

ISSN
0029-0629
CODEN:NFGZAD

JAPANESE JOURNAL OF FERTILITY AND STERILITY

Vol. 40 No.2

April
1995

日本不妊学会雑誌

第40卷 第2号

平成7年4月1日

第40回日本不妊学会総会および学術講演会 (第3回予告)

第40回日本不妊学会総会および学術講演会を下記の要領で開催いたします。会員の皆様の多数のご参加を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
26日(木) 学術講演会、評議員会、総会、総懇親会*
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」
〒996 山形市平久保100番地
TEL 0236-35-3000, 3100 FAX 0236-35-3030
(*役員会・総懇親会はホテルメトロポリタンで行います)

学術講演会

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

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

- I 招請講演
 - 1. 座長：松本清一(名誉会員)
「Contraception - past, present and future」
Prof. Daniel Mishell Jr. (University of Southern California, U.S.A.)
 - 2. 座長：鈴木雅洲(名誉会員)
「Assisted reproductive technology - past, present and future」
Prof. Gianpiero D. Palermo (Cornell University, U.S.A.)
- II 理事長講演 座長：飯塚理八(名誉会員)
「基礎生殖生理学の立場からみた生殖医学の今後の展望」
入谷 明(日本不妊学会理事長、近畿大学教授、京都大学名誉教授)
- III 特別講演 座長：片山 喬(富山医科薬科大学泌尿器科教授)
「男性不妊症の治療—過去、現在、未来」
中田瑛浩(山形大学医学部泌尿器科教授)
- IV 会長講演 座長：青野敏博(徳島大学産婦人科教授、次期会長)
「生殖医療技術の進歩と生命倫理」
広井正彦(山形大学医学部産婦人科教授)
- V 教育講演
 - 1. 座長：森 崇英(京都大学産婦人科教授)
「体外受精・胚移植—成功率向上のために」
斉藤英和(山形大学医学部産婦人科助教授)

2. 座長：森 純一 (北里大学獣医畜産学部教授)

「インヒピンとFSH. 調節」

田谷一善 (東京農工大学農学部助教授)

3. 座長：毛利秀雄 (国立基礎生物学研究所長)

「Cell signaling 機構による精子運動性調節」

森沢正昭 (東京大学理学部教授)

VI シンポジウム

1. 「環境と初期発生」

司会：高橋迪雄 (東京大学農学部教授)

佐藤和雄 (日本大学医学部教授)

基調講演 In vitro development of embryo - past, present and future

Dr. Patrick Quinn (Tarzana Regional Medical Center, U.S.A.)

- 1) 卵管因子と胚発生 南直治郎 (京都大学農学部)
 - 2) activinと胚発生 松山茂実 (東京大学農学部)
 - 3) 細胞間結合と胚発生 北井啓勝 (社会保険埼玉中央病院産婦人科)
 - 4) 胚の環境と成長因子 倉智博久 (大阪大学医学部産婦人科)
 - 5) 胚発育と液性因子 栃木明人 (日本大学医学部産婦人科)
 - 6) 胚の発育環境と着床能 森田 豊 (東京大学医学部産婦人科)
- 追加発言) 細胞質内精子注入卵の初期発生
矢沢浩之 (福島医科大学産婦人科)

2. 「造精機能障害に関する諸因子：基礎と臨床」

司会：奥山明彦 (大阪大学医学部教授)

島崎 淳 (千葉大学医学部教授)

- 1) 精巣上体分泌液中の精子頭部間凝集抑制因子
加藤征史郎 (神戸大学農学部)
原山 洋 (ペンシルバニア州立大学)
 - 2) 鶏精子の運動性調節とタンパク質のリン酸化
芦澤幸二 (宮崎大学農学部)
 - 3) 精子形成に関わる遺伝子 並木幹夫 (大阪大学医学部泌尿器科)
 - 4) 精巣および精巣上体における精路閉塞の造精機能におよぼす影響
山本雅憲 (名古屋大学医学部泌尿器科)
 - 5) 精索静脈瘤による造精障害 布施秀樹 (富山医科薬科大学医学部泌尿器科)
 - 6) 停留精巣の造精機能におよぼす影響
笹川五十次 (山形大学医学部泌尿器科)
 - 7) ヒト受精能に影響する因子 市川智彦 (千葉大学医学部泌尿器科)
- 追加発言) 精巣生検時に観察される精巣内運動精子の存在意義
岩本晃明 (聖マリアンナ医科大学泌尿器科)

VII ワークショップ 「外来における不妊・不育症治療の有効性の評価—up-to-dateな治療指針に向けて」

司会：武谷雄二 (東京大学産婦人科教授)

田中俊誠 (秋田大学産婦人科教授)

1. 男性不妊に対する薬物療法 児玉英也 (秋田大学産婦人科)

2. 男性不妊に対する薬物療法 池本 庸(東京慈恵会医科大学泌尿器科)
3. 無月経の新しい病態分類に基づく治療法
近藤芳仁(横浜市立大学産婦人科)
4. 着床不全の新しい概念とその解析からみた治療法
後藤康夫(京大産婦人科)
5. 子宮内膜症に対する薬物療法, アルコール固定法などの有効性と再評価
深谷孝夫(東北大学産婦人科)
6. 自己免疫陽性不育症に対する治療
高桑好一(新潟大学産婦人科)
7. 習慣流産の免疫療法 林 和彦(聖マリアンナ医科大学産婦人科)

Ⅷ 一般演題

演題申込み資格

講演者(共同発表者を含む)は本学会会員に限ります。会員以外の方は演題申込みと同時に、1995年度会費(8,000円)を納入の上会員になってください。

演題申込み要領

1. 抄録を所定の抄録用紙にタイプまたはワープロでうち、書留郵便にて下記へお送りください。
〒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
TEL 0236-33-1871(直通), または0236-33-1122 内線2263, 2264(医局)
FAX 0236-25-2722
2. 抄録は800字以内, 図, 表はつけないでください。
3. 演題の申込みは一演者一題とさせていただきます。
4. 倫理面を十分に考慮した研究について応募ください。
5. 別紙演題申込書, 受領書, 採用通知書に所定の事項を記入して切手を貼り, 抄録用紙(原本)および抄録用紙のコピー4部とともにお送りください。
6. 申込み締切日: 1995年(平成7年)5月31日(水)(必着)

演題発表方法

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

参加申込方法

学会当日会場にて受け付けます。

学会参加者 8,000円

懇親会費 8,000円

総懇親会は学術講演会2日目の10月26日(木)にホテルメトロポリタン(山形駅に隣接している)で行います。是非ご出席ください。

1995年4月

第40回日本不妊学会

会長 広井正彦

日本不妊学会総会および学術講演会 宿泊・交通・観光のご案内

このたび、山形市において第40回日本不妊学会総会および学術講演会が開催されるにあたり皆様の会期中の宿泊、交通、観光などのお世話を「山交観光株式会社」が担当させて戴くことになりました。『樹氷と紅花の里山形』に皆様をお迎えすることができますことを誠に光栄に存じております。

受入体制には万全を期し、意義あるこの学術集会が成功されますよう、きめ細かな配慮で準備を致しております。

どうぞ多数の皆様がお越し下さいますよう心からお待ち申し上げます。

なお、同時節は秋の観光シーズンのため混み合う時期でもございますのでお早めにお申込み賜りますようお願い申し上げます。

山交観光株式会社

営業本部長 村山武久

記

1. 宿泊・交通・観光等のお問い合わせ先

山交観光株式会社 〒990 山形市香澄町2丁目2番36号 山形センタービル5F

TEL 0236-41-4571 (学会専用) 0236-41-4567 (代表電話)

FAX 0236-41-4573 25-5444

社内担当 販売促進課 日本不妊学会担当(佐藤恵一)

営業時間 9時30分～17時50分(土曜日は15時20分)日祭休業

2. 宿泊ホテルなどは下記の通りです

(料金は1泊朝食付一人当たりの料金です)

地区	施設 区別	施設名(ホテル)	ホテル部屋タイプ		
			シングル	ツイン	ツイン1名使用
山 形 市 内	A	ホテルメトロポリタン 山形グランドホテル ホテルキャッスル	10,300	9,500	15,500
	B	山形ワシントンホテル ホテルリモージュ 山形イン ホテルマーブル	8,800	7,800	12,500
	C	ホテルさくらんぼ グリーントーホク ホテル山形 コンフォートイン山形	7,000 ヨリ	6,000 ヨリ	

※山形市内の施設のみでは、参加される皆様のすべてのご要望にお応えできません。

山形市に隣接して『さくらんぼ、将棋の駒』の天童温泉(会場より車で20分)『温泉城下町』の上山温泉(会場より車で30分)の二つの温泉地がありますのでこれらの温泉地の宿泊施設もご利用いただき、温泉情緒を味わっていただければ幸いです。詳細は次回(40巻3号, 7月発行)のご案内をご覧ください。

支部評議員について

下記435名について、1995年1月1日より1996年12月31日まで支部評議員を委嘱します。本誌面をもって委嘱状と致します。

北海道支部 支部評議員 (17名)

石川 睦男	石島 芳郎	遠藤 俊明	岡部 泰樹
川倉 宏一	菊川 寛	小森 昭	千石 一雄
高橋 芳幸	田中 昭一	丹田 均	野々村 克也
芳賀 宏光	平尾 和義	古屋 聖兒	丸田 浩
山下 幸紀			

東北支部 支部評議員 (40名)

安部 徹良	市川 文隆	一條 貞敏	梅津 元昭
及川 胤昭	太田 博孝	小田 隆晴	利部 輝雄
鍵谷 昭文	片寄 治男	小金 杉浩	木村 正一
木村 行雄	国本 恵吉	児玉 英也	斎藤 英和
斎藤 良治	笹川 五十次	佐藤 章夫	佐藤 和一
鈴木 唯司	田中 俊誠	戸澤 秀夫	中谷 山一
中田 瑛浩	永井 宏子	西谷 俊策	平古 橋信
深谷 孝夫	福島 峰修	藤井 浩之	古矢 嶋裕
前原 郁夫	望月 修威	矢沢 宣弘	和 田 裕
柳 田 薫	吉 田 威	吉 松 宣	

関東支部 支部評議員 (150名)

秋浜 澄行	味香 勝也	天野 久夫	荒木 重雄
荒木 勤	飯田 悦郎	井口 登美子	池本 庸肇
石井 延久	石川 博通	石田 克美	石田 晴夫人
石塚 文平	石橋 晃夫	市川 智彦	伊藤 上正
伊藤 治英	伊藤 雅夫	伊藤 元博	井岩 本晃
今井 強一	岩下 光利	岩田 嘉行	梅田 田隆
上野 精二	植村 次雄	白杵 愠子	梅田 清己
太田 亨	大橋 正和	岡田 詔子	岡野 雅弘
岡田 耕市	冲永 莊一	冲永 尚夫	荻押 尾茂
小倉 久久	長落 合寛	長田 祥生	貝原 山喜
小田 高幸	片山 尚夫	加藤 廣信	金池 三郎
可世子 智之	川名 尚夫	河村 裕春	菊久 慈昭
兼木 下勝	木下 英武	河木 保春	久保 田俊
楠原 浩二	久保 武士		

黒小斎	島柴藤	淳真	子健一	桑小齋	原山藤	慶基	紀昭裕	小坂佐	磯寺元	謙重秀	吉行樹	公小佐	平林賀	昭善正	男宗彦
佐々	木村岡	良	茂勝	佐塩杉	藤塚村	孝幸	道彦	始鈴高	元藤関	吉秋輝	威生悦	佐白須	賀藤須	正芳和	彦昭裕
澤末関	岡	守理	浩利	高田田	波口崎	和真	男治	鈴高竹	木橋内	久政清	雄彌晴	高竹	藤山田	寛雅	人臣省
多武辰	賀田巳	佳賢	吉彦一	田田堤	中居村	憲	寛一	田田柄	島辺木	明真	男佐	田豊中	原山田	隆正	三治一人
田土永	橋田岸	一一	慶郎	中新野	村口	光末	生雄	中西野	野島澤	正志和	博朗	中西野	山田嶽	孝正	正也
根信広	永利川	利	治馬	畑福牧	谷野本	和俊	美夫	林藤松	井島浦	儔正	彦子	林古松	畑田沼	幸方	彦史樹
星松三	野本橋	茂英	夫亜	松箕和	田追野	恒	久泰	三村柳	井沼田	一一	浩陽	水目矢	崎中田	兆英	登忠
森安山	水本村	直宏	樹之彦	矢矢横	山妻	良	滋正	村柳山	沼田	一	郎	山吉	恒英	謙	壽一郎
吉		皓泰	典	我		峯	介堯	山吉	沢		緑				

中部支部 支部評議員 (27名)

浅押米	井木谷	光貞	興雄	阿風澤	曾戸田	佳貞	郎之夫	生河菅	田上沼	克征信	夫治彦	今川鈴	井村置	篤壽洋	志一三
鈴名藤	木出井	正頼	男利	鈴成	森田橋	富	薰収	菅辻野	井口谷	弘昌	忠良彦	豊花水	田野	長征	康治一郎
山	本	信稔	吾彦	正余	語	鉄郁	夫	水吉	川	文	彦			金	

北陸支部 支部評議員 (24名)

赤飯岡	祖父田	一和謙	知質一郎	天泉風	野間邑	俊陸泰	康一藏	新打加	居林藤	忠	隆雄修	荒大小	木川辻	克光文	己央和三
高南舟	林後本	晴千	夫秋寛	高長松	谷川田	昌真春	輔常悦	千平美	鳥野川	哲章	也治夫	津布山	川施田	龍秀	樹良

関西支部 支部評議員 (82名)

足岩植大岡奥加岸沢新高竹寺野平細松宮森山脇	高動木西田山藤本田倉中地村井田崎川辺本	善孝一実之裕明征史武勉三章敏光美公和晋	彦一郎 彦之彦 彦史利勉三章郎生彦志典肇吾	彦一郎 彦之彦 彦史利勉三章郎生彦志典肇吾	生市後大萩小假後繁杉高辻並羽堀松宮森山渡	駒山川橋田倉野藤田並崎木間岡井本本元辺	文尚一幸啓隆康 芳幹 正泰 紀義貴榮	彦雄久友雄司夫実洋登之夫稔恒樹修男晴雄三	石伊内岡奥寛亀佐七鈴高都西橋藤堀三村安山	川藤海田田治里木島竹川村原越宅上本本	元恭伸喜善文泰英孝順亮	春裕三俊司行隆正瞭世理潔幸浩彦侃旭二宝	石井梅岡奥片神眞島泰竹角野濱星本三望山矢	田上咲田野山崎田井内田田合庄宅月田本	欣直 和秀俊博俊秀幸洋和英正眞雅希	章也彦弘博明陽吾基造雄一孝吳雄史人保夫
-----------------------	---------------------	---------------------	-----------------------	-----------------------	----------------------	---------------------	--------------------	----------------------	----------------------	--------------------	-------------	---------------------	----------------------	--------------------	-------------------	---------------------

中国四国支部 支部評議員 (49名)

石上大鎌己高瀧寺中堀宮山吉	部田橋田斐田原川間内川野田	知一輝正秀元博直實俊征修信	行之久晴豊敬史樹徳孝男司隆	伊上大川河高竹寺中松森湯	東田濱田野橋内田村浦岡浅	武克紘清一健太郎文登彦平之誠	久憲三弥郎 太郎 文登彦平之誠	稲碓岡北神高田内原松森湯	井井谷川保橋中藤田下下原	徹亜二之春壽幹輔省彦一高	裕博利久啓克光正	今内香工菅高寺奈藤見矢横	橋田川藤柳内賀田尾野山	經昭 尚徹 弘 幸保樹雅	任弘征文行真知脩利幸理好
---------------	---------------	---------------	---------------	--------------	--------------	----------------	-----------------	--------------	--------------	--------------	----------	--------------	-------------	--------------	--------------

九州支部 支部評議員 (46名)

井口厚司	池田友信	伊是名博之	市丸俊三
------	------	-------	------

忠毅弘浩保彦裕郎樹人
好俊一通正雅国正明
井岡藤内枝村崎嘉施
大金後竹戸中野比布森
一彦幸之輝雄正一一二
鴻英弘博知仁廉正隆康
丸桐池川田野富田野崎
王片小田津中納浜姫宮
史一一敏幸勉美郎孜勇夫
隆敏淨正信由八木德
宮上澤野中地田喜田尾氣
津宇尾熊佐田堂詠秦肥松和
晃夫昭郎温平弘士弘明明
成幸秀哲廉雅進政英道
永田野本中成村田崎
岩長川佐久田友中野東增藥師寺

会 告

平成7年度日本不妊学会学術奨励賞について

日本不妊学会雑誌第39巻1～4号に掲載された原著論文で、その筆頭著者が掲載時に満40歳以下である論文を対象に、平成7年度日本不妊学会学術奨励賞の推薦を受付けます。

推薦資格は、本学会の理事、評議員、大学教授、学会誌レフリーに限り、所定の書式による推薦は平成7年4月末日まで受付けます。

予備選考委員会および選考委員会で推薦された論文の中から3編の授賞論文を決定します。筆頭著者には「(社)日本不妊学会学術奨励賞」賞状と副賞として各々に「日本不妊学会オルガノン学術奨励賞」賞状および記念品、学術奨励金50万円を授与します。

推薦は、本誌に綴じ込んだ所定の書式をご利用いただくか、または日本不妊学会事務局へご請求下さい。記載内容についてご不明の点は、日本不妊学会事務局へお問い合わせ下さい。

(記載内容)	論文名	掲載された	巻号頁	筆頭著者氏名と生年月日
	推薦理由	推薦者の署名捺印		

推薦は、平成7年4月30日(土)までに(社)日本不妊学会事務局へお送り下さい。(消印有効)
(お問い合わせ・書式請求・推薦書送付先)

〒102 東京都千代田区麴町5-4 クロスサイド麴町ビル8階
(社)日本不妊学会事務局
TEL 03-3288-7266 (ファクシミリ兼用)

日本不妊学会学術奨励賞推薦書

日本不妊学会理事長 殿

下記の論文を日本不妊学会学術奨励賞に推薦いたします。

(論文名)

日本不妊学会雑誌 第39巻 号 ~ 頁(平成6年 月)

(筆頭著者氏名 生年月日)

生年月日： 年 月 日

(推薦理由)

平成 年 月 日

推薦者所属・現職

氏名

印

日本不妊学会誌

第40巻 第2号

平成7年4月1日

—目 次—

原 著

- 臨床的に触知しない精索静脈瘤は治療すべきか? (英文)山本・他 1
- 抗癌剤による精子形成能障害に対するカリクレインの治療効果南部・他 5
- 受精障害不妊患者に対する Subzonal Sperm Insemination (SUZI) の治療成績三宅・他12
- 精巢上体精子による体外受精の成績に關与する臨床的因子について福田・他17
- 凍結保存ヒト卵管上皮細胞を用いた初期胚の共培養菅野・他23
- 卵巢過剰刺激症候群の発症時における血液凝固, 線溶
およびkinin系活性化の経時的推移とその相互關係武田・他30
- マウス2細胞胚の凍結法についての検討
—特に, 凍結保護剤, 非透過性耐凍剤について—董・他36
- 体外受精における卵管留水腫の影響輕部・他41
- 子宮外妊娠治療後の妊孕性の検討—過去7年間の症例から—河野・他45
- 静磁場 (2.1 Tesla) のマウス初期胚発生に及ぼす影響菅野・他50
- 男子不妊症における精巢容積の意義について内島・他55
- 完全型精巢性女性化症の1例望月・他63
- 多嚢胞卵巢症候群におけるGnRHアゴニスト併用
排卵誘発法 (short protocol) の有用性 (英文)藤本・他67
- ARTプログラムにおける採卵日固定刺激法の効果について安部・他71
- 男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績—妊娠例と非妊娠例の比較—石田・他76
- ダナゾールおよびエストロゲン投与による
von Willebrand因子血中レベルへの影響 (英文)福岡・他80
- 酵素免疫測定法を用いた卵胞液中の組織
プラスミノゲンアクチベーターの定量に関する研究李・他85
- 超音波カラードプラ法による精索静脈瘤症例での精巢血流動態の検討渡辺・他90
- 新構造の卵管鏡システムを用いた卵管形成法の操作技術と適応についての考察末岡・他98
- hCG値による不育症の早期診断の試み假野・他104
- 地方部会講演抄録110

Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 40, No. 2, 1995)

Japan Society of Fertility and Sterility

CONTENTS

Originals

- Should Subclinical Varicocele be Repaired? *M. Yamamoto, Y. Tsuji,*
H. Hibi & K. Miyake 1
- Effect of Kallikrein on the Recovery of Spermatogenic Damage
Induced by Anti-cancer Agent *A. Nambu, Y. Kumamoto & S. Saitoh* 5
- Subzonal Sperm Insemination (SUZI) in the Treatment for Patients
with Failed Fertilization In Vitro *T. Miyake, Y. Sato, S. Ohsawa,*
K. Hata & Y. Mochizuki 12
- Clinical Factors Related to Success Rate of In vitro Fertilization
with Epididymal Spermatozoa *J. Fukuda, H. Kodama, T. Matsui,*
Y. Shimizu, H. Karube & T. Tanaka 17
- Use of Frozen-thawed Human Oviduct Epithelial Cells for Co-culture of Early Embryos
..... *Y. Kanno, K. Hoshi, H. Katayose,*
R. Suzuki & A. Sato 23
- Blood Coagulation, Fibrinolytic and Kinin Forming Systems
in Ovarian Hyperstimulation Syndrome *S. Takeda, H. Kodama,*
J. Fukuda, M. Maki 30
- A Study on Cryopreservation Procedures of Mouse 2-cell Embryos
..... *X. Dong, T. Uemura, R. Yatsushashi,*
H. Hori & H. Minaguchi 36
- The Influence of Hydrosalpinx on In vitro Fertilization and Embryo Transfer
..... *H. Karube, H. Kodama, J. Fukuda,*
T. Matsui, Y. Shimizu & T. Tanaka 41
- Reproductive Outcome Following Treatment for Ectopic Pregnancy
— A 7-year experience — *T. Kawano, K. Matsuura, N. Tanaka,*
J. Iwamasa, Y. Ikuta,
H. Tashiro & H. Okamura 45
- Effects of Static Magnetic Fields (2.1 Tesla) on the Early Mouse
Embryos Development In Vitro *K. Kanno, K. Hoshi & A. Satou* 50
- Significance of Testicular Volumes in Infertile Patients *Y. Uchijima & Ken-Ichiro Yoshida* 55
- A Case of Complete Testicular Feminization Syndrome *O. Mochizuki & Toshihiko Matsui* 63
- Effect of Short-Term Gonadotropin Releasing Hormone Agonist Protocol
in Polycystic Ovary Syndrome *Y. Fujimoto, Y. Ohno,*
K. Hosokawa & H. Okada 67

Effectiveness of the Fixed Stimulation Regimen of ART-Programs	<i>Y. Abe, H. Ikenaga, H. Nakano, Y. Sasabe, Y. Katagiri, K. Masaki, Y. Yano, M. Morita, H. Kubo & S. Hirakawa</i>	71
Operative Results of Varicocele in Infertile Men — Comparative Study between Pregnant and Nonpregnant Cases —	<i>A. Ishida & T. Tomoyoshi</i>	76
Short-Term Oral Administration Effects of Danazol and Estrogens on the Von Willebrand Factor	<i>H. Fukuoka & M. Higurashi</i>	80
Determination of Tissue Plasminogen Activator Antigen Using Enzyme Immunoassay	<i>H. Lee, Y. Matsuda, S. Akihama, T. Mukaida & T. Otake</i>	85
Studies on Testicular Blood Flow in Varicocele Patients Using Ultrasound Color Doppler Method	<i>K. Watanabe, K. Funabashi, K. Kobashigawa, T. Kataoka, M. Watanabe & H. Yoshida</i>	90
Considerations for the Manipulating Technique and Its Indications of Falloposcopic Tuboplasty (FT)	<i>K. Sueoka, T. Kobayashi, H. Asada, T. Hashiba, N. Kuji, T. Miyazaki & S. Nozawa</i>	98
Early Diagnosis of Habitual Abortion by Serum hCG Levels	<i>T. Kano, M. Furudono, K. Okuyama & M. Ishii</i>	104

SHOULD SUBCLINICAL VARICOCELE BE REPAIRED ?

Masanori YAMAMOTO, Yoshikazu TSUJI, Hatsuki HIBI
and Koji MIYAKE

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

Abstract: To assess the fertility after varicocelectomy in men with subclinical varicocele, we undertook a retrospective study of the effectiveness of surgery in 49 infertile men with clinical and subclinical varicoceles. Twenty-five of the varicocele were diagnosed clinically in group 1. In 24 men, the varicocele was diagnosed by infra-red thermography, with no varicocele detectable clinically, subclinical varicocele (group 2). Sperm density and motility improved significantly in group 1. There was significant improvement in the sperm density in group 2, but motility did not reach the level of statistical significance in this group. Nine (36 %) of 25 patients in group 1 and 2 (8 %) of 24 men in group 2 managed to impregnate their partners. This difference was statistically significant. These data suggest that correction of subclinical varicoceles appear to improve sperm density, but whether pregnancy rates are improved is yet to be determined. Our opinion is that subclinical varicocele should not be treated.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 141 - 144, 1995)

Introduction

Clinical studies and laboratory research have provided convincing evidence that varicoceles have detrimental effect on spermatogenesis. There are many unresolved clinical questions related to varicocele. One of the first is that should subclinical varicoceles be diagnosed and treated? After Dubin and Amelar¹⁾ reported that varicocele size does not correlate with testicular pathology, attempts are being made to identify and treat reflux in infertile men without clinically evident varicocele. The scrotal thermography has been advocated to help diagnose subclinical varicocele.

Recently, subclinical varicoceles have attracted attention. Bsath found that the results from repair of subclinical varicoceles were inferior to the results of the repair of clinical varicoceles as determined by sequential semen analysis²⁾. On the other hand, Dhabuwala et al. reported that varicocelectomy, in infertile men with subclinical varicocele, leads to fertility in 50 % of the patient population as compared with 47 % in clinical varicocele group³⁾. The data remain conflicting to support the concept

that subclinical varicocele has an effect on male infertility. Therefore, we undertook a prospective study to assess the fertility after varicocelectomy in men with subclinical and clinical varicoceles.

Materials and Methods

The charts of 49 patients seen in our infertility clinic were retrospectively reviewed. All these men were evaluated with history, physical examination, including palpation of scrotum in upright position while performing Valsalva maneuver. Infra-red thermography of the scrotum was done with patient upright, with frontal, left anterior, and right anterior oblique projections from a distance of 60 cm (sensitivity of instrument: 0.5 °C and 1 °C). To avoid incorrect thermographic measurements, the penis was taped to the abdominal wall and the genital region was exposed to room temperature for 10 minutes. The scrotal temperature distribution patterns of the two sides were compared, and the intensity and extension of hyperthermia were measured. Testicular scintigraphy was not performed. We defined subclinical varicocele as the varicocele detected by scrotal thermography only, in

Table 1 Effect of varicocelectomy on semen parameters*

	Sperm density		Motility [#]		Morphology ⁺	
	Preope	Postope	Preope	Postope	Preope	Postope
	× 10 ⁶ /ml		%		%	
Clinical (34.9°C)	16.6±3.7	27.2±5.2	22.7±2.9	34.3±3.3	42.1±3.5	43.7±2.1
Subclinical (32°C)	15.1±3.9	22.2±6.6	20.6±3.4	25.6±3.9	36.2±5.1	34.2±4.1

* Values are means ± SEM.

[#] Percent of forward progressive.

⁺ Percent of normal forms.

Parenthesis represents mean left scrotal temperature.

which no varicocele was found on clinical examination. The laboratory workup included determination of serum testosterone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone values. At least three semen samples were obtained within 4 months preoperatively and from 3 months to 1 year postoperatively. All the patients underwent high ligation of the internal spermatic vein.

The significance of postoperative seminal data changes was analyzed by Wilcoxon signed-rank test. Chi square test was used to compare the pregnancy rate in clinical and subclinical groups.

Results

Of the 49 patients who underwent varicocelectomy, 25 had varicocele identified by clinical examination (group 1), and 24 had varicocele identified by thermography only (group 2). The mean age for group 1 was 35.73 years; for group 2 it was 34.29 years (no statistically significant difference). The infertility period for group 1 ranged from 3 to 8 years; for group 2 it ranged from 3 to 5 years.

The mean left scrotal temperature in clinical varicocele group was significantly higher than that in subclinical varicocele group ($p=0.02$) (Table 1). The semen parameters in each group of patients before and after varicocelectomy are given in Table 1. There was significant improvement in sperm density ($p=0.005$) and motility ($p=0.0001$) in the clinical group (Table 1). However, normal morphology was not statistically significant in this group. Although sperm density was significantly increase ($p=0.028$), changes in motility and normal morphology were not

Table 2 Clinical outcome

Group	Pregnancy		%
	+	-	
Clinical (n=25)	9	16	36
Subclinical (n=24)	2	22	8

significantly improved in the subclinical group (Table 1).

Only pregnancies occurring within 2 years after operation were considered as treatment related. There were 36 % impregnations in the clinical group, but only 8 % pregnancies were recognized in the subclinical group (Table 2). This difference was statistically significant ($p<0.05$).

Discussion

Varicocele is a common cause of male infertility. There are many theories as to the mechanism of varicocele formation. The right angle insertion of the gonadal vein into the renal vein and incompetent or absent valves appear to be the most important factors causing a varicocele. Surgical correction, nevertheless, has become one of the few effective treatments of infertile men with varicocele⁴.

High ligation of subclinical varicocele has shown an improvement in fertility⁵. Because convincing evidence exists to demonstrate that the size of a varicocele does not correlate with testicular and seminal pathology⁴, a subclinical varicocele detected by the scrotal thermography may have detrimental effect on the spermatogenesis. Dhabuwala et al. reported that 81 % of patients with subclinical varicocele showed improvement in their semen parameters³. McClure et al. attempted to address the question of whether correction of subclinical varicoceles provides any benefit to the infertile male⁶.

They concluded that the detection and treatment of subclinical varicoceles may be warranted in infertile men with abnormal semen parameters⁶⁾. Conversely, a lack of corrective effect also has been reported. Bsat and Masabni compared the effectiveness of surgery in varicoceles diagnosed by physical examination and those evident only on Doppler studies²⁾. Of 112 patients treated for clinical varicoceles 85 % had improved semen parameters, while only 27 % of 15 patients with subclinical varicoceles improved²⁾. In our present study, varicocelectomy in the patients with subclinical varicocele showed very low pregnancy rate as compared with that in the clinical varicocele group. This finding is consistent with reports by Bsat et al.²⁾ and Yarborough et al.⁷⁾. Scrotal thermography is known to produce false-positive results⁸⁾. It may be possible that the poor results in subclinical varicocele could be because of false-positive results of the diagnostic modality used to detect the subclinical varicocele. For this reason, the routine use of scrotal thermography in the infertile man with a nonpalpable varicocele can not be advocated.

Most of the studies on treatment of subclinical varicocele^{6,7,13)} have reported on the changes in the semen parameters. In our patients with subclinical varicocele, sperm density improved significantly after varicocele correction. However, no improvement in the motility was demonstrated. The pregnancy rate in the patient with subclinical varicocele was only 8 %. These findings are contrary to other reports^{18~21)}. Operation for subclinical varicocele appears to offer little benefit in regard to pregnancy rate.

In conclusion, on the basis of this study, the detection and correction of subclinical varicoceles appear to improve sperm density, but whether pregnancy rates are improved is yet to be determined. Our opinion is that subclinical varicocele should not be treated and thus, diagnosis of subclinical varicocele by scrotal thermography may increase unnecessary operation for varicocele.

References

- 1) Dubin I, Amelar RD, Varicocele size and results of varicocelectomy in selected subfertile men

- varicocele. *Fertil Steril* 21: 606, 1970
- 2) Bsat FA, Masabni R, Effectiveness of varicocelectomy in varicoceles diagnosed by physical examination versus Doppler studies. *Fertil Steril* 50: 321, 1988
- 3) Dhabuwala CB, Hamid S, Moghissi KS, Clinical versus subclinical varicocele: improvement in fertility after varicocelectomy. *Fertil Steril* 57: 854, 1992
- 4) Greenburgh SH, Varicocele and male infertility. *Fertil Steril* 28: 699, 1997
- 5) Comhaire F, Montenyne R, Kunnen M, The value of scrotal thermography as compared with selective retrograde venography of the internal spermatic vein for the diagnosis of subclinical varicocele. *Fertil Steril* 27: 694, 1976
- 6) McClure RD, Khoo D, Jarvi K, et al., Subclinical varicocele: effectiveness of varicocelectomy. *J Urol* 145: 789, 1991
- 7) Yarborough MA, Burns JR, Kellar FS, Incidence and clinical significance of subclinical scrotal varicoceles. *J Urol* 141: 1372, 1989
- 8) Hamm B, Fobbe F, Sorensen R, et al., Varicoceles: combined sonography and thermo-graphy in diagnosis and posttherapeutic evaluation. *Radiology* 160: 419, 1986
- 9) Narayan P, Amplatz K, Gonzalez R, Varicocele and male subfertility. *Fertil Steril* 36: 92, 1981
- 10) Marsman P, Clinical versus subclinical varicocele: venographic findings and improvement of fertility after embolization. *Radiology* 155: 635, 1985
- 11) Tinga DJ, Jager S, Bruijnen CLAH, et al., Factors related to semen improvement and fertility after varicocele operation. *Fertil Steril* 41: 404, 1984
- 12) Lewis RW, Harrison RM, Diagnosis and treatment of varicocele. *Clin Obstet Gynecol* 25: 501, 1982
- 13) Comhaire FH, Kunnen M, Factors affecting the probability of conception after treatment of subfertile men with varicocele by transcatheter embolization with bucrylate. *Fertil Steril* 43: 781, 1984

臨床的に触知しない精索静脈瘤は 治療すべきか？

名古屋大学医学部泌尿器科教室

山本雅憲 辻 克和 日比初紀
三宅弘治

臨床的に触知しない精索静脈瘤に対する根治手術の妊孕性に及ぼす影響を検討する目的で、49名の精索静脈瘤患者に対する手術療法の有効性を検討した。25名が臨床的な精索静脈瘤と診断され、これをグループ I

とし、24名が触診では明らかではないが、赤外線サーモグラフィーにより発見された精索静脈瘤と診断され、これをグループ2とした。グループ1では、術後精子濃度と運動率が有意に改善した。グループ2では、精子濃度は有意に改善したものの、運動率の有意な改善は認められなかった。妊娠率は、グループ1で36%であるのに対し、グループ2ではわずかに8%であった。この妊娠率の差は統計学的に有意であった。以上の結

果より、赤外線サーモグラフィーのみで診断される、臨床的に触知し得ない精索静脈瘤に対する手術療法は、精子濃度を改善させるものの妊娠率の向上にはつながりにくいことが示唆される。

従って、臨床的に触知しない精索静脈瘤は手術すべきではないと思われる。

(受付：1993年10月20日)

(受理：1994年3月2日)

抗癌剤による精子形成能障害に対するカリクレインの治療効果

Effect of Kallikrein on the Recovery of Spermatogenic Damage Induced by Anti-cancer Agent

札幌医科大学医学部泌尿器科学教室

南部 明民 熊本 悦明 斎藤 誠一

Akihito NAMBU

Yoshiaki KUMAMOTO

Seiichi SAITOH

Department of Urology, Sapporo Medical University

School of Medicine, Sapporo 060, Japan

実験的に精子形成能障害精巣を作成し、カリクレインによる精子形成能障害からの回復促進効果を検討した。

ラットにadriamycinを投与し、障害精巣を作成した。このモデルに対し対照群(生理食塩水)、カリクレイン5 IU/kg投与群、カリクレイン50 IU/kg投与群を設定した。

1 割面に占める障害された精細管の割合では、4週後では対照群で $6.76 \pm 1.88\%$ 、カリクレイン5 IU/kg投与群では $6.02 \pm 2.24\%$ 、カリクレイン50 IU/kgでは $5.35 \pm 2.28\%$ と3群間に有意な差はみられなかった。6週後、8週後においても有意差を認めなかった。

抗PCNA抗体を用いた精子形成能でのDNA合成能の検討結果では、4週後での比較では有意な差を認めなかったものの、6週後では対照群で 2.63 ± 0.34 に対し、カリクレイン50 IU/kg投与群では 3.31 ± 0.34 と有意($p < 0.05$)に障害からの回復促進効果を認めた。さらに8週後では対照群で 2.80 ± 0.41 に対し、カリクレイン5 IU/kg投与群で 2.82 ± 0.33 、カリクレイン50 IU/kg投与群では 3.40 ± 0.37 でここでも有意($p < 0.05$)にDNA合成能の回復を認めた。

カリクレインはadriamycinによる精子形成能障害に対し、その回復を促進する効果があると考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 145 - 151, 1995)

緒 言

我々はカリクレインの精子形成能に対する作用について検討してきた^{1,2)}。その結果カリクレインが男子生殖器において精巣のSertoli細胞、精巣上体の上皮細胞、前立腺の腺細胞中に存在することを、さらにカリクレイン投与によりラット精巣の血流増加作用があることを報告した。

今回はこの一連の研究として、抗癌剤による精子形成能障害に対して、カリクレインによる血流改善効果が精子形成能障害の回復にどの程度の治療効果を示すものか、実験的に検討したので報告する。

対象および方法

1) 実験動物、投与薬剤

実験動物としては7週齢のSprague-Dawley系雄ラットを用いた。

精子形成能に障害を与える薬剤として抗癌剤であるadriamycinを使用した。

使用したカリクレインはブタ膵カリクレイン、すなわちカリジノゲナーゼの水溶液として日本医薬品工業株式会社より供給を受けたものを使用した。カリジノゲナーゼ100 IU/vial中の平均活性は102.5 IU/vialであった。

2) 実験スケジュール

実験のスケジュールはFig.1に示したように、まずadriamycin 0.5 mg/kgを週3回、3週間連続腹腔内投

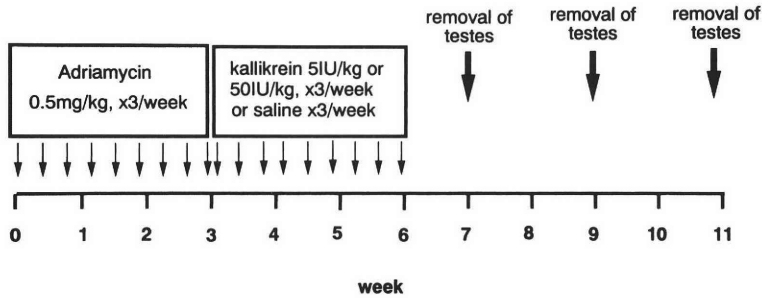


Fig.1 Experimental schedule

与し、一過性の精子形成能障害精巣を作成した。Adriamycin投与終了時点、すなわちadriamycin投与開始後3週目より、対照群(生理食塩水投与群)、カリクレイン5 IU/kg投与群、カリクレイン50 IU/kg投与群と3群に分け、週3回、3週連続腹腔内投与を行った。以降、adriamycin投与終了時点から4,6,8週目に屠殺して精巣、副性器を採取した(Fig.1)。

3) 組織学的所見

精巣の精子形成能障害度の判定としては全体の障害度の把握のため、1剖面あたりに観察されたすべての精細管のうち、障害を受けた精細管の割合を算出した。ここで障害は、1精細管あたりの精細胞数が、ラットでの正常精巣組織での50%以下に低下したものとした。

さらに詳細に検討するため、精子数を反映する精細管内の先体系(acrosomal相)の精子細胞(spermatid)数を、その精細管におけるSertoli細胞数で除した値を100精細管について数え、1精細管あたりの平均値を算出した。

4) 精子形成におけるDNA合成能の検討

また精子形成におけるDNA合成能を評価する目的で抗proliferating cell nuclear antigen (PCNA)抗体を用い、精祖細胞(spermatogonia)、精母細胞(spermatocyte)でのS期の細胞をavidin-biotin peroxidase complex (ABC)法にて免疫組織染色し、染色された細胞数を算定した。抗PCNA抗体はDAKO社製、また免疫組織染色はVector社製ABCキットを使用した。精細管は20個を選択し、その平均値で検討した。

結 果

1) 障害精巣の組織所見

Fig.2に示したようにadriamycin 0.5 mg/kgを週3回、3週間連続投与により、著しい精子形成障害が惹起されていた。多くの精細管では顕著な精細胞数の低下が認められた。また精細胞の脱落現象(sloughing)

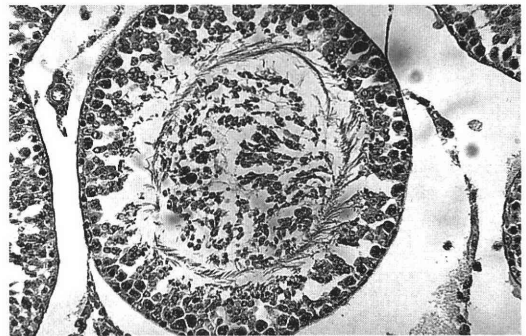


Fig.2 Histological finding of rat testis 3 weeks after administration of adriamycin 0.5 mg/kg, x3/week (x250)

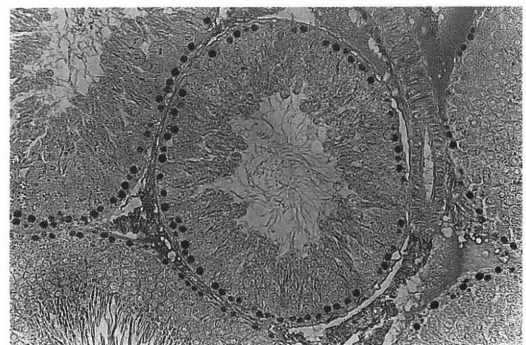


Fig.3 Immunohistochemical staining of rat testis by using antibody against PCNA (x250)

を示した精細管も観察された。

抗PCNA抗体によりDNA合成期(S期)にあった精祖細胞、精母細胞が精細管において均一に染色された(Fig.3)。

2) カリクレインの精巣重量に対する影響

精巣重量は体重比で検討し、その所見をFig.4にまとめた。Adriamycin投与終了後4週目では、対照群

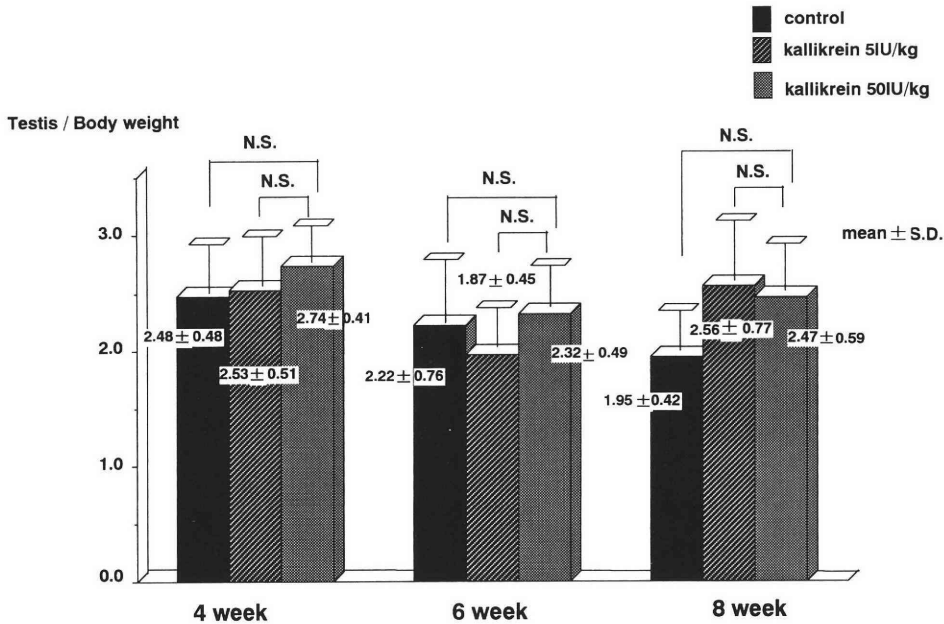


Fig.4 Change of Testis / Body weight

が 2.48 ± 0.48 、カリクレイン 5 IU/kg投与群で 2.53 ± 0.51 、カリクレイン50 IU/kg投与群で 2.74 ± 0.41 と3群間に有意な精巣重量回復はみられなかった。次の6週後では、同様に対照群で 2.22 ± 0.76 に対し、カリクレイン 5 IU/kg投与群で 1.97 ± 0.45 、カリクレイン50 IU/kg投与群で 2.32 ± 0.49 と有意差 ($p < 0.05$) を認めなかった。さらに8週後でも対照群の 2.56 ± 0.77 に対し、カリクレイン 5 IU/kg投与群で 1.97 ± 0.45 、カリクレイン50 IU/kgで 2.47 ± 0.57 とやはり精巣重量回復の有意な差は得られなかった (Fig.4)。

なお、データは示さないが副性器 (前立腺、精巣上体、精囊腺) の重量比較でも4週後、6週後、8週後ともに有意な差はなかった。

3) カリクレインの精子形成能障害回復への影響

カリクレインが精子形成能障害の回復にどの程度促進的な効果があるか、病理組織学的に検討した。組織標本上の精巣の1割面に観察される障害された精細管の割合を検討した。Adriamycin投与終了4週後では対照群で $6.76 \pm 1.88\%$ 、カリクレイン 5 IU/kg投与群では $6.02 \pm 2.24\%$ 、カリクレイン50 IU/kgでは $5.35 \pm 2.28\%$ であり、 $p = 0.21$ と3群間に有意な差はみられなかった。6週後では対照群で $5.91 \pm 1.09\%$ に対し、カリクレイン 5 IU/kg投与群では $6.10 \pm 1.11\%$ であり、カリクレイン50 IU/kg投与群では $4.49 \pm 0.84\%$ と減少傾向を示したものの有意な差は認めなかった ($p = 0.14$)。8週後では対照群で $2.78 \pm 0.91\%$ に対し、カ

リクレイン 5 IU/kg投与群で $3.43 \pm 0.93\%$ 、カリクレイン50 IU/kg投与群では $1.90 \pm 1.01\%$ であり、ここでも減少傾向を示したものの有意差を認めなかった ($p = 0.11$) (Fig.5)。

4) 先体系精子細胞数/Sertoli細胞数の比較

次に、より詳細な検討として、精子数を直接反映する、先体系精子細胞数/Sertoli細胞数の比較を行った。4週後では対照群で 1.37 ± 1.88 、カリクレイン 5 IU/kg投与群では 1.72 ± 0.26 、カリクレイン50 IU/kg投与群では 1.70 ± 0.45 と3群間に有意な差を認めなかった ($p = 0.23$)。6週後では対照群で 1.92 ± 1.26 に対し、カリクレイン 5 IU/kg投与群では 2.11 ± 0.33 、カリクレイン50 IU/kg投与群では 2.09 ± 0.47 と有意な差は認めなかった ($p = 0.17$)。8週後では対照群で 1.92 ± 1.26 に対し、カリクレイン 5 IU/kg投与群 2.30 ± 0.40 、カリクレイン50 IU/kg投与群では 2.27 ± 0.38 で有意差を認めなかった ($p = 0.16$) (Fig.6)。

5) 精子形成過程におけるDNA合成能の変化

抗PCNA抗体を用いた精子形成過程でのDNA合成能の検討では、抗PCNA抗体にて標識された精細胞/Sertoli細胞数の4週後での比較では対照群で 2.42 ± 0.68 、カリクレイン 5 IU/kg投与群では 2.40 ± 0.85 と有意な差を認めなかったものの、カリクレイン50 IU/kg投与群では 3.31 ± 0.34 と有意 ($p < 0.05$) に上昇していた。6週後では対照群で 2.63 ± 0.34 に対し、カリクレイン 5 IU/kg投与群では 2.75 ± 0.21 と差はなかった。

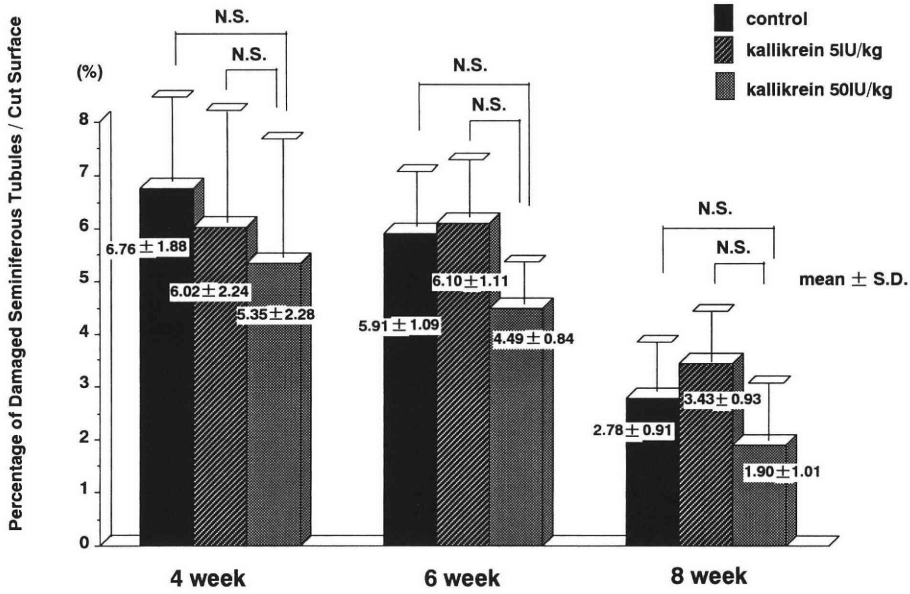


Fig.5 Percentage of Damaged Seminiferous Tubules / Cut Surface

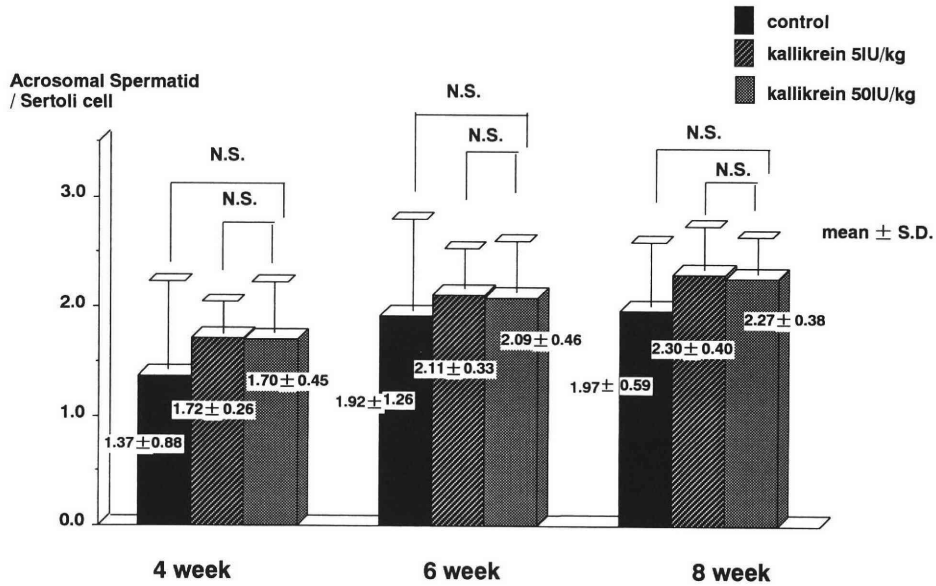


Fig.6 Change of Acrosomal Spermatid / Sertoli cell

カリクレイン 5 IU/kg投与群では 3.31 ± 0.34 と有意 ($p < 0.05$) に障害からの回復促進効果を認めた. さらに 8 週後では対照群で 2.80 ± 0.41 に対し, カリクレイン 5 IU/kg投与群で 2.82 ± 0.33 , カリクレイン 50 IU/kg投与群では 3.40 ± 0.37 でここでも有意 ($p < 0.05$) にDNA合成能の回復を認めた (Fig.7).

考 察

精子形成 (spermatogenesis) は細胞分裂が周期性をもって繰り返しているが, その過程においては約50%の精細胞が退行消失するとされている³⁾. 男子不妊症, 中でも乏精子症症例の治療目的である精子数の増加, つまりは精子形成能の促進という問題は, このように退行消失してしまう系に対し, 最終的に精

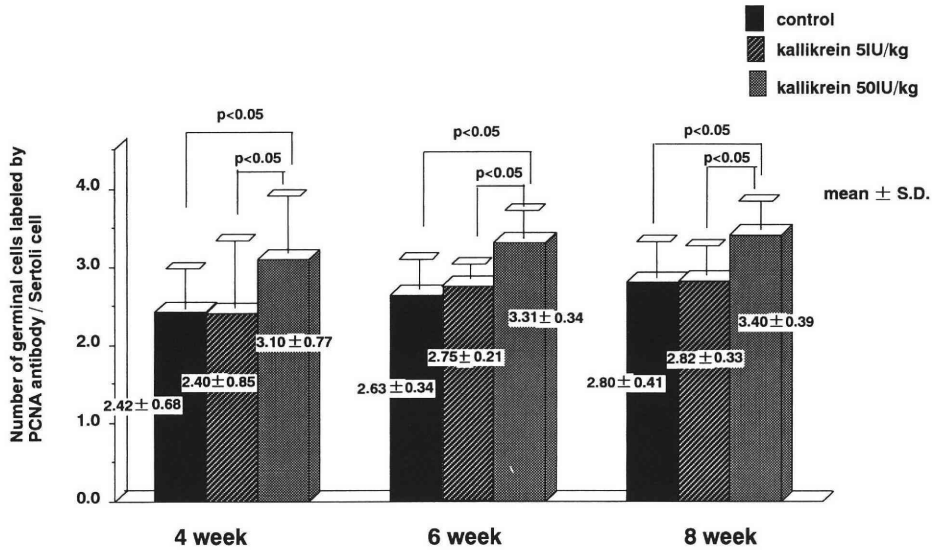


Fig.7 Number of Spermatogonia and Spermatocyte labeled by PCNA antibody / Sertoli cell

子まで精細胞を分化させることが重要である。

精細胞の分化増殖の促進因子としては、ひとつは内分泌環境、すなわちゴナドトロピン (LH, FSH) およびテストステロンの作用が重要である⁴⁾。また栄養供給としての血管系 (血流) の状態、精細管壁の肥厚、精巣内の温度なども精子形成能を調節する因子であると考えられている。

臨床的には特発性男子不妊症例 (乏精子症例) に対する治療薬としてはHCG, HMG, clomiphene citrateなどのホルモン製剤の他に、精巣内の栄養状態や血流改善を目的とした漢方薬、ビタミン製剤の臨床効果も報告されている⁵⁾。さらに同じ観点からカリクレイン製剤による精子数の増加、精子運動能の促進効果も報告されている⁶⁻¹³⁾。

カリクレインの精子形成能、精子に対する作用としては、*in vitro*で精液にカリクレインを加えると精子運動能の増加^{7,8)}、平均精子速度の増加⁹⁾が起こることが報告されておりカリクレインが精子に直接作用していることが認められている。さらには精子の頸管粘液通過性の亢進¹⁰⁾、精子の受精能力の増進¹¹⁾などをもたらすことから、精子の機能賦活という点からも、効果を有することが明らかにされている。これらはカリクレインがキニノーゲンからキニンを生成し、このキニンが精子の代謝を促進せしめることによりもたらされることが精液内fructolysisの増加や酸素消費量の増大、精子細胞内cyclic AMP濃度の増大から推測されている^{12,14)}。

また、男子不妊症に対する臨床的効果としては精

子数の増加、精子運動率の改善をもたらすことが報告されている^{5,7,11)}。カリクレインが精子数の増加、すなわち精子形成能の促進を起こす作用機序としては、全身的な関与としてMoriwaki¹⁴⁾は家兔の腸管を用いた実験でカリクレイン投与により血中アミノ酸の上昇が起こることにより、腸からの栄養物の吸収を亢進している可能性があるとして報告している。またNaitohら¹⁵⁾は家兔十二指腸に血漿カリクレインを投与すると血中の睪カリクレイン濃度が上昇すること、また*in vitro*に睪カリクレインを血液に加えると血漿カリクレイン濃度が上昇することより、外因的なカリクレイン投与により生体内のカリクレインキニン系の亢進を導くことが推測されている。以上のようにカリクレインが全身的に好影響を及ぼすことに加え、Schutteら¹⁶⁾はカリクレイン投与ラットにおいて肝、心、腎、皮膚の細胞内DNA量が増加することにより、Rixonら¹⁷⁾はラットにカリクレインを投与し、胸腺や骨髄の細胞数が増加することからカリクレインには細胞増殖を亢進する作用があると述べている。

しかし、精子形成能の改善はカリクレインキニン系の直接的な効果なのか、あるいは血流増加などの他の因子を介したものは、いまだ一致した見解は得られていない。ただ、精巣におけるカリクレインの血管に与える作用としては、Blumelら¹⁸⁾がmicroangiographyによって著明な血管拡張をラットのカリクレイン投与群にみたという報告や、Tauberら¹⁹⁾のXenon-133を用いて精巣の血流をみたところ、カリク

レイン投与群で上昇したとする報告, さらにはラットの酸素ガスクリアランス法を用いた実験により, カリクレイン投与群に同様な精巣血流の有意な増加をみたという報告²⁰⁾がなされている. また, 抗癌剤の精巣障害を利用した実験で, カリクレインの血流増加作用に, より抗癌剤の精巣到達速度が促進され, その障害が増強されるという²¹⁾. また, カリクレインは何らかの形でSertoli細胞機能に影響を与えるということが, 精巣内androgen binding proteinの増加より推測されている^{20,21)}.

ところでラットでは精祖細胞は6世代存在し, A-typeの精祖細胞はA1-A4の4回の細胞分裂をうける³⁾. A4-typeの精祖細胞のうち1個は幹細胞を与え, 他は中間型(intermediate type)からB-typeの精祖細胞へと分裂し, さらに前細糸期の精母細胞へと分化する. この6回の細胞分裂が抗癌剤のtargetとなり精子形成能障害の発症原因となっている.

この精子形成過程におけるDNA合成能の評価法としてはMarkwitzら²³⁾によるautoradiographyによる方法があったが, radio-isotopeの被曝, 放射線感度の不均一性などの問題があった. さらにGratznerら²⁴⁾により開発されたthymidineのanalogueであるbromodeoxyuridine (BrdU) に対するモノクローナル抗体を用いた細胞分裂能の評価法があり, 培養細胞系の実験などで報告された. 我々もラットに対し, 外因的にBrdUを投与し, 精子形成過程でのDNA合成能の評価を試みた. しかしBrdUの取り込みが精細管により不均一であり, 精子形成過程のDNA合成能の評価には充分ではないと判断した.

一方PCNAは細胞のG1期の後期からS期に核内に出現するタンパクであり, DNA複製に関与する補助因子と考えられている^{25,26)}. この抗体を用いた免疫組織染色により細胞分裂能, すなわちDNA合成能の評価が可能であり, 再現性も確認されている^{26,27)}.

我々は, 今回の実験系で抗癌剤による一過性の障害精巣を作成し, その回復過程にカリクレインがどのように関与するかを検討した. その結果, 精巣や副性器重量には明らかな差は認められないが, 組織所見でわずかながらカリクレイン投与群に回復の促進効果がみられた.

ところで今回の我々のカリクレインの投与量は基礎的検討²⁾の結果から決定したが, 多くのラットでの実験的検討もほぼ同様の投与量である¹⁶⁻¹⁹⁾.

さらに抗PCNA抗体を用いた細胞分裂能の検討では有意な差をもってカリクレインの効果が認められた. 抗PCNA抗体を用いたDNA合成能の検討は, 精

子形成能の回復過程を早い時期から検討するのに有用と考えられた.

文 献

- 1) 斎藤誠一, 熊本悦明, 大野一典 他, 男子生殖器におけるkallikrein-kinin系の研究, I. 男子生殖器におけるkallikrein-kinin系の局在. II. ヒト精漿中kallikreinおよびACEに関する検討. III. 男子不妊症に対するkallikrein製剤投与の影響に関する検討. 日不妊会誌 30: 276, 1985
- 2) 斎藤誠一, 男子生殖器におけるkallikrein-kinin系の研究. IV. Kallikreinの睾丸血流増加作用に関する検討. 札幌医学雑誌 55: 381, 1986
- 3) Clermont Y, Quantitative analysis of spermatogenesis of rat: A revised model for the renewal of spermatogonia. Am J Anat 111: 111, 1962
- 4) Steinberger E, Hormonal control of mammalian spermatogenesis. Physiol Rev 51: 1, 1971
- 5) Schill WB, Recent progress in pharmacological therapy of male subfertility review. Andrologia 11: 77, 1979
- 6) Kamidono S, Hama M, Matsumoto O, et al., Usefulness of high-unit kallikrein tablets. Andrologia 13: 108, 1981
- 7) Schill WB, Falco OB and Harberland GL, The possible role of kinins in sperm motility. Int J fertil 19: 163, 1979
- 8) 光川史郎, 石井延久, 白井将文, 精子運動とkallikrein. 日不妊会誌 21: 195, 1976
- 9) Steiner R, Hoffmann N, Hartman R, et al., The influence of kallikrein on the velocity of human spermatozoa measured by laser-droplet-spectroscopy. Kininogenase-kallikrein 4: 229, 1977
- 10) Wallner O, Schill WB, Groser A, et al., Participation of the kallikrein-kinin system in sperm penetration through cervical mucus. Kininogenase-kallikrein 2: 63, 1975
- 11) 斎藤 晃, 星 和彦, 京野広一 他, カリクレインのヒト受精に与える効果. 日不妊会誌 29: 173, 1984
- 12) Schill WB, Influenced fructolysis of kallikrein-stimulated human spermatozoa. Andrologia 7: 105, 1975
- 13) Leidle W, Prizen R, Schill WB, et al., The effects of kallikrein on motility and metabolism of spermatozoa in vitro. Kininogenase-kallikrein 2: 33, 1975
- 14) Moriwaki C, Moriya H, Yamaguchi K, et al., Intestinal absorption of its physiological role. Kininogenase-kallikrein 1: 57, 1973

- 15) Naitoh S, Tanaka S, Increase in plasma kallikrein-like and pancreas kallikrein-like substances after administration of pancreas or plasma kallikrein. *Drug Res* 33: 952, 1983
- 16) Schutte B, Eggert J, Lindnen J, The effects of kallikrein on the DNA content and synthesis of embryonic and postembryonic tissue. *Kininogenase-kallikrein* 3: 147, 1983
- 17) Rixon RH, Whitfield JF, Bayliss J, The stimulation of mitotic activity in the thymus and bone marrow of rats by kallikrein. *Horm Metab Res* 3: 279, 1974
- 18) Blumel G, Erhardt W, Rupp N, et al., Microangiographic investigations following kallikrein application. *Kininogenase-kallikrein* 2: 107, 1975
- 19) Tauber A, Petrowicz O, Erhardt W, et al., Experimental study in rats on the influence of kallikrein on the testicular blood flow. *Kininogenase-kallikrein* 2: 225, 1975
- 20) 篠田正幸, 大橋正和, 馬場志郎 他, キニンソーカリクレイン系の精巣および精巣機能に及ぼす影響. 第73回日泌学会総会抄録集, P213, 1985
- 21) Saitoh S, Kumamoto Y, Kallikrein on the testicular blood circulation. *Arc Androl* 20: 51, 1987
- 22) Saitoh S, Mikuma N and Kumamoto Y, Effect of kallikrein on the Sertoli cell function. *Urol Int* 44: 87, 1989
- 23) Markwitz M, Fingehut B and Veenema RJ, Radiographic studies of the DNA and RNA synthesizing capacity of the human germinal epithelium in vitro. *J Urol* 67: 1059, 1967
- 24) Gratzner HG, Monoclonal antibody to 5-Bromo- and 5-Deoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication. *Science* 218: 474, 1982
- 25) Miyachi K, Fritzler M, Tan E, Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 121: 2228, 1978
- 26) Takasaki Y, Robinson W, Tan E, Proliferating cell nuclear antigen in blast crisis cells of patients with chronic myeloid leukemia. *J Nuc Cell Immunol* 73: 655, 1984
- 27) Robins B, de la Vega D, Ogata K, et al., Immno-

histochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. *Arch Pathol Lab Med* 111: 841, 1987

Effect of kallikrein on the recovery of spermatogenic damage induced by anti-cancer agent

Akihito Nambu, Yoshiaki Kumamoto
and Seiichi Saitoh

Department of Urology, Sapporo Medical University
School of Medicine, Sapporo 060, Japan

Evaluation of the mechanism of kallikrein was performed from the viewpoint of how it stimulates the recovery of the damaged testes. 0.5 mg/kg of adriamycin was injected intraperitoneally 3 times/week into the S. D. rats, and reversible testicular damage was created. Then rats were divided into three groups, control (saline), kallikrein 5 IU/kg, and 50 IU/kg, and were injected intraperitoneally 3 times/week. After that, they were sacrificed at 4, 6 and 8 weeks, and histological evaluation was performed.

Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) detected S-phase spermatogonia and spermatocytes, and indicated DNA synthesis in rat spermatogenesis.

The results showed that there were no significant differences in the weights of testes and accessory genital organs among these three groups. However, histological study comparing the number of acrosomal spermatids/ the number of Sertoli cells per seminiferous tubule indicated that kallikrein-administered groups tended to show greater recovery of damaged testes. Moreover, the study using PCNA indicated that kallikrein-administered groups were significantly ($p < 0.05$) more stimulated in comparisons of the number of PCNA labeled seminiferous tubules per cut section and the number of PCNA-labeled cells/ the number of Sertoli cells.

From these results, it is suggested that kallikrein may facilitate the recovery of damaged testes.

(受付: 1994年9月5日)

(受理: 1994年11月24日)

受精障害不妊患者に対する Subzonal Sperm Insemination (SUZI)の治療成績

Subzonal Sperm Insemination (SUZI) in the Treatment for Patients with Failed Fertilization In Vitro

相模原協同病院産科婦人科

三宅 崇雄
Takao MIYAKE

佐藤 芳昭
Yoshiaki SATO
秦 和子
Kazuko HATA

大沢 章吾
Shougo OHSAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, Sagami Hospital
Kanagawa 229, Japan

社会保険相模野病院産科婦人科

望月 愛郎
Yoshio MOCHIZUKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Sagami Hospital
Kanagawa 229, Japan

受精障害不妊夫婦に対して開卵腔精子注入法 (subzonal sperm insemination ; SUZI) による不妊治療を試みた。当院にて体外受精を行い受精を認めなかった不妊夫婦11組に対し、16周期に過排卵刺激を行い採卵された71個の成熟卵に顕微操作を行った。

0.2M Sucroseにより脱水させた卵に顕微鏡下の5～10個の運動精子を開卵腔に注入した。翌日観察した受精率は30% (21/71)、多精子受精率は9.5% (2/21)であり、2日目に胚移植を7例 (64%) 10周期 (63%) に行った。その結果、3例に妊娠が成立し、1例流産したが2例は正常成熟児を分娩した。

以上より、SUZIは体外受精胚移植法の成功しない一部の受精障害不妊夫婦に対し有効な治療法であると結論した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 152 - 156, 1995)

緒 言

体外受精胚移植法の技術の発展と普及に伴い、すでにわが国でも年間1000名以上の生児を得ることができるようになった。一方、一部の男性不妊患者に対して通常の体外受精胚移植法では効力を発揮できないことが明らかとなった。当院でも1990年より1993年の4年間に体外受精胚移植を受けた夫婦127組中受精の成立しない夫婦は35組 (27%) もあった。

一方、受精障害患者が蓄積されるに従って、受精のメカニズムの解明に関する研究が活発化すると同時に、ヒト以外の動物を使った顕微授精の研究が急増してきた^{1,2)}。初期の動物実験の多くは精子を細胞質内に注入する方法 (intracytoplasmic sperm injection; ICSI) が行われていたが、受精率は良好なのに比して卵の発育は不良であったため臨床応用は難しいと考えられていた。そこで、1986年にzona drilling (ZD) が³⁾発表され、さらにperivitelline injection (subzonal sperm

injection; SUZI⁴⁾およびpartial zona dissection (PZD)⁵⁾など、卵細胞質に障害を与えない方法が次々と試みられた。ヒトにおいては1988年にSathananthanらがSUZI法により妊娠した症例を報告して以来現在まで臨床応用が急激に発展しつつある^{6,7)}。

日本産婦人科学会が1992年に顕微授精の実施を承認して以来、当院でも会告に従って顕微授精を行っている。顕微授精を開始した当初はPZDも行っていたが、PZDに比してSUZIがより安定した受精を得られる方法と考えられたので現在では主にSUZIを行っている。現在までにSUZIにより3例の妊娠を得、うち2例は正常に妊娠を經過し正常成熟児の分娩を終了したので報告する。

対象および方法

当院にて体外受精胚移植を1～2回以上行い受精障害と診断し、1992年2月より1993年11月までに顕微授精(SUZI)を試みた11組の夫婦を対象とした。

1) 過排卵刺激と採卵

採卵までの過排卵刺激は黄体期中期よりGnRHa(スプレキュア)を開始し月経周期3日目よりhMG300 IUを約8日間筋注後hCGを10000 IU筋注した。採卵はhCG筋注後34時間後に陰式エコーガイド下に卵胞穿刺と洗浄により行い、採取された卵は10%患者血清加HTF mediaに移し直ちにincubatorに保管された。

採取されて1時間以内の精液を、80%パーコール液に上層し700gにて遠心後、pelletのみを0.5mlのHTF mediaに移し精子調整液とした。

2) 顕微授精の準備

1.0×90 mmの硝子管(GC-1, Narishige)を用いてholding pipetteとinjection needleを作成した。holding pipetteは微量電極製作器(PN-3, Narishige)にて硝子管を引き外径約200 μmの太さになるように切断した。先端はMicroforge(MF-9, Narishige)にて加熱しながら鈍化させ、内径を20 μmとした。injection needleは微量電極製作器のmagnet powerとheat powerを調節して微細管を作成し、研磨機(EG-4, Narishige)に35～45度の角度に装着し研磨した。ほとんどの場合に先端をよりsharpにするために3方向に研磨した。研磨後にneedleの先を超純水中におき空気を通して洗浄した。顕微操作を容易にするためにholding pipetteとinjection needleを加熱しながらZ型に変形させたのち、中をmineral oilで満たしmicromanipulator(MO-202, Narishige)に装着した。

3) SUZIの手法

直径5 cmのpetri dishに10%/ml以上の精子を入れた培

養液のmicrospotと10%血清加Hepes buffered HTFに0.2 M sucroseを入れたmicrospotを作成しmineral oilにておおった。このpetri dishを倒立顕微鏡(IMT-2, Olympus)のstageにのせ顕微操作を行った。Injection needleをまず精子の入ったspotの辺縁におき運動精子がneedle内へ5～10個自然に進入してくるのを待った。進入終了後Hepes HTFのspotに移動させ、卵を同じspotに移しholding pipetteに固定した。Needleがperivitelline spaceに刺入したことを確認した後、5～10匹の運動精子を注入し、卵は速やかに培養系に戻してSUZIを完了した。

結 果

11症例16周期にSUZIを行った患者の精子数、運動率、採卵数、受精数、および転帰を表1に示した。WHO分類によるoligoasthenozoospermiaは5症例5周期、normoasthenozoospermiaは6症例10周期に、normospermiaは1症例1周期であった。受精が成立したのは7症例10周期であり、受精率は33%(21/71)であった。胚移植を行って臨床的に妊娠が認められたのは3例であったが、1例は妊娠初期に流産に終わった。図1に受精しなかった周期、受精したが妊娠しなかった周期、妊娠の成立した周期の精子数と運動率を示してみたが、全く相関はみとめられなかった。

症例1(表1の症例NO.13);妻は35歳で、21歳の時に結婚した。29歳の時より他院にて不妊治療を受けていたが、1992年1月(33歳)に当院を初診し高度のoligoasthenozoospermiaを認めた。さらに、同年4月に腹腔鏡を行ったところ、子宮内膜症r-AFS stage IIおよび子宮筋腫を認めた。1993年3月先述のプロトコルに従って採卵を行い4個の成熟卵を得たが受精を認めなかった。精液所見は運動精子50×10⁴/mlのみであった。同年9月2回目の採卵を行い4個の成熟卵を得、すべてにSUZIを試み3個に受精を認めたが1個は多精子受精であった。2個の4細胞期胚を子宮内に移植し単胎妊娠が成立した。妊娠経過中は骨盤位以外に異常なく、1994年6月10日3270gの正常成熟男児を帝王切開にて分娩した。

症例2(表1の症例NO.15);妻は32歳で、22歳の時に結婚した。1986年(25歳)より当院にて不妊治療を開始し、AIHは12回受けた。1990年に腹腔鏡により子宮内膜症r-AFS stage IIIを認めたためGnRHa(スプレキュア)を使用した。1991年11月に1回目の採卵を行い4個の成熟卵を得、体外受精を行ったが受精を認めなかった。そのときの精子数は8900×10⁴/ml運動率37%であった。1992年2月に2回目の採卵で7個

表1 SUZIを行った症例

症例	前治療 (IVF) 回数	精子数 (10 ⁶ /ml)	運動率 (%)	採卵数	受精数	転帰
1 E.S.	1	60	40	2	0	
2 M.H.	1	8650	15	6	0	
3 A.S.	1	20	30	4	1	×
4 U.K.	1	4000	2	5	0	
5 N.Y.	6	6800	42	2	1	×
6 T.E.	1	5700	30	7	2	×
7 S.S.	1	10	20	7	0	
8 K.S.	2	3280	40	3	0	
9 A.Y.	1	20	50	1	1	流産
10 M.H.	2	7000	17	3	1	×
11 T.E. (6)	1	5500	30	4	1	×
12 K.S. (8)	2	2700	8	6	0	
13 Y.S.	1	1300	10	4	3	分娩
14 C.S.	2	4300	15	3	2	×
15 T.E. (6,11)	1	6800	22	8	6	分娩
16 N.Y. (5)	6	10000	70	6	3	×

()内は同じ症例

受精率33% (21/71)

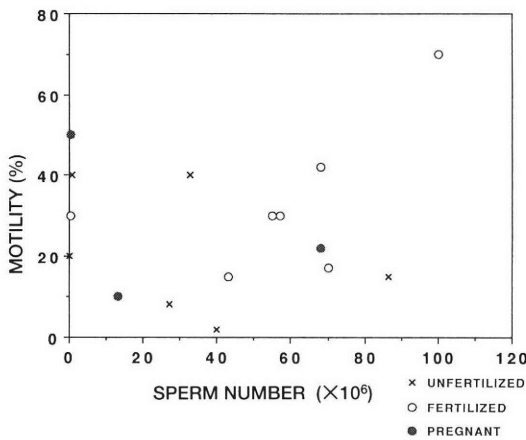


図1 SUZIを行った症例の精液所見

の卵を得、PZDを試みたが受精しなかった。1993年の1月と6月に6個と5個の卵にSUZIを行いそれぞれ6個と3個の分割胚を移植したが妊娠は成立しなかった。同年11月5回目の採卵で8個の卵を得、SUZIにより受精した6個の分割胚を移植したところ単胎妊娠が成立した。妊娠経過には全く異常なく1994年8月10日に2890gの正常成熟男児を正常分娩した。

考 察

外来不妊治療により妊娠に成功を期待できない不

妊夫婦に対して嚴重に管理された培養系を用いて体外受精を行うと、ある割合の患者には受精が成立しないことがわかる。受精障害は、精子の透明帯へのbindingとpenetration、卵細胞への進入、精子頭部の膨化、さらに前核の形成の過程のどこかに障害があると考えられるが、卵子側の異常の場合よりも精子側の場合の方が多くとされている。受精障害の卵のほとんどは透明帯に精子が結合していないため多くは精子の透明帯へのbindingに障害があることがわかる⁸⁾。精子数や運動率の低下している場合が多いが、必ずしも精液性状の異常でない場合もある。当院にて受精障害と診断された不妊夫婦35組のうち15例はoligoasthenozoospermia、18例はnormoasthenozoospermia、2例はnormozoospermiaであった。よって、顕微レベルの総精子数や運動率では必ずしも受精障害を推定する事は困難といえる。そこでKruger's strict criteriaに従って精子形態の異常を調べたり⁹⁾、Hamster oocyte human sperm penetration assay (SPA)¹⁰⁾や Hemizona assay (HZA)¹¹⁾など種々の精子機能検査が広く行われ、かなり高い確率で受精障害を推定することができるようになった。しかし一方、どのような精子機能検査が行われてもfalse positiveあるいはfalse negativeは起こり得るので、最終的には実際に夫婦間の体外受精を試みることは不可欠である¹²⁾。

我々は初回の体外受精により受精障害を予想される患者あるいは認められた患者に対して顕微授精を

行う前に受精を達成させる工夫をいくつか試みている。翌日の再媒精はみるべき効果をあげていないが、Ord¹³⁾やTucker¹⁴⁾も提唱したように1~5×10⁶/mlの高濃度の精子をmicrodropに媒精すると受精に成功する症例を少なからず経験している。一方、精子の受精能を向上させる種々の化学物質の添加も試みられており、特にPentoxifyllineはYovichらが精子の運動性のみならず受精能も向上させ¹⁵⁾、しかも流産率の増加もなく出生児には異常所見の有意な増加は認めないと述べていることから広く用いられている。顕微授精はこのような試みにもかかわらず受精しない症例を対象にすべきとしているが、我々は今のところ体外受精系への薬物添加は一切しないことにしている。

顕微授精を臨床応用する前に我々はLassalle and Testartの提唱したように¹⁶⁾、ハムスター卵の囲卵腔に男性不妊患者の精子を注入して精子の機能を評価すると同時に技術的な訓練を行った。さらに、初回の体外受精で受精を認められなかった症例に対し、翌日に顕微授精を試験的に行い受精可能かどうかを評価し¹⁷⁾、次の顕微授精の参考にしている。精子注入後の卵のviabilityを保つことは一番大切であり、それにはいくつかの工夫が必要であった。たとえばinjection needleは細いほど卵への障害がおこりにくく刺しやすいが、精子がなかなかneedleの中へ進入しないため外径にして6 μmは必要となる。また、針先の切れ味が悪いと刺入時に卵の変形がひどくなり卵への障害につながる。Needleの刺入を容易にするためには、培養液中に0.1~0.2 Mのsucroseを入れて卵に脱水を起こさせることもやむおえない。Sucroseは卵へ障害を与える可能性があるため必要最少限の時間のうちに操作を終了させなければならない。また、Fishelらはholding pipetteを引圧しすぎてooplasmがpipette内へ入り込んでしまうと卵に致命的な障害が加わるとしている¹⁸⁾。

我々が顕微授精を始めた当初はPZDおよびSUZIの両者の方法を症例により区別して行っていたが、PZDよりもSUZIがより安定した受精率が得られると報告されるようになり¹⁹⁾、現在では我々もSUZIのみを行っている。

技術的に熟練するに従って、受精率はわずかに向上しつつあるが、今回2例妊娠が続いたことによりSUZIの有効性が再確認することができた。しかし、SUZIを行っても受精しない症例が約50%生じているのも事実である。SUZIでは精子の透明帯へのbindingとpenetrationの過程は省略されるが、vitelline

membraneへのfusionが起こらなければ受精は成立しないため精子のcapacitationとacrosome reactionが終了していなければならないといわれている²⁰⁾。この点はSUZIの限界といえるかもしれない。

一方、Palermoらのグループは1992年にintracytoplasmic sperm injection (ICSI) による初めての妊娠例を報告し²¹⁾、続いてSUZIとICSIによる成績を比較検討した結果、受精率も妊娠率もICSIがより良好であると報告した²²⁾。SUZIの受精率はどの施設でもわずか20%にとどまるのに比して、ICSIでは64.2%に至ったという²³⁾。もともと顕微授精が臨床応用される以前の動物実験ではほとんどICSIの方法が行われていたが、主に受精のメカニズムや前核形成の研究が目的であった。ICSIにおいてはcapacitationとacrosome reactionの終了していない精子あるいは運動していない精子を注入しても受精が成立することが判明していたが、受精胚の発育が低率のため臨床応用は難しいと考えられていた。もしVan Steirteghemらのいうとうり驚異的な受精率が得られるとしたならば、SUZIの無効な極めて重症の男性不妊に対しても治療可能となり得るので試みる価値は十分あると考えている。一方、人工操作による卵への傷害の可能性は常に注意を払うべき問題であり、cytogenetical approachによる研究が重要となるであろう。

文 献

- 1) Uehara T, Yanagimachi R, Microsurgical injection of spermatozoa into hamster eggs with subsequent transformation of sperm nuclei into male pronuclei. *Biol Reprod* 15: 467, 1976
- 2) Thalandi VM, Injection of sperm heads into immature rat oocytes. *J Exp Zool* 210: 161, 1979
- 3) Gordon JW, Talansky BE, Assisted fertilization by zona drilling: A mouse model for correction of oligospermia. *J Exp Zool* 239: 347, 1986
- 4) Laws-king A, Trounson A, Sathananthan H, et al., Fertilization of human oocytes by microinjection of a single spermatozoon under the zona pellucida. *Fertil Steril* 48: 637, 1987
- 5) Depypere HT, McLaughlin FJ, Seamark RF, et al., Comparison of zona cutting and zona drilling as techniques for assisted fertilization in the mouse. *J Reprod Fertil* 84: 205, 1988
- 6) Ng SC, Bongo A, Ratnam SS, Pregnancy after transfer of sperm under zona. *Lancet* 332: 790, 1988
- 7) Sathananthan AH, Ng SC, Trounson A, et al., Human micro-insemination by injection of single

- or multiple sperm: ultrastructure. *Hum Reprod* 4: 574, 1989
- 8) Liu DY, Lopata A, Johnston WIH, et al., Human sperm-zona pellucida binding, sperm characteristics and in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 4: 696, 1989
 - 9) Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, et al., Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 46: 1118, 1986
 - 10) Yanagimachi R, Yanagimachi H, Rogers BJ, The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 45: 471, 1992
 - 11) Oehninger S, Burkman LJ, Coddington CC, et al., Hemizona assay: assessment of sperm dysfunction and prediction of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 51: 665, 1989
 - 12) Cohen J, Alikani M, Adler A, et al., Microsurgical fertilization procedures: the absence of straight criteria for patient selection. *J Assist Reprod Genet* 9: 197, 1992
 - 13) Ord T, Patrizio P, Balmaceda JP, et al., Can severe male factor infertility be treated without micromanipulation? *Fertil Steril* 60: 100, 1993
 - 14) Tucker M, Wiker S, Massey J, Rational approach to assisted fertilization. *Hum Reprod* 8: 1778, 1993
 - 15) Yovich JM, Edirisinghe WR, Cummins JM, et al., Influence of pentoxifylline in severe male factor infertility. *Fertil Steril* 53: 715, 1990
 - 16) Lassalle B, Testart J, Human sperm injection into the perivitelline space (SI-PVS) of Hamster oocytes: effect of sperm pretreatment by calcium-ionophore A23187 and freezing-thawing on the penetration rate and polyspermia. *Gamete Res* 20: 301, 1988
 - 17) Tesarik J, Subzonal sperm insertion with aged human oocytes from failed in-vitro fertilization attempts: fertilization results and some application. *Hum Reprod* 8: 1245, 1993
 - 18) Fishel S, Johnson J, Jackson P, et al., Subzonal insemination for the alleviation of infertility. *Fertil Steril* 54: 828, 1990
 - 19) Tucker MJ, Wiker SR, Wright G, et al., Treatment of male infertility and idiopathic failure to fertilize in vitro with under zona insemination and direct egg injection. *J Obstet Gynecol* 169: 324, 1993
 - 20) Iritani A, Micromanipulation for in vitro assisted fertilization. *Mol Reprod Dev* 28: 199, 1991
 - 21) Palermo G, Joris H, Devroey P, et al., Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340: 17, 1992
 - 22) Van-Steirteghem AC, Liu J, Joris H, et al. Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Hum Reprod* 8: 1055, 1993
 - 23) Van-Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, et al., High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 8: 1061, 1993

**Subzonal sperm insemination (SUZI)
in the treatment for patients
with failed fertilization in vitro**

Takao Miyake, Yoshiaki Sato, Kazuko Hata
and Shougo Ohsawa

Department of Obstetrics and Gynecology
Sagamihara Kyodo Hospital, Kanagawa 229, Japan

Yoshio Mochizuki

Department of Obstetrics and Gynecology
Sagamino Hospital, Kanagawa 229, Japan

Subzonal sperm insemination (SUZI) was tried to achieve fertilization in patients who have previously failed to achieve fertilization by conventional IVF. Seventyone mature oocytes were collected from 16 hyperstimulated cycles of 11 patients and were micromanipulated by our SUZI method. Of these, 30 % (21/71) were fertilized and 9.5 % (2/21) were polyspermic on the next day.

Transfer of 19 cleaved embryos to 10 cycles of 7 patients resulted in 2 singleton normal pregnancy and one miscarriage. In conclusion, we have successfully treated couples who cannot benefit from IVF by SUZI.

(受付：1994年9月13日)

(受理：1994年11月25日)

精巣上体精子による体外受精の成績に關与する臨床的因子について

Clinical Factors Related to Success Rate of In vitro Fertilization with Epididymal Spermatozoa

秋田大学医学部産科婦人科学教室

福田 淳

Jun FUKUDA

清水 靖

Yasushi SHIMIZU

児玉 英也

Hideya KODAMA

軽部 裕子

Hiroko KARUBE

松井 俊彦

Toshihiko MATSUI

田中 俊誠

Toshinobu TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology

Akita University, Akita 010, Japan

精路通過障害による無精子症13症例および射出障害1例、18周期に対して精巣上体精子を用いた体外受精を施行した結果、3例に双胎妊娠が成立した。しかし一方で、約半数の症例で受精障害が認められることから、今回受精障害例の臨床的特徴を明らかにする目的で、受精が成立した8例(受精成立群)と不成立であった6例(受精不成立群)の2群間の臨床所見を比較検討した。その結果、総運動精子数が100万個以上回収できる例では、通常の媒精での受精が期待でき予後良好であり、一方で通過障害の原因が先天性のもの、血中ゴナドトロピン(特にLH)が高値であるもの、精巣生検によるde Kresterの造精scoreが7.0以下のものは精子の回収が困難と考えられ、予後不良であった。しかし、造精所見から予測されない精子採取不能例(2例)や十分な精子濃度が確保されたにも関わらず受精しない症例(1例)も、一部に存在した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 157 - 162, 1995)

緒 言

精路通過障害による無精子症に対する治療は、従来外科的手技が主体であったが、先天性精管欠損や精管が著しく障害されている場合の治療成績は極めて不良であった。しかし1988年にSilber et al.¹⁾によって閉塞性無精子症に対する精巣上体精子を用いた体外受精の成功例が報告されて以来、多くの施設でこの方法が積極的に取り入れられるようになった。当教室でも、1991年に児玉らが本邦で初めての妊娠例を報告²⁾して以来、現在まで14症例に対してこの治療を施行し、その結果3例が妊娠に至っている。しかし、この治療法の最も重要な問題のひとつは、精巣上体から受精可能な量および質を有する精子が回収できない症例が、かなりの率で存在することである。これまで精巣上体の精子を利用して体外受精を行う場合、採取される精子の状況については、精巣

上体を穿刺するまで不明であった。そのため精巣上体を穿刺しても全く精子を回収できずに窮することもあり、治療を行う前にどの程度の運動精子が回収できるかどうかを予測して適切な治療方針をたてることの必要性を痛切に感じていた。そこで今回、当科の成績をretrospectiveに分析して精巣上体精子を用いた体外受精での受精成立群と受精不成立群の臨床所見を比較検討し、体外受精の予後の予測が可能かどうか考察したので報告する。

対象および方法

1) 対象

1990年3月から1993年12月まで当科で施行した精巣上体精子による体外受精14症例、18周期を対象とした。これらの症例のうち1例は、脊髄腫瘍の手術後に射出障害となり、薬物療法や電気刺激療法が無効であった症例であった。他13例はすべて、精路通

過障害による無精子症で、精巣生検で造精機能が確認された症例であった。その原因は先天性と思われるもの3例、鼠径ヘルニアの術後後遺症と思われるもの5例、感染症が原因と思われるもの2例、原因不明3例であった。治療男性の年齢分布は25～40歳であり、平均 32.5 ± 4.5 歳 (Mean \pm S.D.) であった。

2) 精巣上体を用いた体外受精の方法

当科で行っている精巣上体を用いた体外受精の方法については、以前に報告したので、ここで簡単に述べる。卵巣の刺激法としては、gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) と human menopausal gonadotropin (hMG, Pergonal®, Teikokuzouki または hMG Nikken®, Nikken kakaku) の併用による long protocol を使い、GnRHa 製剤は, buserelin (Sprecur®, Hoechst Japan) を経鼻的に 1日 900 μ g の投与量で、刺激前周期の黄体中期から使用した。hMGは、月経周期の2日目より 1日 150～300 IU を患者の反応に合わせて連日投与した。周期の6日目より経腔的超音波断層法を用いて、卵胞発育をモニタリングし、最大卵胞が17～18 mm に達した時点で human chorionic gonadotropin (hCG) 10,000 IU に切り替えた。採卵は、経腔的超音波断層法を用いて行った。

精巣上体からの精子の回収は、女性の採卵当日、脊椎麻酔下に精巣上体を露出した後、hepes buffered human tubal fluid (HTF) medium 200 μ l を含む注射器に 18 G の穿刺針を装着し、直接精巣上体を穿刺吸引して行った。穿刺部は主に、精巣上体頭部から体部とした。得られた精巣上体精子は培養液にて2回洗浄後、swim up法により、運動精子を回収した。運動精子が50,000個以上回収可能な場合は、媒精濃度を5～50 $\times 10^4$ /mlとした。また、媒精時に精子の運動性

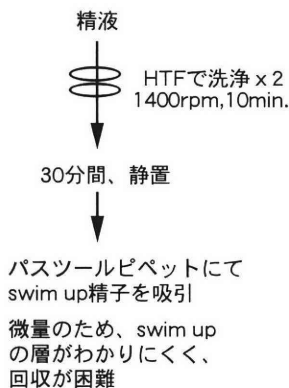
が不良であった3症例に対しては、児玉らの報告³⁾に従い、pentoxifylline (Sigma) を 1 mg/ml の濃度で添加して約45分間 incubate した後媒精した。運動精子の回収が50,000個以下であった4症例に対しては、subzonal sperm insemination (SUZI) による顕微授精を施行し、各卵子あたり3～10個の精子を卵卵腔に注入した。1例は、swim up変法にて運動精子を回収した。すなわち、精子を2回洗浄後、およそ1時間放置することにより可及的に運動精子をswim upさせた。その後、その上清をすべて回収して1400 \times rpm, 3分間で遠心し、その沈渣を100 μ l で懸濁して運動精子を回収した。(図1)。

配偶子の洗浄および培養に用いる培養液には、10% 患者非働化血清を加えた HTF medium を使い、37 $^{\circ}$ C, 3種混合ガス (90% N₂, 5% CO₂, 5% O₂) の気相で培養した。媒精後16～20時間で受精を確認、約48時間後に子宮腔内に胚を移植した。移植後17～19日目に尿のhCG検査 (Testpak, Dinabot) で妊娠の有無を確認した。

3) 内分泌検査および精巣生検による造精スコア

患者は体外受精施行前に血中の lutenizing hormone (LH), follicular stimulating hormone (FSH), testosterone (T) 値の測定を行った。LH, FSH は radioimmunoassay (Amalax M-LH, M-FSH) で、testosterone は enzyme immunoassay (Total testosterone kit) で測定した。各 assay の interassay および intrassay の coefficient value は 5% 以下であった。また、精巣生検による、造精機能の程度を de Krester et al. の方法⁴⁾ (表1) に従いスコアリングし、1症例あたり20精細管の平均スコアを算出して、造精スコアとした。

通常のSwim up



Swim up 変法

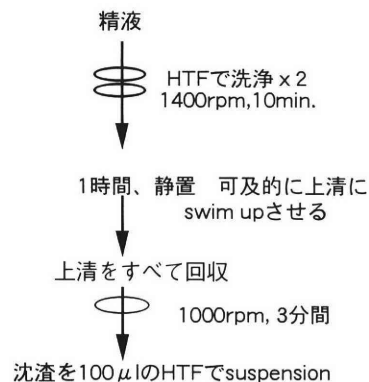


図1 swim up変法

結 果

表1 精巣組織における造精機能の評価 (de Krester)

Score	Histological criteria
10	Full spermatogenesis
9	Many late spermatids, disorganized epithelium
8	Few late spermatids
7	No late spermatids, many early spermatids
6	No late spermatids, few early spermatids
5	No spermatids, many spermatocytes
4	No spermatids, few spermatocytes
3	Spermatogonia only
2	No germinal cells, Sertoli cells only
1	No seminiferous epithelium

精巣上体精子を用いて治療を行った14症例18周期中、受精が成立したのは8症例9周期であった。そのうち、3症例に妊娠が成立し、いずれも双胎妊娠であった。対症例の妊娠率は21%、対移植の妊娠率は33%であった。受精が成立しなかった6症例(受精不成立群)と受精が成立した8症例(受精成立群)に分けて、以下の検討を行った。

1) 受精成立群と不成立群の臨床成績の比較

受精成立群と不成立群の対外受精の治療成績およびその比較を表2および表3に示す。閉塞の原因では、受精不成立群が原因不明あるいは先天性の占める割合が5/6と高く、受精成立群はヘルニアの術後や感染など後天的な原因の占める割合が7/8と多かった。受精不成立群の精巣上体穿刺直後の総運動精

表2 受精不成立群と成立群の体外受精の治療成績

	氏名	年齢	原因	総運動精子数 ($\times 10^4$)	採卵数 (個)	受精数 (個)	移植数 (個)	精子処理	妊娠の有無
受精不成立群	H.K.	38	congenital	0	12	0	0		—
	K.F.	32	不明	0	4	0	0		—
	H.S.	32	congenital	5	14	0	0		—
	M.S.	39	Hernia ope	10	11	0	0		—
	R.S.	25	不明	15	6	0	0	SUZI	—
	M.S.	29	不明	600	5	0	0	Pentoxifylline	—
受精成立群	Y.W.	32	Hernia ope	15	15	1	1	SUZI	—
	A.K.	40	脊髄腫瘍 ope	100	8	2	2	SUZI	—
	S.T.	30	Hernia ope	100	11	2	2	Pentoxifylline	—
	M.K.	30	Hernia ope	100	10	9	3	Swim up 変法	Twin
	H.H.	35	不明	600	16	5	5		Twin
	K.S.	30	感染	700	1	1	1	SUZI	—
	E.K.	30	茎捻転 ope	800	5	4	2		—
	A.A.	34	感染	1000	27	5	3	Pentoxifylline	Twin

表3 受精不成立群と受精成立群における各臨床因子の比較

	受精不成立群		受精成立群		
年齢(歳)	32.5 ±	5.3	32.6 ±	3.4	
平均採卵個数(個)	8.7 ±	4.2	11.6 ±	7.9	
平均総運動精子数($\times 10^4$)	105.0 ±	242.6	427.8 ±	389.6	
原因不明あるいは先天性の占める割合	5/6		1/8		
平均LH値(mIU/ml)	13.5 ±	5.8	6.1 ±	3.3	P < 0.02
平均FSH(mIU/ml)	12.4 ±	7.3	9.8 ±	4.6	
平均T値(ng/ml)	5.6 ±	1.2	4.8 ±	0.4	
平均精巣生検 score 値	7.6 ±	1.9	8.5 ±	0.5	

T=Testosterone

表4 受精不成立群と受精成立群における血中LH, FSH, Testosteroneおよび精巣生検の平均scoreの比較

	氏名	年齢	総運動精子数 ($\times 10^4$)	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	Testosterone (ng/ml)	精巣生検の 平均score
受精 不 成 立 群	H.K.	38	0	6.6	8.2	4.9	6.4
	K.F.	32	0	11.0	24.4	3.8	4.2
	H.S.	32	5	11.0	6.2	6.4	9.0
	M.S.	39	10	19.0	14.2	6.7	8.5
	R.S.	25	15	—	—	—	8.8 末梢での炎症
	M.S.	29	600	20.0	9.1	6.0	8.8
受精 成 立 群	Y.W.	32	15	9.8	12.5	4.7	8.6
	A.K.	40	100	5.1	8.1	4.4	7.5
	S.T.	30	100	5.5	17.7	5.2	8.8
	M.K.	30	100	—	—	—	—
	H.H.	35	600	10.0	5.8	5.0	8.8
	K.S.	30	700	—	—	—	—
	E.K.	30	800	4.7	8.9	5.3	8.4
	A.A.	34	1000	1.4	5.6	4.2	9.0

—;測定ができなかったもの

子数は、0～600万個で6例中5例は100万個以下であった。また、2例は全く運動精子を認めなかった。受精成立群での運動精子の個数は15～1000万個であり1例を除いて100万個以上であった。15万個しか回収されなかった例はSUZIによって15個の卵子中1個に受精を認めたのみであった。

受精成立群と不成立群の内分泌所見および精巣生検の所見を表4に、その比較を表3に示す。各個人でバラツキはあるものの血中のLH, FSH値は受精不成立群で比較的高値で、特に血中LHが有意に高値であった(13.5 \pm 5.8 versus 6.1 \pm 3.3, Mean \pm S.D., P<0.02, Mann-Whitney U検定)。Testosterone値については、差は認められなかった。精巣生検における造精スコアは、受精成立群で全例7.5以上であったのに対し、受精不成立群では、2症例で6.4および4.2と明らかに造精機能の低下が認められ、特に4.2の症例ではLeydig cellの過形成も認められた。また、造精スコアが8.8であった1例は精巣内での強い炎症所見が認められ、精細管レベルでの炎症による閉塞所見が認められた。以上から、6例中3例は回収不良の原因が精巣そのものにあると推定されたが、一方で造精機能が正常と考えられるにも関わらず精子が採取されない例が2例、造精機能が正常で比較的多くの精子が採取されているにもかかわらず受精が成立しなかった症例が1例存在した。

考 察

今回の検討では受精が成立するか否かは精巣上体

から十分な量の精子が採取できるかどうかにはほぼ依存しており、閉塞性無精子症の原因や血中ホルモン動態および精巣生検の所見から造精状態を評価する事で、精子の回収について、ある程度の予測が可能と考えられる。精路通過障害の原因は、閉塞の部位、閉塞の期間、精巣上体の発育の程度、感染などの因子と密接に関連するため、予後に大きく影響すると予測される。しかし、閉塞の原因別の妊娠率の報告は、先天性の精管欠損では精巣レベルでの発育障害を伴っていることや長期間の閉塞が造精機能にも影響を及ぼすため精子回収が不良であるという意見がある一方で、感染などの二次的な原因の方が精巣あるいは精巣上体に末梢での炎症あるいは閉塞をきたしているため予後が不良であるとする意見もあり、諸家によって報告が異なっている。当科の検討では、先天性あるいは原因不明の症例6例中5例が受精障害例であったのに対し、手術あるいは感染などによる二次的なものが原因であった場合の受精障害例は8例中1例のみであり、先天性のほうが予後不良であった。

造精機能の評価としては、血中ホルモンや精巣生検所見などが有用と考えられている。造精に影響するホルモンとしてLeydig cellから分泌されるtestosterone(以下Tと略す)が重要であることは古くから知られており、造精機能が強く障害された例では血中T値が低下すると考えられる。しかし一方で血中T値の低下よりもむしろFSH値の上昇が造精機能障害を反映しているという報告もある⁵⁾。当科の検討

では、受精成立群と不成立群においてT値には有意な相違は認められなかった。しかし受精不成立群においてゴナドトロピンの上昇が認められ、特にLHは有意に受精不成立群で高値を示した。ゴナドトロピンの上昇は慢性的なTの減少に対するnegative feedbackの存在をうかがわせるが、個々の症例で検討してみるとT値の減少とゴナドトロピン値の上昇が必ずしも相関しておらず、症例ごとに内分泌状態と造精機能の相関関係を完全に説明するのは困難である。しかし、血中ゴナドトロピンが受精不成立群において高い傾向にあることから、受精の可能性を予測する上でのパラメーターとして重要と考えられる。最も直接的に造精機能の評価が可能であるのは、精巣生検での精巣の組織像である。Agger et al.⁶⁾によると乏精子症ないしは無精子症での精子数はde Kresterの精巣scoreと有意に相関することが報告されており、他の報告⁷⁾でも精子濃度が1000万/ml以下では有意に精巣scoreが低下するとしている。当科の検討においても運動精子が全く回収されなかった2症例は精巣scoreが6.4と4.2でありlate spermatidsへの発育が非常に乏しかった。この2症例については精管が通過していたとしても重度の乏精子症と考えられ、造精ありとする病理報告に基づいて治療を行ったわけであるが適応に問題があったとも考えられる。精巣scoreが7.0以下の症例では、運動精子を回収できない可能性があることを認識し、顕微授精の可能性を十分考慮して治療を検討するべきである。また1例においては精巣レベルで強い炎症所見があり、精細管の閉塞が精巣の多くの部位で認められた。このような症例では、造精機能障害がなくとも、精巣上体から運動精子を回収できない可能性が高いと考えられる。受精不成立の残り3例については、精巣scoreは高値を示した。これら3症例のうち2症例は精子の採取量が少なかったが、その可能性を精巣生検からの情報で予測するのは困難であった。1例は量的には十分な精子が採取されているものの受精が成立しておらず、何らかの精子の機能的異常が考えられるが、精子の精巣上体での成熟過程に異常があったのかもしれない。

その他、精巣上体の精子を用いて治療を行う場合の実際的な問題として、精子を採取する部位、抗精子抗体の存在、精子の調整法などが挙げられる。ヒトにおける精巣上体の精子の受精能力については、精巣上体の尾部、頭部ともに受精率に差がないとする報告⁸⁾やハムスター試験の成績に部位による差がないとする報告⁹⁾がある。我々の経験では尾部から

の回収はほとんどなく、頭部から体部において採取された精子で受精が成立しており、Silber et al.の報告¹⁾とも一致している。また、抗精子抗体により精子の受精能力が障害される可能性については、最近では否定的な報告¹⁰⁾が多い。精子の回収法については、精子量が微量であることや血球や組織成分の混在が多くなることから、工夫のいるところである。当科では、通常のswim up法やPercoll法で運動精子を回収できない場合、前述したswim up変法を行い効果を上げている。この方法は、微量の運動精子を選別回収するのに優れており、乏精子症の体外受精全般に適用可能と思われる。

以上今回の検討から明らかになった点として、次のことが挙げられる。1) 総運動精子数が100万個以上回収できる例では、通常の媒精での受精が期待できる。2) 先天性のもの、血中ゴナドトロピン(特にLH)が高値であるもの、精巣生検によるscoreが7.0以下のものは精子の回収が困難と考えられ、患者に対するカウンセリングおよび顕微授精法による治療をあらかじめ考慮しておくことが必要である。3) 造精所見から予測されない精子採取不能例や十分な精子濃度が確保されたにも関わらず受精しない症例も、一部存在する。特に最後の問題については、現在のデータからは理解できない問題でもあり、今後の検討が必要と考えられる。

文 献

- 1) Silber SJ, Ord T, Balmaceda J, et al., Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: A new treatment for congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril* 50: 525, 1988
- 2) Kodama H, Kigure T, Harada T, et al., In vitro fertilization using epididymal spermatozoa for the patients with obstructive azoospermia. *Acta Obst Gynecol Jpn* 43: 1267, 1991
- 3) 児玉英也, 福田 淳, 松井俊彦 他, 体外受精におけるPentoxifyllineの使用経験. *日不妊会誌* 38(4): 30, 1993
- 4) de Krester DM, Holstein AF, Testicular biopsy and abnormal germ cells. p336, Mosby Co, 1976
- 5) Yamamoto M, Tsuji Y, Hibi H, et al., Possible leydig cell dysfunction in idiopathically infertile men with selective elevations of serum follicle-stimulating hormone. *Jpn J Fertil Steril* 39(2): 127, 1994
- 6) Agger P, Johnsen SG, Quantitative evaluation of testicular biopsies in varicocele. *Fertil Steril* 29: 52, 1978

- 7) 広川 信, 岩本晃明, 岩崎 皓 他, 精索静脈瘤の臨床的研究: 睾丸生検像からみた精子形成能について. 日本不妊会誌 27 (1): 83, 1982
- 8) 寺田為義, 藤内靖喜, 十二町明 他, 精巢上体吸引精子による体外受精の試み. 日泌尿会誌 83 (12): 1994, 1992
- 9) 黒田優佳子, 末岡 浩, 中島洋介 他, ヒト精巢上体精子の前核形成能—ハムスター卵を用いた顕微授精による検討. 日本受精着床誌 9: 139, 1992
- 10) Patrizio P, Silber SJ, Ord T, et al., Relationship of epididymal sperm antibodies to their in vitro fertilization capacity in men with congenital absence of the vas deferens. Fertil Steril 58: 1006, 1992

Clinical factors related to success rate of in vitro fertilization with epididymal spermatozoa

Jun Fukuda, Hideya Kodama,
Toshihiko Matsui, Yasushi Shimizu,
Hiroko Karube and Toshinobu Tanaka

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

In vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) using epididymal spermatozoa was performed in 18 cycles of 14 patients (13 patients with obstructive azoospermia and one patient of ejaculation failure). Three sets of twin pregnancy were achieved with the preg-

nancy rate of 21% per patient. However, since fertilization did not occur in six patients, clinical data of these patients (infertilized group) were compared to those of the patients in which fertilization occurred (fertilized group, n=8), if any clinical parameter (s) were associated with the poor results of IVF. Majority of fertilization failure were resulted from low numbers of recovered spermatozoa except one case. The etiologies of the obstructive azoospermia in 5 of 6 patients belonging to infertilized group were congenital or unexplained, whereas only one patient in fertilized group (1/8). Serum levels of lutenizing hormone (LH) were significantly higher in the infertilized group than those of fertilized group (13.5 ± 5.8 versus 6.1 ± 3.3 , mean \pm SD). The scores of the grade of spermatogenesis in the testis according to the criteria of Krester were very low in two patients of infertilized group (6.4 and 4.2), whereas more than 7.0 in all patients of fertilized group. This study indicated that congenital anomalies of sperm duct, high levels of serum LH, and reduced spermatogenesis in the testis (the score of less than 7.0) were associated with the poor results of IVF using epididymal spermatozoa. However, since failure of sperm recovery were not explained through the pathology of testis in two cases, and failure of fertilization was considered to be functional in one case, further investigation to clarify the causes of fertilization failure in this treatment have been required.

(受付: 1994年 9月10日)

(受理: 1994年11月28日)

凍結保存ヒト卵管上皮細胞を用いた初期胚の共培養

Use of Frozen-thawed Human Oviduct Epithelial Cells for Co-culture of Early Embryos

福島県立医科大学産科学婦人科学教室

菅野 良恵

星 和彦

片寄 治男

Yoshie KANNO

Kazuhiko HOSHI

Haruo KATAYOSE

鈴木 留美

佐藤 章

Rumi SUZUKI

Akira SATO

Department of Obstetrics and Gynecology, Fukushima Medical College

Fukushima 960-12, Japan

凍結融解したヒト卵管上皮細胞をマウス胚との共培養に用いその有用性を検討した。凍結ヒト卵管上皮細胞を融解後monolayerを確立、マウス2細胞期胚と共培養し (frozen群)、胚発育状態と得られた胚盤胞のqualityを新鮮な卵管上皮細胞を用いた共培養法 (fresh群) および通常の培養法 (control群) と比較した。胚盤胞への発育率は、両共培養群ともcontrol群に比べ有意に高率で、frozen群が87.2%、fresh群が87.6%、control群が68.0%であった ($p<0.001$, $p<0.001$)。胚盤胞の割球数はfrozen群が 108.3 ± 25.1 個 (M \pm SD)、fresh群が 108.3 ± 25.9 個、control群が 87.6 ± 31.8 個であり、両共培養群ともcontrolに比べ有意に割球数の多い良好な胚盤胞が得られていた ($p<0.05$, $p<0.05$)。マウス胚に対し、凍結融解したヒト卵管上皮細胞は、新鮮細胞と同様の共培養効果を示した。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 163 - 169, 1995)

緒 言

ヒトにおける体外受精・胚移植 (in vitro fertilization-embryo transfer; IVF-ET) は1978年の成功以来、不妊治療の重要な位置を占めてきた。成功率は徐々に向上はしているものの、高い受精率に比べその後の着床、妊娠率は依然低く、take home baby rateは10%~15%にとどまっている。成功率を上げる手段の一つとして注目されてきたのが、共培養 (Co-culture) 法である。共培養とは、受精卵を他の細胞と共に培養し、qualityの高い胚を得ようとするものであるが、受精卵にとって最も生理的な環境をもたらすと考えられるのが卵管上皮細胞であり、その事実を証明した多くの報告がある。1987年にヒツジ¹⁾とウシ²⁾において卵と卵管細胞との共培養の有用性が報告されて以後、数々の動物において共培養が行われてきた。ヒトの卵管上皮細胞を培養する方法も近年確立されて

おり³⁻⁷⁾、ヒト卵と共培養して有用であったとの報告が1989年にみられる⁸⁾。ヒトのIVF-ETは個人の排卵のタイミングに合わせて採卵が行われるため、実施時期を特定することは難しく、卵管上皮細胞との共培養を臨床で応用するためには、ヒト卵管上皮細胞が安定して常時供給されることが必要となる。そこでヒト卵管上皮細胞の凍結保存方法を試み、その有用性をマウス胚との共培養成績で検討した。

材料および方法

1) ヒト卵管上皮細胞の分離方法

良性疾患のため子宮全摘術が施行された正常な月経周期を有する女性 (39歳から46歳、10人より月経周期の分泌期において) から患者の同意のもとに手術時、卵管を採取した。採取した卵管は、ペニシリンGを添加したDulbecco's Phosphate-Buffer Saline (D-PBS; Gibco, Grand Island, NY, USA) 中にただちに入れられ冷

蔵庫に保存, 同日中に以下の処理が施された. 卵管より漿膜, 結合組織, 血管などを取り除く. 次いで卵管の一端を結紮し, ツベルクリンシリンジにて内腔に2.5%パンクレアチン (Sigma, St.Louis, MO, USA), 0.5%トリプシン (Sigma) を含む酵素液 (D-PBSに溶解して調整したもの) を注入し, 卵管の他端を結紮した. ペニシリンG添加D-PBS中に入れて冷蔵庫 (4℃) に2時間, 室温に1時間静置した後, 卵管上皮細胞の浮遊した溶液を取り出し, 遠心 (300g, 5分間) 後上清を捨て, ベレット層を10%非働化ヒト臍帯血清加D-PBSで洗浄を3回ほど繰り返して卵管上皮細胞を回収した.

2) ヒト卵管上皮細胞の凍結保存および融解

ヒト卵管上皮細胞を, 細胞凍結保存液セルバンカー (日本全業工業, 郡山) 1.5 ml に懸濁し, 2 ml のクライオチューブに入れ急速に -80℃まで冷却し, 凍結させた. 凍結保存期間は3か月とした.

融解は, クライオチューブを37℃微温湯につけ急速法で行い, 培養液で3回洗浄した後, 培養に共した. 融解後の細胞の一部をトリパンブルーで染色し生存率を調べた.

3) ヒト卵管上皮細胞の培養方法

ヒト卵管上皮細胞の培養にはRichard D.Goldsby (RDG) 培養液を用いた. その組成は, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Sigma) とRPMI-1640 (Sigma) を1:1の割合で混合し, ペニシリンG 100 iu/ml, insulin-transferin-sodium selenite (ITS; Sigma) 1 ml/100ml, epidermal growth factor (EGF; Sigma) 250 μg/100 ml, そして, 10%非働化ヒト臍帯血清を加えたものである. 培養を開始する前にディッシュ (FALCON 3037; Becton Dickinson, Oxnard CA, USA) 底面をcollagen solution from calf skin (typel) (Sigma) でコーティングし紫外線を約12時間照射して用いた. 細胞数を 6×10^4 cell/ml に調整し, 37℃, 5%CO₂ in air 下にて培養を開始し, 48時間ごとに培養液を交換して浮遊している細胞を取り除いた. ディッシュの底面に単層の卵管上皮細胞を確立させた後, 培養液を捨て10%非働化ヒト臍帯血清加Human Tubal Fluid (HTF; Irvine Scientific, Irvine, CA, USA) でディッシュ底面を洗浄した. ついでこのHTFを1ml注入し共培養に共した. 同様に卵管上皮細胞の培養をchamberslide (Nunc, Naperville, IL, USA) でも行い, 酵素抗体法にてAE1およびepithelial membrane antigenの染色を行った.

4) マウス胚の採取

C57BL/6Jの雌 (5~7週齢) にPregnant mare's serum gonadotropin (PMSG; 帝國臓器, 東京) 5 international

units (I.U.) を腹腔内に注射, その48時間後にhuman chorionic gonadotropin (hCG; 持田, 東京) 5 I.U.を注射して過排卵処理した後同系の雄 (7~8週齢) と交配させた. hCG注射42時間後に卵管より2細胞期胚を採取した.

5) マウス胚との共培養および胚発育の観察

マウス2細胞期胚を10%非働化ヒト臍帯血清加HTFのみで培養するcontrol群, ヒト卵管上皮の新鮮細胞との共培養群 (fresh群), 凍結保存後融解した細胞との共培養群 (frozen群) の3つの培養系に無作為に分けた. どの培養系も培養液の量は1 mlとした. それぞれのディッシュにマウス2細胞期胚を15~20個入れ, 37℃, 5%CO₂ in air 下で72時間培養した. 培養液をオイルなどで覆うような操作は施行せず, 培養液の交換も行わなかった. 胚の発育は24時間ごとに位相差顕微鏡にて観察し, 2細胞期胚, 4細胞期胚, 8細胞期胚, 桑実胚, 胚盤胞そして変性を起こした胚をカウントした. 変性胚は25%以上のcytoplasmic fragmentsの出現, もしくは割球が暗く見えたり顆粒状になってきた胚と定義した.

6) 胚のquality評価

各群の, hCG投与114時間後 (培養開始後72時間) のblastocystからhatching blastocystにまで達した胚で変性を起こしていないものにHoechst 33258 (Bisbenzimidazole H 33258 Fluorochrome; Sigma) を用いて核の染色を行ない, 核数を計測した.

Hoechst 33258はdimethyl sulphoxide (DMSO; Sigma) で1000 μg/mlに調整し, 培養液中で1~10 μg/mlの濃度になるように添加した. 37℃, 5%CO₂ in air 下に30分間おいた後, 培養液で3回洗浄した. その後, スライドガラスとカバーガラスとの間に胚をはさみこみ, 徐々につぶして (mount) 2.5%グルタルアルデヒドで固定し, 蛍光顕微鏡 (Olympus BHT; オリジナル, 東京) 下で染色された核を数えた.

7) 統計処理

発育胚の割合は χ^2 検定, 割球数の解析はStudent-t検定により行い, P<0.05を有意とした.

成 績

1) 卵管上皮細胞の培養

単層培養系の確立には新鮮細胞では約5日間を要したのに比して凍結融解後の細胞では約7日間を要した. 新鮮細胞および凍結融解細胞の培養後confluentになった状態を写真1, 2に示す. 培養細胞はAE1にもepithelial membrane antigenにも陽性で上皮由来であることが確認された. またいずれの培養細胞

胞にも繊毛運動が認められたが、繊毛運動を有する細胞は新鮮細胞に比して凍結融解後の細胞で若干減少していた。また、凍結融解後の細胞の平均生存率は $79.8 \pm 5.3\%$ (mean \pm SD %; 実験回数 = 6回)であった。新鮮細胞と、凍結融解後の細胞の発育に差が認められるが、これは凍結融解による細胞の死滅と活動性の低下によるものと考えられる。

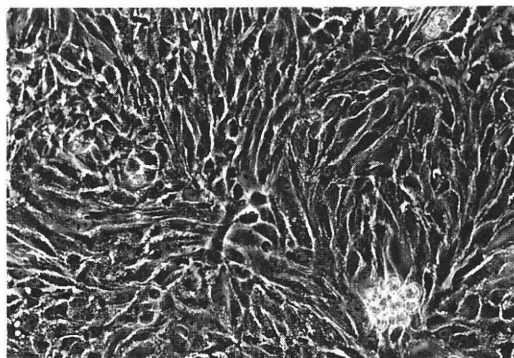


写真1 RDG培養液で培養された新鮮ヒト卵管上皮細胞(培養5日目, 位相差顕微鏡 $\times 200$)

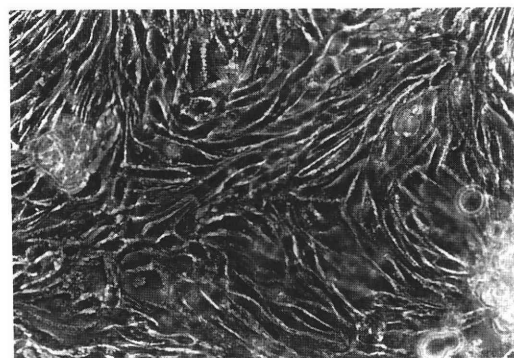


写真2 RDG培養液で培養された凍結・融解ヒト卵管上皮細胞(培養7日目, 位相差顕微鏡 $\times 200$)

2) 各培養群における胚の発育状態

各培養群の24時間ごとの胚発育状態を表1に示した。24時間後には8細胞期胚, 48時間後には桑実胚, 72時間後には胚盤胞に達していた。しかし, 同腹から得られた胚でもその発育は必ずしも同調しないため実際には24時間後には, 4細胞期胚~16細胞期胚, 48時間後には16細胞期胚~初期胚盤胞, 72時間後には桑実胚~hatching blastocyst程度に発育の幅が認められた。これらの結果はそれを各時間ごとにグラフにした(図1, 図2, 図3)。72時間後の桑実胚からhatching blastocystにまで達した胚の発育率は, control群(68.0%)とfresh群(87.6%), およびcontrol群とfrozen群(87.2%)との間に有意な差を認めた($p < 0.001$, $p < 0.001$)が, fresh群とfrozen群との間には有意な差はなかった。

Control群に比べ共培養群では高い発育率が得られていることが認められた。

3) 各培養群における変性の割合

各培養群における24時間ごとの変性の割合を表2に示した。24時間後には変性は認められなかったが, 48時間後, 72時間後ではfresh群とfrozen群に比べcontrol群で有意に高率に変性胚を認めた($p < 0.001$, $p < 0.001$)。Fresh群とfrozen群との間には有意な差はなかった。

4) 各培養系における核数の比較

写真3はHoechst染色を施した胚盤胞である。図4にそれぞれの培養群の胚盤胞の核数を示した。胚盤胞では核数すなわち細胞数の多いほどqualityが良いとされている。Control群(87.6 ± 31.8 ; mean \pm SD)に比べてfresh群(108.3 ± 25.9 ; mean \pm SD) およびfrozen群(108.3 ± 25.1 ; mean \pm SD)では有意に($p < 0.05$, $p < 0.05$)核数が多くqualityの高い胚が得られており, fresh群とfrozen群との間には有意な差はなかった。

表1 ヒト卵管上皮細胞(新鮮細胞および凍結融解後細胞)とマウス2細胞期胚との共培養後の胚発育

Group	n	培養時間		
		4~16 cell 24h	16 cell- blastocyst 48h	morula- hatching blastocyst 72h
Control	103	91 (88.3%)	82 (79.6%)	70 (68.0%)
Co-culture				
Fresh	129	122 (94.6%)	116 (89.9%)	113 (87.6%)
Frozen	180	169 (93.9%)	160 (88.9%)	157 (87.2%)

N.S. *

Controls are significantly lower than co-cultures, * $p = 0.0014$; Fisher's exact test

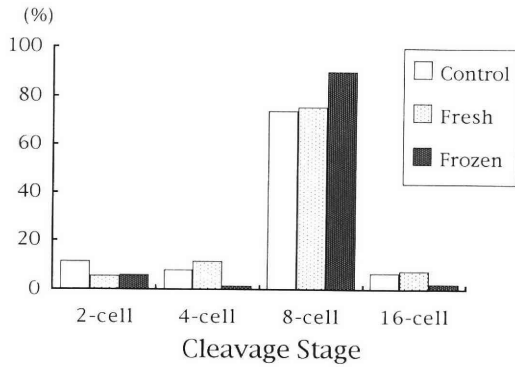


図1 培養24時間後の胚発育

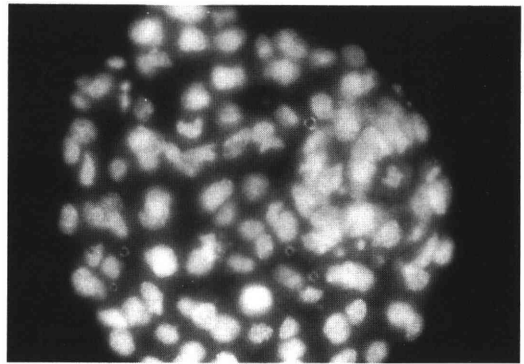


写真3 Hoechst染色された胚盤胞(蛍光顕微鏡×1000)

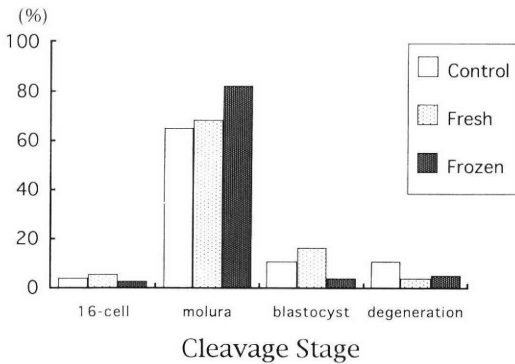


図2 培養48時間後の胚発育

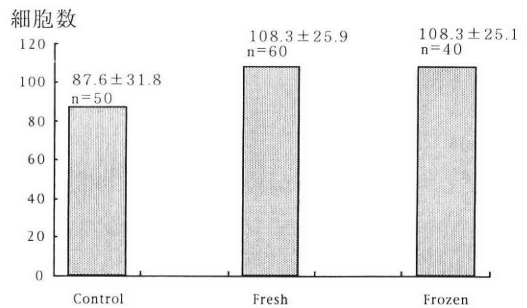


図4 hCG投与114時間後の細胞数

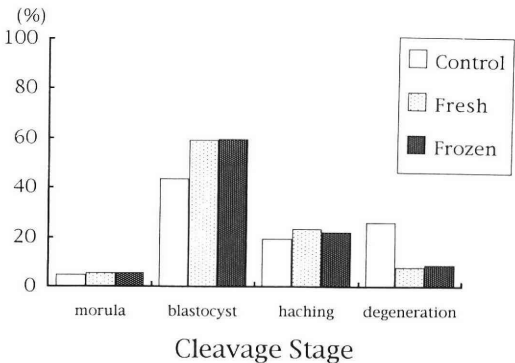


図3 培養72時間後の胚発育

考 察

In vivoでの受精は卵管膨大部で行われ、その後受精卵は卵割をしながら卵管を通過し、桑実胚ないし胚盤胞の時点で子宮腔内に到達する。IVF-ETでの妊娠率を上げるためにはin vitroで受精卵を正常な状態で胚盤胞まで培養することが一つの対策となる。現在、実際に臨床で行われている胚移植は受精卵を媒精後約48時間後、すなわち4細胞期胚～8細胞期胚の時点で子宮腔内にもどしている。現段階ではヒト初期胚を長時間培養しても8細胞期以上の胚が得られにくく変性率も高くなること、この時点で胚移植

表2 対照と共培養群における変性率

Group	n	Hours in culture		
		24h	48h	72h
Control	103	0 (0.0 %)	11 (10.7 %)	27 (26.2 %)
Co-culture				
Fresh	129	0 (0.0 %)	5 (3.9 %)	10 (7.8 %)
Frozen	180	0 (0.0 %)	9 (5.0 %)	16 (8.9 %)

Controls are significantly higher than co-cultures, * P<0.001; Chi square test

の着床率が経験的に最も成績が良かったなどの理由から、約48時間後に胚移植を行うことに落ち着いている。

最近、卵管環境を模倣しようという試みから共培養という方法が注目されている。哺乳類の胚発育は *in vivo* よりも *in vitro* の方が遅れ、また、ある種の動物においては 2-cell block などの胚発生停止現象が知られており、*in vitro* で胚盤胞にまで発育させることの困難性が指摘されている⁹⁾。また、直接卵管に配偶子や胚をもどす配偶子卵管内移植 (gamete intrafallopian transfer; GIFT) や、Pronuclear stage transfer (PROST) の妊娠率がIVF-ETよりも高いという事実も、卵管内環境が胚の発育に有利であることを裏付けるものである。

共培養は、家畜動物などの体外受精では盛んに行われ、マウス^{10,11)}、ウサギ¹²⁾、ヒツジ¹³⁾、ウシ^{14,19)}などで、主に卵管細胞を用いた多数の報告がある。さらに、卵管細胞のみならず種々の細胞、例えば他の生殖系の細胞 (子宮内膜^{11,14)}、卵丘細胞¹⁹⁾) や、体細胞 (腎臓¹⁰⁾ fibroblast²⁰⁾ など)、また異種の動物間での共培養も試みられている^{3,10)}。いずれも共培養は胚の発育に有益な効果があったと述べられており、共培養により胚発生停止現象が解除されたとの報告もある¹⁰⁾。しかし、ヒトの生殖系細胞を用いた共培養系の報告はまだ数少ない。Bongso et al. は、ヒト卵を、ヒト卵管上皮細胞存在下で受精させると対照 (67%) に比較して高い受精率 (85%) が得られ²¹⁾、これらの受精卵の妊娠率は44% (50人の患者、周期あたり) 着床率 (31.8%) も有意に高かったと報告している^{22,23)}。しかし、この共培養系を臨床に応用する場合、ヒト卵管上皮細胞が常時供給されることが必要となってくる。卵管上皮細胞はBongso et al. が指摘しているように継代培養 6 代目で細胞変性が強く進み²¹⁾、継代培養には適していない。そこでこれに代わる方法として凍結保存に着眼した。卵管上皮細胞の凍結保存に関する報告は、dimethyl sulphoxide (DMSO) を用い slow programmed freezing 法による方法²¹⁾ や、DMSO を用い 4℃ に 2 時間、-20℃ に 4 時間、-70℃ に 1 昼夜冷却させる方法²⁴⁾、また 50% と高濃度の血清を凍結保護剤としてやはり slow programmed freezing 法による報告⁷⁾ などをみることが出来る。しかし、いずれの報告も細胞の生存率に触れただけであり、具体的に凍結融解後の細胞の機能を評価していない。これらの方法は、program freezer を必要とし、凍結させるのに時間がかかったり、また凍結保護剤として高濃度の血清を必要としたりする。それに比べ、我々が

今回試みた凍結法は、細胞を凍結保存液に懸濁させて直ちに -80℃ に冷却させるもので、手技が簡便で時間も短縮され細胞の生存率も良好である。凍結保存後の細胞は新鮮細胞に比べ単層培養系の確立に若干時間を長く必要とするがその後の共培養に用いても機能的活性は新鮮細胞との間に差が無いことが証明された。一般に *in vitro* における受精卵の卵割は均等に行われずその結果 fragmentation という現象が起こりやすいと言われている。今回の研究では Hoechst 33258 を用いて核の染色を行い胚の quality の評価を試みた。Hoechst 33258 は DNA の A-T 結合に特に親和性を有する色素で、今回は胚の核数すなわち割球数を検討するために用いてみた。その結果、control に比べ共培養群では胚の核数が多くなるという結果が得られたが、これは卵割が順調に進み quality の高い胚が得られたということに加え、胚の発育が control より促進されていることも示唆されたことになる。そして、共培養に用いる細胞が新鮮細胞でも凍結融解後の細胞でも胚の quality に差がないことも確認されている。

共培養の何が胚の発育には良好な結果をもたらすのであろうか。残念ながらその理由はいまのところ詳細には解明されていないが、二つの仮説が考えられている。一つは、胚発育促進物質の分泌であり、もう一つは、胚発育有害物質の除去である。事実、卵管細胞より特異的に分泌されている glycoprotein が同定されており²⁵⁾ さらに growth factor, taurine など分泌され胚の発育に促進的に働くのであろうと考えられている。また、*in vivo* の培養は、高い酸素分圧下で扱われることが多く、培養液中に活性酸素のような細胞障害を与える物質が発現してくることも考えられる。共培養に用いる細胞がこのような胚発育に対して有害もしくは不要である物を取り除き、安定した環境をもたらしていることも良い結果を生み出している一因になっているであろう。これらの細胞の作用は卵管上皮細胞に必ずしも特異的なものではない。共培養の効果は細胞の種類のみならず、動物種にも特異性のないことが多数の研究で確認されている。ヒト卵とサルの腎臓細胞との共培養^{26,27)} や、ウシの卵管細胞²⁸⁾ 子宮細胞²⁹⁾ などの共培養成績が報告されている。しかし、ヒトの胚を他の動物の細胞と共培養することは社会的、倫理的問題が生じてくる心配がある。ヒト胚の共培養にはやはりヒトの細胞を用いるべきであり、生理的に *in vivo* に近い状態で培養を行わせるためには卵管上皮細胞との共培養が最も望ましい。今回我々が考案した方法は簡便に

卵管上皮細胞を凍結保存することが可能で、融解した後もその機能的活性がほとんど変わらないことが証明されており、今後ヒトのIVF-ETに応用されることが期待できる。

文 献

- 1) Gondolfi F, Moor RM, Stimulation of early embryonic development in the sheep by co-culture with oviduct epithelial cells. *J Reprod Fertil* 81: 23, 1987
- 2) Eystone WH, Vignieri J, First NL, Co-culture of early bovine embryos with oviductal epithelium. *Theriogenology* 27: 228, 1987
- 3) Freeman MR, Bastias MC, Hill GA, et al., Coculture of mouse embryos with cells isolated from the human ovarian follicle, oviduct and uterine endometrium. *Fertil Steril* 59: 138, 1993
- 4) Henriksen T, Tanbo T, Abyholm T, et al., Epithelial cells from fallopian tube in culture. *Hum Reprod* 5: 25, 1990
- 5) Bongso A, Ng SC, Sathananthan H, et al., Establishment of human ampullary cell cultures. *Hum Reprod* 4: 486, 1985
- 6) Takeuchi K, Nagata Y, Sandow BA, et al., Primary culture of human fallopian tube epithelial cells and co-culture of early mouse pre-embryos. *Mol Reprod Dev* 32: 236, 1992
- 7) Ouhibi N, Menezo Y, Benet G, et al., Culture of epithelial cells derived from the oviduct of different species. *Hum Reprod* 4: 229, 1989
- 8) Bongso A, Ng SC, Sathananthan H, et al., Improved quality of human embryos when co-cultured with human ampullary cells. *Hum Reprod* 4: 706, 1989
- 9) Bavister BD, Role of oviductal secretions in embryonic growth in vivo and in vitro. *Theriogenology* 29: 143, 1988
- 10) Ouhibi N, Hamidi J, Guillaud J, et al., Co-culture of 1-cell mouse embryos on different cell supports. *Hum Reprod* 5: 737, 1990
- 11) Sakkas P, Trouson AO, Co-culture of mouse embryos with oviduct and uterine cells prepared from mice at different days of pregnancy. *J Reprod Fertil* 90: 109, 1990
- 12) Carney EW, Tobback C, Ellington JE, et al., Co-culture of rabbit 2-cell embryos with rabbit oviduct epithelial cell and other somatic cells. *Mol Reprod Dev* 27: 209, 1990
- 13) Ball BA, Altschul M, Ellington JE, In vitro development of day-2 equine embryos co-culture with oviductal explants or trophoblastic vesicles. *Theriogenology* 35: 669, 1991
- 14) Goto K, Iwai N, Takura Y, et al., Co-culture of in vitro fertilized bovine embryos with different cell monolayers. *J Anim Sci* 70: 1449, 1992
- 15) Ellington JE, Farrel PB, Carney EW, et al., In vitro developmental potential of bovine zygotes in oviduct epithelial cell co-culture system. *Theriogenology* 33: 223, 1990
- 16) Eystone WH, First NL, Co-culture of early cattle embryos to the blastocyst stage with oviductal tissue or in conditioned medium. *J Reprod Fertil* 85: 715, 1989
- 17) Pollard JW, Xu KP, Rorie R, et al., Influence of various oviductal epithelial cell culture systems on the development of early cleavage stage bovine embryos in vitro. *Theriogenology* 31: 239, 1989
- 18) Ellington JE, Carney EW, Farrell PB, et al., Bovine 1-2 cell embryo development using a simple medium in three oviduct epithelial cell coculture systems. *Biol Reprod* 43: 97, 1990
- 19) Aoyagi Y, Fukui Y, Iwazumi Y, et al., Effects of culture systems on development of in-vitro fertilized bovine ova into blastocysts. *Theriogenology* 31: 168, 1989
- 20) Weimer K, Amborski G, Denniston R, et al., Use of a hormone-treated fetal uterine fibroblast monolayer for in vitro development for bovine embryos. *Theriogenology* 27: 294, 1987
- 21) Bongso A, Ng SC, Fong CY, et al., Cocultures: A new lead in embryo quality improvement for assisted reproduction. *Fertil Steril* 56: 179, 1991
- 22) Bongso A, Ng SC, Fong CY, et al., Improved fertilization rates of human oocytes in co-culture. *J In Vitro Fertil Embryo Transfer* 8: 216, 1991
- 23) Bongso A, Ng SC, Fong CY, et al., Improved pregnancy rate after transfer of embryo grown in human fallopian tubal cell coculture. *Fertil Steril* 58:569, 1992
- 24) Yeung WSB, Ho PC, Lau EYL, et al., Improved development of human embryos in vitro a human oviductal cell co-culture system. *Hum Reprod* 7:1144, 1992
- 25) Butzow R, The human fallopian tube contains placental protein 5. *Hum reprod* 4: 17, 1989
- 26) Menezo Y, Guerin JF, Czyba JC, Improvement of human early embryo development in vitro by co-culture on monolayers of vero cells. *Biol Reprod* 42: 301, 1990
- 27) Menezo Y, Nicollet B, Herbaut N, et al., Freezing cocultured human blastocyst. *Fertil Steril* 58: 977, 1992
- 28) Wiemer KE, Hoffman DI, Maxson WS, et al.,

Embryonic morphology and rate of implantation of human embryos following co-culture on bovine oviductal epithelial cells. *Hum Reprod* 8: 97, 1993

29) Wiemer KE, Cohen J, Amborski GF, et al., In-vitro development and implantation of human embryos following culture on fetal bovine uterin fibroblast cells. *Hum Reprod* 4: 595, 1989

Use of frozen-thawed human oviduct epithelial cells for co-culture of early embryos

Yoshie Kanno, Kazuhiko Hoshi, Haruo Katayose,
Rumi Suzuki and Akira Sato

Department of Obstetrics and Gynecology
Fukushima Medical College
Fukushima 960-12, Japan

In vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) has become an important tool for treatment of infertility in the human. Despite a continuous rise in the success rate, the take home baby rate remains as low as 10~

15%. The co-culture technique has been used to increase the success rate of IVF-ET. Then we investigated the effect of co-culturing mouse embryos with frozen-thawed human oviduct epithelial cells. The frozen cells in Cellbanker were thawed, and cultured in Richard D. Goldsby medium to establish monolayers. Two-cell stage mouse embryos were cultured alone (control group), or co-cultured with monolayers established from frozen -thawed cells (frozen group), or from fresh cells (fresh group). The rates of embryo development and the qualities of the blastocysts in the three groups were compared. The two co-culture groups had significantly higher morula~blastocyst development rates (frozen group=87.2%, fresh group=87.6 %) than the control group (68.0%). The two co-culture groups had significantly more blastomeres (frozen group= 108.3 ± 25.1 , fresh group= 108.3 ± 25.9) than the control group (87.6 ± 31.8). The method of cryopreservation of human oviduct epithelial cells using Cellbanker is a simpler method than conventional cryopreservation methods. These frozen human oviduct epithelial cells may provide a constant supply of cells for co-culture for IVF-ET.

(受付：1994年9月7日)

(受理：1994年12月1日)

卵巣過剰刺激症候群の発症時における血液凝固，線溶 およびkinin系活性化の経時的推移とその相互関係

Blood Coagulation, Fibrinolytic and Kinin Forming Systems in Ovarian Hyperstimulation Syndrome

秋田大学医学部産科婦人科学教室

武田 志保
Siho TAKEDA

児玉 英也
Hideya KODAMA

福田 淳
Jun FUKUDA

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

秋田県赤十字血液センター

真木 正博
Masahiro MAKI

Akita Red Cross Blood Center
Akita 010, Japan

卵巣過剰刺激症候群 (ovarian hyperstimulation syndrome, 以下OHSS) における凝固，線溶，およびkinin系の変動を検査するために，体外受精施行例63例 (OHSS群11例，非OHSS群52例) について，hMG投与開始から黄体期中期 (OHSS発症) までの血液分子パラメーターの変動を検査した。その結果，以下の点を明らかにすることができた。

- 1) OHSS群におけるthrombin-antithrombin III complexの上昇はhCG投与時点から開始し，OHSS群に有意な上昇が認められた ($p<0.01$)。
- 2) OHSS症例におけるplasmin- α_2 plasmin inhibitor complexの上昇は，黄体期中期において有意であった ($p<0.05$)。
- 3) Fibrinogenなどの凝固因子，およびantithrombin IIIなどの凝固抑制因子や血小板などの消費性の低下は，OHSS群でほとんど認められなかった。
- 4) OHSS症例においてprekallikreinは排卵期から黄体期にかけて持続的に低下する傾向にあり，それは黄体期ではOHSS群において有意に低値であった ($p<0.05$)。

今回の検討より，a) OHSS症例においては，hCG投与直後に既に凝固系の活性化が開始されている，b) 黄体期中期の線溶系の活性化が有意に亢進している，c) OHSS症例においてkinin系の活性化が認められることを明らかにすることができた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 170 - 175, 1995)

緒 言

Gonadotropin療法は現在考えられる最も強力な排卵誘発法であり，近年では従来の排卵誘発の目的にとどまらず，体外受精法に代表される配偶子操作で複

数の卵子を採取する目的で汎用されている。しかし，その強い卵巣刺激作用から，副作用である卵巣過剰刺激症候群 (ovarian hyperstimulation syndrome, 以下OHSS) の発症が臨床上の大きな問題となっている¹⁻³⁾。OHSSの重症型では，卵巣腫大および大量の腹水貯

留、乏尿などの重篤な全身症状に加えて、血液濃縮、電解質異常、低蛋白血症、血液凝固能亢進などの臨床検査所見の異常が認められる⁴⁻⁵⁾。このようなOHSSの症状の中で最も恐れられている合併症が血栓症で、1965年にMozesら⁶⁾により死亡例と下肢の切断例が初めて報告されてから、現在まで様々な種類の血栓症の発症が報告されている⁷⁻⁹⁾。

OHSSの患者を治療していく上で、患者の血液凝固能の変化を正しく評価することは、OHSSの病態を把握し血栓症の予防策を講じる上で極めて重要である。しかし、これまでOHSSの患者の凝固系、およびそれに関連する因子として線溶系やkinin系の変動を検討した報告^{7,10-12)}は極めて少ない。我々は、OHSS患者の血液凝固、線溶、およびkinin系の活性の変化を、特にOHSSの発症前からOHSSの症状が発現するまでの初期の過程に注目して、それぞれの系に関連した種々の血中分子マーカーの変動を検討した。その結果、OHSS患者において、凝固、線溶、kinin系の活性化の経時的推移を明らかにすることができ、従来余り注目されていなかったOHSS症例におけるkinin系の活性化について若干の成績が得られたので、報告する。

方 法

1) 対象

当科で体外受精を施行した患者のなかで、過去に体外受精でOHSSが発症した経験がある症例および超音波画像上多数の小卵胞が認められることからOHSSの起こる可能性の高い症例を中心に、卵巣刺激の開始日(月経周期の2日目)から血液凝固、線溶およびkinin系のモニターを施行した。合計63例63周期をモニターした結果、実際にWHOの重症度分類¹³⁾でⅢ度に相当する重症型のOHSS症状が認められた11例をOHSS群、認められなかった52例を対照群(非OHSS群)として分類した。

2) 当科における体外受精の方法

当科における体外受精の方法は以前に報告した¹⁴⁾が、ここに簡単に述べる。卵巣刺激はlong protocol, すなわち、前周期の黄体期中期からのgonadotropin releasing hormone agonist (GnRHa) 900 μ g/dayの経鼻投与と月経周期2日目からのhuman menopausal gonadotropin (hMG, パーゴナル®, 帝国臓器)の併用にて行った。hMGは、患者の卵巣の反応に合わせて150~300 IUを連日投与し、経膈超音波断層法で主席卵胞の直径が1.7 cm以上、子宮内膜の厚さが1 cm前後に到達した時点を目安に、human chorionic

gonadotropin (hCG) 10,000 IUに切り替えた。採卵はhCG投与後32~34時間後に経膈的に超音波断層下に行い、採取された卵子は10%非働化血清を添加したhuman tubal fluid (HTF)溶液を用いて90% N₂, 5% CO₂, 5% O₂の3種混合ガスにて培養した。卵子は、swim-up法で回収された精子を媒精し翌日受精を確認、媒精後2日目に受精卵を最高3個まで子宮内に移植した。移植後16日目に尿中hCGの検出により妊娠の診断を行った。

3) 検体採取および保存

対象患者からの採血を、月経開始2日目にあたる卵巣刺激開始日、hMGの最終投与日、hCG注射時、採卵時、胚移植時、胚移植後3日目および6日目に行った。採血に際しては、3.8% trisodium citrate 0.5 mlを含む、5 mlのsilicone coatingされた真空採血管を用いた。肘静脈よりよどみなく採血を行った後速やかに混和し、室温で2,000×g, 10分間遠心した後、得られた血漿をポリエチレン製のサンプリングチューブに分注し、測定まで-30℃にて保存した。

4) 測定項目および方法

血漿thrombin-antithrombin III complex (TAT) およびplasmim- α_2 -plasmin inhibitor complex (PIC) は、EIA法(エンザイグノストTAT, ペーリング社およびTD 80 G, 帝人)にて測定した。血漿plasma prekallikrein (PPK) は、S-2302(カビ社)を用いた合成基質法で測定した。各測定キットの同時再現性の% CVは、10%以下であった。

血漿high molecular weight kininogen (HMW-Kg), およびlow molecular weight kininogen (LMW-kg)の測定は、内田ら¹⁵⁾の方法に基づいて行った。すなわちHMW-Kgは、kinin分解酵素阻害(o-phenanthroline)存在下で、LMW-Kgはkinin分解酵素阻害の非存在下でガラス粉にてPPKを活性化してbradykinin (BK)を遊離させた後、溶液中のBKをELISA法(マーカーキットA BK, 大日本製薬)で測定した。この測定系の同時再現性の% CVは、10%以下であった。OHSS群については、OHSS発症時にhematocrit, 血小板数, hepaplastin test, thrombotest, prothrombin time, activated partial thromboplastin timeの測定を行うと共に、antithrombin III (AT-III, S-2238, カビ社), α_2 -plasminogen inhibitor (α_2 -PI, S-2251, カビ社), plasminogen (S-2251, カビ社), fibrinogen (イアトロセットFbg, イアトロソ社), FDP-Ddimer (FDP-DD, Rapidia D-dimer, 富士レビオ社), 第XI因子(第XI因子欠乏血漿, ダデ社), 第XII因子(第XII因子欠乏血漿, ダデ社)を測定した。

5) 有意差検定

各群の測定値は平均値±SDで記載した。群間の有意差検定はStudent's t-testにより行い，危険率5%以下の場合を有意差ありとした。

結 果

OHSS群の平均年齢は30.2±3.1歳で，6例はOHSS発症後妊娠に至った。OHSSの発症(入院日)は，hCGの投与後7.2±2.6日目で，OHSSの症状の発症から軽快までは，非妊娠例で7.3±1.3日，妊娠例で11.3±3.3日であった。卵巣腫大と腹水以外の合併症としては，肝機能異常が一例，胸水の貯留が一例認められた。非OHSS群の平均年齢は，32.1±3.2歳であった。

図1に，OHSS群および非OHSS群のTATおよびPICの変動を示す。図では，hMG投与開始日を-7 day(卵巣刺激はhCG注射日の平均7日前より開始していることから)，hMG投与最終日を-36 hour，hCG注射時を0 hour，採卵時を+34 hour，移植時を+84 hour，移植3日後を+6 day，移植6日後を+9 dayとして記載した。TATは，-7 dayから0 hourまでは両群とも特に変動なく推移したが，+34hourではOHSS群に有意な(P<0.05)上昇が認められた。以後，+84 hourから+9 dayにかけて両群ともに上昇が認められたが，

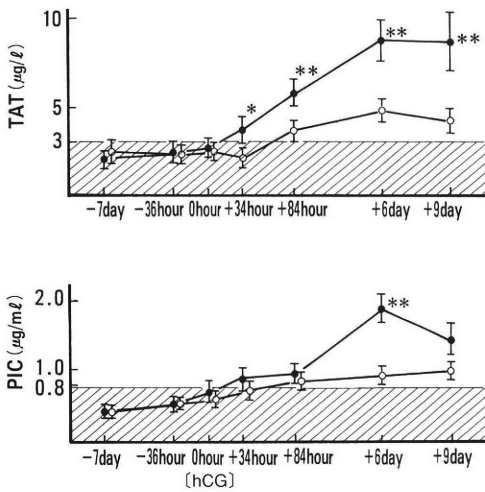


図1 OHSS群および非OHSS群のTATおよびPICの変動
OHSS群(●:n=11)および非OHSS群(○:n=52)のTATおよびPICの変動を，hCG投与時を0 hourとして示す。各群の値は平均値±SDで示し，正常域は斜線で示した。OHSS群のTATの上昇は，+34 hour以降は非OHSS群と比較して有意であった(*:p<0.05, **:p<0.01)。PICの上昇はやはりOHSS群に高度で，+6 dayにおいて有意差(**:p<0.01)を認めた。

OHSS群の上昇は非OHSS群に比較して有意に(p<0.01)高値であった。OHSS発症時には，OHSS全例にTATの上昇が認められた。PICの変動については，-36 hourから+84 hourまで両群ともにわずかに増加すること，+6 dayではOHSS群が著明に上昇し非OHSS群より有意に(P<0.01)高値であることを認めた。しかし，OHSS群の4/11の症例は，OHSS発症時においてもPICの値は正常域に留まった。

図2に，OHSS群および非OHSS群のPPKの変動を

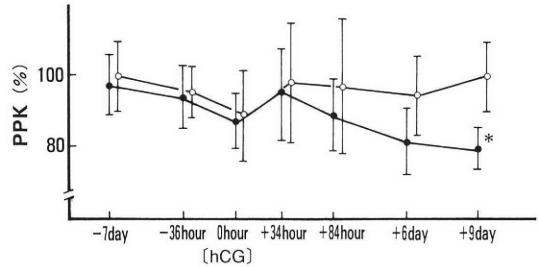


図2 OHSS群および非OHSS群のPPKの変動
OHSS群(●:n=11)および非OHSS群(○:n=52)のPPKの変動を，hCG投与時を0 hourとして示す。各群の値は平均値±SDで示した。PPKの減少はOHSS群で著明で，+9 dayにて有意差(*:p<0.05)を認めた。

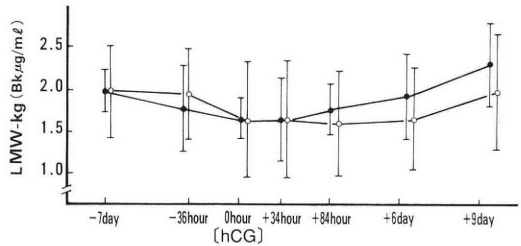
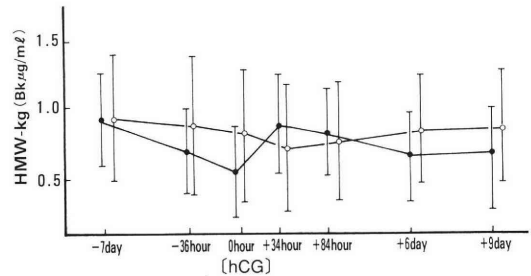


図3 OHSS群および非OHSS群のHMW-KgおよびLMW-Kgの変動
OHSS群(●:n=11)および非OHSS群(○:n=52)のHMW-KgおよびLMW-Kgの変動を，hCG投与時を0 hourとして示す。各群の値は平均値±SDで示した。HMW-KgおよびLMW-Kgともに，経過中両群間に有意差を認めなかった。

表1 OHSS発症時の血液凝固関連因子の検査成績

項目	正常域	OHSS症例での測定値*
Hematocrit (%)	36~45	48±4
Platelet (10 ⁴ /ml)	13~37	34±9
Thrombotest (sec.)	85~115	103±31
Prothrombin time (sec.)	70~100	91±21
Activated partial thromboplastin time (sec.)	30~40	28±4
Antithrombin III (%)	80~120	91±16
α ₂ -Plasmin inhibitor (%)	90~130	89±17
Plasminogen (%)	88~113	94±15
Fibrinogen (mg/ml)	158~204	496±93
FDP-D dimer (ng/ml)	<200	417±243
Platelet aggregation		
ADP (%)	60~90	80±6
Collagen (%)	60~90	80±7
Factor XI (%)	65~135	196±8
Factor XII (%)	50~150	81±39

*測定値はmean±S.D.

(n=11)

示す。PPKは-7 dayから0 hourまで減少傾向を示し、その後わずかに上昇してから、OHSS群では+9 dayまで漸減したが非OHSS群ではほぼ一定であった。+9 dayのPPKの値はOHSS群が非OHSS群と比較して有意に ($p<0.05$) 低値であった。PPKの有意な減少はOHSS発症時に4/11の症例で認められた。

図3に、OHSS群および非OHSS群のHMW-KgおよびLMW-Kgの変動を示す。HMW-Kgは、両群ともに-7 dayから0 hourまで漸減した後わずかに増加した。+6 dayでは、非OHSS群が刺激開始前の値にまで上昇するのに対し、OHSS群は低下傾向を示した。この間、両群間の値に有意差は認められなかった。LMW-Kgは、両群ともに、-7 dayから0 hourまで漸減した後、+9 dayまで軽度の上昇がみられたが、両群間で有意な差は認められなかった。

表1に、OHSS群のOHSS発症時の血液凝固学的検査成績を示す。採血は、hCGの投与後7.2±2.6日に行われた。Hematocritは48±4%と異常高値を示した。その他、OHSS症例において平均値が異常値を示した検査成績としては、prothrombin時間の若干の短縮、fibrinogenの上昇、FDP-DDの検出が認められた。AT-IIIは概ね正常域にあったが、わずかな減少が3/11例に認められた。また、α₂-PIの軽度の減少が5/11例に認められた。血小板凝集能は正常であった。第XI因子は正常下限であった。

考 察

OHSS患者に血栓症の合併があるのは良く知られ

た事実であるが、OHSS患者の血液凝固能の変動を詳細に分析した報告は意外に少なく、我々の知る限りではPhillipsら¹⁰⁾がOHSSが発症した2例において、第V因子、血小板、fibrinogen、profibrinolysin、fibrinolytic inhibitorおよびthromboplastinの上昇とprothrombin timeの短縮が認められたとする報告、Kajjaら⁷⁾が血液濃縮のないOHSSで深部静脈血栓症を起こした患者にAT-IIIの減少が認められたとする報告、および本邦における真中ら¹¹⁾のOHSS患者において血液凝固線溶系の分子マーカーを測定したところ、fibrinopeptide、TAT、およびFDP-DDの上昇を認めたとする報告のみである。本研究は、OHSSの発症前からOHSSの症状が発現するまでのOHSSの発症過程における凝固線溶系の変動をprospectiveにモニターした初めての報告であること、また、従来余り注目されていなかったkinin系の活性化についても検討したことで、意義のあるものと考えられる。

TATおよびPICは、それぞれ凝固系および線溶系の最も鋭敏な分子マーカーであると考えられており¹⁶⁾、今回の検討においてはこれらのパラメータを頻回に測定することで、凝固線溶系の動態を明らかにしようとして試みた。OHSSで認められる凝固・線溶系の活性化は、TATはhCG投与34時間後にOHSS群で有意に上昇すること、PICはhCG投与後6日目以降に初めて著明に上昇することを認めた。従って、凝固系の活性化はhCG投与から採卵時にかけて、線溶系の活性化は黄体期初期から中期にかけて開始されるものと考えられる。ただ、TATの上昇はOHSS群の全例で認

められるのに対して, PICの上昇はOHSS群の約1/3の症例で明らかでないことから, 凝固系の活性化は全例普遍的であるのに対して線溶系の活性化については個人差があると考えられる. 一般に凝固系の活性化は線溶系の活性化を伴うと考えられ, 線溶系の活性化の程度は凝固系の活性化の程度をある程度反映するものと考えられる. また, 線溶系の活性化には, 時間的な個人差もあると思われ, 今回の観察期以降に線溶系の活性化が起こった症例もあると予想される. OHSSでは, 血管透過性の亢進による著明な血液濃縮はその病態形成の主体をなすもので, 血液濃縮による血液のうっ帯が血液凝固能の亢進の主因とも考えられている⁴⁸⁾. しかし, TATの変動から推定すると凝固系の活性化は, 血液濃縮が認められないhCG投与直後に既に開始されている. したがって, 血液濃縮は, 腹水の貯留が著明となる黄体期中期においてはOHSSの血液凝固能亢進の増悪因子となり得るとしても, 初期の段階の凝固系活性化の起点とは考えにくい. また, 高濃度の性steroidsが凝固系活性化の因子とも考えられている^{17,18)}, TATの上昇はhCG投与以前は明らかでないことから, estrogen単独では凝固系の活性化に積極的に関与していないと考えられる. 性steroidsが凝固系の活性化に関与するとすれば, むしろhCG投与後に急速に上昇するprogesteroneが, TATの変動とパラレルであることから, 関連が強いように思われる. この様な著明な凝固系の活性化は, 血液凝固学的には播種性血管内凝固 (disseminated intravascular coagulation, DIC) となつてしかるべき状態である. TATの著明な上昇は, 場合によってはmicrothrombusの形成をもたらしことも想定される. しかし, OHSS症例では各種凝固因子, AT-III, および血小板などの消費性の減少は一般に著明ではなく, 過去にDICの臨床症状を来したOHSSは我々の知る限りでは報告されていない. この理由としては, OHSSにおいては凝固系の活性化が比較的緩徐に進行するため, DICの発症に対し十分な生体の防御機構が働くためと考えられるが, 詳細は不明で説明が急がれる問題である.

OHSS症例でkinin系の変動を検討した結果, PPKの低下がhCG投与時から黄体期中期に認められ, 特にOHSS症例の黄体期の低下は著明であった. HMW-KgおよびLMW-Kgは排卵期に若干の低下傾向を示したが, OHSS群および非OHSS群ともに観察期間内では明らかな変動は認めなかった. 血漿中に存在するPPKは, 凝固系XII因子によってkallikreinになり, これがHMW-Kgに作用してkininが産生されることか

ら, PPKおよびHMW-Kgの消費性の低下はkinin産生の増大を意味している. kininは, 血管透過性亢進・末梢血管拡張・腺分泌亢進・平滑筋収縮などの作用を有する生理ペプチドで¹⁹⁾, OHSSにみられる卵巣腫大や腹水および胸水貯留といった病態にもkinin系の活性化が関与する可能性が考えられる. また, kinin系の活性化は凝固系の活性化因子としても重要である¹⁹⁾. 排卵時に一過性にkininの産生があることについては過去に報告があり²⁰⁾, 本研究で認められた排卵期のPPKの減少傾向もまた, この現象を反映したものとも考えられる. また, 排卵時以降に非OHSS症例ではPPK値が回復してくるのに対し, OHSS症例ではPPKの低下が持続する傾向が認められ, このことはOHSS症例では排卵時にみられたkinin系の活性化が何らかのメカニズムでその後も継続することを示唆している.

以上, 今回の検討で明らかになったことをまとめると, 1) OHSS症例におけるTATの上昇は, hCG投与時直後から開始されており, ほぼ全例に有意な上昇が認められる, 2) OHSS症例におけるPICの上昇は, 黄体期中期に入ってから急速な上昇が認められるが, その程度には個人差がある, 3) 凝固因子, AT-IIIなどの凝固抑制因子や血小板などの消費性低下は一般に認められない, 4) OHSS症例においてkininの活性化は排卵期から黄体期にかけて持続する傾向にある, といった事項である. 今回の検討は, 今後OHSS症例における凝固系活性化のメカニズムを検討する上で極めて重要な情報となると考え, 今後の研究の発展が期待される.

謝 辞

稿を終えるに当たり, 詳細な御校閲を賜りました田中俊誠教授に深謝申し上げます. なお, 本論文の一部は第34回日本産婦人科学会, 第一回日本産婦人科新生児血液学会, 第14回日本血栓止血学会において発表した.

文 献

- 1) Forman RG, Ross C, Frydman R, et al., Severe ovarian hyperstimulation syndrome using agonists of gonadotropin-releasing hormone for in vitro fertilization: a European series and a proposal for prevention. *Fertil Steril* 53: 502, 1990
- 2) Borenstein R, Elhahan U, Lunenfeld B, et al., Severe ovarian hyperstimulation syndrome: a reevaluated therapeutic approach. *Fertil Steril* 51: 791, 1989

- 3) Golan A, Weintraub Z, Ron-El R, et al., Ovarian hyperstimulation syndrome following D-Trp-6 lutenizing hormonereleasing hormone microcapsules and menotropin for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 50: 912, 1988
- 4) Schenker JG, and Weinstein D, Ovarian hyperstimulation syndrome: A current survey. *Fertil Steril* 30: 255, 1978
- 5) Haning RV, Strawn EY and Nolten WE, Pathophysiology of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Obstet Gynecol* 66: 220, 1985
- 6) Mozes M, Bogokowsky H, Anteby E, et al., Thromboembolic phenomena after ovarian stimulation with human gonadotropins. *Lancet* 11: 1215, 1965
- 7) Kajja R, Sieberg R, Tiitinen A, et al., Severe ovarian hyperstimulation syndrome and deep venous thrombosis. *Lancet* 28: 1043, 1989
- 8) Rizk B, Meagher S, and Fisher AM, Severe ovarian hyperstimulation syndrome and cerebrovascular accidents. *Hum Reprod* 5: 697, 1990
- 9) Fournet N, Surrey E and Kerin J, Internal jugular vein thrombosis after ovulation induction with gonadotropin. *Fertil Steril* 56: 354, 1991
- 10) Phillips LL, Glandstone W and Wiele RV, Studies of coagulation and fibrinolytic system in hyperstimulation syndrome after administration of human gonadotropin. *J Reprod Med* 14: 138, 1975
- 11) 真中千明, 赤堀彰夫, 荒木重雄 他, 卵巣過剰刺激症候群における血液凝固線溶能の推移について. *日産婦誌* 43: 1653, 1991
- 12) 真木正博, 武田志保, 卵巣過剰刺激症候群における過凝固状態. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班平成2年度研究業績報告書, P111, 1990
- 13) World Health Organization, Agents stimulating gonadal function in the human. *Wld Hlth Org techn Rep Ser* 514: 14, 1973
- 14) 児玉英也, 加藤充弘, 福田 淳 他, 秋田大学における体外受精, 1988~1990年の成績. *秋田医学* 18: 39, 1991
- 15) 内田泰弘, 鹿取 信, キニノゲン. *日本臨床* 40: 772, 1982
- 16) Maki M, Coagulation and fibrinolysis in pregnancy, In: Maki M ed, *Haemostasis and thrombosis in obstetrics and gynecology*. p78, Eukerdruck Marburg, 1991
- 17) 真木正博, 武田志保, エストロジェンと凝固・線溶. *現代医療* 23: 583, 1991
- 18) Yuen BH, McComb P, Sy L, et al., Plasma prolactin, human chorionic gonadotropin, estradiol, testosterone, and progesterone in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 133: 316, 1979
- 19) Maki M, The kallikrein-kinin system in reproduction physiology and pathology, In: Maki M ed, *Haemostasis and thrombosis in obstetrics and gynecology*. p93, Eukerdruck Marburg, 1991
- 20) McDonald M and Perks AM, Plasma bradykininogen and reproductive cycles: studies during the oestrous cycle and pregnancy in the rat, and in the human menstrual cycle. *Can J Zool* 54: 941, 1976

Blood coagulation, fibrinolytic and kinin forming systems in ovarian hyperstimulation syndrome

Siho Takeda, Hideya Kodama and Jun Fukuda

Department of Obstetrics and Gynecology

Akita University School of Medicine

Akita 010, Japan

Masahiro Maki

Akita Red Cross Blood Center

Akita 010, Japan

This study designed to investigate activation of blood coagulation, fibrinolytic and kinin formation system in ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). Blood molecular markers associated with these systems were monitored from beginning of ovarian stimulation to mid luteal phase in 11 OHSS patients (OHSS group) and 52 control patients who underwent in vitro fertilization treatment. The results obtained were as follows.

- 1) The levels of thrombin-antithrombin III complex increased after the injection of human chorionic gonadotropin, and the levels were significantly higher ($p < 0.01$) in the OHSS group.
- 2) The levels of plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex were significantly higher ($p < 0.05$) in the OHSS group in the mid luteal phase.
- 3) The levels of antithrombin III and fibrinogen, and numbers of platelets were not decreased in the OHSS group.
- 4) The levels of prekallikrein were significantly lower ($p < 0.05$) in the OHSS group in the mid luteal phase.

The data suggested that there was a significantly higher activation of blood coagulation system after hCG injection, and fibrinolytic system in the mid luteal phase in the patients with OHSS. In addition, activation of kinin form system might be involved in the pathology of OHSS.

(受付: 1994年10月20日)

(受理: 1994年12月8日)

マウス2細胞胚の凍結法についての検討 —特に、凍結保護剤、非透過性耐凍剤について—

A Study on Cryopreservation Procedures of Mouse 2-cell Embryos

横浜市立大学産婦人科

董 曦

植 村 次 雄

八ツ橋 良 三

Xi DONG

Tsuguo UEMURA

Ryozo YATSUHASHI

堀 裕 雅

水 口 弘 司

Hiromasa HORI

Hiroshi MINAGUCHI

Department of Obstetrics and Gynecology

Yokohama City University School of Medicine, Yokohama 236, Japan

IVF-ETに際して最も障害の少ない胚の凍結法を知るため、マウス受精卵を用いて各種凍結保護剤、非透過性耐凍剤を用いた凍結法を比較検討した。実験方法は雌マウス2細胞胚を採取し、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凍結し、融解後72時間培養して、hatching率を調べ、液体窒素に投入凍結した2細胞胚(迅速凍結法)および非凍結胚と比較した。凍結保護剤1, 2-propylene glycol (PROH)を用いた凍結法の比較では、program freezerによる凍結法(緩慢凍結法)は迅速凍結法より有意にhatching率が高かった。凍結保護剤PROHではdimethyl sulfoxide (DMSO)に比してhatching率は有意に高かった。PROH 4段階添加法と簡易2段階添加法との間も、非透過性耐凍剤0.1M sucroseと0.25M trehaloseとの間も差が認められなかった。以上より、凍結保護剤としてPROHを用い、Program freezerによる緩慢凍結法で良好な成績が得られた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 176 - 180, 1995)

緒 言

1978年に世界ではじめて体外受精胚移植 (in vitro fertilization embryo transfer; IVF-ET) により第1例の児が誕生して以来体外受精は卵管性不妊、男性不妊、長期機能性不妊、子宮内膜症合併不妊などの治療法として広く行われている。1972年にマウス胚を用いた優れた凍結保存法が報告され、その後各種動物胚の凍結保存についての研究がすすめられ、1983年にはヒト凍結受精卵による胚移植に成功した²⁾。採卵回数の減少、妊娠率の向上のため、採卵した過剰卵を凍結保存することは臨床上重要な課題となってきた。しかしながら、受精卵、未受精卵の凍結保存法、特に凍結保護剤、非透過性耐凍剤についてはまだ最良の方法が確立されているとはいえない。本研究では各種凍結保護剤、非透過性耐凍剤を

用いて最適な胚の凍結法を知るため、マウス受精卵を種々の条件下での凍結法で比較検討した。

研究材料および研究方法

1) 2細胞胚

3週齢から4週齢の雌マウス(B6C3F1)を用いて、pregnant mare serum gonadotropin (PMSG; セロトロピン, 帝国臓器)を5IU腹腔内に投与し、48時間後human chorionic gonadotropin (hCG; ゴナトロピン, 帝国臓器)5IUを腹腔内に投与して同系雄マウスと一晚同居後、膣栓を確認し、42~44時間後屠殺、両側卵管より2細胞胚を乱切法にて4mg/mlのBSA添加Ham's F10液に採取した。採取した卵は顕微鏡下で観察し、細胞膜の輪郭が鮮明で、細胞質が均一で、透明度と立体感に富む正常形態の2細胞胚を正常胚とし、変性胚と選別して、実験に供した。凍結融解後、

培養実験前に再度顕微鏡下で観察し、凍結前と同じく細胞膜の輪郭が鮮明で細胞質が均一で透明度と立体感に富む形態を持つものを正常胚とし、その他のものを変性胚とした。

2) 凍結保護剤, 細胞膜非透過性耐凍剤

凍結保護剤は室温にて, DMSOまたはPROHを用い, 佐藤ら³⁾の方法に準じ4段階で添加し, 細胞非透過性耐凍剤sucroseを併用した。すなわち, DMSOの場合にはそれぞれ0.5 M DMSO, 1.0 M DMSO, 1.5 M DMSO, 1.5 M DMSO+0.1M sucroseを添加したBSA含有Ham's F10液に2細胞胚を各10分間ごとに移し, program freezerで凍結した。PROHの場合にはそれぞれ0.5 M PROH, 1.0 M PROH, 1.5 M PROH, 1.5 M PROH+0.2 M sucroseをDMSOと同様に添加した。

凍結保護剤PROHの添加法について, 1.5 M PROH, 1.5 M PROH+0.2M sucroseで添加して15分後にprogram freezerで凍結する簡易2段階法を前記PROH4段階添加法と比較した。また, 凍結保護剤に併用する細胞膜非透過性耐凍剤について, sucroseとtrehaloseとを比較した。その方法は1.5 M PROH, 1.5 M PROH+0.1 M sucroseまたは0.25 M trehaloseを2段階で添加して15分後にprogram freezerで凍結した。

3) 凍結融解法

凍結法は2細胞胚10~15個を各ストローに充填し, 4段階で凍結保護剤を添加後佐藤ら³⁾の方法に準じprogram freezer (EBARA EMP-6, 株式会社荏原, 東京)を用いて, -7°C まで $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で冷却し, -33°C まで $0.33^{\circ}\text{C}/\text{min}$, -45°C まで $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, -80°C まで $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で凍結した(緩慢凍結法)。2日間冷凍保存後室温にて七里ら⁴⁾の方法に準じ3段階に凍結保護剤濃度を希釈して融解した。すなわち, 37°C の水槽内で振盪しつつ融解し, 凍結保護剤(PROH)を下記の3段階にて5分ごとに希釈して培養液で洗浄した。1) 1.0 M PROH+0.2 M sucrose, 2) 0.5 M PROH+0.2 M sucrose, 3) 0.2M sucrose, 4) Ham's F10。なお, DMSOの場合にはprogram-freezerで -80°C から1分間に $+8^{\circ}\text{C}$ ずつ室温まで加温した後, 1) 1.5 M DMSO+0.1 M sucrose, 2) 1.5 M DMSO, 3) 1.0 M DMSO, 4) 0.5 M DMSOの4段階でDMSOを除去した。

4) 凍結融解後の胚発育

その後72時間培養でhatching率を調べ, 一部の実験では48時間培養後のblastocyst率も調べた。また, 一部の実験では直接保存液(1.5 M PROH+0.2 M sucrose)に移し即座に液体窒素に投入して凍結した後, 解凍した2細胞胚(迅速凍結法)および新鮮な2細胞胚(非凍結胚)とのblastocyst率, hatching率との比較も行った。

なお1群胚25個とし, 3~5回(総胚数75~125個)実験を繰り返した。有意差検定はpaired-t検定により行った。

結 果

1) 迅速凍結法と緩慢凍結法の比較

凍結保護剤PROHの凍結法の比較では解凍直後の正常胚の割合は迅速凍結法で $58.5 \pm 9.7\%$ (mean \pm SE, n=4, 総胚数100個), 緩慢法では $70.2 \pm 3.5\%$ (n=4, 総胚数100個)で両者間に有意差はなかった。解凍後48時間のblastocyst形成率は緩慢凍結法($34.8 \pm 7.2\%$, n=4)では非凍結胚より劣るが迅速凍結法($17.7 \pm 1.7\%$, n=4)より有意にblastocyst率が高い($p < 0.05$) (図1)。解凍72時間後のhatching率では, 緩慢凍結法($30.3 \pm$

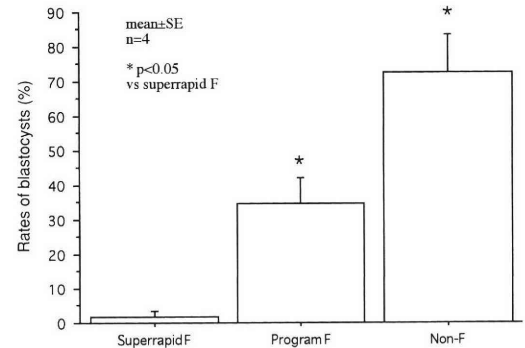


図1 迅速凍結法 (superrapid F) と緩慢凍結法 (program F) の解凍2細胞胚と非凍結2細胞胚 (Non-F) の48時間培養後のblastocyst率の比較

1群25個の胚での実験を4回施行した, すなわち1群総胚数100個。

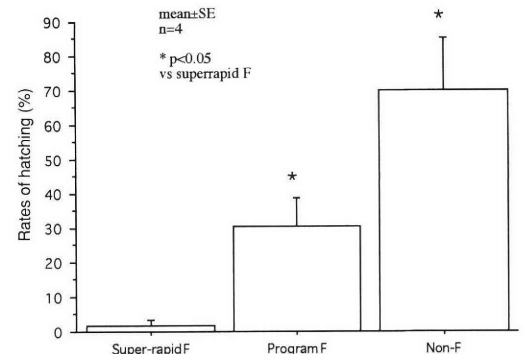


図2 迅速凍結法 (superrapid F) と緩慢凍結法 (program F) の解凍2細胞胚と非凍結2細胞胚 (Non-F) の72時間培養後のhatching率の比較

1群25個の胚での実験を4回施行した, すなわち1群総胚数100個。

8.4 %, n=4) は迅速凍結法 (1.7 ± 1.7 %, n=4) より有意に高い ($p < 0.05$) (図 2).

2) 凍結保護剤DMSOとPROHとの比較

凍結保護剤DMSOとPROHを4段階で添加し、緩慢法で凍結保存した2細胞胚について、解冻直後の正常胚と変性胚との割合をみると、正常胚はDMSOで 71.3 ± 12.5 % (n=3), PROHでは 63.5 ± 6.7 % (n=3) で両者間に有意差は認められなかった。解冻後48時間のblastocyst形成率はDMSOで 27.5 ± 1.2 % (n=3), PROHで 44.3 ± 2.9 % (n=3) であり、PROHの方がDMSOより有意 ($p < 0.05$) に高率であり (図3), 融解後72時間後のhatching率ではDMSOで 27.5 ± 1.2 % (n=3), PROHで

40.9 ± 0.9 % (n=3) で、PROHはDMSOより有意 ($p < 0.01$) に高率であった (図4).

3) 凍結保護剤添加法, 2段階法と4段階法との比較

解冻後72時間のhatching率をPROH添加2段階法と4段階法を比較すると、4段階添加法では 33.1 ± 1.8 % (n=4), 簡易2段階添加法 34.9 ± 7.0 % (n=4) で、両者間に有意差が認められなかった (図5).

4) 非細胞膜透過性耐凍剤sucroseとtrehaloseとの比較

凍結保護剤と併用する非透過性耐凍剤sucroseとtrehaloseとを比較すると、解冻後72時間のhatching率は、0.1 M sucrose (46.2 ± 10.1 %, n=4) と0.25 M trehalose (46.6 ± 11.8 %, n=4) とで有意差が認められなかった (図6).

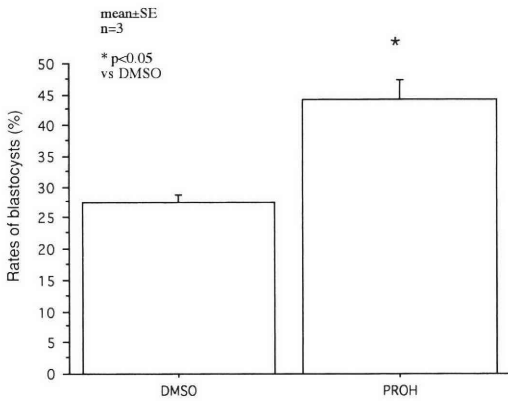


図3 凍結保護剤DMSOとPROHを用いて緩慢凍結法で解冻した2細胞胚の48時間培養後のblastocyst率 1群25個の胚での実験を3回施行した, すなわち1群総胚数75個

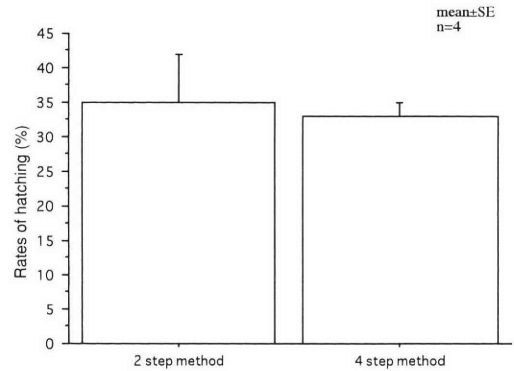


図5 凍結保護剤PROHを2段階と4段階で凍結した2細胞胚の72時間培養後のhatching率の比較 1群25個の胚での実験を4回施行した, すなわち1群総胚数100個.

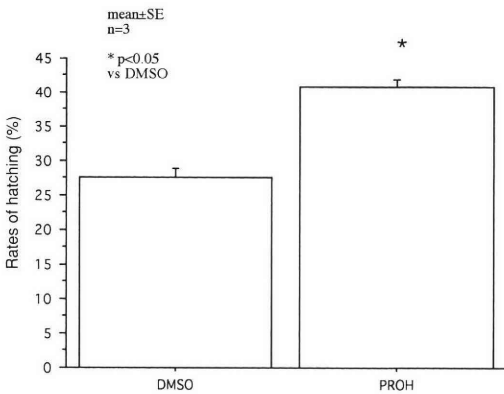


図4 凍結保護剤DMSOとPROHを用いて緩慢凍結法で解冻した2細胞胚の72時間培養後のhatching率 1群25個の胚での実験を3回施行した, すなわち1群総胚数75個

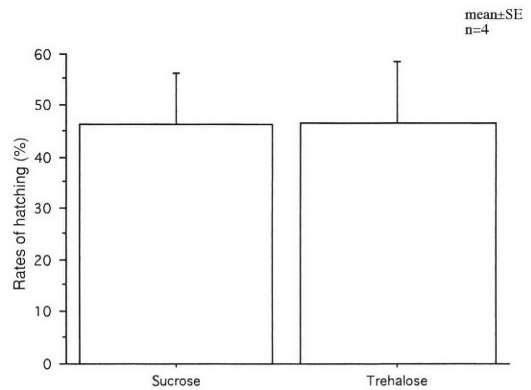


図6 非透過性耐凍剤sucroseとtrehaloseをPROHと共に用いて凍結した2細胞胚の72時間培養後のhatching率の比較 1群25個の胚での実験を4回施行した, すなわち1群総胚数100個.

考 察

細胞凍結速度については、強制植氷によって、媒液だけ氷晶形成された試料はその後の冷却過程において細胞外氷晶の増大につれて細胞内自由水が脱水されるが、卵子や受精卵の割球の膜が高い水透過性を持つ場合には細胞内自由水の脱水が可能になる。細胞内水が最終的に氷結する温度を共晶点とよぶ。共晶点近くの温度までは細胞内自由水の細胞外への脱水が可能であるが出来るだけ完全に自由水を除くためには共晶点までの冷却速度が適切に決められなければならない。低温での脱水能は割球膜の水の透過性に対する温度係数によって支配されている。しかもこの温度係数は動物種によっても異なり、分割球の大きさによっても異なる⁹⁾。

今回マウス2細胞胚を用いて初期胚の凍結保存法について検討をした。まず、細胞冷却速度について、直接保存液に移し即座に液体窒素に投入して凍結した迅速凍結法およびプログラムにより緩徐に凍結した緩慢凍結法とで胚融解後の正常胚の比率、72時間後のhatching率で比較すると、正常胚の割合では有意差はないが、hatching率では緩慢凍結法(平均30.3%)に対して迅速凍結法(1.7%)で有意に不良であった。同じくマウス8~16細胞胚で融解後の生存率を比較した高田の報告⁶⁾でも、今回と同様に緩慢凍結法(49.2%)の方が迅速凍結法(8.3%)より有意に高い。

初期胚凍結の際の問題になることは細胞内自由水の氷晶形成による細胞障害である。Mazurら⁷⁾はChinese hamster tissue culture cellsを用いて、細胞冷却速度の細胞内氷晶形成に及ぼす影響を検討し、緩慢冷却では脱水が充分に行われるが、細胞膜や細胞質は高塩分濃度に曝され、浸透圧衝撃を受けること、迅速凍結法では細胞内自由水の脱水が充分に行われないうえ、細胞内氷晶形成を生じ、細胞を物理的に破壊すると報告しているが、今回の凍結保護剤を用いての2細胞胚でもChinese hamster tissue culture cellsと同様の成績であり、緩慢凍結法の優位性が認められた。

凍結傷害を防ぐために使用される凍結保護剤は細胞に生じる低温傷害を防御するように働いている。冷却過程中に細胞内自由水の氷晶化を防ぐことによって、できるだけ低温にまで脱水させて自由水を最小にし、しかも細胞内溶質濃度の急激な変化を減じるように保護剤物質は作用しているものである。細胞膜透過性は低分子で構造的に原形質膜に対して親和性の強い非電解質が有効であり、それらは細胞内へ浸透し、細胞内外の化学的平衡を維持すると

ともに細胞膜を安定させる効果である。

1961年Smith⁸⁾がDMSOを凍結保護剤として利用して以来、glycerolやPROHなどが使用され、各種凍結保護剤の使用法、その特徴などが次第に明らかにされてきた。今回の成績では、マウス胚に対して融解後72時間のhatching率はPROHの方がDMSOより有意に高い。この原因として、Lassaleら⁹⁾はPROHは脱水させて自由水が最小になるが、DMSOは完全に脱水しえず、また、胚細胞に対する毒性の発現はPROHの方がDMSOより遅いと報告している。

凍結保護剤の濃度、添加方法の胚に及ぼす影響について、従来凍結保護剤添加法はほとんど10分間ごと4段階添加法¹⁰⁾であるがその手技は煩雑である。近年2段階添加法でも良好な凍結受精卵の生存率がヒトで報告されている^{4,11)}。今回の4段階法と2段階法を比較したところ、融解後のhatching率は有意差がみられず、2段階法でも良好な成績の得られることが認められた。

自然界に存在するtrehaloseは脱水に対する防御物質として多くの生物が有する2糖類で、sucroseと分子量、物理化学的性質も類似した細胞膜非透過性物質である。この細胞外保護物質は浸透圧差による細胞の脱水だけでなく、細胞表面の水を安定させ¹²⁾、細胞内自由水の脱水が一層容易になるため、細胞膜透過性耐凍剤と併用すると効果的であると考えられる。実際にtrehaloseの使用によりマウス胚の生存率¹³⁾、牛胚の生存率¹⁴⁾の上昇が認められている。

今回はマウス胚を用いて、細胞外保護物質として0.1M sucroseと0.25 M trehaloseとを2段階添加法で比較したが、両者間に有意差を認めなかった。0.1Mのsucroseと0.1Mのtrehaloseとを1段階添加法で比較した報告¹⁵⁾でも両者間に差異はみられず、これらの成績からtrehaloseもsucroseと同様に充分使用しうるものと思われた。

生殖医学の進歩に伴い、胚の凍結保存の必要性が認められてきている。今回はその基礎実験として、マウス2細胞胚の凍結保存における凍結保護剤、細胞非透過性耐凍剤について検討した。その結果、凍結保護剤PROHはDMSOに比較して良好な成績が得られ、非細胞透過性耐凍剤 sucroseまたはtrehaloseとでは有意な差異は認められなかった。

終わりに当たり、本研究に協力していただいた秋山多萬子実験助手に感謝します。なお、本論文の要旨は第39回日本不妊学会学術講演会(富山市)にて発表した。

文 献

- 1) Whittingham D, Leibo S, Mazur P, Survival of mouse embryos frozen to -196°C and -269°C . *Science* 178: 411, 1972
- 2) Trounson A, Mert L, Human pregnancies following cryopreservation, thawed and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 305: 707, 1983
- 3) 佐藤文彦, 斉藤英和, 沼崎政良 他, ヒト受精卵凍結保存の成績と妊娠例の検討. *日受精着床誌* 7:29, 1990
- 4) 七里和良, 谷 啓光, 平沢浩文 他, 刺激周期を用いたヒト凍結胚移植の成績. *日受精着床誌* 9:170, 1992
- 5) 鈴木雅洲, 体外受精・胚移植, 基礎と臨床, p312, 金原出版, 1985
- 6) 高田久士, マウス未受精卵および受精卵の凍結融解法に関する研究. *日産婦誌* 40:437, 1988
- 7) Mazur P, Leibo S, Chu E, A two-factor hypothesis of freezing injury. *Exptl Cell Res* 71:345, 1972
- 8) Smith A, Biological effects of freezing and supercooling. p10, Edward Arnod Ltd, 1961
- 9) Lassale B, Testart J, Renard J-P, Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2 propanediol. *Fertil Steril* 44:645, 1985
- 10) Testart J, Lassale B, Belaisch-Allart J, et al., High pregnancy rate after early human embryo freezing. *Fertil Steril* 46:268, 1986
- 11) 久慈直昭, 宮崎豊彦, 菅原正人 他, DMSOとsucroseを用いたヒト胚凍結保存法の検討. *日受精着床誌* 9:166, 1992
- 12) Doebbler G, Rinefret A. The influence of protective compounds and cooling and warming conditions on hemolysis of erythrocytes by freezing and thawing. *Biochem Biophys Acta* 58:449, 1962
- 13) Lois M, Robert M, John H, Effects of carbohydrates on membrane stability at low water activities. *Biochem Biophys Acta* 769:141, 1984
- 14) 小林修一, 根上 晃, 前田淳一 他, ウシIVF由来胚の凍結保存トレハロース添加の胚凍結に対する効果. *日受精着床誌* 10:213, 1993
- 15) 渡辺清彦, マウス受精卵(2細胞期胚)の凍結保存における卵細胞膜傷害および細胞膜非透過性耐凍剤の至適添加濃度. *福島県立病院医学研究誌* 6:4, 1990

A study on cryopreservation procedures of mouse 2-cell embryos

Xi Dong, Tsuguo Uemura, Ryoza Yatsuhashi, Hiromasa Hori and Hiroshi Minaguchi

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yokohama City University School of Medicine,
Yokohama 236, Japan

In order to know the effective method of freezing embryos at the time of in vitro fertilization and embryo transfer, various cryopreservation procedures were compared.

With 1,2-propylene glycol (PROH) as cryoprotectant, the freezing method with a program freezer showed higher hatching rates 72 hours after thawing than the rapid freezing method with liquid nitrogen ($p < 0.05$). With regard to the cryoprotectant, PROH showed significantly ($p < 0.01$) higher hatching rates than dimethyl sulfoxide (DMSO). There was no significant difference between the 2 step- and 4 step- method of PROH addition and between 0.1 M sucrose and 0.25 M trehalose used as plasma membrane impermeable cryoprotectants.

In conclusion, a good result was obtained by a slow freezing procedure with a program freezer using PROH as cryoprotectant.

(受付: 1994年9月21日)

(受理: 1994年12月12日)

体外受精における卵管留水腫の影響

The Influence of Hydrosalpinx on In vitro Fertilization and Embryo Transfer

秋田大学医学部産科婦人科学教室

軽部 裕子

Hiroko KARUBE

松井 俊彦

Tosihiko MATSUI

児玉 英也

Hideya KODAMA

清水 靖

Yasushi SHIMIZU

福田 淳

Jun FUKUDA

田中 俊誠

Toshinobu TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology

Akita University School of Medicine, Akita 010, Japan

卵管留水腫の存在が体外受精の治療成績に与える影響を検討する目的で、卵管留水腫が存在する患者63例(水腫(+))と卵管留水腫が存在しない卵管因子患者69例(水腫(-))で体外受精の治療成績を比較検討した。その結果、以下の点を明らかにすることができた。

1) 水腫(+))群と水腫(-))群の1患者あたりの平均体外受精施行(採卵)周期数は、それぞれ 3.2 ± 2.4 (mean \pm S.D.), 1.8 ± 1.2 周期で、水腫(+))群が有意に($p < 0.05$)多かった。2) 採卵数、受精卵数、移植胚数は両群間に差を認めなかった。3) 水腫(+))群と水腫(-))群の周期あたりの妊娠率(括弧内はongoing妊娠)は、それぞれ23.5(12.3), 41.2(37.0)%で、水腫(+))群で有意($P < 0.01$)に低率であった。4) 流産率は、水腫(+))群で有意に($P < 0.01$)高率であった(38.6 versus 6.1%)。5) 子宮外妊娠の発生頻度(子宮外妊娠/採卵)は、水腫(+))群が有意に($P < 0.01$)高率であった(2.1 versus 1.7%)。

以上の成績から、卵管留水腫の存在は体外受精の着床過程、およびその後の妊卵の発育に悪影響を与えると考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 181 - 184, 1995)

緒言

体外受精・胚移植が不妊症の一般的な治療として導入されてから久しくなるが、移植当りの着床率は未だ20~35%と低率である。また、体外受精後の妊娠では、流産率が高く、子宮外妊娠の発生頻度も自然妊娠では0.3~1.3%^{1,2)}であるのに対し、体外受精では4~10%^{3,4)}と高率であると報告されている。着床率および妊娠の予後を改善させるために様々な試みがなされているが、現在のところ、決定的な対策は見いだされてはいない。

このような問題点を解決するためには、不妊症患者に着床を妨げる特異的な因子が存在するか否かを明らかにすることが肝要である。もしそのような因子の存在が明らかになれば、体外受精の着床率および妊娠予後を改善する上で、重要な手がかりとなる

ことが予想される。今回我々は、そのような因子として、卵管留水腫の存在に注目してみた。子宮外妊娠の発生率が、卵管因子、特に卵管留水腫を伴った症例に高いとの報告⁵⁾があったことから、卵管留水腫の存在が体外受精の成績に広く関わっているのではないかと想定し、体外受精における卵管留水腫の影響をretrospectiveに検討した。その結果、卵管留水腫の存在が体外受精の着床率および妊娠予後を悪化させる因子であることが明らかになったので報告する。

研究方法

1) 対象

対象は、1988年から1993年の間に当科で体外受精を施行した患者の中から、男性因子や子宮内膜症を含まない、純粋な卵管因子による適応患者の132例

を選択した。これらの患者を卵管留水腫が存在しない69例、119周期(以下水腫(-)群とする)と卵管留水腫が存在する63例、187周期(以下水腫(+)群とする)に分類し、体外受精の成績を比較検討した。卵管留水腫は、子宮卵管造影検査、腹腔鏡検査、または開腹手術時の肉眼的所見により診断した。その結果、片側卵管留水腫が35例、両側が28例の計63例であった。しかし、この後のデータの解析は、どちらか一方の卵管の遠位端において径1 cm以上の水腫状の腫大が認められるものを水腫(+)群とした。水腫(-)群には、主に間質部閉塞や卵管留水腫を来さない卵管周囲癒着例が含まれている。

2) 体外受精の方法

卵巣の刺激方法としては、gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa, busserelin, スプレキユア®, ヘキストジャパン)と human menopausal gonadotropin (hMG, パーゴナル®, 帝国臓器, またはhMG日研®, 日研化学)の併用による long protocol を用い、一部 hMG に対する反応の不良な患者に対しては short protocol を用いた。GnRHa は、経鼻的に 900 μ g/日の投与量で、long protocol では刺激前周期の黄体期中期から、short protocol では月経開始日から使用した。hMG は、月経周期の 2 日目より 150~300 IU/日を連日投与し、最大卵胞径が 17~18 mm に達した時点で hCG 10,000 IU に切り替えた。採卵は経腔的に超音波断層法を用いて行い、精子は swim-up 法により回収して媒精した。配偶子の洗浄および培養に用いる培養液は 10% 非働化患者血清を加えた HTF (human tubal fluid) 溶液を用い、37°C、3 種混合ガス (90% N₂, 5% CO₂, 5% O₂) の気相で培養した。媒精後約 48 時間後に子宮腔内に胚を最高 4 個まで (1991 年以降は最高 3 個まで) 移植した。移植当日、3 日目、6 日目に卵巣過剰刺激症候群の危険がなければ hCG 2,000 IU による黄体刺激を行い、移植後 17~19 日目に尿中 hCG 検査 (テス

トバック®, ダイナボット) で妊娠の有無を確認した。

結 果

1) 両群における対象患者の臨床的背景

平均年齢は両群とも約 31 歳、平均不妊期間は約 5 年間と両群の間に有意差を認めなかった。体外受精の平均施行回数は、水腫 (+) 群が 3.2 ± 2.4 (mean \pm S.D.) 回と水腫 (-) 群 (1.8 ± 1.2 回) に比較して有意に ($p < 0.05$) 多かった (表 1)。

2) 両群の体外受精時の採卵数、受精卵数、移植胚数

両群とも体外受精時の平均採卵数は約 7 個、受精卵数は約 4 個、移植胚数は約 3 個で、両群間に差を認めなかった (表 1)。また、形態から評価された移植胚の grade についても両群間に差はなかった (成績は示さず)。

3) 両群における妊娠率

周期あたりの妊娠率は、水腫 (-) 群が 41.2% に対して、水腫 (+) 群は 23.5% と有意に ($p < 0.01$) 低率であった。また、ongoing 妊娠に限定した妊娠率も水腫 (-) 群が 37.0% に対して、水腫 (+) 群は 12.3% と有意差 ($p < 0.01$) が認められた。患者あたりの妊娠率に関しては、両群間 (水腫 (-) 群; 68.1%, 水腫 (+) 群; 54.0%) に有意差を認めなかったが、ongoing 妊娠のみの妊娠率については、水腫 (-) 群が 63.8% に対し、水腫 (+) 群が 36.5% と有意に ($p < 0.01$) 低率であった (表 2)。

4) 両群における流産率および子宮外妊娠の発生頻度

全妊娠数あたりの流産率は水腫 (-) 群が 6.1% に対して、水腫 (+) 群は 38.6% と有意に ($p < 0.01$) 高率であった。子宮外妊娠の発生率も水腫 (-) 群が 1.7% に対して、水腫 (+) 群が 2.1% と有意に ($p < 0.01$) 高かった (表 2)。

表 1 対象患者の臨床的背景

	水腫 (-) 群	水腫 (+) 群	P value
症例数	69例	63例	—
周期数	119周期	187周期	—
年齢(歳)	31.2 \pm 3.6	31.4 \pm 3.7	N.S.
不妊期間(年)	5.2 \pm 3.6	5.1 \pm 2.8	N.S.
施行回数	1.8 \pm 1.2	3.2 \pm 2.4	P < 0.05
採卵数	7.3 \pm 4.3	7.5 \pm 5.4	N.S.
受精卵数	4.0 \pm 2.9	4.7 \pm 3.3	N.S.
移植胚数	2.8 \pm 1.6	3.2 \pm 1.6	N.S.

mean \pm S.D.

表2 卵管水腫の有無による妊娠率、流産率および子宮外妊娠の比較

	水腫(-)群	水腫(+)群	P value
周期あたりの妊娠率	41.2 %	23.5 %	P<0.01
(周期あたりのongoing率)	(37.0 %)	(12.3 %)	P<0.01
患者あたりの妊娠率	68.1 %	54.0 %	N.S.
(患者あたりのongoing率)	(63.8 %)	(36.5 %)	P<0.01
流産率(流産/妊娠)	6.1 %	38.6 %	P<0.01
子宮外妊娠率(外妊/周期)	1.7 %	2.1 %	P<0.01

mean ± S.D.

考 察

体外受精の適応因子の中でも卵管因子の妊娠率は一般的に良好で、当科においても適応が卵管因子の場合の妊娠率は31.4%(妊娠/移植)と良好である。しかし、今回の検討で、卵管留水腫の存在により体外受精の成績が有意に低下することが明らかとなった。水腫(+)群では周期あたりの妊娠率およびongoing妊娠率は有意に低率であった。水腫(+)群では体外受精の施行回数が有意に多く、施行回数を重ねることにより患者あたりの妊娠率には差が認められなくなったものと考えられる。しかし、ongoing妊娠の妊娠率で比較する限りにおいては、患者当りの妊娠率も水腫(+)群で有意に低率であった。水腫(+)群においては、流産率が38.6%と水腫(-)群の6.1%に比較して極めて高率であり、従来指摘されているように子宮外妊娠の発生率も有意に高率であった。

卵管留水腫の存在が、体外受精の着床率および妊娠予後の増悪因子になることは、最近になってStrandellら⁶⁾によっても報告されており、現在注目されている事象の一つである。卵管留水腫が体外受精後の着床過程および妊娠予後に悪影響を与える機序については、現在、全く不明であるが、いくつかの説明が可能である。体外受精の着床率が低率であることの要因の一つに、子宮に移植した胚が子宮外に脱出する可能性が考えられている⁷⁾。卵管留水腫例で子宮外妊娠が多いことから、卵管留水腫で卵管が拡張し卵管粘膜の子宮側への線毛運動が減少している⁸⁾ことから、胚が子宮内にとどまらずに卵管に移行しやすい可能性が考えられる。

また、卵管留水腫を形成する前段階として急性または亜急性の卵管炎の存在があったと考えられ、この時点では卵管留水腫液の中には好中球、マクロファージやそれらの細胞が生産するサイトカインやプロスタグランジンなどの炎症に関連する物質が放出されていたと推察される。また、クラミジアなどの

感染では無症候性に経過することが多く、慢性的な持続感染が卵管留水腫に存在する可能性も否定できない。従って、卵管留水腫の内容液にはこれらの炎症性物質またはその代謝産物が大量に存在する可能性がある。卵管留水腫の内容液は容易に子宮内に流入すると考えられ、これらの物質が胚の着床率およびその後の発育に悪影響を与える可能性は、否定できないと考えられる。

以上、卵管留水腫の存在が体外受精の着床率および妊娠予後を悪化させる因子であることを報告した。今回の検討から、卵管留水腫の存在が胚の着床および発育にどのような影響を与えているのかを研究し、それを回避する方法を考案することは、体外受精の妊娠率を改善させる重要な鍵になるものと予想される。

文 献

- 1) Barnes AB, Wennberg CN, Barnes BA, Ectopic pregnancy: Incidence and review of determinant factors. *Obstet Gynecol Surv* 38: 345, 1983
- 2) Rubin GL, Peterson MB, Dorfman SF, et al., Ectopic pregnancy in the United States 1970 through 1978. *JAMA* 249: 1725, 1983
- 3) Cohen J, Mayaux MJ, Guihard-Moscato ML, et al., In-vitro fertilization and embryo transfer: A collaborative study of 1163 pregnancies on the incidence and risk factors of ectopic pregnancies. *Hum Reprod* 1: 255, 1986
- 4) Martinez F, Trounson A, An analysis of factors associated with ectopic pregnancy in a human in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 47: 543, 1987
- 5) 宮崎豊彦, 久慈直昭, 菅原正人 他, 体外受精—胚移植における子宮外妊娠発生に關与する因子の検討. *日産婦誌* 43: 1496, 1991
- 6) Strandell A, Waldenstrom U, Nilsson L, Hydrosalpinx reduces in-vitro fertilization/embryo transfer pregnancy rates. *Hum Repro* 9: 861, 1994

- 7) Schulman JD, Delayed expulsion of transfer fluid after IVF/ET. *Lancet* 1: 44, 1986
- 8) Li J, Chen X, Ultrastructural study on the epithelium of ligated oviducts in reproductive women. *Chung Kuo I Hsueh Ko Hsueh Yuan Hsueh Pao* 15: 183, 1993

The influence of hydrosalpinx on in vitro fertilization and embryo transfer

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

Hiroko Karube, Hideya Kodama,
Jun Fukuda, Toshihiko Matsui,
Yasushi Shimizu and Toshinobu Tanaka

We designed a retrospective study to find out whether the presence of hydrosalpinx influenced on implantation rate and pregnancy outcome after in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) treatment. A total of 132 infertile women with pure tubal factor was categorized into two groups: no hydrosalpinx (H (-) group, 69

women, 187 cycles) and with hydrosalpinx (H (+) group, 63 women, 119 cycles). The results obtained were as follows.

1) The mean number of IVF-ET cycles per patient were significantly higher in H (+) group (3.2 ± 2.4 (mean \pm S.D.) versus 1.8 ± 1.2 cycles, $p < 0.05$).

2) There was no significant difference in the mean number of oocytes recovered and fertilized, and embryos transferred.

3) A significantly lower ($P < 0.01$) pregnancy rate was found in H (+) group (23.5%, ongoing pregnancy rate of 12.3%), as compared with H (-) group (41.2%, 37.0%).

4) Miscarriage rate in H (+) group (38.6%) was significantly ($P < 0.01$) higher than that of H (-) group (6.1%).

5) Incidence of ectopic pregnancy rate in H (+) group (2.1%) was significantly higher ($p < 0.01$) than that of H (-) group (1.7%).

This study suggests that the presence of hydrosalpinx reduces implantation rate and increases miscarriage rate and incidence of ectopic pregnancies.

(受付: 1994年11月7日)

(受理: 1994年12月19日)

子宮外妊娠治療後の妊孕性の検討 —過去7年間の症例から—

Reproductive Outcome Following Treatment for Ectopic Pregnancy — A 7-year experience —

熊本大学医学部産科婦人科学教室

河野 哲 郎
Tetsuro KAWANO
岩 政 仁
Jin IWAMASA

松 浦 講 平
Kohei MATSUURA
生 田 幸 生
Yukio IKUTA
岡 村 均
Hitoshi OKAMURA

田 中 信 幸
Nobuyuki TANAKA
田 代 浩 徳
Hironori TASHIRO

Department of Obstetrics and Gynecology

Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto 860, Japan

過去7年間に経験した55例の子宮外妊娠症例を、治療法別にMTX単独、根治手術および保存手術の三群に分け、治療後の妊孕性を検討した。

(対象) 年齢は平均29.9歳(17歳～43歳)で、開腹術の既往が36.4%(20例)にみられた。着床部位では卵管膨大部が65.5%(36例)と最も多く、卵管妊娠47例のうち80.9%(38例)は未破裂であった。

(成績) 治療前に挙児を希望した45例の治療後の妊娠率は、MTX単独で33.3%(1例/3例)、根治手術で23.5%(4例/17例)であった。一方、保存手術では64.0%(16例/25例)と根治手術に比較し有意($p=0.0099$)に高かったが、反復子宮外妊娠が3例(12.0%)みられた。保存手術の術式別妊娠率はtubo-tubal anastomosisが57.1%(4例/7例)、salpingotomyが50%(4例/8例)、milking outが100%(2例/2例)であった。また不妊歴の有無による術後妊娠率に有意差は認められなかった。

(結論) 子宮外妊娠に対する保存手術の有用性が確認された。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 185 - 189, 1995)

緒 言

近年、子宮外妊娠はSTDの蔓延や卵管への手術操作あるいは配偶子操作といった不妊治療の普及により増加傾向が指摘されている¹⁾。一方では診断技術の進歩により早期に診断され、保存手術や非観血的薬物療法を行う施設も多くなっており、その後の妊孕性の検討も進められている^{1,2)}。今回、過去7年間に当科で経験した子宮外妊娠症例について治療後の妊孕性を検討したので報告する。

研究対象

1) 対象

1986年1月から1992年12月までの7年間に当科で治療を受けた57例の子宮外妊娠症例のうち、1年から8年の追跡期間の結果、2例のIVF-ET後の子宮内外同時妊娠例を除く55例を今回の検討対象とした。なお、統計学的処理は χ^2 検定を用いて行った。

2) 患者プロフィール

年齢は17歳から43歳で、平均年齢は29.9歳であった。未妊婦は16例で、以下経妊未産婦17例、経産婦22例であり、治療時の平均妊娠週数は7週1日で、

平均尿中hCG値は4237.2 IU/lであった。既往歴では20例(36.4%)が過去に開腹手術を受けており、このうち15例は子宮外妊娠によるものであった。また16例(29.1%)に人工妊娠中絶の既往があった。

3) 着床部位と破裂の有無

着床部位を検討すると、卵管膨大部が36例(65.5%)と最も多く、以下卵管峡部9例、卵管間質部2例、卵巣2例、腹膜1例の順であった。残り5例(9.1%)は着床部位が確定できていないが、このうち4例はMTX単独療法を行った症例であり、1例は過手拳大の骨盤内血腫を認めた陳旧性の子宮外妊娠例であった。また卵管妊娠47例のうち38例(80.9%)は開腹時未破裂の状態であった。

4) 不妊歴の有無(表1)

24例(43.6%)に不妊歴があり、このうち腹腔鏡検査を受けているものが13例、以下骨盤内癒着剥離術が2例、卵管再建術が2例であった。不妊歴のない31例中21例は、治療時挙児を希望していた。

5) 挙児希望と治療法(表2)

着床臓器の機能をマイクロサージェリーにより温存したものを保存手術、着床臓器をすべて摘出したものを根治手術、MTX 20 mgのみを5日間連日筋注

したものをMTX単独療法とし、挙児希望の有無に分けて治療法を検討した。

挙児を希望する既婚婦人43例中24例(55.8%)、および未婚婦人7例中5例(71.4%)に保存手術を施行した。このうち6例は最初にMTX単独療法を施行したが、途中で急性腹症を呈したり、貧血の進行や超音波検査でecho free spaceの増大を認めたため開腹手術を行った症例である。一方、挙児を希望する既婚婦人43例中着床臓器の損傷が著明であった16例(37.2%)と挙児を希望しない既婚婦人5例全例に根治手術を施行した。挙児希望のある未婚婦人1例に根治手術を行っているが、この例は2回目の子宮外妊娠に対して当科で保存手術を行い、その後同側の卵管采から膨大部にかけての妊娠を反復し、卵管を残し得ないと判断した症例である。また挙児希望があり過去に卵管摘出術または卵管再建術の既往のある既婚婦人3例と挙児を希望しない未婚婦人1例にMTX単独療法のみを行った。

成 績

1) 治療法別にみた妊娠例と予後(表3)

挙児希望症例45例のうち、21例(46.7%)が妊娠し、このうち17例(81.0%)が分娩に至っている。治療法別では、保存手術25例中16例(64.0%)に延べ20回の妊娠が成立した。内訳は分娩が12例、流産が5例であったが、反復子宮外妊娠例も3例(12.0%)認められた。このうち1例は対側卵管妊娠例で、2例は対側卵管がない同側卵管妊娠例であった。また根治手術17例中4例(23.5%)に妊娠が成立したが、保存手術例の方が有意($p=0.0099$)に高い妊娠率を示した。一方、MTX単独療法では3例中1例(33.3%)に妊娠が成立したが、保存手術例の妊娠率と有意差はなかった。この症例は治療後1回目の妊娠が流産に終わった後、2回目の妊娠で分娩に至っている。また対側卵管の有無により妊娠率を検討すると、保存手術例では対側卵管が残存している13例中8例(61.5%)および残存していない12例中8例(66.7%)に妊娠が成立したが、両者間に有意差は認めなかった。一方、対側卵管が残存している根治手術例では14例中4例(28.6%)に妊娠が成立した。これを保存手術例全体の妊娠率と比較すると、保存手術例の方が有意($p=0.0337$)に高く、対側卵管が残存している症例のみで検討すると、有意差はないものの保存手術例の方が高い傾向がみられた。

2) 保存手術の術式別妊孕性の検討(表4)

保存手術25例の術式別の妊孕性を検討した。この

表1 不妊歴の有無

I: 不妊歴あり		24例 (43.6%)	
既往検査治療の内訳		()	重複例
一般不妊検査	2 (0) 例		
腹腔鏡検査	13 (8) 例		
クロミフェン	9 (5) 例		
hMG-HCG	1 (0) 例		
骨盤内癒着剥離術	2 (2) 例		
卵管再建術	2 (1) 例		
AIH	2 (2) 例		
IVF-ET	3 (2) 例		
GIFT	3 (2) 例		
II: 不妊歴なし		31例 (56.4%)	
挙児希望あり;	21例		
なし;	10例		

表2 挙児希望と治療法

	挙児希望あり		挙児希望なし	
	既婚	未婚	既婚	未婚
保存手術	24	1	0	4
根治手術	16	1	5	0
MTX単独	3	0	0	1
総 数	43	2	5	5

表3 治療法別にみた妊娠例と予後

— 拳児希望45例 —

	妊娠例 / 症例数 (妊娠率)	分娩	妊娠予後#			対側卵管	
			流産	外妊	あり	なし	
保存手術	16 / 25 (64.0 % ^{a,b,c})	12	5	3*	8 / 13 (61.5 % ^{d,e})	8 / 12 (66.7 % ^d)	
根治手術	4 / 17 (23.5 % ^a)	4	0	0	4 / 14 (28.6 % ^{b,e})	0 / 3 (0 %)	
MTX 単独	1 / 3 (33.3 % ^c)	1	1	0	—	—	
総 計	21 / 45 (46.7 %)	17	16	3			

: 延べ妊娠回数
 * : 同側卵管妊娠 2 例, 対側卵管妊娠 1 例
 a : p = 0.0099, b : p = 0.0337, c : p = 0.30895
 d : p = 0.7895, e : p = 0.0850

表4 保存手術 — 術式別妊娠 —

	妊娠例 (症例数)
卵管妊娠	
tobo-tubal anastomosis	4 (7)
isthunico - isthunic	[1 (1)]
ampullo - isthunic	[2 (3)]
ampullo - ampullary	[1 (3)]
salpingotomy	4 (8)
milking out	2 (2)
salpingo-neo-stomy	1 (1)
partial salpingectomy	3 (4)
fimbrioplasty	0 (1)
その他	
卵巣部分切除	1 (1)
直腸表面止血*	1 (1)
総 計	16 (25)

* 腹膜妊娠

表5 不妊歴の有無による治療後の妊孕性

不妊歴	保存手術	根治手術	MTX 単独
あり	9 / 16 (56.3 % ^b)	1 / 6 (16.7 % ^c)	1 / 2 (50.0 %)
なし	7 / 9 (77.8 % ^b)	3 / 11 (27.3 % ^c)	0 / 1 (0 %)

— 拳児希望45例 — 妊娠例 / 症例数 (妊娠率)
 a : p = 0.9047, b : p = 0.2818, c : p = 0.6225

であり, 不妊歴の有無による妊娠率に有意差はなかった。

考 察

子宮外妊娠に対する保存手術の有用性を1953年に Stromme が報告³⁾して以来, 保存手術が施行される頻度は増加してきている^{1,4)}。しかし, 対側卵管が残存する根治手術より妊孕性を高く保つことが出来るか否かについては未だ議論のあるところである。Plo-man と Wicksell⁵⁾は根治手術より保存手術の妊娠率が高いことを報告しているが, Orly ら⁴⁾の報告では両術式に差はみられていない。今回の検討では, 保存手術例は対側卵管が残存する根治手術例に比較し有意に高い妊娠率を示したことより, 保存手術の有用性が確認された。さらに, 対側卵管が欠如する保存手術例の妊娠率が対側卵管が残存する保存手術例と同程度の妊娠率を保持できたことは, 保存手術が単に罹患器官の温存のみならず, 骨盤内癒着や卵巣囊腫・子宮筋腫などの摘出など, 骨盤内臓器の異常を徹底的に取り除く努力をした結果と考えられる。また対側卵管が残存している症例のみに限って検討してみると, 保存手術例の妊娠率は根治手術例に比較して有意差はなかったが, 高い傾向がみられた。こ

うち, 卵管妊娠に対する保存手術を IFFS Classification (1977) に準じて分類すると, 病巣切除後に行った tubo-tubal anastomosis で 7 例中 4 例 (57.1 %), salpingotomy で 8 例中 4 例 (50.0 %), milking out で 2 例中 2 例 (100 %), salpingo-neo-stomy で 1 例中 1 例 (100 %), 将来の妊孕能の可能性を残した partial salpingectomy で 4 例中 3 例 (75.0 %) に妊娠が成立した。

3) 不妊歴の有無による治療後の妊孕性の検討 (表 5)

拳児希望45例の治療後の妊孕性を不妊歴の有無に分けて検討すると, 不妊歴のある24例中11例 (45.8 %) に妊娠が成立した。内訳は保存手術16例中9例 (56.3 %), 根治手術6例中1例 (16.7 %), MTX 単独療法2例中1例 (50.0 %) であった。一方, 不妊歴のない21例中10例 (47.6 %) に妊娠が成立し, 保存手術は9例中7例 (77.8 %), 根治手術は11例中3例 (27.3 %)

の点については今後症例の集積を行い検討する必要があるが、対側卵管が健在するように見えても安易に根治手術を行わない方がよいと思われる。

保存手術後の問題点は子宮外妊娠の反復率が増加する点であろう。Langerら¹⁾は12.7%という反復子宮外妊娠率を報告している。我々の成績では12.0%(3例)の反復率であったが、このうち1例は対側の子宮外妊娠例であった。Hallatt⁶⁾は保存手術後の反復子宮外妊娠例の半数は対側卵管であったと報告している。このことは開腹時、対側卵管が肉眼的に健常な状態であっても、既に機能的に障害されている可能性を示唆するものであり、保存手術後の反復子宮外妊娠を完全に予防することは困難であろう。

保存手術術式別の妊娠率は、tubo-tubal anastomosisが最も高く58~72%と報告され、salpingo-neo-stomyが最も低く23%と報告されている^{7,8)}。我々の成績では、tubo-tubal anastomosisで57.1%、salpingotomyで50.0%、また症例数は少ないがmilking outおよびsalpingo-neo-stomyで100%に妊娠が成立した。milking outの成績については種々の報告があり、TimonenとNiemenen⁹⁾は子宮内妊娠率24.1%、流産率20.7%、反復子宮外妊娠率21.0%と流産率および反復子宮外妊娠率が高いことを指摘しているが、Langerら¹⁾の報告では子宮内妊娠率は60.6%と高率であり、しかも流産や反復子宮外妊娠はみられていない。今回の検討ではmilking outを試みた2例とも子宮内妊娠が成立し、経膈分娩に至っており、今後本法は積極的に試みるべきと考えている。

術後の妊孕性を左右する因子の一つとしてOrlyら⁴⁾は不妊歴の有無を挙げている。彼らは不妊歴のない患者の子宮外妊娠術後の正期産率は68.0%で、不妊歴のある患者(20.0%)と比較して高く、逆に反復子宮外妊娠率は不妊歴のない患者では8.0%で、不妊歴のある患者(28.0%)に比較し低かったと報告している。我々の成績では、保存手術後および根治手術後共に不妊歴のない患者の妊娠率は不妊歴のある患者と比較し有意差はなく、反復子宮外妊娠3例中2例には不妊歴がなかった。

未破裂症例で、挙児希望があり過去に卵管摘出術または卵管再建術の既往のある既婚婦人や未婚婦人にMTX単独療法を行ったが、Stovallら¹⁰⁾は、MTX療法後の妊娠率は保存手術より高いと報告している。今回の成績では症例数は少ないが3例にMTX単独療法を行い、うち1例(33.3%)に妊娠が成立したが、保存手術後の妊娠率と有意差はなかった。しかも、MTX療法中に卵管破裂症状を呈し開腹術に移行した

症例が6例あったことから、MTX療法に対する適応基準の確立が必要であろう。

結 語

子宮外妊娠治療後の妊孕性について検討して、以下の結果を得た。

- 1) 挙児を希望する45例の妊娠率は46.7%(21例)であった。
- 2) 保存手術例(64.0%)は根治手術例(23.5%)に比較し有意($P=0.0099$)に高い妊娠率を示したが、3例(12.0%)の反復子宮外妊娠を認めた。また対側卵管が残存する症例で検討すると、保存手術例の妊娠率(61.5%)は根治手術例(28.6%)に比較し有意差はなかったが、高い傾向がみられた。
- 3) 保存手術の術式別妊娠率は、tubo-tubal anastomosisが57.1%(4例/7例)、salpingotomyが50.0%(4例/8例)、milking out(2例/2例)およびsalpingo-neo-stomy(1例/1例)が100%であった。
- 4) 不妊歴の有無による術後妊娠率に有意差は認めなかった。
- 5) MTX療法後の妊娠率は33.3%であり、保存手術後の妊娠率と有意差はなかった。

文 献

- 1) Langer R, Golan A, Raziel A, et al., Reproductive outcome after conservative surgery for unruptured tubal pregnancy — a 15-year experience. *Fertil Steril* 53: 227, 1990
- 2) 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. *日本不妊会誌* 38: 694, 1993
- 3) Stromme WB, Salpingotomy for tubal pregnancy: Report of a successful case. *Obstet Gynecol* 1: 427, 1953
- 4) Ory SJ, O'Brien PS, Nnadi E, et al., Fertility after ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 60: 231, 1993
- 5) Ploman L, Wicksell F, Fertility after conservative surgery in tubal pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 39: 143, 1960
- 6) Hallatt JG, Tubal conservation in ectopic pregnancy: A study of 200 cases. *Am J Obstet Gynecol* 154: 1216, 1986
- 7) 高木繁夫, 長田尚夫, 子宮外妊娠の保存的手術. *産婦人科Mook* 39: 81, 1987
- 8) 長田尚夫, 山田祐史, 石川久直 他, マイクロサージェリーによる卵管形成術. *臨婦産* 44: 595, 1990
- 9) Timonen S, Niemenen U, Tubal pregnancy, choice of operative method of treatment. *Acta Obstet*

Gynecol Scand 46: 327, 1967

- 10) Stovall TG, Ling FW, Buster JE, Reproductive performance after methotrexate treatment of ectopic pregnancy. Am J Obstet Gynecol 162: 1620, 1990

**Reproductive outcome following treatment
for ectopic pregnancy
— a 7-year experience —**

Tetsuro Kawano, Kohei Matsuura,
Nobuyuki Tanaka, Jin Iwamasa
Yukio Ikuta, Hironori Tashiro
and Hitoshi Okamura

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

We evaluated the fertility outcome in 55 cases of ectopic pregnancy treated with either MTX, radical or conservative surgery at our institution over a period of 7 years. The mean age of the patients was 29.9 years (17~

43 years) and 20 patients (36.4 %) had previously undergone laparotomy. 36 patients (65.5 %) had an ampullary pregnancy and 38 out of 47 patients (80.9 %) of tubal pregnancy were diagnosed as the unruptured conditions. The pregnancy rates after MTX treatment and radical surgery in 45 patients who wanted to conceive were 33.3 % (1 / 3) and 23.5 % (4 / 17), respectively. The pregnancy rate in patients who had conservative surgery was 64.0 % (16 / 25), which was significantly ($p = 0.0099$) higher than that of radical surgery but the repeated ectopic pregnancy rate was 12.0% (3 / 25). The pregnancy rates in the patients who had tubo-tubal anastomosis was 57.1 % (4 / 7), and that in those who had surgery by the salpingotomy (4 / 8) and milking out method (2 / 2) were 50 % and 100 %, respectively. In addition, no difference was seen in the pregnancy rate between the patients with and without a history of infertility. We conclude that conservative surgery is the useful method of ectopic pregnancy to retain the best chance for future fecundity.

(受付：1994年 9月 7日)

(受理：1994年12月20日)

静磁場 (2.1 Tesla) のマウス初期胚発生に及ぼす影響

Effects of Static Magnetic Fields (2.1 Tesla) on the Early Mouse Embryos Development In Vitro

福島県立医科大学産科婦人科学講座

菅野 薫 星 和彦 佐藤 章
Kaoru KANNO Kazuhiko HOSHI Akira SATOU

Department of Obstetrics and Gynecology

Fukushima Medical College, Fukushima 960-12, Japan

妊娠初期に施行される磁気共鳴画像診断の安全性を胚発育の面から検討する目的で、マウス (C57BL/6N) の初期胚 (前核期, 2細胞期, 4細胞期, 8細胞期胚) を, *in vitro* で曝磁 (均一静磁場 2.1 Tesla, パルス負荷 (-), 2時間) し, hatching までの胚の発育状況を実体顕微鏡下に観察した。対照群は, 初期胚を保温器に静置した。胚培養は, 微小滴法で, 37°C 5%CO₂ 大気下で mBWW 液を使用し施行した。前核期胚では曝磁後の hatching までの正常発育は 37.9% で, 経時毎の正常胚の発育率も各々対照群と比して有意差を認めなかった。しかし, hatching への発育速度は, 対照群に比べ曝磁群で良好であった。2細胞期, 4細胞期, 8細胞期胚の正常発育率は, 各々 70.1%, 81.3%, 87.1% と良好で, 対照群と差を認めなかった。初期胚の hatching までの発生に静磁場 (2.1 Tesla) はその発育速度に影響を与える可能性はあるが形態的に障害を認めなかった。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 190 - 194, 1995)

緒言

臨床上, 画像診断法の果たす役割は大きく, 核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance: NMR) 現象を利用した磁気共鳴画像 (Magnetic Resonance Imaging: MRI) 診断も, 重要な画像診断法になっている。

MRI 診断においては, 生体を磁場に曝露 (曝磁) するが, その生体への影響については不明であり, 特に生殖過程に及ぼす影響が無視出来ないと考えられる。

我々は, 妊娠初期における曝磁の安全性を胚発育の面から検討する目的で, マウスの初期胚を *in vitro* で曝磁し, その後の初期胚発育過程を観察した。

材料および方法

7 ~ 9 週齢の C57BL/6N の雌マウスを使用し, pregnant mare serum (PMS) 8 international unit (i.u.), その 48 時間後に, human chorionic gonadotropin (hCG) 8 i.u. 腹腔内投与の過排卵処理し, 直ちに同系の雄と交配した。翌朝陰栓の確認された雌マウスを hCG 投与から一定時間後に開腹し, その卵管より初期胚を回収し

た。実験に供した初期胚は, 前核期, 2細胞期, 4細胞期, 8細胞期の各段階の胚であるが, 前核期胚の場合, hCG 投与から 18 時間後に, 2細胞期胚では, 42 時間後に回収し, ただちに実験に供した。前核期胚は, 0.1% ヒアルロニダーゼで数分間処理し, 卵丘細胞を除去した。また, 4細胞期, 8細胞期胚の場合, hCG 投与 44 時間後に 2細胞期胚を回収し, それを *in vitro* で, 各々 24 および 30 時間前培養し, 4細胞期, 8細胞期胚に発育したものだけを使用した。

曝磁は, 内径 10mm の円筒形の試料管 (写真 1) の管底に培養液を 2 ml 入れ, その中に胚を封入し, その試料管を日本電子製 FX-90Q NMR スペクトロメーター (均一静磁場 2.1 Tesla (以下 T), パルス負荷 (-)) に遮光収納し, 36.0°C で 2 時間施行した。対照として, 同様の時期の胚を培養液と共に試料管に封入し, 36.0°C 保温器に遮光し 2 時間静置した。

培養液は, 胚の回収および培養を通して, 0.5% 牛血清アルブミン (Bovine Serum Albumin) 含有 modified Biggers, Whitten and Whittingham (mBWW) 液を使用した。胚の培養は, 微小滴法, すなわち, ペトリ皿内

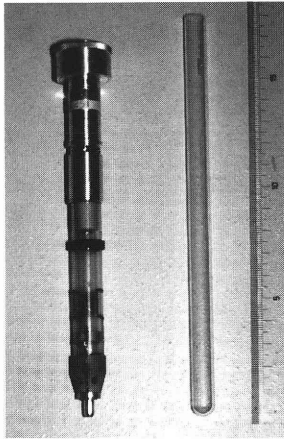


写真1 NMR 試料管 (右)

に約0.2 mlの半球状の培養液の小滴をおき、その中に胚を移し、その小滴をミネラルオイルで覆い、37°C 5% CO₂大気下で行った。

胚の発育状況は、実体顕微鏡下で観察した。通常、in vitroにおけるマウス胚発育は、hCG投与44時間後には、2細胞期以上に、68時間後には4細胞期以上に、92時間後には桑実胚以上に発育、さらに116時間後はhatchingするとされている。したがって、以上のように発育した場合を正常発育とし、他の発育遅

使用マウス C57BL/6N 7~9週齢

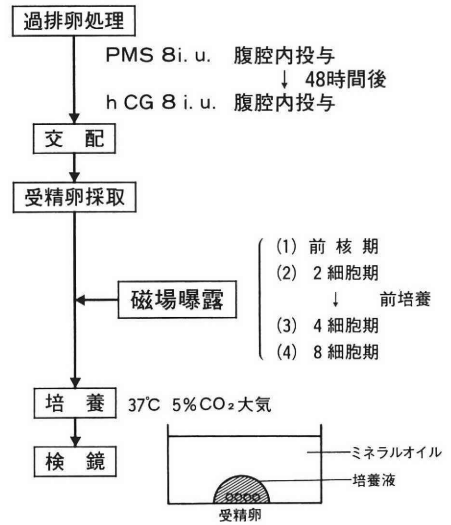


図1 実験方法

延、発育停止もしくは変性したものは異常発育とした。有意差検定は χ^2 検定を用いた(図1)。

結果

表1は、前核期胚を曝磁した後の胚発育を24時間

表1 前核期胚の曝磁後の初期胚発育状況

		胚個数 (%)				
		18時間	44時間	68時間	92時間	116時間
&3	&1	18時間	44時間	68時間	92時間	116時間
	&2	—	24時間	48時間	72時間	96時間
前核期胚	曝露群	319 (100)	55 (17.2)	53 (16.6)	49 (15.4)	49 (15.4)
	対照群	325 (100)	51 (15.7)*	51 (15.7)*	51 (15.7)*	51 (15.7)*
2細胞期胚	曝露群		261 (81.8)	34 (10.7)	31 (9.7)	30 (9.4)
	対照群		273 (84.0)*	33 (10.2)*	31 (9.5)*	31 (9.5)*
~4細胞期胚	曝露群		3 (0.9)	108 (33.9)	24 (7.5)	24 (7.5)
	対照群		1 (0.3)*	132 (40.6)*	17 (5.2)*	17 (5.2)*
~8細胞期胚	曝露群			61 (19.1)	2 (0.6)	2 (0.6)
	対照群			65 (20.0)*	1 (0.3)*	1 (0.3)*
~桑実胚	曝露群			58 (18.2)	3 (0.9)	1 (0.3)
	対照群			41 (12.6)*	21 (6.5)#	18 (5.5)#
胞胚	曝露群			5 (1.6)	183 (57.4)	92 (28.8)
	対照群			3 (0.9)*	191 (58.8)*	97 (29.8)*
hatching	曝露群				27 (8.5)	121 (37.9)
	対照群				13 (4.0)##	110 (33.8)*
正常発育胚 合計	曝露群	319 (100)	264 (82.7)	232 (72.8)	213 (66.8)	121 (37.9)
	対照群	325 (100)	274 (84.3)*	241 (74.1)*	225 (69.3)*	110 (33.8)*

■部分は正常発育段階を示す χ^2 検定 * : N.S. # : p < 0.01 ## : p < 0.05
 &1 : hCG投与後の経過時間 &2 : 曝磁後の経過時間 &3 : 胚発育段階

毎にhCG投与116時間まで観察した結果を示したものである。

横に曝磁後経過時間を、縦にそれに伴う胚発育の各段階を示した。さらに、最下段に各経過時間における正常に発育した胚を合計したものを示した。すなわち、曝露群において実験(実験回数6回)に供した319個の胚は、曝磁後24時間(hCG投与44時間後)には2細胞期胚へ261個、4細胞期胚へ3個が発育し、55個が前核期胚に滞った。したがって、正常発育胚は、261+3=264個となり、正常発育率は82.7%(264個/319個)、同様に、hCG投与68時間後は72.8%(232/319)、92時間後は66.8%(213/319)、116時間後は37.9%(121/319)であった。一方、対照群において

表2 2細胞期胚の正常初期胚発育状況

	hCG投与後の経過時間 (曝磁後の経過時間) 胚 個 数 (%)			
	42時間 —	92時間 (48時間)	116時間 (72時間)	
	2細胞期胚	桑実胚	胞胚	hatching
曝露群	77 (100)	7 (9.1)	59 (76.6)	54 (70.1)
	*	合計 66 (85.7)	*	*
対照群	65 (100)	6 (9.2)	55 (84.6)	46 (70.8)
		合計 61 (93.8)	*	

*: N.S.

表3 4細胞期胚の正常初期胚発育状況

	hCG投与後の経過時間 (曝磁後の経過時間) 胚 個 数 (%)			
	68時間 —	92時間 (22時間)	116時間 (46時間)	
	4細胞期胚	桑実胚	胞胚	hatching
曝露群	48 (100)	5 (10.4)	43 (89.6)	39 (81.3)
	*	合計 48 (100)	*	*
対照群	47 (100)	2 (4.3)	44 (93.6)	36 (76.6)
		合計 46 (97.9)	*	

*: N.S.

表4 8細胞期胚の正常初期胚発育状況

	hCG投与後の経過時間 (曝磁後の経過時間) 胚 個 数 (%)			
	74時間 —	92時間 (16時間)	116時間 (40時間)	
	8細胞期胚	桑実胚	胞胚	hatching
曝露群	70 (100)	10 (14.3)	59 (84.3)	61 (87.1)
	*	合計 69 (98.6)	*	*
対照群	59 (100)	9 (15.3)	50 (84.7)	52 (88.1)
		合計 59 (100)	*	

*: N.S.

は、各々84.3%(274/325)、74.1%(241/325)、69.3%(225/325)、33.8%(110/325)で、いずれの時間においても、両群間に有意差を認めなかった。また、hCG投与44時間後、68時間後の各段階への発育においても差を認めなかったが、92時間後の発育においては、胞胚への発育に差を認めなかった一方、桑実胚およびhatchingへの発育には差を認め、hatchingへの発育率は曝露群で良好であった。この傾向は、116時間後にも認められた。

表2は、2細胞期胚を曝磁後の正常胚発育を観察した結果を示したものである(実験回数2回)。曝露群77個のうち、曝磁後48時間(hCG投与92時間後)の正常発育胚、すなわち、桑実胚へ7個(9.1%)および胞胚へ59個(76.6%)合計66個(85.7%)が正常発育し、残りの11個(14.3%)は、変性ないし発育停止した。さらに24時間(hCG投与116時間後)の正常発育(すなわち、hatching)は、54個(70.1%)であった。一方、対照群65個の成績は、各々9.2%、84.6%合計91.8%と70.8%であった。両群でいずれにおいても差を認めなかった。

表3は、4細胞期胚についての正常胚発育をみたものである(実験回数1回)。曝露群48個のうち24時間後(hCG投与92時間後)の正常発育、すなわち、桑実胚および胞胚への発育は、各々10.4%、89.6%計100%、さらに24時間後(hCG投与116時間後)の正常発育(hatching)は、81.3%であった。一方、対照群47個のそれは、4.3%、93.6%計97.9%および76.6%で、両群でいずれにおいても差を認めなかった。

表4は、8細胞期胚についての正常胚発育をみたものである(実験回数2回)。曝露群70個のうち18時間後(hCG投与92時間後)の正常発育、すなわち、桑実胚および胞胚への発育は、14.3%、84.3%計98.6%、さらに24時間後(hCG投与116時間後)の正常発育(hatching)は、87.1%であった。一方、対照群では、各々15.3%、84.7%計100%および88.1%であり、いずれにおいても正常発育は良好で、両群に差を認めなかった。

考 察

1946年に発見されたNMR現象を臨床応用し、現在MRI診断に利用している。MRI診断は、良好なコントラスト分解能および任意の断層像が得られ、さらに血流測定や生化学的検索へのアプローチも期待されている。しかし、曝磁するためその生体に及ぼす影響を考慮しなければならない。特に、産科領域においては、生殖過程に与える影響が危惧される。磁

場の生体に及ぼす影響については多数の報告があるが、生殖過程に与える影響についての実験報告は充分とはいえない。よって、妊娠中、特に妊娠初期のMRI診断は慎重に症例を制限して施行しているのが現状である。

生体に対する磁場の作用としては、1)変動磁場 2)静磁場と 3)それらの組み合わせによる作用が考えられている。変動磁場は、それ自身の作用およびそれによって誘導される渦電流の作用による影響によるものが考えられ、それによる高周波は温熱効果(ジュール熱)をもたらす。人体への影響としては、磁気閃光、血小板の活性化、心室細動などがあげられる。静磁場が生体に影響を与える機構として、配向効果、酵素作用の変化、神経伝達速度の変化、そしてそれらの重畳作用の4点をBudinger^{1,2)}は挙げている。配向効果は、高分子である蛋白質の構造(α -ヘリックス、らせんなど)に影響を与え、DNA転写、リボゾームにおける蛋白合成の場などに影響を与える。また、配向によって細胞の形や生体膜の構造の変化、さらに、化学反応やイオンの能動輸送ないし膜透過性や化学反応速度などを変化させる。その結果、細胞の成長速度、細胞変性ないし融合、血液の流動性などを変化させる。水分子においては、その水素原子間の結合角に影響を与え、その構造の変化により生体に影響を及ぼす。また、酸素は常磁性体であり、また細胞内にはミトコンドリア電子伝達系のヘムをはじめ、鉄コバルトその他の磁性金属原子を有する各種の酵素蛋白質が存在するが、これらが関与する呼吸、酸化還元、光化学反応を含め、多くの細胞内化学反応が磁場の影響を受けることが考えられる。さらに、静磁場にマイクロ波、光、放射線など他のエネルギーが相乗して影響を及ぼすことも懸念される。また、さらに、燃焼現象においては、その反応過程に多くの中間体が存在し、種々のラジカルが生成消滅しているものと考えられ、磁場はそのラジカル反応にも影響を及ぼすと考えられる。

生体に及ぼす磁場の影響についての報告についてみると、種々の動物で、様々な磁場条件で実験が行われている。

哺乳類では、マウスについて報告されている。Sikov³⁾は、妊娠マウスを、静磁場1.0Tあるいは2.5T/mの傾斜磁場に最大で受精後1/2日より18日までの長期間曝露し、その胎仔数、胎仔死亡、胎盤重量、奇形の有無を調べ、さらに自然分娩した子獣の生後4週間までについて観察しているが、いずれも影響を認めなかったと報告している。Konermann⁴⁾も、

静磁場1Tに妊娠7, 10, 13日目に雌マウスを1時間曝露し、その胎仔死亡、外表、奇形、骨格体重、脳重量などを調べたが影響を認めていない。磁場の遺伝に及ぼす研究は、主にショウジョウバエで行われているが、結果の評価は一定していない^{5,6)}。Mahlum⁷⁾は、雄マウスを静磁場1.0Tに28日間曝露し、その子獣の優性致死突然変異発生率を調べたが、その影響を認めなかったと報告している。

上野⁸⁾も静磁場1T傾斜磁場 10^3 T/mに曝露し、その神経胚までの発生を観察し、催奇形性の有無は不明だが、決定的な影響を及ぼさないと報告している。さらに、Kay⁹⁾も、胞胚、腸胚、神経胚の時期に静磁場1.5T傾斜磁場 10^2 T/mにその初期胚の時期を含め長時間曝露し、そのおたまじゃくしへの発生(発育遅延、形態異常、行動異常)を観察、さらに、胚の蛋白や核酸比を調査したが、いずれも影響を認めなかったと報告している。Naresh^{10,11)}は、カエルの胚を静磁場4.5Tに1時間曝露し、その胎仔への発生、尾芽の形成を調べているが、対照と有意差を認めていない。Bouvet¹²⁾は、6.4Tにウズラ胚を16日間曝露し、その形態に顕著な違いを見いだせなかった。さらに強磁場では、Beischer¹³⁾は、ウニ卵を14Tに2時間曝露し、その卵分割の遅延を認めるが、発生には影響を及ぼさず、ショウジョウバエを、同様に曝磁しその成長、性比、hatchingなどに影響を及ぼさなかったと報告している。

磁場の影響を考える場合、磁場を取り囲む環境をはじめ、磁場自身の問題、すなわち、磁場の種類(静磁場、変動磁場、均一磁場か不均一磁場か)・強度、曝磁時間・方法(連続か断続か)・領域や被験動物種・試料など種々の条件を考慮せねばならず、磁場の生体に与える影響について統一した見解を引き出すことは難しい。

現在、診察用MRIの安全基準¹⁴⁾として静磁場の最大は2.5Tとされており、以上を考慮し静磁場強度および曝露時間を2.1T、2時間として実験を行った。その結果、妊娠初期すなわち、前核期から8細胞期までのどの時期に曝磁されても、発育速度に若干の影響を及ぼす可能性はあるがhatchingまでの初期発生に有意に影響を及ぼさないことが示された。これは、受精直後の診察用MRIの安全性を示す根拠の1つになる。

しかし、今回は、in vitroの実験で、hCG投与後116時間までの形態のみの検討であること、臨床でのMRIは、撮影のために静磁場のもとで種々のパルス負荷を施行するが今回行っていないなどMRI診断の

安全性についての結論を出すにはなお検討の余地がある。今後さらに強静磁場、パルス負荷および長時間の曝磁での染色体、分子レベルなどでの検討が必要と思われる。

結 論

妊娠初期における曝磁の及ぼす影響をみるために、マウスを使用して、その初期胚(前核、2細胞、4細胞、8細胞期の各段階の胚)を *in vitro* で曝磁(静磁場 2.1 Tesla, パルス負荷(-), 2時間)し、その後の hatching (hCG 投与後 116時間)までの胚発育を実体顕微鏡下で観察した。いずれの細胞期においてもその後の胚の初期発育に形態的には有意な影響を認めなかったが、その発育速度に影響を及ぼす可能性が示唆された。診察用 MRI 装置の静磁場最大強度を考慮すると、hatching までの妊娠初期に診察のため曝磁してもその胚の発育に有意に影響を及ぼさないであろうことが示唆された。

文 献

- 1) Budinger TF, Potential medical effects and hazards of human NMR studies. In: Kaufman L, Crooks LE, Margulis AR, eds, Nuclear Magnetic Resonance Imaging in Medicine, p207, Igaku-Shoin, 1981
- 2) Budinger TF, Thresholds for physiological effects due to FR and magnetic fields used in NMR imaging. IEEE Trans Nucl Sci NS-26: 2821, 1979
- 3) Sikov MR, Mahlum DD, Montgomery LD, et al., Development of mice after intrauterine exposure to direct-current magnetic fields. In: Biological Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields, Proceeding of the 18th Hanford Life Sciences Symposium, Richland, Washington, 1978
- 4) Konermann G, Mönig H, Untersuchungen über den Einfluss statischer Magnetfelder auf die pranatale Entwicklung der Maus. Radiologie 26: 490, 1986
- 5) Levengood WC, A new teratogenic agent applied to amphibian embryos. J Embryol Exp. Morph 21: 23, 1969
- 6) Kale PG, Baum JW, Genetic effects of strong magnetic fields in *Drosophila melanogaster*: I. Homogenous fields ranging from 13,000 to 37,000 gauss. Envir Mutagen 1: 371, 1979
- 7) Mahlum DD, Sikov MR, Decker JR, Dominant lethal studies in mice exposed to direct-current magnetic fields. In: Biological Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields, Proceedings of the 18th Hanford Life Sciences Symposium, Richland, Washington, 1978

- 8) Ueno S, Harada K, Shiokawa K, The embryonic development of frogs under strong DC magnetic fields. IEEE Trans Mag MAG-20: 1663, 1984
- 9) Kay HH, Herfkens RJ, Kay BK, Effect of magnetic resonance imaging on *Xenopus laevis* embryogenesis. Magnetic Resonance Imaging 6: 501, 1988
- 10) Naresh P, David AW, Joseph DF, Effect of nuclear magnetic resonance on early stages of Amphibian development. Magnetic Resonance Imaging 1: 35, 1982
- 11) Naresh P, David AW, Joseph JF, et al., Safety of 4-T MR imaging: Study of effects on developing frog embryos. magnetic resonance imaging 8: 251, 1990
- 12) Bouvet J, Maret G, Embryonic development of the quail in strong magnetic fields. In: Maret G, Boccara N, Kiepenheuer J, eds, Biophysical Effects of Steady Magnetic Fields, p138, Springer-Verlag, 1986
- 13) Beischer DE, Survival of animals in magnetic fields of 140,000 Oe. In: Barnothy MF, ed, Biological Effects of Magnetic Fields, p201, vol.1, Plenum Press, 1964
- 14) Natl. Radiol. Protect. Board on MRI, Revised guidance on acceptable limits of exposure during nuclear magnetic resonance clinical imaging. Brit J Radiol 56: 974, 1983

Effects of static magnetic fields (2.1Tesla) on the early mouse embryos development *in vitro*

Kaoru Kanno, Kazuhiko Hoshi and Akira Satou

Department of Obstetrics and Gynecology
Fukushima Medical College, Fukushima 960-12, Japan

C57BL/6N female mice after superovulation processing with PMS-hCG were mated with male mice. Female mice were laparomized to obtain fertilized ova at the pronuclear or 2-cell stage (after 18 or 42 hrs injection of hCG). Early embryos (pronuclear, 2-cell, 4-cell, 8-cell stage) were exposed with static magnetic fields (2.1 Tesla, without pulse load) (FX-90Q NMR spectrometer) for 2 hrs. Exposed embryos were cultured with microdrip method at 37°C under 5% CO₂ in air. Their developments (until hatching) at 116 hrs after injection of hCG were observed, and compared with that of control groups. These results show that static magnetic fields (2.1 T, without pulse load) have no significant effects on the subsequent early embryogenetic development morphologically, but the cleavage velocity tends to be influenced.

(受付: 1994年 9月 1日)

(受理: 1994年 12月 24日)

男子不妊症における精巣容積の意義について

Significance of Testicular Volumes in Infertile Patients

埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科

(主任：斎藤 博教授)

内 島 豊 吉 田 謙一郎*
Yutaka UCHIJIMA Ken-Ichiro YOSHIDA

Department of Urology

Saitama Medical Center of Saitama Medical School, Saitama 350, Japan

男子不妊症の成因を検討する上で、精液検査あるいは内分泌学的検査などは必須の検査として重要であるが、精巣の容積あるいは固さなども不妊症の診断・その後の治療の方針を決定する上で重要である。1985年6月より1993年12月までの8年6か月の間に埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科不妊外来を受診した461例について精巣容積を測定し、男子不妊症の主たるパラメーターである精液所見あるいは内分泌学的検査との関連について比較検討した。精巣容積は精子濃度、血中FSH値、LH値と有意の相関を示し、臨床的には精索静脈瘤の有無にもその容積は相関を示した。精巣容積とFSH/LH比は有意の相関を示し、Johnsen's mean scoreが6.0以上であるためには精巣容積は15 ml以上である必要が認められた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 195 - 202, 1995)

現所属；獨協医科大学泌尿器科*

Present address; Department of Urology, Dokkyo University School of Medicine, Tochigi 321-01, Japan

緒 言

男子不妊症の成因を検討するうえで、精液検査あるいは内分泌学的検査などは必須の検査として重要であるが、精巣の容積あるいは固さなども不妊症の診断・その後の治療の方針を決定する上で重要である^{1,2)}。我々は埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科外来を不妊を主訴として受診した症例について精巣容積を測定し、男子不妊症の主たるパラメーターである精液所見あるいは内分泌学的検査との関連について比較検討し、精巣容積測定について興味ある結果を得たのでここに報告する。

対象および方法

1985年6月より1993年12月までの8年6か月の間に埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科不妊外来を受診した症例は461例で、既往歴、精巣容積、精索静脈瘤の有無、精液検査および内分泌学的検査を施行した。精巣容積は山口大学式の punched-out

orchiometer³⁾を使用して測定した。精液検査は禁欲3日間後、マスターベーションにて採取し、精液量、精子濃度、精子運動率、精子奇形率および白血球数を測定した。精液検査は3回施行し、その平均値を用いた。血中FSHとLHはIRMAで測定し、TestosteroneはRIAで測定した。FSHとLHの測定法についてはより特異性を高めるために標準品が尿中ゴナドトロピンから下垂体性ゴナドトロピンに変更されたので、旧法で測定されたデータは換算式を使用して補正した。採血は午前9時から11時までの2時間に3回施行し、採血した各々を混合して検査のための1検体として扱った。

精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上を正常精子濃度例とし、 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満 $\sim 10 \times 10^6/\text{ml}$ 以上を軽度乏精子症例、 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満を高度乏精子症例とした。運動率については精子運動率が50%以上を正常精子運動例とした。無精子症あるいは高度乏精子症例の一部について精巣生検術を施行し、精子形成能についてはJohnsen's mean scoreによって判定した。

統計処理はPower Macintosh上で統計ソフトのStat View 4.02を利用した。使用した検定法はMann-Whitney U検定, Kruskal-Wallis検定および重回帰分析法である。

結 果

1) 対象症例について

461例中不妊期間が1年未満あるいは不妊期間が不明の44例を除いた417症例について検討した。患者年齢は最低23歳から最高48歳までで、平均34±4.8歳であり、30歳から35歳までが162例(38.8%)、35歳から40歳までが118例(28.3%)と30歳代の患者数が全体の半数以上を占めた(図1)。不妊期間は3年から4年までが77例(18.5%)と最も多く、ついで2年から3年までが73例(17.5%)、4年から5年までが50例(12.0%)で、5年未満の症例は全体として247例(59.2%)であった。

何らかの既往例を持つ症例は40例で、その中でも鼠径ヘルニアが最も多くて10例(25%)で、ついで精巣上体炎の4例(10%)、停留精巣の3例(7.5%)、陰嚢水腫の3例(7.5%)であり、流行性耳下腺炎は5例(全例思春期前に罹患)(12.5%)であった。

精巣容積の解析にあたっては明らかに精巣容積に影響を与えると考えられる既往歴を持つ5例(鼠径ヘルニア術後:2例, 精巣固定術後1例, 精巣上体腫瘍術後1例, 急性精巣炎1例), 対側精巣が欠損しているか、あるいは対側精巣の容積の記載のない6例(精巣摘除後3例, 無精巣症1例, 記載なし2例)および両側とも精巣容積の記載のない30例の計41例を除く376症例について検討した。

2) 左右の精巣容積について

右精巣の平均容積は16.3±4.5mlであり、左精巣の平均容積は15.8±4.6mlで両者の間には有意の差(P<0.0001)が認められた。左右精巣間の相関係数はr=0.925で極めて高い相関を示し、回帰直線はY=0.941X+0.498(X:右精巣容積, Y:左精巣容積)であった(図2)。

左右の精巣とも最も多いのは15mlから20ml未満の精巣容積を示す症例で右精巣で141例(37.5%)であり、左精巣で146例(38.8%)であった。ついで右精巣では20mlから25ml未満の精巣容積を示す106例(28.2%)、10mlから15ml未満の精巣容積を示す82例(21.8%)と続くが、左精巣では逆に10mlから15ml未満の精巣容積を示す94例(25.0%)、20mlから25ml未満の精巣容積を示す85例(22.6%)と続いた。精巣容積が左右の精巣とも5ml未満の症例は3例であり、

その中の2例はKlinefelter症候群で残りの1例はXX-maleであった。

3) 精索静脈瘤の有無と精巣容積について

精索静脈瘤を認めない症例は238例で、精索静脈瘤を認めた症例は134例であった。精索静脈瘤を認めない症例では右精巣の平均容積は16.3±4.9mlであり、左精巣の平均容積は16.0±5.0mlで両者の間に有意の差(P<0.01)を認めた。左右の精巣とも最も多いのは15mlから20ml未満の精巣容積を示す症例で右精巣で81例(34.0%)であり、左精巣で84例(35.3%)

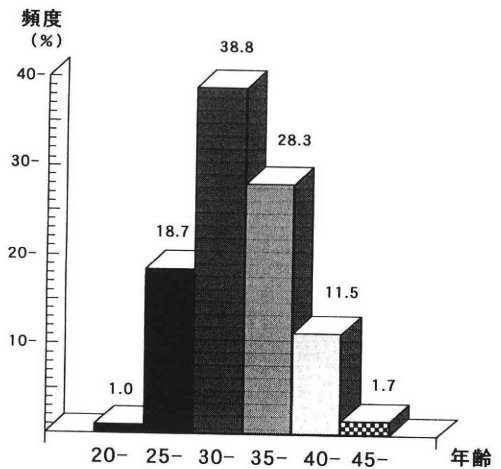


図1 初診時年齢別症例数 (N=417)

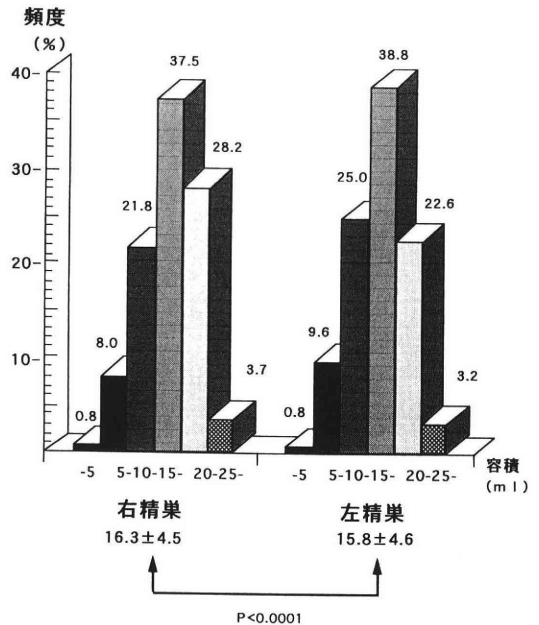


図2 不妊症症例の左右精巣容積 (N=376)

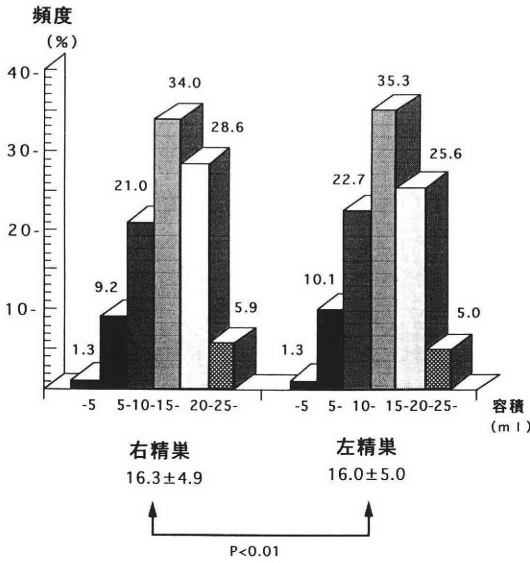


図3 不妊症例の左右精巣容積 (N = 238)
左精索静脈瘤 (-)

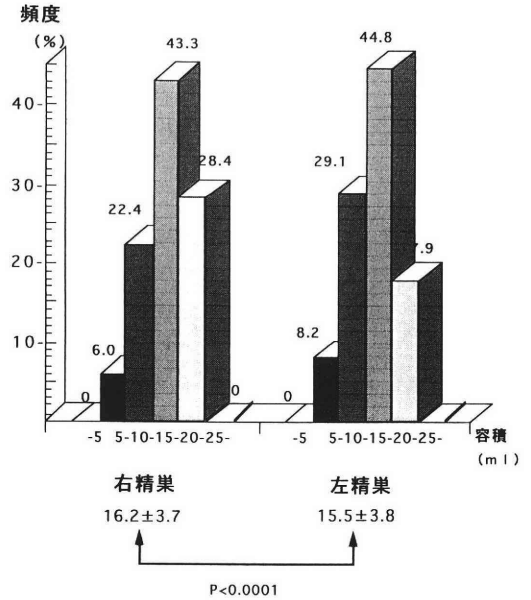


図4 不妊症例の左右精巣容積 (N = 134)
左精索静脈瘤 (+)

であった。ついで左右とも20 mlから25 ml未満の精巣容積を示す症例、10 mlから15 ml未満の精巣容積を示す症例と続いた(図3)。精索静脈瘤を認めた症例では右精巣の平均容積は16.2 ± 3.7 mlであり、左精巣の平均容積は15.5 ± 3.8 mlで両者の間に有意の差(P < 0.0001)を認めた。左右の精巣とも最も多いのは15 mlから20 ml未満の精巣容積を示す症例で右精巣で58例(43.3%)であり、左精巣で60例(44.8%)であった。ついで右精巣では20 mlから25 ml未満の精巣容積を示す38例(28.4%)、10 mlから15 ml未満の精巣容積を示す30例(22.4%)と続くが、左精巣では逆に10 mlから15 ml未満の精巣容積を示す39例(29.1%)、20 mlから25 ml未満の精巣容積を示す24例(17.9%)と続いた。左右精巣とも精巣容積が5 ml未満の症例は認められなかった(図4)。精索静脈瘤をGrade別(Gradeが不明の1例を除く)に分類すると、Grade Iが56例、Grade IIが59例、Grade IIIが18例であった。精巣容積は右精巣ではGrade Iが16.4 ± 3.8 ml、Grade IIが16.4 ± 3.5 ml、Grade IIIが15.7 ± 3.7 mlで各群間に有意の差は認められなかった。左精巣ではGrade Iが15.9 ± 3.9 ml、Grade IIが15.7 ± 3.4 ml、Grade IIIが13.9 ± 3.5 mlであるが各群間に有意の差は認められなかった。各Grade別による左右の精巣容積の比較ではいずれのgrade群でも左精巣容積の方が、右精巣容積より有意に小さい傾向を示した(P < 0.01)。

4) 精巣容積と各パラメーター間の関係

精巣容積と年齢、精液量、精子濃度、精子運動率、FSH値、LH値およびtestosterone値の間での重回帰分析からは年齢(P = 0.195)、精液量(P = 0.251)、精子運動率(P = 0.437)、LH値(P = 0.954)およびtestosterone値(P = 0.229)であり、精子濃度とFSH値が有意(P < 0.0001)が精巣容積と関係する事が示唆された。

a) 精子濃度と精巣容積(精巣容積は左右の精巣容積の合計とした)について

精巣容積は正常精子濃度群では36.0 ± 6.6 mlであり、軽度乏精子濃度群では31.1 ± 7.0 ml、高度乏精子濃度群では28.8 ± 8.8 ml、無精子症例群(閉塞性無精子症例は検討対象から除外した)では21.8 ± 8.4 mlで、精子濃度が低下するにつれて精巣容積は小さくなり、各群間に有意の差が認められた(P < 0.001)。無精子症例群では精巣容積が30 ml未満の症例は41例中31例と75.6%を示したのに比較して、逆に正常精子濃度群では精巣容積が30 ml以上の症例が171例中147例と86.0%を占め、さらに正常精子濃度群には精巣容積が20 ml未満の症例は1例も認められなかった。精巣容積が10 ml未満の症例の精子濃度は0で、精巣容積が10 mlから20 ml未満の症例では3.1 ± 5.4 × 10⁶/ml、精巣容積が20 mlから30 ml未満の症例では15.8 ± 19.9 × 10⁶/ml、精巣容積が30 mlから40 ml未満では32.6 ± 29.1 × 10⁶/ml、精巣容積が40 mlから

表1 精巣容積(左右の精巣の合計)と精子濃度

精巣容積 (ml)	無精子症例群	高度	軽度	正常	精子濃度 (10 ⁶ /ml)
		乏精子濃度群	乏精子濃度群	精子濃度群	
< 10	3	0	0	0	0
10 ≤ < 20	15	14	4	0	3.1 ± 5.4
20 ≤ < 30	13	34	19	24	15.8 ± 19.9
30 ≤ < 40	9	26	28	85	32.6 ± 29.1
40 ≤ < 50	1	15	7	53	42.9 ± 39.5
50 ≤	0	1	0	9	64.6 ± 44.3
平均値 ± 標準偏差	21.8 ± 8.4	28.8 ± 8.8	31.1 ± 7.0	36.0 ± 6.6	

表2 精巣容積(左右の精巣合計)と精子運動率

精巣容積(ml)	運動率			
	0%	0 <	< 50%	50% ≤
< 10	0	0	0	
10 ≤ < 20	2	8	5	
20 ≤ < 30	5	45	19	
30 ≤ < 40	9	77	46	
40 ≤ < 50	4	39	28	
50 ≤	1	3	6	
平均値 ± 標準偏差	31.7 ± 8.9	32.8 ± 7.6	34.7 ± 8.4	

50 ml未満の症例では42.9 ± 39.5 × 10⁶/ml, 精巣容積が50 ml以上の症例では64.6 ± 44.3 × 10⁶/mlであり, 各群間に有意の相関を認めた(P < 0.001)(表1). さらに精巣容積を細かく分類して検討すると, 精巣容積が28 mlから30 ml未満の症例では17.1 ± 18.0 × 10⁶/ml, 精巣容積が30 mlから32 ml未満の症例では24.2 ± 30.1 × 10⁶/mlであった.

b) 精子運動率と精巣容積について

精巣容積は運動率が50%以上の群では34.7 ± 8.4 mlであり, 運動率が50%未満の群では32.8 ± 7.6 mlで, 運動率が0%の群では31.7 ± 8.9 mlと運動率が減少するにつれて精巣容積が小さくなる傾向を示したが, 統計的には各群間に有意の差は認められなかった(p = 0.088)(表2).

c) 血中ホルモン濃度と精巣容積の関係について

FSH値と精巣容積について検討すると, 精巣容積が10 ml未満の症例では全例がFSH値が高値であり, その値は42.7 ± 12.3 mIU/mlであった. 精巣容積が10 ml以上 ~ 20 ml未満の症例ではFSH値は21.6 ± 8.8 mIU/mlでFSH値が高値を示したのは32例中24例(75%)であり, 精巣容積が20 ml以上 ~ 30 ml未満の症例ではFSH値は11.7 ± 8.9 mIU/mlでFSH値が高値を示したのは82例中22例(26.8%)であった. また精巣容積が30 ml以上 ~ 40 ml未満の症例ではFSH値7.0 ± 4.9 mIU/mlでFSH値が高値を示したのは134例中9例(6.7%)であり, 精巣容積が40 ml以上 ~ 50 ml未満の症例ではFSH値は5.7 ± 3.9 mIU/mlでFSH値が高値を示したのは65例中4例(6.1%)であった. 精巣容積が50 ml以上の症例ではFSH値は2.6 ± 0.9 mIU/mlでFSH値が高値を示す症例は認められなかった. 各群間では, 各々有意の相関を認めた(表3). さらに精巣容積を細かく分類して検討すると, 精巣容積が24 mlから26 ml未満の症例ではFSH値は11.8 ± 7.4 mIU/ml, 精巣容積が26 mlから28 ml未満の症例では11.0 ± 5.9 mIU/ml, 精巣容積が28 mlから30 ml未満の症例では8.8 ± 6.8 mIU/mlであり, 精巣容積が30 mlから32 ml未満の症例では9.0 ± 7.0 mIU/mlであった. FSH値が低値を示したのは6例で, 精巣容積が30 ml以上 ~ 40 ml未満の症例で2例, 精巣容積が40 ml以上 ~ 50 ml未

表3 精巣容積(左右の精巣合計)とFSH, LH, TestosteroneおよびFSH/LH比

精巣容積 (ml)	FSH	LH (mIU/ml)	Testosterone (mIU/ml)	FSH/LH比 (ng/dl)
< 10	42.7 ± 12.3	13.9 ± 0.6	201 ± 82	3.1 ± 0.8
10 ≤ < 20	21.6 ± 8.8	7.0 ± 3.5	453 ± 160	3.6 ± 2.3
20 ≤ < 30	11.7 ± 8.9	6.3 ± 13.5	515 ± 167	2.4 ± 1.1
30 ≤ < 40	7.0 ± 4.9	3.5 ± 2.2	498 ± 145	2.3 ± 1.5
40 ≤ < 50	5.7 ± 3.9	3.3 ± 1.9	490 ± 173	2.2 ± 2.2
50 ≤	2.6 ± 0.9	2.5 ± 1.1	420 ± 153	1.2 ± 0.5

満の症例で2例, 精巣容積が50ml以上の群で2例であった. FSH値は正常精子濃度群では 5.6 ± 3.2 mIU/mlであり, 軽度乏精子濃度群では 7.4 ± 3.8 mIU/ml, 高度乏精子濃度群では 11.9 ± 7.2 mIU/ml, 無精子症例群では 23.7 ± 13.3 mIU/mlで, 精子濃度が低下するにつれてFSH値は高値になり, 各群間に有意の差が認められた($P < 0.001$) (表4). LH値と精巣容積について検討すると, 精巣容積が10ml未満の症例では全例がLH値が高値であり, その値は 13.9 ± 0.6 mIU/mlであった. 精巣容積が10ml以上~20ml未満の症例ではLH値は 7.0 ± 3.5 mIU/mlでLH値が高値を示したのは32例中7例(26.5%)であり, 精巣容積が20ml以上~30ml未満の症例ではLH値は 6.3 ± 13.5 mIU/mlでLH値が高値を示したのは82例中6例(7.3%)であった. また精巣容積が30ml以上~40ml未満の症例ではLH値は 3.5 ± 2.2 mIU/mlでLH値が高値を示したのは134例中3例(2.2%)であり, 精巣容積が40ml以上~50ml未満の症例ではLH値は 3.3 ± 1.9 mIU/mlでLH値が高値を示したのは65例中2例(3.1%)であった. 精巣容積が50ml以上の症例ではLH値は 2.5 ± 1.1 mIU/mlでLH値が高値を示す症例は認められなかった. 各群間では, 各々有意の相関を認めた($P < 0.001$) (表3). LH値が低値を示したのは5例で精巣容積が30ml以上~40ml未満の症例で2例, 精巣容積が40ml以上~50ml未満の症例で2例, 精巣容積が50ml以上の群で1例であった. LH値は正常精子濃度群では 3.3 ± 2.0 mIU/mlであり, 軽度乏精子濃度群では 3.8 ± 2.0 mIU/ml, 高度乏精子濃度群では 4.5 ± 2.1 mIU/ml, 無精子症例群では 10.9 ± 19.5 mIU/mlで, 精子濃度が低下するにつれてLH値は高値になり, 各群間に有意の差が認められた($P < 0.001$) (表4).

精巣容積とtestosterone値について検討すると, 精巣容積が10ml未満の症例では全例がtestosterone値が低値であり, その値は 201 ± 82 ng/dlであった. 精巣容積が10ml以上~20ml未満の症例ではtestosterone値は 453 ± 160 ng/dlでtestosterone値が低値を示したのは32例中5例(15.6%)であり, 精巣容積が20ml以上~30

ml未満の症例ではtestosterone値は 515 ± 167 ng/dlでtestosterone値が低値を示したのは81例中6例(7.4%)であった. また精巣容積が30ml以上~40ml未満の症例ではtestosterone値は 498 ± 145 ng/dlでtestosterone値が低値を示したのは135例中10例(7.4%)であり, 精巣容積が40ml以上~50ml未満の症例ではtestosterone値は 490 ± 173 ng/dlでtestosterone値が低値を示したのは64例中5例(7.8%)であった. 精巣容積が50ml以上の症例ではtestosterone値は 420 ± 153 ng/dlでtestosterone値が低値を示す症例は10例中3例(30%)であり, 各群間に有意の差($p < 0.05$)を認めた(表3). testosterone値が高値を示したのは7例で精巣容積が10ml以上~20ml未満の症例で1例, 精巣容積が20ml以上~30ml未満の症例で1例, 精巣容積が30ml以上~40ml未満の症例で3例, 精巣容積が40ml以上~50ml未満の症例で2例であった. Testosterone値は正常精子濃度群では 502 ± 149 ng/dlであり, 軽度乏精子濃度群では 512 ± 156 ng/dl, 高度乏精子濃度群では 480 ± 175 ng/dl, 無精子症例群では 446 ± 165 ng/dlで, 各群間に有意の差は認められなかった($P = 0.145$) (表4).

FSH/LH比と精巣容積について検討すると, 精巣容積が10ml未満の症例ではFSH/LH比は 3.1 ± 0.8 , 精巣容積が10ml以上~20ml未満の症例ではFSH/LH比は 3.6 ± 2.3 , 精巣容積が20ml以上~30ml未満の症例ではFSH/LH比は 2.4 ± 1.1 であった. また精巣容積が30ml以上~40ml未満の症例ではFSH/LH比は 2.3 ± 1.5 , 精巣容積が40ml以上~50ml未満の症例ではFSH/LH比は 2.2 ± 2.2 , 精巣容積が50ml以上の症例でFSH/LH比は 1.2 ± 0.5 であった. 各群間には有意の相関を認めた($p < 0.001$) (表3). FSH/LH比は正常精子濃度群では 2.0 ± 1.5 , 軽度乏精子濃度群では 2.3 ± 1.5 , 高度乏精子濃度群では 2.8 ± 1.9 mIU/ml, 無精子症例群では 3.1 ± 1.7 であった(表4).

5) 精巣容積とJohnsen's mean scoreとの関係について

精巣容積が増加するにつれてJohnsen's mean score (以下scoreと略す)は増加し, 両者の間には有意の相関を認めた. 精巣容積が5ml以上~10ml未満の症例

表4 精子濃度とFSH, LH, TestosteroneおよびFSH/LH比

精子濃度	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	Testosterone (ng/dl)	FSH/LH比
無精子症例群	23.7 ± 13.3	10.9 ± 19.5	446 ± 175	3.1 ± 1.7
高度乏精子濃度群	11.9 ± 7.2	4.5 ± 2.1	480 ± 175	2.8 ± 1.9
軽度乏精子濃度群	7.4 ± 3.8	3.8 ± 2.0	512 ± 156	2.3 ± 1.5
正常精子濃度群	5.6 ± 3.2	3.3 ± 2.0	502 ± 149	2.0 ± 1.5

ではscoreは 3.6 ± 2.3 , 精巣容積が10 ml以上～15 ml未満の症例ではscoreは 4.4 ± 2.5 , 精巣容積が15 ml以上～20 ml未満の症例ではscoreは 6.3 ± 2.5 , 精巣容積が20 ml以上～25 ml未満の症例ではscoreは 7.5 ± 1.8 , 精巣容積が25 ml以上の症例ではscoreは 8.2 ± 1.3 であり, 各群間に有意の差 ($p < 0.0005$) を認めた。

考 察

精巣は精子形成能と男性ホルモン産生という男性にとって重要な働きを持つ臓器であり, 生殖精細胞, Sertoli細胞からなる精細管と間質細胞であるLeydig細胞およびperitubular myoid細胞などから構成される。精巣は思春期をむかえて急速に増大し, 片側の検討では平均で10歳の3.38 mlに比較すると20歳では14.88 mlとなり, それ以後50歳までは平均が14.88 mlから15.62 mlまでのほぼ一定の容積を示す⁴⁾。この容積の増加は精細胞の分化・増殖による精細管の拡張とLeydig細胞の出現による。白瀧ら²⁾は精子濃度, 精子運動率および内分泌学的所見が正常を示すためには精巣容積は片側として最小12 ml必要であり, 精巣容積が18 ml以上では良好な精巣機能を持つと報告している。自験例では正常の精子濃度であるためには左右精巣容積の合計として30 mlから32 mlの容積が必要であり, 逆に正常精子濃度群の左右精巣容積の合計は 36.0 ± 6.6 mlであった。三宅ら³⁾は精細管内にspermatidが存在する6.0以上のJohnsen's scoreが, 治療して精子の形成が期待できる最低限のscoreであると指摘している。自験例では片側精巣容積が15 ml以上の症例でJohnsen's scoreの平均がはじめて6.0を越え, 片側精巣容積が12 ml前後ではJohnsen's scoreが4.4前後であり, 精子形成能から勘案すると, 正常の精子濃度を得るためには最低15 ml以上の片側精巣容積が必要であると考えられる。

内分泌学的にFSH値の上昇は精子形成能の障害を示すが⁵⁾, 自験例では左右精巣容積の合計が20 ml以上～30 ml未満の症例ではFSH値の上昇を示す症例は26.8%であるのに対して, 左右精巣容積の合計が30 ml以上～35 ml未満の症例で6.7%と著明な減少を示し, また精巣容積が30 ml以上～32 ml未満の症例のFSH値の平均値が 9.0 ± 7.0 mIU/mlと正常成人(20歳から49歳まで)の平均の+1 S.D.の値近くにあるのに比較し, 精巣容積が24 ml以上, 26 ml未満の症例のFSH値の平均値は 11.8 ± 7.7 mIU/mlと正常成人の平均の+2 S.D.の値近くに分布し⁶⁾, 精巣容積が12 ml前後の症例ではかなりの症例に精子形成能の障害が存在することが示唆された。

男子不妊症ではFSH/LH比が0.99以下であることが, 治癒可能な最低基準になると報告されている^{1,7)}。しかし, FSHおよびLHの測定法が下垂体性ゴナドトロピンを標準品とし, FSHおよびLHに対するモノクロナール抗体を利用したIRMA (SPAC-S FSH, SPAC-S LH) が利用されるようになってからはFSH値あるいはLH値の正常値が変更になったのでFSH/LH比の値については再検討する必要がある⁸⁾。自験例では正常精子濃度群のFSH/LH比は 2.0 ± 1.5 で, 精子濃度が減少するにつれてその比は高値になり, 無精子症例では 3.1 ± 1.7 であった。また精巣容積が30 ml以上～32 ml未満の症例のFSH/LH比は 2.2 ± 1.4 であり, FSH/LH比の正常値を2.0から2.2に設定する必要があり, FSH/LH比が3.0前後の症例については治療が困難であることが示唆された。

精巣容積については日本人や韓国の人のほうが白人の精巣容積より小さいと報告され⁸⁾, タイ人の精巣容積は成人の片側の平均で17.2 mlで⁹⁾あり, 日本人の平均より大きく⁴⁾, 人種間での差が指摘されている。しかし, 各個人での精巣容積には体重と身長による補正をすべきとの意見もあり⁹⁾, 正確な人種間での精巣容積の比較には精巣容積に影響を与える諸因子についての検討が必要である。

精索静脈瘤は男子不妊症症例での数少ない有効な治療法の対象疾患である。自験例では精索静脈瘤を合併する症例の方が合併しない症例より左精巣容積が右精巣容積より有意にその容積は小さく, 静脈瘤の程度が進むにつれて左右精巣とも小さくなる傾向を示した。精索静脈瘤の手術前後の精巣容積の変化について自験例では検討していないが, Swaczukら¹⁰⁾は手術により両側精巣容積が有意に上昇し, 特に右精巣の方が容積の増大が著明であったと報告し, 左右精巣静脈間の交通による精索静脈瘤の右精巣への影響を指摘している。自験例でも右精巣容積は精索静脈瘤の有無およびその程度に影響を受けている可能性が示唆される。精索静脈瘤と不妊症の関係が明らかでない思春期前あるいは思春期の男児でも, 精索静脈瘤の存在により精子形成能にすでに障害を認める症例も報告されており¹¹⁾, 左精巣容積が右精巣容積より小さい場合には精索静脈瘤の有無についての積極的な精査・治療が必要であると述べている。この報告では小児期では左精巣の方が右精巣より大きいとされ, 思春期での増大した精巣への血流量により, 潜在的な内精索静脈系の異常が明らかになってくるためと説明されている。本邦では思春期前後の左右精巣容積を比較検討した報告は調べ得

た範囲では認められないが、自験例での精索静脈瘤のない症例でも左精巣容積が右精巣容積より有意に小さいことは、左右精巣静脈間での交通以外に、潜在的な精索静脈瘤が存在する可能性もあり、Valsalva 負荷や超音波ドプラによる精巣静脈系の異常の有無についてさらに精密な検査が必要であると考えられる¹¹⁾。

結 語

1985年6月より1993年12月までの8年6か月の間に埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科不妊外来を受診した461例中、不妊期間が1年未満あるいは不妊期間が不明の44例を除いた417例について検討し、以下の結果を得た。

1) 右精巣の平均容積は 16.3 ± 4.5 mlであり、左精巣の平均容積は 15.8 ± 4.6 mlで両者の間には有意の差が認められた ($P < 0.0001$)。

2) 精索静脈瘤を合併する症例の方が合併しない症例より精巣容積は小さい傾向を示し、精索静脈瘤の各Grade別による左右の精巣容積の比較でもいずれのgrade群でも右精巣容積の方が、左精巣容積より有意に大きかった。

3) 精子濃度が低下するにつれて精巣容積は小さくなり、各精子濃度群間に有意の差が認められた ($P < 0.001$)。

4) 精子運動率が減少するにつれて精巣容積が小さくなる傾向を示したが、統計的には各群間に有意の差は認められなかった ($p = 0.088$)。

5) 精巣容積が小さくなるにつれFSH値は高値になり、左右精巣容積の合計が30 ml前後でFSH値が高値を示す頻度の著明な減少を示した。精子濃度が低下するにつれてFSH値は高値になり、精子濃度の各群間に有意の差が認められた ($P < 0.001$)。

6) 精巣容積が小さくなるにつれLH値は高値になり、左右精巣容積の合計が20 ml前後でLH値が高値を示す頻度の著明な減少を示した。精子濃度が低下するにつれてLH値は高値になり、精子濃度の各群間に有意の差が認められた ($P < 0.001$)。

7) testosterone値は左右精巣容積の合計が10 ml以下の症例は他の精巣容積の群に比較して有意に低値を示し、精巣容積の各群間にも有意の差を認めた ($P < 0.05$)。精子濃度とtestosterone値の間には有意の差は認められなかった。

8) 精巣容積が小さくなるにつれFSH/LH比は大きくなり、精巣容積の各群間で有意の差を認めた。精子濃度が低下するにつれてFSH/LH比は高値になり、

精子濃度の各群間に有意の差が認められた ($P < 0.001$)。

9) 精巣容積が増加するにつれてJohnsen's mean scoreは増加し、両者の間には有意の相関を認めた。

文 献

- 1) 三宅弘治, Male Fertilityの諸問題—組織学的考察—。泌尿紀要 34: 1949, 1988
- 2) 白瀧 敬, 瀧原博史, 鎌田清治 他, 日本人を対象とした精巣容積と精巣機能との関係。日不妊会誌 39: 10, 1994
- 3) Takihara H, Sakatoku J, Fujii M, et al., Significance of testicular size measurement in andrology. I. A new orchimeter and its clinical application. Fertil Steril 39: 836, 1983
- 4) 山中英寿, 志田圭三, B: 睪丸機能と加齢, 新臨床泌尿器科全書 第8巻A 睪丸機能とその異常。金原出版, p79, 1983
- 5) 吉井慎一, 友政 宏, 武島 仁 他, 過去5年間の男子不妊症の臨床統計。日不妊会誌 34: 454, 1989
- 6) 青野敏博, 松本脩三, 熊本悦明 他, 下垂体性ゴナドトロピン標準品を用いたLHおよびFSHのImmunoradiometric測定法(スパック-S LH, スパック-S FSH)の多施設における臨床的検討。ホと臨床 36: 1087, 1988
- 7) 石田 章, 友吉唯吉, 男子不妊症の臨床的検討。日不妊会誌 38: 109, 1993
- 8) Daimond JM, Variation in human testis size. Nature 320: 488, 1986
- 9) Aribarg A, Kenkeerati W, Vorapaiboonsak V, et al., Testicular volume, semen profile and serum hormone levels in fertile Thai males. Int J Androl 9: 170, 1986
- 10) Gentile DP and Cockett ATK, The effect of varicoelelectomy on testicular volume in 89 infertile adult males with varicocele. Fertil Steril 58: 209, 1992
- 11) Swaczuk H, Hensle TW, Burbige KA, et al., Varicoeles: effect on testicular volume in prepubertal and pubertal males. Urology 41: 466, 1993

Significance of testicular volumes in infertile patients

Yutaka Uchijima

Department of Urology

Saitama Medical Center of Saitama Medical School
Saitama 350, Japan

Ken-Ichiro Yoshida

Department of Urology
Dokkyo University School of Medicine
Tochigi 321-01, Japan

In infertile clinic the measurement of testicular volumes is important to evaluate fertile ability of infertile patient. Bilateral testicular volumes was measured to investigate its significance in infertile patient. Testicular volumes was measured by punched-out orchimeter on 406 patients with male infertility. The results follows,

1) The mean volumes of right testicular size was 16.3 ml and that of left testicular volumes was 15.8 ml. There was a significant relationship between right and left testicular volumes size ($p < 0.01$).

2) Difference between right testicular volumes and left testicular volumes was larger in patient with left varicoceles than in patient without left varicoceles.

3) There was a significant relationship between sperm density and testicular volumes (the sum of bilateral tes-

ticular volume).

4) There was no significant relationship between sperm motility and testicular volumes (the sum of bilateral testicular volumes).

5) There was a significant relationship between serum FSH and testicular volumes (the sum of bilateral testicular volume).

6) There was a significant relationship between serum LH and testicular volumes (the sum of bilateral testicular volumes).

7) There was no significant relationship between serum testosterone and testicular volumes (the sum of bilateral testicular volumes).

8) Normal limit of FSH/LH index was thought to be under 2.2.

9) To be over 6.0 counts in Johnsen's mean score, testicular volumes was necessary to be over 15ml.

The measurement of testicular volumes is thought to be simple and useful diagnostic methods for infertile patients.

(受付：1994年10月7日)

(受理：1994年12月27日)

完全型精巢性女性化症の1例

A Case of Complete Testicular Feminization Syndrome

市立秋田総合病院産婦人科

望月 修 松井 俊彦
Osamu MOCHIZUKI Toshihiko MATSUI

Department of Obstetrics and Gynecology
Akita City Hospital, Akita 010, Japan

完全型精巢性女性化症の1例を経験し若干の知見を得たので報告する。

22歳，未婚．原発無月経を主訴に受診し，体型は女性型，染色体46,XY，乳房の発育は良好であったが，内診上は内性器を触知せず，膣は盲端に終わっていた．また男性レベルの血中テストステロン値，外陰皮膚のアンドロゲン・レセプターの欠損を認めたため，本症例を完全型精巢性女性化症と診断した．

しかし本症例は，著しい肥満婦人であり，骨盤MRIでは精巢の存在部位を同定できなかった．このため精巢存在の傍証を得るため，本例において精巢決定因子として最近有力視されているSR Y 遺伝子の存在を，PCR法にて確認した．さらに腹腔内の摘出精巢に悪性化の所見はみられなかったが，本疾患の精巢摘出の時期およびそれまでのフォローアップのあり方について考察した．

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 203 - 206, 1995)

緒言

染色体が46,XYで，性腺が精巢，表現型が女性の完全型・精巢性女性化症は，性の分化異常の一つであるが，その病因は標的臓器におけるアンドロゲン不応によることが知られている．今回，22歳の本疾患を経験し，若干の新しい知見を得たので報告する．

症例

症例：Y.K. 22歳，戸籍上女性，未婚

主訴：原発無月経

既往歴：4歳時に両側鼠径ヘルニア手術

家族歴：姉27歳は既婚で子供2人，伯母に子供なし

現病歴：XXXXXXXXXX 原発無月経を主訴に，当科初診．身長174cm，体重104kgで体型は肥満の女性型，内診上は内性器を触知せず，腋毛および恥毛を欠如し，膣腔長は7cmの盲端に終わっていた．一方，乳房の発育は良好であったが，乳頭，小陰唇および陰核の発育はやや不良であった．また血中テストステロン値は410 ng/dlと男性レベルを示し，染色体検査結果は46,XYと正常男性核型であった．

上記臨床所見，染色体検査，血中テストステロン高値，および外陰皮膚のアンドロゲン・レセプターの欠如より本症例を完全型・精巢性女性化症と診断した．

骨盤MRI所見：皮下および骨盤内に著しい皮下脂肪の蓄積を認めたが，内性器の存在は不明であった．

レセプター・アッセイ：患者の同意を得て外陰部皮膚を用い，3H-R1881をリガンドとしてアンドロゲン・レセプター・アッセイを行ったところ，アンドロゲン・レセプターは細胞質，核ともに陰性であった．

SR Y 遺伝子の検出：患者の末梢血液よりDNAを抽出し，PCR法による増幅にてSR Y 遺伝子の有無を検討したところ，本症例からSR Y 遺伝子を写真1の如く検出した．なお内部コントロールはX染色体上のDMD遺伝子の一部(プローブサイズ547 bp)を用い，SR Y のプローブサイズは240 bpを用いた．

開腹所見：1993年9月20日試験開腹を行い，骨盤内精巢の検索を試みたところ，左右精巢組織は，ほぼ付属器が存在する部位に存在し，両側とも母指頭大，表面平滑で，淡黄褐色であった．しかし，ウオ

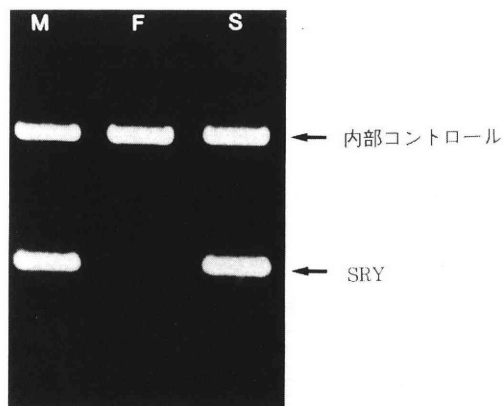


写真1 PCRによるSRYの検出

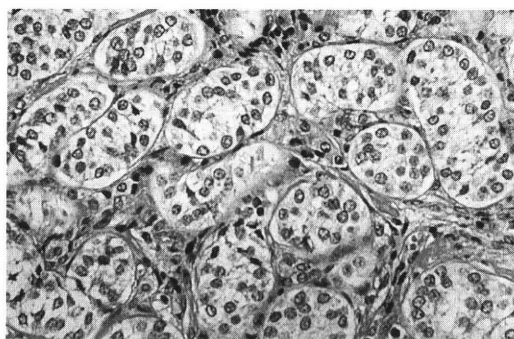


写真2 摘出精巢の組織像(H・E染色)

ルフ管の分化発育もみられず、ミューラー管由来の子宮および卵管も存在しなかった。患者は第二次性徴を完了した成人であることより悪性腫瘍の発生防止を目的に両側精巣摘除術を施行した。なお、右重量は15g、左重量は16gであった。

病理組織学的所見：精細管は萎縮し、管壁の硝子・肥厚が著しく、Sertoli細胞のみからなり、精子形成はみられなかった。また、間質のLeydig細胞は、びまん性に増殖していた(写真2)。

内分泌学的検査成績：術前の血中LHは18 mIU/mlと軽度上昇を示し、テストステロンは410 ng/dlと正常男性レベルの高値にあった。また、他の男性ホルモンであるアンドロステンジオンは1.7 ng/ml、DHEA-Sは2270 ng/mlと正常範囲内であったが、エストロン(E₁)50 pg/mlとやや上昇、エストラジオール(E₂)21 pg/mlとやや低値を示した。一方、術後7日目のホルモン値では、すでに血中FSHが53 mIU/mlへと上昇していたが、LHはそれに比し、20 mIU/mlと有意な上昇は見られなかった。またE₂10 pg/mlと術前よりさらに低下し、テストステロン値も70 ng/dlと急

表1 内分泌学的検査成績

	術前	術後7日目
FSH	11 mIU/ml	53 mIU/ml
LH	18 mIU/ml	20 mIU/ml
E ₁	50 pg/ml	35 pg/ml
E ₂	21 pg/ml	10 pg/ml
テストステロン	410 ng/dl	70 ng/dl
アンドロステンジオン	1.7 ng/ml	1.9 ng/ml
DHEA-S	2770 ng/ml	2340 ng/ml
プロラクチン	4.1 ng/ml	12 ng/ml

減した。しかし、アンドロステンジオンは1.9 ng/ml、DHEA-Sは2340 ng/mlとテストステロン以外のアンドロゲン値に変化は見られなかった(表1)。

入院後経過：患者は12病日に軽快退院し、現在は外来にて、ホルモン補充療法を施行している。

考 察

精巢性女性化症は、Morris¹⁾によって1953年に初めて報告されて以来、数々の新知見が得られ、現在では遺伝的疾患で標的臓器におけるアンドロゲン不応により、惹起されることが判明している。一般には染色体が46,XYの男性核型で、表現型が女性である完全型と表現型がambiguousな男性型を示す不完全型に大別され、その割合は約9対1といわれている²⁾。ただし本邦における推定頻度は、13万人に1人とされ³⁾、比較的まれな疾患である。しかし、本疾患の発見の動機は思春期前であれば鼠径ヘルニアの存在、思春期後であれば原発無月経によることが多く、診断は決して困難ではない。

また、本疾患の内分泌学的特徴は、精巣由来のテストステロンの高値と血中LHの上昇にある。本例においても血中LHの軽度上昇が見られ、これはアンドロゲン・レセプターの欠損により、血中テストステロンによる下垂体への負のフィード・バック機能が欠如しているために引き起こされたものと思われる。一方、血中テストステロンが正常男性レベルであったことは、病理組織学的にもLeydig細胞の増殖が認められ、そのテストステロン産生能が正常であったことを示唆している。

本疾患は伴性劣性遺伝形式をとることが知られているが⁴⁾、さらに1988年にヒトのアンドロゲン・レセプター遺伝子の抽出が成功して、分子生物学的検討も盛んに行われるようになり、約1/3の症例では、アンドロゲン・レセプターの突然変異が存在することも判明している⁵⁾。本例については、家族歴

に伯母夫婦に子供がないことのほか、特に異常を思わせるものはなかったが、それ以上の詳しい検討を行っていないため、家族内発生の有無については不明であった。一方、本例の外陰部皮膚におけるアンドロゲン・レセプターは細胞質、核ともに欠如しており、Keenanら⁶⁾の報告と同様の結果であった。本症例は著しい肥満婦人で、骨盤MRIによる検討では、精巣組織の同定ができなかった。このため開腹手術に先立ち、精巣決定因子と言われているSRY遺伝子の存在を、今回新たに患者血液でPCR法により検討した。これにより、本症例においてSRY遺伝子が検出され、血中テストステロンの高値とともに精巣存在の傍証とすることができた。このSRY遺伝子は、ヒトの精巣決定因子(TDF)の最有力候補として、最近注目されつつある⁷⁾。事実、マウスのTDFは、Sry遺伝子であることが実験的にも証明されている⁸⁾。今回の検討では、患者のY染色体上のSRYが認められ、精巣の存在と一致する結果であったが、さらに本疾患のSRY遺伝子の検討が集積され、ヒトのTDFの解明に寄与することを期待したい。また、本疾患でSRY遺伝子の異常が存在するか否かも、今後明らかにされてくるであろう。一方、本疾患と診断された場合の問題点として、2つのことがあげられる。その第一は、精巣における悪性腫瘍の発生の危険である。XY純粋型性腺形成不全によくみられるgonadoblastomaほど高率ではないが、加齢とともにその危険率が高くなっていく⁹⁾。特に骨盤内に精巣が存在する場合、早期に本腫瘍の存在を発見することが難しく、実際臨床に携わるものとしては、苦慮する問題である。従来から本疾患の潜伏精巣の摘出時期は、Manuelら⁹⁾の悪性腫瘍の予想値から、30歳以上と言われている。本症例(22歳)の摘出精巣には、悪性変化がみられずSertoli細胞とLeydig細胞の存在を認めただけであった。現在のところ、思春期前の精巣摘出は身体発育上好ましくなく、第二次性徴の完了した後に行うとの方針が一般的と思われるが、ごくわずかながら、20歳未満の悪性腫瘍の報告が散見されており¹⁰⁻¹³⁾、第二次性徴の完了まで待期する間のフォローアップの方法が問題となろう。この点についてMüllerら¹²⁾は本疾患の診断がいついたら、精巣生検を行い、悪性腫瘍の発見につとめるようすすめているが、広く認められるまでには至っていない。やはり、現時点では思春期前の精巣悪性腫瘍の、簡便かつ正確な早期発見方法が見い出されておらず、思春期前に診断された本疾患のフォローアップの在り方は、今後の課題であろう。

一方、第二の問題点は、遺伝子の性が男性で表現型が女性という相反する事実に基づく、精神的トラブルが発生しかねないことである。この点を臨床家は十分に留意し、外来フォローアップを、ただホルモン補充療法のみで安易に終わらせず、精神的カウンセリングの必要性を絶えず認識して診療にあたるのが大切と思われる。

結 語

成人後の完全型・精巣性女性化症を経験し、最近注目されているSRY遺伝子が本例にも存在することを確かめ、精巣の存在を証明しうる新たな傍証となし得た。一方、腹腔内精巣に悪性化の所見はみられなかったが、精巣摘出の時期およびそれまでのフォローアップの在り方について考察した。また本疾患に対しては、精神的カウンセリングも大切であることを強調した。

文 献

- 1) Morris JM. The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites. *Am J Obstet Gynecol* 65: 1192, 1953
- 2) Griffin JE. Androgen resistance—The clinical and molecular spectrum. *N Engl J Med* 326: 611, 1992
- 3) 井村裕夫, 松本圭史, 尾形悦郎 他, ホルモン受容体異常症のわが国における実態. *日内分泌会誌* 56:1031, 1980
- 4) 田苗綾子, 性分化の障害. 鴨下重彦, 白木和夫, 松本脩三 他編, 新小児医学大系16E, p253, 中山書店, 1986
- 5) Shah R, Woolley MM, Costin G, Testicular feminization: The androgen insensitivity syndrome. *J Pediatr Surg* 27: 757, 1992
- 6) Keenan BS, Meyer WJ, Hadjian AJ, et al., Syndrome of androgen insensitivity in man: absence of 5-dihydrotestosterone binding protein in skin fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab* 38: 1143, 1974
- 7) Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, et al., A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346: 240, 1990
- 8) Koopman P, Gubbay J, Vivian N, et al., Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature* 351: 117, 1991
- 9) Manuel M, Katayama KP, Jones Jr HW, The age occurrence of gonadal tumors in intersex patients with a Y chromosome. *Am J Obstet Gynecol* 124: 293, 1976

- 10) Perez-Palacios G, Jaffe RB, The syndrome of testicular feminization. *Pediatr Clin North Am* 19: 653, 1972
- 11) Horcher E, Grunberger W, Parschalk O, Classical seminoma in a case of testicular feminization syndrome. *Prog Pediatr Surg* 16: 139, 1983
- 12) Müller J, Skakkebaek NE, Testicular carcinoma in situ in children with androgen insensitivity (testicular feminization) syndrome. *Br Med J* 288: 1419, 1984
- 13) Hurt WG, Bodurtha JN, McCall JB, et al., Seminoma in pubertal patient with androgen insensitivity syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 161: 530, 1989

**A case of
complete testicular feminization syndrome**

Osamu Mochizuki and Toshihiko Matsui

Department of Obstetrics and Gynecology
Akita City Hospital, Akita 010, Japan

A 22 year old, single woman consulted at our clinic complaining of primary amenorrhea. She had a female phenotype, normal breast development and a blind vaginal pouch.

The serum testosterone level was extremely high for normal female range. But androgen binding capacity was negative in cultured fibroblast originated from labia majora. The diagnosis of complete testicular feminization was based on the above findings with 46, XY karyotype.

The existence of SRY gene which represented a possible candidate gene for testis determining factor was confirmed using polymerase chain reaction.

Furthermore, exploratory laparotomy was done. Two gonads were identified in the intraabdominal cavity and bilateral gonadectomy was performed. The histology of the gonads indicated that there were immature testis without evidence of malignant transformation. Follow up of pre-pubertal period and the timing of gonadectomy are discussed.

(受付：1994年9月5日)

(受理：1994年12月28日)

EFFECT OF SHORT-TERM GONADOTROPIN RELEASING HORMONE AGONIST PROTOCOL IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Yasuko FUJIMOTO, Yohsuke OHNO,
Kenichi HOSOKAWA, Hiroji OKADA

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

Abstract: Gonadotropin releasing hormone agonist pituitary suppression is already confirmed to be beneficial in the treatment of complex polycystic ovary syndrome patients, but in some recent reports, clear advantages of the addition of gonadotropin releasing hormone agonist to gonadotropin treatment could not be established. The aim of this study was to investigate the effect of a short-term gonadotropin releasing hormone agonist protocol in polycystic ovary syndrome. We studied 34 stimulation cycles of 18 women with polycystic ovary syndrome who did not respond to clomiphene citrate. Sixteen out of 18 women (88.9%), that is 26 out of 34 cycles (76.5%), ovulated. Seven women conceived (38.9%). There was no case of multiple pregnancy. Only one woman who had hyperprolactinemia aborted in first trimester. The mean (\pm SD) amount of human menopausal gonadotropin needed in ovulatory cycles was 7.1 ± 2.5 ampules (534.4 ± 185 IU). Ovarian hyperstimulation syndrome ensued in 14 of 26 ovulatory cycles (53.8%) but only one of them, who conceived, was a severe ovarian hyperstimulation syndrome. We conclude that this short-term gonadotropin releasing hormone agonist protocol is an effective stimulus in polycystic ovary syndrome, and beneficial in terms of cost and time required for treatment.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 207 - 210, 1995)

Introduction

The conventional first choice treatment for infertile oligo- or amenorrheic women diagnosed as having polycystic ovary syndrome (PCOS) is clomiphene citrate (CC)^{1, 2)}. Patients who are resistant to this anti-estrogen medication are usually treated with exogenous gonadotropins. However gonadotropins are used, the results are often disappointing, producing lower pregnancy rates, compared with patients who have hypogonadism³⁾. Moreover, high miscarriage rate, raised chances of multiple gestation and elevated risk of ovarian hyperstimulation have been described^{4, 5)}. A combined treatment with gonadotropin releasing hormone agonist (GnRHa) and exogenous gonadotropins for PCOS patients has been reported to improve the ovulation rate and reduce the complication rate^{6, 7)}. Improvement of treatment results was associated with down-regulation of elevated endogenous luteinizing hormone (LH) levels, as well as prevention of a pre-

mature LH surge. In subsequent several studies, clear advantages of the addition of GnRHa to gonadotropin treatment could not be established^{8 ~ 10)}. The most frequently used regimen requires agonist administration for several weeks up to the suppression of ovarian activity (long-term protocol). We used a short-term protocol for ovulation induction in PCOS patients: the induction of follicular growth with hMG immediately after the beginning of GnRHa administration without waiting for the pituitary desensitization. The main two reasons to use this short-term protocol were: 1) the reduction of the cost of the treatment, and 2) evaluation of this protocol on ovulation induction in PCOS patients.

Materials and Methods

Patient population

Eighteen infertile women with PCOS consented to participate in this study. They had failed to ovulate on several courses of CC at a dose of 100 mg/day for 5

days preceding this study.

All patients were oligomenorrheic or amenorrheic with raised serum LH level (> 8 mIU/ml), and a high LH/follicle stimulating hormone (FSH) ratio (> 1). It was accompanied by polycystic ovaries based on the typical ultrasound criteria (a hyperechogenic central stroma and at least 10 follicles of < 9 mm diameter) shown by Adams et al.¹¹⁾. The mean (\pm SD) age was 30.7 ± 3.5 years and mean infertility period was 4.9 ± 3.3 years. Endocrine evaluation revealed mean serum concentrations of LH 14.5 ± 4.8 mIU/ml, FSH 7.9 ± 2.7 mIU/ml, and prolactin (PRL) 9.0 ± 7.2 ng/ml. Only one of them had hyperprolactinemia (31.2 ng/ml) and others had normal concentration of PRL. Their mean body mass index was 21.7 ± 1.6 . All of them had a hysterosalpingogram or laparoscopy that showed normal tubal patency. Semen analyses performed on all husbands were normal.

Treatment protocol for ovulation induction

The short-term protocol consisted of daily administration of GnRH α (Suprecur, Buserelin; Hoechst, Tokyo, Japan) $300 \mu\text{g}$, three times per day intranasally on cycle day 3. HMG (Humegon; Organon, Tokyo, Japan) 225 IU (3 ampules) was commenced on cycle day 5 and given on alternate days. The response to gonadotropin was evaluated by transvaginal ultrasound examination of ovaries and endometrium. When the diameter of the leading follicle was at least 18 mm and endometrium showed a three-line pattern, human chorionic gonadotropin (hCG, Pregnyl; Organon) 10,000 IU was injected intramuscularly and GnRH α was discontinued. The luteal phase was supported by 3,000 IU of hCG, injected twice a week and administration of hCG was continued for two weeks (total doses of hCG were 12,000 IU). If moderate or severe ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) was observed, 25 mg/day of progesterone (Luteum; Teikokuzohki, Tokyo, Japan) was substituted for hCG. Serum LH, FSH and estradiol (E $_2$) levels were measured by radioimmunoassay on cycle day 3, 5 and 7, on the day before the initial hCG injection and on the mid luteal phase. OHSS was classified according to Schenker and Weinstein¹²⁾.

Results

Twenty six cycles of sixteen women had follicular

maturation and ovulation. Seven women conceived, and the cycle fecundity rate of ovulation was 26.9%. There was no case of multiple pregnancy among the women who conceived. One woman who had hyperprolactinemia had a spontaneous abortion at 7 weeks. Five women had full term delivery. The remaining one pregnancy is on going. As shown Figure 1, the dose of hMG used in complete cycles was 450 IU in 20 cycles, 675 IU in 3 cycles, 900 IU in 2 cycles and 1,125 IU in one cycle. The mean dose of hMG was 534.4 ± 185 IU (7.1 ± 2.5 ampules). The mean duration of GnRH α administration was 8.4 days (range 7 ~ 12) in ovulatory cycles (Figure 2). The OHSS ensued in 14 of 26 ovulatory cycles (53.8%); it was mild in 6 cycles, moderate in 7 cycles, and severe in only one cycle (3.8%).

The mean LH, FSH and E $_2$ levels in ovulatory cycles in the short-term protocol are shown in Table 1.

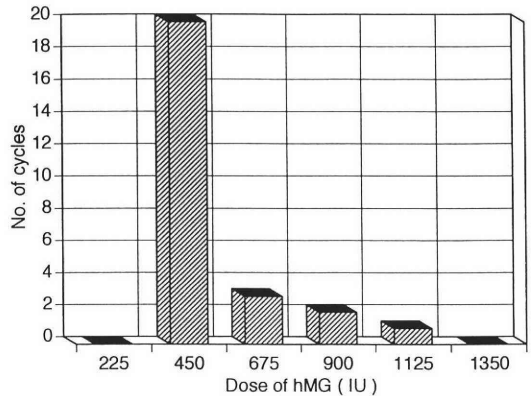


Fig. 1 Total doses of hMG until ovulation

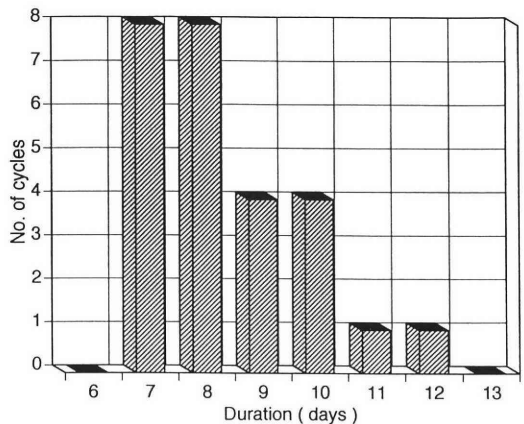


Fig. 2 Duration of GnRH α administration

Table 1 Mean (\pm S.D.) serum steroid levels in complete cycles PCO women

treatment cycle	day 3	day 5	day 7	before hCG injection	mid luteal phase
LH (mIU/ML)	9.7 \pm 1.4	35.1 \pm 5.8	18.2 \pm 5.6	10.4 \pm 2.3	1.0 \pm 0.6
FSH (mIU/ML)	7.2 \pm 0.7	10.7 \pm 2.0	7.4 \pm 0.8	4.9 \pm 0.4	0.8 \pm 0.2
LH/FSH ratio	1.7 \pm 0.5	3.4 \pm 0.7	2.7 \pm 0.9	2.1 \pm 0.5	1.3 \pm 0.8
E ₂ (pg/ml)	36.4 \pm 9.8	259.7 \pm 85.9	1060.2 \pm 329.6	2245.4 \pm 502.9	1786.7 \pm 328.4

The rise of LH and FSH occurred under the influence of GnRHa administration, which returned to base line before the initial hCG injection.

Discussion

The idea of using GnRHa to induce ovulation stems from the fact that it is believed that relatively large amounts of endogenous LH secretion might be the cause of the high incidence of OHSS in PCOS. Moreover, the high tonic secretion of LH might affect the quality of the ovum, which would explain the lower pregnancy rates and higher abortion rates obtained under ovulation induction in PCOS compared with hypothalamic amenorrhea³⁾. Fleming¹³⁾ was the first to report his results regarding ovulation induction in PCOS with combined therapy. This report indicated that medical induction of hypogonadotropic hypoenestrogenemia with GnRHa may improve the quality of ovarian stimulation in women with PCOS treated with exogenous gonadotropins. Several other reports^{8 ~ 10, 14)} indicated that LH suppression did not improve the overstimulation rate, and the sensitivity of the ovaries to gonadotropin was not affected by GnRHa pretreatment. In those reports the similar ovarian response was obtained in a group of women treated with gonadotropin and GnRHa pretreatment, and a group treated with gonadotropin only. In recent several reports on the long-term protocol, the mean total dose of hMG used in ovulation induction for CC-resistant PCOS women was 17.4 ~ 31.1 ampules, the rate of abortion was 11.1 ~ 50% and the rate of severe OHSS was 3.7 ~ 12.5%^{8, 15 ~ 18)}.

We used the short-term protocol to induce ovulation in PCOS patients. In this study the number of ampules of hMG used in complete cycles was less with shorter induction time. Consequently, the short protocol benefits infertile PCOS patients in terms of cost and time required for treatment. Furthermore, in

the short-term protocol there were no obvious differences in occurrence of ovulation, pregnancy and severe OHSS compared with those reports in long-term protocols. Abortion and multiple pregnancies occurred in long-term protocols, but in our short-term protocol those were not observed except only one abortion who had hyperprolactinemia in this study. Some studies reported that high concentrations of LH during the follicular phase affected the pregnancy rate and may be a causal factor in early pregnancy loss^{19 ~ 21)}. However, a high concentration of LH during the follicular phase did not affect follicular development or oocyte quality in PCOS patients as the results of this study show. In fact, there were no cases of abortion among the women who had normoprolactinemia in this study, and the pregnancy rate was similar to that of the long protocol. Furthermore, premature LH surge, following ovulation induction with gonadotropin, was prevented with continuous administration of GnRHa until the time of hCG injection.

We concluded that the short-term GnRHa protocol constituted an effective stimulation with a satisfactory pregnancy rate in CC resistant PCOS women.

References

- 1) Garcia J, Jones GS, Wentz AC, The use of clomiphene citrate. *Fertil Steril* 28: 707, 1977
- 2) Davis OK, Ravnkar VA, Induction of ovulation with clomiphene citrate. In: Barbieri RL, Schiff I, eds, *Reproductive Endocrine Therapeutics*. 1 ed, p1, Alan R Liss Ins, 1988
- 3) Dor J, Itzkovic DJ, Mashiach S, et al., Cumulative conception rates following gonadotropin therapy. *Am J Obstet Gynecol* 136: 102, 1980
- 4) Wang CF, Gemzell C, The use of human gonadotrophins for the induction of ovulation in women with polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 33: 479, 1980
- 5) Schwarz M, Jewelewicz R, The use of gonado-

- tropins for induction of ovulation. *Fertil Steril* 35: 3, 1981
- 6) Fleming R, Haxton MJ, Hamilton MPR, et al., Successful treatment of infertile women with oligomenorrhea using a combination of an LHRH agonist and exogenous gonadotrophins. *Br J Obstet Gynecol* 92: 369, 1985
 - 7) Charbonnel B, Krempf M, Blanchard P, et al., Induction of ovulation in polycystic ovarian syndrome with a combination of a luteinizing hormone-releasing hormone analog and exogenous gonadotrophins. *Fertil Steril* 47: 920, 1987
 - 8) Homburg R, Eshl A, Kilborn J, et al., Combined luteinizing hormone releasing hormone analogue and exogenous gonadotrophins for the treatment of infertility associated with polycystic ovaries. *Hum Reprod* 5: 32, 1990
 - 9) Gersak K, Meden-Vrtovec H, Tomazevic T, Effects of GnRH agonist treatment on follicular development in women with polycystic ovary syndrome in the IVF-ET program. *Adv Contracept Deliv Syst* 8: 107, 1992
 - 10) Schoot DC, Pijlman B, Stijnen T, et al., Effects of gonadotropin releasing hormone agonist addition to gonadotropin induction of ovulation in polycystic ovary syndrome patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 45: 53, 1992
 - 11) Adams J, Franks S, Polson DW, Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin-releasing hormone. *Lancet* 2: 1375, 1985
 - 12) Schenker JG, Weinstein D, Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertil Steril* 30: 255, 1978
 - 13) Fleming R, Induction of ovulation in polycystic ovarian disease. *Prog Clin Biol Res* 225: 401, 1986
 - 14) Dor J, Bider D, Shulman A, et al., The effect of gonadotropin-releasing hormone agonist on the ovarian response and in vitro fertilization results in polycystic ovarian syndrome: a prospective study. *Fertil Steril* 57: 366, 1992
 - 15) Dodson WC, Hughes CL, Whitesides DB, et al., The effect of leuprolide acetate on ovulation induction with human menopausal gonadotropins in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 65: 95, 1987
 - 16) Dodson WC, Hughes CL, Yancy SE, et al., Clinical characteristics of ovulation induction with human menopausal gonadotropins with and without leuprolide acetate in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 52: 915, 1989
 - 17) Fulghesu AM, Lanzone A, Guida C, et al., Ovulation induction with human menopausal gonadotropin versus follicle-stimulating hormone after pituitary suppression by gonadotropin releasing hormone agonist in polycystic ovary disease. *J Reprod Med* 37: 834, 1992
 - 18) Gadir AA, Alnaser HMI, Mowafi RS, et al., The response of patients with polycystic ovarian disease to human menopausal gonadotropin therapy after ovarian electrocautery or a luteinizing hormone-releasing hormone agonist. *Fertil Steril* 57: 309, 1992
 - 19) Homburg R, Armar NA, Eshel A, et al., Influence of serum luteinizing hormone concentrations on ovulation, conception, and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome. *Br Med J* 297: 1024, 1988
 - 20) Johnson P, Pearce JM, Recurrent spontaneous abortion and polycystic ovarian disease: comparison of two regimens to induce ovulation. *Br Med J* 300: 154, 1990
 - 21) Homburg R, Felkdborg D, Levy T, et al., Gonadotropin-releasing hormone agonist reduces the miscarriage rate for pregnancies achieved in women with polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 59: 527, 1993

多嚢胞卵巣症候群におけるGnRHアゴニスト併用 排卵誘発法 (short protocol) の有用性

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 岡田弘二

多嚢胞卵巣症候群 (PCOS) 婦人の排卵誘発に、GnRHアゴニストを用いた short protocol を用いてその有用性を検討した。対象症例は挙児希望のある、クロミフェン無効のPCOS婦人である。18症例34周期のうち16症例 (88.9%)、26周期 (76.5%) が排卵し、7症例 (38.9%) に妊娠が成立した。妊娠症例に多胎妊娠はみられず、高プロラクチン血症婦人1人が妊娠7週で流産した。排卵周期の平均ゴナドトロピン使用量は 7.1 ± 2.5 アンブル (534.4 ± 185 IU) で、GnRHアゴニストの平均投与期間は8.4日 (7~12日) であった。卵巣過剰刺激症候群は排卵26周期中14周期にみられたが、妊娠症例の1例のみ重症で、その他は中等症以下で外来経過観察が可能であった。以上よりGnRHアゴニストを用いた short protocol はPCOS婦人の排卵誘発に有用であると考えられた。

(受付: 1994年9月6日)

(受理: 1994年12月28日)

ARTプログラムにおける採卵日固定刺激法の効果について

Effectiveness of the Fixed Stimulation Regimen of ART-Programs

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室

安部 裕 司

Yuji ABE

雀 部 豊

Yutaka SASABE

矢野 義 明

Yoshiaki YANO

池 永 秀 幸

Hideyuki IKENAGA

片 桐 由起子

Yukiko KATAGIRI

森 田 峰 人

Mineto MORITA

平 川 舜

Syun HIRAKAWA

中 野 英 之

Hideyuki NAKANO

間 崎 和 夫

Kazuo MASAKI

久 保 春 海

Harumi KUBO

The 1st Department of Obstetrics and Gynecology
School of Medicine, Toho University, Tokyo 143, Japan

目的) ARTにおいて妊娠率を低下させず、採卵日をあらかじめ決定するためにhMG投与日数を7日間
に固定した7-days schedule法の有効性を検討した。対象) 1991年より東邦大学付属大森病院において施行
したART180周期につき7-days schedule法と従来法を比較検討した。結果) IVF-ET：7-days schedule法：
胚移植率78.4%，妊娠率22.5%，従来法においては各々88.6%，19.4%であった。GIFT：妊娠率50.0%，
従来法52.9%であった。結語) 我々が考案したARTにおける固定刺激法(7-days schedule)は、通常のlong
protocolに比し妊娠率を低下させずに採卵日をあらかじめ決定できるため、有効な方法と思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 211 - 215, 1995)

緒 言

Assisted reproductive technology (ART)における卵胞
刺激法(COH)においてpremature LH surgeを抑える目
的にてgonadotropin-releasing hormone agonist(GnRHa)併
用のhMG cycleが一般的に行われるようになってきた
り。しかし、採卵のタイミングは流動的であり、そ
れを受ける夫婦の日常生活に負担が大きく、仕事上
の都合などでキャンセルせざるを得ないこともあり
、また休日の採卵、胚移植(ET)などARTに携わる
医師にとって不都合な点が多々あった。そこでこの
問題を解決するために、我々は過去のデータより妊
娠症例の平均hMG投与日数が約7日間であることに
注目し、hMG投与日数を7日間と固定し採卵予定日
より逆算し、9日前より誘発を開始する7-days
schedule法を考案し1991年より臨床応用してきた²⁾。
今回その有用性につき若干の考察を加え検討したの

で報告する。

当教室においては、1984年よりIVF-ETのサテライ
ト病院化構想を実施している。すなわち、この構想
に賛同してくれた、病院またはクリニックにおいて
COHを行い、採卵およびET時に当教室のスタッ
フが出向する方法である。しかしこの方法では昼夜お
よび日、祭日を問わず待機が必要となり、人間的な
面で困難をきわめていた。そのうち、GnRHaを併用
したCOHが行われるようになり少なくとも夜間の
採卵は回避できるようになった。しかし、日程的な
問題は解決しなかった。そこで我々は、予定IVF-
ET/GIFT cycleの3周期以上前に試験的にGnRHa-
hMG-hCG(long protocol)を行い、hCG切り替えのタイ
ミングまでの患者の必要hMG投与日数を検討した。
そのデータを基に最終月経開始後、先に採卵日を
決定し逆算し、hMGを開始する方法を行った。その
結果をFig. 1に示した。しかしこの方法では患者の

負担が大きく改善の余地があった。そこでこの方法を retrospective に検討した結果、Fig. 1 に示す如く hMG 投与必要日数および妊娠数とも 7 日目に集中していることより、はじめから hMG 投与日数を 7 日間と固定する 7-days schedule 法を検討した。

対象および方法

1991 年より東邦大学付属大森病院において施行した IVF-ET137 周期および GIFT43 周期を対象とした。

1) ART のための COH 法

a) 従来法 (Fig. 2)

黄体期中期より GnRH α (Buserelin, スプレキュア, ヘキスト・ジャパン) 900 μ g/day を連日鼻内噴霧し、最終月経の第 3~5 日目より hMG (ヒュメゴン, 日本オルガノン) 150~300 単位を開始した。hCG の切り替えのタイミングは最大卵胞径が 16 mm 以上、血清 E₂ 200 pg/ml \geq 16 mm follicle の時点とした。

b) 7-days schedule 法 (Fig. 3)

黄体期初期より GnRH α 900 μ g/day を鼻内噴霧し、最終月経開始後、患者に来院を指示し相談の上、予定採卵日 (原則として月、水、金の週 3 日) を決定しその 9 日前より hMG 150~300 単位を 7 日間投与した。ただし、hMG の開始は基礎実験により down regulation が完成する GnRH α 開始後 12.8 \pm 4.1 日以上経過した任意の日とした。

2) IVF-ET 法

採卵は hCG 投与後、36 時間目に経膈超音波下にて行った。精子は swim up 法にて調整し、最終精子濃度 10×10^4 /ml にて採卵後 6 時間目に受精した。培養液は受精用として 8% ヒト非働化臍帯血清加 HTF (Human Tubal Fluid; IRVINE Scientific 社), growth medium として 20% ヒト非働化臍帯血清加 HTF を使用した。ET は採卵後 48 時間目 (7-days schedule における金曜日採卵時には 72 時間目) に transfer catheter (Cook 社) を用いて移植した。なお、移植困難例においては当教室にて独自に考案した 17G \times 180 mm の C 型スタイルット (八光商事) を用いた。

3) GIFT 法

hCG 投与後 36 時間目に腹腔鏡下に採卵し、swim up 精子 50×10^4 /ml にて受精後、子宮内カテーテル C 型 (八光商事) を用い移植した。

4) Luteal support

移植時より progesterone 25 mg を連日 1 回ないし 2 回筋注し、移植後 14 日目に Test Pack Plus (ダイナボット社) にて陽性、採卵後 4 週間目にて子宮内に胎嚢が認められたものを臨床的妊娠とした。統計的検討は student's t-test または χ^2 test にて行った。

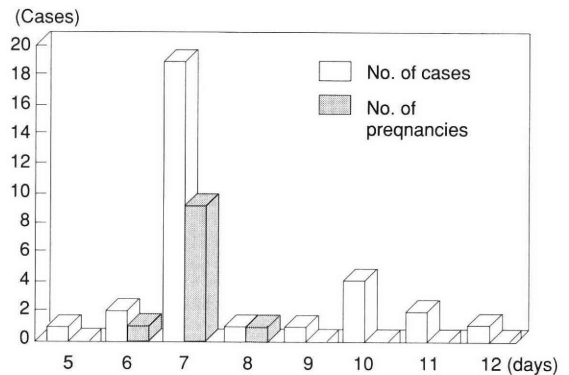


Fig. 1 Result of fixed schedule for COH (Phase 1)

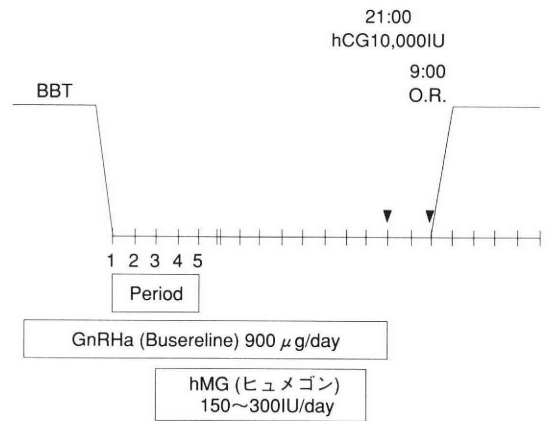


Fig. 2 Conventional schedule of COH

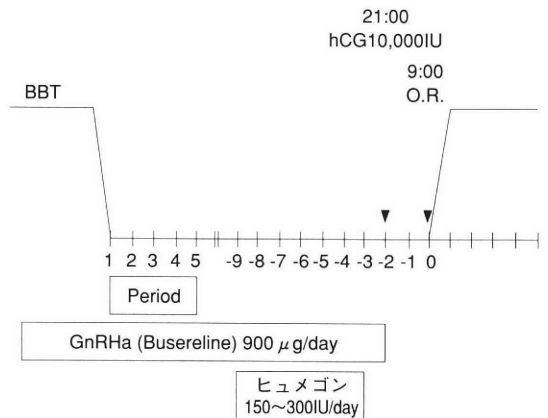


Fig. 3 7-days schedule of COH

結 果

1) 最終月経よりhMG開始までの期間 (Table 1)

7-days schedule法 IVF-ET群 8.0 ± 2.5 日, GIFT群 7.1 ± 4.4 日, 従来法 3.8 ± 1.1 , 4.0 ± 1.2 と 7-days schedule法が従来法に比し約3~4日延長していた。

Table 1 The interval between the day of first hMG injection and the starting day of LMP

COH	7-days schedule	Conventional schedule
IVF-ET	8.0 ± 2.5	3.8 ± 1.1
GIFT	7.1 ± 4.4	4.0 ± 1.2

m \pm S.D.

Table 2 Characteristics of IVF-ET Cycles

COH	7-days schedule	Conventional schedule
No. of case	102	35
Age (m \pm S.D.)	34.1 ± 4.5	33.9 ± 4.6
Days of hMG/cycle	7	8.1 ± 1.5
Days of GnRHa/cycle	26.7 ± 4.8	21.6 ± 3.5

m \pm S.D.

Table 3 Random data

COH	7-days schedule (n=54)	Conventional schedule (n=19)
E ₂ (pg/ml)*	1751 ± 956	1928 ± 1021
Maximum follicular diameter (mm)	19.5 ± 2.2	19.6 ± 1.7
No. oocytes retrieved	6.8 ± 4.6	6.9 ± 4.3
Mature oocytes (%)	83.7	84.7

*Sreum E₂ levels on the day of hCG administration

Table 4 Pregnancy rates of IVF-ET cycles

COH	7-days schedule	Conventional schedule
No. of cases	102	35
No. of ET/cases (%)	80/102 (78.4)	31/35 (88.6)
No. of Pregnancy/ET (%)	18/80 (22.5)	6/31 (19.4)

Table 5 Characteristics of GIFT cycles

COH	7-days schedule	Conventional schedule
No. of cases	26	17
Age	34.1 ± 4.2	35.4 ± 4.4
Days of hMG/cycle	7	7.6 ± 1.2
Days of GnRHa/cycle	27.0 ± 4.5	23.5 ± 1.7

m \pm S.D.

2) IVF-ET cycle (Table 2)

平均年齢は 7-days schedule法 34.1 ± 1.5 , 従来法 33.9 ± 4.6 歳で有意差はなく, また, 従来法の GnRHa 投与期間は 26.7 ± 4.8 , 21.6 ± 3.5 日で 7-days schedule法に延長を認めたと統計的有意差は認められなかった。ランダムデータによる hCG 投与日の最大卵胞径および血清 E₂ 値は 7-days schedule法 (n=54) 19.5 ± 2.2 mm, 1751 ± 956 (pg/ml), 従来法 (n=19) 19.6 ± 1.7 , 1928 ± 1021 であり採卵数および成熟卵率は, おのおの 6.8 ± 4.6 , 83.7%, 6.9 ± 4.3 , 84.7% でありいずれにおいても統計的有意差は認められなかった (Table 3)。

IVF-ETにおける妊娠率 (Table 4) をみると 7-days schedule法において ET率は 78.4%, ETあたりの妊娠率は 22.5% で従来法の 88.6%, 19.4% と比し有意差はなかった。

3) GIFT cycle (Table 5)

GnRHaの使用期間が 7-days schedule法にて 27.0 ± 4.5 日, 従来法 23.5 ± 1.7 日と 7-days schedule法にて延長したが各群ともに統計的有意差は認めなかった。

GIFTにおける妊娠率 (Table 6) は 7-days schedule法 50.0%, 従来法 52.0% であつたが有意差は認めなかった。

4) キャンセルケースの内訳 (Table 7)

IVF-ET/GIFT 症例 128 例中 17 症例 (13.3%) が 7-days schedule法にてキャンセルとなった。その内訳は卵胞径の増加不良にて hMG の追加投与を行いその結果, 採卵に至ったもの 4 例, また 12 例は発育卵胞数が 1 ないし 2 個で採卵をキャンセル, 残り 1 例は hMG 投与 5 日目に嚢胞形成を来したためキャンセルとなった。

Table 6 Pregnancy rates of GIFT cycles

COH	7-days schedule	conventional schedule
No. of cases	26	17
No. of Pregnancy/GIFT (%)	13/26 (50.0)	9/17 (52.9)

Table 7 Characteristics of canceled cycles of 7-days schedule

Low response	16
Additional stimulation cycles	4
Canceled cycles	12
Cyst formation	1
Total	17/128 (13.3%)

考 察

1978年世界初のヒトIVF-ET児が誕生して以来その技術の発展はめざましいものがある。しかし当初は、自然周期またはclomiphene citrate, hMG単独または併用により行われており、natural LH surge onsetや採卵以前の排卵の可能性のため昼夜および休日を問わず検査や採卵、胚移植を行っておりARTに携わる関係者は患者、家族も含め多忙をきわめていた。Templetonら³⁾は経口避妊薬を使用する事により採卵日を調整しようと試み、またWardleら⁴⁾はIVFの前周期にprogestogensを使用し週2回のみ採卵を可能にしたが、GnRHaを使用していないためpremature LH surgeの発来や自然排卵をきたし、その予測のため血中、尿中のLHのモニタリングが必要であった。その後、内因性のpremature LH surgeを抑える目的にてGnRHa併用のhMG cycleが一般的となった。

Zornら⁵⁾はnorethisterone/hMGの併用により週3日のみの採卵を試み、またAbdallaら⁶⁾やDimitryら⁷⁾はhCG投与のタイミングを遅延させることにより週末の採卵およびETを避ける事が可能であると報告した。しかし、これらの試みは未だ採卵、ETを予定手術に組み込む事ができなかった。今回我々の方法では、月経周期にとらわれず、例えば月経開始後2週間目からでもhMGをスタートする事により予定手術並みに特定の日に特定の症例数のみの施行が可能となった。しかしこの方法ではGnRHaの投与期間が長期にわたり、卵巣や子宮内膜への直接作用などが懸念される。

Yoshimuraら⁸⁾によるとウサギの卵巣の体外灌流によりGnRHaが卵巣に直接作用し卵胞内の卵の成熟分裂の引き金となり卵変性を促進する可能性を報告している。その反面、森ら⁹⁾によるとin vitroではGnRHaの卵巣への直接作用はほとんどないとの報告もある。今回の我々の方法では、胚移植率や妊娠率の点から大きな影響はないものと推測される。また、卵胞の成熟度に関しては、キャンセル症例のほとんどが、卵胞数の不足によるものであり、卵胞径が16 mm以上に達しなくて、hMGの追加投与を余儀なくされたものは128例中4例(3.1%)にすぎなかった。

今後、着床前診断へのARTの応用^{10,11)}など、その適用範囲は拡大され、さらに患者数は増加する可能性がある。したがって、妊娠率を低下させずに予定手術なみの日程が組める本法は有効な手段と考えられる。

当院においては現在月、水、金曜日の週3回のみ

の採卵、ETを可能とし1日おのおの2名までを実施している。

文 献

- 1) Cohen J, de-Mouzon J and Lancaster P, World Collaborative Report 1991, VIII th World Congress on In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction
- 2) Kubo H, Sasabe Y, Ikenaga H, et al., The clinical usefulness of the fixed regimen with the low LH/FSH ratio hMG for routine assisted reproduction program. 1ed, p376, Ares-Serono Symosia Publications, 1994
- 3) Templeton A, Look PV, Lumsden MA, et al., The recovery of pre-ovulatory oocytes using a fixed schedule of ovulation induction and follicle aspiration. Br J Obstet Gynecol 91: 148, 1984
- 4) Wardle PG, Foster PA, Mitchell JD, et al., Norethisterone treatment to control timing of the IVF cycle. Hum Reprod 1: 455, 1986
- 5) Zorn JR, Boyer P, Guichard A, Never on a Sunday: Programming for IVF-ET and GIFT. Lancet 1: 385, 1987
- 6) Abdalla HI, Leonard T, Baber R, et al., In-vitro fertilization. Br Med J 296:1470, 1988
- 7) Dimitry ES, Margara R, Bates SA, et al., Programming in vitro fertilization for 5- or 3-days week. Fertil Steril 55: 934, 1991
- 8) Yoshimura Y, Ubukata Y, Nakamura Y, et al., Gonadotropin-releasing hormone agonists induce meiotic maturation and degeneration of oocytes in the in vitro perfused rabbit ovary. Fertil Steril 55: 177, 1991
- 9) 森 宏之, 植村次雄, GnRH analogue —基礎から臨床応用まで— 水口弘司編. p54, 新興医学出版社, 1990
- 10) 雀部 豊, 安部裕司, 白井 彰 他, マウス着床前期胚に対する biopsy法の検討. 日受精床誌 10: 90, 1993
- 11) 雀部 豊, 着床前遺伝子診断を目的としたマウス体外受精胚に対する biopsy法の検討. 日産婦誌 45: 650, 1993

Effectiveness of the fixed stimulation regimen of ART-Programs

Yuji Abe, Hideyuki Ikenaga, Hideyuki Nakano
Yutaka Sasabe, Yukiko Katagiri, Kazuo Masaki
Yoshiaki Yano, Mineto Morita, Harumi Kubo
and Syun Hirakawa

The 1st Department of Obstetrics and Gynecology
School of Medicine, Toho University, Tokyo 143, Japan

The aim of the study was to investigate the effect of the fixed stimulation regimen (7-days schedule) on assisted reproduction technology (ART) programs.

One hundred and eighty ART candidates participated in the study. Initially long term use of GnRH α had started from the early luteal phase of previous cycle. After the establishment of the pituitary down regulation, the day of oocyte retrieval (OR) was scheduled. A 150 ~ 300 IU of

hMG administration was started 9 days prior to the OR-day. Oocytes were retrieved 36 hours after hCG injection.

The clinical pregnancy rate per ET of IVF-ET and GIFT were 22.5 %, 50.0 %, respectively. And the canceled rate due to poor response or cyst formation was only 13.3 %.

By the fixed stimulation regimen, an excellent success rate was obtained and cancellation was not increased. Therefore, it is beneficial for ART-programs.

(受付：1994年10月26日)

(受理：1994年12月28日)

男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績 — 妊娠例と非妊娠例の比較 —

Operative Results of Varicocele in Infertile Men — Comparative Study between Pregnant and Nonpregnant Cases —

滋賀医科大学泌尿器科学教室

石田 章 友吉 唯夫
Akira ISHIDA Tadao TOMOYOSHI

Department of Urology
Shiga University of Medical Science, Shiga 520-21, Japan

滋賀医科大学附属病院開院後12年間(1978年～1989年)に不妊を主訴とした精索静脈瘤に対して高位結紮術を施行し、術後少なくとも4か月経過を追えた39例を対象として、妊娠群と非妊娠群に分け妊娠成立に関与する因子について検討した。

- 1) 妊娠率は38.5% (15例)であった。
- 2) 術前の年齢、不妊期間、精索静脈瘤のGrade、精巣容量、血清FSH、LH、テストステロン、プロラクチンにおいて妊娠群と非妊娠群の間に有意な差は認められなかった。
- 3) 妊娠群においては、術前の運動率が非妊娠群よりも有意に高く、術後の精液量、精子濃度が術前に比し有意に増加したが、精子運動率は不変であった。
- 4) 非妊娠群においては、精子濃度は術後有意に増加したが、精液量、精子運動率は有意の増加を認めなかった。
- 5) 妊娠成立には総精子運動数の増加が関与したものと思われた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 216 - 219, 1995)

緒 言

精索静脈瘤は男子不妊症の原因疾患のなかで最も頻度が高くさらに手術的治療により軽減ないし治癒する疾患の一つである。今回、我々は男子不妊症における精索静脈瘤の手術成績について、妊娠群と非妊娠群に分けどのような因子が妊娠成立に関与しているのかを明らかにするためにこの2群について比較検討を行ったので報告する。

対象および方法

滋賀医科大学附属病院泌尿器科において、1978年より1989年までの12年間に不妊を主訴とした精索静脈瘤手術施行例のうち、術後少なくとも4か月経過観察できた39例を対象とした。精索静脈瘤の診断は

立位バルサルバ法をとらせるとともに陰囊の側面からも観察し、陰囊後面に存在する精索静脈瘤をも見落とさないように注意した¹⁾。精索静脈瘤の分類はGrade III (陰囊皮膚を通して可視あるいは触知可)、Grade II (立位で容易に触知可)、Grade I (バルサルバ法時のみ瘤形成)と分類した²⁾。術前精液所見が、精子濃度 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 未満、あるいは精子運動率60%未満を手術対象とした。手術法は内精巣静脈のみ高位結紮術(精巣動脈は未結紮)を行い、術中に内精巣静脈造影を施行し未結紮静脈のないことを確認した¹⁾。妊娠群、非妊娠群で年齢、不妊期間、手術前後の精液検査(精液量、精子濃度、運動率、術後の精液検査は4～12か月の平均値を用いた)、精巣容量、術前血清LH、FSH、テストステロン、プロラクチン値

を比較検討した。また妊娠の有無に関しては、術後1年以上の時点でアンケートにより確認した。

結 果

39症例中妊娠症例は15例(38.5%)であった。年齢は妊娠群が平均32.5歳、非妊娠群が31.3歳であり、不妊期間は妊娠群が2.4年、非妊娠群が3.5年であり、両者に有意差はなかった。精索静脈瘤(全例左精索静脈瘤)のGradeについては、妊娠群においてはGrade I : 2例, Grade II : 10例, Grade III : 3例, 非妊娠群はGrade I : 4例, Grade II : 17例, Grade III : 3例であり両者はほぼ同じ傾向を示した。精巣容量は左右精巣容量のうち大きい方つまり1例を除きすべて右側をオルキドメーターで測定した。妊娠群が15.9 mlと非妊娠群の14.5 mlよりやや大きい値をとったが有意差ではなかった(表1)。

血清LH, FSHに関しては(旧法での測定値で示す)非妊娠群がLH16.4 mIU/ml, FSH15.3 mIU/mlと妊娠群のLH14.1 mIU/ml, FSH12.9 mIU/mlより高値をとったが有意差は認められなかった。血清テストステロンに関しては、妊娠群が5.6 ng/mlであり、非妊娠群の4.4 ng/mlより高値をとった。血清プロラクチンに関しては、非妊娠群が12.5 ng/mlと妊娠群の10.1 ng/mlより高値をとった。しかしテストステロン, プロラクチン値にも有意差を認めなかった(表2)。

手術前の精液検査において、妊娠群の平均値は、精液量4.1 ml, 精子濃度 $7.9 \times 10^6/ml$, 運動率55.7%であり、非妊娠群の平均値は、精液量4.1 ml, 精子濃度 $8.4 \times 10^6/ml$, 運動率33.1%であった。運動率において妊娠群の方が有意に高値であった(表3)。

表1 年齢, 不妊期間, Grade, 精巣容量

	年齢 (歳)	不妊期間 (年)	Grade (例数)	精巣容量 (ml)
妊娠群 (n = 15)	32.5 ± 3.1	2.4 ± 1.5	I : 2 II : 10 III : 3	15.9 ± 3.2
非妊娠群 (n = 24)	31.3 ± 3.7	3.5 ± 2.7	I : 4 II : 17 III : 3	14.5 ± 4.2

表2 血清LH, FSH, テストステロン, プロラクチン値

	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	Testosterone (ng/ml)	Prolactin (ng/ml)
妊娠群 (n = 15)	14.1 ± 8.4 (n = 11)	12.9 ± 7.2 (n = 11)	5.6 ± 2.0 (n = 6)	10.1 ± 3.8 (n = 6)
非妊娠群 (n = 24)	16.4 ± 6.0 (n = 21)	15.3 ± 10.5 (n = 21)	4.4 ± 1.1 (n = 12)	12.5 ± 5.4 (n = 13)

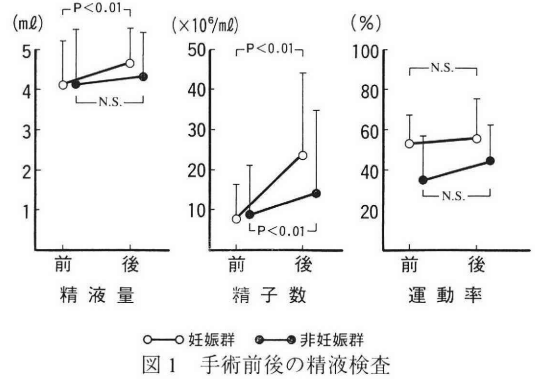


図1 手術前後の精液検査

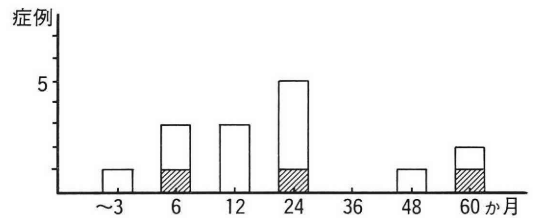


図2 妊娠成立までの期間 (15症例)

□ : 自然妊娠 1 ~ 54か月
 ▨ : AIH 平均20か月

手術後の精液検査において、妊娠群の平均値は、精液量4.6 ml, 精子濃度 $22.8 \times 10^6/ml$, 運動率57.7%であり、非妊娠群は精液量4.3 ml, 精子濃度 $13.9 \times 10^6/ml$, 運動率41.9%であった。やはり運動率において妊娠群の方が有意に高かった(表4)。

手術前後の精液検査を図1に示す。まず精液量については、妊娠群が手術前4.1 mlから手術後4.7 mlと有意に上昇したが、非妊娠群では手術前後でともに4.1 mlであった。精子数については、妊娠群、非妊娠群ともに有意に増加しているが、妊娠群のほうが $7.9 \times 10^6/ml$ から $22.8 \times 10^6/ml$ と2倍以上の値になっている。運動率については、妊娠群が55.7%から57.7%へ、非妊娠群が33.1%から41.9%へ増加したものの、手術前後で有意差は認められなかった。

以上の項目を総合すると、手術前より運動率のよい症例が成績良好で、精子濃度の改善および精液量の増加が妊娠に関与したものと思われた。

表3 手術前の精液検査

	精液量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	運動率 (%)
妊娠群 (n = 15)	4.1 \pm 1.4	7.9 \pm 8.5	55.7 \pm 13.2*
非妊娠群 (n = 24)	4.1 \pm 1.5	8.4 \pm 12.7	33.1 \pm 23.3*

* P < 0.01

表4 手術後の精液検査

	精液量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	運動率 (%)
妊娠群 (n = 15)	4.6 \pm 1.6	22.8 \pm 22.0	57.7 \pm 16.0*
非妊娠群 (n = 24)	4.3 \pm 1.3	13.9 \pm 16.2	41.9 \pm 21.0*

* P < 0.01

妊娠成立までの期間を図2に示す。15症例中AIH妊娠は3例であり、妊娠成立までの期間は手術後1か月から54か月に分布しており、平均20か月であった。

考 察

精索静脈瘤は男子不妊症の中の21~41%にみられ³⁾、当院での男子不妊症の臨床統計⁴⁾でも477例中110例(23.1%)とほぼ同様な割合であった。

手術時年齢についてTingaら⁵⁾は30歳以下のほうが妊娠率はよかったと報告しているが、自験例では妊娠群32.5歳、非妊娠群31.3歳と両者に差はなかった。不妊期間に関しては、田中ら⁶⁾、角谷ら⁷⁾は妊娠群では有意に短いと報告している。自験例も妊娠群が2.4年、非妊娠群が3.5年と妊娠群のほうが不妊期間が短いものの有意差は認められなかった。精索静脈瘤のGradeについては、田中ら⁶⁾、角谷ら⁷⁾の報告では妊娠群と非妊娠群において差を認めないとしているが⁸⁾、Brown⁹⁾はGradeの高いほうが、妊娠率はよかったと述べている。また奥山ら⁹⁾はGradeの高いほうが、精子濃度、運動率の有意の改善を手術後認めたとしている。精巣容量については、自験例では妊娠群が非妊娠群よりやや大きい傾向であった。奥山ら⁹⁾は精巣容量が大きいほうが手術後精子濃度、運動率の改善を認めたと報告している。また稲井ら¹⁰⁾は妊娠群が非妊娠群に比べ大きい傾向が認められたと述べている。

精索静脈瘤の内分泌所見では、FSH、LHは軽度上昇しLH-RHに対し過大反応を示すといわれている¹¹⁾。一般にFSHとLHではFSHのほうが鋭敏に造精機能障害を表しているといわれているが¹²⁾、非妊娠群ではFSHが有意に高いとの報告もあり⁷⁾、自験例でも

非妊娠群のほうがFSHは高値であった。またテストステロンも軽度低下しており、Leydig細胞の機能低下が報告されている¹³⁾。プロラクチンに関しては精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の精索静脈瘤症例においてTRHに対するプロラクチンの過剰反応を示すといわれ¹⁴⁾、非妊娠群で有意に高値をとったとの報告もある⁷⁾。

精液検査について検討すると、自験例では手術前の精液検査において妊娠群が有意に高い運動率をとったが、多くの報告では手術前の精液検査において妊娠群と非妊娠群では差を認めていない^{5,7,15)}。手術後の精液検査では妊娠群が非妊娠群に比べ有意差のあったものは、運動率¹⁵⁾または精子濃度と運動率⁷⁾と報告されている。精液量に関しては手術前後で不変であることが多い^{6,15,16)}。しかしながら、自験例で妊娠群において手術後精液量の有意の増加を認め(増加の理由は不明であるが)、手術後運動率に関しては妊娠群、非妊娠群ともにやや増加傾向であるがほぼ不変であり、手術後非妊娠群でも精子濃度の有意の改善を認めたことを考えると、総運動精子数がある程度以上になって妊娠に結びついたものと思われる。すなわちFarrisの妊娠係数(精液量 \times 精子濃度 \times 運動率/10⁶)¹⁷⁾で示すと、妊娠群では手術前18.0から手術後60.5へ、非妊娠群では手術前11.4から手術後25.0へ変化している。

精索静脈瘤に対する手術法について検討すると、左内精巣静脈と精巣動脈を同時に高位で結紮する方法をmodified Palomo法、左内精巣静脈のみを高位で結紮する方法をmodified Ivanissevich法、左内精巣静脈のtranscatheter embolization法(occlusion法)として、手術手技の違いにより精液所見の改善に差はなく、また妊娠率にも有意の差はなかったと述べている⁶⁾。また柳¹⁸⁾やPuleoら¹⁹⁾は鼠径管内でのmicrosurgeryを用いた方法を報告し、最近では腹腔鏡下での手術も施行されている²⁰⁾。精索静脈瘤手術後の妊娠率は8~53%と報告されており²¹⁾、本邦では20~30%の報告が多く、自験例は38.5%(15/39)、角谷ら⁷⁾は36.6%(41/112)、吉井ら¹⁵⁾は22.6%(21/93)であった。妊娠成立までの期間は手術後12か月前後が多いとされているが^{10,15)}、3~5年で精液所見が改善した症例も報告されている²²⁾。自験例では平均20か月とやや文献で報告されているよりも長く、最長54か月であり、長期にわたり経過観察が必要と思われる。

自験例での妊娠群、非妊娠群の傾向を総合すると、精索静脈瘤手術後は総精子運動数の改善をもたらすそれが妊娠に結びついたと考えられ、今後も精索静

脈瘤に対しては積極的に手術を施行していく方針である。

本論文の要旨は第35回日本不妊学会(1990年11月千葉市)において発表した。

文 献

- 1) 友吉唯夫, 新井 豊, 石田 章 他, 精巣静脈瘤の診断上の問題点. 泌尿紀要 34: 1935, 1988
- 2) Comhaire FH, Varicocele infertility an enigma. Int J Androl 6: 401, 1983
- 3) Saypol DC, Varicocele. Seminars in Urology 2: 82, 1984
- 4) 石田 章, 友吉唯夫, 男子不妊症の臨床統計的検討. 日不妊会誌 38: 109, 1993
- 5) Tinga DJ, Jager S, Bruijnen CLAH, et al., Factors related to sperm improvement and fertility after varicocele operation. Fertil Steril 41: 404, 1984
- 6) 田中啓幹, 木内弘道, 酒徳治三郎 他, 精索静脈瘤の治療成績. 西日泌尿 48: 1147, 1986
- 7) 角谷秀典, 小竹 忠, 始関吉生 他, 精索静脈瘤の治療成績—妊娠例と非妊娠例の比較—. 日不妊会誌 35: 732, 1990
- 8) Brown JS, Varicolectomy in the subfertile male: a ten year experience with 295 cases. Fertil Steril 27: 1046, 1976
- 9) Okuyama A, Fujisue H, Matsui T, et al., Preoperative parameters related to improvement of semen characteristics after surgical repair of varicocele in subfertile men. Eur Urol 14: 442, 1988
- 10) 稲井 徹, 香川 征, 横関秀明 他, 男子不妊症の臨床的研究 2. 精索静脈瘤の手術成績. 西日泌尿 49: 1445, 1987
- 11) Nagao RR, Plymate SR, Berger RE, et al., Comparison of gonadal function between fertile and infertile men with varicoceles. Fertil Steril 46: 930, 1986
- 12) 大橋輝久, 森岡政明, 男子不妊症の内分泌環境. 西日泌尿 44: 545, 1982
- 13) Weiss DB, Rodriguez-Rigau LJ, Smith KD, et al., Leyding cell function in oligospermic men with varicocele. J Urol 120: 427, 1978
- 14) Hudson RW, The endocrinology of varicoceles, Fertil Steril 49: 199, 1988
- 15) 吉井慎一, 真鍋文雄, 友政 宏 他, 男子不妊症における精索静脈瘤の手術療法. 日不妊会誌 35: 150, 1990
- 16) Rodriguez-Rigau LJ, Smith KD, Steinberger E, Relationship of varicocele to sperm output and fertility of male partners in infertile couples. J Urol 120: 691, 1978
- 17) 三宅弘治, Male Fertilityの諸問題 —組織学的考察—. 泌尿紀要 34: 1949, 1989
- 18) 柳 重行, 始関吉生, 山口邦夫 他, 顕微鏡下手術による静脈瘤の治療成績. 日不妊会誌 34: 460, 1989
- 19) Puleo S, Cataldo AD, Destri GL, et al., Microsurgical treatment of varicocele. Int Surg 74: 253, 1984
- 20) 堀井泰樹, 松田公志, 吉田 修, 腹腔鏡下精索静脈瘤手術. 臨泌 46: 315, 1992
- 21) Greenberg SH, Varicocele and male fertility. Fertil Steril 28: 699, 1977
- 22) 広川 信, 岩本晃明, 藤井 浩 他, 高度の精子形成障害をともなった精索静脈瘤の1例—手術後5年間の精液所見の検討—. 日不妊会誌 23: 113, 1978

Operative results for varicocele in infertile men — Comparative study between pregnant and nonpregnant cases —

Akira Ishida and Tadao Tomoyoshi

Department of Urology
Shiga University of Medical Science,
Shiga 520-21, Japan

In 39 cases of male infertility with varicocele, the high ligation of internal spermatic vein was performed.

Pregnancy was obtained in 15 cases (38.5 %). The patients were divided into two groups, pregnant and nonpregnant, and comparatively studied in male factors. There was no statistical difference between two groups as to age of the patient, duration of infertility, grade of varicocele, testicular volume, serum hormone values (LH, FSH, testosterone and prolactin). In preoperative semen analysis, the sperm motility of the pregnant group was significantly higher than that of nonpregnant group. In postoperative semen analysis the sperm density and semen volumes of pregnant group significantly increased from the values of preoperative semen analysis. This result suggested that the improvement of total motile sperm count after high ligation was closely related to pregnancy

(受付: 1994年10月17日)

(受理: 1994年12月29日)

SHORT-TERM ORAL ADMINISTRATION EFFECTS OF DANAZOL AND ESTROGENS ON THE VON WILLEBRAND FACTOR

Hideoki FUKUOKA and Makoto HIGURASHI

Department of Maternal and Child Health
School of Health Sciences, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo 113, Japan

Abstract: Danazol, an attenuated androgen, is reported to raise plasma levels of clotting factor VIII (F. VIII) in hemophilic patients, but no effects on the von Willebrand factor (vWF) have been studied. In plasma, F. VIII and vWF are combined to form the complex VIII/vWF. Increased vWF levels in plasma are suspected to be a factor inducing arteriosclerosis, and unusually large vWF multimers or elevated vWF were observed in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura and pregnancy-induced hypertension. Since danazol has been widely used for treatment of endometriosis, we studied the effect of danazol on vWF following a short-term oral administration (3 weeks), and then compared results with conjugate estrogens which are known to stimulate the biosynthesis of vWF in the vascular endothelial cells. Both danazol and conjugated estrogens similarly increased the vWF plasma levels in the first week, followed by a gradual decrease, and then returned to the initial levels by the end of the administration. In addition, multimeric analysis of vWF showed no unusually large vWF multimers. Danazol has the same effect with the conjugated estrogens to the plasma level of vWF, not leading to sustained high levels in vWF antigen, therefore the long term usage may be safe.

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 220 - 224, 1995)

Introduction

Danazol, a synthetic (2, 3-isoxazole) derivative of 17 alpha-ethynyl testosterone, is broadly used for the treatment of endometriosis, and is known to raise the plasma level of several proteins¹⁾ and increase platelet counts in idiopathic thrombocytopenic purpura²⁾. In plasma, the clotting factor VIII (F. VIII) and von Willebrand factor (vWF) are combined by non-covalent bonds to form the complex VIII/vWF³⁾. vWF is a tetramer consisting of four glycoprotein monomers (220 kDa) assembled by S-S bonds, and acts as the minimum protomer which normally forms heterogeneous multimers (800 ~ 2,000 kDa)⁴⁾. In 1983, Gralnick and Rak⁵⁾ reported an increase in the levels of F. VIII in response to short-term oral administration of danazol (600 mg/day for 14 days) in four patients with severe classic hemophilia. They reported, however, that the plasma levels of vWF remained constant during the danazol treatment in spite of the ele-

vation of F. VIII levels. Increased vWF levels in plasma are suspected to be a factor inducing arteriosclerosis⁶⁾, and unusually large vWF multimers or elevated vWF were observed in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura⁷⁾ and pregnancy-induced hypertension⁸⁾. Since danazol has been widely used for treatment of endometriosis, we studied the effect of danazol on vWF following a short-term oral administration (3 weeks), the effect of estrogens on plasma vWF levels was at the same time investigated because they stimulate the vWF biosynthesis in the vascular endothelial cells⁹⁾.

Materials and Methods

Danazol was orally administered for 3 weeks (400 mg/day) to nine women (35.5 ± 3.3 years old, 49.2 ± 3.3 Kg: mean ± SD) for the treatment of endometriosis, with none having a history of hematological abnormalities. In addition, conjugated estrogens, a mixture of estrone and equilin sodium salts, were

administered for 3 weeks (1.25 mg/day) to seven postmenopausal women (49.1 \pm 4.7 years old, 56.1 \pm 4.5 Kg) who also had no history of hematological abnormalities. Citrated plasma samples were obtained every 7th day for 3 weeks from each subject and stored at -20°C until assay.

Laurell's rocket electroimmunoassay method¹⁰⁾ was employed to quantify vWF levels, with plasma levels of vWF being expressed as von Willebrand factor antigen (vWF: Ag (%)), whereas vWF structures were qualitatively examined with multimeric analysis performed by 1% SDS-agarose gel electrophoresis using the continuous buffer system of Ruggeri and Zimmerman¹¹⁾ with a slight modification¹²⁾. Briefly, for the multimeric analysis, plasma containing sodium citrate was added to 10 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0) containing 1 mM EDTA, 2% SDS, 8 M urea, and 0.005% bromophenol blue, and then heated for 15 minutes at 60°C . A 30 μl sample of this plasma mixture was added to SDS-1% agarose gel (0.375 M Tris-HCl buffer (pH 8.4) containing 0.385 M glycine and 0.1% SDS), followed by electrophoretically transferring the gel proteins to nitrocellulose paper. After washing and blocking, the proteins were reacted with anti-human vWF rabbit antibody (DAKO, 1:1000), washed again and reacted with horseradish peroxidase-labeled anti-rabbit IgG antibody (DAKO 1:1000), and then stained with a 4-chloro-1-naphthol (Wako Pure Chem. Industry Ltd., Osaka, Japan) and H_2O_2 solution.

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

Results

In the danazol group (Table 1), plasma levels of vWF: Ag (%) (mean \pm SD) significantly ($p < 0.01$) increased from 101.4 \pm 15.7 to 158.8 \pm 25.2 in week 1, followed by a gradual decrease until the end of

administration. There was no significant difference between the initial and ending levels. In the estrogens group (Table 1), the plasma levels also significantly ($p < 0.01$) increased from 97.8 \pm 16.0 to 128.3 \pm 23.1 in week 1, followed by a gradual decrease until the end of the administration, with only a slight difference between the initial and ending levels. When comparing the week 1 levels, danazol showed a statistically significant larger increase than the estrogens ($0.01 < p < 0.05$).

Assay results in a representative subject from each group are respectively shown in Figures 1 and 2. In Figure 1, lanes 1 and 2 respectively show the rocket and the multimeric analysis results taken initially and for 3 weeks of administering danazol (400 mg/day) to a 38 year old woman with endometriosis. The vWF: Ag levels increased in week 1 and then decreased in weeks 2 and 3 until the same initial level of 89.7 was reached. Figure 2 shows results of the same analyses (lane 1 and 2 respectively) of initial and for 3 weeks of administering conjugated estrogens (1.25 mg/day) to a 54 year old postmenopausal woman, with similar results to danazol being shown. Both Figures 1 and 2 show that density of each multimeric band of vWF changed in a similar fashion, with no unusually large vWF multimeric bands or other new bands being observed. The vWF multimeric structures did not change by danazol and estrogens administration.

Discussion

In plasma, F. VIII and vWF are combined by non-covalent bonds to form the complex VIII/vWF³⁾. F. VIII is produced in the hepatic sinusoidal cells¹³⁾, whereas vWF is produced by both bone marrow megakaryocytes and vascular endothelial cells¹⁴⁾. The vWF produced by megakaryocytes remains in the platelets, whereas the plasma vWF originates only

Table 1 Changes in vWF: Ag (%) during a short-term oral administration of danazol and conjugated estrogens

Group	(n)	Initial	week 1	week 2	week 3
Danazol (400 mg/day)	(9)	101.4 \pm 15.7	158.8 \pm 25.2*+	93.9 \pm 20.7	79.8 \pm 15.9
Estrogens (1.25 mg/day)	(7)	97.8 \pm 16.0	128.3 \pm 23.1*	100.1 \pm 19.8	98.7 \pm 16.3

Data are presented as mean \pm S.D.

* $P < 0.01$, student's t-test, compared to initial levels.

+ $0.01 < p < 0.05$, student's t-test, compared with the week 1 level of the estrogens group.

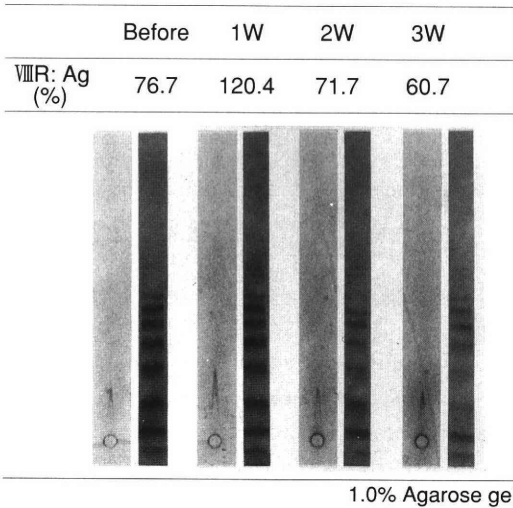


Fig. 1 Quantitative (rocket method) and qualitative (multimeric analysis) results of the effect of danazol (400 mg/day, lanes 1 and 2, respectively) on the von Willebrand factor (vWF) of a 38 year old woman with endometriosis

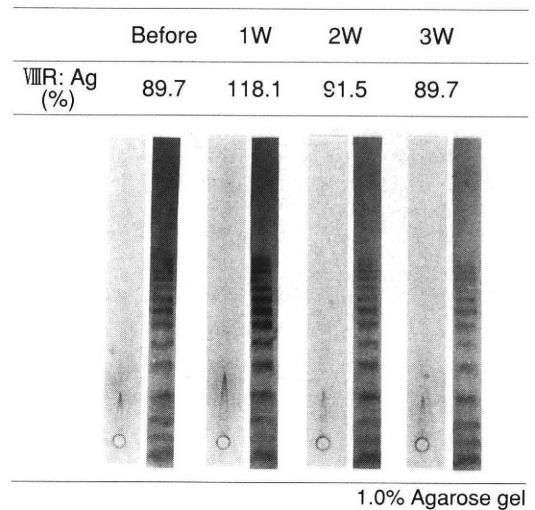


Fig. 2 Quantitative (rocket method) and qualitative (multimeric analysis) results of the effect of conjugated estrogens (1.25 mg/day, lanes 1 and 2, respectively) on the von Willebrand factor (vWF) of a 54 year old post-menopausal woman

from the vascular endothelial cells³). Gralnick and Rik reported that danazol significantly increased plasma F. VIII in hemophilic patients⁵). Subsequent studies^{15~17}) consistently confirmed their finding. Even though these effects were widely confirmed, plasma vWF levels have been reported not to change. Conjugated estrogens are used for uremic bleeding to increase the plasma levels of F. VIII and vWF¹⁸). vWF levels continually increase in a time-dependent fashion until parturition during pregnancy¹⁹), when the plasma levels of estrogens are elevated at the same time. These increase of plasma vWF may be due to direct effect of estrogens to endothelial vWF biosynthesis and release. In low doses of estrogens for menopausal women, however, the level of vWF remained stable, with increased fibrinogen²⁰).

Increased levels of vWF cause some clinical problems. Pigs often develop arteriosclerotic lesions similar to humans, and pigs having homozygous von Willebrand disease with low plasma level of vWF are resistant to arteriosclerosis, thus implicating vWF as one of the factors inducing arteriosclerosis⁶), with elevated vWF levels possibly increasing the associated risk of arteriosclerosis. Unusually large vWF multimers and elevated vWF plasma levels have also been

implicated in the development of thrombotic thrombocytopenic purpura⁷) and pregnancy-induced hypertension⁸). Since many patients are undergoing long-term treatment for endometriosis using danazol even though its effect on vWF is unknown, the present study was undertaken to examine whether danazol increases plasma levels of vWF and/or changes the vWF multimeric structures. In our results, short-term oral administration of danazol increased the plasma vWF levels (week 1) and decreased (week 2 and 3) similarly to conjugated estrogens. In addition, both experimental groups showed no observable changes in their multimeric structures (Figures 1 and 2). Therefore our results confirmed estrogens and danazol have the similar short-term stimulatory effect of on vWF biosynthesis and release over the first week of administration followed by a gradual decrease, being in contrast to other reports^{5, 16~20}). Thus, danazol has short term direct effects which stimulate the biosynthesis and release of both F. VIII and vWF in the hepatic sinusoidal and vessel endothelial cells, respectively.

Low levels of estrogen-binding sites are demonstrated in vascular endothelial cells²¹). Estrogen stimulates vWF production by cultured umbilical cord

endothelial cells⁹⁾. Clinically danazol has direct effects on peripheral tissue²²⁾. According to Barbieri²²⁾ and Tamaya et al.²³⁾, danazol is bound by the estrogen receptor of the uterine endothelial cells. After one week of oral administration danazol (400 mg/day) significantly increased ($0.01 < p < 0.05$) the plasma level of vWF more than conjugated estrogens (1.25 mg/day). It is expected that the estrogen receptor of the vascular endothelial cells may similarly bind danazol, thereby enabling the estrogen receptor-danazol complex to subsequently act at the nucleus to modify protein biosynthesis in the endothelial cell.

Both drugs significantly increased vWF antigen at one week with subsequent decline to baseline at three weeks. It is not determined whether the plasma vWF increase is due to increased synthesis or increased secretion from endothelial cell. Vasopressin and 1-deamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP), vasopressin derivative, increase only very short term increase of vWF²⁴⁾, inducing release from endothelial cells, having no effect of biosynthesis. As both estrogens and danazol increase the plasma level for at least one week compared with their effect, vWF increase may be induced by mainly a transient stimulation of vWF biosynthesis in endothelial cells. Subsequent decrease may be due to desensitization of the receptor in the endothelial cells.

The present study investigated only danazol's short term effects upon vWF, having no effect on the development of arteriosclerosis, microangiopathy or thrombotic thrombocytopenic purpura, and we conclude that danazol treatment does not lead to sustained rises in vWF antigens.

References

- 1) Madanes AE, Farber M, Danazol. *Ann Inter Med* 96: 625, 1982
- 2) Ahn YS, Harrington WJ, Simon SR, Danazol for the treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Eng J Med* 308: 1396, 1983
- 3) Zimmerman TS, Ruggeri ZM and Fulcher CA, Factor VIII/von Willebrand factor. *Prog Hematol* 13: 279, 1983
- 4) Shapiro GA, Andersen JC, Oizzo SV, et al., The subunit structure of normal and hemophilic factor VIII. *J Clin Invest* 52: 2198, 1973
- 5) Gralnik HR, Rick ME, Danazol increases factor

- VIII and factor IX in classic hemophilia and Christmas disease. *New Eng J Med* 308: 1393, 1983
- 6) Fuster V, Bowie ETW, Lewis JC, et al., Resistance to arteriosclerosis in pig with von Willebrand's disease. Spontaneous and high cholesterol diet-induced arteriosclerosis. *J Clin Invest* 61: 722, 1978
- 7) Moake JL, Rudi CK, Trel JN, et al., Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 307: 1432, 1982
- 8) Brenner B, Zwang E, Bronshtein M, et al., von Willebrand factor multimeric patterns in pregnancy-induced hypertension. *Thromb Hemost* 62: 715, 1989
- 9) Harrison RL, McKee PA, Estrogen stimulates von Willebrand factor production by cultured endothelial cells. *Blood* 63: 657, 1984
- 10) Laurell CB, Quantitative estimation of protein by electrophoresis in agarose gel containing antibody. *Anal Biochem* 15: 45, 1966
- 11) Ruggeri ZM, Zimmerman TS, Variant von Willebrand's disease: characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor in plasma and platelet. *J Clin Invest* 65: 1318, 1980
- 12) Fukuoka H, Kobayashi Y, Jimbo T, New simple analytical method of Factor VIII/von Willebrand factor with submerged SDS-agarose gel electrophoresis. *J Clin Exp Med* 138: 443, 1986
- 13) Stel HV, van-der-Kwaast TH, Veerman ECI, Detection of factor VIII/coagulant antigen in human liver tissue. *Nature* 303: 530, 1983
- 14) Ruggeri ZM, Zimmerman TS, Von Willebrand factor and von Willebrand disease. *Blood* 70: 895, 1987
- 15) Saidi P, Lega BZ, Kim HC, et al., Effect of danazol on clotting factor levels, bleeding incidence, factor infusion requirements, and immune parameters in hemophilia. *Blood* 68: 673, 1986
- 16) Kasper CK, Boylen AL, Poor response to danazol in hemophilia. *Blood* 65: 211, 1985
- 17) Garewal HS, Corrigan Jr JJ, Durie BGM, et al., Effect of danazol on coagulation parameters and bleeding in hemophilia. *JAMA* 253: 1154, 1985
- 18) Couch P, Stumpf JL, Management of uremic bleeding. *Clin Pharm* 9: 673, 1990
- 19) Caldwell DC, Williamson RA, Goldsmith JC, Hereditary coagulopathies in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 28: 53, 1984
- 20) Diez EM, Fernandez G, Ryder E, et al., Effect of

- low doses of estrogens in menopausal women. Invest Clin 34: 29, 1993
- 21) Colburn P, Buonassisi V, Estrogen-binding sites in endothelial cell cultures. Science 201: 817, 1978
- 22) Barbieri RL, Ryan KJ, Danazol: Endocrine pharmaceutical and therapeutic application. Am J Obstet Gynecol 141: 453, 1981
- 23) Tamaya T, Murakami T, Yamada T, et al., Serum hormone and steroid hormone receptor levels during luteal-phase and long-term treatment with danazol. Fertil Steril 40: 583, 1983
- 24) Takeuchi M, Nagura H, Hanaeda T, DDAVP and epinephrine-induced changes in the localization of von Willebrand factor antigen in the endothelial cells of human oral mucosa. Blood 72: 850, 1988

ダナゾールおよびエストロゲン投与による von Willebrand 因子血中レベルへの影響

東京大学医学部母子保健学教室

福岡秀興 日暮 眞

合成テストステロンダナゾールは子宮内膜症の治療薬として現在広く使用されている。凝固因子 factor VIII (F. VIII) と von Willebrand 因子 (vWF) は血中で複合体を形成して血液凝固に関与しており、ダナゾールは F. III は増加させるが vWF を増加させないと言われてきた。vWF の高濃度の持続は動脈硬化や、vWF multimers の異常高分子成分の出現は高血圧や血栓性血小板減少症を惹起することが知られているので、ダナゾール (400 mg/日) の vWF 血中レベルと vWF 分子多様性への影響を検討した。あわせて vWF の血管内皮細胞での生合成促進作用を有する conjugate estrogens (1.25 mg/日) を対照として検討した。その結果両者は極めて類似した vWF への効果を示し、一過性に投与 1 週間で約 1.5 倍にまで血中濃度を上昇させ、その後 3 週で投与前の濃度にまで減少回復するという、従来報告されなかった結果を得た。また投与前の濃度へ短時間に減少回復することより長期投与による vWF を介する血管系への副作用は生じないことが確認された。

(受付：1994年11月15日特掲)

(受理：1995年1月5日特掲)

酵素免疫測定法を用いた卵胞液中の 組織プラスミノゲンアクチベーターの定量に関する研究

Determination of Tissue Plasminogen Activator Antigen Using Enzyme Immunoassay

慶愛不妊研究所/慶愛クリニック

李 顕 銑

Hsien Kung LEE

Keiai Institute for Infertility and Keiai Clinic, Tokyo 171, Japan

明治薬科大学第一生化学教室

松 田 兆 史

秋 浜 澄 行

Yoshifumi MATSUDA

Sumiyuki AKIHAMA

Department of Biochemistry, Meiji College of Pharmacy

Tokyo 154, Japan

ダイヤモンド不妊研究所

慶応大学病院臨床検査部

向 田 哲 規

大 竹 皓 子

Tetunori MUKAIDA

Teruko OTAKE

Diamond Institute for Infertility

Department of Clinical Chemistry,

N.J.07111 U.S.A

Keio University Hospital

Tokyo 160, Japan

1) ヒト組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA, EC 3.4.21.68) の1ステップサンドイッチ法による酵素免疫測定法 (インザイン t-PA) をヒト卵胞液中の t-PA の定量に応用するための基礎的検討を行った。

2) 本法における各種再現性および希釈試験の結果は良好であった。

3) 共存物質の影響の検討の結果、アスコルビン酸は高濃度で本法に若干の負の影響を与えた。ウロキナーゼは本測定法に対し弱い親和性を示し、測定結果に正の影響を与えることが明らかになった。

4) ヒト卵胞液中の t-PA の測定への応用を試みたところ、良好な測定が可能であった。本法で測定したヒト卵胞液中の t-PA 量は 2.9 ± 3.5 ng/ml 卵胞液 (n=21) であった。

5) 本法はヒト血漿およびヒト卵胞液中などの組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) の測定法として有用な方法であると考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 225 - 229, 1995)

緒 言

組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA, EC 3.

4.21.68) は血液、精漿、卵胞をはじめ多くの組織あるいは体液中に存在することがすでに明らかにされている¹⁻³⁾。t-PA は哺乳類における排卵機構⁴⁾あるい

はヒトにおける精液の液化機構⁹⁾にも関与しているといわれ、産婦人科学上、特に男女不妊治療の面でも重要なものとなってきている。ヒトにおける排卵機構中においてt-PAはFSHおよびLHの司令を受けた後に、活性化され、排卵の最終段階を司るプロテイナーゼカスケード系の律速段階として作用していると考えられており^{4,6)}、排卵機構および生理機構の解明あるいは女性不妊治療の面で今後多くの臨床化学的検討が成されていくと推察される。

t-PAの測定法についてはすでに種々の方法が考案されているが、若干操作が複雑であった⁷⁻⁹⁾。今回、簡便な酵素免疫測定法による組織プラスミノゲンアクチベーターの測定法が開発されたので、この方法の有用性について検討し、さらにヒト卵胞液中のt-PA測定に応用した結果について報告する。

材料および方法

1) t-PA測定原理および測定方法

本t-PA測定は富士レジオ株式会社インザイン測定システムを用いて行った。

本法の測定原理は1ステップサンドイッチ法による酵素免疫測定法である。すなわち、t-PA抗原、ヒト抗t-PA抗原(マウス)を不溶化したビーズ(固相)およびペルオキシダーゼ(EC 1.11.1.7)で標識した同抗体を反応させ、t-PA抗原をはさんだ3者のサンドイッチを形成させる。このサンドイッチを分離洗浄後、サンドイッチ固相複合体中のペルオキシダーゼ活性を測定し、検体中に含まれるt-PA抗原量を求める。以下に本法によるt-PA測定の概略を述べる。

実験はマイクロウェル上で行う。検液50 μ lとt-PA標識抗体200 μ lをウェルに加える。次に各ウェルにt-PA不溶化抗体ビーズを加え、37 $^{\circ}$ Cで2時間反応を行う。反応終了後、各ウェル中の反応液を吸引除去し、さらに生理食塩水を用いウェルを十分吸引洗浄する。次に、発色液400 μ lを加え、室温で1時間酵素反応を行う。反応終了後、停止液2.0mlを加え反応を停止する。発色した420nmの吸光度を測定し、別に作成した検量線を用いグラフよりt-PA量を求める。検量線は検体のかわりに0~40ngのt-PAを含む標準液を用い、同様に操作し作成する。吸光度の測定は日立クリニカルスペクトロフォトメーター105-50型を用いて行った。

2) ヒト血漿

ヒト血漿は血液を採取直後に遠心分離により分取し、使用時まで凍結保存した。

3) ヒト卵胞液

ヒト卵胞液は米国ダイヤモンド不妊研究所において患者の同意を得て入手し、使用時まで凍結保存した。用いた卵胞液の平均液量は 3.5 ± 1.7 ml (n = 21)であった。

4) 試薬

ヒト尿ウロキナーゼ(UK)はミドリ十字株式会社製を用いた。標準t-PA標品は富士レジオ株式会社より提供を受けた。その他の実験に用いた試薬は医薬品あるいは試薬特級を用いた。

結果

1) 検量線

本測定法の代表的な検量線を図1に示した。本測定法では40 ngのt-PA(420 nmの吸光度として約0.8)まで検量線の直線性が認められた。本測定法の最小測定量はS/N比を5とした場合0.5 ngであった。

2) 再現性の検討

同時再現性の検討は2種の異なる濃度(低濃度:5 ngおよび高濃度:30 ng)の標準t-PAを用いて行った。t-PAの溶解は0.05 M Tris-HCl緩衝液pH7.5を用いて行った。その結果、低濃度(5 ng)および高濃度(30 ng)各検体の測定値は 5.11 ± 0.26 ng (Mean \pm SD, 低濃度)および 30.42 ± 0.72 ng (高濃度)であり、そのCV値は5.2%および2.4%と良好な値を示した。また表示量に対する回収率も101~102%と良好であった。

日差および希釈再現性の基準標品には同時再現性測定の高濃度標準t-PAを用いた。日差再現性の検討

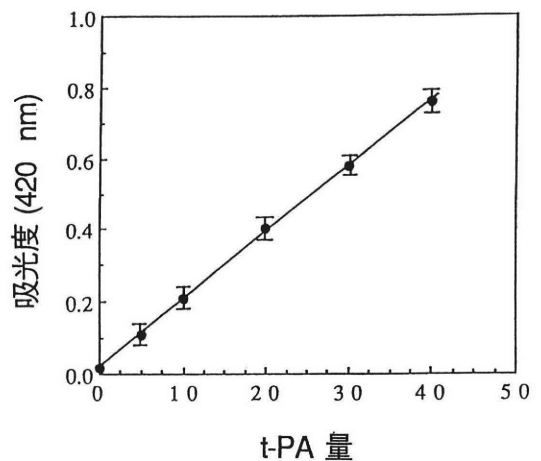


図1 標準t-PAによる検量線

検量線の式は $x = 53.65 y - 0.010$ 。t-PA量はngで示した。各点上の垂線は各測定値に対するSDを示す。

表1 各種物質の影響

物質	濃度 (mg/dl)	測定値 (ng/ml, mean \pm S.D.)	平均回収率 (%)
アスコルビン酸	100	27.3 \pm 1.7	90.1
	10	30.0 \pm 1.2	100.0
	1	29.8 \pm 1.2	99.2
ヘパリン	100	29.0 \pm 1.9	96.6
	10	29.6 \pm 0.5	98.8
	1	30.2 \pm 0.9	100.5
ビリルビン	100	30.3 \pm 0.8	101.2
	10	30.9 \pm 0.3	103.0
	1	31.0 \pm 0.3	103.3
EDTA2ナトリウム	100	30.5 \pm 0.9	101.5
	10	30.2 \pm 0.4	100.5
	1	30.8 \pm 0.3	102.5

各測定は標準t-PAを用い6回ずつ行った。

は上記濃度の標準t-PAの凍結保存標品を用い、5日間行った(n=6)。その結果、1日目、3日目および5日目の回収率はそれぞれ101.2%、99.2%および97.9%であり、そのCV値は2.4%、2.3%および2.6%となり、本法は測定値間の偏差も少なく良好な日差再現性を示すことが明らかになった。

希釈再現性は標準t-PAを原液から前記緩衝液を用い、等倍から5倍希釈までの5段階に希釈して測定し検討を行った(n=6)。その結果、各希釈段階における回収率は100.9%から101.3%と良好であり、さらにCV値も2.4%から4.8%に分布し、原液に換算した場合の測定値間には有意差(P>0.01)は認められなかった。

添加回収試験はヒト血漿(t-PA含有量: 5.5 ng/ml血漿)に上記緩衝液に溶解した一定量のt-PA(5 ngおよび30 ng)を添加し測定した(n=6)。その結果、添加t-PAの回収率およびCV値はそれぞれ98%および3.3%(5 ng添加)あるいは102%および3.8%(30 ng添加)であり、良好な回収率およびCV値を示すことが明らかになった。

3) 生体内物質の影響

アスコルビン酸、ビリルビン、ウロキナーゼ、および各種抗凝固剤(ヘパリンおよびEDTA2ナトリウム)のt-PA抗原測定に対する影響を検討した。各測定物質は0.05 M TRIS-HCl緩衝液、pH7.5に溶解し、高濃度標準t-PAに添加し測定した。結果は表1および図2に示した。その結果、ビリルビンおよびEDTA2ナトリウムは全く測定値に影響を示さないことが明らかになった。一方、アスコルビン酸およびヘパリンは高濃度の存在で約3~5%測定値を低下させ、若干ながら測定に負の影響を与えることが明らかになった。

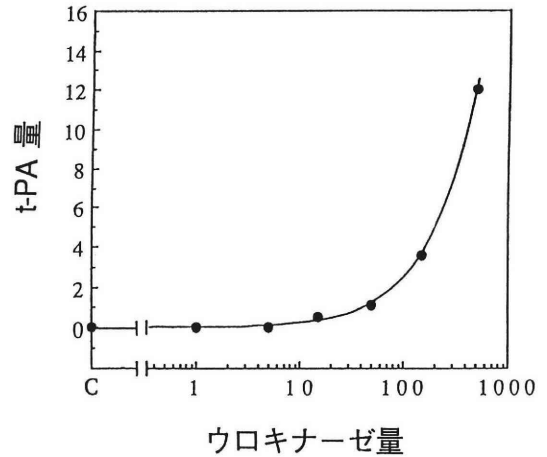


図2 ウロキナーゼの影響

ウロキナーゼは国際単位 (IU) で、t-PA量はngでそれぞれ表示した。横軸は添加したUK量を示す。縦軸は測定されたt-PA量を示す。

表2 ヒト卵胞液中のt-PAの測定

項目	単位	測定値
卵胞液量	ml	3.5 \pm 1.7
t-PA濃度	ng/ml	2.9 \pm 3.6
t-PA濃度の分布	ng/ml	0.4 ~ 14.2
総t-PA量	ng	13.1 \pm 14.2
総t-PA量の分布	ng	0.9 ~ 45.4
単一検体測定時のCV値	%	4.5 \pm 1.2

実験に用いたヒト卵胞液は21例である。各卵胞液の測定は6回行った。

ヒト尿ウロキナーゼは本測定系のt-PA抗体に対し弱い親和性を示すことが明らかになった(図2)。ウロキナーゼのt-PA抗体に対する結合は30~50ウロキナーゼ国際単位/ng t-PA程度であることが示されたが、測定検体中のウロキナーゼの高濃度の存在は、測定に正の影響を与えることが明らかになった(図2)。

4) ヒト卵胞液中t-PAの測定

本測定法のヒト卵胞液中のt-PA測定への応用を試みた。ヒト卵胞液中のt-PAの測定は、21個ヒト卵胞液サンプルを用い、卵胞液を前記緩衝液で数倍希釈した後(検体により異なる)、血漿の場合と同様に操作して行った。その結果、ヒト卵胞液中のt-PA量の測定はヒト血漿と同様に可能であることが認められた。ヒト卵胞液中のt-PA量は0.4~14.2 ng/mlに分布しその平均値は2.9 \pm 3.6 ng/ml (mean \pm SD)であった。

さらにヒト卵胞液中総量の平均値は 13.1 ± 14.2 ngであった。また同一検体測定に対するCV値は最大7% (平均4.5%)と良好であった。以上の結果をまとめて表2に示した。

考 察

本研究では新しく開発された組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) の測定法の検討を行い、この結果を基に、ヒト卵胞液中のt-PA量の測定への応用を試みた。ヒト血漿中のt-PAの測定についてはすでに報告され、実用化も成されている⁷⁻⁹⁾。本研究で用いた方法は1ステップサンドイッチ法による酵素免疫測定法であり、簡便に血漿中t-PAの測定を行うことができた。本t-PA測定法は各種再現性の検討の結果も非常に良好であり、さらに共存物質の影響も少ないため(表1)、血漿などヒト体液中のt-PAの測定法として有用な方法であると考えられる。一方、本測定法はヒトウロキナーゼに対して若干の交差反応を示すことが認められた(図2)。しかし本法におけるヒトウロキナーゼのt-PA抗体との結合比は30~50ウロキナーゼ国際単位/ng t-PA程度と微量であることも明らかになった(図2)。この結果、ウロキナーゼの混在が考えられる尿検体などの本法を用いたt-PA測定に対しては、検体中に含まれるウロキナーゼをあらかじめ除去するなど、若干の注意が必要であると考えられた。

t-PAの卵胞液内存在はすでに明らかにされており、その生理的役割については排卵機構との関連、特にプラスミノゲン、コラゲナーゼと共に形成する排卵プロテイナーゼカスケード系について興味を持たれて研究がなされている^{4,6,10)}。しかし卵胞液中のt-PA活性存在量が少ないのみならず、簡便なt-PA測定法が少なく、卵胞液中のt-PAの迅速かつ直接的な定量は行い難かった。そこで本研究では、新しく開発された酵素免疫測定法を用い、ヒト卵胞液中のt-PAの測定への応用を試みた。その結果、本法は測定方法のなんらの変更なしに、ヒト卵胞液中のt-PA測定を行うことが可能であり、良好な結果を与えることが明らかになった。本法を用い測定した結果、ヒト卵胞液中のt-PA濃度は $0.4 \sim 14.2$ ng/ml ($n=21$)に分布し、卵胞液中の総量は $0.9 \sim 45.5$ ng ($n=21$)に分布することが明らかになった(表2)。

本研究では、各種組織・体液中に存在するプラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI) の本測定に対する影響の検討、あるいはシングルチェーンおよびツーチェーンt-PAそれぞれに対する測定感

度の比較などは、試薬サンプルの入手などの問題もあり、行い得なかった。今後これらの点について詳細に検討する必要がある。

本研究で検討したt-PAの酵素免疫測定法はヒト卵胞液中のt-PAの測定として応用可能であることが明らかになった。今後、通常血漿中のt-PA測定のみならず、産婦人科領域、特に不妊症治療あるいは男女不妊症の研究領域でも、多いに本t-PA酵素免疫測定法の利用が可能であると考えられる。

文 献

- 1) Astedt B, Wallen P, Absted B, Occurrence of both urokinase and tissue plasminogen activator in human seminal plasma. *Thromb Res* 16: 463, 1979
- 2) Rijken DC, Wijngaards G, Welbergen J, Immunological characterization of plasminogen activator activities in human tissue and body fluid. *J Lab Clin Med* 97: 477, 1981
- 3) Deutinger J, Elevated tissue type plasminogen activator in human granulosa cells correlates with fertilizing capacity. *Human Reprod* 3: 597, 1988
- 4) LeMaire WJ, Mechanism of Mammalian ovulation. *Steroids* 54: 455, 1989
- 5) Matsuda Y, Oshio S, Yazaki T, et al., The effect of some proteinase inhibitors on liquefaction of human semen. *Human Reprod* 9: 604, 1994
- 6) Morioka N, Zhu C, Brannstrom M, et al., Mechanism of Mammalian ovulation. *Prog Clin Biol Res* 294: 65, 1989
- 7) Ang-Anby M, Nguyen G, Scarabin PY, et al., Immunoreactivity of tissue plasminogen activator and of its inhibitor complexes. Biochemical and multicenter validation of a two site immunosorbent assay. *Thromb Haemost* 61: 409, 1989
- 8) 石井明治, 浜田 宏, 山田利律子 他, Bioimmunoassayを用いた妊娠末梢血中t-PAの変動について. *産婦人科の世界* 41: 151, 1989
- 9) Van-Dreden P, Gonzales J, Richard P, Determination of tissue plasminogen activator (t-PA) antigen in seminal plasma by modified enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Andrologia* 20: 48, 1988
- 10) Mukaida T, Matauda Y, Katayama M, et al., Relationship among argininic amidases and estrogens in human follicular fluid. *Jpn J Fertil Steril* 40: 26, 1995

Determination of tissue plasminogen activator antigen using enzyme immunoassay

Hsien-Kung Lee

Keiai Institute for Infertility and Keiai Clinic
Tokyo 171, Japan

Yoshifumi Matsuda, Sumiyuki Akihama

Department of Biochemistry, Meiji College of Pharmacy
Tokyo 154, Japan

Tetunori Mukaida

Diamond Institute for Infertility
N.J. 07111, U.S.A

Teruko Otake

Department of Clinical Chemistry
Keio University Hospital
Tokyo 160, Japan

An enzyme linked immunosorbent assay against human tissue plasminogen activator (t-PA, EC 3. 4. 21. 68) was evaluated for human plasma and human follicular fluid. There is a good analytical result of t-PA measured to some tests such as reproducibility test, recovery test and dilution test. Addition of high concentration of ascorbic acid resulted in a little decreased t-PA levels while other materials such as heparin, bilirubin and EDTA-2Na had no influences.

t-PA levels in human follicular fluid were measured using the present immunoassay system and resultant t-PA level was 2.9 ± 3.5 ng/ml of human follicular fluid which average volume was 3.5 ± 1.7 ml ($n = 21$).

It is concluded that the present enzyme linked immunosorbent assay system is useful to the measurement of t-PA in human plasma and human follicular fluid.

(受付：1994年11月8日)

(受理：1995年1月12日)

超音波カラードプラ法による精索静脈瘤症例での 精巣血流動態の検討

Studies on Testicular Blood Flow in Varicocele Patients Using Ultrasound Color Doppler Method

昭和大学医学部泌尿器科学教室

渡辺 賀寿雄	船橋 健二郎	小橋川 啓
Kazuo WATANABE	Kenjiroh FUNABASHI	Kei KOBASHIGAWA
片岡 肇一	渡辺 政信	吉田 英機
Toshiichi KATAOKA	Masanobu WATANABE	Hideki YOSHIDA

Department of Urology

Showa University School of Medicine, Tokyo 142, Japan

実験動物の精索静脈瘤モデルで精巣血流量の変化が見られていることから、ヒト精索静脈瘤においても手術前後で精巣血流量が変化するのではないかと考えられる。そこで今回我々は、腹腔鏡下左内精静脈結紮術を施行した左精索静脈瘤患者10例に対して手術前後の精巣血流動態の変化を超音波カラードプラ法を用いて検討した。その結果患側の Testicular artery (精巣動脈), Capsular artery (白膜周囲動脈), Intratesticular artery (精巣内動脈) の最高血流速度 (Vmax), 最低血流速度 (Vmin) は術後で増加傾向を認め、健側の各部位での術前値と同程度になった。Pulsatility Index (PI), Resistive Index (RI) とも有意な変化を認められたが、その意味については今後検討が必要である。精液所見は術後で精子濃度、運動率とも増加傾向にあり、特に運動率で有意な改善を認めた。これらのことから術後での精巣内血管のうっ血改善による精巣の動脈血流速度増加が、造精機能へ好影響を及ぼしたものと考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 230 - 237, 1995)

緒 言

男性不妊症の原因の一つである精索静脈瘤の造精機能障害の機序については、いまだ定説はないが外科的処置により精液所見の改善が認められるのは周知の事実である^{1,2)}。そのためいろいろな条件での精索静脈瘤の実験モデルを作製し、それらの精巣における生理的变化についての検討³⁻⁵⁾が多く行われてきた。それらの検討の中で1983年 Harisson⁶⁾らはモンキーを用いた精索静脈瘤モデルでキセノクリアランスより求めた精巣血流量においてモデルの左側精巣全体血流量の有意な低下を報告している。また逆に1984年柳⁷⁾らはラットを用いた精索静脈瘤モデルにおいて電解式組織血流計で精巣血流量測定を行い、モデルの左側精巣全体血流量の有意な増加が見られ

たと報告している。臨床例についてはRIを用いた方法⁸⁾などでの精索静脈瘤における精巣全体の血流動態についての報告はみられるが、精巣、精巣周囲および精巣内の個々の動脈動態についての報告はない。一方最近精索静脈瘤の外科的治療法としてより侵襲の少ない手術として腹腔鏡下内精静脈結紮手術が行われており、この手術は精巣動脈温存が可能な方法である。そこで今回我々は、精巣動脈温存の腹腔鏡下左内精静脈結紮術を施行した症例について手術前後における精巣動脈血流動態の変化を超音波カラードプラ法を用いて検討し、かつ術前後での精液所見の変化についても検討を加えたので報告する。

対象および方法

1992年2月から12月の間に不妊または陰囊部痛を

主訴に当科を受診し、左精索静脈瘤と診断を受けた10例を対象とした(表1)。FSH, LH, テストステロン, フリーテストステロンの測定は、RIA法により行った。

精索静脈瘤の有無や程度はValsalva法、超音波カラードブラ法にて行い、全例左精索静脈瘤のみで右側精巣については検査上正常であった。手術は全例全身麻酔下にて腹腔鏡下左内精静脈結紮術を精巣動脈温存にて施行した。精巣血流測定にはTOSHIBA-SSA-270Aにて7.5 MHz表在用リニア型プローブを装着して行い、患者体位は測定に約1時間かかるため患者がリラックスできるように半坐位で検査側の大腿を軽く開き陰嚢部を弛緩した状態になるようにして施行した。検査の際精巣は圧迫により容易に移動したり変形をきたすのでプローブを軽く接触させる程度で施行した。測定動脈はMiddletonら^{9,10)}に準じて選択し、Testicular artery (以下、精巣動脈)、Capsular artery (以下、白膜周囲動脈と称す)、Intratesticular artery (以下、精巣内動脈と称す)をSampling pointとした。測定時期は手術前日、術後3か月に同部位における最高血流速度 (Velocity maximum, 以下、Vmax) と最低血流速度 (Velocity minimum, 以下、Vmin) を測定した。これらの血流速度測定値よりパラメーターとして、(最高血流速度-最低血流速度)/平均血流速度 (Pulsatility Index, 以下、PI), (最高血流速度-最低血流速度)/最高血流速度 (Resistive Index, 以下、RI) を算出した。なお術前での左右のデータ比較の統計学的処理には対応のないWilcoxon検定を用い、左側(患側)での術前後のデータ比較には対応のあるWilcoxon検定を用いた。

表1 対象症例 (Mean ± S.D.)

年齢	: 34.6 ± 6.3 (20 ~ 42) 歳
主訴	: 不妊 8例 陰嚢部痛 2例
程度	: grade I 1例 grade II 6例 grade III 3例
LH*	: 3.7 ± 3.0 mIU/ml
FSH*	: 7.3 ± 5.8 mIU/ml
テストステロン**	: 461 ± 154 ng/dl
フリーテストステロン***	: 18.4 ± 6.2 pg/ml
精液所見	
精子濃度	: 28.4 ± 27.4 × 10 ⁶ /ml
運動率	: 36.8 ± 17.6 %

* スパック-s LH, FSHキット

** 日本DPCトータルテストステロンキット

*** 日本DPCフリーテストステロンキット

結 果

1) 各 Sampling point での超音波カラードブラ画像

精巣動脈は、精巣上体頭部付近の部位で同定した。この動脈は蔓状静脈叢に包まれ迂曲、蛇行して走行しているため、術前は静脈血の逆流により同定はやや困難であるが術後は容易に同定し得た(図1)。白膜周囲動脈は、精巣実質の外側縁の白膜に沿って走行するので精巣下極の縦断もしくは横断像での外側縁で比較的容易に同定し得た(図2)。精巣内動脈は白膜周囲動脈から精巣中心部へ迂回しながら分枝を出し、そして反転して反回枝を出す走行をしているため測定の際比較的直線状に走行してる場合と点状にしか見えない場合があるので、角度補正の点から血管走行が明確に追える部位で同定し測定した(図3)。精巣動脈、白膜周囲動脈、精巣内動脈における血流の同定および血流速度測定は、術前で健側は各部位で全例可能、患側は1例が精巣動脈周囲の静脈血逆流が強いため測定困難であったがそれ以外は測定可能であった。術後では1例で白膜周囲動脈、精巣内動脈の測定が困難であった以外は、すべて測定可能であった。

2) 術前における各部位での左右の血流速度およびパラメーターの比較(図4, 図5)

Vmaxは、精巣動脈で健側(右側)8.8 ± 3.4 cm/sec (Mean ± S.D.)、患側(左側)7.4 ± 2.8 cm/sec、白膜周囲動脈で健側7.6 ± 2.6 cm/sec、患側6.4 ± 1.3 cm/sec、精巣内動脈で健側5.6 ± 3.0 cm/sec、患側4.8 ± 1.0 cm/secであり、有意差を認めないが各部位において健側の

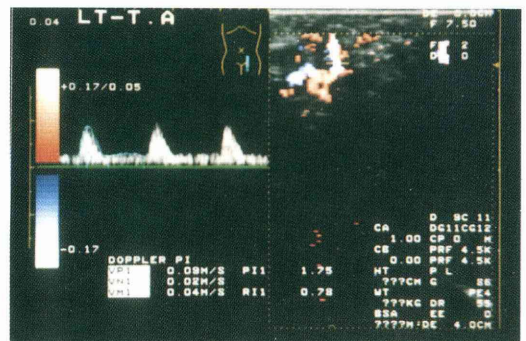


図1 精索部での精巣動脈の超音波カラードブラ画像
右側は、Bモード画像縦断像の精巣動脈での動脈血流をリアルタイムに表示したものである。画像の右側が精巣上極で、左側は精索部である。精巣動脈の血流は、蛇行しているため同一超音波カラードブラ画像上で赤色にも青色にも表示される。左側は、Bモード画像上のSampling pointでの精巣動脈の血流波形である。

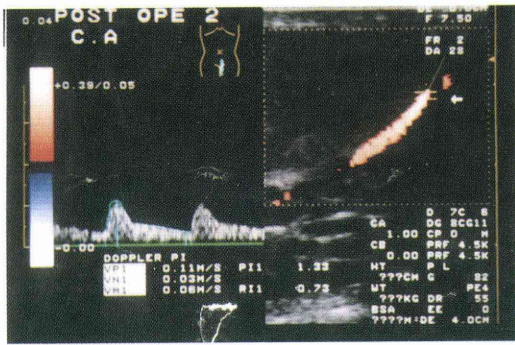


図2 精索部での白膜周囲動脈の超音波カラー Doppler 像
Bモード画像は縦断像であり、その右側が精巣下極で外側縁の白膜に沿って走行するのが白膜周囲動脈である。

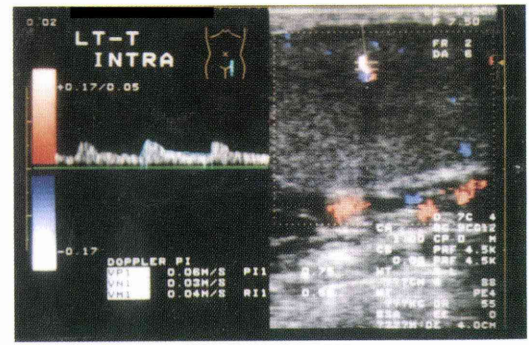


図3 陰嚢部での精巣内動脈の超音波カラー Doppler 像
Bモード画像は精巣の断層像で、白膜周囲動脈から精巣中心部へ向かう精巣内動脈の血流が確認でき、その血流は上方へ向かうものと反回する動脈があるので赤色にも青色にも表示される。

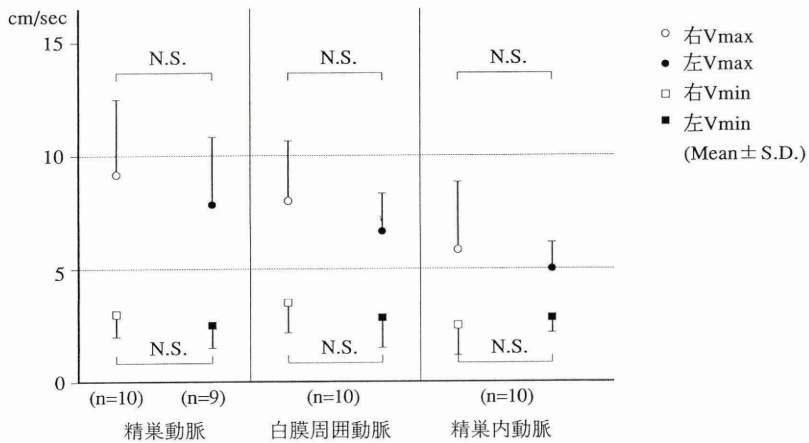


図4 術前における各部位での左右 Vmax, Vmin の比較

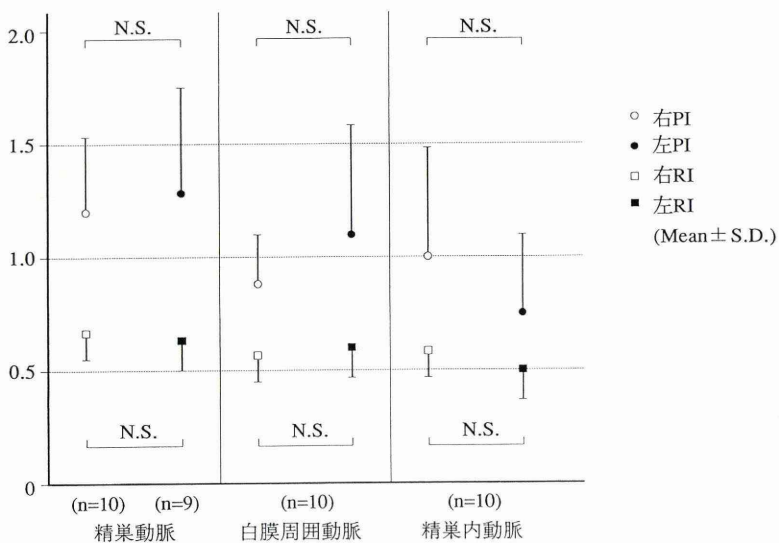


図5 術前における各部位での左右 PI, RI の比較

方が患側に比較してやや速度が速い傾向を示した。Vminでは、精巣動脈で健側 2.7 ± 0.9 cm/sec. 患側 2.3 ± 0.9 cm/sec, 白膜周囲動脈で健側 3.3 ± 1.3 cm/sec. 患側 2.4 ± 1.0 cm/sec, 精巣内動脈で健側 2.3 ± 1.5 cm/sec. 患側 2.4 ± 0.7 cm/secであり、Vmaxとはほぼ同様な傾向を認めた。PIは、精巣動脈で健側 1.22 ± 0.31 . 患側 1.26 ± 0.48 , 白膜周囲動脈で健側 0.85 ± 0.22 . 患側 1.09 ± 0.49 , 精巣内動脈で健側 0.99 ± 0.45 .

患側 0.76 ± 0.30 であり、RIは精巣動脈で健側 0.68 ± 0.09 . 患側 0.66 ± 0.14 , 白膜周囲動脈で健側 0.56 ± 0.08 . 患側 0.62 ± 0.12 , 精巣内動脈で健側 0.60 ± 0.12 . 患側 0.50 ± 0.12 であり両パラメーターとも特に有意差を認めなかった。

3) 術前後における患側各部位での血流速度およびパラメーターの変化(図6, 図7)

全体としてVmaxは各部位で増加傾向, Vminに関

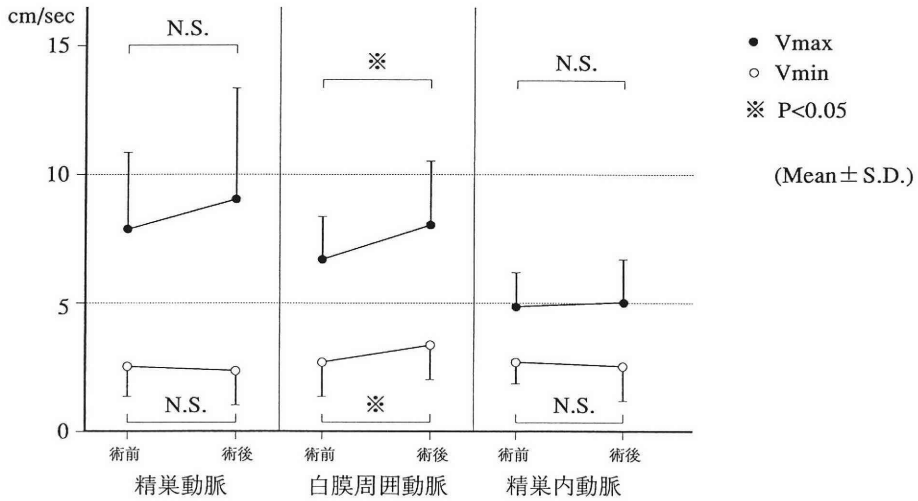


図6 術前後における患側(左側)各部位でのVmax, Vminの変化(n=9)

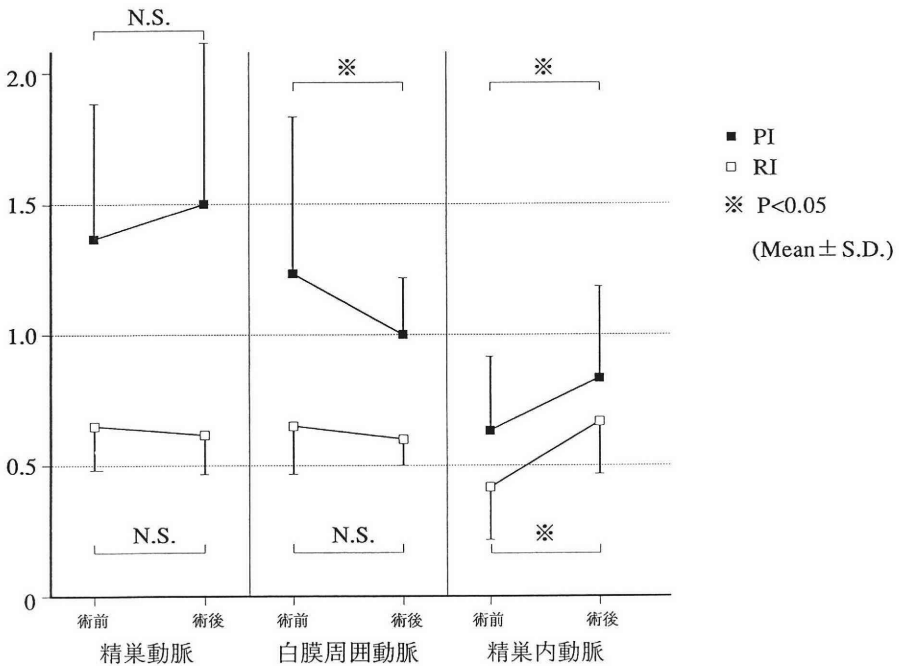


図7 術前後における患側(左側)各部位でのPI, RIの変化(n=9)

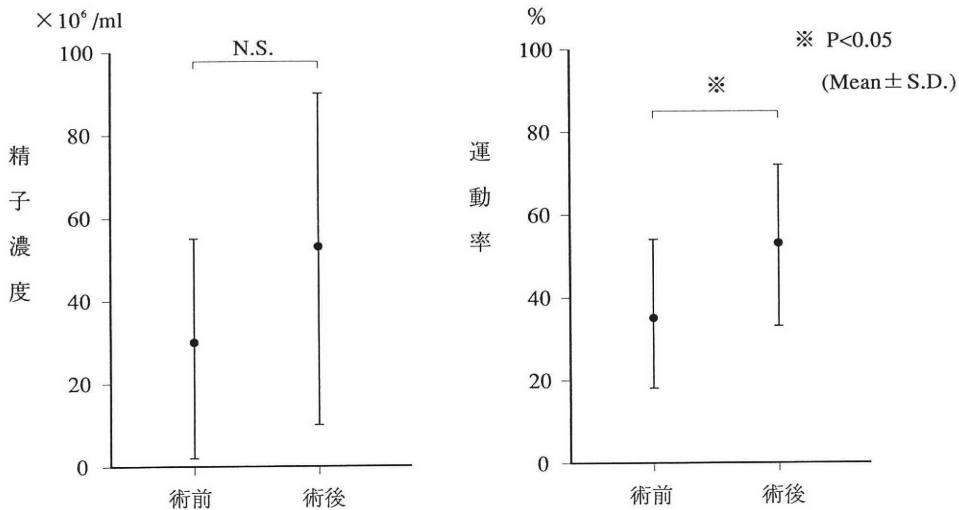


図8 精液所見の変化 (n=10)

しては明らかな傾向を認めなかったが、白膜周囲動脈のVmaxは、術前 6.9 ± 1.3 cm/secが術後 7.8 ± 2.2 cm/sec、Vminでは術前 2.4 ± 1.3 cm/secが術後 3.1 ± 1.2 cm/secと有意な増加を認めた。PIでは白膜周囲動脈で術前 1.21 ± 0.55 で術後 0.98 ± 0.16 と有意な低下、精巣内動脈ではPIが術前 0.61 ± 0.28 で術後 0.80 ± 0.34 、RIが術前 0.41 ± 0.17 で術後 0.55 ± 0.17 と有意な増加を認めた。各部位における術後のVmax、Vminの値は、精巣動脈、白膜周囲動脈、精巣内動脈ともおよそ健側の術前値と近い値となった。

4) 精液所見の変化 (図8)

精子濃度は、術前 $28.4 \pm 27.4 \times 10^6$ /mlで術後3か月 $49.7 \pm 39.4 \times 10^6$ /mlとなり増加傾向にあったが、有意差は認めなかった。運動率では、術前 $36.8 \pm 17.6\%$ で術後3か月 $52.7 \pm 17.7\%$ となり有意な改善を認めた。

考 察

現在までにヒト精巣全体の血流測定法には、精巣での物質クリアランスより算出して求める方法⁷⁾、全身投与したRIの集積から求める方法⁸⁾などが報告されている。今回精巣動脈血流測定に用いた超音波カラードプラ法は患者に対して非侵襲的かつ超音波による検索と同時に血流方向や血流速度が測定可能な検査であるので、精索静脈瘤においても静脈血逆流の有無判定や逆流する血流速度解析などに使用され有用であるとする報告^{11,12)}が最近みられる。精索静脈瘤での精巣の組織所見や精巣血流動態については多くの諸君らがヒトや実験動物モデルでいくつかの方法にて検討して報告している。

Chakrabortyら¹³⁾はヒト精索静脈瘤を有する精巣の組織所見から、精索静脈瘤群で小動脈、毛細血管、小静脈がうっ血状態で、正常群に比較して精索静脈瘤群で小動脈、小静脈の直径は有意な変化はないが、軽度と中等度、重度の精索静脈瘤群では小動脈の内腔径が各々 $11.16 \pm 0.94 \mu\text{m}$ (mean ± SEM), $7.97 \pm 1.63 \mu\text{m}$ で対照群の $15.5 \pm 1.02 \mu\text{m}$ に比較し有意な減少を認め、さらに正常群に比較して精索静脈瘤群で輸精管境界膜の有意な肥厚が認められたとしている。そしてこれらの精索静脈瘤群でのうっ血状態、動脈内腔径の狭小化、輸精管境界膜肥厚が、細胞の低酸素性、虚血性ショック、代謝障害を起し、それによりGerm cellは変性して精索静脈瘤で造精機能低下が起こるのではないかと推測している。荻田¹⁴⁾はラットの左精巣静脈圧上昇モデルを作製して精巣組織学的変化について検討し、血管の内皮細胞数、血管壁の厚さは実験群と対照群で有意な差はなかったとし、ヒト精索静脈瘤精巣と違う結果を報告している。またHarrisonら⁶⁾はモンキーの実験モデルでの精索静脈瘤における精巣内圧と精巣全体の血流動態について検討し、対照群より精索静脈瘤群の左精巣で有意な左精巣内圧の上昇を示す結果と左精巣全体血流量が対照群 10.42 ± 1.88 ml/100 g/min (Mean ± S.E.)に比較して精索静脈瘤群 5.04 ± 0.74 ml/100 g/minで精索静脈瘤群において有意に低下を示したと報告した。なお精巣内圧測定は精巣内に圧センサーを接続した針を穿刺して行い、精巣全体血流量はキセノンクリアランスから算出していた。そしてこの精巣全体の血流量低下は、精巣の毛細血管内圧が増加した

事により起こり、この虚血が細胞ダメージを起し造精機能低下が起こるのではないかと推測している。一方Hurtら¹⁵⁾やGreenら¹⁶⁾は、ラットの左精索静脈瘤モデルで対照群に比較して左右側とも有意な精巣全体血流増加と温度上昇を認めたが、精索静脈瘤修復後には正常化したことから血流増加と温度上昇は密接に関係しこれらにより造精機能は障害されるのではないかと推測している。以上のことから精索静脈瘤の精巣血流量と造精機能障害には何らかの関係があることが示唆され、ヒトにおいても精索静脈瘤患者に外科的処置を加えることにより精巣血流動態に変化が起こる可能性が考えられた。そこで今回我々は腹腔鏡下内精静脈結紮術を施行した左精索静脈瘤10症例での手術前後の精巣血流動態の変化について超音波カラードプラ法を用いて検討したところ、術前においてVmax, Vminとも各部位で健側が患側に比較し速い傾向を認め、術後では患側の精巣動脈、白膜周囲動脈、精巣内動脈においてVmax, Vminの術前に比較して術後で増加傾向で、患側の術後値は健側の術前値と近い値になったという結果を得た。

Middletonら⁹⁾は正常精巣30例(平均年齢30歳)における検討からSuprtesticular arteriesで平均Vmax14.0 cm/sec (range 7.5~27.7), 平均Vmin1.9 cm/sec (0~4.7), 平均PI 3.0 (1.3~5.9), 平均RI 0.84 (0.63~1.00), Capsular arteriesで平均Vmax11.9 cm/sec (5.0~23.4), 平均Vmin4.0 cm/sec (1.8~9.2), 平均PI 1.3 (0.82~2.3), 平均RI0.66 (0.46~0.78), Intratesticular arteriesでは平均Vmax 9.7 cm/sec (4.0~19.1), 平均Vmin 3.6 cm/sec (1.6~6.9), 平均PI 1.3 (0.7~2.3), 平均RI 0.62 (0.48~0.75)と報告しており、我々の行った術前の健側(右側)における各Sampling pointでの動脈血流速度やパラメーターの値と比較すると我々の値は、Vmax, Vminともやや低値でPI, RIはやや高値であった。今後日本人について多数例で年齢別正常精巣の動脈血流速度データについての検討が必要であると思われる。今回は精索静脈瘤が左側のみである事が確認できているため手術侵襲のない右側を対照として考え、結果として左側各Sampling pointでのVmax, Vminは、術後に増加を認め右側での各部位の術前値とほぼ近い値となった。このことは手術により血流動態が変化し、正常と思われる右側の精巣血流速度と同程度になったとも言えるが、この点については今後さらに症例を増やして検討を加える必要があると思われる。またPI, RIは腎の末梢血管抵抗と相関がある^{17~19)}とされ、パラメーターとしていろいろ

な臓器で使われているため今回も用いた。今回の検討ではPI, RIについては、有意な変化を認めたが精巣においても末梢血管抵抗と相関があるか否かについては不明であり今後症例を増やし検討したい。

これらの血流速度の結果について解析するにあたり血流速度の変化に寄与する因子である血流量、血管径、血管抵抗について考える必要がある。結果から術後患側のVmaxの値が増加傾向を示したという事は、術後患側の精巣動脈への血流量増加、流入する血管抵抗の低下、血管径の狭小化のいずれかが単独または複合で起こったことが考えられる。

Harrison, Chakrabortyらの報告と我々の結果を合わせて考えてみると精索静脈瘤群の精巣内血管はうっ血で精巣内圧が増加し、それに伴って動脈の流入抵抗が上昇したことにより精巣の血流量、血流速度が低下し、精索静脈瘤の手術後は精巣内血管のうっ血が改善し流入抵抗が低下したことにより血流量、血流速度が増加したと考えられる。またHurtらやGreenらの精巣血流量の増加という結果は、精巣全体の動脈、毛細血管、静脈を合わせた血流量(ml/min/100g.tissue)の報告であり、精索静脈瘤群において精巣内血管はうっ血にあるため精巣全体の動脈、毛細血管、静脈を合わせた血流量は、対照群に比較して増加したのではないかと考えられる。そしてそれぞれの実験モデルでの精巣血流量測定結果が相違となった理由としては測定方法によることが考えられ、測定した血流量が分布した血流量を見たのか精巣からの流出血流量を見たかの違いであると思われる。また伊藤ら^{20,21)}の報告するように腎静脈由来の逆流する血流内にProstaglandin Fが高値であるならば精巣の血管は収縮により動脈の血管径が細くなり、血管抵抗が上昇して精巣血流量としては低下し手術後は増加することが充分考えられる。今後術前後における動脈径の変化については検討する必要がある、そのためには超音波カラードプラ装置を含めた機器の性能の発展が望まれる。しかしこれらの血流動態の変化と同時に精液所見の改善が見られていることから、精巣内のうっ血の改善が造精機能に好影響を及ぼしていることが強く示唆された。

また超音波カラードプラ法での各動脈を同定するには多少訓練を要するため、正常人、精巣炎患者、精巣上体炎患者においてあらかじめ十分訓練した後検査を施行した。これらの経験と今回の検討から精巣での超音波カラードプラ法で血流測定を行う際は、測定血管の高い再現性と血流速度測定での角度補正の点から白膜周囲動脈が測定部位として適して

いるのではないかと思われた。今回は10例という少数例での検討であり結論的な事は明言できないが、今後さらに症例を増やして検討を加えたい。

結 語

超音波カラードプラ法を用いて、腹腔鏡下左内精静脈結紮術を施行した精索静脈瘤10症例の手術前後の精巣動脈血流動態変化と精液所見の変化について検討を行い、以下の結果を得た。

1) Sampling pointでの超音波カラードプラ法による血流速度測定はほぼ全例術前後で可能であったが、測定部位としては白膜周囲動脈が適当であると思われた。

2) 術前のVmax, Vminでは健側(右側)が患側(左側)に比較して速い傾向を認め、PI, RIでは特に変化は認められなかった。

3) 患側(左側)の精巣動脈、白膜周囲動脈、精巣内動脈においてVmax, Vminの術前に比較して術後で増加傾向を認め、術後の値は右側(健側)の術前値と近い値となった。またPI, RIでも変化を認めたが、その意味については今後の検討課題である。

4) 術前後での精液所見は、術後3か月で精子濃度、運動率とも増加傾向にあり、特に運動率で有意な改善を認めた。

5) 以上のことから精索静脈瘤の術後に左精巣内血管のうっ血が改善し流入抵抗が低下したために精巣動脈、白膜周囲動脈、精巣内動脈での血流速度が増加して健側と同程度になり、精液所見の改善につながったものと考えられた。

文 献

- 1) Cockett ATK, Takihara H, Cosentino MJ, The varicocele. Fertil Steril 41: 5, 1984
- 2) 角谷秀典, 小竹忠, 始関吉生 他, 精索静脈瘤の手術成績—妊娠例と非妊娠例の比較—. 日不妊会誌 35: 732, 1990
- 3) Green KF, Turner TT, Howards SS, Effects of varicocele after unilateral orchiectomy and smpathectomy. J Urol 134: 378, 1985
- 4) Turner TT, Lopez TJ, Testicular blood flow in peripubertal and older rats with unilateral experimental varicocele and investigation into the mechanism of the bilateral response to the unilateral lesion. J Urol 144: 1018, 1990
- 5) Hurt GS, Howards SS, Turner TT, The effects of unilateral, experimental varicocele are not mediated through the ipsilateral testis. J Androl 8: 403,

1987

- 6) Harrison RM, Lewis RW, Roberts JA, Testicular blood flow and fluid dynamics in monkeys with surgically induced varicocele. J Androl 4: 256, 1983
- 7) 柳 重行, 寺田為義, 片山 喬, ラットにおける実験的精索静脈瘤のこう丸におよぼす影響. 日不妊会誌 29: 97, 1984
- 8) 岩本見明, 広川 信, 精索静脈瘤の血流動態time activity curveの検討. 西日泌尿 48: 1129, 1986
- 9) Middleton WD, Thorne DA, Melson GL, Color doppler ultrasound of the normal testis. AJR 152: 293, 1989
- 10) Middleton WD, Bell MW, Analysis of intratesticular arterial anatomy with emphasis on transmediastinal arteries. Radiology 189: 157, 1993
- 11) 白瀧 敬, 瀧原博史, 井本勝彦 他, 超音波カラードプラー法の精索静脈瘤への臨床応用—診断および静脈血流速度に基づいた分類の可能性—. 日不妊会誌 38: 129, 1993
- 12) 渡辺賀寿雄, 片岡肇一, 渡辺政信 他, 泌尿器科領域におけるカラードプラ法の応用(11) 精索静脈瘤. 泌尿外 7: 335, 1994
- 13) Chakraborty J, Hikim APS, Jhunjhunwala JS, Stagnation of blood in the microcirculatory vessels in the testes of men with varicocele. J Andro 6: 117, 1985
- 14) 荻田 卓, 精索静脈瘤に関する実験的研究. 日不妊会誌 31: 326, 1986
- 15) Hurt GS, Howards SS, Turner TT, Repair of experimental varicocele in the rat long-term effects on testicular blood flow and temperature and cauda epididymidal sperm concentration and motility. J Andro 17: 271, 1986
- 16) Green KF, Turner TT, Howards SS, Varicocele: Reversal of the testicular blood flow and temperature effects by varicocele repair. J Urol 131: 1208, 1984
- 17) 片岡肇一, 笠原敏男, 小橋川啓 他, 体外衝撃波結石破砕術(ESWL)前後における腎血流変化の検討—超音波カラードプラ法を用いて—. 日泌尿会誌 84: 851, 1993
- 18) Rifin AB, Needleman L, Pasto ME, et al., Evaluation of renal transplant rejection by duplex Doppler examination -value of the resistive index. AJR 148: 759, 1987
- 19) Mostbeck GH, Reichhalter C, Stockenhuber F, et al., Comparison of duplex sonography and color Doppler imaging in renal allograft evaluation-A prospective study. Eur. J Radiol 10: 201, 1990
- 20) Ito H, Fuse H, Minagawa H, et al., Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients.

Fertil Steril 37: 218, 1982

- 21) 伊藤晴夫, 精索静脈瘤不妊の成因について 1. 日不妊会誌 39: 493, 1994

**Studies on testicular blood flow
in varicocele patients
using ultrasound color Doppler method**

Kazuo Watanabe, Kenjiroh Funabashi,
Kei Kobashigawa, Toshiichi Kataoka,
Masanobu Watanabe and Hideki Yoshida

Department of Urology
Showa University School of Medicine
Tokyo 142, Japan

Since the change of testicular blood flow had been reported in the animal of creating a model of varicocele, it was suggested that testicular blood flow in human varicocele might change also after operation. In order to

confirm and further investigate this possibility, we studied on changes of testicular blood flow velocity using ultrasound color Doppler method in 10 consecutive patients with left varicocele who underwent laparoscopic varicocelectomy. We observed that the tendency to increase blood flow velocities of left testicular artery, left capsular arteries and left intratesticular arteries after operation and these levels became to about the same degree of the right blood flow velocities before operation. Significant changes of pulsatility index and resistive index were observed, but the implication was unknown to us. Furthermore, the significant improvement of sperm motility were observed after 3 months of the operation.

In conclusion, we considered that it had good influence on the spermatogenesis that the increase of testicular blood flow velocities led to improvement of intratesticular stagnation after operation.

(受付: 1994年12月1日特掲)

(受理: 1995年1月17日特掲)

新構造の卵管鏡システムを用いた卵管形成法の操作技術と 適応についての考察

Considerations for the Manipulating Technique and Its Indications of Falloposcopic Tuboplasty (FT)

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

末岡 浩
Kou SUEOKA
橋場 剛士
Takeshi HASHIBA

小林 俊文
Toshifumi KOBAYASHI
久慈 直昭
Naoaki KUJI

浅田 弘法
Hironori ASADA
宮崎 豊彦
Toyohiko MIYAZAKI

野澤 志朗
Shiro NOZAWA

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

卵管閉塞をはじめとする卵管不妊の診断・治療法として、卵管内腔全域にわたり挿入し、卵管形成を行うと同時に内腔を内視鏡下に観察することのできる新構造カテーテルシステム (falloscopic tuboplasty (FT) システム) が開発された。このシステムを両側卵管閉塞患者20名、延べ施行卵管数41に対して卵管形成を目的として使用し、その操作技術および適応について検討した。卵管別治療成績は総計で70.7%を示し、閉塞部位による成績の差は認められず、卵管内腔の10 cmまでの範囲で卵管全域の病変域に適応できることを示した。

同時に閉塞以外の内腔病態をも観察が可能であり、また癒着による部分狭窄や多発性閉塞の形成を含め、広範な適応が示唆された。

難治性の内腔癒着に対する卵管形成は、バルーン拡張内圧を6気圧から漸次増大させ、最大9気圧までに加圧して高い治療成績を得たが、強固な癒着のため高圧での卵管形成が必要である場合は疎通性の回復と同時に卵管穿孔を生じることがあるため、1回のバルーンの前進距離を1 cm以下とし、また腹腔鏡観察下での施行が補助的手段として有効と考えられた。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 238 - 243, 1995)

緒 言

受精および初期胚の育成環境である卵管の不妊因子を考える上で、その障害の頻度が極めて高いにもかかわらず、病態を把握するための確なる検査法や、それに対する治療法の開発が容易でないことから、体外受精などの卵管が関与しない妊娠への治療が多く選択されるようになった。しかし、体外受精治療が普及し、治療限界を含め、治療に関するデメリットについての議論がされるようになるのと時期

を一致して、より生理的な妊娠環境を観察し、治療方法を確立するための様々なアプローチが成されるようになったり、卵管は、排卵時に卵子を回収すると同時に、精子の通過路であり、さらに卵子と精子の受精の場でもある。また、1週間にわたる初期胚の成長の場でもある。これらの環境因子の障害が、妊娠の妨げとなっていることは従来より多く指摘されてきたことである。この卵管環境を観察する方法として行われてきた子宮卵管造影法や腹腔鏡下色素通水法では、卵管疎通性の確認が主たる目的となり、

これによって両側閉塞が診断できるとどまり、卵管内腔の詳細な状態を観察、把握することは困難であった。また、この治療法についても従来より顕微鏡下の手術を始めとする観血的治療法^{2,3)}、ないしは通気や通水などの保存的な治療法に委ねられてきた。その後、閉塞卵管に対して選択的にカテーテルを挿入し、透視下で造影剤を注入する方法 (transcervical balloon tuboplasty; TBT)⁴⁻⁶⁾や、子宮鏡下選択的卵管通水⁷⁾などの方法が開発されるようになった。これらのカテーテル治療法によって、特に近位の卵管閉塞の疎通性の回復が得られるようになり、卵管閉塞に対する新しい治療法として確立されつつある。しかし、卵管遠位部の閉塞に対する治療ではこれらの方法はなお困難であることが報告され、また、内腔の病的状態の観察という観点からは子宮卵管造影の域を越えるものではない。新たに卵管鏡 (fallopianoscopic tuboplasty; FT) システムが開発され、この方法を用いた卵管閉塞を解除する治療法の確立を目的として両側卵管閉塞の患者に対する治療結果を検討した。この方法では、子宮側からのアプローチでバルーンカテーテルとスコープを蛇行する卵管全域の内腔に挿入することが可能となり、また、卵管内腔の微細な構造を直視下で観察できるようになった⁸⁻¹⁰⁾。特に、卵管鏡下卵管形成システムを用いた卵管形成法の有効性および同治療の操作に関する技術的要点について検討し、また、治療の適切なる適応について卵管病変を考察した。

対象および方法

不妊検査として子宮卵管造影および通気ないし通水検査を反復して施行し、これらの方法により両側卵管閉塞と診断された不妊患者20名・41卵管を対象とした。このうち1例は卵管鏡下卵管形成システムを用いて卵管形成に成功したが、その後、子宮卵管造影および通水検査により両側卵管に疎通性を認め得なかったため再度同方法による卵管形成を実施した例である。したがって、総実施症例数は21となった。

治療に使用した卵管鏡下卵管形成システム (以下 FT システム) は米国 Imagyn 社製の機器で、厚生省への輸入申請のための臨床試験として、患者の同意を得た上で、これを用いて卵管形成を行った。同臨床試験に関する7施設の治療成績についてはすでに報告¹¹⁾があるが、このうち、当施設における治療知見について検討を行った。

FT システムは卵管鏡システム部分および卵管形成

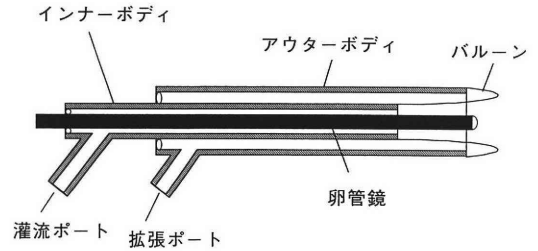


図1 FTカテーテル構造断面図

用カテーテルキットにより構成されている。円筒状のバルーンカテーテル (LEカテーテル) の内側に内径 0.5 mm の微細なファイバースコープ (fallopiscope) を挿入し、加圧式のフレキシブルなバルーンカテーテルを卵管内に押し進めることにより卵管形成を行い、同時に卵管内腔を観察し得る方法である。LEカテーテルの加圧後の外径は、1.2 mm である。一方、卵管鏡システムは2000画素の卵管ファイバースコープ・光源装置 (CCD) ビデオカメラ、ビデオデッキ、モニターおよび灌流ポンプ装置によって構成されている。また、卵管形成用カテーテルキット (図1) は、外筒・内筒およびバルーンを加圧する拡張器から成り、このカテーテル先端は外筒に付属したマンドリンで伸展および屈曲が調節できるように設計されている。内筒を押し込むことで、カテーテル先端からバルーンおよび卵管鏡が前進し、この際卵管鏡はバルーンに連動して前進するが、スコープコントローラーで前後方向に操作をしながら観察を行う。カテーテルには、拡張器および灌流ポンプからのチューブを各々のポートに接続し、拡張器には滅菌生理食塩水を充填し、バルーンカテーテルを前進させる時は6気圧、卵管鏡を進める操作時は2気圧に調節する。なお、強固な閉塞のために卵管形成が困難となり、バルーン先端が圧迫により変形しバルーンとスコープの前進ができなくなる状態 (パンチング) 時には、同じ6気圧で再度前進操作を行い、さらにパンチングを繰り返す際には漸次9気圧までバルーン内圧を上昇させて操作を行った。卵管内腔の灌流に関しては、2種の水流速度に調節できる灌流ポンプ装置を足踏みスイッチで操作して、リンゲル液を灌流させる。

操作手順は、まず卵管形成カテーテルを子宮口より挿入し、治療側の卵管口に直面するようにカテーテル外筒の先端を移動させる。この際、卵管鏡の視野に卵管口を確認できる位置にカテーテルを固定する。その後バルーンを拡張器で6気圧に加圧し、

表1 術前HSGでの閉塞部位と卵管鏡下卵管形成による卵管疎通率

術前HSGでの閉塞部位	治療卵管数	卵管形成施行時		術後HSG時	
		卵管数	疎通率 (%)	卵管数	疎通率 (%)
間質部	27	18	66.7	16	59.3
峡部	7	6	85.7	6	85.7
膨大部	2	2	100.0	2	100.0
采部	5	3	60.0	3	60.0
計	41	29	70.7	27	65.9

卵管形成施行時の腹腔鏡ないしは卵管鏡での所見と術後1～3か月でのHSG像による所見を比較すると、再度疎通性が認められなかった2卵管は間質部閉塞例であった。

内筒を挿入すること (eversion) により卵管内へバルーンカテーテルを前進させる。バルーンカテーテルの伸展時の全長は10cmあり、卵管内腔をほぼ全域にわたり挿入し、卵管形成と観察を行うことができる。

卵管の外側の所見を確認し、FTシステムによる治療を補助する意味から腹腔鏡を同時に施行することを原則とした。麻酔に関しては、腹腔鏡を同時に施行する際の麻酔には全身麻酔を選択し、卵管鏡単独の際にはペンタゾシン30mg、ジアゼパム10mgの静脈内注入によるNLA変法を用いた^{12,13)}。

結 果

対象症例の術前における子宮卵管造影上の閉塞部位別卵管数は、間質部27(65.8%)、峡部7(17.1%)、膨大部2(4.9%)、卵管采部5(12.2%)であった。当施設における卵管鏡下卵管形成の成績を、表1に示す。実施卵管数41のうち、FTシステムにより卵管形成が完了した卵管数は、29(70.7%)であり、閉塞部位による治療成績の差は認められなかった。一方、FTシステムによる卵管形成が不成功であった例数は12(29.3%)を占め、そのうち、子宮側より5cm未満の近位の閉塞は8(66.7%)、5cm以上の遠位の閉塞は4(33.3%)であった(表2)。術後1～3か月に子宮卵管造影を行い、その後の疎通率は、間質部における閉塞で始まったものが59.3%を示した他は術中の確認卵管疎通性の回復と同等の結果を示し、総計では65.9%の疎通率となった。また、卵管内に術前診断の閉塞部位以外にもその遠位部に多発性に閉塞を併発していた症例を認め、この卵管鏡下卵管形成の術中にそれが確認された。FTシステムによる卵管形成を施行中に確認できた閉塞延べ数は73、閉塞部の内訳は、近位での閉塞61(83.6%)、遠位の閉塞12(16.4%)であり、近位の閉塞を多く確認する結果となった。卵管の閉塞部の位置を子宮側からの距離によって分類すると子宮より0～5cmである近位の閉塞では、

表2 卵管鏡下卵管形成の成績と多発性閉塞の頻度

実施卵管数	41	(100.0%)
卵管形成完了数	29	(70.7%)
不成功数	12	(29.3%)
近位	8	(66.7%)
遠位	4	(33.3%)
確認できた閉塞延べ数	73	
近位	61	(83.6%)
遠位	12	(16.4%)
多発性閉塞	15	(36.6%)
単一部位の閉塞	15	(36.6%)
不明	11	(26.8%)

総閉塞数は61で卵管形成成功率は82%を示した。それに比較し、子宮からの距離が5～10cmである遠位の閉塞では、総閉塞数は12で卵管形成成功率は83%を示した。この結果から多発性閉塞は近位部分に多く認められるが、卵管閉塞の卵管形成成功率は近位および遠位には χ^2 スクウェアによる検定において有意差を認めない結果となった。一方、卵管形成不成功例ではその比率が近位の閉塞に多く、遠位の閉塞に少ない傾向を示した。また、多発性閉塞と確認できた卵管は15(36.6%)を数え、一方、単一部位の閉塞であった例は15(36.6%)を数えたのみであった。閉塞部位が解除できなかったために遠位が閉塞しているかどうか不明であった例は11(26.8%)であった。

卵管鏡下卵管形成による副作用としては、卵管閉塞の解除が困難なため卵管穿孔を生じた例が3例(7.3%)あり、また、その部位からの出血が2卵管(4.9%)に生じた。その他、血腫や血液所見などでみる炎症症状は認められなかった。腹腔鏡および卵管鏡の観察で、出血は速やかに停止したことを確認し、開腹手術などの処置を必要とする例は認められなかった。

麻酔法については、術中、術後ともに特に問題は

表3 卵管形成時のLEカテーテル拡張圧力と閉塞部の疎通性回復の成功率

拡張圧	施行数	成功数	成功率 (%)
6・7 気圧	63	35	55.6
8 気圧	21	13	61.9
9 気圧	18	13	72.2
計	102	61	59.8

認められなかった。卵管鏡下卵管形成を単独で行った場合のNLA変法による麻酔でも患者に疼痛を認めず、十分な麻酔と考えられた。

卵管鏡の画像は、卵管が直線状に位置している場合には、卵管鏡による卵管内腔の遠景の観察が可能となり、内腔所見を詳細に観察することができた。しかし、卵管が強くカーブしている際には、卵管鏡先端が卵管壁に接触し、内腔の観察が困難であった。腹腔鏡の補助的操作により卵管鏡の先端部位を確認し、特に卵管への挿入や前進に助けとなったが、同時に腹腔鏡下の操作で蛇行した卵管を直線方向に修復し、バルーンカテーテルの挿入および前進を容易にし、卵管鏡による内腔の観察を容易にすることができた。また、さらに治療中に生じた卵管穿孔や出血の状態を観察し、安全性を確認することができた。

次にLEカテーテルの拡張圧力と成功率の関係を表3に示す。拡張圧が6～7気圧で施行した総施行数は63であるが、そのうち成功数は35(55.6%)であった。6気圧および7気圧でバンチングを繰り返し卵管形成が不可能であった例について拡張圧を漸次上昇させた結果、8気圧では総施行数21のうち13例(61.9%)に卵管形成成功を認め、さらに9気圧では総施行数18のうち、成功数は13(72.2%)を示した。この結果からLEカテーテルの拡張圧を高く設定することで、より高い成功率を示した。

考 察

新しい構造を持った卵管鏡下卵管形成システムはこれまで不可能であった卵管全域への卵管鏡の挿入を可能にし、同時に卵管形成を有効に行うことをも可能にした。この画期的ともいえる卵管形成カテーテルは、卵管通過障害、特に卵管閉塞に対する治療法として極めて高い有効性を認めたと同時に、卵管内腔の状態を観察することが受精と初期胚の成長の場である卵管不妊の診断に極めて有益と考えられた。特に治療の有効性は、従来行われてきた卵管手術では卵管形成が極めて困難であった間質部の閉塞を他の閉塞部分と同様に修復することが可能であ

り、また、同様に低侵襲性の治療法である選択的卵管造影による卵管形成の弱点とも言える遠位の閉塞について治療が可能である点が極めて有効と考えられた^{5,10)}。

LEカテーテル伸展時の全長が10cmであり、それを越える卵管閉塞部位に疎通性の回復が見込めない難点が指摘できる。しかし、少なくとも卵管膨大部までの閉塞を解除することが可能であり、特に卵管留水症については腹腔鏡による併時治療が可能であった。

また、この方法により、卵管内に生じた閉塞を含む多発性病変を診断することが可能となり、今後、さらに妊孕性との関連について検討が必要となるが、卵管内腔の病態と治療後から、有効で合理的な治療指針を確立できることを示唆した。本知見から、両側卵管閉塞症例における多発性閉塞の頻度は、単一部位の閉塞と同等であり、卵管形成が不成功に終わったために多発性閉塞が診断できなかった可能性のある例を含めると、極めて高い頻度で発生していることが示唆された。

卵管鏡下卵管形成のLEカテーテルの拡張圧は、当初の6気圧での拡張により閉塞を解除することが困難なために生じたバンチングを繰り返す時に拡張圧は漸次9気圧まで上昇させ成功率の向上を得ることができた。しかし、同時に卵管閉塞が極めて強固である際には拡張圧を高くすることによって卵管穿孔やそれによる出血を生じる点が指摘できる。これらの副作用を防止する上で、腹腔鏡による補助は有効な方法であると考えられた。蛇行した卵管を直線方向にし、卵管鏡下卵管形成システムの侵入を容易にすることが可能である。また、拡張圧を上昇させて形成を行う際には、一操作におけるバルーンカテーテルの進入距離を短くし、少しずつ前進させることが1つの重要な要素と考えられた。高压で通常の進入距離を無理に前進させると、卵管鏡先端でバルーンを破損したことがあった。また、拡張圧を上げても、なおバンチングを繰り返す際には充分注意し、特に8気圧以上の高压での治療の際には、1回の前進距離を小さくし、数回の施行で疎通性が得られない際は撤退を考慮する必要があると考えられる。

不適當と考えられる症例は、卵管膨大部を越える遠位の閉塞が疑える場合、筋腫などにより子宮が腫大し卵管内腔まで容易に到達できない場合、子宮内膜が肥厚している時期で卵管口を見つけることが困難な症例などであり、これらは対象症例として回避すべきである。また、バンチングの際には灌流液の

流出を、乳酸リンゲル液ボトルからの滴下の状態で確認し、さらにパンチングが生じたかどうかの確認を卵管鏡で行い、無理な力で挿入することを回避することも重要と考えられる。

この卵管鏡下卵管形成システムの問題点として、操作の習得にやや時間を要することが指摘できる。FTシステムの構造上、手元のスコープコントローラーにより卵管鏡を前後方向に操作し得るが、卵管鏡をカテーテル先端に固定しておくためには、バルーンの伸展状況に応じて常にスコープコントローラーで卵管鏡の位置を補正しなくてはならない。この操作性の不慣れな時期にはスコープによる穿孔などの合併症を引き起こすことが考えられる。また、卵管鏡による観察についてもバルーン先端に卵管鏡を固定しながら後退する時のみ画像の観察をすること(レトログレードイメージング)が可能である。カテーテルを前進させる際に閉塞を含めた内腔所見の観察が可能となることが望まれるが、今後の改良が期待される。しかし、卵管鏡下卵管形成システムによって灌流時には卵管内腔のひだの波動状の動きを観察することができ、また、血管像や癒着などの病的卵管内腔の観察が可能となった点は極めて画期的と評価できる。これらの点を改良し、さらに容易に操作できる機材に発展することが望まれる。現在の時点では、卵管穿孔などの副作用を生じた例でも、特に追加の治療を必要としないことから、ある程度卵管内腔の解除について強く施行することも考慮して良いと考える動きもあるであろう。今後、これらの卵管内腔の所見と妊孕性との関連が症例を重ねることによって検討され、それによっては非可逆的な卵管内腔の病的変化について妊孕性が回復できない卵管については体外受精を優先して行う方向へ進むことも充分考えられることである、今後さらなる検討が必要と考えられる。

結 語

卵管鏡下卵管形成システムの開発により卵管内腔を観察すると同時に有効な卵管形成が可能となった。また、治療効果を向上させるために強固な癒着のために6気圧での拡張初期圧では解除の不可能な場合には、高く調節することにより卵管疎通性の回復を得られる症例を認め、この際には卵管穿孔に充分注意し治療を行う必要があると考えられた。また、閉塞部位の検討については、多発性閉塞が多くの卵管閉塞患者には生じており、また、その卵管閉塞部位も近位、遠位を問わずこの卵管鏡下卵管形成シ

テムにより解除が可能であった。したがって、卵管内腔の観察が必要と考えられる症例および子宮からの距離が10 cmを越えない卵管閉塞を含める病的卵管治療に適応することが望ましいことが示された。これまでの治療機器の弱点を補う新技術と評価でき、今後の臨床応用が切望された。

文 献

- 1) 野田洋一, 後藤康夫, 森 崇英, 治療法別不妊症妊娠率 —IVF-ET, GIFT—. 産科と婦人科 60: 176, 1994
- 2) 久保春海, 小島栄吉, 卵管不妊 —手術療法を中心に—. 産婦人科の実際 40: 337, 1991
- 3) 長田尚夫, 卵管へのマイクロサージェリーの効果と問題点. 臨床婦人科産科 46: 424, 1992
- 4) Confino E, Tur-Kaspa I, DeCherney A, et al., Transcervical balloon tuboplasty — A multicenter study —. JAMA 264: 2079, 1990
- 5) Gleicher N, Confino E, Corfman R, et al., The multicentre transcervical balloon tuboplasty study: conclusions and comparison to alternative technologies. Human Reproduction 8: 1264, 1993
- 6) 新本 弘, 井戸邦雄, 角 毅一郎 他, カテーテルによる卵管再開通術—バルーンカテーテルを用いた経験を含んで—. 日本医放会誌 51: 143, 1991
- 7) 長田尚夫, 山田祐士, 吉田孝雄 他, 非観血的卵管形成術の現状. 産婦人科の世界 44: 841, 1992
- 8) Kerin JF, Pearlstone AC, Williams DB, et al., Falloposcopic classification and treatment of fallopian tube lumen disease. Fertil Steril 57: 731, 1992
- 9) Scudamore IW, Dunphy BC, Cooke ID, Outpatient falloposcopy: intra-luminal imaging of the fallopian tube by trans-uterine fibre-optic endoscopy as an outpatient procedure. British J of Obstetrics Gynaecology 99: 829, 1992
- 10) Venezia R, Zangara C, Knight C, et al., Initial experience of a new linear everting falloposcopy system in comparison with hysterosalpingography. Fertil Steril 60: 771, 1993
- 11) 末岡 浩, 小林俊文, 野澤志朗 他, 卵管鏡下卵管形成 (FT) システムの臨床評価. 基礎と臨床 28: 179, 1994
- 12) Bauer O, Diedrich K, Bacich S, et al., Transcervical access and intra-luminal imaging of the Fallopian tube in the non-anaesthetized patient; Preliminary results using a new technique for Fallopian access. Human Reproduction 7 (suppl 1): 7, 1992
- 13) Dunphy BC, Office falloposcopic assessment in proximal tubal occlusive disease. Fertil Steril 61: 168, 1994

**Considerations for the manipulating technique
and its indications of
falloscopic tuboplasty (FT)**

Kou Sueoka, Toshifumi Kobayashi
Hironori Asada, Takeshi Hashiba,
Naoaki Kuji, Toyohiko Miyazaki
and Shiro Nozawa

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

The new mechanical balloon catheter system has been produced for the observation in the lumen of fallopian tubes and its treatment. Falloscopic tuboplasty (FT) system was demonstrated and considered on the manipulating technique and its indications of the treatment. The success rate of tuboplasty depicts 70.7 % in total 41

obstructive tubes from the patients of bilateral tubal occlusions. The success rates were rarely different depending on the location of occlusion within the distance of 10 cm from ostium through ampulla. This system has been determined useful not only for the treatment of tubal lumen but also for the observation of wide variety of pathological changes in more distal portion beyond the obstruction diagnosed by hysterosalpingography.

When the eversion catheter had bunched repeatedly at the stiff obstruction, the balloon pressure of everting catheter was inflated 1 a.t.m. up from initially 6 a.t.m. to 9 a.t.m., and the tubal patency was improved in the higher pressure. The manipulating length of each eversion was controlled less than 1cm to avoid perforation which was the major complication specially on manipulating in higher pressure. Laparoscopy was also determined useful for the assistance to manipulate FT system.

(受付：1994年12月26日特掲)

(受理：1995年1月18日特掲)

hCG値による不育症の早期診断の試み

Eary Diagnosis of Habitual Abortion by Serum hCG Levels

医療法人 假野クリニック

假野 隆 司
Takashi KANO

古 殿 正 子
Masako FURUDONO

奥 山 恵 子
Keiko OKUYAMA

石 井 み さ 子

Misako ISHII

Kano Clinic, Osaka 542, Japan

妊娠周期のデータや妊娠初期の経過から予後が良好と考えられた症例が流産に至った場合、その主因が着床にかかわる生殖免疫学的異常にあると推測し、着床のIndexにBBT + 16 DayのhCG値を設定、当該周期の不妊症因子から妊娠の成立が可能と考えられた216例を対象として、生児獲得の最低値 (159.4 mIU/ml) 以上の流産例を中心に各種不育因子を調べた。さらに最終妊娠経過から具体的不育症因子推定の可能性についても検討した。この結果、以下の結論を得た。

1) BBT + 16 DayのhCG値から不育症の推定診断が可能である。すなわち、159.4 mIU/ml以上あったにもかかわらず流産に至る症例は着床にかかわる生殖免疫学的異常に起因する不育症の可能性が高い。

2) 妊娠の最終経過がGSの確認に留まる症例は自己免疫異常、heart beat確認に至った症例は同種免疫異常不育症の可能性が高い。

3) 不育症(習慣流産)の診断に既往流産回数を重視することは問題である。

(Jpn. J. Fertil. Steril., 40 (2), 244 - 249, 1995)

緒 言

不育症(習慣流産)への関心が高まり、同症の主因は同種免疫異常と自己免疫異常に大別される着床にかかわる生殖免疫異常であることが明らかにされ、治療法も確立しつつあるのが現状である¹⁻¹³⁾。しかし、不育症の診断は依然として既往流産回数が重視されているが^{1-7,9)}、次回の妊娠も流産に至る可能性が高いことを予期しつつ放置することは母性保護上問題があるといわざるを得ない。我々は既往流産回数にとらわれない同症の診断法を模索してきたが^{14,15)}、同症の流産原因は着床以降に発生すると推論し、BBT + 16 DayのhCG値が生児獲得レベルにありprospectiveに予後良好と診断された症例が流産に至った場合は不育症の可能性が高いと考え、それらの症例の各種不育症因子をretrospectiveに検討することで、hCG値から同症の早期診が可能か否か、について検討した。さらに、最終妊娠経過から具体的な不育症因子を推定することが可能か、についても考案した。

対象と方法

1) 対象

1993年に当クリニックに通院した以下の条件を満たす216例を対象とした。

A) 生児分娩の既往がなく、過去に2回以上の流産(hCG確認のみを含む)の既往を有する。

B) BBTの高温が16日以上持続した¹⁴⁾。

C) 当該周期の各種不妊症因子が妊娠可能域にある^{8,10,16)}。

D) 子宮筋腫・頸管無力症・甲状腺機能障害を合併していない。

E) 不育症治療を受けたことがない。

F) BBT + 10 Day以降はhCG製剤によるluteal supportを受けていない¹⁷⁾。

2) 方法

以上の対象についてBBT + 16 DayにhCGダイナミックEIA法で血中hCGを測定¹⁵⁾、10 mIU/ml未満は妊娠不成立(黄体機能存続症)と診断^{14,15)}、10 mIU/ml

の症例についてはその後の妊娠経過を観察，最終妊娠経過をhCG群 (GS確認に至らず)，GS群 (heart beat確認に至らず)，heart beat群 (その後heart beatが消失)，生児獲得群に分類した。

HCG群，GS群，heart beat群については患者の同意を得たうえで染色体 (末梢血液培養G分染法，夫婦)・HLA抗原 (リンパ球細胞毒試験法，夫婦，class I抗原，class II抗原：DR-locus；DR1，DR2，DR3，DR4，DRW6，DR7，DRW8，DR9，DRW10，DRW11 (5)，DRW12 (5)，DRW52，DRW53，DQ-locus；DQW1，DQW2，DQW3，DQW4)・抗核抗体 (FA法)・抗DNA抗体 (RIA 硫酸塩析法)・抗cardiolipine IgM (ERISA法)，IgG (ERISA法)， β_2 GPI 複合 (EIA法) 抗体を調べた (株ファルコバイオシステムに委嘱)。

同種免疫異常の診断は従来からのHLA class II抗原2個以上sharing¹⁻³⁾に加えて，blocking factorが同抗原の抗体との認識^{3,6)}から，夫独自の同抗原2個以下とした¹⁸⁾。

双方の診断基準を満たす場合はsharing例に含めた。

結果はM \pm SDで示し，平均値の有意検定はStudent's t-testで，百分率の有意検定は χ^2 -testで行った。

結 果

216例の中でBBT + 16 DayのhCG値が10 mIU/ml以上検出され，妊娠 (着床)と診断されたのは135例 (62.5%)であった。これらの最終妊娠経過はhCG群が33例 (15.3%)，GS群が18例 (8.3%)，heart beat群が10例 (4.6%)，生児獲得群は74例 (34.3%)であった (図1)。

HCG値はhCG群 (77.7 \pm 99.1 mIU/ml)と比較して，

GS群 (407.6 \pm 295.4 mIU/ml)，heart beat群 (676.1 \pm 368.3 mIU/ml)，生児獲得群 (614.5 \pm 312.5 mIU/ml)はいずれも有意 (P<0.001)に高値であった。さらにHeart beat群はGS群より有意 (P<0.05)に高値であったが生児獲得群とは有意差は認められなかった。生児獲得群の最低hCG値は159.4 mIU/mlであったが，流産例でこれより高値の症例の頻度を調べたところ，hCG群は低率で5例 (15.2%)に留まったのに対してGS群は15例 (83.3%)，heart beat群は9例 (90.0%)と極めて高率であった (図2)。

つぎに各群の不育症因子を解析した。hCG群は患者の習慣性流産意識が低いこともあって未検査例が多いが，「なし」が26.5%と半数を占めた。我々は不育症全体では同種免疫異常が60%近くを占めると報告¹²⁾したが，本群では検査可能であった症例の18.7%と低率なため相対的に自己免疫異常例が高率であった (図3；中心円の数字は延べ症例数，()内は症例数)。

GS群では各因子が均等に分布する傾向が認められた (図4)。これに対してheart beat群ではHLA class II抗原のsharing，夫独自の同抗原2個以下といった同種免疫因子が62.6%と有意 (対hCG群，GS群；P<0.05)に高率であるのに対して，抗核抗体，抗cardiolipine抗体などの自己免疫因子が認められない特異な特徴が認められた (図5)。したがって，GS群は自己免疫異常が特徴といえた。なお抗cardiolipin β_2 GPI 複合抗体が陽性の症例は存在しなかった。

生児獲得群の最低値である159.4 IU/ml以上を示しながら流産に終わったGS群，heart beat群あわせて24例中23例 (95.8%)に何らかの不育症因子が認められた。

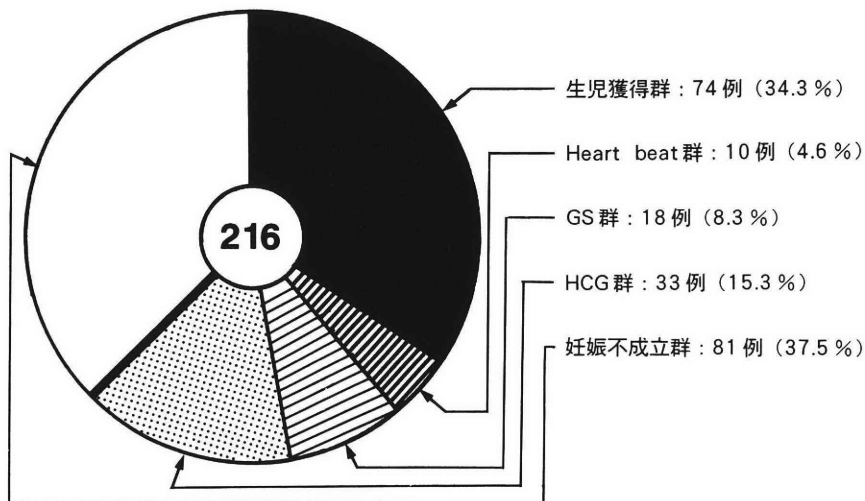


図1 対象216例の最終妊娠経過

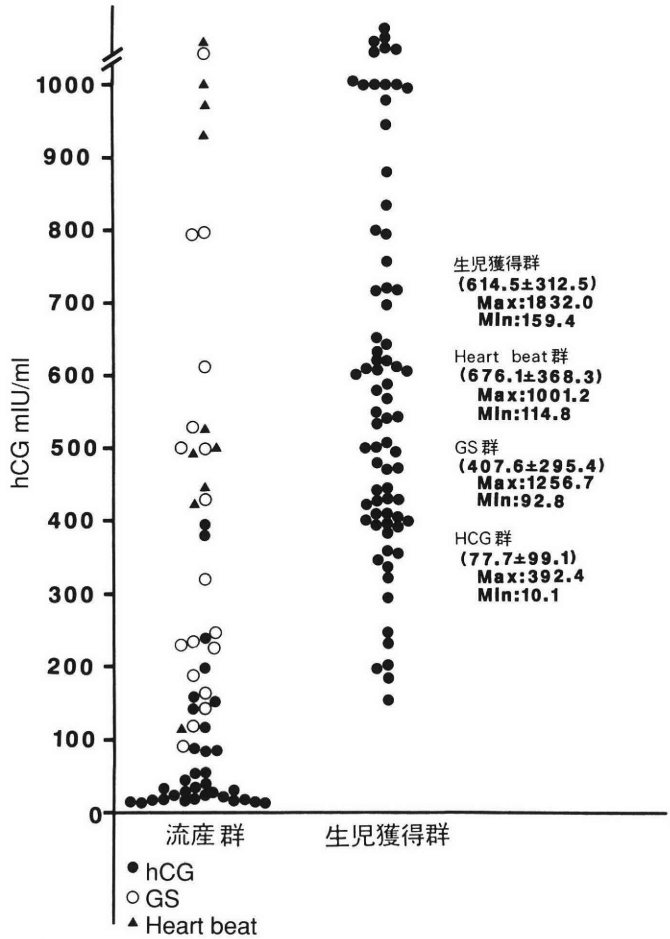
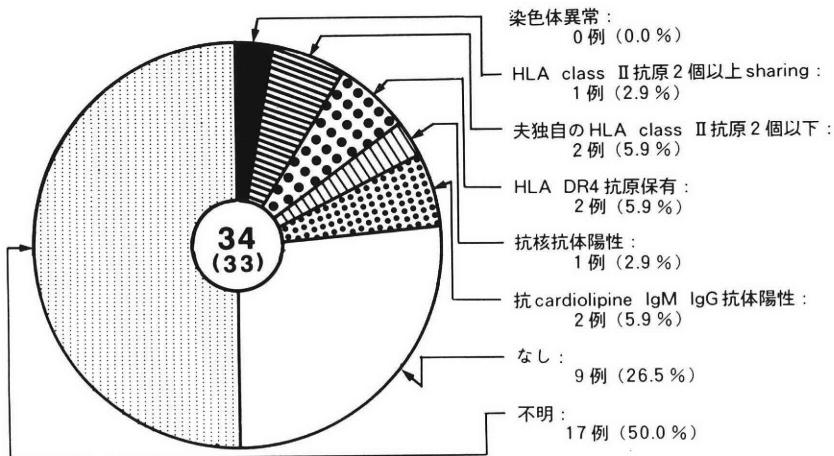


図2 最終妊娠経過とhCG値 (M ± SD)



重複: 夫独自の HLA class II 抗原 2 個 + DR4 抗原保有 (1 例)

図3 hCG群の不育症因子

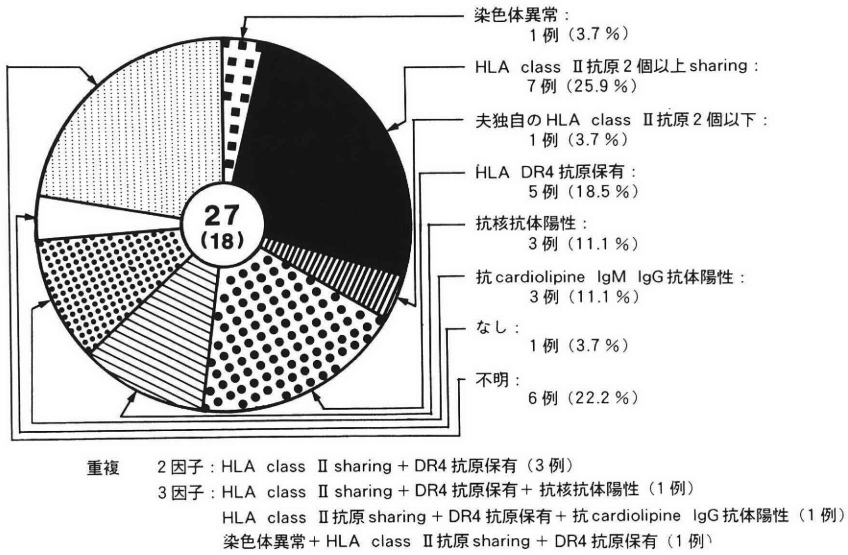


図4 GS群の不育症因子

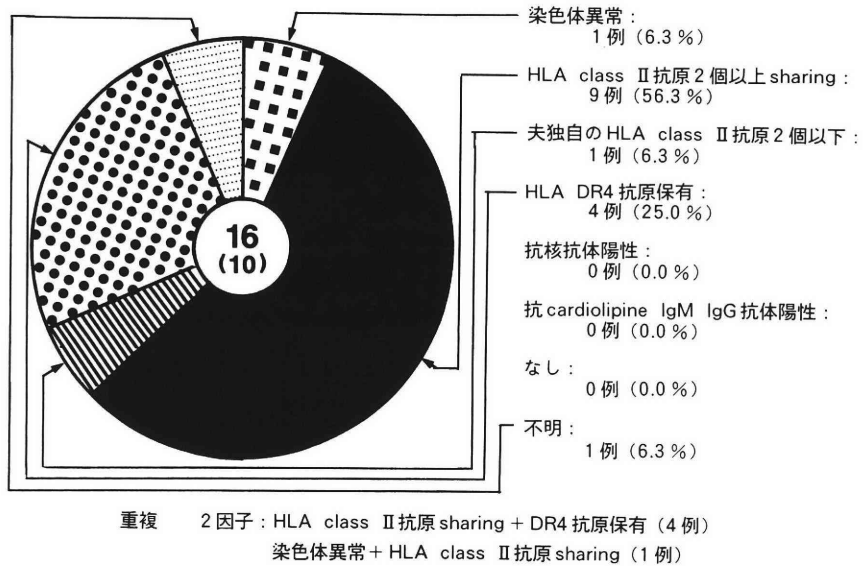


図5 Heart beat群の不育症因子

なお染色体異常の2例は妻に認められた転座 [45, XX, -13, -14 + t(13q14q)], [46, XX, t(1; 17)(1p17q; 1q17p)]で、ともに胎児の染色体異常が起こる可能性を有する症例であった。

考 察

我々は未婚婦人, AIDの休止周期, 両側卵管完全閉鎖, 無精子症など妊娠の可能性がない症例を検討した結果, BBTの高温が16日持続, 当日に出血がな

い場合, 血中にhCGを10 mIU/ml以上検出すれば, たとえその後GS確認に至らなくとも妊娠の診断が可能で, その後の出血は流産(着床後の出血)であることを明らかにした^{14,15)}. この基準によれば今回の216例のうち33例(15.3%)が通常なら黄体機能存続症と診断されたであろう超早期流産であった. 従来から流産の診断基準はGSの確認まで妊娠が進行していることが重視されてきた経緯から我々はいかなりの不育症(超早期習慣流産)が見落とされていると考えている.

ところで、着床まで順調に進行したにもかかわらず、胎児死亡が起こる場合、我々はその原因は胎児の免疫的拒絶が胎児異常より多いと推測してきた。今回、着床のIndexにBBT+16 Dayの血中hCG値を用い、同値からprospectiveに予後良好と考えられながら流産に至った症例の各種不育症因子を検討し、hCG値から不育症を診断することを試みた。この結果、生児獲得群の最低hCG値159.4 mIU/ml以上を検出しながら、その後流産に至った95.8%に不育症因子が認められた事実から、hCG値から予後良好と考えられた症例が流産に至った場合、不育症と推測してもよいと思われる。

さらに最終妊娠経過から具体的な不育症因子を推測できないかについても検討を進めた。GS群とheart beat群のhCG値は前者が有意に低かった事実からGS群全体で考えれば、同群は着床に問題がある症例が含まれている可能性は残るものの、少なくとも159.4 mIU/ml以上の両群のprospectiveな予後は着床の時点では同じと考えられる。しかし、現実には最終妊娠経過でheart beatの確認に至る症例と至らない症例が明確に異なっている。なぜこのような相違が生ずるのであろうか。我々はこの問題の解答を各不育症因子による胎児の免疫的拒絶時期が異なる、という点に求めた。

Heart beat群とGS群の不育症因子を比較すると、前者はHLA class II抗原のsharing, 夫独自の同抗原の少数保有などの同種免疫因子が圧倒的に高率なのに対して、後者では抗核抗体や抗cardiolipin抗体といった自己免疫因子が相対的に高率である。すなわち、heart beat群は同種免疫異常、GS群は自己免疫異常が流産の主因と推定されるに至る。この推論は母体が胎児のHLAを認識するのが妊娠6週以降³⁾、抗リン脂質抗体に起因した絨毛血管の血栓による胎児死亡は早期に起こるなどの報告^{5, 12, 13)}から考えて合理的である。これに対してhCG群は「不育因子なし」が50%に達するため、流産の原因は黄体機能不全などの不妊症因子に問題がある偶発流産が多いと推論される。しかし、hCG群流産を繰り返す場合は早期であるという意味で抗リン脂質抗体などの自己免疫因子を検討する必要がある。

HLA DR 4抗原と流産の因果関係についてはいまだ明らかではないし、日本人の同抗原保有率と習慣流産患者の保有率に大差がないこと¹⁹⁾から不育症因子に加えることに疑問の余地がない訳ではない。しかし、我々は2回以上原因不明の流産の既往を有する症例で同抗原以外に不育症因子を検索できず、放

置すれば流産を繰り返すが、免疫調整作用がある柴苓湯²⁰⁾を投与すれば50%以上の流産阻止率を得られる事実^{12, 13)}を得ているので、我々はDR 4抗原と流産には何らかの因果関係が存在すると確信している。その起序は膠原病患者に同抗原保有者が極めて高率であるため^{21~23)}、未知の自己抗体を有している可能性が高いが、柴苓湯の同種免疫異常に対する有効性も明らかになっているため¹⁸⁾、同因子の介在も否定できない。いずれにしても今後さらなる検討が必要であろう。

一般的には、GS流産やheart beat流産は胎児異常が原因と考えられる傾向が強いが、今回のGS群やheart beat群に極めて高率に不育症因子が認められた事実と同種免疫異常の診断でリンパ球移植を行ったにもかかわらず流産に至った症例の高率に染色体異常が認められるものの、その頻度は流産を阻止し得た正常児に比べて低率であったとの報告²⁴⁾があるので、BBT+16 DayのhCGが159.4 mIU/ml以上認められた場合は胎児異常ではなく不育症を疑うべきと考えられた。

以上の考察から以下の結論が導かれた。

- 1) BBT+16 DayのhCG値から不育症の推測診断が可能である。すなわち、159.4 mIU/ml以上あったにもかかわらず流産に至った症例は着床にかかわる生殖免疫学的異常に起因する不育症の可能性が高い。
- 2) 妊娠の最終経過がGSの確認にとどまる症例は自己免疫異常、heart beat確認に至った症例は同種免疫異常不育症の可能性が示唆された。
- 3) 不育症(習慣流産)の診断には既往流産回数を重視する傾向が強いが、母性保護の観点から、仮に、それが初めての流産であったとしてもGSやheart beatが認められた症例は単純に胎児異常と考えることは問題で、不育症を強く疑い同因子を早急に検討し、早急にしかるべき治療に取り掛かるべきである。この際、BBT+16 DayのhCG値は同症の診断に極めて有用である。

文 献

- 1) Komlos L, Zamir R, Joshua H, et al., Common HLA antigens in couples with repeated abortions. *Cli Immunol Immunopathol* 7: 330, 1977
- 2) Garencier M, Drazancic A, Kuvacic I, et al., HLA antigen studies in women with recurrent gestational disorders. *Fertil Steril* 31: 401, 1979
- 3) Aoki K, HLA-DR compatibility in couples with recurrent spontaneous abortions. *Acta Obst Gynaec Jpn* 34: 1773, 1982

- 4) Scott JR, Rote NS and Branch DW, Immunologic aspect of recurrent abortion and fetal death. *Obstet Gynecol* 70: 645, 1987
- 5) 秋月正史, 岡野哲朗, 抗リン脂質抗体. *日本臨床増刊号* 48: 624, 1990
- 6) 坂元正一監修, 習慣流産の診断と治療. P30, 社団法人日本母性保護医協会編, 1990
- 7) 鯨島義弘, 亀田 隆, 木村 正 他, 当科における習慣流産の検査成績と夫リンパ球を用いた免疫療法による治療成績. *日不妊誌* 35: 112, 1990
- 8) 假野隆司, 新よくわかる不妊症の検査と治療 — 漢方薬から体外受精まで— P143, *ライフサイエンス*, 1991
- 9) 高桑好一, 楊 丙辰, 後藤重則 他, 自己抗体陽性不育症患者に対するツムラ柴苓湯投与に関する検討. *産婦人科漢方研究の歩み* No 8. P73, 診断と治療社, 1991
- 10) 假野隆司, 婦人科と漢方. P113, *ライフサイエンス*, 1992
- 11) 片山隆章, 浅桐和男, 長谷川 淳 他, 抗核抗体と不妊症. *日不妊誌* 37: 814, 1992
- 12) 假野隆司, 古殿正子, 奥山恵子 他, 当クリニックにおける不育症の原因と柴苓湯を中心とした治療の解析. *日不妊誌* 38: 671, 1993
- 13) 假野隆司, 古殿正子, 奥山恵子 他, 柴苓湯が有効な不育症. *産婦人科漢方研究の歩み* No 11, P41, 診断と治療社, 1994
- 14) 假野隆司, 出馬淳名, 伊藤正尚, BBT高温16日のhCG値による妊婦およびその予後の判定. *日不妊誌* 33: 332, 1988
- 15) 假野隆司, 妊娠早期予後診断を応用した習慣性流産の早期診断の試み. *日不妊誌* 37: 152, 1992
- 16) Kano T and Nishikawa K, Etiological study on hyposeretion of progesteron in the aspect of echographically measued follicle diameter and estradiol and progesterone in the patient categorized by BBT patterns. *Jap J Fertail Steril* 30: 5, 1985
- 17) 假野隆司, 筋注hCG製剤の血中hCG値およびhCGテストパックに及ぼす影響. *日不妊誌* 35: 345, 1990
- 18) 假野隆司, 古殿正子, 奥山恵子 他, 機能性不妊症の不育症因子の検討. *日不妊誌* 39: 23, 1994
- 19) 桑田昇治, 十字猛夫, HLAタイプニング. *臨床検査ガイド '93*, p768, 文光堂, 1993
- 20) 陳 瑞東, 鈴木宋司, 荷見勝彦 他, 小柴胡湯の経口投与によるヒト腹腔内滲出マクロファージの活性化. *Biotherapy* 4: 1085, 1990
- 21) 林 秀樹, 加藤俊一, 岩垣浩之 他, 紫斑病性腎炎とHLA. *日小児誌* 86: 1448, 1989
- 22) Doita M, Hirota K and Maeda S, Association of HLA-DR antigens with disease severity in japanese patients with rheumatoid arthritis. *Kobe J Med Sci* 36: 103, 1990
- 23) Nitta Y and Ikeda T, Immunogenitic study of three japanese families with neonatal lupus erythematosus. *J Dermatol* 19: 223, 1992
- 24) 岡田節男, 種村光代, 飯田忠史 他, 流産胎児の染色体異常—原因不明習慣性流産患者における免疫療法後流産例の検討—. *日不妊誌* 37: 843, 1992

Eary diagnosis of habitual abortion based on serum hCG level

Takashi Kano, Masako Furudono
Keiko Okuyama and Misako Ishii

Kano Clinic, Osaka 542, Japan

We assumed that the etiology for abortion in women diagnosed as good prognosis at the time of implantation may be attributable to, apart from fetal abnormality, implantation-related reproductive-immunological abnormality. On this speculation, we used the serum hCG level on BBT + 16 Day as the index of implantation and investigated habitual abortional factors in 216 women who could be pregnant as judged based on sterility factors at this stage of gestation, including women who had abortion despite of an hCG level above the minimum threshold for the delivery of live infant (159.4 mIU/ml). We also investigated the possibility of diagnosis of reproductive-immunological factors from the final gestational course. The following conclusion were obtained.

1) It was possible to speculate habitual abortion based on hCG level on BBT + 16 Day. Abortion occurring despite of an hCG level above 159.4 mIU/ml was suggested to due to habitual abortion caused by reproductive-immunological factors.

2) Cases of abortion allowing only the confirmation of "GS (gastional sac)" in the final gestational course was suggested to be ascribable to habitual abortion due to abnormality of autoimmunity and those allowing the confirmation of "Heart beat" was suggested to be ascribable to habitual abortion to abnormality of isogenic immunity.

3) The current method of diagnosing habitual abortion, which is based on the number of past abortion, may provided a problem in view of the protection of women's health.

(受付: 1994年7月26日)

(受理: 1995年2月1日)

地方部会講演抄録

平成6年度 日本不妊学会中部支部会

日時：1994年5月21日(土)14時～

会場：名古屋市「興和紡績本社ビル」

1. 卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) に dopamine 治療を行った2症例

○岡田英幹, 鈴木規敬, 鈴木真史

生田克夫, 花田征治, 八神喜昭

(名古屋市大産婦)

不妊症治療にゴナドトロピン製剤 (hMG) を用いる機会がふえ、卵巢過剰刺激症候群 (OHSS) の発生増加が問題となっている。重症のOHSS例では、まれに重篤な経過をとる症例もあるため、OHSSの発生を回避する工夫とともに、発生例では、早期の的確な患者管理が要求される。

今回我々は、hMG投与後に重症のOHSSを発症した2症例に対し、補液、腹水穿刺などの従来の治療法とともに、低用量のdopamine持続投与(4.32 mg/kg/day)を行った。その結果、2症例とも、投与開始後、Ht値の低下を認め、症状は比較的順調に改善した。

OHSSに対するdopamine使用については、なお議論のあるところであるが、今回の治療経験から、治療に難渋するOHSS症例に対して、試みてみるべき治療法であると考えられた。

2. 産婦人科領域でのレゼクトスコープの使用経験

○中部 健, 浅井光興, 保條説彦

野崎宗信, 正橋鉄夫, 鈴木正利

野口昌良, 中西正美 (愛知医大産婦)

山田芳彰, 深津英捷 (同 泌尿器)

子宮腔内、子宮頸管内病変である粘膜下筋腫、ポリープ、中隔子宮などに対し、子宮全摘あるいは子宮切開、もしくは盲目的な子宮内搔爬が行われてきたが、これらは患者への侵襲も大きく、術後疼痛、腹腔内癒着を併発することがあり、特に不妊症例においては新たに不妊原因をつくる可能性がある。

今回我々は、レゼクトスコープを用い経頸管の切除術 (TCR) を6症例に対し施行した。粘膜下筋腫4例、子宮腔癒着症1例、内膜ポリープ1例であり、手術時間は33分から70分であった。術後経過は良好で、手術の翌々日には全例退院し、入院期間の短縮

も可能であった。過多月経を主訴とした症例は全例治癒し、挙児希望のあった2例のうち1例は正常経腔分娩であった。

以上より、経頸管の切除術 (TCR) は、術後疼痛、腹腔内癒着を回避でき、臨床症状の改善も著しいことより、粘膜下筋腫、子宮腔癒着症、中隔子宮などの症例に有用な治療法である。

3. 当教室における最近の卵管マイクロサージャリーの成績

○塚田和彦, 澤田富夫, 佐藤匡昭

西尾瑞香, 大原 聡, 黒木 遵

多田 伸, 樋口泰彦, 廣田 穰

河上征治 (藤田保健衛生大産婦)

近年卵管性不妊に対する治療はIVF-ETが第一選択とされる傾向にあるが、従来からの卵管マイクロサージャリーによる疎通性改善は自然妊娠や反復妊娠を期待できる利点が妊娠率の高さにも増して魅力である。今回我々は1990～1992年の3年間の開腹卵管手術および腹腔鏡下手術につき手術成績を再検討した。

(成績) 約2年の追跡可能症例は、開腹手術で56例、腹腔鏡下手術で17例の計73例で、術後妊娠成績は前者で卵管周囲、采癒着剝離術28.6%、采形成術16.7%、采開口術17.1%、端々吻合術37.5%であった。後者では41.2%の高率であった。また妊娠成立までの期間は前者で約12～24か月、後者で約24か月でありこれより卵管手術後の妊娠を観察すべき期間は2年と考えてよいと思われた。

(考察) 卵管手術後成績はIVF-ET妊娠率と比較しても良好な成績であるが症例により長期にわたり不妊を続けていくものもあり、2年を目安に他の治療法を考慮すべきであると考えられた。

4. 不妊と芍薬甘草湯：妊娠例2例の報告

○伊藤美穂, 操 良, 今井篤志

玉舎輝彦

(岐阜大産婦)

芍薬甘草湯を構成する甘草の主成分のグリチルリチンおよび類似化合物は、ステロイドホルモン作用と関連をもつことが報告されている。今回、免疫因子の関与が疑われる習慣流産と子宮内膜症患者への投与を行ったところ2例に妊娠が成立したので報告する。

症例1は27歳、5経妊1経産、人工妊娠中絶1回、流産3回で習慣流産と診断された。抗核抗体陽性で、芍薬甘草湯を1日7.5g投与した。投与開始後3か月で妊娠成立、内因性のcortisolの増加を考慮し妊娠13週で投与中止した。

症例2は35歳、子宮筋腫核出術およびチョコレート嚢胞核出術後、子宮内膜症に対し、薬物療法後の不妊患者である。芍薬甘草湯を1日7.5g、3か月投与後妊娠成立し、現在も順調な経過で妊娠継続中である。

一般に漢方医学では随症療法がなされるが、今回は西洋医学的な立場からその薬理作用を考慮し、処方した。今後、さらに症例をふやして検討していく予定である。

5. 家族性不均衡型相互転座染色体の淘汰と親の性差

○大石英恒 (愛知コロニー発達障害研)

均衡型相互転座染色体は、新生児の0.253%に認められ、全染色体異常の4分の1以上を占める。この保因者から不均衡型転座染色体を次世代に受け継いだ障害児の染色体構成を、成熟分裂における成因に基づいて分析したところ、父由来の201名と母由来の375名の児ではその分離型の分布に差が認められた。

他方、これまでに均衡型転座保因者の精子染色体が分析された25例のうち、障害児出産を発端として均衡型保因が追認された5例の資料を分離型によって集計したところ、その分布は父由来の児のそれとは明らかに異なり、隣接1型分離に比べて2型および3対1分離での淘汰が相対的に著しかった。そこでこれを母由来の児のそれと対比すると、淘汰の程度は父由来のものより少なく、この違いから母由来の障害児が多くなるものと考えられた。

6. 心因性と考えられた腔内射精不能の4例

○小谷俊一、甲斐司光、桃井 守

(中部労災病院泌尿器)

射精障害にはいろいろなタイプが存在するが、勃起→挿入は可能であるも、腔内で射精不能というタイプが存在する。さらにこのタイプは大きく1)マスターベーションでも射精不能のもの(脊髄損傷など、逆行性射精、特発性)と2)マスターベーションでは射精可能なものの2種類が存在する。今回当科で、後者のタイプを4例経験したので、その詳細を報告する。

4名の年齢は31～39歳、未婚3名(1名は同棲中、

2名は交際している女性あり)、既婚1名。既婚の1名は挙児希望で当科を受診した。全員マスターベーションでは射精可能であるも、妻または交際中の女性との性交において、挿入可能なるも、腔内射精不能を訴えた。精液検査は全例正常である。心理テストでは1名のみ軽度うつ傾向を認めたが、他の3名はうつ傾向なし。治療は1名は、PGE₁の自己注射で治癒。2名は心療内科へコンサルト(1名は1年以上精神療法を続けるも無効、他の1名は4か月自立訓練法施行中で、効果不明)、既婚の1名はマスターベーションで採取した精液でAIH予定である。

7. 男性不妊受精障害に対するpure FSH療法

○越智正憲、上田 眞、丸山邦之

近藤正利

(八千代病院産婦)

(目的) 過去に通常のIVFにて受精失敗をくり返した男性にpure FSHを投与して、その後のIVFで受精能への効果を検討した。

(対象および方法) 過去にIVF受精失敗をくり返した7症例を対象とした。pure FSH投与は、Acostaらの方法に従い、150 IU筋注、週3回、3か月間とした。投与前後の精液検査、血清FSH、LH、testosterone値を測定した。

(結果と考察) 7症例にpure FSH投与後IVFを施行し、6例が受精に成功し、1例が妊娠した。投与後精液検査では、変化は認められなかった。血清FSH、LHは軽度上昇を認めた。pure FSH投与は精子機能(受精能)に対して改善効果があると思われる。IVF受精障害例に、顕微授精に移行する前に試みる価値のある方法と考えられる。今後さらに症例を重ねて検討したい。

8. 精子固卵腔内注入の成績と各種精液パラメーターとの相関について

○西垣 新、西村 満、岡田 久

(聖隷浜松病院産婦)

佐藤和文

(同検査部)

(目的と方法) 33症例、53周期にSUZIを施行し、各種精液パラメーターと受精成績につき検討した。

(成績) 受精は29周期(54.7%)に認められた。346個の卵が得られ、78個(22.5%)に受精が認められた。このうち47個が正常受精、31個が多精子受精であった。受精(+)群と受精(-)群に分けると、精子濃度、精子運動率、ハムスターテストはいずれも各群間に有意差は認めなかった。受精(+)群を正常受精を認めた群(N群)と多精子受精を認めた群(P群)と

に分けると精子濃度、精子運動率はP群がN群より高値を示したが、ハムスターテストは有意差は認めなかった。反復SUZI施行例では、受精(-)から受精(+)となったものが7周期(35.0%)と最も多く、1度も受精しなかった症例は1例(7.1%)のみであった。

(結論) P群がN群に比べ精液所見が有意に良好であった。また反復SUZI施行より受精症例がふえると思われた。

9. 着床における内膜と受精卵の発育段階の関係—凍結受精卵融解移植周期における検討—

○近藤育代, 孫 傑茹, 塚原慎一郎
北川武司, 森脇崇之, 安藤智子
古井憲司, 菅沼信彦, 古橋 円
友田 豊 (名古屋大産婦)

(目的) 凍結受精卵融解移植をモデルとして着床における子宮内膜と受精卵の発育段階の関係を検討した。

(方法) あらかじめ、着床を起こす可能性を持つ質の良い胚にしぼり、採卵から何日目の胚かということ、排卵から何日目の内膜であるかを考え、自然であればしかるべきと思われるタイミングよりも、早い(内膜が胚に比較して未熟である)場合、遅い(内膜が胚に比較して過熟である)場合に分けて検討した。

(結果) 胚は、自然の状態の内膜より1.5日未熟な状態から1.5日過熟な状態まで、いずれの内膜に対しても移植を受けた際、同様に着床した。しかし、移植を受ける胚の卵割の程度で分類すると、卵割の進んだ胚はより発育の進んだ内膜へ、卵割の遅い胚は発育の未熟な内膜へ移植した場合、最大の着床率が得られた。

(考察) 胚が着床しうる内膜はヒトの場合数日の幅を持っていた。しかし、中でも着床に最良の状態というのはある範囲に限られた。

10. 原因不明不妊患者の子宮内膜における接着性物質の局在

○朝比奈俊彦, 岡田喜親, 徳永直樹
藤城 卓, 小林隆夫, 寺尾俊彦
(浜松医大産婦)

(目的) 子宮内膜の接着性蛋白は初期妊娠維持と関係が深いことが知られている。これらの蛋白の子宮内膜での発現様式を検索し、原因不明不妊症例と比較検討した。

(方法) 手術時に、正常月経周期を有する経産婦

人の子宮内膜を採取し、内膜日付診に従って増殖期前期・中期・後期、分泌期前期・中期に分類し、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。さらに良好胚移植にもかかわらず妊娠成立をみない原因不明原発性不妊患者3例の分泌期中期内膜生検組織も同様に染色した。3例とも採取時の血中プロゲステロン値はほぼ正常値であり、生検組織の内膜日付診もほぼ一致していた。

(成績と結論) FG, FN, XⅢAは子宮内膜増殖期前期より着床期に向かい機能層に特徴的に集積してくるが、ある種の原因不明不妊ではその発現が不十分であった。よって本物質の発現不全が着床障害を惹起している可能性が示唆された。

第32回 日本不妊学会中国四国支部 学術講演会

日 時：1994年8月6日(土) 12時55分～
会 場：高松市「百十四ビル」

1. 当院における腹腔鏡症例の臨床的検討

○牛田 馨, 林 茂樹, 永田典昭
林 要 (恵生産婦人科病院)

平成3月1日より平成6年5月までの3年5か月間に我々が経験した193件の腹腔鏡症例に対して臨床的検討を行ったのでその結果を報告する。

これら193件の腹腔鏡適応は、1)不妊症の検査・治療目的：167件(163症例)、2)子宮外妊娠の診断・治療目的：18件、3)月経困難・卵巣嚢腫・PIDその他の腹腔内精査目的：8件であった。

1)における腹腔内異常所見としては子宮内膜症が最も高率(約65%)に認められ、次いで子宮筋腫・腺筋腫などの子宮形態異常、卵管障害などが多く認められた。腹腔鏡施行後には71症例(43%)に妊娠が成立し、これらを治療内容別に検討すると、待期：13例、hMG(or+AIH)：19例、GIFT：15例、IVF-ET：24例であった。

一方手術操作としては従来より行っていた内膜症病巣焼却術や癒着剝離術が多数を占めていた。最近では子宮筋腫核出・卵管開口・卵巣嚢腫核出などの各種腹腔鏡下手術が行われており、1)では治療(手術)目的の症例数も増加していた。また2)では循環動態が安定している限り大部分の症例に腹腔鏡下手術が可能と考えられた。

開腹術と比較して各種腹腔鏡下手術のminimam

invasive operationとしての有用性は明らかであるが、術後の妊娠率については今後の検討課題である。

2. 当科における腹腔鏡施行症例の検討

○福家義雄, 吉川修司, 三木 鈴

(国立高知病院産婦)

産婦人科領域においても内視鏡下の検査, 治療はその応用範囲が急速に広がっている。そこで今回我々は当院において腹腔鏡を施行した症例を分析し, 臨床的意義を検討したので報告する。腹腔鏡システムを本格的に導入した, 平成5年4月より約1年間に行った7症例について適応, 検査・治療内容について検討した。手技は全身麻酔下に碎石位としオープンラパロスコピーにて行った。

症例は7例のうち不妊症5例, 子宮外妊娠2例であった。不妊症例は卵管閉塞が4例に確認され, 子宮内膜症にともなうものが3例, 原因不明の強度腹腔内癒着例が1例で3例に卵管開口術を施行した。1例は原因不明長期不妊であったが腹腔鏡検査でも異常を認めなかった。4例については当院で従来の不妊治療を続けると同時に他院での体外受精による治療を行っている。子宮外妊娠はいずれも卵管流産となっており, 開腹後患部のみ卵管部分切除を行った。腹腔鏡は腹壁への手術侵襲が少なく入院期間も短縮できる。不妊症では難治例では次の治療へ速やかに移行するための必須の検査であり, また同時に治療の一環となりうることが示唆された。子宮外妊娠については全身および患部の状態により症例ごとの検討が必要と考えられた。その他骨盤内良性疾患については積極的に本手技の導入を予定している。

3. 多嚢胞性卵巣に対する Multiple Punch Resection (MPR) の検討

○青江尚志, 新谷恵司, 長谷川 淳

木村吉宏, 工藤尚文 (岡山産婦)

(緒言) 多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) に対する MPR の有効性は広く知られている。腹腔鏡施行時に PCOS と同様の卵巣腫大, 白膜肥厚, 隆起などの所見を認める症例に対して, MPR を施行し, その有効性を検討した。

(対象) 昭和62年より平成5年までの7年間に MPR を施行し, 最低6か月以上 follow できた38症例。

(結果) 検討対象の年齢, 身長, 体重はそれぞれ 29.1 ± 4.0 歳, 155.7 ± 5.2 cm, 57.1 ± 11.7 kg であった。38症例のうち25症例 (66%) が妊娠に至り, 17症例 (45%) は6周期以内に妊娠が成立していた。

次に, MPR 前の3周期以内に LH-RH Test を施行し, PCO pattern を示す A 群 (6 症例) と, PCO pattern を示さない B 群 (10 症例) とに分類して検討した。A 群における年齢, 身長, 体重はそれぞれ 29.5 ± 1.52 歳, 153.4 ± 2.76 cm, 50.7 ± 6.63 kg であるのに対して, B 群では, 30.9 ± 4.25 歳, 154.6 ± 6.65 cm, 59.6 ± 13.0 kg であった。MPR 後の妊娠率は, A 群では3症例 (50%) であり, そのうち全く排卵誘発を必要としなかった症例は2症例 (33%) であった。B 群での妊娠症例は2症例 (20%) であり, 排卵誘発を必要としなかった症例は1症例 (10%) であった。なお, A・B 群合計の妊娠症例のうち, MPR 後6周期以内に妊娠した症例は8症例 (50%) であり, 全例12周期以内に妊娠していた。

4. 不妊患者におけるクラミジア感染と腹腔鏡所見

○池成孝明, 吉田壯一, 片桐千恵子

谷川正浩, 大野原良昌, 戸田稔子

原田 省, 寺川直樹 (鳥取産婦)

(目的) 不妊患者のクラミジア抗体価陽性率ならびに抗体価と腹腔鏡所見との関連を明らかにしようとした。

(方法) 当科不妊外来にて血清抗クラミジア抗体 (Ig G, Ig A) 検査を361例に施行し, このうち76例に腹腔鏡を施行した。抗体陽性と卵管障害の有無, 抗体価と付属器癒着の関連について AFS 癒着スコアにより検討した。

(成績) 血清抗クラミジア抗体は, 不妊症患者の41%に認められた。腹腔鏡検査を施行した76症例中36例 (47%) がクラミジア抗体陽性であった。Ig G, Ig A ともに陽性であった24症例では75%に卵管通過障害を認めた。Ig G, Ig A の少なくとも一方が陽性であったものでは, 癒着スコアの平均は15であり, 抗体価陰性の3.2に比較して有意に高かった。さらに, Ig G, Ig A の抗体価と癒着スコアとの間に有意の相関を認めた ($p < 0.001$)。

(結論) 不妊症患者におけるクラミジア抗体陽性率は高率であり, 抗体陽性例では卵管通過障害が高頻度に認められた。抗体価は付属器癒着の重症度を反映することが明らかとなった。

5. 続発性無月経患者における夜間 Melatonin 分泌増量機序に関する検討 —特に Estrogen および Naloxone 負荷モデルを用いて—

○岡谷裕二, 相良祐輔 (高知医大産婦)

(目的) 続発性無月経患者では夜間の Melatonin

(MLT)分泌が増量していることを明らかにし報告してきた。今回、さらに、Estrogen負荷およびOpioidのantagonistであるNaloxone投与モデルを用いて、本患者のMLT分泌増量機序を検討した。

(方法) 1) 16～28歳の第I度無月経(AI)11例、第II度無月経(AII)9例、正常成熟婦人(C)5例を対象とした。2) AII6例に、結合型Estrogen20mgを静注し、2日後に実験に供した。3) AII5例にNaloxone(1.6mg/h)連続投与下に実験に供した。1)～3)ともに21～6時の消灯条件下に2時間毎に採血した。

(成績) 1) C群のMLTは22時より増量し、2時で 110.4 ± 13.4 pg/mlのピークに達し以後8時まで減少した。AIでは、MLTのピーク値(160.9 ± 21.9 pg/ml)、分泌パターンともにC群より有意に高値を示し、AIIではAIよりさらに有意の増量パターンを示し、ピーク値(260.5 ± 37.4 pg/ml)も高値を示した。血中Estradiol-17 β (E₂)はAII(11.8 ± 1.0 pg/ml)がAI(28.8 ± 2.7 pg/ml)より有意に低値であった。2) 結合型Estrogen負荷後の血中E₂値は 425.8 ± 146.8 pg/mlで、MLT分泌パターン、ピーク値(188.8 ± 33.8 pg/ml)ともに、投与前値(312.2 ± 50.9 pg/ml)より有意に減少した。3) Naloxone投与中のMLT分泌パターン、ピーク値ともにNaloxone非投与時と差は認められなかった。

(結論) 続発性無月経患者の夜間MLT分泌増量機序にはOpioid系の関与はなく、内因性の低Estrogen環境に強く関連していることが示唆された。

6. クロミッド投与周期における子宮内膜の厚さと質に関する検討

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

(目的) 当科不妊症外来を受診し、クロミッド治療を行った不妊症患者86症例につき、コントロール周期とクロミッド投与周期、およびクロミッド投与にて妊娠に至った18症例の妊娠周期とクロミッド投与非妊娠周期における排卵前と排卵後の子宮内膜の厚さ(EM)および(EQ)の測定を行い、妊孕能との関連を検討した。

(方法) 主席卵胞の消失日を排卵日として、排卵前および黄体期中期のEM(子宮正中縦断像の最大前後径)を経膈超音波で測定するとともに、EQ(超音波上の内膜像)をDohertyらの分類(Grade I～IV)に準じて評価した。

(結果) 1) 排卵前のEMは、クロミッド投与周期(7.7 ± 0.2 mm)ではコントロール周期(8.8 ± 0.2 mm)に比

較して有意($P < 0.01$)に薄かったが、黄体期中期のEMには差を認めなかった。2) クロミッドで妊娠に成功した症例の妊娠周期($n = 18$)とクロミッド投与非妊娠周期($n = 18$)を比較すると、EMには差を認めなかったが、EQは妊娠周期で排卵前にGrade II、黄体期中期でGrade IIIに有意($P < 0.01$)に偏っていた。

(結論) クロミッド投与で妊娠に成功した周期では、EMよりもむしろEQが改善されることにより、妊孕能が向上するものと考えられた。

7. 長期不妊の高齢患者におけるhMG-AIH療法の有用性について

○岡田正子, 高橋健太郎, 尾崎智哉
田丸直美, 内田昭弘, 栗岡裕子
北尾 学 (島根医大産婦)

近年、挙児を希望して不妊外来を受診する患者数は年々増加傾向にある。しかも、社会的要因により結婚年齢が遅くなっており、30歳以上の不妊患者の増加は著しい。我々は5年以上の長期の不妊期間をもつ高齢の患者に対してhMG製剤を用いた排卵誘発法と配偶者間人工授精(AIH)を積極的に施行している。今回、5年以上の長期の不妊期間をもつ30歳以上の高齢の患者に対して本治療を行い妊娠に至った6症例を用いて、本法の有用性について検討したので報告する。

6例の妊娠症例はすべて既往治療としてクロミッド-Fen-AIH療法、hMG-hCG療法が施行されていた。すべての症例において妊娠(単胎妊娠5例、双胎妊娠1例)はhMG-AIH療法に変更した後1～2周期目に成立した。妊娠の転帰は1例が流産で、他はすべて正常妊娠経過であった。

以上より長期不妊例で高齢の不妊患者にはhMG-hCG療法により積極的に排卵を誘発し良好な精子を人工授精することが、受精の機会をふやす意味でも不妊の治療法として有用であると考えられる。

8. 組換え型ヒトFSH製剤の排卵誘発に対する応用について

○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
青原 稔, 青野敏博 (徳島大産婦)

(目的) 組換え型ヒトFSH製剤(rhFSH)が実用化され排卵誘発への応用が期待されている。そこで第II度無月経患者にrhFSHを投与し卵胞発育効果、一般検査所見の変化、抗rhFSH抗体産生の有無について

検討した。

(対象と方法) rhFSHを神経性食欲不振症1名, ギナドトロピン単独欠損症患者1名に単回投与として300 IUを投与した。反復投与として神経性食欲不振症1名, ギナドトロピン単独欠損症患者1名に一日あたり75, 150, 225 IU各用量7日間ずつ連続漸増筋注した。投与中に超音波計測で主席卵胞径が14 mmを越えた場合は卵胞発育があったと判定し以後の投与および排卵誘発を中止した。観察項目として各種ホルモンの血中濃度, 卵胞超音波計測, 一般所見, 抗rhFSHについて検討した。

(結果) 単回投与では, 3名とも投与後30分から血中FSH濃度が上昇し, 投与後ほぼ24時間にpeakを認めた。反復投与では血中FSH値は3名とも容量依存的な上昇パターンを示し, 卵胞発育がみられた。単回投与, 反復投与とも一般所見, 性腺系以外の各種ホルモン値, 自覚症状に異常を認めず, 抗rhFSH抗体も認められなかった。

(結論) rhFSHを単回あるいは反復投与しても安全性で問題となる点はなく卵胞発育が可能であったことから, rhFSHは第Ⅱ度無月経患者の排卵誘発に関して安全で有効であることが示唆された。

9. PCOSに対するFSHおよびGnRH律動投与を用いた排卵誘発法の検討

○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, 苛原 稔, 青野敏博

(徳島大産婦)

(目的) PCOS患者に対し, FSHとGnRH律動投与を組み合わせた排卵誘発を行い, OHSS予防に必要な内分泌条件を検討した。

(方法) PCOS患者12例を対象に, 周期5日目よりFSH製剤(フェルチノームP, im)の連日投与を開始し, 最大卵胞の平均径が11~12 mmになった時点でGnRH律動投与方法(ヒポクライン, 20 mg/120 min, sc)に変更した周期(GnRH周期: 24周期)と, 対照としてFSHによる治療を続行した周期(FSH周期: 10周期)について, 成熟卵胞数, 血清estradiol (E₂) 値およびFSH値とOHSSの程度を比較した。

(成績) FSH周期では排卵率80.0%, 成熟卵胞数 4.2 ± 1.1 個(mean \pm SD), 卵胞期後期FSH: 11.2 ± 2.8 mIU/mlであった。GnRH周期では排卵率83.0%, 成熟卵胞数 1.8 ± 0.9 個, FSH: 5.4 ± 2.3 mIU/mlといずれも対照群に対し有意に低値を示した。FSH周期で

はすべての周期で卵巣径が5cmを超え, 30%で重度のOHSSを合併したが, GnRH周期ではOHSSは合併しても軽度にとどまった。GnRH周期の症例別妊娠率は33.3% (FSH周期: 0%)ですべて単胎であった。

(結論) FSH投与方法にGnRH律動投与方法を組み合せ, 卵胞期後期の血清FSH値を低く維持することで, PCOS患者に対しOHSSを併発することなく卵胞発育が可能なが示唆された。

10. Gn-RH analogue投与による排卵誘起法の効果について

○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 (鳥根医大産婦)

(目的) 排卵誘発法としてhMG-hCG療法が広く行われているが, 卵巣過剰刺激症候群(OHSS)が重篤な副作用として存在し, その発生を抑制することが重要である。OHSSの発症の原因の一つとして, 内因性LH surgeの誘発を目的とした外因性のhCGの使用が重要視されている。今回, 内因性LH surgeの誘発目的としてのGn-RH analogue投与による排卵誘起法の有用性について報告する。

(対象および方法) hMG-hCG療法による排卵誘発を施行した27例を対象とした。月経周期5日目より, hMGあるいはpure-FSH製剤を連日投与し, 最大卵胞径が18 mmになった時点で, Gn-RH analogue 1回300 μ gを8時間毎に3回経鼻投与した。内因性LH surgeの確認は尿中LH測定により行い, 排卵の確認の後に, 黄体期には黄体補充療法を行った。

(結果) 対象症例のうち24例(88.9%)に排卵が認められた。排卵の認められなかった3例については, 内因性LH surgeの確認はできたが, 超音波断層法, 基礎体温上は排卵は確認できなかった。Gn-RH analogue投与による排卵誘起法に成功した全例においてOHSSの発症は認められず, 6例(25.0%)において妊娠が認められ, 5例(83.3%)は単胎で1例は品胎であった。

(結論) 排卵誘発法としてhMG-hCG療法を行う際に, 排卵誘起法としてhCGの代わりにGn-RH analogueを用いた場合, hCGと同様に排卵誘起が可能であることが認められ, OHSSの発症を減少させることが示唆された。

11. 当科における男性因子の体外受精・胚移植の成績の検討

○名護可容, 山崎 淳, 国方建児
石川ひろ美, 山野修司, 青野敏博
(徳島大産婦)

(目的) 当科における男性因子による体外受精の現況を分析し, その限界について検討した。

(対象および方法) 平成3年4月から平成6年3月までに当科で施行した体外受精症例205例389周期を対象とし, 男性因子と非男性因子について成績を比較検討した。卵巣刺激は, GnRH analogue (long protocol) -pure FSH-hMG法を用いた。精子はswim up法にて調整, 運動精子数 5×10^4 /eggで媒精し, 約40時間培養後, 2~4細胞胚を子宮内に移植した。

(結果) 1) 男性因子は68症例107周期で症例数の33.2%, 周期数の27.5%を占めていた。2) 妊娠率は採卵周期あたり男性因子13.1% (14/104), 非男性因子22.3% (63/282)と, 男性因子で有意に低かった ($P < 0.05$)。3) 原精液運動精子濃度500万/ml以上とそれ未満では, 回収卵あたりの受精率は55.2% (143/259)および19.9% (83/417)と前者が有意に高いが ($P < 0.01$), 妊娠率には有意差を認めなかった (15.7vs11.1%)。4) 運動精子濃度100万/ml未満とそれ以上で, 採卵周期当たりの胚移植率は, 28.0%および69.5%であり, 妊娠率は4%および15.9%と, 前者で有意に低かった。5) 精子の奇形率50%以上の症例では, 受精卵を得られなかった。

(結論) 当科における男性因子の体外受精・胚移植は, 運動精子濃度100万/ml以上では妊娠率15.9%と, 非男性因子に比べ低いながらも, ある程度の妊娠率が得られている。今後は, 運動精子濃度100万/ml未満の症例の妊娠率の向上が課題と思われる。

12. 当科における体外受精・胚移植 (IVF-ET) の成績に関する検討

○加川俊明, 田村紀子, 黒部 来
(高松市民病院産婦)

当科では平成4年6月より体外受精・胚移植 (IVF-ET) を開始し, 2年間に42症例, 67周期に施行したので, その成績について報告する。

(対象と方法) 対象の年齢は25歳~40歳 (平均33.3歳), 不妊期間は2年~14年 (平均6.7年), 適応は男性因子18例, 卵管因子15例, 子宮内膜症7例, 原因不明不妊12例 (重複例あり)であった。卵巣刺激法は原則としてGnRHa (long) -hMG-hCG法で行い, luteal

supportとしてhCG and/or progesteroneを投与した。精子処理はswim up法で行い, 媒精約42時間後に超音波ガイド下に胚移植を行った。

(結果) 採卵数は1~27個 (平均7.2個), 受精率は67.9% (男性因子を除く) 3.7% (男性因子症例), 移植胚数は平均2.7個であった。67周期のうち23周期で受精卵を得られなかったが, そのうち4周期は正常精液所見であった。妊娠率は29.5% (ET (13/44))であり, そのうち1例は子宮内外同時妊娠, 3例は流産 (流産率; 23.1%), on going例10例のうち1例は双胎であった。適応別妊娠率は男性因子5.6% (1/18), 卵管因子26.7% (4/15), 子宮内膜症57.1% (4/7), 原因不明不妊41.7% (5/12)であった。

(結論) 男性因子以外の症例においては比較的高い妊娠率が得られたが, 男性因子症例ではやはり受精率, 妊娠率ともに極端に低かった。また, 正常精液所見を有する症例においても受精卵が得られない場合があり, 両配偶子の受精能力検査の一つとして体外受精を行う価値があると思われた。

13. 閉塞性無精子症に対する精巣上体精子を用いたIVF-ETの成績

○蔵本武志, 高崎彰久, 野口博史
杉岡美智代, 森岡 均
(済生会下関総合病院産婦)
瀧原博史 (山口大泌尿器)

(目的) 閉塞性無精子症で精路再建術が困難な症例に対し, 経精巣上体精子回収術を併用したIVF-ETを行い, その有用性と問題点について検討した。

(方法) 閉塞性無精子症患者5名 (Young症候群1名 (症例1), 特発性1名 (症例2), 鼠径ヘルニア術後1名 (症例3), 先天性精管欠損症2名 (症例4, 5)) 5周期を対象とした。妻の卵巣刺激はlongまたはultra-long法にて行った。採卵終了後, 腰麻下で精巣上体を露出させ, 26Gのサフロー針にて精巣上体の末梢側より精子の吸引を開始した。採取精子はpentoxifyllineで処理後, 同日採卵した卵を精子数 $0.2 \sim 0.5 \times 10^6$ のmicrodrop内で媒精した。また運動精子がほとんど回収できなかった症例4, 5に対してはICSI (卵細胞質内精子注入法)を行った。

(結果) 精子採取部位は症例2の体部を除きすべて頭部からであった。採取精子濃度は, それぞれ13.9, 20, 3.1, 16.3, 3.4×10^6 /mlで, 前進運動精子率は35, 39, 0, 0%であった。受精率は42% (5/12), 77% (10/13), 67% (6/9), 20% (2/10), 10% (2/20), 分割率は80% (4/5), 40% (4/10), 67% (4/6), 100% (2/2), 100%

(2/2)であった。全例胚移植を行い、症例1, 2は妊娠に至り、2例とも経陰分娩となった。

(結論) 閉塞性無精子症に対し、経精巣上体精子回収術を用いたIVF-ETは有効な治療法であることがわかった。しかしながら運動精子が回収できない例があり、これらに対しICSIを含めた顕微授精の必要性を認めた。

14. pure FSHおよびhMGを使用したIVF-ETの成績の検討

○長谷川 淳, 新谷恵司, 青江尚志
木村吉宏, 工藤尚文 (岡山大産婦)

(目的) 排卵誘発剤としてpure FSHからさらに不純物を除去したフェルチノームSCを使用した群と従来のhMGを使用した群とでIVF-ETの成績を比較し、卵に対するLHの影響を検討した。

(対象) 当科における卵管性不妊の適応でIVF-ETを施行した患者を対象とした。

(方法) IVF-ET周期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。排卵誘発はフェルチノームSCを使用した群をFSH群、hMG(今回はパーゴナルを使用)を使用した群をhMG群として、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、 hCG 1万単位を投与し、その34時間後に採卵を行った。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) FSH群8例およびhMG群29例において、平均発育卵胞数はそれぞれ 11.9 ± 7.8 , 14.9 ± 8.8 , 平均回収卵数は 6.1 ± 3.5 , 8.0 ± 5.8 , 受精率は59%, 50%であった。また、FSH群では8例中5例に妊娠を認め、そのうち2例は流産となり、1例は子宮外妊娠となった。hMG群では29例中5例に妊娠を認めた。

(考察) FSH群はhMG群に比べて発育卵胞数、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。したがって、外因性LHの影響を取り除いたpure FSHによる排卵刺激方法は従来のhMGよりも卵に悪影響を与えるということではなく、有用な排卵刺激法であると思われる。

15. 体外受精におけるEIA法を使ったE₂, P値と受精に関する検討

○田口俊章 (鳥取県立中央病院産婦)
藤井五百子, 松本尚美, 岡田直子,
村上かづ子, 原田千春 (同 検査科)

(対象) 鳥取県立中央病院不妊外来を訪れた患者の中で、体外受精を施行した患者34名を対象とした。

(方法) short protocolを用い、月経第3日目よりフェルチノーム300単位3日間、その後ヒュメゴン150単位を連日筋注し、卵胞径が18mmになった時点でE₂, P値を測定し、プレグニール5000単位を筋注した。36時間後採卵し、同時にE₂, Pを測定した。採卵48時間後の受精の有無を検討し、分割したものをA群、分割しなかったものをB群、採卵できなかったものをC群として、各群間のE₂, P値を比較検討した。なおE₂, Pの測定は、EIA法を用いた。

(結果) 1) 平均年齢: A群: 37.5歳, B群: 33.4歳, C群: 33歳

2) 平均精子数($\times 10^6$): A群: 68.9, B群: 25, C群: 52

3) -2D.E₂: A群: 1700.1, B群: 2567.3, C群: 943

4) 0D.E₂: A群: 968.2, B群: 1413.6, C群: 664

5) -2D.P: A群: 0.70, B群: 0.79, C群: 0.4

6) 0D.P: A群: 4.57, B群: 3.81, C群: 4.9

A群(分割)では、B群(分割なし)に比べ-2Dと0DのE₂値が低く、0DのP値が高い傾向であったが、有意ではなかった。

16. 着床期ステロイド投与の体外受精着床率に与える影響

○矢野樹理, 福井敬介, 谷口文章
北川博之, 藤岡 徹, 香浦留美子
山中研二, 松浦俊平 (愛媛大産婦)
武田康成 (町立野村病院)

(緒言) 近年、体外受精胚移植法(IVF-ET)の際、着床期に大量のステロイドを投与し、妊娠率に改善がみられたとの報告がある。そこで着床率改善およびステロイド至適濃度決定を目的として、ステロイド剤の一つであるプレドニゾロンを投与し、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3月までの間に、当科にてIVF-ETを施行した66症例(132周期)を対象とした。その平均年齢は 32.3 ± 0.3 歳、平均不妊期間は 6.8 ± 0.3 年であった。これをPhase別にAからDまでの4群に分け、それぞれプレドニゾロン0, 15, 30, 60mg/日を、採卵翌日より5日間経口投与した。

(結果) 113周期中、81症例に対し胚移植を行った。A~D群の対胚移植妊娠率は、それぞれ17%(n=40), 20%(n=5), 31.6%(n=19), 35.3%(n=17)と、プレドニゾロン投与量増加とともに、改善傾向が認められた。A~D群の胚着床率(移植胚総数に対する着床胚総数の割合)は、6.8%(9/132), 16.7%(2/12),

20.5% (9/44), 17.1% (6/36)であり, C群においてコントロール群に比べて有意に改善が認められた. C群とD群との間には, 有意差を認めなかった.

(結語) 着床期のプレドニゾロン一日30mg経口投与が, 着床率改善に効果があることが確認された.

17. ペントキシフィリンの精子先体反応率に及ぼす影響

○絹谷正之, 上田克憲, 濱田朋子
新甲 靖, 竹中雅昭, 大濱絃三
(広島大産婦)

(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ペントキシフィリン(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が先体機能に及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例を対象として以下の検討を行った. swim up法により回収した運動良好精子を5時間前培養し, その後, 1)PF(3.6 mM)(+), Ca ionophore A23187(CI)(10 μ M)(+), 2)PF(-), CI(+), 3)PF(+), CI(-), 4)PF(-), CI(-)の4群に分け, それぞれを添加後1時間培養した後に先体反応率(%AR)を測定した.

(結果) 61例の%AR(mean \pm SD)は, 1)群(32.1 \pm 20.8%), 2)群(20.9 \pm 14.7%), 3)群(7.9 \pm 12.9%), 4)群(4.5 \pm 5.4%)の順に有意な高値を示した. また, 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, この作用は単独で添加した時に比べて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先体機能の改善にも一因があると考えられた.

18. 精子運動能解析における Rapidly Motile Cells と精子先体反応率の関連

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

(目的) 我々は, Motility Analyzer HT-M 2030で測定

した高速運動精子の比率(%RMC)が精子受精能の指標として有用であり, %RMCが35%未満の症例は受精能異常とされることを報告した. 一方, 最近の研究では精子先体反応率(%AR)が17%未満の例を受精能異常と判定できることが示された. そこで%RMCと%ARの関連を検討した.

(対象および方法) 不妊夫婦の夫42例(うち6例は過去のIVFで受精卵が得られなかった症例)を対象として, 同意のもとに以下の検討を行った. 液化精液の精子運動能パラメーターの測定を行った後, 1時間のswim up法で運動性良好な精子を回収し, 5時間の前培養の後, さらにCa ionophore A23187を1時間作用させ, 蛍光顕微鏡下に%ARを算定した.

(成績) 42例の%RMCは平均43.6%(3.5~86.5%), %ARは平均22.5%(0.9~54.8%)であった. %RMCおよび%ARによる判定がともに受精能異常なしであったもの19例, ともに受精能異常であったもの13例で, 両者判定の一致率は73.6%(32/42)であった. なお, IVFで受精が認められなかった6例は全例%RMC, %ARともに受精能異常と判定された. 一方, 両者の判定の不一致例は10例で, その内訳は%RMCあるいは%ARでは異常なしとされたものが各々5例であった.

(結論) %RMCおよび%ARによる精子受精能の判定結果はよく一致し, 運動能という尾部の機能と先体反応という頭部の機能には密接な関連があることが示唆された.

19. ヒト精子頭部表面の progesterone binding sites と受精への関与

○福井敬介, 谷口文章, 山中研二
矢野樹理, 松浦俊平 (愛媛大産婦)

(緒言) ヒト精子におけるプロゲステロン(P)の結合部位は精子頭部表面に局在し, Pと結合能力を有する運動精子の割合(%PB)が精子無力症において低下していることを我々は報告してきた. 今回, IVFにおける受精成績と%PBの関連性について検討したので報告する.

(対象と方法) 卵管因子(n=26)あるいは原因不明(n=4)不妊にてIVF-ETを施行した31症例の夫より得られた精液を対象とした, percoll法により回収した運動精子をFITC labeled P-BSAを20 μ g/ml含むmBWW培養液中にて培養した後, %PBをフローサイトメトリーを用いて測定した. IVFプロトコール:採卵した卵子を6時間前培養した後, swim-up法にて回収した精子を1万/卵子の濃度で媒精し, 17~20時間後

および42～48時間後に受精の有無を確認した。

(結果) 受精不成功 ($n=8$) における%PBは $8.7 \pm 5.1\%$ であり、受精成功の23症例 ($23.7 \pm 18.1\%$) に比べて有意に低値を示した ($p < 0.001$)。

(結語) *in vitro*における受精不成功例の精子において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occult male factor infertilityの原因の一つではないかと考えられた。また%PBの評価が体外受精の予測に有用であることが示唆された。

20. 男性不妊症例の精子を用いた精子自動分析、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

○毛利浩子, 河野一郎 (川崎医大産婦)
徳永 葉, 田中啓幹 (川崎医大泌尿器)

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, 興味深い結果が得られたので報告する。

21. 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

○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
(徳島大産婦)

(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あることが知られているが, 最近同時にCD46DAFなど補体制御因子が精子表面あるいは精漿中に見いだされ, 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, 精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およ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 ($2 \times 10^8/3 \text{ ml}$) 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 $10 \mu\text{l}$ を加える溶血系に $40 \mu\text{l}$ 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, 20%未満を異常低値とした。

(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の45.7% (32/70) に比し有意に高かった ($p < 0.01$)。特にAIHによる妊娠が不可能とされる運動精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の患者の頻度が, 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) に比し高頻度に認められた ($p < 0.01$)。

(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の活性低下が関与している可能性が示唆された。

22. ヒト精漿中Fc γ レセプターⅢ (Fc γ RⅢ) 関連抗原の分子構造に関する検討 (第2報)

○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 (徳島大産婦)

(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Fc γ RⅢ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27 kDのホモダイマーで不活性であり, 還元状態の16 kD分子が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。本研究はIgBF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)分解したペプチドを, Fc γ R III に対する単クローン抗体である抗Leu-11b抗体を用いた Dot blot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 13 kDの分子を認めた。3) HPLC法で分解後の微量の active siteを分離した。

(結論) IgBFは還元状態 16 kD分子を酵素分解すると active siteが消滅するが, 非還元状態 27 kD分子を分解することにより active siteが露出されることが判明した。IgBFはシステインが豊富な蛋白であり, active site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。

23. 新しいマウス EAO モデルの成立過程における内分泌環境について

○徳永 葉, 伊東史雄, 藤井智浩
田中啓幹 (川崎医大泌尿器)

(目的) 免疫学的男性不妊症の一つのモデル疾患である実験的自己免疫性精巣炎 (EAO) の新しいモデルは同系精巣細胞 (TC) の皮下注射のみで誘導され, アジュバントその他の免疫増強操作を全く必要とせず, 真の意味で自己造精細胞抗原に対する免疫反応を基盤とする疾患といえる。病変誘導とともに細胞性免疫 (遅延型足蹠反応), 液性免疫 (抗 TC抗体価) ならびに感作脾細胞の産生するサイトカイン量も二次感作以後, 飛躍的に増加する。今回は, このモデルにおける末梢血中の内分泌環境が病変の誘導とともにどのように変化するかを観察した。

(方法) 免疫は, 1×10^7 個の TCを, 2週間隔で 2 回皮下注射により行った。初回感作直前 (Day 0), 初回感作後 Day 7, 14 (第 2 回感作直前), 21, 28, および 35 における末梢血中のホルモン (LH, FSH, Testosterone) を測定した。

(結果・考察) LH, FSHは感作前の値に比べ, どの時期の値にも有意差はなく増減の傾向も見られなかった。Testosteroneも感作による影響はほとんど見られないが, それぞれの時期で値の分布が広く一定

の傾向を示す検査結果は得られなかった。すなわち, 病変の完成する時期では内分泌環境に変化は起きておらず, ヒト特発性造精機能障害患者にみられるような FSH値の上昇は, 病変の完成後ある期間が過ぎてから現われてくるものと推測できる。さらにこのモデルの経時的な内分泌環境の観察が必要である。

24. 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

○桑田善弘, 竹中生昌 (香川医大泌尿器)
松井秀樹, 畠瀬 修 (同 第一生理)

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比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るが, その反面, 体重増加の抑制, 障害, 腎障害などが副作用として報告されている。それ以外の副作用では, 特に造精機能障害は生殖期の男性にとって重大な副作用と考えられ, 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などが示唆されている。

今回, 我々は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, FK506の造精機能に対する影響を検討したので報告する。

25. GIFT で妊娠した逆行性射精の 1 例

○小林正幸, 小野俊夫, 真野隆文
平川 修, 伊東武久
(社会保険徳山中央病院産婦)

今回, 当科にて逆行性射精の患者に対し膀胱内に培養液を注入し射精させた後精子を回収し, その精子を用いて GIFT を行い妊娠に成功した症例を経験したので報告する。

症例は 29 歳男性で, 他院にて 9 回 AIH するも妊娠せず当科紹介となった。排尿後射精してもらいその後導尿し精子を回収した場合には, ほとんど運動精子は認められなかったが, 射精前 modified HTF を膀胱内に注入し同様に採取すると良好精子が得られ, 同方法で GIFT を行ったところ妊娠に成功した。GIFT はミニラバで行った。一方, 尿の PH を調べたところ多くは酸性であったが, 中性, アルカリ性の尿もあり, PH の違いによる精子への影響を調べてみると中性尿はほとんど精子に対し影響がなく, 酸性, アルカリ性の尿は明らかな殺精子作用が認められた。このことより逆行性射精の患者に対しては従来より炭酸水素ナトリウムなどの注入後, 射精しても

らい精子を回収する方法が推奨されてきたが、それより培養液の注入後射精回収の方が有効であると思われた。

26. AIHにて妊娠に至った逆行性射精によると思われる男子不妊症の1例

○井本勝彦, 瀧原博史, 竹内敬二
白瀧 敬, 鎌田清治, 馬場良和
内藤克輔 (山口大泌尿器)
上田一之 (山口県立中央病院産婦)

結婚7か月後に射精障害をきたしAIHにて妊娠に至った男子不妊症の1例を経験したので報告する。

症例は36歳, 男性. 既往歴として糖尿病(食事療法中)がある. 1986年10月に結婚, 1987年8月に第1子を得ているが, 1987年5月頃より徐々に, オルガスムが弱くなり射精を認めなくなった. 患者によれば, 1990年8月頃より市販薬を含む経験的治療を受け少量の射精が可能となった時期もあった. 1993年3月射精障害と不妊症を主訴として当科外来を初診した. 理学的所見では精索静脈瘤などの異常所見は認められず, 内分泌学的検査, 染色体検査ではテストステロン値が軽度低値を示した他は異常値を認めなかった. 精液検査では射精後の尿中に精子が多数認められた. DIPでは低緊張性膀胱が疑われ, 経直腸超音波断層法, 膀胱鏡検査にて内尿道口の開大が認められたため, 逆行性射精を疑い塩酸エフェドリン75 mg/日を投薬した. 投薬後徐々に射精が認められるようになり(0.1~0.3ml), 精液検査上, 最高値は射精量0.3 ml, 精子濃度 $402.0 \times 10^6/\text{ml}$, 運動率25%, 奇形率5%以下であった. AIH4回目にて妊娠を確認し, 現在妊娠4か月で順調に経過している.

27. パーコールドクッション法(精子濃縮法)を用いたAIHの成績

○南條和也, 大塚恭一, 宮内文久
(愛媛労災病院産婦)

(目的) 我々はこれまで, 乏精子症ないしは精子無力症の症例には各種精子処理法のうちパーコールドクッション法が簡便で有用であることを報告してきた. 今回, パーコールドクッション法を用いたAIHを行い良好な成績を得たので報告する.

(対象および方法) 平成5年1月より平成6年3月までにAIHを施行した47例, 169周期を対象とした. パーコールドクッション法には, 10倍濃度のHanks液と患者血清を15%の割合で添加したHTF培養液とで等張化した80%パーコールド液を用いた. 80%パーコ

ールド液0.5 mlに, 培養液を等量加えた精液を層積し, 3000 rpmで20分間遠心し, 最下層の精子層を採取, 培養液を加えて再洗浄後, 0.3 mlの精子懸濁液として, AIHに供した.

(結果) 23例, 25周期に妊娠が成立し, 妊娠率は症例あたり49%, 周期あたり15%であった. 不妊原因別の妊娠率は男性因子例では症例, 周期あたりそれぞれ47% (17/36), 13% (18/135), Huhner test不良例では67% (6/9), 37% (7/19), 原因不明長期不妊例では0%, 0%であった. なお, 男性因子例の妊娠例のうち3例は妊娠周期の処理前の運動率が20%以下で, 運動精子濃度 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の重症例であった.

(結論) パーコールドクッション法は男性因子不妊, Huhner test不良不妊例のAIHにおける精子処理法として有用な方法と考えられた.

28. 精索静脈瘤の診断における陰嚢部サーモグラフィとシンチグラムの有用性に関する検討

○秋山博伸, 大枝忠史, 市川孝治
小澤秀夫, 永井 敦, 大森弘之
(岡山大泌尿器)

精索静脈瘤の診断には種々の方法が用いられているが, 決定的な診断法はなく, 触診上静脈瘤を認めない症例や, 両側例の診断は困難なことが多い. 今回我々は, 1992年7月より1994年3月までの間に当院不妊外来を受診し, 触診にて精索静脈瘤を認めた触診所見(+)群21例(12~40歳, 平均29.9歳)および, 精索静脈瘤が認められなかった触診所見(-)群7例(30~41歳, 平均35.3歳)に対し, 陰嚢部サーモグラフィおよび陰嚢部シンチグラムを施行し, その結果を視触診の所見と比較検討した.

その結果, 陰嚢部サーモグラフィでは, Valsalva負荷にかかわらず1℃以上の左右差を認めた場合を陽性とする, 触診所見(+)群21例中12例(57%)が陽性, 触診所見(-)群7例中3例(43%)が陽性であった. また, 陰嚢部シンチグラムでは, 触診所見(+)群21例中17例(81%)において陽性を示し, 触診所見(-)群7例中2例(29%)が陽性であった. 一方, 陰嚢部シンチグラム陽性例17例中12例がサーモグラフィ陽性で, 一致率71%であった. 以上より, 精索静脈瘤の診断には, 陰嚢部シンチグラム, サーモグラフィとも有用であると思われたが, シンチグラムの方が検出率においてやや優れていた. しかし, いずれの方法でも単独では充分とはいえず, いくつかの方法を併用する必要があると考えられた.

特別講演

平成6年度日本不妊学会東北支部総会

「抗精子抗体による不妊機序と対応抗原の解析」

香山浩二(兵庫医大産婦)

抗精子抗体の中でも補対依存性の精子不動化抗体(SI抗体)は不妊婦人に特異的に検出され、機能性不妊婦人での検出率は約15%である。血中SI抗体を長期フォローアップすると、抗体価は決して一定ではなく、周期的に大きな変動を示していることがわかる。血中SI抗体の免疫グロブリンクラスは大部分の症例でIgG1優勢で、一部にIgG2、IgM優勢症例がみられる。興味あることに、SI抗体陽性患者血清からIgG4を除去すると精子不動化活性が増強する。血中SI抗体陽性婦人では頸管粘液中にもSI抗体が検出され、精子の粘液内貫通性が著しく抑制される。また、血中に抗体を持たない不妊婦人にも約10%の割合で粘液中にのみSI抗体が検出される。また、血中SI抗体保有婦人では卵胞液中、ダグラス窩腹水中にもSI抗体が検出され、子宮内注入精子の腹腔への移行が抑制される。in vitro実験ではSI抗体感体精子の卵透明帯への結合が強く抑制されるが、透明帯除去ハムスター卵への侵入には一定の傾向が見られない。SI抗体陽性不妊婦人で抗体価が高い(SI50値が10以上)場合には人工授精では妊娠が困難で体外受精-胚移植の適応となる。

血中SI抗体は射精精子および精漿成分によって吸収されることから、その対応抗原は精子自身の表面抗原の他、精子に結合した精漿抗原の関与も考えられる。精子の過ヨウ素酸処理または精漿の脱糖処理によって抗体吸収能が低下することからSI抗体の認識する抗原基は糖鎖抗原である可能性が高い。事実、精子に豊富に発現される硫酸糖脂質であるセミノリピッドおよびこれと同じ硫酸糖を持つサルファタイドによって多くの症例でSI抗体が吸収される。また、SI抗体陽性婦人の末梢リンパ球を用いて作製したSI抗体産生ハイブリドーマの産生するモノクローナル抗体もネオラクトサシン構造を認識するものであった。精子または精漿抗原をマウスに免疫して作製した精子不動化モノクローナル抗体もヒトモノクローナル抗体と類似した抗原認識を示した。

日時：1994年9月3日(土)10時30分～
会場：仙台市「勝山館」

ワークショップ

「妊孕性温存と内視鏡下手術」

1) 子宮外妊娠

○田中耕平, 佐藤孝明, 真田広行
七里和良, 藤盛亮寿

(秋田赤十字病院産婦)

子宮外妊娠の治療には、開腹術、腹腔鏡下手術およびメソトレキセート(MTX)療法がある。1989年から5年間に施行された開腹術(28例)と腹腔鏡下手術(18例)を比較し、妊孕性の面から子宮外妊娠の治療方針を検討した。両者の妊孕性に差はなく、後者の術後回復、入院期間が短期であることから、ショック例以外は腹腔鏡下手術を行うべきである。超音波検査上、4cm以上の未破裂病変で妊孕性温存が必要な場合は、腹腔鏡下卵管切開術が標準術式といえる。妊孕性は、術式よりもすでに存在する癒着病変により影響されるので、挙児希望がないか、強度な癒着や卵管損傷のある場合は卵管切除術も選択しうる術式である。MTX療法は、妊孕性温存が必要で腹腔鏡検査が不要な場合に適応と言える。MTX局注療法は、追加治療が必要であることが多い。

以上より、子宮外妊娠の治療において、妊孕性温存を考慮した場合、腹腔鏡下卵管切開術は、第一に選択されるべき術式といえる。

2) 子宮内膜症

○吉田仁秋 (竹田綜合病院産婦)

子宮内膜症は子宮内膜様組織が主に骨盤腔内に広く発生し、疼痛症状、卵巣チョコレート嚢胞などを惹起し不妊症の原因となる。この外科的治療には妊孕性温存のため、内視鏡下手術が必要とされる。子宮内膜症の進行度と妊娠率は諸家の報告により差を認めないが、現在一般的に施行されている妊孕性温存手術は下記の如くである。1) 内膜症病変のレーザー蒸散あるいは電気焼灼 2) 卵巣チョコレート嚢胞に対する吸引洗浄、エタノール固定、嚢胞摘出 3) 癒着剥離術。これらは妊娠率に差を認めないが、吸引洗浄やエタノール固定では高い再発率を示し、腹腔内嚢胞摘出術が推奨される。内視鏡下手術は患者への負担も少なく、ますます繁用されると思われるが、症例に合わせた適切な治療を必要とする。

3) 骨盤内癒着

○渡辺 正 (東北大産婦)

当科において腹腔鏡を施行した不妊症例のうち、開腹手術の既往のある111例について骨盤内癒着の有無、およびその重症度について検討した。その結果、術後の癒着は約40%~70%の症例で認められた。また、実際には開腹手術時に操作を行っていないnon operative siteにおいても少なからず癒着を認めた。従来、骨盤内癒着に対する外科的治療には、マイクロサージェリーが施行されていたが、術後再度癒着形成をもたらす頻度が高かった。当科で施行した不妊症例に対する腹腔鏡下癒着剥離術の成績では、術後自然妊娠に至る頻度は、癒着剥離を行った群では癒着剥離を行わなかった群の約2倍であった。

以上の結果より、腹腔鏡下癒着剥離術は骨盤内癒着を有する不妊症例に対して有用な治療手段である可能性が示唆された。

4) 良性卵巣腫瘍

○今野 良 (済生会岩泉病院産婦)

若年者の卵巣腫瘍では、腫瘍摘出と妊孕性温存という二つの側面を考慮する必要がある。

手術適応を十分検討し、無駄な手術をしないことが妊孕性温存の第一である。若年者が境界悪性腫瘍や胚細胞系腫瘍の好発年代に当たっていることを念頭におき、悪性腫瘍の鑑別を行う。経陰超音波断層法とCA125および胚細胞系腫瘍マーカーの組合せが最も有用な診断法である。悪性腫瘍を疑う場合は腹腔鏡下手術の適応外で開腹すべきである。妊孕性温存のために囊腫核出術を基本とし、可能な限り愛護的操作を行う。不妊原因検索もあわせて行う。腹腔鏡下手術においても、妊孕性温存のためには、十分に癒着防止に留意すべきである。基本は完全な止血と十分な洗浄である。インターシードやペリプラストなどを適宜使用する。若年者の良性卵巣腫瘍に対しては腹腔鏡下手術を第一選択術式と考える。

5) 粘膜炎下筋腫の経頸管的筋腫切除術

○中原 健次 (山形大産婦)

子宮筋腫の中でも、粘膜炎下筋腫は過多月経などから容易に鉄欠乏性貧血を来し、また不妊や流産の原因にもなっている。従来、開腹術の適応となっていたが、核出の際は出血量も多くなり、また子宮内腔環境を損う欠点もあり問題となっていた。

近年、経頸管的筋腫切除術(TCR)が可能となり、

従来の開腹術における欠点を補ってあまりある。子宮を温存することができ、しかも回復が早いいため早期の退院が可能である。直接子宮筋を切開しないため、その後妊娠して出産する際子宮破裂などの合併症の可能性が低い。

筋腫分娩、粘膜炎下筋腫の2症例を提示し、TCRの具体的方法・当科における成績などについて解説した。

6) 腹腔鏡下手術時の問題点

○角田千恵子 (向仁会永井病院)

近年腹腔鏡下手術は、Minimally Invasive Surgeryとして、急速に普及しはじめている。本年4月より保険適応にともない、さらに手術件数の増加が予測され、合併症の増加が危惧されはじめている。今回各施設からのアンケート調査の結果回答が得られた230施設中151施設(65.6%)で腹腔鏡下手術を行っており、1994年4月までの症例の集積数は100例以下が最も多く65施設(43%)1000例以上の施設も15施設(10%)であった。合併症234例の内訳は、血管損傷97例、腸管損傷58例、創部血腫68例、気胸6例、その他であり、合併症の約40%が開腹術に移行した。死亡症例は、4例報告された。合併症を防ぐには、麻酔、気腹、穿刺、術後管理などの原則的なルールを守ることが重要であり、術中に患者の異変を敏感に察知して対応し、開腹術への変更時期のタイミングを知ることが必要である。また、腹腔鏡下手術に対する教育、トレーニング施設など今後早急に解決しなければならない点が多い。

一般講演

1. 各種活性酸素のマウス精子機能への影響

○池田雅人, 児玉英也, 福田 淳

軽部裕子, 清水 靖, 田中俊誠

(秋田大産婦)

活性酸素が哺乳類の精子運動を障害することは明らかな事実であるが、本研究では、xanthine oxidaseによる活性酸素産生系を用いてマウス精子に影響を及ぼす活性酸素を特定することで、細胞障害機序の一端を解明することを目的とした。その結果1) xanthine oxidase存在下では、xanthine濃度依存性にスーパーオキシド・過酸化水素の産生が増加した。2) 精子運動率の低下速度は加えるxanthine濃度に比例した。3) xanthineおよびxanthine oxidaseの添加と同時にSOD、カタラーゼといったスクベンジャーを投与

したところ、SOD添加では精子運動率の抑制作用は消失しなかったが、カタレース投与ではその抑制作用は消失した。4) 過酸化水素を直接精子に投与したところ、精子運動率は著明に抑制された。

以上より、xanthine oxidase 活性酸素産生系においてマウス精子に対する毒性を担っている活性酸素は過酸化水素であると考えられた。

2. 無精子症を伴うY-常染色体転座の2例

○都丸政彦, 笹川五十次, 沢村俊宏
安達裕一, 石郷岡 学, 中田瑛浩
(山形大泌尿器)

症例1: 29歳男性. 主訴: 不妊. 現症: 身長176cm, 体重72Kg. 胸腹部理学的所見, 精巣, 前立腺に異常なし. 血液生化学, 血中LH, FSH, PRL, テストステロン, LH-RHテスト, hCGテストはいずれも正常であった. 精液検査では, 精液量2.0ml, 精子数0/ml. 染色体数46, 第7染色体のP22とY染色体のq11.2の間に転座を認めた.

症例2: 33歳男性. 主訴: 不妊. 胸腹部, 精巣, 前立腺に異常なし. 血液生化学, ホルモン検査は正常であった. 精液検査では, 精子数0/ml. 染色体数46. 第11染色体のq11とY染色体のP11.2の間に転座を認めた.

考察: Y染色体と常染色体の間での転座が, 男子不妊と関係があることは, マウスでも報告されているが, その機序についてはいまだ不明である.

3. 水溶性造影剤を用いた密度勾配法による新しい精子選別法

○呉竹昭治, 片寄治男, 市川文隆
鈴木留美, 星 和彦, 佐藤 章
(福島県立医大産婦)

非イオン性低浸透圧造影剤である Isovist (Is), Iopamiron (Io), Omnipaque (Om) を用いて遠心分離により精子回収を行い, それを用いた AIH において妊娠例を得た.

二層 Nycodenz 法, Percoll 法および Swim-up 法を用いて回収した精子をアクリジンオレンジ染色した結果, いずれも成熟精子を選択的に回収することが示された.

単層 Percoll 法と, Io, Om を用いた単層密度勾配法は互いに運動精子回収率において差を認めず, いずれも Swim-up 法より優れた運動精子回収率を示した. また, イソピストを用いた単層密度勾配法はその中でもより運動精子回収率が優れていた.

二層不連続密度勾配のカラムを用いて, 一度異物を遠心除去した後, 中間層を再び遠心する方法では, いずれも単層密度勾配法より精子運動率が高い傾向が見られた.

4. 男性不妊症例に対する人工授精の検討

○原谷博信, 寺田幸弘, 渡辺 正
戸沢秀夫, 深谷孝夫, 矢嶋 聰
(東北大産婦)
前原郁夫 (同泌尿器)

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215周期を対象とした. 内訳は自然周期112例, clomiphene周期35例, hMGあるいはFSH周期68例であった. 妊娠例は13周期あり, hMGあるいはFSHにて排卵誘発したものが妊娠率が高かった. 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 (SMEI), 総注入精子数, 回収後運動率, 回収後SMEIの6因子について解析したところ, 原精子運動率は5%以下の危険率で有意に高値を示し, 回収後SMEIは, 1%以下の危険率で有意に高値を示した.

以上より, 男性不妊症に対するAIHにも過排卵誘発は有効であり, 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回収後精子運動能指数 (SMEI) であった.

5. 精子運動性急速低下症例の検討

○高橋 勝, 前原郁夫, 平松正義
蓮田精之, 中角尚誉, 折笠精一
(東北大泌尿器)

男性不妊症の診療にあたり, 一般精液検査で正常とされても精子運動性が短時間で低下する症例が少なからずあることに着目し, 精子運動性を経時的にみる精子運動性時系列検査を考案した. 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分ごとと120分後まで測定し, 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.

健常者7例の採取60分後%SMEI値は $89.9 \pm 9.2\%$ (mean \pm SD) で, Mean \pm 2SDの値から採取60分後%SMEI値が70%未満の場合を精子運動性低下群と分類したところ, 不妊患者45例中32例 (71.1%) が該当した. 各種精子機能検査結果などとの関係から, 精子運動性低下の原因としては, 精子機能そのものに異常がある症例, 精子機能は比較的保たれている

ものの精漿成分に異常あるため精子運動性に悪影響を及ぼしていると考えられる症例，両者が合併している症例と，様々な要因を有する症例が混在していることが示唆された。

6. ウシ体外受精卵子の発生における無血清培養系の検討

○宮本陽子，菅原七郎，松本浩道
(東北大畜産学)

(目的) 牛の受精卵子を体外で発生させる場合，一般的に血清添加培地で共培養を行い，胚盤胞にまで発生させる。しかし，卵子の発生に必要な物質代謝を正確に測定するには，既知の物質組織をもつ培地で発生させることが必要である。本研究では，エネルギー代謝を測定するための基礎研究として，無血清かつ非共培養系での単独胚の発生を検討した。

(方法) 体外成熟，体外受精は常法で行った。非共培養系では，受精48時間後に裸化し，修正TCM-199を基礎に2-メルカプトエタノール(2-ME)を添加し培養した。(実験1)無血清培養系の検討を行うために1)5%FCS添加で共培養(対照区)2)非共培養でME，FCS添加3)非共培養無血清でME，insulinおよびアミノ酸添加の条件で培養を行った。2)と3)のMEは50，100 μ Mとした。(実験2)培養液量の発生率に対する影響を検討した。培地はすべて50 μ M 2-MEを添加した。対照区は5%FCSを添加し，無血清区は，300，100および10 μ l培地中で卵子30，10および1個を培養し，成績を比較した。培養は39 $^{\circ}$ C，5%CO₂，95%airの条件で9日間行い，胚盤胞への発生率を検討した。実験2では細胞数も調べた。

(結果) 実験1で胚盤胞への発生率は7.0～13.8%で実験区間に有意な差はなかった。また，無血清区の添加2-MEの50 μ Mと100 μ Mでは50 μ Mの方が高い傾向が見られた。実験2の結果，10 μ l培養区で対照区と同等の発生率を示した。以上より，ウシ体外受精胚の無血清培地での培養が可能となった。

7. 卵胞の体外培養

○中原健次，河内谷敏，斎藤隆和
野原 理，斎藤英和，広井正彦
(山形大産婦)

(目的) 卵胞発育に対する卵胞刺激ホルモン(FSH)，成長ホルモン(GH)および一酸化炭素合成酵素阻害剤(L-NMMA)の影響を検討した。

(方法) 未刺激のB6C3F1マウス(3～4週齢)から卵巣を摘出し卵胞を取り出した。個々の卵胞をHam's

F-10+10%ヒト血清中で95%O₂，5%CO₂，37 $^{\circ}$ Cで4日間培養し，卵胞発育，透明帯形成，germinal vesicle形成およびestradiol産生について検討した。最終濃度はFSH 1 IU/ml，GH 25 mIU/ml，L-NMMA 10 $^{-6}$ Mであった。

(結果) 発育した(卵胞平均計で10%以上)卵胞の割合は，対照(C)群25%，L-NMMA(A)群で44%，FSH(B)群で77%，FSH+L-NMMA(D)群で67%，FSH+GH(E)群で78%であった。透明帯形成率はC群13%，A群33%，B群25%，D群67%，E群56%であった。germinal vesicle形成率はC群50%，A群78%，B群55%，D群83%，E群67%であった。estradiol濃度は，C群27.1 pg/ml，A群18.1 pg/ml，B群20.7 pg/ml，D群19.1 pg/ml，E群22.4 pg/mlであった。

8. Assisted hatching法の基礎的検討 —マウス胚におけるPZD，ZD，Zona thinning法の比較—

○矢沢浩之，柳田 薫，鈴木和夫
渡辺美佳，星 和彦，佐藤 章
(福島県立医大産婦)

体外受精由来の胚では透明帯の硬化に起因するhatchingの障害が低着床率の一因と考えられている。そこで種々の方法によるassisted hatchingが以後の胚発育に与える影響をマウス胚を用いて比較検討した。

用いた方法は，1)穿刺のみ，2)小切開，3)大切開，4)Zona drilling，5)部分的菲薄化，6)全周性菲薄化，の6通りを施行し，以後のhatching開始，完了の状態を観察した。それぞれの方法での72時間後のhatching完了率は，無処理のコントロールが13%，1)14%，2)2%，3)54%，4)56%，5)60%，6)57%であり，4)5)6)法が有効であった。PZD法では切開孔が小さいとほとんどの胚は途中でhatchingが停止した。また，AHAを4細胞期から桑実胚期のいずれの時期に施行しても同等の効果が得られた。さらに，AHAは，凍結融解胚に対しても有効であることが確認された。

9. 卵胞内精子注入法の有用性に関する検討

○横山良仁，藤井俊策，斎藤良治
(弘前大産婦)

(目的) 当科で施行した卵胞内精子注入法(DIFI法)の有効性と問題点を検討した。

(対象および方法) 対象は卵管・子宮不妊を除外した男性不妊14例29周期，免疫性不妊4例7周期，内膜症1例2周期，機能性不妊7例12周期計26例50

周期で、洗浄・濃縮精子を経腔超音波ガイド下に主席卵胞へ注入した。

(結果) 年齢は 33.3 ± 4.4 歳、原発性13例、続発性13例、不妊歴 5.9 ± 2.9 年であった。排卵誘発法は自然21周期、クロミフェン(CC)17周期、hMG10周期、CC+hMG2周期、注入精子濃度は男性因子 $7.7 \pm 7.8 \times 10^6/\text{ml}$ 、その他 $49.0 \pm 32.2 \times 10^6/\text{ml}$ であった。妊娠は2例に認められ、症例当り妊娠率7.7%、周期当り妊娠率4.0%であった。2例とも男性不妊症例で、どちらもhMGを使用した過排卵誘発を行なった。注入精子濃度は $0.1 \times 10^6/\text{ml}$ 、 $10 \times 10^6/\text{ml}$ であった。

(考察) DIFI法は特に男性不妊において有用で、過排卵刺激が有効と思われた。今後卵胞内注入の至適精子濃度の検討が必要と思われる。

10. 顕微授精法における高電圧パルス負荷の検討

○藤井俊策, 横山良仁, 斎藤良治

(弘前大産婦)

ヒト精子の囲卵腔注入(SUZI)を行ったハムスター卵における高電圧パルス負荷による精子侵入率の向上が、精子の先体反応の誘起によるものかを検討した。正常精液3検体を80%単層Percoll法で調整し、10%卵胞液、1mM progesterone、 $10 \mu\text{M Ca}^{++}$ ionophore A23187およびパルス負荷(1.5 kV/cm, 30 μsec)の処理精子それぞれについて、運動率、生存率、低浸透圧膨化試験、先体染色およびSUZIでのハムスターテストによる精子侵入率を比較した。卵胞液処理精子で先体反応率とハムスター卵侵入率がコントロールと比較して有意に高かった。

一方、パルス負荷精子では先体反応率が有意に増加し、ハムスター卵侵入率も高くなる傾向にあったが、運動率と生存率は卵胞液処理精子よりも有意に低かった。したがって、高電圧パルスは精子の先体反応促進効果よりも、卵もしくは両配偶子の融合に際して受精を促進する効果があると考えられた。

11. 着床時の子宮内膜に関与する臨床的パラメータの加齢に伴う変化について

○熊谷 仁, 児玉英也, 福田 淳

軽部裕子, 清水 靖, 佐藤広和

田中俊誠 (秋田大産婦)

(目的) 体外受精の治療では、加齢に伴い着床率が低下する現象が知られている。そこで、着床時の子宮内膜に関与する臨床的パラメータに加齢に伴う変化が認められるかを検討した。

(方法) 体外受精を施行した患者で、良好な形態

を有す受精卵を2~3個移植可能であった治療周期54周期を年齢でI群31歳以下(n=19)、II群32~35歳(n=15)、III群36歳以上(n=20)で分類し、黄体期中期の血中性ステロイド値(E_2 , P_4 , P_4/E_2)および超音波断層法による子宮内膜の厚さとエコーパターンを比較検討した。

(結果) 各群の妊娠率はI群58%、II群60%、III群25%であり、III群で有意に低下した。血清 E_2 , P_4 , P_4/E_2 、子宮内膜の厚さ、エコーパターンに差は認めなかった。

(結論) 加齢に伴い着床時の子宮内膜に関与する臨床的パラメータには特に変化は認められなかった。

12. hMGに対するlow responderのホルモン環境

○河内谷 敏, 野原 理, 斎藤隆和

中原健次, 斎藤英和, 広井正彦

(山形大産婦)

ゴナドトロピン療法に対する低反応性患者のホルモン値の推移を検討した。

(方法) 平成5年7月から平成6年5月までに当院で体外受精を行った282名の患者のうち採卵日までの日数が16日以上で成熟卵胞数が1個であったものを低反応群と定義した。それぞれ月経周期7日目、hCG投与日、採卵日、胚移植日、黄体期中期に血清 E_2 , P_4 , LH, FSH, PRLを測定し検討した。

(結果) 総成熟卵胞数を反映する E_2 値は、低反応群は対照群に比べすべての採卵時において有意に低値を示した。卵胞環境の一指標である E_2/P_4 は、採卵時までは低反応群が有意に低値であった。PRL値は E_2 値を反映して対照群が高値傾向にあった。LH, FSHは2群において有意差を認めなかった。

(考察) 低反応群の患者の過去の採卵数を検討すると、いかなる排卵誘発法を試みても採卵数の増加傾向はなく、このような症例では今後自然周期の利用も検討していきたい。

13. 不妊症治療(体外受精・胚移植)における胚移植数と多胎妊娠率

○高橋重智, 立花郁雄, 武田信好

青野展也, 飯田修一, 森 滋

鈴木雅洲 (スズキ病院)

体外受精において、妊娠率向上のために複数の胚を移植してきた。しかしその反面、多胎妊娠率の増加をもたらした。今回は、胚移植数と多胎妊娠率との相関について検討したので報告する。ただし、体

外受精による妊娠件数の中には、凍結受精卵および顕微授精卵の胚移植は除外した。

対象とした症例は、1986年11月より1994年6月の間に本病院で体外受精により妊娠した456例である。このうち、流産・子宮外妊娠・妊娠継続中の症例を除き、284件の出産につき、352名の児を得た。単胎：236例(83.1%)、双胎：43例(15.1%)、品胎：5例(1.8%)、4胎以上：0であった。胚移植数が2個の場合と3個の場合とについて妊娠率を比較すると、後者は前者に比し、有意に妊娠率が高かった。治療患者の年齢が20歳代、30歳代、40歳以上となるに従い、妊娠率は有意に低下した。30歳未満の婦人においては、30歳以上の婦人に比し、多胎妊娠発生の増加傾向がみられた。

14. 腹腔鏡下に手術した子宮間質部妊娠の1例

○古橋信之、松崎幸子、倉林由美代
河野秀昭、渡辺英子

(太田西ノ内病院産婦)

上野好美 (同 ME室)

近年、子宮外妊娠の診断および治療において、腹腔鏡下検査、手術手技は欠失のものと成りつつある。しかし、その施行に関しては患者の一般状態(出血性ショックの有無)、あるいは外妊の程度(未破裂、破裂)部位などにより限界があることはいえない。

今回我々は、ENDO-GIA-30を用いて腹腔鏡下に摘出術を施行した子宮間質部妊娠の症例を経験したので、その手術手技を中心にビデオにて供覧した。

内容；外妊病変は、子宮間質部から卵管狭部へかけての長計約5cmの未破裂例で、卵管狭部側よりENDO-GIA-30(blue)を2回かけ、子宮間質部をfreeにした後子宮側より患部にENDO-GIA-30(white)をかけ、把持切断した。摘出後、子宮側よりoozingを認めたが電気メスにて凝固、止血し得た。

15. Chlamydia感染症に対する骨盤内癒着剥離術

○舩山由有子、高橋 真、高山和人
戸澤秀夫、深谷孝夫、矢嶋 聰

(東北大産婦)

今回我々は、Chlamydia感染が原因と思われる骨盤内癒着をlaparoscopy下で剥離し、妊娠に至った症例を経験したのでビデオを供覧する。

症例は28歳、1妊0産。近医でHSG施行後hydrosalpinx疑いで、平成6年1月当科紹介受診。2月Chlamydia抗原・抗体検査でIgG陽性。5月laparoscopy施行した。右側腹部腹膜と腸管の間の膜

様癒着と膀胱子宮窩の癒着、子宮底部と大網のカーテン状癒着をYAGレーザーで切離し、出血はレーザーによる凝固およびエンドループで止血した。両側卵管はhydrosalpinxで、レーザーと鉗子による操作で開口し、周囲を反転させレーザー焼灼で固定した。ダグラスや卵管周囲に残った癒着もクーパー鉗子で除去した。

以上、3時間15分におよぶ癒着剥離術の結果、患者はlaparoscopy直後の月経を最後に妊娠し、現在経過順調である。

16. 当科における卵管角吻合術の検討

○菅原準一、陳 緯業、高屋りさ
吉田英宗、戸澤秀夫、深谷孝夫
矢嶋 聰 (東北大産婦)

今回我々は、当科にて過去10年間に施行した卵管角吻合術症例37例に関して、術前骨盤内所見、手術箇所と疎通性、妊娠率に関して検討を加えたので報告する。

手術症例37例中、追跡可能症例は28例であり、卵管角閉塞の推定原因としては、既往流産手術が最も多く16例であった。術後疎通性に関しては、骨盤内癒着のないものでは55.6%に疎通性を認めたが、高度のものでは71.4%の症例に再閉塞をみた。また角部のみの手術では42.3%に疎通性を認めたが、他部位の手術も施行した場合は、71.4%に再閉塞をみた。術後疎通性回復と妊娠率に関して卵管開口術症例57例と比較すると、開口術では85.0%に疎通性回復をみたが、そのうちの妊娠率は33.3%と低率であった。一方卵管角吻合術症例では、48.2%の症例に術後疎通性を認め、そのうち71.4%の症例に妊娠成立をみた。

以上の検討から骨盤内癒着の少ない若年症例では、積極的に手術療法を選択すべきだと考えられた。

17. 完全分離重複子宮の形成術後、妊娠継続し健児を得た1例

○高村郁世、西谷 巖 (岩手医大産婦)

子宮奇形は、自然流産をはじめ習慣性流産、あるいは不育症、胎児死亡の原因となることが知られている。

これに対する有効な治療法は、子宮形成術であるが、完全な重複子宮はその適応にはならなかった。我々は、拳児を熱望するにもかかわらず流産をくりかえしていた完全分離重複子宮症例に、子宮形成術を行った結果、36週まで妊娠を継続後、帝王切開に

よって健児を得た症例を経験したので報告する。

症例：30歳，2妊0産，26歳，重複子宮左側に妊娠し，妊娠9週で胎児死亡，子宮内容除去術を行った。28歳，右側子宮に妊娠，妊娠6週で不全流産となった。

子宮卵管造影所見から重複子宮と診断し，開腹手術を行った。子宮は重度の重複子宮で左右は完全に分離していたので，左右重複子宮の内側に子宮腔まで切開を加え，左右子宮体部を結節縫合癒合せせ，その後妊娠し妊娠36週0日まで妊娠継続し，帝王切開を行い，2760gの男児を娩出した。

18. 腹腔鏡下卵管開口術後に妊娠に至ったクラミジアPIDの不妊症例

○安斎 憲，木村博史，斉藤善雄
星 敬一，吉田仁秋

(竹田総合病院産婦)

症例は，25歳の原発性不妊症の患者でChlamidia trachomatis抗体IgA，IgGともに陽性であり，抗生剤投与後のHSG所見で両側のPFA，PTAを疑い腹腔鏡検査を実施した。両側の卵管はクラミジア特有の膜様物で被覆され，さらに子宮後面に癒着を認め，卵管采を確認できなかった。この癒着を腹腔鏡下に剥離し，卵管開口術を施行した。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たC. trachomatis抗体陽性者の治療には抗生剤投与のみでは不十分であり，早期の腹腔鏡検査が必要とされる場合もある。今回我々はC. trachomatis抗体陽性で腹腔鏡下に癒着剥離術および卵管開口術後に妊娠成立を来した症例を経験したので文献的考察を含めて報告した。

19. 当院での不妊診療を省みて 一挙児希望を主訴とした来院者について

○長池文康 (長池産婦人科)

昭和62年10月から平成6年6月までに不妊(挙児希望)を訴え来院した172名を対象とした。平均年齢は28.8歳(19歳から39歳)，不妊期間(結婚年数-避妊期間)は2.1年，2年までに58%，3年までに77%が来院している。164例のBBTでは70%が正常，無排卵17%，黄体機能不全11%，散発排卵4%であった。HSGは149例に行った。正常71%，一側卵管閉塞4%，両側閉塞3%，拡散不良6%，内腔異常3%であった。精液検査では48%に異常が見られた。妊娠を確認できたものは，排卵誘発例34例中14例(41%)，HSG後には149例中52例(35%)であった。HSG後で

は3か月以内に半数以上の28例が妊娠していた。予後は，出産・妊娠中45%，流産17%，転院・不明3%であった。

20. 誘起薬剤としてプロモクリプチンが強く疑われた過敏性肺炎の1例

○大井嗣和，佐藤由美，中川智佳子
大山さおり，結城道広，丹野治郎
朝野 晃，明城光三，和田裕一
森塚威次郎，高橋克幸

(国立仙台病院産婦)

薬剤性肺炎は，薬物の直接作用またはアレルギー性機序によって生ずる肺の障害である。今回我々は，過敏性肺炎の誘起薬剤として，プロモクリプチンが強く疑われた症例を経験したので報告する。

症例は32歳の女性，原発性不妊症を主訴として当科受診。高PRL血症に対して，プロモクリプチン2.5mgを連日投与したところ，一か月後に呼吸困難が出現。当院呼吸器科に緊急入院となった。入院後の呼吸機能検査では，拘束性障害，拡散障害および低酸素血症，胸部X線像では，両側下肺野にfibrosis様の陰影，肺門部のリンパ節腫脹を認めた。ステロイド剤を使用せずにプロモクリプチンを中止したところ症状は改善した。リンパ球刺激試験は陰性，等確診こそ得られなかったものの，本症状の誘起薬剤としてプロモクリプチンが強く疑われた。

なお，大量にプロモクリプチンを投与するパーキンソン病の患者では，プロモクリプチン投与に伴う胸膜肺疾患が数多く報告されている。

21. 卵管性不妊症における血清クラミジア抗体価と腹腔鏡所見の検討

○高山和人，船山由有子，寺田幸弘
深谷孝夫，矢嶋 聰 (東北産婦)

1993年10月より1994年3月まで当科および関連病院に不妊を主訴として受診した症例に対し，クラミジア抗体価の測定をセロイパライザ法を用いて行い，その中で腹腔鏡検査を施行し得た42症例につき，クラミジア抗体価と腹腔鏡所見との関係について検討した。

抗体の陽性例は，IgG陽性例は24例(57%)，IgA陽性例が18例(43%)であった。腹腔鏡にて正常所見を示した症例では21例中7例がIgG陽性であり，卵管閉塞あるいは卵管周囲癒着であった症例では13例中5例が陽性，さらに卵管留水症を示した11例ではすべての症例においてIgGが陽性であり，10例でIgG値

が3.0以上と高値であった。

クラミジア抗体価が高値である症例は、腹腔鏡において異常を認めることが多く、クラミジア抗体は卵管性不妊のリスクのスクリーニング、特に卵管留水症において有用と考えられた。

教 育 講 演

「人工授精の最近の考え方」

寺田幸弘(東北大産婦)

人工授精(以下AIH)は不妊治療上ポピュラーなテクニックであるが、その適応、成績は施設により様々である。当科における洗浄精子によるAIHの成績を中心に、その現状と今後の問題点を考察した。

AIHの適応について：各適応に対する有用性、特に男性不妊症に対するAIHの有用性を検討した。

AIHの方法について：精子の調整法、排卵誘発法、タイミングについて検討した。

精子運動能とAIHについて：原精液、回収精子それぞれの、精子数、運動率、精子運動能指数(SMEI)を妊娠周期と非妊娠周期で比較した。結果は妊娠周期で回収精子SMEIに有意に高値を認め、その他のパラメーターに差は認められなかった。

この結果より、AIH施行時には回収精子の運動性に注目すべきことが明らかになった。

特 別 講 演

「卵管性不妊の外科的治療」

河上征治(藤田保健衛生大産婦)

不妊治療はまず原因の検索が第一義であり、それによって診断し得た病態を保存的に治療可能であればそれにこしたことはない。

しかし器質的な卵管閉塞や子宮内腔異常は手術療法の選択とその時期を失してはならない。

女性不妊因子の中で、排卵障害に対しては排卵誘発剤(hMG, pure FSH, hCG, Bromocriptineなど)が次々と開発され、ほとんど例外なしに非手術的に治療されているが、卵管および子宮の器質的異常に対しては、依然として手術療法の主流である。いわゆる機能性不妊や保存手術の適応から除外された卵管障害例にはIVFが選択され、福音を示し、現在では不妊症の切り札的存在となってきている。

しかし自然受精による妊娠成立を期待できる医学的対策を捨て去ってまで、不妊症の治療がただちにIVFの選択ではない。

今回は不妊症の手術対応、特に卵管性不妊の外科的治療について、Traditional methodをもとに年々改良されてきている術前検査、現時点での手術適応の考え方、術式(マイクロサージェリー、腹腔鏡下手術)を確認してみたい。

1) 卵管機能検査の充実としては、Kimographic Hysterosalpingography、にてスクリーニング検査をすると客観的な子宮卵管の器質的異常のチェックが可能なこと。次にSalpingo Scopeによる卵管内腔の観察所見とendosalpinxのciliated, secretory cellの構築の相関性が確認されつつあることを解説した。

2) 子宮卵管角部が完全に閉塞している例、卵管留水症が卵管全長に波及している例、卵管内腔閉塞および周囲癒着が重篤で、平常な卵管が4 cm以上温存不可能な例は卵管形成術から除外、その他の卵管障害は卵管口形成術、卵管端に吻合術、卵管角部、卵管吻合術を施行する意義が十分に存在すること。

3) 卵管内視鏡を内蔵した微細バルンカテーテルやLaparoscopic、またはhysteroscopicな内視鏡下の卵管再疎通術、卵管周囲癒着剝離術、卵管妊娠の保存的治療、卵管開口術などが積極的に施行される時代となってきている現況と実際を解説した。

以上不妊症に対する手術療法の術前検査を充実させて症例をいかに厳選するかを強調した。しかも手術浸襲を少なくし、患者の肉体的、経済的負担の軽減も重要であることも付加した。

第39回 日本不妊学会九州支部会

日 時：1994年11月20日(日)9時～

会 場：鹿児島市「城山観光ホテル」

1. Resectoscopeにて削除した後に妊娠に至った粘膜炎下筋腫の一例

○岡村佳則、松村小百合、宮村伸一
福島泰斗、市丸俊三、清田祐史

(熊本赤十字病院産婦)

近年内視鏡検査は診断のみならず、手術操作を目的として行われる場合も多くなり、粘膜炎下筋腫に対してもこれを内視鏡下に切除した報告もされるようになった。我々も拳児希望のある患者に対して泌尿器科が用いるTURセットを使用して筋腫を切除したところ、経過は順調で程なく妊娠に至った症例を経験した。

症例は31歳、結婚後約1年3か月の未妊妊婦人であり、以前から過多月経であったが、平成5年7月

21日に会社の健康診断で血色素量7.6 g/dl高度の貧血を指摘された。前医で子宮筋腫の診断を受け、貧血の治療とともにダナゾールを10月末より服用していたが出血は続き、腫瘤の縮小もはっきりしなため12月10日に当科を受診した。血色素量10.1 g/dlと貧血は改善中であったが、子宮は鷲卵大で子宮口は一指を通じ、小鶏卵大の粘膜下筋腫があると思われた。精査をしつつ、12月20日から酢酸ブセレリン900 μ g/dayを18週間投与した。出血は減少したが完全に止血するには至らず、腫瘤の縮小もはっきりしなかった。平成6年4月27日にresectoscope下で筋腫組織を約55 g削除した。筋腫は子宮底部中央より発生したものであり、術中の出血は僅少であった。術後子宮は次第に正常大となり、不正性器出血や過多月経は消失した。術後3周期目の7月4日より6日間の月経を最後に妊娠が成立し継続中である。

Resectoscopeは手術の侵襲も少なく、粘膜下筋腫の処置にもっと繁用すべきものと思われる。

2. 当科における子宮外妊娠に対する腹腔鏡下治療の変遷

○松本ゆみ, 岩坂 剛, 杉森 甫
(佐賀医大産婦)

(目的) 当科における子宮外妊娠腹腔鏡下治療の変遷を振り返り、個々の症例に応じた最良の治療法について考察した。

(対象) 1990年5月～1994年9月までに子宮外妊娠の診断で腹腔鏡を施行した58例のうち、腹腔鏡から引き続き開腹手術を行った9例を除く49例(診断のみで後にMTX全身投与6例, MTX局注8例, 卵管切開術14例, 血腫除去術13例, 卵管切除術5例, 腹腔鏡時確定診断不可3例)。

(結果) 未破裂卵管血腫症例に対する卵管温存術として、1990年5月からはMTX全身投与を、1991年5月からはMTX局所注入を、1992年11月からは卵管切開術を選択してきた。また、1993年12月から自動縫合器(ENDO GIA)を使用した卵管切除術も行っている。MTX全身投与6例中2例が後に破裂して、開腹手術を要した。MTX局注8例中1例は、尿中hCG低下不良のため再度腹腔鏡を行い、卵管切開術を施行した。また、術後8例中3例が妊娠したが、いずれもIVF-ETによるものであった。卵管切開術14例中5例はtrophoblast残存を疑い、術後MTX全身投与を行った。14例中4例が妊娠し、2例がAIH 2例が自然妊娠であった。しかし、2例は同側卵管に子宮外妊

娠を繰り返し、腹腔鏡下卵管切除術を施行した。卵管切除術では、全例が術後3、4日で退院した。

(考察) 未破裂卵管血腫症例に対しては、卵管切開術が最も利点が多いと思われた。しかし、MTX療法の追加を要したり、外妊を繰り返した症例もあり、今後症例を重ねさらに詳細な検討を加える必要がある。卵管切除術は不妊を主訴としない子宮外妊娠患者にも利点が多いと思われた。

3. 卵管形成術後に妊娠が成立し、分娩に至った先天性両側卵管膨大部欠損症

○河野哲郎, 松浦講平, 鄭 俊明
田中信幸, 宮崎康二, 岡村 均

(熊本大産婦)

女性不妊の一因となる卵管通過障害の多くは骨盤内感染症や骨盤内手術の後遺症によるもので、先天性によるものは極めてまれである。今回我々は、卵管形成術後に妊娠が成立し、分娩に至った先天性卵管膨大部欠損症の症例を経験したので報告する。

症例は30歳の原発不妊のバングラディッシュ留学生で、不妊期間は4年7か月である。骨盤内感染症や開腹術の既往はなく、母国での不妊治療の際、腹腔鏡検査で両側卵管閉塞を指摘されていた。1993年1月に来日し、3月24日拳児希望を主訴に当科を受診した。外来検査所見は基礎体温表は2相性、血中クラミジア抗体は陰性で、HSGで両側卵管閉塞が認められたため、5月26日卵管形成術目的で当科入院となり、6月1日開腹術を施行した。開腹時所見は、右卵管は卵管采に連続する膨大部が約1 cmにわたって欠損し索状となり、この部に一致して直径3 cmの傍卵管嚢腫を認めた。左卵管は膨大部中央が長さ1 cmにわたって欠損し索状となっていたが、その他の骨盤内臓器に異常はなかった。右卵管は卵管采および膨大部の一部を切除して開口術を施行し、左卵管は膨大部の中央の索状組織を切除して膨大部-膨大部端々吻合術を施行した。切除した卵管膨大部は正常卵管上皮を有し、血管を含む索状の結合組織と連続していたが、炎症細胞の浸潤は認めなかった。本症例は術後3か月日のクロミフェン周期で妊娠し、帰国後、1994年5月8日(妊娠38週1日)帝王切開術にて2600 gの男児を出産した。本症例は骨盤内手術の既往がなく、開腹時卵管以外の骨盤内臓器に異常を認めず、さらに摘出組織の病理学的検討で炎症所見を認めなかったことより、極めてまれな先天性卵管膨大部欠損症と考えられた。

4. 私の試みてきた卵管形成術とその考察

○池田友信

(池田友信医院)

この十数年間の Assisted reproductive technology (ART) の発展には確かに目をみはるものがある。私は、かつて Sherman が閉経期前の女性は一時的に卵胞期が短縮しがちという事実と理論を報告する前後 (1976) に、もっと若年層の不妊婦人の中にも同様なパターンも有する症例があることを知り、これを「過短卵胞周期症 (仮称) 不妊」と名付け、第22回日本不妊学会総会 (1977)、第30回日本産科婦人科学会総会 (1978) などで報告したところ、大きな反響、反論を招いたことがあった。それから20年近くを経た今日、ARTの進歩によって“early luteinization”, “anovulatory luteinization”, “ovulation of immature ovum” などごくありふれた現象として説明されるに至った。

しかし、その一方、ARTにより受精後受精卵が着床に至るまでの過程で、卵管のしめる役割 (in vivo) は大きく、IVF-ET など (in vitro)、この点についての培養条件はなおほど遠いものであり、後者の低着床率さらに着床後の高流産率があることを示唆している。受精・着床学発展の面で多くの足跡を築き残してきた体外受精などARTによる診療の多くはなお健保の面からみると一般的でないといえ、給付外である。大学を辞し、日常診療に徹してきた私は、卵管の残された優位性に着目し、この10年余り、ただひたすらに卵管形成術の検討を試みてきた。そのコツは術後再癒着防止がすべてであり、この点につき述べたい。

5. 多嚢胞性卵巣無排卵症例における卵巣レーザー蒸散による治療成績

○中山美奈子, 佐久川政男, 上原清昇

佐久本哲郎, 金城忠雄

(沖縄県立那覇病院)

近年多嚢胞性卵巣 (PCO) に対する治療法としてクロミフェン無効例やhMG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、腹腔鏡下の卵巣電気焼灼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患者に腹腔鏡下に炭酸ガスまたはNd: YAGレーザーにて卵巣蒸散術を施行し、排卵率、妊娠率について検討したので報告する。

PCOの診断は1) 月経異常, 男化徴候 2) LH/FSH > 1, 男性ホルモン高値 3) 経陰超音波での卵巣内の多嚢胞像が認められるものとした。5例ともすべ

てクロミフェンに抵抗性であり、3例はhMG療法でOHSSの既往があった。術後の自然排卵は2例にみられたが、その有効周期は1~2周期と短かった。しかしながら全例クロミフェン+プレドニゾロンの内服治療で排卵が認められた。

妊娠は3~9周期以内に5例中4例が成立し、すべて単胎妊娠であった。いずれも分娩し、生児を得ている。

本法はPCO患者での多胎発生、OHSSの発生をさけられる可能性があり、有用と思われる。

6. Rokitansky-Kuster-Hauser症候群に対する Davydov造腔術

○中村佐知子, 伊集院博文, 大西英資

沖 利通, 山元慎一, 堂地 勉

永田行博

(鹿児島大産婦)

Rokitansky-Kuster-Hauser症候群は日常診療中、まれに遭遇する疾患である。今回我々は、腹膜を用いたDavydov造腔術を行った症例を経験したので報告する。

症例は19歳、学生。原発生無月経で来院。乳房、恥毛はTanner 4型で体型は女性型。外陰部は膣入口を認めなかった。1994年8月8日、腹腔鏡で骨盤内を確認。正常卵巣と母指頭大の双角子宮様の痕跡子宮を認めた。次に、膣入口部にメスにて切開を加え、用手的、鈍的に腔腔を形成し、腹腔鏡の光源を目標として腹膜を切開した。腹膜を膣入口まで伸展させ、全周性に縫合した。さらに、プロテーゼを膣より挿入し、膣の天井となる腹膜を腹腔鏡で縫合しようと試みたが、容易でなかった。結局、Pfannenstielで開腹し、腹膜を縫合し、手術を終了した。手術後は経過順調で術後1週目よりプロテーゼ自己管理できるようになり、2週目に退院となった。Davydov造腔術は婦人科医だけで手術可能であり、侵襲も少なく、良い術式である。

7. 挙児希望で来院した初診患者の臨床的考察

○中村雅弘, 榎園祐治, 儀保善英

四宮大乗

(愛育病院)

平成6年1月から8月までの挙児希望にて来院した初診患者は、166名であった。

9月の調査で脱落者35名、経過観察の指示をした者13名、IVFのみの依頼13名、妊娠20名であった。不妊治療の最終目的が、母児共に健康であるということを考え、初診時には婦人科検診・血圧・検尿などを行い、詳細な病歴を聴くと同時に、患者の同意

を得たうえで妊娠初期検査を行っている。これは、全妊婦に妊娠初期に行っている、梅毒・風疹抗体など、10項目からの検査で、他院からのIVF依頼13名と他に4名を除き、149名に施行した。

また、体重測定も行い、特に肥満度の大きい者は、まず栄養相談を受けてもらうようにしている。運動を通常に行っているか否かも同時にチェックしている。

病歴・検査などを検討した結果、妊娠中に注意すべき病歴などのあった者56名、不妊原因の参考とすべき病歴などのあった者62名であった。上記の患者を含め、注意すべき病歴などのあった者は、体重異常の者を除いても34種類、述べ165件にのぼった。

以上より、挙児希望で来院した患者の場合、特に初診時に妊娠を前提とした病歴・検査を考えることが必要と思われた。

8. PCO症候群と糖代謝異常の関連について

○松田貴雄, 有馬隆博, 加藤聖子
村瀬隆之, 八谷俊朗, 坂本隆子
和氣徳夫 (九州大生体防御医学研)

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)は月経異常、不妊、多毛、肥満などの臨床症状、卵巣多嚢胞性変化、内分泌異常を主徴とする疾患であるが、その原因はいまだ解明されていない。PCOS患者は、糖代謝異常を有するとの報告があり、インスリン抵抗性糖尿病患者にPCOSが高率に合併するということが報告されている。近年、特に家族性に発症するPCOSの原因遺伝子としてインスリン受容体遺伝子変異との関連が注目されている。

今回我々は、超音波検査、内分泌学的検査にて臨床的にPCOSと診断された患者で経口糖負荷試験(75g OGTT)を施行して、PCOSと耐糖能異常の関連について検討した。

さらに家族性に糖代謝異常を有する高インスリン血症の家系より、PCOS患者および同胞、両親の末梢白血球よりDNAを抽出し、インスリン受容体遺伝子の構造異常に関して検索を行い、制限酵素断片長多型(RELP)による解析を行ったので報告する。

9. 子宮体癌を合併したHAIR-AN症候群の一例

○小川信二, 井上善仁, 古恵良桂子
橋本和法, 野崎雅裕, 佐野正敏
中野仁雄 (九州大産婦)

高アンドロゲン血症、インスリン抵抗症、黒色表皮症を三徴とするHAIR-AN症候群には多嚢胞卵巣を

合併することが知られている。今回我々はHAIR-AN症候群に若年性子宮体癌を合併した症例を経験したので報告する。

症例は23歳、経妊0経産0、主訴は過多月経であった。初潮は11歳で、月経は整順であったが18歳より不順となり、平成4年、21歳時に過多月経のため当科を初診した。この時境界型糖尿病、黒色表皮症、高プロラクチン血症を指摘され、また子宮内膜組織診で腺腫性増殖症と診断された。以後子宮内膜増殖症に対してダナゾール療法、Gn-RHアナログ療法を施行されたが、平成5年7月の内膜組織診で異型増殖症例であったため再度当科へ入院となった。

理学所見では身長160cm、体重92kgと著明な肥満を認め、また多毛も認められた。内分泌学的検査ではLH-RH-TRHテストで前値はLH 7.3 mU/ml、FSH 6.1 mU/ml、30分値はLH 24.3 mU/ml、FSH 9.7 mU/mlで、プロラクチン値は正常であった。エストロゲン分画では、 $E_1 > E_2$ であり、またDHEA-S、アンドロステンディオン、テストステロンはいずれも高値であった。75g糖負荷試験では血糖値は正常型であったが、IRI (immuno-reactive insulin) は高値で高インスリン血症、インスリンの過剰反応を示していた。

以上の検査所見よりHAIR-AN症候群と診断した。入院後の内膜組織診で子宮内膜腺癌(G2)が確認され単純子宮全摘術、両側付属器切除術、骨盤リンパ節郭清および傍大動脈リンパ節生検を施行した。両側卵巣は組織学的に多嚢胞卵巣の像を示した。

10. 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経験

○水谷 洋, 島田 清, 鏡 輝雄
(熊本労災病院)

Gonadotropin (hMG-hCG) 療法は排卵障害婦人に対する不妊治療として汎用されているが、卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の発症が問題となり、その治療に苦慮する例も見られる。今回、hMG-hCG療法施行後に、重症のOHSSを発症した症例に対し、低用量のドーパミン療法を施行する機会を得たので若干の文献的考察を加え報告する。

症例は33歳、Gonadotropin療法にて第1子を得た既往のある連続不妊婦人で、第1度無月経症例である。平成6年5月21日から7日間の消退出後、clomiphene-bromocryptine-hMG-hCG療法を施行したところ、hCG投与後より腹部膨満感を自覚するようになり、6月14日：周期25日目にて右側卵巣 15×7.5 cm、左側卵巣 12×6.4 cmと腫大し、腹水貯留を伴って来院した。

入院時のHt値は41.7%で、1500 ml/日の輸液療法を開始した。周期28日目にはHt: 32.5%と一時改善傾向を示したが、周期30日目より再び腹部膨満感、腹痛、全身倦怠感が増悪し尿量も450 ml/日と減少した。周期31日目にはHt: 48.8%となったため、同日より低用量のドーパミン療法(3 γ /kg/min)を開始した。その後、Ht値は比較的速やかに低下したが、他の症状は改善がなかなか見られず、最終的に18日間の低用量ドーパミン療法を必要とした。本症例は周期34日目に尿中hCG陽性となり妊娠成立が確認され、双胎妊娠であった。OHSSに対する低用量ドーパミンは有効と考えられた。

11. 配偶子卵管内移植法(GIFT)後の子宮内外同時妊娠の一例

○大西淳仁, 戸枝通保, 西内伸輔
永井義雄, 小池弘幸, 池ノ上 克
(宮崎医科大産婦)

子宮内外同時妊娠は自然妊娠では非常にまれであるが、Assisted reproductive technologyでは発生頻度が有意に増加する。特に、体外受精-胚移植(IVF-ET)後の子宮内外同時妊娠は過去にも報告があるが、今回我々は配偶子卵管内移植法(GIFT)後、経陰超音波断層法にて子宮内外同時妊娠の診断に至り、外科的処置後に子宮内妊娠の継続に成功した1症例を経験したので報告する。

(症例) 36歳, 2経妊0経産。20歳時に人工妊娠中絶の既往。33歳時、現在の夫と再婚。以後、避妊せずに妊娠に至らないため、近医にて不妊治療を開始。35歳時に妊娠するも子宮外妊娠のため左卵管切除術を受ける。以後も数院での不妊治療の後、当院にて排卵誘発を行い、平成6年7月25日前医にて配偶子卵管内移植法(GIFT)を受ける。配偶子卵管内移植法(GIFT)後12日目にtest pack陽性となり妊娠を確認するも、経陰超音波断層法にてGSは認めなかった。妊娠4週5日子宮内にGSを確認し、妊娠5週3日GSを2個確認し胎芽心拍も認めた。妊娠5週5日より暗褐色の外性器出血を認め自宅安静となるが、妊娠6週6日右下腹部痛を認め、当科外来を受診。経陰超音波断層法にて子宮外に胎芽心拍を認めるGSを確認し、右卵管妊娠を合併した子宮内外同時に妊娠と診断し、緊急開腹にて右卵管切除術を施行した。術後は特に切迫流産の兆候も認めず、現在のところ順調な妊娠経過である。

(まとめ) 配偶子卵管内移植法(GIFT)後の子宮外妊娠は、体外受精-胚移植(IVF-ET)後のそれに比し

て頻度は少ないが、これらの治療を行っていく上で子宮内外同時妊娠の可能性についても患者に十分に説明を行っておく必要性があると考えられた。

12. long protocol法による卵巣刺激開始直前のFSH/LH比と体外受精治療成績との関連について

○山下隆則, 松脇隆博, 吉田正雄
藤下 晃, 河野雅洋, 石丸忠之
山辺 徹 (長崎大産婦)

(目的) long protocol法による下垂体脱感作までの期間および卵巣刺激開始前の血中LH, FSH濃度と体外受精・胚移植治療成績との関連についてretrospectiveに検討した。

(対象および方法) 平成6年1月より7月までの期間、long protocol法にて卵巣刺激を行った体外受精・胚移植治療35周期を対象とした。月経周期3日よりGnRH analogue (GnRH α)としてBuserelin 900 μ g/dayを点鼻にて投与し、1週間ごとに血中Estradiol (E₂), Progesterone (P), LH, FSHを測定し、E₂が30 pg/ml以下になり、また超音波断層法にて子宮内膜の肥厚および卵胞の存在を認めない時、pure FSHによる卵巣刺激を開始した。GnRH α 開始から卵巣刺激開始までの期間、卵巣刺激直前の血中LHおよびFSH濃度について妊娠例と非妊娠例に分け比較検討した。

(結果) 妊娠例におけるGnRH α 開始から卵巣刺激開始までの期間は平均27日、卵巣刺激開始直前のLH, FSHおよびFSH/LHは、それぞれ2.3 IU/l, 3.48, 採卵数は平均7.3個であった。非妊娠例においてはそれぞれ31日, 1.5 IU/l, 5.9 IU/l, 5.06および4.9個であった。

(結論) 下垂体脱感作状態でのFSH/LH比は卵巣のFSH/hMGに対する反応性を予測する上で有用であると思われる。

13. 卵胞液中のPAF-acetylhydrolase活性とIVF-ETの予後

○植原久司, 田中雄一郎, 松井尚彦
河野康志, 宮川勇生 (大分医大産婦)

(目的) Platelet-activating factor (PAF)は、強い生物活性を持つ脂質メディエーターで、排卵、着床など数多くの生殖機構に関与している。血中や組織中のPAF濃度は、これを不活性化する酵素、PAF-acetylhydrolase (PAF-AH)によって厳密に制御されている。

PAFの卵成熟や排卵における役割を明らかにすることを目的として、IVF-ETの際の卵胞液中PAF-AH

活性を測定し、その値とIVF-ETの予後について、また、卵胞液中PAF-AH活性を制御する因子について検討した。

(方法) 卵管因子を主因とする患者 (n = 30) のIVF-ETの採卵時に卵胞液を採取し、卵胞液中PAF-AH活性をMiwaらの方法によって測定した。また、卵胞液中のestradiol 17-β (E₂) およびprogesterone (P₄) をRIAで測定した。

(成績) 妊娠の成立した群 (n = 8) の卵胞液中PAF-AH活性、不成立群 (n = 22) に比べて有意 (P < 0.01) に減少していた。卵胞液中PAF-AH活性は、卵胞中E₂の濃度と弱い負の相関 (n = 30, r = -0.374, P < 0.05) を示したが、卵胞液中P₄の濃度との有意な相関は認められなかった。

(結論) IVF-ETにおける妊娠群では、卵胞液中のPAF-AH活性は非妊娠群に比較して低下していることが示された。そのPAF-AH活性の低下には、E₂がP₄に比較してより大きく関与していることが考えられた。卵胞液中PAF-AH活性は、IVF-ETの予後(妊娠成立)の指標となるかもしれない。

14. 採卵数15個以上のhigh responderの体外受精成績良好例と不良例の比較

○永吉 基, 田中 温, 粟田松一郎
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 (セントマザー産婦人科医院)

(目的) GnRHアナログ(スプレキュア)を使用したShort法において、採卵数が15個以上になったhigh responder症例を、分割などの良好例と不良例の2群に分け、年齢、hMG量、受精率、分割率、妊娠率などを比較検討した。

(対象) 平成6年6月に、月経周期初日よりGnRHアナログを使用し、3日目よりhMGなどを注射するShort法において、採卵数が15個以上のものを対象とした。

(結果) 良好例は31.2 ± 3.8歳、不良例は32.9 ± 3.4歳で、受精数は、良好例は18.6 ± 6.3個、不良例は17.6 ± 5.0個、分割数は、良好例13.3 ± 4.3個、不良例4.7 ± 5.2個であった。受精数では、有意差が認められなかったが、分割数では有意差が認められた。また、妊娠率では、良好例が44%に対し、不良例では12%であった。

(結論) 採卵数が15個以上のhigh responder症例では分割などの良好例と不良例の2群に大別でき、今回の検討では、E₂, P(プロゲステロン)値単独での

有意差は認められなかったが、何らかの2群に分類する指標が存在すると思われる。

15. 不妊症を主訴に受診した腎・精巣上体結核の1症例

○川原和也, 川原元司, 吉富孝之
後藤俊弘, 大井好忠 (鹿児島大泌尿器)

最近1年間の当科における男子不妊症の外来患者数は75例で、その主な内訳では乏精子症42例(58.3%)、無精子症(27.8%)、類宦官症4例(5.6%)である。

症例は男子不妊を主訴に外来を受診した33歳男性で、精液検査の結果無精子症と診断され、触診にて右精管欠損、左精管精嚢造影にて精管の完全閉塞が認められた。精巣の組織学的検査ではmature arrestと診断されたが、内分泌学的には正常であった。尿沈渣にて膿尿が認められたため尿路結核を疑い、尿中結核菌培養を提出したところ8週後判定で陽性であった。精巣生検の際両側の精巣上体の腫大と陰嚢部の瘻孔が認められ、排泄性尿路造影では左腎結核による腎杯の変形も認められた。INH, PAS, RFPの3剤併用療法の後左精巣上体摘除術を施行し、病理組織検査にて結核性精巣上体炎と診断された。肺病巣は認められなかった。家族歴から幼児期における父親からの感染後不顕性結核のまま成人し、性活動期に結核性精巣上体炎による精管閉塞を来とし、無精子症のため男子不妊となったまれな症例と考えられた。また我々は白色家兎を用いて黄色ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌による実験的精巣上体炎モデルを作成し、長期観察により病理組織学的に精巣萎縮を認め造精能の低下を証明しえたので今回の症例と合わせて報告する。

16. カリクレイン投与が有効であった男性不妊の2例

○布施正樹, 石丸忠之, 山辺 徹
(長崎大産婦)

我々は精子妊娠能判定法として、sperm survival test (SST)を開発し臨床応用している。すなわち、一般的精液所見にかかわらずSST 36時間陽性なら精子妊娠能は良好であり、36時間陰性なら不良であると報告してきた。今回、SST結果不良のため、カリクレイン投与し、SST結果良好となり自然妊娠した2例を経験したので報告する。

症例1は、29歳未妊婦で不妊のため1993年4月初診。婦人科学的検査所見ではPCO症候群を示した以外は異常所見はなかった。精液所見は精子数2.8×

10%/ml, 運動率21.4%および奇形率42.9%で, SST結果は12時間陽性で不良であった. そこでカリクレイン150 IU/日を投与しAIHを施行することとした. AIH 2回施行時の精液所見はそれぞれ精子数 5.7×10^6 /ml, 運動率12.3%, 奇形率59.6%, 7.2×10^6 /ml, 5.6%および55.6%であった. カリクレイン投与4か月後, 精液所見は精子数 9×10^6 /ml, 運動率44.4%および奇形率44.4%で, SST結果は36時間陽性と良好であった. そこで自然妊娠可能と判定し, 排卵日の推定を行い, その周期に妊娠した.

症例2は32歳未妊婦で, 1993年5月初診. 婦人科学的検査所見は特に異常なし. 精液所見は精子数 110×10^6 /ml, 運動率22.8%および奇形率27.3%で, SST結果は12時間陽性で不良であった. そこでカリクレイン150 IU/日を投与しAIHを施行した. AIH 2回施行時の精液所見はそれぞれ精子数 34×10^6 /ml, 運動率47.1%, 奇形率35.3%, 76×10^6 /ml, 15.8%および52.6%であった. カリクレイン投与4か月後の精液所見は精子数 260×10^6 /ml, 運動率30.8%および奇形率38.5%でSST結果は36時間陽性で良好であった. そこで排卵日の推定を行い, その周期に自然妊娠した.

17. 当科におけるAIHの治療成績 —有用性と治療限界に関する検討—

○榊原智子, 本庄 考, 馬渡秀仁
 新堂昌文, 櫻井景紀, 池田景子
 原田啓之, 松本信一郎, 詠田由美
 白川光一 (福岡大産婦)
 吉満陽孝 (よしみつ婦人科クリニック)

(目的) 当科不妊外来にて, AIH治療を受けた132例(男性因子62例, 頸管因子33例, 原因不明不妊37例)の妊娠転帰を解析し, AIHの有用性と治療限界を検討した.

(方法) HSGにて卵管通過性の有無を確認後, AIH治療周期には, 全例, clomipheneあるいはhMG製剤による卵胞発育促進を行った. 平均卵胞径18~20mmでhCGを投与し, 翌日にAIHを施行した. 精液調整には, 精子洗浄法あるいはPercoll Cushion変法を使用した. AIH妊娠例を, AIH治療のみで妊娠成立群(I群), 腹腔鏡検査後あるいは内膜症治療後にAIHで妊娠成立群(II群)の2群に分けて検討した. また, AIH不成功例では, その後の治療法について検討した.

(結果) 132例中29例(I群:13例, II群:16例)

に妊娠が成立し, AIHの対症例妊娠率は22%, 適応別妊娠率は, 男性因子19%, 頸管因子36%, 原因不明14%であった. AIHの治療回数別累積妊娠率は, I群ではAIH4回目で90%であったのに対し, II群では2回目で90%に達した. AIH不成功例103例中35例に体外受精を施行したが, 14例(男性因子7例, 頸管因子2例, 原因不明不妊5例)は未受精であった. また, AIH不成功例103例中24例が他の治療で妊娠し, その妊娠に至った治療の内訳は, 体外受精・胚移植6例, 薬物療法10例, 癒着剥離術後1例, 無治療7例であった.

(考察) AIHは不妊治療として有用な方法と考えられるが, AIH治療を重ねても妊娠に至らない場合には, より詳細な他の不妊因子の検索が必要であると思われた.

18. 当院におけるICSIを用いたARTの新たな展開について

○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 (セントマザー産婦人科医院)

当院は開院5年目に入っているが, これまでに数多くのARTによる妊娠が報告されている反面, 何度挑戦しながらも, 精子の問題や精子と卵子との受精障害が原因で, 受精・分割に至らず, 失敗してきた症例も多い. 現在は顕微授精法による妊娠率が安定し, 卵管因子による不妊症例にも肩を並べるほどにまでなった. とりわけ, 究極の顕微授精法ともいわれたICSIに関しては, 受精率65%, 分割率47%, 妊娠率24%になった. また, さまざまな理由で射出精子の得られない症例に対する精巢上体精子採取法についても, 微量凍結法の確率とICSIとの併用によって, わずか1回の手術でART10周期分の精子を確保・治療が行われ, 効果を上げている. さらに, ICSIで受精した卵を翌日腹腔鏡下に卵管内へ戻すZIFT法による妊娠率も30%を越えている. また, 従来の体外受精ではfragmentationを起こしていない4分割卵がないと妊娠の確立は低かったが, ICSI症例では2分割やfragmentationした割球でもかなり良好な妊娠率が得られている. microinjectionによる透明帯穿刺がassisted hatchingの役割をしているのか, あるいはそれ以外の何らかの機序の関与の可能性が考えられた.

関連学会のお知らせ

第13回 日本受精着床学会

第13回日本受精着床学会を下記の通りに開催いたしますので、奮ってご参加下さい。

記

I 期日：平成7年7月6日(木)，7日(金)

II 会場：京王プラザホテル 新宿区西新宿2-2-1 TEL 03-3344-0111

III 主要プログラム：

1) 理事長講演「生殖技術の進歩と展望」

座長：飯塚理八(慶応大名誉教授)

演者：入谷 明(近畿大生物理工学部教授)

2) 特別講演「Are estrogens of import to primate/human folliculogenesis? a hypothesis revisited」

座長：武谷雄二(東京大産婦人科教授)

演者：Eli Y.Adashi(メリーランド大産婦人科教授)

3) シンポジウム I 「多胎発生の予防とその対策」

座長：青野敏博(徳島大産婦人科教授)

低用量FSH療法

安藤一道(群馬大産婦)

FSH-GnRHパルス療法による単一排卵誘発の試み

桑原 章(徳島大産婦)

ヒト体外受精・胚移植における着床率向上のための基礎的検討

後藤康夫(京成大産婦)

hMG律動的皮下投与法

神野正雄(杏林大産婦)

シンポジウム II 「多胎妊娠に対する減数手術をめぐって」

座長：広井正彦(山形大産婦人科教授)

法律家の立場から

中谷瑾子(慶応大名誉教授)

減数手術の実際

根津八紘(諏訪マタニティークリニック)

ジャーナリストの立場から

藤田真一(元朝日新聞編集委員)

本邦における多胎への対応の現況

矢内原 巧(昭和大産婦人科教授)

世界における減数手術の現況

我妻 堯(国立国際医療センター)

追加発言

坂元正一(東京大名誉教授)

飯塚理八(慶応大学教授)

4) ハイライトセッション「配偶子，受精卵，初期胚をめぐるニューテクノロジー」

座長：森 崇英(京成大産婦人科教授)

卵胞発育・閉鎖における局所調節因子としてのGnRHの役割

矢野 哲(東京大産婦)

配偶子，受精卵の遺伝子診断

末岡 浩(慶応大産婦)

初期胚の遺伝子診断

鈴森 薫(名古屋市大産婦)

事務局：〒181東京都三鷹市新川6-20-2

杏林大学医学部産婦人科教室内

第13回日本受精着床学会事務局

TEL 0422-47-5511(内2538) FAX 0422-47-3177

会 長

中 村 幸 雄(杏林大学医学部産婦人科)

第14回 日本アンドロロジー学会

第14回日本アンドロロジー学会学術集会を下記の通り開催いたしますので奮ってご参加下さいますようお願い申し上げます。

I 会期：平成7年7月15日(土)・16日(日)

II 会場：コクヨホール

〒142 東京都港区港南1-8-35 TEL 03-3450-3712

III 主要プログラム

1) 特別講演

「精巣におけるアスパラギン合成酵素の局在とその役割」

竹田 稔(昭和大学医学部第一生化学教室)

「精細胞による顕微授精および産子の産出—実験動物をモデルとして」

小倉淳郎(国立予防衛生研究所獣医科学部)

2) 教育講演

「精子形成とカルシウム結合蛋白」

中村正久(広島大学理学部両生類研究施設)

「精子発生における遺伝子発現」

藤本弘一(三菱化成生命科学研究所)

「性行動と性フェロモン」

斎藤 徹(日本獣医畜産大学実験動物学)

「低ゴナドトロピン性男子性腺不全症に対する pure FSH/hCG 併用療法について」

日比逸郎(国立小児病院小児医療研究センター)

「女性とアンドロジェン」

矢内原 巧(昭和大学医学部産婦人科教室)

「慢性非細菌性前立腺炎の最近の治療」

池内隆夫(昭和大学藤が丘病院泌尿器科)

3) シンポジウム

「精子機能研究の新しい流れ」

「Operatove Andorology」

IV 一般演題は平成7年3月31日に締切りました。

事務局：〒142 東京都品川区旗の台1-5-8

昭和大学医学部泌尿器科学教室(担当：齊藤豊彦・渡辺政信)

TEL 03-3784-8560 FAX 03-3784-1400

会 長

吉 田 英 機(昭和大学医学部泌尿器科学教室)



NEWSLETTER

INTERNATIONAL FEDERATION OF FERTILITY SOCIETIES

SPECIAL IFFS 95

15th World Congress on Fertility and Sterility

Montpellier - France - September 17-22, 1995

Dates are approaching and the load of organizational work is fast increasing. The first deadlines are at our door. FEBRUARY 28th should be present in the mind of everybody as it is the last opportunity to submit abstracts for free communications, posters or videos, and it is also the deadline to benefit from the reduced rate for registration.

The stage is ready; the libretto is being written; the performers are getting ready. Montpellier and French physicians and scientists are dedicated to welcome each one of you in order to make this event a real world encounter of a special kind that each participant will recall as a milestone in his professional life.

A number of "firsts" for IFFS World meetings have been organized on this occasion: A wide-spectrum scientific programme divided in "Practical", "Review", and "Research" sessions, not to forget daily keynote lectures, sponsored symposia, free communications, posters and video sessions, technical reviews...

A world survey on Assisted Medical Procreation techniques will be presented. Satellite symposia will have the opportunity to present a brief conclusion of their works. The scientific programme is already so packed that delegates will have sometimes difficult choices to make! In order to help them prepare their meeting, the scientific programme book will be sent in July to all those registered by then.

Delegates will find in their congress bag the book of "Proceedings" (all invited lectures -nearly 100- in full text), the book of abstracts (published by Elsevier under the covering of a registered scientific publication *Contraception-Fertilité-Sexualité*) and the booklet of the A.M.P. World Survey.

The industry has shown so much interest that more than 10 sponsored symposia are being organized and an incredible scientific exhibition on 4 different levels will add to the interest of the scientific programme.

Last - but not least! - remember that Montpellier is also very near to the seaside and Provence. There are numerous possibilities for tourism, culture, gastronomy, sports, or simply to relax.

Sun, Sea, and ... Science! This will be the winning ticket. It is up to you to get it in the right order.

Bernard HEDON, President IFFS 95

IFFS 95 Scientific Programme update and modifications

- Tuesday Sept. 19** The "PREMATURE OVARIAN FAILURE" session is replaced by "NON RESPONSIVE PATIENTS" - Sub-topics :
Characteristics of patients - L. Mettler (Germany)
Ovarian challenge tests - E. Loumaye (Switzerland)
Management - A. De Cherney (USA) *
- Thursday Sept. 21** New sub-topics of the session "ENVIRONMENT AND FERTILITY"
Nutrition and weight - J. Bringer (France)
Environment and reproduction - S. Tabacova (Bulgaria)
Stress and infertility - L. Wildt (Germany) *
- Friday Sept. 22** Professor Fathalla, the President of FIGO, will present the keynote lecture on "Population concerns for the next century".

Satellite symposia

Programmes are now available. For information and registration please write to the local organizing secretariat whose names and addresses are listed in the 2nd announcement (pages 13 to 16).

Sponsored symposia update (Programmes have not yet been communicated).

- Monday Sept. 18** Organon, Ferring, and joint Schering / Wyeth-Ayerst
Tuesday Sept. 19 Cilag, Organon, Ipsen and Unipath
Wednesday Sept. 20 Organon, Wyeth-Ayerst, and Schering
Thursday Sept. 21 Ares-Serono, and Columbia
Friday Sept. 22 Zeneca (tentative)

General Organization and Scientific Secretariat

SOCIETE INTERNATIONALE DE CONGRES ET SERVICES
10, rue Charles Amans - 34000 Montpellier - France
Phone (33) 67 58 59 01 - Fax (33) 67 58 31 60

OFFICERS

- President**
Dr. Jean Cohen
- Vice-president**
Pr. Otto Rodriguez
- Treasurer**
Dr. Elizabeth Johannison
- Vice-treasurer**
Dr. William Thompson
- Secretary General**
Pr. Robert Harrison
- Assistant Secretary General**
Pr. Bernard Hedon

EXECUTIVE COMMITTEE

- Argentina
Australia
Canada
France
Greece
Japan
Morocco
Nigeria
Singapore
UK
Venezuela

SCIENTIFIC PROGRAMME COMMITTEE

- Pr. Sakamoto
Dr. Semm
Pr. Harrison
Dr. Cohen
Pr. Rodriguez
Pr. Hédon
Australia
Italy
Spain
USA
Scandinavia
UK

Miscellaneous information

World Academy of Art and Science Award

Nominee : Professor Mahmoud Fathalla in recognition of his contributions to population and contraception.
Acknowledgement for life-long contributions will also be given to Professor Emeritus Egon Diczfaluzi.

Continuing education (for French delegates)

The IFFS 95 Association has applied for registration under the French continuing education system. It is awaiting attribution. Please write to the Organizing Secretariat for more information.

Cognates

United Kingdom - CME Credits have been applied for from the R.C.O.G. The congress falls into the category "Personally arranged activities". Credits are granted at the rate of 1 per hour for full attendance.

Speakers participating in CME may claim 5 credits for their oral presentations. Total number of credits which can be claimed per day is still to be communicated.

Australia - The IFFS 95 meeting has been approved to earn eligible Fellows of the Royal Australian College of Obstetricians and Gynaecologists 41 cognate points in Category A for full attendance.

USA

The entire IFFS 95 programme is available for Category II credits on an hour for hour basis for all members of A.C.O.G. who attend the meeting. Necessary forms to claim these credits will be sent out by the American Fertility Society to all members attending the meeting.

Prizes for oral and poster presentations

Organon will sponsor a total of 8 poster prizes (2 per day) 4 in basic research and 4 in clinically applied research.

Schering will sponsor 2 free communication prizes: one on Oral Contraception and one on HRT.

Other free communication prizes are to be decided. Discussions are on the way with SERONO for a prize on Gonadotrophins.

A pre-selection of abstracts liable to be considered for the prizes will be made by the reviewers. Each pre-selected author will be informed by a special card giving all practical information on the prize he may compete for and on the consequences of having been pre-selected

Proceedings

They will be edited by Parthenon Publishing and included in the delegate's bags of all registered participants.

Technical Reviews

From 18:00 to 19:00 daily technical reviews will take place on different topics :

Monday : Video-cameras

Tuesday : Falloposcopy & micro endoscopy materials

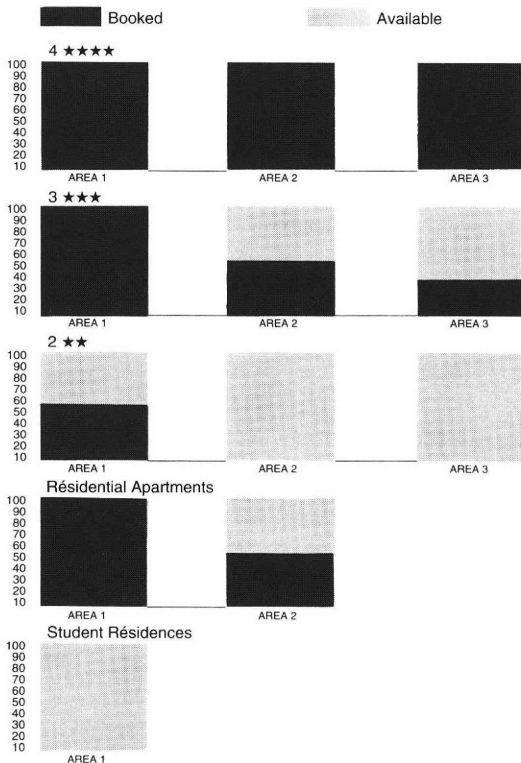
Wednesday: Endo abdominal washing equipment

Thursday: Knots, clips and endoscopic sutures

World Survey on IVF

This study will be conducted by P. Lancaster (Australia). Results will be published during the meeting and the brochure will be included in the delegate's bag. In addition results will be presented during a special session on Tuesday Sept. 19.

Hotel availability as of January 1995

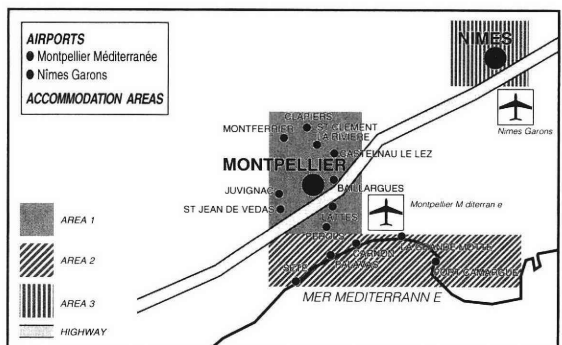


Accommodation requests

Convention Centre LE CORUM
Esplanade Charles de Gaulle - B.P. 2200
34027 Montpellier Cédex 1 - France
Fax : (33) 67 61 66 84

Hotels

Remember that Montpellier is a provincial city and has no big multistar international hotel. Many hotels are within walking distance of the congress centre. There are still availabilities in the two star category. All hotels selected by the Organizing Committee offer adequate comfort and service. For those who will choose hotels within area 2 or 3, a permanent shuttle bus service is organized.



Meetings of the National Societies during IFFS 95 update

FRENCH PERICONCEPTOLOGY SOCIETIES

Wednesday Sept. 20/95

1st session

- Ovocyte activation and microinsemination
- Failure of in vitro fertilization in relation with a lack of sperm activation :
Use of microinsemination ?
- Selection of human acrosome reacted spermatozoa: Application to SUZI.
- Evaluation of the acrosomal reaction during microinsemination procedures.
- ICSI and embryo quality: comparison with conventional IVF.
- Cytogenetic analysis of human eggs after microinsemination.
- Microinsemination in France: a multicentre survey.

2nd session

- Indication of micro insemination.
- Reports : CECOS, GEFF, FIVNAT.

SPANISH & LATIN AMERICAN FERTILITY SOCIETIES

Thursday Sept. 21/95

1 - ASSISTED REPRODUCTION

- Male factor in assisted reproduction.
- Current procedures in assisted reproduction.
- Oocytes donation in assisted reproduction.

2 - ENDOMETRIOSIS

- New trends in the treatment of an old problem
- Endometriosis: therapeutic approach in 1995.
- Assisted reproduction in endometriosis.

3 - ENDOSCOPY

- Evaluation of the ovarian failure.
- Treatment of ectopic pregnancy and tubal pathology.
- Treatment of non-endometriotic ovarian cyst.

4 - MYOMA AND REPRODUCTION

- Medical treatment of myomas.
- Combined surgical-medical treatment of myomas.
- Hysteroscopic treatment of myomas.

FRENCH SPEAKING ANDROLOGY SOCIETY

Friday Sept. 22/95

RESPONSABILITY OF THE MALE IN REPEAT SPONTANEOUS ABORTION

- The influence of male age.
- The importance of sperm quality.
- Genetic anomalies.

- Immunologic causes.
- General discussion

FUNCTIONAL ANATOMY OF EJACULATION

- Anatomic basis of ejaculation.
- Neurophysiology of ejaculation.
- Ultrasound examination of the prostate and of the sphincterAnatomo physiologic datas in the spinal man.

How to reach Montpellier ?

Montpellier is situated in the South of France, on the Mediterranean coast. It has an international airport, but the majority of delegates will have to transit in Paris. Do not transit in Lyon, Marseille or Nice, unless you are prepared to rent a car to drive to Montpellier. From Paris you have 13 daily flights (1 hour flying time). A good tip is to travel with the High Speed Train (TGV) (departure from Roissy airport, or from the Gare de Lyon station in the centre of Paris. It takes 4h30 minutes and you benefit from a touristic journey through the varied French landscapes.

Tourism : the Committee's selection

Cultural interest

Van Gogh in Provence

A tour will depart on Monday Sept. 18th and also on Friday Sept. 22nd.

After 1 hour coach you reach ARLES where Van Gogh lived many years and painted 150 of his most famous works (remember the cyprus ... or the harvest fields !) The Provence landscapes include ARLES (Roman city with its amphitheater and baths, its 12th century church and cloister), Saint Remy de Provence, les Baux de Provence and the charming little rocky chain of the Alpilles.

Price per person : 475 FF

(possibility of special organization on different days for groups of 20 minimum)

Dining

Wednesday Sept. 20th

The Belle Epoque dinner will take place in the centre of Montpellier in the antique and most elegant opera house. It will be a dancing dinner with live orchestra. Taste the delicacy of a most elegant evening
price per person : 750 FF

Thursday Sept. 21st

The Medieval dinner will take place in the Valmagne Abbey, one of the most important gothic archeological work of Languedoc

An evening of entertainment and culture you will remember all your life.

Price per person : 800 FF

Gourmet

Wine tasting

Languedoc is traditional place for growing grapes and wine. The wine-tasting session will take place in the "Maison des Côteaux du Languedoc", together with lunch, and will be followed in the afternoon by the visit of the Faugères Castle and the Caves de Listel nearby the historical city of Aigues Mortes.

This tour will run on Tuesday Sept. 19th and Thursday Sept. 21st.

Price per person : 480 FF

(possibility of special organization on different days for groups of 20 minimum)

Feria des Vendanges

In Nîmes, the "Feria des Vendanges" (festival celebrating the harvesting of the grapes) runs from September the 13th throughout September the 15th. If you would like to view a "Corrida" (bullfight) we will be happy to make reservations for you.

Stop by the booth "ALPHA CONGRES" where you will find people ready to assist you in selecting and arranging your excursions for a pre-arranged or personalized itinerary. If you book your excursions in advance you will save time and be assured of availability !

This is only a selection from the many proposals to be found in the IFFS 95 brochure page 27 to 33

Special post-congress tour

Among the numerous tours you can choose to have before or after the congress the Organizing Committee recommends the beauty and the flavor of the Baux de Provence

Friday Sept. 22nd

Departure from Montpellier early afternoon.

Gourmet dinner and overnight at

l'OUSTAU DE BAUMANIERE

Saturday Sept. 23rd

Visit of the BAUX de Provence

Lunch at LA REGALIDO

In the afternoon visit of Alphonse Daudet's windmill

Return to Montpellier

Price per person : 2.395 FF

(possibility of special organization on different days for groups of 20 minimum)

Touristic Programme

ALPHA CONGRES VOYAGE

1, rue Philippy - 34000 Montpellier

Phone (33) 67 66 30 80

Fax (33) 67 66 31 10

News from the Societies

Fertility Society of Australia

President

Professor David Healy

Monash Medical Centre
246 Clayton Road
Clayton, Victoria 3168, Australia -

Phone (61) 3 350 5391 - Fax (61) 3 550 5389

Secretary

Professor John Kerin

Dept. of Obstetrics and Gynaecology
Flinders Medical Centre

Bedford Park, South Australia 5041, Australia
Phone (61) 8 204 5437 - Fax (61) 8 204 5454.

The Fertility Society of Australia met in Brisbane at its XIIIth Annual Scientific Meeting during October 1994 which was again a great success. It was attended by 250 registrants and was held in conjunction with the Australian Gynaecological Endoscopy Society. The meeting was preceded by a Satellite Workshop on Intra Cytoplasmic Sperm Injection and the results from centres around Australia are most encouraging. It would appear that Intra Cytoplasmic Sperm Injection is now clinical treatment in most Australian capital cities. One of the highlights of the Scientific Meeting was a presentation by Professor Alan Trounson on his work with immature egg collection and in vitro maturation. There was a controversial presentation by Dr. Doug Keeping on "The Control of Reproductive Technology". Dr. Keeping made a very strong case for decreasing the amount of legislative control and his talk was followed by a lot of controversial discussion.

The Fertility Society of Australia is looking forward to presenting its bid for the 2001 IFFS Conference to the General Assembly in Montpellier in September 1995.

British Fertility Society

President : Sir Malcolm MacNaughton

Chairman : Professor Howard Jacobs

Secretary : Dr. John Mills

The British Fertility Society has a membership of 800 including clinicians, nurses, counsellors, scientists and other interested parties. It has a scientific meeting each Spring, the next being from 10th to 12th May in 1995 in Liverpool (Details from Mr Charles Kingsland, 14 Crossley Drive, Lower Heswall, Wirral, Merseyside). There is also a workshop meeting for the various groups within the Society each December.

The British Fertility Society is negotiating with Human Reproduction to produce its own supplements in the near future. The Society also has a close working relationship with the Human Fertilization and Embryology Authority.

Enquiries about the Society's activities or membership should be directed to the Honorary Secretary at the Assisted Conception Unit, Ninewells Hospital, Dundee DD1 9SY.

Japan Society of Fertility and Sterility

Chairman of Board Members

Akira Iritani, Professor and Chairman

Dept. of Biotechnology -

College of Biotechnology Oriented Science and Technology
Kinki University

Uchida-Mitani 930, Wakayma 649-64, Japan

Phone (81) 736 77 3888 ext. 4103 - Fax (81) 736 77 4754

Vice-Chairman (Foreign Affairs)

Takahide Mori, Professor and Chairman

Dept. of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine

Dyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

Phone (81) 75 751 3267 - Fax (81) 75 751 3247

Office of the Society

Japan Society of Fertility and Sterility

Cross-side Kojimachi Building 8F

5-4 Kojimachi, Chiyoda-ku, Tokyo 102, Japan

Phone and fax (81) 3 3288 7266

JSFS was founded in 1956 under the auspices of the late Professor Emeritus Kakuichi Ando at Keio University. Since then, the Society has grown up to have 4320 members by the end of October, 1994. Hosting the 7th IFFS Congress by JSFS in Tokyo and Kyoto in 1971 was a great milestone of subsequent rapid expansion in the history of the Society. 40th Commemorative annual meeting will be held at Yamagata City in 1995. Since 1956, JSFS has published an official journal "Japanese Journal of Fertility and Sterility" quarterly. The Journal is opened for submission from both domestic members and foreign scientists and clinical workers as the articles are published either in Japanese or English. To encourage young scientists, the authors of three distinguished papers published in the Journal are awarded every year.

German Society for the Study of Fertility and Sterility

The German SSFS by now has reached more than 420 members. Legal and ethical discussions have come to a solid stable situation, since the embryo-production-law became effective in Germany 1991. More recently considerable public attention has been paid to the establishment of ICSI as a surprisingly successful therapy to help couples with severe andrological subfertility. However, scientific discussions are taking over step by step again the stage of our meeting, symposia and workshops. This is particularly true where cell biology, molecular biology and molecular genetics are introduced into basic reproductive research and clinical assisted reproductive medicine. More than ever, it is an extremely useful tradition that veterinary and human medicine is merged in our German SSFS. Genetic diagnostic approaches, transgenic animals, and molecular biological models are contributed by veterinary research projects to the benefit of human reproductive health development.

TO ALL PRESIDENTS OF NATIONAL SOCIETIES !

The IFFS 95 Organizing Committee would appreciate if you could make yourself known to the Organizing Secretariat as this updated information will help the Committee contact you for the organization of the IFFS 95 official sessions.

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
 - 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. 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. 日不妊学会誌 38: 53, 1993
- 例 1. McClure RD, Endocrine investigation and therapy. In: Tanago EA, Lue TF, McClure RD, eds, *Contemporary Management of Impotence and Inferility*. 1 ed, p222, Williams & Wilkins Co, 1988
10. 英語5語以内のKey wordsを付記する。
11. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編のみとする。
12. 著者校正は原則として初校のみ1回とする。なお、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は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、ご注意下さい。(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	石 島 芳 郎	岩 本 晃 明
遠 藤 克	押 尾 茂	久 保 春 海
楠 原 浩 二	小 林 俊 文	平 川 舜
穂 坂 正 彦	三 浦 一 陽	三 橋 直 樹
	毛 利 秀 雄	

EDITORIAL BOARD

Masafumi SHIRAI (Editor-in-Chief)

Katsuya AJIKA	Yoshiro ISHIJIMA	Teruaki IWAMOTO
Tsuyoshi ENDO	Shigeru OSHIO	Harumi KUBO
Koji KUSUHARA	Toshihumi KOBAYASHI	Shun HIRAKAWA
Masahiko HOSAKA	Kazukiyo MIURA	Naoki MITSUHASHI
	Hideo MORI	

日本不妊学会雑誌 40巻2号

1995年3月27日 印刷

1995年4月1日 発行

編集兼発行者 白 井 将 文

印刷者 武 田 昭 彦

印刷所 株式会社 デンプロ
東京都台東区元浅草4-9-13

発行所 社団法人 日本不妊学会
東京都千代田区麹町5-4
クロスサイド麹町ビル8階
Tel (03) 3288 - 7266
振替口座番号 00170 - 3 - 93207