

ISSN
0029-0629
CODEN:NFGZAD

JAPANESE JOURNAL OF FERTILITY AND STERILITY

Vol. 39 No.2

April
1994

日本不妊学会雑誌

第39卷 第2号

平成6年4月1日

第39回日本不妊学会総会および学術講演会 (第3回予告)

下記により第39回日本不妊学会総会および学術講演会を開催しますので多数の方々をご参加下さいますようお願い申し上げます。

記

- 期 日：平成6年10月26日(水) 午後から役員会，学術講演会
27日(木) 学術講演会，評議員会，総会，総懇親会
28日(金) 学術講演会
- 会 場：富山県民会館 〒930 富山市新総曲輪4-18 TEL(0764)32-3111
富山第一ホテル 〒930 富山市桜木町10-10 TEL(0764)42-4411

学術講演会

本講演会では，特別講演，会長講演，教育講演，シンポジウム，ワークショップ，一般講演を行う予定です。

一般講演は，口演発表とポスターに分かれ，一応ご希望を伺いますが，その選択は事務局にお任せ願います。多数のお申し込みをお待ちしています。ご応募の方は演題申し込み要領に随い，倫理面を十分に考慮して頂きたく存じます。演題の採否は会長にご一任願います。

- I 特別講演 座長：永野俊雄(千葉大学解剖学教授)
「Fertilizing ability of mammalian spermatozoa: Its development and relativity」
柳町隆造(ハワイ大学教授)
- II 会長講演 座長：吉田 修(京都大学泌尿器科教授)
「不妊診療の課題と展望 —男性側の立場から—」
片山 喬(富山医科薬科大学泌尿器科教授)
- III 教育講演 生殖医学の進歩シリーズ
 1. 座長：泉 陸一(富山医科薬科大学産婦人科教授)
「体外受精の現況と問題点」
森 崇英(京都大学産婦人科教授)
 2. 座長：毛利秀雄(放送大学副学長)
「精子成熟の場 —精巣上体・構造からみる機能分化—」
阿部和厚(北海道大学解剖学教授)
 3. 座長：白井将文(東邦大学泌尿器科教授)
「男子不妊症治療の現在の問題点」
熊本悦明(札幌医科大学泌尿器科教授)
 4. 座長：入谷 明(近畿大学生物理工学部教授)
「哺乳動物胚の凍結・ガラス化保存」
葛西孫三郎(高知大学農学部生物資源科学教授)
 5. 座長：広井正彦(山形大学産婦人科教授)
「性機能と調節因子」
桑原惣隆(金沢医科大学産婦人科教授)
- IV シンポジウム
 1. 配偶子をめぐる最新の話題 —ニューテクノロジーによる研究—
司会：武谷雄二(東京大学産婦人科教授)
奥山明彦(大阪大学泌尿器科教授)

- 1) 精子形成機構解明のための分子生物学的アプローチ
並木幹夫(大阪大学泌尿器科)
 - 2) 卵母細胞の選択的発育に係わる卵巢内因子
佐藤英明(東京大学医科学研究所獣医研究部)
 - 3) 哺乳動物精子の成熟と発生能
星 和彦(福島県立医科大学産婦人科)
 - 4) 卵の成熟・受精過程におけるカルシウムの意義について
藤原敏博(東京大学産婦人科)
 - 5) 精巣における細胞間相互作用 —とくにSertoli cellとLeydig cellについて—
藤澤正人(神戸大学泌尿器科)
 - 6) 顆粒膜細胞の機能調節とエンドセリン —その細胞・分子レベルでの検討—
久保田俊郎(東京医科歯科大学産婦人科)
2. 着床をめぐる

司会：富永敏朗(福井医科大学産婦人科教授)

中村幸雄(杏林大学産婦人科教授)

- 1) 子宮内膜におけるサイトカインの意義
神崎秀陽(京都大学産婦人科)
- 2) 着床期の子宮における成長因子の発現とその役割
玉田尋通(大阪府立大学農学部獣医臨床繁殖学教室)
- 3) 卵の発育分化と着床
堤 治(東京大学産婦人科)
- 4) 着床周辺部位の微小変化 —卵と子宮内膜のシグナル交換—
根上 晃(福井医科大学産婦人科)
- 5) 卵と着床 —インテグリンファミリーの生理学的意義—
吉村泰典(杏林大学産婦人科)

V ワークショップ

「精索静脈瘤 —その妊孕性への影響—」

司会：島崎 淳(千葉大学泌尿器科教授)

守殿貞夫(神戸大学泌尿器科教授)

1. 不妊症の成因について 瀧原博史(山口大学泌尿器科)
伊藤晴夫(帝京大学市原病院泌尿器科)
2. 精子機能 市川智彦(千葉大学泌尿器科)
布施秀樹(富山医科薬科大学泌尿器科)
3. 精巣機能 徳永 葉(川崎医科大学泌尿器科)
山本雅憲(名古屋大学泌尿器科)
- 追加発言 藤澤正人(神戸大学泌尿器科)
4. 治療 三浦一陽(東邦大学泌尿器科)

VI 公開シンポジウム

「不妊の漢方治療」

司会：吉田英機(昭和大学泌尿器科教授)

青野敏博(徳島大学産婦人科教授)

1. 基礎的事項

- 1) 精巣障害における漢方薬の作用
池本 庸(東京慈恵会医科大学泌尿器科)
- 2) ヒト精子に対する漢方薬の作用
田代真一(昭和薬科大学)

- 3) 顆粒膜細胞のステロイド生合成, 特にアロマトラーゼ活性に及ぼす各種生薬の影響
太田博孝 (秋田組合総合病院産婦人科)

2. 臨床的事項

- 1) 男性不妊症における漢方療法の現状と将来
風間泰蔵 (富山医科薬科大学泌尿器科)
- 2) クロミフェンと温経湯または当帰芍薬散併用療法による排卵の誘発
安井敏之 (徳島大学産婦人科)
- 3) 自己抗体陽性不妊症患者に対する柴苓湯の効果
高桑好一 (新潟大学産婦人科)

3. コメンテーター

寺沢捷年 (富山医科薬科大学和漢診療部教授)

VII 一般演題

演題申込み資格

講演者 (共同発表者も含む) は本会会員に限ります。会員以外の方は演題申込みと同時に、1994年度会費 (8,000円) を納入の上会員になって下さい。

演題申込み要領

- 抄録の所定の抄録用紙にタイプまたはワープロでうち、書留郵便にて下記へお送り下さい。 〒930-01 富山県富山市杉谷2630
富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室内
第39回日本不妊学会総会事務局
- 抄録は800字以内、図、表はつけないでください。
- 別紙演題申込み書、受領書、採用通知書に所定の事項を記入して切手を貼り、抄録用紙 (原本) および抄録用紙のコピー3部とともにお送りください。
- 申込み締切日 1994年6月25日 (土) (必着)

演題発表方法

講演時間は7分、討論時間は3分の予定です。スライドプロジェクターは各会場とも1台とし、スライドは10枚以内とします。ポスターは発表3分、討論4分とします。

参加申込み方法

学会当日会場にて受け付けます。

学会参加費 8,000円

懇親会費 8,000円

懇親会は、学術講演会第2日終了後に、富山第一ホテルにて行います。

1994年4月

第39回日本不妊学会
会長 片山 喬

連絡先：〒930-01 富山市杉谷2630

富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室内

第39回日本不妊学会総会事務局

(布施秀樹、風間泰蔵、木村寿子)

TEL 0764-34-2281 内線2582 (医局)

FAX 0764-34-5039

※ 宿泊・昼食弁当*・エクスカージョンの御案内は巻末を御覧下さい。(※学会当日、昼食時の会場周辺の食堂は絶対数も少なく平日でもあるため、混雑が予想されます。)

倫理委員会報告

『代理母』の問題についての理事会見解

代理母（ホストマザー・サロゲートマザー）については本学会倫理委員会で検討し、さらに不妊患者および本会役員、評議員に対しアンケート調査を行った。

本法以外には解決できない不妊症患者に対し、現在の医学的技法をもって対処することは可能であるが、なお本法の実施に関しては、

- 1) 医学的適応と社会的、倫理的妥当性との間に認識の差がある、
- 2) 本法は婚姻関係以外の受精・妊娠・出産であるため、ホストマザー等の受精・妊娠・出産に際しての医学的リスクや、社会的、心理的問題点に関する議論をつくす必要がある、
- 3) 法的解釈にも様々な意見がある、
- 4) 本法の実施に際し、第三者による金銭の授受が介在する可能性がある。

従って、この問題には社会的、倫理的、法律的要素が大きく、本委員会においてはその実施について明確な結論を得るに至らなかった。現時点においては本学会を含めて各関連学会にこの問題を提言した上、討議を依頼し、広く社会のコンセンサスを得る必要がある。

アンケート結果

サロゲートマザーに関しては反対意見が約70%であったが、ホストマザーに関しては約45%が賛意を示した。（アンケート調査結果39巻1号に掲載）

平成4年11月5日

(社)日本不妊学会

理事長 飯塚理八
倫理委員会委員長 高木繁夫

以上の見解とアンケート調査結果を平成5年2月に各関連学会会長、理事長へお送り致しました。

平成6年3月

(社)日本不妊学会

理事長 入谷明
倫理委員会委員長 広井正彦

日本不妊学会誌

第39巻 第2号

平成6年4月1日

—目 次—

原 著

- 血清FSHの上昇を伴う特発性男子不妊患者におけるLeydig細胞の機能障害(英文)・・・山本雅憲・他・・・ 1
GnRH agonist短期投与によるゴナドトロピン値の変化と
排卵誘発効果に関する検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・石原 理・他・・・ 6
当科における反復流産患者の臨床統計・・・・・・・・・・・・・・・・山本 弘・他・・・ 11
第2度無月経への温経湯－メサルモン-F®併用療法時の内分泌変動・・・・・・・・後山尚久・他・・・ 18
男子性腺機能低下症に対する治療法の検討・・・・・・・・・・・・・・・・天野俊康・他・・・ 23
細胞間接着物質－Concanavalin A－がマウス受精卵の発育に与える影響・・・・・・・・千田 智・他・・・ 30
不妊症婦人における抗クラミジア抗体と腹腔鏡所見・・・・・・・・小原満雄・他・・・ 35
Kallikreinの精子運動パラメーターに及ぼす効果の精子運動自動分析装置
を用いた定量的解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・井本勝彦・他・・・ 40
体重減少性無月経患者に対するLH-RHアナログ(ブセレリン),
クロミフェン併用療法の試み(英文)・・・・・・・・・・・・・・・・中村康彦・他・・・ 45
遺伝子工学によるalpha-fetoproteinの生産・・・・・・・・・・・・・・・・山本 律・他・・・ 51
Ca ionophore A23187で誘起される精子先体反応率に及ぼす前培養時間の影響・・・・・・・・新甲 靖・他・・・ 57
子宮内膜症に対するbuserelin投与下の臨床効果と予後との関連性の検討・・・・・・・・福田良夫・他・・・ 62
超音波ガイド下卵管内人工授精による不妊症治療成績の検討・・・・・・・・柴原浩章・他・・・ 72
男子不妊症に対する牛車腎気丸療法の効果
——精液自動分析装置を用いた精液所見——・・・・・・・・大橋正和・他・・・ 78
地方部会抄録・・ 84

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 39, No. 2, 1994)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- Possible Leydig Cell Dysfunction in Idiopathically Infertile Men
with Selective Elevations of Serum Follicle-Stimulating Hormone ·····M. Yamamoto, Y. Tsuji,
H. Hibi & K. Miyake ····· 1
- Gonadotrophin-releasing Hormone Agonist-induced Ovulation
in Anovulatory Patients and Their Hormonal Profile ·····O. Ishihara, Y. Ihno,
M. Saitoh, H. Seki & K. Kinoshita ····· 6
- Clinical Study on Recurrent Abortions in Our Clinic ·····H. Yamamoto, M. Kanaya, Y. Inoue,
S. Mori, T. Kiya, H. Fukue, M. Fujii,
T. Endo, S. Tanaka & R. Kudo ····· 11
- Endocrinologic Studies of Combined Use of Unkei-to(TJ-106)
with Metharmon -F® in Women with 2nd Grade Amenorrhea ·····T. Ushiroyama, S. Tsubokura,
M. Ueki & O. Sugimoto ····· 18
- Hormone Therapy of Male Hypogonadism ·····T. Amano, S. Tokunaga,
T. Uchibayashi & M. Ohkawa ····· 23
- Effects of Succinyl Concanavalin A on the Development
of Mouse Embryos In Vitro and In Vivo ·····S. Chida, M. Suzuki & L. Mettler ····· 30
- Chlamydial Serology and Laparoscopic Findings in the Infertile Women
······M. Obara, M. Tano, K. Yamada,
M. Seki, H. Mizunuma & Y. Ibuki ····· 35
- Quantitative Analysis of the Effect of Kallikrein on Semen Motility Parameters
by Means of Computer-Assisted Semen Analyzer ·····K. Imoto, H. Takihara, S. Shirataki,
Y. Baba, K. Kamada, K. Naito & K. Ishizu ····· 40
- Combined Treatment of Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LH-RH)
Analogue (Buserelin) with Clomiphene Citrate in Patients with Weight Loss Amenorrhea
······Y. Nakamura, M. Ishimastu, S. Yamashita,
Y. Sugino, K. Ueda, & H. Kato ····· 45
- Production of Recombinant Alpha-Fetoprotein by Genetic Engineering
······R. Yamamoto, S. Fujimoto & S. Nishi ····· 51
- Influence of Preincubation Periods on the Acrosome Reaction of
Human Spermatozoa Induced by Ca Ionophore A23187 ·····Y. Shinkoh, K. Ueda, M. Kumagai,
M. Kinutani, M. Takenaka & K. Ohama ····· 57
- Correlation between the Clinical Effects during Treatment with Buserelin
and the Prognosis in Endometriosis ·····Y. Fukuda, F. Sone, M. Ito & S. Tamura ····· 62

Ultrasound-Guided Intratubal Insemination as a Treatment for the Infertile Patients

Who were Refractory to Intrauterine Insemination ·····H. Shibahara, T. Hayashi, Y. Yamada,
T. Shiotani & K. Ikuma····72

Clinical Effects of Goshajinkigan on Male Infertility

— Semen Profile measured by Computer Assisted Semen Analyzer —

··········M. Ohashi, H. Ishikawa, H. Yanaiharu, K. Nakagawa,
K. Hayakawa, M. Hata & S. Kaneko····78

POSSIBLE LEYDIG CELL DYSFUNCTION IN IDIOPATHICALLY INFERTILE MEN WITH SELECTIVE ELEVATIONS OF SERUM FOLLICLE-STIMULATING HORMONE

Masanori YAMAMOTO, Yoshikazu TSUJI, Hatsuki HIBI
and Koji MIYAKE

Department of Urology, Nagoya University School of Medicine,
Nagoya 466, Japan

Abstract: Several studies in acutely castrated males of several species have demonstrated that testosterone (T) alone, given in doses that produce normal serum T levels, can maintain normal serum FSH and LH levels. This suggests that seminiferous tubular factor is not obligatory to regulate FSH secretion, and raises the possibility that Leydig cell function may not be fully normal in oligo- or azoospermic men with increased serum FSH levels. To clarify this possibility, we investigated T concentrations in 10 sexually mature, infertile, but otherwise healthy men who had selective increase in serum FSH and normal serum LH and estradiol levels and in 12 normal men. Although individual serum T and LH levels in the infertile men were within the normal ranges, the mean serum T level of the infertile men was significantly lower, and the mean serum LH level was significantly higher than values in the normal men. The infertile men also had significantly lower serum free T concentrations, while sex hormone-binding globulin and estradiol levels were similar to those of the normal men. We conclude that T production is significantly reduced in infertile men who have a selective increase in serum FSH. Because of the known role of testosterone in the negative feedback control of FSH, this finding suggests that regardless of whether seminiferous tubular factor, namely inhibin exists, testosterone may cause elevated serum FSH concentrations characteristic of men with germ cell loss.

(*Jpn. J. Fertil. Steril.*, 39 (2), 127 - 131, 1994)

Introduction

Increased follicle-stimulating hormone (FSH) concentrations in association with normal serum luteinizing hormone (LH) and testosterone (T) may be seen in azoospermic or severely oligozoospermic patients with primary spermatogenic failure¹⁻³). In general, serum FSH is a direct reflection of the level of spermatogenesis in the seminiferous tubules. It has been presumed that these men have normal Leydig cell function because they are fully virilized and have normal LH and T levels. Therefore, many investigators believe that a marked elevation in serum FSH is probably due to seminiferous tubular factor, namely inhibin rather than testosterone^{4,5}).

Decreases in spermatogenesis are generally accompanied by decreases in inhibin production by the Sertoli cells. This reduction in negative feedback is associated with a reciprocal elevation of serum FSH concentrations^{4,5}).

However, several studies in the castrated rat⁶), dog⁷), and monkey⁸) indicated that T alone, given in doses that produce normal serum T levels, can maintain normal levels of both FSH and LH, and that asymmetric increase in serum FSH can result from small decreases in serum T concentrations. In light of these findings, we investigated the Leydig cell function in the patients with idiopathic infertility who had selective elevations of FSH by determining serum T concentrations in a group of these men and

in normal control males.

Materials and Methods

Subjects

We studied 10 otherwise normal sexually mature men, aged 25-41 yr, with long-standing infertility, who had elevated serum FSH and normal LH and total T levels (based on previously established normal reference ranges) during prior evaluation. All were fully virilized and sexually active, and none had any clinical evidence of hypogonadism. Nine of the 10 men were azoospermic, as determined by multiple semen analyses. One man was oligozoospermic, with sperm counts ranging from $2-9 \times 10^6/\text{mL}$, with poor motility.

We also studied, as controls, twelve normal men, aged 24-41 who had normal histories and physical examinations; normal serum FSH, LH, and T levels; and normal semen analyses. Because Leydig cell function is stable in normal men between the ages of 20 and 50 yr^{9,10}, these men were not precisely age matched with the infertile men.

Experimental design

All studies were performed in an out-patient setting beginning between 8:30 and 9:00 h. Three blood specimens were obtained for measurement of serum LH, FSH, T, Estradiol (E_2) and sex hormone-binding globulin (SHBG) concentrations. The mean of the three measurements for a given hormone was used. This procedure provides a more accurate estimate of mean levels of hormones secreted episodically, such as LH and FSH. Serum FSH, LH, T, and E_2 levels were measured by radioimmunoassays. Serum SHBG-binding capacity was measured by a solid phase method using Concanavalin A-Sepharose, and the free T (FT) concentration was calculated using the SHBG-binding capacity and total T concentration.

Statistical methods

All results are expressed as the mean \pm SE. Statistical comparisons between groups were made by using Student's t test after logarithmic transformation to reduce heterogeneity of variance.

Results

The serum hormone levels of the infertile and

normal men are shown in Table 1. Since only infertile men who had elevations of serum FSH were selected for this study, it is not surprising that the mean serum FSH level in the patient group was 3 times higher than that in the normal men ($p < 0.0001$). The mean serum LH concentration of the patient group was higher than that in the normal men ($p < 0.001$). Similarly, although all infertile men had total serum T levels within the normal range, their mean serum T concentration was about two thirds that of the normal men ($p < 0.015$). While the SHBG and E_2 levels were not significantly different from those in the normal men, the patient's mean FT concentration was about 70 % that in the normal men ($P < 0.003$). There was a tendency for patients with higher FSH values to have lower FT concentrations; by linear regression, however, this trend was not statistically significant.

Discussion

Several clinical and experimental studies are characterized by a selective increase in FSH levels with normal or near-normal LH levels¹¹. This elevation of FSH occurs despite the fact that the only known gonadotropin-releasing hormone, LHRH, when administered as a single dose, stimulates LH secretion to a greater extent than FSH. This apparent paradox has led to the proposal of several mechanisms to explain selective FSH increases: (1) the action of a hypothalamic FSH-releasing hormone distinct from LHRH, (2) alteration in the pattern of GnRH pulses, (3) decreased gonadal production of inhibin, a nonsteroidal factor of seminiferous tubule origin, or (4) differential sensitivity of FSH and LH to testosterone feedback inhibition.

Despite extensive efforts to isolate a separate FSH-releasing factor, none has been discovered. Current evidence indicates that a single hypothalamic releasing hormone, GnRH, regulates the synthesis and secretion of both LH and FSH^{12,13}.

An alternative mechanism for the selective control of FSH secretion was suggested by the studies of Wildt et al¹⁴. Using ovariectomized, hypothalamus-lesioned monkeys, these investigators demonstrated that the relative blood levels of LH and FSH could

Table 1 Serum hormone levels in infertile patients and normal men

| Subject A no. | Age (yr) | LH (mIU/mL) | FSH (mIU/mL) | T (ng/dL) | E ₂ (pg/mL) | SHBG (μ g/mL) | FT (ng/dL) |
|-------------------------------------|----------|-------------|--------------|-----------|------------------------|--------------------|------------|
| Established laboratory normal range | | 1.8-5.2 | 2.9-8.2 | 270-1070 | 15-60 | 10-55 | 12-33 |
| Infertile patients | | | | | | | |
| 1 | 32 | 4.5 | 11.9 | 550 | 62 | 51 | 16.3 |
| 2 | 31 | 4.8 | 11.5 | 490 | 81 | 42 | 17.1 |
| 3 | 34 | 4.8 | 30.1 | 440 | 42 | 39 | 13.1 |
| 4 | 25 | 5.1 | 16.6 | 330 | 23 | 48 | 13.0 |
| 5 | 31 | 5.1 | 11.9 | 310 | 51 | 43 | 12.3 |
| 6 | 41 | 5.2 | 14.6 | 540 | 51 | 32 | 15.6 |
| 7 | 32 | 4.4 | 9.0 | 540 | 56 | 37 | 18.8 |
| 8 | 28 | 4.7 | 11.8 | 610 | 10 | 38 | 18.6 |
| 9 | 30 | 4.1 | 19.6 | 360 | 38 | 42 | 14.5 |
| 10 | 33 | 4.9 | 18.1 | 280 | 61 | 48 | 12.3 |
| Mean | 31.7 | 4.8 | 15.5 | 445 | 47.5 | 42 | 15.2 |
| Normal men | | | | | | | |
| 1 | 34 | 3.2 | 3.2 | 580 | 42 | 26 | 20.8 |
| 2 | 27 | 3.6 | 4.2 | 740 | 40 | 58 | 22.4 |
| 3 | 24 | 5.5 | 4.2 | 490 | 67 | 17 | 22.2 |
| 4 | 24 | 4.7 | 4.0 | 540 | 56 | 12 | 24.9 |
| 5 | 35 | 4.3 | 6.1 | 680 | 62 | 45 | 28.2 |
| 6 | 35 | 3.2 | 5.2 | 490 | 57 | 52 | 14.8 |
| 7 | 34 | 3.3 | 4.5 | 750 | 49 | 51 | 33.4 |
| 8 | 21 | 4.0 | 3.3 | 410 | 20 | 48 | 15.3 |
| 9 | 35 | 3.3 | 6.0 | 440 | 29 | 37 | 15.3 |
| 10 | 41 | 3.2 | 4.6 | 520 | 31.5 | 39 | 16.1 |
| 11 | 38 | 3.1 | 3.8 | 600 | 47 | 42 | 24 |
| 12 | 43 | 3.5 | 6.0 | 730 | 47 | 45 | 22.9 |
| Mean | 32.6 | 3.7 | 4.6 | 581 | 41.7 | 39.3 | 21.7 |
| P value | NS | 0.001 | 0.0001 | 0.015 | NS | NS | 0.003 |

NS: not significant

be controlled separately by the frequency of pulsatile exogenous LHRH administration. Slower pulse frequencies favored FSH secretion, while more rapid pulses favored LH secretion. Based on these observations, it is conceivable that men with selective elevations of FSH have a slower than normal pulse frequency of LHRH, which might result in their high FSH levels. On the other hand, we occasionally encountered the oligozoospermic patients with low T, increased LH and normal FSH. It is hypothesized that such men have more rapid than normal pulse frequency of LHRH.

The relative roles of sex steroids and nonsteroidal substances in the feedback regulation of gonadotropin secretion in the male is not clear. Despite the demonstration of protein substances of

Sertoli cell origin capable of selectively suppressing FSH secretion^{3,4}), studies in the rat⁶), dog⁷) and monkey⁸) clearly show that T alone can maintain FSH as well as LH concentrations in the normal range in the absence of the testes. These results thus raise a fourth possibility, namely that Leydig cell function may be altered in men with germinal cell loss and a selective increase in the FSH level. There is considerable but conflicting evidence regarding Leydig cell function in infertile but otherwise normal men. While some investigators have reported high serum concentrations of LH^{15,16}) and low total serum T levels¹⁷), others have found these hormones to be present in normal concentrations¹⁸).

In our study, we demonstrate that the free T and total T concentrations are reduced in subjects with

selectively increased serum FSH levels. Although their serum LH and T concentrations fall within the normal range, their mean serum LH level is higher and mean serum T concentration is lower than those of normal men. These observations suggest Leydig cell dysfunction. The decreased T and slightly increased LH levels suggest compensated Leydig cell insufficiency, which possibly contributes to the infertility.

Decker et al¹⁹⁾ examined the serum FSH response to short term manipulations of serum T levels in castrated rats. They found that increased T concentrations can suppress serum FSH levels in the absence of inhibin. Sherins et al¹²⁾ demonstrated that in the absence of the testis, selective increases in FSH concentration can be achieved by alterations in the testosterone/estradiol ratio when testosterone production is low. The same phenomenon was recognized in hypogonadal men treated with testosterone enanthate²⁰⁾. Weekly T injections maintained serum T, LH, and FSH levels in the normal range. When 400 mg of T was given at 4 week intervals, normal serum T levels were not maintained in the period immediately preceding the next injection. As the preinjection T concentration fell into the low normal range, the FSH level increased before a significant rise in serum LH.

These data suggest that testosterone is a major, if not the major, physiological inhibitor of FSH secretion. While our findings do not exclude a role for inhibin in regulating FSH secretion, they indicate that changes in testosterone alone may be sufficient to explain the selective increase in the serum FSH concentrations in men with severe germ cell injury.

References

- 1) Rosen SW and Weintraub BD, Monotropic increase of serum FSH correlated with low sperm count in young men with idiopathic oligospermia and aspermia. *J Clin Endocrinol Metab* 32: 410, 1971
- 2) Van-Thiel DH, Sherins RJ, Myers JrGH, et al., Evidence for a specific seminiferous tubular factor affecting follicle-stimulating hormone secretion in man. *J Clin Invest* 51: 1009, 1972
- 3) Baker HWG, Bremner WJ, Burger HC, et al., Testicular control of follicle-stimulating hormone secretion. *Recent Prog Horm Res* 32: 429, 1976
- 4) McCullagh DR, Dual endocrine activity of the testis. *Science* 76: 19, 1932
- 5) Franchimont P, Inhibin: from concept to reality. *Vitam Horm* 37: 243, 1979
- 6) Sherins RJ, Patterson AP, Brightwell D, et al., Alteration in the plasma testosterone: estradiol ratio: An alternative to the inhibin hypothesis. *Ann NY Acad Sci* 383: 295, 1982
- 7) Falvo V and Vincent DL, Testosterone regulation of follicle-stimulating hormone secretion in the male dog. *J Androl* 1: 197, 1980
- 8) Plant TM, Hess DL, Hotchkiss J, et al., Testosterone and the control of gonadotropin secretion in the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology* 103: 535, 1978
- 9) Stearns EL, MacDonald JA, Kauffman BJ, et al., Declining testis function with age: Hormonal and clinical correlates. *Am J Med* 57: 761, 1974
- 10) Harman SM and Tsitouris PD, Reproductive hormones in aging men. I. Measurements of sex steroids, basal luteinizing hormone, and Leydig cell response to human chorionic gonadotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 51: 35, 1980
- 11) Franchimont P, Bourguignon JP, Demoulin A, et al., Mechanisms which control the specific secretion of FSH and LH. In: Fabbrini A and Steinberger E eds. *Recent Progress in Andrology*. P21, Academic Press, 1978
- 12) Schally AV, Aspects of hypothalamic regulation of the pituitary. *Science* 202: 18, 1978
- 13) Kalra PS and Kalra SP, Control of gonadotropin secretion. In: Imura H ed. *The Pituitary Gland*. P189, Raven Press, 1985
- 14) Wildt L, Hausler A, Marshall G, et al., Frequency and amplitude of gonadotropin releasing hormone stimulating and gonadotropin secretion in the rhesus monkey. *Endocrinology* 109: 376, 1981
- 15) Dony JMJ, Smals AGH, Rolland R, et al., Differential effect of luteinizing hormone-releasing hormone infusion on testicular steroids in normal men and patients with idiopathic oligospermia. *Fertil Steril* 42: 274, 1984
- 16) Ruder HJ, Loriaux DL, Sherins RJ, et al., Leydig cell function in men with disorders of spermatogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 38: 244, 1974
- 17) De Kretser DM, Burger HG, Hudson B, et al., The hCG stimulation test in men with testicular disorders. *Clin Endocrinol Oxf* 4: 591, 1975
- 18) Franchimont P, Millet D, Vendrely E, et al., Relationship between spermatogenesis and serum gonadotropin levels in azoospermia and oligospermia. *J Clin Endocrinol Metab* 34: 1003,

1972

- 19) Decker MH, Loriaux DL and Cutler GB, A seminiferous tubular factor is not obligatory for regulation of plasma follicle-stimulating hormone in the rat. *Endocrinology*, 108: 1035, 1981
- 20) Synder PJ and Lawrence DA, Treatment of male hypogonadism with testosterone enanthate. *J Clin Endocrinol Metab* 51: 1335, 1980

**血清FSHの上昇を伴う
特発性男子不妊患者における
Leydig細胞の機能障害**

名古屋大学医学部泌尿器科学教室

山本雅憲 辻 克和 日比初紀
三宅弘治

いくつかの動物種において、除睾後テストステロンを投与し、その血中レベルを正常に維持することによりFSHとLHを正常に維持しうることが知られている。

このことは、FSHの分泌を制御するうえで、精細管内の因子は必ずしも必要ではなく、従ってFSHが上昇している不妊症患者においてはLeydig細胞の機能障害が存在する可能性を示唆している。この仮説を検証する目的で、血清FSHが上昇しLHとestradiolが正常である、性的に成熟した不妊患者10例と正常者12例を対象に血中テストステロン濃度を検討した。不妊患者群では血清テストステロンとLHのレベルは正常範囲内であったが、平均の血清テストステロン値は正常者群よりも有意に低く、平均血清LHの値は正常者群よりも有意に高かった。さらに不妊患者群では血清遊離テストステロン値は正常者群に比べ有意に低かった。しかし、性ホルモン結合蛋白とestradiolの値には、両者の間に差は認められなかった。以上の結果より、FSHのみが上昇している不妊症患者においては、テストステロン産生能は有意に低下していると考えられる。テストステロンにはFSH分泌抑制作用が知られている。従って精上皮障害による血清FSHの上昇は、精細管内の因子、すなわちインヒビンの存在の有無にかかわらず、テストステロンの低下に起因すると推測される。

(受付：1993年2月4日)

(受理：1993年6月3日)

GnRH agonist短期投与によるゴナドトロピン値の変化と 排卵誘発効果に関する検討

Gonadotrophin-releasing Hormone Agonist-induced Ovulation in Anovulatory Patients and Thier Hormonal Profile

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科

石原 理 飯野 好明 斉藤 正博
Osamu ISHIHARA Yoshiaki IHNO Masahiro SAITOH
関 博之 木下 勝之
Hiroyuki SEKI Katsuyuki KINOSHITA

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

無月経の若年未婚婦人27例(第1度5例および第2度22例)に対してGnRH agonistのBuserelin 7日間投与による排卵誘発を試みた。15例に血中estradiolの上昇を認め、13例に排卵を確認した。第2度無月経例のBuserelin投与前後で、LHは排卵例、無効例双方の多数で上昇したが、FSHは、上昇例が排卵例の8/10であるのに対し、無効例では6/12で低下した。Buserelinによる排卵誘発の可能性を投与前のLH、FSHの基礎値やLHRHテストの結果で予測することは、不可能であったが、卵胞発育例では、Buserelin投与後にLH/FSHがほぼ一定となり、順調な卵胞発育のため至適レベルの存在する可能性が示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 132 - 136, 1994)

緒 言

無月経あるいは無排卵症例に対して、従来 clomiphene citrate (以下クロミフェン), human menopausal gonadotrophin (hMG)-human chorionic gonadotrophin (hCG) 療法あるいはluteinizing hormone releasing hormone (LHRH) のpulsatile療法が行われている^{1,2)}。しかし、挙児希望のない未婚婦人の場合は、連日のhMG注射や、複雑なpulsatile療法は、実用性に乏しい。前回、クロミフェン無効の2度無月経症例に対して、投与方法が簡便であるgonadotrophin releasing hormone agonist (GnRH_a), buserelin (スプレキユア) によるflare up effect を利用した排卵誘発を試み、その有効例を報告したが³⁾、有効例と無効例の内分泌的背景の相違は明かでなかった。そこで、本稿では、buserelin有効例と無効例のLH-RH challenge test に対する反応性、投与後のgonadotrophin値などを比較検討した。

対象と方法

続発性無月経あるいは稀発月経を主訴として来院した、平均年齢22.1歳(18-25歳)の症例27例を対象とした。全例未婚の挙児希望のない症例で、無月経期間は2カ月から12カ月であった。症例には、まずLH-RH (100 μ g) およびTRH (500 μ g) の負荷試験によるLH、FSH、PRLの反応性およびEstradiol (E), Progesterone (P), Testosterone, Androstenedione, Estroneなどのsteroid hormoneの基礎値を測定後、P (25mg) を負荷した。これらの症例のうち5例はP負荷に対して消退出血をおこし、第1度無月経と診断した。しかし、他の22例は反応せず、引き続いて行うEおよびP負荷による消退出血後に投与したclomiphene citrate (100mg/day) 5日間投与にて卵胞発育およびEの上昇の認められない症例である。また、hyperprolactinemia, occult hyperprolactinemiaあるいは内分泌学的polycystic ovary syndrome (PCO) を呈する症例

は含まれていない。第2度無月経の22例のうち9例は、最近1年間に5から40kgの体重減少を伴っており、いわゆる体重減少性無月経の範疇に属するものと考えられる。また、全例に甲状腺機能screening検査としてfree T₃, free T₄, TSHを測定し、さらに必要に応じてreverse T₃やACTH, GHなどの下垂体ホルモンやcortisolなどの副腎機能についても検討した。

対象症例には、消退出血開始後第5日後よりBuserelinスプレー600ないし900μg/dayを1週間投与した。投与前後にE, P, LH, FSHを測定し、周期の12日目前後において、経腔あるいは経腔プローブを経直腸的に用いた超音波断層法により、卵胞発育を認めた症例においては経過を観察し、排卵まで超音波断層法により確認した。また、必要によりhCGを投与した。

結果

1週間のBuserelin投与後、27例中15例にEの上昇を認め、第1度無月経3例と第2度無月経10例に排卵を確認した。第2度無月経症例22例のBuserelin投与前後のLHを比較すると、図1のように排卵例では10例中9例、無排卵例では12例中7例で上昇した。一方、FSHは、排卵例で10例中8例で低下し、無効例では半数で投与終了時上昇した(図2)。Eは図3に示すように排卵例では全例上昇し、無効例では、ほとんど上昇しなかった。また、Buserelinによる排卵例と無効例の投与前に行ったLH-RH testの結果は図4のようである。無効例においてLH-RHに対する反応性の失われている症例が、多く認められるが、排卵例でも1例存在した。同様に第1度無月経症例5例Buserelin投

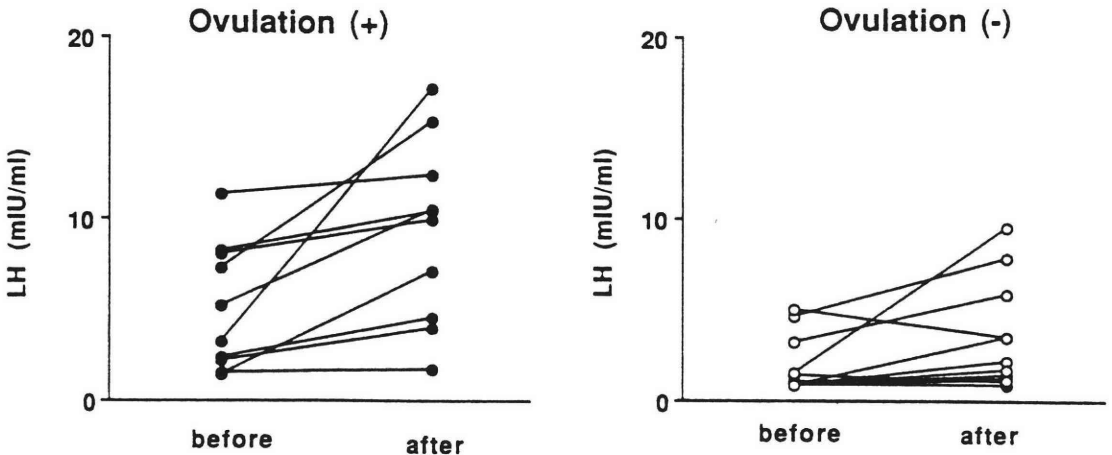


図1 第2度無月経症例におけるBuserelin投与前後のLH値—有効例と無効例の比較

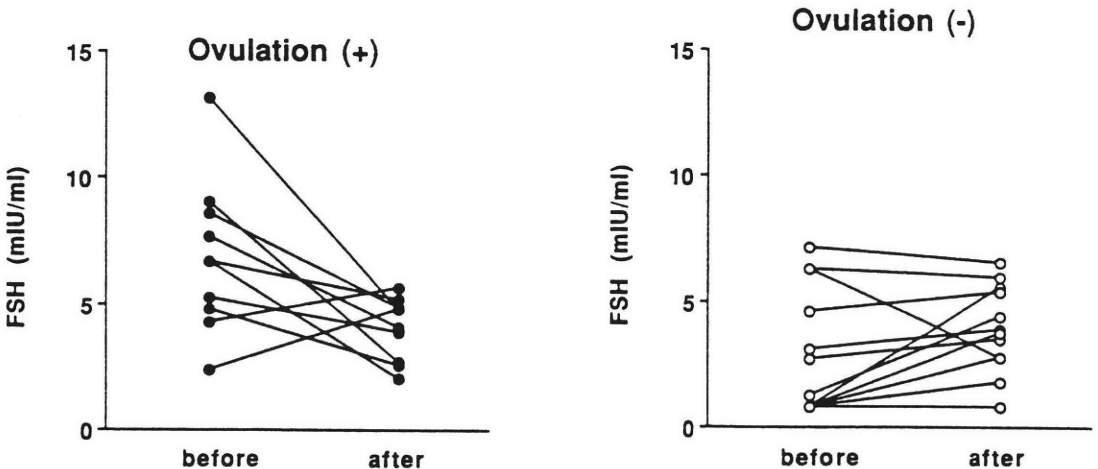


図2 第2度無月経症例におけるBuserelin投与前後のFSH値—有効例と無効例の比較

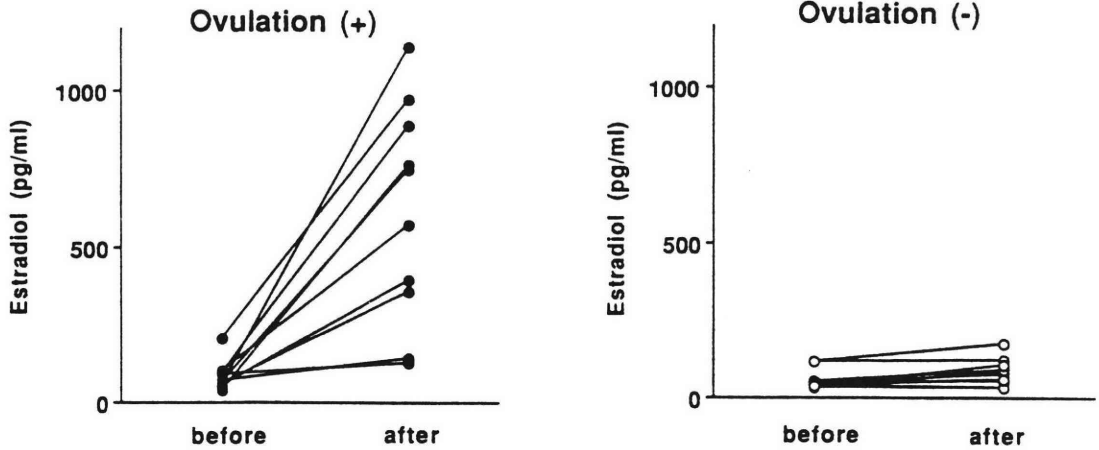


図3 第2度無月経症例におけるBuserelin投与前後のEstradiol値-有効例と無効例の比較

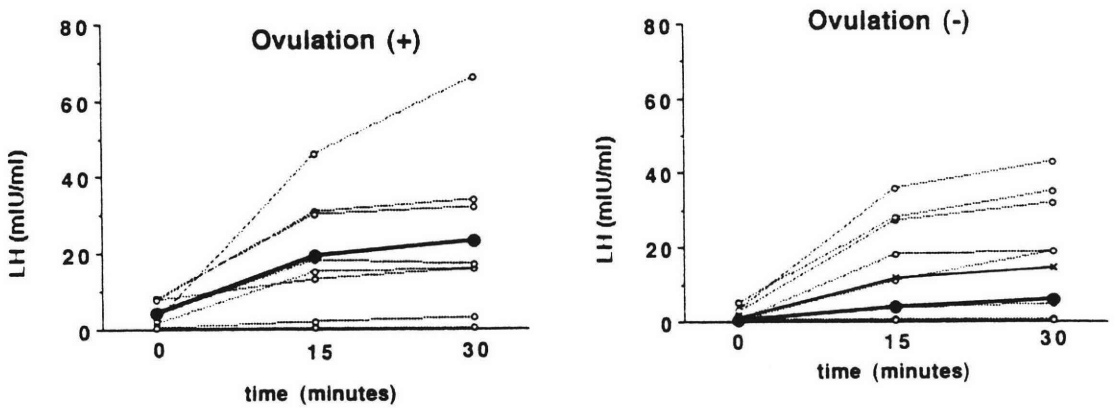


図4 Buserelin有効例と無効例のLHRH投与に対する反応性の比較(実線は平均値を, 破線は個々の症例の値を示す)

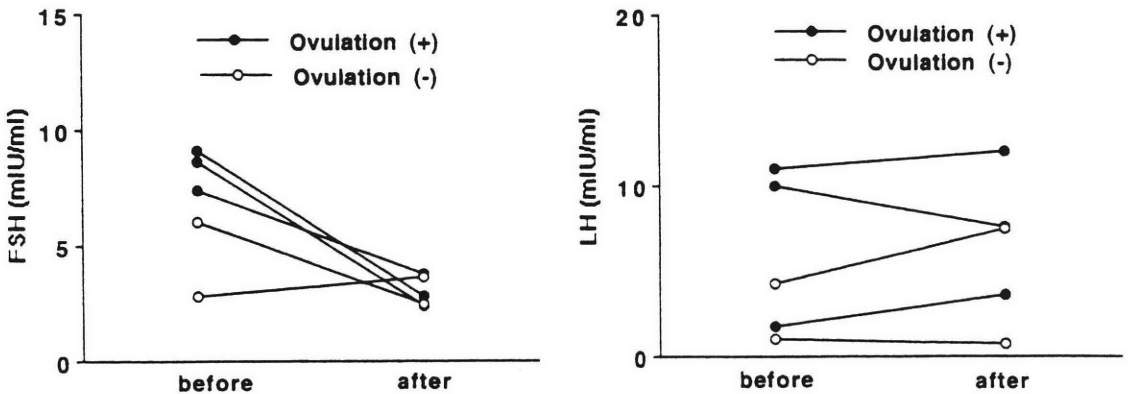


図5 第1度無月経症例におけるBuserelin投与前後のFSHおよびLH値-有効例と無効例の比較

与前後LHおよびFSHを見ると, 図5のように排卵例と無排卵例で一定の傾向は認められなかった。

Buserelin投与前後のLHを横軸にFSHを縦軸にとつてプロットすると, 投与前は, LHとFSHに相関関係

が存在しないのに対して, 投与後は排卵例においてのみ $y = 0.20x + 1.92$ ($r = 0.626$) と有意な ($p < 0.05$) 相関関係が認められた(図6)。

個々の症例のLH/FSHを検討すると, 排卵例におい

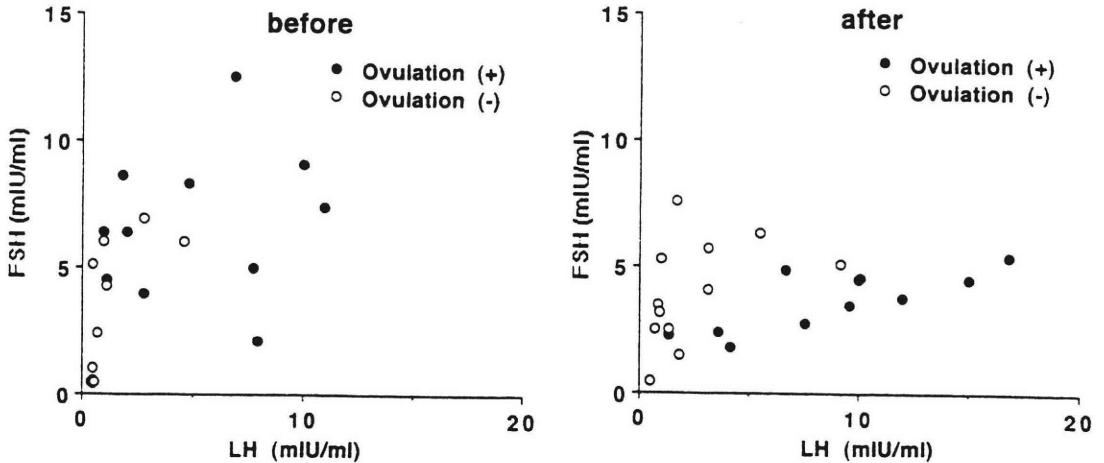


図6 Buserelin投与前後のLHとFSHの相関
Buserelin有効例では投与後のLHおよびFSHに有意な相関を認める(本文参照)

ては、投与前に 0.97 ± 1.00 (range: 0.16-3.76)であったのに対し、投与後 2.29 ± 0.82 (0.57 - 3.33)となった。しかし、無排卵例では、それぞれ 0.63 ± 0.36 (0.10 - 1.11)と 0.66 ± 0.47 (0.19 - 1.80)と変化がなかった。

考 察

Buserelinは、そのflare up effectを利用して (short protocol), hMGに併用する方法が、IVF-ETなどの卵巣刺激として用いられている。しかし、buserelin単独による排卵誘発は、効果が不確実で、その有効な症例を選択することが困難であるため、薬剤の開発初期にのみ検討されたに過ぎない⁴⁾。我々³⁾は以前に報告したように、clomiphene無効の第2度無月経症例の中に、Buserelin単独で排卵を起こす症例のあることを報告したが、その内分泌背景の特徴は不明であった。

今回症例数を増加して検討しても、図1のように、LHは、排卵の有無にかかわらずBuserelin投与により上昇する例があるが、無効例では、LH基礎値の低い症例が多い傾向がある。一方、FSHは、排卵例では2例を除き低下傾向にあるが、無効例では1例を除き上昇あるいは不変である(図2)。FSHのこの変化は、LHが抑制されていないことから、下垂体のdesensitizationではなく、卵巣発育後のestrogen上昇によるnegative feedbackの結果である可能性が高いと思われるが、Menon⁵⁾らがhypergonadotropicな症例で報告しているように、FSHのみが先にdown regulationされている可能性も否定は出来ない。また、当然のことながらEは、排卵例で全例上昇している(図3)。

今回、Progesteroneの投与に対して反応する第1度無月経症例に対しても、同様の試みをしたが、必ずしもBuserelinに対して反応せず、第2度無月経症例同様、排卵例では、FSHの低下が見られた。これらのことは、Buserelin投与による卵巣発育および排卵誘発可能な症例は、LH、FSHの基礎値からは推測することは困難であることを示唆している。そこで、排卵誘発可能例と無効例のLH-RH testによるLHおよびFSH反応性を比較したところ、平均すると無効例に反応性が低い傾向はあるものの、個々の症例で見ると、反応性に一定の傾向は認められない。したがって、Buserelinに反応して卵巣発育が見られるかどうか、あらかじめ予測することは、LH、FSHの基礎値やLH-RH testからは不可能である。

さらに、Buserelin投与後において、卵巣発育の認められる症例では、LHおよびFSHがほぼ一定の比率で存在する。すなわち、Buserelinによりgonadotrophinが単に上昇するのみでは、卵巣発育のためには不十分であり、順調な卵巣発育のために、LH/FSHが至適レベルに調節されることが必要であることを示唆すると思われる。従って、今回の検討結果から、正常排卵周期における内因性のgonadotrophinのみに依存した卵巣発育では、内因性feedbackによるLH/FSHなどの調節機構が機能している可能性も考えられ、今後、正常排卵周期を有する女性における詳細な検討が必要と思われる。

文 献

- 1) Leyendecker G, Struve T, Plotz EJ, Induction of

ovulation with chronic treatment (pulsatile) administration of LH-RH in women with hypothalamic and hyperprolactinemic amenorrhea. Arch Gynecol 229: 177, 1980

- 2) Leu JH, Yen SCC, The use of gonadotropin-releasing hormone for the induction of ovulation. Clin Obst Gynecol 27: 975, 1984
- 3) 石原 理, 飯野好明, 齊藤正博 他, GnRHagonist のゴナドトロピン放出刺激作用を用いた無排卵治療と負荷試験としての有用性について. 日本内分泌学会誌 69: 102, 1993
- 4) Friedrich E, Baumann R, Brandau H, et al., Induction of ovulation with D-Ser(TBU)⁶ LHRH 1-9EA (HOE766) by intranasal application. Neuroendocr Lett 3: 53, 1981
- 5) Menon V, Edwards RL, Lynch SS, et al., Luteinizing hormone releasing hormone analogue in treatment of hypergonadotrophic amenorrhea. Br J Obstet Gynaecol 90: 539, 1983

**Gonadotrophin-releasing hormone
agonist-induced ovulation in anovulatory
patients and their hormonal profile**

Osamu Ishihara, Yoshiaki Ihno, Masahiro Saitoh,
Hiroyuki Seki and Katsuyuki Kinoshita

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

The study was undertaken to investigate the effect of 7 days administration of gonadotrophin releasing hormone agonist (GnRHa) (Buserelin) to the amenorrhic women on the hormonal profile and the ovulation. The ovulation was successfully induced in thirteen out of 27 cases with increased serum estradiol levels. The basal gonadotrophin levels and the pattern of LHRH challenge test of the patients with successful ovulation were variable and it seems difficult to sort out the effective cases by GnRHa from the anovulatory patients. However, LH/FSH ratio at the time of cessation of GnRHa in ovulatory patients was within constant range (mean \pm SD: 2.29 \pm 0.82), suggesting the existence of optimal LH/FSH ratio for the adequate follicular growth.

(受付: 1993年 8月 2日)

(受理: 1993年 11月 15日)

当科における反復流産患者の臨床統計

Clinical Study on Recurrent Abortions in Our Clinic

札幌医科大学医学部産婦人科学講座

(主任：工藤隆一教授)

| | | |
|------------------|---------------|----------------|
| 山本 弘 | 金谷 美加 | 井上 雄子 |
| Hiroshi YAMAMOTO | Mika KANAYA | Yuko INOUE |
| 森 悟子 | 木谷 保 | 福江 ひろみ |
| Satoko MORI | Tamotsu KIYA | Hiromi FUKUE |
| 藤井 美穂 | 遠藤 俊明 | 田中 昭一 |
| Miho FUJII | Toshiaki ENDO | Shoichi TANAKA |
| | 工藤 隆一 | |
| | Ryuichi KUDO | |

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Sapporo Medical University, Sapporo 060, Japan

当科を受診した2回以上の自然流産の既往をもつ反復流産患者(61名)を対象に原因および治療成績について臨床統計を行い次の結果を得た。

HSGで子宮内腔の異常を認めた子宮形態異常症例(子宮奇形)の頻度は7%、夫も含めた均衡転座型染色体異常の頻度は8.5%であった。何らかの自己抗体を有し自己免疫が流産の原因と考えられる症例は約20%であったが、そのうちの三分の一は抗リン脂質抗体症候群であった。黄体機能不全はおおよそ40%の症例にみとめられた。また、いわゆる原因不明反復流産患者(黄体機能不全例を含む)は約70%であった。

夫リンパ球による免疫療法の成功率は原因不明反復流産患者では88%と非常に良かったが、流産の原因を有する症例(黄体機能不全例を除く)での成功率は25%と悪かった。自己免疫異常症例にプレドニン、アスピリン、柴苓湯の投与を行ったが、これらの治療法は非常に有効であり、全症例が分娩または妊娠継続中である。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 137 - 143, 1994)

緒 言

不育症とは妊娠するが流早産を繰り返して生児が得られないことを言う。その多くは連続3回以上の自然流産の既往を持つ習慣流産患者である。しかし、臨床的には2回反復する自然流産(反復流産)も習慣流産と同様に広義の不育症の中に入れてその原因の検索や治療を行うことが多い。不育症の原因は着床から妊娠維持機構の異常に起因するが、最近この分野の研究が盛んに行われ、免疫学的異常による流産が注目されている¹⁻¹⁰⁾。この免疫学的異常とは

抗リン脂質抗体症候群に代表される自己免疫疾患と免疫的妊娠維持機構の破綻によるものがあるが、前者に対してはプレドニンなどの抗血栓療法^{1-5,11,12)}が、後者に対しては主として夫リンパ球による免疫療法⁵⁻¹⁰⁾が行われ、その高い有効性が報告されている。今回我々は当科を受診した2回以上の自然流産の既往を持つ反復流産患者を対象に原因および治療成績などについて統計的検討を行った。

対象および方法

1989年から1992年までの4年間に当科を受診した

2回以上の流産の既往を持つ61組の夫婦を対象とし、その流産原因別頻度や免疫療法および抗血栓療法の治療成績を検討した。当科では反復流産の諸検査に活性化部分トロンボプラスチン時間 (aPTT) の測定を取り入れており、現在は全例でループスアンチコアグラント (LAC) および抗カルジオリピン抗体 (ACA) を測定しているが、以前はaPTTが延長している症例でのみLACとACAを測定していた。当院でのaPTTの正常値は 32.1 ± 9 秒であるが、当科での習慣流産患者では37秒以上をaPTT延長症例としている。血中のLACおよび抗リン脂質抗体はエスアールエル社に委託し測定した (コファクターを添加していない)。免疫療法の適応は原因不明反復流産患者および夫リンパ球とのクロスマッチングでWarm B抗体とCold B抗体陰性症例としている。その方法は、夫リンパ球をFicol-Conray法で分離し、リンパ球濃度を $3.0 \sim 5.0 \times 10^7$ 個/mlとし、その1mlを皮内接種する。免疫療法は2~4週ごとに2回行い、皮膚反応の縮小が認められない場合にはさらに追加免疫を行う。妊娠したるべく早めに免疫療法を1回追加する。妊娠しない場合は1年に1回免疫療法を追加している。黄体機能不全の診断基準は黄体期中期の血中progesterone値が 10ng/ml 以下あるいはestradiol値が 100pg/ml 以下とし¹³⁾、治療はhCGを投与し効果のない症例はクロミフェン投与やhMG-hCG療法を行っている。有意差検定はStudent's t testで行い危険率5%以下

を有意水準とした。

結 果

1. 対象患者の背景および妊娠歴 (表1)

初診時の平均年齢は 31.1 ± 4.0 歳 (21~39歳)であった。30歳未満は36.1% (22例)、30歳以上35歳未満は42.6% (26例)、35歳以上は21.3% (13例)であった。生児のいない原発性反復流産患者は86.9% (53例)、生児のいる続発性反復流産患者は13.1% (8例)であった。平均流産回数は2.3回 (2~4回)で、流産回数2回の症例が78.7% (48例)と最も多かった。流死産率は94.6% (141/149妊娠)であった。流産時期は妊娠4ヶ月以下が最も多く96.5% (136/141妊娠)であった。

2. 原因別頻度 (表2, 3)

表2に示した症例の中には、流産原因を2個以上有している症例が存在する。

子宮の形態異常を示す症例で流産の原因となると考えられる子宮卵管造影で子宮内腔の異常を認めた症例は7.0% (4/57例)であり、双角子宮の3例、中隔子宮の1例であった。また、子宮内腔に異常を認めない子宮筋腫を4.9% (3/61例)に認めた。頸管無力症の症例はなかった。

内分泌異常を認めた症例は黄体機能不全が43.1% (22/51例)、インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) が2.3% (1/58例)であった。甲状腺機能異常や高プロラクチン血症の症例はなかった。

表1 対象患者の背景および妊娠歴

| | |
|-----------|--------------------------------|
| 1 初診時年齢 | 平均年齢 31.1 ± 4.0 歳 (21~39歳) |
| | 30歳未満 22例 (36.1%) |
| | 30~35歳 26例 (42.6%) |
| | 35歳以上 13例 (21.3%) |
| 2 原発性反復流産 | 86.9% (53組) |
| 続発性反復流産 | 13.1% (8組) |
| 3 流産回数 | 平均2.3回 (2~4回) |
| | 2回 78.7% (48例) |
| | 3回 11.5% (7例) |
| | 4回 9.8% (6例) |
| 4 流死産率 | 94.6% (141/149妊娠) |
| 5 流産時期 | 妊娠4ヵ月まで 96.5% (136/141妊娠) |
| | 妊娠5~7ヵ月まで 3.5% (5/141妊娠) |

表2 原因別頻度

| | |
|----------------------------|----------------|
| 1. 子宮形態異常* | 7.0% (4/57例) |
| 双角子宮 | 3例 |
| 中隔子宮 | 1例 |
| *HSGで子宮内腔の異常を認める症例 | |
| 2. 内分泌異常 | |
| 黄体機能不全 | 43.1% (22/51例) |
| 糖尿病(NIDDM) | 2.3% (1/58例) |
| 3. 染色体異常 | 8.5% (5/59組) |
| 相互転座 | 3例 |
| ロバートソン転座 | 2例 |
| 4. 自己抗体陽性例 | 19.7% (12/61例) |
| 抗リン脂質抗体症候群 | 6.6% (4/61例) |
| 橋本病 | 1.6% (1/61例) |
| Sjögren症候群 | 1.6% (1/61例) |
| ITP | 1.6% (1/61例) |
| 抗マイクログローム抗体 | 1.6% (1/61例) |
| 抗核抗体のみ | 6.6% (4/61例) |
| 5. 原因不明反復流産 (黄体機能不全を含む) | 68.9% (42/61例) |

HSG:子宮卵管造影

ITP:特発性血小板減少性紫斑病

流産の原因となる染色体異常は8.5% (5/59組)に見つかり、相互転座3例とロバートソン転座2例であった。正常変位と考えられる逆位は3例(5.1%)に認められた。

自己抗体陽性で自己免疫が原因と考えられる症例は19.7% (12/61例)であった。その内訳は抗リン脂質抗体症候群の6.6% (4/61例)、橋本病、Sjögren症候群、ITPおよび抗マイクログローム抗体陽性の症例がそれぞれ

表3 自己抗体陽性症例

| | |
|---------------------|----|
| 1. 抗リン脂質抗体症候群 | 4例 |
| LAC+ACA (IgM) | 1例 |
| LAC+ACA (IgG)+ANA | 1例 |
| ACA (IgG) | 1例 |
| ACA (IgM) | 1例 |
| 2. ANAのみ陽性 | 4例 |
| 3. Sjögren症候群 | 1例 |
| 抗SS-A抗体+ANA | |
| 4. 橋本病 | 1例 |
| 抗thyroglobulin抗体 | |
| 5. ITP | 1例 |
| 抗血小板抗体 | |
| 6. 抗microsome抗体のみ陽性 | 1例 |

LAC:ループスアンチコアグulant

ACA:抗カルジオリピン抗体

ANA:抗核抗体

れ1例(1.6%)、抗核抗体のみ陽性例は6.6% (4/61例)であった。黄体機能不全以外の何らかの流産の原因を有する症例は31.1% (19例)であり、その他の68.9% (42例)はいわゆる原因不明反復流産患者であった。

3. 反復流産夫婦のHLAのclass II抗原の特異性共有率(表4)

原因不明反復流産夫婦間のHLAのDRおよびDQ座の特異性共有率は65.9%および65.9%であり、何らかの流産原因を有する夫婦間でDRおよびDQ座の特異性共有率は84.2%および73.7%であった。原因不明反復流産夫婦間でclass II抗原の一致率は高いとは言えなかった。しかし、両群ともにDRおよびDQ座の特異性共有率は基礎共有率¹⁴⁾(DR座:35.1%, DQ座:51.6%)より有意に高かった。

表4 HLAのclass II抗原の特異性共有率

| | 原因不明反復流産夫婦 | 原因を有する反復流産夫婦 | 基礎共有率 |
|-----|-----------------|-----------------|-------|
| DR座 | 65.9% (27/41例)* | 84.2% (16/19例)* | 35.1% |
| DQ座 | 65.9% (27/41例)* | 73.7% (14/19例)* | 51.6% |

*p<0.05

基礎共有率:2人の個人が偶然に特異性を各座で1個以上共有する確率

表5 Warm B抗体およびCold B抗体陰性率

| | 原因不明反復流産夫婦 | 原因を有する反復流産夫婦 |
|------------|----------------|-----------------------|
| Warm B抗体陰性 | 95.1% (39/41例) | 84.2% (16/19例) p<0.05 |
| Cold B抗体陰性 | 58.5% (24/41例) | 63.2% (12/19例) |

4. Warm B抗体とCold B抗体 (表5)

黄体機能不全以外の何らかの流産の原因を有する症例と有しない症例でのWarm BおよびCold B抗体の陰性率を比較検討した。Warm B抗体陰性例は原因不明反復流産例の95.1%，何らかの原因を有する例の84.2%であり原因不明反復流産例で有意に多かった。しかし、Cold B抗体の陰性率は両群で差はなかった。

5. その他の検査異常 (表3, 6)

aPTTが延長していた症例は14.3% (8/56例)であり、この全例が自己抗体を有し、流産の原因として自己免疫が推測される症例であった。抗リン脂質抗体症候群が4例、橋本病が1例、抗核抗体のみ陽性例が3例であった。aPTT延長の自己抗体陽性に対する感度は100%，特異度は91.7%，正診率は92.9%であり、aPTTの測定は反復流産患者の原因検索に非常に有用であった。抗核抗体陽性例は13.3% (6/45例)であり、この中にはSjögren症候群と抗リン脂質抗体症候群が各1例含まれている。(表3)

6. 免疫療法の成功率 (表7)

免疫療法を54例に施行し、免疫療法後に妊娠した症例は33例(子宮外妊娠の1例を除く)でこの内21例が分娩し生児を得ており、3例が妊娠中である。この妊娠中の症例を含めた免疫療法の成功率は72.7% (24/33例)であった。流産した症例は27.3% (9/33例)であったが、この内6例は何らかの流産の原因を有する症例であった。また、免疫療法後に妊娠した症例のいわゆる原因不明反復流産患者と何らかの流産の原因を有する患者でのその妊娠の予後を検討した。原因不明反復流産患者の免疫療法の成功率は

88.0% (22/25例)であり、流産原因を有する患者の成功率は25.0% (2/8例)で、流産原因を有する患者での免疫療法の成功率は非常に悪かった。抗核抗体陽性(2症例)例とマイクロゾーム抗体陽性(1症例)例で免疫療法したにもかかわらず流産してしまったが、この3症例は2回目の妊娠では次で述べる抗血栓療法を行い、2例は生児を得、1例は妊娠中である。

7. 自己抗体を有する反復流産患者に対する抗血栓療法の成功率

自己抗体を有する反復流産患者8例にプレドニン単独、プレドニン・アスピリン併用、柴苓湯単独などの抗血栓療法を施行した。患者の内訳は抗リン脂質抗体症候群の4例、抗核抗体のみ陽性の3例およびマイクロゾーム抗体のみ陽性の1例である。この内7例が妊娠し、5例が分娩し生児を得、2例は妊娠中である。流産した症例はなく抗血栓療法の成功率は100%であった。

考 察

習慣流産とは自然流産を連続3回以上繰り返すことと定義されている¹⁵⁾。この根拠としてMalpas¹⁶⁾が、連続して自然流産を繰り返す婦人は既往流産回数が増加すればするほど自然流産率が上昇し、連続3回自然流産の既往のある婦人の次回妊娠時の自然流産率は73%に急激に上昇するとの報告による。しかし、近年の晩婚傾向により今回の我々の成績が示す様に初診時年齢が30歳以上の症例が多くを占めることや流産回数が増すほど次回も流産する確率が高くなることなどの理由で早期の検査治療を行う必要性が生じ、連続2回の流産の既往を有するいわゆる反復流産患者も習慣流産患者と同様に扱われている。

習慣流産の治療はその流産の原因検索を充分に行い、子宮の形態異常(奇形、子宮筋腫、頸管無力症など)に対し手術療法、内分泌異常(黄体機能不全、甲状腺機能異常、糖尿病、高プロラクチン血症など)に対する薬物療法、染色体異常患者へのカウンセリング

表6 活性化部分トロンボプラスチン時間延長症例

| aPTT延長例 | 14.3% (8/56例) |
|------------|---------------|
| 抗リン脂質抗体症候群 | 4例 |
| 橋本病 | 1例 |
| 抗核抗体のみ陽性 | 3例 |

表7 免疫療法の成績

| 原因不明反復流産症例 | | 流産原因のある症例 | | 全妊娠例 | |
|------------|-----|----------------|--------------|----------------|----|
| 妊娠例 | 25例 | 8例 | | 33例 | |
| 分娩 | 19例 | 2例 | | 21例 | |
| | | 88.0% (22/25例) | 25.0% (2/8例) | 72.7% (24/33例) | |
| 妊娠中 | 3例 | 0例 | | 3例 | |
| 流産 | 3例 | 12.0% (3/25例) | 6例 | 75.0% (6/8例) | 9例 |
| | | | | 27.3% (9/33例) | |

ング、自己免疫が推測される症例に対するプレドニンなどによる抗血栓療法、免疫的妊娠維持機構の破綻が原因と考えられるいわゆる原因不明習慣流産に対する免疫療法が行われている。

我々の反復流産の原因別頻度や治療成績と諸家の報告とを比較検討した。子宮奇形(双角子宮および中隔子宮)を7.0%に認めた。牧野ら¹⁷⁾は15.7%に子宮内腔の形態異常を認めたと報告し、我々の頻度の2倍である。しかし、彼らの成績では弓状子宮がもっとも多く双角子宮および中隔子宮の頻度は4.2%と報告しており我々の成績と一致している。

流産の原因となる均衡転座型染色体異常の頻度は4~7.1%と報告^{18~20)}されているが、我々の成績も8.5%と同程度であった。5.1%に逆位が見つかったが、逆位は正常変異であり流産の原因とはならないと報告されている¹⁸⁾。

黄体機能不全は43.1%の症例に認められた。文献では黄体機能不全の頻度は20~40%と報告されており^{21,22)}、我々の成績はやや高率であった。この頻度の差は黄体機能不全の診断基準の差によるためかもしれない。

何らかの自己抗体を有している症例は19.7%であったが、牧野ら²⁰⁾は10.7%が自己抗体陽性例であると報告しており、我々の陽性率に比べ低かった。この原因として我々の症例の中に抗血小板抗体陽性のITPの症例と抗サイログロブリン抗体陽性の橋本病と抗マイクロゾーム抗体陽性例が含まれているため我々の陽性率が高かったと考えられる。牧野ら²⁰⁾は橋本病を甲状腺機能異常症例の中に分類している可能性がある。

最近、抗リン脂質抗体症候群による流産が注目されている。Scottら²⁾はLAC陽性症例の91%(220/242妊娠)が流死産したと報告している。当科の症例では2例(3.3%)でLACが検出された。習慣流産患者でのLACの陽性率は50例以上を検討している文献では2%~9%と報告され^{5,23,24)}、我々の成績も同様であった。LACは γ -globulin分画に存在しIgGまたはIgM classに属する自己抗体であり、in vivoでは凝固系を亢進させ血栓症をおこすがin vitroではaPTTを延長させる。このため習慣流産のスクリーニング検査にaPTTが用いられているが、牧野ら²⁰⁾は不育症患者の5.7%でaPTTが延長していたと報告している。我々の成績ではaPTTが延長していた症例は14.3%と高率であった。この理由としてaPTTの正常値上限を下げたために延長症例が多くなったと考えられる。aPTTの正常値上限を下げることでaPTT延長症例の全例で自

己抗体が検出された。ACA、特にIgG抗体陽性で流産率が高いと報告されている²⁸⁾。50例以上を検討している報告では7.7~42.4%にACAが検出されたとし、報告による差が大きい。しかし、10%前後の報告が多く^{5,23,25~27)}、我々の6.6%の成績はやや低かった。当科では全例でACAを測定していないためこのような結果が出たと思われる。抗核抗体陽性は6例(9.8%)であった。諸家の報告^{20,23,24,29)}では5~37%で抗核抗体が陽性であり、我々の陽性率も同様であった。

原因不明習慣流産患者に対する免疫療法の成功率は70~80%である^{5,7~10)}。我々の成績も88.0%であり、原因不明習慣流産患者に対する免疫療法は非常に有効な治療法である。原因不明習慣流産夫婦間のHLA、特にclass II抗原の一致率が高いとの報告がある⁸⁾。しかし、藤井ら³⁰⁾は習慣流産夫婦間のclass II抗原の一致率は高率ではないが、class II抗原が一致していない夫婦間においても免疫療法は有効であると報告している。今回の我々の成績も原因が推測された症例と原因不明症例での夫婦間のclass II抗原の特異性共有率を比較検討したが、原因不明症例でclass II抗原の一致率は高いとは言えなかった。しかし、対象の全症例夫婦間でのclass II抗原の特異性共有率は基礎共有率より有意に高かった。このことは原因が推定された習慣流産患者においても流産の原因はひとつではなく、免疫療法の適応がある流産症例も含まれている可能性がある。このような症例の治療は原因治療および免疫療法の両者を行う必要があり、原因治療を行わず免疫療法のみでの治療では流産に終わる可能性が高いと考えられる。

自己免疫が原因と考えられる症例にプレドニンやアスピリンの単独、さらに両者の併用および柴苓湯を投与しその高い有効性が報告されている^{1~5,11,12,31,32)}。Scottら²⁾はLAC陽性例でのプレドニン、アスピリン併用療法の成功率を69%と報告している。我々は2例のLAC陽性例にプレドニン単独あるいはアスピリン併用療法を行い1例が分娩し生児を得、1例は妊娠中である。LAC活性の測定よりもELISA法で測定するACAの方が感度が良い。このためACA陽性にもかかわらずLACが陰性の症例が出るが、今回の我々の成績でもこのような症例が2例あったが、そのうち1例にプレドニンを投与し生児を得ている。

まとめ

いわゆる原因不明反復流産患者はおおよそ70%を占めた。この原因不明反復流産患者に対する夫リン

パ球による免疫療法の成功率は約90%であり、非常に有効な治療法である。しかし、何らかの流産原因を有する症例に対する免疫療法の成功率は25%と低く免疫療法以外に流産原因に対する治療を同時に行うべきである。また、自己免疫異常が原因と考えられる症例は約20%存在し、これらの症例に対するプレドニン、アスピリンや柴苓湯による抗血栓療法の成功率は100%であり、非常に有効であった。

本論文の要旨は、第37回日本不妊学会総会(東京1992)で発表した。

文 献

- 1) Derksen RH, Bouma BN and Kater L, The striking association between lupus anticoagulant and fetal loss in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum* 29: 695, 1986
- 2) Scott JR, Rote NS and Branch DW, Immunologic aspects of recurrent abortion and fetal death. *Obstet Gynecol* 70: 645, 1987
- 3) Gleicher N and El-Roeiy A, The reproductive autoimmune failure syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 159: 223, 1988
- 4) 平成3年度厚生省心身障害研究班報告(妊娠の異常発現予知と対策に関する研究), 反復流産の原因とその治療に関する研究—自己免疫異常の妊孕動態とその対策に関する研究—, p179, 1990
- 5) 豊島 究, 牧野恒久, 杉 俊隆 他, 標準抗血清を用いた, 抗リン脂質抗体症候群の診断と流産予後の判定. *日産婦誌* 43: 253, 1991
- 6) Taylor C and Faulk WP, Prevention of recurrent abortion with leucocyte transfusions. *Lancet* 2: 68, 1981
- 7) Mowbray JF, Gibbings C, Liddell H, et al., Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunisation with paternal cells. *Lancet* 1: 941, 1985
- 8) Beer AE, Quebbeman J F, Ayers JWT, et al., Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans. *Am J Obstet Gynecol* 141: 987, 1985
- 9) 八神喜昭, 青木耕治, 習慣流産の免疫療法. *産と婦* 56: 2418, 1989
- 10) Takakuwa K, Goto S, Hasegawa I, et al., Result of immunotherapy on patients with unexplained recurrent abortion: A beneficial treatment for patients with negative blocking antibodies. *Am J Reprod Immunol*, 23: 37, 1990
- 11) Lubbe WF, Butler WS, Palmer SJ, et al., Fetal survival after prednisone suppression of maternal lupus-anticoagulant. *Lancet* 1: 1361, 1983
- 12) Branch DW, Scott JR, Kochenour NK, et al., Obstetric complications associated with the lupus anticoagulant. *N Engl J Med* 313: 1322, 1985
- 13) 下谷保治, 田中昭一, 橋本正淑, 黄体機能不全の病因・診断・治療について. *産婦の実際* 35: 1543, 1986
- 14) 古山将康, HLAと不育症. *臨床婦人科産科* 45: 23, 1991
- 15) 日本産科婦人科学会, 産科婦人科用語解説集, p164, 金原出版, 1988
- 16) Malpas P, A study of abortion sequence. *J Obstet Gynecol Br Empire* 45: 932, 1938
- 17) 牧野恒久, 岩崎賢一, 杉 俊隆 他, 反復自然流産における各原因頻度の統計的検討. *日産婦誌* 43: 1642, 1991
- 18) 佐藤孝道, 流産の予後判定 染色体異常の視点から. *産婦の世界* 43: 153, 1991
- 19) 藤本征一郎, 不妊症(習慣流・死産)と染色体異常. *産婦の世界* 39: 519, 1987
- 20) 牧野恒久, 豊島 究, 飯塚理八, 習慣流産のホルモン療法 抗リン脂質抗体症候群を中心に. *産婦の治療* 60: 286, 1990
- 21) 山下三郎, 黄体機能不全と不育症. *臨婦産* 45: 20, 1991
- 22) 八神喜昭, 花田征治, 習慣流産とその予後. *産婦治療* 60: 303, 1990
- 23) Cowchock S, Smith JB and Gocial B, Antibodies to phospholipids and nuclear antigens in patients with repeated abortions. *Am J Obstet Gynecol* 155: 1002, 1986
- 24) 北川博之, 松浦俊平, 習慣性流産における自己免疫抗体. *産婦の治療* 63: 230, 1991
- 25) Lockwood CJ, Reece EA, Romero R, et al., Antiphospholipid antibody and pregnancy wastage. *Lancet* 2: 742, 1986
- 26) Tincani A, Cattaneo R, Martinelli M, et al., Antiphospholipid antibodies in recurrent fetal loss: only one side of the coin? *Clin Exp Rheumatol* 5: 390, 1987
- 27) Unander AM, Norberg R, Hahn L, et al., Anticardiolipin antibodies and complement in ninety-nine women with habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol* 156: 114, 1987
- 28) Shimada K, Koike T, Ichikawa K, et al., IgG class anti-cardiolipin antibody as a possible marker for evaluating fetal risk in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 2: 843, 1989
- 29) 高桑好一, 田中憲一, 自己免疫疾患と不育症. *臨婦産* 45: 27, 1991
- 30) 藤井知行, 高見澤勝, 川名 尚 他, 初期習慣流産の夫リンパ球による免疫療法とその評価法に関

する研究. 日産婦誌 41: 115, 1989

- 31) Locksnin MD, Druzin ML and Qamar T, Prednisolone does not prevent recurrent fetal death in women with antiphospholipid antibody. Am J Obstet Gynecol 160: 439, 1989
- 32) 高桑好一, 楊 丙辰, 後藤重則 他 自己抗体陽性不育症患者に対するツムラ柴苓湯投与に関する検討. 産婦人科漢方研究のあゆみ, 第8巻, 診断と治療社, 73, 1991

Clinical study on recurrent abortions in our clinic

Hiroshi Yamamoto, Mika Kanaya, Yuko Inoue,
Satoko Mori, Tamotsu Kita, Hiromi Fukue,
Miho Fujii, Toshiaki Endo, Shoichi Tanaka
and Ryuichi Kudo

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Sapporo Medical University,
Sapporo 060, Japan

Sixty-one patients who had had more than two spontaneous abortions were evaluated to investigate the cause of abortion and outcome of treatment. The results

were as follows.

Abnormal findings of the uterine cavity were found by hysterosalpingography in 7% of the patients. The incidence of chromosomal anomalies (3 reciprocal and 2 Robertsonian translocations) was 8.5%. The rate of patients who had autoantibodies was approximately 20%. One-third of these patients had antiphospholipid antibody syndrome. About 40% of the patients had luteal insufficiency. Except for luteal insufficiency, about 70% of the patients were diagnosed as having unexplained recurrent abortion.

Immunotherapy, that is subcutaneous injection of husband's lymphocytes, proved effective in 88% of the patients with unexplained recurrent abortion. However, except for those with luteal insufficiency, 75% of the patients with a known cause of abortion aborted again in spite of immunotherapy. The patients positive for autoantibodies were administered for antithrombotic therapy prednisolone, aspirin or Saireito. All of these patients delivered or pregnancy is ongoing.

In conclusion, immunotherapy for patients with unexplained recurrent abortion and antithrombotic therapy for patients positive for autoantibodies were remarkably effective.

(受付: 1993年9月17日)

(受理: 1993年11月18日)

第2度無月経への温経湯-メサルモン-F® 併用療法時の内分泌変動

Endocrinologic Studies of Combined Use of Unkei-to(TJ-106) with Metharmon -F® in Women with 2nd Grade Amenorrhea

大阪医科大学産科婦人科学教室

後山 尚久
Takahisa USHIROYAMA

坪倉 省吾
Shogo TSUBOKURA

植木 実
Minoru UEKI

杉本 修
Osamu SUGIMOTO

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

排卵障害に対する温経湯単独投与、およびそれに引き続くメサルモン-F®の併用による内分泌変動を、下垂体性ゴナドトロピンの律動性分泌を含めて検討した。

第2度無月経10例に、ツムラ温経湯(7.5g/日)を10週間投与し、その後メサルモン-F®(3錠/日)を併用投与し、血中ホルモン値の変動をみた。血中FSH、LH値は温経湯単独投与により投与前値のそれぞれ3.04倍、2.32倍に増加した。さらにそれに引き続くメサルモン-F®の併用により、投与前値のそれぞれ3.73倍、4.78倍に増加した。血中E₂値は温経湯単独により1.93倍、メサルモン-F®の併用で7.31倍に増加した。また温経湯単独投与、およびそれに引き続くメサルモン-F®の併用により、ゴナドトロピンの律動性分泌の段階的な改善が認められた。これらより、温経湯-メサルモン-F®併用療法が第2度無月経の有効な治療法のひとつになる可能性が示された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 144 - 148, 1994)

緒言

排卵障害や更年期不定愁訴症候群の治療において、漢方薬は古くから用いられてきた。最近、温経湯の排卵障害への有効性が基礎的、臨床的に検討され、その作用機序がしだいに明らかになってきた¹⁻³⁾。ヒトでの臨床的検討では、温経湯単独療法³⁾やクロミフェンとの併用療法⁴⁾で良好な排卵成績が得られている。また若年の体重減少性無月経例のホルモン値改善にも温経湯の効果が認められた⁵⁾。

本研究では、第2度無月経例に対する温経湯単独療法で排卵に至らない症例にホルモン値改善効果を有するメサルモン-F®⁶⁾を併用し、その内分泌変動を

ゴナドトロピンの律動性分泌を含めて検討した。

対象および方法

対象は、続発性の第2度無月経22例である。未婚者は21例(19~30歳、平均年齢22.1±3.0歳)で、既婚者は1例(27歳)である。未婚者のうち11例は体重減少性無月経であった。上記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22症例に消退出血7日目からツムラ温経湯(7.5g/日)を単独投与し、そのうち10例は10週間の温経湯単独投与後、引き続きメサルモン-F®の併用療法を12週間行い、内分泌変動をみた。残り12例(対照

群)は温経湯単独投与を22週間行い、メサルモン-F®併用療法群と比較検討した。また同意を得た患者4例に対し、消退出血の5～8日目、温経湯単独投与10週終了後、およびメサルモン-F®併用12週後に15分間隔で3時間にわたり採血しFSH、LHの律動性分泌を検討した。

血中FSH、LH値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。エストラジオール(E₂)は、Sorin Biomedica社製(仏)のキットにて、二抗体法によるRIAで測定した。ゴナドトロピンの律動性分泌は前値から平均×2×intraassay C.V.以上急峻に上昇した場合とした。ただし、ゴナドトロピン値の基礎値が2 IU/ml以下の場合、数値の変動があっても律動性と認定しなかった。各種ホルモン値はStudent's t testにより検定し、P valueが0.05以下であるものを‘有意’とした。

成績

1. 第2度無月経に対する温経湯単独およびメサルモン-F®併用時の血中ホルモン値の経日的変化(図1)

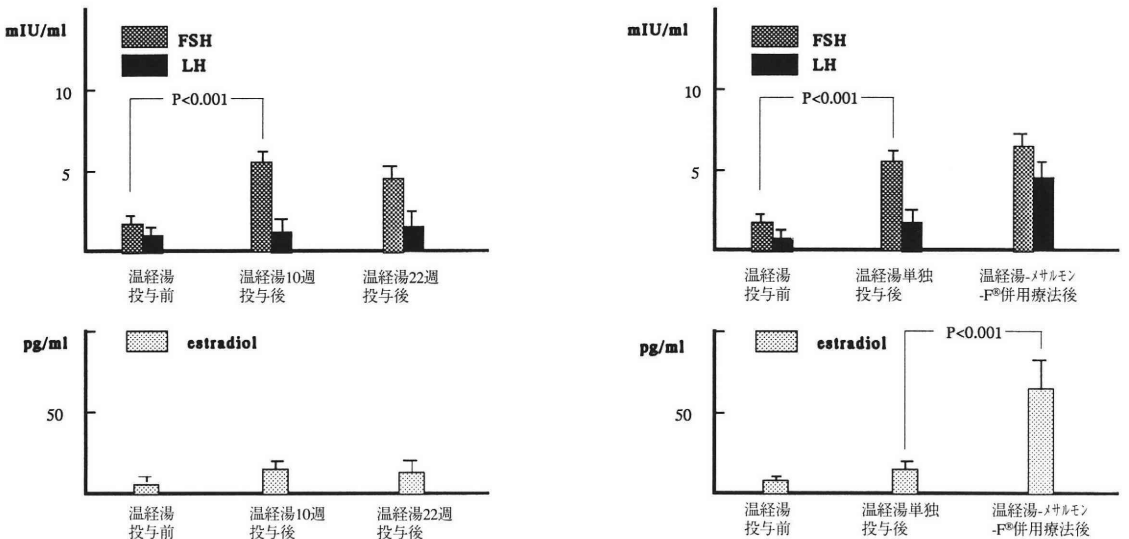
温経湯投与前、単独投与後およびメサルモン-F®併用投与後の血中FSH、LHおよびエストラジオール値の平均値を比較した。温経湯単独投与により、LHの血中レベルの増加はわずかであったが、FSHは投与

前値(1.78±1.1mIU/ml)に比較し、3.04倍(5.42±1.2mIU/ml)に有意に増加した(P<0.001)。エストラジオール値も投与前値(9.10±3.5pg/ml)の1.93倍(17.6±16.7)に増加したが、25pg/mlには満たなかった。引き続きメサルモン-F®併用により、LH値が単独療法後の2.06倍(4.16±3.1mIU/ml)に増加し、エストラジオール値が3.78倍(66.5±44.8mIU/ml)に有意(P<0.001)に増加した。

これに対し温経湯単独投与を22週間続けた群(対照群)では、投与10週目に投与前に比較し、LHの血中レベルの増加がわずかにみられ、FSHは投与前値(1.98±1.1mIU/ml)の2.97倍(5.88±1.3mIU/ml)に有意(P<0.001)に増加した。エストラジオール値は投与前値(7.99±4.1pg/ml)の2.5倍(20.0±14.3)に増加した。単独投与22週目では、投与10週目に比較し、LHはほぼ同値を呈したが、FSHとエストラジオールの平均値は軽度の低下を示した。

2. 第2度無月経に対する温経湯単独およびメサルモン-F®併用時のゴナドトロピン律動性分泌の変化(図2)

4例の第2度無月経例に対し、温経湯投与前、単独投与後、およびメサルモン-F®併用療法後にゴナドトロピンの律動性分泌のパターンを比較した。温経湯投与前は全例においてFSHとLHの基礎値はきわめて低く、律動性が欠如していた。FSHは温経湯単独



温経湯単独療法 (n=12)

温経湯単独療法およびその後の温経湯—メサルモン-F®併用療法 (n=10)

図1 温経湯単独療法およびその後の温経湯—メサルモン-F®併用療法におけるホルモン値の経日的変化

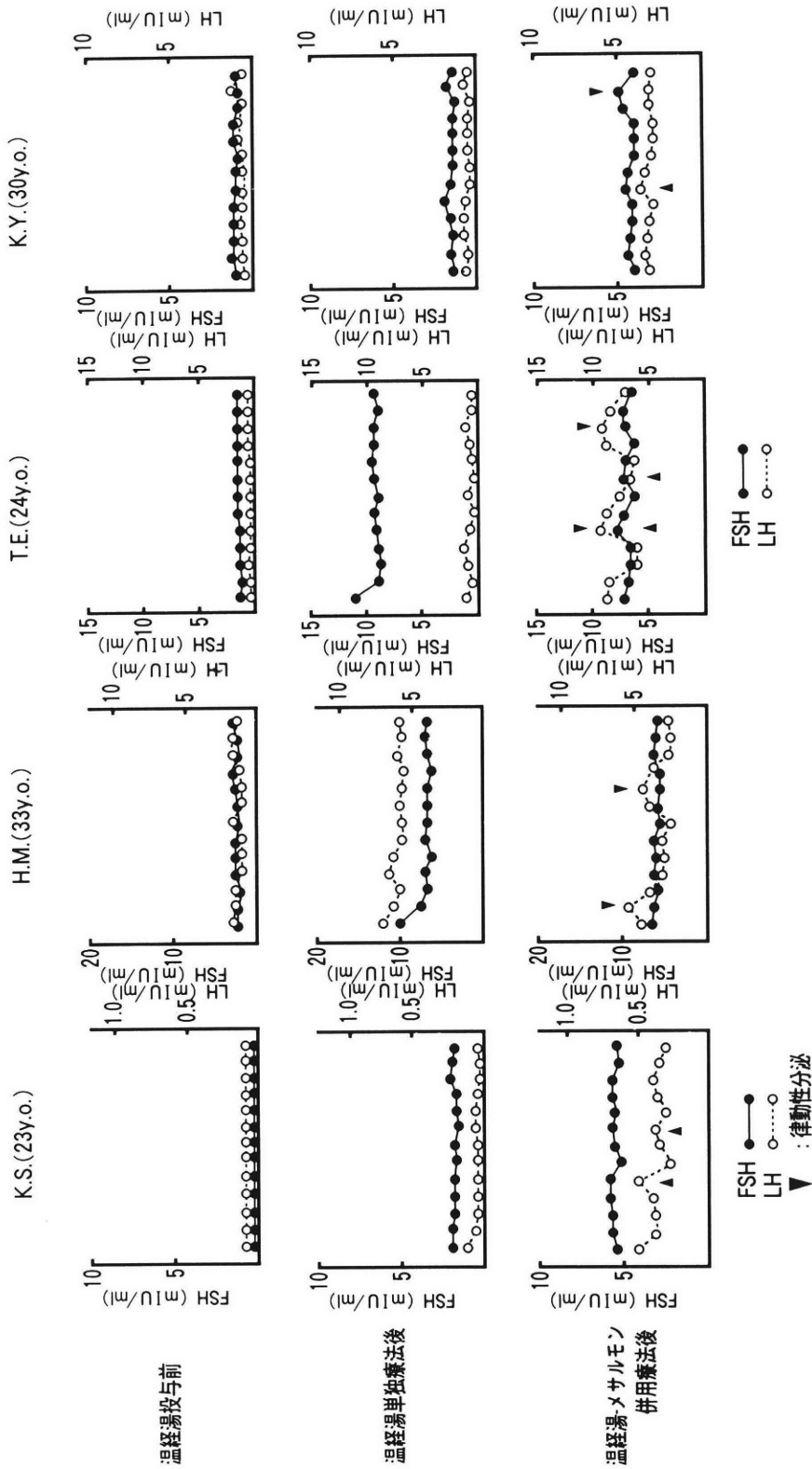


図2 温経湯単独療法およびそれに引き続き温経湯-メサルモン-F^β併用療法によるゴナドトロピン律動性分泌の変化

投与後に全例の基礎値が上昇し、メサルモン-F®併用療法後にはそのうち2例に律動性が出現した。LHは温経湯単独投与後に、基礎値の上昇が1例にみられ、メサルモン-F®併用療法後には単独投与で基礎値に変化がみられなかった3例にもその上昇がみられ、全例において1~2回/3hの律動性分泌が出現した。

考 察

排卵障害や更年期不定愁訴例への漢方薬の効果はよく知られている。排卵障害に効果がある薬剤としては、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-下垂体系への促進作用)、芍薬甘草湯(プロラクチン抑制作用)などが従来より臨床応用されている。温経湯の視床下部-下垂体系への促進作用、あるいはプロラクチン抑制作用に関しては最近の基礎的^{1,2)}、臨床的研究^{7,8)}により明らかになってきた。

三宅ら⁹⁾は、*in vitro*でラットの間脳・下垂体の連続灌流により、温経湯がLH分泌を増加させるが、下垂体のみ灌流すると増加が認められないと報告した。一方Taketaniら²⁾はラットの下垂体細胞の培養系を用いて温経湯をメディアウムに加えると、LH、FSHの産生と放出がみられることで、温経湯の下垂体前葉細胞への直接作用を論じている。さらにプロラクチンの分泌を抑制することも報告している。ヒトでは、著者の検討で温経湯が排卵障害例(第1度、第2度、および体重減少性無月経)においてゴナドトロピンの律動性分泌を改善し、LH、FSHともにその分泌動態を正常化するとともに、プロラクチン値も正常化することを報告した^{3,5)}。また、黄体機能の明らかな改善効果を有することも観察している⁹⁾。

ゴナドトロピンの律動性分泌が排卵に大きく関与することはよく知られており、代謝性ホルモン剤であるメサルモン-F®も温経湯同様に、排卵障害例の律動性分泌を改善することが知られている⁶⁾。今回は温経湯単独投与で排卵に至らなかった10例の第2度無月経患者に対して、温経湯-メサルモン-F®併用療法を行った。温経湯単独療法では、投与10週でFSH値が増加したが、そのまま12例において単独療法をさらに12週間継続したところ、LHはほぼ同値で、FSH、エストラジオールの平均値は軽度の低下を示した。これに対し、引き続きメサルモン-F®との併用ではLH値が増加し、それに伴ってエストラジオール値も増加が認められた。ゴナドトロピンの律動性分泌は全例で改善され、メサルモン-F®との併用を行うことにより特にLHの律動性の正常化がみられた。こ

れにより第2度無月経例の治療として、温経湯(7.5g/日)の単独投与(10~12週程度)で、十分な血中LH値の増加が認められない場合は、メサルモン-F®併用療法を試みることにより、律動性分泌の改善を含めた血中LHの分泌の正常化がはかれる可能性が示された。

温経湯による排卵成績については、楠原⁷⁾らは温経湯の単独投与で、第1度無月経患者では31.5%、無排卵周期症では60%の排卵率を得ている。著者ら⁸⁾は以前に10週間の温経湯の単独投与で28.6%(8/28)、それに引き続きクロミフェンとの併用を加えると82.1%(23/28)の排卵率を得た。温経湯単独療法にて排卵しなかった第2度無月経例へのメサルモン-F®併用療法では、併用開始12週までに4例(40.0%)に排卵が認められた。残り6例は現在併用療法を続け、治療経過を観察しているが、さらに症例を蓄積し、他の治療法との排卵成績の比較を試みたいと考えている。

以上、体重減少性無月経を含む第2度無月経例への温経湯-メサルモン-F®併用療法での内分泌変動と排卵成績につき報告した。温経湯とメサルモン-F®は、それぞれが排卵障害患者の間脳・下垂体・卵巢系の賦活作用を持つが、若干異なった作用機序があると思われる。その併用によりゴナドトロピン律動性分泌を含めた内分泌動態の良好な改善が得られるものと考えられる。今後の新しい排卵障害の治療法として試みても良いのではないと思われる。

文 献

- 1) 三宅 侃, 田坂慶一, 大塚志郎 他, 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
- 2) Taketani Y, Kugu K, Hayashi N, et al., Action of Unkei-to(TJ-106) on cultured rat pituitary cells, in Recent Advances in the pharmacology of Kambo (Japanese herbal) Medicines. p184, Excerpta Medica, 1988
- 3) 後山尚久 他, 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
- 4) 吉本泰弘, 三宅 侃, 田坂慶一 他, 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
- 5) 後山尚久 他, 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-. 日不妊会誌 36: 787, 1991
- 6) 後山尚久, 佐伯理男, 好川元庸 他, 排卵障害に

対するMetharmon -F[®]投与による血中ホルモン値の変動—ゴナドトロピンの律動性分泌の検討を含めて—。ホと臨床 36:1315, 1988

- 7) 楠原浩二, 松本和紀, 横山 敬 他, 未婚の排卵障害婦人に対する温経湯の効果, 産婦人科漢方研究のあゆみ 1:17, 1984
- 8) 後山尚久, 坪倉省吾, 佐伯理男 他, 未婚の続発性無月経例への温経湯の効果—内分泌変動と治療成績—。産婦の進歩 44:633, 1992
- 9) 後山尚久, 坪倉省吾, 杉本 修, 温経湯の黄体機能改善効果について。漢方医学 17:314, 1993

Endocrinologic studies of combined use of Unkei-to (TJ-106) with Metharmon -F[®] in women with 2nd grade amenorrhea

Takahisa Ushiroyama, Shogo Tsubokura
Minoru Ueki and Osamu Sugimoto

Department of Obstetrics and Gynecology,
Osaka Medical College, Osaka 569, Japan

Kampo (Japanese herbal) medicines have been reported to be effective in the treatment of menstrual disorders or climacteric disorders. In this paper, we

investigated the effects of combined use of Unkei-to (TJ-106) and Metharmon -F[®] on hormonal profiles of 10 patients with 2nd grade amenorrhea. Furthermore, 4 of 10 patients have been studied for the pulsatile pattern of gonadotropin secretion after administration of Unkei-to alone or its combination with Metharmon -F[®].

Unkei-to induced significant increases of plasma FSH level by 3.04 times ($P < 0.001$). Combined use of Unkei-to with Metharmon -F[®] induced increases of plasma LH level by 2.06 times and significant increase of estradiol level by 3.78 times ($P < 0.001$). On the other hand, the patterns of pulsatile FSH and LH secretion remarkably changed following the combined treatment of Unkei-to with Metharmon -F[®]. This combined therapy produced FSH and LH pulses in 2 (50.0%) and all (100.0%) of 4 patients, respectively, who had no pulses before the treatment with Unkei-to. Four of 10 patients (40.0%) who did not ovulate by Unkei-to alone ovulated after the combined treatment of Unkei-to with Metharmon -F[®].

These results indicate that combined use of Unkei-to with Metharmon -F[®] is effective on the improvement of gonadotropin pulsatile secretion in the treatment of 2nd grade amenorrhea by enhancing FSH secretion and pituitary response to GnRH or improving the pulsatile secretion of GnRH.

(受付: 1993年9月17日)

(受理: 1993年11月19日)

男子性腺機能低下症に対する治療法の検討

Hormone Therapy of Male Hypogonadism

金沢大学医学部泌尿器科学教室

天 野 俊 康
Toshiyasu AMANO

徳 永 周 二
Shuji TOKUNAGA

打 林 忠 雄
Tadao UCHIBAYASHI

大 川 光 央
Mitsuo OHKAWA

Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University,
Kanazawa 920, Japan

性腺機能低下症と診断された60例(高ゴナドトロピン性(高G)22例, 低ゴナドトロピン性(低G)38例)を対象とし, 検討を加えた。治療前の精液所見では, 高G10例中10例, 低G12例中6例が無精子症であった。高Gの12例がテストステロン(T)補充療法を受け, 男性ホルモン不全徴候には有効であったが, 67%は治療が中断された。低Gの初回治療は, LH-RH療法10例, hCG+hMG療法7例, T療法7例であった。7ヵ月以上LH-RH療法をした9例中7例に, 二次性徴の発現, 増強, 精液所見も6例中5例が改善された。しかし50%は, 1ヵ月~5年4ヵ月後に治療継続不能であった。hCG+hMG療法後, いずれも血中T値の改善が認められ, 1例で2児の挙子が得られた。しかし40%は, 治療後10ヵ月~5年6ヵ月後に中止またはT投与に変更となった。T療法は, 男性ホルモン不全徴候にのみ効果的であったが, 73%は現在も治療継続中である。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 149 - 155, 1994)

緒 言

性腺機能低下症は, ゴナドトロピンの刺激の欠如した低ゴナドトロピン性(低G)と, 精巣自体の機能不全とそれに伴うゴナドトロピン増加を認める高ゴナドトロピン性(高G)に大別される¹⁾。性腺機能低下症の治療は, その障害部位に応じて治療方法が選択される。しかし, 男性ホルモン不全徴候に対しては一定の効果が認められるが, 造精機能に関しては必ずしも満足のいくものではない²⁾。今回我々は, 性腺機能低下症の臨床的観察を行い, それら症例に対する治療法につき検討したので報告する。

対象および方法

1985年1月より1993年4月までの8年4ヵ月間に, 金沢大学医学部附属病院泌尿器科を受診した患者のうち, 性腺機能低下症と診断された60例を対象とし,

これらの症例の初診時の年齢, 主訴, 臨床所見および内分泌所見などにつき検討した。さらに性腺機能低下症に対する治療法につき追跡調査し, 臨床所見, 内分泌所見, 造精機能などの変化および治療の継続性につき検討した。

結 果

1. 主訴と初診時年齢(図1)

初診時年齢6歳以下の2例(3.3%)は, 停留精巣の手術の際, 精巣が小さく, 染色体検査にてKlinefelter症候群と診断された³⁾。

外陰部の発育不全など二次性徴の欠如を主訴としたものは26例(43.3%)で, 10歳代後半から20歳代が大半を占めた。

不妊症を主訴としたものは, 13例(21.7%)で, 20歳代後半から30歳代に集中していた。

血尿, 会陰部不快感など性腺機能低下症以外の訴

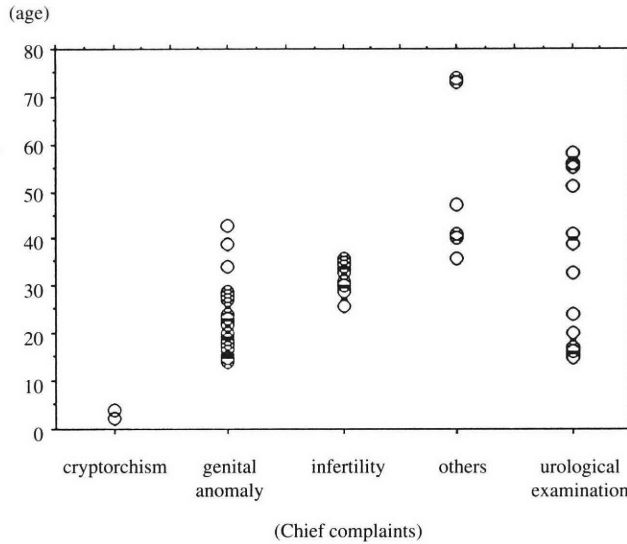


図1 主訴と初診時年齢
初診時年齢により主訴に差が認められた

表1 性腺機能低下症の原因

| 高ゴナドトロピン性性腺機能低下症 | |
|------------------|-------------|
| Klinefelter症候群 | 15(68.2%) |
| 精巣への血流障害(術後) | 2(9.1%) |
| 両側精巣摘除術後 | 2(9.1%) |
| 精巣萎縮(原因不明) | 2(9.1%) |
| Werner症候群 | 1(4.5%) |
| 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 | |
| 視床下部性 | 8(21.1%)* |
| 下垂体性 | 2(5.3%) |
| 腫瘍性病変 | 14(36.8%)** |
| 原因不明 | 14(36.8%) |

*Kallman症候群4例を含む

**脳腫瘍5例, 下垂体腫瘍4例, 松果体3例, 頭蓋咽頭腫2例

えて当科を受診し, 初めて性腺機能低下症と診断された6例(10.0%)は, いずれも36歳以上であった。さらに, 他科疾患で精査加療中に性腺機能の評価など依頼され当科を受診した13例(21.7%)の初診時年齢は, 5歳から58歳までと広い分布を示した。

2. 性腺機能低下症の分類(表1)

対象となった60例の性腺機能低下症症例をゴナドトロピンの値などから, 高G性腺機能低下症と低G性

腺機能低下症に分類した。

60例のうち22例が, 高Gと考えられた。その内訳は, 15例(68.2%)が染色体検査にてKlinefelter症候群と診断された³⁾。2例(9.1%)は, 精巣への血流障害(両側鼠径ヘルニア術後および腹腔内精巣に対する自家移植後の精巣自然退縮)が原因と考えられ, 他の2例(9.1%)は, 両側精巣腫瘍および両側精巣上体結核による両側精巣摘除術後症例であった。その他, 原因不明の精巣萎縮を認めた症例が2例, 皮膚の萎縮と角化および外生殖器發育不全を伴ったWerner症候群が1例認められた。

残りの38例は, 低Gと考えられた。hCGおよびLH-RHテストの結果や臨床症状, 既往歴などよりこれら38例中, 視床下部性と考えられたものは8例(21.1%)あり, うち4例は嗅覚低下を伴うKallman症候群であった。その他, 下垂体性と考えられたものは2例(5.3%), 脳腫瘍によるものが5例(13.1%), 下垂体腺腫が4例(10.5%), 松果体腫瘍3例(7.9%), 頭蓋咽頭腫2例(5.3%)で, 腫瘍性病変によるものが, 計14例(36.8%)を占めた。なお, 精査が不十分であったり患者が検査を拒否したなどの理由により, 病変部位あるいは原因不明であったものは14例(36.8%)であった。

3. 精巣容量および精液所見

60症例中59例における治療前の精巣容量は, 高Gの22例では0~7.9(平均1.7±1.9)mlに分布していた。一方, 低Gの38例中37例は0.3~15.5(5.3±4.2)mlに分

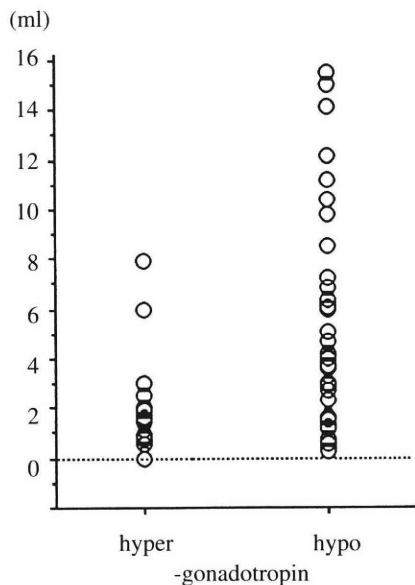


図2 治療前の精巣容量
治療前の精巣容量を示す。10ml以上は、いずれも低ゴナドトロピン性であった。

布していた(図2)。これら患者中精巣容量が10mlを越えるものは5例認められ、いずれも低G症例であった。その内訳は、視床下部の障害による性腺機能低下症と診断されたものが3例、下垂体腺腫による

高プロラクチン血症、原因不明が各1例であった。

治療前に精液検査が施行されたものは、22例であった。高Gでは10例に施行され、全例無精子症であった。一方、低Gの12例のうち6例が無精子症であり、2例が精子数 $1 \times 10^6/ml$ 以下の高度乏精子症、2例が $20 \times 10^6/ml$ 以下の乏精子症であった。他の2例はそれぞれ $96 \times 10^6/ml$ 、 $114 \times 10^6/ml$ と正常範囲内の精子数を示した。この2症例は脳腫瘍および下垂体腫瘍による性腺機能低下症例であった。

4. 初回治療法の検討

高G22例のうち、12例(54.5%)ではテストステロン(T:テストピロンデポー、日本シェーリング)の補充療法が施行されていた。他の10例(45.5%)は、未治療であった(表2)。

低Gの38例の初期治療に関しては、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(LH-RH:ヒボクライン、田辺製薬)による治療を受けたものが10例(26.3%)、ゴナドトロピン(hCG:プレゲニール、日本オルガノンおよびhMG:ヒュメゴン、日本オルガノン)療法が7例(18.4%)、Tを投与されたものが7例(18.4%)、無治療のものが14例(36.9%)であった(表3)。

5. ホルモン治療後の臨床および検査成績の推移ならびに治療法の継続性について

前述したホルモン治療を受けた高G12例および低G24例につき、その臨床的効果、検査成績の変動、

表2 高ゴナドトロピン性性腺機能低下症の治療法について

| 症例 | 診断名 | 治療開始年齢 | 初回治療 | (投与期間)→転帰およびその後の治療法 | 自覚症状 | 治療後のT値 (ng/dl) |
|----|-------------|--------|------|---------------------|------|----------------|
| 1 | Klinefelter | 36 | T療法 | (9Y0M)→継続中 | 改善 | 325.0~615.8 |
| 2 | 〃 | 31 | 〃 | (8Y7M)→継続中 | 〃 | 86.0~355.6 |
| 3 | 〃 | 36 | 〃 | (4M)→継続中 | 〃 | 123.8~161.4 |
| 4 | 〃 | 35 | 〃 | (9Y3M)→中断 | 〃 | 34.0~178.8 |
| 5 | 〃 | 20 | 〃 | (8Y0M)→中断 | 〃 | 204.4~589.2 |
| 6 | 精巣萎縮 | 15 | 〃 | (5Y9M)→中断 | 〃 | 40.3~110.0 |
| 7 | 精巣血流障害 | 15 | 〃 | (3Y9M)→中断 | 〃 | 53.6~230.9 |
| 8 | Klinefelter | 20 | 〃 | (2Y5M)→中断 | 〃 | 20.0~39.1 |
| 9 | 〃 | 30 | 〃 | (2Y3M)→中断 | 〃 | 77.2~167.0 |
| 10 | 両側精巣摘除後 | 27 | 〃 | (2M)→継続中 | 〃 | |
| 11 | Werner | 41 | 〃 | (2M)→継続中 | 〃 | |
| 12 | Klinefelter | 33 | 〃 | (1M)→継続中 | 〃 | |
| 13 | | | | | | |
| ~ | | | 無治療 | | | |
| 22 | | | | | | |

表3 低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の治療法について

| 症例 | 診断名 | 治療開始年齢 | 初回治療 | (投与期間)→転帰および その後の治療法 | 自覚症状 | 治療後のT値 (ng/dl) |
|----|----------|--------|-----------|--------------------------------------|------|-------------------|
| 1 | 下垂体性(?) | 24 | LH-RH療法 | (5Y1M)→継続中 | 改善 | 63.9~549.6 |
| 2 | 松果体腫瘍 | 24 | 〃 | (5Y0M)→継続中 | 〃 | 333.0~1508.0 |
| 3 | 脳腫瘍 | 24 | 〃 | (3Y5M)→継続中 | 〃 | 41.4~698.0 |
| 4 | 視床下部性 | 18 | 〃 | (7M)→継続中 | 〃 | 391.0~983.5 |
| 5 | 脳腫瘍 | 17 | 〃 | (4M)→継続中 | 改善なし | 22.2 |
| 6 | 松果体腫瘍 | 16 | 〃 | (3Y11M)→中断 | 改善 | 67.6 |
| 7 | 視床下部性 | 19 | 〃 | (3Y2M)→中断 | 〃 | 67.2~466.8 |
| 8 | 〃 | 19 | 〃 | (2Y7M)→中断 | 〃 | 105.6 |
| 9 | 〃 | 20 | 〃 | (1M)→hCG+hMG(2Y1M) →LH-RH(3M)→中断 | | 51.9~1237.2 |
| 10 | 下垂体腫瘍 | 28 | 〃 | (6Y1M)→T(6M)中断 | 改善なし | 22.5~244.0 |
| 11 | 視床下部性 | 23 | hCG+hMG療法 | (4Y8M)→継続中 | 改善 | 667.0 |
| 12 | 松果体腫瘍 | 14 | 〃 | (5M)→継続中 | 〃 | 563.0~1240.0 |
| 13 | 下垂体性 | 27 | 〃 | (2M)→継続中 | 〃 | |
| 14 | Kallmann | 20 | 〃 | (2Y10M)→LH-RH(1Y2M) →T(1M)→中断 | 改善なし | 56.4~480.0 |
| 15 | 脳腫瘍 | 17 | 〃 | (1Y2M)→LH-RH(7Y4M) →継続中 | 改善 | 172.8~716.0 |
| 16 | 原因不明 | 16 | 〃 | (5Y4M)→T(3Y11M)→継続中 | 〃 | 70.4~340.4 |
| 17 | 〃 | 34 | 〃 | (5Y0M)→T(8Y6M)→継続中 | 〃 | 166.8~483.6 |
| 18 | 〃 | 26 | T療法 | (14Y4M)→継続中 | 〃 | 54.4~641.0 |
| 19 | 〃 | 24 | 〃 | (10Y6M)→継続中 | 〃 | 121.5~700.0 |
| 20 | 〃 | 22 | 〃 | (9Y1M)→継続中 | 〃 | 77.2~280.0 |
| 21 | 〃 | 14 | 〃 | (6Y4M)→継続中 | 〃 | 122.8~487.4 |
| 22 | 〃 | 43 | 〃 | (3M)→継続中 | 〃 | 386.0 |
| 23 | 〃 | 31 | 〃 | (3Y4M)→hCG+hMG(10M)→中断 | 〃 | 49.0~146.8 |
| 24 | Kallmann | 18 | 〃 | (1Y0M)→hCG+hMG(5Y6M) →T(3Y6M)→継続中 | 〃 | 119.1~617.2 |
| 25 | | | | | | |
| ~ | | | 無治療 | | | |
| 38 | | | | | | |

治療法の継続性などにつき検討を加えた。

まず、高Gは、12例のT補充療法例については、いずれも自覚的には、程度の差はあるが、陰茎の増大や陰毛の発育など身体的な改善が起こることからの精神的な充実感や活力増強を認めたが、T投与間隔が開くと全身倦怠感や性交不能を訴えるものもあった。内分泌学的には、観察期間3ヵ月以上の9例(4ヵ月~9年3ヵ月、平均5年6ヵ月;表2, 症例1~9)において血中Tが測定され、正常範囲以内(250 ng/dl以上)であったのは1例のみで、2例では正常下

限から正常値以下、他の6例では常に正常値以下であった。上記の9例中、3例ではその後も定期的にTの持続投与が行われているが(T投与期間4ヵ月~9年0ヵ月)、他の6例は2年3ヵ月~9年3ヵ月後に投与間隔が延びたり、中断された(表2)。なお、高Gでは、Klinefelter症候群を含め、いずれも高度精巣機能障害が考えられ、造精機能に関しては改善は期待できないものと思われ、精液検査は再検されていない。また、未治療の10例の治療を受けなかった理由は、患者が治療を希望しなかったもの5例、5歳

以下のKlinefelter症例2例、痴呆など全身状態より治療の適応がないと考えられたもの3例であった。

次いで、低G性患者のうち、LH-RHによる治療を受けた10例に関しては、3ヵ月以上継続した9例中7例では、約5ヵ月後頃より二次性徴の発現、増強が認められた。内分泌学的には、観察期間7ヵ月～6年1ヵ月(平均3年9ヵ月)にて、正常血中T値(250 ng/dl以上)を示したものが2例、正常下限から低値を示したものが3例、低値のままであったものが3例であった。精液所見は6例で検討されており、3例の無精子症患者で精液中に精子の出現を認め、1例は $4 \times 10^6/\text{ml}$ の乏精子症、2例は $41 \sim 78 \times 10^6/\text{ml}$ と正常精子濃度を示した。1例は、当初 $33 \times 10^4/\text{ml}$ の乏精子症であったが、本療法後 $12.8 \times 10^6/\text{ml}$ と改善した。他の1例は下垂体腫瘍による低G性腺機能低下症症例で、治療前より精液所見は正常であり、治療中においても変化は認められなかった。しかし、1例においてLH-RH治療にて精液量、精巢容量の増加は認められたものの、精子の出現は認められなかった。LH-RH治療の継続性に関しては、hCG+hMG療法から変更した2例を含む12例(表3、症例1～10、14～15)中、現在も継続中のものが6例(4ヵ月～7年4ヵ月、平均3年8ヵ月)、中断したものが6例(1ヵ月～6年1ヵ月、平均2年10ヵ月後)であった。中断した理由は、常に自動注入ポンプをつけるという煩雑さや精神的肉体的苦痛のためと考えられ、このうち3例は、そのまま来科せず治療中止となり、他の3例は、hCG+hMG療法およびT補充療法に切り替えたが、いずれも1ヵ月～1年2ヵ月後に来科しなくなり、治療中断となった(表3)。

hCG+hMG療法を受けた7例は、T投与症例のように即効的に自覚症状の改善は認められないが、6例において血中T値の上昇に伴い二次性徴の促進、活力の増強が認められた。内分泌学的には、観察期間が3ヵ月以上の6例(5ヵ月～5年4ヵ月、平均3年3ヵ月)において、血中T値が正常化した症例が2例、正常下限から低値を示したものが4例であった。本治療後の2例の精液検査では、 $23 \times 10^4/\text{ml}$ および $11 \times 10^6/\text{ml}$ で、後者では2児の精子が得られた。本治療法の継続性については、LH-RH療法より変更した1例、T補充療法より変更した2例を含む10例(表3、症例9、11～17、23～24)中、3例(2ヵ月～4年8ヵ月)が治療継続中で、いずれも血中T値は正常化した。1例は中断(10ヵ月後)し、他の3例はT投与に変更(5年～5年6ヵ月後)となった。T療法への変更の理由は、1例は精子を得たため、他の2例は血中T値の

上昇が不十分であったためであった。さらに残りの3例は、LH-RHに対する反応性が良好なため、LH-RH治療に変更したが、1例は継続中、1例は中断、1例はT補充療法に変更後中断した。以上より、hCG+hMG療法後、中止およびT投与に変更した症例は4例(40%)であった(表3)。

低Gに対するTは、挙子の希望なく、男性ホルモン不全徴候の改善のみを目的とした場合のみ投与することを原則としたが、実際には病因の検査が不十分で原因不明とされた症例にも投与されていた。T投与を受けた7例(観察期間3ヵ月～14年4ヵ月、平均6年5ヵ月)はいずれも、陰茎の増大、陰毛増加、性欲の亢進などの自覚症状の改善を認めた。内分泌学的には、1例のみ血中T値が常に正常、5例が正常下限から低値、1例が常に低値であった。精液検査では、1例のみ治療前後で施行されていたが、無精子症のままであった。本治療法の継続性に関しては、LH-RH療法から変更した1例、hCG+hMG療法から変更した2例、hCG+hMG療法からLH-RH療法に変更後の再変更の1例を含む計11例(表3、症例10、14、16～24)中、7例が治療継続中(3ヵ月～14年4ヵ月、平均7年6ヵ月)、2例が中断(1ヵ月および6ヵ月後)した。その他の2例は途中でhCG+hMG療法に切り替えたが、1例は来院しなくなり(10ヵ月後)、1例は通院の都合よりTに再変更(5年6ヵ月後)し現在継続中である(表3)。

無治療の14例のうち、11例は日常生活に支障なく、本疾患に対する治療に消極的であり、治療を希望しなかった。また2例は、他疾患が重篤であり、本疾患の治療適応とならなかった。

考 察

性腺機能低下症患者の主訴は、小児期の停留精巣、10歳代後半から20歳代の二次性徴の欠如、20歳代後半から30歳代の不妊症、36歳以上では他の症状より偶然発見されるというように、年齢によりある程度の傾向が見られた。これらは、男性の性成長の過程と関連して考えれば、納得できる結果と思われた³⁾。

男子性腺機能低下症は、視床下部、下垂体、精巣および標的臓器と障害部位によって分類可能である⁴⁾が、今回の検討では、性腺機能低下症を、高Gと低Gとに分類した¹⁾。高Gの代表的疾患は、Klinefelter症候群であり⁵⁾、その治療に関しては、造精機能の面での改善は期待できないものの、男性ホルモン不全徴候の改善を目的とし、T補充療法を施行している³⁾。他の高Gのものも精巣自体の機能不全であるため、造

精機能の改善は希望できず、Klinefelter症候群症例と同様にT療法を行っている。Tは、デポー剤を使用すれば3～4週間ごとの筋肉内投与で治療が可能であり、血中T値の速やかな上昇、二次性徴の早期からの改善が期待できる。しかしながら、今回の検討ではT投与を受けた高Gのうち現在も継続中のものはわずか3例であった。他の症例は、T投与にても著明な自覚症状の改善が認められず、3～4週ごとでも通院が面倒などの理由により、治療の不規則化、中断が生じた。造精機能に対しても無力であり、高G性腺機能低下症に対する治療法の限界と言わざるをえない。

一方、低G性腺機能低下症に対する治療は、その障害部位からhCG+hMG療法^{6,7)}、さらに近年ではLH-RH療法^{2,8,9)}が施行され、良好な治療成績が報告されている。LH-RHの連続刺激試験に対しLH、FSHが反応を示すものには、原則的にはLH-RH療法が第一選択と考えられ、本療法は視床下部性性腺機能低下症には最も生理的でかつ治療効果にも優れている。今回の検討では、10例にLH-RH療法がまず行われ、7ヵ月以上継続中の8例中7例が二次性徴の改善が認められた。造精機能の検討がなされた6例に関しても、無精子症のまま改善の認められなかったものは1例のみであり、良好な成績であった。しかしながら本療法の問題点は、LH-RHの微量間欠投与のため自動注入ポンプの携帯が必要であり、これが患者にとってかなりの精神的肉体的負担になる点である。本療法を施行された12例のうち6例(50%)が、1ヵ月から6年1ヵ月後にその煩雑さを理由にLH-RH療法を中断していた。投与方法の煩雑さを克服するためには、患者に対し本療法の特性を充分納得してもらい、医師と患者の相互理解、根気、信頼関係なども重要である。さらに今後LH-RHの微量間欠投与が単回投与で可能となる薬剤、剤型の開発が待望される。

hCG+hMG療法は、原則として週2回の筋注としたが、患者の都合上、1～2週間に1回のものもあった。観察期間が5ヵ月以上の6例において、血中T値はいずれも改善し、2例に精液中に精子が確認され、うち1例に精子が認められており、良好な治療成績と考えられた。継続性に関しては、煩雑さの点より本療法の方がLH-RH治療より継続しやすい治療法である。しかし、中止およびT投与に変更した症例が4例(40%)あり、週2回から2週に1回に投与間隔を延ばしても患者にとってはやはり負担になると考えられた。

低GにおけるT補充療法は、ゴナドトロピン投与にて血中T値が上昇せず、二次性徴の発現を認めないものに対して施行される⁶⁾。造精機能に関しては、Tのみでの改善は困難である⁶⁾が、一度造精機能が導入された症例には本療法にて維持可能と報告されている¹⁰⁾。今回の検討では、いずれも二次性徴に関しては良好な結果であったが、造精機能に関しては無効であった。長期間のT投与後であってもゴナドトロピンにて造精機能の改善が認められたとの報告もあり¹¹⁾、拳子の希望があればhCG+hMG療法などへの変更を考慮すべきである。本治療法の継続性に関しては、11例中8例が、現在も継続中で他の治療法に比して、良好であった。これは、T投与はデポー剤使用にて3～4週毎の通院で可能であり、男性ホルモン不全徴候に対し、速やかに効果が自覚できるためであると考えられた。同じT療法でも、高Gより低Gの方が、治療の継続性が良好であったが、この理由ははっきりしない。しかしながら、治療法を選択に際して、低Gには、LH-RHまたはhCG+hMG療法が施行されるべきであり、当初から安易にT補充療法をすべきではない。ただし、一旦拳子を得た後の男性ホルモン不全徴候に対しては、投与方法の安易さ、通院間隔、継続性を考慮して、T投与でも容認されるものと思われた。

性腺機能低下症の症例に対して、まずホルモンレベル、hCGおよびLH-RH試験、染色体検査などによって診断する。次いで、治療法を選択であるが、高Gには男性ホルモン不全徴候に対してのみ積極的にTの補充を行う。低Gには、造精機能の点からLH-RHまたはhCG+hMGを施行する。ただし中高年で拳子の希望ない症例にはT投与でもよいという原則で行うことが重要である。本疾患に対する治療の継続性は、必ずしも良好ではなく、それぞれの治療法の特徴を患者に理解してもらい、根気よく継続することが本疾患の治療のうえで重要と考えられた。

文 献

- 1) Castro-Magana M, Bronsther B, Angulo MA, Genetic forms of male hypogonadism. *Urology* 35: 195, 1990
- 2) 李 秀雄, 越田 潔, 打林忠雄 他, 酢酸ゴナドレリン間欠投与による視床下部性性腺機能低下症の治療経験. *日不妊誌* 37: 408, 1992
- 3) 天野俊康, 徳永周二, 打林忠雄 他, Klinefelter症候群の臨床的検討. *日不妊誌* 39: 37, 1994
- 4) Nieschlag E, Hormone diagnosis in male

- hypogonadism and infertility. *Hormone Res* 9: 394, 1978
- 5) 入江 伸, 大橋輝久, 大橋洋三 他, 性分化異常・性腺機能不全. *西日泌尿* 49: 402, 1987
 - 6) 布施秀樹, 角谷秀典, 片海善吾 他, 低ゴナドトロピン性類宦官症. *日不妊誌* 31: 360, 1986
 - 7) 古川雅人, 大橋輝久, 大橋洋三 他, Hypogonadotropic hypogonadismに対するHCG-HMG療法. *西日泌尿* 49: 1321, 1987
 - 8) Hoffman AR, Crowley WF, Induction of puberty in men by long-term pulsatile administration of low-dose gonadotropin-releasing hormone. *N Engl J Med* 307: 1237, 1982
 - 9) Morris DV, Adeniyi-Jones R, Wheeler M, et al., The treatment of hypogonadotropic hypogonadism in men by the pulsatile infusion of luteinising hormone-releasing hormone. *Clin Endocrinol* 21: 189, 1984
 - 10) Baranetsky NG, Carlson HE, Persistence of spermatogenesis in hypogonadotropic hypogonadism treated with testosterone. *Fertil Steril* 34: 477, 1980
 - 11) Burger HG, De Kretser DM, Hudson B, et al., Effects of preceding androgen therapy on testicular response to human pituitary gonadotropin in hypogonadotropic hypogonadism: A study of three patients. *Fertil Steril* 35: 64, 1981

Hormone therapy of male hypogonadism

Toshiyasu Amano, Shuji Tokunaga, Tadao Uchibayashi
and Mitsuo Ohkawa

Department of Urology, School of Medicine,
Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan

Clinical data and treatment methods were analyzed for sixty patients with hypogonadism at the Department of Urology, Kanazawa University Hospital between 1985 to 1993. Of sixty cases, 22 of hypergonadotropic and 38 of hypogonadotropic hypogonadism were observed. Seminal analysis before treatment revealed

azoospermia in 10 of 10 hypergonadotropic and 6 of 12 hypogonadotropic cases. Testosterone (T) was administered to 12 of the hypergonadotropic cases while 10 received no treatment. T therapy of hypergonadotropic hypogonadism was effective for male hormone insufficiency, but 67% of cases could not maintain the constant administration of T. Luteinising hormone-releasing hormone (LH-RH) therapy was administered to 10, human chorionic gonadotropin (hCG) and human menopausal gonadotropin (hMG) to 7, and T to 7 in hypogonadotropic cases as the initial treatment. The symptoms of male hormone insufficiency in 7 of 9 cases of hypogonadotropic hypogonadism were improved and the sperm counts in 5 of 6 cases increased 7 months after LH-RH therapy. But 50% of patients abandoned LH-RH therapy after one month to 5 years 4 months. Serum T levels were elevated in hypogonadotropic hypogonadism and one patient fathered two children after hCG and hMG therapy. 40% of patients discontinued hCG and hMG therapy after ten months to 5 years 6 months. T therapy for hypogonadotropic hypogonadism was very effective for male hormone insufficiency symptoms, and 73% patients have received T constantly. But T therapy was ineffective in improving spermatogenesis. T administration is applied for treatment of hypergonadotropic hypogonadism. But this therapy is only effective for improvement of male hormone insufficiency. On the other hand, LH-RH or hCG and hMG therapy should be administered as the initial treatment in hypogonadotropic hypogonadism, although it is difficult to maintain these therapies for prolonged periods. From these results, we conclude that it is important to treat patients with hypogonadism based on correct diagnosis. The patience both of patient and doctor seems to be indispensable to maintain these therapies for prolonged periods.

(受付: 1993年7月30日)

(受理: 1993年11月22日)

細胞間接着物質—Concanavalin A—が マウス受精卵の発育に与える影響

Effects of Succinyl Concanavalin A on the Development of Mouse Embryos In Vitro and In Vivo

医療法人社団スズキ病院産婦人科

千田 智 鈴木 雅洲
Satoru CHIDA Masakuni SUZUKI
Infertility and IVF Unit, Suzuki Hospital,
Miyagi 989-24, Japan

Kiel大学産婦人科

リゼロッティ・メトラー
Liselotte METTLER
Department of Obstetrics and Gynecology,
Kiel University Hospital, 2300 Kiel, Germany

体外受精・胚移植における問題点のひとつは着床率の低さにある。移植された受精卵が着床するまで約5日間の子宮内発育を必要とするが、実際は移植卵の半数は子宮外へ流出しているともいわれている。そこで本研究では、細胞間接着物質であるsuccinyl Concanavalin Aを用い、その受精卵への接着度をin vitroにて観察し、さらにその接着卵を移植した場合の着床率についてin vivoにて検討した。

- 1) マウス2細胞期から胎胚期にいたるまで透明帯表面にsuccinyl Con-Aの接着が観察された。
- 2) Succinyl Con-Aの濃度5 mg/ml, 暴露時間5分以上で受精卵の発育が抑制された。
- 3) Succinyl Con-A接着胎胚を受容雌マウスに胚移植しても着床率の向上を認めなかった。

以上の結果より、着床期子宮内膜への接着作用の強いsuccinyl Con-Aは透明帯へは接着するものの、その細胞毒性のため着床率の向上はもたらさないことが判明した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 156 - 160, 1994)

緒 言

不妊治療における体外受精・胚移植法(IVF・ET)は、ひとつの臨床治療法として確立されたがその妊娠率は満足のゆくものではない。体外受精および受精卵の培養まではうまくいくものの、胚移植後の着床率は20~30%である^{1,2)}。

ヒトIVF・ETにおいては、受精卵の2細胞期から8細胞期で子宮内へ移植されるのが一般的であり、着床までの約5日間は透明帯に包まれたまま子宮腔内で浮遊し、発育しなくてはならない。しかし、実

際に移植胚が子宮内に留まっているのは半数以下であり、半数以上は卵管へ移動したり、子宮頸部や膈部へと流出、排泄されているとの報告がある³⁾。従って、子宮腔内へ移植胚をとどめていることで着床率が向上する可能性がでてくる。

本実験では、移植胚を子宮腔内へ停滞させておく目的で、細胞間接着物質であるレクチンのうちで、着床期子宮内膜に最も良く接着するConcanavalin A (Con-A)^{4,5)}を用いてin vitroにおけるマウス受精卵各分割期での接着状態をFITC蛍光染色法にて観察し、さらに接着卵培養および接着胎胚移植にてその細胞毒

性や着床に及ぼす影響について検討した。なお、Con-Aの細胞毒性はすでに認められており、本研究では毒性処理 (succinylation) した succinyl Concanavalin A (分子量56,000)⁶⁾について検討した。

研究方法

1. 受精卵採取

既報告の如く^{7,8)} CB6F1 幼若雌マウス (Balb/c × C57BL/6, Charles River Wiga, Sulzfeld, FRG) にPMSG, hCG (Sigma) にて過排卵処理後、同系雄マウスを用いて交配させ、2細胞期、桑実胚期および胞胚期の受精卵を各々妊娠2日目から4日目にかけて卵管内や子宮内を洗浄することで得た。

2. FITC labeled Succinyl Con-A添加培養液の作成と観察

Succinyl Con-Aの受精卵への接着程度を観察検討するため、FITC (fluorescein isothiocyanate) をラベルした succinyl Con-A (Sigma) 0.5mg/ml 添加 DPBS (Dulbecco's phosphate buffered saline, pH7.4) にて10分間室温にて染色後DPBSにて3回洗浄し、蛍光顕微鏡下で2細胞期から胞胚期までの受精卵について観察した。

3. Succinyl Con-A接着受精卵のquality control

Succinyl Con-Aの細胞毒性の検討のため、2細胞期、桑実胚および胞胚の各時期3群の受精卵を各々0分間 (control), 2分間, 5分間, 10分間と succinyl Con-A 0.5mg/ml 添加DPBSに室温にて暴露させ、3回洗浄後 Ham's F-10 (BSA無添加, Flow Laboratories) にて2細胞期群は72時間、桑実胚群は48時間、胞胚群は24時間培養し、胞胚期への発育やhatching (透明帯からの脱出) 率について検討した。

4. 受容雌マウスへのsuccinyl Con-A接着胞胚移植

精管結紮CB6F1雄マウスと交配後3日目のCD2F1 (Balb/c × DBA/2, Charles River Wiga) 雌を偽妊娠受容マウスとして使用した。背部切開により露出した子宮角へ一方は無接着胞胚 (control), 他方へは succinyl Con-A (0.5mg/ml, 2分間処理) 接着胞胚を各々6~8個移植し、移植後11日目に屠殺し、子宮内着床生存胎仔数を検討した^{7,8)}。

各群間の有意差検定には χ^2 検定を用いた。

結 果

写真1, 2に示すように、succinyl Con-Aは2細胞

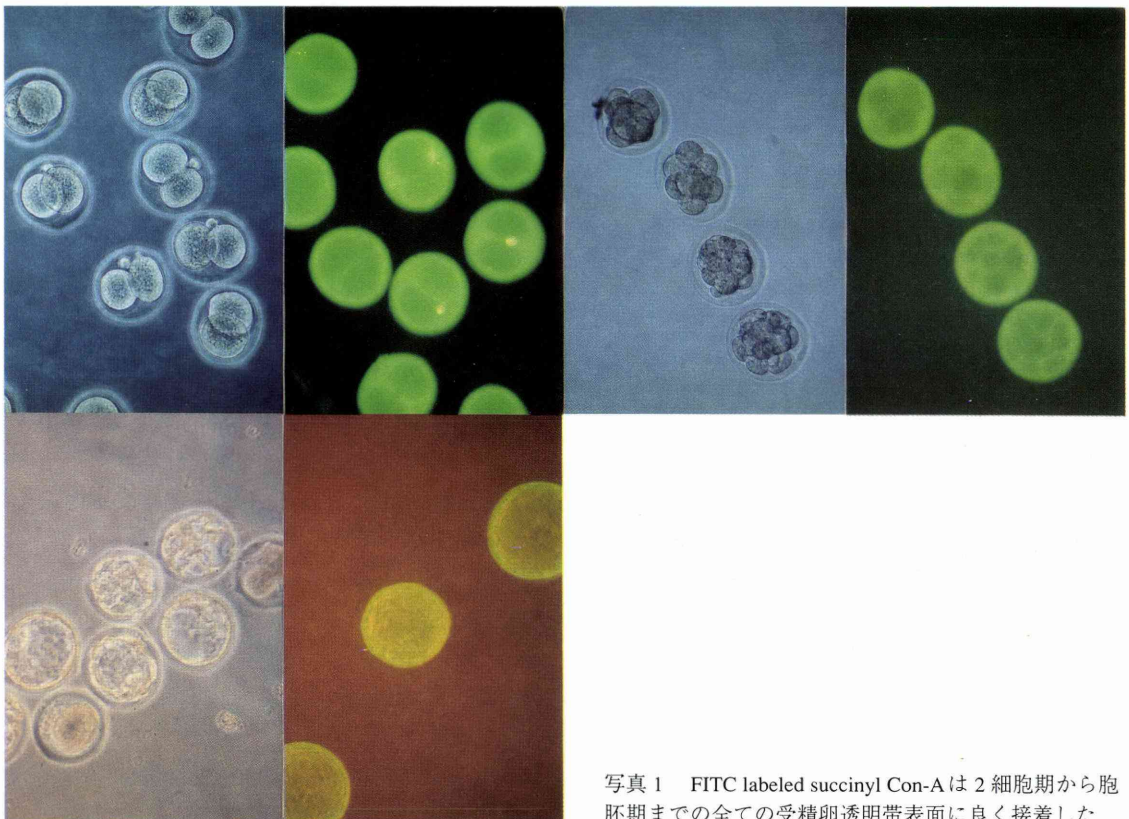


写真1 FITC labeled succinyl Con-Aは2細胞期から胞胚期までの全ての受精卵透明帯表面に良く接着した

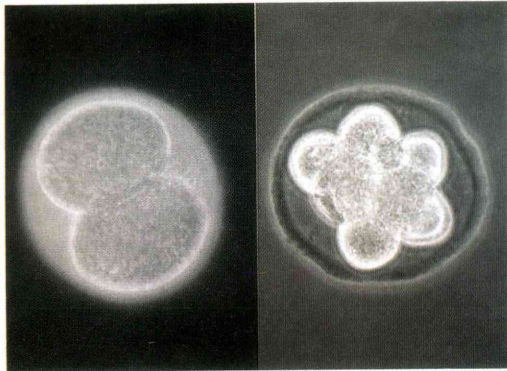


写真2 詳細に観察すると、透明帯を通過したFITC labeled succinyl Con-Aが割球細胞表面にも良く接着しているのが認められる

期から胞胚期までの全ての受精卵透明帯に良く接着し、さらに詳細に観察すると透明帯を通過し、割球卵細胞表面にも接着が認められた。

表1に示すように、0.5mg/mlのsuccinyl Con-Aで、2細胞期胚を10分間暴露すると培養72時間後の胞胚

への発育率は他群に比較して有意に低下した。桑実胚群においては、0.5mg/ml 5分間および10分間暴露群で48時間培養後の胞胚への発育率は有意に低下した。胞胚群でも、5分間以上暴露すると24時間後のhatching率が有意に低下した。

偽妊娠受容雌マウスへはsuccinyl Con-A 2分間暴露胞胚を移植し、その結果を表2に示した。移植後11日目の子宮内生存胎仔数は対照群で46.9%、succinyl Con-A接着群ではわずかに2.1%であった。

考 察

体外受精胚移植法 (IVF・ET) は不妊治療のひとつとして確立されたものとなったが、その妊娠率は20%と低い。その原因に受精卵の着床率の低さがある。IVF・ETにおいては2細胞期から8細胞期胚が子宮腔内へ移植され、透明帯につつまれたままhatchingするまでの4～5日間は子宮腔内で浮遊しており、その移植胚の半数は子宮腔外へ流動したり排泄されているとの考察がある³⁾。そこで、受精卵透明帯に子宮内膜との接着物質を付着させて胚移植する

Table 1 Cytotoxicity of succinyl Con-A on mouse embryos

Two-cell, early morula and blastocyst stage mouse embryos which were exposed in succinyl Con-A (0.5mg/ml) were cultured to the blastocyst stage

| Exposure time in succinyl Con-A (min) | 0' control | 2' | 5' | 10' |
|---------------------------------------|------------|---------|---------|---------|
| Expanded and hatched blastocysts | 70/78 | 72/86 | 73/93 | 63/97* |
| 2-cell embryos | (89.7%) | (83.7%) | (78.5%) | (64.9%) |
| Expanded and hatched blastocysts | 32/36 | 24/29 | 15/28* | 15/32* |
| Early morulas | (88.9%) | (82.8%) | (53.6%) | (46.9%) |
| Hatched blastocysts | 53/68 | 56/79 | 41/78* | 14/40* |
| Blastocysts | (77.9%) | (70.9%) | (52.6%) | (35.0%) |

*p<0.005 compared with the control group by chi-square test

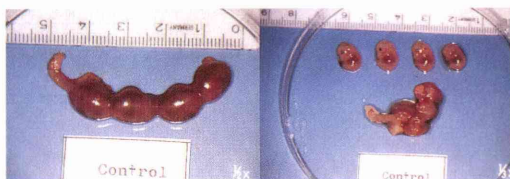


写真3 偽妊娠受容雌マウスへの胞胚移植後11日目の子宮。左側子宮角は対照のため培養液のみ注入、右側子宮角へは胞胚7個移植し4個の生存胎仔を認めている。写真左は切開前、右は切開後

Table 2 Number of fetuses after transfer of succinyl Con-A binding blastocysts to recipients

| | No. of fetuses/ No. of blastocysts transferred (%) |
|------------------------------------|---|
| Control | 30/64 (46.9%) |
| Succinyl Con-A binding blastocysts | 1/48 (2.1%)* |

p<0.001 compared with the control group by chi-square test

ことで、流出する移植胚を減少させ、着床率が向上するか実験を試みた。

まず、細胞間接着物質である各種lectineの中で、特に着床期子宮内膜(分泌期前中期)に接着するCon-A^{4,5)}が、透明帯に付着するかを細胞毒性の低いsuccinyl Con-A⁶⁾について検討した。FITC-labeled succinyl Con-Aは受精卵の2細胞期から胞胚期までの透明帯によく接着したが、その接着胞胚を受容雌マウスに胚移植しても着床率は向上せず、逆に低下した。Succinyl Con-A接着受精卵のquality controlにても不良を示し、胚に毒性を示すことが示唆された。

Succinyl Con-Aの付着は透明帯を通して分割期胚細胞表面にも認められ(写真2)、これらが直接細胞毒性に作用したものと考えられる。透明帯は多孔性のスポンジ状構造を呈しており^{9,10)}、かなりの分子量の大きなものも通過でき¹¹⁾、MW56,000のsuccinyl Con-Aも通過したと考えられる。

Con-A (MW 106,000)のsuccinylation後は分子量が減少し(MW56,000)また細胞間接着能の低下はみられるものの、細胞毒性は半減されるとの報告がある⁶⁾。しかし、本研究において、succinyl Con-Aはなおマウス初期胚に毒性を示し、特にhatching率が最も大きく低下した。これは胞胚のhatchingが、毒性の検討に最も鋭敏であったことを示している^{7,8)}。

Con-Aをはじめとする各種レクチン(PBA, SBA, UEA-1, WGA, RCA-1, PNA)のマウス胞胚へのフェリチン付着レクチンの接着を透過電子顕微鏡で観察すると、UEA-1, Con-A, WGAにおいて強い接着傾向がみられる¹²⁾。また、FITC labeled各種レクチン(SBA, PNA)付着胚間における細胞間接着作用が観察されている¹³⁾。これら各種レクチンの接着度は受精卵分割時期で変化し、Con-Aの接着度合は着床前期および初期胞胚期に特に強くなる。これはtrophoblast表面の α -D-glucose, α -D-mannoseの糖鎖の変化によるとされる^{14,15,16)}。

レクチン各種の内でも特にCon-AとWGAが着床期子宮内膜(分泌期前期)によく接着し⁴⁾、接着部分も腺細胞、上皮細胞表面、間質細胞それぞれでありその程度はCon-Aの方がWGAより強い⁵⁾。これらの報告よりsuccinyl Con-Aを移植胚接着物質に選んだのではあるが、その細胞毒性のため、着床率の向上は得られなかった。

しかし、何らかの毒性の無い子宮内膜への細胞接着物質を受精卵透明帯へ付着させることで移植胚の排泄を抑え、着床率を上げることはできないものだろうか。今後さらに検討したい。

本研究は、(旧)西ドイツ Alexander von Humboldt財団の助成を受けた。

文 献

- 1) 千田 智, 森 滋, 鈴木雅洲 他, 当院における体外受精・胚移植成績. 日不妊会誌 36: 562, 1991
- 2) 森 崇英, 平成4年度 生殖医学の登録に関する委員会報告(第4報) 日産婦誌 45: 397, 1993
- 3) Knutzen V, McNamee PI, Stratton CJ, et al., Mock embryo transfer in early luteal phase, the cycle before in vitro fertilization and embryo transfer: a descriptive study. Fertil Steril 57:156, 1992
- 4) Söderström KO, Lectin binding to human endometrial hyperplasias and adenocarcinoma. Int J Gyn Patho 6: 356, 1987
- 5) Söderström KO, Lectin binding to formation-fixed paraffin sections of human endometrium. Int J Gyn Patho 6: 55, 1987
- 6) Gunter GR, Wang JL, Yahara I, et al., Concanavalin A derivatives with altered biological activities. Proc Nat Acad Sci USA 70: 1012, 1973
- 7) Chida S, Mettler L, Screening test for mouse blastocysts as an index of the vitality of embryos. J In vitro Fert Embryo Transfer 6: 310, 1989
- 8) Chida S, Mettler L, Lebensfähigkeit von Mausblastozysten nach In-vitro Fertilisation. Fertilität 6: 40, 1990
- 9) Chida S, Uehara S, Yajima A, et al., Time sequential observation on hatching of mouse blastocysts by scanning and transmission electron microscopy. Jpn J Fertil Steril 32: 228, 1987
- 10) Chida S, Grillo M, Mettler L, et al., Beobachtung der Schlüpvorgänge bei Mäuseblastozysten durch Raster und Transmissionsmikroskopie. Fertilität 5: 204, 1989
- 11) Uehara S, Chida S, Yajima A, et al., Ultrastructural study in intercellular junction and lanthanum penetration in mouse blastocyst. Acta Obst Gynaec Jap 38: 2187, 1986
- 12) Chaves DJ, Enders AC, Temporal changes in lectin binding of pre-implantation mouse blastocysts. Develop Biol 87: 267, 1981
- 13) Webb CG, Popliker M, Lis H, et al., Cell membranes and Cancer. p13, Elsevier Science Publishers B V, 1985
- 14) Wu JT, Concanavalin A binding capacity of preimplantation mouse embryos. J Reprod Fert 58:455, 1980
- 15) Wu JT, Chang MC, Increase in concanavalin A

binding sites in mouse blastocysts during implantation. *J exp Zool* 105: 447, 1978

- 16) Carollo JR, Weitlauf HM, A comparison of changes in Con A binding and surface area of mouse blastocysts at implantation. *Anat Rec (Abstract)* 193: 477, 1979

**Effects of succinyl concanavalin A
on the development of mouse
embryos in vitro and in vivo**

Satoru Chida, Masakuni Suzuki

Infertility and IVF Unit, Suzuki Hospital,
Miyagi 989-24, Japan

Liselotte Mettler

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kiel University Hospital, 2300 Kiel, Germany

In human IVF-ET, only half of transferred embryos
are remained in the uterus and the others are into the

tube, cervix and/or vagina. It is known that the binding of concanavalin A (Con-A, glycoconjugate intercellular adhesion lectin) increased markedly to the secretory phase endometrium. This study is to investigate the binding pattern and the effect of succinyl Con-A on mouse embryos in vitro and after transfer to the recipient mouse.

1) Attachment of FITC labeled succinyl Con-A on zona pellucida and on the surface of cytoplasm of 2-cell to blastocyst stage mouse embryos was observed following 10 min exposure at 0.5mg/ml concentration in PBS culture media. 2) After exposure to succinyl Con-A for 0 to 10 min, embryos at each stage were cultured to expanded and/or hatched blastocyst stage to examine the cytotoxicity. Five min or more exposure to succinyl Con-A had cytotoxic effect on embryos. 3) Mouse blastocysts exposed to succinyl Con-A were transferred into the uterus of recipients and the number of fetuses was determined on day 11. The implantation rate was not increased in the site of its transferred uterus, so the succinyl Con-A binding embryo transfer was not useful in human IVF-ET.

(受付：1993年 8月23日)

(受理：1993年11月24日)

不妊症婦人における抗クラミジア抗体と腹腔鏡所見

Chlamydial Serology and Laparoscopic Findings in the Infertile Women

群馬大学産科婦人科学教室

小原 満 雄
Mitsuo OBARA
関 守 利
Moritoshi SEKI

田 野 真 理
Mari TANO
水 沼 英 樹
Hideki MIZUNUMA

山 田 清 彦
Kiyohiko YAMADA
伊 吹 令 人
Yoshito IBUKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Gunma University, Maebashi 371, Japan

不妊検査・治療の目的で腹腔鏡検査を施行した129名の婦人において、血清抗クラミジアIgG、IgA抗体を測定し、腹腔鏡所見と抗体陽性率の関連を検討した。全不妊患者と対照の自然妊娠した39名の妊婦(P群)を比較すると、IgG抗体陽性率では不妊患者が有意に高率($p<0.01$)であった。腹腔鏡所見により不妊患者を次の4群に分類した。A群：軽度の卵管・卵巣周囲癒着あり。B群：卵管・卵巣周囲に強固な癒着や卵管水腫、卵管閉鎖あり。C群：重症子宮内膜症による癒着や卵管水腫・卵管閉鎖が主病変。D群：腹腔内に特に不妊原因となる癒着はないか、軽症の子宮内膜症だけを認める。B群はIgG・IgA抗体ともにP群を含む他の4群より有意に($p<0.05$ ～ $p<0.001$)高い陽性率を示した。また、少なくとも一方の卵管の閉鎖や、卵管通水圧が600mmHg以上を示した群では、卵管通過性に異常のなかった群に比べてIgG・IgA抗体ともに高い陽性率を示した($p<0.01$, $p<0.001$)。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 161 - 165, 1994)

緒 言

近年、産婦人科領域においても *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) 感染症は注目され、特に子宮頸管から卵管、腹腔への上行感染により卵管周囲癒着や卵管閉鎖をきたし、卵管性不妊を引き起こす原因となるとの報告が欧米のみならず我国でも多く認められるようになった¹⁻⁶⁾。卵管性不妊、特に卵管周囲の癒着などの細かな診断には、現在、腹腔鏡診断が必須であり、IVF-ETなどのassisted reproductive technology (ART)の適応を決める上にも腹腔鏡検査の実施は重要である。

今回、不妊治療の一つとして腹腔鏡検査を行い、骨盤内所見の確定した婦人において血中抗クラミジア抗体価を測定し、クラミジア感染と不妊、特に卵管性不妊との関連について検討したので報告する。

対象と方法

対象は不妊を主訴に当科不妊外来を受診した患者のうち、不妊原因の精査または不妊治療目的に腹腔鏡を施行した129例である。腹腔鏡検査施行の女性側不妊背景は、卵管因子・子宮内膜症を含む骨盤内癒着を疑ったものが84例と2/3を占め、次が外来段階での女性側不妊原因検索のためのルーチン検査で明かな異常の認められないものが40例で、他はPCO 3例、子宮奇形1例、卵巣性無月経1例であった。腹腔鏡検査施行時には、腹腔内の観察、レーザーなどによる癒着剝離、子宮内膜症病変の焼灼、通水圧測定を含む大量通水などを可能な限り行った。対照として、不妊歴がなく自然妊娠した妊娠中期の妊婦39例をこれにあてた。

血清抗クラミジア抗体価の測定は、腹腔鏡検査施行前に間接ペルオキシダーゼ法であるイパザイム

表1 腹腔鏡所見による不妊症患者の分類

| Group | 腹腔鏡所見 |
|-------|--|
| A* | 軽度(索状, 模様)の卵管または卵巣の周囲癒着を認める. |
| B* | 卵管, 卵巣周囲に強固な癒着や卵管水腫, 卵管閉鎖を認める. |
| C | 重症(R-AFS分類stage III以上)の子宮内膜症による癒着や卵管水腫, 卵管閉鎖が主病変である. |
| D | 卵管, 卵巣, 子宮周囲に不妊原因となるような癒着を認めない, または軽症の子宮内膜症だけを認める. |

*A, Bには軽症の子宮内膜症を合併する例も含む

クラミジアAGと一部はELISA法によるセロ イバライザ クラミジアIgA, IgG (Savyon社, 明治乳業)にて行った. 前者ではIgG 64倍, IgA 16倍以上を陽性とし, 後者ではIgG, IgAともにcut off値1.10以上を陽性とした.

不妊症例でクラミジアIgA抗体陽性を示した16例に対しては, DNAプローブ法(Gen-Probe社)による子宮頸管からの抗原検出もあわせて行った.

統計学的検討は, chi-square testにより行った.

結 果

不妊患者全体でのIgG, IgA抗体の陽性率はそれぞれ45.0%, 24.0%で, IgG・IgA両者陽性が26例(20.2%), IgG陰性IgA陽性を示したものが5例(3.9%)認められ, 31例(24.0%)はIgGのみが陽性であった. 不妊患者全体と対照妊婦との間での抗クラミジア抗体陽性率を比較すると, IgGは45.0%:17.9%と不妊患者群で有意に($p<0.01$)高率であったが, IgAでは24.0%:17.9%で差は認められなかった.

次に, 不妊患者を腹腔鏡所見に基づき, 子宮内膜症病変の有無や程度, 卵管・卵巣周囲癒着の程度, 卵管閉鎖の有無などによりA~Dの4群に分類した(表1). 過去に開腹手術を受けたものが13例あり, A群2例, B群8例, C群2例, D群1例であった. 各群でのIgG, IgA抗体の陽性率は表2に示した如くで, 卵管・卵巣周囲に強固な癒着を示し, それによる卵管閉鎖を伴うようなB群では, IgG・IgAともに他の群に比べて有意に高い陽性率を示した. B群では開腹手術の既往例を除くと, さらに高い陽性率IgG 72.0%, IgA 60.0%を示した. また, IgGにおいてはA, D群でも妊婦(P)群より有意に高い陽性率を認めた.

明らかに重症の子宮内膜症や筋腫核出術などの術後癒着のために卵管閉鎖をきたしたと考えられる8例を除く121例において, 腹腔鏡下色素通水法や通水圧測定にて卵管閉鎖または600mmHg以上の通水圧異常を示した症例の抗クラミジア抗体陽性率を検討すると(表3), IgG・IgAともに卵管通過性に異常の

表2 不妊患者各Groupにおける血中抗クラミジア抗体の陽性率

| Group | Total NO. | IgG陽性 No. (%) | IgA陽性 No. (%) |
|-------|-----------|---------------|---------------|
| A | 27 | 11 (40.7) | 3 (11.1) |
| B | 33 | 22 (66.7) | 19 (57.6) |
| C | 21 | 7 (33.3) | 4 (19.0) |
| D | 48 | 18 (37.5) | 5 (10.4) |
| 妊婦(P) | 39 | 7 (17.9) | 7 (17.9) |

In the prevalence of IgG antibodies

 $p<0.05$; B vs. A, B vs. C, A vs. P, and D vs. P $p<0.01$; B vs. D $p<0.001$; B vs. P

In the prevalence of IgA antibodies

 $p<0.01$; B vs. C $p<0.001$; B vs. A, B vs. D, B vs. P表3 片側または両側卵管閉鎖および通水圧異常高値例における抗クラミジア抗体陽性率^a

| 卵管通過性 | No. | IgG抗体陽性 No. (%) | IgA抗体陽性 No. (%) |
|-------|-----|-----------------|-----------------|
| 異常あり | 32 | 21 (65.6)* | 15 (46.9)** |
| 異常なし | 89 | 34 (38.2)* | 13 (14.6)** |

^a重症子宮内膜症, 術後癒着症例を除く* $p<0.01$ ** $p<0.001$

ある群が異常のない群に比較して有意に高い陽性率を示した($p<0.01$, $p<0.001$). なかでは, 腹腔鏡所見で卵管や卵巣周囲など腹腔内には異常を認めないD群のIgA陽性5例のうち3例において通水圧の異常高値がみられ, 卵管内通過障害が認められた. 今回の症例の中で過去に子宮外妊娠の既往があるのは5例で, うち3例ではIgG・IgAともに陽性であり, 残り2例では両者とも陰性であった.

表4 年齢からみた不妊患者および妊婦における抗クラミジア抗体陽性率

| 症例 (No.) | IgG抗体陽性 No. (%) | IgA抗体陽性 No. (%) |
|-----------|--------------------|--------------------|
| 不妊患者 | | |
| 30歳> (36) | 20 (55.6) | 16 (44.4)* |
| 30歳≤ (93) | 38 (40.9) | 15 (16.1)* |
| 妊婦 | | |
| 30歳> (20) | 4 (20.0) | 5 (25.0) |
| 30歳≤ (19) | 3 (15.8) | 2 (6.7) |

*p<0.001

次に、クラミジア感染の頻度は低年齢層に多いといった報告が認められることより^{13,14)}、研究対象婦人を30歳の前後で分けて抗クラミジア抗体陽性率を比較した(表4)。IgG陽性率では不妊患者、妊婦ともに年齢によって差はないが、IgA陽性率では30歳未満で高く、特に不妊患者では有意(p<0.001)に高率であった。

IgA陽性不妊患者16例でのDNAプローブ法による子宮頸管クラミジア抗原の陽性率は2例、12.5%のみであった。

考 察

子宮付属器炎や骨盤腹膜炎などのいわゆるPIDの原因として、*Chlamydia trachomatis*の感染がかなりの割合を占めることが報告され⁷⁻⁹⁾、これに伴い卵管性不妊を中心とした不妊症におけるクラミジア感染についての報告¹⁻⁶⁾も多くみられるようになった。クラミジア感染症は多くの場合無症状かごく軽度の臨床症状しか示さないために、未治療のまま放置され持続感染が起きていることも多く、長期のほど卵管および卵管周囲への障害も大きくなることが予想される。*C. trachomatis*感染の存在を確認するためには抗原検出が最も確実であるが、通常の場合検体の採取は子宮頸管からに限られる。感染後長期間が経過した場合には、頸管には*C. trachomatis*が存在せず卵管内や腹腔内のみ生棲していることも考えられ、血清学的検査の有用性がここで期待される。血清抗クラミジア抗体の測定では、*C. pneumonia*や*C. psittaci*との交叉反応も考慮しなくてはならないが、Sarov et al.¹⁰⁾や野口ら⁴⁾の報告によれば、IgA抗体の上昇は活動性感染の存在とよく関連し、IgG抗体は全身性の免疫系の産生するchronic antibodyであり、過

去におけるクラミジア感染を示す指標となる。不妊症婦人ではIgG抗体、IgA抗体ともに高い陽性率を示すとの報告は多く³⁻⁵⁾、なかでも卵管性不妊を示す婦人においてはIgA抗体陽性率が高く、すなわちクラミジアの活動性感染の存在やその持続的感染が、卵管およびその周囲に障害を及ぼしていることは明らかであると考えられる。

現在、卵管性不妊の診断や卵管周囲癒着の有無を把握するためには腹腔鏡検査は不可欠であり、また卵管性不妊の大きな原因ともなる子宮内膜症の診断にも腹腔鏡検査は必須の検査となっている。今回、腹腔鏡所見より不妊症患者を4群に分類したところ、主に感染などによると思われる強固な癒着や卵管閉鎖を認めたB群で、クラミジアIgG抗体・IgA抗体ともに他の3群や対照妊婦に比べて有意に高い陽性率を示し、感染の原因としてクラミジアの関与が強く示唆された。特に、IgA抗体の陽性率の高さは顕著であり、B群婦人ではクラミジア持続感染による影響が大きいものと推測される。最近、高田らはnested PCR法を用いて腹腔内癒着組織・腹水細胞などより*C. trachomatis*の検出を行い、腹腔内nested PCR法陽性の全例で血清抗クラミジア抗体IgG・IgA両者ともに陽性であったと報告している¹¹⁾。IgG・IgA両抗体が陽性の例では腹腔内に高頻度に*C. trachomatis*が生棲している可能性が高いと考えられる。一方、重症子宮内膜症による癒着や卵管閉鎖を認めたC群ではB群のような高い抗体陽性率は示さず、Moore et al.の報告¹⁾にもあるように、重症の子宮内膜症が存在する場合にはクラミジア感染は合併しにくいものと考えられる。

卵管通過性の異常にしほって抗クラミジア抗体陽性率を検討しても、卵管閉鎖または腹腔鏡下卵管通水圧異常高値(600mmHg以上)例では、異常のないものに比べてIgG、IgA抗体陽性率ともに有意に高く、卵管内癒着すなわち卵管上皮細胞の障害に*C. trachomatis*の感染が大きく関与していると考えられる。当教室の成績では¹²⁾、卵管通水圧が大量通水療法後にも600mmHg以上を示す症例や大量通水療法前後で通水圧に改善の認められない症例ではほとんど妊娠例がなく、たとえ妊娠しても子宮外妊娠の可能性が高いため、このような例では直ちにIVF-ETが適応となっている。卵管周囲の癒着については腹腔鏡検査施行時にある程度癒着剝離が可能であるが、卵管内の病変に関しては現在のところ通水療法以外には決め手となる治療法もなく、クラミジア感染が疑われる症例では持続感染を防ぐ意味でも早期の検査・治

療が重要と考えられる。

野口ら¹³⁾や Weström et al.¹⁴⁾の報告では *C. trachomatis* 感染症は若年者に高頻度で認められるが、今回我々が不妊患者と対照妊婦において30歳を境にしてクラミジア抗体陽性率を比較しても、IgA抗体は30歳以下の群で高い陽性率を示した。性行動の活発な若年期よりクラミジア感染が頻繁に起こっている可能性が高く、若年期よりのクラミジア感染のスクリーニング並びに治療が後の卵管性不妊の発生を予防する意味でも重要と考えられる。

以上のように、不妊症なかでも卵管性不妊におけるクラミジア感染症の関与は非常に高いものがあると考えられ、不妊治療はもちろん一般外来診療においても、silent diseaseであるクラミジア感染の存在を常に意識して検査・治療を行うことが、卵管性不妊の予防に役立つと思われる。

本論文の要旨は、第38回日本不妊学会総会(1993年9月、京都)において発表した。

文 献

- 1) Moore DE, Spadoni LR, Foy HM, et al., Increased frequency of serum antibodies to chlamydia trachomatis in infertility due to distal tubal disease. *Lancet* 11: 574, 1982
- 2) Anestad G, Lunde O, Moen M, et al., Infertility and chlamydial infection. *Fertil Steril* 48:787, 1987
- 3) Sellors JW, Mahony JB, Chernesky MA, et al., Tubal factor infertility: an association with prior chlamydial infection and asymptomatic salpingitis. *Fertil Steril* 49: 451, 1988
- 4) 野口昌良, 岡本俊充, 稗田茂雄 他, 卵管性不妊症と *Chlamydia trachomatis* 感染に関する検討. *日不妊会誌* 35 : 547, 1990
- 5) 武内裕之, 岩佐 剛, 宇津野栄 他, 不妊症と *Chlamydia trachomatis* 感染. *日不妊会誌* 35 : 415, 1990
- 6) Tasdemir I, Tasdemir M, Kodama H, et al., Chlamydial serology and tubal infertility. *Jpn J Fertil Steril* 38: 405, 1993
- 7) Mardh PA, Ripa KT, Svensson L, et al., *Chlamydia trachomatis* in patients with acute salpingitis. *N Engl J Med* 296: 1377, 1977
- 8) Paavonen J, *Chlamydia trachomatis* in acute salpingitis. *Am J Obstet Gynecol* 138: 957, 1980
- 9) Sweet RL, Chlamydial salpingitis and infertility. *Fertil Steril* 38: 530, 1982
- 10) Sarov I, Insler B, Cevenini R, et al., Specific serum IgA antibodies in the diagnosis of active viral and

chlamydial infections. *New horizons in microbiology*. p157 Elsevier biomedical Press, 1987

- 11) 高田道夫, 齊藤十一, Nested PCR法を用いた腹腔内試料における *Chlamydia trachomatis* 検出の意義. *日産婦誌* 44 : 729, 1992
- 12) Seki M, Tsuchiya M, Ito T, et al., New therapeutic and diagnostic approach to sterility with pelvic devices, *Advances in Gynecology and Obstetrics*, vol 1. In: Belfort P, Pinotti JA, Eskes TKAB, eds, *Fertility Sterility and Contraception*. p231, The Parthenon Publishing Group, 1989
- 13) 野口昌良, 岡本俊充, 秋田敏行 他, 産婦人科領域における *Chlamydia trachomatis* 感染症に関する臨床的検討. *日産婦誌* 40 : 452, 1988
- 14) Weström L, Mardh PA, *Genital chlamydial infections*. In: Mardh PA, et al. eds, p121, Elsevier Biomedical Press, 1982

Chlamydial serology and laparoscopic findings in the infertile women

Mitsuo Obara, Mari Tano,

Kiyohiko Yamada, Moritoshi Seki,
Hideki Mizunuma and Yoshito Ibuki

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Gunma University,
Maebashi 371, Japan

The prevalence of humoral IgG and IgA antibodies to *Chlamydia trachomatis* was determined in 129 infertile women who underwent laparoscopy, and 39 pregnant women without any known fertility problem (control group). The prevalence of IgG antibodies to *C. trachomatis* in the infertile group was significantly higher than that in the control group (45.0% vs. 17.9%, $p < 0.01$). The infertile women were classified into the following groups according to the laparoscopic findings. Group A : patients without evidence of tubal obstruction but with mild peritubal and/or periovarial adhesions. Group B: patients with severe peritubal and/or periovarial adhesions, hydrosalpinx and tubal obstruction of at least one fallopian tube. Group C: patients with severe peritubal and/or periovarial adhesions, hydrosalpinx and tubal obstruction associated with severe endometriosis. Group D: patients without evidence of tubal obstruction or peritubal adhesions. The prevalence of both IgG and IgA antibodies in Group B was significantly higher than in other three groups and control group ($p < 0.05 \sim p < 0.001$). Severe endometriosis (Group C) was not associated with an increased frequency of antibodies to *C.*

trachomatis. Among infertile women with tubal obstruction of at least one fallopian tube or abnormal high pressure (over 600mmHg) at large volume hydrotubation under laparoscopy, the prevalence of both IgG and IgA antibodies was significantly higher than in women with normal tubal patency (65.6% vs.38.2%, $p<0.01$ and

46.9% vs. 14.6%, $p<0.001$, respectively).

The present study indicates that chlamydial serologic studies may be useful in identifying the infertile women likely to have tubal factor.

(受付：1993年9月24日)

(受理：1993年11月24日)

Kallikreinの精子運動パラメーターに及ぼす効果の 精子運動自動分析装置を用いた定量的解析

Quantitative Analysis of the Effect of Kallikrein on Semen Motility Parameters by Means of Computer-Assisted Semen Analyzer

山口大学医学部泌尿器科学教室(主任:内藤克輔教授)

井本 勝彦 瀧原 博史 白 瀧 敬
Katsuhiko IMOTO Hiroshi TAKIHARA Satoshi SHIRATAKI
馬場 良和 鎌田 清治 内藤 克輔
Yoshikazu BABA Kiyoharu KAMADA Katsusuke NAITO

Department of Urology,

Yamaguchi University School of Medicine, Ube 755, Japan (Director: Prof. K. Naito)

鹿児島徳洲会病院泌尿器科

石津 和彦

Kazuhiko ISHIZU

Department of Urology,

Kagoshima Tokushukai Hospital, Kagoshima 890, Japan

我々は、特発性男子不妊症患者に対する kallikrein の薬効を精子運動自動分析装置を用いて検討した。対象は特発性男子不妊症患者 14 例で、kallikrein 150IU/day を 2 ヶ月間投与し、Hamilton 社製 HTM-2030 Motility Analyzer (以下 Motility Analyzer) を用いて精子機能のひとつをあらわす運動能を中心に定量的に解析した。

kallikrein 投与前の % rapid (25 μ m/sec 以上の高速運動精子比率) が正常値群では kallikrein の投与により % rapid は有意に低下し ($p < 0.05$)、低値群では kallikrein の投与により % rapid は有意に増加した ($p < 0.05$)。

したがって、kallikrein は精子運動率低下症例の中でも、% rapid 25%未満の症例がよりよい適応になると考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 166 - 170, 1994)

緒 言

男子不妊症患者に対する精液検査は顕微鏡下での肉眼的観察(以下従来法)に基づいた精子パラメーターが主として用いられているが、我々は Hamilton 社製 HTM-2030 Motility Analyzer (以下 Motility Analyzer) を併用し定量的かつ客観的に評価できる可能性を報告してきた^{1,2)}。Motility Analyzer の各パラメーターの精子受精能との関連は現在でも必ずしも確立されてい

ないが、上田らのハムスターテストとの比較検討では % rapid (25 μ m/sec 以上の高速運動精子比率) が精子受精能を最も良好に反映すると報告されている³⁾。また、著者らも精索静脈瘤手術後において % rapid が術後の妊娠性と最も相関することを報告した⁴⁾。今回、我々は kallikrein の薬効を評価するために、Motility Analyzer による % rapid を中心に種々のパラメーターを用いて検討した。

対象および方法

不妊を主訴として当科外来を受診した特発性男子不妊症患者で kallikrein 150IU/day を2ヵ月間投与した14人を対象とし、Motility Analyzerを用いてTable 1に示すようなパラメーター、特に精子機能のひとつをあらわす運動能を定量的に解析し、薬剤投与前の% rapidにより対象患者を2群に分類した。WHOの基準⁵⁾に基づき% rapidが25%以上の正常値群(以下Group 1)5例と% rapidが25%未満の低値群(以下Group 2)9例の2群に分類し、薬剤投与前後での% rapidを検討した。

なお、精液中の白血球数が5個/hpf以上の患者は除外し、kallikrein投与前3ヶ月間は他薬剤の投与を中止した。精液は3日間以上の禁欲後、手法により無菌シャーレに直接採取した。各精液は採取直後より37℃に保温したKitazato Microwarm Plate MP-100DM上で30分間放置し、充分液化させた。よく攪拌された検体約5 μ lをMakler算定盤上に乗せて、Motility Analyzerで前述した種々のパラメーターを解析した直後、算定盤を取り出し、光学顕微鏡(200倍)で精子濃度、精子運動率と精子奇形率を測定した。また、今回cell debris等をcountすることに左右されない、単位体積当たりのrapid motile cell数を測定した。これは、Motility Analyzerで測定したTotal cellsにrapid motile cellsの比率を乗じた値である。なお、全てのパラメーターにおいてkallikrein投与前後各々測定し、統計学的処理はpaired t test(有意水準5%)により検定した。

結果

Table 1に示した各パラメーターについて測定値を検討したところ、各群でkallikreinへの反応が異なっていた。すなわち、Group 2ではkallikreinの投与により% rapidは有意に増加していたが、一方、Group 1ではkallikreinの投与により% rapidは有意に低下していた(Fig. 1)。以下、この2群に分けて各パラメーターの薬剤投与前後での変化を検討した。また、rapid motile cell数も% rapidと同様に、Group 2は有意に増加し、Group 1では低下の傾向を示した(Fig. 2)。

次に、運動精子比率であるMotilityはGroup 1では投与後有意に低下し、Group 2では投与後有意に増加していた(Fig. 3)。直進性をあらわすMean linearityはGroup 1および2ともに投与前と比べて明らかな変化は認められなかった(Fig. 4)。しかし、Linear indexが80%以上の精子の割合を示すProgressive motilityは

Table 1 Parameters of motility analyzer

1. Total cells ($\times 10^6/ml$)
2. Motile cells ($\times 10^6/ml$)
3. Rapid ($V \geq 25 \mu m/sec$) (%)
4. Medium ($10 \mu m/sec < V < 25 \mu m/sec$) (%)
5. Slow ($V \leq 10 \mu m/sec$) (%)
6. Static (%)
7. Motility ($V > 0 \mu m/sec$) (%)
8. Mean path velocity ($\mu m/sec$)
9. Mean progressive velocity ($\mu m/sec$)
10. Mean linear index (%)
11. Mean LHD ($L > 80$) (μm)
12. Progressive motility ($L > 80$) (%)
13. Critical ($V > 25, L > 80$) (%)
14. Anticritical ($V > 25, L \leq 80$) (%)
15. Mean track speed ($\mu m/sec$)
16. Mean linearity (%)
17. Mean beat frequency (Hz)

V; path velocity

L; linear index

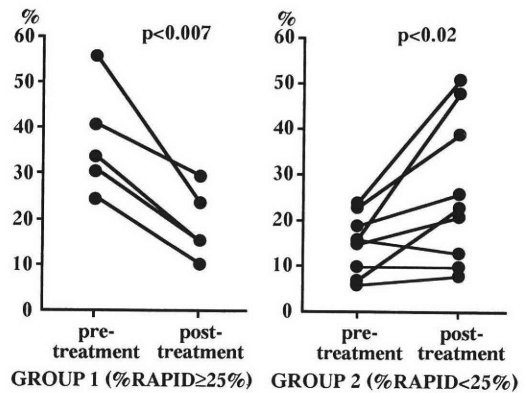


Fig. 1 Rapid motile cells

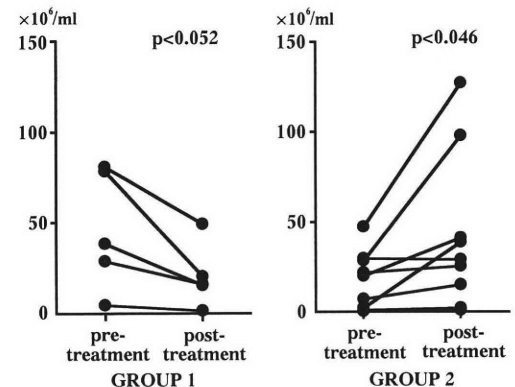


Fig. 2 Number of rapid motile cells

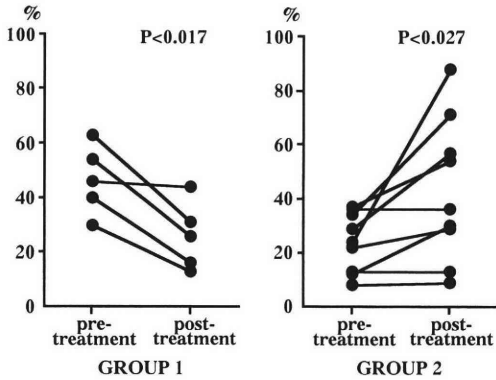


Fig. 3 Motility

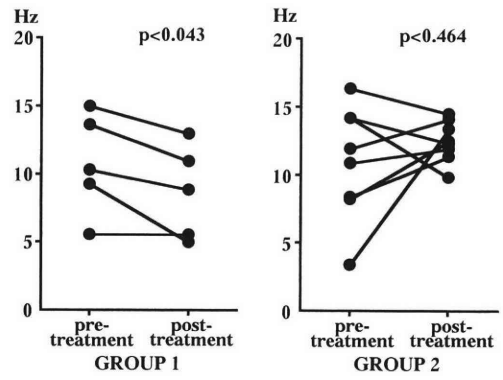


Fig. 6 Mean beat frequency

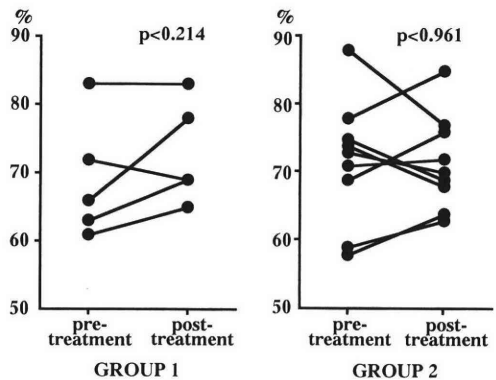


Fig. 4 Mean linearity

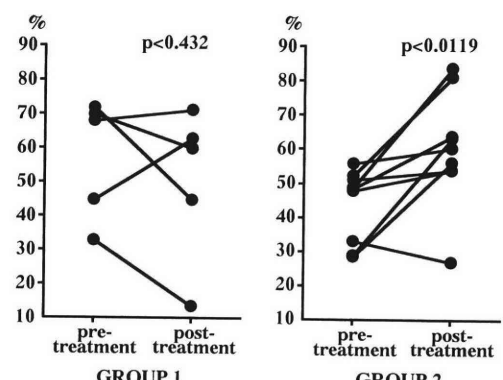


Fig. 7 Motility (percentage) by manual methods

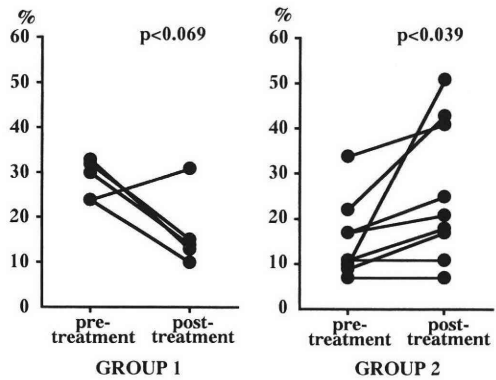


Fig. 5 Progressive motility

Group 1 では投与後低下する傾向を認め、Group 2 では投与後有意に増加した (Fig. 5)。精子運動の推進力をあらわすとされる Mean beat frequency⁶⁾は Group 1 では投与後有意に低下したが、Group 2 では明らかな変化は認められなかった (Fig. 6)。最後に従来法による精子運動率は Group 1 では治療前後で明らかな変化は

認められなかったが、Group 2 では投与後有意に増加していた (Fig. 7)。

考 察

従来より男子不妊症における精液検査としては、顕微鏡下での肉眼的観察により精子濃度、精子運動率、精子奇形率等が精子パラメーターとして習慣的に用いられてきた。しかし、この方法は肉眼的方法で行われるために再現性や客観性に乏しい欠点があり^{1,2)}、また妊孕性との相関性についても問題があった。守殿らの報告では、95%特異性における不妊診断率は精子濃度で32.9%、精子運動率で62.9%、精子奇形率で21.7%であった⁷⁾。一方、最近ではコンピューターを用いた精子運動能解析装置の開発、進歩により、精子濃度、精子運動率に加え、精子運動速度、精子運動の直進性、精子頭部の振幅などの精子パラメーターが正確、迅速かつ客観的に定量分析できるようになっている⁶⁾。上田らはハムスターテストと各パラメーターの90%特異性において% rapidは72.4

%と最も高く、精子受精能を最も良好に反映すると報告している³⁾。

1973年Stüttgenが乏精子症にkallikreinを用いて精子数の増加がみられたと報告⁸⁾して以来、kallikreinはkallikrein-kinin系を介して造精機能、精子代謝、精子運動能促進作用に関与し、重要な役割を果たしているのではないかと推測^{9,10)}のもとに、男子不妊症の治療に応用されている。精子機能に対するkallikreinの作用としては、kallikreinによってkininogenからkininが生成され、kininの増加によりprostaglandin E₁の増加を導き、さらに精子内cyclic AMP濃度を増加させ、精子代謝を亢進させることがFructolysisの増加や、酸素消費の増大から示唆され^{11,12)}、本薬剤は精子の運動を増強させるものと推測されている。さらにkallikreinの造精機能刺激作用機序に関しては、外因的なkallikrein投与により生体内のkallikrein-kinin系の亢進を導く¹³⁾ことが推測されている。一方、kallikreinには細胞増殖亢進作用があるとの報告^{14,15)}から、kallikrein投与によりblood-testis barrierの透過性亢進によるSertoli細胞賦活化、末消血管拡張作用による血流改善作用に起因する精巣への血流増加¹⁶⁾も推測されており、本薬剤の男子不妊症に与える効果のより総合的な評価が必要とされている。

我々の今回の検討結果では、kallikrein投与前の% rapidがWHOの基準において正常値群か低値群かでkallikreinへの反応が異なっていた。% rapidが25%未満のGroup 2でkallikrein投与により% rapidは有意に増加したことは前述した作用機序で説明されようが、Group 1すなわち正常値群でkallikrein投与により% rapidが有意に低下したことについては明確な理由づけは難しい。Maussaによればヒト精子運動能に対するcaffeine単独投与の効果は、濃度により異なり、6mM/ml以下では著明な上昇効果を示したが、60mM/ml以上の高濃度では逆に抑制されていた¹⁷⁾。投与前の% rapidが正常域の患者においてはkallikrein投与により精液中のkallikrein濃度がさらに高値となり、精子運動能が低下したとも考えられよう。

運動精子の直進性については、Mean linearityはGroup 1および2の両群においてkallikrein投与前後に明らかな変化は認められず、Progressive motilityは本剤投与後Group 1では低下する傾向を認め、Group 2では有意に増加していた。Mean linearityは次式で示されるLinearity (%)の全精子の平均値、 $\text{Linearity (\%)} = \frac{\text{Progressive Velocity } (\mu\text{m/sec})}{\text{Track speed } (\mu\text{m/sec})} \times 100$ 、およびProgressive motilityは $\text{Linear index (\%)} = \frac{\text{Progressive Velocity } (\mu\text{m/sec})}{\text{Path Velocity } (\mu\text{m/sec})} \times 100$

が80%以上の運動精子の全精子に占める割合と定義されている。直接的に直進性を測定するMean linearityは変化がなくてもLinear indexとそれが80%以上の運動精子比率と二つの操作を行うことにより間接的に精子運動直進性を測定し、Group 1では投与後低下する傾向を認め、Group 2では投与後有意に増加していた。しかしながら、一方、運動精子の直進性と妊娠性との関係について検討した上田³⁾らは、90%特異性においてLinear indexは13.8%と低値であると報告している。

Mean beat frequencyはGroup 1では投与後有意に低下し、Group 2では明らかな変化が認められなかった。この結果のメカニズムとしてbeat frequencyは精子尾部屈曲運動の単位時間当たりの振動数で精子運動速度を決定する要素のひとつであること⁶⁾を考慮すれば以下のように推論することができる。すなわち% rapidが正常域にある患者にkallikreinを投与後精液中のkallikrein濃度が高値になりcyclic AMPレベルが上昇し一時的に精子の運動が亢進した後に精子運動に必要な各種物質が消耗されて精子の運動能が低下すると考えられる。

従来法と比較してMotility Analyzerによる各精子パラメーターでは精子運動速度、精子運動の直進性、精子尾部振動数、精子頭部振幅等の詳細な測定が可能である¹⁾。しかし、精子濃度が、特に $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の乏精子症患者の場合は精液中のcell debris, leukocytes, その他のbackground noiseと精子との区別が困難である¹⁸⁾。我々は、main gatesでminimum contrast, minimum size, size gates, intensity gates, non motile head sizeとnon motile intensityを精子濃度に応じて変更し対処した。またbackground noiseに左右されない、単位体積当たりのrapid motile cell数を測定し精子パラメーターとして使用した。今後さらにcell debrisを除外した精子だけを算定するためのsetting条件の検討や、Playback systemの応用によりbackground noiseを除外する等の工夫が必要である。

まとめ

1. kallikreinの精子パラメーターに及ぼす効果をMotility Analyzerを用いて定量的解析を行った。
2. % rapid正常群ではkallikreinの投与により% rapidは薬剤投与前と比べて有意に低下し、% rapid低値群ではkallikreinの投与により% rapidは有意に増加した。
3. kallikreinは精子運動率低下症例の中でも、% rapidが25%未満の症例がよりよい適応になると考えられた。

本論文の要旨は平成5年8月広島市で開催された第31回日本不妊学会中国四国支部総会で発表した。

文 献

- 1) 石津和彦, 林田英嗣, 山川弦一郎 他, 精子自動分析装置を用いて測定した精子の運動能の保持性. 日不妊会誌 33: 769, 1988
- 2) 植野卓也, 石津和彦, 林田英嗣 他, 精子自動分析装置と顕微鏡下精子算定法との比較検討—精子濃度別各パラメーターの比較—. 日不妊会誌 34: 465, 1989
- 3) 上田克憲, 熊谷正俊, 大浜絃三 他, Motility Analyzer HT-M2030による精子運動能解析の成績と精子受精能の関連. 日受着会誌 8: 252, 1991
- 4) 瀧原博史, 精子自動分析装置による精子機能評価から. 日不妊会誌 36: 224, 1991
- 5) World Health Organization, WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 2ed. p27, Cambridge University Press, 1987
- 6) 毛利秀雄, 精子学. 初版, p80, 東京大学版会, 1992
- 7) 守殿貞夫, 岡 伸俊, 浜口毅樹 他, 精子パラメーターに関する臨床的研究—アンドロロジー最近の進歩. ホと臨床 34(増刊号): 163, 1986
- 8) Stüttgen G, Clinical substitution of the effects of kallikrein. Kininogenases-Kallikrein 1: 189, 1973
- 9) Schill WB and Miska W, Possible effects of the kallikrein-kinin system on male reproductive functions. Andrologia 24: 69, 1992
- 10) 斉藤誠一, 熊本悦明, 大野一典 他, 男子生殖器におけるkallikrein-kinin系の研究. 日不妊会誌 30: 276, 1985
- 11) Schill WB, Increased fructolysis of kallikrein-stimulated human spermatozoa. Andrologia 7: 105, 1975
- 12) Leidle W, Prinzen R and Schill WB, The effect of kallikrein on motility and metabolism of spermatozoa in vitro. Kininogenases-Kallikrein 2: 33, 1975
- 13) Naito S and Tanaka S, Increases in plasma kallikrein-like and pancreas kallikrein-like substances after administration of pancreas or plasma kallikrein. Drug Res 33: 952, 1983
- 14) Schutte B, Eggert J and Lindnen J, The Effect of kallikrein on the DNA content and synthesis of embryonic and postembryonic tissues. Kininogenases-Kallikrein 3: 147, 1975
- 15) Rixon RH, Whitfield JF and Bayliss J, The stimu-

lation of mitotic activity in the thymus and bone marrow of rats by Kallikrein. Horm Metab Res 3: 279, 1972

- 16) Rohen JW and Stuttmann R, The early epithelium of the testis in the albino rat under the influence of kallikrein. Kininogenases-Kallikrein 4: 217, 1977
- 17) Mause MM, Caffeine and sperm motility. Fertil Steril 38: 845, 1983
- 18) Kolibianakis EM, Tarlatzis BC and Bontis J, Evaluation of Hamilton-Thorn automated semen analysis system. Archives of Andrology 28: 213, 1992

Quantitative analysis of the effect of kallikrein on semen Motility parameters by means of Computer-Assisted semen analyzer

Katsuhiko Imoto, Hiroshi Takihara,
Satoshi Shirataki, Yoshikazu Baba,
Kiyoharu Kamada and Katsusuke Naito

Department of Urology,
Yamaguchi University School of Medicine,
Ube 755, Japan (Director: Prof. K Naito)

Kazuhiko Ishizu

Department of Urology,
Kagoshima Tokushukai Hospital,
Kagoshima 890, Japan

We evaluated the effects of kallikrein on the sperm function of idiopathic infertile men using the Hamilton-Thorn HTM-2030 Motility Analyzer (HTMA). Kallikrein (150 IU orally per day) was given to 14 idiopathic infertile men for a period of 2 months, and sperm parameters were quantitatively analyzed using HTMA. Idiopathic infertile men were divided into 2 groups depending on the percentage of rapidly motile cells (% rapid) before treatment. Group 1 consisted of 5 cases with normal % rapid (velocity $\geq 25 \mu\text{m}/\text{sec}$) and group 2 consisted of 9 cases with decreased % rapid (velocity $< 25 \mu\text{m}/\text{sec}$). A significant increase in % rapid was observed in group 2 after completion of kallikrein, whereas a significant decrease in % rapid was observed in group 1. These results suggest that patients whose % rapid is less than $25 \mu\text{m}/\text{sec}$ before the treatment may be better candidates for kallikrein therapy.

(受付: 1993年10月4日)

(受理: 1993年11月24日)

COMBINED TREATMENT OF LUTEINIZING HORMONE-RELEASING HORMONE (LH-RH) ANALOGUE (BUSERELIN) WITH CLOMIPHENE CITRATE IN PATIENTS WITH WEIGHT LOSS AMENORRHEA

Yasuhiko NAKAMURA, Masaya ISHIMATSU, Saburo YAMASHITA,
Norihiro SUGINO, Kazuyuki UEDA, and Hiroshi KATO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yamaguchi University, School of Medicine, Yamaguchi 755, Japan

Abstract: The present clinical trial is to examine the usefulness of a combined therapy of buserelin and clomiphene citrate for patients with weight loss related second grade amenorrhea. Eight women who visited our hospital with weight loss amenorrhea were employed to this study. They received combination treatments with buserelin and clomiphene, and examined for their effects by follicular maturation, serum estradiol increase or menstrual bleeding. Three out of eight patients showed follicular growth, serum estradiol increase or menstrual bleeding by this combined therapy (success rate = 37.5%), and had menstrual bleeding only by a clomiphene citrate therapy thereafter. A patient who responded well to this combined therapy showed a good response to the estrogen load test. This combined therapy of buserelin with clomiphene citrate may be a useful therapy for patients with weight loss amenorrhea; especially for unmarried young patients who do not wish to conceive. Estrogen load test may also be useful in selecting patients for this therapy.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 171 - 176, 1994)

Introduction

Recently, an increasing number of patients with weight loss related amenorrhea have been appeared in Japan. Obviously, the basic therapy for this menstrual disorder is the regaining of body weight¹⁾. However, it is noted that fifty to seventy percent of patients who gain weight back to normal range still show amenorrhea^{2,3)}. As the weight loss amenorrhea is caused from a dysfunction in the hypothalamus, the treatment of this menstrual disorder must be directed to the hypothalamus. However, although the primary lesion of weight loss related amenorrhea may be in the hypothalamus^{4~6)}, some patients show secondary hypopituitarism and second grade amenorrhea. In fact, it is well known that clomiphene citrate often fails to cure the weight loss amenorrhea⁷⁾. Although clomiphene citrate is prescribed for patients with hypothalamic menstrual disorder, it is not effective in patients with low estrogen levels^{7,8)}. The direct pitu-

itary activation will stimulate ovarian function, e.g. estrogen production, and may help clomiphene citrate to act at the hypothalamus.

In this study, we used the combined therapy of LH-RH analogue (buserelin) with clomiphene citrate for patients with weight loss amenorrhea. Although buserelin is usually employed as a suppressor of the pituitary through a mechanism of down-regulation⁹⁾, it is known that a low dose and short period nasal administration shows a stimulatory effect but not an inhibitory effect¹⁰⁾. The present data indicated that the combination of buserelin with clomiphene citrate was a useful modality to treat the patient with weight loss amenorrhea.

Materials and Methods

Patients

Eight women who visited our hospital for weight loss related amenorrhea between January 1990 and July 1991 were employed. All patients were informed

of the treatment protocol and consented to it. The characteristics of patients were shown in Table 1. Four out of eight patients (No. 3, 5, 6, 8 in Table 1) had been already recovered from weight loss at the initial time of treatment.

Examination protocols

All of the patients received 100 μ g LH-RH load test first to examine the hypothalamo-pituitary function and underwent the intranasal buserelin (Suprecur; Hoechst-Japan Co, Ltd, Japan) treatment (300 μ g a day) for one week. After buserelin treatment, all patients took LH-RH load test again. Four patients (No. 2, 3, 6, 8 in Table 1) also took the estrogen load test¹¹⁾ one day after the pituitary activation with buserelin. In estrogen load test, 20 mg conjugated estrogen (Premarin; Asahi Chemical Ind., Japan) was injected intravenously. Approximately 5 ml blood samples were collected before injection, and 48 and 72 hours after injection. Serum luteinizing hormone (LH) levels were measured by the specific TR-FIA (Delfia)¹²⁾, and the response (maximum increase) of serum LH level of 200% or greater was diagnosed as a good response.

All patients received combination therapy with intranasal buserelin treatment (300 μ g a day) for one week, followed by clomiphene citrate treatment (100 mg/day, for 5 days) and incremental clomiphene therapy (100 mg/day for 5 days, 150 mg/day for 5 days and 200 mg/day for 5 days)¹³⁾. They were monitored by ultrasonic examination of follicular growth, and serum levels of LH, follicle stimulating hormone (FSH), estradiol and progesterone during the follicular and luteal phases. Serum estradiol and proges-

terone levels were determined by radioimmunoassays; E₂ kit Daiichi-II for estradiol (Daiichi Radioisotope Laboratories, Japan) and Progesterone kit for progesterone (Nihon DPC Co., Japan), respectively. The therapy was considered effective, when patients showed the increase of serum estradiol level, apparent follicular growth in ultrasonography, or biphasic B.B.T. pattern.

Results

All of the patients showed second grade amenorrhea and poor responses to LH-RH before buserelin treatments. After the pituitary activation with buserelin (300 μ g once a day) for one week, the response to LH-RH recovered to an almost normal range in all cases (Fig. 1). The combined therapy of buserelin with clomiphene citrate was effective in three out of eight cases (No. 5, 7, 8 in Table 1; success rate = 37.5%). There were no significant differences in clinical features between the effective and ineffective groups of patients (Table 2).

In four patients who received estrogen load test, the responses were good in one case (No. 8 in Table 1), and poor in other three cases. The combined therapy was effective in the case with good response in estrogen load test, but not effective at all in other three cases with poor responses in estrogen load test.

Case 1 (No. 8 in Table 1)

The 27 Y. O. patient, a gravida 0, had a history of weight loss (-5 kg/month) and amenorrhea for 9 months. When she visited our hospital, she gained her weight back to the previous level but she still had amenorrhea. The response of pituitary to LH-RH

Table 1 The characteristics of the patients with weight loss amenorrhea

| Name | Age (y.o.) | Hight (cm) | Weight (kg) | Lost weight (kg) | Duration of amenorrhea (Months) |
|------|------------|------------|-------------|------------------|---------------------------------|
| 1. | 16 | 159 | 46 | -12 | 12 |
| 2. | 16 | 148 | 36 | -12 | 11 |
| 3. | 17 | 164 | 48 | -15 | 28 |
| 4. | 18 | 158 | 42 | -14 | 9 |
| 5. | 18 | 157 | 30 | -30 | 3 |
| 6. | 20 | 153 | 48 | -13 | 15 |
| 7. | 23 | 152 | 42 | -8 | 60 |
| 8. | 27 | 161 | 58 | -5 | 9 |

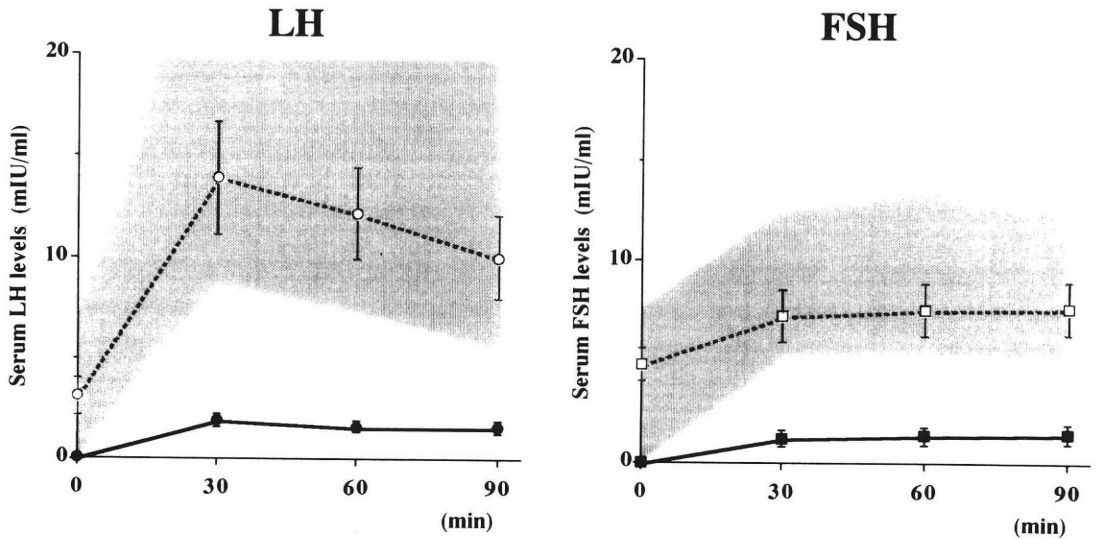


Fig. 1 Serum LH and FSH responses to LH-RH (100 μ g intravenous injection) before (LH: ●, FSH: ■) and after (LH: ○, FSH: □) the activation of the pituitary with buserelin. Shadow areas show the normal responsive ranges in each serum gonadotropin. Each bar represents the Mean \pm SEM of eight patients.

Table 2 Effects of the combined therapy of buserelin with clomiphene citrate and some clinical features in patients with weight loss amenorrhea

| | Effective (n=3) | Ineffective (n=5) |
|--|-----------------|-------------------|
| Lost weight (kg) | 13.3 \pm 8.3 | 13.3 \pm 0.8 |
| Age (y.o.) | 22.7 \pm 2.6 | 17.4 \pm 0.7 |
| Duration of amenorrhea (months) | 24.0 \pm 18.0 | 15.0 \pm 3.4 |
| Regain of lost weight (Number of patients) | 2 | 2 |
| LH-RH test after the pituitary activation | | |
| LH (mIU/ml) | 2.3 \pm 0.9 | 3.2 \pm 1.3 |
| FSH (mIU/ml) | 5.4 \pm 2.2 | 4.6 \pm 0.9 |
| Δ LH (mIU/ml) | 13.0 \pm 8.8 | 9.3 \pm 3.3 |
| Δ FSH (mIU/ml) | 1.3 \pm 0.1 | 3.1 \pm 1.0 |

(Mean \pm SEM)

recovered to the normal after buserelin treatment for one week and she also had a good response in estrogen load test. With the first trial of combined therapy, she succeeded to have follicular growth and spontaneous ovulation (Fig. 2).

Case 2 (No. 7 in Table 1)

The 23 Y.O. patient, a gravida 0, had a history of weight loss (-5 kg/ 3 month) and amenorrhea for 5 years. She had second grade amenorrhea and also showed a poor response to LH-RH. The pituitary

response in LH-RH load test became normal after one week activation of the pituitary with buserelin. Since one course of the combined therapy of buserelin and clomiphene citrate (100 mg/day for five days) was not effective, she took a combined therapy of buserelin with a step-up dose of clomiphene citrate (100 mg/day for five days, 150 mg/day for the next five days and 200 mg/day for the last five days), and succeeded to have follicular maturation (Fig. 3).

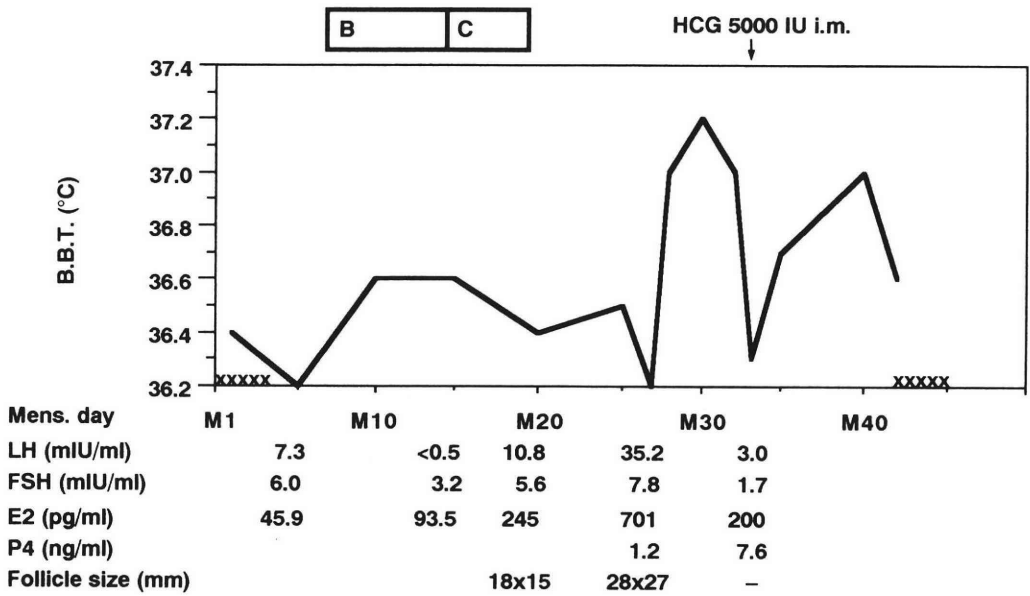


Fig. 2 The clinical profile during the combined therapy in the patient (No. 8 in Table 1)
 The upper boxes show the treatments; B: buserelin treatment, 300 μ g/day for one week, C: clomiphene treatment, 100 mg/day for five days.
 xxxxxx shows the menstruation.
 B.B.T. means the basal body temperature.

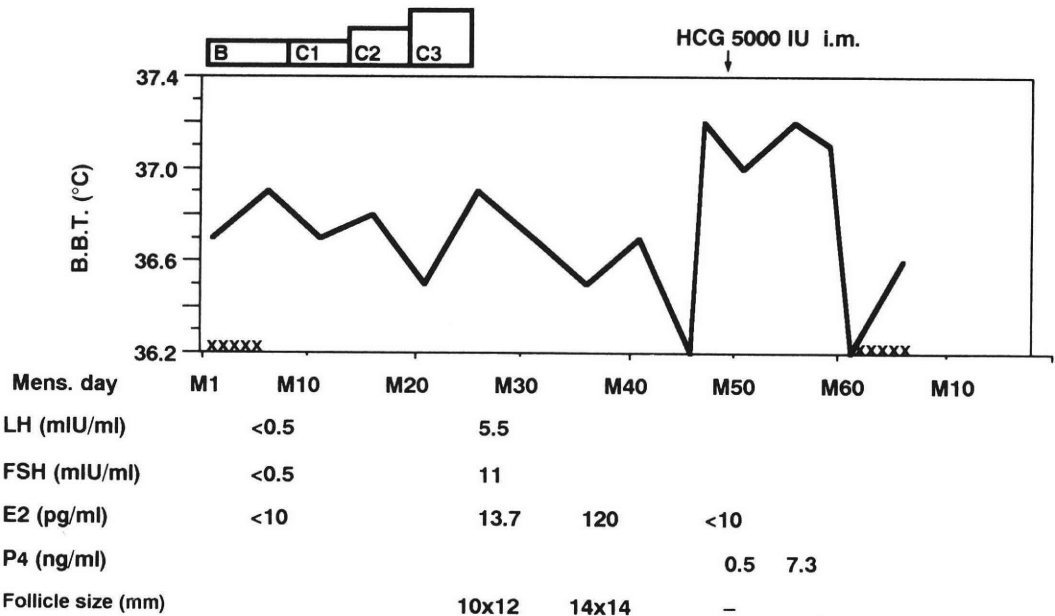


Fig. 3 The clinical profile during the combined therapy in the patient (No. 7 in Table 1)
 The upper boxes show the treatments; B: buserelin treatment, 300 μ g/day for one week, C1: clomiphene treatment, 100 mg/day for five days, C2: 150 mg/day for five days, C3: 200 mg/day for five days.
 xxxxxx shows the menstruation.
 B.B.T. means the basal body temperature.

Discussion

Weight loss amenorrhea is caused primarily by a dysfunction of the hypothalamus^{4~6)}, which, however, is often associated with the secondary dysfunction of the pituitary. This was confirmed in the current study that LH response to LH-RH was poor in all patients before treatment. It also appears that pituitary dysfunction in weight loss amenorrhea induces ovarian dysfunction and low estrogen production, for whom clomiphene citrate alone could not induce follicular growth⁷⁾. In the present study, all patients showed good responses to LH-RH injection after buserelin treatment, but clomiphene alone was still ineffective to induce ovulation (unpublished data). It may be due to the low estrogen production of the ovary; and the spontaneous release of gonadotropins may not be enough to stimulate the ovary although the pituitary showed good response in LH-RH load tests. This is proved by the present results that three cases showed good responses to the combined therapy of buserelin and clomiphene citrate. In the case of No. 8 patient, her endocrinological state could be easily changed to the first grade amenorrhea by buserelin. No. 7 patient, however, needed the escalating clomiphene regimen following buserelin. Other five patients could not respond even to the incremental clomiphene regimen. These results clearly demonstrated that there were some different states recovering from the weight loss related second grade amenorrhea. The dose of buserelin (300 μ g once a day for one week) employed in this study had been proved to show a stimulative effect but not down regulation in Japanese women. This was also confirmed in the present study that this dose of buserelin increased LH response to LH-RH injection. LH-RH increases the number of gonadotrophs and the contents of gonadotropins in the pituitary¹⁴⁾, which should be enough to stimulate the estradiol production in the ovary. Since two out of three patients had ovulatory cycles by clomiphene alone after long-term treatment of buserelin (unpublished data), the simultaneous use of buserelin would not be necessary if the pituitary had been activated to release enough amounts of gonadotropins.

It is well known that the hypothalamus should be

sensitive to estrogen in order for the clomiphene citrate therapy to be effective^{7,8)}. This combined treatment, therefore, needs the pituitary responsibility to estrogen. The estrogen load test may be useful to examine the hypothalamo-pituitary axis and to select the patients for clomiphene therapy¹¹⁾. In the present study, one patient who showed a good LH response in estrogen load test reacted to the combined therapy, whereas the other three patients with poor responses in estrogen load test failed to respond to the combined therapy.

In conclusion, the combined therapy of buserelin with clomiphene citrate is a useful therapy for weight loss related amenorrhea, especially for those patients with secondary dysfunction of the pituitary and ovary. Estrogen load test may be helpful in selecting the candidates for this combined therapy.

References

- 1) Sherman BM, Halmi KA, Zamuldio R, LH and FSH response to gonadotropin-releasing hormone in anorexia nervosa: Effect of nutritional rehabilitation. *J Clin Endocrinol Metab* 41: 135, 1975
- 2) Warren M, Vande-Wiele RL, Clinical and metabolic features of anorexia nervosa. *Am J Obstet Gynecol* 117: 435, 1973
- 3) Hirvonen E, Etiology, clinical features and prognosis in secondary amenorrhea. *Int J Fertil* 22: 69, 1977
- 4) Giusti M, Cavagnaro P, Torre R, et al., Endogenous opioid blockade and gonadotropin secretion: role of pulsatile luteinizing hormone administration in anorexia nervosa and weight loss amenorrhea. *Fertil Steril* 49: 797, 1988
- 5) Vigersky RA, Andersen AE, Thompson RH, et al., Hypothalamic dysfunction in secondary amenorrhea associated with simple weight loss. *N Engl J Med* 297: 1141, 1977
- 6) Warren MP, Jewelewicz R, Dyrenfurth I, et al., The significance of weight loss in the evaluation of pituitary response to LH-RH in women with secondary amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 40: 601, 1975
- 7) Nakamura Y, Yoshimura Y, Oda T, et al., Amenorrhea due to weight loss. *Acta Obst Gynaec Jap* 36: 727, 1984
- 8) Miyake A, Tasaka K, Sakumoto T, et al., Clomiphene citrate induces luteinizing hormone release through hypothalamic luteinizing hormone-

- releasing hormone in vitro. *Acta Endocrinol (Copenh)* 103: 289, 1983
- 9) Shaw RW, Fraser HM, Boyle H, Intranasal treatment with luteinizing hormone releasing hormone agonist in women with endometriosis. *Br Med J* 287: 1667, 1983
 - 10) Lemay A, Faure N, Labrie F, Sensitivity of pituitary and corpus luteum responses to single intranasal administration of (D-Ser [TBU]⁶-des-Gly-NH₂¹⁰) luteinizing hormone-releasing hormone ethylamide (Buserelin) in normal women. *Fertil Steril* 37: 193, 1982
 - 11) Vande-Wiele RL, Bogumil J, Dyrenfurth I, et al., Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. *Recent Progr Hormone Res* 26: 63, 1970
 - 12) Soini E, Kojola H, Time-resolved fluorometer for lanthanide chelates -A new generation of nonisotopic immunoassays. *Clin Chem* 29: 65, 1983
 - 13) O'herlihy C, Pepperell RJ, Brown JB, et al., Incremental clomiphene therapy: A new method for treating persistent anovulation. *Obstet Gynecol* 58: 535, 1981
 - 14) Kotsuji F, Hosokawa K, Tominaga T, Daily administration of gonadotrophin-releasing hormone increases pituitary gonadotroph number and

pituitary gonadotrophin content, but not serum gonadotrophin levels, in female rats on day 1 of dioestrus. *J Endocrinol* 132: 395, 1992

体重減少性無月経患者に対する LH-RHアナログ(ブセレリン), クロミフェン 併用療法の試み

山口大学医学部産科婦人科学教室

中村康彦 石松正也 山下三郎
杉野法広 上田一之 加藤 紘

我々は、これまで体重減少性第2度無月経患者に対しては、体重の回復を促しホルモン補充療法を行って中枢の自然回復を待つという治療方針を取ってきた。しかし排卵周期の回復が遅れると、患者はしばしば不安を訴え、我々臨床医は治療に苦慮する。本研究では、体重減少性第2度無月経患者に対し、ブセレリンで下垂体を直接刺激しクロミフェンを併用投与してその有用性を検討した。8症例中3症例(37.5%)で卵胞発育を認めた。この併用療法の適応患者選択にはブセレリン刺激後のプレマリン負荷試験が有益と思われた。

(受付: 1993年10月9日)

(受理: 1993年11月24日)

遺伝子工学による alpha-fetoprotein の生産

Production of Recombinant Alpha-Fetoprotein by Genetic Engineering

北海道大学医学部産婦人科学教室

山本 律 藤本 征一郎

Ritsu YAMAMOTO Seiichiro FUJIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology,

Hokkaido University, School of Medicine, Sapporo 060, Japan

北海道大学医学部第一生化学教室

西 信三

Shinzo NISHI

Department of Biochemistry,

Hokkaido University, School of Medicine, Sapporo 060, Japan

AFPを体外受精・胚移植の添加蛋白質として用いるためには、原料の量的制限、感染粒子や血液由来未知因子混入の完全否定が困難なため、recombinant AFPを産生する必要があった。そこでヒトAFPcDNAを発現ベクターに挿入して酵母を形質転換し、これを溶解し2種のクロマトグラフィーによりrecombinant AFPを精製した。得られた蛋白質はSDS-PAGEにおいて、分子量68000の単一バンドとして認められ、そのアミノ酸組成はヒトAFPcDNAから推定されるアミノ酸組成に非常に近いものであった。またオクタロニー二重免疫拡散法において、ヒト肝細胞癌AFPと全く同一の抗原性を有していることが示された。以上の結果より遺伝子工学の手法を用いてrecombinant AFPを精製することができ、これにより不妊治療におけるAFPの有用性を検討することが可能となった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 177 - 182, 1994)

緒 言

Alpha-fetoprotein (AFP) は1963年Abelev, Tatarinovが報告^{1,2)}して以来、主に肝癌特異抗原性蛋白質として研究されてきた³⁾。1969年NishiらによりAFPが精製^{4,5)}され、胎児AFPと肝細胞癌AFPは化学的に区別し難く、同一遺伝子産物である事が明らかとされた⁴⁾。AFPは従来、肝細胞癌あるいはヨークサック腫瘍に特異的とされていたが、測定法の進歩に伴い、正常人血中にも低濃度に存在することが知られるようになり⁶⁾、また1993年Wagh, Lippesにより従来human oviductin-I (hOV-I)と呼ばれていた蛋白質がAFPと同一の蛋白質である事が報告⁷⁾され、AFPの卵管内での存在が証明された。AFPは胎生期の初期はヨークサックで、後に肝で合成される血清 α -グロブリン

の一種であるが、出生時にはその合成は殆ど停止する⁸⁾。胎児でのAFPの産生は胎生3カ月頃がピークであり、以後産生低下が始まり変わってアルブミンの合成がおこる^{9,10)}。最近AFPとアルブミンのアミノ酸配列に類似性があり、また両者とも3つのドメインからなる事が判明した^{11,12)}。両遺伝子の構造にも類似性があり、本来一つのものであったが進化と共に二つの類似する遺伝子となったと推測され、胎児時代はAFPの遺伝子が活動し、アルブミン遺伝子は眠っているが、胎生3-4カ月で逆転し、以後はAFP遺伝子が休止すると考えられる。

着床とは胚盤胞のtrophoblast cellと子宮内膜上皮という遺伝学的に異なったそれぞれの細胞が接着し、trophoblastから分化した合胞細胞が内膜上皮を貫通し、間質まで侵入する現象であり、癌細胞に特有な

増殖能あるいは組織への浸潤には、受精卵の子宮に対する着床また胎児細胞の増殖とに共通する現象が多数見受けられる¹³⁾。

以上より我々は胎生期の組織や、成熟婦人の卵管内にAFPが存在する必然性、またAFPがヒト精子頭部に選択的に結合することより、AFPが受精および着床に関し重要な役割を果たしている可能性があると考え、体外受精・胚移植 (in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) の添加蛋白質としてのヒトAFPの有用性を検討すべく、分子生物学的手法を用いて recombinant AFP を産生させ、精製してきた¹⁴⁾。そして今回、より native な AFP を得るため、酵母により AFP を産生し得たので報告する。

材料と方法

AFP 遺伝子発現プラスミドの構築

今回 AFPcDNA を酵母で発現させるために用いられたベクターは、酵母の遺伝子として抑制性酸性ホスファターゼプロモーター (P)、酵母の核外増殖因子 2 μ m DNA (O) と染色体増殖起点 ars 1 (A)、選択マーカーとしての lue 2 遺伝子 (L) を持ち、また大腸菌遺伝子として pBR322 の複製起点と選択マーカーとしてのアンピシリン耐性遺伝子 (Amp^r) を持つ、大腸菌

と酵母のシャトルベクター pAM82 である。この発現ベクターの Xho I site に、ヒト成熟 AFPcDNA のアミノ末端にラット AFPcDNA のシグナルペプチドをコードする DNA 断片を Bam HI linker でつないだものを挿入し pAMHA3 を作成した(図 1)。

酵母におけるヒト AFP の発現

pAMHA3 で大腸菌 HB101 を形質転換しそれを増殖させることにより、十分な量のプラスミド pAMHA3 を得、これを用い Hinnen らの方法¹⁵⁾で *Saccharomyces cerevisiae* AH22 (a leu 2 his can cir+) を形質転換した。AH22 はロイシン要求性変異株であるが、pAMHA3 が leu 2 遺伝子を持つためロイシン非要求となる。そこで無ロイシン高無機リン酸培地を含む 2% アガープレートにより、pAMHA3 を持つ AH22 を選択し、これを 20mg/l のヒスチジンおよび 1.5g/l の KH₂PO₄ (高無機リン酸培地) を添加した Burkholder minimal medium¹⁶⁾ を用い、通気下 30℃ で細胞密度 2×10^7 cells/ml になるまで培養した。酵母には抑制性および構成性酸性ホスファターゼが存在するが、pAMHA3 を構成する抑制性酸性ホスファターゼは通常の培養条件下では合成が抑制されており、培地の無機リン酸濃度を低下させることにより合成が誘導されるため、3000rpm, 20min 遠心して細胞を集めた後、これ

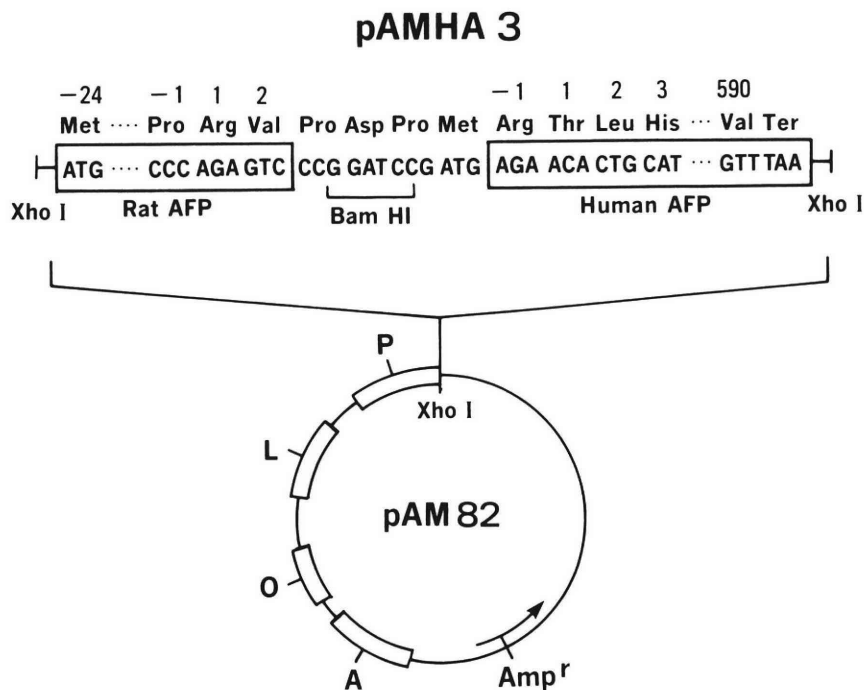


図 1 プラスミド pAMHA3

を上記培養液の 1.5g/l の KH_2PO_4 の代わりに 1.5g/l の KCl を添加した induction medium (低無機リン酸培地) を用いて培養し、ヒト AFP の合成を誘導した。酵母を細胞密度 1×10^8 cells/ml まで培養、遠心し集めた後、1M sorbitol, 50mM EDTA, 14mM 2-mercaptoethanol, $100 \mu\text{g/ml}$ Zymolyase-100T を加えた 50mM リン酸緩衝液 pH7.2 で懸濁し、 30°C 、2 時間緩やかに震盪した。以上により得られたスフェロプラストを再度遠心し集め、0.5M NaCl, 0.1% Triton X-100, 0.1mM phenylmethylsulfonyl fluoride を加えた 20mM Tris-HCl pH7.5 で 0°C 、1 時間溶解した。溶解液を 8000rpm、15 分間遠心し、上清に 0.2mM phenylmethylsulfonyl fluoride, $1 \mu\text{M}$ leupeptin, $1 \mu\text{M}$ pepstatin (Boehringer) のプロテアーゼ阻害剤を加え、AFP 精製に供した。

AFP の精製

細胞溶解液を、20 倍量の 0.1M Tris-HCl, pH8.0 で 20 分間、3 回透析した。透析物を同緩衝液で平衡化および洗浄した DEAE-セルロース (DE52, Whatman) によるイオン交換クロマトグラフィーを用い、0.4M Tris-HCl, pH8.0 で溶出した。前述のプロテアーゼ阻害剤を再度加えた後、0.15M NaCl を含む 10mM 磷酸ナトリウム pH7.4 で透析し、透析物をアフィニティークロマトグラフィーに供し、得られた AFP は Centricon 30 (Amicon) 濾過により、蒸留水中に濃縮した。

免疫学的分析
AFP の定量はサンドイッチ法による RIA により、また免疫学的分析はオクタロニー免疫沈降反応により観察した。recombinant AFP の分子量の検討、および肝細胞癌 AFP との比較はドデシル硫酸ナトリウム (SDS) ポリアクリルアミドゲル電気泳動¹⁷⁾により行った。アミノ酸組成は、6N HCl で、 110°C 、24 時間水解して自動アミノ酸分析器 (日立, Model 835) により求め、N 末端のアミノ酸配列は気相シーケンサー (Applied Biosystems, Model 470A) を用いた、エドマン分解法により決定した。蛋白質の濃度は、ウシ血清アルブミンをスタンダードとして protein assay kit (Bio-Rad) で測定した。

結 果

Zymolyase-100T 処理後の遠心による上清には、測定できる量の AFP を認めなかったが、沈降したスフェロプラストには酵母 1g あたり $1.1 \mu\text{g}$ の AFP を認めた。また 0.1% Triton X-100 による溶解液中には 9.8g の AFP を認めた。4000 ml の培養液から 19.8g の酵母細胞が得られたが、0.1% Triton X-100 処理により得られた 180 ml の溶解液中に $251 \mu\text{g}$ の AFP を認めた。

表 1 酵母細胞 20g からの AFP 精製

| PURIFICATION STEP | TOTAL PROTEIN | AFP | AFP RECOVERY |
|-------------------|---------------|---------------|--------------|
| | mg | μg | % |
| Lysate | 239 | 251 | 100 |
| DEAE-Sephadex | 29.7 | 214 | 85 |
| Immunoabsorbent | N.D. | 118 | 47 |

N. D. : not determined

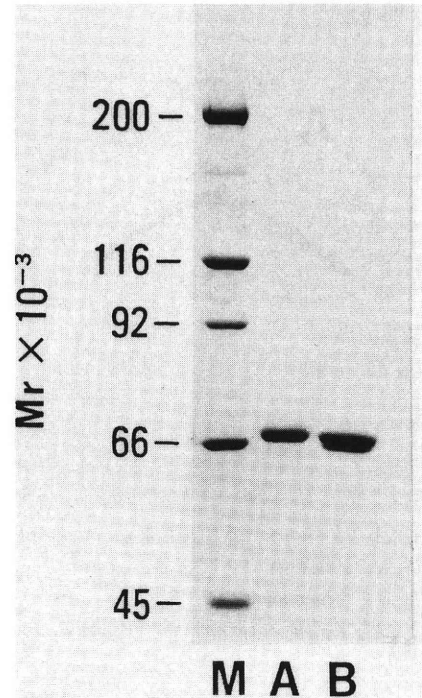


図 2 recombinant AFP の SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動による分析

A : 肝細胞癌 AFP $1.5 \mu\text{g}$

B : recombinant AFP $1.5 \mu\text{g}$

M : サイズマーカー

イオン交換クロマトグラフィーの溶出液 180ml には $214 \mu\text{g}$ 、そしてアフィニティークロマトグラフィーによる精製物には $118 \mu\text{g}$ の AFP を認めた。溶解液および溶出液中の総蛋白質量はそれぞれ 239mg と 29.7mg であった。(表 1)

SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動において、この recombinant AFP は分子量 68000 の単一のバンドとして電気泳動され、他の蛋白質の存在を認めなかった。(図 2)

recombinant AFP の N 末端 10 アミノ酸配列は Xaa-

表2 AFPのN末端アミノ酸配列

| | Rat AFP | | | | Human AFP | | | |
|----|--|----|---|---|--------------------------------|--|--|--|
| A: | -24 | -1 | 1 | 2 | -1 | | | |
| B: | Met-----Pro-Arg-Val-Pro-Asp-Pro-Met-Arg-Thr-Leu-His-Arg-Asn-Glu-Tyr--- | | | | Thr-Leu-His-Arg-Asn-Glu-Try--- | | | |
| C: | Xaa-Val-Pro-Asp-Pro-Met-Xaa-Thr-Leu-His----- | | | | | | | |

A: cDNA塩基配列より推定されるAFP前駆体蛋白質
 B: 肝細胞癌AFP
 C: recombinant AFP
 Xaaは不明残基

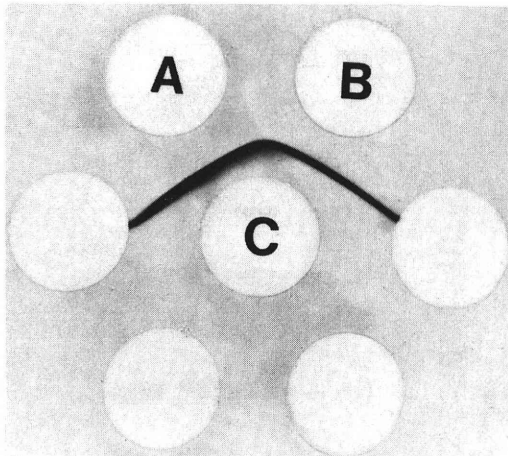


図3 オクタロニー二重免疫拡散法による分析
 A: 肝細胞癌AFP 1.5 μg
 B: recombinant AFP 1.5 μg
 C: ウマ抗ヒト肝細胞癌AFP抗体20 μg

Val-Pro-Asp-Pro-Met-Xaa-Thr-Leu-His (Xaaは不明残基)であったが、このシークエンスより酵母は発現したAFP前駆体蛋白質をラット細胞と同じ位置でプロセシングすることが示された。(表2)ヒト肝細胞癌由来AFPに対するウマ抗体を用いたオクタロニー二重免疫拡散法では、肝細胞癌AFPとrecombinant AFPの沈降線は完全融合し、両者の抗原性が全く一致していることを示していた。(図3)recombinant AFPのアミノ酸組成はグリシンを除いてはヒトAFPcDNAから推定されるアミノ酸組成に非常に近いものであった。(表3)ヒトAFPのシグナルペプチドを含む全領域をカバーするヒトAFPcDNAがクローン化されていないため、今回はラットAFPのシグナルペプチドをヒトAFPと結合して用いたが、今回データには示さないが以前報告した¹⁴⁾ようにAFPの効率よい産生のためにはシグナルペプチドが必須であった。

表3 recombinant AFPアミノ酸組成

| Residues | Found ^a | Predicted ^b |
|----------|--------------------|------------------------|
| Asp+Asn | 45.3 | 43(24+19) |
| Thr | 34.2 | 35 |
| Ser | 35.2 | 36 |
| Glu+Gln | 97.3 | 97(57+40) |
| Pro | 24.0 | 23 |
| Gly | 35.2 | 25 |
| Ala | 48.9 | 51 |
| 1/2Cys | N.D. | 32 |
| Val | 29.7 | 30 |
| Met | 7.4 | 9 |
| Ile | 28.8 | 32 |
| Leu | 55.6 | 57 |
| Tyr | 15.8 | 17 |
| Phe | 28.4 | 29 |
| Lys | 41.1 | 41 |
| His | 15.2 | 16 |
| Arg | 21.9 | 23 |
| Trp | N.D. | 1 |
| (Total) | (564.0) | (597) |

a: AFP一分子あたりの測定値
 b: アミノ酸配列からの予測値
 N. D. : not determined

考 察

我々は以前より着床現象で、免疫学的に拒絶反応が起こらない原因として、癌胎児性蛋白質のひとつであるAFPがなんらかの重要な役割を果たしているのではないかと推測してきた。精製ヒトAFPで家兎、ウマ、ラットを免疫すると、それらは同種のAFPに対しても抗体を産生することを示した^{18,19)}が、自己のAFPに対する抗体を獲得した家兎の流産率は高い

傾向にあった。流産を免れた新生仔では組織学的に重篤な肝障害が観察された¹⁹⁾が、流産の原因がこの肝障害による胎児死亡により引き起こされたのか、抗AFP抗体による着床障害に起因するものかの検討はしていない。1993年Wagh, Lippesにより、排卵周期にAFPが卵管内に存在し、おそらくそれが卵管粘膜細胞で産生されているだろうこと⁷⁾、またhOV-IすなわちAFPがヒト精子頭部に選択的に結合しアクロソーム安定化因子として働く可能性が報告された²⁰⁾が、これらは我々の推測と全く矛盾しない結果であった。

AFPをIVF-ETの培養液に添加し妊娠率への影響を検討するにあたり、いかにAFPを得るかを考慮しなければならない。現在AFPを効率よく得る方法は、肝細胞癌患者血清や腹水、肝細胞癌細胞の培養上清、または臍帯血清を材料とし免疫吸着法で精製する方法⁵⁾である。しかし多量のAFPを癌細胞あるいは臍帯血に求めることは、原料の量的制限をはじめ、感染粒子あるいは血液由来の未知因子混入の完全否定が困難なため、遺伝子工学の手法を用いる必要があった。大腸菌および酵母でラットAFPを生産しそれらの分析を行った¹⁴⁾が、大腸菌によるAFPでは一部の抗原活性が欠如し、またエストロゲン結合能が失われていることなどにより、よりnativeなAFPを効率よく得るためには、酵母²¹⁾によりrecombinant AFPを生産すべきであると考えられた。このようにして得られたrecombinant AFPは分子量68000の、肝細胞癌AFPと全く同じ抗原性をもつ蛋白質であった。肝細胞癌AFPの分子量はこれよりわずかに大きく69000であるが、これは、酵母はほ乳動物と異なったglycosylation processを持つことが知られており²¹⁾、このためrecombinant AFPと肝細胞癌AFPにおいては、前者の糖鎖がhigh-mannoseタイプ、後者がcomplex and branchedタイプというような、炭水化物成分の差が影響したのではないかと考えられる。オクタロニー二重免疫拡散法では、両者の抗原性は全く一致し、また今回データとして示してはいるが、AFPに対するポリクロナール抗体あるいはモノクロナール抗体による検討でも両者は全く同じ反応を示し、両者を免疫学的に判別することはできなかった。アミノ酸組成分析においてはrecombinant AFPのグリシンが高値を示した以外は、両者は非常に似た組成であることがわかったが、これはおそらく精製過程で用いたグリシン緩衝液のコンタミネーションによるものと推測される。

ヒトIVF-ETにおいてhuman tubal fluidの構成成分を

基本とした培養液²²⁾が使用されているが、卵管内に存在するhOV-IすなわちAFPに対しての検討はされていない。また添加血清として臍帯血清を用いてその効果を検討した報告²³⁾は多数あるが、それに含まれるAFPに関しての検討も全くなされていない。臍帯血中のAFP濃度は、自然排卵あるいはIVF-ET周期の患者血清中のAFP濃度に比較して有意に高値であることは周知であるが、同時にプロゲステロンやエストロゲンを非常に多く含み、その評価が難しい。

IVF-ETにおける添加蛋白質としてのAFPの有用性を検討するため、酵母を用いてAFPを大量に生産する基本系を我々は確立した。マウス等の体外受精実験系に使用しその効果を判定すると同時に、ベクター等の見直しによる生産効率の向上、あるいは精製蛋白質への酵母成分の混入等、まだ解決されなければならない問題点が多数指摘されるが、AFPの受精および着床におよぼす影響を検討するために、遺伝子工学によるAFPの生産に成功したのでここに報告した。

文 献

- 1) Abelev GI, Perova SD, Khramkova NJ, et al., Production of embryonal α -globulin by transplantable mouse hepatoma. *Transplantation* 1: 174, 1963
- 2) Tatarinov YS, Content of embryo-specific α -globulin in fetal and neonatal sera and sera from adult humans with primary carcinoma of the liver. *Vop Med Khim* 11: 20, 1965
- 3) Hirai H, Nishi S, Watabe H, Chemical studies of AFP's of human and several other animals. *Tumor Res* 8: 11, 1973
- 4) Nishi S, Isolation and characterization of a human fetal α -globulin from sera of fetuses and a hepatoma patient. *Cancer Res* 30: 2507, 1970
- 5) Nishi S, Hirai H, Purification of human, dog and rabbit α -fetoprotein by immunoabsorbents of sepharose coupled with anti-human α -fetoprotein. *Bioch Biophys Acta* 278: 293, 1972
- 6) Hirai H, Nishi S, Watabe H, Radioimmunoassay of alpha-fetoprotein. *J Nucl Med* 13: 783, 1972
- 7) Wagh PV, Lippes J, Human oviductal fluid proteins. V. Identification of human oviductin-I as alpha-fetoprotein. *Fertil Steril* 59 (1): 148, 1993
- 8) Koga K, Tamaoki T, Developmental Changes in the Synthesis of α -fetoprotein and Albumin in the Mouse Liver: Cell Free Synthesis by Membrane-bound Polysomes. *Biochem* 13: 3024, 1974
- 9) 日野睦雄, 西 信三, 山下幸紀, 妊娠血中の α -fetoprotein. *医学のあゆみ* 52: 512, 1972

- 10) Ruoslahti E, Seppälä M, alpha-Fetoprotein in cancer and fetal development. *Adv Cancer Res* 29: 275, 1979
- 11) Law SW, Dugaiczky A, Homology between the primary structure of alpha-fetoprotein, deduced from a complete cDNA sequence, and serum albumin. *Nature* 291: 201, 1981
- 12) Young PR, Tilghman SM, Multidomain Proteins-Structure and Evolution. p55, Elsevier Science Publishers BV, 1986
- 13) 平井秀松, 癌と胎児. *生物と化学* 13 : 463, 1975
- 14) Nishi S, Koyama Y, Sakamoto T, et al., Expression of rat alpha-fetoprotein cDNA in *Escherichia coli* and in yeast. *J Biochem* 104: 968, 1988
- 15) Hinnen A, Hicks JB, Fink GR, Transformation of yeast. *Proc Natl Acad Sci US* 75: 1929, 1978
- 16) Bostian KA, Lemire JM, Cannon LE, et al., In vitro synthesis of repressible yeast phosphatase: identification of multiple mRNAs and products. *Proc Natl Acad Sci US* 77: 4504, 1980
- 17) Hunkapiller MW, Lujan E, Ostrander F, et al., Isolation of microgram quantities of proteins from polyacrylamide gels for amino acid sequence analysis. *Methods Enzymol* 91: 227, 1983
- 18) Nishi S, Watabe H, Hirai H, Production of antibody to homologous α -fetoprotein in rabbits, rats and horses by immunization anti human α -fetoprotein. *J Immunol* 109: 957, 1972
- 19) Nishi S, Watabe H, Hirai H, Species cross-reaction of α -fetoproteins and break-down of the tolerance to α -fetoprotein by immunization with heterologous α -fetoprotein. *Tumor Res*. 8: 17, 1973
- 20) Lippes J, Wagh PV, Human oviductal fluid (hOF) proteins. IV. Evidence for hOF proteins binding to human sperm. *Fertil Steril* 51 (1): 89, 1989
- 21) King DJ, Walton EF, Yarranton GT, Molecular and Cell Biology of Yeasts. p107, Blackie and Son Ltd., 1989
- 22) Quinn P, Kerin J, Warnes G, Improved pregnancy rate in human in vitro fertilization with the use of a medium based on the composition of human tubal fluid. *Fertil Steril* 44 (4): 493, 1985
- 23) Jinno M, Comparison of media used for human in vitro fertilization and embryo transfer programs -a new method of serum preparation. *Acta Obst Gynaec Jpn* 38 (1): 102, 1986

Production of recombinant alpha-fetoprotein by genetic engineering

Ritsu Yamamoto and Seiichiro Fujimoto

Department of Obstetrics and Gynecology,
Hokkaido University School of Medicine,
Sapporo 060, Japan

Shinzo Nishi

Department of Biochemistry,
Hokkaido University School of Medicine,
Sapporo 060, Japan

In immunochemical studies cancer is similar to fetus in respect of antigenic components common to them. Alpha-fetoprotein (AFP), one of the carcinoembryonic protein, is synthesized in yolk sac during early fetal period. The highest level of this protein occurs at the 13th gestational week in human and it is present in higher concentration than serum albumin in a fetus. Developmental change in synthesis of AFP and albumin occur at birth.

In 1993 it is documented that AFP exists in high concentration in preovulatory human oviductal fluid, and may act as an acrosome stabilizing factor, preventing a premature acrosome reaction. These findings suggest that AFP plays a important role in fertilization and implantation.

A limit of materials and infectious or unknown factor in blood restrict the investigation about media with AFP used for human in vitro fertilization and embryo transfer programs.

Human alpha-fetoprotein was expressed in *Saccharomyces cerevisiae*, with a plasmid containing the cDNA sequence for human AFP. The recombinant AFP was purified from the yeast lysate by DEAE-cellulose and immunoaffinity chromatography. This recombinant protein had the properties of native AFP.

With the advances of genetic engineering, it is possible to investigate the effects of AFP on fertilization and implantation.

(受付: 1993年 9月 17日)

(受理: 1993年 11月 26日)

Ca ionophore A23187で誘起される精子先体反応率に及ぼす 前培養時間の影響

Influence of Preincubation Periods on the Acrosome Reaction of Human Spermatozoa Induced by Ca Ionophore A23187

広島大学医学部産科婦人科学教室

(主任：大濱紘三教授)

| | | |
|-------------------|------------------|--------------------|
| 新 甲 靖 | 上 田 克 憲 | 熊 谷 正 俊 |
| Yasushi SHINKOH | Katsunori UEDA | Masatoshi KUMAGAYI |
| 絹 谷 正 之 | 竹 中 雅 昭 | 大 濱 紘 三 |
| Masayuki KINUTANI | Masaaki TAKENAKA | Koso OHAMA |

Department of Obstetrics and Gynecology,
Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima 734, Japan
(Director: Prof. K. Ohama)

Ca ionophore A23187により誘起される精子先体反応率(% of Acrosome Reaction ; %AR)は、精子受精能の新しい指標として注目されている。今回我々は、%ARの測定条件を設定する目的で妊孕性の確認された健康男子11例(健康男子群)および男子不妊患者13例(男性不妊群)の計24例を対象として、精子前培養時間と%ARの関連を求めるとともに、Ca ionophore添加の意義を検討した。

精子をmBWW培養液中で1, 3および6時間(swim upの1時間を含む)前培養(37℃, 5% CO₂ in air)した後、Ca ionophore (10 μM, 1時間)を作用させた時の%ARは、健康男子群で各々平均12.9%, 15.7%, 31.2%, 男子不妊群で6.7%, 8.8%, 11.8%で、両群ともに前培養時間の延長にともなう%ARの有意の増加が認められた(p<0.01)。また、いずれの前培養時間においても健康男子群の%ARが男性不妊群に比較して有意に高値(p<0.01)であったが、両群の%AR分布の重なりは前培養時間6時間の時に最も小さかった。一方、6時間前培養におけるCa ionophore非添加時の%ARは両群間で差異がなかった(健康男子群; 4.0%, 男性不妊群; 4.0%)。以上より、精子受精能の指標としてCa ionophore添加時の%ARを測定する場合には6時間前培養が最も有用であり、またCa ionophore非添加時の%ARは精子受精能の指標にならないことが判明した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 183 - 187, 1994)

緒 言

男性不妊の診断、治療においては精子受精能を正しく把握することが重要であるが、その客観的評価は必ずしも容易ではない。従来から精子受精能検査法としては、透明帯除去ハムスター卵を利用したハムスターテストが最も有用とされているが、本テストは時間や技術的習熟を要するバイオアッセイであるため、実施に際して大きな制約がある。近年の精

子先体反応の客観的評価法の開発にともない、先体反応誘起物質の一つであるCa ionophore A23187(以下、Ca ionophoreと略す)を作用させた時の精子先体反応率が精子受精能の新しい指標として注目されるようになった。精子先体反応率の算定は、ハムスターテストに比較して手技が容易で、ハムスター卵の準備を必要としないなど種々の利点を有しているが、いまだ報告例が少ないこともあって測定条件や判定基準などに関しては一定した見解が得られてい

ない。

そこで今回我々は、精子先体反応率に大きな影響を与えると考えられる精子培養時間と先体反応率の関係を調べるとともに、Ca ionophore添加の意義について検討した。

対象および方法

妊孕性の確認された健康男子11例(以下、健康男子群)および女性側の不妊因子の検索で排卵障害、卵管疎通性障害などの不妊因子が認められない男性不妊患者13例(以下、男性不妊群)の計24例を対象とし、精子提供者の同意を得て以下の検討を行った。なお、今回対象とした男性不妊群の不妊期間は平均 5.0 ± 3.4 年であった。

用手法にて採取した精液を室温に30~60分間放置して完全に液化させた後、精液量、精子運動率および精子濃度の算定を行った。精液をヒト血清アルブミン0.5%を含むmodified Biggers, Whitten and Whittingham (mBWW)培養液で1回洗浄(180g, 5分間)した後、mBWW培養液中で1時間(以下、培養条件はすべて37℃, 5% CO₂ in Air) swim upして運動性良好な精子を回収した。その後、精子浮遊液(健康男子群; 5×10^6 /ml, 男性不妊群; $1-5 \times 10^6$ /ml)を4検体に分け、1検体には直ちにCa ionophoreを添加(最終濃度 $10 \mu\text{M}$)して1時間作用させ、他の2検体はmBWW培養液で2時間および5時間培養した後同様にCa ionophoreを1時間作用させた。また、残りの1検体は、対照としてCa ionophoreを添加せずmBWW培養液中で6時間の培養を行った。これらの培養終了後、新たなmBWW培養液で1回洗浄した精子浮遊液に、Hoechst 33258(最終濃度 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$)を加えて超生体染色を行った。ついで、100%エタノールで精子を固定した後、FITC-Conjugated Pisum Sativum Agglutinin (FITC-PSA)による先体の染色を行ったが、回収精子数の多い場合はスライドグラス塗沫法で、また回収精子数が極端に少ない場合はMorales and Crossのフィルター法¹⁾で顕微鏡標本を作製した。蛍光顕微鏡下に個々の精子についてHoechst 33258による染色性(UVフィルター)およびFITC-PSAによる先体の染色性(B2フィルター)を判定した。今回の検討では、Hoechst 33258染色で精子頭部に蛍光が認められない生存精子で、しかもFITC-PSA染色でequatorial segmentのみ染色される精子を先体反応完了精子と判定し(図1)、1検体あたり300以上の精子を観察して先体反応率(以下、% of Acrosome Reaction; %ARと略)(先体反応完了精子/観察精子 $\times 100$ (%))を求めた。

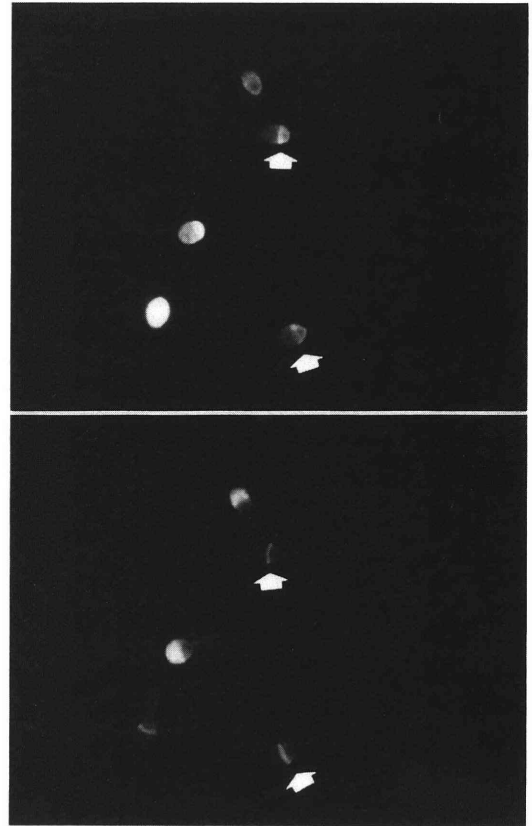


図1 Hoechst 33258による染色(上)およびFITC-PSAによる染色(下)

精子頭部が強い蛍光を示さない生存精子でしかもequatorial segmentのみ染色される精子(矢印)を先体反応完了精子と判定した

各対象群の%ARの比較にあたっては、%ARをアークサイン変換した後、t検定を行い、危険率1%未満($p < 0.01$)を有意とした。

結 果

対象とした24例の精液所見をWHOの基準²⁾に従って分類したところ、健康男子群11例はすべて正常精液とされ、男性不妊群の13例では2例が正常精液、10例が乏精子症、1例が精子無力症とされた。swim up後の精子運動率は健康男子群が平均95.5%(87.5-100%)、男性不妊群が平均93.4%(86.3-98.3%)で、両群間に有意差を認めなかった。

健康男子群でのCa ionophore添加後の%AR(以下、induced %AR)は、前培養時間(swim upの1時間とmBWWでの培養時間を加えたもの)1時間で平均12.9%、3時間で15.7%、6時間で31.2%であり、一方、

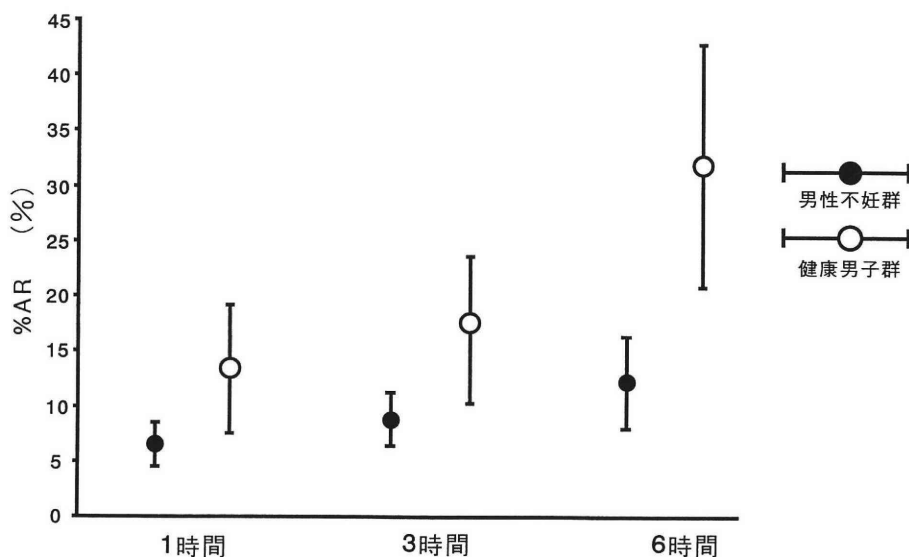


図2 前培養時間とCa ionophore A23187添加時の%AR (平均±標準誤差)

男性不妊群の induced %AR は各々平均 6.7%, 8.8%, 11.8% で両群ともに前培養時間の延長に伴う有意の増加が認められた (図 2)。また, 各前培養時間 (1, 3, 6 時間) における健康男子群と男性不妊群の induced %AR の比較では, いずれも健康男子群が男性不妊群に比較して有意に高値を示した (図 2)。同一の前培養時間における両群の induced %AR の分布には若干重なる部分があり, 健康男子群の最低値以上を示した男性不妊例は, 前培養時間 1 時間 (健康男子群の最低値; 7.6%, 以下同じ) で 4 例, 3 時間 (9.1%) で 5 例, 6 時間 (19.0%) では 1 例で, 6 時間前培養時での重なりが最も少なかった。

一方, 対照とした Ca ionophore 非添加時の %AR (以下, spontaneous %AR) は健康男子群で平均 4.0% (95% 信頼限界; 3.4 - 4.1%), 男性不妊群で平均 4.0% (同; 3.7 - 4.3%) で, とともに 6 時間前培養時の induced %AR に比較して有意に低値であった。

考 察

受精の成立には, 精子が受精能を獲得 (capacitation) した後, 先体反応を完了することが必要である³⁾。従来から用いられている精液パラメーター (精子運動率, 精子濃度など) は妊孕性を判定する上での優れた指標にはならないことが最近の研究⁴⁾によって明らかにされた。その理由の一つとして, 精液検査は直接精子先体反応を評価するものではないことがあげられる。精子受精能を評価する検査法としては,

透明帯除去ハムスター卵に対するヒト精子の侵入率をみるハムスターテスト⁵⁾が現在のところ最も有用な方法とされている。本テストでは先体反応完了精子のみがハムスター卵に侵入する⁶⁾ため, 精子先体反応の間接的評価法ということもできる。一方, 近年開発されたヒト精子先体反応の評価法⁷⁾は, 客観的でしかも簡便に先体反応完了精子の比率を算定できるという利点を有しており, これを応用した新しい精子機能検査法の開発が期待されている。

前述のように, 精子の先体反応にはその前段階として capacitation が必要であるが, ヒト精子では swim up や遠沈などで精漿を除去し, mBWW 培養液などの capacitation medium 中で培養することにより capacitation をおこすことができる。しかし, 精子受精能検査として先体反応率を算定する場合, どの程度の前培養時間が適当かという点についてはほとんど検討されていない。Fénichel et al.⁸⁾ や Cummins et al.⁹⁾ は今回と同様に健康男性や不妊男性を対象とした精子先体反応率を検討しているが, Fénichel et al. は B₂ medium 中で 6.5 時間の培養を, Cummins et al. は modified Tyrode's solution 中で 3.5 ~ 4 時間あるいは 24 時間の培養を行った後, Ca ionophore を作用させているが, とともにこれらの条件設定に関する理由を明記していない。また, 精子の capacitation に必要な前培養時間は, 培養液の組成により左右されるのみならず, 個人差や人種差によっても大きく影響されることが知られており¹⁰⁾, 先体反応率を検討する場合には各施設毎

にそれぞれの実験条件下における最適な前培養時間をあらかじめ設定しておく必要がある。

今回の検討では、1時間のswim up直後にCa ionophoreを添加した条件下(前培養時間1時間)でも、健康男子群と男性不妊群のinduced %ARに差異が認められ、さらに前培養時間を3時間、6時間と延長するにしたがいinduced %ARは上昇し、しかも両群間の差異が顕著になった。この結果から、6時間前培養における健康男子群のinduced %ARの最低値(19.0%)を正常下限値と設定すると、男性不妊群の偽陽性率は7.7%(1/13)となり臨床検査としてはほぼ満足すべき成績と考えられた。前培養時間をさらに延長した場合に偽陽性率がより低下するか否かは今回検討しなかったが、精子処理や標本作製に要する時間を考慮し、さらに簡便な臨床検査法という点からすれば、前培養時間を6時間とするのが妥当であろう。

ところで、精子の先体反応は培養液にCa ionophoreなどの先体反応誘起物質を添加しなくても、時間的経過にともなって自然に生じる(spontaneous acrosome reaction)ことが知られている。しかし、spontaneous acrosome reactionはin vivoでの受精時に認められる生理的なものとは異なり精子の変性に起因するものとの見解もあり、事実健康男性よりむしろ不妊男性で高値を示すとの報告^{8,9)}もみられる。今回の検討でも、前培養6時間の条件下で対照としてspontaneous %ARを算定して健康男子群と男性不妊群とを比較したがまったく差異がみられず、精子受精能検査法としての価値はないと結論された。

稿を終えるにあたり、本研究にご協力いただいた本学泌尿器科学教室の碓井 亞教授、中原 満講師、松原昭郎先生に深謝いたします。

本研究の一部は土谷記念医学振興基金によった。

文 献

- 1) Morales P, Cross NL, A new procedure for determining acrosomal status of very small number of human sperm. *J Histochem Cytochem* 37: 1291, 1989
- 2) World Health Organization, Collection and examination of human semen. WHO Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. p27, Cambridge University Press, 1987
- 3) Yanagimachi R, Mechanisms of fertilization in mammals. Fertilization and embryonic development in vitro. 1 ed, p81 Plenum Press, 1981

- 4) Aitken AJ, Analysis and sperm function. An approach to clinical andrology. 1 ed, p23, Ares-Serono Symposia, 1993
- 5) Yanagimachi R, Yanagimachi H, Rogers BJ, The use of zona-free animal ova as a test-system for the assessing fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 15: 471, 1976
- 6) Yanagimachi R, Zona-free hamster eggs: their use in assessing fertilizing capacity and examining chromosomes of human spermatozoa. *Gamete Res* 10: 187, 1984
- 7) Cross NL, Morales P, Overstreet JW, et al., Two simple method for detecting acrosome reacted human sperm. *Gamete Res* 15: 213, 1986
- 8) Fénelich P, Basteris B, Donzeau M, et al., Dynamics of human sperm acrosome reaction: relationship with in vitro fertilization. *Fertil Steril* 55: 994, 1991
- 9) Cummins JM, Pember SM, Jequier AM, et al., A test of human sperm acrosome reaction following ionophore challenge: relationship to fertility and other seminal parameters. *J Androl* 12: 98, 1991

Influence of preincubation periods on the acrosome reaction of human spermatozoa induced by Ca ionophore A23187

Yasushi Shinkoh, Katsunori Ueda,
Masatoshi Kumagai, Masayuki Kinutani,
Masaaki Takenaka and Koso Ohama

Department of Obstetrics and Gynecology,
Hiroshima University, School of Medicine,
Hiroshima 734, Japan
(Director: Prof. K. Ohama)

Assessing the acrosome reaction rate of human spermatozoa induced by Ca ionophore A23187 (% of induced acrosome reactions; induced %AR) has become noteworthy as a new test for evaluating sperm fertilizing ability. To determine optimum conditions of the test, we examined influence of the preincubation periods of spermatozoa on induced %AR, as well as the acrosome reaction rate without Ca ionophore. Subjects of the study included 11 donors of proven fertility and 13 subfertile patients. Spermatozoa were exposed to Ca ionophore (10 μ M, for 1 hour) after the preincubation of 1, 3 and 6 hours (including 1 hour for swim up) in mBWW medium (37°C, 5% CO₂ in air), and the induced %AR were examined. Significant increases in the induced %AR by

the preincubation period were observed in both the fertile group (12.9%, 15.7% and 31.2%) and the subfertile group (6.7%, 8.8 and 11.8%) ($p < 0.01$). Induced %AR in the fertile group were significantly higher than those in the subfertile group in every preincubation periods ($P < 0.01$). However, distribution of the induced %AR in the two groups was best discriminated when spermatozoa were preincubated for 6 hours. In contrast, %AR without Ca ionophore (spontaneous %AR) examined

after 6 hours' preincubation period were not significantly different between the fertile group (4.0%) and the subfertile group (4.0%).

These results indicated that preincubation of 6 hours was optimum in examining the induced %AR for evaluating sperm fertilizing ability, and that spontaneous %AR was not useful for the purpose.

(受付：1993年10月15日)

(受理：1993年11月29日)

子宮内膜症に対する buserelin 投与下の臨床効果と 予後との関連性の検討

Correlation between the Clinical Effects during Treatment with Buserelin and the Prognosis in Endometriosis

稲城市立病院産婦人科

福田 良夫
Yoshio FUKUDA

曾根 郁夫
Fumio SONE

伊東 正昭
Masaaki ITO

Department of Obstetrics and Gynecology,
Inagi Municipal Hospital, Tokyo 206, Japan

田村クリニック

田村 昭蔵
Shozo TAMURA

Tamura clinic, Tokyo 160, Japan

Buserelin (B) 療法の長期 follow-up 症例につき、投与時臨床効果と予後との関連について検討した。子宮内膜症患者 18 名に B を月経第 2 日より $900 \mu\text{g}/\text{日}$ 6 ヶ月投与し、自覚症状、他覚所見を投与前、投与中は 4 週ごと、投与後は初回排卵性月経時(初回)および 3 ヶ月ごとに 5 段階評価し、投与前と比較、1 段階の改善は 1 点、悪化は -1 点と score 化、その総和から平均値を求め改善度とする方法により、 $2 <$: 著明改善、 $2 \geq \sim > 1$: 改善、 $1 \geq \sim > 0$: 軽度改善、 0 : 不変、 $0 > \sim \geq -1$: やや悪化、 $-1 > \sim \geq -2$: 悪化、 $-2 >$: 重篤な悪化と評価した。全例の平均改善度数(分布)は投与 4 週 $0.4 (0 \sim 1.7)$ 、8 週 $0.5 (-0.5 \sim 1.8)$ 、12 週 $1.0 (-0.6 \sim 2)$ 、16 週 $1.1 (0 \sim 2.5)$ 、20 週 $1.2 (-0.3 \sim 2.5)$ 、24 週 $1.5 (0 \sim 2.5)$ 、投与後初回 $1.6 (0 \sim 2.8)$ 、3 ヶ月後 $1.1 (-0.1 \sim 2.2)$ 、6 ヶ月後 $0.9 (-0.1 \sim 2.6)$ 、9 ヶ月後 $0.7 (-0.5 \sim 2.9)$ 、1 年後 $0.5 (-1.5 \sim 3.2)$ 、1 年 6 ヶ月後 $0.2 (-1.5 \sim 2.8)$ 、2 年後 $-0.4 (-1.5 \sim 2)$ であった。投与後 3 ヶ月、6 ヶ月、9 ヶ月、1 年後の各時期において、改善以上の症例を良好群、それ以下を不良群として投与中の 4 週ごとの改善度を群間比較すると、投与後 3 ヶ月における両群間では投与 12 週、16 週、20 週において、6 ヶ月後および 9 ヶ月後では投与 16 週において有意差がみられ、1 年後では投与時に有意差はみられなかった。以上から投与 20 週までに改善を示す症例は投与後 3 ヶ月まで、投与 16 週までに改善を示す症例は投与後 9 ヶ月まで効果が期待された。一方投与 8 週まで何の改善も示さない症例はその後改善がみられても、投与後 6 ヶ月以後の効果はなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 188 - 197, 1994)

緒 言

子宮内膜症は近年増加の傾向が指摘され、特に不妊原因としての意義が重視されている。一方、結婚年齢の高齢化に伴い、進行例でも妊孕性温存を可望するものが増加しており、子宮内膜症治療における薬物療法の必要性、有用性は益々増大しつつある。

今日薬物療法として合成 ethisterone 誘導体である danazol や Gn-RH の構造誘導体である buserelin が欧米のみならず本邦においても汎用されており、それらの有用性についての報告は数多い¹⁻⁵⁾。しかしこれらのホルモン療法は比較的長期投与が必要であり、また副作用も多い^{6,7)}ことから、治療時に予後を予測できればより有益なホルモン療法の適用が可能と思

われる。

そこで今回我々は、buserelin療法をおこない長期にfollow-upし得た症例から、投与時の臨床効果と予後との比較を試み関連性について検討したので報告する。

対象および方法

対 象

昭和63年10月から平成元年8月の間に来院し、臨床的あるいは開腹により、子宮内膜症と診断された全症例のうち、所定の投薬量・投薬期間を全うした18名を対象とした。内訳は内性3例、内性・外性9例、外性6例で、重症度別では内診によるBeecham分類でⅡ期4例、Ⅲ期10例、Ⅳ期1例、開腹例8例はR-AFS分類でⅡ期2例、Ⅲ期1例、Ⅳ期2例、不明3例、Acosta分類で軽症1例、中等症1例、重症4例、不明2例であり、年齢分布は23歳から44歳にわたり、平均36.9±6.5歳(mean±SD, 以下同様)であった(表1)。

方 法

問診、内診、直腸診、画像診断法(echo, CT)により、自覚症状、他覚所見の推移をチェックし、またbuserelin投与に先立つ1ヵ月以上前からBBTを記録させ、排卵を確認、投与中も引き続き記録を指示し、投与終了後も本法により排卵の回復を確認した。

Buserelinは月経第2日より経鼻投与を開始し、投与量は900μg/日で投与期間は6ヵ月であった。

1. 臨床効果の判定法

表2のごとくのプロトコールにより、投与前、投与開始後は4週ごと、投与終了後は、初回排卵性月経時(以下、初回月経時)および3ヵ月ごとに月経困難症、それ以外の自覚症状、他覚所見を詳細に観察した。

1)重症度について

自覚症状として月経時(月経困難症)は下腹痛、腰痛、排便痛、頭痛、悪心および過多月経を、月経時以外は下腹痛、腰痛、性交痛、排便痛、内診時の疼痛を、他覚所見としてはダグラス窩の硬結、子宮可動性の制限、卵巣腫大、子宮腫大をその程度により、+++：重症、++：中等症、+：軽症、±：微症、-：

表1 患者背景

| 症例番号 | 患者名 | 年齢 | 体重Kg | 月経周期 | 妊娠回数 | 分娩回数 | 主 訴 | | | | | 病巣部位 | | | 合併症 | 診 断 | | | 治療後初回 | | | |
|------|-----|----|------|------|------|------|-----|------|-----|----|-----|------|----|-------|-----|------|------|------|-------|--------|------|------|
| | | | | | | | 月経痛 | 過多月経 | 下腹痛 | 腰痛 | 性交痛 | その他 | 卵巣 | ダグラス窩 | | 子宮漿膜 | 子宮筋層 | 内診 | 開腹 | | 排卵日数 | 月経日数 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | R-AFS | Acosta | | |
| 1 | | 23 | 58 | 33 | 0 | 0 | ○ | | | | ○ | ○ | | | | | 外性 | Ⅲ | | | 32 | 46 |
| 2 | | 42 | 47.5 | 25 | 1 | 1 | | ○ | | | | ○ | ○ | ○ | | | 内・外 | Ⅲ | | | 29 | 41 |
| 3 | | 40 | 51 | 24 | 0 | 0 | ○ | | ○ | | | | ○ | ○ | ○ | | 内・外 | Ⅳ | 50,Ⅳ | 重症 | 18 | 33 |
| 4 | | 35 | 47 | 29 | 2 | 2 | ○ | | | | | | | | ○ | | 内性 | | | | 33 | 47 |
| 5 | | 43 | 57 | 28 | 0 | 0 | ○ | | ○ | | | ○ | ○ | ○ | 筋腫 | 外性 | Ⅲ | 53,Ⅳ | 重症 | | | |
| 6 | | 44 | 55 | 26 | 0 | 0 | ○ | ○ | | | | | | ○ | ○ | 筋腫 | 内・外 | Ⅲ | | | 28 | 42 |
| 7 | | 28 | 50 | 26 | 1 | 0 | ○ | | | | | | | ○ | ○ | | 内・外 | Ⅱ | | | 42 | 58 |
| 8 | | 39 | 49.5 | 30 | 0 | 0 | ○ | | | | | ○ | ○ | ○ | ○ | 筋腫 | 内・外 | Ⅲ | 14,Ⅱ | 中等症 | 50 | 64 |
| 9 | | 40 | 54 | 25 | 1 | 0 | ○ | | | | | | | | ○ | | 内性 | | | | 21 | 32 |
| 10 | | 43 | 44 | 29 | 0 | 0 | ○ | | | | | | ○ | | | | 外性 | Ⅲ | | | 43 | 56 |
| 11 | | 40 | 49 | 29 | 0 | 0 | ○ | | | | | | ○ | | ○ | 筋腫 | 内・外 | Ⅲ | ? | 重症 | 29 | 41 |
| 12 | | 25 | 46 | 30 | 0 | 0 | ○ | | | | | | ○ | | | | 外性 | Ⅱ | | | 51 | 67 |
| 13 | | 37 | 55.5 | 27 | 3 | 3 | | | | | ○ | | | | ○ | | 内性 | | 0 | ? | 32 | 47 |
| 14 | | 36 | 58 | 29 | 2 | 2 | ○ | | | | | | ○ | | ○ | 筋腫 | 内・外 | Ⅱ | | | 37 | 51 |
| 15 | | 29 | 54 | 27 | 1 | 1 | ○ | | | ○ | | | ○ | | | | 外性 | Ⅲ | | | 45 | 57 |
| 16 | | 39 | 60 | 26 | 4 | 2 | ○ | | | | | | | ○ | ○ | | 内・外 | Ⅲ | 6,Ⅱ | 軽症 | 42 | 56 |
| 17 | | 44 | 55 | 25 | 2 | 2 | | ○ | | | | | ○ | ○ | ○ | 筋腫 | 内・外 | Ⅲ | 40,Ⅲ | 重症 | 40 | 51 |
| 18 | | 37 | 60 | 27 | 2 | 1 | ○ | | | | | | ○ | | | | 外性 | Ⅱ | ? | ? | | |

表2 臨床効果の判定法の実際(表1の症例番号11より抜粋)

| 項目 | 投与前 | | 投与中 | | 投与終了後 | | | | | |
|--------------|--------------|-------------|---------------------|----------------------|-------------|------------------------|-------------|------|---|---|
| | 4週… 20週 | 24週 | 改善度 数(a) | 初回排卵性 月経時 | 改善度 数(a) | 1年後 | 改善度 数(a) | … | | |
| 月経困難症 | 下腹痛 | ++ | / | + | ++ | + | ++ | 0 | … | |
| | 腰痛 | + | | + | ++ | + | ++ | -2** | … | |
| | 排便痛 | + | | + | ++ | + | ++ | -* | … | |
| | 頭痛 | + | | + | ++ | + | ++ | -* | … | |
| | 悪心 | + | | + | ++ | + | ++ | -* | … | |
| | 過多月経 | + | | + | ++ | + | ++ | 0 | … | |
| それ以外 自覚症状 | 下腹痛 | ++ | + | ++ | ++ | + | ++ | 0 | … | |
| | 腰痛 | + | + | ++ | + | ++ | -* | … | | |
| | 性交痛 | + | + | ++ | + | ++ | -* | … | | |
| | 排便痛 | + | + | ++ | + | ++ | -* | … | | |
| | 内診時の疼痛 | + | + | ++ | + | ++ | + | ++ | 2 | … |
| | | + | + | ++ | + | ++ | + | ++ | 2 | … |
| 他覚所見 | ダグラス窩の硬結 | ++ | + | ++ | ++ | + | ++ | 0 | … | |
| | 子宮可動性の制限 | + | + | ++ | + | ++ | + | 0 | … | |
| | 卵巣腫大 | + | + | ++ | + | ++ | + | -* | … | |
| | 子宮腫大 | + | + | ++ | + | ++ | + | 0 | … | |
| | Beecham分類*** | I II III IV | I II III IV | 1 | I II III IV | I II III IV | I II III IV | … | … | |
| | 平均改善度数(b) | … | $\frac{9}{5} = 1.8$ | $\frac{17}{8} = 2.1$ | … | $\frac{0}{9^{**}} = 0$ | … | … | … | |
| 全般改善度(c) | … | 改善 | 著明改善 | … | 不変 | … | … | … | | |

注1. (a) 改善度数のうち投与前症状、所見のない項目は判定不能(-)として評価に入れない(*) 但し、悪化した場合は評価にいれる(**)

2. Beecham分類は評価に入れない(***)

3. (b) 平均改善度数=改善(悪化)度数の合計点数/改善(悪化)項目数(小数点第2位以下四捨五入)

4. (c) 全般改善度 小数点以下がある場合は下記により評価する

著明改善>2点≧改善>1点≧軽度改善>0点=不変 0点>やや悪化≧-1点>悪化≧-2点>重篤な悪化

なしと5段階評価した。具体的な評価基準は症状であれば就床を伴う場合あるいは薬剤を使用しても耐えられない場合：+++，薬剤使用の場合：++，それ以外：+，過多月経では凝血がかなり多いかHb 9g/dl未満の場合：+++，凝血が多いかHb 10g/dl未満の場合：++，凝血があるかHb 11g/dl未満の場合：+，所見であればBeecham分類のⅣ期相当：+++，Ⅲ期相当：++，Ⅱ期相当：+，卵巣腫大では鶯卵大以上：+++，鶏卵大：++，それ以下：+，子宮腫大では手掌大以上：+++，鶯卵大：++，それ以下：+とした。

2)改善度について

投与中，投与終了後の各時期における症状，所見を項目ごと投与前と比較して，1段階の改善につき1点，変化がなければ0点，1段階の悪化につき-1点とscore化し，改善度数(表2のa)とした。したがって，2段階の改善であれば2点，2段階の悪化であれば，-2点となる。次に各時期における改善度数を合計し，項目数で割り算して平均改善度数(表2のb)を求め，その値が2<：著明改善，2≥～>1：改善，1≥～>0：軽度改善，0：不変，0>～≥-1：やや悪

化，-1>～≥-2：悪化，-2>：重篤な悪化と評価して全般改善度(表2のc)を判定し，これを各時期における最終の改善度とした。

表1，3は投与終了後1年後における平均改善度数の高い順に症例番号を付し，表3は投与時および投与終了後の各時期について平均改善度数(以下，改善度数)を示したものである。

2. 投与時臨床効果と予後との関連性についての検討法

投与終了後の改善度により予後良好群(以下，良好群)と予後不良群(以下，不良群)の2群に分け，投与時の改善度について群間比較を行った。投与終了後3ヵ月，6ヵ月，9ヵ月，1年後の各時点および1年間の平均における改善度が「著明改善」あるいは「改善」の症例，すなわち改善度数が1を超えた症例を良好群，「軽度改善」あるいは「不変」以下の症例，すなわち改善度数が1以下を不良群とし，それぞれの時点において2群に分けて投与時4週ごとの改善度数の群間検定を行った。

統計学的検討にはt検定の他，妊娠・分娩回数につ

表3 Buserelin投与時と投与終了後の改善度数(平均改善度数)
(投与終了後1年後の改善度順)

| 症例番号 | 患者名 | 投与時改善(悪化)度 | | | | | | 投与終了後改善(悪化)度 | | | | | | | |
|------|-----|------------|------|------|-----|------|-----|------------------|------|------|------|------|-----------|------|----|
| | | 4週 | 8週 | 12週 | 16週 | 20週 | 24週 | 初回 排卵性 月経時 | 3ヵ月 | 6ヵ月 | 9ヵ月 | 1年 | 1年 6ヵ月 | 2年 | |
| 1 | | 1.7 | 0.5 | 2 | 2 | 1.3 | 1.7 | 2 | 1.8 | 2.6 | 2.9 | 3.2 | 2.8 | 2 | 他剤 |
| 2 | | 0.2 | 0.1 | 1.2 | 1.7 | 2 | 2 | 1.8 | 1.1 | 1.3 | 1.5 | 1.6 | 1.6 | - | |
| 3 | | 1.3 | 1.8 | 1.5 | 1.7 | 1.7 | 1.3 | 1.4 | 1.2 | 1.4 | 1.3 | 1.3 | 1.3 | 手術 | |
| 4 | | 0 | 0.5 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2.8 | 1.8 | 1.8 | 1.5 | 1.2 | - | | |
| 5 | | 0 | 0.3 | 1.5 | 1.3 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.4 | 1.3 | 1.2 | 1.1 | 1 | 手術 | |
| 6 | | 0 | 0.3 | 0.5 | 0.5 | 0.8 | 0.8 | 1.3 | 1.3 | 1.2 | 1.2 | 1.1 | 1 | 0.9 | |
| 7 | | 0.5 | 1.5 | 2 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.8 | 2.2 | - | - | - | - | - | |
| 8 | | 0.6 | 1 | 1.2 | 1.8 | 2.2 | 1.8 | 1.9 | 1.6 | 1.6 | 1.2 | 0.8 | 1 | 1 | |
| 9 | | 1 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 2.5 | 2.5 | 2.4 | 1 | 1 | 0.7 | 0.7 | 0.7 | 0.7 | |
| 10 | | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.2 | 0 | 0.5 | 0 | 0.1 | 0.3 | 0.1 | |
| 11 | | 0.6 | 0.6 | 1.2 | 1.6 | 1.7 | 1.8 | 2.1 | 2.1 | 0.8 | 0.5 | 0 | 再開 | | |
| 12 | | 0 | 0.3 | 0.7 | 0.7 | 0.8 | 1.3 | 1.8 | 0.4 | 0.3 | 0.2 | 0 | -0.2 | 他剤 | |
| 13 | | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 14 | | 0 | 0 | -0.3 | 0.2 | 0.4 | 0.4 | 0.1 | -0.1 | -0.1 | -0.2 | -0.3 | -0.4 | -0.4 | |
| 15 | | 0 | 0 | 1.4 | 1.8 | 1.8 | 2 | 2 | 1.4 | -0.1 | -0.5 | -0.5 | 他剤 | | |
| 16 | | 0 | 0 | -0.5 | 0 | 0 | 0 | 0.7 | 0.7 | 0 | -0.2 | -0.6 | 手術 | | |
| 17 | | 0 | -1.5 | 0 | 0 | -0.3 | 0 | 0 | 0.3 | 0 | -0.3 | 手術 | | | |
| 18 | | 0.3 | 0.3 | -0.6 | 0.2 | -0.1 | 1.8 | - | - | - | - | - | - | - | |

-不明

いてはMann-WhitneyのU検定, 症状・所見については χ^2 検定を用い, p値0.05未満を有意とした。

なお投与終了後ある時点で手術, 他剤あるいは再投薬へ移行した症例は改善度を「悪化」と判定し, その時点以後改善度数を-1.5と評価し解析をおこなった。18例の内9ヵ月を過ぎ1例が手術, さらに1年を過ぎ1例が手術, 1例が他剤, 1例がbusarelin再開, 1年6ヵ月を過ぎ2例が手術, 1例が他剤へ移行した。また初回月経時まで1例, さらに6ヵ月後までに1例, 1年6ヵ月後までに1例, 2年後までに1例が来院せず, その時点で解析から除外した(表3)。

成 績

1. 患者背景

表1のごとく対象症例の年齢, 体重(全例平均52.8Kg \pm 5.0Kg, 以下同様), 月経周期日数(27.5 \pm 2.3日), 妊娠回数(1.1 \pm 1.2回), 分娩回数(0.8 \pm 1.0回), 主訴, 病巣部位, 合併症, 診断について各時期の予後別に群間検定をおこなった。結果, 6ヵ月および9ヵ月後において卵巣に病巣のある症例は良好群が7例中4例(57%), 不良群が9例中0例(0%)で両群間に有意差を認めた(p<0.05)。1年間の平均予後において分娩回数は良好群が0.3 \pm 0.7回, 不良群が1.4 \pm 1.1回で両群間に有意差を認めた(p<0.05)。したがって6ヵ月および9ヵ月後の予後と病巣部位に, 1年間の平均予後と分娩回数に関連がみられた。

しかし, それ以外の項目においては各時期の両群間に差はなく, 予後との関連は認められなかった。

2. 投与時の改善率と改善度

全18例中, 投与時何らかの改善のみられる, すなわち「軽度改善以上」を示す症例(改善率)は投与開始後8週が72%(13例), 16週83%(15例), 24週89%(16例)であった。そのうち「著明改善」あるいは「改善」を示す, すなわち「改善以上」の症例は投与8週が17%(3例), 16週56%(10例), 24週72%(13例)であった。投与期間中に一度も改善を示さず, 「不変」ないし「やや悪化」を示した症例は11%(2例)認められた。

全例の平均改善度数は, 投与4週が0.4 \pm 0.5, 8週が0.5 \pm 0.6, 12週1.0 \pm 0.9, 16週1.1 \pm 0.8, 20週1.2 \pm 0.9, 24週1.5 \pm 0.8(図1)で, 4週から24週までの全投与期間の平均は0.9 \pm 0.6であった。

このように改善率と改善度数は投与週数に伴い増加し, 投与終了時である24週で最大となった。改善度数を改善度で言い換えれば, 全例は平均すると12週まで軽度改善し, 16週以後改善した。

3. 排卵と月経

投与開始後全例においてBBTは1相性となり, 排卵は抑制された。そして投与終了後排卵は不明の2例を除き回復したが, 回復するまでの日数(以下, 初回排卵日数)は平均35.8 \pm 9.6日であった。これを予後別に検討すると, 予後1年後では良好群が28.0 \pm 6.0日, 不良群が39.0 \pm 9.5日で両群間に有意差を認めた(p<0.05)。また1年間の平均予後においても良好群が30.0 \pm 9.6日, 不良群が41.4 \pm 6.0日と両群間に有意差を認めた(p<0.05)。

月経は投与開始後全例消失したが, 投与前の経血量ないしそれ以下の量で周期性のない性器出血は全例に認められた。投与終了後排卵性の月経が再来するまでの日数(以下, 初回月経日数)は平均49.3 \pm 10.1日であった。これは予後別検討では1年間の平均予後において良好群が43.3 \pm 10.0日, 不良群が55.0 \pm 6.4日で両群間に有意差を認めた(p<0.05)。

なお3ヵ月, 6ヵ月および9ヵ月後における予後別検討では初回排卵日数, 初回月経日数とも差はみられなかった。

4. 投与終了後の改善率と改善度

投与終了後「軽度改善以上」を示す症例は, 初回月経時が94%(16例/17例, 以下同様), 3ヵ月後が82%(14/17), 6ヵ月後69%(11/16), 9ヵ月後63%(10/16), 1年後56%(9/16), 1年6ヵ月後53%(8/15), 2年後36%(5/14)であった。

全例の平均改善度数は, 初回月経時1.6 \pm 0.9, 3ヵ月後が1.1 \pm 0.7, 6ヵ月後0.9 \pm 0.8, 9ヵ月後0.7 \pm 0.9, 1年後0.5 \pm 1.1, 1年6ヵ月後0.2 \pm 1.3, 2年後-0.4 \pm 1.2(図1)で, 初回月経時から1年後までの期間の平均は0.9 \pm 0.8であった。

このように改善率と改善度数は初回月経時を最大とし, 以後治療後の経過期間が長くなるのに伴い減少し, 1年6ヵ月を経過するとマイナスに転じた。これを改善度でいえば, 全例は平均して3ヵ月後まで改善がみられ, その後1年6ヵ月まで軽度改善がみられ, それ以後やや悪化した。

5. 予後別改善率と改善度

投与終了後「改善以上」を示した症例(良好群)は, 初回月経時が76%(13/17), 3ヵ月後が59%(10/17), 6ヵ月後44%(7/16), 9ヵ月後44%(7/16), 1年後38%(6/16), 1年6ヵ月後20%(3/15), 2年後7%(1/14)であった。

1) 3ヵ月後(図2)

この時期の良好群は10例, 不良群は7例であった。

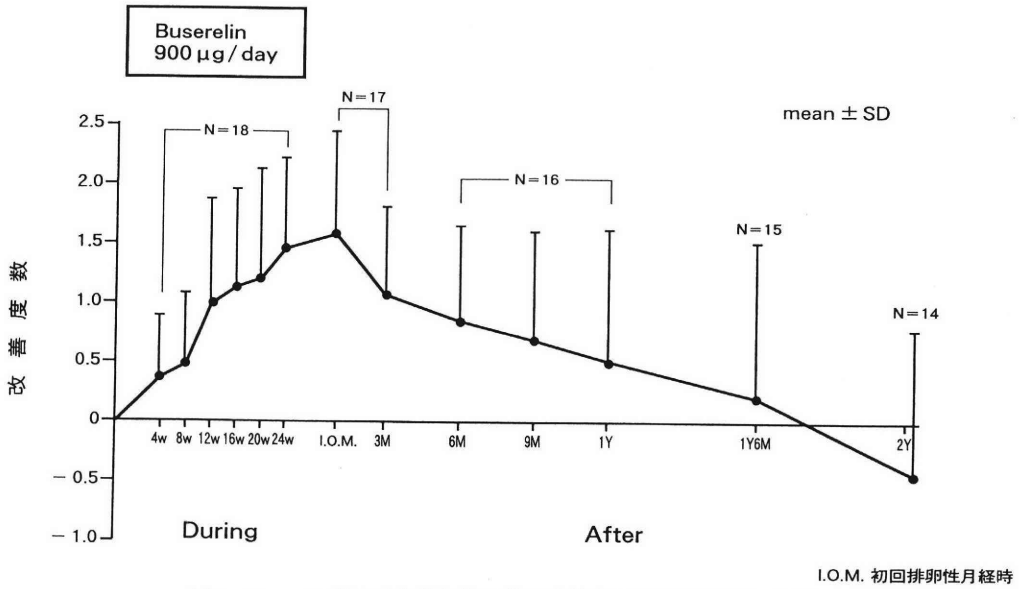


図1 Buserelin投与時と投与終了後の改善度数の経時的変化(全例)

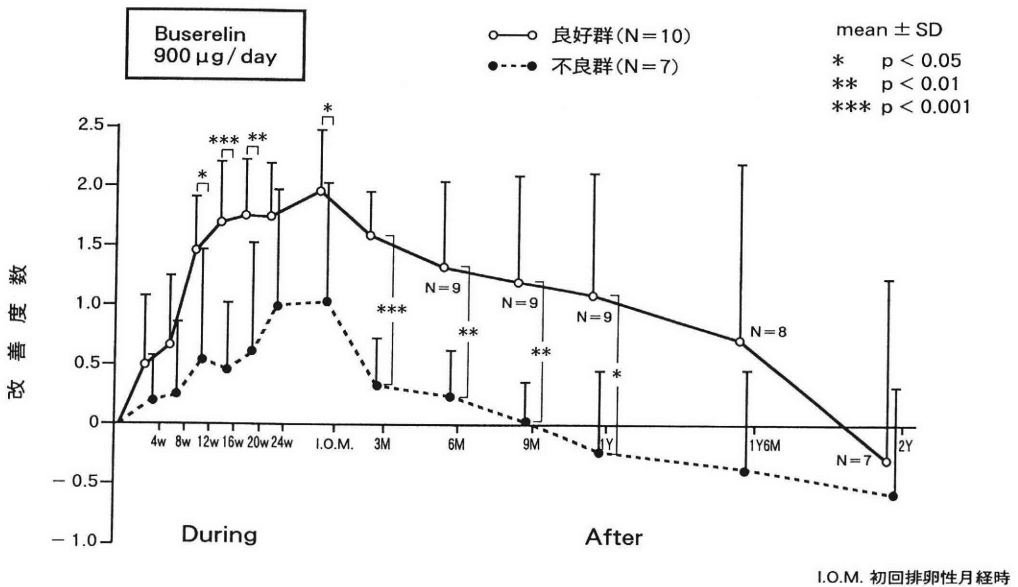


図2 予後別改善度数の経時的変化

—投与終了後3ヵ月後において改善以上の症例を良好群、それ以下を不良群とした場合—

この良好群の平均改善点数は投与開始後8週が 0.7 ± 0.6 , 12週 1.5 ± 0.5 , 16週 1.7 ± 0.5 , 20週 1.8 ± 0.5 , 24週 1.7 ± 0.5 , 投与終了後初回月経時が 2.0 ± 0.5 , 3ヵ月後が 1.6 ± 0.4 であった。同様不良群は投与8週が 0.2 ± 0.6 , 12週 0.5 ± 0.9 , 16週 0.5 ± 0.6 , 20週 0.6 ± 0.9 , 24週 1.0 ± 1.0 , 投与後初回月経時が 1.0 ± 1.0 , 3ヵ月後 0.3 ± 0.4 であった。

両群間において改善点数は投与時12週, 16週, 20週, 投与後初回月経時, 3ヵ月後, 6ヵ月後, 9ヵ月後, 1年後で有意差を認めた ($p < 0.05 \sim 0.001$).

2) 6ヵ月および9ヵ月後(図3)

6ヵ月後と9ヵ月後の予後別症例は同一のため、以下一括して成績を示す。この二つの時期とも良好群は7例, 不良群は9例であった。

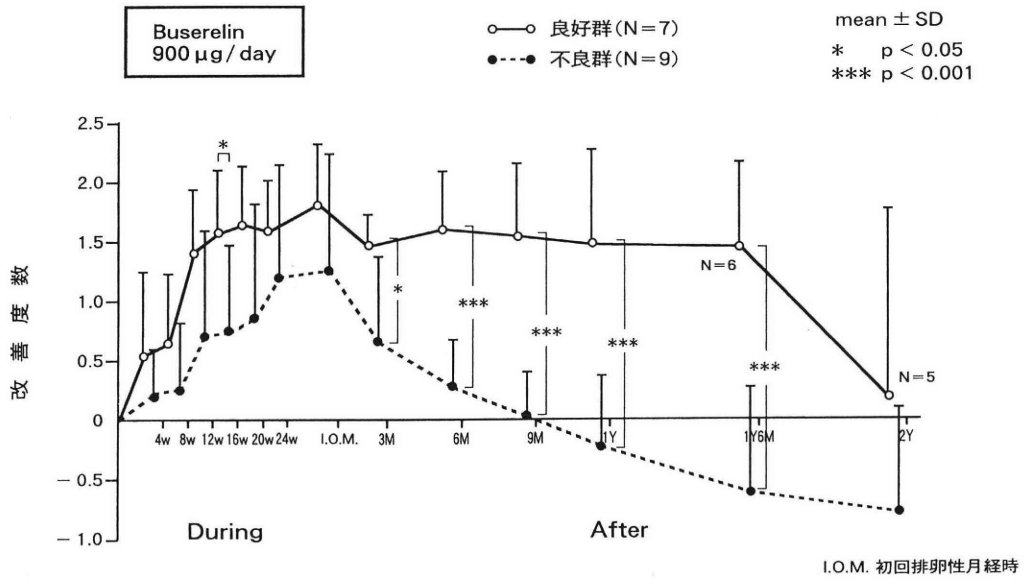


図3 予後別改善度数の経時的変化

一投与終了後6ヵ月および9ヵ月後において改善以上の症例を良好群、それ以下を不良群とした場合一

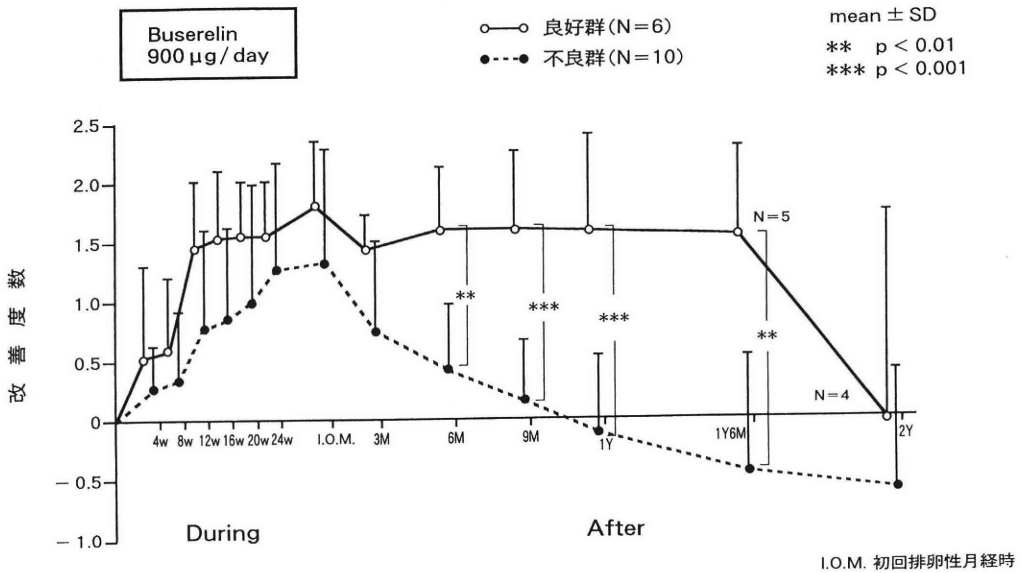


図4 予後別改善度数の経時的変化

一投与終了後1年後において改善以上の症例を良好群、それ以下を不良群とした場合一

良好群の平均改善度数は投与開始後8週が 0.6 ± 0.6 , 12週 1.4 ± 0.5 , 16週 1.6 ± 0.5 , 20週 1.6 ± 0.5 , 24週 1.6 ± 0.4 , 投与終了後初回月経時が 1.8 ± 0.5 , 3ヵ月後が 1.5 ± 0.3 , 6ヵ月後 1.6 ± 0.5 , 9ヵ月後 1.5 ± 0.6 であった。同様不良群は8週が 0.3 ± 0.6 , 12週 0.7 ± 0.9 , 16週 0.7 ± 0.7 , 20週 0.9 ± 1.0 , 24週 1.2 ± 0.9 , 投

与後初回月経時が 1.3 ± 1.0 , 3ヵ月後 0.6 ± 0.7 , 6ヵ月後 0.3 ± 0.4 , 9ヵ月後 0.0 ± 0.4 であった。

両群間において改善度数は投与時16週, 投与後3ヵ月, 6ヵ月後, 9ヵ月後, 1年後, 1年6ヵ月後で有意差を認めた(p<0.05~0.001).
3) 1年後(図4)

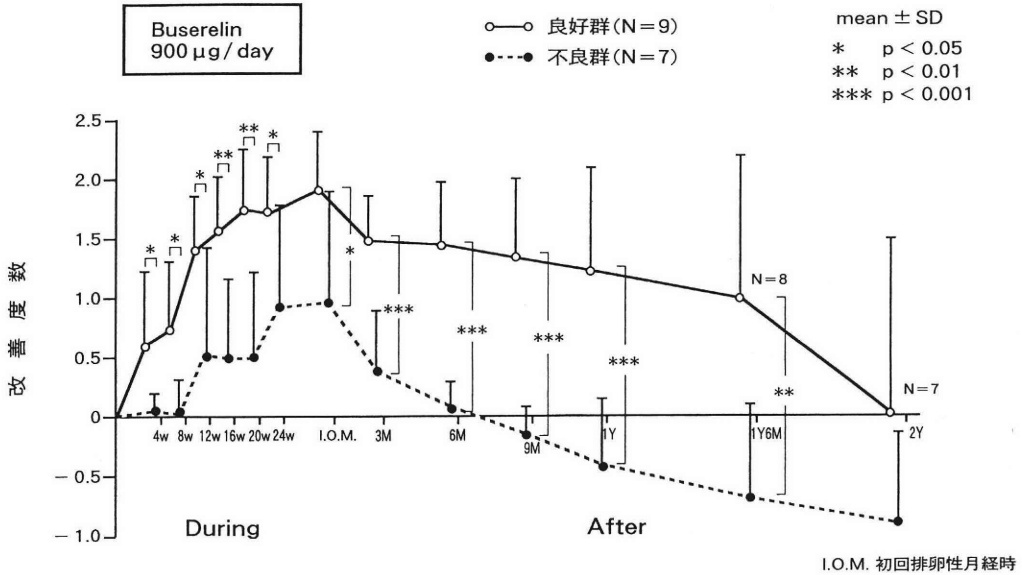


図5 予後別改善度数の経時的変化
—投与終了後1年間の平均において改善以上の症例を良好群、それ以下を不良群とした場合—

この時期の良好群は6例、不良群は10例であった。

良好群の平均改善度数は投与8週が0.6±0.6, 16週1.5±0.6, 24週1.6±0.5, 投与後初回月経時1.8±0.6, 3ヵ月後1.4±0.3, 6ヵ月後1.6±0.5, 9ヵ月後1.6±0.7, 1年後1.6±0.8であった。同様不良群は投与8週が0.3±0.6, 16週0.8±0.8, 24週1.3±0.9, 投与後初回月経時1.3±1.0, 3ヵ月後0.7±0.8, 6ヵ月後0.4±0.6, 9ヵ月後0.1±0.5, 1年後-0.1±0.7であった。

両群間において改善度数は投与終了後6ヵ月後, 9ヵ月後, 1年後, 1年6ヵ月後で有意差がみられた(p<0.01~0.001)が, 投与時有意差は認められなかった。

4) 1年間の平均において(図5)

初回月経時から1年後までの改善度数の平均が1を超えた良好群は9例, 1以下の不良群は7例であった。

この良好群の平均改善度数は投与8週が0.7±0.6, 12週1.4±0.5, 16週1.6±0.5, 20週1.7±0.5, 24週1.7±0.5, 投与後初回月経時1.9±0.5, 3ヵ月後1.5±0.4, 6ヵ月後1.4±0.5, 9ヵ月後1.3±0.7, 1年後1.2±0.9, 1年6ヵ月後1.0±1.2, 2年後0.0±1.5であった。同様不良群は投与8週が0.0±0.3, 12週0.5±0.9, 16週0.5±0.7, 20週0.5±0.7, 24週0.9±0.9, 投与後初回月経時1.0±0.9, 3ヵ月後0.4±0.5, 6ヵ月

後0.1±0.2, 9ヵ月後-0.1±0.2, 1年後-0.4±0.6, 1年6ヵ月後-0.7±0.8, 2年後-0.9±0.8であった。

両群間において改善度数は投与終了後2年後を除き, すべての投与時と投与後で有意差を認めた(p<0.05~0.001)。

以上の他各時期別を通じて, 良好群のうち投与4週ですでに「改善」を示した2例(11%)は, 投与終了後1年6ヵ月まで同等の改善度を示した。また, 不良群のうち改善度が投与8週まで「不変」ないし「やや悪化」を示した5例(28%)は, 投与12週から24週, さらに投与終了後3ヵ月までの間に「軽度改善」ないし「改善」を示したが, それ以後では「不変」, 「やや悪化」ないし「悪化」を示した。

考 察

子宮内膜症には月経時にみられる月経困難症や過多月経, それ以外の時期にもみられる下腹痛, 腰痛, 性交痛, 排便痛, 内診時の疼痛などの自覚症状, グラス窩の硬結, 子宮可動性の制限, 卵巣・子宮腫大などの他覚所見を特徴とするが, ホルモン療法中は平常のごとき月経をみることがないため, 主症状たる月経困難症や過多月経に対する臨床効果を判定することが不可能である。したがって治療時の効果判定はそれ以外の自覚症状, 他覚所見による評価となり, 治療終了後の効果判定とおのずから異なる。そのため治療時と治療後の効果の比較は困難な点も

あり、buserelinをはじめ他剤においてもこの種の報告はみられない。

さらに子宮内膜症の病態は多彩であり、自覚症状と他覚所見の程度が必ずしも並行せず、また治療上症状の改善と所見の改善も必ずしも並行しないなど、子宮内膜症に対する客観的で総合した効果判定はかなり難しいものがある。そこで我々はこのような点を十分考慮し、できる限り多項目にわたりまた各項目においては厳しく5段階評価し、その総和から推移をみることによって詳細かつ客観的な評価をおこない得るプロトコールを作製した。

患者背景と予後について、一般的に疾患の重症度あるいは進行度と予後とは反比例の関係にあるが、子宮内膜症において今回我々の成績をみる限り症状、所見を基にした重症度と予後との間にそのような関係は少なく、ただ、病巣部位と分娩回数に僅かに関連がみられた。すなわち、病巣部位が卵巣である症例は投与後9ヵ月まで効果が期待され、また経産婦より未産婦の方が1年間の平均で予後良好な症例が多いといえた。

投与時の改善度は全例の平均では投与週数に伴い向上し、16週以後改善したことから、子宮内膜症に対して本剤が有効に作用する投与期間は4ヵ月以上であるといえた。またこのような改善度の向上は投与週数に伴う改善率の上昇と個々の症例の改善度数の増加によるものであり、投与期間が長い程効果が期待されるが、全く改善を示さない症例も11%みられたことから、これら無効例に対する適切な投薬の打ち切りも求められる所であった。

投与終了後の排卵および月経と予後について検討すると、1年後および1年間の平均において初回排卵日数に、また1年間の平均において初回月経日数に予後との関連がみられた。すなわち排卵、月経の回復の早い症例の方が1年後あるいは1年間平均して効果が期待された。投与終了後の卵巣機能の回復は子宮内膜症にとって再燃に繋がる可能性があり、一方回復の遅延は不妊症に対する治療上問題となり得るものである。一般的に薬物療法後生体に対する薬理作用の影響が強ければ、元への機能回復は遅延すると考えられ、それが薬剤効果として評価されるが、我々の成績はこれと異なり、機能回復の早い症例に効果の期待されるものが多かった。この点については、関与する因子として卵巣機能回復の遅い症例における効果判定時期の遅れなど考慮しなければならぬが、卵巣機能と内膜症病巣との薬剤感受性における個体差を示唆する所見とも解される。

投与終了後の改善度は平均してみると初回月経時が最も良く、投与時を含めて最高であった。その後改善度は徐々に低下し、1年6ヵ月後ではほぼ投与前の状態に戻ったが、初回月経時の高い改善度は、投与時にみられない月経困難症や過多月経についての評価が加わり、さらに投与終了後の期間も短く、投与終了時のほぼ無月経状態にあった内膜症病巣に近い所見が得られたためと思われる。

予後別改善度の検討において、3ヵ月後の良好群、不良群との間に投与時12週、16週、20週の改善度で有意差が認められたことから、投与20週までに「改善」を示す症例は投与終了後3ヵ月まで同等の効果が期待されるといえた。同じく6ヵ月および9ヵ月後では投与時16週の改善度で有意差が認められ、投与16週までに「改善」を示す症例は投与終了後9ヵ月まで同等の効果が期待された。しかし、1年後では投与時の有意差はみられず、投与時の改善度は投与終了後1年後の予後に反映しないといえたが、1年間の平均における予後別検討では、両群間ですべての投与時に有意差が認められ、一般的に投与時改善の明らかな症例は1年間予後も良好な傾向にあるといえた。また、投与8週まで何の改善も示さない症例は、その後改善がみられても投与終了後6ヵ月以後の効果はなかった。

臨床効果について水口ら³⁾は投与16週時で69%、24週時で79%、水沼ら⁸⁾は投与終了後初回月経時で80.5%が「改善以上」を示したと報告しており、患者背景や評価基準が必ずしも同一とはいえないものの、我々の成績における「改善以上」が16週56%、24週72%、初回月経時76%という数値と大きな開きはなかった。さらにfollow-up dataについて好川ら⁹⁾は投与終了後平均10ヵ月間の再発率が10%、水沼ら⁸⁾は6ヵ月後の再発率が24%、1年後が36%であったと報告しており、言い換えれば投与終了後平均10ヵ月間では90%(好川ら)、6ヵ月後では76%、1年後では64%(水沼ら)がなお「軽度改善以上」の改善率を示したことになる。これらもまた我々の成績6ヵ月後69%、1年後56%という数値と大きな差はなかった。

今日子宮内膜症薬物療法において、ややもすると投与時の治療効果のみに目が向けられがちであるが、本来投与終了後の月経困難症や過多月経の改善、他覚所見の寛解、また内膜症性不妊に対する妊娠率の向上が治療上の主目的である。さらに再燃しやすく、今なお根治性に乏しい薬物療法の研究にとって、follow-up dataの少ないことは極めて残念に思われる。今回我々は、少数例ながら最長2年以上のfollow-up

症例により、投与時の臨床効果と予後との関連性を検討した結果、投与時の効果からある程度予後を推測することができた。このことは今後薬物療法の適切な運用の一助となり得るものと信ずる。

なお、本論文の要旨は、第38回日本不妊学会学術講演会(1993、京都)において発表した。

Yoshio Fukuda, Fumio Sone and Masaaki Ito

Department of Obstetrics and Gynecology,
Inagi Municipal Hospital, Tokyo 206, Japan

Shozo Tamura

Tamura Clinic, Tokyo 160, Japan

文 献

- 1) 田村昭蔵, 福田良夫, 柳 健一 他, 子宮内膜症に対する偽閉経療法の検討— isoxazol ethisterone (Danazol) の臨床効果について—, 日不妊会誌 26: 306, 1981
- 2) Dmowski WP, and Cohen MR, Antigonadotropin (danazol) in the treatment of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 130: 41, 1978
- 3) 水口弘司, 高見澤裕吉, 川島吉良 他, 子宮内膜症に対する Buserelin の臨床評価— Danazol を対照とした二重盲検比較試験—, 産婦の世界 39: 1159, 1987
- 4) Franssen AMHW, Kauer FM, Rolland R, et al., The effect of LHRH agonist therapy in the treatment of endometriosis. In: Rolland R, Chadha DR, Willemssen WNP eds, *Gonadotropin Down-Regulation in Gynecological Practice*, p201, Alan R Liss Inc, 1986
- 5) Jelly RY, and Magill PJ, The effect of LHRH agonist therapy in the treatment of endometriosis. In: Rolland R, Chadha DR, Willemssen WNP eds, *Gonadotropin Down-Regulation in Gynecological Practice*, p227, Alan R Liss Inc 1986
- 6) 福田良夫, 田村昭蔵, 子宮内膜症 danazol 療法の副作用—その対策の評価を含めて—. 産婦産 43: 97, 1989
- 7) Cirkel U, Schweppe KW, Ochs H, et al., Effect of LH-RH agonist therapy in the treatment of endometriosis. In: Rolland R, Chadha DR, Willemssen WNP eds, *Gonadotropin Down-Regulation in Gynecological Practice*, p189, Alan R Liss Inc 1986
- 8) 水沼英樹, 山田清彦, 伊吹令人 他, 子宮内膜症に対するスプレキュア(酢酸ブセレリン)の臨床的有用性の検討. 産婦の世界 44: 381, 1992
- 9) 好川元庸, 奥田喜代司, 飯塚信行 他, エンドメトリオーシスに対する Buserelin の治療効果. 産婦の世界 39: 787, 1987

The relationship of clinical effects during treatment with buserelin to prognosis was investigated in a long-term follow-up study of patients with endometriosis. Buserelin was administrated to 18 patients with endometriosis in a daily dose of 900 μ g intranasally, beginning on the second day of a menstrual cycle, for a period of six months. The subjective symptoms (dysmenorrhea, hypermenorrhea, etc.) and objective findings (size of ovarian cyst, extent of induration, etc.) related to endometriosis were checked before treatment began, every four weeks during treatment, at the period of initial ovulatory menses after treatment ended, and every three months thereafter. The severity of symptoms and the extent of findings were scored according to an original method that was developed with reference to the Beecham and/or the R-AFS classification for endometriosis. The degree of improvement of symptoms and findings during and after therapy was assessed with comparison to those before treatment. The patients were classified into two groups, good responders (those showing marked or moderate improvement) and poor responders (those showing only slight improvement, no change, or progressive disease) every three months after the cessation of medication.

Comparing the degree of improvement during therapy with that seen after treatment, there were significant differences at the 12th, 16th, and 20th weeks of therapy between the good responders and the poor responders as classified 3 months after treatment. Similarly, there was a significant difference at the 16th week of therapy between the good responders and the poor responders as classified 6 and 9 months after treatment. However, there was no significant difference in the degree of improvement during therapy between the two groups as classified one year after treatment. To summarize, some significant positive correlations were found between clinical effects during treatment with buserelin and the prognosis in endometriosis. It was clarified that improvement would continue for 3 months after treatment in cases that had improved markedly or moderately by the 20th week of therapy, and for 9 months after treatment in cases that had improved similarly by the 16th week of therapy.

(受付: 1993年10月4日)

(受理: 1993年11月30日)

Correlation between the clinical effects during treatment with buserelin and the prognosis in endometriosis

超音波ガイド下卵管内人工授精による不妊症治療成績の検討

Ultrasound-Guided Intrauterine Insemination as a Treatment for the Infertile Patients Who were Refractory to Intrauterine Insemination

宝塚市立病院産婦人科

柴原 浩章 林 輝 美 山 田 幸 生
Hiroaki SHIBAHARA Terumi HAYASHI Yukio YAMADA
塩谷 朋 弘 伊 熊 健 一 郎
Tomohiro SHIOTANI Kenichiro IKUMA

Department of Obstetrics and Gynecology,
Takarazuka Municipal Hospital, Hyogo 665, Japan

子宮内人工授精intrauterine insemination (IUI) 治療によっても妊娠に至らなかった不妊症患者に対して、Fallopian tube catheter set (Labotect, Germany) を用いた卵管内人工授精intrauterine insemination (ITI) を試みた。対象は、①精液所見が正常でありながら、IUI後の腹腔鏡検査により腹水中に活動精子を認めない子宮・卵管内精子通過障害例5例と、②原因不明不妊症3例、および③男性不妊症9例の合計17例である。平均年齢は夫35.8歳、妻32.5歳で、不妊期間は平均4.8年間であった。またITI治療までに平均11.8回のIUIを受けていた。

超音波ガイド下に、首席卵胞が存在する側の卵管内に濃縮精子懸濁液0.2mlをゆっくりと注入した。のべ54回のITIを施行した結果、子宮卵管内精子通過障害の2例と、男性不妊症のうち薬物治療により精液所見が正常化した1例で妊娠が成立し、全体の妊娠率は、症例当たり17.6%、周期当たり5.6%であった。手技は比較的容易で、全例において出血、下腹痛や発熱などの副作用を認めず、また子宮外妊娠の発生も認めなかった。

以上より、本法は健全な卵管を有しているながら、従来のIUIでは授精の場である卵管内に十分な精子が到達できない子宮・卵管内精子通過障害例や、一部の男性不妊症例等に対して、今後有用な治療法の1つになりうる可能性が示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 198 - 203, 1994)

緒 言

子宮内人工授精法 (Intrauterine insemination : 以下IUIと略す) は男性不妊症、頸管因子や原因不明などの不妊症に対する治療法として広く行われている。しかしながらIUI治療による妊娠率は必ずしも満足のできるものではなく、このIUI不成功例に対しては、一般に配偶子卵管内移植法 (GIFT) や体外受精-胚移植法 (IVF-ET) が適用とされている。

一方最近、人工授精の新たな方法として、卵管内への人工授精 (Intrauterine insemination : 以下ITIと略す)²⁻⁴⁾ や、腹腔内^{5,6)}、卵胞内^{7,8)}への人工授精によ

る成功例も報告されてきている。今回我々も、IUIを繰り返しても妊娠に至らなかった不妊症患者17例に対して超音波ガイド下にITIを試み、その治療成績について検討を行った。

対 象

本法の対象となったのは、腹腔鏡検査または子宮卵管造影法による卵管通過性検査上異常を認めず、IUIを反復しても妊娠に至らなかった不妊症患者で、1993年3月から9月までの7カ月間に17例に対して施行した。内訳は表1に示すように、①精液所見に異常を認めないが、IUI後の腹腔鏡検査でダグラス窩

表1 ITIによる不妊症治療成績

| 適応 | 子宮・卵管内 精子通過障害 | 原因不明 | 男性因子 | 合計 |
|-------------|------------------|------|------|------|
| 症例数 (例) | 5 | 3 | 9 | 17 |
| 平均年齢 夫 (歳) | 33.4 | 40.7 | 35.6 | 35.8 |
| 妻 (歳) | 32.8 | 35.3 | 31.3 | 32.5 |
| 平均不妊期間 (年) | 3.8 | 5.8 | 5.1 | 4.8 |
| 平均IUI回数 (回) | 14.0 | 13.0 | 10.1 | 11.8 |
| ITI治療回数 (回) | 17 | 12 | 25 | 54 |
| 妊娠数 (例) | 2 | 0 | 1 | 3 |
| 妊娠率 (%) | | | | |
| /周期 | 11.8 | 0 | 4.0 | 5.6 |
| /症例 | 40.0 | 0 | 11.1 | 17.6 |

に貯留する腹水中に活動精子を認めない子宮・卵管内精子通過障害例5例と、②原因不明不妊症3例、および③男性不妊症9例である。なお男性不妊症の診断は、少なくとも2回以上の検査を施行した上で、精子濃度 $40 \times 10^6/ml$ 、運動率60%をcut-off値として判定した。患者の平均年齢は夫35.8歳、妻32.5歳で、平均不妊期間は4.8年間であった。ITIによる治療を開始するまでに受けた平均IUI治療回数は、洗浄濃縮法によるIUIも含めて11.8回であった。

方 法

1. 精子の調整方法

室温にて30分間放置し液化させた患者新鮮射出精液を、Sperm Washing Medium (Irvine Scientific社, USA)を用いて2回遠心洗浄し、0.2mlに濃縮したものを精子浮遊液としてITIに使用した。

2. ITIの方法

ITIにはLabotect社 (Göttingen, Germany) 製のFallopian Tube Catheter Set²⁾を使用した。ITI施行30分前に、子宮・卵管の平滑筋の収縮を予防するために、臭化ブ

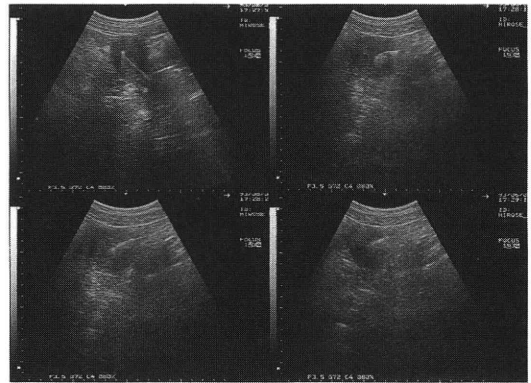


図1 卵管内人工授精施行時の超音波像所見

- 左上：下腹部縦断面. カニューラが子宮底に到達
- 右上：下腹部横断面. カニューラが子宮底より左卵管内に到達
- 左下：下腹部横断面. ガイドワイヤー入りのカテーテルの卵管内挿入
- 右下：下腹部横断面. 精子浮遊液を卵管内に注入

チルスコポラミン20mgを筋注した。専用の腔鏡を腔内に固定し、把持鉗子で子宮腔部の後唇を鉗んで、腔鏡の溝の部位に固定する。次いで図1の様に、超音波 (USG) ガイド下に首席卵胞が存在する側の卵管内に、先端がフレキシブルな構造となったカニューラを挿入し、次いで2 Frenchのカテーテルを挿入し、先述の濃縮精子懸濁液0.2mlをゆっくりと注入した。施行後は仰臥位での安静を行わせ、30分後に下腹部の疼痛や出血の無いことを確認し帰宅させた。なお妊娠の診断は、USGによる胎囊 (GS) の確認により行った。

3. 妊娠成立に関与する諸因子の検討

今回ITIを施行した17例について、表2、表3の様にITI施行時の患者年齢、不妊期間、既往IUI回数、精液所見から、妊娠成立に関与する因子について検討を行った。なお精液検査として、精子濃度、精子運動率の他、精子機能検査法であるHypoosmotic

表2 患者年齢・不妊期間・既往IUI回数別によるITI治療成績

(妊娠数/IUI施行例数)

| 年齢(歳) | 夫 | 妻 |
|-------|-----|-----|
| ～29 | 0/1 | 1/4 |
| 30～34 | 3/7 | 1/8 |
| 35～39 | 0/5 | 0/4 |
| 40～44 | 0/3 | 0/1 |
| 45～ | 0/1 | |

| 不妊期間(年) | |
|---------|-----|
| ～2 | 1/3 |
| 3～4 | 1/7 |
| 5～6 | 1/3 |
| 7～8 | 0/2 |
| 9～ | 0/2 |

| IUI回数(回) | |
|----------|-----|
| ～9 | 1/5 |
| 10～14 | 2/9 |
| 15～19 | 0/2 |
| 20～ | 0/1 |

表3 精液所見および精子機能検査別によるITI治療成績

(妊娠数/ITI施行例数)

| 項目 基準値 | 精子濃度 40×10 ⁶ /ml | 精子運動率 60% | 授精機能* 50% | 運動機能** 30mm/90min |
|-----------|--------------------------------|--------------|--------------|----------------------|
| 正常 | 2/9 | 3/12 | 3/10 | 3/15 |
| 異常 | 1/8 | 0/5 | 0/7 | 0/2 |

*: Hypoosmotic swelling test (基準値=総精子膨化率50%)

**: Penetrak test (基準値=30mm/90min)

表4 ITIにより妊娠に成功した3例

| 症 例 | | 1. HK | 2. TF | 3.YF |
|------------------|--------------------------|---------|--------------|--------------|
| 年 齢 | (歳) | 夫33/妻27 | 夫34/妻32 | 夫33/妻32 |
| 不妊期間 | (年) | 5 | 3 | 2 |
| 経妊/経産 | | 0/0 | 0/0 | 1/0 |
| IUIの既往 | (回) | 13 | 12 | 8(流産後) |
| ITIの適応 | | 男性因子 | 子宮・卵管内精子通過障害 | 子宮・卵管内精子通過障害 |
| 妊娠成立に要したITI回数(回) | | 1 | 2 | 7 |
| 妊娠成立時の精子所見 | 量(ml) | 1.8 | 3.0 | 4.6 |
| | 濃度(×10 ⁶ /ml) | 101 | 53 | 27 |
| | 運動率(%) | 60 | 84 | 76 |
| | 授精機能* | 68 | 60 | 66 |
| | 運動機能** | 49 | 46 | 42 |
| 妊婦の転帰 | | 正常単胎妊娠 | 正常単胎妊娠 | 稽留流産 |

*: Hypoosmotic swelling test (基準値=総精子膨化率50%)

**: Penetrak test (基準値=30mm/90min)

swelling testとPenetrak testとについても同時に施行し検討した。これらの方法については、既に詳細に報告してきた⁹⁻¹¹⁾ので省略する。

結 果

1. 適応別にみた妊娠率

全体では17例に対して、のべ54回のITIを施行したが、その結果は表1に示すように3例で妊娠が成立し、その妊娠率は対症例で17.6%、対周期では5.6%であった。適応別では、①子宮・卵管内精子通過障害例では5例中2例で妊娠し、妊娠率は対症例で40.0%、対周期では11.8%であった。②原因不明不妊症では3例中妊娠例は無かった。③男性不妊症では9例中1例で妊娠し、妊娠率は対症例で11.1%、対周期では4.0%であった。

2. 妊娠に至った3例

ITIにより妊娠に成功した3例を表4に示した。

(a) 症例1

夫33歳、妻27歳で不妊期間は5年間。不妊原因は、妻側の内分泌因子(無排卵周期症)と、夫側の高度の特発性精子無力症(薬物治療前の精液量:0.3~0.9ml, 精子濃度:110~210×10⁶/ml, 精子運動率:4~28%, 精子奇形率:10%以下)であった。排卵誘発法と、夫には漢方製剤(ツムラ補中益気湯7.5g/日^{10,11)}等の薬物療法の上IUIを10周期施行したが、精子運動率は改善せず、妊娠も成立しなかった。次いで夫にツムラ柴胡加竜骨牡蛎湯7.5g/日¹²⁾を投与したところ、精液所見の改善がみられ、濃縮精子による3周期のIUIでも妊娠しなかったのでITIに切り替えたところ、1周期目で妊娠に至った。なおITI施行時の精液所見は、精液量:1.8ml, 精子濃度:101×10⁶/ml, 精子運動率:60%で、精子機能検査法の結果は、Hypoosmotic swelling testの総精子膨化率:68%、Penetrak testの精子貫通距離:49mm/90分と、いずれも正常範囲内であった。妊娠は単胎で、経過も良好である。

(b) 症例2

夫34歳，妻32歳で，不妊期間は3年間．不妊原因は，妻側の無排卵周期症および頸管粘液分泌不全症であった．排卵誘発の上IUIを12周期施行したが妊娠せず，精査のために腹腔鏡検査を施行したところ，器質的異常は認めず，子宮・卵管内精子通過障害と診断しえた．その後ITIを施行し，2周期目に妊娠が成立した．本症例も単胎妊娠で，経過も良好である．

(c) 症例3

夫33歳，妻32歳で不妊期間は3年間．軽度の乏精子・精子無力症(精子濃度：19～27×10⁶/ml，精子運動率48～62%以上)のため補中益気湯を投与した上で，濃縮精子を用いたIUIを施行し，7周期目に妊娠が成立したが稽留流産に終わった．その半年後から治療を再開したが，精液所見は自然に正常化しており，原因不明の続発性不妊症として通常法によるIUIを8周期施行したが妊娠に至らず，精査のため腹腔鏡検査を施行した．その結果，軽度の子宮内膜症(R-AFS: stage 1)および子宮・卵管内精子通過障害と診断した．子宮内膜症に対しては経過観察とし，ITIによる治療を開始したところ，7周期目で妊娠が成立した．単胎妊娠であったが，妊娠10週で稽留流産の転帰をとった．

3. 妊娠成立に関する諸因子の検討結果

妊娠成立に関与した因子について検討した結果，ITIにより妊娠に至った症例は，表2のごとく年齢は夫婦とも34歳以下で，不妊期間は6年以内，IUIによる治療の既往は14回以内の症例であった．精子側の条件としては表3のように，精子の濃度よりも，運動率や授精機能および運動機能などが元々正常であるか，あるいは薬物投与などにより正常化した症例が妊娠に至っていた．

考 察

IUIは男性不妊症，頸管因子や原因不明などの不妊症に対する治療法として広く行われている．すでに我々も，当科におけるIUI治療による成績につき報告してきたが，精液所見に異常がない群でも妊娠率は対症例で28.6%，対周期で4.5%であり，男性不妊症群においては濃縮法によるIUI治療を含めても対症例で14.6%，対周期で2.5%，全体では対症例で20.5%，対周期で3.4%であった．ところで著者らは，IUIを10回前後施行しても妊娠が成立しない症例に対しては，IUI後に腹腔鏡下にダグラス窩に貯留する腹水を採取して，活動精子が検出されない症例は子宮・卵管内精子通過障害と診断してきた¹³⁻¹⁵⁾．そ

の頻度はIUI治療を反復しても妊娠に至らない症例の約80%に認められ，しかもこれらの症例に対しては，その後IUI治療を施行しても有意に妊娠率は低い¹³⁾．そのため，子宮・卵管内精子通過障害例に対しては，最終的には配偶子卵管内移植法(GIFT)や体外受精-胚移植法(IVF-ET)の適応とされている．

一方最近，人工授精の新たな方法として，卵管内への人工授精(Intratubal insemination：以下ITIと略す)²⁻⁴⁾や，腹腔内^{5,6)}，卵胞内^{7,8)}への人工授精による成功例も報告されてきている．1987年にJansen et al.³⁾は，経陰的アプローチで非侵襲的に卵管内へカテーテルを挿入する方法を用いて，凍結保存精子によるITIを試みて，5例の妊娠成功を得たことを初めて報告した．その後Lisse et al.²⁾は，卵管内へのカテーテル挿入がより短時間にでき，施行時の出血や疼痛を軽減する目的のため，専用の腔鏡と把持鉗子と特殊なガイドカニューラからなるLabotect式Fallopian Tube Catheter Setを開発した．彼らはUSGガイド下に，卵管の通過性改善のためこのカテーテルを卵管間質部付近まで挿入し，治療を行った卵管の91.2%に疎通性が確認できるようになったことを報告している．

そこで今回我々も，表1に示すように卵管の通過性が良好であるにもかかわらず，平均約12回のIUIでも妊娠しなかった17例に対して，USGガイド下にLabotect式のFallopian Tube Catheter Setを用いてITIを試みた．症例の内訳は，①精液所見に異常を認めないが，子宮・卵管内精子通過障害と診断された5例と，②原因不明不妊症3例，および③男性不妊症9例である．手技は比較的容易で，全例において出血，下腹痛や発熱などの副作用を認めず，しかも子宮・卵管内精子通過障害例の2例と，男性不妊症の1例において妊娠に成功した．子宮・卵管内精子通過障害例でITIによる妊娠率が高かったことから，多くのIUI不成功例ではuterotubal junctionにおいて精子の貫通が不十分であることが推察された．

一方，男性不妊症での妊娠例は，薬物療法によってITI成功時の精液所見が正常化していた症例であったことから，今回我々の検討結果からでは，IUIでは妊娠に至らない男性不妊症に対してまで，ITIが果たして有用であるのか否かについては断言できなかった．しかし少なくとも卵管まで精子を注入する方が，卵管膨大部にまで到達する精子の濃度を高めうることに対する異論はなく，さらに卵管内環境が精子の授精能力に対して有利に働くとすれば，男性不妊症においてもIUI不成功例に対しては，ITIを試みる

べき治療法と考える。

なお卵管内に人工授精を行う方法として、我々が施行した超音波ガイド法以外に、ヒステロファイバード下に行う方法(HIT法)¹⁰⁾もある。確実性においてはHIT法は優れた方法であるが、より簡単に行え、侵襲性が少ないという点から、超音波ガイドによるITIの方が今後普及する方法ではないかと考える。以上より、本法は健全な卵管を有しているながら、従来のIUIでは授精の場である卵管内に十分な精子が到達できない子宮・卵管内精子通過障害例や、一部の男性不妊症例等に対して、今後有用な治療法となりうる可能性が示唆された。

本論文の要旨は、第67回兵庫県産科婦人科学会(1993年6月、神戸)、並びに第38回日本不妊学会(1993年9月、京都)において発表した。

文 献

- 1) 柴原浩章, 塩谷朋弘, 伊熊健一郎, 当科における男性不妊症治療成績の検討. 産婦の進歩 45: 354, 1993
- 2) Lisse K, Sydow P, Fallopian tube catheterization and recanalization under ultrasonic observation: a simple technique to evaluate tubal patency and open proximally obstructed tubes. Fertil Steril 56: 198, 1991
- 3) Jansen RPS, Anderson JC, Catheterisation of the Fallopian tubes from the vagina. Lancet 2: 309, 1987
- 4) 荒木重雄, 本山光博, 佐藤 正 他, 新しい培養液GPMを用いた活動精子分離法: 卵管内人工授精および体外授精・GIFTへの応用. 臨婦産 44: 708, 1990
- 5) Forrler A, Dellenbach P, Nisand I, et al., Direct intraperitoneal insemination in unexplained and cervical infertility. Lancet 1: 916, 1986
- 6) 津田朋男, 小林善宗, 本田育子 他, 卵管内精子輸送障害に対する腹腔内人工授精の試み. 日本不妊会誌 36: 396, 1991
- 7) Lucena E, Ruiz JA, Mendoza JC, et al., Direct intrafollicular insemination: case report. J Reprod Med 36: 525, 1991
- 8) Zbella EA, Tarantino S, Wade R, Intrafollicular insemination for male factor infertility. Fertil Steril 58: 442, 1992
- 9) 柴原浩章, 精子機能検査法. 臨婦産 47: 1216, 1993
- 10) 柴原浩章, 伊熊健一郎, 塩谷朋弘 他, 男性不妊症に対する補中益気湯の有効性に関する検討 - Penetrak testならびにHypoosmotic swelling test (HOS test) を用いて -. 産婦の進歩 45: 76, 1993
- 11) 柴原浩章, 塩谷朋弘, 伊熊健一郎, 補中益気湯の精子運動機能に対する作用 - Penetrak test, hypoosmotic swelling test, computer-assisted semen analyzerによる検討 -. 日本不妊会誌 38: 654, 1993
- 12) 平松正義, 前原郁夫, 高橋 勝 他, 男性不妊患者に対する柴胡加竜骨牡蛎湯, 補中益気湯治療の経験. 漢方医学 17: 246, 1993
- 13) 柴原浩章, 松浦泰明, 子安保喜 他, 抗精子抗体による性器管内精子輸送障害について. 産婦の進歩 41: 129, 1989
- 14) 柴原浩章, 山田 聖, 緒方高志 他, 初期外性子宮内膜症と卵管精子通過性について (AIH & Laparoscopyによる検討). 産婦の進歩 41: 275, 1989
- 15) 霞 弘之, 柴原浩章, 繁田 実 他, AIH後腹腔内細菌混入の有無に関する分析. 産婦の進歩 42: 253, 1990
- 16) 杉村和男, 小林俊文, 芝 徹 他, 卵管内人工授精法. 産婦の世界 41: 227, 1989

Ultrasound-guided intratubal insemination as a treatment for the infertile patients who were refractory to intrauterine insemination

Hiroaki Shibahara, Terumi Hayashi,
Yukio Yamada, Tomohiro Shiotani
and Kenichiro Ikuma

Department of Obstetrics and Gynecology,
Takarazuka Municipal Hospital, Hyogo 665, Japan

As the successful pregnancy rate by the use of intrauterine insemination (IUI) in our infertile clinic was 20.5% per patients, we indicated the ultrasound (US) - guided intratubal insemination (ITI) for such infertile patients who were refractory to IUI.

Seventeen infertile patients were enrolled in this study. Five of them had shown negative in peritoneal sperm recovery test at diagnostic laparoscopy. Three of them were unexplained infertile patients, and nine of them were infertile for male factors. Before the start of this study, they were treated unsuccessfully with a median 11.8 cycles of IUI. The mean age of the couples were 35.8 in husbands and 32.5 in wives. The mean infertility period was 4.8 years.

Semen samples were washed twice and concentrated in Sperm Washing Medium (Irvine Scientific, USA). 0.2

ml of the sperm suspension were inseminated into the tube on which side the largest follicle was determined by abdominal US. Three pregnancies occurred from 54 cycles of ITI. The pregnancy rates were 17.6% per patients and 5.6% per cycles. No significant complications occurred in this study.

We conclude that infertile patients who show negative

in peritoneal sperm recovery test and some of the patients with mild male factor infertility may be appropriate candidates of this treatment because ITI offers the chance of conception by increasing the number of motile sperm in the immediate vicinity of the oocyte.

(受付：1993年11月30日特掲)

(受理：1993年12月1日特掲)

男子不妊症に対する牛車腎気丸療法の効果 ——精液自動分析装置を用いた精液所見——

Clinical Effects of Goshajinkigan on Male Infertility — Semen Profile measured by Computer Assisted Semen Analyzer —

東京歯科大学市川総合病院泌尿器科

大橋 正和

Masakazu OHASHI

中川 健

Ken NAKAGAWA

石川 博通

Hiromichi ISHIKAWA

早川 邦弘

Kunihiro HAYAKAWA

矢内 原 仁

Hitoshi YANAIHARA

畠 亮

Makoto HATA

Department of Urology,

Tokyo Dental College Ichikawa General Hospital, Chiba 272, Japan

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,

Tokyo Dental College Ichikawa General Hospital

34例(乏精子症6例,無力精子症14例,乏・無力精子症14例)の特発性男子不妊症患者にツムラ牛車腎気丸7.5g/日を3カ月間投与し,投与前後において血清ホルモン値および精液自動分析装置による精子濃度,運動能を測定した。

1. 精子濃度における有効率は乏精子症67%,乏・無力精子症29%,併せて40%であった。
2. 運動率における有効率は無力精子症21%,乏・無力精子症7.1%,併せて14%であった。
3. 運動能では無力精子症における最高運動速度,最高運動直進性の有効率がそれぞれ57%,50%と高率であった。
4. 最長16カ月の観察期間にて乏精子症6例中2例(33%),無力精子症14例中2例(14%)の妊娠例が得られた。
5. 薬剤投与前後において血清ホルモン値に変動は認められなかった。

以上本療法は特発性男子不妊症患者の精液所見改善に有効であることが示唆された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (2), 204 - 209, 1994)

緒 言

男子不妊症のうち特発性造精機能障害に対する薬物療法にはホルモン療法,非ホルモン療法があるが,これら薬物療法の効果にも限界があり充分満足のいく効果が得られていないのが現状である。近年本症

に対する漢方療法の有用性が指摘されつつあり,また精液自動分析装置による運動速度,運動直進性といった精子運動能の客観的測定が可能になった。今回我々は漢方薬の牛車腎気丸を特発性男子不妊症患者に投与し,その精液所見における効果を精液自動分析装置を用いて判定したので報告する。

対 象

1992年6月より12月の間に当院泌尿器科外来を不妊を主訴として受診した者のうち、無精子症、膿精液症、低ゴナドトロピン症、精索静脈瘤を有さない34例の特発性男子不妊症患者を対象とした。年齢は28～50歳、平均35.9歳、不妊期間は1年～8年、平均4.4年であった。精液所見はWHOの基準¹⁾に従い精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満を乏精子症、運動率50%未満を無力精子症、精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満かつ運動率50%未満を乏・無力精子症とした。すなわち34例のうち乏精子症6例、無力精子症14例、乏・無力精子症14例であった。また34例はいずれも精液量2.0ml以上でありWHO基準における正常精液量であった。

方 法

1. 薬剤投与方法

ツムラ牛車腎気丸7.5g/日(本品7.5g中にジオウ5.0g, タクシャ3.0g, ゴシツ3.0g, ブクリヨウ3.0g, サンシュユ3.0g, ボタンピ3.0g, サンヤク3.0g, ケイヒ1.0g, シャゼンシ3.0g, 修治ブシ末1.0gの割合の混合生薬の乾燥エキス4.5gを含有する。)²⁾を3カ月間経口投与させた。

2. 観察項目

精液検査、血清ホルモンの測定を薬剤投与前と投与後3カ月にて施行した。

精液は5日間の禁欲後用手法にて採取され、30分の液化後2時間以内に精液自動分析装置セルソフトシリーズ3000³⁾を用いて精子濃度、運動率、平均運動速度、平均運動直進性、最高運動速度(運動速度ヒストグラム上の最高値)、最高運動直進性(運動直進性ヒストグラム上の最高値)を測定した。

ホルモン測定法としてテストステロンについてはRIA法、FSH、LH、プロラクチンについてはIRMA法^{4,5)}にて測定した。

3カ月投与後も可能なかぎり薬剤投与を続けた。1993年11月に問診または電話アンケートにて妊娠の有無、妊娠例では自然妊娠か人工授精による妊娠かを聴取した。

3. 評価方法

前述のWHOの基準に従い、精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満を精子濃度の評価対象症例とし、薬剤投与前後の精子濃度における効果は乏精子症6例、乏・無力精子症14例で検討した。同様に運動率50%未満を運動率、運動能の評価対象症例とし、薬剤投与前後の運動率、運動能における効果を無力精子症14例、乏・無力精子症14例で検討した。

薬剤効果判定は精子濃度、運動率については熊本らの基準⁶⁾、運動速度、運動直進性については独自に定めた基準⁷⁾(表1)に従い改善度を検討した。また薬剤投与前後の血清ホルモン値を比較検討した。検定はpaired-t-testを用いて、危険率0.05以下を有意差ありとした。

結 果

表2に34例の薬剤投与前後の各精子パラメーターを乏精子症6例、無力精子症14例、乏・無力精子症14例に分けて示した。

1. 精子濃度に対する効果(表3)

乏精子症6例では著明改善1例(17%)、改善3例(50%)、不変2例(33%)であった。著明改善+改善を「有効」とすると有効率は4例(67%)であった。乏・無力精子症14例では改善4例(29%)、不変10例(71%)であり、有効率は4例(29%)であった。両者併せての有効率は40%(8/20)であった。

2. 運動率に対する効果(表4)

無力精子症14例では改善3例(21%)、不変11例(79%)であった。乏・無力精子症14例では改善1例(7.1%)、不変13例(93%)であった。有効率はそれぞれ21%、7.1%であり、両者併せての有効率は14%(4/28)であった。

表1 精子濃度、運動率、運動能の効果判定基準

| | 精子濃度 | 運動率 | 平均運動速度 | 最高運動速度 | 平均運動直進性 | 最高運動直進性 |
|------|---|---------------------|--|---|--------------------|------------------|
| | 前値より | 前値より | 前値より | 前値より | 前値より | 前値より |
| 著明改善 | $> 20 \times 10^6/\text{ml} \uparrow$ | $> 20\% \uparrow$ | $> 10 \mu \text{m}/\text{秒} \uparrow$ | $> 20 \mu \text{m}/\text{秒} \uparrow$ | $> 1 \uparrow$ | $> 2 \uparrow$ |
| 改善 | $> 10 \times 10^6/\text{ml} \uparrow$ | $> 10\% \uparrow$ | $> 5 \mu \text{m}/\text{秒} \uparrow$ | $> 10 \mu \text{m}/\text{秒} \uparrow$ | $> 0.5 \uparrow$ | $> 1 \uparrow$ |
| 不変 | $\pm 10 \times 10^6/\text{ml}$ | $\pm 10\%$ | $\pm 5 \mu \text{m}/\text{秒}$ | $\pm 10 \mu \text{m}/\text{秒}$ | ± 0.5 | ± 1 |
| 悪化 | $> 10 \times 10^6/\text{ml} \downarrow$ | $> 10\% \downarrow$ | $> 5 \mu \text{m}/\text{秒} \downarrow$ | $> 10 \mu \text{m}/\text{秒} \downarrow$ | $> 0.5 \downarrow$ | $> 1 \downarrow$ |

精子濃度、運動率については熊本らの基準⁶⁾、運動速度・運動直進性については独自に定めた基準⁷⁾による

表2 薬剤投与前後の精子濃度, 運動率, 運動能の変化

| 症例 | 年齢 | 不妊期間 (年) | 精子濃度 ($\times 10^6/ml$) | | 運動率 (%) | | 平均運動速度 ($\mu m/秒$) | | 最高運動速度 ($\mu m/秒$) | | 平均運動直進性 (単位なし) | | 最高運動直進性 (単位なし) | | |
|---------|----|-------------|------------------------------|------|------------|-----|-------------------------|-----|-------------------------|-----|-------------------|------|-------------------|------|-----|
| | | | 術前 | 術後 | 術前 | 術後 | 術前 | 術後 | 術前 | 術後 | 術前 | 術後 | 術前 | 術後 | |
| 乏精子症 | ① | 28 | 1 | **16 | 40 | 60 | 60 | 35 | 42 | 70 | 80 | 3.5 | 3.4 | 6.0 | 6.0 |
| | ② | 36 | 3 | *15 | 30 | 50 | 60 | 34 | 32 | 70 | 70 | 3.0 | 3.5 | 7.0 | 8.0 |
| | 3 | 34 | 2 | *10 | 20 | 60 | 60 | 36 | 40 | 70 | 70 | 3.6 | 3.6 | 8.0 | 9.0 |
| | 4 | 36 | 6 | *8 | 24 | 60 | 70 | 40 | 36 | 70 | 70 | 3.3 | 3.4 | 7.0 | 7.0 |
| | 5 | 39 | 6 | 10 | 12 | 60 | 50 | 38 | 42 | 70 | 70 | 3.5 | 3.6 | 7.0 | 7.0 |
| | 6 | 29 | 5 | 8 | 10 | 50 | 50 | 36 | 39 | 70 | 70 | 3.3 | 3.4 | 6.0 | 6.0 |
| 無力精子症 | ⑦ | 41 | 7 | 36 | 30 | *28 | 40 | *20 | 29 | *50 | 60 | *3.0 | 3.6 | *6.0 | 7.0 |
| | ⑧ | 43 | 1 | 45 | 50 | *30 | 42 | *26 | 32 | *60 | 70 | *2.5 | 3.4 | *6.0 | 7.0 |
| | 9 | 43 | 3 | 37 | 55 | *32 | 46 | *27 | 35 | *60 | 70 | 3.0 | 3.2 | 7.0 | 7.0 |
| | 10 | 41 | 4 | 26 | 32 | 30 | 30 | 20 | 22 | *60 | 70 | *3.0 | 3.8 | *7.0 | 8.0 |
| | 11 | 29 | 5 | 28 | 30 | 25 | 25 | 16 | 18 | *60 | 70 | 2.8 | 2.8 | *7.0 | 8.0 |
| | 12 | 35 | 6 | 60 | 65 | 30 | 36 | 20 | 21 | *60 | 70 | 2.7 | 2.8 | *6.0 | 7.0 |
| | 13 | 33 | 5 | 70 | 62 | 32 | 30 | 23 | 22 | *60 | 70 | 3.0 | 3.0 | *6.0 | 7.0 |
| | 14 | 34 | 5 | 42 | 50 | 20 | 20 | 18 | 18 | *60 | 70 | 3.2 | 3.4 | *6.0 | 7.0 |
| | 15 | 35 | 3 | 36 | 42 | 30 | 30 | 17 | 16 | 70 | 70 | 3.2 | 3.2 | 7.0 | 7.0 |
| | 16 | 36 | 3 | 42 | 44 | 42 | 44 | 19 | 22 | 70 | 70 | 3.0 | 3.0 | 6.0 | 6.0 |
| | 17 | 29 | 4 | 26 | 32 | 32 | 36 | 24 | 22 | 70 | 70 | 2.8 | 2.8 | 6.0 | 6.0 |
| | 18 | 42 | 5 | 32 | 40 | 30 | 30 | 8 | 12 | 70 | 70 | 3.2 | 3.2 | 6.0 | 6.0 |
| | 19 | 43 | 3 | 36 | 34 | 26 | 26 | 14 | 16 | 60 | 60 | 3.5 | 3.6 | 6.0 | 6.0 |
| | 20 | 50 | 8 | 30 | 30 | 18 | 16 | 15 | 18 | 60 | 60 | 2.8 | 2.9 | 6.0 | 6.0 |
| 乏・無力精子症 | 21 | 32 | 5 | *8 | 20 | *10 | 20 | *21 | 27 | *50 | 60 | *2.9 | 3.7 | *6.0 | 7.0 |
| | 22 | 34 | 6 | *12 | 25 | 0 | 0 | 18 | 19 | *60 | 70 | *2.4 | 3.2 | *7.0 | 8.0 |
| | 23 | 36 | 7 | *10 | 20 | 10 | 10 | 12 | 16 | 60 | 60 | 3.0 | 3.3 | 6.0 | 6.0 |
| | 24 | 37 | 8 | *15 | 26 | 10 | 10 | 8 | 8 | 60 | 60 | 3.1 | 3.1 | 6.0 | 6.0 |
| | 25 | 29 | 2 | 6 | 5 | 20 | 20 | 13 | 15 | 60 | 60 | 3.2 | 3.5 | 7.0 | 7.0 |
| | 26 | 29 | 2 | 10 | 12 | 14 | 18 | 20 | 20 | 70 | 70 | 2.9 | 3.1 | 6.0 | 6.0 |
| | 27 | 45 | 5 | 8 | 8 | 10 | 10 | 21 | 25 | 70 | 70 | 2.8 | 3.0 | 6.0 | 6.0 |
| | 28 | 41 | 6 | 12 | 10 | 0 | 0 | 9 | 11 | 60 | 60 | 3.1 | 3.0 | 6.0 | 6.0 |
| | 29 | 37 | 5 | 10 | 10 | 5 | 5 | 11 | 8 | 60 | 60 | 2.9 | 2.9 | 7.0 | 7.0 |
| | 30 | 38 | 5 | 8 | 12 | 10 | 10 | 9 | 9 | 60 | 60 | 3.4 | 3.2 | 7.0 | 7.0 |
| | 31 | 29 | 2 | 5 | 6 | 6 | 6 | 14 | 15 | 60 | 60 | 3.0 | 3.0 | 7.0 | 7.0 |
| | 32 | 30 | 2 | 5 | 6 | 10 | 10 | 20 | 17 | 60 | 60 | 2.7 | 2.9 | 6.0 | 6.0 |
| | 33 | 30 | 3 | 6 | 6 | 5 | 5 | 8 | 9 | 60 | 60 | 3.0 | 3.4 | 6.0 | 6.0 |
| | 34 | 36 | 5 | 12 | 10 | 5 | 5 | 11 | 10 | 60 | 60 | 3.2 | 3.3 | 7.0 | 7.0 |

丸文字：妊娠例 **：著明改善 *：改善

3. 平均運動速度に対する効果(表5)

無力精子症14例では改善3例(21%), 不変11例(79%)であった。乏・無力精子症14例では改善1例(7.1%), 不変13例(93%)であった。有効率はそれぞれ21%, 7.1%であり, 両者併せての有効率は14%(4/28)であった。

4. 最高運動速度に対する効果(表6)

無力精子症14例では改善8例(57%), 不変6例(43%)であった。乏・無力精子症14例では改善2例

(14%), 不変12例(86%)であった。有効率はそれぞれ57%, 14%であり, 両者群併せての有効率は36%(10/28)であった。

5. 平均運動直進性に対する効果(表7)

無力精子症14例では改善3例(21%), 不変11例(79%)であった。乏・無力精子症14例では改善2例(14%), 不変12例(86%)であった。有効率はそれぞれ21%, 14%であり, 両者併せての有効率は18%(5/28)であった。

表3 精子濃度における効果

| | 乏精子症 (n=6) | 乏・無力精子症 (n=14) | 計 (n=20) |
|--------|---------------|-------------------|-------------|
| 著明改善 | 1 | 0 | 1 |
| 改善 | 3 | 4 | 7 |
| 不変 | 2 | 10 | 12 |
| 悪化 | 0 | 0 | 0 |
| 有効率(%) | 67 | 29 | 40 |

表6 最高運動速度における効果

| | 無力精子症 (n=14) | 乏・無力精子症 (n=14) | 計 (n=28) |
|--------|-----------------|-------------------|-------------|
| 著明改善 | 0 | 0 | 0 |
| 改善 | 8 | 2 | 10 |
| 不変 | 6 | 12 | 18 |
| 悪化 | 0 | 0 | 0 |
| 有効率(%) | 57 | 14 | 36 |

表4 運動率における効果

| | 無力精子症 (n=14) | 乏・無力精子症 (n=14) | 計 (n=28) |
|--------|-----------------|-------------------|-------------|
| 著明改善 | 0 | 0 | 0 |
| 改善 | 3 | 1 | 4 |
| 不変 | 11 | 13 | 24 |
| 悪化 | 0 | 0 | 0 |
| 有効率(%) | 21 | 7 | 14 |

表7 平均運動直進性における効果

| | 無力精子症 (n=14) | 乏・無力精子症 (n=14) | 計 (n=28) |
|--------|-----------------|-------------------|-------------|
| 著明改善 | 0 | 0 | 0 |
| 改善 | 3 | 2 | 5 |
| 不変 | 11 | 12 | 23 |
| 悪化 | 0 | 0 | 0 |
| 有効率(%) | 21 | 14 | 18 |

表5 平均運動速度における効果

| | 無力精子症 (n=14) | 乏・無力精子症 (n=14) | 計 (n=28) |
|--------|-----------------|-------------------|-------------|
| 著明改善 | 0 | 0 | 0 |
| 改善 | 3 | 1 | 4 |
| 不変 | 11 | 13 | 24 |
| 悪化 | 0 | 0 | 0 |
| 有効率(%) | 21 | 7 | 14 |

表8 最高運動直進性における効果

| | 無力精子症 (n=14) | 乏・無力精子症 (n=14) | 計 (n=28) |
|--------|-----------------|-------------------|-------------|
| 著明改善 | 7 | 2 | 9 |
| 改善 | 0 | 0 | 0 |
| 不変 | 7 | 12 | 19 |
| 悪化 | 0 | 0 | 0 |
| 有効率(%) | 50 | 14 | 32 |

表9 薬剤投与前後の血清ホルモン値(M±SE)

| | | 乏精子症 (n=6) | 無力精子症 (n=14) | 乏・無力精子症 (n=14) |
|--------------------|-----|---------------|-----------------|-------------------|
| テストステロン (ng/ml) | 投与前 | 3.9±0.67 | 4.0±0.73 | 3.9±0.56 |
| | 投与後 | 3.8±0.84 | 3.8±0.67 | 3.9±0.72 |
| FSH (mIU/ml) | 投与前 | 7.6±0.51 | 9.9±0.88 | 11±1.2 |
| | 投与後 | 7.9±0.54 | 9.8±0.98 | 12±1.0 |
| LH (mIU/ml) | 投与前 | 6.2±0.58 | 5.9±1.0 | 6.3±1.1 |
| | 投与後 | 6.1±0.77 | 6.1±1.1 | 6.5±0.92 |
| プロラクチン (ng/ml) | 投与前 | 4.6±0.41 | 4.0±0.61 | 4.5±0.81 |
| | 投与後 | 4.8±0.43 | 3.9±0.45 | 4.6±0.78 |

投与前VS投与後：いずれも有意差なし

6. 最高運動直進性に対する効果(表8)

無力精子症14例では改善7例(50%), 不変7例(50%)であった。乏・無力精子症14例では改善2例(14%), 不変12例(86%)であった。有効率はそれぞれ50%, 14%であり, 両者併せての有効率は32%(9/28)であった。

7. 血清ホルモン値(表9)

薬剤投与前後において乏精子症6例, 無力精子症14例, 乏・無力精子症14例いずれもテストステロン, FSH, LH, プロラクチンに変動を認めなかった。

8. 10カ月~16カ月の観察期間にて乏精子症6例中2例(33%), 無力精子症14例中2例(14%)の妊娠例が得られた。乏精子症の2妊娠例とも薬剤投与による精子濃度改善例であり, 無力精子症の2妊娠例とも運動率, 運動能改善例であった(表2)。4例とも通常の夫婦生活による妊娠であった。

考 察

男子不妊症の中でも特発性乏精子症に対する漢方療法として補中益気湯^{8,9)}, 八味地黄丸^{10,11)}などが試みられ, 一定の効果が認められている。今回我々が使用した牛車腎気丸は八味地黄丸にゴシツ, シャゼンシの成分を追加したもので, 八味地黄丸に含まれる生薬の代謝賦活作用, 強精作用に加えて, ゴシツの血行改善作用を期待して使用した¹²⁾。

従来男子不妊症に対する薬物療法の効果判定は, 正常精液所見の定義が充分になされていないものが多く, WHOの精液基準¹⁾上正常範囲内の変動を効果判定に用いている報告が少なくない。今回我々はWHOの基準に従い, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下を乏精子症, 運動率50%未満を無力精子症, 両者合併例を乏・無力精子症として評価対象症例とした。

また今回我々は従来精子濃度, 運動率のみで評価されてきた精液所見を精液自動分析装置セルソフトシリーズ3000^{3,13)}を用いてより客観的定量的に評価した。本装置は運動率の他に運動速度, 運動直進性といったより詳細な運動能が測定可能であり, これらの運動パラメーターを薬剤投与前後で比較した。著者の本装置による特発性不妊症患者精液の検討⁷⁾では, 精子濃度が低くなるにつれて運動率や運動能も低下する傾向を認め, 本検討でも乏精子症20例, 無力精子症28例中14例が重複しており, 乏・無力精子症に分類された。

本検討における精子濃度における有効率は乏精子症67%, 乏・無力精子症29%, 両者併せて40%であった。諸家の報告では補中益気湯67.3%⁸⁾, 40%⁹⁾, 八

味地黄丸21%¹⁰⁾, 41.5%¹¹⁾であり, 本検討での乏精子症に対する高い有効率が注目される。一方運動率における有効率は無力精子症21%, 乏・無力精子症7%, 両者併せて14%であった。諸家の報告では補中益気湯74.5%⁸⁾, 45.7%⁹⁾, 八味地黄丸50%¹⁰⁾, 54.7%¹¹⁾であり, 本療法は運動率の改善にはあまり寄与しないという結果となった。また無力精子症の平均運動速度における有効率が21%であるのに対して最高運動速度のそれは57%と高率であり, 同様に無力精子症の運動直進性は平均値における有効率が21%であるのに対して最高値のそれは50%であった。この結果はその症例の最高の運動能を有する精子の機能が高率に改善したことを示唆する。得られた無力精子症の2妊娠例とも薬剤投与により運動率, 運動能いずれもが改善していた。

牛車腎気丸は八味地黄丸同様漢方医学のいう“虚証”に有効とされる薬剤である。今回の検討では個々の症例を漢方医学的に分類せずに薬剤を投与したが, 全身をみる漢方医学的観点から精液所見のみを論ずるのは問題が残るかもしれない。本剤投与前後において血清ホルモン値に明らかな変化は認められず, 本剤の精液所見改善の機序は不明と言わざるを得ないが, 漢方剤投与によりライディヒ細胞機能が賦活化したという報告¹⁴⁾もあり, 現在その機序解明の一端として漢方剤のin vitroでの精子運動への影響¹⁵⁾を検討しているところである。

以上本検討により牛車腎気丸は乏精子症の精子濃度, 無力精子症の最高運動速度, 最高運動直進性を高率に改善し, 特発性男子不妊症に対して有効な薬剤と考えられた。

文 献

- 1) WHO, laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. p27, Cambridge University Press, 1987
- 2) ツムラ牛車腎気丸エキス顆粒〈医療用〉インタビューフォーム. P3, 1989
- 3) 大橋正和, 石川博義, 橋政昭 他, Computer assisted semen analyzer (CASA) を用いた精子運動能の分析. 日不妊会誌 34: 707, 1989
- 4) 青野敏博, 松本脩三, 熊本悦明 他, 下垂体性ゴナドトロピン標準品を用いたLHおよびFSHのImmunoradiometric測定法(スパック-S LH, スパック-S FSH)の多施設における臨床的検討. ホと臨床 36: 1087, 1988
- 5) 青野敏博, 熊本悦明, 佐々木康人 他, WHO標準品を用いた血中プロラクチンのImmunoradiometric測定法(スパック-S プロラクチンキット)

の多施設における基礎的および臨床的検討. ホと臨床 37:441, 1989

- 6) 熊本悦明, 丸田 浩, 石神襄次 他, Oligozoospermiaに対するMecobalaminの臨床効果. 泌尿紀要 34:1109, 1988
- 7) 大橋正和, 男子不妊症の精子機能に関する研究. 慶応医学 70:277, 1993
- 8) 光川史郎, 木村正一, 石川博夫 他, 男子不妊症患者に対する補中益気湯の使用経験. 日不妊会誌29:458, 1984
- 9) 吉井慎一, 友政 宏, 石川博通 他, 男子不妊症に対する補中益気湯の効果. 和漢医薬学会誌 6:494, 1989
- 10) 吉田英機, 男性不妊—男性不妊症に対する漢方療法—. 産婦人科の世界 34:114, 1982
- 11) 三浦一陽, 松橋 求, 牧 昭夫 他, 男性不妊症に対する八味地黄丸の臨床効果について. 泌尿紀要 30:97, 1984
- 12) 山田光胤, 丁 宗鉄, 生薬ハンドブック 第3版, p46, ツムラ学術部, 1989
- 13) 安元章浩, 野村伊作, 香川賢一 他, 精子自動解析装置による成人男性の精子運動性の検討. 西日泌尿 52:1013, 1990
- 14) Ishikawa H, Manabe F, Zhongtao H, et al., The hormonal response to HCG stimulation in patients with male infertility before and after treatment with Hochuekkito. Amer J Chin Med 20:157, 1992
- 15) 大橋正和, 石川博通, 中川 健 他, 川芎熱水抽出物のin vitroにおける精子運動に及ぼす影響. 第11回泌尿器科漢方研究会講演要旨集 p9, 1993

Clinical effects of goshajinkigan on idiopathic male infertility

— Semen profile measured by computer assisted semen analyzer —

Masakazu Ohashi, Hiromichi Ishikawa,

Hitoshi Yanaiharu, Ken Nakagawa,
Kunihiro Hayakawa and Makoto Hata

Department of Urology,
Tokyo Dental College Ichikawa General Hospital,
Ichikawa 272, Japan

Satoru Kaneko

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

Goshajinkigan was administered daily for 3 months to 34 idiopathic infertile patients (6 oligozoospermic, 14 asthenozoospermic and 14 oligo-asthenozoospermic cases). Their semen were analyzed for sperm concentration, motility rate, velocity and linearity using the computer assisted semen analyzer before and after administration. Serum level of FSH, LH, PRL and testosterone were also analyzed.

1. The sperm concentration improved in 67% among oligozoospermic, 29% among oligo-asthenozoospermic cases and 40% in total.

2. The motility rate improved in 21% among asthenozoospermic, 7.1% among oligo-asthenozoospermic cases and 14% in total.

3. The maximum velocity and maximum linearity improved in as high as 50%, 57% respectively among asthenozoospermic cases.

4. Two wives became pregnant among oligozoospermic, and 2 among asthenozoospermic cases during the administration period.

5. No significant correlation was shown between semen profiles and serum hormonal levels.

It is concluded that goshajinkigan is effective for idiopathic male infertility.

(受付: 1993年9月30日)

(受理: 1993年12月6日)

地方部会講演抄録

第31回日本不妊学会中国四国支部学術講演会

日時：1993年8月7日(土)

会場：広島医師会館

1. 続発性視床下部性無月経患者の夜間メラトニン分泌動態に関する検討

○岡谷裕二, 相良祐輔 (高知医大産婦)

(目的) 松果体より分泌される Melatonin (MLT) は LH-RH の Pulse 分泌の発現を抑制することを明らかにしてきた。今回、続発性の視床下部性無月経患者の夜間の MLT 分泌動態を検討すると同時に、低エストロゲン環境の MLT 産生能に及ぼす影響を検討した。

(方法) 視床下部性の第 I 度無月経患者 (16~28 歳, Am I) 11 例, 第 II 度無月経患者 (18~34 歳, Am II) 9 例, 正常月経群 (22~25 歳, C 群) 5 例, 子宮内膜症患者で Gn-RH analog (塩酸プセリリン 900 μ g/日) 治療を行った 5 例を対象とし, 同意のもとに 21~6 時間の消灯条件下で 20~8 時に 2 時間毎に採血した。

(成績) 夜間の MLT サージのピークは C 群では 2 時で 110.4 ± 13.4 pg/ml であったが, Am I, Am II 群では各々 160.9 ± 22.9 pg/ml, 260.5 ± 37.4 pg/ml と高値を示し, その変動も Am I が C 群に比し, また, Am II が Am I 群に比し有意の増量パターンを示した。血中 E_2 は Am II 群 (11.8 ± 1.0 pg/ml) が Am I 群 (28.8 ± 2.7 pg/ml) に比し有意に低値であった。Gn-Rh analog 3~4 ヶ月間治療中の血中 E_2 は 11.4 ± 1.3 pg/ml と Am II 群と同一レベルを示し, MLT ピーク (304.7 ± 46.1 pg/ml) も高値を示し, Am II 群レベルに達した。Gn-Rh analog 治療後の月経発来 4 周期目 (day 7~8 日目) の血中 E_2 は 63.6 ± 18 pg/ml で, MLT 分泌も減少し, ピーク値も (129.6 ± 31.2 pg/ml) C 群レベルに復した。

(結論) 本症の夜間の MLT 分泌は視床下部障害の重症度に対応して増量を示し, その増量には低エストロゲン環境が関与していることが強く示唆された。

2. 黄体機能不全と TRH あるいは metoclopramide 負荷テストでの血中 prolactin の反応との関連について

○森下 一, 武本幹彦, 樋口和彦
青野敏博 (徳島大産婦)
佐野寿昭 (同第一病理)

(目的) 黄体機能不全と prolactin (PRL) 分泌との関連については必ずしも意見が統一されていない。今回我々は月経周期 2~5 日目での TRH あるいは metoclopramide (MCP) 負荷テストに対する血中 PRL の反応と黄体期中期における子宮内膜日付診あるいは血中 progesterone (P) 濃度との間にどのような関連があるかを検討した。

(対象および方法) BBT にて高温持続日数が 10 日以上の 28 症例を対象とした。月経周期 2~5 日目に TRH あるいは MCP 負荷テストを行い, 血中 PRL の反応を測定し, 高温相 6~8 日目に子宮内膜組織検査および血清 P 濃度の測定を行った。

(成績) 1) 11 症例に日付診の不一致が見られたが, 日付診一致例との間に TRH あるいは MCP 負荷テストでの血中 PRL の反応には差異は見られなかった。2) 10 症例において血中 P 濃度は 10ng/ml 未満であったが, 10ng/ml 以上の症例と比較して, TRH あるいは MCP 負荷テストでの血中 PRL の反応に差異は見られなかった。3) 日付診不一致で血中 P 濃度が 10ng/ml 未満は 4 症例においては見られたが, TRH あるいは MCP 負荷テストでの血中 PRL の反応は正常群と差異はなかった。

(結論) 以上の所見により, 軽度の黄体機能不全と月経周期 2~5 日目での TRH あるいは MCP 負荷テストでの血中 PRL の反応とは関連しないことが示唆された。

3. Gn-RH analogue 投与により排卵した POF の 1 症例

○尾崎智哉, 吉野和男, 内田昭弘
高橋健太郎, 北尾 学 (島根医大産婦)

POF の排卵誘発治療として, カウフマン治療などが施行されているが, その効果については納得できるものではない。最近 Gn-RH analogue を投与し, 内因性のゴナドトロピンを一度抑制し排卵を誘発する治療法が報告されている。今回, Gn-RH analogue を投与し, 卵胞成熟, 排卵を認めた症例を経験したので報告する。

症例は 30 歳の主婦で, 4 年間の不妊歴があり, 初診時の血中ホルモンは, LH : 64.8mIU/ml, FSH : 145.8mIU/ml, E_2 : 10pg/ml 未満と, POF の所見を呈していた。カウフマン療法, HMG 療法を計 3 回施行し

たが、排卵に至らなかった。そこで、Gn-RH analogue (プセレリン) 600 μ g/日を17日間投与したところ、血中E₂: 313pg/ml卵胞径20×20mmとなり排卵に至った。妊娠には至らなかったが、現在同様の治療法を継続中である。

POF症例に対してGn-RH analogue投与により、ゴナドトロピン分泌が抑制され、卵胞が成熟する可能性が示唆された。

4. Low responderにおけるgrowth hormone分泌能に関する研究

○石川ひろ美, 國方建児, 村山眞治
山野修司, 青野敏博 (徳島大産婦)

当科では、GnRH agonist long protocol法によっても三方向平均径が14mm以上の卵胞が3個しか発育しない症例をlow responderと定義し、low responderの原因を追求し、治療法を確立する目的で、非刺激周期にFSH, LHの測定およびクロニジンテストを施行し、さらにFSHおよびhMGを増量した際の治療効果を検討した。

(対象) low responder症例9症例。

(方法) 1) 非刺激周期の月経3～5日目の午前中に採血し、血清FSH, LHをRIAにて測定した。また同時にクロニジン225 μ gを投与し、投与前、投与後30分、60分、90分および120分に採血し、growth hormone (GH) 値をRIAで測定した。2) 上記症例に対し、次回のIVF-ET時、前周期の高温相7日目よりGnRH agonist (プセレリン) 600 μ g/日を連日投与し、月経周期3日目よりFSH 450IU/日、7日目よりhMG (ヒュメゴン) 300IU/日を投与し、採卵数、回収卵数、移植胚数および妊娠率を異常のIVF-ET周期 (FSH 225IU/日、hMG 150IU/日) と比較検討した。

(結果) 1) 血清FSH, LHを測定し得た7症例のうち、FSHが15mIU/ml以上の高値を示す症例は1例のみであったが、6症例ではFSH/LH比が3以上で、これら6症例全例でクロニジンテストが陰性であった。2) FSH/hMG投与量を増量しても、14mm以上の卵胞数、移植胚数は増加しなかった。

(考察) low responder症例では、GHの分泌不良例が高頻度に認められ、GHの併用療法が必要と考えられる。

5. 卵胞期血中プロゲステロン上昇周期での緊急採卵と体外受精成績との関連

○家島貴子, 吉田壮一, 片桐千恵子
池成孝昭, 高尾成久, 戸田稔子

原田 省, 見尾保幸, 寺川直樹
(鳥取大産婦)

(目的) 卵巣過剰刺激周期においては卵胞期血中プロゲステロン上昇 (P上昇) が頻発し、しかも、体外受精成績に重大な悪影響を及ぼすことが明らかとなった。今回我々は、この現象を認めた周期において可及的速やかに緊急採卵を行い、その体外受精成績を従来の成績と比較検討し、興味ある結果が得られたので報告する。

(対象と方法) 対象は男性不妊を除く体外受精適応症例で、P上昇を認めながら従来のhCG投与基準で採卵および体外受精を行った20症例26周期 (P上昇群) と、P上昇後直ちにhCGを投与し、緊急採卵を行った14症例14周期 (緊急採卵群) である。この両周期間で形態的成熟卵の割合、受精卵のgrade、さらに妊娠率について比較検討した。

(成績) 採取卵のうち成熟卵の割合は緊急採卵群で有意に多く、また、均等なblastomereを有する胚の割合も緊急採卵群で有意に多かった。妊娠率は緊急採卵群で対周期あたり28.6%であり、P上昇群の11.5%に比して良好であった。

(結論) P上昇周期での体外受精成績を改善するための対策として、緊急採卵の有効性が示唆された。

6. 体外受精・胚移植時の子宮内膜に関する検討

○新谷恵司, 長谷川淳, 木村吉宏
青江尚志, 錦織恭子, 片山隆章
野間 純, 工藤尚文 (岡山大産婦)

(目的) 子宮内膜は妊娠成立のために重要な役割を果たしており、特に排卵時期の子宮内膜の厚さや子宮内膜超音波パターンが妊娠成立に関係があるといわれている。そこで体外受精・胚移植法における子宮内膜厚、内膜パターンと妊娠との関係について検討してみた。

(方法) 当科において卵管性不妊のために体外受精を施行した29例を対象とした。排卵刺激方法はGn-RHaとhMGのlong法をもちい、hCG投与後に経陰超音波下に採卵を行った。受精、分割が確認された後胚移植を行い、黄体期の補充療法はhCG投与にて行った。子宮内膜厚と内膜パターンは経陰超音波断層装置にて測定、判定した。なお妊娠例はGSの確認できた症例のみとした。

(結果) 採卵を行った29例の内24例 (89%) に胚移植を行いその内5例 (21%) に妊娠の成立を認めた。妊娠例では採卵時の子宮内膜厚9.4mmであった。非妊

娠例の採卵時の子宮内膜厚は10.7mmとほぼ同様であった。子宮内膜パターンはいわゆる木の葉状のパターンを示す例が多く認められたが妊娠との間には特に一定の傾向は認めなかった。

(結論) 今回の我々の検討からは妊娠例と子宮内膜厚、子宮内膜パターンの間には特に一定の関係は認めなかった。

7. 体外受精・胚移植における移植胚数に対する妊娠率、多胎率、着床率および流産率の検討

○矢野浩史, 矢野知恵子 (矢野産婦人科)

竹内郁子, 山口大妃, 松浦俊平

(愛媛大産婦)

(目的) 体外受精・胚移植 (IVF-ET) により高率に発生する多胎妊娠が問題となっている。今回、移植胚の個数に対する妊娠率、多胎率、着床率および流産率につき検討したので報告する。

(対象) 当院において平成3年1月から平成5年3月までの間にIVFを行った195周期の内、ETが施行できた151周期である。

(方法) 卵巣刺激はGnRHa-HMG-HCG法を用いた。採卵2日後に形態的に良好な2～6細胞期胚のみをETに供した。超音波でGSを確認した症例を妊娠とし、妊娠8週以降で生存胎児を複数認めた症例を多胎とした。着床率はGS数/移植胚数とした。

(成績) 42周期に妊娠した。妊娠率は27.8% (42/151) であり、多胎は7例 (双胎4例, 品胎3例), 多胎率は16.7% (7/42) であった。着床率および流産率は11.7% (50/427) および19.0% (8/42) であった。移植胚の個数における妊娠率は1個: 15.4% (4/26), 2個: 20.0% (9/45), 3個: 44.1% (15/34), 4個: 23.1% (6/26), 5個: 40.0% (6/15), 6個: 40.0% (2/5), であり、3個以上の群で高い傾向にあった。多胎率は1～2個: 0% (0/13), 3個: 6.7% (1/15), 4個: 50.0% (3/6), 5個: 50.0% (3/6), 6個: 0% (0/2) であり、4以上の群で高かった。流産率は1個: 50.0% (2/4), 2個: 33.3% (3/9), 3個: 20.0% (3/15), 4～6個: 0% (0/14) であり、3個以下の群で高かった。着床率は有意差を認めなかった。

(結論) 移植胚を3個にすることにより妊娠率を低下させること無く、多胎を予防できると思われた。

8. 愛媛大学における体外受精胚移植法の成績

○矢野樹理, 武田康成, 福井敬介

香浦留美子, 濱田郁代, 北川博之

松浦俊平

(愛媛大産婦)

当科では、一時期中断していた体外受精胚移植法 (IVF-ET) による不妊治療を平成4年1月より再開し、今回妊娠分娩例を得たので、その成績を報告する。

治療期間は平成4年1月より平成5年3月の間で、対象は愛媛大学付属病院産婦人科不妊外来通院中の難治性不妊症患者41名であり、その平均年齢32.3±0.5歳、平均不妊期間6.2±0.4年であった。卵巣刺激法はGnRH agonist併用のもと、pureFSHとHMGのcombinationで施行した。経膈超音波法下に採卵し、4細胞胚期に胚移植を施行した。黄体期管理は主としてプロゲステロン坐薬を特注して使用した。総治療周期数56例、その内16症例が受精障害等によりキャンセルとなり、残り40症例に対して胚移植施行し、合計6例に妊娠が成立した。(対胚移植妊娠率15%)

GnRH agonist投与方法と妊娠率との相関を調べると、ultralong法、long法では妊娠成立が認められず、short法にて18.8% (6/32) に妊娠が成立した。short法における黄体期管理では、プロゲステロン坐薬とHCGの併用が最も妊娠率が高く (対胚移植妊娠率26.7%) ついでP経口投与方法 (16.7%), P depot筋注法 (12.5%) の順であった。

この結果、当科における特殊不妊治療による妊娠例は、以前からのIVF-ET 1例, GIFT 4例およびPOST 1例を加え、総計12例となった。また、IVF-ET施行後に2例に自然妊娠が成立した。当科におけるIVF-ETの手技は確立したと考えられ、今後は顕微受精の導入に向け努力していく予定である。

9. 当院における体外受精

○林 伸旨, 西条仁子, 金重恵美子

(岡山中央病院産婦)

(目的) 当院における2年間の体外受精成績を検討した。

(方法) 1990年9月～1992年9月に採卵した116例176周期を対象とした。卵巣刺激法は、クロミッド+hMG14例14周期, GnRH long+hMG 13例17周期, GnRH short+hMG 89例145周期で、岡山大学プロトコールに準じて行った。

(成績) 3周期を除き採卵可能で89例138周期に胚移植した。化学的流産8例, 臨床的流産8例 (9周期), 子宮外妊娠1例, 出生22例 (単胎17, 双胎3, 品胎2) の妊娠成立をみた。妊娠率は対採卵 (周期22%, 症例33%), 対胚移植 (周期28%, 症例43%) で、出生率は対採卵 (周期13%, 症例19%), 対胚移植 (周期16%, 症例25%) であった。対周期 妊娠率は、採卵回数別では1回目116例24%, 2回目43例21%, 3回

目14例14%, 4回目3例0%で, 移植胚数別では1個23例13%, 2個38例18%, 3個32例31%, 4個25例52%, 5個22例32%であった。精液異常のある47例73周期および精液異常のない70例103周期, 対採卵周期妊娠率は, それぞれ15%, 28%であった。採卵当日の総運動精子数1000万未満の12例16周期では, 7例8周期に胚移植したが化学的流産2例のみであった。出生児の異常は, 妊娠32周前期破水で帝王切開分娩した生下時体重1996gの1例に難治性ケイレンがみられている。

10. マウス初期胚発育に対するLPA (lysophosphatidic acid) の効果

○小林津月, 国方建児, 村山眞治
石川ひろ美, 山野修司, 青野敏博
(徳島大産婦)

リン脂質合成過程における中間産物であるLPA (lysophosphatidic acid) は, PA (phosphatidic acid), PAF (platelet activating factor) と同様, 種々の生理活性(ラット子宮筋収縮, fibroblast増殖作用, ヒト血小板凝集等)を有することが報告され, さらに細胞内での刺激伝達系としての作用をもつことが明らかにされつつある。最近, LPAがアフリカツメガエルの卵の膜電位を変化させることが報告され, これらの作用は百日咳毒素に関わるG蛋白に結合した特異的な膜レセプターを介していることが明らかとなってきた。そこで今回我々は, IVFで得られたマウス初期胚発育にLPAが影響を及ぼすか否かを検討した。

(実験) 1. IVFで得られたマウス前核期胚を 10^{-5} ~ 10^{-8} mol/lのLPAを加えた培養液中(T6+0.4% BSA)で培養し, LPAの胚発育への影響を検討した。2. IVFで得られたマウスを4 cell期胚を 10^{-5} mol/l LPA加培養液中で培養し, blastocystへの発育率をcontrolおよび前核期からLPA加培養液中で培養したものと比較した。3. 百日咳毒素を前核期に加えたときのLPAの胚発育促進効果に対する影響を検討した。

(結果) 1. マウスIVF前核期胚培養に 10^{-5} mol/lのLPAを加えると2cellからblastocystへの発育率が有意に改善された(32.5% vs 16.8% $p < 0.01$)。4cellからblastocystへの発育率は, LPA 10^{-7} , 10^{-6} および 10^{-5} mol/lの群で有意に上昇した(LPA 10^{-7} mol/l: 57.9%*, 10^{-6} : 61.5%*, 10^{-5} : 60.3% vs 35.4%* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$)。2. 4 cell期胚にLPAを加えた場合, 4 cellからblastocystへの発育率は, controlと差がなく, 前核期にLPAを作用させた場合に比して, 有意に低率であった(37.9% vs 54.3% $p < 0.05$)。3. 前核期を百日咳毒素で

処理することにより, LPAの胚発育促進作用は消失した(16.3% vs 35.1% $p < 0.01$)。

(結論) LPAはIVFで得られるマウス胚に対し成長因子として作用し, その効果はG蛋白に結合したレセプターを介していることが示唆された。

11. Assisted hatching (人工透明帯開孔) による着床率向上の試み

○高橋克彦, 竹内真奈美 (高橋婦人科)

体外受精, 胚移植(IVF)における着床率は依然低い。その原因の一つに透明帯異常によるhatching不良が指摘され, Cohen等は透明帯開孔(AHA)法によって着床率の向上を見ている。

当院の不妊症患者でIVFにて良好胚数個以上移植するも着床に至らなかった32名に対して, Tyrode液を使用したAHAを採卵3日後に施行し, 1~4時間後に胚移植した。7名で妊娠を確認(21.2%)し, 着床率は19.8%と同時期当院の着床率(12.8%)を上まわった。1例は2回の子宮外妊娠を経験, 2回のIVFでも子宮内膜薄く着床に至らなかったが, 凍結一融解卵3個にAHAを施行して移植したところ3個の心拍を確認して, 現在妊娠継続中である。

AHAは着床率向上に有効な方法であると考えられた。

12. 困卵腔内精子注入法の成績

○高橋克彦, 竹内真奈美 (高橋婦人科)

1992年2月より1993年3月までに172人の男性不妊症患者に対し242周期の困卵腔内精子注入法(Subzonal insemination, SUZI)を施行した。

適応は1. 正常精液所見にもかかわらず通常体外受精(IVF)で2回以上受精しなかった者(症例n=49, Group A), 2. 異常精液所見でIVFで受精しなかった者(n=80, Group B), 3. 重度乏精子症にてIVFの適応から除外されていた者(n=113, Group C)であった。

合計1120個の卵にはSUZIを施行, 受精率40.9%, 分割率92.9%, 胚移植率77.3%でGroup間に差は認められなかった。28例のClinical pregnancyを認め(胚移植当り妊娠率15.0%), 現在までに11人の正常児出生を得ている。

妊娠例のうち6例はAIDを行ったことのある重度乏精子症であり, 一般精液検査の量的因子のみで治療法を決定することは今後慎重にすべきであると考えられた。

13. 卵管通水併用時の人工授精の成績

○武田康成, 矢野樹理, 福井敬介
北川博之, 香浦留美子, 松浦俊平
(愛媛大産婦)

(目的) 人工授精 (IUI) は, 不妊治療の一法で当科でも積極的に施行しているが必ずしも妊娠率は高くない。今回難治不妊症例にIUI施行周期に卵管通水を併用し, その効果を検討した。

(方法) 当科でのIUIの適応として排卵と少なくとも片方の卵管の通過性が確認され, 夫精子の媒精時に運動精子が確認されたことを条件とした。当科通院の不妊患者でIUIを3回以上施行試みても妊娠に至らなかった難治性16例(精子異常3例, 子宮内膜症8例, 原因不明5例)38周期を対象とした。月経終了から排卵前の時期に1回子宮内に生食20ml注入した。IUIの時期は経膈超音波で判断, 首席卵胞径20mmを超えた日または翌日に行い, 単層Percoll法で処理した精子を子宮腔内に注入した。

(結果) 通水時に下腹痛を訴えた患者がいたが自室内であった。通水施行周期に3例(18.8%/case, 7.9%/cycle)妊娠した。妊娠に至るまでの卵管通水-IUIの回数は, 2例が1回, 1例が2回であった。1例通水時に抵抗強くHSG再施行して両側卵管閉塞と診断された。1例卵管通水-IUI後, 自然妊娠した。

(考察) 通水併用で難治性例に妊娠例が出たことによりIUI周期に試みてもよいと思われた。

しかし, 患者に多少の苦痛を与える手技なので回数是最小限にすべきと思われる。

14. 原因不明不妊に対する卵胞刺激とAIHの治療効果

○多賀茂樹, 石井良夫
(津山中央病院産婦)

(目的) 諸検査により明らかな不妊原因を認めない原因不明不妊に対する卵胞刺激とAIHの治療効果について検討した。

(方法) 平成元年1月より平成4年12月までに, 2年以上の不妊を主訴に当科を受診した患者のうち, 基礎体温が正常パターンで, 子宮卵管造影, ホルモン検査, 頸管粘液検査, フーナーテスト, 精液検査等にて以上を認めない32例234周期について, AIHの有無と卵胞刺激の方法別に治療効果を検討した。

(結果) 234周期のうち12周期(5.1%)で妊娠が成立した。AIHを施行した39周期では, clomipheneを投与した17周期のうち3周期(17.6%), hMGを投与し

た21周期中1周期(4.8%), 全体では4周期(10.3%)に妊娠が成立した。AIHを施行しなかった195周期では, 無治療30周期中4周期(13.3%), sexovidを投与した14周期中1周期(7.1%), clomipheneを投与した131周期のうち3周期(2.3%), hMGを投与した20周期中0周期(0%), 全体では8周期(4.1%)に妊娠が成立した。

(考察) 原因不明不妊に対して, clomipheneを投与する場合はAIHを併用すれば比較的高い妊娠率が期待できると考えられた。clomipheneを投与してAIHを施行しない場合は, 無治療の場合よりも妊娠しにくい可能性が示唆された。また, clomipheneを投与にて妊娠しない場合, hMGを投与しても妊娠する可能性は低いと考えられた。

15. pure FSHによる過排卵刺激法を用いた機能性不妊の治療

○漆川敬治, 梶 博之, 上村浩一
米田直人, 桑原 章, 横山裕司
斎藤誠一郎, 安井敏之, 東敬次郎
苛原 稔, 青野敏博
(徳島大産婦)

(目的) 機能性不妊に対するpureFSHによる過排卵刺激の有効性および安全性について検討した。

(方法) 不妊症に対するルーチン検査で明らかな原因を特定できなかった症例で, 本研究に対する同意の得られた者を, pureFSH投与群(以下F群)と対象群(以下C群)に分け, randomized prospectiveを行った。F群(10例・40周期)には, 消退出血開始5日目よりフェルチノームP®150IUを隔日に筋注した。超音波卵胞計測, 頸管粘液検査, 尿中エストロゲン半定量を用いて, AIHのタイミングを決定した。AIHの前日と当日にHCG 5000IUを筋注し, さらに黄体機能賦活のためHCG 3000IUを隔日に3回筋注した。C群(7例・22周期)にはフェルチノームP®の投与を行わなかったが, その他の処置は同様に行った。

(結果) 成熟卵胞数はF群 2.4 ± 0.4 個, C群 0.8 ± 0.1 個($p < 0.001$), 排卵期血中エストロジオールはF群 700 ± 133 pg/ml, C群 392 ± 58 pg/ml, 黄体期中期血中プロゲステロンはF群 16.4 ± 4.3 ng/ml, C群 11.5 ± 5.5 ng/mlであった。症例別の妊娠率はF群30%(3/10), C群0%(0/7), 周期別の妊娠率はF群7.5%(3/40), C群0%(0/22)であった。妊娠症例はいずれも単胎妊娠で, OHSSの発症は認めなかった。

(結果) 機能性不妊に対して, pureFSHの隔日投与による過排卵刺激は有効かつ安全であることが示唆さ

れた。

16. 重症卵巣過剰刺激症候群に抗ヒスタミン剤が奏功した1症例

○濱田郁代, 藤岡 徹, 福井啓介
越 智博, 北川博之, 矢野樹理
松浦俊平 (愛媛大産婦)

卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) は, 排卵誘発剤投与によりしばしば惹起される重篤な副作用であるが, その治療法については未だ確立されていない。今回我々は, 両側卵巣の腫大に加えて, 胸水, 腹水を認めた重症 OHSS に抗ヒスタミン剤が有用であった1症例を経験したので報告する。

症例は28歳の原発性不妊症。月経歴は初経14歳, 以後月経不順。ホルモン検査より, LH/FSH ratio 高値, E₁/E₂ ratio 高値, 高アンドロゲン血症また経陰的超音波断層検査による卵巣の腫大と多嚢胞像により PCO-type の無排卵症と診断された。OHSS の発生が予測される症例であるため pure-FSH を用いて排卵誘発を施行した。

HCG 投与後5日目, 両側卵巣の腫大, 腹水の貯留, 著明な血液濃縮 (HGB19.1g/dl, HCT58.9%) を認め, OHSS と診断され緊急入院となった。循環血液量の増加, 低蛋白血症の改善を目的としてアルブミン製剤, 電解質輸液を投与した。しかし, 腹水および胸水の貯留は改善傾向を認めず, 卵巣穿刺1回, 腹水穿刺6回, 胸水穿刺1回施行したが効果は一時的であった。HCG 投与後27日目に子宮内双胎妊娠が確認されたが, 妊娠の成立により症例はさらに悪化したため, 患者の同意を得たうえで抗ヒスタミン剤 (chlorpheniramine maleate) を19日間投与した。投与後2日目より尿量の増加を認め, 腹水の減少, 胸水の減少等の症状の改善が認められた。現在妊娠33週, 母児共に経過は順調である。抗ヒスタミン剤は, OHSS の治療に有用であることが示唆された。

17. 子宮外妊娠に対する腹腔鏡下卵管切開術の成績

○片山隆章, 野間 純, 錦織恭子
富山俊彦, 工藤尚文 (岡山大産婦)
平岡恭典 (十全総合病院)

(緒言) 近年経陰超音波や高感度妊娠試薬の普及により, 子宮外妊娠を未破裂の状態で診断することが一般的となったが, それにともない卵管の保存的治療が行われることが多くなった。それには MTX の全身療法, および局所療法, また腹腔鏡による卵管の

保存的手術などが行われている。当科では平成5年1月より4月までに腹腔鏡による卵管切開術を5例行ったのでその成績を報告する。

(対象および方法) 症例は20歳から33歳までで, 全例とも挙児希望があった。術前の尿中 hCG 値は 200IU/ml から 3200IU/ml, 妊娠部位は卵管膨大部妊娠が2例, 狭部妊娠が3例であった。また1例は経陰超音波にて心拍動を認めていた。手術は妊娠側の卵管間膜にピトレッシンを局注後, 妊娠部位の卵管を長軸に沿って Nd-YAG レーザーにて切開し, 鉗子により絨毛および血塊を剥離摘出した。

(結果) 膨大部妊娠のうちの1例は絨毛剥離部位からの出血が止まらず, 開腹して卵管切除を行ったが, 4例は術後経過順調で早期に退院可能であった。術後の尿中 hCG 値は, 3例は順調に低下し, 術後10日目以内に50単位高感度妊娠試薬で陰性となったが, 術前に心拍動を認め, 尿中 hCG 値が 3200IU/ml であった1例は hCG 低下が遅延し, 50単位陰性となるまで約1か月を要した。

(結論) 腹腔鏡による卵管切開術は侵襲が少なく, 妊孕性の温存も可能な手術方法であり, 挙児希望のある患者にとって有用な方法と思われた。

18. 対側卵管異常を伴う卵管妊娠に対する MTX 療法について

○林 和俊, 森岡信之, 相良祐輔
(高知医大産婦)

(目的) 対側卵管異常を伴う卵管妊娠に対して MTX の全身投与 (筋注) を行い, その予後を検討したので報告する。

(対象) 1984年3月から1993年3月に当科において対側卵管異常を有する子宮外妊娠8例 (卵管摘出既往3例, 卵管閉塞5例) に MTX 療法を施行した。平均年齢 29.8 ± 4.3 歳であり全例妊孕性の温存を希望した。MTX 投与前の尿中 hCG は, 1000~8000IU/L であった。外妊部位は, 腹腔鏡検査にて全例確認した。

(方法) MTX20mg/日, 5日間を1クールとし1~3クール投与した。

(成績) MTX の平均総投与量は, 237.5 ± 74.4 mg であり, 尿中 hCG 値は順調に下降した。治療開始後, 退院までの日数は20日から40日であった。退院後施行した HSG 検査では, 5例 (62.5%) に良好な卵管疎通性を認め, うち3例 (37.5%) は妊娠に至った。一方, 卵管疎通性不良であった3例中, 2例に保存手術を施し1例は妊娠成立した。

(考察) 対側卵管が摘出あるいは閉塞した卵管妊娠

症例において、その妊孕性を維持するためにはMTX療法を中心とした非観血的治療が臨床上重要と考えられる。近年、腹腔鏡下あるいは経膈超音波下卵管内MTX注入療法が注目されているが、全身投与に比べ卵管への直接的な影響も示唆され、その投与方法については議論が多い。今回MTX全身投与方法を行い、全例治療が奏効し卵管疎通性も良好で、しかも極めて高い妊娠率が得られたことにより妊孕性維持を目的としたMTX全身投与方法の有用性が明らかとされた。

19. 不妊症患者における Chlamydia trachomatis 感染と腹腔鏡所見

○池成孝昭, 家島貴子, 吉田壮一

片桐千恵子, 高尾成久, 戸田稔子

原田 省, 見尾保幸, 寺川直樹

(鳥取大産婦)

(目的) クラミジア感染症は卵管周囲の癒着や卵管閉塞を引き起こすことから、不妊症との関連が注目されている。今回我々は不妊症症例にクラミジア抗体の検査を行い、その陽性率を調べると共に、腹腔鏡を施行し得た症例について抗体価と骨盤内所見との関連について検討した。

(対象と方法) 当科不妊外来を受診し血清抗クラミジア抗体検査を施行した120症例を対象とした。さらにこのうち31症例に診断学的腹腔鏡を施行した。

(成績) 不妊症症例におけるクラミジア抗体はIgG陽性が全体の46%、IgA陽性が26%と高率に認められた。さらにこのうち腹腔鏡を施行した31症例においては、IgA抗体陽性例に卵管の狭窄、閉塞といった卵管通過障害が高率に認められた。また、卵管の閉塞を認めた症例は抗体陽性例に多く、その閉塞部位は膨大部、峡部といった近位卵管に認められる傾向があった。

(結論) 以上より不妊症例における抗体価検査の重要性と、抗体陽性例では骨盤内異常所見の検索のための腹腔鏡検査の必要性が示唆された。

20. 経膈超音波カバーの精子に対する影響

○小林正幸, 小野利夫, 秋田彰一

平川修, 伊東武久

(徳山中央病院産婦)

排卵のタイミングをみるのに、経膈超音波断層撮影は現在不可欠の検査となっている。今回我々は超音波カバーの精子に対する影響につき検討してみた。

対象は市販のコンドームとしてラピュア(サンシー), 超音波用としてProbeCover・G(Fujilatex), Rubber Boot (Aloka)とした。方法はそれぞれを10~15分間浸した培養液を、swim upした精子に作用させ運動率の変化をみた。

1時間後には市販のコンドームを作用させたものは、運動率はほぼ0%になったのに対し超音波用のカバーを作用させたものは24時間後もコントロールと比し運動率に変化はなかった。しかしカバーにswim upした精子を直接入れた場合は超音波用のカバーでも15分もすると精子は死滅した。

このことより市販のコンドームは明らかに精子に対して悪影響があるが超音波用のものも安全とはいえないことが判明した。この原因としてはシリコンゼリー, ゴムの影響等が考えられるが現在検討中である。

21. 月経周期子宮内膜における子宮内膜リンパ球のpopulationの解析

○児玉尚志, 岡本悦治, 原 鐵晃

大濱紘三

(広島大産婦)

(目的) 妊娠初期脱落膜中にはCD56^{bright}細胞, T細胞などの多くの免疫担当細胞が存在し、妊娠維持に深く関与していると考えられている。しかし、これらのリンパ球populationが月経周期の子宮内膜においてどの様に変化するかは明らかでない。今回、フリーサイトメトリー (FCM) を用いて各月経周期および妊娠初期脱落膜中のリンパ球のpopulationの変化を検討した。

(方法) 子宮内膜組織は正常月経周期を有する婦人の摘出子宮より、脱落膜組織は人工妊娠中絶時にそれぞれ同意のもとに採取し、子宮内膜は組織学的に日付診を行い、増殖期, 分泌期初期, 分泌期後期に分類した。各組織から非酵素法によりリンパ球を分離し、FCMを用いてCD3, CD4, CD8, CD14, CD20, CD56陽性細胞の頻度を検討した。

(結果) ①妊娠初期脱落膜における各リンパ球のpopulationはCD3⁺T細胞(18.9%), CD14⁺単球(9.6%), CD20⁺B細胞(2.4%), CD16⁺CD15⁺NK細胞(4.0%), CD16⁺CD56^{bright}NK細胞(63.1%)で、CD16⁺CD56^{bright}NK細胞が過半数を占めていた。②CD3⁺T細胞の頻度は増殖期>分泌期初期>分泌期後期≧妊娠初期と低下した。③CD16⁺CD56⁺NK細胞の頻度は各時期において明らかな差は認められなかったが、CD16⁺CD56^{bright}NK細胞の頻度は増殖期≦分泌期前期<分泌期後期≧妊娠初期と上昇した。

(結論) 子宮内膜CD16⁺CD56^{bright} NK細胞は、おもに分泌期後期および妊娠初期に増加しており、妊卵の着床にも深く関与している可能性が示唆された。

22. 月経周期および妊娠中における黄体組織内3β-HSD活性の変化

○宮内文久, 大塚恭一, 南条和也
(愛媛労災病院産婦)
山下裕幸, 加藤紘 (山口大産婦)

黄体ホルモンの産生に重要な役割をはたしている3β水酸化ステロイド脱水素酵素(HSD)活性を測定し、血中および黄体組織中の黄体ホルモン濃度と比較検討した。

あらかじめ同意を得た患者から手術時あるいは手術後に黄体を摘出し、黄体組織内の3β-HSD活性、黄体ホルモン濃度、蛋白濃度を測定した。3β-HSD活性はプレグネノロンを添加し、黄体ホルモンへの変換量を測定することにより、nmol/分/mg蛋白として表現した。

黄体中3β-HSD活性は黄体期初期の4614.6±1256.2(N=4)から、中期の5887.6±520.3(N=4)へと増加し、後期には2044.8±605.8(N=5)にまで減少した。血中黄体ホルモン濃度は6.7±1.4, 15.4±3.3, 6.7±3.6ng/mlと3β-HSD活性とほぼ同様に变化したが、黄体組織内黄体ホルモン濃度は373.3±36.5, 190.3±46.9, 53.0±15.6ng/mg蛋白と黄体期初期に高値を示した。一方、妊娠初期の黄体内には1930.0±358.1(N=7)と黄体期後期と同様の3β-HSD活性が存在したが、血中黄体ホルモン濃度(26.4±5.2ng/ml)および組織内黄体ホルモン濃度(157.7±39.2ng/mg蛋白)はともに黄体期後期より高値を示した。

以上より、黄体中3β-HSD活性は血中および組織内黄体ホルモン濃度と異なった変化を示すことが明らかとなった。

23. 経膈超音波断層法による黄体期子宮内膜の検討

○吉田 豊, 中村康彦, 吉岡尚美
嶋村勝典, 小野美央子, 加藤 紘
(山口大産婦)

(目的) 経膈超音波断層法により測定した子宮内膜の厚さが、黄体期の評価として有効か否かを従来より行われてきた侵襲的子宮内膜日付診や血中ステロイドホルモンレベルとの関連において検討した。

(方法) 自然排卵周期を有する56例を対象としてretrospectiveに検討を加えた。主席卵胞の消失日(排卵

日)より5～8日後に経膈超音波断層法による子宮正中縦断像を描出し、体部内膜像の最大前後径を子宮内膜の厚さとした。また同時に子宮内膜日付診、血中Estradiol(E₂)値、Progesterone(P₄)値を測定した。

(結果) 子宮内膜日付診で2日以上ずれを認めた群は、ずれを認めなかった群に比して、血中P₄値、P₄/E₂比が有意(p<0.05)に低値であったが、子宮内膜の厚さには有意差を認めなかった。興味あることに治療後妊娠した症例の子宮内膜の厚さをretrospectiveに検討した結果、妊娠群(n=14)の子宮内膜は12.5±0.4mmと妊娠不成功群の値(9.5±0.3mm, n=22)より有意(p<0.01)に高値であった。

(結論) 経膈超音波断層法による分泌期中期の子宮内膜の厚さの測定は、黄体期の指標として、特に将来の妊孕能を予測する上で有用と考えられた。

24. 妊娠初期の流産を免れ得た血中progesterone異常低値例の検討

○米田直人, 梶 博之, 桑原 章
横山裕司, 斎藤誠一郎, 安井敏之
漆川敬治, 東敬次郎, 苛原 稔
青野敏博 (徳島大産婦)

(目的) ヒトの妊娠初期に血中progesterone(P)濃度が異常に低いと子宮内膜の分泌期性変化が不十分であるほか、子宮筋の安定性が低下して子宮収縮が誘起され流産に至るといわれている。特に胎盤からの有意なPの産生(luteo-placental shiht)が起こる妊娠第7週以前に妊娠黄体を除去した婦人では血中P濃度が10ng/ml未満に低下し、流産に至ると報告されている。今回、体外受精で妊娠した婦人のなかに妊娠初期の血中P濃度が正常例の5パーセント未満であるにもかかわらず妊娠が継続し、生児を得るに至った8例を経験したのでその内分泌動態を検討した。(方法) 体外受精により単胎妊娠が成立し、生児を得た118例の血中estradiol(E), PおよびhCG濃度を妊娠4週から12週までRIAにて測定し、その5パーセント未満を異常低値とした。1986年から1990年の間に体外受精によって成立した合計345例の単胎妊娠を対象としてその内分泌動態を検討した。

(成績) 対象のうち8例(2.3%)で採卵後2週間(妊娠4週)の血中P濃度が異常低値(<11.3ng/ml)を示したにもかかわらず分娩に至り生児を得た。このうち最も低値を示したものでは血中Pが妊娠4週で0.6ng/mlであった。血中Eも8例中7例で異常低値を示したが、血中hCGは5例では低いものの、他の3例では常に正常範囲内を推移した。

(結論) 血中P濃度が異常低値を示しても妊娠の継続する例が2%程度存在することが示唆された。

25. 免疫性習慣流産治療を行うも流産に至った症例の検討

○高橋 見, 浮田昌彦, 諏訪美鳥
馬岡 陽, 山中研二, 中堀 隆
渡邊浩彦, 草刈孝史

(倉敷中央病院産婦)

(目的) 免疫性習慣流産の治療として夫リンパ球あるいは血液を用いての治療が行われるようになり、良好な成績が得られている。しかし、なかには治療にもかかわらず流産に至る症例も散見される。そこで流産に終わった症例の流産原因を確かめるために、絨毛の染色体分析を行った。

(方法・結果) これまでに当院では30例の習慣流産症例に対して36回の免疫治療を行っている。その転帰の内訳は、分娩終了22例、妊娠継続中3例、中期流産1例、初期流産8例、子宮外妊娠1例、胞状奇胎1例であり、修正初期流産率は23.5% (8/34)であった。初期流産に終わった全症例で子宮内容清掃術の際に得られた絨毛を用いて染色体分析を試みた。細胞発育の見られなかったのは2例で、残りの6例で絨毛の染色体分析が可能であったが、そのすべての症例で染色体異常がみられた。ただし、その中の1例の核型は父親と同じinv(9)(P12, q13)で直接の流産原因とは考えられにくかった。残りの5例の内訳はmonosomy, trisomyであり、これらの症例ではde novoで生じた卵の染色体異常が流産の原因と考えられた。

(結論) 以上より、当院における免疫治療は、それが必要とされる症例においてはほぼ十分な治療といえることが確認された。

26. Progesteroneに対する精子細胞内Ca²⁺濃度の反応性に関する検討

○福井敬介, 矢野樹理, 武田康成
香浦留美子, 北川博之, 松浦俊平

(愛媛大産婦)

(緒言) 今回、我々はprogesterone添加による精子[Ca²⁺]_iの反応性の変化について検討を試みたので報告する。

(方法) 不妊外来患者の夫(n=18)および健常男性(n=11)の精液を対象とした。80%パーコール法にて運動精子を回収し、P(1μg/ml)の存在下に、37℃、15分間培養した後、fura2-AMをloadした。細胞内

Ca²⁺測定装置(CAF-100)にて[Ca²⁺]_iを測定し、P[Ca²⁺]_i/control[Ca²⁺]_i比: Calcium accumulating ratio (CAR)を算定した。対象を運動率によりA(>50%), B(25%~50%), C(<25%)群、精子数よりI(>2000万/ml)群、II(<2000万/ml)群に分け各群間のCARを比較検討した。

(成績) A, B, C群におけるCARはそれぞれ1.77±0.96(n=10), 2.23±1.44(n=12), 0.98±0.37(n=7)であった。A, B群間に有意差を認めなかったが、C群はA, B群に比して有意に低値を示した(p<0.01)。また、I, II群のCARは1.77±1.02(n=24)および1.81±1.9(n=5)であり両群間に有意差はなかった。

(結論) 運動率25%以下の群においてPに対する精子[Ca²⁺]_iの反応性の低下が認められた。このことは精子無力症における精子受精能の低下と関連していると考えられた。

27. 精子不動化抗体の着床、妊娠の成立に及ぼす影響について一体外受精の治療成績から一

○前川正彦, 山本哲史, 国方建児
村山真治, 森 英俊, 石川ひろ美
山野修司, 鎌田正晴, 青野敏博

(徳島大産婦)

小林津月 (高知市民病院)

大頭敏文 (国立南和歌山病院)

我々はこれまで精子不動化抗体の不妊症発症機序の一つとして精子の先体反応の抑制による受精阻害作用を報告してきたが、今回精子不動化抗体の受精およびそれ以後の過程に及ぼす影響をみる目的で体外受精の成績を検討した。

1983年から1992年までに体外受精を行った症例のうち精子不動化抗体陽性患者は20例35周期であり、このうちGnRHa-hMG-hCGで卵巣を刺激した15症例25周期(患者群)と対照群(男性因子を除く)の124例252周期の成績を比較した。さらに患者群は精子不動化値100をcut off値として高力価群と低力価群に分けた。

体外成熟培養させた卵透明帯を用いた透明帯貫通試験あるいは体外受精において培養液に患者血清を加えると精子の透明帯への結合、貫通および受精が阻害されたが、患者血清をドナー血清に変更すると各々の成績が改善した。また体外受精の成績では受精率は患者群(68.8%)が対照群(77.4%)より低値(P<0.02)を示したが、着床率は低力価群(42.9%)が高力価群(15.4%)あるいは対照群(8.2%)より高く(P<0.02あるいはP<0.01)、妊娠率は低力価群(66.7%)

と高力価群(31.3%)の間に有意差はなかったものの患者群(45.8%)が対照群(17.5%)よりも高値($P<0.01$)を示した。

以上より、精子不動化抗体陽性患者に成立している精子に対する免疫応答は着床およびそれ以後の過程に対して好ましい環境を提供しており、免疫学的な妊娠維持機構に関与している可能性が示唆された。

28. ヒト精漿中Fc γ R III関連抗原の分子構造に関する研究

○森 英俊, 山本哲史, 吉川修司
平野浩紀, 前田信彦, 前川正彦
大頭敏文, 鎌田正晴, 青野敏博
(徳島大産婦)
S.S.Koide (The Population Council,
Center for Biomedical)

(目的) ヒト精漿中には、精子抗原に対する抗体産生を抑制すると考えられるFc γ レセプターIII (Fc γ R III) 関連抗原が存在する。本研究では同抗原の機能発現とその分子構造との関係につき検討した。

(方法) 精製した抗原を、非還元、還元、カルボキシメチル(CM)化してSDS-PAGEを行い、Fc γ R IIIに対する単クローン性の抗体であるLeu1bおよびヒトIgGを用いたWestern blotにより反応性を検討した。抗原の純度は逆相HPLCにて検定し、protein sequencerを用いてアミノ酸配列を決定した。また、精製抗原で家兔を免疫して得られた抗体の反応性についてもSDS-PAGE, Western blotにより検討した。

(成績) 同抗原の非還元、還元、およびCM化後の分子量はそれぞれ27kD, 16kD, 20kDで、このうち16kD抗原のみにLeu1bおよびヒトIgGとの反応性を認めた。アミノ酸配列の検討で、 β -inhibinとの相同性が認められ、SH基を9残基有することがわかった。また、27kD抗原を免疫して得られた抗体は、16kD抗原には強い反応性を示すのに対し、27kDに対する反応性は極めて弱かった。

(結論) 精製抗原は、精漿中では27kDのホモダイマーとして存在し、還元により遊離のSH基を持つ16kDモノマーとなりFcRとしての機能を発現する。また、27kD蛋白による免疫で、16kD抗原に対する抗体が強く産生されることから、生体内では還元あるいはプロセッシングを受けることにより16kDすなわちactive formに変換されることが示唆された。

29. IVF-ETにおける各種精液検査の有用性について

○長谷川淳, 新谷恵司, 青江尚志
木村吉宏, 錦織恭子, 片山隆章
野間 純, 工藤尚文 (岡山大産婦)

(目的) IVF-ETや顕微授精など不妊症治療法の選択基準を設定するため、卵の受精率を指標として各種精液検査を検討した。

(対象) 当科にてIVF-ETを施行した卵管性不妊および男性不妊患者を対象とした。

(方法) IVF-ET適応患者に対し、媒精のため採取した精液を用いて下記の検査を行った。そして、卵の分割率との関連について検討した。a) 一般精液検査；精液量、精子濃度、運動率を測定した。b) アクロビーズテスト；採精後24時間での累積先体反応誘起精子量を測定し、4段階のアクロビーズ値として表示した。c) サバイバルテスト；7.5%患者血清加HTFを用いて精子を24時間および48時間培養し、それぞれ運動率で表示した。d) Hypoosmotic swelling test；150mOsmol/Lの低浸透圧溶液中での精子尾部の膨化形態を観察し、g型膨化精子数を測定した。なお、検体は採精後液化させた精液原液と24時間および48時間培養後の精子を使用した。

(結果) 卵の受精率は、一般精液検査やHypoosmotic swelling testとの間には一定の相関は示さなかった。

(考察) IVF-ETでの卵の受精率は精子の性状にも影響されるが、その判定は一般精液検査だけでは充分とは言えず、他の検査による評価も併用する必要があると思われた。

30. Hypo-osmotic swelling testと精子妊孕性との関連性に関する研究—体外受精・胚移植における受精率での検討—

○内田昭弘, 高橋健太郎, 尾崎智哉
山崎裕之, 吉野和男, 北尾 学
(島根医大産婦)

(目的) 精子受精機能検査法であるhypo-osmotic swelling (HOS) testと精子妊孕性との関連性についての検討を目的とした。

(対象及び方法) 島根医科大学産科婦人科において体外受精・胚移植(IVF-ET)を施行した76例の精液を対象とした。当科のIVF programで卵巣刺激の後に得られた成熟卵子を用い、1卵子当たり5~10万の運動良好精子を媒精した。なお、精子調整はswim-up洗浄濃縮法を用いて行った。この調整精子に対して

HOS testを施行した。研究対象を受精群 (58例) および非受精群 (16例) に分類し、調整後の精子運動率およびHOS testの精子膨化率について比較検討した。

(結果) 調整後の精子運動率においては、受精群、非受精群の2群間で有意な差は認められなかった。しかしながら、調整後の精子におけるHOS testの比較においては、総精子膨化率は、受精群では70.5±10.6%、非受精群では42.9±9.1%、g-type精子膨化率は、受精群では45.0±12.0%、非受精群では19.5±5.6%で、それぞれ受精群において有意な高値が認められた。

(結論) IVF-ETの際に、精子運動率において差の認められない運動良好精子を用いて媒精を行った場合における精子固有の受精能の結果とHOS testの精子膨化率とはよく一致することが示された。このことから、精子受精機能検査としてのHOS testは精子の持つ妊孕能を強く反映していることが示唆された。

31. 精子運動能に及ぼすPentoxifyllineの経時的影響—健康男子を対象として—

○絹谷正之, 上田克憲, 新甲 靖
熊谷正俊, 竹中雅昭, 大濱絃三
(広島大産婦)
己斐秀豊 (己斐産婦人科)

(目的) Pentoxifylline (PXF) はcAMPを介して精子の運動を賦活化することが知られており、精子無力症をはじめとする男性不妊例での臨床的有用性が報告されている。しかし、運動の賦活化に関する詳細な検討は殆ど行われていない。今回我々は、Motility Analyzer HT-M 2030による精子運動能分析により、PXFの精子運動能の各パラメーターに与える経時的影響を検討した。

(対象および方法) 妊孕性が確認された健康男子15例を対象とした。的手法により採取した精液を液化させた後、mBWW培養液で2回洗浄し精漿を除去した。その後、PXF3.6mM添加群と非添加群に二分し、各々について30, 60, 120, 180, 240, 300分後にHT-M 2030による精子運動能分析を行った。

(結果) Lateral Head Displacement (LHD) は全測定時間においてPXF (+) 群がPXF (-) 群に比して有意に高値であった ($P<0.05$)。Curvilinear velocity (VCL) は120分まではPXF (+) 群がPXF (-) 群に比して有意に高値であった ($P<0.05$) が、180分以後は有意差を認めなかった。Motilityは240分までは有意差を認めなかったが、300分後ではPXF (+) 群がPXF (-) 群に比して有意に高値を示した ($P<0.05$)。Path velocity, Progressive velocity,

Frequency, % of Rapid motile cells ($V>25 \mu \text{ m/sec}$) はいずれの測定時間でも両群間に有意差を認めなかった。

(結論) 正常な精液に対して、PXFは精子のLHDやVCLを増加させ、またmotilityを維持する作用があると考えられた。

32. 精子先体反応率におよぼす前培養時間の影響

○新甲 靖, 上田克憲, 熊谷正俊
絹谷正之, 竹中雅昭, 大濱絃三
(広島大産婦)
中原満, 松原昭郎, 碓井 亞
(同泌尿器)

(目的) 先体反応誘起物質であるCa ionophore A23187による精子先体反応率(%AR)は精子受精能の新しい指標として注目されているが、その測定条件はいまだ確立されていない。そこで今回我々は、精子の前培養時間と%ARの関連について検討した。

(対象および方法) 妊孕性の確認された健康男子13例および不妊男子9例の計22例を対象とし、同意のもとに以下の検討を行った。精子をmBWW培養液で洗浄後、Swim up法(1時間)で運動性良好な精子を回収し、精子浮遊液を3検体に分けた。1検体には直ちにCa ionophoreを添加(最終濃度 $10 \mu \text{ M}$)して1時間作用させ、他の検体は2時間あるいは5時間培養(37°C , 5% CO_2 in Air)の後にCa ionophoreを1時間作用させた。観察精子のうち生存精子でしかもFITC-PSAでEquatorial segmentのみ染色される精子の比率を%ARとした。

(結果) 1, 3, 6時間(Swim up時間を含む)前培養した時の%ARは、健康男子で各々 $12.6 \pm 5.6\%$, $15.5 \pm 6.5\%$, $31.9 \pm 12.4\%$ 、不妊男子で $6.9 \pm 2.0\%$, $8.0 \pm 1.9\%$, $10.2 \pm 2.7\%$ で、健康男子では前培養時間に伴う有意の増加が認められた ($P<0.01$)。また、3および6時間前培養した時の健康男子の%ARは不妊男子に比して有意に高値であった ($P<0.01$)。

(結論) %ARの算定においては精子の前培養時間を考慮することは重要であり、今回の検討から精子受精能の指標として用いる場合には、3時間以上前培養を行うことが必要である。

33. Kallikreinの精子パラメーターに及ぼす効果のComputer-Assisted Semen Analyzerを用いた定量的解析

○井本勝彦, 瀧原博史, 白瀧 敬
馬場良和, 鎌田清治, 内藤克輔
(山口大泌尿器)
石津和彦 (徳州会鹿児島病院泌尿器)

(目的) 男子不妊症患者に対する精液検査は顕微鏡下での肉眼的観察に基づいた精子パラメーターが主として用いられているが、我々はComputer-Assisted Semen Analyzer (以下CASA) を併用し定量的かつ客観的に評価できる可能性を報告してきた。今回我々は、特発性男子不妊症患者に対する Kallikrein の薬効を CASA を用いて検討した。

(対象と方法) 特発性男子不妊症患者 10 例に Kallikrein 1500U/day を 2 ヶ月間投与し、CASA (the Hamilton-Thom HTM-2030 Motility Analyzer) を用いて精子機能のひとつをあらわす運動能を定量的に解析した。

(結果) 顕微鏡下での肉眼的観察による精子運動率とは別に、Kallikrein 投与前の %rapid (25 μ m/sec 以上の高速運動精子比率) が正常か否かで Kallikrein への反応態度が異なった。すなわち、%rapid 正常群では Kallikrein の投与により %rapid は有意に低下し ($p < 0.05$)、%rapid 低値群では Kallikrein の投与により %rapid は増加する傾向が認められた ($p < 0.1$)

(まとめ) 従来の顕微鏡下での肉眼的測定では解析不可能な %rapid 値を用いると、Kallikrein の精子運動能に対する効果を新たな観点より評価できる可能性が示唆された。

34. Color doppler による精索静脈瘤の診断

○田村雅人, 香川征 (徳島大泌尿器)
稲井 徹 (徳島市民病院泌尿器)

(目的) color doppler による精索静脈瘤の検出が有用であるかどうかを検討する。

(対象および方法) 対象は男子不妊症患者 30 例で、年齢は 28 歳から 38 歳 (平均 32.6 歳) で、不妊期間は 24 ヶ月から 48 ヶ月 (平均 37.5 ヶ月) であった。全例に精索静脈瘤の検出として、仰臥位および立位での安静時および Valsalva 負荷時の視診触診を行った。また、全例に、color doppler による精索静脈瘤の検出を行った。機種は日立社製電子走査形超音波断層装置で 7.5MHz リニア探触子にななめのカプラーを装着したものを使用した。両側の陰囊根部で精索内の動静脈を描出し、仰臥位および立位での安静時および Valsalva 負荷時いずれにおいても静脈内で精巣方向への血液の逆流が認められた場合に精索静脈瘤ありと判定した。

(結果) 30 例中 clinical varicocele の認められた症例は 8 例 (26.6%) で、7 例が左側のみで、1 例は両側の症例であった。これらの 8 例は color doppler で 7 例は左側

で、1 例は両側で逆流を認めた。2 例 (6.6%) に左側の subclinical varicocele を認めた。

(結論) color doppler による varicocele の検出は非侵襲的であり、逆流を客観的に評価できる点ですぐれていると考えられた。

35. Microsphere を用いた精巣血流の検討

○安元章浩, 桑田善弘, 空本慎慈
杉元幹史, 竹中生昌 (香川医大泌尿器)

(目的) 造精機序に関与する精巣内局所因子の一つとして、レニンアンジオテンシン系の存在に着目し、検討しているが、その意義は未だ不明である。そこで今回精巣レニンアンジオテンシン系の精巣血流動態に与える影響を調べるため、レニンアンジオテンシン系の正常な SD ラットと賦活化により高血圧を呈する SHR-SP ラットに血流動態トレーサーである microsphere (^{141}Ce) を投与して検討した。

(方法) ラットにペントバルビタール麻薬下に頸動脈、大腿動脈にそれぞれカテーテリゼーションを行い、直径 $15 \pm 3 \mu\text{m}$ の microsphere (^{141}Ce) を 75000 個浮遊させた 0.25ml の生理食塩水を頸動脈カテーテルを介して 15 秒かけ左心室に注入した。また対照血液として動脈血の採血を大腿動脈においたカテーテルより行った。microsphere 投与後ラットを KCI にて屠殺し、各種臓器を摘出し、ガンマ・カウンターにて放射活性を測定した。測定結果は各種臓器の単位重量当たりの血流量ならびに心拍出量に対する百分率にて表現した。

(結果と考察) 正常血圧の SD ラットでは精巣血流は $0.25 \pm 0.01 \text{ml/min} \cdot \text{g}$ 精巣重量 (心拍出量の $2.02 \pm 0.03\%$) であり、有意に高血圧ラットでは精巣血流は増加していた。これらの意義について考察するとともに、精囊腺・前立腺など他の生殖器系臓器の血流についても検討する。

36. 男子不妊症患者における SRY および DYS1 の検討

○中原 満, 松原昭郎, 白根 猛
碓井 亞 (広島大泌尿器)
河村和子, 神辺眞之 (同検査部)

(目的) 男子不妊症は原因が明らかでないいわゆる特発性不妊症が多くを占める。最近、特発性男子不妊症の中に Y 染色体の精子形成に関与する遺伝子欠損例が存在することが報告されてきた。今回我々は男子不妊症患者における SRY および DYS1 の欠損の有無を PCR 法で検討した。

(対象および方法) 当科不妊外来を受診した患者のうち、精子数濃度1,000万/ml未満の乏精子症9例、無精子症19例を対象とした。無精子症患者の内6例はKlinefelter症候群であった。また1例は45X/46XYq-であった。これら患者の精巣容量、血中テストステロン値、LH値、FSH値、プロラクチン値をRIA法で測定するとともに、末梢白血球あるいは毛根細胞からDNAを精製し、PCR法でSRYおよびDYS1の存在を検討した。

(成績) SRYはすべての症例において認められた。DYS1は45X/46XYq-の1例および無精子症の1例において欠損が認められた。

(結論) 1. 外陰部が男性型に分化した症例はいずれもSRYを有する。2. DYS1はKlinefelter症候群にも存在する。3. 男性不妊症においてDYS1の欠損の頻度は低い。

37. 当院で経験した射精障害の3例

○岸 浩史, 角 昌晃, 水谷雅巳

石部知行 (島根医大泌尿器)

糖尿病性射精障害2例、脳髄膜炎が原因と考えられた射精障害1例を経験した。

(症例1) 36歳、男性。1989年頃よりオルガスムはあるが射精がみられなくなった。同年4月より糖尿病の治療を開始、6月に当科を受診した。理学所見、内分泌検査に異常はなかったが、精液の採取ができずマスターベーション後の尿中にも精子を認めなかった。糖尿病性射精障害と診断し、1990年7月より塩酸イミプラミン、d-マレイン酸クロルフェニラミンの投与を開始、まもなく射精が認められるようになった。11月のAIHにて妻の妊娠が確認され、1991年7月に女兒を出産した。

(症例2) 29歳、男性。1977年頃、糖尿病を指摘されたが放置。1990年頃よりオルガスムはあるが射精がなくなった。1991年11月より糖尿病の治療を開始、同時に当科を初診。理学所見、内分泌検査に異常はなかった。マスターベーション後の尿中にも精子を認めなかった。塩酸イミプラミン投与後より射精はないもののマスターベーション後の尿中には精子を認めるようになった。

(症例3) 25歳、男性。1991年1月に無菌性脳髄膜炎のため近医に入院、昏睡状態となったが保存的治療により治癒した。退院後より夜尿症と射精障害が出現したため、1992年10月に当科を紹介受診した。両側精巣は萎縮しており、内分泌検査の結果、低ゴナドトロピン性性腺不全症が疑われたが、夜尿症と

射精障害の原因は無菌性脳髄膜炎と考えられた。1992年11月より夜尿症は自然に消失、1993年1月より射精障害に対し塩酸イミプラミン、メチル硫酸アメジニウムの投与を開始、少量の射精がみられるようになったが、精液検査では無精子症であったため、現在精査加療中である。

38. 新しいマウスEAOモデルの成立過程における各種サイトカインの動態

○徳永 葉, 平峰千春, 北条憲二

(香川医大免疫病理)

田中啓幹

(川崎医大泌尿器)

(目的) 我々はC3H/Heマウスを用い、生きた同系精巣細胞(TC)の皮下注射のみで、極めて高率に精巣炎と乏精子症を発症させるEAOモデルを開発した。本報告はこのEAOの成立にいたる自己免疫過程を、感作動物の脾細胞が*in vitro* TC刺激下で分泌する各種サイトカイン量を指標として解析することを目的としている。

(方法) 9週齢雄C3H/Heマウスを用い、TC感作はDay 0, 14に2回行った。Day 0, 7, 14, 21, 28および40に1)病理組織学的観察、2)TCに対する遅延型足蹠反応の測定、3)血清抗TC抗体価の測定(ELISA法)、4)脾細胞浮遊液を作成し、脾細胞浮遊液(1×10^7 細胞/ml)に対し1/20量のTCを添加して培養を行い、48hr後に採取した培養上清中のサイトカイン量をELISA kitを用いて測定した。

(結果) 1. 精巣炎の発症はTC 2回感作後1週(Day 21)以降に始まり、Day 40には完成した。2. 抗TC抗体価と遅延型足蹠反応は初回注射後徐々に上昇し、再注射によって強い上昇に移行した。3. (1)TC感作脾細胞のサイトカイン産生能は、IL-2, IFN- γ , GM-CSF, IL-3, IL-5, IL-6共に、初回感作後2週間は有意の増加を示さないか、またはごく軽度の増加にとどまったが、TC 2回感作後に飛躍的に上昇した。(2)例外的に、IL-4産生応答は全期間を通じて検出されなかった。(3)IL-5, IL-6, IL-10(Th2サイトカイン)はDay 28以降は低下したが、その他のサイトカインはDay 40においても著しい高値を示した。

(結語) TC自己免疫の二次応答に一致して、各種サイトカイン産生能(とくにTh1サイトカインIL-2, IFN- γ)の飛躍的な増強がおこることが明らかとなった。この結果より、EAOの発症は宿主反応性のTh1細胞性免疫への偏りと関係する可能性が考えられる。

39. EFFECTS OF SURGICAL REPAIR OF LEFT VARICOCELE ON FERTILITY IN RABBITS

○Nikolaos Sofikitis, Ikuo Miyagawa
(Tottori University Dept. of Urology)

To evaluate the effectiveness of surgical correction of varicocele in restoring the function of the varicocele testicle, experimental varicoceles were created in 16 male rabbits by partly ligating the left lumbotesticular trunk. Five control rabbits received a sham operation (group A). Two months later, eight of the varicocele rabbits underwent surgical repair by ligation and cutting of the dilated left testicular vein (group B). The remaining eight varicocele animals did not receive any additional treatment (group C). Five months after the initial operation, group C animals had a significantly lower sperm concentration, sperm motility, bilateral testicular androgen-binding protein activity, bilateral testicular vein testosterone concentration bilateral testicular versus intraabdominal temperature difference, and fertility when compared with groups A and B. These findings suggested the surgical repair of an experimental varicocele in the rabbit can significantly improve the parameters indicating the harmful effects of the varicocele on the testicles.

40. 特発性男性不妊症患者に対する人參養榮湯の使用経験

○志田原浩二, 市川孝治, 小澤秀夫
大枝忠史, 大森弘之

(岡山大泌尿器)

特発性男性不妊症患者の治療として漢方薬の有効性に関する報告が散見されるが、我々は人參養榮湯の有効性および安全性を検討する目的で、本剤とカルナクリンとの比較臨床試験を行った。

対象は精子濃度 $2000 \times 10^4/\text{ml}$ 未満の乏精子症症例、または運動率50%未満の精子無力症症例の内の14例で人參養榮湯は1日9.0g、カルナクリンは1日300IUをそれぞれ12週投与し、薬剤投与前後の精液所見を比較検討し、有効の時は、4週の休業の後同じ薬剤を連続投与し、無効の時は、もう一方の薬剤に切り換えた。また、あわせて血液一般、生化学および血清T、LH、FSHも投与前後に測定した。なお、効果判定はMethyl-B₁₂の効果判定基準に従った。

人參養榮湯投与は12例12回であり、改善度は、精

子濃度では、不変9例、悪化3例。運動率では改善2例、不変4例、悪化6例。全般改善度はやや改善2例、不変3例、悪化7例であった。著明改善、改善を併せた有効率は、精子濃度0%、運動率16.7%、全般改善度0%であった。一方、カルナクリン投与は14例16回であり、改善度は、精子濃度では、著明改善1回、不変11回、悪化4回で、運動率は著明改善2回、改善2回、不変7回、悪化5回であり、全般改善度は改善3回、やや改善1回、不変6回、悪化6回であった。有効率は、精子濃度6.3%、運動率25%、全般改善度18.8%であった。両薬剤とも妊娠成立例はなかった。また、重篤な副作用もみられなかった。血液検査上、有意な変動は認めなかった。

以上より、症例数は少ないが、人參養榮湯の安全性は確認できたものの、有用性を認めるには至らなかった。

特別講演

1 「ヒトの生殖の特異性について：細胞遺伝学的見地から」

○美甘和哉 (旭川医科大学名誉教授)

ヒトの生殖には他の動物と比べて異なる点が多いが、特に顕著な点は格段に高い頻度で発生障害が生じていることである。

これまで種々の方法で研究されてきた結果、受精の機会を得た卵子の70%以上が着床前後の比較的早い時期に淘汰されていることが解ってきた。それらのほとんどすべては異常発生を行っていて、しかも、その多くが染色体異常をもつと推測されている。この様なことは、動物の生殖戦略の進化という点からみて極めて特異な現象である。このことを確めるには、当然ヒトの卵子や精子、または受精卵の染色体を直接研究しなくてはならない。しかし、研究材料の入手や染色体分析法の難しさが大きな障害であったから、研究の進展はほとんどみられなかった。

最近、いわゆる体外受精胚移植法が盛んになり、材料の入手が可能となったためにヒトの卵子や受精卵の染色体研究も徐々に行われるようになった。研究用に提供される卵の大多数は未受精卵であるから、第二成熟分裂中期染色体の分析が主である。しかし、材料の質も研究法も研究者によってまちまちであるから、これまでの結果の信頼性は決して高くない。

一方、ヒトの精子染色体研究も、ハムスター卵を代用とした異種間体外受精法によって可能となっ

た。代用卵内に形成される雄性前核染色体を核融合前に分析する方法である。ハムスター卵は過剰排卵処理によって多数得られるから、一精液サンプル毎に数百個の精子を分析出来るという利点がある。しかし、研究者によっては、方法や技術の水準がかなり低いので、結果の評価は慎重に行わなければならない。

卵子も精子も体細胞とは全く異なる形態や性質を有するものであるから、染色体標本の作成法も特殊で、決して容易ではない。信頼出来る成果を得るには、当然種々の技術改良を必要とする。ところが、これまで多くの研究者が功を焦る余り最も重要な技術改良を疎かにしてきたことはまことに残念である。幸い、我々の研究室で長い年月を費しながら開発した方法は、現在最も信頼のおける方法と認められ、国の内外の研究者が技術習得を望むようになってきた。したがって、近年発表される報告の内容は、以前より格段に改善されている。これらの報告を精選して総合すると、ヒトの生殖過程では染色体異常が甚だ高い頻度(約50%)で生じていると考えることが出来る。このことを根拠として、ヒトの生殖障害を多発させる原因について種々の考察を加えることが可能となった。

II 「精子の運動と受精」

○毛利秀雄(放送大学副学長)

受精には精子の運動が欠かせない。原始型の精子は先端に先体をもつ濃縮された核よりなる頭部と、1~数個のミトコンドリアよりなる短い中片部および鞭毛よりなる尾部で構成されている。ヒトを含む哺乳類精子は修飾型に属し、中片部が長く鞭毛の構造も原始型のものに比べて複雑である。運動の主体は鞭毛であるが、その基本構造はいわゆる9+2の微小管束である。すなわち中心に位置する1対のシングルレット微小管とそれを取囲む9本のダブルレット微小管である。ダブルレットのA小管からは隣りのダブルレットのB小管に向けて1対の腕が突き出しており、また中心に向けてスポークが出ている。スポークの頭は中心対微小管に付着している中心鞘突起に接している。これらの構造をひっくるめて軸糸と呼び、細胞膜によって取囲まれている。哺乳類精子ではこの基本的な9+2構造の外側に太い周辺束繊維が存在する。ただし鞭毛の末端部分は9+2のみとなる。

微小管は分子量約10万のチューブリン分子の集合体であり、また腕はATPアーゼ作用をもった分子量120~200万のダイニン分子よりなる。1対の腕のう

ち外腕と内腕ではダイニン分子がやや異なる。鞭毛運動の基本はダイニン腕の働きによる隣り合ったダブルレット微小管同士の滑りである。この滑りがどのようにして鞭毛の屈曲に変換されるかについてはまだ答えがでていない。また鞭毛の根本部分でどのように屈曲が生じるのかも不明である。哺乳類精子鞭毛にみられる周辺束繊維は屈曲に対して抵抗性を示す弾性体と考えられる。ところで不妊症の男性の精子鞭毛には、外腕あるいは内腕を欠いているもの、微小管の数や配列に乱れのあるものなどがあり、いずれの場合も運動性がみられない。これらは不動線毛症候群と呼ばれている。

哺乳類精子は精巣から排精されて精巣上体を頭部から尾部に下る間にしだいに運動能を獲得する。また射精後雌の生殖輸管の中でいわゆる受精能獲得を行い、先体反応が引き起こされるようになり、また超活性化によってそれまでとは異なる運動パターンを示すようになる。除膜精子を用いてのATPによる付活実験によれば、ほとんど動かない精巣精子や精巣上体頭部精子も精巣上体尾部精子のような運動を示す。また精巣上体尾部精子の場合は超活性化精子のような運動をする。つまり前述のような鞭毛運動のための諸装置は、すでに精巣中で完成されており、細胞膜を通じての諸要因の作用により運動パターンが変化すると考えられる。このような要因としては環状AMPやCaイオンが知られている。ある計算によれば超活性化された精子の推進力はそれ以前のもののおそらく3倍程度になり、透明帯通過には鞭毛運動だけで十分であるという説に根拠を与える。なお先体反応をおこした頭部さえあれば受精が成立するという考えに有利な証拠も得られている。

第38回日本不妊学会九州支部会

日時：1993年10月17日(日)

会場：福岡県医師会館 5階中講堂

1. 著明な外陰浮腫をきたした卵巣過剰刺激症候群の一症例

○橘原久司, 江藤靖子, 河野康志

吉松 淳, 早田 隆, 宮川勇生

(大分医大産婦)

胸水および腹水に加えて著明な外陰浮腫をきたした卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の症例を経験した。

患者は26歳, 経妊0。挙児希望で他院にてhMG-hCG療法施行後, 腹部膨満感, 呼吸困難, 乏尿を主訴として, 当科に緊急入院となった。

超音波断層法にて両側卵巣は腫大(右:86×70 mm, 左:78×66 mm)しており腹水, 胸水も著明であった。

血液検査所見では血液濃縮, 低蛋白血症(4.7 g/dl), 低アルブミン血症(2.6g/dl)を呈し, estradiol(8,080 pg/ml), progesterone(303 ng/ml)が著しい高値を示した。

治療は血漿蛋白製剤投与および適切な補液と尿量確保を中心とし, 著しい呼吸困難が生じた時には, 酸素投与, 胸水穿刺を施行した。症例は要胎妊娠であることが確認された。呼吸困難のため半坐位にて経過中に疼痛を伴う外陰浮腫が著明となり, 対症療法に苦慮したが, その経過は他の諸徴候とともに緩徐に軽快した。

2. 卵管妊娠に対する保存手術例の検討

○藤下 晃, 吉田正雄, 中村恒一

鮫島哲郎, オルテガ・ラウル, 増崎英明
石丸忠之, 山邊 徹 (長崎大産婦)

(目的) 卵管妊娠に対して保存手術を行ったあとの治療成績に及ぼす諸因子について分析した。

(対象) 当科で保存手術を試みた33例を対象とした。部位は峡部9例, 膨大部19例および采部5例, 術式はsalpingotomy 20例, salpingostomy 5例, milking 4例およびsegmental resection 4例である。

(結果) 33例中保存手術が可能であったのは29例(85%)であった。術後の卵管疎通性を検討した23例中, 患者側の疎通率は78%(18/23例)であり, 術後6カ月以上follow up可能であったのは23例であり, そのうち13例(57%)が子宮内に妊娠し, 2例(9%)が外妊であった。病巣の直径が5 cm以上の例は, 一般に卵管疎通性が不良であり, 腹腔内出血量および術前尿中hCG値とは関連がなかった。また胎児心拍陽性の4例中, 保存手術ができなかった2例およびhCG値の下降が遅延した1例があった。

(考察) 保存手術は卵管の疎通性および妊娠率は比較的良好であるが, 病巣の大きな例では部分切除を考慮する必要がある。

3. 当科における子宮外妊娠治療後の妊孕性の検討—過去7年間の症例から—

○河野哲郎, 松浦講平, 田中幸幸

岩政 仁, 生田幸生, 田代浩徳

岡村 均 (熊本大産婦)

(緒言) 近年, 子宮外妊娠(外妊と略す)の原因も変化し, その治療にも種々の選択肢が登場してきた。当科では, 将来挙児を希望する例や不妊例では適応

に従い原則として保存手術を施行している。今回, 過去7年間に経験した55例の外妊症例の治療法とその後の妊孕性について検討したので報告する。

(症例) 年齢は平均29.9歳(17歳~43歳)で, 開腹術の既往が19例(33.3%)にみられた。着床部位は卵管膨大部が35例(63.6%)と最も多く, 卵管妊娠47例のうち未破裂は38例(80.9%)であった。また挙児を希望する45例中25例に卵管保存手術を行い, うち12例(48.0%)に妊娠が成立した(反復外妊2例)。術式別の妊娠率はmilking outが2例中2例(100%), 卵管端々吻合術が5例中4例(80%)と高かった。一方, 根治手術例で17例中4例(23.5%), MTX単独では3例中2例(66.7%)が妊娠した。

(結論) 卵管保存手術後が根治手術後より高い妊娠率を示した。

4. 卵巣チョコレート嚢胞破裂の2例

○中村佐知子, 沖 利通, 森 明人

山元慎一, 大西英資, 堂地 勉

永田行博 (鹿児島大産婦)

今回2例のチョコレート嚢胞破裂に遭遇し, 腹腔鏡を行い異なる所見を得たので報告する。

症例1は27歳未婚, 93年6月13日突然下腹部痛を自覚, 近医受診。USGで右卵巣嚢腫と腹水を認め, 6月23日当科受診。チョコレート嚢胞の破裂疑いで緊急に腹腔鏡を施行し, 右チョコレート嚢胞の破裂とダグラス窩の軽度癒着を認めたが, 周囲と癒着を認めなかった。術後プセリリン開始とした。

症例2は30歳既婚, 92年9月不妊を主訴に来院, 左卵巣嚢腫を認め, CA 125高値よりチョコレート嚢胞を疑い手術を勧めるも放置。93年2月USGで嚢胞の縮小を認め, 破裂が疑われたが, 腹痛等の自覚はほとんどなかった。93年9月腹腔鏡を施行した。左卵巣を確認できぬほど強固にダグラス窩に癒着し, 開腹した。癒着部は剥離困難で, 健常卵巣部残存し, 十分癒着防止した。

以上よりチョコレート嚢胞破裂は可及的早期に腹腔鏡を行い, 十分腹腔内洗浄し癒着を防ぐのが重要と考えられた。

5. Buserelin投与中に発見された卵巣clear cell adenocarcinomaの1例

○友成廉平, 友成美鈴, 田崎民和

安部 宏

(社会保険久留米第一病院産婦)

平井ひろみ, 西田 敬, 薬師寺道明 (久留米大産婦)
神代正道 (同 第一病理)

卵巣の clear cell adenocarcinoma は Novak らによれば卵巣癌中 7.5% と報告されている。また、本症例の 59% が未産婦との報告もある。今回我々は、不妊症患者で子宮筋腫に対して buserelin 投与中に卵巣の腫大が認められ筋腫核手術時の切除にて clear cell adenocarcinoma と診断された症例を経験したので報告する。

症例は 31 歳未妊婦。平成 4 年 7 月 4 に不妊症にて近医受診し、子宮筋腫を指摘され不妊症精査目的にて久留米大学産婦人科を受診。新生児頭大の筋腫を認め、器質的原因以外の検査を施行後、不妊治療を行うも妊娠しないため筋腫核手術前の縮小目的にて buserelin 900 μ g を開始した。8 週後には子宮は超手拳大に縮小したが右卵巣が鷲卵大に腫大。筋腫核手術目的にて開腹し、術後病理組織診断で卵巣の clear cell adenocarcinoma と診断された。

6. 当科における顕微授精の臨床成績

○沖 利通, 中村佐知子, 森 明人
山元慎一, 福元清吾, 竹内一浩
堂地 勉, 永田行博 (鹿児島大産婦)

高度の乏精子症・精子無力症は体外受精胚移植をもってしても治療困難である。こうした男性不妊の治療目的に顕微授精法が考案され、本邦でも妊娠・分娩例が報告されている。1992 年鹿児島大学医学部倫理委員会で顕微授精の臨床応用が承認され、当教室でも 1993 年 1 月から顕微授精の臨床応用を開始した。

対象は通常の体外受精胚移植で過去 2 回以上受精に至らなかった症例とした。方法は従来の体外受精胚移植プロトコールにしたがった。採取卵を 4 時間前培養し、ヒアルロニダーゼ処理後シュクロース内で透明帯開孔を行い $0.1 \sim 5 \times 10^5/\text{ml}$ の濃度で swim up 精子を媒精した。

今回はここ半年間の顕微授精の成績を受精率・妊娠率などやギムザ染色による精子先体反応率と受精の関係などについて検討し、現在の問題点と今後の妊娠率改善のための対策について考察する。

7. ストレスと不妊—無麻酔家兎の生殖器官を支配する交感神経の活動について—

○石 明寛, 吉田耕治, 柏村正道
(産業医大産婦)
前田正信, 林田嘉朗 (同 応用生理)

(目的) 近年、体外受精・胚移植などの不妊症の治療に画期的な進歩がもたらされた。しかし機能性不妊の頻度も高率である。その原因の一つがストレスと考えられる。そこで私達は家兎を用い、生殖機能に及ぼす交感神経活動の影響を調べるため、無麻酔状態で卵管を支配する交感神経活動の記録を試みた。

(方法) 家兎 (4~6 カ月, 体重 2.5~3.0kg) を用い、ネンプタル麻酔下に卵巣および卵管を支配する交感神経束にステンレススチール双極電極を装着し、神経活動を確認した後、シリコン樹脂で記録電極と神経束を固定した。さらに大腿部・静脈に血圧測定および薬剤注入用カニューレを挿入した。電極およびカニューレは、皮下を通して頭部から体外に露出した。神経活動、血圧、心拍変化の記録は麻酔がさめた翌日から行った。

(結果) 無麻酔状態で生殖器官を支配する交感神経活動の記録が得られ、その活動様式の特徴について検討することができた。

8. 当科不妊外来での妊娠症例の解析

○新堂昌文, 櫻井景紀, 馬渡秀仁
江本 精, 詠田由美, 吉満陽孝
白川光一 (福岡大産婦)

(目的) 配偶子操作技術の進歩に伴い、不妊症治療の選択肢が増えている。不妊治療後に妊娠した症例を解析し、それぞれの治療法の有効性を検討した。

(方法) 1989 年 1 月から 1993 年 3 月までに当科不妊外来を受診した 423 例 (原発不妊 282 例, 続発不妊 141 例) を対象に、統計的検討を行った。

(成績) ① 423 例中 218 例 (妊娠率 51.5%), 延べ 256 周期に妊娠が成立した。② 治療法別の妊娠成績は、排卵誘発 107/212 (50.5%), IVF-ET 33/92 (35.9%), AIH 29/115 (25.2%), 外科的治療 8/23 (34.9%) であった。③ 一般不妊検査である HSG や PCT が妊娠成立に有効と思われた周期は、それぞれ 70 周期, 29 周期見られ、また無治療妊娠も 45 周期認められた。

(結論) 不妊症に対する有効治療は多岐にわたり、個々の治療法の充実と選択が重要であると考えられた。

9. 当科における 2 回以上連続流産患者の生児獲得率の検討

○生田幸生, 松浦講平, 田中信幸
河野哲郎, 岩政 仁, 田代浩徳
西村佳代子, 岡村 均 (熊本大産婦)

当科で経験した連続2回異常の流産反復既往患者192例(2回:76例,3回異常:116例)を対象に,その原因別生児獲得率を検討した.

生児獲得率は子宮因子が56.3%(18/32)でその内訳は子宮内腔癒着症が61.5%(8/13),以下奇形53.3%(8/15),子宮筋腫,腺筋症が各1例ずつ生児を得ている.頸管無力症は30.0%(3/10)が生児を得ている.黄体機能不全は56.3%(9/16)で,高PRL血症は50%(1/2)であった.共通抗原数が2個以上のHLA適合

例は16例で,そのうち7例に夫リンパ球療法を行い7例が生児を得た.APTT延長例は15例で,うち5例に低用量のアスピリン療法を行い,全例が生児を得た.染色体異常の頻度は10.4%(13/125)であった.他に甲状腺機能低下症で50%(1/2),トキソプラズマ症100%(2/2),原因不明43.9%(18/41),検査中あるいは未検査が7.0%(3/43)の生児獲得率がそれぞれ得られた.全体の生児獲得率は36.5%(70/192)であった.

関連学会のお知らせ

第12回日本受精着床学会の案内

会 期：平成6年7月14日(木)～15日(金)

会 場：城山観光ホテル

鹿児島市新照院町41-1 TEL: 0992-24-2211

招請講演 (7月14日)

村松 喬教授(名古屋大学医学部第一生化学教室)

『着床と細胞膜の接着レセプター』

特別講演1 (7月14日)

Lucinda Veeck, Director Embryology Laboratory

(The Jones Institute, Eastern Virginia Medecal School, USA)

『The Morphological Evaluation of Oocytes and Pre-embryos』

特別講演2 (7月14日)

菅原七郎教授(東北大学農学部・生物生産学科・動物生殖科学講座)

『哺乳類の胚盤胞形成と生化学的特性』

シンポジウム (7月15日)

『受精卵へのアプローチ—受精卵から得られる情報とその応用—』

- ・新村末雄 (新潟大学農学部) 『哺乳動物卵子の成熟と受精に伴う表層粒の変化』
- ・斉藤英和 (山形大学産婦人科) 『卵胞発育と卵の受精能』
- ・堤 治 (東京大学産婦人科) 『受精卵から得られる生化学的情報』
- ・徳永智之 (農林省畜産試験場) 『ES細胞を用いた発生工学』
- ・吉澤 緑 (宇都宮大学農学部) 『受精卵における染色体分析』
- ・竹内一浩 (鹿児島大学産婦人科) 『受精卵の遺伝子診断』

連絡先：〒890 鹿児島市桜ヶ丘八丁目35番1号

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室内

第12回日本受精着床学会事務局

総会幹事：堂地 勉

TEL 0992-75-5423 (直通)

FAX 0992-65-0507

会 長 永 田 行 博

(鹿児島大学医学部産科婦人科)

日本アンドロロジー学会 第13回学術大会

会 期：平成6年7月22日(金)・23日(土)

会 場：千里ライフサイエンスセンタービル

〒565 大阪府豊中市新千里東町1-4-2 TEL. 06-873-2010

主要プログラム：

教育講演

「雄ラットにおけるインヒビンの役割」

渡辺 元(東京農工大学農学部獣医学科家畜生理学教室)

「ミューラー管退縮物質の最近の知見」

島 博基(兵庫医科大学泌尿器科学教室)

「造精周期に連動するSertoli細胞の形態と機能の周期的変化」

上野 浩(大阪医科大学第二病理学教室)

「精巣腫瘍患者の妊孕能について」

松田 公志(関西医科大学泌尿器科学教室)

「前立腺癌の進行とアンドロゲン依存症」

市川 智彦(千葉大学医学部泌尿器科学教室)

特別講演

「男性不妊症の基礎と臨床」

並木 幹夫(大阪大学医学部泌尿器科学教室)

シンポジウム

「精巣の細胞間調節機構」

熊本 悦明(札幌医科大学泌尿器科学教室)

西宗 義武(大阪大学微生物病研究所附属感染動物実験施設)

「受精能判定法の進歩」

長田 尚夫(聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室)

岡田 詔子(東邦大学医学部第二解剖学教室)

一般演題募集要項：

演題申込締切：平成6年3月31日(木)必着

原稿用紙等請求および演題送付先：〒565 大阪府豊中市新千里東町1-4-2

千里ライフサイエンスセンタービル14階

学会センター関西内

日本アンドロロジー学会 第13回学術大会事務局

TEL. 06-873-2301 FAX. 06-873-2300

問い合わせ先：大阪大学医学部泌尿器科学教室(担当：並木, 三木, 松宮)

〒565 大阪府吹田市山田丘2-2

TEL. 06-879-3531 FAX. 06-879-3539

会 長 奥 山 明 彦
(大阪大学医学部泌尿器科学教室)

第7回国際精子シンポジウム

会 期：平成6年10月9日(日)～14日(金)

場 所：オーストラリア ケアンズ Hilton International Hotel

参加費： 1994年7月15日まで 1994年7月16日以降

登録費 一 般 Aust \$ 500 Aust \$ 550

学 生 Aust \$ 250 Aust \$ 250

同伴者 Aust \$ 180 Aust \$ 180

プログラム：「T. Mann Symposium」

1. Sperm development
2. Genetics of sperm
3. Sperm movement
4. Gamete recognition
5. Evolution and systematics
6. Applied spermatology (a) Human (b) Agricultural
7. Environmental spermatology

一般演題(ミニポスター)申込〆切：

平成6年7月15日

問合せ(Registration Circular請求)先：

Seventh International Symposium on Spermatology
ACTS, GPO BOX 2200, Canberra, ACT, 2601, Australia
TEL : 61+6-257-3299 FAX : 61+6-257-3256

第39回日本不妊学会

1994年10月26日(水)～28日(金) 会場：富山市

この度、第39回日本不妊学会が、平成6年10月26日(水)～28日(金)の3日間、富山市にて開催されるにあたり、全国各地より多くの皆様方が来富されます事を心より、歓迎申し上げます。

さて、本総会にご参加されます皆様方の宿泊、航空券および総会終了後の観光旅行のお世話を、JTB富山支店にてお引受けさせていただくことになりました。つきましては詳細を下記の通りご案内申し上げます。なおこの時期は、観光シーズンでもありますのでお早めにお申し込み賜りますようお願い申し上げます。

宿泊のご案内

(1泊朝食付・税・サービス料込み、お一人様料金)

| ホテルタイプ | ホテル名 | 客室タイプ | 料金 | |
|---------------------|-----------------------------------|---------|---------------|----|
| A(富山市) (都市ホテル) | 名鉄トヤマホテル | シングル | 13,500～14,000 | AS |
| | 富山第一ホテル | ツイン | 12,500～13,000 | AT |
| | 富山エクセルホテル東急 | | | |
| B(富山市) (都市ホテル) | 富山ワシントンホテル | シングル | 9,500～11,000 | BS |
| | 第一イン富山 | ツイン | 8,800～9,500 | BT |
| | ニューグランドイン富山 | | | |
| | 富山ステーションホテル | | | |
| 信開ホテル富山 | | | | |
| C(富山市) (ビジネスホテル) | 富山キャッスルホテル | シングル | 8,000～9,000 | CS |
| | ホテルとみのや | ツイン | 7,500～8,000 | CT |
| | ホテル祥園 | | | |
| D(富山市) (ビジネスホテル) | C以外のビジネスホテル (当支店にて決めさせていただきます) | シングル | 6,000～7,800 | DS |
| E(富山市) (旅館) | ホテルよし原 | 2名～3名 | 13,500～18,000 | E |
| | かわい本館 | 和室(相部屋) | | |
| F(富山市) (旅館) | ホテル金八 | 2名～3名 | 9,000～12,000 | F |
| | 奥村館 | 和室(相部屋) | | |

- 宿泊ホテルのご希望については、お申し込み順に予約致しますが、ご希望通りにならない場合もございますのでご了承下さい。
- 富山市内のホテルの宿泊可能人員に限度がありますので、順次隣接都市にお願いする場合があります。
- ツインルームはできるだけお2人での申し込みをお願い申し上げます。(原則としてツインのシングルコースはお断りさせていただきます。)

航空券のご案内

※富山空港発着の下記の便の予約を承りますのでご利用下さい。

| 区間 | 10月26日(水) | | 10月27日(木) | | 区間 | 10月28日(金) | | 10月29日(土) | |
|--------|-----------|-------------|-----------|-------------|--------|-----------|-------------|-----------|-------------|
| | 記号 | 時間帯 | 記号 | 時間帯 | | 記号 | 時間帯 | 記号 | 時間帯 |
| 東京～富山 | 1A | 7:00～7:30 | 2A | 7:00～7:30 | 富山～東京 | 3A | 8:30～9:30 | 4A | 8:30～9:30 |
| 〃 | 1B | 8:30～9:30 | 2B | 8:30～9:30 | 〃 | 3B | 10:30～11:30 | 4B | 10:30～11:30 |
| 〃 | 1C | 11:00～11:30 | 2C | 11:00～11:30 | 〃 | 3C | 13:30～14:30 | 4C | 13:30～14:30 |
| 〃 | 1D | 12:30～13:00 | 2D | 12:30～13:00 | 〃 | 3D | 15:30～16:30 | 4D | 15:30～16:30 |
| 〃 | 1E | 14:00～15:00 | 2E | 14:00～15:00 | 〃 | 3E | 18:00～19:00 | 4E | 18:00～19:00 |
| 〃 | 1F | 18:00～18:30 | 2F | 18:00～18:30 | 〃 | 3F | 19:30～20:00 | 4F | 19:30～20:00 |
| 札幌～富山 | 1G | 15:00～16:00 | 2G | 15:00～16:00 | 富山～札幌 | 3G | 12:00～13:00 | 4G | 12:00～13:00 |
| 名古屋～富山 | 1H | 8:00～9:00 | 2H | 8:00～9:00 | 富山～名古屋 | 3H | 9:30～10:30 | 4H | 9:30～10:30 |
| 〃 | 1K | 15:30～16:30 | 2K | 15:30～16:30 | 〃 | 3K | 17:00～18:00 | 4K | 17:00～18:00 |

学会参加者特別割引運賃

| 区間 | 片道普通運賃 | 片道特別割引運賃 |
|--------|---------|----------|
| 東京～富山 | 15,350円 | 13,200円 |
| 札幌～富山 | 24,700円 | 21,150円 |
| 名古屋～富山 | 13,000円 | 10,400円 |

※各便ともお申し込みが15名様に満たない場合左記の割引は適用できません。その場合、1カ月前に催行中止の旨ご連絡いたします。尚、1カ月前を過ぎてキャンセル等により15名様に満たなくなった場合、通常の個人運賃にて対応させて頂く場合がございますのであらかじめご了承下さい。

※時間帯は、平成6年3月現在の航空ダイヤによります。

※航空運賃値上げ等があった場合、割引運賃も変更となります。

昼食・弁当のご案内

会場周辺の食堂は一般客が多く、近くの食堂街も少なく、規模も小さい為大変混雑が予想されます。JTBでは、皆様方の利便を考え、10/27、10/28の両日、昼食弁当を一折1,300円(お茶付)にて予約販売させていただきます。富山の味を十分に吟味したお得な弁当をご用意いたしております。ご宿泊申込み共々、せいぜいご利用下さいませ。

観光のご案内

Aコース (八尾おわら踊りと市内周遊コース)

旅行代金お一人 9,000円

| 日程 | 期日 | 行 程 |
|----|--------------|--|
| 1 | 10/29 (土) | 富山駅前 — 民俗民芸村 — ます寿司工場(見学) — 千里山荘(昼食) — 8:45 9:00 10:20 10:50 11:30 12:00 13:00 — 越中八尾曳山会館(おわら踊り見学) — 富山空港 — 富山駅 13:30 14:30 15:00 15:30 |

Bコース (落差日本一の称名滝と立山黒部アルペンルートコース) 旅行代金お一人19,000円

| 日程 | 期日 | 行 程 |
|----|--------------|---|
| 1 | 10/29 (土) | 富山駅前 — 称名滝滝見学 — 弥蛇ヶ原高原 — 室堂 — 大観峰 +++++ 8:00 10:00 ロープウェイ ケーブル +++++ 黒部平 +++++ 黒部湖……黒部ダム……黒部湖 +++++ 黒部平 +++++ 13:30(昼食) +++++ 大観峰 — 室堂 — 富山空港 — 富山駅 15:30 16:00 |

Cコース (宇奈月温泉と黒部峡谷の旅)

旅行代金お一人36,000円

| 日程 | 期日 | 行 程 | 宿泊地 |
|----|--------------|--|-------|
| 1 | 10/28 (金) | 富山県民会館 — 富山IC — 黒部IC — 宇奈月温泉 17:30 18:30 | 宇奈月温泉 |
| 2 | 10/29 (土) | トロッコ電車 トロッコ電車 宇奈月 +++++ 樺平 +++++ 宇奈月 — 黒部IC — 富山IC = 8:46 10:12 11:05 12:28 13:50(昼食) 14:00 14:30 — 富山空港 — 富山駅 14:40 15:30 | |

Dコース (秘境五箇山彫刻の里の旅)

旅行代金お一人 9,000円

| 日程 | 期日 | 行 程 |
|----|--------------|---|
| 1 | 10/29 (土) | 富山駅 — 五箇山(合掌集落) — 井波(産業会館・彫刻の里) — 瑞泉寺 = 8:30 10:30 11:10 11:40 12:20 12:40 13:40 — 高岡(瑞泉寺) — 高岡駅 — 富山駅 14:30 15:10 15:20 16:00 (昼食) |

※各コースとも最小催行人数は25名以上とし、25名に満たない場合は催行を中止することもあります。

※Cコースの宇奈月温泉宿泊のお部屋は4～5名の相部屋となります。

※各コースとも、添乗員が同行し、お世話させていただきます。

※旅行代金には、明示した日程の交通費、食事代、入場料、宿泊費およびこれらに対する消費税等諸税相当額を含みます。

お申込方法について

(1)お申し込みについて

宿泊・航空券・観光とも下記申込書にご記入のうえ、1994年9月26日(月)までに、
JTB富山支店宛郵送又はFAXにてお申し込み下さい。

尚、通信手配費として、一件につき500円を申し受けます。

(2)費用のお支払いについて

ホテル名・航空・観光等の予約結果をお申し込み受け次第ご連絡申し上げますので10月14日(金)までにご請求金額を現金書留又は銀行振込みにてご送金下さい。ご送金いただかない場合は、予約が取消になることがございます。

お送り先：〒930 富山市桜町1丁目1番36号 地鉄ビル1F
(現金書留) (株)JTB富山支店 第39回日本不妊学会係

銀行振込先：富山信用金庫本店 普通預金337007

口座名：JTB富山支店

(3)取消料について

取消、変更のご連絡は必ず郵便又はFAXにてお願い申し上げます。

[宿泊] [観光]

| 取消日 | 予約日15日前 | 予約日6日前 | 予約日2日前 | 予約日の前日 | 当日 |
|-----|---------|--------|--------|--------|----|
| 取消料 | 無料 | 10% | 20% | 50% | 全額 |

[弁当]

お申し込み後の取り消しは原則としてご返金致しません。

[航空券]

| 航空運賃 | 出発の13日～4日前 | 出発の3日前以降 |
|---------------------|------------|----------|
| 10,000円以上 20,000円未満 | 3,000円 | 5,000円 |
| 20,000円以上 30,000円未満 | 4,000円 | 7,000円 |
| 30,000円以上 | 5,000円 | 9,000円 |

(4)問い合わせ先

〒930 富山市桜町1丁目1番36号 地鉄ビル1F

(株)JTB富山支店 第39回日本不妊学会係

TEL: 0764 (31) 7581 FAX: 0764 (41) 1320

担当：山本・相川

第39回日本不妊学会 (宿泊・航空券・観光・弁当申込書)

| | | | | | |
|-----------------|---|-----|----|-----|-----|
| ふりがな 申込代表者氏名 | | 勤務先 | | TEL | |
| 住 所 | 〒 | | 年齢 | 才 | FAX |

《宿泊・航空・観光申込書》

| ふりがな 宿泊者氏名 | 年 令 | 性 別 | 宿泊月日 | | | 希望ホテル (記号) | 同室者氏名 | 航空券(記号) | | 観光 |
|---------------------------|---------|--------|--------------|--------------|--------------|----------------------|-------|---------|----|------------|
| | | | 10/26 (水) | 10/27 (木) | 10/28 (金) | | | 往路 | 復路 | |
| (例) とやま たろう 富 山 太 郎 | 35 才 | 男 女 | 10/26 | 10/27 | 10/28 | 1) BS 2) CS | | 1E | 4F | 10/29 A |
| | 才 | 男 女 | 10/26 | 10/27 | 10/28 | 1) ----- 2) ----- | | | | |
| | 才 | 男 女 | 10/26 | 10/27 | 10/28 | 1) ----- 2) ----- | | | | |
| | 才 | 男 女 | 10/26 | 10/27 | 10/28 | 1) ----- 2) ----- | | | | |
| | 才 | 男 女 | 10/26 | 10/27 | 10/28 | 1) ----- 2) ----- | | | | |
| | 才 | 男 女 | 10/26 | 10/27 | 10/28 | 1) ----- 2) ----- | | | | |

《昼食弁当申込書》

| 弁当受取者名 | 10月27日(木) | 10月28日(金) | 弁当合計 |
|--------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | @1,300×()個 (お茶付) ¥ | @1,300×()個 (お茶付) ¥ | @1,300×()個 (お茶付) ¥ |

[通信欄]

※昼食弁当代金の申込後のご返金は原則として致しません。

※昼食弁当は、当日会場において引換券と交換にお渡し致します。

※希望ホテルは第2希望も必ずご記入下さい。

※FAXのお申込みも可能です。(FAX: 0764-41-1320)

※送り先 〒930 富山市桜町1丁目1番36号 地鉄ビル1F
(株)JTB富山支店 第39回日本不妊学会係

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. 論文の審査、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理順とする。
 4. 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。
 5. 原著、総説、論説、臨床報告などには必ず、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。
 6. 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。
 7. 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。
 8. 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。
 9. 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、特に原著の場合の著者名は3名までとし、以下は他(et al.)とする。誌名は規定または慣用の略名に従うこと。特に号数を必要とする場合は巻数とページ数との間に入れて括弧で囲む、すなわち
著者名、題名、誌名、巻数(号数)：ページ数、年次
 - 例 1. Ovesen P, Christiansen JS, Moller J, et al., Growth hormone secretory capacity and serum insulin-like growth factor I levels in primary infertile, anovulatory women with regular menses. *Fertil Steril* 57: 97, 1992
 2. 藤森 淑, 体外受精に関する培養液と微小環境培養法の基礎的・臨床的研究. *日不妊会誌* 38: 53, 1993
 - b. 単行本の場合
著者名、題名、版数、ページ数、発行所、年次
 - 例 1. McClure RD, Endocrine investigation and therapy. In: Tanago EA, Lue TF, McClure RD, eds, *Contemporary Management of Impotence and Inferility*. 1 ed, p222, Williams & Wilkins Co, 1988
10. 英語5語以内のKey wordsを付記する。
 11. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編のみとする。
 12. 著者校正は原則として初校のみ1回とする。なお、構成は字句の訂正にとどめる。
 13. 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。
 14. 掲載原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。これ以上を必要とする場合は、原稿に別刷総部数を朱記する。なお、30部を越す分についての実費は著者負担とする。
 15. 投稿のさいは、原稿とともにコピー2部を添付する。ただし写真は原稿を含めてオリジナルを3部とする。
 16. 投稿先および諸費用の送付先は、〒102 東京都千代田区麹町5-4 クロスサイド麹町ビル8階、社団法人 日本不妊学会 事務所とする。

編集会議からのお知らせ

- 原稿用紙はB5判横書き400字詰のものを使用し、組版に差し支えないよう清書してください。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)
- 論文にはKey Wordsを付け、査読用コピー2部を添えることにしました。また英文については専門家の査読を受ける(費用、著者負担)ことがありますので、ご注意ください。(平成4年9月)
- 論文をワープロ、パーソナルコンピューター等で作成された場合は、出来れば文書フロッピーをいっしょにお送りください。その際、機種とソフト名をお書き添えください。MS-DOSのテキストファイル出力が可能であればその形式でお願いします。(平成4年10月)

編 集 委 員

白 井 将 文 (委員長)

| | | |
|---------|---------|---------|
| 味 香 勝 也 | 伊 藤 晴 夫 | 石 島 芳 郎 |
| 遠 藤 克 | 楠 原 浩 二 | 小 林 俊 文 |
| 平 川 舜 | 穂 坂 正 彦 | 三 橋 直 樹 |
| 水 口 弘 司 | 毛 利 秀 雄 | |

EDITORIAL BOARD

Masafumi SHIRAI (Editor-in-Chief)

| | | |
|----------------|-----------------|---------------------|
| Katsuya AJIKA | Haruo ITO | Yoshiro ISHIJIMA |
| Tsuyoshi ENDO | Koji KUSUHARA | Toshihumi KOBAYASHI |
| Shun HIRAKAWA | Masahiko HOSAKA | Naoki MITSUHASHI |
| Koji MINAGUCHI | Hideo MORI | |

日本不妊学会雑誌 39 卷 2 号

1994年 3月24日 印 刷

1994年 4月1日 発 行

編集兼発行者 白 井 将 文

印 刷 者 武 田 昭 彦

印 刷 所 株式会社 デンプロ
東京都台東区元浅草4-9-13

発 行 所 社団法人 日本不妊学会
東京都千代田区麹町5-4
クロスサイド麹町ビル8階
Tel (03) 3288 - 7266
振替口座番号 東京 7-93207