

ISSN
0029-0629
CODEN:NFGZAD

JAPANESE JOURNAL OF FERTILITY AND STERILITY

Vol. 39 No.4

October
1994

日本不妊学会雑誌

第39巻 第4号

平成6年10月1日

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

第40回日本不妊学会総会および学術講演会 (第1回予告)

下記により第40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がご参加下さいますようお願い申し上げます。

記

期 日：平成7年10月25日(水) 役員会，学術講演会，会長招待会
平成7年10月26日(木) 学術講演会，評議員会，総会，総懇親会*
平成7年10月27日(金) 学術講演会
会 場：山形国際交流プラザ「山形ビッグウイング」
〒990 山形市平久保100番地
TEL 0236-35-3000, 3100 FAX 0236-35-3030
(*総懇親会はホテルメトロポリタンで行います)

今回は、10月25日(水)の役員会終了後から学術講演会を午後より開始し、3日間の日程で、充分なご発表時間と充実したご討議をお願いする予定です。27日(金)は午後の比較的早い時間帯で終了する予定です。

演題募集要項，特別講演，教育公演，シンポジウム，その他詳細につきましては次号(40巻1号，平成7年1月発行)に予告いたします。一般演題の締め切りは平成7年5月下旬の予定です。

第40回日本不妊学会会長
広 井 正 彦

連絡先 〒990-23 山形市飯田西2-2-2
山形大学医学部産科婦人科学教室内
第40回日本不妊学会総会事務局
(斎藤英和，平山寿雄，楊 美貴)
TEL 0236-33-1871 直通
または 0236-33-1122 内線2263，2264(医局)
FAX 0236-25-2722

日本不妊学会誌

第39巻 第4号

平成6年10月1日

—目 次—

原 著

微小穿刺法により測定されたラット精巢上体管内液のナトリウム,

カリウム, および精子濃度 (英文)山本雅憲・他 1

ウサギの妊娠期における尿中上皮細胞成長因子の変動原 洋明・他 5

運動性無月経による骨塩濃度の減少 (英文)目崎 登・他 11

原因不明の習慣流産婦人における自然流産組織の染色体異常山田秀人・他 17

hCG療法中に高プロラクチン血症による勃起障害をきたした

低ゴナドトロピン性性腺不全症の1例太田信隆・他 21

反復流産患者の各種自己免疫抗体陽性率およびその治療成績山本 弘・他 25

ラットの誘起分娩に及ぼす抗プロジェステロン剤 (RU486) の

単一投与の効果 (英文)梅津元昭・他 31

子宮内膜症合併不妊婦人における GnRH アナログ療法の有効性の検討細川健一・他 36

当院におけるヒト凍結・融解胚移植周期の成績高塚亮三・他 41

Methotrexate 治療後血中 β -hCG が感度以下になるも

卵管不全流産の転帰をとった一症例 (英文)丸山哲夫・他 49

hMG-hCG療法後の子宮内外同時妊娠鄭 俊明・他 52

IUDの避妊機序に関する免疫学的検討 (英文)秋山芳晃・他 57

第39回日本不妊学会学術講演会抄録 63

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 39, No. 4, 1994)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

Intraluminal Concentrations of Sodium, Potassium, and Sperm in the Rat

Epididymis Examined by In Vivo Micropuncture *M. Yamamoto, H. Hibi & K. Miyake* 1

Changes in Urinary Epidermal Growth Factor during Pregnancy in the Rabbit

..... *H. Hara & S. Sasaki* 5

Decreased Bone Mineral Density in Athletic Amenorrhea *N. Mesaki, M. Motobu & J. Sasaki* 11

A Cytogenetic Study on Abortuses of Recurrent Spontaneous Abortions with Unknown Etiologies

..... *H. Yamada, K. Kakitani, J. Tamaki, T. Koujo,*

E. Kato, S. Sudo, T. Sasaki, M. Kanauchi,

S. Makinoda & S. Fujimoto 17

A Case of Hyperprolactinemia Induced Sexual Dysfunction in the hCG Therapy

Against Hypogonadotropic Hypogonadism *N. Ohta, T. Usami, S. Aruga & R. Ohashi* 21

The Prevalence and Treatment of Recurrent Spontaneous Abortions Caused by Autoimmunity

..... *H. Yamamoto, M. Kanaya, S. Mori,*

Y. Inoue, T. Kiya, T. Goto,

M. Fujii, T. Endo & R. Kudo 25

Effect of a Single Injection of Anti-Progesterone RU486 on Induced Parturition in Rats

..... *M. Umezu, S. Sugawara & K. Hashizume* 31

Efficacy of GnRH Analogue Treatment for Endometriosis Associated with Infertility

..... *K. Hosokawa, Y. Ohno, Y. Fujimoto & H. Okada* 36

The Results of Human Frozen-Thawed Embryo Transfer Cycles in Our Clinic

..... *R. Takatsuka, M. Toyokita, R. Fujinami, S. Nagai,*

T. Tsuji, Y. Michikura & O. Kato 41

Incomplete Tubal Abortion in a Woman with Undetectable Serum β -hCG Level

After Methotrexate Administration *T. Maruyama & S. Nakajima* 49

Heterotopic Pregnancy Following hMG-hCG Treatment for Ovulation Induction

in a Patient with Anovulatory Cycle *T. Tei, T. Kawano, K. Matsuura,*

A. Aiko, H. Okamura & C. Seto 52

Immunohistochemical Analysis of Immunocompetent Cells in Endometria

from Women Using Intrauterine Contraceptive Device *Y. Akiyama & K. Matsumoto* 57

Abstracts [39th Annual meeting on Japan Society of Fertility and Sterility] 63

INTRALUMINAL CONCENTRATIONS OF SODIUM, POTASSIUM, AND SPERM IN THE RAT EPIDIDYMIS EXAMINED BY IN VIVO MICROPUNCTURE

Masanori YAMAMOTO, Hatsuki HIBI, Koji MIYAKE

Department of Urology, Nagoya University School of Medicine

Abstract: In vivo samples of rat epididymal fluids were obtained by using micropuncture techniques. Microsamples from four areas of the epididymis were analyzed for sodium and potassium concentrations and for sperm density. Sodium concentrations decreased significantly from caput to cauda epididymides ($P < 0.05$), while potassium and sperm concentrations increased significantly ($P < 0.05$). A large water loss from the epididymal lumen was calculated. Water losses may be explained on the basis of an active sodium pump; however, the effect of the absolute values of epididymal sodium and potassium concentrations on sperm motility and fertility remains to be elucidated.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 363 - 366, 1994)

Introduction

It has been accepted for many years that spermatozoa normally entering the ductuli efferentes from the rete testis can neither swim nor fertilize an ovum. In the last decade in the 19 th century, Hammar¹⁾ and Walker²⁾ noted that spermatozoa from the distal epididymis had greater motility potential than those from proximal segments of the duct. Young^{3 ~ 5)} showed that the mammalian epididymis played an important role in sperm maturation and fertility. In short, spermatozoa leaving the testis did not have the ability to fertilize eggs, where as those in the cauda of the epididymides have acquired this function. In the years following young's classical studies, other investigators reported that spermatozoa undergo physiological and morphological alterations as they traverse the epididymis^{6, 7)}. The epididymal spermatozoa reside in a fluid derived from both the testis and the epididymis. The characterization of this fluid and the functional importance of its components have been the subject of many investigations^{8 ~ 11)}.

The electrolyte composition of epididymal fluid was first studied by Salisbury and Cragle¹²⁾ using whole fluid samples from adult bulls. More recently micropuncture and microanalytical techniques, which

had originally been used to study renal physiology, have been adapted for the study of the male reproductive tract¹³⁾. These techniques allow for the in vivo collection of uncontaminated intraluminal fluids from the epididymis and the subsequent analysis of the very small samples.

There are several studies of the in vivo sodium and potassium levels in the epididymis of the rat^{14, 15)}, a widely used animal model for reproductive studies. In vivo sodium and potassium levels in epididymal fluids are available in only one alternate species, the hamster¹⁶⁾. The present micropuncture study was undertaken to confirm the sodium and potassium concentrations in in vivo epididymal fluids of the rat. Additionally, and more importantly, we wished to establish basic data about the epididymides of rats before going on to investigate the actual importance of the various electrolyte on the motility and fertility of epididymal spermatozoa. Sperm concentrations in the epididymal lumen were determined to establish the date for samples obtained in vivo and to use these concentrations for the calculation of water losses from epididymal lumen.

Materials and Methods

Mature, male Sprague-Dawley white rats weighing

400 to 570 gm ($n=15$) were allowed to acclimate to their new environment after shipment for at least 1 week prior to use. The animals were anesthetized with intraperitoneal injections of Inactin (sodium 5-ethyl-5 (1-methylpropyl) -2- thiobarbituric acid) administered at the dose of 100 mg/kg body weight. The testes and epididymides were externalized through a scrotal incision and placed in a warmer specially fabricated for this purpose. The exposed organ was moistened with water-equilibrated mineral oil, and the epididymis was micropunctured as previously described by Howards et al¹³. Samples were extracted from four areas of the epididymis: caput (zone 1), corpus (zone 2), proximal cauda (zone 3), and distal cauda epididymides (zone 4).

Sodium and Potassium Determinations: Two samples were obtained from four areas. The microsamples were immediately centrifuged for 30 minutes at $13,400 \times g$, and the cell fractions were subsequently discarded. The remaining supernatant was sandwiched between layers of water-equilibrated mineral oil in a pipette and frozen overnight in the pipette. Following this, 5- μ l aliquots of the collected samples were transferred in duplicate and diluted 1:20 under oil in a 1 mM ammonium phosphate-5 mM cesium nitrate solution. Each dilution was analyzed on a Helium Glow photometer as previously reported¹⁶.

Sperm Concentrations: One sample per animal was obtained from each of the four epididymal regions. Two dilutions of 100- μ l sample aliquots were made for each of these zones. These dilutions were then counted and calculated according to the method previously outlined by Jessee and Howards¹⁶.

Statistical Analysis: Chauvenet's criterion was applied to all the data. The sodium, potassium, and sperm count data were subjected to an analysis of variance followed by Duncan's multiple range test to determine which differences were significant.

Results

Sodium

The sodium concentrations in the rat epididymis decreased from caput to cauda (Fig. 1). Sodium concentrations in the caput epididymides were significantly higher ($P<0.01$) than in the other zones. Mean concentrations declined from 53.2 ± 2.4 mEq/liter in

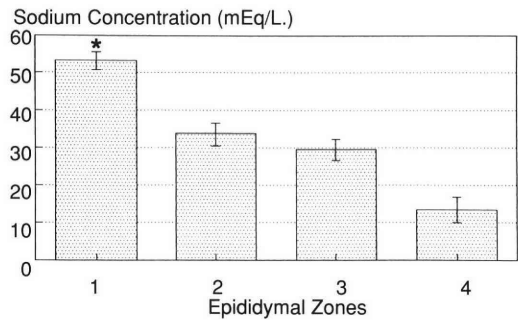


Fig. 1 Sodium concentrations in the epididymis of the rat. Zone 1, caput; Zone 2, corpus; Zone 3, proximal cauda; zone 4, distal cauda. Asterisk indicates significant difference ($P<0.01$).

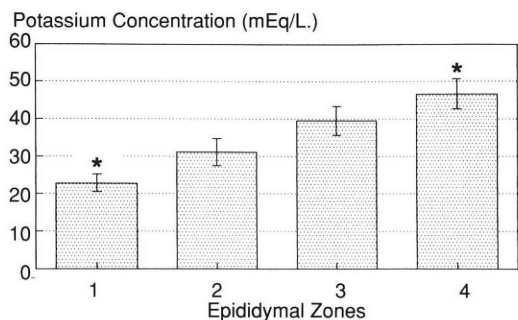


Fig. 2 Potassium concentrations in the epididymis of the rat. Sample sites are identical with those in Fig. 1. Asterisks indicate significant difference ($P<0.01$).

the caput to 13.4 ± 3.5 mEq/liter in the cauda.

Potassium

The potassium concentrations showed the reverse pattern of the sodium values, and increased from caput to cauda (Fig. 2). Potassium values in zones 1 and 4 were significantly different ($P<0.01$) from each other but were not significantly different from the values found in zones 2 and 3. Potassium concentrations ranged from 22.8 ± 2.4 mEq/liter (caput) to 46.8 ± 4.1 mEq/liter (cauda).

Sperm Concentration

Epididymal sperm concentrations rose steadily from caput to cauda epididymides (Fig. 3). The proximal caput epididymides (zone 1) contained a significantly lower sperm concentration than did other areas of the organ, and the concentration in the distal cauda was significantly higher ($P<0.01$). The sperm concentrations in the zones ranged from $0.66 \pm 0.04 \times 10^9$

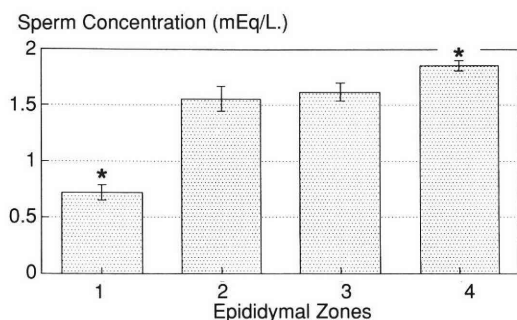


Fig. 3 Sperm concentrations in the epididymis of the rat. Sample sites are identical with those in Fig. 1. Asterisks indicate significant difference ($P < 0.01$).

sperm/ml (caput) to $1.84 \pm 0.10 \times 10^9$ sperm/ml (cauda).

Discussion

To establish basic physiological data about the epididymides of rats before going on to investigate the effect of the various electrolyte on the motility and fertility of epididymal spermatozoa, we performed micropuncture study for determination of sodium and potassium concentration in the epididymal fluid. Studies of epididymal tract of the rat by Levine and Marsh¹⁴⁾, and hamster by Jessee and Howards¹⁶⁾ using micropuncture techniques have shown that sodium concentration decreases from proximal to distal epididymis. Our present study have confirmed their results. The absolute sodium concentrations found in this study are approximately one-half the values reported by Levine and Marsh, who used a similar technique. This disparity in absolute levels but agreement in declination of values is shown by sodium concentrations obtained by other methods and from other species¹²⁻¹⁴⁾. This interspecies consistency is intriguing in light of the physiologic disparity so often evidenced in epididymal physiology.

The potassium concentrations found in the present study are consistent with those for the rat previously reported by Levine and Marsh¹⁴⁾. The pattern of increasing potassium concentrations from caput to cauda is established in both studies. The absolute values for mean concentrations in the various zones are also in close concordance. Using the hamster in a similar micropuncture study, Jessee and Howards¹⁶⁾ found a pattern of decreasing potassium concentra-

tions from caput to cauda epididymides. This inconsistency of data cannot be explained at present, but this could be a matter of species difference and methodologic differences. In the present study, the intraluminal Na: K concentration ratio fell from the caput to the distal cauda epididymides. The significance of this decline is not known, but this ratio may be important for the development of spermatozoal fertilizing ability.

Sperm concentration rose consistently throughout the length of the rat epididymis. Spermatozoa in the lumen of the epididymal duct system are not appreciably metabolized in situ, not diffused from the lumen, nor taken up by epithelial cells. Intraluminal sperm concentrations can therefore be an indicator of fluid resorption or secretion. If sperm concentrations in the epididymis increase or decrease from one zone to another, one could expect the concentrations of any other intraluminal substances not diffused, metabolized, nor taken up by cells to increase or decrease by the same amount. Using the values of sperm concentration and the concentrations of the other intraluminal substances, one can estimate the net secretion or absorption of substances throughout the excurrent duct system. The 61% increase in sperm concentration from the proximal caput to the distal cauda can be translated to a 64% fluid loss. Figure 1 shows a 75% decline in sodium concentration from caput to cauda. With the realization that there is a two-thirds loss of fluid over the same area, one can calculate a 90% total loss of sodium per unit of lumen content from caput to cauda epididymides $\{[1.00 - (0.39 \times 0.25)] = 0.90\}$. Since spermatozoa do not take on this load^{8,12)}, an active sodium pump in the epididymal epithelium is suggested. The loss of fluid in the distal areas of the epididymis can be explained by the presence of this sodium pump and by the fact that the permeability of distal epididymis to water is increased¹⁷⁾. It is our next research purpose to determine the effects of alteration of electrolytes on sperm motility and fertility. In vivo micropuncture techniques and microanalytic methods will allow us to elucidate the role of electrolytes in sperm maturation and do pave way for clarification of the epididymal physiology.

References

- 1) Hammar JA, Ueber secretionerscheinungen im nebenhoden des hundes. Zuglerch ein Beitrag zur Physiologie des Zellenkeens. Arch Anat Entwicklung, suppl 1, 1897
- 2) Walker G, Bietrag zur kenntnis der anatomic und physiologie in prosta nebst bemerkungen uber den vorgana der ejakulation. Arch Anat physiol 5: 313, 1899
- 3) Young WC, A study of the function of the epididymis. I Is attainment of full spermatozoon maturity attributable to some specific action of the epididymal secretion? J Morphol Physiol 47: 479, 1929
- 4) Young WC, A study of the function of the epididymis. II The importance of an aging process in sperm for the length of the period during which fertilizing capacity is retained by sperm isolated in the epididymis of the guinea-pig. J Morphol Physiol 48: 475, 1929
- 5) Young WC, A study of the function of the epididymis. III Functional changes undergone by spermatozoa during their passage through the epididymis and vas deferens in the guinea pig. J Exp Biol 3: 151, 1931
- 6) Bedford JM, Development of the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the rabbit. J Exp Zool 163: 319, 1966
- 7) Orgebin-Crist MC, Danzo BJ and Davies J, Endocrine control of the development and maintenance of sperm fertilizing ability in the epididymis. In: Hamilton DW and Greep RO, eds, Handbook of Physiology, Section 7, Endocrinology, Vol V, Male Reproductive System, p319, American Physiological Society, 1975
- 8) Crabo B, Studies on the composition of epididymal content in bulls and boars. Acta Vet Scand Suppl 1 6: 5, 1965
- 9) Setchell BP, Scott TW, Voglmayr JK, et al., Characteristics of testicular spermatozoa and the fluid which transports them into the epididymis. Biol Reprod 1: 40, 1969
- 10) Setchell BP, Secretions of the testis and epididymis. J Reprod Fertil, 37: 165, 1974
- 11) Arora R, Dinaka N, Prasad MRN, Biochemical changes in the spermatozoa and luminal contents of different regions of the rhesus monkey, *Macaca mulatta*. Contraception 11: 689, 1975
- 12) Salisbury GW, Cragle RG, Freezing point depressions and mineral levels of fluids of the ruminant male reproductive tract. In Proceedings of the Third International Congress on Animal Reproduction. Vol 1, Cambridge, p25, 1956
- 13) Howards SS, Johnson A, Jessee S, Micropuncture and microanalytic studies of the rat testis and epididymis. Fertil Steril 26: 13, 1975
- 14) Levine N, Marsh DJ, Micropuncture studies of the electrochemical aspects of fluid and electrolyte transport in individual seminiferous tubules, the epididymis and the vas deferens in rats. J Physiol 213: 557, 1971
- 15) Jenkins AD, Lechene CP, Howards SS, Concentrations of seven elements in the intraluminal fluids of the rat seminiferous tubules, rete testis, and epididymis. Biol Reprod 23: 981, 1980
- 16) Jessee SJ, Howards SS, A survey of sperm, potassium, and sodium concentrations in the tubular fluid of the hamster epididymis. Biol Reprod 15: 626, 1976
- 17) Howards SS, Johnson A, Jessee S, Micropuncture studies of the blood-seminiferous tubule barrier. Biol Reprod 14: 264, 1976

**微小穿刺法により測定された
ラット精巢上体管内液のナトリウム, カリウム,
および精子濃度**

山本雅憲, 日比初紀, 三宅弘治

名古屋大学医学部泌尿器科学教室

微小穿刺法により, ラット精巢上体管内液を *in vivo* で採取した. 精巢上体頭部, 体部, 近位尾部, 遠位尾部の四か所よりサンプルを採取し, ナトリウム, カリウム, および精子濃度を測定した. ナトリウム濃度は, 精巢上体頭部から尾部にかけて減少したが, カリウムおよび精子濃度は, 有意に上昇した. 精巢上体管内から管外への水分の移動量を計算したところ, 大量の水分の喪失が認められた. この現象は, ナトリウムポンプに依存しているものと推測された. しかし, 精巢上体におけるナトリウムとカリウム濃度が, 精子の運動性と妊孕性にどのように関与しているのかについては不明である.

(受付: 1993年4月28日)

(受理: 1994年3月2日)

ウサギの妊娠期における尿中上皮細胞成長因子の変動

Changes in Urinary Epidermal Growth Factor during Pregnancy in the Rabbit

岐阜大学大学院連合農学研究科

原 洋 明

Hiroaki HARA

The United Graduate School of Agricultural Science

Gifu University, Gifu 501-11, Japan

信州大学農学部動物生理学教室

佐々木 晋 一

Shinichi SASAKI

Laboratory of Animal Physiology

Faculty of Agriculture, Shinshu University, Nagano 399-45, Japan

ウサギの妊娠期におけるEGFの生理的意義を検討する目的で、尿中EGF、血漿プロゲステロン(P₄)およびエストラジオール(E₂)濃度ならびに妊娠および非妊娠動物の顎下腺EGF含量を測定し、胎盤組織におけるEGFの存否を免疫組織学的に観察した。また、胎盤細胞の増殖に対するEGFの効果を検討した。

尿中EGFは妊娠0日から23日まで直線的に増加した(55.1±3.0から118.5±8.0 μg/g creatinine; 平均±標準誤差, n=7)。P₄およびE₂は妊娠11日まで増加した後減少し、尿中EGFの挙動と相関しなかった。顎下腺EGF含量は妊娠と非妊娠間で差が認められなかった。胎盤組織は免疫組織化学的に抗ヒトEGF抗体に対し陽性を示した。妊娠17日以前の胎盤細胞にはEGFによる増殖能の亢進が認められた。

以上の結果は、ウサギの妊娠維持においてEGFが何らかの機能的役割を果たしている可能性を示唆した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 367 - 372, 1994)

緒 言

上皮細胞成長因子(EGF)はCohen¹⁾によりマウスの顎下腺から最初に単離された分子量約6,000のポリペプチドであり、結合組織一般に作用し細胞の増殖および分化を促進する。EGFは標的細胞の細胞膜表面受容体と結合し、その生理的作用を発現する²⁾。EGF受容体はヒト³⁾、マウス⁴⁾、ラット⁵⁾、ヒツジ⁶⁾、ブタ⁷⁾など多種動物の胎盤に共通して認められ、胎盤の成長および胎盤性ホルモンの分泌に対するEGFの促進作用もヒト^{8,9)}およびマウス^{10,11)}において報告されている。それゆえ、EGFは種々の動物において胎盤の形成および機能の発現に寄与するものと考えられている。

妊娠期におけるEGFの生理的意義については、ヒトおよびゲッ歯類において精力的に研究されているが、その他の動物では少なく、ウサギにおいては全く不明である。

本研究ではウサギの妊娠維持に対するEGFの生理的意義を検討する目的で、血漿および尿中EGF濃度を妊娠期に経時的に測定し、顎下腺組織中のEGF濃度を妊娠と非妊娠動物間で比較し、さらに胎盤組織中のEGFの存否について免疫組織化学的に検討した。また、プロモデオキシウリジン(BrdU)の取り込みを細胞増殖能の指標とし、胎盤細胞の増殖に対するEGFの効果について検討した。

多くの動物種と同様、ウサギにおいても妊娠全期間を通じプロゲステロン(P₄)が妊娠維持に必須であ

り、ウサギではエストラジオール (E_2) が黄体刺激活性を有するとされている¹²⁾。そのため、これら性ステロイドホルモンの血漿中濃度も測定し、EGFの尿中排泄量との相関性について検討した。

材料および方法

1. 動物

北山ラベスより購入した4カ月齢の日本白色種の雌ウサギ (Kbl: JW) を同系統の雄と交配し、交尾確認日を妊娠0日とした。動物は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気14~16回/時および14時間照明 (5:00~19:00) 下でアルミニウム製ケージ (W350×D500×H350mm) を用いて個別飼育し、固型飼料RC4 (オリエンタル酵母工業) および飲料水を自由に摂取させた。

2. 試料採取

妊娠0, 6, 11, 17, 23および28日に耳介静脈より約2ml採血し、ヘパリン処理後血漿を分離した。また、同日に自然排尿した尿を採取した。血漿および尿は測定まで -20°C にて保存した。妊娠29日にペントバルビタールの過剰投与により致死させ、顎下腺および胎盤の迷路層部位を採取し、秤量後直ちに10mlのphosphate buffered saline (pH 7.0) 中でホモジナイズした。12,000×gにて20分間遠心分離した後、上清を採取し測定まで -20°C にて保存した。別に、同系統の非妊娠雌4匹からも顎下腺ホモジネート上清を得た。

3. EGF, P_4 および E_2 濃度の測定

血漿、尿およびホモジネート上清中のEGF濃度はELISA Assay kit (Oncogene Science) を使用し、ヒトEGFを標準として定量した。Inter- および intra-assay CVはそれぞれ14.0および7.3% ($n=8$) であった。尿中EGF濃度は、ユニキット (関東化学) にて測定したクレアチニン濃度に基づき、 $\mu\text{g EGF/g creatinine}$ として表示した。また、ホモジネート上清中のEGF濃度は、Protein Assay kit (Bio-Rad) にてウシ血清アルブミンを標準として測定したタンパク濃度に基づき、 ng EGF/g protein として表示した。

血漿中の P_4 および E_2 濃度は、Serozyme EIA kit (Serono) により測定した。

以上すべての濃度は二重測定の平均値を測定値とした。

4. 抗EGF抗体による免疫組織化学的検討

胎盤迷路層部分の組織をPeriodate-lisine-paraformaldehyde (2%) により固定後、OCTコンパウンドで包埋し、凍結切片を作製した。凍結切片は、

抗ヒトEGFモノクローナル抗体 (Oncogene Science) を一次抗体とし、ABC法で染色した。対照として、同濃度のマウスIgG₁ (Bethyl Laboratories) を一次抗体として使用し、いずれもメチル緑で核染色を行った。

5. 胎盤細胞の増殖能に対するEGFの効果

妊娠11, 17, 23および29日に炭酸ガス吸入により致死させ、既報¹³⁾に従って胎盤の栄養膜細胞を単離し、BrdUの取り込みによる増殖能の測定を行った。すなわち、96wellの培養プレートにDMEMを培地として1well当り10,000の栄養膜細胞を播種し、培養24時間後に $100 \mu\text{M}$ のBrdUを添加し、さらに24時間培養した。培養開始より培地中に0, 15.6, 125および1,000ng/mlのヒトEGF (ヒゲタ醤油) を添加し、培養終了後、抗BrdUモノクローナル抗体を用いたELISAによりDNAに取り込まれたBrdUを吸光度として測定した。

6. 統計処理

尿中EGF、血中 P_4 および E_2 濃度は、各妊娠日齢における平均値および標準誤差を求め、妊娠0日との平均値の差をpaired t-testにより検定した。顎下腺ホモジネート上清のEGF濃度はStudent's t-testにより妊娠と非妊娠動物間の比較を行った。また、BrdUの取り込みにおいては、EGF無添加と添加した各濃度との間で、吸光度の差をpaired t-testにより検定した。いずれの検定も危険率5%以下を有意とした。

結 果

図1に示したように、妊娠中の尿中EGF濃度は妊娠0日の $55.1 \pm 3.0 \mu\text{g/g creatinine}$ (平均±標準誤差) から23日の $118.5 \pm 8.0 \mu\text{g/g creatinine}$ までほぼ直線的に増加し ($r=0.88$; $p<0.01$)、妊娠28日には23日とほぼ同等であった。妊娠6日以降28日まで、いずれの妊娠日齢においても妊娠0日より有意に高い尿中EGF濃度を示した ($p<0.01$)。しかし、血漿EGF濃度はいずれの妊娠日齢においても検出限界 (50pg/ml) 未満であった。血漿 P_4 濃度は、妊娠0日の $2.24 \pm 0.51\text{ng/ml}$ に比べ6日から有意に高く ($p<0.01$)、11日の $9.29 \pm 0.78\text{ng/ml}$ を最高値として以後減少し、妊娠28日には妊娠0日との有意差は認められなかった。血漿 E_2 濃度は妊娠0日の $9.63 \pm 1.00\text{pg/ml}$ に比べ11日の $22.88 \pm 0.78\text{pg/ml}$ および23日の $16.03 \pm 1.50\text{pg/ml}$ のみ有意な高値を示した。

妊娠29日および非妊娠雌の顎下腺ホモジネート上清中EGF濃度を表1に示した。妊娠動物の顎下腺EGF濃度は非妊娠動物とほぼ同等で、有意差は認められなかった。胎盤ホモジネート上清のタンパク濃

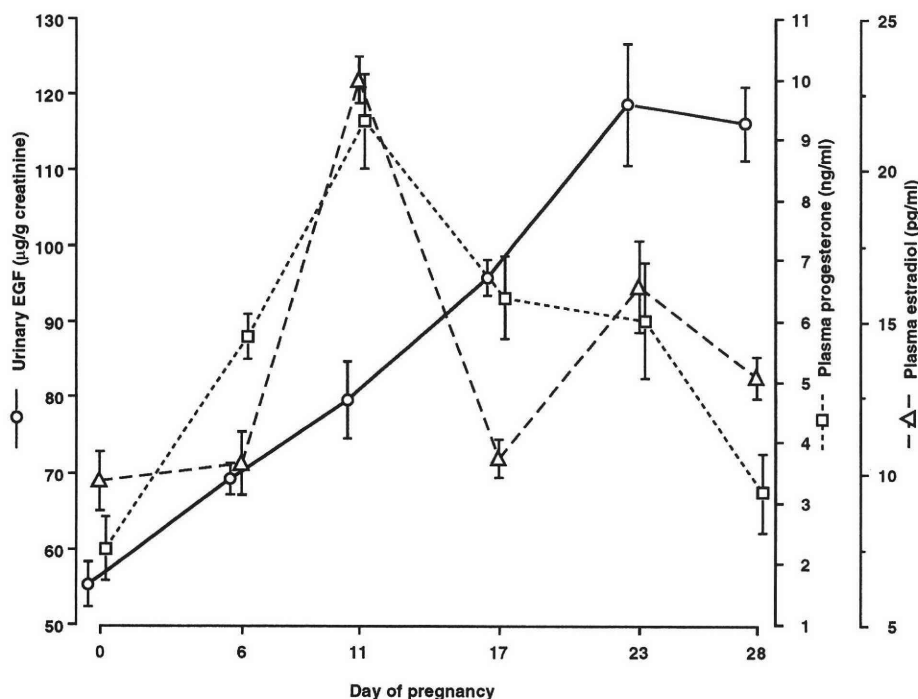


図1 尿中EGF, 血漿P₄およびE₂濃度の妊娠中の推移 (平均±標準誤差, n = 7)

表1 顎下腺組織中EGF濃度

	湿重量 (g)	EGF濃度 (ng/g protein)
妊娠 (n = 7)	1.83 ± 0.07	14.0 ± 2.27
非妊娠 (n = 4)	1.74 ± 0.08	14.3 ± 2.89

平均±標準誤差

度は 10.5 ± 0.79 mg/ml (平均±標準誤差, n = 7) と、顎下腺 (10.0 ± 0.56 mg/ml, n = 7) に比べほぼ同等であったが、検出限界以上のEGFは検出されなかった。しかしながら、胎盤迷路部組織は免疫組織化学的に抗EGF抗体に対し陽性に染色され、胎盤組織におけるEGFの存在を示した(図2)。

妊娠11, 17, 23および29日の胎盤から単離した栄養膜細胞の増殖能に対するEGFの効果を図3に示した。妊娠11日の細胞は、EGF無添加においてその吸光度が 0.51 ± 0.09 (平均±標準誤差, n = 6) と、他の日齢に比較して著しく高いBrdU取り込みを示した。同日の細胞は、15.6 ng/mlのEGF添加により 0.62 ± 0.07 , 125 ng/mlの添加により 0.73 ± 0.13 と、いずれも無添加に比べ有意に高い吸光度を示したが、1,000 ng/mlの添加では125 ng/mlとほぼ同等の吸光度であった。妊娠17日の細胞はEGF無添加において 0.17 ± 0.01 の吸光度を示し、15.6 ng/mlのEGF添加において

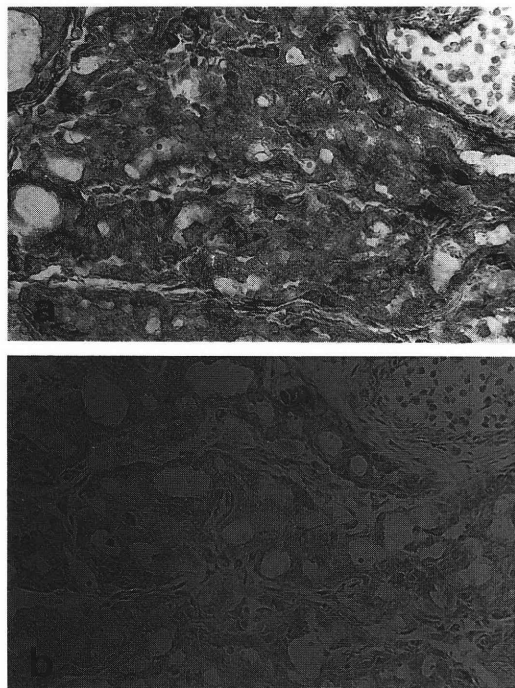


図2 ウサギ胎盤迷路部組織におけるEGFの存在 (×200)

- a: 抗EGF抗体による免疫組織化学的染色 (ABC法)
b: 同濃度のマウスIgGによる陰性対照

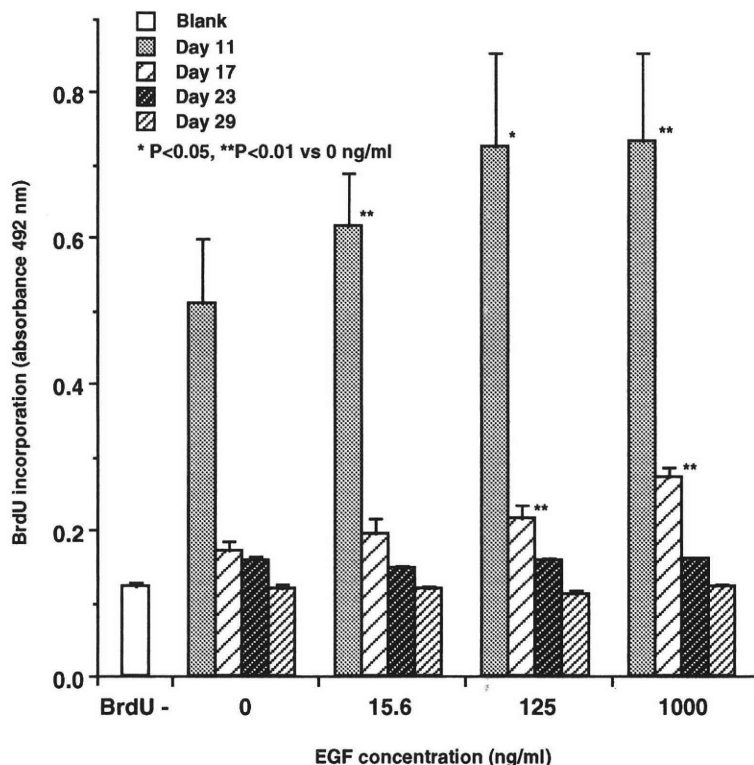


図3 胎盤細胞のBrdU取り込みに対するEGFの効果 (平均±標準誤差, n = 6)

は有意差が認められなかったが、125ng/mlの添加で 0.22 ± 0.02 , 1,000ng/mlの添加で 0.27 ± 0.01 と、いずれも無添加に比べ有意に高い吸光度を示した。一方、妊娠23日および29日の細胞においては、1,000ng/mlまでEGFの添加による増殖能の亢進効果は認められなかった。

考 察

本研究において、抗ヒトEGF抗体に対し免疫反応性を示す物質をウサギEGFとして検出した。ヒトとゲッ歯類のEGFは一次構造の相同性が80%以上とされ¹⁴⁾、両者の鶏胚角膜上皮に対する増殖作用も同等であり、抗マウスEGF抗体はヒトEGFの増殖作用を阻害する¹⁵⁾。従って、EGFはその構造や生物学的作用が種を越えて比較的良好に保存されているポリペプチドであり、ウサギEGFが抗ヒトEGF抗体に対する交差反応性の抗原成分を有することは十分に考えられる。

ウサギの尿中EGFは、妊娠0日から23日まで直線

的に増加した。一方、ヒトにおいて尿中EGFは妊娠初期から20週まで増加し、それ以降妊娠末期まで漸減することが報告されている¹⁶⁾。これら妊娠期における尿中EGFの変動は、その理由は明確ではないが、妊娠維持においてEGFが何らかの機能的役割を有することを示唆する現象と考えられる。

尿とは対照的に、ウサギの末梢血中EGF濃度は妊娠全期を通じ検出限界未満であった。血中のEGFは速やかに尿中に排泄され¹⁷⁾、マウスにおいてEGFは尿素の約150倍のクリアランスを示すことが知られているため¹⁸⁾、ウサギにおいてもEGFは血中から速やかに尿中に移行し、その血中レベルが低く維持されているものと推察される。

一方、腎疾患を有するヒトにおいては尿中EGFが血漿よりも腎由来である可能性の高いことが示唆されている¹⁹⁾。ウサギにおいても妊娠末期に増加した尿中EGFが腎由来である可能性は否定できないが、腎由来であるとすれば、妊娠維持に対するEGF量増加の生理的意義は乏しいものと考えられる。

我々は以前に、ウサギの胎児重量は妊娠末期まで

ほぼ一定の割合で増加し、胎盤重量は妊娠17日まで急速に増加、23日以降ほぼプラトーとなることを観察している¹³⁾。ウサギの尿中EGFが胎児・胎盤重量と同様、妊娠の進行に伴って増加したことは、両者の関連を強く示唆しているように思われる。ヒトの胎盤組織にはEGFが存在し²⁰⁾、autocrineないしparacrine様式により絨毛トロホブラストの増殖ならびに分化機能を調節している²¹⁾。本研究においても、ウサギ胎盤の迷路部組織は抗EGF抗体に対し免疫組織化学的に陽性でEGFの存在を示し、加えて妊娠17日以前の胎盤細胞においてEGFによる増殖能の亢進を認めた。従って、ウサギにおいても胎盤の成長などの妊娠維持に対し、EGFが寄与している可能性が示唆された。

Tsutsumiら²²⁾は、マウスにおいて血漿および顎下腺組織中のEGF濃度が、妊娠の進行に伴って増加し、顎下腺摘出によるEGFの低下が流産を誘発することを報告した。しかしながら、本研究では妊娠末期と非妊娠の雌動物間で顎下腺組織中EGF濃度はほぼ等しく、顎下腺におけるEGF量の増加が妊娠末期の尿中EGFの増加を惹起した可能性は低いものと考えられる。

尿中EGFの増加が胎盤由来であるとの推測のもとに、胎盤においても顎下腺と同様、組織中EGFの定量を試みた。しかし、胎盤ホモジネート上清中のEGF量は検出限界未満であり、その推測を裏付ける結果は得られなかった。マウスでは、顎下腺EGFの相対量は雌において腎臓の140倍、雄において2000倍に達し、顎下腺のEGF含量は他の組織に比べ圧倒的に多い²³⁾。ウサギにおいても胎盤組織中のEGF含量は顎下腺に比較すれば僅少であると考えられる。

ウサギにおいて、 E_2 は黄体刺激活性を有し¹²⁾、妊娠中にも一定の血中レベルを維持する²⁴⁾。本研究において、血中 P_4 は妊娠11日に最高で、以後妊娠28日まで漸減し、 E_2 もほぼ同様の推移を示した。ヒトの尿中EGF量は月経周期中に変動がないことから、ステロイドホルモンや性腺刺激ホルモンに影響されないものと考えられている¹⁶⁾。ウサギにおいても妊娠期の尿中EGFと血中 P_4 および E_2 の挙動が一致しなかったことは、これらのステロイドホルモンがEGFの尿中排泄に影響しないことを示唆している。

妊娠期における尿中EGFの増加は、妊娠現象におけるEGFの関与を示唆しているが、その調節機構ならびに由来組織および産生意義については完全に解明されてはいない。EGFは胎児および胎盤の発達のみならず、卵胞発育から卵子着床に至る妊娠初期の

生殖事象にも関与することが知られており²⁵⁾、種々の動物でそれぞれの生殖事象におけるEGFの関連性を解明することが、EGFの生殖における生理的意義を知る上で重要であると思われる。

文 献

- 1) Cohen S, Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 237: 1555, 1962
- 2) Schlessinger J, Schreiber AB, Levi A, et al., Regulation of cell proliferation by epidermal growth factor. *Critical Reviews in Biochemistry* 14: 93, 1983
- 3) Carson SA, Chase R, Ulep E, et al., Ontogenesis and characteristics of epidermal growth factor receptors in human placenta. *Am J Obstet Gynecol* 147: 932, 1983
- 4) Smith WC and Talamantes F, Characterization of the mouse placental epidermal growth factor receptor: changes in receptor number with day of gestation. *Placenta* 7: 511, 1986
- 5) Ali P, Smart JL and D'Souza SW, Epidermal growth factor receptors in the rat placenta, amnion and yolk sac: characteristics of specific binding are dependent on gestational age. *Placenta* 10: 589, 1989
- 6) Lacroix MC and Kann G, Ontogeny and characterization of epidermal growth factor receptors on the fetal area of the sheep placenta. *J Endocrinol* 136: 43, 1993
- 7) Corps AN, Brigstock DR, Littlewood CJ, et al., Receptors for epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I on preimplantation trophoderm of the pig. *Development* 110: 221, 1990
- 8) Morrish DW, Bhardwaj D, Dabbagh LK, et al., Epidermal growth factor induces differentiation and secretion of human chorionic gonadotropin and placental lactogen in normal human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 65: 1282, 1987
- 9) Maruo T, Matsuo H, Murata K, et al., Gestational age-dependent dual action of epidermal growth factor on human placenta early in gestation. *J Clin Endocrinol Metab* 75: 1362, 1992
- 10) Yamaguchi M, Ogren L, Endo H, et al., Epidermal growth factor stimulates mouse placental lactogen I but inhibits mouse placental lactogen II secretion in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 11396, 1992
- 11) Iguchi T, Tani N, Sato T, et al., Developmental changes in mouse placental cells from several

- stages of pregnancy in vivo and in vitro. *Biol Reprod* 48: 188, 1993
- 12) Gadsby JE, Keyes PL and Bill CH, Control of corpus luteum function in the pregnant rabbit: role of estrogen and lack of a direct luteotropic role of the placenta. *Endocrinology* 113: 2255, 1983
 - 13) Hara H and Sasaki S, Changes in placental cell proliferation during pregnancy in the rabbit. *J Reprod Dev* 40 (3): in press, 1994
 - 14) Schaudies RP and Savage CR, Isolation of rat epidermal growth factor (r-EGF): chemical, biological and immunological comparisons with mouse and human EGF. *Comp Biochem Physiol* 84: 497, 1986
 - 15) Cohen S and Carpenter G, Human epidermal growth factor: isolation and chemical and biological properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 1317, 1975
 - 16) Hofmann GE, Rao CV, Brown MJ, et al., Epidermal growth factor in urine of nonpregnant women and pregnant women throughout pregnancy and at delivery. *J Clin Endocrinol Metab* 66: 119, 1988
 - 17) Gregory H, Holmes JE and Willshire IR, Urogastrone levels in the urine of normal adult humans. *J Clin Endocrinol Metab* 45: 668, 1977
 - 18) Perheentupa J, Lakshmanan J and Fisher DA, Epidermal growth factor in mouse urine: non-blood origin, and increase by sialoadenectomy and T₄ therapy. *Acta Endocrinologica* 108: 428, 1985
 - 19) Mattila AL, Pasternack A, Viinikka L, et al., Subnormal concentrations of urinary epidermal growth factor in patients with kidney disease. *J Clin Endocrinol Metab* 62: 1180, 1986
 - 20) Scott SM, Buenaflor GG and Orth DN, Immunoreactive human epidermal growth factor concentrations in amniotic fluid, umbilical artery and vein serum, and placenta in full-term and preterm infants. *Biol Neonate* 56: 246, 1989
 - 21) 松尾博哉, 丸尾 猛, 村田一男 他, Epidermal Growth Factorによる絨毛トロホブラストの増殖ならびに分化機能のAutocrine/paracrine調節. *日産婦誌* 45: 23, 1993
 - 22) Tsutsumi O and Takami O, Epidermal growth factor deficiency during pregnancy causes abortion in mice. *Am J Obstet Gynecol* 156: 241, 1987
 - 23) Rall LB, Scott J, Bell GI, et al., Mouse prepro-epidermal growth factor synthesis by the kidney and

other tissues. *Nature* 313: 228, 1985

- 24) Challis JRG, Davies IJ and Ryan KJ, The concentrations of progesterone, estrone and estradiol-17 β in the plasma of pregnant rabbits. *Endocrinology* 93: 971, 1973
- 25) 武谷雄二, 梁 善光, 矢野 哲 他, 卵胞発育とepidermal growth factor. *ホルモンと臨床* 37: 1003, 1989

Changes in urinary epidermal growth factor during pregnancy in the rabbit

Hiroaki Hara

The United Graduate School of Agricultural Science
Gifu 501-11, Japan

Shin-ichi Sasaki

Laboratory of Animal Physiology
Faculty of Agriculture, Shinshu University
Nagano 399-45, Japan

To assess the physiological significance of epidermal growth factor (EGF) during pregnancy in the rabbit, concentrations of EGF in urine and submaxillary glands were measured at pregnant or non-pregnant animals, and existence of EGF in the placental tissue was immunohistochemically identified. In addition, plasma progesterone (P₄) and estradiol (E₂) concentrations were measured throughout pregnancy. Furthermore, the effect of EGF on trophoblast proliferation was evaluated by bromodeoxyuridine incorporation.

Urinary EGF linearly increased from $55.1 \pm 3.0 \mu\text{g/g}$ creatinine (mean $\pm$ SE, $n = 7$) on day 0 of pregnancy through $118.5 \pm 8.0 \mu\text{g/g}$ creatinine on day 23 ($r = 0.88$; $p < 0.01$). P₄ increased from $2.24 \pm 0.51 \text{ ng/ml}$ on day 0 to $9.29 \pm 0.78 \text{ ng/ml}$ on day 11, subsequently, decreased until day 28. E₂ showed a similar change to P₄ throughout pregnancy. Therefore, urinary EGF did not relate to both P₄ and E₂ levels. Submaxillary EGF concentrations did not vary with pregnant ($14.0 \pm 2.27 \text{ ng/g}$ protein, $n = 7$) or non-pregnant animals ($14.3 \pm 2.89 \text{ ng/g}$ protein, $n = 4$). Placental tissue was positively stained with anti-EGF antibody. Trophoblast proliferation was significantly stimulated with EGF on day 17 of pregnancy or before.

These results suggest that EGF may play a functional role for sustaining pregnancy in the rabbit.

(受付: 1994年4月1日)

(受理: 1994年5月25日)

DECREASED BONE MINERAL DENSITY IN ATHLETIC AMENORRHEA

Noboru MESAKI, Masaki MOTOBU, Junichi SASAKI

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

Abstract: It is well known that strenuous exercise induces athletic amenorrhea. In this study, we investigated the relationship between athletic amenorrhea and bone mineral density in female athletes.

Thirty-six female university athletes (24 volleyball, 12 water polo) and 7 non-athletic female university students as control group were subjected to an investigation. Athletes were divided into two groups, as eumenorrheic group (11 volleyball, 7 water polo) and athletic amenorrhea group (13 volleyball, 5 water polo). All of the non-athletes had normal ovulatory menstrual cycles. The bone mineral density was measured by means of dual energy X-ray absorptiometry (DEXA). The total body bone mineral density and lumbar bone mineral density were determined.

The total body bone mineral density in eumenorrheic group and athletic amenorrhea group of volleyball were significantly higher than that of control group. On the other hand, there was no significant difference between athletic amenorrhea group of water polo and control group. However, the total body bone mineral density in athletic amenorrhea group was lower than that of eumenorrheic group. The lumbar bone mineral density in eumenorrheic group was significantly higher than that of the control group. On the contrary, there was no significant difference between athletic amenorrhea group and control group. However, the lumbar bone mineral density in athletic amenorrhea group was significantly lower than that of eumenorrheic group.

There were no significant differences in serum FSH and LH levels between eumenorrheic group and athletic amenorrhea group in both water polo and volleyball. However, there was significant difference in serum estradiol level between eumenorrheic group and athletic amenorrhea group in both water polo and volleyball. The correlations between serum estradiol levels and bone mineral densities were statistically significant for both total body bone and lumbar bone.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 373 - 378, 1994)

Introduction

It is well known that strenuous exercise induces athletic amenorrhea which include all menstrual dysfunction such as delayed menarche, secondary amenorrhea, oligomenorrhea and luteal insufficiency^{1~3)}. There are three hypotheses for the factors involved in athletic amenorrhea: 1) physical and/or psychological stress due to exercise, 2) loss of weight (body fat) due to dieting for control of body profile and/or exercising condition, 3) acute and/or chronic hormonal changes due to exercise.

Bone mass is subject to both local (mechanical) and systemic (hormonal) homeostatic control mechanisms. There are certain factors in physical activities that maintain bone mass. One is gravitational load. It has been shown that activity which does not involve weight bearing also does not enhance bone mass^{4, 5)}. Another important factor for bone density is muscular strength, while significant correlation have been indicated between muscle mass and bone density in lumbar spine and also forearm bones^{6, 7)}. In systemic (hormonal) homeostatic control mechanism, the effect of estrogen on bone is very important. One of

the actions of estrogen to bone is its protective effect from bone absorption by osteoclast. Moreover, the existence of estrogen receptor in osteoblast is proved⁸⁾. Thus, there is a possibility that estrogen stimulates osteogenesis.

In this study, we investigated the relationship between athletic amenorrhea and bone mineral density in female university athletes.

Subjects and Methods

A) Subjects

Thirty-six female university athletes (24 volleyball, 12 water polo) and 7 non-athletic female university students as control group, aged 18 to 22 years old, were subjected to an investigation. None was presently using or previously used oral contraceptives. All subjects gave their informed consent. They measured their basal body temperature (BBT) every morning. According to their BBT pattern, athletes were divided into two groups, as eumenorrheic group (11 volleyball, 7 water polo) and athletic amenorrhea group (i.e. secondary amenorrhea, oligomenorrhea and anovulatory cycle)(13 volleyball, 5 water polo). All of the non-athletes (control group) had normal ovulatory menstrual cycles.

B) Methods

1. Blood Collection

Blood samples for hormone determination were taken on the seventh day of menstrual cycle. In cases of athletic amenorrhea, blood was taken at an arbitrary time. The bone mineral density (BMD) was measured simultaneously.

2. Measurement

1) Bone Mineral Density

The bone mineral density was measured by means of dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) (DPX; Lunar Co.LTD.). The total body bone mineral density and lumbar bone mineral density were determined. The precision of measurement was within 0.5% for total body bone mineral density and 0.9% for lumbar bone mineral density.

2) Hormone Assays

After separation of the serum, it was stored at -20°C until assayed. The concentrations of estradiol (E_2), follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) in the serum samples were mea-

sured by radioimmunoassay.

3. Statistical Methods

Data are expressed as the mean $\pm$ standard deviation (SD). The student's t-test was conducted for statistical analysis. The relationships among variables were investigated using the regression analysis. All references to significant differences or relationships imply a probability at or below $p < 0.05$.

Results

A) Bone Mineral Density

1. Total Body Bone

The mean value of total body bone mineral density in eumenorrheic group (water polo; $1.194 \pm 0.044 \text{ g/cm}^2$, volleyball; $1.166 \pm 0.047 \text{ g/cm}^2$) ($p < 0.001$) and athletic amenorrhea group of volleyball ($1.144 \pm 0.073 \text{ g/cm}^2$) ($p < 0.05$) were significantly higher than that of control group ($1.077 \pm 0.048 \text{ g/cm}^2$). On the other hand, there was no significant difference between athletic amenorrhea group of water polo ($1.135 \pm 0.080 \text{ g/cm}^2$) and control group. However, the total body bone mineral density in athletic amenorrhea group was lower than that of eumenorrheic group in both water polo and volleyball. In eumenorrheic group, there was no significant difference between water polo and volleyball (Fig.1).

2. Lumbar Bone

The mean value of lumbar bone mineral density in eumenorrheic group (water polo; $1.228 \pm 0.077 \text{ g/cm}^2$, volleyball; $1.230 \pm 0.116 \text{ g/cm}^2$) were significantly higher than that of the control group ($1.039 \pm 0.088 \text{ g/cm}^2$) ($p < 0.001$). On the contrary, there was no significant difference between athletic amenorrhea group ($1.101 \pm 0.069 \text{ g/cm}^2$ and $1.121 \pm 0.076 \text{ g/cm}^2$, respectively) and control group. However, the lumbar bone mineral density in athletic amenorrhea group was significantly lower than that of eumenorrheic group (water polo; $p < 0.05$, volleyball; $p < 0.01$, respectively). In eumenorrheic group, there was no significant difference between water polo and volleyball (Fig.2).

B) Serum Hormone Levels

Table 1 shows the mean levels of hormones that examined simultaneously with the measurement of bone mineral density.

There were no significant differences in serum

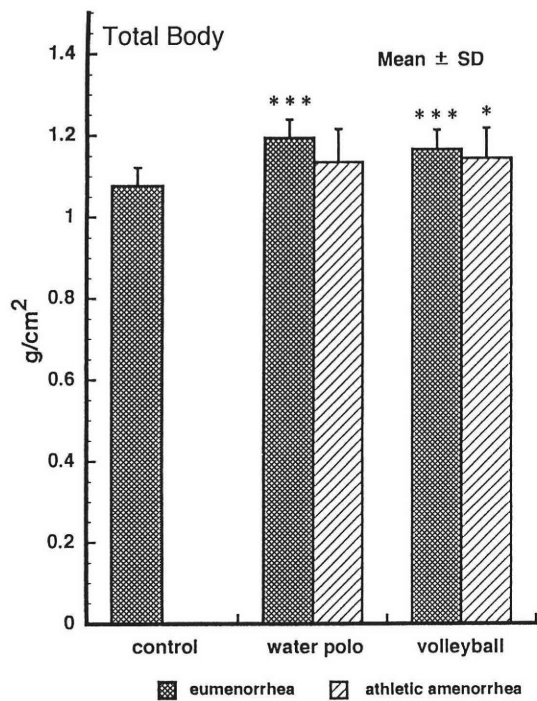


Fig. 1 Total body bone mineral density
Data are expressed as the mean ± SD.
Asterisk show statistically significant difference from control group (*: p<0.05, ***: p<0.001)

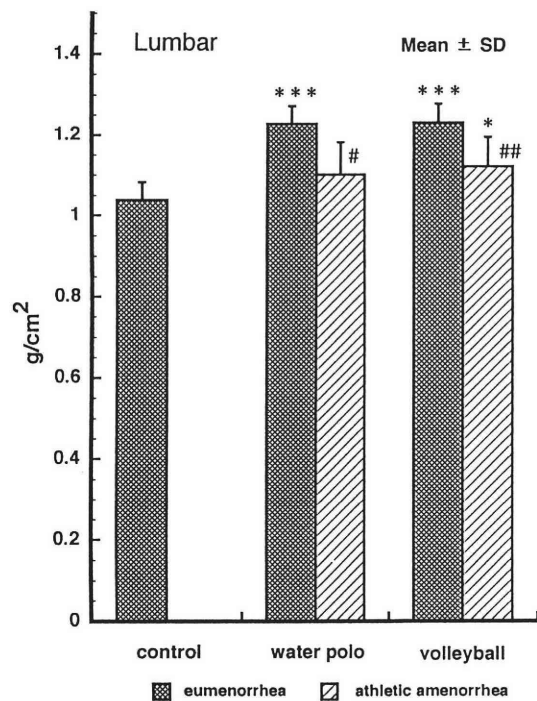


Fig. 2 Lumbar bone mineral density
Data are expressed as the mean ± SD.
Asterisk show statistically significant difference from control group (***: p<0.001) and eumenorrhea in each group (#: p<0.05, ##: p<0.01)

Table 1 The Mean Hormone Levels

Sporting Events	Water Polo (12)		Volleyball (24)	
	Eumenorrhea (7)	Athletic Amenorrhea (5)	Eumenorrhea (11)	Athletic Amenorrhea (13)
Menstruation				
FSH (mIU/ml)	6.7 ± 7.0	7.1 ± 1.8	8.8 ± 2.2	8.3 ± 4.6
LH (mIU/ml)	2.8 ± 0.7	2.6 ± 0.7	5.3 ± 2.9	3.4 ± 2.8
E ₂ (pg/ml)	122 ± 40	60 ± 31*	65 ± 30	44 ± 18*

Data are expressed as the mean ± SD.
Parenthesis indicate the number of subjects.
Asterisk show statistically significant difference from eumenorrhea in each group (*:p<0.05)
FSH: follicle-stimulating hormone
LH: luteinizing hormone
E₂: estradiol

FSH and LH levels between eumenorrheic group and athletic amenorrhea group in both water polo and volleyball. However, there was significant difference in serum estradiol level between eumenorrheic group and athletic amenorrhea group in both water polo and

volleyball (p<0.05).

C) Correlation of Estradiol and Bone Mineral Density

The correlations between serum estradiol levels and bone mineral densities were statistically signifi-

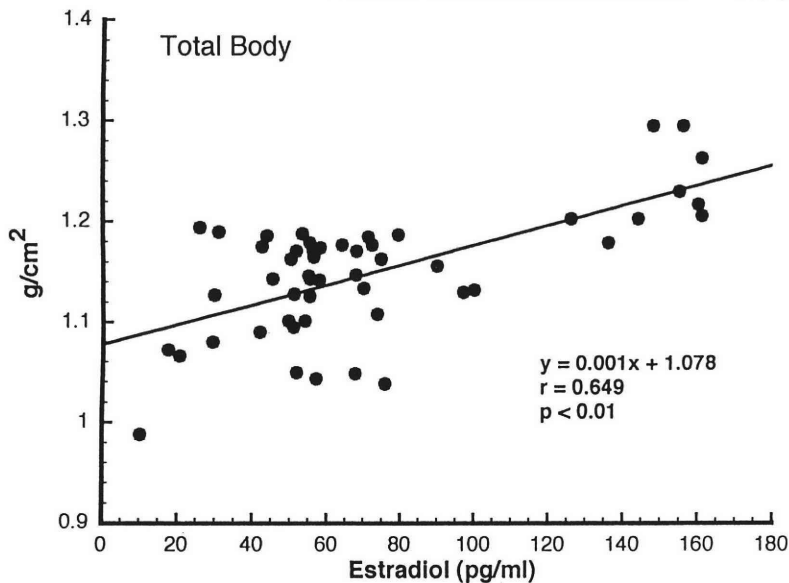


Fig. 3 Correlation between estradiol and total body bone mineral density

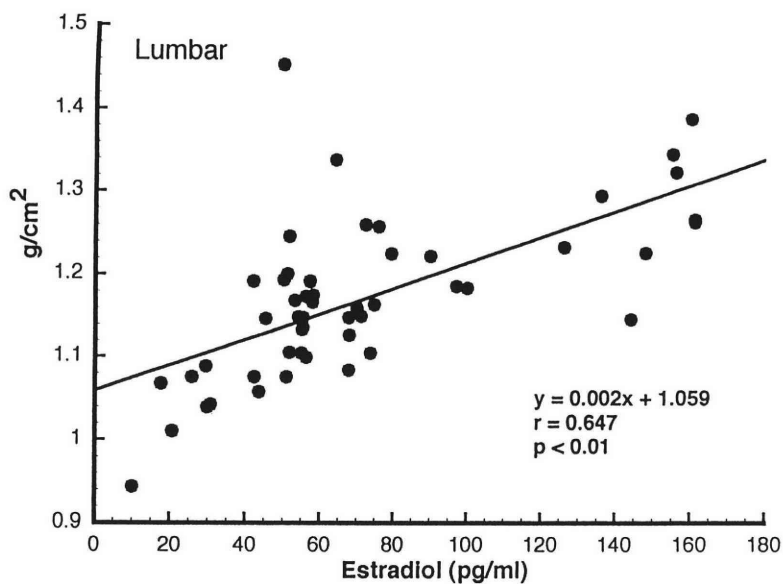


Fig. 4 Correlation between estradiol and lumbar bone mineral density

cant for both total body bone ($r=0.649$, $p<0.01$) (Fig.3) and lumbar bone ($r=0.647$, $p<0.01$) (Fig.4).

Discussion

The relationship between post-menopausal estrogen deficiency and osteoporosis has been well established⁹. Furthermore, recent data suggest that pre-menopausal hypoestrogenism due to oophorectomy¹⁰, primary ovarian failure¹¹, ovulatory distur-

bance¹², anorexia nervosa¹³, endometriosis treated with gonadotropin releasing hormone agonist (GnRH-a) and/or danazol¹⁴, is also associated with clinical osteopenia and a higher incidence of long bone fracture. These reports indicated that there are a significant risk for the development of osteoporosis and fracture in hypoestrogenic young women.

Women who had always had regular menstrual cycles had higher lumbar bone densities than those

with a history of oligomenorrhea/amenorrhea interspersed with regular period in young athletes¹⁵⁾. Distance runners with oligomenorrhea¹⁶⁾ and secondary amenorrhea¹⁷⁾ had significantly lower bone mineral density than their eumenorrheic counterparts. In this study, athletic amenorrhea group showed lower bone mineral density than their eumenorrheic group in both water polo and volleyball. There was a significant correlation between months of amenorrhea and decrease in bone mineral density¹⁸⁾. Fisher et al.¹⁷⁾ reported that the amenorrheic runners had lower estradiol, LH and FSH levels than did the eumenorrheic runners. In this study, we clarified that athletic amenorrhea group had lower estradiol levels than eumenorrheic group in both water polo and volleyball, and bone mineral densities were positively correlated with estradiol levels. These data suggest that reduced circulating estrogen (estradiol) levels according to athletic amenorrhea may be a cause of low bone mineral density.

There are many reports that the problem of athletic amenorrhea is not only the risk for development of osteoporosis but also increased incidence of stress fracture¹⁹⁾ and musculoskeletal injuries²⁰⁾. It is believed that these orthopedic disorders may be occurred as a result of prolonged hypoestrogenism according to athletic amenorrhea.

It is well established that estradiol plays a major role in maintaining women's skeletal integrity. Ettinger et al.²¹⁾ reported that timely restoration of estradiol levels can prevent estrogen-dependent bone loss and can reduce significantly the risk of fracture. De Créé et al.²²⁾ reported that the effectiveness of the antiandrogenic agent cyproterone acetate (CA) in its contraceptive form (2 mg CA and 50 μ g ethinyl estradiol) in the treatment of osteoporosis associated with athletic amenorrhea. These studies indicated that the active hormone therapy, Kaufmann's treatment for instance, is necessary for athletic amenorrhea with hypoestrogenism to prevent occurrence of osteoporosis, stress fracture and musculoskeletal injuries.

References

- 1) Frish RE, Gotz-Welbergen AV, McArthur JW, et al., Delayed menarche and amenorrhea of college athletes in relation to age of onset of training. *J A M A* 246: 1559, 1981
- 2) Mesaki N, Sasaki J, Shoji M, et al., Delayed menarche followed by early onset of athletic sports training. *Acta Obst Gynaec Jpn* 36: 49, 1984
- 3) Mesaki N, Sasaki J, Shoji M, et al., Menstrual characteristics in college athletes. *Acta Obst Gynaec Jpn* 36: 247, 1984
- 4) Nilsson BE and Westlin NE, Bone density in athletes. *Clin Orthop* 77: 179, 1971
- 5) Jaconson PC, Beaver W, Grubb SA, et al., Bone density in women. College athletes and older athletic women. *J Orthop Res* 2: 328, 1984
- 6) Saville PD and Whyte BS, Muscle and bone hypertrophy. *Clin Orthop* 65: 81, 1969
- 7) Doyle F, Brown J and Lachance C, Relation between bone mass and muscle weight. *Lancet* 7643: 391, 1970
- 8) Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, et al., Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science* 241: 84, 1988
- 9) Lindsay R, Hart DM, Aitken JM, et al., Long-term prevention of postmenopausal osteoporosis by oestrogen. *Lancet* 7968: 1038, 1976
- 10) Seimiya Y, Jui-Tung C, Hirai Y, et al., Changes in bone mineral density and fracture prevalence in Japanese women after oophorectomy. *Asia-Oceania J Obstet Gynaecol* 18: 89, 1992
- 11) Louis O, Devroey P, Kalender W, et al., Bone loss in young hypoestrogenic women due to primary ovarian failure: spinal quantitative computed tomography. *Fertil Steril* 52: 227, 1989
- 12) Prior JC, Vigna YM, Schechter MT, et al., Spinal bone loss and ovulatory disturbances. *N Engl J Med* 323: 1221, 1990
- 13) Rigotti NA, Neer RM, Skates SJ, et al., The clinical course of osteoporosis in anorexia nervosa. *J A M A* 265: 1133, 1991
- 14) Dawood MY, Lewis V and Ramos J, Cortical and trabecular bone mineral content in women with endometriosis: effect of gonadotropin-releasing hormone agonist and danazol. *Fertil Steril* 52: 21, 1989
- 15) Drinkwater BL, Bruemner B and Chesnut-III CH, Menstrual history as a determinant of current bone density in young athletes. *J A M A* 263: 545, 1990
- 16) Cook SD, Harding AF, Thomas KA, et al., Trabecular bone density and menstrual function in women runners. *Am J Sports Med* 15: 503, 1987
- 17) Fisher EC, Nelson ME, Frontera WR, et al., Bone mineral content and levels of gonadotropins and estrogens in amenorrheic running women. *J Clin Endocrinol Metab* 62: 1232, 1986
- 18) Jones KP, Ravnkar VA, Tulchinsky D, et al.,

- Comparison of bone density in amenorrheic women due to athletics, weight loss, and premature menopause. *Obstet Gynecol* 66: 5, 1985
- 19) Barrow GW and Saha S, Menstrual irregularity and stress fractures in collegiate female distance runners. *Am J Sports Med* 16: 209, 1988
- 20) Lloyd T, Triantafyllou SJ, Baker ER, et al., Women athletes with menstrual irregularity have increased musculo-skeletal injuries. *Med Sci Sports Exerc* 18: 374, 1986
- 21) Ettinger B, Prevention of osteoporosis: Treatment of estradiol deficiency. *Obstet Gynecol*, 72: 12S, 1988
- 22) De Crée C, Lewin R and Ostyn M, Suitability of cyproterone acetate in the treatment of osteoporosis associated with athletic amenorrhea. *Int J Sports Med* 9: 187, 1988

運動性無月経による骨塩濃度の減少

筑波大学臨床医学系産科婦人科

目崎 登, 本部正樹, 佐々木純一

激しいスポーツ活動が各種月経異常(運動性無月経)を発症することが知られている。そこで、運動性無月経が骨塩濃度に及ぼす影響を検討した。

大学運動選手(バレーボール24名、水球12名)および正常排卵期周期を有する一般女子学生(対照群)7名を対象とした。BBT測定により運動選手は正常月経群(各々11名、7名)と運動性無月経群(各々13名、5名)に分類した。全身および腰椎骨塩濃度をDEXA法により測定した。また、同時に血清estradiolを測定した。

運動選手の正常月経群は全身および腰椎骨塩濃度とも対象群より明らかに高値であった。しかし、運動性無月経群は、バレーボールの全身骨塩濃度を除き、対象群とほぼ同じ値を示した。運動性無月経群の骨塩濃度は正常月経群より低値であった。また、血清estradiolと骨塩濃度は明らかな正の相関を示した。

運動性無月経による骨粗鬆症の発症ばかりでなく、スポーツ活動に伴う疲労骨折や筋・骨障害を防止するためにも、積極的なホルモン療法が必要である。

(受付: 1994年4月5日)

(受理: 1994年5月26日)

原因不明の習慣流産婦人における自然流産組織の染色体異常

A Cytogenetic Study on Abortuses of Recurrent Spontaneous Abortions with Unknown Etiologies

北海道大学医学部産婦人科学教室

山 田 秀 人

Hideto YAMADA

香 城 恒 磨

Tsunemaro KOUJO

佐々木 隆 之

Takayuki SASAKI

柿 谷 圭 美

Kadomi KAKITANI

加 藤 恵 美

Emi KATO

金 内 優 典

Masanori KANAUCHI

藤 本 征一郎

Seiichiro FUJIMOTO

玉 置 淳 子

Junko TAMAKI

首 藤 聡 子

Satoko SUDO

牧 野 田 知

Satoru MAKINODA

Department of Obstetrics and Gynecology

Hokkaido University, School of Medicine, Sapporo 060, Japan

原因不明の習慣流産患者の自然流産組織に染色体異常の頻度の増加が認められるかどうか、つまり接合体の細胞遺伝学的な異常が習慣流産の発生機構に関与しているかどうかを検討することを目的とした。1989年5月から1994年2月の間に北海道大学医学部附属病院において自然流産に至り、流産の原因として機能的・器質的疾患および妊娠22週以降の分娩(正・死産)既往をもたない習慣流産婦人18症例の流産組織を対象とし、既往流産回数が0、または1回の婦人62症例(同期間)の流産組織を対照とした。自然流産の既往回数(0, 1, 2, 3~7回)別に染色体異常の発生頻度、観察された染色体異常のタイプ等をまとめ、自然流産を繰り返すにつれて自然流産時の胎児成分(絨毛を含む)の染色体異常発生頻度が変化するかどうかを検討した。

その結果、1)全80症例の染色体異常頻度は37.5%で、流産既往回数別の4群間(0, 1, 2, 3~7回)で統計学的に有意差を認めなかった。また、習慣流産(2~7回)と対照(0~1回)の2群間にも有意差を認めなかった。2)全30例の染色体異常のうちトリソミーの頻度が最も高く、19例(63.3%)に観察された。トリソミーの頻度は流産既往回数別の4群間で有意差を認めなかった。また、モザイク3例を含む全22例のトリソミーのうち8例(36.4%)が16トリソミーであった。3)妊娠週数別の染色体異常頻度は、11~12週がピークで66.7%であった。また、流産週数は既往流産回数別の4群間で有意差を認めなかった。4)年齢別の染色体異常頻度は35歳未満で32.1%であり、35歳以上では50.0%であった。

原因不明の習慣流産患者の自然流産の際に得られた染色体異常の傾向は、一般の自然流産の際に観察されてきたものと大きな差異はなく、接合体の細胞遺伝学的な異常が習慣流産の発生機構に関与していることを示唆する直接的な結果は得られなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 379 - 382, 1994)

緒 言

習慣流産は全妊婦の約1.5%を占め、その原因としては子宮奇形、内分泌異常、染色体異常(本人また

は配偶者)、抗リン脂質抗体の産生、黄体機能不全などがあげられるが、全患者の40~60%は依然としてその原因が不明である¹⁻³⁾。一方、一般的に約50%の妊娠初期の自然流産は接合体の細胞遺伝学的な不

安定さ、つまり染色体異常が原因であると報告されている⁴⁾。また、28週以前の流死産2,518例の38.5%が染色体異常であったと報告されている⁵⁾。反復流産症例を扱った過去の報告では、自然流産組織において正常の染色体核型が反復する傾向を認めている^{5,6)}。例えば、Bouéら⁷⁾は前回の流産が異常核型の場合、次回の流産の可能性は0.165であり、前回の流産が正常核型の場合、次回の流産の可能性は0.230であるとしている。Mortonら⁸⁾も、1,890例の自然流産症例で、前回の流産の染色体異常の有無、異常核型のタイプ(トリソミー、モノソミーX、倍数体異常、構造異常)、母体年齢の因子について調べ、前回流産が正常染色体核型の場合にのみ反復流産率が上昇すると報告している。Warburton⁹⁾は、ニューヨークとホノルルでの273婦人の2回以上の自然流産の染色体核型分析の結果、正常核型の流産の場合、次回の流産の時に正常核型である率(ニューヨーク；83.0%、ホノルル72.0%)が他の因子(染色体異常有、各染色体異常核型のタイプ、流産回数)による比較のなかで有意に高いとしている。これら観察された事実によって、自然流産を2回繰り返す婦人の中に、胎児側の因子によらない反復流産の群、つまり習慣流産に至るサブグループが存在している可能性も推察できる。しかし、彼らの上記のデータには、機能的・器質的疾患(内分泌異常、子宮奇形等)をもった症例が含まれており、また妊娠22週以降の分娩の既往をもつ症例を除外してはいない。

我々は、流産の原因と考えられる機能的・器質的疾患をもった症例および妊娠22週以降の分娩の既往をもつ症例を除外し、自然流産時の染色体異常発生頻度を流産既往回数別に調べることによって、いわゆる原因不明の習慣流産患者の自然流産の際に、染色体異常頻度の増加が認められるかどうかを検討した。つまり接合体の細胞遺伝学的な不安定さが習慣流産の発生機構に関与しているどうかを検討することを目的とした。なお、本稿では妊娠22週以降の分

娩(正・死産)の既往をもたず、2回以上の自然流産を繰り返した場合に習慣流産と呼ぶ。

対象および方法

1989年5月から1994年2月の間に北海道大学医学部附属病院において自然流産に至り、機能的もしくは器質的疾患(子宮奇形、内分泌異常、本人または配偶者の染色体異常、抗リン脂質抗体の産生、黄体機能不全など)および妊娠22週以降の分娩(生・死産)既往をもたない婦人88症例を対象に流産組織の染色体核型分析を行った。このうち、培養にて細胞増殖が不十分であった6例と細菌感染があった2例を除き、80例の自然流産組織(絨毛、胎児成分)を検体にバンディング法(キナクリン-ヘキスト法、G-バンディング法)による染色体核型分析を行った。自然流産の既往回数(0, 1, 2, 3~7回)別に染色体異常の発生頻度、観察された染色体異常のタイプ、婦人の平均年齢をまとめ、自然流産を繰り返すにつれて自然流産組織の染色体異常発生頻度が変化するかどうかを検討した。また、妊娠週数別の染色体異常頻度、母体年齢別の染色体異常頻度も合わせて調べた。流産時の妊娠週数は基礎体温表での排卵日もしくは最終月経日より算出した。統計学的有意差は、t-検定もしくはカイ2乗検定によった。

結 果

1. 既往流産回数別の染色体異常頻度と染色体異常のタイプ

流産既往回数別の染色体異常例数(頻度)は、0回が14例(34.2%)、1回が7例(33.3%)、2回が4例(66.7%)、3から7回が5例(41.7%)であった。

流産婦人の平均年齢(Mean ± SD)では、これら4群間に差異を認めない。染色体異常頻度は流産既往回数が2回以上から増加する傾向が認められたが、統計学的には有意差を認めなかった(表1)。また、習慣流産群と対照群の間にも有意差を認めなかった。

表1 自然流産組織の染色体異常のタイプと例数(既往流産回数別)

既往流産回数	母体年齢(M ± SD)	症例数	染 色 体 異 常					染色体異常数
			常染色体トリソミー	モノソミーX	3倍体	構造異常	モザイク	
0	31.1 ± 6.1	41	8	2	1	0	3	14 (34.2%)
1	29.6 ± 6.7	21	4	2	0	1	0	7 (33.3%)
2	30.0 ± 4.2	6	3	0	0	0	1	4 (66.7%)
3 ~ 7	33.4 ± 6.2	12	4	0	0	1	0	5 (41.7%)
合 計		80	19	4	1	2	4	30 (37.5%)

モザイク例を含めたトリソミーの頻度は80例中22例(27.5%)であり、流産回数別では、0回が10例(24.4%)、1回が4例(19.4%)、2回が4例(66.7%)、3から7回が4例(33.3%)であった。症例数が少ないせいもあり、4群間に有意差を認めなかった(表1)。

2. 妊娠週数別の染色体異常頻度

全80例を対象とした内容物排出時の妊娠週数別の流産組織の染色体異常は、11～12週がピークで66.7%であり、次に13～14週が40.0%、9～10週が37.1%の頻度で観察された。また、既往流産回数別の流産週数(Mean $\pm$ SD)は、0回が10.0 $\pm$ 2.7週、1回が9.2 $\pm$ 2.1週、2回が9.2 $\pm$ 2.8週で、3から7回が9.8 $\pm$ 3.0週であった。染色体異常以外の因子が関与することによって、既往流産回数の増加に伴い流産週数に変化が認められる可能性があったが、本研究では確認できなかった。

3. 年齢別の染色体異常頻度

全80例を対象とした妊娠週数別の流産組織の染色体異常の頻度は、35歳未満の32.1%に比べて35歳以上で50.0%と染色体異常が増加する傾向にあるが、統計学的には有意差を認めていない。

考 察

今回の研究では、我々は流産の原因となりうる機能的・器質的疾患および妊娠22週以降の分娩(正・死産)の既往をもたない婦人を対象とし、いわゆる原因不明の習慣流産患者の自然流産の際に、流産組織の染色体異常の頻度の増加が認められるかどうかを検討した。染色体異常頻度は流産既往回数別の4群間(0, 1, 2, 3～7回)、または2群間(0～1, 2～7回)で有意差を認めず、流産婦人の平均年齢でも差異を認めなかった。

一般的に自然流産の染色体異常ではトリソミーが一番頻度が高いとされているが、30例の染色体異常のうち、19例(63.3%)がトリソミー、次にモノソミーXとモザイクが各々4例(13.3%)で、構造異常が2例(6.7%)、3倍体が1例(3.3%)に観察された(表1)。Stene⁹⁾は、30歳未満婦人のDown症の再発率が30歳以上の婦人に比べて有意に高いと報告し、Lippmannら¹⁰⁾は、Down症の既往がある場合、次回妊娠時の流産率が上昇すると報告している。また、自然流産を2回繰り返した場合、トリソミーの再発率は高いとされている¹¹⁻¹⁴⁾。しかし、加齢の因子を補正させたWarburtonら⁵⁾の解析では、前回のトリソミーが生産または羊水穿刺によるものであり、しかも30歳未満の場合には再発率は有意に高いが、反復自然流産症

例ではトリソミーの再発率は高くはないとしている。このように、流産トリソミーの反復率に関しては、見解が一定していない。妊娠22週以降の分娩(正・死産)の既往をもたない自然流産症例における今回の検討では、流産既往回数別の4群間で統計学的に有意差を認めず、トリソミーの頻度にかぎっても習慣流産群と対照群で差異はなかった。

一方、同じWarburtonらの反復流産を対象としたデータで、染色体異常頻度は8～11週が53.5%、次に12～15週が47.9%と妊娠週数のピークを示しているが、本研究では既往流産回数別の4群間に平均流産週数の統計学的差異なく、9～10週であった。また、彼らの報告では、自然流産の染色体異常頻度は35歳未満で約35%であり、40歳以上になると約60%に上昇するとしている。当科における妊娠初期の人工妊娠中絶試料を用いた検討でも、40～44歳群21.5%、45歳以上46.7%と35～39歳群の8.7%に比べて加齢とともに染色体異常頻度が増加する傾向を確認している³⁾。本研究では、35歳未満の32.1%に比べて35歳以上で50.0%と染色体異常頻度が増加する傾向にあるが、統計学的には有意差を認めていない。また、習慣流産群と対照群の平均年齢にも有意差を認めていない。

以上のことから、原因不明の習慣流産患者の自然流産の染色体異常のデータは、一般の自然流産の際に観察されてきた傾向と大きな差異はない。よって、接合体の細胞遺伝学的な異常が習慣流産の発生機構に関与していることを示唆する直接的な結果は得られなかった。しかし、2回以上の流産を経験した症例が18例と結論を下すにはまだ症例数が充分ではなく、本研究では染色体異常頻度は流産既往回数が2回以上から増加するように見えるため、結論を下すには症例を追加し、慎重に判断する必要があると思われる。さらに、通常の染色体核型分析の方法によって同定可能な接合体の染色体異常頻度は、初期自然流産例の約半数とされているが、バンディング法によって解析可能なDNAの異常はただだか5000kb単位である。従って、残りの半数の流産症例にDNAレベルの異常がないとはいえず、流産組織に対して種々の遺伝子異常を同定するためのルーチンの方法を今後開発する必要があると思われる。

文 献

- 1) Tho PT, Byrd JR, McDonough PG, Etiologies and subsequent reproductive performance of 100 couples with recurrent abortion. Fertil Steril 32:38,

1979

- 2) Stray-Pedersen B, Stray-Pedersen S, Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol* 148: 140, 1984
- 3) 藤本征一郎, 不育症 (習慣流・死産) と染色体異常. 産婦人科の世界 39: 13, 1987
- 4) Warburton D, Stein Z, Kline J, et al., Chromosome abnormalities in spontaneous abortion: Data from the New York city study. In: Porter IH, Hook EB, eds. *Human embryonic and fetal death*. p261, Academic Press, 1980
- 5) Warburton D, Chromosomal causes of fetal Death. *Clin Obstet Gynecol* 30:269, 1987
- 6) Strobino B, Fox HE, Kline J, et al., Characteristics of women with recurrent spontaneous abortions and women with favorable reproductive histories. *Am J Public Health* 76:986, 1986
- 7) Boué J, Boué A, Lazar P, Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. *Teratology* 12:11, 1975
- 8) Morton NE, Chiu D, Holland PA, et al., Chromosome anomalies as predictors of recurrence risk for spontaneous abortion. *Am J Med Genet* 28: 353, 1987
- 9) Stene J, Detection of higher recurrence risk for age-dependent chromosome abnormalities with an application to trisomy G1 (Down's syndrome). *Hum Hered* 20:112, 1970
- 10) Lippman A, Fetal death rates in mothers of children with trisomy 21 (Down's syndrome). *Ann Hum Genet* 48:303, 1984
- 11) Boué J, Boué A, Chromosome analysis of two consecutive abortions in each of 43 women. *Hum Genet* 19:275, 1973
- 12) Alberman E, Elliott M, Creasy M, Previous reproductive history in mothers presenting with spontaneous abortions. *Br J Obstet Gynaecol* 82: 366, 1975
- 13) Lauritsen JG, Aetiology of spontaneous abortion: a cytogenetic and epidemiological study of 288 abortuses and their parents. *Acta Obstet Gynecol Scand (Suppl.)* 52: 1, 1976
- 14) Kajii T, Ferrier A, Cytogenetics of aborters and abortuses. *Am J Obstet Gynecol* 131:33, 1978

A cytogenetic study on abortuses of recurrent spontaneous abortions with unknown etiologies

Hideto Yamada, Kadomi Kakitani, Junko Tamaki, Tsunemaro Koujo, Emi Kato, Satoko Sudo, Takayuki Sasaki, Masanori Kanauchi, Satoru Makinoda and Seiichiro Fujimoto

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

The aim of this study was to investigate the frequency of chromosome abnormality of abortuses in women with recurrent spontaneous abortions (RA) with unknown etiologies. Cytogenetic analyses were performed on eighty abortuses obtained from women without a history of any deliveries at more than 21 weeks of gestational age. The number of chromosome abnormality and the type of abnormalities were summarized among four groups according to the number of prior abortions (0, 1, 2, 3 ~ 7).

The results were the following: 1) The total frequency of chromosome abnormality on abortuses was 37.5%. Statistical significance was not observed in these four groups (0, 1, 2, 3 ~ 7). 2) Autosomal trisomy was the predominant abnormality observed in 19 abortuses (63.3%) out of 30. The frequency of the autosomal trisomy was not different statistically in the four groups. Trisomy 16 was observed predominantly in 8 abortuses (36.4%) out of 22 trisomies including the mosaicism. 3) The highest rate of chromosome abnormality, which reached 66.7%, was found from 11 to 12 weeks of gestational age. 4) Chromosome abnormality increased from 32.1% at age less than 35 to 50, 0% in mothers older than 34.

The observed tendency in the current study was generally the same as data in previous reports, which dealt with repeated miscarriages, in terms of frequency of chromosome abnormality, each type of abnormality, modal gestational age of the evacuation and the relation with the maternal age in the above four groups. Thus, we did not find the increased-genetical instability of zygote after recurrence of spontaneous abortions in women without a history of deliveries or the definite etiology of RA.

(受付: 1994年3月10日)

(受理: 1994年6月1日)

hCG療法中に高プロラクチン血症による勃起障害をきたした 低ゴナドトロピン性性腺不全症の1例

A Case of Hyperprolactinemia Induced Sexual Dysfunction in the hCG Therapy Against Hypogonadotropic Hypogonadism

焼津市立総合病院泌尿器科

太田 信 隆
Nobutaka OHTA

宇佐美 隆 利
Takatoshi USAMI

有 賀 誠 治
Seiji ARUGA

大 橋 涼 太
Ryota OHASHI

Department of Urology
Yaizu Municipal Hospital, Shizuoka 425, Japan

症例は17歳男。尿崩症を主訴に受診。鞍上部、松果体のdouble midline germinomaの診断で放射線療法を受け、その後汎下垂体機能低下症に対し内分泌補充療法を受けていた。1993年3月二次性徴発現不全のため当科紹介された。二次性徴はみられず、勃起は不完全で、射精は見られなかった。内分泌検査では低ゴナドトロピン性性腺不全症の所見であった。hCG 2000単位週3回筋注を開始し、まもなく二次性徴の発現が見られた。勃起力は治療開始直後より良好となったが、その後次第に減退した。血液検査でプロラクチンは31.0 ng/mlと上昇しており、プロモクリプチン2.5mg経口投与を併用し勃起力の改善を認め10月には射精が見られた。本例では脳腫瘍治療後のプロラクチン分泌抑制因子の障害による潜在的なプロラクチン分泌亢進状態があり、hCG療法によるエストラジオール上昇に反応し、高プロラクチン血症が出現したと考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 383 - 386, 1994)

緒 言

男子不妊症の治療などでhCGは日常的に使用される薬剤であるが、その副作用としては女性化乳房、乳房痛などが主であり^{1,2)}、勃起障害がみられたとの報告は少ない。今回我々はhCGによる高プロラクチン血症が原因で勃起障害をきたした1例を経験したので報告する。

症 例

症例は17歳、男。1991年、14歳頃より多尿、勃起力減退を自覚していた。1992年3月尿崩症を指摘され精査の結果、鞍上部、松果体のdouble midline germinomaと診断された。放射線療法により腫瘍は消失し、以後汎下垂体機能低下症に対しコートリル、チ

ラジン、バソプレッシンによる内分泌補充療法を行っていた。1993年3月二次性徴発現不全のため当科紹介された。既往歴に特記すべきことなし。家族歴で母親が甲状腺腫を指摘されている。

理学的所見では身長174cm、体重75kg、栄養状態良好。頭頸部に異常なし。声変わりはいしてなく、にきびもなし。女性化乳房なし。外陰部に陰毛はほとんどなく、陰茎長は約5cmと發育不良で仮性包茎を認めた。両側精巣は約3ml大で、軟。精巣上体、精管に異常なし。勃起に関しては起床時の勃起は認められず、視覚刺激ではほとんど勃起なし。手動的な刺激により一時的に不完全に勃起するもののまもなく消褪した。射精は見られなかった。

検査成績では、検尿、血算、生化学の一般検査に異常なし。内分泌検査でLH(0.5 mIU/l以下)、FSH(0.5

表 1 LHRH, TRH, CRF 同時負荷試験

		前	30	60	90	120
LH	(mIU/l)	0.5 >	0.5 >	0.5 >	0.5 >	0.5 >
FSH	(mIU/l)	0.5 >	0.5 >	0.5 >	0.5	0.6
ACTH	(pg/ml)	5 >	5 >	5 >	5 >	5 >
Prolactin	(ng/ml)	18	28	29	24	24
TSH	(μ U/ml)	0.71	5.5	5.5	5.5	5.4
Cortisol	(μ g/dl)	1.9	1.4	1.5	1.2	1.8

hCG負荷試験

		前	負荷後
Testosterone	(ng/ml)	0.2 >	2.3
free-Testosteron	(pg/ml)	0.6 >	7.4

mIU/l以下), ACTH (5 pg/ml以下)は測定感度以下, プロラクチンは18 ng/mlと軽度増加, エストラジオール (10.0 pg/ml以下), テストステロン, 遊離テストステロン (0.6 pg/ml以下)は測定感度以下であった. LHRH 100 μ g, TRH 500 μ g, CRF 100 μ gによる同時負荷試験では, LH, FSH, ACTH, CTSLの反応はなし. TSH, プロラクチンには軽度の反応が見られた. HCG 4000単位3日間投与によるhCG負荷試験ではテストステロン値は2.3 ng/ml, 遊離テストステロン値は7.4 pg/mlと正常反応を示した(表1).

以上より低ゴナドトロピン性性腺不全症と診断. 3月よりHCG 2000単位週3回筋注を開始した(図1). 投与開始後まもなく二次性徴の発現が見られ, 5月受診時には声変わりを終了していた. 陰毛は約1 cmまで伸びていた. 勃起力はhCG療法開始直後より良好となり, 起床時の勃起が見られ, 視覚的, 器械的刺激により容易に勃起した. しかし, その後次第に勃起力の減退が見られ, 7月受診時には治療開始前と同様の状態となっていた. 同日の血液検査ではプロラクチンは31.0 ng/ml, エストラジオールは82 pg/mlと上昇しており, hCG投与との関連が疑われたため, hCGを中止したところ正常化した. 8月プロモクリプチン2.5 mg経口投与を併用しながらhCGを再開, 勃起力の改善を認め10月には射精が見られた. 精液検査では精液量3 ml, 精

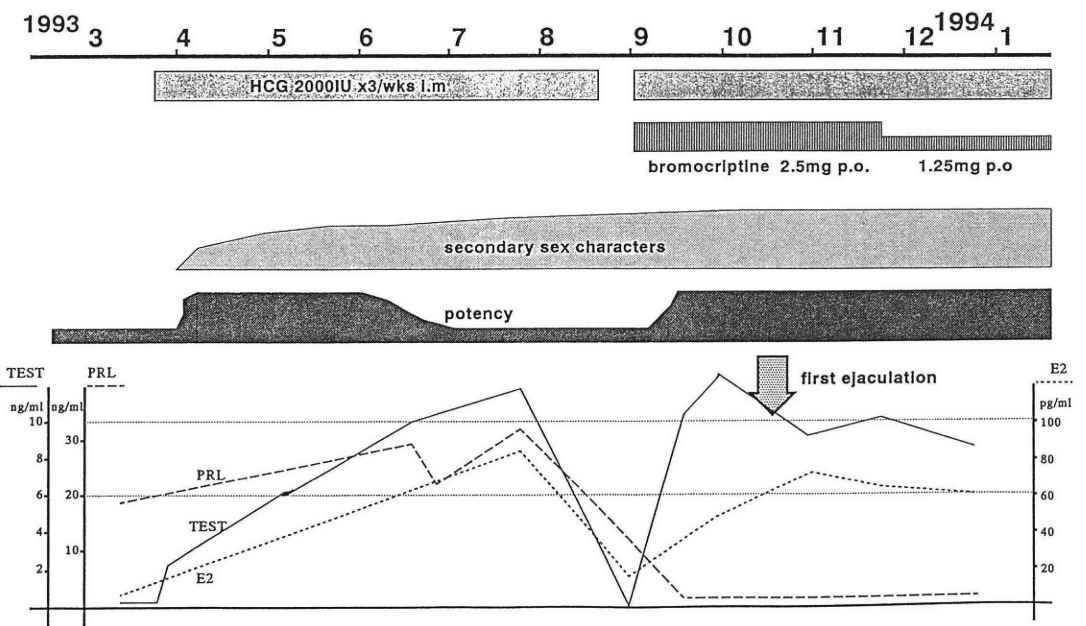


図 1 治療経過

子は見られなかった。11月■からはプロモクリプチンを1.25 mgに減量しているがプロラクチン値は測定感度以下のままで、勃起力は良好である。平成6年3月からはhCG 1000単位, hMG 75単位に変更している。

考 察

正常男性においては血中エストラジオールの大部分は精巢外末梢組織においてテストステロンの代謝により産生されたものであり一部が精巣で産生される。Griffen³⁾によれば男性の血漿テストステロンの0.3%は末梢のaromataseによりエストラジオールに変換され、これが男性の血中エストラジオールの約90%を占め、残る約10%が精巣で産生される。しかし病的な高エストラジオール血症ではaromatase活性亢進が原因であったとの報告⁴⁾はあるものの、肝疾患、副腎疾患を除けば精巣での産生亢進が原因となる。

hCG療法中の男性不妊症患者では血中エストラジオールの上昇することが知られている⁵⁾。Weinsteinら⁶⁾は正常男性にhCGの投与を行うと、精巣静脈のエストラジオールが上昇し、末梢血での上昇の原因となると報告している。hCGによるエストラジオールの上昇は投与量に依存し⁷⁾、1500IUの単回投与で24時間後に平均105.5 ng/mlまで上昇することから通常のhCG投与量でエストラジオールは閉経前女性に匹敵する上昇を示すことになる。

エストラジオールがプロラクチンの分泌を促進することはよく知られた事実であり、hCG療法中の女性患者でエストラジオールが上昇し高プロラクチン血症をきたすこともよく知られている。Hofmannら⁸⁾は体外受精のためのhCG投与例で高プロラクチン血症の発現率を検討しエストラジオールが1000 pg/mlの高反応群で52%、500から800 pg/mlの中反応群で26%、400 pg/ml以下の低反応群で12%にプロラクチン値25 ng/ml以上の高プロラクチン血症がみられ、かつエストラジオールのピーク時にもっとも高頻度に高プロラクチン血症がみられたと報告している。

男性に対するhCG投与ではこれほどのエストラジオール上昇はみられず、伊藤ら⁹⁾は正常男性に対するhCG 10000単位単回投与で、エストラジオールは 30.00 ± 7.86 pg/mlから 93.87 ± 28.17 pg/mlまで増加したと報告している。Spitzら⁹⁾のゴナドトロピン単独欠損症例に対するhCG 5000単位、週2回投与では、エストラジオールは 13.0 ± 7.3 pg/mlから 61.4 ± 42.7 pg/mlまで増加し、このときプロラクチン値は投与前

の 7.1 ± 1.7 pg/mlから 13.8 ± 5.1 pg/mlまで上昇したと報告している。自験例においてはエストラジオール値の最高は82 pg/mlとこれとほぼ同程度であったにもかかわらず、プロラクチン値は31.0 ng/mlまで上昇した。これは初診時プロラクチン値がやや高値であったことから推測されるように脳腫瘍治療後のプロラクチン分泌抑制因子の障害による潜在的なプロラクチン分泌亢進状態があったためと考えられるのに対し、Spitzらの症例では間脳下垂体の障害がなくプロラクチン分泌抑制機構が働いたものと考えられた。なお自験例においてTRH試験に対するプロラクチンの反応が低反応であったのは性腺機能低下のためプロラクチン分泌細胞そのものの増生が不十分であったためと考えられる。

hCG療法中の男性においてどの程度高プロラクチン血症がみられるかは明らかではないが、hCG療法中の高エストラジオール血症による女性化乳房、乳房痛はまれではない^{1,2)}。自験例のごとく脳腫瘍の既往は認めないまでも、何らかの潜在的なプロラクチン分泌異常がhCG療法を行う患者に合併している可能性はあり、hCG療法中の患者において高プロラクチン血症に対する注意が必要である。性機能の低下は高プロラクチン血症報告例でも見られるとおり¹³⁾、問いただされて初めて訴えることが多く、またhCG療法の副作用としての勃起力低下は盲点となりがちであり、医師の十分な問診が必要と考えられた。

さらに自験例において興味深いことはtestosterone高値、良好な二次性徴発現にもかかわらず勃起力の低下が見られたことである。高プロラクチン血症では同時に性腺刺激ホルモン、性ホルモンの異常のみみられることが多いことから、勃起力の低下は性腺機能と結び付けて考えられることが多いが、自験例では男性ホルモンの異常が勃起力低下を引き起こしたとは考えられない。Carterら¹⁰⁾は高プロラクチン血症が中枢神経系に直接作用し勃起力低下を来す可能性をあげており、自験例ではこれによる勃起力の低下と考えられた。

自験例ではプロモクリプチンの投与により、プロラクチンは測定感度以下に減少し、勃起力の改善を認めたが、プロラクチンはLHと共に造精能の亢進に働き¹¹⁾、また男性ホルモンと共に前立腺の発育に必要な¹²⁾ことが知られている。自験例のごとく二次性徴完成前でかつ今後造精能の改善を目指すべき患者では慎重にプロモクリプチンの投与を行う必要があると考えられた。

結 語

hCG療法中の高プロラクチン血症のため勃起不全をきたした症例を報告した。本例では間脳下垂体系の障害により、潜在的なプロラクチン分泌亢進状態にあり、hCG療法に過剰に反応し高プロラクチン血症を起こしたと考えられた。

文 献

- 1) 奥山明彦, 園田孝夫, 水谷修太郎, 男子不妊症の治療経験 第2報: hCG, hMG各剤の投与量と妊娠性の予後について. 泌尿紀要 4: 355, 1981
- 2) 山下良孝, 永井 敦, 大枝忠史 他, 男子不妊症に対するhCG-hMG療法の臨床的検討. 日本不妊誌 35: 601, 1990
- 3) Griffen JE, Wilson JD, The testis. In: Bondy PK, Rosenberg LE, eds. Metabolic Control and Disease. 8th ed, p1535, WB Saunders, 1980
- 4) Hemsell DL, Edman CD, Marks JF, et al., Massive extraglandular aromatization of plasma androstenedione resulting in feminization of a prepubertal boy. J Clin Invest 60: 455, 1977
- 5) 伊藤直樹, 熊本悦明, 丸田 浩, 精子発生能不全精巣におけるestradiol分泌予備能の研究 -特に治療効果予測因子としての意義について-. 日内分泌会誌 68: 1276, 1992
- 6) Weinstein RL, Kelch RP, Jenner MR, et al., Secretion of unconjugated androgens and estrogens by the normal and abnormal human testis before and after human chorionic gonadotropin. J Clin Invest 53: 1, 1974
- 7) Padron RS, Wischusen J, Hudson B, et al., Prolonged Biphasic Response of Plasma Testosterone to Single Intra-muscular Injections of Human Chorionic Gonadotropin. J Clin Endocrinol Metab 50: 1100, 1980
- 8) Hofmann GE, Denis AL, Scott RT, et al., The incidence of transient hyperprolactinemia in gonadotropin-stimulated cycles for in vitro fertilization and its effect on pregnancy outcome. Fertil Steril 52: 622, 1989
- 9) Spitz IM, Zylber-Haran EA, Trestian S, et al., The decreased basal and stimulated prolactin levels in isolated gonadotrophin deficiency: a consequence of the low oestrogen state. Clin Endocrinol 16:

423, 1982

- 10) Carter JN, Tyson JE, Tolis G, et al., Prolactin-secreting tumors and hypogonadism in 22 men. N Eng J Med 299: 847, 1976
- 11) Bartke A, Effect of prolactin on spermatogenesis in hypophyctomized mice. J Endocrinol 49: 311, 1971
- 12) Danutra V, Harper ME, Boynes AK, et al., The effect of certain stilbestrol analogues on plasma prolactin and testosterone in the rat. J Endocrinol 57: 207, 1973
- 13) 倉智敬一, 青野敏博, 小池浩司, 我が国における高プロラクチン血症症例の実態 -高プロラクチン性腺腫を中心として-. 臨床科学 17: 369, 1981

A case of hyperprolactinemia induced sexual dysfunction in the hCG therapy against hypogonadotropic hypogonadism

Nobutaka Ohta, Takatoshi Usami, Seiji Aruga
and Ryota Ohashi

Department of Urology
Yaizu Municipal Hospital, Shizuoka 425, Japan

A 17-year-old boy visited our hospital complaining polyuria. Under the diagnosis of double midline germi-noma involving suprasella and pinea body he was irradiated and got tumor free. After that he undergone supplemental hormone therapy against panhypopituitarism. At May 1993, he was recommended to start hormone therapy against hypogonadism. Hormonal study revealed pituitary hypogonadism and hCG therapy with 2000IU i.m. three times a week was started. Initially, he showed successful development of secondary sex characters and regained potency. Two months later, his potency gradually decreased and three months later it returned to that of initial state. Then, hormonal study showed hyperprolactinemia and bromocriptine was administered at the dose of 2.5mg p.o. daily. Soon he regained potency and showed first ejaculation. It was thought that the damage to the hypothalamus-pituitary axis and increase of estradiol due to hCG therapy developed hyperprolactinemia and succeeding impotence.

(受付: 1994年4月11日)

(受理: 1994年6月9日)

反復流産患者の各種自己免疫抗体陽性率およびその治療成績

The Prevalence and Treatment of Recurrent Spontaneous Abortions Caused by Autoimmunity

札幌医科大学医学部産婦人科学教室 (主任: 工藤隆一教授)

山 本 弘
Hiroshi YAMAMOTO

金 谷 美 加
Mika KANAYA

森 悟 子
Satoko MORI

井 上 雄 子
Yuko INOUE

木 谷 保
Tamotsu KIYA

後 藤 妙恵子
Taeko GOTO

藤 井 美 穂
Miho FUJII

遠 藤 俊 明
Toshiaki ENDO

工 藤 隆 一
Ryuichi KUDO

Department of Obstetrics and Gynecology,

School of Medicine, Sapporo Medical University, Sapporo 060, JAPAN

最近5年間(1989~93年)に当科を受診した2回以上の自然流産の既往をもつ反復流産患者は80名であり、このうち21名(26.3%)が何らかの自己抗体を有していた。抗リン脂質抗体症候群を9例(11.3%)に認め、このうち6例(7.5%)はループスアンチコアグラントが陽性であり、6例(7.5%)は抗カルジオリピン抗体が陽性であった。抗核抗体陽性例は他の自己抗体との合併症例を含めると10例(12.5%)であった。抗リン脂質抗体症候群あるいは抗核抗体陽性例は17例で自己抗体陽性例の81.0%を占めた。その他、橋本病を2例(2.5%)に認め、シェーグレン症候群と特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の症例が各1例あった。

抗リン脂質抗体症候群9例とその他の自己抗体を有する症例6例に対し治療を行った。治療内容はプレドニン単独投与7例、プレドニンとアスピリン併用投与4例、アスピリンと柴苓湯併用投与1例、柴苓湯単独投与1例である。治療後11例が妊娠し、9例が分娩し、2例が妊娠中であり、免疫抑制療法や抗血栓療法の成功率は100%であり、自己抗体を有する反復流産患者の治療に非常に有効であった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 387-392, 1994)

緒 言

習慣流産の原因は子宮奇形などの子宮形態異常、黄体機能不全や甲状腺機能異常や糖尿病等の内分泌異常、夫婦の染色体異常、夫婦間の免疫的不適合など多岐にわたる¹⁾。

近年、抗リン脂質抗体症候群などの自己免疫異常を原因とする流産が注目されている^{2~5)}。抗リン脂質抗体症候群⁶⁾は各種血栓症、習慣流産、血小板減少などの多彩な症状を示しSLEなどの膠原病に合併することが多いが、何ら自覚症状を示さず習慣流産を主訴に婦人科を受診しはじめて診断されることもまれではない。

今回、抗リン脂質抗体症候群を中心に当科を受診した自己抗体を有する反復流産患者の臨床的検討を行い、プレドニンやアスピリンによる免疫抑制療法や抗血栓療法の有用性を検討した。

対象および方法

最近5年間(1989~1993年)に当科を受診した2回以上の自然流産の既往をもつ反復流産患者を対象とし、自己抗体陽性例での自己抗体の種類および頻度、さらにプレドニンやアスピリンによる免疫抑制療法や抗血栓療法の治療成績を検討した。

当科では反復流産患者において抗核抗体(ANA)、抗DNA抗体、ループスアンチコアグラント(LAC)、抗

カルジオリビン抗体 (ACA), 抗サイログロブリン抗体および抗マイクロゾーム抗体などの自己抗体をルーチン検査として測定しているが, 活性化部分トロンボプラスチン時間 (aPTT) が延長している症例などではACA以外の抗リン脂質抗体 (抗フォスファチジルセリン抗体など) を測定している. ACAはコファクター (β_2 -glycoprotein I) を含まない固相酵素抗体法 (EIA) で測定した. 当院でのaPTTの正常値は32.1±9秒であるが, 反復流産患者ではaPTTが37秒以上の症例を延長症例とした.

成 績

調査期間に当科を受診した2回以上の自然流産の既往をもつ反復流産患者は80名であった.

流産回数は2回が最も多く60名 (75.0%) であり, 3回が12名 (15%), 4回が6名 (7.5%), 5回および6回が各1名 (1.3%) であった. 原発性反復流産患者は65名 (81.3%), 生児のいる続発性反復流産患者は15名 (18.8%) であった. 何らかの自己抗体を有する症例は21名, 26.3%であった (表1). 自己抗体陽性例と陰性例とで平均年齢や平均流産回数には差はなかったが, 生児のいる続発性反復流産患者の頻度は自己抗体陽性例で有意に高かった (表1).

自己抗体の種類別頻度を検討した (カッコ内の頻度は全反復流産患者80名に対する頻度を示す). 抗リン脂質抗体症候群は9例, 42.9% (11.3%) を占め, このうち6例の28.6% (7.5%) はLACが陽性であり, 6例の28.6% (7.5%) はACAが陽性であった (表2). これらの抗リン脂質抗体症候群のなかで流産以外の血栓症の既往を持つ症例はなかった. 抗核抗体陽性例は他の自己抗体との合併症例を含めると10例, 47.6% (12.5%) であった (表2). 抗リン脂質抗体症候群あるいは抗核抗体陽性例は17例, 81.0%であり大半を占めた. 橋本病を2例, 9.5% (2.5%) に認めた (表2). シェーグレン症候群と特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の症例が各1例あった (表2).

LACとはIgGあるいはIgMクラスの抗体で, 血液凝固因子の第X因子と第V因子およびリン脂質とカ

ルシウムの複合体を認識し, aPTTをはじめとするリン脂質依存性の凝固試験を延長させるものをいう. そこでLACの有無のスクリーニングにaPTTが用いられている. aPTTが延長していた症例は18.8% (15/80例) であった (表3). このうち6例の40%は抗リン脂質抗体症候群であり, 全例LACが陽性であった (表3). また, aPTTが延長していた症例の93.3%が何らかの自己抗体を有しており, 自己抗体の有無に対するaPTTの感度は66.7%, 特異性は98.3%, 正診率は90.0%であり, aPTTは反復流産患者の原因の検索に非常に有用であった (表3).

当科での現在の治療方針では抗リン脂質抗体症候群およびaPTTが延長している症例はプレドニンとアスピリン併用療法を, その他明らかな自己免疫疾患

表2 自己抗体陽性症例

1. 抗リン脂質抗体症候群	9例 (42.9%)
LAC + ACA (IgM)	1例
LAC + ACA (IgG) + ANA	2例
LAC	3例
ACA (IgG)	1例
ACA (IgM)	2例
2. ANAのみ陽性	6例 (28.6%)
3. ANA + 抗MS抗体	1例 (4.8%)
4. シェーグレン症候群	1例 (4.8%)
抗SS-A	
5. 抗MS抗体	1例 (4.8%)
6. 橋本病	2例 (9.5%)
抗サイログロブリン抗体	1例
ANA + 抗サイログロブリン抗体	1例
7. ITP	1例 (4.8%)
抗血小板抗体	
LAC: ループスアンチコアグラント	
ACA: 抗カルジオリビン抗体	
ANA: 抗核抗体	
MS: マイクロゾーム	

表3 活性化部分トロンボプラスチン時間延長症例

抗リン脂質抗体症候群	40.0%	(6 / 15例)
橋本病	6.7%	(1 / 15例)
ANAのみ陽性	40.0%	(6 / 15例)
ANA + 抗MS抗体	6.7%	(1 / 15例)
合 計	93.3%	(14 / 15例)
自己抗体陰性	6.7%	(1 / 15例)

自己抗体の有無に対するaPTTの感度: 66.7 %
特異性: 98.3 %
正診率: 90.0 %

表1 対象患者の背景

	自己抗体陽性例	自己抗体陰性例
1. 頻度	26.3% (21例)	73.8% (59例)
2. 平均年齢	29.5 ± 3.6歳	31.1 ± 3.8歳
3. 流産回数	2.3 ± 0.9回	2.3 ± 0.6回
4. 続発性習慣流産の頻度	23.8% *	16.9%*

*p<0.05

表4 抗リン脂質抗体症候群

患者	年齢	LAC	ACA	aPTT	ANA	治療	結果
1	36	+-	IgG 1.1→0.5未満	38→33	++	P (20)+ A	分娩
2	30	+-	-	30→30	++	P (10)	妊娠中
3	26	-	IgM 1.5→0.8	40→34	-	P (15)	分娩
4	28	-	IgM 1.4→0.6	44→34	-	P (15)	分娩
5	34	+-	IgG 1.0→0.5未満	40→35	++	P (10)+ A	分娩
6	33	+-	IgM 0.9→0.5未満	40→36	-	p (5)	分娩
7	29	-	IgM 1.3→1.0	38→34	-	P (10)+ A	妊娠中
8	34	+	-	35	-		
9	26	-	IgG 2.5	36	-		流産

治療前→治療後

P: Predonine (最大投与量 mg/day)
A: Aspirin (81mg/day)

症例1 常位胎盤早期剥離

症例4 SFD

表5 治療を施行したその他の自己抗体陽性症例

患者	年齢	自己抗体	aPTT	治療	結果
10	25	ANA ++	39→29	P (10)	分娩
11	30	ANA ++	39→31	A + S	分娩
12	34	ANA +-	33→33	S	分娩
13	35	MS 1600→400倍	36→30	p (20)	分娩
14	32	ANA ++ MS 6400→1600倍	36→36	P (10)+ A	
15	27	ANA ++	35→31	P (10)	

P: Predonine (最大投与量 mg/day) MS: 抗microsome抗体 S: 柴苓湯 (9 g / day)
A: Aspirin (81mg/day)

のないANAのみ陽性症例は柴苓湯を投与し再度流産する症例にはプレドニンとアスピリン併用療法を行っている。プレドニンとアスピリン併用療法はアスピリン(小児用バファリン)81mgとプレドニン20mgを1日量として治療を開始し、抗リン脂質抗体とaPTTの推移でプレドニンを減量あるいは増量し、抗リン脂質抗体が陰性化しaPTTが正常化したらプレドニンを10mgで維持し妊娠を許可している。

表4に抗リン脂質抗体症候群9例と表5にその他の自己抗体を有する症例で治療を行った6例を示した。治療内容はプレドニン単独投与7例、プレドニンとアスピリン併用投与4例、アスピリンと柴苓湯併用投与1例、柴苓湯単独投与1例である。治療前後での自己抗体やaPTTの推移を検討すると、LACは全例陰性化し、ACAは全例で陰性化またはその抗体価が低下し、aPTTは全例で正常化した。しかし、ANAは8例中7例は治療後も陽性のままであった。このように抗リン脂質抗体およびaPTTは治療効果の

判定に有用であるが、ANAは治療後陰性化する症例は少なく治療効果の判定には使用できなかった。

治療後11例が妊娠し、9例が分娩し、2例が妊娠中であり、免疫抑制療法や抗血栓療法の成功率は100%であり、自己抗体を有する反復流産患者の治療に非常に有効であった。しかし、未治療のまま妊娠した症例9は流産に終わってしまった。症例1は妊娠中毒症を呈さなかったが、妊娠36週で常位胎盤早期剥離となり帝王切開術が施行された。症例4は2510g(38週)のSFD児を分娩した。他の症例の経過には異常はなかった。症例3は第二子も無事出産している。

考 察

習慣流産の原因は多岐にわたるが、近年抗リン脂質抗体症候群などの自己免疫異常による流産が注目されている。1975年、Nilssonら⁸⁾は習慣流産患者での血液凝固異常と胎盤梗塞を報告したが、その後LAC

やACAといった抗リン脂質抗体陽性例に習慣流産が高頻度に認められると報告された²⁻⁵⁾。Scottら²⁰⁾は65名のLAC陽性例で妊娠の転帰を調査し、242回妊娠しそのうち220回(91%)が流産し、LAC陽性例は高率に流産を繰り返すと報告している。抗リン脂質抗体症候群における流産とりわけ子宮内胎児死亡の原因はLACなどの抗リン脂質抗体によって血液凝固能が亢進し、胎盤の血管に血栓ができ梗塞が発生し流産や子宮内胎児死亡に至ると考えられている⁹⁾。この抗リン脂質抗体による血栓症発生のメカニズムは血管内皮細胞での血小板凝集抑制物質であるプロスタサイクリンの産生を抑制すること¹⁰⁾や凝固阻害因子であるプロテインCの活性を阻害すること¹¹⁾によると考えられている。

習慣流産患者での自己抗体陽性率は10.7%¹²⁾、21.6%¹³⁾と報告されており、我々の成績は26.3%と若干高かった。

LACが検出された症例は4.9～10.7% (4.9²¹⁾、7.3²²⁾、7.7²³⁾、8.5¹⁸⁾、9.1¹⁵⁾、10.0¹⁴⁾、10.7%²⁴⁾)と報告され、我々の成績も7.5%と同様な結果であった。また、正常妊婦でのLAC陽性率は0.27%と報告され¹⁹⁾、習慣流産患者でのLAC陽性率は有意に高かった。

ACA陽性率は4.6%～27.3% (4.6²⁴⁾、9.8¹⁸⁾、11.4¹⁵⁾、12.3²¹⁾、19.2²²⁾、27.3%²⁵⁾)と報告され、我々の成績は7.5%であり同様な陽性率であった。また、諸家の報告する免疫グロブリンのクラス別陽性率はIgGは4.9%～14.5% (4.9¹⁸⁾、7.4²¹⁾、7.8²⁶⁾、11.1²²⁾、14.5%²⁵⁾)、IgMは4.9%～18.2% (4.9²¹⁾、7.3¹⁸⁾、12.1²²⁾、18.2%²⁵⁾)であり、今回の我々の成績はIgGの3.8%およびIgMの3.8%であり諸家の報告する陽性率にくらべ低かった。抗リン脂質抗体症候群の病態にはIgGが深く関与し、IgG陽性例で流産が高率に発生すると報告されている²⁷⁻²⁸⁾。

ANA陽性率は5.0%～25.6% (5.0¹²⁾、5.8¹⁴⁾、12.7¹³⁾、15.9¹⁵⁾、17.7¹⁶⁾、22.7%¹⁷⁾、25.6%¹⁸⁾)と報告され、我々の成績の12.5%と一致している。正常妊婦でのANA陽性率は3.2%¹⁹⁾と報告され、習慣流産患者でのANA陽性率は正常妊婦にくらべ高率である。

aPTTが延長していた症例は18.9%であったが、諸家の報告では5.7%～11.4% (5.7¹²⁾、7.3²⁵⁾、11.4%¹⁵⁾)と報告されており、今回の我々の成績は諸家の報告より高率であった。これは方法で述べたごとく当科ではaPTT延長の基準を下げたためと考えられる。aPTT延長の基準を下げることで自己抗体の有無に対するaPTTの正診率は90.0%と向上した。

抗リン脂質抗体症候群に対する治療としてアスピ

リン単独²⁴⁾、プレドニン・アスピリン併用療法²⁹⁾が行われているが、最近、ヘパリン単独³⁰⁾、ヘパリン・アスピリン併用³¹⁾、免疫グロブリン大量静注療法³²⁾が試みられている。抗リン脂質抗体症候群に起因する習慣流産患者でのこれら治療法の有効性は63%～93% (63%³⁴⁾、75%³¹⁾、80%²⁴⁾、83%²⁹⁾、93%³⁰⁾)と報告され非常に有効である。今回の我々の治療成功率も100%であり非常に有効な治療法と考えられる。しかし、これらの薬物療法には副作用の問題、プレドニンの胎児や母体への影響^{31, 35)} (前期破水、妊娠性糖尿病、大腿骨頭壊死)、アスピリンによる動脈管閉鎖、ヘパリンによる母体の骨粗鬆症があり、また免疫グロブリンは保険診療では認められていない。この点漢方の柴苓湯は副作用が少なく高い有効性が報告されており³³⁾安心して投与できる。

抗リン脂質抗体症候群による産科的合併症として流産(子宮内胎児死亡を含む)以外に子宮内胎児発育遅延、妊娠中毒症、常位胎盤早期剥離が知られている³⁴⁾。今回の我々の症例で妊娠中毒症を呈した症例はなかったが、1例がSFD児であり、1例が常位胎盤早期剥離をおこした。

本論文要旨は、第38回日本不妊学会総会(京都1993)において発表した。

文 献

- 1) 牧野恒久, 不育症の総合的検索とその治療. 日産婦学会誌 41: 1015, 1989
- 2) Cowchock S, DeHoratius RJ, Wapner RJ, et al., Subclinical autoimmune disease and unexplained abortion. *Am J Obstet Gynecol* 152: 367, 1984
- 3) 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
- 4) Scott JR, Rote NS and Branch DW, Immunologic aspects of recurrent abortion and fetal death. *Obstet Gynecol* 70: 645, 1987
- 5) Gleicher N and El-Roeiy A, The reproductive autoimmune failure syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 159: 223, 1988
- 6) Harris EN, Gharavi AE and Hughes GR, Anti-phospholipid antibodies. *Clin Rheum Dis* 11: 591, 1985
- 7) Thiagarajan P, Shapiro SS and Marco LD, Monoclonal immunoglobulin M λ coagulation inhibitor with phospholipid specificity. *J Clin Invest* 66: 397, 1980
- 8) Nilsson IM, Astedt B, Hedner U, et al., Intrauterine

- death and circulating anticoagulant ("Antithromboplastin"). *Acta Med Scand* 197: 153, 1975
- 9) 鍋木淳一, 抗リン脂質抗体症候群. *リウマチ* 28: 379, 1988
 - 10) Carreras LO, Defreyn G, Machin SJ, et al., Arterial thrombosis, intrauterine death and "lupus" anticoagulant: Detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation. *Lancet* 1: 244, 1981
 - 11) Cariou R, Tobelem G, Soria C, et al., Inhibition of protein C activation by endothelial cells in the presence of lupus anticoagulant. *N Engl J Med* 314: 1193, 1986
 - 12) 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. *産婦治療* 60: 286, 1990
 - 13) 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
 - 14) Edelman P, Rouquette AM, Verdy E, et al., Autoimmunity, fetal losses, lupus anticoagulant: beginning of systemic lupus erythematosus or new autoimmune entity with gynaeco-obstetrical expression? *Human Reprod* 5: 295, 1986
 - 15) Petri M, Golbus M, Anderson R, et al., Antinuclear antibody, lupus anticoagulant, and anticardiolipin antibody in women with idiopathic habitual abortion. *Arthritis Rheum* 30: 601, 1987
 - 16) 高桑好一, 田中憲一, 自己免疫疾患と不育症. *臨床婦人科産科* 45: 27, 1991
 - 17) Kwak JYH, Gilman-Sachs A, Beaman KD, et al., Reproductive outcome in women with recurrent spontaneous abortions of alloimmune causes: Preconception versus postconception treatment. *Am J Obstet Gynecol* 166: 1787, 1992
 - 18) 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
 - 19) Lockwood CJ, Romero R, Feinberg RF, et al., The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am J Obstet Gynecol* 161: 369, 1989
 - 20) Scott JR, Rote NS and Branch DW, Immunologic aspects of recurrent abortion and fetal death. *Obstet Gynecol* 70: 645, 1987
 - 21) Parke AL, Wilson D and Maier D, The prevalence of antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, women with successful pregnancies, and women who have never been pregnant. *Arthritis Rheum* 34: 1231, 1991
 - 22) Parazzini F, Acaia B, Faden D, et al., Antiphospholipid antibodies and recurrent abortion. *Obstet Gynecol* 77: 854, 1991
 - 23) 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
 - 24) Balasch J, Font J, Lopez-Soto A, et al., Antiphospholipid antibodies in unselected patients with repeated abortion. *Hum Reprod* 5: 43, 1990
 - 25) Lockwood CJ, Reece EA, Romero R, et al., Antiphospholipid antibody and pregnancy wastage. *Lancet* 2: 742, 1986
 - 26) Aoki K, Hayashi Y, Hirao Y, et al., Specific antiphospholipid antibodies as a predictive variable in patients with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 29: 82, 1993
 - 27) Branch DW, Dudley DJ, Mitchell MD, et al., Immunoglobulin G fractions from patients with antiphospholipid antibodies cause fetal death in BALB/c mice: A model for autoimmune fetal loss. *Am J Obstet Gynecol* 163: 210, 1990
 - 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) Lubbe WF, Butler WS, Palmer SJ, et al., Fetal survival after prednisone suppression of maternal lupus-anticoagulant. *Lancet* 1: 1361, 1983
 - 30) Rosove MH, Tabsh K, Wasserstrum N, et al., Heparin therapy for pregnant women with lupus anticoagulant or anticardiolipin antibodies. *Obstet Gynecol* 76: 630, 1990
 - 31) Cowchock FS, Reece EA, Balaban D, et al., Repeated fetal losses associated with antiphospholipid antibodies: A collaborative randomized trial comparing prednisone with low-dose heparin treatment. *Am J Obstet Gynecol* 166: 1318, 1992
 - 32) Carreras LO, Perez GN, Vega HR, et al., Lupus anticoagulant and recurrent fetal loss: Successful treatment with gammaglobulin. *Lancet* 2: 393, 1988
 - 33) 高桑好一, 楊 柄辰, 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. *産婦人科漢方研究会のあゆみ*, 第8巻, 診断と治療社 P73, 1991
 - 34) Branch DW, Scott JR, Kochenour NK, et al., Obstetric complications associated with the lupus anticoagulant. *N Engl J Med* 313: 1322, 1985
 - 35) Levin M, Nonhemorrhagic complications of anticoagulant therapy. *Thromb Haemost* 13: 63, 1986

**The prevalence and treatment of
recurrent spontaneous abortions caused
by autoimmunity**

Hiroshi Yamamoto, Mika Kanaya, Satoko Mori,
Yuko Inoue, Tamotsu Kiya, Taeko Goto,
Miho Fujii, Toshiaki Endo and Ryuichi Kudo

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

Eighty recurrent aborters with a history of more than two spontaneous abortions visited in our clinic from 1989 to 1993. Among these 80 cases, 21 cases (26.3%) had autoantibodies. Nine patients (11.3%) suffered from antiphospholipid syndrome. Lupus anticoagulant was detected in 6 cases (7.5%) and anticardiolipin antibodies were also detected in 6 cases (7.5%) of the antiphospholipid syndrome patients. Ten patients (12.5%) were seropositive for antinuclear antibodies including other

autoantibodies. Antiphospholipid antibodies and antinuclear antibodies were detected in a total of 17 patients, which was 81.0% of all patients with autoantibodies. Also, two cases of Hashimoto's disease and one case of Sjögren syndrome and idiopathic thrombocytopenic purpura were discovered.

The nine patients with antiphospholipid syndrome and 6 patients with other autoantibodies were treated by immunosuppressive and antithrombotic therapy. Prednisolone was administrated in 7 cases, and prednisolone and aspirine were both administrated in 4 cases. One case was treated with both aspirine and Saireito. Saireito was administrated in one case. Eleven patients conceived after treatment. Of these, 9 cases successfully had live-born neonates and 2 pregnancies are ongoing. It has been shown that immunosuppressive and antithrombotic therapy for recurrent spontaneous abortion of autoimmune causes is remarkably effective.

(受付：1994年3月22日)

(受理：1994年6月13日)

EFFECT OF A SINGLE INJECTION OF ANTI-PROGESTERONE RU486 ON INDUCED PARTURITION IN RATS

Motoaki UMEZU, Shichiro SUGAWARA

Laboratory of Animal Reproduction
Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 981, Japan

Kazuyoshi HASHIZUME

Laboratory of Female Reproductive Endocrinology
National Institute of Animal Industry, Ibaragi 305, Japan

Abstract: The effect of a single injection of anti-progesterone RU486 on induced parturition was examined in rats. RU486 was injected subcutaneously at a single dose of 5 mg/kg body weight dissolved in sesame oil to rats in late pregnancy. The existence of a plug or sperm in the vagina was designated as the 1st day of pregnancy (Day 1).

Pregnant rats were divided into 5 groups according to time of the RU486-administration: Group A (18:00, Day 20, 11 rats), Group B (0:00, Day 21: 17rats), Group C (6:00, Day 21:14rats), Group D (12:00, Day 21: 13rats) and Group E (18:00, Day 21: 10rats). Observation was made at 3-h intervals upon the occurrence of parturition, and the survival rate and number of offspring as well as the dam's behavior were noted. Time of parturition was significantly earlier in all groups with RU486 ($P<0.001$). The distribution of time ranged from 9 to 15 h in those groups, whereas it ranged up to 36 h in the control group. In Group C, the time ranged for parturition was only 9 h; all offspring were born between 6:00 ~ 15:00 in the lighting time. The survival rate of pups on the day following birth (and 1 week after birth) was 0.9% (0%), 47.1% (35.3%), 92.9% (79.3%), 86.8% (40.9%) and 91.3% (71.8%) in Group A, B, C, D and E, respectively.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 393 - 397, 1994)

Introduction

Synthetic steroid RU486 (17β -hydroxy-11 β -[4-dimethyl 1-aminophenyl-1]- 17β (pro-1-yny1) estradiol, 9 dione-3-one; Mifepristone; Paris, France) is known to bind with progesterone and glucocorticoid receptors¹⁻³. It exerts a strong antagonistic effect on action of progesterone through competition with the progesterone receptors resulting in interruption of pregnancy. RU486 induces a remarkable abortive action in primates such as humans^{4,5} and monkey⁶, in rodents as rats⁷⁻¹⁰ and rabbits¹¹ and in carnivores such as dogs^{12,13}.

As to the application of RU486 to mammals, information on the control of the timing of parturition is available for several species such as rats¹⁴, pigs¹⁵,

sheep¹⁶ and cattle¹⁷. Bosc et al.¹⁴ observed that an earlier parturition was induced also in rats with cutaneous administration of RU486 of 10mg/0.2ml ethanol per a body and confirmed that this antiprogesterone was an efficient tool for the control of birth timing in rats. Umezaki et al.⁹, efficiently induced an interruption of pregnancy in rats by RU486 with single dose of 3 or 6 mg/kg.bw. and the rat proceeded a subsequent reproductivity without any after-effect.

We examined in this report if parturition could be consistently induced when rats were subcutaneously injected with a single smaller dose of RU486 near term.

Materials and Methods

Virgin female rats of Wistar strain with regular

sexual cycles, which were bred in our laboratory, were fed on a 12-hour light-dark regime (light 6:00 18:00). Each female rat cohabited with a male rat. The day, when existence of a plug or sperm in the vaginal smear was confirmed on the day after mating, was designated as the 1st day of pregnancy (Day 1). RU486 was dissolved in sesame oil to a concentration of 2 mg/ml and rats were injected subcutaneously with a single dose at a dosage of 5 mg/kg body weight in late pregnancy. This dose was based on findings of our previous study in which abortion had been sufficiently induced at this dose of RU486⁹⁾.

After diagnosis of pregnancy by abdominal palpation, pregnant rats were categorized into 5 groups according to the time at which RU486 had been injected: Group A (18:00, Day 20: 11rats), Group B (0:00, Day 21: 17rats), Group C (6:00, Day 21:14rats), Group D (12:00, Day 21: 13rats) and Group E (18:00, Day 21: 10rats). Observation was performed at every 3-hour intervals around the expected occurrence of parturition, and survival and number of offspring and dam's behavior were noted. When at least one pup was delivered, it was defined as "occurrence of parturition". Data obtained in the present experiment were compared with those of 164 rats with naturally occurring parturition (Group of untreated "control") observed by Hashizume from 1973 to 1974 in our laboratory.

Statistical analysis was made with Student's t-test between or among groups.

Results

Distribution of occurrence of parturition in rats injected with RU486

The time of occurrence of parturition was significantly earlier in any group with RU486 injection compared with the control group ($P < 0.001$). The distribution of the time of parturition ranged from 9 to 15 h in groups with RU486, whereas it ranged for up to 36 h in the control group. In particular, the time ranged for the onset of parturition was only 9 h and all offspring were born in the lighting time in Group C (Fig. 1). The mean hours to onset of parturition after administration was slightly longer in Groups B and C than in Groups A, D and E and the overall duration of pregnancy was significantly shortened in

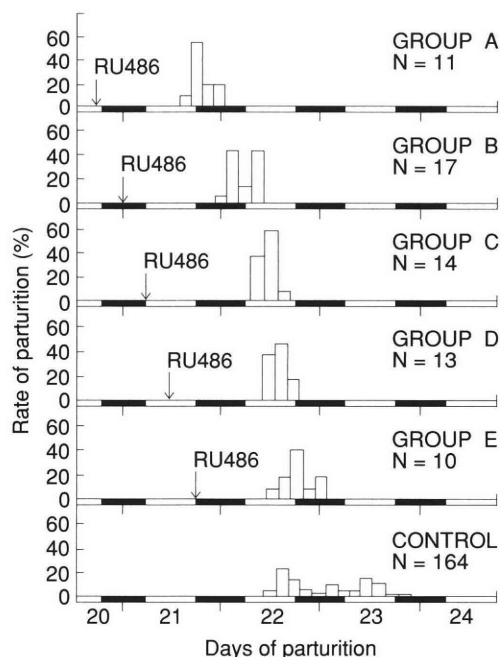


Fig.1 Distribution of commencement of parturition in rats injected with RU486

The lighting regimen consisted of alternating period of light indicated by white bars (6:00 ~ 18:00) and dark, indicated by black bars. Pregnant rats in Group A to E were injected with RU486 according to the schedule described in Fig.1. Observation was performed at 3-hour intervals. When at least one pup was delivered, it was defined as "occurrence of parturition".

any RU-injected group compared with the untreated control group (Table 1).

Survival rate of offspring after parturition injected by RU486

All offspring were vital at birth in any group with RU486. The mean number of pups per mother rat was about 10 and not significantly different from that of the control group. The survival rate of pups on the day following birth was very low (0.9%) in Group A and not high (47.1%) in Group B, but high in Groups C, D and E (near 90%). The survival rate at a week after birth became zero in Group A, slightly decreased in Group B and rapidly decreased in Group D; while it was more than 70% in Groups C and E (Table 2). In group A the mothers were observed not to look after their pups. The body weight of live offspring was

Table 1 Interval between administration of RU486 in rats in late pregnancy and parturition

	Group					untreated
	A	B	C	D	E	
Number of dams	11	17	14	13	10	164
Hours to onset of parturition after administration	25.4 ± 0.8	29.6 ± 0.7	29.1 ± 0.5	26.3 ± 0.6	24.3 ± 1.2	—
Range of hours to onset of parturition (h)	12	12	9	9	15	36
Duration of pregnancy (day)	20.81 ± 0.03	21.24 ± 0.03	21.46 ± 0.02	21.60 ± 0.02	21.76 ± 0.05	22.40 ± 0.02
(M ± SE)						

A significant difference was observed between Groups B, C and Groups A, D, E, respectively, in hours to onset of parturition after RU486 administration ($P<0.01$ in C and E : $P<0.01$ in B and A, D, E ; $P<0.001$ in C and A, D).
A significant difference was also observed between each group in duration of pregnancy ($P<0.05$ in D and E : $P<0.001$ in A and B, B and C, C and D, E and untreated).

Table 2 Litter size, survival rate and weight of pup after administration of RU486 in rats in late pregnancy

	Group					untreated
	A	B	C	D	E	
Number of dams	11	17	14	13	10	164
Litter size at parturition	10.2 ± 0.5	10.0 ± 0.5	10.0 ± 0.3	10.5 ± 0.3	10.3 ± 0.6	10.5 ± 0.1
Survival rate after 1 day (%)	0.9	47.1	92.9	86.8	91.3	
Survival rate after 1 week (%)	0	35.3	79.3	40.9	71.8	
Body weight (g) of pup after 1 week	—	9.6 ± 0.2	10.9 ± 0.1	11.5 ± 0.2	11.2 ± 0.2	
(M ± SE)						

around 10g and not significantly different among groups (Table 2).

Discussion

Single subcutaneous injection of RU486(5 mg/kg body weight) was effective in inducing earlier and synchronous parturition in late pregnancy in rats. The dose used per rat was about 5 fold less than that of an earlier report of Bosc et al.¹⁴⁾. When RU486 was injected at proper timing (at 6:00 on Day 21), all offsprings were born within 9 hours in the day time and their survival rate was high. This synchronized delivery by injecting RU486 at 6:00 on Day 21 was repeatedly confirmed in another observations tried in our laboratory (data were not shown).

Intervals from RU486 administration to parturition averaged 27.3h. Administration at Group B and C slightly extended the intervals but the difference was

only about 3 hours. The invariability of treatment-parturition intervals was not consistent with earlier reports¹⁴⁾ and the discrepancy might be caused by a difference of administration method and dose of RU486. The distribution of onset of parturition ranged 9 ~15h in rats after RU-administration while it ranged 36h in control.

The invariability of interval between administration and parturition and the compacted distribution of hours to onset of parturition may be regulated by pharmacological effect of RU486 but not likely by lighting regime because the phenomena occurred regardless of the time of administration.

Bosc et al.¹⁴⁾ suggested that a factor to induce parturition with RU486 is luteolysis leading to decrease of blood progesterone. We observed preliminarily that blood progesterone never decreased soon after the RU486 injection until parturition in pregnant rats

(Umezu unpublished data). The induced parturition might be caused by competition of RU486 with endogenous progesterone for the receptor in pregnant uterus^{1~3)}. But more data should be added to clarify this conception.

Survival rate in newborn rats was very low in Group A in which RU486 was injected at Day20 (18:00). In earlier work, the agent was not administered at so earlier stage in pregnancy¹⁴⁾ and behavior of dam's lactation and pup's suckling seemed insufficient to maintain pup's survival.

The survival rate of pups 1 week after parturition with RU486 was more than 70% in Groups C and E but not in Group D but the growth of pups was not different among all groups of the administration. It is speculated that some mothers happened to be too nervous to feed their pups in Group D.

In conclusion, we could induce parturition in late pregnant rats with subcutaneous and smaller dose of RU486. This simple and effective method using RU486 may be useful in inducing synchronous parturition in rats.

Acknowledgement

Authors thank Roussel-Uclaf, Paris, France for a supply of synthetic steroid RU486 and are grateful to Mr.Hiroaki Miyano for his technical assistance and taking care of animals.

The presentation of this study was made at the conference of the 78th Japanese Society of Animal Reproduction at Niigata in 1990.

References

- 1) Baulieu EE, Cntragestation and other clinical application of RU486, an anti-progesterone at the receptor. *Science* 245: 1351, 1989
- 2) Baulieu EE, The antisteroid RU486. Its cellular and molecular mode of action. *Trends Endocrinol Metab* 2: 133, 1991
- 3) van Look PFA, and Bydegman M, Antiprogesterone steroids. *Oxford Rev Reprod Biol* 11: 1, 1989
- 4) Herrmann WL, Wyss R, Riondel A, et al., The effects of antiprogesterone steroid in woman: Interruption of the menstrual cycle and of early pregnancy. *C R Acad Sci (Paris)* 294: 933, 1982
- 5) Herrmann WL, Scidler AM, Wyss R, et al., Effects of the antiprogesterone RU486 in early pregnancy and during the menstrual cycle. In: Baulieu EE and Segal SJ eds., *The antiprogesterone steroid RU486 and human fertility control*. p179, Plenum Press, 1985
- 6) Hodge GD, Pregnancy prevention by intravaginal delivery of a progesterone antagonists: RU486 tampon for menstrual induction and absorption. *Fertil Steril* 44:263,1985
- 7) Philbert D, Manguilewsky M, Mary L, et al., Pharmacological profile of RU486 in rats: Efficacy in terminating early pregnancy in the rat. The antiprogesterone steroid RU486 and human fertility control. p71, Plenum Press, 1985
- 8) Chang, CC, Segal SJ and Bardin CW, In vivo assessment of anti-progesterone and anti-glucocorticoid activities of RU486 in rat: Efficacy in terminating early pregnancy in the rat. The antiprogesterone steroid RU486 and human fertility control. p71, Plenum Press 1985
- 9) Umezu M, Tadano M, Furusawa T, et al., Interruption of pregnancy by RU486, an antiprogesterone compound and subsequent reproductivity in rats. *Jpn J Fertil Steril* 33: 431,1988
- 10) Tsujii T, Effect of the antiprogesterone agent RU486 in pregnant rats. *Jpn J Fertil Steril* 34: 37, 1989
- 11) Sankai T, Endo T, Kanayama K, et al., Interruption of pregnancy by antiprogesterone compound RU486 and subsequent fertility in rabbits. *Jpn J Fertil Steril* 36: 211, 1991
- 12) Sankai T, Endo T, Kanayama K, et al., Antiprogesterone compound, RU486 administration to terminate Pregnancy in dogs and cats. *J Vet Sci* 53: 1069, 1991
- 13) Olson PN, Johnson SD, Root MV, et al., Terminating pregnancy in dogs and cats. *Anim Reprod Sci* 28: 399, 1992
- 14) Bosc MJ, German G, Nicolle A, et al., Control of birth in rats by RU486, antiprogesterone compound *J Reprod Fert* 79: 1, 1987
- 15) Li Y, Huang C, Klindt J, et al., Divergent effects of antiprogesterone, RU486, on progesterone, relaxin and prolactin secretion in pregnant and hysterectomized pigs with aging corpora lutea. *Endocrinology* 129: 2907, 1991
- 16) Gazal OS, Li Y, Schabe C, et al., Attenuation of antepartum relaxin surge and induction of parturition by antiprogesterone RU486 in sheep. *J Reprod Fert* 97 233 1991
- 17) Li Y, Perezgrovas R, Gazal OS, et al., Antiprogesterone, RU486, facilitates parturition in cattle.

Endocrinology 129: 765, 1991

**ラットの誘起分娩に及ぼす
抗プロジェステロン剤 (RU486) の
単一投与の効果**

東北大学農学部

梅津元昭, 菅原七郎

農林水産省畜産試験場

橋爪一善

誘起分娩に及ぼす抗プロジェステロン剤の単一投与の効果をラットで調べた。

妊娠後期のラットにゴマ油に溶かしたRU486を5mg/kg・bwの単一量で皮下注射した。腔における腔栓

または精子の存在する日を妊娠第1日 (Day 1) とし、妊娠ラットはRU486処理に従って5群: A群 (18:00, Day20, 11匹), B群 (0:00, Day21, 17匹), C群 (6:00, Day21, 14匹), D群 (12:00, Day21, 13匹), E群 (18:00, Day21, 10匹) に分けられた。分娩時に3時間間隔で観察を行い、母親の行動、新生子の産子数と生存率が観察された。得られたデータを自然分娩 (対照群) の記録と比較した。分娩の開始時間は、RU486を処理したすべての群で有意に早かった ($P<0.001$)。

分娩開始時間の分布は対照群の36hに対して処理群では9~15hにわたっていた。C群では分娩開始時間の分布は9hで、すべて照明時間の明の時間帯にあった。分娩翌日 (1週間後) の新生子の生存率はA, B, C, DとE群でそれぞれ、0.9% (0%), 47.1% (37.3%), 92.9% (79.3%), 86.8% (40.9%), 91.3% (71.8%) であった。

(受付: 1994年3月9日)

(受理: 1994年6月14日)

子宮内膜症合併不妊婦人における GnRHアナログ療法の有効性の検討

Efficacy of GnRH Analogue Treatment for Endometriosis Associated with Infertility

京都府立医科大学産婦人科学教室

細川 健一
Kenichi HOSOKAWA

大野 洋介
Yohsuke OHNO
岡田 弘二
Hiroji OKADA

藤本 泰子
Yasuko FUJIMOTO

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

微症子宮内膜症と不妊症との関連性のついてははまだ明確に解明されておらず、その病態に対してのGnRHアナログ (intranasal buserelin ; Sprecur) の有効性も未知数である。

そこで、1991年1月1日から1993年6月30日の間に当科不妊外来を受診し、腹腔鏡検査にて子宮内膜症の確定診断が得られた挙児希望婦人61例を対象に、当科の内膜症治療プロトコールに従って治療を行い、その妊娠率を治療効果として検討した。

R-AFS I期の微症内膜症では腹腔鏡後の待機期間の妊娠率も25%と高く、GnRHアナログ療法(治療後妊娠率35%)の有用性を積極的に示唆することはできなかった。R-AFS II～Ⅲ期の軽症から中等症の内膜症ではGnRHアナログ療法後の妊娠率のほうが高い傾向にあったが統計的有意差は認められなかった(R-AFS II期; 0%: 33%, R-AFS III期; 20%: 43%)。R-AFS IV期の重症内膜症ではGnRHアナログ治療の有無にかかわらず、妊娠率は極端に低下していた(5%: 12%)。

今回の検討からは挙児希望内膜症婦人に対する妊娠成立という観点からの、GnRHアナログ療法の有用性を積極的に示唆する成績を得ることはできなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 398 - 402, 1994)

緒 言

近年、挙児希望婦人に対して腹腔鏡検査を行う施設が急速に増加している。腹腔鏡検査は比較的短時間にリプロダクション関連臓器をはじめとする腹腔内の環境が詳細かつ正確に観察でき、得られる情報量が多く不妊症で悩むカップルにとってきわめて有用な検査であると言える。

腹腔鏡検査の進歩、普及とともにクローズアップされてきた病態のひとつに子宮内膜症があり、特にminimalからmildな内膜症病変がかなりの頻度で発見されるようになってきており注目を集めている。子

宮内膜症と不妊症との関連性については正確な疫学的データはあまり見受けられないが内膜症婦人の30～40%が不妊であり、不妊婦人の6～15%が内膜症を主原因としていと考えられている¹⁾。もちろん内膜症を有する婦人でもその多くが正常に自然妊娠していると考えられるが、一方ごく軽微な内膜症病変しか認められない婦人が不妊症を含め多彩な症状に悩まされているという事実はまさにdisease of enigmaと言える。子宮内膜症に対する治療法は1950年代は高容量エストロゲン療法、1960～70年代はプロゲステロン単独療法、偽妊娠療法、1980年代はダナゾール療法と変遷し1990年代にはGnRHアナログが開発

され現在汎用されている²⁾。GnRHアナログは副作用も今までのホルモン療法に比べて非常に少なく、子宮筋腫による過多月経や子宮内膜症による月経困難症治療だけでなく排卵誘発，とりわけIVF-ET時のLH surgeの抑制など広く応用されている。しかし不妊症の原因としての子宮内膜症に対してどの程度有効なのかは未知数であり漫然と使用されている場合が多いと思われる。そこで我々は腹腔鏡にて子宮内膜症と診断し，当科の挙児希望婦人に対する内膜症治療プロトコルに従って治療が行われた症例を対象にその後の妊娠率を治療効果として検討した。

対 象

対象は1991年1月1日から1993年6月30日までの二年半の間に当科不妊外来を受診し腹腔鏡検査にて子宮内膜症の確定診断が得られた61例である。腹腔鏡施行症例は他の検査にて子宮内膜症が疑われたもの，卵管障害が疑われたもの，子宮卵巣の腫瘍が疑われたものなどのほか，排卵障害による不妊症と診断され，排卵誘発剤により排卵が誘発されたにもかかわらず一年以上妊娠の成立がみられないような症例，さらに原因不明の不妊症例などである。

方 法

今回対象にした婦人は全例全身麻酔下にオリンパス細型腹腔鏡にて腹腔内を観察し(内膜症病変の有無など)，インジゴカルミンによる卵管通色素検査，生理食塩水による腹腔内洗浄を行ったが，癒着や内膜症病変が認められた場合でもその剥離術や焼灼術は行わず純粋に診断的腹腔鏡検査のみを施行したものとした。検査後，子宮内膜症が発見された症例に対しては当科における内膜症治療プロトコルに従って治療を開始した。まず腹腔鏡施行後3周期は薬物療法は行わず待機療法(経過観察，性交日指導のみ)とし，ここで妊娠の成立をみない場合，GnRHアナログ(酢酸ブセレリン＝スプレキュア)900 μ g/dayの経鼻的噴霧投与などの薬物療法を4～6ヶ月施行し，その後一部の症例に対しては排卵誘発剤の併用などを行い6周期以上フォローアップした。薬物療法終了後6周期以内の妊娠成立を薬物の治療効果があったものと判定した(図1)。

成 績

1991年1月1日から1993年6月30日までの二年半の間に当科を受診した353症例の不妊原因は(図2)，排卵障害が89例と最も多く，ついで子宮内膜症79

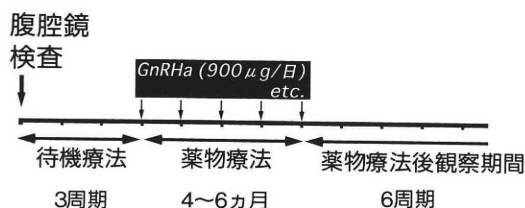


図1 内膜症治療プロトコル

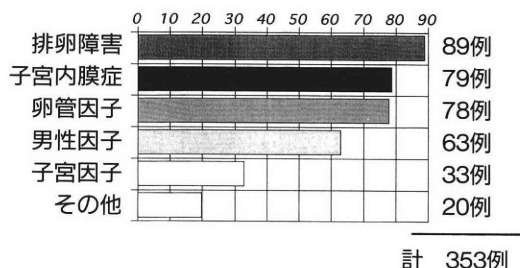


図2 当科における同時期の不妊原因別分類

例，卵管因子78例と続いた。このうち49%にあたる174例に診断的腹腔鏡検査が施行されている。もちろん，症例によっては複数の要因を有しているものもあり，一概には断言するのは難しいがこれまでの報告に比べて内膜症と診断された症例の多いことが注目すべき点だと思われる。

腹腔鏡検査にて子宮内膜症の確定診断が得られた症例に対してrevised AFS内膜症進行期分類をもちいてI～IV期に期別分類を行い，腹腔鏡検査後の待機療法による妊娠，GnRHアナログ療法後の妊娠についてそれぞれ妊娠症例数および妊娠率を算出した。待機療法群，GnRHアナログ療法群の対象症例の年齢，不妊期間，両側ともに卵管の通過性が保たれている症例の割合，原発不妊の割合などについては有意差はなく(表1)，また妊娠群(待機療法またはGnRHアナログ療法による)と非妊娠群との比較においても各因子に有意差は認められなかった(表2)。両側卵管とも閉塞している症例や男性因子など他に不妊原因が考えられるような症例は対象より除外した。

腹腔鏡診断による内膜症進行期分類別頻度はI期が24例，II期が6例，III期が10例，IV期が21例の計61例で，そのうち妊娠に至った症例はI期が24例中13例(54%)，II期が6例中2例(33%)，III期が10例中5例(50%)，IV期が21例中4例(19%)であった。治療法別にみると待機，経過観察中に61例中9例，15%が，GnRHアナログ療法施行後は47例中13例，28%が妊娠に至った。全体としてみると腹腔鏡にて内膜

表 1 対象症例

治療法	n	年齢*	不妊期間*	両側卵管通過症例の割合**	原発不妊の割合**
		(歳)	(年)	(%)	(%)
待機療法	61	31.2 ± 3.3	4.7 ± 2.8	65.6	73.8
GnRHa療法	47	31.3 ± 3.2	4.6 ± 2.7	63.8	66.0

*N. S.; unpaired t-test, 2-tail

**N. S.; chi-square test

表 2 妊娠, 非妊娠群における各因子の比較

治療法	n	年齢*	不妊期間*	両側卵管通過症例の割合**	原発不妊の割合**
		(歳)	(年)	(%)	(%)
妊娠群 待機療法	9	31.1 ± 3.7	3.9 ± 2.5	77.8	100
GnRHa療法	13	30.4 ± 2.3	4.5 ± 2.2	61.5	69.2
非妊娠群	34	31.6 ± 3.4	4.7 ± 3.0	64.7	64.7

*N. S.; One Factor ANOVA

**N. S.; chi-square test

表 3 全妊娠数および妊娠率

治療法	内膜症進行期	R-AFS分類				計
		I	II	III	IV	
待機療法		6/24 (25%)	0/6 (0%)	2/10 (20%)	1/21 (5%)	9/61 (15%)
GnRHa療法後		6/17 (35%)	2/6 (33%)	3/7 (43%)	2/17 (12%)	13/47 (28%)
その他		1/1 (100%)	0/0 (0%)	0/1 (0%)	1/3 (33%)	2/5 (40%)
全体		13/24 (54%)	2/6 (33%)	5/10 (50%)	4/21 (19%)	24/61 (39%)

妊娠数 / 症例数 (妊娠率)

症と診断された61例中24例(39%)が腹腔鏡施行後排卵9周期以内に何らかの方法で妊娠した(表3)。表中の「その他」は内膜症治療にダナゾールなどの薬剤を使用した場合や患者の希望により体外受精など配偶子操作を行った症例である。次に待機療法による妊娠率を進行期別にみると(図3), I期では24例中6例(25%), II期では6例中0例(0%), III期では10例中2例(20%), IV期では21例中1例(5%)が妊娠に至っており全体として61例中9例, 15%の妊娠

率であった。GnRHアナログ療法後では(図4), I期で17例中6例(35%), II期で6例中2例(33%), III期で7例中3例(43%), IV期で17例中2例(12%)が妊娠に至っており全体として47例中13例, 28%の妊娠率であった。各進行期別に待機療法期間中とGnRHアナログ療法後の妊娠率を比較してみると(図5), I期では待機療法25%に対してGnRH療法後35%と, GnRH療法後のほうが若干上回ってはいたが待機, 経過観察のみでもかなり高い妊娠率が得られた。II

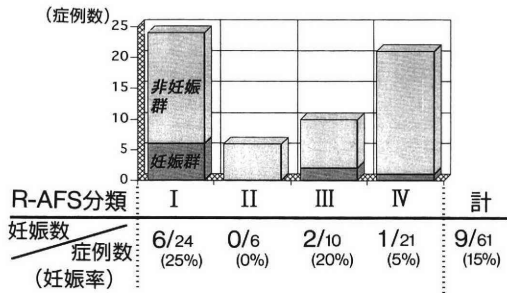


図 3 待機療法妊娠率

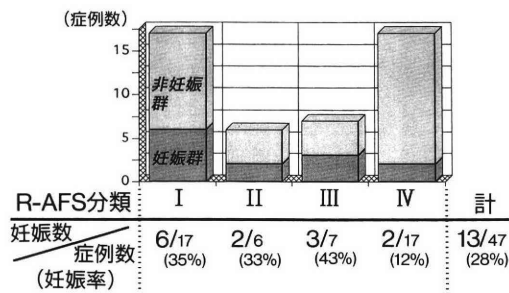


図 4 GnRHa療法後妊娠率

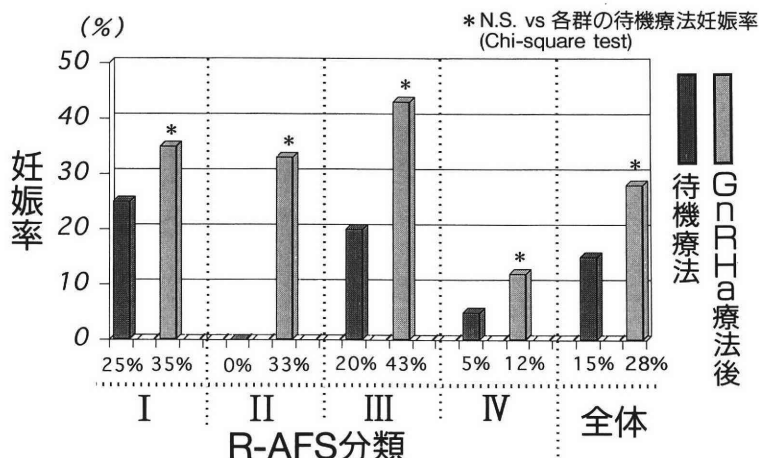


図5 治療法別妊娠率

期では待機療法0%に対してGnRH療法後33%, III期でも20%に対して43%とGnRH療法後のほうが高い妊娠率を示す傾向にあったものの、有意差は認められなかった。IV期では、おのおの5%, 12%とあまり差はなく待機療法期間中、GnRHアナログ療法後共にI~III期と比較して妊娠率は低値を示した。全体としてみた場合、待機療法15%に対してGnRH療法後28%とGnRH療法後のほうが高い妊娠率を示す傾向にはあったが、有意な妊娠率の向上を示唆することはできなかった。

考 察

今回の成績を検討したところ、R-AFS I期の微症な内膜症では待機妊娠率も25%と高く、GnRHアナログ療法の有用性を積極的に示唆することはできなかった。R-AFS II~III期の軽症から中等症の内膜症ではGnRHアナログ療法後の妊娠率のほうが高い傾向にあった。またR-AFS IV期の重症内膜症ではGnRHアナログ治療の有無にかかわらず、妊娠率は著明に低下していた。G. B. Candiani et al.³⁾は腹腔鏡検査にてR-AFS I~II期の微症から軽症の内膜症と診断された115名の不妊婦人に対して腹腔鏡検査直後よりdanazol 600mg/dayまたはgestrinone 5mg/weekまたはGnRHアナログ intranasal buserelin 1200 μ g/dayを投与した群と薬物療法は行わず待機療法にて経過観察した群との妊娠率を比較、検討している。それによると、18ヶ月間の累積妊娠率はそれぞれdanazol 44%, gestrinone 34%, intranasal buserelin 48%, 待機療法54%と各治療法間に有意差は認めなかったと報告している。また諸家の報告の多くが子宮内膜症の

外科的療法^{4~6)}または薬物療法^{7~10)}は待機療法と比較して妊娠率の向上をもたらさないとしている。しかしJansen¹¹⁾は軽微な内膜症は妊娠率を低下せしめ、またHammond et al.¹²⁾はダナゾール療法によってこれらの妊娠率を向上させることができると報告している。現在のところ、微症から軽症の内膜症と不妊症との関連性についてはProstaglandinやInterleukin-1など免疫因子の関与が注目され諸説述べられているが²⁾、いまだ明確に解明されていないのが現状である。今回の我々の検討においても、腹腔鏡検査にて、はじめて発見されるような微症な内膜症においてはGnRHアナログによる明らかな妊娠率の向上をみることはできなかった。しかし軽症から中等症の内膜症で卵巣、卵管などのリプロダクション関連臓器の癒着などGnRHアナログにより改善される器質的障害があると考えられる症例群においては有意ではないもののGnRHアナログ療法後のほうが妊娠率は高い傾向にあった。またR-AFS IV期のような重症内膜症を有する挙児希望婦人に対してはGnRHアナログ療法によっても高い妊娠率は期待できず、これらの症例にたいしては体外受精やGIFTなどの配偶子操作も積極的に行ったほうがよいと思われた。腹腔鏡検査が広く普及し子宮内膜症が高頻度に発見されるようになってきた現在、軽微な内膜症を伴う挙児希望婦人に対する治療法の検討が今後も必要であると思われた。

文 献

- 1) Barbieri RL and Hornstein MD, Medical Therapy for Endometriosis. 1ed, p111, Endometriosis. Alan

R Liss Inc, 1987

- 2) Muse K, Endometriosis and Infertility. 1ed, p91, Endometriosis. Alan R Liss Inc, 1987
- 3) Candiani GB, Fedele L and Vercellini P, et al., Medical management of mild endometriosis associated with infertility. 1ed, p119, Endometriosis, The Parthenon Publishing Group, 1990
- 4) Garcia CR and David SS, Pelvic endometriosis, infertility and pelvic pain. Am J Obstet Gynecol 129: 740, 1977
- 5) Schenken RS and Malinak LR, Conservative surgery versus expectant management for the infertile patient with mild endometriosis. Fertil Steril 37: 183, 1982
- 6) Guzik DS and Rock JA, A comparison of danazol and conservative surgery for the treatment of infertility due to mild or moderate endometriosis. Fertil Steril 40: 580, 1983
- 7) Bayer SR, Seibel MM, Saffan DS, et al., Efficacy of danazol treatment for minimal endometriosis in infertile women. A prospective randomized study. J Reprod Med 33: 179, 1988
- 8) Hull ME, Moghissi KS, Magyar DF, et al., Comparison of different treatment modalities of endometriosis in infertile women. Fertil Steril 47: 40, 1987
- 9) Thomas EJ and Cooke ID, Successful treatment of asymptomatic endometriosis: does it benefit infertile women? Br Med J 294: 1117, 1987
- 10) Henzl MR, Corson SL, Moghissi K, et al., Administration of nasal nafarelin as compared with oral danazol for endometriosis. A multicenter double-blind comparative clinical trial. N Eng J Med 318: 485, 1988
- 11) Jansen RPS, Minimal endometriosis and reduced fecundability: prospective evidence from an artificial insemination by donor program. Fertil Steril 46: 141, 1986
- 12) Hammond MG, Jordan S, Sloan CS, Factors affecting pregnancy rates in a donor insemination program using frozen semen. Am J Obstet Gynecol

155: 480, 1986

Efficacy of GnRH analogue treatment for endometriosis associated with infertility

Kenichi Hosokawa, Yohsuke Ohno,
Yasuko Fujimoto, Hiroji Okada

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

According to the recent widespread use of diagnostic laparoscopy in gynecology, the frequency of detecting minimal or mild endometriosis in infertile women has increased. The distinct mechanism by which minimal or mild endometriosis causes decreased fertility is not well known, furthermore, the efficacy of GnRH analogue (intranasal buserelin = Sprecur) is obscure.

This study included 61 infertile patients who were diagnosed in our hospital as having suffered from endometriosis by laparoscopy for two and half years (1991. 1. 1 ~ 1993. 6. 30). With these patients, we studied the difference of pregnancy rates between the expectant management group and the GnRH analogue treatment group according to our "Protocol of the treatment for endometriosis-associated infertility diagnosed by laparoscopy".

In the minimal endometriosis group (R-AFS I), the pregnancy rate of the expectant management group was sufficient (25%), so we could not suggest the efficacy of GnRH analogue treatment (pregnancy rate 35%, N. S.). In the mild and moderate endometriosis groups (R-AFS II and III), the pregnancy rate of the GnRH analogue treatment group tended to be higher (R-AFS II; 0%: 33%, N. S. R-AFS III; 20%: 43%, N. S.). In the severe endometriosis group (R-AFS IV), the pregnancy rate in both groups was extremely low (5%: 12%, N. S.).

In this study, we could not find that GnRH analogue treatment improves the pregnancy rate in infertile women suffering from endometriosis.

(受付: 1994年4月4日)

(受理: 1994年6月16日)

当院におけるヒト凍結・融解胚移植周期の成績

The Results of Human Frozen-Thawed Embryo Transfer Cycles in Our Clinic

永遠幸マタニティクリニック

高塚 亮三
Ryozo TAKATSUKA

長井 澄絵
Sumie NAGAI

豊北 美穂
Miho TOYOKITA

辻 敏徳
Toshinori TSUJI

加藤 修
Osamu KATO

藤波 隆一
Ryuichi FUJINAMI

道倉 康仁
Yasuhito MICHIKURA

Towako Maternity Clinic
Ishikawa 923, Japan

1991年1月から1993年8月までに当院で行ったヒト凍結・融解胚移植周期の結果についてretrospectiveに解析を行った。194症例、231周期にhCG投与および採卵して凍結周期との同期化を試みた凍結・融解胚移植を行い、63周期(23.7%)で妊娠が成立した。化学的妊娠が12周期(19.0%)、臨床的妊娠が11周期(17.5%)、妊娠継続中が9周期(14.3%)、分娩に至ったものは31周期(49.2%)；単胎26例、双胎4例、品胎1例であった。前核期で凍結した胚を用いた群(A群)、分割初期で凍結した胚を用いた群(B群)、前核期および分割初期の両方で凍結した胚を用いた群(C群)の順序で着床率は向上する傾向にあった(有意差なし)。妊娠率は患者の年齢とは無関係に一定であったが、流産率は加齢に伴い増加し、40歳以上では妊娠の成立した全症例が流産に終わった。40歳未満の症例では凍結・融解胚移植において胚数を3個またはcumulative embryo score (CES) 値を約40に調整して胚移植を行うのが最適と考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 403 - 410, 1994)

緒 言

ヒト体外受精胚移植(IVF-ET)において、余剰胚の凍結保存は妊娠率の向上や多胎妊娠の防止の観点より重要である。

1983年、Trounson¹⁾らによってヒト凍結融解胚移植による最初の妊娠例が報告されて以来10年が経過し、余剰胚の凍結保存はIVF-ETプログラムの関連技術として臨床的にも定着してきている。凍結保存の耐凍剤には前核期ないしは分割初期の胚に対してはpropanediol (PROH) を用いることが推奨されてきた²⁻⁴⁾。当院においてもPROHを用いて前核期ないしは分割初期で凍結保存した胚を凍結融解胚移植に供してきた。今日凍結保存は確立された方法に見える反面、臨床的には解決すべき問題点が多く残されているように思われる。特に前核期で胚の凍結を行

う場合に新鮮胚のまま移植するために残すべき胚数と凍結用として選択すべき胚のqualityについては議論のつきないところである。また、凍結融解胚移植に際して、融解すべき胚数も問題となる。

本研究においては当院において1991年1月から1993年8月までに行った凍結融解胚移植周期の結果についてretrospectiveに解析し、妊娠率の向上と凍結融解胚移植周期での多胎妊娠の防止について検討を行った。

対象および方法

前周期においてIVF-ET、接合子卵管内移植(ZIFT)または配偶子卵管内移植(GIFT)を行い、妊娠が成立しなかったか、継続しなかった患者に対して、1991年1月から1993年8月までに凍結融解胚移植を行った194症例、231周期を研究の対象とした。

凍結融解胚移植は原則として自然周期で行い、主席卵胞径が18mmに達した時点でhCGを投与し、採卵も行い、新鮮胚が得られれば、凍結融解胚と一緒に移植した。融解周期におけるhCG投与と採卵は新鮮胚を得ること以上に凍結周期と融解周期の同期化に必要であると思われる⁵⁾。

胚の凍結は基本的にはLassalleら²⁾の方法に従った。前核期または分割初期の胚を室温で20%血清加Dulbecco's PBSで洗浄後1.5M PROHを含む20%血清加PBSに胚と共に適量のPBSを持ち込み3～5分間静置後1.5M PROH液と完全に平衡させるために数回溶液内を転置させ10～12分後、さらに0.1M sucroseと1.5M PROHを含む20%血清加PBSに前と同じ要領で胚を持ち込み転置し、大体胚と溶液が平衡に達した後、0.25ml ストロー (0.25ml ストロー精液管、富士平工業製) に0.1M sucrose + 1.5M PROH液の約0.1mlを吸入し、さらに0.05mlの溶液と共に胚を吸入、胚をmeniscusから5 mm離れた位置に置き電気ゴテでストローを圧封した。ストロー内で0.1M sucrose + 1.5M PROH液と胚内が完全に平衡したと考えられる時間(本溶液移入後約15分)が経過した後、あらかじめ20℃に調節したprogram freezerのchamberにストローを水平に置いた。使用したprogram freezer (大同ホクサン製) は自動植氷装置付きであるが、手作業で植氷を行った。冷却は20℃から0.1M sucrose + 1.5M PROH液の凝固点直前(−6.8～−7.0℃)まで2℃/minの降温速度で行い、この温度に10分間保つ間に胚から4.5cm離れた位置に植氷した。さらに、0.3℃/minの降温速度で−30℃まで冷却した後、−80℃まで急速冷却し、この温度に10分間保ちストロー内結晶が安定化した後液体窒素中に投入した。

胚の融解には急速融解法を用い、ストローを液体窒素素から取り出した後、1分20秒後に内容物を37℃まで昇温させた。室温にて4段階でPROHおよびsucroseを除去した後、胚を培養系に移した。前核期で凍結した胚は融解後更に1日追加培養し、分割初期で凍結した胚は1時間以上追加培養し移植を行った。

移植に供する胚の評価はSteerら^{6,7)}の方法に従い移

植直前の胚に対して行った。評価は割球の均一性、fragmentationの有無を基準としてGrade 1からGrade 4の4段階法で行い、Grade 1の胚は廃棄し、Grade 2からGrade 4の胚のみを移植に供した。個々の胚のスコア(ES)はGrade数と割球数の積で表わされ、移植した胚のスコアの和をCumulative Embryo Score (CES) と呼び妊娠に対する胚の寄与の基準とした。

胚移植は主に“Towako method”⁸⁾で行い、子宮内膜が薄くこの方法が不可能な症例に対しては従来法を適用した。

統計処理は必要に応じてStudent's T-testまたは χ^2 test (期待度数が5以下の場合はFisher法)で行った。

結 果

融解した胚総数は827個で、そのうち前核期で凍結した胚は683個(82.6%)、分割初期で凍結した胚は144個(17.4%)であった。融解直後の評価では凍結による胚の損傷率は前核期で凍結した場合に17.6%、分割初期で凍結した場合に17.4%とほぼ同じ値であった。しかし、最終的に移植に用いることのできた胚の割合は、前核期で凍結した場合に61.9%、分割初期で凍結した場合に72.2%で、分割胚での凍結の場合の方が有意に高かった(Table 1)。

凍結・融解胚移植を行った194症例、231周期のうち前核期に凍結した胚を用いて移植を行った群(Group A)は183周期で、149個の新鮮胚も同時に移植した。分割初期に凍結した胚を用いて移植を行った群(Group B)は39周期で、移植した胚には34個の新鮮胚が含まれる。前核期に凍結した胚に分割初期に凍結した胚も加えて移植を行った群(Group C)は9周期で、6個の新鮮胚も同時に移植した。平均妊娠率は全体として27.3%であり、Group Aが最も妊娠率が低く、Group Cが最も妊娠率が高かったが、各群の妊娠率の間には有意差は認められなかった。妊娠例のうち化学的妊娠例は12例(19.0%)、臨床的妊娠例は11例(17.5%)であった。多胎妊娠率は全体として12.7% (8/63)であった。移植胚当りの着床率は全体として10.3%でGroup Cで着床率が最も高かったが各

Table 1 Results of cryopreservation

	Stage at Freezing		Overall
	Pronuclear	Cleavage	
No.thawed embryos	683	144	827
No.cryoinjured embryos	120 (17.6%)	25 (17.4%)	145 (17.5%)
No.embryos served to ET	423 (61.9%) ^{a)}	104 (72.2%) ^{b)}	527 (63.7%)

a - b; P < 0.05

Table 2 Outcomes of frozen-thawed embryo transfer

	Group A ¹⁾	Group B ²⁾	Group C ³⁾	Overall
ET cases				194
ET cycles	183	39	9	231
No.embryos transferred	554	123	39	716
Frozen-thawed	405 / 554 = 73.1%	89 / 123 = 72.4%	33 / 39 = 84.6%	527 / 716 = 73.6%
Fresh	149 / 554 = 26.9%	34 / 123 = 27.6%	6 / 39 = 15.4%	189 / 716 = 26.4%
Preg. rate ⁴⁾	45 / 183 = 24.6% ^{a)}	14 / 39 = 35.9% ^{b)}	4 / 9 = 44.4% ^{c)}	63 / 231 = 27.3%
Delivered	25 (1 twin, 1 triple)	3 (1 twin)	3 (2 twin)	31 (4 twin, 1 triple)
Ongoing	7 (1 twin, 2 triple)	2	0	9 (1 twin, 2 triple)
Clinical	5	5	1	11 / 63 = 17.5%
Chemical	8	4	0	12 / 63 = 19.0%
Implantation rate ⁴⁾ (per embryo transferred)	53 / 554 = 9.6% ^{d)}	15 / 123 = 12.2% ^{e)}	6 / 39 = 15.4% ^{f)}	74 / 716 = 10.3%

1) Group A used embryos frozen at pronuclear stage.

2) Group B used embryos frozen at cleavage stage.

3) Group C used embryos frozen at pronuclear and cleavage stages.

4) Statistical analyses; a - b, b - c, c - a, d - e, e - f, f - d; not significantly different.

Table 3 Mean CES and mean number of embryos transferred for Groups A, B and C

	Group A (n = 183)		Group B (n = 39)		Group C (n = 9)	
	Preg. (n = 45)	Non preg. (n = 138)	Preg. (n = 14)	Non preg. (n = 25)	Preg. (n = 4)	Non preg. (n = 5)
Mean CES ± SD	42.8 ± 15.6 ^{a)}	36.1 ± 15.8 ^{b)}	43.6 ± 14.4	41.4 ± 17.4	52.5 ± 27.7	49.0 ± 11.9
	37.8 ± 16.0 ^{c)}		42.2 ± 16.2		50.6 ± 19.0 ^{d)}	
Mean No. embryos ± SD transferred	3.2 ± 1.1	3.0 ± 1.0	2.9 ± 0.8	3.3 ± 1.1	4.3 ± 1.0	4.4 ± 0.9
	3.0 ± 1.0 ^{e)}		3.2 ± 1.0 ^{f)}		4.3 ± 0.9 ^{g)}	

Statistical analyses; a - b, c - d, f - g, g - e; P < 0.05.

群の着床率の間には有意差は認められなかった (Table 2).

周期当たりの平均CES値は全周期を妊娠群と非妊娠群に分類したときに妊娠群で有意に高値を示したが、妊娠群と非妊娠群ではGroup Aにおいてのみ妊娠群で有意に高値であった。またGroup Cの全周期の平均CES値はGroup Aに比べて有意に高かった。平均移植胚数については、Group AとGroup Bの妊娠群、非妊娠群、さらに全体としての値のいずれもが比較し得る数値であったが、Group Cの全体としての平均CESは前二者に比べて有意に高かった (Table 3).

Table 4には周期当たりの移植胚数に対する実際の妊娠率と見かけの妊娠率がまとめてある。ここで見かけの妊娠率とは確認された胎児数を移植周期で割った値をパーセント表示したものである。移植胚数を増加すると実際の妊娠率は増大するが、さらに移植胚数を増加させても実際の妊娠率はほとんど同じであった。他方見かけの妊娠率は移植胚数4個の場合以外

Table 4 Influence of the number of embryos transferred on pregnancy rate and apparent pregnancy rate¹⁾

No. embryos transferred	Real preg. rate	Apparent preg. rate
1	1 / 8 = 12.5%	12.5%
2	12 / 61 = 19.7%	19.7%
3	31 / 89 = 34.8%	34 / 89 = 38.2% ²⁾
4	12 / 53 = 22.6%	13 / 53 = 24.5% ³⁾
≥ 5	7 / 20 = 35.0%	14 / 20 = 70.0% ⁴⁾

1) Apparent preg. rate was calculated by the number of fetus / the number of ET cycles.

2) Pregnancy cases involved one twins and one tripletone.

3) Pregnancy cases involved one twins.

4) Pregnancy cases involved three twins and two tripletone.

合以外は移植胚数に伴って増大した。

Fig. 1はTable 4をグラフに表わしたものであるが、ここで移植胚数4個の場合を除外して移植胚数(X)に対して見かけの妊娠率(Y₁)をプロットすると、

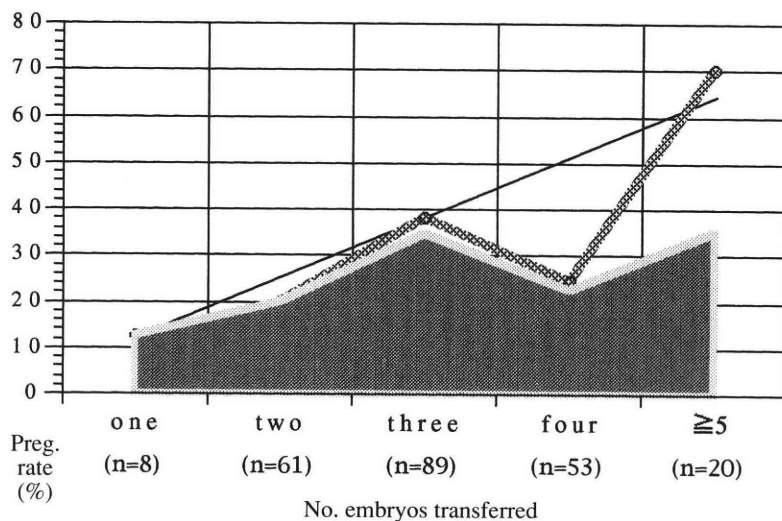


Fig.1 Plots¹⁾ of the number of embryos transferred vs real pregnancy rate or apparent pregnancy rate

1) The painted region shows real preg. rate, the folding line apparent preg. rate, and the straight line the tentative regression curve ($Y_1 = 13.1X - 0.92$; $r^2 = 0.987$, $r = 0.993$) drawn for apparent preg. rate under excluding the point of four transferred embryos.

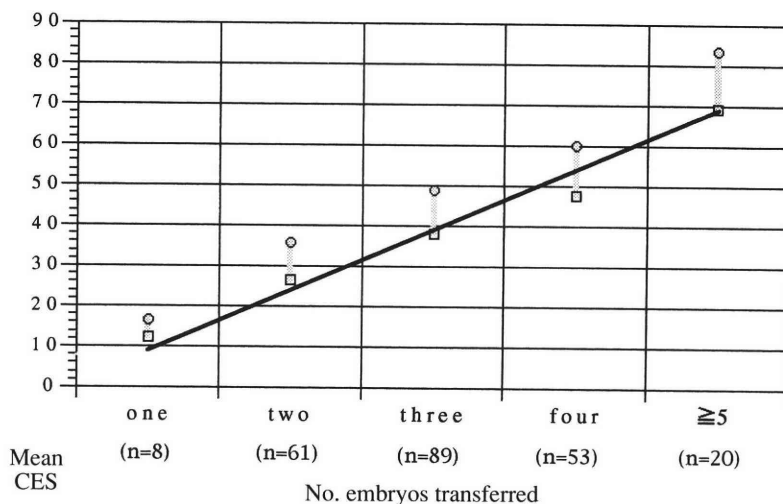


Fig.2 Plot¹⁾ of the number of embryos transferred vs mean CES

1) Regression curve $\square$ — $\square$ ($Y_2 = 14.9X - 5.9$; $r^2 = 0.986$, $r = 0.993$) and standard deviation $\square$ — $\circ$.

Table 5 Influence of age on mean number of embryos transferred per cycle, pregnancy rate and abortion rate after frozen-thawed ET

Age group (yr)	Mean number of embryos transferred	Preg.rate	Abortn.rate ¹⁾
< 30	3.0 ± 1.0	16 / 57 = 28.1%	3 / 16 = 18.8% ^{a)}
30 ~ 34	3.2 ± 1.1	26 / 99 = 26.3%	9 / 26 = 34.6% ^{b)}
35 ~ 39	3.1 ± 1.0	16 / 58 = 27.6%	6 / 16 = 37.5% ^{c)}
≥ 40	3.2 ± 1.2	5 / 17 = 29.4%	5 / 5 = 100% ^{d)}

1) Statistical analyses; a - b, b - c, c - a; not significantly different, and d - a, d - b, d - c; $P < 0.05$.

$Y_1 = 13.1X - 0.92$ (相関係数; 0.993) の回帰直線が得られた (Fig. 1).

移植胚数と周期当たりの平均CESとの間にはよい相関関係が成立した (Fig. 2).

妻の年齢を4つの階層に分類し、それぞれの階層に対する周期当たりの移植胚数および妊娠率と流産率をそれぞれ比較してみると、移植胚数と妊娠率は妻の年齢とは無関係にほぼ一定であったが、流産率は加齢と共に増加し、40歳以上の妊娠症例はすべて流産に終わった (Table 5).

妻の年齢各層に対する妊娠群と非妊娠群の周期当たりの平均CESを比較すると、30歳未満および30～34歳の階層では妊娠群と非妊娠群の平均CES値の乖離度が有意に大きい¹⁾が、加齢に伴って乖離度は小さくなり、40歳以上では妊娠群と非妊娠群の平均CES値は逆転した (Fig. 3).

考 察

今日ヒト凍結融解胚移植法はIVF-ETプログラムの関連技術として臨床的にも定着してきているが、検討すべき問題点も残されている。

第一にどの発生段階の胚を凍結保存すべきか問題である。耐凍剤については初期胚 (前核期ないしは4細胞期まで) の凍結にはPROHを、後期分割胚に対してはジメチルスルホキシド (DMSO) を、胞胚の凍結にはグリセロールを用いる方がよいとされている⁴⁾。

当院においては作業性および培養器のスペースの関係から初期胚の凍結をPROHを用いて行っている。胞胚期まで待つて凍結する方がすぐれた胚の選択に有利であろうが、長期培養に伴い必要な培養器のスペースが増大し、凍結に供することのできる胚数が極端に少なくなる。また用いている体外培養が体内よりもすぐれているとは考えられない現状で長期培養して胚の選択を行うことは過剰選択を行う恐れがあると考えられる。

当院における初期胚の凍結保存の結果は前核期胚での凍結でも分割胚 (8細胞期まで) での凍結でも凍結による胚の損傷率は同じであった。ここで凍結による胚の損傷を凍結による胚の選択と考えれば、本条件下での胚の選択は前核期胚での凍結でも、分割胚の凍結でも同率で起こると考えられる。最終的に移植に用いることのできた胚の割合が、前核期胚での凍結の場合よりも初期分割胚での凍結の場合の方が高かったのは分割胚までの培養の延長により胚の選択がさらに行われたためであり、この結果より前核期胚での凍結が著しく不利だとは考えられない。ただ、解凍に際してはこの点を十分留意しておく必要があり、移植胚数を3個確保するためには、当院の結果を基準にすれば、前核期胚での凍結の場合は6個、分割胚での凍結の場合は5個解凍する必要がある。したがって余剰胚が多い場合は前核期胚と分割胚の両方で凍結する方が作業量を増大させるが目

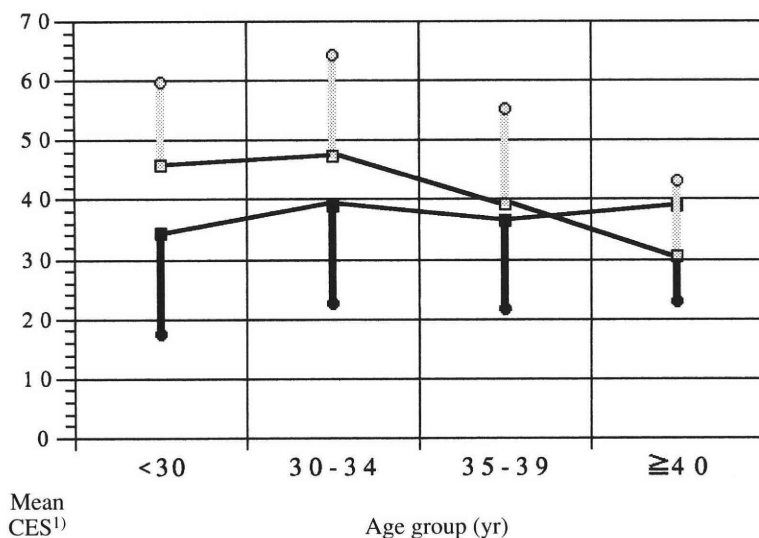


Fig.3 Mean CES of pregnant and non-pregnant groups for each age group

1) Open square is mean CES of pregnant group and closed square that of non-pregnant group. Open and closed circles are standard deviation. There are significant differences between mean CES's of pregnant and non-pregnant groups for age groups <30 and 30～34, respectively.

的の移植胚数を確保するためにはより有利である。本研究の対象期間中前核期胚の凍結保存により重点が置かれ、周期当りの凍結胚が10個を超える場合や凍結症例が1日4例を超える場合に処理能力の問題上分割胚での凍結も一部導入してきた。また新鮮胚移植は原則としてCES値の50以下で行っており、この原則に従って生じた余剰の分割胚も凍結保存した。

本研究においては、新鮮胚移植用には形態学的に良質の胚を用意し残りの胚を凍結保存するようにした。前核期胚に対しては胚の評価は難しく、当院においては二前核が明確で細胞質の中心に位置することを良質胚の基準とし、分割胚に対してはES値を基準とした。過排卵処理周期の子宮内膜が着床に適していない^{9,10)}という主張を重視するならば、形態学的に良質の分割胚を積極的に凍結保存する方法も考えられる。しかし、Cohen¹¹⁾やMandelbaum¹²⁾らのように自然周期で行った凍結融解胚移植と刺激周期での胚移植による妊娠率に差がないという報告もあり、現時点では良質の胚をなるべく胚移植ごとに用いる方が最善と考えられる。ただし、繰返しIVF-ETを行っても妊娠しない症例で、卵巣刺激による着床障害が疑われる場合に自然周期での凍結融解胚移植を積極的に試みることも必要かもしれない。

一方、前核期で凍結した場合(GroupA)より分割初期で凍結した場合(GroupB)の方が妊娠率が高かった。しかしこの両群におけるCES値と周期当りの移植胚数には差がなかった。前核期および分割初期の双方で凍結した胚を用いた場合(GroupC)に妊娠率は最も高くなり、このときのCES値と周期当りの移植胚数もGroupA, Bに比べて高かった。

GroupCの症例では周期当りの受精卵も多く、良質胚が得られやすいこと、解凍した前核期胚の分割状態を観察した後、必要に応じて初期分割胚も解凍でき、CES値を制御しやすいために妊娠率が高くなったものと考えられる。前に述べたごとく、この研究対象期間中は前核期胚の凍結保存に重点が置かれたが、妊娠率向上のためには分割胚での凍結についても検討する必要がある。

胚の凍結保存は新鮮胚移植周期における多胎妊娠の防止を目的の一つとしているが、妊娠に至らなかった患者としては不妊期間を短縮する観点から凍結融解胚移植周期において可能な限り多くの胚数の移植を希望する場合がある。当院においては凍結融解胚移植周期でもhCG投与と採卵を行い、そこで得られた新鮮胚も凍結融解胚と一緒に移植した周期も含

まれている。しかしこのhCG投与と採卵は新鮮胚を得ることを目的としたものでなく、凍結周期と融解周期の同期化をはかったものである。胚の凍結保存を伴うような刺激周期での新鮮胚移植周期と比べ肉体的負担も軽減されていることから、妊娠や着床に及ぼす条件が異なる可能性がある。そこで当院の凍結融解胚移植周期における移植胚数と妊娠率の関係について検討する。移植胚数の増加と共に妊娠率は増大するが移植胚数3個以上では妊娠率は高原状態になる。見かけの妊娠率は移植胚数4個以外は移植胚数とよい相関関係を示すことから、移植胚数をいわずらに増加させても多胎妊娠を増大させるのみで実際の妊娠率の向上につながらない。

Fig.4には式(1)で示される本研究で得られた見かけの妊娠率と移植胚数との直線回帰に基づき、実際の妊娠率は2項分布に従って起ると仮定した時の理論値を式(2)に示してある。観測された実際の妊娠率は移植胚数4個以上ではこの理論値をも下回り、移植胚数の増加は2項分布から予測されるよりもはるかに高い確立で多胎妊娠を惹起する可能性があることを示している。これは妊娠する確率は症例全体に一樣に分布するのではなく、妊娠する症例は移植胚数を多くしなくても妊娠しやすいことを示唆し、本研究の結果からは周期当りの移植胚数は3個が相当と考えられる。

凍結融解胚の評価にはSteerらが新鮮胚の評価に用いたCES値を活用した。胚の評価法としてNorfolk group^{13,14)}の方法もよく用いられるが、分割数を考慮していること、移植胚数の積算により各周期の総合的な胚評価が可能なことから前者の方法がよりすぐれているように思われる。

このような胚の評価法から得られた周期当りの平均CES値は移植胚数とよい相関関係を示し、多くの症例に対してはCES値を移植胚数と同義語として用いてもさしつかえない。しかし症例によっては凍結胚数が多くても良質の凍結融解胚数が少ない場合がある。このような場合は周期当りの移植胚数3個に相当するCES値40を目安として移植胚数を決定することができる。ただし、前核期胚で凍結した場合、融解後のCES値を予測することは難しく、この観点から融解後のCES値を調整しやすい分割胚での凍結も必要であると考えられる。移植胚中に1個の良好胚さえ含まれれば高い妊娠率が期待できるとの考え方もあるが¹⁵⁾、統計学的にみれば、複数個の胚移植で明らかに高い妊娠率が得られ、多胎妊娠の防止の見地より周期当りの移植胚数は3個、CES値40位が

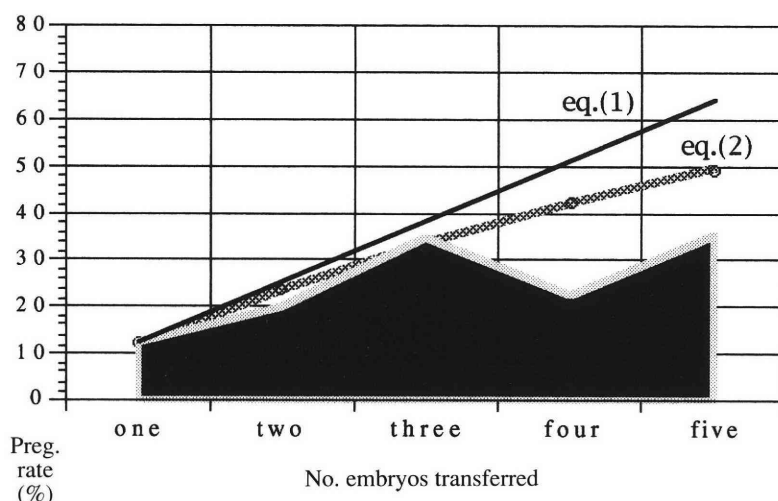


Fig.4 Difference between real pregnancy rate and theoretical that on basis of binomial distribution

Where eq. (1) is the tentative regression curve ($Y_1 = 13.1X - 0.92$) drawn for apparent preg. rate in Fig. 1, eq. (2) for theoretical preg. rate expected from binomial distribution on basis of eq. (1), and the painted region for real preg.rate, respectively.

望ましいと考えられる。

40歳以上の患者ではIVF-ETの成績は悪く、IVF-ET法の適用に年齢制限を設けている施設も多い。この成績の悪い原因として加齢に伴い、1)子宮内膜の受胎機能の低下^{16, 17, 18}、2)卵子の質の低下^{18, 19, 20}、3)刺激周期における採取卵数の減少²¹、4)流産率の上昇^{18, 21, 22}などが挙げられている。当院においてはIVF-ETを行うにあたって特に年齢制限を行っていない。また凍結融解胚移植後の妊娠率は年齢とは無関係に一定であった。しかし40歳以上では流産率は有意に高かった。このことは卵子の質の低下とも関係するものと考えられる。本研究において全体として妊娠群は非妊娠群より有意に胚の評価が高かったが、加齢と共にその差は小さくなり、40歳以上では非妊娠群にむしろ良質胚が多かった。これらのことより、40歳以上では刺激周期における採取卵数が多くて、子宮内膜の受胎機能が低下しなくても胚の質が低下していたり、胚の質が低下しなくても子宮内膜の受胎機能に問題があることが挙児の得難い原因となっていると考えられる。これらは凍結融解胚移植により改善される部分は少ないかもしれない。子宮内膜の受胎機能の改善はむしろWecksteinら¹⁹が主張するようにプロゲステロンの投与方法などによるところが大きい可能性がある。また胚移植はその卵子を採取した母体に対してのみにしか認められていない現状では良好な胚の得られる周期を待たなければならないが、40歳以上の高齢者に限っては多胎妊娠の可能

性が少ないといわれており、妊娠の機会を多くするため胚の凍結保存を行わずに得られたすべての胚を移植することも検討してみる必要がある^{17, 23}。

結論として40歳未満の症例では凍結融解胚移植の最適移植胚数は3個でそのCES値は40であり、この条件を満たす移植胚数を確保するためには分割胚での凍結がより有利であると考えられた。

文 献

- 1) Trounson A and Mohr L, Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryos. *Nature* 305: 707, 1983
- 2) Lassalle B, Testart J and Renard JP, Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1, 2 propanediol. *Fertil Steril* 44: 645, 1985
- 3) Cohen J, Kort HI, DeVane GW, et al., Cryopreservation of zygotes and early cleaved human embryos. *Fertil Steril* 49: 283, 1988
- 4) Trounson A and Jones G, Freezing of Embryos: Early vs Late Stages. *J Assist Reprod Genetics* 10: 179, 1993
- 5) 高塚亮三, 豊北美穂, 藤波隆一 他, 当院におけるヒト凍結融解胚移植の成績. 第10回日本受精着床学会講演抄録集 p125, 1992
- 6) Steer CV, Mills CL, Tan SL, et al., The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an in-vitro fertilization and embryo

- transfer programme. *Human Reprod* 7: 117, 1992
- 7) Mills CL, Factors affecting embryological parameters and embryo selection for IVF-ET. In: Brinsden PR and Rainsbury PA, eds, *A Textbook of in vitro Fertilization and Assisted Reproduction*. 1 ed, p191, The Parthenon Publishing Group Inc, 1992
 - 8) Kato O, Takatsuka R and Asch RH, Transvaginal-transmyometrial embryo transfer: the Towako method; experiences of 104 cases. *Fertil Steril* 59: 51, 1993
 - 9) Testart J, Evidence of uterine inadequacy to egg implantation in stimulated in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 47: 855, 1987
 - 10) Paulson RJ, Sauer MV and Lobo RA, Embryo implantation after human in vitro fertilization: importance of endometrial receptivity. *Fertil Steril* 53: 870, 1990
 - 11) Cohen J, Simons RT, Fehilly CB, et al., Factors affecting survival and implantation of cryopreserved human embryos. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 3: 46, 1986
 - 12) Mandelbaum J, Junca AM, Plachot M, et al., Human embryo cryopreservation, extrinsic and intrinsic parameters of success. *Human Reprod* 2: 709, 1987
 - 13) Veeck LL, Preembryo Grading. In: Veeck LL, ed, *Atlas of the Human Oocyte and Early Conceptus*. Volm. 2, p121, Williams and Wilkins, 1991
 - 14) Scott RT, Jones Jr HW, Hofmann GE, et al., Embryo quality and pregnancy rates in patients attempting pregnancy through in vitro fertilization. *Fertil Steril* 55: 426, 1991
 - 15) Lornage J, Boulieu D, Mathieu C, et al., Transfers of frozen-thawed human embryos in cycles stimulated by HMG. *Human Reprod* 5: 60, 1990
 - 16) Weckstein LN, Hampton K, Jacobson A, et al., Improvement of pregnancy rates with oocyte donation in older recipients with the addition of progesterone vaginal suppositories. *Fertil Steril* 60: 573, 1993
 - 17) Chetkowski RJ, Rode RA, Burrue V, et al., The effect of pituitary suppression and the women's age on embryo viability and uterine receptivity. *Fertil Steril* 56: 1095, 1991
 - 18) Feldberg D, Farhi J, Dicker D, et al., The impact of embryo quality on pregnancy outcome in elderly women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 7: 257, 1990
 - 19) Navot D, Bergh P, Williams MA, et al., Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet* 337: 1375, 1991
 - 20) Navot D, Karstaedt A, Drews MR, et al, Age-related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo im-plantation. *Fertil Steril* 61: 97, 1994
 - 21) Romeu A, Muasher SJ, Acosta AA, et al., Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older: the Norfolk experience. *Fertil Steril* 47: 130, 1986
 - 22) Padilla SL and Garcia JE, Effect of maternal age and number of in vitro fertilization procedures on pregnancy outcome. *Fertil Steril* 52: 270, 1989
 - 23) Craft I, Al-Shawaf T, Lewis P, et al., Analysis of 1071 GIFT procedures-the case for a flexible approach to treatment. *Lancet* 1: 1094, 1988

The results of human frozen-thawed embryo transfer cycles in our clinic

Ryozo Takatsuka, Miho Toyokita,
Ryuichi Fujinami, Sumie Nagai,
Toshinori Tsuji, Yasuhito Michikura
and Osamu Kato

Towako Maternity Clinic,
Ishikawa 923, Japan

The purpose of the present study is to analyze retrospectively the results of human frozen-thawed embryo transfer (ET) performed in our clinic from 1991, January to 1993, August. Of 231 frozen-thawed ET cycles from 194 patients, 63 pregnancies (27.3%) were achieved; 12 chemical (19.0%), 11 clinical (17.5%), 9 ongoing (14.3%) and 31 delivered pregnancies (49.2%; including 26 singleton, 4 twins and 1 tripleton). Although the difference was no significant, the implantation rate according to the time of freezing seemed to be better with the combination of pronuclear and early cleavage stages: 9.6% with the pronuclear stage group, 12.2% with the cleavage stage group and 15.4% with the combined both stages group.

There was no relationship between the pregnancy rate after a frozen-thawed ET and the age of women. However, the abortion rate increased with increasing an age of women. Especially, all women above 40 years of age, once established a pregnancy, had aborted. It is recommended to transfer three embryos or the number of embryos with forty of cumulative embryo score in frozen-thawed ET of women below 40 years of age.

(受付: 1994年3月29日)

(受理: 1994年6月18日)

INCOMPLETE TUBAL ABORTION IN A WOMAN WITH UNDETECTABLE SERUM β -hCG LEVEL AFTER METHOTREXATE ADMINISTRATION

Tetsuo MARUYAMA, Susumu NAKAJIMA

Department of Obstetrics and Gynecology
Kobe Kaisei Hospital, Kobe 657, Japan

Abstract: Conservative treatment with local or systemic methotrexate (MTX) administration has been used for certain types of ectopic pregnancy. The return of serum β -hCG to undetectable levels following MTX treatment has mistakenly been taken to indicate complete resolution of ectopic pregnancy. A 31-year old woman presented with an ectopic pregnancy and was given five-day course of systemic MTX at a different hospital. Following treatment, her hCG levels declined to essentially undetectable levels. Nevertheless, abnormal vaginal bleeding and occasional lower abdominal pain continued and sonography revealed an unusual right adnexal mass with a diameter of approximately 4cm. After she experienced the sudden onset of lower abdominal pain, she was taken to right salpingectomy. The histological examination of the mass revealed chorionic villi in the clots. We describe the pitfalls of MTX therapy for ectopic pregnancy and, in order to avoid unexpected tubal abortion or rupture, we emphasize the need for both sonographic check-up and hCG follow-up after MTX treatment.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 411 - 413, 1994)

Introduction

Recently, systemic or local methotrexate (MTX) administration has become generally accepted as a nonsurgical treatment for ectopic pregnancy^{1, 2)}. Serial serum β -hCG measurements during the follow-up period after MTX treatment are believed to be useful for evaluating the resolution of ectopic pregnancy^{1, 2)}. However, a rupture of ectopic pregnancy can still occur despite low and declining serum β -hCG levels^{3, 4)}. Nevertheless, the return of serum β -hCG to undetectable levels continues to be accepted as indicating complete resolution⁵⁾. We describe an unusual complete case report of incomplete tubal abortion in a woman who required surgical intervention after MTX administration in spite of undetectable serum β -hCG level.

Case report

A 31-year old woman, who reported that her last menstrual period was May 7, 1992, had been experi-

encing abnormal vaginal bleeding since June 6, 1992. She tested positive for pregnancy on June 17, according to a urinary pregnancy test administered in a hospital. She was hospitalized on June 23 and underwent D&C on June 25. Urinary hCG levels were significant even after D&C and there were no villi present histologically. She underwent intravenous MTX administration from July 14 to July 18 (the cumulative dose and the indication for MTX treatment are not known). After being discharged from the hospital on July 21, she continued to experience genital bleeding. Furthermore, she reported occasional discomfort in the lower-right quadrant of the abdomen, although her basal body temperature had dropped to low levels, and her urinary hCG level gradually decreased.

This patient was told that she did not require further treatment. However, she visited our hospital on August 6, 1992, where transvaginal sonography revealed an empty uterus and a 43 by 23 mm diffusely echogenic mass in the right fallopian tube (Fig. 1). A gestational sac-like space (maximum diameter

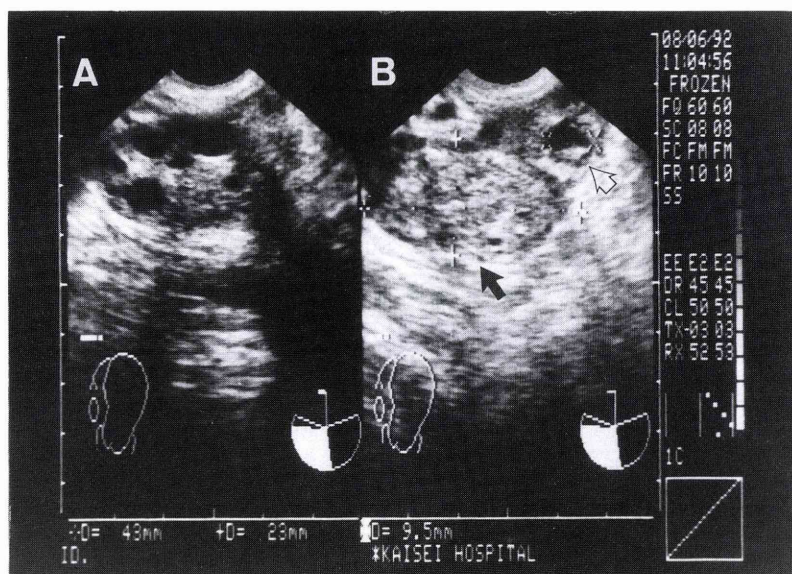


Fig.1 Transvaginal sonographic scan of the right adnexal lesion

(A) A normal right ovary. (B) A 43 by 23 mm diffusely echogenic mass filled predominantly with blood clots (closed arrow). A gestational sac-like space (open arrow).

9.5 mm) was observed beside this mass (Fig. 1). No free fluid was noted in the cul-de-sac by sonography.

Despite these observations, the serum β -hCG level was undetectable (<0.1 ng/ml), which, according to general practice, would indicate resolution of the ectopic pregnancy and would suggest pursuit of other gynecological disease. However, considering both the symptoms and the presence of the unusual mass, we performed laparoscopy on August 11. We discovered a right tubal distension and approximately 150 ml of hemoperitoneum (Fig. 2) and then performed right salpingectomy. Just prior to the operation, she experienced the sudden onset of a sharp pain in the lower-right quadrant of the abdomen, that was transiently relieved by preoperative analgesics. The distended tube had a maximum diameter of 35 mm and was filled predominantly with blood clots without macroscopically detectable villi. However, histological examination did reveal chorionic villi in the clots.

Discussion

Low and declining serum β -hCG levels can be

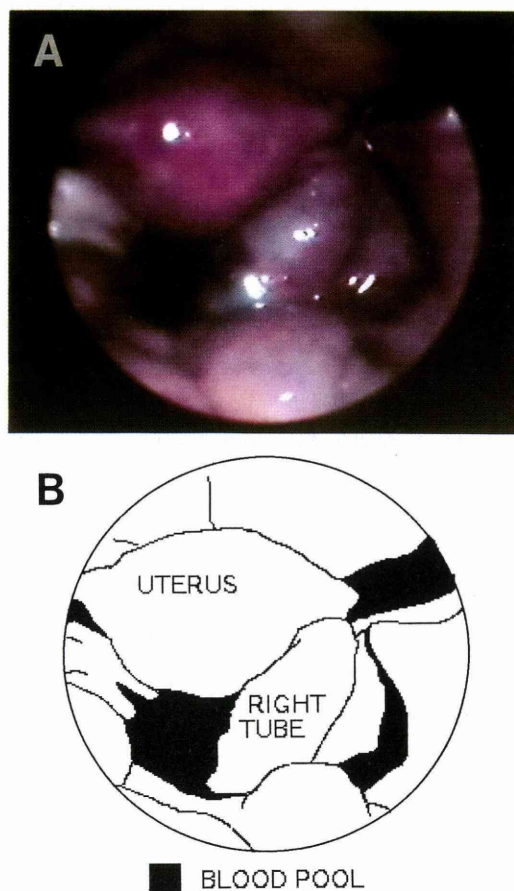


Fig.2 (A) Intra-abdominal findings by laparoscopy. Distended right tube and hemoperitoneum can be seen. (B) Schematic representation of (A).

misleading in the conservative management of ectopic pregnancy²⁻⁵⁾. This case report indicates that undetectable serum β -hCG levels do not guarantee complete resolution of ectopic pregnancy following MTX treatment; although it must be granted that the clinical outcome of this patient without surgical intervention cannot be known. Tulandi et al. have pointed out that one of the disadvantages of MTX treatment is the prolonged follow-up period²⁾. During this long follow-up, these patients still require close clinical monitoring, for both serial serum β -hCG measurements and sonographic examinations²⁾. Furthermore, they must be considered at risk for tubal rupture or abortion not only until their serum β -hCG concentration declines to undetectable levels but also until no tubal dilation is observed by transvaginal sonographic examination. While the surgical management of ectopic pregnancy is admittedly not ideal, at least it minimizes the possibility of subsequent tubal abortion or rupture.

In view of the significant quality-of-life issues associated with MTX treatment, this approach to the management of ectopic pregnancy should only be viewed as an alternative to surgical treatment. MTX treatment would be indicated if: 1) the "success" rate⁵⁾ of MTX administration was significantly greater than that of surgical treatments, 2) the disadvantages of MTX treatment were fully explained to the patient, and 3) clinicians closely monitored the extent of tubal distension by transvaginal sonographic examinations, and performed serial measurements of serum β -hCG levels.

References

- 1) Stovall TG, Ling FW, Gray LA, et al., Methotrexate treatment of unruptured ectopic pregnancy: a report of 100 cases. *Obstet Gynecol* 77: 749, 1991

- 2) Tulandi T, Falcone T, Atri M, et al., Transvaginal intratubal methotrexate treatment of ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 58: 98, 1992
- 3) Tulandi T, Hemmings R, Khalifa F, Rupture of ectopic pregnancy in women with low and declining serum β -human chorionic gonadotropin concentrations. *Fertil Steril* 56: 786, 1991
- 4) Gretz E, Quagliarello J, Declining serum concentrations of the β -subunit of human chorionic gonadotropin and ruptured ectopic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 156: 940, 1987
- 5) Tulandi T, "Resolution" and "success" of medical treatment of ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 57: 963, 1992

Methotrexate 治療後

血中 β -hCG が感度以下になるも 卵管不全流産の転帰をとった一症例

神戸海星病院産婦人科

丸山哲夫 中島 進

子宮外妊娠にて Methotrexate (MTX) 治療後血中 β -hCG が感度以下になるも卵管不全流産となり、手術を要した一症例を経験したので報告する。患者は子宮外妊娠の診断にて他院で MTX 全身投与を受け、尿中 β -hCG が陰性になったため治療を終了したが、下腹痛と少量の性器出血の持続により当院受診となった。初診時、経膈超音波断層法にて $43 \times 23\text{mm}$ の腫瘍を右付属器領域に認めたが、基礎体温は低温相であり、また血中 β -hCG が感度以下 ($< 0.1\text{ng/ml}$) であった。しかし、右付属器に圧痛を認め、自覚症状も軽快しないため、精査目的にて腹腔鏡検査を予定し入院となった。手術直前に強度の右下腹部痛が出現し、鎮痛剤にてコントロールしつつ直ちに腹腔鏡を施行した。右卵管腫瘍と腹腔内出血 150ml を認めたため、右卵管摘出術を施行した。子宮外妊娠に対する MTX 治療の効果判定に尿中あるいは血中 β -hCG が用いられるが、今回の症例をもとに β -hCG 単独 follow-up の pitfall について考察を加えた。

(受付: 1994年4月18日)

(受理: 1994年6月18日)

hMG-hCG療法後の子宮内外同時妊娠

Heterotopic Pregnancy Following hMG-hCG Treatment for Ovulation Induction in a Patient with Anovulatory Cycle

熊本大学医学部産科婦人科学教室 (主任：岡村 均 教授)

鄭 俊 明	河 野 哲 郎	松 浦 講 平
Toshiaki TEI	Tetsuro KAWANO	Kohei MATSUURA
愛 甲 朗	岡 村 均	
Akira AIKO	Hitoshi OKAMURA	

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

瀬戸産婦人科医院

瀬 戸 致 行

Chicoh SETO

Seto Women's Hospital

hMG-hCG療法後に卵巣茎捻転を併発した子宮内外同時妊娠症例を経験した。患者は27歳の未妊婦で、無排卵を適応にhMG-hCG療法が施行され、重症のOHSSを発症し当科に救急搬送された。安静と輸液療法で症状は一旦改善したが、再び悪化したため低用量ドーパミン療法を施行した。周期39日目尿中hCG陽性となったが、妊娠5週0日に左下腹部痛を訴え、左卵巣茎捻転と診断し用手整復を行った。妊娠6週4日には子宮内に胎嚢を3個認めたが、再び下腹部痛が出現し、用手整復を試みても軽快せず、子宮外妊娠の合併を疑い緊急腹腔鏡検査を施行した。左卵管膨大部は暗赤色でソーセージ様に腫大し、左卵管采から出血を認めたため、未破裂左卵管膨大部妊娠と診断し、引き続き開腹術へ移行し左卵管を摘出した。ゴナドトロピン製剤を用いた不妊治療の際には排卵誘発の適応を遵守し、複数卵胞発育後の妊娠例では常に子宮内外同時妊娠の可能性も念頭に入れておくことが重要である。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 414 - 418, 1994)

緒 言

子宮内外同時妊娠はさきわてまれな疾患とされてきた。しかし、近年の不妊治療ではゴナドトロピン(Gn)製剤を用いた過排卵誘発法が頻用され、さらに配偶子を操作する補助生殖治療の普及により、その増加傾向が指摘されている¹⁾。我々も体外受精-胚移植(IVF-ET)後の妊娠例36例のうち2例の子宮内外同時妊娠を経験している。今回、hMG-hCG療法後に卵巣茎捻転を併発した子宮内外同時妊娠症例を経験したので報告する。

症 例

患者は27歳の未妊婦で、主訴は下腹部膨満感、下腹部痛、嘔気・嘔吐、呼吸困難である。既往歴では開腹術・骨盤内感染症(PID)を含め、特記すべきことはない。家族歴では父が糖尿病である。月経歴は初経14歳、月経周期は不整で、月経量は多く、経時障害は下腹部痛・腰痛が著明である。

現病歴：平成3年11月(26歳)に結婚したが、妊娠しないため平成4年4月近医を受診した。同医にて無排卵を指摘されクロミフェン療法を受けていたが

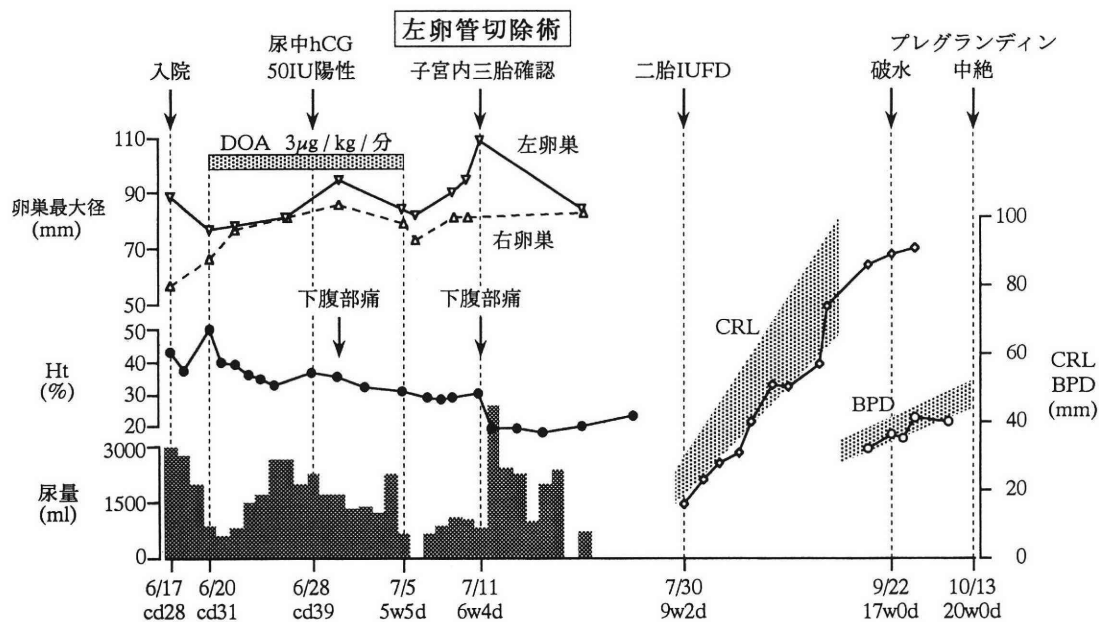


図1 臨床経過 (Y.H. 27歳 OG0P)

妊娠しなかった。平成5年5月hMG-hCG療法が開始され、周期5日目(cd5)よりhMG(フェルチノーム)を連日75単位12日間(計900単位)投与された後、cd19とcd20にhCGを各々10,000単位投与された。cd21より下腹部痛、腹部膨満、嘔気・嘔吐、下痢が出現して尿量も減少してきた。その後呼吸困難も出現し増悪傾向がみられたため、6月17日(cd28)当科に救急搬送された。

当科救急搬送時理学所見では身長152.5cm、体重49kg(治療前47kg)、腹囲80.4cm、体温37.1℃、血圧117/75mmHg、脈拍76bpm、心・肺野に聴・打診上異常は認めなかったが、呼吸困難・起座呼吸を認め、腹部は著明に膨満し波動を触知した。検査所見はヘマトクリット(Ht)値は43.1%と高値を示し、経腹超音波検査では左卵巣は89×70mm、右卵巣は56×49mmと腫大し、肝下面まで腹水の貯留が認められた。

入院後経過(図1): 卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の重症と診断し、まず安静臥床と一日2,000mlの輸液を開始した。一時症状の改善を認めたが、6月20日(cd31)より再び腹部膨満が著明となり、尿量の減少とHt値の上昇(49.8%)がみられたため同日の夕方より低用量ドーパミン療法(3μg/kg/分)を開始し、輸液も500ml/日に制限した。翌日には呼吸困難・腹部膨満感は改善し始め、Ht値も39.8%と低下し、6月23

日(cd34)には尿量の増加・腹囲の減少を認め、以後症状は順調に改善したが、卵巣の縮小はみられなかった。

6月28日(cd39)に尿中hCG 50 IU陽性を確認し、6月30日(妊娠5週0日)には経陰超音波検査で子宮内にまず1個の胎嚢(GS)が確認された。同日突然に左下腹部痛が出現し、腫大した左卵巣部位に一致した圧痛とその周囲の筋性防御を認めたため左卵巣茎捻転と診断し、まず用手整復を行った。症状は劇的に改善し、その後も左下腹部痛はなく、7月5日(妊娠5週5日)ドーパミン療法を中止した。7月11日(妊娠6週4日)に再び左下腹部痛が出現し再度用手整復を試みたが、症状の改善はみられず圧痛の位置も腫大した卵巣とは異なる位置であった。この時点の超音波検査では子宮内に3個のGSが認められ(写真1)、左卵巣は109×63mm、右卵巣は81×39mmと腫大していたが、卵管は同定できなかった。貧血の進行は認められなかったが、下腹部痛が徐々に増強してきたため子宮外妊娠の可能性も考慮に入れて有痛病巣の検索のため同日緊急腹腔鏡検査を施行した。

腹腔鏡検査では腹腔内に血性腹水が貯留し、骨盤内には子宮の左側からダグラス窩にかけて腫大した多房性の卵巣と膀胱子宮窩腹膜左側に凝血塊を認めた。左卵管膨大部は暗赤色でソーセージ様に腫大し、左卵管采から出血を認めた。以上の所見より未破裂

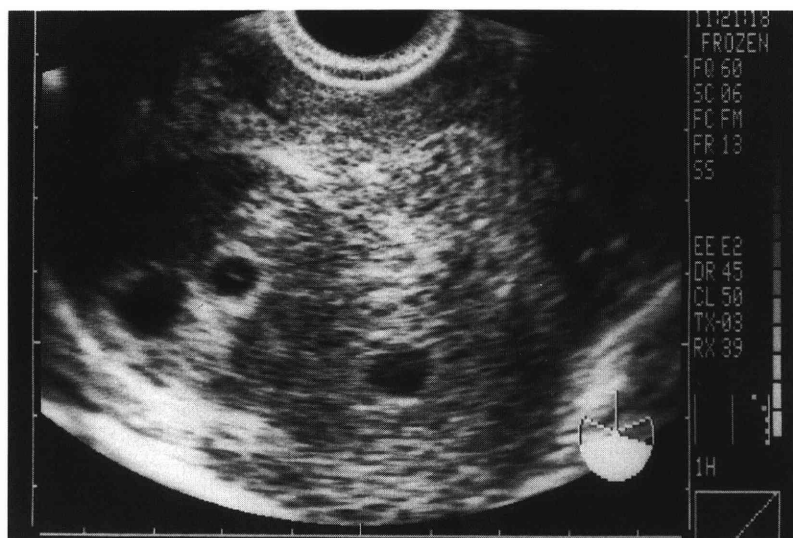


写真1 経腔超音波断層像(妊娠7週2日)子宮内に3個の胎嚢を認める

左卵管膨大部妊娠と診断し、開腹術へ移行し左卵管を摘出した。

術後経過(図1):子宮内の三胎は順調に発育し、7月16日(妊娠7週2日)には三胎ともに心臓拍動を確認したが、7月30日(妊娠9週2日)三胎のうち二胎の心臓拍動が消失した。その後残り一胎は順調に発育していたが、9月22日(妊娠17週0日)に破水した。抗生剤の投与および腔洗浄にて経過を観察していたが、超音波検査上羊水は徐々に減少し、10月7日(妊娠19週4日)には殆ど認められなくなった。発熱はなくCRPは陰性であったが、羊水培養でE.ColiおよびCorynebacteriumが陽性となり、多核球を認めるようになったため子宮内感染と診断し、患者と家族との相談の上10月13日(妊娠20週0日)プレグランドインによる中絶を行った。

考 察

自然周期における子宮内外同時妊娠の頻度は、1948年De VoeとPratt²⁾が子宮外妊娠と双胎の頻度より30,000例の妊娠に1例と推測し、1982年Richardsら³⁾は15,000例に1例と推測しているが、さらに最近ではその頻度は増加傾向にあるものと考えられる。これは排卵誘発周期妊娠での頻度が高くなっていることに起因しており、Bergerら⁴⁾はクロミフェンやGn製剤による排卵誘発周期での妊娠例204例中2例が子宮内外同時妊娠であったと報告し、本邦でもクロミフェン周期⁵⁾やhMG-hCG周期⁶⁾での報告がみられる。一方、配偶子操作による妊娠例でもその頻度は

高く、Molloyら⁷⁾は妊娠例1001例中10例が子宮内外同時妊娠であったと報告し、我々もIVF-ETを開始して子宮内外同時妊娠症例を初めて経験した⁸⁾。

本症例はhMG-hCG療法により重症OHSSを呈して当科に救急搬送されてきたが、hCG 10,000単位を2日連続して投与されたことが重症OHSSを惹起し、さらに異時排卵を誘発し子宮内外同時妊娠を生じた可能性も否定できない。

重症OHSSは血栓・塞栓症の発症により重篤な経過をたどり、時として致命的となる危険性があるためその管理・治療は極めて重要である。特に妊娠例ではOHSSが重症化し、長びく傾向がある。低用量ドーパミン療法⁹⁾は、本邦婦人においても我々が既に報告しているように¹⁰⁾、重症OHSSの治療には極めて有用であり、今回の症例では治療開始翌日にはHt値は低下し、3日目には尿量の増加および腹囲の減少を認め、以後順調に症状は改善したが卵巣腫大は持続していた。その後出現した左下腹部痛は初めは用手整復により消失したことから、腫大した左卵巣が軽度捻転を起こしたものと診断した。さらに腫大した卵巣のために子宮外妊娠部位の超音波所見が把握しにくかったことも初期診断が遅れた理由であり、腹腔鏡の積極的な活用が必要と考えられるものの、全身麻酔の影響を考慮するとその適応は慎重にならざるを得ない。

今回の症例では開腹術を避け、腹腔鏡下にエンドルーブを用いた卵管切除術を試みようとしたが、腫大した卵巣が視野を妨げ施行できなかった。最近、

子宮外妊娠に対して患部にKCl, PG, MTX等の薬剤を注入する保存的薬物療法が報告されている^{11,12)}。しかし、子宮内外同時妊娠の場合では子宮内妊娠に対する影響を考えるとPGやMTXの使用は制限される。これらに比較し、KClは安全性が高く、さらに全身麻酔や出血の影響および手術侵襲を避ける目的で経腔超音波ガイド下に患部に直接注入するという方法もあり、特に間質部妊娠において良好な結果が得られたという報告¹³⁾もみられ、今後考慮すべき治療法と思われる。

本症例では開腹術後、子宮内の三胎中二胎が子宮内胎児死亡に至った。Gn製剤による妊娠例は流産率が高く¹⁴⁾、特に重症OHSS症例に流産率が高いという報告¹⁵⁾もある。その原因は不明であるが、卵胞期の高LH血症¹⁶⁾、受精卵の染色体異常¹⁷⁾、黄体機能不全¹⁸⁾等に起因するという報告もみられる。

近年、不妊治療法として排卵誘発剤の使用が多くなるにつれOHSSの発生も増加し、特に今回の症例のように開腹術やPIDの既往がない場合には、卵巢莖捻転との鑑別に迷う子宮内外同時妊娠症例に遭遇する機会も増えるものと思われる。IVF-ETにおける子宮内外同時妊娠の予防には移植胚の数や質、移植培養液の量や注入圧、移植チューブ先端の位置等の配慮が必要と考えられるが、一般不妊症患者に対しては排卵誘発の適応を遵守し、妊娠例では頻度が少ないとはいえ、常に子宮内外同時妊娠の可能性を念頭に置いておくことが重要と考えられる。

文 献

- 1) Goldman GA, Fisch B, Ovadia J, et al., Heterotopic pregnancy after assisted reproductive technologies. *Obstet Gynecol Surv* 47: 217, 1992
- 2) De-Voe RW, Pratt JH, Simultaneous intrauterine and extrauterine pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 56: 1119, 1948
- 3) Richards SR, Stempel LE, Carlton BD, Heterotopic pregnancy: Reappraisal of incidence. *Am J Obstet Gynecol* 142: 928, 1982
- 4) Berger MJ, Taymor ML, Simultaneous intrauterine and tubal pregnancies following ovulation induction. *Am J Obstet Gynecol* 113: 812, 1972
- 5) 藤本征一郎, 田中俊誠, 沓沢 武 他, 排卵誘発後の子宮内外同時妊娠について. *臨婦産* 31: 905, 1977
- 6) 石原楷輔, 山藤泰功, 平野和雄 他, HMG-HCG療法とAIHにて子宮内外同時妊娠をきたした1例. *産と婦* 51: 107, 1984
- 7) Molloy D, Hynes J, Deambrosis W, et al., Multiple-sited (heterotopic) pregnancy after in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril* 53: 1068, 1990
- 8) 本田賀裕, 松浦講平, 西村宏佑 他, IVF-ET後の子宮内外同時妊娠. *日受精着床誌* 7: 134, 1990
- 9) Ferraretti AP, Gianaroli L, Diotallevi L, et al., Dopamine treatment for severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 7: 180, 1992
- 10) 河野哲郎, 松浦講平, 田中信幸 他, 重症卵巣過剰刺激症候群に対する低用量ドーパミン療法の有用性. *日不妊会誌* 38: 423, 1993
- 11) 田中俊誠, 藤本征一郎, 各種薬剤による子宮外妊娠の保存療法について. *臨婦産* 45: 655, 1991
- 12) 藤下 晃, 石丸忠之, 増崎英明 他, 子宮外妊娠に対する手術療法および薬物療法の比較検討. *日不妊会誌* 38: 694, 1993
- 13) Fernandez H, Fournet P, Lelaidier C, et al., Non-surgical treatment of heterotopic pregnancy: a report of six cases. *Fertil Steril* 60: 428, 1993
- 14) Bohrer M, Kemmann E, Risk factors for spontaneous abortion in menotropin-treated women. *Fertil Steril* 48: 571, 1987
- 15) Ben-Rafael Z, Dor J, Mashiach S, et al., Abortion rate in pregnancies following ovulation induced by human menopausal gonadotropin/ human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril* 39: 157, 1983
- 16) Regan L, Owen EJ, Jacobs HS, Hypersecretion of luteinizing hormone, infertility and miscarriage. *Lancet* 336: 1141, 1990
- 17) Boue JG, Boue A, Increased frequency of chromosomal anomalies in abortions after induced ovulation. *Lancet* 1: 679, 1973
- 18) Oelsner G, Serr DM, Mashiach S, et al., The study of induction of ovulation with menotropins: analysis of results of 1897 treatment cycles. *Fertil Steril* 30: 538, 1978

Heterotopic pregnancy following hMG-hCG treatment for ovulation induction in a patient with anovulatory cycle

Toshiaki Tei, Tetsuro Kawano, Kohei Matsuura,
Akira Aiko and Hitoshi Okamura

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

Chikoh Seto

Seto women's clinic

A case of combined intrauterine triplet and left tubal pregnancy complicated with torsion of the left hyper-

stimulated ovary is reported. A 27-year-old primary infertile woman was transferred to our hospital due to severe ovarian hyperstimulation syndrome which was induced by hMG-hCG treatment chosen for ovulation induction for clomiphene-resistant anovulation. Although the patient recovered transiently with bed rest and peripheral infusion, low-dose dopamine was administered in her worsened condition. Urinary hCG was positive at the 39th cycle. She felt the sudden onset of left lower abdominal pain at 5 weeks of gestation and then the torsive left hyperstimulated ovary was replaced manually. At 6 weeks of gestation, ultrasonography revealed

three intrauterine gestational sacs, and she experienced left lower abdominal pain again which was not relieved by manual replacement. Emergent laparoscopy was performed and revealed an unruptured left ampullary pregnancy. Then laparotomy and left salpingectomy were performed.

It is important that the gonadotropin therapy should be used appropriately as a means of inducing ovulation in infertile women, and heterotopic pregnancy should be always considered in pregnancy after development of multiple follicles.

(受付：1994年4月21日)

(受理：1994年6月18日)

IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF IMMUNOCOMPETENT CELLS IN ENDOMETRIA FROM WOMEN USING INTRAUTERINE CONTRACEPTIVE DEVICE

Yoshiaki AKIYAMA and Kazunori MATSUMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology
The Jikei University School of Medicine, Tokyo 104, Japan

Abstract: Using immunohistology, we analyzed the distribution of macrophages, NK cells, and T cells of endometrium with IUD and IUD washing smear (IUD smear). CD68+ cells appeared $26.5\% \pm 2.49$ in IUD smear. It is speculated that many macrophages are migrated in uterine cavities. In IUD endometrium, though CD68+ cells were observed only $5.3\% \pm 1.59$ of stroma cells, there were many CD64+ cells ($10.0\% \pm 2.95$) and HLA-DR+ cells ($18.2\% \pm 3.69$). This discrepancy of ratio may explain that activated T cells and/or NK cells exist in IUD endometrium. In IUD endometrium, CD4+ cells and CD8+ cells were more than in implantation phase endometrium without IUD. Many CD4+ cells were appeared in IUD smear ($19.8\% \pm 4.42$). It is speculated that T cells, especially CD4+ cells in uterine cavities are responsible for IUD's contraceptive action. On this study, it may be concluded therefore that the existence of IUD activates macrophages in uterine cavities, and that T cells acts as contraceptive factor in both endometrium and uterine cavities.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 39 (4), 419 - 424, 1994)

Introduction

Although intrauterine contraceptive device (IUD) has been utilized widely as a contraceptive method since a long time ago, many questions concerning its contraceptive mechanism still remain unsolved. The possible mechanisms reported include direct impairment of the fertilized ovum or the sperms, time lag in endometrial dating, and implantation impairment due to histological changes as a result of endometritis. Although recent evidence supports a strong possibility of implantation impairment as the contraceptive mechanism, the detailed mechanisms of action are still unknown.

In this study, we studied the distribution of macrophages, NK cells, T cells and B cells in the endometria from subjects with IUD inserted (IUD endometrium), smears made from IUD washing (IUD smear), and the endometria during implantation phase from subjects not using IUD (implantation phase endometrium), by immunohistochemical technique.

The relationship of these immunocompetent cells with the contraceptive mechanism was discussed. In addition, studies on ICAM-1 as an adhesion molecule was also attempted because it may participate in adhesion and implantation of ovum.

Subjects and Methods

The subjects were 5 women with IUD inserted (average age $\pm$ SD: 38.2 ± 7.29 years, average duration of IUD insertion $\pm$ SD: 41.2 ± 18.23 months). About one week before the scheduled menstruation, the IUD was removed and intrauterine curettage was performed with their informed consent, and the endometrial tissue was collected. The removed IUD was immediately washed with PBS, and the centrifuged sediment was used to prepare smears. Endometrium tissues at implantation phase were also collected with informed consent from 5 women who did not use IUD (average age $\pm$ SD: 40.0 ± 2.25 years) and have normal ovarian function on BBT and hormonal assay, as controls.

Table 1 Immunohistochemistry (ABC method)
(Vecstain®)

1. Cryostat 6µm
2. dry well
3. cold acetone fixation -20°C 30min.
4. PBS wash
5. 0.2% H ₂ O ₂ distilled water 10min.
6. PBS wash
7. Blocking; 2% sheep serum PBS 30min.
8. PBS wash
9. First Ab. 2hours control; 2% mouse serum or mouse IgG
10. PBS wash
11. 2nd Ab.; anti-mouse IgG-Biotin F(ab) ₂ fragment (sheep serum) (Sigma)
12. PBS wash
13. Streptavidin-Biotin complex 30min.
14. PBS wash
15. DAB (diaminobenzidine tetrahydrochloride) + 0.02% H ₂ O ₂
16. Hematoxylin-counter staining

The endometrium samples were washed in PBS and blotted dry on filter paper. They were embedded in OCT compaund (TISSUE-TEK), frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. 6µm-sections were cut by a cryostat. Together with the IUD smears, they were stained by the Avidin-Biotin complex method (Table 1). The monoclonal antibodies used as the primary antibody are shown in Table 2.

After the immunostaining, hematoxylin counterstaining was performed, and all the specimens were examined by a ×40 objective under a light microscope. Three fields in which many positively stained cells were observed were chosen. The number of positive cells was enumerated and expressed as a percentage of the total number of nucleated cells in the stroma excluding the glandular epithelium. The proportions of positively stained cells in the five cases were averaged for analyses of the significance of differences. And means were compared by student's t-

Table 2 Details of antibodies used in this study

	Antibody	Commercial source	CD number	Dilution
T cell related cluster	Leu3a+3b	B&D	CD4	*
	Leu2a	B&D	CD8	*
B cell related cluster	L26	DAKO	CD20	1 / 50
	4KB128	DAKO	CD22	1 / 50
Bone marrow cell related cluster	LeuM-5	B&D	CD11c	*
	IV. 3	Medarex	CD32	1 / 50
	197	Medarex	CD64	1 / 50
	3-4A4-E	Oncogene Science	CD66	1 / 50
	EBM-11	DAKO	CD68	1 / 50
NK cell related cluster	3G8	Medarex	CD16	1 / 50
	Leu19	B&D	CD56	1 / 50
	Leu7	B&D	CD57	*
Nonlineage	Leu54	B&D	CD54	1 / 50
	HLA-DR	B&D		*
	HLA-ABC	Cosmo-Bio(Tokyo)		1 / 50
	IgG-1	SIGMA		1 / 100
	IgG-2	SIGMA		1 / 100
	IgG-3	SIGMA		1 / 100
	IgG-4	SIGMA		1 / 100
	IL-1alpha	Oncogene Science		1 / 50
	IL-1beta	Oncogene Science		1 / 50
	IL-2Receptor	Genzyme		1 / 50

* Kit for immunohistochemistry

test.

Results

1 Staining of macrophage-related antigens

Fig.1 shows the staining of a representative macrophage marker CD68. In the IUD endometrium, the CD68 + cells were present scantily below the glandular epithelium and surrounding the capillaries. Similar finding was observed in the implantation phase endometrium. In the IUD smear, many CD68+ cells were found mingled with the glandular cells.

Many CD64+ cells which express Fc γ R1, a Fc receptor with high affinity, were present in the stroma of the IUD endometrium; they were also found abundantly in the IUD smear. Fig. 2 shows the staining of HLA-DR antigen which indicates antigen presentation ability. Many HLA-DR+ cells were found in the

IUD endometrium, especially abundantly distributed around the glandular epithelium and the capillaries. Many HLA-DR+ cells were also found in IUD smear. These cells were also found in the implantation phase endometrium surrounding the glands and capillaries; however, they were less abundant than those in the IUD endometrium. Table 3 shows the proportions of cells positive for the macrophage-related antigens. The proportions of cells positive for CD68 antigen are 5.3% ($\pm$ 1.59) in the IUD endometrium and 4.2% ($\pm$ 1.17) in the implantation phase endometrium, both values were low, with no significant difference between the two groups. In contrast, 26.5% ($\pm$ 2.49) of CD68+ cells were present in the IUD smear. This finding demonstrated clearly the migration of macrophages into the uterine cavity in which an IUD has been inserted. The proportion of CD64+ cells in

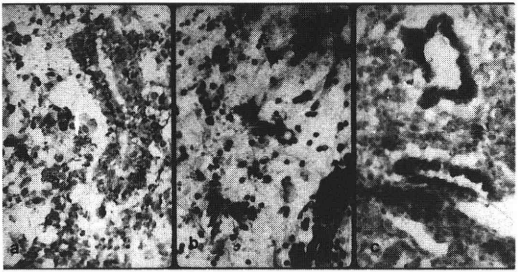


Fig. 1 Staining of CD68

a: IUD endometrium b: IUD smear c: Implantation phase endometrium

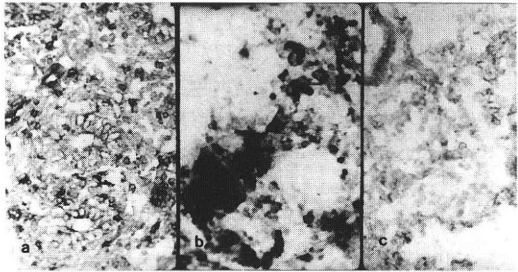


Fig. 2 Staining of HLA-DR

a: IUD endometrium b: IUD smear c: Implantation phase endometrium

Table 3 Cell Population (% $\pm$ SD)

		IUD endometrium	IUD smear	implantation phase endometrium
Macrophage	CD68 ^{n.s.}	5.3 $\pm$ 1.59	26.5 $\pm$ 2.49	4.2 $\pm$ 1.17
	CD64 ^{n.s.}	10.0 $\pm$ 2.95	15.5 $\pm$ 4.05	2.8 $\pm$ 0.16
	CDw32 ^{n.s.}	2.9 $\pm$ 2.10	17.9 $\pm$ 3.79	2.2 $\pm$ 0.30
	HLA-DR*	18.2 $\pm$ 3.69	19.2 $\pm$ 4.02	9.5 $\pm$ 1.03
NK cell	CD56 ^{n.s.}	2.6 $\pm$ 0.35	0	5.3 $\pm$ 3.19
	CD57 ^{n.s.}	0	7.2 $\pm$ 2.33	0
	CD16 ^{n.s.}	3.7 $\pm$ 2.65	22.7 $\pm$ 5.50	1.6 $\pm$ 1.1
T cell	CD4*	11.1 $\pm$ 0.98	19.8 $\pm$ 4.42	3.7 $\pm$ 1.32
	CD8*	9.1 $\pm$ 2.00	3.6 $\pm$ 1.94	1.6 $\pm$ 0.49
B cell	CD20 ^{n.s.}	1.8 $\pm$ 0.24	13.7 $\pm$ 2.91	13.6 $\pm$ 2.46
adhesion molecule	ICAM-1 ^{n.s.}	3.2 $\pm$ 1.69	26.5 $\pm$ 10.7	2.2 $\pm$ 1.06

n.s.: not significant

*: significant (p<0.01) between IUD endometrium and implantation phase endometrium

the IUD endometrium was $10.0\% (\pm 2.95)$ which was higher than that of CD68+ cells. The proportion of cells positive for HLA-DR antigen in the IUD endometrium was $18.2\% (\pm 3.69)$ which was significantly higher ($p < 0.01$) than that in the control implantation phase endometrium ($9.5\% \pm 1.03$). Moreover, the proportion of HLA-DR+ cells tended to be higher than that of CD68+ cells.

2 Staining of NK cell-related antigens

A few number of CD56+ cells which are expressed on matured NK cells were observed surrounding the glands both in the IUD endometrium ($2.6\% \pm 0.35$) and implantation phase endometrium ($5.3\% \pm 3.19$). A few number of CD57+ cells were found in the IUD smear ($7.2\% \pm 5.50$), and they were absent in the IUD endometrium and implantation phase endometrium. Small numbers of CD16+ cells which have $\text{Fc} \gamma \text{R III}$ were found in both IUD endometrium ($3.7\% \pm 2.65$) and the implantation phase endometrium ($1.6\% \pm 1.1$). On the other hand, many CD16+ cells were found in the IUD smear ($22.7\% \pm 5.50$) (Table 3).

3 Staining of T cell-related antigens

Fig. 3 shows the staining of CD4 antigen which is the marker of helper- and inducer-T cells. While few CD4+ cells were distributed focally near the glands in the implantation phase endometrium, many were observed distributed widely in the stroma of the IUD endometrium. Moreover, they were found abundantly in the IUD smear. The cells positive for CD8 antigen which is a marker of cytotoxic T cells also tended to distribute diffusely in the stroma of the IUD endometrium, as shown in Fig. 4. And the proportion of CD4+ cells was significantly higher ($P < 0.01$) in the IUD endometrium ($11.1\% \pm 0.98$), and these cells were also present in large number in IUD smear (19.8 ± 4.42). The proportion of CD8+ cells in the IUD endometrium ($9.1\% \pm 2.00$) was significantly higher ($P < 0.01$) too, but that in the IUD smear was small ($3.6\% \pm 1.94$).

4 Staining of B cell-related antigens

While relatively large number of CD20+ cells were distributed focally in the stroma of the implantation phase endometrium, they were distributed focally in the IUD endometrium in only very small number ($1.8\% \pm 0.24$). In the IUD smear, however, many CD20+ cells ($13.7\% \pm 2.91$) formed a clump, as

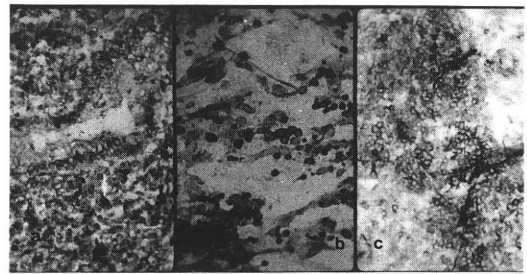


Fig. 3 Staining of CD4

a: IUD endometrium b: IUD smear c: Implantation phase endometrium

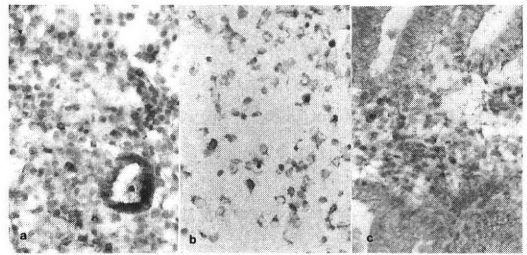


Fig. 4 Staining of CD8

a: IUD endometrium b: IUD smear c: Implantation phase endometrium

shown in the Table 3.

5 Staining of adhesion molecule

In the IUD endometrium, a few CD54 (ICAM-1) + cells were distributed widely, with a tendency to be present adjacent to the capillaries. The same tendency was observed in the IUD endometrium with no difference in distribution. But they were present in large number ($26.5\% \pm 10.7$) in the IUD smear (Table 3).

Discussion

Many reports have already discussed the contraceptive mechanisms of IUD, including direct impairment of the fertilized egg or sperms. In another words, the opinions were divided into two standpoints; fertilization impairment and implantation impairment. Segiroglu¹⁾ and Bercovici et al.²⁾ focused on the existence of large number of macrophages in the uterine cavity in which IUD was inserted, which they demonstrated by collecting loopal smears. They further observed the phagocytosis of sperms by some of the macrophages, and suggested that the contraceptive mechanism of IUD is by phagocytosis of sperms.

However, Umesaki et al.⁹⁾ investigated with an in vitro model and accepted the involvement of macrophages, but considered that phagocytosis of sperms alone can not explain the contraceptive mechanism.

On the other hands, in support of the standpoint of implantation impairment as the contraceptive mechanism of IUD, time lag of endometrium dating^{3, 4, 5)}, inflammatory changes of the endometrium⁷⁾, prevention of decidualization and other histologic changes^{6, 7)} have been reported.

Among the findings of histologic changes, edematous change of the stroma of the endometrium⁶⁾, has been observed in sufficiently high frequencies and strongly suggests a relationship between implantation impairment and the contraceptive mechanism. However, the detailed mechanisms of action are still unknown.

In the staining of macrophage markers, CD68+ cells constituted a higher proportion of $26.5\% \pm 2.49$ of the cells in the IUD smear, suggest that these cells migrate in large number into the uterine cavity. Moreover, the proportions of CD64+ cells which express high affinity Fc γ R and HLA-DR+ cells which have antigen presentation ability, in IUD endometrium were $10.0\% \pm 2.95$ and $18.3\% \pm 3.69$, respectively, both were higher than those in the control. Especially, the proportion of HLA-DR+ cells was higher when

compared with that of CD68+ cells, indicating that apart from macrophages, other immunocompetent cells such as T cells are also activated in the endometrium in the presence of IUD.

The proportions of cells possessing the helper-/inducer-T cell marker CD4, and cells possessing the cytotoxic-/suppressor-T cell marker CD8 were significantly higher in the IUD endometrium. These results demonstrate that large numbers of T cell are present in the endometrium by the insertion of IUD. Furthermore, as mentioned above, the larger number of HLA-DR+ cells than CD68+ cells in the IUD endometrium suggest that these T cells are activated. NK cells, B cells, and ICAM-1+ cells were present in small number both in IUD endometrium and the implantation phase endometrium. But any of them were found abundantly in the IUD smear. So it may be speculated that at least in the endometrium, NK cells, B cells, and ICAM-1 +cells have little part in contraceptive action.

From the above results, the distribution of immunocompetent cells can be expressed as in Fig.5. With the insertion of IUD, many macrophages are mobilized into uterine cavity. By the action of certain chemical mediators, helper-/inducer-T cells are induced and activated in the uterine cavity, and helper-/inducer-T cells and cytotoxic-/suppressor-T cells are induced and activated in the endometrium and they play major role in IUD's contraceptive action.

Acknowledgment

The authors wish to thank Professor Y.Terashima and Associate Professor K.Kusuhara, Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University School of Medicine.

References

- 1) Saginoglu N, Saginoglu E, The Cytology of Intrauterine Contraceptive Devices. *Acta Cytologica* 14: 2, 1970
- 2) Bercovici B, Gallily R, The Cytology of the Retained IUD with Relation to the Mechanism of Action. *Acta Cytologica* 22: 6, 1978
- 3) Nayel SA, Elgazaierly SA, Mbbch SMF, The Effect of Intrauterine Device on the endometrial pattern. *Asia-Oceania J Obstet Gynecol* 9: 2, 1983
- 4) Tamada T, Okagaki T, Maruyama M, et al.,

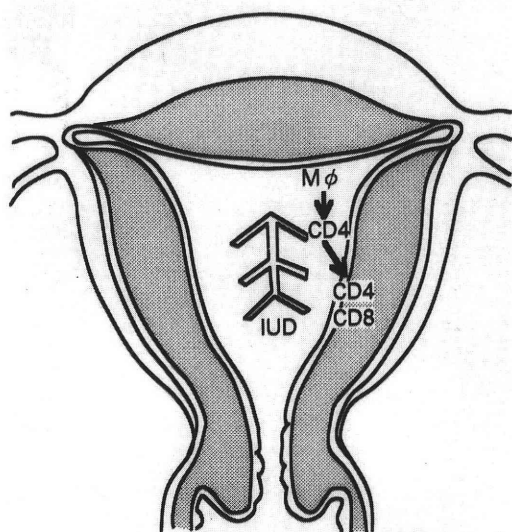


Fig. 5 The distribution of immunocompetent cells with the insertion of IUD

Endometrial histology associated with an intrauterine contraceptive device. Am J Obst Gynec 98: 6, 1967

- 5) Wynn RM, Fine Structural Effect of Intrauterine Contraceptive on the Human Endometrium. Endometrial Ultrastructure 19: 6, 1968
- 6) Wilson JR, Ledger WJ, Andros GJ, The Effect of an intrauterine contraceptive device on the histologic pattern of the endometrium. Am J Obst Gynec 93: 6, 1965
- 7) Sahwl SE, Moyer DL, The leukocytic response to an intrauterine foreign body in the rabbit. Fertil Steril 22: 6, 1971
- 8) Ober WB, Sobrero AJ, Kurman R, et al., Endometrial Morphology and polyethylen Intrauterine Devices. Obstet Gynecol 32: 6, 1968
- 9) Umesaki N, Ohshika Y, Kawabata M, et al., The role of macrophage for IUD's contraceptive action. Obstetrical and Gynecological Practice in Japan 34: 1, 1985

IUDの避妊機序に関する免疫学的検討

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室

秋山芳晃 松本和紀

IUDの避妊機序を免疫学的に検索する目的で、抜去したIUDの洗浄スミア、およびIUD挿入子宮内膜の免疫担当細胞の分布を検討した。

1) CD68陽性細胞はIUD挿入子宮内膜には少数しか存在しなかったがスミアには多数出現し、マクロファージは組織内よりも子宮腔内に遊走している状態であった。2) IUD内膜においてHLA-DR陽性細胞の出現率はCD68陽性細胞の約3倍と高率であったことより、IUD挿入子宮内膜にはT細胞やNK細胞が活性化されて存在していると考えられた。3) CD4陽性細胞はIUD内膜およびスミアに多数出現した。CD8陽性細胞はIUD内膜に多数出現していた。

以上より、子宮腔内に多数遊走したマクロファージおよびIUD挿入子宮内膜において活性化されたヘルパー／インデューサーT細胞、細胞障害性T細胞がIUDの避妊機序に大きく関与している可能性が示唆された。

(受付：1994年5月11日特掲)

(受理：1994年7月3日特掲)

第 39 回 日本不妊学会学術講演会

プログラム・講演抄録集

会 期 平成 6 年 10 月 26 日 (水), 27 日 (木), 28 日 (金)
会 場 富山県民会館, 富山第一ホテル

会 長 片 山 喬
(富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室)

第39回 日本不妊学会

総会・学術講演会開催にあたって

今回富山市において第39回日本不妊学会総会を開催させて頂くことになりました。本学会北陸支部が主催する総会は1965年故赤須文男教授が会長をつとめられて以来4回目になりますが、これまでの3回はいずれも金沢市で行われており、富山の地で総会が開かれるのは初めてのことであります。私どもの富山医科薬科大学も来年創立20周年を迎える若い大学で、学会開催には不慣れでございます。既に何かとご迷惑をおかけしているかもしれませんが、何卒御寛容の上、多数の会員の方の御参加をお願い致したいと存じます。

本総会の特別講演にはハワイ大学の柳町隆造教授に「哺乳類精子の妊孕能」と題する御講演をお願い致しました。この方面の世界の第一人者であり、多くの日本人研究者も育てられた先生のお話をお聞き出来ることを大変嬉しく思っております。また今回は特に現在の生殖医学の最先端について各分野の方をお願いして5つの教育講演を“生殖医学の進歩シリーズ”として企画致しました。会員全体のレベルアップに役立つものと確信しております。

他に2つのシンポジウム、1つのワークショップ、1つの公開シンポジウムを組ませて頂きました。シンポジウムは「配偶子をめぐる最近の話題ーニューテクノロジーによる研究ー」と「着床をめぐって」ワークショップは「精索静脈瘤ーその妊孕性への影響」です。

「不妊の漢方治療」を公開シンポジウムとして、会員以外の漢方に興味のある方にもご参加頂けるように致しました。

富山は海と山に囲まれた自然の豊かな都市です。学会のあとでも富山県の自然に触れ、リフレッシュしてお帰り頂ければ幸いです。

富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室

片 山 喬

日 程 概 要

学術講演会

会 期：平成6年10月26日(水)，27日(木)，28日(金)

会 場：富山県民会館 〒930 富山市新総曲輪4-18 TEL (0764) 32-3111

総合受付(1階 ロビー) 直通TEL (0764) 44-8896(会期中のみ)

第1会場(2階 大ホール)

第2会場(3階 304号室)

第3会場(4階 401号室)

第4会場(7階 701号室)

第8会場(展示室 地階)

第9会場(展示室 地階)

医薬品・器械展示(展示室 地階)

交見室(3階 307号室)

富山第一ホテル 〒930 富山市桜木町10-10 TEL (0764) 42-4411

第5会場(3階 天平)

第6会場(3階 白鳳)

第7会場(3階 飛鳥)

総 会

日 時：平成6年10月27日(木) 13時～13時40分

会 場：富山県民会館 第1会場(2階 大ホール)

評 議 員 会

日 時：平成6年10月27日(木) 12時～12時50分

会 場：富山県民会館 8階 キャッスル大宴会場

理 事 会

日 時：平成6年10月26日(水) 12時10分～13時30分

会 場：富山第一ホテル 3階 天平

幹 事 会

日 時：平成6年10月26日(水) 11時～12時10分

会 場：富山第一ホテル 3階 天平

総 懇 親 会

日 時：平成6年10月27日(木) 19時～21時

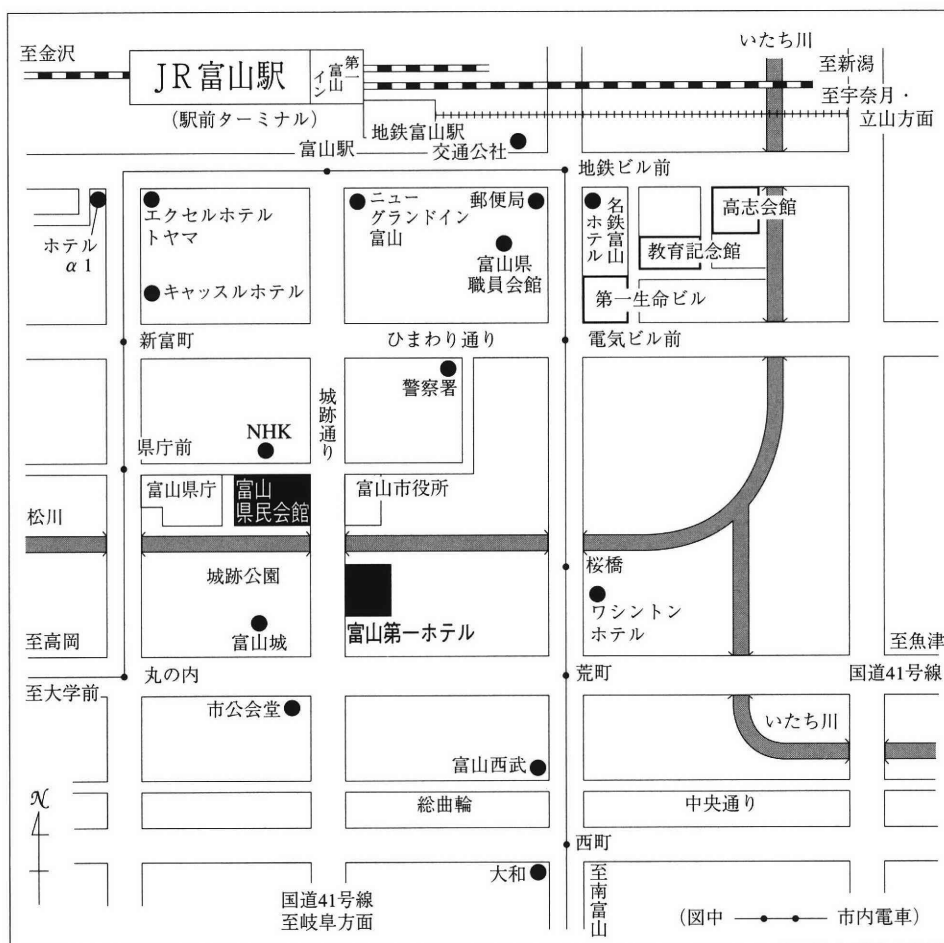
会 場：富山第一ホテル 3階 大宴会場(天平・白鳳・飛鳥)

新 理 事 会

日 時：平成6年10月28日(金) 11時45分～12時45分

会 場：富山第一ホテル 2階 春日

会場への交通案内



◎JR 富山駅より ・徒歩 約8分

・バス 約5分

・駅前バスターミナル

(①②③⑤⑦⑨⑩⑪⑫番のりばより市役所前下車, 200円)

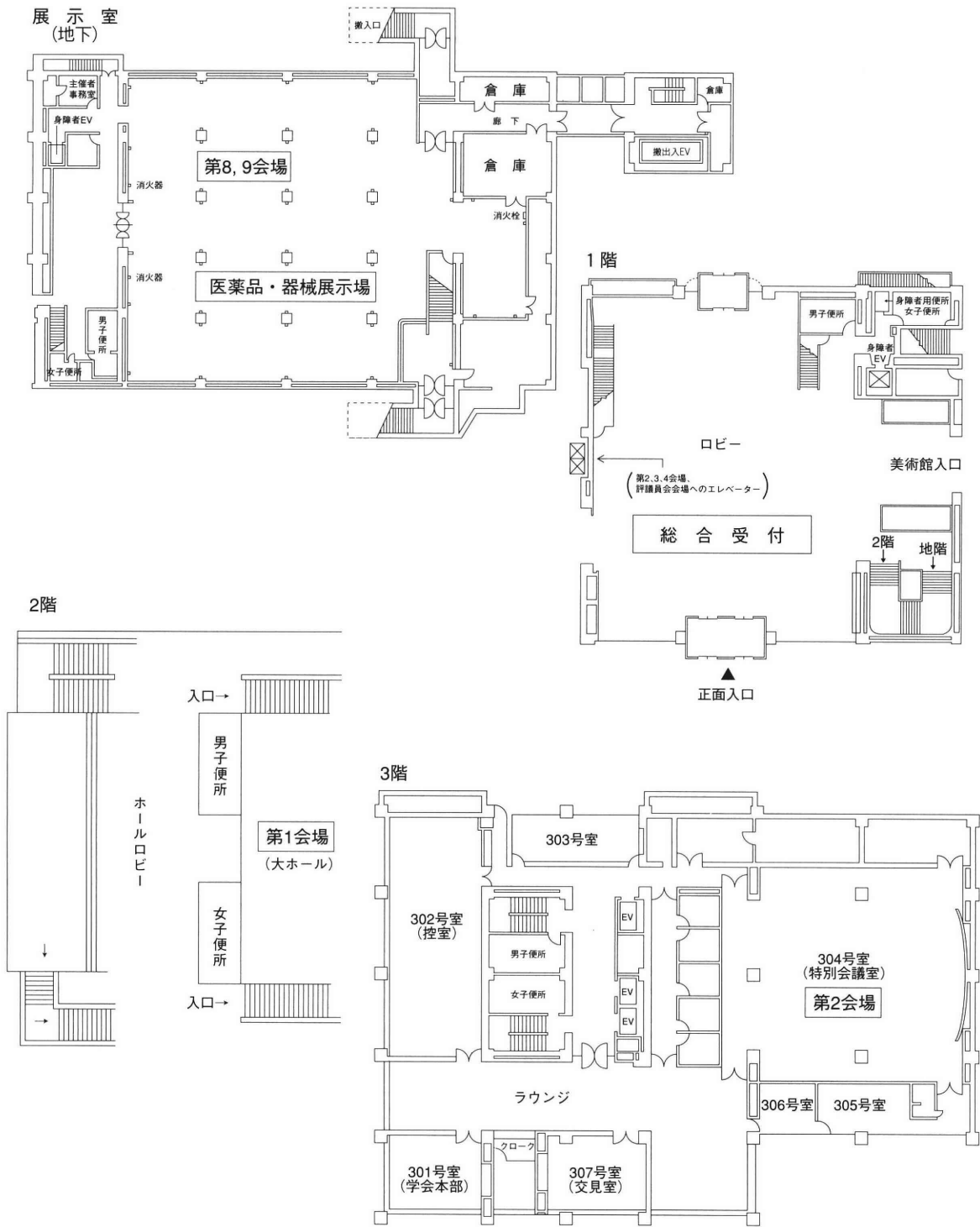
タクシー 約4分 (約600円)

(お願い)

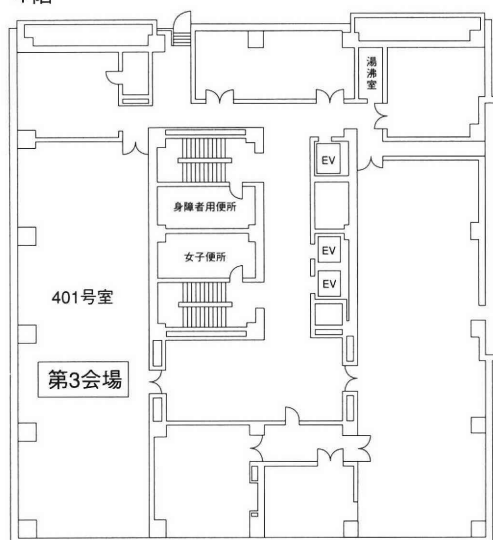
おいでの際はできるだけ公共交通機関を利用し, 自家用車はご遠慮ください。

会場案内 (I)

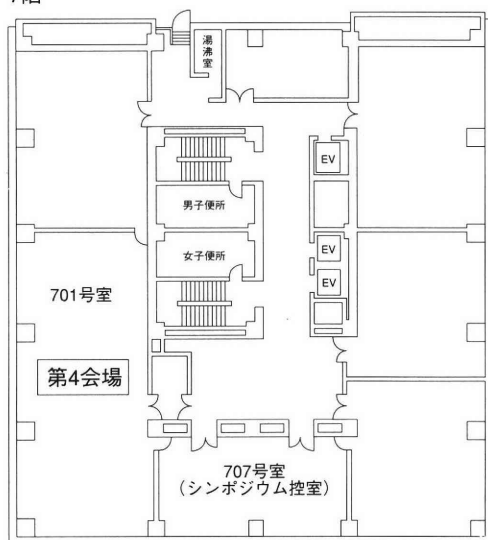
★富山県民会館



4階

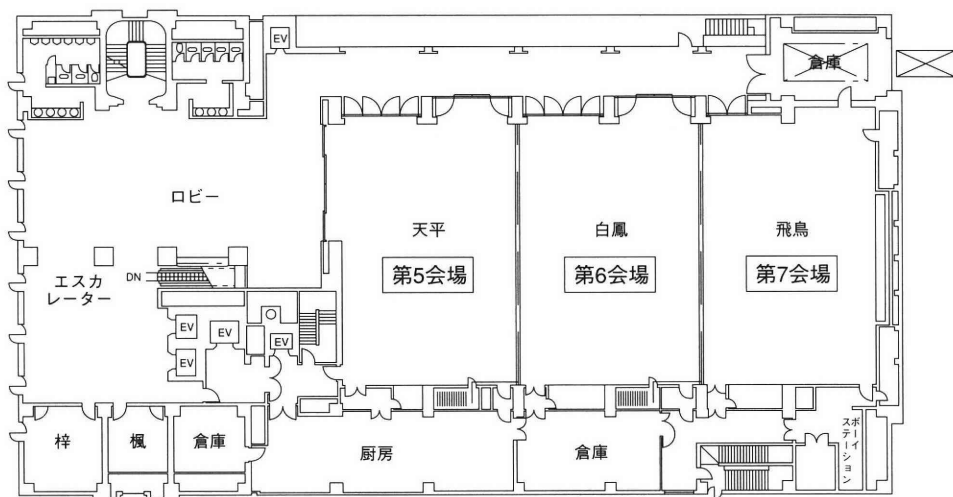


7階



会場案内(Ⅱ)

★富山第一ホテル
(第5, 6, 7会場)
(総懇親会会場)



学会参加者へのお知らせ

受付・参加費

参加者は学会参加費として8,000円を、富山県民会館1階参加費受付でお納め下さい。受付は10月26日(学会第1日目)は正午より、10月27日(第2日目)と10月28日(第3日目)は午前8時30分より行っております。領収書兼用の名札を参加費と引き換えにお渡しいたします。各自で所属、氏名などを記入のうえ、よく見える場所(左胸など)におつけください。

プログラム・予稿集

学会誌が講演抄録集を兼ねていますので、当日ご持参下さい。

総懇親会のご案内

日 時：平成6年10月27日(木) 19時～21時

会 場：富山第一ホテル 3階 大宴会場(天平・白鳳・飛鳥)

会 費：8,000円

一般講演者へのお知らせ

1. 口頭発表

講演時間

- 1) 一般講演は7分です。1分前に青ランプで予告し、講演終了は赤ランプでお知らせします。各発表者は講演時間を厳守して下さい。
- 2) スライドの送りは口頭で明確に指示して下さい。
- 3) 次演者は、早目に所定の席にご着席下さい。
- 4) 討論は座長の指示に従って下さい。討論は各セクションの講演終了後にまとめて行うことがありますので、座長の指示があるまで最前列席でお待ち下さい。

質疑応答

- 1) 一般演題の討論は、座長の許可を得てから、所属と氏名を明らかにした上で発言して下さい。
- 2) 発言は討論用のマイクを使用し、演者の回答が終わるまでマイクのそばでお待ち下さい。
- 3) 質疑応答の時間は、1演題につき3分を予定しております。質問が複数ある場合は、座長の指示に従って下さい。

スライド

- 1) スライドは35mm判、標準マウント(50×50mm)に入れ、各自でスライドホルダーに挿入し、方向、順番などの誤りがないようにご確認下さい。
- 2) 発表者は講演時間の1時間前までに、各会場のスライド受付にスライドの提出をして下さい。
- 3) スライドは各セクションの終了後、速やかに受領証と引き換えにお受け取り下さい。

2. 示説発表

準備

- 1) 第2日(10月27日)に発表の方
 掲示時間：10月27日(木)午前9時より9時30分までの間に掲示を終了して下さい。
 撤去時間：10月27日(木)午後3時より5時まで。
- 2) 第3日(10月28日)に発表の方
 掲示時間：10月28日(金)午前9時より10時までの間に掲示を終了して下さい。
 撤去時間：10月28日(金)午後3時より4時まで。
- 3) 掲示の最上段に演題名、所属、氏名を表示して下さい。演題の掲示スペースは、150cm×180cm(縦×横)です。掲示に必要な画鋲などは当方で用意します。

プ ロ グ ラ ム

学会進行予定表

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

公開シンポジウム

一 般 講 演

(口頭発表)
(示説発表)

[illegible][illegible]

日程表
第2日(10月27日・木)

[illegible]

日程表 第3日(10月28日・金)

	第1会場 (県民会館) (大ホール)	第2会場 (県民会館) (304号室)	第3会場 (県民会館) (401号室)	第4会場 (県民会館) (701号室)	第5会場 (第一ホテル) (3F天平)	第6会場 (第一ホテル) (3F白鳳)	第7会場 (第一ホテル) (3F飛鳥)	第8会場 (県民会館) (地下展示室)	第9会場 (県民会館) (地下展示室)
9:00	9:00～9:40 IVF-ET(VI) 座長:荻田幸雄 108～111	9:00～9:40 精子・排精(IV) 座長:大濱紘三 120～123	9:00～9:30 不育(I) 座長:植村次雄 130～132	9:00～9:40 不妊因子 座長:加藤紘 141～144	9:00～9:30 診断・検査(II) 座長:矢内原巧 150～152	9:00～9:30 排卵調節(III) 座長:岡村均 160～162	9:00～9:40 統計(I) 座長:大川光央 171～174		
10:00	9:40～10:20 IVF-ET(VII) 座長:佐藤章 112～115	9:40～10:10 精子・排精(V) 座長:石川博通 124～126	9:30～10:10 不育(II) 座長:田中憲一 133～136	9:40～10:30 手術 座長:佐治文隆 145～149	9:30～10:00 診断・検査(III) 座長:北尾学 153～155	9:30～10:00 妊娠・流産(I) 座長:佐藤孝道 163～165	9:40～10:20 統計(II) 座長:野田洋一 175～178		
	10:20～11:00 IVF-ET(VIII) 座長:永田行博 116～119	10:10～10:40 精子・排精(VI) 座長:根岸壮治 127～129	10:10～10:50 不育(III) 座長:舟本寛 137～140		10:00～10:40 卵巣・性ホルモン (III) 座長:白川光一 156～159	10:00～10:50 妊娠・流産(II) 座長:飯田和賀 166～170	10:20～11:00 免疫 座長:香山浩二 179～182		
11:00	11:05～11:35 教育講演5 座長:広井正彦 演者:桑原惣隆								
12:00	11:45～12:45 《新理事会》 富山第一ホテル2F 春日								
13:00	13:00～13:50 IVF-ET(IX) 座長:石川睦男 183～187	13:00～13:40 精子・排精(VII) 座長:荒木克己 197～200	13:00～13:30 卵子・胚(I) 座長:小林俊文 212～214	13:00～13:40 内視鏡(I) 座長:館野政也 224～227				13:00～13:28 先天異常・その他 座長:長田尚夫 P-20～P-23	13:00～13:28 IVF-ET 座長:八神喜昭 P-32～P-35
14:00	13:50～14:30 IVF-ET(X) 座長:井上正人 188～191	13:40～14:20 精子・排精(VIII) 座長:竹中生昌 201～204	13:30～14:10 卵子・胚(II) 座長:佐藤和雄 215～218	13:40～14:10 内視鏡(II) 座長:河上征治 228～230				13:28～13:56 手術(I) 座長:広川信 P-24～P-27	13:28～13:49 子宮内膜症・その他 座長:玉舎輝彦 P-36～P-38
15:00	14:30～15:20 IVF-ET(XI) 座長:加藤修 192～196	14:20～15:00 精巣・性ホルモン (I) 座長:藤田公生 205～208	14:10～15:00 卵子・胚(III) 座長:内海恭三 219～223	14:10～14:40 内視鏡(III) 座長:新居隆 231～233				13:56～14:24 手術・その他 (II) 座長:松田公志 P-28～P-31	13:49～14:17 インターセックス ・先天異常・その他 座長:寺島芳輝 P-39～P-42
15:30	閉会の挨拶	15:00～15:30 精巣・性ホルモン (II) 座長:中田瑛浩 209～211							

特 別 講 演

10月27日(木) 13:40～14:40

Fertilizing ability of mammalian spermatozoa: Its development and relativity

柳町隆造(ハワイ大学教授)

座長: 永野俊雄(千葉大学解剖学教授)

会 長 講 演

10月26日(水) 14:00～14:20

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)

座長: 吉田 修(京都大学泌尿器科教授)

生殖医学の進歩シリーズ 教育講演 1

10月26日(水) 14:20～14:50

体外受精の現況と問題点

森 崇英(京都大学産婦人科教授)

座長: 泉 陸一(富山医科薬科大学産婦人科教授)

生殖医学の進歩シリーズ 教育講演 2

10月26日(水) 14:50～15:20

精子成熟の場合―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)

座長: 毛利秀雄(放送大学副学長)

生殖医学の進歩シリーズ 教育講演 3

10月27日(木) 14:40～15:10

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)

座長: 白井将文(東邦大学泌尿器科教授)

生殖医学の進歩シリーズ 教育講演 4

10月27日(木) 15:10～15:40

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)

座長: 入谷 明(近畿大学生物理工学部教授)

生殖医学の進歩シリーズ 教育講演 5

10月28日(金) 11:05 ~ 11:35

性機能と視床下部調節因子

桑原惣隆(金沢医科大学産婦人科教授)

座長: 広井正彦(山形大学産婦人科教授)

シンポジウム I

10月26日(水) 15:30 ~ 18:00

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巣内因子

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, 堤 治, 武谷雄二(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, 鎌田周作, 麻生武志

(東京医科歯科大学産婦人科)

シンポジウム II

10月27日(木) 15:40 ~ 18:10

着床をめぐって

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—着床前後における epidermal growth factor の生理作用—

堤 治, 武谷雄二(東京大学産婦人科)

4. 着床周辺部位の微小変化 —増殖因子(hHGF)を介した卵と子宮内膜のシグナル交換—

根上 晃, 富永敏朗(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)

ワークショップ

10月27日(木) 15:40～18:10

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
 - ①伊藤晴夫(帝京大学市原病院泌尿器科)
 - ②瀧原博史(山口大学泌尿器科)
 - ③追加発言：精索静脈瘤精巣患者における精細胞動態の解析
藤澤正人(神戸大学泌尿器科)
2. 精巣機能
 - ①徳永 葉(川崎医科大学泌尿器科)
 - ②精索静脈瘤におけるLHRHテストの意義
山本雅憲(名古屋大学泌尿器科)
3. 精子機能
 - ①市川智彦(千葉大学泌尿器科)
 - ②布施秀樹(富山医科薬科大学泌尿器科)
4. 治療
三浦一陽(東邦大学泌尿器科)

公開シンポジウム

10月26日(水) 15:30～18:00

不妊の漢方療法

司会：青野敏博(徳島大学産婦人科教授)

吉田英機(昭和大学泌尿器科教授)

1. 基礎的事項
 - 1) 顆粒膜細胞のステロイド生合成，特にアロマタ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) 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)
 - 3) ヒト精子に対する漢方薬の作用
田代真一(昭和薬科大学)
2. 臨床的事項
 - 1) 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)
 - 2) 自己抗体陽性不育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) 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)
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)

一 般 演 題

(口頭発表)

第 1 会場 (県民会館大ホール)

第 2 日 10月27日 (木) 『午前』

IVF-ET (I)

[演題 1 ~ 3] < 9:00 ~ 9:30 > 座長 平川 舜 (東邦大・婦)

IVF-ET (II)

[演題 4 ~ 6] < 9:30 ~ 10:00 > 座長 松浦俊平 (愛媛大・婦)

IVF-ET (III)

[演題 7 ~ 10] < 10:00 ~ 10:40 > 座長 伊吹令人 (群馬大・婦)

IVF-ET (IV)

[演題 11 ~ 14] < 10:40 ~ 11:20 > 座長 高林晴夫 (金沢医大・婦)

IVF-ET (V)

[演題 15 ~ 17] < 11:20 ~ 11:50 > 座長 菅沼信彦 (名古屋大分院・婦)

第 3 日 10月28日 (金) 『午前』

IVF-ET (VI)

[演題 108 ~ 111] < 9:00 ~ 9:40 > 座長 荻田幸雄 (大阪市立大・婦)

IVF-ET (VII)

[演題 112 ~ 115] < 9:40 ~ 10:20 > 座長 佐藤 章 (福島県立医大・婦)

IVF-ET (VIII)

[演題 116 ~ 119] < 10:20 ~ 11:00 > 座長 永田行博 (鹿児島大・婦)

第 3 日 10月28日 (金) 『午後』

IVF-ET (IX)

[演題 183 ~ 187] < 13:00 ~ 13:50 > 座長 石川睦男 (旭川医大・婦)

IVF-ET (X)

[演題 188 ~ 191] < 13:50 ~ 14:30 > 座長 井上正人 (東海大・婦)

IVF-ET (XI)

[演題 192 ~ 196] < 14:30 ~ 15:20 > 座長 加藤 修 (永遠幸マタニティ)

第 2 会場 (県民会館304号室)

第 2 日 10月27日 (木) 『午前』

精子・排精 (I)

[演題 18 ~ 22] < 9:00 ~ 9:50 > 座長 梅田 隆 (帝京大・泌)

精子・排精 (II)

[演題 23 ~ 27] < 9:50 ~ 10:40 > 座長 田中啓幹 (川崎医大・泌)

精子・排精 (III)

[演題 28 ~ 31] < 10:40 ~ 11:20 > 座長 磯島晋三 (府中病院・婦)

第 3 日 10月28日 (金) 『午前』

精子・排精 (IV)

[演題 120 ~ 123] < 9:00 ~ 9:40 > 座長 大濱紘三 (広島大・婦)

精子・排精(V)

[演題124～126]〈9:40～10:10〉 座長 石川博通(東京歯科大市川・泌)

精子・排精(VI)

[演題127～129]〈10:10～10:40〉 座長 根岸壮治(春日部市立・泌)

第3日10月28日(金)『午後』

精子・排精(VII)

[演題197～200]〈13:00～13:40〉 座長 荒木克己(金沢大・婦)

精子・排精(VIII)

[演題201～204]〈13:40～14:20〉 座長 竹中生昌(香川医大・泌)

精巣・性ホルモン(I)

[演題205～208]〈14:20～15:00〉 座長 藤田公生(浜松医大・泌)

精巣・性ホルモン(II)

[演題209～211]〈15:00～15:30〉 座長 中田瑛浩(山形大・泌)

第3会場(県民会館401号室)

第2日10月27日(木)『午前』

LH-RH・性腺刺激ホルモン(I)

[演題32～34]〈9:00～9:30〉 座長 石丸忠之(長崎大・婦)

LH-RH・性腺刺激ホルモン(II)

[演題35～39]〈9:30～10:20〉 座長 加藤順三(山梨医大・婦)

間脳・下垂体(I)

[演題40～42]〈10:20～10:50〉 座長 森 宏之(帝京大・婦)

間脳・下垂体(II)

[演題43～45]〈10:50～11:20〉 座長 武田佳彦(東京女子医大・婦)

プロラクチン

[演題46～48]〈11:20～11:50〉 座長 木下勝之(埼玉医大総合医療・婦)

第3日10月28日(金)『午前』

不育(I)

[演題130～132]〈9:00～9:30〉 座長 植村次雄(横浜市立大・婦)

不育(II)

[演題133～136]〈9:30～10:10〉 座長 田中憲一(新潟大・婦)

不育(III)

[演題137～140]〈10:10～10:50〉 座長 舟本 寛(富山県立中央・婦)

第3日10月28日(金)『午後』

卵子・胚(I)

[演題212～214]〈13:00～13:30〉 座長 小林俊文(慶応大・婦)

卵子・胚(II)

[演題215～218]〈13:30～14:10〉 座長 佐藤和雄(日本大・婦)

卵子・胚(III)

[演題219～223]〈14:10～15:00〉 座長 内海恭三(京都大・農)

第4会場 (県民会館701号室)

第2日10月27日(木)『午前』

卵管・子宮

[演題49～53]〈9:00～9:50〉 座長 雨宮 章(聖マリアンナ医大・婦)

卵巣・性ホルモン(I)

[演題54～58]〈9:50～10:40〉 座長 佐藤嘉兵(日本大・農獣医)

卵巣・性ホルモン(II)

[演題59～61]〈10:40～11:10〉 座長 望月真人(神戸大・婦)

第3日10月28日(金)『午前』

不妊因子

[演題141～144]〈9:00～9:40〉 座長 加藤 紘(山口大・婦)

手術

[演題145～149]〈9:40～10:30〉 座長 佐治文隆(大阪大・婦)

第3日10月28日(金)『午後』

内視鏡(I)

[演題224～227]〈13:00～13:40〉 座長 館野政也(富山県立中央・婦)

内視鏡(II)

[演題228～230]〈13:40～14:10〉 座長 河上征治(藤田保健衛生大・婦)

内視鏡(III)

[演題231～233]〈14:10～14:40〉 座長 新居 隆(富山医薬大・婦)

第5会場 (富山第一ホテル 天平)

第2日10月27日(木)『午前』

受精・着床(I)

[演題62～65]〈9:00～9:40〉 座長 榎木 勇(関西医大・婦)

受精・着床(II)

[演題66～69]〈9:40～10:20〉 座長 三宅 侃(大阪大・婦)

受精・着床(III)

[演題70～72]〈10:20～10:50〉 座長 寺尾俊彦(浜松医大・婦)

受精・着床(IV)

[演題73～76]〈10:50～11:30〉 座長 小辻文和(福井医大・婦)

第3日10月28日(金)『午前』

診断・検査(II)

[演題150～152]〈9:00～9:30〉 座長 矢内原巧(昭和大・婦)

診断・検査(III)

[演題153～155]〈9:30～10:00〉 座長 北尾 学(島根医大・婦)

卵巣・性ホルモン(III)

[演題156～159]〈10:00～10:40〉 座長 白川光一(福岡大・婦)

第6会場(富山第一ホテル 白鳳)

第2日10月27日(木)『午前』

子宮内膜症(Ⅰ)

[演題77～80] <9:00～9:40> 座長 岡田弘二(京都府立大・婦)

子宮内膜症(Ⅱ)

[演題81～83] <9:40～10:10> 座長 河野一郎(川崎医大・婦)

子宮内膜症(Ⅲ)

[演題84～87] <10:10～10:50> 座長 杉本 修(大阪医大・婦)

診断・検査(Ⅰ)

[演題88～92] <10:50～11:40> 座長 高野 昇(国立横浜東・婦)

第3日10月28日(金)『午前』

排卵調節(Ⅲ)

[演題160～162] <9:00～9:30> 座長 岡村 均(熊本大・婦)

妊娠・流産(Ⅰ)

[演題163～165] <9:30～10:00> 座長 佐藤孝道(虎の門・婦)

妊娠・流産(Ⅱ)

[演題166～170] <10:00～10:50> 座長 飯田和質(福井県立・婦)

第7会場(富山第一ホテル 飛鳥)

第2日10月27日(木)『午前』

男性副性器(Ⅰ)

[演題93～96] <9:00～9:40> 座長 穂坂正彦(横浜市立大・泌)

男性副性器(Ⅱ)

[演題97～99] <9:40～10:10> 座長 三宅弘治(名古屋大・泌)

排卵調節(Ⅰ)

[演題100～104] <10:10～11:00> 座長 寺川直樹(鳥取大・婦)

排卵調節(Ⅱ)

[演題105～107] <11:00～11:30> 座長 田中俊誠(秋田大・婦)

第3日10月28日(金)『午前』

統計(Ⅰ)

[演題171～174] <9:00～9:40> 座長 大川光央(金沢大・泌)

統計(Ⅱ)

[演題175～178] <9:40～10:20> 座長 野田洋一(滋賀医大・婦)

免疫

[演題179～182] <10:20～11:00> 座長 香山浩二(兵庫医大・婦)

一般演題

(示説発表)

第8会場 (県民会館地下展示室)

第2日10月27日(木)『午前』

卵子・胚・その他

〔演題P-1～P-3〕〈10:30～10:51〉 座長 赤祖父一知(金沢大・婦)

排卵調節

〔演題P-4～P-7〕〈10:51～11:19〉 座長 田中 温(セントマザー産婦人科)

精子・排精・その他

〔演題P-8～P-11〕〈11:19～11:47〉 座長 小倉久男(東邦大・婦)

第3日10月28日(金)『午後』

先天異常・その他

〔演題P-20～P-23〕〈13:00～13:28〉 座長 長田尚夫(聖マリアンナ医大・婦)

手術(I)

〔演題P-24～P-27〕〈13:28～13:56〉 座長 広川 信(藤沢市民・泌)

手術(II)その他

〔演題P-28～P-31〕〈13:56～14:24〉 座長 松田公志(関西医大・泌)

第9会場 (県民会館地下展示室)

第2日10月27日(木)『午前』

診断・検査・その他(I)

〔演題P-12～P-15〕〈10:30～10:58〉 座長 内藤克輔(山口大・泌)

診断・検査・その他(II)

〔演題P-16～P-19〕〈10:58～11:26〉 座長 宮川征男(鳥取大・泌)

第3日10月28日(金)『午後』

IVF-ET

〔演題P-32～P-35〕〈13:00～13:28〉 座長 八神喜昭(名古屋市立大・婦)

子宮内膜症・その他

〔演題P-36～P-38〕〈13:28～13:49〉 座長 玉舎輝彦(岐阜大・婦)

インターセックス・先天異常・その他

〔演題P-39～P-42〕〈13:49～14:17〉 座長 寺島芳輝(慈恵医大・婦)

一 般 演 題

(口頭発表)

第2日 10月27日(木)『午前』

第1会場 【9:00～11:50】

IVF-ET (I)

[演題1～3] 〈9:00～9:30〉 座長 平川 舜(東邦大・婦)

1. 体外受精—胚移植における卵輸送に関する基礎的検討—

東邦大学医学部第一産婦人科学教室 ○中野 英之, 安部 裕司, 片桐由起子
池永 秀幸, 久保 春海, 平川 舜

2. ヒト体外受精・胚移植法における胚移植日と妊娠率との関係

京都大学医学部婦人科学産科学教室 ○後藤 康夫, 神崎 秀陽, 中山 貴弘
高畠 桂子, 姫野 隆雄, 高倉 賢二
森 崇英

3. IVF-ETにおける至適移植胚数の検討

済生会下関総合病院産婦人科 ○高崎 彰久, 野口 博史, 蔵本 武志
森岡 均

IVF-ET (II)

[演題4～6] 〈9:30～10:00〉 座長 松浦 俊平(愛媛大・婦)

4. 受精卵の形態と卵巣刺激周期における凍結胚移植成績の検討

聖隷浜松病院産婦人科 ○西村 満, 西垣 新, 岡田 久
鳥居 裕一
同臨床検査科 佐藤 和文

5. 液状保存精子を用いたIVF-ETにおける妊娠例予後の検討

群馬大学周産母子センター ○関 守利, 竹内 巧, 土屋 清志
中村 秀夫, 伊藤 理廣, 時澤 俊也
伊藤 郁朗, 篠崎 博光, 栗原 努
山田 清彦, 宇津木利雄, 伊吹 令人

6. 血中hCG免疫蛍光測定法を用いた体外受精後の初期妊娠診断

愛媛大学医学部産科婦人科学教室 ○谷口 文章, 福井 敬介, 山中 研二
北川 博之, 矢野 樹理, 松浦 俊平

IVF-ET (III)

[演題7～10] 〈10:00～10:40〉 座長 伊吹 令人(群馬大・婦)

7. 体外受精・胚移植におけるhCG切り替え時の卵胞発育と成績に関する検討

山梨医科大学産婦人科学教室 ○笠井 剛, 内田 雄三, 広井 威
黄 朋子, 川島 茂樹, 奥野 隆
水野 薫子, 端 晶彦, 木下 俊彦
加藤 順三

8. 体外受精のための新しい卵巣刺激法 (bromocriptine-rebound method) : 卵成熟の改善と妊娠率の上昇

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○神野 正雄, 生方 良延, 羽生 一朗
佐藤 学, 勝又木綿子, 吉村 泰典
中村 幸雄

9. 体外受精における血清LH値に基づくhCG投与法の検討: LHパルス状分泌に及ぼすhMG投与の影響

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○勝又木綿子, 神野 正雄, 生方 良延
羽生 一朗, 佐藤 学, 吉村 泰典
中村 幸雄

10. パーゴグリーン(FSH:LH=2:1)の体外受精胚移植における至適卵胞発育モニタリングの検討

群馬大学医学部産科婦人科学教室 ○竹内 巧, 関 守利, 中村 秀夫
栗原 努, 道下 正彦, 山田 清彦
伊吹 令人

IVF-ET (IV)

[演題11~14] 〈10:40~11:20〉 座長 高林 晴夫 (金沢医大・婦)

11. hMG製剤の相違による体外受精・胚移植法の成績の検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室 ○長谷川 淳, 新谷 恵司, 青江 尚志
木村 吉宏, 工藤 尚文

12. 体外受精におけるlow responderに対する成長ホルモン併用療法の効果

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○山崎 淳, 名護 可容, 國方 建児
石川ひろ美, 山野 修司, 青野 敏博

13. 体外受精胚移植(IVF-ET)における排卵誘発法に関する検討 —GnRH agonist long protocol法とshort protocol法の比較—

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○中村佐知子, 福元 清吾, 伊集院博文
大西 英資, 沖 利通, 山元 慎一
堂地 勉, 永田 行博

14. 多嚢胞性卵巣症候群を合併した症例に対する体外受精・胚移植の成績

新潟大学医学部産婦人科学教室 ○長谷川 功, 山本 泰明, 加藤 龍太
織田 和哉, 田村 正毅, 東条 義弥
八幡 哲郎, 本多 晃, 倉林 工
田中 憲一

IVF-ET (V)

[演題15~17] 〈11:20~11:50〉 座長 菅沼 信彦 (名古屋大分院・婦)

15. プレドニゾロン投与による体外受精胚移植法の着床率改善効果

愛媛大学医学部産科婦人科学教室 ○矢野 樹理, 福井 敬介, 谷口 文章
北川 博之, 山中 研二, 松浦 俊平
町立野村病院 武田 康成

16. 自己抗体の存在が着床の場に及ぼす影響 —体外受精胚移植周期における検討

名古屋大学分院産婦人科 ○安藤 智子, 菅沼 信彦, 孫 傑茹
塚原慎一郎, 北川 武司, 森脇 崇之
古井 憲司, 近藤 育代
名古屋大学医学部産婦人科学教室 古橋 円, 友田 豊

17. 体外受精・胚移植不成功例に対するダナゾール投与の有用性

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○宮崎 豊彦, 久慈 直昭, 末岡 浩
小林 俊文, 野澤 志朗

第2会場 【9:00～11:20】

精子・排精 (I)

[演題18～22] 〈9:00～9:50〉 座長 梅田 隆 (帝京大・泌)

18. 精子運動性急速低下症例の検討

東北大学医学部泌尿器科学教室 ○高橋 勝, 前原 郁夫, 平松 正義
蓮田 精之, 中角 尚誉, 折笠 精一

19. Nitric Oxide の精子に対する影響

大阪大学医学部産婦人科学教室 ○信永 敏克, 徳川 吉弘, 久保田康愛
澤井 啓祐, 富山 達大, 金井 利仁
橋本 一昌, 筒井 建紀, 鮫島 義弘
大橋 一友, 佐治 文隆
大阪通信病院産婦人科 脇本 昭憲

20. 各種活性酸素のマウス精子運動能への影響

秋田大学医学部産婦人科学教室 ○池田 雅人, 児玉 英也, 福田 淳
軽部 裕子, 清水 靖, 田中 俊誠

21. ヒト精子運動に及ぼすカルシウムイオンとサイクリックAMPの影響

帝京大学医学部泌尿器科学教室 ○四倉 正己, 押尾 茂, 友政 宏
石田 克美, 矢崎 恒忠, 梅田 隆

22. 尿pHとosmolarityの精子運動性と膜機能に対する影響

鳥取大学医学部泌尿器科学教室 ○小野 孝司, 山本 泰久
ニコラオス・ソフィキティス, 宮川 征男

精子・排精 (II)

[演題23～27] 〈9:50～10:40〉 座長 田中 啓幹 (川崎医大・泌)

23. 当科におけるハムスターテストの検討

富山医科薬科大学泌尿器科学教室 ○高峰 利充, 岩崎 雅志, 風間 泰蔵
布施 秀樹, 片山 喬

24. ハムスター凍結卵によるSPA

医療法人福友会福友病院 ○迫 アリサ
公立陶生病院 中原 靖典

25. ハムスターテスト不良症例における不妊症治療成績の検討

兵庫医科大学産科婦人科学教室 ○満尾 瑞, 柴原 浩章, 堀内 功
田中 宏幸, 塩谷 朋弘, 池田 義和
井上みゆき, 長谷川昭子, 香山 浩二

26. 精子自動分析, アクロビーズテストおよびハムスターテストにおける精子受精能の評価と体外受精成績

川崎医科大学産婦人科学教室 ○毛利 浩子, 河野 一郎
同泌尿器科学教室 徳永 葉, 田中 啓幹

27. 体外受精/胚移植症例における精子機能検査と受精能の評価

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○加藤 龍太, 山本 泰明, 倉林 工
 長谷川 功, 八幡 哲郎, 本多 晃
 東條 義弥, 田村 正毅, 田中 憲一
 (厚)佐渡総合病院産婦人科 織田 和哉

精子・排精(Ⅲ)

[演題28～31] 〈10:40～11:20〉 座長 磯島 晋三(府中病院・婦)

28. アクロビーズテストを用いた精子先体反応についての検討

府中病院不妊センター ○加藤 浩志, 小林真一郎, 有本万里子
 中島 淑子, 磯島 晋三

29. 正常精子症におけるアクロビーズテストの意義について

京都大学医学部泌尿器科学教室 ○奥野 博, 大西 裕之, 橋村 孝幸
 吉田 修
 同産婦人科学教室 後藤 康夫, 神崎 秀陽, 森 崇英

30. ヒト精子 Acrosome Reaction 簡易染色法の検討

大阪市立大学医学部産科婦人科学教室 ○松岡 逸子, 藤野 祐司, 伊藤 文俊
 中岡 幸治, 西尾 順子, 荻田 幸雄

31. 受精過程における精子アクロシン活性の検討

鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○戸田 稔子, 吉岡 宏記, 片桐千恵子
 吉田 壮一, 谷川 正浩, 大野原良昌
 原田 省, 寺川 直樹

第3会場 【9:00～11:50】

LH-RH・性腺刺激ホルモン(Ⅰ)

[演題32～34] 〈9:00～9:30〉 座長 石丸 忠之(長崎大・婦)

32. GnRH analogue 投与による下垂体脱感作中の血中LHとFSHの解離現象についての検討

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○山下 隆則, 吉田 正雄, 松脇 隆博
 藤下 晃, 河野 雅洋, 小無田明美
 石丸 忠之, 山邊 徹

33. 体重減少ラット下垂体の機能・形態に及ぼす慢性的GnRHアナログ投与の影響 —native GnRH の作用との比較—

福井医科大学産科婦人科学教室 ○後藤 健次, 小辻 文和, 富永 敏朗

34. Short protocol における flare up を利用した卵胞発育の予知に関する検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室 ○山本 泰明, 長谷川 功, 加藤 龍太
 本多 晃, 八幡 哲郎, 東條 義弥
 田村 正毅, 倉林 工, 田中 憲一
 (厚)佐渡総合病院産婦人科 織田 和哉

LH-RH・性腺刺激ホルモン(Ⅱ)

[演題35～39]〈9:30～10:20〉 座長 加藤 順三(山梨医大・婦)

35. 卵巣過剰刺激症候群と低用量dopamine療法

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室 ○鈴木 真史, 鈴木 規敬, 岡田 英幹
生田 克夫, 花田 征治, 八神 喜昭

36. 腹水濾過濃縮再静注法による新しい重症卵巣過剰刺激症候群の管理

東北大学医学部産科婦人科学教室 ○高屋 りさ, 船山由有子, 原谷 博信
深谷 孝夫, 矢嶋 聡

37. 卵巣過剰刺激症候群に対する腹水蛋白再静注療法の試み

山梨医科大学産婦人科学教室 ○依田 逸人, 水野 薫子, 奥野 隆
笠井 剛, 中村 雄二, 端 晶彦
木下 俊彦, 加藤 順三

38. hCGを投与しない体外受精 —OHSSの予防策としての試み—

秋田大学医学部産婦人科学教室 ○児玉 英也, 福田 淳, 軽部 裕子
清水 靖, 池田 雅人, 田中 俊誠

39. BromocriptineによるOHSSの発症予防効果の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○河野 哲郎, 松浦 講平, 生田 幸生
岩政 仁, 田代 浩徳, 本田 律生
岡村 均

間脳・下垂体(Ⅰ)

[演題40～42]〈10:20～10:50〉 座長 森 宏之(帝京大・婦)

40. MRI検査により分娩後下垂体壊死が早期に診断された1症例について

金沢大学医学部産科婦人科学教室 ○鈴木 信孝, 可西 直之, 村上 弘一
上野 浩久, 荒木 克己, 寺田 督

41. 排卵障害例における変異LHの頻度

大阪医科大学産科婦人科学教室 ○井本 広済, 奥田喜代司, 山田 隆司
岡崎 審, 佐伯 理男, 杉本 修

42. 性ステロイドによるラット視床下部オキシトシン細胞のFOS発現調節

帝京大学医学部産婦人科学教室 ○深澤みゆき, 味香 勝也, 森 宏之
冲永 莊一

間脳・下垂体(Ⅱ)

[演題43～45]〈10:50～11:20〉 座長 武田 佳彦(東京女子医大・婦)

43. 中等度肝機能障害を伴った神経性食思不振症の1例 —経過と特異的病態について—

東京女子医科大学第二病院産婦人科 ○安達 知子, 黒島 淳子
同産婦人科学教室 岩下 光利, 網野 幸子, 井口登美子
武田 佳彦

44. 不妊患者における肥満, やせとLH-RH, TRH試験の結果

虎の門病院産婦人科 ○佐藤 孝道, 山田 義治, 高橋 敬一
東梅 久子

45. 肥満婦人における排卵障害機序の内分泌学的検討

藤田保健衛生大学医学部産婦人科学教室

○田嶋 貴子, 樋口 泰彦, 西尾 瑞香

吉田麻里子, 門脇 恵, 河上 征治

同坂文種報徳会病院産婦人科

山口 陽子, 金倉 洋一

プロラクチン

[演題46~48] 〈11:20~11:50〉 座長 木下 勝之(埼玉医大総合医療・婦)

46. Bromocriptine肛門坐薬による妊娠例の報告

国立名古屋病院産婦人科

○戸谷 良造, 鈴置 洋三

47. エストロゲン投与によるPRL遺伝子の発現調節とPit-1との関連

名古屋大学医学部産婦人科学教室

○塚原慎一郎, 森脇 崇之, 北川 武司

安藤 智子, 古井 憲司, 近藤 育代

古橋 円, 菅沼 信彦, 友田 豊

同環境医学研究所

妹尾 久雄

48. BrdUを用いたラット下垂体前葉プロラクチン細胞の増殖率の測定

山梨医科大学産婦人科学教室

○端 晶彦, 加藤 順三

同第一生理学教室

有田 順

第4会場 【9:00~11:10】

卵管・子宮

[演題49~53] 〈9:00~9:50〉 座長 雨宮 章(聖マリアンナ医大・婦)

49. Sonohysterographyによる子宮腔内病変観察の試み

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室

○斉藤寿一郎, 石塚 文平, 藤脇伸一郎

堀越 裕史, 近藤 俊彦, 松本 一彦

萩庭 一元, 雨宮 章

同横浜市西部病院産婦人科

林 和彦

同放射線科

作山 攜子

50. Sonohysterographyによる正常性周期子宮内膜の観察

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室

○藤脇伸一郎, 斉藤寿一郎, 房間 茂由

堀越 裕史, 近藤 俊彦, 萩庭 一元

石塚 文平, 雨宮 章

同横浜市西部病院放射線科

作山 攜子

51. 排卵前後における子宮内膜超音波像の評価に関する研究

島根医科大学産科婦人科学教室

○内田 昭弘, 高橋健太郎, 尾崎 智哉

岡田 正子, 田丸 直美, 栗岡 裕子

北尾 学

52. ヒト子宮内膜における糖輸送担体の発現とその月経周期による変化

東京大学医学部産科婦人科学教室

○森田 豊, 堤 治, 矢野 哲

武谷 雄二

東京厚生年金病院産婦人科

定月みゆき

53. 子宮内膜の脱落膜化に伴い発現するPOU domainを持つホメオボックス遺伝子

三重大学医学部産科婦人科学教室 ○箕浦 博之, 菅谷 健, 豊田 長康

卵巣・性ホルモン (I)

[演題54~58] 〈9:50~10:40〉 座長 佐藤 嘉兵 (日本大・農獣医)

54. op/opマウスを用いたマクロファージとM-CSFの卵胞発育と排卵に及ぼす役割の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○荒木真佐子, 福松 之敦, 片渕 秀隆
松浦 講平, 岡村 均

55. 断片化DNA末端標識法を用いたハムスター卵胞成熟過程における閉鎖卵胞の組織化学的検討

日本大学農獣医学部生体制御科学研究室 ○上谷 則子, 村上 理佳, 佐藤 嘉兵

56. 卵胞の発育・閉鎖に伴う卵胞基底膜成分の変化

福井医科大学産科婦人科学教室 ○細川久美子, 小辻 文和, 富永 敏朗

57. 培養ヒト顆粒膜細胞におけるc-fosおよびc-mycmRNAの発現

竹田総合病院産婦人科 ○吉田 仁秋, 安斎 憲

58. インヒビンRIAの確立とその問題点について

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室 ○莊 隆一郎, 田辺 清男, 菊地 正晃
中川 博之, 北岡 芳久, 斎城 綾子
野澤 志朗
東京都済生会中央病院産婦人科 亀井 清, 玉岡 有告

卵巣・性ホルモン (II)

[演題59~61] 〈10:40~11:10〉 座長 望月 真人 (神戸大・婦)

59. 卵胞発育におけるGHの局所作用についての検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○伯野 直美, 矢野 哲, 堤 治
武谷 雄二

同農学部農芸化学科 竹中 麻子, 高橋伸一郎, 野口 忠

60. プタ顆粒膜細胞のステロイド産生能および細胞増殖能に及ぼす一酸化窒素(NO)の影響

東京医科歯科大学産科婦人科学教室 ○増田美香子, 久保田 俊郎, 鎌田 周作
麻生 武志

61. ホルモン分泌における壁側顆粒膜細胞と卵丘細胞の相違

山形大学医学部産科婦人科学教室 ○中原 健次, 野原 理, 河内谷 敏
斉藤 隆和, 石田ガブリエラ
斉藤 英和, 広井 正彦

第5会場 【9:00~11:30】

受精・着床 (I)

[演題62~65] 〈9:00~9:40〉 座長 榎木 勇 (関西医大・婦)

62. 腹腔マクロファージおよびその培養上清との共培養による胚発育の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○小野田 親, 松浦 講平, 本田 律生
福松 之敦, 岡村 均

63. ゴールデンハムスター体外受精卵の細胞遺伝学的研究

旭川医科大学生物学科

○渡邊 誠二, 上口勇次郎, 立野 裕幸

64. 受精超初期における33kdの蛋白のリン酸化について

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

○稲垣 昇, 鈴木 秋悦, 野澤 志朗

埼玉中央病院産婦人科

北井 啓勝

65. 着床現象における $\beta 1$ integrin familyの生理的意義

杏林大学医学部産婦人科学教室

○塩川 滋達, 葉梨 秀樹, 吉村 泰典

中村 幸雄

受精・着床(Ⅱ)

[演題66~69] 〈9:40~10:20〉 座長 三宅 侃(大阪大・婦)

66. ブタ卵透明帯ZP1遺伝子のクローニング

兵庫医科大学産科婦人科学教室

○山崎 則行, 鏑本 浩志, 多養 哲治

香山 浩二

67. 卵表層顆粒エキソサイトーシスの時間動態とそれに影響する細胞内因子

大阪大学医学部産婦人科学教室

○増本 伸之, 田原 正浩, 萬本 明子

田坂 慶一, 三宅 侃

68. 精子タンパク質SH基の精子卵細胞融合における役割

大阪大学医学部産婦人科学教室

○萬本 明子, 増本 伸之, 田原 正浩

田坂 慶一, 三宅 侃

69. ハムスター1細胞期胚の胚盤胞期への発生に及ぼすタウリンとEDTAの影響

広島県立大学生物資源開発学科

○堀内 俊孝, 建本 秀樹

受精・着床(Ⅲ)

[演題70~72] 〈10:20~10:50〉 座長 寺尾 俊彦(浜松医大・婦)

70. 体外受精・胚移植法での妊娠例と非妊娠例の子宮内膜に関する検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室

○木村 吉宏, 新谷 恵司, 長谷川 淳

青江 尚志, 工藤 尚文

71. クエン酸クロミフェン投与周期における排卵期子宮内膜超音波像と内膜ホルモンレセプター量との検討

京都府立医科大学産婦人科学教室

○近藤 徳正, 大野 洋介, 細川 健一

藤本 泰子, 三戸 和子, 岡田 弘二

72. 当科における不妊患者31例の黄体期中期子宮内膜の組織学的解析

浜松医科大学産婦人科学教室

○朝比奈俊彦, 岡田 喜親, 徳永 直樹

小林 隆夫, 寺尾 俊彦

受精・着床(Ⅳ)

[演題73~76] 〈10:50~11:30〉 座長 小辻 文和(福井医大・婦)

73. 卵胞内精子注入法の有用性に関する検討

弘前大学医学部産科婦人科学教室

○横山 良仁, 相良 守峰, 樋口 毅

藤井 俊策, 斎藤 良治

74. DIFI法により双胎妊娠となった一例

横浜市立大学医学部産婦人科学教室 ○飯塚 麻紀, 堀 裕雅, 近藤 芳仁
遠藤 方哉, 山口 肇, 植村 次雄
水口 弘司

75. 当帰芍薬散, ユベラにより結婚8年目に妊娠した症例

第二出雲市民病院産婦人科 ○金田 健一

76. ハムスターの卵母細胞の成熟課程におけるERの動態

東邦大学医学部第二解剖学教室 ○岡田 詔子, 猪俣賢一郎
東京女子医科大学第二生理学教室 白石 浩一, 宮崎 俊一

第6会場 【9:00~11:40】

子宮内膜症 (I)

[演題77~80] 〈9:00~9:40〉 座長 岡田 弘二(京都府立医大・婦)

77. ダナゾール懸濁液局注療法に関する検討

大阪市立住吉市民病院産婦人科 ○竹林 忠洋, 濱田 和孝
大阪市立大学医学部産科婦人科学教室 藤野 祐司, 松岡 逸子, 伊藤 文俊
萩田 幸雄

78. 子宮腺筋症を有する不妊症患者の治療成績—ダナゾール経腔投与を中心に—

滋賀医科大学産科婦人科学教室 ○山出 一郎, 竹中 章, 須戸 龍男
野田 洋一

79. マレイン酸メチルエルゴメトリン(メテナリン)投与による粘膜下筋腫の治療:妊娠成立症例の報告

琉球大学医学部産科婦人科学教室 ○中里 和正, 稲福 薫, 東 政弘
金澤 浩二

80. 子宮筋腫を有する挙児希望婦人の腹腔鏡検査所見—子宮内膜症との関係—

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○藤本 泰子, 大野 洋介, 細川 健一
近藤 徳正, 三戸 和子, 岡田 弘二

子宮内膜症 (II)

[演題81~83] 〈9:40~10:10〉 座長 河野 一郎(川崎医大・婦)

81. 子宮内膜症の妊娠成績に対する免疫能の関与

佐賀医科大学産婦人科学教室 ○宗 完子, 松本 ゆみ, 杉森 甫
高邦会高木病院 中村加代子, 野見山真理

82. 子宮内膜症のGnRHアゴニスト治療効果の指標としての子宮内膜超音波像について

京都府立医科大学産婦人科学教室 ○三戸 和子, 大野 洋介, 藤本 泰子
細川 健一, 近藤 徳正, 岡田 弘二

83. 子宮内膜症を有する不妊症例に対するIVF-ETの有用性について

東京厚生年金病院産婦人科 ○丸山 正統
東京大学医学部産科婦人科学教室 矢野 哲, 伯野 直美, 高井 泰
森田 豊, 藤原 敏博, 大須賀 穰
林 直樹, 堤 治, 武谷 雄二

子宮内膜症(Ⅲ)

[演題84～87]〈10:10～10:50〉 座長 杉本 修(大阪医大・婦)

84. チョコレート嚢胞に対する腹腔鏡直視下の各種処置の比較

大阪医科大学産科婦人科学教室 ○佐伯 理男, 奥田喜代司, 山田 隆司
岡崎 審, 井本 広済, 杉本 修

85. 卵巣チョコレート嚢胞に対する腹腔鏡下嚢胞摘出術と内容吸引・電気焼灼術の比較検討

佐賀医科大学産婦人科学教室 ○松本 ゆみ, 宗 完子, 杉森 甫
高邦会高木病院 中村加代子, 野見山真理

86. チョコレート嚢胞に対する経腔的エタノール注入療法の有用性—妊孕性温存の観点から—

神戸市立中央市民病院産婦人科 ○山下 正紀, 塩谷 雅英, 星野 達二
島田 逸人, 小野 吉行, 池内 正憲
高島 英世

87. 卵巣内膜症性嚢胞に対する経腔超音波下嚢胞穿刺術の検討

東邦大学医学部第二産婦人科学教室 ○大熊 永子, 川村 良, 田邊 勝男
伊原佐江子, 天明 麻子, 三島眞喜子
奥山 輝明, 小倉 久男

診断・検査(Ⅰ)

[演題88～92]〈10:50～11:40〉 座長 高野 昇(国立横浜東・婦)

88. HSG像解読におけるテレビ観察の意義(造影剤の流れの解析を中心に)

国立横浜東病院産婦人科 ○鈴鹿 清美, 高野 昇, 上杉 健哲
小竹 和美

89. 若年婦人の骨盤内腫瘍のMRI診断の有用性について

(医)西恵会西川婦人科内科クリニック婦人科 ○中村 享史, 片上 佳明, 西川 潔
同放射線科 三宅 日月

90. 多嚢胞性卵巣症候群患者のクロミフェン反応性の評価における経腔超音波断層法の有用性の検討

島根医科大学産科婦人科学教室 ○尾崎 智哉, 高橋健太郎, 岡田 正子
内田 昭弘, 栗岡 裕子, 北尾 學

91. IVF-ETにおける経腔カラードプラ法を用いた子宮動脈pulsatility indexの測定

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○吉田 正雄, 山下 隆則, 石丸 忠之
松脇 隆博, 藤下 晃, 鮫島 哲郎
増崎 英明, 山邊 徹

92. 卵管機能検査としての通気検査の有効性に関する検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室 ○新谷 恵司, 長谷川 淳, 青江 尚志
木村 吉宏, 工藤 尚文

第7会場 【9:00～11:30】

男性副性器 (I)

[演題93～96] 〈9:00～9:40〉 座長 穂坂 正彦 (横浜市立大・泌)

93. 精路の先天異常による無精子症の1例

長崎大学医学部泌尿器科学教室 ○江口 二郎, 井川 掌, 西村 直樹
野俣浩一郎, 金武 洋, 斉藤 泰
桜町病院泌尿器科 広瀬 建

94. 前立腺炎による男性不妊症患者67例に対しての中国漢方を主とした治療効果について

内蒙古自治区中蒙医院 ○劉 乘忠, 白 仁昌, 金 朝花

95. GIFTに用いた精巢上体精子の妊孕性について

永遠幸マタニティクリニック ○高塚 亮三, 藤波 隆一, 辻 敏徳
豊北 美穂, 西 美佐, 橋爪 淳子
寺元 章吉, 道倉 康仁
加藤レディースクリニック 長井 澄絵, 小林 一彦, 加藤 修
富山医科薬科大学泌尿器科学教室 風間 泰蔵, 片山 喬

96. 精巢上体精子の凍結保存法の開発とその臨床成績

セントマザー産婦人科医院 ○田中威づみ, 田中 温, 永吉 基
栗田松一郎, 竹本 洋一, 高崎 博幸
井手 紀子, 有本 恭子, 井上 綾子
岩本 智子
神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

男性副性器 (II)

[演題97～99] 〈9:40～10:10〉 座長 三宅 弘治 (名古屋大・泌)

97. 当院における精巢上体精子回収法の臨床成績

セントマザー産婦人科医院 ○栗田松一郎, 田中 温, 永吉 基
田中威づみ, 竹本 洋一, 高崎 博幸
井手 紀子, 有本 恭子, 井上 綾子
岩本 智子

98. 精巢上体精子による体外受精の臨床成績

河内総合病院泌尿器科 ○田 珠相, 山中 邦人
同不妊センター 森本 義晴, 森本 武晴
県立加古川病院泌尿器科 松本 修
神戸大学医学部泌尿器科学教室 藤澤 正人, 岡田 弘, 守殿 貞夫

99. サテライトシステムを利用した精巢上体精子の体外受精成績

宮崎レディースクリニック ○宮崎 和典
健保連大阪中央病院泌尿器科 北村 雅哉, 高田 剛, 清原 久和
大阪大学医学部泌尿器科学教室 松宮 清美, 並木 幹夫

排卵調節 (I)

[演題100～104] 〈10:10～11:00〉 座長 寺川 直樹 (鳥取大・婦)

100. AIHにおける排卵誘発法の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○豊成 由佳, 武内 裕之, 中野 義宏
阿久津 聡, 三橋 直樹, 桑原 慶紀

101. 各種排卵誘発法に対する卵巢の反応性の年齢別検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○阿久津 聡, 中野 義宏, 豊成 由佳
武内 裕之, 三橋 直樹, 桑原 慶紀

102. 難治性無排卵症に対するレーザーの治療成績

名古屋第一赤十字病院産婦人科 ○木村 隆, 石塚 隆夫, 風戸 貞之

103. GnRHアゴニストによるゴナドトロピンサージの惹起とその排卵誘発効果

鳥取大学医学部産科婦人科学教室 ○大野原良昌, 吉岡 宏記, 吉田 壮一
片桐千恵子, 池成 孝昭, 谷川 正浩
戸田 稔子, 原田 省, 寺川 直樹

104. 排卵を有する不妊婦人に対するhMG療法の有用性に関する検討

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科 ○石原 理, 斉藤 正博, 須野 敏章
竹田 省, 木下 勝之

排卵調節 (II)

[演題105～107] 〈11:10～11:30〉 座長 田中 俊誠 (秋田大・婦)

105. 卵胞液におけるTissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1)の検討

富山医科薬科大学産科婦人科学教室 ○副田 善勝, 長谷川 徹, 山口 圭子
新居 隆, 泉 陸一

106. 卵胞液中における成長ホルモン結合蛋白(GHBP)に関する検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○林 直樹, 藤原 敏博, 堤 治
武谷 雄二

国立小児病院内分泌代謝科 堀川 玲子, 田中 敏章

107. 排卵過程における卵巢内angiotensin II受容体の特性

杏林大学医学部産婦人科学教室 ○荻部 正隆, 小山 典宏, 安藤 索
吉村 泰典, 中村 幸雄
同解剖学教室 秋元 義弘, 平野 寛

第3日 10月28日 (金) 『午前』

第1会場 【9:00～11:00】

IVF-ET (VI)

[演題108～111] 〈9:00～9:40〉 座長 荻田 幸雄 (大阪市立大・婦)

108. IVF-ETにおいてPlasmanate Cutterを使用し妊娠に成功した1症例

大阪市立大学医学部産科婦人科学教室 ○伊藤 文俊, 藤野 祐司, 西尾 順子
中岡 幸治, 梅咲 直彦, 荻田 幸雄

109. 培養液における代用血清使用試み(1)

永遠幸マタニティクリニック

○藤波 隆一, 橋爪 淳子, 西 美佐
 辻 敏徳, 豊北 美穂, 高塚 亮三
 寺元 章吉, 道倉 康仁
 長井 澄絵, 小林 一彦, 加藤 修

加藤レディースクリニック

110. Synthetic Serum Substitute の初期胚発育に及ぼす影響

山形大学医学部産科婦人科学教室

○平山 寿雄, 木原 香織, 森 亜紀子
 広井 正彦

111. マウス初期胚発生に及ぼすM-CSFの影響

京都大学医学部婦人科学産科学教室

○高畠 桂子, 後藤 康夫, 神崎 秀陽
 高倉 賢二, 中山 貴弘, 姫野 隆雄
 森 崇英

IVF-ET (Ⅶ)

[演題112～115] 〈9:40～10:20〉 座長 佐藤 章(福島県立医大・婦)

112. 当院における顕微授精の臨床成績

西山産婦人科

○西山 幸男, 沖浦理恵子, 布引 千浩
 井谷 恵美

113. 当科における顕微授精の臨床成績

高邦会高木病院産婦人科

○野見山真理, 中村加代子

佐賀医科大学産婦人科学教室

宗 完子, 松本 ゆみ, 杉森 甫

114. 当センターにおける顕微授精法の成績

河内総合病院不妊センター

○山崎 雅友, 森本 義晴, 長尾 幸一
 宮田 広敏, 小山 竜一, 當仲 正文
 井上 剛, 森本 武晴
 榎木 晋, 堀越 順彦, 榎木 勇

関西医科大学産科婦人科学教室

115. 当科における卵細胞質内精子注入法による顕微授精の成績

福島県立医科大学産婦人科学教室

○矢沢 浩之, 片寄 治男, 柳田 薫
 星 和彦, 佐藤 章

IVF-ET (Ⅷ)

[演題116～119] 〈10:20～11:00〉 座長 永田 行博(鹿児島大・婦)

116. 当科における顕微授精(SUZI, ICSI)の臨床成績

八千代病院産婦人科

○越智 正憲, 上田 眞, 丸山 邦之
 近藤 正利

117. 卵細胞質内精子注入法の臨床成績

セントマザー産婦人科医院

○田中 温, 永吉 基, 栗田松一郎
 田中威づみ, 竹本 洋一, 高崎 博幸
 井手 紀子, 有本 恭子, 井上 綾子
 岩本 智子

118. 卵細胞質内精子注入法による難治性男性不妊の治療成績

加藤レディースクリニック ○小林 一彦, 長井 澄絵, 加藤 修
 永遠幸マタニティクリニック 辻 敏徳, 豊北 美穂, 道倉 康仁
 明治大学農学部 尾川 昭三

119. Improved I.C.S.I法による妊娠例の検討ならびに今後の対応

加藤レディースクリニック ○加藤 修, 小林 一彦
 永遠幸マタニティクリニック 辻 敏徳, 藤波 隆一, 高塚 亮三
 寺元 章吉, 道倉 康仁

第2会場 【9:00~10:40】

精子・排精(IV)

[演題120~123] 〈9:00~9:40〉 座長 大濱 紘三(広島大・婦)

120. 精巣上体精子成熟過程における sperm acrosin system の変化に関する検討

鳥取大学医学部泌尿器科学教室 ○山本 泰久, 小野 孝司
 ニコラオス・ソフィキテス, 宮川 征男

121. TEST-York Buffer にての前培養精子の先体反応状況と精子受精能について

山形大学医学部産科婦人科学教室 ○木原 香織, 平山 寿雄, 広井 正彦

122. ペントキシフィリンの精子先体反応率に及ぼす影響

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○絹谷 正之, 上田 克憲, 濱田 朋子
 新甲 靖, 竹中 雅昭, 大濱 紘三

123. 各種顕微授精法における精子性状と胚についての検討

セント・ルカ産婦人科 ○安東 桂三, 広津留恵子, 片山 道子
 長木 美幸, 宇津宮隆史

精子・排精(V)

[演題124~126] 〈9:40~10:10〉 座長 石川 博通(東京歯科大市川・泌)

124. Sperm Check Assay による抗精子抗体検出について

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○石田 徳人, 近藤 俊彦, 松本 一彦
 大野 祐子, 斉藤寿一郎, 渡辺潤一郎
 工藤 芳子, 阿部 有子, 石塚 文平
 雨宮 章

125. 精液検査における SQA(精子特性分析機)の有用性

順天堂大学医学部産婦人科学教室 ○岩佐 剛, 福田 勝, 桑原 慶紀

126. 白血球除去用フィルター(LeukoSort™)を用いた精子調整法の検討

弘前大学医学部産科婦人科学教室 ○藤井 俊策, 相良 守峰, 横山 良仁
 齋藤 良治

精子・排精 (VI)

[演題 127~129] 〈10:10~10:40〉 座長 根岸 壮治 (春日部市立・泌)

127. 停留精巣術後の妊孕性に関する検討—特にGradeとの関係について—

横須賀北部共済病院 ○絵鳩 哲哉, 公平 昭男, 中井川 昇

神奈川こども病院 寺島 和光

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室 木下 裕三, 穂坂 正彦

128. 男性不妊症に対する漢方薬治療の効果

河内総合病院不妊センター ○小山 竜一, 森本 義晴, 長尾 幸一

宮田 広敏, 山崎 雅友, 當仲 正丈

井上 剛, 森本 武晴

関西医科大学産科婦人科学教室 樫木 晋, 堀越 順彦, 樫木 勇

129. 男性不妊症患者に対する柴胡加竜骨牡蠣湯 (TJ-12) および補中益気湯療法 (TJ-41) の経験

東北大学医学部泌尿器科学教室 ○平松 正義, 高橋 勝, 中角 尚誉

蓮田 精之, 前原 郁夫, 折笠 精一

第3会場 【9:00~10:50】

不育 (I)

[演題 130~132] 〈9:00~9:30〉 座長 植村 次雄 (横浜市立大・婦)

130. 当科不育症外来における甲状腺機能異常症例の臨床的検討

横浜市立大学医学部産婦人科学教室 ○荒田与志子, 平原 史樹, 杉浦 賢

沢井かおり, 平吹 知雄, 安藤 紀子

水口 弘司

同薬効学教室 岩田 政則

131. 妊娠中期以降の流死産の既往を有する不育症に関する検討

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○河野 雅洋, 石丸 忠之, 高尾 直大

増崎 英明, 山邊 徹

132. 習慣流産における子宮形成術の予後成績

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○染谷 健一, 牧野 恒久, 小沢 伸晃

松林 秀彦, 細川 知俊, 根本 泰子

野澤 志朗

不育 (II)

[演題 133~136] 〈9:30~10:10〉 座長 田中 憲一 (新潟大・婦)

133. 習慣流産における免疫療法前後の免疫学的検討について —MLC, リンパ球細胞毒性試験, T細胞 subset の測定, T細胞receptor clonality の解析—

聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 ○徳山 真弓, 高橋 誠治, 雨宮 章

同横浜市西部病院産婦人科 与那嶺京子, 飯田 智博, 林 和彦

134. 不育症患者における末梢血リンパ球サブセット解析

新潟大学医学部産婦人科学教室 ○八幡 哲郎, 倉林 工, 高桑 好一

田中 憲一

135. 当科における習慣性流産の免疫療法および習慣性流産患者の抗ブルーム症候群リンパ球抗体について
高知県立中央病院産婦人科 ○山本 暖, 井上 和則
高知医科大学第一解剖学教室 白石 行正
136. 習慣流産患者における抗カルジオリピン抗体と β 2-GPI(glycoprotein I)の測定意義
慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○小沢 伸晃, 牧野 恒久, 松林 秀彦
染谷 健一, 細川 知俊, 根本 泰子
野澤 志朗

不育(Ⅲ)

[演題137～140] 〈10:10～10:50〉 座長 舟本 寛(富山県立中央・婦)

137. 習慣流産患者におけるHLAの解析
慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○細川 知俊, 牧野 恒久, 松林 秀彦
小沢 伸晃, 染谷 健一, 根本 泰子
野澤 志朗
138. 免疫性習慣流産治療を行うも流産に至った症例の検討
倉敷中央病院産婦人科 ○高橋 晃, 浮田 昌彦, 馬岡 陽
中堀 隆, 草刈 孝史, 片山 富博
中村 光彰
139. 当院における習慣流産に対する免疫療法の成績
富山県立中央病院産婦人科 ○中野 隆, 新井 昇, 飴谷 由佳
大口 昭英, 佐竹紳一郎, 小嶋 康夫
舟本 寛, 館野 政也
140. 原因不明習慣性流産免疫療法における免疫能変化に関する検討
信州大学医学部産科婦人科学教室 ○吉川 文彦, 中山 邦章, 塩沢 丹里
吉沢 徹, 高木 靖, 藤井 信吾

第4会場 【9:00～10:30】

不妊因子

[演題141～144] 〈9:00～9:40〉 座長 加藤 紘(山口大・婦)

141. PGのマウス胚発育抑制機序に関する研究
日本大学医学部産婦人科学教室 ○橋本 芳美, 栃木 明人, 吉永 陽樹
長岡 美樹, 早川 智, 津端 捷夫
佐藤 和雄
川口市立医療センター 栃木 武一
142. Cyclophosphamideがラットの性周期に及ぼす影響
帝京大学医学部産婦人科学教室 ○荻野 雅弘, 松浦 潔, 沖永 荘一
森 宏之
143. 加齢に伴う子宮内膜厚の変化と妊孕能に関する検討
山口大学医学部産科婦人科学教室 ○中村 康彦, 吉田 豊, 吉岡 尚美
田村 博史, 小野美央子, 嶋村 勝典
杉野 法広, 加藤 紘

144. 卵のピックアップ障害は主要不妊原因か：GIFTの際の卵管開口部の状態から見て

高度医療技術研究所・中央クリニック ○吉田 淳, 荒木 康久, 本山 光博
 桑田 吉峰
 自治医科大学産婦人科学教室 荒木 重雄, 佐藤 郁夫

手術

[演題 145～149] 〈9:40～10:30〉 座長 佐治 文隆 (大阪大・婦)

145. カテーテルによる卵管再開通術とバルーン卵管形成術(TBT)の比較検討

慶応義塾大学医学部放射線診断科学教室 ○新本 弘, 平松 京一
 同産婦人科学教室 末岡 浩, 久慈 直昭, 宮崎 豊彦
 小林 俊文, 野澤 志朗

146. 不妊症治療における Jansen-Anderson カテーテルの有用性について

大阪労災病院産婦人科 ○谷口 武, 西川 吉伸, 笠原 完司
 横井 猛, 山寄 正人
 芦屋市民病院 亀田 隆

147. 卵管鏡下卵管形成術により妊娠成立に至った両側卵管峡部閉塞の一例

大阪大学医学部産婦人科学教室 ○志岐 保彦, 上浦 祥司, 佐治 文隆

148. 当科における卵管形成術の臨床成績の検討

札幌医科大学産婦人科学教室 ○遠藤 俊明, 後藤妙恵子, 木谷 保
 森 悟子, 金谷 美加, 藤井 美穂
 山本 弘, 工藤 隆一

149. 子宮不妊症に対する Tompkins 法の有用性に関して

藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院産婦人科 ○野村 祐久, 石川 洋, 松原 英孝
 石川 順子, 山口 陽子, 丹羽 邦明
 高橋 正明, 金倉 洋一, 米谷 国男

第5会場 【9:00～10:40】

診断・検査(Ⅱ)

[演題 150～152] 〈9:00～9:30〉 座長 矢内原 巧 (昭和大・婦)

150. 不妊患者におけるクラミジア感染

向仁会永井病院 ○角田千恵子, 永井 宏

151. 抗クラミジア抗体陽性婦人とそのパートナーのクラミジア感染の検討

社会保険大宮総合病院泌尿器科 ○西田 篤, 小寺 重行
 東京慈恵会医科大学泌尿器科学教室 川原 元, 大石 幸彦

152. クラミジアトラコマチス抗体IgG(-)IgA(+)の患者の検討

市立芦屋病院産婦人科 ○亀田 隆
 大阪労災病院産婦人科 谷口 武, 西川 吉伸

診断・検査(Ⅲ)

[演題153~155] 〈9:30~10:00〉 座長 北尾 学(島根医大・婦)

153. 腹腔鏡施行例における卵管障害とクラミジア感染に関する検討

東邦大学医学部第一産婦人科学教室 ○矢野 義明, 森田 峰人, 久保 春海
平川 舜

154. 腹腔鏡下卵管形成術後に妊娠に至ったクラミジアPIDの不妊症例

竹田綜合病院産婦人科 ○安斎 憲, 吉田 仁秋

155. Chlamydia trachomatis感染を有する不妊患者の骨盤内所見と妊娠成績に関する検討

福岡大学医学部産婦人科学教室 ○本庄 考, 詠田 由美, 京野 和夫
松本信一郎, 白川 光一

卵巣・性ホルモン(Ⅲ)

[演題156~159] 〈10:00~10:40〉 座長 白川 光一(福岡大・婦)

156. 高LH血症性排卵障害(内分泌学的PCO)は進行性病変か?

賛育会病院産婦人科 ○合阪 幸三, 都築 浩雄, 鳥谷 葉子
斉藤 英樹, 笹森 幸文, 國保健太郎
吉田 浩介
帝京大学医学部産婦人科学教室 森 宏之

157. dehydroepiandrosterone sulfate(DHAS)高値を伴う不妊症例の臨床的背景とdexamethasone併用療法の有用性に関する検討

福岡大学医学部産婦人科学教室 ○詠田 由美, 本庄 考, 榊原 智子
池田 景子, 白川 光一

158. 体外受精時のゴナドトロピン製剤に対する卵巣低反応症例のホルモン値の検討

山形大学医学部産科婦人科学教室 ○河内谷 敏, 石田ガブリエラ
野原 理, 斉藤 隆和, 中原 健次
斉藤 英和, 広井 正彦

159. hMG療法に対するpoor responder例におけるM-CSF併用の有用性の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○西村佳与子, 田中 信幸, 本田 律生
生田 幸生, 田代 浩徳, 河野 哲郎
松浦 講平, 岡村 均

第6会場 【9:00~10:50】

排卵調節査(Ⅲ)

[演題160~162] 〈9:00~9:30〉 座長 岡村 均(熊本大・婦)

160. 成熟卵胞液中のPAI-1抗原, PAI-1活性およびt-PA抗原の意義

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○岩政 仁, 松浦 講平, 田中 信幸
河野 哲郎, 生田 幸生, 岡村 均

161. 排卵直前のヒト卵胞液の性状—42項目の測定値の検討—

神戸市立中央市民病院産婦人科 ○島田 逸人, 山下 正紀, 塩谷 雅英
星野 達二, 小野 吉行, 池内 正憲
高島 英世

162. 下垂体摘除ラットにおける卵胞発育におけるLHの役割

大阪医科大学産科婦人科学教室 ○奥田喜代司, 鈴木 佳彦, 岡崎 審
佐伯 理男, 奥田 弘賢, 杉本 修

妊娠・流産 (I)

[演題163～165] 〈9:30～10:00〉 座長 佐藤 孝道 (虎の門・婦)

163. 当院における不育症症例の検討

東邦大学医学部第一産婦人科学教室 ○間崎 和夫, 中野 英之, 久保 春海
平川 舜
同輸血部 加藤 禎, 月本 一郎

164. 当科における過去6年間の習慣流産患者の次回妊娠予後についての検討

済生会神奈川県病院産婦人科 ○小林 淳一, 吉村 慎一, 春日美智子
高松 潔, 小西 康博, 中野真佐男

165. 機能性不妊症における不育症因子と治療成績

医療法人假野クリニック ○假野 隆司, 古殿 正子, 奥山 恵子
石井みさ子

妊娠・流産 (II)

[演題166～170] 〈10:00～10:50〉 座長 飯田 和質 (福井県立・婦)

166. TPA処理によりブルーム症候群患者Bリンパ細胞株表面に発現したヒト流産関連胎児抗原性ならびにそれらの細胞膜蛋白を用いた患者血清中の流産関連胎児抗体測定法

高知医科大学解剖学教室 ○白石 行正
北村産婦人科 北村 凌
高知県立中央病院産婦人科 山本 暖, 長谷川俊水

167. 流産における染色体分析の意義

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○高尾 直大, 河野 雅洋, 増崎 英明
石丸 忠之, 山邊 徹

168. 流産における染色体異常の検討

福井県立病院産婦人科 ○金谷 太郎, 鈴木 隆, 山崎 洋
福岡 哲二, 原田 丈典, 飯田 和質
永遠幸マタニティクリニック 道倉 康仁

169. Lupus Anticoagulant陽性患者のIG静注療法による反復流産の予防

埼玉医科大学産婦人科学教室 ○佐久間 洋, 小倉 一仁, 小松崎 哲
小川 博和, 堀切 浩, 相馬 広明
畑 俊夫

170. 治療に苦慮した抗リン脂質抗体陽性・SLE合併妊娠の一例

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○根本 泰子, 牧野 恒久, 小沢 伸晃
染谷 健一, 細川 知俊, 野澤 志朗

第7会場 【9:00～11:00】

統計(I)

[演題171～174] 〈9:00～9:40〉 座長 大川 光央(金沢大・泌)

171. 当科における男性不妊症例の臨床的観察

関西電力病院泌尿器科 ○高橋 毅, 玉置 雅弘, 眞田 俊吾

172. 男子不妊症の臨床的検討

金沢大学医学部泌尿器科学教室 ○今尾 哲也, 伊藤 秀明, 中村 靖夫
天野 俊康, 徳永 周二, 大川 光央

173. 高度乏精子症の臨床像 その2 ―血中FSH値と精巣組織所見について

横浜赤十字病院泌尿器科 ○岩崎 皓
横浜市立大学医学部泌尿器科学教室 菅野ひとみ, 斎藤 和男, 佐藤 和彦
木下 裕三, 穂坂 正彦

174. 乏精液症の臨床的検討

東京歯科大学市川総合病院泌尿器科 ○大橋 正和, 石川 博通, 矢内原 仁
内田 厚, 早川 邦弘, 畠 亮
同産婦人科 兼子 智

統計(II)

[演題175～178] 〈9:40～10:20〉 座長 野田 洋一(滋賀医大・婦)

175. 当科不妊外来の現状と過去6年間の治療成績

滋賀医科大学産科婦人科学教室 ○竹中 章, 山出 一郎, 須戸 龍男
野田 洋一

176. 生殖医療に対する不妊症患者の意識調査

セント・ルカ産婦人科 ○宇都宮隆史, 三重野直美, 麻生 佳枝
渡辺多鶴子, 磯崎美智子, 安東 桂三

177. 男子不妊症についての意識調査(男子不妊症患者と男性病院事務員に対するアンケート)

昭和大学医学部泌尿器科学教室 ○渡辺 政信, 船橋健二郎, 益山 恒夫
小橋川 啓, 吉田 英機

178. 当院における補助生殖技術により妊娠・出産した児の臨床統計的検討

永遠幸マタニティクリニック ○寺元 章吉, 辻 敏徳, 豊北 美穂
藤波 隆一, 高塚 亮三, 道倉 康仁
加藤レディースクリニック 小林 一彦, 加藤 修

免疫

[演題179～182] 〈10:20～11:00〉 座長 香山 浩二(兵庫医大・婦)

179. 片側睪丸損傷により誘導される男子不妊モデル

JR九州病院泌尿器科 ○坂本 泰樹
九州大学医学部附属病院泌尿器科 松本 哲朗, 熊澤 浄一

180. 精漿中の補体抑制活性と精液検査所見の関連性について

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○滝川 稚也, ナシマ・チャウドリー
 山本 哲史, 平野 正志, 森 英俊
 前川 正彦, 鎌田 正晴, 青野 敏博

181. 原因不明習慣流産患者における flow cytometric crossmatch と補体依存性細胞障害性交差試験の比較検討

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○松林 秀彦, 牧野 恒久, 丸山 哲夫
 小沢 伸晃, 染谷 健一, 細川 知俊
 根本 泰子, 野澤 志朗

182. ヒト精漿中Fc γ レセプター(Fc γ R)関連抗原の分子構造に関する検討 —active siteの同定—

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○森 英俊, 滝川 稚也, 山本 哲史
 平野 正志, 前田 信彦, 前川 正彦
 鎌田 正晴, 青野 敏博

第3日 10月28日(金)『午後』

第1会場 【13:00～15:20】

IVF-ET (IX)

[演題183～187] 〈13:00～13:50〉 座長 石川 睦男(旭川医大・婦)

183. 囲卵腔内精子注入法と透明帯除去ハムスター卵への精子侵入

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○久慈 直昭, 大沢 淑子, 浅田 弘法
 橋場 剛士, 宮崎 豊彦, 末岡 浩
 小林 俊文, 野澤 志朗
 荻窪病院 境田 通泰, 飯田 悦郎

184. ヒト透明帯除去卵精子貫通試験による囲卵腔内精子注入法の受精成立予知に関する検討

旭川医科大学産婦人科学教室 ○高岡 康男, 堀川 道晴, 田熊 直之
 玉手 健一, 千石 一雄, 石川 睦男

185. カニクイザルの顕微授精に関する検討

日本大学農獣医学部生体制御科学研究室 ○佐藤 嘉兵, 小田万里子
 予研筑波医学実験用霊長類センター 山海 直, 吉川 泰弘

186. Ooplasmic Injections of Round Spermatid Nucleus Versus Spermatozoal Nucleus. Novel Procedures for Male Infertility Therapy.

鳥取大学医学部泌尿器科学教室 ○N. Sofikitis, Ikuo Miyagawa

187. 超難治不妊治療におけるレーザー顕微授精の有用性

高度医療技術研究所・中央クリニック ○荒木 康久, 本山 光博, 吉田 淳
 自治医科大学産婦人科学教室 出居 貞義, 荒木 重雄

IVF-ET (X)

[演題188～191] 〈13:50～14:30〉 座長 井上 正人(東海大・婦)

188. 体外受精・胚移植(IVF・ET)法の反復実施症例での妊娠成功要因の検討

帝京大学医学部産婦人科学教室 ○森田 哲夫, 田村 彰浩, 飯野 好明
 大川 亮一, 森 宏之

189. IVF-ET分娩後のIVF-ET再妊娠周期の検討

東海大学医学部産婦人科学教室

○本田 育子, 小林 善宗, 鈴木 隆弘
善方 菊夫, 井上 正人

190. IVF-ET外妊後の再IVF-ET成績

東海大学医学部産婦人科学教室

○鈴木 隆弘, 小林 善宗, 本田 育子
淡路 英雄, 善方 菊夫, 井上 正人

191. 卵管水腫のため胚移植に苦慮した一症例

神戸大学医学部産科婦人科学教室

○山口 聡, 望月 真人

恵生産婦人科病院

林 正人, 林 茂樹, 永田 典昭
林 要

IVF-ET (XI)

[演題 192～196] 〈14:30～15:20〉 座長 加藤 修 (永遠幸マタニティ)

192. 高齢者における体外受精成績の検討

杏林大学医学部産婦人科学教室

○生方 良延, 神野 正雄, 羽生 一朗
佐藤 学, 勝又木綿子, 吉村 泰典
中村 幸雄

193. 当院における高齢者体外受精胚移植法の成績

倉本記念病院産婦人科

○大村伸一郎, 松本 千秋, 大野虎之進

194. 高年齢不妊婦人(40歳以上)に対する配偶子操作治療成績と予後

東海大学医学部産婦人科学教室

○小林 善宗, 本田 育子, 鈴木 隆弘
善方 菊夫, 井上 正人

195. 当院における不妊外来での妊娠例一特に35歳以上の高齢妊娠について一

相模原協同病院産婦人科

○佐藤 芳昭, 三宅 崇雄, 大澤 章吾

196. 当科におけるIVF-ET妊娠例の転帰

山梨医科大学産婦人科学教室

○水野 薫子, 内田 雄三, 広井 威
黄 朋子, 川島 茂樹, 奥野 隆
笠井 剛, 端 晶彦, 木下 俊彦
加藤 順三

第2会場 【13:00～15:30】

精子・排精 (VII)

[演題 197～200] 〈13:00～13:40〉 座長 荒木 克己 (金沢大・婦)

197. 当科におけるAIHの治療成績

札幌医科大学産婦人科学教室

○森 悟子, 山本 弘, 木谷 保
後藤妙恵子, 金谷 美加, 藤井 美穂
遠藤 俊明, 工藤 隆一

198. 高度異常精液所見例におけるAIHの検討

長崎大学医学部産婦人科学教室

○布施 正樹, 石丸 忠之, 山邊 徹

199. 精子不良例に対する AIH の限界と Subzonal insemination(SUZI)の有効性

倉敷成人病センター南くらしき病院 ○本山 洋明, 藤井 好孝

200. 男性不妊症例に対する人工授精の検討

東北大学医学部産婦人科学教室 ○原谷 博信, 寺田 幸弘, 渡辺 正
 深谷 孝夫, 矢嶋 總
 同泌尿器科学教室 前原 郁夫

精子・排精 (Ⅷ)

[演題201~204] 〈13:40~14:20〉 座長 竹中 生昌 (香川医大・泌)

201. FK506 のラット精巣に及ぼす影響のフローサイトメトリーによる評価

香川医科大学泌尿器科学教室 ○桑田 善弘, 竹中 生昌
 同第一生理学教室 松井 秀樹, 畠瀬 修

202. ヒト精子における progesterone binding sites の発現と受精能への関与

愛媛大学医学部産科婦人科学教室 ○福井 敬介, 谷口 文章, 山中 研二
 矢野 樹理, 松浦 俊平

203. In situ hybridization 法による, 精子細胞における X, Y 染色体および 18 番染色体の検出

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○浅田 弘法, 末岡 浩, 橋場 剛士
 久慈 直昭, 宮崎 豊彦, 小林 俊文
 野澤 志朗

204. 単一精子の PCR 分析法を用いたキナクリン染色精子の性解析

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○橋場 剛士, 末岡 浩, 浅田 弘法
 久慈 直昭, 宮崎 豊彦, 小林 俊文
 野澤 志朗

精巣・性ホルモン (Ⅰ)

[演題205~208] 〈14:20~15:00〉 座長 藤田 公生 (浜松医大・泌)

205. Maturation arrest 症例に対する不妊症治療上の問題点

浜松医科大学泌尿器科学教室 ○寺田 央巳, 山口 安三, 牛山 知己
 鈴木 和雄, 藤田 公生

206. 経口 PGE₁ 誘導体リマプロストの男子不妊症患者への使用経験

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室 ○岩本 晃明, 田中 宏樹, 星野 孝夫
 矢島 通孝, 原口 千春, 馬場 克幸
 河野正二郎, 皆川 信彦, 長田 尚夫

207. 特発性男性不妊症に対する Tranilast の有用性に関する検討

岡山大学医学部泌尿器科学教室 ○秋山 博伸, 大枝 忠史, 小澤 秀夫
 永井 敦, 大森 弘之

208. 不妊症の心理特性 — その 3 — 無精子症の臨床心理的援助

昭和大学藤が丘病院精神科 ○北村 勉
 同泌尿器科 坂本 正俊, 池内 隆, 甲斐 祥生

精巢・性ホルモン(Ⅱ)

[演題209～211] 〈15:00～15:30〉 座長 中田 瑛浩(山形大・泌)

209. 精細胞DNA合成能の加齢による変化

札幌医科大学泌尿器科学教室 ○新田 俊一, 赤樫 圭吾, 伊藤 直樹
熊本 悦明

210. 精路閉塞症における精巣組織の定量的解析: 閉塞原因との関連

関西医科大学泌尿器科学教室 ○松田 公志, 藤田 一郎, 日浦 義仁
土井 浩

京都大学医学部泌尿器科学教室 奥野 博, 橋村 孝幸, 吉田 修

211. SHRSPを用いた血管障害に伴う精子発生能障害に関する検討 —Manidipine予防投与による精子発生能障害に及ぼす影響—

札幌医科大学泌尿器科学教室 ○赤樫 圭吾, 熊本 悦明, 伊藤 直樹
武田薬品創業第一研究所 永岡 明伸, 今本 哲治

第3会場 【13:00～15:00】

卵子・胚(Ⅰ)

[演題212～214] 〈13:00～13:30〉 座長 小林 俊文(慶応大・婦)

212. エチレングリコールを用いた分割期胚の新凍結法の改良

セントマザー産婦人科医院 ○井手 紀子, 田中 温, 田中威づみ
永吉 基, 栗田松一郎, 竹本 洋一
高崎 博幸, 有本 恭子, 井上 綾子
岩本 智子

神戸大学農学部附属農場 楠 比呂志

213. 採卵時の月経周期と血中ホルモン濃度が未成熟卵の体外成熟過程に及ぼす影響

愛媛労災病院産婦人科 ○南條 和也, 大塚 恭一, 宮内 文久

214. 卵胞液中グルコース濃度と卵の成熟度に関する研究

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○島内 昌仁, 堤 治, 森田 豊
藤原 敏博, 林 直樹, 武谷 雄二
長野赤十字病院産婦人科 本藤 徹, 菅生 元康

卵子・胚(Ⅱ)

[演題215～218] 〈13:30～14:10〉 座長 佐藤 和雄(日本大・婦)

215. 過排卵誘起時のストレス負荷がマウス胚に及ぼす影響

東京農業大学短期大学部生物生産技術学科 ○加田日出美

216. マウス胚発生におけるHexokinase活性の変化とそのRNAレベルでの解析

日本大学医学部産婦人科学教室 ○高見 雅司, 高見 毅司, 坂元 秀樹
佐藤 和雄

東京大学医学部産科婦人科学教室 堤 治, 綾部 琢哉, 武谷 雄二

217. プロジェステロンによるマウス未受精卵の単為発生

田辺製薬(株)安全性研究所 ○新比恵啓志
 東京大学医科学研究所獣医学研究部 佐藤 英明, 豊田 裕

218. マウス胚の凍結, 融解法の検討

横浜市立大学医学部産婦人科学教室 ○董 曦, 植村 次雄, 遠藤 方哉
 近藤 芳仁, 堀 裕雅, 水口 弘司

卵子・胚(Ⅲ)

[演題219~223] 〈14:10~15:00〉 座長 内海 恭三(京都大・農)

219. 保存透明帯(Salt-stored egg)の精子貫通能に与える熱処理の有効性

福島県立医科大学産婦人科学教室 ○片寄 治男, 呉竹 昭治, 吉松 宣弘
 柳田 薫, 星 和彦, 佐藤 章
 Biology of reproduction, University of Hawaii 柳町 隆造

220. ヒト変性受精卵・未受精卵におけるアポトーシスの検出

近畿大学医学部産婦人科学教室 ○高瀬規久也, 向林 学, 赤井 正彦
 三橋 洋治, 石川 元春, 星合 昊
 野田起一郎

221. プタ体外成熟卵母細胞の人為的活性化にともなう表層顆粒の動態

神戸大学自然科学研究科 ○片山 弥佳, 紅林 賢臣, 三宅 正史
 同農学部 宮野 隆, 加藤征史郎

222. 顆粒膜細胞馴化培地で成熟させたウシ放射線細胞付着卵子の受精および発生能と馴化培地因子の検索

京都大学農学部家畜繁殖学教室 ○内海 恭三, 加藤 博己, 山田 雅保

223. アクチビンのヒト卵管における発現とその意義についての検討

東京厚生年金病院産婦人科 ○定月みゆき, 金子 實
 同病理診断部 井上 泰
 東京大学医学部産科婦人科学教室 堤 治, 森田 豊, 武谷 雄二

第4会場 【13:00~14:40】

内視鏡(Ⅰ)

[演題224~227] 〈13:00~13:40〉 座長 舘野 政也(富山県立中央・婦)

224. 不妊検査におけるヒステロファイバースコピーの意義

明和病院産婦人科 ○繁田 実, 杉本 幸美, 山崎ひろみ

225. 多嚢胞性卵巣(PCO)に対する腹腔鏡下卵巣楔状切除術の有用性

富山県立中央病院産婦人科 ○舟本 寛, 飴谷 由佳, 新井 昇
 大口 昭英, 佐竹紳一郎, 小嶋 康夫
 中野 隆, 舘野 政也

226. 卵管性不妊症患者の腹腔鏡所見と腹腔鏡下手術後の予後に関する検討

東邦大学医学部第一産婦人科学教室 ○森田 峰人, 矢野 義明, 久保 春海
 平川 舜

227. 当科不妊症患者に対する腹腔鏡施行例の現状と成績

滋賀医科大学産科婦人科学教室

○須戸 龍男, 和久田晃司, 横江 保彦
木村 文則, 井上 貴至, 笠原 恭子
竹中 章, 山出 一郎, 野田 洋一

内視鏡 (Ⅱ)

[演題228～230] 〈13:40～14:10〉 座長 河上 征治 (藤田保健衛生大・婦)

228. 子宮内膜症における卵管内視鏡所見の検討

藤田保健衛生大学医学部産婦人科学教室

○塚田 和彦, 澤田 富夫, 白木 誠
樋口 泰彦, 廣田 穰, 河上 征治

229. 子宮内膜症, および機能性月経困難症に対するLUNA (laparoscopic uterosacral nerve ablation) の効果

札幌医科大学産婦人科学教室

○藤井 美穂, 森 悟子, 後藤妙恵子
岡村 直樹, 木谷 保, 金谷 美加
斉藤 豪, 山本 弘, 遠藤 俊明
寒河江 悟, 工藤 隆一

230. 子宮内膜症における腹腔鏡下嚢腫摘出術の卵巢機能に及ぼす影響

順天堂大学医学部産婦人科学教室

○武内 裕之, 淡路 正則, 中野 義宏
三橋 直樹, 桑原 慶紀

内視鏡 (Ⅲ)

[演題231～233] 〈14:10～14:40〉 座長 新居 隆 (富山医薬大・婦)

231. 卵巣嚢腫に対する腹腔鏡を応用した摘出法 ―術式のバリエーションと妊孕性について―

宝塚市立病院産婦人科

○伊熊健一郎, 子安 保喜, 山田 幸生
林 輝美

232. 子宮奇形の内視鏡下治療法 ―中隔子宮, 弓状子宮, T字型子宮について―

川崎市立川崎病院

○林 保良, 平田さくら, 小宮山慎一
西尾 瑞香, 小澤 伸晃, 木挽 貢慈
宮本 尚彦, 関 賢一, 岩田 嘉行

233. 人工造陰術:腹腔鏡下手術としての骨盤腹膜利用法の経験から

宝塚市立病院産婦人科

○伊熊健一郎, 子安 保喜, 山田 幸生
林 輝美

一 般 演 題

(示説発表)

第2日 10月27日(木)『午前』

第8会場 【10:30～11:47】

卵子・胚・その他

[演題P-1～P-3]〈10:30～10:51〉 座長 赤祖父一知(金沢大・婦)

P-1. vitrification凍結法によるマウス胚染色体への影響

山形大学医学部産科婦人科学教室 ○野原 理, 石田ガブリエラ,
河内谷 敏, 斉藤 隆和, 斉藤 英和
広井 正彦

P-2. 規則性排卵性月経を示す婦人における尿中テストステロン測定について

大和市立病院 ○釧持 稔
北里大学病院 川内 博人, 飯野 譲二, 石井 尊雄
中居 光生

P-3. 採卵時の卵胞液中各種steroid濃度比と卵胞径およびembryo qualityとの関係

昭和大学医学部産科婦人科学教室 ○岩崎 信爾, 田原 隆三, 鈴木 真
小田 力, 佐藤 美幸, 齋藤 裕
矢内原 巧

排卵調節

[演題P-4～P-7]〈10:51～11:19〉 座長 田中 温(セントマザー産婦)

P-4. 排卵性不妊に対するhMG-hCG療法に関する検討

群馬大学医学部産科婦人科学教室 ○安藤 一道, 長竹 弘子, 川上 裕子
延命みゆき, 山田 清彦, 水沼 英樹
伊吹 令人

P-5. FSH療法およびGnRH律動投与法を用いた排卵誘発法の検討

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○桑原 章, 宮本誠一郎, 上村 浩一
梶 博之, 米田 直人, 斎藤誠一郎
安井 敏之, 漆川 敬治, 東 敬次郎
苛原 稔, 青野 敏博
小松島赤十字病院産婦人科 松崎 利也

P-6. 尿中LH簡易測定キット「シユア・ステップLH」と「ゴールドサインLH」の臨床的比較検討

山形県立河北病院産婦人科 ○小田 隆晴, 松田 秀雄, 関 和彦
田中 栄一, 大野 勉
山形大学医学部産科婦人科学教室 広井 正彦

P-7. 原因不明不妊に対するpure FSH隔日投与による過排卵刺激と人工授精の有効性についての検討

徳島大学医学部産科婦人科学教室 ○梶 博之, 宮本誠一郎, 上村 浩一
米田 直人, 桑原 章, 斎藤誠一郎
漆川 敬治, 安井 敏之, 東 敬次郎
苛原 稔, 青野 敏博

精子・排精・その他

[演題P-8～P-11] 〈11:19～11:47〉 座長 小倉 久男(東邦大・婦)

P-8. Swim-up法にて分離した運動良好精子の分子細胞遺伝学的検討

広島大学医学部産科婦人科学教室 ○呼 和, 三春 範夫, 佐村 修
大濱 紘三

P-9. 市販Sperm Washing Mediumを用いた簡便なPercoll-AIH法

東京慈恵会医科大学産婦人科学教室 ○新家 秀, 遠藤 尚江, 小田原 靖
松本 和紀, 楠原 浩二, 寺島 芳輝

P-10. Falloposcopic tubaplasty (FT) システムによる卵管内腔の病態診断と子宮卵管造影読影の再考察

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 ○末岡 浩, 浅田 弘法, 橋場 剛士
久慈 直昭, 宮崎 豊彦, 小林 俊文
野澤 志朗

P-11. クラミジア頸管炎に対する薬剤1週間投与法の有効性

虎の門病院産婦人科 ○高橋 敬一, 東梅 久子, 山田 義治
佐藤 孝道

第9会場 【10:30～11:26】

診断・検査・その他(I)

[演題P-12～P-15] 〈10:30～10:58〉 座長 内藤 克輔(山口大・泌)

P-12. 精索静脈瘤と先体反応の検討

千葉大学医学部泌尿器科学教室 ○始関 吉生, 中村 剛, 市川 智彦
島崎 淳

P-13. TRIPLE STAIN法の臨床的検討

千葉大学医学部泌尿器科学教室 ○中村 剛, 市川 智彦, 始関 吉生
島崎 淳

P-14. 抗PCNAモノクローナル抗体を用いたヒト造精機能評価への試み

山口大学医学部泌尿器科学教室 ○井本 勝彦, 瀧原 博史, 白瀧 敬
鎌田 清治, 馬場 良和, 内藤 克輔P-15. ^{31}P -Magnetic Resonance Spectroscopyによるラットにおける実験的停留精巢の評価山形大学医学部泌尿器科学教室 ○笹川五十次, 沢村 俊宏, 都丸 政彦
安達 裕一, 石郷岡 学, 中田 英浩

診断・検査・その他(II)

[演題P-16～P-19] 〈10:58～11:26〉 座長 宮川征男(鳥取大・泌)

P-16. hCG-hMG療法により2度の妊娠に成功した, hypogonadotropic hypogonadismの一例

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室 ○田中 宏樹, 岩本 晃明, 星野 孝夫
矢島 通孝, 原口 千春, 馬場 克幸
河野正二郎, 皆川 信彦, 長田 尚夫

P-17. ヒト精液の蛍光スペクトル測定

金沢大学医学部泌尿器科学教室 ○天野 俊康, 國見 一人, 大川 光央

P-18. 人精漿成分の分析としてキャピラリー電気泳動法の応用

日本大学医学部泌尿器科学教室 ○遠藤 真琴, 林 志隆, 佐藤 安男
 石田 肇, 岡田 清己
 同共同研究室 嶋村 政男
 同法医学教室 鉄 堅, 塚本昭次郎, 押田 茂實

P-19. Semen analysis における測定回数の検討

札幌医科大学泌尿器科学教室 ○高木 誠次, 伊藤 直樹, 新田 俊一
 赤樫 圭吾, 木村 慎, 三熊 直人
 丸田 浩, 熊本 悦明

第3日 10月28日(金)『午後』

第8会場 【13:00～14:24】

先天異常・その他

[演題P-20～P-23] 〈13:00～13:28〉 座長 長田 尚夫 (聖マリアンナ医大・泌)

P-20. SRYを有するXXmaleの一例

帝京大学医学部泌尿器科学教室 ○友政 宏, 押尾 茂, 矢崎 恒忠
 梅田 隆
 同衛生学公衆衛生学教室 山内 泰子, 高野 貴子
 東京大学医学部人類遺伝学教室 中堀 豊, 中込 弥男

P-21. Klinefelter症候群における思春期前後の内分泌学および精巢の組織学的検討

宮崎医科大学泌尿器科学教室 ○山口 孝則, 長田 幸夫

P-22. ヒト精子におけるエストロゲンレセプターの発現

岐阜大学医学部産婦人科学教室 ○操 良, 森下 重雄, 中西 義人
 堀 昌志, 市古 哲, 伊藤 美穂
 藤本 次良, 玉舎 輝彦

P-23. 男性不妊精子のProacrosin異常の分子生物学的検討

秋田大学医学部産婦人科学教室 ○清水 靖, 児玉 英也, 福田 淳
 軽部 裕子, 池田 雅人, 田中 俊誠

手術 (I)

[演題P-24～P-27] 〈13:28～13:56〉 座長 広川 信 (藤沢市民・泌)

P-24. 精索静脈瘤に対する局所麻酔による内精静脈低位結紮術の経験

洛和会音羽病院泌尿器科 ○小倉 啓司, 宗田 武
 関西医科大学泌尿器科学教室 松田 公志
 京都大学医学部泌尿器科学教室 吉田 修

P-25. 精索静脈瘤に対する高位結紮術の検討

春日部市立病院泌尿器科 ○新井 学, 根岸 壮治, 塚本 哲郎

P-26. 精索静脈瘤の思春期症例について —手術後の精液所見の検討—

藤沢市民病院泌尿器科 ○漆原 正泰, 芝 龍寛, 千葉喜美男
 斎藤 和男, 広川 信
 朝倉泌尿器科医院 朝倉 茂夫

P-27. パルスドップラー法による精索静脈瘤の診断とその有用性

京都大学医学部泌尿器科学教室 ○大西 裕之, 奥野 博, 寺地 敏郎
橋村 孝幸, 吉田 修

手術(Ⅱ)・その他

[演題P-28～P-31] 〈13:56～14:24〉 座長 松田公志(関西医大・泌)

P-28. 男子不妊症の臨床的検討 —治療成績を中心に—

埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科 ○内島 豊, 吉田謙一郎, 小林 信幸
遠坂 顕, 竹内 信一, 斎藤 博

P-29. 精管切断術後患者に対する顕微鏡下精管精管吻合術の治療成績

千葉県こども病院泌尿器科 ○浜野 公明, 長 雄一
帝京大学市原病院泌尿器科 伊藤 晴夫, 正井 基之, 小竹 忠
三浦 尚人

P-30. 顕微鏡を用いた精管精管吻合術および精巣上体管精管吻合術

東邦大学医学部第一泌尿器科学教室 ○永尾 光一, 玉山 隆章, 野沢 英雄
西見 大輔, 松橋 求, 高波真佐治
石井 延久, 三浦 一陽, 白井 将文

P-31. 閉塞性無精子症に対する手術療法の経験

神戸大学医学部泌尿器科学教室 ○岡田 弘, 白川 利朗, 龍見 昇
神崎 正徳, 源吉 顕治, 岩本 孝弘
藤澤 正人, 守殿 貞夫
原泌尿器科 岡 伸俊
県立加古川病院 松本 修
淀川キリスト教病院 羽間 稔
六甲病院 稲葉 葉子

第9会場 【13:00～14:17】

IVF-ET

[演題P-32～P-35] 〈13:00～13:28〉 座長 八神喜昭(名古屋市立大・婦)

P-32. 経筋層的胚移植法の正確性向上のための留意点

河内総合病院不妊センター ○森本 義晴, 長尾 幸一, 小山 竜一
宮田 広敏, 山崎 雅友, 當仲 正文
井上 剛, 森本 武晴
関西医科大学産科婦人科学教室 榎木 晋, 堀越 順彦, 榎木 勇

P-33. 体外受精・胚移植(IVF-ET)におけるclomiphene citrate(CC) challenge testの有用性について

横浜市立大学医学部産婦人科学教室 ○堀 裕雅, 植村 次雄, 山口 肇
遠藤 方哉, 近藤 芳仁, 水口 弘司

P-34. 当科における細胞質内精子注入法(ICSI)の臨床成績

沖縄県立那覇病院産婦人科 ○佐久川政男, 佐久本哲郎, 當間 敬
上原 清昇, 金城 忠雄

P-35. 卵巣腫瘍核出後のIVF-ET成績

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○沖 利通, 森 明人, 山元 慎一
堂地 勉, 中村佐知子, 大西 英資
伊集院博文, 永田 行博

子宮内膜症・その他

[演題P-36～P-38] 〈13:28～13:49〉 座長 玉舎輝彦(岐阜大・婦)

P-36. 子宮内膜症中等症重症例の妊娠予後について

群馬大学医学部産科婦人科学教室 ○山田 清彦, 長竹 弘子, 川上 裕子
 横田 英巳, 小澤 聖史, 延命みゆき
 安藤 一道, 水沼 英樹, 伊吹 令人

P-37. 子宮内膜および子宮内膜症における非放射線性 in situ hybridization を用いたエストロゲンレセプター mRNA の局在に関する検討

長崎大学医学部産婦人科学教室 ○藤下 晃, 石丸 忠之, 山邊 徹
 同第三解剖学教室 小路 武彦, 中根 一穂

P-38. 分泌期の単球における M-CSF レセプターとその (fms) mRNA の発現とその生物学的意義

岐阜大学医学部産科婦人科学教室 ○堀 昌志, 藤本 次良, 市古 哲
 中西 義人, 操 良, 玉舎 輝彦

インターセックス・先天異常・その他

[演題P-39～P-42] 〈13:49～14:17〉 座長 寺島 芳輝(慈恵医大・婦)

P-39. X/autosome balanced translocation と性機能障害

石川県立中央病院産婦人科 ○朝本 明弘, 西本 秀明

P-40. Y染色体短腕の部分欠失がみられた性分化異常症(XY女性)の分子遺伝学的手法による発症機序の検討

東京大学医学部産科婦人科学教室 ○飯田 卓, 森田 豊, 堤 治
 武谷 雄二

P-41. ターナー症候群の体脂肪分布に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○伊集院博文, 堂地 勉, 沖 利通
 中村佐知子, 山元 慎一, 大西 英資
 永田 行博

P-42. 多嚢胞卵巣(PCO)患者の体脂肪分布と内分泌動態に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 ○堂地 勉, 沖 利通, 伊集院博文
 山元 慎一, 中村佐知子, 大西 英資
 永田 行博

特 別 講 演
会 長 講 演
教 育 講 演

Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity

R. Yanagimachi

Department of Anatomy and Reproductive Biology,
University of Hawaii Medical School,
Honolulu, Hawaii 96822 USA

How spermatozoa become fertilization-competent

Spermatozoa leaving the testis of normal animals are not ready to fertilize. They gain the ability while passing through the epididymis. It is interesting that spermatozoa of most animals take about 10 days to pass through the epididymis despite huge interspecies variations in the length of the epididymal tubule (e.g., some 30 ~ 50 m in large farm animals and about 1 m in the laboratory mouse) (Robaire and Hermon⁸). The site where the spermatozoa begin to acquire fertilizing capacity varies according to species, but it is generally the corpus epididymis or the proximal segment of the cauda epididymis where a large proportion of the spermatozoa become fertilization-competent. The distal segment of the cauda epididymis is the principal site for the storage of mature spermatozoa. Prolonged sojourn in the cauda epididymis (and vas deferens), however, could be detrimental to the spermatozoa.

The seminal plasma, which mingles with spermatozoa during ejaculation, is not essential for the development of the fertilizing capacity of spermatozoa. However, at least in cattle, a seminal plasma protein called caltrin binds to the sperm plasma membrane and shortens the capacitation time considerably (Clark et al.¹).

Capacitation and the acrosome reaction are essential preliminaries to normal fertilization. Capacitation involves numerous changes in both sperm plasma membrane and intracellular components. Among others, the "removal" of sperm surface-coating materials and of membrane cholesterol is believed to be one of the most important components of capacitation. The membrane changes seem to "sensitize" the sperm plasma membrane to the specific milieu of fertilization and, more importantly, to the target of spermatozoa-the oocytes (Yanagimachi¹²).

Capacitated spermatozoa become fusion-competent only after they have undergone the acrosome reaction. The reaction, which normally takes place on the surface of the zona pellucida, is triggered by ligand-receptor interactions between zona glycoproteins and sperm membrane proteins (Wassarman¹¹; Yanagimachi¹²). It renders the spermatozoa not only capable of penetrating into and through the zona, but also fusing with the oocyte's plasma membrane (Yanagimachi¹²). Sperm motility is not essential for sperm-oocyte fusion but it is definitely needed for successful sperm penetration through the rather "tough" zona pellucida. Vigorous flagellar motion, which is initiated during capacitation, seems to facilitate this process (Yanagimachi¹²).

Flexibility of the epididymal functions

As stated already, spermatozoa of most species become fertilization-competent only after reaching the corpus epididymis or the proximal segment of the cauda epididymis. However, in man for example, highly motile spermatozoa that can fertilize oocytes may sometimes appear in the caput epididymis and

even in the vas efferentia when the vas deferens is absent congenitally (Patrizio et al., 1994). It is also known that fertile spermatozoa are often ejaculated after vas deferens has been linked directly by anastomosis to the caput epididymis or vas efferentia (Silber⁹). One may wonder whether the distal segments of the epididymis or even the entire epididymis is unnecessary for sperm maturation. However, it seems to be more reasonable to assume that the male tract is rather flexible in its function. When a certain segment (or segments) of the tract is (are) absent or blocked, the remaining regions of the tract must adapt to take over some of the functions of the missing (blocked) regions of the tract (Cooper³).

Relativity of sperm fertility

Sperm fertility usually refers to the ability of spermatozoa to fertilize physiologically normal and structurally intact oocytes either *in vivo* or *in vitro*. Under experimental conditions or after surgical manipulation of the oocytes or of the male genital tract, the spermatozoa which are otherwise infertile may become fertile. For instance, mouse spermatozoa collected from the corpus epididymis fertilize only 3% of zona-intact oocytes *in vitro*, but they fertilize 51% of the oocytes if injected microsurgically into the perivitelline space (Hirayama et al.⁴). What is missing in most of the corpus spermatozoa in this case is the ability to pass through the zona, not the ability to undergo the acrosome reaction.

For successful *in vivo* fertilization to occur certain numbers of live spermatozoa must be deposited in the female tract during coitus. In the human, for example, at least 20 millions of motile spermatozoa must be deposited in the vagina during normal coitus to ensure successful fertilization and pregnancy. The vast majority of spermatozoa are destined to be eliminated before reaching the ampullary region of the oviduct, the natural site of fertilization. Therefore, men or male animals with very low sperm production rates (oligozoospermia) may not ejaculate sufficient numbers of spermatozoa at a time to effect fertilization *in vivo*. Some men are infertile because of the presence of anti-sperm antibodies in the partner's genital tract and its secretions. In the above two cases, the conventional *in vitro* fertilization (IVF) which allows the direct contact of gametes by bypassing the female tract may overcome the problems. Obviously, considerably fewer spermatozoa (5,000 ~ 50,000) are needed to achieve IVF than in *in vivo* fertilization following natural coitus. Spermatozoa of some men are unable to fertilize the oocytes by the standard IVF. Spermatozoa are either unable to bind to or penetrate through the zonae. This could be due to (a) lack or defects of sperm-zona interacting molecules, (b) weakness in the sperm flagellar movement, and/or excessive "toughness" of the zona pellucida.

In such cases, partial zona cutting (or drilling) prior to insemination or microsurgical insertion of spermatozoa into the perivitelline space often overcome the problems, resulting in successful fertilization and pregnancy (Cohen et al.²). In case of subzonal injection of spermatozoa (SUZI), less than 5 spermatozoa are needed to fertilize each oocyte. For men whose spermatozoa are unable to fertilize even by SUZI, direct sperm injection into oocyte's cytoplasm (intracytoplasmic sperm injection or ICSI) is the next, currently the last, tactic we can offer to the patients. Until recently (Cohen et al.²) this method was thought to be too harsh to the oocyte, but it is now becoming the method of choice to overcome male infertility due to severe oligozoospermia, asthenospermia, teratozoospermia and unknown causes (Palermo et al.⁷; Van Steirteghem et al.¹⁰). Over 1000 normal pregnancies were achieved worldwide as of early 1994.

As seen from the above, the fertility and infertility of spermatozoa are not absolute. The spermatozoa which are totally infertile under natural *in vivo* conditions may become fertile under the standard IVF conditions. Those which are totally infertile under the standard IVF conditions may become fertile with

microsurgical assistance. As far as the spermatozoa are able to participate in the production of normal offspring, they should be considered "fertile" regardless of their appearance, motility and the type of assistance we provide to them.

A recent study using the mouse has demonstrated that male gametes do not have to be the spermatozoa: round spermatids, when fused with oocytes, are able to produce the zygotes which then develop into normal, fertile offspring (Ogura et al.⁶). This implies that men who are unable to produce spermatozoa in their testes may have a chance to become fathers provided their spermatogenic cells are able to transform, in vitro, into spermatids with a normal haploid set of chromosomes. At present it is the scientists' dream to culture spermatogenic cells in vitro from the spermatogonial stage to the spermatid stage and even to the fully transformed spermatozoa (Kierszenbaum⁵). This may become reality sooner than anticipated because of a rapid progress in the germ cell culture technique.

References

- 1) Clark EN, Corron ME and Florman HM, Caltrin, the calcium transport regulatory peptide of spermatozoa, modulates acrosome exocytosis in response to the egg's zona pellucida. *J Biol Chem* 268: 5309, 1993
- 2) Cohen J, Malter HE, et al. (Eds.), *Micromanipulation of human gametes and embryos*. New York, Raven Press, 1992
- 3) Cooper TG, The human epididymis-is it necessary? *Int J Androl* 16: 245, 1993
- 4) Hirayama T, Quinn P and Marrs R, Fertilizing ability of mouse spermatozoa from different regions of the epididymis microscopically injected into the perivitelline space of oocytes. *Fert Steril suppl.* ps-11: Abst. 0, 1991
- 5) Kierszenbaum A, Mammalian spermatogenesis in vivo and in vitro: a partnership of spermatogenic and somatic cell lineages. *Endocr Rev* 15: 116, 1994
- 6) Ogura A, Matusda J and Yanagimachi R, Birth of normal young after electrofusion of mouse oocytes with round spermatids. *Proc Natl Acad Sci USA*, in press (1994)
- 7) Palermo G, Jpris H, et al., Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fert Steril* 59: 826, 1993
- 8) Robaire B and Hermo L, Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, function and their regulations. In: *The Physiology of Reproduction* (1st edition), Knobil E and Neill JD eds, vol 1, p 999, New York, Raven Press, 1988
- 9) Silber SJ, Pregnancy caused by sperm from vasa efferentia. *Fert Steril* 49: 373, 1988
- 10) Van Steirteghem AC, Nagy Z, et al., High fertilization rates after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reprod* 8: 1061, 1993
- 11) Wassarman PM, Profile of a mammalian sperm receptor. *Development* 108: 1, 1990
- 12) Yanagimachi R, Mammalian fertilization. In: *The Physiology of Reproduction* (2nd edition), Knobil E and Neill JD eds, vol 1, p 189, New York, Raven Press, 1994

不妊診療の課題と展望 —男性側の立場から—

富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室

片 山 喬

不妊はいうまでもなく夫婦単位の病態であり、不妊診療について述べるにあたっては男女両側から考察する必要があるが、ここでは男性側を診察する立場から不妊診療の現状と今後の問題点について述べ展望したい。

男性不妊はその原因を大別すると造精機能不全、精路通過障害、性機能不全（性交障害および射精障害）および副性器障害に分類されるが、このうち前2者が臨床上もっとも問題となる。造精機能障害は残念ながらその多くが特発性で原因不明であるが、hCG + hMG併用療法、clomiphen, tamoxifenなどのホルモン剤やビタミンB₁₂、カリクレイン、和漢薬などの非ホルモン剤が経験的に投与される。しかし、いずれの薬剤も精液所見の改善率15～35%、妊娠率10～25%と必ずしも優れた効果が期待できないのが現状である。一方、予後因子に関しては我々のデータでは、治療により妊娠成立が期待されるものは治療前の精子濃度が $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上、血中ゴナドトロピン値が高値でないもの、および三カ月間治療してみて精液所見の改善の見られたものであった。

本学会のワークショップのテーマとしても取り上げた精索静脈瘤については、その造精機能に及ぼす機転など不明な点も少なくないが、我々の施設でもこれを手術的に治療することにより、比較的好成績が得られ、半数以上の例で妊娠成立がみられている。とくに、精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の例でも40%に妊娠成立を認めたことは特筆される。最近、腹腔鏡下に内精静脈高位結紮術が行われるようになり開放手術と同程度の臨床効果と報告されているが、従来の開放手術と比較してどのような利点があるかは今後の検討が必要であろう。

治療効果の判定や妊娠予後の推測上問題となるのは、従来の判定基準が一般精液検査での精子濃度および運動率のみから決定しているのに対し、妊娠例の検討から見ると、これらパラメーターの改善は妊娠例の半数にしか関与していないことである。従ってハムスターテストをはじめとする精子受精能検査などの精子機能についての検査も含めて、効果判定をする必要がある。

精路通過障害についてはマイクロサージェリーが応用され、精管-精管吻合術や精管-精巣上体管吻合術などが有力な手段となり、その成績も向上している。一方、先天性両側精管欠損症のように精管欠損部が長く精路再建術が困難な例やマイクロサージェリー不成功例に対しては、精巣上体に設置した人工精液瘤に精子を貯留し、それを人工授精ないし体外受精に供する方法が行われてきたが、当教室の成績も含めて、一般にその成績は必ずしも良好とはいえない。最近では、精巣上体を直接穿刺し得られた精子で体外受精を行い妊娠に成功することができるようになり、我々も本法により数例の妊娠例をみている。

近年、体外受精・胚移植や顕微授精などのニューテクノロジーの進歩により、従来治療困難であった高度乏精子症や無精子症でも挙児を得ることが可能となってきたことはこれまで不妊に悩んできた夫婦にとって大きな福音でありこれらの多くは産婦人科領域の優れた技術開発によるもので高く評価したい。とはいえ、やはり夫婦の愛情に包まれた性行為に基づいて生ずる自然妊娠はだれもが望むところであり、男性不妊の多くを占める特発性造精機能障害の原因究明およびその治療法の開発がこうした願いの解決に向けた今後の重要な課題となるであろう。

体外受精の現況と問題点

京都大学医学部婦人科学産科学教室

森 崇 英

1978年、英国において初の体外受精児が誕生して以来、体外受精・胚移植およびその関連技術、いわゆる Assisted Reproductive Technology (ART) は不妊治療の画期的、革新的な方法として急速に全世界に普及し、現在では50ヶ国以上で実施されており、不妊治療の現場においては、必要不可欠な治療法として定着した感がある。

World Collaborative Report 1991によると、1991年1年間に全世界で138,238回の採卵および116,201回の胚移植が行われ、それにより26,411件の臨床妊娠および19,319件の生産分娩があったと報告されている。一方、日本産科婦人科学会の報告によると、わが国においては、平成4年1年間に、新鮮胚・卵を用いた治療は174施設において、16,381回の採卵と12,250回の移植が実施され、2,702例の臨床妊娠および1,985例の生産分娩が報告されている。成功率は、IVF-ETに関してしてみると、採卵当りの臨床妊娠率は15.8%、採卵当りの生産率は11.5%であり、全世界平均に匹敵する値となっている。出生児に関しては、わが国においてこれまでに、6,034名の児がARTにより誕生しているが、日本産科婦人科学会が行った身体発育状況および精神・運動機能の追跡調査によると、発育状況が全体として良好であることが確認されている。

ARTの現況を眺めてみると、顕微授精法などに代表されるように、新技術の導入等による着実な進歩と同時に、いくつかの課題も見えて来る。そのうち最大の課題は、着床率が依然低いことと多胎妊娠率が高いことである。実際、移植胚のうち着床するのは6.0%程度であることが明らかになっており、また少しは減少傾向にあるものの、20%近い多胎妊娠率が報告されている。この二つの問題はともに、ヒトの着床機構に対する理解の不足がその根底にあり、ヒトの着床機構、特に子宮内膜の分化(脱落膜化)機構に対する研究の重要性が痛感される。

ARTにおける低着床率は、過排卵操作にともなう高い E_2 およびPの濃度による子宮内膜の分化速度とin vitroで培養された胚の発生速度のずれが一因と考えられる。我々の研究で、子宮内膜に存在するAminopeptidaseが子宮内膜の分化に深く関与することが明らかになっている。その阻害剤であるBestatinは、in vitroにおいてヒト子宮内膜の増殖は抑制せずに、その脱落膜化を抑え、また、マウスを用いた実験では、偽妊娠マウスにBestatinを投与することにより、いわゆるimplantation windowが延長し、通常では困難な時期でも胚の着床が可能となることを明らかにしている。これらのことは、子宮内膜の分化を操作することにより、ARTにおける低着床率が改善される可能性を示唆しているものと考えられる。

また、我々の施設で行ったIVF-ET症例の解析から、形態良好胚を3周期以上移植しても妊娠しなかった症例は、以後の移植による妊娠成立がみられないことが示されている。これら体外受精難治症例は、その原因が子宮内膜に存在する可能性は非常に高く、いわゆる“内膜不全”という病態が存在するものと考えられる。これらの症例の病態についても今後多方面からの解析が期待される。

精子成熟の場合—精巢上体：構造からみる機能分化

北海道大学医学部解剖学第三講座

阿 部 和 厚

精巢上体は、精巢にそって位置する縦に細長い臓器で、1本の迂曲する精巢上体管からなる。精巢上体の始めと終わりの部分は膨らみ頭部、体部、尾部に分けられる。頭部には精巢輸出管が入り、尾部からは精管が出ていく。精巢から流出する精子は運動能を示さず、受精能力をもたないが、精巢上体の尾部の精子は活発に運動し、受精能力を示す。したがって、精巢上体は精子に受精能力を与える重要な器官であることがわかる。精子は、精巢上体を通過して受精能を獲得する間に、細胞膜レベルで変化していくが、ここでは精子に受精能をあたえる精巢上体の組織学的機能構造について、組織学的研究、微細構造の研究に適するマウス精巢上体で得た私たちの知見を中心に述べる。

精巢上体管の一般構造

精巢上体管は、密に迂曲して管の塊としての精巢上体を形成し、きわめて長い。管は精巢上体頭部の近位端で数本の精巢輸出管と吻合し、精巢上体尾部の遠位端で精管に移行する。精巢上体管の上皮は、1) 主細胞、2) 明細胞、3) 基底細胞の3種の細胞からなる。主細胞は、管腔面に不動毛とよぶ長い微絨毛をそなえ、精巢上体管上皮細胞の大多数を占める。明細胞は不動毛をもたず、胞体の管腔側が空腔を充満し、明るくみえる。基底細胞は管の基底膜に接して他の細胞の間に存在する小型細胞である。

精巢上体管の部位差

精巢上体管は、近位側から遠位側にかけて部位的に異なり、近位側では、主細胞などの上皮細胞は背が高い円柱形で、管腔は狭い。遠位側では、管腔は広く、管上皮は薄く、上皮細胞は立方形となっている。管腔には多量の精子をいれる。このような上皮や管腔の組織学的性状により、精巢上体管はいくつかの区域に分けられる。区域の数は、種によって、あるいは区分の形態基準によって異なる。

私たちは、マウス精巢上体管を主細胞の組織学的性状によって近位側から順に、Ⅰ・Ⅱ・Ⅲ・Ⅳ・Ⅴの5部に分けた。これらの部位では主細胞は、PAS染色性、微細構造に差異を示し、異なる機能をもつことを示唆する。

近年、精巢上体が精子に受精能を与える物質は、主細胞が分泌する精巢上体特異糖蛋白であるといわれ、種々の動物で生化学的に分離されている。これらの物質は、一般に精巢上体管の近位部で分泌され、精子の細胞膜に結合するという。

マウスの精巢上体からコンカナバリンAに吸着する糖蛋白を分離して抗体をつくり、免疫染色、また、種々のレクチンによる染色をすると、精巢上体の部位と関連して、主細胞、明細胞、管腔物質が、様々に染色される。精巢上体は、部位により異なる糖蛋白を管腔へ分泌し、これらの物質は管腔を遠位側へ流れていくにしたがって、各部から分泌される物質に影響されて変化していくことを示す。また、明細胞は、管腔をながれてくる物質の吸収細胞として機能していることがわかる。

精巢上体の精子通過と貯留

マウス精巢上体は長さ17mmで、これをつくる精巢上体管は組織計測すると全長112cmであった。

そのうち、ⅠからⅢ部は86cm、Ⅳ部は21cm、Ⅴ部は5cmで、遠位側へ管腔が広くなるほど、短くなった。これらの部の精子の通過期間はⅠからⅢ部は約2日、Ⅳ部が約5日であり、Ⅴ部には精子はかなりの長期停留していた。精子は全長80%ほどの細い管をかなり早く通過するが、ⅣとⅤ部、とくにⅤ部では停滞、貯留される。精子は近位部の細い部で、上皮の影響を受けて成熟し、成熟した精子が遠位部に貯留され、射精を待つことになる。

部位的機能の連携

マウス巢輸出管、あるいは精巢上体管の種々の部位を結紮すると、結紮部より末梢の管には、精子とそれより前で分泌される管腔物質は流れていかない。このような実験は、マウスでは、Ⅱ部で分泌されるPAS陽性物質(おそらく精巢上体糖蛋白のひとつを含む)は精子に結合して利用されるが、精子がなければ余剰となり、Ⅳ部の管腔に貯蓄して主細胞に吸収処理されていることを示した。精子の有無との関連は、精巢上体に精子を一時的に消失、ついで再出現、管腔物質の流れを遮断しない条件、すなわち精巢の放射線照射、あるいは精巢の一時的腹腔内固定手術後の精巢上体の変化で確認した。

また、電子顕微鏡で観察は、正常においても精巢上体Ⅱ部が分泌した物質をⅣ部で吸収するⅡ部とⅣ部の機能関連を示唆した。

部位的機能の分化

精巢上体管の最初の部、Ⅰ部は、多くの動物で共通の特徴をもち、始部とよばれ、精巢から流入する男性ホルモン結合蛋白を含む精巢分泌物を吸収するといわれる。マウスで精巢輸出管を結紮すると、始部の主細胞は、6時間から24時間でアポトーシスの変化を示して変性し、脱落して、3日で始部の体積は正常の3分の1となった。また、細胞はⅡ部と同様になった。始部の主細胞は、本来、Ⅱ部と同様の分化をするが、精巢分泌物によりⅠ部(始部)の機能をもつように分化することを示す。また、精巢上体管の結紮実験は、Ⅳ部の上皮がそれより近位からの物質により、分化を規制されていて、発育分化の時期に、このような物質を断たれると、異状な分化を示した。このように、精巢上体の機能分化は、管腔物質に依存している。

まとめ

これまでの知見と私たちの知見からつぎのようにまとめる。

1. 精巢上体は、精子を成熟させ、受精能を与える。
2. 精巢上体をつくる精巢上体管は、形態と機能の異なるいくつかの部位に分けられる。
3. 精巢上体管上皮細胞は、部位により異なる精巢上体特異的物質、糖蛋白を分泌する。
4. 精巢上体分泌物質は、精子と結合し、精子成熟の連鎖変化を与える。
5. 精巢上体分泌物質は、各部を通過して、その部の分泌物質により変化しながら管を流れる。
6. 精巢上体管の異なる部位は、精巢上体分泌物質の分泌と吸収により、連携して機能する。
7. 精巢上体管の部位的機能分化は、そこを流れる物質に依存する。
8. 精巢からの未熟精子は精巢上体管近位部で成熟し、成熟精子は遠位部に貯留される。

男性不妊症治療の現在の問題点

札幌医科大学泌尿器科

熊本悦明

近年女性の社会進出や家族観の変革に伴い、本邦における出生率の低下は著しいものがあり、将来の日本のあり方に危惧の念がもたれる様になって来ている。

その様な社会的背景から、望児の夢を持ちながらそれを果たし得ない不妊夫婦に対する医学的対応が、人口計画の一つの問題点として注目される様になっている。そして、その要請に答える様に、産婦人科領域においては、人工授精・体外受精などを始めとする各種の新技術の開発が進み著しい発展をみせている。ところが、不妊原因の半分は男子側にあるにもかかわらず、その治療を担うべき泌尿器科領域においては、男子不妊症に対する医学的対応に新しいbreak throughを見出せぬまま、手をこまねいているのが現状と言えよう。

男子不妊症は精管閉塞やvaricoceleなど原因の明らかな一部を除けば説明のつかない特発性のものがほとんどである。精子を日々産生するspermatogenesisの調節機序が極めて微妙なものであり、最近ではparacrine又はautocrine systemも明らかになって来ているが、個々の症例の障害原因分析は容易でなく、理論的な治療学的な対応が充分に行い得ないためと言ってよい。

そのため、その特発性不妊症に対する治療trialが種々なdrugで試みられているにもかかわらず、ほとんど対象群に比して有意差をもつ高い有効性を証明し得ないでいる。HCG, testosterone 以外は、HMG, clomiphene, kallikrein, Vitamine B₁₂をはじめとする代謝活性剤など、可能性があるにもかかわらず、すべて保険適用薬になっていないという現状である。

人口問題からすれば、国家的立場から癌やエイズ同様重要な医学的問題にもかかわらず、それらに費やす膨大な予算に比し、男子不妊症治療にはほとんど無関心のまま放置されている。今後、保険適用のある男子不妊症治療薬を開発検討してゆくためには、どのような問題点があるか、過去の問題点を分析しつつ将来の展望を述べてみたい。

哺乳動物胚の凍結・ガラス化保存

高知大学農学部生物資源科学

葛 西 孫三郎

胚を長期間保存するためには -130°C 以下まで冷却することが必要で、通常液体窒素が用いられる。冷却過程(および回収時の加温過程)に胚に傷害を及ぼす最も大きな要因は、細胞内の氷晶形成である。これを防ぐために、冷却前に細胞内に耐凍剤を透過させ、さらに十分濃縮する必要がある。従来の胚の凍結法では、保存液に1 M程度の耐凍剤を添加し、長時間かけて緩慢に冷却することによって細胞内の自由水の脱水を促して耐凍剤濃度を高めた。細胞内の濃縮が十分に進むと、液体窒素中に急冷しても氷晶は形成されず、非結晶の固体(ガラス化状態)となる。

保存液に極めて高濃度の耐凍剤を加え(6~7 M)、常温で細胞内外を上記と同じ濃縮状態にすることによって、緩慢な冷却なしに直接液体窒素に投入することが可能となる。この方法がガラス化法で、冷却に要する時間はわずか数秒間であり、冷却速度の制御を必要としない。さらに細胞外にも氷晶がないために、従来の凍結法より高い生存性が期待できる。しかし、ガラス化溶液に胚を浮遊させてゆっくり平衡すると、濃い耐凍剤の毒性の影響を受けて胚は死滅してしまう。ガラス化法ではこの毒性の影響をいかに回避するかが最も重要なポイントになる。毒性を回避するには、毒性の低い耐凍剤の使用、耐凍剤濃度の低下、平衡時間の短縮、平衡温度の低下などの手段があり、1985年に初めてマウス胚のガラス化保存の成功が報告されて以来、種々のガラス化溶液と処理方法が考案されてきた。筆者らは、毒性が低く簡易な操作で高い生存率の得られるガラス化溶液としてEFS液を作成し、実験動物胚の保存条件を検討してきた。EFS液は、低毒性耐凍剤であるEthylene glycolを主体とし、溶液のガラス化を促進させる高分子物質としてFicollを、さらに細胞の脱水を促して毒性や浸透圧的障害を緩和するためにSucroseを加えて作成されている。

マウス桑実胚では、 20°C のEFS液に直接浮遊させてストローに封入し、2分間の平衡後に液体窒素に浸してガラス化保存すると、胚の生存率はほとんど低下しない。耐凍剤に対する細胞膜の透過性は、温度に大きく左右されるため、高温下では耐凍剤の毒性による悪影響をうけやすく、一方低温下では、耐凍剤の透過に一定時間を要する。従って、同じ室温でも 25°C では 20°C の場合より適する平衡時間は短くなる。胚の膜透過性は、発育ステージによっても異なるため、ガラス化保存のための適する処理条件も異なる。種々のステージの胚を桑実胚と同じ条件(20°C のEFS液で2分間平衡)でガラス化保存すると、8細胞期胚と初期胚盤胞では桑実胚と同様に生存するのに対し、それより初期および後期の胚の生存率は低下する。これは、Ethylene glycolが、初期の胚では細胞質内に、胚盤胞では胞腔内にそれぞれ透過するのに桑実胚より長い時間を要し、その間に溶液の毒性による傷害を受けるためと考えられる。従って、2細胞期胚や拡大胚盤胞では、処理温度をやや高め、低濃度のEthylene glycolを含む溶液で一定時間平衡してあらかじめ透過させてからEFS液に移し、短時間で液体窒素に投入することで、生存率は大きく改善される。しかし、未受精卵は、EFS液によるガラス化法では生存できず、Ethylene glycolより透過しやすい耐凍剤を用いる必要がある。

EFS液によるガラス化法は、家兎桑実胚や、体外受精によって作成した牛胚盤胞の保存にも有効で、いずれもレシピエントに移植後高率に産子まで発育している。特に家兎胚では、無傷のムチン層や透明帯が体内での発育に必要とされているが、ガラス化法ではこれらの細胞外物質の損傷が極めて少ないことが高い産子率につながっている。このように、ガラス化法は操作の簡便性と高い生存性を併せ持っており、ヒト胚への応用が期待される。

性機能と視床下部調節因子

金沢医科大学産婦人科

桑 原 惣 隆

性機能の調節機構として視床下部-下垂体-卵巣系は重要であるが、とくに視床下部には種々の神経核が存在し、多くの神経伝達物質が産生され視床下部と下垂体前葉の接点である正中隆起外層に軸索流により運ばれ下垂体門脈系第1次毛細血管に放出され下垂体前葉ホルモンの産生放出が調節されている。

下垂体性腺刺激ホルモン分泌刺激は視床下部に分布するLH-RHニューロンよりのLHRHが関与し、episodic LH分泌は内側基底視床下部 (MBH) や弓状核に分布するLHRHニューロンが関与し、性周期の保持は視束交叉上核や終板器官 (OVLT) 近傍の吻側視床下部に分布するLHRHニューロンが関与すると考えられる。

PRL分泌は視床下部のPIFやPRFにより調節され、PIFとして可能性の高いドーパミン (DA) のニューロンは弓状核に分布する。ヒトにおけるPRFの存在はなお不明であるが、PRFとしてはTRH, 5-HTP, VIP, β -endorphinやdynorphinなどが挙げられる。

1. LHRHニューロン系

多くの哺乳動物では視束前野のレベルに多く分布し、主要な線維投射路は正中隆起外層に終わる。また、LHRH線維投射のほとんどの領域にエストロゲン受容体ニューロンが分布する。

2. モノアミンニューロン系

Hökfelt, Fuxeらの組織化学的手法でDA, NAおよびSerotonin (5HT) 含有ニューロンが脳幹より前視床下部、後視床下部および正中隆起部外層に局在することが認められている。我々はDA, NA生合成阻害剤 (Methylytyrosin), DA receptor agonist (CR154), DA receptor antagonist (Metoclobramide) あるいは5HT receptor blocker (Methysergid) などの薬理学的検索を行い、視床下部内のNA, DAの特異的変動とPRL値の動態より、NAと5HTはPRF作用を、DAはPIF作用を有することを認めている。

3. 各種ペプチドニューロン系

視床下部には後葉ホルモンであるオキシトシンおよびワゾプレシンを含めオピオイドペプチドとしてProopiomelanocortin (POMC) (β -endorphinなど), Proenkephalin AおよびB, その他VIP, ニュロテンシン (NT), Substance-P, NPY, コレシストキニン (CCK), 心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP), gonadotropin releasing hormone (GnRH) associated peptide (GAP) およびガラニンなどのニューロンが証明されている。我々はCCKを雌ラットの頸静脈内カテーテル注入法で投与し、LH分泌抑制、PRL分泌促進作用を認め、一方、NaloxoneはCCK作用に拮抗することよりCCK作用に内因性オピオイドの関与を示唆する成績を認めている。

GAPはLH, FSH分泌を促進し、PRL分泌を抑制するとされ、ガラニンは弓状核内のドーパミンニューロンのDA産生、放出を抑制し、PRL分泌促進に関与するとされる。

視床下部における多くの各種ペプチド産生細胞体、神経終末はLHRHニューロンの分布する内側中隔核、対角帯核、内側視索野部、弓状核と同じレベルか近傍に分布し、中には内側視束前部に分布するガラニン免疫陽性細胞の約20%がGnRHと共存しており、弓状核ではGRHと共存することが認められており、単一ニューロン内で複数の活性物質の共存ニューロン内での機能的意義の解明が

必要である。

4. 神経活性物質の新しい知見

最近、視床下部-下垂体系において新しい神経伝達物質として多様な機能をうかがわせるいくつかのペプチドが発見されつつある。

Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) は羊の視床下部より単離されたペプチドで視床下部、正中隆起部外層、内層に分布し、下垂体培養細胞では LH α subunit 分泌促進に protein kinase を介して作用するとされる。

さらに、癌遺伝子核内因子群の C-fos が雌ラットの estrogen や progesterone 刺激で LHRH ニューロンに発現したとか LH surge との関係が報告されたり、また免疫調節物質 (IL-1, IL-6 など) が視床下部や下垂体前葉ホルモン産生放出に作用することから神経系と免疫系との相互作用が明らかにされつつある。

以上の如く視床下部の多数の神経伝達物質や前駆物質、遺伝子核内因子群などが次第に同定されつつあり、性機能の中枢調節との関係が明らかにされつつある。

シンポジウムⅠ

『配偶子をめぐる最新的话题
—ニューテクノロジーによる研究—』

シンポジウムⅡ

『着床をめぐって』

シンポジウムⅠ 「配偶子をめぐる最新的话题 —ニューテクノロジーによる研究—」

1. 精子形成機構解明のための分子生物学的アプローチ

大阪大学医学部泌尿器科 並木 幹夫

精子形成機構は複雑で未解明の部分が多く、男性不妊症における精子形成障害の病因、病態もほとんど不明である。このため、分子生物学的アプローチによる精子形成機構の解明が期待されている。本講演では、以下の研究を中心にその一部を紹介する。

1. 精子形成に関わるY染色体上の遺伝子(AZF)のcloning: 従来よりY染色体長腕に精子形成に関わる遺伝子が存在すると推測されていたが、Y染色体特異的DNAプローブを用いて無精子症患者の末梢リンパ球DNA分析を行うと、Y染色体長腕のlocus DYS7C付近に微小なDNAの欠失を認める症例が約15%存在した。現在このAZF geneのcloningが進行中で、AZFの異常による男性不妊症のDNA診断のみならず、治療法の進歩につながる可能性がある。

2. 精細胞特異的抗体を用いた精細胞分化特異抗原および遺伝子の解析: マウス精巣の精細胞を特異的に認識する種々の抗体を作成し、この抗体をプローブとしてtestis cDNA libraryより新たな精細胞分化抗原遺伝子のcloningを行っている。新たな精細胞分化抗原の単離と機能解析の蓄積と不妊男性の精巣での遺伝子発現異常の検討により特発性精子形成障害の診断と治療の進歩が期待できる。

3. 新しいsteroid receptor family(TAK1)の精子形成への関与: 新しく同定されたsteroid receptor family(TAK1)がヒト精巣に強く発現していることがNorthern blot分析で判明した。また、マウス精巣を用いたIn situ hybridizationにてmeiotic stageのgerm cellで発現していることも証明され、TAK1が精細胞分化に何らかの役割を有していることが示唆された。

以上1~3の研究を中心に他の文献の考察を加えて、精子形成機構解明のため分子生物学的にアプローチしたい。

2. 卵母細胞の選択的発育に係わる卵巣内因子

東京大学医科学研究所獣医研究部 佐藤 英明

動物界には一生に1回しか生殖活動を行わないものから、哺乳類のように性周期をもち、繰り返して子孫をつくるものまでであるが、精子や卵子のつくりかたにも生殖活動の特徴が反映している。哺乳類では、卵巣で生み出された卵母細胞を繰り返して発現する性周期に分配して発育を開始させ、卵子特有の構造へと分化させるとともに、少数の卵母細胞を選抜して排卵させる。また排卵に至らなかった大多数を死滅へと導く。このようなことから哺乳類の卵巣には少数の卵母細胞を選抜して排卵させ、大多数のものを死滅へと誘導する機構が存在すると推察される。このような卵母細胞の選択的発育の制御機構についてはすでにステロイドホルモンの動態に基づいた仮説が提出されているが、均一な集団からある集団が選抜され、さらにその中から特定の数に延命するように調節されている機構は、卵母細胞のみならず、細胞一般の生と死を考えるうえで貴重な情報を与えてくれると思われる。私達は血管系の動態との関係に注目して検討を進めているが、卵母細胞の選択的発育と卵巣内の局所的な血管増殖に相関のあることや、局所的な血管増殖にはグリコサミノグリカンによる血管増殖因子の活性の修飾が関係することなどを明らかにしている。さらに、卵巣のグリコサミノグリカンは卵母細胞に直接作用し、その死滅を抑えることから、卵母細胞の選択的発育の特徴は局所的血管増殖の誘起と卵母細胞の死滅の抑制というグリコサミノグリカンの二重の作用によりつくりだされていると考えられる。

3. 哺乳動物精子の成熟と発生能

福島県立医科大学産婦人科 星 和彦

精子の形態学的完成は受精に適した合目的変身の結果と考えられなくもない。精子は形態学的に成熟するばかりでなく、いわゆる授精能を獲得するために機能的にも成熟することが知られているが、その核内においても大きな変化がおきている。DNAを支える核蛋白はヒストンからプロタミンへと変わり、プロタミン内のSH基も-SS結合に変化する。そしてこの-SS結合の存在が過酷な外的環境から精子の発生能を維持する、すなわちDNAの破壊を防止する重要な役割を担うことになる。

ヒトの射出精子は明らかに形態的に完成した精子である。しかし外見的には成熟しているにも関わらず、核は必ずしも成熟しているものばかりでないことがわれわれの研究から確認されてきた。アクリジンオレンジ等を用いた特殊な精子核染色法を行ってみると-SS結合はもとよりSH基すら持たない未熟な核を持つ精子が相当数含まれている。そしてこの未熟精子核をもつ精子の分布は従来から男性不妊症の診断に使われてきた精液分析の成績とは全く関連性が認められない。体外受精に用いられた精子について受精率との関連性を調べてみると、未熟核精子は受精に関与していないこと、また未熟核精子を多く含む精子の受精率は有意に低下していることが明らかになった。

本シンポジウムでは精子の形態学的成熟に伴う核内構造の変化、核の成熟がDNAの保護に果たす役割、核の成熟と受精能力との関連、受精能欠落精子に対する治療法としての顕微授精の応用等について報告したい。

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

東京大学医学部産婦人科 藤原 敏博, 堤 治, 武谷 雄二

受精時に卵細胞質内でカルシウム(Ca)の増加反応が起こることが知られている。本反応はウニ・ヒトデなどの下等動物で見出されたのを端緒に、哺乳動物でも報告されている。今回ヒトを含む哺乳動物卵における受精時卵細胞質内Ca増加反応の生理と、その臨床面への応用について検討を行った。

①受精時卵細胞質内Ca増加反応のメカニズム：ハムスター卵を用い、 IP_3 の細胞内注入によりCa増加反応が認められた。さらに抗 IP_3 リセプター抗体の細胞質内注入により受精時卵細胞質内Ca増加反応が抑制された。以上から本反応が IP_3 感受性CaストアからのCa放出によるものであることが明らかとなった。

②卵成熟に伴うCa増加反応の発達：ハムスター卵では、未成熟卵では IP_3 注入時のCa増加反応は未発達であったが、*in vivo*での卵成熟に伴って、本反応の発達が認められた。また*in vitro*での卵成熟に伴っても本反応の発達が認められたが、2つの卵成熟過程における発達パターンには差が認められた。従って*in vivo*および*in vitro*の卵成熟過程が質的に異なるものである可能性が示唆された。

③ヒト卵における受精時卵細胞質内Ca増加反応：IVFにおいて未受精に終わったヒト卵と精子を用いて、卵透明帯を除去した後に媒精したところ、受精時細胞内Ca増加反応が認められた。さらにIVFでの受精率と本反応の出現率には相関が認められ、本反応の有無が精子の受精能を反映している可能性が示唆された。

以上のように、受精時卵細胞質内Ca増加反応がヒトを含めた哺乳動物卵にみられることを明らかにした。さらにこの反応が、卵の成熟度や精子の受精能と関連することが示された。従って本反応を配偶子受精能の指標として応用できる可能性も示された。

シンポジウムⅠ 「配偶子をめぐる最新的话题 —ニューテクノロジーによる研究—

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—

神戸大学医学部泌尿器科 藤澤 正人

近年、細胞間相互における機能調節が注目され、精巣においてもSertoli cell, Leydig cell, Peritubular cell, Germ cellそれぞれがお互いの機能を調節し合っていることが明らかになっている。とくに、Sertoli cellはそのネットワークの中心的役割をなし、Leydig cell、あるいはGerm cellの調節に関わっていることが示唆されている。Sertoli cellとGerm cellの関わりにおいてはTransferrinなど多くの物質が報告されており、それらはGerm cellの分化に関連していると考えられている。一方、Sertoli cellとLeydig cellの相互作用についてもIGF-Iなどの物質が検討され、Sertoli cellから分泌されたIGF-IがLeydig cellに働き掛けることが知られている。このようにSertoli cell分泌物質のいくらかはLeydig cellへ作用し、より局所、すなわちshort loopでの細胞機能調節の重要性が示唆される。

今回、Sertoli cellよりの分泌物質としてCytokineのひとつであり、生体内で多彩な機能を示すIL-6について検討したところ、Sertoli cellがこれを分泌しており、さらにIL-6がparacrine factorとしてLeydig cellに作用することが明かとなった。Sertoli cellにおけるIL-6の分泌、mRNAの発現はIL-1 α 、 β 、あるいはFSHにより刺激されるが、そのIL-6はさらにLeydig cellのSteroidogenesisを抑制する作用をもっているという知見を得た。また、逆にLeydig cellよりの分泌物質がSertoli cellにおけるIL-6 mRNAの発現を刺激していた。このような相互作用は、まだまだ数多く存在するものと考えられるが、精巣局所における制御機構の早期解明が待たれるところである。

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—

東京医科歯科大学産婦人科 久保田俊郎、鎌田 周作、麻生 武志

血管内皮細胞由来の強力な血管収縮性活性ペプチドホルモンであるEndothelin(ET)は、血管系以外の種々の臓器に対しても広範な生物活性を有することが知られ、複雑な脈管構造を有し豊富な灌流血流量を特徴とする卵巣においても、その役割が注目される。卵胞の発育・成熟は卵母細胞を囲む顆粒膜細胞(GC)の増殖・分化を促し、GCが卵に与える影響は計り知れない。本研究では、卵巣内局所調節機構の実験モデルとしてのGC培養系を用い、ETが局所調節因子として卵胞発育調節機構に果たす役割について細胞・分子レベルでの検討を試みた。ブタGC(PGC)培養系では高濃度のET-1が分泌され、前駆体プレプロET-1 mRNAの発現がNorthern blot解析により証明された。PGCには単一でかつ特異的な高親和性のET受容体が存在し、その膜分画のbinding assayによりET-1・ET-3とも同様の親和性を持つET_A受容体subtypeと考えられた。ET-1は、短時間の刺激ではprogesterone(P)分泌に対し促進傾向を示し、48時間長期培養ではgonadotropinによるP分泌を有意に抑制した。またET-1は、有意な細胞増殖作用を示した。PGCの細胞内情報伝達系の検討では、ET-1はイノシトール三リン酸(IP₃)産生量を有意に上昇させ、細胞内Ca²⁺濃度を用量依存性に急激に上昇させたが、ET-1の作用発現にcyclic AMPの関与も認められた。次に、体外受精・胚移植時に採取したヒト黄体化GC(L-HGC)を用いて検討すると、ヒト卵胞液中でも高濃度のET-1が検出された。L-HGC培養系では、ET-1はgonadotropin刺激後のP分泌を有意に抑制し細胞増殖作用を示し、細胞内Ca²⁺濃度を用量依存性に有意に上昇させた。しかしこれらの生物活性は、ET-1の作用がET-3に比し優位で、ET_A受容体antagonistのBQ-123投与で消失することより、ET_A受容体を介すると考えられた。以上の結果より、ET-1はGCにおけるautocrine/paracrine作用によって卵胞の発育・成熟に対し局所的に作用し、卵巣の機能調節に重要な役割を果たすことが強く示唆された。

シンポジウムⅡ 「着床をめぐる」

1. 子宮内膜におけるサイトカインの意義

京都大学医学部産婦人科 神崎 秀陽

各種のサイトカインが子宮内膜で局所機能制御因子として働くことが知られてきた。ヒト子宮内膜間質細胞の培養系において、progesterone(P)により誘導される prolactin(PRL)分泌を細胞分化(脱落膜化)の指標としてサイトカインの影響を検討すると、IL-1とTNF α には細胞増殖に影響しない濃度域内でPRL分泌抑制作用があり、この抑制はcAMP刺激で誘導されるPRL分泌亢進に対しても認められた。IFN γ ではPRL分泌抑制とともに細胞増殖抑制が見られた。またTGF- β 1, TGF- β 2はいずれも間質細胞の増殖を抑制した。PとともにIL-1やTNF α を添加した場合でも培養液中P濃度の推移には対照群と差はなく、またPレセプター発現にもmRNAレベルで変化は見られなかったことより、IL-1, TNF α の作用はP代謝やPの直接効果を阻害するものではないと考えられる。ヒト子宮内膜細胞からのサイトカイン産生を培養系で検討すると、腺、間質いずれの細胞からもM-CSFの分泌が認められ、Pには間質細胞からのM-CSF分泌を維持・亢進させる効果があることが明らかとなった。in situ hybridizationでも組織ならびに培養細胞で、M-CSFのmRNAは間質細胞、腺細胞いずれにも発現が認められ、Northern blottingでは増殖期内膜に比して分泌期内膜や脱落膜のM-CSFmRNAは明らかに増加していた。培養細胞での検討では、TGF- β 1は間質細胞から、TGF- β 2は腺、間質いずれの細胞からも分泌されており、これらはいずれも潜在型で、間質細胞からのTGF- β 2分泌は性ステロイドホルモン、特にP, testosteroneの添加で抑制された。さらに、SCFは主として間質細胞で、またLIFは腺細胞でそのmRNA発現が見られ、それぞれが間質細胞、腺細胞の分化に密接に関連していると考えられる。これら各種のサイトカインには、子宮内膜での局所機能制御因子として以外にも、着床周辺期における初期胚発育や絨毛細胞の増殖・分化に果たす役割も想定される。

2. 着床期の子宮における成長因子の発現とその役割

大阪府立大学農学部獣医臨床繁殖学教室 玉田 尋通

着床過程は、子宮における種々の細胞の増殖、分化、移動、再構築等を伴う。黄体ホルモン(P)と卵胞ホルモン(E)は子宮を着床可能な状態にするが、これらのホルモンがどのような機構で細胞の増殖、分化等に作用するのかは明らかでない。一方、成長因子は様々な細胞の増殖、分化等を制御し、ホルモン作用を仲介する可能性が示唆されている。我々は、免疫組織化学、in situ hybridization および Northern ブロット法を用いて、transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)、transforming growth factor- α (TGF- α) および insulin-like growth factor-I (IGF-I) が着床周辺期のマウス子宮で発現していることを明らかにした。さらに、TGF- α と共通のレセプターに結合する epidermal growth factor (EGF) の着床誘起作用および脱落膜反応促進作用を確認した。

TGF- β 1, TGF- α および IGF-I は、妊娠1日から4日には子宮の粘膜上皮と子宮腺で合成され、また、これに加えて TGF- α と IGF-I では妊娠3日と4日には粘膜固有層の間質細胞でも合成される。妊娠5日以後は脱落膜組織の primary decidual zone がこれら成長因子のおもな合成場所と考えられ、着床後の胚でも発現が認められた。さらに、子宮腔内に EGF を投与することにより、妊娠3日に卵巣を除去しPを毎日処置した着床遅延ラットの多くに着床を誘起することができ、また、偽妊娠ラットの脱落膜反応を促進することも明らかにした。

以上の結果より、これら成長因子は autocrine または paracrine 作用様式により、子宮細胞および胚の増殖、分化等に影響を及ぼして着床過程に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

シンポジウムⅡ 「着床をめぐる」

3. 卵の発育分化と着床

—着床前後における epidermal growth factor の生理作用—

東京大学医学部産婦人科 堤 治, 武谷 雄二

epidermal growth factor (EGF) はポリペプチドの増殖因子であるが、卵管や子宮に発現が認められ、妊娠により血中濃度も増加するとの報告もあり、着床前後の卵の発育分化に関与することが示唆される。しかしEGFの生体内作用は未知な点が多く、生殖生理における作用は殆ど不明である。そこで顎下腺にEGFが大量に発現するマウスにおいて顎下腺切除(Sx)をおこないEGF欠乏動物モデルを作成し、交配実験をおこなった(実験1)。その結果対照ではほぼ100%妊娠は成立するが、Sx群では約50%が流産となりEGF抗体投与で流産率は100%に達した。Sx群はEGF補充により流産率の減少を認めた。これよりEGFは妊娠初期の経過に必要で、EGF欠乏により流産が起こりうると考えられた。着床前初期胚の培養実験で(実験2)、EGFは卵発育速度には変化を与えなかったが、機能的指標である糖取り込み能を胞胚において亢進し、同時に着床能を有意に増加させた。またWestern法、RTPCR法による解析で(実験3)、EGF作用は卵の糖輸送担体GLUT1発現にあることも明らかになった。着床後にSxをおこなった場合は(実験4)流産または胎子の発育障害が生じ、EGF抗体投与で増悪、EGF補充により回復した。この場合母体側の血中グルコース濃度に変化はないが、胎子のグルコース濃度低下を認めた。そこでトレーサー母体投与実験をおこなうと、母体から胎子へのグルコース輸送が特異的に障害されることが明らかになり、その原因は糖輸送担体発現の異常にあることも解明された。以上の成績から、EGFは着床前後の卵の発育分化を促進する生理作用を有すること及びその作用の少なくとも一部は糖輸送担体発現の制御にあることが明らかになった。

4. 着床周辺部位の微小変化

増殖因子(hHGF)を介した卵と子宮内膜のシグナル交換

福井医科大学産婦人科 根岸 晃, 富永 敏朗

着床とは受精から初期発生をへて発育した胞胚が受精後6~7日目に卵巣ホルモンの影響下で準備状態の整った子宮内膜上皮と接着を開始したときに始まり胞胚が上皮を貫通し、侵入、埋没、修復されるまでの一連の過程である。接着、貫通、埋没、修復の過程は子宮内膜の胞胚との相互作用で遂行されるが、貫通後の埋没、修復は月経時の再生過程に類似している。今回われわれは着床過程を胞胚と子宮内膜との相互作用で遂行される子宮内膜の修復過程と考え、その微調整を新しい増殖因子から検討した。

ヒト肝細胞増殖因子(hHGF)は劇症肝炎患者血清中に見い出され、精製された分子量約83,000の増殖因子で劇症肝炎の病態と密接に関連して変動することが知られている。われわれは肝炎患者に不正出血が多いこと、この増殖因子が間質細胞より分泌され上皮細胞の増殖、遊走、形態形成等の促進効果を有することから子宮内膜の再生の因子として検討を行った。

hHGFは月経周期に特有の変化を示し、特に月経開始直後、黄体期後期に高値を示した。妊娠例では月経開始直前の低値をとらず上昇した。妊娠期間中の推移を検討すると11~17、24~31週、分娩直前に高値を示し、分娩後速やかに低下した。hHGFは子宮内膜間質細胞、マクロファージに存在し、月経期や着床期の内膜修復に関与し妊娠の成立に働く新しい増殖因子であることが推測された。また、黄体期後期の子宮内膜の擬脱落膜反応に関与し子宮内膜の質的再構成がこの時期に行われていることが示唆された。

一方、受精卵が子宮内膜上に存在すると主に受精卵より分泌されるIL-1が着床部位の子宮内膜に働き、局所的な子宮内膜のhHGFシステムを活性化し子宮内膜の再構成を促進し、着床を遂行することが判明した。

これらのことから子宮内膜の新しい増殖因子hHGFは内膜の再生に大きく寄与し、これまでに測定不可能であった内膜の妊孕性の評価因子となりうる可能性も示唆された。

シンポジウムⅡ 「着床をめぐる」

5. 卵と着床 —インテグリンファミリーの生理学的意義—

杏林大学医学部産婦人科 吉村 泰典

〔目的〕受精卵の着床現象には、胞胚が基底膜との接着を開始し、間質内への侵入を完了するまでの期間、細胞外マトリックスやその受容体である β_1 インテグリンが重要な役割を果たしている。今回ヒト子宮内膜及び妊娠初期脱落膜における β_1 インテグリンの発現及びその様式を解析することにより、受精卵着床過程における β_1 インテグリンの意義について検討した。〔方法〕(1) ヒト増殖期・分泌期子宮内膜及び脱落膜を informed consent の後採取し、酵素処理後 Percoll を用いた非連続勾配法にて単細胞浮遊液を作成し、37°C, 95% air-5% CO₂ 下にて10~15日間培養した。培養後、1次抗体として β_1 , α_1 , α_2 鎖に対する monoclonal 抗体 ($m\beta_1$ Ab, $m\alpha_1$, $m\alpha_2$ Ab)、2次抗体としてFITC標識 goat anti-mouse IgGを使用し、細胞表面抗原の発現率を flow cytometry にて測定した。(2) 培養細胞を³⁵S-methionin による細胞標識後、 $m\beta_1$ Abで免疫沈降し、SDS-PAGE 後 autoradiography 施行し、 β_1 インテグリン生合成能を観察した。(3) 7週令 CD-1 雌マウスを過排卵誘起後、同系雄と交配させ、子宮内初期胚を回収した。回収した初期胚を10日間培養した脱落膜上に静置し、 $m\beta_1$ Ab存在下で共培養を行い、胞胚の hatching (H), attachment (A), spreading (S) に及ぼす $m\beta_1$ Abの効果について検討した。〔成績〕(1) 子宮内膜間質細胞表面における β_1 インテグリンの発現は、増殖期で弱く、分泌期に移行すると β_1 , α_1 , α_2 鎖の発現が増加した。月経周期にかかわらず子宮内膜には α_4 鎖の発現は認められなかった。また増殖期子宮内膜にE₂とPを添加することにより、 α_1 , α_2 の発現が誘導された。妊娠初期脱落膜表面にも β_1 , α_1 , α_2 , α_3 の発現が認められ、しかもPRL分泌の高い脱落膜細胞で β_1 インテグリンの発現率が高いことが判明した。(2) 還元条件下にて β_1 鎖に相当する130kDのbandと、それに付随する210kD (α_1 鎖), 165kD (α_2 鎖) の2本のbandが出現し、ヘテロダイマーを形成していることが確認された。(3) マウス初期胚は、共培養開始後 12~24 h 後にヒト脱落膜表面に接着し、48 h 後よりtrophoblast の outgrowth が観察された。培養脱落膜細胞への $m\beta_1$ Abの添加は胞胚の%H, %Aに影響を与えなかったが、%Sを用量反応性に抑制した。〔結論〕 β_1 インテグリンはヒト子宮内膜及び脱落膜細胞内で生合成され、その細胞表面に発現し、初期胚の着床過程、特にtrophoblast のoutgrowth に深く関与している可能性が示唆された。

ワ　ー　ク　シ　ヨ　ッ　プ

『精索静脈瘤　—その妊孕性への影響—』

ワークショップ 「精索静脈瘤 —その妊孕性への影響—」

1. 不妊症の成因について ①

帝京大学市原病院泌尿器科 伊藤 晴夫

【不妊症の成因】精索静脈瘤は男子不妊症の原因として知られており、これに対する治療も行なわれている。しかし、本症が不妊を引き起こすメカニズムについては不明な点も多い。そこで、まず、精索静脈瘤の成因(varicocelogenesis)ならびに精索静脈瘤が造精機能を障害する機序について考察を加える。後者のうち有力なのは精巣温度上昇、有害物質の精巣への逆流、Leydig細胞機能異常などである。

われわれのprostaglandin(PG)説は精索静脈瘤の手術時に採取した内精静脈血中のPGが末梢血中のPGより高値をとることより導かれたものである。なお、この際コルチゾールの濃度には差を認めなかった。また、手術時に行なった順行性の内精静脈造影所見と手術前後の精液所見をみると、腎への逆流を認める群では内精静脈より大静脈へスムーズに流れる群よりも精子濃度の上昇が良好であった。このように、われわれの説は有害物質の精巣への逆流のうちでも、副腎静脈でなく腎静脈血に由来するPGがvasoconstrictionを起こす、あるいはPGFが精巣のLHレセプターに働いてLHの作用を阻害するとするものである。精索静脈瘤不妊症の解明は医学上の謎解きに留まらず、本症の治療の是非、その時期、さらには手術法などの臨床実地上にも多大の影響を与えるであろう。

【治療に対する追加】精索静脈瘤の再発率はかなり高いという報告は多い。これを防止するために、顕微鏡を使用し、精巣動脈と、できれば精管動脈、精巣挙筋動脈を残し、すべての静脈を結紮切断する手術法を約10年前より行なってきた。本法は、本症の成因についての検討より考案したものである。すなわち、近位クルミ割り現象に起因する精索静脈瘤以外に、一部の精索静脈瘤は左総腸骨静脈が右総腸骨動脈に圧迫されるための外精静脈あるいは精管静脈の逆流による、遠位クルミ割り現象によると考えられるためである。この方法にしてからは術後の精索静脈瘤の持続ないし再発はみられていない。

1. 不妊症の成因について ②

山口大学医学部泌尿器科 瀧原 博史

精索静脈瘤は主として临床上の経験から男子不妊症の原因の1つと考えられて来たが、一方、妊孕性を有する精索静脈瘤の症例も多く経験されており、本症が単独で男子不妊症を惹起するか否かについては多くの議論がある。また、本症は多くの場合一側性でありながら、不妊症例の場合両側精巣の造精機能が障害され妊孕性が低下する。この左右精巣の障害に差があるか否かは重大な意味を持っており、まず不妊症を主訴として当科不妊外来を受診した左側精索静脈瘤症例(44例)に治療として施行した高位結紮術時に両側精巣生検を行い、flow cytometryを用いた精細胞DNA量の解析と精巣容積測定を行った。

その結果、精索静脈瘤群ではいずれのgradeでも左精巣容積は右精巣よりも有意に低値であり、左精巣容積はgradeⅡ、Ⅲにおいて正常対照群よりも低値で、右精巣容積はgradeⅢにおいてのみ対照群よりも有意の低値を示した。Spermatidの割合を示す% haploid cell (%1C)は、精索静脈瘤群においては、すべてのgradeで右側に比べ左側に有意の低値を認め、正常対照群に比較すると、左側はいずれのgradeでも有意の低値を示した。つまり、不妊主訴の本症では、両側精巣になんらかの造精機能障害を認め、その障害の程度は高度の精索静脈瘤の患側において最も高度であった。

上記は不妊主訴患者を対象とした検討結果であり、本症以外の原因による造精機能障害の可能性を否定出来ないため、ラットを対象として本症のモデルを作製し、同様の検討を行った所、ヒトでの検討結果とよく一致することが確認された。以上より、本症は患側に高度の両側精巣造精機能障害を惹起し、不妊症の原因となりうる事が示唆された。

ワークショップ 「精索静脈瘤 —その妊孕性への影響—」

1. 不妊症の成因について ③追加発言
精索静脈瘤精巣における精細胞動態の解析

神戸大学医学部泌尿器科 藤澤 正人

精索静脈瘤が造精機能障害の一因であることはよく知られているが、その根本的な原因は明らかではない。その原因究明とともに精細胞の動態解析はその障害過程を明かにするうえで重要である。精巣では精祖細胞が精母細胞、さらに精細胞へと分化し最終的に精子が形成される。この過程においてDNA合成は必須であり、このDNA合成過程は精子形成障害におけるひとつの律速段階となりうる。今回、精索静脈瘤患者の高位結紮時に得られた精巣生検材料を用いてDNA合成に関して、解析したので報告する。

まず、DNA合成に必要なDNA polymerases (α 、 β 、 γ) 活性に関して検討したところ、精索静脈瘤患者の精巣ではそれぞれの活性は正常精巣に比べて有意に低下しており、DNA合成の低下を招くものと考えられた。さらに抗PCNA抗体を用いて精巣での細胞動態を調べた。抗PCNA抗体陽性細胞はG1からS期細胞であり、DNA合成が行なわれる精祖細胞、休止期精母細胞での陽性率をImage cytometryにより客観的に計測することにより精細胞動態を推察できる。この検討により、精索静脈瘤患者精巣では陽性率が正常精巣に比べて有意に低下していた。

以上より、精索静脈瘤患者精巣では精祖細胞、精母細胞におけるDNA合成の低下が最終的な精子形成障害の一因であることが推察された。

2. 精巣機能 ①

川崎医科大学泌尿器科 徳永 葉

【目的】患者の負担を軽減するために、非侵襲性の赤外線サーモグラフィーによる精索部ならびに精巣部の皮膚温が精索静脈瘤患者の精巣機能の指標になるかどうかを検討した。【方法】男子不妊症を主訴として来院し、臨床的に左精索静脈瘤が確認され、結紮術または塞栓術を施行した20例を対象とし、精索部ならびに精巣部の皮膚温が精巣機能に及ぼす影響を見た。【結果】(1) 左精巣容量を10ml以下、11～15ml、16ml以上に分けると、3群間で精索部温、精巣部温に有意差を認めなかったが、10ml以下の群では16ml以上の群に比べ明らかにFSH値とLH値とが上昇していた。(2) 左精索部温35℃、左精巣部温33℃を境界とし、それぞれ2群に分けると、精索部、精巣部ともに両群間で左精巣容量に差はなく、ホルモン環境にも影響はなかった。しかし精索部、精巣部ともに高温群で精子濃度が低下し、精索部高温群では精子運動率の低下も認めた。(3) 精子濃度 10×10^6 /ml未満とそれ以上では、精子濃度 10×10^6 /ml未満の群で精巣部温が高く、有意に精子運動率の低下を認め、FSH値とLH値も上昇していた。精子運動率50%未満とそれ以上とでは、精索部温、精巣部温ともに著明な差はなかったが、精子濃度は50%未満の群で低下を示した。(4) LH値、FSH値を正常上限の2倍未満とそれ以上に分けると、精索部温、精巣部温ともに両群間で差はなかった。しかし、LH値、FSH値ともに高値群では左精巣容量だけでなく右精巣容量もあきらかに低下していた。同様に精子濃度の低下も著明であったが精子運動率には影響しなかった。また、LH値高値群ではFSH値が、FSH値高値群ではLH値があきらかに上昇していた。(5) 術後妊娠群は20例中4例(20%)で非妊娠群との間で精索部・精巣部温に有意差はなかった。【考察】左側の精索部、精巣部温の上昇は精巣容量、ホルモン環境にはあきらかな影響は示さないが、精子濃度に影響し、精索部温の上昇が精子運動率に影響し低下傾向を示したのは精子運動能の獲得の面からも興味あるところであった。以上のことより赤外線サーモグラフィーによる陰囊部温度の測定は精液検査との関連があるものと思われる。

ワークショップ 「精索静脈瘤 —その妊孕性への影響—」

2. 精巣機能 ② 精索静脈瘤精巣におけるLHRHテストの意義

名古屋大学医学部泌尿器科 山本 雅憲

精索静脈瘤と不妊との因果関係については議論が多い。精索静脈瘤患者における造精機能障害の原因としてLeydig細胞の機能障害が示唆されている。今回我々はそうした機能障害の存在を明らかにする目的で、血清テストステロンおよびゴナドトロピン値とLHRHホルモンに対するLHおよびFSHの反応性について検討した。【対象と方法】29例の臨床的に触知可能な精索静脈瘤患者（clinical varicocele）及び、静脈瘤は触知しないがサーモグラフィーで温度の上昇が認められるいわゆるsubclinical varicoceleの患者27例に対し、術前および術後3ヶ月目にLHRHテストを行った。いずれの群においても、術前および術後のLH、FSHの基礎値は正常範囲内であった。LHRHテストは、LHRH0.1mgを静注し、30分、60分、90分、120分後にLH及びFSHを測定することにより行った。【結果】clinical varicocele群では9例が妊娠に成功した。これらの9例においては、LHRHテストに対するLHホルモンのピーク値は術後有意に減少した。しかし、術後も不妊が続く20例においてはその値は有意な減少を示さなかった。subclinical varicocele群では、術前のLHRHテストでピーク値が高値を示した症例はわずかに3例であり、このうち2例が術後ピーク値が正常化し妊娠に至った。術後のLHREテストに対するLHホルモンのピーク値の減少と妊娠との間には良い相関が認められた。FSHのピーク値に関しては、いずれの群においても術前術後で有意な差は認められなかった。【結論】LHRHテストは、軽度のLeydig細胞機能障害を評価し、更に術後の妊孕性を予測するうえで有用な検査法と思われる。subclinical varicoceleにおいては、Leydig細胞の機能障害はほとんど認められず、又術後の妊娠率も有意に低かった。

3. 精子機能 ①

千葉大学医学部泌尿器科 市川 智彦

精索静脈瘤は造精機能障害をきたし、男性不妊症の基礎疾患の一つとして重要である。また本症では、高位結紮術などの手術療法により造精機能の改善が見られ、高い妊娠率が報告されている。近年精子自動分析装置の使用により、精液検査において精子運動能の解析が可能となった。今回、精子自動分析装置を用い精索静脈瘤患者における精子運動能の術前術後の変化、および妊娠の有無との関係について検討した。

千葉大学泌尿器科において、1988年4月から1994年3月までに不妊を主訴として受診した精索静脈瘤患者（無精子症は除く）130例を対象とした。精子自動分析装置による検査は、Cell Soft Series 3000（CRYO Resources社）を用い、パラメーターとして濃度および運動率の他、精子速度、直進性、頭部振幅について解析した。対照として妊娠を確認された健康成人男性19例（正常群）を用いた。

精索静脈瘤群、正常群について各パラメーターを検討した。速度、直進性、頭部振幅については各群間において有意な差は認めなかったが、運動率は正常群において有意に高かった。精子濃度が $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上 $100 \times 10^6/\text{ml}$ 未満のものでは、正常群において精子速度が速い傾向が見られた。術後6ヶ月に精液検査を施行できた精索静脈瘤手術患者32例において、各パラメーターの術前術後の平均を比較した。濃度および運動率は有意に上昇したが、精子速度、直進性、頭部振幅には有意な変化がなかった。妊娠の有無を確認できた手術患者のうち、3年以内に妊娠を確認できた12例（妊娠群）と、3年以上経過を追えたが妊娠を確認できなかった12例（非妊娠群）を比較した。妊娠群は非妊娠群に比し、手術により濃度が有意に上昇し、術後6ヶ月における平均値の比較では妊娠群において運動率、速度が高い傾向にあった。

以上より精索静脈瘤患者では濃度や運動率が低いことが妊娠率の低下に関係していると思われ、手術による濃度、運動率、速度の改善が妊孕性の向上と関係していることが示唆された。

ワークショップ 「精索静脈瘤 —その妊孕性への影響—」

3. 精子機能 ②

富山医科薬科大学泌尿器科 布施 秀樹

我々は精索静脈瘤では特発性造精機能障害に比し、精液所見のうち精子運動率の低下が著しいことを報告した(Fuse H., et al: Arch Androl 27:149, 1991)。そこで当科で経験した精索静脈瘤において精子運動性の質的評価を行うとともに精子機能についても検討を加えたので報告する。前者については精子自動分析装置(セルソフトシリーズ3000)を用いてvelocity, linearity, beat-cross frequency および amplitude of lateral head displacementを算定した。精子機能検査は、精子尾部細胞膜の膨化をみるHypoosmotic swelling testを中心としてアクロビーズテストなども施行した。これら精子パラメーターを特発性造精機能障害のそれらと比較するとともに、精索静脈瘤のgrade等との関連についても検討した。高位結紮術後(3~9ヶ月)、精子膨化率は3ヶ月で治療前に比し、有意に上昇を認め($P<0.05$)、精子濃度や精子運動率に比較し、早期に回復する傾向を認めた。他の精子パラメーターについても同様に治療前後の変動について検討し、妊孕性との関係もあわせて発表する予定である。

4. 治療

東邦大学医学部泌尿器科 三浦 一陽

【目的】精索静脈瘤を治療する場合、手術前に手術後精液所見が改善するかどうか、また妊娠が可能かどうかをある程度予想できれば大変有難い。そこで我々は何か指標となるものはないか検討してみた。

【対象】1978年1月から1993年12月までの16年間に男性不妊症を主訴として東邦大学大森病院リプロダクションセンター泌尿器科部門を受診し、触診・超音波診断・陰囊皮膚温度測定を行い、精索静脈瘤の手術適応と判定された症例のうち手術療法後、妊娠症例では妊娠確定後まで経過観察ができた症例、非妊娠症例では術後6ヵ月以上経過観察ができた症例の合計378症例である。

【方法】手術法は観血の手術法であるBernardi techniqueによる精巣静脈高位結紮術(術中に精巣静脈造影を行って完全結紮を確認する)と、Kunnenが報告した局麻下で行う非観血的塞栓術(右大腿静脈より7.2Fの外カテーテルを挿入し、精巣静脈内に超選択的に3.3Fのポリエチレンの内カテーテルを留置し塞栓物質isobutyl 2-cyanoacrylate, IBC₂を注入し静脈の塞栓を行う)の2方法により行った。

【結果】観血の手術法329症例中妊娠は79症例、非観血的塞栓術49症例中妊娠は5症例で、全378症例中、妊娠は94症例で妊娠率は24.9%であった。術後の経過期間では妊娠症例群は11.2ヵ月、非妊娠症例群は21.8ヵ月であった。術前・術後の精液所見の変化を東邦大式精液総合判定法で比較してみると、手術全症例群、妊娠症例群、非妊娠症例群のいずれでも術後の精液所見は術前より改善しており、統計学的にも有意な差を認めた($p<0.001$)。一方、妊娠症例群と非妊娠症例群の術前の精液総合所見、精索静脈瘤の程度、精巣容積、FSH値について対比した結果、術前精液総合所見では妊娠症例群の方が非妊娠症例群に比し有意に良好であった($p<0.05$)。しかし精索静脈瘤の程度、精巣容積、FSH値には有意差はなかった。

公 開 シ ン ポ ジ ウ ム

『不妊の漢方療法』

公開シンポジウム「不妊の漢方療法」

1. 基礎的事項

1) 顆粒膜細胞のステロイド生合成, 特にアロマターゼ活性に及ぼす各種生薬の影響

秋田組合総合病院産婦人科 太田 博孝

不妊症の治療に漢方薬は幅広く使われ、大きな成果をあげている。しかし、複数の生薬から構成される漢方薬が全体としてどのように卵巣機能を改善しているのか、いまだ不明の点が多い。

我々は漢方薬の卵巣に対する直接作用を知るため、ラット卵巣培養系を用い、*in vitro* で検討した。当帰芍薬散、桂枝茯苓丸、温経湯(1~500 μ g)と、アロマターゼインヒビターである4-hydroxy-androstenedione(4-OHA)を用い、同剤添加、非添加の両群に分け、エストラジオール(E_2)産生量を検討した。4-OHA非添加群での E_2 産生量は対照群に比し、あまり変動はなかった。一方、4-OHAを添加しアロマターゼ活性を抑制すると、 E_2 産生は用量依存性に増加し、各漢方薬によるアロマターゼ活性刺激作用が認められた。次にこうした漢方薬によるアロマターゼ活性刺激作用が漢方薬を構成する生薬のうち、いずれによるものかを検討した。各漢方薬に単独、あるいは共通に含まれる生薬5種、すなわち芍薬、川芎、当帰、牡丹皮、桂皮各100 μ gを加え、 E_2 産生に及ぼす影響を検討した。それによると4-OHA添加の有無に関わらず芍薬のみがアロマターゼ活性を刺激し、 E_2 産生を促した。芍薬は上記4種の漢方薬に共通に含まれる唯一の生薬であり、極めて興味深い成績となった。

アロマターゼ活性に影響する因子は数多い。こうした因子にはゴナドトロピン、プロラクチン、サイクリックAMP、ステロイドホルモン、プロスタグランジン、成長因子などに加え、サイトカインがある。最近、いくつかのサイトカインは卵巣局所で産生され、アロマターゼ活性などの卵巣機能に深く関わっていることが知られつつある。

本研究では主にヒト黄体化顆粒膜細胞培養系を用い、アロマターゼ活性に及ぼす各種漢方薬、生薬、その構成成分の分析とともに、サイトカインとの関わりについても言及したい。

2) 精巣障害における漢方薬の作用

東京慈恵会医科大学泌尿器科 池本 庸

男子不妊症の臨床で、患者自身は何ら自らの健康に支障を自覚しない人が対象となるだけに、その治療は副作用がなく、かつその精巣機能を特異的に修復、賦活するものが望ましい。そうした意味で八味地黄丸をはじめとする漢方薬は今日広く用いられ、その有用性は数多く報告されている。しかし漢方薬に関する基礎的研究の中でも精巣機能に関するそれは研究対象としての特殊性からか、極少数例の報告しかみられない。そこで正常精巣及び障害精巣に対する漢方薬の作用機序とその効果を探る目的で以下の*in vivo*実験を行った。

(1)正常精巣のBALB/Cマウスにツムラ生薬製剤八味地黄丸、温経湯、牛車腎気丸を4-5 g/kg、6週間経口投与した後、雄性性腺機能を生化学的、形態学的に検討した。(2)同上マウスにサイクロフォスファミドで精巣障害を作成し、対照群と漢方薬投与群で精巣障害抑制効果を同様に比較検討した。(3)同上マウスに停留精巣を作成、実験的精巣障害を導入し、対照群と漢方薬投与群で障害抑制効果を同様に比較検討した。

1. 八味地黄丸はマウスの間質機能、男性化作用に対し促進的に働く。2. 温経湯はLH, FSHの分泌亢進を伴う事なく、精巣に働いてサイクロフォスファミドによるマウス精巣障害に対して防御的役割りを果たす。3. 牛車腎気丸はアルドースリダクターゼ阻害剤様の作用を精巣でも発揮するが、必ずしも停留精巣によるマウス精巣障害に防御的には働かない。

漢方薬の精巣あるいは精巣障害に対する作用機序は以上に述べた我々の研究結果でも、また数々の報告からもまだまだ解明されているとは言えない。しかし、精巣機能あるいは実験的精巣障害においてある種の漢方薬が特定の役割をはたしている事は事実と思われ、さらに詳細な検討が期待される。

公開シンポジウム「不妊の漢方療法」

1. 基礎的事項

3) ヒト精子に対する漢方薬の作用

昭和薬科大学 田代 眞一

男性不妊症は、幾つもの原因が重なりあって起こる疾患群である。それだけに、幾つもの有効成分を含んだ多成分系の薬物である漢方薬の活躍すべき領域であると考えられる。漢方薬の精子運動に及ぼす作用について、血清薬理学の立場から報告する。

双子管を用いて幾つかの漢方薬の精子運動に及ぼす影響を検討した結果、補中益気湯が精子運動を長引かせた。構成生薬が共通している人参湯にも弱いながら同様な作用を認めたが、全く異なる生薬より成る八味地黄丸にはそうした作用は認められなかった。葡萄糖を添加しても精子運動時間に影響しなかったことから、漢方薬間の作用の違いがそのエネルギー源たる糖の含有量の差だとは考えがたかった。

これらの漢方薬は経口投与されるが、消化管内で化学変化を受けたり、吸収しえない成分も存在したりして、結果的に多くの成分は形を変えて作用点に到達している。従って、元の漢方薬に精子運動延長作用があったとしても、現実には体内で発揮しうる作用であるという保証はない。そこで、経口投与前後の精子と精漿を分別採取し、組み合わせを変えて精漿中での精子運動を検討した。その結果、精子の側の状況の如何に係わらず、服用3時間後の精漿中で精子は長時間運動することが判明し、有効成分の血中や精漿中での濃度がこの時間帯に高まっているものと推察された。

精子が長時間泳ぐべき場所はどこかと考えた際に、補中益気湯が働くべき場所は女性の体内であり、投与すべきはパートナーたる女性の側ではないかと考えられた。そこで、分娩時の息みによる脱肛の治療を目的として、補中益気湯を投与されている褥婦と、無投与対照褥婦より頸管粘液を採取し、その中での精子運動を比較した。その結果、明らかに補中益気湯投与群の頸管粘液中で精子はよく泳ぎ、補中益気湯を男性不妊症患者とそのパートナーに与えるという治療が可能だと思われた。

2. 臨床的事項

1) 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

徳島大学医学部産婦人科 安井 敏之

排卵障害に対して用いられる漢方薬のうち、温経湯および当帰芍薬散について臨床の有用性ととも作用機序についても検討を加えた。

1. クロミフェン無効の排卵障害に対するクロミフェン・温経湯併用療法

クロミフェン1日100mgを5日間2周期以上投与しても排卵の認められない無排卵周期症および第一度無月経患者を対象とし、クロミフェンと温経湯の併用療法を施行した。その結果、症例別では55.2%(16/29)、周期別では44.3%(39/88)に排卵が認められ、20.7%(6/29)の症例に妊娠が成立した。また、各周期において月経周期12日目にLHの律動性分泌について検討したところ、温経湯を併用することによりLHの律動性分泌の回復が認められ、温経湯はクロミフェンと協調しあって、ゴナドトロピン分泌を促進し、排卵を誘発する可能性が示唆された。

2. 排卵障害患者に対するクロミフェン・当帰芍薬散併用療法

稀発月経、無排卵周期症および第一度無月経患者を対象とし、クロミフェン・当帰芍薬散併用療法(併用群)を施行し、クロミフェン単独療法(単独群)と比較した。その結果、単独群では症例別では86.5%(45/52)、周期別では72.6%(138/190)に排卵が認められ、21.2%(11/52)に妊娠が成立した。一方併用群では症例別では87.8%(36/41)、周期別では70.0%(98/140)に排卵が認められ、34.1%(14/41)に妊娠が成立し、妊娠率において併用群で高い傾向が認められた。特に妊娠した周期をみると単独群では平均3.82周期目であったが、併用群では1.86周期目と有意に($p < 0.05$)妊娠した周期が早かった。内分泌学的検討では、排卵前期のプロゲステロン値が単独群では0.72ng/ml、併用群では0.34ng/mlと、また同時期のプロゲステロン/エストラジオール比は単独群で3.38、併用群で0.92といずれも併用群が有意に($p < 0.05$)低値であった。当帰芍薬散は卵巣においてステロイドホルモン環境を是正することにより妊娠率を向上させる可能性が示唆された。

以上のことにより、クロミフェンを用いて排卵が認められない症例には温経湯を、クロミフェンを用いて排卵は認められるが妊娠に至らない症例には当帰芍薬散を併用すると有効であると思われる。

公開シンポジウム「不妊の漢方療法」

2. 臨床的事項

2) 自己抗体陽性不育症患者に対する柴苓湯の効果

新潟大学医学部産婦人科 高桑 好一

近年習慣流産をはじめとした不育症の原因として自己抗体特に抗リン脂質抗体の関与が注目されている。抗リン脂質抗体による不育症発症の機序として、絨毛間腔における血栓形成の亢進が推察され、従来よりその治療法として免疫抑制作用を有する副腎皮質ステロイドホルモン（以下ステロイド）、抗凝固作用を目的とした低用量アスピリン療法の有効性が報告されている。しかしながらステロイドには肥満、耐糖能異常、骨粗鬆症など多くの副作用があることは周知の事実である。一方小柴胡湯と五苓散の合剤である柴苓湯は実験的に抗アレルギー作用を有することが証明され、内科領域においてはネフローゼ症候群をはじめステロイド依存性の疾患に関し投与ステロイド量の軽減のため使用されている。われわれは柴苓湯のこのようなステロイド類似作用に注目し、自己抗体特に抗リン脂質抗体陽性不育症患者に対し柴苓湯を投与し、その有効性を検討した。

対象は当科不育外来で管理している2回以上の反復流産歴を有する不育症患者であり、不育症に対するルーチン検査により抗リン脂質抗体の陽性が確認された症例である。抗リン脂質抗体の測定は陰性荷電のリン脂質であるカルジオリビン、フォスファチジルセリンなどを固相化したELISA法によった。対象症例に対し、柴苓湯一日量9.0gを妊娠前より経口投与し、抗リン脂質抗体価を経時的に測定した。これにより抗リン脂質抗体価の有意の低下を確認し、またその後に成立した妊娠予後について有意の改善を認めた。以上より、従来ステロイド療法を行っていた抗リン脂質抗体陽性不育症患者に対する柴苓湯療法の有効性を指摘した。

3) 男性不妊症における漢方療法の現状と将来

富山医科薬科大学泌尿器科 風間 泰蔵

男性不妊症の大部分は精巣の造精機能障害であり、その原因としていくつかのものが考えられているが、今なお原因不明とせざるを得ないものが過半数を占めている現状である。そのような症例に行なわれる治療はやはり薬物療法が主である。男性不妊症に使用される薬物は、ホルモン系、非ホルモン系薬剤を併せるとかなり多くなるが、これは裏を返すと特効薬といえる薬剤がないことによる。そこに最近漢方薬による治療が注目され出した理由のひとつがある。現在一般的に使用されている漢方薬は、八味地黄丸や補中益気湯などをはじめとして数種類あるが、われわれは主として補中益気湯を外来において使用しその効果に関する検討を行ってきた。特に昭和62年からは非ホルモン系薬剤の代表的なものであるカリクレイン製剤との比較を行ない、精子数、精子運動率、総運動精子数および総正常精子数などをパラメーターとして補中益気湯がやや勝っているという結果を得た。今回は、精子の尾部細胞膜機能をあらわすとされているhypoosmotic swelling test (HOST) の結果、および精子の直進運動性を評価できるとされている牛頸管粘液を用いた精子貫通能テスト (Penetrak) の結果に関しても補中益気湯投与前後での比較を行なうとともに、併せてコンピューターを用いた10個の設問よりなる簡便な実証虚証の判定法を利用し、補中益気湯による治療効果と証との関連についての検討も行ったので報告する。

また、最近、古来より強壯補精薬として成書に記載のある蛇床子という漢方薬を使用する機会を得たので、内分泌学的作用の検討を中心とした動物実験の結果および男子不妊症患者に対する投与を行なった結果から、新しい漢方治療薬としての可能性に関して触れる。

一般演題

(口頭発表)

1

体外受精・胚移植における卵輸送に関する基礎的検討

東邦大学医学部 第一産婦人科学教室

○中野 英之、安部 裕司、片桐 山起子、池永 秀幸、久保 春海、平川 舜

【目的】1978年に世界初の体外受精による産児が得られて以来、体外受精の技術の向上はめざましく、現在では不妊治療として一般的に行われるようになってきた。しかし、顕微授精や凍結受精卵のように、多額の設備投資が必要で技術的にも困難なものは、出来得る施設が限定される。そこで我々は、その様な施設のセンター化を目的に、より簡便な受精卵の輸送法の基礎的検討を行った。

【方法】過排卵刺激をして得られたマウス後期2細胞期胚を、21.0mM HEPES溶液を加えたHTF液(modified HTF液)に大気中で1時間、3時間、5時間暴露した後、HTF液に移し5% CO₂ in air下にて継続培養した群と、初めからHTF液(5% CO₂ in air)で培養した群(control群)に分け、以後の発生を比較した。

【結果】control群の4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率は、98.8%、96.5%、89.5%であった。1時間群では97.1%、92.6%、79.4%、3時間群では100%、96.7%、91.7%と、control群と有意差はなかったが、5時間群は100%、91.2%、52.9%と、有意に胞胚形成率が低かった。

【考察】modified HTF液は3時間以内の暴露であれば、マウス初期胚のその後の発生に影響を与えず、このことは3時間以内の受精卵輸送の可能性を示唆している。現在、上記の卵の胚移植を施行しており、今後体外受精卵において同様の検討をする予定である。

2

ヒト体外受精・胚移植法における胚移植日と妊娠率との関係

京都大学医学部婦人科学産科学教室

後藤康夫、神崎秀陽、中山貴弘、高畠桂子、姫野隆雄、高倉賢二、森 崇英

【目的】ヒト体外受精・胚移植法(IVF-ET)における胚移植日に関しては、現在のところ多くの施設で媒精2日後(Day 2)に行われている。しかしながら、胚移植日はいつがよいかということに関しての群細な報告はない。そこで今回我々は、胚移植日と妊娠率との関係をretrospectiveに検討した。

【対象と方法】1990年1月より1994年3月までの間に当科で施行したIVF-ETのうち、形態良好胚(Veeck分類Grade 1および2)を2個あるいは3個移植できた207周期を、移植日によってDay 2移植群54周期、Day 3移植群79周期、Day 4移植群46周期およびDay 5移植群28周期の4群に分類し、その妊娠率、生産(+on-going pregnancy)率を比較検討した。移植胚の発生段階は、Day 2移植では2-cell, 4-cell, 6-cell, Day 3移植では8-cell, 16-cell, morula, Day 4移植では16-cell, morula, Day 5移植ではmorula, blastocystであった。なお、4群の患者平均年齢はそれぞれ34.6歳、33.7歳、33.9歳および33.3歳であり、有意差(t-test)はみとめなかった。また、その治療適応にも4群間に差はみとめなかった。

【結果】妊娠率は、Day 2移植群29.6%、Day 3移植群32.9%、Day 4移植群30.4%、Day 5移植群10.7%で、Day 5移植群で有意($P<0.05$, chi-square test)に低いものの、他の3群間では有意な差はなかった(chi-square test)。生産(+on-going pregnancy)率は、Day 2移植群20.3%、Day 3移植群18.9%、Day 4移植群17.3%、Day 5移植群7.1%であり、Day 2-4移植群の3群間では有意な差はなかった(chi-square test)。

【結論】以上の結果より、ヒトIVF-ETにおいてはDay 2-4の間であれば、胚移植日は妊娠率に影響しないものと考えられた。

3

IVF-ETにおける至適移植胚数の検討

済生会下関総合病院産婦人科

○高崎彰久、野口博史、蔵本武志、森岡 均

【目的】IVF-ETにおける技術の向上に伴い、妊娠率および着床率は著しく上昇してきたが、それに伴う多胎の発生が大きな問題となっている。今回、我々は至適移植胚数を決定する目的で、移植胚数および年齢別の妊娠率、多胎率および着床率を検討した。

【方法】平成4年3月から平成6年4月までに胚移植を施行した189周期を対象とした。移植胚数1個から6個、年齢は29才以下、30から34才、35から39才、40才以上に分類した。着床率は胎囊数/移植周期数で示し、多胎数は妊娠初期の胎囊数とした。

【成績】189周期中93例(49.2%)に臨床的妊娠を認め、多胎数は32例(妊娠当たり34.4%、移植周期あたり16.9%)でそのうち品胎が8例であった。移植胚数別の検討では臨床的妊娠率は移植胚数1個(23.5%)から4個(65.2%)までは移植胚数に比例して増加し、4個以上では一定であった。多胎妊娠率(多胎数/移植周期数)は移植胚数に比例して増加する傾向を認めた(2個:5.3%、3個:22.2%、4個:27.3%、5個:25.0%、6個:33.3%)。着床率は移植胚数1個から4個までは25%前後で一定であり、5個および6個では減少した。年齢別の検討では臨床的妊娠率は35才未満では約55%前後で一定しており、それ以上では年齢とともに減少した(35~39才:41.7%、40才以上:23.5%)。着床率も妊娠率と同様の变化を認めた(29才以下:24.2%、30~34才:27.3%、35~39才:19.3%、40才以上:12.5%)。多胎妊娠率は30~34才でもっとも高く(24.7%)、35~39才では12.5%と減少し、40才以上では1例も認められなかった。

【結論】35才未満では移植胚数は3個以下、35才以上では4個以下が望ましいと考えられた。

4

受精卵の形態と卵巣刺激周期における凍結胚移植成績の検討

聖隷浜松病院産婦人科、同臨床検査科*

○西村 満、佐藤和文*、西垣 新、岡田 久、鳥居裕一

【目的】形態学的に分類した受精卵の融解後の生存率と、卵巣刺激周期での凍結胚移植の成績について検討した。

【方法】対象は、平成2年12月から平成6年5月までに受精卵の凍結保存を施行した109例、137周期。凍結前の胚に対しVeeckの基準に従い5段階にGrading(G1~G5)を行い、Grade別に融解胚の生存率(正常割球の比率が50%以上を生存胚とした)を求めた。凍結保護剤としてPropanediolおよびSucroseを使用し、プログラムフリーザー(KRYO-10)による急速凍結、微温湯内へ投入する急速融解法により行った。融解移植周期はclomipheneまたはhMGによる刺激周期とし、卵胞計測により同期化を行った。【結果】Ⅰ. 67例(76周期)345個の受精卵を融解。①前核期卵19個中14個(73.7%)が生存。②2~4細胞期胚237個。凍結前Gradeおよび融解後の生存率はそれぞれG1:81.7%(49/60)、G2:98.0%(48/49)、G3:65.8%(25/38)、G4:43.3%(39/90)。③5~8細胞期胚49個。同様にG1:80.0%(8/10)、G2:100%(3/3)、G3:41.2%(7/17)、G4:36.8%(7/19)。④割球数不明胚40個。G5:17.5%(7/40)。合計の生存率は60.0%(207/345)であった。Ⅱ. 生存胚207個を60例(69周期)に移植し7例(11.7%)に妊娠が成立した。7例中6例にG1またはG2の胚が移植されていたが、1例はG4の胚であった。【考察および結論】凍結前の胚のGradeは、凍結・融解による胚の生存率を推測するための重要な指標となり、Gradeが高い胚で妊娠期待率も高くなる。G5にランクされる胚の融解後の生存率は低く、妊娠例も得られないことより凍結保存する意義は薄く、凍結に供される胚はG1~G4に限って良いと考えられた。また、妊娠率が今ひとつ満足できるものではなく、自然周期での融解移植も考慮すべきと思われた。

5

液状保存精子を用いたIVF-ETにおける妊娠例予後の検討

群馬大学周産母子センター

○関 守利, 竹内 巧, 土屋清志, 中村秀夫, 伊藤理廣, 時沢俊也,
伊藤郁朗, 篠崎 博光, 栗原 努, 山田清彦, 宇津木利雄, 伊吹令人

〔目的〕我々はすでに液状保存精子の安全性について, 1. 卵黄を使用した液状保存精子用培養液の6週間後までの細菌培養が陰性であること, 2. 凍結解凍精子に比較して液状保存精子では電顕学的検討で形態異常精子の少ないこと, および 3. 受精率も当日採取精子を使用した場合と比較して, 有意の差がないことを証明してきた。今回は液状保存精子使用の妊娠成立後の予後について検討した。

〔方法〕当院で作成した精子保存液中に4℃で1~7日間保存した精子をIVF-ETの媒精に用い妊娠した症例の予後を追跡調査し, 採卵当日採取した精子を用いた従来の媒精による症例との比較検討もおこなった。

〔結果〕液状精子のみを使用して, 妊娠が成立した17例の予後は単胎妊娠9例, 双胎妊娠2例, 子宮外妊娠3例, 流産2例, 内外同時妊娠1例であった。分娩例は6例で単胎は4例, 38~40週, 2688~4010g, 双胎は2例で, 36~38週, 2375~2795g。異常児は認められなかった。1例目の児はすでに1年9ヶ月経過しており, その精神, 身体発育は現在まで順調である。

液状精子および当日採取精子を使用して, 妊娠が成立した14例の予後は単胎妊娠10例, 双胎妊娠3例, 流産1例で, 分娩例は4例, うち単胎は2例で39~40週, 3550, 3945g, 双胎は2例で35週, 1830~2544g。異常児は認められなかった。

〔結論〕妊娠成立後の予後, 流産率や生産した児の体重, 生下時の状態, 奇形, 男女比について検討し当日採取精子を使用した場合と, なんと差がないことを明らかにした。流産率に関しても液状保存精子導入前のIVF-ETと統計的に有意差をみとめなかった。これにより液状保存精子をIVF-ETに使用することの安全性が証明された。

6

血中hCG免疫蛍光測定法を用いた体外受精後の初期妊娠診断

愛媛大学医学部産科婦人科学教室

谷口文章 福井敬介 山中研二 北川博之 矢野樹理 松浦俊平

〔緒言〕体外受精の妊娠判定には尿中HCG定性試験(50単位)が広く用いられているが, 尿濃縮や黄体管理のためのHCG投与の影響を受け初期妊娠の判定が困難な場合が少なくない。今回我々は血中HCGを迅速かつ簡便に測定できる全自動免疫蛍光測定システム(ミニバイダス)の体外受精後の初期妊娠判定における有用性を検討したので報告する。〔対象と方法〕体外受精を施行し, 黄体管理のため採卵後3日および7日にHCG5000単位を筋注した34周期より採卵後11日から19日の間に得られた血清を対象(n=44)とした。これらの血清を-20℃にて凍結保存し, retrospectiveに妊娠群(P群)および非妊娠群(N群)に分け, それぞれの血清中のHCGを全自動免疫蛍光測定システム(ミニバイダス; ピオメリューバイテック社)を用いて定量した。〔結果〕胚移植後9~11日の血清HCG値はP群: 35.0 ± 25.4 mIU/ml (n=5) およびN群: 9.3 ± 7.2 mIU/ml (n=8), 12~14日ではP群: 78.9 ± 64.2 mIU/ml (n=7) およびN群: 6.4 ± 5.6 mIU/ml (n=8), 15~17日ではP群: 298.3 ± 117.5 mIU/ml (n=6) およびN群: 2.3 ± 0.8 mIU/ml (n=5) とN群における血清HCG値は投与したHCGのwash outに伴って徐々に減少したのに対し, P群は経日的に急速に上昇し, いずれの時期においても有意な高値を示した。〔結語〕全自動免疫蛍光測定システムの使用により体外受精後の初期妊娠の診断を定量的かつ迅速に行えた。尿中HCG定性試験(50IU)による妊娠判定の困難な胚移植後9~11日にP群はN群に比して有意に高値を示したことより本システムはHCG投与の影響除外およびより初期妊娠診断を可能とすると考えられた。

7

体外受精・胚移植におけるhCG切り替え時の卵胞発育と成績に関する検討

山梨医科大学産婦人科学教室

○笠井 剛、内田雄三、広井 威、黄 朋子、川島茂樹、奥野 隆
水野薫子、端 晶彦、木下俊彦、加藤順三

【目的】体外受精・胚移植において予め排卵誘発法と採卵日を固定した方法（固定採卵法）を用いた場合、hCG切り替え時の卵胞径によって成績が左右されるか否かを検討した。

【方法】1993年の1年間に当科で体外受精・胚移植を施行した92周期57例を対象とした。排卵誘発はGnRH α 900 μ g/dayの併用下にhMGを225～300単位/dayを原則として7日間投与し、卵胞発育確認後にhCG10000単位を投与した。採卵は36時間後に実施したが、最大卵胞径が10mm未満の場合には採卵は実施しなかった。

【成績】(1) hCG切り替え時の最大卵胞径は10～29mmであった。(2) 採卵未実施率は6.5% (6周期)であった。(3) 卵胞径が2つ以上15mmに満たない群 (17周期) では、平均4.5 $\pm$ 4.7個の卵が採取され、妊娠率は対移植周期で20.0% (2/10) であった。(4) 卵胞径が15mm以上であった群 (69周期) では平均7.3 $\pm$ 5.6個の卵が採取され、妊娠率は31.0% (18/58) であった。両群間での採卵数、妊娠率には有意差は認められなかった。(5) 卵胞径が15mm未満の群では4例は採卵できなかったが、15mm以上では1例のみ採卵ができなかった。

【結論】(1) 固定採卵法を用いた場合には、卵胞径が15mm未満では、採卵数、妊娠率は低くなる傾向はあったが、有意な低下を認めなかった。(2) hCG切り替え時に10mm以上の卵胞が認められれば採卵を実施してもよいことが示唆された。

8

体外受精のための新しい卵巣刺激法 (bromocriptine-rebound method) : 卵成熟の改善と妊娠率の上昇。

杏林大学医学部産婦人科学教室

○神野正雄、生方良延、羽生一朗、佐藤 学、勝又木綿子、吉村泰典、
中村幸雄

【目的】体外受精において、卵成熟の改善と妊娠率の上昇をもたらす、新しい卵巣刺激法を見いだしたので報告する。【方法】対象は、GnRH agonist + hMG 法 (long protocol) にて体外受精不成功の既往を持つ、40才未満の症例とした。重症男性不妊 (精子濃度<1000万/ml) と子宮性不妊は除外した。卵巣刺激を、新法 (bromocriptine-rebound method: BR法) または従来法 (GnRH agonist+ hMG の long protocol) とし、prospectiveに体外受精成績を比較した。BR法は、前周期第4日より連日bromocriptine 2.5 mgを就寝前に内服し、高温4日目よりbuserelin 900 μ g/日を経鼻投与した。月経開始後3～14日にbromocriptine内服を中止し、その7日後よりhMG 225単位を連日投与した。主席卵胞径が16～18mmに達した日にhCGを投与し、hCG投与後buserelinを中止した。従来法は、bromocriptineを投与しない点以外は、全く同様とした。hCG後36時間に採卵し、媒精36～48時間後に胚移植した。【結果】採卵あたりの移植率・全妊娠率・ongoing妊娠率は、BR法 (採卵59周期) で、90%・53%・34%、従来法 (採卵36周期) で、83%・36%・25%と、すべてBR法で高い傾向を認めた。卵あたりの受精率・胚発育率は、BR法 (卵数469) で、59.7%・40.1% (受精卵あたり67.1%)、従来法 (卵数303) で、48.5%・28.1% (受精卵あたり57.8%) であった。卵あたりの受精率・胚発育率は、ともにBR法で有意に高かった ($p<0.01$, χ^2 検定)。【考察】本研究の予備検討において、bromocriptineを中断することなくhCG投与まで併用投与することも検討したが、卵胞発育が減少し、9周期で1例の妊娠を得たのみで、悪影響を認めた。BR法の卵成熟改善と妊娠率向上のメカニズムは、hMG-hCG投与中におけるprolactinの正常範囲内での上昇が関与すると思われる。【結論】新しい卵巣刺激法 (BR法) は、従来のlong protocolで不成功な症例で、受精率・胚発育率・妊娠率を増加し、卵成熟にprolactinが必要と示唆された。

9

体外受精における血清LH値に基づくhCG投与法の検討：
LHパルス状分泌に及ぼすhMG投与の影響

杏林大学医学部産婦人科学教室

○勝又木綿子、神野正雄、生方良延、羽生一朗、佐藤 学、吉村泰典、
中村幸雄

〔目的〕体外受精において卵巣刺激をhMG単独投与で行うとき、内因性LHサーージに同期してhCG投与すると、良好な成績が得られる。我々は、血清LHを毎朝1回測定し、これが、J値=最低値+(第3日値-最低値)×1/3を初めて越えた日にhCGを投与すると妊娠率が高いことを示してきた。今回我々は、J値の有効性をprospectiveに検討するとともに、LHのパルス状分泌に及ぼすhMG投与の影響を調べ、1日1回のLH測定の意義についても検討した。〔方法〕体外受精208周期において、周期第3日より連日hMG投与と血清LH値測定を行った。hCG投与は、血清estradiol値、超音波卵巣計測値にかかわらず、血清LH値が初めてJ値を越えた日(J値群)、またはJ値の前日かJ値を越えた翌日(非J値群)に行った。また、一部の症例では、hCG投与日において血清LHを15~20分間隔で経時測定した。2例は、LHがJ値を初めて越えた日に経時測定し、1例は、J値前日に行った。対照としては、正常排卵周期を持つ正常婦人において、月経周期5日目に経時測定を行った。〔結果〕周期当りの妊娠率はJ値群では35.6%(on going26.0%)、非J値群では21.1%(on going12.5%)とJ値群では有意に高値であった($P<0.05$, t-test)。血中LHの経時測定では、2例において生理的パルス状分泌の消失を認め、1例においては変動はあるもその振幅低下と周期延長を認めた。〔結論〕血清LHの域値J値に従い、内因性LHの上昇に同期してhCGを投与するとき、高い妊娠率が得られた。また、hMGを投与することにより、血清LHの生理的パルス状分泌は抑制され、hCG投与日の決定に関して1日1回のLH測定で可能と示唆された。

10

バーゴグリーン(FSH:LH=2:1)の体外受精胚移植における至適卵胞発育モニタリングの検討

群馬大学産科婦人科学教室

○竹内巧、関守利、中村秀夫、栗原努、道下正彦、山田清彦、伊吹令人

〔目的〕hMG製剤、pure FSH製剤は現在体外受精胚移植の排卵誘発に広く用いられているが、recombinant FSHの臨床応用も、近く可能となるものと思われる。卵成熟の観点から、より良好な卵子を得るためにhMG製剤に含まれるFSH、LHの生物学的活性比は多く議論されてきたところである。今回はセローノ社のFSH:LH比2:1のバーゴグリーンを使用してhCGへの切り替えを決定する至適卵胞径について検討した。

〔方法〕対象はGnRHa+バーゴグリーン投与群85周期で、GnRHaの使用はshort protocolに従い、月経周期1日目より300 μ gずつ1日2回、経鼻噴霧で投与を行った。hMG製剤は月経周期3日目、4日目には300IU使用した。月経周期5日目からは、hMG製剤の投与量は、超音波で計測した卵胞発育で調節し、1日75から450IUを使用した。hCG1000IUは最終hMG投与後38-44時間後に投与した。第1群55周期では超音波での測定で直径が16mm以上に2個の卵胞が発育した時点でバーゴグリーン投与は中止した。第2群30周期では第1群の基準よりバーゴグリーンの投与を1日延長して中止した。バーゴグリーン投与の中止時期の違いによる2群間の体外受精胚移植の成績を比較した。

〔成績〕第1群のバーゴグリーン投与中止時の首席卵胞径は 18.6 ± 1.9 mm、第2群は 19.8 ± 2.2 mmで2群間には有意差を認めた($P<0.05$)。第1群は9例16.4%が臨床的妊娠にいたり、第2群は13例43.3%を示し、第2群は第1群より有意に高率であった($P<0.01$)。

〔結論〕GnRHaを使用した場合、hCGへの切り替えの至適タイミングには幅があるとされているが、FSH:LH比が2:1のhMG製剤(バーゴグリーン)を用いた際の卵胞径による至適切り替え時期を明らかにした。

11

hMG製剤の相違による体外受精・胚移植法の成績の検討

岡山大学産科婦人科

○長谷川淳、新谷恵司、青江尚志、木村吉宏、工藤尚文

【目的】体外受精・胚移植で過排卵刺激のために各種のhMG製剤が用いられているが、LHの含有量によりその効果や副作用に違いがあると考えられている。そこで各種のhMG製剤を、同一の排卵刺激方法を用いて、その体外受精・胚移植法の成績を比較検討した。

【対象と方法】当科における卵管性不妊の適応で体外受精・胚移植を施行した患者を対象とした。排卵刺激方法は前周期黄体期中期より採卵までGn-RHaを使用するlong protocol法を用いた。各種hMG製剤はそれぞれ300単位2日間と150単位6日間を連日投与した。その後、hCG1万単位を投与し、その35時間後に採卵を行なった。そして各群において発育卵胞数、採卵数、受精率、妊娠について検討した。

【結果】LHをほとんど含まないhMGを使用した群では、平均発育卵胞数は 11.0 ± 8.0 、平均回収卵数は 6.1 ± 4.0 、受精率は51%と他のhMG製剤に比較して少ない傾向がみられた。しかし、この群では7例中3例に妊娠を認め、またOHSの発生頻度は低かった。

【考察】LHをほとんど含まないhMG製剤を用いると発育卵胞数、回収卵数が少ない傾向が認められたが、妊娠率の低下は認められなかった。また、OHS等の副作用は少なく、有用な方法であると思われた。

12

体外受精におけるlow responderに対する成長ホルモン併用療法の効果

徳島大学産科婦人科

○山崎 淳、名護可容、國方建児、石川ひろ美、山野修司、青野敏博

【目的】当科では、GnRH agonist long protocol法《前周期の高温相7日目からGnRH agonist(ブセレリン)600 μ g/日を連日投与し、月経周期3日目よりFSH225IU/日、続いてhMG150IU/日を投与》によっても三方向平均径が14mm以上の卵胞が3個以下しか発育しない症例をlow responderと定義している。今回、low responderの成長ホルモン(GH)分泌能および、GHの投与がlow responderの卵胞発育に有効か否かを検討した。【方法】対象は平成3年および4年に当科にてIVF-ETを施行した症例のうちのlow responderである。Low responderに対し、3日目からのFSH(フェルチノームP)を450IU/日、7日目からのhMG(ヒュメゴン)を300IU/日と倍量投与した。倍量投与にても三方向平均径が14mm以上の卵胞が3個以下しか発育しない症例に対して、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分毎に2時間採血し、成長ホルモン(GH)をRIAにて測定した。2)上記症例に対し、FSHおよびhMGの倍量投与に加えGH(ジェノトロピン)4IU/日を連日投与し、その臨床効果を検討した。【結果】1)Low responderは128症例中20症例(15.6%)を占めたが、そのうち増量法によっても発育卵胞数の増加が見られなかった症例のうち11症例で血清FSH、LHを測定し、クロニジンテストを施行した。FHSが15mIU/mlの高値を示す症例は4例あった。またGHのピーク値7ng/ml以上をクロニジンテスト陽性とする4例が陽性であったが、他の7例は陰性であった。2)クロニジンテストを施行した11症例を含む全12症例に対し、FSHおよびhMGの倍量投与にGHを併用することにより、通常量投与および倍量投与のみに比べ、18mm以上の卵胞数、回収卵数、移植胚数が有意に増加した。またGH併用により1例の妊娠例を得た。【考察】Low responder症例のうちhMG増量法にても発育卵胞数の増加が認められないものでは、GHの分泌不良例が高頻度に認められ、GHの併用療法の有用性が示唆された。

13

体外受精胚移植 (IVF-ET) における排卵誘発法に関する検討
GnRH agonist long protocol法とshort protocol法の比較

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室

○中村佐知子、福元清吾、伊集院博文、大西英資、沖利通、山元慎一、
堂地勉、永田行博

〔目的〕 IVF-ETの排卵誘発法にGnRH agonist long protocol(long)法とshort protocol(short)法のいずれかが有効かを検討した。

〔方法〕 1992年1月1993年12月までの2年間に施行したIVF-ET患者93例 144周期を対象とし、long法群58例(99周期)とshort法群35例(45周期)でhMG投与日数、hMG総投与量、採卵成績、受精率、卵割率、着床率、妊娠率、流産率、子宮内膜厚および内分泌動態を比較し、次の結果が得られた。

〔結果〕 1. hMG投与日数およびhMG総投与量は両法間に差はなかった。2. 排卵キャンセル率、穿刺卵胞数、排卵数および採卵率に両法間で差はなかった。3. GradeⅢの卵子はlong法で71.6%、short法で57.6%であり、long法で質の高い卵子が有意に多く得られた($P<0.05$)。4. hCG投与日の子宮内膜の厚さはlong法で 11.7 ± 2.8 (平均 $\pm$ SD)mm、short法で 10.1 ± 2.6 mmであり、long法で有意に厚かった($P<0.05$)。5. hCG投与日のLH、FSH、 E_2 およびP値に差はなかった。6. 受精率はlong法で有意に高かったが、卵割率および胚移植数に差はなかった。7. 着床率はlong法で5.9%、short法で2.5%、妊娠率はlong法で14.1%、short法で5.4%であり、いずれもlong法で有意に高かった($P<0.05$)。

〔結論〕 long protocol法では質の高い卵子が得られ、その結果short法よりも高い受精率、妊娠率が得られた。

14

多嚢胞性卵巣症候群を合併した症例に対する体外受精・胚移植の成績

新潟大学医学部産婦人科学教室

○長谷川 功、山本 泰明、加藤 龍太、織田 和哉、田村 正毅、
東条 義弥、八幡 哲郎、本多 晃、倉林 工、田中 憲一

〔目的〕 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)においては、卵胞期の高LH状態が卵胞発育に悪影響を与え、卵のqualityを低下させるとされている。今回当科で行なわれた体外受精・胚移植(IVF-ET)におけるPCOS合併例の成績を分析、PCOS非合併例と比較することにより、こうした影響の有無について検討した。

〔方法〕 平成5年4月から平成6年4月の期間に当科において施行されたIVF-ETのうち、PCOSを合併する11例17周期を対象とし、PCOSを有しない80例117周期を対照群とした。なお、明らかに受精率が不良と思われる男性因子、40才以上の症例は除外した。PCOSの基準は月経周期異常があり、 $LH>FSH$ 、 $LH>7mIU/ml$ 、かつ超音波上polycystic ovaryを呈するものとした。IVF-ETは、前周期黄体期中期よりGnRH agonistを併用するlong protocolで、月経周期3日目よりFSH(フェルチノームP)を300, 300, 150, 150単位……またはその倍量投与した。排卵誘発開始日およびHCG投与日のLH、FSH、 E_2 、 P_4 をRIAで測定するとともに、両群間の採卵数・受精数(率)・卵割数(率)・妊娠率などを比較した。

〔成績〕 PCOS群と対照群とにおいて年齢・不妊期間に有意差なく、また採精された精液の精子数、運動率にも有意差は認めなかった。ホルモン測定値では、HCG投与日の E_2 がPCOS群・対照群でそれぞれ 2679 ± 531 、 1677 ± 911 pg/ml、 P_4 が 1.22 ± 1.53 、 0.67 ± 0.69 ng/mlと有意差を認めた。周期あたりの採卵数の平均はそれぞれ 20.6 ± 3.9 、 10.2 ± 5.0 であったが、受精数は 4.8 ± 3.9 、 4.2 ± 3.3 、卵割数は 3.8 ± 3.7 、 3.7 ± 3.2 となり、受精率は32.5%、64.7%とPCOS群で有意に低値であった。臨床的妊娠率はそれぞれ17.6%、24.8%であった。〔結論〕 PCOSに対するIVF-ETにおいて、採取された卵は受精・卵割率が低くqualityが不良であり、至適な卵胞数、 E_2 、 P_4 値が得られるような排卵誘発法(low dose FSH投与、GnRH agonist投与方法の変更など)の工夫が必要と考えられた。

15

ブレドニゾン投与による体外受精胚移植法の着床率
改善効果

愛媛大学産婦人科、町立野村病院*

矢野樹理、福井敬介、谷口文章、北川博之、山中研二、
武田康成*、松浦峻平

〔緒言〕体外受精胚移植法(IVF-ET)施行時の着床率改善を目的として、ブレドニゾンによる短期免疫抑制療法を施行し、その成績について検討した。(対象および方法)平成5年1月より平成6年5月までの間に、当科にてIVF-ETを施行した75症例(91周期)を対象とした。その平均年齢は 32.4 ± 0.4 才(mean $\pm$ S.E)、平均不妊期間は 5.4 ± 0.4 年、平均A I H施行回数は 7.4 ± 0.4 回であった。これをブレドニゾン非投与群(A群)と投与群(B群)にわけ、B群には採卵翌日より5日間ブレドニゾン $15 \sim 60$ mg/日を経口投与した。GnRHa投与方法はshort法またはlong法にて行い、黄体期管理はプロゲステロン直腸座薬とHCGの併用にて行った。妊娠診断は胚移植後2週目に血中hCG測定し、3週目に経膈超音波断層法にてGS確認した。(成績)A群及びB群の対胚移植妊娠率は17%($n=40$)及び35.3%($n=51$)であり、B群で有意($p<0.05$)に妊娠率が増加した。胚着床率(移植胚総数に対する着床胚総数の割合)は、それぞれ6.8%(9/132)、16.5%(20/121)でありB群で有意($p<0.05$)に胚着床率改善が認められた。移植胚個数別に検討すると、移植胚数2個までは差は認められなかったが、3個以上の場合、ブレドニゾン投与群及び非投与群の妊娠率はそれぞれ52.6%(10/19)、16.7%(2/24)とブレドニゾン投与により有意($p<0.05$)に妊娠率が向上した。ブレドニゾン投与群においてGnRHa投与様式による妊娠率の差は認められなかった。(short法31.0%、long法44.4%)(結語)着床期におけるブレドニゾン経口投与は、体外受精胚移植法の着床率改善に効果があると考えられた。

16

自己抗体の存在が着床の場に及ぼす影響
—体外受精胚移植周期における検討—

名古屋大学分院産婦人科、名古屋大学産婦人科*

○安藤智子、菅沼信彦、孫 傑茹、塚原慎一郎、北川武司
森脇崇之、古井憲司、近藤育代、古橋 円*、友田 豊*

〔目的〕習慣性流産と自己抗体との関連が明らかにされつつあるが、受精、着床、発育の場における意味は未だ不明である。我々は自己抗体陽性例で受精卵の着床が阻害されやすいのではないかと考え、体外受精胚移植(IVF-ET)周期においてその関連を検討した。また、ステロイド投与の効果を検討した。〔方法〕当院でIVF-ETを予定した不妊症患者に、あらかじめ血中の抗核抗体、抗DNA抗体、ループスアンチコアグラント(LAC)を測定した。いずれかの抗体が陽性で、かつ重症男性不妊や、卵巣刺激反応不良例を除く48症例を対象とし、91周期のIVF-ETを行った。うち51周期にステロイドを併用し、その治療効果を検討した。自己抗体陰性例59例に行ったIVF-ET70周期を対照群とし、うち、22周期にステロイドを併用した。

〔結果〕抗核抗体は16例、抗DNA抗体は23例、LACは28例(重複例を含む)に陽性であった。通常のIVF-ETにおける卵の着床率は、抗核抗体陽性例で1/33(3.0%)、抗DNA抗体陽性例で2/45(4.4%)、LAC陽性例で1/72(1.4%, $p<0.01$)と、対照群の23/152(15.1%)に比し、低い率にとどまった。そこでステロイド投与を併用し、IVF-ETをおこなったところ、抗核抗体陽性例で10/53(18.9%)、抗DNA抗体陽性例で14/66(21.2%)、LAC陽性例で11/81(13.6%)と有意に着床率の向上がみられた。しかし、ステロイド投与による抗体価の変動と妊娠率には明らかな相関がみられず、流産率を低下させることもできなかった。ステロイドを投与した対照群の着床は10/84(11.9%)で、非投与群と有意差はなく、その効果は明らかでなかった。

〔結論〕自己抗体陽性例では受精卵の着床が障害されやすいと推測された。これらの症例ではステロイド投与が着床を改善すると考えられた。

17

体外受精・胚移植不成功例に対するダナゾール投与の有用性

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

○宮崎豊彦・久慈直昭・末岡 浩・小林俊文・野澤志朗

【目的】体外受精・胚移植 (IVF-ET) において、形態良好な受精卵が移植されたにもかかわらず妊娠に至らない症例、すなわち、着床障害と考えられる症例が多く見られる。この原因の一つとして自己抗体の関与が考えられている。一方、ダナゾールが自己抗体を抑制するなどの免疫抑制作用を持つことが既に報告されている。今回我々は、IVF-ETにおける着床障害と考えられる症例に対するダナゾールの効果を検討することを目的とし、形態良好胚を移植できたにもかかわらず妊娠に至らなかった症例に対するダナゾール投与が、次のIVF-ETに、どの様に影響を与えるかを検討した。【対象および方法】1993年6月から11月までに慶応義塾大学病院にて、IVF-ETを行った124例のうち、4分割以上の形態良好胚を2個あるいは3個移植できたにもかかわらず妊娠の成立を認めなかった症例8例を対象とした。不成功周期後の初発月経から3か月以内にダナゾールの投与を開始し、400 mg/day、12週間の経口投与を行い、投与終了後、4か月以内にIVF-ETを行い、ダナゾール投与前後でのIVF成績の比較検討を行った。

【結果】8例の、IVF-ETの適応は、卵管因子7例、男性因子1例で、平均年齢は36才、既往IVF施行回数は 1.9 ± 1.2 回、子宮内膜症合併例は4例であった。卵巣刺激法はダナゾール投与前後も、GnRH-aを用いたlong protocolが7例、hMG単独投与1例。投与前後で、平均hMG投与量・採卵個数・移植胚数に有意差は認められなかった。妊娠は8例中5例に成立し、うち2例が双胎であった。5例中、子宮内膜症合併例は2例であった。ダナゾール投与後のIVFと同時期に行われたIVFのうち、IVFの既往がある症例は今回検討した8例を含めて38例で、妊娠は6例であった。すなわち、ダナゾール非投与群での妊娠例は1例のみであった。【結論】形態良好胚を移植できたにもかかわらず妊娠の成立を認めなかった症例に対し、ダナゾール投与は子宮内膜症の有無にかかわらず有用であると考えられた。

18

精子運動性急速低下症例の検討

東北大学泌尿器科

○高橋 勝、前原郁夫、平松正義、蓮田精之、中角尚誉、折笠精一

【目的】男性側に不妊の原因となる基礎疾患がなく精液検査結果が正常でも妊娠に至らない症例がある。この中で、最初の精液検査で正常所見を示したにもかかわらず時間の経過とともに精子運動性が急速に低下する症例を少なからず経験する。そこで、精子運動性を経時的にみる検査(精子運動性時系列検査)を不妊症患者および健常者に対して施行し、健常者の結果に基き不妊症患者を精子運動性保持、低下群に分け、各々の患者背景を分析した。また、精子運動性時系列検査の結果と各種精子機能検査結果とを対比させ、精子運動性低下の原因について考察した。【対象および方法】当科外来不妊患者のうち、不妊の原因となる基礎疾患がなく一般精液検査で正常とされた36例および健常者として妊孕性が確認されている7例を対象とした。一般精液検査所見の評価は1987年版WHO検査マニュアルに準じて行った。精子運動性時系列検査は精子運動能指数(SMEI)について採取20分後に引き続き30分、60分、90分、120分後に測定し、採取20分後の値に対する各時間のSMEIを百分率で表示し% SMEI値とした。他の精子機能検査としては、HOS testおよびPenetrak testを行った。【結果および考察】健常者の採取60分後の% SMEI値は $89.9 \pm 9.2\%$ (mean $\pm$ SD)で7例全例が70%以上であった。Mean - 2SDの値から採取60分後の% SMEI値が70%以上を保持群、70%未満を低下群と分類したところ、13例(36.1%)が低下群に該当した。低下群では妻側の産婦人科的異常はなく、不妊の原因が男性側にあることが示唆された。低下群における精子運動性低下の原因としては1.精子機能そのものの異常、2.主に精漿成分の異常、3.両者の合併と、様々な要因を有する症例が混在していることが他の精子機能検査結果との関係から示唆された。採取後数回精子運動性を評価する精子運動性時系列検査は、いままで正常とされた患者の中で、精子運動性低下が不妊の一因と考えられる症例を見つけ出す有用な検査法と思われた。

19

Nitric Oxide の精子に対する影響

大阪大学医学部産婦人科：○信永敏克、徳川吉弘、久保田康愛、澤井啓祐、
富山達大、金井利仁、橋本一昌、筒井建紀、鮫島義弘、大橋一友、佐治文隆
大阪通信病院産婦人科：脇本昭憲

【目的】泌尿・生殖系における感染症は、不妊の主因の一つである。これまでの我々の検討により、精漿中に含まれる白血球が感染により活性化し、種々のサイトカインを放出することが明らかとなった。今回、我々は、種々の生物学的活性をもち、サイトカイン等により白血球からの放出が制御されているNitric Oxide(NO)の精子運動率に対する影響を検討した。

【方法】健常男性15名及び当科を受診した不妊患者配偶者86名の精液を採取後、遠心により精漿を回収し、NO代謝産物である NO_2^- 濃度を測定し、精液所見と比較検討した。また、Swim-up法により回収した運動精子にNOを放出するSodium Nitroprusside(SNP)を $1\mu\text{M}$ ～ 100mM 添加し、経時的に運動率の変化も検討した。

【結果】精漿中の NO_2^- 濃度は健常男性 ($3.91 \pm 0.16\mu\text{M}$) に比べ、不妊患者男性では有意に増加していた ($6.06 \pm 0.27\mu\text{M}$; $P=0.0002$)。また、不妊男性中濃精子症を認めた26例 ($6.85 \pm 0.56\mu\text{M}$) では濃精子症を認めない60例より高値であった ($5.72 \pm 0.28\mu\text{M}$; $P=0.035$)。また、精漿中 NO_2^- 濃度に比例し、精子運動率は低下した ($R=0.206$; $P=0.039$)。運動精子にSNPを添加することにより時間及び用量依存的に精子運動率は低下し、 $1\mu\text{M}$ SNP添加では、2時間の培養で、また $10\mu\text{M}$ 以上の濃度では1時間の培養で有意に低下した。

【考察】炎症等により活性化した白血球より放出されるNOは、低濃度であっても精子運動率を低下させると推察された。

20

各種活性酸素のマウス精子運動能への影響

秋田大学医学部産婦人科 ○池田雅人、児玉英也、福田淳、
軽部裕子、清水靖、田中俊誠

目的：Xanthine oxidase (XO) 活性酸素産生系のマウス精子運動能に及ぼす影響を検討すると共に、精子機能に有害な活性酸素種を特定することを目的とした。方法：Xanthine (X)およびXOを溶液中に添加すると、Xの濃度依存性に $\cdot\text{O}_2^-$ および H_2O_2 の産生が認められることを、NBT assay及び、phenol ntiprineを用いたHRPO-dependent oxidationにより確認し、そのkineticsを明らかにした(XO活性酸素産生系)。この系においてマウス精子運動能を阻害する為のXの最低必要濃度を定め、次いで各種scavenging enzymesの精子運動抑制作用に対する影響を検討した。結果：X(0.1mM 以上)とXO(0.0mU/ml)をマウス精子懸濁液に添加すると、運動率の急速な減少が認められた。この系に 100mg/ml のSODを加えても影響は認めなかったが、catalaseを添加するとその抑制作用は完全に消失した。 0.5mM のXと 20mU/ml のXOによる精子運動抑制作用を消去する為には、 0.5mg/ml のcatalaseで十分であった。結論：XO活性酸素産生系においてマウス精子運動能に対する抑制能力を担う活性酸素種は、 H_2O_2 であると特定された。ただ、実際のXO活性酸素産生系の精子運動抑制作用が産生される H_2O_2 量よりも若干強いことから、 $\cdot\text{O}_2^-$ および H_2O_2 の存在下で僅かながら産生されると予測される $\cdot\text{OH}$ (Harber-Weiss reaction)も、この系の抑制作用に関与している可能性が考えられた。マウス精子の各種活性酸素種に対する反応はヒト精子と類似しており、活性酸素で障害されたマウス精子はヒト男性不妊患者における障害精子の良好な動物モデルとなるかもしれない。

21

ヒト精子運動に及ぼすカルシウムイオンとサイクリックAMPの影響

帝京大学医学部泌尿器科学教室

四倉正己、押尾 茂、友政 宏、石田克美、矢崎恒忠、梅田 隆

【序】カルシウムイオンはヒト精子において、運動性の維持、受精能獲得、先体反応などに必須であるとされているものの、その作用機序の詳細は、なお不明である。今回我々は、ヒト精子機能におけるカルシウムイオンの役割を検討する一環として、ヒト精子運動に及ぼすカルシウムイオンと細胞内情報伝達系でカルシウムイオンと同様に重要な位置を占めるサイクリックAMPの影響を検討した。

【方法】健康なボランティアより用手法にて得た精液を用いた。室温で液化させたのち、20mMHEPES-buffered saline, pH7.4(HBS)で2倍に希釈し、80%Percollを用いて洗浄精子を作製した。洗浄精子にHBS, 2mM CaCl_2 (Ca), 2mM EGTA (E), 2mM 8b-c-AMP(A), 2mM pentoxiphylline(P)をそれぞれ単独に添加したものを対照群とし、実験群としてはCa+A, Ca+P, Ca+A+P, E+A, E+P, E+A+Pをおき、精子運動率と精子運動速度に及ぼす影響をCell Soft を用いて検討した。

【結果】洗浄直後には90%の運動率、 $44\mu\text{m}/\text{S}$ の運動速度(それぞれ平均値)を示していたが、HBSに希釈後30分には運動率、運動速度ともにほぼ半減した。Ca添加ではほぼ洗浄直後と同等の運動率、運動速度を示したが、E添加群ではほぼ完全に運動が停止した。この際生体染色法を行うと、全ての精子の生存が確認された。また、E群に過剰量のCaを添加すると一部の精子に運動の回復がみられた。また、A,P単独添加群では運動率、運動速度ともに低下した。Ca存在下にA, P, A+Pをそれぞれ添加した群ではほぼ洗浄直後と同等の運動率、運動速度を示した。なお、E存在下では、A, P, A+Pの添加によっても影響はなかった。

【結論】精子運動性の維持に、検討した因子のなかではカルシウムイオンが必須であることがわかった。

22

尿 pH と osmolarity の精子運動性と膜機能に対する影響

鳥取大学泌尿器科

○小野孝司、山本泰久、ニコラオス・ソフィキティス、宮川征男

【目的】尿は精子運動性と膜機能に影響を及ぼすと言われている。そこで我々は pH と osmolarity の関与について検討した。

【方法】不妊男性($n=20$)の尿と精液を採取し、尿の pH と osmolarity を測定した。精液各 0.8 ml と以下の4つの medium および尿 各 10 ml と 30 分間培養した。

- 1) pH 7.4 , osmolarity 270 mOsm の BWW (M-1)
- 2) pH 5.2 , osmolarity 270 mOsm の BWW (M-2)
- 3) pH 5.2 , osmolarity 540 mOsm の BWW (M-3)
- 4) pH 7.4 , osmolarity 540 mOsm の BWW (M-4)
- 5) 不妊男性の尿 (U)

培養後精子運動性と hypoosmotic swelling test の結果を比較した (analysis of variance and Duncan's multiple range test)。

【結果】尿の pH は 5-5.5 で、osmolarity は 510-540 mOsm であった。精子運動性と hypoosmotic swelling test の結果は M-1,2,3,4 と比べて U は有意に低下した ($P<0.05$)。また M-1,2,3,4 の間では精子運動性と hypoosmotic swelling test の結果に有意差は認められなかった ($P>0.05$)。

【考察】以上の結果により、精子運動性と hypoosmotic swelling test の低下には尿 pH や osmolarity の影響だけでなく、他の biochemical factor が関与する可能性が示唆された。

23

当科におけるハムスターテストの検討

富山医科薬科大学泌尿器科学教室

○高峰利充、岩崎雅志、風間泰蔵、布施秀樹、片山 喬

〔目的〕ハムスターテストの妊娠性判定について、精液所見等との比較検討を行なった。〔対象と方法〕1989年から1993年までに、不妊を主訴に当科外来を受診した85人の男性患者に対して、のべ96回のハムスターテストを行ない、精液所見、妊娠率との比較検討を行なった。更にハムスターテストの結果とHypoosmotic swelling test, Penetrak test, 精子自動解析装置 (Cellsoftシリーズ3000) を用いた精子運動性パラメーターとの比較も併せて行なった。〔結果〕1) ハムスターテストの結果が5~10%では妊娠率が高く(66.7%) 今回の検討では正常値を5%以上として検討を行った。2) ハムスターテストを施行した66人のうち、20人(30.3%)に妊娠が認められた。妊娠例20人のうち自然妊娠は6人で、ハムスターテストの結果はすべて正常であった。3) 精液所見を正常と異常に分けた場合、ハムスターテストの結果に差が認められた(正常例の平均値37.9%対異常例の平均値11.8%)。4) 精液所見正常群の妊娠率18.8%に対して、ハムスターテスト正常群の妊娠率は35.7%と有意に高かった。5) ハムスターテスト0%でも3例の妊娠例がみられ、即妊孕性なしとはいいがたくできれば再検が望ましいと思われた。6) ハムスターテストとHypoosmotic swelling test の結果との間には相関が認められなかったが、Penetrak test との間には相関が認められた。7) 精子自動解析装置による精子運動性の検討ではvelocity, amplitude of lateral head displacement, beat/cross frequency はハムスターテストとの間に相関が認められなかったが、linearity は相関が認められた。〔考察〕従来の精液検査と比較してハムスターテストは、妊娠の可能性を予測する手段として有効であると思われた。

24

ハムスター凍結卵によるSPA

○迫 アリサ *中原 靖典

医療法人 福友会 福友病院 *公立陶生病院

〔目的〕ハムスターテスト(Sperm Penetration Assay、以下SPAとする)は、精子機能検査のひとつとして重要になりつつあるが、一般病院などでは、飼育施設もなく普及していないのが現状である。今回我々は、不妊治療中の患者等に対して手軽な凍結ハムスター卵を用いたSPAを行い、良好な結果を得たので報告する。

〔方法〕対象は、不妊治療中の患者のうち男性不妊または頸管因子が疑われる20症例であった。精子の処理：精液は、十分液状化したところで精子数、運動率を計測した。この精液を80%パーコール液(Sigma社)で洗浄濃縮し、運動良好な精子を回収しSPAに用いた。卵の処理：凍結ハムスター未受精卵(以下卵とする)は、日本農産工業のものを用いた。卵を液体窒素中より取り出し、室温にて緩慢融解後、シャーレに取り出し、3.5%HSA-HTF培地(Irvine Scientific社)を添加、耐凍剤の希釈を行った。卵は3.5%HSA-HTF培地で洗浄後、0.1%Trypsin(Sigma社)にて透明帯を除去してSPAに用いた。SPA：透明帯除去卵の入った器官培養ディッシュに 10×10^4 /ml再懸濁した精子をいれ、炭酸ガス培養装置内で3時間培養した。卵は3.5%HSA-HTF培地にて洗浄後、無染色で精子の侵入率を計測した。鏡検時、四隅にニベアクリームを塗布したカバーガラスをかけ、適度の圧迫を加えることによって無染色にて観察が可能となり、従来と比較して判定までの時間が短縮できた。

〔成績〕症例によってSPA値は、0~36%を示した。

〔結論〕ハムスター卵の採取は、時間、手間がかかる上熟練を要する。凍結卵の出現により、比較的簡便にSPAが行われるようになったが、未だ煩雑な操作もある。当院においては、臨床医に成り代わり臨床検査技師である我々が、SPAを行い良好な成績を得ている。今後も臨床医と密に連携をとり、更に検討を加えていきたい。

25

ハムスターテスト不良症例における不妊症治療成績の検討

兵庫医科大学産科婦人科

○満尾 瑞、柴原 浩章、堀内 功、田中 宏幸、塩谷 朋弘、池田 義和、
井上 みゆき、長谷川 昭子、香山 浩二

〔目的〕精子の受精能検査のうち、透明帯除去ハムスター卵を用いるハムスターテストは広く用いられ、我々も本検査を男性不妊治療法選択の参考としているが、未だその基準は明確でない。そこで今回、最近3年間の本検査結果不良57症例（精子侵入率15%未満）の治療成績を検討した。

〔方法〕①ハムスターテストはYanagimachiらの方法に従い、患者精子のハムスター卵への侵入率を算出した。②妊娠例の分析、IUIやITIによる妊娠率、IVFやPZDによる受精率を、A群（精子侵入率0%の症例）とB群（同1-15%の症例）にわけ比較した。

〔結果〕①妊娠に至った治療法は、A群ではIUI1例、精索静脈瘤術後の妊娠1例、原因不明習慣性流産例1例、B群ではIUI5例、自然妊娠1例であった。症例あたりの妊娠率はA群10.3%(3/29)、B群21.4%(6/28)であった($p>0.05$)。②IUIによる症例あたりの妊娠率はA群4.0%(1/25)、B群19.2%(5/26)であった($p>0.05$)。③ITIでの妊娠例は両群とも無かった。④通常のIVFでの卵子あたりの受精率はA群25.6%(31/121)、B群28.0%(21/75)であった($p>0.05$)。またIVFで受精卵を得ることができた症例は、A群53.3%(8/15)、B群77.8%(7/9)であった($p>0.05$)。⑤PZDでの卵子あたりの受精率はA群19.4%(7/36)、B群50.0%(3/6)であった($p>0.05$)。またPZDで受精卵を得ることができた症例は、A群66.7%(6/9)、B群66.7%(2/3)であった($p>0.05$)。⑥IVF、PZDでの臨床的妊娠は無かった。

〔結論〕①A群はIUIやITIでの妊娠は困難で、原疾患の治療効果がなければIVFの適応となる。②B群はIUIの有効例もあり、IUI不成功例にIVFを適応とすべきである。③両群ともIVFでの受精率は低率で、多数の卵子を得る過排卵刺激法が必要である。④卵子あたりの受精率の結果から、A群のようにハムスター卵への侵入が困難な精子ではPZDでも受精率は低く、今後ICSIを試みるべきと考えられた。

26

精子自動分析、アクロビーズテスト及びハムスターテストにおける精子受精能の評価と体外受精成績

川崎医科大学産婦人科 ○毛利浩子 河野一郎
川崎医科大学泌尿器科 徳永 葉 田中啓幹

不妊症治療における男性不妊は、現在行われている体外受精法をもってしても、予後不良と言われる領域である。現在その打開策として、顕微受精各法が行われてきているがその適応条件は明らかにされていない状況である。そこでわれわれは、精子の透明帯穿孔、卵細胞膜融合などの精子の受精能を評価するために、尾部におけるハイパーアクチベーション、頭部における先体反応、卵細胞質内の雄性前核形成などの諸点から検討を試みた。

対象は男性不妊症（乏精子症、精子無力症、鞭毛運動不良症）11例と、コントロール4例で、一般精液検査（精子濃度、運動率、奇形率）に加え、以下の3検査法を同時並行して行った。

第一に精子尾部の運動評価として、精子自動分析装置を用いて、 $25\mu\text{m/s}$ 以上の速度をもち、かつ、80%以上の直進性を有する急速直進精子をハイパーアクチベーションされた状態と仮定し、その濃度をProgressive Concentration (PC)として求めた。次に、頭部の先体反応の評価として、先体反応ヒト精子に対するモノクローナル抗体(MH61)結合磁性ビーズを用い、その濃度希釈による凝集状況により、先体反応誘起率を4段階に判定するアクロビーズテストを行った。最後に卵との融合能の評価として、透明帯除去ハムスター卵を使用し、精子との共培養後、卵内への雄性前核形成状況を観察したハムスターテストを行った。以上検査成績を比較検討したところ、アクロビーズ値とPCの間には相関がうかがわれたが、ハムスターテストとPCの間には関連が認められず、急速直進精子濃度が0のものででもハムスターテストで高い受精率が得られた例が存在した。このことより、①透明帯を通過した精子については尾部におけるハイパーアクチベーションは必要なく、②アクロビーズテストは、先体反応だけでなく尾部運動能にも関与している可能性が示唆された。

27

体外受精 / 胚移植症例における精子機能検査と受精能の評価

新潟大学医学部産科婦人科学教室, (厚)佐渡総合病院産婦人科*

○加藤 龍太 織田 和哉* 山本 泰明 倉林 工 長谷川 功
八幡 哲郎 本多 晃 東條 義弥 田村 正毅 田中 憲一

【目的】精子機能検査により、受精能を判定する。さらに、精子濃度・運動率が正常範囲にありながら、低受精率を呈する群での病態を検索する。

【対象】平成5年8月～6年3月の間、当科にて実施された体外受精 / 胚移植症例 55例 (卵管因子 20例, 男性因子 10例, 原因不明等 23例, 卵管 + 男性因子 2例)

【方法】体外受精 / 胚移植時に採取された精子の一部を用いて、i) アクロビーズテスト® (ABT: 扶桑薬品) ii) hypoosmotic swelling test (HOST) iii) (modified)sperm survival test (m-SST) を行ない受精率Fe%と比較した。なお受精現象における卵細胞側の因子を除くため、①low responder: 採卵数<4 ②high responder: 採卵数>20の症例群は以下の検討より除外した。

【結果】i) ABT: 6時間後 ABT値O群 (N=22, Fe%=58.3±31.8, mean±SD) と >O群 (N=14, Fe%=60.3±34.6%) との間には受精率で差を認めなかったが、24時間後 ABT値 ×8群 (N=21, Fe%=66.0±32.8%) と <×8群 (N=15, Fe%=49.3±30.3%) との間には受精率において有意差を認めた。(p<0.01) ii) HOST: 精子尾部総膨化率%とFe%との間には有意な相関を認めなかった。(N=43) iii) m-SST: 培養 24時間後の運動精子生存率%とFe%との間には有意な正の相関が認められた。(N=43, r=0.38, p<0.02) iv) 精子濃度・運動率が正常でありながら受精卵を得られなかった5例の内、2例はSST低値、1例はABT低値を示した。

【考察 / 結論】3検査の内、ABT・m-SSTは精子受精能を反映し機能検査として有用と考えられた。また精子濃度・運動率が正常範囲にありながら低受精率を呈する 'unexplained male factor' の中には、先体反応障害・代謝障害を示す例が存在することが示唆された。

28

アクロビーズテストを用いた精子先体反応についての検討

○加藤浩志、小林真一郎、有本万里子、中島淑子、磯島晋三

(府中病院不妊センター)

近年、不妊症治療における男性因子の占める割合が増加する傾向にある。このような症例に体外受精-胚移植、顕微授精などを施行する場合、精子の先体反応を確認することが重要である。精子先体反応確認法として、トリプルステイン法、蛍光抗体法などがあるが操作の煩雑さや蛍光顕微鏡などの特殊装置が必要なことから一般的に取り入れられるには難点がある。アクロビーズテストキットは、精子先体反応を比較的簡単に確認でき、他の精子先体反応検査法と相関することがわかっている。今回我々は、この方法を用いて各精子処理法と先体反応との関係を検討してみた。対象: 精液検査を施行した患者60例。方法: 3.6 mM Pentoxifylline, 50%卵胞液、Test Yolk Buffer (TYB) の各々で精子を2時間処理し、37℃、CO₂: O₂: N₂=5: 5: 90の環境で静置し、1、2、4、24、48時間後にアクロビーズテストを用いて精子先体反応を確認した。コントロールにはEarl's Balanced Salt solution (EBSS) で培養のみを行った精子を用いた。結果: 2、4時間値では、3.6mM pentoxifylline処理精子はcontrolと比べてアクロビーズ値が有意に高値をとった。24時間値では、50% Follicular Fluid 処理精子はcontrolと比べてアクロビーズ値が有意に高値をとり、48時間値では、50% Follicular Fluid 処理精子は他群と比べてアクロビーズ値が有意に高値をとった。3.6mM pentoxifylline処理精子では4時間値まではアクロビーズ値が増加したが、その後は有意な増加はみられなかった。これに対して50% Follicular Fluid 処理精子では1時間値から24時間値まではほぼ直線的にアクロビーズ値が増加した。

29

正常精子症におけるアクロビーズテストの意義について

京都大学泌尿器科¹⁾ 同産婦人科²⁾○奥野 博¹⁾ 大西裕之¹⁾ 橋村孝幸¹⁾ 吉田 修¹⁾ 後藤康夫²⁾ 神崎秀陽²⁾
森 崇英²⁾

【目的】アクロビーズテストは、先体反応を終了した精子頭部に発現するCD46抗原に対するモノクローナル抗体を用いて精子先体機能を評価する検査法である。我々は男子不妊症を主訴とする正常精子症患者のアクロビーズ値を測定し、正常精子症患者の精子先体機能を評価したので報告する。

【対象】女子不妊症の治療(IVF, AIH)目的で精液検査を行い精液所見正常(精子濃度 20×10^6 , 運動率50%以上)な男子18名(A群), 挙児を有し精液所見正常な男子7名(B群)を対照として, 男子不妊症を主訴とする正常精子症患者40名をC, D, E群に分けた。精索静脈瘤なし6名(C群), 精索静脈瘤術前22名(D群), 精索静脈瘤術後12名(E群)のアクロビーズ値をA, B群と比較検討した。

【結果】それぞれの群のアクロビーズ値 0点, 1点, 2点, 3点, 4点の分布(人)はA群では0, 2, 1, 7, 8 (3.17 ± 0.99), B群では0, 0, 3, 2, 2 (2.86 ± 0.90)という対照群の分布に対し, 正常精子症患者では, C群で2, 3, 1, 0, 0 (0.83 ± 0.75), D群で5, 7, 3, 5, 2 (1.64 ± 1.33), E群で1, 6, 4, 1, 0 (1.42 ± 0.79)という分布であった。対照群と正常精子症の間では有意な差を認めた($p < 0.0001$)。A, B群間, C, D, E群間では有意な差は認めなかった。

【考察】男子不妊症を主訴とする正常精子症患者のアクロビーズ値の分布は, 有意に対照群と比べ低値であった。従来の精液検査では妊孕性の判断ができなかった正常精子症患者において, このアクロビーズテストは新しい診断法となり得ると考えられた。

30

ヒト精子Acrosome Reaction簡易染色法の検討

大阪市立大学医学部産科婦人科学教室

○松岡逸子、藤野祐司、伊藤文俊、中岡幸治、西尾順子、荻田幸雄

【目的】近年、不妊症における男性因子の関与が注目されているが、未だ不明な点が多い。とくに、受精能評価に関しては、一般的精液検査においては困難であると言わざるを得ない。そこで、精子受精能の指標であるAcrosome Reaction (AR) 簡易染色法としてブルートスタン (第一化学) の有用性を検討したので報告する。

【方法】血液塗沫標本染色用ガラス“ブルートスタン”にて不妊外来受診患者の夫精子を染色し精子頭部がピンク色を呈するものをブルートスタン (BR) 陽性とし、Triple Stain (TR) 法によるAR検出率と比較するとともに、BR陽性率と精子受精能との関連性を透明帯除去ハムスター卵によるハムスターテストを用いて検討した。さらに、ヒト体外受精においてBR陽性率と受精率との関連性を検討した。

【成績】夫精子BR陽性率とTR法におけるAR検出率との間には強い正の相関 ($r=0.89$, $N=30$) が認められるとともに、ハムスターテストにおける精子侵入率とBR陽性率の間にも正の相関 ($r=0.67$, $N=20$) が認められた。一方、ヒト体外受精における受精率とBR陽性率の間においても正の相関が認められた。

【結論】ブルートスタン染色法はARを簡易に染色できる画期的な方法であり、精子の受精能を反映すると考えられるとともに、ヒト体外受精における培精時の指標としても有用であるものと考えられた。

31

受精過程における精子アクロシン活性の検討

鳥取大学産科婦人科学教室

○戸田稔子, 吉岡宏記, 片桐千恵子, 吉田壮一, 谷川正浩, 大野原良昌,
原田 省, 寺川直樹

【目的】先体反応完了後の精子に残存するアクロシンの割合を測定し, 受精過程におけるアクロシンの役割とアクロシン活性の制御機序について検討することを目的とした。

【方法】良好な精液所見を示す妊孕性の確認された症例($n=15$)の洗浄精子細胞を, ヒト血清アルブミン添加培養液中で培養後, Ca^{2+} ionophore A23187 を加えて先体反応を誘起し, 精子細胞と培養液を分離した。Triple stain法により先体反応精子の割合を判定した。精子洗浄直後の先体反応開始前の精子細胞(a: 総アクロシン活性)と分離した培養液中(b: 先体反応精子より放出されたアクロシン活性)のアクロシン活性を測定した。これより, 精子あたりの総アクロシン活性(A)=a/総精子数, 先体反応完了時に放出されたアクロシン活性(B)=b/先体反応精子数を算出し, $100 \times (A-B)/A$ で残存アクロシンの割合を求めた。また洗浄精子と先体反応誘発後の培養液および精子細胞におけるアクロシン阻害因子と結合したアクロシンの割合(% inhibited acrosin: %IA)を算出し, 先体反応時のアクロシン阻害因子の結合様式を検討した。

【結果】算出した残存アクロシンの割合は $48 \pm 6\%$ となり, 先体反応完了時に約 $1/2$ のアクロシンが放出されたことが示された。また, %IA は培養前の洗浄精子が $94 \pm 3\%$, 先体反応精子が $38 \pm 4\%$, 先体反応後の培養液中では 100% であり, 先体反応精子において有意に低下した。

【結論】先体反応完了精子には約 $1/2$ のアクロシン活性が残存することが示され, アクロシンは後期受精過程においても何らかの役割を有することが示唆された。また, アクロシン阻害因子の一部が精子から放出されることによりアクロシン活性阻害機構が解除され, 先体反応が誘起されることが推測された。

32

GnRH analogue 投与による下垂体脱感作中の血中 LH と FSH の解離現象についての検討

長崎大学産婦人科学教室

○山下隆則, 吉田正雄, 松脇隆博, 藤下 晃, 河野雅洋, 小無田明美,
石丸忠之, 山辺 徹

【目的】体外受精・胚移植治療のため卵巣刺激法にはいくつかの方法があるが, GnRH analogue (GnRHa)を併用する方法がより一般的に行われている。当科においては, いくつかの理由から月経周期3日目より GnRHa を開始し, 下垂体の脱感作を確認してから卵巣刺激を開始する long protocol とよばれる方法を採用している。下垂体脱感作中にもかかわらず発育卵胞や子宮内膜の肥厚が認められる例を時折経験するが, GnRHa 投与中の血中 Estradiol (E_2), Progesterone (P), LH および FSH の推移について検討した。

【対象・方法】平成6年1月から5月までの体外受精・胚移植治療の患者中ホルモン測定のできた 31例について GnRHa 投与開始からHMG 投与開始までの期間中1週間毎に血中 E_2 , P, LH および FSH を測定した。

【結果】 E_2 , LH および FSH は GnRHa 開始1週間目以降漸減し, 3週目にはそれぞれ 31.7 pg/ml , 1.7 IU/L および 3.8 IU/L (いずれも中央値)と順調に下降した。4週目以降 E_2 は 20 pg/ml 前後を, また LH は 1.0 IU/L 前後を推移した。しかしながら FSH は4週目以降 LH とは解離して上昇し 7 IU/L 前後を推移した。なお Progesterone は全期間を通じて卵胞期初期の値を推移した。また GnRHa 投与中 E_2 の下降不良のため GnRHa を増量した症例において増量後 E_2 および LH は著明な下降を認めたが FSH はむしろ上昇する例が多かった。

【結論】GnRHa による下垂体脱感作状態において LH と FSH の基礎分泌には違いがある。したがって LH と FSH 産生細胞における GnRH receptor が質的に異なる可能性が否定できない。

33

体重減少ラット下垂体の機能・形態に及ぼす慢性的
GnRHアナログ投与の影響—native GnRH の作用との比較—

福井医科大学 産科婦人科学教室

○後藤健次, 小辻文和, 富永敏朗

〔目的〕我々は、内因性GnRHの影響が無視できる体重減少ラットを用い、native GnRH (GnRH)の連日皮下投与が、下垂体ゴナドトロフ数、下垂体ゴナドトロピン (Gn) 含量及び血中Gnレベルを上昇させることを報じた。また、この実験事実に基づき、GnRHを用いた体重減少性無月経症の治療法を開発した。今回はGnRHアナログ (GnRHa, Buserelin) が下垂体に与える影響をGnRHと比較し興味ある知見を得たので報告する。〔方法〕Wistar雌ラットに2ヵ月間の減食後、3用量の GnRHa (10ng, 100ng, 1 μ g) を1日1回7日間皮下投与 (短期投与群)、もしくは3日毎に計10回皮下投与した (長期投与群)。この時の下垂体ゴナドトロフ数、下垂体及び血中Gn量を、減食コントロール群およびGnRH投与群 (10 μ g/日 $\times$ 7日間or30日間) のものと比較した。〔結果〕①減食コントロール群：正常に比し著明な血中・下垂体中Gn量の低下とゴナドトロフ数の減少を認めた。②GnRHa短期投与群：血中Gnは全ての用量で正常群レベルに増加した。一方、下垂体Gn含量は減食コントロール群に比し用量依存的に減少し、ゴナドトロフも減少した。③GnRHa長期投与群：高用量投与 (100ng, 1 μ g) により血中Gnは減食コントロール群に比し有意に増加したが、下垂体Gn含量は減少した。しかし、下垂体ゴナドトロフ数には変化を認めなかった。④GnRH投与群：短期、長期投与のいずれにおいても血中と下垂体中Gn量、ゴナドトロフ数の増加を認めた。〔結論〕①GnRHa, GnRHはともに体重減少ラット下垂体からのGn分泌を促す。②GnRHは下垂体にGn蓄積させるが、GnRHaは下垂体のゴナドトロピンプールを枯渇させる。③以上より、現時点では体重減少性無月経症例に対するGnRHaの投与は、慎重であるべきであろうと考察される。

34

Short protocolにおけるflare upを利用した卵胞発育の予知に関する検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室、(厚) 佐渡総合病院産婦人科*

○山本泰明 長谷川 功 織田和哉* 加藤龍太 本多 晃

八幡哲郎 東條義弥 田村正毅 倉林 工 田中憲一

〔目的〕体外受精・胚移植 (以下IVF・ET) における過排卵誘発は通常Gn-RHa Long protocol法で行われているが、poor responder対しては内因性ゴナドトロピンのflare upを利用したshort protocolの有効性が指摘されている。このflare upによるLH/FSH、E2の変化をGn-RHa負荷試験としてとらえその有用性について検討した。〔方法〕これまでのIVF・ETにおいてLong protocol法で過排卵誘発を試み卵胞数3以下の症例をpoor responderと定義した。これらのうちshort protocolで過排卵誘発を試みた23例を対象とした。月経第2日よりGn-RHa 300 μ を8時間毎に使用し第4日から外因性FSHを開始した。Gn-RHa使用前、開始後24時間、48時間でのE2,P,LH,FSHの変化を卵胞数4個以上になったの反応良好例と3個以下の不良例に分け検討した。

〔成績〕反応良好例は11例、不良例は12例であった。それぞれの群の平均年齢、不妊期間に有意差は無かった。Gn-RHa使用前の血中LH,FSH,E2,P4には有意差がなかった。Gn-RHa使用前のLHに対する24時間後のLHの比は反応良好例で 10.13 ± 7.60 、不良例で 5.03 ± 5.92 、同じくFSHは良好例 2.44 ± 0.99 、不良例 2.20 ± 1.34 、E2は良好例 4.43 ± 3.38 、不良例 2.65 ± 2.55 であり、前値と24時間後のE2の差は良好例 33.61 ± 65.56 pg/ml、不良例 15.94 ± 24.55 pg/mlであった。いずれも有意差は認められなかったもののLHとE2のflare upの高い症例で良好な反応が得られる傾向が観察された。E2がGn-RHa使用開始後の24時間値、さらに48時間値と上昇した8例では6例が反応良好例であり、48時間値が下降した15例のうち10例は反応不良例であった。

〔結論〕IVF・ETにおいてlong protocolのpoor responderに対しshort protocolを試み、flare upでE2、LHの上昇が大きい症例に反応良好な傾向がみられた。short protocolの反応性をLHやFSHの基礎値から推測することはできないがGn-RHaの負荷試験により推測できる可能性を指摘した。

35

卵巣過剰刺激症候群と低用量dopamine療法

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

○鈴木真史、鈴木規敬、岡田英幹、生田克夫、花田征治、八神喜昭

hMG製剤を使用する機会の増加にともない卵巣過剰刺激症候群の発生とその管理が問題となっている。この卵巣刺激症候群のうちには卵巣の著しい腫大は認めるものの腹水の貯溜は著明でない症例も存在する。そこで我々の施設における平成5年4月より平成6年6月までの卵巣過剰刺激症候群の発生を検討した。

hMGの投与により少なくとも片側の卵巣が6.0cm以上に腫大した治療周期は15症例、18周期認められた。このうち体外受精胚移植周期のものが8症例8周期で排卵障害例に対する排卵誘発治療周期が4症例7周期、原因不明不妊に対する卵巣過剰刺激周期が3症例3周期であった。このうち腹水の著明な貯溜を認めた周期は8症例8周期で、このうち5周期が体外受精胚移植周期、3周期が排卵誘発周期であり、体外受精胚移植周期に腹水貯溜の発生が多く認められた。また最近この卵巣過剰刺激症候群に対する治療方法の一つとして低用量のdopamine療法が報告されており、我々も著明な腹水貯溜を認めた2周期に4.32mg/Kg/24hrの低用量dopamine治療を行ったので、その使用経験についても報告する。

36

腹水濾過濃縮再静注法による新しい重症卵巣過剰刺激症候群の管理

東北大学医学部産科婦人科学教室

○高屋 りさ、船山 由有子、原谷 博信、深谷 孝夫、矢嶋 聡

卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) は、hMGを用いた卵巣刺激時に発生する医原性の疾患であり、特に多嚢胞性卵巣を呈する症例では、常にOHSSを念頭におき卵巣刺激を施行する必要がある。軽症OHSSの場合には、安静と輸液により対応可能であるが、多量の胸・腹水貯溜・尿量の減少・血清蛋白質の低下・血液濃縮・動脈血酸素分圧低下などの症状を認める重症例では、治療に苦慮することが多い。本症の最大の問題点は、凝固系亢進とそれに引き続く脳血管などの血栓であり、これに起因する死亡例も報告されている。重症例に対する基本的な治療は、血液循環動態の改善と低蛋白血症の治療である。胸・腹水穿刺と輸液は血液循環動態の改善に有効であるが、低蛋白血症を増強し蛋白補充を行っても時に生命を脅かす状態に陥る可能性がある。我々は、静脈還流量増加と低蛋白補正の目的で、重症のOHSSに対して腹水濾過濃縮再静注法を用いた結果、良好な成績を得たので報告する。方法は、無菌的に腹水をバッグへ採取し、濾過濃縮装置を用い細胞成分・細菌・水分を除去して末梢血管より点滴静注する。採取した腹水は2000mlから800mlに濃縮されるとともに腹水中タンパク濃度は3~4から6~7g/dlに上昇し、再静注時にはより少ない輸液量で大量の蛋白質の補充が可能であった。この治療の結果、ほとんどの症例において1~2回の濃縮再静注法によりOHSSが著明に改善した。これまでの治療経験から、GolanらのOHSS分類でgrade3以上に対し本法は非常に効果があり、しかも早期治療開始は症状の改善に有効であった。

37

卵巣過剰刺激症候群に対する腹水蛋白再静注療法の試み

山梨医科大学産婦人科学教室

○依田逸人、水野薫子、奥野 隆、笠井 剛、中村雄二
端 晶彦、木下俊彦、加藤順三

【緒言】体外受精・胚移植後に生じた卵巣過剰刺激症候群（OHSS）に対し、放水した腹水より、蛋白質を濾過し、再静注したところ臨床症状の改善を認めた症例を経験したので報告する。

【症例】11年間の不妊期間を有する原因不明不妊患者に対し体外受精・胚移植を施行し、4個の受精卵を胚移植した。採卵より13日目に腹部膨満を主訴に来院し、卵巣過剰刺激症候群の診断にて入院管理となった。入院時、著明な腹水と、Ht42.8%、血漿蛋白4.9g/dlと血液濃縮所見と低蛋白血症を来していた。安静と輸液管理のみで経過を観察したが、臨床症状の改善が不十分なため、19日目に3000mlの腹水を放水した。放水により5500mlの尿排泄と共に腹部膨満、呼吸苦などの臨床症状は軽快したが、依然として低蛋白血症（4.1g/dl）を呈していたため、放水した腹水より、濃縮濾過器（PLASCIT 01：旭メディカル社製）を用いて血漿蛋白を濾過し、1200mlの蛋白液として（8.1g/dl、蛋白量は約97g）、20日目に再静注した。これにより血漿蛋白は5.1g/dlに上昇した。26日目にGSを3つ確認し、34日目に退院となった。現在、妊娠27週であるが、切迫早産のため入院管理している。

【考察】近年、ARTに伴う過排卵誘発により、OHSSの発生増加が問題となっている。OHSSに対しては、安静、輸液管理、蛋白製剤の投与、腹水・胸水穿刺、PG合成阻害剤・抗ヒスタミン剤・ドーパミンの投与などが行われている。血漿蛋白製剤にはアナフィラキシー反応などの副作用が全く皆無ではないことを考えると自己蛋白輸液はより安全な方法であり、卵巣過剰刺激症候群の治療法の一つとして有効な方法である。

38

hCGを投与しない体外受精 —OHSSの予防策としての試み—

秋田大学 産婦人科 ○児玉英也、福田淳、軽部裕子、清水靖、
池田雅人、田中俊誠

体外受精の治療に於いて、患者に余りにも過剰な卵胞発育が認められ重症のOHSSが必発と考えられることから、やむなくhCGの投与を回避して治療をキャンセルしなければならない場合が少なくない。このような場合にそのままhCGを投与しないで卵胞穿刺吸引を行い、採取された未熟卵を体外成熟させて体外受精させ凍結保存することが可能であれば、患者はOHSSを経験せずに治療を継続することが可能である。このような見地から、GnRHaとhMG（150IU/Day）の投与により極めて過剰な卵胞発育に至ったPCO症候群の体外受精患者1症例に対し、hCGを投与せずそのまま卵胞穿刺吸引を行った。その結果、卵胞液中に3個の未熟卵が採取された。その未熟卵に、同日に体外受精を行った別の患者から採取された成熟卵胞の卵胞液50%と顆粒膜細胞を含むHTF培養液中で24時間前培養した後、媒精を行った。その結果1個の卵子に受精が確認され、その受精卵は前核期で凍結保存した。患者はGnRHaの投与をそのまま継続し続け、卵巣の過剰刺激状態は回避されており、受精卵は今後外因性の性ステロイド剤投与により環境の整った子宮内膜に移植することが可能である。

今回の試みは、患者から採取される未熟卵が期待より少ないという問題はあったが、hCGを投与しなくとも受精卵が得られており、体外受精の治療に新たな可能性を示唆するものと考えられる。

39

BromocriptineによるOHSSの発症予防効果の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○河野哲郎、松浦謙平、生田幸生、
岩政 仁、田代浩徳、本田律生、
岡村 均

[目的] 卵巣過剰刺激症候群(OHSS)では血中PRL値が高く、低用量ドーパミン(DOA)療法を行うと急激に低下することより、我々はOHSSとPRLの関係に注目している。今回、重症OHSS発症の既往のある症例にbromocriptine(Br)を併用し、OHSSの発症が予防されたことより、その血中ホルモン動態からBrのOHSS発症予防機序を検討した。[対象] 対象は卵管因子を適応にIVF-ETを行なった35歳の原発不妊婦人(不妊期間12年11ヵ月)で、過排卵刺激はGnRHa(900 μ g/日)を併用したhMG療法で行った。第1周期で中等度OHSSを発症した後、第2周期(GnRHa投与23日、総hMG量;1800iu)で重症OHSSを発症し、DOA療法(3 μ g/kg/min)を行った。この周期で妊娠が成立したが、妊娠10週2日稽留流産に終わった。その後、乳汁分泌を認め(血中PRL値22.0ng/ml)、Br2.5mg/日の投与を開始した。第3周期(Br併用、GnRHa投与13日、総hMG量;1650iu)ではOHSSを発症しなかった。[方法] 第2周期と第3周期における卵胞と子宮内膜の発育を卵胞期中期から経腔超音波断層でモニターし、同時に黄体期にかけて連日採血し、血中のLH・FSH・PRLならびにE2・P濃度を測定し、比較検討した。[成績] (1)hCG投与日の子宮内膜厚、10mm以上の発育卵胞数、血清E2値、血中PRL値はそれぞれ10vs7mm, 14vs8個, 7003.8vs6764.0pg/ml, 36.8vs13.0ng/mlであった。(2)血中PRL値は第2周期では卵胞期中期より上昇して高値を維持したが、第3周期では上昇は認めなかった。(3)血中E2およびP値は採卵日までは両周期とも同様の推移を示したが、採卵後は第2周期と比較し、第3周期では上昇が抑制され、黄体期中期(採卵後7日目)の血中E2・P値はそれぞれ9327.8vs2318.0pg/ml, 72.9vs15.4ng/mlであった。[結論] Br併用周期では卵胞の発育を抑制することなく、全周期の血中PRL値および黄体期の血中E2・P値の上昇を抑制することでOHSS発症が予防される可能性が考えられた。

40

MRI検査により分娩後下垂体壊死が
早期に診断された1症例について

金沢大学医学部産科婦人科学教室
○鈴木 信孝、可西 直之、村上 弘一、
上野 浩久、荒木 克己、寺田 督

分娩後下垂体壊死(Sheehan症候群)の診断は通常ホルモン検査によってなされている。しかし、発症早期における下垂体の画像診断についてはあまり報告されていない。今回、我々はMRI検査によって下垂体の部分壊死を早期に診断し、治療し得た症例を経験したので報告する。

[症例] 患者は、27歳、1経産婦。1994年2月18日(妊娠37週6日)に、前置胎盤のため近医で帝王切開術を受けたが、その際、強出血のためショック状態となり、2600mlの輸血がなされたのち当科に入院した。入院後経過:入院後数日間は、輸液等の治療により順調に回復しているようにみえた。しかし、乳汁分泌は認められなかった。産褥7日目に全身皮膚が蒼白となり、8日目には食欲不振、頻回の嘔吐、無気力な状態が見られた。Sheehan症候群を疑い、産褥10日目に下垂体のMRIと血中ホルモンの検査を行なった。MRI検査では、Gd-DTPA enhance後も下垂体前葉の大部分は造影されず梗塞像を呈していた。しかし、その一部には機能残存部位が認められた。血中ホルモン検査成績では、LH、FSH、PRL、free T3は低値で、その他のホルモンは正常～正常下限を示していた。一方、血液生化学検査では、血中Na 116mEq/l、血清浸透圧238mOsm/lと重症の低Na血症が認められた。以上のMRIを中心とした検査所見より、部分的下垂体前葉壊死と診断し、ただちにグルココルチコイドの補充療法を行なったところ、患者の全身状態と低Na血症は急速に改善された。産後33日目にグルココルチコイドの投与を中止し、48日目の検査で、下垂体前葉の予備能力が認められたので61日目に退院した。なお、産後80日目の下垂体のMRI検査では、下垂体の萎縮は認めたものの、均一にenhanceされ、その回復傾向がみられた。

[まとめ] 今回の患者は、画像診断によって部分的下垂体壊死が疑われた症例であり、下垂体の機能残存部位の有無とその程度が、予後を左右する重要な所見であると推察された。

41

排卵障害例における変異LHの頻度

大阪医科大学産科婦人科学教室, ○井本広済, 奥田喜代司,
山田隆司, 岡崎 審, 佐伯理男, 杉本 修

昨年の本学会において, われわれは血中LHが一部の免疫学的測定法で低値である患者および家族のDNA分析でLHの β subunitのgeneの2ヶ所で塩基がそれぞれTからCに変化した点突然変異があり, LHの β -subunitの8番目と15番目のアミノ酸がそれぞれTryからArg, IleからThrに置換されるhCG typeのアミノ酸変異であることや, これら変異は家族性であることを報告した. 今回, この患者および家族の血中LHをin vitroでマウス精巣ライディッヒ細胞のテストステロン産生能を指標にして生物学的活性(Bio-LH)を, IMX kit(IMX-LH)およびSPAC-S kit(SPAC-LH)で免疫活性を測定した. また排卵障害例(53例)を同様の免疫学的測定法で検討した. DNA分析でホモのパターンであった患者および兄ではSPAC-LH/Bio-LH, SPAC-LH/IMX-LHの比は著明低値で, ヘテロのパターンを示した両親および姉はこれらのLH値の比はコントロールに比べて約半分であった. これらのことから変異LHの頻度を検討する目的で, 排卵障害例(53例)においてLHRH 100 μ g (i. v.)での投与前, 30分, 60分に採血し, SPAC-LH/IMX-LHの比をみた. 排卵障害例の53例は3群に分類され, 11例のLH値の比はその他の症例に比べて低値で, 10例は約0.5で, 1例は著明低値を示した. 以上のことより, 排卵障害の中には変異LHをもつ症例が多く存在すること予想され, DNA分析などを加えて報告したい.

42

性ステロイドによるラット視床下部オキシトシン細胞のFOS発現調節

帝京大産婦人科

○深澤みゆき、味香勝也、森宏之、冲永莊一

<目的>プロトンコジンc-fosはさまざまな生理学的刺激によって特定のニューロンに発現し, その発現は神経活動の指標となる. 今回の実験では卵巢摘除された雌ラットにエストラジオール(E2)とプロゲステロン(P)を順次投与し, 性ステロイドのオキシトシン(OT)細胞におけるFOSタンパクの発現調節について免疫2重染色法を用いて比較, 検討した. <方法>成熟雌ラットの卵巢を摘除し, 1週間後にE2 30 μ g/0.4mlゴマ油を皮下投与し, その48時間後にP400 μ g/0.4mlゴマ油を皮下投与した. P投与後30分後(a群), 1時間後(A群), 2時間後(b群) 3時間後(B群), 6時間後(C群)に動物を屠殺した. 対照群(D群)はゴマ油のみ投与し, 対照群(E群)はE2のみを順次投与し, 3時間後に屠殺した. 組織を4% Paraformaldehydeで固定後, 16 μ mの浮遊切片とし, 免疫2重染色法を行った. 染色に用いた抗体はヒトFOS(4-17)とOTに対するウサギIgGである. FOSをDABで茶色に, OTをNaphtolで濃青色に発色させ, FOS-OT共存細胞を顕微鏡下にCountした. <成績>a群, A群, b群, B群C群, D群, E群の室傍核におけるFOS-OT共存細胞数はa群 14.0 ± 14.8 , A群 43.7 ± 22.3 , b群 120.5 ± 61.5 , B群 86.0 ± 56.7 (mean $\pm$ SD)でC, D, E群では共存細胞は認められなかった. 視索上核のFOS-OT共存細胞数はa群 5.7 ± 6.9 , A群 32.7 ± 20.3 , B群 61.2 ± 25.5 でC, D, E群では共存細胞はほとんど認められなかった. 以上から室傍核, 視索上核ともに2時間後にピーク値をとり, 6時間後に基礎値にもどることが観察された. <結論>1) E2, Pの順次投与後1~3時間以内で室傍核, 視索上核のOT細胞に活発なFOSの発現がみられる. 2) ステロイド刺激により, OTmRNAはFOSを介して活性化される可能性が示唆された.

43

中等度肝機能障害を伴った神経性食思不振症の1例
—経過と特異的病態について—

東京女子医科大学第2病院産婦人科、同大学産婦人科*

○安達知子, 岩下光利*, 網野幸子*, 井口登美子*, 黒島淳子, 武田佳彦*

〔目的〕神経性食思不振症(A.N.)で、中等度以上の肝機能障害を認める報告例はきわめて少ない。今回、体重減少性無月経の診断のもとに治療を行っており、中等度肝機能障害を認めたため、入院精査治療を行なったところ、A.N.と診断した症例を経験したので、その病態と特異的なホルモン動態および治療経過について報告する。(症例)21才、女子大生、身長164cm(標準体重57.6kg)、17才時、ダイエットにて1ヶ月間に57kgから43kgに減量。無月経を主訴に来院。第2度無月経、hypogonadotropic hypogonadism、Low T3 syndromeのため、単純性体重減少性無月経の診断のもとに、Kaufmann治療と適時甲状腺剤投与を行っていた。また、性格は几帳面、大学も無遅刻無欠席で、スポーツも活発にこなしていた(活動性の亢進)。21才時下肢痛を訴えて来院。体重33kg(標準体重の-42.7%)と著明なうそを認め、汎血球減少、中等度肝機能障害(GOT104 KU、GPT370 KU、Cho-E 0.37 ΔPH)、cortisolの軽度上昇、GHの著明な上昇、T3の低下を認めた。入院後、食事および点滴療法を開始したが、偽りの体重申告とかくれて嘔吐していることが判明した。点滴を高カロリー輸液に変更し、内科へ転科後、精神科との共同治療により肝機能、GH値の正常化をみて、体重40kgで退院した。現在、体重46kgで精神的に安定してきたが、いまだ第2度無月経を認め、Kaufmann治療中である。(考察) A.N.は病識が乏しく、しばしば無月経のみが主症状となるため婦人科を初診するが、単純性体重減少性無月経と異なり、精神的な病因があるため婦人科だけでは治療は困難であり、時に生命の危険も伴う。ここでは経過の報告と共にさらに低血糖低栄養状態に伴い生じたと考えられるGH値の上昇に注目し、GH依存性と言われるIGF-Iおよびその結合蛋白の動態についても解析する。

44

不妊患者における肥満、やせとLH-RH, TRH試験の結果

虎の門病院産婦人科

○佐藤孝道, 山田義治, 高橋敬一, 東梅久子

〔目的〕不妊症患者における肥満ややせの問題に対応するために、その内分泌的な特徴を明らかにすること。〔方法〕当科不妊症患者で、身長・体重が明らかでLH-RH, TRH試験(以下、単に試験)を実施した377例。試験は月経1-5日目に実施した。体重/(身長-100)/0.9が、1.1以上を肥満、0.9未満をやせ、それ以外を標準体重とした。〔結果〕1)肥満は64例、標準は253例、やせは60例あった。2)PRL基礎値が15ng/ml以上を高PRL血症とするとその頻度はそれぞれ4.7%、3.6%、3.3%であった。3)PRL基礎値が15ng/ml未満で、PRL15分値が80ng/ml以上を潜在性高PRL血症とすると、その頻度はそれぞれ17.2%、20.6%、20.0%であった。4)PRLに関して正常のものは、それぞれ50例、192例、46例で以下の検討はそれを母数とした。5)LH基礎値が10IU/L(以下、FSHも同じで単位略)以上の症例はそれぞれ8.0%、5.2%、6.5%あった。6)LH30分値が30以上のものは24.0%、18.2%、17.4%あった。7)LH/FSHが1以上のものはそれぞれ6.0%、8.9%、17.4%でやせで有意に多かった($p<0.05$)。8)FSH基礎値が10以上のものは、それぞれ26.0%、28.1%、19.6%あった。9)PRLが正常でテストステロンを測定していたものはそれぞれ40例、153例、31例あったがそのうちテストステロンが80ng/ml以上のものは25.0%、12.4%、6.5%で肥満に有意に多かった($p<0.05$)。10)LH30分値が30以上の症例はそれぞれ12例(PRL正常の24.0%)、35例(18.2%)、8例(17.4%)あったが、そのうちテストステロンが80ng/ml以上のものはそれぞれ50.0%、22.9%、12.5%で肥満に多かった。〔結論〕やせではLH/FSH比が高いものが有意に多く、肥満ではテストステロンが高いものが有意に多かった。これらはそれぞれ肥満とやせの内分泌的な特徴を示唆するものと考えられた。

45

肥満婦人における排卵障害機序の内分泌学的検討

藤田保健衛生大学医学部産婦人科学教室, 同坂文種報徳会病院産婦人科*
 ○田嶋貴子, 樋口泰彦, 西尾瑞香, 吉田麻里子, 門脇 恵, 河上征治,
 山口陽子*, 金倉洋一*

【目的】肥満と排卵障害の関係を明らかにするため, 肥満患者の内分泌学的プロフィールを検討した。
 【対象および方法】当院産婦人科外来を受診した肥満患者26名を正常月経(R)群15名と月経障害(IR)群11名に分類し, 十分な説明と同意を得た上で肥満度(BMI)を計測, 卵胞期初期に以下の項目, 血中Estrone(E_1), Estradiol(E_2), Estriol(E_3), Androstenedione(A), free Testosterone(free T), Sex Hormone Binding Globulin(SHBG), Luteinizing Hormone(LH), Follicle Stimulating Hormone(FSH), そしてProlactin(PRL)について測定し検討を加えた。【成績】(1)全26名の平均体重は78.0kg, BMIは31.1でBMIとfree T値の間には正の相関が, BMIとSHBG値の間には負の相関が確認された。(2)IR群ではR群に比べBMI(33.7), E_1 値(94.7pg/ml), free T値(2.77pg/ml), LH値(7.31IU/L)で有意に高値となり, E_1/E_2 比(1.96), A値(2.76ng/ml), LH/FSH比(1.37)において高値の傾向が見られた。(3)R群(BMI; 29.3)においても E_1/E_2 比(1.19), A値(2.05)の比較的高値を認めた。(4)すべての症例で血中 E_3 値は測定限度以下, また平均PRL値はやや高値を示した。【考察】以上の結果により体重増加が血中SHBGの低下とfree Tの上昇をもたらすことが証明され, 月経不順群は正常月経群に比べてよりPCO様の内分泌プロフィールを示すことが明らかとなった。また正常月経周期を有する肥満婦人においても E_1/E_2 比とA値が軽度上昇していることが認められた。

46

Bromocriptine肛門坐薬による妊娠例の報告

国立名古屋病院産婦人科 ○戸谷良造, 鈴置洋三

bromocriptineは経口剤として市販されているが, 本剤の肛門坐薬は副作用の減弱化、効果の増大の両面において優る。プロラクチノーマを伴う高PRL血症例には1錠10mgの肛門坐薬を、中程度の機能性高PRL血症例には経口剤と同量の2.5mg錠を、軽度高PRL血症、並びに潜在性高PRL血症患者には0.625mg錠を使用した。現在までの本剤使用による妊娠例を検討し報告する。

過去13年間に国立名古屋病院産婦人科にて, bromocriptine肛門坐薬による妊娠例は191症例に223妊娠数が得られた。単胎妊娠は220例、双胎妊娠は3例であった。そのうち、原発不妊での妊娠例数は98、続発不妊婦人での妊娠数は93であった。治療法に関しては, bromocriptine単独妊娠数は143、clomidを主とした併用治療による妊娠数は80妊娠であった。223妊娠の226妊卵のうち、挙児を得たのは163妊娠165児、非挙児は流産34例(35妊卵)、外妊3例、中絶6例、現在妊娠中は17例である。

223妊娠中約2/3の143妊娠はbromocriptine単独妊娠、残り約1/3の80妊娠はclomidを主とした併用治療例であった。また、191妊娠例中98例は原発不妊例での妊娠、残り93例は続発不妊例であった。bromocriptineの投与量別の検討では、0.625mg投与での妊娠は122例に139妊娠、2.5mg投与での妊娠は53例に61妊娠、5mg投与での妊娠は3例に4妊娠、10mg投与での妊娠は8例に13妊娠、20mg投与での妊娠は3例に3妊娠、30mg投与での妊娠は1例に2妊娠、50mg投与での妊娠は1例に1妊娠であった。

続発不妊例93例における既往妊娠での流産率は43.2%であったのに比し、bromocriptine投与妊娠での非挙児率は32.5%と改善された。

47

エストロゲン投与によるPRL遺伝子の発現調節とPit-1との関連

名古屋大学産婦人科、同大学環境医学研究所*

○塚原慎一郎、森脇崇之、北川武司、安藤智子、古井憲司、近藤育代、古橋 円、菅沼信彦、妹尾久雄*、友田 豊

【目的】Pit-1蛋白は、PRL遺伝子の調節領域に結合してその発現調節を行い、また下垂体の細胞分化、機能維持にも深く関与していることが報告されている。今回われわれは、エストロゲン投与によるPRL mRNAの発現調節と、Pit-1との関連について検討を加えるため、ラットにエストロゲンを投与し、その下垂体のDNA合成量、およびPRL、Pit-1 mRNA量の変化を測定した。 【方法】Wistar系雄ラット（体重 200g）を用い、A群はエストラジオールジプロピオネート 200 μ gを筋注し、0、12、24、48、72時間後に下垂体を摘出した。B群では、PRL産生細胞における効果を解析するため、皮下にエストロゲンペレットを挿入し、持続的にエストロゲンによる刺激を加えた。この処置により、下垂体におけるPRL産生細胞の比率が著増した。ペレット挿入後30日に下垂体を摘出した。DNA合成量は、 3 H-チミジンの取り込みにより、またPRL、Pit-1 mRNAの定量は、Northern Blot法にて行った。【成績】1)Pit-1 mRNAは、2.5kb、4.1kb、1.6kbのバンドとして検出され、下垂体におけるPit-1 遺伝子の発現が確認された。2)A群では、エストロゲン投与後24時間にてDNA合成量の増加と共に、PRL mRNA量の有意な上昇を認め、72時間後には投与前の2.1倍となった。B群でも未処置ラットの3.2倍という、PRL mRNA量の著しい上昇を認めた。3)両群共にエストロゲン処置では、Pit-1 mRNA量に変化が認められなかった。【結論】in vitroの実験系では、エストロゲン存在下でPit-1の容量に依存して、PRL遺伝子の発現が変化すると報告もあるが、今回の実験により、in vivo においてはエストロゲン投与によるPRL遺伝子の発現調節には、Pit-1の遺伝子発現量の変化を介してはいないことが明らかとなった。

48

BrdUを用いたラット下垂体前葉プロラクチン細胞の増殖率の測定

山梨医科大学産婦人科教室、同 第一生理学教室*

○端 晶彦、加藤順三、有田 順*

プロラクチン産生腫瘍が無排卵症の一因となることが臨床的に知られており、プロラクチン細胞の増殖調節機構の解明は重要である。エストロゲン投与によりプロラクチン免疫陽性細胞総数が増加することが報告されているが、プロラクチン産生細胞の増殖に関する研究は数少ない。近年thymidine誘導体である5-Bromodeoxyuridine (BrdU)に対するモノクローナル抗体が開発され、増殖細胞マーカーとして注目されている。今回我々はBrdUとプロラクチンの二重蛍光染色法を確立しこれを用いてプロラクチン産生細胞の増殖率を測定した。【方法】50mg/kg体重のBrdUを腹腔内投与したラット下垂体前葉より得られた単離細胞をスライドガラス上に 6×10^6 cells/mlの細胞密度で付着させた。BrdUをモノクローナル抗体、ビオチン化二次抗体、Texas-Red標識アビジンで染色、次にプロラクチンをプロラクチン抗体、FITC標識二次抗体で染色した。増殖率はFITCの緑色蛍光を示すプロラクチン産生細胞1000個に対する赤色蛍光を示すBrdU陽性細胞の割合にて計測した。【結果】抗原による吸収試験によってそれぞれの免疫陽性像が消失したことから二重蛍光染色が特異的であることが確認された。発情期雌ラットの下垂体前葉にはプロラクチン免疫陽性細胞が50%前後の割合で存在し、これらの細胞の約2%がBrdU陽性を示した。また、これらのラットの下垂体のBrdU陽性全細胞の約95%がプロラクチン陽性細胞で占められていた。【結論】BrdUとプロラクチンの二重蛍光染色はプロラクチン細胞の増殖の研究にとって有用な方法である。

49

Sonohysterographyによる子宮腔内病変観察の試み

聖マリアンナ医科大学産婦人科、同横浜市西部病院産婦人科*、放射線科**

○斉藤寿一郎、石塚文平、藤脇伸一郎、堀越裕史、近藤俊彦、松本一彦、
萩庭一元、雨宮 章、林 和彦*、作山攜子**

【はじめに】不妊症の一原因として受精卵の着床障害があり、子宮腔内病変の観察は重要である。画像診断装置の発達により子宮腔内病変観察の精度が向上している。しかし、従来のHysterosalpingography (HSG)、Magnetic resonance imaging (MRI) 等ではX線被爆の問題、時間、費用、設備等の制約を受けやすいこと、アーチファクト、解像度の問題から診断のつかないこともある。近年、子宮内腔に注水しながら、経膣超音波にて子宮内腔、子宮筋層を観察するSonohysterography (SHG) が子宮腔内病変の観察に有用であると報告されている。そこで今回我々は子宮腔内病変の疑われた症例にSHGと子宮鏡を同時に施行し、その有用性について検討した。

【対象および方法】対象は1993年12月から1994年6月までに当院を受診し、子宮腔内病変が疑われた30歳より55歳までの25例で、症例の内訳は粘膜下筋腫8例、筋層内筋腫1例、筋腫分婣6例、子宮内膜ポリープ9例、子宮奇形1例であった。

超音波装置は横河メディカルシステム社製 RT-8000を用い、6.5MHzの経膣プローブを使用した。子宮内腔の注水にはクリニカルサプライ社製、長さ50cm、5Fr.バルーン付カテーテルを用いた。子宮鏡はフジノン社製HYF-Sを使用した。

【結果】25症例全例で子宮腔内病変の描出が可能であり、上記の診断が得られた。一部の症例ではアーチファクトにより当初診断が困難で、観察時間の延長により対処が可能であった。SHG所見は全症例で子宮鏡、病理組織診断と一致した。

【考察】SHGはMRIより小さな病変の観察が可能であり、アーチファクトも少なく、診断能が高いと考えられた。また、子宮の全体像の把握も可能であるため子宮鏡施行前のオリエンテーションとしても有用であった。

50

Sonohysterographyによる正常性周期子宮内膜の観察

聖マリアンナ医科大学産婦人科 同横浜市西部病院放射線科*

○藤脇伸一郎、斉藤寿一郎、房間茂由、堀越裕史、近藤俊彦、萩庭一元、
石塚文平、雨宮 章、作山攜子*

【はじめに】近年、子宮内腔に注水し、経膣超音波で子宮内腔、子宮筋層を観察するSonohysterography (SHG) が子宮腔内病変の観察に有用と報告されている。今回、我々はSHGを用いて性周期に伴う子宮内膜の変化を観察した。

【対象】1994年4月より6月までに当院を挙児希望を主訴に受診し、排卵障害を認めずinformed consentを得た4症例とした。

【方法】同一例に増殖期中期、後期、分泌期中期の計3回、SHGを施行し、子宮sagittal像の子宮内膜厚を子宮底部付近で測定した。超音波装置は持田製薬社ソノピスタifの6.5MHz経膣プローブを使用した。子宮内腔の注水にはクリニカルサプライ社製 50cm、5Fr.バルーン付カテーテルを用いた。

【結果】子宮内腔への注水で子宮内膜は前、後壁側に分かれ観察できた。増殖期中期では子宮内膜厚は一層構造を呈しており、平均約2mmであった。増殖期後期では子宮内膜は2層構造を呈し、子宮内腔側が平均約1.5mmであり、子宮筋層側は約2mmであった。分泌期中期では子宮内腔側が平均約3mmであり、子宮筋層側は約2mmと変化はなかった。

【考察】従来の子宮内膜の測定は、子宮内腔の厚みも含めて測定していた。本法では子宮内腔の注入液が子宮内腔を拡張し、sono windowとなり、内膜の厚さを詳細に測定できた。また、増殖期中期以降では子宮内膜は2層構造に描出され、子宮筋層側の厚さは変化せず、基底層と考えられた。本法は子宮内膜を基底層、機能層に分けての観察が可能であり、不妊臨床上有用であると思われる。

51

排卵前後における子宮内膜超音波像の評価に関する研究

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○内田昭弘、高橋健太郎、尾崎智哉、岡田正子、
田丸直美、栗岡裕子、北尾 学

＜目的＞不妊症治療において、排卵のタイミングを確実につかむことは、夫婦生活の指示及び配偶者間人工授精の計画などを行う際に重要なポイントとなる。そこで今回、より良い排卵期を確認する方法としての子宮内膜超音波像の評価についての検討を目的とした。＜研究対象及び方法＞島根医科大学医学部附属病院産科婦人科不妊・内分泌外来において、HMG-HCG療法を施行した24例41周期を対象とした。それぞれの周期において、経腔超音波断層法により子宮内膜を観察し、子宮内膜超音波像の排卵期における変化について検討した。尚、子宮内膜超音波像はType A : Triple line及びhypoechoogenic patternの子宮内膜像、Type B : 子宮筋層とisoechoogenic patternの子宮内膜像、Type C : hyperechoogenic patternの子宮内膜像の3 typeに分類した。＜結果＞(1)排卵前には子宮内膜超音波像がType AあるいはBであり、排卵後にはType Cの子宮内膜像に変化した症例が41周期中33周期(80.5%)に認められた。(2)経腔超音波での卵胞像及び基礎体温上、排卵前と診断したにもかかわらず、子宮内膜超音波像がType AからType Cに変化した症例が3周期(7.3%)に認められ、これらの症例は、他の症例に比較して排卵期の早期よりプロゲステロンの上昇が認められた。(3)経腔超音波での卵胞像及び尿中エストロゲン値より排卵期と判断し、HCGに切り替えたにもかかわらず子宮内膜像がType Aのまま変化が認められなかった症例が5周期(12.2%)に認められた。＜結論＞排卵誘発の際の排卵の確認には、経腔超音波による卵胞の消失、腹水の貯留及び基礎体温の上昇などが用いられているが、より良いタイミングでの排卵の確認に子宮内膜超音波像を用いることの有用性が示唆された。

52

ヒト子宮内膜における糖輸送担体の発現とその月経周期による変化

東京大学医学部産科婦人科学教室、東京厚生年金病院産婦人科*

○森田 豊、堤 治、定月みゆき*, 矢野 哲、武谷雄二

【目的】子宮内膜は着床の場として妊卵にエネルギーを供給し発育させる。故に月経周期に応じた子宮内膜のエネルギー代謝の変化を知ることは、妊卵着床のメカニズムを明らかにする上で意義深い。我々は、月経周期にともなうヒト子宮内膜の糖輸送担体(Glucose Transporter, GLUT1~5)の発現について検討した。【方法】正常月経周期をもつ患者より同意のもとに、卵胞中期、黄体中期の2つの時期に子宮内膜組織を採取し(各時期 n≥3)、以下の実験を行った。①ヒトGLUT1~GLUT5を認識するそれぞれの抗GLUT抗体を用い、各サンプルにおけるGLUT蛋白の発現を免疫組織化学染色で検討した。②各サンプルよりtotal RNAを抽出し、Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)法により、ヒトGLUT1~GLUT5 mRNAの発現を検討した。PCRは、ヒトGLUT1~GLUT5 cDNAの塩基配列よりそれぞれの特定の領域を特異的に認識するprimerを作成して行い、最終産物の反応特異性は、制限酵素によるDNAの分解パターンで確認した。【結果】①免疫組織化学染色では、GLUT1および3が、子宮内膜の腺細胞細胞膜に局在しており、卵胞中期に比べ、黄体中期では明らかに強く染色された。GLUT2,4,5は、いずれのサンプルでも発現を認めなかった。②RT-PCR法による検討では、黄体期中期のすべてのサンプルにおいて、GLUT1および3の強いシグナルが認められたが、卵胞期中期のサンプルにおいては、GLUT1および3は、発現が認められないか、弱いシグナルのみであった。また、これらのPCR産物の制限酵素による消化パターンは、それぞれの塩基配列に特異的であった。GLUT2,4,5は、すべてのサンプルで発現を認めなかった。【結論】ヒト子宮内膜にGLUT1および3が発現していることを証明した。また、これらの発現は黄体期で強く、卵巣ステロイドによる内分泌環境の変化に対応してGLUT1,3は増加し、子宮内膜の糖取り込み能を高め、エネルギー代謝を活発化し、妊卵着床の場が整えられるようになると推定された。

53

子宮内膜の脱落膜化に伴い発現するPOU domainを持つ
ホメオボックス遺伝子三重大学医学部産科婦人科
箕浦博之、菅谷健、豊田長康

POUドメインを持つホメオボックス遺伝子は、細胞の機能発現や分化の鍵となる遺伝子として近年注目を集めている。子宮内膜の脱落膜化は、個体発生終了後視床下部-脳下垂体-卵巢系の支配下に、規則的に繰り返される分化過程である。本研究では、脱落膜化に伴い発現するPOUドメイン遺伝子のcDNAクローニングを目的とした。POUドメイン遺伝子群の保存領域の塩基配列を基に混合プライマーを作成し、ヒト妊娠初期脱落膜より調整したmRNAを鋳型としたRT-PCR法により類似遺伝子のcDNAの増幅を試みた。増幅産物をpCRIIベクターに組み込みSanger法により塩基配列を決定した。さらに、ヒト子宮内膜の性周期および妊娠初期における同遺伝子の発現動態につき検討した。実験に使用したヒト子宮内膜は、事前に口頭および文書をもって患者に説明し同意を得たうえで、子宮筋腫などで単純子宮全摘術を受けた患者の摘出標本より採取した。既知のPOUドメイン遺伝子群の塩基配列より予想される大きさ(300bp)の増幅産物を得た。その増幅産物の塩基配列は人Oct-3遺伝子のそれと一致していた。同遺伝子は、増殖期内膜にも低レベルの発現を認めたが、分泌期後期にはその発現レベルは約25倍に増加し、心身初期脱落膜では約150倍に増加していた。

54

op/op マウスを用いたマクロファージとM-CSFの卵胞発育と排卵に及ぼす
役割の検討熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○荒木真佐子 福松之敦 片瀬秀隆
松浦講平 岡村 均

(目的)我々はこれまでラットを用いて、マクロファージ(M ϕ)が顆粒膜細胞の増殖に対し促進的に作用し、またM ϕ 分化・誘導因子であるmacrophage-colony stimulating factor(M-CSF)が卵胞発育に促進的に作用することを報告した。そこで、卵胞発育さらには排卵という現象に対するM ϕ およびM-CSFの生体内における関わりを明らかにする目的で、M-CSF欠損マウスであり、各臓器におけるM ϕ 数の減少が指摘されているosteopetrotic mouse(op/opマウス)を用いて以下の観察を行った。(対象と方法)op/opマウスとそのヘテロ接合体を、午前7時点灯、午後7時消灯の一定条件下で16~18週齢まで飼育した。膣スメアにて自然性周期を判定し、発情後期午前11時に両側卵管に排卵された卵の数を計測した。また、発情前期午後7時に卵巣を採取して連続切片にて成熟卵胞数、発育卵胞数を計測した。連続切片の一部はマウスマクロファージモノクローナル抗体F4/80を用いて免疫組織化学染色を行い、最大径が300ミクロンの発育卵胞の切片で、卵胞内顆粒膜細胞数とM ϕ 数を計測した。(結果)自然排卵の個数はop/opマウス(n=10)では 3.9 ± 4.1 個、ヘテロ接合体(n=11)では 11.0 ± 1.2 個でop/opマウスで有意に低下していた。また、発情前期の一側卵巣当りの成熟卵胞数は、op/opマウス(n=4)では 10.75 ± 2.86 個、ヘテロ接合体(n=5)では 16.33 ± 3.04 個であり、発育卵胞数は前者で 33.75 ± 6.14 個、後者で 77.80 ± 4.87 個認められ、これらもop/opマウスで有意に減少していた。さらに、発育卵胞内の顆粒膜細胞数は前者で 464.60 ± 96.35 個、後者で 525.20 ± 46.38 個、M ϕ 数は前者で 0.07 ± 0.25 個、後者で 2.5 ± 1.4 個となりいずれも、op/opマウスで有意に減少していた。(考察)以上より、M ϕ およびM-CSFは生体内で卵胞発育つまり顆粒膜細胞の増殖に促進的に作用する可能性が示唆された。

55

断片化DNA末端標識法を用いたハムスター卵胞成熟過程における閉鎖卵胞の組織化学的検討

日本大学農獣医学部 生体制御科学研究室

○上谷則子・村上理佳・佐藤嘉兵

哺乳類では、性周期ごとに卵巣内に含まれる卵母細胞の一部が発育を開始する。これら発育を開始した卵母細胞のうち、少数のものは成熟卵子として排卵にいたるが、大多数の卵子は死滅（卵胞閉鎖）することが知られている。しかし、このような卵子選抜の過程における、卵胞閉鎖のメカニズムについては未だ不明な点が多い。最近DNAの電気泳動解析から、閉鎖した卵胞の顆粒膜細胞において、プログラム細胞死（アポトーシス）に特徴的なDNA断片化の起こることが報告されている。このようなDNAの断片化は、細胞の形態学的変化に先立って起こることから、これまで形態学的な観察に頼っていた組織化学的な卵胞閉鎖の判定に、応用が期待されている。本実験では、最近開発されたTUNEL（TdT-mediated dUTP nick end labeling）法を用いて、組織切片中の断片化DNAを検出し、卵胞閉鎖のメカニズム解析に対する本法の応用について検討した。

各性周期のステージにある成熟ゴールデンハムスターより卵巣を摘出し、4% PFAによる固定後、パラフィン包埋し、厚さ5 μ mの組織切片を作製した。常法に従い脱パラフィンした後、Terminaltransferase（0.3 U/ μ l）およびDIG（digoxigenin-dUTP）を含む反応液を滴下し、60分、37℃で付加反応を行った。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識 anti-DIG-antibody（0.75 U/ml）を滴下し室温で1時間反応させた。DABによる発色反応の後に封入、光学顕微鏡下で観察した。陽性コントロールとして、正常マウス空・回腸および胸腺の組織切片を同時に染色した。

同一成熟ステージにあると思われる卵胞の中で、顆粒膜細胞に特異的に陽性反応を示す卵胞と、ほとんど反応を示さない卵胞とが観察され、閉鎖初期の卵胞の局在についてTUNEL法が有用であることが強く示唆された。

56

卵胞の発育・閉鎖に伴う卵胞基底膜成分の変化

福井医科大学 産科婦人科学教室

○細川久美子、小辻文和、富永敏朗

【目的】顆粒膜・莖膜細胞間に介在する基底膜は両細胞の機能の調節に重要な生物学的意義を持つこと、さらには両細胞の産生する成長因子の貯蔵部であることが知られる。本研究では、卵胞の発育・閉鎖機構の一端を知る目的で、発育・閉鎖過程で基底膜の構成成分にどのような変化がみられるのかを免疫組織化学的に検討した。【方法】1. 幼若ラットにPMSGを投与、経時的に卵巣を採取し、パラフィン包埋連続切片を作成した。2. 得られた切片にHE染色の他、細胞増殖のマーカーであるPCNA（増殖細胞核抗原）、基底膜成分のラミニン及びタイプIVコラーゲン（以下コラーゲン）の各免疫組織化学染色を行った。発育・閉鎖の各段階でPCNA、ラミニン、コラーゲンの発現様式がどのように変化するかを観察した。【結果】1. <発育卵胞での成績> PCNA：原始卵胞と一次卵胞の顆粒膜細胞には発現されない。二次以上の発育卵胞では、発現が認められる卵胞と発現を認めない卵胞とが存在する。ラミニン：一次以上の発育卵胞の基底膜に認められる。コラーゲン：二次以上の発育卵胞の基底膜に認められる。なおラミニン、コラーゲンの発現は共にPCNAの発現の如何に関わらず認められた。2. <閉鎖卵胞での成績> PCNA：発現されない。ラミニン：早期に断裂する。コラーゲン：閉鎖が進んだ卵胞では断裂する。【結論】1. 卵胞発育過程ではラミニンはコラーゲンに先行して発現する。閉鎖過程ではラミニンの断裂が先行し、コラーゲンの断裂がこれに続く。2. PCNA陰性の発育卵胞では顆粒膜細胞の増殖が停止していること、即ち初期の閉鎖過程にある可能性が示唆される。このような卵胞においてもラミニンやコラーゲンの染色性が観察されたことより、閉鎖過程では顆粒膜細胞の増殖停止が基底膜の変化に先行する可能性がある。3. 基底膜成分の変化が卵胞発育・閉鎖の引金なのかあるいは結果なのかは今後の検討課題である。

57

培養ヒト顆粒膜細胞に於ける c-fos 及び c-myc mRNA の発現

竹田綜合病院 産婦人科

吉田 仁秋、安斎 憲

目的 下垂体より分泌されるゴナドトロピンは卵胞の発育や顆粒膜細胞の増殖分化、ホルモン産生に影響を与えている。この調節機構は遺伝子の発現に強く支配されているが、分子生物学的機構については、殆ど知られていないのが現状である。Protooncogene は卵巣腫瘍細胞と同様に、セルトリ細胞や子宮内膜細胞にもその発現が認められている。そこで今回我々は、ヒト顆粒膜細胞における Oncogene の役割を調べるため、ゴナドトロピンによる c-fos や c-myc の mRNA 値への影響及び steroid 分泌について研究したので報告する。 **方法** 対象はマイアミ大学の体外授精患者 21 名とし、IVF の際に顆粒膜細胞を採取した。卵胞液より Ficoll を使用して顆粒膜細胞を分離し、10% FCS 及び 2mM L-グルタミンを加えた Ham's F10 培養液にて前培養を行った。72 時間の前培養の後、顆粒膜細胞は FSH の異なった濃度 (0.1-100 ng/ml) 及び間隔により刺激された。その後顆粒膜細胞より 全 RNA を抽出し、c-fos や c-myc mRNA 値を Northern blot 法により解析した。また培養液中の Progesterone 濃度は RIA 法を用いて計測した。 **結果** 1) c-fos 及び c-myc はヒト顆粒膜細胞中に mRNA の発現を認めた。2) その mRNA 値はゴナドトロピンによって急激な上昇を認め、両者のピークは c-fos で 30 分、c-myc で 60 分であった。3) c-fos と c-myc の mRNA 値の最大ゴナドトロピン濃度は両者とも 100 ng/ml であった。4) c-fos、c-myc 遺伝子の発現は DNA 合成や Progesterone 産生に先んじていることが確認された。 **結論** 以上の結果よりヒト顆粒膜細胞における c-fos、c-myc 遺伝子の発現は FSH の調節によって反応し、顆粒膜細胞の増殖やホルモン産生に分子生物学的役割を担っている事が確認された。

58

インヒビン RIA の確立とその問題点について

慶應義塾大学医学部産婦人科、東京都済生会中央病院産婦人科*

○ 庄 隆一郎、田辺清男、菊地正晃、中川博之、北岡芳久、亀井 清*、
玉崗有告*、斎城綾子、野澤志朗

【目的】 インヒビン (INH) が精製分離されて以来、世界のいくつかの研究グループより RIA が報告されているが、まだ種々の問題点が指摘されている。そこで我々はヒト・INH α -subunit の N 末端より 30 個のアミノ酸を合成して抗体を作成し、RIA を確立した。これを用いて種々の検体を測定したので、その問題点と共に報告する。 **【方法】** ヒト・INH α -subunit の N 末端より 30 個のアミノ酸を合成し、それに tyrosine を付加したもの (INH α (1-30)) と BSA との conjugate を作成した。これと Freund の complete adjuvant と emulsion を作成して家兎 6 羽に免疫して抗体を作成した。tracer としては chloramine T 法にて INH α (1-30) を ^{125}I でヨード化したものを用いた。検体としては、ブタ小卵胞 (直径 1-2mm) より採取した卵胞液と末梢血とした。さらにブタ顆粒膜細胞を培養し、これに LH と FSH を種々の濃度で添加して培養した培養上清中の INH 濃度を RIA にて測定した。 **【成績】** 家兎に免疫して抗体価を経時的に測定したところ、ほぼ満足の得られる抗体価であった。INH α (1-30) を standard として標準曲線を求めたところ、 $r=0.998$ と非常によい標準曲線が得られた。小卵胞液と hMG 療法中の患者血清を希釈して RIA に添加したところ、両者はほぼ平行であったが、INH α (1-30) の標準曲線とは平行ではなかった。さらに、INH α (1-30) に卵巣摘出後の血清を添加すると、標準曲線は下方に移動した。そこで、ブタ顆粒膜細胞を培養して LH と FSH を添加して無血清培地で培養した上清中の INH を測定したところ、INH は FSH によって有意に合成が促進されたが、LH ではほとんど影響なかった (FSH 100 ng/ml 添加: INH 値約 2700 ng/ml、LH: 80 ng/ml、対照群: 0 ng/ml)。 **【考案】** INH α (1-30) を抗原として得られた抗体はほぼ満足すべきものであったが、RIA としてはまだ種々の問題点があり、今後さらに検討する必要がある。

59

卵胞発育に於けるGHの局所作用についての検討

東京大学産婦人科学教室* 農学部農芸化学科**

○伯野直美*, 矢野 哲*, 堤 治*, 武谷 雄二*

竹中麻子**, 高橋伸一郎**, 野口 忠**

【目的】卵胞発育におけるgrowth hormone(GH)の関与が最近注目されている。今回我々はラット卵胞器官培養系を確立し、GHが卵の成熟や卵胞のsteroidおよびprostaglandin(PG)産生能に及ぼす効果を検討した。【方法】23-26日令の幼若Wistar系雌ラットにPMSG 10 IU腹腔内投与し、54時間後に卵巣を摘出した。卵胞を単離し、(1)無添加(control)、(2)hCG 10 IU/ml、(3)~(5) GH 1, 10, 100 ng/mlの5群に分類し、各添加培養液中で37度5% CO₂ 95% air下で器官培養した。12時間後に卵胞より卵を採取し、hyaluronidase処理及びピペティングにより卵丘細胞を除去してgerminal vesicle breakdown (GVBD)の有無を確認した。さらに、培養液中progesterone (P), prostaglandin E₂(PGE₂), Prostaglandin F_{2α}(PGF_{2α})の産生量をRIAにより測定した。【結果】GVBD出現率(mean±SEM)は1群:5.0±5.0%, 2群:80.7±5.4%, 3群:51.7±14.3%, 4群:68.3±11.1%, 5群:68.4±18.2%となり、GH添加群ではcontrol群と比較して有意に高かった。培養液中のP, PG E₂, PG F_{2α}産生量はGH添加により用量依存性に増加した。【結論】GHは卵胞におけるsteroid及びPGの産生を促進するとともに、卵の成熟も促進した。GHの卵に対する直接作用の有無については更に検討が必要と考えられた。

60

ブタ顆粒膜細胞のステロイド産生能及び細胞増殖能に及ぼす一酸化窒素(NO)の影響

東京医科歯科大学産婦人科

○増田美香子, 久保田俊郎, 鎌田周作, 麻生武志,

【目的】L-arginineから産生される一酸化窒素(NO)は、内皮由来血管弛緩因子の本態であることが報告され、現在では血管平滑筋に対する弛緩作用だけでなく、内分泌系の臓器に対してもNOが分泌調節作用を有することが証明されている。本研究では、NOの卵巣機能への関与を解明するため、卵胞成熟に重要な役割を果たす顆粒膜細胞のステロイド産生能と細胞増殖能に対するNOの影響について検討した。【方法】ブタ顆粒膜細胞(PGC)を中卵胞(φ3-5mm)よりneedle aspiration methodにて採取し48時間前培養の後、無血清DMEM培地にNO合成酵素(NOS)阻害剤であるL-NMMA(0.01-1mM)を添加して細胞培養を行い、24時間後の培養液中のestradiol(E₂)・progesterone(P)の濃度をEIA法にて測定した。又L-NMMA添加24時間後の細胞増殖能をWST-1 assay法にて測定した。さらに、L-NMMAと同時にFSH(200ng/ml)・hCG(5IU/ml)を添加し、同様の検討を行った。【結果】①L-NMMA単独添加群では、L-NMMA(0.01-1mM)は、PGCのE₂分泌を有意に促進した(P<0.05)。[control:2.59±0.35pg/μg protein, 0.01mM:3.36±0.31, 0.1mM:3.45±0.31, 1mM:3.60±0.57; mean±S.D.] FSH+L-NMMA添加群では、L-NMMAはE₂分泌(0.1-1mM)並びにP分泌(0.01-1mM)を用量依存性に有意に促進した(P<0.01)。[E₂値 control:3.69±0.40pg/μg protein, 0.1mM:6.70±0.76, 1mM:6.95±1.16; P値 control:115.1±14.5pg/μg protein, 0.01mM:200.4±27.1, 0.1mM:230.5±33.6, 1mM:330.1±34.6] hCG+L-NMMA添加群においても、1mMのL-NMMAはP分泌を有意に促進した(P<0.01)。[control:245.5±30.4pg/μg protein, 1mM:394.6±52.7] ②L-NMMA添加24時間後の細胞増殖能には有意の変化がみられなかった。【結論】NOS阻害剤がPGCのE₂・P分泌を促進したことから、PGCにおけるステロイド産生能に対し、NOが抑制的に作用している可能性が示唆された。

61

ホルモン分泌における壁側顆粒膜細胞と卵丘細胞の相違

山形大学医学部産科婦人科教室

○中原健次、野原理、河内谷敏、斉藤隆和、石田ガブリエラ、
斉藤英和、広井正彦

<目的> 卵胞は顆粒膜細胞よりステロイドホルモンを分泌すると共に卵子を成熟させる作用をしている。顆粒膜細胞は、卵を直接取り囲んでいる卵丘細胞 (C) と卵胞の壁側にある顆粒膜細胞 (M) の2群に分けることができ、それぞれの estradiol (E_2)、progesterone (P) 分泌の相違について検討した。

<方法> 体外受精で、採卵のため採取した卵胞液より M を採取し、C は卵を取り囲む卵丘塊より 18G の針を用いて機械的に分離し採取した。それぞれの細胞群を単層培養し、2 日毎に培養液を交換し、培養液中の E_2 、P を測定した。さらに FSH を 11U/ml 培養液に添加しステロイド産生を調べた。<成績> C、M 群共に E_2 、P を分泌し、培養後 2 日目の培養液中の E_2 濃度は C 群で 54pg/day/ 10^4 cells で、M 群は 128pg/day/ 10^4 cells であった。また、P は、C 群で 106ng/day/ 10^4 cells であり、M 群で 283ng/day/ 10^4 cells であった。培養液中に FSH を添加すると C 群の方が M 群よりも E_2 分泌は高い傾向があった。FSH 投与開始後 14 日までは E_2 /P は上昇傾向があった。<結論> C 群 M 群両群共、 E_2 、P を分泌し、培養日数が経つに従い減少傾向を示した。M 群の方が C 群よりも E_2 、P の値は高い傾向があり、ホルモン産生に関し、両群間に機能的差異があることが考えられた。このことは両群が同じ顆粒膜細胞でも何らかの機能分化があると考えられた。

62

腹腔マクロファージおよびその培養上清との共培養による胚発育の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○小野田 親、松浦 謙平、本田 律生
福松之敦、岡村 均

(目的) 我々はマウスにおいて腹腔マクロファージ ($M\phi$) と受精卵との共培養により、胚発育促進がみられることをすでに報告してきた。今回、腹腔 $M\phi$ 共培養効果の機序を明らかにする目的で、腹腔 $M\phi$ 培養上清がマウス初期胚発育へ及ぼす影響を検討し従来の共培養法と比較した。(方法) 1) BDF1 系雌マウス腹腔より回収した $M\phi$ を 1.0×10^6 / ml に調整して 4 well dish に移し、1 時間後に HTF で洗浄し $M\phi$ を付着させた。これに 0.3% BSA 加 HTF を加え、37°C, 5% CO_2 in air の条件下で各々 1, 5, 7 日間培養した。2) BDF1 系雄マウスと交配させた同系雌マウスから前核期胚を回収した。3) 2) で得られた前核期胚を以下の 3 群の条件で培養して 24 時間毎に観察し、各群の胚形成率を 96 時間後に比較検討した。 $M\phi$ で共培養したものを A 群、培養上清を除去し新たに 0.3% BSA 加 HTF 1 ml に培養液を交換し共培養を開始したものを B 群、分離した培養上清でのみ培養を開始したものを C 群、0.3% BSA 加 HTF のみで培養したものをコントロールとして D 群とし、培養条件は 37°C, 5% CO_2 in air で行った。

(結果) 胚形成率は、A 群が $M\phi$ 前培養 7 日間で 60%, $M\phi$ 前培養 5 日間で 75%, $M\phi$ 前培養 1 日間で 50%、B 群は同様に 75%, 77%, 74%、C 群は同様に 40%, 62%, 42%、D 群は 33% であった。腹腔 $M\phi$ と前核期胚とを共培養した群 (A 群, B 群) において胚率はコントロール群に比べて有意に上昇した。培養上清のみの培養 (C 群) ではコントロール群と比べて $M\phi$ 前培養 7 日間, 同 1 日間で胚発育率に差は認められなかったが、同 5 日間では有意に上昇した。(結論) マウス in vivo 前核期胚と腹腔 $M\phi$ との共培養下では $M\phi$ 前培養時間の如何に関わらず胚発育は促進された。腹腔 $M\phi$ の培養上清のみでの培養では、 $M\phi$ 前培養 5 日間の時にコントロール群と比べて胚発育の促進現象がみられた。

○渡邊 誠二、上口 勇次郎、立野 裕幸 (旭川医大・生物)

近年、成績の良いゴールデンハムスターの体外受精法が Barnett & Bavister (1992) により報告された。しかしながら、これまでゴールデンハムスターの体外受精卵の細胞遺伝学的研究は全くなされていなかった。今回我々は、この体外受精法を用いて第一卵割中期における精子染色体異常の出現頻度を調べた。またこの結果をふまえて、より染色体分析に適した体外受精法の確立を試みた。

精子の受精能獲得、受精卵培養は HECM-3 溶液で行った。過排卵処理した雌から採卵した卵に、3 時間培養して受精能獲得させたハムスター精子を媒精した。受精卵を第一卵割中期まで培養した後に染色体標本作製した。その結果 80.4% (164/204卵) の高い前核形成率が得られたものの、56.1% (92/164) は染色体分析不能であった。その内訳は (1) 第一卵割中期以前に発生が停止した卵 29.9% (49/164) (2) 精子染色体が極度に断片化した卵 6.1% (10/164)、(3) 受精卵なのか極体放出の抑制された付活卵なのか判断がつかなかった卵 20.1% (33/164) であった。最終的に分析可能であった卵は 42.7% (70/164) で、精子の構造的染色体異常出現率 (17.0%, 12/71精子) は体内受精の場合の約 2 倍であった。精子の受精能獲得溶液を m-TALP に変えた場合でも、受精卵培養に TCM-199 を用いた場合でも、この結果は全く改善されなかった。

一方、精子の受精能獲得、受精卵培養の全過程に TCM-199 を用いたところ、92.0% (69/75) の高い受精率が得られ、前述の (1)~(3) の問題点も大きく改善され、分析可能な卵は 76.8% (53/69) に向上した。しかしながら、精子の構造的染色体異常出現率は 21.7% (13/60) と高いままであった。したがって、上述のゴールデンハムスター体外受精法では、精子染色体の形成に何らかの障害が起きている可能性が示唆された。

慶応義塾大学産婦人科学教室 埼玉中央病院産婦人科*
○稲垣 昇、鈴木秋悦、北井啓勝†、野澤志朗

【目的】卵への精子進入の後、前核形成がどのようにして起こるのかは非常に興味のあるところである。近年、signal transduction (情報伝達) の領域は目ざましく発達し、中でもリン酸化は signal transduction をダイナミックに観察しうる指標として注目され、非常に多くのことが解明されつつある。今回、我々はリン酸化を通し精子進入直後における 33 k d の蛋白のリン酸化について非常に興味ある結果を得たのでここに報告する。【方法】ICR 雌マウス (6-8 週齢) に PMSC5IU 投与 48 時間後 HCG5IU 投与し 14 時間後採卵、ヒアルロニダーゼ処理し顕微鏡下にて肉眼的に第 1 極体を確実に観察しえた卵を、体外受精・Ca ionophore activation・TPA activation にて処理し、前核形成率・極体放出率の検討及び 33 k d の蛋白のリン酸化を ^{32}P phosphate を用いて一次元・二次元の電気泳動で検討し、またこれらが C kinase・calmodulin・tyrosine kinase らの阻害剤下にてどの様に変化するかを検討した。検討試薬：C kinase 阻害剤 (staurosporin・H-7)・tyrosine kinase 阻害剤 (genistein)・Calmodulin 阻害剤 (W-7・W-5) 【結果】1) activation 直後の 33 k d の蛋白のリン酸化はいずれも亢進していた。また二次元電気泳動上で Ca ionophore activation・TPA activation いずれも同一の蛋白がリン酸化されていた。前核・極体形成率は Ca ionophore (20 μM) activation でそれぞれ 45%・46%、TPA (200 ng/ml) activation でそれぞれ 48%・17% であった。2) Ca ionophore activation では staurosporin・H-7・W-7・genistein 下にて前核形成・極体放出が抑制され、また 33 k d の蛋白のリン酸化は抑制されていた。TPA activation では staurosporin・H-7 にて前核形成や 33 k d 蛋白のリン酸化は抑制されていたが W-7・genistein では抑制されなかった。【考案】33 k d の蛋白のリン酸化は Ca^{2+} の上昇によって起こる場合 C kinase の活性化と tyrosine kinase の活性化が必要と考えられた。

65

着床現象における $\beta 1$ integrin familyの生理的意義

杏林大学医学部産婦人科

○塩川滋達 葉梨秀樹 吉村泰典 中村幸雄

〔目的〕初期胚の着床現象に細胞外マトリックスの関与が示唆されている。近年それらの受容体が同定され、共通の β サブユニットと相異なる α サブユニットからなるヘテロダイマーで $\beta 1$ integrin familyと呼ばれている。すでに我々はヒト子宮内膜や妊娠初期脱着膜に $\beta 1$ integrin familyが発現することを報告した。今回着床現象における $\beta 1$ integrin familyの生理的機能を検索する目的で、マウス初期胚とヒト脱着膜細胞を共培養し、初期胚発育に及ぼす $\beta 1$ integrinの α および β サブユニットの役割について検討した。〔方法〕7週齢のCD-1雌マウスをPMSGとhCGにて過排卵誘起し同系雄と交配させ、hCG投与96時間後に子宮内初期胚（桑実胚及び初期胞胚）を回収した。回収した初期胚を10日間培養したヒト妊娠初期脱着膜上に静置した。培養脱着膜に実験群では、 $\beta 1$ integrin monoclonal抗体（m $\beta 1$ Ab）を2,20,100,200ng/ml濃度で、また $\alpha 1.5$ integrin monoclonal抗体（m $\alpha 1.5$ Ab）を100ng/ml濃度で添加し、対照群にはnormal mouse IgGを添加した。共培養開始12時間後にhatching(H)、24時間後に脱着膜細胞表面への胞胚のattachment(A)、72時間後にspreading(S)の有無を判定した。〔結果〕脱着膜培養細胞へのm $\beta 1$ Abおよびm $\alpha 1.5$ Abの添加はマウス胞胚の%Hに影響を与えなかった（control,97.2%;m $\beta 1$ Ab 2ng/ml,92.9%;20ng/ml,96.2%;100ng/ml,85.4%;200ng/ml,91.7%;m $\alpha 1$ Ab,92.7%;m $\alpha 2$ Ab,97.1%;m $\alpha 3$ Ab,95.0%;m $\alpha 4$ Ab,95.2%;m $\alpha 5$ Ab,96.6%）。マウス初期胚は、共培養開始12-24時間後に脱着膜細胞表面に接着し、48時間後よりtrophoblastのoutgrowthが観察された。m $\beta 1$ Abはマウス胞胚の脱着膜細胞へのAに影響を与えなかったが、trophoblastのoutgrowth（%S）を用量反応性に抑制した（control,91.7%;m $\beta 1$ Ab 2ng/ml,73.0%;20ng/ml,67.9%;100ng/ml,43.8%;200ng/ml,15.3%）。同様にm $\alpha 1.5$ Abはマウス胞胚の脱着膜細胞へのAに影響を与えなかったが、trophoblastのoutgrowth（%S）を有意に抑制した（m $\alpha 1$ Ab,68.7%;m $\alpha 2$ Ab,76.0%;m $\alpha 3$ Ab,58.3%;m $\alpha 5$ Ab,66.1%）しかしながら、m $\alpha 4$ Abの添加は%Sに影響を与えなかった。〔結論〕脱着膜細胞表面の $\beta 1$ integrin familyは $\beta 1$ サブユニットのみならず α サブユニットもまた着床現象に関与している可能性が示唆された。それらサブユニットはマウス初期胚のAではなく、trophoblastのSに重要な役割を果たしていると考えられた。

66

ブタ卵透明帯ZP1遺伝子のクローニング

兵庫医科大学 産婦人科

山崎則行、鏑本浩志、多養哲治、香山浩二

我々は、ブタ卵透明帯を構成する糖タンパク質の一つ、ZP4のcDNAを単離し、その塩基配列を決定した。その結果、ZP4をコードする領域に続き、ZP2をコードする領域が現れ、両者が一つの蛋白として合成されていることがわかった。また、抗ZP4抗体がZP1とも反応することより、ZP2とZP4はZP1に由来することが示唆された。今回、ZP1のfull length cDNAおよびゲノムの単離、解析を試みた。

ZP1のゲノムの単離：既に単離に成功していたブタZP4 cDNAをプローブにしてブタgenomic libraryをスクリーニングして、互いに一部がオーバーラップしている2つのcloneを得た。その塩基配列の一部を決定し、マウスZP2の塩基配列との比較により、exon 9を同定した。

ZP1 cDNAのcloning：既知のZP4 cDNAおよびexon 9の塩基配列を基にプライマーとしてoligonucleotideを合成し、ブタ卵巣のmRNAを鋳型にして、RT-PCR、3' RACE(rapid amplification of cDNA ends)法により、既に単離されていたZp4より3'側全領域を含むcDNAのcloningに成功した。signal peptideをコードする部分についてはゲノムよりその塩基配列を決定した。

ZP1cDNAは開始コドンより終始コドンまで2151bpで717個のアミノ酸をコードし、N末端より37個がsignal peptideであると考えられた。ヒトおよびマウスのZP2とは、DNAレベルでそれぞれ75%、70%、蛋白レベルで63%、54%の相似性を示し、ブタZP1はヒトZP2およびマウスZP2のホモログであることがわかった。ブタZP1遺伝子の全領域をカバーするゲノム断片を単離し、18個すべてのexonを同定した。

67

卵表層顆粒エキソサイトーシスの時間動態とそれに影響する細胞内因子

大阪大学・医学部・産婦人科

○増本伸之、田原正浩、萬本明子、田坂慶一、三宅 侃

受精における精子と卵の融合は卵細胞内カルシウムの上昇と卵表層顆粒エキソサイトーシスを誘導することが知られている。我々は、非透過性膜標識蛍光色素を用いた生きた卵でのエキソサイトーシスの動態を観察する方法を開発し報告してきた。今回、本方法を用いて受精時におけるエキソサイトーシスの実時間動態を観察し細胞内カルシウムの変動との関係を比較検討した。さらに、エキソサイトーシスに影響するその他の細胞内因子についても検討を加えた。方法：マウス透明帯除去卵を用い、細胞内カルシウムは蛍光色素Fura2AMまたはFluo3AM、エキソサイトーシスは膜標識蛍光色素TMA-DPHを用いて、受精後の両者の変動を共焦点レーザー顕微鏡および高感度蛍光顕微鏡システムで経時的に測定した。結果：細胞内カルシウムは、受精後一過性の上昇が単発で終わるものと律動的に繰り返すものがみられたがエキソサイトーシスは常にほぼ一定の速度でおこることが観察された。BAPTA-AMで細胞内カルシウムをキレートするとカルシウムの上昇とともにエキソサイトーシスもブロックされた。細胞骨格アクチンの重合を阻害するサイトカラシンBで処理すると細胞内カルシウムの上昇には影響しなかったがエキソサイトーシスの速度は抑制された。W7で細胞内カルシウム-カルモジュリン系をブロックしても細胞内カルシウム、エキソサイトーシスとも影響しなかった。3量体Gタンパクを活性化するフッ化アルミニウムは細胞内カルシウムをキレートしてもエキソサイトーシスを誘導した。結論：エキソサイトーシスは細胞内カルシウムの上昇に完全に依存するが、最初のカルシウムの上昇がエキソサイトーシスのトリガーとなり、その後の律動的なカルシウムの上昇はエキソサイトーシスの速度に影響を及ぼさないことが示唆された。さらに細胞内カルシウムとエキソサイトーシスの間にはアクチンや3量体Gタンパクが介在するがカルモジュリンは関係しないことが示唆された。

68

精子タンパク質SH基の精子卵細胞融合における役割

大阪大学医学部産婦人科学教室

○萬本明子、増本伸之、田原正浩、田坂慶一、三宅 侃

受精における精子の卵細胞への接着および融合には、それぞれ、接着タンパクや融合タンパクが必要であると考えられているが、それらのタンパクの性格については明らかではない。今回我々は精子卵細胞膜融合に特異的なタンパクの性格とその機能部位について、SH基修飾剤を用いて検討した。

方法；過排卵処理した6週齢のICR雌マウスと12週齢の雄マウスより得られた卵及び精子を用い、種々の細胞膜透過性および非透過性SH基修飾剤で処理した精子について、透明帯除去卵に対する精子接着能および融合能の変化を検討した。接着は卵1個あたりの接着精子数によって、融合は卵への精子接着を確認した後に卵表層顆粒エキソサイトーシスの有無を指標として、それぞれ、コントロール群と処理群で比較検討した。

結果；精子接着はコントロール群とSH基修飾剤処理群間に差を認めなかった。精子融合は細胞膜透過性SH基修飾剤で濃度依存性に抑制されたが、膜非透過性SH基修飾剤では抑制されなかった。さらに、可逆性SH基酸化剤による精子融合の阻害はSH基還元剤DTTの添加によって回復した。またコントロール群とSH基修飾剤処理群間で精子先体反応の率に差はなかった。

結論；1 精子卵融合に特異的なタンパクが精子に存在し、SH基がその機能に重要な役割を演じている。2 機能的SH基は細胞膜内側に局在する。以上のことが示唆された。

69

ハムスター1細胞期胚の胚盤胞期への発生に及ぼすタウリンとEDTAの影響

広島県立大学生物資源開発学科 ○堀内俊孝, 建本秀樹

【目的】ハムスター1細胞期胚は、外的環境に感受性が高く、胚盤胞期への発生率は非常に低い。そのため、本研究は、卵管内に多く含まれるタウリンと活性酸素生成に関与する重金属のキレート剤であるEDTAがハムスター1細胞期胚の胚盤胞期への発生に及ぼす影響について検討した。【方法】成熟雌ゴールデン及びアルビノ系ハムスターは、Ovulation Discharge放出日の午前10時にPMSG 15iuを腹腔内投与し、3日目の夕方、同系成熟雄ハムスターと同居させた。翌朝、膣スミアで精子を確認し、午後3時にHepes-HECM3で卵管灌流し、前核期の1細胞期胚を採取した。ハムスター胚培養の基礎培地にはHECM3を使用し、37.5°C、10%CO₂、10%O₂、80%N₂の気相条件下で72時間培養し、胚盤胞期の胚数を記録した。実験1ではタウリン(0~20mM)の影響を、実験2ではEDTA(0~100μM)の影響を調べた。実験3では5mMタウリン添加条件下でのEDTA(0~100μM)の効果を調べた。【結果】実験1：タウリン 0, 5, 10, 20mM添加区の胚盤胞期への発生率は、ゴールデン系では 0%, 15.1%, 18.4%, 11.0%で、0mM区に比べて 5mM, 10mM区で有意に高くなったが、アルビノ系では 3.0%, 4.2%, 7.5%, 3.9%と同様であった。実験2：EDTA 0, 25, 50, 100μM添加区の胚盤胞期への発生率は、ゴールデン系では 2.2%, 5.2%, 0%, 8.9%であったが、アルビノ系では 1.2%, 17.9%, 9.1%, 4.9%で 0μM区、100μM区と比べて、25μM区で有意に高くなった。実験3：5mMタウリン存在下で、EDTA 0, 25, 50, 100μMを添加した区の胚盤胞期への発生率は、ゴールデン系では 27.1%, 68.4%, 59.8%, 59.3%で0μM区に比べて、EDTA添加区(25, 50, 100μM)で有意に高くなった。また、アルビノ系では 9.3%, 18.8%, 34.9%, 50.5%で 0μM区に比べて50μMと100μM区で、25μM区に比べて100μM区で有意に高い発生率となった。

70

体外受精・胚移植法での妊娠例と非妊娠例の子宮内膜に関する検討

岡山大学医学部産婦人科

○木村吉宏、新谷恵司、長谷川淳、青江尚志、工藤尚文

【目的】着床等の妊娠成立に重要な役割を果たしていると考えられている子宮内膜の状態を、体外受精・胚移植を実施し妊娠が成立した例としなかった例において、その違いについて検討した。さらに、子宮内膜像などが妊娠成立の指標になりうるかなどについても検討した。

【方法】当科において、我々がすでに報告したGn-RHaをもちいたlong protocol簡便法で過排卵刺激をおこなった体外受精・胚移植実施例66例を対象とした。そのうち、臨床的に妊娠が成立した13例を妊娠群、妊娠が成立しなかった53例を非妊娠群として、子宮内膜の厚さ、子宮内膜パターン、血中ホルモン値と妊娠の成立の有無との関係を検討した。

【結果】妊娠群と非妊娠群の子宮内膜の厚さは卵胞期中期で5.5mmと6.4mm、卵胞穿刺時には9.2mmと9.4mm、穿刺後9日目には12.8mmと13.5mm、穿刺後15日目には21.7mmと15.6mmであった。子宮内膜パターンは非妊娠群には妊娠群には認められなかった子宮腔内液体貯留像や部分的な高輝度パターンなどの異常所見が認められた。

【考案】妊娠群では黄体期中期までは非妊娠群と子宮内膜厚に特に差は認められなかった。子宮内膜パターンは非妊娠群では妊娠群には見られないような異常パターンが認められた。超音波断層法を用いて子宮内膜厚やパターンを分析することにより、受精卵の着床の予後の一部は推測できうと考えられた。

71

クエン酸クロミフェン投与周期における排卵期子宮内膜超音波像
と内膜ホルモンレセプター量との検討

京都府立医科大学産婦人科学教室

近藤徳正、大野洋介、細川健一、藤本泰子、三戸和子、岡田弘二

近年、着床不全に関連する因子の一つとして、排卵期における子宮内膜超音波像（内膜厚および内膜パターン）が注目されている。不妊婦人においては排卵期子宮内膜に超音波断層法で観察されるtriple line patternを示さず、また内膜厚も薄いものがしばしば観察され、そのような症例では妊娠率が低いという報告がみられる。この形態異常の原因について、我々は既に内膜組織中のホルモンレセプターの異常を指摘し報告してきた。一方、排卵誘発剤として多用されているクエン酸クロミフェンは、その抗Estrogen作用の下垂体へのnegative feed-backによりGonadotropin(LH)放出効果を示し、排卵を誘発するといわれている。しかし条件によって抗Gonadotropin作用や弱いEstrogen作用を発揮する場合があります、生体内での個々の標的臓器に対して複雑な薬理動態を示すと考えられ、特に子宮内膜への作用については未だ明確にされていない。そこで今回、我々はクエン酸クロミフェン投与周期（以下、CC周期）における排卵期子宮内膜超音波像と内膜中のホルモンレセプター量を測定し、この薬剤の排卵期の子宮内膜への影響について検討した。CC周期では自然排卵周期と比較して、triple line patternが見られない割合（17% vs 14% (N.S.))及び子宮内膜厚（ $9.28 \pm 2.37\text{mm}$ vs $9.2 \pm 1.79\text{mm}$ (N.S.))には有意な差は認められなかったが、内膜組織中のエストロゲンレセプター(ER)、プロゲステロンレセプター(PR)量の有意な減少を認めた(ER: $353.8 \pm 294.7\text{fmol/mg prot.}$ vs $118.1 \pm 91.5\text{fmol/mg prot.}$ ($p < 0.01$), PR: $585.8 \pm 334.7\text{fmol/mg prot.}$ vs $331.8 \pm 158.7\text{fmol/mg prot.}$ ($p < 0.05$))。血中エストラジオール(E2)値は有意ではないもののCC周期群のほうが高値を示した($255.6 \pm 220.4\text{pg/ml}$ vs $366.4 \pm 263.1\text{pg/ml}$ (N.S.))。以上の成績より、CC周期では排卵期子宮内膜に超音波形態に異常は認めないが、内膜組織中ER、PRは減少しており、このことが着床に影響を与える可能性が示唆された。

72

当科における不妊患者 31 例の黄体期中期子宮内膜の組織学的解析

浜松医大産婦人科

○朝比奈俊彦、岡田 喜親、徳永 直樹、
小林 隆夫、寺尾 俊彦

〔目的〕子宮内膜の着床機構については現在でもそのほとんどは不明であるが、ある種の内膜変化は着床障害と関係が深いことが知られている。そこで今回我々は、当科の不妊患者に黄体期中期子宮内膜診を施行しその組織型を検討すると同時に、初期妊娠維持と関係が深いことが判明している接着因子の発現様式も検索した。そして興味ある結果を得たのでここに報告する。〔方法〕当科における不妊患者31例の避妊周期の基礎体温高温相 5～7 日目の子宮内膜組織を同意を得て採取し、内膜日付診に従って一致型（1日以内の遅延）、軽度遅延型（2～3 日）、高度遅延型（4日以上）、萎縮型、glandular hyperplasia に分類した。またそれらに酵素抗体法を用いて、fibrinogen(FG)、fibronectin(FN)、XⅢ因子subunit A（XⅢA）の染色を行った。またこれら接着因子の発現様式と血中プロゲステロン値および子宮内膜経膈超音波像についても比較した。〔成績〕①内膜日付診では、一致型：16例、軽度遅延型：6例、高度遅延型：5例、萎縮型：1例、glandular hyperplasia：3例であった。②接着因子の発現様式：一致型と軽度遅延型では概ね十分な発現が見られた。高度遅延型と萎縮型では発現は不十分であった。glandular hyperplasia では評価困難であった。一致型の発現不全例は体外受精・胚移植施行時、着床不全を示した症例であった。③血中プロゲステロン値：9 ng/ml 以上であることは、接着因子の発現の必要条件ではあるが十分条件ではなかった。④子宮内膜経膈超音波像：接着因子の発現不全例では内膜像が低輝度であるものが認められたが、子宮内膜の厚さはいずれも8 mm以上であった。

〔結論〕当科における不妊患者31例の子宮内膜組織診において9例もの異常例が見られ、それら内膜における接着因子の発現も不十分なものが多かった。原因不明不妊においては子宮内膜組織診を必ず施行し、できれば接着因子の発現検索を行うことが望ましいと思われた。

73

卵胞内精子注入法の有用性に関する検討

弘前大学医学部産科婦人科学教室

○横山良仁、相良守峰、樋口 毅、藤井俊策、斎藤良治

【目的】卵胞内精子注入法(Direct Intra-Follicular Insemination;DIFI)は、その経済性のためAIHとIVFの中間的不妊治療法となり得るかどうかが、各施設での成績が報告されているが、一定の見解には至っていない。当教室ではDIFI法により2例の妊娠を経験し、その有効性について検討した。【対象・方法】対象は卵管・子宮不妊を除外し、AIHを3回以上施行しても妊娠に至らなかった男性不妊10例15周期、免疫性不妊4例7周期、内膜症1例1周期、原因不明1例4周期である。卵胞径が18mm以上となった時点でLHサージ(+)の例ではhCG投与24時間後、LHサージ(-)の例ではhCG投与36時間後に80%Percoll法で洗浄・濃縮した精子をGPMで洗浄・調製し、経腔超音波ガイド下に主席卵胞へ注入した。【結果】対象の平均年齢は33.0±4.7歳、不妊期間は72.7±35.7ヵ月、DIFI法までのAIH回数は6.1±2.3回であり、2症例にIVF-ETの既往があった。原発性不妊は62.5%、続発性不妊は37.5%であった。排卵誘発法は自然周期37.0%、クロミッド(CC)周期25.9%、hMG周期29.6%、CC-hMG周期7.5%であった。注入した運動精子数は、男性不妊例では6.2±5.9×10⁶でその他は54.3±30.6×10⁶であった。妊娠は2例に認められ、症例当り妊娠率は12.5%、周期当り妊娠率は7.4%であった。妊娠した2例はいずれも男性不妊例で、1例は7年間の続発性不妊症例で乏精子無力症のためAIH9回施行後、CC-hMG周期で3回目のDIFIにて妊娠、注入運動精子数は1.0×10⁴であった。もう1例は6年間の原発性不妊症例で精子無力症のためAIH7回施行後、1回のIVF-ET歴があったが、hMG周期1回目のDIFIで妊娠に至った。注入運動精子数は10×10⁶であった。【考察】①比較的低濃度の精子で妊娠に至ったが、男性不妊以外での妊娠例はなく、至適精子濃度の検討が必要と思われる。②妊娠例2例ともhMGでの排卵誘発例であり、DIFI法では卵巣の過剰刺激が有効と思われる。③妊娠例2例とも難治性不妊症例であり、DIFI法は特に男性不妊症例で有効な治療法になり得ると思われる。

74

D I F I 法により双胎妊娠となった一例

横浜市立大学産婦人科

○飯塚麻紀、堀 裕雅、近藤芳仁、遠藤方哉、山口 肇、植村次雄、水口弘司

私たちは80%Percoll攪拌密度勾配法(Percoll法)を応用した精子洗浄濃縮によるAIHによっても妊娠に至らない症例に対してDIFI法(Direct Intrafollicular Insemination)を行い、双胎妊娠となった症例を経験したので報告する。【症例】37才1G1P H1、12月 hMG-hCG+AIHによる女児を分娩。以後、hMG-hCG+Percoll+AIHを計6回施行したが妊娠しなかった。H6、2月hMG-hCG+Percoll+DIFI法を施行。4個の卵胞内に精子を注入し、当初3個のGSが認められたが1個は消失し、現在双胎として妊娠継続中である。当科におけるDIFI法の対象はPercoll+AIHを5回以上施行しても妊娠に至らない男性不妊9例13周期、男性不妊のない1例3周期であった。平均卵胞径が18mm以上になった翌日Percoll法により精子を洗浄濃縮後αMEMにて洗浄、運動精子を10×10⁶/mlに調整した後50~100×10⁴/卵胞の濃度で経腔超音波ガイド下に注入した。対象の年齢は平均36.4±4.5歳、不妊期間67.0±30.3月、Percoll法+AIH回数7.3±2.3回であった。女性側の不妊因子は排卵障害50%、黄体機能不全・潜在性高PRL血症40%で原発性不妊60%、続発性不妊40%であった。排卵誘発法は自然周期18.7%、クロミッド周期12.5%、hMG-hCG周期68.8%であった。Percoll法前後の精子数はそれぞれ18.0±9.2×10⁶/ml、17.7±9.9×10⁶/ml運動率は58.4±22.1%、88.3±7.2%、運動精子数は10.0±5.4×10⁶/ml、16.0±9.3×10⁶/mlであり、運動精子数の増加率は約1.6倍であった。妊娠は1例で、症例別妊娠率10%、周期別妊娠率6.25%であった。【結論】DIFI法は簡便に外来で施行できること、IVF-ETより安価にできること等から、受精可能な男性不妊患者に対しての有効な治療法と考えているが、まだ症例数も少なく妊娠率も低いため今後妊娠率向上のため、更に症例数を増やし、排卵誘発法や至適注入精子数等の検討が必要である。

75

当帰芍薬散、ユベラにより結婚8年目に妊娠した症例

第二出雲市民病院 産婦人科 金田 健一

症例は38才で、原発性不妊症。大学病院、その他総合病院を5年間通院するも妊娠せず。当科には3ヶ月通院して妊娠。

その間の検査及び治療内容。精液検査、正常。子宮卵管造影術、正常。血中LH、FSH、PRL、 E_2 、Progesterone値から黄体機能不全と診断。甲状腺機能、副腎皮質機能共に正常。最終月経日、平成6年1月6日から1週間。排卵推定日は尿中エルチェック、微量エストロゲンからBBT18日目。その2日後から、当帰芍薬散、ユベラを共に1日3回14日間投与。BBT27日目と29日目の2回、HCG3000IUを筋注。平成6年2月21日、妊娠反応陽性、膣式超音波でG.S確認。妊娠2ヶ月6週3日と診断。

平成6年6月20日現在、妊娠6ヶ月23週4日で胎児心音良好、妊娠中毒症、貧血もなく順調。HCG3000IU筋注は他医療施設でも施行しているので着床には当帰芍薬散が大きく作用していると思われる。

76

ハムスターの卵母細胞の成熟課程におけるERの動態

○岡田 昭子、猪俣 賢一郎、(東邦大第二解剖)
白石 浩一、宮崎 俊一 (東京女子医大第二生理)

ハムスター卵の受精刺激に伴う Ca^{2+} の急激な増加はsERの Ca^{2+} storeから、 IP_3 を介して動員される事などが明かにされた(Miyazaki et al 1992)。しかしsERの卵成熟課程における動態については不明な点が多い。そこでハムスターの卵母細胞のERを経時的にTEM観察した。さらにERを染色すると報告(Terasaki et al 1991)されている DiIを、生きている細胞内に注入した後にレーザー顕微鏡の連続断面法による蛍光像も観察した。方法；成熟雌ハムスターにPMSGとhCGを各々25iu投与しhCG投与後16時間までに原始卵胞卵や排卵後の卵母細胞などを回収した。TEM観察には1%タンニン酸、2%グルタル、2%FA、カコジル酸液による固定後、さらにグルトンの1% OsO₄固定を施し、脱水後にエポン包埋して超薄切片を観察した。Cumulus cellを酵素とpipetteの操作により除去した卵に、DiIをsoybean oilに飽和溶解してmicroinjectorを用いて微小滴を注入した。その後30分培養後レーザー顕微鏡で観察した。結果；TEM像ではhCG後1時間の卵核胞期(GV)の卵の表層に近い領域に塊状に集積したER様構造が所々に認められた。また有窓層板が散見されこれに接した部位からERが遊出していると思われる像がしばしば観察された。Prometa-Meta I期になると、ER様の集塊は卵表層のほとんど全周囲を覆って存在しその厚みも増加した。またDiIの注入卵でも蛍光像は表層に特に豊富に観察された。成熟卵のTEM像では、ERは卵細胞膜の直下にまで上昇し表層顆粒に接しているものが認められ、表層部にも細胞の内部にもほぼ均一に存在しDiI蛍光像と一致した。考察；TEMで観察されたER様構造の集塊はDiI注入後の蛍光像とよく一致したことからERであると考えられる。従って、卵核胞崩壊期までに有窓層板等によって表層に分布するERが増加し、未成熟卵と成熟卵ではERの分布動態が著しく異なる事が明かとなった。

77

ダナゾール懸濁液局注療法に関する検討

大阪市立住吉市民病院産婦人科*、大阪市立大学医学部産科婦人科学教室
 竹林忠洋*、藤野祐司、松岡逸子、伊藤文俊、濱田和孝*、荻田幸雄

〔目的〕近年、子宮腺筋症、ならびに子宮筋腫に対しても偽閉経療法としてダナゾールを用いた薬物療法が試みられている。その1つとして、副作用を最大限減少させ、しかも最大効果的な局所濃度を得るべく、ダナゾール懸濁液（以下DZS）の子宮頸部への局注療法を創案し、子宮腺筋症、ならびに子宮筋腫に対して応用し、その有用性に関して検討したので報告する。〔対象ならびに方法〕大阪市立大学医学部倫理委員会の承認の上、患者のインフォームドコンセントを得て、子宮筋腫手術症例において、DZS子宮頸部局注によるDZSの子宮内組織移行を検討するとともに、外来受診の子宮腺筋症、ならびに子宮筋腫症例に対してDZSを子宮頸部に局注し、その臨床症状の推移について検討した。〔成績〕子宮頸部に投与されたDZSは投与後1時間程度でまず子宮内膜に移行するとともにその後卵巣へ移行する事が明かになった。一方、子宮筋層への移行は軽微であった。DZS子宮頸部局注療法における卵巣機能に関しては月経期のFSH、LH値においては、有意な変化は認められなかった。さらに、子宮内膜組織に対する影響を投与前後の子宮内膜組織診により検討すると、DZS局所投与により子宮内膜腺組織の萎縮を思わせる所見が得られた。一方、子宮内膜組織プロゲステロンレセプター濃度（PR）は平均 $80.1 \pm 65.2 \text{ fmol/mg protein}$ 、エストロゲンレセプター（ER）濃度は $66.5 \pm 63.8 \text{ fmol/mg protein}$ となり、PRでDZS非投与例の $355.0 \pm 134.4 \text{ fmol/mg protein}$ に比べ低値を示す傾向が認められた。〔結果〕子宮頸部に局所投与されたDZSは子宮内膜組織に直接作用する事が示唆された。

78

子宮腺筋症を有する不妊症患者の治療成績

— ダナゾール経腔投与を中心に —

滋賀医科大学産科婦人科

○山出一郎、竹中 章、須戸龍男、野田洋一

'86.11.から'93.12.までに当科を受診した不妊症患者のうちMRIによる画像診断ないし病理組織診により子宮腺筋症を診断し得た34例の治療成績について報告する。症例は20才～42才（平均31.2才）、平均不妊期間は4.4年、原発性不妊；21例、続発性不妊；13例であった。腹腔鏡施行15例中10例に骨盤子宮内膜症を認めた。34例の腺筋症に対する薬物治療は、Gn-RHa投与；6例、ダナゾール経口投与；8例、ダナゾール経腔投与；14例、その他；12例であった。ダナゾールの経腔投与は月経終了後より100 mg/dayを隔日に腔内投与し、予定排卵の3日前までに1月経周期あたり2～3回を使用した。治療成績は各々に重複例はあるが、Gn-RHa投与・ダナゾール経口投与群には妊娠例はみられず、ダナゾール経腔投与群の6例に妊娠が成立し（分娩；3例、流産；1例、妊娠継続中；2例）、その他（クロミッド投与のみ）の群の1例が子宮外妊娠となった。今回妊娠が成立した子宮腺筋症の7症例は全て子宮は正常大の大きさであった。また、ダナゾール経腔投与群における妊娠例は投与1～3周期の比較的早期に妊娠に至っている。ダナゾール経腔投与症例の中で治療前後にMRI画像診断を施行しえた症例に画像上病状の改善がみられた例が存在した。ダナゾールの経腔投与法はダナゾールの経口投与法に比べ投与量も少なく済み、特に副作用を認めなかった。また排卵周期を抑制しない利点を認める。以上の結果からその作用機序は不明であるもののダナゾールの経腔投与は正常大子宮の子宮腺筋症を有する不妊患者に対して試みる価値のある治療法であると考えられる。

79

マレイン酸メチルエルゴメトリン（メテナリン）投与による粘膜下筋腫の治療：妊娠成立症例の報告

琉球大学医学部産科婦人科学教室

○中里 和正、稲福 薫、東 政弘、金澤 浩二

（はじめに）粘膜下筋腫では、これが有茎性であれば経腔的アプローチによる摘出は比較的容易である。しかし、有茎性でない場合には困難となる。今回、付着部位を有茎性にする目的で粘膜下筋腫に対してメテナリンを投与したところ、虚血性壊死をおこして筋腫が脱落し、その後に妊娠が成立した症例を経験したので報告する。（症例）31才、経妊3回、経産1回 主訴；挙児希望 既往歴；月経困難症や過多月経なし 現病歴；平成4年11月、4年間の続発性不妊にて当科初診。初診時手拳大の子宮を触知した。経腔超音波検査では径5cmの筋腫核を体部後壁粘膜下に認め、子宮鏡検査では子宮腔内に突出し、その約1/2を占める筋腫核を認めた。経過；平成5年2月15日よりメテナリン（3錠／1日）を投与開始したが、3日後に強い下腹痛が出現したため投与を一時中止した。その後、減量（2錠／1日）して投与を再開した。再開後21日目に不規則、灰白色、壊死様の組織の排出を腔内に認め、病理組織検査にて変性壊死に落ちいった筋腫組織であることを確認した。さらに、その27日目に子宮鏡検査を施行したところ、残存した筋腫核は白色調に変色していた。この時点でメテナリン投与を中止とした。超音波検査上は、筋腫核は径3.5cmに縮小していた。まもなく、月経開始となり、約2週間出血が継続し、過多月経による貧血（Hb 6.8）を認めた。さらに発熱（38.5℃）と炎症マーカーの上昇、子宮の圧痛を認め、子宮内膜炎の診断のもとに抗生剤投与による治療を行い、症状は軽快した。その後ブセレリン（900μg／日）を投与し、子宮鏡検査にて子宮の内腔所見がほぼ正常に復古したことを確認して投与を中止した。月経周期は正常に回復し、7月31日より5日間を最終月経として妊娠が成立した。（まとめ）粘膜下筋腫に対して子宮収縮剤を投与し、これを有茎性とするか、これを娩出せしめようとする方法は有効であると思われた。なお、この場合子宮収縮による痛み、および炎症への対策が重要と思われた。

80

子宮筋腫を有する挙児希望婦人の腹腔鏡検査所見—子宮内膜症との関係—

京都府立医科大学産婦人科学教室

藤本泰子、大野洋介、細川健一、近藤徳正、三戸和子、岡田弘二

近年、検査機器の進歩により超音波検査や腹腔鏡検査で小さな子宮筋腫を発見することが多くなったが、このような筋腫が不妊原因であるかどうかは明らかではない。挙児希望婦人に筋腫が認められ、他の不妊原因が除外される時、粘膜下筋腫や子宮内腔を変形させる巨大筋腫であれば不妊原因と考えられるが、漿膜下筋腫や小さな筋層内筋腫の場合明かな不妊原因となるかどうかは問題となる。このような小筋腫が不妊原因と関連しているかどうかを知るために、腹腔鏡検査を行った挙児希望婦人についてその成績および妊娠率をretrospectiveに検討した。対象は平成3年1月から平成6年3月までの3年3カ月間に腹腔鏡検査を行った挙児希望婦人である。これら151例中筋腫を認めたのは22例（14.6%）で、全て小さな筋層内筋腫もしくは漿膜下筋腫で、筋腫が主な不妊原因と考えにくい症例であった。また151例中78例（51.7%）に子宮内膜症を認めた。筋腫と内膜症の合併について調べると、筋腫と内膜症を合併していたのは17例で、筋腫症例には高率に子宮内膜症を合併し、その60%以上が微症内膜症であった。逆に内膜症に筋腫を合併している症例は約20%と低率であった。以上の結果より子宮筋腫を有する挙児希望婦人には内膜症を合併する頻度が高く、合併した内膜症が妊孕性に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

81

子宮内膜症の妊娠成績に対する免疫能の関与

佐賀医科大学産婦人科
高邦会高木病院

宗 完子、松本ゆみ、杉森 甫
中村加代子、野見山真理

子宮内膜症と自己免疫の関与は以前から言われており、血液中に自己抗体を証明する報告も多い。今回血清免疫学的検査を行った症例の腹腔内所見および妊娠成績と、子宮内膜症との関連を検討した。

〔方法〕1990年5月～1994年5月に佐賀医科大学病院において不妊原因検索目的で腹腔鏡を行った245例中、174例に対し免疫学的検査として、血清中のIgG、IgA、IgM、CH50、C₃、C₄、抗核抗体、抗DNA抗体を測定した。全てが正常範囲の症例を正常群(69例)、一種類でも異常値を有する症例を異常群(105例)とし、その中から男性不妊を有する症例を除いた、正常群35例と異常群48例とを対象とした。

〔結果〕子宮内膜症は免疫検査正常群、異常群でそれぞれ68.6%、72.9%に認められ、二群間に差は見られなかった。他の腹腔内所見は、炎症性癒着(正常群5.7%、異常群18.8%)、卵管閉塞(14.3%、6.3%)、卵管水腫(5.7%、4.2%)、PCO(14.3%、6.3%)、正常骨盤腔(5.7%、4.2%)と、炎症性癒着が異常群に多い以外は差は見られなかった。

妊娠は正常群20例(57.1%)、異常群17例(35.4%)に成立した。子宮内膜症の妊娠率は正常群62.5%、異常群34.3%と異常群で明らかに低かった。炎症性癒着の妊娠率は正常群0%、異常群33.3%とむしろ異常群で高かった。

〔考察〕子宮内膜症症例の免疫学的検査異常群では、正常群に比べ妊娠率が低下していた。異常群に対しては正常群よりも積極的な治療が必要と思われた。

82

子宮内膜症のGnRHアゴニスト治療効果の指標としての子宮内膜超音波像について

京都府立医科大学産婦人科学教室

三戸和子、大野洋介、藤本泰子、細川健一、近藤徳正、岡田弘二

子宮内膜症(内膜症)の治療にGnRHアゴニストが用いられるようになって久しいが、現在のところその投与方法は非常に曖昧である。不妊治療を行う立場からみて、腹腔鏡によりはじめて発見される無症状の微小内膜症症例に対しても、一律に24週間の投薬が必要なのか、適切な投与量と投与期間をどのように決定すべきかについて検討した。

我々はGnRHアゴニストの効果を判定するため、当院不妊外来にて内膜症治療中患者の子宮、特に子宮内膜を超音波により観察した。GnRHアゴニスト投与開始後、血中エストラジオール値の急激な低下に続き、一般に子宮内膜はその厚みを減じ、線状あるいは筋層とほとんど区別できない超音波像を示してくる(非薄化と称す)が、これには個人差が大きい。内膜症組織が正常子宮内膜と同様のエストロゲン作用を受けるとすれば、内膜の非薄化は内膜症組織の萎縮を示唆すると考えられる。しかしながら、血中エストラジオール値の低下と内膜超音波像の変化が一致しない症例も認められた。このことから、GnRHアゴニストによる内膜症治療中の超音波内膜像の変化が治療効果の指標となるのではないかと考えられた。

83

子宮内膜症を有する不妊症例に対するIVF-ETの有用性について

東京大学医学部産科婦人科学教室★ 東京厚生年金病院産婦人科※
 ○丸山正統★* 矢野 哲★ 伯野直美★ 高井 泰★ 森田 豊★
 藤原敏博★ 大須賀穰★ 林 直樹★ 堤 治★ 武谷雄二★

【目的】子宮内膜症を有する不妊症例に対するIVF-ETの有用性を検討するとともに、子宮内膜症の卵成熟、受精、着床への影響についても考察を加えた。【対象と方法】1992年と1993年に当科で施行したIVF-ET症例のうち、男性不妊を除外した子宮内膜症患者を対象とした。対照群は子宮内膜症を有しない卵管性不妊患者とした。対照群123周期に対し、子宮内膜症群は65周期であった。IVF-ET施行時の平均年齢は子宮内膜症群 33.3 ± 3.8 歳 (mean $\pm$ SD)、卵管性不妊群 33.8 ± 3.9 歳で両群に差は認められなかった。両群の採卵数、成熟卵率 (成熟卵数/採卵数)、受精数、受精率 (受精数/採卵数)、対移植周期妊娠率等を比較検討した。【結果】採卵数は子宮内膜症群 4.4 ± 3.0 個、対照群 6.4 ± 4.1 個で有意差を認めた。成熟卵率は子宮内膜症群 $37.8 \pm 29.9\%$ 、対照群 $40.9 \pm 27.4\%$ で両群に差は無かった。受精率は、子宮内膜症群 $73.2 \pm 28.0\%$ 、対照群 $70.2 \pm 30.1\%$ で両群に有意差は認めなかった。良好分割卵を使用した対移植周期妊娠率 (chemical pregnancyを除く) は、子宮内膜症群37例中13例 (35.1%)、対照群78例中15例 (19.2%) で、子宮内膜症群に妊娠率が高い傾向が認められた。【考察】子宮内膜症群はIVF-ETにおいて採卵数が少なく、これは子宮内膜症の卵巣への影響によるものと考えられた。しかし、子宮内膜症群における卵の成熟、受精率は対照と比較して差が認められず、子宮内膜症の卵成熟に対する影響はないと考えられた。また子宮内膜症例の妊娠率は卵管性不妊より高い傾向が認められたが、このことより子宮内膜症が卵管性不妊に比較し良好な着床環境を有する可能性が示唆された。

84

チョコレート嚢胞に対する腹腔鏡直視下の各種処置の比較

大阪医科大学産科婦人科, ○佐伯理男, 奥田喜代司,
 山田隆司, 岡崎審, 井本広済, 杉本修

【目的】近年、内視鏡機器の改良や付属器具の開発によって腹腔鏡下手術は開腹手術に匹敵する手術ができるようになってきた。今回、子宮内膜症でもチョコレート嚢胞 (嚢胞) を有する症例を対象とし、腹腔鏡直視下の各種処置の有用性を検討した。

【方法】腹腔鏡直視下手術を行った子宮内膜症190例のうち嚢胞を有する60例を対象とし、嚢胞の内容を吸引、洗浄のみ (A群: 8例)、嚢胞内のエタノール固定 (B群: 24例)、嚢胞摘除術 (C群: 21例)、嚢胞内部の焼灼術 (D群: 7例) に分類し、その再発率、妊娠率を検討した。

【成績】チョコレート嚢胞の処置後の再発はC群 (5%)、B群 (46%)、A群 (50%)、D群 (60%) の順に多かった。不妊合併例の46例中16例が妊娠した。また各種処置別の妊娠率を見ると、D群 (20%) がやや低かったが、A群 (37%)、B群 (39%)、C群 (30%) との間にはほとんど差がなかった。これら症例の付属器癒着をみると、卵管に癒着がない23例中12例 (52%) が妊娠したが、卵管に癒着がみられた23例中4例 (14%) のみが妊娠した。

【結論】チョコレート嚢胞に対する腹腔鏡直視下の各種処置を再発率からみると、嚢胞摘除術が勧められる。一方、妊娠率はA群、B群、C群との間にはほとんど差がなかった。また付属器でも卵管癒着のある例では妊娠率が低く、再癒着の防止や早期の再評価などが必要である。

85

卵巣チョコレート嚢胞に対する腹腔鏡下嚢胞摘出術と内容吸引・電気焼灼術の
比較検討

佐賀医科大学産婦人科 ○松本 ゆみ、宗 完子、杉森 甫
高邦会高木病院 中村加代子、野見山真理

〔目的〕近年、卵巣チョコレート嚢胞に対し腹腔鏡下での治療が種々行われるようになってきたが、そのうち嚢胞摘出術と内容吸引・電気焼灼術を比較し、その有用性を検討した。〔対象〕1990年5月から1994年4月までに当科にて腹腔鏡を施行した症例のうち、卵巣チョコレート嚢胞に対し嚢胞摘出術、又は内容吸引・電気焼灼術を行いその後6か月以上の経過観察が可能であった嚢胞摘出術症例8例、8嚢胞（以下摘出群）と内容吸引・電気焼灼術症例28例、39嚢胞（以下吸引群）を対象とし、再発率、再発までの期間不妊症例ではその妊娠率を比較検討した。〔結果〕両群の臨床的背景は、平均年齢が摘出群 28.8 ± 5.8 才吸引群 30.6 ± 7.2 才。不妊症例は摘出群8例中4例（50%）、吸引群28例中24例（85.7%）と後者に多かったが、平均不妊期間は摘出群 2.8 ± 1.8 年、吸引群 4.6 ± 3.2 年で後者に長い傾向があるも、有意差を認めなかった。経腔超音波断層法で経過観察を行い、再発率は摘出群8例中1例（12.5%）、吸引群28例中17例（60.7%）と後者で明らかに高かった。再発までの期間も摘出群の1例では術後18か月であったが、吸引群では平均2.8か月と後者で早期再発の傾向が高かった。不妊症例における妊娠率は摘出群4例中2例（50%）吸引群24例中16例（66.6%）であったが、今後のフォローアップによって摘出群の妊娠率はさらに向上することが期待される。〔結論〕卵巣チョコレート嚢胞に対する嚢胞摘出術は内容吸引・電気焼灼術に比べ、病理学的検査ができる利点もあり、再発率も低く、有用な治療法であると思われた。

86

チョコレート嚢胞に対する経腔的エタノール注入療法の有用性

—妊孕性温存の観点から—

神戸市立中央市民病院 産婦人科

○山下正紀、塩谷雅英、星野達二、島田逸人、小野吉行、池内正憲、高島英世

チョコレート嚢胞に対する治療は現在過渡期にあると思われる。その一つエタノール注入療法が初めて報告されてから6年が経過した。当科では1992年1月より挙児希望婦人や未婚婦人などの妊孕性温存が必要なチョコレート嚢胞患者に対し、経腔的エタノール注入療法を積極的に進めている。現在までに44症例にこの治療を行い、術後薬物療法を追加し経過観察中である。その結果、(1)44例中43例が術前診断どおりチョコレート嚢胞であったと考えられた。(2)挙児希望症例24例中現在までに12例（50%）に妊娠が成立した。(3)再発は3例（7.0%）に認められ、2回目のエタノール注入を行なった。(4)問題となるような合併症や副作用は一例も認められなかった。

本法は安全で侵襲が少なく、妊孕性温存の点でも優れており有用性の高い治療法であると考えられた。

87

卵巣内膜症性嚢胞に対する経膈超音波下嚢胞穿刺術の検討

東邦大学医学部第2産婦人科学教室

○大熊永子, 川村 良, 田邊勝男, 伊原佐江子,
天明麻子, 三島眞喜子, 奥山輝明, 小倉久男,

子宮内膜症は近年増加傾向にあり、月経困難症、不妊症、卵巣内膜症性嚢胞が問題となり、治療は疼痛の除去と妊娠能の向上を目指して行われ、ホルモン療法と手術療法に大別される。

手術療法では、術後癒着による妊孕性低下が問題となり、出来る限り開腹手術は避けたいところである。

近年、腹腔鏡直視下手術が注目され行われているが、今回我々は、開腹手術、腹腔鏡手術を選択する前段階として、また、薬物療法の期間を短縮する目的で、経膈超音波下卵巣内膜症性嚢胞穿刺術、吸引および、嚢胞内ダナゾール注入を行い、比較検討した。

卵巣内膜症性嚢胞20例に対し、経膈超音波下に、18G、30cmの卵胞穿刺針を用いて嚢胞を穿刺、内容物を吸引し、嚢胞内を生理食塩水で内容が透明になるまで洗浄した。局注例(13例)においては、ダナゾール懸濁オリーブ油を注入した。

穿刺後の妊娠例は20例中6例(30%)であり、その内ダナゾール注入法では13例中5例(38%)と、洗浄法のための7例中1例(14%)より有意に高値であり、不妊患者に対しては注入法が有用であった。再発率は洗浄例、注入例とも約30%で変わらなかった。再穿刺施行例も含め、全ての症例で嚢胞の消失もしくは縮小が得られ、腹腔鏡が必要になった症例は2例、開腹に至った症例はなかった。

卵巣内膜症性嚢胞に対し、開腹手術や腹腔鏡手術よりも、簡便で侵襲の少ない経膈超音波を用いた嚢胞穿刺術を施行し30%の妊娠率を得た。今後、外来レベルで簡単に施行できる処置法として期待できると考える。

88

HSG像解読におけるテレビ観察の意義(造影剤の流れの解析を中心に)

国立横浜東病院 産婦人科

○鈴鹿清美、高野 昇、上杉健哲、小竹和美

【目的】近年、IVF・ET、GIFT、HITさらに顕微受精などが開発され、不妊症治療に大きな福音となっている。しかしその適応については、不明確なまま応用されている傾向がないとは云えない。とくに卵管は些細な変化も不妊につながるかとされ、最近、卵管性不妊因子に対して新しい検査方法が開発、応用されているがなお卵管機能を明確に表現するまでには至らず、複数の方法による検討結果から卵管性不妊診療指針を選択せざるを得ないのが実状と考える。今回テレビ観察下、生殖器腔内を流れ・移動する造影剤の動的な観察も加え、卵管機能の評価も含めたHSGの意義を検討してみた。

【対象ならびに研究方法】最近、テレビ観察・ビデオ収録の上、HSG施行した挙児希望146例を対象に、造影剤の流れの観察も加え、これら症例の臨床経過とも合わせ検討した。HSG撮影は、テレビで観察の上、①造影剤注入、子宮・卵管陰影確認直後②造影剤腹腔流入確認後③管球90°回転、側面撮影④造影剤注入終了5～10分後の4枚とし、テレビ観察としては造影剤の子宮腔の充満、卵管内の流れの様式、卵管拡張・拡大の有無、腹腔流出様式、卵管周辺の拡散の状況などに注目し検討を加えた。

【成績】対象146例中妊娠成立の確認された例は35例24.0%、HSG像のみからのIVF・ET適応は9例6.7%であった。異常の存在を予想させる造影剤の流れの所見を含めた子宮、卵管、腹腔陰影の異常所見の出現率は、それぞれ44%、49%、27%であった。なお妊娠例の3例に卵管陰影軽度拡大、やや噴出様の造影剤の流出が観察されたが2例は子宮外妊娠・卵管温存例であった。

【結語】HSGの撮影方法、読影法を工夫し、より多くの情報を収集し、疑・異常所見を見落とすことなく抽出することにより多少とも卵管機能の異常の推定が可能となり、またこれらの疑・異常HSG所見の抽出は他の諸検査による異常確認のためのスクリーニングとしての役割も大きいと考えられた。

89

若年婦人の骨盤内腫瘍のMRI診断の有用性について

(医)西恵会 西川婦人科内科クリニック

(婦人科) ○中村 享史 片上 佳明 西川 潔

(放射線科) 三宅 日月

経膈超音波装置の発達により骨盤内腫瘍の診断が容易になってきたが、腫瘍の質的診断に関しては未だ不十分である。一方、MRIは内容の性状の評価においては、非常に優れた特性をもつ。特に嚢胞性腫瘍の質的内容及び性状、充実性腫瘍における組織の類推が可能である。組成の差異は信号の差異として示される。MRIでは蛋白濃度によって液体の信号が大きく変動する。また血液、脂肪の信号も特異的であり、これらを含む腫瘍の診断が可能となった。特に婦人科領域において超音波検査にて鑑別が困難であったデルモイド嚢腫とチョコレート嚢腫、子宮筋腫と子宮腺筋症の鑑別が容易になり、更に筋腫の種類、部位の判別にも効用がある。

臨床上重要なのは、腫瘍性の病変の手術適応を的確にすることであり、その意味でMRIは有用で、特に若年性婦人は妊孕性の問題もからみ、術前診断をより正確にすることが大切である。

今回吾々は、平成5年4月から本年5月までに当クリニックに挙児希望を主訴として来院せる患者並びに未婚の排卵障害患者の内、腫瘍の存在を疑わせる77例にMRIを施行したので、その結果を報告する。更にその内、手術適応になったものについてMRIと手術所見との比較検討も述べる。

90

多嚢胞性卵巣症候群患者のクロミフェン反応性の評価における経膈超音波断層法の有用性の検討

島根医科大学医学部産科婦人科学教室

○尾崎智哉、高橋健太郎、岡田正子、内田昭弘、栗岡裕子、北尾學

【目的】多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の治療としてクロミフェン(CC)を用いた排卵誘発法が広く用いられているが、全ての症例に対して有効であるとはいえず、その有効性を予測することは治療法を選択する上で有用であると思われる。今回我々は、経膈超音波断層法(TVS)による卵巣の形態とCCの治療効果の関連性について検討した。

【対象および方法】月経異常を有し島根医科大学附属病院産科婦人科不妊・内分泌外来において内分泌学的検査にてPCOSと診断された47名の患者を対象とした。TVSにより両側卵巣の卵巣体積および径12mm以下の嚢胞数を計測した後、月経周期5日目より5日間CCを50mg/day(最高200mg/dayまで増量)投与した。超音波断層法により排卵前の卵胞の発育を確認し、黄体中期に血清progesterone値が15ng/ml以上であったものをCC有効群とした。CC有効群と無効群についてTVS上の卵巣形態を比較検討した。

【結果】CC無効群における一側の卵巣体積(11.9ml)および嚢胞数(13.0)の平均値は、CC有効群に比し(それぞれ7.9ml, 7.0)有意に高値を示した。卵巣体積が6.2ml以上に増加しているものは有効群 47%、無効群 79%であった。嚢胞数が一側の卵巣あたり10個以上認められたのは有効群 16%、無効群 96%であった。卵巣体積と嚢胞数の両者を組み合わせて評価した場合、無効群で両側卵巣ともに正常範囲であったものは一例も認められなかった。一方、両側卵巣ともに異常値を示したものの96%は無効群であった。

【結論】PCOS患者においてTVSで卵巣あたり10個以上の小嚢胞が認められ、さらに卵巣体積が6.2ml以上に増加している場合CCが排卵誘発に無効である可能性が高く、TVSにより卵巣形態を観察することがCCの有効性を予測することに有用であることが示唆された。

91

IVF-ETにおける経腔カラードブラ法を用いた子宮動脈pulsatility indexの測定

長崎大学産婦人科学教室

○吉田正雄、山下隆則、石丸忠之、松脇隆博、藤下 晃、鮫島哲郎、
増崎英明、山邊 徹

【目的】IVF-ETにおいて、妊娠成立の重要な因子として、受精卵の質と子宮のreceptivityがあげられる。今回我々は、IVF-ET施行予定患者に対し、経腔カラードブラ法を用い子宮動脈および子宮内膜を観察し、同時に血中ホルモンも測定し、妊娠成立との関連性について検討した。

【対象および方法】平成6年1月～6月までに、当科でIVF-ETを施行した20例のうち経腔カラードブラ法を用い子宮動脈のpulsatility index(PI)を測定した9例を対象とした。採卵直前および胚移植直前に子宮動脈血流速度波形を描出し、両側子宮動脈PIを測定した。同時に子宮内膜の最大厚も計測した。また、あわせて血中エストラジオール(E2)およびプロゲステロン(P)も測定し、採卵時と胚移植時での変化を比較した。【結果】IVF-ET施行時に経腔カラードブラ法を施行した9例中5例が妊娠した。採卵時と胚移植時における血中E2/Pおよび子宮内膜厚の変化は、E2/Pの減少、子宮内膜厚の増加を認め、採卵時と胚移植時で有意な差を認めた($P<0.05$)。子宮動脈PIに関しては、採卵時と胚移植時のPIに有意な差は認めなかったが、妊娠群と非妊娠群を比較すると、妊娠群では5例中4例に子宮動脈PIの減少を認め、それに対し非妊娠群では4例中3例に子宮動脈PIの増加を認めた。【考察】採卵時と胚移植時の子宮動脈PIを比較すると、採卵時のPIが高値を示しても胚移植時に減少傾向を認めるものは妊娠しやすく、それに対し採卵時のPIが低くても胚移植時に増加傾向を認めるものは妊娠しにくいことから、子宮動脈PI測定はIVF-ETにおける妊娠成立の予知法の一つとなり得る可能性がある。

92

卵管機能検査としての通気検査の有効性に関する検討

岡山大学医学部産婦人科

○新谷恵司、長谷川淳、青江尚志、木村吉宏、工藤尚文

【目的】妊娠の成立の過程で、卵のピックアップ、受精、受精卵の輸送などの重要な役割を果たしている卵管に対して、その機能を評価する方法が少ない。また、卵管に対する手術後の大きな問題としても、卵管機能の評価方法や評価基準の設定等がある。今回、卵管機能に関する検査の一つとしてよく行われている通気検査の有効性に関して検討を行なってみた。

【対象と方法】対象は、不妊治療患者の内、卵管に対して治療を行なわないで妊娠が成立した19症例（自然妊娠例）と、当科において卵管に対する手術を施行した後、通気検査を実施し妊娠が成立した症例とした。手術を施行した症例の内訳は、子宮内妊娠が成立した8例（子宮内妊娠例）、妊娠が成立したが子宮外妊娠であった4例（子宮外妊娠例）、卵管の疎通性はあるものの妊娠にいたらず体外受精・胚移植で妊娠が成立した2例（体外受精例）であった。通気検査の評価法はそのパターンと卵管通過開始時の圧力（初期圧）と通過時の圧力の変化を検討した。

【結果と考察】通気検査の結果は、自然妊娠例は全例が正常パターンをしめした。その初期圧は63 mmHg、圧力の変化は13 mmHgであった。手術例では、子宮内妊娠例8例の内6例が正常パターンを示したが、子宮外妊娠例では正常パターンをしめしたものは4例中2例であった。体外受精例では1例は正常パターン、1例は混合型を示した。

93

精路の先天異常による無精子症の1例

長崎大学泌尿器科 ○江口二郎、井川 掌、西村直樹、野俣浩一郎
金武 洋、斉藤 泰
桜町病院泌尿器科 広瀬 建

症例は31歳男性。4年間の不妊を主訴に、長崎大学泌尿器科不妊外来を受診。既往歴、家族歴に特記すべき事項なし。精液検査にて無精子。射精液量1.2mlと少なく、pH6.2。精巣容量は、右24ml 左20ml。精管は、両側とも触知可。精索静脈瘤は認めず。内分泌学的には、LH4.2mIU/ml、FSH 7.0 mIU/ml、PRL 5.7mIU/ml、Testosterone 458 ng/dl、estradiol 14 pg/ml。染色体は46XYだった。そこで射精管閉塞を疑い、精巣生検では、Johnsen's mean score 9.2とnormal spermatogenesis。経直腸の超音波上、前立腺にはmidline prostatic cyst認めず、右精囊の拡張はなく、左精囊は描出できなかった。CT上も両側精囊は同様の所見だった。DIPでは、上部尿路に異常を認めず。

以上より、左精囊欠損・右精巣上体での閉塞を疑い、腰麻下に、右精巣上体精管吻合術予定し、両側精管・精囊造影を施行した。両側精管を、精巣上体寄りで切断したが、その切断端に精子を認めず。左精管・精囊造影では、精管は途中で途絶し精囊は造影されなかった。右精管は細く24G針が挿入困難、造影剤が逆流して、かすかに右精路が造影されたのみだった。よって、右精巣上体精管吻合術も断念した。あらためて、精巣上体精子回収法による顕微受精もふくめた人工受精予定とし、それに備えて精巣上体には手をつけなかった。

精囊の欠損あるいは発育不全は、臨床的には不妊症のみを症状とする。精囊のみの欠損例はきわめてまれと考えられていて、発生学的にいても、精管の欠損を合併していることが多く、また精巣上体および尿路系の欠損や発育不全を伴う頻度が高い。若干の文献的考察を加えて報告する。

94

前立腺炎による男性不妊症患者67例に対しての中国漢方を主とした治療効果について

内蒙古自治区中蒙医院
刘秉忠、白仁昌、金朝花

最近、前立腺炎を原因とする男性不妊症の症例が増加しているが、臨床的前立腺炎の治癒に伴って男性不妊症の治癒を見る例も多く見られている。われわれは漢方薬を主に用いて前立腺炎による男性不妊症患者の治療を行ったので、その結果を報告する。

〔対象と方法〕当院外来を、2年以上の不妊を主訴として受診した男性患者67名であり、すべて配偶者は産婦人科的に正常であった。治療前の精液検査では、精子の生存率は60%で運動率は全例で低下していた。また直腸診および前立腺分泌液の検査にて全例前立腺炎を持つことが確認された。薬剤は梔子、

川芎、白芷、大黄を30g づつ1500mlの水に加え500ml まで煎じつめたものを、毎回50ml、40℃まで加温して患者の排便後に6号導尿管を用いて肛門内に注入した。その後、DL-Z電気刺激装置で患者の経穴：曲骨と会陰に通電した。電流の量は患者の耐えられる程度で1回25分間、毎日1回行い、10回を1療程とした。治療中はその他の薬剤は中止とした。

〔治療結果〕前立腺分泌液検査、精液検査および治療5か月以内の妊娠の有無を基準として評価を行い、4療程終了後までに合計43例(64.2%)に妊娠の成立を、また16例(23.4%)に妊娠はないが前立腺分泌液所見の正常化および精液所見の改善を見、合計59例(88.1%)の有効率が得られた。

〔考案〕われわれの行った方法は有効であるが2-3療程の後で有効例が増加してくるのでまず3療程以上の治療が必要である。この治療法は簡便、安価で疼痛などの副作用もなく、広く用いることが出来るものである。最後に、本治療を行った患者では大半の者が皆飲酒歴があり、特に酒を好む者では前立腺炎との関連が強いものと思われ治療中および後の飲酒を控えることが重要なことと思われた。

永遠幸マタニティクリニック, 加藤レディスクリニック*, 富山医科薬科大学医学部泌尿器科**

○高塚亮三, 藤波隆一, 辻敏徳, 豊北美穂, 西美佐, 橋爪淳子, 長井澄絵*
小林一彦*, 寺元章吉, 道倉康仁, 加藤修*, 風間泰蔵**, 片山喬**

〔目的〕ヒト精巣上体精子は特別な処理なしに体外受精が可能なが示されたが、その受精率は低いとの報告もあり、精巣上体精子の妊孕性に関する知見は不足している。本研究において配偶子卵管内移植(GIFT)に用いた精巣上体精子と射精精子に関する諸因子を比較検討し、精巣上体精子の妊孕性に関する知見を得たので報告する。〔方法〕1992年10月から1994年4月までに実施した精巣上体精子を用いたGIFT17症例、17周期と1994年1月から4月までに実施した射精精子を用いたGIFT83症例、83周期を対象とした。精巣上体精子は顕微鏡下で手術的に吸引を行い採取した。精巣上体精子、射精精子ともミニバーコール法で処理後、直ちにcomputer aided sperm analysis (CASA)を行い、精子速度、直進性、Amplitude of lateral head displacementを測定したものをGIFTに供した。GIFTの余剰卵は体外受精を行い、得られた胚は凍結保存した。〔結果〕精巣上体精子を用いたGIFTの妊娠率は47.1% (8/17)で射精精子を用いたGIFTの妊娠率49.4% (41/83)と比較できる成績であった。その余剰卵の体外受精率は精巣上体精子を用いたとき51.9% (14/27)で射精精子を用いたときの69.1% (27/39)に比べ低い傾向にあった。平均精子速度が60 $\mu\text{m/s}$ 未満の射精精子を用いたGIFTの妊娠率は15.4% (2/13)で60 $\mu\text{m/s}$ 以上の場合の妊娠率55.7% (39/70)より有意に低かった。平均速度が60 $\mu\text{m/s}$ 未満の精巣上体精子を用いたGIFTの妊娠率は50.0% (2/4)で60 $\mu\text{m/s}$ 以上の場合も46.2% (6/13)であった。

〔結論〕精巣上体精子の体外受精率は射精精子の場合よりも低い傾向にあったが、GIFTの妊娠率には差がなかった。また緩慢な運動性を示す射精精子ではGIFTの妊娠率が低い、精巣上体精子を用いたGIFTの妊娠率は精子の運動性に依存しない。以上のことより精巣上体精子の妊孕性は射精精子の場合よりも卵管内で改善される可能性のあることが示唆された。

セントマザー産婦人科医院¹, 神戸大学農学部附属農場²

○田中威づみ¹, 田中 温¹, 永吉 基¹, 栗田松一郎¹, 竹本洋一¹,
高崎博幸¹, 井手紀子¹, 有本恭子¹, 井上綾子¹, 岩本智子¹, 楠比呂志²

目的: 精巣上体より直接採取した精子を用いた体外受精, G・ZIFT及び顕微授精は, 閉塞性無精子, 電気刺激法で妊娠に成功しなかった脊損患者, 重症インポテンツ, 膀胱内より回収した精子に運動性を認めない逆行性射精患者にとって有効な治療手段として, 普及しつつある。しかし, 外科的に精子を回収する手術の回数には限度があり, この欠点を補うためには, 精巣上体精子の凍結保存が必要となった。我々は凍結精巣上体精子を用いた体外受精で妊娠, 分娩に成功した2症例を第8回国際体外受精会議で報告した。その後, 精巣上体精子の凍結保存の臨床成績を向上させる目的で検討を行い有用な結果をえたので報告する。方法: 精巣上体管より採取された精子を約100 μl のHTFのdropに入れ, 精子数と運動率を観察する。この精子浮遊液をセラムチューブに移し, 等量のカタラーゼ添加ETCG (カタラーゼ, ペニシリンGカリウム, 硫酸ストレプトマイシン, 卵黄, トリス, グルコース, クエン酸から成る。)を加え30℃の温水に浸漬し, 冷蔵庫内に保存した。(4℃)この時90分から120分で4℃に下降するように, 大きな容器を使用した。24~36時間の低温保存の後, このセラムチューブ内に兼子らのKS-II液を等量加え, 覚拌後従来の凍結方法と同様に液体窒素の表面2 cm上のガス内で凍結させ, そのまま液体窒素内に投入し凍結を完了した。使用時は30℃の温水で融解し, 10%非働化血清添加HTFを加え, 1回遠心した後, 100~200 μl のHTFのdrop内に注入し, 精子の状態を観察した。凍結融解後直ちに媒精し, Medium-changeは媒精後4~6時間後に行った。結果: ①融解後30~60分の間は精子の運動率は凍結前と大差なく従来法よりも良好であったが60~120分後には運動率は50%に低下しその後徐々に減少していた。②凍結時の精子運動率の悪い症例でも最初の30~60分間は運動性が従来法よりも良好に保持された。③平均凍結保存回数は10回であった。④37周期で凍結融解した精巣上体精子を用いて治療を行ない10周期に妊娠に成功した。(IVF・ET 8例, ZIFT 2例) 対周期妊娠率27%であった。

97

当院における精巣上体精子回収法の臨床成績

セントマザー産婦人科医院

○栗田松一郎, 田中 温, 永吉 基, 田中威づみ, 竹本洋一, 高崎博幸,
井手紀子, 有本恭子, 井上綾子, 岩本智子

体外受精を中心としたARTは次第に一般の不妊治療の中に普及してきたが、重度の男性不妊症、とりわけ①先天性閉塞性無精子症、②手術侵襲など後天性閉塞性無精子症、③脊髄損傷、④慢性前立腺炎や精囊腺炎などによる重症精子無力症、⑤回収洗浄精子運動率0%の逆行性精射、⑥直腸癌手術時の神経損傷や糖尿病などによる重度のインポテンツ、などの症例に対してはいまだに一般的に確立した治療方法はない。当院では4年前よりそのような症例に対して精巣上体より直接精子を回収する手術を行っており、これまでに妊娠・分娩に至った症例について報告する。手術前に睾丸の大きさやLH・FSHを測定して造精機能の有無をみる。手術は妻の採卵当日に腰椎麻酔やガス麻酔で行なう。精巣上体を露出し、50~150 μ 内径のガラス針で精巣上体管を穿刺、毛細管現象と内圧により上昇してくるごく少量の精子を採集する。怒張している場合は頭部や体部から容易に比較的多量に採取できるが、そうでない症例は尾部を露出して穿刺する。以前に人工精液瘤などの手術が行なわれている症例では癒着が強固なため精巣上体の露出が困難で、また精巣上体管の中の精子の状態も炎症などでかなり悪くなっていた。採取した微量の精子は直ちに顕微鏡下に数と運動などを確認し、今回使用する以外に余剰精子を5~10回に分けて凍結保存を行なう。凍結融解後や、新鮮精子でも数や運動率の不良な症例では顕微授精法を行なう。平成6年6月15日までにこの手技による妊娠例は、卵を戻した203例中54例(ET24, G・ZIFT30:凍結精子10)あり、そのうち顕微授精法を行なった妊娠例は7例(ET6, ZIFT1:凍結6)であった。精巣上体精子を用いた卵細胞質内精子注入法(ICSI)は現在4例が妊娠継続中であり、うち1例は凍結保存した精巣上体精子を用いてICSIを施行後、ZIFT法で妊娠している。

98

精巣上体精子による体外受精の臨床成績

○田 珠相、山中邦人(河内総合病院泌尿器科)

森本義晴、森本武晴(同不妊センター) 松本 修(県立加古川病院)
藤沢正人、岡田 弘、守殿貞夫(神戸大学)

【目的】閉塞性無精子症に対する治療の1つとして精巣上体精子を用いた方法が報告されている。当院においても1992年から精巣上体精子による体外受精を行っており、その臨床成績を報告する。

【対象と方法】1992年5月から1994年5月まで閉塞性無精子症の13症例15回に行った。13症例の内訳は、精管欠損4例、鼠径ヘルニア術後2例、精巣上体体尾部欠損3例、精管閉塞4例である。方法は、腰麻下に陰囊上方に切開を加え陰囊内容を脱転の上、手術用顕微鏡下に先端径130ミクロンのガラスピペットを直接精巣上体管に穿刺する。穿刺は、尾部から行い、運動精子が得られない場合には順次頭側に向かって穿刺を繰り返した。

【結果】1例を除き全例に運動精子が得られた。14回中10回が受精し、その内7例に胚移植を行った。2例に妊娠を認め1例は胎内死亡となったが、もう1例は双胎で現在も妊娠継続中である。

【考察】精巣上体精子においても体外受精を併用する事により、十分受精能力があることが確認された。本法は閉塞性無精子症に対する有力な治療法になると考えられた。

99

サテライトシステムを利用した精巣上体精子の体外受精成績

○宮崎和典(宮崎レディースクリニック)

北村雅哉, 高田 剛, 清原久和(健保連大阪中央病院 泌尿器科)

松宮清美, 並木幹夫(大阪大学 泌尿器科)

〔目的〕 精巣上体精子を用いた体外受精は、閉塞性無精子症などの男性不妊症の治療法として確立されつつあるが、良好な妊娠率を得るために泌尿器科、産婦人科の密接な連携が重要である。当院では設備、人的要因より、精巣上体精子の採取を他院で行い、当院に搬送し体外受精を行うというサテライトシステムを用いており、その方式による体外受精の臨床成績を検討した。

〔方法〕 精巣上体精子吸引法 (Micro Epididymal Sperm Aspiration: MESA) は大阪中央病院にて、泌尿器科医により行い、ただちに当院に搬送。一方、当院では引き続き採卵後、体外受精を行った。媒精はおもに micro drop 法にて行い、回収精子の少ない場合は顕微授精を行った。14 例 16 周期に MESA を行い、1 例ではその際、凍結保存した精子を用い顕微授精を行った。

〔成績〕 MESA を行った 14 例 16 周期のうち精子を回収出来たのは 11 例 13 周期 (78.6% 周期) で、そのうち 6 例 7 周期が受精し、6 例 6 周期に胚移植を行った。3 例 3 周期 (50%/ET) と凍結精子で顕微授精を行った 1 例 1 周期に妊娠が成立し、1 例が出産、他例も現在順調に経過中である。

〔結論〕 精巣上体精子の採取と体外受精を、別施設で行うサテライトシステムにおいても充分満足のいく臨床成績が得られること。その場合、凍結保存精子の利用、顕微授精法が重要な手段となることが示唆された。

100

AIHにおける排卵誘発法の検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室

○豊成由佳、武内裕之、中野義宏、阿久津聡、三橋直樹、桑原慶紀

〔目的〕 不妊治療におけるcontrolled ovarian hyperstimulation (COH) には、clomiphenおよびhMG-hCG療法が一般に行われている。当教室においては、AIHに際してまずclomiphen療法を4周期行い、妊娠に至らない場合にはhMG-hCG療法を施行している。今回、AIH施行例における排卵誘発法の有用性を検討した。

〔方法〕 対象は1993年1年間に当教室においてAIHを行った313周期で、clomiphen誘発群 (C群) 264周期、hMG-hCG誘発群 (H群) 49周期であり、平均年齢はC群で33.1歳、H群では35.5歳であった。AIHはすべてPercoll 2層法で行った。両群間におけるAIH時の注入運動精子数 (精子数 $\times$ 運動率 $\times$ 精子培養液量)、妊娠率および合併症の発生率について検討した。

〔結果〕 注入運動精子数はC群で 22.8×10^6 、H群で 20.5×10^6 であった。妊娠率はC群では8.7% (23/264)、H群では8.2% (4/49) であり、多胎妊娠は両群とも各1例ずつで、入院を要する卵巣過剰刺激症候群はC群では1例もなく、H群では2例に認めた。

〔結論〕 clomiphenによる4周期のAIHによって妊娠にいたらなかった症例を対象としたH群において、C群に遜色ない妊娠率を得ていることは、COHの方法としてhMG-hCGの有用性が示唆されたが、一方で多胎や卵巣過剰刺激症候群の発生率が高かった。AIHにおけるCOHの第1選択はclomiphenであり、一定期間の後に妊娠しない症例をhMG-hCG療法の適応とすれば良いと思われた。

101

各種排卵誘発法に対する卵巢の反応性の年齢別検討

順天堂大学医学部産婦人科学教室

○阿久津 聡、中野 義宏、豊成 由佳、武内 裕之、三橋 直樹、
桑原 慶紀

＜目的＞ 女性の結婚年齢は徐々に上昇しており、排卵誘発に対する卵巢の反応性の加齢に伴う変化がしばしば問題となる。患者年齢が41才以上になると卵巢の反応性が低下することは文献的にも明らかである。ここでは受診患者数の多い30代ではどのように変化するかを調べた。

＜対象と方法＞ 平成5年6月から1年間に不妊外来を受診した26才から40才までの排卵誘発を行った105人の患者延べ427周期を(1)26～30才、(2)31～35才、(3)36～40才の3群に分けた。

clomiphene 100mg x5日間で排卵誘発を行ったものは、E2 peak値、発育卵胞数、黄体中期P4値、妊娠率を比較した。またhMGを用いた例では、hMG総投与量と投与日数について検討した。

＜結果＞ clomiphene周期におけるE2 peak値(pg/ml)は(1)1117.9±936.6、(2)1179.3±918.2、(3)878.2±522.2であった。発育卵胞数は(1)2.67±1.79、(2)2.84±1.35、(3)2.51±1.05であった。P4値(ng/ml)は(1)46.7±34.0、(2)40.0±25.6、(3)34.9±21.6であった。妊娠率は患者あたり(1)24.2%、(2)26.7%、(3)29.4%、1周期あたり(1)5.8%、(2)7.1%、(3)9.3%であった。これらのどの結果にも有意差は認められなかった。次にhMG周期におけるhMG総投与量(IU)は、(1)1540.5±217.5、(2)1800.0±2730.9、(3)1684.5±301.5であり、投与日数(day)は、(1)10.27±1.45、(2)12.00±1.83、(3)11.23±2.01とやはり有意差はなかった。

＜結論＞ 36～40才の群の不妊女性をそれ以下の年齢の群と比べた場合、排卵誘発時のfollicle genesis、luteal function、oocyte qualityに差は認められない。

102

難治性無排卵症に対するレーザーの治療成績

名古屋第一赤十字病院産婦人科

○木村 隆、石塚隆夫、風戸貞之

HMG-HCG療法による卵巢過剰刺激症候群(以下OHSS)は、卵巢腫大、血液濃縮等により、時に重篤な後遺症をもたらす事がある。我々は1990年以来、クロミフェン抵抗性無排卵症のうち、HMG-HCG療法でOHSSをきたす症例に対し、レーザー治療を行ない良好な成績を得ている。〔対象〕当科不妊患者のうち、①クロミフェンによる排卵無効、②HMG-HCG療法にて卵巢腫大、腹水貯留など中等度から重度のOHSSをおこし入院をくり返す、無排卵症患者13例を対象とした。年齢は24から37才。MSIは1例27.2以外は正常であり、特に肥満傾向はなかった。腹腔鏡下、又は開腹時の形態的所見のみにより、多嚢胞性卵巢症候群(PCO)と診断した症例は7例、他は正常卵巢であった(non-PCO)。内分泌検査では、FSH、LH、testosterone、DHEA-S、androstenedione等を測定した。今回の分類によるPCOは必ずしもすべてが従来の診断基準による典型的なPCOではなかった。〔方法〕YAGレーザーを用い、腹腔鏡下又は小開腹により、PCO群に対しては主にvaporization、non-PCO群に対してはdrillingを行なった。〔結果〕レーザー治療後早い症例では9日後に自然排卵があった。排卵はBBT及び血中プロゲステロン値により確認した。PCO群では7例中6例に、non-PCO群では6例中5例に排卵があり、それぞれ3例ずつが妊娠した。妊娠例のうち1例は治療後3年排卵が持続した後妊娠した。〔結論〕レーザーのPCOに対する作用機序は、局所の血行、内分泌動態を改善し、排卵を惹起させるとされているが、形態的に正常な卵巢に対する作用機序等、不明な点も多い。しかし上記の我々の成績からも、レーザー治療は、特に生命予後にも重大な影響を与える難治性無排卵症に対し、高率に自然排卵を回復させる事ができ、有効な治療方法と考える。

103

GnRHアゴニストによるゴナドトロピンサージの惹起とその排卵誘発効果

鳥取大学産科婦人科学教室

○大野原良昌、吉岡宏記、吉田壮一、片桐千恵子、池成孝昭、
谷川正浩、戸田稔子、原田 省、寺川直樹

〔目的〕 GnRH analogue のアゴニスト作用を用いてゴナドトロピンサージを惹起し、その排卵誘発効果を検討した。

〔方法〕 視床下部性無排卵症患者 7例 8周期を対象とした。クロミフェンと hMGによる卵巣刺激を行ない、主席卵胞径が 18-20 mm に達した時点で、酢酸ブセレリン 300 μ g を 4時間毎に 3回経鼻投与した。ブセレリン投与後の血中LH、FSH、E₂、progesterone(P) 濃度を経時的に測定するとともに、12-24 時間毎に超音波断層法を行って排卵を観察した。

〔結果〕 すべての周期でブセレリンの初回投与 4-8時間後にLHおよび FSHサージを認め、平均ピーク値はそれぞれ 146 ± 53 、 31 ± 15 mIU/ml (mean $\pm$ SD) であった。7周期において排卵が観察された。ブセレリンの初回投与の後、およそ 36-48時間の間に排卵の起こることが確認された。平均黄体期長は 13.1 ± 1.2 日、黄体期中期の P値は 47 ± 28 ng/ml であった。1周期において妊娠が成立した。

〔結論〕 内因性ゴナドトロピンサージを促すGnRHアゴニスト投与法は、排卵誘発治療において有用であると考えられた。

104

排卵を有する不妊婦人に対するhMG療法の有用性に関する検討

埼玉医科大学総合医療センター産婦人科

○石原理、斉藤正博、須野敏章、竹田省、木下勝之

原因不明の不妊症に対するhMG療法の有効性が報告されているが、無排卵症婦人に対するhMG療法で、OHSSや多胎妊娠の頻度が高いことから、排卵を有する婦人ではそのリスクが一層増大する可能性が考えられる。そこで、原因不明不妊患者に対するhMG療法の有用性を検討するため、当科のhMG投与周期における妊娠症例99例のうち、無治療でも排卵を有する症例(A群)68例に注目し、各種の原因による無排卵症例(B群)31例とその背景、妊娠の転帰などを比較し、以下の結果を得た。

1. A群の平均年齢は 30.2 ± 4.1 才でB群(26.9 ± 2.3 才)と比較して有意に高く、不妊期間が長い(A: 2.7 ± 1.9 年, B: 1.9 ± 1.1 年)が、両群間でhCG切替時の卵胞数、卵胞径、hCG投与量に差を認めず、当科における妊娠に至る全治療期間、hMG投与周期数にも差がなかった。

2. A群の自然流産率は13.2%とB群(6.5%)の2倍高値であった。多胎は、B群で39%に認めたが、A群では8.8%に過ぎず、品胎以上はA群では一例もなかった。

3. II度以上の卵巣過剰刺激症候群(OHSS)は、A群で11.8%に発生したが、これはB群(25.8%)の半数以下であった。

以上より、排卵を有する不妊症例に対するhMG療法は、卵胞管理を厳重に行うことで、品胎以上の多胎妊娠やOHSS等の大きな危険を伴うことなく、妊娠成立に至らしめる可能性を有することが示唆され、AIH同様IVF-ET施行前に考慮すべき治療であると思われる。

105

卵胞液における Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) の検討

富山医科薬科大学産科婦人科教室
 ○副田善勝, 長谷川徹, 山口圭子
 新居 隆, 泉 陸一

〔目的〕排卵機序における Matrix metalloproteinases (MMPs) の関与が報告されてるが, その inhibitor である TIMP 動態についてはほとんど報告がない。今回我々は卵胞液, 顆粒膜細胞における TIMP-1 動態について検討した。

〔方法〕short protocol/GnRHa+HMG での卵巣刺激法で IVF 採卵施行時 (HCG 10,000 IU 筋注 34 時間後) に, 患者の同意を得て採取した血清, 卵胞液および卵胞洗浄液より 70% percoll を用いて顆粒膜細胞を分離し, 実験に用いた。血清, 卵胞液中の LH, FSH, PRL, Progesterone, estradiol, TIMP 濃度は EIA 法にて測定した。顆粒膜細胞は, 10% FBS 添加 DMEM 培養液を用いて, 3×10^5 cell/ml 濃度にて培養し, 48 時間後より IL-1 β , TNF α の各濃度を含む培養液に交換し, 48, 96 時間後の上清中の TIMP 濃度を同様に測定した。

〔成績〕卵胞液中の TIMP 濃度は 2169 ± 584 ng/ml (Mean $\pm$ SD) であり, 血清 TIMP 濃度 215 ± 37 ng/ml に比して高濃度を示した。卵胞液中の TIMP 濃度は, LH, FSH, PRL, estradiol 濃度と有意な相関を認めなかったが, progesterone 濃度の増加にともない TIMP 濃度が高まる傾向を認めた。

顆粒膜細胞の培養では TIMP の産生を認め, IL-1 β , TNF α 添加群では濃度依存性に, 培養液中 TIMP 濃度の増加を認めた。また, TNF α 添加群は IL-1 β 添加群に比して有意に TIMP 濃度の上昇を認めた。

〔結論〕卵胞液における高 TIMP 濃度の存在は, 顆粒膜細胞からの産生が考えられ, また progesterone や IL-1 β , TNF α のサイトカインがその調節に関与していることが示唆された。

106

卵胞液中における成長ホルモン結合蛋白 (GHBP) に関する検討

東京大学産科婦人科、国立小児病院内分泌代謝科*

○林 直樹、藤原 敏博、堤 治、武谷雄二、堀川玲子*、田中敏章*

〔目的〕GH の gonadotropic な作用は、肝臓からの IGF-1 分泌を介する間接的な機序の他に卵巣への直接作用も注目されている。ところで最近、GH 受容体の細胞外ドメインと共通の構造をもち、血清中で GH と結合することにより GH の作用を modulate する GHBP の存在が明らかとなっている。今回、体外受精患者の採卵時における卵胞液内の GHBP 濃度を測定したので報告する。

〔方法〕体外受精患者 8 名より採取した総数 31 個の卵胞液ならびに採卵時に採取した血清中の GHBP 濃度を LIFA 法 (ligand-mediated immunofunctional assay) により測定した。なお全例、long protocol 法による buserelin/hMG/hCG により過排卵刺激をおこない、hCG 注射後 35 時間にて採卵した。

〔成績〕1. 卵胞液中には $3 \sim 32$ ng/ml の濃度で GHBP が存在した。2. 卵胞液中と血清中の GHBP 濃度には正の相関 ($r=0.85, p<0.001$) が認められ、ほぼ等量であった。3. 個体内における卵胞間では卵胞液量や卵の成熟度による差異はなく、ほぼ同等に存在した。

〔結論〕卵胞液中には血清中とはほぼ同等の GHBP が存在することが示された。GH の卵巣への直接作用があるとすれば卵胞内でその作用を modulate している可能性が示された。

107

排卵過程における卵巣内angiotensin II受容体の特性

杏林大学医学部産婦人科学教室、*同解剖学教室

○ 荏部正隆、小山典宏、安藤 索、吉村泰典、中村幸雄、秋元義弘*、平野 寛*

【目的】卵巣内にはrenin-angiotensin系の存在することが明らかとなり、家兎卵巣においてはangiotensin II(Ang II)がprostaglandin生合成を亢進することにより排卵を惹起することを報告した。今回排卵過程における家兎卵巣内Ang II受容体の生化学的特性およびその局在について検討し、Ang IIの選択的拮抗剤を用いて受容体のサブタイプを同定した。【方法】(1) hMG刺激後の家兎卵巣より粗膜分画を抽出し、 ^{125}I -[Sar¹,Ile⁸]-Ang IIとAng II analogを用いてradioreceptor assay(RRA)を行い、Ang II受容体の生化学的特性を検討した。(2) hMG刺激後の家兎卵巣において、 ^{125}I -[Sar¹,Ile⁸]-Ang IIを用いてautoradiography(AR)を行い、Ang II受容体の局在を検討した。【成績】(1) ^{125}I -[Sar¹,Ile⁸]-Ang IIを用いたRRAにより、家兎卵巣膜分画には高親和性のAng II受容体が存在した(IC₅₀; [Sar¹,Ile⁸]-Ang II $\sim 10^{-8}\text{M}$ 、synthetic Ang II $\sim 10^{-7}\text{M}$ 、saralasin $\sim 10^{-9}\text{M}$)。また、Ang II受容体のサブタイプであるAT₁に特異的なCV11974ではIC₅₀; $\sim 10^{-7}\text{M}$ 、AT₂に特異的なPD123319ではIC₅₀; $\sim 10^{-8}\text{M}$ であった。(2) ^{125}I -[Sar¹,Ile⁸]-Ang IIを用いたARにより、家兎卵巣では顆粒膜細胞および莢膜細胞にAng II受容体の局在を認めた。そしてAng IIの選択的拮抗剤を同時投与すると、CV11974では変化がないのに対し、PD123319では ^{125}I -[Sar¹,Ile⁸]-Ang IIの結合が抑制された。【結論】排卵前家兎卵巣内には、顆粒膜細胞および莢膜細胞にAng II受容体が局在し、Ang IIに高親和性を示した。この受容体はAng II受容体サブタイプのなかでAT₂受容体であることが明らかとなった。

108

I V F - E T においてPlasmanate Cutterを使用し妊娠に成功した1症例

大阪市立大学医学部産科婦人科教室

○伊藤 文俊、藤野 祐司、西尾 順子、中岡 幸治、梅咲 直彦、荻田 幸雄

体外受精における培養液には、通常患者血清を添加し使用されている。これは培養液のpHを安定させ、また微量栄養素の供給を目的としている。しかし、患者血清を用いる場合、その患者の状態により血清の質が異なると考えられる。また、患者が子宮内症などを持っている場合は患者血清に変わる物質による代用を推奨する報告もある。そこで、今回、I V F - E T スケジュール前に、患者血清がマウス体外受精系において卵の受精、分割に及ぼす影響について検討し、その結果をふまえ血清代用物(今回の症例においてはPlasmanate Cutter)をI V F - E T 時に使用し、妊娠成立を見た症例を経験したので報告する。症例; 35歳、不妊期間9年、子宮内膜症並びに卵管性因子による不妊症との診断により、過去I V F - E T を3回施行したが妊娠成立を得られなかった。移植胚はいずれもCumulative Embryo Score(CES) 分類でGrade 3~4であった。今回、4回目のI V F - E T 前にあらかじめマウス体外受精系において、培養液に10%患者血清を用いた系で検討したところ受精率42%、分割率10%であったが、6%Plasmanate Cutter添加系では受精率56%、分割率82%と、10%患者血清添加培養系に比べ高い受精率、分割率となったため、I V F - E T においてPlasmanate Cutter添加H T F で培養し、CES; Grade 1の胚2個を移植し、2週間後、妊娠成立を確認した。血清の卵細胞並びの受精に及ぼす影響の詳細は未だ不明であり、この患者血清の何が受精ならびに分割に作用しているかは、今後の研究課題ではあるが、Plasmanate Cutter使用により優良な移植胚が得られたことは、今後、I V F - E T 前に患者血清を用いたマウス体外受精系で検討しI V F - E T における培養系の個別化を計ることが妊娠率向上に役立つと考えられる。

109

培養液における代用血清使用試み (1)

永遠幸マタニティクリニック、加藤レディースクリニック*

○藤波 隆一、橋爪 淳子、西 美佐、辻 敏徳、豊北 美穂、長井 澄絵*

小林 一彦*、高塚 亮三、寺元 章吉、道倉 康仁、加藤 修*

【目的】当院では、IVFおよびGIFT培養液に血清又は臍帯血清を使用してきた。この度、代用血清としてプラスマネート(Plasmanate cutter, Bayer; Osaka)を使用し、GIFTの成績を血清使用と比較検討した。

【方法】1993年11月より1994年5月において当院にてGIFTを施行した102症例107周期を対象とした。卵管内移植数は2~8個とし、余剰卵はIVFし、受精胚は原則として凍結保存とした。

【結果】107周期中、妊娠症例70周期(65.4%)、妊娠継続例53周期(49.5%)であった。血清使用例53周期、プラスマ使用例54周期における妊娠継続率は、それぞれ28周期(52.8%)、25周期(46.3%)と有為差はないと考えられた。また、4症例、8周期 に対しては、1周期目は血清使用、2周期目はプラスマ使用しており、1周期目は妊娠1症例、流産1症例、妊娠継続例0症例も、2周期目は妊娠4症例、流産1症例、妊娠継続中3症例となっている。

【考察】現状では、代用血清として、プラスマ使用が有用とする結果は導かれなかったが、血清の代用として十分使用できるものであると考えて良いと思われる。また、流産率が低いなど、有用と考えられる結果もあり、今後も検討していきたい。

110

Synthetic Serum Substitute の初期胚発育に及ぼす影響

山形大学医学部産科婦人科

平山寿雄、木原香織、森亜紀子、広井正彦

【目的】初期胚発育に用いられる培養系には、蛋白補充物質としてbovine serum albumin (BSA), 排卵前患者血清、臍帯血清などが主として使用されているが、最近合成血清の開発がなされ体外受精・胚移植をはじめとするassisted reproductive technology (ART) に応用されつつある。Synthetic Serum Substitute (SSS)は albumin, α -, β -globulinを主成分とした蛋白補充物質である。SSS添加の培養環境が初期胚発育に及ぼす影響を、マウス1細胞期胚を用いて検討した。【方法】B6C3F1雌マウスをPMS(10IU)+hCG(10IU)にて過排卵処置し、同系雄とin vivoで受精させた前核期胚をhCG投与後18時間で回収した。培養系はHuman tubal fluid (HTF) medium を用いて、対照はBSA 5mg/ml添加群(BSA群)とし、SSS 10%(V/V)添加群(SSS群)の2群において、マウス1細胞期胚の胚盤胞への発育率、hCG投与後72、96、120時間の胚の卵割球数を指標として評価した。胚卵割球数の測定は各培養時間後固定、Hoechst33342にて染色し蛍光顕微鏡にて行った。【結果】胚盤胞への発育率はBSA群144/152(94.7%)、SSS群166/174(95.4%)であり両群間に有意差はみられなかった。また、hCG投与後72、96、120時間後の胚卵割球数はBSA群で 11.7 ± 0.7 , 54.1 ± 0.8 , 131.6 ± 1.8 , SSS群で 15.2 ± 0.4 , 60.1 ± 0.9 , 132.5 ± 1.9 ($M \pm SE$)とSSS群で胚発育段階の初期において卵割促進効果がみられた($p < 0.05$)。【結論】in vitroの初期胚発育環境において、SSSは胚発育初期段階の発育促進効果を示すことが明かとなった。SSSは他の血清等に比して調整も極めて簡便であり、初期胚発育を促進することより、ATRへの応用も期待できるものと思われる。

111

マウス初期胚発生に及ぼすM-CSFの影響

京都大学医学部婦人科学産科学教室

○高畠桂子 後藤康夫 神崎秀陽 高倉賢二 中山貴弘 姫野隆雄 森 崇英

＜目的＞M-CSF(macrophage colony stimulating factor)は単球の増殖、分化を促進するサイトカインであるが、生殖系においては、子宮内膜に存在し絨毛細胞の増殖を促進していると報告されており、初期胚に対しても何らかの影響を及ぼしている可能性があると考えられる。そこで今回我々はマウス初期胚の培養系にM-CSFを添加しその胚発生に与える影響を検討した。

＜方法＞PMSGおよびhCGにて過排卵処理した4週令ICR雌マウスをhCG投与65時間後に屠殺し、卵管より8細胞期胚を回収した。0.3%BSA加BWW液にhuman recombinant M-CSFを0、2.5、25、250ng/mlの濃度で添加した4種類の培養液を作成し、回収した胚を5%CO₂ in air 37℃の条件下に培養した。培養後22時間目に4,5-³[H]-Leucineを1.85MBq/ml加え2時間後に³[H]の取り込み量を測定した。また同様の方法で³[H]-Thymidineの取り込み量に与えるM-CSFの影響を検討した。さらに、antiM-CSF抗体10μg/mlをM-CSF 0, 25, 250ng/mlとともに添加し、³[H]-Leucineの取り込み量を測定した。

＜結果＞1) 胚による³[H]-Leucineの取り込み量は、M-CSFの添加によりdose dependentに増加した(2.5ng/mlで1.30倍、25ng/mlで1.64倍、250ng/mlで1.98倍)。2) 胚による³[H]-Thymidineの取り込み量も、M-CSFの添加によりdose dependentに増加した(2.5ng/mlで1.25倍、25ng/mlで1.28倍、250ng/mlで1.52倍)。3) antiM-CSF抗体は単独では³[H]-Leucineの取り込み量に影響を与えなかったが、M-CSFによる³[H]-Leucineの取り込み量の増加をcontrol levelにまで抑制した。

＜結論＞これらのことよりM-CSFは8細胞期以降の胚発生に促進的に働いていることが示唆された。

112

当院における顕微授精の臨床成績

西山産婦人科

西山幸男、沖浦理恵子、布引千浩、井谷恵美

〔目的〕顕微授精法の発展にともない、従来まではほぼ妊娠不可能とされてきた重症男性不妊症の症例でも妊娠が望める時代となった。そこで当院でも重症男性不妊症に対して卵卵腔精子注入法(SUZI)による顕微授精を行い、若干の妊娠、出産例を得たので報告する。

〔方法〕対象は1993年1月から1994年5月までの間で、従来の媒精法では受精しなかったり、重症乏精子症の為、通常のIVF、ETからは除外されていた31例、42周期で、ナリシゲ社製の器具にてピペットを作製し、パーコール法にて回収した精子を5～20匹卵卵腔に注入した。

〔結果〕SUZIを行なった総卵子数は336個で、受精卵は154個(45.8%)であったが、そのうち52個は多精子受精であった。分割卵は102個(30.4%)で、42周期のうち38周期に対して平均2.7個の胚移植を行なった結果5例が妊娠した。その中の1例はすでに1994年3月に男児1名を出産し、2例は妊娠継続中でそのうちの1例は双胎妊娠であった。また、残りの2例のうち、1例は心拍出現後流産しあとの1例はGS出現後流産に終わった。

〔結論〕SUZIには多精子受精の問題があり、注入する精子数を何匹にするかが大変難しく、妊娠しても流産率がやや高いように思われたが、胚移植あたりの妊娠率(約13%)については決して悪いものではなく、SUZIは一般診療所レベルでも重症男性不妊症に対して有用な治療手段になり得ると考えられた。

113

当科における顕微授精の臨床成績

高邦会高木病院産婦人科、佐賀医科大学産婦人科*
 ○野見山真理、中村加代子、宗完子*、松本ゆみ*、杉森甫*

[目的]従来の体外受精(IVF)で受精を認めないあるいは受精率が低い男性不妊の症例に対して顕微授精法を行った。その臨床成績を報告する。[期間および対象]1993年9月より1994年5月までの間に当科において顕微授精を行った9症例、21周期、123個の卵を対象とした。精液性状不良でかつIVF未受精の症例が7例、受精率が平均10%以下の症例が2例で、対象のIVFの受精率(受精卵数/採取卵数)は2.2%(2/90)であった。[方法]顕微授精法は透明帯部分開口術(PZD)、囲卵腔内精子注入法(SUZI)、および卵細胞質内精子注入法(ICSI)を施行した。ICSIはSUZIにより受精しなかった症例に対し行なった。卵巣刺激法はGnRH agonist-hMGを用いた。hCG投与後36時間で経腔採卵し、採取卵は3~5時間前培養を施した後0.1%ヒアルロニダーゼにて卵丘細胞を除去した。精子はswim up洗浄濃縮法または80%パーコール法、または洗浄濃縮法のみにて調整し、PZDおよびSUZIの際は主にCa ionophore A23187を用いて 1μ M 10分間処理した。卵はパラフィンオイルを重層した非働化臍帯血清加HTFのdropletに移し、micromanipulatorを用いて顕微授精を施行した。PZD、SUZIの際は0.1~0.2Mのsucroseを添加した。顕微授精後約18時間培養(37℃, 5%CO₂, 5%O₂, 90%N₂)し受精の有無を判定した。主に採卵後2日目に子宮内に胚移植した。[成績]卵生存率、受精率(受精卵数/生存卵数)、多精子受精率(多精子受精卵数/受精卵数)、分割率(分割卵数/正常受精卵数)はそれぞれ、PZDでは80.8%(21/26), 33.3%(7/21), 0%, 100%、SUZIでは98.6%(69/70), 26.1%(18/70), 22.2%(4/18), 92.9%(13/14)、ICSIでは92.6%(25/27), 12.0%(3/25), 0%, 100%であった。以上顕微授精により卵123個中28個(22.8%)が受精し、9例中7例(77.8%)、21周期中14周期(66.7%)に胚移植を行い、SUZIを施行した1例に単胎妊娠が成立した。[結論]従来の体外受精で受精を認めないあるいは受精率が低い男性不妊症例に対して顕微授精法は有効な手段と考えられた。

114

当センターにおける顕微受精法の成績

河内総合病院不妊センター

○山崎雅友、森本義晴、長尾幸一、宮田広敏、小山竜一、當仲正丈
 井上 剛、森本武晴

関西医科大学産科学婦人科学教室 榎木 晋、堀越順彦、榎木 勇

【目的】体外受精は多くの医療機関で行われ、体外受精技術はヒトにおける不妊症治療として、重要な地位を占めるようになった。しかし、体外受精による不妊治療にも限界があり、乏精子症や精子無力症など男性因子の場合には成功率が特に低いことが知られている。当センターでは、Severe male factor infertilityの治療の一環として、囲卵腔内精子注入法(以下SUZI)の導入を行った。さらに新しい試みとして、本年より通常体外受精で受精確認の際Metaphase II卵(以下M II卵)であるにもかかわらず未受精であったものに対し、1日遅れで卵細胞質内精子注入法(以下ODO-ICSI)を行い、以下の成績を得たので報告する。【方法】卵子は、採卵後3~4時間前培養を行い、0.1%hyaluronidaseで1分間処理し、Cumulus-corona complexを除去した。SUZIに用いた精子は、60分間液化後、Percoll液に1ml重層撹拌して、1800rpmにて30分間遠心した。次に上清除去し、5%非働化血清加HTFを用いてSwim-upを行い、上清採取後2mg/ml Pentoxifyllineを等量加え30分間処理した。ODO-ICSIには前日体外受精に使用した精子を用いた。【結果】92年11月~94年3月までに40症例、56周期のM II卵303個にSUZIを行い、受精率130/303(42.9%)・多精子受精率52/130(40.0%)・分割率111/130(85.4%)・胚移植率34/56(60.7%)で、臨床的妊娠は対胚移植比5/34(14.7%)であった。ODO-ICSIは、受精率15/42(35.7%)・多精子受精率0/15(0.0%)・分割率10/15(66.7%)・胚移植率6/20(30.0%)であった。【考察】SUZIはSevere male factor infertilityの為、体外受精適応から除外されていた症例に対して有効な方法であると考えられた。しかしながら、多精子受精の発生が高率であり、今後注入精子数の決定方法および先体反応惹起法の確立が急がれる。

115

当科における卵細胞質内精子注入法による顕微受精の成績

福島県立医科大学産婦人科

○矢沢浩之 片寄治男 柳田薫 星和彦 佐藤章

【目的】重症の男性因子、原因不明の受精障害例など通常の体外受精でも受精が成立しない不妊患者にとって顕微授精法は究極的な治療法であるといえる。当科でも、1992年2月より、卵細胞質内精子注入法(ICSI)を中心とした顕微受精による治療を行っており、これまでに6例が妊娠し、うち2例が分娩に至っている。当科での方法、成績について報告する。【方法】採卵のための卵巣刺激法は通常の体外受精と同様に行った。採卵後、0.025% hyaluronidase処理で顆粒膜細胞を除去して卵を準備した。精子の回収は可能な限りswim-up法を用いて行い、回収不能な場合は遠心洗浄のみとした。ICSIは、注入精子の処理、および卵の活性化刺激法により以下の4群の方法を行った。(A)不動化精子注入・卵細胞質吸引刺激。(B)不動化精子注入・A23187処理(10 μ M, 5min.)。(C)不動化精子注入・DC pulse印加(375V/cm, 100 μ sec)。(D)運動精子注入・卵細胞質吸引刺激。精子の不動化は液体窒素中での凍結融解を2回繰り返して行った。これらの4通りの方法によるICSIを施行し、以後の生存率、受精率、分割率の比較検討を行った。【結果】ICSI施行後の卵の生存率は、A, B, C, D群でそれぞれ、75%, 77%, 86%, 83%であった。対生存卵あたりの受精率はそれぞれ、60%, 63%, 64%, 57%であり、分割率は、22%, 41%, 45%, 51%であった。妊娠例は、B群で2例、D群で4例得られており、このうち、B群の1例が本年1月に健常女児を分娩し、D群の1例が6月に健常男児を分娩するに至っている。【考察】不動化精子を用いたICSIでは、A23187およびDC pulse処理による活性化誘起法により良好な分割率が得られた。また、運動精子を用いる場合、不動化精子を用いたときより高い分割率が得られた。これらのことより、現時点では、回収可能であれば運動精子を用いるのが良いという結論が得られているが、さらに今後の検討が必要であろう。

116

当科における顕微受精(SUZI, ICSI)の臨床成績

八千代病院 産婦人科

○越知正憲, 上田 眞, 丸山邦之, 近藤正利

目的: 過去の通常の体外受精(IVF)で受精しなかった症例又は、重症男性不妊症の症例に対し、我々は1993年11月より卵細胞質内精子注入法(SUZI)もしくは卵細胞質内精子注入法(ICSI)を行なったので、今回この臨床成績について報告する。

対象: SUZIは41名(43周期), ICSIは27名(27周期)に実施した。

方法: 精子調整は80%パーコール法にて回収して、50%卵胞液又はペントキシフィリン1mg/ml添加 α -MEMで培養した。採取卵は0.1%ヒアルロニダーゼとピペッティングにて顆粒膜細胞を除去した。卵細胞質拡大のためにスクロース等の処理はしなかった。直径6ミクロン以下の注入用ピペットを作成し、SUZIでは3~5個の運動精子を卵細胞内に、ICSIでは1個の運動精子を細胞質内に注入した。

結果: (1)SUZIを43周期、313卵に施行し、受精率(2前核)20.7%(65/313), 多精子受精率11.1%(35/313), 分割率87%(57/65), 胚移植率69.7%(30/43), 妊娠率(移植当り)20%(6/30)であった。(2)ICSIは27周期、196卵に施行し、無傷率90.3%(177/196), 受精率22.0%(39/177), 分割率79.4%(31/39), 胚移植率74.0%(20/27), 妊娠率(移植当り)10%(2/20)だった。

結論: SUZIおよびICSIは通常の体外受精では受精に至らない重症男性不妊症に対し、有効な治療法であると考えられる。

117

卵細胞質内精子注入法の臨床成績

セントマザー産婦人科医院

○田中 温, 永吉 基, 栗田松一郎, 田中威づみ, 竹本洋一, 高崎博幸,
井手紀子, 有本恭子, 井上綾子, 岩本智子

目的: 精子数 10×10^4 /cc以下, 精子運動率10%以下の重症男性不妊症に対しては透明帯切開法や細胞内精子注入法(ICSI)を用いても受精率は低値である。今回, 我々はこのような症例に対して, 卵細胞質内精子注入法(ICSI)を行い, その臨床成績について検討したので報告する。方法: ①卵子処理—採卵後5~6時間, 3ガスを通した10%非働化血清添加HTF内で前培養を行ったのち, 0.1%ヒアルロニダーゼ内で顆粒膜細胞を外した。さらに放射冠をマイクロピペットで除去した。②精子処理—液化精液を低比重単層パーコールで分離した。精子数が 1×10^4 /cc以下の場合は, 10%非働化血清添加HTFを加え, 遠心分離した。運動率が0%の場合はK-III液(NaCl , NaHCO_3 , CaCl_2)で液化精液を洗浄後, ガラス毛细管内に充填, 両端を閉鎖し, 40℃の温水中に30分浸漬し, 先体反応を誘起した。③顕微操作—異物が少く運動精子が十分認められる場合は, 7.5%PVP (ポリビニルピロリドン)の小drop (20~50 μ l)に注入した。異物が多く又は運動精子が少ない場合はHepes-HTFの中drop (50~100 μ l)の中にまず注入し, 精子を1匹吸引し, 隣の7.5%PVPの小dropに移し, この中で3~5回精子を洗い, 異物を除去した。卵子は第一極体が12時か6時方向となるように把持した。形態学的に正常な精子を選び, 尾部より一匹吸引した。卵細胞質内に精子を確実に注入できるように奥深く刺入し卵細胞質を吸引後注入した。薬物を用いた卵子の活性化は施行しなかった。精子注入後10%非働化血清添加HTF内で培養し症例に応じZIFT又は子宮内移植を行った。結果: ①核小体を持った前核は精子注入後6~16時間で出現した。受精率は67% (1149/1715) で2PNは91% (1046/1149), IPNは5% (57/1149) 3PNは4% (46/1149)であった。受精を認めた6周期でZIFT (受精卵4個)を行い2例で単胎妊娠を認めた。②受精を認めた胚の73% (795/1089)が分離した。③分割を認めた146周期で胚移植を行い31周期で妊娠に成功した (枯死卵2例, 子宮外妊娠1例, 品胎1例, 双胎2例, 単胎25例)。対周期妊娠率21%。④運動率0%の症例(4例)の受精率は31% (13/42)で分割率は62% (8/13)であった。

118

卵細胞質内精子注入法による難治性男性不妊の治療成績

加藤レディスクリニック、* 永遠幸マタニティクリニック、** 明治大学農学部

○小林一彦、長井澄絵、辻敏徳*、豊北美穂*、道倉康仁*、尾川昭三**、加藤修

最近、ベルギーの Van Steirteghemらは、ヒト卵子の細胞質内に精子を直接注入することにより 64.2%の卵子が受精し、それらの移植の結果、高率で(39.2%)妊娠が成立したと報告している (1993, Hum. Reprod., 8:1061-1066)。演者らは、その卵細胞質内精子注入法 (intracytoplasmic sperm injection; ICSI) の手技をさらに改良することにより、著しい成功率の向上を認めたので報告する。

〔方法〕採取した卵子は、アルブミン加HTFで4~8時間前培養し、次いでヒアルロニダーゼ処理により裸化した。第1極体を有する成熟卵のみを顕微授精に供した。精子の洗浄は、ミニパーコール法を用いて行われ、回収した精子を顕微授精施行時まで2~6時間前培養した。ICSIには、運動精子のみを用い、卵細胞質内に確実に注入した。精子の先体反応および卵子の活性化を誘起するための特別な処理は、行わなかった。精子注入から12~16時間後、2個の前核および第2極体が観察された卵子を正常な受精卵と判定し、胚移植まで更に約24時間培養を続けた。

〔結果〕GnRHαとhMGの併用による過排卵処理を行った38周期では、合計298個の卵子がICSIに供された。そのうち290個(97.3%)で受精が認められ、培養により234個(80.7%)が正常に分割した。すべての周期で、胚移植が施され、17例(44.7%)で妊娠が確認された。クロミフェンで卵巣刺激を行った40周期では、合計64個の卵子のうち62個(96.9%)が受精し、分割した58個(93.5%)の移植により37例中8例(21.6%)が妊娠した。

〔結論〕今回顕微授精を用いた症例は、すべてが奇形精子症を伴った重度の乏精子症、もしくは精子無力症であるのだが、回収した精子を卵細胞質に直接注入することにより、全症例で殆どすべての卵子を受精させることが可能であった。従って、ICSIは、重症の男性不妊に対する画期的な治療法であることが明らかである。さらに、ヒト配偶子においては、精子の受精能獲得(capacitation)、先体反応、透明帯通過、卵細胞膜との融合という一連の現象を経なくとも、単に精子を卵細胞質内に置くことにより受精が成立するということが示唆された。

119

Improved I. C. S. I. 法による妊娠例の検討ならびに今後の対応

加藤レディスクリニック *永遠幸マタニティクリニック

○加藤 修 小林 一彦 辻 敏徳* 藤波隆一*

高塚 亮三* 寺元 章吉* 道倉 康仁*

わずか2ヶ月足らずの短期間に25例の臨床的妊娠の成功が得られた我々のImproved I. C. S. I. 法に関し、成功例の解析とその結果より、予測される本法の適応の拡大その他を検討してみたい。

〔症例の解析〕 妊娠例における年齢は41歳を最高とし、平均32.9歳±3.2、不妊期間は6.3年±1.2である。I. C. S. I. 適応は超乏精子症19例、重症運動無力症6例であり、その原因として造精障害12例、閉塞性狭窄性6例、重度精液感染症7例であった。25例中1例は子宮外妊娠中絶、1例はpreg. 7w2dの流産となり、他の23例はongoingである。(流産率 $2/25 \times 100 = 8\%$)

移植胚数は6個迄とし余剰胚は凍結保存とした。本抄録のdead line 迄に判明せる18名の総胚移植数は67個、B-scopeでの胎嚢確認数は31胎($31/67 \times 100 = 46.3\%$)と驚異の高率のimplantation rate が得られ、その内訳は5胎1例、4胎2例、品胎0例、双胎3例、単胎12例であった。

〔考察〕 improved I. C. S. I. 法における受精率の高さ(97.2%)は云う迄もなく、移植胚の良好度、高妊娠率(32%) 高着床率(46.3%)ならびに低流産率(8%)と信じられない結果が得られた。現時点で testicular failure による azoospermia 以外の全ての難治性男性不妊は解決されたと考える。すなわち今迄の薬物療法、物理的療法、手術療法等是不必要になると思われる。良好卵が1個あれば1匹の精子で妊娠可能なこの分野の急速な進歩を踏まえ、今後、自然周期での良好卵の採取、移植胚数の制限による多胎の予防、閉塞性azoospermiaにおける安全かつ簡易な blind epididymal sperm aspiration, testicular sperm の回収等、近い将来の課題として提起したい。

120

精巣上体精子成熟過程における sperm acrosin system の変化に関する検討

鳥取大学泌尿器科

○山本泰久, 小野孝司, ニコロオス・ソフィキティス, 宮川征男

【目的】 精巣上体精子成熟過程において精子は多様な変化をするが sperm acrosin system の変化に関する報告はない。今回我々は精巣上体精子成熟過程における sperm acrosin system (free acrosin, proacrosin, acrosin inhibitor) の変化についてモルモットを用い検討した。

【方法】 成熟雄モルモットの精巣、精巣上体頭部、体部、尾部より精子を採取し、Goodpasture の方法を用いてそれぞれの部位の sperm acrosin system を測定した。

【結果】 free acrosin は精巣上体尾部において精巣、精巣上体頭部、体部に比べ上昇しており、とくに精巣と尾部の差は有意であった。また proacrosin は精巣に比べ精巣上体頭部、体部において低下しており尾部と精巣の差は有意であった。inhibited total acrosin は精巣において尾部より有意に高かった。

【考察】 精巣上体精子成熟過程において sperm acrosin system 内の量的な変化が生じ、精巣上体尾部の精子は精巣上体の他の部位の精子より高い妊孕性を持つことが示唆された。

121

TEST-York Buffer にての前培養精子の先体反応状況と精子受精能について

山形大学医学部産科婦人科
木原香織、平山寿雄、広井正彦

【目的】TEST-York Buffer (TYB) は精子の低温短期保存液として開発されたが、精子受精能獲得、先体反応を促進するとの報告もみられ、子宮内授精、体外受精・胚移植などの生殖医学領域で臨床応用されている。TYB中にての低温前培養が精子先体反応、更にそれらの精子受精能にどのような影響を及ぼすかを検討した。【方法】妊孕性の確認された男性(N=12)の精液を実験に用いた。精子調整は、Percoll法にて運動良好精子を分離後、Human Tubal Fluid (HTF) mediumを用いて精子浮遊液を作成し、37℃にて24時間前培養を施行した。また精液の一部は等量のTYBと混ぜ、4℃にて20時間保存した。その後Percoll法にて精子調整後、HTF中にて37℃で4時間培養を加えた。精子先体反応状況は、FITC-PNAを用いて精子頭部をラベルし、蛍光顕微鏡下に染色パターンを分析した。SPAは透明帯除去ハムスター卵を用い、精子との共培養後の精子侵入率をもって判定した。【結果】FITC-PNA蛍光染色にての精子頭部の染色パターンは先体部に強染色を示すⅠ、先体部がやや蛍光を示すⅡ、赤道域のみ蛍光を示すⅢ、先体部無蛍光のⅣ、が見られた。HTF中にての精子染色パターンは前培養0時間でⅠ:91.5±6.7%, Ⅱ:1.8±1.5%, Ⅲ:2.9±2.1%, Ⅳ:3.8±0.5%, 24時間でⅠ:82.3±7.1%, Ⅱ:6.3±3.3%, Ⅲ:2.9±2.1%, Ⅳ:6.1±1.9%であり、SPAの精子侵入率は36.1±6.5%であった。TYB20時間及びHTF4時間前培養の精子染色パターンはⅠ:63.9±7.1%, Ⅱ:12.2±3.3%, Ⅲ:14.3±5.3%, Ⅳ:9.4±1.3%でありSPAの精子侵入率は66.5±7.8%であった(M±SE)。【結論】TYBを用いた精子前培養により、精子頭部は先体反応開始直前あるいは精子卵子の融合に関連性のある赤道域を温存するような状態に同調され、精子受精能の向上に影響を及ぼしていることが示唆された。

122

ベントキシフィリンの精子先体反応率におよぼす影響

広島大学医学部産科婦人科学教室
○絹谷正之、上田克憲、濱田朋子、新甲 靖、竹中雅昭、大濱紘三

【目的】近年、精子受精障害の重要な原因として先体機能の異常が注目されている。一方、受精障害例の体外受精時に、キサンチン誘導体であるベントキシフィリン(PF)で精子処理を行ったところ受精率が改善したとの報告がみられる。そこで今回我々は、PFが先体機能におよぼす影響について検討した。【方法】妊孕性の確認された健康男子15例および不妊外来受診患者46例の計61例を対象として、提供者の同意のもとに以下の検討を行った。swim up法により回収した運動性良好精子を5時間前培養し、その後、①PF (3.6mM) (+), Ca ionophore A23187 (CI) (10μM)(+), ②PF(-), CI(+), ③PF(+), CI(-), ④PF(-), CI(-)の4群に分け、それぞれを添加後1時間培養した後にFITC-PSAおよびHoechst 33258の2重染色により精子先体反応率(%AR)を測定した。【結果】61例の%AR (mean±SD)は、①群(32.1±20.8%)、②群(20.9±14.7%)、③群(7.9±12.9%)、④群(4.5±5.4%)の順に有意な高値を示した。さらに、61例を妊孕性確認例と未確認例、精液所見正常例と精液所見異常例あるいは%ARにもとづく受精能正常例(%AR;17%以上)と受精能異常例に区分して検討したところ、いずれの群においても①群の%ARは②群に比較して有意な高値を示した。【結論】PFは%ARの増加作用を持ち、この作用はPFを単独で添加した時に比較してCIとの併用時により強力であることが判明した。したがって、PF添加による体外受精時の受精率の改善は、精子運動能の改善のみならず精子先体機能の改善にも一因があると考えられた。

123

各種顕微授精法における精子性状と胚についての検討

セント・ルカ産婦人科

○安東桂三, 広津留恵子, 片山道子, 長木美幸, 宇津宮隆史

【目的】今回, 男性不妊因子に対して顕微授精法〔透明体部分切開法(以下PZD)・卵卵腔内精子注入法(以下SUZI)・細胞質内精子注入法(以下ICSI)〕を行った。これらの精液性状と受精した胚の関係について検討を行ったので報告する。

【方法】PZDを15症例・SUZIを26症例・ICSIを4症例に行い, 射出精液およびswim-up処理後の性状を観察した。精子はinsemination-medium中のsperm-survival-test(以下SST), Blutstan(第一化学薬品)染色およびPenetrak(Serono)値を測定し, 胚はEmbryo-Grade(Bourn-Hall-Clinic)で検討した。

【結果】同時期におこなったIVF-ET(normal-insemination)群を対象にした場合, swim-up処理後の有効精子はnormal群 $12.5 \pm 10.4 \times 10^6$, PZD群 $3.24 \pm 4.05 \times 10^6$, SUZI群 $0.56 \pm 2.34 \times 10^6$, ICSI群 $0.03 \pm 0.03 \times 10^6$ となり, SST-score(SSTをscore化して検討した)(試案)ではそれぞれ 2.38 ± 0.88 , 1.17 ± 1.09 , 0.85 ± 1.08 , 0 ± 0 となった。またpenetrak値では $48.6 \pm 10.7\text{mm}$, $39.6 \pm 11.2\text{mm}$, $31.4 \pm 12.6\text{mm}$, $12.5 \pm 17.7\text{mm}$ となった。染色による形態観察ではacrosome-reactionを反映しているといわれる頭部のピンクに染まった精子の変化率は $52.2 \pm 10.6\%$, $45.5 \pm 8.42\%$, $47.3 \pm 8.1\%$, $41.3 \pm 8.50\%$ となった。卵については930, 228, 412, 26, が採卵され, それらの成熟卵は41.6%, 43.0%, 48.5%, 15.4%(mature-oocyte/total-oocyte)であった。受精率は53.3%, 25.4%, 33.0%, 26.9%であり, 受精した胚のEmbryo-Gradeは 1.75 ± 0.82 , 2.27 ± 0.85 , 2.13 ± 0.78 , 2.33 ± 0.47 となった。

【考察】顕微授精を施行するには各種検査の必要性があると考えられ, 顕微授精法はPZDよりSUZIが有効であった。極端な男性不妊においてもICSIにより受精が認められ, より有効であると思われた。

124

Sperm Check Assayによる抗精子抗体検出について

聖マリアンナ医科大学産婦人科

○石田徳人, 近藤俊彦, 松本一彦, 大野祐子, 斉藤寿一郎, 渡辺潤一郎, 工藤芳子, 阿部有子, 石塚文平, 雨宮 章

【目的】Sperm Check Assay(SC)による抗精子抗体検出の特性を検討する目的で, 蛍光抗体法をスタンダードとして, SCを精子不動化試験, ELISA法と比較した。

【方法】対象は当院不妊外来通院の48組の夫婦で, direct SC(精子)は洗浄液を加え, 遠心後, 上澄を破棄後再懸濁し, 再度洗浄液を加え同様の操作を3回行った。運動精子が 2×10^7 以上になるように調整後, 精子浮遊液 $5 \mu\text{l}$ とlatex beads(LB) $10 \mu\text{l}$ を混合し, $10 \mu\text{l}$ をとり200倍の位相差顕微鏡で観察した。100個の運動精子を対象にし, LBの付着率と付着部位を観察した。indirect SC(血清)はコントロール精子と検査血清をインキュベート(37℃/30分間)し, 血清中の抗精子抗体をコントロール精子に付着させた後に, direct SCと同様の操作・観察をした。LBの付着率が17%以上を暫定的に陽性と判定した。精子不動化試験は磯島らの方法に準拠して行い, SIV値2.0以上を陽性とした。ELISA法はAlkaline phosphataseを用いたZER社の方法を用い, 75U/ml以上を陽性とした。蛍光抗体法はL.G.Youngの方法を用い, 20%以上を陽性とした。

【結果】48組の夫婦の男性48名中, direct SC陽性は2名だった。男女96名中, indirect SC陽性は8名, ELISA法陽性は6名, 精子不動化試験陽性は5名であった。蛍光抗体法に対するsensitivityは各々, direct SC 100%, indirect SC 100%, ELISA法0%, 精子不動化試験55.5%だった。また, SC陰性例の蛍光抗体法は全ての例で14%以下だった。

【結論】Sperm Check Assay(SC)は, 比較的操作が簡易であり, 蛍光抗体法をスタンダードとすると, 感受性に優れ, 抗精子抗体のスクリーニング検査として有用であると考えられた。

125

精液検査におけるSQA(精子特性分析機)の有用性

順天堂大学医学部産婦人科

○岩佐 剛、福田 勝

われわれは、不妊症患者における男性因子ことに運動精子濃度の客観的評価における、精子特性分析機(sperm quality analyzer)以下SQAの有用性について検討するため精液特性の新しいパラメーターである精子自動性指数(sperm motility Index)以下SMI、と従来の顕微鏡による精液検査とを比較検討した。2年間以上の不妊を主訴に受診した患者120症例を対象に精液検査とSMIを同時に施行した。SMIは精子濃度、運動率、運動精子濃度などのパラメーターと有意な相関を示した($p<0.01$)。またSMIと精液検査所見に解離の見られた症例について、経時的变化や粘稠度との関係について検討した。

以上よりSMIは運動精子の濃度と密接な関係があり、精液検査のスクリーニングとしてのみならず、精液標本中の精子の運動能を客観的に評価する上でも、有効であると考えられた。またSQAは、その操作およびメンテナンスの簡易性、必要検体量が極少量であること、設置コストおよび運用コストの低さからも有用な検査機器であると思われた。

126

白血球除去用フィルター(LeukoSorb™)を用いた精子調整法の検討

弘前大学医学部産科婦人科学教室

○藤井俊策、相良守峰、横山良人、齋藤良治

〔目的〕白血球除去用フィルターであるLeukoSorb™(Pall BioSupport)を精液調整に使用し、その有用性について単層Percoll-cushion法と比較して検討した。統計学的検討にはWilcoxon's signed-rank testを用いた。

〔対象と方法〕検査のために採取された精液20検体(正常10検体、pyospermiaを含む異常10検体)に等量の培養液(GPM, Serono)を加え希釈して使用した。Percoll-cushion法(P法)は、等張80% Percoll約1 mlに希釈精液4 mlを重層し、500gで30分間遠心分離した。LeukoSorb法(L法)は、円板状にカットしたフィルターを12.5 ml Eppendorfチップの底に置き、希釈精液4 mlを自然濾過した。いずれも2 mlのGPM浮遊液に洗浄・調整し、調整前後における精子回収率、運動率、生存率、円形細胞濃度、奇形率(strict criteriaによる)およびhypoosmotic swelling (HOS) testの膨化率について比較検討した。また、L法については調整に要した時間も測定した。

〔結果〕総精子回収率(%)はP法で 13.7 ± 10.5 、L法で 15.5 ± 14.7 であり両者に差は認められなかったが、運動精子回収率(%)はP法の 13.2 ± 6.2 に対して、L法では 29.6 ± 26.2 と有意に高かった($p<0.01$)。調整前との比でみると、運動率はP法の 1.35 ± 1.25 に対して、L法では 2.40 ± 2.61 と有意に高く($p<0.05$)、円形細胞濃度はP法の 0.67 ± 1.19 に対して、L法では 0.02 ± 0.03 と有意に低かった($p<0.05$)。頭部奇形率はいずれの方法においても低下したが、L法では尾部奇形精子が有意に増加し($p<0.01$)、そのほとんどが尾部の短縮であった。HOS testでは、総精子膨化率および(g) type膨化率ともにL法の改善率が有意に高かった($p<0.05$)。また、L法で希釈精液の濾過に要した時間は 2.2 ± 1.7 分であった。

〔結論〕L法は非常に簡便で、P法と比較して精子回収率に差がなく調整後の精子性状も良好であった。さらに、精子以外の円形細胞を除去する効果に優れており、顕微授精法における精液調整にも有用であると考えられた。なお、運動率やHOS testでは良好でありながら、尾部奇形率が高くなった原因については検討中である。

127

停留精巣術後の妊孕性に関する検討 —特にGradeとの関係について—

横須賀北部共済¹⁾, 神奈川こども²⁾, 横浜市立大学³⁾

○絵鳩哲哉¹⁾, 公平昭男¹⁾, 中井川昇¹⁾, 寺島和光²⁾, 木下裕三³⁾,
穂坂正彦³⁾

【目的】停留精巣術後の妊孕性に関する我々の報告は前回、片側例の反対側精巣容積と精子濃度の関係から検討したが、今回はさらに症例数を増やしGradeとの関係について検討した。

【対象】1972年から1982年の間に横浜市立大学医学部泌尿器科および神奈川県立こども医療センター泌尿器科において精巣固定術(一部精巣摘出術を含む)を施行し、18才に達した症例のうち追跡可能であった片側例86例、両側例8例の計94例を対象とした。

【方法】精巣容積の測定、血中ホルモン濃度の測定および精液検査を精子自動分析装置を用いて行った。さらに前回同様片側例の思春期における精巣容積および今回受診時の精巣容積と精子濃度、手術時期と精子濃度の関係について検討し、その結果に手術時のGradeの要素を加味し分析を行った。

【結果および考察】精液検査では精子濃度の平均は片側例では $34.1 \pm 5.8 \times 10^6/\text{ml}$ ($M \pm SD$), 両側例では $12.4 \pm 3.9 \times 10^6/\text{ml}$ であった。片側例の手術時におけるGradeの分布はGrade I 58例, Grade II 16例, Grade III 7例, Grade IV 5例であった。両側例では両側Grade Iの症例が4例, 片側Grade I対側Grade IIの症例が2例, Grade I + Grade IIIおよびGrade II + Grade IIIの症例が1例ずつであった。これを手術年齢と精子濃度の関係に加味し検討すると, Grade IおよびGrade IIの症例は手術年齢が低年齢の症例ほど精子濃度の平均が高い傾向が認められるが, その分布の幅は非常に大きく反対側精巣機能に依存しているものと考えられる。Grade IIIおよびGrade IVの症例ではほぼすべての症例が精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下に分布する。Grade IVの症例では精巣固定術を受けた症例に比し, 精巣摘出術を受けた症例の精子濃度が正常に近いが例数が少なく今後の課題と考える。

128

男性不妊症に対する漢方薬治療の効果

河内総合病院不妊センター

○小山竜一、森本義晴、長尾幸一、宮田広敏、山崎雅友、當仲正丈
井上 剛、森本武晴

関西医科大学産科学婦人科学教室 榎木 晋、堀越順彦、榎木 勇

【目的】近年、体外受精を初めとするAssisted reproductive technologyの向上によって、不妊治療が飛躍的に進歩した。さらに、男性因子を有する不妊患者にも、顕微受精の登場によりかなりの部分が救済されるに至っている。しかしながら、精子の質の向上は未だなお、根本的な問題である。この目的のため、当センターでは漢方薬治療として猪苓湯、補中益気湯、八味地黄丸などを使用している。今回我々は、特に精子の機能低下を著しくきたすと考えられるPyospermiaの患者に対し猪苓湯を用い、その効果を検討したので報告する。

【方法】投与前の精液検査で、Pyospermia(精液中WBC: $10 \times 10^5/\text{ml}$ 以上)と診断された患者に猪苓湯エキス顆粒6.0g/day及びニューキノロン系抗生物質であるパレオン300mg/dayを投与した。効果の判定は、投与前と投与後の精液一般検査(総精子濃度、運動率、WBCなど)および精液精密検査(VHOS、SWATなど)により比較分析した。

【結果】精液所見を投与前・後(mean $\pm$ SD)で比較すると、WBC: $40.2 \pm 17.06 \times 10^5/\text{ml}$ ・ $15.3 \pm 10.37 \times 10^5/\text{ml}$ で有意差が認められた。運動率: $59.9 \pm 16.95\%$ ・ $74.9 \pm 11.34\%$ VHOS-C: $19.0 \pm 7.53\%$ ・ $33.5 \pm 12.15\%$ では、改善の傾向がみられた。その他の精液パラメーターでも、若干の増加傾向を認めた。

【考察】猪苓湯は、ニューキノロン系抗生物質と併用することにより、WBC数を減少させ精子膜機能の改善に有効であると考えられた。

129

男性不妊症患者に対する柴胡加竜骨牡蛎湯(TJ-12)および
補中益気湯療法(TJ-41)の経験

東北大学泌尿器科

○平松正義, 高橋 勝, 中角尚誉, 蓮田精之, 前原郁夫, 折笠精一

【目的】我々は男性不妊症患者に対するTJ-12およびTJ-41の有用性について報告してきた。今回は「証」をふまえた投与を行ない、無作為投与の結果と対比させ検討した。【対象および方法】当科外来不妊患者のうち、無精子症、精子濃度が $2 \times 10^6/\text{ml}$ 未満または精子運動率0%の症例を除外し、投与前2回の精液検査で精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の症例と精子運動率50%未満かつ精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の症例を対象とした。1. 無作為に薬剤(TJ-12, TJ-41)を選択 2. 問診及び診察により「実証」に対してはTJ-12を、「虚証」に対してはTJ-41を選択、それぞれ1日量7.5gとして12週間投与した。精子濃度、精子運動率、精子運動能指数(SMEI)について、投与前2回の平均値と投与4, 8, 12週後の検査値で評価した。治療効果判定は熊本らの効果判定基準に準じて行ない、全般改善度は独自の基準を定め評価した。【結果】1. 無作為投与では、全般改善度はTJ-12投与群23例では著明改善3例(13.0%), 改善以上13例(56.5%), やや改善以上16例(69.6%), TJ-41投与群22例では著明改善3例(13.6%), 改善以上8例(36.4%), やや改善以上11例(50.0%)で、TJ-12投与群の方が若干高い全般改善度を示し、悪化例は両群とも2例ずつ(悪化率8.7%, 9.1%)認められ、妊娠が成立した症例はTJ-12投与群3例(妊娠率13.0%), TJ-41投与群3例(妊娠率13.6%)であった。2. 「証」により薬剤を選択した結果では、TJ-12投与群9例では著明改善3例(33.3%), 改善以上5例(55.5%), やや改善以上8例(88.8%), TJ-41投与群3例では著明改善0例(0%), 改善以上1例(33.3%), やや改善以上2例(66.6%)で、妊娠が成立した症例はTJ-12投与群2例(妊娠率22.2%), TJ-41投与群1例(妊娠率33.3%)で、悪化例は両群とも認められなかった。評価症例数が少ないが、男性不妊症患者の「証」は「虚証」より「実証」の方が比率が高い傾向が認められ、「証」に合致したTJ-12投与で良好な結果が得られた。今後さらに症例を増やして報告する予定である。

130

当科不育症外来における甲状腺機能異常症例の臨床的検討

横浜市立大学医学部産婦人科¹⁾ 薬効学²⁾○荒田与志子¹⁾ 平原史樹¹⁾ 杉浦賢¹⁾ 沢井かおり¹⁾平吹知雄¹⁾ 安藤紀子¹⁾ 岩田政則²⁾ 水口弘司¹⁾

【目的】従来より、甲状腺機能と生殖機能との間には、密接な関連性が指摘されており、甲状腺機能異常を伴う婦人に於いては不妊、流産の頻度の高いことが知られている。今回我々は当科不育症(反復流産、習慣流産)外来通院患者における甲状腺機能異常を認めた症例について臨床的分析ならびに検討を行った。

【方法】当科不育症外来通院症例300例を対象に、甲状腺機能スクリーニング検査(freeT₃, freeT₄, TSH)後、再検・精査を行い、甲状腺機能異常を示した症例を分析対象とし、これらの臨床歴、合併異常症等の臨床的検討を行った。

【結果】分析対象となった甲状腺機能異常症例は10例(3.3%)で平均流産回数は2.3回であり、高TSH症例は5例、低TSH症例は4例に認められた。また、これらのうち顕性の甲状腺機能異常症として内科的治療を施行されたものは2例で、他はいずれも潜在性の甲状腺機能異常症であった。一方、高プロラクチン血症(潜在性も含む)は4例にみられた。また、10症例中当科通院中にのべ5例の妊娠が確認され、4例は正常妊娠経過を示したが、1例は流産に到った。

【結論】不育症症例中にしめる甲状腺機能異常症例は必ずしも多くないものの、内科的治療を要す症例がみられた他、プロラクチン分泌異常を伴う症例も多くみられ、病態に対する詳細な分析、検討が必要と思われた。

131

妊娠中期以降の流死産の既往を有する不育症に関する検討

長崎大学医学部産科婦人科学教室

○河野雅洋, 石丸忠之, 高尾直大, 増崎英明, 山辺 徹

【目的】妊娠中期以降の流死産の既往を有する不育症の臨床的特徴を明らかにすることを目的とした。
 【対象および方法】最近の7年間に当科を受診した不育症218例を対象とした。既往妊娠歴から妊娠中期以降の流死産の既往のあるものをA群, ないものをB群とし, 不育症のスクリーニング検査でみられた異常を両群間で比較検討した。【結果】A群は36例, B群は182例であった。A群にみられた異常は自己抗体陽性14例(38.9%), 子宮形態異常8例(22.2%), 感染症7例(19.4%), 染色体異常1例(2.8%), 不規則抗体陽性1例(2.8%)および耐糖能異常1例(2.8%)であり, 内分泌異常はみられなかった。一方, B群にみられた異常は自己抗体陽性32例(17.6%), 内分泌異常28例(15.4%), 子宮形態異常19例(10.4%), 染色体異常17例(9.3%), 感染症16例(8.8%), 不規則抗体陽性5例(2.8%)および耐糖能異常4例(2.2%)であった。すなわち, 子宮形態異常, 感染症, 染色体異常, 不規則抗体陽性および耐糖能異常の頻度には両群間に有意差を認めなかったが, 内分泌異常の頻度はA群がB群に比較して有意に低く($p < 0.01$), 自己抗体陽性の頻度はA群がB群に比較して有意に高かった($p < 0.01$)。自己抗体のうち抗核抗体のみ陽性の頻度はA群3例(8.3%), B群28例(15.4%)と両群間に有意差を認めなかったが, 抗リン脂質抗体が陽性の頻度はA群11例(30.6%), B群4例(2.2%)とA群で明らかに高率($p < 0.0001$)であった。なおB群にみられた内分泌異常はプロラクチン分泌異常13例, 黄体機能不全11例, 甲状腺機能低下3例および甲状腺機能亢進1例であった。【考察】妊娠中期以降の流死産の既往を有する不育症では内分泌異常の頻度が低く, 抗リン脂質抗体陽性の頻度が高いという臨床的特徴が明らかとなった。抗リン脂質抗体は約3割の症例にみられたことから, 抗リン脂質抗体に関する検索は妊娠中期以降の流死産の既往を有する不育症に対する必須の検査項目であると考えられた。

132

習慣流産における子宮形成術の予後成績

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○染谷健一, 牧野恒久, 小沢伸晃, 松林秀彦, 細川知俊, 根本泰子, 野澤志朗

(緒言) 習慣流産の原因は多岐にわたっており, その一つとして先天性子宮奇形が挙げられるが, その治療として子宮形成術選択されることが多い。当院では, 1981年2月より1994年12月までの当院不育症登録1666例の中で子宮卵管造影、ヒステロファイバースコープを施行し、子宮奇形と診断された181例のうち、103例に対し子宮形成術を施行し、その予後成績を検討した。
 (方法) 手術施行103例のうち、染色体異常、自己免疫異常、内分泌異常を認めず、他の治療を併用せず、術後1年以上を経過した85例について追跡調査を行った。85例の内訳は中隔子宮38例、弓状子宮46例、その他2例であった。
 (結果) 85例中追跡可能であった61例の初回妊娠予後は正常産41例、妊娠中3例、自然流産11例、非妊娠例4例、その他2例であった。妊娠例57例中初回妊娠時の流産率は21.5%と子宮奇形を有し子宮形成手術を施行しなかった群47例の流産率94.4%に対し有意に低かった。手術後の非妊娠率は6.7%であったが、術後の子宮卵管造影検査で子宮内腔の癒着、卵管の閉塞を認めた症例はなかった。また初回妊娠流産例11例中3例は2回目以降の妊娠で生児を獲得しており、非妊娠群を含めた生児獲得率は54例中44例で74.4%であった。
 (結論) 子宮形成術後の予後成績を他に流産原因有さず、他の治療を併用していない群のみで検討し、その有意性を認めた。

133

習慣流産における免疫療法前後の免疫学的検討について
—MLC、リンパ球細胞毒性試験、T細胞subsetの測定、T細胞receptor
clonalityの解析—

聖医大産婦人科¹⁾、同医大横浜市西部病院産婦人科²⁾、
○徳山真弓¹⁾、高橋誠治¹⁾、雨宮章¹⁾、与那嶺京子²⁾、飯田智博²⁾、
林和彦²⁾

免疫学的に、胎児は母性にとって半同種移植片であるが、母体からの拒絶を免れ発育を続けるという妊娠維持のための特異的な免疫学的mechanismのなかにあることは明らかである。そのmechanismの1つは、母体内のblocking factorsの産生によるといわれ、また、suppressor T細胞の関与についても示唆されている。流産を繰り返す習慣流産は、このmechanismに破綻や不全が起きていることが想像される。

われわれは140組の夫婦の反復流産、習慣流産既往夫婦に対し原因について検索し、対策と治療を行ってきたが、今回は免疫学的の不均衡が疑われる例に夫リンパ球を用いた免疫治療を実施した結果について報告する。免疫学的followはリンパ球混合培養試験(MLC)、リンパ球細胞毒試験(リンパ球クロスマッチ)、flow cytometryによるT細胞subset陽性細胞数の測定、PCR-SSCP法を用いたT細胞のclonalityの解析で検討した。なお、T細胞のclonalityは免疫療法後の妊娠例にも行った。T細胞のclonalityについてはmRNAを抽出後、T細胞receptor (TCR)のV β 領域に相当する22種類のプライマーおよびC β 領域に特異的なプライマーを用いてRT-PCR法を行い、増幅されたDNAをSSCP法使って分析し、集積しているTCR cloneの存在を検討した。

以上の結果、MLCでは免疫療法後抑制効果が出現し、リンパ球クロスマッチでは免疫療法後B warm Abの産生が認められた。T細胞subsetの測定ではTs、Tsi、CTLの動向に有意な変化はなかった。T細胞のclonalityの解析では、治療後も治療前同様パターンはスメア状でヘテロナT細胞集団であったが、この症例が妊娠した場合、妊娠中期以降T細胞のcloneの集積が観察され、抗原特異的の反応がおきていた。ここでみた妊娠例のT細胞のclonalityの変化は正常妊娠例にみられる変化と同様であった。

134

不育症患者における末梢血リンパ球サブセット解析

新潟大学医学部産科婦人科学教室

○八幡 哲郎、倉林 工、高桑 好一、田中 憲一

【目的】不育症の原因のひとつとして抗リン脂質抗体をはじめとした免疫学的要因の関与が知られているが、細胞性免疫の関与についての知見はいまだ少ない。今回、不育症患者の末梢血リンパ球サブセットを解析し、不育症と細胞性免疫、および抗リン脂質抗体の細胞性免疫の関与について検討した。

【方法】2回以上の流産歴を有する不育症患者52症例を対象とした。ただし、子宮奇形等の明らかな原因を有する症例は除外した。末梢血2 α を採取し比重遠心法にてリンパ球を単離した後、蛍光標識モノクローナル抗体(CD3、CD5、CD4、CD8、CD20、CD56、 $\alpha\beta$ TCR、 $\gamma\delta$ TCR)にて単染色あるいは二重染色を行い、flow cytometry(FACS)にて解析を行った。同時に、ELISA法によりcardiolipin、phosphatidylinositolに対する抗体を測定し、健康人の平均値 $\pm$ 3S.D.を陽性例とした。また、非妊婦の女性22例を対照群とした。1)不育症例と対照症例、2)抗リン脂質抗体陽性例と陰性例についてリンパ球サブセットの比較を行った。【結果】不育症患者ではCD3(47.9%)、 $\alpha\beta$ TCR(46.8%)、CD4(33.6%)、CD8(23.5%)が対照群(69.0%、61.9%、40.3%、31.6%)に比較し低率であった。また、CD56+CD3+cell(CD56+Tcell)の低下が認められた。抗リン脂質抗体陽性例9例では $\gamma\delta$ TCR(2.2%)が陰性例(4.5%)に比較して低率であり、CD4/CD8比の上昇が認められた。CD5+CD20+(CD5+Bcell)は有意差は認められなかった。【結論】不育症患者ではTcell表面マーカーの減少が認められ、CD8-CD4-cell(double negative cell)の増加が認められた。また、抗リン脂質抗体陽性例では細胞性免疫も活性化されている傾向にあった。原因不明の流産や抗リン脂質抗体症候群患者における細胞性免疫の関与が示唆された。

135

当科における習慣性流産の免疫療法および習慣性流産患者の
抗・ブルーム症候群リンパ球抗体について

高知県立中央病院 産婦人科 山本 暖, 井上 和則
高知医大 第1解剖学 白石 行正

目的；原因不明の習慣性流産に対して夫リンパ球を用いた免疫療法の有効性はよく知られているが、当科においても免疫療法を行っている。平成元年から平成5年3月までは免疫療法は妊娠初期2回に行っていたが、平成5年4月からは方法を変更し、妊娠前から施行した。今回、その成績を報告する。また、Bloom Syndrome (BS)とは低身長、光線過敏、免疫異常、悪性腫瘍の合併を症状とする症候群だが、このBSのB-Lymphoblastoid cell lineを用いて、習慣性流産患者の血清中の抗・BSのBリンパ球抗体を測定したので報告する。

対象・方法；平成元年から6年4月までに当科にて原因不明の習慣性流産で治療した29名を対象とし、免疫療法の実際は1)平成元年から平成5年3月までは妊娠初期に2回夫リンパ球を患者（21例）に接種し、2)平成5年4月から平成6年3月までは妊娠前に2回、妊娠後に1回夫リンパ球を患者（8例）に接種した。また、抗・BSのBリンパ球抗体は2)の8例に対し、蛍光抗体法にて定性的に判定し、免疫療法前後の推移をみた。

成績・考察；1)の21例は成功12例、流産9例で成功率57.1%、2)の8例は成功6例、流産2例で成功率75.0%であり、全体ではで成功18例、流産11例で成功率は62.1%である。よって、妊娠前より免疫療法を行った方が良い成績が得られ、妊娠前より免疫療法を行った方が有効性が高いと考えられた。抗・BSのBリンパ球抗体は2)の8例のうち免疫療法前は全例陽性で、陽性率は100%であったが、免疫療法後は1例を除き7例が陰性となった。よって、抗・BSのBリンパ球抗体は習慣性流産に関連しているのではないかと考えられ、今後の詳しい検討が必要と思われる。

136

習慣流産患者における抗カルジオリピン抗体と $\beta 2$ -GPI (glycoprotein I)の
測定意義

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室
○小沢伸晃 牧野恒久 松林秀彦 染谷健一 細川知俊 根本泰子
野澤志朗

〔目的〕習慣流産を来す原因の中で、最近抗リン脂質抗体などを中心とした自己抗体との関連が、凝固線溶系に及ぼす影響と併せて注目されている。また抗カルジオリピン抗体の測定に $\beta 2$ -GPIが重要な役割を担っていると発表されて以来、抗凝固作用を持つ $\beta 2$ -GPIの作用に関して、凝固線溶系への影響のみでなく抗リン脂質抗体の病理学的メカニズムの中でも重大な働きを持っていると考えられている。今回我々は習慣流産における $\beta 2$ -GPIの持つ意義に関して抗カルジオリピン抗体との関連を中心に探求した。〔方法・結果〕当院不育症外来を受診する習慣流産患者214名に対してELISA法を用いて抗カルジオリピン抗体を測定した。測定系の中で $\beta 2$ -GPIの濃度を変えることにより、抗体を $\beta 2$ -GPI依存性、非依存性に分類した結果、陽性率は7.5%, 4.7%であった。妊娠中期以降の子宮内胎児死亡の既往のある患者群ではどちらの抗体も高い陽性率であった。それぞれの抗体陽性患者の妊娠をprospectiveに検討した所、どちらの患者から得られた胎盤でも多発性の胎盤梗塞が認められ、実際に子宮内胎児死亡に至った症例も存在した。またウサギに免疫して得られた抗 $\beta 2$ -GPI血清を用いてRIA法により習慣流産患者の血中 $\beta 2$ -GPI濃度を測定した。平均血中濃度は $71.92 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($2 \sim 334 \mu\text{g}/\text{ml}$)でコントロール群と比べて有意差は認めなかった。また既往流産歴や抗カルジオリピン抗体陽性の有無による差異も認められなかった。〔考察〕習慣流産患者群においては $\beta 2$ -GPI依存性および非依存性抗カルジオリピン抗体の両者が存在し、どちらも胎盤循環障害あるいは子宮内胎児死亡を来す可能性が示唆された。また血中 $\beta 2$ -GPI濃度の顕著な差は認めず、生体内での抗カルジオリピン抗体の病理学的メカニズムはより複雑なものと推察された。

137

習慣流産患者におけるHLAの解析

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○細川知俊 牧野恒久 松林秀彦 小沢伸晃
染谷健一 根本泰子 野澤志朗

現在、原因不明の習慣流産に対する治療として、いわゆる免疫療法が行われているが、その作用機序は不明な点が少ない。従来より免疫学的習慣流産の指標の一つとしてHLA、とくにクラスⅡ抗原の共有数がいわれてきたが、近年否定的な報告もみられる。

今回我々は当科不育症外来における習慣流産夫婦のHLA解析を再度行い、新たな知見を得たので報告する。

対象 1989年1月から1993年2月の間に、慶應義塾大学不育症外来を受診した患者のうち、HLAを検査した651組の夫婦を患者群とした。対照として、各抗原の陽性者数に関しては第10回国際組織適合性ワークショップで公認された日本人におけるHLA出現頻度を用い、抗原共有夫婦組数に関しては第11回国際組織適合性ワークショップで公認されたHLA共有率を用いた。

結果 いくつかのHLAの出現頻度において、患者群と対照群の間に有意差がみられた。また、共有数についても患者群においてDR抗原を2個以上共有しているもの、およびDQ抗原を2個以上共有しているものが対照群に較べ有意に多かった。

考察 特定のHLAが習慣流産に関連している可能性が示唆された。また、HLA、特にクラスⅡ抗原の共有数が習慣流産に関連している可能性が示唆された。

138

免疫性習慣流産治療を行なうも流産に至った症例の検討

倉敷中央病院産婦人科

○高橋 晃 浮田昌彦 馬岡 陽 中堀 隆
草刈孝史 片山富博 中村光彰

【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。それらの症例の中での卵の染色体異常の頻度を検討するために、流産絨毛の染色体分析を行なった。

【方法・結果】 これまでに当院では33例の習慣流産症例に対して46回の免疫治療を行なっている。免疫治療の方法としては、放射線照射を行った夫リンパ球の皮内投与を、妊娠4～5週とその2週間後の2回に行っている。治療を行った症例の妊娠転帰の内訳は、分娩終了29例（満期産25例、早産4例）、妊娠継続中2例、中期流産1例、初期流産12例、子宮外妊娠1例、胎状奇胎1例であり、初期流産率は26.1%（12/46）、修正初期流産率は27.3%（12/44）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。絨毛培養にて細胞発育の見られなかったのは3例で、残りの9例で絨毛の染色体分析が可能であった。その内訳としては、monosomyが1例、trisomyが6例あり、これらの症例の両親はいずれも正常核型であった。残りの1例でinv(9)(p12, q13)がみられたが、これは正常人でもみられることから直接の流産原因とは考えられにくかった。また、1例の絨毛染色体は正常核型であった。

【結論】 免疫療法を行いつつも流産に終わった症例12例の中で、絨毛の染色体分析が可能であった9例中7例で染色体異常が見られ、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。また、少なくとも2例では卵の染色体異常とは無関係の初期流産を起こしていたことが確認された。

139

当院における習慣流産に対する免疫療法の成績

富山県立中央病院産婦人科

◎中野 隆, 新井 昇, 飴谷由佳, 大口昭英, 佐竹紳一郎, 小嶋康夫,
舟本 寛, 館野政也

最近, 習慣流産の疫学的研究, 原因の解明, 治療法の開発が進み, 生児を得る機会が増えつつある。中でも従来原因不明と分類されていた患者の中に, 免疫的な異常の認められる者が多く存在することが明らかにされてきた。そして免疫理論に基づく治療法が, 臨床応用され, 優れた治療成績が報告されるようになってきた。

当院においては習慣流産(反復流産を含む)患者に対して, HLA タイピング, MLC 抑制テストを施行し, 夫婦間免疫不適合の診断の指標としている。すなわち, MLC 抑制テストで, 妻血清(10%あるいは20%)の添加にて22%以上の抑制効果のみられない者を免疫療法(夫リンパ球移入)の対象としているが, 抑制効果の判定が微妙な場合は, HLA の一致率も参考とした。現在までに, 78例の習慣流産(反復流産を含む)患者に対して総合的な検索を施行し, 38例(48.7%)を夫婦間免疫不適合と診断し, 免疫療法を施行した。免疫療法は, 夫リンパ球($1 \sim 4 \times 10^7$)を2週間隔で4回皮下接種し, MLC抑制テストにて抑制効果のみられた症例に妊娠を許可した。また妊娠成立後なるべく早期に免疫療法を2回追加した。

免疫療法を施行した38例の内訳は, 原発性習慣流産患者33例, 続発性習慣流産患者5例であった。原発性習慣流産患者では, 免疫療法後16例に妊娠が成立し, 9例に10人の生児が誕生した。5例は現在妊娠継続中である。また4例に5回の流産がみられた。したがって原発性習慣流産患者に対する免疫療法後の妊娠継続率は, 15/20(75%)であった。続発性習慣流産患者では, 免疫療法後2例に妊娠が成立し, 2例とも現在妊娠継続中である。その内1例は免疫療法後1回流産しており, 続発性習慣流産患者における妊娠継続率は, 2/3(66.7%)であった。以上より現時点での, 当院における習慣流産患者に対する免疫療法後の妊娠継続率は, 17/23(73.9%)であった。

140

原因不明習慣性流産免疫療法における免疫能変化に関する検討

信州大学医学部産科婦人科学教室

○吉川文彦, 中山邦章, 塩沢丹里, 吉沢 徹, 高木 靖, 藤井信吾

【目的】近年, 習慣性流産に対する夫リンパ球による免疫療法の有効性の報告が相次いでいる。また, その中には免疫療法により生児を獲得した症例(成功症例)と免疫療法を施行したにも関わらず流産に終わってしまった症例(不成功症例)との間に, 免疫療法による母体の末梢血液における免疫能の変化に, 有意差があるという報告も認められる。今回, 我々は, 免疫療法を行うことにより末梢血中の免疫能が果して本当に変化するのか否か確認するために, 成功症例と不成功症例の間で, 免疫療法前後のリンパ球サブセットおよび免疫グロブリンの変化を検討した。

【方法】1987年9月より1994年6月までの間に, 当院不育症外来を受診し, 諸検査により免疫因子による習慣性流産と考えられた41症例のうち, 夫リンパ球にて免疫療法を行ったのちに生児を獲得した22症例と不成功症例4例の間で, 免疫療法前, 免疫療法中, および免疫療法終了後で末梢血のリンパ球サブセット(CD2, CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD57)をフローサイトメトリーにて検索, また, 同時に免疫グロブリンの変化も検討した。

【結果】免疫療法前後でのリンパ球サブセットの変化は, 成功症例において治療前CD2 83.3 ± 1.5 , CD16 18.1 ± 1.6 , CD57 14.4 ± 2.1 , 治療後CD2 81.7 ± 1.4 , CD16 16.6 ± 1.3 , CD57 13.3 ± 1.9 , 不成功症例では治療前CD2 82.5 ± 1.0 , CD16 22.0 ± 4.1 , CD57 20.0 ± 0.7 , 治療後CD2 84.5 ± 1.0 , CD16 18.8 ± 3.4 , CD57 16.3 ± 2.7 であり, 検討したすべての項目において治療前後および成功, 不成功症例間で有意差を認めなかった。

【考察】今回の検討により, 習慣性流産の免疫療法によって, 妊娠前には大きな免疫能の変化はないことが示唆された。

141

PGのマウス胚発育抑制機序に関する研究

日本大学医学部産婦人科、川口市立医療センター*

○橋本芳美、栃木明人、栃木武一*、吉永陽樹、

長岡美樹、早川 智、津端捷夫、佐藤和雄

【目的】子宮内膜症等の疾患では、不妊症等の妊孕性の障害が知られている。これらでは、腹水の貯留がしばしば認められ、しかも腹水中のプロスタグランジン(PG)が高値を示すと言われている。一方、PGには細胞増殖抑制効果が認められ、これらPGが受精卵の発育に影響をおよぼしている可能性がある。そこで、今回これら疾患と不妊との関連で重要なPGが、初期胚の発育におよぼす影響と、さらにその作用機構を解明することを目的として、マウス初期胚を用いて検討した。【方法】7-8週令のICR系雌マウスにPMS(10iU)を腹腔内投与後に48時間後にhCG(5iU)を投与し同系雄と交配した。48時間以降に屠殺し卵管より受精卵を採取し4細胞胚を得た。胚はBWW液中で37℃、5%CO₂で培養し、培養液中にPGE₂および16,16-dimethyl PGE₂(1-200 μM)を添加して胚盤胞の形成を比較した。さらに、cAMPの関与を検討するため、Sp-cAMP(0.3-5mM)を添加して培養し胚発育を検討した。次に、4細胞胚について³H-PGE₂(77Ci/mmol)の特異的結合を、さらにPGE₂受容体(EP2)のmRNAについては、特異的なprimerを作成してRT-PCR法でその発現を検討した。【成績】マウス4細胞胚の48時間培養後の胚盤胞の形成率は無添加例では80.6%、PGE₂添加例では5 μMで55.9%、10 μMで26.2%、50 μMでは認められなかった。16,16-dimethyl PGE₂ 10 μM添加では胚盤胞形成率は43.9%、50 μMで17.6%であった。Sp-cAMP添加では胚の発育抑制が認められ0.3mM添加では0%であった。48時間暴露後の胚発育状況ではSp-cAMP、0.5mM添加例で胚盤胞形成の回復が66.8%に認められたが、PGE₂100 μM添加例では0%であった。³H-PGE₂の特異的結合は50nM以上で認められ、180nMで2.5 x10⁷であり、EP2mRNAも検出された。【結論】マウス初期胚発育にPGE₂が抑制的に作用し、濃度依存적であった。さらに、特異的結合およびmRNAの発現も認めたことより、PGは直接的だけではなく受容体を介して作用する可能性が明かとなり、不妊におけるPGの関与が示唆された。

142

Cyclophosphamide がラットの性周期に及ぼす影響

帝京大学産婦人科

○荻野雅弘、松浦 潔、冲永莊一、森 宏之

【緒言】癌化学療法は卵巣癌を始め有力な治療法として確率されてきた。しかし副作用である性機能障害、無月経、不妊症、若年者での妊孕性への考慮する必要がある。そこで、今回我々は卵巣癌の化学療法に使用され中心的薬剤でもあり卵巣機能障害を生じやすい alkyl 化剤である Cyclophosphamide を用い、単回、反復投与しラット性周期への影響を検討したので報告する。

【実験材料と方法】Wister-Imamichi 系ラットを用い、性周期の確立されているラットに対し、膣細胞診を行なった。膣垢像の判定は Long & Evans の基準に従い、CPA 投与量は 1 回投与量は (1/3 LD 50) 49mg/kg とし静脈内投与し検討した。実験 1 は、投与後 1 カ月間の性周期の変動を観察した。実験 2 では、実験 1 と同等量の CPM を 30 日間隔で 3 回反復投与し、投与終了後 30 日間観察した。

【結果】実験 1 : ラットの Estrus 日数 / Estrus + Non-Estrus 日数 (E / N-E = と略す) の発生率は、投与前の Estrus の頻度は 24.8%、CPM 投与後では 25.5% で、Estrus の頻度は投与前後で両者間に有意差はなかった。実験 2 : 対照は 24.4%、初回投与後群では 25.5%、2 回目投与後群では 26.1%、3 回目投与後群では 25.0% で、対照と初回投与群、2 回目投与群、3 回目投与群と全期間を通じて、いずれの群間で Estrus の発生頻度に有意差はなかった。

【考案】先の学会で抗癌剤の卵巣への直接作用を報告してきたが、今回の結果から種差、投与量の問題は残るものの単回投与、反復投与でも中枢への影響は非常に少ないと考えられた。

143

加齢に伴う子宮内膜厚の変化と妊孕能に関する検討

山口大学医学部産科婦人科学教室

○中村康彦、吉田 豊、吉岡尚美、田村博史、小野美央子、
嶋村勝典、杉野法広、加藤 紘

〔目的〕 年令の上昇につれて女性の妊孕能は低下するが、これには卵巣における変化のみならず、子宮内膜の発育成熟障害、着床成立に関する能力低下も関与している可能性が考えられる。そこで本研究では、経腔超音波による排卵期および着床期の子宮内膜厚（EM）を35歳以上とそれ未満の群で検討すると共に、エストロダイオール（E）に対する内膜の反応性を調べる目的で、排卵前のEとその際のEMの比（E/EM）と年齢との相関について検討した。さらに、妊娠例、非妊娠例についても同様にEM、E/EMを検討した。〔方法〕 当科不妊症外来を受診し、自然排卵周期を有する婦人137名を対象とした。EMは、経腔超音波にて子宮の矢状断面を描出し、その最大幅とした。EMの検討は、コントロール周期でそれぞれ35歳未満の群（A群、N=114）と35歳以上の群（B群、N=23）に分けて行った。またE/EMの相関係数についての検討も行った。次に、上記137名のうち男性因子および器質的疾患を除いた不妊症例をその後の妊娠の有無によって二群（妊娠群；N=43、非妊娠群；N=44）に分けて同様の検討を行った。〔結果〕 B群のEMは、排卵前には有意差はないが、黄体期中期では 9.5 ± 0.5 mmと、A群の 10.8 ± 0.2 mmに比して有意（ $P < 0.05$ ）に薄かった。E/EMは $Y = 1.062X - 5.5612$ 、 $r = 0.23$ で、年齢との間に有意では無いものの年齢の上昇と共に増加する傾向が見られた。一方、妊娠例、非妊娠例の検討では、コントロール周期での黄体期中期EMが妊娠群（ 12.4 ± 0.4 mm）で非妊娠群（ 9.2 ± 0.3 mm）より有意（ $P < 0.01$ ）に厚かった。またE/EMの値は、両群間で有意差は、見られなかった。〔考察〕 コントロール周期における黄体期中期EMは、その患者の妊孕能を反映しており、35歳を越えると有意に薄くなる事が明らかとなった。またE/EMと年齢との相関関係より年齢が上昇するとエストロゲンに対する子宮内膜の反応性が低下してきている事が示唆された。

144

卵のピックアップ障害は主要不妊原因か：GIFTの際の卵管開口部の状態から見て

高度医療技術研究所・中央クリニック、自治医大産婦人科*

○吉田 淳、荒木康久、本山光博、桑田吉峰、荒木重雄*、佐藤郁夫*

〔目的〕 卵管における卵のピックアップ障害が不妊原因としてどの程度関与しているか調べる目的で、ミニラパロトミーを用いたGIFTの際に卵管開口部の状態を調べたところ、興味深い結果を得たので報告する。〔方法〕 過去6ヶ月にGIFTを施行した126名中52名において卵管開口部の形態を観察し、妊娠との関係を調べた。形態分類の基準は卵管采の変形・癒着の度合と開口部の位置によりそれぞれ5群に分類した。〔結果〕 妊娠率は採卵周期当たり56.6%（70/126）、患者当たり57.0%（69/121）であった。卵管を観察した52名（52周期）の妊娠率は50.0%であった。それぞれの患者のより良好な側の卵管と妊娠との関係は次の通りである。卵管采の変形・癒着の度合別頻度（各群の妊娠率）は、1）正常30.8%（68.8%）、2）軽度19.2%（80.0%）、3）中等度34.6%（66.7%）、4）高度15.4%（12.5%）、5）欠損0%（0%）、卵管開口部の位置による分類では、A）中央44.2%（73.9%）、B）やや偏在44.2%（34.8%）、C）辺縁11.5%（16.7%）、D）異所性0%（0%）、E）開口部確認困難0%（0%）であった。〔結論〕 1）卵管采の変形・癒着が中等度以内、あるいは卵管開口部の位置がやや偏在以内であればGIFTによりピックアップを克服すると高い妊娠率が得られる。2）高度の癒着・変形、あるいは開口部の辺縁への偏位があればたとえGIFTを施行しても妊娠率は低く、初期胚の発生・移送の障害がある可能性がある。3）術前に卵管因子は正常と判断された患者でも48.1%にピックアップ障害を示唆する病変が見られた。

145

カテーテルによる卵管再開通術とバルーン卵管形成術(TBT)の比較検討

慶義塾義塾大学医学部放射線診断科、同産婦人科学教室*

○新本 弘、末岡 浩*、久慈直昭*、宮崎豊彦*、小林俊文*、
野澤志明*、平松京一

近年卵管閉塞に対する侵襲性の低い治療法として、カテーテルによる選択的卵管造影および卵管再開通術(卵管形成術)が行われてきている。本法は通常の子宮卵管造影にて卵管閉塞の疑われた症例に対する最初の治療法として位置づけられ、また、より正確な卵管の状態を把握する優れた診断法でもある。現在、臨床状用いられているカテーテルの種類にはコアキシアルカテーテルセット(COOK社、クリニカルサプライ社など)と卵管形成術用のバルーンカテーテルセット(BARD社)とがあり、今回この二方法について治療における比較検討を行ったので報告する。コアキシアルカテーテルセットによる方法はまず選択的卵管造影を施行し、また卵管内にガイドワイヤーもしくはカテーテルを挿入することにより、卵管疎通性を回復させる方法である。本法は簡便であり、X線透視時間も短く、卵管再開通率も比較的高く卵管の状態を知る優れた診断法であると考えられた。一方、バルーンカテーテルを用いた卵管形成術(TBT)は、卵管閉塞部を直接バルーンで拡張させ、またカテーテル先端および子宮頸部の2カ所にバルーンを拡張させて固定し、選択的に卵管造影を施行することより、より強い圧力をかけて卵管の疎通性を改善させる方法である。本法はそのセットの構成上、親カテーテルが太く、その挿入はやや困難を伴った。また手技がやや煩雑なため透視時間も長くなる傾向にあった。しかし治療面では卵管再開通率も高率であり、妊娠率の改善が期待される方法であると考えられた。合併症は両者ともに卵管内にガイドワイヤーを進める際の卵管穿孔が考えられ、ガイドワイヤー挿入に際し、慎重な操作の必要性が示唆された。本法は極めて有用な治療法だが、今後さらに改良が望まれる使用経験を得た。

146

不妊症治療におけるJansen-Andersonカテーテルの有用性について

○谷口 武¹⁾、亀田 隆²⁾、西川 吉伸¹⁾、笠原 完司¹⁾
横井 猛¹⁾、山崎 正人¹⁾
大阪労災病院産婦人科¹⁾ 芦屋市民病院²⁾

【緒言】Jansen-Andersonカテーテルはもともと、経膈的な配偶子卵管内移植(GIFT)用に開発されたカテーテルであり、経腹超音波ガイド下に卵管角に親カテーテルをウェッジさせ、さらにここから子カテーテルを卵管内に挿入し使用する。しかし実際には親カテーテルの形状から盲目的にでも十分に卵管内にチューブを挿入することができる有用性の高いカテーテルである。今回我々はこのカテーテルを、GIFT用としてだけでなく、卵管内精子注入用、および腹腔鏡下の選択的卵管通水法用のカテーテルとして使用し、その有用性を検討したので報告する。【方法】1. GIFT: Jansenらの方法に従い、採卵後直ちに調整しておいたswim up精子とともに卵子を卵管内に配偶子移植を行った。操作は経腹超音波ガイド下で行った。2. 卵管内精子注入: 超音波ガイド下に卵管内にカテーテル挿入後200 μ lの精子浮遊液を排卵側の卵管内に注入した。3. 腹腔鏡下選択的卵管色素通水法: 腹腔鏡検査の際に、加圧によっても卵管通過性が得られず、卵管の着色も得られない場合に、患側の卵管に対しJansen-Andersonカテーテルを挿入し、再疎通を試みる。【結果・考察】1. 原因不明不妊3例、男性不妊2例に対しJansen-Andersonカテーテルを用いた経膈的GIFTを試み原因不明例の内2例の妊娠を得た。2. 通常的人工受精を5回以上行い妊娠に至らない不妊患者10名に対し卵管内精子注入を行い、1例の妊娠例を得た。3. 3例の卵管閉塞例に対し、卵管周囲癒着の剥離後Jansen-Andersonカテーテルを用いて卵管採疎通を試み2例において再疎通が得られた。Jansen-Andersonカテーテルは用意に卵管内へのチューブニングができ、従来法と比べても、遜色のない成績が得られその有用性が再確認された。

147

卵管鏡下卵管形成術により妊娠成立に至った両側卵管峡部閉塞の一症例

大阪大学産科婦人科学教室

○志岐保彦、上浦祥司、佐治文隆

性感染症やそれに伴う骨盤内炎症の増加により、卵管性不妊の割合は増加する傾向にある。閉塞卵管の再疎通は従来マイクロサージェリーにより行われ良好な成績をあげているが、開腹するため侵襲が大きいのが問題である。非侵襲的な方法としてガイドワイヤーやバルーンカテーテルを用いた再疎通術が行われるが、卵管穿孔の危険性のため施行可能範囲は間質部から峡部近位に限られる。近年、卵管内腔を観察し得る卵管鏡と、卵管鏡を安全に卵管内に進めることのできる特殊なバルーンカテーテル (Linear evverting catheter) のシステムが開発され、峡部遠位部以遠の卵管閉塞も開腹することなく再疎通させることが可能となった。今回、我々はこの卵管鏡下卵管形成システムを使用する機会を得、閉塞卵管の再開通とその後の妊娠成立を見た自験例を報告する。

【症例】患者は29才、不妊期間は3年9カ月、HSGにより両側卵管とも峡部遠位部にて閉塞していた。腹腔鏡検査にて内性器の外観には異常を認めず、通色素検査では両側卵管とも通過性を認めず色素も透見し得なかった。そこで子宮卵管口にwedgeさせた留置カテーテルを経て、卵管内にLinear evverting catheter と卵管鏡を進め卵管峡部の閉塞部位を確認した後、6気圧に加圧したバルーンカテーテルにより閉塞部を再開通せしめた。術中、卵管穿孔や血腫形成などの副作用は認めなかった。術後のHSGにて両側卵管とも通過性が確認され注入圧も正常域であった。術後5周期目に自然妊娠が成立し現在経過観察中である。

【結語】卵管内腔の観察に加えて閉塞卵管の再疎通を図ることのできるこのシステムは、卵管性不妊に対する有効な診断治療法と成り得る。現在さらに症例を重ね、このシステムの有用性を検討中である。

148

当科における卵管形成術の臨床成績の検討

札幌医科大学産婦人科

遠藤俊明、後藤妙恵子、木谷 保、

森 悟子、金谷美加、藤井美穂、山本 弘、工藤隆一

当科では1984年8月より卵管性不妊症例に対して顕微鏡的卵管形成術ならびに腹腔鏡的癒着剝離術を総計78症例に実施した。1992年までの8年間に術後2年以上follow出来た61例について臨床成績をまとめたので報告する。尚drop out症例は17例あったが、これは術後卵管所見が改善したにも拘わらず通院していない症例で統計から除外した。術後の改善傾向が著明でなくdrop outした症例は不成功例としてこれを統計に含めた。卵管形成術施行時の患者年齢は平均33.3歳であった。26例(40%)が原発性で35例(60%)は続発性不妊症であった。既往歴として多いのは17例に流産(人工流産を含む)、開腹手術歴と子宮内膜症がそれぞれ7例、PID5例、子宮外妊娠4例であった。卵管形成術の手術内容は卵管開口術21%で最も多く、複合手術20%、卵管間質部吻合術18%、腹腔鏡的癒着剝離術13%、次いで癒着剝離術、卵管采形成術、卵管峡部端々吻合術の順になっている。術後改善度は卵管造影ならびにsecond look laparoscopyにて判定した。全体としての術後改善率は66%であったが、卵管水腫の開口術では42%また附属器周囲を越える腹腔内癒着の癒着剝離術では33%と術後成績は不良であった。その他の手術では70%以上の改善率が認められた。妊娠例は22例(36.1%)であった。最も妊娠例が多かったのは複合手術の6例で、腹腔鏡的癒着剝離術が5例、峡部端々吻合術4例の順である。妊娠予後は流産が3例、子宮外妊娠が2例でこれを合わせると流産率は22.7%と高い傾向があった。しかも、卵管水腫の卵管開口術は4例妊娠したがそのうち2例が卵管妊娠であった。妊娠までの期間は最高2年を経過して妊娠した症例が1例あったのみで他は全て1年以内に妊娠し平均妊娠までの期間は6.7カ月であった。この妊娠率は一般的なIVF-ETの妊娠率よりも高く、卵管因子のみの不妊症例においては(卵管水腫を除いて)今後も卵管形成術が有用である事が示唆された。

149

子宮不妊症に対するTompkins法の有用性に関して

藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院産婦人科

○野村祐久、石川 洋、松原英孝、石川順子、山口陽子、丹羽邦明、
高橋正明、金倉洋一、米谷国男

(緒言) 子宮不妊に対して Strassmann 法、Jones&Jones 法が広く用いられているが、Tompkins 法はさほど行われていないようである。我々は、平成2年から現在まで双頸双角子宮の不妊症3症例に Tompkins 法を施行し、3症例とも妊娠成立することが出来た。そのうち1症例は、正常児を2回得ることができ、他の2症例は現在順調に妊娠継続中である。(症例) 症例①; 26歳の時近医にて重複子宮を指摘され、30歳の時他院にて膈中隔切除術を受ける。平成2年2月、34歳で当院受診。精査にて双頸双角子宮を確信し、Tompkins 法を行った。平成3年4月妊娠を確認し、平成3年11月、37週3日、帝王切開術にて3130g女児を娩出した。平成4年8月に再度妊娠成立し、平成5年2月、38週3日、帝王切開術にて3020gの男児を娩出した。症例②; 26歳の時近医にて子宮奇形を指摘され、当院受診した。精査後、双頸双角子宮と診断し、平成5年3月に Tompkins 法を行った。その後近医にてタイミング指導を受け、妊娠成立し現在順調に経過している。症例③; 不妊期間3年に近医受診、重複子宮といわれ当院受診。精査にて双頸双角子宮と診断され、平成4年9月に Tompkins 法を行った。子宮内膜症も合併していたため、術後3ヵ月間酢酸ブセレリンを投与し、平成6年1月妊娠成立した。現在妊娠経過順調である。(結語) 子宮不妊に対する修復手術の適応に関しては一定の見解は無いが、単頸双角子宮、弓状子宮に対して Strassmann 法や Jones&Jones 法が行われ、重複子宮については手術適応が無いというのが一般的であるように思われる。双頸双角子宮に関しては、症例も少なくはっきりとした治療法が確立されていない。我々は、この4年間に双頸双角子宮3症例に対して手術治療を行い、全例に妊娠成立し、1症例に2回正常児を得ることが出来た。このことにより、双頸双角子宮の不妊患者に対して、積極的に手術療法を適応していくほうがよいのではないかと考えられた。

150

「不妊患者におけるクラミジア感染」

向仁会 永井病院 ○角田千恵子 永井 宏

〔目的〕 chlamydia trachomatis (以下CT) 感染と卵管性不妊との関連が明らかにされつつあるが、CT感染を日常診療でいかに早期に診断し、適切な治療を行い卵管性不妊に至るのを防ぐかは、むずかしい問題である。今回、不妊患者におけるCT抗体、抗原検査、卵管因子と患者背景を検討すると同時に、人工妊娠中絶及び、妊娠初期(8週~12週)におけるCT感染を比較検討した。

〔方法〕平成5年9月より平成6年2月までに当院を受診した不妊患者50例、及び妊婦198例、妊娠中絶患者71例を対象とした。抗体検査はセロイパライザクラミジアIgA IgGを用い、抗原検査はIDEIA クラミジアを用いた。IgA、IgGはCOI $\geq$ 1.11を陽性とした。不妊患者50例中45例に子宮卵管造影を行い、異常所見を得た8例中5例に腹腔鏡検査を施行した。又、協力が得られた夫5名に尿中CT抗原、血清CT抗体を検査した。

〔成績〕不妊患者におけるIgA(+) IgG(+)は22%(11/50)、IgA(+) IgG(-)及びIgA(-) IgG(+)は各々2%(1/50)であった。子宮頸管抗原陽性例は認めなかった。抗体陽性例中約60%にHSG、腹腔鏡所見に異常を認めたが患者背景を検討すると結婚前の中絶歴、複数パートナー等があり、夫の尿中CT抗原陽性例、抗体陽性例も認めた。妊婦IgA(+) IgG(+)及びIgA(+) IgG(-)は各々8.1%(16/198) IgA(-) IgG(+)は3.5%(7/198)であり、抗原陽性例は5%であった。一方、妊娠中絶患者の抗原陽性例は14%であった。

〔考察〕CT感染と卵管因子との関連性が認められ、CT抗体検査は不妊患者のスクリーニング検査として有用と思われる。又、妊婦抗体陽性例とCOI値に有意な差が認められないことから、CT感染の持続期間が不妊症の予後に関連していると推測される。CT感染はSTDである事を充分認識し、症状がなくともハイリスク群には積極的に診断、治療を行うことが重要と思われる。

151

抗クラミジア抗体陽性婦人とそのパートナーのクラミジア感染の検討

社会保険大宮総合病院泌尿器科 東京慈恵会医科大学泌尿器科¹⁾○西田 篤、小寺重行、川原 元¹⁾、大石幸彦¹⁾

【目的】不妊の原因としてクラミジア感染が男性、女性側の双方で注目されている。我々は不妊、性器出血、妊婦健診で産婦人科を受診した患者のうち、抗クラミジア抗体が陽性である婦人のパートナーのクラミジア感染に関して検討した。

【対象及び方法】1993年4月より1年間、社会保険大宮総合病院産婦人科を受診し、抗クラミジア抗体陽性(IgG, IgA, ELISA法)と診断された婦人のパートナー(夫、婚約者)25人を対象とした。尿道挿過組織、血清を採取し、その抗原(DNA, in situ ハイブリダイゼーション法)、抗体価(IgG, IgA, ELISA法)を測定した。抗原または抗体陽性例には2~4週間の抗菌剤投与を行なった後再検し、治療による抗原、抗体の変化を観察した。

【結果】自覚症状は全員なく、尿沈渣においても白血球数が10 μ /HPF以上のものは1例のみであった。クラミジア抗原(DNA)陽性は6例(24%)、抗クラミジア抗体(IgG, IgA)陽性は13例(52%)、抗原、抗体ともに陰性は6例(24%)であった。2週間の抗菌剤投与により抗原は全て消失、抗体は2週間後に消失したものが1例あったがその他の症例では観察期間内に消失しなかった。

【考察】1. 女性側が抗体陽性の場合、高率(76%)に男性側の無症候性クラミジア感染の存在が疑われたので、治療はパートナーを含めて同時に行なう必要があった。2. 尿道挿過組織の抗原は2週間でcut off値以下となるため抗体が数ヵ月間陽性であっても抗菌剤を同期間投与する必要はないが、内生殖器感染が疑われる場合は4週間の投与は必要である。3. 血清抗体IgG, IgA値は必ずしも病勢を反映しておらず、治療判定には適当ではない。2~4週間の抗菌剤投与の後、再感染が疑われない限り血清抗体価を追跡するのみでよいと考えられた。

152

クラミジアトラコマチス抗体IgG(-)IgA(+)の患者の検討

市立芦屋病院産婦人科 亀田 隆

大阪労災病院産婦人科 谷口 武、西川吉伸

クラミジアトラコマチス抗体検査は、一般にグロブリン別のIgGとIgAが測定されて、その感染の有無が判定されている。しかし、IgG(-)IgA(+)の症例については、感染の有無の判定に一定の見解が得られていない。そこで不妊症患者を対象に行われた抗体検査と卵管因子の検査(子宮卵管造影と腹腔鏡)から、IgG(-)IgA(+)の症例におけるクラミジトラコマチスの感染の有無について検討を行った。対象は平成4年1月から平成5年12月までに大阪労災病院産婦人科の不妊外来を受診した156例である。検査はセロイバライザクラミジアIgGIgAを用いた。156例中98例に子宮卵管造影検査、156例中58例に腹腔鏡が行われた。その結果、156例中IgG(-)IgA(+)の症例は14例(9.0%)であった。14例中7例に子宮卵管造影が行われ、2例(28.5%)に卵管因子が認められた。また14例中7例に腹腔鏡が行われ、同じく2例(28.5%)に付属器周囲癒着を認めたが、そのうち1例は子宮内膜症によると考えられた。156例中IgG(+)IgA(+)の症例は25例あり、子宮卵管造影および腹腔鏡で卵管因子を認めたのは、各々7例中5例(71.4%)と18例中13例(72.2%)と高い頻度であった。一方、IgG(-)IgA(-)の症例は90例あり、同様の卵管因子の頻度は38.6%および30.3%であった。以上のことから、IgG(-)IgA(+)の症例の卵管因子の頻度はIgG(-)IgA(-)の症例のものと極めて近いことが判明した。このことはIgG(-)IgA(+)の症例がクラミジアトラコマチスに感染していない可能性が高いことを示していると考えられた。

153

腹腔鏡施行症例における卵管障害とクラミジア感染に関する検討

東邦大学医学部第一産科婦人科学教室

○矢野 義明, 森田 峰人, 久保 春海, 平川 舜

〔目的〕腹腔鏡検査の際に、血中抗クラミジア抗体を測定し、クラミジア感染と骨盤内所見との関係について検討した。

〔対象および方法〕精査・治療目的で当科にて腹腔鏡を施行した、不妊症患者80例および子宮外妊娠患者15例を対象とし、術前に血中抗クラミジア抗体をイパザイム法およびセロイパライザクラミジア法にて測定した。対照として、当科にて正常産分娩した80例について血中抗クラミジア抗体をセロイパライザ法にて測定した。

〔結果〕抗クラミジア抗体陽性者は若年層において比較的に多く、また既往妊娠別の検討では、人工中絶既往例で陽性率が高く、正常分娩既往例では陽性者は認めなかった。抗クラミジア抗体陽性率は不妊症患者ではIgA 36.3%, IgG 53.8%, 子宮外妊娠患者では IgA 60.0%, IgG 80.0%と、対照患者のIgA 16.3%, IgG 13.8%に比較し有意に高率であった。不妊症患者における卵管異常陽性率はIgA(+), IgG(+)群で93.1%とIgA(-), IgG(+)群の35.7%, IgA(-), IgG(-)群の32.4%に比べ有意($p<0.001$)に高率であった。卵管異常の内訳は卵管卵巣周囲癒着症、卵管閉塞症とともにIgA(+), IgG(+)群で高率に認められた。IgA(+), IgG(+)群の卵管閉塞例では卵管留水症を呈する症例が多く認められたのに対して、IgA(-), IgG(-)群では近位での閉塞例が多く認められた。

〔結論〕抗クラミジア抗体陽性例、特にIgA抗体陽性例では高率に卵管異常が認められ、外妊症例も多く存在し、クラミジア感染症と卵管障害との関与が示唆された。

154

腹腔鏡下卵管形成術後に妊娠に至ったクラミジアPIDの不妊症例

竹田総合病院 産婦人科 安斎 憲 吉田仁秋

近年産婦人科領域に於いてChlamidia trachomatis感染症が注目され、STDの1つとして子宮頸管炎、子宮付属器炎、PIDの原因として注目されている。更に卵管への上行感染により器質的な障害をもたらし、卵管周囲の癒着や卵管性閉塞の発生原因となりうる。その上不妊患者での卵管因子の占める割合は25-50%と高率な報告も有る。このため当科では不妊患者の初期スクリーニングとしてChlamidia IgA, IgG抗体の検索を施行している。

症例は25歳と31歳の原発性不妊症の患者で両者ともIgA, IgG抗体が陽性であった。更に治療後のHSG所見で両側のPFA, PTAを疑い腹腔鏡検査を施行した。検査所見は両側の卵管がクラミジア特有の膜様物で被覆され、更に子宮後面に癒着を認め卵管采を確認出来なかった。更に1例は肝表面にFitz-Hugh-Curtis Syndromeと言われるviolin stringを形成していた。この癒着を腹腔鏡下に剥離し、卵管形成術施行後にインジゴにて通過性を確認し、手術を終了した。両者とも翌日退院し、次周期より排卵日を同定し、妊娠に至った。

以上の結果より不妊症を主訴として来院したTrachomatis抗体陽性者の治療には薬剤投与のみでは不十分であり、早期の腹腔鏡検査を必要とされ、卵管形成術を必要とされる場合も存する。今回我々はChlamidia Trachomatis抗体陽性で腹腔鏡下に癒着剥離術及び卵管形成術後に妊娠成立を来した2症例を経験したので文献的考察を含めて報告する。

155

Chlamydia trachomatis 感染を有する不妊患者の骨盤内所見と妊娠成績に関する検討

福岡大学医学部産婦人科

○本庄 考, 詠田由美, 京野和夫, 松本信一郎, 白川光一

〔目的〕Chlamydia trachomatis (以下CT)感染不妊患者では、感染期間により卵管障害の程度は様々で、不妊治療法は多岐にわたると考えられる。われわれは、CTによる卵管障害の程度を推察する目的で、CT感染不妊患者の骨盤内所見と妊娠成績をIgG抗体有無別に検討した。〔方法〕CT抗体価の測定は、IgG、IgA抗体はEIA法(セロイパライザ)、IgMは蛍光抗体法を使用した。当科不妊外来のCT抗体陽性91例を以下の2群に分類した。MA群: IgA、IgMいずれか(+)、IgG(-)。G群: IgA、IgMいずれか(+)~(-)、IgG(+)。①91例中44例に腹腔鏡検査を施行し、卵管所見をⅠ: 両側卵管閉塞、Ⅱ: 癒着、Ⅲ: 異常所見なしに分類し、上記の2群間で検討した。②腹腔鏡検査施行時には同時に腹腔鏡下癒着剥離術を施行し、その後の妊娠成績を2群で比較した。③妊娠に至った治療を非IVF-ET(排卵誘発、人工授精など)とIVF-ET治療に分けG群、MA群で検討した。〔結果〕91例中、MA群は20例、G群は71例であった。①MA群の10例、G群の34例に腹腔鏡検査を施行した結果、Ⅰ、ⅡおよびⅢの割合は、MA群でそれぞれ0%、80%、20%、G群でそれぞれ57%、22%、20%で、G群で両側卵管閉塞の割合が高率であった($P<0.01$)。②MA群の50%(5/10)、G群の6%(2/34)に腹腔鏡検査後に非IVF-ETで妊娠が成立し、MA群では腹腔鏡検査が有用であると考えられた($p<0.01$)。③妊娠率は、MA群: 60%(12/20)、G群: 45%(32/71)であったが、妊娠に至った治療の内訳では、MA群でIVF-ET治療は8%(1/12)のみであったのに対し、G群では56%(18/32)となり、G群ではIVF-ET治療が有意に高かった($P<0.01$)。〔考察〕CT感染不妊患者の骨盤内所見や妊娠に至る治療法は、IgG抗体の有無で大きく異なった。以上の結果より、CT感染の期間が長期であるほど卵管障害の程度は高度となり、不妊治療はより煩雑になることが示唆された。

156

高LH血症性排卵障害(内分泌学的PCO)は進行性病変か?

賛育会病院、帝京大学医学部* 産婦人科

○合阪幸三、都築浩雄、鳥谷葉子、齊藤英樹、笹森幸文、國保健太郎、吉田浩介、森 宏之*

高LH血症性視床下部障害(内分泌学的PCO)は、典型的なPCOの初期の病体であると考えられており、年齢と伴に進行性の病変であるとされている。そこで、多数例について、その臨床的背景を総合的に検討した。【方法】過去5年間の内分泌学的PCO(A群: 視床下部障害による排卵障害で、血中LH>FSHを示す105例、 28.0 ± 6.1 歳、 $M\pm SD$)について、血中各種ホルモン値の測定、各種ホルモンデータ間、およびそれらと年齢との相関、子宮内膜組織診と年齢との相関について検討した。同時期の非PCO性視床下部性排卵障害患者(B群: 血中LH $\leq$ FSH、98例、 26.4 ± 4.8 歳)についても同様の検討を行った。【成績】①血中 androstenedione (ASD) 値は、A: 2.6 ± 1.4 、B: 1.5 ± 1.2 ng/mlとA群において有意に高値を示した($p<0.001$)。②A群において、血中LHとASDとは推計学的に有意の相関を示し($r=0.512, p<0.01$)、年齢と血中ASD値との間でも有意の相関がみられた($r=0.694, p<0.01$)。しかし、他の血中ホルモン値と年齢の間では、有意の相関は認められなかった。③子宮内膜組織診では、本疾患の特徴とされる、間質の浮腫が著明で内膜腺の発育不良を伴ったいわゆるpersistent weak estrogenic endometriumの像を示す症例は、A群で41例にみられたが、これらの年齢は他の64例に比較して有意に高齢であった(32.0 ± 5.5 vs. 25.3 ± 5.6 歳、 $p<0.001$)。【結論】内分泌学的PCOの特徴である高ASD血症は年齢を重ねるに従って顕著となり、子宮内膜組織診でも年齢と伴に典型的な像を示すようになることから、本疾患は進行性病変である可能性が示唆される。

157

dehydroepiandrosterone sulfate(DHAS)高値を伴う不妊症例の臨床的背景と
dexamethasone併用療法の有用性に関する検討

福岡大学医学部産婦人科

○詠田由美、本庄 考、榊原智子、池田景子、白川光一

[目的]一般不妊検査としてのDHAS測定の有用性を確立する目的で、血清DHAS濃度が高値であった不妊症例を対象に、その臨床的背景の分析ならびにdexamethasone併用療法の有用性について検討を行なった。
[対象・方法]1992年より1993年までに、挙児希望にて当科不妊外来を受診しDHASの測定を行なった154例中、1500ng/ml以上であった71例(mean=2151±534ng/ml, range=1500~3548)を対象とした。なお今回の検討には、習慣流産症例は含まれない。DHASの測定にはRIA-DCC法を使用した。dexamethasone併用療法は、排卵誘発ならびにIVF-ET治療の際に、月経周期第5日目よりdexamethasone 0.5mg/日×10日の投与をおこなった。
[結果]①71例中、原発不妊48例、続発不妊23例でそのうち13例(56.5%)に流産の既往があった。②基礎体温診断およびgestagen testの結果では、正常排卵周期14例、黄体機能不全15例、卵胞発育不全8例で、計37例(52.1%)は排卵周期を有していた(排卵群)。無排卵群34例の内訳は、第1度無月経24例(9例はclomiphene無効)、第2度無月経1例、無排卵周期症9例であった。③DHASの平均値は排卵群で2100±500ng/ml、無排卵群で2200±570ng/mlで両群間に有意な差はなかった。④排卵群では高温期7日目のprogesterone(P)値が10ng/ml以下の症例が52%に見られ、DHAS値とP値には負の相関があり($r=-0.388$)、黄体機能不全への関与が示唆された。⑤71例中36例、のべ46妊娠が成立した(妊娠率51%)。のべ妊娠46例中、dexamethasone 併用で妊娠に至った28例中25%が流産であったのに対し、dexamethasone 非併用18例は55.6%と有意に高い流産率になった($p<0.05$)。[考察]DHAS測定はPCOや多毛症についてのみならず一般不妊検査として有用であり、DHAS高値症例の妊娠予後改善のためには、dexamethasone併用療法が有用であると考えられた。

158

体外受精時のゴナドトロピン製剤に対する卵巣低反応症例のホルモン値の検討

山形大学医学部産婦人科

○河内谷 敏、石田 カブリエラ、野原 理、斉藤 隆和、中原 健次、
斉藤 英和、広井 正彦

ゴナドトロピンによる過排卵刺激によっても反応卵胞が少ない、いわゆるlow responderの患者は対応に苦慮することが多い。これらの症例について体外受精時の卵胞刺激の各時期において、ホルモン値の推移を検討した。

【方法】1993年6月から1994年3月までに当院にて体外受精、胚移植を行った282名の患者のうち、採卵日までの日数が16日以上で、かつ採卵決定時の成熟卵胞数が1個であった6症例をlow responderとし、その他を対照群とした。すべての症例で月経周期1日目よりGnRHa 600mg/dayを採卵決定日まで使用した。また、月経周期3日目よりHMG投与を開始し、hCG投与日の決定は最大平均卵胞径が15mmを越えた時点とし、その2日後に採卵を行った。それぞれの群において月経周期7日目、hCG投与日、採卵日、胚移植日に血清E2、P4、LH、FSH、PRLを測定し、検討した。

【結果】low responder群は対照群に比べE2はすべての採血時において著明に低値を示した。P4は採卵日まではlow responder群が有意に高値を示したが、胚移植時には逆に対照群で著明上昇を示し、low responder群では軽度上昇のみであった。PRL値は対照群においては採卵時にほとんどの症例が20ng/ml以上であったが、low responder群は高PRL血症の1症例をのぞき20ng/ml以下であった。LH、FSHについては両群間に有意な差を認めなかった。

【結論】総成熟卵胞数を反映するE2は、明らかにlow responder群が低値を示した。また、E2依存性の変動を示すとされるPRL値は、今回の検討により、low responder群においてもE2依存性の変動を認めた。

159

hMG療法に対するpoor responder例におけるM-CSF併用の有用性の検討

熊本大学医学部産科婦人科学教室 ○西村佳与子 田中信幸 本田律生
生田幸生 田代浩徳 河野哲郎
松浦講平 岡村 均

(目的) 近年成長因子等による卵巣機能調節が注目されており、growth hormone (GH)/insulin-like growth factor (IGF) の卵巣発育への関与が報告されている。既にhMG療法におけるpoor responder (特にGH予備能低下例) に対してGH併用の有用性が報告されているが、我々は、ラットにおいてmacrophage-colony stimulating factor (M-CSF) / macrophage (M ϕ) 系が卵巣成熟および排卵過程に関与しているとの知見を得ていることから、informed consentを得て、今回hMG療法との併用を試みた。

(対象および方法) 既往のhMG ($\pm$ GnRHa) 療法では卵巣発育の認められなかった6症例を対象とした。M-CSF併用前にGH予備能検査としてクロニジテストを行ない、GH (ng/ml) が負荷後4ng/ml以上増加したものをGH正常群とし、それ以下をGH低下群とした。Cycle Date (C.D.) 3よりhMG投与を開始し、C.D. 3, 5, 7にM-CSF (ロイコブロール 800万単位) を点滴静注した。3回のM-CSF併用投与の無効例には、隔日にM-CSFを7回投与した。

(成績) GH正常群2例は、いずれも卵巣発育を認め、各々AIH、IVF-ETを施行した。GH低下群4例は、hMG 3000IUまで投与したが卵巣発育は認められなかった。

(結論) hMGに対するpoor responderにM-CSF有効例が認められた。この有効例はいずれもGH予備能正常群であり、卵巣機能調節をみる上で興味深い結果であった。

160

成熟卵胞液中のPAI-1抗原、PAI-1活性およびt-PA抗原の意義

熊本大学産科婦人科学教室
岩政 仁、松浦講平、田中信幸、河野哲郎、生田幸生、岡村 均

目的: 卵胞内Plasminogen Activator (PA) 活性は排卵直前まで増加して行く。そこでIVF-ETにおける成熟卵の質の判定の可能性を検討する目的で、成熟卵胞液中のplasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 活性、PAI-1抗原およびtissue-plasminogen activator (t-PA) 抗原を測定した。方法および対象: 当科でIVF-ETを行った10症例 (男性因子例は除外) を対象とし、IVF-ET後妊娠分娩に至った5例から得られた卵胞液を良質卵胞とし、その中でETをおこなった卵が存在していた卵胞液9検体を妊娠群とした。対照として受精卵をETするも妊娠に至らなかった5症例のうち受精に至っていない卵の卵胞液8検体を未受精群とした。両群の間の年齢、適応、hMG使用量、GnRH投与方法および採卵個数に有意差は認めなかった。卵胞液中のPAI-1抗原、PAI-1活性およびt-PA抗原の測定は、それぞれBiopool社TintElize[®] PAI-1キット、Biopool社Spectrolyse[®] (pL) PAI およびBiopool社TintElize[®] tPAキットを用いた。結論: 妊娠群および未受精群におけるPAI-1抗原、PAI-1活性およびt-PA抗原の値は各々、妊娠群、 318.1 ± 80.1 ng/ml、 20.5 ± 13.7 U/ml、 1.59 ± 1.03 ng/ml [mean $\pm$ SD] であり、一方未受精群では 277.4 ± 155.8 ng/ml、 17.2 ± 14.8 U/ml、 1.85 ± 0.91 ng/ml [mean $\pm$ SD] であった (両者の間に有意差は認められなかった)。しかし、未受精群ではPAI-1抗原とPAI-1活性の間には $p=0.0066$ で正の相関が認められたが、妊娠群での相関は認められなかった。PAI-1活性/PAI-1抗原比は妊娠群および未受精群で 0.067 ± 0.0396 および 0.049 ± 0.0372 [mean $\pm$ SD] となり両者に有意差は認めなかった。考察: 血漿中のPAI-1抗原量とPAI-1活性は正の相関を示し、未受精群卵胞液はこれを反映していると考えられるが、妊娠群卵胞液ではこの相関がみられないことから、正常卵巣成熟過程において排卵時PA活性が上昇する機序としてPAI-1活性の相対的減少が示唆される。この現象が卵の質の評価に有用か否かは今後のさらなる検討が必要である。

161

排卵直前のヒト卵胞液の性状—42項目の測定値の検討—

神戸市立中央市民病院産婦人科

○島田逸人、山下正紀、塩谷雅英、星野達二、小野吉行、池内正憲、
高島英世

【目的】我々は、ラットの実験モデルを用い排卵過程に伴い卵巣中のPlasminogen Activator(PA)活性が上昇することを報告してきた。しかしヒトの卵胞液中ではPA活性の上昇は見られずPlasminogen Activator Inhibitor-1(PAI-1)の優位が報告されている。今回排卵直前のヒト卵胞液の性状を知るため、卵胞液及び血中の線溶因子、凝固線溶の分子マーカー、各種ホルモン、サイトカイン、生化学スクリーニング検査の合計42項目を同時測定し卵胞及び血中値を比較検討した。【方法】IVF-ET施行婦人より得られた卵胞液10検体及び採卵時に同時採血された血液を検体として用いた。線溶因子のtPA,uPA,PAI-1,PAI-2及び凝固線溶の分子マーカーのD-dimer,PIC,TATはEIA測定キットにて、ホルモンのLH,FSH,PRL,E2,P,TはRIA法にてHCGはTR-FIA法にてサイトカインのIL-1 α ,IL-1 β ,TNF- α ,G-CSFはEIA法にて、生化学スクリーニング検査の24項目TP,Alb,Glob,T-Bill,GOT,GPT,LDH, γ -GTP,ALP,LAP,TTT,ChE,CPK,Chol,TG,UA,BUN,Creati,CRP,SIAL,Na,K,Cl,Caは生化学自動分析装置(日立736)を用いて測定した。【成績】卵胞液中の線溶系因子ではPAI-1のみが著明な上昇を示し(血中 28 ± 19 ; 卵胞中 280 ± 126 ng/ml)、分子マーカーはいずれも低値を示した。ホルモン値ではE2,P,Tが、サイトカインではG-CSFが高値(血中 41.2 ± 21.8 ; 卵胞中 115.0 ± 40.3 pg/ml)を示した。生化学スクリーニング検査値は、大部分において血中値とはほぼ等しいか少し減少しており、Chol,TG,TTTにおいてのみ著明な減少をみた。【結論】卵胞液は漏出液の性状に類似する。卵胞液中では線溶系の亢進は認められない。血中値の10以上の高値を示したのはPAI-1,E2,P,Tであり、これらは特に排卵現象と深い関連を有するものと思われる。

162

下垂体摘除ラットにおける卵胞発育におけるLHの役割

大阪医科大学産科婦人科学教室、○奥田喜代司、鈴木佳彦、
岡崎 審、佐伯理男、奥田弘賢、杉本 修

【目的】下垂体摘除幼若雌ラットにrecombinant FSH(recFSH) 40IUに種々の量のhCG(0, 0.1, 1, 10 IU)を添加して投与すると、FSHのみで卵胞成熟はみられるが、LH(hCG)の含有量によりFSHの卵胞刺激効果は異なってくること、すなわち、LHは卵胞膜細胞の増殖、卵胞膜細胞での17 α -hydroxylaseの活性および卵胞発育に大きく関与しているを報告した。今回、recFSHに種々の量のLHを添加して排卵、卵成熟および黄体機能に及ぼす影響を検索した。【方法】下垂体摘除後11日目のWister系幼若雌ラットに4日間連日でrecFSH(総量40-100IU)を各種hCG量(0, 1, 10 IU)を添加して投与し、24時間後にhCG 100IUを投与した。hCG投与18-20時間後に卵巣組織および全血を採取した。また卵管内より卵を採取し、体外受精を行い、その分割率をみた。摘出卵巣はHE染色し、血中estradiol(E2),progesterone(P)などのステロイド濃度を測定した。【成績】recFSHのみ(100IU)の刺激では卵胞は成熟するが、排卵はみられなかった。一方、recFSH(100IU)にhCGを総量1IUを添加すると、半数に排卵が認められた。またhCGの10IU添加ではすべてに排卵が認められた。これらラットの血中P濃度は排卵数によく相関していた。排卵した卵の分割は70%以上で認められた。【結論】FSHのみでも卵胞成熟はみられるが、卵胞膜細胞の増殖などが起こらないためにhCGによる排卵が阻害されたものと考えられ、排卵には卵胞刺激におけるFSHとLHが重要であることが示された。

163

当院における不育症症例の検討

東邦大学医学部第1産婦人科学教室、同 輸血部*

○間崎和夫、中野英之、久保春海、平川 舜、

加藤 禎、月本一郎*

1991年10月から1994年6月までに当院を受診し、子宮形態異常、内分泌異常がなく2回以上の流産の既往がある41例と、1回の流産と生物学的偽陽性のある患者2例の合計43例を対象とし、染色体、抗リン脂質抗体、HLA検査、夫リンパ球との交差試験などを行い臨床的検討を行った。

抗リン脂質抗体検査は抗カルジオリピン抗体をELISA法にて測定、健常人血清測定値の $\text{mean}+2\text{SD}$ を陽性とし、ループスアンチコアグラントは正常血漿添加試験、血小板中和試験で測定した。またコファクターとの関連を検討するため、抗カルジオリピン・ β_2 -glycoprotein I (β_2 -GP I)複合体抗体の測定を三菱油化ビーシーエルに委託し結果を比較した。HLAはクラスI (A,B,C)とクラスII (DR,DQ)を検査し、リンパ球交差試験にてT細胞抗体、warm-B細胞抗体、cold-B細胞抗体を測定した。

染色体異常は妻に3例(相互転座2例、相同型ロバートソン転座1例)、夫に1例(逆位)で合計4組(9%)の夫婦に認められた。抗カルジオリピン抗体IgG、IgMとも陽性は5例(12%)、IgGのみ陽性は4例(9%)、IgMのみ陽性は2例(5%)であった。ループスアンチコアグラント陽性は1例(9%)で、そのうちの3例が抗カルジオリピン β_2 -GP I複合体抗体陽性であった。リンパ球交差試験は29例に行いT細胞抗体、warm-B細胞抗体、cold-B細胞抗体が全て陰性は20例(69%)であった。

抗リン脂質抗体陽性の患者には低容量アスピリン療法またはプレドニンとの併用療法を行い3例が分娩、2例が妊娠中である。夫リンパ球による免疫療法は19例に行い、免疫療法後にリンパ球交差試験を行った11例においてT細胞抗体陽性は6例(55%)、warm-B細胞抗体陽性は8例(73%)、cold-B細胞抗体陽性は11例(100%)であった。免疫療法後3例が分娩、2例が妊娠中で、1例が流産した。またリンパ球交差試験陰性で免疫療法を行っていない5例中1例が分娩した。

164

当科における過去6年間の習慣流産患者の次回妊娠予後についての検討

済生会神奈川県病院 産婦人科

○小林淳一、吉村慎一、春日美智子、高松 潔、小西康博、中野真佐男

済生会神奈川県病院産婦人科では1988年より習慣流産外来を設け、系統的検査と治療を行ってきた。今回、その妊娠例につき予後の検討を行った。当科の初診習慣流産患者の登録数は205名で平均流産数 2.88 ± 0.2 ($\text{mean} \pm \text{S.E.}$)、平均年齢、妻 31.5 ± 0.6 才、夫 32.9 ± 0.5 才であった。妊娠数はのべ175例で流産数35例であった。そのうち初産者では妊娠118例、流産数24例で流産率20.3%であった。一方経産者では妊娠57例、流産数11例、流産率19.3%で、両群で妊娠予後に有意差はなかった。年令別に検討すると、25才以下は妊娠数20例、流産数4例で流産率20%、25才～29才では妊娠数54例、流産11例、流産率21.7%、35才以上では妊娠数41例、流産7例、流産率17.1%、年令別に次回妊娠の予後に有意差はなかった。妊娠成立別に視ると、IVFでの妊娠数9例、流産数4例で流産率44.4%、AIHでの妊娠数23例、流産数5例で流産率21.7%。自然妊娠は143例中、流産数26例で流産率18.2%。IVFでは、同一人で3回のearly abortion例があり、この点を考慮すれば妊娠成立手段による流産率に有意差はなかった。原因と治療別の次回妊娠予後の検討では、夫リンパ球免疫治療をした群は、妊娠数115例、流産数19例で流産率16.5%。免疫適応と判断するも免疫せず妊娠した10例では、流産3例と症例数が少なく有意差は無いものの、免疫治療の効果を示唆するものであった。子宮奇形については、手術数16例、手術後妊娠数12例、流産数2例で流産率は16.6%であり、手術後2次性不妊になった例はなく、積極的に治療を行う必要が示唆された。ループスアンチコアグラント陽性例については、紫苓湯、アスピリンとプレドニンの3剤を単独又は併用して治療した結果、妊娠数9例、流産数3例で流産率33.3%と症例が少ないが比較的流産しやすく、有効な治療の検討が望まれる。習慣流産は原因、治療とも複雑で多岐にわたるため、個々の症例に対する緻密な取り組みが重要であり、原因の追究、新しい治療法の開発が必要と思われる。

165

機能性不妊症における不育症因子と治療成績

医療法人 假野クリニック

○假野 隆司、古殿 正子、奥山 恵子、石井みさ子

【研究目的】機能性不妊症は不育症の延長線上に存在するとの推測から、同症への免疫学的不育症因子の関与を調べるとともに不育症に準じた治療成績を検討した。

【対象と方法】5年以上の不妊期間、1年以上の治療実績を有し、最低3周期は各種不妊因子に異常がなかった37例の染色体(夫婦)・HLA抗原(夫婦)・抗核抗体・抗DNA抗体・抗cardiolipin IgM抗体を調べた。HLA class II抗原を2個以上sharing例には夫リンパ球移植、無効・流産例には柴苓湯併用療法を、HLA-DR4抗原保有例・抗核抗体・抗cardiolipine IgM抗体陽性例、HLA sharing・自己抗体陽性の重複例には柴苓湯療法を行なった。

【結果】染色体では転座が2例(5.4%)、HLA class II抗原のsharingは3個以上が37.8%、2個が39.7%に認められた。DR4抗原保有率は29.7%、抗核抗体陽性率は16.2%、抗体cardiolipin IgM抗体陽性率は18.9%であった。各因子の重複は51.3%と過半数を占め、HLA sharingと自己抗体陽性の重複が多かった。不育症因子を有しないのはわずか16.2%であった。生児獲得率でみた治療成績はリンパ球移植(8.6%)、リンパ球移植・柴苓湯併用(13.0%)、柴苓湯単独(17.4%)であった。DR4抗原保有率は27.3%、抗核抗体陽性は50.0%、抗cardiolipin IgM抗体陽性は28.6%、流産例は全てHLA sharingを重複していた。

【結論】1)機能性不妊症の主因は着床に関わる生殖免疫学的異常であるが、自己免疫異常と同種免疫異常が合併することが多いのが特徴である。2)同種免疫異常(HLA sharing)と自己免疫異常の合併例の治療法は現状では柴苓湯療法しかない。3)柴苓湯は自己免疫異常のみならず同種免疫異常にも有効である。

166

T P A処理によりブルーム症候群患者Bリンパ細胞株表面に発現したヒト流産関連胎児抗原性ならびにそれらの細胞膜蛋白を用いた患者血清中の流産関連胎児抗体測定法

○白石行正(高知医大・解剖)、北村 凌(北村産婦)、山本 暖、
長谷川俊水(高知県立中央病院・産婦)

ブルーム症候群(Bloom syndrome; BS)は、高発癌疾患として知られており、これまでの研究でBS Bリンパ細胞株を発癌剤処理により、細胞表面に種々の癌患者血清中抗体と反応する癌抗原性の発現性を確認し、抗原-抗体反応を用いたPanning法により、卵巣癌、悪性リンパ腫、胃癌、肺癌抗原細胞クローンを分離したが、最近EBV(Epstein Barr virus)でトランスフォームされた直後のBS Bリンパ細胞にTPA(発癌プロモーター)処理することにより細胞表面に妊娠早期流産を経験した女性血清中抗体と反応する細胞集団を蛍光抗体法で確認し、Panning法を試みた結果、妊娠早期流産を経験した女性血清とのみ反応する細胞株を分離することに成功した。もちろん、この細胞抗原は、正常妊娠女性血清ならびに健康人血清とは反応しないことより、流産関連胎児抗原(Human embryonic antigen associated with abortion, HEAAb)と名付けた。一方、最近5~10年間における産婦人科領域での流産の治療研究では習慣性流産女性に夫のリンパ球免疫を与えることにより、約70%の症例で有効に働き、妻の方が再度妊娠(出産)に至ることが知られ、治療にも用いられている。興味ある事実は、流産直後にBS由来HEAAb抗原と強力に反応し検出された抗体が2~4回の夫リンパ球免疫後、消失し20/30例で妊娠に至っており、本診断方法は流産関連胎児抗体の検出だけでなく、夫リンパ球免疫の効果を判定するのにも有効であることが判明した。本研究では、40症例の妊娠早期流産患者とBS由来流産関連胎児抗原細胞を反応させ蛍光抗体法ならびに可溶化された細胞膜蛋白をSDS PAGE電気泳動後Western Blotting(WB)法による抗原蛋白の分子量同定ならびに本抗原のアミノ酸配列解析に成功し、本抗原の性質ならびに流産関連抗体の測定法についても述べる。

167

流産における染色体分析の意義

長崎大学医学部産科婦人科学教室

○高尾直大, 河野雅洋, 増崎英明, 石丸忠之, 山辺 徹

【目的】流産の種類および時期と染色体異常との関連性について検討する。

【対象および方法】1991～1994年5月までに当科で超音波断層法を施行した妊婦のうち、胎嚢のみが存在し胎芽の確認できなかった枯死卵12例および胎芽ないし胎児の心拍が描出された後に子宮内での死亡が確認された稽留流産（遷延流産を含む）38例を対象とした。これらの枯死卵および稽留流産の絨毛における染色体異常の頻度および種類を検討した。また、稽留流産については、胎芽ないし胎児の頭殿長と染色体異常の有無との関連性についても検討した。

【結果】枯死卵12例のうち11例（91.8%）の絨毛に染色体異常が認められ、その種類は3倍体3例、16トリソミー3例および22トリソミー2例などであった。一方、稽留流産38例の絨毛では19例（50.0%）に染色体異常が認められ、その種類は22トリソミー4例、3倍体3例および21トリソミー3例などであった。稽留流産のうち死亡確認時の頭殿長が30mm（妊娠10週相当）未満であった31例中19例（61.3%）が染色体異常であったが、頭殿長が30mm以上であった7例はすべて正常核型であった。なお絨毛の核型が正常であるにもかかわらず流産した20例のうち13例（65.0%）の母親に粘膜下筋腫、抗リン脂質抗体症候群、子宮奇形および甲状腺機能異常などの異常が認められた。

【考察】枯死卵の約90%、頭殿長30mm未満の時期における稽留流産の約60%の例において絨毛の染色体異常がみられ、これは不可避的流産と考えられた。染色体が正常核型であるにもかかわらず流産した例の65%に流産の原因と考えられる母体の異常がみられたことから、このような例では流産の原因検索がきわめて重要である。

168

流産における染色体異常の検討

福岡県立病院産婦人科

○金谷太郎、鈴木 隆、山崎 洋、福岡哲二、原田丈典、飯田和質
永久幸マタニティークリニック
道倉康仁

自然流産の原因には、受精卵の染色体異常が深く関連していることが多くの報告により認められている。近年、体外受精に伴う余剰未受精卵の染色体分析結果が報告されはじめ、ヒト受精卵の染色体異常率が注目を集めているが、その基礎資料として、自然流産児における染色体異常が再び注目されるようになってきた。今回我々は、当院における自然流産症例において絨毛染色体分析を行い、その致死因子としての染色体異常について考察したのでここに報告する。検索の対象は昭和62年2月から平成6年4月までに当院にて診断および処置を行った自然流産症例65例であり、同時期における人工流産症例37例を対照群とした。絨毛は主としてD&Cによって無菌的に採取し、直接法および培養法で染色体分析を行った。その結果、自然流産における絨毛染色体異常の頻度は65例中34例（52.3%）であり、対照群の人工流産の37例中3例（8.1%）に比べて有意に高いことを確認した。自然流産では染色体異常のほとんどが数的異常、特に常染色体トリソミーが多く（23例）、3倍体は3例、4倍体1例、45,X0のターナー症候群の核型は6例に認められた。構造的異常としては、9番遺伝子の逆位が1例認められたのみであり、欠失、転座の認められた症例はなかった。また、自然流産群において、途中まで胎児心拍が確認された症例は65例中21例であり、最初から心拍を認めなかった症例は44例であったが、心拍（+）の群は染色体異常例が10例、正常例が11例であり、心拍（-）の群は染色体異常例が24例、正常例は20例であり、致死性染色体異常との関連性についての考察を行ったが、3倍体、および4倍体ではすべて最初から心拍が認められなかったが、常染色体トリソミーおよびターナー症候群では胎児心拍の有無との関連は指摘し得なかった。以上の結果を踏まえ、自然流産における致死因子としての染色体異常について、文献的考察を加えて報告する。

169

Lupus Anticoagulant陽性患者のIG静注療法による反復流産の予防

埼玉医大 産婦人科

○佐久間 洋, 小倉一仁, 小松崎 哲, 小川博和, 堀切 浩, 相馬広明
畑 俊夫

【目的】習慣流産の一因として、近年抗リン脂質抗体などによるものがある。治療にはステロイド、アスピリン、ヘパリンなどが用いられるが、その効果は完全に満足できるものではない。今回我々は、ステロイド耐性ともいべきSLE患者を含めたLupus Anticoagulant (LAC) 陽性の反復流産患者に対しIVIG療法を行い、生児を得たので報告する。【方法】1) LAC検出には、患者血漿と正常血漿(3:1)の混合と正常血漿のPTT値の差が15以上あればLAC陽性とした。2) IVIGは、非修飾型液状製剤(Venoglobulin-IH, ミドリ十字製)を用いた。3) LAC陽性反復流産患者血液抽出IG加血漿、IG製剤加血漿、対照正常血漿のPTTを比較した。4) LAC陽性反復流産患者に対し、少量IVIG 2,500mgを3日毎に3回投与し、LACの変動をみた。5) LAC陽性反復流産患者3名に、妊娠時 IVIG400mg/kg/日5日間3~4週おきに3~4回投与し、投与前後のPTTおよび凝固線溶系と、妊娠状態を追跡した。6) LAC陽性反復流産胎盤とIVIG投与後の生児娩出胎盤の所見を比較した。【成績】1) 反復流産患者2例の血液抽出IgGと正常血漿との混合PTT値との比較では、対照の正常血漿やIG製剤との混合に比して、延長し、LAC保有が推定された。2) LAC陽性反復流産2名の非妊時に、少量IVIG投与では、前後のLAC値に影響を与えなかった。3) LAC陽性反復流産患者3症例に対し、妊娠時高単位IVIG(400mg/kg/日)5日間投与を1コースとして、3~4週毎に3~4回の投与を行ったところ、LACは1コース目から著明に低下。再上昇後も追加投与により低下し、全例で36週以降にAFDの生児を得た。AT-III, PLG, APLは一定の傾向を示さず、FV, FVIIIは一時低下し再上昇傾向を示した。一部胎盤には軽度の梗塞もあったが、血栓の形成はなかった。【考案】習慣流産患者に対する治療として、特に長期のステロイドやアスピリン療法を続けているSLEの反復流産に対し、IVIG療法が有効であることが示唆された。

170

治療に苦慮した抗リン脂質抗体陽性・SLE合併妊娠の一例

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○根本泰子, 牧野恒久, 小沢伸晃, 染谷健一, 細川知俊, 野澤志朗

SLEは妊娠可能年齢の女性に多く発症し、妊娠しても流産や子宮内胎児死亡の頻度が極めて高いことから、習慣流産として不育症外来を訪れることは少なくない。また、最近では抗カルジオリピン抗体(ACA)やループスアンチコアグラント(LA)などの抗リン脂質抗体の存在による、微小血栓症が習慣流産の原因であろうとする、抗リン脂質抗体症候群の疾患概念が導入され、自己抗体陽性疾患を考える上で重要である。これらの病態を改善するため、ステロイドの投与や抗凝固剤による治療が積極的に行われるようになっているが、その周産期予後は必ずしも良好なものとはいえず、従って胎児の発育状態、胎児胎盤系のモニタリングをしながら、母児にとって適切なターミネーションの時期を検討していく必要がある。今回、当院不育症外来にてフォローしていたが、IUGR、胎児仮死のため、妊娠28週で帝王切開となったSLE合併妊娠の一例を経験し、母体の免疫学的妊娠経過、胎児血流診断、胎盤の組織学的検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

症例は30歳主婦、17歳よりSLEを発症し、汎血球減少症、蛋白尿を認め、PSLによる治療を受けていた。妊娠歴はなく、平成6年1月、19週の無月経にて、当院不育症外来を受診した。初診時、ACA陽性、ANA160倍、RA26IU/ml、抗SSA抗体陰性、抗SSB抗体陰性、APT91秒、PT40%、超音波診断にて胎児心拍を認め、以降PSL及び低容量アスピリン内服にて経過観察していた。妊娠21週の超音波検査において-1.4SDと発育遅延を示し、妊娠26週には-2.5SD、バルスドプラーにて逆流波形を認め入院となった。入院後、ヘパリンを開始し、妊娠28週、NSTにてdecelerationが頻回に出現したため、帝王切開術施行し、687g、男児をApgar score 1分後2点、5分後7点にて出産した。胎盤は165g、全体に脆く、多発性梗塞を認めた。

171

当科における男性不妊症例の臨床的観察

関西電力病院 泌尿器科

○高橋 毅、玉置雅弘、眞田俊吾

過去8年間の男性不妊外来患者128例について報告する。平均年齢は患者34.1歳、妻30.9歳で、平均不妊期間は56.2カ月であった。精液所見に異常を認めない症例が32例、乏無力精子症が41例、乏精子症が4例、精子無力症が28例、無精子症が22例であった。無精子症のうち閉塞性無精子症は10例、精巣原発無精子症は8例であった。精索静脈瘤は27例にみられた。既往歴ではそけいヘルニアが4例、精巣腫瘍が3例、停留精巣が2例、クライنفエルター症候群、尿道下裂、精巣上体炎、血精液症がそれぞれ1例みられた。これらの患者に対し、閉塞性無精子症に対しては精路再建術を試み、乏精子症、精子無力症に対してはビタミン製剤、漢方薬などの内服とgonadotropin療法を施行し、精索静脈瘤症例では結紮術を施行した。52例中3例で挙児を得、6例で妊娠の成立をみた。

172

男子不妊症の臨床的検討

金沢大学医学部泌尿器科学教室

○今尾哲也、伊藤秀明、中村靖夫、天野俊康、徳永周二、大川光央

<目的>当科における男子不妊症患者の現状を明らかにする目的で、最近9年間の男子不妊症患者の臨床的検討を行った。<対象および方法>1985年1月から1994年3月までの間に不妊を主訴に当科外来を受診した237人を対象とし、初診時年齢、受診までの期間、既往歴、不妊原因、造精機能検査所見などについて検討した。<結果>初診時年齢では30-34歳が104例(43.9%)と最も多く、35歳未満が170例(71.7%)を占めた。受診までの期間では1年以上2年未満が41例(17.3%)と最も多く、次いで2年以上3年未満が30例(12.7%)であった。既往歴では、流行性耳下腺炎が20例(8.4%)、鼠径ヘルニア手術が15例(6.3%)に認められた。男子不妊症の原因では、197例(83.1%)が特発性不妊で、40例(16.9%)には何らかの原因疾患が認められた。原因疾患としては精索静脈瘤およびKlinefelter症候群が各10例(4.2%)、停留精巣が7例(3.0%)、精路通過障害によるものが5例(2.1%)であり、精路通過障害の内訳は先天性精管欠損症が3例、両側精巣上体炎によるものが1例、両側鼠径ヘルニア手術に伴うものが1例であった。精液検査を行った209例中184例には何らかの異常が認められ、無精子症が53例(25.4%)、乏精子かつ精子無力症が50例(24.0%)、精子無力症が36例(17.2%)、乏精子症が17例(8.1%)であった。<考察>当科における以前の集計(957例、1965-1973年)と比較すると、受診までの期間が短縮していた反面、患者数ならびに総受診患者に占める比率の低下が認められた。男子不妊症に対する患者の関心が高まっているものと考えられるが、当科での患者数の減少は不妊専門施設の増加によるものかもしれない。さらに、初診時年齢、既往歴、精液検査などに変化は認められなかったが、原因疾患としての精索静脈瘤およびKlinefelter症候群の占める割合が上昇していた。これは治療効果の確認されている精索静脈瘤の発見に努めた結果であり、染色体検査などの診断的技術の進歩によるところも大きいものと考えられた。

173

高度乏精子症の臨床像 その2

血中F S H値と精巣組織所見について

横浜赤十字病院泌尿器科 ○岩崎 皓

横浜市立大学泌尿器科 菅野ひとみ、斎藤和男、佐藤和彦、木下裕三
穂坂正彦

血中F S H値は、精上皮が極度に障害を受けた時、上昇する。その上昇の機序に関しては、インヒビンの関与など解明されるべき問題を多く含んでいるが、組織学的には、精祖細胞の数が血中F S H値と逆の相関を示すことなど (de Krester et al, 1976) から、精細管内の変化が反映されていると考えられている。しかし、実際には、血中F S H値が正常範囲にありながら、造精機能障害の強い症例や、逆に高F S H値を示しながら比較的造精機能の保持されている症例にも遭遇する。第37回日本不妊学会総会において、私達は高度乏精子症の精子濃度と、精巣生検像におけるmodified Johnsen's score との間にゆるやかな相関のあることや、精子濃度と血中F S Hとの間に逆相関のあることを報告した。今回、血中F S H値の上昇を、主に精巣組織所見よりとらえることを目的として、高度乏精子症の臨床像をretrospective に検討した。

対象は、昭和54年1月より平成3年6月までに、横浜市立大学泌尿器科不妊外来を受診した男子不妊症506名のうち、精巣生検が行われ血中ホルモン値を測定しえた48例で、年齢は24才から41才まで、平均32.7才、4例を除き、精子濃度 $10 \times 10^6 / \text{ml}$ 以下の高度乏精子症であった。これらに、対象として同様に精巣生検の行われた無精子症43例を加え検討を行った。

結果、精巣組織所見をmodified Johnsen's score で表したとき、血中F S H値との間に、 $Y = -3.24X + 32.6$ ($r = -0.663$) で表される有意な逆相関を示した。しかし、このスコアは平均値であり、多くの症例では精細管内の変化は近似していたが、中にはスコアが多岐にわたる症例もみられている。それ故、これらの症例を中心にその他の血中ホルモン値の検討も加え報告する。

174

乏精液症の臨床的検討

東京歯科大学市川総合病院泌尿器科¹⁾、産婦人科²⁾大橋正和¹⁾、石川博通、矢内原仁、内田 厚、早川邦弘、畠 亮
兼子 智²⁾

WHOは正常精液所見を、精液量2.0 ml以上、精子濃度 $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 以上、運動率50%以上と定めた。今回は特に精液量に着目し、精液量1.0 ml未満を「乏精液症」と定め、臨床的検討を行ったので報告する。対象は2回施行した精液検査いずれもが乏精液症である51例であり、年齢26~46歳、平均35.2歳、不妊期間8ヵ月~20年、平均5.1年であった。完全逆行性射精といった無精液症は除外した。検索項目は精液検査(精液量、精子濃度、運動率、精漿果糖濃度)、精管の有無、ホルモン値、射精後尿中精子の有無(逆行性射精の検索)、CTによる嚢胞腎、精囊欠損の検索、膀胱尿道鏡による膀胱三角部の観察の他、適宜染色体検査、精管精囊造影を施行した。

無精子症は26例であった。その内訳は精管欠損症15例、小児期ソケイヘルニア手術による閉塞性1例、原発性無精子症8例(クラインフェルター症候群4例、染色体異常を伴わないもの4例)、低ゴナドトロピン性宦官症1例、常染色体異常1例であった。精管欠損症の大半は精囊欠損を合併し、精漿果糖濃度が測定不能であった。治療は精管欠損症には人工精液瘤造設・穿刺による精子回収・凍結備蓄・体外受精、低ゴナドトロピン性宦官症にはHCG・HMG療法を施行している。

精液中に精子が認められた残る25例全例が運動率50%未満の無力精子症であった。21例(84%)に部分的逆行性射精が生じていた。部分的逆行性射精症例には2例の嚢胞腎症例が含まれ、その膀胱頸部は開大していた。2例の常染色体異常が認められ1例は嚢胞腎合併例、1例は非合併例であった。治療は精囊収縮・膀胱頸部閉鎖を目的に塩酸イミプラミン内服を試み、大半において精液量増加による総運動精子数の増加が得られている。本剤内服無効例は精子培養液膀胱注入・逆行性射精・精子回収・凍結備蓄・人工授精を施行している。

175

滋賀医大産婦人科不妊外来の現状と過去6年間の治療成績

滋賀医科大学産科婦人科学教室

竹中 章、山出一郎、須戸龍男、野田洋一

(はじめに) 不妊治療において過去の治療成績を振り返ることは、今後の臨床成績の向上に不可欠である。体外受精の開始を契機に、過去6年間のconventionalな治療による治療成績を総轄し報告する。

(対象および不妊原因) 1988年より年間約100名の新患者を数え、年間不妊患者数は約300名、初診時平均年齢は29.8才、平均不妊期間は3.8年間となる。原因別の症例数は、内分泌原因が、無排卵症(AN):185例、黄体機能不全(LI):175例の計345例:50.6%となり、他の複合原因例を除外すると、AN:138例、LI:83例、計221例の32.4%となる。子宮腺筋症を除く子宮内膜症(EN)例は、腹腔鏡(LP)下の診断例で95例(I期:38例、II期:30例、III期:14例、IV期:13例:rAFSの分類)であり、MRIなどによるclinical ENの59例を合わせ154例:22.6%となる。男性側原因では、夫の治療がなく妊娠が成立した96例での成績のおおよそ $1.5S.D.$ にあたる精子数 $40 \times 10^6/ml$ および運動率40%未満のものを各々乏精子症(OLS) および運動低下精子症(ASS)としたが、OLS:104例、ASS:43例の計147例:21.5%が男性側原因とされた。ENを合併せず両側の異常を認めた卵管性原因例は41例:6%と少数で、子宮性原因では、子宮腺筋症(ADM)が40例、子宮筋腫が24例で、計64例:9.7%となる。子宮頸管因子は20例で確認された。(治療成績) 妊娠率と初診時患者年齢との関係は、37才以後に急激に減少し、また不妊期間との関係は10年間以上の症例では著明に低下した。累積妊娠成立数と治療期間との関係は、治療開始後30カ月までに90%の症例で妊娠成立し、以後妊娠数は余り増加しないことが示された。内分泌原因例での妊娠率は41.1%、ADMを合併しないEN例では31.0%となる。ADMでは14.3%と低いが、danazol膾錠による成績が高く今後の改善が期待される。卵管因子での妊娠率は22.1%で、男性側原因例でも17.8%とは低く、Perco11攪拌密度勾配法によるAIHでも顕著な成績の改善は見られておらず、頸管因子や原因不明例での効果が今後期待された。

176

生殖医療に対する不妊症患者の意識調査

セント・ルカ産婦人科

○宇津宮隆史、三重野直美、麻生佳枝、渡辺多鶴子、磯崎美智子、安東桂三

(目的) 近年の生殖補助技術の進歩に対して、我が国では独特の倫理観が存在し、医療側、患者側、さらには一般社会側の立場からの意見が食い違い、そのために本当に先端医療の恩恵を受けるべき患者側の意見が片隅に追いやられる場合がある。その不妊症患者の現在直面する可能性の高い代理母と減数手術についての意見を確認する。(対象、方法) 当院に通院中の不妊症患者を無作為に抽出し、記述式のアンケートをとった。480例に配布し、妻177例、夫132例の309例から回収し、回収率は64.4%であった。(結果) 代理母についてはホストマザーは反対が妻58%、夫40%、賛成は妻27%、夫13%であった。反対理由は他人の体を借りてまでは欲しくないという意見が圧倒的であった。サロゲイトマザーについては妻85%、夫80%が反対であり、理由はやはり他人の体を借りてまでは欲しくない、という意見がもっとも多かった。これらの結果は日本不妊学会倫理委員会のアンケート(1992年)の理事、評議員の意見と一致し、むしろ患者のとは異なった結果であった。次に多胎妊娠での減数手術に対しては、妻52%、夫42%が賛成であり、反対は妻20%、夫23%であった。賛成理由は未熟児出産の不安がもっとも多く、反対理由は手術操作の不安やその結果残した胎児への影響が心配というのが多く、次に倫理上の問題が多かった。更にこのような問題についての学会やマスコミの姿勢については、もっと詳しく正確に伝えてほしいという意見が多かった。(結論) サロゲイトマザーやホストマザーに対しては拒否的で、減数手術は容認する傾向が強かった。また正確で詳しい情報を希望しており、これらの結果は医療側としても反省すべき点があると思われた。

177

男子不妊症についての意識調査
(男子不妊症患者と男性病院事務員に対するアンケート)

昭和大学医学部泌尿器科学教室

○渡辺政信, 船橋健二郎, 益山恒夫, 小橋川啓, 吉田英機

不妊症における生殖技術の発展は著しく、特に体外受精は広く行われつつある。男子不妊症治療においても顕微受精など新しい技術が取り入れられる。一方、倫理面も討議されている。そこで今回男子不妊症治療に対するアンケート調査を患者のみならず病院事務職員についても行ったので報告する。

【方法】1992年9月～1993年3月までに昭和大学病院泌尿器科を受診した男子不妊症患者、昭和大学藤が丘病院事務職員にアンケート用紙を配布し、男子不妊症135名(200名配布、回収率67.5%)、男性事務職員74名、(120名配布、回収率61.6%)の回答を得た。

【結果】1.不妊原因はどちらに多いかに対して、夫婦ともに原因と答えのは患者群、対照群とも50%以上であった。2.体外受精賛成は患者群62%、対照群では賛成43.1%であった。3.顕微受精賛成は患者群42.9%、対照群32.4%であり、反対は患者群9.9%、対照群21.6%であった。4.AIDを知っている、あるいは聞いたことがあるは、患者群93.9%、対照群61%であった。5.AID賛成は患者群9.1%、対照群2.7%であり、反対は患者群50.8%、対照群64.9%であった。6.代理母出産(ホストマザー、サロゲートを問わず)賛成は患者群8.3%、対照群9.5%であり、反対は患者群49.3%、対照群56.7%であった。

【考察】最近夫婦一緒に来院することが多く、このことは50%以上で不妊原因が両者にあると考えるためであろう。患者群で顕微受精賛成49.2%、AID・代理母出産反対は約50%を占める結果は予想された傾向であった。しかし、この3項目いずれも約40%が態度保留であり、このことは理論面、法律面、啓蒙面など様々な要因が複雑に関係していることが推察された。

178

当院における補助生殖技術により妊娠・出生した児の臨床統計的検討

永遠幸マタニティクリニック、加藤レディースクリニック*

○寺元 章吉、辻 敏徳、豊北 美穂、藤波 隆一

小林 一彦*、高塚 亮三、道倉 康仁、加藤 修*

(目的)当院における配偶子・胚移植による妊娠・出産例に統計的検討を加え、自然妊娠と比較し、配偶子・胚移植に伴う問題点を考察した。

(方法)1991年1月より1993年12月までの期間に配偶子・胚移植を実施し妊娠・分娩した209例を調査対象とし、流産率・多胎率・在胎週数・性差・出生体重および体重増加・運動機能、知能等の生後発達経過、そして奇形について検討を加えた。

(結果)GIFT・ZIFT、通常の体外受精および顕微受精の妊娠分娩例は105例、94例および10例であり、また各々に対する流産率は28.2%、40.4%、42.9%とGIFT・ZIFT例において低い傾向にあった。多胎分娩率は全体で19.2%と、自然妊娠に比してやはり高率であったが、GIFT例では33.7%(双胎が97%)とさらに高率であった。在胎週数は受精法・移植法によらず37.8～39.0週(38.1±1.54週)、男女比は119:122であり、補助生殖技術による影響はみられなかった。出生体重は2752±499gとやや小さい傾向にあるが、これは多胎頻度が高いため(多胎児を除いた場合は、2918±444g)と推察された。生後の運動機能発達、知能発達は自然妊娠例に比べて有為差は認められなかった。奇形は体表奇形が2例(手足の多発奇形他)、内臓奇形が2例(弁異常、ファロー4徴症)報告された。

(結語)補助生殖技術による妊娠は、自然妊娠よりも流産率・多胎率が高いことが問題であるが、出生した児の生後発達経過は順調で自然妊娠・出生児とに差異は見られなかった。補助生殖技術と奇形発生との関係についてはまだ症例数が少なく、因果関係の検討は今後の課題である。

179

片側睾丸損傷により誘導される男子不妊モデル

J R九州病院泌尿器科¹、九州大学医学部附属病院泌尿器科²
 ○坂本泰樹¹、松本哲朗²、熊澤淨一²

〔目的〕実験的自己免疫性睾丸炎(EAO)が特発性男子不妊症の一部をしめると考えられる免疫学的不妊症のモデルとして研究されている。しかし、人為的に睾丸細胞(TC)抗原を免疫するモデルが多く、しかも実際の妊娠能を調べた研究は少なく、臨床家にはわかりにくかった。そこで、今回は外傷として起こりうる片側性睾丸損傷によっても対側の睾丸炎(EAO)が誘導でき、しかも実際に不妊症になるモデルを確立したので報告する。〔対象と方法〕3ヶ月齢のオスのC3H/HeNマウスの左側の睾丸を注射針で穿刺し持針器にて潰した。遅延型過敏反応(DTH)は遅延型足蹠反応(DFR)の計測にて行ない、抗TC抗体はELISA法にて測定した。妊娠能を見るため、各群一匹ずつのオスのマウスにつき各々メスの二匹のddYマウスと交配させ妊娠率と平均胎児数を測定し、交配後右側(対側)の睾丸の組織検査を行なった。〔結果〕組織学的には、損傷後28日目の対側の睾丸は40%程度の頻度で間質に軽度の単核細胞浸潤と軽度の造精機能障害を認めた。32~40日後には、60~80%の頻度で同様の所見が認められた。100日後には、60~80%の頻度でかなり強い細胞浸潤と80%程度のより高度な造精機能障害が見られた。DTH反応及び抗TC抗体は実験群においてコントロール群に比し有意に上昇していた。100日後のメスとの交配試験にて、コントロール群は100%の妊娠率で平均胎児数は10.2だったのに、片側睾丸損傷の実験群では妊娠率は50~60%に、平均胎児数は5.5に低下していた。〔考察〕片側睾丸損傷により細胞性免疫及び液性免疫が誘導され、対側のEAOが誘導され、しかも実際に妊娠能が低下することが示された。この新しい実験モデルは、人為的に免疫せず、外傷のモデルでもある片側の睾丸損傷を引き金としている点で、より臨床的な男子不妊症のモデルと言える。また、免疫学的機序の解明や治療薬の試験に有用なモデルと思われる。

180

精漿中の補体抑制活性と精液検査所見の関連性について

徳島大学産科婦人科

○滝川 稚也、ナシマ・チャウドリー、山本 哲史、平野 正志
 森 英俊、前川 正彦、鎌田 正晴、青野 敏博

〔目的〕ヒト精漿中には種々の免疫抑制物質が存在することが知られている。これは同種あるいは自己抗原性を有する精子に対する免疫応答を抑制する上で有効であると考えられる。精子表面には補体レセプターの存在が知られているが、最近同時にCD46、DAF等補体制御因子が精子表面あるいは精漿に見いだされ、精子の免疫系からの保護だけでなく、細胞間認識における補体の意義が示唆されている。今回我々は補体と不妊症発症との関係を探る目的で、漿の補体抑制活性と精液検査所見の関連性について検討したので報告する。〔方法〕患者の同意を得た当科及び関連病院に通院中の不妊症男性患者99例より用手法にて精液を採取し、精液検査施行後、精漿の補体抑制活性を測定した。抗体感作羊赤血球浮遊液(2x10⁸/3ml)にヒト血清中補体活性相当まで希釈したモルモット血清10 μ lを加える溶血系に40 μ lの精漿を加えて、補体活性を測定し補体抑制活性を算出した。精液所見の判定についてはWHOの基準に従い、補体抑制活性は、(正常精子所見の患者の補体抑制活性の平均)-1SDに当たる20%をcut off値とした。〔結果〕精液減少症および精子減少症と補体抑制活性とは相関が認められなかったが、精子無力症の頻度が補体抑制活性低値群では72.4%(21/29)と、補体抑制活性正常群45.7%(32/70)に比し有意に高かった(p<0.01)。特にAIHによる妊娠が困難とされる運動精子濃度10x10⁶/ml未満の患者が、補体抑制活性低値群では69.0%(20/29)と抑制活性正常群の40%(28/70)に比し高い割合で認められた(p<0.01)。

〔結論〕精漿中には補体抑制因子があり、精子を免疫応答から防御していると考えられた。さらに、精子運動障害による不妊症発症機序の一つとして補体抑制因子活性の低下が関与している可能性が示唆された。

181

原因不明習慣流産患者における flow cytometric crossmatch と
補体依存性細胞障害性交差試験の比較検討

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○松林秀彦, 牧野恒久, 丸山哲夫, 小沢伸晃,
染谷健一, 細川知俊, 根本泰子, 野澤志朗

【目的】 原因不明習慣流産患者に対するallogenic な刺激治療としてのいわゆる免疫療法の評価について内外で議論がなされているが、その対象患者の選択、免疫方法、治療期間、予後との関連などについてはいずれも明確な指標がないのが現況であった。我々は最近、移植免疫の際に行われているflow cytometerを用いたcrossmatch を応用し、免疫療法の予後との関連を鋭敏に捉えることができることを報告してきた。今回は従来の補体依存性細胞障害性交差試験との関連につき比較検討を行った。

【方法】 1992年以降に当院不育症外来においてcrossmatch(XM)およびflow cytometric crossmatch (FCXM)を施行した原因不明習慣流産患者27名を対象とした。T-FCXMは妻非働化血清を、Ficoll-conray 法により分離した単核球と反応させ、FITC標識抗ヒトIgG 抗体とPE標識抗CD3 抗体を用いた二重染色を行い、flow cytometryにより解析した。B-FCXMは同様な方法でCD3の代わりにCD19 を用いて行った。数値の定量化はAB血清を用いたコントロールとの偏移により評価した。XMは cytotoxicity testでおこない全細胞に対する死細胞率を1,2,4,6,8の5段階に分ける方法によった。

【成績】 現在までに、T-FCXM陽性群では次回妊娠の生児獲得率が83%であるのに対し陰性群では46%と有意差が認められている。B-FCXMとB-cell warm(BW), B-cell cold(BC)の間には相関は認められなかったが、T-FCXM とT-cell warm(TW)には正の相関が認められた。しかしXM値として最高値を採用した場合においてはじめてこのような相関が判明した。またFCXM陽性であるにもかかわらずXMでは陰性である場合が数例に認められた。

【結論】 FCXMは補体依存性細胞障害性交差試験によって評価しきれなかった微妙な変化を捉えることができる可能性があり、免疫療法の効果判定の指標により有用であることを示唆した。

182

ヒト精漿中Fcγ レセプター (Fcγ R)関連抗原の分子構造に関する検討
— active siteの同定—

徳島大学産科婦人科

○森英俊、滝川稚也、山本哲史、平野正志、前田信彦、前川正彦、
鎌田正晴、青野敏博

【目的】 ヒト精漿中にはIgGと結合能を有し、精子抗原に対する抗体産生を抑制すると考えられるFcγ R 関連抗原；IgG binding factor(IgBF)が存在する。前回、IgBFは非還元状態では分子量27kDのホモダイマーで不活性であり、還元状態の16kD分子がモノマーで活性を有することから、その推定される分子構造を報告した。本研究ではIgBF分子中でのactive siteを同定することを目的とした。【方法】 (1)還元状態または非還元状態下IgBFをLysilendopeptidase、およびArgynilendopeptidaseによって分解した。(2)分解したペプチドの反応性を、Fcγ R に対する単クローン性抗体である抗Leu-11b抗体を用いたDotblot法、あるいはWestern blot法により検討した。(3)反応性を有したペプチドをHPLC法にて分離、回収し、反応性を確認した。【結果】 (1)Lysilendopeptidaseによって、還元状態IgBFを分解したペプチドは反応性を示さなかった。(2)Argynilendopeptidaseによって、非還元状態IgBFを分解することにより、非還元下で反応性を有する13kDの分子を認めた。(3)酵素分解後にHPLC法で、微量のactivesiteを分離した。【結論】 IgBFは還元状態の16kD分子を分解するとactivesiteが消滅するが、非還元状態の27kD分子を分解することによりactivesiteが露出されることがわかった。IgBFはシステインが豊富な蛋白でありactivesiteはSH基またはS-S結合の近傍部位の立体構造の内部に存在している可能性が示唆され、活性化機構の一端が示された。

185

カニクイザルの顕微受精に関する検討

日本大学農獣医学部生体制御科学研究所 予研筑波医学実験用霊長類センター
○佐藤嘉兵、小田万里子 山海 直、吉川泰弘

サル類の体外受精 (IVF) に関する研究は他の動物種に比べて遅れている。その大きな原因は研究用実験動物としてサル類の使用が極めて制限されているためである。サル類のIVFが比較的困難とされているのは精子のcapacitationの誘起が十分に行えないことに起因している。我々は主にカニクイザルの精子capacitationおよび先体反応(AR)誘起について検討し、さらに不動化精子を用いた顕微受精についても検討を加えてきた。現在まで得られたカニクイザルの顕微受精の結果について報告する。方法：ハムスター成熟卵子は過排卵によって得た。成熟雌にPMSG30IUを腹腔内に注射し、その48時間後にhCG 30 IUを同様に投与した。hCG投与後15.5時間に取り出して卵管を取り出して排卵卵子を得た。カニクイザル卵子は卵胞卵子を用いた。月経開始日を第1日とし、3日目から14日目まで合計8回のPMSG (一回につき200 IU)筋肉内投与を行い、15日目にhCG 4000 IUを同様に投与し、28時間後に開腹手術を行って直径1-5 mmの卵胞から卵子を採取した。回収した卵子はのうち未成熟のものはGVBDおよび第一極体放出が確認できるまで、22時間TCM-199液(10% FCS添加)中で培養した。精子は射精精子を凍結したものを用い、融解後運動性を確認し、低温ショックを与えて運動を停止させた後に卵子細胞質内に注入した。結果：ハムスター卵子細胞質内に注入した結果、80%の卵子が受精した。その内51.2%が雄性前核形成を示した。また、注入に使用した精子を不動化する前にハムスターテストを行った結果、81.2%の受精率を示した。一方カニクイザルの体外成熟卵子を用い顕微受精においても62.9%の卵子に受精が認められた。さらに、それらの受精卵は体外培養条件下において発生能を有することが確認された。

186

OOPLASMIC INJECTIONS OF ROUND SPERMATID NUCLEUS VERSUS SPERMATOZOAL NUCLEUS. NOVEL PROCEDURES FOR MALE INFERTILITY THERAPY.

Dept. of Urology, Tottori University School of Medicine.
Nikolaos Sofikitis, Ikuo Miyagawa.

We recently reported conceptions after round spermatid nuclear injections into rabbit oocytes (J Urol 151, Suppl 1, 131A, 1994). Furthermore, we proved that electrical stimulation before ooplasmic round spermatid nuclear injections has beneficial effects on fertilization process (Sofikitis and Miyagawa, Proceedings of The 50th Annual Meeting of The American Fertility Society). To compare the embryonic development after round spermatid nuclear and spermatozoal nuclear injections into rabbit oocytes, round spermatid nuclei and spermatozoal nuclei were injected into electrically prestimulated rabbit oocytes. Each single nucleus was injected into an oocyte. Round spermatid nuclear injections and spermatozoal nuclear injections were successful into 49 (group A) and 50 (group B) oocytes, respectively. Injected oocytes were cultured for 72 hours. At the end of the culture period, there were no significant differences in the percentage of morulae plus blastocysts between groups A (73%) and B (68%). However, the percentage of expanding blastocysts (53% vs 23%), embryo diameter (133 vs 106 μm), and embryo cell number (137 vs 111) were significantly higher in group A than in group B. Our findings clearly indicate a faster rate of embryonic development after ooplasmic round spermatid nucleus injections and confirm our previous reports that the haploid set of chromosomes of round spermatid can pair with the chromosomes of the ootid to participate in complete fertilization and subsequent embryonic and fetal development.

187

超難治不妊治療におけるレーザー顕微授精の有用性

高度医療技術研究所・中央クリニック、自治医大産婦人科*

○荒木康久、本山光博、吉田 淳、出居貞義*、荒木重雄*

【目的】重度男性不妊に顕微授精は極めて有効な治療法であるが、手技が難しく未だ一般化したとは言い難い。1992年にレーザーを用いて透明帯を切開する顕微授精法が初めて報告された。手技が熟練を要さず短時間で施行できる点から、今後汎用されるものと期待される。私どもは既に本法を用い妊娠に成功した事を報告しているが、今回さらに妊娠率の向上をはかるため至適条件について検討を加えた。【方法】高度乏精子症および反復受精障害の56例を対象にした。卵胞刺激、採卵はstandard IVF に準じた。精子処理は洗浄・スィムアップ・濃縮法を用いた。レーザー装置を装着したカールツァイス社の倒立顕微鏡を用いてPZDを行った。10%患者血清含有HTF 30 μ l のマイクロドロップで媒精した。【結果】最終精子浮遊液の精子濃度が 10×10^6 以下では standard IVF も microdrop IVF も受精率は不良であったが、レーザー PZDを用いた場合、受精率および良好胚獲得率に有意な改善を認めた。57.1%の患者に胚移植が可能であったが、その中の81.3%の患者には1~4個の良好胚の移植が可能であった。PZDの外側が 10 μ m 以上の楔状に開口した場合は多精子受精が頻発した。開口部は線状で幅が3~6 μ m の場合、良好胚の発現率は有意に向上した。レーザー PZDを施した卵に添加する至適精子数は $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ で、これが良好胚を得る条件の一つであることが判明した。7例に妊娠が認められたが、妊娠率は採卵当り12.5%、移植当り21.9%であった。【結論】standard IVF も microdrop IVF も無効な例にレーザー PZDが有効である。その際の良好胚獲得率は開口部の形態と精子添加量に依存する事が判明した。

188

体外受精・胚移植 (IVF・ET) 法の反復実施症例での妊娠成功要因の検討

帝京大学産婦人科 ○森田哲夫、田村彰浩、飯野好明、大川亮一、森宏之

(目的) 体外受精・胚移植 (IVF・ET) 法は多くの施設で行なわれるようになったが、それに伴って反復実施症例が増加している。多数回実施症例ではどのような点に注意することが妊娠成功に結びつくのだろうか、をIVF・ETを2回以上(最高4回)施行した症例について検討した。

(方法) 対象は18症例(2回施行例-12例、3回-4例、4回-2例)、のべ44周期である。卵巣刺激法はすべてGnRH-agonistをshort protocolで併用した。

(成績) 妊娠例は8例(症例あたり44.4%)。そのうち2例は4回施行し妊娠に成功した。妊娠症例は、GnRH-agonist+pureFSH (HMG日研)+hMG+hCGで卵巣刺激を行なった周期の成功率が良く、71.4%であった。成功周期の排卵直前のE2値は 3108 ± 934 ng/dlであった。採卵数は不成功周期が平均5.8個に対し成功周期が平均6.4個と増加傾向を示した。受精卵のqualityについては、inseminationした卵にしめる良好な卵子型をした(すなわちqualityの高い)受精卵のしめる割合が妊娠周期では79.3%であったのに対し、不成功周期では64.4%であった ($p < 0.05$)。また反復施行しても妊娠に至らなかった症例では、施行回数を重ねてもqualityの高い受精卵の割合が増加しなかった。

(結論) IVF・ETの施行回数を重ねることにより妊娠成功に至るためには、qualityの高い受精卵を多く作り、移植することが大切であり、そのための卵巣刺激法としてGnRH-agonist+pureFSH+hMG+hCGは有効であった。

189

IVF-ET分娩後のIVF-ET再妊娠周期の検討

東海大学医学部産婦人科

○本田育子 小林善宗 鈴木隆弘 善方菊夫 井上正人

〔目的〕当科におけるIVF-ET分娩後の対患者IVF-ET再妊娠率は66.7%と良好な結果である。この高い再妊娠率の要因を検討する目的で、IVF-ET分娩（頸管無力症による流産を含む）後で、再度IVF-ETにて妊娠継続中、及び分娩した患者の、初回分娩時（以下初回と略）と再妊娠時（2回目と略）のIVF-ET周期について比較検討した。〔対象・方法〕対象は初回IVF-ET時、原発性不妊6名、続発性不妊14名の計20名で、初回の平均年齢は31.1（24-37）才、2回目の妊娠までの期間は平均2.6（1-5）年であった。初回と2回目で、IVF-ET施行回数、卵巣刺激注射回数、卵胞発育状態、採卵後の子宮内膜の厚さ、多胎妊娠率について検討した。〔結果〕初回時のIVF-ET回数は平均2.5（1-7）回、2回目では2.1（1-5）回で、初回妊娠が1回目のIVF-ETであったもの7名に対し、再妊娠が、再開後1回目のIVF-ETであったものは12名であった。同一卵巣刺激方法の注射回数は同回数8、増加5、減少4名であった。経腔超音波断層法で観察された卵胞発育状態が、2回の周期間で変化がなかったもの7名、2回ともOHSSであったもの4名、初回OHSSで、2回目OHSSを示さなかったもの6名、不良化したものの2名であった。採卵後7日目の子宮内膜の厚さは、不明を除いて、初回に比して2回目が2mm以上の増加を示したもの8、2mm以上の減少3、変化なし3名であった。採卵後7日目の内膜は初回平均10.6mm、2回目12.1mm、14日目の内膜は各々11.6mm、14.6mmであった。初回子宮内双胎は3名（15.0%）に対し、2回目が双胎であったものは6名（30.0%）で、継続双胎は各々2名、4名であった。〔結論〕初回妊娠、分娩後の時間経過にもかかわらず、IVF-ET分娩後では再開後1回目のIVF-ETで妊娠する率は高く、また多胎妊娠率も高い傾向にあり、卵胞発育が初回に比して不良でも妊娠することは、初回の妊娠、分娩が、次の妊娠成立、特に着床に関して有利な残存効果をもつものと考えられた。

190

IVF-ET外妊後の再IVF-ET成績

東海大学医学部産婦人科

○鈴木隆弘、小林善宗、本田育子、淡路英雄、善方菊夫、井上正人

【目的】体外受精胚移植（IVF-ET）による妊娠後の再IVF-ETの成績は良好であると報告されている。当院でもIVF-ET妊娠による分娩症例について検討すると、その後2児目を希望して施行した再IVF-ETの成績は良好で、再妊娠率、継続妊娠率は対患者でそれぞれ66.7%、53.3%と高率であった。今回はIVF-ETにおいて一定の率で発生するが避けられない子宮外妊娠に着目し、その予後としての再IVF-ETの成績について検討を加えた。【方法】1985年12月から1993年12月の期間で、初回IVF-ET妊娠が子宮外妊娠に終わり、その後再びIVF-ETを施行した21名を対象とし、その成績（再妊娠及び継続妊娠）について検討した。対象21名の外妊内容は、卵管妊娠20名（MTX治療16、腹腔鏡下卵管切開1、保存手術1、卵管切除2）、卵巣妊娠1名（腹腔鏡下処置）であった。【結果】対象21名のうち15名（71.4%）に21回の再妊娠が成立した。うち子宮内妊娠15回（継続10、流産5）で外妊が6回（28.6%）であった。対患者の継続妊娠率は47.6%（対象21名中10名）であった。15名の再妊娠に至るまでの再IVF-ET回数は、1回目が8名と最多であり、3回目までに12名に成立した。また初回外妊治療をMTX治療群16名、手術群5名に分けてその予後を検討すると、再妊娠率はそれぞれ68.8%、80.0%、反復外妊率は29.4%、25.0%と差がなく、継続妊娠率は56.3%、20.0%とMTX治療群で高い傾向にあったが、有意差はなかった。

【結論】IVF-ETで子宮外妊娠に終わっても、その後の再IVF-ETの成績は良好で分娩後のそれと同様に再妊娠率、継続妊娠率とも高い傾向にあった。外妊治療法別の予後に差がなかったが、非観血的MTX治療の有用性が示唆された。

191

卵管水腫のため胚移植に苦慮した一症例

神戸大学医学部産科婦人科学教室 恵生産婦人科病院*
○山口聡 林正人* 林茂樹* 永田典昭* 林要* 望月真人

我々は卵管水腫により胚移植に非常に苦慮し妊娠出産に至った症例を経験したので今回報告する。症例は27歳、不妊歴3年、他院で卵巣嚢腫、卵管水腫の診断にて19歳時左卵管切除術、右卵巣部分切除術、20歳時左卵巣部分切除術の既往歴があり、体外受精を希望して平成4年4月恵生産婦人科病院を初診した。BBTは2相性で、ホルモン検査に異常を認めなかった。また子宮卵管造影では左卵管切除後状態、右卵管水腫の所見であった。夫の精液検査では異常を認めなかった。卵管因子による体外受精の適応と考え、同年8月と12月に2回体外受精胚移植を実施した。これら2回いずれの周期においても胚移植2～3日後に発熱と帯下の増加が出現し、その時超音波で子宮腔内に大量の液体貯留を疑う大きなecho free spaceを認めた。結果的にこれら2回の体外受精胚移植周期には妊娠に至らず、平成5年3月の採卵周期では体外受精のみ実施して、受精卵9個を全てを凍結保存し、自然排卵周期に胚移植を試みることにした。しかしその後の自然排卵周期においても胚移植予定1日前には子宮腔内に同様のecho free spaceが出現したため胚移植を中止した。このような自然周期においても胚移植が困難であったのは、卵管水腫が直接の原因と推察し、着床条件を改善するために右卵管水腫の切除が必要と判断した。同年7月、右卵管切除術を施行した。切除した卵管の組織はほぼ正常な卵管上皮構造が見受けられ上皮のダメージは少なく、閉塞は術後癒着が原因と推察された。Ciliated CellとSecretory Cellの割合では正常卵管に比べSecretory Cellが多かった。術後2周期目の排卵周期に子宮腔内の液体貯留がないことを確認して凍結卵3個を解凍し変性卵1個を除き2個胚移植を実施した。この胚移植周期の2週目に妊娠反応が陽性となり、以後妊娠経過は順調で、妊娠39週に3276gの男児を出産した。

192

高齢者における体外受精成績の検討

杏林大学医学部産婦人科学教室

○生方良延、神野正雄、羽生一朗、佐藤 学、勝又木綿子、吉村泰典
中村幸雄

〔目的〕40歳以上の体外受精症例63例（高齢群）と39歳以下の症例 266例（若年群）との臨床成績を比較した。さらに高齢群を妊娠群(N=20)と非妊娠群(N=43)に分類し、高齢者における体外受精成績の不良な原因について検討を加えた。〔方法〕卵巣刺激はhMG 単独あるいはGnRH agonist併用にて行い、最大卵胞径16mm、血清LH値が至適レベルに達した時、hCG 10,000 IU を投与した。hCG 投与後36時間で採卵を行い、媒精後36-48 時間後に胚移植を行った。採卵後10, 14 日に血清hCG 値を測定し、その上昇をもって妊娠と判定した。〔結果〕採卵あたりの全妊娠率・on going妊娠率は高齢群：31.7%・11.1%、若年群：48.9%・27.8% であり高齢群が有意に低率であった。なおon going妊娠の最高齢は46歳であった。hCG 投与日における卵胞数および血清E₂ 値、採卵数、受精卵数、正常分割胚数は高齢群で有意に低値であった。次に高齢群における妊娠群と非妊娠群の平均年齢は、それぞれ41.5±0.4 歳、42.5±0.3 歳と非妊娠群に高齢傾向を認めた。hMG 総投与量は妊娠群1380±71 IU、非妊娠群1710±84 IU と非妊娠群が有意に多かった。hCG 投与日における卵胞数および血清E₂ 値、採卵数は有意ではないが妊娠群に高値傾向を認めた。受精卵数・正常分割胚数は妊娠群：4.2 ±0.5・3.0 ±0.5、非妊娠群：2.7 ±0.3・1.7 ±0.3 と妊娠群が有意に高かった。卵あたりの受精率は妊娠群74.8%、非妊娠群61.7% と妊娠群が有意に高かった。受精卵あたりの正常分割率は妊娠群73.5%、非妊娠群64.7% と妊娠群に高値傾向を認めた。〔結論〕高齢者は若年者に比し採卵数、受精卵数、正常分割胚数の減少がみられること、高齢者における非妊娠群では妊娠群に比し受精率、正常分割率が低下していることより、卵巣における卵の量的・質的劣化が高齢者における体外受精成績不良の一因と示唆された。

193

当院における高齢者体外受精胚移植法の成績

倉本記念病院産婦人科

○大村伸一郎, 松本千秋, 大野虎之進

〔目的〕一般に、高齢者の妊娠率は低率であるが、当院における40歳以上高齢者の体外受精胚移植法について検討した。

〔方法〕1992年11月より1994年6月に採卵した28症例64周期を対象とした。卵胞刺激法は、GnRH-a-pureFSH-hMGを用い、投与量はLH-RHテストの結果により適宜増量した。卵胞径16mm以上、血清E₂値上昇、血清LH値が至適レベルに達成した時点で、hCG5000~10000単位を投与した。hCG投与後35~36時間で採卵を行い、媒精43~44時間後に形態的に良好な2~6細胞期胚を胚移植に供した。

〔成績〕28例64周期中24例48周期に採卵可能であり、19例34周期に胚移植を行った。妊娠例は、出生3例（帝王切開2例、経膈分娩1例）、妊娠継続中2例、流産1例、計6例で、妊娠率は対胚移植17.6%（6/34）であった。また、そのうち一例は精子濃度 $750 \times 10^4 / \text{ml}$ 、運動率30%の乏精子症であった。

〔結論〕高齢者では、体外受精胚移植法においても、卵胞刺激に用いるpureFSH、hMGの増量の割には血清E₂値、卵胞数の低下、また、着床部位である内膜の発育低下が認められ、低妊娠率の一因になっている可能性が示唆された。

194

高年令不妊婦人（40才以上）に対する配偶子操作治療成績と予後

東海大学医学部産婦人科

○小林善宗 本田育子 鈴木隆弘 善方菊夫 井上正人

不妊症治療における年令因子の問題は深刻である。高年令不妊婦人（40才以上）の不妊治療成績は不良であり、しかも成立妊娠の予後も不良である。しかし現実には高年令婦人の治療を選択しなければならない機会が増加しつつある。そこで今回は、高年令不妊婦人（40才以上）に対する配偶子操作治療の成績・予後と、自然・AIH妊娠期待の治療の成績・予後との比較を行い、治療法選択について検討した。

対象は、①H6.3までの期間での40才以上の不妊婦人117名に対して行った211回の配偶子操作治療（194回がIVF-ET）の成績とその予後を、②自然・AIH妊娠を期待した治療成績とその予後は、H5までの期間で、40才以上の不妊婦人に腹腔鏡検査を行い、自然あるいはAIH妊娠可能と判断して治療した144名を対象とした。

結果として、①40才以上の117名に対して、211回の配偶子操作治療を行い、23名に24妊娠が成立したが、継続妊娠は5（5名）であった。対患者妊娠率19.7%、対治療妊娠率11.4%、対患者継続妊娠率4.3%（5/117）、対治療継続妊娠率2.4%（5/211）であった。②40才以上の腹腔鏡検査後の、自然あるいはAIH妊娠期待の治療では、144名に対して10名に16妊娠が成立したが、継続妊娠は5（5名）であった。対患者妊娠率6.9%、対患者継続妊娠率3.5%（5/144）であった。

高年令不妊婦人（40才以上）では、どの不妊治療法をもってしても、その妊娠率、継続妊娠率は低いものであった。しかし、配偶子操作治療の成績予後は、自然・AIHを期待した治療のそれより良好であった。配偶子操作治療における技術やコストの問題、自然・AIH妊娠の場合のlost follow up症例の存在などを考慮すると、選択治療法の優劣はつけがたいものの、不妊治療の限界を十分認識したうえでの積極的治療しかも短期治療として配偶子操作を位置づけるのが妥当と思われる。

195

当院における不妊外来での妊娠例
 - 特に35才以上の高齢妊娠について -

相模原協同病院産婦人科
 ○佐藤芳昭、三宅崇雄、大沢章吾

最近の傾向として妊娠年齢、分娩年齢の高年齢化が言われているが、不妊治療においてもAssisted Reproductive Technology (ART) の進歩によりその傾向はみられるものとおもわれる。当科での平成2年4月よりの本格的な不妊外来の開設より4年間における妊娠例のうち、特に35才以上の、いわゆる高年齢妊娠例について、その背景と問題点を検討してみた。4年間での妊娠総数は388例であり、その対新患あたりの妊娠率は平均44.4%であり、開設年度の29%より、最近の1年間の53%へと著しい改善がみられ、その背景にはAIH及びIVF-ETでの妊娠例の増加がある。35才以上の新患受診は130例(14.8%)であり、その妊娠率は35.4%と明らかに低下しており、さらに40才以上では14.3%の妊娠率であった。これら35才以上の妊娠例46例の予後(流産、分娩時の問題点)についても検討を加えた。

196

当科におけるIVF-ET妊娠例の転帰

山梨医科大学産婦人科学教室
 ○水野薫子、内田雄三、広井 威、黄 朋子、川島茂樹、奥野 隆
 笠井 剛、端 晶彦、木下俊彦、加藤順三

体外受精胚移植法(IVF-ET)は不妊症の有効な治療法として確立されてきたが、分娩・新生児の転帰について不安をもつ患者は少なくない。そこで当科のIVF-ET妊娠例の転帰について検討した。

対象は1991年12月より1994年5月までのIVF-ET施行患者のうち妊娠が成立し、初期自然流産や子宮外妊娠を除き妊娠を継続した22症例(単胎14例、多胎8例)で、うち14例(単胎8例、多胎6例)が分娩を終了した。妊娠経過異常、分娩異常、新生児異常の発生率を対照(同期間の非IVF-ET例)と比較した。妊娠初期には頸管無力症(4例;18.2%)、中後期には切迫早産(8例;47.1%)の頻度が高かった。早産率は4例;28.6%と高率だったが単胎群では1例;12.5%、多胎群では3例;50.0%と有意な差があった。帝切率はIVF群全体で64.3%(単胎群37.5%、多胎群100%)と高頻度であった。5名が子宮内胎児発育遅延を認めたが全て多胎群であり多胎妊娠は危険因子のひとつと考えられた。また新生児異常を認めたものは早産児であった。出血多量例は8例;57.1%と高率だったが全例帝切例であった。

以上よりIVF-ET妊娠例での妊娠、分娩、新生児異常は多胎と早産に起因するものであり、その点では非IVF-ET妊娠と同様と考えられた。

197

当科におけるAIHの治療成績

札幌医科大学産婦人科

○森悟子、山本弘、木谷保、後藤妙恵子、金谷美加、
藤井美穂、遠藤俊明、工藤隆一

〔目的〕 AIHは、男性因子、頸管因子、原因不明などによる不妊症例の治療法として広く施行されている。今回、当科における過去3年間のAIHの治療成績を報告するとともに、不妊因子、治療周期数、施行時期、精子濃度などの各因子との関連について検討した。

〔方法〕 対象は、1991年7月より1994年4月までに当科不妊症外来にてAIHを施行した不妊患者95名、557周期である。AIHの適応は、男性因子（逆行性射精、乏精子）34例 35%、頸管因子37例 38%、原因不明 27例 28%とした。精子処理はおもに80%パーコール攪拌密度勾配法を用いた。

〔結果〕 全症例中36例に妊娠が成立し、妊娠率は症例あたり37.0%、周期あたり6.0%、推定排卵日と一致した周期あたり10.0%であった。AIH適応別妊娠率は、逆行性射精、乏精子、頸管因子、原因不明の各因子でそれぞれ、50.0、37.0、48.0、20.0%であり、原因不明による不妊症例の成功率がもっとも低かった。また、妊娠例においては、推定排卵日に一致したAIHの施行回数は妊娠までで1~12回であり、AIH5回以内で81.0%、10回以内で96.0%の妊娠が成立していた。排卵因子以外の不妊原因（卵管、子宮、子宮内膜症など）を合併する場合、妊娠率は低下した。また、妊娠例におけるAIH施行時期をBBTからの推定排卵日について検討すると、推定排卵日当日が63.0%、排卵日前後2日間を含めると96.0%に施行されていた。また、今回検討した妊娠例の流産率は10.2%で自然流産率と有意差をみとめなかった。乏精子症の妊娠例では処理後の平均運動精子濃度は $9.3 \pm 8.1 \times 10^6/\text{ml}$ であり、最低運動精子濃度は $0.5 \times 10^6/\text{ml}$ であった。

198

高度異常精液所見例におけるAIHの検討

長崎大学産婦人科

○布施 正樹、石丸 忠之、山辺 徹

〔目的〕 最近、高度異常精液所見例あるいは通常の体外受精で受精しない例に対して顕微授精が行われている。しかしながら、その成績はまだ不十分である。私どもはsperm survival test(SST)を開発し、その臨床的有用性を報告してきた。すなわち、一般的精液所見の良否にかかわらずSST結果良好(36時間陽性)なら自然妊娠可能であり、不良(36時間陰性)なら人工授精(AIH)の適応であると報告してきた。今回、SST不良である高度異常精液所見例におけるAIHの成績について検討した。

〔対象〕 1988年4月から1994年3月までに、高度異常精液所見を呈した中でSST結果不良のため、AIHを施行した23例(222周期)を対象とした。なお、高度異常精液所見は精子数1,000万/ml未満、運動率10%未満あるいは両所見の合併したものとした。またSST結果別症例数は6時間陽性12例(101周期)、12時間陽性11例(121周期)であった。

〔成績〕 1) 妊娠率は対症例あたり30.4%(7/23)、対周期あたり3.6%(8/222)であった。また臨床的流産は2周期にみられた。2) 妊娠例は6例(7周期)がAIH5回以内に妊娠していたが、1例は15回目であった。3) SST結果別妊娠率はSST6時間陽性例では、対症例あたり33.3%(4/12)、対周期あたり5%(5/101)であった。SST12時間陽性例では、対症例あたり27.3%(3/11)、対周期あたり2.5%(3/121)であった。

〔結論〕 SST結果不良である高度異常精液所見を呈する例でも、対症例あたりの妊娠率はほぼ30%であったことから、このような例に対するAIHの有用性が示唆された。

199

精子不良例に対するAIHの限界とSubzonal insemination (SUZI)の有効性

倉敷成人病センター南くらしき病院

○ 本山洋明、藤井好孝

【目的】我々は1988年から2層Percoll法により全てのAIHを行ってきたが、大多数の強度の精子不良例には無効であった。これらAIH無効例に対して1992.11からSUZIを導入し、妊娠例を得ている。今回はAIHとSUZIとの臨床成績を運動精子濃度から分析する

【対象】AIH；hMG(又はFSH)で卵胞刺激した2層Percoll法によるAIH 209名 456周期(1990.3-1993.12)。SUZI；66名 112周期(1992.11-1994.4)。精子は2層Percoll処理し、卵1個に対して平均6.0個の精子をSUZIした。両者とも運動精子濃度1000万/ml未満の症例である。

【結果】AIHの対周期妊娠率は運動精子濃度500万以上で14.7%(16/109)、500万未満で6.6%(23/347)で500万を境に有意な差を認めた($P<0.02$)。100万未満は4.0%(7/177)であった。一方、SUZIの対周期妊娠率は運動精子濃度500万以上16.7%(2/12)、500万未満で17.1%(12/70)であり差を認めなかった。SUZIの運動精子濃度100万未満では対周期妊娠率16.3%(8/49)でありAIHの100万未満の4.0%より有意に高値を示した($P<0.01$)

【結論】我々はhMGで卵胞刺激してAIHを行うと妊娠率が上昇する事を報告してきたが、それによっても強度精子不良例には限界がある。今回の検討により、運動精子濃度500万未満の症例は、hMG刺激によるAIHを5-6回行って妊娠不成立ならば、SUZIを試みる価値があると考えられる。

200

男性不妊症例に対する人工授精の検討

東北大産婦人科 ○原谷博信、寺田幸弘、渡辺 正、深谷孝夫、矢嶋 聰
同泌尿器科 前原郁夫

＜目的＞人工授精（以下AIH）は手技的に簡便であり、男性不妊症に対しても広く行われている治療法である。しかし、未だ適応、施行法などに明確な指針がなく、男性不妊症に対する有用性自体に疑問を呈する報告も見られる。今回我々は、男性不妊症に対しAIHを行った症例での排卵誘発法および各精子所見を、妊娠、非妊娠周期で比較検討したので報告する。

＜対象と方法＞当科不妊外来にて1992年3月より1994年5月までに男性不妊症に対して施行したpercoll-AIHの187周期を対象とした。排卵誘発法の内訳は、自然周期102例、clomiphen周期26例、HMGあるいはFSH周期59例であった。精液は80%単層percollにて遠心し、回収された精子を0.5mlに希釈したものをAIHに供した。

＜結果＞187周期のうち妊娠例は13周期（7.0%）であった。内訳は、自然周期102周期中1周期（1.0%）、clomiphen周期26周期中2周期（7.7%）、HMGあるいはFSH周期59周期中10周期（16.9%）であった。また、精子所見を妊娠例、非妊娠例で、総射出精子数、原精子運動率、原精液精子運動能指数（以下SMEI）、総注入精子数、回収後運動率、回収後SMEIの6因子に関して解析したところ、回収後SMEIは妊娠周期において有意に高値を示した（ $p<0.01$ ）。

＜結論＞男性不妊症に対するAIHにも過排卵誘発法は有用である可能性が考えられた。また、精子所見で最も重要なのは、運動精子の量的な因子ではなく精子運動能指（SMEI）であることが明らかになった。

201

FK506のラット精巣におよぼす影響のフローサイトメトリーによる評価

桑田善弘、松井秀樹*、畠瀬 修*、竹中生昌
香川医科大学泌尿器科、*第一生理学

免疫抑制剤FK506は新しい免疫抑制剤であり、動物実験からサイクロスポリンに較べて投与量が少ないことなどより、移植、炎症・アレルギー疾患、自己免疫疾患などへの展開が期待されている。しかしその反面、体重増加の抑制、膵障害、腎障害などの副作用が報告されている。それ以外の副作用では、生殖期の男性にとって重大な副作用と考えられる男性生殖器への影響も示唆されており、サイクロスポリンと同様に精細管の軽度障害、精子運動率の低下、血中ホルモン値の変化等が示唆されている。しかし、そのメカニズムについてはまだ明らかにされていない。今回、我々は雄ラットにFK506を投与し、精巣に及ぼす影響をフローサイトメトリーによるDNA量ヒストグラムの解析により検討し、組織学的、血中ホルモン値等と比較したので報告する。

202

ヒト精子におけるprogesterone binding sitesの発現と受精能への関与

愛媛大学医学部産科婦人科学教室
福井敬介 谷口文章 山中研二 矢野樹理 松浦俊平

【緒言】 progesterone(P)はヒト精子の細胞内のcalcium濃度を急速に上昇させ、先体反応を惹起する作用を有することが報告されている。今回我々はflow cytometry及び蛍光ラベルされたPを用いて運動精子におけるprogesterone binding sitesを有する精子の割合(%PB)を測定することにより精子受精能の評価を行った。【対象と方法】 妊孕男性(n=16)、精子無力症(n=35)、IVF-ET施行かつ正常精液所見を有する症例(n=31)より得られた精液を対象とした。percoll法を用いて運動精子を回収し、FITC labeled progesterone-BSA (P-BSA-FITC)を20 μ g/ml含むmBWW培養液中にて37 $^{\circ}$ C、20分間培養した後、2回洗浄し、%PBをflow cytometry (EPICS-PROFILE)を用いて測定した。IVFプロトコール：採卵後、卵子を6時間前培養し、swim-up法にて回収した運動精子を1万/卵子の濃度で媒精した。媒精後17-20時間および42-48時間にて受精の有無を確認した。【結果】 精子無力症における%PBは妊孕男性の%PBに比して有意な低値を示した。(16.7 $\pm$ 9.3% vs 30.2 $\pm$ 9.3%, $p<0.0005$)。また、IVFの受精不成功例(n=8)における%PBは受精成功例(n=23)の%PBに比べて有意に低値を示した(8.7 $\pm$ 5.1% vs 23.7 $\pm$ 18.1%, $p<0.001$)。【結語】 精子無力症およびIVFにおいて正常精液所見を有するも受精しなかった症例の精子においてPに対するaffinityの有意な低下を認めた。このPに対するlow affinityがmale factor infertilityの原因の一つではないかと考えられ、%PBが精子受精能の評価に有用であることが示唆された。

203

In situ hybridization法による、精子細胞における

X、Y染色体および18番染色体の検出

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○浅田 弘法、末岡 浩、橋場 剛士、久慈 直昭、宮崎 豊彦
小林 俊文、野澤 志朗

〔目的〕精子細胞へFISH (Fluorescence In Situ Hybridization)法を応用し、精子細胞で安定してシグナルが検出される条件を設定するとともに、乏精子症患者におけるX精子、Y精子の頻度を検討することを目的とした。〔方法〕細胞内の遺伝子を直接検出する方法としては、FISH法が極めて有効であるが、この手法を精子細胞に応用し、X精子とY精子の判別と18番染色体の検出を行った。プローブは、染色体に特異的な繰返し配列に対する遺伝子プローブ(Xに対してはDXZ1、Yに対してはDYZ3、また18番染色体に対してはD18Z1)を使用した。FISH法の処理法で、精子細胞は他の体細胞と異なり、精漿成分に含まれる蛋白を除くための洗浄操作と、decondensationをおこすためのDTTによる処理がHybridizationの前に必要であった。DTTによる処理は、20mM、1時間の処理を洗浄した精子細胞に行い、続いてFISH法の標準的な手技に準じて処理を行った。分裂中期のリンパ球を用いてFISH法を行い、D18Z1、DYZ1、DXZ1の検出を確認した後に、精子細胞における検出を行った。精子細胞は正常被検者のものと、乏精子症患者のものを用いた。〔結果〕D18Z1は乏精子症被検者の精子細胞と正常被検者の精子細胞両者において、今回の処理方法ではほぼ全てに検出された。〔考察〕精子細胞の前処理を工夫することにより、 α サテライトに対する遺伝子プローブを用いたFISH法でX精子・Y精子検出が可能であった。また、今回の対象とした症例間では、X精子とY精子の比率に大きな差を認めなかったが、今後バーコール法等の分離方法を用いて分離された精子細胞のX精子とY精子の比率についても検討することとした。〔結論〕精子細胞の遺伝子を検出するためのFISH法を確立することができた。

204

単一精子のPCR分析法を用いたキナクリン染色精子の性解析

慶應義塾大学医学部産婦人科

○橋場剛士、末岡 浩、浅田弘法、久慈直昭、宮崎豊彦
小林俊文、野澤志朗

〔目的〕キナクリン染色にてF-body陽性の精子は、Y染色体長腕がキナクリンにて強く染色されることより、Y染色体を含むとされてきた。キナクリン染色はXおよびY精子の判別に使用されてきたが、F-body陽性精子がY染色体を含むか否かは尚不明な点が多い。今回我々はマイクロマニピュレーター下にキナクリン染色した精子を1個ずつ採取し、PCR法(single sperm PCR)にてY染色体長腕上の特異的配列(DYZ-1)の有無を調べ、精子のキナクリンの染色性とY染色体特異配列の有無について検討した。

〔方法〕精子をPBSにて洗浄しカルノア液にて固定しキナクリン染色しマキルバン緩衝液中に浮遊させた。マイクロマニピュレーター装置付きの蛍光顕微鏡下に1個ずつ精子を採取した。精子をlysis solution (PCR bufferにDTT、Proteinase K、Tween20を加えたもの)に加え、1時間、37℃でインキュベイトし、10分、96℃で加熱しProteinase Kを不活化した。DYZ-1上のプライマーを作成し、上記検体にて第1回のPCR (Denaturationは94℃、Annealingは55℃、Polymerase reactionは72℃)を20サイクルおこなった。その増幅産物を用いて上記プライマーの内部プライマーにて第2回目のPCR (nested PCR)を30サイクルおこなった。

〔結果〕頭部中部の典型的なF-bodyを認める精子はすべてPCR法にてDYZ-1の存在すなわちY染色体の存在が確認された。F-bodyの存在の判定が困難な精子も多く存在したが、PCRの結果もDYZ-1陽性、陰性のものが混在した。F-body陰性精子はDYZ-1の存在が確認できなかった。

〔考察〕典型的なF-bodyを検出した精子はDYZ-1配列を有することが示唆された。X染色体特異的プローブを用いた実験およびF-body判定困難例を少なくする染色法の開発が必要である。

205

Maturation arrest 症例に対する不妊症治療上の問題点

浜松医科大学泌尿器科 寺田央巳、山口安三、
牛山知己、鈴木和雄、藤田公生

目的：造精過程で、ある分化段階までの精祖細胞しか見られない状態、Maturation arrest を示した症例に対する治療上の問題点についての検討。対象：浜松医大泌尿器科男子不妊外来において、乏精子症、無精子症の診断のもとに精巣生検を施行し、病理組織学的診断が Maturation arrest であった症例 11 例と、Johnsen's score count が 6 以上の症例 36 例を対象とした。方法：精子濃度が $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満の症例を対比させ、平均不妊期間、精巣容量、精液検査所見、内分泌検査所見、妊娠成立の有無などにつき両者を比較し、Maturation arrest の臨床的意義、問題点についてさらに症例を重ね、若干の文献的考察を加えて検討する。

206

経口 PGE₁ 誘導体リマプロストの男子不妊症患者への使用経験

聖マリアンナ医大泌尿器科学教室

○岩本晃明、田中宏樹、星野孝夫、矢島通孝、原口千春、馬場克幸、
河野正二郎、皆川信彦、長田尚夫

【目的】経口 PGE₁ 誘導体制剤であるリマプロストは末梢循環を改善する効果あるいは糖尿病の末梢神経障害にも有効であると言われ最近では勃起機能障害にもその有効性が報告されている。そこで本剤を造精機能改善を目的として男子不妊症患者に使用したのでその治療成績を報告する。

【対象と方法】対象は男子不妊症患者のうち 2～3 回の精液検査の平均が精子濃度 $40 \times 10^6 / \text{ml}$ 以下あるいは運動率 50% 以下を示した 64 例と抗癌剤療法後の精液所見不良例 1 例である。原発性不妊が 56 例、続発性不妊 8 例である。精索静脈瘤の術後精液所見が改善しない 5 例および手術を希望しない 10 例が含まれている。リマプロスト $30 \mu\text{g} / \text{日}$ を分 3 で 3 カ月から最長 11 カ月投与した。投与後の精液検査の判定は投与終了までの最後の 3 回の平均を採用した。効果判定基準は熊本らに従った。

【結果】投与前精子濃度 $10 \times 10^6 / \text{ml}$ 以下の 24 例のうち著効 1 例、有効 2 例合わせて 3 例 12.5%、 $10 \sim 20 \times 10^6 / \text{ml}$ の 9 例中著効 3 例、33.3%、 $20 \sim 40 \times 10^6 / \text{ml}$ の 12 例中著効 5 例、有効 3 例合わせて 8 例、66.7% の改善率であった。精子運動率をみると投与前 30% 以下の 25 例中著効 4 例、有効 10 例合わせて 14 例 56%、30～50% の 23 例中著効 5 例、著効 1 例合わせて 6 例 26.1% の改善率であった。投与期間中に妊娠が明らかになった症例は自然妊娠 5 例、AIH 妊娠 2 例で妊娠率は 11% であった。副作用は消化器症状 4 例あり 1 例は下痢がひどく 1 カ月で中止した。1 例は約 3 カ月後 flare 現象を認め中止した。投与前後で FSH、LH、T、PRL 値に変化を認めず、末梢血、生化学検査にても異常を認めなかった。

【まとめ】リマプロストを投与した症例の背景が一定していないこと、double-blind 試験でないことから使用経験の印象しか述べることは出来ないが運動率が極めて不良な症例に効果が見られたことから本剤の末梢循環改善作用が効を奏したものと思われた。

207

特発性男性不妊症に対する Tranilast の有用性に関する検討

岡山大学医学部泌尿器科学教室

○秋山博伸, 大枝忠史, 小澤秀夫, 永井 敦, 大森弘之

【緒言】近年, 特発性男性不妊症と精巣中の肥満細胞の増生との関連性が報告されているが, 今回, 肥満細胞遮断薬である Tranilast を特発性男性不妊症患者に使用し, 若干の知見を得たので報告する。

【対象及び方法】対象は, 1990年12月から1994年6月までの間に, 当科不妊外来を受診した特発性男性不妊症患者37症例(26~42歳, 平均33.5歳)である。その内訳は, 精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の高度乏精子症29例, $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上の軽度乏精子症5例, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上で精子運動率50%未満の精子無力症3例であった。JSCは9.0~5.6, 平均7.5である。これらの症例に対し, Tranilast(商品名リザベン)100mgを1日3回, 原則として3カ月以上経口投与した。そして, 投与前及び投与開始3カ月後, 6カ月後に, 3日間以上の禁欲期間で精液検査を行ない, 精子濃度・運動率に対する効果, 妊娠の有無及びこれらを併せた総合的な臨床評価を行なった。また, 血清ホルモン濃度とともに, 精漿中のヒスタミン, PG D_2 , 6-keto-PGF $_1\alpha$ も測定し, 肥満細胞の機能に関する検討も行なった。

【結果及び考察】3カ月後の改善率は, 精子濃度, 運動率, 全般改善度についてそれぞれ, 36.4%, 39.4%, 54.5%であった。同様に6カ月後は, 50.0%, 45.8%, 62.5%と, 良好な成績であった。妊娠は2例に認め, 妊娠率は5.3%であった。血清ホルモン濃度については, T, LH, FSHともに投与前後で有意な変動は認めなかった。また, 精漿中ヒスタミン, PG D_2 , 6-keto-PGF $_1\alpha$ は, いずれも投与前に比し投与後で減少傾向を示したが, 精液所見改善群において顕著であった。副作用は5例(13.5%)に認め, 眠気4例, 出血性膀胱炎1例であった。以上より, 妊娠率は低いものの, Tranilastは特発性男性不妊症に対しある程度有用であると考えられた。

208

不妊症の心理特性—その3—

無精子症の臨床心理的援助

昭和大学藤が丘病院 精神科 北村 勉

同 泌尿器科 坂本正俊 池内 隆 甲斐祥生

目的: 泌尿器科的治療に限界を呈す絶対不妊、無精子症と診断確定されると、夫婦間の葛藤が医療の場に持ち込まれるcaseも稀ならず認められる。離婚といった深刻な事態に致つた例も見られる。そこで、無精子症に生じ易い心理特性と心理療法の経緯に就いて検討した。

対象と方法: 泌尿器科不妊症外来を受診し無精子症(Klinefelter症候群、特発性不妊症、両側性精管欠損症)と診断された10例について、身体的諸検査結果と心理検査及び心理療法経過に就いて報告する。

結果及び考察:

- (1) 心理検査では、Klinefelter症候群に不安、葛藤への脆弱性等の特異的な人格特性が認められた。その他の群では特異的な所見は見られなかった。
- (2) 2例が離婚に致つている。精管欠損症例は泌尿器科的処置を施行したが、無精子症と判明したもので、その後妻が一過性に反応性の抑うつに落ちいつた。

泌尿器科的治療が無効の無精子症と診断が確立すると、多くは医療の場を離れるが、現実にはその後に夫婦間で諸々の心理-社会的問題が出現し、その臨床心理学的援助が必要と考えられた。

209

精細胞DNA合成能の加齢による変化

札幌医科大学泌尿器科

○新田俊一、赤樫圭吾、伊藤直樹、熊本悦明

【目的】一般に加齢に伴い造精能は低下することが知られているが、精細胞DNA合成能に関する検討は少ない。細胞増殖動態の検討には、以前より ^3H -thymidine、BrdUが用いられているが、ヒトの組織の場合incubation等の煩雑な過程を要した。今回、DNA合成期の細胞核内に発現するproliferating cell nuclear antigen(PCNA)を免疫組織化学的染色法を用いて検出し、精巣における精細胞増殖動態の加齢に伴う変化を定量的に検討した。

【対象と方法】対象は精巣腫瘍、精管結紮希望者、前立腺癌患者で全例に精巣生検、除睾術の同意を得た。年齢分布は20歳～39歳21例(平均年齢29.7歳)、40歳～59歳6例(平均年齢52.4歳)、60歳～87歳44例(平均年齢72.5歳)の計71例である。精巣組織切片に、抗ヒトPCNA抗体(DAKO社)を一次抗体としてABC法により免疫染色を行った。組織所見の定量的評価法は1Sertoli細胞あたりの精細胞数をGerm cell index(GCI)とし、1Sertoli細胞あたりのPCNA陽性精細胞数をPCNA labelling indexとして用いた。

【結果】PCNA labelling indexは20歳～39歳で 1.68 ± 0.39 (mean $\pm$ SD)、40歳～59歳で 0.80 ± 0.53 、60歳～87歳で 0.74 ± 0.51 で加齢に伴い有意に低下した($p=0.0001$:Kruskal-Wallis test)。GCIは20歳～39歳で 6.3 ± 1.1 (mean $\pm$ SD)、40歳～59歳で 5.1 ± 2.5 、60歳～87歳で 3.6 ± 1.9 で加齢に伴い有意に低下した($p=0.0001$:Kruskal-Wallis test)。PCNA labelling indexとGCIの間には高い正の相関関係が認められた($r=0.81$; $p<0.0001$)。

【考案】加齢に伴いPCNA labelling index、GCIはともに有意に低下し、PCNA labelling indexとGCIの間には高い正の相関関係が認められたことから、加齢による造精能低下の一因として精細胞DNA合成能の低下が関与することが示唆された。

210

精路閉塞症における精巣組織の定量的解析：閉塞原因との関連

関西医科大学泌尿器科、京都大学泌尿器科*

松田公志、藤田一郎、日浦義仁、土井 浩、奥野 博*、橋村孝幸*、吉田 修*

【目的】精路閉塞症は、顕微鏡下精管精管吻合術や精巣上体精管吻合術の導入により高い確率で再吻合できるようになったが、吻合に成功しても妊娠に至らない症例も多い。長期間の精路閉塞により精巣の精子形成能が障害された可能性がある。精路閉塞症患者の精巣組織を定量的に解析し、閉塞原因、閉塞期間と精巣組織所見との関連について検討した。

【対象と方法】閉塞原因は先天性精管形成不全9例、小児期鼠径ヘルニア手術後の精管閉塞12例、精管切断術後15例の精巣生検組織を光学顕微鏡下に検討した。血清FSH高値の症例は対象から除外した。閉塞期間はそれぞれ平均30.2年、28.0年、8.5年で、精管切断術後症例は他の2群に比べて有意に閉塞期間が短かった。精巣組織は、精細管10-20個について、精細管直径、基底膜の厚さ、各精細胞の数を測定し、各精細胞数をSertoli細胞数で除した値をSertoli cell ratio (SCR)とした。

【結果】各群間に有意差がみられたのは基底膜の厚さで、精管切断術後患者が鼠径ヘルニア手術後の患者より有意に厚かった。各精細胞のSCRは3群間で有意差を認めなかった。

【考察】小児期鼠径ヘルニア手術により精管が閉塞した症例では、精子形成が始まる前に精路閉塞が生じており、先天性精管形成不全に近い病態と考えられる。精管切断術後と先天性精管形成不全の精巣組織を比較検討した結果、精管切断術後の基底膜が有意に厚いと報告があり、今回の結果と矛盾しない。精管切断術後患者と正常患者の精巣組織を定量的に解析した報告では、精管切断術後患者で精細管基底膜の肥厚を認めている。精管切断術後患者で基底膜の肥厚が認められる原因は不明であるが、精子形成開始後に突然発症した精路閉塞は精細管構造を障害すると考えられる。

211

SHRSPを用いた血管障害に伴う精子発生能障害に関する検討
-Manidipine予防投与による精子発生能障害に及ぼす影響-

○赤塚圭吾¹⁾、熊本悦明¹⁾、伊藤直樹¹⁾、永岡明伸²⁾、今本哲治²⁾
札幌医科大学医学部泌尿器科¹⁾
武田薬品 創薬第一研究所²⁾

【目的】我々はすでに脳卒中易発症ラット(SHRSP)において23週齢でSertoli細胞障害に伴い成熟した精細胞が障害されていることを報告した。今回SHRSPにおいて血管障害を予防することによる精子発生能の変化について検討した。

【方法】今回血管拡張作用を有するCa拮抗薬の中でも末梢血管選択性の高いManidipineを使用した。その投与量は2.5mg/kgと少量で血圧への影響が少ない量とした。6匹のSHRSPに8週齢より前述した量のManidipineを投与し(M群)、6匹は無投与(C群)とした。またcontrolとしてWistar-Kyoto ratを用いた。各群とも16週齢に、それ以前に死亡した時は死亡時に両側精巣を摘出し検討した。精子発生能、血管障害の程度、精巣組織中transferrin濃度について検討した。

【結果】C群では10週齢より200mmHg程度の高血圧を呈し、11週齢より死亡するratが生じ16週齢まで生存したのは1匹のみであった。それに対しM群では生後11週より200mmHg以上の高血圧を呈したが、無処置群に比較して低い傾向を示し全て16週齢まで生存した。精巣内細動脈の高血圧性変化の程度はC群40.4%に対しM群26.5%と有意に低値を示した。精子発生能はmature spermatid数/Sertoli細胞数がC群では1.58と著明に低下していたがM群では2.60とManidipineは有意にその低下を予防した。その他の精細胞では差を認めなかった。またSertoli細胞機能を反映すると考えられる精巣組織cytosol中transferrin濃度を検討すると、C群で有意に低下していたがManidipineによりその低下は軽減された。

【結論】Manidipineは血圧への影響の少ない少量で精巣内細動脈の血管障害を低下させ精子発生能障害の発生を抑制した。すなわちSHRSPの精子発生能障害は血圧よりも血管障害が原因である可能性が強いと考えられ、Manidipineは原因である血管障害を予防し精子発生能障害を軽減する可能性が示唆された。

212

エチレングリコールを用いた分割期胚の新凍結法の改良

セントマザー産婦人科医院¹、神戸大学農学部附属農場²

○井手紀子¹、田中 温¹、田中威づみ¹、永吉 基¹、栗田松一郎¹、
竹本洋一¹、高崎博幸¹、有本恭子¹、井上綾子¹、岩本智子¹、楠比呂志²

目的：不妊症治療において、胚の凍結保存は患者の負担を軽減する有効な方策の一つと考えられる。胚の保存性には発生段階で差があり、ヒトにおいては、前核期に比べるとより有用性の高い分割期胚での凍結保存が難しいとされている。今回我々は、堂地ら(1991)によって考案されたウシ胚の凍結保存法の、ヒト2～4細胞期胚への応用について試みたので報告する。尚、余剰胚の凍結に関しては、患者の同意を得て施行した。方法：移植時の余剰胚を、0.2Mシュクロース、1.8Mエチレングリコール及び20%不活化血清添加ダルベッコPBSとともに室温下で0.25mlストローに吸引し、パウダーで密封後、直ちに-7℃に設定したプログラムフリーザー(ET-U3, (株)フジヤ矢野科学)のメタノール槽に浸漬し、同温で植氷を行った。ついで、-30℃まで-0.5℃または-0.3℃/分の冷却速度で冷却した後、液体窒素に投入して保存した。融解は、5秒間のエアソーイング後に30℃の温水中で行った。ストローから回収した胚は、直接あるいは段階希釈の後37℃の10%不活化血清添加HTFに移し、実体顕微鏡下で形態的損傷の有無を観察した後、10%不活化血清添加Brinster培養液中で培養(37℃, 5%CO₂ in Air)を行い発生の可否を調べた。結果：凍結融解直後に損傷の見られなかった胚の割合とその後発生が進んだ胚の割合は、冷却速度が-0.5℃/分で融解後、HTFに直接移した場合それぞれ20.1%と、11.1%で段階希釈を行った場合ではそれぞれ、32.0%と23.0%であった。また、冷却速度が-0.3℃/分では、直接移した場合それぞれ41.6%と68.8%で段階希釈した場合にはそれぞれ、68.8%と60.2%であった。結論：本研究で試みた凍結保存法は、ヒト2～4細胞期胚に有用であり、植氷後の冷却速度としては、-0.5℃/分よりも-0.3℃/分のほうが、また融解後には段階希釈を行ったほうが、胚の損傷は少なく、その後の発生率も向上することが判明した。

213

採卵時の月経周期と血中ホルモン濃度が未成熟卵の体外成熟過程に及ぼす影響

愛媛労災病院産婦人科

○南條和也、大塚恭一、宮内文久

【目的】手術時に採取した未成熟卵を培養して卵の成熟ならびに受精を観察し、採卵時の月経周期ならびに血中ホルモン (LH、FSH、 E_2) 値と成熟率ならびに受精率の関係を検討した。また、培養液に HCG を添加して成熟率に及ぼす影響を検討した。【方法】婦人科疾患にて手術した患者 30 名を対象とした。患者の同意を得て、摘出した卵巣あるいは開腹時に健常部分の卵巣の径 8mm 以下の卵胞を穿刺吸引し、未成熟卵を回収、HTF 培養液にて培養をおこなった。卵は 4 日ないし 5 日間培養し、胚胞あるいは極体の出現の有無を観察した。なお、妊娠を希望した 5 名の未成熟卵については、院内倫理委員会の承認を得て、配偶者の精子を用いて媒精し、受精の有無を観察した。4 名の未成熟卵については培養液に HCG を添加 (40mIU/ml) した群としない群とにわけ成熟率を検討した。【成績】122 個の卵胞より 39 個の卵を採取した。月経周期別の採卵率は、卵胞期 (月経周期 5 日から 8 日目) が 38%、黄体期が 39% であったが、排卵期 (月経周期 12 日から 15 日目) では 8% であった。卵胞期の成熟率、受精率はそれぞれ 67%、29%、黄体期の成熟率、受精率はそれぞれ 38%、25% であったが、排卵期は 1 個の卵しか採取できず成熟は観察できなかった。血中ホルモン値と成熟率ならびに受精率の関係では、血中 LH 値と成熟率に正の相関 ($r=0.84$, $P<0.01$) がみられた。成熟率と血中 FSH、 E_2 値ならびに受精率と血中 LH、FSH、 E_2 値には相関がみられなかった。HCG を添加した群としない群の成熟率はそれぞれ 75% と 40% であり、HCG 添加群のほうが成熟率がよい傾向が認められた。【結論】排卵期の未成熟卵は主席卵胞より何等かの影響を受けていること、血中 LH 濃度の高い状態にある未成熟卵は容易に成熟すること、HCG は未成熟卵になんらかの影響を及ぼすことが示唆された。

214

卵胞液中グルコース濃度と卵の成熟度に関する研究

東京大学産科婦人科 長野赤十字病院産婦人科*

○島内昌仁、堤 治、森田 豊、藤原敏博、林 直樹、

本藤 徹*、菅生元康*、武谷雄二

【目的】哺乳動物卵のエネルギー代謝は特異的でグルコースの利用性が低いことが知られている。体外受精時の卵の成熟度と卵胞液のグルコース濃度および内分泌学的性状を検討し、卵成熟とグルコースとの関連を明らかにしようとした。

【対象および方法】対象は東大病院および長野赤十字病院で施行された IVF-ET 14 症例 15 周期である。Short protocol で HMG により卵巣刺激し、HCG 投与 34 時間後卵胞を穿刺し卵および卵胞液を回収した。穿刺した卵胞数 117、回収卵数 109 であった。卵は卵-卵丘細胞の形態により grade (G) I から V に分類した。卵胞液は液量測定後速やかに遠心し測定まで -20°C で保存した。グルコース濃度は、オリンパス AU510 (グルコース脱水素酵素法)、エストラジオール (E_2) とプロゲステロン (P_4) はセロザイム II (EIA 法セローノジャパン社) を用いて測定した。有意差検定は Student's t-test を用いた。

【結果】1. 卵の grade と卵胞液には相関 ($r = 0.42$ $P<0.004$) があり、G I では 4.1 ± 1.8 ml, G II、G III ではそれぞれ 2.6 ± 1.1 ml, 2.5 ± 0.7 ml, であった。2. 卵の grade とグルコース濃度にも相関があり、G I 83.5 ± 17.8 mg/dl, G II 98.6 ± 13.5 mg/dl, G III 91.0 ± 13.8 mg/dl, で前者と後 2 者の間には有意の差を認めた ($P<0.02$)。3. 卵胞液量とグルコース濃度には負の相関を認めた ($r=0.56$ $P<0.0001$)。4. P_4 濃度とグルコース濃度には負の相関を認めた ($r=0.6$ $P<0.0001$) が、 E_2 とグルコース濃度間には有意な関係はなかった。

【結語】1. 卵胞液中グルコース濃度は、卵の成熟に関係することを示唆した。2. グルコース濃度と卵胞成熟のパラメータである卵胞液量、プロゲステロン濃度とは負の相関があることを明らかにした。

215

過排卵誘起時のストレス負荷がマウス胚におよぼす影響

東京農業大学短期大学部生物生産技術学科
○加田日出美

【目的】ストレスがヒトや動物の生殖機能を障害することは、古くから指摘されている。近年の動物生産の現場では、過排卵処理によって多数の受精卵を得ることが広く行われており、1回の処理で得られる排卵数を多くするための研究がなされている。ストレスは過排卵結果にも影響を与えられるが、ストレスと過排卵の関係を明らかにした報告はみられない。そこでマウスにおいてストレス負荷が過排卵にどのような影響をおよぼすか検討した。

【方法】試験には8～12週齢のddY系未経産雌マウスを用いた。供試マウスが発情期を示した日をDay 0とし、過排卵処理はDay 1の16:30にPMSGを、その48時間後Day 3の16:30にhCGをそれぞれ5 IUずつ腹腔内投与して行った。対照区は過排卵処理のみとし、試験区は過排卵処理期間にストレス負荷として負荷する強制遊泳負荷日と回数によって設定した。強制遊泳は各日とも9:00～10:30までの90分間とし、37℃の温水中で常に5頭を遊泳させた。hCG投与後に成熟雄と同居させ、翌日陰栓の確認を行った。胚は陰栓確認日より3日目(Day 7)に子宮灌流によって回収し、排卵数、正常卵数と正常卵率、胚の発生段階別割合、排卵点、生殖器および副腎重量とその体重比を調査した。

【結果】排卵数はストレス負荷回数が多くなるにしたがって増加する傾向を示し、それとともに正常卵数も増加したが、正常卵率は低下傾向にあった。胚の発生はいずれの試験区でも遅延が認められ、バラツキが顕著であった。卵巣重量はいずれの試験区でも増加傾向を示した。

【考察】以上の結果から過排卵処理におけるストレス負荷は、胚の発生初期に重大な影響をおよぼすことが判明し、ストレスが遅延排卵や遅延受精など胎子異常の原因となることが推察された。

216

マウス胚発生におけるHexokinase 活性の変化とそのRNA レベルでの解析

日本大学医学部産科婦人科学教室
東京大学医学部産科婦人科学教室*
○高見雅司、堤 治*、高見毅司、綾部琢哉*、坂元秀樹、武谷雄二*、佐藤和雄

【目的】マウス初期胚のエネルギー代謝は特異的な変化を示し、成熟卵から初期受精卵においては pyruvate がエネルギー基質となり8細胞期以降はじめて glucose をエネルギー源として利用できると言われている。今回我々は glucose 利用上不可欠なHexokinase (HK) の初期胚における酵素活性およびそのmRNAレベルの変化について検討した。

【方法】8週令雌マウスにPMS 5単位投与後48時間後にHCG 5単位投与し10週令雄マウスと mating させ12時間後に雌マウスの陰栓を確認し、26時間後に卵管灌流法にて受精卵を採取した。また陰栓を確認した日を第1日として第4日に子宮内灌流法にて胚盤胞を採取した。HKの活性は、回収した受精卵および胚盤胞を凍結乾燥させ、それを試料にNADPサイクリング法により測定した。一方回収した受精卵、胚盤胞それぞれ100個よりRNAzolBにてmRNAを抽出しその後First strand cDNA synthesis kitにてreverse transcriptionによりcDNAを作成した。RT-PCR法はHKのprimerを用いてdenaturation 94℃ 1min, annealing 58℃ 1min, extension 72℃ 2minを1サイクルとして35サイクル増幅した。(結果)HKの酵素活性は受精卵で 0.035 ± 0.010 pmol NADPH formed / embryo / minであり他の組織のHK活性の20%程度の低活性であった。胚盤胞では 0.278 ± 0.040 pmol NADPH formed / embryo / minと受精卵に比べ8倍で有意の上昇を認めた($p < 0.01$)。一方、RT-PCR法によるHKのmRNAは、コントロールとして用いたマウス顆粒膜細胞では認められたが、受精卵では検出されなかった。しかし、胚盤胞においては検出されHK mRNAの発現を認めた。(結論)マウス初期胚においては受精卵から胚盤胞にかけてHKの酵素活性の上昇を認め、そしてこのHK活性の上昇が胚自身のHK geneのtranscriptionの上昇によることが明らかになった。

217

プロジェステロンによるマウス未受精卵の単為発生

¹田辺製薬(株)安全性研究所²東京大学医科学研究所・獣医学研究部

いまひえ

○新比恵 啓志^{1,2}、佐藤 英明²、豊田 裕²

卵丘細胞を除去したICR系マウスの未受精卵を体外でプロジェステロン処理すると、卵子は単為発生した。すなわち精子の関与なしでも卵子は活性化し、発生が進行した。ステロイドホルモンで単為発生が起こることはこれまで報告されていない。処理濃度の検討では100 μ M (31.4 μ g/ml)のプロジェステロンで高率(90%)の活性化が認められたが、150 μ M以上では細胞質が変性し、50 μ M以下では活性化はほとんど認められなかった。排卵後の卵子の ageing および処理時間の検討では、hCG投与後16、18、20および22時間目から100 μ Mで6時間処理すると、それぞれ50、85、89および90%の活性化が認められた。しかし2および4時間処理の活性化率は6時間処理のそれには及ばなかった。また卵丘細胞の存在および溶媒(0.5%DMSO)の影響は認められなかった。その他の9つのステロイドホルモンでも単為発生の有無を検討した。すなわち、コレステロール硫酸、プレグネノロン、17 α -ヒドロキシ-20 β -ジヒドロプロジェステロン、17 α -ヒドロキシプロジェステロン、20 α -ヒドロキシプロジェステロン、20 β -ヒドロキシプロジェステロン、アンドロステンジオン、テストステロンおよびエストラジオール-17 β である。その結果、20 α -および20 β -ヒドロキシプロジェステロンでも活性化が認められたが、残りのステロイドでは活性化はほとんど認められなかった。一方、プロジェステロン処理により単為発生した卵子の培養を継続すると、60%が2細胞期に発生し、さらに3%が胚盤胞期に発生した。以上の結果から、プロジェステロンおよびその代謝物は、高濃度(100 μ M)、長時間(6時間)の処理により、マウス未受精卵の単為発生を誘起することが分った。

218

マウス胚の凍結、融解法の検討

横浜市立大学産婦人科

[○]董曦、植村次雄、遠藤方哉、近藤芳仁、堀裕雅、水口弘司

目的: IVF-ETに際して最適な胚の凍結法を知るため、マウス受精卵を用いて種々の条件下での凍結法を比較検討した。**方法:** 雌マウスにPMSG-hCGを投与して雄マウスと同居後、2細胞胚をBSA添加Ham's F10液に採取し、4段階で凍結保護剤を添加後プログラムフリーザーを用いて、-7℃まで-1℃/minで冷却し、-33℃まで0.33℃/min、-45℃まで1℃/min、-80℃まで10℃/minで凍結した。2日間冷凍保存後室温にて4段階に凍結保護剤濃度を希釈して融解した後72時間培養し、hatching率を調べた。また、直接保存液に移し即座に液体窒素投入凍結した後解凍した2細胞胚(超急速凍結法)および非凍結胚と比較した。なお1群胚25個とし、3~5回実験を繰り返した。**結果:** 解凍後72時間のhatching率を指標として、1)凍結保護剤1,2-propylene glycol (PROH)の凍結法の比較では、program freezerによる凍結法(平均36.4 $\pm$ 3.6%, N=5)は迅速凍結法(1.7 $\pm$ 1.7%, N=5)より有意にhatching率が高い($p < 0.001$)。2)凍結保護剤の比較ではPROH(平均44.3 $\pm$ 2.9%, N=3)ではdimethyl sulfoxide (DMSO)の平均28.8 $\pm$ 1.1% (N=3)に比して有意に高い($p < 0.01$)。3)PROH添加法を比較すると、4段階添加法平均36.5%で簡易2段階添加法平均28.0%であった。4)凍結保護剤と併用する非透過性耐凍剤の比較では、0.1M sucrose(平均37%)と0.25M trehalose(平均44%)とで差が認められなかった。**結論・考察:** マウス2細胞胚を用いた基礎実験によると、超急速凍結法よりプログラムフリーザーを用いた緩速凍結法で有意に高いhatching率が得られ、凍結保護剤ではPROHの方がDMSOより良好な成績が得られた。また、凍結保護剤添加2段階簡易添加法ではhatching率は低い傾向が認められ、非透過性耐凍剤sucroseとtrehaloseでは差が認められなかった。

219

保存透明帯(salt-stored egg)の精子貫通能に与える熱処理の有効性

福島県立医大産婦人科 Biology of reproduction, University of Hawaii¹⁾

○片寄 治男 呉竹 昭治 吉松 宣弘 柳田 薫

星 和彦 佐藤 章 柳町 隆造¹⁾

【目的】透明帯は精子にとっては受精の障壁であるが、先体反応誘起の主たる場でもあり、また多精子受精防御を担う重要な構造物である。透明帯を貫通した精子は受精能ありと判定され、salt-stored eggを用いた精子貫通テストは精子受精能の一評価法として提唱されてきた。しかし、貫通精子数のばらつき、あるいは透明帯の保存期間の差異などにより判定が困難になることが多く、繁用されてはいない。精子貫通能減弱の原因として、高濃度塩類内の長期間保存による透明帯の変性(non-covalent bonds)が考えられており、本研究では透明帯を熱処理することにより精子貫通能が向上するかどうかを検討した。【方法】ハムスター、ウシから回収された未受精卵をSaltA(2M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 20mM HEPES + 0.5% Dextran)およびSaltB(2M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 12mM NaHCO_3 + 0.5% Dextran)中に4℃で一定期間保存した。ハムスターの過排卵誘起、採卵操作およびウシの卵胞卵子採卵、体外成熟培養は既法によった。媒精前日に卵を洗浄し、既法によりcapacitateされた同種の精子を75℃、12分間の加熱処理を施した卵に媒精し、無処理の対象と比較した。ハムスターは5時間後、ウシは18から22時間後に卵腔内の貫通精子数を算定した。【結果、考察】①熱処理ハムスター透明帯；精子貫通率は対象群と差は認めなかったが、卵腔内侵入精子数は熱処理群で有意に上昇した(SaltA; 2.8 ± 2.8 vs 6.8 ± 6.0 , SaltB; 7.2 ± 5.0 vs 25.9 ± 4.0 (mean $\pm$ SD))。②熱処理ウシ透明帯；対象群では精子侵入が全く観察されなかったが、熱処理により貫通率が約95%となり、侵入精子数はSaltAで 5.5 ± 5.3 , SaltBで 5.8 ± 4.6 (mean $\pm$ SD)となった。以上の結果は熱処理がsalt-stored eggの精子貫通性の向上に有効であることを示し、精子受精能の評価法としてのsalt-stored eggの有用性をさらに拡大するものと考えられた。

220

ヒト変性受精卵・未受精卵におけるアポトーシスの検出

近畿大学医学部産婦人科

高瀬 規久也・向林 学・赤井 正彦・三橋 洋治・

石川 元春・星合 昊・野田 起一郎

【目的】ヒト体外受精のときに得られた変性受精卵・未受精卵におけるアポトーシスの有無を検討する。【方法】日本産科婦人科学会の会告に準じ同意の得られた5組の体外受精-胚移植患者を対象に以下の検討を行った。ヒト体外受精の媒精後2日目に、胚移植に用いなかった変性受精卵(2-4細胞胚; n = 7)、もしくは未受精卵(n = 32)を用いてアポトーシスの有無を検討した。まず、4%緩衝ホルマリンで10分間固定後4℃で保存し、TUNEL法によるDAB染色を用いてDNAフラグメンテーションの有無を検討した。【結果】TUNEL法によるDAB染色では、変性受精卵の細胞質のフラグメンテーション部分に発色を認めた。また、形態学的に正常と思われる未受精卵の細胞質や、第一極体にもDAB染色を認めた。【考察】卵は受精がおこななければ退化変性する。また、受精卵も培養環境や卵側の条件によっては変性をおこす。その形態学的変化は、細胞質の縮小やフラグメンテーションとして観察される。その過程は、アポトーシスをおこした細胞死の過程に非常に類似しており、今回の結果からヒト受精卵・未受精卵の変性過程でもアポトーシスが起こっていると考えられる。そして、形態学的に変性の起っていない未受精卵において、DNAフラグメンテーションがおこっており、形態学的変化に先だってDNAの傷害がおこっているものと考えられる。また、未受精卵の第一極体のようないずれ死にいたる細胞にもアポトーシスが証明された。今回の検討では正常分割胚との比較検討は行っていないが、変性受精卵の変性過程にはアポトーシスが関与していることが示された。【結論】ヒト受精卵・未受精卵の変性過程にDNAフラグメンテーションが起っており、アポトーシスの過程を経て変性していく。そして、未受精卵では形態学的変化に先だってDNAフラグメンテーションが起っている。また、いずれ死にいたると考えられる第一極体にもアポトーシスが証明された。

221

ブタ体外成熟卵母細胞の人為的活性化にともなう表層顆粒の動態

神戸大学 自然科学研究科, 農学部*

○片山 弥佳・紅林 賢臣・三宅 正史・宮野 隆*・加藤征史郎*

【目的】受精と同様に、種々の活性化誘起処理によって第2卵母細胞は減数分裂を再開するが、受精時に放出される表層顆粒の、活性化誘起処理後の動きについては知られていない。本研究では、電気刺激後のブタ体外成熟卵母細胞における表層顆粒の動態についてレクチンを用いて検討した。

【方法】卵巣から卵母細胞を採取し、42～48時間成熟培養を行った。培養終了後、第Ⅱ減数分裂中期卵(MⅡ卵)の顆粒膜細胞を除去し、電気刺激処理を施して人為的活性化卵を得た。対照区として、体外受精により受精卵を得た。これらの卵を Ducibella et al. (1988) の方法にしたがって前処理した後、表層顆粒の糖鎖構造を特異的に認識するPNA-FITC(Yoshida et al., 1993) とHoechst 33342 で二重染色し、落射蛍光顕微鏡あるいは共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

【結果】MⅡ卵では、細胞表層に均一に分布する蛍光顆粒が観察されたが、紡錘体の付近の細胞質表層には、蛍光顆粒の存在しない領域が認められた。第1極体には、通常多くの強い蛍光顆粒が認められた。受精卵では、透明帯に強い蛍光を示す凝集塊と、その周囲に弱い蛍光が観察された。また、卵細胞膜下にも、凝集した大きな蛍光顆粒が認められたが、その数は成熟卵母細胞に比べ明らかに減少していた。一方活性化卵では受精卵と異なり、透明帯に蛍光は認められなかった。多くの活性化卵では、受精卵細胞膜下にみられたような蛍光顆粒の凝集が認められた。また、蛍光顆粒の凝集は認められないが、顆粒の分布に疎密が生じている卵も存在した。いずれの活性化卵においても、表層顆粒が減少する傾向は認められなかった。第2極体には、受精卵ならびに活性化卵ともに、蛍光がほとんど認められなかった。

【まとめ】人為的活性化によってブタ卵子の表層顆粒はパッチ状に集合し、その一部は凝集して強い蛍光顆粒を形成するが、受精卵のように卵表層からほとんど放出されないことが示された。

222

顆粒膜細胞馴化培地で成熟させたウシ放線冠細胞付着卵子の受精および発生能と馴化培地因子の検索

京都大学農学部家畜繁殖学教室

加藤博己、山田雅保、○内海恭三

演者らは先に日本畜産学会第87回大会に於て、ウシ放線冠細胞付着卵子の成熟用培地に顆粒膜細胞で馴化した培地を使用することによって、受精後の胚の発生が改善されることを報告した。このことから卵子は顆粒膜細胞由来の液性因子の働きにより細胞質の成熟が促進された結果、胚の発生状態が改善されたと考えた。しかし、液性因子の分泌条件やその本態は不明である。そこで本研究では48時間まで顆粒膜細胞で馴化培養した培地を用いて、ウシ放線冠細胞付着卵子を体外成熟させた後、体外受精・培養し、最適馴化培養時間を検討した。また、電気泳動法によって、馴化培地に含まれているタンパク質を検索した。屠場由来の卵巣より、卵丘卵子複合体を採集し、パスカル・ベッットを用いて放線冠細胞のみを残した放線冠細胞付着卵子を実験に供した。血清を含まないTCM-199+0.3%VP, 10IU/ml hCG, 1μg/ml E₂の基礎培地中で顆粒膜細胞を 1.0×10^5 cells/ml の濃度で、24時間及び48時間培養して馴化培地を得た。200μlの未馴化、24時間馴化及び48時間馴化培地へ30-40個の放線冠細胞付着卵子を入れて24時間成熟培養した。培養後卵子を当研究室の常法にしたがって体外受精・培養して受精率及び受精後9日目までの胚の発生の状況を観察した。卵子成熟率は未馴化、24時間馴化及び48時間馴化培地区においてそれぞれ、75、80および97%で、48時間馴化培地区が有意に高い値を示した($P < 0.05$)。受精率はそれぞれ、63、71および80%で各区間において差は見られず、胚盤胞期胚への発生率はそれぞれ、6、19および20%で24と48時間馴化培地区が未馴化培地区に対して有意に高い値を示した($P < 0.01$)。馴化培地のSDS-PAGE電気泳動を行った結果、24と48時間馴化培地において同数のバンドが観察されたが、48時間馴化培養の方がより濃いバンドが観察され、特に両区を通じて分子量60,000の濃いバンドが観察された。以上より、ウシ放線冠細胞付着卵子の受精後の発生能力に関係する顆粒膜細胞由来の液性因子は顆粒膜細胞を24時間培養することによって十分な量が分泌され、それは分子量60,000前後のタンパク質ではないかと推察された。

223

アクチビンのヒト卵管における発現とその意義についての検討

東京厚生年金病院 産婦人科・病理診断部*,
 東京大学医学部産科婦人科学教室**

○定月みゆき, 堤治**, 森田豊**, 井上泰*, 金子實, 武谷雄二**

【目的】アクチビンはツメガエルの中胚葉誘導作用をもつことが知られているが哺乳動物の胚発育に対する作用は未解明である。今回我々は初期胚発育の場である卵管におけるアクチビンの存在の有無を検討した。さらにマウスの初期胚培養系におけるアクチビンの作用を明らかにしようとした。

【方法】①アクチビンの卵管における存在を免疫組織化学的な手法を用いて検討した。患者の同意の基に手術時の摘出標本を10%フォルマリンで固定後パラフィン包埋し4ミクロンの薄切を作成した。これを、脱パラフィン・エタノール処理後ストレプトアビジン-ビオチン法により免疫染色を行った。第一抗体には、ラビットを免疫して得られたアクチビンに対するポリクローナル抗体を用いた。コントロールにはラビット血清を用いた。②ICR系メスマウス8・9週令にPMS hCGを投与した後同系雄マウスと交配させ、翌朝陰栓を確認した。hCG投与後40・44時間後に卵管卵を採取し各種条件下で培養を行い、胚発育を経時的に観察した。【結果】①免疫組織化学染色では、卵管上皮の腺細胞にアクチビンの局在を認めたが、間質には染色を認めなかった。②マウス初期胚培養系においては、8・12時間の培養で卵割を認めたものはコントロール群(C群)では41.6%であったのに対し、アクチビン20ng/ml添加群(A群)では56.2%であった($p<0.05$)。24・30時間の培養で2細胞期を越えたものはC群が63%であるのに対しA群では89.6%($p<0.01$)、48・52時間の培養ではC群が63%に対しA群は91.4%($p<0.01$)が2細胞期を越えることが観察された。また、48時間・52時間培養時の桑実胚形成率はC群が24.5%に対しA群は40%と有意に高かった($p<0.01$)。

【結論】アクチビンは卵管上皮に存在し胚発育にも促進的な作用を持つことが示唆された。

224

不妊検査におけるヒステロファイバースコピーの意義

明和病院 産婦人科

繁田実、杉本幸美、山崎ひろみ、

【目的】子宮および子宮内膜の異常による不妊症の検査には子宮卵管造影法(HSG)、超音波断層法(USG)子宮鏡が使用されているが、検出される所見と妊娠との関係については不明な点が多い。本研究ではヒステロファイバースコピーの不妊検査における意義について分析を試みた。

【対象及び方法】1991年7月より1992年2月までに明和病院産婦人科に挙児希望で初診し、ヒステロファイバースコピー施行後少なくとも4周期以上経過を観察した不妊患者107例について、ヒステロファイバースコピーおよび子宮卵管造影法(HSG)の所見と妊娠成立の有無を調べた。ヒステロファイバースコピーはFUJINON社製HYS-FTを用い生理食塩水で還流し、所見はすべて8ミリビデオに収録した。子宮卵管造影法(HSG)はバルーンカテーテル法で造影剤はイビスト300を使用しすべて透視下でおこなった。

【結果】ヒステロファイバースコピーを施行した107例中IVF-ETの術前検査が72例一般不妊検査が35例であった。IVF-ET目的の72例中ヒステロファイバースコピーで所見が認められたのは23例(32%)で、その内訳は奇形3、筋腫2、ポリプ17、癒着3(重複2)であった。一般不妊検査35例中HSGで異常所見が認められたのは14例でヒステロファイバースコピーで所見が認められたのは19例であった。その内訳は奇形1、筋腫1、ポリプ15、癒着2であった。HSGとヒステロファイバースコピーの不一致率(False negative:HSGでは正常なもヒステロファイバースコピーは異常あり8/21=38%、False positive:HSGでは異常ありだがヒステロファイバースコピーは所見なし3/21=21%)は59%であった。IVF-ET目的症例で25例(35%)一般不妊症例で20例(57%)に妊娠が成立したが、ポリプ切除術後(10例)癒着剥離術後(2例)の12例において子宮因子の治療と妊娠成立が直接関連したと考えられた。

【結論】IVF-ET目的症例での子宮因子検出率(32%)と一般不妊症例でのHSGとヒステロファイバースコピーの不一致率(59%)よりヒステロファイバースコピーは不妊症のルーチン検査としての意義があると考えられる。

225

多嚢胞性卵巣 (PCO) に対する腹腔鏡下卵巣楔状切除術の有用性

富山県立中央病院産婦人科

○舟本 寛, 飴谷由佳, 新井 昇, 大口昭英, 佐竹紳一郎, 小嶋康夫,
中野 隆, 館野政也

多嚢胞性卵巣 (PCO) に対する治療法として clomiphene 無効例や HMG-HCG 療法により卵巣過剰刺激症候群などの副作用を示す症例には、従来より開腹して卵巣楔状切除術が行なわれてきた。しかし、最近では腹腔鏡下に卵巣電気焼灼術やレーザーによる卵巣蒸散法が試みられるようになってきた。今回、我々は 5 例の PCO 患者にハーモニック・スカルペルにより腹腔鏡下に卵巣楔状切除術を施行し、良好な結果を得たので報告する。

PCO の診断は (1) 月経異常 (2) LH 高値, ESH 正常値 (3) 経膈超音波で多数の卵胞嚢胞状変化が認められる者とした。5 例ともすべて不妊症で clomiphene に抵抗性であり、2 例は HMG-HCG 療法で OHSS の既往があった。腹腔鏡下卵巣楔状切除術はハーモニック・スカルペル (ブレードはシザーズタイプ) で卵巣の約 1/5 を切除した。卵巣の傷部からの出血はほとんどなく、創面に癒着防止の目的で Interceed を置いた。手術時間は 70 分から 80 分で、術後 3 日目に全例退院した。摘出物の病理組織所見は白膜の線維性肥厚が 5 例中 4 例に、間質細胞の増生, granulosa cell の萎縮, internal theca cell の増生が全例に認められた。また手術前後の血中 LH 値を比較してみると、術後 5 例中 4 例が低下していた。現在までのところ 5 例中 4 例に排卵 (3 例は自然, 1 例は clomiphene) を認め、2 例に妊娠が成立した。

226

卵管性不妊症患者の腹腔鏡所見と腹腔鏡下手術後の予後に関する検討

東邦大学医学部第 1 産婦人科学教室

○森田峰人, 矢野義明, 久保春海, 平川 舜

【目的】卵管性不妊症患者の腹腔鏡検査時の付属器の所見と腹腔鏡下手術後の妊娠との関係について検討を行った。

【対象および方法】1990 年から 92 年の 3 年間に卵管性不妊症患者で腹腔鏡下手術を行った 40 例を対象とした。付属器周囲の癒着は、AFS の付属器癒着スコアを用いて評価した。腹腔鏡施行時の所見により、腹腔鏡下に YAG レーザーを用いた卵管周囲癒着剥離術、卵管采形成術、卵管開口術を行った。

【結果】術後 I VF 妊娠例 4 例を除く 36 例中 13 例 (36%) に妊娠が成立した。腹腔鏡下手術別に検討すると、卵管周囲のみの癒着で癒着剥離術を行った 6 例中 4 例 (66%) に、卵管周囲癒着で卵管采形成術を行った 12 例中 4 例 (33%) に、卵管留水症で卵管開口術を行った 19 例中 5 例 (26%) に妊娠が成立した。これらの妊娠例と未妊娠例の片側付属器癒着スコアを比較すると、全体の妊娠例 13 例、26 卵管の癒着ポイントは 10.2 ± 7.7 であり、未妊娠例 23 例、44 卵管の 14.0 ± 8.7 に比べて有意な差を認めなかった。症例別では卵管周囲、卵管周囲癒着症患者の妊娠例 8 例、16 卵管の癒着ポイントは 5.6 ± 4.3 であり、未妊娠例 11 例、22 卵管の 10.4 ± 8.7 に比べて有意 ($p=0.03$) に低値であった。卵管留水症の妊娠例 5 例、10 卵管の癒着ポイントは 17.6 ± 6.0 であり、未妊娠例 14 例、27 卵管の 16.8 ± 7.2 に比べて有意な差を認めず、さらに AFS の遠位卵管閉塞スコアにおいても妊娠、未妊娠例の間に差を認めなかった。

【結論】卵管性不妊症患者の腹腔鏡下手術後の妊娠率は、卵管周囲癒着症のみの症例で最も高率であった。癒着剥離や卵管采形成術を行った症例では、妊娠例において有意に癒着ポイントが低値であったが、卵管開口術を行った症例では癒着ポイントに差を認めなかった。卵管留水症の妊娠予後に関して、よりの確な卵管内腔のダメージの程度の評価が必要であると考えられた。

227

当科不妊症患者に対する腹腔鏡施行例の現状と成績

滋賀医科大学産科婦人科学教室

○須戸龍男、和久田晃司、横江保彦、木村文則、井上貴至、
笠原恭子、竹中 章、山出一郎、野田洋一

平成元年4月より平成6年6月までに当科を受診した不妊症患者のうち腹腔鏡検査を行った135例について報告する。適応の内訳はPOFが3例(2.2%)、臨床的子宮内膜症合併95例(70.0%)、卵管因子33例(24.5%)、機能性不妊35例(26.0%)であった。術前に機能性不妊と診断された例でも腹腔鏡により、子宮内膜症・卵管周囲癒着・卵巣嚢腫など38例(28.1%)に何らかの異常所見を得た。子宮内膜症の腹腔鏡による正診率は81.7%であるが、正常所見が11例認められた。卵管因子に関しては、HSGと腹腔鏡所見の一致率は26例(75%)で諸家の報告の範囲にあったが、異常所見での一致率は低かった。我々は腹腔鏡下に、PCOに対する楔状切除・子宮内膜症病変の電気焼灼・チョコレート嚢腫に対する嚢腫摘出術またはエタノール固定、卵管周囲の癒着剥離術などを行っており、その結果、腹腔鏡検査後の妊娠率は26.4%であった。腹腔鏡検査は一般臨床不妊症検査では発見できない原因不明例の検査として、また子宮内膜症の確定診断と治療に特に有用である。

228

子宮内膜症における卵管内視鏡所見の検討

藤田保健衛生大学 産婦人科

塚田和彦、澤田富夫、白木 誠、樋口泰彦、廣田 穰、河上征治

〔目的〕 子宮内膜症の不妊原因解明の一助として内膜症症例における卵管内腔観察を行い、卵管因子による不妊原因としての観察の重要性の有無を検討した。

〔方法〕 卵管内腔観察は外径0.5mm～0.7mmの日本光電・AS-002内視鏡を用いて行なった。観察方法は経腹腔的方法と経子宮腔的方法の2法にて実施した。対象症例は子宮内膜症を疑い開腹手術施行した症例および腹腔鏡施行症例、更に子宮鏡下に卵管内を観察した症例、計12症例。観察項目は卵管通過性の有無、卵管内雛壁の状態、卵管内腔上皮の色調と血管の走行であった。

〔結果〕 内膜症合併例での卵管の外見的所見の明らかなもののうち、外見的異常が認められないにもかかわらず観察項目中1つでも異常の認められた症例は75%に及んだ。内腔通過性障害及び卵管上皮の色調の変化に異常所見が高率に認められた。特に内腔の癒着、凝血塊等による内腔の狭小化は、他の骨盤内炎症所見と類似するものであった。

〔結論〕 子宮内膜症病変は一種の骨盤内炎症と考えられ、卵管外見の正常な症例においても高率に内腔所見の異常を認め、本所見が不妊原因となっていることが示唆された。今後は内膜症の重症度と内腔所見の相関、更に内膜症治療による内腔所見の改善等についての検討が必要であろう。

229

子宮内膜症、および機能性月経困難症に対するLUNA (laparoscopic uterosacral nerve ablation) の効果

札幌医科大学産婦人科

○藤井美穂、森 悟子、後藤妙恵子、岡村直樹、木谷 保、金谷美加、
斉藤 豪、山本 弘、遠藤俊明、寒河江悟、工藤隆一

妊孕性を保存しなければならない生殖年齢にある婦人の月経困難症症例に対し、LUNA(laparoscopic uterosacral nerve ablation)を施行しその効果を検討したので報告する。(対象および方法)当科不妊症、ホルモン外来通院治療中の27-38歳の子宮内膜症6例、機能性月経困難症4例の計10例を対象としLUNAを施行した。月経困難症は重症であり、以前にダナゾール、GnRHa、Holmstrom療法などのホルモン療法をうけており、月経時には鎮痛剤の投与にても効果なく緊急入院の既往がある症例を対象とした。LUNAはYAGレーザーあるいは超音波切開凝固システムを使用し行なった。10例中2例は子宮内膜症による癒着が高度であり尿管の走行が確認できなかったため、開腹手術とし直視下に仙骨子宮韧带浅部を切断した。子宮内膜症6例の進行度はR-AFS分類でstage I 2例、stage II 2例、stage IV 2例でLUNAと同時に腹腔内癒着剥離、内膜症病巣の蒸散を併用した。機能性月経困難症4例では腹腔内癒着など異常所見を認めず、LUNAのみを行なった。(結果)10例すべてに月経困難症の改善をみており、術後10カ月を経過した4例では再発症状も出現していない。薬物治療でコントロールのつかない重症月経困難症に対してLUNAは有効な処置であると考えられた。

230

子宮内膜症における腹腔鏡下嚢腫摘出術の卵巣機能に及ぼす影響

順天堂大学医学部産婦人科学教室

○武内裕之、淡路正則、中野義宏、三橋直樹、桑原慶紀

(目的)近年、子宮内膜症の治療にminimally invasive surgeryである腹腔鏡下嚢腫摘出術が行われるようになってきた。今回、腹腔鏡下嚢腫摘出術の卵巣機能に及ぼす影響を検討した。

(方法)対象は子宮内膜症の症例45症例、60嚢胞で対象の平均年齢は 30.0 ± 4.6 歳、r-AFSは 49.1 ± 30.3 であった。摘出した嚢腫壁をホルマリンで固定し、HE染色を行い、任意の3切片における卵胞の有無を検討した。また、不妊症の9症例では手術前後の排卵誘発(clomiphene 8例、hMG-hCG1例)による卵巣の反応性を発育卵胞数、血中E2値、黄体期progesterone値によって検討した。

(結果)45症例60嚢腫壁のうち、卵胞が認められたのは6嚢腫壁のみであった。嚢腫摘出術前後における排卵誘発に対する卵巣の反応性はclomiphene、hMG-hCG両群において発育卵胞数、血中E2値、黄体中期progesterone値で有意差を認めないものの、各値とも術後のほうが高い傾向を示した。

(結論)子宮内膜症に対する外科的治療は術後癒着のみならず、卵巣に対する侵襲性から若年者や不妊症例に対する卵巣機能の障害が懸念されるが、今回の検討により腹腔鏡下嚢腫摘出術は卵巣への侵襲が非常に小さな術式であることが示唆された。

231

卵巣嚢腫に対する腹腔鏡を応用した摘出法 —術式のバリエーションと妊孕性について—

宝塚市立病院 産婦人科
○伊熊健一郎、子安保喜、山田幸生、林 輝美

〔目的〕腹腔鏡は、不妊症治療の一環として今や不可欠な手段となっている。我々が行っている良性的な嚢胞性卵巣嚢腫に対する腹腔鏡を応用した体外嚢腫摘出法施行例の中にも挙児希望や未婚症例が含まれている。また、強度にかつ広範囲に癒着を伴う症例などに対しては、本法だけでは対応には限界があり、現在では術式にバリエーションを持たし各症例毎の術式選択へと変遷している。今回、術後半年以上を経過した症例における挙児希望例での妊孕性の検討を行うと共に各種術式の内容についても報告する。

〔対象と方法〕対象症例数は108例で、良性卵巣嚢腫と判断して行った腹腔鏡下摘出:93例(体外法:88例、体内法:5例)、腹腔鏡下アルコール固定:3例、mini-laparotomy:12例(妊娠例:7例、巨大嚢腫や茎捻転の緊急手術例:5例)である。卵巣嚢腫の内訳は、単純嚢胞:49例(漿液性嚢胞、粘液性嚢胞等を含)、類皮嚢胞:33例、チョコレート嚢胞:26例である。なお、始めから開腹手術を行った41症例は対象外とした。

〔結果〕体外法を試みた88例のうち、手術成功例:76例(86%)、開腹移行例:13例(15%のうち2例に輸血;単純嚢胞:36例中4例、類皮嚢胞:29例中3例、チョコレート嚢胞:23例中6例)である。術後半年以上経過した挙児希望例は18例(20%)あり、うち7例(単純嚢胞:6例中1例、類皮嚢胞:6例中3例、チョコレート嚢胞:6例中3例)に妊娠成立をみた。体内法の5例での術後半年以上経過した挙児希望例はない。なお、全体で未婚は15例(17%)。アルコール固定法の3例中2例が挙児希望であったが、他院紹介のためその後の経過は不明である。mini-laparotomyを行った7例の妊娠例の流産はなく、残る5例は挙児希望例ではなかった。

〔結論〕体外法は妊孕性への障害はないが、本法以外の症例に応じた個別の術式対応も必要と考える。今後、腹腔鏡下手術は、未婚例も含め妊孕性への十分な配慮と共に検査の一環とした捕え方ではなく、新しい概念の手術法であることを認識し、簡便で安全かつ普遍性のある術式への開発を心掛けたい。

232

子宮奇形の内視鏡下治療法 —中隔子宮、弓状子宮、T字型子宮について—

川崎市立川崎病院
○林保良、平田さくら、小宮山慎一、西尾瑞香、小澤伸晃、木挽貞慈、宮本尚彦、関賢一、岩田嘉行

〔目的〕中隔子宮、弓状子宮、またはT字型子宮などの奇形は習慣流産の一つの原因として知られている。いままでもっぱら、開腹手術による子宮形成術の治療法が行われてきた。しかし、術中・術後の合併症や開腹に伴う疼痛は患者にとってかなり大きな侵襲である。術後、子宮壁の縫合部に起こりやすい骨盤内癒着は新たに不妊の原因にもなり得る。腹式子宮形成術を熟知していないと手術による子宮腔の変形や狭小化などを来すこともある。また幸いにして妊娠に至っても、分娩時には創部破裂への配慮から帝王切開に至ることがほとんどである。我々は、内視鏡を用いて、これらの奇形部分を切除し上記の不利益を避けたので報告する。

〔対象及び方法〕1985年から1994年4月まで計43例の中隔子宮、10例の弓状子宮、2例のT字型子宮を対象とした。月経終了直後の早期内膜増殖期を手術の理想時期とし、患者を手術の前日に入院させ、就寝前に子宮内にリミナリア桿を1本挿入し、頸管拡張を計る。麻酔は全身麻酔下で腹腔鏡を挿入し双角子宮ではないことを確認する。引き続き婦人用レセクトスコップを挿入し切斷ループを用いて中隔を切除する。手術の安全性を計るため腹腔鏡を利用し、手術を監視する。術後、麻酔効果の消失から歩行は可能であり、4日目の創部の抜糸後退院とした。

〔結果〕手術の平均時間は中隔子宮では37分、弓状子宮では21分、T字型子宮では23分であった。出血量はごく少量であった。術後、中隔子宮の18例妊娠、13例分娩、弓状子宮の2例妊娠1例分娩、T字型子宮の2例は共に妊娠し満期産にいたった。

〔結論〕子宮奇形の内視鏡治療法は出血が少なく、手術時間も短く、患者への侵襲が少ないので入院の日数を短縮できる。術後の腹腔内癒着や分娩時の創部破裂の危険も少なく流産率も改善されるので、第一選択されるべき治療法と考える。

宝塚市立病院 産婦人科

○伊熊健一郎、子安保喜、山田幸生、林 輝美

〔目的〕先天性腔欠損症患者に対する造腔術法としては、多種多様な方法が考案・工夫されて来ている。しかし、従来のいずれの方法においても手術術式の簡便性、手術自体の侵襲性、手術創の癒痕性、術後の腔管理や腔萎縮、腔の自然性、妊孕性などのあらゆる面において未だに課題点が残されている。我々は、Rokitansky-Küster-Hazer症候群の症例に、骨盤腹膜を利用した造腔術を腹腔鏡下手術として経験した。今回、その方法について報告すると共に開腹して行う従来のS状結腸を利用した方法と比較検討する。

〔方法〕骨盤腹膜を利用した造腔術は1例で、腹腔鏡下に(1)腔トンネル作成、骨盤腹膜の剥離と切開を行ない、外陰部側から(2)剥離切開をした骨盤腹膜と腔口部の縫合を行なった。作成した腔管に頸管拡張器(Hegar30号)を約9cm挿入した状態で再度気腹を行ない、(3)頸管拡張器を目安に骨盤腹膜縫合で腔底作成をして腔管形成を終了した。一方、S状結腸利用法は従来の開腹によるRuge法と秦法で行った。

〔成績〕腹腔鏡下骨盤腹膜利用造腔術は、手術時間は約90分、出血量は約100g。腹壁創はトロカールの腹腔鏡用10mm1本と操作鉗子用5mm2本の3ヶ所。翌日から歩行や経口摂取が可能で、自己腔洗浄とプロテーゼ挿入指導後、術後14日目で退院。S状結腸利用法では、手術時間は約180分、出血量は約200g。腹壁創は臍下約15cm、歩行は3日目、経口摂取は5日目開始で10日目に普通食、術後14日目で退院。

〔結論〕骨盤腹膜利用造腔術を腹腔鏡下手術として行った論文報告は見当たらない。この術式は比較的簡便であり従来の開腹方法と同じ手術操作が可能で、手術の侵襲性は極めて少なく、手術創は極めて小さく美容性といった手術の面からは優れた手術方法であると考ええる。しかし、腔の自然性といった面においては、骨盤腹膜利用法では、開腹時と同じ課題が残されている。これらを解決する究極的な方法としては、すでに管腔をもつS状結腸を利用する造腔術を腹腔鏡下に行うのも選択肢の一つと考える。

一 般 演 題
(示 說 発 表)

P-1

vitrification凍結法によるマウス胚染色体への影響

山形大学医学部産科婦人科学教室

○野原理、石田ガブリエラ、河内谷敏、斉藤隆和、斉藤英和、広井正彦

【目的】 vitrification法は従来の凍結法に比べ、費用の削減、時間の短縮になる反面、高濃度の凍結保護剤を用いるため、その細胞毒性によりヒト胚への応用例はきわめて少ない。今回我々はマウス胚発育段階の違いによるvitrification凍結法の効果、および染色体への影響を姉妹染色分体交換(SCE)を用いて調べた。

【方法】 凍結保護剤には、40% ethylen glycol、18% Ficoll、0.3M sucroseを含むPBS (EFS)、および40% ethylen glycol、18% Ficoll、0.3M trehaloseを含むPBS (EFT)を用いた。マウスを過排卵処理、交尾させたのち2、4、8細胞期胚、桑実胚を採取し、氷上にて冷やしたEFSおよびEFT中に2～20分平衡化させた。つぎに、凍結用ストローに胚をEFSおよびEFTと共に注入し、液体窒素に投入、30分～2時間保存した。解凍は20℃にて行い、sucroseおよびtrehaloseを含むPBSを用い凍結保護剤を4段階に希釈除去し、HTFにて培養した。凍結操作を行わない2、4、8細胞期胚、桑実胚を対照とした。

【成績】 胚盤胞形成率は、EFS凍結群、EFT凍結群とも平衡時間5分間の8細胞期胚がそれぞれ、91.0%、88.8%と有意に高かった($p<0.01$)。また、対照群とEFS凍結群、EFT凍結群とを比較すると8細胞期胚では有意差を認めなかったが、他のステージでは対照群が有意に高かった($p<0.01$)。次に、胚盤胞形成率において対照群と差のない平衡時間5分間の8細胞期胚においてSCEを調べたが、EFS群 15.2 ± 0.4 (/one blastomere)、EFT群 16.3 ± 0.6 、対照群 16.2 ± 0.6 となり、各群に有意差を認めなかった。

【結論】 EFSおよびEFTを用いたvitrification凍結法は、平衡時間5分間の8細胞期胚が最も適しており、DNAレベルでのダメージも少ないと考えられた。また、未授精卵、初期胚および8細胞をこえる胚では、より厳密な条件が必要になってくると考えられた。

P-2

規則性排卵性月経を示す婦人における尿中テストステロン測定について

大和市立病院、*北里大学病院

○釧持 稔、*川内博人、*飯野譲二、*石井尊雄、*中居光生

卵巢機能異常にはアンドロゲン過剰産生が大きな役割を演じていると思われる。その回復には潜在的過剰アンドロゲンの存在の有無、産生源およびその程度を知って治療方式の選択にあたって、これを至適なものにしなければいけない。当家族計画外来では、主に月経周期異常患者の卵胞期に24時間蓄尿した尿中17-OHCS、17-KS-2F、テストステロン(以下T)値を測定することでアンドロゲン過剰産生の有無を診断している。今回は、3つの基準：(1)基礎体温表が二相性を示す。(2)月経周期が25～35日型、(3)腫大した卵巢を触知しないを満足した規則性排卵性月経を示した110例を対象として、尿中T値を測定し、臨床有用性を再評価する。デキサメサゾンのアンドロゲン抑制効果は病態診断および治療に有効かについてretrospectiveに検討した。対象の年齢は、23～41歳、平均31歳。これまでの当院の尿中T値の正常範囲は、2～10 $\mu\text{g}/24\text{hr}$ で測定結果がこの範囲内にあったのは、110例中41例(37%)のみで、110例全体の平均は $19.6 \pm 16.3 \mu\text{g}/24\text{hr}$ であった。さらに尿中Tスクリーニング値が正常上限を越えた場合、アンドロゲン過剰産生部位の臓器診断の為にデキサメサゾン抑制試験を行っている。尿中T値mean+SD ($19.6 + 16.3 = 35.9$)以下の64例の(前値-後値)/前値 $\times 100$ (%)の平均減少率は62%であった。即ち、62%以上の減少率を示した場合は、副腎性アンドロゲン過剰産生性(以下副腎性)となる。尿中T値10～19.6 $\mu\text{g}/24\text{hr}$ の副腎性は、28例中13例(46.4%)、19.6～ $\mu\text{g}/24\text{hr}$ は、40例中27例(67.5%)を占めた。副腎性と診断した例にはデキサメサゾン投与とし、その治療効果は19.6 $\mu\text{g}/24\text{hr}$ 以下の症例に比較して19.6 $\mu\text{g}/24\text{hr}$ 以上に良好の結果を得た。以上により、臨床尿中T値の正常上限を20 $\mu\text{g}/24\text{hr}$ とし、20 $\mu\text{g}/24\text{hr}$ を越える場合をアンドロゲン過剰産生有りとして、対処すべきと思われた。

P-3

採卵時の卵胞液中各種steroid濃度比と卵胞径及び
embryo qualityとの関係

昭和大学医学部産科婦人科学教室

○岩崎 信爾 田原 隆三 鈴木 真 小田 力
佐藤 美幸 齋藤 裕 矢内原 巧

目的: 過排卵刺激により排卵誘発をした際、卵胞の発育に差異を生じるが、卵胞内のSteroidogenesisが卵胞サイズにより異なるかについては不明である。今回IVF-ET及びGIFT症例において採卵時に卵胞径を測定した後に卵胞液を採取し、卵胞液中各種steroid(St.)hormone濃度比を求め、卵胞内におけるSt.genesisと卵胞のサイズ及びembryo qualityとの関係について検討した。対象: 当院不妊外来において卵管性不妊患者3例及び機能性不妊患者1例を対象とし、前者にIVF-ET療法を、後者にはGIFT療法を施行し、採卵時に卵胞液68検体を及び卵巣36検体を採取した。方法: GnRH analogueをlong protopcolにて使用した後にFSH-hCGにて卵巣刺激を行い、採卵時に卵胞液を採取した。卵胞液中のpregnenolone (P5), progesterone (P), 17-hydroxyprogesterone (17P), Androstenedione (A), Testosterone (T), estrone (E1), estradiol (E2)をRIA法にて測定した。卵胞液中各種St.濃度と卵胞径、採卵時の卵成熟度及びembryo qualityとの間に有意な相関や差は認められなかったため、各種St.代謝酵素に介在するhormon濃度より代謝物濃度/基質濃度比を求め代謝酵素活性として卵胞径、採卵時卵成熟度及びembryo qualityとの関係を検討した。成績: 1) St.濃度比と卵胞径との関係においてはE2/Tと卵胞径との間には有意な正の相関($r=0.261$ $P<0.05$)を認め、17P/Pにおいては有意の負の相関($r=-0.281$ $P<0.05$)を認めた。2) 各種St.濃度比と採卵時の卵の成熟度との間には差は認めず、embryo qualityとの関係においても、差は認められなかった。考察: E2/Tと卵胞径との間に有意な正の相関を認めたことより卵胞径の増大に伴いaromatase活性が亢進している可能性が考えられ、17P/Pとの卵胞径との間に有意の負の相関が認められ、17 α -hydroxylaseの活性の低下が考えられた。以上より、卵胞径の違いにより卵胞内のSt.genesisが変化している事が考えられるが、卵の成熟度、embryo qualityに関しては関与しないことが示唆された。

P-4

排卵性不妊に対するhMG-hCG療法に関する検討

群馬大学

○安藤一道, 長竹弘子, 川上裕子, 延命みゆき, 山田清彦,
水沼英樹, 伊吹令人

【目的】機能性不妊など排卵性不妊症に対してhMG-hCG療法の有用性が示唆されているが、本治療におけるhMG投与法につき検討した。

【対象及び方法】対象は当科不妊外来を受診した不妊婦人のうち自然排卵周期を有し、スクリーニング検査(TRH test, Rubin test, 子宮卵管造影, Huhner test, 黄体機能検査, 精液検査)及び腹腔鏡を実施した6例である。不妊原因の内訳は機能性不妊3例, 子宮内膜症(R-AFS2点)1例, 子宮内膜症(R-AFR4点)1例, 乏精子症(1500万/㎖)1例及び片側卵管通過不全(卵管通水圧600mmHg)1例である。月経周期2-5日目よりhMGまたはフェルティノーム P150-225単位/日を投与し、頸管粘液と超音波断層法により卵胞成熟をモニターし、最大主席卵胞径が18-20mmに達した時点でhCG(プレグニール)5,000-10,000単位を投与した。

【結果】6例14周期にhMG-hCG療法を施行した。hMG投与法はhMG 150単位/日を連日投与する方法(F法)4周期, 225単位/日に増量する方法(U法)2周期, 75単位/日に減量または休薬する方法(D法)4周期及びフェルティノーム Pを225単位/日から75単位/日に減量する方法(S法)4周期である。hCG切り替え日の14mm以上の卵胞数は1-8個(平均4.1個), 18mm以上の成熟卵胞数は1-4個(平均2.1個)で症例及び投与法により大きく異なっていた。黄体期中期の最大卵巣径が80mmを越えた症例は超音波学的に多嚢胞性卵巣を有した2症例で、その時のhMG投与法はF法およびD法であった。次周期S法を施行した症例で妊娠成立(単胎)した。一方、機能性不妊3例中1例では発育卵胞数が少ないためF法からU法に換えたが卵胞数の増加は認められなかった。

【結論】超音波学的に多嚢胞性卵巣を呈する排卵性不妊症にhMG-hCG療法を施行する場合にはpure FSH製剤によるS法が有用であること、及び機能性不妊の中にhMGに対する卵巣の反応性の低下した症例が存在することが示唆された。

P-5

FSH療法及びGnRH律動投与法を用いた排卵誘発法の検討

徳島大学産科婦人科、小松島赤十字病院産婦人科*

○桑原章、松崎利也*、宮本誠一郎、上村浩一、梶博之、米田直人、
斎藤誠一郎、安井敏之、漆川敬治、東敬次郎、苅原稔、青野敏博

〔目的〕無排卵症患者に対してFSH療法とGnRH律動投与法を組み合わせた排卵誘発法を用い、多発排卵が回避できるかどうかを検討すると共に、その結果を視床下部性無排卵症とPCOSについて比較検討した。〔方法〕視床下部性無排卵症患者(HA群)14例、PCOS患者(PCO群)12例を対象にして、月経周期5日目よりFSH製剤(フェルチノームP150IU)の連日投与を開始し、最大卵胞の平均径が11mmになった時点でGnRH律動投与法(ヒポクライン、20mg/120min,sc)に変更した周期(FSH-GnRH周期)と、対照としてFSHによる治療を続行した周期(FSH単独周期)について、成熟卵胞数、FSH値及び臨床成績を比較した。

〔結果〕成熟卵胞数はHA群で 1.3 ± 0.1 個 vs. 3.6 ± 0.4 個 (FSH-GnRH周期 vs. FSH単独周期: mean $\pm$ SE)、PCO群で 1.8 ± 0.3 個 vs. 4.2 ± 0.4 個 といずれもFSH-GnRH周期で有意に少なかった。FSH単独周期ではFSH濃度が10mIU/ml以上の比較的高値を維持したが、FSH-GnRH周期では卵胞期後期には5.0mIU/ml前後とHA群、PCO群共に有意に減少した。FSH-GnRH周期における排卵率はHA群で87.5%、PCO群で80.0%あり、妊娠率はHA群で42.8%、PCO群で33.3%で、10例はすべて単胎であった。HA群では75%の周期で単一排卵し、OHSSも合併せず各症例で良好な成績が得られたが、PCO群では低反応例が認められたため排卵率がHA群に比較して低い一方、単一排卵周期は半数以下に止まり、症例によってはOHSSの合併も軽症ながら認められた。

〔結論〕FSH投与法にGnRH律動投与法を組み合わせることで、多発排卵が高率に回避され、より自然周期に近い卵胞発育が可能であった。排卵前期の血清FSH値を有意に低く維持することで、少ないFSH刺激に反応しうる主席卵胞のみが発育、排卵したと考えられた。しかしPCOS患者では卵巣の反応性に個体差が大きく、排卵に至らない周期や、多発排卵、OHSSを合併した症例が認められた。

P-6

尿中LH簡易測定キット「シュア・ステップLH」と「ゴールドサインLH」の臨床的比較検討

山形県立河北病院産婦人科、山形大学産科婦人科*

○小田隆晴、松田秀雄、関和彦、田中栄一、大野勉、広井正彦*

不妊症治療において、排卵日の予知にLHサージを把握することが重要であり、各種の尿中LH測定キットが普及しその有用性が検討されている。今回われわれはシュア・ステップLH(以下SS-LH)を用い、排卵周辺のLHサージ検出に対して既存のゴールドサインLH(以下G-LH)との比較検討をおこなった。〔対象と方法〕対象は不妊症婦人27名、32周期で、卵胞径が12mmを超えた時点より、外来受診時の随時尿でSS-LH、G-LHの検出をおこない比較検討した。SS-LHはポリクロナル抗体とモノクロナル抗体の両方を用いたSandwich immunoassay法によるone step測定法、その検出感度は20IU/mlであり、明確なカラーバンドの出現で3分以内に判定可能であった。〔成績〕72検体のうち5検体がSS-LH、G-LHの結果が不一致となった。超音波所見やLHサージから見ると、この不一致例はすべてG-LHのfalse positive例であった。またSS-LHは32周期のうち31周期でLHサージを確認でき、G-LHは30周期でLH陽性となった。SS-LHとG-LHの両方の陽性が確認されれば、48時間以内に90.2%が排卵に至った。〔結論〕尿中LHの簡易検出キットは種々のものが発売されているが、一般の不妊外来では簡便性、迅速性及び信頼性のあるキットが必要である。SS-LHは短時間で微量LHを判定でき、操作もone stepで極めて簡便で、今後外来での不妊症婦人の管理、ことに人工受精施行日の決定や性交日指導に有用であると思われる。

P-7

原因不明不妊に対するpure FSH隔日投与による過排卵刺激と人工授精の有効性についての検討

徳島大学産科婦人科

○梶 博之, 宮本誠一郎, 上村浩一, 米田直人, 桑原 章

斉藤誠一郎, 漆川敬治, 安井敏之, 東敬次郎, 苛原 稔, 青野敏博

【目的】原因不明不妊に対して人工授精を行う際に、pure FSH隔日投与法を用いた過排卵刺激が妊娠率の向上に有用か否かを検討した。【方法】ルーチン検査で明らかな原因を特定できない原因不明不妊患者に対して説明を行い、同意の得られた症例を、pure FSH投与群(F群)と対照群(C群)に分けた。F群(32例・94周期)には、周期5日目よりpure FSH(フェルティノームP)150IUを隔日に筋注した。超音波による卵胞計測、頸管粘液検査を行い、人工授精のタイミングを決定した。人工授精の前日と当日に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(17例・51周期)にはpure FSHの投与を行わなかったが、その他の処置(hCG筋注、人工授精、黄体機能賦活など)は同様に行った。【成績】症例別の妊娠率はF群28%(9/32)、C群0%(0/17)で周期別の妊娠率はF群9.6%(9/94)、C群0%(0/51)であった。妊娠症例はいずれも単胎妊娠で、軽度のOHSSの発症を1例のみに認めた。AIHをできなかった周期はC群で25.5%(13/51)であったのに対し、F群では8.5%(8/94)と低率であった。人工授精を行った日は、F群では周期14日目を中心に集中していたが、C群では集中度が低く、また、卵胞計測時にすでに基礎体温が上昇し排卵後であった症例が、キャンセルを余儀なくされた周期の約半数を占めていた。成熟卵胞数はF群が 1.7 ± 0.1 個とC群 1.0 ± 0.1 個より多く($p < 0.001$)、排卵前期の血中エストラジオール値はF群 732 ± 87 pg/ml、C群 261 ± 31 pg/ml($p < 0.001$)、黄体期中期血中プロゲステロン値はF群 28.7 ± 7.3 ng/ml、C群 10.8 ± 2.5 ng/ml($p = 0.08$)であった。

【結論】原因不明不妊に対して人工授精を施行する場合に予めpure FSHを隔日投与し過排卵刺激すること、妊娠率の向上に寄与することが明らかになった。

P-8

Swim-up法にて分離した運動良好精子の分子細胞遺伝学的検討

広島大学医学部産婦人科

○呼 和, 三春範夫, 佐村 修, 大濱紘三

【目的】Swim-up法は運動良好精子を分離する方法として広く利用されているが、本法によって分離される精子の細胞遺伝学的な検討は透明帯除去ハムスター卵を用いた数例の報告しかない。そこで、Swim-up法によって運動良好精子を分離し、Fluorescence in situ hybridization (FISH)法を用いて数例の染色体異常の頻度を分析した。【方法】4人の健康男性から精液を採取し、そのパラメーター(精子濃度、運動率、精液量)を検査した後、m-BWW (modified Biggers, Whitten and Whittingham)液で洗浄した。その後、1時間Swim-upし、上層の運動良好精子(A群)と下層の精子(B群)を分離回収し、両群の精子および原精液について運動率を検査した。両群の精子をスライドガラス上に固定しdithiothreitolで前処理してFISH法に供した。FISH法はOncor社のD17Z1、D18Z1の2種類のDNAプローブを用いたdual color法で行い、蛍光顕微鏡下に各々最低6000個の精子核について二人の検者による二重盲検でスポット数を算定した。【結果】いずれの例も原精液パラメーターはWHOの基準を満たす正常値で、A群精子はB群精子より良好な運動率を示した。FISH法では、総数48582個の精子のうち48512個(99.9%)で判定可能なスポットが得られた。その結果、17番、18番のdisomy精子の頻度はA群では平均0.11%(0.08-0.12%)、0.08%(0.05-0.15%)、B群では平均0.12%(0.08-0.15%)、0.10%(0.07-0.17%)で両群間に全く差異を認めず、一方diploid精子の頻度は、各々0.11%(0.06-0.18%)、0.21%(0.12-0.40%)でA群で低い傾向が見られた。【結論】FISH法は多数の精子についての数例の染色体異常の検討に有用であることが確認された。Swim-up法は運動良好精子の分離には有効でdiploid精子の分離にも多少関与しているが、しかしdisomy精子の分離には直結しないことが示唆された。

P-9

市販Sperm Washing Mediumを用いた簡便なPercoll-AIH法

東京慈恵会医科大学産婦人科

○新家秀, 遠藤尚江, 小田原靖, 松本和紀, 楠原浩二, 寺島芳輝

【目的】Percoll攪拌密度勾配法はAIHにおける良好精子回収法として広く用いられているが、従来の調整法では煩雑な操作が必要である。今回我々はAIH手技の簡便化を目的としてヒト血清アルブミンを含有した市販Sperm Washing Mediumを用いた簡便なPercoll調整法を用いたAIHを試み、その成績について検討した。【対象および方法】(1)Percoll調整法-10x HTF (Irvine Scientific, ナカ・メディカル) 5ml+Percoll原液 (Sigma) 45mlにて等張化Percollを作成。等張化Percoll 48ml + Sperm Washing Medium (Irvine Scientific) 12mlにて80%Percollを調整、0.22μlフィルターにて濾過後AIHに共した。(2)対象および卵巣刺激法-過去6カ月間に当科でAIHを施行した110例290周期を対象とした。患者はclomid, clomid+HMG, HMG+HCGのいずれかにより卵巣刺激を行い、主席卵胞計が20mmに達した時点でHCG投与、翌日AIHを施行した。(3)AIH法-AIHは兼子らによる攪拌密度勾配法を用いて施行し、精子調整前後の精子パラメーターについて検討した。【結果】原精液に比較してPercoll処理後の精子運動率は有意に上昇した(52.1% vs 83.7%, $P<0.001$)。精子濃度および総運動精子数に差はなかった。妊娠率是对周期5.2%, 对患者13.6%であり、排卵刺激法により妊娠率に差を認めなかった。妊娠例における最低注入運動精子数は450万であった。AIH施行回数1回から4回までの対周期妊娠率に差は無く5回目以降の妊娠率は有意に低下した。妊娠例のうち87%が4回までに妊娠に至った。【結論】本法はAIHにおける精子調整法として簡便かつ有用であると考えられた。一方で本法の適応について施行回数、精液所見から更に検討が必要と思われる。

P-10

Falloscopic tuboplasty (FT)システムによる卵管内腔の病態診断と
子宮卵管造影読影の再考察

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

○末岡 浩、浅田弘法、橋場剛士、久慈直昭、宮崎豊彦、
小林俊文、野澤志朗

円筒状のバルーンカテーテル内に0.5mmの径のファイバースコープを内蔵したフレキシブルな卵管鏡下卵管形成システムが開発され、卵管内腔の全域に亘る観察が可能となった。このシステムを用いて卵管内を形成しながら前進することで、これまで子宮卵管造影によってしか解読できなかった卵管内環境を治療・観察し、卵管像の読影を再検討することを目的とした。子宮卵管造影検査および通気ないしは通水検査などにより卵管閉塞と診断された不妊患者(20名・40卵管)を対象とし、卵管形成を兼ねて卵管内腔の観察を行った。卵管閉塞部位のVascularity、内腔所見、灌流に対する卵管内腔ひだの波動様の動きなどを検討し、造影所見における病的部位の検討を行った。結果は卵管の正常内腔では血行が保たれ、内膜が灌流によって弾力性のある波動様の動きを呈するのに対し、閉塞部位は癒着による狭窄ないし閉塞所見、血管の退縮とそれによる蒼白な色調を示す萎縮像、癒痕状に器質化した硬化卵管内膜像を呈し、灌流時の動きも硬化した尖形の剝離断片が前後方向に敏速に揺れる所見を観察した。また子宮卵管造影で通過性が認められても、特に造影剤の断裂や狭細像を呈した部分に一致して卵管内腔の癒着を認め、卵管内が広範に障害されている例を認めた。子宮卵管造影では完全閉塞の部位より遠位側の卵管の状態を診断することは不可能であるが、卵管鏡下の検討では多発性に内腔の癒着などの病態を呈することが多く、閉塞・狭窄などをはじめとする病的所見を呈した場合には、卵管環境を知る上でも卵管鏡施行の意義はきわめて高いことが示唆された。また卵管における炎症疾患の既往は症状の有無にかかわらず、内腔ひだの運動性など不可逆性変化に達していることがあり、不妊治療の方針決定に際して内腔の観察結果は重要な因子になりうることを示した。卵管全域を観察しうる卵管鏡は正確な子宮卵管造影の読影に重要な情報をもたらした。

P-11

クラミジア頸管炎に対する薬剤1週間投与法の有効性

虎の門病院産婦人科

○高橋敬一 東梅久子 山田義治 佐藤孝道

【目的】クラミジアトラコマチス（CT）感染に対する治療法として、CTのライフサイクルを考慮して、従来はテトラサイクリン、マクロライド、ニューキノロンなどの2週間投与が一般におこなわれてきた。当院でもCT頸管炎患者に対し当初2週間投与をおこなっていたが、投与開始1週間後におこなった抗原検査ですでに抗原は陰性となっており、薬剤投与は1週間で充分ではないかと考えていた。また1993年度のアメリカCDCの勧告でも、1週間投与が標準的な期間の1つとされている。今回、当院でのCT頸管炎患者に対し薬剤の1週間投与をおこない、その有効性を検討したので報告する。

【対象と方法】1992年6月より1994年5月までの2年間に虎の門病院産婦人科を受診し、子宮頸管部のクラミジア抗原が陽性であった患者に対し、薬剤の1週間投与をおこない、治療効果を確認できた32症例を対象とした。これらの症例は抗原が陽性であった時点から1ヶ月以内に薬剤投与を開始し、投与終了後1ヶ月以内に治療効果判定をおこなった症例である。クラミジア抗原の検査法としては、イデアクラミジアを使用した。【結果】①ニューキノロン剤のトスフロキサシンを使用した29例について、治療後すべてクラミジア抗原は陰性化した。②マクロライドを投与したのは2症例であったが、2例とも抗原は陰性化した。③テトラサイクリンを使用したのは1例であったが、やはり抗原は陰性化した。【結論と考察】今回はクラミジア頸管炎患者を対象としており、骨盤腹膜炎にまで進行した重症例は含んでいないものの、従来クラミジア頸管炎の治療期間は2週間が一般的であったが、1週間の投与で充分であることが示唆された。また1ヶ月以内の観察においては、再発の可能性は少ないと考えられた。したがって使用薬剤を選択すれば、クラミジア頸管炎患者に対しては今後は1週間投与を推奨すべきと考えられた。

P-12

精索静脈瘤と先体反応の検討

千葉大学泌尿器科

始関吉生 中村剛 市川智彦 島崎淳

【目的】精索静脈瘤と先体反応の関係について検討した。

【対象および方法】千葉大学泌尿器科不妊外来で、精索静脈瘤の手術前、手術後の精液と正常群（Fertile Male）として挙児を確認されている45歳以下の精液および不妊を主訴としているが挙児を確認されている患者の精液を用いた。先体反応は、Talbotらによって報告されたTriple Stain法で観察した。精液所見は、自動精子分析装置で解析した。mBWW液で精子を洗浄して、3%ヒト血清アルブミンを加え、37℃5%CO₂で、約15時間培養した後、トリパンブルー液、ビスマルクブラウン液とローズベンガル液で先体反応の有無を染色し、1000倍油レンズ下で1検体あたり、300個以上の精子について観察した。

【結果】精索静脈瘤手術にて、精子数、運動率と精子速度は改善していたが、正常群（Fertile Male）が最も良好な精液所見であった。正常群（Fertile Male）の死滅精子と生存精子の全精子に対する先体反応陽性率は、平均65%であり、精索静脈瘤手術前（平均52%）および手術後（57%）の陽性率より高かった。精索静脈瘤手術前後で約5%の先体反応陽性率の上昇をみたが、正常群（Fertile Male）と比較すると有位差を認め、十分な手術効果は得られていなかった。

【結論】精索静脈瘤手術で先体反応は改善するが、Fertile Maleまでは改善していなかった。

P-13

TRIPLE STAIN法の臨床的検討

千葉大学泌尿器科

中村剛 市川智彦 始関吉生 島崎淳

〔目的〕精子の先体反応と精液所見との関係を検討したので報告する。

〔対象および方法〕千葉大学泌尿器科を受診した男子不妊症の精液197検体および正常群(Fertile Male)として挙児を確認されている45歳以下の精液19検体を用いた。精液所見は、自動精子分析装置(Cell Soft 3000)で解析した。精子の先体反応は、Triple Stain法で観察した。原精液を自動精子分析装置で解析した後、mBWW液で精子を洗浄して、3%ヒト血清アルブミンを加え、37℃5%CO₂で、約15時間培養した。トリパンブルー液で死滅精子を黒染し、ビスマルクブラウン液で生存精子を染色後、ローズベンガル液で先体反応の有無を染色した。

〔結果〕精子数、運動率と精子速度は、先体反応と相関した。精子数を2000万未満、2000万から5000万、5000万以上に分けて正常群(Fertile Male)と比較すると、不妊症の精子間では先体反応に有位差は認めず、正常群(Fertile Male)とのみ有位差を認めた。精子数のみが正常でも、必ずしもFertile Maleではないと考えた。一方、運動率50%で不妊症の精液を分けて比較すると、正常群(Fertile Male)、50%以上の群、50%未満の群の順で、先体反応率はよかった。さらに、不妊症の精液を2000万未満かつ運動率50%未満の異常精液所見群と、5000万以上かつ50%以上の正常精液所見群にわけ、正常群(Fertile Male)と比較すると、これらの群の順で先体反応を起こす割合が高かった。

〔結論〕Triple Stain法による先体反応は、一般精液所見が正常でも先体反応の低下している精液が存在していることが示唆された。

P-14

抗PCNAモノクローナル抗体を用いたヒト造精機能評価への試み

山口大学医学部泌尿器科学教室

○井本勝彦、瀧原博史、白瀧 敬、鎌田清治、馬場良和、
内藤克輔

ヒト造精機能の評価は、従来より主として病理組織学的に行われてきたが、当科では造精機能の客観的評価法としてflow cytometryによるDNA量解析を行ってきた。また、抗BrdUモノクローナル抗体を用いたラットの精子形成過程におけるDNA合成能の評価と、その有用性を報告した(第38回日本不妊学会学術講演会)。しかし、flow cytometry法では、標本組織中の1c、2c、4cの細胞の比率を出すため、第一次精母細胞から精子細胞までの造精機能を主として評価し、組織構築や細胞の絶対数については評価できない。一方、個々の細胞のDNA合成能を評価するBrdU法は、in vivoで施行しなければならず、薬剤の前投与等を要するため、臨床応用には限界がある。我々はすでにラットに抗PCNAモノクローナル抗体を用いてDNA合成能を評価し(PCNA法)、BrdU法と比較検討し造精機能の指標として有用であることを報告した(日本アンドロロジー学会 第13回学術大会)。今回、PCNA法によりヒト精巣におけるDNA合成能の定量的評価を行い、PCNA法のヒト造精機能の評価への応用の可能性を検討した。対象は、1992年9月から1994年6月までに当科において精巣生検を行った閉塞性無精子症患者15例、精索静脈瘤患者15例、その他7例であった。方法は、固定液はBouin液にて行い、型通りパラフィン切片を作製した。免疫組織化学染色は抗PCNAモノクローナル抗体を一次抗体としてABC法を用い、PAS染色を併用した。各切片において、水平断さればほぼ円形に保たれた精細管を選び、個々の精細管において精上皮に接する全精祖細胞数と染色された細胞数との比を求め比較検討した。本検討においてPCNA法のヒト造精機能の評価への応用上の利点欠点等をふまえその可能性を報告する予定である。

P-15

³¹P-Magnetic Resonance Spectroscopy によるラットにおける実験的
停留精巣の評価

山形大学医学部泌尿器科

○笹川五十次, 沢村俊宏, 都丸政彦, 安達裕一, 石郷岡学, 中田英浩

【目的】³¹P-magnetic resonance spectroscopy (MRS) は生体内の主要なエネルギー物質である ATP などのリン酸化合物やその代謝産物を非侵襲性に測定することが可能であり、生体組織の組成やエネルギー代謝の研究に広く用いられている。われわれはラットに実験的に停留精巣を作製し、in vivo でのMR スペクトルの変化について検討した。

【対象と方法】雄性 Sprague-Dawley ラット (300~350g) を用い、両側精巣を腹腔内に固定した。術後 1 週および 2 週において静磁場強度 4.7 T の実験動物用 MR 装置 (BEN 170/200: 大塚電子) を用いて MR スペクトルを繰り返し、時間 1 秒で 500 回の free induction decay を平均して得、phosphomonoesters (PM)/ATP 比、phosphodiester (PD)/ATP 比、inorganic phosphate (Pi)/ATP 比を求めた。MR スペクトル検出後、精巣を摘出し Bouin 液にて固定後、パラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色をした。対照群として sham operation を施行したラットを用いた。

【結果】PM/ATP 比および PD/ATP 比は対照群において停留精巣群よりも有意に高値を示し ($p < 0.05$)。停留精巣群では 2 週の方が 1 週よりも有意に低値を示した ($P < 0.05$)。Pi/ATP 比は停留精巣群において対照群よりも有意に高値を示し ($P < 0.05$)、停留精巣群では 2 週の方が 1 週よりも有意に高値を示した ($P < 0.05$)。精巣組織像は、停留精巣作製 1 週では spermatid と spermatocyte の消失を認め、2 週では精細管は spermatogonia と Sertoli 細胞のみより成り、精細管口径の狭小化を認めた。

【結論】in vivo ³¹P-MRS は造精機能の指標となり得ることが示唆された。

P-16

hCG-hMG療法により 2 度の妊娠に成功した、hypogonadotropic
hypogonadism の一例

聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室

○田中宏樹、岩本晃明、星野孝夫、矢島通孝、原口千春、馬場克幸、

河野正二郎、皆川信彦、長田尚夫

患者は 35 歳、主訴は 2 年間の原発性不妊。思春期は正常に発来。身長 167cm、指長 164cm、体型正常、恥毛 Tanner 分類 4 度、嗅覚異常はなかった。精巣容積は左 14ml、右 16ml で、陰茎、前立腺はやや小さかった。検査所見：精液検査は精液が出ないため行えなかった。内分泌検査：LH 0.5 mIU/ml、FSH 0.5 mIU/ml、Testosterone 0.8ng/ml。LH-RH 試験：低反応。hCG 試験：負荷前 Testosterone 0.5、後 2.9ng/ml と軽度反応。染色体は 46XY で、CT で下垂体に異常なし。以上より、hypogonadotropic hypogonadism と診断した。hCG-hMG 治療は、hCG 3000u 週 1 回、hMG 150u 週 2 回で行なった。2 ヶ月目 LH、FSH、Testosterone は正常化し、精液も少しずつ出るようになった。3 ヶ月目に精子の出現をみ、6 ヶ月目に精子濃度 5×10^6 /ml、運動率 23% の頃妊娠に至り、最高 70×10^6 /ml、運動率 61% まで回復した。妊娠の継続が安定したところで治療を終了し、3000g の健康な女児が誕生した。その後第 2 子を希望され来院した。前回治療終了後 4 ヶ月目で精液は出なくなったとのこと、5 ヶ月目の内分泌検査は LH 1.0 mIU/ml、FSH 0.6 mIU/ml、Testosterone 0.1 ng/ml であった。hCG-hMG 治療を再開し、1 ヶ月目に精子の出現をみ、4 ヶ月目に LH、FSH、Testosterone は正常化し、12 ヶ月目に精子濃度 67×10^6 /ml、運動率 53% で妊娠に至り、本年 8 月出産予定である。2 度の hCG-hMG 治療による精液所見の改善を比較してみたが、特に差を認めなかった。本症例は、思春期後に原因不明の hypogonadotropic hypogonadism を来したものと思われるが、hCG-hMG 治療が著効し、2 度の妊娠に至った希な症例であり、若干の文献的考察を加え報告する。

P-17

ヒト精液の蛍光スペクトル測定

金沢大学医学部泌尿器科学教室
○天野俊康、國見一人、大川光央

【目的】正常ヒト精液からの蛍光スペクトルを測定し、その性質を分光学的に血漿と比較検討する。
【対象と方法】健康ボランティアより3～5日間の禁欲期間後精液を採取し、30分間室温にて放置し液状化させた。一般精液検査後、A. 精液、B. 3,000rpm x 10分間遠心してえられた精漿、C. PBSにて3回洗浄してえられた精子の3成分をPBSにて20倍希釈して、分光蛍光光度計（850型、Fluorescence Spectrophotometer、日立）にて測定した。さらに血漿に関しても同様に測定を行った。ExcitationはXeライト488nmにて行い、500～700nmのEmissionを記録した。【結果】488nmで励起した正常精液から、622nmにてピークを有する蛍光スペクトルが得られた。精漿からも精液と同様のパターンを示す曲線が得られ、622nmでのピーク値は精液の0.8～1.4倍であった。PBS洗浄後の精子成分からも622nmにピークを有する曲線が得られたが、蛍光強度は精漿の0.07～0.25倍と微弱であった。また、1年間-20℃にて保存された精液からの測定でもほぼ同様の蛍光スペクトルおよびピークが観察された。一方、血漿からの蛍光スペクトルは、520および622nmにピークを有する二峰性を示し、622nmでの蛍光強度は520nmでの強度よりやや弱く、精子成分の強度とほぼ同程度であった。【考察】ヒト精液は488nmにより励起すると622nmにピークを有する蛍光スペクトルが得られるが、それは主に精漿由来であり、比較的安定した成分から生ずるものと推察された。さらに520および622nmでの蛍光強度を比較することにより血漿との鑑別が可能であると考えられた。今後不妊症患者の精液を測定し、正常精液と比較検討する予定である。

P-18

人精漿成分の分析としてキャピラリー電気泳動法の応用

日本大学泌尿器¹⁾、同共同研²⁾、同法医学³⁾
○遠藤真琴¹⁾、林 志隆¹⁾、佐藤安男¹⁾、石田 肇¹⁾、岡田清己¹⁾、
嶋村政男²⁾、鉄 堅³⁾、塚本昭次郎³⁾、押田茂實³⁾

【目的】キャピラリー電気泳動法は微量のサンプルで、短時間、および高精度の分離が可能である。われわれはこれまでにこの方法によると正常精漿は他の体液と異なる特有のエレクトロフェログラムを呈することを示した。今回、正常精液と不妊症精液の精漿との間でエレクトロフェログラムを比較し、さらに標準物質を用いて検出されたピークの同定を試みた。【対象と方法】正常精液24例、乏精子症17例、無精子症4例、精子無力症29例。採取した精液は-4℃、12,000rpm、12分間遠心分離し、-80℃で保存。電気泳動装置はQuantaTM4000(Waters, USA)を使用。カラムはWaters社の75μm, ID×100cm (AccuSep)を使用し、泳動バッファはpH4.5の100mMリン酸バッファにカラム吸着阻止剤を添加して用いた。試料導入は重力インジェクション法で行った。電気泳動は90分間、電流85μA、25℃の条件で行った。検出には波長214nmのUV検出器を使用した。【結果】正常精液の精漿のエレクトロフェログラムにおいては20分から70分の間に20から25のピークが検出され、33分と56分に2つのメインのピーク群が検出された。不妊症精液の精漿はほぼ同様のエレクトロフェログラムを呈したが、無精子症1例は56分のピーク群が低下しているエレクトロフェログラムを呈した。標準物質を用いて検討したところアルブミンは30分に、トランスフェリンは40分にピークを認め、これらの物質は前半のピーク群を構成していた。【考察】不妊症精液のなかには正常と異なるエレクトロフェログラムを呈するものがある可能性が示唆され、今後、物質の同定をさらに正確なものにしていくことにより、本法は有用な精漿分析手段になると考える。

P-19

Semen analysisにおける測定回数の検討

札幌医科大学泌尿器科

○高木誠次, 伊藤直樹, 新田俊一, 赤樫圭吾, 木村 慎, 三熊直人,
丸田 浩, 熊本悦明

(目的) 男子不妊症の診断および治療効果判定には精液の正確な分析が要求される。現在 Makler counting chamber が臨床上広く用いられているが、測定に関し測定者間や測定回数によりある程度のばらつきが生じる事が示されている (Cooper et al., Fertil. Steril., 1992)。当教室ではより信頼性の高い分析を目的に 1992 年以降、同一検体に対し 3 回の精液測定を行ってきた。今回その結果につき報告する。

(対象と方法) 1992 年 1 月より 1994 年 4 月まで札幌医科大学泌尿器科不妊外来にて施行した 418 回の精液検査において同一検体に対し 3 回ずつ精子濃度、運動率、奇形率の測定を行った。1 回測定値、2 回測定平均値、3 回測定平均値を求めそれぞれ相互間の差の程度を調べるため変動係数を算出し検討した。

(結果および考察) 精子濃度について 2 回測定平均値と 3 回測定平均値間、1 回測定平均値と 2 回測定平均値間、1 回測定平均値と 3 回測定平均値間の各変動係数 (CV2*3, CV1*2, CV1*3 と略す) は 3.1%, 11.7%, 6.8% であった。精子濃度別に変動係数を比較すると精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満では CV2*3, CV1*2, CV1*3 は 6.1%, 20.5%, 12.4% であった。一方、精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上では CV2*3, CV1*2, CV1*3 は 1.9%, 6.5%, 3.7% であった。運動率、奇形率についても同様の結果が得られた。以上より可及的に少ない回数である程度信頼性の高い所見を得るには精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満では 3 回、精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 未満では 2 回、精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上では 1 回の測定を行うことが望ましいと考えられた。

P-20

SRY を有する XX male の一例

友政 宏¹, 押尾 茂¹, 矢崎恒忠¹, 梅田 隆¹, 山内泰子², 高野貴子²,
中堀 豊³, 中込弥男³ ¹帝京大・医・泌尿器科学, ²帝京大・医・
衛生学公衆衛生学, ³東京大・医・人類遺伝学,

症例は 25 歳の男性。主訴は無精子症。現病歴では 2 年間の不妊のため近医を受診、精液検査で無精子症の診断を受け、精査目的で当科を紹介され受診した。家族歴、既往歴に特記すべきことはなく、性機能にも障害を認めなかった。身体所見では身長 177cm、体重 55kg とやや高身長であった。頭頸部、胸腹部に異常所見を認めず、女性化乳房はなく、陰毛の分布も男性型であった。視診、触診、および超音波検査にて陰茎、前立腺、精囊には異常を認めなかった。精巣容量は右 5ml、左 4ml であり、精巣上体、精管には異常を認めなかった。内分泌学的検査では FSH 19.7mIU/ml、LH 10.3mIU/ml、プロラクチン 28.0ng/ml と下垂体ホルモンは高値を示したが、テストステロンは 428.6ng/dl と正常値であった。繰り返計 3 回行った精液検査の結果は全て無精子症であった。精巢生検では両側とも精細管は Sertoli 細胞のみから構成されており、間質に Leydig 細胞の増殖が認められた。染色体分析 (G-banding 法) の結果は 46, XX であった。引き続き、Q-banding 法を行ったがその結果は全て陰性であり、Y 染色体の Q 陽性部を含む長腕遠位部が存在しないことが推定された。さらに、Y 染色体特異 DNA として 7 つのプロープ (PABY, SRY, AMGL, DYZ3, DYZS139, DYZ132, DYZ1) を用いて PCR 法を用いて解析したところ、Y 染色体の PABY および SRY を含む短腕遠位部のみが存在することが判明した。以上より、SRY を有する XX male と診断した。現在、FISH 法を用いて Y 染色体短腕遠位部の染色体上での転座位置を検討中であり、その結果も併せて報告したい。

P-21

Klinefelter 症候群における思春期前後の内分泌学的および精巣の組織学的検討

宮崎医科大学泌尿器科
○山口孝則、長田幸夫

【目的】 Klinefelter 症候群は男性不妊症患者の中では最も多い染色体異常であるが、本症候群の臨床像が思春期以降に顕著となるため、幼少児期に診断されることは少ない。我々は小児期に発見された本症候群を 5 例経験したので、成人例 9 例を含めた思春期前後の内分泌学的、精巣の組織学的変化を検討し、本症の精巣機能障害の発生機序に関して若干の考察を加え報告する。

【対象・結果】 15 歳以下で発見された本症候群 5 例と 16 歳以上の成人 9 例を対象とした。小児例の 3 例は外性器異常を、残りの 2 例は外性器發育不全が主訴であり、成人例は 7 例が不妊、2 例は外性器發育不全であった。染色体構成は 1 歳時外性器奇形で受診した 1 例のみ 47XXY/48XXY,+21 と Down 症候群とのモザイクであった以外は 47XXY の核型であった。内分泌学的には小児期より FSH 高値を示す症例があり、思春期を境に成人レベルの異常高値へと推移した。また思春期前においてはテストステロンは正常小児より幾分低値で推移し、思春期ではほぼ正常レベルに達するものの以降再度低値の傾向を示した。また、思春期前では LH-RH 試験、hCG 試験に良好に反応した。精巣容積は小児期よりやや小さく、思春期になっても正常な發育を示さなかった。精巣の組織学的検査では幼少児期より精祖細胞の減少、精細管径の縮小を認め、5 歳以降ですでに軽度ではあるが成人例に特徴的な精細管基底膜の肥厚、硝子様変性の所見が認められた。Leydig 細胞の増殖は思春期前では認められず、思春期以降より明らかであった。

【考察】 本症候群においては思春期前より精巣の軽微な異常が存在しており、小児期の時点で恐らくテストステロンの分泌障害を介して、ゴナドトロピン異常増加がすでに存在していることを示唆させる。また、このゴナドトロピン異常増加は思春期以降で顕著となり、すでに存在している精巣の障害を加速的に増悪させ、成人にみられる本症候群の臨床像が完成するものと考えられた。

P-22

ヒト精子におけるエストロゲンレセプターの発現

岐阜大学医学部産婦人科

○操 良、森下重雄、中西義人、堀 昌志、市古 哲、伊藤美穂、
藤本次良、玉舎輝彦

【目的】 精子はアンドロゲンの刺激を受けて精細管で形成され、さらに一連の変化を経て成熟精子となる。アンドロゲンの影響下にあった精子は射精後、エストロゲンの影響下にある女性の生殖道に到達し受精能獲得および先体反応といった過程を経て受精に至る。そこで精子におけるエストロゲン感受性の有無を検討するため、免疫組織学的にヒト精子におけるエストロゲンレセプター(ER)の存在を検討した。

【方法】 当科不妊外来にて精液検査を施行した症例のうち精液所見正常の精液を、患者の同意のもとに、培養液(HTF)で希釈した後、オートスメアを施行しスライドグラスに固定した。凍結乾燥後、抗ヒト ER・マウスモノクローナル抗体(DAKO 社)を用いて、Avidin-biotin peroxidase complex 法にて ER 蛋白の免疫染色を施行した。

【結果】 ER 免疫染色の結果、すべての症例において精子に陽性所見を認めた。

【結論】 ヒト精子において ER が存在していることより、エストロゲンの作用を受けて受精能獲得あるいは先体反応といった何らかの生物学的役割に関与している可能性が示唆された。

P-23

男性不妊精子のProacrosin異常の分子生物学的検討

秋田大学産婦人科

○清水靖、児玉英也、福田淳、軽部裕子、池田雅人、田中俊誠

【目的】 Proacrosin (PA) は精子が透明帯を貫通するのに必要な先体酵素であるacrosinの前駆体である。我々は体外受精の受精障害例中に、抗ブタPA抗体によりスクリーニングした場合にPAの抗原性に異常が認められる症例が存在することを、以前報告した。今回の研究は、このような症例において、PAのアミノ酸配列に異常が認められるか否かを明らかにすることと目的とした。

【方法】 PAの抗原異常を認める症例の精子から可溶性蛋白を酸性溶液中で(10mM benzamidine, 10% glycerol, 2% 酢酸, pH2.7)で抽出した。可溶性蛋白をSDS-PAGEで展開後、第1抗体に家兎に免疫して作成した抗ヒトPA抗体を用いたwestern blotting法でPAを検出した。また、SDS-PAGEのゲルよりPAのバンドを切り出し、抽出、濃縮後プロテアーゼV8により分解し、同様にSDS-PAGEで展開してwestern blotting法を行った。以上の成績を、コントロール精子の成績と比較した。

【成績】 抗ブタPA抗体でPAの抗原異常を認める症例とコントロール精子の間で、通常の可溶性蛋白を検体として用いた場合、抗ヒトPA抗体を用いたwestern blotting法では抗原性の差異は認められなかった。しかし、V8によりPA蛋白を分解した場合、SDS-PAGE展開後の蛋白の銀染パターンで差が認められ、western blotting法ではコントロール精子で19KDa、および16KDaにバンドを認めたが、PAの抗原異常を認める症例で25KDaに単一にバンドを認めたのみであった。

【結論】 従来我々が報告した、抗ブタPA抗体で抗原性の異なる症例は、実際にPAのアミノ酸配列が異なっている可能性が示唆された。

P-24

精索静脈瘤に対する局所麻酔による内精静脈低位結紮術の経験

洛和会音羽病院泌尿器科
関西医科大学泌尿器科
京都大学医学部泌尿器科

○小倉啓司、宗田 武
松田公志
吉田 修

【目的】 近年、精索静脈瘤手術に対し低侵襲を目的として、腹腔鏡による手術が行われているが、全身麻酔を必要とすること、あるいは気腹操作による合併症の起こる危険性などにつき議論されている。我々は、さらにより低侵襲の手術を目的とし、局所麻酔下に、外鼠径輪部位での内精静脈低位結紮術を試みた。

【対象と方法】 1994年1月より1994年6月までに診断された精索静脈瘤症例のうち局所麻酔下に手術施行した12症例を対象とした。平均年齢32.8歳。主訴は不妊11例、陰嚢部痛1例。左側11例、両側1例で、grade 2が5例 grade 3が7例であった。術式：1% Lidocaineによる局所麻酔下に、鼠径部に約3cmの皮切開を加え、外鼠径輪よりやや精巣側に精索を剥離し、精巣動脈、精管、精管動脈を温存し、内精静脈を結紮、切離した。手術時間、使用麻酔薬用量、術後鎮痛剤使用量、術後回復期間(術後歩行可能までの時間、術後入院期間)、および術後合併症につき検討した。

【結果】 平均手術時間は76.6分、平均Lidocaine使用量は15.2mlであった。全例手術直後より歩行可能であった。12例中10例(83.3%)において術後鎮痛剤(Indomethacin 50mg)を必要としなかった。また術翌日には全例退院可能であった。術後観察期間はまだ短期間ではあるが、精巣動脈による血流は全例で温存され、精索静脈瘤は全例で消失し、陰嚢水腫も全例に認めなかった。

【考察】 我々が以前より経験した腰椎麻酔下の高位結紮術および全身麻酔下に腹腔鏡を用いた高位結紮術の結果と比較しても、侵襲度の観点からみると、局所麻酔下内精静脈低位結紮術は利点が多く、今後外来手術としても可能と思われる。

P-25

精索静脈瘤に対する高位結紮術の検討

春日部市立病院泌尿器科 ○新井 学、根岸壮治、塚本哲郎

（目的）精索静脈瘤の治療法は、大別して手術療法と静脈塞栓術がある。手術療法も後腹膜到達法（高位結紮術）、鼠径到達法が古くから知られ、最近では腹腔鏡下手術が行われるようになってきた。我々は、1979年1月から1994年5月までの間にPalomo法による高位結紮術959例を経験したので報告する。腰麻下にてPalomo法に従い内鼠径輪のやや上方で精索動静脈を一括して結紮する方法をとった。平均手術時間は約17分、平均入院日数は5.5日であった。精索静脈瘤の症状のあった患者はほとんど全例にて術後症状が消失した。また959例中804例が男子不妊症の患者で術後約40%で妊娠の成立を得ている。重篤な合併症はなく、手術が原因と考えられる精巣水腫を4例経験した。

（結論）Palomo法による高位結紮術は精索静脈瘤に対する簡便かつ安全な優れた術式であると考えられる。

P-26

精索静脈瘤の思春期症例について
——手術後の精液所見の検討——

藤沢市民病院 泌尿器科 朝倉泌尿器科医院

○漆原 正泰、芝 龍寛、千葉 喜美男、斎藤 和男、広川 信
朝倉 茂夫

精索静脈瘤が思春期で診断された場合、その手術適応に苦慮することがある。思春期で高位結紮術をおこなった精索静脈瘤について成人前後で観察した精液所見について報告する。

対象：対象は16例で、左精索静脈瘤の程度はGradeⅡ～Ⅲで高度な怒張を呈した。手術時の年齢分布は11歳～16歳（平均13.3）である。

手術方法はPalomo法による。手術前での精巣の大きさが3mm以上の左右差を8例に観察した。1例は右停留精巣を示した。性染色体異常を認めていない。精液所見について、思春期以後に検討した。

結果：検討した精液所見をみると、精子濃度4000万以上を示した例は、14例（88%）で、1例は1800万の乏精子症である。精子運動率で50%以下が2例（41%、48%）みとめられた。精子濃度4000万以上で精子運動率60%以上の良好な所見を示した例は8例（50%）である。手術時に精巣の大きさに左右差をみた群と左右差のない群との間に精液所見の結果に差はないが、乏精子症の例は、左右差のある症例である。

結論：不妊症の精索静脈瘤における手術後の精液所見の改善にくらべ、思春期の症例で観察した結果は、総じて良好である。静脈瘤の怒張が高度な症例については、積極的に手術をすすめてよいと考えている。

P-27

パルスドップラー法による精索静脈瘤の診断とその有用性

京都大学泌尿器科 大西 裕之、奥野 博、寺地 敏郎、
橋村 孝幸、吉田 修

1993年12月より、当院不妊外来を受診し、精索静脈瘤が疑われた患者50人を対象に陰囊部及び精索に対して、超音波カラードップラー法とパルスドップラー法による検査を行い、静脈瘤の血流の変化および精索静脈の逆流と血流速を測定した。

精索静脈瘤の臨床的分類では、grade1が23人、grade2が19人、grade3が8人であった。これらのうち精索静脈の逆流が確認されたのは、それぞれ15人(65%)、18人(95%)、6人(75%)で平均流速は、16.5cm/s、36.5cm/s、34.8cm/sであり、grade1とgrade2およびgrade3のあいだに有意差が認められた。

また、右側の精索静脈にも逆流がみられたのは、それぞれ4例、8例、3例にみられた。精索静脈の逆流には時期および持続時間の点でいくつかのパターンがあり、最高血流速とあわせて検討したので報告する。

P-28

男子不妊症の臨床的検討
-治療成績を中心にして-

埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科
○内島豊、吉田謙一郎、小林信幸、遠坂頭、竹内信一、斎藤博

1985年6月から1993年12月の8年6カ月の間に埼玉医科大学総合医療センターの不妊外来を受診した不妊主訴患者について統計的観察を行い、若干の考察を加えて報告する。【対象】患者数は461症例であり、不妊期間が1年未満の44症例を除く417例について検討した。【結果】同期間の男子新患患者数は8693例で、その頻度は4.8%であった。初診時年齢では30歳代が最も多く、約67%であった。不妊期間としては2年から3年の症例が多いが、10年以上の症例も認められた。精子濃度から患者を分類すると正常精子濃度を示す症例は172症例、mildな乏精子症が59症例、severeな乏精子症が93症例で無精子症が41症例であった。無精子症の中では(1)精路異常(精管欠損、停留睾丸術後あるいは鼠径ヘルニア術後)、(2)射精の異常、(3)遺伝子の異常および(4)下垂体の異常を示す症例と(5)他に異常を示さない症例に分類して検討した。各群での内分泌学的検討からはFSH値について正常精子濃度群では 5.0 ± 3.6 mIU/ml、mildな乏精子症では 6.7 ± 5.1 mIU/ml、severeな乏精子症では 10.9 ± 7.6 mIU/mlで無精子症では 21.6 ± 14.7 mIU/mlであり、精子濃度が減少するにつれてFSH値は上昇を示した。LH値あるいはテストステロン値については各群間で有意の差は認められなかった。精子濃度が減少するにつれ精巣容積(左右の精巣の合計)は減少し、正常精子濃度群では 35.9 ± 6.7 mlであるのに対して無精子症例では 21.8 ± 8.4 mlと有意に精巣容積の減少を認め、精巣容積が20 ml以下の症例ではFSH値あるいはLH値が高値を示す症例が増加した。治療(手術)としては精索静脈瘤に対しての高位結紮術が最も多く、ついで精路再建術であった。また非内分泌治療あるいは内分泌治療を行うとともに、婦人科との協力でAIHあるいはIVFを施行したのでその成績について報告する。配偶者に問題が指摘されている症例は約25%であり、婦人科との協力のもとでの治療が重要である。

P-29

精管切断術後患者に対する顕微鏡下精管精管吻合術の治療成績

千葉県こども病院泌尿器科¹⁾, 帝京大学市原病院泌尿器科²⁾○浜野公明¹⁾, 長 雄一¹⁾, 伊藤晴夫²⁾, 正井基之²⁾小竹 忠²⁾, 三浦尚人²⁾

〔目的〕 男子不妊手術として精管切断術が一般化しているが、その復元手術の要望も高くなっている。我々は顕微鏡下に精管精管吻合術を施行しており、その治療成績を報告する

〔対象と方法〕 1986年 5月より1993年 4月までの 7年間に、帝京大学市原病院泌尿器科において16例の精管切断術後患者に対して精管精管吻合術を施行した。手術時年齢は26歳から56歳、平均40.9歳であり、精路の閉塞期間は 2年から15年、平均10.2年であった。手術術式：近位および遠位の精管を剥離して瘢痕化した断端を切除し、精囊側の精管内腔を22G エラスターで拡張、生理食塩水を注入して精管の通過性を確認した後、9-0 モノフィラメント・ナイロン糸で 8~12針の一層縫合を顕微鏡下に行い、端々吻合した。1994年 5月時点での転帰を調査し、妊娠成立の有無により治療成績を検討した。

〔結果〕 転帰の調査が可能であったのは16例中12例であり、観察期間は13ヶ月から69ヶ月、中央値24ヶ月で、妊娠成立は12例中 5例 (42%) に認めた。妊娠群 (5例) と非妊娠群 (7例) の手術時の平均年齢はそれぞれ39.0歳と41.3歳、平均閉塞期間は 6.8年と11.3年であった。また閉塞期間が10年未満の場合の妊娠率は75%と特に成績良好であった。

〔結論〕 顕微鏡下精管精管吻合術は、精管切断術後患者に対する復元手術として有効な治療法と思われた。

P-30

顕微鏡を用いた精管精管吻合術および精巣上体管精管吻合術

東 邦 大 学 第 一 泌 尿 器 科

○永尾 光一、玉山 隆章、野沢 英雄、西見 大輔、松橋 求、
高波真佐治、石井 延久、三浦 一陽、白井 将文

〔目的〕 精管精管吻合術および精巣上体管精管吻合術は顕微鏡手術の導入により、精路再開通率は飛躍的に向上したと言われている。われわれも、平成4年5月より顕微鏡の手術を行っており、手術成績の検討を行なった。

〔対象および方法〕 対象は、平成4年5月から平成6年5月の2年間に当科で手術を行なった症例28例中、手術後精液検査を施行できた22例で、27才から53才、平均36.1才である。閉塞原因は、鼠径ヘルニア手術15例、避妊手術5例、不明2例で、閉塞期間は9ヵ月から40年、平均25.9年であった。吻合は、精管では左右交叉10例、片側6例、両側5例、両側精管精巣上体管吻合は1例で、手術中の精管断端からの精子は22例中12例で確認できた。術前の血中FSHは平均7.4 mIU/mlであった。今回、われわれは顕微鏡手術後の精子出現率を以前顕微鏡を使用しなかった時の精子出現率と比較し、さらに顕微鏡手術後に精子が出現した群と出現しなかった群で各項目を比較した。

〔結果〕 顕微鏡手術後の精子出現は22例中15例 (68.2%) であり、顕微鏡を使用しなかった場合の精子出現は15例中5例 (33.3%) であった。顕微鏡手術で精子出現した群では、閉塞原因は鼠径ヘルニア手術9例、避妊手術5例、不明1例で、閉塞期間の平均は21.2年であった。吻合は、精管では左右交叉6例、片側4例、両側4例、両側精管精巣上体管吻合は1例で、手術中の精管断端からの精子は15例中12例で確認できた。術前の血中FSHは平均6.7 mIU/mlであった。顕微鏡手術で精子の出現しなかった群では、閉塞原因は鼠径ヘルニア手術6例、避妊手術なし、不明1例で、閉塞期間の平均は31.8年であった。吻合は、精管で左右交叉4例、片側2例、両側1例で、手術中の精管断端からの精子は7例中全例で確認できなかった。術前の血中FSHは平均8.7 mIU/mlであった。

P-31

閉塞性無精子症に対する手術療法の経験

神戸大学医学部泌尿器科学教室

○岡田 弘、白川利朗、龍見 昇、神崎正徳、源吉顯治、岩本孝弘、藤澤正人、守殿貞夫

原泌尿器科病院 県立加古川病院 淀川キリスト教病院 六甲病院

岡 伸俊 松本 修 羽間 稔 稲葉洋子

閉塞性無精子症は、無精子症患者の5~7%にみられ、その閉塞部位は、精巣輸尿管、精巣上体管、精管、射精管と多岐にわたっている。原因は、先天性の閉塞または欠損、vasectomy後、ソケイヘルニア修復術後、感染によるものに大別される。我々は、1988年から1993年の間にホルモン検査、染色体分析、精巣生検により閉塞性無精子症が疑われた81例に対して顕微鏡下手術を施行した。

1.vaso-vasostomy vasectomy後の21例中20例は初回手術後normozoospermiaに回復したが、1例は再閉塞のため再手術を必要とした。両側ソケイヘルニア修復術後の14例中5例は精管の欠損部位が長く吻合不能なためalloplastic spermatocele造設され、精子採取は可能であったが、妊娠例はなかった。9例は術後normozoospermiaに回復した。一側ソケイヘルニア修復術後で対側萎縮精巣の2例に対しtransvasovasostomyが施行され、1例はnormozoospermiaに回復した。

2.alloplastic spermatocele 両側精管欠損の8例に対してalloplastic spermatocele造設し精子採取は可能であったが、妊娠例はなかった。

3.vasoepididymostomy 34例に2層縫合による端側吻合がなされた。16例は、精路再開通に成功し、このうち8例がnormozoospermiaに回復した。2例は射精管閉塞も合併しており、経尿道的切開を行ない1例はnormozoospermiaに回復した。2例は精巣輸尿管閉塞であり、精管精巣輸尿管吻合を行なうも不成功であった。

今日、配偶子操作を伴った体外受精によりこれら不成功例においても、妊娠成立の手段は有るが、閉塞性無精子症の治療の主体は外科的手段による精路再開通におかれるべきであり、その成績向上のためさらに手術材料、手術手技の改良に努めることが必要であると考えられた。

P-32

経筋層的胚移植法の正確性向上のための留意点

河内総合病院不妊センター

○森本義晴、長尾幸一、小山竜一、宮田広敏、山崎雅友、當仲正丈、井上 剛、森本武晴

関西医科大学産科学婦人科学教室 榎木 晋、堀越順彦、榎木 勇

【目的】体外受精プログラムにおいて卵巣刺激法、採卵法、培養法が進歩した現在、妊卵着床は妊娠率向上の残された課題である。当センターでは、従来の経頸管的胚移植法（以下TCET）に加えて経筋層的胚移植法（以下TMET）を採用しすでにその有用性について発表してきた。今回はその適応と正確性向上のための詳細な手技について若干の検討を加えたので報告する。【方法】TMETを119周期に応用した。TMETは、18 gauge Echo tip spinal needle（COOK社製、30cm、トラカールつき）にて子宮内膜を経腔超音波下に穿刺し、トラカール抜去後、内径0.9mmの硬膜外チューブに胚をloadingし移植した。さらにこの結果を28周期に行ったTCETの結果と比較した。なお、TCETには、ファイコンチューブを用いた。

【結果】着床率及び妊娠率はそれぞれTMET:42.9%,30.3%,TCET:34.5%,28.6%であった。さらにTMETの手技を成功させるためには、次の三つの点に留意する必要があると考えられた。即ち(1)子宮の呼吸性移動：症例によっては子宮が呼吸性移動により1~3cm動くものがある。この場合は軽い吸気の時点で呼吸を停止させ膈円蓋に近い状態で子宮を静止させ穿刺すると正確性が向上する。(2)子宮内膜の周期性蠕動運動：子宮内膜には蠕動用の周期的な動きがある。これをよく観察した上でMidline echoのよく描出された時点で穿刺するのがよい。(3)子宮内膜は出来るだけ直角に穿刺する方が正確性が高く、前屈または後屈していない直立する子宮のTMETは困難である。【考察】TMETの手技を詳細に検討した結果、術者の目標とする子宮内膜内のポイントに確実に胚を移植するにはいくつかの留意点がある事がわかった。適応を選び、この点を考慮に入れ正確性の高いTMETを行うことにより着床率、妊娠率が向上すると考えられた。

P-33

体外受精・胚移植(IVF-ET)におけるclomiphene citrate(CC)
challenge testの有用性について

横浜市立大学産婦人科

○堀 裕雅、植村次雄、山口 肇、遠藤方哉、近藤芳仁、水口弘司

目的: IVF-ETにおいてpoor responderを事前に予測することは難しい。このため不必要な卵巣刺激を施行してキャンセル例が生じてしまうことも多い。そこでCC challenge testが卵巣刺激前にpoor responderの判別に有用かどうかについて検討した。**方法:** 対象は1994年3月より6月まで当科にてIVFを施行した21例21周期である。採卵前周期の月経第3日目にEstradiol(E21), LH(LH1) FSH(FSH1)を測定し、5日目よりCC 50mg/day 5日間内服し10日目のLH(LH2), FSH(FSH2), E2(E22)を測定した。黄体期中期よりGnRH analogueを開始し、採卵周期3日目よりhMGを連日投与した。7日目にE2(E27)測定し、2つ以上の卵胞が卵胞平均径17mmとなった時点でProgesterone(P4), E2(E23)測定しhCG 10,000iu投与した。hCG投与36時間後に採卵し採卵48時間後4CELLをETした。**結果:** 対象の平均年齢は 35.5 ± 4.5 歳, 平均不妊期間は 104.8 ± 55.7 月, 採卵数平均 6.2 ± 3.8 個, 受精率 $88.3 \pm 24.1\%$, 4CELL 4.7 ± 2.6 個, 1アンブル75iuの平均アンブル数 39.9 ± 14.7 アンブルであった。FSH1, FSH1+2と採卵数の間には有意な負の相関を認めた。E23, E27と採卵数との間には有意な正の相関を認めた。FSH1 12iu/ml以上の高値群と未満の低値群を比較すると、FSH1+2(26.4 ± 5.2 VS 15.9 ± 2.4), アンブル数(61 ± 15.5 vs 37.4 ± 12.4)において有意さを認め、高値群で採卵数の少ない傾向が認められた。使用55アンブル以上の群と未満の群とではFSH1+2において以上群で高い傾向が認められた。妊娠群と非妊娠群との比較では妊娠群において、有意にE22(548.3 ± 114.3 VS 259.9 ± 190.1)が高値でP4(1.1 ± 0.08 VS 2.3 ± 1.0)が低値であった。**結論:** CC challenge testにてFSH1+2が24iu/ml以上はpoor responderであり、E22が低値のほう妊娠率の低いことが判明した。

P-34

当科における細胞質内精子注入法(ICSI)の臨床成績

沖縄県立那覇病院産婦人科

○佐久川政男、佐久本哲郎、當間 敬、上原清昇、金城忠雄

本年5月より当院倫理委員会および日本産婦人科学会の規定に基づき高度の乏精子症および通常の体外受精胚移植にて受精が成立しなかった患者に対し27例29周期に細胞質内精子注入法を行った。この成績について受精率、分割率などについて検討した。

採卵のための卵巣刺激法は通常の体外受精と同様である。経膈的に採卵した卵を60単位hyaluronidase(10%熱処理血清添加HTFに溶解)で処理し、卵丘細胞除去卵子を準備した。精液は可能な限りswim-down法を行い、無理な場合は遠心洗浄だけを行った。精子注入用ガラス針は先端外径が $8-10\mu\text{m}$ で、35度に研磨した。さらに先端から約 $800\mu\text{m}$ の所で40度に曲げた。顕微操作を行うchamber上に精子液の小drop(10%polyvinylpyrrolidone・精子浮遊・Hepes-HTF液)と精子を注入するHepes-HTF液の小dropを数個置き、ミネラルオイルでカバーした。注入用ガラス針に肉眼上正常形態を呈する精子一匹を吸引捕捉し、精子注入用小dropに移動した。卵は第一極体が12あるいは6時方向なるように把持し、精子を細胞質内に注入した。注入後、卵は10%非動化血清添加HTF液にて培養し、17時間後に前核を、36時間後に分割を観察した。ETは2日目に行った。

76個の卵に対しICSIを施行した。受精率は32.2%, 分割率は22.5%(対生存卵)であった。8例でETができ、妊娠が2例で成立した。1例は生化学的流産に終わったが、他の1例が妊娠継続している。

P-35

卵巣腫瘍核出後の I V F - E T 成績

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室

○沖 利通 森 明人 山元慎一 堂地 勉
中村佐知子 大西英資 伊集院博文 永田行博

【目的】卵巣腫瘍核出後に排卵障害をきたすことはまれではない。今回、我々は卵巣腫瘍核出術が体外受精胚移植における排卵誘発効果に及ぼす影響を検討した。

【方法】対象は、86～92年までに体外受精胚移植を行った症例、対照群、127 症例366 周期。卵巣腫瘍核出術症例（以下、核出術群）、6 症例19周期、片側付属器切除し、対側の付属器が温存されている例（以下、卵巣切除群）、6 症例22周期である。方法は当科体外受精胚移植プロトコールに従った。

【結果】h C G 投与日は卵巣切除群の11.8日に比較して核出術群は13.6日と排卵誘発に時間が有意にかかる。また、h M G 総投与量では対照群の1470単位・卵巣切除群の1550単位に比較して、核出群では2104単位と高かった。

平均穿刺卵胞数は対照群 7.04 個、核出群 5.53 個、卵巣切除群 4.84 個、採取卵数はそれぞれ 4.76 個、4.00個、3.00個、成熟卵数は 3.70 個、3.53個、2.85個と対照に比較し、卵巣切除群では約半分、核出群では少ない傾向にあった。しかし、受精卵数はそれぞれ、2.95個、2.53個、2.26個で3群で差がなくなり、分割卵数は 1.60 個、0.40個、0.80個で核出群で極端に低かった。したがって、卵巣腫瘍核出術により誘発剤に対する卵巣の反応性ばかりでなく、受精後の胚発育も障害された。つまり、核出術群の排卵誘発成績の特徴には、排卵誘発剤への反応性低下ばかりでなく、受精後の胚発育の低下が認められた。特に、子宮内膜症でその傾向が強かった。 【考察】以上のことから、卵巣腫瘍核出術にあたっては、卵巣への侵襲を最小限に止めること、また、不必要な手術をさけるよう手術適応の検討には細心の注意が必要と思われる。特に、子宮内膜症では、手術をむしろ避けるか、手術時には極力卵巣正常部分を残すよう留意しなければならないだろう。

P-36

子宮内膜症中等症重症例の妊娠予後について

群馬大学産科婦人科 ○山田清彦、長竹弘子、川上裕子、横田英巳、小澤聖史
延命みゆき、安藤一道、水沼英樹、伊吹令人

不妊症を主訴とし、腹腔鏡により確認された子宮内膜症のうち、R-AFS分類 III期以上の中等症及び重症例につき、その後の治療と妊娠予後につき検討した。1988年7月より1994年2月まで当科において腹腔鏡を施行し、3年以上追跡可能、および現在通院中の59例のうち、IVF-ET施行に至った例は20例であった。今回はそれ以外の方法で治療あるいは経過観察した例39例につき検討した。このうちIII期が15例、IV期24例で、III期のうち、9例（60.0%）、IV期のうち10例（41.7%）、計19例（48.7%）が妊娠に至った。妊娠率はIII期で高い傾向にあったが、重症度別で統計的に有意の差は無かった。ダナゾールあるいはGnRH analogueによる偽閉経療法の施行の有無でみると、ホルモン治療をした22例中11例（50.0%）、そのうちIII期8例中5例、IV期14例中6例、ホルモン治療をしなかった17例中8例（47.1%）、うちIII期7例中4例、IV期10例中4例が妊娠に至った。いずれもカイニ乗検定で統計的に有意の差を認めなかった。各病変別のスコアについて比較検討すると、妊娠群と非妊娠群とでは、卵管癒着のスコアで、非妊娠群で有意に高い結果であった。また卵管癒着スコアが16点未満の32例中18例に妊娠成立を観たのに対し16点を越える7例では1例妊娠したのみであった。

男性因子を合併した例は6例あり、人工受精により3例が妊娠した。

中等症以上の子宮内膜症については、ホルモン剤による偽閉経療法により、各種の臨床症状の改善が期待される。不妊症治療という観点のみで考慮した場合、他の因子特に卵管の癒着、男性因子の合併も考慮にいれつつ治療法を検討する必要があることが示唆された。

P-37

子宮内膜および子宮内膜症における非放射線性 in situ hybridization を用いたエストロゲンレセプター mRNA の局在に関する検討

長崎大学産婦人科¹⁾, 同第3解剖²⁾

○藤下 晃¹⁾, 石丸忠之¹⁾, 山邊 徹¹⁾, 小路武彦²⁾, 中根一穂²⁾

【目的】子宮内膜症（以下、内膜症と略）はエストロゲン依存性と考えられているが、その発症機序および増殖、進展様式などに関しては、いまだ十分解明されていない。内膜症患者の骨盤腹膜を腹腔鏡下に生検すると、腹膜中皮には種々の形態変化が認められる。そこで今回、非放射線性 in situ hybridization (ISH) を用いてエストロゲンレセプター (ER) の mRNA の局在を検討した。【対象および方法】腹腔鏡検査時および開腹手術の際に患者の同意を得た上で採取された正常子宮内膜（9例；増殖期4例，分泌期5例），内膜症（6例），卵巣チョコレート嚢胞（5例）および内膜症が認められない正常骨盤腹膜（2例）を対象とした。検体を採取後，4% paraformaldehyde/PBS で固定し，6μm の凍結切片を作成した。ISH のプローブに関してはヒト ER の cDNA 配列に基づき 45-mer を選択し，その両端に ATT の繰り返しを導入した。合成オリゴヌクレオチドを T-T dimer 化後プローブとして用いた。Hybridization は 40% formamide 存在下，37°C で一晩 hybridization した後，モノクローナル抗 T-T dimer 抗体を用いて，酵素抗体直接法によりシグナルを検出した。なお発色は Ni/Co/DAB 法を用いた。【結果】正常子宮内膜では腺上皮細胞および間質の核内に ER mRNA の発現がみられ，また血管平滑筋および螺旋動脈の血管周囲の間質細胞にも ER mRNA が認められた。月経周期の変動は，腺上皮および間質の ER mRNA の発現は増殖期に強く，分泌期には低下していた。内膜症病変のなかで，非典型的内膜症では腺上皮には ER mRNA が認められなかったが，典型的内膜症では間質および腺上皮細胞の一部に ER mRNA の局在を認めた。なお，今回検討した卵巣チョコレート嚢胞および正常骨盤腹膜では ER mRNA の局在は認められなかった。【考察】内膜症が存在する骨盤腹膜病巣では，おもに間質部分に ER mRNA の局在が認められ，一部の例では腺上皮にも ER mRNA が発現していることが判明した。

P-38

分泌期の単球における M-CSF レセプターとその (*fms*) mRNA の発現とその生物学的意義

岐阜大学医学部産科婦人科

○堀 昌志、藤本次良、市古 哲、中西義人、操 良、玉舎輝彦

【目的】子宮内膜症の患者の腹水では、マクロファージは活性化されており、この活性化マクロファージに、colony stimulating factor (CSF) が作用すると、マクロファージの食食能が増強し、受精卵や初期胚にダメージを与え、これが子宮内膜症における不妊の原因の一つと考えられている。マクロファージの生物学的特徴を知るため、エストラジオール (E2) やプロゲステロン (P) を負荷した時のマクロファージの M-CSF レセプター量とその mRNA である *fms* mRNA の発現量およびチロシinkinナーゼ (TK) を有する M-CSF レセプターの TK 活性を検討した。なお、マクロファージは末梢血単球から分化したものであるためマクロファージの代用として末梢血単球を使用した。【方法】*fms* mRNA は RT-PCR-Southern Blot 法により、その発現量を検討した。M-CSF レセプター量は FITC でラベルした M-CSF を単球膜上の M-CSF レセプターと結合させた後、フローサイトメーターにより測定した。TK 活性は [³²P]ATP を使用して、全細胞分画で Gibco BRL キットにより測定した。【結果】*fms* mRNA は、分泌期の単球では発現が確認できたが、増殖期では 30 回の RT-PCR で、ほとんど確認できなかった。分泌期の単球の *fms* mRNA の発現量は、E2 および E2+P 負荷により有意に増加した。単球の M-CSF レセプターの発現量は、E2 および E2+P 負荷により増加し、3 時間でプラトーに達した。TK 活性は、E2 および E2+P 負荷により低濃度から増加し、10⁻⁸M でプラトーに達した。また、10⁻⁸M の E2 および E2+P 負荷により TK 活性は、3 時間でプラトーに達した。【考察】分泌期の分化誘導を受けた末梢血単球では、エストロゲン優位の内分泌環境で、*fms* mRNA や M-CSF レセプターの発現が誘導され、細胞機能としての CSF レセプターの TK 活性も亢進したので、一般にエストロゲン優位の内分泌環境を背景に持つという内膜症で、排卵後、腹水マクロファージの機能亢進が導かれ、これが不妊の原因の一つとなる可能性が考えられた。

P-39

X/autosome balanced translocation と性機能障害

石川県立中央病院産婦人科
朝本明弘 西本秀明

原発性無月経の原因として染色体異常は約 2割を占め、その半分がターナー症候群、1/3 が XY female である。X/autosome balanced translocation は、表現型が正常の場合と無月経などの生殖系障害を呈する場合がある。Summit('78) は Xq13-26に生殖に関する critical regionがあり、この連続性が障害されるときに生殖系障害をきたすとの仮説を発表している。

症例 1 は、16才の高校生で原発性無月経と二次性徴の遅れを主訴として受診した。知能発達は正常、153 cm, 45 Kg の体格でターナー症候群様特徴はなかったが、乳房発達悪く恥毛はなく外性器は未発達であった。超音波検査では子宮の低形成が推測された。内分泌学的検査では、LH, FSH 高値、E₂ 感度以下で卵巢障害型を示した。染色体検査では、核型は 46, X, t(X;9)(q21.32;q22.31) の均衡転座型で正常 X 染色体が後期複製を示した。母親は正常核型であったが父親は離婚のため確認できなかった。6ヶ月間のカウフマン療法により、乳房恥毛の発達がみられ、子宮の増大とわずかながら消退出血がみられるようになった。

症例 2 は、26才で無月経、不妊を主訴として受診した。初潮は14才で認め、二次性徴もみられたが、その後は不規則な出血が時々みられる程度であった。HSG では、卵管の疎通性はあったが子宮低形成がみられた。内分泌検査結果は卵巢障害型を示し、腹腔鏡検査では卵巢は萎縮様で、生検所見は細胞成分に乏しくfollicleは 1個認めるのみであった。染色体検査は 46, X, t(X;13)(q25;q14) の核型を呈し、正常 X 染色体が後期複製を示した。LH-RH 投与下での HMG 300 IU, 10日間の卵巢刺激に対してもE₂ はほとんど反応しなかった。結論：原発性無月経に対する染色体検査は実施されることが多いが、難治性の続発性無月経においても染色体検査は考慮されるべきである。

P-40

Y 染色体短腕の部分欠失がみられた性分化異常症 (XY 女性) の

分子遺伝学的手法による発症機序の検討

東京大学産科婦人科学教室

○飯田 卓、森田 豊、堤 治、武谷雄二

患者は17歳学生。原発性無月経を主訴として、1993年7月15日、当科を初診した。初診時の診察所見は、身長168cm, 体重53kg, 乳房発育不良。局所所見は陰毛正常外見、膺正常大、子宮さわめて小、付属器触知せず。超音波検査所見では子宮は22x15x20mmと小さく、両付属器は描出できなかった。血中E₂ 13, P 0.4, testosterone 0.4といずれも低値。また同日提出した末梢血リンパ球の核型所見は、46,XYp-/XXYp- (細胞比11:9), Y 染色体の短腕の大部分が欠失。以上よりXY女性と診断した。E+P 合剤によるホルモン補充療法を開始する一方、1994年1月6日、卵巢の組織生検を腹腔鏡下にて施行した。術中所見は1~2cm程度の小さな子宮と正常な両側卵管をみとめ、性腺は白色で小型(索状)であったため、両側の性腺を切除した。病理診断はgonadoblastoma and fibrous tissue of the bilateral ovaries であった。本組織は悪性化の率が高いとの欧米での報告があり、再手術完全性腺切除の目的で、同 3月16日腹腔鏡下で両付属器の切除を施行したが、腫瘍組織の残存はみられなかった。DNA解析として、Y 染色体の各プライマーによるPCR(polymerase chain reaction) 法による構造解析を行ったところ、短腕の性決定遺伝子であるSRYより動原体側の遺伝子はすべて存在しているが、SRYおよび偽常染色体領域が欠失していることがわかった。X 染色体上のCA反復配列の回数の多型を利用したリンケージ解析を親子につきおこない、性染色体トリソミー細胞の2つのX 染色体はともに母由来でありしかも組み合わせがホモであった。つまり染色体の不分離は、第2減数分裂時の不分離が原因であることもわかった。また父および母の核型は正常、父のDNAでは構造異常は見られなかった。

P-41

ターナー症候群の体脂肪分布に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室

○伊集院博文、堂地勉、沖利通、中村佐知子、山元慎一、大西英資、
永田行博

〔目的〕ターナー症候群は肥満を伴うことが知られている。ところで最近、肥満そのものより体脂肪の分布の異常が、代謝の異常とより密接に関係していることが知られるようになった。たとえば、下半身型肥満より上半身型肥満が、皮下脂肪型肥満より内臓脂肪型肥満が、肥満に関連した疾患と考えられる虚血性心臓病、糖尿病や脂質代謝異常などを伴いやすいことがわかってきた。しかし、ターナー症候群の体脂肪の分布は必ずしも明確でない。そこでターナー症候群の体脂肪分布を明らかにし、それがどのような因子の影響をうけているかを明らかにした。また骨塩量、血清脂質についても検討した。

〔対象と方法〕ターナー症候群4例の体脂肪をDual-energy X-ray absorptiometry(DEXA)で測定し、われわれが設定した診断基準である上半身脂肪量/下半身脂肪量 (U/L) > 1.0 の上半身型肥満2例(A群)と $U/L \leq 1.0$ の下半身型肥満2例(B群)にわけて年齢、体重、BMI(体重/身長²)、体脂肪率(体脂肪量/体重)(%)、上半身脂肪量(g)、上半身脂肪率(上半身脂肪量/体脂肪量)(%)、上半身脂肪量/体重(%), 下半身脂肪率(下半身脂肪量/体脂肪量)(%)を比較した。またホルモン補充療法(HRT)の体脂肪分布に及ぼす影響も検討した。

〔結果〕A群の2例はB群の2例に比較して身長が低く、体脂肪率、BMI、Total-cholesterol(TC)、Triglyceride(TG)が高かった。B群の1例は20歳から16年間HRTを行い、体脂肪率28.3%、 $U/L = 0.56$ と有経婦人の体脂肪分布と一致した。B群の他に1例は身長が150cmであり $U/L = 0.83$ であった。

〔結論〕ターナー症候群は肥満になると、上半身型肥満となる。脂質代謝の面からも肥満にならないように指導することや、比較的早期からのHRTの重要性が示唆された。

P-42

多嚢胞卵巣(PCO)患者の体脂肪分布と内分泌動態に関する検討

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室

○堂地勉、沖利通、伊集院博文、山元慎一、中村佐知子、大西英資、
永田行博

最近、肥満そのものより体脂肪分布の異常が様々な内分泌・代謝の異常とより密接に関係していることが示されている。多嚢胞卵巣(PCO)は肥満を伴うことから、われわれはDualenergy X-ray absorptiometry(DEXA)で、PCO患者の体脂肪分布と内分泌動態の関係を検討した。内分泌学および経膈超音波にてPCOと診断された20例を対象とした。20例のPCO患者の体重、身長、BMI(体重/身長²)とDEXA(Hologic QDR 2000)で測定した体脂肪率(体脂肪量/体重)、上半身脂肪率(上半身脂肪量/体脂肪量)、上半身脂肪量/体重、下半身脂肪率

(下半身脂肪量/体脂肪量)、 U/L (上半身脂肪量/下半身脂肪量)などの体脂肪パラメータを測定した。①われわれが仮に設定した U/L が1.0以上の上半身型脂肪蓄積群($n=12$)と U/L が1.0未満の下半身型脂肪蓄積群($n=8$)に分けて、前述の体脂肪パラメータ、多毛の有無、血清testosterone(T), dehydroepiandrosterone sulfate(DHEAS), Δ^4 -androstenedione(Δ^4)値を比較した。②PCO患者全体で U/L とT, DHEAS, Δ^4 などの血清アンドロゲン値との相関や体脂肪率, BMI, 体重との相関を求めた。PCO患者の上半身型脂肪蓄積群と下半身型脂肪蓄積群の多毛の頻度は7/12(58.3%), 2/8(25.0%), DHEAS値は 3342 ± 1314 , 1991 ± 727 (ng/ml)*, T値は 55.8 ± 26.7 , 31.7 ± 15.8 (ng/dl)*, Δ^4 値は 2.3 ± 0.7 , 1.9 ± 1.0 (ng/ml)であった。 U/L とDHEASは $r=0.546^*$, Tは $r=0.541^*$ と正の相関を認めたが、 Δ^4 値とは相関を認めなかった。(* $P < 0.05$)。以上より多嚢胞卵巣の上半身脂肪蓄積には血清アンドロゲン高値が関与している可能性が示唆された。

関連学会のお知らせ

ART (Assisted Reproductive Technology) Forum '94

日本に於ける Assisted Reproductive Technology のさらなる発展、飛躍の一助となることを目的として、開催されます。参加費無料ですので、多数のご参加をお待ち申し上げます。

日 時：1994年10月28日(金) 15:40～18:00
18:00～20:00(懇親会)

場 所：富山第一ホテル 3F 白鳳の間
3F 飛鳥の間(懇親会)
TEL. 0764-31-1522 FAX 0764-42-6232

内 容：「生殖技術——現況と展望」

演者 入谷 明(京都大学名誉教授 近畿大学生物理工学部教授)

座長 飯塚理八(慶應義塾大学名誉教授)

「Factors Important to the First Three Cell Cycles of Mammalian Embryos」

演者 Ann Kiessling, Ph. D. (Director of Reproductive Biology

Faulkner Centre for Reproductive Medicine)

座長 武谷雄二(東京大学医学部産科婦人科学教授)

「The Collection of Oocytes for In Vitro Fertilisation-Past, Present and Future」

演者 Gabor T. Kovacs (Professor, Monash University)

座長 森 崇英(京都大学医学部婦人科学産科学教授)

後 援：日本不妊学会／日本受精着床学会

協 賛：株式会社 東機貿

WILLIAM A. COOK AUSTRALIA PTY LTD.

Life Technologies, Inc.

連絡先：〒141 東京都品川区西五反田 8-1-10

小沢西五反田ビル 4F

リプロダクションアカデミー

飯 塚 理 八

TEL. 03-3495-8761 FAX 03-3495-8762

平成 6 年 5 月

代表世話人：飯 塚 理 八 (慶應義塾大学名誉教授)

森 崇 英 (京都大学産婦人科教授)

入 谷 明 (近畿大学生物理工学部教授)

編集委員会からのお知らせ

39巻1号(1月)から39巻4号(10月)に掲載された論文は、以下の先生方にご審査をお願いしました。

足池石伊岩内大岡長金川木久小佐佐菅高武田玉堤仲新丹花藤松水矢横	高本藤本海橋田山越下保田寺治藤原田中舍野村羽田本沼追山	善晴晃恭輝耕尚喜慎裕俊重文孝七元昭輝義良末皓征一英良峯	彦庸夫明三久市夫一助三郎行隆道郎敬彦一彦雄介雄二治一郎修樹正介	安石伊植及大荻甲鎌川楠熊米佐沢鈴多竹田丹角中西根林星丸三柳吉	部川丸藤木川濱野斐田名原坂谷藤田中田村川岸田宅沼田	徹睦忠元胤紘雅祥正浩高国秋理俊幸元壮和謙一郎	良男之博実昭三弘生晴尚二弘男章勉悦吉喬誠均雄一潔治要彦浩侃恣一郎	雨石岩伊植大岡奥貝上神久桑佐佐澤鈴瀧館田辻堂中西野広星三三安吉	森島動吹村島山原口崎保原賀藤田森原中井地村島口川合浦宅水田	良芳孝令次博詔明勇次秀武惣正和富博啓弘幸正昌一弘洸英	彦一郎人雄幸子彦学陽士隆彦雄夫薫史鄰幹忠勉雄博良信昊陽治彦機	雨石泉岩碓太岡長加守木久香佐々島須武館田堤土中西野藤牧見三山吉	宮田井田田藤殿下保山木藤藤谷野辺堤橋山田井野尾宅中村	克陸嘉博謙尚征貞勝春浩嘉博寛雄政清一孝正洋儔恒保正英泰	章美一行亜孝一郎夫史郎夫之海二茂兵基人二也男治慶一人一子久幸史寿典
---------------------------------	-----------------------------	-----------------------------	---------------------------------	--------------------------------	---------------------------	------------------------	----------------------------------	---------------------------------	-------------------------------	----------------------------	--------------------------------	---------------------------------	----------------------------	-----------------------------	-----------------------------------

ご協力ありがとうございました。
今後とも宜しく願い申し上げます。

お詫びと訂正

..... 38 卷 1 号に下記の誤植がありました。お詫びの上、訂正いたします。.....

129 頁 和文タイトル中	132 頁 ランニングタイトル中
英文タイトル中	134 頁 ランニングタイトル中
130 頁 ランニングタイトル中	136 頁 ランニングタイトル中

以上の箇所の Fibronectin は Fibronectin の誤りです。
(誤) (正)

129 頁 和文抄録 1 行目	135 頁 文献 10) 左 上から 17 行目
本文 右 上から 4 行目	同 26) 右 上から 27 行目
130 頁 本文 左 上から 7 行目	同 28) 右 上から 32 行目
133 頁 本文 左 下から 6 行目	

以上の箇所の fibronectin は fibronectin の誤りです。
(誤) (正)

..... 38 卷 4 号に下記の誤植がありました。お詫びの上、訂正いたします。.....

67 (661) 頁 和文タイトル中

組織科学的ならびに	組織化学的ならびに
免疫組織化学的観察	免疫組織化学的観察
は	の誤りです。

(誤) (正)

日本不妊学会誌

—総合目次—

第39巻 第1号

平成6年1月1日

原 著

微小穿刺法によるラット精細管および精巢上体管における

- ^3H -アンドロゲン経上皮性移行の特異性に関する検討 (英文) 山本雅憲・他 1
- 鼠経部子宮内膜症の一例 (英文) 塩谷雅英・他 6
- 日本人を対象とした精巣容積と精巣機能との関係 白瀧 敬・他 10
- 40歳以上の婦人に対する IVF-ET の成績 山下正紀・他 17
- 機能性不妊症の不育症因子の検討 假野隆司・他 23
- 内分泌不妊外来受診患者に対するホルモンスクリーニング検査の
有用性に関する検討 石原 理・他 32
- Klinefelter 症候群の臨床的検討 天野俊康・他 37
- マウス子宮平滑筋スキンドファイバー標本による細胞内 Ca ストアーの証明 (英文) 金山喜一・他 42
- 高濃度 Ficoll 溶液を用いたウシ精子運動性検査 (英文) 末次恭子・他 46
- 不妊夫婦の血中抗クラミジア抗体 大橋一友・他 49
- 不妊症患者における血清抗 *Chlamydia trachomatis* 抗体の陽性率
——新しい測定法であるヒタザイム法 (ELISA) を用いて—— 山本 弘・他 53
- ウサギ培養卵管上皮細胞のマウス初期胚に対する発育効果 川島夕美 59
- ブタ卵母細胞の体外成熟に及ぼす卵丘細胞の影響 (英文) 亀山祐一・他 66
- 各種 Gonadotrophin および合成 LH-RH の排卵誘起力を指標にした
マウス, ラット, アフリカツメガエル間の鋭敏度の比較 (英文) 信永利馬・他 70
- 子宮内膜症患者における腹水量および性状の検討 西村 弘・他 78
- 抗カドヘリン抗体処置マウス胚の割球接合に関する形態学的研究 (英文) 四谷伊公子・他 84
- 囊胞腎に精管末端部および精囊の囊状拡張を合併した2例 中角尚誉・他 90
- Ca イオノフォアによる先体反応誘起率の減少と体外受精における
受精障害との関係 (英文) ムラト・タシュデミル・他 96
- 男性および女性不妊患者の保有する抗精子抗体と反応する
精子抗原の検出 (英文) イシュク・タシュデミル・他 101
- 地方部会抄録 106

第39巻 第2号

平成6年4月1日

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 127
- 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 132

当科における反復流産患者の臨床統計	山本 弘・他	137
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	144
男子性腺機能低下症に対する治療法の検討	天野俊康・他	149
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	156
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	161
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	166
体重減少性無月経患者に対するLH-RHアナログ(プセレリン), クロミフェン併用療法の試み(英文)	中村康彦・他	171
遺伝子工学によるalpha-fetoproteinの生産	山本 律・他	177
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	183
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	188
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	198
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	204
地方部会抄録		210

第39巻 第3号

平成6年7月1日

原 著

微小穿刺法により測定したラット精巣上体内精子濃度

および一日精子産生能について(英文)	山本雅憲・他	229
マウス卵子の死滅と機械的刺激に見られる特異性	小黒昌夫	233
Pentoxifylline-Percoll液を用いた運動精子回収法の有用性に関する検討	福井敬介・他	239
白血病細胞増殖抑制因子(LIF)のマウス子宮内膜上皮細胞 および胚盤胞に対する影響(英文)	蔡 英美・他	244
未婚または挙児希望の若年性子宮体癌8症例の検討—保存的治療の可能性—	小原満雄・他	250
不妊症への超音波造影剤応用のための基礎的検討	石原 理・他	257
多指標の統計的解析を用いた子宮腺筋症の診断の有効性	太田博孝	261
不妊治療による妊娠例の不妊原因と診療法に関する検討	斉藤正博・他	266
原因不明不妊症における不妊症検査としての腹腔鏡の意義	生田克夫・他	272
漢方薬のハムスター精巣上体培養細胞における蛋白合成促進作用について(英文)	中山貴弘・他	278
Gossypolの精巣中DNA polymeraseに及ぼす影響	砺波博一	283
Gn-RH agonist(buserelin)経鼻噴霧による排卵誘発 —clomid-buserelin併用療法の試み—	竹中 章・他	292
停留精巣術後の妊娠性と精子機能 —Penetrak test, hypoosmotic swelling testによる評価—	川田敏夫	299
豚における抗プロゲステロン製剤, RU486の分娩誘発効果(英文)	金山喜一・他	305
FK-506による同系精巣細胞に対する遅延型過敏反応の調節	坂本泰樹・他	308
マウス脱落膜反応および着床に及ぼす インドメタシンとプロスタグランジンの影響	辻井弘忠・他	314

男性不妊の精子DNAに関する基礎的研究

— Acridine Orange test および Flow cytometry によるヒト精子DNA ヒストグラム — 岡本恭行・他… 322
体外受精・胚移植 (IVF-ET) における排卵誘発法に関する検討

— GnRH agonist long protocol 法と short protocol 法の比較 — …… 福元清吾… 331
加齢の妊孕能に及ぼす影響に関する臨床的・基礎的研究… 森 明人… 338
地方部会抄録 …… 345

第39巻 第4号

平成6年10月1日

原 著

微小穿刺法により測定されたラット精巣上体管内液のナトリウム,

カリウム, および精子濃度 (英文) …… 山本雅憲・他… 363
ウサギの妊娠期における尿中上皮細胞成長因子の変動… 原 洋明・他… 367
運動性無月経による骨塩濃度の減少 (英文) …… 目崎 登・他… 373
原因不明の習慣流産婦人における自然流産組織の染色体異常… 山田秀人・他… 379
hCG療法中に高プロラクチン血症による勃起障害をきたした

低ゴナドトロピン性性腺不全症の1例 …… 太田信隆・他… 383
反復流産患者の各種自己免疫抗体陽性率およびその治療成績… 山本 弘・他… 387
ラットの誘起分娩に及ぼす抗プロジェステロン剤 (RU486) の

単一投与の効果 (英文) …… 梅津元昭・他… 393
子宮内膜症合併不妊婦人における GnRH アナログ療法の有効性の検討… 細川健一・他… 398
当院におけるヒト凍結・融解胚移植周期の成績… 高塚亮三・他… 403

Methotrexate 治療後血中 β -hCG が感度以下になるも

卵管不全流産の転帰をとった一症例 (英文) …… 丸山哲夫・他… 411
hMG-hCG療法後の子宮内外同時妊娠 …… 鄭 俊明・他… 414
IUDの避妊機序に関する免疫学的検討 (英文) …… 秋山芳晃・他… 419
第39回日本不妊学会学術講演会抄録 …… 425

Japanese Journal of Fertility and Sterility

CONTENTS

(Vol. 39, No. 1, 1994)

Originals

- Specificity of Transepithelial Movement of ^3H -Androgen in Rat Seminiferous
and Caput Epididymal Tubules Examined by in Vivo Microperfusion
and in Vivo Micropuncture M. Yamamoto, Y. Tsuji,
H. Hibi & K. Miyake 1
- Endometriosis of the Groin: A Case Report M. Shiotani, Y. Noda, K. Narimoto,
M. Kinoshita, Y. Nanbu,
S. Kanaya & T. Mori 6
- Correlation of Testicular Size with Testicular Function in Japanese Males S. Shirataki,
H. Takihara, K. Kamada, T. Ueno,
K. Ishizu, Y. Baba & K. Naito 10
- Results of In vitro Fertilization in Women Over 40 Years of Age M. Yamashita,
P. Kyong-Rim, K. Morita, M. Nonogaki,
T. Hoshino, N. Okamoto, H. Shimada,
Y. Ono, M. Ikeuchi, E. Takashima
& K. Tatsumi 17
- A Study of Factors Associated with Habitual Abortion in Patients with Unexplained Infertility
..... T. Kano, M. Furudono,
K. Okuyama & M. Ishii 23
- Efficacy of Hormonal Screening Tests for the Patients with Menstrual Disorder or Infertility
..... O. Ishihara, Y. Ihno, M. Saitoh,
S. Takeda & K. Kinoshita 32
- A Clinical Study on Klinefelter's Syndrome T. Amano, S. Tokunaga,
T. Uchibayashi & M. Ohkawa 37
- Detecting the Intracellular Ca Store in Chemically Skinned Uterine Smooth Muscle Fibers in Mice
..... K. Kanayama, K. Nariai, T. Endo,
Y. Sakuma & K. Yabe 42
- Evaluation of Bovine Sperm Motility Using Ficoll Solution in High Concentration K. Suetsugu,
K. Miyazawa, K. Ohsaki, K. Sato,
T. Matsuzawa, S. Matsuzaki & C. Nakano 46
- Serological Diagnosis of Chlamydia Trachomatis Infection in Infertile Couples K. Ohashi,
F. Saji, T. Tomiyama, T. Tsutsui,
O. Tanizawa, M. Horikawa & N. Amino 49
- Prevalence of Serum Anti-Chlamydia Antibodies in Infertile Patients H. Yamamoto,
H. Fukue, S. Mori, Y. Inoue,
T. Kiya, M. Kanaya, M. Fujii,
T. Endo, S. Tanaka & R. Kudo 53

Effects of Cultured Rabbit Oviduct Cells on the Development of Early Mouse embryos	Y. Kawashima	59
Effect of Cumulus Cells on <i>In Vitro</i> Maturation of Pig Oocytes	Y. Kameyama & Y. Ishijima	66
Comparison of Sensitivity of Mice, Rats and <i>Xenopus Laevis</i> to Ovulation-Inducing Gonadotrophins and Synthetic LH-RH	T. Nobunaga, X. Guo & S. Inoue	70
Analysis of Peritoneal Fluid in Women with Endometriosis	H. Nishimura, K. Matsuura, R. Honda, N. Tanaka, T. Kawano, K. Yo & H. Okamura	78
Morphological Studies on Blastomere Binding in Anti-Cadherin Antibody-Treated Mouse Embryos	I. Yotsutani, S. Niimura & K. Ishida	84
Two Cases of Cystic Dilatation of Terminal Vasa and Seminal Vesicles Associated with Polycystic Kidney	H. Nakazumi, I. Maehara, S. Orikasa, A. Hasuda, M. Takahashi & M. Hiramatsu	90
Lack of Calcium Ionophore (A23187) Induced and Inducible Acrosome Reactions Correlates with Fertilization Failure <i>In Vitro</i>	M. Tasdemir, I. Tasdemir, H. Kodama, J. Fukuda, K. Sekine & T. Tanaka	96
Identification of Sperm Antigens Reacting with Antisperm Antibodies in Sera from Infertile male and Female Patients	I. Tasdemir, M. Tasdemir, J. Fukuda, H. Kodama, K. Sekine & T. Tanaka	101

(Vol. 39, No. 2, 1994)

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	127
Gonadotrophin-releasing Hormone Agonist-induced Ovulation in Anovulatory Patients and Their Hormonal Profile	O. Ishihara, Y. Ihno, M. Saitoh, H. Seki & K. Kinoshita	132
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	137
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	144
Hormone Therapy of Male Hypogonadism	T. Amano, S. Tokunaga, T. Uchibayashi & M. Ohkawa	149
Effects of Succinyl Concanavalin A on the Development of Mouse Embryos <i>In Vitro</i> and <i>In Vivo</i>	S. Chida, M. Suzuki & L. Mettler	156
Chlamydial Serology and Laparoscopic Findings in the Infertile Women	M. Obara, M. Tano, K. Yamada, M. Seki, H. Mizunuma & Y. Ibuki	161

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	166
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	171
Production of Recombinant Alpha-Fetoprotein by Genetic Engineering	R. Yamamoto, S. Fujimoto & S. Nishi	177
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	183
Correlation between the Clinical Effects during Treatment with Buserelin and the Prognosis in Endometriosis	Y. Fukuda, F. Sone, M. Ito & S. Tamura	188
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	198
Clinical Effects of Goshajinkigan on Male Infertility — Semen Profile measured by Computer Assisted Semen Analyzer —	M. Ohashi, H. Ishikawa, H. Yanaihara, K. Nakagawa, K. Hayakawa, M. Hata & S. Kaneko	204

(Vol. 39, No. 3, 1994)

Originals

Epididymal Sperm Concentration Determined by Micropuncture Technique and Daily Testicular Sperm Production in the Rat	M. Yamamoto, Y. Tsuji, H. Hibi & K. Miyake	229
Specific Changes Due to Destructive Death and Mechanical Stimulation (Microinjection) in Mouse Ova	M. Oguro	233
The Selection and the Stimulation of Motile Sperm Using Pentoxifylline-percoll Gradients	K. Fukui, Y. Takeda, T. Fujioka, H. Kitagawa, R. Kaura, J. Yano & S. Matsuura	239
Effects of Leukemia Inhibitory Factor on Mouse Uterine Epithelial Cells and Blastocysts	E. Tsai, Y. Goto, M. Shiotani, T. Nakayama, T. Mori & Y. Noda	244
Treatment of Endometrial Carcinoma in Eight Unmarried or Infertile Women 40 Years of Age or Younger	M. Obara, T. Kamizyou, K. Andoh, T. Utsugi, H. Mizunuma & Y. Ibuki	250

Safety of a New Echo-contrast Agent on Early Embryo Development	O. Ishihara, J. Taya, Y. Ihno, M. Saitoh & K. Kinoshita···	257
Evaluation of Multiparametric Analysis in the Diagnosis of Adenomyosis	H. Ota···	261
Statistical Analysis of Pregnant Cases after Treatment Infertility	M. Saitoh, O. Ishihara, Y. Ihno, T. Suno, H. Seki, S. Takeda & K. Kinoshita···	266
Laparoscopy as an Infertility Examination in Cases of Unexplained Infertility	K. Ikuta, N. Suzuki, M. Suzuki, H. Okada, T. Iida, Y. Ozaki, S. Hanada, Y. Yagami, M. Manzai & K. Kaida···	272
Accelerating Effects of Kampo Medicines on Protein Synthesis in Cultured Hamster Epididymal Cells	T. Nakayama, Y. Goto, S. Natsuyama T. Mori & Y. Noda···	278
Effects of the Male Oral Contraceptive Gossypol on Testicular DNA Polymerases in Rat	H. Tonami···	283
An Ovulation Induction in Women with Clomiphen-Citrate-Resistant Amenorrhea by Intranasal Spray of Diluted Gn-RH Agonist (Buserelin) Combined with and without Clomiphen Citrate	A. Takenaka, T. Sudoh, I. Yamade, Y. Takahashi, Y. Noda & H. Soga···	292
Fertility and Sperm Function in Cryptorchidism after Orchiopexy —Evaluation with Penetrak Test and Hypoosmotic Swelling Test—	T. Kawada···	299
Effects of Antiprogesterone Compound RU 486 on Parturition Induction in Pigs	K. Kanayama, K. Nariai, H. Koie, T. Endo, Y. Sakuma & T. Sankai···	305
Regulation of Delayed Type Hypersensitivity to Syngeneic Testicular Cells by FK-506	Y. Sakamoto, T. Matsumoto, Y. Mizunoe, M. Sakamoto & J. Kumazawa···	308
Effect of Indomethacin and Prostaglandins on Decidual Cell Reaction and Embryo Implantation in Mouse	H. Tsujii & M. Moro···	314
A Basic Research for Male Infertility — Acridine Orange Test and Flowcytometric DNA Analysis of Human Sperm —	Y. Okamoto, H. Okada, O. Matsumoto & S. Kamidono···	322
Ovarian Stimulation with Long Protocol or Short Protocol of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist for In Vitro Fertilization	S. Fukumoto···	331
Clinical and Experimental Study on the Aging Effects on Fertility	A. Mori···	338

Originals

Intraluminal Concentrations of Sodium, Potassium, and Sperm in the Rat

Epididymis Examined by In Vivo Micropuncture *M. Yamamoto, H. Hibi & K. Miyake*...363

Changes in Urinary Epidermal Growth Factor during Pregnancy in the Rabbit

..... *H. Hara & S. Sasaki*...367

Decreased Bone Mineral Density in Athletic Amenorrhea *N. Mesaki, M. Motobu & J. Sasaki*...373

A Cytogenetic Study on Abortuses of Recurrent Spontaneous Abortions with Unknown Etiologies

..... *H. Yamada, K. Kakitani, J. Tamaki, T. Koujo,
E. Kato, S. Sudo, T. Sasaki, M. Kanauchi,
S. Makinoda & S. Fujimoto*...379

A Case of Hyperprolactinemia Induced Sexual Dysfunction in the hCG Therapy

Against Hypogonadotropic Hypogonadism *N. Ohta, T. Usami, S. Aruga & R. Ohashi*...383

The Prevalence and Treatment of Recurrent Spontaneous Abortions Caused by Autoimmunity

..... *H. Yamamoto, M. Kanaya, S. Mori,
Y. Inoue, T. Kiya, T. Goto,
M. Fujii, T. Endo & R. Kudo*...387

Effect of a Single Injection of Anti-Progesterone RU486 on Induced Parturition in Rats

..... *M. Umezu, S. Sugawara & K. Hashizume*...393

Efficacy of GnRH Analogue Treatment for Endometriosis Associated with Infertility

..... *K. Hosokawa, Y. Ohno, Y. Fujimoto & H. Okada*...398

The Results of Human Frozen-Thawed Embryo Transfer Cycles in Our Clinic

..... *R. Takatsuka, M. Toyokita, R. Fujinami, S. Nagai,
T. Tsuji, Y. Michikura & O. Kato*...403

Incomplete Tubal Abortion in a Woman with Undetectable Serum β -hCG Level

After Methotrexate Administration *T. Maruyama & S. Nakajima*...411

Heterotopic Pregnancy Following hMG-hCG Treatment for Ovulation Induction

in a Patient with Anovulatory Cycle *T. Tei, T. Kawano, K. Matsuura,
A. Aiko, H. Okamura & C. Seto*...414

Immunohistochemical Analysis of Immunocompetent Cells in Endometria

from Women Using Intrauterine Contraceptive Device *Y. Akiyama & K. Matsumoto*...419

Abstracts 「39th Annual meeting on Japan Society of Fertility and Sterility」425

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 Infertility. 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、校正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 4 号

1994年 9 月 24 日 印 刷

1994年 10 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