 吉田 憲一, 横倉 恒夫, 中村 英世  
 田辺 清男\*, 小林 俊文\*, 野澤 志朗\*

III—18. 80 % PERCOLL 法を応用した AIH の有用性について

横浜市立大学産婦人科学教室 ○堀 裕雅, 榊原 秀也, 石川 雅彦  
 町田 稔文, 白須 和裕, 多賀 理吉  
 植村 次雄, 水口 弘司

III—19. Sperm survival test 6 時間陽性および 12 時間陰性例における AIH の検討

長崎大学産婦人科 ○布施 正樹, 岡本 純英, 山下 隆則  
 石丸 忠之, 山邊 徹

III—20. 80 % 単層パーコール法と Swim up 法での精子運動能の比較検討

千葉大学泌尿器科 ○小竹 忠, 市川 智彦, 始関 吉生  
 高原 正信, 角谷 秀典, 島崎 淳

## 第IV会場 (402)

### 診断・検査 (1):

[IV—1~5] (9:00~9:40) 座長 宮川 征男 (鳥取大・泌尿)

IV—1. 持続性勃起症治療後インポテンス患者における動的陰茎海綿体内圧測定および陰茎海綿体造影

慈恵医大泌尿器科 ○中條 洋, 町田 豊平, 高坂 哲  
 池本 庸

IV—2. 凍結保存前後の各種精子機能検査の変化

聖マリアンナ医科大学産婦人科 ○近藤 俊彦, 石塚 文平, 渡辺 研一  
 大野 祐子, 堀越 祐史, 栗林 靖  
 斎藤寿一郎, 浜田 宏

IV—3. Makler 計算盤による精子運動能指数 (SMEI) の測定—血球計算盤を用いた従来法との比較検討—

東北大学泌尿器科 ○中角 尚誉, 前原 郁夫, 蓮田 精之  
 スズキ病院\* 平松 正義, 高橋 勝, 折笠 精一  
 泉中央病院\*\* 蛭田 益紀\*, 鈴木 雅洲\*, 光川 史郎\*\*  
 今野病院\*\*\* 佐藤 和宏\*\*\*

IV—4. 原因不明不妊における精子機能検査に関する検討 (acrosin 活性と HOS test を中心に)

神戸大学医学部泌尿器科学教室 ○中川 泰始, 林 晃史, 今西 治  
 岡田 弘, 松本 修, 守殿 貞夫

## IV-5. 男子不妊とストレス

昭和大学藤が丘病院泌尿器科 ○坂本 正俊, 池内 隆夫, 甲斐 祥生  
同精神科\* 北村 勉, 伊東 昇太\*

## 診断・検査(II):

[IV-6~10] (9:40~10:20) 座長 北尾 学 (島根医大・産婦)

## IV-6. クロミフェンの子宮内膜発育に及ぼす影響について

山口県立中央病院産婦人科 ○上田 一之, 富松 健, 中田 雅彦  
西村 博通

## IV-7. 黄体中期における経腔超音波断層法による子宮内膜の厚さの検討—自然排卵周期群と clomiphene 投与群との比較—

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○白井 孝昭, 高橋健太郎, 吉野 和男  
八木美佐子, 北尾 学

## IV-8. 自然排卵周期及び hMG-hCG 排卵誘発周期における子宮内膜の厚さと輝度の変化

岡山大学産科婦人科学教室 ○白河 一郎, 吉田 信隆, 清水 健治  
谷 政明, 平野由紀夫, 片山 隆章  
多賀 茂樹, 名越 一介, 関場 香

## IV-9. 分泌期中期における子宮内膜超音波像とその組織学的背景について

岡山大学産科婦人科学教室 ○谷 政明, 吉田 信隆, 清水 健治  
野間 純, 平野由紀夫, 片山 隆章  
多賀 茂樹, 名越 一介, 中塚 幹也  
関場 香

## IV-10. 経腔超音波断層法における子宮内膜像と子宮内膜組織所見と血中卵巣ホルモン値との比較検討

東京医大産婦人科学教室 ○内海 靖子, 佐藤 妙子, 入江 宏  
清水 洋一, 山縣 邦彦, 山田 悦郎  
中村 文武

## 診断・検査(III):

[IV-11~14] (10:20~10:52) 座長 清水 哲也 (旭川医大・産婦)

## IV-11. 妊娠周期の子宮内膜日付診

群馬大学医学部産科婦人科学教室 ○安藤 一道, 山田 清彦, 道下 正彦  
群馬大学医学部第一病理学教室\* 水沼 英樹, 伊吹 令人, 中里 洋一\*

## IV-12. 当教室における黄体機能不全の検討

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○桑原 惣隆, 丹野 治郎, 小泉 麻美  
上田由生子, 吉田 勝彦, 井浦 俊彦  
高林 晴夫

## IV-13. 新しい尿中 LH 簡易検出キット [クリアプラン・ワンステップ] の有用性に関する臨床的検討

富山医科薬科大学産科婦人科学教室 ○脇 博樹, 久具 宏司, 新居 隆  
泉 陸一

## IV—14. 超音波多嚢胞型卵巣における内分泌学的検討

岐阜大学医学部産婦人科学教室

○操 良, 中川 美紀, 和田 圭介  
玉舎 輝彦

## 診断・検査 (IV):

[IV—15~18] (10:52~11:24) 座長 百瀬 和夫 (東邦大・産婦)

## IV—15. バルーン付卵管疎通検査用カテーテルの臨床応用

川口市民病院産婦人科

○栃木 武一, 日川 貴士, 村田 浩之  
日大産婦人科\* 影山 惇彦, 佐藤 和雄\*

## IV—16. 選択的子宮卵管造影法 Selective Hystero-Salpingography (S-HSG) の有用性について

西恵会西川婦人科内科クリニック婦人科

○栗林 裕之, 中村 享史, 西川 潔  
同放射線科\* 下山 勝己\*

## IV—17. Iopamidol (イオパミロン 370) による子宮卵管造影法の試み

松戸市立病院産婦人科

○田巻 勇次

## IV—18. 卵管間質部閉塞に対する Fallopian tube catheterization

長崎大学医学部産婦人科

○中村 恒一, 石丸 忠之, 山下 隆則  
鮫島 哲郎, 藤下 晃, 増崎 英明  
山辺 徹

## 第V会場 (304・305)

## 間脳・下垂体 (I):

[V—1~4] (9:00~9:32) 座長 寺川 直樹 (鳥取大・産婦)

## V—1. 体重減少を伴った続発性無月経患者の病態把握としての LH-RH テスト

大阪市立大学産科婦人科学教室

○小嶋 哲矢, 伊藤 文俊, 康 文豪  
友田 昭二, 藤野 祐司, 荻田 幸雄

## V—2. gonadotropin に対する poor responders におけるクロニジン負荷テストの反応性について

済生会下関総合病院産婦人科

○高崎 彰久, 蔵本 武志, 平塚 圭祐  
森岡 均

## V—3. Luteinizing hormone (LH) 単独欠損症の一例

滋賀医科大学産科学婦人科学教室

○須戸 龍男, 竹中 章, 山出 一郎  
横江 保彦, 吉田 吉信

## V—4. 不妊を主訴として発見された末端肥大症の2男子例

広島大学医学部脳神経外科

○恩田 純, 魚住 徹, 矢野 隆  
有田 和徳, 栗栖 薫, 広畑 泰三

## 間脳・下垂体 (II):

[V—5~10] (9:32~10:20) 座長 佐藤 和雄 (日本大・産婦)

## V—5. 視床下部におけるオキシトシンとバゾプレッシン産生細胞の遺伝子発現

帝京大学産婦人科 ○深沢みゆき, 味香 勝也, 荒井 清  
冲永 莊一

V-6. TRH 及び Cyclo (His-Pro)のラット脳室内投与によるプロラクチン分泌, 合成の抑制

大阪大学医学部産婦人科 ○池上 博雅, 直原 広明, 小池 浩司  
廣田 憲二, 澤田 雄至, 神田 裕樹  
田所千加枝, 三宅 侃, 谷澤 修

V-7. 内因性摂食調節物質 2-buten-4-olide のゴナドトロピン分泌抑制作用に関する検討—第2報—

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○斎藤誠一郎, 桑原 章, 横山 裕司  
井川 洋, 松崎 利也, 安井 敏之  
三宅 敏一, 苛原 稔, 青野 敏博

V-8. 各種漢方製剤のラット下垂体前葉細胞の gonadotropin 分泌におよぼす影響

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○横山 裕司, 邢福 祺, 桑原 章  
井川 洋, 斎藤誠一郎, 松崎 利也  
安井 敏之, 三宅 敏一, 苛原 稔  
青野 敏博

V-9. activin A による下垂体からの FSH 分泌に対する各種性ステロイドホルモンの影響

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○三宅 敏一, 桑原 章, 横山 裕司  
井川 洋, 松崎 利也, 斎藤誠一郎  
安井 敏之, 苛原 稔, 青野 敏博

V-10. Hormonal steroid とその Ester による permanent estrus の相異について

医療法人格医会可世木病院 ○小川 誠一, 可世木辰夫

### プロラクチン:

[V-11~14] (10:20~10:52) 座長 青野 敏博 (徳島大・産婦)

V-11. Moderate Hyperprolactinemia 症例における Melatonin-Prolactin 分泌関連について

高知医科大学産科婦人科学教室 ○岡谷 裕二, 岡田 真尚, 相良 祐輔

V-12. 過排卵周期排卵期 prolactin の progesterone 産生に及ぼす影響

東京歯科大学市川総合病院産婦人科 ○郡山 智, 小田 高久, 吉田 丈児  
慶応義塾大学医学部産婦人科\* 原 利夫, 泉 康史, 矢作 みき  
松本 千秋, 兼子 智, 大野虎之進  
佐野 陽子\*, 田辺 清男\*, 小林 俊文\*  
野澤 志朗\*

V-13. ヒト脱落膜細胞からの Prolactin (PRL)分泌に及ぼす Protein kinase C (PKC)の影響

——細胞内情報伝達系の検討も含めて——

東京医科歯科大学産科婦人科学教室 ○久保田俊郎, 鎌田 周作, 田口 誠  
坂本 秀一, 己斐 秀樹, 麻生 武志

V-14. Bromocriptine 0.625mg 肛門坐薬の妊娠促進効果

国立名古屋病院産婦人科 ○戸谷 良造, 三輪 是, 鈴置 洋三

## 家畜・繁殖：

[V-15~18] (10:52~11:24) 座長 豊田 裕 (東京大医科研・畜産)

V-15. プロスタグランディンE<sub>2</sub>投与による妊娠ザル血中エストラジオールおよびプロゲステロンの変動京都大学霊長類研究所生理部門 ○清水 慶子, 大島 清\*  
愛知工業大学\*

V-16. ノコダゾールによるマウス2細胞期胚の細胞周期の同調, 特に系統差について

近畿大学農学部畜産学教室 ○加藤 容子, 龍門 徳彦, 角田 幸雄

V-17. ウシ卵胞卵の体外成熟に及ぼす卵胞由来成分の影響

京都大学農学部畜産学教室 ○細井 美彦, 周 頌成, 加藤 博巳  
内海 恭三, 入谷 明

V-18. チャイニーズハムスター過排卵誘発法の改良

福島県立医科大学産婦人科 ○飯沢 禎之, 立野 裕幸\*, 上口勇次郎\*  
旭川医科大学生物学教室\* 美甘 和哉\*

## 第VI会場 (302・303)

## 免疫 (1)：

[VI-1~5] (9:00~9:40) 座長 寺島 芳輝 (慈恵医大・産婦)

VI-1. IUD 挿入子宮内膜におけるマクロファージとリンパ球の組織内分布について

東京慈恵会医科大学産婦人科 ○秋山 芳晃, 松本 和紀, 後藤 誠  
村江 正始, 落合 和彦, 落合 和徳  
小室 順義, 楠原 浩二, 寺島 芳輝

VI-2. 正常妊娠初期と自然流産との脱落膜組織マクロファージとNK細胞の組織内分布の比較検討

東京慈恵会医科大学産婦人科 ○松本 和紀, 後藤 誠, 秋山 芳晃  
川勝 雅秀, 許山 浩司, 清水 良明  
北川 道弘, 楠原 浩二, 寺島 芳輝

VI-3. 正常妊婦と自然流産患者の脱落膜 Macrophage の免疫学的機能

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○水野 昌彦, 平尾有希恵, 尾崎 康彦  
金原 敏弘, 青木 耕治, 八神 喜昭

VI-4. 自然流産における脱落膜T細胞の活性化抗原の発現に関する検討

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○児玉 尚志, 岡本 悦治, 大畠 清久  
原 鐵晃, 大浜 紘三

VI-5. 子宮内膜症患者における免疫担当細胞の解析

慶應義塾大学医学部産婦人科 ○岩崎 賢一, 牧野 恒久, 杉 俊隆  
丸山 哲夫, 野澤 志朗

## 免疫 (II) :

[VI-6~10] (9:40~10:20) 座長 磯島 晋三 (兵庫医大・産婦)

VI-6. ヒト精漿の各種免疫反応に及ぼす影響

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○前田 信彦, 平野 浩紀, 坂本 康紀  
大頭 敏文, 鎌田 正晴, 青野 敏博

VI-7. ヒト精子特異的受精阻害モノクローナル抗体が認識する先体蛋白抗原の分子生物学的解析

兵庫医科大学産科婦人科学教室 ○小森 慎二, Milena Mihailova  
辻 芳之, 香山 浩二, 磯島 晋三

VI-8. 精子不動化抗体陽性不妊夫婦 88 組の臨床治療成績

東海大学医学部産婦人科 ○小林 善宗, 井上 正人, 本田 育子  
野見山真理, 藤井 明和VI-9. Danazol 投与による血中定量的精子不動化抗体価 (SI<sub>50</sub>値) の変動について兵庫医科大学産科婦人科学教室 ○柴原 浩章, 繁田 実, 多養 哲治  
子安 保喜, 香山 浩二, 磯島 晋三

VI-10. 抗卵透明帯抗体による免疫性不妊症の臨床的検討と体外受精を施行した一症例

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○大頭 敏文, 平野 浩紀, 前田 信彦  
坂本 康紀, 山野 修司, 鎌田 正晴  
青野 敏博

## 免疫 (III) :

[VI-11~15] (10:20~11:00) 座長 谷澤 修 (大阪大・産婦)

VI-11. 夫リンパ球接種の抗精子抗体への影響

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○杉 俊隆, 牧野 恒久, 豊島 究  
丸山 哲夫, 岩崎 賢一, 野澤 志朗

VI-12. IVF-ET 反復不成功例における夫リンパ球免疫療法の併用

秋田赤十字病院産婦人科 ○長谷川 功, 藤盛 亮寿, 谷 啓光\*  
新潟大学産婦人科\* 高桑 好一\*, 山田 潔\*, 金沢 浩二\*  
田中 憲一\*

VI-13. フローサイトメトリーによる免疫療法前後の抗リンパ球抗体産生の解析

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○丸山 哲夫, 牧野 恒久, 杉 俊隆  
岩崎 賢一, 野澤 志朗

VI-14. 反復流産症例に対する免疫療法後の免疫学的変化とその臨床成績

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○斉藤 正博, 竹田 省, 関 博之  
同輸血部\* 木下 勝之, 坂元 正一, 平田 蘭子\*  
前田 平生\*

VI-15. 抗りん脂質抗体陽性習慣流産患者の IgG が protein C 活性化におよぼす影響の検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○豊島 究, 牧野 恒久, 酒井 淳  
梅内 正勝, 斉藤 優, 野澤 志朗

## 感染症：

[VI—16~20] (11:00~11:40) 座長 岡田 弘二 (京都府立医大・産婦)

- VI—16. 妊娠に至った難治性膿精液症の一例  
 船岡今野病院 ○佐藤 和宏, 前原 郁夫\*, 平松 正義\*  
 東北大学泌尿器科\* 高橋 勝\*, 中角 尚誉\*, 蓮田 精之\*  
 折笠 精一\*
- VI—17. 実験的卵管炎に関する組織的検討  
 愛知医科大学産婦人科学教室 ○保條 説彦, 稗田 茂雄, 岡本 俊充  
 野口 昌良, 中西 正美
- VI—18. 不妊症における Chlamydia trachomatis 感染症と腹腔鏡所見  
 愛媛大学医学部産科婦人科学教室 ○北川 博之, 中橋 徳文, 武田 康成  
 国立京都病院\* 松浦 俊平, 杉並 洋\*
- VI—19. Chlamydia trachomatis 検査陽性例の卵管機能  
 国立横浜東病院産婦人科 ○田中 宏一, 高野 昇, 上杉 健哲  
 伝田 和美, 漢那磨理意, 田嶋 達矢
- VI—20. 腹腔鏡により診断された Fitz-Hugh-Curtis 症候群と血清中の抗クラミジア抗体価に関する検討  
 九州大学医学部婦人科学産科学教室 ○永田 治, 佐野 正敏, 渡辺 綱伸  
 松口 博之, 土岐 一宏, 野崎 雅裕  
 中村 元一, 中野 仁雄

# 一 般 演 題

第 2 日 11 月 21 日 (木)

第 I 会場 (センチュリーホール)

受精・着床 (V) :

[I—17~21] (9:00~9:40) 座長 富永 敏朗 (福井医大・産婦)

I—17. ヒト体外受精のための血清 LH による新しい hCG 投与時期決定法

——高い妊娠率と簡便性——

杏林大学医学部産婦人科 ○神野 正雄, 吉村 泰典, 中村 幸雄  
慶應義塾大学医学部産婦人科\* 杉村 和男\*, 小林 俊文\*, 岩田 壮吉\*  
北村 誠司\*, 大澤 淑子\*, 赤星 晃一\*  
野澤 志朗\*

I—18. hMG—hCG による体外受精周期のホルモン動態

——LH の上昇と卵巣反応性・成績との関連について——

荻窪病院産婦人科 ○片山恵利子, 久慈 直昭, 宮崎 豊彦  
境田 通泰, 菅原 正人, 杉山 武  
飯田 悦郎

I—19. IVF-ET 周期における卵胞成熟時の血中 estradiol, progesterone 値が着床, 妊娠予後に及ぼす影響

獨協医科大学産婦人科 ○星合 明, 正岡 薫, 北澤 正文  
渡部 秀哉, 井澤 慶子, 熊坂 高弘

I—20. GIFT 周期における卵胞成熟時の血中 estradiol, progesterone 値の妊娠率, 妊娠予後に及ぼす影響

獨協医科大学産婦人科 ○北澤 正文, 正岡 薫, 渡部 秀哉  
星合 明, 井澤 慶子, 熊坂 高弘

I—21. GnRHa-hMG-hCG を用いた体外受精・胚移植法における E<sub>2</sub> 初期上昇日と妊娠率との関係

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○南 晋, 村山 眞治, 小林 津月  
加川 俊明, 山野 修司, 青野 敏博

受精・着床 (VI) :

[I—22~26] (9:40~10:20) 座長 中村 幸雄 (杏林大・産婦)

I—22. 卵巣刺激周期における卵胞期血中 progesterone 上昇の背景因子の解析

鳥取大学医学部産科婦人科 ○高尾 成久, 見尾 保幸, 蓮佛千恵子  
池成 孝昭, 岩部 富夫, 関島 秋男  
大野原良昌, 谷川 正浩, 寺戸 博文  
原田 省, 寺川 直樹

- I—23. 卵巣刺激時における卵成熟環境としての卵胞液性状の内分泌学的検討  
 東京大学産科婦人科教室 ○成 鑑非, 堤 治, 藤原 敏博  
 大須賀 穰, 林 直樹, 綾部 琢哉  
 矢野 哲, 三橋 直樹, 武谷 雄二  
 水野 正彦
- I—24. 体外受精による子宮外妊娠例および子宮内外同時妊娠例の血中ホルモン値に関する検討  
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○赤星 晃一, 杉村 和男, 神野 正雄  
 同中央臨床検査部内分泌\* 北村 誠司, 大澤 淑子, 岩田 壮吉  
 小林 俊文, 野澤 志朗, 伊藤 節子\*  
 佐久間宣江\*, 竹中 栄子\*
- I—25. 子宮外妊娠既往歴を有する体外受精に対するブセレリン併用hMG刺激の重要性: 外妊発生機序におけるホルモン異常の可能性  
 杏林大学医学部産婦人科 ○神野 正雄, 吉村 泰典, 中村 幸雄  
 慶應義塾大学医学部産婦人科\* 赤星 晃一\*, 杉村 和男\*, 小林 俊文\*  
 野澤 志朗\*
- I—26. 体外受精妊娠例の超早期予後判定法に関する検討  
 ——血中hCG値測定法と尿中hCG値測定法の比較検討——  
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○岩田 壮吉, 杉村 和男, 神野 正雄  
 同中央臨床検査部内分泌\* 赤星 晃一, 大澤 淑子, 北村 誠司  
 藤田 則子, 小林 俊文, 田村 昭蔵  
 野澤 志朗, 伊藤 節子\*, 佐久間宣江\*  
 竹中 栄子\*

### 受精・着床 (VII):

[I—27~31] (10:20~11:00) 座長 小林 俊文 (慶應大・産婦)

- I—27. IVF-ET 妊娠におけるインヒピン値の変動  
 モナッシュ大学 (現:太田西ノ内病院) ○八日市谷 隆
- I—28. IVF-ET 培養液中の platelet activating factor (PAF)濃度の検討  
 岡山大学産科婦人科学教室 ○中塚 幹也, 吉田 信隆, 平野由紀夫  
 谷 政明, 白河 一郎, 多賀 茂樹  
 片山 隆章, 名越 一介, 野間 純  
 清水 健治, 関場 香
- I—29. 体外受精・胚移植法にて妊娠せず、その後自然妊娠した7症例  
 スズキ病院 ○飯田 修一, 千田 智, 小田原 靖  
 蛭田 益紀, 森 滋, 鈴木 雅洲
- I—30. 体外受精不成功後の自然妊娠  
 虎の門病院産婦人科 ○児島 孝久, 東梅 久子, 小川 恵吾  
 高橋 敬一, 佐藤 孝道
- I—31. IVF-ET 不成功後の自然周期に妊娠が成立した4症例  
 聖隷浜松病院産婦人科 ○西垣 新, 大谷 嘉明, 西村 満  
 岡田 久

## 受精・着床 (VIII) :

[I—32~36] (11:00~11:40) 座長 野田 洋一 (京都大・産婦)

- I—32. 株化細胞との共培養による mouse 2-cell block の改善  
田辺製薬(株)安全性研究所 ○新比恵啓志, 有行 史男
- I—33. ハムスター体外受精卵の 8 細胞期胚発生  
国立大阪病院産婦人科 ○中山 貴弘, 野田 洋一\*, 馬岡 陽\*  
京都大学医学部婦人科学産科学教室\* 森 崇英\*
- I—34. マウス及びハムスター初期胚発育に与える CZB の効果  
福島県立医科大学産科婦人科学教室 ○藤森 淑, 柳田 薫, 市川 文隆  
星 和彦, 佐藤 章
- I—35. EGF の初期胚発育への影響——形態学, グルコース取込み能による解析  
東京大学医学部産科婦人科学教室 ○細谷 岩生, 堤 治, 森田 豊  
横浜市立大学医学部生化学教室\* 綾部 琢哉, 三橋 直樹, 水野 正彦  
加藤 尚彦\*
- I—36. マウス胚培養に於ける BSA 結合脂肪酸の影響  
京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○野々垣多加史, 野田 洋一, 夏山 知  
馬岡 陽, 成本 勝彦, 森 崇英

## 第II会場 (レセプションホール西)

## 妊娠・流産 (I) :

[II—20~24] (9:00~9:40) 座長 水口 弘司 (横浜市大・産婦)

- II—20. 卵巣機能不全不妊症治療薬ならびに安胎薬としての漢方方剤の有効性  
医療法人假野クリニック ○假野 隆司, 伊藤 親昭\*, 笠松 源\*  
市立枚方市民病院産婦人科\* 宮脇 義隆\*
- II—21. 黄体機能不全症に対するプロゲステロン含有二相性徐放座剤療法の検討  
横浜市立大学医学部産婦人科学教室 ○平吹 知雄, 平原 史樹, 安藤 紀子  
星薬科大学薬剤学教室\* 沢井かおり, 榊原 秀也, 五来 逸雄  
植村 次雄, 水口 弘司, 岩田 政則\*  
永井 恒司\*
- II—22. 黄体期後期の hCG 陽性例についての検討  
横浜市立大学産婦人科 ○榊原 秀也, 植村 次雄, 飯塚 麻紀  
茶木 修, 石川 雅彦, 堀 裕雅  
町田 稔文, 柳澤 隆, 白須 和裕  
多賀 理吉, 水口 弘司
- II—23. 切迫流産の予後と甲状腺機能  
神戸大学医学部産科婦人科学教室 ○片山 和明, 山辺 晋吾, 阿江 孝  
丸尾 猛, 望月 真人

## II-24. 妊娠ラットの黄体機能に及ぼす拘束ストレスの影響

山陽中央総合病院産婦人科 ○杉野 法広, 中村 康彦\*, 石松 正也\*  
 山口大学医学部産科婦人科学教室\* 手山 知行\*, 加藤 紘\*

## 妊娠・流産 (II):

## [II-25~29] (9:40~10:20) 座長 桑原 惣隆 (金沢医大・産婦)

## II-25. 不妊症外来における妊娠例の予後に関する検討

群馬大学産科婦人科学教室 ○伊吹 令人, 飯島カツ子, 木村 弘\*  
 館林厚生病院産婦人科\* 戸松 邦也\*, 小西 康二\*

## II-26. AIH 不成功不妊 216 例の予後の分析

東海大学医学部産婦人科 ○淡路 英雄, 井上 正人, 小林 善宗  
 林田 研一, 村松 俊成, 善方 菊夫  
 本田 育子, 藤井 明和

## II-27. 男性不妊症患者における妊娠成立症例の検討

東邦大学泌尿器科学教室 ○原 啓, 栗田 稔, 森岡 元  
 岩澤 俊久, 佐藤 稔, 高波真佐治  
 石井 延久, 三浦 一陽, 中山 孝一  
 白井 将文

## II-28. 重症無排卵性不妊症において 8 年間の反復治療後、双胎妊娠分娩に至った症例

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○上田由生子, 丹野 治郎, 高林 晴夫  
 桑原 惣隆

## II-29. 腎透析にて妊娠継続中の一症例

金沢医科大学産科婦人科学教室 ○吉田 勝彦, 丹野 治郎, 高林 晴夫  
 桑原 惣隆

## 妊娠・流産 (III):

## [II-30~35] (10:20~11:08) 座長 西島 正博 (北里大・産婦)

## II-30. IVF-ET, IVF-ETR 妊娠後流産した染色体正常群及び異常群における妊娠初期超音波所見の比較検討

東海大学医学部産婦人科 ○善方 菊夫, 本田 育子, 小林 善宗  
 井上 正人, 野見山真理, 藤井 明和

## II-31. 基礎体温上低温相を呈した子宮外妊娠症例

群馬大学産科婦人科学教室 ○篠崎 博光, 関 守利, 土屋 清志  
 伊藤 理廣, 竹内 巧, 伊藤 郁朗  
 伊吹 令人

## II-32. 子宮外妊娠早期発見に関する検討

高邦会高木病院産婦人科 ○中村加代子, 宗 完子\*, 杉森 甫\*  
 佐賀医科大学産婦人科\*

## II-33. 経膈超音波断層による妊娠初期の予後判定

札幌医科大学産婦人科 ○中町 悟子, 井上 雄子, 林 卓宏  
 福江ひろみ, 幡 洋, 山本 弘  
 田中 昭一

- II-34. 配偶子操作妊娠流産胎児の染色体分析と予後  
東海大学医学部産婦人科 ○野見山真理, 岩崎 克彦, 小林 善宗  
本田 育子, 井上 正人, 藤井 明和
- II-35. 習慣流産の原因としての先天性子宮奇形の病理組織学的検討  
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○梅内 正勝, 牧野 恒久, 酒井 淳  
斉藤 優, 野澤 志朗

### 妊娠・流産 (IV):

[II-36~40] (11:08~11:48) 座長 荻田 幸雄 (大阪市大・産婦)

- II-36. 連続2回流産に対するスクリーニング検査の評価  
東北大学医学部産科婦人科学教室 ○村上 節, C. マンスフィールド  
千田 定則, 田村みどり, 陳 偉業  
萬代 泰男, 戸澤 秀夫, 吉田 仁秋  
対木 章, 深谷 孝夫, 矢嶋 聰
- II-37. ステロイド療法により健児を得た抗SS-A抗体陽性不育症の一例  
筑波大学臨床医学系産科婦人科 ○岡本 一, 岡根 真人, 藤田 佳世  
真嶋 州一, 大沢 夏美, 目崎 登  
岩崎 寛和
- II-38. 習慣流産患者の血液凝固・線溶とループスアンチコアグラントの検討  
旭川医科大学産婦人科学教室 ○石川 雅嗣, 石川 睦男, 清水 哲也
- II-39. OHSSの有無と妊娠率との比較検討  
セントマザー産婦人科医院 ○出嶋 秀明, 田中 温, 山田 義治  
田中威づみ, 吉田 一郎, 竹本 洋一  
鷹野 和哉
- II-40. 高血圧自然発症ラットおよびDOCA食塩高血圧ラットの妊娠, 分娩時の血圧の変動  
山形大学医学部泌尿器科 ○渡辺 博幸, 安達 裕一, 石郷岡 学  
笹川五十次, 中田 瑛浩

### 受精・着床 (IX):

[II-41~45] (13:00~13:40) 座長 武田 佳彦 (東京女子医大・産婦)

- II-41. 共培養培地内低酸素分圧状態がマウス受精卵発育に及ぼす影響に関する検討  
鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○山元 慎一, 竹内 一浩, 森 明人  
沖 利通, 福元 清吾, 堂地 勉  
永田 行博
- II-42. マウスの初期胚のDNAおよびRNA合成能に及ぼすパルス超音波照射の影響  
鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○岩部 富夫, 高尾 成久, 蓮佛千恵子  
関島 秋男, 谷川 正浩, 大野原良昌  
寺戸 博文, 戸田 稔子, 原田 省  
見尾 保幸, 寺川 直樹
- II-43. 静磁場 (2.1 tesla) がマウス初期胚発育に与える影響  
福島県立医科大学産婦人科 ○菅野 薫, 柳田 薫, 星 和彦

- II—44. ヒト妊娠初期絨毛細胞のマウス初期胚発育に対する影響  
九州大学医学部婦人科学産科学教室 ○森下 哲哉, 横山 幹文, 野崎 雅裕  
佐野 正敏, 中村 元一, 中野 仁雄
- II—45. 枯死卵 (Blighted Ovum) の起源  
スズキ病院産婦人科 ○千田 智, 小田原 靖, 飯田 修一  
Kiel 大学産婦人科\* 蛭田 益紀, 森 滋, 鈴木 雅洲  
L. Mettler\*, K. Semm\*

## 受精・着床 (X) :

## [II—46~50] (13:40~14:20) 座長 望月 真人 (神戸大・産婦)

- II—46. ウサギ不動化精子の囲卵腔内注入に関する検討——表層顆粒の放出について——  
日本大学農獣医学部動物細胞学教室 ○横田 秀夫, 佐藤 嘉兵
- II—47. 卵細胞質内顕微注入法での受精における A 23187 処理卵の使用成績  
福島県立医科大学産科婦人科教室 柳田 薫, 矢沢 浩之, 阿部 利明  
星 和彦, 佐藤 章
- II—48. コンピューター制御による顕微受精操作  
聖マリアンナ医大産婦人科 ○佐賀 正彦, 合屋 英俊, 浜田 宏  
明大農\* 藤本 午朗\*, 尾川 昭三\*, 小林 一彦\*\*  
Century City Hospital \*\* C. Rothman\*\*, \*加藤 圭介\*\*, \*\*  
早大理工\*\*\* 山根 雅已\*\*\*
- II—49. ヒトの卵子内精子注入  
東海大学医学部産婦人科 ○井上 正人, 淡路 英雄, 佐藤 素子  
小林 善宗, 本田 育子, 藤井 明和
- II—50. 体外受精胚移植における顕微受精法の検討  
名古屋大学分院産婦人科学教室 ○中村 潔史, 北川 武司, 那波 明宏  
名古屋大学産婦人科教室\* 稲垣 資郎, 柴田 均, 近藤 育代  
塚原慎一郎, 広岡 孝\*, 山口 一雄\*  
福垣 洋行\*, 花井 一夫\*, 浅田 義正\*  
菅沼 信彦\*, 友田 豊\*

## 受精・着床 (XI) :

## [II—51~55] (14:20~15:00) 座長 鈴木 秋悦 (慶應大・産婦)

- II—51. 高張糖液処理のマウス胚発生に与える影響について  
東邦大学第一産科婦人科学教室 ○雀部 豊, 久保 春海, 安部 裕司  
白井 彰, 片山 進, 百瀬 和夫
- II—52. 顕微受精法に関する実験的研究  
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○大村伸一郎, 倉澤 滋明, 遠藤 芳広  
北井 啓勝, 鈴木 秋悦, 野澤 志朗

## II—53. 着床に関わる凍結受精卵の quality——形態学的評価より——

名古屋大学分院産婦人科学教室 ○近藤 育代, 北川 武司, 那波 明宏  
 名古屋大学産婦人科教室\* 稲垣 資郎, 柴田 均, 中村 潔史  
 大沢 政巳, 成田 收, 浅田 義正\*  
 菅沼 信彦\*, 友田 豊\*

## II—54. マウス未受精卵の凍結保存

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○村山 眞治, 南 晋, 小林 津月  
 加川 俊明, 山野 修司, 青野 敏博

## II—55. 未受精卵凍結保存における耐凍剤添加温度の研究

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○福元 清吾, 竹内 一浩, 山元 慎一  
 森 明人, 沖 利通, 堂地 勉  
 永田 行博

## 受精・着床 (XII) :

[II—56~59] (15:00~15:32) 座長 高木 繁夫 (日本大総合科学研究所・産婦)

## II—56. 着床前期家兔子宮内膜培養細胞の in vitro での Prostaglandin 産生に関する検討

旭川医科大学産婦人科学教室 ○笠茂 光範, 石川 陸男, 清水 哲也

## II—57. 増殖期子宮内膜組織マクロファージの機能に関する研究

浜松医科大学産婦人科学教室 ○朝比奈俊彦, 川口 欽也, 中島 彰  
 寺尾 俊彦

## II—58. 妊娠初期脱落膜細胞培養系におけるインターロイキン1のプロスタグランディン産生に及ぼす影響

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○石原 理, 木下 勝之

II—59. ヒト子宮内膜細胞培養系における  $17\beta$ -estradiol の 12-HETE 産生に及ぼす影響

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○飯野 好明, 石原 理, 鈴木代志子  
 竹田 省, 木下 勝之

## 第III会場 (403)

## 精子・排精 (V) :

[III—21~25] (9:00~9:40) 座長 友田 豊 (名古屋大・産婦)

## III—21. SpermPrep 精子カラムを用いた AIH による男性不妊患者の治療

大阪大学医学部産婦人科 ○脇本 昭憲, 大橋 一友, 加藤 宗寛  
 大阪大学医学部泌尿器科\* 佐治 文隆, 谷澤 修, 並木 幹夫\*  
 奥山 明彦\*

## III—22. 当科における卵巣刺激法を併用した AIH の治療成績

福岡大学医学部産婦人科学教室 ○池田 景子, 詠田 由美, 小山 雅子  
 吉満 陽孝, 白川光一

## III—23. ウシ頸管粘液による精子運動能の評価

太田西ノ内病院産婦人科 ○高山 和人, 八日市谷 隆, 河野 秀昭  
 東北大学産婦人科\* 古橋 信之, 深谷 孝夫\*

## III—24. 体外受精—胚移植に於ける Penetrak test の検討

名古屋大学附属病院分院産婦人科 ○稲垣 資郎, 北川 武司, 那波 明宏  
 名古屋大学附属病院産婦人科\* 柴田 均, 中村 潔史, 近藤 育代  
 浅田 義正\*, 菅沼 信彦\*, 友田 豊\*

## III—25. 精子移動距離からみた IVF-ET の成績

群馬大学産科婦人科学教室 ○中島 敬和, 宇津木利雄, 関 守利  
 土屋 清志, 伊藤 理広, 竹内 巧  
 伊藤 郁朗, 篠崎 博光, 伊吹 令人

## 精子・排精 (VI) :

[III—26~29] (9:40~10:12) 座長 田崎 寛 (慶應大・泌尿)

## III—26. 精巢上体尾部精子回収法の開発とその臨床成績

セントマザー産婦人科医院 ○田中 温, 出嶋 秀明, 山田 義治  
 田中威づみ, 吉田 一郎, 竹本 洋一  
 鷹野 和哉

## III—27. 哺乳類精子は精巢上体内で運動を停止しているか?

帝京大学医学部泌尿器科 ○石田 克美, 友 政宏, 押尾 茂  
 矢崎 恒忠, 梅田 隆

## III—28. ヒト精巢上体精子の受精能に関する考察——ハムスター卵の顕微受精テストと臨床応用——

慶應大学医学部産婦人科学教室 ○黒田優佳子, 末岡 浩, 小林 俊文  
 同泌尿器科学教室\* 野澤 志朗, 飯塚 理八, 中島 洋介\*  
 済生会神奈川県病院産婦人科\*\* 田崎 寛\*, 橋場 剛士\*\*, 小西 康博\*\*  
 小林 淳一\*\*, 吉村 慎一\*\*, 中野真佐男\*\*

## III—29. 電気刺激が精子運動に及ぼす影響についての検討

横浜市立大学泌尿器科学教室 ○齋藤 和男, 川上 寧, 佐藤 和彦  
 岩崎 皓, 木下 裕三, 穂坂 正彦

## 精子・排精 (VII) :

[III—30~34] (10:12~10:52) 座長 町田 豊平 (慈恵医大・泌尿)

## III—30. 精子形成能の導入ができた hypogonadotropic hypogonadism の一例

藤沢市民病院泌尿器科 ○中込 一彰, 広川 信, 増田 光伸  
 聖マリアンナ医科大学泌尿器科\* 長本 章裕, 岩本 晃明\*, 朝倉 茂夫\*\*  
 朝倉医院\*\*

## III—31. 体外受精からみた男性不妊に対するゴナドトロピン投与の効果

虎の門病院産婦人科 ○佐藤 孝道, 東梅 久子, 小川 恵吾  
 高橋 敬一, 児島 孝久

## III—32. 男子不妊外来における内精静脈高位結紮術の成績

京都大学泌尿器科 ○堀井 泰樹, 松田 公志, 吉田 修

## III—33. Transverse Vasovasostomy にて妊娠・出産に成功した無精子症の1例

埼玉医大総合医療センター泌尿器科 ○小林 信幸, 吉田謙一郎, 内島 豊  
 斉藤 博

## III—34. 短尾精子症の3例

京都大学医学部泌尿器科学教室 ○大森 孝平, 松田 公志, 堀井 泰樹  
吉田 修

## 精子・排精 (VIII) :

[III—35~38] (10:52~11:24) 座長 梅田 隆 (帝京大・泌尿)

- III—35. ブタ精子アルギニンアミダーゼに関する研究 1. 塩基性アルギニンアミダーゼについて  
慶應大・医・産婦人科 ○朴 俊英, 兼子 智, 小林 俊文  
明治薬科大・生化学\* 野澤 志朗, 松田 兆史\*, 秋浜 澄行\*  
帝京大・医・泌尿器科\*\* 押尾 茂\*\*, 梅田 隆\*\*
- III—36. ブタ精子アルギニンアミダーゼに関する研究 2. 酸性アルギニンアミダーゼについて  
帝京大・医・泌尿器科 ○押尾 茂, 矢崎 恒忠, 梅田 隆  
明治薬科大・生化学\* 松田 兆史\*, 秋浜 澄行\*, 原 唯純\*\*  
慶應大・医・産婦人科\*\* 兼子 智\*\*, 小林 俊文\*\*
- III—37. マウス精子受精能獲得過程への蛋白リン酸化反応の関与  
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○古屋 悟, 遠藤 芳広, 大庭三紀子  
鈴木 秋悦, 野澤 志朗
- III—38. 抗 PCNA (核内増殖抗原) 抗体を用いた造精機能の解析の基礎的検討  
山口大学泌尿器科 ○馬場 良和, 白瀧 敬, 鎌田 清治  
植野 卓也, 石津 和彦, 瀧原 博史  
酒徳治三郎

## 精子・排精 (IX) :

[III—39~43] (13:00~13:40) 座長 山中 英寿 (群馬大・泌尿)

- III—39. 精液中の微量元素の検討  
順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○岡部 親宜, 福田 勝, 飯田 信  
同衛生学教室\* 武内 裕之, 町田 正弘, 伊藤 哲  
高田 道夫, 篠原 厚子\*, 千葉 百子\*
- III—40. 精漿中亜鉛, EGF, 果糖濃度と精子機能との相関に関する研究  
秋田組合総合病院産婦人科 ○太田 博孝, 加藤 充弘
- III—41. ヒト精子 Ca<sup>2+</sup> 結合蛋白——分離精製及び局在場所の同定——  
帝京大学医学部産婦人科 ○中村 正久, 冲永 莊一, 小林 拓郎  
東京歯科大学泌尿器科\* 荒井 清, 石川 博通\*, 古屋 聖児\*\*  
古屋病院泌尿器科\*\*
- III—42. 蛍光測定を用いた精子の過酸化ストレスに対する定量的評価の試み  
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 ○青木 類, 小穴 正博, 名取 道也  
森定 優, 小林 俊文, 野澤 志朗
- III—43. 人精子の活性酸素産生について その3 白血球の関与と Percoll 洗滌精子についての検討  
横浜赤十字病院泌尿器科 ○岩崎 皓

## 統計 (I) :

[III—44~48] (13:40~14:20) 座長 吉田 英機 (昭和大・泌尿)

- III—44. 閉塞性無精子症の臨床的検討  
富山医科薬科大学医学部泌尿器科 ○風間 泰藏, 寺田 為義, 布施 秀樹  
片山 喬
- III—45. 過去 13 年間の男性不妊症の臨床的検討  
東邦大学泌尿器科 ○北角 嘉徳, 栗田 稔, 原 啓  
桑原 孝, 黒田加奈美, 松橋 求  
柳下 次雄, 石井 延久, 三浦 一陽  
白井 將文
- III—46. 特発性男子不妊症における妊娠成立例の臨床統計的検討  
昭和大学泌尿器科 ○渡辺賀寿雄, 柴崎 裕, 鳥居 毅  
渡辺 政信, 石田 肇, 吉田 英機
- III—47. 排卵誘発法および精液性状による AIH 成績の検討  
北野病院産婦人科 ○越田 光伸, 下野 奈美, 高島 桂子  
松本 恒和, 井上 欣也
- III—48. 多数回の精液検査症例における精子濃度のばらつき  
群馬大学医学部産科婦人科学教室 ○宇津木利雄, 中島 敬和, 伊吹 令人

## 統計 (II) :

[III—49~53] (14:20~15:00) 座長 館野 政也 (富山県立中央病院・産婦)

- III—49. 当院における不妊統計  
原発不妊と続発不妊の相違  
大阪労災病院産婦人科 ○亀田 隆
- III—50. 長期不妊期間を有する症例に関する臨床的検討  
倉敷中央病院産婦人科 ○高橋 晃, 浮田 昌彦, 井上 卓也  
山中 研二, 中堀 隆, 朴 由美
- III—51. 当院における不妊外来 3 年間の成績  
昭和大学藤が丘病院産婦人科 ○清水 篤, 木村 武彦, 宮川善二郎  
楢林 充子, 野嶽 幸正
- III—52. 当科不妊外来における最近 2 年間の診断・治療成績  
大宮赤十字病院産婦人科 ○田口 宏中, 栗原 寿子, 山下 努  
宮坂 牧宏, 安藤 昭彦, 富田 初男  
伊藤 慎, 小林 賀雄, 五十嵐正雄
- III—53. 当教室不妊外来における妊娠成績  
利根中央病院 ○小此木孝佳, 安藤 一道\*, 山田 清彦\*  
群馬大学医学部産科婦人科教室\* 伊吹 令人\*, 五十嵐正雄\*

## 統計 (Ⅲ) :

[Ⅲ—54~58] (15:00~15:40) 座長 浜田 宏 (聖マリアンナ医大・産婦)

- Ⅲ—54. 当科における不妊症の臨床統計  
佐賀医科大学産婦人科 ○宗 完子, 杉森 甫, 中村加代子\*  
高邦会高木病院産婦人科\*
- Ⅲ—55. 当院における腹腔鏡 578 例の検討  
向仁会永井病院 ○角田千恵子, 永井 宏
- Ⅲ—56. 当科における体外受精・胚移植の治療成績  
帝京大学医学部付属市原病院産婦人科 ○五味淵秀人, 金子 義晴, 貝原 学  
同・臨床研究部\* 太田 昭彦\*
- Ⅲ—57. 当周産期センターにおける子宮筋腫合併妊娠の経過について  
聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院周産期センター ○竹内 久清, 藤脇伸一郎, 鈴木廉三郎  
熱田 洋, 会沢 芳樹, 松井 弘文  
荻原 哲夫, 海老原 肇, 萩庭 一元  
雨宮 章
- Ⅲ—58. アンケート調査よりみた体重減少性無月経の疫学および病態  
大阪医科大学産婦人科学教室 ○金子 卓嗣, 宮崎 和典, 鈴木 佳彦  
奥田 弘賢, 太田 栄, 杉山 修成  
坪倉 省吾, 杉本 修

## 第Ⅳ会場 (402)

## 診断・検査 (Ⅴ) :

[Ⅳ—19~23] (9:00~9:40) 座長 杉本 修 (大阪医大・産婦)

- Ⅳ—19. 不妊症診療におけるヒステロスコープ検査の意義  
虎の門病院産婦人科 ○小川 恵吾, 東梅 久子, 高橋 敬一  
児島 孝久, 佐藤 孝道
- Ⅳ—20. 機能性不妊 868 名の腹腔内所見と予後  
東海大学医学部産婦人科 ○村松 俊成, 小林 善宗, 井上 正人  
本田 育子, 淡路 英雄, 林田 研一  
藤井 明和
- Ⅳ—21. 拳児希望婦人に対する腹腔鏡検査後の妊娠に関する検討  
京都府立医科大学産婦人科学教室 大野 洋介, 田村 尚也, 北川 一郎  
川島 満子, 北脇 城, 岡田 弘二
- Ⅳ—22. 月経異常を有する性成熟婦人の骨塩量  
相模原協同病院産婦人科 ○三宅 崇雄, 佐藤 芳昭, 望月 愛郎  
松信 晶, 大沢 章吾

## IV-23. 不妊外来に於ける若年性子宮体癌患者スクリーニングの重要性

日本医科大学産婦人科学教室 ○可世木久幸, 明楽 重夫, 五十嵐俊夫  
 医療法人双鵬会山王クリニック\* 外山 和秀, 渡辺美千明, 田中幸太郎  
 荒木 勤, 松本 二郎, 佐々木 毅\*

## 診断・検査 (VI):

## [IV-24~27] (9:40~10:12) 座長 永田 行博 (鹿児島大・産婦)

## IV-24. 超音波断層法による潜在性右側精索静脈瘤検索の意義

健保連大阪中央病院泌尿器科 ○近藤 宣幸, 目黒 則男, 清原 久和  
 大阪大学泌尿器科\* 並木 幹夫, 奥山 明彦\*

IV-25. Sperm Check Assay<sup>®</sup> の使用経験

虎の門病院産婦人科 ○高橋 敬一, 東梅 久子, 小川 恵吾  
 日本バイオラッドラボラトリーズ\* 児島 孝久, 佐藤 孝道, 小野千恵子\*  
 真坂美智子\*

## IV-26. PENETRAK の臨床的有用性に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○森 明人, 沖 利通, 山元 慎一  
 福元 清吾, 竹内 一浩, 堂地 勉  
 永田 行博

## IV-27. Y染色体の性決定 region におけるマウス, サル, ヒトの同一 primer を用いた PCR 法と Embryo Biopsy: ヒト Embryo Biopsy・着床前遺伝子診断のモデル

鹿児島大学医学部産婦人科\* ○竹内 一浩,\*\*永田 行博\*  
 Jones Institute for Reproductive Medicine R. A. Kaufmann,\*\* G. D. Hodgen\*\*  
 Eastern Virginia Medical School \*\*

## 手術 (I):

## [IV-28~30] (10:12~10:36) 座長 白井 将文 (東邦大・泌尿)

## IV-28. 精索静脈瘤手術における内分泌学的検討: 手術効果と LH-RH test

神戸大学医学部泌尿器科 ○今西 治, 林 晃史, 松本 修  
 市立西脇病院泌尿器科\* 守殿 貞夫, 奥田 喜啓\*

## IV-29. 精巣上体での精路閉塞の原因について: 特に原因不明症例の検討

京都大学泌尿器科 ○松田 公志, 堀井 泰樹, 小倉 啓司  
 吉田 修

## IV-30. 精索静脈瘤の手術成績の検討

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○岩崎 雅志, 布施 秀樹, 里見 定信  
 風間 泰蔵, 寺田 為義, 片山 喬

## 手術 (II):

## [IV-31~34] (10:36~11:08) 座長 関場 香 (岡山大・産婦)

## IV—31. 子宮奇形に対する Jones 手術成績の AFS 分類による検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室 ○河西 邦浩, 片山 隆章, 吉田 信隆  
 岡山中央病院産婦人科\* 清水 健治, 野間 純, 中塚 幹也  
 平野由紀夫, 関場 香, 西条 仁子\*  
 金重恵美子\*

## IV—32. 単角子宮に対する子宮形成術の試み

筑波大学臨床医学系産婦人科 ○西田 正人, 山内 宏, 辻 泰二  
 岡本 一, 藤田 佳世, 久保 武士  
 岩崎 寛和

## IV—33. 子宮温存手術を行った子宮頸部欠損の症例

杏林大産婦人科 ○山内 格, 飯塚 義浩, 安藤 索  
 小山 典宏, 吉村 泰典, 中村 幸雄

## IV—34. 不妊診療における子宮鏡下手術の成績

聖マリアンナ医科大学産婦人科 ○堀越 裕史, 齊藤寿一郎, 栗林 靖  
 大野 祐子, 近藤 俊彦, 渡辺 研一  
 岩田美智恵, 石塚 文平, 浜田 宏

## 手術 (III) :

## [IV—35~38] (11:08~11:40) 座長 齋藤 良治 (弘前大・産婦)

## IV—35. 超音波下卵巣穿刺によって加療した重症卵巣過剰刺激症候群の一例

富山県立中央病院産婦人科 ○小嶋 康夫, 北 俊之, 谷村 悟  
 大口 昭英, 佐竹紳一郎, 金井 浩明  
 舟本 寛, 中野 隆, 南 幹雄  
 館野 政也

## IV—36. 重症 OHSS に対して卵巣穿刺を行なった 6 症例

東北大学医学部産科学婦人科学教室 ○田村みどり, 千田 定則, 陳 偉業  
 太田綜合病院\* 村上 節, C. Mansfield, 萬代 泰男  
 対木 章, 深谷 孝夫, 矢嶋 聰  
 古橋 信之\*

## IV—37. 卵管妊娠における保存手術および卵管内 MTX 注入法について

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○藤下 晃, 中村 恒一, 鮫島 哲郎  
 山下 隆則, 増崎 英明, 石丸 忠之  
 山邊 徹

## IV—38. 当科における内膜症に対する腹腔鏡直視下手術の試み

国家公務員等共済組合連合会新香里病院産婦人科 ○鈴木 佳彦, 高原 得栄, 好川 元庸  
 池田 義人

## 卵管・子宮 (I) :

## [IV—39~42] (13:00~13:32) 座長 遠藤 克 (日本大・獣医生理)

## IV—39. 家兔卵管における受精現象および初期胚の発育に及ぼす Lipiodol-UF の影響

日本大学農獣医学部獣医生理学教室 ○成相 孝一, 金山 喜一, 遠藤 克  
 佐久間勇次

- IV—40. 不妊症例における卵管洗浄回収液中線毛細胞所見と妊娠成立との相関についての検討  
 東京都済生会中央病院 ○亀井 清, 玉岡 有告, 大柴 葉子  
 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室\* 吉田 憲一, 横倉 恒雄, 中村 英世  
 田辺 清男\*, 小林 俊文\*, 野沢 志朗\*
- IV—41. AIH 後経グラス窩精子回収試験による精子卵管通過性の検討  
 聖マリアンナ医科大学産婦人科 ○栗林 靖, 石塚 文平, 近藤 俊彦  
 渡辺 研一, 大野 祐子, 堀越 裕史  
 齊藤寿一郎, 浜田 宏
- IV—42. 卵管間質部閉塞に対する経頸管的卵管再疎通法の検討  
 名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○貝田 清隆, 鈴木 規敬, 鈴木 真史  
 中日病院産婦人科\* 岡田 英幹, 飯田 忠史, 生田 克夫  
 花田 征治, 八神 喜昭, 万歳 稔\*

### 卵管・子宮 (II) :

#### [IV—43~47] (13:32~14:12) 座長 荒木 勤 (日本医大・産婦)

- IV—43. 種々の検査法による黄体機能評価  
 島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○吉野 和男, 高橋健太郎, 白井 孝昭  
 岡田さおり, 北尾 学
- IV—44. 機能性不妊治療における子宮内膜搔爬術の有用性についての検討  
 日本医科大学産婦人科 ○関谷 隆夫, 石原 楷輔, 菊池 三郎
- IV—45. IVF-ET にて妊娠した結核性不妊症の2例  
 琉球大学医学部産婦人科 ○新川 唯彦, 高宮城直子, 佐久川政男  
 新崎 盛雄, 佐久本哲郎, 東 政弘  
 中山 道男
- IV—46. 受精初期におけるヒト及びマウスの卵管上皮のタンパク合成能の検討と電顕的形態  
 東京都済生会中央病院産婦人科 ○大柴 葉子, 中村 英世, 鈴木 秋悦\*  
 慶應義塾大学医学部産婦人科\* 野澤 志朗\*
- IV—47. 無血清培養ブタ卵管上皮細胞の形態およびタンパク産生に及ぼすエストロジェンの影響  
 岡山大学農学部家畜機能調節学講座 ○中川 豊, 湯原 正高

### インターセックス・先天異常 (I) :

#### [IV—48~52] (14:12~14:52) 座長 大浜 紘三 (広島大・産婦)

- IV—48. Karyotype 46XY を示した androgen insensitivity synd. の分子生物学的解析  
 帝京大学医学部産婦人科 ○家老 仁郎, 森 宏之, 竹下 茂樹  
 土橋 一慶, 荒井 清, 竹内 正七
- IV—49. 異なる病態を示した 46, XY pure gonadal dysgenesis (Swyer 症候群) の二例  
 佼成病院産婦人科 ○大和 竜夫, 丹 英人, 今川 信行  
 東京慈恵会医科大学産婦人科学教室\* 石川 卓爾, 楠原 浩二\*, 松本 和紀\*  
 国立小児病院小児医療研究センター先天異常研究部\*\* 渡辺 明彦\*, 寺島 芳輝\*, 中込 弥男\*\*

## IV—50. XY female 8 症例の検討

大阪市立城北市民病院産婦人科 ○中野 昌芳, 濱田 和孝, 田中 文平\*  
 大阪市立十三市民病院産婦人科\*

## IV—51. 小児外科領域における先天性腔形成異常の検討

獨協医科大学越谷病院小児外科 ○土屋 博之, 長島 金二, 小笠原忠彦  
 大橋 忍

## IV—52. 大腿骨頭迂り症を合併した性腺形成異常症の1例

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○鈴木 真史, 鈴木 規敬, 岡田 英幹  
 中日病院産科婦人科\* 貝田 清隆, 生田 克夫, 花田 征治  
 八神 喜昭, 万歳 稔\*

## インターセックス・先天異常(II):

[IV—53~56] (14:52~15:24) 座長 久住 治男 (金沢大・泌尿)

## IV—53. 無精子症における染色体異常の検討

川崎医大泌尿器科 ○河原 弘之, 田中 啓幹

## IV—54. 男子不妊を主訴とした 45, X/46, X, +mar male の1例

浜松医大泌尿器科 ○寺田 央巳, 影山 慎二, 山口 安三  
 東京大学泌尿器科\* 牛山 知己, 太田 信隆, 河邊 香月  
 田島 惇\*, 阿曾 佳郎\*

## IV—55. 尿道下裂を合併した kallmann 症候群の1例

大分医大泌尿器科 ○谷川 龍彦, 寺田 勝彦, 三股 浩光  
 緒方 二郎

## IV—56. 停留睪丸 328 症例の検討

春日部市立病院泌尿器科 ○川上 理, 根岸 壮治, 山田 拓己  
 永松 秀樹, 増田 均, 長浜 克志

## 第V会場 (304・305)

## 卵子・排卵(1):

[V—19~22] (9:00~9:32) 座長 毛利 秀雄 (放送大・動物学)

## V—19. アフリカツメガエルの卵発育における Proto-oncogene Evi-1 の関与

大阪大学医学部産婦人科 ○大塚 志郎, 倉智 博久, 森重健一郎  
 山本 敏也, 西川 吉伸, 雨宮 京夏  
 田原 正浩, 和田 和子, 谷澤 修

## V—20. 共培養環境がマウス初期胚姉妹染色分体交換に及ぼす影響について

山形大学医学部産科婦人科学教室 ○平山 寿雄・斉藤 英和・広井 正彦

## V—21. ヒト未受精卵 265 例の染色体研究

旭川医科大学・生物学教室 ○上口勇次郎, 美甘 和哉  
 ウルム大学・産婦人科(ドイツ)\* Bernd Rosenbusch\*, Karl Sterzik\*

- V—22. 生殖能の老衰期におけるマウスの卵子について  
 北海道大学農学部畜産学科 ○森 匡, 北嶋 朋子\*, 一戸喜兵衛\*  
 テイネ溪仁会病院生殖研究室\*

### 卵子・排卵(II):

[V—23~27] (9:32~10:12) 座長 麻生 武志 (東京医科歯科大・産婦)

- V—23. マウス卵子の成熟に伴う透明帯末端糖鎖に関する組織化学的検討  
 日本大学農獣医学部動物細胞学教室 ○花房百合子, 佐藤 嘉兵, 馬目 陽子
- V—24. CZB 培養液におけるマウス卵細胞の生化学的解析  
 山形大学医学部産科婦人科学教室 ○斎藤 隆和, 平山 寿雄, 斎藤 英和  
 広井 正彦
- V—25. 卵成熟, 受精過程における糖の取り込み能発達機構の解析  
 東京大学産婦人科 ○森田 豊, 堤 治, 細谷 岩生  
 横浜市立大学生化学\* 水野 正彦, 加藤 尚彦\*
- V—26. 排卵に伴うラット卵巣カリクレイン活性およびプラスミノーゲンアクチベータ活性の変動と  
 indomethacin・epostane の影響  
 熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○田中 信幸, 岡村 均, L, L, Espey\*  
 Trinity University (USA)\*
- V—27. 培養ブタ顆粒膜細胞(PGC) におけるエンドセリン-3 (ET-3) の作用について  
 ——ET-1 との比較——  
 東京医科歯科大学産婦人科 ○鎌田 周作, 久保田俊郎, 田口 誠  
 同第二内科\* 麻生 武志, 江口 暁\*, 平田結喜緒\*  
 丸茂 文昭\*

### 卵子・排卵(III):

[V—28~32] (10:12~10:52) 座長 岡村 均 (熊本大・産婦)

- V—28. 当科における LUF 症候群の臨床的検討  
 宮崎医科大学産婦人科学教室 ○渡辺 裕之, 戸枝 通保, 野田 俊一  
 三部 正人, 小池 弘幸, 池ノ上 克  
 森 憲正
- V—29. ヒト体外受精における新しい卵成熟度評価法  
 杏林大学医学部産婦人科 ○神野 正雄, 吉村 泰典, 中村 幸雄  
 慶應義塾大学医学部産婦人科\* 岩田 壮吉\*, 杉村 和男\*, 小林 俊文\*  
 野澤 志朗\*
- V—30. 排卵時期予測としての血中 progesterone 値の有用性について  
 弘前大学医学部産科婦人科学教室 ○立崎 達夫, 藤井 俊策, 坂本 知巳  
 鍵谷 昭文, 斎藤 良治
- V—31. 尿中 LH 測定からみた排卵予測  
 熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○河野 哲郎, 松浦 講平, 本田 律生  
 西村 弘, 岡村 均

## V-32. 酵素抗体法によるマウス卵子の oxytocin の局在性について

防衛医科大学校産科婦人科学教室 ○牧村 紀子, 古谷 健一, 鏑本 浩志  
星原 孝幸, 永田 一郎

## 卵子・排卵 (IV) :

## [V-33~37] (10:52~11:32) 座長 森 宏之 (帝京大・産婦)

## V-33. ヒト体外受精における未熟卵体外成熟法: FSH 添加の有用性

杏林大学医学部産婦人科 ○神野 正雄, 吉村 泰典, 中村 幸雄  
慶應義塾大学医学部産婦人科\* 北村 誠司\*, 岩田 壮吉\*, 杉村 和男\*  
小林 俊文\*, 野澤 志朗\*

## V-34. Double Zona dissection と Single Zona dissection の比較

セントマザー産婦人科医院 ○山田 義治, 田中 温, 出嶋 秀明  
田中威づみ, 吉田 一郎, 竹本 洋一  
鷹野 和哉

## V-35. 超急速凍結法によるヒト初期胚の凍結保存

セントマザー産婦人科医院 ○鷹野 和哉, 田中 温, 山田 義治  
出嶋 秀明, 田中威づみ, 吉田 一郎  
竹本 洋一

## V-36. カニクイザル卵子の成熟培養と体外受精

国立予研・霊長類センター ○山海 直, 長 文昭, 井田 聡\*  
エーザイ株\* 若林 庸夫\*

## V-37. 凍結融解ハムスター排卵卵子の体外受精能

東北大学医学部産科学婦人科学教室 ○萬代 泰男, 村木 章, 深谷 孝夫  
京都大学農学部家畜繁殖学研究室\* 矢島 聰, 細井 美彦\*, 南直 治郎\*  
内海 恭三\*, 入谷 明\*

## 卵子・排卵 (V) :

## [V-38~42] (13:00~13:40) 座長 木下 勝之 (埼玉医大総合医療センター・産婦)

## V-38. 無月経第2度症例に対する clomiphene citrate 間歇投与療法の臨床的效果

国立相模原病院産婦人科 ○石川 雅一, 中居 光生\*, 川内 博人\*  
北里大学産婦人科学教室\* 安達 敬一\*, 佐藤 倫也\*, 剣持 稔\*\*  
大和市立病院産婦人科\*\*

## V-39. 年齢別の排卵誘発効果の検討

大阪大学医学部産科婦人科学教室 ○直原 広明, 笠原 幹司, 増本 伸之  
安達 浩, 西崎 孝道, 甲村 弘子  
田坂 慶一, 三宅 侃, 谷澤 修

## V-40. hMG-hCG 療法抵抗性排卵障害における GH 併用の試み

東京女子医科大学産婦人科 ○三室 卓久, 安達 知子, 中山 摂子  
同母子総合医療センター\* 瀬戸山琢也, 松尾 明美, 小林万利子  
同内分泌内科\*\* 武田 佳彦, 岩下 光利\*, 坂元 正一\*  
高野加寿恵\*\*, 肥塚 直美\*\*

## V-41. pure FSH 初期多量漸減投与による排卵誘発効果

藤田保健衛生大学産婦人科学教室 ○白木 誠, 澤田 富夫, 青木 豊和  
服部 公博, 多田 伸, 樋口 泰彦  
廣田 穰, 河上 征治

## V-42. GnRH agonist による卵胞直接作用の検討

杏林大学医学部産婦人科教室 ○安藤 索, 生方 良延, 小山 典彦  
山田 春彦, 苅部 正隆, 吉村 泰典  
中村 幸雄

## LH-RH・性腺刺激ホルモン (I):

[V-43~47] (13:40~14:20) 座長 高田 道夫 (順天堂大・産婦)

## V-43. 視床下部性無月経に対する buserelin の低用量鼻腔内投与の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○武内 裕之, 岡部 親宜, 飯田 信  
福田 勝, 高田 道夫

## V-44. 当科における体重減少性無月経患者に対する治療の現況

山口大学医学部産科婦人科 ○中村 康彦, 杉野 法広, 石松 正也  
手山 知行, 田村 晴代, 山下 三郎  
加藤 紘

## V-45. 子宮筋腫核出前の GnRH analogue 投与による組織学的変化と術前投与の有用性について

長崎大学産婦人科学教室 ○山下 隆則, 行徳 豊, 一瀬 俊介  
石丸 忠之, 山辺 徹

## V-46. 徐放性 GnRH Agonist TAP-144-SR の子宮内膜症例における内分泌動態に及ぼす影響

TAP-144-SR 子宮内膜症研究会 ○武谷 雄二, 植村 次雄, 星合 昊  
寺川 直樹, 矢嶋 聰, 水口 弘司  
川島 吉良, 岡田 弘二, 杉本 修  
谷澤 修, 中野 仁雄, 水野 正彦

## V-47. GnRH analogue を併用した体外受精胚移植法における血中 gonadotropin 値と発育卵胞数の検討

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○岡田 英幹, 鈴木 規敬, 鈴木 真史  
中日病院産科婦人科\* 貝田 清隆, 生田 克夫, 花田 征治  
八神 喜昭, 万歳 稔\*

## LH-RH・性腺刺激ホルモン (II):

[V-48~52] (14:20~15:00) 座長 小林 拓郎 (帝京大・産婦)

## V-48. 卵巣刺激周期における内因性 LH surge 発来に及ぼす血中 progesterone の影響

鳥取大学医学部産科婦人科 ○蓮佛千恵子, 高尾 成久, 池成 孝昭  
関島 秋男, 岩部 富夫, 谷川 正浩  
大野原良昌, 寺戸 博文, 原田 省  
見尾 保幸, 寺川 直樹

## V-49. ラット下垂体培養細胞を用いたエンドセリンの LH 分泌に対する作用の検討

慶應義塾大学医学部産婦人科 ○齊藤 優, 牧野 恒久, 和泉俊一郎  
豊島 究, 梅内 正勝, 野澤 志朗

V—50. 「ゴナール 20, 30」を用いた尿中 LH surge の検出

名古屋大学医学部分院産婦人科 ○北川 武司, 中村 潔史, 那波 明宏  
名古屋大学医学部産婦人科\* 稲垣 資郎, 柴田 均, 近藤 育代  
成田 收, 広岡 孝\*, 塚原慎一郎\*  
山口 一雄\*, 花井 一夫\*, 浅田 義正\*  
菅沼 信彦\*, 友田 豊\*

V—51. LH の分子構造異常が疑われる反復流産の 1 例

大阪医科大学産婦人科学教室 ○奥田喜代司, 佐伯 理男, 後山 尚久  
山田 隆司, 井本 広済, 岡崎 審  
杉本 修

V—52. エトポシドの卵巣機能への影響について—LH-RH テストを主として—

千葉大産婦人科 ○木村 博昭, 松井 英雄, 江口 修  
布山 隆史, 稲葉 憲之, 高見澤裕吉

### LH-RH・性腺刺激ホルモン (III) :

[V—53~56] (15:00~15:32) 座長 松浦 俊平 (愛媛大・産婦)

V—53. hMG 律動的皮下投与方法による排卵, 妊娠, 卵巣過剰刺激発症率について

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○小山 典宏, 安藤 索, 生方 良延  
塩川 滋達, 山田 春彦, 吉村 泰典  
中村 幸雄

V—54. 各種 HMG 製剤使用時の血中ホルモン動態および排卵誘発効果の比較検討

賛育会病院産婦人科 ○合阪 幸三, 都築 浩雄, 金田 幸枝  
帝京大学医学部産婦人科\* 鳥谷 葉子, 野島美知夫, 國保健太郎  
吉田 浩介, 森 宏之\*

V—55. LH 含量変更に伴う hMG (Humegon®) の卵巣機能賦活作用の変化

医療法人假野クリニック ○假野 隆司

V—56. 男子不妊症に対する hCG-hMG 療法の経験

東京大学泌尿器科 ○篠原 充, 国武 剛, 西古 靖  
養和田 滋, 東原 英二, 阿曾 佳郎

### 第VI会場 (302・303)

#### 精巣・性ホルモン (I) :

[VI—21~24] (9:00~9:32) 座長 阿曾 佳郎 (東京大・泌尿)

VI—21. 男性不妊症の精巣生検組織における造精機能に関する組織化学的検討(c-myc 産物の発現について)

長崎大学泌尿器科 ○江口 二郎, 与儀 安男, 西村 直樹  
桜町病院泌尿器科\* 野俣浩一郎, 湯下 芳明, 金武 洋  
斉藤 泰, 広瀬 建\*

- VI—22. 男子不妊症患者の精巢生検組織のフローサイトメトリーによる解析  
 東京大学泌尿器科 ○国武 剛, 西古 靖, 篠原 充  
 養和田 滋, 阿曾 佳郎
- VI—23. 精子形成の初期発生におけるペントースサイクルの関与 (1報)  
 東邦大医生化 ○平野 治伸, 天野 久夫, 堀 正行\*  
 東邦大産婦\* 柳堀 厚\*, 町澤 一郎\*, 跡部 一郎\*  
 伊藤 元博\*
- VI—24. 精子形成の初期発生におけるペントースサイクルの関与 (2報)  
 東邦大産婦 ○堀 正行, 柳堀 厚, 町澤 一郎  
 東邦大医生化\* 跡部 一郎, 伊藤 元博, 平野 治伸\*  
 天野 久夫\*

### 精巢・性ホルモン (II) :

[VI—25~28] (9:32~10:04) 座長 熊本 悦明 (札幌医大・泌尿)

- VI—25. 精索静脈瘤手術前後における LHRH テストのころみ—造精機能改善の予測指標となるか—  
 慶應義塾大学医学部泌尿器科学教室 ○大橋 正和, 石川 博義, 橘 政昭  
 国立埼玉病院泌尿器科\* 田崎 寛, 織田 孝英\*, 石川 博通\*\*  
 東京歯科大学市川総合病院泌尿器科\*\*
- VI—26. 実験的精索静脈瘤の Leydig 細胞機能に及ぼす影響  
 藤田保健衛生大学泌尿器科学教室 ○泉谷 正伸, 白木 良一, 篠田 正幸  
 名古屋記念病院泌尿器科\* 田所 茂, 星長 清隆, 名出 頼男  
 西山 直樹\*
- VI—27. 男子不妊症における精巢所見の検討—特に血管壁の変化を中心として—  
 札幌医科大学泌尿器科 ○赤樫 圭吾, 伊藤 直樹, 南部 明民  
 立木 仁, 丸田 浩, 熊本 悦明
- VI—28. 副睾丸形態異常, 特に接合異常による睾丸発育への影響  
 独協医科大学越谷病院小児外科 ○小笠原忠彦, 長島 金二, 土屋 博之  
 大橋 忍

### 精巢・性ホルモン (III) :

[VI—29~32] (10:04~10:36) 座長 中田 瑛浩 (山形大・泌尿)

- VI—29. アデニン投与による腎不全モデルラットの下垂体—精巢系機能異常  
 山形大学医学部泌尿器科 ○安達 裕一, 石郷岡 学, 入澤 千晶  
 笹川五十次, 渡邊 博幸, 中田 瑛浩
- VI—30. Rat 培養 Sertoli 細胞における insulin-like growth factor-I (IGF-I) の分泌調節  
 札幌医科大学泌尿器科 ○立木 仁, 三熊 直人, 伊藤 直樹  
 南部 明民, 新田 俊一, 赤樫 圭吾  
 丸田 浩, 熊本 悦明
- VI—31. 精巢内温度のライディッヒ細胞およびセルトリ細胞機能におよぼす影響  
 鳥取大学医学部泌尿器科 ソフィキティス ニコラオス, 宮川 征男

VI-32. 無精子症にて発見された 21-hydroxylase 欠損による先天性副腎皮質過形成症の妊娠例

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室 ○矢島 通孝, 河野正二郎, 馬場 克幸  
同産婦人科学教室\* 原口 千春, 岩本 晃明, 長田 尚夫  
近藤 俊彦\*, 石塚 文平\*, 浜田 宏\*

### 卵巣・性ホルモン (I) :

[VI-33~37] (10:36~11:16) 座長 宮川 勇生 (大分医大・産婦)

VI-33. 体外受精-胚移植における非刺激周期高温相での estradiol-progesterone 比測定, 子宮内膜組織診と刺激周期に於ける卵巣反応性の関連

荻窪病院産婦人科 ○宮崎 豊彦, 片山恵利子, 久慈 直昭  
杉山 武, 菅原 正人, 境田 通泰  
飯田 悦郎

VI-34. 灌流卵巣におけるステロイド放出の短期的変動

慶應義塾大学医学部産婦人科 ○南郷 周児, 鈴木 秋悦, 野澤 志朗  
社会保険埼玉中央病院産婦人科\* 北井 啓勝\*, 金子 宜淳\*

VI-35. ヒト卵巣における aromatase (P-450 arom) および  $17\alpha$ -hydroxylase/ $C_{17-20}$  lyase (P-450<sub>17 $\alpha$</sub> ) の発現について

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○田村 尚也, 北脇 城, 山本 宝  
岡田 弘二

VI-36. cryostat-section 上での androgen aromatase 活性検出の試み

滋賀医科大学産科学婦人科学教室 ○竹中 章, 須戸 龍男, 横江 保彦  
吉田 吉信

VI-37. 卵巣 Sertoli-Leydig Cell Tumor における内分泌動態

岡山大学産科婦人科学教室 ○片山 隆章, 河西 邦浩, 中塚 幹也  
平野由紀夫, 多賀 茂樹, 名越 一介  
野間 純, 清水 健治, 吉田 信隆  
関場 香

### 卵巣・性ホルモン (II) :

[VI-38~42] (13:00~13:40) 座長 相良 祐輔 (高知医大・産婦)

VI-38. 多嚢胞卵巣症候群の超音波診断に関する研究

一病理所見, 形態変化と内分泌動態との関連性について一

島根医科大学医学部産科婦人科学教室 ○江田 芳美, 高橋健太郎, 吉野 和男  
岡田さおり, 北尾 学

VI-39. 一卵性双胎の姉妹にみられた PCOS 症例

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○綾部 琢哉, 武谷 雄二, 林 直樹  
堤 治, 三橋 直樹, 水野 正彦

VI-40. 高アンドロゲン血症とインスリン値について

山梨医科大学産婦人科学教室 ○木下 俊彦, 笠井 剛, 加藤 順三

- VI-41. 多嚢胞性卵巣症候群に対する GnRH agonist+pure FSH の律動性投与による治療の試み  
 大阪医科大学産婦人科学教室 ○高原 得栄, 宮崎 和典, 奥田 弘賢  
 杉山 修成, 太田 栄, 鈴木 佳彦  
 金子 卓嗣, 山下 英俊, 杉本 修
- VI-42. 加齢の培養顆粒膜細胞における steroidogenesis に及ぼす影響について  
 北海道大学医学部産婦人科 ○林 正路, 古田伊都子, 室城 宸一  
 桜田 芳弘, 田中 俊誠, 藤本征一郎

### 卵巣・性ホルモン (III):

[VI-43~47] (13:40~14:20) 座長 矢追 良正 (独協医大・産婦)

- VI-43. 体外受精・胚移植における poor responder  
 虎の門病院産婦人科 ○東梅 久子, 小川 恵吾, 高橋 敬一  
 児島 孝久, 佐藤 孝道
- VI-44. Clomiphene Citrate の黄体機能に及ぼす影響について  
 九州大学医学部婦人科学産科学教室 ○松口 博之, 橋本 和法, 渡辺 綱伸  
 森下 哲哉, 横山 幹文, 野崎 雅裕  
 佐野 正敏, 中村 元一, 中野 仁雄
- VI-45. 無排卵症に対するクロミフェン療法の限界とその見直し  
 東北大学医学部産科婦人科学教室 ○深谷 孝夫, 対木 章, 矢嶋 聰  
 東北リプロダクション懇話会
- VI-46. 月経異常婦人における尿中テストステロンレベル測定の臨床的意義  
 国立相模原病院産婦人科 ○石川 雅一, 中居 光生\*, 川内 博人\*  
 北里大学産婦人科学教室\* 安達 敬一\*, 剣持 稔\*\*, 佐藤 倫也\*  
 大和市立病院産婦人科\*\*
- VI-47. 早発卵巣不全に対する GnRH agonist+Kaufmann-hMG-hCG 療法の試み  
 大阪医科大学産婦人科学教室 ○佐伯 理男, 奥田喜代司, 岡崎 審  
 後山 尚久, 太田 栄, 杉本 修

### 卵巣・性ホルモン (IV):

[VI-48~52] (14:20~15:00) 座長 玉舎 輝彦 (岐阜大・産婦)

- VI-48. ラット卵巣細胞における Buserelin のプロゲステロン分泌抑制効果の機序  
 帝京大学医学部産科婦人科学教室 ○矢後 尚文, 荒川 聡子, 磯部 聡  
 森 宏之, 神戸川 明, 冲永 荘一  
 荒井 清
- VI-49. PMSG 過剰投与によるラット排卵の抑制メカニズムの検討  
 藤田保健衛生大学医学部産婦人科学教室 ○樋口 泰彦, 吉村 俊和, 隅山 充樹  
 Trinity University\* 神谷 貴之, 廣田 穰, 澤田 富夫  
 河上 征治, 福島 穰, L. Espey\*
- VI-50. ブタ卵巣黄体からの Glutathione S-Transferase の精製とその機能について  
 北海道大学医学部産婦人科学教室 ○計良 光昭, 古田伊都子, 田中 俊誠  
 同第二生化学教室\* 藤本征一郎, 西平 順\*, 石橋 輝雄\*

VI—51. ラット卵巣における superoxide dismutase の意義—黄体機能を中心に—

旭川医科大学産婦人科 ○玉手 健一, 石川 睦男, 千石 一雄  
内潟 芳之, 高岡 康男, 清水 哲也

VI—52. Cyclophosphamide がラット顆粒膜細胞に及ぼす影響

帝京大産婦人科 ○荻野 雅弘, 坂本 隆子, 松浦 潔  
山本 樹生, 森 宏之, 神戸川 明  
冲永 莊一, 荒井 清

### 卵巣・性ホルモン (V) :

[VI—53~57] (15:00~15:40) 座長 西田 悦郎 (金沢大・産婦)

VI—53. 低用量経口避妊薬 Org5187 の臨床第III相試験—継続群と新規群での検討—

慶應大学産婦人科, 済生会宇都宮\* ○田辺 清男, 小林 俊文, 飯塚 理八  
警友病院,\*\*高橋病院\*\*\* 野澤 志朗, 赤塚 正純\*, 鈴木 健治\*\*  
足利日赤病院,\*\*\*大田原日赤病院\*\*\*\* 高橋 輝雄,\*\*春日 義生,\*\*\*\*  
浅岡産婦人科\*\*\*\*\* 橋本 透,\*\*\*\*白石 悟\*\*\*\*\*  
浅岡 健\*\*\*\*\*

VI—54. 産婦人科内分泌外来における DEXA による骨塩密度測定の意味

東北大学医学部産婦人科 ○対木 章, 田村みどり, 陳 偉業  
千田 定則, 村上 節, 萬代 泰男  
戸沢 秀夫, 深谷 孝夫, 矢嶋 聡

VI—55. 腹水貯留を認めなかった OHSS の 1 例

広島大学医学部産科婦人科教室 ○新甲 靖, 竹中 雅昭, 上田 克憲  
高野町立高野山病院内科\* 原 鐵晃, 熊谷 正俊, 大浜 絃三  
谷河 浩二\*

VI—56. 卵巣莖膜細胞のコラーゲン内培養モデルについて

関西医科大学産科学婦人科学教室 ○河田 淳, 堀越 順彦, 大崎 尚  
河内総合病院産婦人科\* 榎木 勇, 森本 義晴\*

VI—57. 習慣性流産患者におけるエストロゲン受容体変異遺伝子解析の試み

山梨医科大学産婦人科学教室 ○笠井 剛, 平田 修司, 加藤 順三

特 別 講 演

## 特別講演 1

## 重症排卵障害の内分泌動態

名古屋市立大学分娩部助教授

花 田 征 治

排卵障害は、女性の主要な不妊原因因子の一つであり、近年、進歩の著しいホルモン測定法、および画像診断法などの非侵襲的な臨床検査法により得られる情報を、排卵障害治療の臨床に、日常的に利用することが可能となったため、排卵障害の診断—治療学は飛躍的に発展した。治療面での進展は、従来から用いられている合成エストロジェン剤、hMG 製剤などの排卵誘発剤に加えて、最近、ドーパミン作働薬、LH-RH 製剤、FSH 製剤の利用が可能になったことによりもたらされ、なかでも、ドーパミン作働薬の出現により、高プロラクチン血症性排卵障害の治療法は確立されたといえる。

ところで、クロミフェン療法が無効で、さらに hMG-hCG 療法にさえも抵抗性を示す重症排卵障害として、原発性の視床下部性無排卵症 (IGD: isolated gonadotropin deficiency)、早発卵巣不全症 (POF: premature ovarian failure) などが存在する。このうち原発性の視床下部性無排卵症の原因は、先天性の視床下部 Gn-RH 分泌不全であることが明かにされ、視床下部の生理的な Gn-RH 分泌動態を模倣した、極めて合理的な、LH-RH 製剤の律動的持続投与方法が開発され、効率的で、しかも経済的にも優れた排卵誘発治療が可能となった。一方、早発卵巣不全症は、ほとんどの症例の成因が不明であるため、的確な原因治療法が未確立であり、現在、最もやっかいな重症排卵障害として、成因の究明、効果的な治療法が模索されている。従ってここでは、原発性視床下部性無排卵症、ならびに早発卵巣不全症における内分泌動態とその対策の現況について述べる。

## 特別講演 2

## 微小穿刺法による生殖管内アンドロジェン微小環境の解明

名古屋大学泌尿器科助手

山本 雅 憲

精細管及び精巣上体管内のアンドロジェン微小環境の維持機構に関し、生殖管周囲及び、生殖管内微小かん流法と微小穿刺法の組み合わせにより、その解明を試みた。いくつかの実験シリーズにより、経上皮性の生殖管内へのアンドロジェン移行のしくみは、精巣と精巣上体とは基本的に異っており、前者では拡散現象により説明されるが、後者では管内 ABP (Androgen Binding Protein)により制御されていることが示唆された。次に、精巣上体頭部における間質から管内へのアンドロジェン移行が ABP に依存することを検証する目的で、下垂体摘除ラットを用いて、経上皮性アンドロジェン移行を調べた。下垂体摘除後 10 日目に、アンドロジェン移行は有意に減少した。一方、下垂体摘除ラットに FSH あるいは LH を補充すると、アンドロジェンの管内移行は、正常値に復した。更に、精製した ABP を含む溶液で精巣上体頭部の管腔内をかん流すると、アンドロジェンの摂取が有意に増大することが *in vitro* の実験で示された。しかし精巣上体頭部におけるアンドロジェン移行を制御する因子として、ABP 以外に能動輸送の関与も考えられる為、DNP のような代謝阻害剤をかん流液に加えてアンドロジェン移行を調べてみた。その結果、組織 ATP 濃度の有意な低下と同時に、アンドロジェン移行の阻害作用が認められた。しかしかん流液中の DNP は、管内 ABP 濃度に影響を及ぼさなかった。以上の結果から DNP によるアンドロジェン移行阻害作用は細胞内蛋白合成阻害を介するものと考えられた。細胞内蛋白とアンドロジェンとの相互作用は不明であるが、管内 ABP が精巣上体頭部におけるアンドロジェン移行に必要な因子であることは明らかと思われる。

## 特別講演 3

## 哺乳動物生殖系列細胞核の全能性と多能性

近畿大学農学部畜産学教授

角 田 幸 雄

哺乳動物の初期発生は、精子と卵子が受精することによって開始され、有糸分裂をくり返して細胞数を増加させながら1個の個体を形成するために整合性を保ちつつ分化していく。すなわち、受精卵は定まった周期で2細胞、4細胞へと分裂し、胚盤胞期に達して将来胎子となる内細胞塊と胎子胎盤を形成する栄養外胚葉へと初めて分化する。内細胞塊は、さらに原始外胚葉と原始内胚葉とに分化し、前者から胎子本体が、後者からは主として胎膜が形成される。着床後、前者は内胚葉、外胚葉、中胚葉へと分化し、それぞれの胚葉から種々の器官が形成され、個体として分娩された後成熟、老化し死に至る。同時に生殖細胞が出現するが、これは減数分裂(卵子形成あるいは精子形成)をへて半数体の精子や卵子を形成し次代へ遺伝形質を伝えていく唯一の「不死」の細胞群であり、このつながりが生殖系列(germline)と称されている。

このような哺乳動物の発生過程においては、本来もっている遺伝子を全て温存しながら必要な遺伝子が順次発現することによって分化が生じるのか、それとも他の遺伝子を切り捨て失うことによって進んでいくのかは明らかでなく、生物学上の最も大きな命題の一つと考えられる。すなわち、発生過程のどの時期まで細胞核は多能性(キメラの形成能力)や全能性(個体への発生能力)を維持しているのか。この解明は、学問上新しい知見を提供するだけでなく、実用的にもクローンやコピー家畜類の作出に直結することから、最近注目を集めている新しい研究課題である。

# シンポジウム

『配偶子および初期胚異常の成因をめぐって』

## シンポジウム 「配偶子および初期胚異常の成因をめぐって」

## 1. ヒト精巣上体精子の妊孕能

東邦大学泌尿器科

三浦一陽

同 第二解剖学

岡田詔子

男性不妊症のうち、精路通過障害症例（先天性精管欠損、鼠径ヘルニア手術時の精管結紮、精巣上体炎後の閉塞、原因不明の精管狭窄、精囊奇形例等）は自験例全例の3.2%と高率に発生している。我々は、そのような症例のうち精管精管吻合の不可能な症例に、何らかの方法で、精巣上体から精子を採取し、人工授精できないものかと考え、種々検討した結果、シリコン製人工精液瘤用プロステシスを作製し、精巣上体に造設して精子の回収に成功した。また回収精子により1985年と1987年に妊娠と出産に成功した2症例を経験している。一方、牛などの動物実験では、精巣上体から採取した精子の妊孕能は知られているが、ヒトの精巣上体の精子での妊孕能は、簡単に採取できないので少数例の報告に過ぎない。そこで我々は、精路閉塞症例に対し、人工精液瘤用プロステシスを造設する時や、その後の回収精子を用いてヒト精巣上体精子の妊孕能について検討した。

精巣上体からの手術時の精子の採取、あるいは人工精液瘤からの回収精子がごく微量の場合は、兼子らのpercollクッション法を用いて洗浄した後、swim up spermを回収した。これら回収精子の妊孕能の判定はハムスターテスト、physiologic acrosome reacted sperm (PIとPSAレクチンの蛍光染色；陰性)の判定(Centolaら、1990年)、Crossらの方法によるヒト精子抗体によるacrosome reactionの判定、hypo-osmotic swelling test、さらにflow cytometryによるphysiologic acrosome reacted sperm(PIとPSAラベル)の分布の自動解析等によった。また精巣上体より採取した精子のみでなく、乏精子症症例の精子ならびに正常男性の精子についても同様の分析を施行し、比較検討したので報告する。

## 2. 精漿と妊孕能

聖マリアンナ医科大学泌尿器科

岩本 晃明

精漿が精子に対して悪玉として働くのかあるいは善玉として働くのかあるいは両方の働きを持っていることが大事なのか今のところ不明である。

演者は Gagnon らが見つけた精漿中に存在する精子運動抑制因子 (Seminal Plasma Motility Inhibitor 以下 SPMI) を精製分離しその性質の一部を明らかにした。ヒト SPMI は分子量 18-22 K で一つのポリペプチドからなる蛋白である。この SPMI は調べられたすべての哺乳類精漿中に存在しヒトおよびブタでは精囊上皮細胞から分泌されている。従来分割射精の後半分画では精子の運動が不良であると言われている。後半は精囊からのものが主体であることから精囊よりの分泌液中に精子の運動を障害する因子が存在するのではと考えられておりこの SPMI が障害因子の一つであると思われる。SPMI の作用機序は SPMI が精子の運動に重要なダイニン腕に存在する dynein ATPase を抑制することからダイニン腕の機能を障害することにより精子の運動をブロックすると考えている。SPMI は活発に運動する正常精子の運動を抑制しその濃度は除膜精子の運動をブロックするのに必要な SPMI 濃度の 1600 倍を要した。このことは精子細胞膜が SPMI の侵入を防いでいると思われる。そこで精子運動が不良ないわゆる精子無力症患者の精漿中 SPMI 濃度を測定し精子運動率との関係をみたところ相関を認めなかった。一方 Gagnon らは運動不良な精子の細胞抽出液 (Sperm extract) に精子の運動を抑制する因子が含まれていることを観察している。

精漿中に存在する SPMI の生理学的意義は今のところ不明である。上記のデータは SPMI が精子の運動に対して悪玉として働いているようである。しかし見方をかえると SPMI が侵入しやすいような障害のある精子をセレクトする善玉的な役割を果たしている可能性もある。

### 3. 精子および卵子の細胞遺伝学的解析

名古屋市立大学産科婦人科

岡田 節 男

ヒトの妊娠初期自然流産のうち約半数は胎児の染色体異常が原因と考えられている。また着床周辺期では臨床的に認められる流産より高頻度に初期胚淘汰が起こっており、その原因の一つとして初期胚における染色体異常の関与が推測されている。これら染色体異常は、配偶子形成期から受精をへて初期卵割期に至る間に染色体の不分離や切断、多精子受精などが起こることにより新たに生成される。したがって配偶子および初期胚の細胞遺伝学的解析はヒトの初期胚淘汰の原因究明や染色体異常生成機序を解明する上で重要な意義を持つ。一方、最近の体外受精・胚移植の臨床応用や技術的進歩により、動物モデルによらず直接ヒトの配偶子や初期胚から細胞遺伝学的知見が得られるようになった。これにより初期胚淘汰と染色体異常との関わりや配偶子および初期胚に対する種々な外的因子の細胞遺伝学的影響について詳細な検討が可能となった。今回はヒト精子および卵子を用いた以下の解析結果について報告する。1) ヒト精子については透明帯除去ハムスター卵とヒト精子との受精現象を応用した方法を用い精子提供者の同意のもとに染色体分析を行った。健常者の精子において、散発性の染色体異常出現率は平均10%であり、そのなかで構造的異常は数的異常に比べ高率であった。また精子に対する凍結保存の細胞遺伝学的影響について検討したところ、その影響は軽微なことが推測された。さらに均衡型転座保因者の精子において、転座に由来する染色体異常出現率を検討し、転座保因者の反復流産、染色体異常児出生との関わりについて生殖細胞レベルでの知見が得られた。2) ヒト卵子については体外受精・胚移植過程における余剰未受精卵を対象として患者の同意のもとに染色体分析を行った。染色体異常は24%に認められヒト精子に比べ高率であった。さらにこれら染色体異常と母体加齢、排卵誘発との関係について検討を行った。

#### 4. 卵子と環境因子—加齢との関連

名古屋大学産婦人科

菅 沼 信 彦

[目的]近年、不妊症治療技術の進歩により、より多くの夫婦が妊娠に成功し、健康な生児を得ることが可能となった。しかしながら高齢者においては排卵誘発が困難であったり、異常児の発生率が高くなるなど、多くの問題を残している。我々はこの卵子および卵巣の老化という点に着目し、細胞内のエネルギー産生源として重要なミトコンドリアにおける遺伝子異常と、卵巣の加齢との関連について検討した。[方法]胎児期より性成熟期・閉経期・老年期にいたる各年齢層の卵巣組織を、人工妊娠中絶の胎児から、あるいは開腹手術時に患者の同意を得てその一部を採取した。同時に腹直筋の一部も同一患者より得た。これらの組織よりDNAを抽出し、等量のDNAを用い polymerase chain reaction (PCR) 法によりミトコンドリアDNA (mtDNA) の各部位を増幅した。アガロース・ゲル電気泳動法により、増幅されたDNA断片の大きさを明らかにし、mtDNA欠損の発生の有無を調べた。[結果]AndersonらによるmtDNAの塩基番号16,411より1,380(非翻訳領域および12S rRNA領域を含む)を増幅したところ、すべての検体より1.5 kbのバンドがほぼ等量に得られた。すなわち、検体中にほぼ等量のmtDNAが存在することが明らかとなった。塩基番号8,201より13,650(ATPase 6およびcytochrome b領域を含む)を増幅すると、閉経期前後より老年期の卵巣では欠失をもったmtDNAに由来する0.5 kbのバンドが出現したが、若年層では認められなかった。この結果より、閉経期前後からこの領域のmtDNAに5.0 kbの欠損が生ずると考えられた。さらに同一症例の腹直筋DNAからは、この0.5 kbのDNA断片が若年例からも認められた。すなわち腹直筋では、この領域のmtDNAの欠損が卵巣より早期に起こるが、卵巣においては閉経前後に急激にmtDNAの変異が発生するものと思われた。[結論]卵子の環境因子としての卵巣の老化が、mtDNAの変異と関連する可能性が示唆された。

シンポジウム 「配偶子および初期胚異常の成因をめぐって」

## 5. 受精卵染色体異常の発現のメカニズム

山形大学産科婦人科

佐藤文彦

初期胚の異常は結果的に初期流産という形で現れることが多い。流産物の染色体異常の頻度は50%前後であり、初期流産には染色体異常が大きく関与している。

受精卵の染色体異常は自然発生によるもので、防げないのか、環境因子の影響によるものも含まれ、減少できるものであろうか。この点を染色体異常のなかでも受精時に引き起こされやすく、染色体異常のなかで20%前後を占める、polyploidyの頻度とその成因を雌雄由来の違いにより検討した。また、排卵期以前の卵胞期ですでに卵子に影響が及び、流産を引き起こす可能性も示唆されているが、この点を卵胞期の血清LH濃度の違いにより検討した。

体外受精周期において、卵胞期中期でLH値が高値の周期では妊娠率は低下しないが、流産率が増加していた。

体外受精周期205周期で検討を加えたところ、polyploidyの卵子が採卵周期あたり22.4%、受精卵あたり10.4%認められた。polyploidyの認められた周期では採卵までに要した総hMG量が有意に多く、採取時の精液運動率が高かった。

マウス体外受精卵を使つての検討によつても同様な傾向であり、媒精精子濃度が増加した場合には雄性由来のpolyploidyが増加し、PMS使用量の多い場合には前核放出障害である雌性由来によるpolyploidyが増加した。

受精のタイミングにおいても排卵後、時間の経過した場合にはpolyploidyの頻度が増加した。このpolyploidyの増加は雌性由来のものが多かった。

このように割合は高くないものの、環境因子により引き起こされる染色体異常は存在するものと思われる。これらの因子の改善により、わずかでも染色体異常を減らしていくことが流産率の減少にもつながるものと思われる。

# ワークショップ

『生殖医学の新しい展開』

## ワークショップ1 「生殖免疫の最近の知見」

## 1) 配偶子の免疫

兵庫医科大学産科婦人科

香山 浩 二, 長谷川 昭 子  
山崎 則 行, 磯 島 晋 三

生殖免疫の中でも配偶子に関する研究が最も古く、精子免疫による抗精子抗体の産生と受胎障害の観察が端緒となった。以来、同種及び自己精子免疫による不妊発症機序の解明と共に、その免疫誘導の原因となる精子特異抗原の分析が進められ、最近では分子生物学的手法の導入により、ヒト (SP-10)、ラビット (RSA-1)、モルモット (PH-20) などの受精に強く関与する精子特異抗原の遺伝子クローニングが行われている。他方、卵巣免疫によって誘導される抗卵抗体の受精阻害作用が注目され、卵抗原の中でも特に自己免疫原性の強い透明帯 (ZP) 抗原の分析が進められている。抗精子及び抗 ZP 抗体による受精阻害機序の解明は、単に受精現象に与る精子や卵成分の分子レベルでの解析に貢献するだけでなく精子又は ZP 抗原を用いた避妊ワクチンの開発にもつながる大変重要な研究課題となっている。

本講演では、主に ZP 抗原による避妊ワクチンの開発という観点から ZP 抗原の生化学的分析について述べる。ZP は卵細胞を含むゼリー状の物質で、受精に際し種の認識、多精子受精の阻止、受精卵の保護といった生殖生理学上大変重要な役割を担っており、抗 ZP 抗体により受精が強く阻害される。ヒト ZP と強い抗原交叉性を示すブタ ZP は、4つの糖蛋白質群 (ZP1, ZP2, ZP3, ZP4) から構成され、ZP4 (23 K) に対して作製した単一クローン抗体 (MAb-5H4) はヒト精子の ZP への結合を強く阻害した。MAb-5H4 は脱糖 ZP4 (16 K) 及び ZP4 の蛋白分解ペプチド断片 (7 K) とも強く反応することが解ったので、その認識エピトープの構造決定を行う為、7 K ペプチドの N 末端アミノ酸配列 (40 個) を決め、部分ペプチドを合成してその免疫原性及び抗原性を検討した。更に、N 及び C 末端アミノ酸配列 (8 個) に対するオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして PCR 手法を用いてブタ卵巣 cDNA の増幅、クローニングを行い、ZP4cDNA (123Pb) の分離に成功した。

## ワークショップ1 「生殖免疫の最近の知見」

## 2) 子宮内膜の免疫

京都大学婦人科産科

神崎 秀陽

子宮内膜は多種の細胞から成る複雑な構築の組織であり、その機能、特に妊娠維持に果たす免疫学的役割が注目されてきた。従来、妊娠時には子宮内膜間質細胞が卵巣性ステロイドの影響下に分化した組織である脱落膜が胎児抗原を母体免疫細胞から遮断して拒絶反応を防いでいるという仮説が立てられていた。しかし近年、正常に推移している妊娠では母体の免疫系が胎児抗原を認識して主要組織適合抗原系を含む各種の移植抗原に対する抗体産生が起こっているという事実が明らかとなり、このような母体の免疫応答が低下している場合に流産することも知られてきた。すなわち胎児の持つ父親由来の抗原に対して母体免疫系の応答があることが妊娠の維持、胎児発育に重要であるという通常の臓器移植の概念と矛盾する状況が誘導されている。このような特異な免疫寛容状態を理解するため母児接点にある子宮内膜（脱落膜）組織内に分布する免疫細胞の状態についての研究が進められ、局所にはナチュラルキラー細胞類似のリンパ球が高頻度に分布していることが明らかとなり、これらの表面抗原やサイトカインレセプター解析から非常に興味深い所見が得られつつある。他方、子宮内膜からは胎児（胎盤）の発育を促進する免疫サイトカインが分泌されていることも知られてきており、特に多様な生物活性を持つ colony stimulating factor (CSF)が注目されている。さらに最近、子宮内膜細胞の分化（脱落膜化）にも免疫細胞の分泌するサイトカインが影響しているということも分ってきた。これらの所見は、子宮内膜において内分泌系と免疫系の密接な連携の上に妊娠が成立、維持されていることを示唆している。子宮局所における免疫細胞の解析、免疫サイトカインと胎盤発育、内膜細胞の分化との関連などについて、我々の研究成果を含めこの領域での最新の知見をとりまとめて報告する。

## ワークショップ1 「生殖免疫の最近の知見」

## 3) 流産の免疫

名古屋市立大学産科婦人科

青木 耕治

流産の原因は偶発的因子と必然的因子のふたつに分けられる。流産の中でも反復流産の原因については、この必然的因子によるものが、多く存在していると考えられる。しかし、1970年代までは反復流産の多くが原因不明のままであり、効果的な流産予防治療法もなく、あまり注目されることがない疾病であった。また、反復流産は無治療においても、ある程度自然治癒率が得られることより、一部の産科医は反復流産患者の取り扱いについて、一種の虚無主義に陥っていたのも事実であろう。

ところが、1980年代において、生殖免疫学の進歩により、従来の諸検査では原因不明な反復流産の中に、相当の割合で免疫学的な誘因による反復流産が存在するであろうことが明らかにされてきた。生殖免疫学的視点より妊娠現象を捕えてみると、胎児は母体にとって免疫学的異物であり、基本的には拒絶されるべきものであるにもかかわらず、多くの妊娠現象は維持されている。このからくりのひとつとして、免疫学的妊娠維持機構の存在が明らかにされつつあり、同時にその破綻現象としての反復流産の存在が注目されてきたわけである。

現在では、反復流産の誘因としての免疫学的破綻現象の機序として、主に以下の2つが考えられている。

(1) 「胎児抗原に対する母体の免疫応答不全」による拒絶反応を抑制する因子 (blocking factors) の産生不全。

(2) 「自己抗原に対する母体の免疫応答異常」による microthrombosis の原因としての抗リン脂質抗体の異常産生。

我々は、(1) に対して、夫リンパ球皮内接種療法など、(2) に対して、prednisolone+aspirin療法などを施行中であり、かなり良好な成績を得ているので、この詳細について報告する。

## ワークショップ 2 「不妊と最近の感染症」

## 1) 男性不妊と感染症

神戸大学泌尿器科

岡田 弘

男性不妊と感染症の関連は精路通過障害をきたす精巣上体炎（結核性，非結核性）の場合を除いて不明な点が多い。しかしながら，細菌性前立腺炎や膿精液症の患者に抗生剤や消炎剤を投与するとハムスターテストの結果が改善し妊娠が成立することを臨床の場では時に経験する。このメカニズムを解明するために以下の点について検討を加えた。

- ①精液中の病原微生物の分離について，従来報告されているように精液培養は中央検査部に提出されても陰性の場合が多いため，我々はパーコールの不連続密度勾配により精液を5層に分けて検討した結果，中央検査部で精液培養陰性であった50例の特発性男子不妊症患者のうち14例より細菌またはマイコプラズマを検出した。またこれらはすべて1.09より軽い層より分離された。
- ②精液中の白血球について，精液中のround cellのうち白血球をimmature cellと区別しさらにそのsubpopulationをしらべるためにモノクローナル抗体を用いて検討した結果，正常対照に比して特発性男子不妊症患者精液中にはモノサイト/マクロファージ系とTリンパ球系の細胞が有意に多かった。このことは，男子不妊症にはBRMが関与している可能性を示唆するものであった。
- ③BRMの精子にたいする影響を調べるために，IFN- $\alpha$ ，IFN- $\beta$ ，IFN- $\gamma$ ，IL-1，IL-2およびTNF- $\alpha$ をin vitroで作用させた結果，IFN- $\gamma$ とTNF- $\alpha$ が精子運動率を低下させた。実際の精液中BRM濃度の測定結果もあわせて報告する。
- ④さらに顆粒球の産生するスーパーオキシドがin vitroで精子運動障害性に作用することが明らかになっている。特発性男子不妊症患者精液中の顆粒球のスーパーオキシド産生能についても報告する予定である。

## ワークショップ2 「不妊と最近の感染症」

## 2) 膿精液症—多核白血球による精子運動性障害—

東北大学泌尿器科

前原 郁夫, 折笠 精一

【膿精液症】精液中には精子以外に尿路や副性器由来の細胞, immature germ cell, 白血球などが出現する。膿精液症とは精液中に一定数以上の白血球を認める病態であり, 副性器の炎症の存在を意味する。白血球は主に前立腺に由来すると思われる, 難治性の慢性前立腺炎が原因と考えられるが, 病原微生物の同定は必ずしも容易ではない。患者精液には多核白血球, リンパ球, マクロファージが出現する。多核白血球が主体であることが多く, このような症例では精漿中の elastase (ライソゾーム酵素) が高値を示す。膿精液症患者では精子運動性が低下しているとの報告や sperm penetration assay や IVF-ET の成績が不良であるとの報告から, 膿精液症は不妊症の一因であると考えている。

【多核白血球による精子運動性障害】膿精液症で受精能が低下する機序としては, 1) 多核白血球が産生する活性酸素やライソゾーム酵素, リンパ球やマクロファージの産生する cytokine による障害, 2) 病原微生物による直接的作用, 3) 副性器機能の低下による影響などがあげられる。この中で我々は多核白血球による精子運動性障害について検討を行ってきた。その結果, 精液に末梢血多核白血球を添加した場合, あるいは elastase を添加した場合に精子運動性が低下することが明らかとなり本学会において報告した。

今回は, 1) 精子浮遊液に末梢血多核白血球 (未処理のもの と opsonized zymosan で刺激したもの) を添加したときの精子運動性を運動能分析装置 (Hamilton-Thorn 社製 Motility Analyzer HTM-2030) を用いて測定し, 頸管粘液貫通能 (Penetrak 値) の結果と合わせて報告する。2) さらに, 生存精子あるいは死滅精子が抗体の付着や補体の活性化を介して多核白血球を刺激し得るか, について検討を加える。

ワークショップ2 「不妊と最近の感染症」

### 3) 女性不妊と感染症

京都府立医科大学産婦人科

保田仁介

女性不妊の原因としての感染症では骨盤内感染症が最も重要であり、PID 起炎菌としては多くのものがあるが現在重要なものはSTDの原因として知られるクラジミアと淋菌、そして好気性菌および嫌気性菌の混合感染である。

若年者におけるクラジミア感染症はそのクラジミア検出検査法が簡易にそして鋭敏になったことや抗体検査などをあわせることによって骨盤内感染症としてより早期に診断され治療されるようになってきているが、症状の弱いことから十分な治療を受けていない例や、通常の細菌感染として投薬を受けクラジミアが消失していない例や、STDとしての疾患の性格上再感染を繰り返しているものもあり、これらの若年者での内性器の障害が懸念される。

不妊患者のなかで卵管になんらかの障害を有するものでクラジミア抗体価が高いことはよく知られており、クラジミアの卵管障害への意義は淋菌感染症などと同様に大きいと考えられるが、一方細菌やクラジミアなどの感染症による子宮内膜障害も不妊の原因と関係するとも考えられ、我々はこの点もあわせて不妊と感染症の意義について検討している。

## ワークショップ2 「不妊と最近の感染症」

## 4) パーコール法による細菌の分離と AIH

立川共済病院産婦人科

佐藤博久

精液中には好気性菌や嫌気性菌など種々の細菌が混在しており、一部には病原性を有する菌種も存在する。不妊症の治療としての AIH や GIFT において、精子を子宮内や卵管内に注入する際、細菌の混入により骨盤内感染を起こす可能性がある。Percoll 法により、精液を処理した時の細菌の分離と AIH について検討した。

多層 Percoll 法による洗浄は、85%～43% Percoll (6% Step) 各 0.8 ml を滅菌スピッツに層積し、8段階の不連続密度勾配を作成して、精液を重層し、250×g、25分間遠心分離を行なった。

各分画は、管底より順次無菌的に回収し、細菌の同定及び菌数の測定を行なった。上部の層からは Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus, Bacteroides, Eubacterium, Veillonella 等の菌が検出されたが、菌数は下層では著しく減少し、85%の層ではほぼ無菌状態であった。

多層 Percoll 法は精液中の細菌や精漿を除去し、選択的に運動精子を回収できる。しかし手技が複雑であり、簡便化した Percoll 攪拌密度勾配法を用いて、精子を洗浄濃縮し AIH に応用してきた。精液を 80% Percoll に層積し、精液層と Percoll 層の上半分を数回攪拌し、密度勾配を作成し、400×g、30分間遠心分離した。本法では、細菌と数%の精漿の混入があるが、80% Percoll 中に抗生物質 (ABPC, LMOX, 各 10μg/ml) を添加することにより沈殿中の培養検査では細菌は検出されなかった。精子減少症、精子無力症、頸管因子そして機能性不妊の適応で延べ 640 周期に AIH を施行したが、採精後感染の症例はみられなかった。

精液中の細菌の除去には、多層 Percoll 法により、ほぼ無菌的な精子の回収が可能であるが、AIH に応用する場合、攪拌密度勾配法でも抗生剤を添加することで細菌の除去に有用である。

## ワークショップ3 「乏精子症・精子無力症の治療」

## 1) 薬物療法について

札幌医科大学泌尿器科

丸 田 浩

近年の産婦人科領域における不妊症治療の進歩は目覚しく、GIFT や IVF-ET など新しい治療法が導入され、これまで妊娠を望めなかった婦人にも新たな希望がもたらされつつある。

これに対して男子不妊症では精索静脈瘤によるものなど一部の症例を除いて、その治療成績は不良であり、ことに特発性乏精子症の薬物による治療は大きな困難に直面しているのが現状である。

これは男子不妊症の大半を原因不明の特発性が占めていて、病因に応じた治療が行ないにくいこともあるが、現在の男子不妊症の薬物治療が手近にある治療薬を闇雲に投与しているという側面のあることも否定できない。またこれまで臨床で使用されている治療薬、ことに非ホルモン剤のほとんどが、control をおいた比較試験で薬効を厳密に検討していないということも無視できない点である。

そこで今回のワークショップでは、最近多施設で行なわれた Vitamine B<sub>12</sub> (メチコバル) 及び Kalligenogenase (カリクレイン) を特発性男子不妊症に投与した比較試験の結果をもとに、男子不妊症治療における二重盲検試験の意義について報告する。

またホルモン剤である HCG, HMG, クロミフェンおよび aromatase inhibitor である Testolactone を男子不妊症に投与した自験結果から、非ホルモン、ホルモン剤が各々どのような病態に効果が期待できるかという点について検討した結果を報告する。

### ワークショップ 3 「乏精子症・精子無力症の治療」

## 2) 精索静脈瘤との関係について

帝京大学市原病院泌尿器科

伊藤 晴夫

精索静脈瘤は男子不妊症の原因として知られている。これに対しては種々の手術法があり、また、経皮的塞栓術も行なわれている。しかし、術後、静脈瘤が持続する、ないし、再発することも多い。そこで、精索静脈瘤の持続あるいは再発を来さない新しい方法を考案した。この術式により手術を行ない、術後再発率および精液所見の変化、妊娠率を調べた。

#### 対象と方法

対象は男性不妊主訴患者 36 例、その他の主訴の患者 15 例、計 51 例である。方法は外ソケイ輪より 5 mm 下方で斜切開を加え、精索を剥離する。顕微鏡下に精巣動脈と可及的に精巣挙筋動脈および精管動脈を残し、精管以外の静脈すべてを結紮切断する。

#### 結果と考察

全例で精索静脈瘤の消失が見られた。また 6 ヶ月以上経過観察した例での妊娠率は 35 %であった。われわれの術式による手術により全例で術後精索静脈瘤は消失し、再発も見られていないので、本法は精索静脈瘤の治療による造精機能障害の改善について検討するのに良い方法と思われる。精索静脈瘤の成因および造精機能を障害する機序についても言及する。

## ワークショップ3 「乏精子症・精子無力症の治療」

3)  $\alpha$ -ブロッカー療法

岡山赤十字病院泌尿器科	大橋輝久
落合病院泌尿器科	山下良孝
岡山大学泌尿器科	山根享
	大枝忠史
	大森弘之

[目的] 精細管、精巣上体管には交感神経が分布しており、精子の輸送に関与しているとの実験報告がみられる。我々は基礎的検討として、精巣および副性器各部の  $\alpha_1$ -receptor を測定し、さらに臨床的検討として、特発性男性不妊に対して  $\alpha_1$ -blocker 療法をおこなったので報告する。

[対象, 方法] 基礎的検討材料は前立腺癌患者他 62 例において手術の際得られた精巣、精巣上体、精管および前立腺を用いた。 $\alpha_1$ -receptor 測定は摘出材料より粗細胞膜分画を取り出し、 $^3\text{H}$ -bunazocin を ligand として、また B/F 分離は glass-fiber filter を用いた radioreceptor assay による。

臨床的検討の対象は特発性男性不妊 30 例 (無精子症: 4 例, 乏精子症: 15 例, subfertile: 11 例, 運動率 50% 未満: 26 例, 50% 以上 4 例) であり、塩酸 bunazocin (商品名 Detantol) 3 mg を連日 12 週から 24 週 3 分服させて 12 週後, 24 週後に評価した。

[成績および考察]  $\alpha_1$ -receptor の最大結合部位数 ( $B_{\max}$ ) に関して、精巣上体、精管、前立腺が各々 17, 28, 29 fmol/mg p. と高値を示したのに対して精巣は 2 fmol/mg p. と非常に低値であった。精巣をさらに精巣近位部、Rete 部、精細管にわけて検討すると、精細管、Rete 部、近位部の順に高値を示した。

次に臨床的結果に関してであるが、精子濃度改善度は 12 週 23.3%, 24 週 27.3%, 運動率改善度、12 週 30.0%, 24 週 50.0% であり、全般改善度は 12 週 33.3%, 24 週 40.9% であった。なお無精子症 4 例で精子の出現は認められなかった。また治療前精子濃度  $10 \times 10^6 / \text{ml}$  以上、運動率 20% 以上群で奏効率が高く、逆に治療前 LH, FSH 濃度高値群, JSC 低値群に低下を認めた。以上より、 $\alpha_1$ -blocker 療法は精子形成障害が軽度の症例に適応があると考えられた。

なお mast cell blocker 療法についても言及する予定である。

## ワークショップ 3 「乏精子症・精子無力症の治療」

## 4) 精巣上体精子の応用

富山医科薬科大学泌尿器科

寺田 為義

〈はじめに〉精巣上体精子を利用するという治療法には、閉塞性無精子症に対する精管精巣上体管吻合及び人工精液嚢造設→精子採取→人工授精という方法がこれまで行なわれてきた。しかしこれらの方法はいくつかの欠点を有しており、これらに代わる方法として精巣上体精子吸引法に着目した。今回はその成績を中心に報告する。

〈対象と方法〉対象患者は閉塞性無精子症 5 例、高度乏精子症 1 例、膿精液精子無力症 4 例である。計 10 例に対し 13 回の手術操作を行った。

腰椎麻酔下に陰嚢を切開、陰嚢内容を脱転した後、手術用顕微鏡下に精巣上体被膜を切開、精巣上体管を露出し、穿刺吸引又は小切開を加え流出液を吸引する。採取された精子は患者血清加 Ham-F10 液中にて 4 - 6 時間の前培養後体外受精に供した。

〈結果〉精子採取率；無精子症 5 例 7 件の手術ではすべてで採取に成功した。乏精子症、膿精液の 5 例 6 件の手術では 1 件で採取に失敗した。都合 92 % の採取成功率であった。

採取精子の状況； $32 \times 10^4 \sim 76 \times 10^6$  の精子を得た。精子運動率は 2 ~ 82 % であった。精子前進運動性は 12 件中 8 件でかなり良好であった。

受精率；全く受精のみられなかったものが 5 件あったが、他は 17 ~ 80 % の受精率であった。

妊娠；鼠径ヘルニア手術後の閉塞性無精子症例の 2 回目の手術において妊娠が成立し、本年 10 月出産予定である。この症例での体外受精は前核胚卵管内移植法 (ZIFT) で行った。

以上の成績の報告とともに閉塞性無精子症以外の症例に対する本法の応用、採取法の工夫などにつき発表の予定である。

## ワークショップ4 「不妊と卵管—新しいアプローチ」

## 1) 経子宮腔的卵管疎通障害の治療

日本大学産婦人科

長田 尚夫

卵管は、子宮腔より卵管子宮口を通じて卵管采に終る細長い管腔臓器であり、卵管粘液を卵管腔に分泌し受精ならびに受精卵の発育培地としての役割を演じる一方、卵巢から排出された卵子の摂取や線毛運動や蠕動運動による受精卵の子宮腔への移送といった輸送機能も持っている。この卵管の疎通異常による卵管性不妊の頻度は、当院で行なった子宮卵管造影検査 2368 例のうち 263 例 11% であり、卵管閉塞が、161 例 61% であった。卵管閉塞の部位は、間質部が 132 例 50.2% と最も多い。これら卵管閉塞例が経子宮腔的卵管形成術の適応となる。われわれは、家兎ではあるが卵管粘液の動態や実験的卵管留症や人工卵管における粘膜上皮の再生増殖を認めているが、ヒトにおいても卵管粘膜上皮細胞の再生増殖が行なわれるものと考え、以下の経子宮腔的卵管再疎通術（子宮鏡下卵管形成術）を行っている。選択的卵管造影は、細径フレキシブル子宮鏡を用いて直接卵管造影を行なう方法であり、子宮鏡下卵管形成術は、心血管拡張用の PTCA バルーンカテーテルを子宮鏡下に卵管内に挿入、色素水（造影剤）の強い注入圧によって閉塞卵管を再疎通させ、さらに閉塞部卵管腔をバルーンによって拡張する方法である。この 10 年間に、子宮卵管造影法によって卵管閉塞と診断された症例 219 例に選択的卵管造影を施行し、卵管疎通圧 300 mmHg 以下で、89 例 (40.6%) に卵管の疎通性を認め、更に子宮鏡下卵管形成術を 96 例に施行し 32 例 (33.3%) に卵管の再疎通を認めた。これら子宮鏡下卵管形成術によって疎通性が得られた 89 症例の予後は、32 例 35.9% に妊娠を認めている。子宮外妊娠例は、経験していない。以上の結果、経子宮腔的に行なう子宮鏡下卵管形成術によって疎通性が得られた卵管は、粘膜上皮の再生増殖が行なわれているものと推測され、本法の卵管不妊の治療法としての意義を認める。

## ワークショップ4 「不妊と卵管—新しいアプローチ」

## 2) 子宮鏡下卵管内人工授精法 (HIT 法)

慶應義塾大学産婦人科

杉村和男

AIH, AID 等の人工授精法を頻回行っても妊娠の成立しない、難治性の不妊症症例の取扱は、不妊症の臨床を行う者にとって、常に悩まされる問題である。AIH 等の人工授精法で妊娠が成立する場合、5～6回目ぐらいまでの授精で妊娠する例が多く、10回前後人工授精を行っても妊娠に至らない症例は、それ以上回数を重ねても妊娠率は非常に低値である。その様な不妊の症例に対し、体外受精・胚移植法 (IVF・ET)、または GIFT 法を行うという治療方針をとる場合もあるが、排卵誘発を行う必要上、長期の通院が必要である点、また未だに健康保険の適応となっていないため、高額のコストがかかる点等より、すぐには希望されない例も多い。また、AID の症例では体外受精・胚移植法 (IVF・ET) を行うという社会的同意が未だに得られていない。そこで頻回の AIH, AID 不成功例 (原則として 10 回以上) に対し、現在我々は子宮鏡を用いて子宮腔内の観察を行い、直視下に卵管口へチューブを挿入して直接卵管内へ精子を注入する、子宮鏡下卵管内人工授精法 (Hysteroscopic insemination into tube, HIT 法) の臨床応用を行っている。また、高度の乏精子症の症例や、AID の症例の一部で、冷凍保存精子を用いた HIT 法も行っている。平成 3 年 6 月現在 HIT 法による 26 例の妊娠例を得ており、そのうちの AID-HIT の 2 例、および AIH-HIT の 1 例は、精子冷凍保存法を応用した妊娠例であった。今回はこれらの妊娠例も含め、現在我々がやっている HIT 法の特に方法に関し、報告したいと思う。

## ワークショップ4 「不妊と卵管—新しいアプローチ」

## 3) 経子宮腔的卵管内視鏡

藤田保健衛生大学産婦人科

澤田 富夫

女性不妊の最大の原因は卵管障害であり、28.7%の高率を占めている。卵管障害の器質的、機能的診断方法は現在卵管通気法、HSG、腹腔鏡が主たるものであるが、これらの検査法では卵管疎通性の有無と卵管の外見の状態を判定するのみで、卵管内腔やその上皮 (endosalpinx) を評価することは不可能であった。この解決策として卵管内視鏡が開発され1985年には直径1.8mm (OLYMPUS社製) 内視鏡が作製され卵管采から挿入し内腔の状態が観察可能となった。卵管采からのアプローチでは腹腔鏡を併用せざるを得ず、またUTJ (utero tubal junction) や峽部の観察が困難なため、経子宮腔的にアプローチする方法が考案された。1989年には0.8mm (FUJINON OV-08)、さらに1990年には細さの限界である0.5mm (OLYMPUS XPF-5) の極細径の内視鏡が作成された。我々は、これら極細径内視鏡を用いて経子宮腔的に卵管機能の診断が可能か否かを検討した。(方法) ヒステロファイバースコープの処置用チャンネルより卵管内視鏡を挿入し、卵管子宮口の同定と開口部を観察した。同部が開口している例では注意深く卵管内へ内視鏡を1~2cm挿入し観察を行った。(結果) PFA (Peri fimbrial adhesion), HYD (hydrosalpinx), ITA (intra tubal adhesion) 等の診断には経卵管采に行なう観察が有用であった。UTJで卵管が造影されないOCC (occlusion) の例では経子宮腔的卵管内視鏡が極めて有用であった。特にUTJの閉塞が器質的である場合①それが子宮腔にまで癒着が存在するか②UTJのbulge部分での閉塞か③卵管腔が一部通過性を示しその先端での閉塞例かによりそれぞれ①IVFの選択②cornual anastomosis ③end to end anastomosis というように指針を決定することが可能であった。なおUTJの閉塞が機能的閉塞か、器質的なものであるかの診断も可能であった。

## ワークショップ4 「不妊と卵管—新しいアプローチ」

## 4) 経膈超音波断層法による卵管の疎通性検査法

旭川医科大学産婦人科

千石 一雄

不妊原因として卵管因子は主要要因の1つであり従来より通気、通水法、子宮卵管造影法あるいは腹腔鏡下通色素試験が卵管疎通性の評価法として用いられてきた。しかしながら従来の方法は侵襲性、X線被曝の問題を有していることから我々は経腹的超音波断層法を用いた通水法による卵管疎通性の評価について報告した。しかし経腹法では左右卵管疎通性の評価はきわめて困難であるため今回、経膈超音波通水法により左右それぞれの卵管疎通性の評価が可能か否かに関し検討を加えた。経膈的にバルーンカテーテルを挿入した後経膈プローブを挿入し子宮、左右卵巣を同定後、カテーテルより抗生物質添加滅菌生理食塩水 20~40 ml を注入し通水を施行した。通水時子宮腔内、両側卵巣周囲を観察し卵管内の液体通過像、卵管采からの液体流出像、ダグラス窩の液体貯留像より疎通性の有無を判定した。左右卵管疎通性の評価は90%と高率に可能であり、通色素試験を gold standard とした場合、HSG が一致率 85.7%、sensitivity 78.6%、specificity 88.1%、偽陽性率 31.3%、偽陰性率 7.5%を示したのに対し、経膈超音波通水法は一致率 94.6%、sensitivity 85.7%、specificity 88.1%と高精度の卵管疎通性評価が可能であった。また、両側卵管周囲癒着、卵管留水腫、子宮筋腫合併症例において通色素試験との不一致例が多く認められた。これらの結果より経膈プローブの使用により子宮腔内、ダグラス窩の状態が明瞭に描出可能となり、卵管内、卵管采よりの液体通過、流出像から精度の高い左右卵管疎通性の評価が可能であると考えられる。さらにカラードップラー法を用いた卵管疎通性の評価に関しても検討を加え報告する。

# 一 般 演 題

## I-1

## 当科における IVF-ET による治療経験

筑波大学臨床医学系産婦人科 ○山内 宏 藤田佳世 小谷衣里  
宗田 聡 岡本 一 辻 泰二 西田正人 久保武士 目崎 登  
岩崎寛和

体外受精胚移植 (IVF-ET) は卵管性不妊を代表とする難治性不妊症に対し、有効な治療法として確立しつつある。当科においても 1990 年 9 月から本治療を開始し、妊娠例も得られたのでその成績を報告する。対象は当科不妊外来通院患者で、腹腔鏡までの不妊ルーチン検査を施行した後 IVF-ET の適応と判断された 17 例である。不妊原因は卵管因子 9 例、機能性不妊 5 例、卵管因子+男性因子 2 例、男性因子 1 例であった。卵管因子に対してはすべて卵管マイクロサージェリーを優先し、治療後一定の期間経過を観察した。排卵誘発は治療前周期の高温 2 日目から Gn-Rh analogue 900  $\mu\text{g}/\text{day}$  投与開始、月経周期 2 日目から hMG 150 もしくは 300 IU を連日筋注する long protocol とした。卵胞発育のモニターリングは経膈エコーのみで行い、卵胞径 18 mm 以上の卵胞が 2 個以上出現した時点で hCG 10000 IU を筋注し、33 時間後に経膈採卵を行なった。17 例、28 周期に採卵が施行され 25 周期で卵が回収された (採卵率 89.3%)。合計 90 個の卵が回収され (平均採卵数 3.21 個)、このうち分割が確認されたのは 36 個であった。卵割率は前期で 28.6%、後期で 46.4% であった。対象患者の平均年齢は 34.4 歳、不妊期間の平均は 8.8 年であった。対象患者のうち 4 例に臨床的妊娠が成立し妊娠率は対症例あたり 23.5%、対治療回数あたり 14.2% であった。妊娠が成立した 4 例のうち 3 例は卵管因子、1 例は男性因子を適応とした症例ですべて 1 回目の治療で妊娠が成立した。4 例のうち 2 例は臨床的流産、1 例が子宮外妊娠に終わり、1 例が現在妊娠継続中である IVF-ET は卵管性不妊に対し有効な治療法であると思われたが妊娠の成立に関しては、対象患者を慎重に選択し、技術的には操作中の保温が重要なポイントであると考えられた。

## I-2

## 当科における卵巣刺激法別にみた I V F - E T の成績

琉球大学医学部産婦人科  
○高宮城 直子、佐久川 政男、新川 唯彦、新崎 盛雄  
佐久本 哲郎、東 政弘、中山 道男

当科において、I V F - E T を 1988 年 1 月より導入し、本年 3 月までに 237 例 469 周期に同法を施行した。この成績を卵巣刺激法別に検討した。

卵巣刺激法として、以下の 4 法に大別した。(1)hMG 単独投与群、(2)GnRHa 短期併用 - hMG 群、(3)GnRHa 長期併用 - hMG 群、(4)Kaufmann-GnRHa 短期併用 - hMG 群、(1)は、刺激周期 3 日目より hMG を投与した。(2)は、刺激周期 1 日目より 7 日目まで GnRHa を 1200  $\mu\text{g}/\text{day}$  を投与し、3 日目より hMG (あるいは FSH) を投与した。(3)は、刺激前周期の黄体中期より、刺激周期 7 日目まで GnRHa を 1200  $\mu\text{g}/\text{day}$  投与し、刺激周期 3 日目より hMG (あるいは FSH) を投与した。(4)は、刺激前周期の排卵を抑制するために、Kaufmann 療法を施行した後、(2)と同様に行った。35 才以下では、刺激周期はそれぞれ、(1)11、(2)28、(3)93、(4)37 周期で、採卵数は (1)3.6 $\pm$ 4.2、(2)7.3 $\pm$ 4.6、(3)6.9 $\pm$ 4.7、(4)6.2 $\pm$ 3.5 個であり、(1)で低く(2)(3)(4)では差がなかった。妊娠率は E T 周期あたり、(1)20.0%(2)8.7%(3)24.1%(4)21.4% で(2)において低率であった。また、36 才以上の症例では、E T 周期あたりの妊娠率は、(1)0%、(2)28.6%(3)17.9% (4)17.6% であり、(2)(3)(4)間に差はみられなかった。キャンセル率は、(1)50%、(2)31.3%(3)18.2%(4)24.2% であった。(1)では、十分な採卵数が得られなかった。35 才以下の(2)で妊娠率が低いのは、刺激周期 3 日目の LH およびプロゲステロン値が高いためと考える。(4)において、前周期の排卵を抑制すると、刺激周期 3 日目の血中プロゲステロン値の上昇はみられず、(3)と同程度の妊娠率が得られた。

以上の成績より、I V F - E T の卵巣刺激法として 35 才以下では(3)あるいは(4)を、36 才以上では、キャンセル率の点から(3)を選択するのが良いと思われた。

## I-3

## 当院における IVF-ET, GIFT の成績

富山県立中央病院産婦人科

○舟本 寛, 北 俊之, 谷村 悟, 大口昭英, 佐竹紳一郎, 小嶋康夫,  
金井浩明, 中野 隆, 南 幹雄, 館野政也

体外受精杯移植法 (IVF-ET) および配偶子卵管内移植法 (GIFT) 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ってきている。しかし人的な制約や設備・検査体制の問題のため、我々の施設のような一般公的病院ではこの実施は仲々困難である。近年、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、体外受精プログラムの設定は以前に比して容易に行なえるようになってきている。当院では1990年10月より IVF-ET, GIFT を開始し、1990年6月までに IVF-ET は17症例 (21周期) に、GIFT は14症例 (14周期) に施行したのでそれらの成績について報告する。

IVF-ET の適応は卵管因子が10例、男性因子が2例、男性因子+卵管因子が2例、抗精子抗体陽性婦人が1例、原因不明不妊が1例、子宮内膜症が1例であった。GIFT の適応は原因不明不妊7例、男性因子5例、子宮内膜症2例であった。IVF-ET 21周期での経腔超音波下採卵において、総吸引卵胞数は201、総採卵数は155 (採卵率77.1%)、平均採卵数は7.4個であった。また採卵された卵子はすべて受精を試み、全体の受精率 (21周期) は62.2%、男性因子を除いた場合 (15周期) の受精率は72.3%、男性因子 (6周期) の受精率は29.6%であった。また妊娠は7例に成立し、対患者あたりの妊娠率は41.2% (対周期あたり33.3%、対胚移植あたり41.2%) であり、男性因子を除いた13症例の妊娠率は53.8% (対周期あたり46.7%) であった。分娩例は1例、妊娠継続4例、流産は2例 (流産率28.6%) であった。

GIFT 14周期での腹腔鏡下採卵において総吸引卵胞数96、総採卵数84 (採卵率87.5%)、平均採卵数6個であった。GIFT は4例に妊娠が成立し (妊娠率28.6%)、男性因子を除いた場合の妊娠率は33.3%、男性因子の妊娠率は20%であった。妊娠継続3例、流産は1例 (流産率25%) であった。

## I-4

## 当科における子宮鏡下配偶子卵管内移植 (H-GIFT)

東京女子医科大学産婦人科

○吉井大介、安達知子、松尾明美、瀬戸山琢也、中山摂子、三室卓久、武田佳彦  
同母子総合医療センター  
岩下光利、坂元正一

当科では1991年2月より、すべて外来管理が可能である子宮鏡下の GIFT、いわゆる子宮鏡下配偶子卵管内移植 (H-GIFT) を開始した。対象は、乏精子症、機能性不妊などで、AIHを8~10回以上施行しても妊娠しない症例で、どちらか一方の健常卵管を有するものとした。排卵誘発はすべて GnRH agonist-HMG-HCG法で行った。すなわち月経開始1日目より GnRH agonist (Buserelin) 900 $\mu$ g/day を投与し、月経3日目より HMG を漸増投与した。採卵は HCG 投与33時間後に経腔超音波プローブを用いて静脈麻酔下で施行した。回収した卵は、15%患者非働化血清入り Human tubal fluid (HTF) 中で3回洗浄し、精子は85%パーコール法にて遠心分離し、HTFにて濃度を調整後、37 $^{\circ}$ Cで約30分間インキュベーションして使用した。子宮鏡用カテーテルに、患者非働化血清、卵、精子を吸引し、子宮鏡に装着した。炭酸ガス還流下に子宮鏡を子宮内に挿入し、卵管口にカテーテルを挿入して、配偶子を移植した。患者は操作後約1時間安静とした。また Luteal support は黄体ホルモンの経口と筋注投与にて行った。H-GIFT 施行14日目に妊娠反応検査を行った。

現時点で、8症例18周期施行したが、その内3症例は経過観察中で、1症例に Chemical pregnancy を認めた。H-GIFT は従来の GIFT のように、受精にとって最適環境である卵管内環境を活かせるばかりでなく、入院、腹腔鏡操作を必要とせず、患者の負担がより少ない利点を有する。また子宮鏡を用いて経腔的に受精卵を卵管内に移植する PROST、ZIFT などへの応用も可能で、将来の発展性が期待される。

## I-5

当科における IVF-ET の成績  
— 特に精液性状の観点から —

聖隷浜松病院産婦人科  
○西村 満、西垣 新、岡田 久

【目的】平成元年11月より平成3年5月までに当科にて施行したIVF-ETについて、特に精液性状の観点から成績を分析し、成績向上のための問題点を探ることを目的とした。

【方法】対象は、卵管性不妊、男性不妊、子宮内膜症性不妊等難治性不妊166症例、309周期である。卵巣刺激は、GnRH agonist-hMG-hCGによる long protocol法。培養液は、HTFを使用。swim-up法または Percoll法により精子を調整し、媒精精子濃度を50万/mlとした。luteal supportは、採卵日より hCG 3000IU 隔日3日間および progesterone 膈坐薬 75 mg/日 12日間とした。

【結果】総採卵数2697個、総受精卵数1227個、受精周期数266周期であり、受精率は、採取卵数および周期あたりそれぞれ45.5%、86.1%であった。妊娠は、58症例、62周期に成立(4症例が流産後に再度妊娠成立)し、ETおよび症例あたりそれぞれ23.3%、34.9%であった。適応別にみた症例あたりの妊娠率では、卵管因子および子宮内膜症がそれぞれ45.5%、45.9%であるのに対し男性因子では22.4%と低率であった。調整前精子濃度でみると、 $10 \times 10^6$ /ml未滿では受精率の低下が目立ち妊娠成立例は皆無であった。受精成立最低精子濃度は  $2 \times 10^6$ /ml、妊娠成立最低精子濃度は  $11 \times 10^6$ /mlであった。調整前精子運動率でみると、40%未滿で受精率は低下傾向を示し10%未滿での受精成立例は無く、20%未滿での妊娠成立例は皆無であった。受精成立最低精子運動率は10%、妊娠成立最低精子運動率は23%であった。

【考察】IVF-ETの成績を左右するものの1つに精液性状の問題があり、高度の乏精子症や精子無力症例では、たとえ受精が成立しても妊娠にまでいたる可能性は極めて低いことが再確認された。このことから、精子回収率の向上をめざすばかりでなく、原精液の性状を改善させる努力もまた重要であることが導かれた。

## I-6

男性不妊症に対する体外受精・胚移植の成績

新潟大学医学部産科婦人科学教室  
○藤巻 尚、谷 啓光、安田 雅弘、  
倉林 工、山崎 俊彦、田中 憲一

近年の体外受精・胚移植をはじめとする生殖関連技術の進歩にもかかわらず、乏精子症や精子無力症など男性因子による不妊症の治療は困難であるといわれ、諸外国では顕微受精等の臨床応用も行われているほどである。

今回、当科のIVF-ETにおける男性不妊症の治療成績を他の不妊因子と比較検討し、若干の知見を得た。当科でIVF-ETを開始した1988年2月より、1990年9月までの2年8カ月間に採卵術を施行した症例を対象とした。卵巣刺激法はHMG-HCG法またはGnRH-HMG-HCG法。経膈法にて採卵した。精液は、用手的に採取し、室温にて30-60分液化した後、SWIM UP法、洗浄濃縮法またはPercoll法で処理を行い媒精した。媒精濃度は原則として10-50万/mlとしたが、男性不妊症の場合は50万/mlあるいはそれ以上とした。媒精16時間後に受精を判定し、採卵24から48時間後に胚移植した。対象症例は男性因子 100周期およびその他の不妊因子 240周期。計 340周期。

結果 1. 男性因子の平均年齢は33.8歳でありその他との有意差は認められなかった。2. 男性因子の不妊期間は平均8.6年と有意に長期間であり、重症例が多いと思われた。3. HMG総投与量、HCG投与日のE2値・P4値に有意差を認めなかった。また男性因子の平均採卵数は5.85個で有意差を認めなかった。4. 男性因子において受精率は25.5%と低く、OR当りの胚移植数は1.32個と有意に少なかった。5. ETあたりの胚移植数は2.69個 また妊娠率は36.7%で有意差を認めなかった。6. 男性因子の流産率は50.0%と高い傾向にあった。7. 受精した最低の精子数は  $32 \times 10^5$ /ml、運動率は5.8%、妊娠した最低の精子数は  $34 \times 10^5$ /ml、運動率は14.0%、また分娩した最低の精子数は  $54 \times 10^5$ /ml、運動率は18.5%であった。

男性因子の約半数に存在する受精失敗例に対する今後の治療法の開発が期待される。

## I-7

## 体外受精成績を用いた通常精液検査と精子形態の有用性に関する検討

慶應義塾大学医学部 産婦人科学教室

○大澤淑子, 小林俊文, 杉村和男, 神野正雄, 北村誠司, 赤星晃一,  
岩田壮吉, 野澤志朗

精子の質は体外受精胚移植の成績を決定するもっとも重要な因子の一つであるが、未だ確立した方法はない。我々のもちいている正常精子形態率(%SNM)は、卵分割率との相関があり有用であるが、完全でない。そこでさらに高い精度を得るために、複数のカテゴリーを同時に評価することを試みた。【方法】当科にて施行した卵管因子、男性因子、機能性不妊の体外受精症例105周期を対象とした。排卵誘発はHMG-HCGをもちいた。この105周期にたいし、精子濃度、精子運動率、%SNMを数々のCut-Off値で評価し、卵分割率との相関を検討した。【結果】精子濃度、精子運動率、%SNMとも、それぞれ2000万/ml、50%、30%をCut-Off値とした場合、検定にてともに有意差を認めた。%SNM<30%の時精子濃度、運動率がよい場合に限り、卵分割率、妊娠率は比較的よいが、流産率が高い傾向を示した。精子濃度、精子運動率がよい場合でも%SNMが低値の場合卵分割率は低い傾向を示した。【考察】%SNMは体外受精の成績を予測するうえで有用な方法であるが、精子濃度、運動率と併せて評価することで、その有用性はさらにたかくなる。また、%SNMが低い場合流産率が高いという傾向は精子形態が精子の質をかなりよく評価していると考えられる。【結論】精子濃度、精子運動率、%SNMとも、それぞれ2000万/ml、50%、30%をCut-Off値とした場合、 $\chi^2$ 検定にてともに有意差を認めた。%SNM<30%の場合精子濃度、運動率がよい場合、卵分割率、妊娠率は比較的よいが、流産率が高い傾向を示した。精子濃度、精子運動率がよくても%SNMが低値の場合卵分割率は低い傾向を示した。

## I-8

## 精子不動化抗体保有不妊婦人に対する体外受精-胚移植の応用

兵庫医科大学産科婦人科学教室

○池田義和、加藤浩志、子安保喜、香山浩二、磯島晋三

精子不動化抗体(SI-Ab)保有婦人は原因不明不妊婦人の約15%にみられ抗体を保有しない婦人に比較して極めてその妊娠率は低いことが知られている。当科ではその治療法として1984年に初めて体外受精-胚移植法(IVF-ER)を応用し、生児を得、その治療法を確立した。今回、当科におけるIVF-ER施行例においてその受精率、分割率、妊娠率をSI-Ab保有婦人例とSI-Ab非保有婦人例について比較検討した。

1984年12月～1990年12月にIVF-ERを施行した男性因子を除く370周期において、SI-Ab陽性例及び、陰性例は各々1984年12月～1987年では44周期、92周期、1988年は17、66、1989年は22、66、90年は13、50及び総計で96、274であった。又、SI-Ab陽性例及び陰性例について回収成熟卵当りの受精率は1984年12月～1987年12月；97/122 (79.5%)、155/217 (71.4%)、1988年；46/64 (71.9%)、172/250 (68.8%)、1989年；49/74 (66.2%)、167/253 (66.0%)、1990年；40/49 (81.6%)、160/227 (70.5%)、総計；232/309 (75.1%)、644/947 (68.0%)であり、各年度ともSI-Ab陽性例の方が陰性例よりもやや高いが年度により差があるため有意に高いとはいえない。卵分割率のそれは受精率のそれと同様の結果であった。又、SI-Ab陽性例及び陰性例における周期当たりの妊娠率は1984年12月～1987年12月；9/44 (20.5%)、9/92 (10.0%)、1988年；5/17 (29.4%)、8/66 (12.1%)、1989年；4/22 (18.2%)、11/66 (16.7%)、1990年；4/13 (30.8%)、10/50 (20.0%)、総計；23/96 (24.0%)、41/274 (15.0%)であり、各年度別にも、総計においてもSI-Ab陽性例の方が陰性例におけるよりも有意に妊娠率が高かった。以上の事より通常では妊娠困難なSI-Ab陽性不妊婦人は体外受精-胚移植に対する良好な適応例と考えられ原因不明不妊患者の血清SI-Abの有無を積極的に検査することは不妊治療において重要であることが示された。

## I-9

## 体外受精・胚移植 (IVF-ET) における pure FSH の使用経験

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室

○沖 利通, 堂地 勉, 森 明人, 山元慎一  
竹内一浩, 福元清吾, 永田行博

最近, LH を殆ど含まない pure follicle stimulating hormone (pure FSH) が体外受精・胚移植 (IVF-ET) の排卵誘発に用いられるようになってきたが, どの程度有用かは議論がある。今回, われわれは pure FSH 製剤であるフェルチノームを IVF-ET の排卵誘発に使用して, その有用性に関して若干の考察を加えたので報告する。1990年1月から91年3月までに鹿児島大学産婦人科で IVF-ET を施行した40症例78周期を対象とした。プセリリンにフェルチノーム (day3 ~) と hMG (day8 ~) を加えて排卵誘発を行った7例10周期 (pure FSH + hMG 群) とプセリリンと hMG 製剤だけで排卵誘発を行った35例68周期 (hMG 群) に分け, 排卵誘発成績, 採卵成績, 受精率, 着床率および内分泌動態を比較して, IVF-ET の排卵誘発への pure FSH の有用性に関して検討した。hMG 群と pure FSH + hMG 群の穿刺卵胞数はそれぞれ  $7.5 (\pm 3.4)$ ,  $10 (\pm 6.8)$ , 採卵数は  $5.4 (\pm 2.9)$ ,  $6.6 (\pm 4.4)$ , 採卵率は  $72.7\%$ ,  $66.3\%$ , 受精卵数は  $3.4 (\pm 2.6)$ ,  $4.0 (\pm 4.5)$ , 採卵日は  $12.1 (\pm 2.8)$ ,  $13.3 (\pm 1.6)$ , キャンセル率は  $29.4\%$ ,  $20.0\%$ , 妊娠率は  $4.2\%$ ,  $25.0\%$  であった。また同一症例で, hMG に低反応であった症例でも pure FSH + hMG に反応するものもあった。ホルモン検査を実施し得た症例の血中  $E_2$  値は採卵日を0とした場合,  $-2, -1$  で pure FSH + hMG 群で高い傾向にあった。血中 Progesterone 値も採卵後では pure FSH + hMG 群が有意に高かった。また採卵後の  $P/E_2$  値も pure FSH + hMG 群が有意に高かった。

IVF-ET の排卵誘発に pure FSH を使用することは, 採卵数, 受精卵数, ET 数の増加や  $P/E_2$  高値などの理由から妊娠率の向上につながる可能性がある。しかし, 排卵誘発に多少時間を要することから, 今後, その投与量, 投与方法などに関して検討の余地がある。

## I-10

## 各種 Gn-RHa の併用療法の比較

宮崎医科大学産婦人科学教室

○戸枝 通保, 渡辺 裕之, 野田 俊一, 三部 正人, 小池 弘幸,  
池ノ上 克, 森 憲正

【目的】IVF・ETやGIFTにおける卵巣刺激の際に, Gn-RHaを併用する方法が広く行なわれる様になってきている。今回我々は, 各種のGn-RHa併用療法群及びhMG単独使用群に関して, 卵胞発育, 血清  $E_2$  値, 採取された卵の成熟度等につき比較検討した。【方法】主にIVF・ETを目的として卵巣刺激を行なった50症例94周期を, 月経周期3日目よりhMG150iu(一部300iu)を投与するhMG単独投与群 (H群) 29周期, long protocolは月経周期1ないし2日目よりGn-RHaを投与開始し, 2週目に血清  $E_2$  低値を確認後hMG150iu(一部300iu)を投与する群 (LM群) 27周期と前周期黄体期中期よりGn-RHaを投与し月経開始後2ないし3日目よりhMG300iuより投与する群 (LL群) 16周期, またshort protocolとして月経開始と同時にGn-RHaを投与開始するとともにhMG150iu(一部300iu)を投与する群 (S群) 23周期の4群に分け, hMG投与日数, 投与量, 径15mm以上の発育卵胞数, hCG切り換え時の血清  $E_2$  値, 採卵個数, 成熟卵採取個数等を比較した。【結果】①投与日数, hMGの総投与量については各群の間に差を認めなかった。②発育卵胞数はGn-RHaを併用した各群間には差を認めなかったが, H群では有意に少なかった。③hCG切り換え時の血清  $E_2$  値は発育卵胞あたりに換算するとLF群, LL群のlong protocol群がS群, H群に比べて有意に高値を示した。④採取された卵の個数はGn-RHaを併用した各群間には差を認めなかったが, H群では有意に少なかった。さらにこのうち成熟卵の比率はLL群で高い傾向を示した。【結論】①卵胞発育はhMG単独投与群に比較して, Gn-RHaを併用した各群の方が良好であった。②long protocolとshort protocolの比較では, 発育卵胞数には差を認めなかったが, 卵胞当りの血清  $E_2$  値はlong protocolの群で高値を示し, 特に前周期黄体期中期よりGn-RHaを投与した群では成熟卵の比率も高く, 優れた方法であることが示唆された。

筑波大学臨床医学系産婦人科 ○藤田佳世 小谷衣里 宗田 聡  
 岡本 一 山内 宏 西田正人 久保武士 目崎 登 岩崎寛和

経腔エコーガイド下の採卵は外来レベルの採卵を可能にし、IVF-ETの簡略化、ひいては本治療法の一般病院レベルへの普及の第一の要因といえる。今回我々は当科で行なわれている経腔採卵についてまとめ検討した。

1990年9月から1991年6月まで筑波大学不妊外来患者17名、28周期に対し体外受精胚移植治療を試みた。治療前周期の高温相2日目からGn-Rh analogue (スプレキュア) 900 µg投与開始、月経周期2日目からhMG (パーゴナル) 150ないし300 IUを連日筋注するlong protocolで過排卵処理を行なった。卵胞発育のモニターリングは経腔エコーのみで行い、卵胞径18 mm以上の卵胞が2個以上出現した時点でhMGを中止しhCG 10000 IUを筋注した。hCG投与33時間後に静脈麻酔下に経腔採卵を行なった。採卵は吸引圧は-150 mmHgでおこない、培養液 (HTF) で1~2回のflashingを行なった。28周期中25周期採卵できて (採卵率89.3%) 合計90個の卵を採取した。(平均採卵数3.21個) 穿刺できた卵胞数は左が111個、右が143個で採卵数は左が35個、右が55個でいずれも右が多い傾向がみられた。28周期中1例が経腔採卵後の腹腔内出血 (卵巣出血) で開腹となった。採卵できた90個のうち40個 (44.4%) はflashingした培養液中からみつきりflashingの有用性が認められた。90個の卵のうち受精が確認できたのは36個 (受精率40%) で胚移植を行なった。

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○北村誠司, 小林俊文, 杉村和男, 神野正雄, 赤星晃一, 岩田壮吉,  
 大澤淑子, 野澤志朗

ヒト体外受精において、男性因子不妊の有無は、成功を左右する重要なポイントの1つである。男性因子の判定に、ハムスターテストが有用であるが、必要なハムスター卵を随時得るためには、ハムスターの飼育・排卵誘発などが負担となる。そこで今回我々は、体外受精の術前に、凍結ハムスター卵を用いてハムスターテストを行い、ヒト体外受精の結果との関係を検討した。【方法】体外受精前2-3ヶ月以内に、凍結ハムスター卵 (日本農産) を用いてハムスターテストを施行した。凍結卵を38℃の温湯中にて急速融解し、3段階洗浄にて耐凍剤を除去した。0.1%トリプシンにて透明帯を除去し、洗浄後媒精に供した。精子は遠沈洗浄・スィムアップ後2時間前培養し、直接または5µMカルシウム・イオノフォア処理後に媒精に供した。媒精4時間後に、膨化精子頭部および前核を観察し、精子進入率 (受精卵数/媒精卵数) を決定した。ヒト体外受精は、以下の如く行った。月経周期第3日よりhMG 150~300単位を連日投与した後、hCG 10000単位を筋注した。36時間後、経腔に採卵し、既報の如く体外受精を行い、36-48時間後に胚移植した。移植後連日プロゲステロン25mgを投与した。【結果】カルシウム・イオノフォア無処理法での結果は、精子進入率 $\geq 10\%$  (50例)の時、胚移植率75%、妊娠率25%、進入率 $< 10\%$  (30例)の時、胚移植率55%、妊娠率0%であった。5µMカルシウム・イオノフォア処理法では、進入率 $\geq 50\%$  (60例)の時、胚移植率77%、妊娠率30%、進入率 $< 50\%$  (20例)の時、胚移植率50%、妊娠率5%であった。【結論】凍結ハムスター卵を用いたハムスターテストは、カルシウム・イオノフォア処理法で進入率50%を、無処理法で10%を境界値として、それ以上では胚移植率・妊娠率とも良好で、逆に境界値未満では妊娠を得ず、ヒト体外受精の成績を良く反映した。さらに簡便性の点からも、凍結卵を用いたハムスターテストは、ヒト体外受精のための術前男性因子検査として有用と示唆された。

## I-13

## 体外受精・胚移植におけるLuteal supportとしてのProgesterone腔坐薬の意義に関する検討

大阪医科大学産科婦人科学教室

○宮崎 和典, 太田 栄, 奥田 弘賢, 杉山 修成, 鈴木 佳彦  
金子 卓嗣, 高原 徳得, 山下 英俊, 杉本 修

【目的】体外受精・胚移植において卵巣過剰刺激にともない、着床を促すための黄体賦活療法すなわちluteal supportが必要なことが明らかにされているが、その種類、方法については必ずしも定説を見ていない。そこでprogesterone腔坐薬を用いて、luteal supportを行ない、そのホルモン効果の影響を基礎的、臨床的に検討した。【方法】平成3年2月より6月まで、当科のIVF・ET症例50例に対し、Progesterone50mgを含有する坐薬を、採卵後より1日2回、腔内に投与し、臨床的效果を妊娠率の面より検討した。また、そのうち5例について、初回投与前、投与1時間後、2時間後、3時間後、6時間後に採血しestradiol(E<sub>2</sub>), progesterone(P<sub>4</sub>)を測定した。【結果】血中E<sub>2</sub>値は、投与前の265pg/mlより、6時間後の171pg/mlまで徐々に低下したのに対し、P<sub>4</sub>値は前値2.3ng/mlより3時間後に11.4ng/mlとピークを示し、6時間後には10.6ng/mlとやや低下した。50例中21例に妊娠が成立し対移植妊娠率は42.0%であった。【結論】Progesterone 50mg腔内投与にて、2時間後より十分なP<sub>4</sub>値の上昇が得られ、6時間後でも血中レベルを維持していた。妊娠率も良好でProgesterone坐薬の腔内投与によるLuteal supportは妊娠の成立に有効であると考えられた。

## I-14

## 体外受精・胚移植法における母体年齢の影響について

山形大学医学部産科婦人科学教室

○斉藤英和・佐藤文彦・平山寿雄・杉内明子・斉藤隆和・広井正彦

【目的】母体の年齢が高くなるにつれて、妊孕性が低くなることは一般的による認められている事実ではあるが、体外受精・胚移植法において、年齢が高くなると母体のどの因子に影響が表われ、妊孕性の低下に結びつくのか検討した。【方法】buserelin + hMG + hCG を卵巣刺激に用いた1107周期について、年齢を30才以下(A群)(n=225), 31才以上35才以下(B群)(n=493), 36才以上40才以下(C群)(n=331), 41才以上(D群)(n=58)に分けた。また精液所見より条件を制限しなかった。hMG中止日の子宮内膜の厚さ、手術日、総採卵数、成熟卵数、胚移植周期数、移植胚数、妊娠率について検討した。【成績】hMG中止日の内膜の厚さは10.2±1.9(x±SD), 10.0±2.4, 9.6±2.1, 9.3±1.9mm(A→D)であった。年齢が高くなるにつれて内膜の厚さは薄くなった(p<0.01)。手術日は13.8±3.3, 13.7±3.1, 13.7±3.0, 14.0±3.9(x±SD)(A→D)であり、年齢による影響を認めなかった。総採卵数は5.7±4.4, 4.7±3.7, 3.8±3.2, 2.7±2.1個(x±SD)(A→D)であり年齢が高くなるにつれ採卵数は減少した。そのうちの成熟卵数は4.3±3.0, 3.8±2.7, 3.2±2.4, 2.4±1.7個(x±SD)(A→D)であり成熟卵数も年齢が高くなるにつれて減少した(p<0.01)。採卵手術あたりの胚移植率も72%, 71%, 69%, 57%(A→D)と年齢とともに減少した。移植胚数は、2.8±1.5, 2.5±1.3, 2.3±1.4, 1.6±1.1個(x±SD)(A→D)と年齢が高くなるにつれて減少した(p<0.01)。また胚移植あたりの妊娠率も22%, 17%, 11%, 3%と年齢が高くなるにしたがい減少した。【結論】体外受精・胚移植法においても、年齢の妊孕性に対する影響は大きく、採卵数、胚移植数を減少されるばかりでなく、着床部位である内膜にも影響を及ぼし、その厚さを薄くし、胚の着床を妨げている可能性が示された。

## I-15

## I V F - E T 反復施行症例の検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室

○多賀茂樹 吉田信隆 平野由紀夫 片山隆章 名越一介  
野間 純 清水健治 関場 香

【目的】I V F - E Tによる治療で妊娠するためには、一般に何周期か繰り返し治療を行うことが必要になるが、初回の治療で妊娠せず、繰り返しI V F - E Tを行った場合の治療成績について検討を行った。【方法】当科において現在のI V F - E Tプログラムが確立した1989年1月より1991年3月までにbuserelin-hMG(longおよびshort)法またはclomid-hMG法による卵巣刺激後、経腔的に採卵を行った66症例、119周期を対象とした。119周期を1回目採卵周期(n=66)、2回目採卵周期(n=31)、3回目採卵周期(n=14)、4回目採卵周期(n=5)、5回目採卵周期(n=3)に分類し、卵巣刺激と採卵を繰り返した際に、治療成績と卵巣のhMGに対する反応性に低下がみられるかどうか検討した。【結果】66症例のうち、18症例(27%)に妊娠が成立した。妊娠した18例のうち、1回目に11例(61%)、2回目までに15例(83%)、3回目までに17例(94%)、4回目までに18例(100%)が妊娠した。1回目から5回目の採卵周期の妊娠率(対採卵)はそれぞれ17%(n=66)、13%(n=31)、14%(n=14)、20%(n=5)、0%(n=3)で、いずれの間にも有意差は見られなかった。しかし1回目採卵後に34例中3例(8.8%)が、また2回目採卵後の15例中1例(6.7%)が、採卵中止となった。hMG総投与量、hMG投与日数を卵巣刺激法別(clomid-hMG法およびbuserelin, long-hMG法)に検討した結果、hMG総投与量、投与日数に有意な増加はなかった。穿刺卵胞数は1回目の $12.3 \pm 7.4$ に対して4回目 $8.0 \pm 1.5$ と有意に少なかったが採卵個数に有意な差はみられなかった。【結論】I V F - E Tによる初回治療で妊娠しなかった場合、次の卵巣刺激周期では約10%が採卵中止となったが、4回目採卵までは初回と同じ妊娠率(対採卵)が期待できると考えられた。また、採卵を繰り返すことにより発育卵胞数は減少する可能性があるが、5回目採卵まではhMG所要量および採卵個数には影響しないと考えられた。

## I-16

## IVF-ET妊娠、非妊娠周期の採卵後7日目及び14日目の子宮内膜像の検討

東海大学医学部産婦人科

○本田育子、小林善宗、井上正人、藤井明和

IVF-ET採卵後7日目及び14日目の子宮内膜を超音波断層法にて計測し、子宮内膜の厚さの変化より妊娠成立の予測が可能か否かを検討した。対象はIVF-ETを行った原発性不妊61、続発性不妊62の計123周期とした。妊娠周期は38(流産7周期、子宮外妊娠2周期、多胎妊娠10周期を含む)、非妊娠周期は85である。卵巣刺激はGnRHa-HMG周期が115、Clomid-HMG周期が7、自然周期が1で、採卵後7日目及び14日目の子宮内膜の厚さを経腔走査にて計測し、その増減を検討した。子宮内膜の厚さは子宮縦断像で前後壁内膜の厚みの和とした。超音波装置は横河メディカルシステムRT4600, 5MHzのTV型プローブを使用した。38妊娠周期では7日目と14日目の子宮内膜の厚さに増減なしが10周期(26%)、増加19(50%)、平均増加分2.0mm、減少9(24%)、平均減少分は1.3mmであった。85非妊娠周期では増減なしが16周期(19%)、増加15(18%)、平均増加分2.1mm、減少54(63%)、平均減少分は2.3mmであった。流産の7周期では、増減なしが3周期、増加2、減少2であった。子宮外妊娠は増加、減少各1周期であった。多胎妊娠の10周期では、増減なしが3、増加6、減少1周期であった。更に14日目内膜が7日目内膜の厚さ±1mmまでを変化なしとすると妊娠周期では増減なしが25周期(66%)、増加10(26%)、平均増加分2.9mm、減少3(8%)、平均減少分2.0mmであるのに対し、非妊娠周期では増減なし36(42%)、増加10(12%)、平均増加分2.7mm、減少39(46%)、平均減少分2.8mmであった。妊娠周期では3mm以上の減少を示した周期はないのに対し非妊娠周期では3mm以上の減少は20周期(23%)に認められた。IVF-ET妊娠、非妊娠周期の採卵後子宮内膜の検討より14日目内膜が7日目内膜よりも2~3mm以上減少を示す周期は妊娠成立の可能性は少ないと考えられた。

## I-17

ヒト体外受精のための血清LHによる新しいhCG投与時期決定法  
—高い妊娠率と簡便性—

杏林大学医学部産婦人科, 慶應義塾大学医学部産婦人科\*

○神野正雄, 杉村和男\*, 小林俊文\*, 岩田壮吉\*, 北村誠司\*, 大澤淑子\*,  
赤星晃一\*, 野澤志朗\*, 吉村泰典, 中村幸雄

【目的】ヒト体外受精において、hCG投与のタイミングは、妊娠を得るための極めて重要なポイントの1つである。今回我々は、血清LHの変化に基づいた、新しいhCG投与時期決定法を考案・検討し、優良な成績を得たので報告する。【方法】ヒト体外受精150周期において、血清LHに基づく新しいhCG投与時期決定法の有効性を検討した。月経周期第3日より連日hMG150~300単位を投与するとともに、その直前に血清LH・E<sub>2</sub>を迅速測定した(Stratus, Baxter社)。LHは、最初徐々に低下した後、上昇に転じ、LHサージに移行した。そこで、最低値+(第3日値-最低値)×1/3を域値(J値)とし、卵胞径やE<sub>2</sub>値に関わらず、LHが初めてJ値を越えた日の夜にhCG10000単位を投与した。hCG投与後34~35時間に採卵し、既報の如く卵成熟培養・媒精・胚培養を行い、媒精後36~48時間に胚移植した。【結果】LHによる新しいhCG投与方法により、治療周期あたり妊娠率35%(ongoing:27%)を得た。また、このhCG投与日より1日早く(LH≤J値)または1日遅く(J値を越えた日の翌日)に、hCGを投与すると、妊娠率が低下することが示唆された(全妊娠率,24%,25%,ongoing,9%,10%)。LHに基づき、hCGを投与すると、hCG投与日の卵胞径が14~21mmで、E<sub>2</sub>値が229~2050pg/mlで妊娠が得られ、卵胞径およびE<sub>2</sub>値の至適範囲が広いことが示唆された。【結論】血清LHがJ値を越えた日にhCGを投与した時、それ以前または以後の投与に比し、最も高い妊娠率(採卵あたり35%)を得た。このLH変化に基づく新しいhCG投与時期決定法は、簡便・迅速でありながら優良な妊娠率が得られ、その有用性が示唆された。

## I-18

hMG-hCGによる体外受精周期のホルモン動態  
—LHの上昇と卵巣反応性・成績との関連について—

荻窪病院 産婦人科

○片山恵利子、久慈直昭、宮崎豊彦、境田通泰、菅原正人、  
杉山 武、飯田悦郎

当院では卵胞径と血中E<sub>2</sub>濃度によりhCG投与のタイミングを決定しており(最大卵胞最大径≥18mmでhCG投与)、血中LH濃度に基づく基準は設けていない。この系におけるLH・Pの動態と、それらの卵巣反応性・成績との関連を検討した。【方法】対象は採卵個数2個以上で男性因子を伴わないhMG-hCG周期で、且つ、E<sub>2</sub>・P・LHを測定し得た92周期。I:妊娠継続(n=30)、II:良好分割卵(+),妊娠-(n=43)、III:fragmentation卵(+),妊娠-(n=12)、IV:未受精卵のみ(n=7)の4群に分類した。又、hCG投与日のE<sub>2</sub>1500pg/ml以上をhigh群、以下をlow群とした。hCG投与前のLHの20mIU/ml以上への上昇の有無をLH(+・LH(-)、同じくPの1.0ng/ml以上への上昇の有無をP(+・P(-)とし、各群における頻度を比較検討した。E<sub>2</sub>・Pの測定は三菱油化ピーシーエルに外注してDPCのキットを用いて行ない、LHはモチダのエルモテックにて測定した(標準品:2ndIRP-hMG(67/161))。【結果】①92周期中、LH(+)が53周期、P(+)が35周期。LH(+)ではLH(-)に比し有意にP(+)の頻度が高かった。②I群ではII-IV群よりLH(+)の頻度が高い傾向が認められたが有意差はなかった。③high群ではlow群に比し有意にLH(+)の頻度が高かった(high:76%、low:48%)。④I群でhighの周期はII-IV群でhighの周期よりLH(+)の頻度が有意に高かった(I:93%、II-IV:65%)。⑤low群では成績とLH上昇の間に一定の傾向は認められなかった。

【結論】当院プロトコルに従って採卵を行なったhMG-hCG周期では、hCG投与前にLHの上昇が頻回に生じていた。特に反応良好群でLHの上昇が高率にみられ、反応良好群内で比較すると妊娠群で非妊娠群よりも高頻度に上昇がみられた。

## I-19

## IVF-ET周期における卵胞成熟時の血中estradiol, progesterone値が着床、妊娠後に及ぼす影響

獨協医科大学産婦人科

○星合 明、正岡 薫、北澤正文、渡部秀哉、井澤慶子  
熊坂高弘

【目的】IVF-ETにおいてGnRH agonist併用hMG-hCGによる卵胞刺激を行い、卵胞成熟時(hCG投与日)における血中estradiol( $E_2$ ), progesterone(P) 値の受精率、妊娠率妊娠の予後、着床率への影響を検討した。【方法】当科において1990年9月から1991年5月までに55名の患者に施行した65回のIVF-ET周期(cancel及び未受精周期を除く)を対象とした。GnRH agonist(Buserelin)の併用はlong protocol 46周期、short protocol 19周期であり、Day2~4からhMG投与を開始し最大卵胞径約20mmの時点でhCG投与を行った。hCG投与日の血中 $E_2$ , P値により対象例を4群に分類した。即ちI群( $E_2 < 2000\text{pg/ml}$ ,  $P < 1.0\text{ng/ml}$ ) II群( $2000 \leq E_2 < 4000$ ,  $P < 1.0$ ) III群( $2000 \leq E_2 < 4000$ ,  $P \geq 1.0$ ) IV群( $E_2 \geq 4000$ ,  $P \geq 1.0$ )とした。【結果】①各群の平均採卵数、受精率、ET数はI群:6.2個, 73.9%, 4.1個 II群:9.5個, 78.6% 6.9個, III群:7.1個, 79%, 5.5個, IV群: 14.4個, 86.9%, 10.4個であった。②各群のET(周期)当たり妊娠率はI群:10/27周期(37.0%) II群:6/15周期(40.0%) III群:5/11周期(45.5%) IV群:6/12周期(50.0%)であり全群では27/65周期(41.5%)であった。③各群の妊娠例の内訳はI群:単胎2, 双胎6, 品胎1, 前臨床1, II群:単胎2, 品胎2, 外妊2, III群:単胎1, 単胎流産3, 双胎流産1, IV群:単胎3, 外妊1, 前臨床2であった。④着床率(着床数/ET数, 外妊と前臨床妊娠を除く)はI群:17/98(17.3%), II群:8/91(8.7%), III群:6/61(9.8%), IV群:3/80(3.7%)であった。

【結論】①I~IV群において受精率、妊娠率に有意差はなかった。②III~IV群では流産、前臨床妊娠が多く多胎が少ない。③I~II群では多胎が多く、流産が少ない。④着床率はI群が最も高く、IV群が最低である。以上からIII~IV群のような卵胞成熟完了時点における高 $E_2$ 状態と軽微なP上昇が着床率の低下や妊娠の予後不良に深く関与していることが判明した。

## I-20

## GIFT周期における卵胞成熟時の血中estradiol, progesterone値の妊娠率、妊娠後に及ぼす影響

獨協医科大学産婦人科

○北澤正文、正岡 薫、渡部秀哉、星合 明、井澤慶子  
熊坂高弘

【目的】GIFTにおけるGnRH agonist併用下hMG-hCGによる卵胞刺激を行った際、卵胞成熟時(hCG投与日)の血中estradiol( $E_2$ ), progesterone(P) 値が妊娠率と妊娠予後へ如何なる影響を及ぼすか検討した。【方法】当科において1990年9月~1991年5月までにGIFTを施行した38例38周期を対象とした。38例中16例(42.1%)はmale factorを有していた。GnRH agonist(Buserelin)併用法はlong protocol 23例 short protocol 15例であり、Day2~4からhMG投与を開始し、最大卵胞径約20mmの時点でhCGを投与した。hCG投与日の血中 $E_2$ , P値により対象群をI群( $E_2 < 2000\text{pg/ml}$ ,  $P < 1.0\text{ng/ml}$ ), II群( $2000 \leq E_2 < 4000$ ,  $P < 1.0$ ), III群( $2000 \leq E_2 < 4000$ ,  $P \geq 1.0$ ), IV群( $E_2 \geq 4000$ ,  $P < 1.0$ ), V群( $E_2 \geq 4000$ ,  $P \geq 1.0$ )に分類した。【結果】①各群のmale factorはI群:7/12例(58.3%), II群:4/12例(33.3%), III群:1/3例(33.3%), IV群:1/4例(25%), V群:3/7例(42.8%)であった。②平均採卵数、平均移植卵数はI群:6.4個, 5.2個, II群:9.5個, 6.7個, III群:11.3個, 5.6個, IV群:13.0個, 7.5個, V群:16.0個, 7.7個であった。③周期(患者)当たり妊娠率及び妊娠の内訳はI群:4/12周期(33.3%), 五胎1, 品胎1, 双胎1, 単胎1, II群:5/12周期(41.7%), 双胎3, 単胎2, III群:1/3周期(33.3%), 単胎1, IV群:4/4周期(100%), 双胎3, 単胎流産1, V群:5/7周期(71.4%), 品胎1, 双胎1, 単胎流産1, 外妊1, 前臨床1であり、全群では妊娠率19/38周期(50%)であった。④妊娠初期に出血にて入院を要したものはV群:5/5例, IV群:3/4例, III群:1/1例, II群:1/5例, I群:0/4例であった。【結論】GIFTの妊娠率は各群において良好であり、卵胞成熟時の $E_2$ , Pの影響は明らかではなかった。しかしIII~V群のような高 $E_2$ あるいは軽微なP上昇群では高頻度に出血ないし流産の傾向があることが判明した。

## I-21

GnRH $\alpha$ -hMG-hCGを用いた体外受精・胚移植法における  
E<sub>2</sub> 初期上昇日と妊娠率との関係

徳島大学医学部産科婦人科学教室

○南 晋, 村山 眞治, 小林 津月,

加川 俊明, 山野 修司, 青野 敏博

〔目的〕体外受精・胚移植において、血中estradiol (E<sub>2</sub>) 値が上昇を開始する日及びその日からhCGを投与するまでの日数と妊娠率の関係をGnRH $\alpha$ で前処置したhMG-hCG卵巢刺激周期で検討した。〔方法〕対象は、両側卵管閉塞のため体外受精・胚移植法を受けた症例のうちE<sub>2</sub>を連続的に測定し得た80例で、妊娠例20例と非妊娠例60例である。前周期の高温相7日目よりブレイク 600 $\mu$ g/日をhCG投与日まで連日投与し、月経周期の3日目よりhMG日研225iu/日を、7日目からはヒュモン150iu/日の投与を行い、最大卵胞の平均径が18mmに達したら注射を中止し、最終投与日から50時間後にhCG5000単位を筋注射し、その36時間後に採卵した。月経周期3日目より連日採血し、E<sub>2</sub>をRIAにて測定した。E<sub>2</sub>初期上昇日は、全症例の月経周期3日目のE<sub>2</sub>のMean $\pm$ 2SD(170pg/ml)を越えた日とした。〔成績〕①E<sub>2</sub>初期上昇日が月経周期6, 7日目である群の妊娠率は41.2%(14/34)であり、月経周期3~5日目である群の14.3%(5/35)に比して有意に高かった。(p<0.05)②月経周期3日目の血清LH, FSH値は、E<sub>2</sub>初期上昇日が月経周期6, 7日目である妊娠群とE<sub>2</sub>初期上昇日が月経周期3~5日目である非妊娠群の間に有意な差は認めなかった。〔結果〕E<sub>2</sub> 初期上昇日を6~8日目に調節すると、GnRH $\alpha$ を用いた卵巢刺激周期における体外受精・胚移植の妊娠率が向上することが示唆された。

## I-22

## 卵巢刺激周期における卵胞期血中progesterone上昇の背景因子の解析

鳥取大学医学部産科婦人科

○高尾成久, 見尾保幸, 蓮佛千恵子, 池成孝昭, 岩部富夫,

関島秋男, 大野原良昌, 谷川正浩, 寺戸博文, 原田 省, 寺川直樹

〔目的〕我々は、昨年の本学会でIVF-ETやGIFT治療のための卵巢刺激周期において、卵胞期血中progesterone (P) 値の上昇が高頻度に認められ、これが受精、妊娠予後に悪影響を及ぼすことを報告した。今回は、このP上昇の発生機序を解明するための糸口としてその背景因子を解析した。

〔方法〕1989年5月より1990年4月までに、当科でIVF-ETおよびGIFT治療のために卵巢刺激を行った120症例348周期を対象とした。卵巢刺激法としてclomipheneとhMGを用いたstandard regimen (SR)、GnRH analogを併用したflare regimen (FR) およびdesensitization regimen (DR)を用いた。卵巢刺激法の選択は、SRにおける反応に従って決定した。各卵巢刺激周期において月経第3日より隔日または連日12時間ごとに測定した血中estradiol (E<sub>2</sub>)、P、LH値から、非P上昇周期とP上昇周期に分類し、各parameterを比較検討した。

〔成績〕平均年齢は、有意差を認めないもののP上昇症例で高く、LH-RHに対するLHの反応性も、非P上昇症例に比してP上昇症例で高かった。一方、血中LH値の動態に関しては、両周期間に有意差はなく、血中E<sub>2</sub>は、卵胞期初期より常にP上昇周期で明らかな高値を示した。同様に、发育卵胞数、採取卵数もP上昇周期で有意に多かった。受精率は非P上昇周期で高く、妊娠例は非P上昇周期に集中した。

〔結論〕LH放出に依存しない卵胞期血中P値上昇は、卵巢過剰刺激と共に、agingに伴う卵胞環境の変化などにより起こることが示唆され、受精、妊娠成立に強く影響することが明らかとなった。

## I-23

## 卵巣刺激時における卵成熟環境としての卵胞液性状の内分泌学的検討

東京大学産科婦人科教室 ○成 鑑非、堤 治、藤原敏博、大須賀穰、林直樹、綾部琢哉、矢野哲、三橋直樹、武谷雄二、水野正彦

目的 体外受精においては成熟卵を得るために卵巣刺激法が工夫される。我々は卵胞液性状を分析し卵成熟度との関連を検討した。方法 卵巣刺激はHMG単独(HMG単独群; 5例)またはHMGとブセレリン(GnRH)の併用(GnRH併用群; 12例)でおこない、hCG(10,000IU)投与33時間後に経膈採卵を実施した。卵はgrading後体外受精し、卵胞液は細胞成分を除去、液量を測定し試料とした。estradiol(E2)とprogesterone(P4)、prolactin(PRL)の測定はRIAによった。hCGはhCG-CTP test(モノクローナル抗体によるEIA; 感度0.2mIU/ml; 測定所要時間2時間)を用いた。成績 (1)採卵数、卵のgrade、卵胞液量にはHMG群とGnRH併用群で差は認められなかったが、受精率は前者の87%に対して後者が52%でありHMG単独群が高かった。(2)両群ともに卵胞液量、E2、P4、hCG濃度の間には相関が認められた。特にE2とhCG値は強い正の相関を示した( $r=0.68$ ;  $n=94$ )。 (3)HCG、E2値はHMG単独群( $n=22$ )ではそれぞれ $206 \pm 64$ ( $M \pm SD$ )mIU/ml、 $829 \pm 642$ ng/mlに対してGnRH併用群( $n=72$ )では $108 \pm 37$ mIU/ml、 $424 \pm 16$  ng/mlで有意に低値であった。(4)P4、PRL値はHMG単独群ではそれぞれ $7.73 \pm 3.20$   $\mu$ g/ml、 $34.2 \pm 21.8$ ng/mlに対してGnRH併用群ではそれぞれ $6.51 \pm 3.20$ 、 $32.8 \pm 21.1$ で有意の差は認められなかった。結論 (1)卵胞液中に存在するhCGは外因性に投与したものの移行と考えられるが他のパラメーターと相関を示すこと、短時間で測定可能なことから卵・卵胞の成熟度判定の指標となりうる。(2)GnRH併用時に内分泌環境の変化が認められた。GnRH的作用によりHMG単独による卵巣刺激時の卵・卵胞成熟と比較して質的差異が生じ受精率にも影響を与える可能性が示唆された。

## I-24

## 体外受精による子宮外妊娠例および子宮内外同時妊娠例の血中ホルモン値に関する検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室、同中央臨床検査部内分泌\*

○赤星晃一、杉村和男、神野正雄、北村誠司、大澤淑子、岩田壮吉、小林俊文、野澤志朗、伊藤節子\*、佐久間宣江\*、竹中栄子\*

【目的】体外受精・胚移植法(IVF-ET)による妊娠例では、約5%と高率に子宮外妊娠が発生すると報告されている。今回われわれは、その体外受精による子宮外妊娠例の診断を早期に行うことを目的に、体外受精症例の受精後14日目の正常妊娠例と子宮外妊娠例および子宮内外同時妊娠例の血中ホルモン値に関し比較検討を行った。【方法】当科にて施行した体外受精症例186周期に関し、受精より14日目にStratusを用いたEIA法にて血中hCG値を測定し、受精から10日目の値と比較して妊娠の判定を行った。妊娠の成立した44周期に関し、受精後14日目の血中LH値と血中FSH値をStratusを用いたEIA法にて測定し、正常妊娠群と子宮外妊娠群で比較検討を行った。【結果】多胎妊娠も含め正常に妊娠が経過した27周期(正常群)の血中LH値はほとんどの症例で測定限界の0.5mIU/mlまたは0.5mIU/ml未満であり、1例のみが0.6mIU/mlであった。また、子宮外妊娠3周期(外妊群)の平均血中LH値は2.0mIU/mlで、これは正常群と比較して有意( $P<0.01$ )の高値を示した。また血中FSH値に関しても、正常群の平均は0.7mIU/mlで、これに比し外妊群の平均血中FSH値は、5.4mIU/mlと有意( $P<0.01$ )の高値を示した。また、子宮内外同時妊娠(内外共にheart beatingを認めた)が2周期に発生し、その血中LH、FSH値は、それぞれ1例がLH、FSH共に0.5mIU/ml未満と低値で、もう1例ではLHが0.6mIU/ml、FSHが1.9mIU/mlとやや高値を示した。【考察】受精後14日目の血中LH値が0.5mIU/ml以下と低値で、また血中FSH値が1.0mIU/ml以下と低値の場合、正常の妊娠である可能性が高い。反対に受精後14日目の血中LH値および血中FSH値が高値を示した場合、子宮外妊娠に対する注意が必要である。【結論】体外受精妊娠例に関し、受精後14日目という極めて早期に血中LH値および血中FSH値の測定により、正常の妊娠と子宮外妊娠の鑑別を行い得る可能性が示唆された。

## I-25

子宮外妊娠既往歴を有する体外受精に対するブセレリン併用hMG刺激の重要性：  
外妊発生機序におけるホルモン異常の可能性

杏林大学医学部産婦人科，慶應義塾大学医学部産婦人科\*  
○神野正雄，赤星晃一\*，杉村和男\*，小林俊文\*，野澤志朗\*，  
吉村泰典，中村幸雄

【目的】ヒト体外受精において最も妊娠率の高い適応は，男性因子正常な35～36歳までの純粋卵管因子不妊である。子宮外妊娠既往例は，普通この条件を満たし，さらに既往妊娠があることから最も妊娠しやすいものとする。しかしながら，当院での経験では，外妊既往例の成績は，期待ほど芳しくなかった。そこで卵巣刺激法をbuserelin併用hMG刺激法(long)に変更したところ，著明な改善を得たので報告する。【方法】体外受精227周期をretrospectiveに分析し，純粋卵管因子不妊(男性因子正常)のうち，外妊既往のある群(hMG単独またはhMG+buserelin)と外妊既往のない群(対照群，hMG単独のみ)を比較した。対照群は，外妊既往群の年齢(26～35歳)とマッチするよう抽出した。hMG単独法は，月経周期第3日より連日hMG150～300単位を投与し，血清LHが至適レベルに達した日の夜hCG10000単位を投与した。hMG+buserelin法では，高温期4日よりbuserelin900 $\mu$ g/日・分3を開始し，月経周期3日よりhMG150～300単位を連日投与し，主席卵胞径が16mmに達した日の夜hCGを投与した。hCG後36～38時間に採卵し，体外受精・胚培養を行い，採卵2日後に胚移植した。【結果】周期あたりの胚移植・妊娠・ongoing妊娠の率は，対照群(N=22)で73%・41%・36%，外妊既往hMG群(N=15)で47%・33%・27%，外妊既往hMG+buserelin群(N=5)で80%・80%・80%であった。【結論】外妊既往をもつ体外受精症例では，hMG単独投与は妊娠率の低下を生じ，buserelinを併用すると妊娠率が著しく改善する傾向が示された。外妊の発生機序にホルモン異常が関与する可能性が示唆された。

## I-26

体外受精妊娠例の超早期子後判定法に関する検討  
—血中hCG値測定法と尿中hCG値測定法の比較検討—

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室，同中央臨床検査部内分泌\*  
○岩田壮吉，杉村和男，神野正雄，赤星晃一，大澤淑子，北村誠司，藤田則子，  
小林俊文，田村昭蔵，野澤志朗，伊藤節子\*，佐久間宣江\*，竹中栄子\*

【目的】体外受精・胚移植法(IVF-ET)による妊娠成立とその妊娠の子後の判定を早期に行うことを目的とし，血中hCG値測定法および尿中hCG値測定法の二法に関し比較検討を行った。【方法】当科にて施行した体外受精症例171周期に関し，受精より14日目にStratusを用いたEIA法にて血中hCG値を測定し，受精から10日目の値と比較して2倍以上のhCG値の上昇を認めたものを妊娠例と判定した。妊娠の成立した41周期に関し，14日目の血中hCG値とハイソインクロンにて測定した尿中hCG値および妊娠の子後に関し検討を行った。【結果】多胎妊娠も含め正常に妊娠が経過した25周期(正常群)の平均血中hCG値は215mIU/mlで，ほとんどの例で60mIU/ml以上であり，60mIU/ml未満の症例は，34mIU/mlの1例のみであった。また，流産となった13周期(流産群)の平均血中hCG値は29mIU/mlで，51mIU/mlの1例以外はすべて50mIU/ml未満であり，正常群と比較して有意( $P<0.01$ )の低値を示した。一方，尿中hCG値に関しては，正常群は流産群と比較して有意( $P<0.01$ )の高値を示したが，個々の値に関しては，正常群と流産群に同一の値が存在した。尿中hCG値では32mIU/ml以上の場合，正常に経過することが多いが，正常群25例のうち16mIU/ml以下が4例見られた。また流産群では多くの例が8mIU/ml以下であったが，13例中32mIU/mlが1例，16mIU/mlが3例存在した。【考察】①受精後14日目の血中hCG値が60mIU/ml以上の場合，正常の妊娠経過をたどる可能性が高い。②血中hCG値が50mIU/ml未満の場合，流産の転帰をたどる可能性が高い。③受精後14日目の尿中hCG値にてもある程度の予後判定は可能であるが，その精度は血中hCG値測定法の方が優れている。【結論】体外受精妊娠例に関し，受精後14日目という極めて早期に血中hCG値の測定1回のみで，ほぼ正確にその妊娠の子後が判定できる可能性が示唆された。

## I-27

## IVF-ET 妊娠におけるインヒビン値の変動

モナッシュ大学 (現: 太田西ノ内病院)

○八日市谷 隆

【目的】妊娠中のインヒビンは、母体卵巣・胎盤・胎児より産生されていることを示唆する動物実験データがあるが、ヒト体外受精・胚移植 (IVF-ET) 妊娠におけるインヒビン値の変動を明らかにし、妊娠初期のインヒビン値の臨床的有用性について考察する。

【方法】モナッシュ大学での IVF-ET プログラムで妊娠した患者のうち、6 例の chemical pregnancy, 6 例の子宮外妊娠, 6 例の blighted ovum, 29 例の単胎妊娠, 5 例の双胎妊娠について、採卵後 2 週目 (妊娠 4 週) より妊娠 10 週 (又は流産手術) まで週 1 回採血し、血清中のインヒビンを RIA にて測定した。同一検体の HCG,  $E_2$ ,  $P_4$  も RIA にて測定した。

【結果】妊娠 4 週の時点で HCG 陽性の患者のインヒビン値は、非妊娠時の黄体期の値 ( $1.1 \text{ U/ml}$ ) より高く、予後に比例して双胎妊娠 ( $13.4 \text{ U/ml}$ )・単胎妊娠 ( $8.1 \text{ U/ml}$ )・blighted ovum ( $7.3 \text{ U/ml}$ )・子宮外妊娠 ( $5.9 \text{ U/ml}$ )・chemical pregnancy ( $2.2 \text{ U/ml}$ ) の順であった。インヒビン値はその後徐々に低下していったが、各グループの相対的順位に変化はなかった。blighted ovum と子宮外妊娠においては手術時まで経時的に HCG は上昇していたが、インヒビンは下降していった。

【考察】インヒビン値は妊娠 4 週の時期にすでに非妊娠時に比べ高値を示しており、またその時点の値によってその予後を予測できる可能性がある。特に経時的な測定は有用性が高いと考えられる。

## I-28

## IVF-ET 培養液中の platelet activating factor (PAF) 濃度の検討

岡山大学産科婦人科学教室

○中塚幹也 吉田信隆 平野由紀夫 谷 政明 白河一郎 多賀茂樹  
片山隆章 名越一介 野間 純 清水健治 関場 香

【目的】生殖の分野において、platelet activating factor (PAF) が種々の役割を果たしている可能性が指摘されている。特にマウスにおいては、PAF の関与により受精後に血小板減少が出現することが報告されている。しかしヒトにおいては検出が困難であり、測定方法としても血小板の凝集能、顆粒放出能を指標とした bioassay が中心であるため、受精前後の PAF 自体の濃度を測定した報告はない。私達は他の因子の影響を除外した IVF-ET 培養液中の PAF 値を radioimmunoassay (RIA) により測定し、受精における PAF の関与について検討した。

【対象・方法】卵管因子による適応の IVF-ET 施行患者 6 名の ET 施行までの約 36~40 時間に使用した 15% 患者血清加ヒト胚培養液 (25 samples) を試料とした。ET 試行時に判定した受精の有無により受精卵群 ( $n=20$ )、非受精卵群 ( $n=5$ ) の 2 群に分けて検討した。また control として未使用の 15% 患者血清加ヒト胚培養液 ( $n=6$ ) を用いた。Bligh & Dyer 法にて培養液中の脂質を抽出し、シリカゲル・カートリッジを使用して PAF を精製し RIA 用試料とした。これを New England Nuclear 社製 RIA キットを用いて PAF を定量した。

【結果】培養液中の PAF 濃度は、受精卵群では  $380.5 \pm 296.0$  (mean  $\pm$  SD) pg/ml、非受精卵群では  $115.8 \pm 162.7$  pg/ml、control 群では  $67.3 \pm 92.8$  pg/ml であった。各症例 (6 名) で各々、培養液中の PAF 濃度を受精の有無で比較すると (t 検定)、受精卵群では、control 群に比して有意に高値であり ( $p < 0.01$ )、非受精卵群に比しては高値の傾向が見られた ( $p < 0.1$ )。

【結論】生体内の他の影響から離れた IVF-ET 施行時の培養液中の PAF 濃度を測定し、受精卵から PAF が産生されることが示唆された。

## I-29

## 体外受精・胚移植法にて妊娠せず、その後自然妊娠した7症例

スズキ病院 ○飯田 修一、千田 智、小田原 靖  
蛭田 益紀、森 滋、鈴木 雅洲

【緒言】当院では現在までに約1000例の体外受精-胚移植(IVF-ET)を施行し、約200例の妊娠に成功している。しかし、IVF-ETを受けるも妊娠せず、また妊娠しても初期流産する患者も多い。最近、治療を中止または中断した患者のなかで、その後自然妊娠した症例が散見された。

【症例】当院にて、IVF-ET開始より平成3年3月までに、IVF-ETを施行するも妊娠せず、その後、自然妊娠した症例が7例あり、これらの症例につき報告する。

【臨床経過】これらのIVF-ETの適応は、両側卵管閉塞3例、骨盤内強度癒着1例、男性因子3例であった。7名の治療経過は6名が1回目、1名が2回目のIVF-ET後の自然妊娠で、IVF-ET施行後、すべて1年以内に自然妊娠が成立した。このうち、胎児心拍が確認されたのが4例、その他は、枯死卵、子宮外妊娠、臨床経過不明がそれぞれ1例である。

【考察】このようなことが起こる原因として、骨盤内癒着による卵管腹膜性不妊では、癒着の程度と妊孕性に客観的な指標がないことや卵胞の穿刺が妊娠を促進する方向(穿刺による癒着の剥離や排卵の促進など)に働いたことなどが考えられる。また、両側卵管閉塞による不妊に対しては、卵管、子宮の炎症の改善によって卵管が自然に再開通したことなどが考えられる。

そこで、卵管腹膜性不妊に対しては子宮卵管造影、腹腔鏡の併用を原則とする経時的、かつ慎重な診断が必要であるが、診断には限界があると考えられる。男性不妊に対しては薬の効果をみるための長期間にわたる経過観察は必要であるが、精子数と運動率のみで重症度を判断するのは困難であり、適切な診断基準が必要であると思われる。なお、今回の全症例において、IVF-ET時に受精を確認しており、いわゆる受精障害はなかった。

## I-30

## 体外受精不成功後の自然妊娠

虎の門病院産婦人科

○児島孝久、東梅久子、小川恵吾、高橋敬一、佐藤孝道

体外受精(以下IVF)は頭初卵管の不妊の治療を目的に開発された方法であるが、最近では男性因子や原因不明不妊にも広く実施されるようになった。これにより、IVF後比較的高頻度の自然妊娠を報告する施設もある。われわれは1987年よりIVFを開始し、1991年6月までに142症例に対して432回のIVFを施行したが、IVF不成功後の自然周期で妊娠に至った症例はわずか3例であったので、これらの症例について報告する。症例1) I.M 33歳、結婚25歳、原発性不妊にて近医受診し、卵巣嚢腫を指摘され、1984年左付属器切除術を受けた。翌85年右卵管水腫に対して開口術ならびに癒着剝離術を受けたが、1987年卵管造影で再び水腫と診断された。1988年10月IVFを施行したが、妊娠しなかった。1990年11月30日を最終月経に自然妊娠し、同年9月6日正常分娩した。症例2) I.K 30歳、結婚23歳、原発性不妊で1987年10月当科初診。計3回の卵管造影で卵管の通過性を確認されず、1989年9月両卵管峡部閉塞に対して卵管形成術を受けた。翌年5月卵管造影で両卵管閉塞と診断され、1990年8月IVF施行したが成功しなかった。同年10月11日を最終月経に自然妊娠したが、不正出血と腹痛が続き、11月22日右卵管峡部妊娠で右卵管切除術を施行した。症例3) Y.Y 39歳、結婚24歳、結婚以来7回の自然流産の既往があり、5年の不妊を主訴に1990年3月当科初診。リンパ球輸血を施行後、同年5月から1991年1月まで計3回のIVFを施行したが妊娠に至らなかった。1991年5月18日を最終月経に妊娠したが、児心拍が確認されたものの妊娠10週に児心拍が消失し、6月27日8回目の自然流産となった。

【考察】今回の症例の不妊因子は2例が卵管因子、1例が原因不明不妊であった。われわれはIVFを現段階では不妊症治療の最終手段と考えているが、適応を厳密にすると体外受精不成功後の自然妊娠率は著しく低いことが明らかになった。

## I-31

## IVF-ET不成功後の自然周期に妊娠が成立した4症例

聖隷浜松病院産婦人科

○西垣 新・大谷嘉明・西村 満・岡田 久

IVF-ETは卵管因子、乏精子症、子宮内膜症、原因不明不妊など、一般の不妊治療で妊娠が難しい症例に対して行われる。当科でも1989年11月よりこれらの症例に対してIVF-ETを施行しているが、IVF-ET不成功後の自然周期に妊娠が成立した4症例を経験したので報告する。

『症例1』32歳。7年の原発性不妊。腹腔鏡にて両側卵管周囲癒着を認めた。男性因子もあり、AIHを4回施行したが妊娠に至らなかった。卵管因子、男性因子を適応にIVF-ETを2回施行したが、不成功に終り、4周期目の自然周期に妊娠が成立した。『症例2』37歳。8年の続発性不妊であり、右チョコレート嚢腫にて右付属器切除の既往あり。腹腔鏡で腹腔内癒着を認めたが、右卵管通過性は良好で、腹水中精子回収試験も(+)であった。その後AIH11回、GIFT1回施行するも妊娠に至らず、男性不妊を適応にIVF-ETを施行するも、不成功に終り、4周期目の自然周期に妊娠が成立した。『症例3』35歳。6年の原発性不妊。腹腔鏡にて高度な両側卵管周囲癒着を認めたため、開腹し癒着剥離術を施行した。男性因子もありAIH8回、DIIP2回、GIFT1回施行するも妊娠に至らなかった。卵管因子、男性因子を適応にIVF-ETを施行し、1回目は流産となり、2回目、3回目は不成功となったが、4周期目の自然周期に妊娠が成立した。『症例4』38歳。11年の原発性不妊であり、右卵巣嚢腫摘出術の既往あり。腹腔鏡にて子宮内膜症(R-AFSⅣ)を認めた。GIFT1回施行するも妊娠に至らず、子宮内膜症を適応にIVF2回施行するも、1回目は卵の変性、2回目は採卵できずETに至らなかった。2回目不成功周期に自然妊娠が成立した。

以上4症例とも5年以上の長期不妊例であり、すべてIVFの採卵後4周期以内に自然妊娠が成立したことより、採卵操作が妊娠成立に好影響を与えたと思われた。

## I-32

## 株化細胞との共培養による mouse 2-cell block の改善

田辺製薬(株) 安全性研究所

○新比恵啓志, 有行史男

【目的】'in vitro mouse 2-cell block'の改善を目的として、これまで、マウス受精卵とマウス胎児線維芽細胞あるいはヒト卵管上皮細胞などの共培養が行われている。今回、我々は入手が比較的容易で、維持可能な株化細胞とマウス体外受精卵との共培養を試みた。

【方法】株化細胞には、CHL/1U (チャイニーズハムスター・肺)、CHO-K1 (チャイニーズハムスター・卵巣) およびHEPM (ヒト胎児口蓋) を用いた。各細胞は共培養開始48時間前に4 well multi dishに $5 \times 10^4$ 個/well播種した。培養液には、10%FCS含有ダルバッコ変性イゲル培地を用い、各well, 1mlとした。未受精卵は、PMSG(5IU)およびhCG(5IU)を腹腔内投与したICRマウスの卵管膨大部から、hCG投与17時間後に採取した。精子は、同系の雄の精巣上部尾部から採取し、1時間前培養した後、媒精に供した。体外受精は、10%FCS含有HTFの微小滴培養液下で行った。媒精6時間後に、予め株化細胞を播種した4 well multi dishに受精卵を移し、共培養を開始した。37°C, 5%CO<sub>2</sub>, 95%airの条件下で共培養を続け、24時間毎に倒立顕微鏡下で卵の形態を観察した。対照群として4 well multi dish内で受精卵を単独培養する群を設けた。

【結果】1細胞から2細胞への発生率は、株化細胞の違いによる有意差は認められなかった。2細胞から4細胞以降への発生は、CHO-K1群およびCHL/1U群では認められたが、HEPM群および対照群では認められなかった。4細胞以降への発生率はCHO-K1群がCHL/1U群よりも高かった。胚盤胞への発生は、いずれの群でも認められなかった。

【結論】株化細胞であるCHO-K1とCHL/1Uには2-cell blockの改善効果が認められた。改善には差がありCHO-K1が最も良かった。一方、HEPMには認められなかった。

## I-33

## ハムスター体外受精卵の8細胞期胚発生

○中山貴弘 野田洋一\* 馬岡 陽\* 森 崇英\*  
 国立大阪病院産婦人科 京都大学医学部婦人科学産科学教室\*

【目的】ハムスターはin vitro胚培養において胚発生停止が極めて厳しく成立する系として知られている。我々はハムスター体外受精卵において、低酸素下培養および採卵時間の短縮を行うことにより、2-cell block現象を解除し、形態的にも正常な4細胞期胚を得ることに成功したが、それ以後の胚発生は認められなかった。今回、ハムスター体外受精卵において採卵・培養操作中の光照射を可及的に回避することにより、8細胞期胚への発生に成功したので報告し、光が胚発生に及ぼす影響について検討した。

【方法】6週齢雌ゴールデンハムスターをPMSGおよびHCGにて過排卵誘起し、HCG投与18時間後に採卵し、前培養した成熟雄の精巣上体尾部精子を媒精した。培養液はHECM-1を用い、採卵所要時間は3分、培養気相は37°C、5%CO<sub>2</sub>、5%O<sub>2</sub>、90%N<sub>2</sub>とし、媒精72時間後の胚発生効率を判定した。培養方法は、培養中の胚発生の観察方法の違いにより、以下の3群に分類して成績を比較した。〔A群〕媒精後24時間毎に位相差顕微鏡を用い胚発生を観察した。〔B群〕媒精48時間後に位相差顕微鏡を用い胚発生を観察した。〔C群〕途中観察を行わず胚の遮光を完全に行なった。

【結果】〔A群〕33%の胚が2細胞期胚へ発生したが、4細胞期胚への発生は認められなかった。〔B群〕8%の胚が4細胞期胚へ発生したが、それ以後の胚発生は認められなかった。〔C群〕5%の胚が8細胞期胚へ発生した。4細胞期胚までの胚発生効率は、B群との間に差を認めなかった。

【考察】ハムスター体外受精卵は、体外培養環境要因のうち、光に対してとりわけ鋭敏で、光照射により以後の胚発生が阻害されることが判明した。低酸素下培養と可及的に光刺激から胚を保護することにより、ハムスター体外受精卵において低率ながら初めて8細胞期胚を得ることに成功した。

## I-34

## マウス及びハムスター初期胚発育に与えるCZBの効果

福島県立医科大学産科婦人科学教室

○藤森 淑、柳田 薫、市川文隆、星 和彦、佐藤 章

【目的】マウス及びハムスターの2-cell blockを解除する方法は数々報告されてきているが、初期胚発育を促進させる培養条件はヒトにおけるIVF-ETの妊娠率向上につながるものと思われる。今回我々は、GlutamineとEDTAを含んだCZB培養液でマウスとハムスター前核期胚を培養し、初期胚発育に与えるCZBの効果とGlucoseの必要性を検討した。

【方法】ICR系幼若雌マウスをPMS・hCGにて過排卵処理後、同系雄マウスと交配させ18時間後に前核期胚を採取した。同様にハムスターの前核期胚も採取した。この胚をCZB(含Glutamine, EDTA, 0.5%BSA)にて培養(37°C, 5%CO<sub>2</sub> in air)し、Day3にGlucoseを添加した場合としない場合で比較検討した。対照群として0.5%BSA加mBWWと、EDTAを含む0.5%BSA加mBWWで胚を培養して24時間毎に胚の形態を観察した。

【結果】1) マウスの前核期胚からの胚盤胞発生率はmBWWのみの場合で4.5%、EDTA添加mBWWの場合0.8%であった。CZBでDay3にGlucoseを加えた場合の胚盤胞発生率は45.9%、加えない場合には52.7%で対照群に比較して有意に高率であった。2) ハムスターの場合胚盤胞まで発生した卵は認めず、mBWWでもCZBでも2-cell blockを解除することは出来なかった。

【結論】1) CZB培養液がマウスの2-cell blockを解除し高い胚盤胞発生能を有することが判明した。また初期胚発生においてGlucoseは必要ないものと示唆された。2) ハムスターの初期胚培養に関してはさらに検討が必要である。

## I-35

EGFの初期胚発育への影響—形態学, グルコース取込み能による解析

東京大学医学部産科婦人科学教室, 横浜市立大学医学部生化学教室\*

○細谷岩生, 堤 治, 森田 豊, 綾部琢哉, 三橋直樹, 水野正彦, 加藤尚彦\*

【目的】Epidermal Growth Factor(EGF)は53個のアミノ酸からなるポリペプチドであり, 近年生殖生理における役割が注目されている細胞増殖調節因子の一つである。初期胚におけるエネルギー代謝は胚の発育に伴ない, グルコース非依存型からグルコース依存型へ移行する。特に8 cellからは glucose uptake は exponential に増加する。今回我々は, 初期胚の in vitro における胚発育へのEGFの影響を, 形態学的に, またグルコース取込み能より比較検討した。

【方法】B6C3F1マウス6~8週齢のメスをPMS-hCGにて過排卵処理し, matingののち臍栓を確認したマウスより, hCG ip 40時間後(2-cell stage)卵を回収した。この中から2-cell embryoを選択し, それを I = control, II = EGF1 ng/ml, III = EGF 10 ng/mlの3群に分け, mBWW 1 ml中で48時間培養しその形態を観察したのち, glucose freeのmBWWにてwashした。次いでglucoseの代わりに<sup>3</sup>H-deoxy-glucose(DG\*)を加えたmBWW 5.2  $\mu$ l中にて, 初期胚を個別に超微小培養法にて1時間培養しwashした後, scintillation counterにて卵一個一個のDG\* uptake量を測定した。

【結果】①形態学的には2-cell embryoからBlastocystにまで発育したのは, I 58%, II 63%, III 58%であり, 3群間に有意差はないが, expanded Blastocystの割合はEGF添加群により多く認められた。

②DG\* uptakeは, Blastocystでは, I 2440  $\pm$  1870 (M  $\pm$  SD) cpm (in vivoでは8390  $\pm$  2680 cpm), II 3310  $\pm$  1590 cpm, III 4250  $\pm$  1740 cpmでありEGF添加群で有意に上昇した。

【結論】①DG\* uptakeは初期胚発育度の一つの指標になりうる事が示された。

②EGFはin vitroにおける初期胚のglucose uptakeを濃度依存的に有意に増加させ, 胚発育を促進することが示唆された。

## I-36

マウス胚培養に於けるB S A結合脂肪酸の影響

京都大学医学部婦人科学産科学教室

○野々垣多加史, 野田洋一, 夏山 知, 馬岡 陽, 成木勝彦, 森 崇英

【目的】我々はヒト体外受精胚移植法に於ける胚培養条件改善のモデルとしてマウスを用い, 初期胚培養に於ける胚発生遅延ないし停止の現象に対する活性酸素の関与について示してきた。活性酸素が胚発生を阻害する機構は未だ不明であるが, ひとつの可能性として細胞膜等の脂質の過酸化によることが考えられる。一方, 一般に細胞を培養する際には培養液中に血清等に由来する蛋白の添加が行われる。この蛋白添加の意義には諸説があるが, 蛋白に結合する脂質を重視する説もある。今回我々は, 培養液中に添加されるB S Aに結合する脂肪酸の, 初期胚発育に対する意義について検討した。 【方法】2-cell blockを示すTuck系マウス(Outbred)の幼弱雌にPMSG, hCGにより過排卵処理を行い, 同系雄と交配させた。hCG後17時間, 45時間にてそれぞれ前核期胚, 2細胞期胚を回収した。BWW液に, fraction V B S A, 脂肪酸を除去したB S A, またはLui & Meizelの方法によりパルミチン酸, オレイン酸, リノール酸, リノレン酸, のひとつを付加したB S Aを加えた液にて胚を培養し, 以後の胚発生を形態的に評価した。結合した脂肪酸の量は, HPLCにより測定した。 【結果】Lui & Meizelの方法によりB S A 1 mol当り 2.8-7.1 molの脂肪酸を付加できた。この方法により脂肪酸添加したB S Aを0.3%添加して培養すると前核期からはおろか, 2細胞期からの培養に於いても胚発生は阻害された。その内では, オレイン酸は比較的抑制が弱かった。 【考察】B S Aに大量のパルミチン酸ないし高度不飽和脂肪酸が結合している場合, 胚発生は阻害される。大量の脂質が胚の脂質代謝に影響を及ぼす可能性の他に, 不飽和脂肪酸の過酸化が膜脂質の過酸化の開始に関わっている可能性も考えられる。

## II-1

## 非観血的な方法による子宮内膜症実験モデルの作製

北海道大学医学部産婦人科

○室城宸一、桜田芳弘、林正路、及川衛、山本律、田中俊誠、藤本征一郎

〔目的〕 外科的操作を必要としないマウスを用いての実験的子宮内膜症の発生が可能か否かを検討する。

〔方法〕 ①6-8週齢の雌(♀)、雄(♂)の近交系のC3H/HeとBALB/cマウスを用いた。②ネブタール麻酔下の♀の子宮口から耳鼻科用オトスコプを用いて♂より採取した下垂体を右子宮角に挿入した。③移植直後および5週後より胡麻油に溶解したestradiol (E<sub>2</sub>)を10回(1/週)腹腔内投与した。④移植後約20週において開腹し、両側の子宮を採取し、内膜症の発生を肉眼的ならびに組織学的に検討した。

〔成績〕 ①移植後15週以内では内膜症の発生は認められなかった。②内膜症の発生は、移植17週以降で確認された。③移植後17週で20%(1/5)、以下同様に20週で33%(10/30)、23週で43%(16/37)、25週で90%(9/10)に内膜症が発生した。

〔結論〕 ♂の下垂体を経腔的に子宮角に挿入し、E<sub>2</sub>を投与することでマウスに内膜症が発生することを確認した。非観血的な方法による子宮内膜症の動物実験モデルの作製に成功した。

## II-2

## ダナゾールのウサギ子宮内投与による子宮内膜直接効果

京都府立医科大学産婦人科学教室

○山下貞雄、大野洋介、北川一郎、細田修司、小石清子、岡田弘二

ダナゾールの子宮内膜に対する局所投与による臨床的有効例がいくつか報告されているが、その作用機序に関する基礎的な研究は十分に行われているとは言いがたい。そこでわれわれは、ステロイドレセプターおよび組織学的見地から、ダナゾールをウサギ子宮内に投与してIn vivoでの子宮内膜への直接効果を検討した。

〔方法〕 6週齢の未熟雌ウサギに17β-estradiol(E<sub>2</sub>) 50μgを1日1回、連日3日間筋注したところで開腹、子宮の内腔の一側にダナゾールゲルを5mg、他側にコントロールとして溶媒ゲルのみを注入して閉腹、続いてE<sub>2</sub>を同量ずつ連日2日間筋注したものをE<sub>2</sub>群とした。同様に未熟雌ウサギに17β-estradiol(E<sub>2</sub>) 50μgを1日1回、連日3日間筋注したところで開腹、子宮の内腔の一側にダナゾールゲルを5mg、他側に溶媒ゲルのみを注入して閉腹、続いてProgesterone(P) 200μgを同量ずつ連日3日間筋注したものをE<sub>2</sub>+P群とした。各群のウサギは最終投与の24時間後断頭屠殺し子宮を摘出し、レセプター量は、cytosol分画での結合量をDCC法、Scatchard解析により求めた。

〔結果〕 E<sub>2</sub>群ではControl子宮(C子宮)に対してDanazol子宮(Dz子宮)ではERが74%、PRが86%、ARが84%ですべて有意に減少していた。E<sub>2</sub>+P群でも同様に、ERが63%、PRが62%、ARが66%ですべて有意に減少していた。これを組織学的にみてもDz子宮ではcellularityの低下などE<sub>2</sub>効果の阻害を示唆する所見が見られた。これらの結果から、子宮内に投与されたdanazolが子宮内膜ステロイドレセプター機構に直接作用してこれらの効果を示したと考えられる。現在これらのステロイドのアンタゴニストを用いて、レセプター間の相互関係について検索中である。

## II-3

## Gossypol のブタ顆粒膜細胞アロマターゼ活性阻害作用

日本医科大学産婦人科, The Ohio State University\*

○明楽重夫, 可世木久幸, 家永 聡, 大村 浩, 三田俊二, 荒木 勤, Y. C. Lin\*

【目的】子宮内膜症の薬物療法として現在ダナゾールとプレレリンが広く使用されているが症例により副作用が問題となる。一方Gossypolはその強いヒト子宮内膜萎縮作用から中国、米国などで子宮内膜症に臨床応用が始められており、強い副作用は報告されていない。Gossypolの作用部位として子宮内膜への直接作用や卵巣でのステロイド合成経路への関与が挙げられているが詳細は未だ不明である。今回我々はGossypolのブタ顆粒膜細胞アロマターゼ活性に対する効果を検討したのでここに報告する。【方法】ブタ小卵胞より顆粒膜細胞を採取しHam's F-12/DMSO培地にて細胞培養を開始した(5X10<sup>5</sup> viable cells/well)。48時間後に培養液を交換しFSHを100 ng/ml, Gossypolを0-2 μg/ml単独にまたは同時に添加して更に24時間培養した。再度培養液を交換した後、2 μCiの[1β-<sup>3</sup>H] Androstenedioneを加え6時間培養した。培養液をエーテルにて抽出後アロマターゼにより生成された<sup>3</sup>H-H<sub>2</sub>Oを測定した。【結果】対照群では32.5±2.5 (CPM/μg Protein)のアロマターゼ活性が認められたのに対しFSHは活性を約7倍に高めた(209.5±12.5)。Gossypolは0.5, 1 μgでやや対照群の活性を高めたが有意な差は認められなかった。一方FSH添加群においてGossypolは1 μgでやや活性を高め(290.8±35.2, 有意差なし), 2 μgで有意に活性を阻害した(50.2±9.6)。尚, 全実験系において顆粒膜細胞のViabilityには変化がなかった。【結論】Gossypolはブタ顆粒膜細胞におけるFSHによるアロマターゼ活性のInductionを阻害する。

## II-4

## 子宮内膜症合併不妊に対する油性造影剤の治療効果の基礎的検討

近畿大学医学部産婦人科

○猿渡善治, 堀井高久, 笠野有里, 高瀬規久也, 星合 昊, 野田起一郎

子宮卵管造影後に、妊娠成立をみることは広く知られている。また子宮内膜症患者の腹腔内M $\phi$ 数が増加している、などの報告も近年多くなされている。そして子宮内膜症患者の不妊原因の1部が、腹腔内M $\phi$ , M $\phi$ の分泌する各種サイトカインと関連づけられて報告されている。そこで今回われわれは、子宮卵管造影で使用されている油性造影剤の腹腔内M $\phi$ に対する効果に関して検討を行った。すなわちICRマウスにOK432 0.1 KEをipしM $\phi$ を誘導させ、リピオドール、ダナゾール10<sup>-5</sup>M, 単独および併用でDAY 2, 4にipし、排卵誘発, matingした後、妊娠率、胎仔数を比較検討した。その結果妊娠率が、リピオドール投与群57.1%, リピオドール, ダナゾール併用群72.7%, とOK432単独群12.5%に比べ有意に改善した。また同様の検討をDAY 6に投与で行った。その結果リピオドール投与群の妊娠率は43%, リピオドール, ダナゾール併用群では、25%であった。次にDAY 2, 4に各種薬剤ip後のM $\phi$ 数を検討した。その結果M $\phi$ 数は、OK432単ip群は8.7×10<sup>6</sup>個であったが、リピオドールip群11.1×10<sup>6</sup>, リピオドール, ダナゾール併用群13.4×10<sup>6</sup>個と有意に増加した。また誘導したM $\phi$ を、各種薬剤を添加しin vitroで培養した上清中のIL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> $\alpha$ を測定した。コントロールに比べリピオドール添加群ではIL-1 $\beta$  PGE<sub>2</sub>は低下したがPGF<sub>2</sub> $\alpha$ は上昇した。リピオドール, ダナゾール併用群でも有意にIL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub>は低下PGF<sub>2</sub>は上昇した。次に各種薬剤を添加した培養上清を精子に添加しハムスターテストを行なった。M $\phi$ 培養上清添加群の受精率は異常低値を示したが、リピオドール添加群, リピオドール, ダナゾール併用添加群で受精率が改善を示した。以上より、リピオドールは、IL-1 $\beta$ の低下, PGF<sub>2</sub> $\alpha$ の上昇等ということを通じてマウス妊孕力を改善させていると考えられた。

## II-5

## 胚発育に及ぼす子宮内膜症患者血清の影響について

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○アントワン アブムサ、高橋健太郎、山崎裕之、迫田良一、北尾学

【目的】子宮内膜症患者の不妊原因を調べるためにマウス初期胚発育に及ぼす子宮内膜症患者血清の影響について検討した。

【研究対象および方法】子宮内膜症患者26名と子宮内膜症の認められない不妊症患者39名の血清を用いた。子宮内膜症の内訳はr-AFS 分類Ⅰ期 6名、Ⅱ期 6名、Ⅲ期 4名、Ⅳ期10名であった。マウス初期胚は5%患者血清を添加したHam's F 10で72時間培養した後、blastocystを確認した。また、血清を添加していないHam's F 10で培養したものをcontrol とした。

【結果】培養72時間後のblastocyst発生率は子宮内膜症患者で 24%であり、非子宮内膜症患者の54%、control の 59%に比べて有意に低率であった( $p < 0.05$ )。子宮内膜症患者でr-AFS 分類によって分類した場合のblastocyst発生率はⅠ・Ⅱ期 22%、Ⅲ・Ⅳ期 25%であり、臨床進行期の間では大きな差は認められなかった。子宮内膜症患者のうち、7例に薬物療法を施行し、その前後でblastocyst発生率を比較してみると、治療前が 23%で治療後は 61%と有意にblastocystの発生率が上昇した( $p < 0.05$ )。

【結論】子宮内膜症患者では臨床進行期に関係なくマウス初期胚発育を阻止する何らかの因子が患者血清中に存在し、また、子宮内膜症の治療によりその因子が減少あるいは消失することが示唆された。

## II-6

## 子宮内膜症患者における腹水中サイトカインの検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室，同免疫研・生物学部門\*

○小山伸夫 松浦講平 本田律生 菊池雄士\* 高津聖志\* 岡村 均

(目的) 子宮内膜症患者(以下、本症)の不妊原因については様々の観点から考察が行われてきている。本症患者腹水中に存在するインターロイキン1(IL-1)が初期胚の発育を抑制するという報告があるが、一方では、局所の免疫応答におけるインターロイキン5(IL-5)の重要性がいわれてきている。今回、本症患者腹水中のIL-1, tumor necrosis factor(TNF)ならびにIL-5を検討したので報告する。

(対象及び方法) 対象は当科で開腹術・腹腔鏡検査を行い腹水を採取した30例で、その内訳は本症19例とその他の骨盤内疾患11例(PID が3例、悪性腫瘍、術後癒着、機能的な不妊症が各2例、子宮筋腫、卵巣腫瘍各1例)である。本症の重症度分類(r-AFS 分類)はⅠ期が9例、以下Ⅱ期1例、Ⅲ期5例、Ⅳ期4例であった。術中採取した腹水は遠心後、上清を測定まで $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。測定はIL-5とIL-1がELISA法、TNFがL-929 bioassayで行ない、各検出感度はIL-5が $0.05\text{ng/ml}$ 、IL-1が $0.5\text{ng/ml}$ 、TNFが $0.5\text{ng/ml}$ でそれ以上を陽性とした。(成績) 本症におけるIL-1, TNF陽性者はなかったが、IL-5では本症の10例(52.6%)が陽性で、重症度に分けて陽性率をみるとⅠ期が33.3%(3/9)、Ⅱ期が100%(1/1)、Ⅲ期が80%(4/5)、Ⅳ期が50%(2/4)でⅡ期以上では70%(7/10)であった。IL-5の濃度(ng/ml)はⅠ期が $0.86 \pm 0.92$ 、Ⅱ期1.10、Ⅲ期 $1.68 \pm 1.47$ 、Ⅳ期 $2.42 \pm 2.52$ であった。その他の骨盤内疾患の11例中9例(81.8%)にIL-5が検出され、各疾患の濃度(ng/ml)はPIDが $2.14 \pm 2.79$ 、悪性腫瘍が $1.03 \pm 0.66$ 、機能的な不妊症が $1.30 \pm 0.57$ 、子宮筋腫が2.90、術後骨盤内癒着が2.40、卵巣腫瘍が3.69であった。(結論) 1. 本症患者腹水中にも約50%の頻度でIL-5の存在が確認されたが、IL-1, TNFは検出されなかった。2. 重症度に従いIL-5の陽性率ならびに濃度も高くなる傾向を認めた。腹水中のIL-5は本症に特異的に出現するものではないが、今回の結果は本症の腹腔内では免疫担当細胞が活性化状態にあることを示唆した。

## II-7

子宮内膜症腹腔マクロファージにおけるinterleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) mRNA  
およびIL-1 receptor antagonist mRNAの発現

岐阜大学医学部産科婦人科

○伊藤直樹、澤入美穂、操 良、中川美紀、和田圭介、森 秀弘、  
玉舎輝彦

Interleukin 1 (IL-1)は、繊維芽細胞の増殖促進、prostaglandinsやproteaseの産生亢進作用により子宮内膜症を含む種々の疾患の病態形成に深く関与している。さらに近年、IL-1産生細胞であるマクロファージが、IL-1の作用を特異的に抑制するIL-1 receptor antagonist (IL-1ra)を産生・放出していることも明らかとなった。今回我々は、内膜症腹水のIL-1 $\beta$ 濃度、腹腔マクロファージによるIL-1 $\beta$ 産生とそのIL-1 $\beta$  mRNAおよびIL-1ra mRNAの発現を検討し、若干の成績を得たので報告する。

【方法】対象は内膜症26例で、腹水のIL-1 $\beta$ 濃度を定量、また、腹水細胞からマクロファージを単離し24時間培養後、上清のIL-1 $\beta$ を定量 (IL-1 $\beta$ 産生能)した。さらに、腹腔マクロファージと末梢血単球からpoly(A)<sup>+</sup> RNAを分離し、Northern blot 解析にてIL-1 $\beta$  mRNAおよびIL-1ra mRNAを検出した。

【成績】(1) 腹水のIL-1 $\beta$ 濃度は、対照 (正常骨盤腔)が1 ng/ml未満であったのに対して、内膜症のI-II期では1 ng/ml以上の症例もみられ対照に比し有意の高値を示した。しかし、内膜症III-IV期では有意の増加を認めなかった。(2) 腹腔マクロファージはin vitroでIL-1 $\beta$ を産生・放出したが、IL-1 $\beta$ 産生能と腹水IL-1 $\beta$ 濃度との間には相関を認めなかった。(3) 内膜症の末梢血単球は、IL-1 $\beta$  mRNA、IL-1ra mRNAのいずれも発現していなかった。内膜症の腹腔マクロファージは、I期では主にIL-1 $\beta$  mRNAを、II期ではIL-1 $\beta$  mRNAとIL-1ra mRNAを、III期では主にIL-1ra mRNAを発現していた。

【結論】内膜症早期ではその腹水中にIL-1 $\beta$ 産生マクロファージが優位に存在するものの、内膜症の進行に伴いIL-1ra産生マクロファージが増加してくることが示唆された。マクロファージはその分化に伴い、IL-1産生能が減弱し逆にIL-1ra産生能が亢進することが知られており、早期の内膜症腹水には、分化の早い段階のマクロファージが優位であるため腹水のIL-1レベルが高いものと推察された。

## II-8

子宮内膜症の腹腔内貯留液のmonokine濃度と胚発生への関連

— 治療前後での検討 —

東京大学産科婦人科教室

○郭 宗明・武谷雄二・水野正彦

【目的】子宮内膜症(EM)の不妊機序の1つとして腹腔内貯留液(PF)中のmonokineが注目されており、特にinterleukin (IL-1)が卵管を介してembryo-toxicに作用することが報告されている。今回EMのPF中のmonokine濃度及び胚発生への影響がEMの薬物療法の前後で変化するか否かを検討した。

【方法】非EM群20例、EM群(治療前)19例、EM群(治療後)10例のPFを採取し、IL-1 $\beta$ 、IL-2、tumor necrotic factor (TNF)の濃度をELISAにて測定した。またPFの胚発生に及ぼす影響はICR雌マウスの2細胞期胚と同系卵管切片との共培養系にPF(5%)を添加し24h後の卵割を観察した。

【成績】①PF中のIL-1 $\beta$ 濃度(pg/ml)は非EM群 $5.1 \pm 1.5$  (mean  $\pm$  S.E.)、EM群(治療前) $34.6 \pm 8.4$ であったが、EM群(治療後)ではいずれも検出限界以下であった。②TNF濃度(pg/ml)は非EM群 $64.0 \pm 17.3$ 、EM群(治療前) $308.2 \pm 98.6$ 、EM群(治療後) $2.41 \pm 0.7$ であった。③PF添加により5細胞期胚以上に発育した卵の割合は非EM群74%、EM群(治療前)51%、EM群(治療後)75%であり、EM群で有意( $P < 0.01$ )に低下し、治療後には非EM群のレベルに回復した。④症例毎にみると5細胞期胚が70%以上の割合であった例数は非EM群8/10、EM群(治療前)4/19、EM群(治療後)8/10であり、EM群で有意( $P < 0.05$ )に低下し、治療により回復した。⑤上記の治療後の変化は薬剤の種類によらなかった。

【結論】EMのPF中のIL-1やTNFの濃度は増加していたが治療後には有意に低下し、EM中のPFのembryo-toxicityも治療後消失した。以上より治療後のPFのembryo-toxicityの消失はPF中のmonokinesの低下に帰することが示唆された。

## II-9

## 子宮内膜症患者における腹水性状の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室

○西村 弘 松浦講平 河野哲郎 本田律生 岡村 均

(目的) 近年子宮内膜症患者の不妊原因としてその腹水因子の解析がおこなわれているが、腹水の性状ならびに量を重症度や月経周期に分けて検討した報告は少ない。そこで今回、当科で腹腔鏡検査を行った症例についての検討結果を報告する。(対象) 昭和60年1月より平成2年12月までの6年間に腹腔鏡検査あるいは開腹手術を施行し、月経周期が明確であった347例を対象とした。悪性疾患や活動性の炎症疾患は除外している。対象を子宮内膜症例(158例、以下E群)と非子宮内膜症(189例、以下non-E群)に分け、腹水の量と性状(血性・非血性)を検討した。さらに、卵管閉塞例(33例、以下T0群)も別個に検討した。E群の重症度別患者数はI期81例、II期33例、III期27例、IV期17例で、月経周期はday1-7, 8-14, 15-17, 18-の4期に分けて検討した。(結果) 1) 腹水量はE群が $15.2 \pm 17.0$  ml、non-E群が $8.96 \pm 18.5$  ml、T0群が $7.0 \pm 8.9$  mlであり、E群での腹水量は有意に多かった。2) E群の進行期別の腹水量はI期18.3 ml、II期16.5 ml、III期11.7 ml、IV期4.4 mlで、IV期のみが他と3期と比較して有意に低い量であった。3) 血性腹水の頻度は、E群では51.8%、non-E群では24.8%とE群において血性腹水の頻度が高かった。T0群では21.1%の頻度で血性腹水がみられ、non-E群と差はなかった。4) E群での進行期別の血性腹水の頻度はI期55%、II期57.5%、III期51.8%、IV期23.5%であった。さらに、各群とも血性腹水例では非血性例と比較して腹水量は多かった。5) 月経周期別に分けて検討した腹水量ならびに血性腹水の頻度には差はみられなかった。(考察) 子宮内膜症患者では月経周期に関わらずその腹水量が多く、血性である頻度が高い事実から、血性腹水が本症の診断において重要であることが明らかとなった。

## II-10

## 機能性不妊におけるMRI診断の意義

正常大子宮にみられた腺筋症を中心にして

滋賀医科大学産科婦人科教室 ○横江保彦 竹中 章 笠原一彦  
須戸龍男 吉田吉信  
同大学放射線科教室 川上光一

(はじめに) 内分泌学上の異常を認めず、卵管通過障害や乏精子症のない、いわゆる機能性不妊症を対象にMRIによる画像診断を併用したところ、内診上また腹腔鏡上、子宮が正常大と考えられた症例の内、約10%強に子宮腺筋症と考えられる症例が発見されたので報告する。(対象および方法) BBT二相性、黄体期progesterone値10 ng/ml以上、子宮卵管造影で卵管通過障害がなく、夫の乏～無精子症もなくpost-coital testでも異常が認められない65例を対象とした。MRIの実施は原則として分泌期に行ない、proton, T1およびT2強調画像を縦断面、横断面それぞれで実施した。使用機器はG.E.社製 SIGNA 1.5T および Yokogawa Medical社製 RESONA plus 0.5Tである。(成績および考察) 65例中約14%にあたる9例が、MRI上正常大の子宮腺筋症と診断された。この内4例は腹腔鏡で外性子宮内膜症がない事が確認された。月経期(cycle date 1-2)に測定されたCA-125値はほぼ全例でcut-off値を越え、100以上の平均値を示した。我々は既に、CA-125の月経期の測定が、他の時期より鋭敏であるがfalse positiveが多い事を報告している。この中には今回の正常大の子宮腺筋症例が多く含まれており、月経期CA-125測定の意義を改めて実証したものと考えられた。以上の事から機能性不妊の症例には正常大子宮の初期腺筋症患者が含まれている事が明らかとなった。このような症例が実際に不妊の原因となっているか否か、また治療を行うべきかどうかは、未だ明らかではないか、機能性不妊の原因を考える時、大きな示唆を与える可能性がある。

## II-11

## Adenomyosis の酢酸 Buserelin による変化と閉経後子宮内膜変化との電顕的比較検討

国立大蔵病院産婦人科

○倉島富代, 田中忠夫, 伊藤治英

県立厚木病院産婦人科 大石基夫

【目的】酢酸 Buserelin (以下 Buserelin) の adenomyosis に対する効果を電顕的に観察し, その変化と閉経後の萎縮内膜の変化とを超微形態学的に比較検討し, 両者の差を明らかにした。

【方法】対象は Buserelin 900 $\mu$ g/day を 1 ヶ月から 6 ヶ月以上投与した adenomyosis 11 例と, 閉経後 6 年以上経過した 4 例の正常位子宮内膜である。adenomyosis 例は投与直後に摘出した病巣より材料を採取し, 閉経後子宮内膜は性器脱等にて手術した子宮から採取した後に, 電顕標本作成し透過型電顕で観察した。

【成績】Buserelin 1 ヶ月投与例では, initial phase としての子宮内膜増殖期像に類似する所見がみられた。2 ヶ月投与では, 細胞相互間に離開がみられ始まるが, 核や細胞内小器管には明らかな所見はみられなく, 全般に子宮内膜無機能層に類似した所見がみられた。4 ヶ月以上投与では全例に無機能層類似所見が明らかで, 萎縮の傾向が認められた。6 ヶ月投与では microvilli は著しく減少し, 細胞相互間の離開が明らかである。核は核縁の切れ込み不整が目立ち, chromatine 分布は著しく不均等である。細胞質の organelle は減少傾向はなく, mitochondria は豊富に存在している。細胞全体としては萎縮の傾向にあり, 特に核にその所見が強く認められる。一方閉経後子宮内膜では, 6 年目の内膜は細胞相互間の離解が著明で, microvilli の減少が認められた。核は多くが楕円形で, chromatine 分布はやや不均等であるが著明な変化は認められない。細胞質の organelle はやや減少傾向にあるが, その形態には変化はみられない。9 年目の内膜の変化は 6 年目のものと大体同様であり, 間質細胞も疎となっている。

【結論】Buserelin による急激な低 estrogen 状態に長期晒されると adenomyosis の腺細胞の核は明らかな変化を起すことが判明し, これは閉経後の正常子宮内膜の変化とは異っており, 両者の性格の相異が考えられた。

## II-12

## 徐放性 GnRH Agonist TAP-144-SR の子宮内膜症に対する臨床効果の検討

TAP-144-SR 子宮内膜症研究会

○星合 昊, 武谷雄二, 植村次雄, 寺川直樹, 矢嶋 聰, 水口弘司,  
川島吉良, 岡田弘二, 杉本 修, 谷澤 修, 中野仁雄, 水野正彦

〔目的〕TAP-144-SR (酢酸リュープロレリン徐放性製剤) の子宮内膜症に対する有効性, 安全性及び至適用量の検討

〔対象及び方法〕排卵性月経を有する Beecham II 期以上の子宮内膜症患者に対し, TAP-144-SR の 0.47mg, 0.94mg, 1.88mg, 3.75mg 及び 5.63mg の 5 用量について 4 週間隔で 6 回 (2 4 週間投与) 皮下注射した。子宮内膜症に随伴する自覚症状及び他覚所見の改善度を 2 4 週まで 4 週毎及び再来月経終了時に評価した。更に, 総合評価 (全般改善度, 全般安全度, 有用度) を 24 週及び再来月経終了時に行った。

〔結果〕試験薬剤が投与された症例数は 1 4 4 例であり, そのうち解析対象は 0.47mg 群 2 2 例, 0.94mg 群 4 4 例, 1.88mg 群 3 0 例, 3.75mg 群 3 6 例及び 5.63mg 群 9 例の計 1 4 1 例であった。

自覚症状及び他覚所見に対する効果を評価した全般改善度 (24 週) では, 0.47mg~3.75mg の 4 群に有意差が認められ, 3.75mg 群が最も高い改善率を示した。また, 5.63mg 群は検討例数が少ないものの 3.75mg 群と同等以上の改善率であった。全般安全度では, 5.63mg 群は安全性に問題があると評価された症例の頻度が他群に比べて高率であり, 副作用のため中止された症例も認められた。一方, 0.47mg~3.75mg の 4 群では有意差は認められなかった。また, 副作用はいずれの群においても低エストロゲン状態によると思われるものが主であった。有用度 (24 週) では, 0.47mg~3.75mg の 4 群については全般改善度 (24 週) と同様の結果であり, 用量相関が認められた。5.63mg 群は, 安全性に問題があると判断された症例の頻度が高かったため 3.75mg 群を下まわる評価であった。

以上の結果から, TAP-144-SR の子宮内膜症に対する至適用量は, 3.75mg/4 週であると考えられた。

## II-13

## 子宮内膜症に対する danazol の局所投与法

群馬中央総合病院<sup>1)</sup>・大宮赤十字病院<sup>2)</sup>・群馬大附属病院薬剤部<sup>3)</sup>  
 ○五十嵐正雄<sup>1)2)</sup>・野上保治<sup>1)</sup>・安藤昭彦<sup>2)</sup>・田口宏中<sup>2)</sup>・宮坂牧宏<sup>2)</sup>・小林賀雄<sup>2)</sup>  
 小片美美代<sup>3)</sup>・真木義次<sup>3)</sup>

子宮内膜症に対し danazol は 1 日 400~800mg 経口投与されているが、排卵を抑制するので投与中妊娠せず、肝機能障害、体重増加などの副作用を伴う、danazol を含む膈リングおよび IUD がそれぞれ外性内膜症と子宮腺筋症に有効でしかも排卵を抑制せず、上記副作用も伴わないことを既に報告したが、今回は danazol 10mg を含有する膈錠の連日挿入または danazol 5, 10, 20, 40mg 含有液を子宮腔内に直接注入する治療法の成績を報告する。

danazol 膈坐薬投与 33 例中、排卵抑制はゼロ、副作用もほとんどなく、妊娠は 3 例 9.1% で 28.3 ± 3.5 日投与で起り、ダグラス窩内膜症の縮小を 17 例 (51.5%) に 28.0 ± 4.8 日投与で認め、無効例は 13 例 (39.4%) であった。一方子宮腔内 danazol 注入療法の効果は 1 回注入だけで 5mg 注入で内膜症の縮小 6 例 75.0%、10mg 注入で縮小 4 例 80%、20mg 注入で 10 例中縮小 60%、40mg 注入で 2 例中 100% に認められ、排卵抑制は全例に認められなかった。以上経口投与 1 日量の 40 分の 1 ないし 10 分の 1 の少量でも腔内または子宮内に投与すれば有効なことが示された。今後は坐薬の至適有効量、および子宮内注入回数の増加により更に治療成績を向上出来る可能性が示唆される。

## II-14

## 薬物療法後の卵巣チョコレート嚢胞経腔吸引症例の検討

東京女子医科大学産婦人科，同 母子総合医療センター\*  
 ○安達知子，中山摂子，三室卓久，吉井大介，岩下光利\*，黒島淳子，  
 武田佳彦，坂元正一\*

卵巣チョコレート嚢胞は、子宮内膜症の薬物療法を行っても消失することは難しく、治療に抵抗性を示すことが知られている。今回、薬物療法後も消失しないチョコレート嚢胞症例 5 例に対し、経腔的に嚢胞穿刺吸引、生食洗浄を行い、臨床的経過観察を行ったので報告する。対象は、27~36 歳、不妊期間は 1~10 年、腹腔鏡または開腹手術にて子宮内膜症の診断を行った 5 症例である。いずれの症例も GnRH アゴニストまたはダナゾールにて 1~4 クールの薬物療法を施行している。薬物治療 6 か月~1.5 年後にチョコレート嚢胞の残存（長径 4 cm 以上）、月経痛、下腹部痛の増悪などの自他覚所見の悪化をみたためチョコレート嚢胞経腔穿刺吸引、生食洗浄を行った。CA 125 は薬物治療前は全例 35 U/ml 以上の高値、治療後はきわめて低値を示したが、今回の穿刺前はすべて上昇傾向にあった。不妊期間および吸引量は、症例 1 不妊 4 年、左嚢胞 30 ml、症例 2 不妊 10 年、左嚢胞 57 ml、症例 3 不妊 5 年、左嚢胞 26 ml、症例 4 不妊 3 年左嚢胞 1.9 ml、右嚢胞 9 ml、症例 5 不妊 1 年右嚢胞 20 ml であった。全例吸引後の自他覚所見は改善し、チョコレート嚢胞消失後、卵胞発育のモニターが容易となった。症例 2 を除き、1~2 ヶ月後の経腔エコー検査でチョコレート嚢胞はわずかに同定できる程度に描出されたが、自他覚所見は改善されたままであり、症例 1 はその後自然妊娠し、現在経過は順調である。症例 2 は 1 か月後に明かな嚢胞の確認、3 か月後に下腹部痛、嚢胞の増大を認めためたため再吸引（左 35 ml）とダナゾールの嚢胞内注入を行ったが、本症例は 3 房性であり、前回吸引が十分でなく、そのため早期の再発をきたしたものと考えられた。薬物療法後のチョコレート嚢胞遺残症例には経腔的嚢胞穿刺吸引が有効である可能性が示唆されたが、さらに経過観察が必要であり、今後、チョコレート嚢胞吸引、ダナゾール嚢胞内注入との比較も行っていく予定である。

## II-15

## 当教室における子宮内膜症合併不妊症の治療成績

金沢医科大学産科婦人科学教室

○羽根淳治、丹野治郎、小泉麻美、吉田勝彦、井浦俊彦、高林晴夫、  
桑原惣隆

子宮内膜症は、本症に基づく月経障害、性交痛、骨盤痛など機能的、器質的障害、妊孕性の低下などがあり、性ホルモンの影響および妊娠の成立によって軽快するなどの特徴を有し、不妊症は深い関連がある。早期発見、早期治療が最大の課題であり、早期診断のためには積極的に腹腔鏡検査を行なうことが最も確実な方法である。我々は、最近5年間、当教室における本症合併の不妊症例を治療し、36例中6例が妊娠、分娩に至ったので報告する。

(成績) 子宮内膜症合併不妊症36例の年齢分布は全例20歳代、30歳代で占められ、それぞれ63.9%および36.1%であった。妊娠成功率は16.7%で、妊娠転帰は妊娠した6例中5例が分娩し、全て正常生児を得ており、1例が平成3年7月現在妊娠継続中である。幸い流産は1例も認められなかった。治療内容としては手術療法が6例(16.7%)に行なわれ、Danazol療法は27例(75.0%)、GnRH analog療法は3例(8.3%)であった。臨床所見と積極的なラパロスコピーによる診断率の向上と、これに対する適切な治療指針の選択は、今後の重要な検討課題である。また、内膜症合併不妊症例に対する治療にIVF-ETなどの適用の必要性を再認識した。

## II-16

## Galactorrhea-Endometriosis Syndromeにおける内分泌学的検討

宮崎医科大学産婦人科学教室

○小池 弘幸、渡辺 裕之、野田 俊一、戸枝 通保、三部 正人、  
池ノ上 克、森 憲正

Endometriosis患者は、一般にanovulatory cycles, luteal phase defect, dysmenorrhea, luteinized unruptured follicles syndrome (LUFs)やinfertilityをを伴うことはよく知られている。1978年、Hirschowitzらはendometriosisにgalactorrheaが高率に合併することを報告し、Galactorrhea-endometriosis syndromeと名づけた。我々は、最近2例のgalactorrheaを伴ったendometriosisを経験し、その内分泌学的検討を試みたので報告する。

症例1は33歳、OGOP、事務員、主訴は挙児希望、30歳頃からgalactorrheaに気づく。血中PRL値は、19.3-31.5 ng/ml, CA-125値は、36.7-39.6 U/mlであった。Laparoscopyの所見は、r-AFS分類のI度。Oligoasthenospermiaの診断のもとに、AIHを繰り返し施行するも、しばしばLUFsを起こすため成功していない。

症例2は33歳、3G2P、会社員、主訴は挙児希望、32歳の第1回目の分娩後からgalactorrhea, headache, visual disturbanceに気づく。血中PRL値は、4.2-10.5 ng/ml, CA-125値は20.2 U/mlであった。Laparoscopyの所見は、r-AFS分類のI度であった。

(考察) Galactorrhea-amenorrhea syndromeは確立された症候群であるが、Galactorrheaとendometriosisの因果関係は、現在のところ不明である。我々は、galactorrheaを伴うにもかかわらず、正常の月経周期を有し、endometriosisの所見を呈する婦人々に注目しているが、このような症例はHirschowitzらのいうgalactorrhea-endometriosis syndromeに分類されるものと思われる。その内分泌学的検査には特徴があるので、今後さらに症例を増やして検討したい。

## II-17

## 肺・胸膜に発症した子宮内膜症の6症例

東北大学医学部産科婦人科学教室

○陳 偉業, 田村みどり, 千田 定則, 村上 節, 萬代 泰男,  
対木 章, 深谷 孝夫, 矢嶋 聡

骨盤腔外の臓器に発生する子宮内膜症は臨床症状が典型的なものではなく、発見が困難である。しかし、月経時に気胸、血痰、胸痛を伴う症例は、呼吸器系の臨床症状が強く、最近内科より骨盤子宮内膜症の存在が疑われ、紹介されることが多い。今回、この様な月経随伴性の呼吸器症状を呈した6症例について報告する。

年齢は22才-40才で、主訴は月経随伴性胸痛、月経随伴性血痰である。4例が月経随伴性気胸を認め、開胸術を受けた3例では、肺、横隔膜に子宮内膜症による病変を認めた。さらに腹腔鏡検査でも、骨盤内子宮内膜症を認めた。内科的治療のみの1例では、腹腔鏡で左チョコレート嚢腫を認めた。反復性月経随伴性血痰症例及び月経随伴性胸痛症例では、子宮内膜症の存在が診断されたが、骨盤子宮内膜症を認めなかった。腹腔鏡検査後、5例がDANAZOLまたはGn-RHアナログの治療を受け、経過は良好である。これら症例は婦人科的に骨盤内膜症を疑われる例は少ないが、特徴的な腹腔鏡検査のうえ、ホルモン療法を試みるべきと考えられる。

## II-18

子宮内膜症に対するホルモン療法に伴う骨量低下  
— DIP法, QCT法を用いて —

愛知県厚生連海南病院産婦人科

○田中 博之, 川合 健之, 木口 幹雄

【目的】子宮内膜症に対するホルモン療法としてダナゾール(以下、D)、あるいは酢酸ブセレリン(以下、B)が広く使用され、投与中に出現する腰背部痛からも示唆される骨量の低下が、副作用の一つとして指摘されている。そこで、骨量の低い患者に対しては、骨粗鬆症の予防面からも注意を要する。今回、両薬剤を投与した際の骨量の低下を検討し、その低下に関与する因子等より、適切な投与方法、予防方法を検討することを目的とした。【方法】対象は、17~47歳の子宮内膜症患者54例で、D投与群36例(33±9歳)、B投与群18例(32±8歳)で、その進行期は、R-AFS分類、Beecham分類により診断した。Dの投与量は、200~400mg/日、4ヶ月投与、Bの投与量は900µg/日、6ヶ月投与を原則とした。骨量の測定は、microdensitometry法(MD法)の改良法であるdigital image processing法(DIP法)、および第3腰椎海綿骨骨塩量をquantitative computed tomography法(QCT法)にて投与前、及び投与終了直後に測定した。【結果】1) D群は、DIP法による $\Sigma$ GS/Dの投与前後の変化率は、 $-2.6 \pm 6.1\%$  (n=36)で有意に(p<0.05)低下し、QCT法においても $-2.3 \pm 4.5\%$  (n=18)で有意に(p<0.05)低下した。2) B群は、DIP法により、 $-4.3 \pm 4.7\%$  (n=18)で、有意な(p<0.01)低下を示し、QCT法においても $-9.6 \pm 5.2\%$  (n=11)を示し、有意に(p<0.005)低下した。3) 両群間の変化率について、QCT法においてB群が、D群より有意に(p<0.005)低下した。4) D群における $\Sigma$ GS/Dの減少率は、投与前の骨量、あるいはDの総投与量と有意な負の相関(それぞれ、 $r = -0.61$  (p<0.05),  $r = -0.36$  (p<0.05))を示した。【結論】両薬剤投与により骨量が有意に低下し、さらにB群がD群より有意に低下することが確認された。またD群の低下には、投与前の骨量、総投与量の関与が示唆された。今後、この結果及び、さらに年齢、骨量の回復過程を考慮し、両薬剤を投与することが必要と考えられた。

## II-19

## 子宮内膜症治療薬の骨塩量に及ぼす影響

鹿兒島大学医学部産科婦人科学教室

○古謝将一郎, 森明人, 松元勇, 山元慎一, 沖利通

松元保, 野口慎一, 中村行彦, 飯尾一登, 堂地勉, 永田行博

【目的】自然閉経あるいは卵巣摘出による低エストロゲン状態は、骨量減少をきたすと言われている。子宮内膜症治療薬であるLH-RH agonist は、低エストロゲン状態を作り出すことから、骨代謝への影響が懸念されている。今回私たちは子宮内膜症に酢酸ブセレリン（一日900  $\mu$ g, 6ヶ月）使用したブセレリン群15名、またダナゾールを用いたダナゾール群8名を対象に子宮内膜症治療薬の骨量に及ぼす影響を検討した。（方法）骨量測定はDEXA(DCS-600)を用い、投与前、投与後3ヶ月、6ヶ月目に行った。同時に血中骨代謝指標としてCa, P, ALP,  $E_2$ , calcitonin, osteocalcin(BGP)を測定した。（結果）ブセレリン群は投与開始後3ヶ月目および6ヶ月目に有意に骨塩量の減少を認めたが、ダナゾール群では投与開始前に比べ、3ヶ月目、6ヶ月目いずれの時期も有意な骨塩量減少は認められなかった。しかし、ブセレリン群は年齢のばらつきによる骨塩量への影響が懸念されたため、ダナゾール群、ブセレリン群両群の年齢を同一化（ダナゾール群：34.2 $\pm$ 3.8歳、6名、ブセレリン群：34.0 $\pm$ 2.6歳7名）して骨塩量の変化を比較したところ、ダナゾール群、ブセレリン群両群とも骨塩量の変化率に有意差は認められなかった。しかし、投与開始3ヶ月目、6ヶ月目いずれの時期でもブセレリン群が骨塩量減少率は大きかった。次に薬物投与を受ける年齢により骨塩量の変化率に相違があるかを検討するため、特にブセレリン群15名につき、20～30歳代の若年群(29.5 $\pm$ 3.4歳, 8名)と40歳代群(43.9 $\pm$ 3.4歳, 7名)に分けて骨塩量減少率について検討した結果、40歳群は3ヶ月目、6ヶ月目いずれの時期においても、若年群に比べ有意に骨塩量減少を認めた。骨塩量代謝指標は $E_2$ がブセレリン群で有意に低下、またALPとBGPがブセレリン群で有意に増加した。

## II-20

## 卵巣機能不全不妊症治療薬ならびに安胎薬としての漢方方剤の有効性

1) 医療法人假野クリニック, 2) 市立枚方市民病院産婦人科

○假野隆司,<sup>1)</sup> 伊藤親昭,<sup>2)</sup> 笠松源,<sup>2)</sup> 宮脇義隆<sup>2)</sup>

【目的】卵巣機能不全不妊症治療薬、安胎薬としての漢方方剤の有効性の検討。

【方法】卵巣機能不全不妊症885例に「証」を決定、漢方療法を行なった。妊娠が成立した症例に少なくとも妊娠18週まで安胎薬として当帰芍薬散を投与した。このうち、分娩200例を自然妊娠200例と分娩週数、性別、生下時体重、妊娠中毒症ならびに貧血の合併の有無を比較検討した。

【成績】分娩200例では卵巣（卵胞）機能不全症に処方した方剤は加味逍遥散が99例（49.5%）と最も多く、ついで当帰芍薬散、桂枝茯苓丸の順であった。漢方薬単独は102例（51.0%）を占め、併用西洋薬はHMGが最も多かった。寒虚証に重症例が多く西洋薬の併用が高率であった。しかし、第1度無月経1例、第2度無月経3例が漢方薬単独であった。196例は満期分娩、4例が早産であった。同時期のHCG LAR test陽性以上の診断根拠を有する流産は漢方群21例（9.5%）、自然妊娠群は19例（8.6%）であった。自然妊娠と比較して妊娠中毒症、妊婦貧血、SFD発症率は漢方妊娠安胎薬群が有意に低率であった。

【結論】1) 随証療法を行えば卵巣（卵胞）機能不全不妊症の半分は漢方薬でカバーできる。

2) 同症で「証」の分布が最も高率なのは加味逍遥散である。

3) 当帰芍薬散には安胎薬効果がある。

## II-21

黄体機能不全症に対する  
プロゲステロン含有二相性徐放腔坐剤療法の検討

横浜市立大学医学部産婦人科学教室<sup>1)</sup> 星薬科大学薬理学教室<sup>2)</sup>  
 ○平吹知雄<sup>1)</sup>、平原史樹<sup>1)</sup>、安藤紀子<sup>1)</sup>、沢井かおり<sup>1)</sup>、榊原秀也<sup>1)</sup>、  
 五来逸雄<sup>1)</sup>、植村次雄<sup>1)</sup>、水口弘司<sup>1)</sup>、岩田政則<sup>2)</sup>、永井恒司<sup>2)</sup>

〔目的〕不妊症、不育症には様々な要因が関与しているが、その中でも黄体機能は一つの重要な因子である。今回我々は、黄体機能不全症に対する治療として、ドラッグデリバリーシステムを勘案したプロゲステロン剤の経腔投与方法を試み、基礎的、臨床的検討を行なった。

〔方法〕種々の徐放化基剤を用いたプロゲステロン腔坐薬を作成し溶出実験として *in vitro* にて経時的に溶出されるプロゲステロン量を測定した。又、家兎（日本白色、メス、2.0-2.5 Kg）に坐剤を投与し、経時的に採血し血中プロゲステロン値の推移の検討を行なった。一方、当科不育症外来通院患者160例のうち、不育症原因検索を行ない、黄体機能不全症と診断された症例9例に対し、徐放化基剤を用いたプロゲステロン腔坐薬を投与し、基礎体温、黄体期プロゲステロン値等により、その臨床効果を検討した。

〔結果〕放出パターン異なる2相性徐放化基剤の溶出実験並びに動物実験から、ウィテップゾルW-35、エチレン-酢酸ビニール共重合樹脂配合剤を用いたプロゲステロン坐剤が優れた徐放性を示した。一方、プロゲステロン50mgを含有した二相性徐放坐剤を黄体機能不全症患者に投与したところ、黄体期中期のプロゲステロン平均値は、対照周期6.43ng/mlに対し投与周期10.73ng/mlと上昇し、基礎体温曲線に於いても改善がみられた。又、腔坐剤の投与による副作用は、腔部びらん等の局所の副作用も含め何ら認められなかった。

〔結論〕黄体機能不全症例に対し新たに開発した二相性徐放型プロゲステロン腔坐剤による治療は、自己投与も可能であり、臨床的効果の点からも有用であることが示唆された。

## II-22

## 黄体期後期のhCG陽性例についての検討

横浜市立大学 産婦人科  
 ○榊原 秀也、植村 次雄、飯塚 麻紀、茶木 修、石川 雅彦、堀 裕雅、  
 町田 稔文、柳澤 隆、白須 和裕、多賀 理吉、水口 弘司

〈目的〉従来、hCGの測定はLHとの交叉性のために、微量の測定は正確に行なえなかった。近年、モノクローナル抗体を用いた測定法が開発され、hCGの測定が可能となった。今回、我々はhCGモノクローナル抗体を用いて黄体期後期のhCGを測定したので、若干の考察を加え、報告する。

〈方法〉当科不妊外来を受診し、基礎体温を測定している患者92例について、黄体期プロゲステロン測定と併せて血中hCGを測定した。測定は、モノクローナル抗体を用いたイムノエンザイメトリックアッセイ（セロザイム、1.0mIU/ml）で行った。

〈結果〉1. hCG陽性例（>1mIU/ml）は26例（28.3%）で、その内訳は、正常妊娠例6例（6.5%）、それ以外の陽性例が20例（21.8%）であった。2. hCGは、正常妊娠例では黄体期7日目頃から認められ、その後上昇する傾向が認められた。それ以外の陽性例では、同じ頃から認められたが、上昇することなく推移した。3. 高温相の長さは、陽性例では12.5日、陰性例では12.4日と有意な差は認められなかった。4. 高温相7日目までのプロゲステロン値は、各群とも有意な差が認められなかった。7日目から14日目までは、正常妊娠例が、陽性例と陰性例に比して上昇していた。

〈結論〉黄体期後期のhCG測定により、正常妊娠例以外にも陽性例の存在することが認められた。この陽性例は、hCG陰性例と比較して高温相の長さ、血中プロゲステロン値に差は認められず、hCG値は正常妊娠と異なり上昇しない。従って、これらの症例は、chemical abortionと考えることもできるが、その詳細については更に検討をしていきたい。

## II-23

## 切迫流産の予後と甲状腺機能

神戸大学医学部産科婦人科学教室

○片山和明、山辺晋吾、阿江 孝、丸尾 猛、望月真人

〔目的〕われわれはすでに本学会において、切迫流産予後不良例では予後良好例に比べて血清 total triiodothyronine(t-T3)、total thyroxine(t-T4)が低値であることを報告したが、free T3 Indexには差を認めなかった。そこで今回は、妊娠に伴うthyroxine binding globulin(TBG)の変化を考慮し、activeなホルモンである free triiodothyronine(FT3)、free thyroxine(FT4)の血清濃度と切迫流産の予後との関連性を検討した。

〔方法〕切迫流産症例34例（予後良好例21例、予後不良例13例）について、血清 FT3、FT4、TSHおよびTBGを測定した。また習慣性流産患者2例においては甲状腺ホルモンを投与しつつ、血清ホルモンを測定するとともに妊娠の経過を観察した。

〔結果〕①血清 FT3、FT4は予後良好例の $3.72 \pm 0.53 \text{ pg/ml}$ 、 $1.34 \pm 0.26 \text{ ng/dl}$ に比べて予後不良例ではそれぞれ $3.18 \pm 0.28 \text{ pg/ml}$ 、 $1.09 \pm 0.12 \text{ ng/dl}$ と有意に低値であった。②血清TSHは予後良好例ではほとんどの症例が非妊時の正常域にあったが、予後不良例では2例が $7.4 \mu\text{U/ml}$ 、 $6.9 \mu\text{U/ml}$ と異常高値を示し、2例が $0.6 \mu\text{U/ml}$ と低値を示した。③血清TBGは予後良好例に比し不良例で低値となる傾向がみられたが有意の差は認められなかった。④習慣性流産の2例は当初FT3、FT4とも非妊時正常域よりも低値にあったが、甲状腺剤の投与によりFT3、FT4は正常域に復し、妊娠は正常に維持された。

〔結論〕血清甲状腺ホルモンの低値が流産の原因のひとつである可能性が示され、また妊娠前、あるいは妊娠の初期に血清甲状腺ホルモンが低値を示す症例では、甲状腺ホルモンの投与が流産の予防に有用な治療法となる可能性が示唆された。

## II-24

## 妊娠ラットの黄体機能に及ぼす拘束ストレスの影響

山陽中央総合病院産婦人科<sup>1</sup>、山口大学医学部産科婦人科学教室<sup>2</sup>○杉野法広<sup>1</sup> 中村康彦<sup>2</sup> 石松正也<sup>2</sup> 手山知行<sup>2</sup> 加藤 紘<sup>2</sup>

〔目的〕ACTHはストレスホルモンとしてよく知られている。また、我々は既に、ACTHが妊娠ラットの黄体機能に対し抑制的に作用し、しかもその作用は胎児胎盤の数によって影響されることを報告した。そこで今回は、実際に妊娠ラットにストレスを負荷し、黄体機能に及ぼす影響を検討した。

〔方法〕SD系妊娠ラットの妊娠12日目(d12)から妊娠17日目(d17)まで1回1時間の拘束ストレスを1日3回負荷し、血中progesterone(P)値の変動と妊娠の予後を追跡した。さらに、このストレス負荷に対する胎児胎盤系の役割を検討するため、妊娠7日目に胎児胎盤数を1個に調整した1C群と、10個以上有するFC群を作製し、また副腎の役割を検討するため、両群につきd12に両側副腎摘除(ADX)した群を作製し同様のストレス負荷を施行した。〔結果〕1C群ではストレス負荷によりd17の血中P値は $48.2 \pm 2.6 \text{ ng/ml}$ とストレスを負荷しない場合の $74.4 \pm 8.9 \text{ ng/ml}$ に比し有意( $p < 0.01$ )に低値を示したがFC群ではストレスによる有意な変化はみられなかった。1C-ADX群ではストレスにより70%が流産し、妊娠継続できたラットでも血中P値はストレスを負荷しない場合に比し有意に低値を示したことから、副腎はストレスに対し防衛的に働いている可能性が示唆された。一方、FC-ADX群ではストレス負荷により流産したものはなく、また血中P値も有意な変化はみられなかった。1C-ADX群でストレスによってひきおこされた流産が黄体機能低下に起因するのか又は胎児死亡が先行したのかを検討するため、1C-ADX群に、P(4mg/day)をd12からd17まで皮下注射し同様のストレスを負荷したところ、流産率は25%と有意( $p < 0.05$ )に改善された。〔結論〕妊娠ラットの黄体機能は拘束ストレスにより抑制されるが、胎児胎盤系や副腎がストレスに対する防御因子として妊娠維持に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

## II-25

## 不妊症外来における妊娠例の予後に関する検討

群馬大学産科婦人科学教室 ○伊吹令人 飯島カツ子  
 館林厚生病院産婦人科 木村 弘 戸松邦也 小西康二

〔目的〕不妊の既往歴をもつ妊婦はハイリスク妊娠としての点数が与えられており、妊娠・分娩を通じて種々な合併症や異常を起こしやすいと考えられる。そこで不妊症外来における妊娠例について、流産子宮外妊娠、胎状奇胎、多胎妊娠、妊娠中毒症、分娩時の異常、新生児などについて、どのようなリスクが高いかについて検討した。

〔症例〕続発不妊症 408例について、前回妊娠と今回妊娠の関係を調査した。また不妊症外来において妊娠し、既に結果の判明した 563例について上記の検討を行った。

〔成績〕続発不妊症の前回妊娠が満期産ないし早産例は46.8%に過ぎず、流産、中絶例の48.3%に比べて少ない。しかし胎状奇胎、死産、子宮外妊娠は0.7～2.5%と少数であった。前回満期産、早産、流産、中絶例は妊娠率は良かったが、死産例の妊娠率は不良であった。前回中絶例は子宮外妊娠率が10%前回子宮外妊娠例の子宮外妊娠率は16.7%と高かった。不妊症外来における妊娠例 563例では、孕児率81.7%であったが、流産率は15.8%と高かった。子宮外妊娠率は2.4%であったが、続発不妊に多かった。多胎妊娠は8例(1.4%)で3胎2例、双胎6例でいずれもhMG-hCG療法あるいはclomiphene療法によるものであった。新生児の男女比は1.06:1、満期産児の体重は男 3295.3 ± 401.0(mean ± SD)、女 3231.4 ± 387.6 で対照と差は認めなかった。妊娠中毒症は4.3%と多くはなく、吸引分娩は7.4%、帝王切開率は12.4%で分娩時の異常がやや高率であった。新生児は鎖肛1例、内反足1例、陰嚢水腫2例2500g未満の未熟児は28例あり、高ビリルビン血症による治療例が24例あった。

〔結論〕前回中絶の続発不妊症の妊娠例に子宮外妊娠が多く、不妊症の妊娠例では流産率が高い。妊娠中の経過異常は少ないが、分娩時の異常による帝切率が高く、新生児の異常は低率である。

## II-26

## A I H不成功不妊 216例の予後の分析

東海大学医学部産婦人科  
 ○淡路英雄・井上正人・小林善宗・林田研一  
 村松俊成・善方菊夫・本田育子・藤井明和

配偶者間人工受精(以下AIH)は不妊症治療法の一つとして、一般医家から高度医療施設まで広く汎用されている。しかし治療成績は満足すべきものではない。特に一般医家にとって、AIH不成功例の取り扱いに苦慮する事が多いことも事実である。そこで今回我々はAIH不成功不妊の妊娠の予後を検討し、AIH不成功不妊の治療について考察した。対象は1986年1月より1990年6月までに、他施設でAIHを10回以上行ない妊娠に至らず、当科を受診した216例のAIH不成功不妊症例である。症例の女性側平均年齢は34.3才、平均不妊期間は8.2年であった。又、不妊歴では原発性不妊161例(74.5%)、続発性不妊55例(25.5%)であった。来院後行なった腹腔鏡検査所見では、正常腹腔はわずか31例(14.4%)のみであり、その他は何らかの異常を併せていた。異常所見の中で最も多かったのは子宮内膜症であり、142例(65.7%)に認められた。進行期別ではR-AFS分類I期69例(48.6%)、II期46例(32.4%)、III期15例(10.6%)、IV期12例(8.4%)であり、不妊症全体の傾向と特に差はなかった。男性側では、正常精液105例(48.6%)、乏精子症54例(25.0%)、精子無力症57例(26.4%)であった。腹腔鏡検査後に妊娠したのは、45例(20.8%)であり、妊娠法別では自然妊娠16例、AIH妊娠16例、IVF-ET、ETR、GIFTなどの配偶子操作で13例の妊娠であり、AIH不成功不妊における配偶子操作治療の有効性が確認された。腹腔所見別では正常腹腔11例(35.5%)、子宮内膜症29例(20.4%)、その他5例(11.6%)であり、女性側腹腔内病変が予後を示す基準となることが考えられた。男性側精液所見別では正常精液27例(25.7%)、乏精子症・精子無力症では各9例(15.8%、16.6%)の妊娠であり、男性側因子も予後を示す重要な因子であることが分かった。以上よりAIH不成功不妊症例に対しては、腹腔鏡検査により女性側不妊因子を解明し、積極的に配偶子操作による治療を行なうことにより、予後を改善することが可能であると考えられた。

## II-27

## 男性不妊症患者における妊娠成立症例の検討

東邦大学 泌尿器科学教室

○原 啓, 栗田 稔, 森岡 元, 岩澤俊久, 佐藤 稔, 高波真佐治,  
石井延久, 三浦一陽, 中山孝一, 白井将文

男性不妊症のうち、自然な方法で妊娠が成立した症例について検討を加えた。また妊娠が成立したと思われる時期の精液所見を分析することにより、自然の方法で妊娠可能な精液の限界について、検討を加えたので報告する。

東邦大学大森病院リプロダクションセンターを過去13年間に訪れた不妊症患者のうち男性側に原因があると思われたのは2373例であった。そのうち人工受精、あるいは何らかの操作を加えることによって妊娠したものを除く、ごく自然の性交為で妊娠が成立したのは、134例(5.6%)であり、これら134例に139回の妊娠の成立をみている。これら134例の年齢分布は30歳前後に集中しており、平均年齢は33.4歳であった。また、これら134例の不妊期間は6ヶ月から5年以内がほとんどで平均40.4ヶ月であった。134例の治療法は、外科的治療が43例(32.1%)で、その内訳は精索静脈瘤に対して高位結紮術が30例、精巣静脈塞栓術が11例、精路通過障害に対して精管副精巣吻合術が1例、精管精管再吻合術が1例であった。なお、避妊を目的とした精管結紮術後の再吻合術による妊娠は今回の検討からは除外してある。他の91例は、薬物療法が多く、特に治療をしていないで妊娠した例もあった。

精液所見では、精液量は最低が0.7mlであった。最高が10mlで、平均5.4mlであった。精子数は $0.96 \times 10^6 / \text{ml}$ から $451 \times 10^6 / \text{ml}$ で、平均 $46.2 \times 10^6 / \text{ml}$ であった。運動率は5%から80%で、平均51.8%であった。運動能指数は0から240で、平均56.0であった。精子の正常形態率は30%から90%で、平均62.8%であった。また精液の総合判定基準として、Eliasson scoreの変法である東邦大法のスコアは、30から0で、平均10.2であった。

妊娠成立には妻側の性機能も大きく影響するので、妊娠可能な限界を決めることは容易なことではない。今回我々は自然なかたちでの妊娠が成立した症例について検討を加えたので報告する。

## II-28

## 重症無排卵性不妊症において8年間の反復治療後、双胎妊娠分娩に至った症例

金沢医科大学産科婦人科学教室

○上田由生子、丹野治郎、高林晴夫、桑原惣隆

重症無排卵性不妊で8年間の治療を反復し、Pure FSH-HCG療法とSwim up法によるAIHを施行後、双胎妊娠分娩に至った症例を経験したので報告する。症例は、21歳の重症無排卵症で不妊のためClomid療法、HMG-HCG療法を繰り返すも排卵周期を認めず、当科紹介となった。体型はやや肥満、多毛で初診時内診にて右子宮付属器を触知し他の内外生殖器に異常を認めていない。BBTは一相性、初診時の内分泌検査でE2:128 pg/ml, P値:0.2 ng/ml, Testosterone:90.0 ng/dl, LH RH testでFSH, LHの前値と30分値はそれぞれ8.9/20および2.2/100 miu/mlでLHの高反応性があり、PCO症候群を考えた。1984年7月より1990年8月までClomid + HMG-HCG療法を反復したが無排卵周期や黄体機能不全周期が継続し妊娠に至っていない。1990年9月よりClomid-pure FSH (フェルチノーム) -HCG療法とSwim up法のAIHを開始して2周期目に妊娠に成功。双胎妊娠であった。妊娠11週より15週にかけ、性器出血、下腹痛にて切迫流産の診断で入院。以後妊娠経過においては、軽度蛋白尿以外は特に問題はなかったが、妊娠34週より増大子宮の圧迫症状、腰痛、全身倦怠感出現し本人の希望もあり、1991年6月27日妊娠35週で選択的帝王切開術施行。2416gと1972gの1卵性女児娩出。第1子、2子共にApgar score 8(color 0)で健児であった。術後、母児ともに経過良好である。

## II-29

## 腎透析にて妊娠継続中の一症例

金沢医科大学産科婦人科学教室

○吉田勝彦、丹野治郎、高林晴夫、桑原惣隆

近年、腎不全患者に対する医療の進歩は著しく、血液透析や腎移植により社会復帰が可能となった患者も増加してきている。さらに妊娠能が回復し、妊娠分娩に至る症例も多くなりつつある。腎移植例での妊娠分娩例はこれまで多く報告されているが、血液透析例での報告は比較的少ない。今回、我々はIgA腎症より慢性腎不全となり血液透析中に妊娠し、拳児希望が強いため入院にて妊娠継続中の症例を管理しているので報告する。(症例)月経歴は初経14歳、周期28日型、整。妊娠、分娩歴なし。30歳の主婦。既往歴：13歳の頃より蛋白尿を指摘されていたが、放置していた。24歳の時、不正性器出血を認め、某産婦人科受診。機能性子宮出血にて子宮内容清掃術施行する。これ以後より、全身倦怠感も強くなり、某医受診。BUN 78.6 mg/dl, Cr 10.5 mg/dlと腎不全状態が認められ、腎生検を施行したところIgA腎症と診断され、血液透析を週3回、1回4時間施行していた。現病歴：平成3年1月13日より無月経となり、平成3年2月26日某産婦人科受診、妊娠と診断され、妊娠継続を希望し定期検診を受けていたが、平成3年3月25日当科へ紹介され、切迫流産の診断にて入院となった。入院後の経過：性器出血は減少し消失した。4月中頃より下腹部増強し、isoxsurprine hydrochloride 30 mg/dayにてTocalysisを行なっている。5月初め頃より咳が増悪し、肺野に雑音も聞かれるようになり、抗生剤PIPC 2 gr/dayとEM 1200 mg/dayを連日併用し、現在抑まってきているが感染予防のため、BAPC 750 mg/dayを経口投与している。現在、透析は週4日、1回5時間と増量しBUN 57 mg/dl, Cr 6.9 ng/dlと安定している。(まとめ)妊婦管理では、妊娠初期より血中E<sub>2</sub>、HPLおよびβ-HCGを測定し、超音波断層検査など行なっているが、現在まで特に異常所見は認められていない。今後、透析回数の増加、流早産管理と分娩時期の問題が残る。

## II-30

## IVF-ET, IVF-ETR 妊娠後流産した染色体正常群及び異常群における妊娠初期超音波所見の比較検討

東海大学医学部産婦人科

○善方菊夫、本田育子、小林善宗、井上正人、野見山真理、藤井明和

我々はIVF-ET妊娠多数例の検討から超音波胎嚢(GS)出現時期、胎児心拍出現時期及び心拍数と流産との明らかな関係を報告してきた。今回さらにIVF-ET流産例の中で絨毛培養による染色体検査を行った症例を対象に染色体正常流産群、異常流産群の妊娠初期超音波所見を正常妊娠経過群と比較し、超音波所見から流産の原因が推察し得るか否かを検討した。対象はIVF-ET及びIVF-ETRにて妊娠後流産に至り染色体検査を行った16例で、6例に染色体異常(常染色体 trisomy 3例, 45, XOが2例, 多倍体1例)が認められた。16例について妊娠初期のGS出現時期、胎児心拍出現時期、胎児心拍数を検討し、正常妊娠群、染色体正常・異常流産群で比較した。正常妊娠群は正常経過を示したIVF-ET妊娠194GS, 194胎児の所見をもちいた。流産群については尿中hCG値の推移についても検討した。超音波装置は横河メディカルシステムRT3600, 5MHzのTV型プローブを使用した。GS出現は流産群では正常妊娠群に比して明らかに遅く、5週0日未満でGSが検出された例はなかった。特に染色体正常群では6週3日でも検出できない症例があった。胎児心拍出現時期は、流産群では6週1日未満で検出された症例はなかった。染色体異常流産群では正常流産群に比して心拍は早く出現する傾向がみられた。胎児心拍数は正常妊娠群に比して流産群では著明な徐脈傾向がみられ、染色体異常群よりも正常流産群でより徐脈の傾向にあった。尿中hCG値は染色体異常群よりも正常流産群で低値を示した。この結果から正常妊娠経過群に比して著しくGS出現、心拍出現が遅れ、心拍数が徐脈である症例では遅延着床後の妊娠が考えられ、その後の流産の原因が染色体異常よりも不良な着床環境にあると考えられる。配偶子操作においては、移植時の着床環境が妊娠の継続をはかる上で重要な問題であることが示唆された。

## II-31

## 基礎体温上低温相を呈した子宮外妊娠症例

群馬大学産科婦人科学教室

○篠崎博光 関 守利 土屋清志 伊藤理廣 竹内 巧 伊藤郁朗  
伊吹令人

過排卵刺激、体外受精胚移植、GIFT等の導入により子宮外妊娠が増加している。子宮外妊娠はできるだけ早期に診断し、治療することが重要である。一般的に子宮外妊娠は基礎体温上高温相が持続しているにもかかわらず、性器出血の出現、尿血中のhCGの上昇不良、子宮内の胎嚢が確認できないことがその診断の糸口になる。しかし、今回我々は性器出血を認め、基礎体温で低温相を示したにもかかわらず、子宮外妊娠であった3例を経験した。

症例1 29才 続発不妊 月経第5日目よりクロミフェンにより排卵誘発。月経第33日より性器出血が6日間続き同日より基礎体温は低温相を呈した。月経第45日目より腹痛が出現。月経第53日日子宮外妊娠の診断で開腹手術施行。開腹時所見、病理所見より左卵管膨大部妊娠破裂と診断。

症例2 33才 続発不妊 自然月経周期第31日目より性器出血が出現。また基礎体温も月経第31日目より低温相を示した。月経第40日目より止血剤を投与し、性器出血は月経第48日目で止血。月経第54日目、突然の下腹痛のため来院、子宮外妊娠の診断で開腹手術を施行。開腹時左卵管膨大部破裂部位より絨毛を確認、左卵管膨大部妊娠破裂と診断。

症例3 27才 原発不妊 月経第10日目採卵、月経第12日目ETを施行。月経第27日目より性器出血が4日間出現、同時に基礎体温も低温相を示した。月経第57日目より再度性器出血が7日間続いた。この間基礎体温は低温相を呈した。月経第64日目に腹痛が出現し腹腔鏡で腹腔内出血を確認、開腹手術を施行。開腹所見、病理所見より左卵管膨大部妊娠流産と診断した。

基礎体温で低温相を呈した子宮外妊娠例3例について報告する。このことより月経様出血をとまない、基礎体温上低温相を示すことが、子宮外妊娠の除外とはならず、注意が必要である。

## II-32

## 子宮外妊娠早期発見に関する検討

高邦会高木病院産婦人科 ○中村加代子  
佐賀医科大学産婦人科 宗完子、杉森甫

【目的】子宮外妊娠は尿中hCG高感度定性・定量法の開発、経腔超音波断層法の普及、および腹腔鏡の応用により早期に診断が可能となった。早期診断は母体の安全性確保のみならず保存的治療を可能とする。今回正常妊娠症例、早期流産症例、および早期に診断した子宮外妊娠症例における尿中hCG値の動態および経腔超音波所見について比較検討した。【対象・方法】対象は佐賀医科大学産婦人科および高木病院産婦人科にて妊娠経過を観察しえた32症例で、正常妊娠12例、早期流産8例、腹腔鏡下に確定診断を得た破裂前の子宮外妊娠12例である。正常妊娠は全例基礎体温表による排卵日より週数を決定した。【結果】正常妊娠において経腔超音波上子宮内に胎嚢(GS)が認められた週数は4週2日より5週2日の間で、5週0日で75%に出現した。その際のhCG値は256から3200iu/lであった。子宮内膜は、全例GS着床部位で非対称性の肥厚を示した。子宮外妊娠12例の診断確定時の週数は5週2例、6週3例、7週以降7例であった。hCG値は12例中9例において、正常妊娠でGS描出可能であった256iu/l以上を示したにもかかわらず、子宮内にGSを認めなかった。しかしながらhCG値は妊娠週数に比して低値を示し、その動態は正常妊娠と比較して上昇が緩徐であった。子宮内膜所見は1例を除き前壁・後壁が対称性の肥厚を示し、卵管血腫は間質部妊娠を除きほぼ全例で認められ、10mm径より診断可能であった。卵管内GSは4mm径より描出可能であった。早期流産では子宮外妊娠同様子宮内膜が対称性の肥厚を示すことが多かったが、hCG値はすべて比較的速やかに低下した。【結論】妊娠5週以降で尿中hCG値が256iu/l以上を示すにもかかわらず子宮内にGSを認めない症例では、子宮外妊娠を疑い経腔超音波による子宮内膜像、卵管血腫および子宮外GSの有無についての詳細な検索が必要である。子宮外妊娠においてはhCG値は緩徐に上昇することが多く、これも診断の一助となり得る。

## II-33 経膈超音波断層による妊娠初期の予後判定

札幌医科大学産婦人科

○中町 悟子、井上 雄子、林 卓宏、福江ひろみ、幡 洋、  
山本 弘、田中 昭一

妊娠の初期の予後判定には、超音波断層法による画像診断と、尿中hCG測定による生化学的診断とが行なわれている。このうち、超音波断層法では、FHMの描出が予後判定のためには最も重要と考えられている。経膈超音波断層法では、児の予後が良好な例では妊娠6週からFHMが検出され始め妊娠8週ではほぼ全例陽性になると言われている。そして、FHM陽性になった症例ではその後はごくわずしかか流産しないとされている。しかし、経膈超音波断層法が導入されてからはFHMの検出は妊娠4週より可能になり、妊娠初期にFHM陽性になってもその後流産にいたる症例が意外に多いことが知られるようになった。

今回、基礎体温等で排卵日が明らかで当科不妊外来通院中に妊娠した118症例を対象とし、経膈超音波断層法で測定したGSの大きさ及びFHMの有無と妊娠初期の予後とを比較検討した。予後良好な症例でのGSの描出は妊娠4週前半より可能であり、週数別にみると妊娠4,5週では54.5%, 98.5%の症例で描出され、妊娠6週以降では全例で可能であった。また同一群での週数別のFHM陽性率は妊娠4,5週では4.5%, 3.0%と低率であったが妊娠6, 7週になると73.1%, 97.7%と高率であった。

予後良好な症例のうち7週0日までFHM陰性であったものが1例認められた。また、GSの大きさととの関係ではGSが $\phi$ 25mmまでFHM陰性でその後予後良好となった症例も認められた。

流産症例は全体の22.0%であり、そのうち40.9%はFHM陽性となったのち流産した。妊娠8週未満でFHM陽性となりその後流産した症例はFHM陽性となった症例全体の6.9%であった。妊娠8週以後までFHM陽性であった症例で流産した症例はFHM陽性症例全体の2.0%のみであった。妊娠8週未満の症例ではFHM陽性となっても、妊娠8週以後までの注意深い観察が必要と思われた。

## II-34 配偶子操作妊娠流産胎児の染色体分析と予後

東海大学医学部産婦人科

○野見山真理、岩崎克彦、小林善宗、本田育子、井上正人、藤井明和

〔目的〕配偶子操作治療では比較的高率に流産症例が認められる。当科においても配偶子操作治療で妊娠が成立するも、25~30%が流産に終わっている。今回、流産胎児の染色体分析と、さらに流産後の再妊娠の予後をも検討した。〔方法〕染色体分析は絨毛組織を培養後行い、G分染法にて行った。対象は染色体分析が可能であった20例で、その内訳は、GIFT流産4例、IVF (IVF-ETR 4例、IVF-ET 12例) 流産16例であった。流産後の予後は、流産後6ヶ月以上不妊治療を行った18例について検討した。〔結果〕①染色体異常は7例(35.0%)で、45,XO(3例)、常染色体トリソミー(3例)、多倍体(1例)であった。②配偶子操作別に染色体異常流産頻度をみると、卵管内受精妊娠であるGIFT流産では、4例中1例(25.0%)の染色体異常であり、体外受精妊娠流産での異常は16例中6例(37.5%)で、その内訳は、卵管内移植であるIVF-ETR流産で4例中3例(75.0%)、子宮内移植であるIVF-ETで12例中3例(25.0%)であった。なおGIFT流産の染色体異常の1例は45,XOであった。さらに胎児染色体異常流産と診断された夫婦の末梢血培養による染色体検査で異常は発見されなかった。③流産後の予後を、染色体正常・異常別にみると胎児染色体正常流産13例では3例(23.1%)が再妊娠したにすぎず、2例は生児を得たが、1例は再流産に終わった。一方胎児染色体異常流産7例のうち6例(85.7%)が再妊娠し、1例は早産であったが、3例は正常生児を得ており、2例は現在継続中である。胎児染色体正常流産後の再妊娠率は、異常流産後の再妊娠率より有意に低いものであった。〔結論〕配偶子操作妊娠流産胎児の染色体異常の頻度は高くはなかった。流産後の予後からみると、胎児染色体正常流産は、着床環境あるいは、妊娠維持の子宮内環境が劣悪であった可能性が示唆され、今後着床環境の改善が急務であろう。

## II-35

## 習慣流産の原因としての先天性子宮奇形の病理組織学的検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○梅内正勝, 牧野恒久, 酒井 淳, 斉藤 優, 野澤志朗

1981年2月から1991年2月までの11年間に当院不育症外来に受診した習慣流産患者1200名のうち子宮卵管造影にて先天性子宮奇形と診断された患者は188名(15.6%)であった。そのうち我々は71例に対して、Jones & Jones 慶大式変法または Strassmann の手術等の子宮形成術を行ない33例の生児を得た。

本研究では子宮腔内への突出物として捉えられる子宮中隔が妊娠維持に対して如何なる機序で影響をおよぼしているかを検討するため、中隔組織における血流量が原因のひとつであるという仮定から、子宮中隔および正常子宮底部筋より得られた標本において、動脈数および動脈断面積を計測し比較解析した。【方法】上記71例のうち8例の子宮中隔の細切片をヘマトキシリン-エオジン染色後400倍にて鏡検し、内膜側筋層、漿膜側筋層、全筋層における動脈数、およびコンピューター解析により動脈断面積の総和を求め、8例の中隔子宮を症例群とした。また子宮頸癌および卵巣腫瘍等によって摘出された子宮底部に形態異常のない6例の子宮底部筋を同様に処理し対照群として、両者について統計学的解析を行なった。【成績】症例群および対照群の内膜側筋層、漿膜側筋層、全筋層における動脈数はそれぞれ $14.0 \pm 1.4$  (mean  $\pm$  S.E.),  $5.8 \pm 1.1$ ,  $19.8 \pm 1.6$  および  $21.4 \pm 2.7$ ,  $17.0 \pm 3.0$ ,  $38.6 \pm 1.2$  で、漿膜側および全筋層において有意差を認めた ( $P < 0.05$ )。また動脈断面積の総和はそれぞれ  $171.5 \pm 21.6$  ( $10^{-4} \mu\text{m}^2$ ),  $119.7 \pm 15.4$ ,  $286.2 \pm 19.4$  および  $418.6 \pm 34.7$ ,  $118.6 \pm 29.8$ ,  $562.8 \pm 18.4$  で内膜側および全筋層において有意差を認めた ( $P < 0.01$ )。【結論】筋層内の血流量が動脈断面積に比例すると考えれば、中隔部分は正常子宮底部筋に比べ血流量が少なく、とくに中隔先端部分ほどその傾向が強く、このことが胎児胎盤の生着、生存を阻害し流産につながる原因のひとつであることが示唆された。

## II-36

## 連続2回流産に対するスクリーニング検査の評価

東北大学医学部産科婦人科学教室

○村上 節, C. マンスフィールド, 千田定則, 田村みどり, 陳 偉業, 萬代泰男  
戸澤秀夫, 吉田仁秋, 対木 章, 深谷孝夫, 矢嶋 聡

初回妊娠より2回続けて流産をきたした症例の約70%は、次回妊娠において生児を期待できるが、一方では、その約40%に習慣流産としての原因がかくれていると推定されている。

現在のところ習慣流産の原因としては種々のものが考えられ、その鑑別診断として多くの検査が行われているが、上記のごとき、いわば習慣流産予備群に対する検索についての検討は少ない。今回我々は、当科における昭和61年の習慣流産外来開設以来の受診患者のうち、2回連続流産の59組について検討し、その診断に必要なスクリーニングとしての検査の見直しを試みた。

結果を要約すると、①高プロラクチン血症を呈する症例は23.1%に存在し、重要な検査と考えられた。②習慣流産の原因となるような糖尿病、甲状腺機能異常、またはウイルス感染症の頻度は低いと思われた。③両親の染色体検査および子宮卵管造影法はその後の対処を決定する上で不可欠であると思われた。④抗核抗体陽性例が8.9%に見られ、何らかの自己免疫性疾患の存在が考えられた。⑤しかし、抗リン脂質抗体症候群の診断のためには抗リン脂質抗体によるスクリーニングが必要であると考えられた。

## II-37

ステロイド療法により健児を得た抗SS-A抗体陽性不育症の一例

筑波大学臨床医学系産科婦人科

○岡本 一、岡根真人、藤田佳世、真嶋州一、大沢夏美、目崎 登、  
岩崎寛和

抗SS-A抗体陽性妊婦では反復流産率が高いと言われており、当院においては抗SS-A抗体スクリーニングを不育症ルチン検査の一つとしている。今回われわれは、抗SS-A抗体陽性不育症患者に対して妊娠前より副腎皮質ステロイドを投与することにより抗SS-A抗体価を低下させ、健常児を得たので報告する。

症例は31歳。2回の妊娠初期反復流産を主訴に当院不育症外来を受診した。不育症ルチン検査の結果、抗SS-A抗体が陽性であったため、プレドニン10mg/day投与を開始した。プレドニン投与後間もなく妊娠し、以後抗SS-A抗体価の推移によりプレドニン投与量を適宜増減させた。抗SS-A抗体価は初期に16倍であったものが4倍と低下し、一時的に16倍に上昇した以外は4倍を維持した。また、プレドニン投与量は最高30mg/dayまで増量した。妊娠経過は順調で、妊娠39週4日に2965gの男児をApgar score 1分後9点、5分後10点で正常分娩した。また臍帯血の抗SS-A抗体価は4倍陽性であったが、児に不整脈、新生児ループス等の異常は認めなかった。

抗SS-A抗体は、近年胎児完全房室ブロックや新生児ループスを引き起こすことで注目されているが、反復流産率が高いという報告もある。今回われわれは、2回連続反復流産患者に対して不育症ルチン検査を施行した結果、抗SS-A抗体が陽性で他の検査が正常であったため、抗SS-A抗体が反復流産の原因である可能性が高いと考えた。そこで妊娠前よりステロイド療法を行い、抗SS-A抗体価を低下させ、健常児を得ることに成功した。しかし、抗SS-A抗体による流産の機序は不明であり、抗体価と流産との関係やステロイド療法の適応、有用性につき、今後さらに検討が必要である。

## II-38

習慣流産患者の血液凝固・線溶とループスアンチコアグラントの検討

旭川医科大学産婦人科学教室

○石川雅嗣、石川睦男、清水哲也

〔目的〕習慣流産者の血液凝固・線溶がコントロールと比較して相違が有るかどうかを検討した。またループスアンチコアグラント(LAC)の陽性率についても検討した。

〔対象〕習慣流産の未妊娠例10例(A群)と習慣流産の妊娠例15例(B群)と当院にて妊婦検診中の妊婦で流産の経験のないもの39例(C群)と未婚女性volunteers20例(D群)を対象とした。

〔方法〕対象例より3.8%クエン酸ナトリウム入りの試験管にて採血し、血漿を分離し、以下の測定を行った。1. トロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体(TAT, ug/ml), プラスミン・ $\alpha_2$ プラスミンインヒビター複合体(PIC, ug/ml)、2. 抗核抗体、3. 希釈PT法によるLAC(50倍希釈/1倍が3以上の場合にLAC陽性とした)。

〔成績〕1. 妊娠前(D群)のTAT, PICはそれぞれ $0.37 \pm 0.12$ ,  $1.87 \pm 0.32$ , 正常妊娠中(C群)のTAT, PICはそれぞれ $0.45 \pm 0.17$ ,  $5.95 \pm 2.96$ , 習慣流産の妊娠前(A群)はそれぞれ $0.49 \pm 0.25$ ,  $1.70 \pm 0.61$ , 習慣流産の妊娠中(B群)はそれぞれ $0.42 \pm 0.12$ ,  $2.61 \pm 1.95$ であった。2. 抗核抗体はA群が50.0%, B群が33.3%, C群が28.2%, D群が40.0%であった。3. LAC陽性率はA群が30.0%, B群が13.3%, C群が79.5%, D群が45.0%であった。

〔結論〕1. 正常妊娠中にTATは有意に増加したが、習慣流産の妊娠中のTATの増加は著明ではなかった。2. 抗核抗体は習慣流産者とコントロールで特別な傾向はなかった。3. 希釈PT法によるLACの検出では正常妊娠で79.5%の陽性率があり、検出方法として不適当と考えられた。

## II-39

## OHSSの有無と妊娠率との比較検討

セントマザー産婦人科医院

○出嶋秀明, 田中温, 山田義治, 田中威づみ, 吉田一郎, 竹本洋一,  
鷹野和哉

目的：OHSSは卵巣腫大，腹・胸水貯溜を生じ，下腹部膨満，下腹部痛を伴い患者にとっては耐えがたい排卵誘発剤使用時の副作用である。近年このOHSSの発生を減少させる目的でLH濃度の低いHMG製剤の使用が増加している。しかしこのOHSS発症例における妊娠率はOHSSの認めない症例に比べ非常に高いという事も報告されている。今回我々はこのOHSSの有無と妊娠率との関連について比較検討を行ったので報告する。方法：1990年4月より1991年6月までの間で，腹水穿刺を必要としたOHSS症例45例についてその臨床成績を検討した。卵巣腫大のみ又はダグラス窩のみの腹水貯溜の症例（軽症～中等度OHSS）は対象外とした。胸・腹水は血管確保下にてできる限り大量に排液した。輸液はアミノ酸製剤のみとし，従来施行されている大量の輸液は施行しなかった。利尿剤としてラシックスとアルダクトンを投与した。全身状態が安定している症例では原則として外来治療とした。結果：①過排卵処理法別における分類ではGnRH-a+HMG+HCG：47% (21/45)，Clomiphene+HCG：33% (15/45)，GnRH-a+PureFSH+HMG+HCG：13% (6/45)，HMG+HCG 7% (3/45)であった。②妊娠率は42% (19/45)であった。過排卵処理法別における妊娠率はそれぞれ48% (10/21)，40% (6/15)，33% (2/6)，33% (1/3)であった。③多胎妊娠発生率18% (8/45)であった。④流産率は16% (7/45)，胸・腹水穿刺後も再度貯溜を繰り返す症例では流産率が45% (5/11)と高値であった。⑤胸・腹水穿刺施行日はHCG投与1w～2wが全体の64% (29/45)，0～1wが20% (9/45)，2w～3wが16% (7/45)であった。⑥胸水貯溜を認めた症例は7% (3/45)で2例が流産となった。考案：OHSS発症例に対して早目の処置と慎重な経過観察を行うならばclomiphene単独投与で妊娠に失敗した症例では極端な場合は除いてあえて卵胞数をおさえるように過排卵処理法を選択する必要はないのではないかと考える。

## II-40

## 高血圧自然発症ラットおよびDOCA食塩高血圧ラットの妊娠，分娩時の血圧の変動

山形大学医学部泌尿器科

○渡辺博幸, 安達裕一, 石郷岡学, 笹川五十次, 中田瑛浩

【目的】高血圧動物では，妊娠，分娩時に降圧をみると報告があるが，血圧は不変とする見解もある。そこで，本態性高血圧症のモデルである高血圧自然発症ラット (SHR) および鉱質ホルモン高血圧症のモデルであるDOCA食塩高血圧ラットを用いて検討した。

【実験方法】 (1) 20～22週齢のウィスター京都ラット (WKY) および同週齢のSHRを妊娠させ，インドメサシンを投与し分娩3日後まで収縮期血圧を非観血的に測定した。インドメサシン非投与妊娠群をコントロールとした。(2) 非妊娠幼若雄性WKY およびSHRにそれぞれ5mg/kgのインドメサシンを腹腔内に投与し，血圧を測定した。(3) 食塩水を飲水しているWKYにDOCA 12.5mg/100g B.W.を初回投与し，ついで10日後に15mg/100g B.W.のDOCAを投与し高血圧を発症させた後，妊娠させ分娩終了後まで血圧を測定した。半数のラットには(1)と同様の方法でインドメサシンを投与した。

【結果】 (1) インドメサシン非投与のWKY およびSHRの血圧は妊娠19日目より下降し始め妊娠21日目 (分娩日)には血圧下降の程度は最大に達した。インドメサシン投与群では分娩は非投与群に比し2日間遅延した。しかし，血圧下降は非投与群と同様に生じた。

(2) 非妊娠幼若雄性ラットに対するインドメサシンの急性投与は血圧に有意の変動を与えなかった。

(3) DOCA食塩高血圧ラットではインドメサシンの投与に関わらず高血圧は持続し，妊娠，分娩も血圧に影響を与えなかった。

【考察】WKY, SHRでは妊娠分娩の影響を受けて血圧は下降するが，DOCA食塩高血圧ラットではその影響を受けず，血圧は不変であった。プロスタグランディンは降圧作用やNa利尿作用が注目を集めているが，SHRの妊娠末期から分娩前後の血圧下降にプロスタグランディンが関与しているとは考え難かった。

## II-41

## 共培養培地内低酸素分圧状態がマウス受精卵発育に及ぼす影響に関する検討

鹿兒島大学医学部産科婦人科学教室

○山元慎一, 竹内一浩, 森 明人, 沖 利通

福元清吾, 堂地 勉, 永田行博

【目的】共培養効果の一つに培養液内低酸素分圧状態が関与することを報告してきたが、どの程度低酸素分圧状態が関与するかどうかについてマウス2細胞期胚の共培養を試み検討した。【方法】①ヒト卵巣癌細胞株を共培養細胞とした。②血清無添加HIFのみのdishを対照群とし、共培養細胞がconfluentになったdishを共培養群とした。③2つの培養条件下(5%CO<sub>2</sub> in air または5%CO<sub>2</sub>・5%O<sub>2</sub>・90%N<sub>2</sub>)で対照群および共培養群のdishを培養した。④PMS およびhCG で過排卵したICR系雌マウスから2細胞期胚を回収して③で用意した4種類の培地内で発育の形態学的観察をした。⑤培養開始96時間後のそれぞれの培地内酸素分圧を測定した。⑥共培養細胞上清を回収し、pHを調整した後10%の上清濃度に調整した培地でマウス2細胞期胚の発育を調べた。【結果】①5%CO<sub>2</sub> in air下で培養開始96時間後のblastocyst発育率は、対照群で50.0%、共培養群で100.0%であった。②5%CO<sub>2</sub>・5%O<sub>2</sub>・90%N<sub>2</sub>下での培養では対照群65.0%に対し、共培養群100.0%であった。③hatching率は対照群では殆ど見られなかったのに対し、いずれの共培養でも高率で5%CO<sub>2</sub> in airで55.0%、5%CO<sub>2</sub>・5%O<sub>2</sub>・90%N<sub>2</sub>下で31.8%であった。④共培養96時間後の培地内酸素分圧濃度は、5%CO<sub>2</sub> in air下で対照・共培養群それぞれ134.1, 122.6mmHgに対し5%CO<sub>2</sub>・5%O<sub>2</sub>・90%N<sub>2</sub>下ではそれぞれ61.3, 48.5mmHgであった。⑤培養細胞上清での胚発育率は、受精卵発育促進効果はあったものの不安定であった。【考察】培養液内酸素分圧が低い程マウス2細胞期胚の発育が促進された。これは、共培養により培地内酸素分圧が低下したためと考えられる。共培養すると5%CO<sub>2</sub> in airでも5%O<sub>2</sub>下でも発育率の著明な差異は認めなかった。ただ、共培養することでhatching率をたかめることができたことより、共培養細胞からは主にhatching現象に関与した因子が産生されていることが示唆された。

## II-42

## マウス初期胚のDNA およびRNA 合成能に及ぼすパルス超音波照射の影響

鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○岩部富夫、高尾成久、蓮佛千恵子、  
関島秋男、谷川正浩、大野原良昌、寺戸博文、戸田稔子、原田省、  
見尾保幸、寺川直樹

(目的) 近年、経膈超音波断層法やカラーフローマッピング法の普及とともに、産婦人科とくに生殖医学領域において、超音波生体作用の安全性に対する再評価の必要性が指摘されている。今回我々は、マウス初期胚にパルス超音波照射を行い、DNA およびRNA 合成能を指標としてパルス超音波照射の影響を検討した。

(方法) 過排卵処理後MatingさせたB6C3F1雌マウスより採取した1細胞胚、および1細胞胚を24時間培養して得られた2細胞胚を実験に用いた。周波数2.0MHz、パルス繰り返し周波数1.0KHz、パルス幅10μSec、SATA110mW/cm<sup>2</sup>のパルス超音波を1細胞胚および2細胞胚に水中で15分間照射し、1細胞胚は96時間、2細胞胚は72時間培養後の後期胚盤胞への発生率とそのDNA およびRNAの合成能を、それぞれ<sup>3</sup>H-Thymidine、<sup>3</sup>H-Uridineの4時間の取り込み値(incorporation, dpm/embryo)により検討した。

(成績) 後期胚盤胞への発生率は2細胞胚では対象群で186/225(82.7%)、照射群で245/303(80.9%)、1細胞胚では対象群で114/170(67.1%)、照射群で126/169(74.6%)であった。各群間において有意差を認めなかった。DNA合成能は、2細胞胚では対象群1931±959dpm、照射群1610±397dpm、1細胞胚では対象群1543±376dpm、照射群1439±410dpmであった。RNA合成能は、2細胞胚では対象群8510±1766dpm、照射群8460±1558dpm、1細胞胚では対象群6992±994dpm、照射群6340±1226dpmで各群間に有意差を認めなかった。

(結果) SATA110mW/cm<sup>2</sup>の強度のパルス超音波照射は初期胚の発生、DNA およびRNA 合成に悪影響を及ぼさないことが明らかとなった。

## II-43

## 静磁場 (2.1tesla) がマウス初期胚発育に与える影響

福島県立医科大学産婦人科 ○菅野薫, 柳田薫, 星和彦

生殖過程における磁場の影響についての研究は、まだ充分とはいえない。

マウスの初期胚 (前核期から8細胞期) を、静磁場に曝露し、その後の初期発育過程に与える影響をみた。

7~9週齢のC57BL/6N雌マウスを、PMS-hCGの過排卵処置、交配後、一定時間に (前核期胚で、hCG投与後18時間、2細胞期胚で、42時間) 卵管より胚を回収し、日本電子製 FX-90QNMR spectrometer (2.1tesla静磁場) に2時間曝露し、その後の発生過程を実体顕微鏡で観察し、対照群と比較した。

培養液は、0.5%牛血清アルブミン含有m BWWを使用、内径10mmの試量管に胚を移し、36°C大気下で、曝露施行し、培養は、微小滴法にて、37°C、5%CO<sub>2</sub>大気(CO<sub>2</sub>インキュベーター)で施行した。

前核期に曝露した胚では、hCG投与後44時間に2-4細胞期への発生率82.7%、68時間後の4細胞期以上72.8%、92時間後の桑実胚以上66.8%、116時間後の孵化胚37.9%、であった。一方、対照群は、各々、84.3、74.1、69.3、33.8%で両群間に有意差を認めなかった。

また、2細胞期胚に曝露したが、92時間後の桑実胚および胞胚への発生率86%、116時間後の孵化率70%で、対照群は、各々、94.71%であり有意差を認めなかった。

4細胞期胚、8細胞期胚にも同様に曝露し、同様に有意差を認めなかった。

MRI 診断量の静磁場は、初期胚発育に影響を与えないと考えられる。

## II-44

## ヒト妊娠初期絨毛細胞のマウス初期胚発育に対する影響

九州大学医学部婦人科学産科学教室

○森下哲哉 横山幹文 野崎雅裕 佐野正敏 中村元一 中野仁雄

〔目的〕近年、卵管上皮等の細胞を初期胚と共培養することで胚発育が促進されたと報告されている。またヒト絨毛細胞は様々な成長因子を産生し、自己の増殖分化を制御していると考えられている。そこでヒト妊娠初期絨毛細胞をマウス初期胚と共培養することにより、ヒト絨毛細胞の胚発育に対する影響を検討した。

〔方法〕ヒト絨毛細胞は患者の同意を得て人工妊娠中絶時に得られた妊娠8~11週の絨毛を、Dispaseを用い細胞浮遊液とし、パーコール比重遠沈法で分離した。10%FCS添加T6培養液で絨毛細胞を種々の濃度 ( $10^6$ /ml,  $5 \times 10^5$ /ml,  $10^5$ /ml) に調整し、各々24、72、120時間前培養した (24hr群、72hr群、120hr群) 後、共培養に用いた。マウス初期胚は、雄C3H/HeJマウスと交尾した過排卵処理雌B6C3F1マウスより、hCG投与後42時間に2細胞期で採取し、ただちに共培養を行い、その後一定の間隔で胚の成熟段階を観察し、10%FCS添加T6のみで培養したコントロール群(C群)と比較した。

〔結果〕4細胞~胚盤胞への分割率は24hr群、72hr群ではC群と差を認めなかった。Hatching率は24hr群では  $10^6$ /ml,  $5 \times 10^5$ /mlの絨毛細胞濃度で、また72hr群、120hr群では  $5 \times 10^5$ /mlの濃度でC群に比し有意に促進された。また培養皿への接着率もHatching率と同様の傾向が見られた。

〔考察〕ヒト絨毛細胞がマウス胚盤胞のHatchingを促進した機序として絨毛細胞より産生された何らかの因子またはそれによる培養液の性状の変化が、①初期胚発育に影響を及ぼし、Zona sheddingを亢進させた、あるいは②透明帯に直接的影響を及ぼし、その構造に変化をもたらした可能性が考えられる。〔結論〕ヒト絨毛細胞は、共培養の至適条件下で、マウス胚盤胞のHatchingおよび培養皿への接着を有意に促進した。

## II-45

## 枯死卵 (Blighted Ovum) の起源

スズキ病院産婦人科、Kiel大学産婦人科\*

○千田 智、小田原 靖、飯田 修一、蛭田 益紀、  
森 滋、鈴木 雅洲、L. Mettler\*、K. Semm\*

【目的】枯死卵の発生率は全妊娠中の7~10%、全流産例の約70%といわれているが発生機序及び時期は不明である。我々はマウス受精卵を用いた培養系のquality control をしていた際、胞胚期における内細胞塊発育不全胚を認め、更にそれらをhatching後dish上に接着させtrophoblast 及び内細胞塊の形態を追跡観察することでin vitroにおける枯死卵発生について知見を得たので発表する。

【方法】CB6F1 雌マウスを過排卵処理後、同系雄マウスを用いて体外受精ないし交配による体内受精にて得た2細胞期胚を胞胚期まで培養し、内細胞塊の形態を観察。更に2日間培養し、hatching後のdish上におけるtrophoblast のoutgrowth 及び内細胞塊の発育形態を観察した。

【結果・考察】体外受精由来の胞胚において11.2% (11/98)、体内受精由来胚において8.1% (28/346) に内細胞塊発育不全胚を認めた。これらは正常にhatchingしdish上においてtrophoblast のoutgrowth を認めたが、胎児成分となる内細胞塊の発育を認めなかった。つまり枯死卵発生の起源は内細胞塊発育不全胚にあると考えられた。体内受精由来胚の胞胚までの発生率、hatching率および接着率は体外受精由来胚より有意に高く、体外受精由来胚のquality やvitalityは低いといえる。体外受精と体内受精由来胞胚における内細胞塊発育不全胚の発生率において有意差を認めなかったが、異常卵の多くは胞胚期前及びhatching前後に淘汰されているのであり、生き残った胞胚においてその発生率に差を認めなかったと考えるべきである。

## II-46

## ウサギ不動化精子の囲卵腔内注入に関する検討

— 表層顆粒の放出について —

日本大学農獣医学部動物細胞学教室

○横田 秀夫、佐藤 嘉兵

目的：精子を卵子内に注入して受精させる際、精子を細胞質に注入する方法と囲卵腔に注入する方法がある。不動化した精子を囲卵腔内に直接注入してもほとんど受精しない。我々は、囲卵腔に不動化精子を注入し、その際、卵子細胞質膜に接触刺激を与えると接触刺激を与えなかった卵子に比べて受精率および発生率が他の方法で受精した卵子に比べ高いことを報告した。この事は、卵子への接触刺激により卵子が活性化され、囲卵腔内の不動化精子が高率に受精するのではないかと考えられた。そ今回、卵子への物理的的刺激による卵子の活性化、特に表層顆粒の放出について検討した。

方法：過排卵処置により採取したウサギ卵子にマイクロマンピレータを用いてインジェクションピペットで卵子細胞質に刺激を与えた。卵子への刺激は、卵子細胞質内へのピペットを刺入、卵子囲卵腔への刺入、および卵子細胞質膜に刺激を与える3つの方法で刺激を与え、顕微鏡および電顕により表層顆粒の放出を観察した。

結果：卵子細胞質にピペットの注入を行った卵子と囲卵腔に注入し細胞質膜に接触刺激を与えたものでは、表層顆粒の放出が見られ、明らかに卵子の活性化が引き起こされていることが確認された。

## II-47

## 卵細胞質内顕微注入法での受精におけるA23187処理卵の使用成績

福島県立医科大学産科婦人科教室

○柳田 薫、矢沢浩之、阿部利明、星 和彦、佐藤 章

哺乳動物の卵細胞質内顕微注入法による受精では受精率・初期発生率の低下が認められる。顕微注入法では精子-卵子癒合までの多くの過程をバイパスするため、受精機転の何かが欠落している可能性がある。ハムスターでの顕微注入による受精では第2極体が放出され雄性前核が作られるが、表層顆粒の消失が極めて軽微で、賦活刺激の不足が考えられる。そこで、卵子を賦活させるA23187-Caイオノフォアで処理した卵子で顕微受精を行ない、その効果を検討した。

ゴールデンハムスターの未受精卵を10 $\mu$ Mイオノフォアで3分間処理し洗浄後培養すると、処理をしないコントロールでは賦活した卵(第2極体の放出を認めたもの)の割合は60分後で0%、120分後で6.5%で、処理群では43.2%、93.6%とその効果は著明で、120分後に表層顆粒についてもコントロールではほとんど消失しないのに対して処理群では70-90%が消失し、イオノフォア処理は卵賦活に有効なことを確認した。次にイオノフォア処理卵へハムスター精巢上体尾部精子核を顕微注入し前核期卵へ発生する割合を調べたところ、処理無しの群では卵子内に精子核を認めた生存卵に対しての前核期卵の割合は53.1%、イオノフォア処理群では85.7%( $P < 0.05$ )で、また賦活した卵に対しての前核期卵の割合は81.0%と92.3%( $N, S$ )であった。

以上のことから卵のイオノフォア処理では、賦活された卵子の受精は助長しないが、卵を効果的に賦活することで間接的に前核期卵までの発生を促進することがわかった。顕微注入法の受精成績を向上させるためには、イオノフォア処理が有効と思われた。

## II-48

## コンピューター制御による顕微受精操作

聖マリアンナ医大産婦人科, 明大農\*, Century City Hospital\*\*, 早大理工\*\*\*  
○佐賀正彦, 小林一彦\*\*, 加藤圭介\*\*\*, C. Rothman\*\*, 藤本午朗\*, 合屋英俊, 浜田 宏, 山根雅己\*\*\*, 尾川昭三\*

〔目的〕精子減少症, 精子運動不良などの男性不妊症に対する有効な治療法として顕微受精が注目されている。そこでわれわれはこの顕微受精操作の自動化を企画し, これまで開発および改良を進めてきたコンピューター制御の顕微手術システムを用いて, マウス卵子における囲卵腔内精子注入実験を行ない, 受精の有無を調べた。次いでこのシステムをヒト卵子を用いた囲卵腔内精子注入に適用しうるか否かを調べた。

〔方法〕パルスモーター駆動の左および右, 各一基の三次元マイクロマニピュレーターにそれぞれ卵子保定用ピペット, および精子注入用ピペットを装着した。保定用ピペットの内圧は, パルスモーター駆動の圧力発生器により調節された。これらのマイクロマニピュレーターおよび圧力発生器の動作は, 市販のパーソナルコンピューター(NEC, PC9801)からのパルス信号により制御された。顕微受精操作作用のコンピュータープログラムは, 手動により三次元マイクロマニピュレーターを操作して, 最も簡単かつ効果的に顕微操作が達成された時の映像情報をもとにして, 画像処理システムを導入し作製された。このシステムの適用により, コンピューターが各マイクロツールの位置, ならびに精子注入の至適部位を検出し, 自動的に顕微操作を行うことが可能になった。ただし, 精子注入用ピペットへの精子の吸引および排出は, 手動操作により行った。

ICR系マウス精巢上体尾部精子を上記のシステムを用いて, 単一精子を採取し卵子の囲卵腔内に注入した。これらの処置卵は6時間培養後雌雄両前核の有無により受精を判定した。

ヒト精子および卵子は, Century City Hospitalにおいて体外受精による臨床治療の目的で採取されたもので, 媒精後受精に至らなかったものを用いた。その結果, いづれの実験においても約90%に自動的に囲卵腔内へ精子注入が可能であった。

## II-49

## ヒトの卵子内精子注入

東海大学医学部産婦人科

○井上正人、淡路英雄、佐藤素子、小林善宗、本田育子、藤井明和

男性不妊の予後が悪いのは、その多くが精子の機能障害を伴うためである。なかでも精子受精能力障害を合併する場合は、絶望的で、精子を直接卵子内に注入するしか治療法はない。Ca ionophore  $A_{23187}$  を用いた zona-free hamster egg sperm penetration test (ZSPT) を行うと、乏精子症の約30%に精子受精能力障害 (ZSPT陰性) が認められる。我々は顕微受精について一連の実験を行ってきたが、卵子内精子注入では透明帯開孔術や囲卵腔内精子注入に比べて、明らかに受精率は低い。精子を人工的に卵子内に注入するだけでは卵子の活性化が起こりにくいのではないと思われる。そこで今回は、卵子内精子注入における  $A_{23187}$  処理および電気刺激の有効性について検討した。卵子は通常の IVF で受精しなかったものを患者の同意を得て使用した。顆粒膜細胞を除去してから、micromanipulator を用いて、insemination mixture 中の夫精子を1個卵子細胞質内に注入した。術後の卵子は  $A_{23187}$  ( $5 \mu M$ ) で5分間処理してから、18~48時間培養した。また電気刺激による活性化には電気融合装置 (島津 SSH-10) を使用した。受精の有無は2個の前核の存在により判定した。

単なる卵子内精子注入では、64個の卵子中54個 (84.3%) が生存したが、受精したのはわずか7個 (13.3%) であった。また分割したのは1個 (1.9%) に過ぎなかった。これに対して、 $A_{23187}$  処理を行った群では73個の卵子中67個 (91.8%) が生存し、15個 (22.4%) が受精した。分割率も16.4% (11/67) に改善した。また電気刺激で活性化を行った群では、38個の卵子中33個 (91.7%) が生存し、12個 (36.4%) に2個の前核形成が認められた。ウシではすでに  $A_{23187}$  処理による卵子内精子注入で産仔が得られている。卵子内精子注入は、男性不妊に対する究極の治療法として十分期待できるものと思われる。

## II-50

## 体外受精胚移植における顕微受精法の検討

名古屋大学分院産婦人科学教室、名古屋大学産婦人科教室\*

○中村潔史、北川武司、那波明宏、稲垣資郎、柴田均、近藤育代、  
広岡孝\*、塚原慎一郎、山口一雄\*、福垣洋行\*、花井一夫\*、浅田  
義正\*、菅沼信彦\*、友田豊\*

【目的】体外受精胚移植 (以下 IVF) は、確立された不妊治療手技となり、高い妊娠成績が報告されているが周知の如く、未だに男性不妊に対してはその受精率、妊娠率も低く IVF を繰り返しても殆ど受精卵の得られないような症例が増加し、蓄積されている。これらの症例に対して顕微受精による報告がしばしば見られるようになったが、当科にても1989年より倫理委員会の承認を得て開始し、partial zona dissection (以下 PZD) と囲卵腔精子注入法の2法につき検討を加えた。【対象と方法】患者の同意を得た上で前回全く受精卵の得られなかった IVF 症例の採卵日 day0 に 0.1% ヒアルロニダーゼにて処理した卵と swim up にて処理した精子、および殆ど受精しなかった症例の day1 における卵と精子を対象に holding pipette に microneedle によって透明帯を穿刺した卵を擦過し、列孔を作成する PZD と囲卵腔に運動精子を1匹から最高20匹まで注入する囲卵腔精子注入法を行った。【結果】day1 の卵に対しては PZD では39個行い変性したものはなく3個が受精し、多精子受精はみられず1個が卵割した。囲卵腔精子注入法では44個の卵に対して行い4個 (9%) が損傷変性し、13個 (32.5%) が受精し、7個が多精子受精となり、卵割は7個4細胞期まで進んだものがあった。day0 の卵32個には囲卵腔精子注入法は通常の IVF では受精卵の殆ど得られない難治性不妊症に対して有力な方法とであり、更に検討を加えて行きたい。

## II-51

## 高張糖液処理のマウス胚発生に与える影響について

東邦大学第一産科婦人科学教室

○雀部 豊, 久保春海, 安部裕司, 白井 彰, 片山 進, 百瀬和夫

【目的】Micromanipulator を用いて卵に操作を加える方法が諸外国で脚光を浴びている。しかし、その操作時に用いる高張糖液の発生能に対する影響は十分に検討されていないのが現状である。今回我々は、マウスを用い高張糖液処理が初期胚発生および移植後の胎仔形成に与える影響を検討した。

【方法】8～10 周齢の雌 ICR マウスに PMS, hCG を用いて過排卵処理を加え、hCG 注 42 時間後、卵管より 2 細胞胚を採取した。採取した胚を濃度の異なる I. 0.3 Mol Sucrose 加 PBS (phosphate buffered saline), II. 0.5 Mol Sucrose 加 PBS を用いて 30 分間処理を行った。PBS で十分に洗浄後、Whitten's medium に移し培養を行った。培養 72 時間後、偽妊娠誘起 ICR マウスに移植を行い、偽妊娠 18 日目に子宮を摘出、胎仔形成率を確認した。対照は、Sucrose を加えない PBS で処理後、培養、移植を行った。【結果】各々の培地の浸透圧は、対照：297 mOsmol/kg, I：642 mOsmol/kg, II：929 mOsmol/kg であった。培養 72 時間後の胚形成率は対照：97.0%, I：97.8%, II：87.6% で、II 群が有意に低率であった。有意差の認められなかった対照群と I 群について移植を行った。移植後の胎仔形成率は、対照：76.7%, I：62.5% で 2 群間に有意差は認めなかった。また、奇形等の異常を認めた胎仔はみられなかった。【考察および結論】高張糖液の発生能に対する影響の検討は、micro-manipulation に際し欠くことができない問題である。今回我々はマウスを用いてこれを検討した結果、0.5 Mol, 30 分の高張糖液処理は、マウス初期胚の発生に影響を及ぼすことがわかった。そして、0.3 Mol 以下、30 分以内の高張糖液処理は、初期胚の発生および移植後の胎仔形成に影響を与えない可能性が示された。

## II-52

## 顕微受精法に関する実験的研究

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○大村伸一郎, 倉澤滋明, 遠藤芳広, 北井啓勝, 鈴木秋悦, 野澤志朗

【目的】最近、男性不妊症の治療法としてマイクロインジェクション法の応用が検討されているが、これらの方法の安全性、有効性については十分な知見が得られていない。われわれは、本法を臨床応用するにあたり十分な基礎的検討が必要であると考え、以下の実験的研究を行った。【方法】Slc-ICR, B6C3F1 マウスおよびゴールデンハムスターを用いて、種々の条件下で、それぞれの受精率を比較検討した。また、マイクロインジェクション操作後の受精卵の超微細構造を電顕を用いて観察し、また、多精子受精防御機構としての透明層反応は、通常の受精では必須の現象であるが、顕微受精卵における透明層糖蛋白の変化について  $^{125}\text{I}$  で標識し、電気泳動を用いて生化学的に解析して、顕微受精後の透明層反応についても検討した。【結果・考察】(1) マウス、ハムスターでは、先体反応を起こさせた精子を卵胞腔内に顕微注入する方法は、変性率；マウス 14%, ハムスター 8% で最も低率であり、受精率；マウス 47%, ハムスター 64% で最も高率であった。(2) マウスの体内成熟卵、体外成熟卵を用いて比較検討した結果、体外成熟卵では、変性率は体内成熟卵の約 2 倍、精子頭膨化率、前核形成率は約 1/2 であった。(3) 顕微注入後の受精卵を、電顕を用いて経時的に観察し、体外受精卵と変わらず、正常な受精過程を経過することが判明した。(4) マウスでは、卵胞腔内注入法；約 100%, 細胞質内注入法；約 30% に透明層反応が認められた。

以上より、マイクロインジェクション法の諸条件のうち、先体反応を起こさせた精子を卵胞腔内に顕微注入する方法が、透明層反応に始まる一連の受精過程をたどり、顕微注入法の最良の方法であると考えられる。

## II-53

## 着床に関わる凍結受精卵のquality —形態学的評価より—

名古屋大学分院産婦人科学教室、名古屋大学産婦人科教室\*

○近藤育代、北川武司、那波明宏、稲垣資郎、柴田均、中村潔史、  
大沢政巳、成田收、浅田義正\*、菅沼信彦\*、友田豊\*

【目的】現在、受精卵の凍結保存は、体外受精-胚移植における重要な補助手段の一つとなってきたが、それによる妊娠の成立の有無は、卵自体のqualityによるところが大きいと思われる。今回、新鮮胚移植、凍結胚融解移植における受精卵着床の成否を、形態学的評価を中心に検討したので報告する。  
【対象・方法】凍結保存を開始した平成2年1月から平成3年6月までの凍結胚融解移植36例、受精卵80個、及び、平成3年1月から6月までの採卵周期-新鮮胚移植16例、受精卵41個を対象とした。凍結法は、凍結保護剤としてpropanediol, sucroseを使用したrapid freezing法を選び、採卵後2日目(2~4 cell stage)3日目(4~8 cell stage)にて凍結を施行した。融解移植は、主に自然排卵周期に、超音波、ホルモン検査をもとに排卵を確かめて行なった。受精卵についてはblastomereの均一性 fragmentationの割りあいにより定めたスコア(最高“4”点)を用いて評価を行なった。【結果】妊娠は、凍結胚融解移植36例中10例(27.8%)、新鮮胚移植16例中8例(50%)に成立した。着床した受精卵の数は、凍結胚においては、凍結前“4”であった受精卵15個のうち8個、“3”の受精卵26個のうち3個、新鮮胚においては、“4”及び“3”の受精卵31個のうち8個であった。いずれの場合も、スコア“2”以下の受精卵では着床が成立しなかった。凍結前のcell stage、融解移植日の選択については、着床に大きな影響を及ぼさなかった。【考察】形態学的評価により示された受精卵のqualityが、着床に関して大きな意義を持つと思われた。

## II-54

## マウス未受精卵の凍結保存

徳島大学医学部産科婦人科学教室

○村山眞治、南 晋、小林津月、加川俊明、山野修司、青野敏博

〔目的〕未受精卵の凍結保存に関しては、再現性が高く凍結融解後の生存率も高い凍結方法は現在のところ確立されていない。そこで我々は高い生存率を示す未受精卵の凍結方法を開発するため、マウス未受精卵を用いて、凍結保護剤の種類ならびに濃度が凍結融解後の未受精卵の生存性ならびに受精能、発生能に及ぼす影響を検討した。

〔方法〕B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>成熟雌マウスにPMS5単位とhCG5単位を腹腔内に投与し、hCG投与14~16時間後に卵管膨大部より未受精卵を採取した。凍結保護剤として1.5M dimethyl sulfoxide(DMSO)または1.5M propanediol(PROH)を用い、それに各種濃度(0, 0.1, 0.2M)のsucroseを併用した。凍結保護剤を3段階で添加し、室温から1℃/minで冷却、植氷後0.5℃/minで-35℃まで冷却(急速凍結)あるいは-70℃まで冷却(緩慢凍結)した後、液体窒素中に浸漬した。融解は、急速凍結の場合は急速融解(37℃温水)を、緩慢凍結の場合には緩慢融解(室温に放置)を行った。凍結保護剤を洗った後媒精し、形態正常率および受精率、胚盤胞までの発育率を比較検討した。〔成績〕①PROHを使用した場合凍結法にかかわらず受精した卵は1個もなかった。②DMSOに0.2M sucroseを併用し緩慢凍結を行った群の受精率は23/32(71.9%)で、他の群に比し高い傾向にあった。③しかし、発育率はどの群も20%以下にとどまった。〔結果〕DMSOにsucroseを併用することにより高い受精率が得られたが、発育率はまだ低率であり今後検討の必要があると思われた。

## II-55

## 未受精卵凍結保存における耐凍剤添加温度の研究

鹿兒島大学医学部産科婦人科学教室

○福元清吾, 竹内一浩, 山元慎一, 森 明人

沖 利通, 堂地 勉, 永田行博

【目的】凍結保存に用いる胚は、従来4細胞周辺の受精卵が用いられてきたが、凍結保存する際、その胚の体外培養時間の短縮化も大いに考慮されなければならない。今回、体外培養する必要のない未受精卵について、種々の検討をした。【方法】マウスの未受精卵を用いた。なお、コントロール群として、*i*n-vivo受精卵(4細胞)も実験に用いた。耐凍剤はDMSOを使用した。未受精卵において、A群:0°CでDMSOを加え凍結、融解後媒精した。B群:室温でDMSOを加え凍結、融解後媒精した。C群:室温にて媒精後の4細胞を用いて0°CでDMSOを加え凍結保存した。D群:室温にて媒精後の4細胞を用いて室温でDMSOを加え凍結保存した。E群:*i*n-vivo受精卵を用いて、0°CでDMSOを加え凍結した。F群:*i*n-vivo受精卵を用いて室温でDMSOを加え凍結した。【結果】①回収率はそれぞれ、A群:61.7%, B群:72.2%, C群:60.3%, D群:82.0%, E群:68.3%, F群:66.1%であった。②融解直後の生存率はそれぞれ、A群:57.5%, B群:36.4%, C群:62.1%, D群:51.1%, E群:83.4%, F群:66.2%であった。③8細胞期への発育率は、A群:29.8%, B群:36.0%, C群:33.6%, D群:11.2%, E群:62.3%, F群:71.4%であった。【考察】今回DMSO添加時の温度を0°Cと室温との2つに分けて考察したところ、①0°Cでの添加群において生存率に良好な成績を得た。②またその傾向は、未受精卵において著明であった。③未受精卵を凍結融解後媒精するか、媒精して受精卵の状態凍結・融解するかは、今回の結果では両者の間に有意差を認めなかった。④DMSOを0°Cで添加する際、性状が変わるため手技的に困難なことが多いが、今回われわれは凍結用プログラムフリーザー下でのDMSO注入の一工夫を加えて良好な成績を得ることができた。

## II-56

着床前期家兎子宮内膜培養細胞の*in vitro*でのProstaglandin産生に関する検討

旭川医科大学産婦人科学教室

○笠茂光範, 石川睦男, 清水哲也

【目的】*In vitro*着床モデル確立のための一環として着床前期の家兎子宮内膜より分離した腺・上皮細胞(EP)及び間質細胞(ST)の短期、長期培養下のProstaglandin(PG)産生に関し検討した。【方法】過排卵処理、人工授精、hCG投与後144時間後の着床前期の家兎摘出子宮をpancreatin-trypsin, trypsin-EDTA-DNaseで2段階酵素処理し、EP次いでSTを分離しMedium199 with Earle's salts (BM)中で37°C, humidified air + 5% CO<sub>2</sub>下に3時間培養(短期培養)後の培養液と、BM + 10% calf serum中で同様条件下に5日間の長期培養を施行し24時間毎に交換した培養液中のPGE, PGF量をRIAにて測定した。短期培養ではindomethacin (10<sup>-6</sup>M)添加実験も行なった。【成績】細胞分離直後の培養液中のPGE & PGF放出量(Mean ± S.E., ng/mg prot/3hrs, n = 5)は、EP 88.6 ± 11.3 & 149.3 ± 25.2, ST 59.3 ± 15.4 & 45.1 ± 9.3でPGF値にのみEP > STの有意差を認めた。indomethacin添加でEPのPGE, PGF放出量は各々対照の62.8 ± 11.0%, 49.7 ± 15.4%となり、STでは各々22.4 ± 14.9%, 25.6 ± 11.7% (Mean ± S.D., n = 4)と著明な減少を認めた。長期培養では培養液中のPGE & PGF放出量(Meanのみ呈示, ng/mg prot/day, n = 4)はEPで培養1~5日目の順に125.4 & 187.8, 140.9 & 150.2, 112.0 & 93.9, 58.8 & 51.4, 50.3 & 40.2とPGF放出量が培養4日目まで有意に低下した。STでは同様に示すと259.7 & 235.1, 234.3 & 142.7, 238.1 & 85.4, 172.6 & 51.3, 82.6 & 22.9とPGE, PGF放出量は各々培養5日目, 3日目まで有意に低下した。【結論】着床前期家兎子宮内膜細胞の細胞分離直後のPGE, Fの*de novo synthesis*はST > EPと考えられるが、特異的に高いEPのPGF放出は、その着床過程における重要性を示唆する。EP, STのPGE, F放出は培養3日目より減少し始め、この頃より両細胞のPG産生、代謝の顕著な変化の出現が示唆された。

## II-57

## 増殖期子宮内膜組織マクロファージの機能に関する研究

浜松医科大学産婦人科学教室

○朝比奈俊彦, 川口欽也, 中島 彰, 寺尾俊彦

〔目的〕我々はこれまで子宮内膜組織マクロファージ (t-mφ) が妊娠初期より脱落膜組織に多数存在し, そこで血液凝固第XⅢ因子subunit A (XⅢA) を産生していることや, 非妊時子宮内膜におけるこれら XⅢA 産生 t-mφ の局在を報告し, 初期胚と子宮内膜との接着や子宮内膜組織修復への関与を提唱してきた。今回これらの XⅢA 産生 t-mφ を子宮内膜間質組織と共培養することによりその性質および細胞外 matrix (ECM) との関わりについて検討した。

〔方法〕①同意を得て採取された同一患者の増殖期子宮内膜組織と皮膚組織を, 無血清培地にて単層培養し 10%ホルマリンにて固定した。②これらの培養細胞を酵素抗体間接法を用いて XⅢA の染色を行いその陽性細胞を XⅢA 産生 t-mφ と同定し, その数と性状を両組織で比較した。③同様に fibronectin の染色を行いその局在分布について両組織で比較した。

〔結果〕① XⅢA 産生 t-mφ は, 子宮内膜培養組織においてはその数は平均 82 個/倍率400 ×10視野認められ, かつ各 stage の細胞分裂像が観察された。皮膚培養組織においてはその数は平均 5 個/倍率400 ×10視野であり, 細胞分裂像は認められなかった。② fibronectin は, 子宮内膜培養組織においては fibroblast 表面に繊維状に存在すると同時に, 大量の円形小型細胞に強く陽性染色された。皮膚培養組織においては fibroblast 表面に繊維状に存在するのみであった。

〔結論〕子宮内膜 t-mφ は増殖期において, fibroblast と同様に分裂・増殖し, さかんに XⅢA を産生していることが判明した。また fibroblast と同様に fibronectin を産生している可能性が示唆された。これらの t-mφ より産生された XⅢA は fibronectin の動的機能を assist し, fibroblast を内膜修復部位まで増殖・移動させてくるものと考えられる。

## II-58

## 妊娠初期脱落膜細胞培養系におけるインターロイキン1のプロスタグランディン産生に及ぼす影響

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科

○石原 理, 木下勝之

ヒト脱落膜が産生するプロスタグランディン(PG)は, 着床あるいは子宮収縮に関与することが知られているが, PG産生調節機序は不明である。そこで, 妊娠初期脱落膜より, 脱落膜細胞を高いサイクロオキシゲナーゼ(COX)活性を有するマクロファージから分離し, 脱落膜細胞のみを培養して, PG産生を生化学的および免疫組織化学的に検討した。また, マクロファージで産生されるサイトカイン, インターロイキン1(IL1)のPG産生に及ぼす影響を検討した。

【方法】①妊娠初期脱落膜を酵素処理し遊離細胞浮遊液を作成し, パーコール非連続濃度勾配遠心法により, 脱落膜細胞をマクロファージ, リンパ球などから分離した。

②脱落膜細胞を glass cover slip を入れた culture dish 内で M199+10% 馬血清培養液を用いて培養した。

③培養液中の PGE<sub>2</sub> を RIA により測定し, 同一 well の細胞に存在する COX を, 抗 COX 抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。

④ rhIL-1β を培養液中に添加し, PG産生と COX を同様に検討した。

【結果と考察】①妊娠 8 から 9 週の脱落膜細胞は 0.25 ± 0.05 ng/24 hours/0.25 × 10<sup>6</sup> cells の PGE<sub>2</sub> を培養液中に産生し, COX 陽性細胞は約 5% であった。

② IL-1 (0.1 ng/ml) 添加により, PG産生は 5 から 10 倍増大し, COX 陽性細胞は約 40% に増加した。

③脱落膜細胞では, サイトカインの刺激で COX が誘導されることにより, PG産生の増加することが示唆された。

埼玉医科大学総合医療センター 産婦人科

○飯野好明, 石原 理, 鈴木代志子, 竹田 省, 木下勝之,

【目的】子宮内膜組織は, 24時間の short culture 下でアラキドン酸代謝物である12-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (12-HETE)を多量に産生する。また月経周期や着床前後で産生量に変化し, Buserelinを使用した低エストロゲン条件下では産生が抑制される。そこで今回, ヒト子宮内膜細胞培養系において $17\beta$ -estradiolの12-HETE産生に対する影響について検討した。

【方法】①手術時に採取した子宮内膜組織を酵素処理し, パーコール非連続濃度勾配法により内膜細胞のみを分離した。②細胞は, 199培養液中で5日間培養し24時間ごとに上清を採取した。また一部では培養液に $17\beta$ -estradiol(180pM)を添加した。③上清中の12-HETEは酢酸エチルにて抽出し高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により展開分離し, 234nmUV吸光度の peak 高より標準品と比較し定量した。

【成績】①子宮内膜細胞の12-HETE産生は day 5まで細胞数に比例して増加した。 $17\beta$ -estradiolはこの濃度では細胞数に影響を与えなかった。day 3における controlの12-HETE産生量は $4.1 \pm 3.4 \mu\text{g}/\text{well}$ であった。②day 3に $17\beta$ -estradiolを添加した群では産生量は $9.1 \pm 5.0 \mu\text{g}/\text{well}$ であり産生量が上昇した。

【結論】子宮内膜細胞培養系において $17\beta$ -estradiolは12-HETEの産生を促進した。Buserelin使用患者の低エストロゲン環境下にあった子宮内膜において12-HETEの産生が抑制されたことと共に子宮内膜の12-HETEの産生調節に $17\beta$ -estradiolが関与している可能性が示唆された。

## III-1

## 精液所見と妊娠率

国井産婦人科病院  
○国井兵太郎

昭和55年から62年末までに挙児を希望して当院を訪れた772夫婦のうち、予後のはっきりした304例の夫婦につき、治療前の精液検査所見（精液量、精子濃度、運動率、奇形率）と、妊娠率、挙児率の相関を調査した。妊娠した症例については結婚から妊娠まで、及び初診から妊娠までの月数についても検討した。6か月間治療しても妊娠しなかった例を不成功例として、全体の妊娠率は149/304, 49.0%, 挙児率は124/304, 40.8%であった。

精液量については0.1mlから1ml単位で分類すると妊娠率は量の少ない方と多い方の2か所にピークがあり、二峰性を示した。特に精子量0.1-1mlの群では少ない症例であるが妊娠率が6/7, 85.7%と高かった。

精子濃度については1000万/ml毎にクラス分けしたところ、1000万/ml以下でも14/36, 38.9%と意外に高い妊娠率を示した。1001-2000万/mlの群では6/19, 31.6%と低い妊娠率だった。2001-3000万/mlの群では妊娠率は15/30, 50%と高かったが、挙児率は33.3%と低かった。3001万/ml以上の群では妊娠率は50%台、挙児率は40%台でほぼ一定していた。

運動率については10%以下の場合は妊娠率が低いが、それ以上の場合は一定の妊娠率を示した。奇形率については50%以上の場合は妊娠率が若干低下するが、50%以下の場合はほぼ一定の妊娠率であった。

妊娠例について、結婚-妊娠、初診-妊娠の期間を各群で調べると、運動率が高いと妊娠までの期間が短くなる傾向が見られたが、他の検査所見とは一定の相関は得られなかった。

## III-2

## 当院における男性不妊症の段階的精子検査法について

河内総合病院不妊センター，関西医科大学産科学婦人科学教室\*  
○森本義晴，堀越順彦\*，牧野 滋，桑名博士，森本武晴，長尾幸一，  
宮田広敏，小山竜一，上土井朋子，榎木 晋\*，榎木 勇\*

近年、不妊治療法の発展と成績の向上には目覚ましいものがある。しかしながら、男性因子を有する患者については、その限りではない。当センターでも、種々の卵巣刺激法や、人工授精法、体外受精法などを駆使して、成績向上に努力しているが、男性因子についてはその対処に苦慮しているのが現状である。これらの治療に対してはまず、個々の精子性状の確認が必須なので、今回、当センターで行なっている精液検査の流れについて報告する。精液検査については、おおよその状態を把握するRoutine Analysisと、さらに詳しく精子の状態を見るAdvanced Analysisに分けている。Routine Analysisには、量・濃度・運動率・奇形率・直進性を見る一般精液検査、SWAT(Sperm Wandering Test, 第35回本学会にて発表)、Hypoosmotic Swelling Testが含まれる。特にSWATを重要視しており、これは、人工授精ではPercoll-gradient prepared spermの状態の、体外受精では受精率の指標となる。次に、Advanced Analysisには、Zona-free Hamster Egg penetration testと、電子顕微鏡による超微形態の検査がある。後者により、思いがけず、精子尾部のmicrotubuleやdynein armの欠損が発見されることがある。今後はこれらの検査を治療に効率よく生かしてゆきたいと考えている。

## III-3

## 男性不妊診療の新しい指針案とその実際

慶應大学医学部産婦人科学教室, 同泌尿器科学教室\*, 済生会神奈川県病院産婦人科\*\*

○末岡 浩, 黒田優佳子, 中島洋介\*, 大橋正和\*, 橋場剛士\*\*, 小西康博\*\*, 小林淳一\*\*, 吉村慎一\*\*, 中野真佐男\*\*, 杉村和男, 小林俊文, 野澤志朗, 飯塚理八, 田崎 寛\*

体外受精が不妊治療の終着点と呼ばれた時代が過ぎ, 更に十分な成果の期待できない, 極めて重症ともいえる不妊症に対し, 新たな出発点として, ますますのアプローチが必要に迫られている。男性側の不妊原因の検索と治療は, 従来から造精機能障害例に対する薬物療法, 精索静脈瘤に対する外科的療法, そして, 射精精子の最も有効な回収と授精に焦点が絞られてきた。我々は, 現在行ないうる最大効果を期待する授精法に対応した検査および治療指針を設け, これをモデルケースとして診療形態を再検討したので一知見を報告する。

①精液検査: 通常の外来検査で精子性状の悪い例を選別し, これについて精子の洗浄および良好運動精子の選別テストを行なった。②精子回収法の検討: 回収法はswim up法を優先し, 十分な収量が得られない場合にPercoll cushion法, さらに少ないものは, 培養液での洗浄, 遠心のみの処理を施行した。③体外受精: 通常の体外受精に供すに十分な運動精子回収数( $10^6$ )では体外受精を予定し, さらに少量の回収数( $\sim 10^4$ )では微小環境体外受精を順次行なった。④精巣生検・精管造影・MRI: 体外受精で受精しない例, または精子回収が極めて困難な例に, 精巣生検による造精機能検索, 精管造影による精路の検索, さらにMRIによる精巣周囲の画像診断, とくに精系血管の検索を行なった。⑤精巣上体精子吸引: 精路通過障害例および精巣生検で, Johnsen's score 8点以上の症例について, 精巣上体精子吸引による体外受精(微小環境)を選択した。⑥ハムスター卵への顕微受精テスト: 精子回収は可能でも, 運動能の低下, または停止している例では, 精子の生存性および受精能の確認を目的として, ヒアルロニダーゼ処理後のハムスター卵への細胞質内顕微受精を行ない, 前核形成を確認した。これらの検討内容は, 有効精子の回収方法と受精効果で判定し, とくに受精法の選択に対して極めて実地的な治療指針と考えられた。

## III-4

## 男子不妊症患者精液における精子運動特性についての検討

横浜市立大学医学部泌尿器科

○関口由起, 斉藤和男, 川上 寧, 佐藤和彦, 木下裕三, 岩崎 皓, 穂坂正彦

〈目的〉近年コンピューターによる精子運動の画像解析が導入されて以来, 精子濃度, 運動率, 運動速度, 総精子数, 総運動精子数, 精子奇形率等の他に, Curvilinear velocity (CLV), Straight line velocity (SLV), Linearity (L)等の新たな精子パラメーターが論じられるようになってきている。今回私達は, コンピューター精子解析装置を用い精子濃度とCLV, SLVおよびLとの間の関係を分析, 検討したので若干の考察を加えて発表する。

〈方法〉横浜市立大学医学部泌尿器科不妊外来を訪れた92例をCell Soft 3000を用いて解析した。精子濃度を $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下,  $10-20 \times 10^6/\text{ml}$ ,  $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上に分類し, 30分の1秒で11-15フレームのサンプルリングのできた精子の全てについてCLV, SLV, Lを測定した。

〈結果〉精子濃度が $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上は37例(40%),  $10-20 \times 10^6/\text{ml}$ は24例(26%),  $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上は31例(34%)であった。精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下では $\text{CLV} < 10 \mu\text{m/s}$ の精子が87%,  $10 \mu\text{m/s} \leq \text{CLV} < 40 \mu\text{m/s}$ が9%,  $\text{CLV} \geq 40 \mu\text{m/s}$ でかつ $L < 6.5$ が2%,  $\text{CLV} \geq 40 \mu\text{m/s}$ でかつ $L \geq 6.5$ が2%であった。精子濃度 $10-20 \times 10^6/\text{ml}$ では $\text{CLV} < 10 \mu\text{m/s}$ の精子が83%,  $10 \mu\text{m/s} \leq \text{CLV} < 40 \mu\text{m/s}$ が10%,  $\text{CLV} \geq 40 \mu\text{m/s}$ でかつ $L < 6.5$ が5%,  $\text{CLV} \geq 40 \mu\text{m/s}$ でかつ $L \geq 6.5$ が2%であった。精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上では,  $\text{CLV} < 10 \mu\text{m/s}$ の精子は67%,  $10 \mu\text{m/s} \leq \text{CLV} < 40 \mu\text{m/s}$ が17%,  $\text{CLV} \geq 40 \mu\text{m/s}$ でかつ $L < 6.5$ は6%,  $\text{CLV} \geq 40 \mu\text{m/s}$ でかつ $L \geq 6.5$ は10%であった。

〈結論〉精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ を越えた群では, Curvilinear velocity, Linearityともに大きい精子の比率が他の群に比べ大きく, 精子濃度と精子の運動速度およびLinearityとの間には相関関係があると思われた。

### III-5

#### ペントキシフィリンの精子運動能改善に対する影響について

済生会下関総合病院産婦人科

○葦本武志, 高崎彰久, 平塚圭祐, 森岡 均

〔目的〕男性不妊症における妊娠率は不良であり、精子処理を行っても運動能良好な精子が回収できないことも多い。今回精子無力症の精子にメチルキサンチン誘導体であるペントキシフィリンを使用することにより精子運動能の改善に与える影響について検討した。〔方法〕精子運動率40%未満の精子無力症において以下を検討した。(1)スィムアップ法 (sedimentation 法) による精子調整とペントキシフィリンの効果の検討: 原精液液化後、HTFにて洗浄し、10%非働化血清添加HTF (以下10%HTF)を加えたNunc 4 well dishのwellに精子懸濁液をunderlayした。37℃、5%CO<sub>2</sub>下で1時間培養後、上清を採取し、これをコントロール (C群) とペントキシフィリン2mg/mlを加えた (PF群) に分け、さらに30分間培養した後、遠心し、上清除去後pelletを10%HTFにて再懸濁し、これをカウントした。(2)パーコール法による精子調整とペントキシフィリンの効果の検討: 原精液液化後、80%パーコール液による攪拌密度勾配法にて精子処理を行ないpelletを10%HTFにて懸濁した。これをC群とPF群とに分け、以下(1)と同様の処理を行った。〔結果〕Sedimentation法における原精液、C群、PF群の精子濃度はそれぞれ40.3±10.5、4.0±0.5、4.6±0.5×10<sup>6</sup>/ml (n=8、Mean±SE)、精子運動率は19.8±4.1、60.5±6.3、82.9±4.5%、直進運動精子率は8.1±2.4、37.7±4.5、58.3±4.9%であった。PF群は他の2群に比べ、精子運動率、直進運動精子率とも有意に改善が見られた。パーコール法においても精子運動率、直進運動精子率でPF群は他の2群に比べ改善された。精子濃度についてはパーコール法の方が良好であった。〔結論〕ペントキシフィリンは精子運動率、直進運動精子率を改善させることが明らかとなった。これに各種精子処理法を組み合わせることは、精子無力症を含む男性不妊症例のAIH、IVFに有用であると思われる。

### III-6

#### 凍結融解ヒト精子の運動性に及ぼすペントキシフィリンの影響

東京歯科大産婦人科<sup>1</sup>, 慶応大学産婦人科<sup>2</sup>, 明治薬大第一生化学<sup>3</sup>

○兼子 智<sup>1</sup>, 小林俊文<sup>2</sup>, 原 唯純<sup>2</sup>, 松田兆史<sup>3</sup>, 矢作みき<sup>1</sup>, 郡山 智<sup>1</sup>,  
吉田丈児<sup>1</sup>, 小田高久<sup>1</sup>, 秋浜澄行<sup>3</sup>, 野澤志明<sup>2</sup>, 大野虎之進<sup>1</sup>

【目的】凍結融解による精子運動性の低下は、主に細胞膜の障害と代謝レベルの低下に起因すると考えられている。phosphodiesteraseを阻害するキサンチン誘導体、ペントキシフィリン (以下PXF) はcAMPの細胞内蓄積により、精子代謝および運動を賦活する。本研究は、PXF添加の凍結融解精子の運動性に及ぼす影響を検討するため、凍結融解前後の精子運動および細胞内cAMP含量を検討した。

【方法】攪拌密度勾配により調製した洗浄精子を、5mM PXF存在(+), 非存在下(-)に、精子凍結保存液 (KS-II精子凍結保存液中の卵黄を3%Ficollに置換した保存液) と等量混合し、液体窒素蒸気中で凍結した。さらにPXF(-)で凍結した標本に融解後PXFを添加した。精子運動はコンピューター画像解析装置により、細胞内cAMP含量はRIA法により測定した。

【結果】洗浄濃縮した精液標本 (精子濃度: 127×10<sup>6</sup>/ml, 運動率: 67.0±4.5%, mean±SE) にPXFを添加することにより、運動率は77.0±5.4%となった。凍結融解後の運動率はPXF(-)群が26.4±4.1%, (+)群が35.4±2.7%, 融解後PXF添加群が30.0±1.3%と、凍結前PXF添加群がPXF(-)群に比し有意に高値であった。洗浄精子の細胞内cAMP濃度は、凍結前では11.0±0.62 pmole/10<sup>8</sup> cellsであり、PXF添加により40.5±2.1 pmole/10<sup>8</sup> cellsに上昇した。融解後ではPXF(-)群: 8.69±0.78 pmole/10<sup>8</sup> cells, (+)群: 31.9±2.8 pmole/10<sup>8</sup> cells, 融解後PXF添加群: 16.9±0.58 pmole/10<sup>8</sup> cellsであり、凍結前PXF添加群が融解後添加群に比し有意に高いcAMPレベルが維持された。

【考察】PXF添加により上昇した細胞内cAMPレベルは、凍結融解後も高値を保っており、凍結前のPXF添加が融解後添加よりも有効であることが明らかとなった。

## III-7

## ヒト精子受精能へのPentoxifillineの影響

福島県立医科大学産科婦人科学教室

○佐々木宏子、藤森 淑、星 和彦、佐藤 章

【目的】Pentoxifilline (Ptf) は精子の運動賦活作用を有することが知られており、乏精子症をはじめとする男性不妊症のAIHやIVF-ETの際の精子回収に用いられ、よい成績をおさめている。今回われわれは、Ptfの精子受精能に対する影響をハムスターテストで検討したので報告する。

【方法】精液からの精子の回収は、45% Percollを用いて遠心分離する方法(P法)と50% Nycodenzを用いて同様に遠心する方法(N法)を採用した。回収精子から運動良好精子を得るためにswim-up法を行なったが、その過程で培養液(mBWW)中にPtf添加(1mg/dl)した群と無添加の群を用いた。swim-up1時間後上清を回収し、遠心濃縮して得られたsperm suspensionを前培養後、ハムスターテストを行ない、成績を各精子回収法で比較検討した。

【結果】精子侵入率は、P-Ptf(-)群 91%、N-Ptf(-)群 77%、P-Ptf(+) 群 86%、N-Ptf(+)群 96%であった。平均侵入精子数はそれぞれ、3.67、2.74、3.47、6.71であった。

【考察・結論】各群間で精子侵入率に大きな差をみなかったが、N-Ptf(+)群の成績が最も良好であった。侵入精子数はN-Ptf(+)群が他の3群に比較し約2倍であった。ヒト精子をNycodenzとPentoxifillineで処理することにより、受精能を促進させることが期待できるものと思われる。

## III-8

## ハムスターテスト不良でIVFによる受精が認められた症例の検討

広島大学医学部産科婦人科学教室、\*己斐産婦人科

○上田克憲、新甲 靖、熊谷正俊、竹中雅昭、大浜紘三、\*己斐秀豊

【目的】我々はIVFの予備検査としてMotility Analyzer HT-M 2030による精子運動能分析とハムスターテストを同時に行った結果、運動能パラメーターのうちRapid Motile Cellsの比率(%RMC)が精子受精能を最も良好に反映し、これが20%未満の症例では精子侵入率が著しく不良であることを報告した。その後、IVF実施例の増加にしたがい、予備検査で精子受精能不良と判定された症例の中にもIVFでは受精が認められる例があることが判明した。そこで、この原因を追求する目的で、予備検査時とIVF実施時の精液所見を比較、検討した。【対象および方法】予備検査時のハムスターテストで精子侵入率が0%であったにもかかわらず、その後のIVFで受精が確認された10人を対象として、予備検査時と受精成立時の各々の精液について、HT-M 2030での%RMC、Motility、Concentrationを比較した(Wilcoxon検定)。なお、ハムスターテストは予備検査時の一回のみを行った。【結果】予備検査時(n=10)の成績は、%RMC、11.7±8.1%；Motility、23.6±14.8%；Concentration、43.7±37.8×10<sup>6</sup>/mLで、一方、受精成立時(n=24)の成績は、%RMC、26.8±15.7%、Motility、42.0±17.8%、Concentration、53.3±53.9×10<sup>6</sup>/mLであった。Concentrationは両群間で有意差はなかったが、%RMCおよびMotilityは受精成立時の精液が有意に高値であった(p<0.01)。また、%RMCの成績は、予備検査時には20%未満の例が80.0%と多数を占め30%以上の値を示した例はなかったが、受精成立時には20%未満の例は33.3%に減少し、逆に30%以上の例が50%を占めていた。【結論】精子受精能の良好な指標と考えられる%RMCは検査時期による変動が認められ、これが予備検査とIVFの結果が一致しない原因の一つであると考えられた。ハムスターテストを反復実施することにより、不一致例は減少すると予想されるが、予備検査による判定には限界がある。

## III-9

## ハムスターテストにおける精子運動の検討

千葉大学泌尿器科

○ 始関吉生、小竹 忠、市川智彦、高原正信、角谷秀典、島崎 淳

目的：精子機能検査であるハムスターテストと精子運動の関連を検討した。

対象および方法：千葉大学泌尿器科外来に不妊を主訴として受診し、精子濃度  $10 \times 10^6 / \text{ml}$  以上、運動率 30% 以上の精液を用いた。

精液を的手法にて採取液化 (1) 後、0.3% HSA を加えた mBWW 液で 300 傾斜の 1 時間 5%  $\text{CO}_2$  インキュベーター内静置による swim up 法を行ない、運動良好精子 (2) を回収した。更にこの精子にイオノフォアを加えて精子運動を活性化させた (3) 後、0.3% HSA から 3.5% HSA を加えた mBWW 液に置換し、5% インキュベーター内で 2 時間の前培養を行なった。凍結ハムスター卵を室温にて溶解後、トリプシンで透明帯を除去した。前培養精子内に透明帯除去卵を挿入し 4 時間の培精を行なった。培精卵を回収し、グルタルアルデヒドにて固定し、ギムザ染色して精子侵入ハムスター卵の割合を算定した。このハムスターテストと自動精子分析装置 (セルソフトシリーズ 3000) による (1)、(2) および (3) の精子運動の解析結果を比較した。

結果：swim up 後の精子運動における平均精子頭部振幅巾および振幅回数が、ハムスターテストとよく相関した。運動精子濃度はハムスターテストと相関しなかった。

## III-10

## 各種精子処理法における先体反応発生に関する検討

セントマザー産婦人科医院

○ 田中威づみ、田中温、出嶋秀明、山田義治、吉田一郎、竹本洋一、鷹野和哉

目的：精子が透明帯を通過し卵子と受精するためには精子の運動性と変化および先体反応の発生が必要である。GIFT や IVF・ET における精子処理後の先体反応発生率は非常に低く、そのために媒精時の精子濃度は、卵管内で自然の受精現象が生じる際の精子濃度比べ、非常に高くなっているものと解釈されている。もし、精子の運動性および卵子に悪影響がなく、高率に先体反応が惹起できる方法が開発されるならば重症の男性不妊症にとって有用なこととなるであろう。今回我々は当院にて使用されている各種精子処理法における先体反応の発生率について検討を行ったので報告する。方法：①Swim up 法 ②Percoll 法 (4 層) ③ヒト卵胞液 (F・F) 使用 (Percoll-F・F 法：従来の Percoll 法で回収した精子沈澱内に 4% FF を 2cc 加え、37°C 30 分培養、1300 rpm × 10 分遠心、上清を除去し 6% FF 2cc 加え 37°C、60 分培養、Swim-up FF 法：従来の Swim up 法にて回収した精子浮遊液に 6% FF を 1cc 加え、37°C 60 分培養。1300 rpm 20 分遠心、試験管内中央部の精子浮遊液に 8% FF 1 cc 加え 37°C、60 分培養) ④カフェイン：液化精液を 10mM カフェイン + HTF で 1300 rpm × 5 分遠心、上清を除去、再び 10mM カフェイン + HTF で遠心 ⑤カフェイン + ヘパリン：④で調整した精子懸濁液を 20 $\mu\text{g}$  ヘパリン / 20mg HSA・HTF で等量希釈し 20~30 分、37°C で培養 ⑥凍結融解：兼子らの方に従い KS-II 液で凍結、急速融解、10% 非働化血清添加 HTF で 1300 rpm × 5 分遠心、37°C 20~30 分培養 ⑦精子先体反応の有無を Triple stain にて検討した。結果：各種精子処理法での先体反応の生存精子および死滅精子における発生率は①Swim up 法：8.5% (17/200)、2.5% (5/200) ②Percoll 法：6.5% (13/200)、0.5% (1/200) ③ヒト卵胞液：Percoll-FF 法：11% (33/300)、2.7% (8/300)、Swim up-FF 法：11.7% (35/300)、3.3% (10/300) ④カフェイン：2.5% (5/200)、13% (26/200) ⑤カフェイン + ヘパリン：3% (6/200)、5% (10/200) ⑥凍結融解：14% (28/200)、31% (62/200) であった。

結論：各種精子処理法における先体反応の発生率は凍結融解が最も高くヒト卵胞液、カフェイン、Swim 法、カフェイン + ヘパリン、Perco 法の順であった。

## III-11

## Sperma screen の使用経験

福島県立医科大学産科婦人科学教室

○菅野孝子、吉松宣弘、菅野 薫、星 和彦、佐藤 章

〔目的〕精子は卵子と受精するために、顆粒膜細胞群、および透明帯を通過しなくてはならない。先体に含まれる酵素の中でhyaluronidaseが顆粒膜細胞群を溶解し、acrosinが透明帯に作用すると言われている。さらにhyperactivationという機械的な運動性が加わって精子の通過が起これと考えられている。尾部鞭毛は、tubulin、dynein、actin等の蛋白質により構成されている。今回我々はSperma screen (Serono社)を用い、acrosome reactionと各酵素との関連、及び精子運動性について検討したので報告する。〔方法〕percoll-swim up法で得た精子を2群に分けた。PBSにて洗浄後、スライドグラスに滴下風乾したのを未処理群とし、5時間培養後に10 $\mu$ Mの ionophore A 23187 と反応させacrosome reactionを起こさせ風乾したのをionophore処理群とした。両群の精子をPSA染色法とSperma screenのkitを用い染色し蛍光顕微鏡下にacrosome reactionの割合を比較した。〔結果〕未処理群ではhyaluronidase (HY) 陽性88.8 $\pm$ 13.8%、acrosin (AC) 陽性90.9 $\pm$ 16.0%、HY陰性は11.4 $\pm$ 8.4%、AC陰性は8.6 $\pm$ 8.0%であった。PSA染色では、acrosome intactが93.7 $\pm$ 11.8%、reactedは6.3 $\pm$ 5.5%で両染色法の間有意差を認めなかった。ionophore処理群ではHY陽性57.1 $\pm$ 10.2%、AC 陽性54.5 $\pm$ 12.1%、HY陰性43.0 $\pm$ 12.4%、AC陰性45.4 $\pm$ 20.7%であり、PSA染色の40.3 $\pm$ 16.0%、59.7 $\pm$ 22.8%と、同様の傾向がみられた。〔考察・結論〕hyaluronidase、acrosinはともに、acrosome reactionにより先体から放出消費されると思われた。Sperma screenは先体酵素の有無の判定が容易であり、今後男性不妊症精子の酵素欠損について検討していきたい。また、精子尾部の蛋白質と精子運動性についても、検討を加えたい。

## III-12

## 男子不妊症におけるトリプル・ステイン法の検討

千葉大学医学部泌尿器科

○角谷秀典、始関吉生、市川智彦、小竹 忠、高原正信、島崎 淳

〔対象および方法〕男子不妊症患者の精液40検体を用いて、トリプル・ステイン法によるacrosome reaction陽性率と精液所見との関係のみた。トリプル・ステイン法は、培養液としてアルブミン加mBWW液を用い、swim up法の後、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>、95%airの炭酸ガス培養器内で18時間培養した。ついで、2%トリパンブルー液で37 $^{\circ}$ C 15分間染色し、3%グルタルアルデヒド液にて0 $^{\circ}$ C 40分固定後、スライドグラス上で一晩風乾させた。さらに、40 $^{\circ}$ C、0.8%ビスマルクブラウン液にて5分間、25 $^{\circ}$ C、0.8%ローズベンガル液にて40分間染色し、エタノール系列で脱水し、キシレンにて封入した。1000倍油浸レンズ下で1検体あたり300個以上の精子について観察し、acrosome reaction陽性率を算定した。精液検査は、室温にて液化の後、精子自動解析装置(セルソフトシリーズ3000)を用いて行なった。

〔結果〕対象症例のトリプル・ステイン法によるacrosome reaction陽性率は、0から45.8%であり、平均22.0%であった。精子濃度50 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml以上の例では、50-20 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml、20 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml未満の例に比し高い陽性率をしめした。運動率50%以上の例では、50-20%、20%未満の例と比較して、より高い陽性率をしめした。高い平均精子速度例では高いacrosome reaction陽性率をしめす傾向をみとめたが、平均精子直進性、頭部振幅巾、頭部振幅回数は陽性率と関連をみなかった。

高いacrosome reaction陽性率をしめす例では、低陽性率例に比し、精子濃度、運動率とも有意に高値をしめしたが、運動率とより強い関連をみとめた。

〔結論〕トリプル・ステイン法によるacrosome reaction陽性率は運動率ともっとも関連しており、精子の運動能の質とは関連をみとめなかった。

## III-13

イムノビーズによる精子機能検査法：ハムスターテスト、体外受精の成績との比較検討

大阪大学医学部産婦人科 ○大橋一友、加藤宗寛、脇本昭憲、佐治文隆、  
谷澤 修

大阪大学薬学部：岡部 勝、三村 務 扶桑薬品：中沢照喜、岸雄一郎

(目的) 現在、精子機能検査法としてはハムスターテストやhemizona assayなどが行われている。しかしこれらの検査法は卵を使うbioassayであるため結果が不安定であり、その操作にも熟練を要す。そのため、すべての施設で行える精子機能検査法とは言えない。我々は先体反応を起こした精子頭部と特異的に反応するモノクローナル抗体MH61をラテックスビーズに結合させ、このMH61ビーズと精子を共培養することにより精子の機能評価を試みた。(対象、方法) donor9名とIVF-ETを施行した不妊男性16名を対象としてMH61ビーズテストを行った。MH61ビーズテストは96穴マイクロプレートに $4 \times 10^5 / 100 \mu\text{l}$ の精子を段階希釈した精子浮遊液と $1.5 \times 10^4$ のビーズを添加し、 $37^\circ\text{C}$ 、 $5\% \text{CO}_2$ 存在下に共培養した。6時間後と24時間後のビーズの凝集を倒立実体顕微鏡にて観察した。(結果) 1) MH61ビーズと精子を共培養することによって時間の経過とともに精子とビーズの凝集が観察された。各ウエルの精子と結合していないビーズが10以下のものを凝集陽性とした。2) 5名の健常男性より異なる日に採取した精液を用いてMH61ビーズテストを行ない、その結果には再現性が認められた。3) 4名のdonorを用いてMH61ビーズテストとハムスターテストの成績の比較を行った。その結果、双方の成績に相関を認めた。4) 当科でIVF-ETを行った16症例の精子を用いてMH61ビーズテストを行った。MH61ビーズテストの成績不良例6例のうち5例では体外受精で卵割が認められなかったが、成績良好の10例のうち9例では卵割が認められた。(結論) 今回開発したMH61ビーズテストは再現性にすぐれ、また操作も非常に簡単である。検査成績もハムスターテストの結果や体外受精の成績ともよく相関を示した。今後この検査は精子機能検査の一つとなるものと考えらる。

## III-14

特発性男性不妊症におけるアクロシン活性

鳥取大学医学部泌尿器科 ○ソフィキティス ニコラオス, 宮川征男

同 産婦人科 戸田稔子, 原田 省, 見尾保幸, 寺川直樹

アクロシンは、精子が透明帯を貫通する能力に影響を及ぼすと共に、先体反応に関与すると言われている。今回、男性不妊患者の精液中のアクロシン活性について検討するために、7名の正常者と13名の男性不妊患者について精液中アクロシン活性を測定した。方法は、精液中の可溶性プロテナーゼ抑制物質を除去するため、精子を精漿から遠沈分離した後に、精子ベレットをアクロゾーム分解促進剤とアルギニンアミド合成剤を含む緩衝液に溶解し、分光分析器を用いて測定した。総アクロシン活性は、不妊患者( $19 \pm 2.9 \mu\text{IU} / 10^6 \text{ cell}$ )では正常者( $40 \pm 3.2 \mu\text{IU} / 10^6 \text{ cell}$ )に比較し、有意に低かった。以上の結果から、アクロシン測定は、精子受精能のマーカーとして有用であると考えられた。

## III-15

頭微受精のための新しい優良精子選別法：

Pisum sativum agglutinin (PSA)を用いたアフィニティー・カラムの考案。

杏林大学医学部産婦人科，慶應義塾大学医学部産婦人科\*

○神野正雄，大澤淑子\*，杉村和男\*，小林俊文\*，野澤志朗\*，  
吉村泰典，中村幸雄

【目的】頭微受精は、重症男性因子不妊に対し強力な治療法となるべく期待されているが、それには、優良精子の高精度の選別が必須である。頭微受精には精子運動能よりも頭部の正常性が重要なため、精子頭部正常性に直接基づく選別法が合理的である。そこで intact acrosomeにのみ選択的に結合する pisum sativum agglutinin (PSA)を用い、一種のアフィニティー・カラムを考案し、頭部正常精子の選別を試みた。【方法】5mlプラスチック注射器外套を垂直にし、底にガラス・ウールを膜状に敷き、その上に1mm径ガラス・ビーズを1mlの線まで詰める。0, 0.1, 0.5 および1 mg/ml PSAを含む磷酸緩衝液で満たし、4℃で数日静置して PSAをガラスに吸着させる。正常精液を遠沈・洗浄し、2.6mlの精子懸濁液とし、PSA液を排出したPSAカラムに各0.6mlを入れ、室温で15分静置し intact acrosomeを持つ精子を吸着させる。非吸着精子を流出させて後、mannose溶液(16mg/ml, PSAの結合部位と競合)0.6mlを注入し、室温10分で吸着精子の遊離を待つ。ピペッティング 20回後、遊離精子液を回収する。精子形態分析は、修正 Kruger's strict criteriaに基づき、各群1800精子(600/相同実験、相同実験 3回)を評価し、正常率(%SNM)・頭部正常率(%H)を決定した。【結果】精液・カラム前・0, 0.1, 0.5, 1.0 mg/ml PSAカラム後の%SNMは、それぞれ、29.2, 32.1, 32.6, 45.3\*, 48.8\*, 45.1\*であり、%Hは40.5, 45.2\*, 45.9\*, 58.1\*, 63.5\*, 60.7%であった( $p < 0.01$ ,  $\chi^2$ 検定)。精子濃度(万/ml)・運動率は、精液 9600・75%、0.5mg/ml PSAカラム後2800・50%であった。【結論】0.5mg/ml PSAカラムは、%SNMを1.7倍、%Hを1.6倍に改善し、63.5%の精子が正常頭部を有した。本法は、swim up法が不可能な運動率0%の症例でも適応可能であり、また選別機序の異なる他法と組み合わせることで更に選別精度を上げることが可能と思われ、頭微受精のための精子選別法として有用性が期待される。

## III-16

精子異常による不妊症に対する80% Percoll AIHの有用性と限界

東京慈恵会医科大学産婦人科・\*安江レディースクリニック(東京)

○楠原浩二、後藤 誠、秋山芳晃、川勝雅秀、許山浩司、落合和彦、村江正始、  
松本和紀、寺島芳輝 \*安江育代

【目的】精液性状不良による不妊の頻度は少なくない。従来これに対しAIHが行なわれてきたが満足しうる成績ではない。今回精液を80% Percollにて処理しAIHを行ない、その有用性と限界につき検討した。

【検索対象、方法】対象は精液不良不妊例38例である。内訳は精子数 $40 \times 10^6/ml$ 未満の精子減少症(Oligo)8例、精子運動率50%未満の精子無力症(Asthenozoospermia)8例、精子数 $40 \times 10^6/ml$ 未満かつ運動率50%未満の精子減少無力症(Oligo-asthenozoospermia)23例である。方法は妻側にclomid+hMG、hMG/hCG等にて排卵刺激をし、Echoにて卵胞成熟をモニターしintrauterine insemination(IUI)を行なった。精液の処理法は以下の通りである。精液は80% Percollに層積し、その上層を数回攪拌し連続密度勾配を作製の後、遠心分離し沈澱したpellet 0.5mlをIUIに供した。

【成績】①38例中13例が妊娠しその妊娠率は34.2%であった。内訳はOligo 8例中4例50%、Asthenozoospermia 8例中3例37.5%、Oligo-asthenozoospermia 22例中6例27.2%であった。②Percoll処理前の精液と妊娠の成立には必ずしも相関がみられなかった。③Percoll処理後の運動精子数(精子数×運動率)と妊娠率には相関がみられた。すなわち処理後の運動精子数が $10 \times 10^6/ml$ 未満の妊娠率は13例中1例8.3%であるが、 $10 \times 10^6/ml$ 以上の25例のそれは12例で48.0%であり、後者が有意に高率であった。すなわちPercoll処理にて $10 \times 10^6/ml$ 以上の運動精子が得られれば妊娠が期待し得るものと考えられた。④妊娠例では特に精子運動率が改善したことにより妊娠にいたった例が多かった。⑤累積妊娠率はIUI 7回にて累積妊娠率が80%にいたり、それ以上の施行例における妊娠例は少なかった事から、おおむねIUIの施行は7回が目安と考えられた。

## III-17

## Percoll液 24時間培養後の精子運動率と Percoll AIH の予後に対する検討

東京都済生会中央病院産婦人科

○玉岡有告、亀井 清、大柴葉子、吉田憲一、横倉恒雄、中村英世  
慶応義塾大学医学部産婦人科

田辺清男、小林俊文、野澤志朗

【目的】我々は前回、50症例、146周期の Percoll 洗浄精子による AIH (Percoll AIH) を検討し、妊娠群、非妊娠群において Percoll 処理後の精子運動率に有意差がないことを発表した。

そこで我々は今回 Percoll AIH に際して Percoll 液による survival test を行い、妊娠群、非妊娠群においての Percoll 液 24時間培養後の精子運動率 (24hr. Mo.) を比較検討した。

【対象および方法】主として精液因子不良例を対象とし、20症例、38周期において Percoll AIH および 24時間 survival test を行った。症例内訳は、精液因子不良例 14例、AIH 頻回施行例 3例、機能性不妊 3例であり、平均年齢  $33.8 \pm 4.5$  歳、平均不妊期間  $6.2 \pm 3.7$  年であった。

Percoll 洗浄後、精子懸濁液全 0.8ml 中 0.6ml を AIH に供し、残りの 0.2ml に 80% Percoll 液を加えて 0.8ml とし、FALCON<sup>®</sup> #2095 試験管内で 5% CO<sub>2</sub>、95% air の条件下に 24時間培養した。培養開始時の精子運動率 (0hr. Mo.) および 24hr. Mo. を測定した。

【結果】20症例 38周期のうち、5症例 6周期に妊娠が成立した。妊娠群、非妊娠群の 0hr. Mo. および 24hr. Mo. は各々  $83.5 \pm 6.3\% \rightarrow 69.5 \pm 6.7\%$ 、 $72.4 \pm 17.5\% \rightarrow 40.9 \pm 19.9\%$  であり、妊娠群は非妊娠群に比べ有意に 24hr. Mo. が高値 ( $p < 0.01$ ) であった。また 24hr. Mo. が 60% 以上の 8症例のうち 5症例 (63%) に妊娠の成立をみ、60% 未満の症例には妊娠例がなかった。

【考察】以上のことから 80% Percoll による 24hr. Mo. は Percoll AIH の予後を計る上で有意な検査法であると示唆され、精子機能の quality 面からの検査としても、将来充分に臨床応用出来るものと考えられる。また 24hr. Mo. とし 60% を cut-off value とし、それ以下の値をとる場合は将来、配偶子治療をふくめた治療法の再検討が必要と思われる。

## III-18

## 80% PERCOLL 法を応用した AIH の有用性について

横浜市立大学産婦人科学教室

○堀 裕雅、榎原秀也、石川雅彦、町田稔文、白須和裕、多賀理吉、植村次雄、水口弘司

〔目的〕男性不妊に対し、80% PERCOLL 攪拌密度勾配法 (80% PERCOLL 法) による精子洗浄濃縮を応用した AIH の有用性について検討した。〔方法〕対象は 1990 年 1 月より 1991 年 6 月までの期間に当科不妊外来にて男性不妊と診断された精子数  $40 \times 10^6/ml$  以下または運動率 40% 以下の 43 症例、202 周期である。〔成績〕症例別妊娠率は 34.9%、周期別妊娠率は 7.4% であり、従来の AIH では妊娠しなかった 21 症例のうち 7 例 (33.3%) が妊娠した。全周期を通じて洗浄後運動率 (Y) は有意に増加したが ( $Y = 1.8 \times 21.7$ 、 $R = 0.64$ 、 $P < 0.001$ )、運動精子回収率 (Y) は精液量 (X) に反比例した ( $Y = -7.1 \times +66.6$ 、 $R = -0.44$ 、 $P < 0.001$ )。このため精液量 6.0ml 以上の例では二分法を施行した結果、精子回収率は高くなる傾向が認められた。妊娠例と非妊娠例間において年齢、不妊期間、精液量、精子数、運動率、奇形率にそれぞれ有意差を認めず、洗浄後の精子数にも有意差は認められなかったが、洗浄後の運動率において妊娠例の方が有意に高いことが認められた。妊娠例の平均 AIH 回数は 3.2 回で、その 73.3% が 3 回までの AIH で妊娠した。精液の細菌検査では S. EPIDERMIDIS が最も多く検出され (41.0%)、ST. FAECALIS (13.6%)、 $\alpha$ -STREPTOCOCCUS (13.6%) の順に多く検出され、洗浄後の細菌検査では 81.5% に菌減少ないし無菌化が認められた。共存する女性因子は妊娠例と非妊娠例とで差は認められなかった。男性因子のない頸管因子をもつ 3 例に同法による AIH を施行した結果、2 例が妊娠した。〔結論〕80% PERCOLL 法により、洗浄後の運動率 (77.2%) は有意に増加したが、なかでもより高い運動率 (86.0%) を得ることにより妊娠が成立した。細菌検査では同法によって除菌されており、その副作用防止に役立つと考えられた。同法を応用した AIH は男性不妊のみならず、男性因子のない AIH に対しても有用と思われた。

## III-19

## Sperm survival test 6時間陽性および12時間陰性例におけるAIHの検討

長崎大学産婦人科 ○布施 正樹, 岡本 純英, 山下 隆則,  
石丸 忠之, 山邊 徹

〔目的〕 私どもは、第34回日本不妊学会学術講演会でsperm survival test(SST)がAIHの適応を決定するのに有用であり、とくにSST36時間陰性例はAIHの適応となることを報告した。また SST6時間陽性および12時間陰性(GradeIV)例では、妊娠の成立は認められなかった。そこで、今回、SST GradeIV例について、精子回収法をswim-up法からハ-コル法に変更した結果、妊娠率の向上が認められたので報告する。

〔対象と方法〕 1990年1月から1991年4月までのAIH施行例の中で、SST GradeIVを示した13例、42周期を対象とした。AIHのタイミングは超音波断層法による卵胞径測定および尿中LH測定、また精子回収はハ-コル法により行った。すなわち、ハ-コル原液(Pharmacia)に10X Ham F10培地(GIBCO)を9:1に混和し、CO<sub>2</sub>で飽和(以下100%ハ-コルと呼ぶ)したのち、100%ハ-コルに10%配偶者非働化血清を含むHTF培地を混和し、90%および45%ハ-コルを作成した。そして、試験管に90%、45%ハ-コルおよび精液の順に重層し、遠心後試験管底より精子を回収した。この回収精子を10%配偶者非働化血清を含むHTF培地と混和し遠心し、管底より精子を回収して、AIHを施行した。〔成績〕 AIH施行時の精液所見は、精子無力症合併乏精子症34周期(A群)および精子無力症8周期(B群)であった。A群における精子数は0.1~17×10<sup>6</sup>/ml(median 2×10<sup>6</sup>/ml)および運動率0.5~48%(median 12.5%)であり、B群ではそれぞれ24~140×10<sup>6</sup>/ml(median 60×10<sup>6</sup>/ml)および0.2~20.9%(median 1%)であった。AIH時の子宮内精子注入数は50,000~200,000/mlであった。妊娠率は対症例あたり23.1%(3/13)、対周期あたり7.1%(3/42)を示した。〔結論〕 SST GradeIV例におけるAIHには、ハ-コル法が有用であることが認められた。

## III-20

## 80%単層パーコール法とSwim up法での精子運動能の比較検討

千葉大学泌尿器科

○小竹 忠, 市川智彦, 始関吉生, 高原正信, 角谷秀典, 島崎 淳

目的：良好精子の回収にパーコール法及びSwim up法が広く行なわれている。どちらの方法にてより運動能が良好な精子が回収しうるか検討した。

対象及び方法：千葉大学泌尿器科不妊外来を受診した不妊症患者より採取した精液を検体として用いた。80%単層パーコール法では不妊症患者より採取した精液を80%単層パーコールに原精液1mlを静置し1mlシリンジの内筒で攪拌の後、400g、30分間遠心分離した。パーコール層を吸引除去し0.5mlとし0.3% HSA加mBWW液0.5mlを添加し、400g、5分間遠心分離し、上清0.5mlを除去し0.5mlとした。またSwim up法では0.3% HSA加mBWW液4mlに試験管の底に原精液1mlを注入し炭酸ガスインキュベーター内に30°に傾け1時間静置した。試験管の上清を採取し0.3% HSA加mBWW液を添加し同様に400g、5分間遠心分離し、上清0.5mlを除去し0.5mlとした。処理した精子はその後セルソフトによって運動能の解析をおこなった。

結果：精子運動能は精子速度については、Swim up法のほうがパーコール法に比べ良好であったが、精子直進性、運動率、頭部振幅回数、頭部振幅巾は変わらなかった。

## III-21

## SpermPrep精子カラムを用いたAIHによる男性不妊患者の治療

大阪大学医学部産婦人科 〇脇本昭憲、大橋一友、加藤宗寛、  
佐治文隆、谷澤 修  
大阪大学医学部泌尿器科：並木幹夫、奥山明彦

【目的】最近の泌尿器科学的診断法、治療法の発達により、男性不妊患者の精液所見、妊娠率の改善が可能となってきた。一方、治療抵抗性の乏精子症や精子無力症も多数存在し、これらの症例に対しては人工授精による治療が行われている。精液所見の不良な精液より運動精子を回収するためにはSwim-up法やPercoll密度勾配法が用いられているが、十分な治療成績は得られていない。今回、当科における男性不妊の治療成績を検討すると同時に、新しい精子浮遊液の調整法であるSpermPrepカラム法の有効性を検討した。（対象、方法）昨年、当科不妊外来を受診した精液性状不良（精液濃度 $<4 \times 10^7$ /ml、運動率 $<40\%$ ）症例、32例を対象とした。SpermPrep精子カラム法は、精液を40%単層パーコール法にて濃縮した後、SpermPrepカラムで濾過することにより精子浮遊液を作成した。（結果）1)不妊期間は平均6年5カ月、全例が原発不妊で平均11回のAIHを受けていた。27名の男性が泌尿器科を受診し、8名に精索静脈瘤が認められた。2)32症例中5例が妊娠した。症例あたりの妊娠率は15.6%(5/32)、AIHあたり1.4%(5/349)であった。また自然妊娠は1例も認めなかった。3)SpermPrepカラム法によって調整した33検体の精子浮遊液のうち32検体で運動率が改善し、22検体では50%以上の改善を認めた。4)Swim-up法、2層パーコール、SpermPrepカラム法により調整した精子浮遊液を用いてAIHによる治療を行った。SpermPrepカラム法での平均運動精子回収率はSwim-up法の約3倍、パーコール法の約2倍を示した。SpermPrepカラム法を併用した21例でのAIHによる治療の結果、2例の妊娠が成立したが、他の2法による精子浮遊液を用いたAIHでは妊娠は成立しなかった。（結論）男性不妊の治療には精液の洗浄、濃縮を用いた人工授精が必要である。また今回検討したSpermPrepカラム法はその良好な運動精子回収率より男性不妊の治療に有効な精液の洗浄、濃縮法である。

## III-22

## 当科における卵巣刺激法を併用したAIHの治療成績

福岡大学医学部産婦人科学教室  
〇池田景子、詠田由美、小山雅子、吉満陽孝、白川光一

【目的】卵巣刺激法を併用したAIHの有効性が報告されている。当科でもhMGを用いた卵巣刺激法を併用し、処理精子を用いたAIHを行っており、この治療成績について検討した。

【対象と方法】1990年3月～1991年6月に、38症例、70周期にAIHを施行した。38例中男性因子26例、頸管因子4例、原因不明または長期不妊8例であった。また17例に対しては腹腔鏡検査を施行し、AIH後の腹水中の精子回収試験（SRT）の結果と妊娠予後との検討も行った。なお精子の処理には、HTF液またはパーコール液を用いた。【結果】38例中妊娠は10例（11周期）に成立し、妊娠率是对症例26.2%、対周期14.1%であった。適応別の妊娠率は、頸管因子75%、原因不明不妊25%で、男性因子19%であった。腹腔鏡を施行した17例のうち、SRT陽性13例、陰性4例で、妊娠例はそれぞれ6例と1例であった。処理後運動精子濃度に関する検討では、妊娠群と非妊娠群では有意差はなく、妊娠群での最低値は $7 \times 10^6$ /mlであった。したがって、処理後運動精子濃度 $7 \times 10^6$ /ml未満の症例を除いた25症例について検討した結果、腹腔鏡により卵管の通過性を確認できた15例のうち妊娠例は7例（47%）であり、腹腔鏡を施行しなかった10例の妊娠率（30%）に対して、有意に高かった。妊娠例10例11周期（満期分娩5例、妊娠継続中4例、自然流産2例）は、すべて単胎であった。【考察】卵巣刺激法を併用し、処理精子を用いたAIHにより良好な成績が得られた。また腹腔鏡により卵管の通過性をSRTなどで確認することはAIHの妊娠予後に対して有用であると思われる。

## III-23

## ウシ頸管粘液による精子運動能の評価

太田西ノ内病院 産婦人科

○高山 和人 八日市谷 隆 河野 秀昭 古橋 信之  
東北大学産婦人科 深谷 孝夫

目的：ヒト頸管粘液に似た性状を示すウシの頸管粘液を用いて、ヒト精子の直進運動能を客観的に計測できるキット（PENETRAK）の評価を行なった。

方法：不妊を主訴として受診した50組のカップルの一般精液検査に際して同一サンプルを用いて、毛細管に充填されたウシ頸管粘液中を90分間に進行した精子の最大距離（PENETRAK値）を計測した。

結果：①再現性—50検体を2回計測しその相関をみたところ、 $r=0.95$ ,  $P<0.001$ と良好な再現性が示された。②検者間の差—10検体を4人の検者で計測したが、検者間の差は無かった。③温度の影響—2検体を10℃, 20℃, 30℃で計測したところ、温度に比例して計測値は増加した。④経時変化—3検体を30分毎に3時間にわたり計測したところ、2検体は上に凸の曲線を描いて徐々に距離をのばしたが、1検体は90分でプラトーに達した。⑤精子濃度との相関—検体の精子濃度とPENETRAK値は $r=0.595$ ,  $P<0.001$ の相関を示した。⑥精子運動率との相関— $r=0.429$ ,  $P<0.01$ の相関を示した。⑦精子運動能との相関—有意な相関を示さなかった。⑧ Swelling-testとの相関— $r=0.414$ ,  $P<0.01$ の相関を示した。⑨ Fructose 値との相関— $r=0.894$ ,  $P<0.001$ の相関を示した。

考察：ウシ頸管粘液中のヒト精子の進行距離による精子運動能の評価法は、簡便でかつ再現性・客観性が高く臨床検査として必要条件を満たしている。精子濃度・運動率とは相関を示したが、運動能とは相関を示さず、また相関係数の絶対値と合わせて考えると、PENETRAK値はこれらとは異なる精子の性状を示す指標となりうる可能性を示している。今後、症例を重ねて臨床成績との関連を求める必要がある。

## III-24

## 体外受精—胚移植に於ける Penetrak test の検討

名古屋大学附属病院分院産婦人科、名古屋大学附属病院産婦人科\*

○稲垣資郎、北川武司、那波明宏、柴田均、中村潔史、近藤育代、浅田義正  
\*、菅沼信彦\*、友田豊\*

〔目的〕近年、体外受精—胚移植（以下IVF-ET）の適応が広げられまた良好な成績を得ている。しかしながら男性因子不妊におけるその受精着床率は未だ高いものとは言えず、精子評価もMakler chamberを用いる一般検査では必ずしもその受精能と相関しているとは言い難い。精子評価の一つの方法に Penetrak testがある。これは主に精子直進運動能を評価するもので、0.2mlの液化した精液中にウシ頸管粘液で満たされたガラス管（Penetrak<sup>®</sup>）を垂直に立て90分静置後の上昇精子を測定する方法で正常値は30mm以上となっている。今回我々はPenetrak<sup>®</sup>を用いてIVF-ET症例の受精等を一般精液検査と比較検討した。

〔対象と方法〕対象となった症例は平成3年4月より同年6月までに施行したIVF-ET症例40例である。採卵日に、用手法にて採取された精液を30分液化した後、一般精液検査と同時に Penetrak test を行った。

〔結果〕全症例の内受精したのは28例ですべて胚移植を行った。精液所見正常の症例は28例でその内 Penetrak 正常群では25例中21例受精し、異常群では3例中2例受精した。精子減少症の症例は12例であったが、その中でも、Penetrak test 正常群は4例であり全例受精を認めたのに対し異常群では受精したのが8例中1例のみであった。

〔考察〕精液所見の悪い症例に於いてもPenetrak test 正常例では高率に受精を認めPenetrak test が受精に関し有用な検査法であると考えられた。

## III-25

## 精子移動距離からみた IVF-ET の成績

群馬大学産科婦人科学教室

○中島敬和・宇津木利雄・関 守利・土屋清志・伊藤理広・竹内 巧・  
伊藤郁朗・篠崎博光・伊吹令人

【目的】 Penetrak は精子の機能特に運動能とよく相関するとされているが、今回我々は IVF-ET の成績と Penetrak および培養液中の精子の移動距離との関係について検討し、若干の知見を得たので報告する。

【対象および方法】 当大学において、IVF-ET に使用する 49 例の精液で Penetrak を施行し、そのうちの 32 例では HTF 培養液をヘマト管に充填し、Penetrak と同様にして精子の移動距離を測定した。

【結果】 1, Penetrak と IVF-ET の受精率、分割率、妊娠の成否において受精率とは  $R_s = 0.41$ ,  $P < 0.01$ , 分割率とは  $R_s = 0.42$ ,  $P < 0.01$  とともに有意の正の相関、すなわち Penetrak が良好なほど受精率、分割率とも良好である傾向を認めた。また、妊娠群の Penetrak 値は  $23 \sim 65 \text{ mm}$  で  $\text{mean} \pm \text{SD}$  は  $54.9 \pm 13.8 \text{ mm}$  に対し、非妊娠群は  $5 \sim 65 \text{ mm}$  で  $\text{mean} \pm \text{SD}$  は  $50.1 \pm 20.1 \text{ mm}$  であったが有意差はなかった。2, HTF 培養液中の精子の移動距離と IVF-ET の受精率、分割率、妊娠の成否において受精率、分割率とは有意の関係を認めなかった。また妊娠群の移動距離は  $1 \sim 41 \text{ mm}$  で  $\text{mean} \pm \text{SD}$  は  $20.1 \pm 12.7 \text{ mm}$ 、非妊娠群は  $10 \sim 58.5 \text{ mm}$  で  $\text{mean} \pm \text{SD}$  は  $31.3 \pm 15.3 \text{ mm}$ ,  $P < 0.05$  と弱いながら非妊娠群のほうが有意に移動距離が長かった。

【結論】 1, Penetrak は IVF-ET の受精率、分割率を予測できる可能性があり、また妊娠の成否との関係は見いだせなかったが、Penetrak が一定値（今回は  $23 \text{ mm}$ ）以下の場合には妊娠する可能性は少ないと考えられた。2, 培養液中の精子移動距離は Penetrak とは反対に短い程妊娠率が良かった。

## III-26

## 精巣上体尾部精子回収法の開発とその臨床成績

セントマザー産婦人科医院

○田中温, 出嶋秀明, 山田義治, 田中威づみ, 吉田一郎, 竹本洋一,  
鷹野和哉

目的：精子運動率が20%以下の重症男性不妊症に対しては有効な治療法がないのが現状と思われる。第9回日本受精着床学会で我々はこの精子無力症に対する精巣上体尾部精子回収法の有用性を報告した。今回は本法による臨床成績について報告する。

方法：腰椎麻酔下に、陰囊正中中部を切開し精巣上体尾部を露出させた後に、内径約100～200 $\mu\text{m}$ のガラス針をマイクロスコープ下に管腔内に刺入し、精子を吸引した。吸引した精子をミネラルオイルで覆った50 $\mu\text{l}$ ～200 $\mu\text{l}$ の10%非働化血清を加えたHTF内に注入した。30～120分の精子培養の後、前培養を5～6時間ほどこし、0.1%ヒアルロニダーゼで顆粒膜細胞を除去した卵子と媒精した。回収した精子運動率が不十分な症例では、培養液内精子をマイクロピペットに吸引し遠心分離、5～6%ヒト卵泡液または10mMカフェイン+ヘパリン1 $\mu\text{g}/\text{cc}$ (HTF)の培養液に注入した。媒精後約6時間でMedium changeを行い症例に応じて、ZIFT, IVF-ETを施行した。対象は精子運動率が20%以下(精子数200万～1億/cc)で、過去のIVF-ETで一度も卵割の認められなかった22症例(25周期)とした。結果：①培養液中の精子濃度が $50 \times 10^4/\text{cc}$ 以上、精子運動率が50%以上となりえた周期は16回であった(回収成功率65%)。②射出精子運動率が0%の3症例では精巣上体各部(尾部, 体部, 頭部)で0%であった。③ヒト卵泡液またはカフェイン+ヘパリン添加は精子の運動率改善に効果は認められたが、運動率が20%以下の場合には著変はなかった。④良好精子が回収された16周期で11周期IVFを施行し、5周期で4細胞期胚に達し、2例で妊娠を認めた。卵割を示さなかった6周期中3周期では完全に成熟した卵子(Metu-II)が認められなかった。媒精後14～16時間目で前核を認めた5周期でZIFTを施行し2例の妊娠を認めた。⑤同側の精巣上体尾部よりの3回目以後の採取は困難であった。考案：本法は施行回数に限界はあるものの重症精子無力症に対しては有用な治療法であると考えられる。

## III-27

## 哺乳類精子は精巣上体内で運動を停止しているか？

帝京大学医学部泌尿器科

○石田克美、友政宏、押尾茂、矢崎恒忠、梅田隆

従来より、哺乳類精子は精巣上体通過に伴って成熟して精巣上体尾部に蓄えられ、そこでは運動を停止したままである、とされてきた。従って、射精に伴って蓄えられていた精子の運動を妨げている何らかの因子が除去されるか、或は運動開始因子が付与されることで精子は運動を開始するものと考えられてきた。このような因子として従来より提唱されてきたものには、pH、Kイオン、粘度等があり、一方、インモビリンと命名された糖タンパクこそがその因子であるとの報告もあって、因子の実体は明確にはなっていない。我々は従来より言われてきたpH、Kイオン濃度、粘度が精巣上体精子の運動開始にどう影響を与えるのか、実際に精巣上体液中に精子運動停止因子が含まれているのか、を検討するべくハムスター、ラット及び家兎から得られた精巣上体尾部精子と精巣上体液を用いて実験を行った。その結果、pH、Kイオン、粘度は全て精子運動開始を阻害することは無かった。また、精巣上体液中で精子を希釈しても精子は運動を開始するので、精巣上体液中のインモビリンのような物質的な精子運動開始阻害因子の存在は否定された。顕微鏡観察の結果、精巣上体尾部より分離された精巣上体内内容物中の精子は鞭毛振動数は低いものの明瞭な運動を行っていることが見いだされ、このことも精巣上体液中には物質的な運動開始阻害因子は無いことを裏付けている。従って、精巣上体内で精子は非常に高密度な状態で蓄えられているため運動を行うことができないのであって、この密度が低下しさえすれば運動を開始するのであろうと解釈でき、運動開始因子は射精に伴うなんらかの化学的物質の除去や付与ではなくて、精子密度の低下という物理的な状態の変化であるとの結論に達した。

## III-28

## ヒト精巣上体精子の受精能に関する考察

—ハムスター卵の顕微受精テストと臨床応用—

慶應大学医学部産婦人科学教室、同泌尿器科学教室\*、済生会神奈川県病院産婦人科\*\*

○黒田優佳子、末岡 浩、中島洋介\*、橋場剛士\*\*、小西康博\*\*、小林淳一\*\*

吉村慎一\*\*、中野真佐男\*\*、小林俊文、野澤志朗、飯塚理八、田崎 寛\*

我々は、無精子症および精子濃度300万/ml以下、運動率30%以下の重症乏精子症患者を対象に、精巣生検、精管造影、精巣上体精子吸引採取を施行し、先天性精管欠損症や精管形成不全などの精路通過障害、およびJohnsen's score 8以上の軽度造精機能障害で、精巣上体からの精子採取が有効例を認めることを報告してきた。顕微受精用微小ピペットを作製し、精巣上体頭部または体部からの精子吸引採取を15例に実施し、うち5例に運動良好な精子を採取し得た。先天性精管欠損症3例、精管形成不全1例、造精機能障害(Johnsen's score 8)1例であった。今回我々は、精巣上体精子を採取した例に対し、ハムスター卵細胞質内顕微受精を施行し、受精能を検討した上で臨床応用し、精巣上体精子を用いた微小環境体外受精を実施したのでその知見を報告する。

PMS 20IUおよびHCG 20IUの過排卵刺激により得たハムスター卵管卵をhyaluronidase処理後、顕微受精に供した。polyvinyl pyrrolidone中に懸濁した精巣上体精子をinjection pipetteで吸引し、ハムスター卵細胞質内に注入後5時間培養し、精子頭部のdecondensationおよび前核形成を検討した。対照にはハムスター精巣上体尾部精子および正常ヒト射精精子を用い、ヒト精巣上体頭部または体部の精子は対照に比較し、受精率は $38/50=76.0\%$ を示し、受精能に大きな差を認めなかった。本検討より、精路通過障害およびJohnsen's score 8以上の造精機能障害では、精巣上体頭部または体部から運動良好な精子の採取が可能であり、しかも射精精子と変わらぬ受精能を有することが確認された。本症例の臨床応用では、採取数が $10^4\sim 10^5$ オーダーで少ないため、 $20\mu\text{l}$  medium spotによる微小環境体外受精を施行した。先天性精管欠損症のうち1例が4細胞まで分割し、臨床面からも受精能が確認され、新しい男性不妊の治療指針案としての有用性が示唆された。

## III-29

## 電気刺激が精子運動に及ぼす影響についての検討

横浜市立大学泌尿器科学教室

○齋藤和男, 川上 寧, 佐藤和彦, 岩崎 皓, 木下裕三, 穂坂正彦

【目的】我々は、電気刺激によるラット精巣上体尾部精子の大量回収法を開発し、ヒトについても回収できることを証明した。しかし、電気刺激が精子に及ぼす影響について現在まで検討されていない。今回、精子浮遊液を作成し、電気刺激を加えたときの精子運動の変化について検討した。

【方法】健康者、および不妊外来患者より得られた精子を対象とした。非電解質、または電解質添加30%パーコール液で洗浄し、約 $20 \times 10^6$ /mlの精子浮遊液を作成した。SPエースチャンパー（深さ20 $\mu$ m）に幅3mm、厚さ15 $\mu$ mの電極を一定の間隔で2枚挿入し、パルス電圧刺激（パルス幅 約250 $\mu$ s）を加えながら、精子運動の変化を検討した。

【結果】非電解質浮遊液（Na = 約5mEq/l）に、初期ピーク電圧120-180V/2mm（電極間の距離）、初期ピーク電流1.2-1.8mA、1Hzで30秒間刺激を加えると、電極間のすべての精子運動が停止した。30V以下/2mm、0.4mAでは、精子運動に対する影響は認められなかった。同じ電圧を加えながら電極間の距離を広げていくと、運動停止する精子数が減少した。次に電解質溶液（Na = 約90mEq/l）では、40V/2mm、8mA、1Hz、30秒間刺激を加えると、陰極付近の精子がすべて運動を停止した。陰極付近では電気分解によりNaOHが産生されアルカリ化がおこることが原因の一つと考えられる。一方両電極中央部では、精子運動の低下は、わずかであった。電圧を低下させると電流量が低下し、陰極付近での運動停止する精子の範囲が狭まった。

【考察】精子浮遊液に電気刺激を加えた場合、陰極付近に強く見られる精子運動障害と、電流が通過した経路全体に見られる精子運動障害の2種類あると考えられた。

## III-30

## 精子形成能の導入ができた hypogonadotropic hypogonadism の一例

藤沢市民病院 泌尿器科 ◇中込一彰, 広川 信, 増田光伸, 長本章裕

聖マリアンナ医科大学 泌尿器科：岩本晃明, 朝倉医院：朝倉茂夫

hypogonadotropic hypogonadismの男子不妊症にhCG-hMG療法をおこない、劇的な効果を経験した。その臨床経過を報告する。

患者は30歳、結婚後2年6カ月の不妊期間をみる。類宦官症の体型（身長169cm 体重63kg 指極長175cm）で、恥毛は女性型、嗅覚異常はなく、染色体46XYである。精巣容量は右11ml、左13mlで、前立腺を触知せず、他臓器に異常がない。精液検査は、精液量0.05ml以下で無精子症である。精巣生検で精細胞の成熟度は思春期前の像である。CTで下垂体に異常なく、内分泌検査では、GH, ACTH, TSH, PRLは正常域、FSH 1.0mIU/ml以下、LH 1.0 IU/ml以下、Testosterone 0.564 ng/ml。LH-RHテスト：LH, FSHとも反応なし、クロミッドテスト：LH, FSHとも反応なし、HCGテスト：Testosterone前0.481後6.68 ng/ml。以上より、hypogonadotropic hypogonadismと診断した。治療は、hMG 150単位を週2回投与で開始し、6カ月経過後、hCG 3000単位週1回投与を追加した。治療開始後8カ月でTestosteroneは2.87 ng/mlとなり、10カ月後に精子の出現をみた。13カ月後には、精液量2.5ml 精子数 $14 \times 10^6$ /ml 運動率72%、正常精子87%となり、14カ月後、妊娠に至った。1990年3月、2600gの健康な女児が誕生した。

乏精子症に対するhCG-hMG療法の治療効果に関して種々の報告があり、高度の乏精子症では必ずしも良好とは言えない。しかし、本例のような血中ゴナドトロピンの低下をとともなう無精子症例では、理論的な療法である。

## III-31

## 体外受精からみた男性不妊に対するゴナドトロピン投与の効果

虎の門病院産婦人科

○佐藤孝道、東梅久子、小川恵吾、高橋敬一、児島孝久

〔目的〕高度の乏精子症や精子無力症のなかには体外受精（以下、IVF）やマイクロマニピュレーションによっても受精すらしめない症例が多い。一方男性不妊に対する薬物療法はその実際効果は明かでないものが多いが、本研究ではIVFを行った男性不妊症例にゴナドトロピンの投与を行い効果をあげたので報告する。〔方法〕虎の門病院で男性不妊を適応としてIVFを行った症例のうち、夫の血中LH、FSHが正常範囲内で過去の体外受精で受精率が著しく悪かったり受精しなかった3例を対象とした。ゴナドトロピンはhCG、hMGそれぞれ単独あるいは併用とし、予定体外受精の4-8週間前から週2回の割合で投与した。〔結果〕（症例1）1回目のIVFで精子濃度は $3 \times 10^6$ /ml、運動率30%で7個採卵し受精卵はなかった。2回目のIVFでは夫にゴナドトロピンを投与し精子濃度 $3 \times 10^6$ /ml、運動率22%で1/4の卵が受精し、胚移植後妊娠が成立したが胎児心拍の確認後流産し染色体は47,XX,+16であった。（症例2）1-4回目のIVFは精子濃度 $1-4 \times 10^6$ /ml、運動率35-75%で、受精卵はそれぞれ2/9, 4/8, 0/5, 0/4であった。受精卵については胚移植を行ったが妊娠しなかった。5回目のIVFで夫にゴナドトロピンを投与し精子濃度 $6 \times 10^6$ /ml、運動率17%で2/5が受精し胚移植後妊娠が成立、現在継続中である。（症例3）1回目のIVFで精子濃度 $10 \times 10^6$ /ml、運動率40%で2/17が受精し胚移植を行ったが妊娠しなかった。2回目のIVFで夫にゴナドトロピンを投与、精子濃度 $73 \times 10^6$ /ml、運動率93%と著明な改善がみられ3/12が受精し胚移植後妊娠が成立、現在妊娠を継続中である。〔考察〕ゴナドトロピンの投与を行った症例は3例に過ぎないが、いずれも過去のIVFでは精子濃度が $10 \times 10^6$ /ml以下と高度の乏精子症でIVFで受精卵が全く無かったり受精率が著しく低かったりしているので、全例に妊娠が成立したことは、本治療法が効果的であることを示していると言える。

## III-32

## 男子不妊外来における内精静脈高位結紮術の成績

京都大学泌尿器科

○堀井泰樹、松田公志、吉田 修

1984年2月より1990年1月まで、京都大学泌尿器科にて、112例の左精索静脈瘤に対し内精静脈高位結紮術を行った。手術成績をまとめ、それに影響を及ぼす因子の検討をおこなったので報告する。

112例の平均年齢33.0才（24才-43才）、平均不妊期間3.9年（0.1年-14年）、精子濃度 $17.5 \pm 25.6 \times 10^6$ /ml、精子運動率 $34.2 \pm 24.3\%$ であった。そのうち術後データの得られた93例に対し、精索静脈瘤の鈴木のgrade分類・精巣容量・精液所見・血清ホルモン値と、術前および術後6カ月の精液所見・血清ホルモン値の変化との関連を検討した。経過観察期間は、8カ月-78カ月（平均40.8カ月）であった。また112例について妊娠曲線の解析を行った。

精巣容量は右 $15.6 \pm 4.9$ ml、左 $14.3 \pm 4.6$ mlであり、左側の有意な精巣容量の低下を認めた。術後6カ月の精子濃度・精子運動率・血清テストステロン値は術前に比べ有意に増加し、血清LHは有意に低下した。各因子の手術成績に及ぼす影響の検討では、左精巣容量の小さい群で術後の血清LHの有意な減少と精子運動率の有意な増加を認めた。術前精子運動率の低い群で術後精子運動率の増加が著明であった。術前血清LHの高い群で、低い群に比べ有意に術後血清LHの低下を認め、また、術前血清テストステロン値の正常の症例では低い症例に比べより大きな術後血清LHの低下を認めた。

112例中37例（33.0%）に妊娠を認めた。gradeと術前精子運動率・精子濃度とは有意な相関を認めなかったが、grade3の症例でgrade1,2の症例に比べ、術後の血清LHの低下及び精子濃度の増加がより大きい傾向があり、妊娠曲線の解析で、術後の妊娠率の有意な増加を認めた。さらに精巣組織所見と手術成績との関連についても検討する予定である。

## III-33

## Transverse Vasovasostomy にて妊娠・出産に成功した無精子症の1例

埼玉医大総合医療センター 泌尿器科  
○小林信幸・吉田謙一郎・内島豊・斉藤博

Transverse vasovasostomy を施行し妊娠・出産に成功した無精子症の1例を報告する。症例は28歳で、幼児期に流行性耳下腺炎の罹患および右鼠径ヘルニア手術の既往がある。結婚以来約1年間妊娠がみられず、夫婦で他医を受診、不妊の精査を受けたところ、無精子症と診断され、当科に紹介された。二次性徴は正常。精巣容量は右 25ml, 左12mlで、右精管は一部硬く肥厚していた。精巣生検にて右はほぼ正常な精子形成がみられたが、左は Sertoli cell tubuliの所見であった。精嚢腺造影では、右側はヘルニア根治術の合併症と思われる精管閉塞を示したが、左側の通過性は良好であった。以上より右精巣の造精機能と左精管の通過性に期待し、transverse vasovasostomy を施行した。術後約1か月で精液量3.0ml, 精子濃度 $1.46 \times 10^6$ /mlの精子出現をみたが、約2か月半では再び無精子症を呈し、以後精子の出現はみられなかった。このため術後約1年の時点で再手術を行い、前回吻合部を切除、再吻合を施行した。術後1か月では精液量3.0ml, 精子濃度 $2.0 \times 10^6$ /ml, 運動率30%であったが、約4か月で同 2.1ml、 $20 \times 10^6$ /ml, 40%に、1年8か月で4.0ml,  $45 \times 10^6$ /ml, 45%まで増加した。再手術後約2年半にて妊娠、無事に女兒を出産した。片側の精巣のみに造精機能が認められ、かつ対側のみに精管通過性が保たれている本症のような症例は、頻度は少ないと思われるが、このような無精子症に対しては transverse vasovasostomy は有効な治療法と考えられる。また、本症例のように左右で造精機能に顕著な差違を認める症例が存在することを考えると、特に精巣容量に左右差を認める症例では両側の精巣生検を行う必要があると考えられる。

## III-34

## 短尾精子症の3例

京都大学医学部泌尿器科学教室  
○大森孝平・松田公志・堀井泰樹・吉田 修

男性不妊を主訴とし当科不妊外来を受診し短尾精子症と診断した3症例について報告する。症例1は41歳、症例2は31歳、症例3は35歳。いずれの症例においても精巣容積、染色体内分泌検査は正常範囲内であった。精液所見では正常精子濃度であったが、精子運動率は5%以下、精子奇形率は90%以上であった。奇形精子の大部分は短尾精子であり、透過型電顕(SEM)および走査型電顕(TEM)により精子微細構造を観察した。

症例1では、精子頭部の異常はみられないが、尾部に関してはSEMでは尾部は短く一塊となっており、TEMでは尾部の頸部・中間部・主部の区別はつかずいくつかの vesicle や outer dense fiber と思われるものはあるが、その他の成分は認められなかった。症例2のSEMでは、症例1と同じ形態を示すものと、精子頸部と中間部の一部は正常形態のように見えるが主部の形成異常のみられる精子が混在していた。TEMでは、前者においては症例1と同じ形態であるがミトコンドリアの不規則な散在が認められ、後者においては中間部のミトコンドリア鞘の短小化、主部の構築異常がみられた。症例3のSEMでは尾部中間部が長く主部が短く、TEMでは中間部に過形成のミトコンドリア鞘がみられ、主部に線維鞘はなく軸糸は途中で消失しており全体の長さは短尾であった。

稀な奇形精子である短尾精子症の3例について微細構造の解明を電子顕微鏡を用いて行い、各症例において異なる形態の短尾精子を観察した。

## III-35

## ブタ精子アルギニンアミダーゼに関する研究

## 1. 塩基性アルギニンアミダーゼについて

○朴俊英、兼子智、小林俊文、野澤志朗（慶應大・医・産婦人科）、松田兆史、秋浜澄行（明治薬大・生化学）、押尾茂、梅田隆（帝京大・医・泌尿器科）

精子中には先体反応に関与すると考えられている、トリプシン類似の塩基性プロテイナーゼ、アクロシンの存在がすでに知られている。私々はすでにヒト精液中より Kanekoら(1)の方法で精製した精子あるいは精漿を用い、リマ豆トリプシン・インヒビター(LBTI)に親和性を示す、アクロシンとは異なる、アルギニンアミダーゼの存在を報告し、その性質の検討を行なった(2, 3)。今回、我々は精子中のアルギニンアミダーゼのスクリーニングを目的として、ブタ精子中のLBTIおよびアプロチニンに親和性を示す塩基性のアルギニンアミダーゼの検索を行ない、若干の知見を得たので報告する。

アルギニンアミダーゼ活性の測定は、ヒト精漿中に見い出された塩基性アルギニンアミダーゼに対して良好な基質であった Boc-Leu-Pro-Arg-pNA を用い pH 8.5, 37°C で行なった。

ブタ精液より遠心により精子を分離したのち、ハンクス液で約5回洗浄および遠心を繰り返し行ない、精漿を除去した。得られた精子をポリトロンを用い破壊し、その後中性で抽出し、pH およびコンダクティブティーを調整したのち、CM-セルロース吸着を行なった。CM-セルロース吸着画分は次にLBTI およびアプロチニンカラムに吸着させ、それぞれのカラムに親和性を有する2種のアルギニンアミダーゼを得た。得られた2種の塩基性アルギニンアミダーゼのうち、LBTIに親和性を示す酵素は種々性質の検討結果からアクロシンであると考えられた。両酵素の塩化カルシウムに対する態度、基質特異性あるいはインヒビターに対する態度は異なっていた。

1) Kaneko et al., Biol. Reprod., 35:1059(1986). 2) Matsuda et al., Yakugaku-Zasshi, 109:312(1989). 3) Kobayashi et al., Arch. Andor., in press

## III-36

## ブタ精子アルギニンアミダーゼに関する研究

## 2. 酸性アルギニンアミダーゼについて

○押尾茂、矢崎恒忠、梅田隆（帝京大・医・泌尿器科）松田兆史、秋浜澄行（明治薬科大・生化学）、原唯純、兼子智、小林俊文（慶應大・医・産婦人科）

我々は精子および精漿中の蛋白質分解酵素の生理的意義解明の一環として、今回、ブタ精子に存在するアルギニンアミダーゼの検索を行なった。前演題においてアクロシンおよび新しく見い出した塩基性アルギニンアミダーゼについて報告したが、本演題では酸性アルギニンアミダーゼについて検索を行なった結果を報告する。

酵素活性は基質として Boc-Leu-Pro-Arg-pNA を用いて行ない、pH 8.5, 37°C で1分間に加水分解された基質量 (n mol/min) でアルギニンアミダーゼ活性を示した。ブタ射出精液をハンクス液で5回希釈洗浄して洗浄精子を作製し、それをポリトロンにて破壊し、中性で抽出し、pH およびコンダクティブティーを調節したのち、DEAE-セルロースに対して吸着を行なった。得られてDEAE-セルロース吸着画分を、リマ豆トリプシンインヒビター(LBTI)・アフィニティーカラムに吸着させた後、その非吸着画分をアプロチニン・アフィニティーカラムに吸着させた。アフィニティーカラムの溶出はpH 2の塩酸で行ない、溶出画分よりそれぞれ新しいアルギニンアミダーゼを得た。得られた2種の酵素の上記基質に対する比活性には大きな差が認められ、また、両酵素の各種トリペプチル基質に対する基質特異性も異なっていた。さらに、両酵素の塩化カルシウムに対する態度は異なっており、それらはアクロシンのそれとも異なっていた。また、両酵素のLBTIに対する見かけの親和性には約14倍の差が認められ、この差がLBTIカラムへの親和性の差として表現され、両酵素がLBTIカラムによって分離されたものと考えられた。

現在、本酵素の生理作用についても検討中であり併せて報告したい。

## III-37

マウス精子受精能獲得過程への蛋白リン酸化反応の関与

慶應義塾大学医学部 産婦人科学教室

○古屋 悟, 遠藤芳広, 大庭三紀子, 鈴木秋悦, 野澤志朗

【目的】マウス精子において受精能獲得は、卵透明層からのシグナルによって精子が先体反応を起こすことが可能になった状態であり、又形態的变化は伴わない。従ってその生化学的調節機構の解明はきわめて重要であるにもかかわらず、ほとんどなされていない。本研究ではマウス精子を用いて受精能獲得への蛋白リン酸化反応の関与について検討した。【方法】ddY系マウスを用い、精巢上体尾部精子塊を0.4% BSA含有modified Krebs-Ringer bicarbonate buffer (m-KRB)培養液中で、採取後5分間培養し、精子懸濁液を作成した。次に培養液上層にswim upした精子を収集し、濃度と運動率を測定し、運動率60%以上のものを使用した。そしてこのswim upさせた精子を、 $10\mu\text{M}$ - $10\text{mM}$  dbcAMP,  $1\mu\text{M}$ - $10\text{mM}$  dbcGMP,  $100\mu\text{M}$  dbcAMP +  $100\mu\text{M}$  H8 (Aキナーゼ阻害剤),  $100\mu\text{M}$  dbcGMP +  $100\mu\text{M}$  H8,  $20\text{ng/ml}$  TPA,  $20\text{ng/ml}$  TPA +  $1$ - $10\text{nM}$  Staurosporine (Cキナーゼ阻害剤),  $0.1\text{nM}$ - $1\mu\text{M}$  Okadaic acid (Phosphatase 1, 2A阻害剤),  $1$ - $30\mu\text{g/ml}$  Genistein (チロシンキナーゼ阻害剤)含有培養液drop中に $5 \times 10^5$ - $1 \times 10^6$  sperm/mlとなる様に加え、この時点を0として経時的に90分までの精子の受精能獲得過程をChlortetracycline (CTC)蛍光法を用いて観察し、受精能獲得を示すパターンであるBパターンの経時的な増加を対照群と比較検討した。【結果】Bパターンは、 $100\mu\text{M}$  dbcAMP,  $100\mu\text{M}$  dbcGMPによって90分間どの時点でも対照群より多く、 $100\mu\text{M}$  H8によって増加は抑制された。又 $10\text{mM}$  dbcAMP,  $10\text{mM}$  dbcGMPによって抑制された。 $20\text{ng/ml}$  TPAと $10\text{nM}$  Okadaic acidではすでに15分の時点で対照群より著明に増加し、90分まで減少は見られなかった。TPAによる増加はStaurosporineによって抑制された。さらに $1$ - $10\mu\text{g/ml}$  Genisteinによって濃度依存性に抑制された。【結論】マウス精子受精能獲得過程に、蛋白質リン酸化反応が関与していることが示唆された。

## III-38

抗PCNA (核内増殖抗原)抗体を用いた造精機能の解析の基礎的検討

山口大学泌尿器科

○馬場良和、白瀧 敬、鎌田清治、植野卓也  
石津和彦、瀧原博史、酒徳治三郎

当科では、造精機能の客観的評価法としてフローサイトメトリーを用いたDNA量解析を行なってきた。しかし、この方法では、標本組織中の1c、2c、4cの細胞の比率を出すため、第一次精母細胞から精子細胞までの造精機能を主として評価している。そのため、我々は抗PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen)抗体を使用し精祖細胞から第一次精母細胞までの造精機能の評価を行なった。

PCNAは核内ポリペプチド抗原でDNA複製の酵素であるDNAポリメラーゼ $\delta$ に結合する蛋白であり、DNA合成と密接に関係する。このため、抗体を用い染色された細胞数を測定することにより細胞回転の評価が可能となる。

組織標本は精巢生検あるいは精巢摘出術で得た精巢組織を使用した。固定液は10%ホルマリン、95%エタノール、カルノア液、ボアン氏液を使用し固定しそれぞれを比較検討した。ボアン氏液で固定後パラフィン包埋し、切片を抗PCNA抗体を一次抗体としてABC法にて染色し染色された細胞数を数えた。ボアン氏液による固定が精細管の構造も保たれ精粗細胞の染色性も良好であった。

抗PCNA抗体は造精機能の評価に有用であった。

## III-39

## 精液中の微量元素の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室, 同 衛生学教室\*

○岡部 親宜, 福田 勝, 飯田 信, 武内 裕法, 町田 正弘,  
伊藤 哲, 篠原 厚子\*, 千葉 百子\*, 高田 道夫

【目的】男性不妊の多くは造精障害によるがその原因は不明な点が多い。哺乳動物の生殖能に亜鉛が関与することはすでに知られている。そこで今回は亜鉛およびその他多くの元素が生殖能へどのように関与しているのか知る目的で、精液中の各種微量元素を測定し、その精液の各種精子パラメータとの関係について検討した。【方法】不妊夫婦男性 110名, で 114 試料を対象とした。Na, K, Ca, Zn, Mg, Cu, Fe, Sn, Ni, Co, Cd は原子吸光法 (フレイム, フレイムレス), Se は蛍光法, P は比色法で測定した。精子パラメータとしては精子濃度, 運動率, 奇形率について検討した。【結果】1). 精液中元素濃度は  $Na > P, K > Ca > Zn > Mg > Fe > Cu > Se > Sn, Ni, Co, Cd$  であった。2). 精子濃度と精液中 Se 濃度は正の相関を示し ( $r = 0.589$ ), 精漿と精子に分けた場合には全精子中 Se 量との相関係数が高かった ( $r = 0.886$ )。しかし運動率, 奇形率と各種元素濃度の間には高い相関は認められなかった。3). Zn の濃度と精子パラメータとの間に相関は認められなかったが, Zn 濃度と精液中の Mg, Ca, K 濃度とは高い相関を示した。4). 精子パラメータ正常群と異常群における元素濃度の比較検討では精子濃度  $20 \times 10^6 / \text{ml}$  以下の群 ( $n = 27$ ) は  $20 \times 10^6 / \text{ml}$  以上の群 ( $n = 82$ ) に比べて精液中 Se 濃度が有意に低かった ( $p < 0.05$ )。しかし運動率と奇形率の異常群, 正常群ではいずれの元素に関しても差は認められなかった。5). 精子パラメータのうち運動率と奇形率に負の相関がみられた。6). 同一人 (4 名) の異なる時期の試料は各元素濃度に大きな変動はみられなかった。【考察】精子濃度と Se 量の関係はこれまで報告をみず, 興味深い。今後精子 Se の化学種を明らかにしたい。

## III-40

## 精漿中亜鉛、EGF、果糖濃度と精子機能との相関に関する研究

秋田組合総合病院産婦人科 ○太田博孝、加藤充弘

精子機能に及ぼす因子は数多い。精漿中には亜鉛、鉄などの金属、EGF、プロラクチン、テストステロンなどのホルモンや、糖、脂質等を含み、精子機能に複雑な影響を与えている。今回、このうち精漿中亜鉛、EGF、果糖濃度について測定し、精子運動率、運動精子濃度との相関について比較検討した。

対象は当院産婦人科不妊外来を受診した 49 例である。49 例は運動率、運動精子濃度の程度から、I 群 (正常群:  $n = 12$ )、II 群 (異常群:  $n = 37$ ) に分け検討した。亜鉛は原子吸光分光分析法で、EGF は 2 抗体法による RIA で、果糖は紫外部吸光度法で測定した。

I 群における精漿中の亜鉛、EGF、果糖の濃度はそれぞれ  $130 \pm 61 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $50 \pm 16 \text{ng}/\text{ml}$ ,  $119 \pm 58 \text{mg}/\text{dl}$  であり、II 群のうち運動精子濃度が  $10 \times 10^6 / \text{ml}$  以下の 17 例では果糖濃度が  $215 \pm 123 \text{mg}/\text{dl}$  と I 群より有意 ( $p < 0.02$ ) に高値であった。次に精子運動率、運動精子濃度との相関 ( $r$ ) を検討した。亜鉛対運動精子濃度は II 群で  $0.357$  ( $p < 0.05$ ) と有意の正の相関を、また果糖対運動精子濃度は I ± II、II 群でそれぞれ  $0.348$  ( $p < 0.05$ ),  $0.406$  ( $p < 0.05$ ) と有意の逆相関を示した。さらに亜鉛対 EGF は I ± II 群、II 群でそれぞれ  $0.706$  ( $p < 0.001$ ),  $0.701$  ( $p < 0.001$ ) と強い正の相関を、亜鉛対果糖は  $0.457$  ( $p < 0.01$ ),  $0.404$  ( $p < 0.05$ ) と逆相関を示した。

以上より、精漿中亜鉛、EGF、果糖の各因子は精子機能、特に運動精子濃度と密接に関与していることを明らかにした。さらに、亜鉛と EGF には強い関連性のあることが示唆された。

## III-41

ヒト精子Ca<sup>2+</sup>結合蛋白  
—分離精製及び局在場所の同定—

<sup>1)</sup> 帝京大学医学部産婦人科, <sup>2)</sup> 東京歯科大学泌尿器科, <sup>3)</sup> 古屋病院泌尿器科  
○中村正久<sup>1)</sup>, 石川博通<sup>2)</sup>, 古屋聖児<sup>3)</sup>, 沖永荘一<sup>1)</sup>, 小林拓郎<sup>1)</sup>, 荒井清<sup>1)</sup>

【目的】ヒト精子Ca<sup>2+</sup>結合蛋白を分離精製しその蛋白の精子局在場所を明らかにしたので報告する。  
【対象及び方法】ヒト精液から遠心(600g, 10分)によって精子を得、試料として凍結保存した。試料を解凍後、蛋白をゲル過法、硫酸沈殿分画法、HPLC法によった精製した。精製蛋白の純度はSDS-PAGE法で検討し、Ca<sup>2+</sup>結合能の測定は<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>を用い丸山等の方法(1984)を用いて行った。更にラット精細胞Ca<sup>2+</sup>結合(rat CalBP)に対する家兎抗血清を用い、ヒト及びラットCa<sup>2+</sup>結合蛋白が同じ抗原を有するかどうか Towbin の方法(1979)によって検討した。精子上の局在場所は Hsu と Soban によるABC法(1982)で検討した。

【結果】(1) 分子量 52kDa Ca<sup>2+</sup>結合蛋白を精製し CalBP-52 と命名した。(2) 収率は 0.007%、等電点は pI=5.1 で rat CalBP のそれ(pI=4.7)とは異なっていた。(3) ヒト CalBP-52 は rat CalBP と同じ抗原性を有することが判明した。(4) CalBP-52 の精子局在場所は頭部であった。

【結論】ヒト精子に rat CalBP と同じ抗原を有する CalBP-52 が存在し、その分離精製を試み成功した。この蛋白は精子頭部に局在することから先体反応、卵子との結合などに関与している可能性が考えられるものの、その役割については現在のところ不明である。

## III-42

## 蛍光測定を用いた精子の過酸化ストレスに対する定量的評価の試み

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○青木 類, 小穴正博, 名取道也, 森定 優, 小林俊文, 野澤志朗

【目的】高酸素濃度環境における細胞膜の過酸化は生体障害の一つとして重要視されている。我々は単一胚細胞の過酸化現象を蛍光測定により評価する方法について検討結果を報告してきたが、今回は精子を対象としたシステムを構築し、その有用性を検討することを目的とした。

【方法】研究にあたり informed consent を得た精液(平均濃度 7600 万/ml, 運動率 75-85%)を 80% Percoll 液を用いた不連続密度勾配法による遠心分離にて精漿を除去して得られた精子調整液に蛍光試薬を添加し、蛍光測定装置により蛍光輝度を計測した。過酸化ストレスの実験モデルとして、培養環境における酸素濃度を 20% と 5% の 2 群に分けて計測値を検討した。培養液には MEM (minimum essential medium, GIBCO), 蛍光試薬には DCFH-DA (2', 7'-dichlorofluorescein diacetate) を用い、励起波長 435-490 nm, 測光波長 520 nm の条件下で得られた過酸化物質に特異的な蛍光の輝度を測定した。得られた数値はコンピュータにより単位時間あたりの光子量に換算し、専用開発プログラムで数値解析を行った。

【結果】蛍光試薬添加の前後とも光学顕微鏡観察下の精子運動性は平均 90% で形態とともに変化を認めなかった。3 時間培養後の時点の蛍光輝度は、培養開始前の計測値と比較して両群とも有意な上昇を示したが、その増加の程度は 20% 酸素濃度群が 145.2 ± 3.9 (mean ± S.D.) であったのに対し、5% 酸素濃度群では 51.1 ± 1.8 と有意に低かった。

【考察】従来より高酸素濃度下の培養は生殖細胞に過酸化ストレスを与える可能性が示唆されているが、精子においても今回の結果より過酸化物質の絶対量が増加していることが判明した。測定に使用した試薬による精子の運動性や形態への影響を認めなかったことより、本計測系は精子の過酸化の定量的検討に有効な手段となり得る可能性を持つことが示唆された。

## III-43

人精子の活性酸素産生について

その3 白血球の関与と Percoll 洗滌精子についての検討

○岩崎 皓 (横浜赤十字病院泌尿器科)

細胞膜内に多量の脂質を有する精子は、脂質過酸化に対し非常に脆いことが、従来より指摘されている。最近の知見からは、この脂質過酸化の本態は、活性酸素の毒性によるものと考えられるようになり、特に精子の産生する活性酸素が精子の妊孕性や運動率と逆相関を示すことが報告され、男子不妊症の成因に活性酸素が何らかの関わりを有する可能性が示唆されはじめています。私達は男子不妊症患者の約50%の精液中より活性酸素が検出できたことを第35回日本不妊学会総会で報告した。しかし、精液中には抗酸化剤を多量に含む精漿成分、あるいは白血球などの精子以外の細胞成分、そして精子にも運動精子や奇型精子などの種々のものが含まれている。そこで、Percoll密度勾配法により精子を洗滌した時、各濃度層の間にそれら種々の成分が分離されることを利用して、精液中に検出される活性酸素が、どの細胞群より得られるものかを検討したので報告する。

【対象および方法】対象は不妊症男子42例と健常男子10例の精液で、95%、65%、40%、20%の濃度のPercoll濃度勾配に、未処理精液1mlを上層したあと、1700×G、30分、20℃遠心分離した。0~20%、20~40%、40~65%の各層間に集まった細胞成分と、65~95%及び95%内に集まった細胞成分(洗滌精子)をHBS+BSA緩衝液により500μl容液とし、これにLuminol 25μl (0.2mM)を加え、発光したChemiluminescenceをLKB Wallac 1251 luminometerにより測定した。測定値の最高値が0.05mU/sec/500μl以上を示した時、これを陽性例とした。

【結果】良好運動精子を集めた65~95%及び95%濃度中の活性酸素値に対し、運動率不良で形態的な異常精子を多く含む40~65%濃度中の活性酸素値は著明な高値を示した。また、0~20%濃度中に得られる白血球細胞群は活性酸素を検出できなかった。また、精液中に含まれる白血球濃度と精液中の活性酸素値とも相関は得られなかった。

## III-44

閉塞性無精子症の臨床的検討

富山医科薬科大学医学部泌尿器科

○風間泰蔵, 寺田為義, 布施秀樹, 片山 喬

【目的】閉塞性無精子症は、手術的治療による効果がかなり期待できる不妊症として近年注目を集めており、様々な治療の試みがなされている。今回、当科における閉塞性無精子症症例に関し、その臨床像、治療成績などを中心とした検討を行なったので報告する。

【対象と方法】1979年10月の富山医科薬科大学附属病院泌尿器科開設以来、1991年3月までに不妊を主訴として当科を受診し、本症と診断されて治療を受けた14名を対象とした。原因疾患の内訳は、精管切断術後4名、鼠径ヘルニア術後4名、先天性精管欠損症4名、射精管口閉塞1名、不明1名であり、また、施行された治療は、両側精管精管吻合術3、両側人工精液瘤造設術6、精巣上体穿刺吸引術2、両側精管精巣上体吻合術1、左精管精管吻合術および右精管精巣上体吻合術1、経尿道的精阜切開術1であった。

【結果】精管精管吻合術あるいは精管精巣上体吻合術を施行した5例では、術後1カ月目において4例で精液中に精子が出現した。しかし、その後さらに術後6カ月目において精液検査を行ない得た2例では、精子数は低下していた。妊娠はうち1例に見られた。両側人工精液瘤を造設した6例では術後4例で穿刺液中に精子が認められたが、いずれも数カ月以内に吸引不能となった。妊娠例は認められなかった。また精巣上体穿刺吸引術と人工受精の併用を行なった2例のうち1例に妊娠が認められた。

以上の治療成績から、当科においては人工精液瘤の設置は妊娠に結びついておらず、今後精管欠損症症例などでは、積極的に精巣上体穿刺吸引を行なっていきたいと考える。今回は、このほか1981年 Silberらにより報告された、精巣生検所見より、閉塞解除後に精液中に出現すると考えられる精子数を予測する方法に関して、当科症例における検討を行なったので併せて報告する。

## III-45

## 過去13年間の男性不妊症の臨床的検討

東邦大学泌尿器科○北角嘉徳、栗田 稔、原 啓、桑原 孝、黒田加奈美  
松橋 求、柳下次雄、石井延久、三浦一陽、白井將文

今回われわれは1978年から1990年までの13年間に東邦大学大森病院リプロダクションセンターを訪れた男性不妊症例 2,373例について、臨床的検討を行なったので報告する。不妊症の原因を調べた結果、原因不明の特発性造精機能障害が 1,392例ともっとも多く58.7%をしめ、次いで精索静脈瘤が 803例で33.8%。以下 Klinefelter症候群33例 1.4%、精管欠損27例 1.1%、鼠径ヘルニア手術時精管結紮20例 0.8%、前立腺炎17例 0.7%、精巢上体炎(結核性)16(3)例 0.7%、逆行性射精16例 0.7%、原因不明の精管狭窄11例 0.5%、他の染色体異常10例、停留精巢8例、耳下腺炎性精巢炎8例、精嚢奇形3例、X線照射2例、両側精巢上体炎1例、悪性腫瘍術後1例、エンドキサン投与1例、尿道下裂1例、その他3例であった。このほか性交障害や射精障害に伴う不妊症もかなりの頻度でみられたが当センターでは、このような性機能障害症例は別個に扱っているので今回の検討には加えなかった。男性不妊症の治療法には、薬物療法として非内分泌療法と内分泌療法を行なった。また精索静脈瘤や精管閉塞・精管欠損などの精路通過障害に対し外科的療法を行なった。このような治療結果も含め報告する。

## III-46

## 特発性男子不妊症における妊娠成立例の臨床統計的検討

昭和大学 泌尿器科

○渡辺賀寿雄、柴崎 裕、鳥居 毅、渡辺政信、石田 肇、吉田英機

特発性男子不妊症の治療の確立が求められているが、その薬物療法の効果は期待されるほど大きくないのが現状である。さらに精液所見の改善、および妊娠成立に真の薬物効果があるのかについてもまだ不明な点が多い。そこで妊娠が成立した症例を中心に精液所見などについて臨床統計的観察を行った。(方法)昭和大学病院泌尿器科において1972年1月より1990年12月までに不妊を主訴として受診した患者のうち、精索静脈瘤、無精子症を除き特発性男子不妊症と診断され薬物療法を受けた患者は510例であった。(結果)1990年12月までに妊娠が確認された例は97例であり、妊娠率は19.0%であった。年齢は24歳から44歳(平均33歳)で、不妊期間は11ヵ月から9年であった。治療開始から妊娠までの期間は、3ヵ月未満10例、3ヵ月から6ヵ月37例、6ヵ月から1年31例、1年以上9例、2年から3年7例であった。治療前の精子濃度を見ると、 $10 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満18例、 $10 - 20 \times 10^6 / \text{ml}$ 16例、 $20 - 40 \times 10^6 / \text{ml}$ 36例、 $40 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上27例であり、妊娠成立はそれぞれ9例、5例、17例、64例であった。治療前の運動率は、40%未満28例、40-50%9例、50-60%21例60%以上39例であり、妊娠成立時の運動率は、それぞれ9例、18例、17例、51例、であった。(考察) $10 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満で9例、 $10 - 20 \times 10^6 / \text{ml}$ で5例の妊娠成立を認めたことは注目すべきことであるが、64例(67%)は $40 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上で妊娠しており、妊娠の好条件は $40 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上であり、それを治療目標にする必要があると思われた。運動率から見ても、50%以上で妊娠率が高い傾向を認め運動改善も妊娠成立に寄与している可能性が示唆された。さらに非妊娠群との対比も行い検討し報告する予定である。

## III-47

## 排卵誘発法および精液性状によるA I H成績の検討

北野病院産婦人科

○越田 光伸, 下野 奈美, 高島 桂子, 松本 恒和, 井上 欣也

不妊治療におけるA I H療法の適応や併用する排卵刺激法を評価するため年代別, 不妊期間別, 原因別, 排卵誘発法別に治療成績を検討した。また精液性状別にも成績を検討しA I H施行時の精液性状の限界も検討した。【対象】1990年3月から1991年5月まで北野病院産婦人科でA I Hを施行した150例530周期で平均年齢は33.3歳, 平均不妊期間は6.4年であった。【結果及び考察】530周期に種々排卵誘発法を併用したA I Hを施行し31例の妊娠例を得た。2例は流産に終わり, 4例は多胎妊娠で全てHMG併用時に生じた。年代別に比べると対周期妊娠率は20代で8.4%, 30代で5.5%, 40代で3.3%と年齢が高いほど低下する傾向が見られた。不妊期間別に比べると2年から7年では7.3%, 8年以上では2.8%と有意に低下した。原因別に症例数, 周期数, 妊娠数, 対周期妊娠率を比べるとそれぞれ男性因子50症例 217周期 8例 3.7%, 子宮内膜症25症例67周期 2例 3.0%, 内分泌因子15症例44周期 8例 18.2%, 頸管因子12症例42周期 4例 9.5%, 子宮筋腫2症例4周期 0例, 卵管因子8症例19周期 0例, 原因不明38症例137周期 9例 6.6%であった。排卵誘発法別に周期数, 妊娠数, 対周期妊娠率を比べるとそれぞれ排卵誘発(-)121周期 3例 2.5%, クロミッド療法23周期 0例, セキシソビッド療法35周期 2例 5.7%, HMG療法 351周期26例 7.6%でHMG療法の妊娠率は他法に比し有意に高かった。精子濃度別に妊娠率を比べると2000万/ml以下では117周期のうち4例(3.4%)に妊娠を認め, 2001万/ml以上では413周期のうち27例(6.5%)の妊娠で両者間に有意差を認めた。精子運動率で比べると30%以下では147周期のうち3例(2.0%)に妊娠を認め, 31%以上では383周期のうち28例(7.3%)が妊娠し有意差を認めた。以上の結果より多胎の発生はあるもののHMGによる排卵誘発法をA I Hに併用することは有用と考えられた。男性因子に関しては精子数2000万/ml, 運動率30%を境として成績に差があり, 特に精子数500万/ml以下運動率10%以下の症例では妊娠例を認めておらずA I H療法の限界がうかがえた。

## III-48

## 多数回の精液検査症例における精子濃度のばらつき

群馬大学医学部産科婦人科学教室

○宇津木利雄, 中島敬和, 伊吹令人

【目的】精液検査で精子濃度は測定のために大きく変動する。何回の測定回数の基で精子濃度を決定すればよいか多数回の精液検査症例より統計的に検討した。

【対象と方法】当科不妊外来通院中の男性不妊症の中で, 精液検査を27回以上行った症例を, 平均精子濃度が4000万/ml以上の正常精子濃度群と, 4000万/ml以下の乏精子症群の2群に分けた。正常精子濃度群は平均精子濃度が4000万/mlから1億2000万/mlの9症例, 乏精子症群は平均精子濃度が224万/mlから2810万/mlまでの13症例を用いた。各群において, 各測定回数までの平均値を27回測定終了時の平均値(理想平均)で割り, その値を100倍して理想平均に対する移動平均をパーセントで求めた。各測定回数における移動平均値のばらつきを平均と標準偏差の2倍を求め, 95%の信頼区間を求めた。

【結果】正常精子濃度群は測定回数を2回にすると標準偏差は急激に減少した。標準偏差の2倍を5%以下に押さえるには26もの測定が必要であった。乏精子症群においては, 初めの3回までは平均値のばらつきも大きく, 標準偏差は測定回数を増加しても, 正常精子濃度群とは異なり減少しにくかった。標準偏差の2倍は26回の平均でも5%以下には至らなかった。また, 症例中精子濃度のばらつきは正規分布に従わない症例も存在した。

【考案】精子濃度は測定回数ごとにばらつきが大きく, より多数回の精液検査が必要と思われる。正常精子濃度群の方が, 乏精子症群よりも標準偏差の減少が早く, また平均値のばらつきも小さかった。乏精子症群は正常精子濃度群よりも多数回の精液検査が必要と思われる。また, 正規分布に従わない精液は平均及び標準偏差を単純に求める以外の解析方法が求められていると思われる。

## III-49

当院における不妊統計  
 原発不妊と続発不妊の相違

大阪労災病院産婦人科  
 ○亀田 隆

〔目的〕 当院における不妊患者の実態把握および原発不妊と続発不妊の原因と妊娠数の相違を把握するために当院不妊外来での統計をまとめた。〔対象〕 平成2年9月の不妊外来開設より本年6月末までの10ヵ月間に当院不妊外来を訪れた141例を対象とした。原発不妊94例、続発不妊47例で、平均年齢 $31 \pm 4$ 歳、平均不妊期間は3年5ヶ月であった。〔結果〕 A不妊原因に関する原発不妊と続発不妊の相違：重複例も含めた不妊原因のうち内分泌因子は46例（31%）、男性因子は28例（19%）、卵管因子は16例（11%）、子宮因子は6例（4%）、機能性因子は55例（35%）であった。内分泌因子を認めた46例の不妊患者のうち35例（76%）は続発不妊であり、原発不妊は11例（24%）にしかすぎなかった。またこの11例には2例の早発閉経が含まれていた。一方、男性因子を認めた28例の不妊患者ではその大部分の24例までが原発不妊であり、続発不妊は残る4例にしかすぎなかった。機能性因子55例はそのほとんどが原発不妊患者であった。B妊娠性高齢に関する原発不妊と続発不妊の相違：141例の不妊患者のうち30例（21%）が妊娠に成功した。このうち原発不妊94例の妊娠成功率は16%（15例）であったが、続発性不妊47例では32%（15例）と原発不妊に比較して高率であった。妊娠した30例のうち、内分泌療法が行なわれていたのは26例であったが、人工授精が行なわれていたのは4例にしかすぎなかった。原発不妊と続発不妊の妊娠例の間で、内分泌療法や人工授精による治療の例数に関して差を認めなかった。〔考案〕 治療の難しい機能性因子や男性因子の割合の高い原発不妊では妊娠率が低く、治療の比較的容易な内分泌因子の割合の高い続発不妊では妊娠率が高いと考えられた。従って、原発不妊と続発不妊との間の妊娠率の相違は、不妊因子の相違に起因すると言える。〔結論〕 以上のことより当院における原発不妊と続発不妊の妊娠率の相違の原因が明かとなった。

## III-50

長期不妊期間を有する症例に関する臨床的検討

倉敷中央病院産婦人科  
 ○高橋 晃 浮田昌彦 井上卓也 山中研二 中堀 隆 朴 由美

【目的】 不妊症の定義としては2年以上の不妊期間が一般に用いられているが、不妊期間の長期化が治療に与える影響について検討を行った。【対象】 対象は4年以上の不妊期間を有する90症例（長期不妊群）で、不妊期間が2年以上4年未満の119例を対照不妊群とした。長期不妊群90例の内訳は原発性不妊症66例、続発性不妊症24例で、それぞれの不妊期間の平均は80ヵ月、76ヵ月であった。【結果】 90例の中には無精子症、ターナー症候群などの妊娠不可能症例が6例あり、治療を行った73症例中妊娠成功例は25症例（32.9%）であった。一方、対照不妊群の妊娠成功例は98例中53例（54.1%）であり、対照不妊群で有意に高い妊娠成功率であった。長期不妊群の治療期間1年以内の妊娠率（1年目妊娠率）は29.1%、治療期間2年以上4年未満の妊娠率（2年目妊娠率）は17.9%であり、対照不妊群の54.1%、36.0%に比してそれぞれ有意に低率であった。また、長期不妊群の中の原発性・続発性不妊症別の1年目妊娠率、2年目妊娠率の比較では、それぞれ原発性26.9%、14.3%、続発性35.7%、28.6%といずれの妊娠率も続発性不妊症で有意に高い妊娠率であった。他院での既往治療は長期不妊群の67.8%で行われていたが、それらの症例の妊娠成功率は25.1%であり、既往治療のない症例の52.4%に比して低率であった。不妊因子の検討は、内分泌、頸管、子宮、卵管、腹腔、男性因子に分けて行ったが、長期不妊群における1患者あたりの不妊因子数の平均は2.03（原発性2.11、続発性1.79）であり、対照不妊群の1.67に比して大であった。それぞれの不妊因子の頻度は、長期不妊群、対照不妊群の間に大きな差異はみられなかった。【結論】 以上より、長期不妊群では不妊因子の重複例が増加し、他院での治療不成功例が多くなることなどから、その妊娠成功率は必ずしも満足し得るものではなかった。また、治療を始めるにあたっては、無精子症などの絶対不妊因子の存在を念頭におく必要があると考えられた。

## III-51

## 当院における不妊外来 3年間の成績

昭和大学藤が丘病院産婦人科

○清水篤, 木村武彦, 宮川善二郎, 檜林充子, 野嶽幸正

昭和63年4月から平成3年6月までに不妊を訴えて初診外来を受診した患者数は742人であった。不妊検査として、基礎体温(BBT)、通気や子宮卵管造影(HSG)等の卵管球通検査、頸管粘液検査(CM)、性交後検査としてフーナー試験、子宮内膜検査、月経血培養などを行い、性交後検査不良例にはさらに配偶者精液検査、免疫検査(抗精子抗体、HLA-DR)等を行っている。また内分泌検査は、プロラクチン(PRL)を含めたホルモン測定を行い、さらにTRH負荷試験を行って、高PRL血症および潜在性高PRL血症を診断した。BBTによって分類を行ない、一相性のものにはプロゲステロン(プロゲステロン)試験、エストロゲン-プロゲステロン試験等を行い病型分類をしている。精子運動性、卵胞発育、卵管通過性等の絶対不妊検査終了後に、不妊外来に登録した人は、HSGに対する不安、無精子症、転居を含めた検査中脱落者を除いて、平成3年6月現在422人であり、年齢は19歳から45歳(平均29.5歳)で、不妊期間は1年から14年8ヶ月であった。この中で最近受診し、現在検査中の未治療群は79人であった。343人の患者に治療を行い、①BBT、CM、尿中エストラジオール、尿中LHの測定と超音波断層法による卵胞計測等による排卵時期確認を行い、タイミングを合わせ、②パーコールによる人工授精、卵管通気法、卵管通水法、免疫療法等を行い、③薬物療法としてプリモクリプチン、シクロフェニール、クロミフェン、当帰芍薬散、メサルモンF、HMGを使用し、HCGとジドロゲステロンによって黄体サポートを行って、169人に妊娠が成立した。中途脱落者を除き修正した妊娠率は40.0%であり、さらに未治療群を除くと49.3%となった。このうち当院での分娩81例(47.9%)、帰省分娩23例(13.6%)、当院で妊娠継続中35例(20.7%)、転居転院して妊娠継続中14例(8.3%)、流産13例(7.7%)、子宮外妊娠3例(1.8%)であった。以上体外受精以外の方法による、不妊症の治療成績を報告した。

## III-52

## 当科不妊外来における最近2年間の診断・治療成績

大宮赤十字病院産婦人科

○田口宏中, 栗原寿子, 山下努, 宮坂牧宏, 安藤昭彦, 富田初男  
伊藤慎, 小林賀雄, 五十嵐正雄

大宮赤十字病院産婦人科不妊外来において平成元年1月より平成2年12月までの2年間に、不妊を主訴として来院し、検査、治療のできた272例の婦人について臨床統計的観察を行なった。原発不妊は202例(74.3%)、続発不妊は70例(25.7%)と約3:1の割合であった。初診時年齢は21才-43才に分布し、平均年齢は、原発不妊で $29.9 \pm 4.1$ 才、続発不妊では $31.1 \pm 4.1$ 才であった。来院までの不妊期間のピークは1-2年にあり、4年未満で来院する患者が203名と多かった。不妊の原因では、内分泌因子(34.9%)が最も多く、男性因子(23.2%)、機能的な不妊(21.7%)、卵管因子(14.0%)、子宮内膜症(12.1%)、子宮因子(11.8%)、頸管因子(11.0%)の順であった。また、原発不妊では、内分泌因子(36.1%)、男性因子(26.7%)が多く、続発不妊では、内分泌因子(31.4%)、機能的な不妊(25.7%)を多く認めた。妊娠率は全体で45.6%、原発不妊で42.6%、続発不妊で54.3%で続発不妊の方が高かった。各因子別の妊娠率は、機能的な不妊(71.2%)と最も高く、男性因子(44.4%)、内分泌因子(42.1%)、子宮因子(40.6%)、子宮内膜症(30.3%)、頸管因子(30.0%)、卵管因子(26.3%)の順であり卵管因子が最も悪かった。流産率は、不明なもの2例を除くと15.6%であった。

## III-53

## 当教室不妊外来における妊娠成績

利根中央病院、群馬大学医学部産科婦人科教室\*  
○小此木孝佳、安藤一道\*、山田清彦\*、伊吹令人\*、五十嵐正雄\*

〔目的〕最近4年間に当教室不妊外来を受診した不妊症患者の不妊原因、治療方法、妊娠成績等について分析し、今後の改善すべき点について検討した。〔対象〕1987～1990年間に群馬大学医学部附属病院産婦人科不妊外来を受診した1583例を調査した。〔成績〕妊娠数は510で妊娠率は32%であった。このうち流産は54例(10.6%)であり、流産率は一般の人と比べ高くはなかった。初診時年齢分布および年齢別妊娠率をみると、26～30歳が617例と最も多く、以下31～35歳582例、36～40歳220例の順であった。妊娠率については初診時年齢が若いほど妊娠率が高かった。不妊期間別妊娠率では2年未満に受診した患者の妊娠率が46～49%と高く、3年以上8年未満では期間が長くなるにつれ若干の低下の傾向があり、8年以上では18%と妊娠率が低下していた。妊娠成立までの通院期間をみると通院1年までに59%、2年までに82%が妊娠しており、5年までで妊娠例の99%を占めていた。不妊原因は卵管因子が610例(38.5%)と最も多く次いで男性因子368例(23.2%)、子宮内膜症243例(15.4%)、黄体機能不全135例(8.5%)、機能性不妊131例(8.3%)、無排卵周期症122例(7.7%)、無月経105例(6.6%)であった。原因別妊娠率では高プロラクチン血症(Occult hyperprolactinemia含む)で43%、機能性不妊45%、黄体機能不全34%、子宮奇形34%、子宮内膜症27%、排卵因子、卵管因子、頸管因子で20～25%であり、男性因子では17.7%と低値を示した。妊娠成立の動機では諸検査(通気、HSG、ヒューナーテスト)直後や排卵日指導のみの経過観察中に妊娠した症例が28%と最も多く、体外授精(IVF-ET, IVF-ETR, GIFT)19.1%、AIH12.0%、clomid療法8.6%、Bromocriptine療法6.7% Laparo大量通水6.7%であった。〔結論〕当教室の妊娠成績は妊娠率32%と良好で、この成績をさらに改善するためには乏精子症に対するAIHの改良、1年以内に脱落する症例を少なくするための努力が必要である。

## III-54

## 当科における不妊症の臨床統計

佐賀医科大学産婦人科 ○宗 完子、杉森 甫  
高邦会高木病院産婦人科 中村加代子

〔目的〕当科における不妊症患者の実態を把握するために臨床統計を行い、特に積極的に腹腔鏡検査を施行するようになった1990年5月以降と、それ以前の比較を行うことで不妊診療に対する腹腔鏡検査の有効性を検討した。〔対象〕1981年10月～1991年5月までに佐賀医科大学産婦人科不妊外来を受診した、不妊期間1年以上の488例(原発性不妊313例、続発性不妊175例)を対象とした。〔結果〕初診時平均年齢は原発性30.2才、続発性30.9才であった。平均不妊期間は原発性、続発性とも3.7年であった。不妊原因は排卵障害が最多であり(27.7%)以下子宮内膜症、男性因子、卵管および腹腔因子、高PRL血症の順であった。1990年5月以降に腹腔鏡検査を行った66例では子宮内膜症、男性因子、排卵障害の順であった。また、男性因子、卵管因子が正常にも拘らず、PSRT(腹水中精子回収試験)陰性が2例存在した。腹腔内の検索を行っている146例中、子宮内膜症は82例(56.2%)に認められた。(R-AFS I期35例、II期7例、III期24例、IV期16例)。1990年5月以降に限ると、47例(71.2%)であった。(R-AFS I期32例、II期5例、III期7例、IV期3例)。Ⅲ、Ⅳ期の症例に対し1990年5月以前は全例開腹手術が行われていたが、その後は腹腔鏡下操作のみで開腹に至った症例はなかった。妊娠は152例(31.1%)に成立、原発性89例(28.4%)、続発性63例(36.0%)であり、原因別では頸管因子が最も高く(47.6%)、以下高PRL血症、排卵障害、子宮内膜症の順であった。腹腔鏡施行後の妊娠は4例(6.1%)、待機療法が2例、AIHが2例であった。〔結論〕患者に与える侵襲が最小限に押さえられ、腹腔内の正確な情報を得ることで不妊原因の検索、また同時に癒着剝離などの治療も行うことができ、より適切な治療計画を立てることができる腹腔鏡検査の有効性は大きい。

### III-55 「当院における腹腔鏡 578 例の検討」

向仁会 永井病院

○角田千恵子、永井宏

腹腔鏡検査は、不妊症のみならず種々の疾患の確定診断、治療方針決定に極めて有用な検査となっている。当院では、昭和54年より腹腔鏡を導入し、昭和59年より本格的に実施している。今回我々は、平成2年までの7年間に実施した578例の検査成績をまとめ検討を行ったので報告する。腹腔鏡検査578例は、当院の開腹手術1334例の43.3%に及んでおり、施行患者の年齢は16才から55才までで、25～29才が29.6%、次いで30～34才が27.7%を占めた。主訴別でみると不妊が最も多く、34.7%、次いで月経困難症17.9%、下腹部膨隆感16.2%となっている。

不妊症例237例は、年齢別にみると30～34才が最も多く40.9%、次いで25～29才28.9%、35～39才20.3%を占めた。腹腔鏡施行後の診断は、子宮内膜症35.4%、子宮筋腫16.7%、卵管因子・異常なしがいずれも13.3%PID8.3%を占めた。子宮内膜症72例における進行期分類は、R-AFS I期が35%と最も多く、次いでII期26%、III期22%、IV期17%を占めた。妊娠例は37例であり、I期・II期各々11例、III期9例、IV期6例であった。治療目的で行われた開腹術施行症例は136例(57%)であり、手術内容はマイクロサージャリーによる卵管形成術、癒着剥離術及び子宮筋腫核出術、チョコレート嚢腫摘出術、子宮位置矯正術、子宮奇形修復術等であった。妊娠症例73例中、開腹術施行症例は41例(56%)であり、殆どの症例が1.5年以内に妊娠に至った。異常所見の得られなかった32例は、腹腔鏡下卵管通水術のみ行われた事になるが、その後12例が平均6.6ヶ月で妊娠に至った。

当院では配偶子操作治療を施行していないため開腹手術施行例が多くなっており、腰椎麻酔で腹腔鏡を施行しているため、長時間にわたる鏡下処置は行っていないが、今後検討する必要があると思われる。

### III-56

当科における体外受精・胚移植の治療成績

帝京大学医学部付属市原病院産婦人科、 同・臨床研究部\*

○五味淵 秀人・太田昭彦\*・金子義晴・貝原 学

わが国でも不妊症治療の一環として体外受精・胚移植が多くの施設において施行されるにいたり年々成功率の上昇が報告されている。われわれも平成元年4月より体外受精・胚移植の臨床応用を開始したので当科における現況について報告する。平成2年4月より平成3年6月までの間に25症例の37周期に採卵を行った。主たる適応は、卵管性不妊18周期、男性不妊13周期、原因不明不妊6周期であった。排卵誘発はGn-RHagonist + HMG + hCGにより行った。全例ともGn-RHagonistは月経開始時より900 μg/day投与し、月経第3日よりHMGを投与した。超音波検査より卵胞径18mm以上となった時点でHMGを中止しhCGを投与した。hCG投与後約34時間で経腔超音波下に採卵を行った。37周期全てに1個以上の成熟卵が採取され(平均採卵数5.8個、採卵率65.6%)、受精の確認された23周期に胚移植を行った(平均移植胚数2.3個)。23周期中15周期は4細胞期胚を移植、残り8周期は前核期胚を子宮内に移植した。黄体補充療法としてプロゲステロン筋注を行い、採卵より2週間目に尿中hCGを測定し妊娠の判定をおこなった。以上の行程は原則として外来ベースで行った。この結果、12周期に妊娠が成立し、対胚移植当りの妊娠率は52.2%であった。4例は流産となったが、2例は正期産となりさらに6例は妊娠継続中である。また、胎児心拍確認例はいずれも単胎であった。適応別の妊娠率では卵管性不妊22.2%(4/18)、男性不妊30.8%(4/13)、原因不明不妊66.7%(4/6)であった。また、胚移植時期別に妊娠および予後をみると、4細胞期胚移植をした周期では妊娠率40.0%(6/15)、流産率16.7%(1/6)であったが、前核期胚移植では妊娠率75.0%(6/8)と高率であったものの流産率は50.0%(3/6)と高率で結果的に妊娠継続率は同等であった。なお、出生児に異常は認められなかった。

## III-57

## 当周産期センターにおける子宮筋腫合併妊娠の経過について

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院周産期センター

○竹内 久清, 藤脇伸一郎, 鈴木廉三郎, 熱田 洋, 会沢 芳樹,  
松井 弘文, 荻原 哲夫, 海老原 肇, 萩庭 一元, 雨宮 章

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院では昭和62年5月開院以来55例(初産31例, 経産24例)の筋腫合併妊娠及び34例(初産26例, 経産8例)の筋腫合併分娩を経験した。筋腫合併の頻度は2460妊娠中55例(2.2%), 2020分娩中34例(1.6%)で従来の報告よりやや高い。その年齢分布は20才より5年毎にみると30~34才が最も多く18例(32.7%), 35~39才では経産婦の割合が増し, 40才以上ではすべて経産婦であった。当センターでは保存的管理を原則としており, 妊娠中の筋腫核出術施行は2例のみで, その適応は直径91mmの子宮底部有茎筋腫の捻転と直径81mmの子宮底部筋腫の増大の為であった。保存管理群では経腔分娩21例, 早産2例, 流産14例であった。また筋腫核の直径が80mm以上の大きなものは13例を数えた。これらを年齢別に観ると30才以上が11例(84.6%)であったが初産婦が10例と多く子宮筋腫による不妊歴が示唆された。このうち流産例は2例(15.4%)で各々15w2dと9w1dの例であった。分娩10例のうち帝切は7例で非常に高い率を示した。平均児体重は2910gで一般出生児と著変は認めなかった。一方, 全筋腫合併妊娠例の帝切は11例で, その適応は児頭下降不全3例, 分娩停止3例, 筋腫核出術後3例など子宮筋腫の存在そのものが帝切の原因となる症例が多かった。帝切例における筋腫発生部位は底部2例, 体部6例, 頸部及び体部下3例であった。流産は平均10w4dで発生しており, 通常の流産の時期より遅かった。分娩所用時間は平均, 初産9時間24分, 経産6時間47分でいずれも遷延分娩はなかった。分娩時出血量は平均, 初産532ml, 経産506mlであった。児体重は平均, 初産3052g, 経産3162gでApsは7以下が1例のみで, 前置胎盤及び児腎奇形合併例であった。分娩後の子宮筋腫は縮小13例, 消失9例, 不変7例, 増大1例などであった。産褥では一般に悪露が長く, 筋腫からの出血・感染が問題となるが, 赤色変性を起こし感染が加わり帝切後31日目に子宮全別術を施行せざるを得なかった症例も経験した。

## III-58

## アンケート調査よりみた体重減少性無月経の疫学および病態

大阪医科大学産婦人科学教室

○金子 卓嗣, 宮崎 和典, 鈴木 佳彦, 奥田 弘賢, 太田 栄  
杉山 修成, 坪倉 省吾, 杉本 修

【目的】ストレスやダイエットに端を発した体重減少性無月経は, 近年その頻度を増していると考えられる。しかし, 患者の多くが未婚の若年婦人であり, 受診に対する抵抗感から, 産婦人科医を訪れない例が多く, その疫学, 病態等については必ずしも明確に把握されていない。今回, 未婚の若年婦人にアンケート調査を行い, 体重減少性無月経の疫学, 病態について若干の知見を得たので報告する。

【対象と方法】17歳から25歳までの女子高校生および看護学生を対象に体重減少, 月経不順の既往及びその転帰等についてアンケート調査を行なった。

【結果】有効回答630名中, 5kg以上の体重減少の既往を持つものは211名(33.5%)で, そのうち月経不順を伴ったものは72名(34.1%)であった。この72名のうち自然治癒は35名(48.6%)に認め, 残りの37名(51.6%)は自然治癒を認めなかった。自然治癒は大半(81.5%)が6カ月以内に起こっており, 体重減少率が15%未満の群の45名中25名(55.5%)が自然治癒したのに対し, 15%以上の群の自然治癒は27名中10名(37.0%)でやや低い治癒率を示した。また, 体重の回復率が50%以上の群は45名中28名(62.2%)が自然治癒したのに対し, 50%未満の群の自然治癒は27名中7名(25.9%)で有意に低い治癒率を示した。

【考察】若年婦人の高率に体重減少性無月経を認めしたが, 早期に体重の回復がはかれたものは半数以上が自然治癒することがわかった。しかし, 体重の減少率が高いものや, 体重の回復が計れないもので, 月経不順が6カ月以上持続するものは, 自然治癒する可能性が低く, 積極的な治癒が必要となると考えられた。

## IV-1

## 持続性勃起症治療後インポテンス患者における動的陰茎海綿体内圧測定および陰茎海綿体造影

慈恵医大泌尿器科

○中條 洋 町田 豊平 高坂 哲 池本 庸

持続性勃起症治療後のインポテンス患者2例に対し、海綿体内血流動態を観察する目的で、今回動的注入による海綿体内圧測定および海綿体造影を行なった。

対象：慈恵医大泌尿器科を受診した持続性勃起症患者のうち、治療後ポテンツの保たれなかった2例を対象とした。1例目は、低流量型の持続勃起症例で、陰茎海綿体一伏在静脈シャント形成術を施行後原疾患は改善したが、インポテンスとなった。2例目は、低流量型の持続勃起症例に対し、亀頭陰茎海綿体シャント形成したものである。治療後検査までの期間は、それぞれ6ヵ月および3ヵ月であった。

方法：21G針を陰茎海綿体内に留置し、生理的食塩水を40、60、80、100、120ml/分で注入し、海綿体内圧曲線と勃起の状態を記録。また、薬物（塩酸パパバリン40mg）注入による内圧変化を記録した。同時に、海綿体造影も施行した。

結果：非注入時陰茎海綿体内圧は、1例目は40cmH<sub>2</sub>Oと高く、2例目は針注入箇所により3～22cmH<sub>2</sub>Oまで差が認められた。注入時内圧は、2例とも注入量により変動はほとんど認められなかった。塩酸パパバリン注入後も内圧の変化は認められなかった。海綿体造影では、2例ともそれぞれのシャントを経由して良好な静脈還流が認められたが、粗像な海綿体構築を認めた。

結論：持続勃起症治療後のインポテンス患者2例に動的陰茎海綿体内圧測定および海綿体造影を行なった。両者の併用により海綿体繊維化の程度と静脈還流の状態を推定でき、持続勃起症治療の評価と、インポテンスの治療方針決定に有用であると考えられた。

## IV-2

## 凍結保存前後の各種精子機能検査の変化

聖マリアンナ医科大学産婦人科

○近藤俊彦・石塚文平・渡辺研一・大野祐子・堀越祐史・栗林 靖  
斎藤寿一郎・浜田 宏

凍結保存の精子機能に与える影響を知る目的で凍結前後に一般精液検査、ハムスターテスト（HAM）、eosin-Y超生体染色法（EOY）、hyposmotic swelling test（HOST）を行いそれらの変化を検討した。対象は18例の不妊症患者で精子濃度 $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上で運動率50%以上を正常群（7例）、それ以外を異常群（11例）とした。一般精液検査は、精液自動分析装置（セルソフト）を使用した。HAMは凍結保存卵を用い、EOYは0.5% eosin-Yを用いて1～2分で100精子の非染色率を算定した。HOSTは0.1 mlの精液と150mOsmolのhyposmotic solutionを混和し、30～60分後に精子尾部の膨化率を算定した。精子凍結はKS-IIを使用しドライアイス錠剤化凍結法または液体窒素蒸気簡易凍結法にて行い、凍結後約3か月で解凍し検査を行った。凍結保存前後の一般精液検査の平均運動率（mean±SE）は、 $51.2 \pm 6.5\%$ より $27.8 \pm 6.5\%$ へと有意（ $P < 0.02$ ）に減少した。HAMでは、症例全体で平均精子侵入率（mean±SE）は、 $50.9 \pm 7.8\%$ から $22.1 \pm 5.8\%$ へと有意（ $P < 0.002$ ）に低下したが、正常群では、有意な変動はなく異常群では $44.7 \pm 9.9\%$ から $14.9 \pm 4.9\%$ へと有意（ $P < 0.02$ ）に低下した。EOYも同様に全体で平均非染色率（mean±SE）は、 $66.7 \pm 3.8\%$ から $43.3 \pm 8.6\%$ に有意（ $P < 0.02$ ）に低下し、正常群では有意な低下は見られず異常群では $59.5 \pm 5.0\%$ より $28.0 \pm 11.3\%$ へと有意（ $P < 0.05$ ）に低下した。HOSTは、正常群、異常群ともに有意な変動は見られなかった。以上、精子凍結保存は一般精液検査異常例においては精子受精能を低下させることが示唆された。

## IV-3

Makler 計算盤による精子運動能指数 (SMEI) の測定—血球計算盤を用いた従来法との比較検討—

東北大学泌尿器科<sup>1</sup>, スズキ病院<sup>2</sup>, 泉中央病院<sup>3</sup>, 今野病院<sup>4</sup>  
 ○中角尚誉<sup>1</sup>, 前原郁夫<sup>1</sup>, 蓮田精之<sup>1</sup>, 平松正義<sup>1</sup>, 高橋 勝<sup>1</sup>, 折笠精一<sup>1</sup>,  
 蛭田益紀<sup>2</sup>, 鈴木雅洲<sup>2</sup>, 光川史郎<sup>3</sup>, 佐藤和宏<sup>4</sup>

【目的】精液検査の中で、精子運動性は受精能を評価する上で最も重要な要素の一つである。従来より我々は運動性を客観的に評価する指標として精子運動指数 (sperm motile efficiency index: SMEI) を用いてきた。近年普及しつつある Makler 計算盤を用いても SMEI の測定は可能であるが従来の血球計算盤による測定結果との関係は明らかではない。そこで今回我々は、同一検体の SMEI を従来方法

(SMEI-H) と Makler 計算盤を用いた方法 (SMEI-M) で算定し、2つの測定結果を比較検討した。【対象及び方法】東北大学付属病院泌尿器の不妊外来を受診した患者の精液34検体を対象とし、SMEI-Hを含めた通常精液検査と SMEI-M を測定した。SMEI-M は希釈しない精液を用い、顕微鏡下に1mmの線上を1分間に横切る精子数(N)を測定し、これを10区画の精子数(D:精子濃度=D×10<sup>6</sup>/ml)で除した値とした。SMEI-M = 100N/D

【結果】通常精液検査の結果は、精液量: 3.03 ± 1.43 ml (mean ± SD), 精子濃度: 52.7 ± 35.4 × 10<sup>6</sup>/ml, 運動率: 49.4 ± 10.9%, SMEI-H: 79.6 ± 55.1 であり、SMEI-M は 135.8 ± 84.1 であった。SMEI-H (X) と、SMEI-M (Y) との相関係数は 0.82 (p < 0.01) と、良い相関を示し、回帰直線は Y = 1.2484X + 36.390 であった。

【結論】従来法による測定値 (SMEI-H) と Makler 計算盤による測定値 (SMEI-M) は良い相関を示し精子運動性を簡便に、客観的に評価し得る指標であると思われた。

さらに精子運動分析装置を用いて精子運動を解析し、SMEI がどのようなパラメーターを反映しているのかを検討し報告する。

## IV-4

原因不明不妊における精子機能検査に関する検討  
 (acrosin活性とHOS testを中心に)

神戸大学医学部泌尿器科学教室

○中川泰始、林 晃史、今西 治、岡田 弘、松本 修、  
 守殿貞夫

【目的】男性の妊孕力は、必ずしも一般的な精液所見(精子濃度、運動率、奇形率等)の良悪と相関していない。したがって、妊孕性とよく相関する精子機能検査の出現が望まれている。今回我々は、原因不明不妊症例について、acrosin活性測定とHOS testを中心に精子機能を表示するとされている各種検査を行ない、若干の知見を得たので報告する。

【対象】対象は精液所見正常であるにもかかわらず、妊娠に至らない原因不明不妊患者で、正常男性を対照とした。

【方法】acrosin活性はKennedyらの方法 (J.Androl 1989,10:221-231)に準じて測定した。Ficoll遠沈法にて得られた洗浄精子を界面活性剤のTriton X-100,および基質N-α-benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide (BAPNA)とpH 8.0,22~24℃で反応させamidase活性を算出した。HOS testはTeaらの方法 (Pathol. Biol. (France) 31/8:688,1983)即ちMS法にて回収した運動精子を150mOsmの低浸透圧溶液と混和し、30~60分間、37℃、5%CO<sub>2</sub>下でincubateした後、倒立位相差顕微鏡(×400)で検鏡、100以上の精子を算定し、Jeyendranらの報告のごとく、a-gの7 typeに分類した。

【結果およびまとめ】原因不明不妊患者のacrosin活性は正常男子に比し有意に低く (p < 0.001)、約40%が正常男子の最低値より低かった。この成績は本活性の低下が不妊の原因となる可能性をうかがわせる。HOS testでは一般に精子尾部機能を最もよく反映するといわれるg typeについて検討すると原因不明不妊患者は正常男性のそれと比較して有意に低く (p < 0.01)、精子尾部機能の障害が示唆された。acrosin活性とg type の比率との間に相関は見られなかったが、両方とも低値を示した症例も散見された。なお、PenetrakおよびHamster testについても検討し報告する予定である。

## IV-5

## 男子不妊とストレス

昭和大学藤が丘病院泌尿器科 1), 精神科 2)

○坂本 正俊, 1) 池内 隆夫, 1) 甲斐 祥生, 1)  
北村 勉, 2) 伊東 昇太, 2)

不妊外来を訪れる夫婦症例の中に、情緒的な問題を持った患者がおり、臨床上で対応に苦慮することがあります。我々は不妊症患者に対し、心理学的検討をシリーズ的に行っており、第10回アンドロロジー学会では絶対的不妊症であるクラインフェルター症候群について検討し、TPIでは抑鬱、心気、ヒステリーの神経3尺度に以上値を示すものが高頻度に認められ、大人しく、内向的だが交友的という性格特性を示しながらも、軽度抑鬱感と共に、不安、緊張、焦燥、対人恐怖等の病像が認められた結果を得た。そこで今回精液所見以上を認めず、身体的・器質的疾患のない男子不妊症患者30例に対し、各種心理検査を試みた。Y-G testで約1/3に不安・葛藤の処置に問題を示すBないしE型が見られることなどから、情動統制の不安定さが認められた。問診からの知見では、神経症的性格特性に加え、社会的ストレス、特に職場内対人葛藤及び仕事量などの負担が目立った。又、軽度抑鬱感、全身倦怠感、易疲労感、動悸、発汗異常等の種々の神経症状を発現する例が多かった。これらの事と関連する負荷をラットに加えた実験を行い、その結果も合せて発表する予定である。

## IV-6

## クロミフェンの子宮内膜発育に及ぼす影響について

山口県立中央病院産婦人科

○上田一之, 富松 健, 中田雅彦, 西村博通

排卵障害患者の治療においてクロミフェンは、最も広く用いられている薬剤の一つであるが、その排卵誘発効果に比較して妊娠率が低いことが問題とされている。今回我々は、そのエストロゲンレセプター拮抗剤としての作用が子宮内膜の発育に悪影響を及ぼす可能性について子宮内膜のステロイドレセプターを測定し検討した。

対象は当科不妊外来を受診した患者のうち子宮内膜日付診(日付診)にて異常を認めない12例とした。これら患者にクロミフェン(50~100 mg/日, 5日間)を投与し、無治療周期と治療周期の排卵直前及び排卵後6~8日目に採血し、同時に子宮内膜を採取した。内膜組織は一部を日付診に一部をプロゲステロン及びエストロゲンレセプター(PgR, ER)測定に用い、血中エストラジオール(E2), プロゲステロン(P)値を測定した。ステロイドレセプターはアボット社製のモノクローナル抗体を用いたキットで測定し、血中ステロイド値はRIAにて測定した。

クロミフェン周期では無治療周期に比較して、排卵前では血中E2は有意な高値を、内膜ERは有意な低値を、PgRは低い傾向を認めた。排卵前ER/E2比, PgR/E2比はクロミフェン周期に有意に低値であった。黄体期ER, PgR, E2, P, ER/E2比及びPgR/E2比に有意の差は認められなかった。黄体期の内膜日付診は、無治療周期では全例正常であったが、クロミフェン周期では12例中7例に内膜の発育不全を認めた。以上の結果より、クロミフェン治療は卵胞期内膜のステロイドレセプターの誘導を阻害し、黄体期内膜の発育成熟に悪影響を及ぼす可能性が示された。

## IV-7

黄体中期における経腔超音波断層法による子宮内膜の厚さの検討  
— 自然排卵周期群とclomiphene投与群との比較—

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○白井孝昭、高橋健太郎、吉野和男、八木美佐子、北尾 学

受精卵の着床、維持を向上させるには、黄体期の環境が重要な役割を果たしている。子宮内膜は、月経周期により周期的に変化を繰り返し、その変化に関しての検討がいろいろとなされている。今回、黄体中期に子宮内膜の厚さを測定し、ホルモン値との関連について検討した。

研究対象は、当科不妊・内分泌外来を受診した24名の患者で、自然に排卵を認めた群(SO群、16名)と、clomiphene投与群(CL群、8名)に分類した。排卵は超音波断層法および基礎体温にて確認し、黄体中期(高温相6から10日目)に血中estradiol-17 $\beta$ (E<sub>2</sub>)、progesterone(P)をRIAにて測定し、子宮内膜の厚さを経腔超音波断層法を用い、縦断像にて厚さの最大値を測定した。そして、SO群とCL群においてE<sub>2</sub>値、P値、P/E<sub>2</sub>比および子宮内膜の厚さを比較検討した。1) E<sub>2</sub>、P値は、CL群においてSO群よりも高値であった。2) P/E<sub>2</sub>比と子宮内膜の厚さは、SO群、CL群間には差はなかった。3) SO群において、E<sub>2</sub>値、P値と子宮内膜の厚さとの間に有意な正の相関関係(E<sub>2</sub>: $r=0.53$ ,  $p<0.05$ , P: $r=0.57$ ,  $p<0.05$ )が認められたが、CL群においては明らかな相関関係は認められなかった。

以上より、黄体中期における子宮内膜の厚さに関しては、自然排卵周期、clomiphene投与では差は認められなかった。また、自然排卵周期ではE<sub>2</sub>あるいはPと子宮内膜の厚さと相関を認めたが、clomipheneを投与すると子宮内膜の厚さとホルモン値の間には相関関係を示さなかった。このことよりestrogen拮抗作用を有するclomiphene投与により、ホルモン値と子宮内膜の厚さのアンバランスが生じた可能性が示唆された。

## IV-8

## 自然排卵周期及びhMG-hCG排卵誘発周期における子宮内膜の厚さと輝度の変化

岡山大学産婦人科学教室

○白河一郎、吉田信隆、清水健治、谷 政明、平野由紀夫、  
片山隆章、多賀茂樹、名越一介、関場 香

【目的】hMGによる排卵誘発周期では黄体期の短縮が認められることを報告してきた。この際の血中estradiol(E<sub>2</sub>)、progesterone(P)及び超音波子宮内膜像が自然排卵周期と異なるか否かを検討し、さらにhCG投与によるluteal supportの効果をあわせて検討した。【方法】hMG投与周期24例にはhMG150IUを月経5日目から連日投与、主席卵胞の3方向平均径が18mmとなった時点で投与を中止し、翌日hCG10,000IUを投与した。そのうち7例(hMG単独群)は以後無処置とし、10例(hCG3,000追加群)には初回hCG投与日から5、9、13日目にhCG3,000IUを投与し、残りの7例(hCG1,000追加群)には同様にhCG1,000IUを投与した。これらの症例に血中E<sub>2</sub>、P測定及び経腔超音波内膜計測を行った。また子宮内膜の高輝度部分をhyperechoic endometrial area:HEAとし内膜全体の厚さに対するHEAの割合をHEA ratioとした。【成績】卵胞期では子宮内膜の厚さは自然排卵周期群では経日的に増加したのに対して、hMG投与周期では卵胞期初期から中期にかけて急速に増加しその後緩徐となり、その間の子宮内膜の厚さと血中E<sub>2</sub>の間には何れにも正の相関が認められた。つぎに黄体期では、自然排卵周期群(黄体期平均13日間)の血中Pは排卵後7日目に18ng/mlのpeakをとり、HEA ratioは9日目まで増加し100%のplateauとなった。hMG単独群(同9日間)の血中Pは排卵後早期の4日目に104ng/mlのpeakを示し、HEA ratioも同日の72%をpeakとし以後60%まで低下した。hCG3,000追加群(同17日間)の血中PはhCG投与に伴い脈波状の変動を示したが絶対値は上昇し長期に持続、HEA ratioは排卵後7日目に88%のpeakを示し以後減少した。hCG1,000追加群(同18日間)でも血中Pは同様の経過を示しHEA ratioは排卵後7日目に85%のpeakを示した。【結論】以上よりhMGによる排卵誘発周期においてhCG投与量による差は認められないものの、黄体期の延長および血中Pの持続、HEA ratioの変化に効果が認められた。

## IV-9

## 分泌期中期における子宮内膜超音波像とその組織学的背景について

岡山大学産科婦人科学教室

○谷 政明、吉田信隆、清水健治、野間 純、平野由紀夫、  
片山隆章、多賀茂樹、名越一介、中塚幹也、関場 香

【目的】排卵周期における子宮内膜超音波像は増殖期から排卵まで肥厚し、増殖期後期から分泌期中期にかけては筋層に接した部分から中心に向かって徐々に高輝度領域が占めてくる。しかし一部にはその特異的变化を示さないものも認められる。そこでこの子宮内膜超音波像と子宮内膜日付診との関係を、内膜一掻組織診により対比を行い検討した。【方法】対象は1988年10月から1991年7月までの間の当科不妊外来受診者のうち、連日の経腔超音波断層法により自然排卵(卵胞の消失:L<sub>0</sub>)を確認し、L<sub>6</sub>~L<sub>9</sub>に内膜組織の採取を行い得た21例である。内膜超音波像は正中矢状断面を観察し、内膜全体の厚さに対する筋層から中心部に向かう高輝度エコー部分の割合をHEA (hyperechoic endometrial area) ratioとして%表示した。内膜組織はL<sub>6</sub>~L<sub>9</sub>に前壁または後壁正中から一掻き搔爬にて採取、腺上皮、腺、間質など12個のパラメータを用いて日付診を行った。【成績】超音波にて定型的内膜エコー像を示したものは11例であり、不均一エコー像を示したものは9例、描出されなかったものは2例であった。定型例をHEA ratio 70~80、80~90、90%以上に分け組織像を比べると、腺上皮細胞 N/C比、分泌上皮、間質血管の細胞浸潤はそれに伴い増加、核下空胞腺、間質細胞密度は減少し、排卵日よりの日付診と一致した。一方、不均一内膜像を示した9例の組織診は早、中、後期の様々な内膜像が混在し、組織学的日付診は不可能であった。また超音波の方向で内膜像が描出できなかった残り2例は組織学的日付診は分泌期のずれを認めなかった。【結論】定型的子宮内膜超音波像を示すものは組織学的日付診がHEA ratioと一致し、均一な内膜組織像が得られたが、不均一内膜エコー像を示す症例は組織像も不均一であり日付診が不可能であった。これらより超音波日付診は典型的内膜エコー像を示す症例においては組織学的日付診とほぼ一致し、HEA ratioによる分泌期子宮内膜の評価も有用であると考えられた。

## IV-10

## 経腔超音波断層法における子宮内膜像と子宮内膜組織所見と血中卵巣ホルモン値との比較検討

東京医大 産婦人科学教室

○内海靖子 佐藤妙子 入江 宏 清水洋一  
山縣邦彦 山田悦郎 中村文武

〈目的〉経腔超音波断層法による着床期子宮内膜のエコー像と卵巣ホルモン値及び子宮内膜組織像との関連性について検討した。〈対象及び方法〉①不妊を主訴とし当科外来を受診した機能性不妊患者のうち自然排卵周期を有する70症例とコントロール群5症例を対象とした。②内膜像の観察は"ソノビスターCS(持田)"の6MHzの経腔超音波を用いた。内膜の厚さは子宮底部に平行で、midline echoに対し垂直な面で、高輝度領域の最大巾を測定した。③内膜の組織診はBBT及び経腔超音波により卵胞の消失を認めた日を排卵日とし、その後7日目から9日目に施行した。④同時に血中estradiol (E<sub>2</sub>)、progesteron (P)値をRIA法にて測定。〈成績〉①着床期子宮内膜日付組織診の一致したもの(一致型)70症例中39例(56%)、組織像が2日以上の変れを示したもの(遅延型)24例(34%)、腺腔構造と間質の一致しないもの(分離型)7例(10%)であった。②一致型の子宮内膜エコー像の厚さは平均11.0±2.3mm, E<sub>2</sub>: 244.9±80.9 pg/ml, P: 12.9±4.2 ng/ml。遅延型の子宮内膜エコー像の厚さは平均11.3±4.5mm, E<sub>2</sub>: 192.5±89.7 pg/ml, P: 9.6±3.1 ng/ml。分離型の子宮内膜エコー像の厚さは平均9.0±1.7mm, E<sub>2</sub>: 206.5±89.2 pg/ml, P: 9.6±2.1 ng/ml。③各内膜エコー像と内膜組織型:一致型では内膜全体が高輝度領域であり、midline echoも不鮮明なものがほとんどであるのに対し、遅延型及び分離型では鮮明なmidline echoの周辺に低輝度領域、さらに外周に高輝度領域を持つものや、高低両輝度領域の混在するものが多くみられた。〈結論〉①自然排卵周期の各期経腔超音波断層法による子宮内膜像、内膜組織の変化、血中E<sub>2</sub>、Pの分泌動態は内膜の形態を推定する指標となり得た。②血中E<sub>2</sub>、P低値から形態異常を推察することは可能であったが、子宮内膜エコー像の厚さの変化のみでは両者の間に有意な差は認めず、エコー像の輝度の変化と併せて今後形態学的検討を要す。

## IV-11

## 妊娠周期の子宮内膜日付診

群馬大学医学部産科婦人科学教室,\*群馬大学医学部第一病理学教室  
○安藤一道, 中里洋一\*, 山田清彦, 道下正彦, 水沼英樹, 伊吹令人

【目的】非妊時の子宮内膜日付診断の意義を再評価する目的で、妊娠成立時の子宮内膜日付診断を検討した。

【方法】平成元年4月から平成3年6月までに当科不妊外来を受診した不妊婦人の内、尿中LHの測定により尿中LHサージ日(Day 0)を把握できた185例に対して、黄体期初期(Day 3-5)・中期(Day 6-8)・後期(Day 9-12)に可及的に血中progesterone値を測定し、同時にDay 6-12に子宮内膜組織診を実施した。

【成績】185例中In Phaseと診断された症例は136例(73.5%), Out of Phaseは34例(18.4%)で、同周期に妊娠成立していたのは15例(8.1%)であった。これら15例の内Day 7-11の間に子宮内膜組織診が施行された10例では全例In phaseと診断された。このうち1例は妊娠5週に自然流産したが絨毛の染色体検査により16 Trisomyであった。また他の1例は2回目の子宮外妊娠であったが、残る8例にはfirst trimester abortionを認めなかった。これに対してDay 12に組織診が施行された5例中4例では間質の明かな発育遅延(浮腫の持続, Predecidual reactionの発達不良)を認めOut of Phaseと診断された。しかし妊娠例の血中progesterone値はDay 10, 11, 12に各々 $18.8 \pm 4.00$  (n=3) (mean  $\pm$  SE) ng/ml,  $18.0 \pm 3.73$  (n=4),  $30.2 \pm 3.22$  (n=6)と非妊時に比べ有意(p<0.01)の高値を示すことから、これらの遅延は妊娠成立による子宮内膜の変化のためと思われた。これら5例の妊娠予後を見ると1例のみに妊娠6週で子宮内胎児死亡を認めたが、他の4例は予後良好であった。

【結論】非妊時の子宮内膜所見を基準に妊娠周期の子宮内膜日付診をすると、Day 11までに子宮内膜組織診が施行された例はすべてIn Phaseと診断されたが、Day 12では妊娠の影響により見かけ上Out of Phaseを示すことが明かとなった。

## IV-12

## 当教室における黄体機能不全の検討

金沢医科大学産科婦人科学教室  
○桑原惣隆、丹野治郎、小泉麻美、上田由生子、吉田勝彦、井浦俊彦、高林晴夫

(研究目的) 黄体機能不全はProgesterone(P)分泌機能および産生期間の異常により月経異常、不妊および不育症となるものである。今回は不妊症にて当科で治療した141例につき黄体機能不全の調査をした成績を報告する。

(研究成績) 黄体機能不全と考えられた症例は141例中27例(19.2%)であった。この中BBTが二相性で血中P値が2-10 ng/mlを示したものは9例(7.9%), short luteal phaseでP値が10 ng/ml以上を示したものが3例(11.1%)に認められた。本症には潜在性高PRL血症の群があり、卵胞期後期のLHRH testでは正PRL群ではFSH, LH基礎値が有意に高く、FSH反応値は低く、LH反応値は高くなる傾向を示した。潜在性高PRL群で本症の場合はFSH基礎値以外は同様の傾向を示した。高PRL血症で無排卵周期症群ではFSH, LHの基礎値、反応値共に低下傾向にあった。

(考察) 黄体機能不全の診断上BBTと血中P値の対比において血中P値による診断基準、測定時期との関係や子宮内膜像など検討する必要がある。また、本症には正PRL血症と潜在性高PRL血症と考えられる群があり、卵胞期後期のLHRH test上、正常対照群に比しFSH, LH基礎値の上昇、FSH反応性の低下、LH反応性亢進などの傾向が認められ間脳-下垂体系での機能異常、卵巣における卵胞発育、黄体形成および性ステロイド産生能における異常の存在を示唆するものと考えられる。

## IV-13

新しい尿中 LH 簡易検出キット〔クリアプラン・ワンステップ〕  
の有用性に関する臨床的検討

富山医科薬科大学産科婦人科学教室

○脇 博樹, 久具宏司, 新居 隆, 泉 陸一

不妊症治療における排卵予知に LH の測定は非常に重要であり、種々の方法が行なわれている。クリアプラン・ワンステップは、LH に対するモノクローナル抗体を用い、サンドイッチ型免疫測定法と免疫クロマトグラフィーの原理を組合せた尿中 LH 簡易検出キットである。このキットではテストスティック先端に尿をつけることにより 5 分後に判定可能となる。今回我々は、その有用性について検討した。

【対象および方法】不妊症患者 16 人 17 周期について検討した。その内訳は自然周期 15 人 16 周期、clomiphene 投与周期 1 人 1 周期であった。なお clomiphene 周期での hCG 投与はなされていない。排卵予定日 4～5 日前から約 8 日間にわたり早期尿および夕方の随時尿を採取し、クリアプラン・ワンステップによる尿中 LH の検出およびハイツインクロン LH による尿中 LH の半定量を計 272 検体に対し行なった。ハイツインクロン LH による検出では、尿中 LH 40 mIU/ml 以上を LH 陽性とした。

【結果】ハイツインクロン LH を基準にしたクリアプラン・ワンステップの sensitivity と specificity を 272 検体について検討したところ、それぞれ 78%, 95% であった。ハイツインクロン LH で LH surge を認め、15 周期では、クリアプラン・ワンステップにおいても尿中 LH を検出した。ハイツインクロン LH による LH surge の開始時期とクリアプラン・ワンステップによる LH 陽転時期は、15 周期中 8 周期で一致しており、他の 7 周期も 0.5 日以内のずれであった。ハイツインクロン LH により LH surge が認められなかった 2 周期のうち 1 周期はクリアプラン・ワンステップで LH 陽性を示した。

【結論】クリアプラン・ワンステップは簡便な尿中 LH 検出キットであり、検査を経時的に行なうことにより LH surge の検出に有用であると考えられた。

## IV-14

## 超音波多嚢胞型卵巣における内分泌学的検討

岐阜大学医学部産婦人科学教室

○操 良, 中川美紀, 和田圭介, 玉舎輝彦

【目的】多嚢胞卵巣症候群は、典型的な Stein-Leventhal syndrome はむしろ稀で症候的にも内分泌的にもそれに類似的なものの集合体である。最近の経膈超音波診断装置の解像力の向上により、形態上多嚢胞型の卵巣を診断することが可能となった。卵巣の多嚢胞型の変化はテストステロンにより誘導されるという報告がある。そこでこの卵巣の超音波上の形態学的変化とアンドロゲンの関係を分析した。【方法】1990年4月から1991年3月末までの不妊、内分泌外来の患者で、甲状腺機能異常を除き、経膈超音波にて最低3カ月以上無治療時の卵巣初期に直径0.5cm-0.8cmの嚢胞が両側に10個以上存在する卵巣(超音波多嚢胞型卵巣:US-PCO)を有する患者を抽出し内分泌学的な検討を行った。その結果US-PCOを示したのは26名、そのうち高Testosterone ( $T \geq 0.5 \text{ ng/ml}$ )を示した群(A群)は17名、高LH ( $\geq 8.0 \text{ mIU/ml}$ )は7名であった。高Tでも高LHでもないUS-PCOの患者が8名、正T、高LHが1名存在した。この正T、US-PCOの群(B群)を中心に検討した。コントロール群は正常月経周期を有し、内分泌学的にも卵巣の超音波上の所見にも異常のない19名とした(C群)。【結果】E1/E2比、DHEA-S、FSHには3群に差はなく、androstenedion、Dihydrotestosterone (DHT)、free-testosterone、LH、LH/FSH比、PRLはUS-PCO群全体(A+B)とC群では有意差を認めたが、B群とC群には差を認めなかった。しかしながら、Sex Hormone binding Globulin (SHBG)値はA群とはもちろん、明らかにB群とC群に有意差を認め、さらにTotal T/SHBG (free androgen index:FAI)を計算するとB群でも有意に高かった。またDHT/SHBGでも有意差が示された。【結論】このことは正TのUS-PCOでもアンドロゲンが優位に作用していることがうかがわれ、卵巣の多嚢胞型の変化とアンドロゲンの関係が示唆され、また女性の異常アンドロゲン環境を理解する上でSHBGの存在も重要であると思われた。

## IV-15

## バルーン付卵管疎通検査用カテーテルの臨床応用

川口市市民病院産婦人科，日大産婦人科\*

○ 栃木武一，日川貴士，村田浩之，影山惇彦，佐藤和雄\*

日常診療上不妊症患者に対して子宮卵管造影法や通水療法は不可欠な検査または治療であり，これらの実施に際し今日種々の頸管カニューレが用いられている。しかし，用いたカニューレのタイプによっては造影剤の漏れや操作上技術的に大変であったり，必ずしもルーチンワークとして臨床上充分でないように思われる。今回，消息子と同様の外径でスタイルレット及びバルーン付カテーテルであるディスボーズブル卵管疎通検査用カテーテル（8Fr，ヒスキヤス）の臨床的有用性を検討するため，不妊症患者を対象として卵管疎通性検査及び治療にこのカテーテルを用いた。子宮卵管造影には油性又は水性の造影剤を用い，通水には生理的食塩水（抗生剤及びステロイドホルモン剤含有）を用いて実施し，これら注入液の注入にはWISAP社の注入装置を用いて圧を調節した。注入時の圧が200mmHg以上で腹痛を殆どの症例で認め，更に使用後少量の子宮出血を全例に認めた。次に子宮卵管造影時注入液の漏れは約10%の症例に認められた。また双角単頸子宮において一方の子宮腔のみしか造影出来なかった症例も認められた。従って，このカテーテルは臨床上消息子と同様に操作が簡単で，使用時に注入液の漏れは少ないことより臨床的に有用であると評価出来るが，子宮奇形の症例等では注意を要することが示唆された。

## IV-16

## 選択的子宮卵管造影法 Selective Hystero-Salpingography (S-HSG) の有用性について

西恵会 西川婦人科内科クリニック

(婦人科) ○栗林裕之 中村享史 西川 潔  
(放射線科) 下山勝己

近年，内視鏡技術の進歩にともない，器質的不妊症の診断においても，その有用性が強調されている。しかしながら，従来の子宮卵管造影法（以下HSG）の簡便さと診断効果は，決して劣るものではない。我々は，1983年よりHSGの圧迫撮影法を導入し，その診断価値を高めてきた。（1986年本学会にて報告）しかし，現実的には，卵管閉鎖例，特に片側閉鎖例においていわゆるFalse例も多く課題であった。

そこで今回，選択的に子宮，卵管を造影することを試み検討を加えたので報告する。

1989年本学会において山田らは，内視鏡下に選択的卵管造影Selective Salpingography (SSG) を行い報告しているが，我々は，X線透視下に直接S-HSGを行い簡略化を試みた。また，器具においても特殊なものを用いず，従来の子宮卵管造影法の器具に一般的な血管造影用アングル形ガイドワイヤー，カテーテルを使用する方法を開発した。

具体的には，従来HSGで用いる嘴管に上記ガイドワイヤー，カテーテルを通し，透視下に閉鎖例の間質部近くへ誘導し，造影剤(Lipiodol)を加圧注入した。

現在まで，15例について行った結果，非観血的卵管疎通術としての効果は，一過性の卵管閉鎖については，極めて有効な診断および治療効果を認めた。

反面，カテーテル操作の技術によっては，間質部への侵襲も考えられ，またX線被曝量も従来HSGに比して増加することになるので，その適応は，充分考慮されるべきと思われるが，診断および治療効果は，おおいに期待できると考えられる。

## IV-17

## Iopamidol (イオパミロン370) による子宮卵管造影法の試み

松戸市立病院 産婦人科  
○田巻勇次

【目的】従来、子宮卵管造影剤として1922年に開発された油性造影剤リピオドールと1953年に開発された水溶性造影剤エンドグラフィンが使用されて来たが、最近エンドグラフィンの製造が中止された。そこで今回、子宮卵管造影用の新たな水溶性造影剤を求めて第Ⅲ世代造影剤Iopamidolによる子宮卵管造影法を試みた。

【方法】造影剤として非イオン性浸透圧性造影剤Iopamidol (イオパミロン370) を不妊症婦人20例に使用した。バルンカテーテルを用い子宮腔内に6~10ml注入後に正面像、続いて側面像、5分後と15分後に正面像、計4枚の撮影を行い、その造影能と副作用について検討した。

【成績】子宮腔像：contrast density良好な子宮腔像が得られた。卵管像：卵管狭部像、膨大部レリーフ像共によく造影され卵管走行が明瞭に認められた。腹腔内拡散像：組織親和性が高く粘稠度が低いため注入終了直後から十分な拡散像がみられ、そのcontrast densityも良好であった。側面像：ダグラス窩像が明瞭に認められた。15分後像：粘稠度が低いため流出が早くダグラス窩貯留像が主体となり終末様像を呈した。副作用：20例中7例に注入時軽度疼痛がみられた。20例中5例に造影法施行後疼痛を認めたが、いずれも一過性で軽度のものであった。その他の副作用は認められなかった。

【結論】Iopamidol (イオパミロン370) は副作用が少なく、造影能も良好であり、子宮卵管造影剤として有用であると思われる。

## IV-18

## 卵管間質部閉塞に対する Fallopian tube catheterization

長崎大学医学部産婦人科 ○中村恒一、石丸忠之、山下隆則、鮫島哲郎、  
藤下 晃、増崎英明、山辺 徹

【目的】近年、卵管閉塞症例に対して透視下または子宮鏡下にカテーテルを挿入し閉塞部を再開通させる試みが行われている。我々も卵管間質部閉塞に対する Fallopian tube catheterization の有用性を検討しており、今回、その症例について報告する。また、本法が卵管上皮に及ぼす影響を走査型電子顕微鏡を用いて検討したので、あわせて供覧する。【対象および方法】対象は通常の子宮卵管造影および腹腔鏡検査で卵管間質部閉塞と診断された不妊患者3例(5卵管)、そのうち2例が両側閉塞、1例が片側閉塞であった。Fallopian tube catheterization は Rosch-Thurmond らによるカテーテルセット(3F テフロンカテーテル、0.015inch ガイドワイヤーおよび 5.5F トルクコントロールカテーテル)に Labotect 社製 guiding cannula を組合せて、経腔超音波下または盲目的に行った。Catheterization 後には卵管疎通性確認のために水溶性造影剤を用い選択的卵管造影を行った。また、本法の卵管上皮に対する影響を検討するために、他の婦人科疾患で摘出された子宮卵管を用いて同様のCatheterization を行い、卵管上皮を走査型電子顕微鏡で観察した。【結果および考察】対象5卵管のうち、Catheterization に成功し疎通性が確認されたのは4卵管であった。疎通性が確認されなかった1卵管では、Catheterization 後、造影剤を注入したところ脈管像が出現したため中止した。走査型電子顕微鏡による検討では、この手技による線毛消失、上皮剝離などの卵管上皮障害の可能性が示唆された。卵管間質部閉塞に対する Fallopian tube catheterization は microsurgery と比較して容易に行うことができるが、これによる卵管疎通性が永続的であるかなどの長期予後は不明であり、また卵管上皮障害の可能性もあるため、その適応は慎重であるべきと思われる。

## IV-19

## 不妊症診療におけるヒステロスコープ検査の意義

虎の門病院産婦人科

○小川恵吾, 東梅久子, 高橋敬一, 児島孝久, 佐藤孝道

【目的】不妊症診療におけるスクリーニング検査としてのヒステロスコープ検査の意義について検討することを目的とした。【方法】虎の門病院産婦人科に於いて1987年9月から1991年6月までに不妊症を主たる適応として実施した114例, 121件のヒステロスコープ検査例を対象とし, 患者背景, 検査所見, 転帰等について検討した。【結果】患者全体の平均年齢は $33.7 \pm 4.1$ 歳。平均不妊期間は $5.1 \pm 3.7$ 年。また検査後の妊婦例は26例で23%だった。ヒステロスコープ上何らかの異常所見を認めたものは55例(45%)だった。粘膜下筋腫と診断されたものは19例で, そのうち6例に筋腫核出術, 1例に筋腫核出術+マイクロサージェリー, 1例に経頸管的内視鏡下粘膜下筋腫切除術を行った。19例のうち2例に妊娠が確認された(10.5%)が, この2例はいずれも筋腫核出術施行後のものだった。内膜ポリープを指摘されたものは21例あり, 粘膜下筋腫との合併が4例含まれていた。内膜ポリープに対し子宮内膜の全面搔爬を施行したものが1例で, 妊娠は3例だった。子宮奇形を認めたものは4例で, 弓状子宮2例, 中隔子宮1例, 単角子宮1例だった。その他のヒステロスコープ所見として, 子宮内腔の隆起6例, 内腔拡張3例, 内膜肥厚3例, 卵管口片側閉鎖2例, 軽度アッシャーマン1例があった。異常所見のあった55例のうち, 11例(20%)がその後妊娠した。【考察】不妊症患者に於けるヒステロスコープ検査で114例中55例(48%)と比較的高頻度で異常所見を認めた。異常所見があったものの妊娠率は粘膜下筋腫例では低かったが, 他は正常所見群と変わらなかった。粘膜下筋腫で治療しなかった群には妊娠例がなく, ヒステロスコープ検査の重要性が示された。ただ, 手技上, 誤診や過大な診断に陥りやすい側面があり, 診療に活用していくには十分な習熟が必要と考えられた。

## IV-20

## 機能性不妊868名の腹腔内所見と予後

東海大学医学部産婦人科

○村松俊成, 小林善宗, 井上正人, 本田育子, 淡路英雄,  
林田研一, 藤井明和

【目的】不妊症領域における腹腔鏡診断の重要性は明らかである。一般不妊検査で異常のない, いわゆる機能性不妊患者に対しても腹腔鏡検査の有用性が指摘されている。今回, 機能性不妊患者の腹腔内異常所見の頻度の分析に加えて, その予後との関連を検討した。[対象・方法] 1982~90年に腹腔鏡検査を行った機能性不妊患者868名を対象とした。原発性不妊が630名(72.6%)を占め, 平均年齢32.3才, 平均不妊期間7.0年であった。予後の検討は, 1989年までに腹腔鏡検査を行った785名(1年6ヶ月以上経過)を対象とした。[結果] ①対象868名の腹腔内所見で, 正常腹腔は133名(15.3%)にすぎず, 735名(84.7%)は異常所見が観察された。主な異常所見別で, 子宮内膜症が622名(全対象の71.7%)と最も頻度が高く, その内訳はR-AFS分類で, I期342名(子宮内膜症の55.0%), II期203名(32.6%), III期50名(8.0%), IV期27名(4.4%)であった。ついで付属器周囲癒着が78名(全対象の9.0%), その他35名であった。②腹腔鏡検査後1年6ヶ月以上経過した785名のうち, 358名(45.6%)が妊娠した。その内訳は, 自然・AIH妊娠が292名(全妊娠の81.6%), 配偶子操作妊娠が66名(18.4%)であった。正常腹腔群の妊娠率56.3%(67/119)に比べて, 異常腹腔群の妊娠率43.7%(291/666)は有意に低いものであった( $P < 0.025$ )。③自然・AIH妊娠に限ってみても, 正常腹腔群の妊娠率47.1%(56/119)に対して, 異常腹腔群の妊娠率35.4%(236/666)は有意に低いものであった( $P < 0.025$ )。

【結論・考察】機能性不妊患者に高率に腹腔内異常所見が発見され, その予後は正常腹腔所見患者に比べると悪いものであった。一般不妊検査で異常がなくとも, さらに不妊原因の積極的な検索とそれに対する適切な治療の選択が妊娠率向上には必要不可欠と思われる。

## IV-21

## 挙児希望婦人に対する腹腔鏡検査後の妊娠に関する検討

京都府立医科大学産婦人科学教室

○大野洋介, 田村尚也, 北川一郎, 川島満子, 北脇 城, 岡田弘二

挙児希望婦人に対する腹腔鏡検査の有用性についてはいまさら述べる必要もないが、これらの腹腔鏡検査を受けた挙児希望婦人がその後どのように治療され妊娠したのかを報告したものは少ない。そこで我々は昭和62年6月から平成2年6月までの3年間に当科で腹腔鏡検査を受けた挙児希望婦人125例について、検査前診断、検査後診断、その後の治療内容と妊娠成立の有無について検討した。対象婦人の検査前診断は原因不明32例、卵管性不妊(内膜症を除く)31例、子宮内膜症20例、排卵障害13例、男性因子11例、子宮筋腫5例、付属器腫瘍5例、子宮奇形4例であった。検査後の診断は骨盤腔内に異常を認めない正常例が40例、卵管因子(通過障害や癒着が認められるが内膜症は見られないもの)37例、子宮内膜症29例、子宮筋腫7例、子宮奇形、索状性腺4例、PCO 2例であった。これらの症例のうち平成3年6月30日現在で妊娠の確認された症例は40例(全体の32%)である。検査後の診断別では妊娠率の高い順に、内膜症59%、卵巣腫瘍50%、PCO 50%、卵管因子30%、子宮奇形25%、正常例20%で子宮筋腫と索状性腺には妊娠例を認めていない。腹腔鏡検査から妊娠までの期間でみると腹腔鏡実施周期の妊娠が2例、同次周期の妊娠が4例と多く、腹腔鏡実施後3周期以内の妊娠例の合計は14例と全妊娠例の35%を占めていた。腹腔鏡検査から1年以内では実に31例(78%)が妊娠に至っている。検査後3周期以内の妊娠成立例はおもに軽度の卵管因子に由来するものが多く7例が無治療で、また6カ月から1年以内の妊娠例13例のうち7例が内膜症ですべてGnRHアナログ治療後の妊娠である。1年以上の妊娠例9例のうち4例が体外受精胚移植による妊娠である。このように腹腔鏡検査後の妊娠は比較的早期にそのほとんどがみられること、さらに腹腔鏡検査そのものが治療的効果をもたらすことが明らかとなった。

## IV-22

## 月経異常を有する性成熟婦人の骨塩量

相模原協同病院産婦人科

○三宅崇雄、佐藤芳昭、望月愛郎、松信 晶、大沢章吾

閉経後骨粗鬆症の成立に、エストロゲン分泌低下が強く影響していることはすでに明らかにされている。そこで、月経異常を有し低エストロゲン状態にある性成熟婦人に、骨塩量の低下を認めるか否か検討してみた。方法) 1991年3月から6月の間に、月経異常を主訴に当院の不妊内分泌外来を訪れた18~29歳の婦人9例を対象とした。うち2例は染色体検査によりTurner症候群と診断され、3例は約2年間の無月経期間を有する体重減少性無月経であった。残る4例は第1度無月経あるいは無排卵周期症であった。DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry, Lunar社)法により第2-4腰椎の骨密度(BMD)を測定し、同時に、内分泌学的検査(LH, FSH, PRL, E2, Ca, PTH等)も行った。コントロールとして13名の同年代の正常月経周期を有する婦人の骨密度を測定した。結果) コントロール群のBMDは $1.230 \pm 0.09 \text{ g/cm}^2$  (mean  $\pm$  S.D.)であった。2S.D.以下のBMD低値の症例は、Turner症候群2例中1例(1例はすでにエストロゲンを投与されている)、体重減少性無月経(第2度無月経)3例中2例(mean= $1.057 \text{ g/cm}^2$ )、第1度無月経あるいは無排卵周期症4例中2例(mean= $1.096 \text{ g/cm}^2$ )であった。血中エストロゲン基礎値は全例 $40 \text{ pg/ml}$ 以下の低値を示した。結論) 低エストロゲン状態にある性成熟婦人に、骨密度の低い症例が少なからず存在することが示された。特に、卵巣機能の低下の程度と期間が著しい婦人ほど注意を要すると考えられたが、詳細は今後の検討を要する。

## IV-23

## 不妊外来に於ける若年性子宮体癌患者スクリーニングの重要性

日本医科大学産婦人科学教室, 医療法人 双鶴会山王クリニック\*

○可世木久幸, 明楽重夫, 五十嵐俊夫, 外山和秀, 渡辺美千明, 田中幸太郎,

荒木 勤, 松本二郎\*, 佐々木 毅\*

【目的】従来, 若年者における子宮体癌の発生は稀なものとされてきた。しかし, 不妊女性にはその発生が多いとされている。また, 最近の食生活の変化により本邦の子宮体癌症例は増加しているとも云われている。そこで, 不妊専門外来にて詳細な子宮体癌スクリーニングを行なうと, 子宮体癌の発見率がどの程度であるか検討を試みた。【方法】1週間に1回30人前後の不妊症患者を取り扱う不妊専門外来に通院する24才から42才までの患者を対象とした。これらの患者に対して子宮腔部, 頸管, 内膜細胞診, 内分泌検査, 子宮卵管造影, 精液検査を行なった後, 経腔法超音波検査により卵胞及び内膜モニタリングを行ないながら性交指導, 人工受精を行なった。この間経腔法超音波検査にて子宮内膜の異常肥厚像, 辺縁不整像, 発育不整像を認める症例を要注意者とした。要注意者に対しては積極的に子宮鏡観察を行なった。子宮鏡観察を行なった患者のうち子宮腔内の異常血管像, 異常内膜ポリープ像を認める場合には狙い組織診, 内膜そうは組織診, 子宮頸管内膜組織診をおこなった。【結果】1990年5月から1年間に渡りこの方法で子宮体癌スクリーニングを行なった結果, 総受診者数338人中4名の子宮体癌患者を発見し得た。この母集団に於ける子宮体癌発生率は1.18%と高値を示した。4人の患者の年齢は28才, 30才, 34才, 38才であった。4人の子宮体癌の組織所見はwell differentiated adeno carcinoma 2例と adeno squamous carcinoma 2例であった。なお, 4人とも細胞診の結果は陰性であった。現在までに手術を行なった2例に関してはstage I 以内であった。【考察】不妊患者には子宮体癌が多く, 更に近年の食生活の変化により子宮体癌の発生頻度は上昇していると云われている。我々の結果もそれを裏付けるものであった。経腔超音波と子宮鏡は体癌スクリーニングに於ける重要な検査法と考えられる。

## IV-24

## 超音波断層法による潜在性右側精索静脈瘤検索の意義

健保連大阪中央病院泌尿器科<sup>1</sup>, 大阪大学泌尿器科<sup>2</sup>

○近藤宣幸<sup>1</sup>, 目黒則男<sup>1</sup>, 清原久和<sup>1</sup>, 並木幹夫<sup>2</sup>, 奥山明彦<sup>2</sup>

【緒言】精索静脈瘤は男性不妊症の原因の10-20%を占め, 手術療法により比較的良好な治療成績が報告されている。しかし, 手術後も精液所見が改善しない症例も20-40%存在し, Amelar & Dubinは右側精索静脈瘤の残存の可能性を指摘している。今回我々は, 触診にて左側精索静脈瘤と診断し手術を行った症例で, 術前に超音波断層法により右側精索静脈の拡張の有無を検索し, 術後の治療成績との関連性について検討した。

【対象および方法】1989年1月より1990年12月までに不妊を主訴として大阪中央病院泌尿器科を受診し, 精液所見に異常を有した左側精索静脈瘤患者のうち64症例に対し, 術前に両側陰囊部の超音波断層検査を行った。超音波断層検査の結果にかかわらず, 左側精索静脈瘤に対しPalomo法にて手術を行い, 3ヵ月後の精液所見により治療成績を判定し, 術前の超音波検査の結果との関連性を検討した。

【結果】64例中, 右側精索静脈の拡張を認めた症例は30例で, 術後3ヵ月後に精子濃度および精子運動率の改善した症例(精子濃度は $10 \times 10^6$ /ml以上, 精子運動率は10%以上増加した症例を改善とした)は, それぞれ8例(26.7%), 10例(33.3%)と, 術前に右側精索静脈の拡張を認めなかった症例の改善率(精子濃度61.5%, 精子運動率65.4%)と比較して有意に低下していた。

【考察および結語】右側精索静脈瘤は従来報告されている頻度より高頻度であるとの報告もある。今回超音波断層法で右側精索静脈の拡張が認められた症例は, 明かに従来報告されている右側精索静脈瘤の頻度より高頻度であり, これらの症例の治療成績が不良であることから, 積極的な潜在性右側精索静脈瘤の検索の必要性が示唆された。

## IV-25

Sperm Check Assay<sup>®</sup>の使用経験

虎の門病院産婦人科, 日本バイオラッドラボラトリーズ\*  
 ○高橋敬一, 東梅久子, 小川恵吾, 児島孝久, 佐藤孝道  
 小野千恵子\*, 真坂美智子\*

【目的】抗精子抗体の検出方法として, 精子不動化試験・immunobeads test (IBT)・精子凝集試験などが用いられることが多いが, 今回われわれはSperm Check Assay<sup>®</sup> (SC)を使用しIBT・精子不動化試験の成績と比較検討する機会を得たので報告する。【対象・方法】Sperm Check Assay<sup>®</sup>とは直径3 $\mu$ mのlatex beads (LB)にIgG・IgA・IgMの抗ヒト抗体を付着させたもので, IBTと同様に精子付着抗精子抗体を検出するものである。コントロール精子と血清を20分間インキュベートして, 血清中の抗精子抗体をコントロール精子に付着させた後にLBと混合して, LBの付着した運動精子の付着率と付着部位を観察した。当院の不妊患者55例の血清を対象に, SCと精子不動化試験を施行し, またできるだけ同時期の血清を使用し, IBTも18例におこなった。【結果】1) 精子不動化試験陽性症例は7例認めしたが, すべてLBの付着率は20%以上であり, 5例のLBの付着率は80%以上であった。2) 精子不動化試験陰性47例中, LB付着率が22%・18%であった2例を除き, すべてLBの付着率は10%未満であった。また, この2例も別の機会の再検査では付着率10%未満であった。3) IBT陰性9例はSCでもすべてLBの付着率は10%未満であった。4) IBTとSCの付着部位には大きな相違は認めなかった。【考察】1) 精子不動化試験と比較すると, SC陽性と陰性の境界はLB付着率20%に設定するのが適当と考えられた。2) SCは精子不動化試験のスクリーニングに使用できる可能性が示唆された。3) SCは精子洗浄液もキットに含まれており, 一般病院でも十分使用可能であると考えられた。

## IV-26

## PENETRAKの臨床的有用性に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室  
 ○森 明人, 沖 利通, 山元慎一, 福元清吾  
 竹内一浩, 堂地 勉, 永田行博

『目的』不妊症の治療においては, 精液分析 (精液量, 精子濃度, 精子運動率, 奇形率) は最も基本的な検査である。しかしこれだけで精子の受精能や運動能を評価することは困難である。精子の受精能運動能を評価する方法はいくつか考案されているが, いずれも簡便性に欠けルーチン検査として応用されていない。男性不妊が原因で体外受精・胚移植 (IVF-ET) を行う場合でも精子濃度や精子運動率だけでは受精に至るか否かを必ずしも予測できない。そこでわれわれはウシの頸管粘液を用いたヒト精子の頸管粘液貫通検査で簡便に行えるPENETRAKが, IVF-ETにおける精子受精能の評価法になるか否かを精子濃度や運動率と比較検討した。『対象および方法』対象は当科でIVF-ETを試みた17例で, IVF-ETの適応は卵管因子7例, 男性因子5例, 機能性不妊5例である。排卵誘発はすべてBuserelin-hMG-hCG法を用い, 媒精はswim-up法で行い最終精子濃度を $1 \times 10^6$ /mlとした。PENETRAK値は30mm以上を良好群, 30mm以下を不良群とした。『結果』17例中, PENETRAK良好群は10例, 不良群は7例あった。良好群の平均精子濃度は $89.3 \pm 27.2 \times 10^6$ /ml, 運動率は $66.9 \pm 20.8\%$ であったのに対し, 不良群はそれぞれ $46.1 \pm 46.2 \times 10^6$ /ml,  $36.1 \pm 27.1\%$ といずれも良好群の方が有意に高かった。PENETRAK良好群と不良群の受精率は, 症例あたりそれぞれ100% (10/10), 28.6% (2/7), 回収卵あたりそれぞれ78.4% (40/51), 18.9% (7/37)であった。また精子濃度や運動率が全く正常であったにもかかわらず, PENETRAK値が14mmと不良であった症例で, 受精を認めないものがあつた。

以上のことよりPENETRAKは精子の受精能を評価する上で極めて有用な検査法である。

## IV-27

Y染色体の性決定regionにおけるマウス,サル,  
ヒトの同一primerを用いたPCR法とEmbryo Biopsy:  
ヒトEmbryo Biopsy・着床前遺伝子診断のモデル

鹿児島大学医学部産婦人科<sup>1)</sup>, Jones Institute for Reproductive  
Medicine Eastern Virginia Medical School<sup>2)</sup>  
○竹内一浩<sup>1) 2)</sup>, 永田行博<sup>1)</sup>, R.A.Kaufmann<sup>2)</sup>, G.D.Hodgen<sup>2)</sup>

近年,分子生物学や生殖生理学の進歩はめざましいものがある。Polymerase chain reaction(PCR)法とmicromanipulationの技術を用いることにより着床前に受精卵より抜き取った一つの割球を使って遺伝病を診断することが可能となった。われわれはEmbryo Biopsyの動物モデルとしてマウスの4細胞期胚及び8細胞期胚を用いて種々の方法でbiopsyを行いその有用性と安全性ならびにembryo biopsyが2世代にわたって胎仔の発育に影響を及ぼさないことを報告してきた(K.Takeuchi, et al: Fertil Steril, 1991, in press)。現在, 200以上のX-linked disorderが存在すると言われている。これらの疾患を着床前に防ぐ目的で, その基礎的studyとして, 今回われわれはマウス, サル, ヒトに共通のtestis determining regionにおけるuniqueなprimer(125bp)をdesignし, DNAのamplificationを試みた。さらに診断を確実にするためにサル, ヒトのDNAについてはTay-Sachs exon 11 mutation(159 bp), マウスに付いてはOrnithin transcarbamylase deficiency gene sequence(88bp)のprimerを用いて, それぞれのDNAをCo-amplificationした。PCR法はdenaturation; 94°C, 60sec, annealing; 53°C, 60sec, extension; 72°C, 60secのプロトコールで40cycle行った。PCR法すべてのDNA sampleは10% polyacrylamide gelにて泳動し, ethidium bromideで染色後, UV illuminatorで検出した。これらの方法によりすべてのDNA productは100%検出可能であった。またCo-amplificationすることによりfalse negativeを防ぐことが可能で, 診断もより確実になると考えられた。われわれは, さらにマウス, サルのpre-embryoから得られた一つの割球を用いて, single blastomere levelでのPCR法を用いたDNA amplificationも確立している。これらはhuman pre-embryo biopsy and genetic diagnosisにおいて極めて有意義なmodelであると言える。

## IV-28

精索静脈瘤手術における内分泌学的検討: 手術効果とLH-RH test

神戸大学医学部泌尿器科、市立西脇病院泌尿器科\*

○今西 治、林 晃史、奥田 喜啓\*、松本 修、守殿 貞夫

【目的】精索静脈瘤は造精機能障害を来す疾患の一つとされ、その障害発生機序に関しては種々の説がある。今回我々は精索静脈瘤による内分泌学的影響を知るうえで、luteinizing hormone-releasing hormone test (LH-RH test)を精索静脈瘤の手術前後に行ない、精索静脈瘤手術の効果を予測するための指標としてのLH-RH testの可能性について検討した。

【対象および方法】1990年3月から1990年12月までの間に当科にて手術を施行し、術後6か月以上経過観察しえた、精索静脈瘤患者16例を対象とした。手術前および手術後6か月目に精液検査およびLH-RH testをおこなった。精液所見の改善度の判定は、我々が昨年度の日本不妊学会学術講演会において報告した方法に準じて行なった。LH-RH testはLH-RH投与前およびLH-RH (0.1mg)静注後0、15、30、60、および120分に採血し、LHおよびFSHを測定した。

【結果】対象症例中、精液所見が改善し妊娠に至ったものが4例(妊娠例)、精液所見は改善したが妊娠に至っていないものが6例(改善例)、精液所見が改善していないものが6例(非改善例)であった。LH-RH testでは、手術前のLHのピーク値が妊娠例で $48.85 \pm 22.64$  mIU/ml、改善例で $64.33 \pm 23.64$  mIU/mlと、非改善例の $24.77 \pm 7.86$  mIU/mlに対して高値を示した。手術後のLHのピーク値は妊娠例で低下する傾向が見られたが、しかし改善例および非改善例では各術前に差がなかった。FSH値は妊娠例、改善例および非改善例の間および術前後ともに有意差は認められなかった。

【結論】精索静脈瘤手術において手術前後のLH-RH testのLH値は、手術効果の有用な指標となる可能性が示唆された。

## IV-29

精巣上体での精路閉塞の原因について：特に原因不明症例の検討

京都大学泌尿器科 ○松田公志, 堀井泰樹, 小倉啓司, 吉田 修

【目的】精管切断術や鼠径ヘルニア手術, 精巣上体炎など, 精路閉塞の原因となる既往歴がないにもかかわらず精路に閉塞を有する症例を経験する。特に精巣上体での閉塞は原因不明のことが少なくない。われわれの経験から, 精巣上体精管吻合術症例の閉塞原因について検討する。

【対象と方法】1985年から1991年6月までに京都大学泌尿器科で精路閉塞症例19例対して精巣上体精管吻合術を施行した。手術は精管粘膜と精巣上体管を手術用顕微鏡下に直接吻合するもので, specific tubule法またはside-to-end法を行った。既往歴, 臨床所見, 切除組織所見から閉塞原因を検討した。

【結果】19例のうち, 既往歴に明かな精巣上体炎を有するものは6例のみで, ヘルニア手術などによる精管閉塞を伴うもの3例, 気道感染症の既往がありYoung症候群と考えられたもの3例, 精巣上体手術後の症例1例であった。切除組織の検索により, 精管曲部と精巣上体尾部の移行部での閉塞を2例に認めたが, 4例は原因不明であった。手術成績は, 手術後3カ月以上経過観察した18例のうち, 16例89%で精子が出現, 7例39%で精液所見が正常化するとともに妊娠が成立した。妊娠が成立したのは, 精巣上体炎後4例, 精管閉塞を伴う症例2例, 原因不明1例であった。

【考察と結論】精巣上体での精路閉塞の原因として, 精巣上体炎のほかに, 精管閉塞による二次的な閉塞, Young症候群, 精巣上体と精管曲部の移行部での閉塞などを認めたが, 閉塞原因を特定できない症例もあった。精液所見と精巣生検から閉塞性無精子症と診断されたときは, 精巣上体での閉塞を疑い積極的な手術療法が必要である。

## IV-30

精索静脈瘤の手術成績の検討

富山医科薬科大学泌尿器科学教室

○岩崎雅志, 布施秀樹, 里見定信, 風間泰蔵, 寺田為義, 片山 喬

〔目的〕精索静脈瘤は造精機能障害をきたし, 男性不妊の原因のひとつとして重要である。本症は手術療法により造精機能の回復がみられ, 高い妊娠率がえられるとされている。今回, 当科で経験した精索静脈瘤についてその治療成績を検討するとともに, 妊娠におよぼす因子についてもあわせて検討した。

〔対象および方法〕1979年より1990年12月までに不妊を主訴とし, 高位結紮術を施行された精索静脈瘤のうち術後少なくとも3カ月経過観察できた55例を対象とした。精索静脈瘤の分類は鈴木のものによりI, IIおよびIIIとした。術前後に, 一般精液検査, 精液自動分析装置(セルソフトシリーズ3000)による解析およびhyposmotic swelling testを施行した。また血中ホルモン値(LH, FSH, プロラクチン, テストステロン)も測定した。術後の精液所見の判定は飯塚らの判定基準に従った。

〔結果〕精子濃度の改善率は術後3カ月で38%, 精子運動率のそれは25%であった。妊娠率は35%であった。術前精子濃度 $10 \times 10^6/ml$ 以上のものとそれ未満のものとの精液所見の改善率に差を認めなかった。平均精子運動速度および平均精子直進性はいずれも術前後に大きな差を認めなかった。精子膨化率は多くの例で術後3カ月~6カ月で増加を認めた。血中ホルモン値はいずれも術前後で変動をみなかった。

妊娠群は非妊娠群に比べて, 術前の精子濃度および精子運動率が高い傾向にあった。非妊娠群ではFSH値が妊娠群より高値であった。妊娠群では術後3~6カ月で精液所見の改善をみたものが多かった。

## IV-31

## 子宮奇形に対するJones手術成績のAFS分類による検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室\* 岡山中央病院産婦人科\*\*

○河西邦浩\* 片山隆章\* 吉田信隆\* 清水健治\* 野間 純\*  
中塚幹也\* 平野由紀夫\* 西条仁子\*\* 金重恵美子\*\* 関場 香\*

【目的】一般にJones手術は子宮奇形を有する不育症妊患者に有効な治療法であると言われている。今回我々はJones手術の、術後妊孕性への効果を検討した。【方法】1981年から1990年までの10年間にJones手術を行った症例のうち、予後の追求が可能であった24例につき、術前の子宮形態のAFS分類により予後を検討した。術前の子宮奇形は、AFSⅢ（完全重複子宮）5例、AFSⅣ（単頸双角子宮）8例〔complete（AFSⅣc）6例、partial（AFSⅣp）2例〕、AFSⅤ（中隔子宮）8例〔complete（AFSⅤc）4例、partial（AFSⅤp）4例〕、AFSⅥ（弓状子宮）3例であった。術前妊娠既往のあったのは12例、なかったのは12例であり、妊娠既往のなかった12例のうち6例が術後妊娠した。【結果】AFSⅢは術前の妊娠率1/5（20%）から術後は4/5（80%）に増加し、術後の流産率も0/4（0%）であった。AFSⅣは、妊娠率は術前6/8（75%）、術後5/8（63%）と増加を認めなかったが、流産率は術前の15/16（94%）から0/6（0%）に減少した。AFSⅤは、妊娠率は術前の3/8（38%）から術後の6/8（75%）に増加し、流産率は術前の5/5（100%）から術後の2/8（25%）に減少した。AFSⅣとⅤをまとめ、中隔の形態によりそれらをcompleteおよびpartialに分けて検討すると、completeは、妊娠率は術前の5/10（50%）から術後の7/10（70%）に増加し、流産率は術前の11/12（92%）から術後の1/9（11%）に減少した。partialは、妊娠率は術前術後ともに4/6（67%）と変わらなかったが、流産率は術前の9/9（100%）から術後の2/5（40%）に減少した。AFSⅥの3例は、術前術後とも不妊、子宮外妊娠、流産により生児を得られなかった。出生した児は15人であり、その在胎週数は36～40週、出生時体重は平均3012gであった。【結論】Jones手術により、AFSⅢ、Ⅳ、Ⅴは妊娠率の増加および流産率の減少によって妊孕性の向上が認められた。またAFSⅣ、Ⅴでは、奇形の重症度の高いcompleteの方により高い妊孕性の改善効果が認められた。

## IV-32

## 単角子宮に対する子宮形成術の試み

筑波大学臨床医学系産婦人科

○西田正人、山内 宏、辻 泰二、岡本 一、藤田佳世、久保 武士、  
岩崎寛和

子宮奇形が不妊や流早産の原因となることは良く知られており、形成術により妊孕性は速やかに回復する。また、奇形の種類によって対応する術式が決定されており、その術後成績も満足すべきものである。この中で、単角子宮に関しては、その妊孕性が著しく損なわれているにもかかわらず、未だ適切な治療法が確立されていない。我々はこの単角子宮に対する形成術式を考案し、数例に試みてきた。今回その術式と術後成績について報告する。

術式は子宮体部中央を縦切開し、横縫合して子宮腔の拡大を計ったものである。即ち、卵管角を傷つけないように注意しながら、約3cmに亘って体部中央を縦切開し、子宮腔を開放、これを調度Strassmann手術と逆に横に縫合閉鎖した。昭和63年以来、6例の単角子宮症例に本術式を施行した。右単角子宮2例、左単角子宮4例である。全例未経妊婦で、3例は原発不妊であった。初期の4例に対しては前壁のみの形成術を行い、最近の2例に対しては前後壁両方に切開縫合を行った。この内、術後離婚した1例と、術後半年以内の1例を除いた4例中1例が妊娠し、妊娠37週、帝王切開にて生児を得た。

子宮奇形のうち、重複子宮は双角子宮、中隔子宮と異なり、その妊孕性は比較的高く保たれている。従って、重複子宮の場合には例え流早産の既往があったとしても、すぐには手術適応としない事が多い。重複子宮を単角子宮が2つ合わさったものと考えれば、単角子宮は妊孕性を高く保っていてよい筈である。しかしながら、実際には単角子宮の妊孕性は大きく損なわれている。従って、その原因は形態的因子では無い可能性もあり、形成術によって妊孕性が回復するか否かは不明である。今回の我々の成績では、評価可能な4例中1例が妊娠し、生児を得た。この成績から短絡的に本術式の妥当性を主張することはできないが、他に治療法の無い現在、試みる価値はあると考えられる。

## IV-33

## 子宮温存手術を行った子宮頸部欠損の症例

杏林大産婦人科

○山内 格, 飯塚義浩, 安藤 索, 小山典宏, 吉村泰典, 中村幸雄

腔欠損を伴わない子宮頸部欠損 (Congenital atresia of uterine cervix) は、比較的稀な子宮奇形の一つである。その手術的治療法は、①腔-子宮間へのカテーテル留置②腔と子宮の吻合などが試みられるが、骨盤内感染の予防の立場から③子宮摘出を推奨するものもある。

今回我々は子宮頸部欠損に対して子宮腔吻合術を行ない、良好に経過している2症例を経験したので報告する。

症例1は19歳の婦人である。子宮体部は分離しており右側は痕跡子宮、左側は内膜を有するが頸部に相当する部には索状物の形成をみるのみであった。腔は正常に比して約1/2程度の長さであった。

症例2は17歳で、腔腔はほぼ正常の長さを有し子宮体部も肉眼的にほぼ正常であるが子宮体部と腔との間には索状の構造があるのみであった。

手術は、子宮体部の下方前面を縦切し、腔上端を開口し、その開口部を子宮内腔下端までもち上げて、子宮筋層内に腔壁を埋め込むようにして縫合した。

症例1は術後1年8カ月、症例2は術後4カ月を経ているが、現在までのところ骨盤内感染や子宮内膜症の増悪をみていない。

子宮温存症例の妊娠・分娩の報告は稀であるが、今後も管理をつけ、特に症例2は、将来、妊娠・分娩に漕ぎつきたいと考えている。

## IV-34

## 不妊診療における子宮鏡下手術の成績

聖マリアンナ医科大学産婦人科

○堀越裕史・斉藤寿一郎・栗林靖・大野祐子・近藤俊彦・渡辺研一  
岩田美智恵・石塚文平・浜田宏

当院では、子宮腔内病変に対する子宮鏡下手術として、1989年よりヒステロファイバースコープにNd:YAGレーザーを使用して、また、1990年からはヒステロレゼクトスコープに高周波電流手術装置を使用して、経頸管の切除術を行ってきた。今回は、不妊症および習慣流産症例における治療成績につき報告する。

対象は、Nd:YAGレーザー使用例が、粘膜下筋腫1例、子宮腔癒着1例の2例 (原発性不妊1例、続発性不妊1例) で、高周波電流手術装置使用例が、粘膜下筋腫1例、内膜ポリープ4例、子宮腔癒着1例、中隔子宮2例の8例 (原発性不妊3例、続発性不妊5例) であった。術後、過多月経、不正性器出血などの症状は改善し、1回で切除しきれなかった全中隔子宮症例を除き、2nd-lookヒステロスコピーでは、残存病変・癒着等は認められなかった。Nd:YAGレーザー使用例は、2例とも、また、高周波電流手術装置使用例では、内膜ポリープ1例、中隔子宮1例の2例 (続発性不妊2例) が、妊娠に至った。

本法は、開腹手術に比べ、侵襲・術後の疼痛が少なく、骨盤腔癒着が回避され、また、入院期間が短縮されるなどの利点があり、内膜掻爬術などに比べ、直視下手術であるため、適確に病変を切除することができ、不妊症および習慣流産症例の子宮因子の治療に有用な方法であると思われる。

## IV-35

## 超音波下卵巣穿刺によって加療した重症卵巣過剰刺激症候群の一例

富山県立中央病院産婦人科

○小嶋康夫, 北 俊之, 谷村 悟, 大口昭英, 佐竹紳一郎, 金井浩明,  
舟本 寛, 中野 隆, 南 幹雄, 館野政也

卵巣過剰刺激症候群(OHSS)は卵巣の嚢胞性腫大, 胸腹水貯留, 循環血漿量減少, 血液濃縮などの症状を呈し, 重症例では呼吸不全, ショック, 腎不全, 血栓症などを併発する場合がある。軽症例ではまず保存的に治療され, 重症例や卵巣出血, 茎捻転などを合併した場合は外科的治療法を選択することが多いが, 最近では比較的安全で有効な超音波下卵巣穿刺療法が報告されている。今回我々は呼吸不全を呈した重症 OHSS 症例に超音波下卵巣穿刺法を施行し, 血中 E<sub>2</sub> の減少と臨床症状の改善をみた興味ある一例を経験したので報告する。

症例は25才。稀発月経, 挙児希望のため2年前より某医にて加療中であった。平成3年2月15日よりHMG-HCG療法が開始され, HMG 150iu/日6日間, 計900iu投与ののち, HCGを2月22日10000iu, 2月26日5000iu投与された。3月1日頃より下腹部痛, 腹部膨満感, 卵巣腫大, 呼吸困難などの症状が出現し卵巣過剰刺激症候群の診断で同医院へ入院。3月11日頃より38-39°Cの発熱, 乏尿(300-400ml/day), 腹囲の急激な増加, 浮腫, 胸水貯留, Hct値の上昇(69%)を認め, 補液でHct値は徐々に低下したが, 呼吸困難, 両側卵巣腫大などの症状が増悪してきたため3月13日当科入院となった。入院時右肺野は胸水貯留によりほとんど含気を認めず, 動脈血ガス分析ではO<sub>2</sub>投与下でPaO<sub>2</sub> 63.9mmHgと低O<sub>2</sub>血症を認め, 低蛋白血症, 全身浮腫が著明であった。O<sub>2</sub>投与とトロッカー挿入, 水電解質管理, アルブミン製剤投与などと並行して超音波下卵巣穿刺法を2回施行し総量3000mlの卵胞液を排除したところ, 血中E<sub>2</sub>は24835pg/mlから11693pg/mlまで減少し, 臨床所見の速やかな改善を認めた。OHSSの治療法として, 超音波下卵巣穿刺法は比較的侵襲も少なく卵巣茎捻転や卵巣出血など外科的治療法が必須の場合を除けばかなり有効な治療法であると思われる。

## IV-36

## 重症OHSSに対して卵巣穿刺を行なった6症例

東北大学医学部産科学婦人科学教室 太田綜合病院\*

○田村みどり, 千田 定則, 陳 偉業, 村上 節, C. Mansfield  
萬代 泰男, 対木 章, 深谷 孝夫, 矢嶋 聰, 古橋 信之\*

Gonadotropin療法によって卵巣過剰刺激症候群(OHSS)をきたし, 入院を要した症例のうち, 特に重症で管理が困難であった6例に超音波ガイド下卵巣穿刺を施行した。

症例は原発性不妊症3例, 続発性不妊症2例, 原発性無月経1例であった。4例はPCOパターンの排卵障害を有し, 1例は腹腔鏡にてPCOと診断され, いずれもclomiphene-prednisolon療法に不応であった。2例はclomiphene無効例である。hMGは平均1213IU(16.2amp)筋注, hCGは5000IUないし10000IU筋注した。6例とも胸・腹水や血液濃縮が著明で, severe OHSSと判定でき, 補液, albumin製剤輸注, 胸・腹水穿刺などの治療では症状のコントロールが困難だった。卵巣穿刺はhMG中止後8から24日目に, 局麻下で21G超音波穿刺針または200mm16Gロングベニューー針を, 穿刺ガイド付プローブに装着し経腹的に施行した。穿刺液量は平均345ml, 最高1200mlに及んだが, 術中術後とも症状の悪化, vital signの異常はみられなかった。卵胞液の生化学所見は腹水と類似しており, 蛋白量が血液より少ない他は, 電解質, 浸透圧等は血液と同様だった。卵胞液中のhormone値を, 体外受精の採卵時に得た卵胞液と比較すると, progesteroneが低い他大差なかった。卵巣穿刺後は尿量の増加, 腹水貯留速度の減少など症状の軽減がみられた。不妊症の5例はこの周期に妊娠が成立した。双胎が2例あり, 1例は20週まで異常なく経過したが1子がIUFDとなり, 他の1子は34週に帝王切開術にて障害を残さず救命できた。双胎1例と単胎2例は自然分娩に至った。5例とも卵巣穿刺は妊娠継続に特に障害をもたらさなかったと思われる。OHSSの治療に腹水穿刺が有効であることは報告が多いが, 卵巣穿刺の有効性に関しては充分検討されていない。配偶子操作の採卵時, 残存卵胞を減らすことがOHSSの発症予防につながることは経験的に支持されており, 重症OHSSに対して超音波ガイド下卵巣穿刺は有効と思われる。

## IV-37

卵管妊娠における保存手術および卵管内MTX注入法について。

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○藤下 晃, 中村恒一, 鮫島哲郎,  
山下隆則, 増崎英明, 石丸忠之, 山邊 徹

【目的】子宮外妊娠(以下, 外妊と略す)の大部分は卵管に発生し, 従来より外科的処置としては, 卵管切除術 salpingectomy が行われてきた。しかし最近では, 患側卵管の機能を温存する保存手術, あるいは卵管内にMTX (Methotrexate) を注入する方法などの conservative management が試みられている。そこで, 当科で行っている卵管妊娠に対する保存手術について検討した。【対象および方法】当科において卵管妊娠に対して保存手術を行った15例, および卵管未破裂例に対してMTX局所注入を行った4例を対象とした。保存手術15例中, 未産婦は13例であり, MTX群4例中, 未産婦は2例で, いずれも挙児希望例であった。保存手術15例の外妊部位は, 膨大部 7例, 峡部 6例および卵管采部 2例であり, 術式は salpingotomy 11例, salpingostomy 3例および milking 1例であった。MTX群の外妊部位は峡部2例, 膨大部2例であり, いずれも未破裂例であり, 腹腔鏡下に, MTX 15mgを生理食塩液 2ml に溶解し, 注入した。【結果】保存手術15例中, 術後の子宮卵管造影法で卵管の通過性を確認しえた例は10例であった。患側の卵管は10例中8例が通過しており, 対側の卵管は既摘出の1例を除く 9例中8例が通過していた。その後の妊娠は15例中8例 (53%) であった。8例中2例の術後における初回妊娠は, 子宮内の流産であったが, いずれもその後, 再び妊娠し, 生児を得た。また, 8例中1例に外妊の反復がみられた。術後6ヵ月以上経過した例は10例であり, 10例中7例 (70%) が子宮内妊娠であった。MTX注入群では通過性を確認しえたのは1例であった。この例では患側および対側ともに, 通過性が確認された。

【考察】卵管妊娠に対する保存手術として, salpingotomy, salpingostomy あるいは milking 法は, 術後の卵管疎通性は良好で, 妊娠率も比較的高く, 有効な方法と思われた。

## IV-38

当科における内膜症に対する腹腔鏡直視下手術の試み

国家公務員等共済組合連合会 新香里病院 産婦人科  
○鈴木 佳彦, 高原 得栄, 好川 元庸, 池田 義人

子宮内膜症の確定診断に腹腔鏡検査は重要な手段であるが, 最近不妊症例に対して腹腔鏡直視下手術が行なわれ, その有用性が報告されている。当院でも平成2年10月に腹腔鏡を導入し, 平成3年5月までに腹腔鏡診を行なった24例のうち内膜症と診断された16例に対し, 引き続き腹腔鏡直視下手術を施行し, 術後2例に妊娠成立を認めたので報告する。【対象】平成2年4月より平成3年5月まで当科外来に受診した不妊患者および内膜症患者24例で, 内膜症患者16例の進行期別症例数はR-A-F-S分類I期3例, II期2例, III期5例, IV期6例で, そのなかで挙児希望は13例, 原発性不妊症5例, 続発性不妊症8例であった。【方法】全身麻酔にて腹腔鏡診を行なった後, 腹腔鏡直視下に癒着剝離, 電気凝固, 洗浄を行ない, チョコレート嚢胞が存在した9例に対して, 穿刺・吸引の後, エタノール固定を施行した。【結果】アルコール固定を行なったチョコレート嚢胞の再発は, 未だ認められていない。妊娠例は2例である。そのうち1例はチョコレート嚢腫にて手術の既往があり両側の卵管, および卵管周囲の強度な癒着があり腹腔鏡直視下に癒着剝離術を行ない, 3ヵ月後に自然妊娠した。他の1例は不妊期間5年, 月経困難症を主訴に平成2年8月受診, 内膜症の症状とともにエコーにて卵巣嚢腫を認め, 初回腹腔鏡にてR-A-F-S分類IV期と診断した。同時に直視下で右チョコレート嚢胞のアルコール固定および癒着剝離を行ない, 術後ダナゾール療法を6ヵ月間施行, チョコレート嚢胞の再発は認められていず, また症状の改善も認められた。再度腹腔鏡診を行なったところ, II期まで改善, 術後2ヵ月で自然妊娠にいたった。【考察】腹腔鏡は, 不妊症の原因を診断する意義だけでなく, 卵管周囲癒着例, 内膜症例に対して癒着剝離術や, チョコレート嚢胞に対するアルコール固定法が可能で, 不妊症患者には有用な手技と思われた。

## IV-39

## 家兎卵管における受精現象および初期胚の発育に及ぼすLipiodol-UFの影響

日本大学農獣医学部獣医生理学教室  
○成相孝一・金山喜一・遠藤克・佐久間勇次

【目的】子宮・卵管造影法(HSG)は卵管性不妊症の診断に広く用いられている手法である。しかしながら、HSG施行後の卵管内における排卵卵子の受精現象、および胚の発育について経時的に追究した報告は見あたらない。今回、演者らは家兎において油性造影剤であるLipiodol-UFを卵管内に注入した場合、卵管内でのその後の受精現象および初期胚の発育に及ぼす影響について検討し、若干の知見を得たので報告する。【方法】供試動物は体重2.8~3.2kgの成熟雌未經産家兎20頭で5頭ずつ4群の試験区を設けた。供試家兎を開腹して子宮・卵管接合部から3Fr.栄養カテーテルを用い卵管内にLipiodol-UFを卵管采より漏出するまで徐々に注入した。この処置を施行した日をDay 0として、第I群はDay 1に、第II群はDay 3に、第III群はDay 5に、第IV群はDay 7に成熟雄と交配を行った。各群の供試家兎は交配後30時間目に安楽死させ、卵管を摘出後これを灌流し排卵卵子を回収することによって、受精の成否を検討した。さらに分割卵子は40%正常家兎血清加TCM-199を用い5%CO<sub>2</sub> in airで培養して胚盤胞への発育について観察を行った。【結果】回収卵子の受精状況については、第I群では回収された23個の卵子の全てが未受精卵子で、第II群は回収19個のうち15個(78.9%)、第III群では回収30個のうち27個(90.0%)、第IV群では回収卵子30個の全部(100%)が受精卵子であった。また、受精卵子のうち、第II群では10個(66.7%)、第III群では24個(88.9%)、第IV群では29個(96.7%)が胚盤胞にまで発育し透明帯の離脱が観察された。

以上のように、家兎卵管内にLipiodol-UFを注入すると、受精部位および初期胚の発育部位としての卵管環境が損なわれるが、注入より7日後にはほぼ正常な卵管環境に回復することが明らかとなった。

## IV-40

## 不妊症例における卵管洗浄回収液中線毛細胞所見と妊娠成立との相関についての検討

東京都済生会中央病院, 慶応義塾大学医学部産婦人科学教室\*  
○亀井 清, 玉岡有告, 大柴葉子, 吉田憲一, 横倉恒雄, 中村英世,  
田辺清男\*, 小林俊文\*, 野沢志朗\*

〔目的〕不妊症例における卵管洗浄回収液中線毛細胞所見が妊娠成立と関係するか否かを検討した。〔方法〕不妊症ルーチン検査終了後、腹腔鏡あるいは開腹手術を施行し、10%ヒト臍帯血清添加HAM-F10を使用して、専用カテにより片側もしくは両側卵管膨大部領域を反復洗浄した。同時に癒着剝離、色素通水などを施行し、少なくとも片側卵管について通過性など、膨大部以外ほぼ正常なることを確認した。回収後直ちに卵管洗浄液中の卵管線毛細胞について位相差顕微鏡下に観察した。同法を1988年11月より1991年1月まで52症例に実施したが、このうち卵巣・子宮・男性因子とみなしうるものを除く、GIFT, IVF-ETなどを受けていないAIHまでの治療とした36症例を対象とした。年齢分布は23~40才であり、平均年齢33.9才、平均不妊期間4.5年、原発性不妊28例、続発性不妊8例であった。卵管洗浄回収液中線毛細胞が少くとも通過性卵管1側に認められる場合を陽性とし、認められない場合を陰性として、以後0.5~2.5年のfollow-up期間に成立した妊娠との関係を比較検討した。

〔成績〕線毛細胞陽性例は31症例、陰性例は5症例であり、全陰性例に多少の卵管水腫(膨大部)を認めた。全36症例中16例(44.3%)が妊娠し、全て線毛細胞陽性例であり、陰性例に比し妊娠率は有意(5%)に高く、卵管溜膿腫、卵管水腫4例を含み、1例の外妊を認めた。続発性不妊8例は全て線毛細胞陽性であった。

〔結論〕不妊症における腹腔鏡検査あるいは開腹手術時に卵管洗浄を施行し、その回収液中線毛細胞の所見を得ることは、以後の妊娠成立を予測する上で有意義であり、卵管内膜生検に代用しうる可能性も示唆された。

## IV-41

## A I H 後経ダグラス窩精子回収試験による精子卵管通過性の検討

聖マリアンナ医科大学産婦人科

○栗林 靖・石塚 文平・近藤 俊彦・渡辺 研一・大野 祐子

堀越 裕史・斉藤 寿一郎・浜田 宏

精子卵管通過性検査として、配偶子間人工授精 (A I H) 後腹腔鏡下精子回収試験 (L-SRT) が行われている。SRTは月経周期の施行時期、精液所見の良否にともない変化する可能性がある。そこで、外来ベースで反復検査の行い得るA I H後経ダグラス窩精子回収試験 (TV-SRT) を試みた。

[対象] 当科不妊外来受診中の70例で、全例、子宮卵管造影法あるいは、腹腔鏡下色素通水法にて、少なくとも片側の卵管疎通性のあるものとした。[方法] 排卵をコントロールするためhMG-hCGによる排卵誘発を行い、排卵日の推定は、腔プローブ超音波による卵胞計測にて行った。精液の処理は、攪拌密度勾配遠心法を用いSRT施行2~4時間前に人工授精を行った。L-SRTの場合、腹腔鏡挿入直後ダグラス窩より腹水を吸引、または、生理食塩水10ccにてflushし、ただちに検鏡した。TV-SRTの場合、SRT施行直前0.02%ハイアミン液で十分に腔内を洗浄、後腔円蓋より20Gカテラン針にてダグラス窩を穿刺吸引し、ただちに検鏡した。[結果] (1) L-SRT、TV-SRTの陽性率は、それぞれ48%、48%であった。(2) L-SRT、TV-SRTを同日に施行した26例の結果は、100%一致した。(3) 推定排卵日-4日以前、3日以降においてSRT陽性例はなかった。(4) SRT施行時の血中E<sub>2</sub>、P<sub>4</sub>とSRT成績とは、相関は認められなかった。(5) SRT陽性例、陰性例の平均運動精子濃度 (Mean±S. D.) は、それぞれ83.61±89.81×10<sup>6</sup>/ml, 34.23±39.40×10<sup>6</sup>/mlで両群間には、危険率1%以下の有意差があった。[結論] SRT所見は、種々の状況で変化する可能性があり、繰り返し検査の行い得るTV-SRTは、臨床上有用な検査と思われた。

## IV-42

## 卵管間質部閉塞に対する経頸管的卵管再疎通法の検討

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室，中日病院産婦人科\*

○貝田清隆，鈴木規敬，鈴木真史，岡田英幹，飯田忠史，生田克夫，

万歳 稔\*，花田征治，八神喜昭

不妊症の原因のうちで卵管性因子を有する症例に対する治療方法を選択するうえにおいて、卵管の通過性と機能の回復の不可能であると考えられる症例に対しては体外受精胚移植が考慮されることになるが、卵管の機能回復がかなり期待できる症例に対してはマイクロサージェリーが行われている。しかしながら近年卵管間質部から峽部における閉塞に対しての経頸管的卵管再疎通法が注目されるようになってきている。この方法は開腹手術を必要とせず、放射線透視下に経頸管的に簡便に再疎通術の手技を行えることから患者に対する負担も少ないという利点を有する。当科においてこの経頸管的卵管再疎通法を6症例に試行したところ、再疎通法施行後1カ月から18カ月で4症例に妊娠が成立した。1例は妊娠初期に流産に終わったが、3例は現在順調に妊娠継続中である。

症例1は30才原発性不妊で卵管性不妊のため卵管端々吻合術の既往を有する症例で、術後再度卵管閉塞が起こったため、経頸管的卵管再疎通術を施行した。再疎通術後11カ月後に妊娠が成立した。症例2は29才の原発性不妊で子宮卵管造影、腹腔鏡検査にて両側の卵管間質部閉塞が認められたために疎通術を施行した。疎通術後15カ月で妊娠が確認された。症例3は31才で同様に他院にての子宮卵管造影で卵管の閉塞を疑われ当科にて腹腔鏡を施行、卵管間質部閉塞が認められ再疎通術を施行し、18カ月で妊娠に至っている。症例4は23才の原発性不妊症例で再疎通術を行った周期に妊娠に至ったが、妊娠初期の流産に終わっている。この様に経頸管的卵管再疎通法における治療効果は良好であり、患者への侵襲も少ないことから有用な不妊症の治療方法の一つであると考えられる。

## IV-43

## 種々の検査法による黄体機能評価

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○吉野和男、高橋健太郎、白井孝昭、岡田さおり、北尾学

不妊症の原因の一つとして着床障害に関する子宮内膜の性状が最近注目を浴びている。そして、黄体機能不全の診断法として以前より子宮内膜日付診断が行われているが、それ以外にも種々の検査法が考案され報告されている。今回 4種類の黄体機能評価に関する検査法を同時に施行し、若干の知見を得たので報告する。

研究対象は当科不妊・内分泌外来を受診し、自然排卵を確認した14例であり、黄体中期に子宮内膜日付診断（内膜診実施日と組織学的日付診とのズレが2日以内を正常）、血中progesterone(10ng/ml以上を正常)、経腔超音波断層法による子宮内膜所見（内膜の厚さが10mm以上で、高輝度エコーである場合を正常）、及び子宮鏡による子宮内膜所見（内膜が厚く膨隆し、拡張した静脈瘤様の血管が認められるものを正常）の4種類の検査法を施行した。結果として、1)子宮内膜日付診断で正常を示すものは13例(92.9%)であった。2)血中progesteroneが正常を示すものは13例(92.9%)であった。3)超音波断層法による子宮内膜所見が正常のものは11例(78.6%)であった。4)子宮鏡による子宮内膜所見が正常のものは11例(78.6%)であった。5)4種類の検査法がすべて正常のものは8例(57.1%)であった。6)14例中2例の妊娠が認められたが、1例は4種類すべての検査法が正常であったが、他の1例は子宮鏡による子宮内膜所見が異常で他は正常であった。

以上のことより、黄体期の子宮内膜を評価するのに種々の検査法があるが、検査法によりその診断学的価値は異なることが示唆され、直接妊娠に結びつく検査法をその簡便性も考慮し検討することが必要と思われた。

## IV-44

## 機能性不妊治療における子宮内膜搔爬術の有用性についての検討

○関谷 隆夫、石原 楷輔、菊池三郎。

( 日本医科大学 産婦人科 )

(緒言)我々は従来より超音波断層法にて子宮内膜の観察を行い、正常に比して薄い内膜を有する症例や分泌期中期に混合型内膜像を呈する症例は、不妊治療に反応しにくいことを報告してきた。しかしこれらの症例に対する積極的な治療法はない。そこでこれらの症例に対して子宮内膜搔爬術を施行し、術前術後の子宮内膜の変化を超音波学的に観察し、その有用性の検討を行った(対象)1年以上の不妊を主訴として当科外来を受診した機能性不妊の10症例を対象とした。7例は排卵期の内膜の厚さが8mm未満の症例で、3例は分泌期中期において混合型内膜像を呈した症例である(方法)①全例について月経期に子宮内膜搔爬術を施行、術前術後の月経周期における内膜の厚さと質を経腔走査法にて観察し、同時に血中卵巣ホルモン値を計測してその変化を比較検討した。②また各群について術後の予後を検討した。(結果)①内膜の厚さと、同時に測定した血中卵巣ホルモン値については、術前術後で有意な差がなかった( $P<0.01$ )。またこれらを術後6周期にわたって経過観察したが、妊娠に至った例はなかった。②内膜の質については、血中卵巣ホルモン値にかかわらず、3症例すべてが混合型から均一高輝度型に改善し、内膜の質が改善した3例中2例が、術後3周期以内に妊娠に至った(考察)我々はこれまで、正常に比して子宮内膜の薄い例や分泌期中期に混合型内膜像を呈する例は、不妊治療に反応しにくいことを報告してきた。今回はこれらに対する治療法としての子宮内膜搔爬術の有用性について検討を加えた。その結果、子宮内膜搔爬術は内膜の薄い例に対する治療法として有用でなかった。一方混合型内膜像を呈する群は、母集団が3症例と少ないものの、これを我々が以前検討した混合型内膜像を呈する症例の不妊治療に対する予後と比較した場合、3例中2例が術後3周期以内に妊娠に至ったことは、子宮内膜搔爬術が、こうした症例に対する治療法として有用である可能性を示唆していると考えられた。

## IV-45

## I V F - E T にて妊娠した結核性不妊症の2例

琉球大学医学部産婦人科

○新川 唯彦、高宮城 直子、佐久川 政男、新崎 盛雄  
佐久本 哲郎、東 政弘、中山 道男

性器結核に起因する不妊症はこれまで治療の対象とならなかった。しかし、近年 I V F - E T の進歩により結核性不妊症もまた治療対象となってきた。今回我々は I V F - E T により妊娠成立した結核性不妊2例を経験したので報告する。

症例1、は6才で肺結核、19才で結核性腹膜炎の既往を有する40才の13年原発不妊患者である。初期検査では左卵管閉塞と右卵管通過障害及び乏精子症が認められた。頻発する下腹痛と月経困難の原因解明のため開腹手術を施行した。腹腔内に多数の石灰化腫瘍と広汎な癒着、左卵管の閉塞を認めたが、右卵管の通過性は確認された。その後通気道水療法、過排卵刺激+A I H 療法等を施行するも妊娠成立はなかった。以後、治療経過中、子宮筋腫の増大による水腎と尿路感染が発症したため、G n R H a を用いた後、筋腫核出術を施行した。手術後の子宮鏡検査で正常子宮内膜を確認した後、過排卵刺激を開始、1回目の I V F - E T で双胎妊娠が成立した。本年妊娠34週で男児2368 g、2144 g を帝切分娩した。

症例2は、肺結核の既往を有する35才の12年原発不妊患者である。30才時の卵管形成術の際、卵管内容液より結核菌が検出され8ヶ月間 P A S 投与を受けた。35才時他院にて I V F - E T により妊娠したが、10週で子宮内膜炎により自然流産となった。以後の検査で結核性子宮内膜炎と肺結核の再燃が診断されたので、1年間 I N H、R F P、E B の3者併用療法を行った。その後、子宮鏡にて正常子宮内膜を確認したので、I V F - E T を行い現在妊娠20週継続中である。

本2症例の経験から、結核性不妊症において I V F - E T を施行する場合には、子宮内膜の病変の有無を十分に検討する必要がある事が示された。

## IV-46

## 受精初期におけるヒト及びマウスの卵管上皮のタンパク合成能の検討と電顕的形態

東京都済生会中央病院産婦人科 ○大柴葉子、中村英世  
慶應義塾大学医学部産婦人科 鈴木秋悦、野澤志朗

【目的】不妊治療法として盛んに配偶子治療が行われている現在でも哺乳類の胚培養法はまだ確立されたわけではなく、マウス、ブタ、ヒツジなどで stage-specific な胚発育停止現象が知られている。in vitro、すなわち生理的な卵管環境内ではこの現象はおこらないことから、卵管環境の初期胚発生への影響を検討する必要がある。今回我々はヒト及びマウスの卵管上皮により合成されるタンパクについて検討し、卵管上皮を透過型電顕にて観察した。

【方法】1.正常性周期を有するヒトより卵胞期、排卵期、黄体期の卵管を得て膨大部200 $\mu$ を採取した。2. I C R 系マウスに P M S G 50 単位投与40時間後、及び P M S G 投与48時間後に h C G 50 単位を投与して20時間後に卵管を採取した。1, 2の検体を<sup>35</sup>Sメチオニン添加メチオニン除去minimum essential medium (MEM) 中で24時間培養後遠心して上清を回収し一次元電気泳動を行った。3. ヒト、及びマウスの卵管を採取直後、24時間後に透過型電子顕微鏡で観察した。

【結果と考察】ヒト卵管上皮のタンパク合成は排卵期に亢進しており特に45, 36, 32, 30, 25, 18kDaのタンパクバンドが出現した。hCG投与20時間後のマウス卵管上皮にもタンパク合成の亢進がみられ数種の特異タンパクバンドが認められた。ヒト、及びマウスの採取直後の卵管上皮には多数の繊毛細胞が認められ、分泌細胞内には分泌顆粒が存在した。24時間培養後にこの分泌顆粒は消失していた。以上の結果より、受精初期環境をつくる時期のヒト、及びマウスの卵管上皮にはタンパク合成の亢進と特異タンパクの出現が認められ、卵管内へ分泌される可能性があると考えられた。

## IV-47

無血清培養ブタ卵管上皮細胞の形態およびタンパク産生に及ぼす  
エストロジェンの影響

岡山大学農学部家畜機能調節学講座  
○中川豊、湯原正高

【目的】エストロジェンは、哺乳動物の卵管上皮の形態及びタンパク産生能に影響を及ぼすことがin vivoで観察されている。本研究では、無血清で培養した卵管上皮細胞の形態及びタンパク産生に及ぼすエストロジェンの影響を明らかにしようとした。

【方法】DMEM/Ham's F12を基本培地として用い、これにインスリン、亜セレン酸ナトリウム、ハイドロコルチゾン、ビタミンAおよび抗生物質を添加した。屠場より採取した未成熟ブタの卵管を縦に切開し、0.76% EDTA処理後、0.1% コラゲナーゼ処理することにより卵管上皮細胞を得た。35mm培養皿に10<sup>6</sup>個ずつ播種し、5% CO<sub>2</sub>・95% 空気、37°Cの条件下で培養した。培養液は2日毎に交換した。培養6日目から8日目までエストラジオール (E<sub>2</sub>) を添加した (0.7M, 0.17M, 1.07M, 10007M)。培養10日目の培養上清を透析・凍結乾燥し、電気泳動を行なうまで-35°Cで保存した。培養上清中に含まれる産生タンパクの解析は、一次元SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動により行なった。

【結果】培養開始後2日毎に細胞数を計測したところ、培養6日目に増殖が停止しコンフルエントの状態となった。培養細胞は約2週間良好な上皮様形態を示した。培養6日目から2日間E<sub>2</sub>を添加した結果、その添加量に依存して良好な形態の維持される期間の延長が認められた。SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動による分析では、添加したE<sub>2</sub>の濃度が高くなるに従い、泳動後のタンパクバンドの減衰が認められた。

【結論】本研究の結果から、卵管上皮細胞の無血清長期培養が可能なこと及び培養細胞の形態に及ぼすE<sub>2</sub>の効果が示された。E<sub>2</sub>によるタンパク産生の抑制については、現在解析中である。

## IV-48

Karyotype 46XYを示した androgen insensitivity synd. の分子生物学的解析

帝京大学医学部産婦人科  
○家老仁郎、森 宏之、竹下茂樹、土橋一慶、荒井 清、竹内正七

両側性腺が精巣に分化しているにもかかわらず、外性生殖器が女性型を呈する性分化異常は睾丸女性化症候群 (Testicular femnization synd.) と呼ばれてきたが、近年その病因が androgen receptor の欠損によるものと考えられてから Androgen insensitivity synd. とも呼ばれている。我々は無月経を主訴として来院し染色体検査で Karyotype 46XY を示した症例を経験した。外観、外生殖器は女性型で膣は盲端に終り子宮は欠如していた。乳房発育は Tanner 分類 stage III で陰毛、腋毛は欠如していた。内分泌検査において LH-RH テストでは LH、FSH とも過剰反応を示し、HCG 負荷テスト (1万単位, 5日間) では、負荷前後において E<sub>1</sub>、テストステロンの上昇が認められた。また合成 androgen である R1881 を用いた androgen receptor assay において患者外陰部皮膚の androgen receptor は核、細胞質においても陰性であった。さらに今回我々は、患者血液より DNA を抽出し、PCR-ダイレクトシーケンシング法により androgen receptor 遺伝子の解析を行ない遺伝子の deletion 及び point mutation につき検討した。また最近 testis determining factor を制御する遺伝子と判明した SRY 遺伝子についても同様に PCR-ダイレクトシーケンシング法による解析を行なった。

## IV-49

異なる病態を示した 46, XY pure gonadal dysgenesis (Swyer 症候群) の二例

佼成病院産婦人科、東京慈恵会医科大学産婦人科学教室<sup>1)</sup> 国立小児病院小児医療研究センター先天異常研究部<sup>2)</sup>

○大和竜夫、丹英人、今川信行、石川卓爾、楠原浩二<sup>1)</sup> 松本和紀<sup>1)</sup> 渡辺明彦<sup>1)</sup> 寺島芳輝<sup>1)</sup> 中込弥男<sup>2)</sup>

46, XY pure gonadal dysgenesisはSwyer症候群とも言われ、核型は46,XYであるが表現型は女性型を示し、性腺腫瘍を発生する頻度が高いため無月経、不妊、腹部腫瘍を主訴として発見されることが多い。今回、異なる病態を示した本症の二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1〕21歳。主訴は原発性無月経。既往歴、家族歴に特記すべきことはない。身長175 cm、体重60 kg、スパン185.2 cm。腋毛は認められず、乳房発育はTanner分類stage 1、陰毛発育は正常、軽度陰核肥大を認め、内診にて小鶏卵大の子宮を触れた。核型は46,XY、内分泌学的検査でhypergonadotropic hypogonadism patternを示し、E+P剤にて消退出血を認めた。Swyer症候群の診断にて悪性腫瘍発生の予防を目的に性腺摘除術を行った。性腺は組織学的に精細管等のtestis elementが存在したが悪性所見はなかった。

〔症例2〕26歳。主訴は下腹部膨満感。無月経のため15歳から18歳頃まで他院より時々ホルモン剤を投与されていた。家族歴に特記すべきことはない。身体的所見、外性器所見は症例1とほぼ同様であるが下腹部に小児頭大で硬い腫瘍を触知した。CA125、AFP等が高値であることより卵巣腫瘍を疑い手術した。該腫瘍は左性腺より発生し腹水も伴い卵巣腫瘍臨床期別分類でいうところのⅢc期に相当し、病理組織学的にはyolk sac tumor, immature teratoma, embryonal carcinomaからなる混合型胚細胞腫瘍であった。右性腺はstreak gonadであった。核型は46,XYであった。術後化学療法を行うも不幸な転帰にいたった。

本症は次の二点より注目すべき疾患と言える。第一点は本症の発生にはtestis determining factor (TF) が関与しているが、Y染色体の構造異常がDNA解析により明らかにされつつある点である。本症例については現在検討中である。第二点は本症に高頻度に発生する性腺由来の悪性腫瘍の発生である。予防的性腺摘除の必要性を強調したい。

## IV-50

XY female 8 症例の検討

大阪市立城北市民病院産婦人科 ○中野昌芳、濱田和孝

大阪市立十三市民病院産婦人科 田中文平

原発性無月経はあまり頻度の高い疾患ではないが、その中には染色体異常を伴う症例が比較的多くみられる。これらの症例は身体的、社会的に問題を抱え、長期間にわたる医師との接触を要し、医師の側もその経過観察には忍耐を必要とする。われわれが以前に報告した集計では、原発性無月経48例のうち性分化異常を伴うものは27例(56.3%)であった。今回は最近までに経験したY染色体を有する性分化異常の8症例につき検討を行った。

症例はTesticular feminization syndrome (以下TFS) 6例とgonadal dysgenesis (以下GD) の2例である。性分化異常の成成分類ではTFSは生殖管、外性器の分化異常が原因であり、GDは性腺分化異常が原因で、異常発生の機序は異なるが、臨床的にはともに外性器が女性型を示し、染色体が46,XYであるという共通点を持つためまとめて検討した。

これらの症例につき、身体的特徴、染色体分析、内分泌学的検討、開腹時所見および病理組織学的検討を行った。そのうち6症例はすでに8年以上にわたって長期的観察を行っており、エストロゲンを中心とした内分泌療法の治療経過、長期的観察における問題点について報告する。

TFSにおいては恥毛の発育が望めなかったこと、GDにおいてはエストロゲン投与によっても高身長予防ができなかったことが今後の検討課題である。

## IV-51

## 小児外科領域における先天性腔形成異常の検討

獨協医科大学越谷病院小児外科  
○土屋博之、長島金二、小笠原忠彦、大橋 忍

〔目的〕 Müller管あるいは泌尿生殖洞の発育障害による先天性腔形成異常における診断・治療については、いまだ多くの問題がある。今回、小児外科領域における自験症例を検討し、特に手術を中心とした治療方針について報告する。

〔自験症例〕 過去6年間に腔形成異常を認めた症例は5症例であった。I) 処女膜閉鎖症1例。排尿・排便困難で来院し、外陰部所見と超音波検査にて本症に伴うhematocolposと診断した。手術は処女膜の十字切開と部分切除がなされた。II) McKusick-Kaufman Syndrome 1例。出生前より胎児腹腔内の嚢腫状病変が指摘されていた。生後、外陰部所見、多趾症、超音波検査らにより、上部腔閉鎖によるmucocolposを呈した本症候群と診断した。生後0日、腔・膀胱瘻を造設し、術後の腔造影では、腔・膀胱瘻を認めた。生後6ヶ月時に、腔・膀胱瘻切除術および腔形成術を施行し、術後経過は良好である。

III) 総排泄腔異常3例。総排泄腔異常に合併する腔形成異常で、1例は分離重複子宮重複腔、2例は双頭双角子宮で、3症例とも腔に拡張を認めず膀胱近位側総排泄腔に開口していた。2例は、新生児期に人工肛門が造設され、1歳時の総排泄腔異常根治術（鎖肛に対して1例は結腸、他の1例は回腸のpull-through）時に、それぞれS状結腸、回腸を利用した造腔術が同時に施行された。他の1例は、他院で鎖肛に対して人工肛門造設および直腸 pull-through がなされ、今回12歳時、回腸利用による造腔術がなされた。術後経過は良好であるが、長期にわたる観察が必要と考えられた。

〔結語〕 先天性腔形成異常の自験症例を中心にその診断・治療について検討を加えた。症例によって特異的な腔形態異常を示し、又合併症を含めての、術前の各種検査による十分な解剖学的病態把握が大切で、それに基づき手術計画を立てる事が重要と考えた。

## IV-52

## 大腿骨頭こり症を合併した性腺形成異常症の1例

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

○鈴木真史、鈴木規敬、岡田英幹、貝田清隆、生田克夫、花田征治、八神喜昭  
中日病院産科婦人科  
万歳 稔

思春期以後の性ホルモンの欠乏は骨端線閉鎖遅延をもたらすため、大腿骨頭こり症を発症することがあるとされているが、これまで報告例は少ない。今回我々は大腿骨頭こり症と若年性甲状腺機能低下症を合併した性腺形成異常症の1例を経験したので、本疾患の発症誘因等について若干の文献的考察を加えて報告する。症例は21歳の未婚女性で家族歴、既往歴に特記すべきことはない。左大腿部を打撲後左股関節痛が出現し、整形外科受診、左大腿骨頭こり症と診断され、初経未発来のため婦人科受診を指示された。婦人科初診時、体重65kg、Broca指数31%と肥満を認めた。乳房発育及び外陰発毛は不良(Tanner分類第2度)。外陰部は小児様、腔腔は狭く、子宮は小さく、付属器を触知しなかった。内分泌学検査ではTSHの異常高値、free T3・T4の低下、TRH試験でTSHの過剰反応を認めた。視床下部・下垂体・性腺機能検査成績ではエストラジオール、プロゲステロンの低値、LH、FSHの高値より性腺機能不全症が示唆された。LH-RH試験の結果より卵巣性無月経であり、又、プロゲステロンテストで子宮出血を認めず、エストロゲン・プロゲステンテストで子宮出血を認めた。腹腔鏡検査所見は、子宮は小児様で、卵巣はわずかな白色の索状構造物として認めた。以上の所見より左大腿骨頭こり症に若年性甲状腺機能低下症を合併した性腺形成異常症と診断され、整形外科では患側及び予防的な意味で健側にも観血的治療を行いその後リハビリテーションを行っている。婦人科では第2次性徴の促進と骨端線の閉鎖を目的としてKaufmann療法を行った。甲状腺機能低下症に対して甲状腺剤内服治療を行い、現在甲状腺機能は良好にコントロールされている。

## IV-53

## 無精子症における染色体異常の検討

川崎医大泌尿器科

○河原弘之, 田中啓幹

男子不妊症患者のうち、無精子症の原因の一つとして染色体異常は重要な位置を占めている。今回、我々は、1988年1月より1991年4月までに当科不妊外来を受診した患者のうち、無精子症35例に対し染色体検査を行なった結果を報告する。なお、染色体の同定には末梢血リンパ球培養法を用いた。

【結果】35例の無精子症のうち26例は染色体検査の結果46,XYの正常男性核型を示した。なんらかの異常を示したのは9例(25.7%)であり、その内訳はクラインフェルター症候群が7例(47,XXY 6例48,XXYY 1例)、45,X/46,XYq<sup>-</sup>と46,XY22q<sup>+</sup>各々1例がみられた。精巣容量は、染色体正常群では10.8 ml、染色体異常群で6.1 mlと差がみられた。内分泌学的検討では、染色体正常群でLH 5.2 ng/ml、FSH 21.4 ng/ml、T 510.1 ng/dl、染色体異常群でLH 11.6 ng/ml、FSH 36.9 ng/ml、T 446.1 ng/dlと、LH、FSHにおいて染色体異常群が高値であった。48,XXYYの1例はモザイクを伴わないものとしては本邦16症例目であった。また、45,X/46,XYq<sup>-</sup>のモザイク例は、現在までに検索し得た範囲では報告例はみられていない。

【結語】無精子症例35例に染色体検査を行なったところ9例(25.7%)に染色体異常を認め、その多くはクラインフェルター症候群であった。その他、45,X/46,XYq<sup>-</sup>のモザイク1例を認め、これは本邦1例目と考えられた。

## IV-54

## 男子不妊を主訴とした45, X/46, X, +mar maleの1例

○寺田央巳<sup>1)</sup>、影山慎二<sup>1)</sup>、山口安三<sup>1)</sup>、牛山知己<sup>1)</sup>、太田信隆<sup>1)</sup>、河邊香月<sup>1)</sup>、田島 惇<sup>2)</sup>、阿曾佳郎<sup>2)</sup>

1) 浜松医大泌尿器科、2) 東京大学泌尿器科

症例は28歳男性。無精子症を主訴に来院。現病歴では、結婚後3年間不妊のため近医を受診、精液検査で無精子症の診断を受けた。1989年4月11日、当科を紹介され初診。染色体異常を認めたため同年7月2日、精査目的で当科に入院した。家族歴、既往歴に特記すべきことはなかった。入院時現症では、体格、栄養、良。体型は男性型。頭、頸、胸部に異常なく、女性化乳房は認めなかった。腹部に異常所見なく、外性器では、精巣重量が8g相当と小さい以外異常所見はなかった。入院時検査所見では、検尿、血算、血液生化学検査に異常はなく、内分泌学的検査でFSHが46.4 μg/mlと高値を示したが、LH、testosterone値、LH-RH、hCG負荷試験に異常はなかった。画像診断ではDIP、UGともに異常を認めなかった。両側精巣生検の病理組織学的診断では、Aspermatogenesis、Johnsen's score 2だった。染色体検査(G-banding法)は、45, X/46, X+mar, mosaic typeだった。そのためmarker染色体についてY染色体由来のものを考え、Q-banding法を行ったが、Y-bodyは陰性だった。さらにPseudo dicentric-Yの可能性も考え、Y染色体特異DNA解析による検索を行ったが、H-Y抗原を含むY染色体由来の遺伝子の存在の可能性は低いという報告だった。なお、患者はAIDを希望しており現在、外来で通院中である。以上、Y染色体欠損症と考えられる45, X/46, X, +marという非常に稀な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予定である。

## IV-55

尿道下裂を合併したkallmann症候群の1例

○谷川龍彦、寺田勝彦、三股浩光、緒方二郎（大分医大泌尿器科）

症例は56才、社会的な女性。出生時より外生殖器異常のため女性として育てられた。思春期に月経や乳房の発育など二次性徴は発現しなかったが産婦人科医を受診することもなく現在に至っている。喘息およびメニエル病のため某医入院中頻尿を訴えたため佐伯市西田病院泌尿器科を受診。外陰部の異常がみられ染色体検査にて46XYであったため大分医大泌尿器科を紹介された。入院時現症では外陰部に数本の恥毛を認め陰嚢の発育は悪く内容は欠如していた。尿道下裂の他、両側ソケイ部に停留睾丸と思われる腫瘤を触知し、直腸診および経直腸超音波検査にて萎縮した前立腺を認めた。また小眼球、鞍鼻、両眼離開など顔面の奇形のほか粘膜下口蓋裂を認めた。膀胱尿道鏡検査で嚢は認められなかった。ホルモン検査にて血清テストステロンは低値、FSHは基準値内であったがLHの低下がみられ、血漿LH-RHも低値を示した。LH-RH負荷試験にてLH、FSHは正常に反応した。軽度の知能障害があり嗅覚は欠如していた。家族歴に嗅覚異常症や不妊症はなかったが以上の所見よりKallmann症候群と診断し、左ソケイ部停留睾丸の生検を施行し睾丸組織を確認した。56才まで女性として社会生活を送っていることより近親者（弟）のみ病態を説明し特に治療は行わなかった。Kallmann症候群は種々の先天異常を合併するが、我々の検索した限り内外の文献に尿道下裂を合併した報告例はなく自験例が第一例目である。

## IV-56

停留睾丸328症例の検討

春日部市立病院 泌尿器科

○川上 理、根岸壮治、山田拓己、永松秀樹、増田 均、長浜克志

【目的】停留睾丸における副睾丸・精管の形態異常と接合異常および睾丸導帯の付着部位を検討した。  
【対象と方法】対象は1968年から1989年の21年間に春日部市立病院泌尿器科で手術を施行した停留睾丸328症例で、片側停留睾丸247例、両側停留睾丸81例の計409睾丸である。主として術中の肉眼的所見に基づいて、①副睾丸・精管の形態異常と接合異常②睾丸導帯の付着部位について集計し、睾丸の停留部位との関係を検討した。

【結果】睾丸の停留部位は移動性睾丸が14睾丸、落合の分類(1957)による第1度が257睾丸、第2度90例、第3度21睾丸、第4度14睾丸、片側睾丸欠損が11例、以前の睾丸固定術後の萎縮睾丸が2睾丸であった。なお、合併奇形として鼠径ヘルニアが34症例、尿道下裂が4例、陰莖湾曲症、口蓋裂、多指症がそれぞれ1例にみられた。

副睾丸・精管の形態異常および睾丸との接合異常は評価可能であった258睾丸のうち172睾丸(67%)に認められた。副睾丸の体部のみの分離：53睾丸、体部尾部の分離：45睾丸、副睾丸のループ状の延長：50睾丸、副睾丸頭部と睾丸との不連続：7睾丸、盲端となった精管：6睾丸、精管欠損：9睾丸で、睾丸の停留部位が高いほど形態異常も高度である傾向を認めた。

睾丸導帯の付着部位は316睾丸で評価可能であった。陰嚢底（正常）が2睾丸、陰嚢上部が190睾丸、恥骨が118睾丸、鼠径靭帯から大腿筋膜が6睾丸で、停留部位が高い程、睾丸導帯の付着部位も高い結果であった。

## V-1

体重減少を伴った続発性無月経患者の病態把握としての LH-RH テスト

大阪市立大学 産科婦人科学教室

○小嶋哲矢, 伊藤文俊, 康 文豪, 友田昭二, 藤野祐司, 荻田幸雄

【目的】体重減少を伴った続発性無月経患者に LH-RH テストを行い、間脳・下垂体機能の把握を試みた。  
 【対象と方法】対象は続発性無月経を主訴に当院内内分泌外来を受診した患者のうち、体重減少を伴った41例で、内訳は第1度無月経(以下1st Gr.)13例、第2度無月経(以下2nd Gr.)28例であった。これら41例に LH-RH テストを反復、計59回施行した。LH-RH テストの方法は、LH-RH 100  $\mu$ g を筋注し、投与前値(以下基礎値)と投与後30分値(以下反応値)を測定した。【結果】初診時年齢、身長、無月経前体重、最大体重減少は、1st Gr. の  $21.9 \pm 3.5$  歳、 $160 \pm 4.6$  cm、 $53 \pm 6.3$  kg、 $9.3 \pm 4.5$  kg に対し2nd Gr. では  $22.0 \pm 3.9$  歳、 $156 \pm 4.8$  cm、 $51 \pm 6.9$  kg、 $10.9 \pm 5.4$  kg と有意差は認められなかった。LH-RH テストの結果は、LH、FSHの基礎値は1st Gr. (N=22)の  $5.5 \pm 5.9$  mIU/ml、 $3.6 \pm 1.9$  mIU/ml に対し2nd Gr. (N=37)は  $3.4 \pm 3.3$  mIU/ml、 $3.5 \pm 2.3$  mIU/ml と有意差は認められなかった。LHの反応値は1st Gr.  $35.2 \pm 37.7$  mIU/ml に対し2nd Gr.  $12.0 \pm 9.2$  mIU/ml であり1st Gr. の方が有意に高値であった。FSHの反応値には有意差は認められなかった。一方反応パターンより2nd Gr. は、LHの基礎値、反応値共に3 mIU/ml未滿の no response (以下N)群、反応値が3 mIU/ml以上10 mIU/ml未滿の poor response (以下P)群、反応値が10 mIU/ml以上の good response (以下G)群の3群に分類された。うち10例に Clomiphene citrate (以下CC)による排卵誘発を行い、N群0% (0/1)、P群0% (0/1)、G群87.5% (7/8)に排卵が認められた。また1st Gr. 9例と、Kaufmann 療法あるいはエストロゲン長期投与により2nd Gr. から1st Gr. に回復した9例のうち7例の計16例にCCによる排卵誘発を行い、93.8% (15/16)に排卵が認められた。【考察】LH-RH テストにより体重減少を伴った無月経の病態把握が可能であり、反応良好なものはたとえ2nd Gr. であってもCCによる排卵誘発を行うことが治療につながるかと考察された。

## V-2

gonadotropin に対する poor responders におけるクロニジン負荷テストの反応性について

済生会下関総合病院産婦人科

○高崎彰久, 蔵本武志, 平塚圭祐, 森岡 均

最近、gonadotropin に対する poor responders における、growth hormone (GH) の関与が報告されている。今回、我々は、当院不妊外来受診患者に対し、GH 刺激試験の1つであるクロニジン負荷テストを行い、poor responders の反応性を検討した。

【方法】HMG投与患者中、最大卵胞径が18mmを越えるまでのHMGの総投与量が1500IU以上の群を poor responder 群(9名)とし、1500IU未滿の群(good responder 群: 5名)および、無治療あるいは clomid 投与により排卵を有する群(control群: 7名)とのクロニジン負荷テストの反応性の違いを検討した。なお、クロニジン負荷テストは、月経周期の3~5日目にを行い、クロニジン300  $\mu$ g を経口投与し、投与前、投与後30, 60, 90, 120分に採血しGHを測定した。

【結果】クロニジン投与前のGH値は、3群間で有意の差は認められなかった。control 群では、GHは60分後より上昇を始め、90分後にピーク( $16.8 \pm 4.4$  ng/ml)に達した。good responder 群もcontrol 群とほぼ同様の变化を示した。これに対し poor responder 群では、GHの上昇は認められず、90分値も  $3.3 \pm 0.9$  ng/ml と他の2群に比して有意に低値を示した。

【結論】poor responder 群では、潜在性のGH分泌不全が存在することが示唆された。現在、poor responders に対し、GHを用いた治療の有用性を検討している。

## V-3

## Luteinizing hormone (LH) 単独欠損症の一例

滋賀医科大学産科学婦人科学教室

須戸 龍男 竹中 章 山出 一郎  
 横江 保彦 吉田 吉信

hypogonadotropic hypogonadismのうち、FSH level は正常であるが、選択的に LH level のみが測定感度以下である症例は非常に稀である。今回、続発性無月経を主訴に来院し、LH単独欠損症と考えられた一症例を経験したので報告する。

症例は25歳、既婚女性。21歳で結婚し、22歳で第一子を正常分娩した。月経周期は順調であったが平成2年8月より無月経となり、同年10月に当科を受診した。体格は正常で、乳房・外陰部の発達も正常であった。また内診・超音波検査上、子宮・卵巣は正常大であった。progesterone剤の投与にて消退出血は発来したが、以後の基礎体温は一層性であった。血中 E<sub>2</sub> 値 (RIA) の上昇は軽度認められたが、卵胞発育は不十分であった。血中下垂体hormone (RIA) 値は、LH値が測定感度以下であった他は、FSH PRL TSH GH ACTH値は正常範囲にあった。LH-RH 負荷testでは FSH 値はnormo-goodの正常反応を示したが、LH値は負荷前後とも測定感度以下で無反応を示した。くり返しLH-RH testを行なったが、LHはいずれも無反応であった。LHの pulsatile secretionの有無をみる目的で、3時間にわたり15分ごとに LH FSH 値を測定したが、LH値はいずれも0.5mIU/ml の測定感度以下を示し、FSH 値は3.5 ~ 5.0mIU/ml の正常範囲であった。免疫学的・ウイルス学的検査に異常はみられなかった。以上よりLH単独欠損症と診断可能と考えられた。

## V-4

## 不妊を主訴として発見された末端肥大症の2男子例

広島大学医学部脳神経外科

○ 恩田 純、魚住 徹、矢野 隆、有田和徳、  
 栗栖 薫、広畑泰三

不妊を主訴として発見された末端肥大症の2男子例を報告する。【症例】症例1は39歳、GH産生下垂体腺腫 (GH = 19.0ng/ml)、症例2は31歳、GHおよびPRL産生下垂体腺腫 (GH = 142.6ng/ml, PRL = 46.6ng/ml) の男性で、それぞれの不妊歴は症例1が13年、症例2が2年であった。また末端肥大症出現からの期間はそれぞれ13年、7年であった。ともに精液中の精子数減少 (精子数: 症例1;  $28 \times 10^6$  個/ml、症例2: 0 個/ml) がみられた。LH, FSHは症例1では基礎値、LHRHに対する反応性ともに正常、症例2では低下していた。また2例ともtestosterone基礎値の低値とHCGに対するtestosterone上昇率が低下していた。2例とも腺腫全摘後高GH、高PRL血症は正常化した。しかしLHRHに対する反応性に変化はなく、またtestosterone基礎値の改善も不十分であった。しかしHCGに対するtestosteroneの反応性は改善し、精液中の精子数も著明に増加した (症例1:  $123 \times 10^6$  個/ml、症例2:  $4 \times 10^6$  個/ml)。その後症例2では妊娠が成立した。【考察】今回報告した2例はlibidoの低下とともに造精機能障害が不妊の原因になっていたと考えられた。また両例において、術前後でLH、FSHの基礎値およびLHRH testでの反応性には変化はなく、さらに術後も血中testosterone値の低下が継続しているにもかかわらず、高GHあるいは高PRL血症の改善に伴い造精機能の改善が得られた。長期にわたる高PRL血症の存在ではLeydig cellにおけるtestosterone合成が抑制され造精機能障害が起こり得ることが知られているが、高GH血症の存在下においてもなんらかの機序によって造精機能が低下する可能性が示唆された。

## V-5

視床下部におけるオキシトシンとバゾプレッシン産生細胞の遺伝子発現

帝京大学産婦人科

○深沢みゆき, 味香勝也, 荒井 清, 沖永荘一

【目的】ラットの視床下部におけるオキシトシン(OX), バゾプレッシン(VASO)産生細胞の局在を合成オリゴヌクレオチドプローブを用いた *in situ hybridization* 法および免疫組織化学的染色法によって検討した。

【方法】成熟雌ラット(体重180~250g)を4%パラホルムアルデヒドで灌流固定した。視床下部組織片を採取し、凍結切片を作成した。Landらによって明らかにされたOXとVASOの遺伝子構造に従ってOXとVASOをコードする部分を含む30merのオリゴヌクレオチドプローブをApplied Biosystems社の381A DNA synthesizerを用いて作成した。精製はHPLCを用いて行った。対照実験に用いたプローブは、これと相補的な塩基配列をもつオリゴヌクレオチドである。プローブはddATP, [ $\alpha$ -<sup>35</sup>S]およびターミナルデオキシヌクレオチドトランスフェラーゼを用いて3'末端の標識を行い、比活性の高いプローブを得た。In situ 合成DNA:mRNAハイブリダイゼーションは視床下部の凍結薄切組織の浮遊切片上で行った。ハイブリッド検出のためのオートラジオグラフィにはスクランRM2を用いた。露出期間は5日間である。一方免疫組織化学的染色はOX, VASOに対する家兎抗血清の1万倍希釈液を用いたABC酵素抗体法によった。

【成績】室傍核(n, paraventricularis)あるいは視索上核(n, supraopticus)のOXとVASO産生細胞の分布には差がみられる。正中隆起の内層, 外層にもOX, VASOの抗体で染まる神経終末が局在する。

【結論】合成オリゴヌクレオチドを用いた *in situ hybridization* 法によって視床下部神経細胞中のOXのVASO mRNAを組織学的に検出した。これらの細胞とOX, VASOの抗体で染色される神経細胞の局在は一致する。

## V-6

TRH及びCyclo(His-Pro)のラット脳室内投与によるプロラクチン分泌、合成の抑制

大阪大学医学部産婦人科

○池上博雅, 直原広明, 小池浩司,

廣田憲二, 澤田雄至, 神田裕樹, 田所千加枝, 三宅 侃, 谷澤 修

【目的】TRHは下垂体に直接作用し、プロラクチン(PRL)分泌を促進させることが知られている。すでに我々はラット脳線条体及び視床下部初代培養系においてTRHはドーパミン(DA)の分泌を促進し、DA様作用を増強させることを報告してきた。そこで今回、ラット脳室内にTRH及びその代謝産物であるCyclo(His-Pro)(CHP)を持続投与し、これらの下垂体のPRL分泌、合成における視床下部への作用を検討した。

【方法及び成績】Wistar系雌ラットの脳室内にカニューレを留置し、オスモティックポンプを接続し、1 $\mu$ M TRH, 1 $\mu$ M CHPを1, 3, 7日間持続投与した。①血清中PRL値は7日間の持続投与でcontrol群12.3ng/mlに比べTRH群5.2ng/ml, CHP群4.7ng/mlと有意に減少した。②この時の下垂体におけるPRL mRNAの発現の変動を検討した。下垂体組織より抽出したtotal RNAをrat PRL cDNAをProbeとしてNorthern analysisを行なった結果、control群では3.7, 2.0及びmatureなmessageである1Kbの3本のbandが検出された。TRH及びCHPの脳室内投与1, 3, 7日のすべてにおいてPRL mRNAの発現が明かに減少した。③視床下部組織の膜分画を抽出し、<sup>3</sup>H-Me TRHをligandとして行なったTRHレセプターアッセイでは、TRHの7日間の脳室内投与で結合親和性に変化はなく、最大結合部位数が有意に減少し、脳室内に投与されたTRHがTRH receptorを介して作用している可能性が示唆された。

【総括】TRH及びその代謝産物であるCHPはラットPRL分泌において、下垂体への直接作用とは別に、視床下部に作用し、おそらくDAの分泌促進を介して下垂体でのPRL分泌及び合成に抑制的に働くことが示唆された。

## V-7

## 内因性摂食調節物質2-buten-4-olideのゴナドトロピン分泌抑制作用に関する検討—第2報—

徳島大学医学部産科婦人科学教室

○斎藤誠一郎 桑原 章 横山裕司 井川 洋 松崎利也  
安井敏之 三宅敏一 苛原 稔 青野敏博

【目的】絶食により体内に増加する内因性摂食調節物質である2-buten-4-olide (2-B4O) をラットに投与すると性周期が不規則となり、in vitroでは2-B4OがGnRH刺激やエストロゲンのポジティブ・フィードバックによる下垂体からのLH放出を抑制することを報告した。前回、2-B4Oをラットの静脈内、腹腔内に投与すると下垂体からのLHのパルス状分泌の頻度が減少したが、振幅には影響を与えないことを報告した。そこで今回は、性機能抑制の機序をさらに詳細に解明する目的で、2-B4Oをラットの第3脳室内に投与し、視床下部に対する直接作用について検討を加えた。

【方法】脳室内投与方法：両側卵巣を摘除したラットの第3脳室に29ゲージの注射針を装着し、摂食を抑制するのに十分な量である、5 $\mu$ molの2-B4Oを注入後、0.3ml/6分の間隔で合計120分間にわたって採血し、LHのパルス状分泌について検討した。

【成績および結論】2-B4Oをラットの脳室内に投与すると、静脈内投与、腹腔内投与と同様に、下垂体からのLHのパルス状分泌の頻度が減少したが、振幅には影響を与えなかった。このことから2-B4Oは視床下部に影響を与え、GnRHのパルス状分泌を減少させ、その結果、性機能を抑制する可能性が示唆された。

## V-8

## 各種漢方製剤のラット下垂体前葉細胞のgonadotropin分泌におよぼす影響

徳島大学医学部産科婦人科教室

○横山裕司、邢福祺、桑原章、井川洋、斎藤誠一郎、松崎利也、安井敏之、三宅敏一、苛原稔、青野敏博

【目的】無排卵症に対し温経湯、当帰芍薬散、桂枝茯苓丸など各種漢方製剤の有効性が指摘されているが、作用機序は不明な点が多い。そこで今回、ラット下垂体前葉細胞培養系を用いて各種漢方製剤のgonadotropin分泌に及ぼす影響を検討した。【方法】Wistar系雌ラットの下垂体前葉細胞培養系に3種の漢方製剤(温経湯、当帰芍薬散、桂枝茯苓丸)および構成生薬である人参、麦門冬、牡丹皮、当帰、川芎、甘草を種々濃度(0.5 $\mu$ g, 5 $\mu$ g, 50 $\mu$ g, 500 $\mu$ g/ml)で添加し、上清および細胞内のLH, FSH濃度を測定した。【結果】3種の漢方製剤は共に下垂体細胞からのLH分泌を有意に促進し、500 $\mu$ g/mlの時、温経湯、当帰芍薬散、桂枝茯苓丸はそれぞれ対照値の513.5%, 377.2%, 251.6%と有意( $P < 0.01$ )にLHを増加させた。また、FSHも温経湯、当帰芍薬散、桂枝茯苓丸はそれぞれ対照値の237.2%、151.9%, 152.8%と有意に増加させた。生薬別の作用では人参、麦門冬、牡丹皮、当帰、芍薬にLH, FSHの分泌促進作用が認められた。しかし、3種の漢方製剤とも細胞内LH, FSH濃度に影響を与えなかった。3種の漢方製剤はGnRH刺激によるgonadotropin分泌に関しては、反応促進作用を認めなかったが、温経湯、桂枝茯苓丸が下垂体細胞内LH含量を増加させ、500 $\mu$ g/ml濃度ではそれぞれ対照値の256.8%, 129.3%と上昇させた。【結論】以上の成績より、3種の漢方製剤が下垂体に直接作用し、gonadotropinの放出を促進することが示唆された。

## V-9

## activin A による下垂体からのFSH 分泌に対する各種性ステロイドホルモンの影響

徳島大学医学部産科婦人科教室

○三宅敏一、桑原章、横山裕司、井川洋、松崎利也、斎藤誠一郎、安井敏之、苜原穂、青野敏博

1 [目的] activin A は下垂体からのFSH 分泌を選択的に刺激することが示されている。従来より、性ステロイドホルモンも下垂体からのgonadotropin分泌を調節する事が知られている。しかし、両者の相互関係についての報告は少ない。そこで今回我々は、ラット下垂体初代培養系を用いて、両者の相互関係について検討した。[方法] Wistar系雌ラットの下垂体前葉から得た下垂体細胞培養系に、FCS 無添加でactivin A と共に、estradiol (E2), testosterone (T), progesterone (P) を0.1nM ~ 1000nMの濃度で添加し、FSH の基礎分泌および、GnRH刺激による反応性分泌に対する相互作用を検討した。[結果] activin A とTあるいはPを同時添加すると、activin A 単独投与時に比して、FSH の基礎分泌を有意に促進した (activin A:100%, activin A+T:144%, A+P:148%) が、E2を同時添加してもこの作用はなかった。他方、GnRH刺激によるFSH 分泌に対するactivin A の促進作用をPは刺激した (activin A:100%, activin A+P:149%) が、E2, Tには有意な作用はなかった。[結論] activin A の下垂体からのgonadotropin分泌作用は性ステロイドホルモンにより、修飾を受ける可能性が示唆された。

## V-10

## Hormonal steroidとそのEsterによる permanent estrusの相異について

医療法人 格医会 可世木病院 可世木 辰夫

○小川 誠一

多くのmammaliaにおける fetusあるいは neonateの性中枢は雄、雌とも female-typeとして出発し、胎生期後半のある時期から出生後のきわめて短い日数の間に雄は testisの存在によって male-typeの機構が成立する。雌は本来の female-typeのまま定着し性成熟後は hypothalamic periodicityによる Rhythmをもつことになる。

実験的な male-typeである permanent estrusの機構が成立した androgenized female ratの作出において従来は androgenの力価順位に比例した sterilizationがみられるとされていたが、訂正されねばならない所見を今回の sterilizationの比較観察で得た。

Testosteroneとその precursorである DHA,  $\Delta^5$ -A-diol,  $\Delta^4$ -A-dione およびそれらの脂肪酸 ester と硫酸抱合体についてところみた結果、力価のもっとも小さな A-diol (500 $\mu$ g) が Testosterone (15 $\mu$ g), T-propionate よりもきわだって著しい androgenicityを示し、力価第2位の A-diol (120 $\mu$ g) にはほとんど作用がなかった。脂肪酸 esterは効果を増強することが知られているが、すべての ester がそうではなく関与因子として水解酵素の存在が考えられ、esterの種類によって標的器官への作用も異なった。

Steroidによる androgenicityの効果の強弱についての関与因子に steroidの formulaの相異があげられる。A-diolには  $3\beta$ -OH,  $17\beta$ -OHが存在し、Testosteroneには  $17\beta$ -OH, A-dioneは diketoneであることから  $17\beta$ -OHや  $3\beta$ -OHなどの水酸基の関与が考えられた。硫酸抱合体は sterilizationの効果はなく A-diolの disulfateでは全く効果がなかったことから fetusでは DHA sulfateや A-diol sulfateは水解されることなく inactive sulfateで存在するものと考えられた。胎生期には sulfateを水解する sulfataseがないとされることの裏づけとなった。

## V-11

## Moderate Hyperprolactinemia症例におけるMelatonin-Prolactin分泌関連について

高知医科大学産科婦人科学教室  
○岡谷裕二, 岡田真尚, 相良祐輔

【目的】Melatonin(Mel)並びにProlactin(PRL)はいずれも夜間に増量する日内変動を有するが、我々は、MelにはPRL分泌作用のあること、さらに、夜間のPRL分泌の増量には、Melの増量が強く関連していることを明らかにし報告してきた。今回、さらに、Moderate Hyperprolactinemia(MH)症例に注目し、夜間のMel、PRL分泌動態とMel負荷時のPRL分泌動態を検討した。(方法)対象は日中の血中PRL値が34.7-50.2ng/mlを示したMH症例5例で、対照は、日中、夜間とも血中PRL値が30ng/ml以下を示した成熟婦人5例とした。月経周期6-8日目に、21時に消灯し、6時に点灯起床させる明暗条件下で、20時より8時まで2時間毎に採血した。Mel負荷は内因性Melが極めて低値で推移する日中の午後1時に1mgを内服投与し、4時間後まで20分毎に採血した。(成績)対照群のMelは、消灯後一時間より増量し、2時にピーク110.4±30.0pg/mlを示し、以後8時まで減少した。PRLはMelの増量より2時間遅れた0時より増量し、ピークもMelより2時間遅れた4時で22.3±2.3ng/mlを示し以後8時まで減少した。MH群では、Melは対照群と極めて類似した変動を示し、差は認められなかった。PRLの増量は、対照群より早く22時より認められ、0時、2時で103.3±58.6, 104.4±50.9ng/mlと著明な増量を示し、以後8時まで減少した。Mel負荷では、両群共にMel値は内服一時間内にピークを示し以後減少を示した。PRLも内服後増量したが、そのピークは対照群ではMelよりほぼ2時間遅れた3時間後で26.9±14.8ng/mlであるのに対し、MH群ではMel内服1時間後で89.1±23.8ng/mlで急速で著明な増量を示した。(結論)MH群においては夜間に著明なPRL分泌の増量を示されたが、Mel-PRL分泌関連には明らかな乱れのあることが示されると同時に、本症におけるMelに対するPRL分泌の感受性の亢進がその機序によるものと示唆された。

## V-12

## 過排卵周期排卵期 prolactinのprogesterone産生に及ぼす影響

東京歯科大学市川総合病院産婦人科、慶応義塾大学医学部産婦人科\*  
○郡山 智, 小田高久, 佐野陽子\*, 吉田文児, 原 利夫, 泉 康史, 矢作みき,  
松本千秋, 兼子 智, 田辺清男\*, 小林俊文\*, 野澤志朗\*, 大野虎之進

【目的】排卵期には prolactin (PRL) が比較的高値となることが知られているが、その意義は未だ不明である。そこで本研究は、体外受精の過排卵周期における排卵期 PRL の progesterone (P) 産生に及ぼす影響を検討することを目的とした。【方法】卵管性不妊を適応として体外受精を施行した47周期を対象とし(40歳以上, 男性不妊, 精子不動化抗体陽性, 子宮内膜炎, 高PRL血症, premature LH rise, premature luteinization, poor responderは除外), 排卵期の4日間の血清PRLの生物学的活性(Nb 2 node lymphoma cell bioassay)の平均値(排卵期PRL)を指標として検討した。過排卵刺激には、hMG法(37周期), bromocriptine (BRC)-hMG法(10周期)を用いた。【結果】排卵期PRL(x)と黄体期初期(+2day)血清P(y)濃度には、 $y = 5.56 + 0.58x - 0.007x^2$  ( $r = 0.44$ ,  $p < 0.01$ )の関係が得られ、PRLが低および高値となるとP産生が抑制されることが示唆された。そこで排卵期PRL濃度により、 $PRL < 20 \text{ ng/ml}$  [NIDDK-hPRL-RP-1 (AFP-2312C)]の比較的低値群(L群,  $n = 8$ , 全例BRC-hMG周期),  $20 \text{ ng/ml} \leq PRL < 45 \text{ ng/ml}$ の中等値群(M群,  $n = 12$ , 2例BRC-hMG周期),  $45 \text{ ng/ml} \leq PRL$ の高値群(H群,  $n = 27$ , 全例hMG周期)の3群に分類検討した。その結果+2 dayのPは、M群( $22.4 \pm 1.9 \text{ ng/ml}$ ,  $\text{mean} \pm \text{SEM}$ )がL群( $9.5 \pm 2.3 \text{ ng/ml}$ )およびH群( $10.3 \pm 1.1 \text{ ng/ml}$ )に比し有意に高値であった。卵胞成熟の指標としての排卵期 estradiol 最大値は、H群( $1106 \pm 89 \text{ pg/ml}$ )がL群( $1965 \pm 434 \text{ pg/ml}$ )およびM群( $2537 \pm 368 \text{ pg/ml}$ )に比し有意に低値であった。平均採取卵数, 受精率, 分割率, 妊娠率(1刺激周期)は各々、L群; 5.9, 65%, 30%, 25%, M群; 7.6, 74%, 67%, 58%, H群; 4.1, 74%, 60%, 37%であり、受精率は3群間に有意な差は認められなかったが、分割率はL群が他の2群に比し有意に低かった。【結論】排卵期のPRLレベルには、卵胞成熟, 黄体化, 黄体のP産生, 卵の分割能獲得にとつて至適な範囲が存在する可能性が示唆された。

## V-13

ヒト脱落膜細胞からのProlactin(PRL)分泌に及ぼすProtein kinase C(PKC)の影響  
—細胞内情報伝達系の検討も含めて—

東京医科歯科大学産科婦人科学教室

○久保田俊郎, 鎌田周作, 田口 誠, 坂本秀一, 己斐秀樹, 麻生武志

【目的】胎児発育や子宮内環境維持に重要な役割を果たす羊水中PRLと特に関連の深い脱落膜に注目し、そのPRL分泌に対するPKCの影響について細胞内情報伝達系も含めて検討した。

【方法】妊娠初期婦人より採取した脱落膜を2mg/ml collagenase-50 μg/ml DNaseにてdisperseし、メッシュにてlarge cellsを分離し、 $1 \times 10^6$  cells/wellに調整した。10% FCS加RPMI-1640液中にて95% air・5% CO<sub>2</sub>下に48時間細胞培養を行ない、PKC activatorのphorbol myristates acetate(PMA), PKC inhibitorのH7添加後の脱落膜細胞からのPRL分泌量を特異的EIAにて測定し、control群と比較した。また、この培養系でPMA添加後の細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)をFura2-AM法にて、培養液中のcAMP濃度をRIAにて測定した。【成績】PMA添加後の脱落膜細胞からのPRL分泌量は(10<sup>-6</sup>M PMA群:40.3±1.9 ng/ml/48h; 10<sup>-7</sup>M PMA群:46.1±1.8), control群(60.5±1.7 ng/ml/48h)に比し有意に(p<0.001)低下し、この作用は用量依存性を示した。また、10<sup>-6</sup>M H7を10<sup>-6</sup>M PMAと併用すると、PMAのPRL分泌抑制作用は有意に(p<0.001)減弱した(50.1±2.0)。10<sup>-6</sup>M PMA刺激後の[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>を分光蛍光度計にて測定すると明かな変化を示さず、一方、1mM isobutyl-methyl-xanthine存在下にPMAを添加し4時間後の培養液中cAMP濃度を測定すると、10<sup>-6</sup>M PMA群(12.5±0.8 pmol/ml)10<sup>-7</sup>M群(12.6±1.1)では、対照群(10.6±0.7)に比し有意な高値を示した(p<0.01)。

【結論】妊娠初期脱落膜細胞からのPRL分泌はPKCの活性化により抑制されており、この作用は[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の上昇を介さず、細胞内cAMPの上昇を介して発現されることを明かにした。

## V-14

Bromocriptine 0.625 mg肛門坐薬の妊娠促進効果

国立名古屋病院産婦人科

○戸谷良造 ・ 三輪 是 ・ 鈴置洋三

第I度無月経より軽度の排卵障害は、少量のBromocriptine 投与により正常排卵周期となる。我々は過去3年8ヶ月間の上記排卵障害例に本剤を投与し、66例に75妊娠をみた。そのうち、挙児、及び妊娠中例は58妊娠であった。53例(70.7%)はBromocriptine 単独妊娠であり、Clomipheneなど他療法を加えた効果による妊娠例は22妊娠であった。中絶例を除いた挙児率は80.6%であった。このうち、続発不妊例の既往妊娠の挙児率は50.9%と流産率が極めて高かったが、Bromocriptine 投与により、挙児率は71.9%に上昇した。潜在性高プロラクチン血症は、卵成熟の軽度障害をもたらし、不正排卵周期の原因となっているのみならず、流産の原因にも関与している可能性があると考えられている。すなわち、流産の原因は、免疫学的原因が重視されているが、一部の流産の原因には内分泌原因があり、それは潜在性高プロラクチン血症による卵成熟不全の可能性が示唆された。従来第I度無月経より軽度の排卵障害には、Clomipheneが汎用されてきたが、微量のBromocriptine 投与がこれらの排卵障害例の第一選択の排卵誘発療法と成り得ることが考えられる。Bromocriptine は、経口剤として市販されているが、経口投与ではその殆どが肝臓で破壊される。肛門坐薬では下痔静脈を経て吸収され、肝臓で破壊されることなく、直接中枢に作用するため、少量投与でもプロラクチンの抑制効果は大きい。加えて、作用時間が長く、1日1回、就寝前投与にて有効であり、経口剤に比し、副作用の減弱化のみならず、多くの利点を有している。

## V-15

プロスタグランディンE<sub>2</sub>投与による妊娠ザル血中エストラジオール  
およびプロゲステロンの変動

京都大学霊長類研究所生理部門 ○清水慶子  
愛知工業大学 大島 清

ヒトにおいては、分娩直前にプロゲステロンの急減とエストラジオールの急増が起こる。また、早流産の際の母体血中エストラジオールは、同一妊娠週数の正常産母体の値より高く、正常産の分娩中の値に匹敵することが知られている。そこで、実験動物の中で、その解剖学的、生理学的特徴が最もヒトに類似していると考えられているマカカ属サルの中のニホンザルを用いて、その妊娠末期に、0.25mgのプロスタグランディンE<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) を含むゲルの子宮頸管内投与を行い、ゲル投与前後の母体抹消血中エストラジオールとプロゲステロン濃度の変化をRIA法により調べた。その結果、母体抹消血中エストラジオール量は、PGE<sub>2</sub>ゲル投与直前の689.3±202.7pg/mlから投与後漸増し、120分後には1134.7±313.5pg/mlに達した。さらに、その後300分値まで高値を維持していたが、それ以降は減少する傾向があった。一方、プロゲステロン量は、投与直前の0.77±0.04ng/mlから投与後30分には1.56±0.19ng/mlと有意に上昇し、その後、上昇は300分後まで続き、2.29±0.09ng/mlに達し、600分後に至って減少し始める傾向が見られた。このように、今回の実験において母体抹消血中のステロイドホルモン量は、PGE<sub>2</sub>ゲル投与後300分でピークを示し、その後減少する傾向が見られた。また、これらのホルモンのピークの値は、ニホンザルにおける自然分娩直前の値にほぼ匹敵し、したがって、PGE<sub>2</sub>ゲル投与により自然分娩直前のホルモン動態を再現することができた。これらのことにより、自然分娩の発来および早流産にかかわる性ステロイドホルモンの研究において、マカカ属サルはヒトのモデルとして有用であることが分かった。

## V-16

## ノコダゾールによるマウス2細胞期胚の細胞周期の同調、特に系統差について

近畿大学農学部畜産学教室

○加藤容子, 龍門徳彦, 角田幸雄

演者らは、細胞骨格系阻害剤であるノコダゾール処置によって、胚の発生能を低下させることなく、F<sub>1</sub> (C57BL×CBA)マウス2細胞期胚の分裂を1時間以内に同調できることを、先の第84回日本畜産学会および第32回哺乳動物卵子学会において報告した。しかしながら、「in vitro 2-cell block」現象のみられるCD-1系マウス胚を用いて同様に細胞周期の同調を行ったところ、胚盤胞への発生能が著しく阻害されたことから、本実験ではその原因を明らかにするためノコダゾールの濃度および添加時期の影響について検討した。

方法：過剰排卵処理CD-1系雌マウスを同系統の雄と交配させ、hCG注射後43~46時間目に2細胞期胚を採取した。ついで、10%子牛血清加M2液内で6~7時間低温保存後、0~18 μg/mlの濃度のノコダゾールを添加したM16液で胚を12~14時間培養した。2細胞期で分裂を停止している胚をM2液で洗浄後、再び培養し、4細胞への分裂に要する時間および3日間体外培養後の胚盤胞への発生能について観察した。また、細胞周期の時期によってノコダゾールに対する感受性に差違があるか否かを検討するため、hCG投与後36、43および50時間目に採取した胚をそれぞれ7時間添加液中で培養し、薬剤除去後の胚盤胞への発生率を調べた。

結果：①0.02~0.15 μg/mlの濃度では、薬剤除去後4細胞期へ高率に(88~94%)同調して分裂したが胚盤胞への発生率は35~65%と低下した。また、0.3 μg/ml以上の濃度では、胚盤胞への発生率(5~30%)のみでなく、4細胞期への分裂(68~87%)も阻害された。しかしながら、0.01 μg/mlでは、分裂の停止は不完全であったが同調して分裂し(100%)、胚盤胞への発生も阻害されなかった(97%)。②hCG注射後36時間区では33%が、43時間区では66%が、そして、50時間区では50%がそれぞれノコダゾール除去後胚盤胞へ発生し、ノコダゾールに対する感受性は細胞周期の前半で高いことが示唆された。

## V-17

## ウシ卵胞卵の体外成熟に及ぼす卵胞由来成分の影響

○細井美彦、周頌成、加藤博巳、内海恭三、入谷 明 (京大・農)

〔目的〕体外受精を効率的に行うためにも、そして未利用資源の利用のためにも未成熟卵子を体外で完全成熟させることは重要である。そこで体外成熟卵子の体外受精後の発生に影響を与えるとされている体外成熟の環境要因、とくに顆粒膜細胞と卵胞液の影響を調べた。

〔方法〕屠場より得た卵巣を性周期の区別なく、直径5ミリ以下の卵胞より未成熟卵子を回収した。実験1では、裸化未成熟卵子あるいは未成熟卵子卵丘細胞塊を加えた体外培養の培地に顆粒膜細胞を添加して成熟培養を行った後、常法により体外受精／体外培養を行った。また実験2では、屠場採取の卵巣から回収した不活化または新鮮卵胞液の存在下で同様に体外受精／体外培養を行い、発生率を検討した。

〔結果〕実験1において、被覆細胞つまり卵丘細胞との連絡を絶たれた裸化卵子では、顆粒膜細胞の添加によって胚盤胞期胚まで発生する率が改善されることはなかった(0% vs 0%)。しかし少なくとも部分的に結合を残す卵母細胞では顆粒膜細胞の添加により発生率が改善する傾向にあった(0% vs 5%)。一方、完全な卵子卵丘細胞塊にたいしては添加した顆粒膜細胞は発生に対し効果を示さなかった(13% vs 13%)。実験2では、対照区の15%に比べて、卵胞液を各10%、20%、30%添加した区では8.6%、25.4%、25.0%と高くなった。また本実験において新鮮卵胞液を使用した方が不活化済みの卵胞液を利用したときよりよい結果が得られる傾向にあった。これらの結果から、体外成熟の間に卵子は体細胞あるいは由来の要因から影響を受けることが示唆された。

## V-18

## チャイニーズハムスター過排卵誘発法の改良

福島県立医科大学産婦人科、旭川医科大学生物学教室\*

○飯沢禎之、立野裕幸\*、上口勇次郎\*、美甘和哉\*

【目的】 生殖生理学の研究では、受精、初期発生期における研究が重要である。チャイニーズハムスターは、種々のユニークな生殖生理学的、細胞遺伝学的性質を持つ実験動物であるが、あまりこの分野の研究に用いられていない。その理由の1つとして、マウス、ラット、ゴールデンハムスター等と比較し安定した過排卵誘発法がないことが挙げられる。今回我々は、PMSの2回投与によりほぼ確実に過排卵させる方法を確立したので報告する。

【方法】 実験動物は旭川医大生物学教室で改良された早熟、多産型のチャイニーズハムスター(CHA)で、14時間明期の光条件下で飼育した。4日型性周期の安定を確認した生後約60日の成熟雌を用いた。に、PMS、hCGの投与量、投回数及びその間隔を種々検討して最適条件を模索した。hCG投与18時間後に開腹し、排卵数及び卵巣に残った成熟未排卵濾胞数を調査した。

【成績】 最も排卵成績のよかったホルモン投与スケジュールは次の通りであった。性周期第1日目(排卵日)の14:00に0.3IU/g体重のPMS、43時間後(第3日目の9:00)に0.4IU/g体重のPMS、7時間後(第3日目の16:00)に1.2IU/g体重のhCGを皮下投与するというものである。この方法により31頭中29頭(93.5%)が20卵以上排卵し、平均過排卵数(55.7±18.4卵/動物)は自然排卵数(平均10.2±1.4)の約5倍であった。この結果はこれまで発表された方法(PMS1回投与・hCG法)における平均過排卵数23.2±12.8に比べてはるかに良い成績であった。また発育した濾胞数(平均61.5個)、発育した濾胞のうち排卵に至ったものの率(90.6%)を比較してもこれまでの方法(42.2個、55.0%)より良い成績であった。さらに今回、ホルモン投与方法としては腹腔内投与よりも皮下投与の方が安定していること、PMSの過剰投与はかえって排卵数を低下させることなども明らかにされた。

## V-19

## アフリカツメガエルの卵発育における Proto-oncogene Evi-1 の関与

大阪大学医学部産婦人科 ○大塚志郎、倉智博久、森重健一郎、  
山本敏也、西川吉伸、雨宮京夏、田原正浩、和田和子、谷澤 修

【目的】Proto-oncogeneの1つであるEvi-1はマウスのIL-3依存性白血病cell line より発見され、その癌化に寄与していると考えられている。この遺伝子でcodeされるEvi-1蛋白はDNA 結合部位を持ち、その部分はZinc finger の形をしている。一方いくつかのoncogeneが、oocyteやembryoの分化増殖に関与している事が知られている。我々はEvi-1 geneによりcodeされるEvi-1蛋白に対する抗体を作成し、これを用いて正常マウス卵巣を染色したところ、oocyte中にEvi-1蛋白が発現していることを明らかにした。今回このEvi-1がXenopus (アフリカツメガエル)のoocyteの発育にどのような役割をしているかを検討した。

【成績】①マウスのEvi-1遺伝子をprobeとしてXenopus oocyteのc-DNA libraryをスクリーニングし、Xenopus Evi-1遺伝子を抽出する事に成功した。②この遺伝子の塩基配列を決定したところ、マウスと70%以上のhomologyを有していた。またこの遺伝子でcodeされる蛋白はマウスと同じ形のZinc fingerを有していた。③抗マウスEvi-1抗体を用いていろいろな卵の発育段階でのEvi-1蛋白の発現をimmuno-precipitation法で調べた結果、Evi-1の合成量はoocyteが発育するにつれて増大するが、oocyteをprogesteroneで処理することにより第1減数分裂中期に入るとEvi-1蛋白は合成されなくなった。④抗マウスEvi-1抗体を用いてXenopus oocyteをperoxidase染色法にて染色すると、Evi-1蛋白は核内になく、細胞質に存在することが明らかとなった。

【総括】Proto-oncogeneの1つであるEvi-1はアフリカツメガエルの卵の発育に関与している可能性が示唆された。

## V-20

## 共培養環境がマウス初期胚姉妹染色分体交換に及ぼす影響について

山形大学医学部産科婦人科学教室  
○平山寿雄・斉藤英和・広井正彦

【目的】初期胚と種々の細胞との共培養が胚発育促進効果を示すことが各種動物において認められ、卵管上皮細胞、顆粒膜細胞、線維芽細胞などが共培養細胞として用いられている。共培養細胞による培養液中成分組成の変化、培養液中に存在する胚毒性物質の吸収、何らかの胚発育促進物質の放出等がその要因と考えられているが不明な点も多い。胚染色体DNA障害の鋭敏な指標となる姉妹染色分体交換頻度を用いて、共培養環境が初期胚発育に及ぼす影響を検討した。【方法】B6C3F1雌マウスをPMS(10IU)+hCG(10IU)にて過排卵処理し、同系雄とin vivoで受精させた前核期胚を、hCG投与後18時間で回収した。対照群は5mg/ml BSA添加HTF medium中にて、共培養群は卵丘細胞と同medium中にて培養した。胚の姉妹染色分体交換(SCE)は5-bromodioxymuridineを $1 \times 10^{-6}M$ の濃度で培養液中に添加し、2回の胚DNA複製を経過後、Tarkowski法にて固定し、Fluorescence plus Giemsaにて染色しSCE頻度を観察した。SCEは1-2細胞期(SCEI-II)、2-4細胞期(SCEII-IV)、4-8細胞期(SCEIV-VIII)、8-桑実胚期(SCEVIII-M)の各期においてその頻度を測定した。【結果】SCEI-II, SCEII-IV, SCEIV-VIII, SCEVIII-M (mean  $\pm$  SEM)は、対照群で $13.2 \pm 1.0$ ,  $23.3 \pm 1.5$ ,  $19.9 \pm 1.2$ ,  $16.5 \pm 1.0$ で、共培養群では $6.9 \pm 0.6$ ,  $13.9 \pm 1.0$ ,  $12.6 \pm 0.9$ ,  $15.8 \pm 0.9$ であり、1細胞期から8細胞期までの間で有意差( $p < 0.01$ )をもって共培養群のSCE頻度は低値を示した。【結論】マウス初期胚と卵丘細胞との共培養は胚の培養環境に変化を生じせしめ、姉妹染色分体交換頻度の低下を招くことより、初期胚8細胞期までの胚培養に好影響を及ぼしていることが示唆された。

## V-21

## ヒト未受精卵265例の染色体研究

旭川医科大学・生物学教室<sup>1</sup>、ウルム大学・産婦人科（ドイツ）<sup>2</sup>  
 ○上口勇次郎<sup>1</sup>、Bernd Rosenbusch<sup>2</sup>、Karl Sterzik<sup>2</sup>、美甘和哉<sup>1</sup>

【目的】ヒト卵子の染色体研究が、染色体異常症をはじめ発生異常や不妊症の原因を解明するうえで極めて重要であることはいうまでもない。これまで、ヒト卵子染色体異常出現率に関して数多くの報告がなされているが、研究に用いられた卵子染色体標本作製技術の不備のため、得られた結果の信頼性は高くない。そこで我々は、自ら開発した成功率・信頼度の高い標本作製法を用いて研究を行った。

【材料と方法】材料はドイツ・ウルム大学・産婦人科に来院した不妊症患者から IVF-ET 目的で採取されたもので、体外受精後に未受精状態のまま残された第二成熟分裂中期の卵母細胞である。これらの卵は採取されてから約 35-45 時間で漸進固定・空気乾燥法（Mikamo & Kamiguchi, 1983）により標本化され、染色体分析された。

【結果と考察】標本作製された合計 265 卵のうち、退化卵、分析不能卵を除いて 185 卵（70%）が核型分析された。分析卵中の染色体異常の頻度は、異数性 21 例（11.4%）、構造異常 9 例（4.9%）、倍数性異常 18 例（9.7%）であった。異数性の内訳は高数性 8 例（4.3%）、低数性 11 例（5.9%）、複合型の異常 2 例（1.1%）であった。我々の異数性頻度（特に低数性）はこれまでの報告よりかなり低く、従来のものには卵の破損による人為的低数性が相当含まれることが示唆された。不分離を起こした合計 31 染色体のうち、20 例（64.5%）は二分染色体（一価染色体）の不分離、11 例（35.5%）は一分染色体の不分離（姉妹染色分体の異常分離）によるものであった。また、7 つの染色体グループ（A-G）での不分離頻度を調べ、不分離がどの染色体でも均等に起こると仮定した時の期待値と比較してみると、実際の不分離頻度はグループ E と G で期待値より高い傾向を示した。このことは、ヒト流産児で E、G 群のトリソミーが多いことと考え合わせて興味深い。

## V-22

## 生殖能の老衰期におけるマウスの卵子について

北海道大学農学部畜産学科      ○森 匡  
 ティネ溪仁会病院生殖研究室      北嶋 朋子, 一戸 喜兵衛

【目的】ヒトの生殖能は特定齢で急に下降するばかりか、これと軌を一にした卵巣の卵母細胞数の激減がみられる。この特徴的の老化現象は C57BL/6J マウスにおいてもみられるため、マウスでの特定齢にみる急激な生殖能の衰退と卵巣内卵母細胞数の急変、またこの期の卵にみる体外受精胚の *in vitro* での発生や若齢子宮への胚移植による着床と発育状態から加齢卵子の生殖能について検討した。

【方法】C57BL/6J マウスの生殖能が急低下する 400 日齢前後を中心に卵巣内卵子数を NIKON COSMOZONE 1S で追跡する一方、過排卵処理下の排卵卵子数、形態異常卵の占有率、*in vitro* での形態正常卵の媒精による 2 細胞期胚から胚盤胞までの発生率、また偽妊娠 3 日目の 100 日齢代マウス子宮腔への桑実胚、胚盤胞の移植から着床、胎仔（胎生 18 日）発育までを観察した。

【成績】1) 加齢上にある生殖能（出産可能率）の低下の推移は 300 日齢代から緩徐におこるが、そのレベルに比して 400 日齢を越えた僅か 50 日間に 25% へと急落し、分娩仔数も著減した。同時にまた卵巣保有卵数のレベルも 18% へと激減した。2) この特定齢では過排卵処理下の排卵卵子数は僅少または零となり、異常卵の頻度も増加した。しかし異常卵を除いて媒精した 2 細胞期胚の発生には加齢の影響はなく、桑実胚、胚盤胞への発生率も老化期卵で若干低下をみるに止まった。また偽妊娠若齢子宮への移植胚からの胎仔発育率も老化期卵由来の胚には低い傾向を認めた。

【結論】C57BL/6J マウスの特定齢には急激な生殖能の低下が起こり、卵母細胞数の激減とともに形態異常卵の排卵が高まった。しかし同時に得られた正常卵は *in vitro* の受精から胚盤胞までの発生、また若齢子宮内での胚発育は低下傾向を認めながらも予想以上に良好であった。このことから老化期子宮への卵移植実験が必要と考えられ、現在検討中である。

## V-23

マウス卵子の成熟に伴う透明帯末端糖鎖に関する組織化学的検討

日本大学農獣医学部動物細胞学教室

佐藤 嘉兵、馬目 陽子、花房 百合子

目的：マウス卵子の成熟に伴う透明帯糖タンパク質末端鎖の変化についてperoxidase標識 lectin-diaminobenzidine (DBA) 法により検索した。

方法：60 日齢ddY系雌マウスにPMSG 5IU皮下注射し50 時間後にhCG 5IUを同様に投与した。hCG投与後、0, 1, 3, 5, 7, 9, 12時間に卵巣を取り出して直ちに2%酢酸カルシウム加10%ホルマリン溶液(4℃)に12時間固定し、定法によりパラフィン切片を作製した。作製した切片にperoxidaseで標識Lectin-DBA法を適用して末端糖鎖を調べた。用いた、レクチンはWGA, MPA, SBA, およびUEA-Iである。WGA, SBA, MPAおよびUEA-Iは各々末端糖鎖 $\beta$ -GlcNAc $\cdot\alpha$  $\cdot$ NeuAc,  $\alpha$ -GalNAc,  $\alpha$ -Gal $\cdot\alpha$ -GalNAcおよび $\alpha$ -fucoseとの特異的結合性を有している。

結果：hCG注射後0および1時間めに採取した卵子では使用した全てレクチンに対して陰性であった。3 および5 時間後に採取した卵子では WGA, MPA, および陽SBAでは陽性を示した。しかし、UEA-Iでは全てのサンプルで陽性反応は確認されなかった。以上の結果から、マウス卵胞内卵子透明帯を構成する末端糖鎖の発現が、hCGによって誘発されることが明かである。

## V-24

C Z B培養液におけるマウス卵細胞の生化学的解析

山形大学医学部産科婦人科学教室

○齋藤隆和・平山寿雄・齋藤英和・広井正彦

[目的] マウス卵細胞は受精後発達につれて Hexokinase (HK) の活性を徐々に上昇させると共に、Glucose (G) を利用するようになる。特に、8細胞期以降ではHK活性の上昇とGの利用が著明になることが知られている。一方、近年Glucoseを含まないC Z B培養液にてマウス卵細胞は桑実胚まで培養できることも知られている。今回マウス卵細胞をC Z B培養液及びH T F培養液にて初期から培養し、酵素サイクリング法を用いて単一卵細胞にて生化学的に解析することを目的とした。[方法] B 6 C 3 F 1マウスをPMS+hCGにて過排卵処理し雄マウスと交尾させ、hCG注射後17時間(Day1)の卵細胞を卵管より採取した。これら卵細胞は直ちにC Z B及びH T F培養液にて37℃、N<sub>2</sub>:90%・O<sub>2</sub>:5%・CO<sub>2</sub>:5%の条件下で4日間(Day4)桑実胚になるまで培養した。測定試料はPBSにて洗浄後真空凍結下に一昼夜乾燥させて作製し、これらをNADPサイクリング法を用いてHK活性400倍、細胞内G量を10000倍に増幅し定量した。[成績] Day4における桑実胚の割合はC Z B培養液:64%、H T F培養液:79%であった。桑実胚に於けるHK活性はC Z B培養液:9.55±0.90pmol/embryo(平均±平均標準誤差)、H T F培養液:14.4±1.69pmol/embryo(平均±平均標準誤差)であり、桑実胚内G量はC Z B培養液:微量にて測定不能、H T F培養液:609±64.4fmol/embryo(平均±平均標準誤差)であった。[結論] 4日間培養における桑実胚の割合はH T F培養液の方がC Z B培養液にまさっていた。H T F培養液では桑実胚内のHK活性とG量は平行して上昇していた。一方、Gを含有しないC Z B培養液では卵細胞内G量を測定することはできないがHK活性はH T Fで培養した卵細胞と同様に活性上昇が認められた。

## V-25

卵成熟、受精過程における糖の取り込み能  
発達機構の解析

東京大学産婦人科、横浜市立大学生化学\*

○森田 豊、堤 治、細谷岩生、水野正彦  
加藤尚彦\*

【目的】卵の成熟、受精に伴う変化を定量的に解析することができれば、その機構が明らかになるのみならず、体外受精を含めた臨床への応用も可能になると思われる。今回、我々は新たに開発した微小培養系を用い、卵の糖取り込み能の発達機構を明らかにしようとした。

【方法】PMS-hCGにより過排卵処理した6~10週令B6C3F1マウスを用いて、PMS投与48時間後、hCG投与4、8、24時間後に卵胞ないし卵管より、卵を回収した。卵は卵丘細胞を除去(D0群)、または卵丘細胞と共に(COC群)、 $^3\text{H}$ -deoxyglucose (DG; 25  $\mu\text{M}$ )を含む10  $\mu\text{l}$ のmBWW中で培養し、DGの取り込みを測定した。また受精卵は、hCG投与24時間後に卵管より回収し同様に検討した。培養は、卵5~15個を用い、37°C、5%CO<sub>2</sub>、1hrの条件で行った。

【成績】DGの取り込みはD0群で、hCG投与前  $0.32 \pm 0.11$  f mol/oocyte/hr (mean  $\pm$  SD、以下単位同じ)、投与4時間後  $0.51 \pm 0.29$ に対して、8時間後  $1.22 \pm 0.49$ 、24時間後  $1.35 \pm 0.26$ と有意の上昇を認めた。COC群では、hCG投与前  $0.19 \pm 0.07$ 、投与4時間後  $0.29 \pm 0.06$ に対して、8時間後  $1.78 \pm 0.75$ 、24時間後  $2.49 \pm 0.34$ に増加した。また、hCG投与後24時間の受精卵においては、 $3.46 \pm 0.25$ であった。hCG投与24時間後のDGの取り込みを比較するとD0群 < COC群 < 受精卵であった。

【結論】①LH刺激による卵成熟に伴い、糖取り込み系が発達することが明らかとなった。②D0群とCOC群との比較により、卵丘細胞より卵への糖輸送系の存在が示唆された。③受精を契機として、糖の取り込み系が発達することも示された。

## V-26

排卵に伴うラット卵巣カリクレイン活性およびプラスミノーゲン  
アクチベータ活性の変動とindomethacin・epostaneの影響

熊本大学医学部産科婦人科学教室、Trinity University (USA)\*

○田中 信幸、L. L. Espey\*、岡村 均

【目的】排卵過程においてプロスタグランジン(PG)・性ステロイドは重要なメディエーターとして働く一方、蛋白分解酵素はその最終過程で卵胞壁融解に重要な役割を果たしている。今回我々は、カリクレイン(KL)およびプラスミノーゲンアクチベーター(PA)活性の排卵過程における変動、および両酵素活性とPG・性ステロイドとの関係について検討した。【方法】PMSG/hCG誘発過排卵未熟ラットを用いて、排卵過程における卵巣KL活性・PA活性の経時的変化を合成基質S-2266・S-2251を用いて測定した。次に、cyclooxygenase阻害剤であるindomethacin (INDO, 0.03-3.16mg/rat)あるいは3 $\beta$ -hydroxy-steroid dehydrogenase阻害剤であるepostane (EPO, 0.1-5mg/rat)をhCG投与後3時間目に投与して排卵を抑制した時の両酵素活性の変化を、hCG投与後10時間目において比較検討した。有意差検定はDuncan's multiple range testを用いて判定した。【結果】コントロール群における卵巣KL活性およびPA活性は共にhCG投与後4時間目より有意に増加し、排卵の始まる12時間目にピークに達した。INDO処置によりKL活性は排卵率と同様に0.1 mg/rat以上で用量依存的に有意に抑制されたが、PA活性はその10倍量の1 mg/rat以上で軽度抑制されるのみであった。EPO処置時にもKL活性は排卵率と同様に1 mg/rat以上で用量依存的に有意に抑制された。一方、PA活性は1 mg/rat以上で有意に抑制されたが、その抑制は軽度で用量依存性を認めなかった。【結論】卵巣KL活性およびPA活性は排卵過程に伴い著増し、排卵抑制処置により活性が抑制されたが、KL活性の方がPA活性に比しPGおよび性ステロイド依存性が強く、排卵率とより高い相関性を有することが明らかとなった。このことは、両者共排卵に関与するものの、その活性の調節機序は異なることを示唆した。(本研究はNIH Grant HD21649, Lalor Foundationの補助による。)

## V-27

培養ブタ顆粒膜細胞(PGC)におけるエンドセリン-3(ET-3)の作用について  
— ET-1との比較 —

東京医科歯科大学 産婦人科, 第二内科\*

○鎌田周作, 久保田俊郎, 田口 誠, 江口 暁\*, 平田結喜緒\*,  
丸茂文昭\*, 麻生武志

【目的】ETにはアミノ酸配列の異なる三種類のETアイソペプチドが存在することが知られている。血管平滑筋においては、ET-1の収縮作用とは逆にET-3の血管拡張作用が報告されているが、ET-1に比しET-3の生物活性やその由来については未だ不明な点が多い。我々は既にET-1のPGCにおけるprogesterone(P)の分泌促進作用について報告したが、今回はET-3のPGCにおける生理的意義を検討しET-1の作用と比較した。【方法】大中小卵胞由来のPGCを卵胞液とともに採取し、10%FCS加DMEM培地を用いて細胞培養を行なった。この培養系を用いて、①PGCを膜分画とし、 $^{125}\text{I}$ -ET-1を用いて非標識ET-1、ET-3によるdisplacement法による結合実験を行なった。②disuccinimidyl tartarateを用い、ET-1、ET-3存在、非存在下でaffinity-labelingを施行した。③ET-3添加後の細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ )をFura2-AM法にて測定した。④ET-3( $10^{-9}$ – $10^{-7}$ M)添加120分後の培養液中のP濃度、並びに $4^{\text{A}}$ -androstenedione  $10^{-6}$ M同時添加後の培養液中のestradiol( $\text{E}_2$ )濃度をRIAにて測定した。⑤ET-3( $10^{-9}$ – $10^{-7}$ M)添加24時間後の細胞数をクリスタルバイオレット溶液を用いて算定した。【結果】①Scatchard analysisにより $\text{Kd}=0.59\text{pM}$ 、 $\text{Bmax}=1.84\text{pmol/mg protein}$ の単一で高親和性のETレセプターが存在した。このレセプターはET-1並びにET-3と同様の親和性を示した。②affinity-labelingにおいて、 $10^{-6}$ M ET-1、ET-3存在下で、32kDaと49kDaのbandが特異的に消失した。③ $10^{-7}$ M ET-3添加後の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は急激な上昇を示し、60秒以内に基礎レベルに復した。この反応には容量依存性がみられ、ET-1と全く同様のものではなかった。④ET-3はPGCのP、 $\text{E}_2$ 分泌に影響を与えなかったが、PGCの細胞数を容量依存性に増加させた。【結論】PGCにはET-1並びにET-3と高親和性を示すいわゆるET-Bレセプターが存在し、ET-3は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇を介し、PGCの細胞増殖に促進的に働くことが示唆された。

## V-28

## 当科におけるLUF症候群の臨床的検討

宮崎医科大学産婦人科学教室

○渡辺 裕之, 戸枝 通保, 野田 俊一, 三部 正人, 小池 弘幸,  
池ノ上 克, 森 憲正

【目的】卵胞発育は正常に認めるものの排卵を起こさない症例、とくにLUF症候群に対する臨床的検討は少ない。今回我々はLUF症候群に関わる因子を明らかにする目的で当科におけるLUF症候群の臨床的検討を行ったので報告する。

【方法】対象は1991年1月から1991年6月までの6か月間に当科不妊外来を受診し、卵胞発育モニタリングを行なった116症例 279周期(自然周期43周期、clomiphene 150周期、clomiphene + hMG 39周期、hMG 47周期)。各症例は経腔超音波断層法による卵胞径の計測、尿中LH測定または血中estradiol 測定を行なった。LHサージの確認、もしくはhCG投与後基礎体温上高温相が2日以上経過しても卵胞径の縮小を認めなかったものをLUFとし、黄体期中期に卵胞の存続を確認した。LUF症例に関して、排卵誘発方法、卵胞発育等の検討を行った。

【結果】116症例 279周期中、13症例 19周期(6.8%)にLUFを認めた。これらは自然周期 2周期、clomiphene 11周期、clomiphene + hMG 4周期、hMG 2周期であった。5症例で2回以上LUFを繰り返した。また卵胞発育は排卵を起こした周期と起こさなかった周期で特に差を認めなかった。排卵を起こさなかった卵胞は次周期卵胞期まで存続し自然消失する傾向にあった。

【結論】当科外来で6.8%にLUFを認め、clomiphene使用周期で高い率で認められた。clomipheneでLUFを起こした症例でもhMG単独では改善されることが示唆された。

## V-29

## ヒト体外受精における新しい卵成熟度評価法

杏林大学医学部産婦人科, 慶應義塾大学医学部産婦人科\*

○神野正雄, 岩田壮吉\*, 杉村和男\*, 小林俊文\*, 野澤志朗\*,  
吉村泰典, 中村幸雄

【目的】ヒト体外受精において,採卵した卵の成熟度は,妊娠成功を左右する重要なポイントである。卵成熟度は,一般にcumulus massの性状により評価されているが,不一致も少なくない。そこで,卵卵丘塊を薄く培養皿に附着させ corona radiata・第1極体・germinal vesicleを100倍で観察することを検討した。

【方法】月経周期第3日より連日hMG150-300単位を投与し,血清LHが至適レベルに達した日にhCG10000単位を投与し,36-38時間後に採卵した。採卵後ただちに,卵卵丘塊を約20 $\mu$ lの培養液とともに培養皿にのせ,指ではじいて薄く広げ100倍にて3-4秒鏡検した。corona radiataの状態から,以下の如く分類した。過熟(O):顆粒状で散っている。成熟(M):放射状に輝いて見える,中等度成熟(T):帯状に褐色に見えるが卵実質を観察できる,未熟(I):更にコンパクトしており卵実質の観察がしばしば困難,異常(A):卵実質のfragmentationや変形。第1極体・germinal vesicleの有無も観察した。鏡検後ただちに培養液を追加して卵卵丘塊を遊離し,追加成熟培養用培養皿に移し,2-4時間培養した。T・Iの一部は,ホルモン添加培養を試みた(別報)。体外受精・胚培養を既報の如く行い,採卵2日後に胚移植した。

【結果】体外受精78周期において,計396個の卵を採卵した。正常に受精・胚分割をした割合は,O:37%(N=19),M:42%(N=202),T:18%(N=68),I:0%(N=25),A:6.7%(N=15)であった。O・Mの70%に第1極体を観察することができた。52周期(67%)に胚移植を行い,妊娠2-3例(採卵あたり29%)を得た。【結論】本法による卵成熟度評価法は,簡便・迅速でありながら,受精・胚分割率をよく反映し,その有用性が示唆された。

## V-30

## 排卵時期予測としての血中progesterone値の有用性について

弘前大学医学部産科婦人科学教室

○立崎 達夫 藤井 俊策 坂本 知巳  
鍵谷 昭文 斎藤 良治

【目的】現在,排卵時期の予測には,超音波断層法,尿中ホルモン(LH,estrogen),血中ホルモン(LH,estradiol),頸管粘液性状,基礎体温などが用いられている。我々は,血中progesterone値が,排卵時期の予測になり得るのではないかと考え,今回検討したので,その成績を報告する。

【方法】当科不妊外来で治療を行っている18名(基礎体温により排卵が確認されている)を対象とした。対象者の年齢は,32.6 $\pm$ 4.5歳で,不妊期間は,6.9 $\pm$ 3.7年であった。外来受診時(午前9:00~午後1:00)肘静脈より採血し,検体を静置後遠心し,血清を分離したのち測定まで,-20 $^{\circ}$ Cで凍結保存した。血中ホルモン(LH,progesterone)の測定は,エルモテック-LH,エルモテック-プロゲステロン(持田製薬株式会社)のEIAキットを用いた。超音波断層法により,卵胞径の計測をあわせて行った。

【結果】基礎体温の低温最終日を0 dayとして検討した。血中progesterone値:-1 dayでは,18例中13例(72.2%)が1.0ng/ml以下であった。4例(22.2%)が1.1~2.5ng/ml,1例が3.65ng/mlであった。0 dayでは,3.5~4.0ng/mlが15例(83.3%),1.0ng/ml以下が3例,4.0ng/ml以上は2例であった。+1 dayでは,13例(72.2%)が4.0ng/ml以上,3.0~4.0ng/mlが4例,残り1例は1.64ng/mlであった。+2 dayでは,各々+1 dayの値より上昇していた。超音波断層法:超音波断層法により,①卵胞の消失,②卵胞の縮小をとまなうcyst壁の不整化,③cyst内部echoの増強,④ダグラス窩貯溜液⑤子宮内膜肥厚⑥黄体によるechoの崩壊,などを示した「超音波像上の排卵」は,18例中16例(88.9%)に認められた。これら16例の「超音波像上の排卵」を認めた日の血中progesteroneの最低値は,3.09ng/mlであった。血中LH値:血中LH値の上昇を確認できたのは18例中10例(55.6%)であった。

【まとめ】排卵時期予測のパラメーターとして,血中progesterone値は有用であると考えられた。

## V-31

## 尿中LH測定からみた排卵予測

熊本大学医学部産科婦人科学教室

○河野哲郎 松浦講平 本田律生 西村 弘 岡村 均

〔目的〕尿中LHの半定量測定による排卵予測の可能性につき検討を行った。

〔対象ならびに方法〕対象は外来で卵胞発育のモニターを行った不妊症患者25例で、その内訳は自然6周期（A群）、クロミッドあるいはセキシピッド投与11周期（B群）、hMG投与8周期（C群）である。月経周期10日前後あるいは発育卵胞径10mm以上の時点から超音波断層上で排卵が確認されるまで連日8:00, 16:00, 24:00の3回随時尿を採取し、翌日一括して尿中LHの半定量測定（Lチェック）を行い、同時に経腔超音波断層法による卵胞径の計測および卵胞破裂所見の有無を検討した。この期間中は連日午前中30分間隔で2回採血を行い、LH, E<sub>2</sub>, P を後日一括して測定した。

〔結果〕1) A群では、血中LHおよびE<sub>2</sub>値とほぼ相関して尿中LHは+から3+まで順調に増加するパターンを示し、その後3日以内に排卵が、4日以内に基礎体温表上は高温相への移行がみられた。2) A群において尿中LHが+に出現した時の平均卵胞径 15 mm以上の卵胞数、血中LH、E<sub>2</sub>値はそれぞれ 1.0 個、13.9 mIU/ml、218.7 pg/ml であった。3) B群およびC群では尿中LHが必ずしも+から3+に順調に増加せず、血中LHおよびE<sub>2</sub>値との相関も認められなかった。また排卵および高温相への移行は尿中LHが+に出現した時点より1日目から6日目の間で、一定した傾向は認められなかった。

〔結論〕自然周期で、卵胞が順調に発育している周期では尿中LH半定量（+）を排卵性LHサーージの開始と判断してよく、その出現は一日一回のいずれの時間でもdetectできる。しかし、排卵誘発剤の投与時には、尿中LH半定量の結果は血中LHおよびE<sub>2</sub>レベルの推移と必ずしも一致せず、+から3+まで順調に移行する症例が少なく、排卵を予測するには2+まで待たねばならず、その際超音波断層法による卵胞発育の観察が不可欠と思われた。

## V-32

## 酵素抗体法によるマウス卵子のoxytocinの局在性について

防衛医科大学校産科婦人科学教室

○牧村紀子、古谷健一、鏑本浩志、星原孝幸、永田一郎

〔目的〕卵子を取り巻く環境に関しては種々の検討がなされているが、卵子側についての検索は困難な点が多く報告も少ない。最近、われわれはDNAプローブを用いて顆粒膜細胞がoxytocinを産生することを確認したが、このoxytocinのtargetは卵子ではないかと考え、受精後のマウス胚にoxytocinを作用させてみた。その結果、oxytocinが胚の発育を促進することが明らかになったので、酵素抗体法を用いて卵および顆粒膜細胞におけるoxytocinの局在を調べてみた。

〔方法〕ICR系雌マウスを過排卵させ、未受精卵およびmaitingにより得られた各stageの胚を採取した。顆粒膜細胞は排卵後の卵子の周囲に付着している細胞をヒアルロニダーゼで剝離し、回収した。これを10%FCS含有のRPMI1640培養液にて $1 \times 10^5$ /mlに調製し、Lab-Tek（培養皿）中で48時間培養し、冷エタノールで固定した。卵子はプロナーゼにより透明帯を除去したあと、ホールマウント法にて卵子標本作製し、酢酸-エタノール(1:3)中に4°Cで保存、一夜固定した。固定後の卵子および培養細胞にoxytocin抗体(1次抗体)を作用させ、ビオチン化2次抗体と反応させた。次いでアビジン/ビオチン化ペルオキシダーゼコンプレックスと反応させたあと、ジアミノベンジジン(DAB)にて染色した。

〔結果〕顆粒膜細胞、未受精卵、受精卵の胚盤膜までの各stageにおいてそれぞれの細胞膜部分にoxytocinの存在が認められた。

〔考察〕排卵された卵子周囲の顆粒膜細胞や卵細胞の細胞膜にoxytocinが存在することは、oxytocinが黄体化や卵の分割などになんらかの役割を果たしていることを示唆している。今後はこれらの細胞膜におけるoxytocin receptorの存在、oxytocinの作用などについて検討を加える予定である。なお、卵子および初期胚にoxytocinの存在を確認したのはこの報告が初めてである。

## V-33

ヒト体外受精における未熟卵体外成熟法：F S H添加の有用性

杏林大 医学部産婦人科、慶應義塾大学医学部産婦人科\*

○神野正雄、北村誠司\*、岩田壮吉\*、杉村和男\*、小林俊文\*、  
野澤志朗\*、吉村泰典、中村幸雄

【目的】ヒト体外受精において、採卵した卵の20-40%が未熟卵であるが、その受精・発育能は成熟卵に比べ劣っている。有効な未熟卵体外成熟法が必要とされるが、いまだ満足すべき方法が得られていない。そこで、FSH添加による体外成熟法を検討し、良好な成績を得たので報告する。【方法】月経周期第3日より連日hMG 150-300単位を投与し、血清LHが至適レベルに達した日にhCG 10000単位を投与し、36-38時間後に採卵した。採卵後ただちに、卵卵丘塊を約20 $\mu$ lの培養液とともに培養皿にのせ指ではじいて薄く広げ、100倍にて3-4秒鏡検した。corona radiataの状態から、以下の如く分類した。過熟(O)：顆粒状で散っている。成熟(M)：放射状に輝いて見える、中等度成熟(T)：帯状に褐色に見えるが卵実質を観察できる。未熟(I)：更にコンパクトしており卵実質の観察がしばしば困難、異常(A)：卵実質のfragmentationや変形。鏡検後ただちに培養液を追加して卵卵丘塊を遊離し、洗浄後、成熟培養用培養液に移した。O・M・Aは、患者血清を加えたWhittenの培養液(WM)にて、2-6時間成熟培養を行った。T・Iは、一部はWMのみにて2-5時間成熟培養し、一部はFSH/50m IU/ml(fertinome, Serono)添加WMにて約20時間成熟培養した。体外受精・胚培養を既報の如く行い、採卵2日後に胚移植した。【結果】体外受精78周期において、計396個の卵を採卵した。正常に受精・胚分割をした割合は、O：37% (N=19)、M：42% (N=202)、T (FSH-)：18% (N=68)、T (FSH+)：53% (N=40)、I (FSH-)：0% (N=25)、I (FSH+)：18% (N=11)、A：6.7% (N=15)であった。52周期(67%)に胚移植を行い、妊娠23例(採卵あたり29%)を得た。【結論】FSH添加による体外成熟法は、未熟卵の受精・胚分割率を改善し、その有効性が示唆された。

## V-34

Double Zona dissectionとSingle Zona dissectionの比較

セントマザー産婦人科医院

○山田義治、田中温、出嶋秀明、田中威づみ、吉田一郎、竹本洋一、  
鷹野和哉

目的：射出精子濃度が500万/cc以下、精子運動率が20%以下の重症男性不妊症におけるGIFT、IVF・ETの妊娠率は極端に低値となる。このような難治性不妊症症例に対し、顕微操作が開発された。今回我々は、この顕微操作の中で透明帯に裂け目をつけ、この間隙より運動精子が進入し、受精に至るZona dissectionに関し、卵子の操作時間が短く、受精率を上昇させる目的で透明帯を2個所でdissectする。Double zona dissectionを試みたので、その結果について従来のSingle zona dissectionと比較してみた。方法：過去のIVF・ETで全く受精を認めずハムスターテストが10%以下であった症例に対し、ご夫婦の了承のもとに施行した。採卵4-5時間後の卵子を0.1%ヒアルロニダーゼ内で顆粒膜細胞を除去し、その後20%非働化血清添加HTF内で10-20%培養、さらに0.3-0.5M Sucrosein HTF内に1-2分注入した。卵卵腔の開大を確認後、実体顕微鏡下で、延長チューブを接続したholding pipetteを左手で保持し、口で吸引し卵子を固定した。dissectionは27G針で施行した。dissectionの部位は1-2時方向と4-5時方向の2箇所とした。dissection後ただちに20%非働化血清添加HTFで洗浄し15-30分培養後ヒト卵胞液で処理した精子と媒精した(Brinster法)。媒精6時間後にMedium changeを行い、その後の卵子の発育を観察した。なお、胚移植は行っていない。結果：Double zona dissectionおよびSingle zona dissectionの無傷率、受精率、卵割率、多精子受精率はそれぞれ[85%(17/20)], [35%(7/20), 28%(4/20), 20%(4/20)], [87%(40/46), 28%(13/46), 13%(6/46), 12%(5/46)]であった。考案：無傷率、受精率、卵割率、多精子受精率において両者間に明らかな差異は認められなかったが、Double zona dissectionでは受精率、卵割率、多精子受精率が、Single zona dissectionでは無傷率がそれぞれやや高くなる傾向を認めた。考案：透明帯を2個所でdissectすることにより受精率の上昇の傾向を認めた。しかし、Zona dissectionにおける受精・卵割率を向上させるためにはdissectionの数だけでなく精子先体反応の有無、精子運動性の変化などの問題の検討が必要である。

## V-35

## 超急速凍結法によるヒト初期胚の凍結保存

セントマザー産婦人科医院

○鷹野和哉, 田中温, 山田義治, 出嶋秀明, 田中威づみ, 吉田一郎,  
竹本洋一

目的：ヒト受精卵の凍結保存の最大の目的は、過排卵処理下の子宮内に移植するのではなく、自然周期の子宮内に戻すことによる着床率の向上にある。正常な分割卵を同調した自然周期の子宮内に移植した場合の妊娠率は50%に達するといわれているが、現状におけるヒト受精卵の凍結融解後の着床率は約10%と低値にとどまっている。この妊娠成功率の低さは従来のプログラムフリーザーを用いる凍結手技の繁雑さが原因の一つと考えられる。今回我々は中潟の発表した超急速凍結法(第30回哺乳動物卵子研究会)がヒト初期胚の凍結保存に応用できないかと検討し有用な結果を得たので報告する。方法：体外受精・胚移植のプログラムで培養した初期胚を用いた。凍結は空温にて、分割卵を直接、凍害保存液DAP(D: dimethyl sulphoxide, A: acetamide, P: propylene glycol)に移し直ちにガラス製のキャピラリーに吸引し5秒以内に液体窒素中に浸漬した。融解は液体窒素内よりとり出し指先で加温後直ちに37℃, O, SM sucrose内へ注入した。DAPの希釈後20%非動化血清添加HTFへ移し分割卵の生存率(融解後の割球数が1/2以上のものを生存と判定)を検討した。結果：①DAPのモル濃度差による生存率は213>223>224>331>332>334の順で低下した。②DAP213における凍結融解後の生存率は77%(54/70)であった。③各ステージ別における生存率は2細胞期胚87%(20/23)4細胞期胚81%(17/21), 8細胞期胚71%(12/17), 桑実期胚60%(3/5), 胚盤胞50%(2/4)であった。④各ステージ別における発生率(分割が進んだものを発生と判定)は2細胞期胚42%(5/12), 4細胞期胚36%(4/11), 8細胞期胚20%(2/10), 桑実期胚33%(1/3), 胚盤胞0%(0/4)であった。考察：ヒト初期胚の凍結保存に超急速凍結法を応用し、従来のプログラムフリーザーを用いた凍結法に劣らない結果を得た。本法は実験室内で簡易にしかも極めて短時間内に操作が完了する臨床上有用な凍結保存法であることが判った。高濃度の凍害保存液の細胞に対する安全性及び臨床結果についても検討を加えたい。

## V-36

## カニクイザル卵子の成熟培養と体外受精

国立予研・霊長類センター、\*エーザイ株

○山海 直、井田 聡\*、若林庸夫\*、長 文昭

我々は、カニクイザル(*Macaca fascicularis*)を対象とした発生工学的技術の開発に関する一連の研究を進めている。その過程での卵子の採取において、カニクイザルの過排卵誘起法を開発し、多数の卵子を採取することに成功している。しかし、得られる卵子には、多くの未成熟卵が含まるため、これら卵子の成熟培養が可能になれば貴重な卵子の有効利用につながる。しかし、サル類卵子の成熟培養に関する報告は少ない。今回、カニクイザル未成熟卵の成熟培養について若干の成績が得られたので報告する。【方法】 供試カニクイザルは、月経出血が定期的に確認されたものを用いた。月経初発日から数えて3~14日目の間に計8回PMSG(帝国臓器)200IU/回を筋注し、最終投与後約28時間目に卵胞卵を採取した。得られた卵子は、十分に洗浄したのち200 $\mu$ lのドロップ内で培養した。mediumには、体外受精に用いているBSA添加TYH(1)およびFCS添加TCM-199(2)、2にPMSGを添加したものの(3)、2にhCGを添加したものの(4)、2にPMSGとhCGを添加したものの(5)を用いた。卵子は継時的に圧片標本を作製して観察した。また、本法により得られた成熟卵を用いて体外受精を試みた。【結果】 採卵により、得られた卵子のほとんどがG.V.期であった。培養には、卵丘細胞の有無にかかわらず卵実質の正常なG.V.期のものを用いた。その結果、PMSG添加によって卵丘細胞の膨潤を認めた。medium 2~5での培養で低率ではあるがMet IIへの成熟を認めた。そのなかでもmedium 2、3が比較的良好であった。成熟した卵子に精子を添加したところ、雄性前核、第2極体を認めたが、卵丘細胞のついていない裸化卵子では多精子受精が多く、卵丘細胞のついた卵子ではPMSG添加群のmedium 3のもので正常な受精を認め、その後分割した。【結論】 低率ではあるが、カニクイザル卵子の体外成熟培養に成功した。それら卵子の体外受精では、卵丘細胞に包まれたもので比較的良好であった。

## V-37

## 凍結融解ハムスター排卵卵子の体外受精能

東北大学医学部産科学婦人科学教室 京都大学農学部家畜繁殖学研究室\*  
 ○萬代泰男, 対木 章, 深谷孝夫, 矢嶋 聡, 細井美彦\*, 南直治郎\*, 内海恭三\*  
 入谷 明\*

【目的】未受精卵凍結保存後の体外受精能力を検討するため, 以下の実験系を試みた。

【方法】PMSG-hCGにより過排卵処理をした成熟雌ゴールデンハムスターの卵管膨大部より排卵卵子を採取した。凍結保護剤として1M DMSO, 2M DMSO, 1.5M PROH+0.25M Sucroseの3種を用い, 卵丘細胞を付着させたまま室温で凍結保護剤を添加, 0.5ml strawに封入し, プログラムフリーザー(Planner, Cryo-10)により, 室温より植氷点まで $-2^{\circ}\text{C}/\text{分}$ , 手動植氷後, 同温度に10分間保持し,  $-40^{\circ}\text{C}$ まで $-0.3^{\circ}\text{C}/\text{分}$ ,  $-180^{\circ}\text{C}$ まで急冷し, 液体窒素に浸漬した。融解は $37^{\circ}\text{C}$ 温水中で急速融解, 凍結保護剤を希釈除去後, 媒精に供した。同種成熟雄の精巣上体尾部精子を採取, TALP+PHE(D-penicillamine, hypotaurine, epinephrine)中で2時間前培養した後, TALP+PHE中で媒精を行なった。4時間後, ホールマウント標本を作成し, 固定・染色をし, 囲卵腔内精子侵入, 膨化精子頭部, 精子尾部を伴った雄性前核形成をもって受精の判定を行なった。

【結果】①新鮮卵群, ②1M DMSO群, ③2M DMSO群, ④1.5M PROH+0.25M Suc. 群それぞれにおいて, 変性卵率は, ①2.8% ②7.4% ③7.6% ④4.3% 受精率は, ①90.5% ②96.8% ③94.3% ④68.6% 多精子受精率は, ①8.8% ②15.7% ③16.0% ④16.9% 受精途上卵率は, ①10.5% ②5.0% ③7.0% ④25.4%であった。

【結論】(1)1M DMSOおよび2M DMSOを凍結保護剤として用い, 卵丘細胞を付着させたまま急速凍結・急速融解を行なったハムスター排卵卵子は, 新鮮卵とほぼ同様の受精能を有していることが証明されたが, 多精子受精率はやや高い傾向にあった。(2)1.5M PROH+0.25M Suc. 群では, 他の群に比べ受精率が有意に( $p < 0.01$ )低く, 受精像でも受精途上卵が有意に( $p < 0.01$ )多くみられた。

## V-38

## 無月経第2度症例に対するclomiphene citrate間歇投与療法の臨床的効果

○石川雅一、中居光生\*、川内博人\*、劍持 稔\*\*、安達敬一\*、  
 佐藤倫也\*、国立相模原病院産婦人科、北里大学産婦人科学教室\*、  
 大和市立病院産婦人科\*\*

慢性無排卵性無月経のうち、中枢性重症無月経症例で、妊娠の成立を目的とする場合には、hMG-hCG療法が一般的に行われるが、その目的がない場合にはこの治療法は通常適応性を欠く。しかし、これに代わる治療法の短期的効果ですら一定せず、更にその長期的効果となると一層低下するのが実情である。clomiphene citrate (C.C.)療法は排卵障害の軽症例に用いられるが、重症例に対する第一選択薬となっていない。以上のような事を背景として、無月経第2度症例に対して、C.C.の間歇的投与療法を行い、一定の効果を待たので報告する。

内分泌外来に通院する無月経第2度に分類される症例のうち、育児希望のない既婚者及び未婚者で、子宮性無月経を除外した合計38症例を対象とした。C.C. 50mg~200mg/日、7日間連用の後、2週間の休薬期間をおき、3週間周期を1クールと定めて、超音波検査上卵巣腫大のない事を確認しながら反復投与を行った。効果判定は月経血の流出の有無及び、排卵の有無をもってした。

全38例に対する平均投与周期は4.2周期で、月経の回復を確認できたのは26例(68%)であった。この26例についての平均投与周期数は3.6周期で、平均投与総量は2883mg。1周期当り800mgで、1日114mgであった。38例中2例は両側卵巣腫大のため治療を中止したが、その後追跡不能で効果の判定は不能であった。OHSSとなった症例はなかった。

無月経第2度に対しては、従来カウフマン療法、偽妊娠療法など様々な治療方式が経験的に用いられているが、我々の経験では、その長期予後改善効果は必ずしも満足できるものではなかった。今回、C.C.間歇的投与方式により約70%の有効率が得られた事は、妊娠を目的としない本症例に対する新しい治療方式として有用であり、経口投与法から得られる様々な利点から今後の応用が期待されると考えられた。

## V-39

## 年齢別の排卵誘発効果の検討

大阪大学医学部産科婦人科学教室 ○直原広明、笠原幹司、増本伸之、  
安達 浩、西崎孝道、甲村弘子、田坂慶一、三宅 侃、谷澤 修

【目的】年齢による排卵誘発効果を検討する目的で、クロミフェン療法とhMG-hCG療法を施行し、その排卵誘発効果と年齢および血中ゴナドトロピン値との関係を検討した。【方法】挙児希望のある婦人で、血中FSH値が30mIU/ml未満の875例を対象として、クロミフェン療法とhMG-hCG療法を行い、基礎体温表と血中プロゲステロン値より排卵の有無を判定した。これらの症例を血中FSH値5未満(1群)、5以上10未満(2群)、10以上20未満(3群)、20以上30未満(4群)に分け、それぞれの群において年齢別に検討した。

【成績】①FSH値別にみると1群では、排卵率はクロミフェン療法で94.3%、hMG-hCG療法で91.8%であった。2群では、各々91.7%、95.2%であった。3群では、各々88.2%、89.7%、4群では、各々87.9%、70.8%であった。妊娠率に差はみられなかった。②年齢別にみると、排卵率は30才未満では、クロミフェン療法で85.5%、hMG-hCG療法で87.0%であった。30才以上35才未満では、各々94.1%、91.7%、35才以上40才未満では、各々92.7%、94.1%、40才以上では、各々92.5%、90.5%であり、③妊娠率は、30才未満では20.5%、30才以上35才未満では、15.6%、35才以上40才未満では、9.8%、40才以上では、5.2%であった。

【結論】排卵率は血中FSH値が高値になるほど低下するが、年齢には影響されず、妊娠率は、血中FSH値には関係なく、加齢とともに低下することが明らかとなった。

## V-40

## hMG-hCG療法抵抗性排卵障害におけるGH併用の試み

東京女子医科大学産婦人科、\*同母子総合医療センター、\*\*同内分泌内科  
○三室卓久、岩下光利\*、安達知子、中山稔子、瀬戸山琢也、松尾明美、  
小林万利子、武田佳彦、坂元正一\*、高野加寿恵\*\*、肥塚直美\*\*

【目的】多量のhMGでのみ排卵が惹起しうる、hMG-hCG療法抵抗性の症例に成長ホルモン(GH)を併用したときの卵胞発育促進効果について検討した。なおこの臨床治験を行なうにあたり当大学倫理委員会にて承認を得た。【方法】対象は現在hMG-hCG療法を受けているもので、hMGの連日投与で排卵まで12日以上要するか、総hMG投与量が2000単位を越えても排卵に至らない症例とした。GHは遺伝子組み替え天然型ヒト成長ホルモンであるジェントロピン(Kabi Vitrum社)を使用し、hMG製剤としてはパーゴナル(帝国臓器)を使用した。同一症例にコントロール周期とGH投与周期を設け、コントロール周期では、月経または消退出血5日目よりhMG(パーゴナル1A:150IU)を連日投与し、1日3Aを上限に3日毎に1Aずつ増加させた。GH投与周期では、コントロール周期に続いて、月経5日目より同様のhMG刺激を行ない、月経5,7,9,11日目でGHを筋注した。両周期とも首席卵胞径が20mm以上になった時点でhCG5000単位を筋注し、排卵を誘発した。両周期におけるhMG投与量、投与日数、首席卵胞径、血中F2、P4、GH値を検討した。【結果】GH投与群はいずれの投与量でも、コントロール群に比べhMG投与量、投与日数共に減少傾向にあった。卵胞発育速度は、コントロール群に対してGH投与群ではより速やかであった。血中E2値の上昇はコントロール群よりGH投与群の方が早く、排卵時のE2値もGH投与群の方が有意に高値であった。しかし、両群の発育卵胞数に有意差は認められなかった。【考察および結論】GHはhMGの卵胞発育効果を促進し、hMG-hCG療法に抵抗性を示す症例に有効と考えられた。GHの作用機序に関しては、卵巣への直接作用や血中のIGF-I増加を介して卵胞発育に関与している可能性などが推測されるが、詳細は今後の検討を待たねばならない。

## V-41

## pure FSH 初期多量漸減投与による排卵誘発効果

藤田保健衛生大学 産婦人科学教室

○白木 誠, 澤田富夫, 青木豊和, 服部公博, 多田 伸, 樋口泰彦,  
廣田 稷, 河上 征治

【目的】最近の IVF-ET program では排卵誘発法として種々の方法が用いられているが、今回我々は pure FSH の初期多量漸減投与による排卵誘発効果及び卵の成熟度、分割率に及ぼす影響を検討した。

【対象および方法】我々の IVF protocol にて排卵誘発を行った症例 33 例、36 周期を対象とした。平均年齢は 31.8 歳で、IVF-ET の適応は卵管因子 58% (19/33)、機能性不妊 24% (8/33)、内膜症合併 12% (4/33)、男性因子 6% (2/33) であった。排卵誘発方法は、Group I: hMG 150 IU 連日投与、Group II: pure FSH 300 IU 2 日間、以後 150 IU 連日投与 (4pFSH)、Group III: pure FSH 450 IU 2 日間、以後 300 IU 2 日間、その後 150 IU 連日投与 (6pFSH)、Group IV: GnRHa 900 μg/日 投与、2 日目より hMG 150 IU 連日併用の 4 法により行なった。各方法につき採卵数、卵成熟度別にみた採卵数、受精率、分割率を算定し比較した。

【成績】① 6pFSH 法 (Group III) による排卵誘発方法は、採卵された卵の成熟度において Immature oocyte は 10% 以下で、十分に成熟した卵の採取が可能であった。② 6pFSH 法による採卵数は、周期あたり  $6.0 \pm 1.5$  個で有意に他法に比較し多かった。③ 6pFSH 法による採取卵の受精率は 80%、分割率 (分割卵 / 受精卵) は 95.8% で、Group I、Group II、Group IV と比較し有意に高値であった。④ 6pFSH による Estradiol level は 4pFSH に比較し有意に高値を示した。

【考察】IVF-ET protocol において採取した卵の Immature oocyte は分割率が極めて悪く、我々の用いる成熟度判定指標は有用であった。6pFSH による排卵誘発は十分な採卵数と、高い分割率を有する成熟卵を採取するのに有用な刺激法であると考えられた。

## V-42

## GnRH agonist による卵胞直接作用の検討

杏林大学医学部産婦人科教室

○安藤 索, 生方良延,

小山典彦, 山田春彦, 苅部正隆, 吉村泰典, 中村幸雄

【目的】GnRH agonist が家兎の follicle-enclosed oocyte の卵核成熟を用量反応性に促進することを既に我々は報告した。GnRH agonist は成熟卵胞の PG 産生を有意に促進するものの、卵核成熟促進効果は PG 以外のメカニズムを介して惹起されるものと考えられている。今回、GnRH antagonist を用い卵核成熟促進作用及び卵変性誘起作用が、GnRH agonist の卵胞直接作用に起因しているか否かについて検討を加えた。

【方法】in vitro での Brackett's medium を用いた 14 時間卵胞器官培養において、GnRH antagonist (Org.30276; Ac-D-pC<sub>6</sub> Phe-D-pC<sub>6</sub> Phe-D-Trp-Ser-Tyr-D-Arg-Leu-Arg-Pro-D-Ala-NH<sub>2</sub> · CH<sub>3</sub>-COOH)  $10^{-6} \sim 10^{-8}$  M を同時投与し、buserelin (B) 及び leuprolide acetate (LA) の卵核成熟促進作用や卵変性誘起作用に及ぼす効果を検討した。また hCG によって惹起される卵核成熟に及ぼす GnRH antagonist の役割についても検討を加えた。

【結果】 $10^{-6} \sim 10^{-8}$  M の GnRH antagonist は、 $10^{-7}$  M の B 及び LA 添加時に認められた卵核成熟を用量反応性に抑制した。 $10^{-6} \sim 10^{-8}$  M の B 及び LA は、follicle-enclosed oocyte の卵変性率を有意に増加させたが、GnRH antagonist 同時投与により、卵変性率は有意に減少した。しかしながら GnRH antagonist の同時投与によっても hCG 投与時にみられる卵核成熟の抑制は認められなかったことにより、GnRH agonist による卵核成熟促進作用は、hCG とは異種のメカニズムを介していることが明確となった。

【結論】GnRH agonist による卵核成熟促進作用及び卵変性誘起作用は成熟卵胞に対する直接作用に起因することが明確となった。また gonadotropin によって惹起される卵核成熟促進作用は、卵胞内 GnRH-like substance を介していないように考えられた。

## V-43

## 視床下部性無月経に対する buserelin の低用量鼻腔内投与の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室

○武内 裕之, 岡部 親宜, 飯田 信, 福田 勝, 高田 道夫

clomiphene 無効の視床下部性無月経 14 例に buserelin  $30\mu\text{g} \times 3/\text{日}$  を 3 週間鼻腔内投与し, 下垂体の反応性ならびに, 卵胞発育, 排卵の有無についての検討を行った。正常月経周期のボランティア 9 例に対し, buserelin  $30\mu\text{g}$  を一回鼻腔内に投与すると, 血中 LH, FSH は 4 時間後にピークとなり, 6 時間後でも投与前よりも高値を示した。視床下部性無月経は buserelin 投与前の LH-RH テストにより, LH, FSH の基礎値がともに  $1.5\text{mIU/ml}$  以下でかつ負荷後 30 分値が  $3\text{mIU/ml}$  以下である I 型とこれを満たさない II 型とに分類した。I 型では buserelin 投与により, 血中 LH, FSH は 2 週間後に有意に上昇し ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ), また LH-RH テストにおける LH, FSH の反応性も buserelin 投与 2 週間後で改善が認められた。II 型では buserelin 投与による LH, FSH の増加は有意ではなく, 投与 2 週間後に行った LH-RH テストでは LH, FSH の反応性の低下が認められた。buserelin 投与による下垂体の反応性の変化の指標として,  $\Delta_1$  (buserelin 投与前の LH-RH テストの負荷後 30 分値と負荷前値の差),  $\Delta_2$  (buserelin 投与 2 週間後の LH-RH テストの負荷後 30 分値と負荷前値の差) について検討すると, I 型では LH, FSH とも  $\Delta_2$  は  $\Delta_1$  よりも有意に高く ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ), II 型では統計学的有意差はないものの,  $\Delta_2$  は  $\Delta_1$  よりも低い傾向が認められた。I 型では buserelin 投与により下垂体の priming が起こり, II 型においては下垂体の desensitization が起こったものと考えられた。なお buserelin 投与中に卵胞発育や排卵が認められた症例はみられなかった。以上, 視床下部性無月経患者に buserelin の低用量投与を行った場合, 下垂体の反応性には priming effect と desensitization の 2 種類があることを証明し, また buserelin による排卵誘発の限界を示した。

## V-44

## 当科における体重減少性無月経患者に対する治療の現況

山口大学医学部産科婦人科

○中村康彦, 杉野法広, 石松正也, 手山知行,  
田村晴代, 山下三郎, 加藤 紘

【目的】体重減少性無月経患者の Primary lesion は, 視床下部にあると考えられている。しかしこの部位の障害はしばしば二次的な下垂体機能不全を引き起こし, 下垂体 Gonadotroph の萎縮や機能低下が生じる可能性があり, たとえ視床下部が回復しても十分な月経周期を回復するには時間を要する事にもなりかねない。最近, 当科ではこうした体重減少性無月経患者に対してクロミフェンと共に下垂体賦活の目的で GnRH アナログのプセレリンを用いて良好な成績を得たので報告する。

【方法】全例 LH-RH テストを施行, 反応性不良の症例はプセレリン  $300\mu\text{g}/\text{日} \times 7$  日間のうち LH-RH テスト再検とした。全例第一選択薬は, クロミフェン単独とし, それが無効の場合, プセレリン  $300\mu\text{g}/\text{日} \times 5$  日に引き続いてクロミフェン投与を行った。プセレリン-クロミフェン療法を 2-3 回行った後も反応性が見られない場合は, カウフマン療法を 2-3 周期繰り返した後再び上記刺激方法を行ったが, これにても反応性のみられない症例には LH-RH パルス療法を行った。

【結論】1) いずれの例も LH-RH 負荷にたいする低反応性がプセレリン投与により回復し, 二次的な下垂体機能不全に陥っている事が明かとなった。2) 6 例中 1 例はプセレリン+クロミフェンにて月経周期の獲得に成功した。LH-RH パルス療法後にクロミフェン有効となったものが 1 例, LH-RH パルス療法でそのまま妊娠した者は 1 例であった。

【考察】プセレリン+クロミフェン治療は自宅にて使用可能なため, 特に高校生等の若い女性に多い体重減少性無月経には診断・治療の面で有益と思われる。今後は有効例の内分泌背景および本治療の適応基準について検討を重ねたい。

## V-45

## 子宮筋腫核出前の GnRH analogue 投与による組織学的変化と術前投与の有用性について

長崎大学産婦人科学教室 ○山下隆則、行徳 豊、一瀬俊介、  
石丸忠之、山辺 徹

【目的】子宮筋腫の手術適応は、年齢、症状および大きさなどによって総合的に決められるが、妊孕性を温存するためには筋腫核出術が一般的に行なわれる。筋腫核出術において、筋腫の存在する位置や大きさによっては、出血や子宮内膜損傷、漿膜の広範にわたる欠損などにより、二次的に内膜癒着、卵管角部閉塞や腹腔内癒着などを生じ、医原的不妊原因ともなりかねない。そのため核出術といえども、術中操作には十分注意を払う必要がある。GnRH analogue (スプレキュア) は、estrogen 依存性の筋腫を縮小させ、術中出血量を減少させることが知られている。今回、私どもは GnRH analogue の術前投与の有用性と筋腫の組織学的変化について検討した。【対象】子宮筋腫核出前に GnRH analogue を 6 ヶ月間投与し、核出術を行なった 4 例および非投与 6 例を対象とした。【結果】(1)GnRH analogue 投与開始後 3 ヶ月間は筋腫の急激な縮小が認められたが、その後の縮小緩慢であった。(2)術中出血量は GnRH analogue 使用群で有意に少なかった。(3)組織学的には、GnRH analogue を投与した 4 例中 2 例に細胞核の染色度の著明な低下、平滑筋線維の離開および膠原線維の増生がみられ、血管内皮細胞の変性ないし消失がみられた。【結論】GnRH analogue の術前投与は筋腫を縮小させ、術中出血量を減少させ、また、手術操作を容易にすることから、筋腫の位置によって多量の出血が予想される例や手術操作が困難と思われる例については有用と思われる。病理学的には、4 例中 2 例に変性所見がみられたものの、筋腫の縮小のみで、組織学的には非投与例と変わらないものもあり、GnRH analogue の筋腫に対する作用機序について、さらに検討が必要と思われる。

## V-46

## 徐放性GnRH Agonist TAP-144-SRの子宮内膜症例における内分泌動態に及ぼす影響

## TAP-144-SR子宮内膜症研究会

○武谷雄二、植村次雄、星合 昊、寺川直樹、矢嶋 聰、水口弘司、  
川島吉良、岡田弘二、杉本 修、谷澤 修、中野仁雄、水野正彦

【目的】TAP-144-SR (酢酸リユープロレリン徐放性製剤) の内分泌動態に及ぼす影響を検討した。

【対象及び方法】排卵性月経を有するBeechamⅡ期以上の子宮内膜症例134例に対し、TAP-144-SRの5用量(0.47mg, 0.94mg, 1.88mg, 3.75mg及び5.63mg)を4週間隔で6回(24週間投与)皮下注射し血清LH, FSH, PRL, GH, E<sub>2</sub>, P<sub>4</sub>, testosterone(T), T<sub>4</sub>, cortisol及びCA125をRIAにより測定した。

【結果】LH, FSHの基礎値は、1.88mg以上の群では初回投与1~2週後に一過性に上昇し、その後は24週まで低値が維持された。一方、0.94mg以下の群では初回投与後の一過性の上昇後も高値を示す例が散見された。2回目以後のTAP-144-SR投与直後のLH, FSHの反応性分泌は、0.47mg~3.75mgの範囲で用量依存性に抑制された。E<sub>2</sub>は初回投与後に一過性の上昇をみた後、その後24週までの期間で30pg/mlを超えた例は、0.47mg~3.75mgの範囲で用量依存性に減少した。すなわち、1.88mg以上の群ではほぼ30pg/ml以下に維持されたが、0.94mg以下の群ではその値を超える例が多くみられた。P<sub>4</sub>は、3.75mg以上の群では黄体期レベルに達した例は認められなかった。しかし、0.94mg以下の群では黄体期レベルに達した例が散見された。

PRL及びTに関してはすべての群で軽度ではあるが投与期間中、漸減傾向を示した。なお、GH, T<sub>4</sub>及びcortisolに関しては一定の変化を認めなかった。

CA125は、投与前は大部分の例で上昇していたが、投与後はいずれの群でも4週時点で正常化した。以上の結果から、TAP-144-SRは0.47mg~3.75mgの範囲で、用量依存性かつ選択的にゴナドトロピン分泌並びに卵巣機能を抑制することが示された。

## V-47

## Gn-RH analogueを併用した体外受精胚移植法における血中gonadotropin値と発育卵胞数の検討

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

○岡田英幹, 鈴木規敬, 鈴木真史, 貝田清隆, 生田克夫, 花田征治, 八神喜昭  
中日病院産科婦人科  
万歳 稔

体外受精胚移植にGn-RH analogue (Gn-RHa)が併用されることにより発育卵胞数や回収卵子数が増加することが知られている。しかしながらGn-RHaの併用下でも依然発育卵胞数の少ない周期も見られる。そこでGn-RHaを黄体期中期より投与した35症例68周期について、採卵時発育卵胞数( $\geq 14\text{mm}$ )と血中gonadotropins (Gns) 値との関連について検討を行なった。検討は、発育卵胞数が3個以下の群(A群,  $n=16$ )と4個以上の群(B群,  $n=52$ )の2群に分けて行なった。まずGn-RHa投与下のhMG投与前、投与4日目Gns値を測定し、採卵時発育卵胞数との関連について検討した。hMG投与前の血中FSH値はA群 $9.5 \pm 4.1\text{mIU/ml}$ , B群 $6.7 \pm 2.4\text{mIU/ml}$ で、発育卵胞数が3個以下の群で血中FSH値は、有意に高値を示した。またhMG3日間の投与による血中FSH値の増加はそれぞれ $7.6 \pm 4.1\text{mIU/ml}$ ,  $7.5 \pm 3.9\text{mIU/ml}$ で、両群間に有意差は認められなかった。血中LH値については、hMG投与前の値、増加量とも、両群間に差は認められなかった。次にIVF-ET治療に入る前のLH-RHテストの血中Gns基礎値と発育卵胞数との関連について検討した。FSH基礎値はA群で $13.1 \pm 7.8\text{mIU/ml}$ , B群で $9.2 \pm 3.6\text{mIU/ml}$ と、両群間に有意差は認められなかったが、FSH基礎値の正常上限値である $15\text{mIU/ml}$ を越える症例は、A群で9症例中4症例と、B群の15症例中1症例と比較して多く認められた。FSHの反応性には両群間に有意差は認められず、またLH値は基礎値、反応性とも両群間に差は認められなかった。以上の結果よりGn-RHa併用下での発育卵胞数の差は、投与したhMG製剤に含まれるFSHの血中蓄積の違いに起因するものではなく、投与開始時の血中FSH値の差による可能性が示唆された。また、IVF-ET治療に入る前の血中FSH基礎値が正常値を越える症例では、採卵時の発育細胞数が少なくなる可能性も示唆された。

## V-48

## 卵巣刺激周期における内因性 LH surge 発来に及ぼす血中progesteroneの影響

鳥取大学医学部産科婦人科

○蓮佛千恵子, 高尾成久, 池成孝昭, 関島秋男, 岩部富夫, 谷川正浩,  
大野原良昌, 寺戸博文, 原田 省, 見尾保幸, 寺川直樹

〔目的〕 Clomid-hMG 刺激による体外受精周期において LH surge 発来に及ぼすprogesterone (P) 値の影響を、GnRH-analog +hMG刺激周期と比較することにより検討した。

〔方法〕 当科で1989年1月から1990年2月までにClomid-hMG刺激を行った87周期およびGnRH-analog+hMGを行った22周期、計109周期を対象とした。血中ホルモン測定はE<sub>2</sub>、P、LHを月経第3日より隔日、第9日より連日12時間毎に測定した。

〔結果〕 Clomid-hMG 周期ではLH surgeは24周期(28%) (surge 群) に認められ、hCG 投与は38周期(44%) (hCG 群) であり、25周期をキャンセルした。surge 群では、surge の開始12時間後にLHはピーク値をとった。hCG 群においてもhCG 投与12時間後にLH surge が発来し24時間後にピーク値をとった。一方、GnRH-a+hMG周期 (GnRH 群) ではLH surgeは認められなかった。surge 群およびhCG 群ではLH surge 開始時のP値は基礎値に比較し有意に高かった。

〔考察〕 Clomid-hMG 周期では、大部分の症例でhCG 投与前あるいは投与後にLH surgeが発来し、いずれにしてもLH surge の開始時にP値の有意な上昇が認められたことより、LH surge発来にP値の関与が強く示唆された。

## V-49

ラット下垂体培養細胞を用いたエンドセリンのLH分泌に対する作用の検討

慶應義塾大学医学部産婦人科

○齊藤 優, 牧野恒久, 和泉俊一郎, 豊島 究, 梅内正勝, 野澤志朗

エンドセリン(ET)は、血管内皮細胞より単離された昇圧物質であり、3つのアイソタイプを持つペプチドであるが、最近種々の生理活性を有することが報告されている。ラット下垂体生殖内分泌系においても、GnRHに匹敵するLH分泌促進作用を有するとの報告もみられるが、必ずしも同意を得られていない。われわれは単層培養系を用いて同様の刺激実験を行ったところ、これと異なりLH分泌に対して、有意な放出増加がみられなかったため報告する。

方法は、SD系雌ラット脳下垂体前葉遊離細胞単層系を用い、培養液中にエンドセリンアイソペプチド(ET-1:  $10^{-6}$ M~ $10^{-10}$ M, ET-2:  $10^{-6}$ M~ $10^{-10}$ M, ET-3:  $10^{-7}$ M~ $10^{-10}$ M)およびGnRH( $10^{-6}$ M~ $10^{-10}$ M)をそれぞれ加えて4時間培養した。培養液中に放出されたLH量、および細胞を酸処理して得られた細胞内含有LH量をRIA2抗体法にて測定した。さらに、ET-1・GnRHを同時負荷し、種々の培養時間で相乗効果を測定した。

結果は、培養液中放出LH量では、GnRH負荷時が、対照の約180~540%と濃度依存性に増加したのに比して、ET-1, -2, -3ともに有意な増加は示さなかった。やや減少する傾向がみられたが、濃度との関係は明らかではなかった。

細胞内含有LH量では、GnRHに比して、ET-1, -2, -3では、約80~240%と増加傾向を示したが、濃度との関係は明らかではなかった。

GnRHとET-1の同時負荷においても相乗効果は示さず、同様の結果がえられた。

以上より、gonadotrophsのLH分泌に対し、従来の報告と異なり、単層培養系では、ETに特に分泌促進効果は認められないことが示され、灌流系での結果と比較し、その作用機序を検討した。

## V-50

「ゴナール20、30」を用いた尿中LH surgeの検出

名古屋大学医学部分院産婦人科、名古屋大学医学部産婦人科\*、  
○北川武司、中村潔史、那波明宏、稲垣資郎、柴田均、近藤育代、成田收、  
広岡孝\*、塚原慎一郎\*、山口一雄\*、花井一夫\*、浅田義正\*、菅沼信彦\*、  
友田豊\*

〔目的〕 排卵の予知は不妊治療には不可欠となっているがLH surgeの検出が最も有用性が高いと考えられている。現在、尿中LHの測定が広く用いられているが、LH surgeの短いものやPEAKの低いものでは従来の40~50 mIU/mlの検出感度ではその成績は十分とは言えない。そこでより高感度の簡易EIA法(ゴナール20およびゴナール30、感度はそれぞれ20 mIU/ml、30 mIU/ml)を用いて排卵予知の有用性について検討した。

〔方法〕 正常月経周期を有する不妊婦人18名に月経周期1日前後より連日、早朝尿および約12時間後の随時尿を採取し検体とした。また、この間連日採血により血清LHを測定し、経膈超音波断層法によって卵胞発育を観察し、卵胞の消失した日を排卵推定日とした。

〔結果〕 ゴナール20を用いた場合、陽性回数は2回以上で平均陽性回数  $2.9 \pm 0.6$  (mean  $\pm 1SD$ ) 回、ゴナール30を用いた場合、陽性回数は1回以上で平均陽性回数  $2.1 \pm 0.7$  回であり、1回しか陽性を示さなかったものが4例存在した。また両検査とも陽転化後48時間以内に全例排卵を認めた。

〔結語〕 ゴナール20、30ともに全例LH surgeをとらえることが可能であり、また、陽転化後48時間以内に全例排卵した。ゴナール20を用いた場合は、排卵をとらえるためには連日の早朝尿検査が必要と思われる。ゴナール30を用いた場合は、排卵をとらえるためには連日の早朝尿および夜間尿の検査が必要と思われる。

## V-51

## LHの分子構造異常が疑われる反復流産の1例

大阪医科大学産婦人科学教室

○奥田喜代司、佐伯理男、後山尚久、山田隆司、井本広済

岡崎 審、杉本 修

先天性TSH 単独欠損症や先天性GH単独欠損症は報告され詳細な検討がされているが、先天性のLH、FSHの単独欠損症の報告は少ない。今回、我々は反復自然流産の既往を有し、LHの分子構造異常が疑われた症例を経験したので報告する。

症例 M.Y. (29 才) : 13才に初潮があり、以後整調な月経周期を有した。24才に結婚した後に、自然流産を2回経験した。昭和63年8月に流産の原因検索のため来院した。子宮卵管造影検査や子宮鏡検査では異常を認めず、染色体検査も夫婦ともに異常を認めなかった。基礎体温は二相性を示し、翌年の9月に妊娠が成立し、その後特に異常なく満期出産した。妊娠成立前に行ったLHRH、TRH 負荷試験ではLH値はすべて0.1 mIU/ml以下で反応がみられなかった。一方、FSH 値は8.7 より15.8 (mIU/ml)と増加し、TSH は2.5 より33.4 (uIU/ml)とprolactinと同様に軽度過剰反応を示した。またその他の下垂体性ホルモンや甲状腺機能などの末梢ホルモン値には特に異常を認められなかった。そこで、LHRH負荷試験時の血漿中LHを以下の方法で検討した。Glycopeptide Aによる糖鎖を切断後に固相抗体としてLHβ - 特異的抗体およびtracerとして intact LH特異的抗体を用いて測定した。LHは切断前と同様に0.1 mIU/ml以下であった。しかし、固相抗体は同様にLHβ - 特異的抗体を用い、tracerをLHα - 特異的抗体に変更したところ、基礎値およびpeak値は正常範囲の値を示した。

考察 : 検討したintactLH特異抗体の認識部位がLHの架橋構造付近であることやTSH、FSH には異常がみられないことより、LHの架橋構造付近でもβ鎖に異常があると考えられる。しかし、本例では排卵周期がみられ、妊娠が成立したことからLHの生物学活性には大きな異常がないと思われるが、反復流産との関係など不明である。今後はLHの分子構造異常を遺伝子レベルで解析することが必要と思われる。

## V-52

## エトポシドの卵巣機能への影響について - LH-RHテストを主として -

千葉大産婦人科

○木村博昭、松井英雄、江口 修、布山隆史、稲葉憲之、高見澤裕吉

各種抗癌剤の卵巣機能への影響についての報告は少なく正確には判明していない。今回われわれは、エトポシドを用いて治療した絨毛性腫瘍26例について治療後の排卵の有無、治療終了後より初回排卵日までの日数、治療終了後60日以内のLH-RHテスト(前値、30、60、120分)の検査について検討した。1コースは100mg、5日間の点滴静注または200mg、5日間の経口投与であり、平均5.6±2.3コース(3~11コース)を使用した。患者の平均年齢は34.8±7.9才(24~52才)である。治療後排卵を認めた症例が21例(81%)あり、その平均年齢は31.6±4.5才(24~44才)、排卵までの日数は50.9±36.8日(4~118日)、治療コースは6.0±2.4であった。これに対し治療後排卵の認められない症例が5例(19%)あり、その平均年齢は48.4±3.4才(44~52才)、治療コースは4.0±0.9であった。またLH-RHテストにて、正常パターンを示した症例が15例(58%)あり、全例排卵し排卵までの日数は平均39.9±33.9日(4~118日)、平均年齢29.7±2.7才(24~35才)、治療コース6.1±2.4であった。LH-RHテストにて前値が高く過剰反応を示した症例が10例(1例は排卵前後のため除く)あり、そのうちの5例に排卵を認めた。その平均年齢は37.6±4.7才(33~44才)、排卵までの日数89.8±13.7(74~107日)、治療コースは6.2±2.1であった。1989年以前の治療症例で挙児希望10例のうち8例が妊娠分娩を終了した。

以上より、エトポシドの卵巣機能への影響については、10コース内外までであれば、濃度依存的ではなく、年齢に依存していることが推測された。またLH-RHテストにおいて、前値が高く過剰反応を示す症例の中にも、卵巣への障害が可逆的である症例が存在し、40才以下であればこの可能性が高いことも示された。

杏林大学医学部産婦人科学教室

○小山典宏, 安藤 索, 生方良延, 塩川滋達, 山田春彦, 吉村泰典, 中村幸雄

【目的】挙児希望せる PCO, 第一度無月経 (Am I), 第二度無月経 (Am II) に対し, hMG 律動的皮下投与法による排卵誘発を行い, その排卵, 妊娠, 卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) 発症率について検討した。

【方法】消退出血直後より hMG 150~225 IU/日 (9.375~14.0625 IU/pulse) を 90 分毎に律動ポンプで下腹部皮下に投与し, 頸管粘液, 超音波断層法による卵胞観察にて卵胞成熟を確認後 hCG 5000IU を筋注, 排卵誘発を行った (hMG 法)。一部の PCO では LHRH agonist (Buserelin) 900ug/日を 2~3 週間投与し下垂体を抑制後, 同様に hMG 律動的皮下投与 (LHRHa + hMG 法) を行った。

【成績】PCO 11 例 78 周期に hMG 法を行い, 11 例 70 周期 (89.7%) に排卵, 10 例 (90.9%) 28 周期 (35.9%) に OHSS 発生, 7 例 (63.6%) 11 周期 (14.1%) に妊娠が確認された。LHRHa + hMG 法を行った PCO 9 例 41 周期は, 9 例 27 周期 (65.9%) に排卵, 3 例 (33.3%) 3 周期 (7.3%) に OHSS 発生, 2 例 (22.2%) 2 周期 (4.9%) に妊娠が確認された。Am I 12 例 50 周期中, 12 例 43 周期 (86.0%) 排卵, 4 例 (33.3%) 4 周期 (8.0%) に OHSS 発生, 6 例 (50.0%) 6 周期 (12.0%) に妊娠が認められた。Am II 13 例 69 周期中, 13 例 64 周期中 (92.8%) に排卵, 10 例 (76.9%) 22 周期 (31.9%) に OHSS 発生, 8 例 (61.5%) 10 周期 (14.5%) に妊娠が認められた。妊娠例 22 例 29 周期中, 流産 2 例 (9.0%) 3 周期 (10.3%), 多胎は 2 例 (双胎 1 例, 品胎 1 例) 2 周期 (6.9%) にみられた。

【結論】hMG 律動的皮下投与法は, 排卵, 妊娠率が高く, 連日筋注法に比し OHSS 発症率, 多胎発症率は低率であった。LHRHa + hMG 法は, 排卵率の低下が認められるものの, OHSS 発症率は低く, 重篤 OHSS 発症症例には有用な手段である。

賛育会病院 産婦人科 帝京大学医学部 産婦人科\*

○合阪幸三, 都築浩雄, 金田幸枝, 鳥谷葉子, 野島美知夫, 國保健太郎, 吉田浩介, 森 宏之\*

HMG 製剤は現在多くの種類が用いられている。そこで代表的な 4 種類の HMG 製剤を排卵障害患者に用い, 血中各種ホルモン動態および臨床効果を比較した。〔方法〕15 例 (内分泌学的 PCO 7 例, 視床下部障害 6 例および下垂体障害 2 例) の婦人に対して, ①ヒュメゴン<sup>®</sup> (9 周期), ②パーゴナル<sup>®</sup> (8 周期), ③フェルティノーム<sup>®</sup> (8 周期), ④日研 HMG<sup>®</sup> (7 周期) により排卵誘発を行った。月経周期の 1~5 日目よりいずれも漸増法により投与を開始し, 超音波断層法により観察した最大主卵胞径が 2 cm 時に HCG に切り替える方法とし, 卵胞期後期および黄体中期に採血して血中各種ホルモンを測定した。〔成績〕卵胞期後期の血中 FSH 値は①~④でそれぞれ,  $2.26 \pm 9.4$ ,  $1.67 \pm 7.3$ ,  $2.36 \pm 1.05$ ,  $1.82 \pm 8.5$  mIU/ml と①, ③で高値を示す傾向が得られた。同時期の血中 LH 値は, それぞれ  $3.8 \pm 2.6$ ,  $4.4 \pm 3.7$ ,  $3.0 \pm 2.1$ ,  $4.2 \pm 3.8$  mIU/ml と一定の傾向はみられなかった。同様に成熟卵胞個数, 血中 E<sub>2</sub> 値も①~④間で有意の変化は認められなかった。しかし同時期における血中 HCG 値はそれぞれ  $0.6 \pm 0.2$ ,  $3.5 \pm 1.4$ ,  $0.6 \pm 0.2$ ,  $0.7 \pm 0.3$  mIU/ml と②で有意に高値となり (P<0.005), androstenedione (A) 値も  $1.1 \pm 0.4$ ,  $2.1 \pm 1.0$ ,  $1.3 \pm 0.6$ ,  $1.1 \pm 0.5$  ng/ml と②で有意に高値を示した (P<0.05)。黄体中期の血中 E<sub>2</sub>, P<sub>4</sub> 値は①~④で著明な差はなく, A 値もそれぞれ  $3.0 \pm 1.6$ ,  $3.9 \pm 2.0$ ,  $2.9 \pm 1.9$ ,  $3.2 \pm 2.1$  ng/ml と有意差はなかった。本研究期間中に 4 例の妊娠成立がみられたが, 各投与群による著明な偏りはなかった。また OHSS 発症率もほぼ同等であった。〔結論〕②にみられた血中 HCG 値の上昇は②に含まれている微量の HCG によるものと考えられ, これにより血中 A 値の上昇を来したものと思われた。臨床効果には著変はなかったが, 内分泌学的 PCO 症例では血中 A 値の上昇を介して卵胞発育に好ましくない影響を及ぼす可能性が示唆される。

## V-55

LH含量変更に伴うhMG (Humegon<sup>®</sup>)の卵胞機能賦活作用の変化

医療法人 假野クリニック

○假野 隆司

〔目的〕本邦で始めて販売されたhMG製剤であるHumegon(オルガノン)の150IUが1991年2月をもってFSH、LH比率が1:1から3:1に変更された。このLH含量の低下が卵胞機能賦活作用に及ぼす影響を臨床的に検討すること。

〔対象と方法〕実質不妊期間3年以上(31-44歳)で少なくとも3ヶ月以上Humegon150IU(FSH:LH=1:1)の治療を受け、その後、3:1製剤に変更して同一量の治療を受けた17例について、直接的卵胞機能の指標としてBBT-3~0DayあるいはLHカーが初めて陽性になった日に測定した血中Estradiol値、最大卵胞径、最大卵胞径+最小卵胞径、卵胞数(5mm以上)、間接的指標として子宮内膜厚、頸管粘液量、黄体機能としてBBT+5~8Dayに測定した血中Progesterone値を用いた。これらの症例は随証療法による引き続いた漢方療法を除いて他の卵胞賦活療法は行っていない。

〔結果〕17例中1例がFSH:LH=1:1製剤を投与中、無排卵であったが、3:1製剤に変更してからは4例が無排卵になった。直接的卵胞機能指標としての血中estradiolは $363.9 \pm 620.3 \text{ pg/ml}$ (M $\pm$ SD)から $337.2 \pm 321.9 \text{ pg/ml}$ 、最大卵胞径は $2.0 \pm 0.4 \text{ cm}$ から $1.8 \pm 0.4 \text{ cm}$ 、最大卵胞径+最小卵胞径は $3.7 \pm 0.8 \text{ cm}$ から $3.4 \pm 0.7 \text{ cm}$ 、卵胞数は $6.6 \pm 3.5$ 個から $6.2 \pm 2.6$ 個、間接的指標としての子宮内膜厚は $5.3 \pm 1.5 \text{ mm}$ から $5.1 \pm 1.6 \text{ mm}$ 、頸管粘液量は $0.35 \pm 0.15 \text{ ml}$ から $0.26 \pm 0.15 \text{ ml}$ 、黄体機能として血中Progesterone値は $53.2 \pm 67.1 \text{ ng/ml}$ から $51.2 \pm 74.3 \text{ ng/ml}$ と低下ないし減少傾向が認められたがいずれも統計学的な有意差は認められなかった。

〔結論〕HumegonのFSH:LH、1:1製剤と3:1製剤の卵胞賦活作用は臨床的には差はない。

## V-56

## 男子不妊症に対するhCG-hMG療法の経験

東京大学泌尿器科

○篠原充、国武剛、西古靖、龔和田滋、東原英二、阿曾佳郎

男子不妊症の多くは原因不明で、いわゆる特発性造精機能障害により生じる。これに対して多くの治療法が試験的に試みられてはいるが、現在のところまではっきりと確立した治療法はない。我々は1982年1月から9年間に51名の男子不妊症患者に対してhCG-hMG療法を行ったので報告する。対象は不妊症が原因で当科を受診し、特発性造精機能障害と診断された50例と、低ゴナドトロピン性類宦官症で治療開始後結婚し不妊症を訴えた1例である。全例精巣容積は6ml以上であった。精液所見において1ml中2,000万以下を乏精子症、運動率50%以下を運動障害例とした。無精子症が12例、乏精子症34例、運動障害5例であった。年齢は25歳から47歳、不妊期間は1年から15年であった。hCGは1,000から5,000IUをhMGは75から150IUを週1回あるいは2回筋肉注射により投与した。投与期間は9週から64週までであった。精子数の2,000万以上の増加あるいは運動率が50%以上に改善したものを著効、1,000万以上の改善を有効、1,000万以上の減少を悪化とした。著効4例、有効3例、無効40例、悪化4例であった。また著効の2例と無効の2例に妊娠の成立をみた。年齢、不妊期間、精液所見および内分泌学的検査から治療効果をみると、年齢と不妊期間に関しては一定の傾向は認めなかった。運動障害の群では悪化を示すものが多く、有効例はなかった。治療前の血中ゴナドトロピン値の低値を示すものに良好なものが多かった。さらにその中で3例はLHが正常以下でかつFSHが正常値を示した。【考察】特発性造精機能障害に単一の病態ではなく、幾つかの病態が混在していると考えられている。今回治療を行った症例でも、ゴナドトロピン値は低値から高値までバラツキを示した。この治療結果から一定の治療方針を出すことはできないが、十分な男性化を示す症例の中にも間脳-下垂体系の異常による類宦官症に近い病態のものが含まれており、これらはhCG-hMG療法に良く反応すると考えられた。

## VI-1

## IUD挿入子宮内膜におけるマクロファージとリンパ球の組織内分布について

東京慈恵会医科大学 産婦人科  
 ○秋山芳晃, 松本和紀, 後藤 誠, 村江正始, 落合和彦, 落合和徳,  
 小室順義, 楠原浩二, 寺島芳輝

〔目的〕IUDの避妊機序については多々議論があるが, 今もって明確な説明はなされていない。そこで今回我々はIUD挿入子宮内膜におけるマクロファージやNK細胞を中心としたリンパ球の組織内分布を検討し, これらの免疫担当細胞のIUD避妊機序への関与について考察した。

〔方法〕IUD抜去時, 子宮内膜試験掻爬術を施行し, 病理学的検索とともに一部組織で凍結切片を作製し, 免疫組織化学(ABC法)を用い, マクロファージとNK細胞を中心としたリンパ球の組織内分布を検討した。抗体はマクロファージマーカーとしてCD68, NK細胞のマーカーとしてCD56とCD57, インデューサー/ヘルパーT細胞のCD4, サプレッサー/細胞障害性T細胞のCD8などを用いて検討した。IUDタッチスマアにても同様の検討を行った。

〔成績〕IUD内膜にはCD68(+)細胞は少なかったがIUDタッチスマアには存在し, マクロファージは組織中よりも子宮腔に遊走している状態と考えられた。CD56(+)細胞は組織中にもIUDタッチスマアにもほとんど認めなかった。

〔考察〕IUD避妊機序にはNK細胞よりもマクロファージの関与が推定された。サイトカインについては現在検索中である。

## VI-2

## 正常妊娠初期と自然流産との脱着膜組織マクロファージとNK細胞の組織内分布の比較検討

東京慈恵会医科大学 産婦人科  
 ○松本和紀, 後藤 誠, 秋山芳晃, 川勝雅秀, 許山浩司, 清水良明,  
 北川道弘, 楠原浩二, 寺島芳輝

〔目的〕免疫学的に非自己である妊卵及び絨毛が子宮内膜に生着する機序は今もって充分には解明されていない。脱着膜組織にはマクロファージやNK細胞が多数存在し, 妊娠成立の過程で重要な役割を果たしているものと推察されている。そこで正常に妊娠が成立していると考えられる(超音波にて児心拍が確認されている)人工妊娠中絶例と, 稽留流産例の脱着膜組織中のマクロファージとNK細胞の分布を比較検討し, 妊娠成立過程におけるこれら免疫担当細胞の役割の一端を明らかにしようと試みた。

〔方法〕超音波で児心拍が確認され, 正常妊娠と考えられた人工妊娠中絶例と児または児心拍が確認できず稽留流産と診断された例で, 子宮内容除去術時脱着膜を採取し, 凍結切片を作製し, マクロファージマーカーとしてCD68, NK細胞マーカーとしてCD56とCD57, インデューサー/ヘルパーT細胞のマーカーのCD4, サプレッサー/細胞障害性T細胞のマーカーとしてCD8などを用い免疫組織化学(ABC法)で検討した。

〔成績〕正常妊娠例(人工妊娠中絶例)では多数のCD56(+)細胞(マクロファージ)を認めるが, 流産例ではわずかしら認めず, NK細胞も流産例ではわずかであった。

〔結語〕流産はマクロファージやNK細胞が絨毛や妊卵を攻撃する為におこるのではなく, 正常な免疫反応がおきない為に流産する可能性が示唆された。

## VI-3

## 正常妊婦と自然流産患者の脱落膜 Macrophage の免疫学的機能

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

○水野昌彦, 平尾有希恵, 尾崎康彦, 金原敏弘, 青木耕治, 八神喜昭

妊娠初期の脱落膜中には、数多くの Macrophage が認められ、免疫学的妊娠維持に深く関与していることが推測されている。今回、我々は、正常妊婦と自然流産患者より得られた脱落膜 Macrophage の機能的差異について検討したので報告する。対象は、同意の得られた妊娠6-10週の正常妊婦12例と自然流産例7例であった。各々の症例より得られた脱落膜組織は、酵素処理、メッシュ濾過、Ficoll-Paque 比重遠心法、シャーレコート法を用いて脱落膜 Macrophage を分離回収した。免疫学的機能検査として、以下の実験を行った。①妊婦単核球を responder, 夫単核球を stimulator とし one-way MLR を行い、さらに regulator として妊婦の脱落膜 Macrophage を添加し、% suppression を算定した。また、PHA 芽球化反応における % suppression も同様に検討した。②antigen presenting capacity を検討するために、monocyte を除去した妊婦単核球分画を responder とした MLR に脱落膜 Macrophage を添加して、% reconstitution を算定した。③PHA 刺激下における脱落膜 Macrophage の IL-1 $\alpha, \beta$  および PGE<sub>2</sub> 産生能を測定した。実験結果は、① MLR における %suppression は、自然流産患者: 3.7 $\pm$ 16.3%, 正常妊婦: 40.5 $\pm$ 20.0% (p<0.01), PHA 芽球化反応における % suppression は、自然流産患者: 13.4 $\pm$ 10.3%, 正常妊婦: 36.0 $\pm$ 22.1% で、いずれの実験でも自然流産患者は正常妊婦に比較して低値であった。②antigen presenting capacity では、自然流産患者は正常妊婦に比較して、高値であった。③IL-1 $\alpha, \beta$  産生能は、自然流産患者は正常妊婦に比較して高値の傾向を示したが、PGE<sub>2</sub> 産生能では有意差は認められなかった。以上の結果より、自然流産患者における脱落膜 Macrophage は、正常妊婦に比較して妊娠維持に不利と考えられる免疫抑制活性の低下と細胞障害活性として考えられる抗原提示機能の上昇、IL-1 産生能の上昇傾向が認められた。

## VI-4

## 自然流産における脱落膜 T 細胞の活性化抗原の発現に関する検討

広島大学医学部産科婦人科学教室

○児玉尚志, 岡本悦治, 大島清久, 原 鐵晃, 大浜絃三

【目的】妊娠初期の脱落膜には骨髄由来細胞が多く存在し、これらの細胞は相互作用により妊卵の着床や絨毛の発育を調節していると考えられている。しかし、これらの細胞中にはNK活性をもつ細胞群も報告され、正常妊娠のみならず胎児の拒絶にも関与している可能性もある。今回我々は、脱落膜リンパ球の自然流産への関与を調べる目的で、脱落膜より分離したリンパ球のうち特にT細胞の活性化抗原の発現を正常妊娠例、自然流産例について比較検討を行なった。【対象および方法】正常妊娠例(妊娠7-9週)および自然流産例(妊娠8-12週)の子宮内容除去術により得た脱落膜を細切、メッシュ濾過した後、Percoll比重遠沈法により脱落膜リンパ球を分離した。つぎに、Two color flow cytometryによりT細胞(CD4, CD8)に発現する活性化抗原であるCD69, HLA-DRおよび、virgin T細胞のマーカーであるCD45RAについて検討をおこなった。【結果】CD4/CD8比は、正常妊娠例、自然流産例で特に有意差は認めなかった。CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>細胞における活性化抗原は、正常妊娠例、自然流産例ともにその発現が認められたが、CD69, HLA-DR間での差は認められなかった。正常妊娠例、自然流産例での発現頻度の比較では、CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>細胞ともに自然流産例で有意(P<0.01)に増加しており、ともにCD4<sup>+</sup>細胞に比べCD8<sup>+</sup>細胞に強く発現していた。また、CD45RAの発現は正常妊娠例に比べ自然流産例で有意(P<0.05)に減少していた。【考案】脱落膜T細胞は正常妊娠時に比べ自然流産時に有意に活性化されており、妊娠維持作用のみならず、母体にとって semiallograft である胎児の免疫学的拒絶においても重要な働きをしていると考えられた。

## VI-5

## 子宮内膜症患者における免疫担当細胞の解析

慶應義塾大学医学部産婦人科

○岩崎賢一, 牧野恒久, 杉 俊隆, 丸山哲夫, 野澤志朗

【目的】子宮内膜症の病態に関しては今だ不明な部分が多いが, 近年子宮内膜症の免疫学的側面が注目されてきている。今回われわれは, 子宮内膜症の免疫学的側面の検討のひとつとして, 腹水中および末梢血中のリンパ球分画を解析し, 同時に末梢血中のNK細胞活性を測定した。

【対象および方法】対象は, 腹腔鏡および開腹手術にて外性子宮内膜症と診断されたもののうち腹水を認めた症例とし, コントロール群としては, 内膜症以外の卵管不妊および非炎症性の良性腫瘍で腹水の認められた症例とした。Ficoll比重遠心法を用いてリンパ球を分離した後, 種々のモノクローナル抗体 (CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD16, CD19, CD45, CD56, 抗Leu 8, 抗HLA-DR) を用い, two-color flowcytometryによるリンパ球分画の解析を行った。末梢血NK細胞活性については, K-562を標的細胞とした<sup>51</sup>Cr遊離法によって測定した。

【結果】腹水中に関しては今回検討したどの分画もコントロールと有意な差は認めなかった。末梢血中に関しては, 子宮内膜症群でMHC非拘束性Tc細胞, サプレッサーT細胞および活性化T細胞の分画で有意な増加を認めた。また, 腹水中と末梢血中のリンパ球分画の比較では, Tc細胞, Th細胞, 活性化T細胞分画は腹水中で有意に増加しており, 逆に, Ti細胞, B細胞分画は腹水中で有意に減少していた。末梢血中のNK細胞活性は, 子宮内膜症群で低下している傾向を認めたが有意差はなかった。

子宮内膜症の病態に, 腹腔内の局所的な免疫機構が関与していることが報告されているが, 今回の検討ではそれを裏付けるような結果は認められなかった。反対に, 末梢血中のリンパ球分画の一部に有意な差を認めたことから, それらの生理的意義に関しては今後検討を要するところではあるが, 子宮内膜症の病態に全身的な免疫機構が関与している可能性が示唆された。

## VI-6

## ヒト精漿の各種免疫反応に及ぼす影響

徳島大学医学部産科婦人科学教室

○前田信彦, 平野浩紀, 坂本康紀, 大頭敏文, 鎌田正晴, 青野敏博

(目的) 男性内性器は免疫学的特権部位であるとされ, HIV, クラミジアなど多くの病原体やウイルスの"harbor"となっている。これは免疫寛容が成立していない精子抗原に対する免疫応答を抑制するうえで合目的であり, これには精漿が重要な役割を担うと考えられている。しかし免疫反応にも多くの応答系があり, 精漿の主要な抑制部位は明らかにされていない。そこで本研究では, 認識系, 攻撃系など種々の免疫応答に対する精漿の影響を検討した。(方法) T細胞系への影響はPHAおよびConAを用いたリンパ球幼弱化反応(LB)、T-B細胞系への影響はPWMによるLBにて検討した。すなわち末梢血からFicoll法にて分離したリンパ球の各種レクチンによる刺激系に10% FCS加RPMI 1640培養液で種々の濃度に希釈した精漿を加え, 前者では2日, 後者では3日間培養を行った。SDSで遊離させたDNAをethidium bromide法にて定量しLB率を測定した。NK活性およびADCC活性は, K-562およびニワトリ赤血球を用いた<sup>51</sup>Cr-releasing assayにて測定した。(成績) 精漿は今回検討したすべての免疫系に対し, 用量依存的に抑制活性を示した。

100倍希釈精漿の抑制率は, PHA-LB 84.7%, ConA-LB 84.3%, PWM-LB 94.5%, NK活性 25.0%, ADCC活性 31.7%と, 特にPWM-LBを著明に抑制した。ゲル濾過による検討で, 分子量約16KDの分画にPWM-LBの抑制活性が強く認められた。しかし同分画は, 他の免疫系に対しては, ConA-LBに匹敵する程度の抑制を認めた他は, まったく抑制活性を示さなかった。(結論) 精漿は, 認識系, 攻撃系を問わず, 広範な免疫系に対し抑制作用を示した。特にT-B細胞系を強く抑制し, 精子に対する抗体産生の抑制が重要な役割の一つであることが示唆された。同時に同分画は, 分子量16KDの物質が中心的役割を果たしている可能性が高い。

## VI-7

ヒト精子特異的受精阻害モノクローナル抗体が認識する先体蛋白抗原の分子生物学的解析

兵庫医科大学産科婦人科学教室  
○小森慎二、Milena Mihailova、辻芳之、香山浩二、磯島晋三

〔目的〕受精現象に関与するヒト精子上の先体蛋白抗原とその分子生物学的解析を目的とした。

〔方法〕受精能獲得精子をBALB/cマウスに免疫し、そのSpleen cell とマウス骨髓腫細胞P3U1 を型のごとく細胞融合し、固定精子標本の蛍光抗体染色で精子先体と反応し、しかもハムスター試験にてヒト精子の受精阻害作用をしめすモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ株(1G1)を得た。

〔成績〕1G1モノクローナル抗体(Mab-1G1)のIgクラスはIgMで間接蛍光抗体法では受精能獲得運動精子の先体部を特異的に染色することが判明した。しかも、受精能獲得前の射精精子は、染色されなかった。アルコール固定標本では精子先体が強く染色され固定精巣組織切片では、spermatids, spermocytes, spermatozoaの先体構成部分が特異的に染色され、spermatogonia, Sertoli cell, Leydig cell および他の間質組織は染色されなかった。またこの抗体は、サルウシ、ハムスター、マウスの精子とは反応せず、ヒト精子に特異的であった。この対応抗原エピトープは、過ヨウ素酸処理あるいは還元処理に対して抵抗性で、ペプチドエピトープであると考えられた。ヒト精子可溶性蛋白のWestern blottingでは27kDにバンドが認められた。我々はこの対応抗原を分離するために、このMab1G1を用いてヒト精巣cDNAライブラリーを検索した。約 $1 \times 10^6$ ブラークを検索した結果、17の陽性クローンが分離できた。各インサートDNAを分離後、互いのDNAをもちいてsouthern blotting analysisをした結果、それぞれがhybridizeしたことより同一クローンであることが判明した。それらの中の2クローンの塩基配列を決定した後、遺伝子バンクで検索した結果この遺伝子は human polyubiquitin mRNAと95%の相同性があることが判明した。

## VI-8

精子不動化抗体陽性不妊夫婦88組の臨床治療成績

東海大学医学部産婦人科  
○小林善宗、井上正人、本田育子、野見山真理、藤井明和

〔目的〕免疫性不妊の予後は一般的に不良とされてきた。しかし配偶子操作治療の適応により、この概念は一変し、極めて高率に妊娠が成立するようになった。精子不動化抗体陽性不妊夫婦では、卵管内精子輸送障害とくに卵管内精子運動停止、すなわち卵管内での精子不動化が不妊の直接の原因と考えられ、適切な治療法の選択により、その予後は画期的に向上したが、すべて満足のいくものではない。今回、精子不動化抗体陽性不妊夫婦の治療成績と、その不成功例の不妊原因の分析を試みた。〔方法〕対象は1年以上治療しえた精子不動化抗体陽性不妊夫婦88組で、その内訳は妻陽性52組、夫陽性36組であった。それぞれにその予後と、妊娠不成立例の不妊原因を検討した。〔結果〕①妻陽性52組では32組(61.5%)に妊娠が成立した。その妊娠成立法の内訳は、配偶子操作治療妊娠が22組(妊娠の68.8%に相当)と大半を占め(IVF-ET22, IVF-ETR6, GIFT3), AIH妊娠が6組(うち腹腔内人工授精IPI2), 自然妊娠4組であった。妊娠不成立20組の考えられる不妊原因は、夫側因子3組(精子受精能力異常1, 精子survival test不良2), 妻側因子5組(卵巣性4, 子宮性1)で、不明12組であった。②夫陽性36組では13組(36.1%)が妊娠したが、その妊娠成立法は、配偶子操作治療妊娠が6組(妊娠の46.2%に相当)で(IVF-ET3, IVF-ETR2, GIFT1), AIH妊娠6組, 自然妊娠1組であった。妊娠不成立23組の考えられる不妊原因は、妻側因子4組(卵巣性1, 卵管性2, 不明1)で、夫側因子16組(精子受精能力異常10, 精子survival test不良5, 高度乏精子症1)で、3組は不明であった。〔結論〕精子受精能力異常や精子運動能不良例はIVFを行っても受精は期待できず、夫陽性対象の妊娠不成立の多くはこれが不妊原因と考えられた。配偶子操作治療が適応しうる精子不動化抗体陽性不妊夫婦の予後は良好といえよう。

## VI-9

Danazol投与による血中定量的精子不動化抗体価 (SI50値) の変動について

兵庫医科大学産科婦人科学教室

○柴原浩章、繁田 実、多養哲治、子安保喜、香山浩二、磯島晋三

〔目的〕子宮内膜症等の治療に用いられるdanazol(D)は自己免疫病に対して抗血小板抗体の産生抑制等の免疫抑制作用をもつことが報告されている。今回D投与中の定量的精子不動化(SI)抗体価(SI50値)の変動を測定し、Dが血中抗体価を低下させ、治療法として有効であるか否かを検討した。〔方法〕SI抗体保有不妊婦人の中で子宮内膜症又は子宮筋腫と診断された7名のうち4名にD(400mg/day, 4~6カ月)療法を、3名にbuserelin(B)(900 $\mu$ g/day, 3~6ヶ月)療法を行い、血中SI50値を経時的に測定した。治療前のSI50値の変動レベルによりA群(常に10以上の高抗体価群)、B群(10前後を変動する群)及びC群(常に10未満の低抗体価群)に分類し検討した。〔結果〕1)D療法。症例(1)A群。D投与中のSI50値の変動は130→120→243→56で、終了後1年半の変動は32~243を示した。症例(2)B群。投与中の変動は16→16→20→20→24→20→16であった。症例(3)B群。投与中の変動は16→14→陰性→陰性→陰性→5で、終了後8カ月間は陰性~9までの低値を示した。症例(4)C群。投与中の変動は3→6→陰性→陰性で、終了後11カ月間は陰性~3と低値を示したが完全に陰性化はしなかった。2)B療法。症例(5)A群。B投与中の変動は32→24→29→74→27であった。終了後5ヶ月の変動16~36であった。症例(6)A群。投与中の変動は20→120→陰性→16で、終了後1年の変動は陰性~16であった。症例(7)B群。投与中の変動は68→80→135→36であった。本症例は終了2カ月後のIVF-ERで妊娠が成立、健常児を得た。〔結論〕SI抗体保有婦人に対するD療法はA群では血中SI50値の変動は、以前に我々が報告した"undulation"の範囲内にとどまり、著明な抗体産生抑制とは判定できなかった。一方B,C群では、ある特定の期間のみ抗体価の低下がみられたものの、妊娠は成立しなかった。今後投与量や投与期間についての検討が必要と考えられた。又、B療法中の血中SI50値の変動に明かな特徴は認められなかった。

## VI-10

抗卵透明帯抗体による免疫性不妊症の臨床的検討と体外受精を施行した一症例

徳島大学医学部産科婦人科学教室

○大頭敏文、平野浩紀、前田信彦、坂本康紀、山野修司、鎌田正晴、青野敏博

(目的)抗卵透明帯抗体(以下ZP抗体)による免疫性不妊症の存在および避妊法への応用が注目されているが、その臨床的検討はあまり行われていない。今回、ZP抗体陽性不妊婦人につき臨床的に検討するとともに、体外受精を施行した一症例につき報告する。(方法)ZP抗体はブタ卵透明帯抗原を用いた受身赤血球凝集反応により検出した。対象は昭和57年1月から平成3年3月までに当科不妊外来を受診した婦人1872例である。ZP抗体は対象群622例中3例(0.5%)が陽性であったのに対し、不妊婦人では1872例中45例(2.4%)が陽性であり、有意に( $p < 0.01$ )高い頻度で検出された。ZP抗体は排卵障害および機能性不妊患者に多く認められた。(症例)年齢34歳、原発性不妊、不妊期間9年4カ月、不妊原因としては稀発排卵以外は特に異常を認めず、ZP抗体は常に陽性であった。hMG-hCG療法およびAIHを2年間施行するも妊娠が成立しなかった。そこで体外受精を行ったが受精卵は得られなかった(受精率0%、0/5)。血漿交換施行後、臍帯血血清を培養液に添加し再び体外受精を施行したが、全く受精しなかった(0/8)。(結論)ZP抗体を保有する患者では受精阻害により不妊症を惹起し、通常の体外受精では治療が困難であると思われる。

## VI-11

## 夫リンパ球接種の抗精子抗体への影響

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○杉 俊隆, 牧野恒久, 豊島 究, 丸山哲夫, 岩崎賢一, 野澤志朗

【目的】近年、流産の原因を系統的に検索し、原因を追求し、治療しようとする動きが盛んになってきている。当院不育症外来においても、一連の検査を行い、それぞれに適した治療を行い、効果をあげている。特に最近では免疫学的流産と思われる症例に対し、夫リンパ球を用いた免疫療法が効果をあげ、注目されている。今回我々は、control群および免疫療法施行症例に対して、抗精子抗体を測定し、治療前後の変化を調べた。【方法】不育症ルーチン検査施行し、免疫療法の適応と思われる55組の習慣流産患者夫婦に対し、夫精子を用いて、免疫治療前後の抗精子抗体を測定した。また、control群として52人の未婚女性の血清中の抗精子抗体を測定した。抗精子抗体の測定はImmunobead test (IBT)の変法であるSpermCheck Assay (Bio-Rad)によった。SpermCheck Assayは、運動精子の表面に結合する抗体の局在を見ることができ、死んだ精子に対する抗体や、精子の内部成分に対する抗体を除外して評価する事ができる。【結果】①夫の精液検査は、数、運動率ともその平均値は当院不妊症外来の正常値をみたした。②control群と、免疫療法前の患者妻血清中の抗精子抗体は有意差を認めなかった。③各症例の抗体陽性精子率は免疫治療前は平均7.3%であったのに対して、免疫治療後は4.8%と有意に減少した。④direct法にて強陽性の症例も一例あり、夫側の抗精子抗体も流産の原因となる可能性が示唆された。【考察】control群と原因不明習慣流産患者群との間の抗精子抗体陽性率に統計的な有意差はなく、抗精子抗体と流産との因果関係は証明出来なかった。免疫療法により、抗精子抗体が減少するという機序は不明であるが、我々がすでに報告したように免疫療法によりsuppressor T cellが有意に増加し、B cellが有意に減少する事が観察されており、免疫療法の一連の免疫抑制効果の一つとして位置づけられるかもしれない。

## VI-12

## IVF-ET反復不成功例における夫リンパ球免疫療法の併用

秋田赤十字病院産婦人科<sup>1</sup>, 新潟大学産婦人科<sup>2</sup>○長谷川 功<sup>1</sup>, 藤盛 亮寿<sup>1</sup>, 谷 啓光<sup>2</sup>, 高桑 好一<sup>2</sup>, 山田 潔<sup>2</sup>, 金沢 浩二<sup>2</sup>, 田中 憲一<sup>2</sup>

【目的】体外受精・胚移植 (IVF-ET) で妊娠に至らなかった例の中には、着床障害にてoccult abortionに終わっているものが含まれていると推定されている。特に胚移植の段階での反復失敗例においては、その可能性がより高いと思われる。そこで、原因不明原発性習慣流産に対して行われている夫リンパ球免疫療法をIVF-ET反復失敗例、特に習慣流産例と同様に夫婦間の組織適合抗原の類似性を有する例に応用し、着床・妊娠率の向上をはかる試みを行った。【方法】すでに谷らによって報告された当科におけるプロトコールによって過去に3回以上のIVF-ETを施行され、いずれも2個以上の正常形態の受精卵を移植するも妊娠に至らなかった3例 (いずれも卵管因子) を対象とした。3例とも、染色体異常・子宮奇形・黄体機能不全など明らかな着床障害の原因を認めなかった。組織適合抗原の検索は、HLAのほかすでに報告した続発性習慣流産例の血清中にみられるリンパ球障害性抗体を用いたserotypingによって行なった。十分なインフォームド・コンセントのもとで、 $1 \times 10^8$ 個の夫リンパ球皮内注を4週間隔で2回実施し、夫婦間リンパ球混合培養遮断抗体 (MLR-BA) が出現したことを確認した後、新たなIVF-ETを行なった。【成績】3例中、既往4回のET不成功歴をもつ1例で妊娠が成立した。本症例において、MLR-BAは免疫前-6.8%と陰性であったが、免疫後81.2%、ET時70.5%と高値を示し、その後全妊娠経過を通じて陽性に推移した。結局妊娠37週で3306gmの正常男児を分娩した。【結論】ETの反復不成功に加え、組織適合抗原の類似性など原発性習慣流産と同様の背景をもつことから、着床障害が強く疑われる不妊症に対し、あらかじめ夫リンパ球免疫療法によってMLR-BAを誘導しておくことにより着床率を向上させる可能性が示唆された。

## VI-13

フローサイトメトリーによる免疫療法前後の抗リンパ球抗体産生の解析

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○丸山哲夫, 牧野恒久, 杉 俊隆, 岩崎賢一, 野澤志朗

【目的】原因不明習慣流産患者に対する夫単核球皮内接種による免疫治療は約80%という著明な効果を認めるものの、そのメカニズムはいまだ不明である。夫婦間リンパ球混合培養抑制試験や補体依存性細胞障害性試験などで観察される遮断抗体の産生が作用機序のひとつにあげられているが、従来の検査法では簡便性、迅速性、感度に若干の問題点があった。近年、移植免疫の分野で新たな測定系としてこれらの欠点を補うべくフローサイトメーターを用いたクロスマッチが提唱されている。今回われわれは当院不育症外来において免疫療法の適応となった原因不明習慣流産患者25名の免疫療法前後の夫リンパ球に対する抗体産生の推移を、2重染色施行後にフローサイトメーターを用いてその解析を試みた。

【方法】免疫療法前後の妻血清を、Ficoll-Conray比重遠心法により分離した夫リンパ球と反応させたのち、FITC標識ヤギ抗人免疫グロブリン抗体およびPE標識CD3抗体と反応させ2重染色をした後、フローサイトメトリーによる解析に供した。AB血清をcontrolとした。

【結果】AB血清を加えた系におけるnegative controlを1%以下とすると、免疫治療前の妻血清を加えた系での平均は1.58%、免疫治療4回終了後における妻血清を加えた系では35.69%の抗リンパ球抗体の結合した夫T細胞の出現を認めた。

【結論】免疫療法施行後の患者のほとんどに抗リンパ球抗体の産生誘導が認められたが、一部に全く産生されない患者もいて、夫とのHLA適合度との関連や低応答者存在の可能性も今後検討する必要がある。また、他の検査との相関を検討しなければならないが、簡便性、迅速性、再現性において免疫治療の効果・予後判定の有用な方法となりうる事が示唆された。

## VI-14

反復流産症例に対する免疫療法後の免疫学的変化とその臨床成績

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科, 同 輸血部\*

○斉藤 正博, 竹田 省, 関 博之, 木下 勝之, 坂元 正一,  
平田 蘭子\*, 前田 平生\*

原因不明の反復流産患者に対して妊娠前に夫リンパ球で母体を免疫、感作する免疫療法を行い、その前後の免疫学的検査成績と臨床成績につき考察を加え報告する。

〈対象・方法〉1989年1月から1991年4月までに2回以上流産を反復した患者のうち免疫学的流産が疑われた18例を対象とした。全例に、HLAタイピングの後、妊娠前に夫リンパ球を分離、不活化し、2週毎に4回、妻に接種した。更に、免疫療法前後でLCT(lymphocyte cytotoxicity test)、皮内反応、MLR(mixed lymphocyte reaction)を行い、その変化を検討した。

〈成績〉①免疫療法を施行した18例中妊娠症例は12例であった。8例は生児を得、3例は現在妊娠経過順調だが、1例は流産した。(妊娠継続率91.7%)。②全例、免疫療法前のLCTは陰性であった。③妊娠症例中免疫療法後、LCT陽性例は8例(72.7%)であった。④夫婦間のHLA-A, B, DR抗原の共有率に一定傾向は認められなかった。⑤妊娠症例中HLA-DR抗原が1抗原以上共有した症例は5例(45.5%)であった。⑥妊娠症例中免疫療法後、皮内反応縮小例は8例(72.7%)であった。⑦妊娠症例中免疫療法後、MLR抑制例は4例(36.4%)であった。⑧免疫療法後に流産した1例はLCT陰性、MLRは抑制せず、皮内反応の縮小は認められなかった。

〈まとめ〉①反復流産患者に対する夫リンパ球を用いた免疫療法を行った結果、妊娠継続率91.7%とその有効性が示唆された。②免疫療法後の妊娠継続例ではLCTの陽性化と、皮内反応の縮小が高率に認められた。

## VI-15

抗りん脂質抗体陽性習慣流産患者のIgGがprotein C活性化におよぼす影響の検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○豊島 究, 牧野恒久, 酒井 淳, 梅内正勝, 斉藤 優, 野澤志朗

習慣流産の原因は多岐にわたるが、最近その原因のひとつとして抗りん脂質抗体症候群が注目されている。当院の不育症外来でも抗カルジオリピン(以下ACAと略す)抗体価をルチーンで測定しているが、習慣流産患者の8-10%が陽性で、2-3%に抗りん脂質抗体症候群が認められる。

今回我々は、抗りん脂質抗体症候群で動静脈の血栓がしばしば見受けられること、また、trophoblast上にprotein C活性化の強力なco-factorであるthrombomodulinの存在が確認されていることに注目し、習慣流産患者血清中のACAが強力な凝固抑制系であるprotein Cの活性化におよぼす影響を検討した。

まず、ACA40単位以上の強陽性患者の血清よりprotein AによるアフィニティクロマトグラムによりIgGを分離する。protein Cはthrombomodulin-thrombin complexによる活性化の系をもちいて、S-2366により活性化protein Cを吸光度にてとめた。コントロールとしてACA陰性習慣流産患者の血清IgGをもちい、IgGを加えない状態を100%とした。

ACA強陽性患者血清中のIgGを加えたとき、protein C活性化率は100+7.4%で、特に変化は無かったが、逆にコントロール群のIgGでは115+17.4%で活性化が促進されていた。両者に有位差は認められなかったが、ACA強陽性患者血清中のIgGはコントロールIgGと比較してprotein C活性化を抑制する傾向が認められた。

抗りん脂質抗体の血栓や胎児死亡を起こすメカニズムはさまざまな方面から検討されているが、いまだ確定的ではなく、protein C活性化の抑制による血栓形成もその一つの要因として注目すべきだと思われる。

## VI-16

妊娠に至った難治性膿精液症の一例

船岡今野病院○佐藤和宏 東北大学泌尿器科 前原郁夫、平松正義、高橋 勝、中角尚誉、蓮田精之、折笠精一

膿精液症とは、精液中に一定数以上の白血球が出現する病態をさし、精子運動性が抑制されている例が多いことから男子不妊症の原因の一つと考えられている。今回我々は、初診から6年半の治療経過を経て妊娠に至った難治性膿精液症の一例を経験したので報告する。

症例は31才の男性で4年間の不妊を主訴とし、昭和59年2月29日東北大学泌尿器科を受診した。初診時の精液検査では量1.4ml、精子濃度 $68 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率6%、運動能(SMEI)1.5、WBC 20-25/hpf、ESP中WBCのclumpingを認めた。前立腺炎に起因する膿精液症及び精子無力症と診断し、テトラサイクリン系抗生剤、抗炎症剤、妻による前立腺マッサージ等の治療を施行した。しかし一年後の精液検査でも精子濃度 $81 \times 10^6/\text{ml}$ 、SMEI 6.2、WBC 9-10/hpfと改善はみられなかった。62年2月24日には両側精管よりLMOXの注入も試みた。以後SMEIに若干の改善がみられ、SMEI 30-40で推移。62年8月よりは漢方薬療法(小柴胡湯)に変更し、swim up AIHも併用。精液中顆粒球elastaseは $729 \mu\text{g}/\text{L}$ と高値であった。平成1年8月より補中益気湯、コウジン末併用療法、前立腺マッサージ療法及びswim up AIH療法を継続。平成2年10月24日の精液検査にて精子濃度 $75 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率62.2%、SMEI 78.7、WBC 2-3/hpfと著名な改善を認め、同時に妻の妊娠を確認した。

膿精液症は不妊主訴患者の約10%を占め、慢性前立腺炎に起因する精液中白血球による精子運動性の抑制が不妊症の原因になると推定されている。従って前立腺炎の治療がまず大切であるが、実際には本症例の様に難治性のものも多く、治療に難渋する事もしばしばある。今回は患者さん側の協力もあり、6年半の経過後妊娠に至ったが、この症例を通して膿精液症の治療に関し考察を加えたい。

## VI-17

## 実験的卵管炎に関する組織的検討

愛知医科大学・産婦人科学教室  
 ○保條説彦, 禊田茂雄, 岡本俊充,  
 野口昌良, 中西正美

〔目的〕婦人科領域の性器感染症において、Chlamydia trachomatis(以下CTと略す)はSTD(sexually transmitted disease)の原因と考えられ、CT感染後、頸管炎を発症させ、上行性感染したのち卵管炎及び卵管周囲癒着に至り卵管性不妊症の成因になることが明らかになり注目され、又、マイクロサージェリー術後の妊孕性は、卵管内膜の状態が重要であると推察されている。今回、卵管炎による卵管障害の病態を知る目的で、家兎を用いて実験的卵管炎を作成し、卵管の形態的变化について検討した。

〔方法〕日本白色家兎の卵管内膜にCT臨床分離株GIUR-488の $2 \times 10^6$ /ml、大腸菌株NIH-JC2の $2 \times 10^7$ /mlを用いそれぞれ接種し、コントロール群は、McCoy cell培養液及び生理食塩水のみとし、接種後1週後、2週後、4週後に開腹し、組織学的、電子顕微鏡学的(SEM, TEM)に比較検討を加え、さらにCT、大腸菌に関して卵管内膜より、FITC標識モノクローナル抗体を用いて免疫学的組織局在についても検討した。又、CTの抗原及び抗体価についても検討した。

〔結果〕CT感染が大腸菌と同様に急性卵管炎を光顕的に確認し、感染後1週目でSEM、TEM上、卵管内膜の超微形態は大腸菌感染がCT感染と比べ著しく障害されていたのに、CT感染は大腸菌感染と比べ慢性卵管炎の経過をとることが認められた。局在に関してはCTは上皮粘膜内に長期間にわたり認められ、CT抗原も卵管内膜、腹水で確認された。

〔考察〕CT感染の卵管性不妊症の成因を実験的に感染モデルを使用して検討した。その結果卵管周囲癒着、卵管留水腫の原因としてCTが重要であることが確認され、又、慢性卵管炎の経過をとるため、早期治療すれば卵管上皮は修復され、再び妊孕性を回復するものと考えられる。

## VI-18

## 不妊症におけるChlamydia trachomatis感染症と腹腔鏡所見

愛媛大学医学部産科婦人科学教室、国立京都病院\*  
 ○北川博之、中橋徳文、武田康成、松浦俊平、杉並洋\*

〔目的〕クラミジア感染症の既往が妊孕能に及ぼす影響について検討を加えた。

〔方法〕男性因子、排卵因子を除外した不妊症65症例(平均不妊期間49カ月)、対照とした一般妊婦40症例に対して間接酵素抗体法(イバザイムクラミジアAG)を用いて抗クラミジア抗体の検出を施行した。また不妊症患者に対しては腹腔鏡を施行し、子宮内膜症病変、卵管疎通性、付属器癒着の検討を加えた。

〔成績〕不妊症患者、対照妊婦における抗クラミジア抗体陽性率はそれぞれ35/65(53.8%)、11/40(27.5%)であり、不妊症群において有意に高率に抗クラミジア抗体を有している。また不妊症群の中でも腹腔鏡検査により癒着以外の子宮内膜症病変が確認された35症例では抗クラミジア抗体陽性率は12/35(34.3%)であったが、癒着以外の子宮内膜症病変の確認されない30症例での陽性率は23/30(76.7%)であった。抗クラミジア抗体陽性群では、両側卵管閉塞12/35(34.3%)、片側卵管閉塞12/35(34.8%)、陰性群ではそれぞれ2/30(6.7%)、6/30(20%)であった。また抗クラミジア抗体陽性群では付属器癒着はAFS-classification of adnexal adhesions scoreで平均37.7、陰性群では7.2であった。

〔結論〕不妊症の1要因としてクラミジア感染症を代表とするPelvic Inflammatory Diseaseの既往が大きく関与していると考えられた。また過去または現在のPIDによる卵管閉塞、卵管周囲癒着が不妊の直接的な原因として関与していると考えられた。不妊症特に原因不明、卵管性不妊症が疑われる症例に対しては抗クラミジア抗体の検査を積極的に施行し、子宮卵管造影等だけでは検出できない付属器癒着、卵管疎通性の詳細な検討を腹腔鏡をもって行い、個々の症例に応じた適切な治療が望まれる。

## VI-19

## Chlamydia trachomatis 検査陽性例の卵管機能

国立横浜東病院 産婦人科

○田中宏一, 高野 昇, 上杉健哲, 伝田和美, 漢那磨理意, 田嶋達矢

Chlamydia trachomatis (以下CT)が婦人科感染症として注目され始めたのは10年程前であるが、わが国でもSTDとして問題視され、不妊への影響について種々検討されてきた。今回我々はCT検査陽性例のHSG、卵管通気試験、腹腔鏡検査などからCT感染による卵管機能への影響について検討してみたので報告する。

【対象ならびに方法】CT検索、HSG、卵管通気試験、必要に応じ腹腔鏡検査を施行、諸検査後1年以上経過観察し得た59例の不妊症例を対象とした。CT検索については、直接塗抹法(Micro Trak法)、EIA法(Chlamydiazyme)いずれか(+)を陽性とし、血清学的には、IgG 64倍以上、IgA 16倍以上を陽性として検討した。

【結果】CT検査陽性は59例中14例23.7%、この中塗抹、EIA法陽性例は1例のみであった。CT陽性14例中7例50%にHSGに異常像、11例78.6%に卵管通気曲線の異常が観察されたが、陰性45例のHSG像の異常は9例20%、通気曲線異常例は14例31.1%であった。14例のCT検査陽性の中5例35.7%に妊娠の成立をみたが、この中2例は卵管形成術後の妊娠例である。陰性例の妊娠例は45例中10例22.2%であった。

【結語】1)無症状CT感染例にも卵管機能への影響が示唆された。2)CT検査陽性例に特有と云えるHSG像、卵管通気曲線は得られなかったが、HSG像の解説結果、またCT検査陽性、卵管閉塞、卵管周囲強度癒着例の卵管形成術後の妊娠例、あるいは軽度卵管周囲癒着例のHSG後の妊娠例のみられることなどからCT感染による病態は頸管炎から卵管周囲、骨盤腹膜に先ず波及、癒着を発生させ、卵管それ自体への影響、機能障害の発生は、これらの癒着の発生に遅れて生ずるものとの印象を得た。

## VI-20

## 腹腔鏡により診断された Fitz-Hugh-Curtis 症候群と血清中の抗クラミジア抗体価に関する検討

九州大学医学部婦人科学産科学教室

○永田 治、佐野 正敏、渡辺 綱伸、松口 博之、土岐 一宏、野崎 雅裕、中村 元一、中野 仁雄

(目的) Fitz-Hugh-Curtis 症候群(FHCS)は右恠肋部痛を主訴として若年女性に発症する繊維性の肝周囲炎であり、クラミジア感染症と密接な関係にあると考えられている。そこでわれわれは腹腔鏡検査時に骨盤腔と同時に肝表面を観察し FHCSとクラミジア抗体価との相関を検討した。

(方法)平成1年4月より平成2年12月まで、当科で腹腔鏡検査を施行し FHCSの有無を確認し、検査前に血中クラミジア抗体価を測定できた72例を対象とした。クラミジア抗体価は間接蛍光抗体法にてIgG、IgMおよびIgA抗体を測定し、それぞれ抗体価が10倍以上を陽性とした。また、腹腔鏡検査におけるFHCSの有無はビデオに録画し複数の検者にて診断した。(結果および考察)

Fitz-Hugh-Curtis 症候群は5症例に認められた。観察頻度は全症例(72例)中5例(7%)、クラミジア抗体陽性例(37例)中の12%であった。非FHCS群とFHCS群を比較すると、平均年齢は、非FHCS群は29.8歳でありFHCS群は26.8歳であった(有意差なし)。クラミジア抗体の保有率は、非FHCS群の55.2%に対しFHCS群は100%が保有していた。また、IgG抗体陽性者のうちIgMおよびIgA抗体の保有率は非FHCS群でそれぞれ32%、および42%であったのに対し、FHCS群ではIgM、A抗体とも100%保有していた。FHCS群のすべての症例において抗クラミジアIgG、IgMおよびIgA抗体が陽性であり、かつ、骨盤腔内に、肝表面と同様の膜様および繊維様の癒着が認められた。以上のことから、Fitz-Hugh-Curtis 症候群の原因として上向性のクラミジア感染症が考えられた。しかし、5例のFHCS群のうち右恠肋部痛の既往者は40%と少なく、腹腔鏡検査時には、かならず肝表面の観察をすることが重要であると考えられた。

## VI-21

男性不妊症の精巣生検組織における造精機能に関する組織化学的検討  
(c-myc産物の発現について)

長崎大学泌尿器科 ○江口二郎, 与儀安男, 西村直樹, 野俣浩一郎,  
湯下芳明, 金武 洋, 斉藤 泰  
桜町病院泌尿器科 広瀬 建

【目的】男性不妊症患者の精巣生検材料で精細管上皮細胞を抗c-mycモノクローナル抗体を用いて免疫組織学的に測定し造精機能障害との関連性を追求するとともに血中ホルモン値との関係を比較検討した。  
【方法および対象】対象は1988年4月より1991年5月末までの間に当院泌尿器科を受診した男性不妊症患者46例であり生検は通常左右を比較して容積の大きい方に行った。精巣標本の組織学的分類はJohnsenの分類に準じた。染色は、脱バラ後サポニン処理をし、抗c-mycモノクローナル抗体にて免疫組織化学的に検討し、核染はメチルグリーンで行った。【結果】精細管上皮細胞のc-myc陽性を示すものは主にspermatidで、基底細胞は陰性であり一般に、Johnsen Scoreの高いものが強く染色された。染色は核を主体とし、一部細胞質も染色された。血清ホルモン値との検討では、FSH正常例でc-myc陽性率が高い傾向が認められた。考案) c-myc癌遺伝子産物は核蛋白質でありこれは細胞増殖及び分化に関与していることが知られている。本法によるc-myc陽性細胞の検出は精子形成能とは直接関係はないものの、主に精子の成熟を反映している可能性が示唆されるとともに、核のみでなく一部細胞質が染色されたことより、c-myc蛋白がホルマリン固定により細胞質へredistributionすると思われた。

## VI-22

## 男子不妊症患者の精巣生検組織のフローサイトメトリーによる解析

東京大学泌尿器科:○国武 剛、西古 靖、篠原 充、  
籾和田 滋、阿曾 佳郎

目的: 男子不妊症患者の精巣生検材料を用いて、精巣組織のフローサイトメトリーによる解析結果を従来の臨床・病理学的マーカーと比較検討した。

対象および方法: 症例は無精子症13例、高度乏精子症7例である。標本は固定前の精巣生検標本の一部を薄切して使用した。フローサイトメトリーはCoulter社のEpics-Csを使用し、DNAヒストグラム解析はCoulter社のソフトウェアのPARA-1にて行った。精巣組織のDNAヒストグラム解析の正常値としてHellstromらが報告した値を用いて、今回の症例を以下のような3群に分類した。I群(Normal)=正常値 $\pm$ 2SD、II群(Moderately Abnormal)=正常値 $\pm$ 2~4SD、III群(Markedly Abnormal)=正常値 $\pm$ 4SD以上。

結果: I群は3例、II群は7例、III群は10例であった。このうちI群は全例が高度乏精子症で、III群は全例が無精子症であった。またIII群のうち7例は2C-peaksが80%以上であり、Sertoli cell onlyの3例はこの中に含まれていた。各群の精巣容積、Johnsen score、血清ホルモン値を比較してみたところ、精巣容積はI・II群に比べてIII群が少なく( $p<0.05$ )、Johnsen scoreはI、II、III群の順に低値を示し( $p<0.05$ )、血清FSH値はI、II、III群の順に高値を示した( $p<0.05$ )が、他には有意な差はみられなかった。以上より精巣生検組織のフローサイトメトリーによる解析は従来の臨床・病理学的マーカーと同等に造精機能障害を検出することができ、有用な方法であると考えられた。

## VI-23

## 精子形成の初期発生におけるペントースサイクルの関与(1報)

○平野治伸, 天野久夫(東邦大医生化)

堀 正行, 柳堀 厚, 町澤一郎, 跡部一朗, 伊藤元博(東邦大産婦)

【目的】ペントースサイクルと精細胞の初期発生との関連を検討した。【方法】Wistar系ラットの6, 14, 45日齢の精細管を実験に供した。精細管分離はコラゲナーゼを用いた two step incubation system によった。ペントースサイクル活性は、この系の鍵酵素である glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) を指標として 2', 5' ADP-Sephrose 4 B を用いた affinity chromatography により測定した。【結果】①各日齢のラット全精巣の G6P-DH 活性: 6, 14日齢ラットの G6P-DH 活性は、各々  $333.1 \pm 16.9 \text{ mU/ml/g}$ ,  $294.3 \pm 15.0 \text{ mU/ml/g}$  と両者間に有意差は認めないが、45日齢ラットの G6P-DH 活性 ( $178.0 \pm 8.7 \text{ mU/ml/g}$ ) は前二者より有意に減弱した ( $P < 0.01$ )。②各日齢のラット精細管の G6P-DH 活性: 6, 14日齢ラット精細管の G6P-DH 活性は、各々  $87.0 \pm 12.0 \text{ mU/ml/g}$ ,  $101.3 \pm 19.0 \text{ mU/ml/g}$  と両者間に有意差は認めないが、45日齢精細管の G6P-DH 活性 ( $56.1 \pm 6.02 \text{ mU/ml/g}$ ) は前二者より有意に減弱し ( $P < 0.1$ )、全精巣の G6P-DH 活性の変化と同じパターンを示した。【結論】6, 14日齢精細管内のペントースサイクル活性は、45日齢精細管のそれより有意に高く、全精巣における本経路活性の推移と同じパターンを示した。各日齢の精細管組織所見では、6日齢で精原細胞が出現し、14日齢では leptotene 精母細胞の増加がみられ、45日齢では管腔内に精子の存在が認められた。精原細胞, leptotene 精母細胞はいづれも DNA 合成の盛んな細胞であり、従って 6, 14日齢での精細管内ペントースサイクルの高活性は、両細胞に核酸合成のためのリボースを供給し、細胞増殖を促すためと考えられる。45日齢精細管内ペントースサイクル活性は、6, 14日齢のそれと比べ有意に減弱しており、精子形成完了時点では本経路の関与は少ないと考えられるが、次の精細胞の分化を維持してゆくのに必要な活性なのかも知れない。

## VI-24

## 精子形成の初期発生におけるペントースサイクルの関与(2報)

○堀 正行, 柳堀 厚, 町澤一郎, 跡部一朗, 伊藤元博(東邦大産婦)

平野治伸, 天野久夫(東邦大医生化)

【目的】ペントースサイクルと精細胞の初期発生との関連を検討した。【方法】Wistar系ラットの6, 45日齢の精細管を実験に供した。FSHはセローノ社製(10mg中にFSH 75国際単位, LH4国際単位以下)を用いた。精細管は出生1日齢から5日齢までの5日間、毎日FSH  $150 \text{ mIU}/20 \mu\text{l}$  を、また40日齢から44日齢までの5日間、毎日FSH  $2.5 \text{ IU}/20 \mu\text{l}$  を皮下注射した2群のラットの24時間後(各6日齢, 45日齢)に塩酸ケタミン麻酔下で摘出した精巣よりカプセルを除去し分離した。精細管分離はコラゲナーゼを用いた two step incubation system によった。ペントースサイクル活性は、この系の鍵酵素である glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) を指標として 2', 5' ADP-Sephrose 4 B を用いた affinity chromatography により測定した。【結果】①対照群の6, 45日齢精細管の G6P-DH 活性は各々  $87.0 \pm 12.0 \text{ mU/ml/g}$ ,  $56.1 \pm 6.02 \text{ mU/ml/g}$  と前者の活性が有意に高かった ( $P < 0.1$ )。②FSH投与による6, 45日齢精細管の G6P-DH 活性は、各々  $123.4 \pm 5.9 \text{ mU/ml/g}$ ,  $85.4 \pm 9.9 \text{ mU/ml/g}$  と6日齢の活性が有意に高かった ( $P < 0.05$ )。③対照群とFSH投与群の各日齢ごとの G6P-DH 活性を比較すると、6, 45日齢の両群でいづれもFSH投与群の G6P-DH 活性が有意に高かった。【結論】6日齢精細管のペントースサイクルの有意な高活性は、本経路の精細胞の初期発生への関与を示唆した。また6日齢精細管内にみられる精原細胞および Sertoli 細胞はFSHレセプターを有し、FSHの標的細胞といわれており、FSHによる6日齢 G6P-DH 活性が45日齢のそれより有意に活性化されたこと、さらに対照群より有意に上昇した事実は、ペントースサイクルが精原細胞の精母細胞への分化、増殖に、また Sertoli 細胞自身の増殖およびその機能発現に関与している可能性が強い。45日齢精細管ペントースサイクル活性は6日齢と比べ有意に低いとはいえ、FSHにより活性化されている。これは本活性が次周期の精細胞の分化を維持してゆくのに必要な活性であることを示している。

## VI-25

精索静脈瘤手術前後におけるLHRHテストのころみ  
—造精機能改善の予測指標となるか—

慶応義塾大学医学部泌尿器科学教室<sup>1</sup>，国立埼玉病院泌尿器科<sup>2</sup>  
東京歯科大学市川総合病院泌尿器科<sup>3</sup>

○大橋正和<sup>1</sup>，石川博義，橘 政昭，田崎 寛，織田孝英<sup>2</sup>，石川博通<sup>3</sup>

〔目的〕精索静脈瘤を惹起させる内精静脈を高位で結紮すると，高率に術後の造精機能が改善することはよく知られている。しかし，高位結紮術施行後も造精機能の改善を見ない例がいることも事実である。今回我々は，精索静脈瘤手術前後にLHRHテストを施行し，その結果が造精機能改善の予測指標となるかを検討したので報告する。

〔対象および方法〕対象は1989年12月より1年6ヵ月間に，当院不妊外来にて精索静脈瘤による乏精子症と診断され，高位結紮術を施行しその前後でLHRHテストが施行された30例（21～43歳，平均35歳）である。精液検査は精液自動分析装置セルソフト3000を使用した。ホルモン検査としてLH，FSH，Tを測定した。LHRHテストは，LHRH100 $\mu$ gを静注し，前値，30分値，60分値のLH，FSH値を追跡した。そして精液検査，ホルモン値，LHRHテストを術前と術後3ヵ月に施行し比較した。

〔結果〕精液検査が精索静脈瘤手術後に改善した17例（改善群）と，改善しなかった13例（非改善群）に分けてみると，改善群，非改善群ともに手術前後でLH，FSH，T値には有意な変化は認められなかった。またLHRH負荷後のFSHピークは改善群，非改善群ともに手術前後で変化は認められなかったのに対して，改善群のLHピークは術後非改善群に比して有意に低下していた。

〔結論〕改善群において術後LH分泌過剰が沈静化したことは，術前後でT値に変化はなかったが，造精機能障害が取り除かれることによってなんらかのLH分泌のネガティブフィードバックが増強しはじめたことが推測され，LHRH負荷テストは精索静脈瘤手術の効果を予測しうる指標になり得ると考えられた。

## VI-26

## 実験的精索静脈瘤のLeydig細胞機能に及ぼす影響

藤田保健衛生大学泌尿器科学教室

○泉谷正伸，白木良一，篠田正幸，  
田所 茂，星長清隆，名出頼男  
西山直樹

名古屋記念病院泌尿器科

【目的】男性不妊症の原因の一つである精索静脈瘤について，その造精機能障害の機序は未だ解明されていない点が多い。我々は，ratの実験的精索静脈瘤モデルを作製し，Leydig細胞機能をin vitro assayにより検討し，更に組織学的検討も加えたので報告する。【方法】生後8週齢のWister系雄ratを用いて左腎静脈の部分結紮と内精静脈・左総腸骨静脈交通枝を切断し，精索静脈瘤を作製した。術後4週目と12週目に再開腹し，左内精静脈径が右内精静脈径の3倍以上に拡張したモデルについて次の実験を行った。両側精巣を摘出後，collagenase処理し，Percollによる連続的密度勾配分離法を用いて分離した。得られた細胞は $\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenaseの染色により細胞質内に濃青色顆粒を含んだLeydig細胞と同定された。Bovine Serum Albumineを含んだEarle's Balanced Salt SolutionのLeydig細胞浮遊液を2時間のPreincubationにより安定化し， $1 \times 10^5$  cells/mlに調整後，HCG 100 mIU添加群及び非添加群の2群を更に1時間 incubationした後に，培養液中のtestosteroneを測定した。また，摘出した精巣をBouin液に固定し，Hematoxylin-Eosin染色にて組織学的検討を行った。【結果】HCG負荷テストではtestosterone分泌増加率が4週目の左側精巣でvaricocele群 $344 \pm 225\%$ ，control群 $732 \pm 117\%$ と $P < 0.01$ で有意差を認め，右側でもvaricocele群 $377 \pm 221\%$ ，control群 $698 \pm 81\%$ と $P < 0.05$ で有意差を認めた。12週目では左側でvaricocele群 $132 \pm 91\%$ ，control群 $797 \pm 199\%$ ，右側でvaricocele群 $107 \pm 133\%$ ，control群 $706 \pm 125\%$ といずれも $P < 0.01$ で有意差を認めた。また，左右精巣とも4週目と12週目の間に $P < 0.01$ で有意差を認めた。以上よりvaricoceleのLeydig細胞機能への障害が片側病巣であっても両側に及ぶ事，そして障害の程度が経時的に進む事を示唆した。組織学的検討については，Johnsen's Score count法やLeydig細胞を定量化して形態学的検討を加えた。

## VI-27

男子不妊症における精巣所見の検討  
—特に血管壁の変化を中心として—札幌医科大学泌尿器科 ○赤樫圭吾、伊藤直樹、南部明民  
立木 仁、丸田 浩、熊本悦明

【目的】男子不妊症症例の精巣組織評価は主として精細管を中心として行われてきた。しかし、精細管さらには間質のLeydig細胞への栄養供給源となる精巣内動脈の変化に関する報告は少ない。そこで今回、男子不妊症の精巣における小動脈の変化とspermatogenesisの程度、内分泌環境、治療効果との関係について検討した。

【対象・方法】対象は1982年より1991年までの10年間に当科で精巣生検を施行した男子不妊症70例である。血管壁肥厚の評価は小動脈の内腔に対する壁厚の比を用いた。Spermatogenesisの評価は質的には市川—熊本の分類を、量的には精細胞数をSertoli細胞数で除したgerminal cell index (GCI)を用いた。

【結果】Spermatogenesisの障害の程度と動脈壁の変化とを比較するとmild, moderate, severe hypospermatogenesis, Sertoli only tubulesの順にcontrolと比較して動脈壁の肥厚が強くなる傾向が認められた。またGCIと動脈壁肥厚の程度の間にも相関係数  $r=-0.461$  ( $p<0.01$ )と有意の負の相関性が認められた。しかし動脈壁肥厚と精細管壁肥厚の間には一定の関係は認められなかった。動脈壁肥厚の程度と内分泌環境との関係ではLH, FSHとの間で、それぞれ $r=-0.248$ ,  $r=-0.348$ と有意の( $p<0.01$ )負の相関が認められたが、testosteroneとの間には前値、hCG10000単位投与72時間値いずれも動脈壁肥厚の程度と相関性は認められなかった。moderate, mild hypospermatogenesis症例において治療効果との関係を検討すると、治療効果を認めた群では認められなかった群に比して動脈壁肥厚の程度が有意に高かった。薬剤による差は認められなかった。

## VI-28

副睾丸形態異常、特に接合異常による  
睾丸発育への影響獨協医科大学越谷病院小児外科  
○小笠原忠彦、長島金二、土屋博之、大橋 忍

<目的>これまで停留睾丸に合併する副睾丸形態異常に着目し、接合異常(Disconnection)を含む新たな副睾丸形態異常分類を行い検討して来た。今回は特に、接合異常による睾丸発育への影響を見るために幼若ラットで作成した接合モデルの睾丸、及び先天性副睾丸形態異常を伴うACI幼若ラットの睾丸における発育状態を検討したので報告する。

<方法および結果> (1)幼若ラットにおける睾丸・副睾丸接合部を日本光電社のマイクロスコープを使用し、2.5倍並びに50倍で観察した。接合部は、睾丸動・静脈の流入する頭側部の一カ所で、極めて薄い皮膜を伴い接合していた。(2)以上の解剖学的構造をふまえ、4週齢の幼若ウイスターラットの両側睾丸・副睾丸接合部を、血管損傷を起こさないように顕微鏡下に完全に切離し、その後の睾丸発育について、週齢毎に睾丸容積について検討した。接合部を切離した幼若ラット睾丸は、7週齢から8週齢目までは、正常コントロール群と同様に比較的順調に発育するが、8週を過ぎると著明に萎縮する事が判明した。(3)これらの接合部切離睾丸の各週齢別の睾丸組織について、電子顕微鏡的に検討を加えた。正常の睾丸組織と比較して、6週目より変化を生じ、さらに週齢が進むにつれ、精細管の基底膜の肥厚が著明となり、精祖細胞の減少、セルトリ細胞の平底化及び減少、間質での硝子変性、精細管の空胞化が目立つようになった。(4)先天性副睾丸形態異常を伴うACIラットを用いて、副睾丸欠損が、欠損側睾丸並びに対側の正常睾丸へ及ぼす影響について、4週齢より検討を加えた。ACIラットにおいても、接合部切離睾丸モデルと同様に、週齢が進むにつれて副睾丸欠損側の睾丸が、対側の正常睾丸に比べ萎縮し、電子顕微鏡的にも同様な所見がえられた。

## VI-29

アデニン投与による腎不全モデルラットの下垂体-精巣系機能異常

山形大学医学部泌尿器科

○安達裕一・石郷岡 学・入澤千晶・笹川五十次・渡邊博幸・中田英浩

慢性腎不全患者では性欲の減退、妊孕性の低下等を伴う種々の性殖機能異常がしばしば認められる。我々はアデニン投与腎不全モデルラットを用い、慢性腎不全状態における精巣機能の内分泌学的検索を行なった。体重 300 g 前後のWistar系雄ラットに500 mg/kg/日のアデニンを10日間経口投与し腎不全モデルを作成し、対照群には普通食を与えた。30日間飼育した後、断首採血し、BUN、血清Cr、血清Testosterone(T)、血清黄体ホルモン(LH)、卵包刺激ホルモン(FSH)およびプロラクチン(PRL)を測定した。BUN、Crは対照群に比し、アデニン投与群で有為に上昇をみ、Tは有為に低下していた。LH、FSHは両者に差は無かった。PRLは有為な差は無かったもののアデニン投与群で上昇傾向をみた。次にTの前駆物質である $17\alpha$ -Hydroxyprogesterone( $17\alpha$ -OHP)およびAndrostenedioneを測定した。アデニン投与群のAndrostenedioneは対照群に比し高値であり、 $17\alpha$ -OHPも有為な差は無いがアデニン投与群で上昇傾向を認めた。慢性腎不全状態における下垂体-精巣系機能異常に関し、これまでいくつかの報告がされている。その幾つかはLH-RHに対する下垂体の反応の低下に伴い精巣機能の低下を来す事を示唆している。しかしそれらの報告でも血清LHは腎不全において低下、不変、上昇と結果は様々であった。我々の実験では対照群との間に差を認めなかった。当実験に於いてアデニン投与群でTが低下しているのに対して、その前駆物質が上昇している結果を得た。この事はAndrostenedioneをTへと合成する酵素である $17\beta$ -Hydroxysteroid oxidoreductaseの障害が腎不全状態により惹起される事が示唆されるが、投与されたアデニンの作用による可能性も否定できない。今後さらなる研究が必要である。

## VI-30

Rat培養Sertoli細胞における  
insulin-like growth factor-I (IGF-I)の分泌調節

札幌医科大学泌尿器科

○立木 仁, 三熊直人, 伊藤直樹, 南部明民, 新田俊一, 赤樫圭吾,  
丸田 浩, 熊本悦明

【目的】 insulin-like growth factor-I (IGF-I)は分子量約8,000のpeptideであり、多くの臓器においてparacrine factorとしての役割を担っていることが知られている。ratの精巣においてはSertoli細胞がIGF-Iを分泌しており、spermatogenesisおよびLeydig細胞機能を調節するparacrine factorである可能性が示唆されている。Sertoli細胞機能のhormonal controlは主にFSHおよびtestosteroneにより行われているが、Sertoli細胞のIGF-I分泌に対するhormonal controlに関する報告は少ない。そこで我々はrat培養Sertoli細胞を用いてその点につき検討した。【方法】21日齢S.D.ratの精巣をtrypsinとcollagenaseにて処理し、得られたSertoli細胞を無血清培養液にて5日間培養し、培養液中のIGF-I濃度をRIA法にて測定した。また、FSHおよびtestosteroneを種々の濃度で培養液に添加し、Sertoli細胞からのIGF-Iの分泌反応につき検討した。なお培養条件が適切であることを確認する目的で、従来よりSertoli細胞機能のmarkerとして知られているrat transferrinについてもRIA法にて測定した。【結果】培養液に1ng/ml~1000ng/mlのFSHを添加した結果、50ng/ml以上でcontrolに比し有意にIGF-I分泌の増加が認められ、FSH50ng/ml添加での培養細胞数当りのIGF-I濃度はcontrolの1.67倍であった。また、 $10^{-13}$ M~ $10^{-9}$ Mのtestosteroneを添加した結果、 $10^{-9}$ M以上でcontrolに比し有意にIGF-I分泌の増加が認められ、testosterone  $10^{-9}$ M添加での培養細胞数当りのIGF-I濃度はcontrolの2.03倍であった。なおtransferrinについてもhormone投与により分泌増加が認められた。【結論】rat Sertoli細胞ではFSHおよびtestosterone投与によりIGF-I分泌が刺激されることが示された。

## VI-31

## 精巣内温度のライディッヒ細胞およびセルトリ細胞機能におよぼす影響

鳥取大学医学部泌尿器科

○ソフィキティス ニコラオス, 宮川 征男

精巣内温度のライディッヒ細胞機能におよぼす影響を、3週齢雄ラットを用いて検討した。精巣を摘出した後、hCGを含む、もしくは含まないBWW溶液を用い、5%CO<sub>2</sub>存在下にて4時間、32℃または36℃でincubationした。32℃incubation後の溶液中テストステロン値は、36℃のものよりも有意に高かった。次に、精巣内温度のセルトリ細胞機能におよぼす影響を、20日齢雄ラットを用いて検討した。精巣を摘出した後、hMGを含む溶液を用い、5%CO<sub>2</sub>存在下にて24時間、32℃または36℃でincubationした。32℃でincubationした後の溶液中トランスフェリン値は、36℃のものよりも有意に高かった。テストステロンの産生とトランスフェリンの分泌は、各々ライディッヒ細胞とセルトリ細胞の機能の特異的な指標であると考えられていることより、精巣内温度の上昇は、ライディッヒ細胞とセルトリ細胞機能に障害を及ぼす可能性が示唆された。

## VI-32

## 無精子症にて発見された21-hydroxylase欠損による先天性副腎皮質過形成症の妊娠例

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室, 同産婦人科学教室\*

○矢島通孝, 河野正二郎, 馬場克幸, 原口千春, 岩本晃明, 長田尚夫, 近藤俊彦\*, 石塚文平\*, 浜田 宏\*

男子不妊症外来で無精子症の精査にて21-hydroxylase欠損による先天性副腎皮質過形成症(CAH)と判明し、グルココルチコイド療法により精子の出現をみ、妊娠・出産に成功した極めて稀な症例を経験したので報告する。症例は32歳, 男性。2年間の原発性不妊にて当院産婦人科で妻の精査中に無精子症を指摘され, 1989年9月8日当科へ紹介された。既往歴, 家族歴に特記すべきことなし。身長160cm, 体重60kg, 指極長161cm, 血圧108/70mmHg。体型は正常。陰茎, 恥毛に異常なし。精巣容量は右6ml, 左6mlと小さく, 両精巣内に結節状硬結を触れた。核型は46, XY。血中testosterone (T) 5.2ng/ml, E<sub>2</sub> 102pg/ml↑, LH<1.0mIU/ml↓, FSH<0.5mIU/ml↓, PRL 15.3ng/ml, LH-RHテスト, HCGテストともに低反応であった。このため内分泌学的精査を進め, 血中ACTH 96pg/ml↑, pregnenolone 2.54ng/ml↑, progesterone<0.2ng/ml, 17α-hydroxypregnenolone 9.24ng/ml↑, 17α-hydroxyprogesterone 183ng/ml↑, dehydroepiandrosterone (DHEA) 6.12ng/ml, dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S) 1755ng/ml↑, androstenedione 5.13ng/ml↑, 尿中17-OHCS 3.9mg/day, 17-KS 65.8mg/day↑, pregnanediol 1.5mg/day↑, pregnanetriol 35.9mg/day↑の所見をえ, dexamethasone抑制試験にて血中T, ACTH, DHEA, DHEA-S, androstenedione, 尿中17-KS, pregnanediol, pregnanetriolの抑制を認めた。以上より, 21-hydroxylase欠損によるCAHと診断し, 1990年2月よりdexamethasone補充療法を開始した。治療開始後1ヶ月目には内分泌環境は正常となり, 5ヶ月目には精液中に精子が出現した。1990年10月妊娠を確認(この時精子濃度 $4 \times 10^5$ /ml, 運動率77%), 1991年5月21日正常女児の出産に至った。

## VI-33

体外受精-胚移植における非刺激周期高温相での estradiol-progesterone 比測定、子宮内膜組織診と刺激周期に於ける卵巣反応性の関連

荻窪病院 産婦人科

○宮崎豊彦, 片山恵利子, 久慈直昭, 杉山武, 菅原正人, 境田通泰, 飯田悦郎

〔目的〕体外受精-胚移植 (IVF-E T) における卵巣刺激法は hMG 単独あるいは、これに GnRH analogue を併用する方法がとられることが多い。しかしながら、刺激周期にどの刺激法を選択すべきか、また、その方法による卵胞の反応の程度を刺激前より予測することは難しい。今回、刺激前に卵巣反応性を予測し得る因子を検索することを目的とし、IVF 施行予定の症例の基礎体温高温相に於ける各種検査値とその後の IVF 周期での各種パラメーターとの比較を行った。〔方法〕IVF-E T を目的とした 60 例に、IVF 施行前の非刺激周期高温相 3 日目以降において内膜組織診、経膈超音波断層法による子宮内膜厚測定 (TV)、および、血中 estradiol (E)、progesterone (P) 測定を行った。IVF 周期のパラメーターとしては、hCG 投与日の E、採卵数、および、妊娠の有無を用いた。

〔結果〕非刺激周期の E、P と、hCG 投与当日の E、採卵数の上に相関は認められなかったが、非刺激周期の E/P 値は、IVF 周期の刺激方法の如何にかかわらず hCG 投与当日の E、採卵数との間に有意の ( $P < 0.05$ ) 相関を認めた。TV は、IVF 周期の各パラメーターと相関を認めなかった。

IVF 周期に hMG (150 または 225 単位) 単独で卵胞刺激を行った 40 例のうち内膜組織診で mid または late-secretory phase を示し、さらに、E T まで行なわれた症例 23 例の、妊娠成立群 (5 例) と非成立群 (18 例) の E/P 値を比較すると、成立群において有意に高値を示した ( $P < 0.025$ )。

〔結論〕IVF 施行症例において、非刺激周期高温相での血中 estradiol-progesterone 比が IVF 卵胞刺激周期での卵巣反応性の指標となることが示唆され、さらに、内膜組織診と組み合わせることにより、その予後の判定、あるいは、卵胞刺激法の選択に役立つと考えられた。

## VI-34

灌流卵巣におけるステロイド放出の短期的変動

慶應義塾大学医学部産婦人科 ○南郷周児, 鈴木秋悦, 野澤志朗

社会保険埼玉中央病院産婦人科 北井啓勝, 金子宜淳

〔目的〕卵巣のステロイド産生は、刻々変動するゴナドトロピンにより調節されており、放出されたステロイドの血液中濃度の測定は診断および治療に応用されている。しかし、この濃度は各時点における卵巣での放出量の合計と、代謝および排泄量の合計との差を示すものであり、卵巣での放出量を直接示すものではない。本研究では、hCG、FSH 単独および FSH と LH の各刺激に対する卵巣ステロイド放出の短期間の経時的変化に検討を加えた。

〔方法〕成熟雌ウサギより摘出した卵巣を灌流して、放出される性ステロイドホルモンを連続的に測定した。灌流液は循環させずに、新しい灌流液を 100% 酸素により酸素化して温めた後に毎分 1.5 ml で卵巣動脈より灌流した。卵巣を灌流した液は開放端とした卵巣静脈より流出し、これを 37°C に加温した卵巣容器中で 10 分間隔で採取した。灌流液としては Hanks 塩溶液を含む Medium 199 に、0.1% アルブミン、インシュリン、ヘパリンおよび抗生物質を混合して用いた。

〔結果と考察〕hCG 50 単位を 10 ml の灌流液に入れて加えると、71 ng/ml の濃度のプロゲステロンの一過性の放出がみられたが、エストラジオール放出は最高 46 pg/ml と少量であった。同じ量の hCG を 100 ml の灌流液に入れて持続的に流すと、プロゲステロンは最高 56 ng/ml と少ないが、エストラジオールが 150 pg/ml に増加した。FSH 5 単位を 10 ml の灌流液に入れて加えると、投与後 30 から 120 分に 42 から 117 pg/ml のピークを持つエストラジオールの上昇がみられ、同一動物の左右の卵巣では高いピークほど投与後短時間で発生した。FSH 5 単位と FSH および LH を各 5 単位を加えた卵巣には差は見られなかった。卵巣のステロイド放出は一時的なゴナドトロピン刺激に対して一過性に出現し、放出量の多い場合ほど早くピークがみられ、この反応時間の差がゴナドトロピンの変動を調節している可能性がある。

## VI-35

ヒト卵巣における aromatase (P-450 arom) および  $17\alpha$ -hydroxylase/ $C_{17-20}$  lyase (P-450 $_{17\alpha}$ ) の発現について

京都府立医科大学産婦人科学教室

○田村尚也, 北脇 城, 山本 宝, 岡田弘二

【目的】不妊症原因である排卵障害の病態, および合併する性ステロイド代謝異常のメカニズムを解明する上で, 卵巣局所のステロイド代謝酵素の発現機序を知ることは重要な意義を持つ。しかし, 現在までヒト卵巣の性ステロイド代謝酵素の発現を直接観察した研究は非常に少ない。そこで我々は正常卵巣においてエストロゲン合成酵素 (P-450 arom) とアンドロゲン合成酵素 (P-450 $_{17\alpha}$ ) の発現について, それぞれの特異抗体を用いて免疫組織学的に検討したので報告する。【方法】手術時に正常月経周期を有する子宮頸癌患者より同時摘出された卵巣の一部を, あらかじめ患者の同意を得た上で免疫組織染色に用いた。摘出組織はホルマリン固定後ゼラチン包埋し, microtome にて薄切した。浮遊切片法にて, 抗 P-450 arom ポリクローナル抗体または抗 P-450 $_{17\alpha}$  ポリクローナル抗体に反応させ, ABC法にて DAB を基質として発色, ヘマトキシリンにて対比染色を施行の後これを光学顕微鏡にて観察した。

【結果】卵胞期では直径 8mm 以上の卵胞において内卵胞膜細胞層上に P-450 $_{17\alpha}$  が, 直径 11mm 以上の卵胞において顆粒膜細胞層上に P-450 arom が発現していた。また 1 次卵胞以上の卵細胞上に P-450 $_{17\alpha}$ , P-450 arom の両酵素が発現しているのが観察された。両酵素は排卵後の黄体上にも認められたが月経とともにその染色性は減弱し, 白体化する頃には消失した。また月経後の卵胞期に観察される閉鎖卵胞においては内卵胞膜細胞層上に P-450 $_{17\alpha}$  のみが確認され, 卵胞構造が失われ間質に散在するようになっても一部の細胞は卵巣の間質腺として P-450 $_{17\alpha}$  を発現していた。【まとめ】免疫組織学的にヒト卵巣の内卵胞膜細胞上にまず P-450 $_{17\alpha}$  が発現され次いで, 顆粒膜細胞上に P-450 arom が発現されることが明らかとなった。また卵巣間質には閉鎖卵胞の内卵胞膜細胞由来の間質腺細胞が存在し P-450 $_{17\alpha}$  を発現しており, アンドロゲン産生の場合である可能性が示唆された。(抗 P-450 $_{17\alpha}$  抗体は小南思朗博士供与)

## VI-36

cryostat-section 上での androgen aromatase 活性検出の試み

滋賀医科大学、産科学婦人科学教室

○竹中 章、須戸龍男、横江保彦、吉田吉信

(はじめに) aromatase 活性の検出には, microsome 分画を用い isotope で標識した androgen を基質として, 産生した estrogen を定量するか, 遊離した  $^3\text{H}_2\text{O}$  を count することにより行なわれる。しかしこれらの方法は幾分煩雑で radioactive な物質の取扱いを要する。今回 cryostat 切片上で aromatase の反応を起こし, 産生した E2 を HPLC により定量する簡便な方法を試み, 報告する。(材料および方法) PMS-hCG により過排卵処理した幼弱 rat の卵巣, ヒト黄体および胎盤を用いた。材料は液体窒素で凍結後, 10-15  $\mu$  の cryostat 切片を作成した。切片は, 20-100  $\mu\text{M}$  testosterone (T), 2.5mM glucose-6-phosphate, 0.25 unit glucose-6-phosphate dehydrogenase および 0.1mM NADPH を含む 50mM phosphate buffer (PH 7.4) 中に 30-120 分酵素反応を行い, 反応液より産生 E2 を dichloromethane で抽出, 蒸発乾固後 200  $\mu\text{l}$  の acetonitrile に溶解, HPLC に注入した。HPLC の移動相は 50% acetonitrile (50 mM 過塩素酸-Na 加), 流量は 1 ml/min. とした。検出には, 医理科社製の電気化学検出器 (ECD) および spectrophotometer (SPD) を用いた。反応後の切片は強アルカリ中で溶解し, Lowry 法により蛋白定量した。

(成績および考察) E2 の検出は ECD で約 0.5 nM/ml より, SPD では約 5 nM/ml より可能であり, aromatase 活性の検出に充分な感度を有していた。この系では T と E2 は完全に分離する事が SPD により確認されたので, 感度と選択性に優れた ECD を用い定量した。生成 E2 量は, 基質濃度と明らかな容量依存性が認められ, 90 分までは反応時間と直線に増加した。上記方法は簡便で, steroid 産生卵巣腫瘍などの臨床材料の検討のみならず, 卵巣における aromatase 活性局在の研究にも応用可能であろう。

## VI-37

## 卵巣Sertoli-Leydig Cell Tumorにおける内分泌動態

岡山大学産科婦人科学教室

○片山隆章 河西邦浩 中塚幹也 平野由紀夫 多賀茂樹  
名越一介 野間 純 清水健治 吉田信隆 関場 香

最近経験した卵巣のSertoli-Leydig Cell Tumor (SLCT)につき、術前後における内分泌動態の変化を検討したので報告する。症例は28歳の女性、平成1年6月より無月経となり、また多毛、声の低音化等の男性化徴候に気づき近医を受診、E-P療法により月経を発生させていた。平成2年12月に卵巣腫瘍を指摘され当科を受診、画像診断および内分泌検査より右卵巣腫瘍、SLCTの疑いにて入院の上、平成3年3月13日、右付属器摘出術を行った。術後組織診断にてSLCTを確認した。この症例の、術前のhCG負荷テストによる血中testosterone (T)、estradiol (E2)、progesterone (P)の変化、術前後における血中T、E2、P、LH-RHテスト、LHおよびFSHのpulseの変化をRIAにて測定した。【結果】入院時の血中T値は11.3ng/mlと高値であったが、E2、Pはそれぞれ74pg/ml、0.5ng/mlと低値であった。hCG10000単位を3日間投与したところ、E2はhCGの1回投与のみで3191pg/mlと急上昇し、それ以後はhCG投与中も一旦低下し、約1000pg/mlのlevelを数日間維持した後、手術後は急速に低下した。PもE2とほぼ同様の変動を示した。血中TはhCG投与終了後から上昇し、手術直前には68.9ng/mlに達した後、術後は急速に低下し、手術の翌日には0.7と正常値になった。LH-RHテストの結果を術前、および術後16日目と比較すると、LHの前値、反応値共に術前には正常下限であったが、術後はやや増加し、平均値に近付いた。FSHは術前には前値、反応値共に低値であったが、術後は正常化した。またLHは術前にはpulse状分泌を認めなかったが、術後13日目には3時間に4回のpulse状分泌を認めた。FSHは術前後ともにpulse状分泌は認めなかったが、その値は術後は大きく上昇した。【結論】hCGに対する反応性からみて、この腫瘍にはE2あるいはPを産生するcomponentと、androgenを産生するcomponentがあり、その反応性に差があると推測された。

## VI-38

多嚢胞卵巣症候群の超音波診断に関する研究  
—病理所見、形態変化と内分泌動態との関連性について—

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○江田芳美、高橋健太郎、吉野和男、岡田さおり、北尾学

【目的】多嚢胞卵巣症候群(PCOS)の形態学的診断を超音波学的に行い、病理組織所見と一致するかどうか、また卵巣の多嚢胞性変化と内分泌動態との関連について検討することを目的とした。

【研究対象および方法】当科を不妊および月経異常を主訴として受診し、経腔超音波検査にて両側卵巣にそれぞれ10個以上の多嚢胞を認めた51例のPCOS患者を対象とし、多嚢胞の認められない20例をcontrolとした。研究方法は、①PCOSの19例に対し卵巣楔状切除術を施行し、組織所見を検討した。②PCOSの32例の両側卵巣の嚢胞数と内分泌値との相関関係を検討した。

【結果】①超音波学的に診断したPCOSは組織学的に多数の閉鎖卵胞、白膜肥厚、莢膜細胞の黄体化の所見を有しており、組織学的にもPCOSと診断できた。しかし、白膜肥厚、莢膜細胞の黄体化には症例によって程度の差が認められた。②PCOSではcontrol群に比してLH、LH/FSH比、E<sub>1</sub>/E<sub>2</sub>比、T、ASD、DHEA-Sは有意に高値であった。PCOSにおいてその嚢胞数とASDとの間には有意な正の相関が認められた。また、ASDとLH/FSH比の間にも有意な正の相関関係が認められた。

【結論】①PCOSの形態学的診断に経腔超音波断層法が有用であることが証明された。②PCOSにおいて卵巣の嚢胞数とandrogen、特に卵巣由来であるASDとの間に有意な正の相関関係を認めたことと、ASDとLH/FSH比の間にも有意な正の相関関係を認めたことから、卵巣の嚢胞数が増加するとandrogenが上昇しgonadotrophin分泌にも影響を及ぼしていることが示唆された。

## VI-39

## 一卵性双胎の姉妹にみられたPCOS症例

東京大学医学部産科婦人科学教室

○綾部琢哉、武谷雄二、林 直樹、堤 治、三橋直樹、水野正彦

〔目的〕PCOS (polycystic ovary syndrome)の病態は、視床下部、下垂体、卵巢系の相互の悪循環の形成によるとされているが、その病因に関しては不明な点が多い。今回我々は、一卵性双胎の姉妹にみられたPCOS症例を経験したので報告する。

〔症例〕症例は26歳、二人とも12歳の初経以来月経不順であった。月経不順と無排卵周期での不正性器出血を主訴として、妹が当科外来を受診。月経歴と内分泌検査成績からPCOSと診断されたため、姉も検査したところ、同様の所見が認められたものである。

姉は身長162cm、体重55kg。多毛(-)。LH-RHテストにてLH(IRMA)22.9-111-135 mIU/ml, FSH(IRMA)7.6-10.6-12.4 mIU/ml, TRHテストにてPRL(IRMA)1.3-21.2-25.0 ng/ml, testosterone 1.19 ng/ml, androstenedione 3.57 ng/ml, DHEA-S 2510 ng/ml。妹は身長164cm、体重56kg。多毛(-)。LH-RHテストにてLH(IRMA)30.2-113-182 mIU/ml, FSH(IRMA)7.5-9.0-12.9 mIU/ml, TRHテストにてPRL(IRMA)5.0-49.2-53.9 ng/ml, testosterone 0.72 ng/ml, androstenedione 1.86 ng/ml, DHEA-S 2990 ng/ml。

〔結語〕PCOSは広範なスペクトラムを持つ症候群であり、その病因も単純ではない。今回、一卵性双胎の姉妹にPCOSがみられたことにより、少なくともその病因の一部に、遺伝的なレベルの関与が存在することが示唆されたと考える。

## VI-40

## 高アンドロゲン血症とインスリン値について

山梨医科大学産婦人科学教室

○木下俊彦、笠井 剛、加藤順三

本邦の多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)ではインスリン値が正常であることを既に報告したが、その背景には本邦のPCOSに高アンドロゲン血症を伴うことが少ないためであることが考えられる。そこで、今回PCOSを含む15例の高アンドロゲン血症を抽出し、アンドロゲンと糖代謝およびインスリン値に検討を加え、その相関性を分析した。対象は血中DHEAS  $\geq 2000$ ng/ml、androstenedione ( $\Delta^4$ )  $\geq 2.0$ ng/ml, testosterone (T)  $\geq 70$ ng/dlのいずれかを満たす排卵障害例である。内分泌学的なPCOSは11例に認められた。

方法：血中インスリン値をRIAにて測定し、一部の症例では75g糖負荷試験を施行した。

結果：①高アンドロゲン血症においてはインスリン基礎値は $11.3 \pm 2.5 \mu\text{u/ml}$  (control  $7.1 \pm 0.7$ )と高値を示した。明らかな高インスリン血症 ( $12 \mu\text{u/ml}$ 以上)は3例のみであった。高インスリン血症ではDHEAS,  $\Delta^4$ , Tの平均値は各々 $2866.5 \pm 528.3$ ng/ml,  $2.2 \pm 0.1$ ng/ml,  $101.3 \pm 26.6$ ng/dlであり、特にT値が高値を示した。②75g糖負荷試験では85.7%に糖代謝異常がみられた。③PCOSではDHEAS,  $\Delta^4$ , Tの平均値は各々 $1668.7 \pm 292.8$ ng/ml,  $3.1 \pm 0.6$ ng/ml,  $79.3 \pm 11.2$ ng/dlであり、インスリン基礎値は $7.4 \pm 1.8 \mu\text{u/ml}$ であった。インスリン値はcontrol群と有意差を認めなかった。④PCOSの80%に糖代謝異常がみられた。

結論：高アンドロゲン血症においてはインスリン値は高値をとる傾向にあった。特にT値が高値な例ではインスリン値は高く、Tとインスリン値の相関性が示唆された。PCOSにおいてインスリン基礎値は正常であったが、これはT値が比較的低値であることに基因するものと考えられた。

## VI-41

多嚢胞性卵巣症候群に対するGnRH agonist+pure FSHの律動性投与による治療の試み

大阪医科大学産婦人科学教室

○高原 得栄, 宮崎 和典, 奥田 弘賢, 杉山 修成, 太田 栄,  
鈴木 佳彦, 金子 卓嗣, 山下 英俊, 杉本 修

【目的】多嚢胞性卵巣症候群(以下PCO)に対してGnRH agonistとpure FSHの律動性投与を行い, 排卵誘発効果およびOHSS等, 副作用の発現よりその臨床効果を検討した。

【方法】PCO症例7例11周期にGnRH agonist 900 $\mu$ g/dayを1~2週間以上鼻粘膜に投与し, 下垂体の抑制をうながした後, pure FSH 225IU/dayを90分毎に律動的に皮下投与した。腔式超音波下に卵胞径を測定し, 最大卵胞径が18mmになった時点でhCG 10000IUを筋注し排卵を誘発した。可及的頻回に採血を行いE<sub>2</sub>, P, LH, FSH, testosterone値を測定した。

【結果】GnRH agonist投与前, pure FSH投与開始時, hCG投与時, 黄体中期の各ホルモン値は, LHが19.9 $\pm$ 6.1 mIU/ml(mean $\pm$ SE), 10.0 $\pm$ 3.2, 7.0 $\pm$ 1.9, 4.0 $\pm$ 1.5, FSHが7.4 $\pm$ 0.5 mIU/ml, 7.0 $\pm$ 0.5, 9.4 $\pm$ 1.2, 1.6 $\pm$ 0.6, E<sub>2</sub>は32 $\pm$ 6 pg/ml, 21 $\pm$ 7, 554 $\pm$ 131, 1027 $\pm$ 247, Pは0.3 $\pm$ 0.1 ng/ml, 0.2 $\pm$ 0.03, 0.5 $\pm$ 0.1, 22.6 $\pm$ 4.8, testosteroneは0.46 $\pm$ 0.03ng/ml, 0.49 $\pm$ 0.05, 0.56 $\pm$ 0.08, 0.79 $\pm$ 0.07であった。排卵は7例11周期(100%)において誘発でき, 2例2周期に妊娠が成立し, 1例は双胎であった。6例9周期で少なくとも一側に6cm以上の卵巣腫大を認めたが, 臨床症状はほとんどで軽微で, OHSSの発症はなかった。

【結論】同一症例に施行したGnRH agonist+hMG筋注法では, 2/4周期(50%)にOHSSの発症を認めたが, 今回のGnRH agonist+pure FSH律動的投与法ではOHSSの発症はなく, 本治療法がPCOの排卵誘発として有効な方法の一つとなる可能性が示唆された。

## VI-42

加齢の培養顆粒膜細胞におけるsteroidogenesisに及ぼす影響について

北海道大学医学部産婦人科

○林正路, 古田伊都子, 室城宸一, 桜田芳弘, 田中俊誠, 藤本征一郎

【目的】ヒト培養顆粒膜細胞(GC)におけるprogesterone(P<sub>4</sub>)ならびにestradiol(E<sub>2</sub>)産生, およびLHのsteroidogenesis促進効果に及ぼす加齢の影響を明らかにする。

【方法】各種の開腹手術を受けた42例の婦人よりGCを採取して, informed consentを得てから実験に供した。10<sup>4</sup>個/dishのGCをFSH(10ng/ml), androstenedion(A, 10<sup>-7</sup>M)を加えたGIT培地で72hr培養した(95%air, 5%CO<sub>2</sub>, 37℃)。

(1)LH非添加; Aのみを加えたGIT培地にてさらに24hr培養し, 培養液中のP<sub>4</sub>ならびにE<sub>2</sub>をRIA(direct assay)で測定した。年齢20~29才, 30~39才, 40~49才の症例数はそれぞれ9例, 8例, 11例であった。(2)LH添加; AおよびLH(50ng/ml)を加えて同様に培養し, P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub>を測定した。年齢20~29才, 30~39才, 40~49才の症例数はそれぞれ4例, 5例, 5例であった。

【成績】(1)LH非添加; E<sub>2</sub>の産生に関しては群間に有意差を認めなかったが, 40~49才でのP<sub>4</sub>産生(2.04 $\pm$ 0.36ng/ml, M $\pm$ SE, n=11)は20~29才(4.76 $\pm$ 0.89ng/ml, n=9)のそれより有意に(p<0.02)低かった。(2)LH添加; LHを加えていないcontrolを100%とした%increaseで表示した。40~49才でのP<sub>4</sub>, E<sub>2</sub>産生は20~29才でのP<sub>4</sub>, E<sub>2</sub>産生より有意に低かった(P<sub>4</sub>: p<0.05, E<sub>2</sub>: p<0.05)。

【結論】年齢40才を越えた婦人から採取したGCは20才代の婦人から採取したGCに比べステロイド産性能が低下していることが示された。

## VI-43

## 体外受精・胚移植における poor responder

虎の門病院 産婦人科

◎ 東梅久子 小川恵吾 高橋敬一 児島孝久 佐藤孝道

体外受精・胚移植の適応となった症例のうち卵胞が十分に発育せず採卵できない、あるいはわずかで効果を期待できない症例がある。このようないわゆる poor responder と呼ばれる症例について検討したので報告する。(対象) 1987年6月より1991年4月までの間に当院にて体外受精を目的として、卵巣刺激を施行した390周期のうち最大直径10mm以上の卵胞数が3個以下(以下PR周期)の27例39周期を対象とした。これら同一の27例について10mm以上の卵胞数が4個以上であった20周期(以下GR周期)を対照とし比較検討した。(結果) 27例の平均年齢は $39 \pm 2$ 歳、体外受精・胚移植の適応は子宮内膜症6例、卵管閉鎖11例、男性不妊5例、機能性不妊2例、免疫性不妊1例であった。このうち開腹歴を有したのは7例21%であり子宮外妊娠2例、チョコレート嚢腫核出術2例、付属器切除術3例であった。全例GnRH agonistを使用してPR周期の誘発方法はlong protocol 12周期、short protocol 27周期、HMGは $\text{hCG}$ のみ34周期 総投与量 $1725 \pm 825$ 単位、 $\text{hCG}$ 日研 $4$ 周期 $2175 \pm 450$ 単位、hMG投与日数 $9 \pm 3$ 日、HCG切替前 $E_2$  $601.7 \pm 270.4$  pg/ml、卵胞当たりの $E_2$  $225.4 \pm 107.8$  pg/ml、 $P_4$  $0.6 \pm 0.5$  ng/ml、採卵数 $1.8 \pm 1.2$ 個、受精卵数 $1.6 \pm 1.0$ 個であり妊娠した周期はなかった。一方GR周期において、誘発方法はlong protocol 12周期、short protocol 8周期、投与量は $\text{hCG}$ のみ17周期 $1500 \pm 525$ 単位、 $\text{hCG}$ 日研 $3$ 周期 $1200 \pm 375$ 単位、HMG投与日数 $8 \pm 2$ 日、HCG切替前 $E_2$  $1036.0 \pm 910.2$  pg/ml、卵胞当たりの $E_2$  $162.7 \pm 109.6$  pg/ml、 $P_4$  $0.5 \pm 0.2$  ng/ml、採卵数 $4.8 \pm 2.7$ 、受精卵数 $3.4 \pm 1.3$ であり3周期で妊娠した。また同一症例において誘発方法別に見るとshort protocolではHCG切替前 $E_2$  $672.2 \pm 214.1$  pg/ml、hMG総投与量 $1672.5 \pm 427.5$ 単位、long protocolではそれぞれ $489.9 \pm 231.8$  pg/ml、 $1972.5 \pm 250.0$ 単位であった。(結論) 有意の差は認めなかったものの、short protocolがlong protocolに比して良好な反応性が得られた。

## VI-44

## Clomiphene Citrateの黄体機能に及ぼす影響について

九州大学医学部 婦人科学産科学教室

◎ 松口博之、橋本和法、渡辺綱伸、森下哲哉、横山幹文  
野崎雅裕、佐野正敏、中村元一、中野仁雄

【目的】 Clomiphene Citrate (CLM) は、従来より広く排卵誘発剤として使われており、その有用性は高く評価されている。近年は単に排卵誘発だけではなく、黄体機能不全に対しても用いられるようになって来たが、その黄体機能に対する影響については十分に解明されているとは言えない。我々はCLMの黄体機能に及ぼす影響について検討した。

【対象と方法】 対象は、当科不妊外来通院中の患者で自然排卵周期を有する37例である。排卵後6～8日目の黄体中期に血中 estradiol ( $E_2$ )、progesterone (P) をRIAにて測定、また経膈超音波断層法にて子宮内膜の厚を測定した。排卵日は超音波断層法による卵胞の消失または卵胞の変形縮小の認められた日とし、月経開始日より排卵日までの日数を卵胞期長、排卵日より次回月経開始までの日数を黄体期長とした。同症例に月経開始5日目よりCLM 50mgまたは100mgを5日間服用させ、同様な観察を行い、自然排卵周期と比較検討した。

【結果】 CLM投与により卵胞期長は平均 $19.1 \pm 6.3$ 日から $16.6 \pm 2.4$ 日へと有意に短縮、黄体期長は平均 $12.2 \pm 1.9$ 日から $13.5 \pm 1.8$ 日へと有意に延長した。血中 $E_2$ 値は平均 $123.2 \pm 55.4$  pg/ml から $287.5 \pm 212.6$  pg/mlへと、血中P値は $12.0 \pm 4.8$  ng/mlから $27.8 \pm 16.9$  ng/mlへと有意に上昇したが、 $E_2/P$ 比の変化は見られなかった。子宮内膜厚に関しては、平均 $11.1 \pm 3.9$  mmから $9.7 \pm 3.0$  mmへとCLM投与による変化は認められなかった。

【結論】 CLM投与により、黄体中期の血中 $E_2$ 、P値の上昇、黄体期長の延長などの黄体機能の改善傾向が認められたが、それに対応する子宮内膜の厚さの増加は認められなかった。CLMの抗estrogene作用によるものと考えられた。

## VI-45

無排卵症に対するクロミフェン療法の限界とその見直し

東北大学医学部産科婦人科学教室  
東北リプロダクション懇話会  
○深谷 孝夫, 対木 章, 矢嶋 聰

【目的】無排卵症に対するクロミフェン治療は、その優れた排卵誘発効果により今日広く臨床応用されている。しかし、クロミフェン治療による妊娠率は、期待されているほど高率ではない。臨床史上では基礎体温で排卵が認められている場合にはクロミフェン療法を継続することが多いが、良好な成績が得られないのが現状である。従って、無排卵症患者に対するクロミフェン療法の現状把握を行うとともに本療法の隘路を見だし、より理にかなった治療法の確立が重要である。

今回、無排卵症に対するクロミフェン療法の実態を多施設を用い調査し、本療法の限界とこれからの本療法のあり方を検討したので報告する。【対象】東北大学および関連病院計15施設においてクロミフェン療法を行った、608例・5014周期を用いた。今回の報告においては、患者の年齢・内分泌状態などの個々の背景については除外してある。【結果】608症例の全体的な結果では、平均治療周期は8.2周期、総妊娠数200例、妊娠率32.9%であった。対周期当りの妊娠率は、第1周期では5.4%、以後減少し第6周期以降は1.0%以下になった。妊娠症例における累積妊娠率は第10周期までに90%に達した。妊娠症例を原発・続発不妊に分けると、原発不妊では第6周期以降の妊娠例は認められなかった。クロミフェン投与量による成績では、一日量50mgあるいは100mgにても累積妊娠率に差は認められなかった。施設間の妊娠率は、体外受精などを要する難治性不妊症の紹介が多い施設で16.7%、いわゆる第1次施設で42.3-49.4%と大きな差が認められた。クロミフェン療法からHMG療法へ切り替え後に妊娠に至った症例では、平均6.5周期のクロミフェン療法ののち平均3.0周期で妊娠していた。しかも、47.3%がHMG療法第1周期に妊娠成立していた。【結論】クロミフェン1日投与量100mgで治療開始し、ある時点において治療法の転換を計る必要がある。過去のクロミフェン療法歴を検討し、症例によってはHMG療法を第一選択として考慮する。

## VI-46

月経異常婦人における尿中テストステロンレベル測定の臨床的意義

○石川雅一、中居光生\*、川内博人\*、剣持 稔\*\*、安達敬一\*、  
佐藤倫也\*、国立相模原病院産婦人科、北里大学産婦人科学教室\*、  
大和市立病院産婦人科\*\*

アンドロゲン過剰患者の排卵機能の回復には、過剰アンドロゲンの有無とその産生源を的確に評価する必要がある。しかし、アンドロゲン過剰症の原因はなお不明である。副腎皮質からのテストステロン(T)の分泌に関しては、他のホルモンと同様に日内変動をする事が知られている事からも、通常外来で行われる採血によって得た結果が、必ずしも1日全体の総合評価とはならない。血中T値は、尿中T値と相関しないが、デキサメサゾン(DEX)を投与中の尿中T値の減少は、副腎皮質及び末梢組織におけるアンドロゲンの産生の低下を反映している。24時間蓄尿中のT値は random sampleの1回測定値からは判定し得ない24時間に亘る総合的な結果を示すものとして有用性がある。以上のような事を背景として、DEX抑制試験による、尿中T値の変化と臨床応用性について検討したので報告する。

対象は、内分泌外来登録患者2101例中、各種月経異常及び、正常月経周期を有する不妊婦人310例で、平均年齢は27.1才であった。不妊外来通院中でBBTが二相性を示す64例(20.6%)をコントロール群とした。各種月経異常の内訳は、無月経及び希発月経が140例(45.2%)と最も多く認められた。尿中T値が高値を示したのは219例(70.6%)で、このうち205例にDEX抑制試験を行い、Tの抑制性に応じてDEX依存性、DEX一部依存性、DEX非依存性と分類した。この結果を年齢階層別に見ると、年齢と共にDEX依存性の頻度は減少した。また、各種月経異常との関係を検討した結果、日常診療において尿中Tを測定し、副腎性アンドロゲン過剰例を選択し、1つの治療方式として応用する必要性が示唆された。

## VI-47

## 早発卵巣不全に対するGnRH agonist+Kaufmann-hMG-hCG 療法の試み

大阪医科大学産婦人科学教室

○佐伯理男、奥田喜代司、岡崎 審、後山尚久、太田 栄、

杉本 修

【目的】血中LH,FSH値がともに高値を示す排卵障害例は一般に早発卵巣不全と呼ばれ、排卵は困難であるとされている。我々は以前、これらの症例の一部に血中gonadotropin値の低下が排卵を誘発していることを報告した。今回、早発卵巣不全患者 7例に対しGnRH agonistとKaufmann療法を併用することにより血中gonadotropin値を低下させた後、hMG-hCG を投与することにより排卵誘発を試みた。

【対象及び方法】正常に初経が初来し、35歳未満で 6ヵ月間以上無月経期間があり、血中 FSH値が40mIU/ml以上の条件を満たす 7例を対象とした。これらの症例に対しKaufmann療法後GnRH agonist (Buserelin 900ug/day) を投与し、投与 8週目から再度Kaufmann療法を行い、消退出血 5日目よりhMG 300IU の連日投与を行った。

【結果】血中LH値は、治療前の $29.3 \pm 5.4$  からKaufmann療法後 $10.8 \pm 4.5$  (mIU/ml) に低下し、その後のGnRH agonistとKaufmann療法により $3.2 \pm 2.1$  に低下した。血中 FSH値は、治療前 $69.8 \pm 18.3$  からKaufmann療法後 $21.9 \pm 8.5$  (mIU/ml) に低下したがGnRH agonist投与中は低下せず、二度目のKaufmann療法により $9.6 \pm 2.3$  に低下した。その後hMG-hCG の投与を行い 7症例中 2例 (29%) が排卵したが、妊娠には至らなかった。

【考察】早発卵巣不全患者に対しGnRH agonistとKaufmann療法を併用することにより内因性のgonadotropin 値の著明な低下が見られ、その後のgonadotropinの上昇により排卵誘発が可能な症例があることが判明した。

## VI-48

## ラット卵巣細胞におけるBuserelinのプロゲステロン分泌抑制効果の機序

帝京大学医学部産科婦人科学教室

○矢後尚文、荒川聡子、磯部 聡、森 宏之、神戸川 明、沖永荘一、荒井 清

【目的】ラット卵巣細胞においてhCGにより促進されたプロゲステロン分泌をBuserelinが抑制することが知られている。その作用機序を検討した。【方法】PMS投与ラット卵巣細胞をhCG 100 IU/ml, Buserelin (Bus)  $10^{-6}$  M, dbcAMP  $1 \times 10^{-3}$  M, isoproterenol (Iso)  $10^{-5}$  M, IGF-I 100 ng/ml, R 2323  $10^{-6}$  M, 3-isobutyl-1-methyl-xanthine (IBMX) の存在または非存在下で3時間培養し、メディアム中に放出されたProgesterone (P), cAMP量を測定した。【結果】hCGによりPは対照群の660%。cAMPは844%と有意に増加したが、この増加はBusの併用でP 331%, cAMP 679%と有意に抑制された。この抑制はIBMX併用時にもみられた。また、dbcAMPによるPの増加はBusにより有意に抑制されなかった(対照群の461%→409%)。hCGと同じくcAMPを2nd messengerとするIsoによるP増加はBusで抑制された(447%→317%)が、レセプターが直接DNAに結合するR 2323, レセプターがkinase活性をもつIGF-IによるP増加はBuserelinで抑制されなかった(R 2323; 149%→142%, IGF-1; 124%→129%)。【結論】BusはcAMPそのものの作用には影響せず、cAMPの増加を阻止することによって、hCGによるP分泌促進を抑制した。cAMP phosphodiesterase 阻害剤であるIBMX併用時にもこの抑制がみられたことから、Busの作用点の1つはcAMP分解促進ではなく、cAMP合成阻害にあると考えられた。hCG, Isoと異なり、Adenyl cyclaseとカップリングしたGタンパクを介さずに作用するR 2323, IGF-1によるP増加はBusによって抑制されなかった。

## VI-49

## PMSG 過剰投与によるラット排卵の抑制メカニズムの検討

藤田保健衛生大学医学部 産婦人科学教室, Trinity University\*  
 ○樋口泰彦, L. Espey\*, 吉村俊和, 隅山充樹, 神谷貴之, 廣田 穰,  
 澤田富夫, 河上征治, 福島 穰

【目的】 PMSG 過剰投与による排卵抑制の mechanism を排卵過程内での卵巣 steroids, prostaglandins, c-AMP 量の面から検討した。

【方法・結果】 wistar 系未熟雌 rat に PMSG (5, 10, 20, 40 IU/rat) を投与, 48h 後に hCG (10 IU/rat) にて排卵過程を開始させた。各々の群の排卵数は 10 IU > 20 IU > 5 IU > 40 IU (64.6; 30.5; 19.9; 2.5) であった。今回我々は PMSG 10 IU 投与群と 40 IU 投与群につき hCG 投与 0, 1, 2, 4, 8, 12 h での卵巣内 progesterone (P), estradiol (E), testosterone (T), prostaglandin E, F (PGE, PGF), c-AMP を測定した。10 IU 群では cycling rat の自然排卵過程と同様, P は 4h より著明に増加, E, T は 1-2h で peak を示した後減少, PGE, F は 4h より著明に増加した。しかし 40 IU 群では P は 0h より高値を示し以後漸増, また E, T の 1-2h での peak および PGE, F の増加も認められなかった。c-AMP は 10 IU 群で hCG 投与 5 分後には上昇し, 20 分で peak となり, 2h 後には投与前 level に戻った。しかし 40 IU 群ではその一過性 peak は認められなかった。

【考察】 PMSG 過剰投与による排卵抑制においては正常排卵過程にみられる卵巣内 steroids の変動及び PG の増加現象が認められず, それらの現象は c-AMP を介している可能性が強く示唆された。

## VI-50

## ブタ卵巣黄体からの Glutathione S-Transferase の精製とその機能について

北海道大学医学部産婦人科学教室 ○計良 光昭, 古田 伊都子  
 田中 俊誠, 藤本 征一郎  
 同第二生化学教室 西平 順, 石橋 輝雄

(目的) Glutathione S-Transferase (GST) は GST 活性のほかケトステロイドのイソメラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼ活性などを有する多機能酵素である。本研究では未だ機能が明らかにされていない卵巣の GST について、その酵素学的性質を明らかにするためブタ卵巣黄体可溶性画分より本酵素を精製した。またブタ卵巣顆粒膜細胞を培養し、黄体化に伴う GST 活性とプロゲステロン産生の関係を、培養系に LH、FSH などのゴナドトロピンを加え検討した。

(結果) ブタ卵巣黄体 GST の性質: 精製酵素は SDS-PAGE 上均一であり、分子量 24,000 のサブユニットからなるホモ二量体であった。また、そのアミノ酸組成と N-末端からのアミノ酸配列の分析結果から本酵素の分子種はラット肝 GST 1-1 (ligandin) に相当することを明らかにした。また本精製酵素はケトステロイドのイソメラーゼ活性を有し、かつ酵素の各精製段階で GST 活性とイソメラーゼ活性が同一の画分に溶出され、両酵素の比活性がほぼ同様の割合で上昇することから、ブタ卵巣黄体の可溶性画分では GST とイソメラーゼ反応は同一の酵素により触媒されることが示された。

培養顆粒膜細胞の GST 活性とプロゲステロン産生: 卵巣黄体細胞と顆粒膜細胞の可溶性画分における GST 活性を比較すると、黄体細胞は顆粒膜細胞の約 10 倍の比活性を示した。そこで卵巣の黄体化と GST 活性の関係を明らかにするため、ブタ卵巣の顆粒膜細胞を培養し、その黄体化の過程と GST 活性及びプロゲステロン産生との関係を検討した。その結果顆粒膜細胞は細胞の黄体化に伴い GST 活性及びプロゲステロン産生が共に上昇し、かつ培養液中に LH、FSH を加えると、両者は加えた LH、FSH の濃度に依存して上昇した。このことは卵巣においてはゴナドトロピンなどのホルモンの刺激により GST 活性が上昇し、ステロイドホルモンの合成に関与していることを示唆している。

## VI-51                      ラット卵巣における superoxide dismutase の意義 —黄体機能を中心に—

旭川医科大学産婦人科

○玉手健一、石川睦男、千石一雄、内瀉芳之、高岡康男、清水哲也

〔目的〕近年、生殖生理学領域における活性酸素およびその消去系に関する検討がさかんに行なわれつつある。殊に、superoxide dismutase (SOD) は superoxide anion radical の specific scavenger として生体内に広く分布し、比較的安定な蛋白物質として病態学を中心に報告が数多くされている。今回、我々は排卵周辺期におけるラット卵巣および卵管内 SOD の局在とその活性の有無について、さらに黄体機能との関連について検討した。〔方法〕① Wistar 系未成熟ラットに過排卵処置を施した後、摘出した卵巣・卵管を急速凍結し検体とした。ラット Mn-および Cu, Zn-SOD に対する抗体を用い、各 SOD の免疫組織学的局在を検討するとともに、Nitroblue tetrazolium (NBT) 変法にて SOD 活性部位との比較検討を行なった。② hCG 投与直後  $3 \cdot 10 \cdot 18 \cdot 48$  時間後の卵巣内 Mn-SOD を ELISA 法にて測定した。③ さらに黄体において、排卵直後、24 時間後さらに妊娠 2、4、6 および 12 日目の SOD の免疫組織学的局在について検討した。〔成績〕① SOD の免疫組織学的局在部位と NBT 変法による SOD 活性部位は一致しており、Mn-SOD は成熟卵胞外莖膜細胞および黄体に局在および活性を認めた。また Cu, Zn-SOD は原始・発育卵胞、成熟卵胞顆粒膜細胞および卵管上皮に同じく局在した。② ラット卵巣内 Mn-SOD は hCG 投与直後  $575.8 \text{ ng/mg} \cdot \text{protein}$  と低値を示し、その後急増し 18 時間後には  $2411 \text{ ng/mg} \cdot \text{protein}$  とピークに達した。③ 排卵直後の黄体および妊娠黄体において Mn-SOD の局在が認められ、特に妊娠黄体に強く局在した。〔結論〕 Mn-および Cu, Zn-SOD はラット卵巣・卵管においていずれも活性を有し、各々異なる部位に局在することより、その生理学的意義が異なると推察された。さらに Mn-SOD は黄体機能と深く関与している可能性が示唆された。

## VI-52                      Cyclophosphamide がラット顆粒膜細胞に及ぼす影響

帝京大産婦人科

○荻野雅弘、坂本隆子、松浦 潔、山本樹生、森 宏之、神戸川 明、  
冲永荘一、荒井 清

【目的】制癌剤の正常卵巣への影響は、睾丸腫瘍ほど研究がなされていず不明な点が多い。今回、制癌剤 Cyclophosphamide (CPM) がラット顆粒膜細胞 (G-Cell) に及ぼす影響を検討するため生細胞率、cAMP、 $^3\text{H}$ -Thymidine の取込を測定し CPM の影響を調べた。

【方法】下垂体摘除後の 4 週齢の SD ラットに 3 日間 DES を投与した後、屠殺し卵巣から collagenase 処理し disperse し G-Cell を得た。G-Cell は  $2.5 \times 10^5 / \text{well}$  の濃度に散布した。CPM の濃度は 1, 10, 100,  $500 \mu\text{g/ml}$  とし、制癌剤の接触時間を 2 または 6 時間の 2 群とし全培養時間を 48 時間とした。ラット G-Cell の生細胞率は tripan blue, cAMP は RIA で測定した。

【結果】CPM 濃度は 1,  $10 \mu\text{g/ml}$  までは生細胞率、cAMP,  $^3\text{H}$ -Thymidine up-take においてもそれほど減少することはなかったがそれ以上の濃度ではいずれも有意に減少しており、また制癌剤の接触時間も影響していた。

【考案】CPM は濃度、及び時間依存性に G-Cell へ影響することが判明した。

## VI-53

低用量経口避妊薬Org 5187の臨床第Ⅲ相試験  
—継続群と新規群での検討—

慶応大学産婦人科 田辺清男, 小林俊文, 飯塚理八, 野澤志朗・済生会宇都宮; 赤塚正純・警友病院; 鈴木健治・高橋病院; 高橋輝雄・足利日赤病院; 春日義生・大田原日赤病院; 橋本透, 白石悟・浅岡産婦人科; 浅岡健

Org 5187 (以下本剤) は、1錠中に desogestrel・150 $\mu$ g と ethinyl-estradiol・30 $\mu$ g を含有する新しい1相性の低用量経口避妊薬であり、世界各国で汎用されている。また、本邦においても全国における多施設共同試験が行われ、その成績が報告されている。

今回我々は、慶応大学を含めた計7施設における結果から、本剤服用直前まで他剤を服用していたもの(継続群: 32例)及び本剤服用が全く初めてであるか、1ヶ月以上の休薬期間を置いたもの(新規群: 55例)の2群において、有効性・安全性・臨床検査値を更に詳細にみることを目的として比較検討を行った。その結果、総合評価において両群とも妊娠例はなく避妊効果は100%であった。安全度では、副作用の認められたものが、継続群10.3%・新規群34.9%(対症例、以下同様)で、新規群の方が有意に高率であったが、差のみられたものは嘔気のみであり、継続群3.5%・新規群29.7%でその差は有意であった。しかし、その症状は軽度であり、中止した症例はなかった。またそれ以外特に問題とされるような重篤な症状は認められなかった。有用度では、有用以上が継続群100%・新規群95.0%で両群とも高率で有意差は認められなかった。周期調節性・不正出血発生率・一般臨床検査値等についても両群に有意な差は認められなかった。特殊検査項目の中で、セルロプラスミン・SHBG・コルチゾールで前値において継続群の方が新規群より有意に高値であった。しかし、新規群も服用後3周期目には高値となり、以後継続群と同様の推移を示した。また、総テストステロン・遊離テストステロン・DHEA-Sで服用前両群に差はなく、服用後両群とも有意に低下した。以上より、低用量経口避妊薬であるOrg 5187の服用に当たっては、経口避妊薬を初めて服用する場合や、以前他剤を服用していた場合でも、特に問題なく安心して服用することができるものと考えられる。

★

## VI-54

## 産婦人科内分泌外来におけるDEXAによる骨塩密度測定の意義

東北大学医学部産婦人科

○対木 章, 田村みどり, 陳 偉業, 千田定則, 村上 節, 萬代泰男,  
戸沢秀夫, 深谷孝夫, 矢嶋 聡

【目的及び方法】産婦人科内分泌外来においては早発卵巣不全症(POF)や無排卵症などの卵巣機能不全の症例を扱う機会が多く、こうした症例においては長期に及ぶエストロゲン分泌低下により、骨塩量の減少が起こっている可能性が危惧される。そこで、各種病態の排卵障害の患者15名(27.9 $\pm$ 6.5歳)及び正常排卵周期婦人19名(29.2 $\pm$ 5.6歳)について、ノーランド社XR-26を用い、DEXA法により第2-4腰椎の正面及び側面から測定した骨塩密度(APBMD, VBBMD)を比較検討した。さらに排卵障害の症例においてはLH, FSH, PRL測定をし、各種病態別の骨塩密度との関係を比較検討した。

【成績】1) 正常排卵周期を有するコントロール群に比べ、排卵障害群ではAPBMD及びVBBMDは有意に低かった。2) 骨塩密度と年齢との相関を見るとコントロール群ではAPBMDとの正の相関は認められたが、VBBMDとの相関は認められなかった。また、排卵障害群ではいずれとも相関が認められなかった。3) 排卵障害群では骨塩量と卵胞期ゴナドトロピン値と密接な関係を認め、特にFSHレベルと強い負の相関が認められた。hMG療法抵抗性のPOF症例では顕著な骨塩密度の低下が認められた。これに対し、PCO症例においては中等度の減少に留まった。4) こうした内分泌学的背景の他、環境因子としてCa摂取不足や運動不足などが骨塩密度と関係があると考えられた。

【結論】以上のように20~30歳代の若年成人性骨塩減少症が排卵障害や無月経の症例に存在することがDEXAにより確認された。こうした症例には骨塩量保持の立場からすると排卵誘発法やエストロゲン補充療法などが必要であり、骨塩量の微妙な変化を検知する事が可能なDEXA法はこうした症例のfollow-upに有効な方法であることが示唆された。

## VI-55

## 腹水貯留を認めなかったOHSSの1例

広島大学医学部産科婦人科教室, \*高野町立高野山病院内科

○新甲 靖, 竹中雅昭, 上田克憲, 原 鐵晃, 熊谷正俊, 大浜紘三, \*谷河浩二

卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の主症状は、卵巣の腫大と腹水の貯留で、胸水を認めることは比較的まれである。今回我々は胸水貯留が多量であったにもかかわらず、腹水を認めなかったOHSSの1症例を経験したので報告する。患者は32才の未妊婦で、特記すべき既往歴はない。24才で結婚し、その後不妊を主訴に近医を受診し、子宮内膜症と診断された。そのためマイロカシールによる骨盤内の癒着剥離術を受け、その後腔内あるいは子宮内へのAIHを10回、ダグラス窩へのAIHを2回行ったが妊娠せず、GIFT目的で当科を受診した。GIFT前周期21日目よりブエリリ900 $\mu$ g/日の投与を行い、GIFT周期には3日目より12日間HMGI50IUを投与し、最終日にHCG10,000IUを投与した。HCG投与36時間後に採卵し、卵子7個と精子 $0.5 \times 10^6$ 個を左卵管に移植した。GIFT施行後は3日目までProgesterone100mg/日を、3日目及び4日目にはHCG1,000IUを投与した。ところがGIFT後7日目より呼吸困難と胸痛が出現し、胸部X線写真にて多量の胸水貯留を認めOHSSと診断した。そのため直ちに胸腔穿刺を行って2,200mlの淡血性胸水を吸引し、さらに2日後には1,300ml吸引した。その後の胸部X線写真では胸水は少量認められたが、GIFT後16日目に発来した月経直後の胸部X線写真では完全に消失していた。しかし胸水確認後連日実施した腹部の超音波断層法では両側の卵巣腫大を認めたものの腹水は認めなかった。LunenfeldのOHSS重症度分類によると胸水貯留は3度に該当し、この場合は多量の腹水を伴うことが多く、自験例のように胸水のみが貯留するのは非常にまれである。OHSSの発生機序には不明な点も多いが、病態の基本は血管の透過性の変化を伴う全身的疾患とみなされている。したがって過排卵処理の際には常にOHSSの発生を念頭におき、腹部所見のみならず、全身的な検索、管理が必要であることが今回の症例からも示された。

## VI-56

## 卵巣莢膜細胞のコラーゲンゲル内培養モデルについて

関西医科大学産科学婦人科学教室, 河内総合病院産婦人科\*

○河田 淳, 堀越順彦, 大崎 尚, 森本義晴\*, 榎木 勇

【目的】コラーゲンゲル培養は、従来の単層培養系では充分に再現し得なかった細胞機能を表現できる培養系として、ホルモン産生細胞の初代培養にも応用されている。卵巣においてエストロゲンの基質であるアンドロゲンを主に分泌する莢膜細胞は、従来の培養系では急速にアンドロステンジオン( $\Delta 4$ )産生能が失活し、培養実験の欠点になっていた。我々は莢膜細胞にも、このコラーゲンゲル内培養を利用する事により培養細胞の $\Delta 4$ 分泌能を維持できる事を報告した。今回さらにこの培養条件下におけるC17-20 lyase (lyase)活性の変化について検討したので報告する。

【方法】成熟豚卵巣の中卵胞より莢膜細胞を分離し、プラスチックシャーレ上単層培養と、Type Iコラーゲンゲル内培養を各12~72時間行なった。培養細胞を回収し超音波破碎後、10,000Gで冷却遠心した上清を、NADPH存在下で $[4-^3H] 17\alpha$ -Hydroxyprogesteroneと95%O<sub>2</sub>, 5%CO<sub>2</sub>, 37°Cの条件で20分間インキュベートした。ステロイド代謝物質は、薄層クロマトグラフィーにて分離し、産生された $\Delta 4$ , Testosteroneの総和をもってlyase活性とした。

【結果】単層培養では培養24時間後より培養液上清に分泌される $\Delta 4$ は、急速に減少したが、ゲル内培養では細胞増殖能と相反するように培養72時間後までは一定の分泌能を維持した。同様にlyase活性は、培養12時間後ではゲル内培養は単層培養の約2倍を示し、48時間後では約8倍ゲル内培養の方が高値を示した。

【考察】莢膜細胞はプラスチックシャーレ上およびコラーゲンゲル上に培養するよりも、コラーゲンゲル内に培養する事により安定したlyase活性を維持し、莢膜細胞の生理活性を再現するに適した実験系である事が証明された。

## VI-57

## 習慣性流産患者におけるエストロゲン受容体変異遺伝子解析の試み

山梨医科大学産婦人科学教室  
○笠井 剛, 平田 修司, 加藤 順三

【目的】習慣性流産の遺伝的原因としては、転位、転座、モザイクなどの染色体異常があげられるが、その他に単一遺伝子欠損によるものも推測されている。近年、エストロゲン受容体遺伝子に変異をもつ乳癌患者に、流産の頻度が高いと報告されているが、今回われわれは、ヒト白血球からPolymerase Chain Reaction(PCR)－直接シーケンス法を用いて、懸かるエストロゲン受容体遺伝子の構造解析を試みたので報告する。

【方法】ヒト末梢血5mlより得られた白血球をSDS, Proteinase Kで処理しDNAを調製した。得られたDNAを鋳型として、ヒトエストロゲン受容体cDNAの塩基番号443番から633番までの191bpを規定するprimer setを用いてPCRを行った。PCR産物を電気泳動により精製し、Taq polymeraseを用いたdideoxy法により直接塩基配列決定を行った。

【結果】正常ヒト白血球のDNAを鋳型として、191bpの増幅遺伝子が得られた。直接塩基配列決定法によりこの増幅遺伝子の塩基配列が解析可能であった。

【結論】本法により、ヒト白血球からエストロゲン受容体遺伝子の構造解析が可能であることがあきらかになった。本法は、習慣性流産患者におけるエストロゲン受容体の変異遺伝子の解析に極めて有用である。

訂正とお詫び

第36巻3号に下記の誤りがありましたので、訂正の上お詫び致します。

新村末雄論文：ラットのセルトリ細胞におけるプロスタグランジンE<sub>2</sub>の免疫組織化学的研究

正

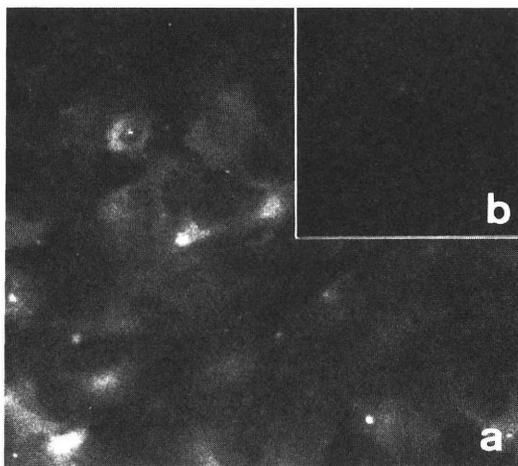


Fig. 1 Cultured Sertoli cells separated from 10-day-old rats. Fluorescence showing the presence of PGE<sub>2</sub> in the cytoplasm of each cell (a), and its absence in control cells treated with normal rabbit serum instead of the rabbit anti-PGE<sub>2</sub> serum (b). ×250

誤

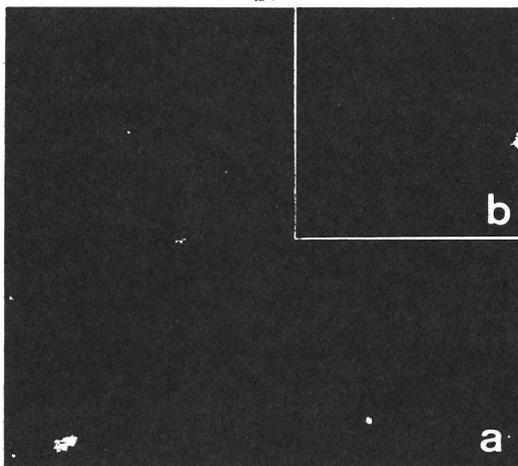


Fig. 1 Cultured Sertoli cells separated from 10-day-old rats. Fluorescence showing the presence of PGE<sub>2</sub> in the cytoplasm of each cell (a), and its absence in control cells treated with normal rabbit serum instead of the rabbit anti-PGE<sub>2</sub> serum (b). ×250

訂正とお詫び

第36巻3号に下記の誤りがありましたので、訂正の上お詫び致します。

松井俊彦論文：男性不妊患者の体外受精における受精能予測の為の各種精液パラメーターの有用性

Table 2 Classification of the sperm morphology and the incidence of each category in the three groups

	no fertilization group (%)	low fertilization rate group (%)	normal fertilization rate group (%)
 (a)	9.1±9.3	14.7±9.7	22.6±6.2
	(※ 1)		(※ 3)
 (b)	32.3±13.0	39.4±16.5	42.7±4.6
	(※ 2)		
 (c)	23.2±16.9	18.0±9.1	16.2±7.3
 (d)	13.2±9.2	9.4±5.1	9.5±5.4
 (e)	11.0±5.6	4.5±3.4	5.3±3.8
	(※ 1)		(※ 1)
 (f)	0.3±0.5	0.1±0.3	0.0±0.0
	(※ 1)		
 (g)	1.2±1.5	0.2±0.6	0.5±0.5
	(※ 4)		
 (h)	1.4±2.9	1.0±1.2	0.6±0.9
その他 (i)	0.2±0.5	0.1±0.3	0.2±0.4

(※ 1) p < 0.01 (※ 2) p < 0.02 (※ 3) p < 0.05 (※ 4) p < 0.10

正

Table 2 Classification of the sperm morphology and the incidence of each category in the three groups

	no fertilization group (%)	low fertilization rate group (%)	normal fertilization rate group (%)
(a)	9.1±9.3	14.7±9.7	22.6±6.2
	(※ 1)		(※ 3)
(b)	32.3±13.0	39.4±16.5	42.7±4.6
	(※ 2)		
(c)	23.2±16.9	18.0±9.1	16.2±7.3
(d)	13.2±9.2	9.4±5.1	9.5±5.4
(e)	11.0±5.6	4.5±3.4	5.3±3.8
	(※ 1)		(※ 1)
(f)	0.3±0.5	0.1±0.3	0.0±0.0
	(※ 1)		
(g)	1.2±1.5	0.2±0.6	0.5±0.5
	(※ 4)		
(h)	1.4±2.9	1.0±1.2	0.6±0.9
その他 (i)	0.2±0.5	0.1±0.3	0.2±0.4

(※ 1) p < 0.01 (※ 2) p < 0.02 (※ 3) p < 0.05 (※ 4) p < 0.10

誤

# 関連学会のお知らせ

## 第14回国際不妊学会 (IFFS)

期 日：1992年11月22日(日)～27日(金)

会 場：カラカス (ベネズエラ)  
Hilton Convention Center  
Teresa Carreño Cultural Complex

抄 録：1992年5月31日締切

登録費： (単位 US\$)	1991年12月末日まで	1992年7月末日	1992年8月1日から
IFFS 会員	350	400	450
非 会 員	400	450	500
同 伴 者	125	150	200

※ 1991年末までは登録費が安くなります。

会議の詳細および登録用紙・アブストラクトフォームを含む Second Announcement のご請求は  
日本不妊学会 (tel: 03-3272-7077) へご連絡下さい。

## 投 稿 規 定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
2. 原稿は、本会の目的に関連のある原著、総説、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
3. 1論文は、原則として刷り上り6ページ以内とし、超過は4ページ(計10ページ)までを認める。超過ページならびに特に費用を要する図、表、写真は実費を著者負担とする。
4. 原著、総説、論説、臨床報告などは必ず、400字以内の和文抄録ならびに、ダブルスペース2枚以内の欧文抄録(題名、著者名、所属を含む)を添付する。
5. 図表ならびに写真は稿末に一括してまとめ、符号を記入し、かつ本文中に挿入すべき位置を明示する。
6. 記述は和文または欧文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
  - a. 雑誌の場合  
著者名：題名、誌名、巻数：ページ数、年次  
原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげる。誌名は規定または慣用の略名に従うこと。特に号数を必要とする場合は巻数とページ数との間に括弧で囲む、すなわち  
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：ページ数、

年次

- 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 (株)アイシーエス企画内  
(Tel. 03-3272-7077)

### 日本不妊学会雑誌 36巻4号

1991年9月25日 印刷  
1991年10月1日 発行

編集兼発行者	百瀬和夫
印刷者	安永修
印刷所	東京都文京区関口1-43-5 有限会社ルーブ社
発行所	東京都文京区関口1-43-5 社団法人 日本不妊学会 東京都中央区日本橋二丁目14-9 加商ビル (株)アイシーエス企画内 Tel (03) 3272-7077 振替口座番号 東京 7-93207