

ISSN 0029-0629 CODEN: NFGZAD

Japanese Journal of Fertility and Sterility  
日本不妊学会雑誌

Vol. 41 No. 3 July 1996  
第41卷第3号 平成8年7月1日

Jpn. J. Fertil. Steril. / 日不妊会誌

# 第41回日本不妊学会総会および学術講演会 (第4回予告)

第41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8年11月6日(水) 役員会(理事会・幹事会)  
7日(木) 学術講演会, 評議員会, 総会, 総懇親会  
8日(金) 学術講演会

会 場：徳島県郷土文化会館  
〒770 徳島市藍場町2-14, TEL: 0886-22-8121, FAX: 0886-22-8123  
ホテルクレメント徳島  
〒770 徳島市寺島本町1-61, TEL: 0086-56-3111, FAX: 0886-56-3132

学術講演会 一般講演申込みは5月31日に締切らせていただきました。

- I 招請講演 Wylie Vale, PhD.  
(The Clayton Foundation Laboratories for Peptide Biology, The Salk Institute)  
座長 坂元正一 先生(母子愛育会総合母子保健センター所長)  
"Roles and signalling mechanisms of activin and inhibin"
- II 特別講演 森 崇英 教授(京都大学医学部婦人科学産科学)  
座長 入谷 明 教授(近畿大学生物理工学部)  
「着床障害の治療に関する基礎的検討」
- III 会長講演 青野敏博 教授(徳島大学医学部産科婦人科)  
座長 飯塚理八 先生(リプロダクション・アカデミー)  
「本邦婦人における多嚢胞卵巣症候群」
- IV 教育講演
1. 矢内原 巧 教授(昭和大学医学部産婦人科)  
座長 佐藤和雄 教授(日本大学医学部産婦人科)  
「受精着床周辺におけるステロイドの役割」
  2. 西宗義武 教授(大阪大学微生物病研究所附属感染動物実験施設)  
座長 毛利秀雄 教授(岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)  
「精子形成に対する分子生物学的アプローチ」
  3. 鎌田正晴 助教授(徳島大学医学部産科婦人科)  
座長 永田行博 教授(鹿児島大学医学部産科婦人科)  
「免疫性不妊症の基礎と臨床」
  4. 中堀 豊 助教授(東京大学大学院医学系研究科・国際保健学専攻人類遺伝学)  
座長 片山 喬 教授(富山医科薬科大学泌尿器科)  
「性の分化と性染色体」
  5. 仲野良介 教授(和歌山県立医科大学産科婦人科)  
座長 広井正彦 教授(山形大学医学部産科婦人科)  
「アポトーシス：ヒト生殖における意義」

6. 内海恭三 教授(京都大学農学部畜産学科家畜繁殖学研究室)

座長 島崎 淳 教授(千葉大学医学部泌尿器科)

「胚の性判別の基礎と応用」

V シンポジウム 1. 卵および卵胞発育の基礎

座長：武谷雄二 教授(東京大学医学部産科学婦人科学)

1) ヒトゴナドトロピンレセプターの分子生物学と病態生理

(櫻木範明 北海道大学産科婦人科)

2) IGF-1 と卵胞発育(岩下光利 東京女子医科大学母子総合医療センター)

3) 卵の体外発育培養(宮野 隆 神戸大学農学部応用動物学科)

4) OMIと卵の成熟(佐藤英明 東京大学医科学研究所獣医学研究部)

5) 卵胞におけるアポトーシスの調節因子(久具宏司 東京大学産科学婦人科学)

2. 精子と卵のインターアクション

座長：豊田 裕 教授(帯広畜産大学原虫病分子免疫研究センター)

1) 受精能獲得と精子膜の変化(山野修司 徳島大学産科婦人科)

2) 透明帯への精子侵入機構(馬場 忠 筑波大学応用生物化学系)

3) ICSIと卵の活性化(柳田 薫 福島県立医科大学産科婦人科)

4) 精子核の膨化(末岡 浩 慶応大学産科婦人科)

5) 多精子受精の拒否機構(永井 卓 農林水産省東北農業試験場)

VI ワークショップ 1. 機能性不妊症の取り扱い

座長：水口弘司 教授(横浜市立大学医学部産婦人科)

1) 子宮内膜症と機能性不妊症(石川雅彦 横浜市立大学産婦人科)

2) 腹腔鏡下大量通水法(関 守利 群馬大学産科周産母子センター)

3) COH-AIH療法(漆川敬治 徳島大学産科婦人科)

4) STDによる機能性不妊症への対応(野口昌良 愛知医科大学産婦人科)

5) ART療法(小林善宗 国際医療福祉大学山王病院産婦人科)

2. 男性不妊の新治療

座長：白井將文 教授(東邦大学医学部泌尿器科学第一講座)

1) MESA(瀧原博史 山口大学泌尿器科)

2) 射精障害の治療(小谷俊一 中部労災病院泌尿器科)

3) 精索静脈瘤の手術(田村雅人 徳島大学泌尿器科)

4) 経鼻LH-RH少量持続療法(松宮清美 大阪大学泌尿器科)

5) インポテンス(高波真佐治 東邦大学付属佐倉病院泌尿器科)

VII 参加申込方法

学会当日会場にて受け付けます。

学会参加費 8,000円

懇親会費 8,000円

総懇親会は学術講演会初日の11月7日(木)にホテルクレメント徳島(徳島駅に隣接)で行います。是非ご出席下さい。

1996年7月

第41回日本不妊学会

会長 青野 敏 博

# 日本不妊学会総会および学術講演会 宿泊・交通のご案内

このたび、徳島市において、第41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、皆様の交通・宿泊のお世話を、近畿日本ツーリスト株式会社が取り扱いさせていただくことになりました。全国各地よりの徳島大会へのご参加が有意義なものになるよう企画いたしお待ち申し上げますので多数ご利用いただきますようよろしくお願い申し上げます。

近畿日本ツーリスト(株)徳島支店  
支店長 富永博昭

## 記

### 1. お申し込み先

〒770 徳島市八百屋町1-14 三井生命ビル1階  
近畿日本ツーリスト株式会社徳島支店  
第41回日本不妊学会総会係 担当者 有吉 元、濱田欣二、松原二朗  
TEL (0886) 22-0985 FAX (0886) 52-1414  
営業時間 10:00～18:00(月～金) 10:00～13:00(土)

### 2. お申し込みおよびお支払方法について

- 1) 締切日……………平成8年9月25日(水) (必着)
- 2) お申し込み……別紙申込書に必要事項をご記入のうえ、9月25日までに郵送またはファクシミリにてお申し込み下さい。
- 3) お支払い……………申し込み書到着後、宿泊、航空座席などの調整を行い、「ご予約回答書」と「請求書」を発送致します。代金につきましては、10月11日までに指定口座にお振り込みください。
- 4) 各種チケットのお引き渡しご案内  
ご出発日の10日前頃に郵送などによりお届け致します。
- 5) 通信事務経費として、お一人様につき「500円」を申し受けます。お取り消しの場合でも返金できませんのでご了承下さい。

### 3. お取り消し、ご変更について

上記申し込み先宛に郵送または、ファクシミリのいずれかでご連絡下さい。お申込後の取り消しにつきましては、下記の取り消し料を申し受けます。

1) 宿泊(1名様1泊につき)	20日前～10日前まで	9日前～2日前まで		前日	当日
	1,000円	20%		80%	100%
2) 航空券(1名様片道につき)		東京～徳島	伊丹～徳島	千歳～徳島	福岡～徳島
	13日前～4日前	3,000円	1,000円	4,000円	2,000円
	3日前以降	6,000円	2,000円	8,000円	4,000円

※13日前以降の航空便の変更につきましても上記の取り消し料を申し受けます。

便出発後の払い戻しはいたしません。

※上記の取消料のほかに航空券1枚につき410円の手数料を申し受けます。

#### 4. 宿泊のご案内

ランク	ホテル・旅館名	シングル料金(1名1室)	ツイン料金(2名1室)
A	ホテルクレメント徳島 徳島プリンスホテル 阿波観光ホテル	10,000円～11,000円	8,500円～9,500円
B	ホテルグランドパレス徳島 徳島パークホテル 徳島ワシントンホテル 徳島東急イン ホテルマーストングリーン センチュリープラザホテル	8,500円～9,000円	8,000円～8,500円
C	ホテルサンルート徳島 ホテルアストリア ホテルコスモス アルファーホテル徳島 ホテルサンシャイン徳島 フォーシーズンホテル 徳島第一ホテル 徳島国際ホテル	7,500円～8,500円	7,000円～7,500円
D	徳島厚生年金会館	6,500円～7,500円	6,000円～6,500円
和室	近畿日本ツーリスト契約旅館		10,000円～12,000円

※料金はおひとりあたり1泊朝食付(税金・サービス料込)の料金です。

※ツインルームは原則として2名様利用とさせていただきます。

※希望クラスのホテルが満室の場合は他のクラスもしくはグループごとにつインルームになることもあります。

※ホテルの指定はお受けできません。

※ツインルームのかたは優先的に受け付けます。

※和室希望の方は、2名様以上でグループごとにお部屋をご用意させていただきます。

通信欄にその旨をお書きください。

※徳島地区におきましては、なにぶんにもホテルなどの収容力・設備が整っておりませんのでご希望に添えない場合もありますがご了承下さい。

#### 5. 航空便のご案内

- 1) 次項航空便をご検討のうえ記号の中から選んでお申し込み下さい。
- 2) 座席数の関係で希望便が満席の場合、他の便に振り替えさせていただくことがありますので、あらかじめご了承下さい。(東京便の場合は大阪経由もしくは高松空港利用となることもあります。)
- 3) この割引運賃は、他の割引とは重複できません。また、各便のお申し込みを当社で集計し、15名様以上の申し込みがあった場合に割引運賃を適用させていただきます。  
※申し込み人員が15名に満たない場合は普通片道運賃の適用となりますのでご了承下さい。
- 4) 発着時刻は、平成8年5月現在のものですが、若干の変更が予想されます。
- 5) 決定ダイヤ、便名は予約確認書にてご案内致します。

##### 《学会特別割引料金》

区間	片道普通運賃		片道特別割引運賃	
東京～徳島	21,050円(JAS)	20,750円(ANA)	18,020円(JAS)	17,770円(ANA)
伊丹～徳島	9,200円(JAS)	8,350円(JAC)	8,370円(JAS)	7,520円(JAC)
千歳～徳島	34,200円		27,530円	
福岡～徳島	17,900円		14,320円	

注：徳島空港より徳島駅(JR)までの所用時間は、連絡バス(路線バス)で約30分です。

《航空券予約受付日および取扱い便名》

往路 11月6日(水), 11月7日(木)					復路 11月8日(金), 11月9日(土)				
記号	区間	便名	発時間	着時間	記号	区間	便名	発時間	着時間
1	東京～徳島	JAS321	07:45	08:55	2	徳島～東京	JAS320	07:45	08:55
3	〃	JAS323	08:55	10:05	4	〃	JAS322	10:50	12:00
5	〃	ANA531	11:20	12:30	6	〃	ANA532	13:10	14:20
7	〃	JAS325	12:50	14:00	8	〃	JAS324	14:45	15:55
9	〃	JAS327	17:10	18:20	10	〃	JAS326	19:05	20:15
11	〃	JAS329	18:50	20:00	12	〃	JAS328	20:00	21:10
13	伊丹～徳島	JAS901	07:15	07:45	14	徳島～伊丹	JAS900	08:25	08:55
15	〃	JAC433	09:30	10:00	16	〃	JAS902	09:30	10:00
17	〃	JAC435	13:30	14:00	18	〃	JAC432	10:45	11:20
19	〃	JAS905	15:00	15:30	20	〃	JAC434	14:45	15:20
21	〃	JAC437	16:00	16:30	22	〃	JAS906	16:15	16:45
23	〃	JAS907	18:00	18:30	24	〃	JAC436	17:00	17:35
25	〃	JAS909	18:50	19:20	26	〃	JAS908	18:00	18:30
27	千歳～徳島	JAS058	15:30	17:40	28	徳島～千歳	JAS057	08:25	10:25
29	福岡～徳島	JAC191	11:50	13:05	30	徳島～福岡	JAC194	15:25	17:05

※千歳線につきましては、運行日が週4日となります。

(徳島～千歳：火・木・土・日曜日, 千歳～徳島：月・水・金・土曜日)

6. その他交通機関の手配

JR, 高速船, 上記設定便以外の航空機のご予約も承りますのでお申し付けください。  
その場合の運賃は、普通運賃となります。

7. 徳島への交通

●航空路

会社名	運行区間	便数	所要時間	問い合わせ先
日本エアシステム	東京…徳島	5	1時間15分	予約 東京TEL 03-3432-6111
	大阪…徳島	7	30分	大阪TEL 06-243-8111
日本エアコミューター	福岡…徳島	1	1時間15分	福岡TEL 092-271-5111
				徳島TEL 0886-25-2533
全日本空輸	東京…徳島	1	1時間15分	予約 東京TEL 03-5489-8800 徳島TEL 0886-25-8800

●特急バス

会社名	運行区間	便数	所要時間	問い合わせ先
徳島バス	東京…徳島駅	1	10時間40分	徳島バス 徳島TEL 0886-22-1815
京急バス	(品川駅)			京急バス 東京TEL 03-3743-4444
徳島・淡路特急バス	津名港…徳島駅	16	1時間20分	徳島バス 徳島TEL 0886-53-0116
	福良…徳島駅	4	1時間6分	淡路交通 洲本TEL 0799-22-3121
	志筑…徳島駅	1	2時間3分	
	洲本港…鳴門	4	1時間29分	

●JR

●自動車

高松から	特急 1時間10分	高松から	約1時間50分	R11
岡山から	特急 2時間10分	高知から	約3時間30分	R32・192(高知自動車道・徳島自動車道経由)
阿波池田から	特急 1時間5分	松山から	約3時間30分	R11・192(松山自動車道・徳島自動車道経由)
牟岐から	特急 1時間8分	室戸から	約3時間30分	R55

# 第41回 日本不妊学会

## 〈宿泊・航空券申込書〉

この用紙をコピーしてご利用下さい

お申し込み締切日 9月25日(水)

フリガナ		電 話 番 号
申込代表者 氏 名		ご自宅 ( )
所 属		( ) (内 )
連 絡 先 (回答書送付先)	〒	( ) (内 )
	FAX.( )	自宅・勤務先

	氏 名	年 齢	性 別	宿 泊 日					ホテル ランク	第2希望 ランク	部屋 タイプ	航空券	
				11/6	11/7	11/8	11/9	11/10				往路	復路
例	キン キ タ ロウ 近 畿 太 郎	40	Ⓜ F	○	○	○			A	B	シングル	11/6 5	11/9 10
1			M F									/	/
2			M F									/	/
3			M F									/	/
4			M F									/	/
5			M F									/	/
6			M F									/	/
7			M F									/	/
(通信欄)													

※大変混雑が予想されますので、お申し込みはお早めをお願い致します。

〈お申込先〉 〒770徳島市八百屋町1-14 三井生命ビル1階

近畿日本ツーリスト株式会社徳島支店

第41回日本不妊学会総会係(担当:有吉・濱田・松原)

TEL (0886) 22-0985 FAX (0886) 52-1414

# 日本不妊学会倫理委員会報告

最近、生殖医療に、非医療従事者が、精子提供を含め、営利目的で関与していることが報道されている。

これらの事態は、倫理的・社会的にも憂慮すべきことであり、本委員会では生殖医療関係者である本学会会員はこれに関与すべきでないという結論に達した。

1996年5月28日

社団法人日本不妊学会倫理委員会

委員長 廣 井 正 彦

# お 知 ら せ

## hMG-hCG療法について厚生省からの指導にもとづき 使用の際の留意点および使用上の注意をお知らせします

hMG-hCG療法において、卵巢過剰刺激症候群が発現することがあり、さらに血液濃縮・血液凝固能の亢進による血栓症や脳梗塞などの重篤な副作用が認められたことから、製薬各社は昨年5月には「使用上の注意」への記載を行った。今般、過去3年間に遡り重篤な副作用について再度調査を行ったところ、5例の脳血栓症を含む20例の重篤な卵巢過剰刺激症候群が認められた。これら以外にも過去3年間に10例の血栓症・脳梗塞などの発現が認められていることから、今回新たに「警告」欄を設けた。使用にあたっては、以下の点に留意されたい。

1. hMG-hCG療法における血栓症・脳梗塞などの重篤な副作用は、hMG製剤投与中およびhCG製剤投与後にみられる卵巢過剰刺激症候群に随伴する。本治療期間中は、患者の状態(下記参照)を十分に観察し、異常が認められた場合にはただちに投与を中止すること。
  - ①患者の自覚症状(下腹部痛、下腹部緊迫感、悪心、腰痛など)の有無
  - ②急激な体重増加の有無
  - ③卵巢腫大の有無(内診、超音波検査などの実施)
2. 患者に対しては、異常が認められた場合にはただちに医師などに相談するよう、あらかじめ説明すること。

(使用上の注意は巻末に掲載)。

# 日本不妊学会雑誌

## 第41巻 第3号

平成8年7月1日

### —目次—

#### 原 著

- 閉塞性無精子症の臨床的検討……………秋山・他 …… 1
- 単為発生マウス胚盤胞における細胞質封入体の量……………新村・他 …… 6
- 細胞質内精子注入卵の活性化・初期胚発生に与える electrostimulation の影響……………阿部・他 …… 12
- 経時的にみた男性不妊症の臨床的検討……………天野・他 …… 19
- Hypogonadotropic hypogonadism に対するホルモン療法の効果に関する検討……………市川・他 …… 25
- 体外受精・胚移植後妊娠における周産期リスクの検討……………酒井・他 …… 35
- 4回のレゼクトスコーピー治療後妊娠した多発性粘膜下子宮筋腫の1例……………太田・他 …… 43
- Vitrification法によるヒト胚凍結の実際 —妊娠, 分娩に至った1症例—……………太田・他 …… 48
- 精子受精機能評価法としての Sperm Quality Analyzer (SQA) の有用性の検討……………内藤・他 …… 52
- 精子運動性急速低下症例の検討……………高橋・他 …… 58
- マウス体外受精系を用いた正常者および不妊患者精漿の  
精子受精能阻害作用に関する検討(英文)……………石田 章 ……70
- ブタ単為発生卵の体外培養条件の検討(英文)……………秦・他 …… 77
- ヒト卵液中のエストロゲン類とアルギニンアミダーゼの挙動……………李・他 …… 83
- 3相性経口避妊薬内服女性における抗高脂血漿剤投与の意義(英文)……………コラコグル・他 …… 89
- 不妊治療中に経験した高プロラクチン血症をともなったリンパ球性下垂体炎の1例……………木下・他 …… 93
- 輸送条件がマウス胚の発生に与える影響について  
—Transport ART方式に関する基礎的検討—……………中野・他 …… 97
- 地方部会講演抄録…………… 106

# Japanese Journal of Fertility and Sterility

(Vol. 41, No. 3, 1996)

Japan Society of Fertility and Sterility

## CONTENTS

### Originals

- A Clinical Study of Obstructive Azoospermia ..... *H. Akiyama, A. Nagai, T. Ichikawa, M. Akiyama, H. Ozawa, T. Oeda & H. Ohmori* ..... 1
- The Amounts of Cytoplasmic Inclusions in Parthenogenetic Mouse Blastocysts  
..... *S. Niimura & T. Asami* ..... 6
- Effect of Electrostimulation on Activation and Development of Eggs  
after Intracytoplasmic Sperm Injection ..... *T. Abe, K. Yanagida, K. Hoshi & A. Satoh* ..... 12
- Historical Comparative Study on Male Infertility ..... *T. Amano, T. Imao, H. Ito, T. Noda, Y. Nakamura, K. Kunimi, S. Tokunaga, M. Ohkawa & M. Namiki* ..... 19
- Clinical Evaluation of Hormonal Therapy for Hypogonadotropic Hypogonadism  
..... *T. Ichikawa, T. Oeda, H. Ozawa, A. Nagai, H. Ohmori, S. Yamane & K. Shidahara* ..... 25
- Perinatal Risks after In Vitro Fertilization and Embryo Transfer  
..... *N. Sakai, Y. Kishimoto, T. Saito, M. Ito, K. Nakahara, H. Saito & M. Hiroi* ..... 35
- A Case of Multiple Submucous Leiomyomas in Pregnancy  
after Four Resectoscopic Myomectomies ..... *H. Ota & T. Tanaka* ..... 43
- Ultrarapid Freezing of Human Embryos by Vitrification Method  
— A Case of Delivery — ..... *N. Ohta, M. Nohara, T. Kojimahara, M. Ito, T. Saito, K. Nakahara, N. Tezuka, H. Saito & M. Hiroi* ..... 48
- Evaluation of Sperm Fertilizing Ability by Using the Sperm Quality Analyzer (SQA)  
..... *S. Naito, H. Shibahara, A. Hasegawa, M. Mitsuo, H. Tanaka, M. Shigeta & K. Koyama* ..... 52
- Rapid Decrease of Sperm Motile Efficiency Index in Normozoospermic Infertile Men :  
A New Entity of Infertility ..... *M. Takahashi, S. Orikasa, I. Maehara, M. Hiramatsu, H. Nakazumi & A. Hasuda* ..... 58
- Antifertility Effect of Human Seminal Plasma from Fertile and Infertile Men  
on Mouse Sperm Capacitation ..... *A. Ishida* ..... 70

Parthenogenetic Activation of Pig Oocytes Matured in Vitro Following Electrical Stimulation .....	<i>M. Hata, K. Ohkoshi, Y. Kato &amp; Y. Tsunoda</i> ...77
Behaviors of Arginine Amidase Activities and Estrogens in Human Follicular Fluid .....	<i>S.K. Lee, M. Katayama, H. Taniguchi, Y. Matsuda, S. Akihama, I. Hara &amp; H. Sato</i> ...83
The Effect of Combined Medication of Triphasic Oral Contraceptive with an Anti-Lipid Agent, Lovastatin, on Plasma Lipid Levels .....	<i>M. Colakoglu, H. Kodama &amp; T. Tanaka</i> ...89
Lymphocytic Hypophysitis with Hyperprolactinemia: A Case Report .....	<i>T. Kinoshita, T. Kasai, K. Mizuno, T. Yasumizu &amp; J. Kato</i> ...93
Effect of the Transport Conditions on the Development of Mouse Embryo —Basic Study on the Transport ART System— .....	<i>H. Nakano, Y. Abe, H. Ikenaga, Y. Sasabe, H. Kubo &amp; S. Hirakawa</i> ...97

## 閉塞性無精子症の臨床的検討

### A Clinical Study of Obstructive Azoospermia

岡山大学医学部泌尿器科学教室

秋山博伸 Hironobu AKIYAMA	永井敦 Atsushi NAGAI	市川孝治 Takaharu ICHIKAWA
秋山道之進 Michinoshin AKIYAMA	小澤秀夫 Hideo OZAWA	大枝忠史 Tadashi OEDA
	大森弘之 Hiroyuki OHMORI	

Department of Urology

Okayama University Medical School, Okayama 700, Japan

1991年4月から1995年9月までの間に、当科内分泌外来を受診し、閉塞性無精子症と診断された28例について、臨床的検討を行った。

患者の年齢は25～48歳，平均33.5歳，平均不妊期間は35.7か月であった。精路閉塞の原因は，鼠径ヘルニア手術4例，精管切断術4例，精管欠損3例，精巣上体炎2例，射精管口閉塞2例，原因不明13例であった。治療は14例に行ったが，その内訳は，精管精管吻合術5例，精管精巣上体吻合術4例，経尿道的精阜切除術1例，精巣上体精子吸引術4例（6回）であった。

精路再建術を施行した9例中5例で術後精子が出現したが，妊娠例は認めていない。精巣上体精子吸引術では，3例（5回）で運動精子を回収できたが，妊娠には至っていない。

今後さらに症例を追加し，精子の質的向上を含めた補助療法も加えて検討し，妊娠の成立，妊娠率の向上を目指すべきと考えられた。

**キーワード：**男性不妊症，閉塞性無精子症，精管精管吻合術，精管精巣上体吻合術，精巣上体精子吸引術  
(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 229 - 233, 1996)

#### 緒言

男性不妊症のうち，閉塞性無精子症は，手術による治療効果が期待できる点で注目されている。今回我々は，当科における閉塞性無精子症の症例について臨床的検討を行ったので報告する。

#### 対象および方法

対象は，1991年4月から1995年8月までの間に，不妊を主訴に岡山大学泌尿器科内分泌外来を受診した無精子症患者85例のうち，精巣生検，精管精囊造影にて閉塞性無精子症と診断された28例である。これらの症例に対し，患者背景，診断，治療，治療成績などについて検討した。

#### 結果

閉塞性無精子症は，無精子症患者の32.9%に相当した。患者の年齢は，25～48歳，平均33.5歳，妻の年齢は22～40歳，平均29.2歳であった。また，受診までの不妊期間は4から120か月，平均35.7か月であった。

おもな検査所見を表1に示す。28例中2例は右単精巣の症例であった。精巣容積は，山口大学式のオーキドメーターを用いて測定した。左右ともに正常の値を示し，また，精巣生検を施行された症例のJohnsen's Score Count (JSC)は，右6.7～8.7，平均7.91，左7.2～8.9，平均7.79であった。血中testosterone, LHは正常の値であり，FSHは一部の症例で高値を示し

表1 おもな検査所見

精巣容積	右	21.4 ± 5.2 ml	(n = 28)
	左	21.0 ± 4.7 ml	(n = 26)
JSC	右	7.91 ± 0.55	(n = 21)
	左	7.79 ± 0.47	(n = 12)
testosterone		4.70 ± 2.08 ng/ml	
LH		3.99 ± 2.93 mIU/ml	
FSH		8.21 ± 7.82 mIU/ml	

(Mean ± S.D.)

たが、ほとんどの症例で正常値を示した。FSH高値の症例については、精巣生検にて閉塞性無精子症と診断した。それらはいずれも、単精巣あるいは片側の精子形成障害を有する症例であり、一側の造精機能は良好であった。

つぎに、精路閉塞の原因であるが、鼠径ヘルニア手術が4例、精管切断術が4例、精巣上体炎が2例、また、射精管口の閉塞が1例、ヘルニア手術による片側閉塞と射精管口の閉塞が1例、精管欠損が3例、原因不明のものが13例であった(表2)。原因不明の症例は、精管造影で正常所見であり、精巣上体管レベルでの閉塞が考えられた。鼠径ヘルニア手術によるものの閉塞期間は、25～35年、平均30.3年であり、精管切断術によるものでは、3～21年、平均15.3年であった。また、患側は、両側閉塞18例、両側欠損3例、片側閉塞、片側精子無形成1例、片側閉塞、片側欠損が4例のほか、前述のごとく射精管口の閉塞が1例、片側閉塞、射精管口閉塞が1例認められた(表3)。

表2 精路閉塞の原因

鼠径ヘルニア手術	4例(平均閉塞30.3年)
精管切断術	4例( 〃 15.3年)
精巣上体炎	2例
射精管口閉塞	1例
鼠径ヘルニア手術 +射精管口閉塞	1例
精管欠損	3例
原因不明	13例

表3 精路異常の患側

両側閉塞	18例
両側欠損	3例
片側閉塞片側精子無形成	1例
片側閉塞片側欠損	4例
射精管口閉塞	1例
片側閉塞、射精管口閉塞	1例

治療について表4に示す。治療は28例のうち14例に対して行った。その内訳は、精路再建術として、vasovasostomyが5例、vasoepididymostomyが4例であった。vasovasostomyの5例の閉塞原因は、精管切断術が3例、鼠径ヘルニア手術が2例であり、vasoepididymostomyの4例では、精巣上体炎が1例で、他の3例は原因不明であった。また、術側は、vasovasostomyは、両側1例、片側1例、交叉性3例であり、vasoepididymostomyは、両側2例、片側2例であった。術式は、vasovasostomyではSilber法<sup>1)</sup>に準じた二層縫合を、vasoepididymostomyでは、2例でend-to-end法<sup>2)</sup>を、2例でend-to-side法<sup>3,4)</sup>を用い、いずれも精管あるいは精巣上体の中枢側で運動精子の有無を確認し、吻合した。交叉性vasovasostomyを施行した症例は、片側閉塞、片側精子無形成の1例のほか、1例は鼠径ヘルニア手術による左側閉塞と射精管口の閉塞例であり、後述のTUR-Verumontanumを併用した。残る1例は精管切断術後の症例であり、両側vasovasostomyの予定であったが、右側中枢側では精子の確認ができず、また、左側末梢側では通過性が不良であったため、交叉性のvasovasostomyを施行した。射精管口閉塞例に対しては、2例にTUR-Verumontanumを施行した。さらに、microscopic epididymal sperm aspiration (MESA)を4例計6回施行した。4例のうち1例は両側精管欠損の症例であり、2例は片側閉塞片側欠損の症例であった。残る1例は、精巣上体管レベルの両側閉塞例であった。顕微鏡下に27G針を用いて精巣上体の尾部から順に穿刺吸引し、運動精子が確認できた時点で卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic sperm injection, ICSI) に供した。

治療を行っていない14例では、5例でvasovasostomyあるいはvasoepididymostomyを検討中である。1例は腹腔鏡検査にてvasovasostomyは不可能と診断したためMESAの予定である。しかし、残りの8例は患

表4 治療

vasovasostomy	5例
両側	1例
片側	1例
交叉	3例*
vasoepididymostomy	4例
両側	2例
片側	2例
TUR-Verumontanum	2例*
MESA	4例(6回)

\*同一症例を1例含む

表5 治療成績1

手術	症例数	術後精子濃度			妊娠
		0	<2000万	≥2000万	
vasovaso	4	1	1	2(1)	0
vasoepi	4	2	1	1(0)	0
TUR-Ver	2	1	1	0	0

( ) 運動率50%以上の症例数

vasovaso : vasovasostomy

vasoepi : vasoepidymostomy

TUR-Ver : TUR-Verumontanum

表6 治療成績2 (MESA)

症例	運動精子回収	ART	受精	妊娠
1-1	+	ICSI	+	-
1-2	+	ICSI	+	-
2-1	+	ICSI	-	-
2-2	+	ICSI	-	-
3	+	ICSI	+	-
4	-	-	-	-

者の希望により治療を断念した。

治療成績に関し表5, 6に示す。精路再建術を施行した9例のうち、術後に精液検査を施行し得た8例中5例で精子が出現したが、いまだ妊娠例は認めていない。vasoepidymostomyの術式別では、それぞれ2例中1例で精子が出現した。TUR-Verumontanumの2例に関しては、1例で治療6か月後に精子の出現を認め、現在も経過観察中であるが、交叉性vasovasostomyを併用した症例では、精子の出現は認めていない。また、MESAについては、6回のうち5回で運動性を有する精子を回収でき、顕微授精に供した。全例でICSIが行われたが、妊娠には至らなかった。

## 考 察

閉塞性無精子症は、手術による治療効果が期待できる点で注目されており、諸家の報告によると、男性不妊症患者の5~7.5%、無精子症患者の22.7~29%を占め<sup>5,6)</sup>、近年の診断技術の向上や、本疾患に対する注目度の上昇により、増加傾向にある。閉塞の原因としては、精管切断術、鼠径ヘルニア手術の他、精巣上体炎、Young症候群<sup>7)</sup>、また、先天性の精管欠損などがあげられる。診断は、精巣生検、精管精囊造影をもって確定するが、精巣容量と血清FSHにより原発性か閉塞性かを推測することも十分可能であり<sup>8)</sup>、無精子症患者で両者が正常の場合、閉塞性無精子症を強く疑うべきと考える。

特発性男性不妊症に対する有効な治療法がまだ

確立されていないのに対し、近年の顕微鏡手術の導入により、精路再開通手術の成績は飛躍的に向上した。また、MESA、さらには産婦人科分野における顕微授精の技術の進歩も、閉塞性無精子症の治療成績の向上の要因となっている。今回の我々の検討では、残念ながら妊娠例は認めていないが、vasovasostomy, vasoepidymostomyによる精路再開通、MESAによる運動精子の回収と顕微授精による妊娠の成立は多数報告されており<sup>4,6,9)</sup>、今回の検討においても、治療の有用性は十分に認められたと考える。

Vasovasostomyは、5例中3例で精子が出現、そのうち精子濃度2000万/ml以上が2例、さらに運動率50%以上が1例であった。術式は、全例Silber法<sup>1)</sup>に準じた二層縫合を用いた。術式に関しては、一層縫合と二層縫合とで再開通率などの成績に差がなく、手術時間を短縮する意味からも、一層縫合で十分とする意見の方が多くいようである<sup>10,11)</sup>。Vasoepidymostomyは、4例中2例で精子が出現し、そのうち精子濃度2000万/ml以上は1例であった。術式は、2例でend-to-end法<sup>2)</sup>を、2例でend-to-side法<sup>3,4)</sup>を用いた。end-to-end法では、精巣上体断面から精巣とつながる唯一の精巣上体管を同定するのがきわめて困難なこともあり、end-to-side法が明らかに容易であると思われる。今後、さらなる手術材料、手術手技の改良が期待される。

射精管口閉塞の症例に対しTUR-Verumontanumを2例に施行し、1例で6か月後に精子の出現を認めた。射精管閉塞に対する本手術の有用性に関しては、Meachamら<sup>12)</sup>が、50%で精子が出現し、29%で妊娠が成立したと報告しており、今後とも試みるべき治療法と考えられる。

MESAに関しては、6回中5回で運動精子が回収でき、顕微授精により、3回で受精を認めたものの、妊娠には至らなかった。今後は、さらに婦人科との連携を強化し、妊娠の成立を目指すとともに、精子の凍結保存も考慮する必要があると思われる。

精路開通、あるいは運動精子回収にかかわらず、妊娠に至らない原因のひとつとして、従来より抗精子抗体の関与が指摘されている<sup>13)</sup>。また、近年、精漿中の活性酸素が妊孕性に関係し、精子運動率と活性酸素レベルとの間には負の相関があること<sup>14,15)</sup>、活性酸素レベルの上昇によりsperm-oocyte fusionが抑制されること<sup>16)</sup>などが報告されている。一方、低濃度の活性酸素は、精子の先体反応を亢進させるとの報告もあり<sup>17)</sup>、当科においても検討を進めている。精路閉塞症例における精漿中の活性酸素についても、

今後検討していく必要があると考える。

閉塞性無精子症は、手術的な精路再開通、運動精子の回収が可能であり、精子の質的向上を含めた補助療法も追加し、積極的に治療を行うことで妊娠の成立、さらには妊娠率の向上が期待できる。可能な限り自然妊娠を目指すという男性不妊治療の基本方針を十分ふまえ、今後も成績向上に努めるべきであると考えられた。

本論文の要旨は、第40回日本不妊学会学術講演会において発表した。

## 文 献

- 1) Silber SJ (1978) Microscopic technique for reversal of vasectomy. *Surg Gynecol Obstet* 143: 630-631
- 2) Silver SJ (1977) Perfect anatomical reconstruction of vas deferens with a new microscopic surgical technique. *Fertil Steril* 28: 72-77
- 3) Thomas AJ Jr (1987) Vasoepididymostomy. *Urol Clin North Am* 14: 527-538
- 4) 松田公志, 堀井泰樹, 野々村光生 他(1991)顕微鏡下精巣上体精管吻合術 (side-to-end 法) の経験. *泌尿紀要* 37: 607-612
- 5) 吉田英機 (1991) 男子不妊症に対する外科的治療の現状. *臨泌* 45: 7-13
- 6) 瀧原博史, 井本勝彦, 白瀧 敬 他(1995) 精路通過障害に対する精路再建手術の臨床的研究. *西日泌尿* 57: 421-427
- 7) Matsuda T, Horii Y, Nishimura K, et al. (1991) Young's syndrome: Report of two Japanese cases. *Urol Int* 47: 53-56
- 8) 大橋輝久, 森岡政明 (1982) 男子不妊症の内分泌環境. *西日泌尿* 44: 545-549
- 9) 寺田為義, 藤内靖喜, 十二町明 他(1992) 精巣上体吸引精子による体外受精の試み. *日泌尿会誌* 83: 1994-1998
- 10) 吉田英機, 渡辺政信, 柴崎 裕 (1991) 閉塞性無精子症に対する外科療法. *泌尿外* 4: 793-797
- 11) 角谷秀典, 布施秀樹, 高原正信 他(1988) 閉塞性無精子症に対する精巣上体管および精管精管吻合術の経験. *日不妊会誌* 33: 661-667
- 12) Meacham RB, Hellerstein DK, Lipshultz LI (1993) Evaluation and treatment of ejaculatory duct obstruction in the infertile male. *Fertil Steril* 59: 393-397
- 13) Meinertz H, Linnet L, Fogh-Andersen P, et al (1990) Antisperm antibodies and fertility after vasovasostomy: A follow-up study of 216 men. *Fertil Steril* 54: 315-321
- 14) Agarwal A, Ikemoto I, Loughlin KR (1994) Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens. *J Urol* 152: 107-110
- 15) Ichikawa T, Henkel R, Sanchez R, et al. (1996) Glass wool filtration is effective in separation of human spermatozoa generating low levels of reactive oxygen species. *Andrologia* (in press)
- 16) Aitken RJ, Harkiss D, Buckingham D (1993) Relationship between ironcatalysed lipid peroxidation potential and human sperm fusion. *J Reprod Fert* 98: 257-265
- 17) De Lamirande E and Gagnon C (1993) A positive role for the superoxide anion in triggering hyperactivation and capacitation of human spermatozoa. *Int J Andrology* 16: 21-25  
(受付: 1996年1月12日)  
(受理: 1996年3月11日)

---

### A clinical study of obstructive azoospermia

Hironobu Akiyama, Atsushi Nagai, Takaharu Ichikawa, Michinoshin Akiyama  
Hideo Ozawa, Tadashi Oeda and Hiroyuki Ohmori

Department of Urology, Okayama University Medical School, Okayama 700, Japan

We clinically evaluated 28 patients with obstructive azoospermia.

The mean age was 33.5 years. Causes of the obstruction were childhood inguinal herniorrhaphy in 4 patients, vasectomy in 4, absence of vas deferens in 3, epididymitis in 2, obstruction of ejaculatory duct in 2 and unknown in 13. Operation was performed for 14 patients, including vasovasostomy (5 cases), vasoepididymostomy (4 cases), TUR-Verumontanum (2 cases) and microscopic epididymal sperm aspiration (MESA) (4 cases, 6 times).

After vasovasostomy or vasoepididymostomy, sperm appeared in 5 patients, however, no pregnancy was achieved. On the other hand, we were able to collect motile sperm by MESA (3 cases, 5 times), but no pregnancy was achieved.

It is thought that further study including improvement of sperm quality is necessary for achievement of pregnancy.

**Key words:** male infertility, obstructive azoospermia, vasovasostomy, vasoepididymostomy, MESA

---

## 単為発生マウス胚盤胞における細胞質封入体の量

### The Amounts of Cytoplasmic Inclusions in Parthenogenetic Mouse Blastocysts

新潟大学農学部家畜生産学教室

新村末雄

Sueo NIIMURA

Department of Animal Science

Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata 950-21, Japan

新潟大学大学院自然科学研究科

浅見貴恵

Takae ASAMI

Graduate School of Science and Technology

Niigata University, Niigata 950-21, Japan

エタノールとサイトカラシンBで処置して発生させた2倍体のマウス胚盤胞について、細胞質封入体の数あるいは量を観察し、受精卵子から発生した胚盤胞のものと比較した。

単為発生胚盤胞は、スダン好性の小型、中型および大型の脂質小滴を、それぞれ86.7、23.6および0.7個含んでいたが、受精卵子から発生した対照の胚盤胞に比べ、いずれの大きさの脂質小滴の数も有意に少なかった。また、グリコーゲン顆粒を多量に含む胚盤胞は、対照のものでは83%みられたが、単為発生させたものでは少なく、67%であった。線維構造物は、両者の胚盤胞に中等量含まれており、含量に相違はみられなかった。結晶構造物の含量は、対照の胚盤胞では中等量であったが、単為発生胚盤胞では少なく、少量であった。

**キーワード：**マウス、単為発生胚盤胞、細胞質封入体

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 234 - 239, 1996)

#### 緒言

マウスの単為発生胚の微細構造を観察した報告<sup>1-3)</sup>によると、このような胚では、受精卵子から発生した胚に比べ、核小体に占める核小体糸の割合が高いとともに、空胞状のクリステをもつミトコンドリアは多いが、ゴルジ装置、ライソソーム、リボソームなどの細胞質小器官は少ないといわれている。これらのことから、単為発生胚では、エネルギー産生能、タンパク合成能および養分の吸収・消化能が低いことが推察されている<sup>1,3)</sup>。また、単為発生胚のタンパク合成が低いことは、マウスで生化学的にも確かめられている<sup>4)</sup>。

初期胚は発生のためのエネルギー源として、脂質、グリコーゲンあるいはタンパク質を細胞質に蓄積していることが一般に知られているが、上述の形態学的<sup>1-3)</sup>および生化学的<sup>4)</sup>な観察結果から考えると、単為発生胚では、これらの細胞質封入体の含量は受精卵子から発生した胚に比べ少ないことが想像される。単為発生胚が含有している細胞質封入体の量については、これまでにタンパク質性の結晶構造物が調べられており、この細胞質封入体は単為発生胚ではみられないか<sup>1)</sup>、あるいは、受精卵子から発生した胚に比べ少なかったといわれている<sup>5)</sup>。しかし、単為発生胚で結晶構造物以外の細胞質封入体の量を観察して、受精卵子から発生した胚のものと比較し

た報告はいまだみられない。本研究は、エタノール処置により単為発生を誘起し、サイトカラシンB処置で2倍体化して発生させたマウス胚盤胞について、脂質小滴の数とグリコーゲン顆粒の含量を組織化学的に観察するとともに、線維構造物と結晶構造物の量を電子顕微鏡で観察し、受精卵子から発生した胚盤胞のものと比較したものである。

### 材料および方法

供試動物として、ICR系の成熟雌マウスを使用した。飼育は24℃に調節した室内で行い、点灯は午前4時から午後6時までの14時間とした。まず、これらの雌にPMSG(セトロピン®, 帝国臓器)とhCG(ゴナトロピン®, 帝国臓器)それぞれ5 IUを48時間間隔で腹腔内に注射して過排卵を誘起し、hCG注射後14時間に卵管から未受精卵子を採取した。

単為発生を誘起するために、採取した未受精卵子を、EDTA-2Na(和光純薬)を100  $\mu$ M含むM2<sup>0</sup>(EDTA-M2)培養液に7.5%のエタノールを含む液に室温で7分間、ついで、EDTA-M2培養液1 ml中に5  $\mu$ gのサイトカラシンB(Sigma Chemical Co., U.S.A.)を含む液に37℃で6時間、それぞれ浸漬した。これらの処置を施した卵子は、0.1%のヒアルロニダーゼ(Sigma Chemical Co.)を含むEDTA-M2培養液に浸漬して卵丘細胞を除去し、EDTA-M2培養液で、37℃でCO<sub>2</sub> 5%、空気95%の気相下で22時間培養して2細胞胚に発生させた。2細胞胚は、M16培養液<sup>7)</sup>で3回洗浄した後、M16培養液で68ないし72時間培養して胚盤胞に発生させた。なお対照として、成熟雄と交配させた過排卵処置雌マウスから、hCG注射後14時間に採取した精子侵入卵子を、EDTA-M2培養液で28時間培養して2細胞胚まで発生させ、それ以降M16培養液で68

ないし72時間培養して発生させた胚盤胞を用いた。細胞質封入体の観察に用いた胚盤胞は、単為発生させたものおよび受精卵子から発生させたもの、ともに直径が80ないし100  $\mu$ mのものである。

脂質を検出するために、胚盤胞を10%ホルマリンを含むリン酸緩衝塩類溶液<sup>8)</sup>(pH 7.4)に固定した後、スダンIV染色を施した。また、グリコーゲンを検出するために、透明帯をプロナーゼ(Sigma Chemical Co.)で溶解した胚盤胞を、ジェンダ液に固定し、過沃素酸・シッフ(PAS)反応(唾液消化試験併用)<sup>9)</sup>を施した。処理した胚盤胞はあらかじめワセリン・パラフィンのスポットをカバーガラスの四隅に位置するように置いたスライドガラスの中央に移し、カバーガラスをかぶせ静かに押して胚を押し、顕微鏡下で観察した。

一方、線維構造物と結晶構造物を観察するために、胚盤胞を4%グルタルアルデヒドと2%パラホルムアルデヒドを含む0.1 Mカコジル酸緩衝液(pH 7.4)に、4℃で3時間前固定した。固定後、0.1 Mカコジル酸緩衝液(pH 7.4)を数回交換しつつ一晩洗浄した後、1%四酸化オスミウムを含む0.1 Mカコジル酸緩衝液(pH 7.4)に、4℃で1時間後固定した。脱水はアセトン上昇系列によって行い、包埋はQuetol 812に行った。超薄切片は、JUM-7型超ミクロトーム(日本電子)を用いて作製し、酢酸ウラニウムとクエン酸鉛で電子染色を施した。観察と写真撮影はJEM-100B型電子顕微鏡(日本電子)で行った。

数値の統計処理はt検定(脂質含量)あるいは $\chi^2$ 検定(グリコーゲン含量)によって行った。

### 結 果

マウスの未受精卵子をエタノールとサイトカラシ

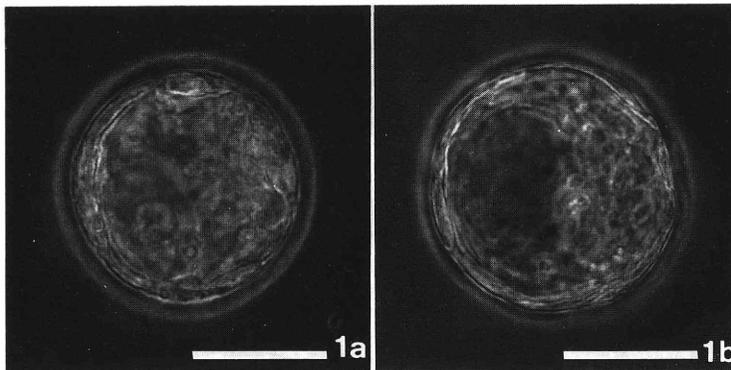


Fig. 1a A parthenogenetic mouse blastocyst (Scale indicates 55  $\mu$ m)

Fig. 1b A mouse blastocyst developed from a fertilized egg (Scale indicates 55  $\mu$ m)

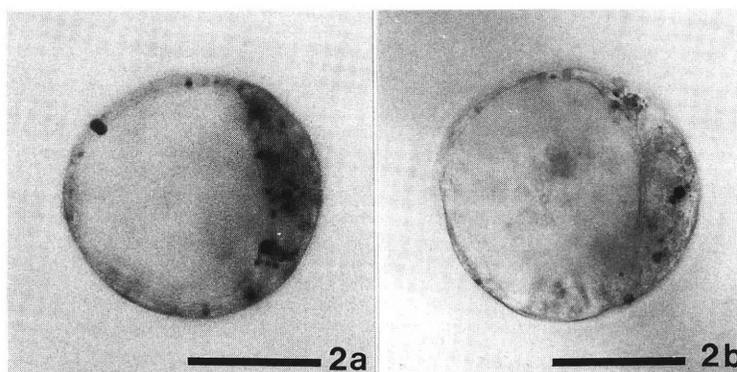


Fig. 2a A mouse blastocyst developed from a fertilized egg. Sudan IV stain (Scale indicates  $55\mu\text{m}$ )

Fig. 2b A parthenogenetic mouse blastocyst. Sudan IV stain (Scale indicates  $55\mu\text{m}$ )

Table 1 The number of Sudanophilic lipid droplets of different sizes in mouse blastocysts

Blastocysts	No. of blastocysts examined	No. of lipid droplets		
		Small ( $< 1\mu\text{m}$ )	Medium ( $1 \sim 3\mu\text{m}$ )	Large ( $\geq 4\mu\text{m}$ )
Parthenogenone	30	$86.7 \pm 32.72^{*a}$	$23.6 \pm 9.29^a$	$0.7 \pm 1.04^b$
Control (Fertilized)	30	$153.0 \pm 37.85^a$	$57.4 \pm 20.57^a$	$1.8 \pm 1.71^b$

\* Mean  $\pm$  S.D.

Values with same superscripts in the same column are significantly different (a:  $p < 0.001$ ; b:  $p < 0.01$ ).

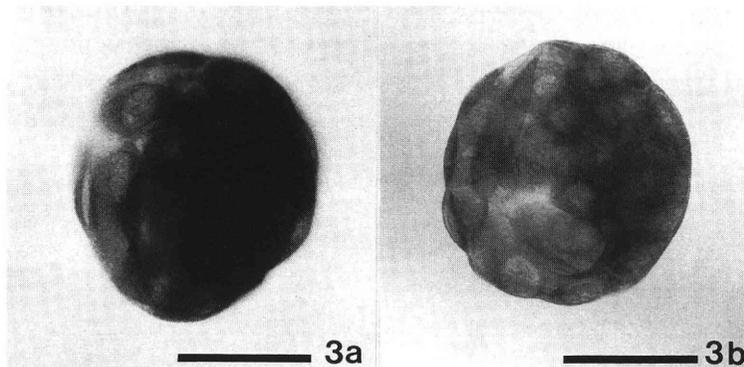


Fig. 3a A mouse blastocyst developed from a fertilized egg. PAS stain (Scale indicates  $55\mu\text{m}$ )

Fig. 3b A parthenogenetic mouse blastocyst. PAS stain (Scale indicates  $55\mu\text{m}$ )

ンBで処置して22時間培養したところ、71%が2細胞胚に、さらに、これらの胚をM16培養液に移して68ないし72時間培養したところ、36%が胚盤胞(Fig. 1 a)に発生した。一方、受精卵子を培養したところ、61%が胚盤胞(Fig. 1 b)に発生した。

### 1 脂質含量

胚盤胞をスダンIVで染色すると、脂質は大小さまざまな大きさの小滴として栄養膜細胞と内細胞塊細胞の細胞質に出現した(Fig. 2 a, b)。本実験では、脂質小滴を直径によって便宜的に小型( $1\mu\text{m}$ 未満)、中

型( $1 \sim 3\mu\text{m}$ )および大型( $4\mu\text{m}$ 以上)の3種類に分け、1個の胚盤胞に含まれるそれぞれの大きさの脂質小滴の数を調べた。Table 1に示したように、単為発生胚盤胞が含有する各種大きさの脂質小滴の数は、いずれの大きさのものも受精卵子から発生したものに比べて有意に少なかった。

### 2 グリコーゲン含量

胚盤胞にPAS反応を施すと、栄養膜細胞と内細胞塊細胞の細胞質に赤紫色の顆粒が出現した(Fig. 3 a, b)。この顆粒は、唾液消化試験によって消失したの

Table 2 The amount of glycogen granules in mouse blastocysts

Blastocysts	No. of blastocysts examined	No. (%) of blastocysts containing	
		A large number of glycogen granules	A moderate number of glycogen granules
Parthenogenone	30	20 (67)	10 (33)
Control (Fertilized)	30	25 (83)	5 (17)

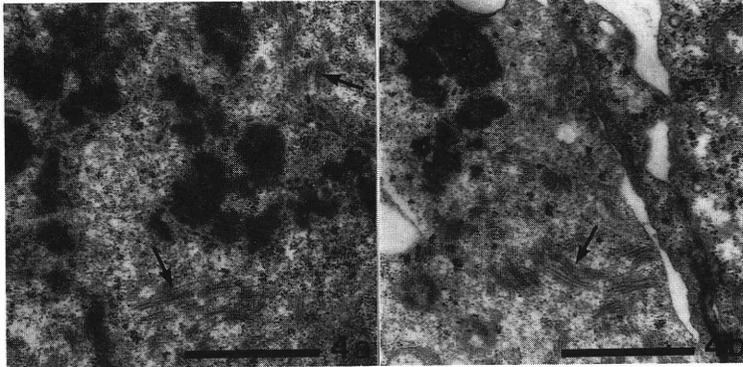


Fig. 4a A trophoblast cell of a mouse blastocyst developed from a fertilized egg. Fibrous strands (arrowed) and crystalloids (starred) are seen in the cytoplasm (Scale indicates  $0.5\mu\text{m}$ )

Fig. 4b Trophoblast cells of a parthenogenetic mouse blastocyst. Fibrous strands (arrowed) and crystalloids (starred) are seen in the cytoplasm (Scale indicates  $0.5\mu\text{m}$ )

で、グリコーゲンであることが確かめられた。Table 2に示したように、グリコーゲンを多量に含む胚盤胞は、有意差はみられなかったものの、受精卵子から発生したものに比べ、単為発生させたもので少なかった。

### 3 線維構造物と結晶構造物の含量

単為発生胚盤胞と受精卵子から発生した胚盤胞各10個を電子顕微鏡で観察したところ、両者の胚盤胞の栄養膜細胞と内細胞塊細胞の細胞質に線維構造物と結晶構造物が観察された (Fig. 4 a, b)。線維構造物は、受精卵子から発生した胚盤胞と単為発生胚盤胞の両者に中等量含まれており、含量に相違はみられなかった。一方結晶構造物の含量は、受精卵子から発生したものでは中等量であったが、単為発生胚盤胞では少なく、少量であった。

### 考 察

マウス胚では、1細胞期から桑実胚期までの間にタンパク質の25%が減少し<sup>10)</sup>、胚に含まれている線維構造物も25%以上消失するので、線維構造物はタンパク質性の栄養分として貯えられて初期発生の過程で使用されるものと考えられている<sup>11)</sup>。さらに、マウス胚の細胞質には結晶構造物も存在することが知

られており<sup>11-13)</sup>、これは、線維構造物が密に凝集したものと考えられている<sup>13,14)</sup>。

本実験において、単為発生胚盤胞がこれら封入体をどの程度含有しているのかを電子顕微鏡によって観察したところ、単為発生胚盤胞は線維構造物を中等量含んでおり、受精卵子から発生した胚盤胞との間で含量に相違はみられなかった。一方、結晶構造物の含量は少量で、受精卵子から発生した胚盤胞に比べ少ないことが確かめられた。Van Blerkom と Runner<sup>5)</sup>も、単為発生胚に含まれる結晶構造物の量は受精卵子から発生した胚に比べて少ないことを観察しており、本実験の観察結果と一致していた。単為発生胚で結晶構造物が少ない理由として、単為発生胚ではリボソームが少なく<sup>3)</sup>、タンパク合成が低いことが確かめられている<sup>5)</sup>ので、単為発生胚では発生のエネルギー源として線維構造物を受精卵子から発生した胚と同様に使用しているが、合成するタンパク質の量が少ないために、線維構造物を結晶構造物として蓄積する量が減少したものと思われた。なおSolter<sup>1)</sup>は、マウスの単為発生胚では結晶構造物はみられなかったと述べており、本実験およびVan Blerkom<sup>5)</sup>の結果との間に相違がみられる。この相違については、我々は2倍体の単為発生胚を観察に用いている

が、彼らりは半数体の単為発生胚盤胞を使用しているために生じたものと思われた。

さらに本実験において、単為発生胚盤胞に含まれている脂質およびグリコーゲンの量を初めて調べた。その結果、単為発生胚盤胞では、受精卵子から発生した胚盤胞に比べ、脂質含量が有意に少ないとともに、有意差はみられなかったものの、グリコーゲン含量も少ないことが明らかとなった。このような単為発生胚における細胞質封入体の含量が少ないことは、既述の単為発生胚の代謝活性の低さを示唆する微細構造の結果<sup>1-3)</sup>を裏付けるものであると考えられた。

一方、単為発生卵子の胚盤胞までの発生速度は、移植した場合には受精卵子と相違はないが、培養した場合には受精卵子よりも遅いことが確かめられている<sup>15)</sup>。このような単為発生胚の体外での発生遅延は、単為発生誘起のために用いた方法によらず、一般にみられる現象であるといわれている<sup>15)</sup>。単為発生胚の体外での発生遅延の原因については明らかではないが、本実験の細胞質封入体の量に関する観察結果から考えると、発生のためのエネルギー源として含有している細胞質封入体の量の少なさが一因のように思われた。

## 文 献

- 1) Solter D, Biczysko W, Graham C, et al. (1974) Ultrastructure of early development of mouse parthenogenones. *J Exp Zool* 188: 1-24
- 2) Anderson E, Hoppe PC, Lee GS (1984) The karyotype and ultrastructural characteristics of spontaneous preimplantation mouse parthenotes. *Gamete Res* 9: 451-467
- 3) 新村末雄, 浅見貴恵 (1996) 単為発生マウス胚盤胞の微細構造. *日不妊会誌* 41: 186-190
- 4) Petzoldt U, Hoppe PC (1980) Spontaneous parthenogenesis in *Mus musculus*: Comparison of protein synthesis in parthenogenetic and preimplantation embryos. *Molec Genet* 180: 547-552
- 5) Van Blerkom J, Runner MN (1976) The fine structural development of preimplantation mouse parthenotes. *J Exp Zool* 196: 113-124
- 6) Whittingham DG, Fulton BP (1978) Activation of mammalian oocytes by intracellular injection of calcium. *Nature* 273: 149-151
- 7) Whittingham DG (1971) Culture of mouse ova. *J Reprod Fert Suppl* 14: 7-21
- 8) Dulbecco R, Vogt M (1954) Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. *J exp Med* 99: 167-182
- 9) McManus JFA (1948) Histological and histochemical use of periodic acid. *Stain Technol* 23: 99-108
- 10) Brinster RL (1967) Protein content of the mouse embryo during the first five days of development. *J Reprod Fert* 13: 413-420
- 11) Enders AC (1971) The fine structure of the blastocyst. In: Blandau RJ (ed), *The Biology of the Blastocyst*. The Univ Chicago Press, Chicago and London, pp71-94
- 12) Enders AC, Schlafke SJ (1965) The fine structure of the blastocyst: some comparative studies. In: Wolstenholme GEW, O'Connor M (eds), *Preimplantation Stages of Pregnancy*. J. and A. Churchill, London, pp29-59
- 13) McReynolds HD, Hadek R (1972) A comparison of the fine structure of late mouse blastocysts developed in vivo and in vitro. *J Exp Zool* 182: 95-118
- 14) Nilsson BO (1980) Comparative ultrastructure of the yolk material in preimplantation stage of the hamster, mouse, and rat embryos. *Gamete Res* 3: 369-377
- 15) Whittingham DG (1980) Parthenogenesis in mammals. In: Finn CA (ed), 2nd ed, *Oxford Reviews of Reproductive Biology*. Clarendon Press, Oxford, pp205-231

(受付: 1996年2月5日)

(受理: 1996年3月22日)

---

## The amounts of cytoplasmic inclusions in parthenogenetic mouse blastocysts

Sueo Niimura

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata 950-21, Japan

Takae Asami

Graduate School of Science and Technology, Niigata University, Niigata 950-21, Japan

The amounts of cytoplasmic inclusions in parthenogenetic mouse blastocysts derived from the eggs activated and diploidized by the treatment of ethanol and cytochalasin B were histochemically or electronmicroscopically observed, and were compared with those in control blastocysts developed from fertilized eggs.

The numbers of Sudanophilic lipids composed of small (less than  $1\mu\text{m}$  in diameter), medium (1 to  $3\mu\text{m}$ ) and large (more than  $4\mu\text{m}$ ) droplets were 86.7, 23.6 and 0.7 in parthenogenetic blastocysts, and 153.0, 57.4 and 1.8 in control blastocysts, respectively. The numbers of lipid droplets of all sizes were significantly less in parthenogenetic blastocysts. The percentage of parthenogenetic blastocysts containing a large amount of glycogen granules was 67%, which was lower than 83% seen in control blastocysts. Similar number of fibrous strands was observed in the cytoplasm of trophoblast cells and inner-cell-mass cells of both parthenogenetic and control blastocysts. However, the number of crystalloids observed in parthenogenetic blastocysts was smaller than in control blastocysts.

**Key words:** mouse, parthenogenetic blastocyst, cytoplasmic inclusion

---

# 細胞質内精子注入卵の活性化・初期胚発生に与える electrostimulationの影響

## Effect of Electrostimulation on Activation and Development of Eggs after Intracytoplasmic Sperm Injection

福島県立医科大学産科婦人科学教室

阿部 利明  
Toshiaki ABE

柳田 薫  
Kaoru YANAGIDA

星 和彦  
Kazuhiko HOSHI

佐藤 章  
Akira SATOH

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

卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic sperm injection ; ICSI) が行われた卵ではしばしば卵の活性化が起こらず胚発生が不成功に終ることがある。本研究ではヒトICSI後の卵の活性化誘起に電気刺激 (DC pulse) の応用を試み、条件設定のための基礎的な検討はハムスターの未受精卵とICSI後の卵を用いて行った。

印加溶液に phosphate buffered saline を用いたとき、卵の活性化に最も効果的であった電気刺激の条件は電圧375 V/cm, 通電時間100 $\mu$ sec, 1回の通電であった。この条件でハムスターのICSI施行直後の卵にDC pulseを加えてみたところ対照に比べ活性化誘起率が高い傾向を認め、同条件下の電気刺激をヒトのICSI卵に応用した。DC pulseを印加した卵の、活性化率、分割率はそれぞれ64.3%, 45.2%で対照(18.8%, 6.3%)に比べ有意に高く、ヒトICSI後の卵のDC pulse付加処理は、活性化誘起およびその後の胚発育に有益であることが示唆された。

**キーワード:** 卵細胞質内精子注入法, 卵活性化誘起, 電気刺激

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 240 - 246, 1996)

### 緒 言

卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic sperm injection; ICSI) は優れた顕微授精法として重症男性不妊症に対して用いられる頻度が急速に高まっている。しかし、ICSIを行った卵の胚発生が不成功に終る場合があり、このような例では卵の活性化が起きていないことがその原因のひとつとして考えられている。このような卵に対して効果的な卵活性化を誘起することができれば、ICSIの成績向上につながる事が予想される。哺乳類の卵は、種々の刺激により活性化されることが知られているが、電気刺激 (DC pulse) もそのひとつで、マウス、ウサギなどの実験動物の卵に単為発生を起こさせるときの活性化誘起法として用いられている<sup>1-3)</sup>。卵に外部から高い電界をか

ける (印加する) と卵細胞膜に小孔ができ (electroporation)<sup>4-6)</sup>、この小孔から細胞内に細胞外Ca<sup>2+</sup>が流入し、それが引き金となって卵の活性化が促進されると考えられている<sup>7,8)</sup>。本研究ではヒトのICSI後の卵の初期胚発生に対するDC pulseの効果を基礎的、臨床的に検討した。

### 材料および方法

#### I. 卵の活性化に最適な電気刺激条件の検討

最適な電気刺激の条件をハムスター未受精卵およびICSI後の卵を用いて検討した。種々の条件下の方形波高電圧パルス (DC pulse) を電極間に置いた卵に印加し活性化の有無を観察した。

#### 1. ハムスター未受精卵の採取

8~12週齢の雌ゴールデンハムスターを過排卵処

理し、hCG投与16時間後に卵管を取りだし未受精卵を回収した。卵-顆粒膜細胞塊を0.1%のhyaluronidaseをふくむmodified Krebs-Ringer液であるWhitten-Hoppe液(W/H液<sup>9)</sup>)に移し、37℃で5分間処理して顆粒膜細胞を分散除去した。DC pulseを通電する際に用いる溶液(印加溶液)に顆粒膜細胞除去未受精卵を移し10分間37℃に静置した後DC pulseを加えた。

## 2. 精子核の準備

雄ゴールデンハムスターの精巣上体尾部を摘出し精子を採取した。精子は生理的食塩水に浮遊させた後、テフロンホモジナイザーを用いてホモジナイズし頭部(核)と尾部を離断させた。浮遊液を遠心(750×g, 5分間)し、沈渣に1.5 Mシヨ糖液3 mlを加え、さらに遠心(300×g, 10分間)して沈渣を蒸留水で2回遠心洗浄(750×g, 5分間)して精子核を回収した。精子核濃度が $1 \times 10^8$ /mlとなるように生理的食塩水を加えて調整し、サンプリングチューブ内に0.5 mlずつ分注し、凍結保護剤を使用せずそのまま-40℃で冷凍保存した。使用時にはそのつど室温で解凍した。

## 3. ハムスター卵のICSI

ICSIの基本操作はPerreault et al.<sup>10)</sup>および柳田ら<sup>11)</sup>の方法に準じて行った。

## 4. DC pulseの通電(electrostimulation)

細胞電気融合装置(SSH-2:島津製作所)を用い電極間距離2 mmのcell chamberに入れられた未受精卵およびICSI後卵に対し種々の条件下のDC pulseを加えた。

## 5. DC pulse通電後の卵培養と活性化の確認

DC pulse通電後の未受精卵およびICSI施行後卵はただちに1 mlのW/H液に移され、37℃, 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 90% N<sub>2</sub>の環境下で培養された。培養3時間後に卵を取り出しスライドガラス上に移した後カバーガラスで軽く押しつぶしてから2.5% glutaraldehydeで1~2分間固定、1% acetocarmineで染色、45% acetic acidで洗浄し位相差顕微鏡下で前核の形成状態と表層顆粒の有無を観察した。明らかに雌性前核が形成され、第2極体の存在と表層顆粒の消失が確認されたとき卵に活性化が生じていたと判定した。なお、雌性前核が複数観察されるものは雌性前核形成過程に異常があったものと判断した。

## 6. 最適なDC pulse条件の検討

### 1) 印加用溶液の検討

通常DC pulseをかけるときの溶液としてはCa<sup>2+</sup>が添加されたmannitolもしくはsucroseの等張液が用いられているが、印加溶液として電解質溶液が使用可能か否かを検討した。phosphate buffered saline (PBS),

Ca-freeのPBSそして0.9 mMのCaCl<sub>2</sub>を含むmannitol等張液の中にハムスター未受精卵を入れ、375 V/cm, 100 μsecのDC pulseを1回通電し培養後活性化の状態を観察した。

### 2) DC pulseの電界強度の検討

PBSを使用し、0~2000 V/cm, 100 μsecのDC pulseをハムスター未受精卵に1回通電し活性化の状態を観察した。

### 3) DC pulseの通電時間の検討

PBSを使用し、375~1750 V/cmの電界強度で通電時間が50 μsecと100 μsecのDC pulseをハムスター未受精卵に1回通電し、活性化の状態を観察した。

### 4) DC pulseの通電回数の検討

PBSを使用し、375 V/cmと500 V/cmで50 μsecのDC pulseをpulse間隔1分でハムスター未受精卵に1~3回通電し活性化の状態を観察して通電回数の影響を比較した。

5) ICSIが施行されたハムスター卵に対するDC pulseの効果

PBSを使用し、375 V/cm, 100 μsecのDC pulseをICSI直後のハムスター卵に1回通電し、培養3時間後に活性化の状態を観察した。

## II. ヒトICSI後卵に対する電気刺激

通常の体外受精で受精の認められない受精障害例にICSIを適用した。患者の同意を得たうえでICSI施行直後にDC pulseを加え、前核期胚と分割卵の獲得率を調査した。

### 1. ヒト卵の準備

酢酸ブセレリン(スプレキュア®:ヘキストジャパン)をlong protocol法で併用しながら月経周期3日目よりFSH(フェルティノームP®:セロノジャパン)300 IUを4日間投与し、引き続きhMG(パーゴナル®:帝国臓器)150 IUを卵胞成熟徴候が確認できるまで投与し、その後hCG(HCGモチダ®:持田製薬)10000 IUを投与した。採卵はその35時間後に行った。その後卵子を1~5時間培養し、ICSIの直前に0.025%のhyaluronidaseを含むPBSで1分間処理した後ピペettingで卵丘細胞を除去した。ICSIを施行するまでは10%非働化ヒト臍帯血血清加HTF液(HTF: Irvine, California, USA)中に入れ、37℃, 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 90% N<sub>2</sub>下で培養した。

### 2. 精子の準備

用手法にて精液を採取し37℃で液化させた後swim up法を行い精子を回収した。高度乏精子症と診断されswim up法が困難な症例では洗浄濃縮法を行った。

精子をHTF液に浮遊させ、ICSIの直前に10% polyvinylpyrrolidoneを添加したHTFに移してPVPの最終濃度が8%の精子浮遊液を作成した。ICSIに用いた精子は凍結(液体窒素)と融解(室温)を2回繰り返して死滅化させたものである。

3. 活性化促進法

ICSI後DC pulseによる活性化促進を行い、10%ヒト臍帯血血清加HTF液中で48時間培養後卵活性化率と初期胚の発育状態を観察した。DC pulse以外の卵活性化法として、卵細胞質吸引法とCa-ionophore処理法も行い効果を比較した。

1) DC pulse 処理

印加溶液にPBSを使用し、375 V/cm, 100μsecのDC pulseをICSIの30分後のヒト卵に1回通電した。

2) 卵細胞質吸引による活性化誘起

精子の入ったinjection needleを卵子の中心まで刺入後、injection needleに陰圧をかけて卵細胞質を少量吸引し、その後細胞質とともに精子を卵へ注入した。

3) Ca-ionophore 処理

ICSI施行30分後に10μMのA23187を含むHTFで5

分間処理した。卵は3回HTFで洗浄したあとに培養を行った。

統計的処理はχ<sup>2</sup>検定を用いて行った。

結 果

1. ハムスター卵を用いて検討した最適なDC pulse 条件

1) 印加用溶液の検討

3種類の溶液を用いてDC pulseをかけたときのハムスター未受精卵の活性化の状態を表1に示した。PBSと0.9 mM CaCl<sub>2</sub>を含むmannitol液を用いたときの活性化誘起率が高く、両者に差が認められなかった。Ca-freeの場合とDC pulseによる処理を行わない卵はほとんど活性化されなかった。

2) DC pulseの電界強度の検討

DC pulseの異なった電界強度がハムスター未受精卵の活性化に与える効果を表2に示した。250~500 V/cmの電界強度のとき活性化の効果が良好であった。

3) DC pulseの通電時間の検討

DC pulseを50μsecと100μsecのpulse幅で通電した

表1 DC pulse 処理時に用いる溶液がハムスター未受精卵の活性化に与える影響 (pulse: 375 V/cm, 100μsec, 1回)

溶液の種類	pulse 処理の有無	a 卵総数	b 生存卵数 (b/a%)	c 活性化卵数 (c/b%)	雌性前核数	
					1個d (d/c%)	2個以上e (e/c%)
PBS	+	21	21 (100)	18 (86)	15 (83)	3 (17)
Ca-free PBS	+	15	15 (100)	0 (0)	0	0
mannitol#	+	24	24 (100)	20 (83)	16 (80)	4 (20)
PBS	-	12	12 (100)	1 (8)	1 (100)	0 (0)
Ca-free PBS	-	12	12 (100)	0 (0)	0	0
mannitol#	-	10	10 (100)	1 (10)	1 (100)	0 (0)

#0.9 mM CaCl<sub>2</sub>を含む

\*: N.S., \*\*: p<0.01

表2 DC pulseの電解強度がハムスター未受精卵の活性化に与える影響 (pulse: 100 μsec, 1回)

pulse 電解強度 (V/cm)	a 卵総数	b 生存卵数 (b/a%)	c 活性化卵数 (c/b%)	雌性前核数	
				1個d (d/c%)	2個以上e (e/c%)
0	33	33 (100)	3 (9)	3 (100)	0 (0)
250	14	12 (86)	12 (100)	12 (100)	0 (0)
375	47	47 (100)	41 (87)	36 (88)	5 (12)
500	37	37 (100)	34 (92)	26 (76)	8 (24)
750	27	7 (26)	6 (86)	2 (33)	4 (67)
1000	20	1 (5)	0 (0)	0	0
1500	20	0 (0)	0	0	0
2000	10	0 (0)	0	0	0

\*: N.S.,

\*\* : p<0.01

表3 DC pulseの通電時間がハムスター未受精卵の活性化に与える影響 (pulse回数=1)

pulse時間 ( $\mu$ sec)	pulse強度 (V/cm)	a 卵総数	b 生存卵数 (b/a%)	c 活性化卵数 (c/b%)	雌性前核数	
					d 1個 (d/c%)	e 2個以上 (e/c%)
50	375	20	20 (100)	16 ( 80)	13 (81)	3 (19)
	750	20	20 (100)	20 (100)	8 (40)	12 (60)
	1250	16	10 ( 63)	8 ( 80)	2 (25)	6 (75)
	1750	14	0 ( 0)	0	0	0
100	375	21	21 (100)	14 ( 67)	12 (86)	2 (14)
無処理	-	10	10 (100)	0 ( 0)	0	0

\*: N.S, \*\*: p<0.05

表4 DC pulseの通電回数がハムスター未受精卵の活性化に与える影響 (pulse時間=50  $\mu$  sec, pulse間隔=1min)

pulse強度 (V/cm)	pulse回数	a 卵総数	b 生存卵数 (b/a%)	c 活性化卵数 (c/b%)	雌性前核数	
					d 1個 (d/c%)	e 2個以上 (e/c%)
375	1	10	10 (100)	10 (100)	7 ( 70)	3 (30)
	2	10	10 (100)	5 ( 50)	2 ( 40)	3 (60)
	3	11	11 (100)	7 ( 64)	3 ( 43)	4 (57)
500	1	14	14 (100)	12 ( 86)	12 (100)	0 ( 0)
	2	10	6 ( 60)	2 ( 33)	2 (100)	0 ( 0)
	3	10	4 ( 40)	2 ( 50)	1 ( 50)	1 (50)

\*: N.S, \*\*: p<0.05

表5 ICSIが施行されたハムスター卵に対する DC pulseの効果 (pulse: 375 V/cm, 100  $\mu$  sec, 1回)

pulse処理	a 卵総数	b 生存卵数 (b/a%)	c 活性化卵数 (c/b%)
+	25	20 (80)	17 (85) *
-	20	14 (70)	10 (71) *

\*: N.S,

ときのハムスター未受精卵の活性化に与える効果を比較して表3に成績を示した。375 V/cm, 50 $\mu$  secのDC pulseが活性化誘起に最も効果的であった。しかし、375 V/cm, 100 $\mu$  secのDC pulseでも有効性に差をみなかった。

4) DC pulseの通電回数の検討

通電回数がハムスター未受精卵の活性化誘起に与える効果を表4に示した。通電回数が増えると活性化率が低下し、複数の雌性前核が認められる割合が多くなった。375~500 V/cmのDC pulseでは通電回数は1回が適当と考えられた。

5) ICSIが施行されたハムスター卵に対するDC pulseの効果

1)~4)までの成績を参考に、最も効果的と考えられた条件のDC pulseをICSI後のハムスター卵に作用させたときの活性化の状態を表5に示した。対照に比べDC pulseによる処理を行った卵の活性化誘起率が高い傾向が認められた。

2. ヒトのICSIにおけるDC pulseの効果

ICSIが行われたヒト受精卵に対しDC pulseを通電したときと他の活性化法を行ったときの卵活性化率、初期胚発育状態を表6に示した。無処理の卵に比べ細胞質吸引、A 23187処理あるいはDC pulse処理したときの卵活性化率が高い結果となった。しかし分割卵の獲得率を見ると、細胞質吸引を行った場合は22.9%でA 23187処理とDC pulse処理卵に比べて低値であった。

考 察

自然の受精では精子が卵の細胞膜と融合した瞬間に、第2成熟分裂の中期で生物学的に静止状態にあった卵は活性化されて再び細胞分裂の過程を開始する。精子と卵細胞膜の融合後卵細胞内に起こる最初の現象はCa<sup>2+</sup>の一時的な増加<sup>12,13)</sup>で、Ca<sup>2+</sup>の増量は精子侵入部付近からしだいに卵全体に伝わる<sup>14)</sup>。そ

表6 ヒトのICSIにおけるDC pulseの効果

卵子の活性化法	a 卵総数	b 生存卵数 (b/a%)	c 活性化卵数 (c/b%)	d 分割卵数 (d/b%)
なし	16	16 (100)	3 (18.8)	1 (6.3)
細胞質吸引	64	48 (75.0)	29 (60.4)	11 (22.9)
A23187	224	169 (75.4)	107 (63.3)	69 (40.8)
DC pulse	49	42 (85.7)	27 (64.3)	19 (45.2)
A23187: 10 $\mu$ M, 5min		DC pulse: 375V/cm, 100 $\mu$ sec, 1回		*: N.S., **: p<0.05

の後表層顆粒の囲卵腔への放出が起こり、第二極体が放出され雌性前核が形成される。このような卵活性化にともなう一連の現象の引き金になっているのがCa<sup>2+</sup>と考えられている。精子が卵を活性化する詳細なメカニズムはいまだ不明であるが、2つの機序が考えられており<sup>15)</sup>、そのひとつは精子表面のシグナル分子 (ligand) と卵細胞膜上の精子受容体との結合が誘因となってイノシトール三リン酸 (IP<sub>3</sub>) が産生され、細胞質内のIP<sub>3</sub>感受性Ca<sup>2+</sup> storeよりCa<sup>2+</sup>が遊離されるという考え方で、他はCa<sup>2+</sup>を増加させる刺激因子 (sperm factor) を精子自体が卵細胞質内に持ち込むのではないかという説<sup>16,17)</sup>である。前者の仮説に従えば精子を人為的に卵細胞質内に注入させるICSIでは、自然の受精と違ってこの卵の活性化がスムーズに進行せず受精卵の発生が停止するものと考えられる。

単為発生を目的として未受精卵を活性化させる手段として従来から試みられているのは、卵細胞を物理的に刺激する方法<sup>18)</sup>とCa-ionophore<sup>19)</sup>やethanol<sup>20)</sup>などを用いて化学的に処理する方法<sup>21)</sup>である。物理的的刺激とは、卵を針でついたり刺入したりすること<sup>18)</sup>で、このような操作だけで単為発生の生じることは古くから知られている。ICSIでは精子を注入するため必ずmicro needleによる卵への刺入が行われ、この操作自体が活性化刺激になっているのは事実と思われるが、本研究のヒトのICSIでは、卵活性化率、分割率は低く(18.8%, 6.3%)それだけでは効果が不十分と思われる。Ca-ionophoreは細胞膜のCa-channelに作用して細胞外のCa<sup>2+</sup>を細胞内に流入させる物質で、この細胞内Ca<sup>2+</sup>の増加が卵の活性化を促進すると考えられている<sup>19)</sup>。

細胞が一定の強さの電界内に置かれると、細胞膜を構成するリン脂質二重層の分子配列に乱れが生じ、きわめて小さな間隙ができ、このような現象はelectroporationと呼ばれている。流れる電流は何ら細胞に影響を与えない<sup>22)</sup>が、細胞膜分子の乱れの度合いは周囲の電界強度および通電時間に依存し、ある高さ

の電圧を越えたり、通電時間が長すぎると細胞膜が不可逆的なダメージを受けるが、それを越えなければ細胞膜は時間とともに修復される<sup>4,5)</sup>。2つの細胞を融合させるために、細胞電気融合装置が開発されており、この装置を使って卵にelectroporationを起こすことができる。未受精卵にelectroporationが起こると細胞膜に生じた狭い間隙からCa<sup>2+</sup>が流入して、卵の活性化が促進されるという報告がある。著者らはヒトのICSI後卵の活性化誘起にelectroporationの応用を考えてみた。通電条件の基礎的検討はハムスターの未受精卵とICSI後の卵を用いて行い、使用する溶液、DC pulseの電圧、通電時間、通電回数について検討した。DC pulseを加えるときに用いる溶液は流れる電流が強くなり過ぎるのを避けるために、通常非電解液のmannitolやsucroseの等張液が用いられる。しかし、受精卵は常に電解質を含む溶液内に置かれることが望まれるので、PBSを使用したelectrostimulationを検討した。卵活性化率はPBSを用いたときもmannitol液を用いたときと差がなくDC pulse通電に電解液も十分使用できることが確認できた。基礎的検討から最適な条件と考えられた375 V/cm, 100 $\mu$  secのDC pulse 1回通電をヒトのICSI施行後の卵に行いその効果を調査した。その結果卵の活性化率、分割率は無処理の卵に比べて有意に上昇し、Ca-ionophoreで処理したときと差をみなかった。

電気刺激法の利点は、Ca-ionophoreなどの化学物質にみられる細胞毒性がないことである。電気刺激による受精卵の活性化誘起は運動性のない精子や未熟精細胞を用いたICSI後の受精卵にしばしば観察される発生停止に有益な効果をもたらすものと期待される。

## 文 献

- 1) Tarkowski AK, Witkowska A, Nowicka J (1970) Experimental parthenogenesis in the mouse. Nature 226: 162-165

- 2) Onodera M, Tsunoda Y (1989) Parthenogenetic activation of mouse and rabbit eggs by electric stimulation in vitro. *Gamete Res* 22: 277-283
- 3) Kono T, Iwasaki S, Nakahara T (1989) Parthenogenetic activation by electric stimulus of bovine oocytes matured in vitro. *Theriogenology* 32: 569-576
- 4) Zimmermann U, Vienken J (1982) Electric field-induced cell-to-cell fusion. *J Membr Biol* 67: 165-182
- 5) George WB, James AS, Arthur ES (1971) Electrofusion principles and application. In: *Cell fusion*. Arthur ES (ed), Plenum Press, New York, pp 367-395
- 6) Tsong YY (1983) Voltage modulation of membrane permeability and energy utilization in cells. *Biosci Rep* 3: 487-505
- 7) Rickords LF, White KL (1992) Electrofusion-induced intracellular  $Ca^{2+}$  flux and its effect on murine oocyte activation. *Mol Reprod Dev* 31: 152-159
- 8) Sun FZ, Hoyland J, Huang X, et al. (1992) A comparison of intracellular changes in porcine eggs after fertilization and electroactivation. *Development* 115: 947-956
- 9) Yanagida K, Yanagimachi R, Perreault SD, et al. (1991) Thermostability of sperm nuclei assessed by microinjection into hamster oocytes. *Biol Reprod* 44: 440-447
- 10) Perrault SD, Zirkin BR (1982) Sperm nuclear decondensation in mammals: Role of sperm-associated proteinase in vivo. *J Exp Zool* 224: 253-257
- 11) 柳田 薫, 矢沢浩之, 片寄治男 他(1991)哺乳類精子核の保存に関する研究. *日受精着床会誌* 8: 150-153
- 12) Miyazaki S (1988) Fertilization potential and calcium transients in mammalian eggs. *Dev Growth Differ* 30: 603-610
- 13) Epel D (1990) The initiation of development of fertilization. *Cell Differ Dev* 29: 1-12
- 14) Miyazaki S, Hashimoto N, Yoshimoto Y, et al. (1986) Temporal and spatial dynamics of the periodic increase in intracellular free calcium at fertilization of golden hamster eggs. *Dev Biol* 118: 259-267
- 15) Miyazaki S, Shirakawa H, Nakada K, et al. (1993) Essential role of the inositol 1, 4, 5-triphosphate receptor/ $Ca^{2+}$  release channel in  $Ca^{2+}$  waves and  $Ca^{2+}$  oscillations at fertilization of mammalian eggs. *Dev Biol* 158: 62-78
- 16) Dale B, DeFelicè LJ (1990) Soluble sperm factors, electrical events and egg activation. In: *Mechanism of fertilization*. B Dale(ed) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp475-487
- 17) Swann K (1990) A cytosolic sperm factor stimulates repetitive calcium increase and mimics fertilization in hamster eggs. *Development* 110: 1295-1302
- 18) Uehara T, Yanagimachi R (1977) Activation of hamster eggs by Pricking. *J Exp Zool* 199:269-274
- 19) Hoshi K, Yanagida K, Sato A (1992) Pretreatment of hamster oocytes with  $Ca^{2+}$ - ionophore to facilitate fertilization by ooplasmic micro-injection. *Hum Reprod* 7: 871-875
- 20) Cuthbertson KSR (1983) Parthenogenetic activation of mouse oocytes in vitro with ethanol and benzyl alcohol. *J Exp Zool* 226: 311-314
- 21) Kim H, Schnetz AW (1991) Regulation of parthenogenetic activation of metaphase II mouse oocytes by pyruvate. *J Exp Zool* 257: 375-385
- 22) Sale AJ, Hamilton WA (1968) Effects of high electric fields on micro-organisms. III. Lysis of erythrocytes and protoplasts. *Biochim Biophys Acta* 163: 37-43

(受付：1996年2月9日)

(受理：1996年3月22日)

---

## Effect of electrostimulation on activation and development of eggs after intracytoplasmic sperm injection

Toshiaki Abe, Kaoru Yanagida, Kazuhiko Hoshi and Akira Satoh

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

With the intracytoplasmic sperm injection (ICSI), it has been pointed out that the activation of the egg is not sufficient. Electrostimulation is one of stimuli which can induce parthenogenetic activation in mammalian eggs. This study was designed to examine effect of electrostimulation on the activation of human eggs after ICSI. Before application to human, unfertilized hamster eggs were used to determine the optimal condition of DC pulse for egg activation. The optimal pulse condition was a single pulse of 375 V/cm for 100 $\mu$ sec. The same pulse exposed hamster eggs immediately after ICSI and it was proved that activation rate tended to be higher than that of untreated control group. Also in human ICSI DC pulse was positive effects. The rate of activation (64.3 %) and cleavage (45.2 %) were significantly higher than control group (18.8 %, 6.3 %,  $p < 0.05$ ). These results suggest that the treatment of human eggs after ICSI with DC pulse is a useful method for activation and development of eggs.

**Key words:** ICSI, egg activation, electrostimulation

---

## 経時的にみた男性不妊症の臨床的検討

### Historical Comparative Study on Male Infertility

金沢大学医学部泌尿器科学教室

天 野 俊 康

Toshiyasu AMANO

野 田 透

Toru NODA

徳 永 周 二

Shuji TOKUNAGA

今 尾 哲 也

Tetsuya IMAO

中 村 靖 夫

Yasuo NAKAMURA

大 川 光 央

Mitsuo OHKAWA

伊 藤 秀 明

Hideaki ITO

國 見 一 人

Kazuto KUNIMI

並 木 幹 夫

Mikio NAMIKI

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

1985年1月から1994年3月までの間に不妊を主訴に当科外来を受診した237例を対象とし、初診時年齢、不妊期間、既往歴、精液所見、男性不妊症の原因疾患などにつき検討した。さらに当科における以前の集計(1955～1964年および1965～1973年)との比較を行った。

その結果、外来総患者数に対する不妊症患者の比率は0.9%と以前の報告に比べ、減少していた。初診時年齢は30～34歳が43.9%と最も多く、これまでと同様であった。受診までの期間は1～2年が17.3%と最も多く、これまでの2～3年が最多であったのに比べ、短くなっていた。不妊症の直接原因となる既往歴としては流行性耳下炎に合併した精巣炎、鼠径ヘルニア術後の精路通過障害が各1例であった。精液所見では、無精子症は23.6%と以前の報告より減少傾向にあったが、受診までの期間の短縮を考慮すると、将来的には妊娠可能であったものも含まれ、結果的に無精子症の比率減少となったものと考えられた。また男性不妊症の原因として84.4%が特発性であり、ついで精索静脈瘤、Klinefelter症候群が各4.2%であった。

男性不妊症患者の質的变化は経時的に見てさほど大きいものではないと考えられるが、男性不妊症に対する診断、治療の進歩の中で、今後も先端の診断、治療に即応できるように心掛ける必要がある。

**キーワード：**男性不妊症、臨床的観察、経時的比較

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 247 - 252, 1996)

#### 緒 言

泌尿器科診療において、男性不妊症は重要な領域のひとつである。当教室ではこれまでに、1955年からの10年間<sup>1)</sup>、および1965年からの9年間<sup>2)</sup>の男性不妊症の臨床的検討結果を報告してきた。近年、男性不妊症の診断にも治療にもさまざまな進歩が認められ、最近の男性不妊症の臨床的検討を加えることは有意義である。今回我々は、1985年1月より1994年3月までの当科における男性不妊症を臨床的に検討し、さらに前述の報告と比較検討を行ったので報告する。

#### 対象および方法

1985年1月より1994年3月までに、不妊症を主訴に金沢大学医学部附属病院泌尿器科を受診した237例を対象とした。これらの症例の初診時の患者背景、不妊期間、精液所見、精巣容積、血中ホルモンレベルなどにつき検討した。精液所見は、WHOの基準を参考にして精子濃度、精子運動率所見より第1～7群に分類した大橋ら<sup>3)</sup>の報告に基づき行った。精巣容積は山口市式打抜き orchidometer または経皮的超音波検査にて測定した。さらに当科の過去のデータとの比較検討を行った。

結 果

1) 患者数

1985年1月より1994年3月までに、男性不妊症を主訴に当科を受診した患者は237例であり、外来初診総患者数の0.9%であった。

2) 初診時年齢 (図1)

初診時年齢分布は、20～56歳に分布しており、30～34歳が最も多く全体の43.9%を占め、以下25～29歳(22.5%)、35～39歳(20.6%)、40～44歳(5.9%)の順であった。

3) 不妊期間 (図2)

結婚より来院までの不妊期間は1年以上2年未満が最も多く17.3%であった。ついで2年以上3年未満(12.7%)、3年以上4年未満(10.6%)の順であった。

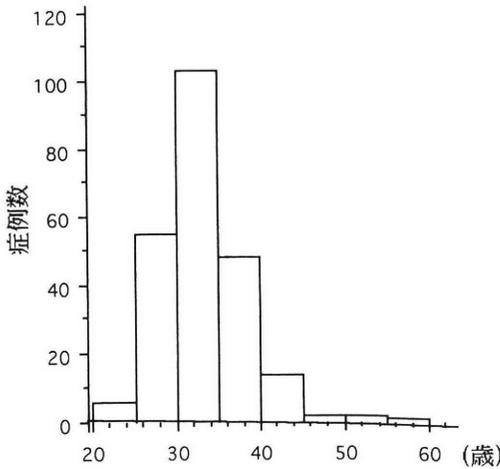


図1 初診時年齢

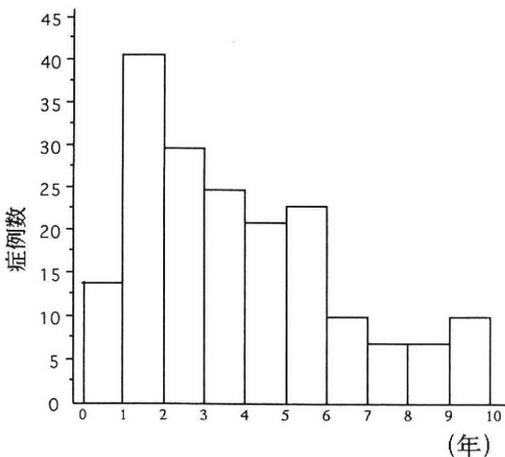


図2 不妊期間

4) 既往歴

流行性耳下腺炎が20例(8.4%)、鼠径ヘルニア術後15例(6.3%)、尿道炎3例(1.3%)が認められた。流行性耳下腺炎のうち成人後の罹患で精巣炎を合併したものは1症例のみであり、鼠径ヘルニア術後のうち精路通過障害が認められたものは1例のみであった。また、妻の既往歴については異常なしが86例(36.3%)、不明もしくは未診が123例(51.9%)であった。婦人科的異常の内訳は、卵管狭窄6例、卵巣機能不全6例、子宮後屈4例であった。

5) 精液所見 (表1)

精液所見では第1群のnormozoospermiaが53例(22.4%)と最も多く、第2群oligozoospermiaが36例(15.2%)、第3群asthenozoospermiaが17例(7.2%)、第4群oligoasthenozoospermiaが50例(21.1%)、第5群obstructive azoospermiaが5例(2.1%)、第6群primary azoospermiaが51例(21.5%)、第7群aspermiaが1例であった。

6) 精巣容積 (図3)

精巣容積は、第3群、4群および6群の平均値は低いものの、統計学的有意差は認められなかった。

表1 精液所見による分類

群	分類	例数 (%)
第1群	Normozoospermia	53例 (22.4)
第2群	Oligozoospermia	36例 (15.2)
第3群	Asthenozoospermia	17例 (7.2)
第4群	Oligoasthenozoospermia	50例 (21.1)
第5群	Obstructive azoospermia	5例 (2.3)
第6群	Primary azoospermia	51例 (21.5)
第7群	Aspermia	1例 (0.4)

(24例は精液検査未施行または拒否)

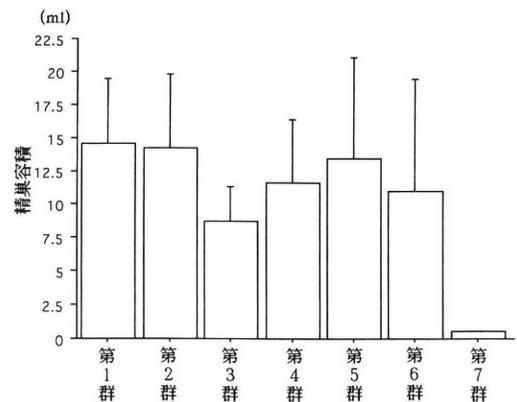


図3 各群における精巣容積 (Mean ± S.D.)

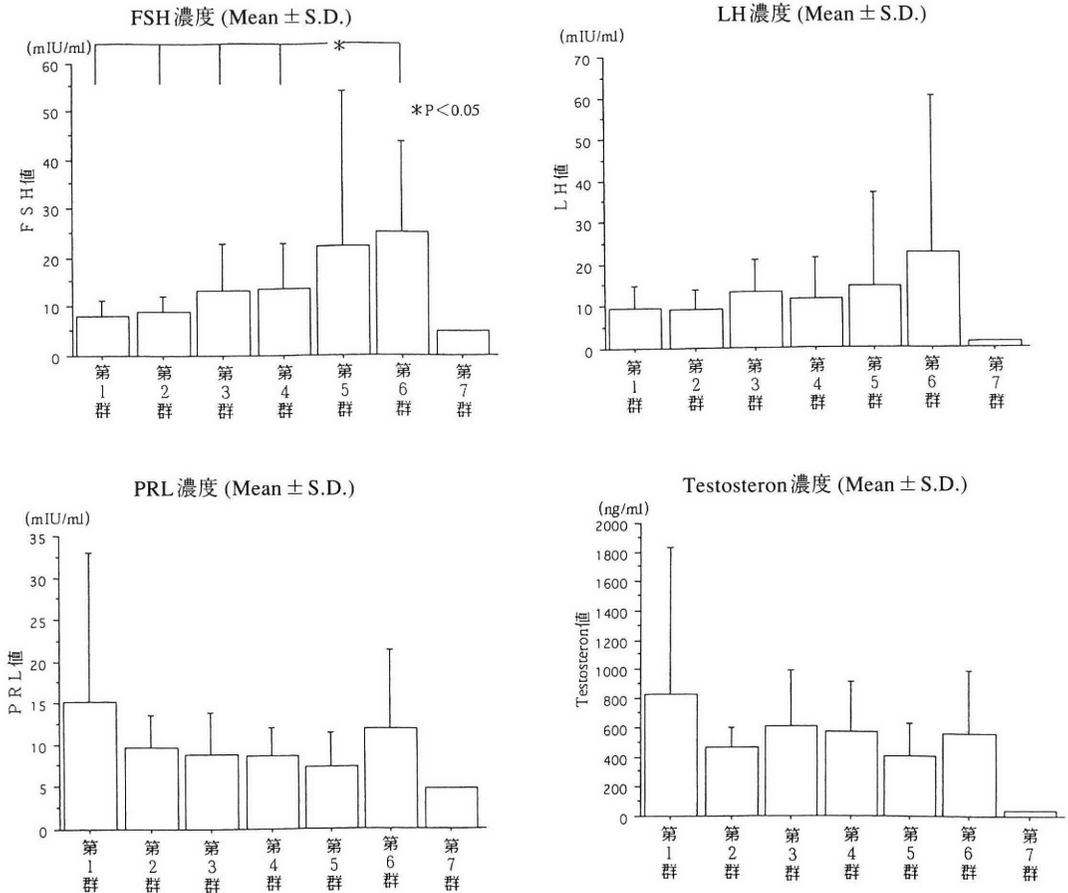


図4 各群におけるFSH, LH, PRL, Testosterone濃度

7) 血中ホルモンレベル(図4)

内分泌学的検討では、第6群の血中FSH値は、第1～4群に比べ、有意な高値を示した。しかしながら、血中LH, prolactinおよびtestosterone値は、各群間に有意差は認められなかった。

8) 男性不妊症の原因疾患(表2)

各種検査の結果、男性不妊症の原因疾患としては精索静脈瘤およびKlinefelter症候群が各10例(4.2%)、停留精巣7例(3.0%)、精路通過障害によるもの5例(先天性精管欠損症3例、両側精巣上体炎1例、両側鼠径ヘルニア手術1例)、視床下部または下垂体機能異常と考えられたもの5例であった。そして特発性とと考えられたものが200例(84.4%)と最も多かった。

9) 以前の報告との比較

不妊主訴患者数および外来患者数に対する比率は、前々回(1955～1964年)では229例(3.0%)<sup>1)</sup>、前回(1965～1973年)では953例(5.9%)であったのに比べ、今回は1985～1994年の間に237例(0.9%)と不妊主訴

患者数の外来患者数に対する比率は大きく減少していた。初診時年齢は、前々回、前回と同様に30歳代前半が最も多かった。結婚より来院までの不妊期間は、前々回、前回ともに2～3年が最も多かったが、今回は1～2年と来院までの期間が短縮されており、結婚後早期に不妊治療のため当科を受診していた。

表2 男性不妊症の原因

	例数 (%)
特発性あるいは原因不明	200例 (84.4)
精索静脈瘤	10例 (4.2)
Klinefelter's syndrome	10例 (4.2)
停留精巣	7例 (3.0)
精路通過障害	5例 (2.1)
先天性精管欠損症	3例
両側精巣上体炎	1例
両側鼠径ヘルニア術後	1例
視床下部または下垂体障害	5例 (2.1)

既往歴では異常なしがいずれの報告でも最多であった。以前の報告では淋症や肺結核が上位にあがっていたが、今回は鼠径ヘルニア術後症例が15例(6.3%)認められ、尿道炎は3例(1.3%)のみ、肺結核の既往患者は認められなかった。精液所見に関しては、 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上を正常として検討したが、正常所見を示したものは、今回22.4%、前回36.2%、前々回20.8%であった。一方、無精子症は今回23.6%、前回29.9%、前々回45.4%と減少傾向にあった。なおLH、FSH、prolactin、testosteroneなどホルモンレベルは前回までは計測されておらず、今回との比較はできなかった。また男性不妊症の原因疾患に関しては、以前の報告では言及されておらず、今回は結果のみ提示した。

### 考 察

男性不妊症は、泌尿器科領域において重要な分野のひとつであることは、周知のごとくである。当教室でも1967年および1975年本学会誌に男性不妊症の臨床的検討につき報告してきた<sup>1,2)</sup>。とくに前回の報告では、男性不妊症患者は外来初診総患者数の5.9%、男性外来初診総患者の9.3%とかなりの高率であった<sup>2)</sup>。しかしながら今回の検討では、男性不妊症患者数の外来初診患者総数に対する比率の低下が著しかった。患者側からみると、結婚から来院までの期間は、1~2年が最も多く、前々回および前回の報告よりも短縮されており、男性不妊症に対する関心はかえって高まっていると推察された。前回の報告より約20年を経て、その間当科の診療において不妊以外の泌尿器科疾患に重点が置かれ不妊以外の疾患患者数が増加したこと、他の一般病院や専門病院の充実による患者の分散などが原因として考えられた。

初診時年齢は、以前の報告と同じく30歳前半が最も多く、結婚から来院までの不妊期間は1~2年が最多で、これまでの報告より短縮されている。これは男性の結婚年齢が上昇し、30歳を超えた頃より挙子の希望が強くなり当科を受診するためと考えられた。

既往歴では、以前よく見られた肺結核が今回の検討ではみられず、20年間の疾病の推移を反映しているものと考えられた。流行性耳下腺炎は、今回の統計でも8.4%に認められたが、精巣炎を合併したものは1例のみで、これまでの報告と同様直接原因であるとは考えにくく、単なる既往症としてとらえるべきであろう。また、鼠径ヘルニア術後も15例(6.3%)に認められ、うち1例が精路通過障害を生じており、鼠径ヘルニア手術の既往歴の確認は重要である。

精液所見は、今回WHOの基準を参考にした大橋らの方法<sup>3)</sup>に準じ第1~7群に分類し、精巣容積、血中ホルモンレベルをこれらの群間で比較検討した。Azoospermiaは減少傾向にあったが、normozoospermia、oligozoospermiaに関しては一定の傾向は得られなかった。Azoospermiaの減少傾向については、結婚から初診までの期間が短縮されたことから考え合わせると、もう少し時間的に待つことにより自然妊娠が可能な症例も含まれているための相対的なものとも考えられるが、はっきりとした説明はつけられなかった。なお、精液の計測に関しては以前は血球計算盤を使用していたが、現在複数回の精液検査をMaklerの計算盤を使用してより正確に行っている。

精巣容積の測定は、前回の報告では陰嚢外表からの測定を原則としていたが、今回は打抜き式orchidometerおよび超音波検査法とで計測した。長径4cm以上、容量20ml以上の精巣容積において正常精液が得られるとされ<sup>4)</sup>、さらに治療により精子形成が期待できるには12ml以上の精巣容積が必要であり<sup>5)</sup>、精巣容積の測定はきわめて重要である。超音波診断法は精巣内の病変も同時に検出可能で有用性も高いと考えられるが、容積測定の場合、精巣の最大断面で正確に像が得られていなかったり、検者間でも精巣の圧迫の程度の差もあり、従来の方法に比して小さく計測され、今後再び陰嚢外表からの測定も含め最善の計測法を検討する予定である。

前回までの報告では、radioimmunoassayによるLH、FSH、testosteroneの測定法が確立されておらず、尿中17KS値やgonadotropin値が測定されていた。血中のLH、FSH、testosteroneの測定は、leydig cellおよびセルトリ細胞機能を反映し、LH、FSH、testosterone値および精液所見の組み合わせにより男性不妊症の原因やその治療まである程度予測可能である<sup>6)</sup>。今回の検討ではprimary azoospermia群でFSHが有意に高値を示しており、FSH高値は男性不妊症のうちprimary azoospermiaを強く示唆する所見と考えられた。

各検査から男性不妊症の原因疾患をみると、やはり特発性が圧倒的に多いのが現状である<sup>7)</sup>。以下、精索静脈瘤、Klinefelter症候群と続く。精索静脈瘤や精路通過障害は他施設の報告<sup>7)</sup>よりも頻度は少なかった。現在はカラードプラーなども導入をして、精索静脈瘤の診断精度の向上を目指しており、泌尿器科医として、外科的な治療効果が期待できるこれらの疾患の発見に努めている。

また、以前の報告では重要視されていた精巣組織所見に関して、近年では精巣容積、血中ホルモンレ

ベルなどからある程度推測可能で、正常精巢容量でFSHが正常あるいは軽度上昇症例のみが一般的な適応とされている<sup>8)</sup>。しかしながら、精巢内精子の運動性が確認され<sup>9)</sup>、顕微授精により精巢内精子でも精巢上体内精子と同等の妊娠率が得られたという報告もあり<sup>10)</sup>、今後精巢生検も新たな意義をもって来るものと思われる。現在のところ、精巢生検による精巢機能のダメージも配慮し、より非侵襲的なバイオプティガンによる生検を行っている<sup>11)</sup>。

治療に関しては、第1群のnormozoospermiaの中には、精子の受精能など精子機能に異常のある場合もあり<sup>12)</sup>、アクロビーズテストなど精子受精能<sup>13)</sup>を検査し、妊娠の成立しない症例には体外受精・胚移植(IVF-ET)などによる治療も検討する必要がある<sup>14)</sup>。第2群oligozoospermia、第3群asthenozoospermia、および第4群oligoasthenozoospermiaに対しては、蛍光スペクトル測定から最も治療効果が期待される補中益気湯を投与し<sup>14)</sup>、第5群obstructive azoospermiaに対しては、それぞれの閉塞部位に応じて精管精管吻合術、精管精巢上体吻合術、人工精液瘤造設術、さらに精巢鞘膜腔内精子貯留法<sup>15)</sup>などを試みているが、症例数も少なく成績も必ずしも良好でないのが現状である。第6群primary azoospermiaにおいては、Klinefelter症候群の一部にはtestosteronの補充療法を行っている<sup>16)</sup>、妊孕性についてはAID、養子などの方向で患者に説明をしている。

Assisted reproductive technologyの発達にともない男性不妊症の治療も変化しつつある。前述のように精路再建術を行い、その不成功例には精巢上体精子吸引法(MESA)<sup>17)</sup>または精巢内精子<sup>10)</sup>を使用して、体外受精または顕微授精を併用していく必要性もある。さらに一方では、男性不妊症の大多数を占める特発性造精機能障害の原因解明と治療の進歩という問題があり<sup>12)</sup>、泌尿器科医として果す役割は一層重要なものと考えられ、今後もこのような臨床的観察を続ける必要があるものと考えられた。

なお本論文の要旨は第39回日本不妊学会総会(富山 1994)において発表した。

## 文 献

- 1) 黒田恭一, 島木 彰, 美川郁夫 他(1967) 男性不妊症の統計的観察. 日不妊会誌 12: 119-124
- 2) 平野章治, 沢木 勝, 大川光央 他(1975) 男性不妊症の臨床的検討. 日不妊会誌 20: 11-17
- 3) 大橋正和, 石川博義, 大家基嗣 他(1993) 男性不

妊の臨床的観察. 日不妊会誌 38: 116-122

- 4) Sigman M, Lipshultz LI, Howards SS (1991) Evaluation of the subfertile male. In: Lipshultz LI, Howards SS, (eds), 2nd ed, Infertility in the man. Mosby Year Book, St. Louis, pp 179-210
- 5) 三宅弘治(1988) Male Fertilityの諸問題—組織学的考察—. 泌尿紀要 34: 1949-1951
- 6) Swerdloff RS, Wang C, Sokol RZ (1991) Endocrine evaluation of the infertile male. In: Lipshultz LI, Howards SS, (eds), 2nd ed, Infertility in the man. Mosby Year Book, St. Louis, pp 211-222
- 7) 片山 喬(1990) 男子不妊症. 日泌尿会誌 81: 1287-1301
- 8) Coburn M, Wheeler TM (1991) Testicular biopsy in male infertility evaluation. In: Lipshultz LI, Howards SS, (eds), 2nd ed, Infertility in the man. Mosby Year Book, St. Louis, pp 223-253
- 9) 岩本晃明, 河野正二郎, 矢島通孝 他(1995) 精巢内運動精子の存在意義. 日泌尿会誌 86: 979-984
- 10) Nagy Z, Liu J, Cecile J, et al. (1995) Using ejaculated, fresh, and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 63: 808-815
- 11) Rajfer J, Binder S (1989) Use of biopsy gun for transcutaneous testicular biopsies. J Urol 142: 1021-1022
- 12) 並木幹夫 (1994) 男子不妊症治療の最近の進歩. 日本医事新報 3662: 127-127
- 13) Ohashi K, Saji F, Kato M, et al. (1992) Evaluation of acrosomal status using MH61-beads test and its clinical application. Fertil Steril 58: 803-808
- 14) Amano T, Kunimi K, Ohkawa M (1995) Analysis of fluorescence spectra from Chinese herbal medicine for male infertility. Am J Chinese Med 23: 213-221
- 15) 天野俊康, 徳永周二, 伊藤秀明 他(1996) 精路通過障害に対する精巢鞘膜腔内精子貯留法(Moni's window operation)の経験. 日不妊会誌 41: 49-53
- 16) 天野俊康, 徳永周二, 打林忠雄 他(1994) Klinefelter症候群の臨床的検討. 日不妊会誌 39: 37-41
- 17) Silber SJ, Balmaceda J, Borrero C, et al. (1988) Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: A new treatment for congenital absence of the vas deferens. Fertil Steril 50: 525-528

(受付: 1996年1月22日)

(受理: 1996年3月27日)

---

### Historical comparative study on male infertility

Toshiyasu Amano, Tetsuya Imao, Hideaki Ito, Toru Noda

Yasuo Nakamura, Kazuto Kunimi, Shuji Tokunaga

Mitsuo Ohkawa and Mikio Namiki

Department of Urology

School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan

Two hundred and thirty seven suspected subfertile men, who consulted the Department of Urology, Kanazawa University Hospital between 1985 to 1994 were reviewed.

Their incidence was 0.9% of all outpatients, which was lower than that of our previous data (1955 ~ 1964 and 1965 ~ 1973). Regarding the age at the first time of their visits, the patients of 30 to 34 year-old were the most numerous, which was the same result as the previous reports. The peak of infertility period was from 1 to 2 years after marriage in this study, on the other hand, it was from 2 to 3 years in the previous results. The most common causes of male infertility were idiopathic (84.4 %), following varicocele (4.2 %) and Klinefelter's syndrome (4.2 %).

Entirely, there was no significant difference between this study and previous results. However, we have to perform the best methods both for the diagnosis and the treatments for male infertility according to the newest proceedings.

**Key words:** male infertility, clinical observation, historical comparison

---

# Hypogonadotropic hypogonadism に対するホルモン療法の 効果に関する検討

## Clinical Evaluation of Hormonal Therapy for Hypogonadotropic Hypogonadism

岡山大学医学部泌尿器科学教室

市川 孝治                      大枝 忠史                      小澤 秀夫  
Takaharu ICHIKAWA              Tadashi OEDA                      Hideo OZAWA  
永井 敦                      大森 弘之  
Atsushi NAGAI                      Hiroyuki OHMORI

Department of Urology, Okayama University Medical School, Okayama 700, Japan

鳥取市立病院泌尿器科

山根 享  
Susumu YAMANE

Department of Urology, Tottori Municipal Hospital, Tottori 680, Japan

呉共済病院泌尿器科

志田原 浩二  
Koji SHIDAHARA

Department of Urology, Kure Mutual Aid Hospital, Kure 737, Japan

---

低ゴナドトロピン性性腺機能低下症22例に対し、ホルモン療法すなわち、テストステロン (T) 軟膏塗布、T製剤注射およびhCG-hMG療法の効果について臨床的に検討した。

陰毛発育はそれぞれの治療法とも良好であったが、T軟膏塗布にて緩徐に改善したのに対して、T製剤注射では早期より改善を示した。外因性T投与にて精巣容量が著しく低下した症例はT製剤注射を受けた1例のみで、他の症例では経時的に精巣容量の増加を認めた。陰茎長はそれぞれの治療で良好に反応した。血中Tは、T製剤注射を受けた73%の症例で正常範囲を保っていたが、T軟膏塗布ではほぼ変化なく、hCG-hMG療法でも50%の症例のみが正常範囲であった。hCG-hMG療法により、3例に精子数の著明な増加を認め、1例に妊娠が成立したが、2例は無効であった。

キーワード：性腺機能低下症、テストステロン軟膏塗布、テストステロン製剤注射、hCG-hMG療法  
(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 253 - 262, 1996)

---

### 緒 言

Hypogonadotropic hypogonadism とは間脳-下垂体系の機能低下に起因する性腺機能障害を指す。男性においては、gonadotropin 分泌不全による testosterone の欠乏にともない、外性器発育不全などの二次性徴

の欠如および造精機能障害を示す。我々の教室では、hypogonadotropic hypogonadism に対する治療法として、testosterone 軟膏 (以下T軟膏) 塗布、testosterone enanthate (エナルモンデポー®) 筋注およびhCG-hMG療法を施行しているが、今回、これらの治療法の効果について検討したので報告する。

## 対象および方法

### 1) 対象

対象は1985年1月から1991年10月までの間に外性器發育不全あるいは不妊を主訴に当科外来を受診し、hypogonadotropic hypogonadismと診断された36例のうち、6か月間経過観察可能であった22例(12~40歳、平均24.4歳)である。これらの症例の主訴は、性器發育不全18例、不妊3例、停留精巢1例であった。

### 2) 診断

Hypogonadotropic hypogonadismの診断法は、二次性徴の欠如などの臨床所見に加え、血中LH、FSH値が低値から正常下限であること、血中testosterone値が低値であること、さらにはLH-RH testに対する反応が低いことにより診断した。また、症例によってはhCG負荷試験も施行した。二次性のhypogonadotropic hypogonadismが疑われる症例では適宜画像診断を行った。

### 3) 治療方法

当科でのhypogonadotropic hypogonadismに対する治療法としては、まずtestosterone補充療法により外性器の發育を促したのち、挙児希望のある時点でhCG-hMG療法を施行している<sup>1,2)</sup>。Testosterone補充療法にはT軟膏またはtestosterone enanthateを使用しているが、基本的に思春期前の症例にはT軟膏を、思春期以降の症例に対してはtestosterone enanthateを使用している。T軟膏は10%製剤を1日1~2回外陰部に塗布し、50gを3か月間で使いきるよう指導した。また、testosterone enanthateは125~250mgを1~4週間に1回筋注した。造精機能を亢進させることを目的としたhCG-hMG療法は、hCG1000~3000IU、hMG75~150IUを週1~2回筋注した。

### 4) 効果判定

3~6か月ごとに以下の項目について評価した。

外性器發育の評価：外性器發育の評価として陰毛の發育、両側精巢容量、陰莖長を検討した。陰毛の發育にはTannerの分類<sup>3)</sup>を、精巢容量は山口大学式orchidometerを使用しそれぞれ評価した。また、陰莖については伸張時の恥骨から亀頭先端の長さを測定し陰莖長とした。

ホルモン検査：採血は基本的に14時から15時の間に行い、血清中のtestosterone、LH、FSHを測定した。なお、testosterone enanthate筋注群およびhCG-hMG群においては、筋注後3日目に採血した。これらの測定には、チューブ固相法を用いた日本DPCコーポレーション社製トータルテストステロンキット、第一

ラジオアイソトープ社製スパックS-LHキット、スパックS-FSHキットをそれぞれ使用した。

精液検査：不妊を主訴に受診した症例に対しては可能な限り精液検査を施行した。精液は用手法にて採取し室温で十分に液化させた後、WHO精液所見の基準<sup>4)</sup>に基づいて評価した。

## 結果

治療前の血中testosterone、LH、FSHはそれぞれ $0.89 \pm 0.95$  ng/ml、 $0.95 \pm 0.63$  mIU/ml、 $2.6 \pm 1.7$  mIU/mlで、特発性19例、二次性3例であった。嗅覚異常を示した症例はなかった。また、10例で染色体分析を行ったが、全例46,XYであった。今回の検討では、延べ人数で、T軟膏塗布8例(12歳~26歳、平均16歳)、testosterone enanthate筋注15例(16歳~38歳、平均25歳)、hCG-hMG療法8例(18歳~35歳、平均26歳)であった。なお、重複症例は、T軟膏塗布からtestosterone enanthate筋注へ移行したものの2例、testosterone enanthate筋注からhCG-hMG療法へ移行したものの1例、逆にhCG-hMG療法からtestosterone enanthate筋注へ移行したものの5例であった。

### 1) 外性器發育の評価

陰毛發育の変動(Fig. 1)：治療前後でTanner分類1以上gradeが上昇した場合を改善とすると、すでに十分な陰毛の發育を示しているgrade5の症例を除き、それぞれの治療後における陰毛發育の改善度は、6か月後で、T軟膏塗布群では62.5%(5/8例)、testosterone enanthate筋注群では92.3%(12/13例)、hCG-hMG群では66.7%(4/6例)であり、今回の症例群ではtestosterone enanthate筋注が他の2治療に比し優れていた。なお、治療6か月目に陰毛の發育を示さなかったT軟膏塗布群の3例も、治療1年目までには改善傾向を示した。

精巢容量の変動(Fig. 2a, b)：精巢容量は同一症例でそれぞれの治療法に対し、左右ともほぼ同様に反応した。精巢容量に4mlの左右差を認めたhCG-hMG療法群の2例も、それぞれ、右1mlから8ml、左5mlから8ml、および右18mlから20ml、左14mlから16mlと左右精巢容量とも良好に増大した。

陰莖長の変動(Fig. 3)：それぞれの治療法において、6か月後に陰莖長が増加した症例は、T軟膏塗布群では7例(87.5%)、testosterone enanthate筋注群では13例(86.7%)、hCG-hMG療法群では6例(75%)であった。

### 2) ホルモン検査

血中testosterone濃度の変動(Fig. 4)：治療6か月後においてT軟膏塗布群ではtestosterone濃度に有意な

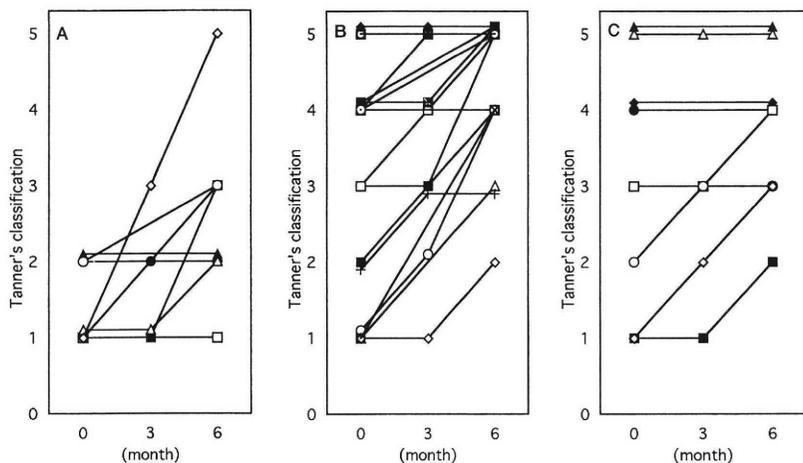


Fig. 1 Change of pubic hair during each treatment  
A: testosterone ointment / B: testosterone enanthate / C: hCG-hMG combination

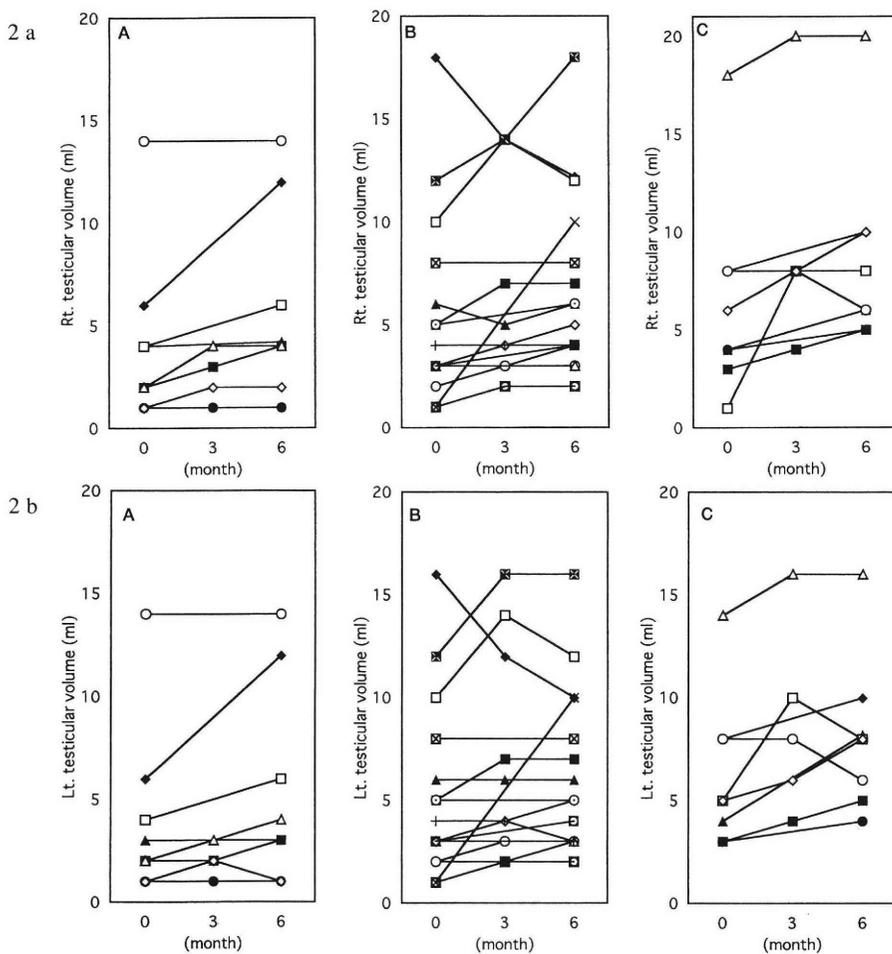


Fig. 2 Change of testicular volume during each treatment  
2 a: right testicular volume / 2 b: left testicular volume

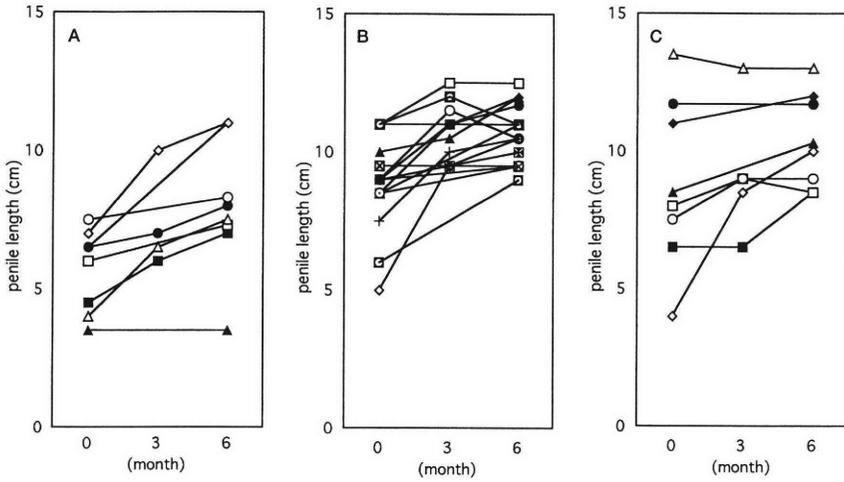


Fig. 3 Change of penile length during each treatment

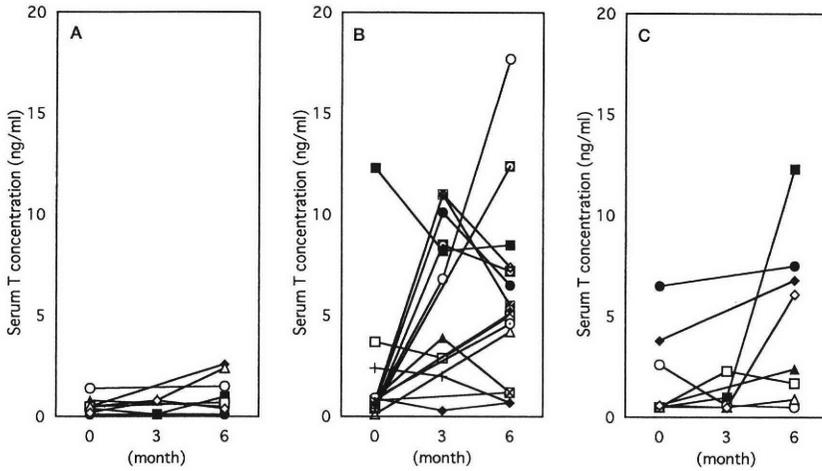


Fig. 4 Change of serum T level during each treatment

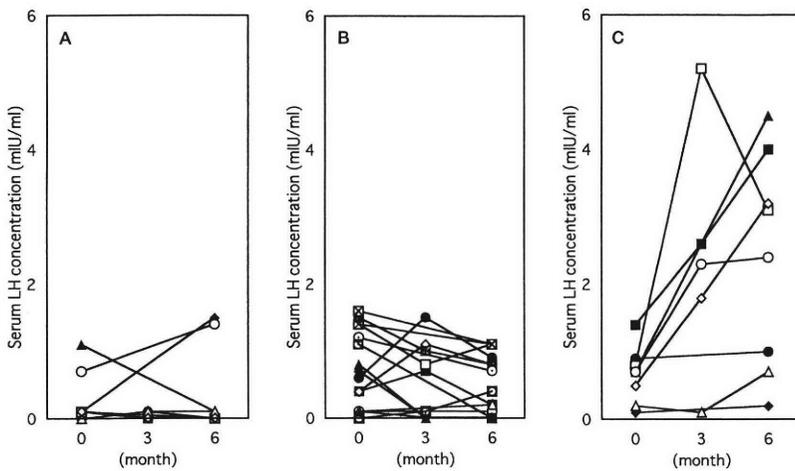


Fig. 5 Change of serum LH level during each treatment

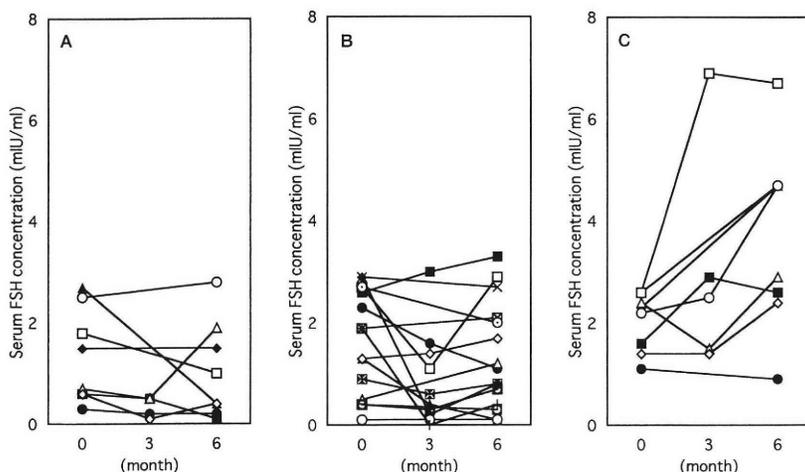


Fig. 6 Change of serum FSH level during each treatment

Table 1 Parameters before and after each therapy

Treatment	Tanner's classification	Rt. testicular volume (ml)	Lt. testicular volume (ml)	penile length (cm)	serum T level (ng/ml)	serum LH level (mIU/ml)	serum FSH level (mIU/ml)	
TO (n=8)	before	G1 (5), G2 (3), G3 (0), G4 (0), G5 (0)	4.3 ± 4.3	4.1 ± 4.3	5.7 ± 1.5	0.55 ± 0.40	0.28 ± 0.40	1.3 ± 0.93
	after	G1 (1), G2 (3), G3 (3), G4 (0), G5 (1)	5.9 ± 4.7	5.5 ± 4.9	8.0 ± 2.4	1.5 ± 1.4	0.39 ± 0.66	1.0 ± 0.96
TE (n=15)	before	G1 (4), G2 (2), G3 (2), G4 (5), G5 (2)	5.6 ± 4.7	5.4 ± 4.4	8.8 ± 1.7	1.8 ± 3.1	0.76 ± 0.57	1.7 ± 1.0
	after	G1 (0), G2 (1), G3 (2), G4 (4), G5 (8)	6.9 ± 4.4	6.5 ± 4.0	10.7 ± 1.1	5.9 ± 4.6	0.56 ± 0.60	1.3 ± 1.0
hCG-hMG (n=8)	before	G1 (2), G2 (1), G3 (1), G4 (2), G5 (2)	6.5 ± 5.2	6.3 ± 3.7	8.8 ± 3.1	2.0 ± 2.2	0.66 ± 0.41	2.0 ± 0.55
	after	G1 (0), G2 (1), G3 (2), G4 (3), G5 (2)	8.8 ± 5.0	8.1 ± 3.7	10.4 ± 1.7	4.8 ± 4.1	2.4 ± 1.6	3.7 ± 1.8

Values are mean ± standard error.

TO: testosterone ointment, TE: testosterone enanthate

G1: Grade 1, G2: Grade 2, G3: Grade 3, G4: Grade 4, G5: Grade 5

( ) : the number of cases

変動を認めなかったが, testosterone enanthate筋注群では11例(73%)が正常範囲を保っていた。hCG-hMG療法群ではT濃度が正常範囲にあった症例は4例(50%)のみで、他の症例は低値のままであった。

血中LH濃度の変動(Fig. 5):すべての症例でLH濃度は低値を示し、治療6か月後でもT軟膏塗布群では0.39 ± 0.66 mIU/ml、testosterone enanthate筋注群では0.56 ± 0.60 mIU/mlと大きな変動を認めなかった。これに対し、hCG-hMG療法群では症例により著明な変動を認めた。

血中FSHの変動(Fig. 6):血中LHの場合と同様に、すべての症例でFSH濃度は正常下限または低値を示し、治療6か月後でもT軟膏塗布群では1.0 ± 0.96 mIU/ml、testosterone enanthate筋注群では1.3 ± 1.0 mIU/mlと大きな変動を認めなかった。これに対し、hCG-hMG療法群では症例により著明な変動を認めた。

なお、外性器発育の評価およびホルモン検査について、各群における結果をTable 1に示した。

### 3) 精液検査

hCG-hMG群で精液検査を継続して施行できた症例は5例のみであった。Fig. 7に治療開始時から6か月後までのこれら5例の精子濃度とその運動率を示す。5例中1例で28 × 10<sup>6</sup>/mlの精子が出現し、他の1例で0.1 × 10<sup>6</sup>/mlから13.6 × 10<sup>6</sup>/mlと精子濃度の著明な改善を認めた。また1例では良好な精子濃度が維持され、挙児を得た。しかしながら、他の2例はhCG-hMG療法にて満足な改善が得られなかった。Fig. 8に挙児を得た1例の臨床経過を示す。症例は30歳で脳下垂体腺腫の診断にて平成元年3月腺腫摘除術施行、この後libidoの低下を自覚したため、術後約2か月目に当科紹介となった。理学的にはとくに異常所見は認められなかった。術前のゴナドトロピン測定は脳

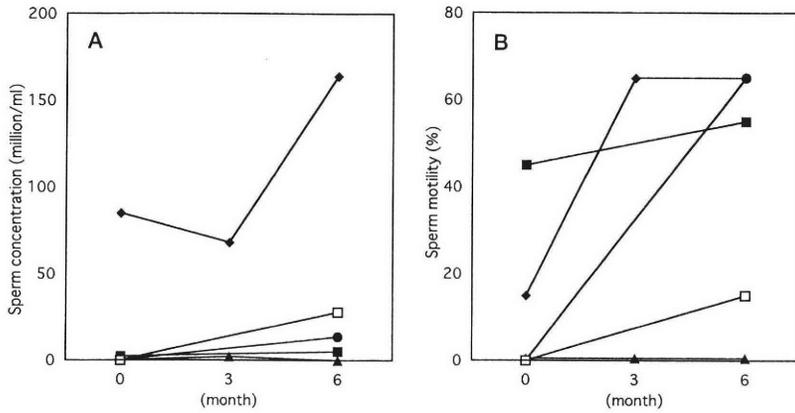


Fig. 7 Change of sperm concentration and motility during hCG-hMG combination therapy  
A: sperm concentration / B: sperm motility

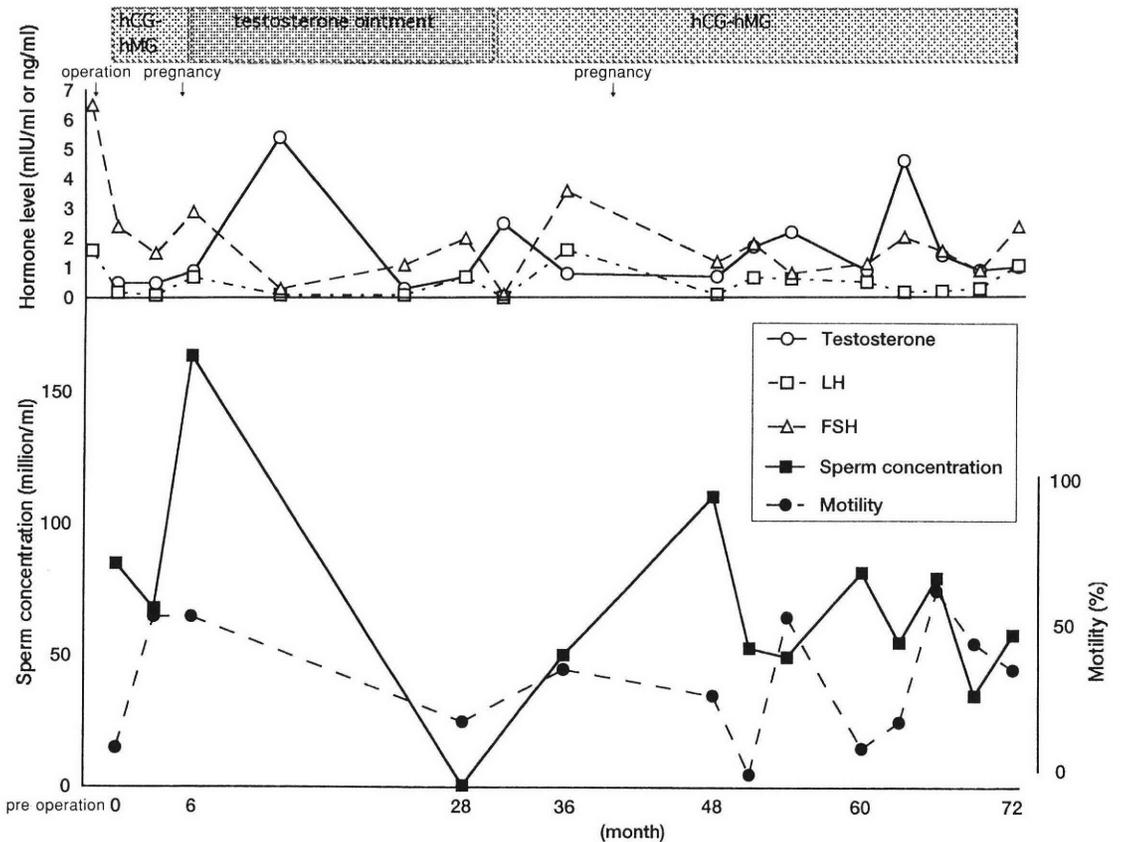


Fig. 8 Clinical course of the case benefited a baby

外科にて施行されており、LHが1.6 mIU/ml、FSHが6.5 mIU/mlと、ともに正常範囲にあったが、初診時にはLHが0.2 mIU/ml、FSHが2.4 mIU/mlと明らかな低

下を認めた。またtestosteroneも0.5 ng/mlと低下していた。1週間後これらのホルモン検査を再度施行したがほぼ変わりなく、LH-RH testにも低反応であった。

以上より脳下垂体腺腫の手術による二次性のhypogonadotropic hypogonadismと診断した。なお、初診時の精液検査は、精子濃度 $85 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率15%であり、精子濃度が良好であったのは術後比較的早期に当科を受診したためと思われる。患者が挙児を希望していたため、hCG 1000 IU、およびhMG 75 IUを週1回ごとに筋注することとした。hCG-hMG療法開始後3か月目の精液検査は、精子濃度 $68 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率65%であり、この後妊娠が成立し無事男児を得た。以降testosterone補充目的でtestosterone enanthate 125 mgを2週に1回の割合で筋注することとしたが、2人目の挙児希望ありhCG-hMG療法を再開、精液所見は順調に改善し、再開後約9か月目に妊娠が成立し、現在に至っている。なお、この第2児は流産に終わった。

## 考 察

Hypogonadotropic hypogonadismに対する治療法としては男性ホルモン療法、gonadotropin療法、最近ではLH-RH療法が行われている。男性ホルモン療法は主に外性器の発育、libidoの維持または向上を目的として投与される。当科では、基本的治療法としてまずtestosterone補充療法により外性器の発育を促したのち、挙児希望のある時点でhCG-hMG療法に変更しているが、今回我々はこれらの治療法が治療目的にかなった効果をあげているか否かを臨床的に検討した。

Testosteroneの補充方法は、T軟膏塗布またはtestosterone enanthate筋注により行われている。当科では、T軟膏を用いる場合、10%製剤を1日1~2回外陰部に塗布し、50gを3か月で使いきることとし、testosterone enanthateを用いる場合は125~250 mgを1~4週に1回筋注することとしている<sup>5)</sup>。T軟膏は、思春期までに期間がある症例には、外性器の発育を緩徐に促すとともに、男性ホルモンによる早期骨端閉鎖を防御することができ、優れた治療法である。また、T軟膏は投与方法も容易であり、このことも思春期前後の症例には適している。hCG-hMG療法についてはすでに当教室の古川ら<sup>6)</sup>が報告しているように、外性器発育不全の顕著な場合はinduction therapyとして週2回hCG 3000 IU、hMG 150 IUを用い、発育不全の軽度の例ではmaintenanceとして週2回hCG 2000 IU、hMG 75 IUを用いるのが効果的であり、当科ではこれを基本投与量としている。しかし、当然のことではあるが、症例によって、この投与量は適宜調節する必要があると考える。

陰毛の発育に関しては、Fig. 1に示したように各群

間に年齢の差があるにせよ、治療6か月後でT軟膏塗布群では62.5% (5/8例)に、testosterone enanthate筋注群では92.3% (12/13例)、hCG-hMG療法群では66.7% (4/6例)と良好に反応した。なお、T軟膏塗布群で陰毛発育に変化の認められなかった3例も、塗布1年目までには反応を認めている。このことは、T軟膏塗布が外性器の発育を緩徐に促すという目的に合致することを示すものといえる。

外因性にTを投与しても精巣容量が著しく低下した症例はT軟膏塗布群では認められず、testosterone enanthate筋注群でも1例のみで、他の症例では不変あるいは順調に増大を認めた(Fig. 2a, 2b)。精巣容量が低下したtestosterone enanthate筋注群の1例は、治療6か月後で右18から12ml、左16から10mlへの低下であるが、血中testosterone値は0.9から0.7 ng/mlとほぼ変化しなかった。この症例はFig. 8で示した妊娠成立例であり、再度hCG-hMGを投与することにより精巣容量は元の大きさに戻っている。このことは、今回の外因性T投与により精巣障害は起こる可能性があるが、この障害は回復可能であることを示しているものと思われる。

陰莖長の変動も治療効果を判定する重要な指標である。T軟膏塗布群は治療に対して良好な反応を示したが、これはT軟膏塗布群の年齢が12歳~26歳、平均16歳と低いことに起因していると思われる。年齢層に差がないtestosterone enanthate筋注群、hCG-hMG療法群でも陰莖長はほとんどの症例で増加し、それぞれ良好な治療効果が得られた(Fig. 3)。

hypogonadotropic hypogonadism症例に対する治療効果を判定するため、血中ホルモン検査、とくに血中testosterone濃度を測定することは、過剰な外因性ホルモン投与を防止する上でも重要である。T軟膏塗布群ではFig. 4のごとく明らかに血中testosterone濃度は低く、全身への影響を少なくするという目的に合致するものであった。testosterone enanthate筋注群およびhCG-hMG療法群では、血中testosterone濃度が高すぎたり、逆に低すぎる症例も存在し、これらの症例に対して今後投与量や投与間隔の再検討が必要である。血中LH、FSH濃度は、T軟膏塗布群およびtestosterone enanthate筋注群で治療6か月後も著変なく低値から正常下限であったが、hCG-hMG療法群では症例により著しい変動を認めた。この原因としては、hCG-hMG療法群のみで認められていること、hCG-hMG療法群から他の治療法へ移行し経過観察した症例では認められなかったことから、投与したhCG、hMGが何らかの関与をしているものと考えられるが詳細は

不明である。実際、用いた測定キットには少ないながらもhCG, hMGに対して交叉反応性が報告されており<sup>7)</sup>, このことがhCG-hMG療法群の血中LH, FSH値に影響しているのかもしれない。

外因性にT投与を長期に行う場合、不可逆性の造精機能障害を引き起こすかどうか最大の問題であり、これについては議論が多い。岩動<sup>8)</sup>は男性ホルモン剤の投与はゴナドトロピン分泌能をさらに低下させ精巣機能を高度に抑制し萎縮させることから望ましくないとし、Schill<sup>9)</sup>, Mauss<sup>10)</sup>らは、長期間男性ホルモン剤を投与しても精巣機能にはっきりとした障害は惹起されないと報告している。さらに、Leyら<sup>11)</sup>は前治療としてandrogen投与を42~96か月行っていたhypogonadotropic hypogonadism症例に対し、hCG 1500~2000 IU週3回投与を3~24か月施行し、その後hMGを週3回併用することにより4.5~11か月後に全例精子の出現を、さらに妊娠の成立を認めた症例をも報告している。当科でも以前、14か月間ごと週1回testosterone enanthateの筋注を施行した症例において挙児希望あり、gonadotropin療法に変更、20×10<sup>6</sup>/ml代の精子出現を報告した<sup>6)</sup>。今回の検討でも前述したように、testosterone enanthate筋注群の1例において精巣容量の低下を認めたが、その後のhCG-hMG併用療法により、精巣容量および精液所見は元に回復している。以上から、我々は男性ホルモン療法を長期間行われた症例であっても、適切な刺激により精巣機能は可逆的に回復しうると考えている。

hCGはLH作用と弱いFSH作用を持ち、leydig細胞に取り込まれtestosteroneの分泌を促す。一方、hMGはFSH作用が強く、高濃度のtestosteroneの存在下にspermatogenesisの成熟過程を円滑にする<sup>12,13,14)</sup>。以上の見地からhypogonadotropic hypogonadismの症例に対するgonadotropin療法は、hCG単独投与よりもhCG-hMG併用療法のほうが効果が大きいと考えられ、当科でもこの併用療法を行っている。

Gonadotropin療法において考えられる問題点としては、過剰なhCG投与によりLeydig細胞のdown regulation機構が働くこと<sup>15)</sup>、また過剰なleydig細胞の刺激は非生理的であり、testosterone前駆体やestrogenの異常蓄積、精細管基底膜の硝子化などをもたらすこと<sup>16,17)</sup>、さらには、外因性ペプチドホルモンであるために血中抗体産生が起こることなどである<sup>18,19)</sup>。これらのことを考慮しながら、当科では、hCG 1000~3000 IU, hMG 75~150 IUの用量で併用しており、血中testosterone, LH, FSH濃度の測定を行い、効果判定の目安としている。

hCG-hMG療法は造精機能の獲得を目的として行われているが、全例に精子の出現をみるわけではない。我々の成績でも、精子数の著明な増加を認めたのは5例中3例であり、他の2例には効果が認められなかった。精子数の増加をみた3例の血中testosterone値は、治療6か月後で3.8から6.8, 0.5から0.9, 0.6から6.1 ng/mlと必ずしも正常域まで改善している症例だけではなく、逆に効果の認められなかった2例のうち1例の血中testosterone値が正常域まで改善していた。またFSH濃度を比較すると、精子数の増加をみた3例では6か月目で4.7, 2.9, 2.4 mIU/mlと正常域~やや低値であり、効果の認められなかった2例では4.7, 6.7 mIU/mlとともに正常範囲であった。このことは、hypogonadotropic hypogonadism症例における造精機能回復には、血中testosterone値の改善とFSHによる刺激だけでは不十分な症例が存在することを示すものである。今後これらの症例に対して、投与量や投与方法の再検討を行うとともに、精巣内の内分泌学的検討をも行う必要があると考えられた。

本論文の要旨は日本アンドロロジー学会第11回学術大会において発表した。

## 文 献

- 1) 布施秀樹, 片山 喬 (1991) 特発性類宦官症. 図説泌尿器科学講座第4巻 内分泌疾患, 性機能障害. 吉田 修, 三宅弘治, 小柳知彦編, メディカルビュー社, 東京, pp100-103
- 2) 大森弘之, 大橋輝久, 大枝忠史 (1991) 特発性類宦官症. 図説泌尿器科学講座第4巻 内分泌疾患, 性機能障害. 吉田 修, 三宅弘治, 小柳知彦編, メディカルビュー社, 東京, pp104-106
- 3) Tanner JM (1969) Growth and endocrinology of the adolescent. Endocrine and genetic diseases of childhood. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp19-69
- 4) World Health Organization (1992) WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 3rd ed, Cambridge University Press, Cambridge
- 5) 大橋輝久 (1991) 男性ホルモン. 臨床医 17: 398-403
- 6) 古川雅人, 大橋輝久, 大橋洋三 他 (1987) Hypogonadotropic hypogonadismに対するhCG-hMG療法. 西日本泌尿 49: 1321-1326
- 7) 苛原 稔, 安井敏之, 東敬次郎 他 (1988) 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)の基礎的検討. ホと臨床 36: 1223-1230

- 8) 岩動孝一郎 (1983) Gonadotropin deficiency による男子 hypogonadism 症例に対する hCG/hMG 併用療法についての検討. 日不妊会誌 28: 189-196
- 9) Schill WB (1979) Recent progress in pharmacological therapy of male subfertility - a review. *Andrologia* 11: 77-107
- 10) Mauss J, Boersch G, Richter E, et al. (1978) Demonstration of the reversibility of spermatozoa suppression by testosterone oenanthate. *Andrologia* 10: 149-153
- 11) Ley SB, Leonard JM (1985) Male hypogonadism; Factor influencing response to human chorionic gonadotropin and human menopausal gonadotropin, including prior exogenous androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 61: 746-752
- 12) Steinberger E (1971) Hormone control of mammalian. *Physiol Rev* 51: 1-22
- 13) Louis BG, Frits IB (1979) Follicle-stimulating hormone and testosterone independently increase the production of androgen binding protein by Sertoli cells in cultures. *Endocrinology* 104: 454-461
- 14) Steinberger E, Root A, Ficher M et al. (1973) The role of androgens in the inhibition of spermatogenesis in man. *J Clin Endocrinol Metab* 37: 741-751
- 15) Hsueh AJW, Dufau ML, Catt KJ (1976) Regulation of luteinizing hormone receptors in testicular interstitial cells by gonadotropin. *Biochem Biophys Res Commun* 72: 1145-1152
- 16) Johnsen SG (1976) The mechanisms involved in testicular degeneration in man. *Acta Endocrinol* 24: 17-40
- 17) 市川孝治 (1995) 特発性男性不妊症における精巢内 aromatase 活性に関する検討. 日泌尿会誌 86: 940-948
- 18) Claustrat B, David L, Faure A, et al. (1983) Development of anti-human chorionic gonadotropin antibodies in patients with hypogonadotropic hypogonadism. A study of four patients. *J Clin Endocrinol Metab* 57: 1041-1047
- 19) Sokol RZ, McClure RD, Peterson M, et al. (1981) Gonadotropin therapy failure secondary to human chorionic gonadotropin-induced antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 52: 929-933

(受付: 1996年1月22日)

(受理: 1996年4月1日)

---

---

## Clinical evaluation of hormonal therapy for hypogonadotropic hypogonadism

Takaharu Ichikawa, Tadashi Oeda, Hideo Ozawa,  
Atsushi Nagai and Hiroyuki Ohmori

Department of Urology,  
Okayama University Medical School, Okayama 700, Japan

Susumu Yamane

Department of Urology, Tottori Municipal Hospital, Tottori 680, Japan

Koji Shidahara

Department of Urology, Kure Mutual Aid Hospital, Kure 737, Japan

The hormonal therapies, testosterone ointment, testosterone enanthate and hCG-hMG combination, were applied for 22 patients with hypogonadotropic hypogonadism.

The pubic hair of these patients was effectively improved with each therapy. The improvement was found in the patients treated with testosterone enanthate earlier than any other therapies, while slowly found in those treated with testosterone ointment. Only one case which decreased testicular volumes with the external testosterone treatment was treated with testosterone enanthate. The testicular volumes of other patients were gradually increased. Moreover the penis was successfully grown with each therapy. Although serum testosterone levels were within normal range in 73% of the patients treated with testosterone enanthate, those in the patients treated with testosterone ointment were only a little improved. Half cases treated with hCG-hMG combination showed normal serum testosterone levels.

Sperm concentrations were markedly increased in 3 of 5 cases treated with hCG-hMG combination, and one of them benefited a baby. But no improvement was found in two cases.

**Key words:** hypogonadotropic hypogonadism, testosterone ointment, testosterone enanthate, hCG-hMG

---

## 体外受精・胚移植後妊娠における周産期リスクの検討

### Perinatal Risks after In Vitro Fertilization and Embryo Transfer

山形大学医学部産科婦人科学教室

酒井 伸 嘉  
Nobuyoshi SAKAI  
伊 藤 真理子  
Mariko ITO

岸 本 恭 紀  
Yoshinori KISHIMOTO  
中 原 健 次  
Kenji NAKAHARA  
廣 井 正 彦  
Masahiko HIROI

斉 藤 隆 和  
Takakazu SAITO  
斉 藤 英 和  
Hidekazu SAITO

Department of Obstetrics and Gynecology

Yamagata University School of Medicine, Yamagata 990-23, Japan

当科にて昭和62年3月から平成7年8月までの期間中妊娠22週以降で分娩となった体外受精・胚移植(IVF-ET)後妊婦139例(単胎102例, 双胎31例, 三胎6例)について周産期リスクを検討した。

その結果, 胎児数の増加にともなって, 重症妊娠中毒症や切迫早産の発症など妊娠後期リスクは増加し, 分娩週数の短縮(単胎: 38.9週, 双胎: 36.3週, 三胎: 32.8週), 早産率の増加(単胎: 8.8%, 双胎: 61.3%, 三胎: 100%), 児の出生体重の減少(単胎: 2924g, 双胎: 2322g, 三胎: 1684g), さらに新生児仮死(出生1分後Apgar score < 7)の増加(単胎: 4.9%, 双胎: 17.7%, 三胎: 50%)が認められた。しかし, これらを胎児数に分けて, 年齢と既往分娩回数をマッチングさせた一般妊婦と比較するといずれも明らかな差異は認められなかった。なお, 先天異常児(2.2%)および周産期死亡(1.67%)の増加も認めなかった。

以上より, 自然妊娠と比較してIVF-ET後妊娠自体には明らかな周産期リスクは認められず, むしろIVF-ETで増加する多胎妊娠にともなうリスクの方が問題と思われた。また, IVF-ET後妊婦には合併症を有する患者が多く(30.2%), 多胎妊娠の防止とともにそれら合併症妊婦の適切な管理が周産期成績の向上には重要であるものと考えられた。

**キーワード:** 体外受精・胚移植, 周産期リスク, 多胎妊娠

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 263 - 270, 1996)

#### 緒 言

当科において, 体外受精・胚移植(IVF-ET)が不妊治療の一手段として普及してから昭和62年3月23日に最初の成功例が無事出産し, その後9年間で150人を超える児が誕生した。しかし, IVF-ETの安全性に関しては, 排卵誘発剤の使用, 卵のhandling, 受精卵の培養, 母体へのホルモン投与など, まだまだ未解明の点が多いのが現状である。また, IVF-ETにおける最終的評価は妊娠率の向上はもちろん, いかにも多くの不妊患者が妊娠後安全に周産期を経て健児を得

るかにあると思われる。そこで, 我々は, 当科におけるIVF-ET後妊娠, 分娩症例において, とくに妊娠後期の周産期母児へのリスクについて検討したので報告する。

#### 対象および方法

IVF-ET群として, 当科でIVF-ETの治療を行い昭和62年3月から平成7年8月までの期間中に妊娠22週0日(採卵日を妊娠2週0日とする)以降の分娩に至った妊婦139例を対象とした。妊娠期間中に里帰りや転居などで他施設で分娩となったものに対しては調

表1 対象の概要

	体外受精後妊婦	対照妊婦	P
調査期間(分娩日)	昭和62年3月 ～平成7年8月	昭和62年3月 ～平成7年8月	
総数	139	197	
分娩時年齢	33.3 ± 3.52*	32.2 ± 3.57*	.003
22～24歳	1 (0.7%)	3 (1.5%)	.490
25～29歳	16 (11.5%)	37 (18.8%)	.072
30～34歳	71 (51.1%)	109 (55.3%)	.442
35～39歳	48 (34.5%)	43 (21.8%)	.010
40～43歳	3 (2.2%)	5 (2.5%)	.890
初産	123 (88.5%)	161 (81.7%)	.091
1経産	13 (9.4%)	28 (14.2%)	.180
2経産	3 (2.2%)	8 (4.1%)	.513
単胎妊婦	102 (73.4%)	160 (81.2%)	.088
双胎妊婦	31 (22.3%)	34 (17.3%)	.249
三胎妊婦	6 (4.3%)	3 (1.5%)	.223

\*平均±標準誤差

査表を各施設に送付し、その回答をもって調査した。なお、IVF-ETの卵胞発育刺激法は昭和63年9月まではhMG+hCGが主であったがそれ以後はGnRH agonistであるbuserelin acetate+hMG+hCGが主となった。この方法にもさまざまなものがあるが、当科ではbuserelin acetateを前周期の黄体中期より600 $\mu$ g/day用いる方法を基本としていた。hCGは最大卵胞の平均直径が16mmを越えた時点とし、hCG投与後35時間以降に採卵手術を超音波下(腹腔鏡下は1例のみ)に施行した。採卵された卵はHTF培養液にて培養され、採卵後5～6時間目に洗浄された精子を媒精した。精液所見が悪い症例には80% Percollを用いて精液を洗浄した。媒精後20時間目に受精を前核の有無にて判定し、受精した胚はさらに24時間培養し、2から4細胞の時期に子宮内に移植した。黄体期の補充はhCGとprogesteroneを用い、妊娠判定は採卵後14日以降に尿中のhCGにて判定した。対照群としては、自然妊娠後昭和62年3月から平成7年8月までに当科で妊娠22週以降の分娩に至った妊婦197例を選択した。これらは、IVF-ET群の各症例に対してそれぞれ年齢および既往分娩回数に対応する症例(1ないし2例)を無作為抽出したもので、妊娠前から明らかにハイリスク妊娠の原因となりうる合併症を有したもののやハイリスク妊娠または里帰り分娩のため妊娠中に多施設から紹介された症例は除外したものである。ただし、多胎妊娠の症例では対照となるものが少ないため、厳密にはIVF-ET群にマッチングさせることは困難であった。

これらの症例についてretrospectiveに、重症妊娠中毒症の有無、切迫早産の入院歴や早産の有無、分娩週数、分娩様式、分娩時異常の有無を調べ、母体へのリスクを検討した。また、各新生児の出生体重、出生1分後のApgar score(Ap)、先天異常と生後28日未満の新生児死亡の有無について調べ、児へのリスクを検討した。

なお、調査結果の有意差検定には $\chi^2$  testならびにStudent t-test(症例の少ない三胎群間の比較にはFisher's exact testならびにMann-Whitney U test)を用い、 $p < 0.05$ をもって統計学的に有意とみなした。

## 成績

表1は対象となったIVF-ET群139例と対照群197例の概要を示したものである。IVF-ET群の分娩時の母体平均年齢は33.3歳で、初産は123例(88.5%)、1経産は13例(9.4%)、2経産は3例(2.2%)で、単胎、双胎、三胎は、それぞれ、102例(73.4%)、31例(22.3%)、6例(4.3%)であった。IVF-ET群と対照群の構成を比較すると分娩時母体年齢35～39歳の占める割合にのみ有意差( $P = 0.010$ )があったが、それ以外、年齢、既往分娩回数、胎児数に明らかな相違は認めなかった。

表2はIVF-ET群における不妊因子と妊娠前から診断されていた合併症例を示したものである。IVF-ETの適応として卵管因子が43例(30.9%)、男性因子が32例(23.0%)、子宮内膜症が25例(18.0%)、原因不明が43例(30.9%)であった(重複あり)。合併症では、

表 2 体外受精・胚移植後妊娠症例における不妊因子と合併症

不妊因子		
卵管因子	43	(30.9%)
男性因子	32	(23.0%)
子宮内膜症	25	(18.0%)
原因不明	43	(30.9%)
合併症		
婦人科疾患		
子宮内膜症	25	(18.0%)
子宮筋腫	8	(5.8%)
帝王切開の既往	4	(2.9%)
子宮奇形	1	(0.7%)
感染症		
呼吸器疾患	1	(0.7%)
血液疾患	1	(0.7%)
自己免疫疾患	1	(0.7%)
悪性腫瘍	1	(0.7%)
尿路疾患	1	(0.7%)
合計	42	(30.2%)

婦人科疾患としてとくに子宮内膜症を有するものが最も多かった(18.0%)が、他科疾患を含めて42症例(30.2%)に何らかの合併症が認められた。

表 3 は IVF-ET 後妊婦の主な妊娠後期リスクを示したものである。IVF-ET 群では、重症妊娠中毒症が単胎で 7.8%、双胎で 3.2% に認められる一方で、三胎では 16.7% と高率に認められた。切迫早産で入院管理を要した妊婦は、単胎の 11.8% に比較して多胎(双胎; 77.4%, 三胎; 100%)で有意(いずれも  $P < 0.001$ )に増加し、その過半数が入院管理となった。また、早産率は単胎(8.8%)に比較して、双胎(61.3%), 三胎(100%)と胎児数が増加するにつれて有意(いずれも  $P < 0.001$ )に増加し、やはり多胎の過半数で早産となっていた。これらのリスクの増加は対照群でもほぼ同様の傾向が認められたが、IVF-ET 群と対照群を胎児数に分けて比較すると重症妊娠中毒症の発症、切迫早産による入院管理、早産に関してはとくに IVF-ET 群で有意に増加しているわけではなかった。

表 4 は IVF-ET 後妊婦の分娩状況を示したものであ

表 3 体外受精・胚移植後妊婦における妊娠後期リスク

	体外受精・胚移植群			対照群		
	単胎	双胎	三胎	単胎	双胎	三胎
対象妊婦	102	31	6	160	34	3
重症妊娠中毒症発症	8 (7.8%)	1 (3.2%)	1 (16.7%)	8 (5.0%)	6 <sup>a</sup> (17.6%)	1 (33.3%)
切迫早産による入院管理	12 (11.8%)	24 <sup>a</sup> (77.4%)	6 <sup>a</sup> (100%)	22 (13.8%)	26 <sup>a</sup> (76.5%)	3 <sup>a</sup> (100%)
早産(早産率)	9 (8.8%)	19 <sup>a</sup> (61.3%)	6 <sup>a</sup> (100%)	13 (8.1%)	22 <sup>a</sup> (64.7%)	3 <sup>a</sup> (100%)

<sup>a</sup> $p < 0.05$  (単胎との比較)

表 4 体外受精・胚移植後妊婦の分娩状況

	体外受精・胚移植群			対照群		
	単胎	双胎	三胎	単胎	双胎	三胎
分娩週数	38.9 ± 1.56 <sup>*a</sup>	36.3 ± 1.73 <sup>b</sup>	32.8 ± 2.37 <sup>b,c</sup>	39.3 ± 1.62	34.8 ± 4.08 <sup>b</sup>	32.8 ± 2.68 <sup>b</sup>
分娩様式						
経膣分娩	52 <sup>a</sup>	8 <sup>a,b</sup>	0 <sup>b</sup>	125	18 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>
帝王切開(帝王切開率)	50 <sup>a</sup> (49.0%)	23 <sup>a,b</sup> (74.2%)	6 <sup>b</sup> (100%)	35 (21.7%)	16 <sup>b</sup> (47.1%)	2 <sup>b</sup> (66.7%)
適応: 胎児仮死	16	5	2	15 <sup>b</sup>	10	1
児頭骨盤不均衡	13	2	0	10	0	0
患者の強い希望	9 <sup>a</sup>	3	0	1	0	0 <sup>b</sup>
骨盤位	6	6 <sup>b</sup>	2	2	3	0 <sup>b</sup>
前回帝王切開	1	3	0	1	0	0 <sup>b</sup>
切迫子宮破裂	1	1	1	0	0	0
前置胎盤	3	0	0	3	1	0
その他	1	3	1	2	2	1

\* 平均 ± 標準誤差

<sup>a</sup> $p < 0.05$  (対照群との比較) <sup>b</sup> $p < 0.05$  (単胎との比較) <sup>c</sup> $p < 0.05$  (双胎、三胎間との比較)

る。IVF-ET群における平均分娩週数は単胎で38.9週、  
 双胎で36.3週、三胎で32.8週と胎児数の増加とともに  
 ないより有意(単胎-双胎間、双胎-三胎間ともに $P < 0.001$ )  
 に早期分娩となった。帝王切開率は単胎で49.0%、  
 双胎で74.2%、三胎で全例と、多胎はもちろん単  
 胎でも高率であった。その適応では、胎児仮死や児  
 頭骨盤不均衡が多いほか、単胎では“患者の強い希  
 望”という適応が帝王切開症例の18.0%も存在した。

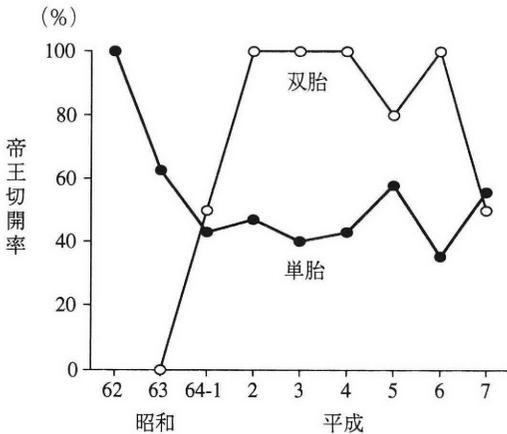


図1 体外受精・胚移植後妊娠における帝王切開率の  
 年次推移

これら分娩状況を対照群と比較すると、IVF-ET群の  
 平均分娩週数は単胎でのみ有意( $P = 0.049$ )に低下し  
 ていた(双胎; $P = 0.062$ , 三胎; $P = 0.274$ )。また、  
 帝王切開率は単胎( $P < 0.001$ )と双胎( $P = 0.026$ )で有  
 意に上昇しており、とくに、単胎の帝王切開適応と  
 して“患者の強い希望”によるものがIVF-ET群で有  
 意( $P = 0.002$ )に増加していた。

帝王切開率がIVF-ET群で上昇していることをさら  
 に分析するため、その年次推移を単胎と双胎で調べ  
 図1に示した。単胎では昭和62~63年当初は症例数  
 も少なかったこともあるが60%以上の帝切率でその  
 42.9%(7例中3例)は“患者の強い希望”が適応で  
 あった。そして、平成元年以降は帝切率が減少して  
 40%前後に安定している。一方、双胎では昭和62~  
 63年に4例の経膈分娩を行っているが、平成元年以  
 降の6年間は毎年ほぼ100%に近い帝王切開率であっ  
 た。

表5はIVF-ET後妊婦より出生した新生児の状態を  
 示したものである。児の出生体重の平均は単胎で2924  
 g、双胎で2322g、三胎で1684gで胎児数の増加とと  
 もに有意(単胎-双胎間; $P = 0.013$ , 双胎-三胎間;  
 $P < 0.001$ )に減少していた。出生体重が2500g未満で  
 ある低出生体重児の頻度は単胎で14.7%、双胎で71.0  
 %、三胎で100%であり、また1500g未満である極低

表5 体外受精・胚移植後妊婦より出生した新生児の状態

	体外受精・胚移植群			対照群		
	単胎	双胎	三胎	単胎	双胎	三胎
出生児数	102	60	18	160	65	9
死産児数	0	2 (0.3%)	0	0	3 (0.4%)	0
出生体重 (g)	2924 ± 450.8*	2322 ± 335.3 <sup>a,b</sup>	1684 ± 414.4 <sup>b,c</sup>	2980 ± 453.6	1968 ± 721.2 <sup>b</sup>	1771 ± 348.7 <sup>b</sup>
< 2500g	15 (14.7%)	44 <sup>b</sup> (71.0%)	18 <sup>b,c</sup> (100%)	19 (11.8%)	51 <sup>b</sup> (75.0%)	9 <sup>b</sup> (100%)
< 1500g	1 (1.0%)	2 <sup>a</sup> (3.2%)	7 <sup>b,c</sup> (38.9%)	2 (1.2%)	21 <sup>b</sup> (30.9%)	3 <sup>b</sup> (30.9%)
Apgar score(1分後)						
< 7	5 (4.9%)	11 <sup>b</sup> (17.7%)	9 <sup>b,c</sup> (50.0%)	11 (6.8%)	22 <sup>b</sup> (32.4%)	2 (22.2%)
< 4	0	6 <sup>b</sup> (9.7%)	5 <sup>b</sup> (27.6%)	0	10 <sup>b</sup> (14.7%)	1 <sup>b</sup> (11.1%)
先天異常**	2 <sup>d</sup> (2.0%)	1 <sup>e</sup> (1.6%)	1 <sup>f</sup> (5.6%)	1 <sup>g</sup> (0.6%)	0	0 <sup>b</sup>
新生児死亡	0	0	1 <sup>a</sup> (5.6%)	0	0	0

\*平均±標準誤差、\*\*出生時所見から

<sup>a</sup> $p < 0.05$  (対照群との比較) <sup>b</sup> $p < 0.05$  (単胎との比較) <sup>c</sup> $p < 0.05$  (双胎、三胎間との比較)

<sup>d</sup>VSDとTOF、<sup>e</sup>PFO、<sup>f</sup>hydrops、<sup>g</sup>clubfoot

出生体重児の頻度は単胎で1.0%, 双胎で3.2%, 三胎で38.9%であり、いずれも胎児数が増加するに従って高率となった。出生1分後のApでは、7点未満の新生児は単胎で4.9%, 双胎で17.7%, 三胎で50%であり、4点未満は単胎がなく、双胎で9.7%, 三胎で27.6%であり、やはり胎児数が増加するにしたがって高率となった。しかし、出生時に発見された先天異常は、単胎で2.0% (心室中隔欠損症とFallot 4徴症の2例)、双胎で1.6% (卵円孔開存の1例)、三胎で5.6% (胎児水腫の1例) しかなく、周産期死亡も生後28日未満の新生児死亡を含めても単胎で0%, 双胎で0.3% (IUFDで死産の2例)、三胎で5.6% (敗血症の1例) といずれも散見された程度であった。これら新生児リスクを対照群と比較すると、単胎や三胎ではIVF-ET群における有意な出生体重の減少 (単胎;  $P=0.33$ , 三胎;  $P=0.599$ ) や低出生体重児の増加 (単胎;  $P=0.506$ , 三胎;  $P=1$ ) は認められず、むしろ双胎では出生体重は有意 ( $P=0.001$ ) に増加し、極低出生体重児が有意 ( $P<0.001$ ) に減少していた。さらに、新生児仮死、先天異常、死産児、新生児死亡の出現頻度を胎児数に分けてIVF-ET群と対照群とで比較したが、いずれも有意な差異は認められなかった。

## 考 察

本研究は、昭和62年3月から平成7年8月までの約8年半にわたって当科でIVF-ETを施行し分娩に至った139例の妊婦の周産期のリスクを検討したものである。その結果、一般の自然妊娠例にみられるようにIVF-ET群でも単胎に比べて双胎、三胎と胎児数が増加するにつれて周産期のほとんどの項目のリスクが増加していた。しかし、患者の年齢、既往分娩回数をマッチングさせ各胎児数ごとに分析すると、自然妊娠後に比べてIVF-ET後妊婦では重症妊娠中毒症の発症、切迫早産による入院、早産といった妊娠後期リスクの明らかな増加は認められず、新生児に関してはむしろ双胎児の出生体重が増加し極低出生体重児が減少しているものの低出生体重児、先天異常児、新生児仮死、新生児死亡の明らかな増加は認められなかった。

表6はIVF-ET後妊娠における周産期成績の内外のこれまでの調査報告<sup>2-14)</sup>の概要を示したものである。本研究のように対照群とマッチングさせたcase-control studyはそのうちの数件<sup>4, 6, 9, 10, 14)</sup>しかなかったが、いずれも早産、低出生体重児の増加を報告するものが多いものの、それは多胎妊娠に起因するところが大きいものと述べられている。また、先天異常児 (1.4

~3.0%) や周産期死亡 (1.29~3.54%) も単胎例においては本研究の結果 (先天異常; 2.0%, 周産期死亡; 0%) 同様に増加を示す報告は少なく、概してIVF-ETそのものの周産期ハイリスクへの臨床的意義は大きくないとの見解が多いようである。さらに、染色体異常に関しては、IVF-ET後自然流産では62%も占めるとの報告はあるが<sup>15)</sup>、IVF-ET後出生児では0.1~0.88%<sup>5, 12, 13, 14)</sup>といずれも自然妊娠後に比べて高率ではない。ちなみに、当科からはIVF-ET後出生児、死産児いずれからも染色体異常は発見されず、妊娠中期に羊水穿刺を施行した8例からも正常核型が6例、重型が2例 (46XX, 1qhおよび+46XYq+) と染色体異常児の増加を示唆する結果は得られなかった。

本研究では唯一IVF-ET群の周産期リスクとして帝王切開が多胎 (双胎; 74%, 三胎; 100%) ではもちろん単胎 (49%) でも高率なことであった (全体で57%)。単胎と多胎の全体を通して、確かに諸家の報告するIVF-ET後妊娠例の帝王切開率は当科の成績同様に29~56%と高率である<sup>2, 3, 4, 6, 7, 10, 12)</sup>。この背景には、IVF-ET後妊娠症例として高年や難治性の不妊症後の妊婦で今後の挙児希望が困難なものが多く、医師や患者の児に対する貴重感がどうしても高まることである。その結果、帝王切開の母児に対するリスクをそれほど問題としない一方で、偶発的に起こるかもしれない経膈分娩時のトラブルを過度に懸念し、児の安全性を最優先する (貴重児) あまりに、純粋な医学的適応を超えてしまうものと考えられる。最近、当科においてもIVF-ET後妊娠症例に対して、より純粋な医学的適応を重視し帝王切開の適応が見直されてきており、図1に示すごとく単胎の帝王切開率は年々低下し、平成7年では55.6%となっている。しかし、一般妊婦において推測される10%前後の帝王切開率と比較すればまだまだ高率であり、まして多胎妊娠に関してはいまだ100%に近いことからすれば、帝王切開の適応に関して今後さらに検討する余地があるように思われる。

IVF-ETと周産期リスクの関連について、不妊治療の結果増加する多胎妊娠が有力な原因であるとは別に、対象患者の不妊歴、乏しい妊娠歴、さらに高年であることも問題とされる<sup>3, 6)</sup>。本研究で対象となったIVF-ET群でも高年 (35歳以上が36.6%) で初産婦 (88.5%) が多いという患者層の構成の特徴が当然周産期リスクを高める結果となることは予想された。今回、胎児数はもとより妊娠歴や年齢をマッチングさせたcase-control studyを行うことにより周産期リスクに関しては対照群との間に統計学的有意差が認めら

表6 内外における体外受精・胚移植後妊娠の周産期成績の概要

著者(発表年)	対象地域 (調査期間)	症例数 (出生児数)	多胎率(%)	帝切率(%)	概要
Andrews MC他 <sup>2)</sup> (1989)	バージニア州 (1981~1984)	100 (115)	22.2	56	周産期リスクの増加なし。先天異常児は3%, 周産期死亡は2.0%。
Saunders DM & Lancaster P <sup>3)</sup> (1989)	オーストラリア (1979~1985)	1345 (1694)	22	42.9	単胎でも早産(17.8%), 低出生体重児(15.9%), 周産期死亡(3.54%)の増加。 先天異常児(2.2%)は増加せず。
Home RS 他 <sup>4)</sup> (1990)	ペンシルバニア州 (~1990)	54 (54)	単胎のみ調査	39	分娩第1期の遷延(10.2時間), 分娩時出血量の増加(516ml), 帝切率の増加はあるが, ハイリスクの臨床的意義は最小限。
Rizk B 他 <sup>5)</sup> (1991)	英国 (1978~1987)	639 (865)	23	-	多胎で死産(双胎; 2.08%, 三胎; 2.47%), 周産期死亡(双胎; 3.82%, 三胎; 3.7%)の増加。先天異常児(2.5%)は増加せず。
Tan S-L 他 <sup>6)</sup> (1992)	英国 (1978~1987)	763 (961)	22.7	51.7	入院を要する性器出血や高血圧, 帝王切開(単胎; 47%), 子宮内胎児発育遷延, 前置胎盤, 早産の増加。先天異常児, 死産, 周産期死亡は増加せず。
Friedler S 他 <sup>7)</sup> (1992)	イスラエル (1982~1989)	1149 (1475)	2.36	47.3	周産期死亡(2.28%)の増加。先天異常児(2.2%)は増加せず。
Leslie GI 他 <sup>8)</sup> (1992)	オーストラリア (1985~1989)	216 (375)	-	-	多胎妊娠における早産の増加。人工呼吸器を必要とする新生児(4.3%)と必要期間(児一人あたり7.29日)の増加。
Seoud MA-F 他 <sup>9)</sup> (1992)	バージニア州 (1982~1990)	629 (786)	21.3	-	多胎妊娠で早産, 高血圧, 妊娠性糖尿病, 児出生体重の減少, 新生児NICU管理の長期化あり。出生児の仮死, 先天異常児, 周産期死亡(双胎; 3.85%, 三胎; 0%, 四胎; 0%)は多胎妊娠でも増加せず。
Olivennes F 他 <sup>10)</sup> (1993)	フランス (1987~1989)	162 (162)	単胎のみ調査	29.0	周産期リスクの増加なし。周産期死亡は1.85%。
Balen AH 他 <sup>11)</sup> (1993)	英国 (1984~1990)	724 (963)	27.7	-	多胎妊娠に周産期死亡(双胎; 8.00%, 三胎; 3.06%)の増加。
日産婦理事会内委員会 <sup>12)</sup> (1993)	日本 (1991)	1144 (1428)	20.8	40.3*	早産率15.9%, 低出生体重児32.2%, 極低出生体重児4.5%, 超低出生体重児2.8%, 5分後Ap 4以下2.4%, 異常出生児1.1%, 周産期死亡1.82%*
Rufat P 他 <sup>13)</sup> (1994)	フランス (1978~1989)	1263 (1669)	27.5	-	周産期死亡(3.06%), 新生児死亡, 乳児死亡の増加。先天異常児は2.86%。 1歳以降に発育した児の健康状態へは影響なし。
Petersen K 他 <sup>14)</sup> (1994)	デンマーク (1986-1990)	70 (114)	22.3	-	単胎の出生時体重(3145g)の減少。先天異常児は0.88%。

\*GIFT, ZIFT後妊娠の成績を含む

れなかったことは、多胎妊娠とともに高年や初産婦といった要因以外で周産期リスクを増大させる他の有力な要因が考えにくいことを示唆している。しかし、一方で、今回の調査からIVF-ET後妊婦には婦人科疾患はもとより合併症を有する患者(表2, 30.2%)が多く存在していることが判明した。たまたま今回の合併率では統計学的に周産期リスクとの間には有意な関連は認めなかったが、さらに合併症保有率の高いIVF-ET群を対象とすることになれば、妊娠に対して何らかの問題を引き起こす危険性も増大し、その結果、周産期リスクを増加させる要因となる可能性は十分あるだろう。結論として、本研究からはIVF-ET後妊婦自体には明らかな周産期リスクは認められなかった。しかし、今後、低容量hMG投与法やGn-RHパルス状投与<sup>16)</sup>などといった卵胞数の制限や移植胚の制限により多胎妊娠を防止するとともに、潜在する合併症の早期治療と適切な周産期管理を行い、IVF-ET後妊娠に偶発するリスクをより減少させることがIVF-ET患者に対して不妊治療から妊娠、周産期管理を通じた安全性の糸口になるものと考えられる。

なお、本研究の一部は第40回日本不妊学会学術講演会(山形)において発表した。

## 文 献

- 1) 日本産科婦人科学会妊娠中毒症問題委員会(1984) 妊娠中毒症問題委員会報告「妊娠中毒症について」第1次案解説。日産婦誌 36: 983-989
- 2) Andrews MC, Muasher SJ, Levy DL, et al. (1989) An analysis of the obstetric outcome of 125 consecutive pregnancies conceived in vitro and resulting in 100 deliveries. *Am J Obstet Gynecol* 154: 848-854
- 3) Saunders DM and Lancaster P (1989) The wider perinatal significance of the Australian in vitro fertilization data collection program. *Am J Perinatol* 6: 252-255
- 4) Home RS, Sayegh RA, Durinzi KL, et al. (1990) Perinatal outcome of singleton pregnancies conceived by in vitro fertilization: a controlled study. *J Perinatol* 10: 261-266
- 5) Rizk B, Doyle P, Tan SL, et al. (1991) Perinatal outcome and congenital malformations in in-vitro fertilization babies from the Bourn-Hallam group. *Hum Reprod* 6: 1259-1264
- 6) Tan S-L, Doyle P, Campbell S, et al. (1992) Obstetric outcome of in vitro fertilization pregnancies compared with normally conceived pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 167: 778-784
- 7) Friedler S, Mashiach S and Laufer N (1992) Births in Israel resulting from in-vitro fertilization/embryo transfer, 1982-1989: National Registry of the Israeli Association for Fertility Research. *Hum Reprod* 7: 1159-1163
- 8) Laslie GI, Bowen JR, Arnold JD, et al. (1992) in-vitro fertilization and neonatal ventilator use in a tertiary perinatal centre. *Med J Aust* 157: 165-167
- 9) Seoud MA-F, Toner JP, Kruithoff C, et al. (1992) Outcome of twin, triplet, and quadruplet in vitro fertilization pregnancies: the Norfolk experience. *Fertil Steril* 57: 825-834
- 10) Olivennes F, Rufat P, Andre B, et al. (1993) The increased risk of complication observed in singleton pregnancies resulting from in-vitro fertilization (IVF) doses not seem to be related to the IVF method itself. *Hum Reprod* 8: 1297-1300
- 11) Balen AH, NacDougall J and Tan S-L (1993) The influence of the number of embryos transferred in 1060 in-vitro fertilization pregnancies on miscarriage rates and pregnancy outcome. *Hum Reprod* 8: 1324-1328
- 12) 日本産科婦人科学会理事会内委員会(1993) 平成4年度生殖医学の登録に関する委員会報告(第4報)(平成3年度分の臨床実施成績, 平成2年分の治療による出生児の追跡調査成績, 全追跡調査児の総合解析成績)。日産婦会誌 45: 397-410
- 13) Rufat P, Dehan M, Olivennes F, et al. (1994) Task force report on the outcome of pregnancies and children conceived by in vitro fertilization (France: 1987 to 1989). *Fertil Steril* 61: 324-30
- 14) Petersen K, Hornners PJ, Ellingsen S, et al. (1995) Perinatal outcome after in vitro fertilization. *Acta Obstet Gynecol Scand* 74: 129-131
- 15) Plachot M (1989) Chromosome analysis of spontaneous abortions after IVF: A European survey. *Hum Reprod* 4: 425-429
- 16) Kuwahara A, Matsuzaka T, Kaji H, et al. (1995) Induction of single ovulation by sequential follicle-stimulating hormone and pulsatile gonadotropin-releasing hormone treatment. *Fertil Steril* 64: 267-272

(受付: 1996年3月6日)

(受理: 1996年4月1日)

## Perinatal risks after in vitro fertilization and embryo transfer

Nobuyoshi Sakai, Yoshinori Kishimoto, Takakazu Saito, Mariko Ito,  
Kenji Nakahara, Hidekazu Saito and Masahiko Hiroi

Department of Obstetrics and Gynecology  
Yamagata University School of Medicine Yamagata 990-23, Japan

Perinatal risks were examined in 139 patients (102 singletons, 31 twins and 6 triplets) who underwent in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) and were delivered beyond 21 weeks of gestation (wg) from March 1987 to August 1995 at Yamagata University Medical Hospital.

With increasing of fetuses, incidences of severe toxemia of pregnancy and threatened preterm delivery were increased, gestational age at delivery was decreased (singletons; 38.9 weeks of gestation (wg), twins; 36.3 wg, triplets; 32.8 wg), incidence of premature delivery was increased (singletons; 8.8 %, twins; 61.3 %, triplets; 100 %), birth weight of newborns was decreased (singletons; 2924 g, twins; 2322 g, triplets; 1684 g), and incidence of asphyxia (apgar score < 7 at 1 minute) in newborns was increased (singletons; 4.9 %, twins; 17.7 %, triplets; 50 %). However, these risks were not significantly high compared with patients of naturally conceived pregnancies matched by maternal age, parity, and multiplicity of pregnancy. There was no significant increase in congenital anomalies (2.2 %) and perinatal mortality (1.67 %).

We conclude that IVF-ET should not be considered as high risk during perinatal period, but multiple pregnancy itself induced by IVF-ET is likely to lead to the perinatal risks. As well as prevention of multiple pregnancy, proper management for complications which are often observed (30.2 %) in pregnant patients undergoing IVF-ET is thought to be important for improvement of perinatal outcomes after conception of IVF-ET.

**Key words:** in vitro fertilization and embryo transfer, perinatal risk, multiple pregnancy

## 4回のレゼクトスコーピー治療後妊娠した多発性粘膜下子宮筋腫の1例

### A Case of Multiple Submucous Leiomyomas in Pregnancy after Four Resectoscopic Myomectomies

秋田大学医学部産婦人科学教室

太田博孝

田中俊誠

Hiroataka OTA

Toshinobu TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology

Akita University School of Medicine, Akita 010, Japan

不妊症に粘膜下子宮筋腫を合併するとその妊孕性は低下する。単発の粘膜下子宮筋腫はまれではないが、20歳代の女性に多発性粘膜下子宮筋腫を合併した例はあまりみられない。今回、同症合併例に4回の子宮鏡下手術を施行し、妊娠に成功した例を経験したので報告する。

症例は26歳。平成4年11月不妊、および月経痛、過多月経を主訴として当科を受診した。超音波断層法と子宮鏡検査により多発性粘膜下子宮筋腫と診断された。12月に1回目のレゼクトスコーピーを施行、計10gの子宮筋腫を切除した。その後粘膜下子宮筋腫の再発のため、平成5年9月までに計3回の同治療を施行し、45gの子宮筋腫を切除した。

平成6年9月自然排卵により妊娠した。平成7年5月妊娠33週1日で前期破水のため入院したが、入院4日後子宮内感染兆候出現のため、腹式帝王切開術を施行した。児は1480gの女児でアプガール3点のため、NICUに転科し治療を受けた。現在母児とも経過良好である。

キーワード：多発性粘膜下子宮筋腫，子宮，不妊症，子宮鏡，レゼクトスコーピー

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 271 - 275, 1996)

#### 緒言

不妊症に子宮筋腫を合併することはまれではない。筋層内筋腫のうち子宮内腔の変形をきたさないような比較的小さな例では外科的治療を加えずに様子を見ることが多い。しかし、子宮内腔を圧迫し、子宮内腔の変形をとまなうような例ではその妊孕性が低下し、外科的筋腫切除術を考慮する必要がある。また、漿膜下筋腫のうち子宮後面と直腸間に大きく存在し、排卵や卵子捕捉機構に障害をきたすような例では筋腫摘出手術の対象となる可能性がある。

一方、不妊症に粘膜下子宮筋腫を合併するとその妊孕性は低下する。単発性の粘膜下子宮筋腫例はよくみられるが、20歳代の性成熟期女性に多発性粘膜下子宮筋腫を合併する例は比較的少ない<sup>1,2)</sup>。今回、同症を合併した症例に4回のレゼクトスコーピー手術を施行し、妊娠に成功した例を経験したので報告する。

#### 症例

患者：K.K. 26歳

月経歴：初経11歳，月経周期30日型，月経持続期間14日間から16日間。

妊娠歴：なし

既往歴：24歳で虫垂切除術施行。

現病歴：4年前より鉄欠乏性貧血のため某医で鉄剤の投与を受けていた。平成3年10月結婚。平成4年9月に至り月経痛、過多月経が増強し月経期間も延長するようになったため、某医を受診したところ子宮筋腫および子宮内膜症との診断を受けた。同年11月19日再度精査・治療を目的に当科を受診した。

現症：身長165cm，体重60kgと大柄であった。血圧は122/75mmHg，脈拍数は72/分と正常。双合診所見では子宮は小手拳大に腫大していたが、表面の凹凸は触知しなかった。両側付属器，子宮傍結合織は正常であった。

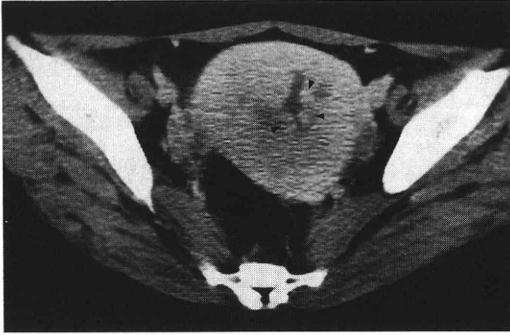


図1 治療前の子宮体部CT像  
矢印は粘膜下子宮筋腫部位を示す。

検査成績：経膈超音波断層法，およびCTスキャンでは多数の筋層内，および粘膜下筋腫結節を認めた(図1)．基礎体温表では低温期が15～17日と延長，高温期が10～11日と短縮し，黄体機能不全型であった．硬性子宮鏡による検査では有茎性のものから半分粘膜下に埋没したもの，あるいは一部分のみ筋腫結節を覗かせたものなど多様であった．腫瘍マーカーではCA 125 10 U/ml，CA 19-9 < 10 U/mlといずれも正常範囲にあった．クラミジア抗原は陰性．内分泌機能検査では黄体中期血中プロゲステロン値が9.2 ng/mlと軽度低下している以外はすべて正常であった．末梢血液所見では赤血球数399万，Hb 9.3 g/dl，Ht 29.3%，MCV 73.5 fl，MCH 23.4 pg，MCHC 31.8%，血清鉄4 μg/dlと軽度の鉄欠乏性貧血を認めた．一般生化学・尿検査はすべて正常であった．

臨床診断：原発性不妊症，黄体機能不全症，多発性粘膜下子宮筋腫，鉄欠乏性貧血．

経過：以上の所見から本症例はレゼクトスコープの適応とした．本例の手術は既報<sup>3)</sup>に従い静脈麻酔と硬膜外麻酔の併用下で行われた．用いた子宮鏡は2種類である．観察用子宮鏡と手術用子宮鏡(レゼクトスコープ)でともにオリンパス光学工業製(東京)である．レゼクトスコープ用のループは着脱式であり，2種類のループと止血用のローラーをはめ込んだループがある．これに高周波電流を通し，電気的に切除した．出力には切開と凝固の2種類があり，それぞれ75，25 Wの電力で使用した．なお，灌流液には3% D-ソルビトール液(ウロマチックS®；バクスタートラペノール株式会社，東京)を用いた．

第1回目の手術は同年12月17日施行した(図2)．手術は経膈超音波断層法の監視下で行った．レゼクトスコープを子宮腔内に挿入してループを出し，子宮頸部よりの粘膜下子宮筋腫から切除を開始した．

有茎性の筋腫約11個はすべて切除したが，無茎性の筋腫は完全切除は不可能と考え，2～3個のみ周囲粘膜面まで切除し，残り3～4個の筋腫はそのまま残すこととした．切除筋腫の重量は合計10gであった．手術終了後，子宮内避妊器具(IUD)を次回月経時まで挿入した．第1回手術後の超音波断層法では筋層内に多数の筋腫結節を認めた．このため，患者・家族にはあと数回の子宮鏡下手術が必要であると説明した．平成5年3月27日に施行した硬性子宮鏡検査では，子宮内腔には再び有茎性から無茎性のさまざまな粘膜下子宮筋腫が多数存在していた．このため，同年5月8日第2回目のレゼクトスコープを施行した．有茎性のみならず無茎性の筋腫も周囲粘膜面と同じ高さまで切除した．筋腫の合計重量は35gであった(図3)．さらに第3回目の手術を6月13日施行し5gの筋腫を切除した．翌7月，硬性子宮鏡で粘膜下子宮筋腫の有無を再確認したところ，再び約5個の筋腫結節が認められた．そこで，第4回目の手術を同年9月28日に施行した．この時同時に腹腔鏡を施行し，卵巣・卵管に異常のないことを確認した(図4)．切除した筋腫結節重量は合計5gであった．2～4回目の手術終了時1回目と同様にIUDを挿入した．

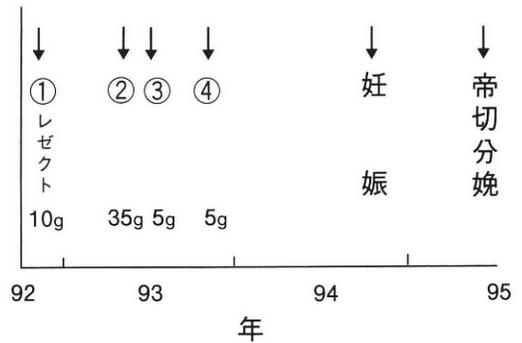


図2 治療経過

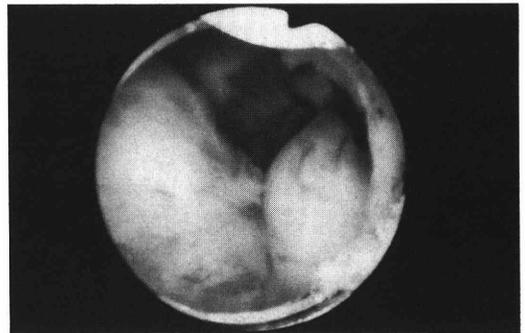


図3 レゼクトスコープ3回目治療前の子宮鏡所見

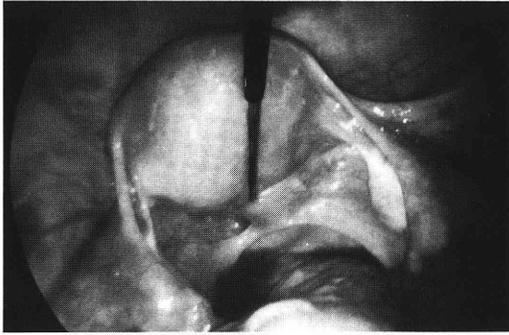


図4 腹腔鏡所見

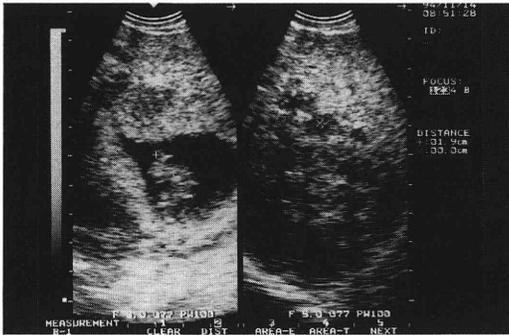


図5 妊娠8週3日の超音波断層法

左図：胎嚢・胎児部分，右図：同時に存在する多数の筋層内筋腫

なお、子宮の大きさは第1回治療前には小手拳大であったが、第4回治療後には鶯卵大にまで縮小した。また、手術は助手と交代で行った。第1回目から第4回目までの手術時間はそれぞれ128分、335分、98分、152分で、平均178分であった。

その後外来にて主としてクロミフェン療法による治療を行っていたが、平成6年9月11日を最終月経として、自然排卵し妊娠した。妊娠初期の超音波断層法では子宮内腔面に突出した粘膜下子宮筋腫はみられなかった(図5)。しかし、妊娠13週頃からの超音波断層法検査では胎児部分とは別に憩室様の部位を子宮左下半部に認め、レゼクトスコープ後に発生した子宮内膜面同士の癒着が疑われた。その後妊娠は順調に推移していたが、妊娠33週1日に至り突然破水し、緊急入院となった。入院翌日より子宮収縮が認められるようになり、塩酸リトドリン点滴で陣痛抑制を計った。妊娠33週4日に至り、体温37.8℃、脈拍数98/分、CRP(+)と子宮内感染徴候を認めたため、急速墜娩が必要と判断された。子宮腔内には前述のように子宮憩室様の部分が存在するなど、胎

児下降の困難性と症例の不妊期間も考慮し、腹式帝王切開術を行うこととした。

手術は正中切開で腹腔内に入った。子宮頸上部の横切開部より約6cmの所で、癒着による隔壁と思われる膜様の部位を触れ、これを用手的に破り胎児を娩出した。胎盤娩出後の子宮内腔は最大約2cmの粘膜下子宮筋腫が多数突出しており、正常の滑らかな子宮内膜は認め難いほどであった。出血量は羊水込みで2390mlで、Hb値が9.3g/dlから5.3g/dlと低下したため、保存血5単位を輸血した。胎盤重量は480gで、梗塞・出血などの所見はなかった。

出生児は女児で1480g、アプガール3点のため、気管内挿管後人工呼吸ししつNICUへ転科させた。児は順調に回復し、6月11日体重2272gで退院となった。

## 考 察

不妊症にともなう子宮筋腫は比較的良好にみられるが、とくに粘膜下子宮筋腫を合併する例で妊娠成立はあまりみられない。粘膜下子宮筋腫による不妊機序としては筋腫による物理的圧迫、筋腫の存在による子宮内腔の生化学的変化、子宮の過度の収縮にともなう着床障害、インテグリン・カドヘリンなどの接着分子や細胞外マトリックスの変動、あるいは好中球・リンパ球・マクロファージなどの侵入によるサイトカイン・増殖因子の分泌による子宮内環境の変化などが考えられる。

従来、子宮筋腫の治療としては開腹手術による筋腫核出術が行われてきた。しかし、手術侵襲度や術後癒着の頻度が高いなど短所も多くあげられていた。近年開発されたレゼクトスコープは粘膜下子宮筋腫にも幅広く応用されつつある。子宮鏡による手術は開腹手術と比べ腹壁や子宮を切開する必要がない、筋腫結節を確実に切除できる、手術翌日には帰宅できるなど多くの長所があげられる。

不妊症に合併した単発性の粘膜下子宮筋腫に対する子宮鏡下手術の治療成績はすばらしい。現在までの報告をみると妊娠率は47%から77%に達している<sup>5-10</sup>。我々の成績でも症例数は少ないが80%に達し、よい成績となった(表1)。これらの成績は従来の開腹による筋腫切除の治療成績<sup>11</sup>と同程度か、むしろより優れている。

本例では1回だけのレゼクトスコープでその完全切除は不可能と考え、約11か月にわたり4回の手術を行った。1回目の手術で有茎性粘膜下子宮筋腫はすべて切除したものの、無茎性筋腫は一部の筋腫のみ部分的に切除した。2回目以後の手術では無茎性

表1 当科におけるレゼクトスコープの治療成績

	例数	不妊例	妊娠例
粘膜下子宮筋腫	16	5	4
子宮頸部癒着	3	2	2
子宮中隔	2	2	1
子宮体部癒着	1	1	1

筋腫もすべて周囲粘膜面の高さまで切除した。しかし1～3回目の手術後には再び複数の有茎性粘膜下子宮筋腫を認めた。さらに帝王切開時子宮内腔面には多数の粘膜下子宮筋腫を認めた。これらの所見から、本症例におけるレゼクトスコープ後の有茎性の粘膜下子宮筋腫の出現は同一部位からの再発ではなく、むしろ多数の筋腫切除により子宮が収縮したため、内膜近傍の筋層に存在した筋腫が子宮内腔に押し出された結果と考えられた。また、単発性の粘膜下子宮筋腫では1回の子宮鏡下手術により完全切除が可能である。しかし、本例のように有茎性から無茎性の多岐にわたる多発性粘膜下子宮筋腫例では1回での切除は困難で、数回の手術が必要になると考えられた。

本症例では妊娠初期より胎児・胎囊部分とは別に憩室様の空間が存在した。帝王切開時の所見と合わせ考えるとレゼクトスコープ後に起きた内膜面同士の癒着と考えられた。本手術の際、注意する点に子宮穿孔の問題がある。ループによる切除を不注意に行っていると容易に正常子宮筋層に入り得る。しかし、この点は経腹超音波断層法で助手にループ先端を監視させつつ注意深く行うことにより確実に防げると考えられた。

本症例のように多発性粘膜下子宮筋腫例についてその予後を検討した報告はほとんどみられない。わずかにHallezは284例の粘膜下子宮筋腫合併不妊症の予後についてまとめている<sup>2)</sup>。それによると10例が新たな粘膜下子宮筋腫発生のため再度レゼクトスコープを施行せざるをえなかった。さらに6例には多発性の子宮筋腫が再び発生し、子宮全摘除術を余儀

なくされたと述べている。このように単発性の粘膜下子宮筋腫例の予後は比較的よいが、多発性の例ではその治療に難儀する。本症例では幸い妊娠に成功し児を持つに至ったが、その子宮には再び多数の粘膜下子宮筋腫を確認しており、今後子宮摘除に至る可能性が十分考えられた。

## 文 献

- 1) Corson SL, Brooks PG (1991) Resectoscopic myomectomy. *Fertil Steril* 55: 1041-1044
- 2) Hallez JP (1995) Single-stage total hysteroscopic myomectomies: indications, techniques, and results. *Fertil Steril* 63: 703-708
- 3) 太田博孝, 加藤充弘 (1992) レゼクトスコープによる子宮頸部癒着症の治療. *日不妊会誌* 37: 616-620
- 4) 山本 浩, 岩田嘉行 (1979) 子宮筋腫と不妊. 産婦人科Mook 5. 不妊の診断と治療, 坂元正一ら編, 金原出版, 東京, p128-134
- 5) Newirth RS, Amin HK (1976) Excision of submucous fibroids with hysteroscopic control. *Am J Obstet Gynecol* 126: 95-99
- 6) Siegler AM, Valle RF (1988) Therapeutic hysteroscopic procedures. *Fertil Steril* 50: 685-701
- 7) 林 保良, 岩田嘉行 (1990) レゼクトスコープによる経頸管的切除術. *産婦実際* 39: 331-335
- 8) Valle RF (1990) Hysteroscopic removal of submucous leiomyomas. *J Gynecol Surg* 6: 89-96
- 9) Donnez J, Gillerot S, Bourgonjon D, et al. (1990) Meodymium: YAG laser hysteroscopy in large submucous fibroids. *Fertil Steril* 54: 999-1003
- 10) Goldenberg M, Sivan E, Sharabi Z, et al. (1995) Outcome of hysteroscopic resection of submucous myomas for infertility. *Fertil Steril* 64: 714-716
- 11) Verkauf BS (1992) Myomectomy for fertility enhancement and preservation. *Fertil Steril* 58: 1-15

(受付: 1996年2月22日)

(受理: 1996年4月8日)

---

## A case of multiple submucous leiomyomas in pregnancy after four resectoscopic myomectomies

Hiroataka Ota and Toshinobu Tanaka

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

It is well known that patients suffering from submucous leiomyoma also suffer from poor fertility. Simple submucous leiomyoma is fairly common, whereas multiple submucous leiomyomas are relatively rare. We report here on a case with leiomultiple submucous myomas in pregnancy despite four resectoscopic myomectomies.

The 26 year-old nulligravida had been treated for iron deficiency anemia through the administration of oral tablets. She married in March 1991. In May, she consulted a physician due to dysmenorrhea, hypermenorrhea, and prolonged menstruation and was diagnosed as having uterine leiomyoma and endometriosis. In November 1992, she came to our outpatient clinic complaining of infertility. Pelvic ultrasonography and CT scan revealed multiple submucous leiomyomas. In December, we performed the first of four resectoscopies, removing leiomyoma tissues weighing 10 grams. Over the next six months, we repeated the same surgery three more times, removing leiomyomas weighing 45 grams. In September 1994, the patient experienced spontaneous ovulation and became pregnant. In week 33 of gestation, she had premature ruptured membranes and showed signs of intrauterine infection. Following cesarean section, she delivered a premature girl weighing 1480 grams. Mother and daughter recovered steadily and were eventually discharged without major complications.

**Key words:** multiple submucous leiomyoma, uterus, infertility, hysteroscopy, resectoscopy

---

## Vitrification法によるヒト胚凍結の実際 —妊娠, 分娩に至った1症例—

### Ultrarapid Freezing of Human Embryos by Vitrification Method — A Case of Delivery —

山形大学医学部産科婦人科学教室

太田 信彦 Nobuhiko OHTA	野原 理 Makoto NOHARA	小島原 敬信 Takanobu KOJIMAHARA
伊藤 真理子 Mariko ITO	斉藤 隆和 Takakazu SAITO	中原 健次 Kenji NAKAHARA
手塚 尚広 Naohiro TEZUKA	斉藤 英和 Hidekazu SAITO	廣井 正彦 Masahiko HIROI

Department of Obstetrics and Gynecology

Yamagata University School of medicine, Yamagata 990-23, Japan

体外受精において多数の胚が得られた場合、多胎妊娠防止のために一部は凍結保存し、その後の周期に融解し胚を移植するという技術は、プログラムフリーザーを用いて広く行われている。最近、これらの装置を用いず短時間で液体窒素へ胚を浸漬する超急速凍結法が開発され、臨床応用が試みられている。我々はこの方法を応用し、妊娠分娩例を得ることに成功した。

症例は39歳2妊0産であり、他院(2回)および当科(2回)で体外受精・胚移植を行った。今回余剰胚を、ethylene glycol, Ficoll, trehaloseを含む凍結保護剤で摂氏4℃、5分間平衡した後液体窒素に浸漬する方法にて凍結、融解、胚移植を行い、妊娠が成立し、帝王切開術にて双胎を分娩した。

このVitrification法はまだ臨床応用例が少なく改良すべき点も多いが、細胞内外の氷晶形成を起こさないことと、高価な装置を必要とせず短時間に凍結可能であることなどいくつかの利点があり、今後広く臨床応用される可能性が高いと考えられる。

**キーワード:** 体外受精・胚移植, 超急速凍結法, Vitrification

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 276 - 279, 1996)

#### 緒 言

ヒト胚の凍結保存法は、1983年にTrounsonらが凍結胚を用いた初めての妊娠例を報告して以来、体外受精・胚移植(IVF-ET)を実施する際の必須の技術となっている。凍結法に関してはプログラムフリーザーを用いる方法が一般的であるが、凍結する胚の時期は、1-cell～blastocystとさまざまであり、かつまた凍結保護剤も、dimethyl sulfoxide(DMSO), ethylene glycol, propandiol, sucrose, trehalose<sup>2)</sup>, Ficoll<sup>3,4)</sup>などを組み合わせて、各施設独自の方法がとられている

のが現状である。一方、1985年にマウス胚において、超急速に凍結するVitrification法が報告されて以来、ヒト胚においても本法が応用されつつある。

今回我々は、ヒト胚においてこのVitrification法を用いて妊娠分娩に成功したので報告する。

#### 方 法

我々が用いたVitrification法の概略を図1, 2に示した。すなわち、30% Ficoll®(Pharmacia) 15 g, 0.5 M trehalose(ナカライテスク) 9.45 gの各非透過型凍結保護剤にBovine serum albumin(BSA) fraction v®(SIGMA)

200 mgを加え、これらをhuman tubal fluid (HTF) (当科にて独自に作製)で溶解し50 mlとしたもの(A液)と、透過型凍結保護剤であるethylene glycol (和光純薬) (B液)を、(A液) : (B液) = 60% : 40%の比率で混合したmedium (以下Medium\*と略)を準備した。IVFにて得られた余剰受精卵(4~16 cell)を4℃のMedium\*に移し、5分または10分置いた後0.25 mlのplastic minis-traw (カスー社製：フランス)へ封入し液体窒素中に

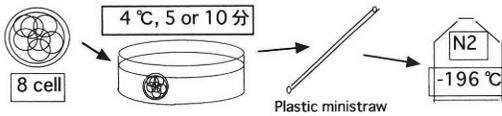


図1 Vitrification法による胚凍結法

Vitrification用Medium\* : 30% Ficoll 15 g, 0.5 M Trehalose 9.45 g, BSA 200 mgをHTFで溶解し50 mlとしたもの(A)と、Ethylene glycol (B)を(A) : 60% (B) : 40%の比率で混合したもの。

凍結法：受精卵を4℃のMedium\*に移し、5分間 (or 10分間) 置いた後plastic minis-trawに封入し液体窒素中に浸し瞬間的に凍結した。

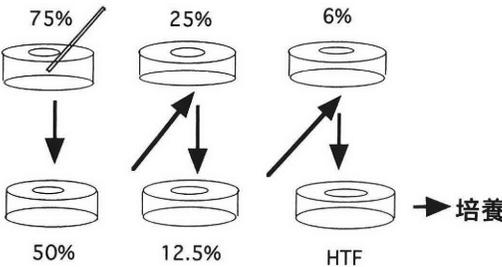


図2 融解法

液体窒素中から取り出した凍結胚入りの0.25 ml plastic minis-trawを20℃の水に数秒間浸した後、胚をHTFで75%に希釈したMedium\*に移した。以後HTFで50%、25%、12.5%、6%に希釈したMedium\*に各1~2分間ずつ浸し。最後にHTF中に5分間置き、別のHTFに移し培養を再開した。

浸し瞬間的に凍結した。

融解法は液体窒素中から取り出した凍結胚入りの同strawを20℃の水に数秒間浸した後、HTFで75%に希釈したMedium\*内に胚を移した。以後HTFで50%、25%、12.5%、6%に希釈したMedium\*に各1~2分間ずつ浸し、最後にHTF中に5分間置き、別のHTFに移し培養を再開した。この融解胚の移植に際しては、自然周期に行うことを原則とし、ゴールドサインLHワンステップ®(株式会社ニッポンジーン)にて尿中LHを半定量し、LH surgeを確認した後経膈超音波にて排卵を確認し、その翌日凍結胚を融解した。さらにその翌日胚移植した。胚移植後10日間、progesteroneの補充を行った(図3)。

症 例

患者：M.O. 39歳

主訴：挙児希望

家族歴：特記すべきことなし

不妊治療歴：昭和55年(24歳)に結婚。平成2年(34歳)に、両側卵管水腫のため他院にて腹腔鏡下に両側卵管摘出術を受けた。以後IVF-ETを2回受けたが挙児を得ず。平成5年(37歳)11月より当科にてIVF-ETによる治療を開始した。

現病歴：平成6年5月のIVF時に得られた余剰胚をVitrification法で凍結保存した(8 cell, 平衡時間5分間)。平成7年2月7日、このうち4個の凍結胚を融解・胚移植し、同年2月28日2個の胎嚢を子宮内に確認した。3月23日3個の胎嚢および3個の胎児心拍を子宮内に確認した。4月14日(妊娠11週5日)CRL 52 mm, 55 mmの2胎児の生存を確認した。5月16日(妊娠16週2日)羊水染色体検査にて2児とも46,XXと正常であることを確認した。その後順調に経過し、7月6日(妊娠23週6日)双胎管理目的で入院した。

入院経過：8月25日より、子宮収縮に対し塩酸リ

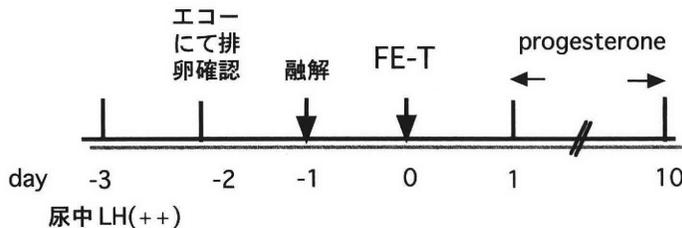


図3 凍結融解胚移植のプロトコール

自然周期において、尿中LHホルモン半定量でLH surgeを、さらに経膈超音波にて排卵を確認し、翌日凍結胚を融解した。さらにその翌日胚移植した(Freezed embryo-transfer: FE-Tと略)。胚移植後10日間progesteroneの補充を行った。

トドリンの内服を開始し, 9月8日より持続点滴投与に切り替えた。入院時より胎児の発育は良好で discordancy もなく, 妊娠30週以降適宜施行したNST所見もすべて正常であった。10月8日(妊娠37週0日)陣痛が開始し, 双胎, 先進児骨盤位のため帝王切開術を施行した。同日10時10分, 2612gの女児を, また10時11分, 2918gの女児をいずれも Apgar score 8点で分娩した。両児に外表上奇形は見られず, 術後経過は母児ともに良好で, 10月19日に退院した。

## 考 察

Vitrification法によるヒト胚の凍結・融解・妊娠例は, 1990年に Stephan Gordtsらが4例を<sup>9)</sup>, また1991年に Wilfried Feichtingerらが9例を報告<sup>7,8)</sup>しているが, うち分娩例は6例である。我々の施設では, 1994年より本格的に本法のヒト胚への応用を開始し, これまでに今回の症例を含め4例の妊娠例を経験した(他2例は子宮外妊娠, 1例は自然産)。また著者らの用いた凍結保護剤は, 他の報告がDMSOを用いているのに対し ethylene glycol であるが, ethylene glycol を用いた Vitrification法による妊娠, 分娩例の報告は著者らの知る限り他になく, この点では世界初の妊娠, 分娩例だと思われる。

Vitrificationとは本来液体を結晶化させずに固相にすることである<sup>9)</sup>。理論的にはこれにより細胞内外の氷晶形成を避けることが可能で, 塩濃度の変化も起こさないため溶質効果も避けることができる。よって本法を用いることで, 細胞内の構築や細胞膜に対する傷害を最小限に留め胚を凍結保存することが可能で, この点が他の凍結法に比し本法の最大の利点と考えられる。また, 特殊な機器が不要で簡便に短時間で実施可能であるという利点もあり, 凍結に要する時間, およびコストの観点からもその臨床的意義は大きいと考えられる。

しかし一方で本法の安全性に関しては, 高濃度の凍結保護剤を用いることによる胚への障害が懸念され, 凍結保護剤の種類, 至適平衡時間, 凍結する胚の stage (未受精卵を含めて<sup>10)</sup>), 温度条件などについて検討が重ねられてきた<sup>11,12)</sup>。またマウスの8細胞期胚では4℃という比較的低温の凍結保護剤を用いると, 平衡時間が5分または10分の場合に融解後の胚の変性率が低くかつ胞胚形成が良好であった。我々はこれらの知見を加味した上でさらなる工夫を加え<sup>13)</sup>, またDNA傷害の鋭敏な指標となる姉妹染色分体交換を用いた検討も行い<sup>14)</sup>, 独自の方法に改良し, これによって今回の妊娠分娩例に成功した。

今後本法は, 胚に限らず他の臓器や細胞においても凍結保存法の中心になると考えられる。しかし凍結時の細胞障害の本体が不明であること, 従来の緩徐凍結法に比べ明らかに優れているというデータがないことなどより, その原理・応用についてさらに研究, 改良されることが望まれる。

なお, 本論文の要旨は第41回日本不妊学会学術講演会(山形, 1995年11月)において発表した。

## 文 献

- 1) Trounson A, Mohr L (1983) Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of eight-cell embryo. *Nature* 305: 707-709
- 2) Valdez CA, Abas-Mazni O, Takahashi Y, et al. (1992) Successful cryopreservation of mouse blastocysts using a new vitrification solution. *J Reprod Fert* 96: 793-802
- 3) Kasai M, Komi JH, Takamoto A, et al. (1990) A simple method for mouse embryo cryopreservation in a low toxicity vitrification solution, without appreciable loss of viability. *J Reprod Fert* 89: 91-97
- 4) Kasai M, Nishimori M, Zhu SE, et al. (1992) Survival of mouse morulae vitrified in an ethylene glycol-based solution after exposure to the solution at various temperature. *Biol Reprod* 47: 1134-1139
- 5) Rall WF, Fahy GM (1985) Ice-free cryopreservation of mouse embryos at  $-196^{\circ}\text{C}$  by vitrification. *Nature* 313: 573-575
- 6) Gordts S, Roziers P, Campo R, et al. (1990) Survival and pregnancy outcome after ultrarapid freezing of human embryos. *Fertil Steril* 53: 469-472
- 7) Barg PE, Barad DH, Feichtinger W (1990) Ultrarapid Freezing (URF) of mouse and human pre-embryos: A modified approach. *J in Vitro Fert Embryo Transfer* 7 (6): 355-357
- 8) Feichtinger W, Hochfellner C, Ferstl U (1991) Clinical experience with ultra-rapid freezing of embryos. *Hum Reprod* 6: 735-736
- 9) Fahy GM, Macfarlane DR, Angell CA, et al. (1984) Vitrification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology* 21: 407-426
- 10) Hunter JE, Fuller BJ, Bernard A, et al. (1995) Vitrification of human oocytes following minimal exposure to cryoprotectants; initial studies on fertilization and embryonic development. *Hum Reprod* 10: 1184-1188
- 11) Friedler S, Giudice LC, Lamb EJ (1988) Cryop-

- reservation of embryos and ova. *Fertil Steril* 49: 743-764
- 12) Trounson A, Peura A, Freemann L, et al. (1988) Ultrarapid freezing of early cleavage stage human embryos and eight-cell mouse embryos. *Fertil Steril* 49: 822-826
- 13) 野原 理, 斉藤英和, 廣井正彦 他 (1994) マウス胚発育段階の違いによる Vitrification凍結法の効果. *日産婦会誌* 46 (Suppl) : 397
- 14) Ishida GM, Saito H, Nohara M, et al. (1994) Evaluation of DNA damage on mouse embryos frozen by vitrification. *The American Fertility Society. 50th Annual meeting program supplement: 109-110*
- (受付: 1996年2月29日)  
(受理: 1996年4月12日)

### Ultrarapid freezing of human embryos by Vitrification method — A case of delivery —

Nobuhiko Ohta, Makoto Nohara, Takanobu Kojimahara, Mariko Ito,  
Takakazu Saito, Kenji Nakahara, Naohiro Tezuka,  
Hidekazu Saito and Masahiko Hiroi

Department of Obstetrics and Gynecology  
Yamagata University School of medicine, Yamagata 990-23, Japan

Cryopreservation of human embryos is commonly used to avert multiple pregnancy. The slow-cooling method has been widely used in cases involving multiple embryos at IVF-ET programs. A less expensive, ultrarapid freezing method has now been developed, which does not require the use of the expensive instruments necessary for slow cooling. In this method, embryos are ultrarapidly immersed into liquid nitrogen for cryopreservation. In clinical applications, we were able to achieve successful delivery with this modified method.

We report here the case of a 39-year-old woman, who had received repeated IVF-ET therapy. Ethylene glycol, Ficoll, and trehalose were used as cryoprotectants, and embryos were equilibrated at 4°C for 5 minutes. The patient delivered twin infants by Cesarean section on October 8, 1995.

We believe that more clinical attention should be given to this method, because of marked advantages of ultrarapid freezing when compared to conventional methods in terms of cost, time and theoretical validity.

**Key words:** IVF-ET programs, cryopreservation, ultrarapid freezing method, slow cooling method

## 精子受精機能評価法としての Sperm Quality Analyzer (SQA) の有用性の検討

### Evaluation of Sperm Fertilizing Ability by Using the Sperm Quality Analyzer (SQA)

兵庫医科大学産科婦人科学教室

内藤子来  
Shirai NAITO  
満尾 瑞  
Mizumi MITSUO

柴原浩章  
Hiroaki SHIBAHARA  
田中宏幸  
Hiroyuki TANAKA  
香山浩二  
Koji KOYAMA

長谷川 昭子  
Akiko HASEGAWA  
繁田 実  
Minoru SHIGETA

Department of Obstetrics and Gynecology  
Hyogo College of Medicine, Nishinomiya 663, Japan

Sperm Quality Analyzer (SQA) は精子の運動機能を客観的に評価する分析機である。今回、当教室でIVF-ETによる治療を行った81検体をSQAにより測定し、SQAの特性について分析を行った。

その結果、SQAによる測定値 (Sperm Motility Index ; SMI値) は一般精液所見 (精子濃度・精子運動率・運動精子濃度) のいずれとも正の相関を示した (すべて  $p < 0.0001$ )。IVFにおける成熟卵の受精率とSMI値との間に、IVFの受精率とハムスターテストによる精子侵入率間より高い相関性を認めた。SMI値を"Good" (160以上)、"Medium" (80以上160未満)、"Poor" (80未満) に分類すると、各群の卵子あたりの受精率はそれぞれ74.4% (131/176)、47.6% (20/42)、29.6% (8/27) であり、"Good"群で他群より有意に高い受精率を示した。

以上の結果から、SQAはヒト精子機能の評価法として、簡便で有用な検査法であることが示唆された。

**キーワード：**男性不妊症、精子機能検査法、ハムスターテスト、IVF-ET、Sperm Quality Analyzer (SQA)  
(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 280-285, 1996)

#### 緒 言

体外受精・胚移植法 (IVF-ET) や顕微授精法などの生殖補助技術 (Assisted reproductive technology; ART) のめざましい発展により、男性不妊症患者に対する治療も転換期を迎えた。すなわち男性患者の治療を開始する初期の段階から精子の運動機能や受精機能を正しく評価し、より早期から適切な治療法を決定する必要性が生じてきている。そこで診断に際しては、精子の濃度や運動率などの一般精液分析はもとより、さまざまな精子機能検査法をいかに活用していくかが重要であるといえる。すでに我々は、透明

帯除去ハムスター卵を用いるハムスターテスト (sperm penetration test; SPA)<sup>1)</sup>、精子に低浸透圧負荷をかけ精子の尾部に生じる形態的变化をみるHypoosmotic swelling test<sup>2)</sup>、ウシ頸管粘液を用いたPenetrak test<sup>3)</sup> やComputer-assisted semen analyzer (CASA)<sup>4)</sup>などの精子機能検査法の臨床的有用性について報告してきたが<sup>5-8)</sup>、ルーチン検査法として簡便に利用でき、経済的で信頼性も高く、さらに倫理面からも広く普及しうる検査法の開発が待たれていた。

最近、Sperm Quality Analyzer (SQA; United Medical Systems, USA) の入手が可能となり、その特性についての報告<sup>9-11)</sup>が散見されるが、今回我々も本法の有用性につき検討を行った。

### 対象および方法

#### 1) 対象

対象は、1995年1月から1996年2月までの期間に兵庫医科大学産科婦人科においてIVF-ETによる治療を受け、SQAによる精子分析検査の施行に同意をえた73症例、81周期である。IVFの適応は、卵管因子が12症例、14周期、免疫因子が10症例、14周期、原因不明が17症例、18周期、および男性因子が34症例、35周期で、この中には細胞質内精子注入法(ICSI; intracytoplasmic sperm injection)による治療17症例、17周期も含まれている。SQAの結果と精液検査所見および通常の媒精法でのIVFによる成熟卵の受精率

との相関性、またSQAの結果と過去のSPAによる精子侵入率との相関性について検討した。

#### 2) 精液検査およびSQAの方法

IVFに供する精液の一部を室温に約30分放置して十分に液化させた後、血球算定盤を用いて精子濃度、精子運動率を測定した。つぎに既報<sup>9-11)</sup>の方法によりSQA(図1)を行った。すなわち精液を毛細管現象によりSPA capillaryに吸い上げ、このcapillaryをSQAの測定部(capillary tray slot)に挿入してSMI(sperm motility index)値の測定を行った。測定の原理としては、運動精子が光源から発する光を遮る運動量を光学密度の変化として感知し、これがデジタル信号に変換されて周波数を算出する。測定は約40秒間に4回反復し、その平均値をSMI値として表示する。測定されたSMI値は、操作マニュアルに記載のごとく三段階に分類し、0から80未満を" Poor", 80以上160未満を" Medium", 160以上を" Good"と判定し、分析に用いた。

#### 3) IVF-ETの方法

Gn-RH agonist(buserelin)+hMG併用療法による過排卵刺激を用いた。経腔の超音波断層法による卵胞発育のモニタリングを行い、最大卵胞径が17mm以上、15mm以上の卵胞が3個以上、血中E<sub>2</sub>が600pg/ml以上に達した段階でbuserelinの投与を中止し、hCG 5000 IUを投与した。約36~38時間後に経腔の超音波ガイド下に採卵を行った。培養液にはB<sub>2</sub> medium(Menezo, France)を用いた。採卵後約5~6時間



図1 Sperm Quality Analyzer (SQA)

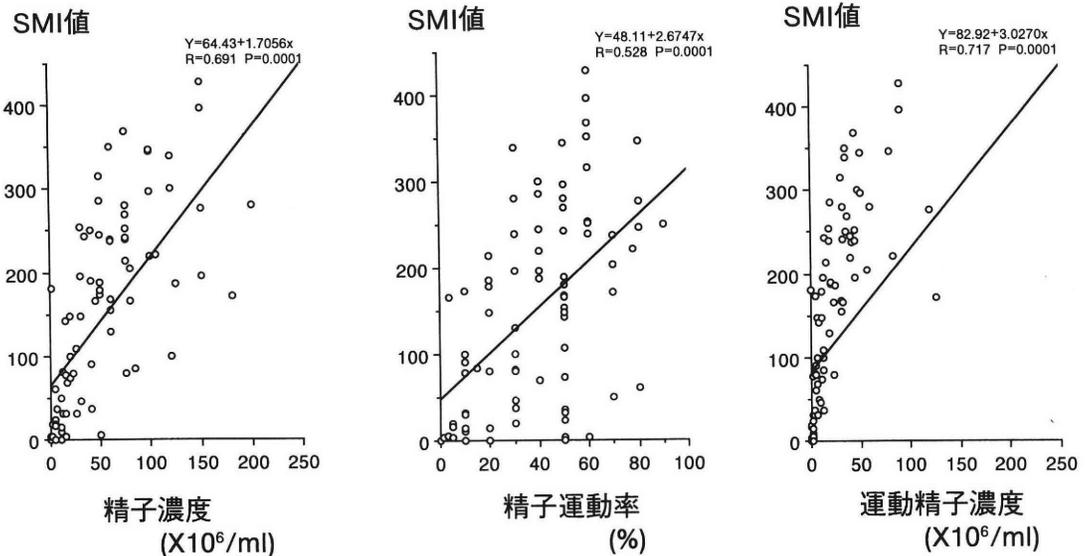


図2 SMI値と一般精液所見との関係

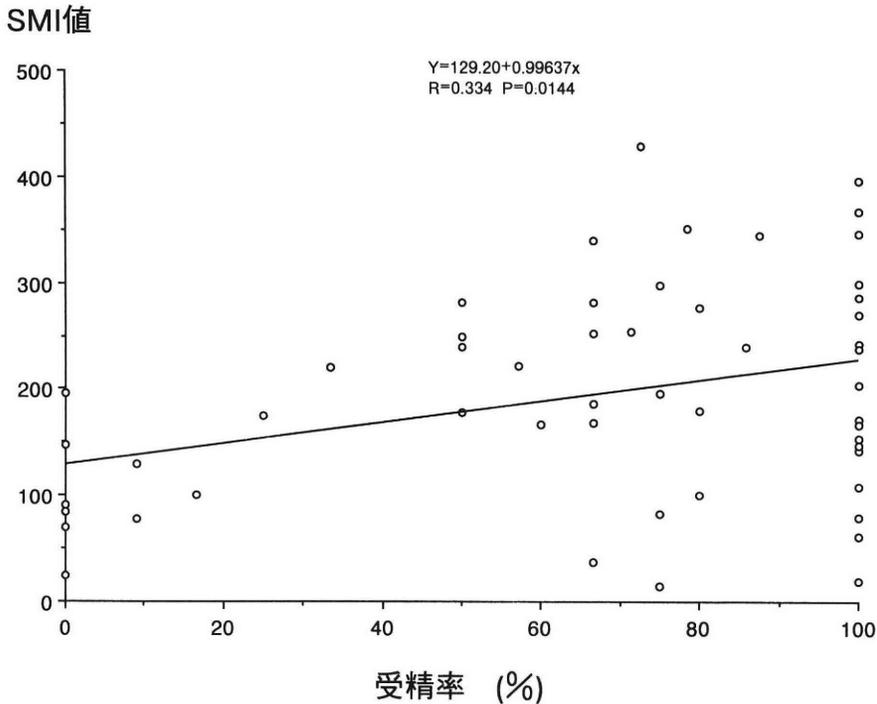


図3 SMI値と成熟卵子の受精率との関係

後に、運動精子の最終濃度が $5 \sim 10 \times 10^4/\text{ml}$ となるように調整して媒精を行った。採卵から約48時間後に、正常に分割した2～8細胞胚を経頸管的に子宮腔内に移植した。光学顕微鏡下に成熟卵と判定した場合の受精率のみを分析の対象とした。

4) SPAの方法

SPAはYanagimachi et al.<sup>1)</sup>の方法により行った。詳細はすでに報告してきている<sup>5,6)</sup>ので省略するが、透明帯除去ハムスター卵子の細胞質内に膨化したヒト精子頭部を認めた場合、精子侵入と判定した。使用したハムスター卵子に占める精子侵入と判定された卵子数の百分率をSPI (sperm penetration index) 値とした。

5) 統計学的処理法

検定には、Student's t-testを用いた。

成 績

1) SMI値と一般精液所見との関係

IVF-ET治療を受けた精液81検体について、SMI値と精液所見の各パラメーター(精子濃度、精子運動率、運動精子濃度)との相関性を検討した結果を図2に示す。SMI値は精子濃度、精子運動率および運動精子濃度のすべてと正の相関性を示した(いずれも

$p < 0.0001$ )。

2) SMI値とIVF-ETにおける受精率との関係

IVF-ET治療を受けた患者のうち、成熟卵を獲得できなかった場合とICSIによる治療例を除いた患者の精液53検体につき検討した結果、図3に示すようにSMI値と成熟卵子の受精率との間に相関性を認めた( $p < 0.05$ )。また表1にSMI値の三段階評価による結果を示したが、それによると"Good"群は34検体であり、成熟卵子は合計176個採取されていた。そのうち131個が受精と判定され、受精率は77.4%であった。同様にSMI値の"Medium"群と判定されたのは12検体で、合計42個の成熟卵子が採取され、うち20個が受精と判定され、受精率は47.6%であった。SMI値の" Poor"群は7検体であり、成熟卵子27個中8個が受精しており、受精率は29.6%であった。これらの受

表1 SMI値の三段階評価法と成熟卵子の受精率との関係

判定	SMI値	受精卵数/成熟卵数	受精率(%)
Good	$\geq 160$	131/176	77.4 <sup>a,b</sup>
Medium	$< 160$	20/42	47.6 <sup>b</sup>
Poor	$< 80$	8/27	29.6 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $p < 0.005$  <sup>b</sup>:  $p < 0.005$

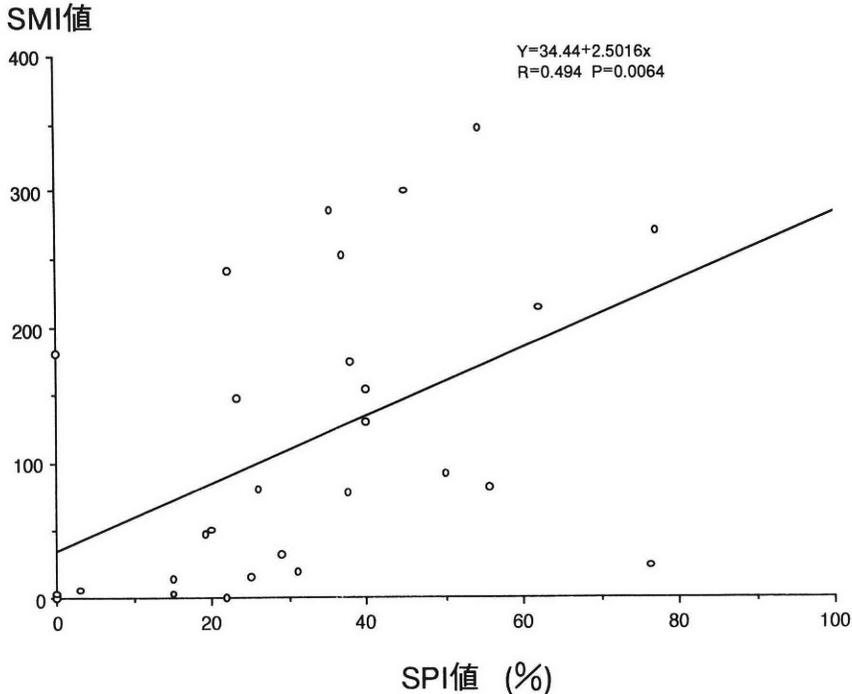


図4 SMI値とSPI値との関係

精率を比較すると, "Good"群と"Medium"群, また "Good"群と"Poor"群との間に各々有意差を認めた ( $p < 0.005$ ,  $p < 0.005$ ).

### 3) SMI値とSPAとの関係

今回IVF-ET治療を受けた患者のうち, 30症例が以前にSPAによる検査を受けていた. SMI値とSPIの相関性につき検討した結果, 図4に示すように両者の間に正の相関性を認めた ( $p < 0.01$ ).

## 考 察

受精能力を獲得した精子は卵子とのinteractionの課程において, まず透明帯に結合し, 透明帯により先体反応を誘起されながら透明帯を貫通する. 囲卵腔内に侵入した精子は卵細胞膜と融合し, 卵細胞質内に侵入後, 雄性前核を形成する. この一連の課程を精子の受精現象と呼ぶが, 現状として男性不妊症の診断は, 一般的に精子の濃度や運動率を測定することでスクリーニングされており, これらのいわゆる一般精液所見と不妊症治療成績とが必ずしも相関しないことが, 診療上しばしば経験される. したがって男性不妊症の診断精度を高める目的で, 精子の運動能力や受精能力までも的確に評価する精子機能検査法が多数開発されてきた<sup>1~4)</sup>. その中でも, 精子

の運動能力をコンピューターを用いて客観的に評価する方法が開発され, computer-assisted semen analyzer (CASA) による測定値と精子のさまざまな運動性や体外受精の結果との相関性につき報告がある<sup>12)</sup>. しかし現在までのところCASAによる精子運動機能に関する多くの情報は有用である反面, 非常に高額であるがために一般不妊診療への応用には問題がある. これに対して今回使用したSQAは経済性と簡便性に優れており, しかも最近Johnston et al.<sup>10)</sup>は, SQAとCASAとの相関性に関して精液150検体を用いた分析の結果から, SMI値はcurvilinear velocity, straight-line velocityやlinearityなどとも相関性を示すと報告しており, 我々もSQAの特性について検討を加えた.

当科において, IVF-ETによる治療を受けた73症例から得た精液81検体をSQAにより測定した結果, 図2に示すようにSMI値は一般精液検査(精子濃度・精子運動率・運動精子濃度)のいずれとも正の相関を示した. この結果は過去の報告<sup>9~11)</sup>とも一致しており, SQAの測定原理が運動精子の引き起こす光学密度波動の容積を反映するため, 運動精子数およびその運動強度に依存することからも妥当であるものと考ええる.

一方SQAが受精能力を予測しうるかを知るために,

SMI値とIVF-ETおよびSPAとの相関性の分析を行った。その結果、図3に示すようにSMI値と成熟卵子の受精率との間に正の相関を認めた。これは森ら<sup>11)</sup>の結果とも一致していた。またSMI値の結果を三段階に判定する方法を用いても、とくに"Good"と判定された症例については有意に高い受精率が得られた(表1)ことから、今後本法によりIVF-ETの術前に受精を予測する手段としても十分に活用しうることが示唆された。なおSMI値とSPI値との間にも正の相関が認められた(図4)が、これはSQAが精子の卵細胞内に侵入する機能も予測しうるものとして評価される。しかしながら、この結果からSQAがSPIにかわる精子受精機能検査法になりうるという結論には至らず、今後慎重に両者とIVF-ETとの相関性については検討を重ねる必要があるものと考えている。

### 文 献

- 1) Yanagimachi R, Yanagimachi H and Rogers B (1976) The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capability of human spermatozoa. *Biol Reprod* 15: 471-476
- 2) Jeyendran RS, Van der Ven HH, Perez-Pelaez M, et al. (1984) Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fert* 70: 219-228
- 3) Alexander NJ (1981) Evaluation of male infertility with an in vitro cervical mucus penetration test. *Fertil Steril* 36: 201-208
- 4) Liu DY, Clarke GN and Baker HWG (1991) Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton-Thorn motility analyzer and fertilization rates in vitro. *J Androl* 12: 231-239
- 5) 高田喜嗣, 長谷川昭子, 香山浩二 他 (1981) 乏精子症患者精子の受精能に関する研究: 洗浄濃縮精子による受精率および透明帯除去ハムスター卵に対するin vitroにおける受精能について. *日産婦会誌* 33: 2041-2046
- 6) 満尾 瑞, 柴原浩章, 船曳美也子 他 (1996) ハムスターテスト不良症例における体外受精・胚移植(IVF-ET)による治療成績の検討. *日不妊会誌* 41: 135-140
- 7) 柴原浩章, 辺見貴至, 赤井マリ子 他 (1993) ヒト精子Hypoosmotic Swelling Testの精子機能検査法としての臨床的意義. *日不妊会誌* 38: 241-249
- 8) 柴原浩章, 塩谷朋弘, 伊熊健一郎 (1993) 補中益気湯の精子運動機能に対する作用 — Penetrak test, hypoosmotic swelling test, computer-assisted semen analyzerによる検討 —. *日不妊会誌* 38: 654-660
- 9) Bartoov B, Ben-Barak J, Mayevsky A, et al. (1991) Sperm motility index: a new parameter for human sperm evaluation. *Fertil Steril* 56: 108-112
- 10) Johnston RC, Clarke GN, Liu DY, et al. (1995) Assessment of the Sperm Quality Analyzer (SQA). *Fertil Steril* 63: 1071-1076
- 11) 森 明人, 中村佐知子, 沖 利通 他 (1995) Sperm Quality Analyzerによる精子受精能の評価. *日不妊会誌* 40: 14-18
- 12) 柴原浩章 (1993) 精子機能検査法. *臨婦産* 47: 1216-1219

(受付:1996年3月15日特掲)

(受理:1996年4月22日特掲)

---

## Evaluation of sperm fertilizing ability by using the sperm quality analyzer(SQA)

Shirai Naito, Hiroaki Shibahara, Akiko Hasegawa, Mizumi Mitsuo,  
Hiroyuki Tanaka, Minoru Shigeta and Koji Koyama

Department of Obstetrics and Gynecology,  
Hyogo College of Medicine, Nishinomiya 663, Japan

The sperm Quality Analyzer (SQA: United Medical Systems Inc., Santa Ana, CA) is an inexpensive device which provides a quantitative estimation of sperm motility. To evaluate the fertilizing ability of human sperm by SQA, the correlation between the sperm motility index (SMI) and the fertilization rates (FRs) in the treatment of standard IVF-ET or the sperm penetration index (SPI) in sperm penetration assay were retrospectively analyzed.

81 semen samples were obtained by masturbation immediately after oocytes were picked-up from their wives. After liquefaction, concentration of sperm, sperm motility and motile sperm concentration were examined by using the hemocytometer. SMI was determined simultaneously with the same samples by the SQA. The FRs of mature oocytes in 53 couples and the SPI in 30 patients were evaluated for each of the sperm parameters. The values of SMI were classified into three categories; "poor" ( $SMI < 80$ ), "medium" ( $SMI < 160$ ) and "good" ( $SMI \geq 160$ ). The relationship between the FRs by the treatment of IVF-ET and each category of the SMI values was also evaluated. The values of SMI demonstrated a significant correlation with the concentration of sperm ( $p < 0.0001$ ), the sperm motility ( $p < 0.0001$ ) and the motile sperm concentration ( $p < 0.0001$ ). According to the three categories of SMI, the FRs (74.4 %) of 34 patients judged as "good" was significantly higher than those (47.6 %) of 12 patients judged as "medium" ( $p < 0.005$ ) and those (29.6 %) of 7 patients judged as "poor" ( $p < 0.005$ ).

These results indicate that the SQA provides a reliable estimation of the fertilizing ability of human sperm.

**Key words:** Sperm Quality Analyzer (SQA), Sperm penetration assay, IVF-ET, infertility

---

## 精子運動性急速低下症例の検討

### Rapid Decrease of Sperm Motile Efficiency Index in Normozoospermic Infertile Men : A New Entity of Infertility

東北大学医学部泌尿器科学教室

高橋 勝	折笠 精一	前原 郁夫
Masaru TAKAHASHI	Seiichi ORIKASA	Ikuo MAEHARA
平松 正義	中角 尚誉	蓮田 精之
Masayoshi HIRAMATSU	Hisayoshi NAKAZUMI	Akiyuki HASUDA

Department of Urology

Tohoku University School of Medicine, Miyagi 980, Japan

男性不妊症の中に、最初の精液検査が正常でも精子運動性が急速に低下する症例があることに着目し、精子運動能指数(SMEI)の経時的な低下の割合を測定する「精子運動性時系列検査」を考案し以下の検討を行った。

健常者の精子運動性時系列検査結果をもとに、一般精液検査が正常の不妊患者45例を分類したところ、約3割が精子運動性保持群、約7割が運動性低下群であった。精子運動性保持群は、数例の精漿中fructose低値例を除き、HOS test, Penetrak testともに良好であった。一方、運動性低下群では、いずれかのtestで異常を示したものが多く、精子機能の異常、精漿成分の異常、両者の合併、とさまざまな要因を有する症例が混在していることが示唆された。精子運動性低下群では、正常コントロールと保持群に比してPercoll法による良好精子回収率は低かった。しかし、Percoll処理精子は培養液添加直後より、無処理に比してSMEIが上昇し、時間経過による低下も抑えられる傾向が認められた。

以上により、これまで精液所見が正常なために治療の対象とはならなかった患者の中から、精子運動性時系列検査により精子運動性急速低下症例を振り分け、他の精子機能ならびに副性器機能検査を行うことにより、不妊の原因を明らかにすることができる。したがって本法は、治療法の選択にも役立つものと思われた。

**キーワード：**男性不妊症、精子運動能指数(SMEI)、精子運動性時系列検査

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 286 - 297, 1996)

#### 緒 言

男性側に明らかな基礎疾患がなく、通常の精液検査結果が正常でも妊娠に至らない症例がある。この中で、精液採取後最初の精液検査では正常であっても、時間の経過とともに精子運動性が急速に低下する症例がある。また、normozoospermiaと診断されているにもかかわらず、AIHあるいはIVF-ET施行時に精子の運動性が非常に悪く、それが受精に不利に働いていると思われるカップルがいる。そこで、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、精子運動性が急速に低下する症例、およびその原因について検討した。

#### 男性不妊症患者の精子運動性時系列検査

#### 対 象

不妊を主訴として1992年1月より1993年7月までに当科を受診し、精索静脈瘤<sup>1)</sup>や膿精液症<sup>2,3)</sup>などの明らかな基礎疾患がなく、一般精液検査(後述)で正常とされた45例(不妊患者(a))および妊娠能が確認されているVolunteer男性7例(正常コントロール(a))を対象とした(表1)。

表1 不妊患者(a), 正常コントロール(a)の年齢および一般精液所見

	人数 (人)	年齢 (歳)	精液量 (ml)	精子運動率 (%)	精子濃度 ( $\times 10^6/ml$ )	精子運動能指数 (SMEI)
不妊症患者	45	34.5 $\pm$ 5.0	3.0 $\pm$ 1.3	58.5 $\pm$ 5.4	56.6 $\pm$ 28.0	124.0 $\pm$ 46.3
正常コントロール	7	32.9 $\pm$ 5.1	3.0 $\pm$ 0.8	66.5 $\pm$ 3.4	114.4 $\pm$ 41.2	175.8 $\pm$ 26.7

\*\* : P < 0.01      \*\*\* : P < 0.001      N.S.: not significant      (Mean  $\pm$  S.D.)

## 方 法

### 1. 一般精液検査

3日以上禁欲期間後、用手法により採取した精液を室温に放置して液化し均一となったところで、精液量、pH、精子濃度、精子運動率、奇形精子数、赤血球数、白血球数を算定した。精液所見の評価は1987年版WHO検査マニュアル<sup>4)</sup>に準じて行い、精液量 $\geq 2$  ml、pH 7.2~7.8、精子濃度 $\geq 20 \times 10^6/ml$ 、精子運動率(前進運動精子) $\geq 50\%$ 、奇形率 $< 50\%$ 、白血球数 $< 1 \times 10^6/ml$ を正常とした。精子運動性の評価には、精子運動能指数(sperm motile efficiency index, 以後SMEIと略す)<sup>5)</sup>を用いた。これは20倍希釈した精液をトーマの血球計算盤上に滴下し、1分間に小四分画の一辺上を通過する精子数を測定し、精子濃度で除して100倍した値を%/minで表現したものである。精子の直進運動性を客観的かつ簡便に表す方法であり、70%/min以上が正常とされる<sup>5)</sup>。

### 2. 精液自動分析装置による精子運動性の分析

SMEIと精液自動分析装置で得られたパラメーターとの相関性を検討した。5 $\mu$ lの原精液あるいはPercoll法により分離・選別した精子の入った培養液を希釈せずにMakler chamber (depth: 10 $\mu$ m, Eder社)<sup>6,7)</sup>上に滴下し、精液自動分析装置(HT-M2000, HAMILTON-THORN Research社)<sup>8,9)</sup>を用いて測定した。

### 3. 精子運動性時系列検査

精液採取後20分、30分、60分、90分、120分に精子運動能指数(SMEI)を測定した。また、それぞれの時間のSMEIを20分時のSMEIで除して% SMEIとした(20分値を100%とする)。測定時以外は精液を37 $^{\circ}$ Cのincubator内に保存した。

### 4. Hypoosmotic swelling test (HOS test)

本法は、一連の受精過程に重要な役割を果たす精子尾部細胞膜の機能に関連し、受精能力を間接的に判定しようとされている<sup>10-13)</sup>。Jeyendranらの原法<sup>10)</sup>に従い、150 mOs molの低浸透圧液(sodium citrate 2H<sub>2</sub>O 7.35g + fructose 13.5g / 蒸留水 1,000ml) 1 mlに液化精液0.1 mlを加えよく混和した後、incubator (37 $^{\circ}$ C, 5%

CO<sub>2</sub> in air)内に30~60分間放置した後、倒立位相差顕微鏡( $\times 400$ )で100以上の精子を検鏡した。精子尾部の形態を7種類に分類し、b~g型の割合を総精子膨化率(T%)、g型の割合をg型精子膨化率(g%)と表現した。基準値は、総精子膨化率42%、g型精子膨化率14%とした<sup>11)</sup>。

### 5. Penetrak test

精子運動能検査方法のひとつで、ヒト精子の頸管粘液貫通能を評価するものである<sup>14-17)</sup>。ウシ頸管粘液が充填されたPenetrak (Serono Diagnostics社)2本を、液化した精液0.2 mlがはいった標本容器に立て、室温に90分間静置後、スケール入りスライドグラス上に置き顕微鏡( $\times 100$ )で先頭精子の到達距離を計測した。2本の平均値をPenetrak値とした。判定は30 mm以上を貫通度良好、30 mm未満を貫通度不良とした<sup>17)</sup>。

### 6. 精漿中fructose濃度測定

精子のエネルギー代謝基質で<sup>18)</sup>精囊機能を反映し<sup>19)</sup>、精子運動率と良く相関する<sup>20-22)</sup>ことから、副性器機能の指標として測定した(正常値: 0.91~5.20 mg/ml)<sup>23)</sup>。

### 7. 有意差検定

統計学的解析にあたってはStudent's t-test, Welch's t-test, あるいは回帰分析を用い、危険率 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

## 結 果

### 1. 一般精液検査

不妊患者の(a)45例と正常コントロール(a)7例の間に、年齢、精液量に有意差を認めないが精子運動率、精子濃度、SMEIは正常コントロール群が有意に高値を示した(表1)。

### 2. SMEIと精液自動分析装置で得られたパラメーターの相関性

13例110回の検査結果、SMEIは自動分析装置の下記パラメーターと正の相関を示した。

sperm motility (精子運動率) :  $r = 0.739$ ,  $P < 0.0001$  (図1), mean track speed (平均精子運動速度) :  $r = 0.673$ ,  $P < 0.0001$ , progressive motility (進行性精子運

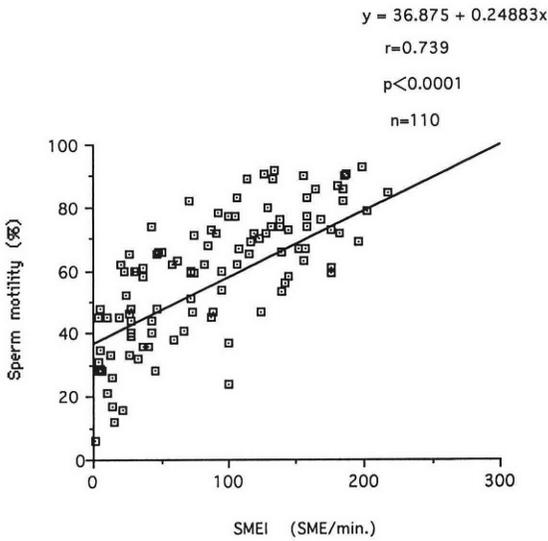


図1 SMEIと精子運動率との相関性

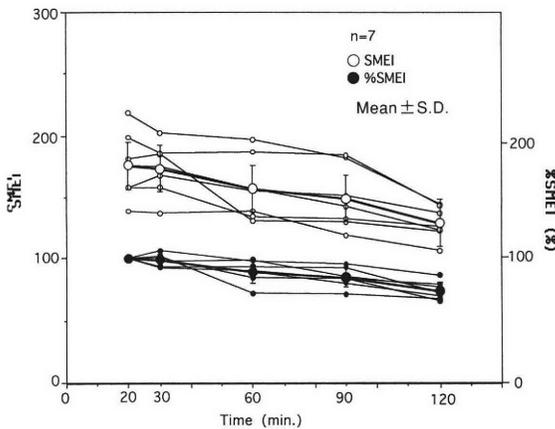


図2 正常コントロール (a) のSMEI, %SMEIの経時的変化

動率) :  $r = 0.601$ ,  $P < 0.0001$ , mean frequency (平均頭部搏動回数) :  $r = 0.533$ ,  $P < 0.0001$ , mean progressive velocity (平均精子直線地点移動速度) :  $r = 0.445$ ,  $P < 0.0001$ .

以上より, SMEIは精子運動率に精子運動速度を加味した精子運動能を反映していることが示された。

### 3. 精子運動性時系列検査

#### 1) 正常コントロール (a)

7例全例SMEIは120分後でも100以上を維持, %SMEIは60分後70%以上 ( $89.9 \pm 9.2$ ; Mean  $\pm$  S.D.), 120分後65%以上を維持していた(図2)。SMEI, %SMEIともに時間経過による低下の程度が緩やかで,

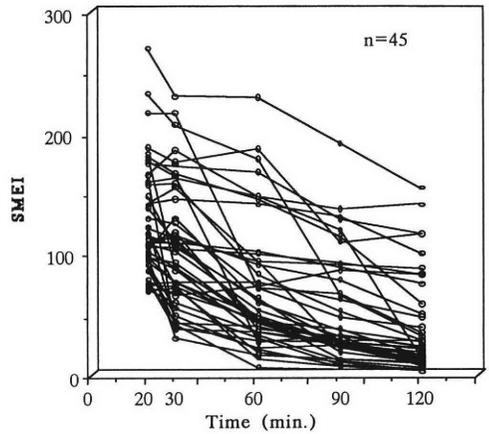


図3 不妊患者 (a) のSMEIの経時的変化

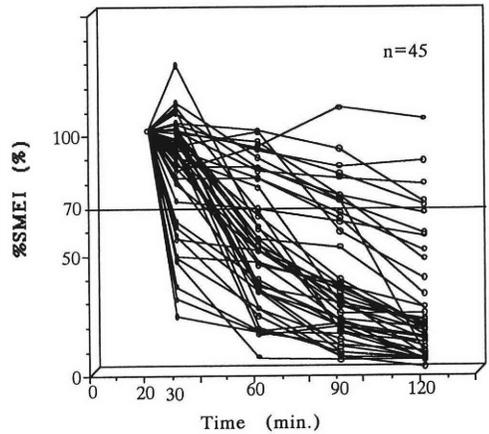


図4 不妊患者 (a) の%SMEIの経時的変化

バラツキも小さかった。

#### 2) 不妊患者 (a)

採取20分後のSMEIが, 200前後から時間経過とともに急激に低下する症例もあれば, 100前後からあまり低下しないものなど, 症例によりさまざまであった(図3)。

一方%SMEIは, 時間経過とともにあまり低下しない群と急激に低下する群がみられた(図4)。そこで, それぞれを精子運動性保持群と運動性低下群に分けて検討した。

### 4. 精子運動性保持群, 低下群の分類

精子運動性の保持および低下についての基準値はないが, 正常コントロールの60分%SMEIのmean-2SD : 71.5%と, 性交または人工授精後精子の卵管到達時間5~68分<sup>24)</sup>を参考に, 採取60分%SMEIが

70%以上を精子運動性保持群, 70%未満を精子運動性低下群と定義した. この基準により不妊患者(a)45例は, 精子運動性保持群13例(28.9%), 運動性低下群32例(71.1%)に分類された(図5). 精子運動性低下群において, 年齢が有意に高く, 精子運動率とSMEIが有意に低値であったが, 精液量, 精子濃度は両群間に有意差を認めなかった(表2).

5. %SMEIと精子濃度の関係

60分%SMEIと精子濃度の間に相関を認めなかった( $r=0.167$ ). さらに精子濃度を $40 \times 10^6/ml$ 未満,  $40 \times 10^6/ml$ 以上 $60 \times 10^6/ml$ 未満,  $60 \times 10^6/ml$ 以上に分けて%SMEIの経時的变化を検討したが, 有意差を認めなかった. 以上より, 精子濃度を今回検討した $20 \times 10^6/ml$ 以上に限定すれば, 精子運動性の下降の度合

は精子濃度によらないことが示された.

6. %SMEIとSMEI(採取20分後)の関係

60分%SMEIと採取20分後SMEIの間に有意の相関を認めなかった(図6). そこで, 正常コントロールのSMEIのmean-2SD: 122.4を参考に, SMEIを120で2群に分けて検討した. その結果, 全体の47%はSMEIと%SMEIがともに低値, 18%はともに高値, 残り35%は両者が一致しなかった(図6). また, 運動性保持群の61.5%はSMEI 120以上, 運動性低下群の65.6%はSMEI 120未満であった(表3). 見方を変えれば, SMEI 120未満の80.8%は運動性低下群であった(表3). しかし, 運動性保持群と運動性低下群の%SMEIの経時的变化を, それぞれSMEI 120で分けて検討したが, 両群ともSMEI 120以上, 120未満

表2 精子運動性保持群, 低下群の年齢および一般精液所見 (n = 45)

	人数 (人)	年齢 (歳)	精液量 (ml)	精子運動率 (%)	精子濃度 ( $\times 10^6/ml$ )	精子運動能指数 (SMEI)
精子運動性保持群 (28.9%)	13	32.2 $\pm$ 3.3	3.4 $\pm$ 1.3	60.9 $\pm$ 5.2	55.5 $\pm$ 26.5	153.4 $\pm$ 55.9
精子運動性低下群 (71.1%)	32	35.5 $\pm$ 5.2	2.9 $\pm$ 1.4	57.4 $\pm$ 5.1	57.1 $\pm$ 29.0	112.0 $\pm$ 36.4

\*: P < 0.05    \*\*: P < 0.01    N.S.: not significant    (Mean  $\pm$  S.D.)

表3 精子運動能指数と精子運動性保持・低下の関係 (不妊患者)

精子運動能指数 (SMEI)	精子運動性保持群 (人)	精子運動性低下群 (人)	計 (人)
$\geq 120$	8 (61.5%) [42.1%]	11 (34.4%) [57.9%]	19 (15.6%) [100%]
120 >, $\geq 70$	5 (38.5%) [19.2%]	21 (65.6%) [80.8%]	26 (84.4%) [100%]
合計	13 (100%) [28.8%]	32 (100%) [71.1%]	45 (100%) [100%]

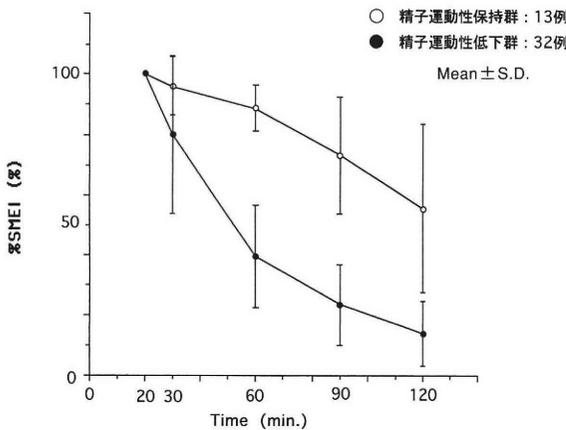


図5 不妊患者(a), 精子運動性保持群, 低下群の %SMEIの経時的变化

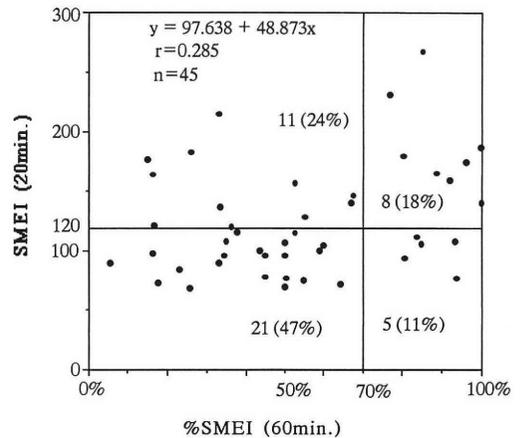


図6 %SMEI(採取後60分値)とSMEI(採取後20分値)の関係

表4 妻の異常の有無と精子運動性保持・低下の関係(不妊患者)

妻の異常	精子運動性保持群 (人)	精子運動性低下群 (人)	計 (人)
あり	7 (53.8 %)	0 ( 0 %)	7 (15.6 %)
なし	6 (46.2 %)	32 (100 %)	38 (84.4 %)
合計	13 ( 100 %)	32 (100 %)	45 ( 100 %)

表5 精子運動保持群および低下群のPenetrak値

Penetrak値 (mm)	精子運動性保持群 (人)	精子運動性低下群 (人)	計 (人)
≥ 30	10 (100 %)	17 (81.0 %)	27 (87.1 %)
30 >	0 ( 0 %)	4 (19.0 %)	4 (12.9 %)
合計	10 (100 %)	21 (100 %)	31 (100 %)
Mean ± S.D.	52.5 ± 13.2	41.8 ± 13.8	45.2 ± 14.4

で有意差はみられなかった。

以上より、20分後SMEIを70以上に限定すれば、SMEIの低いものは%SMEIが低い傾向にあるが、精子運動性の下降の度合にはSMEIの他に異なったファクターの関与が示唆された。

#### 7. 精子運動性時系列検査と妻の異常の有無との関係

妻側に産婦人科的異常が不妊患者(a)45例中7例(15.6%)に認められ、7例すべてが精子運動性保持群の妻であった(表4)。すなわち、運動性低下群の精子機能に何らかの異常が存在し、それが不妊の要因になっていることが示唆された。

#### 8. %SMEIとHypoosmotic swelling test (HOS test)の関係

不妊患者(a)全体では、T%(総精子膨化率)とg%(g型精子膨化率)の間に有意の正の相関(相関係数 $r=0.630$ ,  $P<0.05$ ,  $n=20$ )、60分%SMEIとT%の間に有意の正の相関を認めたが( $r=0.607$ ,  $P<0.05$ ,  $n=20$ )、g%とは有意の相関を認めなかった( $r=0.251$ )。精子運動性低下群12例の60分%SMEIとT%、g%の間に有意の相関を認めなかった(それぞれ $r=0.118$ ,  $r=0.422$ )。しかし、T%の基準値42%以上が7例(58.3%)、g%の基準値14%以上が8例(66.7%)認められ、精子運動性低下群の半数以上は精子尾部細胞膜の機能が保たれているものと考えられた。一方、運動性保持群では8例全例がT%50%以上を示し、g%が基準値に満たなかったのは1例のみであった。

#### 9. %SMEIとPenetrak testの関係

不妊患者(a)31例の60分%SMEIとPenetrak値の間に有意の相関を認めなかった( $r=0.237$ )。Penetrak値が30mm未満の貫通度不良を示したのは、精子運動性低下群の4例のみ(12.9%)であった(表5)。

#### 10. %SMEIと精漿中fructose濃度の関係

不妊患者(a)30例の60分%SMEIと精漿中fructose濃度の間に有意の相関を認めなかった( $r=0.298$ )。0.91mg/ml未満の低値を示したのは精子運動性低下群10/21例(47.6%)、運動性保持群1/9例(11.1%)であった。

#### 11. %SMEIとHOS test, Penetrak test, 精漿中fructose濃度の相互関係

測定をすべて行った精子運動性保持群8例、運動性低下群10例について、各検査結果の相互関係を検討した(表6-1, 表6-2)。

運動性保持群では、HOS testのT%がいずれも50%以上と良好で、Penetrak testでも良好な貫通度を示した。しかし、精漿中fructose濃度が低値を示したものが1例認められた(表6-1)。

一方、運動性低下群では、T%が基準値以下が4例、Penetrak testで貫通度不良が2例、精漿中fructose濃度低値が4例であるが、3項目すべてが低値を示し

表6-1 精子運動性保持群のHOS test成績, Penetrak値, 精漿中fructose値

No.	HOS test 成績(T%)	Penetrak値 (mm)	精漿中fructose 値(mg/ml)
1	59	51.8	1.55
2	63	46.5	1.45
3	63	56.3	0.6(低値)
4	53	57.5	2.1
5	59	40.0	2.05
6	56	68.3	1.7
7	55	39.0	0.95
8	57	66.8	2.25

表6-2 精子運動性低下群のHOS test成績, Penetrak値, 精漿中fructose値

No.	HOS test 成績 (T %)	Penetrak 値 (mm)	精漿中fructose 値 (mg/ml)
1	27 (不良)	42	0.7 (低値)
2	23 (不良)	23 (不良)	2.45
3	47	62.3	0.7 (低値)
4	59	32.8	2
5	53	37.5	1.4
6	44	30.3	0.85 (低値)
7	43	44	0.4 (低値)
8	21 (不良)	18.8 (不良)	1.45
9	37 (不良)	55.8	1.55
10	48	33	1.54

たものは1例もなかった(表6-2)。HOS testあるいはPenetrak test不良の4例中3例のfructose濃度は正常範囲内で、精子機能そのものの異常が疑われた。逆に、fructose濃度のみ低値を示した3例は、副性器機能の低下、すなわち精漿成分中の精子運動性の維持に必要な物質の不足、あるいは精子運動性に悪影響を与える物質の増加が考えられた。残り1例はHOS testとfructose濃度が低値であった。

攪拌密度勾配法 (Percoll法) による  
分離・選別精子に対する精子運動性時系列検査

対 象

前述と同じ条件をみたま不孕患者 (b) 11例と正常コントロール (b) 2例を対象とした。

方 法

1. 一般精液検査, 2. 精子運動性時系列検査, 3. Penetrak test, 4. 精漿中fructose濃度測定は前述と同様に行った。

5. 攪拌密度勾配法 (Percoll法) による分離・選別精子に対する精子運動性時系列検査

飯塚らの方法<sup>25)</sup>にもとづき、20 mM HEPES加等張化80% Percoll液5 ml上に液化した精液を層積し、L型攪拌棒にて精液層とPercoll層の上半分を3回静かに攪拌した後、400×g、20分間遠心した。Percoll層を吸引し、沈殿層を飯塚らの方法にもとづいて20 mM HEPES, Hanks balanced salt solutionに再懸濁して精子を分離・選別後、直後(採取後約40分)、30分、60分、90分、120分後に経時的に精子運動性を測定した。正常コントロールは、30分ごと6時間後まで計測を行った。

6. 有意差検定

前述と同様 Student's t-test, Welch's t-test, あるいは回帰分析を用い、危険率 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

結 果

1. 精子運動性時系列検査および一般精液検査所見

不孕患者 (b) を、前述の基準 (60分 %SMEI70%以上を精子運動性保持群, 70%未満を精子運動性低下群) で分類すると、精子運動性保持群は7例、運動性低下群は4例であった(図7, 図8)。正常コントロール (b) 2例を含めた各群間の比較で、年齢は精子運動性低下群が最も高く、精液量は3群間に有意差を認めない(表7)。しかし、運動性低下群の精子運動率、

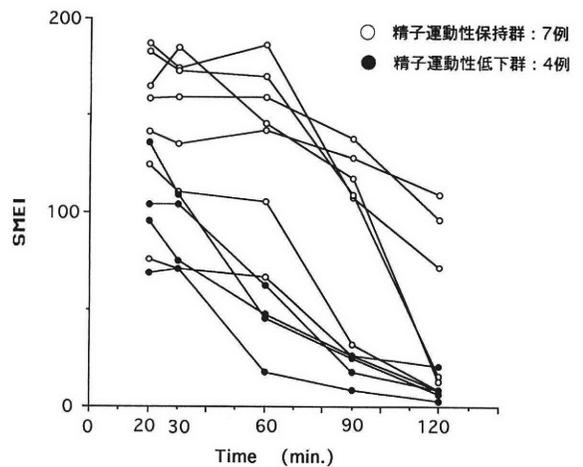


図7 不妊患者 (b) のSMEIの経時的变化

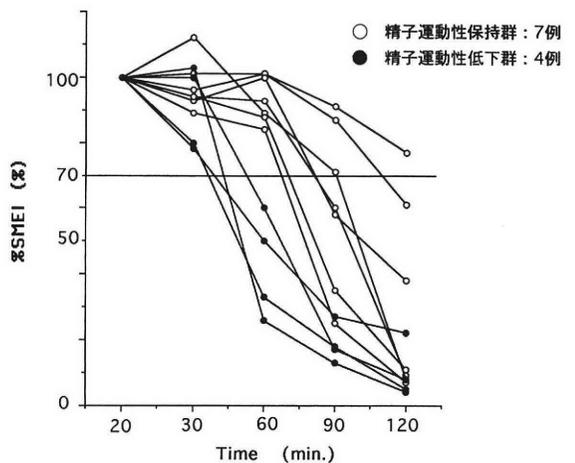


図8 不妊患者 (b) の %SMEIの経時的变化

表7 不妊患者 (b), 正常コントロール (b) の年齢および一般精液所見

	人数 (人)	年齢 (歳)	精液量 (ml)	精子運動率 (%)	精子濃度 ( $\times 10^6/ml$ )	精子運動能指数 (SMEI)
精子運動性保持群	7	31.0 $\pm$ 3.4	3.9 $\pm$ 1.9	62.0 $\pm$ 4.2	53.7 $\pm$ 21.0	148.0 $\pm$ 38.7
精子運動性低下群	4	36.8 $\pm$ 6.5	3.8 $\pm$ 1.5	54.5 $\pm$ 6.6	26.8 $\pm$ 11.8	101.3 $\pm$ 27.9
正常コントロール	2	33.0 $\pm$ 1.4	3.8 $\pm$ 0.6	67.6 $\pm$ 0.2	106.0 $\pm$ 53.0	175.1 $\pm$ 74.9

\*:  $p < 0.05$  N.S.: not significant (Mean  $\pm$  S.D.)

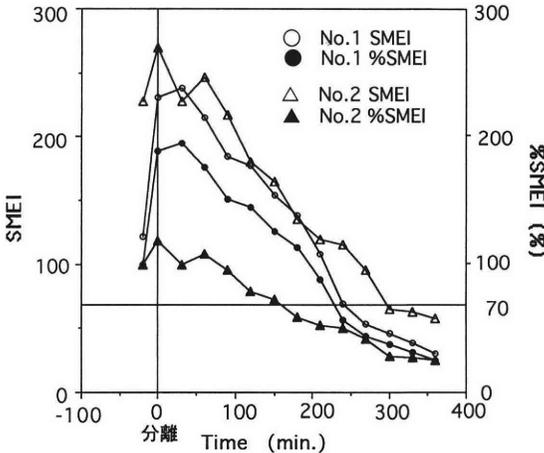


図9 正常コントロール (b) の分離後のSMEI, %SMEIの経時的変化

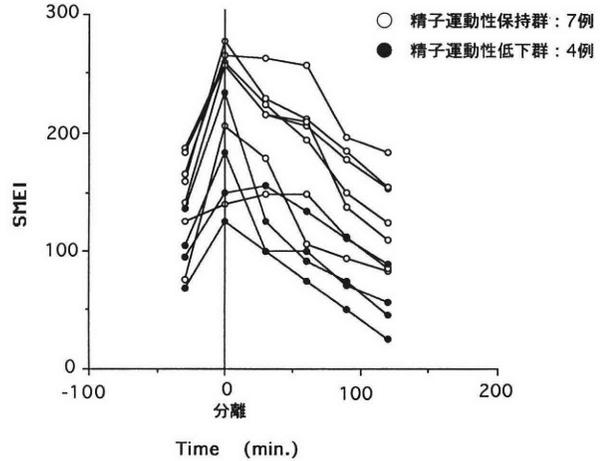


図10 不妊患者 (b) の分離後のSMEIの経時的変化

精子濃度, SMEIは, 他の2群に対して有意に低値を示した(表7).

2. Percoll法による分離・選別精子に対する精子運動性時系列検査

1) 正常コントロール (b)

分離・選別直後(採取後約40分)の%SMEIは, 採取20分後に比してコントロール (b) の2例189.0%と118.4%にそれぞれ上昇し, 1例は分離後210分(採取後約250分)まで, 他の1例は150分(採取後約190分)まで70%以上を維持していた(図9).

2) 不妊患者 (b)

分離・選別直後(採取後約40分)のSMEIは全例上昇し, %SMEIは169.5  $\pm$  40.5 (Mean  $\pm$  S.D., range 111.4~272.5%)まで上昇した(図10, 図11). 精子運動性保持群の分離・選別直後の%SMEI値は168.5  $\pm$  51.7% (Mean  $\pm$  S.D., range 111.4~272.5%), 運動性低下群は171.4  $\pm$  10.8% (Mean  $\pm$  S.D., range 156.7~182.2%)で, 両群間に有意差を認めなかった. しかし, 精子運動性保持群では分離90分後(採取後約130

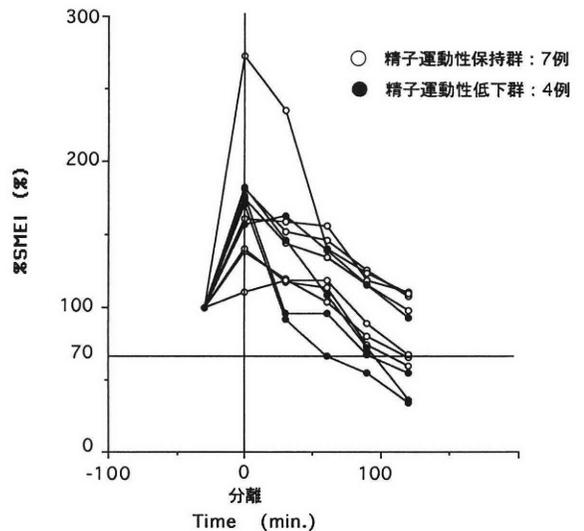


図11 不妊患者 (b) の分離後の%SMEIの経時的変化

表8 不妊患者 (b), 正常コントロール (b) のPercoll法による良好精子回収率

	人数 (人)	精液量 (ml)	精子濃度 ( $\times 10^6/ml$ )	総精子数 ( $\times 10^6$ )	分離・回収精子数 ( $\times 10^6$ )	回収率 (%)
精子運動性保持群	7	3.9 $\pm$ 1.9	53.7 $\pm$ 21.0	195.6 $\pm$ 70.6	20.9 $\pm$ 9.3	11.2 $\pm$ 4.8
精子運動性低下群	4	3.8 $\pm$ 1.5	26.8 $\pm$ 11.8	94.9 $\pm$ 36.1	3.2 $\pm$ 0.9	3.4 $\pm$ 0.5
正常コントロール	2	3.8 $\pm$ 0.6	106.0 $\pm$ 53.0	385.9 $\pm$ 141.8	43.9 $\pm$ 51.1	9.6 $\pm$ 9.7

\*:  $p < 0.05$     \*\*:  $p < 0.01$     N.S.: not significant    (Mean  $\pm$  S.D.)

表9 不妊患者 (b) の精子運動性時系列検査結果 (分離前後) と Penetrak 値, 精漿中 fructose 値

No.	精子運動性 (原精液)	精子運動性 (分離後)	Penetrak 値 (mm)	精漿中 fructose 値 (mg/ml)
1	保持	120分後まで保持	61.3	0.65 (低値)
2	保持	120分後まで保持	61	2
3	保持	120分後まで保持	31	1.9
4	保持	120分後まで保持	42	0.7 (低値)
5	保持	120分後まで保持	68	
6	保持	120分後まで保持	40	0.55 (低値)
7	保持	90分後まで保持	32.8	1.9
8	低下	60分後まで保持	23 (不良)	2.45
9	低下	120分後まで保持	30.3	0.85 (低値)
10	低下	30分後まで保持	44	0.4 (低値)
11	低下	90分後まで保持	18 (不良)	1.45

分)まで全例, 分離120分後(採取後約160分)まで6/7例が%SMEI値70%以上を維持していたが, 運動性低下群ではそれぞれ2/4例, 1/4例であり, 低下群の精子は分離・選別後も運動性を維持する時間が保持群に比して短い傾向にあった。

### 3. 精液検査所見およびPercoll法による良好精子回収率

精子運動性低下群の精子濃度, 総精子数と良好精子回収率は, 運動性保持群に対して有意に低値を示したが, 運動性保持群は正常コントロール (b) とほぼ同様の回収率を示した (表8)。

### 4. 不妊患者 (b) の精子運動性時系列検査 (原精液と分離・選別後精子) と Penetrak test, 精漿中 fructose 濃度の相互関係 (表9)

精子運動性保持群は, fructose濃度低値を6例中3例に認めたが, Penetrak test不良例はなかった。一方, 精子運動性低下群は, fructose濃度低値を4例中2例に認め, 他の2例にPenetrak test不良を認めた。

## 考 察

女性側男性側ともにとくに異常を認めないにもかかわらず, 妊娠に至らないカップルが存在する。こ

の原因としては, 抗精子抗体<sup>26,27)</sup>など免疫学的不妊や acrosome reaction<sup>28)</sup>など受精の場での精子機能の低下・異常 (受精能の問題) などが考えられている。しかし, 不妊女性および不妊男性の抗精子抗体陽性率はどちらも10%未満と少なく<sup>29)</sup>, また, ハムスターテスト<sup>30,31)</sup>やアクロビーズテスト<sup>32,33)</sup>などの精子機能検査は繁雑かつ高価である。

男性不妊症の診療で最も重要かつ簡便な精液検査の中で, 精子の運動性が妊孕能を反映する<sup>34)</sup>。そこで, 精子運動性が短時間に低下する症例が少なからずあることに着目し, 精子運動性の評価法として精子運動能指数 (SMEI)<sup>5)</sup>を経時的に測定する精子運動性時系列検査を考案し, 精子運動性低下の原因を検討した。

まず, 精子運動性時系列検査で用いたSMEI (精子運動能指数) と精液自動分析装置による精子パラメーターとの相関性を検討したところ, sperm motility (精子運動率), mean track speed (平均精子運動速度) その他と相関を認めた。すなわち, SMEIは精子運動率に精子運動速度を加味した精子運動能を反映し, 精子運動性を客観的に評価しうる値であることが確認された。SMEIの基準値は $\geq 70$  SME/minとされている

が<sup>5)</sup>、今回の正常コントロール(a)の採取20分後SMEIのmean-2SDが122.4であったことより、基準値設定は今後の検討課題であると思われる。

つぎに、正常コントロールの値と精子の卵管到達時間<sup>24)</sup>から、60分 %SMEIが70%以上を精子運動性保持群、70%未満を精子運動性低下群と定義して以下の検討を試みた。ただし、今回の基準値と自然妊娠率や、AIHやIVF-ETにおける受精率の関係を今後さらに検討し、今回の基準値を見直していきたい。また、精液所見は季節的変動や採取日のコンディション、採取の手法などにより影響を受けるので、精子運動性時系列検査の再現性についての検討も必要と思われる。

精子運動性低下群の年齢は、正常コントロールおよび保持群に比して有意に高く、加齢の影響が示唆された。一方、精液量、精子濃度は保持・低下両群間に有意差を認めないが、低下群の精子運動率とSMEIは保持群に比して有意に低値を示した。さらに低下群には、始め良好な精子運動性が短時間に急激に低下する症例があり、精子あるいは精漿に何らかの異常の存在が示唆された。

SMEIの低下率(%SMEI)は、いずれの測定時間あるいは精子濃度においても精子濃度の間に相関を認めなかった。したがって、今回検討した精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上であれば、精子運動性の下降の度合は精子濃度によらないことが示された。

また、今回検討したSMEIが70以上であれば、精子運動性の下降の度合(%SMEI)は採取後20分のSMEIに関係ないことが判明した。ただし、SMEI 120以上は、精子運動性保持群では61.5%と低下群(34.4%)よりも高く、採取20分後のSMEIが高いほど精子運動性が維持される傾向にあった。

妻の異常が精子運動性保持群の約50%に認められたが、低下群では1例も認められず、低下群の精子機能などに何らかの異常が存在することが示唆された。

つぎに、精子運動性低下の原因について、各種精子機能検査と副性器機能検査の両面から検討した。さらに精子運動性低下症例には運動性良好な正常精子の絶対数が少ないものが含まれていると考えられるので、Percoll法<sup>25)</sup>による分離・選別精子に対する精子運動性時系列検査を施行した。

HOS test (Hypoosmotic swelling test) は、精子尾部の形態変化から精子の細胞膜機能を調べるものである<sup>10)</sup>。精子細胞膜機能は、精子の代謝、capacitation, acrosome reaction, 卵子への接着・侵入に深く関係し、HOS testは受精能力を間接的に判定し得る検査で

あり<sup>11-13)</sup>、とくにg型精子膨化率が重要視されている<sup>11)</sup>。今回検討した精子運動性低下群において、60分 %SMEIはT% (総精子膨化率)、g% (g型精子膨化率)とも有意の相関を認めなかった。しかし、今回用いたHOS testの基準値を越えたものが6割あり、精子運動性低下群の6割は精子細胞膜の機能が保たれ、4割が障害されているという結果が得られた。

Penetrak testは、ヒト精子のウシ頸管粘液貫通能をみる検査であり、精子運動性とよく相関する<sup>14-17)</sup>。今回の検討では、不妊患者の60分 %SMEIとPenetrak値に有意の相関を認めず、精子運動性保持・低下群それぞれのPenetrak値にも有意差を認めなかった。しかし、精子運動性低下群に貫通度不良例が認められた。

つづいて、精子運動性時系列検査結果と副性器機能検査としての精漿中fructose濃度との関係を検討した。精漿中には、精子のエネルギー代謝基質となるfructoseの他に、代謝酵素<sup>35)</sup>、精子運動促進<sup>36)</sup>・抑制因子<sup>37,38)</sup>、活性酵素<sup>39)</sup>などが含まれるが、fructose値と精子運動率との間に相関がある<sup>20-22)</sup>。今回の検討では、不妊症患者の60分 %SMEIとfructose濃度との間に有意の相関を認めなかった。しかし、fructose低値を示したのは、精子運動性低下群13/25例(52%)、保持群4/15例(26.7%)であり、不妊症患者の中には副性器機能が低下している症例がかなりいると思われた。

以上を総合すると、精子運動性保持群ではHOS testとPenetrak testはいずれも良好であるが、fructose濃度低値例を約3割認めた。一方、運動性低下群では、fructose濃度は正常であるが、HOS test成績とPenetrak testが不良で、精子機能そのものの異常が考えられるものと、fructose濃度のみ低値を示し、精漿成分中の精子運動性の維持に必要な物質の不足、あるいは精子運動性に悪影響を与える物質の増加など副性器機能の低下が精子運動性低下の原因になっているものが混在していることが示唆された。

精子運動性低下群のうち精子機能低下が主因と考えられる症例は、各種方法で精子を分離・選別し、適当な培養液<sup>40)</sup>およびcaffeine<sup>41,42)</sup>、pentoxifylline<sup>43,44)</sup>、c-AMP<sup>47)</sup>などの刺激物質添加により精子運動性の改善および保持が期待できる。副性器機能低下が主因と考えられる症例は、良好精子の分離・選別後のAIHのみで受精率が上昇する可能性がある。ただし、低下群では良好精子回収率がかなり低いことから劇的な治療効果は望めないかもしれない。今後は、精子運動性を長時間良好に維持できる培養液および各

種刺激物質の検討と、低下群の実際の受精率(自然妊娠, AIH, IVFなど)を検討していきたいと考えている。

以上から、一般精液検査に加えて精子運動性時系列検査により精子運動性低下症例を振り分け、HOS test, Penetrak testあるいは精漿中fructose濃度測定により精子機能低下症例と副性器機能低下症例に分類することが可能である。その結果により、精子無力症に準じた治療、あるいはAIHやGIFT, IVF-ETなどを積極的に行えば受精ならびに妊娠率の向上が期待できる。これまで一般精液検査で正常の場合治療の対象とはならなかったが、精子運動性を時間経過により数回測定する精子運動性時系列検査は、特殊な器具や試薬などを必要とせず操作も簡便で、他の検査(HOS test, Penetrak test, 精漿中fructose濃度測定など)との併用により精子運動性低下の原因をおおまかに鑑別する上で有用な検査法と思われた。

最後に、今回の検討および実験を行うにあたり、精液(とくに、IVF-ET施行例)の使用については、患者および配偶者、Volunteer男性にその目的と方法を十分説明し同意を得てから施行した旨を付記しておく。

### 結 語

1. 精子運動性が時間とともに急速に低下する症例が見られることから、精子運動能指数(SMEI)の経時的な低下を測定する「精子運動性時系列検査」を考案し、その原因を検討した。
2. 正常コントロールの精子運動性時系列検査結果をもとに分類したところ、一般精液検査が正常の不妊症患者45例のうち29%が精子運動性保持群、71%が精子運動性の急速低下を示す精子運動性低下群であった。
3. 精子運動性保持群は、数例の精漿中fructose低値例を除きHOS test, Penetrak testともに良好であった。精子運動性低下群は、いずれかのtestで異常を示すものが多く、精子機能の異常、精漿成分の異常、両者の合併、とさまざまな要因を有する症例が混在していることが示唆された。
4. 精子運動性低下群では、正常コントロールと保持群に比してPercoll法による良好精子回収率は低かった。しかし、Percoll処理精子は、培養液添加直後より無処理に比してSMEIが上昇し、時間経過による低下も抑えられる傾向が認められた。
5. 以上から、これまで精液所見が正常なために治療の対象とはならなかった患者の中から、精子運動性時系列検査により精子運動性急速低下症例を振り

分け、他の精子機能ならびに副性器機能検査を行うことにより、不妊の原因を明らかにすることができるとした。したがって本法は、治療法の選択にも役立つものと思われた。

本論文の要旨は、第39回日本不妊学会学術講演会(富山, 1994)、日本アンドロロジー学会第14回学術大会(東京, 1995)において発表した。稿を終えるにあたりご助言、ご協力いただきました東北大学産科婦人科学教室矢嶋聰教授、深谷孝夫助教授をはじめ教室員の諸兄、ならびに本研究に終始御協力いただきました当科検査室高橋勝治氏に深く感謝いたします。

### 文 献

- 1) 伊藤晴夫(1985) 精索静脈瘤, 造精障害の病態と治療, 町田豊平編, 医学教育出版社, pp93-112
- 2) 佐藤滋彰, 佐藤和宏, 折笠精一 他(1990) 男性不妊症における濃精液症(pyospermia)に関する基礎的, 臨床的検討. 日泌尿会誌 81: 170-177
- 3) 佐藤和宏, 折笠精一, 前原都夫 他(1990) 男性不妊症における濃精液症(pyospermia)の診断と治療について. 日不妊会誌 35: 568-572
- 4) WHO (1987) WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge university press, Cambridge
- 5) 光川史郎(1979) 精子運動の新測定法. 日泌尿会誌 70: 1221-1231
- 6) Makler A (1978) A new chamber for rapid sperm count and motility estimation. Fertil Steril 30: 313-318
- 7) Makler A (1980) The improved tenmicrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation. Fertil Steril 33: 337
- 8) Olds Clarke P, Baer HM and Gerber WL (1990) Human sperm motion analysis by automatic (Hamilton-Thorn Motility Analyzer) and manual (Image-80) digitization systems. J Androl 11: 52-58
- 9) Yeung CH, Krusemann C, Bunn H, et al. (1990) Evaluation of the semi-automated Autosperm semen analysis system. I. Accuracy and comparison with the conventional method and the automated Hamilton-Thorn system. Fertil Steril 53: 111-119
- 10) Jeyendran RS, Van-der-Ven HH, Perez-Pelaez M, et al. (1984) Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. J Reprod Fertil 70: 219-228

- 11) 吉野和男, 高橋健太郎, 草刈万寿夫 他 (1989) 精子機能テストとしての hypoosmotic swelling test と一般精液検査との関連性について. 日不妊会誌 34: 101-106
- 12) Uchida A, Takahashi K and Kitao M (1992) Usefulness of the hypoosmotic swelling test for evaluation of human sperm fertilization. *Human Reprod* 7: 1264-1267
- 13) 柴原浩章, 辺見貴至, 赤井マリ子 他 (1993) ヒト精子 Hypoosmotic Swelling Test の精子機能検査法としての臨床的意義. 日不妊会誌 38: 27-35
- 14) Alexander NJ (1981) Evaluation of male infertility with an in vitro cervical mucus penetration test. *Fertil Steril* 36: 201
- 15) 宮崎豊彦, 田辺清男, 名取道也 他 (1987) ウシ頸管粘液を用いたヒト精子の運動性評価. 日不妊会誌 32: 630-635
- 16) 中島敬和, 水沼英樹, 宇津木利雄 他 (1989) ウシ頸管粘液 (Penetrak) を用いたヒト精子機能の評価. 日不妊会誌 34: 126-133
- 17) 月川 奏, 星 和彦, 柳田 薫 他 (1990) ヒト精子運動能と Penetrak test. 日不妊会誌 35: 74-79
- 18) Mann T (1946) Fructose, a constituent of semen. *Nature* 157: 79
- 19) Eliasson R (1968) Biochemical analysis of human semen in the study of the physiology and pathophysiology of the male accessory genital glands. *Fertil Steril* 19: 344-350
- 20) Mantouvalos H, Makrygiannakis A, Metallinos C, et al. (1984) Fertility potential in the Human Semen in Dysfunction of the Accessory Genital Glands. *Asia-Oceania J Obstet Gynecol* 10: 507-511
- 21) Gonzales GF, Garcia-Hjarles M and Napuri R (1988) Corrected seminal fructose levels: index of secretory activity of seminal vesicles. *Arch Androl* 21: 135-142
- 22) Gonzales GF, Kortebani G and Mazzolli AB (1993) Hyperviscosity and Hypofunction of the seminal vesicles. *Arch Androl* 30: 63-68
- 23) 島崎 淳, 片山 喬, 相川英夫 他 (1968) 精液の生化学. 代謝 16 (臨時増刊号): 471-480
- 24) Harper MJ (1988) Gamete and zygote transport. Ernst K, Jimmy DN, et al. (eds), *The physiology of reproduction* Chap. 4, Raven press, New York, pp103-134
- 25) 飯塚理八, 原 唯純, 兼子 智 (1990) 精子洗浄濃縮法-AIHへの応用を中心として. 産と婦 57: 1310-1314
- 26) Kamada M, Daitoh T, Hasebe H, et al. (1985) Blocking of human fertilization in vitro by sera with sperm immobilizing antibodies. *Am J Obstet Gynecol* 153: 328-331
- 27) 鎌田正晴, 森 崇英 (1985) 卵および精子免疫と不妊. *Unexplained Infertility—診断へのアプローチ*, 蜂屋祥一, 八神喜昭編, 医学教育出版社, pp87-103
- 28) Yanagimachi R (1981) Mechanisms of fertilization in mammals. *Fertilization and Embryonic Development In Vitro*, Mastroianni L and Biggers JD (eds), Plenum Press, pp81-182.
- 29) 前田信彦 (1992) 免疫異常と不妊—精漿の意義. 最新不妊症診療マニュアル, 青野敏博編, 医薬ジャーナル社, pp170-173
- 30) Yanagimachi R, Yanagimachi H and Rogrer BJ (1976) The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 15: 471-476
- 31) 浜口毅樹, 松本 修, 守殿貞夫 (1990) 男性不妊における精子受精能に関する研究—透明帯除去ハムスター卵精子侵入試験とヒト精子受精能—. 産と婦 57: 1310-1314
- 32) Okabe M, Matzno S, Nagira M, et al. (1990) A human sperm antigen possibly involved in binding and/or fusion with zona-free hamster eggs. *Fertil Steril* 54: 1121-1126
- 33) Ohashi K, Okabe M, Saji F, et al. (1992) Evaluation of acrosomal status using MH61-beads test and its clinical application. *Fertil Steril* 58: 803-808
- 34) MacLeodi J and Gold RZ (1956) The male factor in fertility and infertility VUI. A study of variations in semen quality. *Fertil Steril* 7: 387
- 35) 正木淳二 (1992) 精液の生化学. 精子学, 毛利秀雄監修, 森沢正昭, 星 元紀編, 東京大学出版会, pp121-154
- 36) 真田俊吾, 新井永植, 上田 真 他 (1988) 受精能獲得用培地におけるヒト射出精子の運動性におよぼす精漿の影響—全精液および分割精液から得た精漿による検討—. 泌尿紀要 34: 1965-1972
- 37) Iwamoto T and Gagnon C (1988) A human seminal plasma protein blocks the motility of human spermatozoa. *J Urol* 140: 1045-1048
- 38) 岩本晃明, 田中宏樹, 長田尚夫 (1993) ヒト精漿中に存在する精子運動抑制因子の研究: 男子不妊症患者の精漿中濃度について. 日不妊会誌 38: 217-219
- 39) 前原郁夫 (1993) 男性副性器機能 3. 精漿と精子運動性. 医学のあゆみ 166: 197-199
- 40) 斉藤英和, 小田高久 (1993) 受精, 体外受精・胚移植. 不妊症治療のための生殖医学実験マニュアル, 富永敏朗監修, 根上 晃, 吉村泰典編. 南江堂, pp147-159

- 41) Mohammed MM (1983) Caffeine and sperm motility. *Fertil Steril* 39: 845-848
- 42) 菅野ひとみ, 木下裕三, 関口由紀 他 (1993) ヒト精子精子長期冷所保存における Caffeine, Pentoxifylline の効果. *日不妊会誌* 38: 718-722
- 43) Tesaruk J, Thebault A and Testart J (1992) Effect of pentoxifylline on sperm movement characteristics in normozoospermic and asthenozoospermic specimens. *Human Reprod* 7: 1257-1263
- 44) Samuel CP, Daniel BW, Thomas H, et al. (1993) Effect of pentoxifylline on sperm motility and hyperactivated motility in vitro: a preliminary report. *Fertil Steril* 59: 465-467
- 45) Francisco JR and Maria EB (1992) Regulation of cyclic adenosine monophosphate synthesis in human ejaculated spermatozoa. I. Experimental conditions to Quantitate membrane-bound adenylyl cyclase activity. *Human Reprod* 7: 1126-1130  
(受付: 1996年2月9日)  
(受理: 1996年4月24日)

---

**Rapid decrease of sperm motile efficiency index in normozoospermic infertile men :  
A new entity of infertility**

Masaru Takahashi, Seiichi Orikasa, Ikuo Maehara,  
Masayoshi Hiramatsu, Hisayoshi Nakazumi and Akiyuki Hasuda

Department of Urology  
Tohoku University School of Medicine Miyagi 980, Japan

In some infertile men with normozoospermia, we found that sperm motile efficiency index (SMEI) decreased rapidly. Therefore, we developed a new test to observe the trend of SMEI to compare with the initial SMEI and called it "sperm motility time course test".

We investigated 45 normozoospermic infertile patients. In 13 cases (29%), SMEI at 60 minutes after semen collection was kept over 70% of the value at 20 minutes and we called them "preserved group". Of 32 cases (71%), SMEI declined rapidly to less than 70% and we named them "decreased group". Hypoosmotic swelling test, Penetrak test and seminal fructose concentration were almost normal in the preserved group. However, most patients of the decreased group showed some abnormality on these tests. This suggests that the decreased group has some abnormality in sperm function and/or in the seminal plasma. although the collection rate of good sperm was lower in the decreased group than fertile control group or the preserved group, the initial SMEI and the decreasing rate of SMEI in the decreased group were improved after preparation with Percoll centrifugation.

We conclude that the sperm motility time course test is a useful tool to select infertile patients with normozoospermia, who are candidates for medication.

**Key words:** male infertility, sperm motile efficiency index (SMEI), sperm motility time course test

---

# ANTIFERTILITY EFFECT OF HUMAN SEMINAL PLASMA FROM FERTILE AND INFERTILE MEN ON MOUSE SPERM CAPACITATION

Akira ISHIDA

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

---

**Abstract:** This study is to investigate if abnormal levels of decapacitation factors (DF) in human seminal plasma (HSP) cause male infertility.

An experimental study was done to examine the effect of HSP from fertile (10 donors) and infertile men (29 patients) on mouse sperm capacitation using mouse in vitro fertilization.

There is no statistical difference in antifertility effect of HSP between fertile and infertile men including normozoospermic individuals. The antifertility effect of HSP is approximately proportional to zinc concentration in HSP.

In our limited population, no difference was observed in antifertility effect between seminal plasma from normal fertile and infertile men. The major source of DF seems to be the prostate, since the antifertility effect is approximately proportional to zinc concentration.

**Key words:** sperm capacitation, decapacitation factors, seminal plasma, male infertility, mouse in vitro fertilization

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 ( 3 ), 298 - 304, 1996)

---

## Introduction

Seminal plasma contains antifertility factors, generally called "decapacitation factors (DF)", which return capacitated sperm to an uncapacitated state, as well as prevent the onset of capacitation of uncapacitated sperms<sup>1)</sup>. It is supposed that abnormal levels (extremely high or low level) of DF could be responsible for male infertility. We investigated effect of human seminal plasma (HSP) from fertile and infertile men on sperm capacitation using mouse in vitro fertilization system.

## Materials and Methods

HSP was obtained from 10 fertile and 29 infertile men. Twenty-nine infertile men were divided into 10 normozoospermic, 10 asthenozoospermic, 5 oligozoospermic and 4 azoospermic men according to the criteria by the World Health Organization (WHO)<sup>2)</sup>. In all normozoospermic men serum anti-

sperm antibody (immobilized method) was negative and their wives were normal gynecologically. Fresh ejaculated semen was centrifuged to remove sperms, first at 1,000 g for 15 min and then at 10,000 g for 15 min. The seminal plasma was freeze-dried and stored at  $-90^{\circ}\text{C}$  until use.

Mature ICR mice sperms were obtained from the tail of epididymis and mice ova from the tubal ampullae after superovulation of treatment with 5 ~ 7 IU pregnant mare serum gonadotropin followed 48 hrs later by 5 ~ 7 IU human chorionic gonadotropin. Modified Krebs-Ringer bicarbonate solution (Toyoda, Yokoyama & Hoshi medium<sup>3)</sup>) containing 6 mg/ml bovine serum albumin was used as the capacitation and incubation medium with paraffin oil. To examine effect of HSP on uncapacitated and capacitated sperms, HSP [ 5 %, 2.5 %, 1.25 % (v/v) ] was added to the epididymal sperms just after or 110 min after initiation of preincubation. 110 min ensure complete capacitation, since mice sperms require 60

min for capacitation. As a control, TYH medium containing 6 mg/ml bovine serum albumin instead of HSP was added to epididymal sperms in the same manner. The final sperm concentration was  $1.0 \sim 1.5 \times 10^6/\text{ml}$ . Ova were added at 120 min and then gametes were incubated for 5 hrs at  $37^\circ\text{C}$  under an atmosphere of 5%  $\text{CO}_2$  in air. Ova were mounted and stained with acetolacmoid before examination by phase-contrast microscopy (Fig. 1). Ova were considered to be fertilized when they contained at least a decondensing sperm head or a male pronucleus with an accompanying sperm tail.

Zinc concentration was measured in 38 samples of HSP.

**Result**

*Pilot study*

Using seminal plasma obtained from 5 donors, we examined the effect of 5%, 2.5% and 1.25% (v/v) of HSP on uncapacitated or capacitated mice sperms. Fertilization rates of uncapacitated sperms were 10.8% (11 / 102), 41.4% (48 / 116) and 51.2% (21 / 41) respectively in each HSP concentration, compared to 91.0% (193 / 212) of the control. Fertilization rates of capacitated sperms were 39.8% (43 / 108), 73.8% (45 / 61) and 86.2% (25 / 29) respectively compared to 90.9% (140 / 154) of the control. HSP effected both uncapacitated and capacitated sperms,

but the effect on uncapacitated sperms was more powerful than that on the capacitated (Fig. 2).

In order to prove that antifertility effect of HSP on mice sperms is not cytotoxic but reversible, we performed the next study (Fig. 3). The antifertility effect of HSP was reversible, since not only uncapacitated (I) but capacitated (II) sperms could fertilize eggs again after two hours exposure to 5% HSP if seminal plasma was removed by centrifugation (Fig. 3).

*Effect of HSP from fertile and infertile men on mouse sperm*

In normal fertile men, fertilization rate of uncapacitated and capacitated sperms in 5% HSP were  $16.2 \pm 17.9\%$  (from 0 to 58.5%) and  $32.2 \pm 24.7\%$  (from 2.0 to 60.7%) respectively. There were great individual differences in antifertility effect of seminal plasma. There was no apparent difference between seminal plasma of fertile and infertile men in its antifertility effect, although statistical comparison of fertile men and asthenozoospermia showed significance ( $p < 0.05$ ) when 2.5% HSP was added to uncapacitated sperms (Fig. 4).

*Zinc concentration in HSP*

Zinc concentration of 38 samples consisting of 9 fertile, 10 normozoospermic, 10 asthenozoospermic, 5 oligozoospermic and 4 azoospermic was examined. There was no statistical difference between

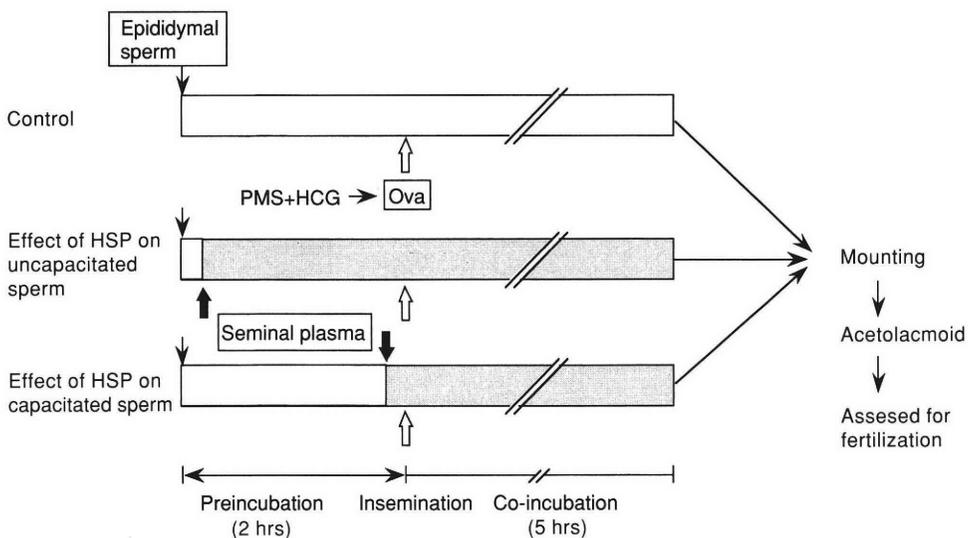


Fig. 1 Scheme of the experiment

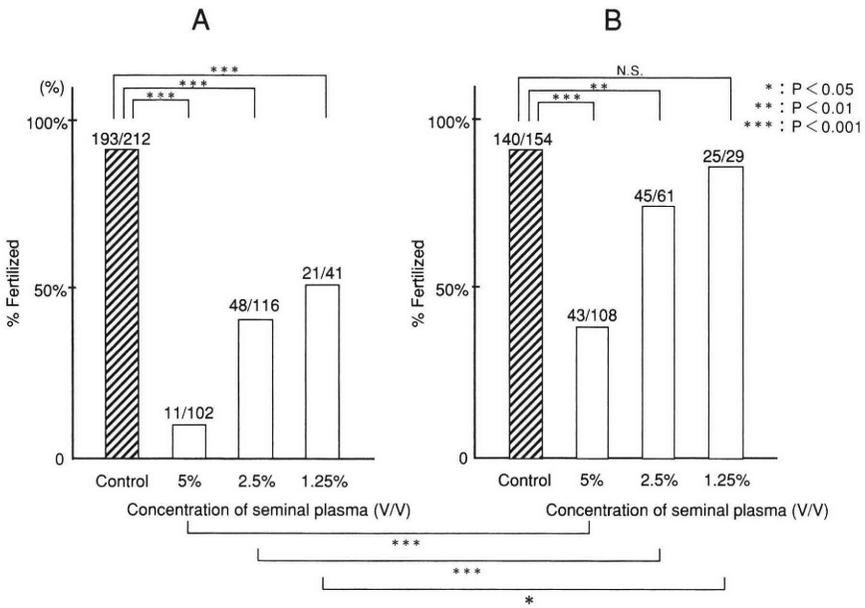
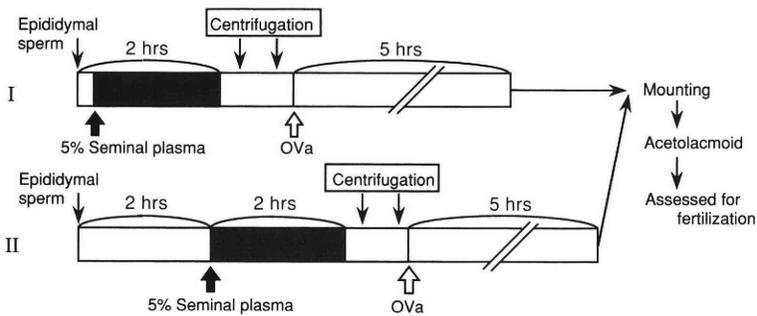


Fig. 2 Effect of HSP on uncappeditated (A) and cappeditated (B) mice sperms  
Seminal plasma was obtained from 5 donors.

**A. Scheme of the experiment**



**B. Result**

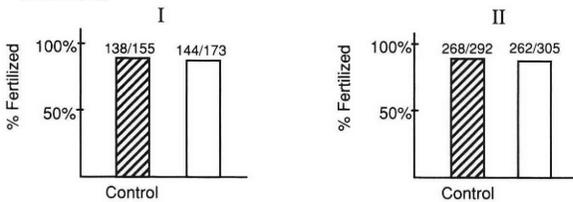


Fig. 3 A. Scheme of the experiment

5 % HSP was added to uncappeditated ( I ) or cappeditated ( II ) mice sperms. After 2 hrs incubation supernatant fluid was removed by centrifugation and ova were added to medium.

**B. Result**

I . This figure showed uncappeditated sperms were cappeditated by removal of HSP.

II . This figure showed cappeditated sperms were recappeditated by removal of HSP.

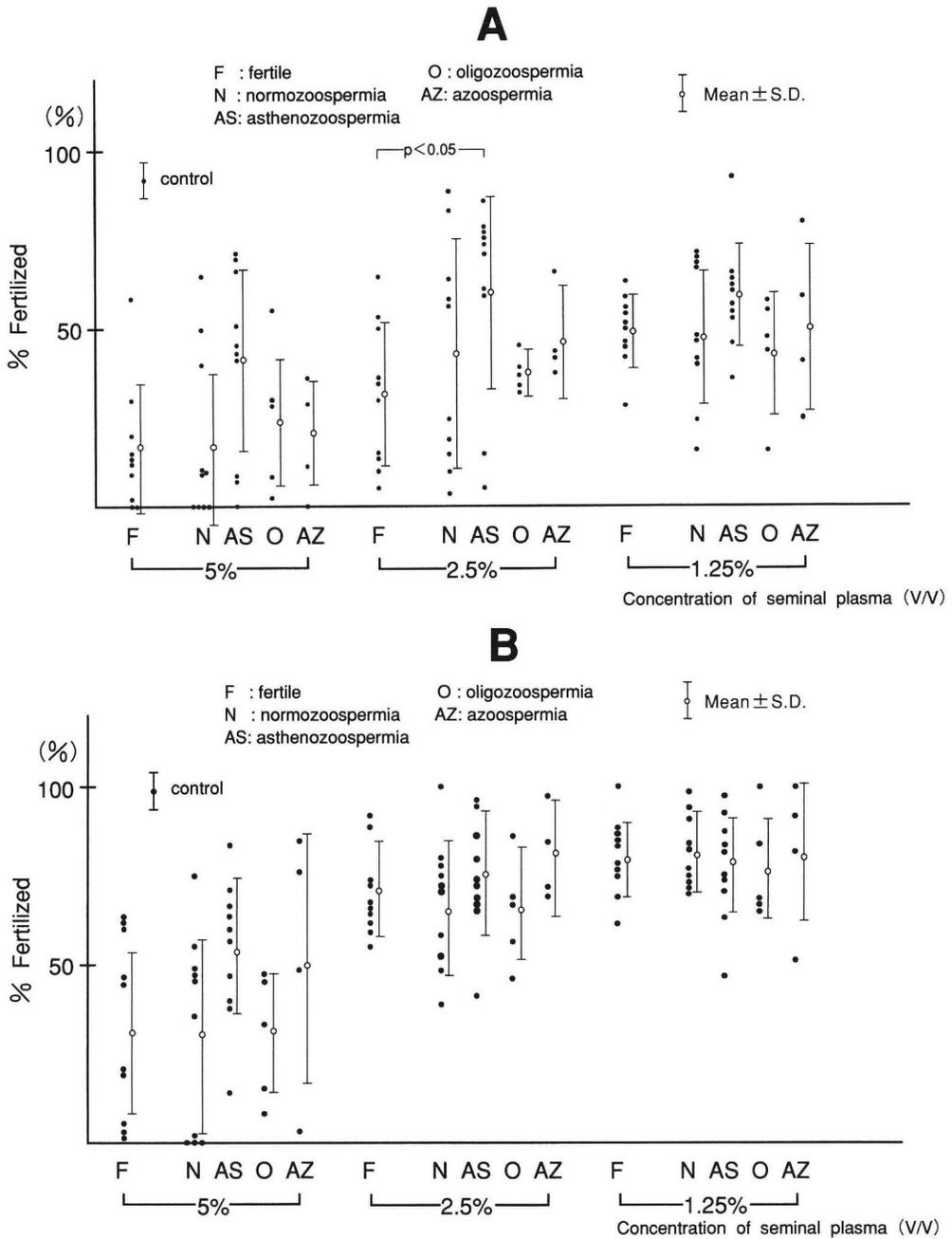


Fig. 4 Effect of HSP from normal fertile men and infertile men on uncapacitated (A) and capacitated (B) mouse sperm

fertile and infertile men in zinc concentration. Zinc concentration in HSP seems to be approximately proportional to antifertility effect of HSP on uncapacitated and capacitated sperms. Fig. 5 shows correlation between zinc concentration in HSP and fertilization rate of capacitated sperms in 5% (v/v) HSP.

### Discussion

Reddy et al.<sup>4)</sup> demonstrated that a high molecular weight antifertility factor (AF-1) was obtained from HSP and AF-1 inhibited mouse in vitro fertilization reversibly. Quinn and Begley<sup>5)</sup>, however, reported

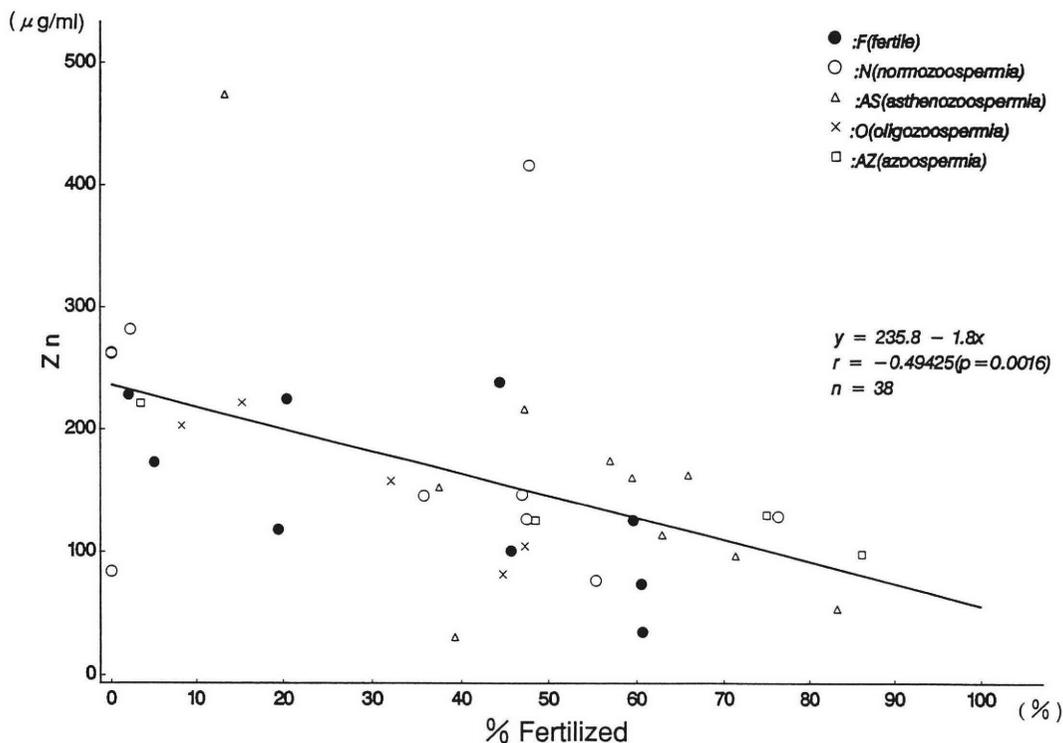


Fig. 5 Correlation between zinc concentration in HSP and fertilization rate of capacitated sperm in 5% (v/v) HSP

that HSP inhibited only uncapacitated mice sperm but not capacitated sperm. In this study HSP effected both uncapacitated and capacitated mice sperm, but the effect on uncapacitated sperm were more powerful than that on the capacitated. This antifertility effect of HSP was reversible.

Many studies have been made on DF. The representative factors are known to be antifertility factor (AF-1) and acrosome stabilizing factor (ASF). AF-1 was reported by Reddy et al.<sup>4)</sup> and Audhya et al.<sup>6)</sup>. AF-1 is glycoprotein with molecular weight (MW) of 200,000, consisting of two subunits of MW 125,000 and 72,000. AF-1 has reversible decapacitation activity but does not inhibit the acrosome reaction of fully capacitated guinea pig sperm. Thus, AF-1 has no direct effect on acrosome reaction. ASF was reported by Eng and Oliphant<sup>7)</sup>. ASF was purified from rabbit seminal plasma and was a glycoprotein having MW 360,000. Thomas et al.<sup>8)</sup> determined that ASF consists of two subunits of MW 259,000 and MW 129,000. ASF reversibly decapacitates sperm and blocks induction of acrosome reaction. Both ASF

and AF-1 are glycoproteins containing galactose, mannose, and N-acetylglucosamine. N-acetylglucosamine-galactose residues act as a DF, blocking sperm surface galactosyltransferase as proposed by Shur and Hall<sup>9)</sup>. ASF is of epididymal origin<sup>10)</sup>. Recently mouse DF was reported by Fraser et al.<sup>11)</sup>. This mouse DF is derived from mice epididymal sperm and appears to be an anionic polypeptide with MW 40,000. This factor is not abundant in terminal mannose and N-acetylglucosamine residues.

Sanada reported that antifertility effect of vasectomized HSP was similar to that of non-vasectomized HSP, and antifertility effect of the first (prostatic) fraction of split ejaculates was more powerful than that of last (vesicular) fraction<sup>12)</sup>. Although epididymal fluid or epididymal sperm (mouse sperm) was reported to be a source of DF, the prostate is supposed to be one of the main sources of human DF. This study showed zinc concentration in HSP is approximately proportional to antifertility effect of HSP. Zinc is not considered DF, because the antifertility effect of zinc is said to be due to inhibi-

tion of sperm capacitation but this effect is only on uncapacitated sperms and not proved on capacitated sperms in mouse in vitro fertilization system<sup>13)</sup>. The major source of zinc in HSP is the prostate. The present study, as well as the work by Sanada, indicate the major source of DF seems to be the prostate.

Traditional methods for the evaluation of male infertility is mainly semen analysis with special attention to sperm count, motility and morphology. Usually seminal plasma is not examined since it is not considered to be a cause of male infertility. The purpose of this study was to investigate if abnormal levels of DF could be a cause of male infertility. The physiological property of DF is not firmly defined, but DF are thought to play an important role in male fertility. If the level of DF were very high, capacitation could not occur in the female reproductive tract. If the level of DF were very low, capacitation might occur in male reproductive tract. In cases of unexplained infertility where a man is judged normal by semen analysis and yet continues to remain infertile, abnormal levels of DF may be responsible for male infertility. There is no report about antifertility effect of HSP in infertile men. In our limited population, there was no apparent difference between HSP from fertile and infertile men including normozoospermic patients in its antifertility effect.

### Acknowledgment

The author wish to thank Professor Tadao Tomoyoshi (Director, Department of Urology, Shiga University of Medical Science) and Dr. Shungo Sanada (Department of Urology, Kansaidenryoku Hospital) for their helpful advice.

### References

- 1) Chang MC (1957) A detrimental effect of seminal plasma on the fertilizing capacity of sperm. *Nature* 179: 258-259
- 2) World Health Organization (1987) WHO Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 2nd edition. The Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, p27

- 3) Toyoda Y, Yokoyama M, Hoshi F (1971) Studies on the fertilization of mouse eggs in vitro. I. In vitro fertilization of eggs by fresh epididymal sperm. *Jap J Animal Reprod* 16, 147-151
- 4) Reddy JM, Audhya TK, Goodpasture JC, et al. (1982) Properties of a highly purified antifertility factor from human seminal plasma. *Biol Reprod* 27: 1076-1083
- 5) Quinn P, Begley AJ (1984) Effect of human seminal plasma and mouse accessory gland extracts on mouse fertilization in vitro. *Aust J Biol Sci* 37: 147-152
- 6) Audhya T, Reddy J, Zaneveld LJD (1987) Purification and partial chemical characterization of a glycoprotein with antifertility activity from human seminal plasma. *Biol Reprod* 36: 511-521
- 7) Eng LA, Oliphant G (1978) Rabbit sperm reversible decapacitation by membrane stabilization with a highly purified glucoprotein from seminal plasma. *Biol Reprod* 19: 1083-1094
- 8) Thomas TS, Wilson WL, Reynolds AB, et al. (1986) Chemical and physical characterization of rabbit sperm acrosome stabilizing factor. *Biol Reprod* 35: 691-703
- 9) Shur BD, Hall NG (1982) Sperm surface galactosyltransferase activities during in vitro capacitation. *J Cell Biol* 95: 576-573
- 10) Thomas TS, Reynolds AB, Oliphant G (1984) Evaluation of the site of the synthesis of rabbit sperm acrosome stabilizing factor using immunocytochemical and metabolic labeling techniques. *Biol Reprod* 30: 693-705
- 11) Fraser LR, Harrison RAP, Herod JE (1990) Characterization of a decapacitation factor associated with epididymal mouse spermatozoa. *J Reprod Fert* 89: 135-148
- 12) Sanada S, Ishida A, Ogura K, et al. (1993) Decapacitating activities of seminal plasma of pre- and post-vasectomy semen and split ejaculates. *Proc. Vth International Congress of Andrology, Tokyo, May 2-6, 176*
- 13) Aonuma S, Okabe M, Kawaguchi M (1978) The effect of zinc ions on fertilization of mouse ova in vitro. *J Reprod Fert* 53: 179-183

(受付：1996年3月11日特掲)

(受理：1996年4月30日特掲)

---

## マウス体外受精系を用いた正常者および不妊患者精漿の精子受精能阻害作用に関する検討

滋賀医科大学泌尿器科学教室

石田 章

ヒトを含めた哺乳動物の精漿中には、精子の受精能獲得 (capacitation) の誘起を阻害し、また、受精能獲得精子の受精能をも再び損なわせしめる因子、いわゆる受精能破壊因子 (decapacitation factors; DF) が存在する。このDFの生理的意義については明らかではないが、妊孕性において重要な働きをしているものと考えられている。著者は、男性不妊症患者の中にこのDFの異常(きわめて作用が強い、弱い場合)によるものが存在する可能性があると考え、正常者および不妊患者の精漿の精子に対する受精能阻害作用を、マウス体外受精系を用いて比較検討した。すなわちヒト精漿をマウス体外受精系に添加し受精率に差を認めるかどうか検討した。

その結果、1) 正常者と男性不妊症患者の精漿の受精能阻害作用の強さに差は認めなかった。したがって、DFの異常が男性不妊症の発生に関与していることを示唆する結果は得られなかった。2) ヒト精漿の受精能阻害作用は、精漿中の亜鉛濃度とほぼ比例していた。精漿中の亜鉛の大部分は前立腺に由来するので、ヒト精漿の受精能阻害作用を有する因子の多くは前立腺由来と考えられた。

**キーワード:** 精子受精能獲得, 受精能破壊因子, 精漿, 男性不妊症, マウス体外受精

---

# PARTHENOGENETIC ACTIVATION OF PIG OOCYTES MATURED IN VITRO FOLLOWING ELECTRICAL STIMULATION

Masaki HATA and Katsuhiro OHKOSHI

Laboratory of Animal Reproduction  
College of Agriculture, Kinki University, Nara 631, Japan

Yoko KATO and Yukio TSUNODA

Laboratory of Animal Reproduction, and Research Institute of Animal Developmental Biotechnology  
College of Agriculture, Kinki University, Nara 631, Japan

**Abstract:** Experiments were conducted to determine the conditions of parthenogenetic activation of pig oocytes by electrical stimulation and the development of activated eggs in vitro. The oocytes matured in vitro for 48 to 51 hrs were subjected to direct current pulses at 50 or 75 V/mm for 25  $\mu$  sec, one to three times at 20-min intervals. The activation rate was significantly higher in Zimmerman and 0.3M sucrose solutions (95 and 83 %) than in 0.3M mannitol solution (62 %). The activation rate after electrical stimulation was significantly lower for one pulse of 50 V/mm (71 %) and 3 pulses of 75 V/mm (80 %) than in the other groups (88 % to 94 %). The proportion of activated eggs with two pronuclei and one polar body, considered to have a diploid chromosome constitution, significantly increased after treatment with cytochalasin B for more than 4.5 hrs. Finally, 17 % of pig eggs activated by electrical stimulation developed to blastocysts in vitro.

**Key words:** pig oocytes, electrical stimulation, in vitro culture, parthenogenesis

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 ( 3 ), 305 - 310, 1996)

## Introduction

Many studies have been conducted on nuclear transfer to produce cloned cattle<sup>1-5</sup>). Nuclear transfer techniques include a series of steps such as isolation of nucleus, enucleation of oocytes, fusion of nucleus with enucleated oocyte, parthenogenetic activation, culture of fused oocyte and transfer to recipient. Procedures for parthenogenetic activation of oocytes have a large effect on the developmental ability of nuclear transferred oocytes. Procedures for parthenogenetic activation of oocytes with a high activation rate and high developmental ability have been established in the mouse<sup>6,7</sup>), rabbit<sup>7-10</sup>) and cow<sup>11-14</sup>). Parthenogenetic activation of pig oocytes by the treatment with ionophore, electrical stimulation and injection of GTP- $\gamma$ -s has been reported<sup>15-25</sup>). However, the developmental ability

of activated pig oocytes is relatively low<sup>18, 19, 22, 23</sup>). Machaty et al.<sup>20</sup>) reported that only 3 % of electroporated oocytes developed to blastocysts after 7 days of culture in the pig oviduct. The developmental ability of activated diploid oocytes should be higher than that of haploid oocytes<sup>7</sup>). Repeated electrical stimulation<sup>10</sup>) and stimulation media<sup>9, 26</sup>) may affect in vitro and in vivo development of parthenogenetic eggs.

Herein, we examined the conditions for electrical stimulation to obtain a high parthenogenetic activation rate and for subsequent cytochalasin B treatment to obtain a high incidence of diploid oocytes.

## Materials and Methods

Ovaries were obtained from a local abattoir and brought to the laboratory in physiological saline at 27 to 33 °C. Cumulus-oocyte complexes were aspirat-

ed through an 20 G needle from 2 to 5 mm follicles with Dulbecco's modified phosphate buffered saline (mPBS)<sup>27</sup> containing 3 mg/ml bovine serum albumin (BSA). Oocytes with cumulus cells were selected and washed 3 times with TCM-199 (25 mM Hepes buffered Earle's salts; Gibco, Grand Island, NY, USA) supplemented with 3.05 mM glucose, 2.92 mM calcium lactate, 0.91 mM sodium pyruvate and 10 % (V/V) heat-treated calf serum (CS; Gibco). The cumulus-oocyte complexes were transferred to 100  $\mu$ l of mTCM-199 supplemented with 10 IU/ml pregnant mare serum gonadotropin (PMSG; Teikokuzoki) and 10 IU/ml human chorionic gonadotropin (hCG; Sankyozoki)<sup>28</sup> covered with mineral oil and cultured for 48 to 51 hrs at 39 °C in 5 % CO<sub>2</sub> and 95 % air. Cumulus-oocyte complexes cultured for various periods were stripped of cumulus cells by pipetting in M2 medium<sup>29</sup> containing 0.1 % hyarulonidase (300 IU/ml, Sigma). Oocytes with a polar body were selected for the subsequent experiments.

#### **Experiment 1: Effects of electrical stimulation media on activation**

Matured oocytes cultured for 48 to 51 hrs were stimulated by DC pulses of 75 V/mm for 25  $\mu$  sec with a parallel stainless steel wire chamber after exposure to each medium for 5 min. Two pulses at 2-sec intervals were repeated 2 times at 20-min intervals. Media used for activation were Zimmerman's cell fusion medium<sup>26</sup>, 0.3 M mannitol solution and 0.3M sucrose solution containing 0.05 mM CaCl<sub>2</sub> and 0.1 mM MgSO<sub>4</sub>. The oocytes were cultured with mKRB<sup>30, 31</sup> for 10 to 13 hrs, fixed in ethanol acetic acid (1 : 3) and stained with 0.1 % aceto-orcein. Eggs with a pronucleus (ei) and at the 2-cell stage (immediate cleavage)<sup>7</sup> were considered activated oocytes.

#### **Experiment 2: Effects of DC pulse intensity on activation**

Matured oocytes were stimulated by DC pulses of 50 V/mm or 75 V/mm for 25  $\mu$  sec<sup>21</sup>) in Zimmerman's cell fusion medium. Two pulses at 2-sec intervals were given 1 to 3 times at 20-min intervals. The treated oocytes were stained after 13 to 18 hrs of culture and examined for the formation of a pronucleus as in experiment 1.

#### **Experiment 3: Effects of CB treatment on activation**

The effects of exposure to cytochalasin B (CB, Sigma) on suppression of the second polar body in electrically stimulated oocytes were examined. The oocytes matured for 48 hrs were stimulated by DC pulses of 50 V/mm for 25  $\mu$  sec, 3 times at 20-min intervals in Zimmerman's cell fusion medium. Treated oocytes were incubated in 100  $\mu$ l mKRB containing 5  $\mu$ g/ml CB for 0 ~ 10.5 h<sup>32</sup>). They were then washed with fresh medium and further cultured 0 to 10.5 h in mKRB without CB. Following incubation, oocytes were fixed and stained as in experiment 1. Oocytes possessing 2 pronuclei with 1 polar body were considered diploid oocytes. Some oocytes treated with CB for 5.5 hrs were cultured with mKRB at 39 °C for 8 days to examine the developmental ability to blastocysts.

#### **Statistical analysis**

All data were analysed by  $\chi^2$  analysis.

### **Results**

As Table 1 shows, the proportion of oocytes activated was significantly higher in Zimmerman and sucrose solutions (95 % and 83 %) than in the mannitol solution (62 %). None of the oocytes introduced into the sucrose solution without electric stimulation were activated, but 5 of 40 (13 %) and 3 of 39 oocytes (8 %) were activated in Zimmerman and mannitol solutions.

As Table 2 shows, the proportions of oocytes activated after electrical stimulation for one pulse of 50 V/mm (71 %) and 3 pulses of 75 V/mm (80 %) were significantly lower than those in the other

Table 1 Effect of electrical stimulation media on activation of pig oocytes

Media used	No. of oocytes (%)		
	used	activated	degenerated
Zimmerman	44	42 (95) <sup>a</sup>	1 (2)
sucrose	42	35 (83) <sup>a</sup>	0 (0)
mannitol	45	28 (62) <sup>b</sup>	0 (0)

The oocytes were stimulated by DC pulses of 75 V/mm for 25  $\mu$  sec.

Two pulses at 2-sec intervals were repeated 2 times at 20 min intervals.

a and b significantly different at  $P < 0.05$ .

Table 2 Effects of DC voltage and pulse number on activation of pig oocytes

Voltage of pulse (Vmm <sup>-1</sup> )	No. of pulses	No. of oocytes( %)		
		used	activated	degenerated
50	1	65	46 (71) <sup>a</sup>	0
	2	70	63 (90) <sup>bc</sup>	0
	3	91	81 (89) <sup>bc</sup>	6 ( 7 ) <sup>a</sup>
75	1	71	67 (94) <sup>b</sup>	0
	2	65	57 (88) <sup>bc</sup>	6 ( 9 ) <sup>ab</sup>
	3	92	74 (80) <sup>ac</sup>	15 (16) <sup>b</sup>

The oocytes were stimulated by DC pulses in Zimmerman's cell fusion medium.

Values with different superscripts differ significantly ( $p < 0.05$ ).

Table 3 Effects of duration of CB treatment on oocyte activation

Duration (h)	No. of oocytes ( % )		Type of activation ( % )*			
	used	activated	1PN1pb	2PN1pb	1PN2pb	others**
0	83	79 (95)	4 ( 5 )	10 (13) <sup>a</sup>	49 (62)	16 (20)
0.5	80	77 (97)	5 ( 6 )	18 (23) <sup>ab</sup>	48 (62)	6 ( 8 )
1.5	80	67 (84)	12 (18)	19 (28) <sup>bc</sup>	34 (51)	2 ( 3 )
2.5	68	66 (97)	8 (12)	28 (42) <sup>cd</sup>	19 (29)	11 (17)
3.5	108	92 (86)	20 (22)	45 (49) <sup>d</sup>	15 (16)	12 (13)
4.5	95	78 (87)	5 ( 6 )	53 (68) <sup>efg</sup>	10 (13)	10 (13)
5.5	78	67 (86)	4 ( 6 )	52 (78) <sup>ef</sup>	2 ( 3 )	9 (13)
6.5	78	60 (76)	6 (10)	41 (68) <sup>efg</sup>	4 ( 7 )	9 (15)
7.5	86	75 (87)	12 (16)	49 (65) <sup>eg</sup>	5 ( 7 )	9 (12)
8.5	84	70 (83)	7 (10)	56 (80) <sup>f</sup>	5 ( 7 )	2 ( 3 )
9.5	60	52 (87)	8 (15)	32 (62) <sup>de</sup>	4 ( 8 )	8 (15)
10.5	63	58 (92)	14 (24)	35 (60) <sup>dg</sup>	1 ( 2 )	8 (14)

The oocytes were stimulated by DC pulses of 50V/mm for 25 $\mu$ sec, 3 times at 20-min intervals in Zimmerman's cell fusion medium.

Values with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$  for a, b, c, d, e, f and g).

\* PN: pronucleus (ei), pb: polar body

\*\* Others include oocytes possessing 2PN2pb or more than three pronuclei and at the 2-cell stage.

groups (88 to 94 %). Significantly more degenerated oocytes were observed following stimulation with 3 pulses of 75 V/mm (16 % vs 0 to 9 %).

Table 3 shows the effects of duration of CB treatment on oocyte activation. The activation rate after electrical stimulation was 76 % to 97 %. Various types of oocytes were observed after activation; 1 pronucleus with 1 polar body (1PN1pb), 2 pronuclei with 1 polar body (2PN1pb), 1 pronucleus with 2 polar bodies (1PN2pb) and others. Oocytes with 2PN1pb are considered to have a diploid chromosome constitution and expected to have high developmental ability. The proportion of activated oocytes with 2PN1pb was significantly higher after CB treat-

ment for 4.5 to 8.5 hrs (65 % to 80 %) than after treatment for 0.5 to 3.5 hrs (23 to 49 %), but decreased with treatment for more than 9.5 hrs.

After activation and treatment with CB, 246 (68 %), 90 (24 %) and 60 (17 %) of 363 oocytes developed to the 2-cell, 8-cell and blastocyst stages, respectively.

## Discussion

The proportion of pig oocytes activated by electrical stimulation and which developed to blastocysts (17 %) was relatively higher than previously reported<sup>18, 19, 22</sup>, probably because of the treatment of activated eggs with cytochalasin B to suppress

the exclusion of second polar body<sup>19)</sup> and multiple electrical stimulation. The developmental ability of activated eggs of rabbits<sup>10)</sup> and cows<sup>33)</sup> after multiple stimulation was higher than that after a single stimulation. The developmental ability of diploid parthenogenones is usually higher than that of haploid parthenogenones<sup>7)</sup>. Although we did not examine the chromosome constitution of parthenogenones, the proportion of eggs with two pronuclei and one polar body, which were considered diploid, significantly increased after treatment with cytochalasin B for more than 4.5 hrs. By contrast, the proportion of eggs with one pronucleus and two polar bodies, which were considered haploid, decreased as the treatment period increased, and reached the lowest level after 5.5 hrs. However, eggs with one pronucleus and one polar body, possibly diploid<sup>7)</sup> were observed in all treatment groups (5 % to 24 %). Immediate cleavage<sup>7)</sup> and eggs with more than three pronuclei<sup>9)</sup> were also observed. The incidence of oocytes activated was higher in Zimmerman and 0.3 M sucrose solutions than in a 0.3 M mannitol solution, for an unknown reason.

However, the developmental ability of activated eggs was still low compared with that of *in vivo* fertilized eggs. Petters et al.<sup>31)</sup> and Hagen et al.<sup>34)</sup> reported that 50 to 60 % of one- to two-cell embryos developed to morula and blastocyst stage after *in vitro* culture for 5 to 6 days. The low developmental ability of activated pig eggs may be caused by the conditions for *in vitro* maturation of immature oocytes, procedure of activation and *in vitro* culture.

The studies on nuclear transfer in pig embryos are limited<sup>35, 36)</sup> compared with those in cattle<sup>1 ~ 5)</sup>, but activated oocytes with relatively high developmental ability obtained in the present study will enhance the research on nuclear transfer and their application in pig reproduction.

### Acknowledgments

This work was supported by the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries Biotechnology and Reproductive Technology, Ministry of Education, Science and Culture (05304023, 05556050), Ministry of Science and Technology, the Japan Private School Promotion Foundation and the Environmen-

tal Science Institute of Kinki University, the Ito Kinen Foundation and the Morinaga Foundation. We thank the staff of the Meat Inspection office in Nara prefecture.

### References

- 1) Prather RS, Barnes FL, Sims MM, et al. (1987) Nuclear transplantation in the bovine embryo: assessment of donor nuclei and recipient oocyte. *Biol Reprod* 37: 859-866
- 2) Bondioli KR, Westhusin ME, Looney CR (1990) Production of identical bovine offspring by nuclear transfer. *Theriogenology* 33: 165-174
- 3) Stice SL, Keefer CL, Matthews L (1994) Bovine nuclear transfer embryos: oocytes activation prior to blastomere fusion. *Mol Reprod Dev* 38: 61-68
- 4) Kono T, Sotomaru Y, Aono F, et al. (1994) Effect of ooplast activation on the development of oocytes following nucleus transfer in cattle. *Theriogenology* 41: 1463-1471
- 5) Takano H, Koyama K, Kozai C, et al. (1996) Effects of cell cycle stage of donor nuclei on the development of bovine nuclear transferred embryos. *J Reprod Dev* 42: 61-65
- 6) Cuthbertson KSR (1983) Parthenogenetic activation of mouse oocytes *in vitro* with ethanol and benzyl alcohol. *J Exp Zool* 226: 311-314
- 7) Kaufman MH (1983) Methodology: *in vitro* and *in vivo* activation techniques. In: Cambridge University Press, Cambridge, pp20-26
- 8) Chang MC (1954) Development of parthenogenetic rabbit blastocysts induced by low temperature storage of unfertilized ova. *J Exp Zool* 125: 127-149
- 9) Onodera M, Tsunoda Y (1989) Parthenogenetic activation of mouse and rabbit eggs by electric stimulation *in vitro*. *Gamete Res* 22: 277-283
- 10) Ozil JP (1990) The parthenogenetic development of rabbit oocytes after repetitive pulsatile electrical stimulation. *Development* 109: 117-127
- 11) Fukui Y, Sawai K, Furudate M, et al. (1992) Parthenogenetic development of bovine oocytes treated with ethanol and cytochalasin B after *in vitro* maturation. *Mol Reprod Dev* 33: 357-362
- 12) Fukui Y, Saito T, Miyamoto A, et al. (1994) Effect of human leukemia inhibitory factor on *in vitro* development of parthenogenetic bovine morulae. *Theriogenology* 42: 1133-1139
- 13) Minamihashi A, Watson AJ, Watson PH, et al. (1993) Bovine parthenogenetic blastocysts following *in vitro* maturation and oocyte activation

- with ethanol. *Theriogenology* 40: 63-76
- 14) Presicce GA, Yang X (1994) Parthenogenetic development of bovine oocytes matured in vitro for 24 hr and activated by ethanol and cycloheximide. *Mol Reprod Dev* 38: 380-385
  - 15) Didion BA, Martin MJ, Markert CL (1990) Parthenogenetic activation of mouse and pig oocytes matured in vitro. *Theriogenology* 33: 1165-1175
  - 16) Funahashi H, Cantley TC, Stumpf TT, et al. (1994) In vitro development of in vitro-matured porcine oocytes following chemical activation or in vitro fertilization. *Biol Reprod* 50: 1072-1077
  - 17) Hagen DR, Prather RS, First NL (1991) Response of porcine oocytes to electrical and chemical activation during maturation in vitro. *Mol Reprod Dev* 28: 70-73
  - 18) Kurebayashi S, Miyake M, Kohno K, et al. (1994) The meiotic resumption and cleaving ability of porcine oocytes matured in-vitro and followed by electroactivation. *J Mamm Ova Res* 11: 164-174
  - 19) Kurebayashi S, Miyake M, Katayama M, et al. (1995) Improvement of developmental ability to the blastocyst stage by addition of hyaluronic acid to chemically defined medium in diploid porcine eggs matured in-vitro and subsequently electroactivated. *J Mamm Ova Res* 12: 119-125
  - 20) Machaty Z, Mayes MA, Prather RS (1995) Parthenogenetic activation of porcine oocytes with Guanosine-5'-o- (3'-thiotriphosphate).<sup>1</sup> *Biol Reprod* 52: 753-758
  - 21) Maruyama Y, Kita M, Imai H, et al. (1991) Examination of the suitable condition for the parthenogenetic activation and electrofusion of a porcine enucleated oocyte with a pseudo-blastomere. *Jpn J Zootech Sci* 62: 757-762
  - 22) Nussbaum DJ, Prather RS (1995) Differential effects of protein synthesis inhibitors on porcine oocyte activation. *Mol Reprod Dev* 41: 70-75
  - 23) Prather RS, Eichen PA, Nicks DK, et al. (1991) Artificial activation of porcine oocytes matured in vitro. *Mol Reprod Dev* 28: 405-409
  - 24) Prochazka R, Kanka J, Sutovsky P, et al. (1992) Development of pronuclei in pig oocytes activated by a single electric pulse. *J Reprod Fert* 96: 725-734
  - 25) Schoenbeck RA, Peters MS, Rickords LF, et al. (1993) Diacylglycerol-enhanced electrical activation of porcine oocytes matured in vitro. *Theriogenology* 40: 257-266
  - 26) Zimmermann U, Vienken J (1982) Electric field-induced cell-to-cell fusion. *J Membrane Biol* 67: 165-182
  - 27) Whittingham DG (1971) Survival of mouse embryos after freezing and thawing. *Nature* 233: 125-126
  - 28) Yoshida M, Bamba K, Kojima Y (1989) Effects of gonadotropins and estradiol-17  $\beta$  on the timing of nuclear maturation and cumulus mass expansion in pig oocytes cultured in vitro. *Jpn J Anim Reprod* 35: 86-91
  - 29) Fulton BP, Whittingham DG (1978) Activation of mammalian oocytes by intracellular injection of calcium. *Nature* 273: 149-151
  - 30) Davis DL, Day BN (1978) Cleavage and blastocyst formation by pig eggs in vitro. *J Anim Sci* 46: 1043-1053
  - 31) Petters RM, Johnson BH, Reed ML, et al. (1990) Glucose, glutamine and inorganic phosphate in early development of the pig embryo in vitro. *J Reprod Fert* 89: 269-275
  - 32) Nagai T (1992) Development of bovine in vitro-matured follicular oocytes activated with ethanol. *Theriogenology* 37: 869-875
  - 33) Collas P, Fissore R, Robl JM, et al. (1993) Electrically induced calcium elevation, activation and parthenogenetic development of bovine oocytes. *Mol Reprod Dev* 34: 212-223
  - 34) Hagen DR, Prather RS, Sims MM, et al. (1991) Development of one-cell porcine embryos to the blastocyst stage in simple media. *J Anim Sci* 69: 1147-1150
  - 35) Nagashima H, Yamakawa H, Saito S (1992) Transplantation of porcine blastomere nuclei into oocytes collected from prepubertal gilts. *J Reprod Dev* 38: 73-78
  - 36) Parry TW, Prather RS (1995) Carry-over of mRNA during nuclear transfer in pigs. *Reprod Nutr Dev* 35: 313-318

(受付：1996年1月19日)

(受理：1996年5月8日)

### ブタ単為発生卵の体外培養条件の検討

近畿大学農学部畜産学研究室

秦 正樹, 大越勝広, 加藤容子, 角田幸雄

ブタ卵細胞の電気刺激による単為発生誘起条件を検討し, 単為発生卵の発生能について調べた。

体外において48から51時間成熟培養を行った卵子に, 50または75 V/mm, 25 $\mu$ secの直流パルスを1から3回, 20分間隔で付与した。単為発生誘起率は, 操作液としてZimmerman液およびシュークロース液(95および83%)を用いた場合, マンニトール液(62%)を用いた場合よりも有意に高かった。また, 単為発生誘起率は, 50 V/mmの直流パルスを1回(71%)または75 V/mmを3回(80%)与えた場合を除いて, 他の区(88~94%)では有意差は見られなかった。2倍体と考えられる1極体2前核型の単為発生卵の出現の割合は, サイトカラシンB処理時間を4.5時間以上行った場合有意に増加した。電気刺激の付与により活性化した卵子を8日間体外培養したところ, 17%が胚盤胞へ発生した。

キーワード: ブタ卵細胞, 電気刺激, 体外培養, 単為発生

## ヒト卵胞液中のエストロゲン類とアルギニンアミダーゼの挙動

### Behaviors of Arginine Amidase Activities and Estrogens in Human Follicular Fluid

慶愛クリニック・慶愛不妊研究所

李 顕 銃

Shien-Kung LEE

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

明治薬科大学第二分析化学教室

片山昌勅

谷口寛一

Masatoki KATAYAMA

Hirokazu TANIGUCHI

Department of Analytical Chemistry, Meiji College of Pharmacy, Tokyo 154, Japan

明治薬科大学第一生化学教室

松田兆史

秋濱澄行

Yoshifumi MATSUDA

Sumiyuki AKIHAMA

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

立川共済病院

原 唯 純

佐藤博久

Izumi HARA

Hirohisa SATO

Tachikawa Kyousai Hospital, Tokyo 190, Japan

過排卵誘発を行った卵巣から得た卵胞液 (10症例, 49検体) を用いてエストロゲン類とアルギニンアミダーゼ活性の挙動を検討した。

測定に用いた卵胞液の平均液量は  $4.77 \pm 2.65$  ml であった。測定した Bz-Arg-pNA 水解活性, Val-Leu-Arg-pNA 水解活性, プラスミノーゲン, エストロゲン類 (エストロン: E<sub>1</sub>, エストラジオール: E<sub>2</sub>, エストリオール: E<sub>3</sub>) の中で, 卵胞液総量でみた場合, Val-Leu-Arg-pNA 水解活性およびエストリオールは他の測定パラメーターすべてと相関関係が認められた ( $p > 0.05$ )。さらに Bz-Arg-pNA 水解活性はエストラジオールを除くすべての測定パラメーターとの間で, またプラスミノーゲンはエストロンを除くすべての間で相関関係が認められた ( $p > 0.05$ )。

以上の結果, エストロゲン類, とくにエストリオールは排卵の最終段階を司るプロティナーゼカスケードに関与している可能性が示唆された。測定した2種のアルギニンアミダーゼ活性間にも相関が見られた。

個人両側卵巣より5例以上卵胞液を得た検体 (5症例, 37例) について平均値の差の (有意差) 検定を行ったところ, エストロゲン類は個人から得た各卵胞液間の変動も大きく, とくに, 卵胞中エストラジオールについては個人差も認められることが明らかになった。一方, 2種のアルギニンアミダーゼ活性は個人から得た各卵胞液間の変動も少なく, かつ個人差も少ないことが明らかになった。

**キーワード:** ヒト卵胞液, アルギニンアミダーゼ, プラスミノーゲン, エストロゲン

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 311 - 316, 1996)

## 緒 言

近年、哺乳類における排卵の最終段階である卵胞解裂の機序としてプロティナーゼカスケード説が有力である<sup>1,2)</sup>。すでにヒト卵胞液中にはプラスミノゲンおよびプラスミン (EC 3.4.21.7)<sup>3)</sup>、組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA, EC 3.4.21.68)<sup>3)</sup>、血漿カリクレイン (EC 3.4.21.34) 様酵素<sup>4)</sup>さらに N- $\alpha$ -benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide (Bz-Arg-pNA) および D-Valyl-L-leucyl-L-arginine-p-nitroanilide (Val-Leu-Arg-pNA) 加水分解活性を有するアルギニンアミダーゼ<sup>5,6)</sup>などさまざまなプロティナーゼ類の存在が確認されている。これらのセリンプロティナーゼ群と卵胞液中に存在が指摘されているコラゲナーゼ (EC 3.4.24.7) は LH, FSH あるいはエストロゲン類と共役し、卵胞液中でプロティナーゼカスケードを形成して卵胞解裂の最終段階に関与している可能性が考えられている<sup>1,2,7)</sup>。我々はすでに体外受精・胚移植 (IVF-ET) における採卵時に成熟卵胞から得た卵胞液を用い、ヒト卵胞液中の上記2種のアルギニンアミダーゼ、プラスミノゲン/プラスミンおよび t-PA の活性とエストロゲン類の相関を検討し、2種のアルギニンアミダーゼ活性とプラスミノゲンおよび t-PA との間に強い相関性が認められることを明らかにした<sup>6)</sup>。さらに、エストラジオールはプラスミノゲンおよび2種のアルギニンアミダーゼ活性間にも相関性が認められることも同様に明らかにした<sup>6)</sup>。ついで我々は、卵胞液中にみいだされた t-PA およびプラスミノゲンを分取し、同液中に存在し、排卵に関与する可能性が考えられるプロティナーゼカスケードの存在の一部を証明した<sup>3)</sup>。

本研究では、IVF採卵時に得た複数の成熟卵胞液を用い、卵胞液中のエストロゲン類とプラスミノゲンおよびアルギニンアミダーゼ活性の変動についての検討を行い、さらに卵胞液中のプロティナーゼカスケードについての考察も行った。

## 実験材料および方法

### 1) ヒト卵胞液

ヒト卵胞液は慶愛不妊研究所/慶愛クリニックおよび立川共済病院産婦人科で IVF-ET を施行した患者より、患者の同意を得て前報<sup>4)</sup>に従い採卵時に採取した。過排卵誘発は GnRH analog を long protocol で使用し、pure FSH-hMG-hCG により行った。卵胞液は血液の混在がないことを確認した後、使用時まで凍結保存 (-40°C) した。研究には10名の東洋人女性 (日本

人9症例、中国人1症例)の両側卵胞より採卵時に得た卵胞液49検体を用いた。

### 2) エストロゲンの測定

エストロゲン類の分別定量は高速液体クロマトグラム (HPLC) を用いる片山らの方法により行った<sup>8)</sup>。測定したエストロゲン類の量は mg および ng で表示した。

### 3) アルギニンアミダーゼ活性測定

アルギニンアミダーゼ活性の測定は Ammunsenn らの開発した方法<sup>9)</sup>を微量化し、基質として Bz-Arg-pNA, Val-Leu-Arg-pNA, L-Glutamyl-L-glycyl-L-lysine-p-nitroanilide (Glu-Gly-Lys-pNA) を用いて 96穴マイクロプレート上で 37°C, pH 8.5 の条件下に行った<sup>6)</sup>。プラスミノゲンの活性測定はプラスミノゲンをあらかじめ活性化酵素ウロキナーゼ (EC 3.4.21.73) を用いすべてプラスミンに変換した後、プラスミンの示すアルギニンアミダーゼ活性 (基質 Glu-Gly-Lys-pNA) を測定して行った。プラスミノゲンの活性は変換されたプラスミンの活性として表示した<sup>6)</sup>。アルギニンアミダーゼ活性の表示は 37°C, pH 8.5 において1分間に加水分解された基質の量 (n mol/min) で示した。

### 4) 試薬

以下に示した試薬は ( ) 内に示した会社より購入し、使用した。Bz-Arg-pNA (ペプチド研究所, 大阪)。Val-Leu-Arg-pNA および Glu-Gly-Lys-pNA (第一化学薬品, 東京)。標準エストラジオール, エストリオールおよびエストロン (シグマ化学薬品, USA)。

### 5) 統計

測定した値は平均値±標準偏差で示した。平均値の差の検定は t-検定で行った。

## 結 果

今回、パラメーターとして Bz-Arg-pNA および Val-Leu-Arg-pNA 水解活性、プラスミノゲン量、エストロン (E<sub>1</sub>)、エストラジオール (E<sub>2</sub>) およびエストリオール (E<sub>2</sub>) 量を測定した。卵胞液量は 1.5 ml から 9.0 ml に分布し、4.77 ± 2.65 ml (Mean ± SD, n = 49) であった。

### 1) アルギニンアミダーゼ活性とエストロゲン類の相関性

測定した各パラメーター別の平均値を表1に示した。また、表2には各パラメーター間の相関関係を示した。アルギニンアミダーゼ活性は Bz-Arg-pNA および Val-Leu-Arg-pNA を基質とした場合にそれぞれ 1.08 ± 0.38 n mol/min/ml, 0.86 ± 0.29 n mol/min/ml で

表1 ヒト卵胞液中のアルギニンアミダーゼ活性、プラスミノーゲン活性およびエストロゲン量

	アルギニンアミダーゼ活性		プラスミノーゲン	エストロゲン		
	Bz-Arg-pNA	Val-Leu-Arg-pNA		エストロン (E <sub>1</sub> )	エストラジオール (E <sub>2</sub> )	エストリオール (E <sub>3</sub> )
卵胞液 1 ml あたり	1.08 ± 0.38	0.86 ± 0.29	20.7 ± 7.6	1.87 ± 2.59	11.9 ± 7.0	1.36 ± 1.08
卵胞液総量あたり	4.85 ± 2.75	4.00 ± 2.70	90.9 ± 56.5	13.3 ± 35.6	53.1 ± 49.2	6.91 ± 8.34

Bz-Arg-pNA および Val-Leu-Arg-pNA 水解活性およびプラスミノーゲン活性は 1 分間に加水分解した基質の量 (n mol/min) で示した。エストロン (E<sub>1</sub>) およびエストリオール (E<sub>3</sub>) は ng でまたエストラジオール (E<sub>2</sub>) は μg で表示した。測定値は平均値 ± 標準偏差で示した (n = 49)。

表2 ヒト卵胞液中のアルギニンアミダーゼ活性、プラスミノーゲン活性およびエストロゲン間の相関関係

卵胞液総量	アルギニンアミダーゼ活性		プラスミノーゲン	エストロゲン		
	Bz-Arg-pNA	Val-Leu-Arg-pNA		E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>
卵胞液 1 ml あたり						
卵胞液総量	—	—	—	—	—	—
Bz-Arg-pNA	0.272	—	—	—	—	—
Val-Leu-Arg-pNA	0.105	0.295*	—	—	—	—
プラスミノーゲン	0.401**	0.032	0.489**	—	—	—
エストロン (E <sub>1</sub> )	0.307*	0.134	0.054	0.089	—	—
エストラジオール (E <sub>2</sub> )	0.187	0.089	0.145	0.145	0.126	—
エストリオール (E <sub>3</sub> )	0.152	0.110	0.084	0.138	0.268	0.130
卵胞液総量あたり						
Bz-Arg-pNA	—	—	—	—	—	—
Val-Leu-Arg-pNA	—	0.675**	—	—	—	—
プラスミノーゲン	—	0.497**	0.843**	—	—	—
エストロン (E <sub>1</sub> )	—	0.310*	0.373**	0.176	—	—
エストラジオール (E <sub>2</sub> )	—	0.277	0.547**	0.647**	0.236	—
エストリオール (E <sub>3</sub> )	—	0.508**	0.613**	0.560**	0.469**	0.655**

すべての値は相関係数で示した (n = 49)。\* および \*\* はそれぞれ危険率 5% および 1% で有意差が認められることを示す (n = 49)。

あり、また卵胞液総量あたりではそれぞれ 4.85 ± 2.75 n mol/min/卵胞液 (Bz-Arg-pNA) および 4.00 ± 2.70 n mol/min/卵胞液 (Val-Leu-Arg-pNA) であった。プラスミノーゲンの場合は 20.7 ± 7.6 n mol/min/ml および 90.9 ± 56.5 n mol/min/卵胞液であった。一方、卵胞液中のエストロゲン類は 1.87 ± 2.59 ng/ml (E<sub>1</sub>)、11.9 ± 7.0 mg/ml (E<sub>2</sub>) および 1.36 ± 1.08 ng/ml (E<sub>3</sub>) と測定された。

各パラメーター間の相関関係をまとめ表 2 に示した。卵胞液 1 ml あたりでは 4 種のパラメーターの組み合わせに相関関係を認めたが、液量との相関を除いた場合には 2 種の組み合わせ、すなわち 2 種のアルギニンアミダーゼ活性間およびプラスミノーゲンと Val-Leu-Arg-pNA 水解活性間のみであった。一方、総卵胞液量あたりの各パラメーター間の相関性を検

討した結果、2 種のアルギニンアミダーゼ活性およびプラスミノーゲンは Bz-Arg-pNA 水解活性とエストラジオール (E<sub>2</sub>) 間およびプラスミノーゲンとエストロン (E<sub>1</sub>) 間を除いて相関関係が認められることが明らかになった。この結果、エストリオール (E<sub>3</sub>) はすべてのパラメーターと相関関係が認められることが明らかとなった。

## 2) 測定値の個人差

測定したサンプルのうち、両側卵巣より 5 検体以上得られた 5 症例 (計 37 検体) について、各パラメーター別の平均値および変動係数 (CV 値, %) を表 3 にまとめた。アルギニンアミダーゼ活性類は卵胞液 1 ml あたりでも卵胞液総量あたりでも CV 値が小さく、変動が少ないことが明らかになった。一方、エストロンおよびエストリオールは症例間の測定値の変動

表3 両側卵胞より5検体以上採取された症例各卵胞液の測定パラメーターの変動

症例番号	検体数 (n)	卵胞液量	アルギニン アミダーゼ活性		プラスミ ノーゲン	エストロゲン			
			Bz-Arg- pNA	Val-Leu- Arg-pNA		E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	
卵胞液 1 ml あたり									
1	11		21.7	11.8	11.1	63.0	30.5	85.6	
2	8		36.8	30.1	15.2	163.7	38.3	71.6	
3	7		27.2	14.5	14.8	65.6	23.8	85.3	
4	7		35.4	35.1	15.2	95.8	25.9	83.5	
5	5		18.9	13.8	8.7	78.1	14.4	92.3	
平均 (±SD)			28.0 ± 8.0	21.1 ± 10.8	13.0 ± 2.9	93.2 ± 41.5	26.6 ± 8.8	83.7 ± 7.5	
卵胞液総量あたり									
1	11	32.4	30.7	39.6	30.6	52.7	45.3	97.8	
2	8	33.9	44.1	46.1	40.5	79.1	33.1	56.6	
3	7	44.3	42.9	50.3	44.7	87.6	36.1	106.9	
4	7	23.6	21.2	22.7	25.6	94.3	39.6	88.3	
5	5	42.7	34.5	52.1	46.8	102.8	46.1	115.9	
平均 (±SD)			36.4 ± 6.8	34.7 ± 9.4	42.2 ± 11.9	37.6 ± 9.2	83.3 ± 19.2	40.0 ± 5.7	93.1 ± 22.8

値はすべて変動係数 (CV 値 %) で示した。

表4 両側卵胞より5検体以上採取された症例各卵胞液の測定パラメーターのt-検定による平均値の差の検定

卵胞液量		アルギニン アミダーゼ活性		プラスミ ノーゲン	エストロゲン		
		Bz-Arg- pNA	Val-Leu- Arg-pNA		E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>
卵胞液 1 ml あたり	—	0	5	7	0	8	0
卵胞液総量あたり	2	5	2	0	0	5	1

両側の卵胞より5検体以上得られた5サンプルについておのおの10通りのt-検定を行い、危険率5%で有意差の認められた数で示した。

は少ないものの、CV値が大きいことより個々の卵胞間の変動が大きいことが認められた。

両側卵巣より5検体以上得られた5症例について各パラメーターごとにすべての組み合わせ (5 × 4 / 2 = 10通り, 全130検定) 間の平均値の差 (有意差) の検定をt-検定法により検討した (危険率5%)。結果は各パラメーターごとの10検定中の平均値の差 (有意差) が認められた数で表示し、まとめて表4中に示した。

その結果、卵胞液 1 ml あたりでは Val-Leu-Arg-pNA 水解活性、プラスミノーゲンおよびエストラジオールで平均値に差 (有意差) が認められる割合が高いことが明らかになった。一方、卵胞液総量あたりで求めた場合には、高率で有意差が認められたパラメーターは Bz-Arg-pNA 水解活性およびエストラジオールのみであり、卵胞液 1 ml あたりで有意差が多く認められたプラスミノーゲンには有意差が認められない

ことが示された。以上の結果、平均値の差 (有意差) が認められる割合が50%以上 (5/10以上) を『パラメーターに個人差がある』と仮定すると、卵胞液 1 ml あたりでは、エストラジオール、プラスミノーゲンおよび Val-Leu-Arg-pNA 水解活性に、また卵胞液全量あたりではエストラジオールと Bz-Arg-pNA 水解活性に個人差が認められることになる。とくにエストラジオールは卵胞液 1 ml あたりでも総量あたりでの高い有意差率が得られ、卵胞液内存在量に個人差が大きいことが確認された。

本研究において検討を行った10症例はいずれも妊娠に成功せず、本研究で検討したパラメーターと妊娠成績に関しては不明である。

## 考 察

すでに我々はヒト卵胞液中のプラスミノーゲン、組織プラスミノーゲンアクチベーター (t-PA)、アルギ

ニンアミダーゼ類およびエストロゲン類の相関性について、白人女性(米国)成熟卵泡液23症例、23検体を用いた検討結果を報告した<sup>6)</sup>。今回東洋人女性10症例、49検体を用いた同様な検討を行い、さらに各個人の卵巣より得た複数個の卵泡液から得られるパラメーター間の偏差についても検討を行った。

得られた卵泡液量の平均液量は $4.77 \pm 2.65$  mlであり、白人女性症例から得たもの( $3.54 \pm 1.74$  ml)<sup>6)</sup>より若干多いものの有意差は認められなかった。一方、測定を行った各パラメーターは白人女性の場合に比べて $1/3 \sim 1/10$ 位の低値であった(表1)。この結果は人種間差とも考えられるが、両実験に用いた卵泡液を得た施設間の排卵誘発プロトコル差、とくにhMG投与量の差によるとも考えられる。いずれにせよ両実験ともに例数が少ないため、今後実験例数を増加させ、正確な位置付けをする必要がある。

米国でIVF-ETを行った患者より得た卵泡液を用いて測定した結果、卵泡液総量あたりで相関関係が得られた組み合わせ6通りは<sup>6)</sup>すべて今回の研究でも相関関係が認められ、良く一致することが確認された。同様に卵泡液1 mlあたりの場合の一致率も66.7% (2/3)であった。しかし、前研究では卵泡液1 mlあたりでも総量あたりでも相関性が認められなかった、エストリオールについて、測定したすべてのパラメーターに対して卵泡液総量あたりで相関性が認められた(表2)。また、エストラジオールの場合にも同様に測定パラメーターに対して高い相関性を示すものが多く認められた(表2)。著者らはIVF-ET施行患者の採卵前日の血清を用い、エストロゲン類と受精率、妊娠率などとの関係について多変量解析を行い、血清中の結合性エストリオール量がこれらと強い関連性があることを示した<sup>10)</sup>。すでに著者らはヒト卵泡液中にはプラスミノゲンと結合しているトリプシン(EC 3.4.21.4)様酵素のインヒビター(プロティナーゼインヒビター)が存在することをみいだし、このインヒビターも卵泡液中の遊離エストリオールと相互作用が認められることを明らかにしている<sup>11)</sup>。これらの結果は、卵泡液中のエストロゲン類、とくにエストリオール量が排卵の最終段階をつかさどるプロティナーゼカスケード、とくにプラスミノゲン活性を調整していると考えられる卵泡液中のプロティナーゼインヒビター<sup>11)</sup>に対し影響を与えている可能性を示唆するものと考えられる。またこの過程は血清中のエストロゲン量とも相互に関連していると推察される<sup>10)</sup>。血清中のエストロゲンは排卵前に上昇することはすでに知られている<sup>12)</sup>、この

変動と卵泡液中のエストロゲン量、とくにエストリオールの変動の関連性についての検討は成されておらず、今後追究すべき課題である。

両側卵巣より5例以上の卵泡液が得られた5症例について各パラメーター間(表3)の個人差の有無についてt検定を行った(表4)。その結果、エストラジオールは卵泡液1 mlあたりでも総量あたりでも大きな有意差率が得られ(それぞれ8/10および5/10)、卵泡液中のエストラジオール量には大きな個人差があることが明らかとなった。さらに、卵泡液1 mlあたりについては、Val-Leu-Arg-pNA水解活性(5/10)とプラスミノゲン(7/10)に、また総卵泡液量あたりではBz-Arg-pNA水解活性(5/10)に高い有意差率が認められることも明らかとなった(表4)。一方、エストロンおよびエストリオールは有意差が認められた割合が低値を示すことから、これらの物質の卵泡液内濃度および総量は変動が少ないことが明らかになった。以上の結果、成熟卵泡液中のエストリオールは個人の両側卵巣より得られた卵泡液内の濃度の変動も少なく、その症例間偏差も少ないこと、さらに、結合性エストリオールはIVF-ET後における受精率、妊娠率あるいは流産率との間に関連性が認められること<sup>10)</sup>から、エストロゲン類、とくに遊離型あるいは結合性エストリオールの血中あるいは卵泡液中の分別モニターはIVF-ETの施行前後の管理に有用と考えられる。

## 文 献

- 1) LeMaire WJ, Curry TE, Morioka N, et al. (1987) Regulation of ovulation processes. In: Primate ovary, Plenum Publishing, pp91-109
- 2) Morioka N, Zhu C, Brannstrom M, et al. (1989) Mechanism of mammalian ovulation. Prog Clin Biol Res 294: 65-85
- 3) Mukaida T, Yemini M, Matsuda Y, et al. (1995) Separation of tissue plasminogen activator, plasminogen and other arginine amidases from human follicular fluid and their plasminogen activation ability. Jap J Fertil Steril 40: 452-457
- 4) 高橋孝行 (1993) 卵巣の濾胞成熟とプロティナーゼ. 生化学 65: 1425-1429
- 5) Kobayashi T, Park J-Y, Matsuda Y, et al. (1991) Detection of arginine esterase activity in human follicular fluid. Human Reprod 8: 1030-1033
- 6) Mukaida T, Matsuda Y, Katayama M, et al. (1995) Relationship among arginine amidases including tissue plasminogen activator and estrogens in human follicular fluid. Jpn J Fertil Steril 40: 26-33

- 7) Mukaida T, Morioka N, Zhu C, et al. (1992) Plasminogen activation of collagenase during ovulation in perfused rat ovary. *Matrix Suppl* 1: 402-404
- 8) Katayama M and Taniguchi H (1993) Determination of estrogens in plasma by high performance liquid chromatography after pre-column derivatization with 2- (4-carboxyphenyl) -5, 6-dimethylbenzimidazole. *J Chromatog* 616: 317-322
- 9) Amundsen E, Putter J, Friberger P, et al, (1979) Methods for determination of glandular kallikrein by means of a chromogenic tripeptides. In: Fujii S, Moriya H, Suzuki T (eds), *Adv Exp Med Biol Vol 120 A*, "kinin II" Plenum Press, New York, pp83-95
- 10) Katayama M, Taniguchi H, Matsuda Y, et al. (1996) Monitoring of estrogens in serum from in vitro fertilization embryo transfer (IVF-ET) treatment patients by high performance liquid chromatography with 2- (4-carboxyphenyl) -5, 6-dimethylbenzazole as pre-labeling reagent. *Human Reprod*, in press
- 11) 山口武人, 松田兆史, 秋濱澄行 他 (1995) 卵胞液中に含有されるトリプシンインヒビターについて *日不妊会誌* 40: 658
- 12) 五十嵐正雄 (1978) 婦人の常態内分泌学, 内分泌婦人科学, 南山堂, pp119-134  
(受付: 1996年2月19日)  
(受理: 1996年5月15日)

### Behaviors of arginine amidase activities and estrogens in human follicular fluid

Shien-Kung Lee

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

Masatoki Katayama and Hirokazu Taniguchi

Department of Analytical Chemistry, Meiji College of Pharmacy, Tokyo 154, Japan

Yoshifumi Matsuda and Sumiyuki Akihama

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

Izumi Hara and Hirohisa Sato

Tachikawa Kyousai Hospital, Tokyo 190, Japan

We have performed biochemical analyses of 49 human follicular fluid (HFF) samples. The HFF volume, Bz-Arg-pNA and Val-Leu-Arg-pNA amidolytic activities, plasminogen and estrogens such as estrone ( $E_1$ ), estradiol ( $E_2$ ) and estriol ( $E_3$ ) were measured as parameters in this study. The average HFF volume was  $4.77 \pm 2.65$  ml.

The amounts of estriol ( $E_3$ ) and Val-Leu-Arg-pNA amidolytic activity had correlation with other parameters tested ( $p < 0.01$ ). Correlations were also seen among the amounts of plasminogen and other parameters except estrone ( $E_1$ ) ( $p < 0.01$ ), and among the amounts of Bz-Arg-pNA amidolytic activity and other parameters except estradiol ( $E_2$ ) ( $p < 0.01$  or  $p < 0.05$ ). These results suggested that the estrogens, especially estriol related to the proteinase cascade for final stage of ovulation. The t-test was performed for detection of significant difference in a parameter of individual samples ( $n < 5$ ). The amount of estradiol in individual HFF had high significant differences, while the amounts of two types of arginine amidase activity showed no significant differences and lower CV values.

**Key words:** Human follicular fluid (HFF), Arginine amidase activity, Plasminogen, Estrogen

# THE EFFECT OF COMBINED MEDICATION OF TRIPHASIC ORAL CONTRACEPTIVE WITH AN ANTI-LIPID AGENT, LOVASTATIN, ON PLASMA LIPID LEVELS

Mehmet COLAKOGLU

Department of Obstetrics and Gynecology  
Selchuk University Medical School, Konya, Turkey

Hideya KODAMA and Toshinobu TANAKA

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

---

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the changes in plasma lipid levels in the women medicated with triphasic oral contraceptive (TOC) alone or together with a lipid-lowering agent, lovastatin.

Sixty women who were nonsmokers and hoped to use oral contraceptive (OC) were randomly classified into two groups. One group consisted of 30 women medicated with TOC (levonorgestrel and ethinyl estradiol) alone, and another group, 30 women medicated with a combination of TOC and lovastatin, 20 mg daily. The medication was continued for three months, and plasma lipid levels were determined before and after medication. In the group medicated with TOC alone, the triglyceride levels significantly ( $p < 0.05$ ) increased from  $90 \pm 4$  mg/dl to  $157 \pm 7$  mg/dl, whereas there was no significant increase in the group medicated with a combination of TOC and lovastatin (from  $105 \pm 5$  to  $113 \pm 7$  mg/dl).

We proposed that, for users of TOC with some risk factors associated with cardiovascular disease, such as heavy smoking, a combined use of an anti-lipid, lovastatin, may lessen the elevating effect of TOC on serum triglyceride levels, and may reduce the risk of atherosclerotic diseases.

**Key words:** contraception, lipid, oral contraceptive, anti-lipid agent

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 317 - 320, 1996)

---

## Introduction

High incidences of atherosclerotic disease in users of oral contraceptives (OC) have been demonstrated in several previous studies<sup>1-4</sup>). Recently, in order to lessen the risk of complications, the preferred method of OC administration has changed from monophasic to biphasic or triphasic, in order to reduce the amounts of sex steroids in the tablets. Administration of levonorgestrel and ethinyl estradiol, one of the widely used OCs in a monophasic mode, has a tendency to increase low density lipoprotein (LDL) and apoprotein B, and to decrease high

density lipoprotein (HDL) and apoprotein A. However, triphasic administration of this OC has demonstrated no significant changes in HDL, LDL or apoprotein B, although it sometimes increases apoprotein A<sup>4,5-9</sup>). Lovastatin is one of the newly developed lipid-lowering compounds. Lovastatin exerts its lipid-lowering effect through two pathways. First, as a consequence of its reversible inhibitory action on hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase, lovastatin reduces biosynthesis and intracellular pooling of cholesterol. Second, lovastatin reduces LDL production in the liver, by inhibiting synthesis of VLDL, the precursor of LDL<sup>3,10,11</sup>).

Because lovastatin decreases the levels of plasma lipids, we have focused on whether lovastatin is effective in protecting the user from unfavorable OC effects on lipid metabolism. Up to now, we have not found any studies regarding use of antilipid agent for OC users.

The aim of this study is to investigate changes in plasma lipid levels in women medicated with triphasic OC (TOC) alone or together with lovastatin, in order to determine the utility of this lipid-lowering agent in TOC users.

### Materials and Methods

This investigation was performed at the Department of Obstetrics and Gynecology, Selchuk University Medical School, between October 1992 and March 1994. Sixty women who did not smoke and hoped to use OC were randomly classified into two groups. One group comprised 30 women with an average age of  $27.5 \pm 1.0$  (ranging from 21 to 39), who were medicated with TOC (administration of 0.05 mg levonorgestrel and 0.03 mg ethinyl estradiol daily for the first 6 days, 0.075 and 0.04 mg daily for the subsequent 5 days, and 0.125 and 0.03 mg for the

final 10 days). Another group consisted of 30 women with an average age of  $28.0 \pm 0.7$  (ranging from 20 to 39), who were medicated with TOC (described above) and the anti-lipid agent, lovastatin at 20 mg/day, together. Demographic and clinical characteristics of the patients did not differ between the two groups (Table 1). Medication was continued for 3 months, and serum levels of HDL, LDL, triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) were assayed before and after medication. Commercially available kits for determination of TG and TC were purchased from Biotrol (Paris, France). Kits for determination of HDL and LDL were purchased from CPD (MI, USA) and Boehringer Mannheim (Frankfurt, Germany), respectively. The assays were performed with a Technicon RA-XT auto analyzer.

Values were expressed as mean  $\pm$  standard error. Student's t-test was used for statistical analyses. Statistical significance was determined at a 5 % level.

### Results

Serum lipid concentrations in the two groups are shown in Table 1. Three months' medication of TOC alone significantly ( $p < 0.05$ ) increased serum TG

Table 1 Characteristics of patients in the two groups

	TOC alone (n = 30)	TOC+lovastatin (n = 30)	Significance
Age (years)	$27.5 \pm 1.0$	$28.0 \pm 0.7$	NS
Height (cm)	$160 \pm 16$	$159 \pm 16$	NS
Weight (kg)	$67 \pm 3$	$65 \pm 4$	NS
Blood pressure (mmHg)	$140 \pm 6 / 92 \pm 5$	$145 \pm 6 / 85 \pm 5$	NS
Gravida	$5.2 \pm 0.4$	$4.8 \pm 0.7$	NS
Para	$4.7 \pm 0.3$	$4.9 \pm 0.7$	NS

TOC = triphasic oral contraceptive, NS = not significance.

Table 2 Plasma lipid concentrations before and after the TOC medication in the two groups

	TOC alone (n = 30)		TOC + lovastatin (n = 30)	
	before	after	before	after
LDL (mg/dl)	$138 \pm 6$	$143 \pm 5$	$146 \pm 7$	$104 \pm 8$
HDL (mg/dl)	$47 \pm 3$	$51 \pm 2$	$48 \pm 3$	$55 \pm 3$
TC (mg/dl)	$167 \pm 5$	$166 \pm 4$	$190 \pm 7$	$184 \pm 9$
TG (mg/dl)	$90 \pm 4$	$157 \pm 7^*$	$105 \pm 5$	$113 \pm 7$

\* $p < 0.05$  versus the level before.

TOC = triphasic oral contraceptive, LDL = low density lipoprotein, HDL = high density lipoprotein, TC = total cholesterol, TG = triglyceride.

levels from  $89.5 \pm 3.9$  mg/dl to  $157.0 \pm 7.3$  mg/dl, whereas 3 months' medication of TOC with lovastatin did not increase TG levels (from  $105 \pm 5$  to  $113 \pm 7$  mg/dl, not significant). The levels of LDL and HDL increased slightly after medication in the group with TOC alone, but the differences did not reach significant level. The levels of LDL and TC slightly decreased in the group medicated with TOC and lovastatine, but the difference was not significant.

### Discussion

In this study, we investigated the effect of medication of TOC alone or together with an anti-lipid agent, lovastatin, on plasma lipid levels. Recently, the amounts of sex steroids for OCs have been reduced to eliminate the risk of complications. When healthy women below the age of 40 who do not smoke take a TOC, the overall risks are minimal. For women below 35 years old, the synergistic effect of smoking and OC on atherosclerotic disease appears to be negligible. Several studies demonstrated that effect of TOC on the levels of serum lipids is smaller, when compared to that of monophasic OC<sup>3, 12-14</sup>. So far, however, there is not enough data on the efficacy of lovastatin in users of OC. Our present study demonstrated that administration of TOC alone did not affect the levels of serum LDL, but increased the levels of TG. Administration of TOC together with lovastatin alleviated the elevating effect of TOC on plasma TG levels. One of the side effects of lovastatin is the elevating effect on serum transaminases, when used for a long period. We did not encounter this complication in this study group, probably because the duration of medication was rather short<sup>1, 15, 16</sup>. High dose OCs induce hypertension in approximately 5% of users<sup>17-18</sup>. Recent studies have indicated that even though administration of small amounts of estrogen (30  $\mu$ g) daily slightly increased blood pressure, it does not increase the incidence of clinically recognized cases of hypertension<sup>19</sup>. We propose that, for users with high risk factors associated with cardiovascular disease, such as heavy smoking, the combined use of an anti-lipid agent, lovastatin, may alleviate the elevating effect of TOC on the plasma lipid levels and,

thereby, reduce the risk of atherosclerotic diseases. However, because our results were based on a study over a rather short period and because lovostatin sometimes causes side effects, whether administration of lovastatin for long period is truly beneficial to OC users has yet to be determined.

### References

- 1) Schaefer EJ, Foster DM, Zech LA, et al. (1983) The effect of estrogen administration on plasma lipoprotein metabolism in premenopausal females. *J Clin Endocrinol Metab* 57: 262-267
- 2) Kay C (1979) Circulatory disease in association with oral contraceptive use. *Lancet* 2 (8141): 521
- 3) Knopp RH, Wolden CJ, Wath PW, et al. (1982) Effects of oral contraceptives on lipoprotein triglyceride and cholesterol: Relationships to estrogen and progesterone patency. *Am J Obstet Gynecol* 142: 725-731
- 4) Bradley DD, Wingend J, Petiti DB, et al. (1978) Serum high-density lipoprotein cholesterol in women using oral contraceptives, estrogens and progestogens. *N Engl J Med* 299: 17-20
- 5) Porter JB, Hunter JR, Jick H (1985) Oral contraceptives and non fatal vascular disease. *Obstet Gynecol* 66: 1-4
- 6) Fotherby K (1987) Effect of oral contraceptives on lipid metabolism, In: Genazzam AR, Volpe A, Facchinetti F (eds) *Gynecological Endocrinology*, The Parthenon Publishing Group, New Jersey, pp 393-398
- 7) Gaspard U (1987) Metabolic effects of oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol* 157: 1029-1041
- 8) Kloosterboer HJ, van Wayjen RGA, van den Ende A (1986) Comparative effects of monophasic desogestrel plus ethinyloestradiol and triphasic levonorgestrel plus ethinyloestradiol on lipid metabolism. *Contraception* 34: 135-144
- 9) Gaspard UJ, Buret J, Gillian DJ et al. (1985) Serum lipid and lipoprotein changes induced by new oral contraceptives containing ethinyloestradiol plus levonorgestrel or desogestrel. *Contraception* 31: 395-408
- 10) Ziegler R (1987) Endooskrinologische Erkrankungen. In: Schettler G (ed), *Innere Medizin*. Band I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp 439-443
- 11) Tikkanen MJ, Nikkila EA, (1987) Regulation of hepatic lipase and serum lipoproteins by sex steroids. *Am Heart J* 113: 562-566
- 12) Mann JI, Vessey MP, Thorogood M, et al. (1975)

- Myocardial infarction in young woman with special reference to oral contraceptive practice. *Br Med J*, 2: 241-245
- 13) Patch W, Kim K, Wiest W, et al. (1980) Effects of sex hormones on rat lipoproteins. *Endocrinology*, 107: 1085-1094
- 14) Percival-Smith RKL, Morrison BJ, Sizto R (1987) The effect of triphasic and biphasic oral contraceptive preparations on HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in young women. *Contraception* 35: 179-187
- 15) Lipson A, Stoy DB, La Rosa JC (1986) Progestogens and oral contraceptive study. *Contraception* 34: 121-134
- 16) Powell MG, Hedlin AM, Corskus I, et al (1984) Effects of oral contraceptives on lipoprotein lipids: a prospective study. *Obstet Gynecol* 63: 764-770
- 17) Meade TW, Haines AP, North WRS, et al. (1977) Haemostatic, lipid and blood pressure profiles of women on oral contraceptives containing 50  $\mu$ g or 30  $\mu$ g oestrogen. *Lancet* ii:948-951
- 18) Burkman RT, Robinson JC, Kruszon-Moran D, et al. (1988) Lipid and lipoprotein changes associated with oral contraceptive use; A randomized clinical trial. *Obstet Gynecol* 71: 33-38
- 19) Kovacs L, Bartfai G, Apro G, et al. (1986) The effect of the contraceptive pill on blood pressure: a randomized controlled trial of three progestogen-oestrogen combination in Szeged, Hungary. *Contraception* 33: 69-77
- (受付: 1995年6月14日)  
(受理: 1996年5月15日)

### 3 相性経口避妊薬内服女性における抗高脂血漿剤投与の意義

コンヤ医科大学産婦人科学教室  
マハメット・コラコグル

秋田大学医学部産婦人科学教室  
児玉英也, 田中俊誠

本研究は、3相性経口避妊薬を内服する女性に、抗高脂血漿剤である lovastatin を併用することの意義を明らかにする目的で行った。

60名の経口避妊薬の内服を希望する女性を30名ずつの2群に分け、一方は経口避妊薬 (levonorgestrel および ethinyl estradiol の混合製剤) 単独、一方は経口避妊薬と lovastatin を併用した。内服は3か月間継続し、その前後で血漿脂質濃度を比較した。経口避妊薬単独群では血漿トリグリセライドの値が内服前後で  $90 \pm 4$  から  $157 \pm 7$  mg/dl に上昇 ( $p < 0.05$ ) したが、lovastatin を併用した群では有意な上昇は認めなかった (内服前  $105 \pm 5$  から後  $113 \pm 7$  mg/dl)。

以上より、経口避妊薬の内服を希望する女性に抗高脂血漿剤を併用することは意義のあることと考えられ、とくに高度の喫煙者などの心血管系合併症の危険の高い患者には有意義と考えられた。

キーワード: 避妊, 脂質代謝, 経口避妊薬, 抗高脂血漿剤

# 不妊治療中に経験した 高プロラクチン血症をともなったリンパ球性下垂体炎の1例

## Lymphocytic Hypophysitis with Hyperprolactinemia: A Case Report

山梨医科大学産科婦人科学教室

木下俊彦 笠井剛 水野薫子  
Toshihiko KINOSHITA Tuyosi KASAI Kaoruko MIZUNO  
安水洗彦 加藤順三  
Takehiko YASUMIZU Junzou KATO

Department of Obstetrics and Gynecology  
Yamanashi Medical University, Yamanashi 409-38, Japan

不妊治療中にリンパ球性下垂体炎の診断をし得た症例を経験した。症例は37歳の女性、高プロラクチン血症(血中プロラクチン値: 50~150 ng/ml)をともなった原発性不妊症のため治療を行っていたが、経過中に両側の耳側視野欠損と下垂体腫瘍の増大を認めた。下垂体腫瘍の生検を行い、リンパ球性下垂体炎と診断された。

リンパ球性下垂体炎は女性に多く発症し、とくに妊娠・産褥期に発見される。非妊娠例での報告はこれまでにまれ(約6%)であるが、高プロラクチン血症の原因としてリンパ球性下垂体炎を考慮すべきことが認識された。

**キーワード:** リンパ球性下垂体炎, 高プロラクチン血症

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 321 - 324, 1996)

### 緒言

不妊治療においては高プロラクチン血症を呈し、下垂体腫瘍を認める例をしばしば認める。その場合、原因疾患としては下垂体腺腫の頻度が最も高いが、リンパ球性下垂体炎も同様の臨床所見を呈するため鑑別疾患のひとつとしてあげられている。しかしリンパ球性下垂体炎は1962年の発表以来約50例の報告があるにすぎず、きわめてまれな疾患である<sup>1)</sup>。本症は女性に発症することが多いが、その75%が妊娠や分娩後に関連した例であり、非妊娠例は報告が少ない<sup>2)</sup>。病因としては自己免疫機序が関与していると考えられるが、治療法を含め詳細は不明である。我々は不妊治療中にトルコ鞍内の腫瘍の生検にて診断し得たリンパ球性下垂体炎の1例を経験したので報告する。

### 症例

37歳, 身長162cm, 体重51kg。  
月経歴: 初経12歳, 35日型周期。  
既往歴: 他院にて平成元年より高プロラクチン血症(50~150 ng/ml)を指摘されていた。CT検査にて下垂体腺腫と診断されプロモクリプチン(2.5 mg/日)の投与を受けていた。また軽度の視力低下と視野障害を自覚していたが、眼症状に関しては検査を受けることなく放置していたため詳細は不明である。  
結婚: 平成2年。  
経過: 平成4年9月に原発性不妊症のために受診した。卵管は両側ともに通過し、精子の性状にも異常所見は認められなかった。プロモクリプチンを投与されていたために、当科受診時のプロラクチン値は3 ng/mlと正常値であった。しかし治療方針としては、過去のプロラクチン値を考慮してプロモクリプチン投与を継続した。プロモクリプチン投与中は排

卵が確認された。

平成5年9月になって急激な視力低下 ( $V=0.01$ ) と両側の耳側視野欠損を訴えたために当院脳外科に検査入院した。その結果、MRI検査にて下垂体に径約10mmのenhanced lesionを認めたが、症状は自然に軽快したため視神経炎によるものと診断され、ステロイド剤の内服にて症状は寛解した。

その後、プロモクリプチンの投与は中止していたが、プロラクチン値が37ng/mlと上昇したために、平成6年1月からプロモクリプチン、クロミフェン療法を開始したところ、平成6年2月に妊娠したが自然流産に終わった。

平成6年3月、再度視力低下 ( $V=0.01$ ) とともに両側の耳側視野欠損がみられ、下垂体腫瘍径もMRI検査にて径約14mmと増大したために当院脳外科にて経蝶形骨洞手術が行われた。トルコ鞍内は弾性硬の結合織に占められていたが、術中の迅速病理検査にてリンパ球性下垂体炎が疑われたため、下垂体腫瘍の生検のみで終了した。術後の組織学検査にてリンパ球浸潤をともなう炎症像と著明なfibrosisとがみられ、リンパ球性下垂体炎と確定診断された(図1)。術後プレドニゾロン20mg/日の内服にて眼症状は消失した。

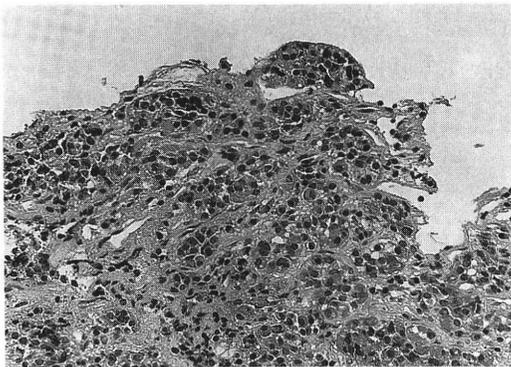


図1 下垂体生検組織像

著明なfibrosisとリンパ球浸潤をともなう炎症像がみられる(HE染色×400)

平成5年9月および平成6年3月の下垂体ホルモン値を表1, 2に示すが、いずれにおいても機能低下は認められなかった。また血中の抗下垂体抗体は陰性であった。

## 考 察

リンパ球性下垂体炎は1962年にGoudieらが報告して以来約50例の報告をみるのみであり、まれな病態である。報告例の96%は女性であり、平均年齢は28歳(17歳~69歳)といわれている。その多くは妊娠産褥期に発症しており、非妊娠例は6%にみるに過ぎない<sup>2)</sup>。

リンパ球性下垂体炎には慢性甲状腺炎、副腎炎や悪性貧血などの自己免疫疾患を合併することが多く報告され、病因のひとつとして下垂体を場とした自己免疫機序が想定されている<sup>1,3,4)</sup>。自己抗体としての抗下垂体抗体陽性例や抗核抗体、抗胃壁抗体などの陽性例も報告されている<sup>3)</sup>。さらにラットでは下垂体組織によるアレルギー性下垂体炎の誘発例が報告されており、自己免疫機序によるリンパ球性下垂体炎の発症を裏付けるものとして注目されている<sup>4)</sup>。しかしながら、妊娠時や産褥期に発症することが多いことと自己免疫機序との関連性は十分に解明されているわけではない。

病理組織学的には下垂体前葉へのリンパ濾胞形成をともなうリンパ球の瀰漫性浸潤と下垂体腺細胞の萎縮、間質の線維化が主体であり、肉芽腫や多核巨細胞を認めないことが特徴とされる。Shanklinは正常下垂体前葉ではリンパ球は認められないと述べて

表1 検査データ(平成5年9月)

TSH	2.5 $\mu$ U/ml
GH	2.2 ng/ml
PRL	50.1 ng/ml
ACTH	58.6 pg/ml
LH	2.2 mIU/ml
FSH	4.9 mIU/ml
抗下垂体抗体	陰性

表2 検査所見(平成6年3月)

LH-RH 負荷試験 (mIU/ml)	前値	30分	60分	90分	120分
		LH	2.0	13.0	17.1
FSH	3.7	6.0	8.7	8.6	11.3
TRH 負荷試験 (ng/ml)	前値	30分	60分	90分	120分
		PRL	8.5	80.2	62.3

LH-RH 100  $\mu$ g, TRH 500  $\mu$ g 負荷

いる<sup>5)</sup>。したがって、下垂体前葉にリンパ球の浸潤を認めることは病理学的には明らかに異常所見といえる。現在のところ確定診断には病理検査所見が必須である。また下垂体機能の予後を推測する上で前葉構造の破壊と線維化の程度は有用であるといわれ、病理所見はきわめて重要である。

臨床症状としてはトルコ鞍内腫瘍による頭痛、視力障害、視野欠損、複視などがみられる。この他、下垂体機能の低下に基づく副腎皮質機能低下、甲状腺機能低下、性腺機能低下がみられる。非妊娠例では、無月経や乳汁漏出で発症し、高プロラクチン血症が認められることが多い。この高プロラクチン血症は腫瘍による下垂体茎の圧迫の結果、PIF分泌が抑制されたためと考えられる。我々の経験した例は非妊娠時にみられたリンパ球性下垂体炎であり、従来の報告通り高プロラクチン血症が認められた。しかしながらクロミフェン投与により排卵誘発が可能であったことから、下垂体機能は低下していなかったものと判断された。これまでも、少数例ではあるが、正常な下垂体機能を有するリンパ球性下垂体炎が報告されている<sup>4)</sup>。

本疾患は臨床像や画像診断からは下垂体腫瘍と診断されることが多い。その鑑別診断はきわめて困難であるといわれ、摘出標本によってのみ鑑別される。今回も術前の診断は困難であったが、これまでの眼症状が自然軽快を繰り返しており、腫瘍による典型的な圧迫所見とは異なっていた点は下垂体炎を疑わせるものであった。

副腎不全による死亡例が報告されており、下垂体機能の低下例では早期に副腎皮質ホルモンや甲状腺ホルモンの補充療法を開始することが勧められる。下垂体機能の低下していない例においては治療法は不明であるが、自然寛解に至る例もあるため、内分泌的検査とともに画像診断を加えながら経過観察を

していくこととなる。しかし、視力・視野障害や頭痛などの症状が増悪傾向を示す場合には、手術的処置を考慮すべきであること、さらにリンパ球性下垂体炎の確定診断は組織学的所見のみによって可能であることから、これまでの報告例では手術的処置をとっている例が多い。一方では、下垂体腫瘍は自然経過で縮小することもあるので、手術はできるだけ行わないか、あるいは生検にとどめておくことも勧められている<sup>3)</sup>。本例でも症状の変化にもなって手術が行われたが、術中の迅速病理組織検査の所見をもって生検のみにとどめた。下垂体の摘出による下垂体機能の悪化を防止する点からも、迅速病理組織検査を活用し最小限の手術を行うことが望まれる。

本例は下垂体機能の低下はないため、術後に一時使用したプレドニゾロンも中止して、現在外来通院中であるが、今後も慎重な経過の観察を行っていく予定である。

## 文 献

- 1) Goudie RB and Pkerton PH (1962) Anterior hypophysitis and Hashimoto's disease in a young woman. *J Pathol Bacteriol* 83: 584-585
- 2) Feigenbaum SL, Martin MC, Wilson CB, et al. (1991) Lymphocytic adeno-hypophysitis: A pituitary mass lesion occurring in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 164: 1549-1955
- 3) Cosman F, Post KD, Holub RA, et al. (1989) Lymphocytic hypophysitis. *Medicine* 68: 240-2564
- 4) Levine S (1967) Allergic adeno-hypophysitis: new experimental disease of the pituitary gland. *Science* 158: 1191-1192
- 5) Shanklin WM (1951) Lymphocytes and lymphoid tissue in the human pituitary. *Anat Rec* 111: 177-185

(受付：1996年2月14日)

(受理：1996年5月17日)

---

**Lymphocytic hypophysitis with hyperprolactinemia: A case report**

Toshihiko Kinoshita, Tuyosi Kasai, Kaoruko Mizuno  
Takehiko Yasumizu and Junzou Kato

Department of Obstetrics and Gynecology  
Yamanashi Medical University, Yamanashi 409-38, Japan

Lymphocytic hypophysitis, a rare disease, usually presenting symptoms associated with pregnancy. A non-pregnancy - associated case is described. Patient's physical examination revealed hyperprolactinemia and visual field defects. MRI showed a large pituitary mass with suprasellar extension. The biopsy specimens of pituitary mass showed infiltration with lymphocytes, plasmacells and fibrosis. After operation patient had prednisone therapy. The patient's visual field returned to normal. Lymphocytic hypophysitis should be included in the differential diagnosis of hyperprolactinemia with pituitary mass.

**Key words:** lymphocytic hypophysitis, hyperprolactinemia

---

## 輸送条件がマウス胚の発生に与える影響について —Transport ART方式に関する基礎的検討—

### Effect of the Transport Conditions on the Development of Mouse Embryo —Basic Study on the Transport ART System—

東邦大学医学部第1産科婦人科学教室

中野 英之	安部 裕司	池永 秀幸
Hideyuki NAKANO	Yuji ABE	Hideyuki IKENAGA
雀部 豊	久保 春海	平川 舜
Yutaka SASABE	Harumi KUBO	Shun HIRAKAWA

First Department of Obstetrics and Gynecology  
Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan

顕微授精や受精卵凍結ができる施設のセンター化を目的に、簡便な胚輸送法の基礎的検討を行った。

検討した輸送用培養液、輸送条件は、HTF培養液中に胚を入れ、輸送状態として大気相に放置した群 (HTF, in air群)、修正HTF培養液中に胚を入れ、輸送状態として大気相に放置した群 (m-HTF群)であり、対照群はHTF中に胚を入れて携帯用ポンペにより5% CO<sub>2</sub>下の輸送状態で放置した群であった。マウス体内受精後期2細胞期胚を各条件下で1, 3, 5時間放置後培養器で継続培養し胞胚を偽妊娠雌マウスの子宮に移植した。

1, 3, 5時間群の胚発育、移植成績は対照群とm-HTF群に有意差がなく、HTF, in air群が有意に抑制された。また、マウス体外受精後期2細胞期胚、前核期胚についても同様の輸送実験を行ったが、胚発育は対照群とm-HTF群に有意差がなく、HTF, in air群が有意に抑制された。また体外受精前核期胚より継続培養した胞胚の移植実験でも移植成績は対照群とm-HTF群に有意差を認めなかった。

以上より、5時間以内であれば修正HTF培養液を使用することで、37℃、大気相中の簡易胚輸送が可能であることが示唆された。

**キーワード：**Transport ART, 胚輸送, 修正HTF培養液, マウス

(Jpn. J. Fertil. Steril., 41 (3), 325 - 333, 1996)

#### 緒 言

近年、顕微授精や凍結胚のように、高度な熟練と設備を要する生殖技術がassisted reproductive technology (ART)として臨床応用されるようになり、実施可能な施設が限定されようとしている。このためこれらの医療サービスを受けることを希望する患者は遠距離通院や長期滞在を余儀なくされ、家庭生活、社会生活に多大の支障をきたしている。これに対して、高度なART設備を持った施設を核にセンター化し、周辺のクリニックをサテライトとすることにより、そこで採取した卵をセンターへ輸送し、ART実

施後、受精卵を移植するTransport IVFが欧米各国でシステム化されてきている<sup>1-7)</sup>。現在、日本では200か所以上の体外受精(IVF)関連施設があるが、そのほとんどが大都市に集中しており、さらに顕微授精などの高度なART設備の整った施設はその1/10程度である。これらの高度ART施設をセンターとし、周辺地域の診療所をサテライトとするTransport ART方式を設計した場合、交通手段、交通事情を考慮して、少なくとも3時間程度の輸送時間を設定する必要があると考えられる。

今回我々はTransport ART方式の基礎研究目的で、未受精卵より環境因子に鋭敏な初期胚の安全かつ簡

便な輸送方式および輸送可能時間を、マウス胚を用いて検討した。さらに従来のTransport方式は未受精卵の輸送のみに限定されていたが、今回初期胚の輸送も臨床応用することを目的として検討した。

### 材料および方法

輸送状態と同一条件を設定するために、輸送用コンテナとして、試験的に富士平工業社製の細胞培養輸送器を胚保管用に実験に供した(図1)。本コンテナは充電式バッテリー方式の保温装置により37℃の定温が保てる。

輸送実験に使用した培養液は、HTF培養液<sup>8)</sup>(HTF, Irvine Scientific, USA)と修正HTF培養液<sup>9,10)</sup>(modified HTF, m-HTF, Irvine Scientific, USA)を用いた。両培養液とも3 mg/ml bovine serum albumin (BSA)を添加して使用した。両培養液の組成は基本的に同じであるが、相違点はCO<sub>2</sub>インキュベーター用のHTFにはbufferとして25.0 mM NaHCO<sub>3</sub>を添加しているのに対して、m-HTFは大気相中でのpHの安定を目的に、21.0 mM HEPES bufferを添加していることである。

輸送用コンテナに収納した短試験管(Falcon #2058)内の各培養液1 ml中に下記要領で採取した後期2細胞期胚(体内, 体外受精卵)および体外受精前核期卵を20個ずつ入れtight capで密栓して、輸送時間を1, 3, 5時間と設定後、下記の各条件下で輸送実験を行った。検討した輸送条件は胚をHTFに入れ、37℃, 大気相とした群(HTF, in air群)、胚をm-HTF中に入れ、同様に37℃, 大気相に放置した群(m-HTF群)であり、対照群として胚を入れた短試験管を密栓せず開放系としてHTF中で携帯ポンベにより5% CO<sub>2</sub>, 95% air下で放置した群とした。各群とも設定時間の輸送実験終了後、IVFセンター内に搬送された状態を仮定してCO<sub>2</sub>インキュベーターで37℃, 5% CO<sub>2</sub>, 95% air, 100%湿度条件下で培養を継続し、各

実験区におけるその後の発生率を観察した。また、recipientへの移植実験を行い胎仔への発生を検討した。各実験区とも正常形態胚を1回につき20回使用し、再現実験を5回ずつ繰り返し行った。

#### 1. 体内受精卵採取, 輸送, 胚移植

Donor/recipientとして、4~6週齢Crj: CD-1 (ICR)系雌マウスを人工昼夜(8:00~20:00点灯)下で飼育し、8~10週齢にて使用した。マウスにPMSG(セロトロピン®, 帝国臓器)5 IU, hCG(ゴナトロピン®, 帝国臓器)5 IUを48時間間隔で投与し、過排卵誘起を行い、10~12週齢の雄ICRマウスと同ケージ内でオーバーナイトさせた。翌朝腔栓形成を確認し(day 1), 2 cell block回避のためhCG投与44時間後に卵管を摘出し、近位端からフラッシングにより後期2細胞期胚を採取した。実体顕微鏡(×40)にて形態観察を行い、均等分割で割球内に核の存在を認めた胚を実験に供した。後期2細胞期胚は採取後、上記各条件下で輸送実験を行い、輸送時間終了後HTFにて十分に洗浄、センター内条件下で継続培養を行った。採卵24時間, 48時間, 72時間後にそれぞれ4細胞期胚, 桑実胚, 胞胚への発育を観察した。

偽妊娠誘起には8~10週齢, 雌マウスの発情周期を確認後、精管結紮雄と同ケージ内でオーバーナイトさせ、腔栓形成を確認したものをrecipient(偽妊娠day 1)とした。偽妊娠day 4のrecipientに採卵後72時間の各実験区胞胚を移植した。ペントバルビタールナトリウム麻酔下(50 mg/kg: ネプタール®, 大日本製薬)に背部切開を行い両側子宮角にそれぞれ3~5個の胞胚を注入した。偽妊娠day 18に屠殺し着床痕, 胎仔数を確認, 胎仔体重の測定を行った。

#### 2. 体外受精卵採取, 輸送, 胚移植

体外受精用培地としてHTF, m-HTFは2-cell block解除の目的で100 $\mu$ M EDTA-2Naを添加したものをを用いた。

雌マウスにPMSG 5 IU, hCG 5 IUを48時間間隔で投与し、hCG投与後約16時間で卵管膨大部の切開により卵子を採取した。体外受精法は豊田らの方法に準じた<sup>11)</sup>。すなわち、10~12週齢のICR雄マウスを媒精2時間前に頸椎脱臼により屠殺、精巢上体尾部精子を採取し、流動パラフィン下の培地に浮遊させ、受精能獲得を誘起するため1~2時間の前培養を行った。前培養終了後、精子浮遊液を精子最終濃度が150 cells/ $\mu$ lとなるように卵子浮遊培地に添加した。受精の判定は、媒精後約6時間で第2極体放出、雌雄前核形成が認められたものとした。

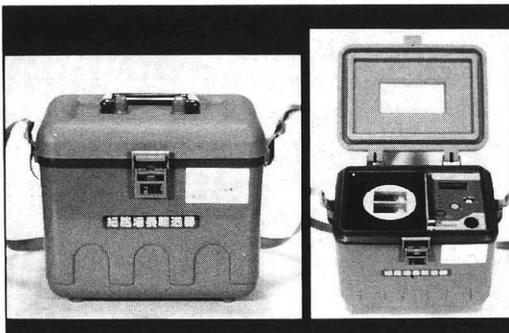


図1 細胞培養輸送器

これらの前核期胚に対し、以下の実験を行った。

1) 後期2細胞期胚による検討

これらの前核期胚を、HTF中で37℃、5% CO<sub>2</sub>、95% air、100%湿度条件下で24時間培養した。実体顕微鏡(×40)にて形態観察を行い、均等分割で割球内に核の存在を認めた後期2細胞期胚を実験に供した。これらの2細胞期胚に対し、上記と同様の各条件下で輸送実験を行った。輸送実験後、継続培養を行い、培養24時間、48時間、72時間後に4細胞期胚、桑実胚、胞胚を観察し、体内受精胚の結果と比較した。

2) 前核期胚による検討

さらに後期2細胞期胚よりも環境因子に鋭敏であると考えられる前核期胚に対し、前核確認直後に上記と同様の輸送実験を行い、細胞周期による差を比較した。同一条件下で前核期胚輸送実験後、継続培養を実施し、採卵24時間、48時間、72時間、96時間後に2細胞期胚、4細胞期胚、桑実胚、胞胚を観察した。

また同様に培養96時間後の胞胚を偽妊娠雌マウスに移植して、偽妊娠day 18に屠殺し着床痕、胎仔数を確認、胎仔体重の測定を行った。

各群の有意差は胎仔体重はt検定で、他はχ<sup>2</sup>検定で検討した。

結 果

1. 体内受精胚による検討

1) 培養成績

輸送条件1時間群：対照群の4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ98%、98%、97%であった。HTF、in air群ではそれぞれ98%、98%、84%と、対照群に比べ胞胚形成率が有意に低下した(p<0.01)。m-HTF群ではそれぞれ98%、98%、95%と、対照群と有意差は認められなかった(図2)。

輸送条件3時間群：対照群の4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ98%、98%、97%であった。HTF、in air群ではそれぞれ99%、91%、74%と胞胚形成率が有意に低下した(p<0.01)。m-HTF群ではそれぞれ98%、98%、95%であり、対照群との有意差は認められなかった(図3)。

輸送条件5時間群：対照群の4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ98%、98%、96%であった。HTF、in air群ではそれぞれ65%、23%、14%と4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率すべて有意に低下した(p<0.01)。m-HTF群ではそれぞれ98%、98%、94%と、対照群との有意差は認められなかった(図4)。

2) 移植成績

移植：胚発育成績が良好であった対照群とm-HTF群に対してさらに移植を行い着床率、胎仔形成率、胎仔体重を比較した。移植は各群10匹の偽妊娠雌に対して行い、胎仔形成数を移植胞胚数で除して胎仔形成率を算出した。

輸送条件1時間群：移植を行った胞胚数は、対照群97個、m-HTF群95個で、着床率、胎仔形成率は対照群で93.8%、76.3%、m-HTF群で94.7%、75.8%で

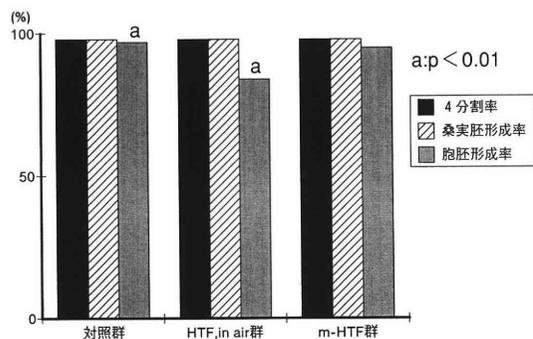


図2 輸送条件1時間群の胚発生率

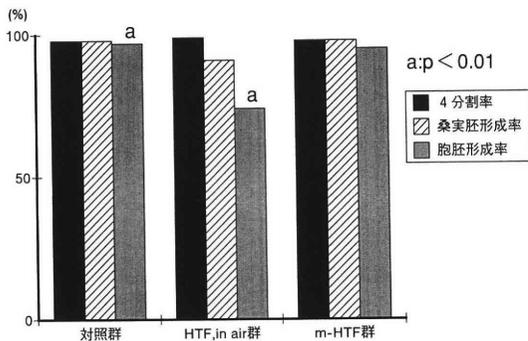


図3 輸送条件3時間群の胚発生率

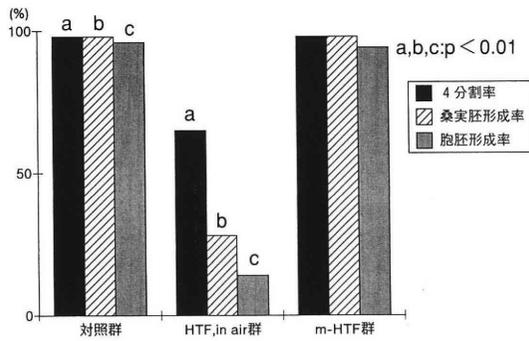


図4 輸送条件5時間群の胚発生率

あった。両群に有意差は認められなかった(図5)。胎仔体重は対照群が $1.34 \pm 0.07$  g, m-HTF群が $1.33 \pm 0.08$  gで有意差は認められなかった。両群とも外表奇形は見られなかった。

輸送条件3時間群：移植を行った胞胚数は、対照群97個, m-HTF群95個で、着床率、胎仔形成率は対照群で93.8%, 75.3%, m-HTF群で93.7%, 66.3%で

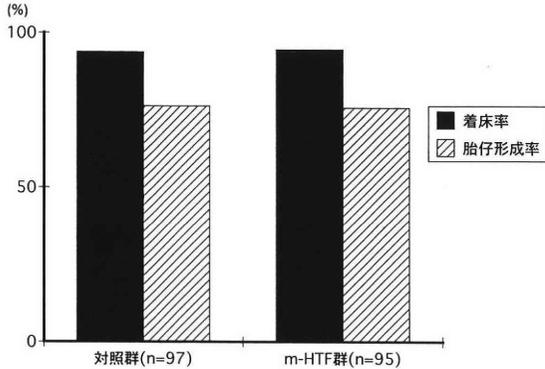


図5 輸送条件1時間群の着床率、胎仔形成率

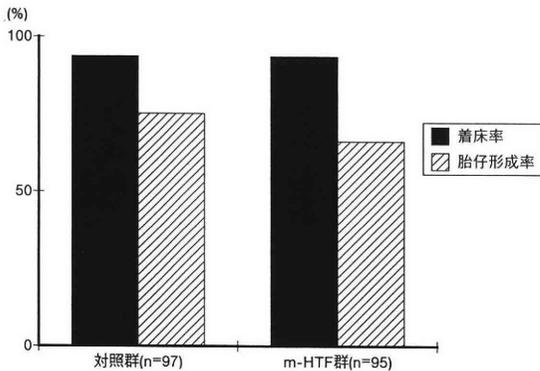


図6 輸送条件3時間群の着床率、胎仔形成率

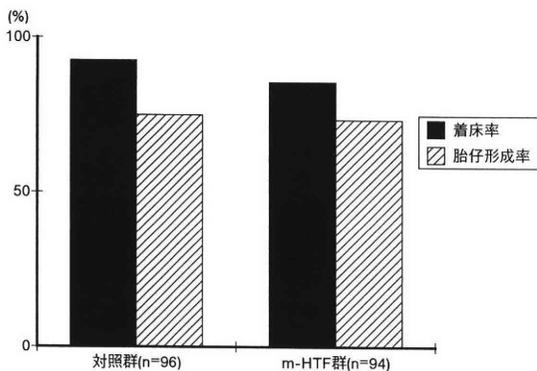


図7 輸送条件5時間群の着床率、胎仔形成率

あった。両群に有意差は認められなかった(図6)。胎仔体重は対照群が $1.30 \pm 0.07$  g, m-HTF群が $1.29 \pm 0.05$  gで有意差は認められなかった。また両群とも外表奇形は見られなかった。

輸送条件5時間群：移植を行った胞胚数は、対照群96個, m-HTF群94個で、着床率、胎仔形成率は対照群で92.7%, 75.0%, m-HTF群で85.1%, 73.4%であった。両群に有意差は認められなかった(図7)。胎仔体重は対照群が $1.30 \pm 0.06$  g, m-HTF群が $1.31 \pm 0.05$  gで有意差は認められなかった。また両群とも外表奇形は見られなかった。

2. 体外受精胚(2細胞期胚)による検討

輸送条件1時間群：対照群の4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ91%, 90%, 88%であった。HTF, in air群ではそれぞれ91%, 88%, 64%と、対照群に比べ胞胚形成率が有意に低下した(p<0.01)。m-HTF群ではそれぞれ95%, 91%, 85%と対照群と有意差は認められなかった(図8)。また対照

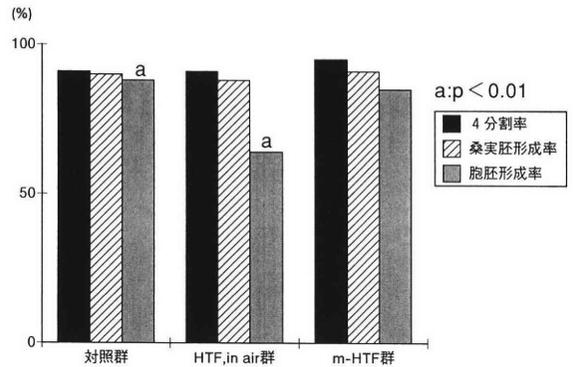


図8 輸送条件1時間群の体外受精胚(2細胞期胚)発育率 (n=100)

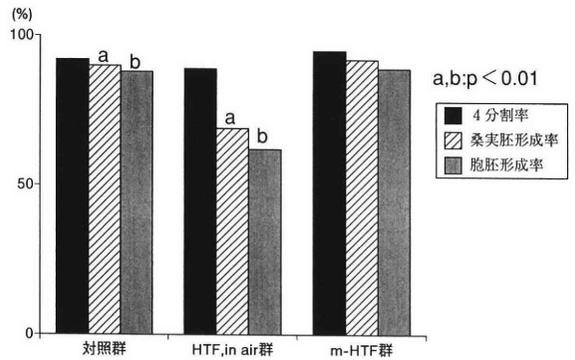


図9 輸送条件3時間群の体外受精胚(2細胞期胚)発育率 (n=100)

群とm-HTF群を、それぞれ体内受精胚による検討での対照群とm-HTF群と比較しても、有意差を認めなかった。

輸送条件3時間群：対照群の4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ92%、90%、88%であった。HTF, in air群ではそれぞれ89%、67%、62%と、桑実胚形成率、胞胚形成率が有意に低下した(p<0.01)。m-HTF群ではそれぞれ95%、92%、89%であり、対照群との有意差は認められなかった(図9)。

輸送条件5時間群：対照群の4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ96%、93%、89%であった。HTF, in air群ではそれぞれ50%、30%、15%と4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率すべて有意に低下した(p<0.001)。m-HTF群ではそれぞれ94%、92%、90%と対照群との有意差は認められなかった

(図10)。対照群とm-HTF群を、それぞれ体内受精胚による検討での対照群とm-HTF群と比較しても、有意差を認めなかった。

### 3. 体外受精胚(前核期胚)による検討

#### 1) 培養成績

輸送条件1時間群：対照群の2分割率、4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ96%、89%、86%、75%であった。

HTF, in air群ではそれぞれ94%、87%、83%、60%と、対照群に比べ胞胚形成率が有意に低下した(p<0.01)。m-HTF群ではそれぞれ95%、91%、85%、73%と対照群と有意差は認められなかった(図11)。

輸送条件3時間群：対照群の2分割率、4分割率、桑実胚形成率、胞胚形成率はそれぞれ97%、88%、85%、76%であった。HTF, in air群ではそれぞれ96%、85%、70%、60%と、桑実胚形成率、胞胚形成率が有意に低下した(p<0.01)。m-HTF群ではそれぞれ97%、89%、83%、74%であり、対照群との有意

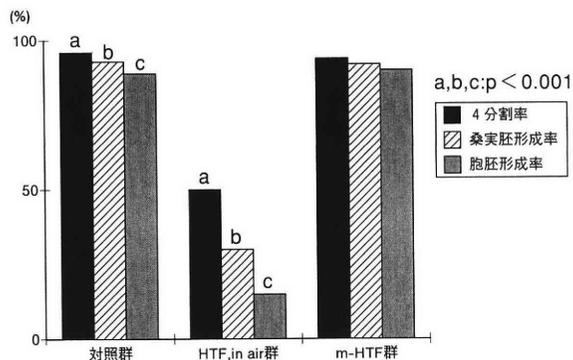


図10 輸送条件5時間群の体外受精胚(2細胞期胚)発育率(n=100)

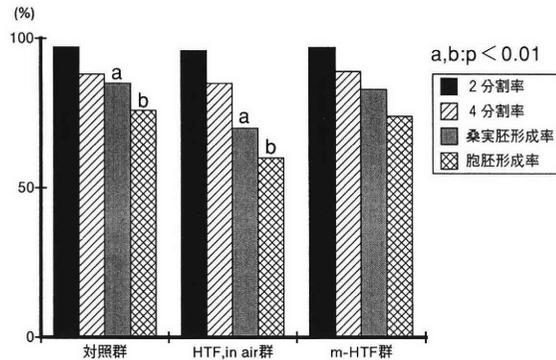


図12 輸送条件3時間群の体外受精胚(前核期胚)発育率(n=100)

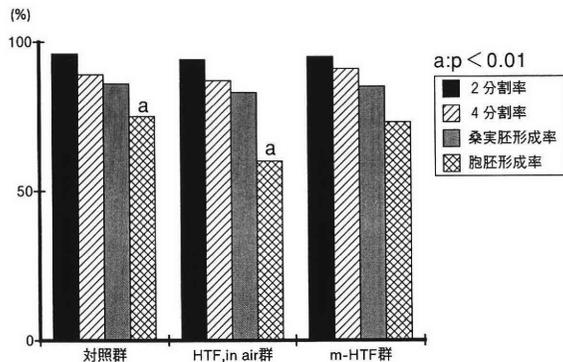


図11 輸送条件1時間群の体外受精胚(前核期胚)発育率(n=100)

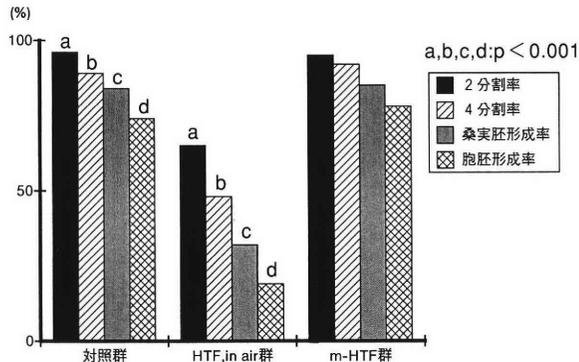


図13 輸送条件5時間群の体外受精胚(前核期胚)発育率(n=100)

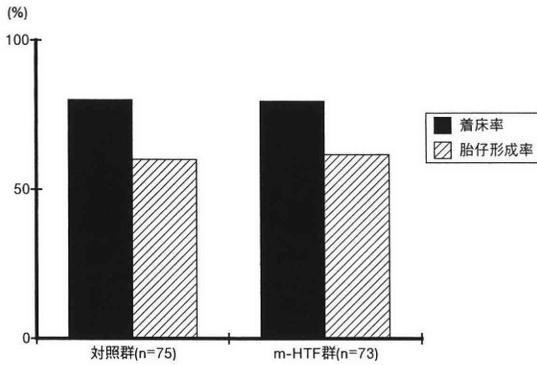


図14 輸送条件1時間群の体外受精胚着床率, 胎仔形成率

差は認められなかった(図12).

輸送条件5時間群: 対照群の2分割率, 4分割率, 桑実胚形成率, 胞胚形成率はそれぞれ96%, 89%, 84%, 74%であった. HTF, in air群ではそれぞれ65%, 48%, 32%, 19%と2分割率, 4分割率, 桑実胚形成率, 胞胚形成率すべて有意に低下した ( $p < 0.001$ ). m-HTF群ではそれぞれ95%, 92%, 85%, 78%と対照群との有意差は認められなかった(図13).

## 2) 移植成績

移植: 胚発育成績が良好であった対照群とm-HTF群に対してさらに移植を行い着床率, 胎仔形成率, 胎仔体重を比較した. 移植は各群10匹の偽妊娠雌に対して行い, 胎仔形成数を移植胞胚数で除して胎仔形成率を算出した.

輸送条件1時間群: 移植を行った胞胚数は, 対照群75個, m-HTF群73個で, 着床率, 胎仔形成率は対照群で80.0%, 60.0%, m-HTF群で79.5%, 61.6%であった. 両群に有意差は認められなかった(図14). 胎仔体重は対照群が $1.34 \pm 0.07$  g, m-HTF群が $1.34 \pm 0.07$  gで有意差は認められなかった. また両群とも明らかな外表奇形は見られなかった.

輸送条件3時間群: 移植を行った胞胚数は, 対照群76個, m-HTF群74個で, 着床率, 胎仔形成率は対照群で81.6%, 60.5%, m-HTF群で79.7%, 59.5%であった. 両群に有意差は認められなかった(図15). 胎仔体重は対照群が $1.32 \pm 0.07$  g, m-HTF群が $1.30 \pm 0.07$  gで有意差は認められなかった. 両群とも明らかな外表奇形は見られなかった.

輸送条件5時間群: 移植を行った胞胚数は, 対照群74個, m-HTF群78個で, 着床率, 胎仔形成率は対照群で81.1%, 59.5%, m-HTF群で82.1%, 64.1%であった. 両群に有意差は認められなかった(図16). 胎

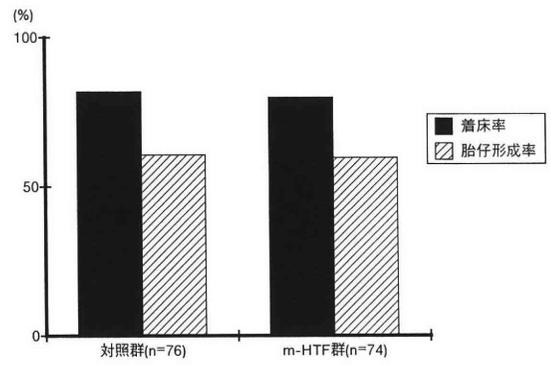


図15 輸送条件3時間群の体外受精胚着床率, 胎仔形成率

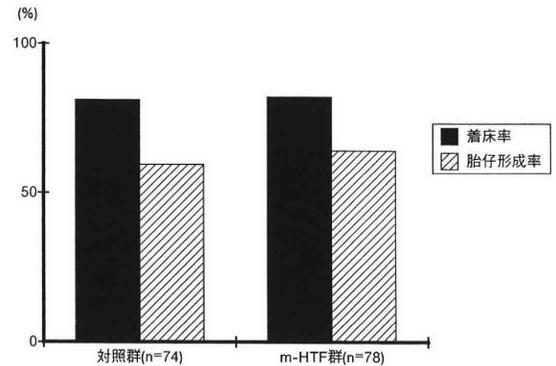


図16 輸送条件5時間群の体外受精胚着床率, 胎仔形成率

仔体重は対照群が $1.29 \pm 0.07$  g, m-HTF群が $1.29 \pm 0.07$  gで有意差は認められなかった. また両群とも明らかな外表奇形は見られなかった.

## 考 察

胚や配偶子を輸送するという概念は古くから, すでに畜産関係における分野で実施されている. しかし, 畜産関係の輸送の目的は品種改良のための別個体への移植が主であり, 輸送方法もほとんどが凍結保存輸送である. ヒト配偶子, 胚では卵採取同一個体への胚移植が原則であり, Transport方式の目的からしても新鮮胚, 配偶子の状態での輸送が第1選択となる.

ヒトTransport IVFは1983年にオランダで試験的に実施され, 1985年には公的機関でこの方式が認可された. その後, ヨーロッパ諸国ではこの方式が広く浸透している. しかしヨーロッパでは輸送用コンテナとともにCO<sub>2</sub>ポンベを使用しているため, 輸送

用コンテナを搭載した専用の輸送車が必要となり、コンテナの個人の携帯は困難である。Bookerらはイギリスにおいて、バッテリー内蔵の培養器を車に搭載し、CO<sub>2</sub>ボンベを使用せず、卵子を卵胞液ごと25 km, 40分間輸送すると報告している<sup>1-3)</sup>。またVerhoeffらは、ロッテルダム(オランダ)からゲント(ベルギー)まで、卵胞液とともに卵子を車で約2時間輸送していると報告している<sup>4-6)</sup>。Sterzikらはドイツにおいて、培養液に入れた卵子を短試験管に詰め、患者の腔内に入れ車で約2時間輸送すると報告している<sup>7)</sup>。これらの報告では、Transport IVFの受精率、妊娠率は通常のIVFと差がないということである。しかしこれらの報告は卵子の輸送に関してであり、胚の輸送まで行った報告は見あたらない。今回我々は、胚移植をサテライト施設で行うことを前提に胚輸送の基礎的検討を行った。胚の輸送に関してはCO<sub>2</sub>ボンベを使用し培養環境を安定させるのが理想的であるが、その重量などにより、携帯は不便となる。しかしHTF液を大気相で使用した場合、1時間マウス胚を放置しただけでも体内受精胚、体外受精胚ともに胚胞形成率が低下したことから、CO<sub>2</sub>ボンベを使用せず、HTF液中に胚を入れて輸送する場合は1時間が限界と考えられる。輸送の装備は可能な限り軽量かつ簡易なものにするためCO<sub>2</sub>ボンベを使用せず、長時間の輸送を可能にするための最適な輸送条件、輸送方法を検討した。

体内受精により得たマウス後期2細胞期胚および体外受精2細胞期胚をm-HTF、大気相下に1, 3, 5時間放置した場合、胚発育は良好であった。さらに環境要因により鋭敏な体外受精前核期胚でも同様であった。またこの成績はHTF、5% CO<sub>2</sub>で放置したものと有意差がなかった。一方HTFを大気相で使用した場合、短時間でも胚胞形成率に悪影響が出ることが確認できた。これは、21.0 mM HEPESがNaHCO<sub>3</sub>に比し、大気相中では強い緩衝作用を持ち、かつ胚発育に影響を与えないためと考えられる。

さらにm-HTF群における体内受精後期2細胞期胚および体外受精前核期胚より発生した胞胚の胚移植を施行したが、m-HTFは着床率、胎仔形成率、胎仔体重に影響を与えず、外表奇形の発生は見られなかった。このことから21.0 mM HEPESは胎仔形成にも影響を与えないことがわかった。

以上のごとく体外受精初期胚でも、体内受精胚と同様に良好な発生能が得られたことから、5時間以内の胚の輸送用培養液としてはm-HTFが適していること、また輸送条件としては37℃、大気相中で充分で

あり、重く携帯に不便なCO<sub>2</sub>ボンベを使用する必要がないことが示唆された。

今回Transport ART方式の実験モデルとして、ICR系マウス体内受精胚および卵管卵体外受精胚を用いた。卵胞卵を用いるマウス体外受精系はいまだ確立されておらず、通常マウスIVFには卵管卵が用いられる。このため、ヒトと同じ卵胞卵を用いることは実験系そのものが不安定となるため、卵胞卵輸送実験は行わなかった。また今回卵管卵を輸送した後にIVF実験をしなかったのは、マウス卵管卵は排卵直後よりagingによる受精能低下が指摘されており<sup>8)</sup>、輸送条件の検定には不相当であると考えられたためである。初期受精卵は未受精卵よりも温度、光、pH、活性酸素ならびに宇宙線などの培養環境や有害物質に鋭敏に反応し、発生、分化能に影響を受けることが知られている<sup>9,10)</sup>。このためin vitroにおける環境変異原物質の発生毒性実験は通常初期胚が用いられている。また体外受精胚は体内受精胚よりも発生能が低いことから、同一培養および輸送条件下で両者を比較検討する必要があった。これらの理由から、今回、体内、体外受精初期胚による輸送実験を行い、最適条件を設定した。この設定条件は当然卵子に対しても適切であると考えられ、今回の設定条件下でm-HTFによる卵子輸送は十分可能であると思われる。

一方、別の胚輸送法として、短試験管にガス相を飽和させてHTFを充填し、密閉容器を使用した閉鎖系による輸送方法も考慮されるが、m-HTFを使用することで、より簡易な胚輸送が可能であると考えられる。

この結論に基づき、1995年10月より実際にTransport ART方式を当科がARTセンターとなり、周辺診療所をサテライトとして開始した。ARTの適応は日本産科婦人科学会基準を満たした症例であり、患者夫婦にインフォームドコンセントを得た後、夫による卵子/胚輸送で輸送時間は1.5~2.0時間程度であるが、現在までに6例に実施し、2例(IVF-ET 1例、ICSI 1例)の正常妊娠を得ている。

## 文 献

- 1) Booker MW, Tucker J, Hewitt D, et al. (1992) Transport in vitro fertilization and embryo transfer: the Mayday University Hospital programme. *J Reprod Fertil Abstr Ser* 10: 42
- 2) Kingsland CR, Aziz N, Taylor CT, et al. (1992) Transport in vitro fertilization — a novel scheme for community-based treatment. *Fertil Steril* 58: 153-158

- 3) Booker MW (1993) Transport in-vitro fertilization and embryo transfer. *Brit J Hosp Med* 50: 369-370
- 4) Roest J, Verhoeff A, Zeilmaker G, et al. (1995) Oocytes-Will Travel? *Fertil Steril* 63: 682
- 5) Verhoeff A, Logmans A, Leentveld RA, et al. (1992) Transport IVF and satellite transport IVF: one laboratory and several clinics, results of 860 ovum pick-ups. *Hum Reprod* 7 (2 Suppl) : 296-297
- 6) Jansen CAM, VanBeek JJ, Verhoeff A, et al. (1986) In vitro fertilization and embryo transfer with transport of oocytes. *Lancet* 1: 676
- 7) Sterzik K, Rosenbusch B, Noss U (1993) First pregnancies after intravaginal transport and partial zona dissection of human oocytes 60: 582-584
- 8) Austin CR (1964) Aging and reproduction: post-ovulatory deterioration of the egg. *J Reprod Fertil* 12: 39-53
- 9) Whitten WK (1970) Nutrient requirements for the culture of preimplantation embryos in vitro. *Advances Biosciences* 6: 129-133
- 10) Whittingham DG (1971) Culture of mouse ova. *J Reprod Fertil (suppl)* 14: 7-21
- 11) Quinn P, Wales RG (1973) Growth and metabolism of preimplantation mouse embryos cultured in phosphate-buffered medium. *J Reprod Fertil* 35: 289-300
- 12) Quinn P, Warnes GM, Kerin JF, et al. (1984) Culture factors in relation to the success of human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 41: 202-209
- 13) Mahadevan M, Fleetham J, Church R, et al. (1986) Growth of mouse embryos in bicarbonate media buffered by carbon dioxide, Hepes, or phosphate. *J In-Vitro Fertil Embryo Transfer* 3: 304-330
- 14) 豊田 裕, 横山峰介, 星冬四郎 (1971) マウス卵子の体外受精に関する研究. I. 精巢上体精子による受精成績. *家畜繁殖誌* 4: 147-151
- 15) 雀部 豊, 久保春海, 安部裕司 他 (1992) 高張糖液処理の胚発生に与える影響について. *日本受精着床会誌* 9: 208-210
- 16) 安部裕司 (1988) マウス体外受精卵の移植成績に及ぼす環境因子と子宮内膜相関の検討. *日産婦誌* 40: 821-827

(受付:1996年3月4日)

(受理:1996年5月20日)

---

**Effect of the transport condition on the development of mouse embryo**  
**— Basic study on the Transport ART system —**

Hideyuki Nakano, Yuji Abe, Hideyuki Ikenaga, Yutaka Sasabe,

Harumi Kubo and Shun Hirakawa

First Department of Obstetrics and Gynecology

Toho University School of Medicine, Tokyo 143, Japan

The aim of this study was to assess the most suitable condition of human embryo transport system. The conditions for transport experiment using with mouse (Crj: CD-1 (ICR) ) embryos fertilized in vivo or in vitro were as follows; 1) HTF medium kept 37 °C in air atmosphere, 2) modified HTF medium which contained 21.0mM HEPES (m-HTF) kept 37 °C in air, 3) HTF medium kept in 37 °C, 5 %CO<sub>2</sub> in air (control) .

Twenty of the late two-cell stage embryos fertilized in vivo were incubated with different ways described above in a transport container for 1, 3, and 5 hrs. After transportation, they were cultured with a regular condition in CO<sub>2</sub>-incubator and observed the development to four-cell, morula, and blastocyst stage. The blastocysts were transferred to the bilateral uterine horn of pseudopregnant mice and assessed the implantation and growth rate of the fetus.

The developmental rate was as follows: Developmental rate to blastocysts kept in the HTF medium for 1, 3, and 5 hrs was significantly reduced in the order of transported time, compared to that of control. But there was no significant difference on the development to four-cell, morula and blastocyst between the group kept in the modified HTF for 1, 3, and 5 hrs and that of control.

The implantation and growth rate after transfer to pseudopregnant mice were no difference between the embryos kept in the m-HTF for 1, 3, and 5 hrs and that of control.

Mouse embryos (pronuclear & late two cell stage) fertilized in vitro were examined in the same manner. There was no significant difference on the development to blastocysts between the group kept in m-HTF and that of control. The implantation and growth rate of pronuclear stage embryos fertilized in vitro were no differences between the group kept in the modified HTF and that of control. However the developmental and implantation rate of in vitro fertilized embryos kept in HTF was significantly reduced than that of control group.

Above all, the condition using with modified HTF medium maintained 37 °C in air is suitable to transport mouse embryos for maximal five hours, therefore it is obvious that heavy mixed gas cylinder is unnecessary for embryo transport, at least, in mouse.

**Key words:** Transport ART, transport condition, modified HTF medium, mouse embryo

---

# 地方部会講演抄録

## 第113回 日本不妊学会関東地方部会

日時：平成8年1月20日(土) 午後1時～  
場所：東京都；「きゅりあん」(品川区立総合区民会館)

### 1. 最近経験した46,XXmaleの1症例

○吉田 淳, 中島耕一, 野澤英雄  
永尾光一, 石井延久, 三浦一陽  
白井將文 (東邦大第1泌尿器)

46,XXmaleとは、表現型は男性型だが、染色体の核型は46,XXと女性型のもので、本来Y染色体の短腕上にあるsex-determining region of the Y chromosome (SRY) 遺伝子が、X染色体上または常染色体上に座位しているものである。46,XXmaleの発生頻度は男子新生児17,000人あたり1人であると報告されており、我々の施設では無精子症患者401人あたり4人(1.0%)であった。

今回、5例目の46,XXmaleを経験したので報告する。症例は、32歳、男性。主訴は不妊。現病歴は、平成7年6月29日、不妊のため他院を来院し、無精子症と診断され当院を受診。結婚期間は24か月。不妊期間は12か月。学歴は短大卒で、ひげは毎日剃る。性欲、勃起、射精、絶頂感は正常で、性交回数は月に2回程度。現症は、身長160cm、体重65kg、指極159cm。女性化乳房はなく、陰毛はやや粗。精巣容積は、左6ml、右6ml。精液検査は無精子症。血清FSH、40.0mIU/ml。LH、6.4mIU/ml。PRL、2.3ng/ml。テストステロン、8.24ng/ml。精巣組織はSertoli cell only。

本症例では、PCR法によりSRY遺伝子を持つていることが明らかになったが、今後SRY遺伝子がどの染色体上に座位しているかを検索する予定である。

### 2. 助産婦学生の受胎調節に関する意識調査

○木村好秀 (三楽病院産婦)

助産婦の教育過程には、将来、受胎調節実施指導員として活動できるような講義と実技が含まれている。今回、助産婦学生を対象として受胎調節に関する意識を調査したので報告する。

対象は平成7年5月、都内および近県14校の助産婦学生302名で、受胎調節指導に関する合同講義の終了後、演者が作成したアンケート用紙を配布し、290名(96%)から回答を得た。

学生の平均年齢23.1±3.1歳で、未婚279名、既婚

11名。臨床経験者は136名(46.9%)、分娩介助経験者46名(15.9%)が含まれていた。助産婦志望動機は生命の誕生に立ち会える、赤ちゃんが好き、母性にかかわれるの順であった。受胎調節法の重要項目は安全、确实、簡単な順で、その指導には助産婦が適している(82%)とし、いままで考えていた避妊法はコンドーム、BBT、オギノ式の順で、将来指導する避妊法にピル、IUDが加わっている。低用量ピルは61%が認識し、84%が状況に応じて勧め、31%が自身で使用するなどの回答を得た。

### 3. 当院における反復子宮外妊娠例の検討

○黒川弘子, 川内博人, 釵持 稔  
石井尊雄, 金井督之, 中居光生  
西島正博 (北里大産婦)

1975年から1995年までの21年間に当科で治療した子宮外妊娠471例のうち、外妊を2回以上反復した49例について検討した。49例中、2回反復が46例、3回反復が3例で、これらはすべて卵管妊娠の反復だった。

この49例の初回子宮外妊娠時の治療内容は、44例(89.8%)が卵管切除で、5例(10.2%)には保存的治療を施行していた。初回到卵管を切除された44例のうち次回妊娠時にも切除治療を受けたものが18例、保存的治療を実施したものが26例であった。この26例のうち8例に治療後妊娠が成立したが、子宮内妊娠は5例(19.2%)で、3例(37.5%)が3回目の子宮外妊娠となった。初回到保存的治療を施行した5例の次回子宮外妊娠時の治療は、切除が2例、再度保存的治療を施行したものが3例で、それぞれ1例ずつその後子宮内妊娠の成立が得られ、子宮外妊娠の反復はなかった。また子宮外妊娠のRisk factorとしては、卵管周囲癒着を有する例で、危険性の高いことが明らかとなった。

### 4. 妊娠に至った早発閉経の1例

○高橋範子, 栃木明人, 石井裕子  
宮川康司, 古屋清英, 坂元秀樹  
佐藤和雄 (日本大産婦)

早発閉経は生殖年齢にありながら内分泌学的には閉経婦人と同様の状態となり、早期に閉経してしまう病態で、妊娠に対しては難治性の疾患のひとつであるといわれている。今回、早発閉経で治療により妊娠に至った症例を報告する。

症例は26歳，主婦，20歳ごろより無月経となり近医にて時々ホルモン治療を受けていた。結婚後，挙児希望があり，精査治療目的にて当院受診となる。子宮はやや發育不良，hypergonadotropic hypogonadismを呈し，第Ⅱ度無月経であった。自己免疫疾患に関する検査には異常を認めず，腹腔鏡検査で卵巣は軽度索状，組織検査では原始卵胞を認めなかった。治療はkaufmann療法さらにはGn-RHa投与後にhMG-hCGで排卵し妊娠に至った。早発閉経の原因は明らかではないが，根気強く治療をする必要がある。

## 5. 不妊症における子宮内膜ポリープ治療例の検討

○児島孝久 (アモルクリニック)

子宮鏡検査を実施した不妊915例中，内膜ポリープの治療を施行した30例を対象とした。平均33.3歳，不妊期間6.3年で，不妊因子は内膜症2例，男性不妊4例，卵管因子2例，PCO2例，頸管因子4例，原因不明が16例であった。

不妊因子と考えられた症例を治療の対象とし，静脈麻酔下に胎盤鉗子による捻除術または搔爬術を施行した。ポリープの分類は多発性3例，3～7ポリープ11例，単発性14例で，病理検査でEMポリープ17例，増殖期内膜6例，hyperplasia 3例，ガン1例であった。術後子宮鏡を実施した10症例中，多発性の1例に再発がみられた。術後妊娠例は計6例で，AIH妊娠4例，hCG妊娠1例，自然妊娠1例で，妊娠までの期間は3・3・5・7・7・12か月であった。経腔超音波上ポリープが疑われたのは5例あり，全例単発性であった。

不妊症915例中，治療を要したポリープは30例(3.2%)で，治療後6例が妊娠に至り，1例は内膜ガンであった。また，多発性は治療後の再発と悪性の可能性を考慮する必要があるが，一方，単発性は経腔超音波で不規則な内膜像として描写されやすかった。

## 6. 多因子不妊の妊娠の一例

○小野寺潤子，安達知子，原 誠

武田佳彦 (東京女子医大産婦)

岩下光利 (同 母子センター)

甲状腺機能低下症に高プロラクチン血症，子宮内膜ポリープ，乏精子症を合併した多因子不妊の1例を経験したので報告する。

症例は33歳の原発不妊で，TSH 183  $\mu$ U/mlと高値，fT4 低値，マイクロゾームテスト1600倍，高プロラクチン血症より，原発性甲状腺機能低下症，橋本病

と診断した。子宮卵管造影にて内腔に突出する大きな陰影欠損を認め，ヒステロファイバースコープで子宮内膜ポリープと診断した。また夫は精子濃度1500万/mlと乏精子症を認めた。橋本病に対して甲状腺ホルモン剤を投与して甲状腺機能の正常化をはかり，この治療にともなってプロラクチン値は低下した。また乏精子症があるためAIHを10回施行したが妊娠に至らないため，ヒステロファイバースコープ下に子宮内膜ポリープを切除した。AIH21回目で妊娠し，妊娠38週にて2630gの女児を正常分娩した。

## 7. 不妊症例におけるsonohysterographyの有用性

○藤脇伸一郎，斉藤寿一郎，渡辺潤一郎

代田琢彦，平井邦彦，押田守弘

石田徳人，松本一彦，石塚文平

雨宮 章 (聖マリアンナ医大産婦)

1994年4月から1995年12月までにSonohysterography (SHG)を用いて診断した子宮内膜ポリープ75例について検討を加えた。

子宮内膜ポリープで不妊症例は61.3% (46/75)を占めた。この中の60.9% (28/46)に過多月経が指摘されたが，貧血は認めなかった(12.1  $\pm$  1.5g/dl)。不妊症例の妊娠例は19.6% (9/46)であり，治療例は22.2% (6/27)，未治療例では15.8% (3/19)と有意差を認めなかった。妊娠例の内訳は，1例が自然流産，6例が妊娠継続中，2例が経腔分娩にて生児を獲得している。また，妊娠成立周期はSHG施行後3周期以内が多く，全例で6周期以内の妊娠成立だった。

今回の検討では，他の不妊因子の存在にかかわらず子宮内膜ポリープ例の妊娠率は，治療例と未治療例で有意差を認めることができなかった。しかし，SHGや子宮内容清掃術を行うことによって妊娠が成立する症例があるため，今後症例数の増加を待っての再検討が必要と思われた。

## 8. 習慣流産患者における第XIII因子測定の意義

○高橋 純，岩崎真也，根本泰子

松林秀彦，小林俊文，吉村泰典

(慶応大産婦)

血液凝固第XIII因子欠損症患者の妊娠では，必ず流産することが知られている。そこで，今回我々は当院不育症外来に通院中の患者119人について，ラテックス凝集反応を利用したダイアヤトロン社LPIA100システムを使用し血液凝固因子のひとつである第XIII

因子を測定, 習慣流産と関係があるか否かを検討した。

第XIII因子の測定値平均は習慣流産患者群76%, 健康成人群81%で, 両者の間に有為差を認めず, 第XIII因子欠損症は発見されなかった。しかし, 当院で定めた正常範囲の最低値50%以下であったのは8症例(6.7%)であり, 第XIII因子欠乏症の妊娠予後調査から, 今後その真の臨床的意義が明らかにされるものと思われる。また, 同時に測定した抗リン脂質抗体価, APTT, PTの結果より, 第XIII因子測定が他の習慣流産ルーチン検査とオーバーラップしない新しい検査項目であることが示唆された。

### 9. Sperm Quality AnalyzerによるSperm Motility Indexの経時的変化

○宇津木利雄, 伊吹令人 (群馬大産婦)

射精された精液の検査までの時間についてWHOマニュアルには1時間以内に行うよう記載されている。Sperm Quality Analyzerにて2時間以内での測定値が時間経過とともにどのように推移するか検討した。

SMI値が2時間以内で81以上の場合は6ないし7時間後でもほとんど低下は見られなかった。80以下の症例では時間経過とともに低下が観察され, 不良精子は減少が著明であった。

精液採取は検査施設内での採取が推奨されているが, 自宅で採取された精液でも, とりわけ良好精子では, 射精後6時間~7時間でも十分検査に耐えうる結果であった。精子は予想以上に長時間, 精漿中で運動性を維持していた。

### 10. マウス未熟卵胞発育の調節機構について

○横田英巳, 劉 曉偉, 安部由美子  
山田清彦, 水沼英樹, 伊吹令人

(群馬大産婦)

Activinは細胞増殖因子として知られているが卵胞発育に対しては促進, 抑制の相反する結果が示唆されている。今回我々はpuberty前後での未熟卵胞の発育に対するActivinの作用を比較検討した。

11日齢と8週齢のBDF1系マウスの卵巣から実体顕微鏡観察下にて卵胞を分離した。これを培養液に移しControl(無添加群), FSH, Activin, FSH+Activin添加後4日間の卵胞径の推移と培養液中のinhibinの定量を行った。

培養4日目には11日齢マウスでは, FSH群で, 卵胞径の増加率は21%, inhibin産生量は $0.87 \pm 0.32$  ng/ml(以下同), Activin群では43%,  $0.94 \pm 0.16$  ng/ml,

FSH+Activin群では58%,  $2 \pm 0.62$  ng/mlであった。また, 8週齢マウスでは, FSH群では, それぞれ45%,  $0.27 \pm 0.027$  ng/ml, Activin群では4.5%,  $0.09 \pm 0.019$  ng/ml, FSH+Activin群では4.5%,  $0.12 \pm 0.017$  ng/mlであった。puberty前後でActivinに対する反応に大きな相違が認められた。

### 11. Transport IVF-ETの臨床応用

○安部裕司, 中野英之, 片桐由紀子  
池永秀幸, 矢野義明, 間崎和夫  
森田峰人, 久保春海, 平川 舜

(東邦大第1産婦)

金子慶賛 (金子レディースクリニック)

小島栄吉 (小島レディースクリニック)

林 春男, 高橋徹臣 (薬丸病院)

高梨安弘, 浜谷次郎

(国立横須賀病院産婦人科)

白井 彰 (白井医院)

星野真也子 (浅川産婦人科)

遠距離通院などの負担の軽減のため, 排卵誘発などの外来診療および採卵をその地域のサテライト施設にて行い, 当院IVFセンターまで, 独自に考案した簡易法にて輸送し, 卵子を確認後, 体外受精を施行した。

媒精2日後に受精卵をサテライト施設まで再輸送し, 胚移植, 黄体補充療法, 妊娠判定, 妊娠分娩管理を行うTransport IVFの臨床応用を検討した。

なお臨床応用の前に, 同意が得られた患者のGIFT施行時の余剰卵およびマウス受精卵を用い基礎的検討を行い正常性を確認した。1995年7月より臨床応用を開始し, 3例に施行した。それぞれの輸送時間は1時間50分~2時間で, 全例に受精卵が得られ, うち1例が妊娠し現在順調に継続中である。

この方法により, 患者は信頼できる通い慣れた施設でIVFなどを受けられ, また遠距離通院の負担も軽減された。現在, Transport ICSIの臨床応用も開始しており, 今後さらに検討していきたいと思う。

### 12. Bromocriptine-rebound methodによる体外受精成績の改善

○星合敏久, 神野正雄, 佐藤 学

勝又木綿子, 中村幸雄 (杏林大産婦)

bromocriptine-rebound (BR) 法による妊娠率改善につき, 症例を集積し再検討した。

対象はGnRH agonist + hMGのlong法(L法)にて体外受精不成功の既往を持つ症例とした。BR法は前周

期低温第4日より連日 bromocriptine (B) を内服し、高温期4日目より buserelin を投与した。B内服は月経後3～14日目に中止し、その7日後より hMG を投与した。L法はBを内服しない以外はBR法と同じであった。BR法(105周期)とL法(73周期)の成績を比較した。

採卵術あたり全妊娠率・継続妊娠率は、BR法で56%・36%、L法で36%・21%と、BR法で有意に高かった。受精卵数・胚数・良好胚数は、BR法で $5.7 \pm 0.4 \cdot 5.5 \pm 0.4 \cdot 3.0 \pm 0.3$ 、L法で $4.2 \pm 0.4 \cdot 3.9 \pm 0.4 \cdot 1.7 \pm 0.2$ とBR法で有意に高かった。移植胚あたりの着床率はL法で11%、BR法で15%と、BR法で高い傾向が示唆された。

L法不成功症例に対し、BR法は受精・胚発育能および妊娠率を増加する。

### 13. 当院における体外受精の成績

○久保田健, 鎌田周作, 清水康史  
坂本秀一, 依光 毅, 己斐秀樹  
麻生武志 (東京医科歯科大産婦)

1989年より1995年まで当科にて施行した体外受精胚移植106症例208周期について検討を行った。適応は主要な因子をひとつだけとし、妊娠はGSの確認できた臨床的妊娠のみとした。

妊娠率は採卵あたり17.8% (37/202)、胚移植あたり20.2% (37/183) で、生産率は採卵あたり13.7% (28/171) であった。適応別妊娠率は卵管因子(99症例)24.2%、子宮内膜症(30周期)20.0%、男性因子(71周期)5.6%、機能的因子(8周期)37.5%であり、男性因子が他に比較して有意に低率であった( $p < 0.05$ )。

1993年に培養液をHam's-F10からm-MEMへ変更すると、妊娠率が9.5%から29.0%に上昇した( $p < 0.01$ )。妊娠した37例中30例は2回目までの採卵で妊娠に至った。年齢別妊娠率は25～29歳で38.5%、30～34歳で18.2%、35～39歳で12.9%、40歳以上で5.0%であり、25～29歳ではそれ以上の年齢群より明らかに高率であった( $p < 0.05$ )。流産率は16.2%、早産率は16.2%、多胎率は29.7%であり、適応因子による差はみられなかった。

### 14. 当院におけるICSIの成績と精子形態との関連

○河内谷敏, 三宅崇雄, 佐藤芳昭  
大澤章吾 (相模原協同病院産婦)

細胞内精子注入法(ICSI)における精子形態、とくにstrict criteriaによる分類と、受精成績、妊娠成績との関連につき検討した。

平成7年1月から12月までに当院にてICSIを行っ

た49症例を対象とした。Kruger's strict criteriaに従って精子形態を評価し、受精率、妊娠率を検討した。

49症例のうち、受精に至ったものは37例、妊娠例は4例であった。正常形態率が1%未満のsevere teratozoospermiaの症例でも受精率は低下せず、2例の妊娠例を認めた。これに対して、通常の体外受精法では正常形態率4%以下の群では有意に受精率が低かった。

諸家の報告と同様、今回の検討でも、ICSIによって精子所見不良例での受精、妊娠が確認された。しかしながら、生理的な精子選択過程をバイパスするICSI法による出生児の長期的な予後、生殖能力、遺伝子異常の内在などまだ不明かつ議論の必要な事項は多数あり、今後のさらなる検討が望まれる。

### 15. 体外受精・胚移植を前提としたDanazol投与の検討

○鄭 智誠, 宮崎豊彦, 久慈直昭  
山内 潤, 橋場剛士, 黒島正子  
末岡 浩, 小林俊文, 吉村泰典  
(慶應大産婦)

体外受精・胚移植(IVF-ET)において、形態良好胚を移植したにもかかわらず、着床、妊娠に至らない症例、すなわち着床障害と考えられる症例が多く存在し、これが妊娠率の向上を阻害する大きな要因となっている。このような着床障害と考えられる症例30例に対してDanazol投与の効果および副作用などについて検討した。

投与前後でのhMG投与量、採卵数、受精卵数に有意差はなかったが、投与後の良好胚数が投与前に比べ減少した。自己抗体、補体、凝固系は投与前後に有意差は認められなかったが、血小板数が投与後に増加する傾向がみられた。30例中3例がGOT/GPT値上昇により投与中止となったが、全例中止後4週以内に正常値に回復した。Danazol投与後の妊娠率は34.6%であった。子宮内膜症を持つ症例は11例で、投与後4例が妊娠したが、子宮内膜症の有無とDanazol投与によるIVF成績との間に明らかな関係は認められなかった。

### 16. 当院における直接腹腔内精子注入法Direct Intra-peritoneal Insemination (DIPI) の検討

○林 直樹, 石原 理, 齊藤正博  
竹田 省, 木下勝之  
(埼玉医大総合医療センター産婦)

当科において6回までの過排卵刺激下での人工授

精でも妊娠しない男性不妊(以下M不妊), 原因不明不妊(以下U不妊)の症例に対してDIPIを施行した。

対象はM不妊15例31周期, U不妊4例8周期. 既往IVF治療例は11例であった. M不妊3例はハムスターテスト陰性であった。

Buserelin-hMG刺激下にhCG投与後約40時間後に後膈円蓋より, パーコール処理後10%血清含有HTFにswim upまたはsuspendした精子浮遊液1mlをloss of resistance法で26G針にて注入した。

その結果, M不妊6例6周期(3例継続), U不妊2例2周期(1例継続)に妊娠が成立した. 8例のうち5例はIVF既往があった. ハムスターテスト陰性例では妊娠例はなかった。

精子受精障害のないM不妊, U不妊では, 6回前後の過排卵刺激下で妊娠が成立しない場合, DIPIを試みる価値がある. またIVFの前段階の治療あるいはIVF不成功後の次回待機期間中の治療として有用であることが示唆された。

#### 17. 当科における固定日AIHの成績

○根本 央, 正岡 薫, 河津 剛  
星野恵子, 北澤正文, 加藤廣英  
稲葉憲之 (獨協医大産婦)

計画的にAIHを行うスケジュールを立てこのスケジュールに基づいて行った1994年6月より1995年11月までのAIHの成績について報告する。

毎週月曜日にhMG投与を開始, 翌週の月曜に卵胞成熟例は水曜にAIH(7日コース), 木曜に成熟例は土曜にAIH(10日コース)を施行した. 81名111周期にAIHを施行し, 妊娠数31名, AIHあたり27.9%, 患者あたり38.3%の妊娠率が得られた. 7日コースは77周期, 10日コースは34周期となっており, 妊娠率はそれぞれ31.2%, 20.6%であり両コース間に有意差は認められなかった。

以上より, IVF-ET同様, 固定日にAIHを行い約30%の妊娠率が得られ, また固定日AIHは外来における卵胞モニタリングの回数を減少させ, 施行日の予知がある程度可能であるなどの利点がある。

#### 18. 精巣上体/精巣内精子を用いた顕微授精の成績

○加藤龍太, 山本泰明, 藤間博幸  
本多 晃, 八幡哲郎, 田村正毅  
長谷川功, 田中憲一 (新潟大産婦)  
有波良成 (こばり病院産婦)

閉塞性無精子症に対する精巣上体穿刺精子採取法

(MESA)は, ICSIの成功により急速に普及した感がある. 近年では精巣性無精子症に関しても, 精細管から精子を採取して(TESE), ICSIを行い, 妊娠に成功したという報告がなされるようになった. 我々の施設においても1995年5月より精巣上体/精巣内精子を用いた顕微授精を開始したのでその臨床成績を報告する。

1996年2月までの間に閉塞性無精子症6例, 精巣性無精子症6例に対してMESA/TESEを行い, 閉塞性では全例, 精巣性では3例で運動精子を回収できた. 採取された精子は同日ICSIを行った他, 余剰精子は凍結保存した. 精巣上体精子では6例全例で受精卵が得られ(受精率41%:採卵46/受精19), 2例で臨床的妊娠が成立した. 精巣内精子を用いた3例では受精卵が得られなかった(採卵16)。

精巣容量5ml, 血中FSH27.4, 組織所見:Sertoli cell onlyと高度造精機能障害が示唆された例であっても一部の精細管より運動精子が採取されたことから, 精巣性無精子症であっても挙児獲得の可能性があり, 今後AIDを選択する前に試みる価値がある方法と考えられた。

#### 19. 細径内視鏡用立体内視鏡装置(3D Endoscope)を用いた経頸管の子宮粘膜下筋腫切除術(TCR)の試み

○清水緑子, 高田淳子, 井坂恵一  
輿石 真, 高山雅臣 (東京医科大産婦)

我々は3D Endoscopeを用いTCR施行経験を得たので報告する. 装置は新興光器製作所製3D-1B型でプリズム視差方式により二次元内視鏡を三次元視化する. ディスプレイはエミッター, シャッターメガネを用いたアクティブ方式を採用した. 3Dカメラヘッドはほとんどの現存する二次元内視鏡に適応可能で今回は所有のオリンパス社製持続灌流式レゼクトスコープに装着した。

今回の4症例は, それぞれ過多月経, 貧血を主訴としていた. TCR適応と考えGnRH analogを3か月投与後, 前述装置を用いてTCRを施行した。

3Dカメラヘッドは従来使用しているものよりも多少重みを感じたが操作に問題はなかった. 子宮内腔は確実に立体視され, 粘膜下筋腫は奥行きを感じながらループ電極を移動することにより切除できた. 従来使用している使用感のまま, 3D映像が得られるため操作性に優れていると思われた。

## 20. 巨大卵巣嚢腫に対する腹腔鏡下手術の導入 —超音波による術後卵巣のfollow up—

○鈴木隆弘, 井上正人, 小林善宗  
本田育子, 淡路英雄, 善方菊夫  
牧野恒久 (東海大産婦)

十分なインフォームドコンセントのもと, 巨大な卵巣嚢腫に対し, 腹腔鏡下手術を導入した。

患者は19歳未婚(0妊0経)大学生。1994年4月より腹部膨隆自覚し, 1995年1月当院受診。超音波検査上子宮前壁から心窩部に達する巨大なcystic massで, 辺縁:整, 内容均一で充実性部分がなく他の諸検査にても悪性を疑う所見はなかった。1995年2月10日局所麻酔, 超音波ガイド下に経皮的穿刺内容吸引(9000 ml, smear: class II)を施行。2月20日腹腔鏡下手術施行。嚢腫性状確認後表面を電気メスにて小切開し嚢腫壁を把持挙上。second puncture部をmini laparotomy(3 cm)し, 嚢腫を引き上げながら残存内容吸引(2000 ml)およびcystectomyを行った。病理組織結果はmucinous cystadenomaであった。健常卵巣被膜をすべて温存したため, 術後の変化を超音波でfollowした。徐々に縮小し, 術後10か月現在50 mm大で再発はない。

## 21. 不妊症例に対する腹腔鏡下手術の成績の検討

○和田 修, 丸山正統, 末永昭彦  
岡垣竜吾, 島内昌仁, 藤原敏博  
塩津英美, 百枝幹雄, 矢野 哲  
堤 治, 武谷雄二 (東京大産婦)

不妊症例に対する腹腔鏡下手術の有用性の検討を目的とした。

東大病院産婦人科において, 1990年1月より1995年6月までに不妊を主訴とし腹腔鏡を施行した199例を対象とし, 腹腔内所見, 妊娠率, 妊娠の方法および妊娠までの期間などについて検討した。

開腹手術の既往, クラミジア感染, 子宮内膜症の症例では高率に卵管異常をきたしていた。これらの症例に対する腹腔鏡下手術施行後の妊娠率は33.7%(67人)と良好であった。術後治療法として, 正常または片側卵管異常例ではIVFによらずに75%が妊娠していて, その90%は10か月以内に妊娠に至った。両側卵管異常例では75%がIVFにより妊娠している。

妊娠予後は卵管所見に相関し, 腹腔鏡検査または腹腔鏡下手術は治療法の適切な選択と妊娠予後の改善に有用であることが確認された。

## 22. 不妊症例に対する子宮筋腫核出術の成績の検討

○蔵持和也, 丸山正統, 末永昭彦  
岡垣竜吾, 島内昌仁, 藤原敏博  
塩津英美, 百枝幹雄, 矢野 哲  
堤 治, 武谷雄二 (東京大産婦)

不妊を主訴とし当科へ来院, 子宮筋腫核出術を施行した患者で過去13年間にわたる計29症例に対し解析を行った。

上記を対象とし, 各症例を妊娠群, 非妊娠群に分けた。年齢, 不妊期間, 核出筋腫の大きさ, 部位, 深度, 卵管浸襲, 内膜損傷, 癒着, 癒着保護などの有無, 他の不妊因子, 術後不妊治療内容の各総数を算出, 両群間における有意差の有無を検討した。

妊娠成立は7症例24%, 術後平均妊娠成立期間は2.2年であった。平均術前不妊期間は6.1年で症例各種要因とも両群間に統計的有意差を認めなかった。術後IVF-ETを施行した場合, 妊娠率が38%となり, 未施行例の6%に対し著明に改善した。

筋腫核出術後IVF-ETは着床因子を除去し妊娠能を高めると思われる。

## 23. マイクロサージェリーにより妊娠に至った卵管子宮内膜症の1例

○角田郁夫, 高橋範子, 橋本芳美  
高見雅司, 千島史尚, 長田尚夫  
津端捷夫, 佐藤和雄 (日本大産婦)

不妊治療において子宮内膜症は, 日常よく遭遇する疾患であり, 子宮内膜症による卵管周囲癒着や卵管閉塞が, 直接不妊の原因となることが知られている。

今回, 我々は術前の諸検査で卵管間質部の子宮内膜症を疑い, マイクロサージェリーにより卵管形成術を施行, 妊娠に至った症例と卵管子宮内膜症の診断と治療について若干の考察を加えて報告した。

卵管性不妊と診断された手術施行例, 207例中, 外性子宮内膜症が15例(7.3%), 卵管子宮内膜症は30例(14.5%)に認められた。

卵管子宮内膜症は, 卵管不妊, とくに近位卵管閉塞の原因として重要な因子であるし, その診断には, 子宮卵管造影検査による卵管の脈管像が重要な所見となる。また, その治療には, ホルモン療法とともに卵管形成術が有力な治療手段となる。

## 24. 腹腔鏡下卵管形成術の意義 —とくに最近の卵管開口術の妊娠例から—

○長田尚夫, 高橋範子, 橋本芳美  
高見雅司, 千島史尚, 角田郁夫  
津端捷夫, 佐藤和雄 (日本大産婦)

卵管性不妊の治療としてマイクロサージェリーや体外受精に続いて腹腔鏡下卵管形成術が登場した。本法は、MISの特徴ばかりでなく、骨盤深部や卵巣後面などの狭い所に入っていけることや術後の癒着が少ないなど治療効果も高く、卵管形成術にとって理想的な方法で不妊症領域においてなくてはならない治療手段となっている。

腹腔鏡下卵管開口術は、卵管留症の先端部に十字切開を加え5-0～6-0号の吸収糸で切開部卵管を翻転箇所固定する。

術後成績は、約30%と卵管形成術の中で最も悪いが、腹腔鏡下手術では、開腹術より術後の再癒着が少ないこと、妊娠しない場合でも卵管開口術を行うことによって卵管貯溜液の子宮内への流入を防止できることなど臨床的意義は大きい。

### 特別講演

## 『松果体と性機能 —とくにメラトニンの排卵機構への関与を中心に—』

相良祐輔 (高知医大産婦)

### 第38回 日本不妊学会北海道地方部会

日時：平成8年2月17日(土)13時00分～  
場所：札幌市；ホテルポールスター札幌

## 1. 不育症における $\beta 2$ glycoprotein- I 依存性および非依存性抗カルジオリピン抗体陽性患者の臨床的な相違について

○宿田孝弘, 遠藤俊明, 工藤隆一  
(札幌医大産婦)

抗リン脂質抗体、とくに抗カルジオリピン抗体と不育症との関連について多くの議論がみられ、 $\beta 2$  glycoprotein- I ( $\beta 2$ -GP- I) と抗体カルジオリピン抗体の関連について明らかになった後は、 $\beta 2$ -GP- I 依存性抗体がその主役を占めるようになった。しかし、 $\beta 2$ -GP- I 非依存性抗体陽性患者にも poor obstetrical history が多々みられ、一概に $\beta 2$ -GP- I 依存性抗体のみが不育症と関連しているとは思えず以下の検討を行ってみた。

広義の不育症が疑われた260名に抗CL  $\beta 2$ -GP- I 抗体キット(ヤマサ)を用いて抗カルジオリピン抗体を測定し、そのうち、2回以上の初期流産または1回以上の中期子宮内胎児死亡を既往にもつ妊婦91名について産科既往歴、胎盤所見、ループスアンチコアグラントなどについて $\beta 2$ -GP- I 依存性および非依存性の両群について比較した。

$\beta 2$ -GP- I 依存性抗体陽性群では、有意に中期子宮内胎児死亡、ループスアンチコアグラントの頻度が高かった。しかし、 $\beta 2$ -GP- I 非依存性抗体陽性群では初期流産の頻度が高い傾向が見られた。

## 2. ウシの難産救助における陣痛の抑制剤ならびに促進剤の応用とそれが母体および新生仔に及ぼす影響

○具志尚子, 中尾敏彦, 森好政晴  
中田 健, 河田啓一郎  
(酪農学園大獣医臨床繁殖)

飼育動物において難産の発生率が最も高いのはウシであり、初産牛で3.5%、経産牛で2%程度とされている。難産救助に際しては陣痛の抑制を必要とすることが多いが、今回は主に胎仔失位の整復と帝王切開に際して $\beta 2$ 受容体刺激薬剤の塩酸クレンプテロール(0.03 mg)、または塩酸リトドリン(50 mg)を投与し、その子宮弛緩効果を調べた。また陣痛微弱による難産例に対しては、オキシトシンを50 IU投与し、陣痛促進効果を調べた。

その結果、陣痛抑制剤投与例のほとんど(93%)で、子宮の弛緩がみられ、弛緩までに要した時間は2～15分で作用の持続時間も整復するのに十分な時間であった。オキシトシン投与例ではほとんどの例で陣痛の促進が強められたが、最終的には胎仔牽引を要したものが多かった。陣痛抑制剤と陣痛促進剤の投与後、母ウシの健康状態には悪影響は認められなかった。また、新生仔に対してもとくに悪影響は認められなかったが、新生仔のapgar指数は、陣痛促進剤投与例でやや低い傾向があった。

このように陣痛抑制剤および促進剤は、ウシの難産救助に有効で、母ウシにも新生仔にも安全であることがわかった。

## 3. 射精管閉塞症に対する経尿道的射精管切除術(TUR-EDO)の治療経験

○高木誠次, 伊藤直樹, 三熊直人  
木村 慎, 塚本泰司 (札幌医大泌尿器)

男性不妊症において精路通過障害は治療成績が良

好であり、その診断治療は重要となる。今回比較的まれな射精管閉塞症の1例を経験したので報告する。

症例は39歳。無精子症を指摘され、当科受診。触診上精巣、精巣上体、精管に異常を認めず、内分泌学的にも異常を認めなかった。複数回の精液検査で精液量が1 ml以下と少量であり、精子濃度は $1 \times 10^6/\text{ml}$ と高度の乏精子症を認めた。薬物療法にて改善を認めないため、精巣生検および精管精囊腺造影検査を施行。精囊腺の異常拡張を認めた。また経直腸的超音波検査にて射精管の拡張を認めた。精漿中フルクトースは $0.10 \text{ mg/ml}$ と低値であった。

以上より射精管閉塞症と診断、経尿道的射精管切除術を施行した。術後の精液検査で精液量3.5 mlと増加し、精子濃度は $266 \times 10^6/\text{ml}$ と改善を認めた。現在術後3か月で経過観察中である。

#### 4. クラミジア抗体価と妊娠率の関係について

○吉田 博, 工藤隆之, 和田真一郎  
藤本征一郎 (北海道大産婦)

クラミジア感染症は不妊症の原因のひとつとして重要であるが、クラミジア抗体価と妊娠率について論じた報告は少ない。今回イバザイム法によるクラミジア抗体価と子宮卵管造影所見陽性率、妊娠率との関係について検討を加えた。

対象は1990年1月から1993年2月までに当院不妊症外来を初診した不妊症患者287名。イバザイム法によるクラミジア抗体価の測定を実施し、IgG抗体価は128倍(+), 64倍(+), 64倍(-)の3群に、IgA抗体価は16倍陽性, 16倍陰性の2群に分類した。

子宮卵管造影による陽性率は、IgG 64倍(-), IgA 16(-)群では36.4%, IgG 64(+), IgA 16(-)群では57.1%, IgG 128(+), IgA 16(-)群では78.6%, IgG 128(+), IgA 16(+), IgA 16(-)群では94.7%であった。受診中止者を除いた妊娠率はIgG 64(-), IgA 16(-)群では76.3%, IgG 64(+), IgA 16(-)群では66.7%, IgG 128(+), IgA 16(-)群では60.0%, IgG 128(+), IgA 16(+), IgA 16(-)群では25.0%であった。

#### 5. ウサギ卵管粘膜表面構造と精子分布の観察

○小山久一, 坂口明広, 児子和己  
平尾和義 (酪農学園大酪農家畜繁殖)

卵管峽部における精子貯留機能を知るため、交配後8, 10, 12, 24時間目のウサギ卵管を摘出し、固定後、走査型電子顕微鏡を用い粘膜表面構造と卵管内精子分布を観察した。

卵管峽部の粘膜表面構造は低い5~6列の1次ヒ

ダと1次ヒダから分岐した2次ヒダが、網目構造を形成していた。この網目構造の一部は卵管膨大部への移行部付近で浮腫状を呈し、管腔に突出していた。卵管膨大部は背の高いヒダのみであった。

卵管内精子は卵管峽部に多く、とくに子宮から3.5 cmまでの部位に観察され、交配後8時間目の卵管峽部には子宮から2.5 cmの部位にかけて47~564精子を確認した。しかし、10時間目以降卵管峽部の精子数は急激に減少し、10時間および12時間目では3~11になり、24時間目で消失していた。

これらのことから、卵管峽部2次ヒダ構造が卵管膨大部への精子移動を抑制しているものと考えられた。

#### 6. マウス子宮腺筋症における低分子量MMPの発現について

○森 悟子, 藤井美穂, 遠藤俊明  
工藤隆一 (札幌医大産婦)

子宮内膜症は、組織学的に良性であるが、進展形態は悪性細胞の浸潤に類似していることから子宮腺筋症の進展とMMPとの関係を検討した。

SHN系マウスを用い子宮腺筋症モデルを作製し、誘導された子宮腺筋症組織でgelatin zymographyを施行したところ、20~30 kDaにgelatin消化活性を認め、これはEDTAで抑制された。子宮腺筋症モデルに特異的に発現するこの低分子量MMPと、既知のMMP, pump-1の類似性をRT-PCR, Southern blottingで検討したところ、pump-1発現の報告がある産褥子宮、腎臓とともに、子宮腺筋症、正常子宮組織すべてにpump-1 mRNA由来のcDNAの増幅を認めた。

以上より、マウス子宮腺筋症ではgelatinase活性をもつ20~30 kDaの低分子量MMPが関与しており、このMMPのDNA配列はpump-1と類似していると考えられ、子宮腺筋症の発生、進展においてMMP活性発現に至るまでの段階で何らかの形で関与している可能性が示唆された。

#### 7. Oviductal Progesterone Concentration and its Spatial Distribution in Cyclic and Early Pregnant Cows

○Missaka P.B. WIJAYAGUNAWARDANE  
Wilson A. CERBITO, Kunitada SATO  
(Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

Changes and local distribution of progesterone (P<sub>4</sub>)

concentration in oviduct during estrus cycle and early pregnancy in cows were investigated. Intact reproductive tracts were collected from 16 Holstein cows at slaughterhouse.

Samples were classified to 4 stages (i.e.: follicular, post ovulation, luteal and early pregnant- < 20days) based on visual observation of corpus luteum (CL) and uterine characteristics and luteal P<sub>4</sub> levels. Oviducts were separated from the uterus at the uterotubal junction, and divided into 4 parts; fimbriae, proximal, medial and distal parts. Luteal tissue samples were also collected. P<sub>4</sub> levels in oviduct and luteal tissues were determined by radioimmunoassay (RIA).

Comparatively higher (P < 0.001) P<sub>4</sub> levels were found in stages with functioning CL (luteal phase and early pregnancy) than that of with regressing CL (follicular phase and post ovulation). Oviduct ipsilateral to the CL bearing ovary during luteal phase and early pregnancy showed higher (P < 0.001) P<sub>4</sub> concentrations than the contralateral side. Such difference was not observed during follicular phase or post ovulation. Ipsilateral oviduct to the functioning CL at early pregnancy showed higher (P < 0.05) P<sub>4</sub> levels than at luteal phase, while significant difference in luteal P<sub>4</sub> between these 2 stages was not observed. Differences in P<sub>4</sub> concentration within the oviduct were not observed during any phase of the estrus cycle or during early pregnancy. A positive relationship between luteal and oviductal P<sub>4</sub> concentrations was revealed.

In conclusion, the changes in P<sub>4</sub> levels in the oviduct depend on the location and functional stage of the CL. Localized levels of P<sub>4</sub> in the oviduct may be due to local delivery from the CL.

#### 8. ウシの胞状卵胞から回収された卵子の形態と体外受精後の発育能

○安里 誠, 高橋芳幸, 菱沼 貢  
金川弘司 (北海道大獣医学)

ウシ卵巣の胞状卵胞から回収したさまざまな形態を示す卵子の発育能の相違を明らかにするとともにどのような形態の卵子がどのような卵巣に多く存在するのかを調べた。

まず、不特定多数の卵巣の胞状卵胞から採取した卵子を卵細胞質の色調、顆粒の有無および直径によって7群に分類した。その結果、変性と判断される黒色の卵子を除き、色調の濃い卵子は顆粒の有無に

かかわらず、色調の薄い卵子および直径の小さな卵子に比べて発育能が高いことがわかった。

つぎに、卵巣を肉眼的に follicular wave の3つの時期、すなわち、リクルート期、セレクション期およびドミナント期に分類し、それぞれ固別別に胞状卵胞を単離して回収された卵子の形態を調べた。回収卵子を発育能の高い卵子と低い卵子に分類した結果、セレクション期の卵巣に発育能の高い卵子が多く含まれることがわかった。

#### 9. 卵胞発育と卵胞液中 macrophage migration inhibitory factor (MIF) の定量解析

○和田真一郎, 工藤隆之, 吉田 博  
藤本征一郎 (北海道大産婦)  
西平 順 (同 中央研究部)

macrophage migration inhibitory factor (MIF) は免疫系の維持に重要なサイトカインであるが、卵巣機能における役割についてはわかっていない。今回我々は体外受精により得られたヒトの卵胞液中の MIF の定量を行い、卵胞発育との関連を調べた。

当科で体外受精を施行した20症例において採取した118卵胞の卵胞液の量とヒト MIF (h-MIF) 値を定量した。体外受精は GnRHa-hMG-hCG 法により排卵誘発し、hCG 投与35時間後に採卵した。測定は recombinant h-MIF をウサギに免疫して作られた polyclonal 抗体を用いた ELISA 法による。液量により小卵胞 (0 ~ 1.9 ml), 中卵胞 (2.0 ~ 3.9 ml), 大卵胞 (4.0 ml 以上) の3つに分類した。

小卵胞は 99.4 ± 46.1 ng/ml, 中卵胞は 75.6 ± 53.6 ng/ml, 大卵胞は 56.0 ± 28.7 ng/ml となり、小卵胞と中卵胞、小卵胞と大卵胞の間に有意差が認められた。

以上より MIF は卵胞の発育に関係あることが示唆された。

#### 10. 酢酸ナファレリンを利用した過排卵刺激法 (従来法との比較)

○工藤隆之, 和田真一郎, 吉田 博  
藤本征一郎 (北海道大産婦)

体外受精・胚移植 (IVE-ET) 時の過排卵刺激には、GnRH アナログとしてこれまで酢酸ブセレリン (スプレキュア) が併用されてきた。Long protocol においては発育卵胞の増加が見られない場合がある一方、short protocol においては、Premature LH surge 発生の可能性も持ち合わせている。新しい GnRH アナログである酢酸ナファレリン (ナサニール) はブセレリンに比べて down regulation までの期間が短い。今回我々は、同一

患者において、ナファレリンを用いたshort protocol (NS法)と、プセレリンを用いたlong protocol (BL法)の間で、下垂体-卵巣系の内分泌動態、治療成績を比較検討した。

当科においてBL法を用いたIVFの既往のある5例5周期にNS法を用い、IVFを施行した。全例でPremature LH surgeの発生はなく、複数の卵胞発育を認め採卵が可能で、1例の妊娠例を認めた。前回との比較では、採卵数は同等あるいは増加し、hMG製剤の投与量には差を認めなかった。

### 11. 雌ウシの性成熟過程におけるウマ絨毛性性腺刺激ホルモン (eCG) に対する卵巣反応性の内分泌学的検討

○佐藤太郎, 中田 健, 森好政晴  
中尾敏彦, 河田啓一郎

(酪農学園大酪農獣医学)

出生から春機発動に至るまでの雌ウシにおけるFSHに対する卵巣の反応性の変化を解明するために、3、6および9か月齢の雌ウシにeCG 5 IU/kgを投与し、投与後14日間、12時間間隔で採血し、末梢血中エストラジオール-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>)、プロゲステロン、LHおよびFSHをRIA法を用いて測定した。

eCG投与により、各月齢でE<sub>2</sub>濃度が2峰性に上昇し、月齢にともないE<sub>2</sub>濃度の上昇が増加した。また、すべての月齢で、eCG投与後E<sub>2</sub>の上昇にともないLHおよびFSH濃度の一過性の上昇が観察された。

以上の結果により、すでに3か月齢で、FSHに反応する卵胞が存在し、卵胞の発育にともないE<sub>2</sub>を分泌すること、月齢にともない発育する卵胞のE<sub>2</sub>分泌活性が高まっていくことが明らかとなった。また、3か月齢から、視床下部、下垂体のE<sub>2</sub>に対する正のフィードバック系が存在することも明らかとなった。

### 12. ウシ精子のPenetration testと受胎性との関係

○青木美幸, 松崎重範, 齊藤千代  
早川宏之 (北海道家畜改良事業団)  
山内宣一, 岡田晴雄  
(北海道家畜人工授精師協会)

ウシ精子のPenetration testと乳牛の人工授精時の子宮頸管粘液 (以下粘液) 性状およびその後の妊否との関連性について調査した。

供試粘液は発情時に採取した直後に液体窒素にて凍結保存した。粘液は自然融解後に長さ100 mm、幅3 mm、厚さ0.3 mmのキャピラリーチューブに注入し、ハマトシールで密封した。密封したキャピラリーチ

ューブは37℃で融解し保持した精液入り試験管に片側を開封して立てかけ6分後に取り出して再び密封した後に60℃の湯に入れて精子の動きを停止させた。精子の進入距離は200倍で鏡検して測定した。供試ウシは粘液採取後に人工授精を行い受胎群と不受胎群とに分け進入距離との関連を検討した。

進入距離において受胎群と不受胎群の間に有意差が認められた。粘液の精子貫通性と受胎性との間に関連があると推察される。

### 13. ICSIにおけるPVP使用群と非使用群の比較

○東口篤司, 田中 恵, 渡利道子  
森若 治, 高階俊光, 神谷博文

(斗南病院産婦)

ICSIにおける精子コントロールを円滑にするため、PVPを使用することはすでに世界の各施設で広く行われている。一方、PVPを使用していない施設は非常に少ない。

当科では、平成6年7月よりICSIを開始し、現在までに20例の妊娠例を得ているが、PVPの使用、非使用に関しては平成7年2月より130例を対象に検討し得た。130例中PVP使用群は66症例で卵422個中240個(56.9%)が受精、8例(12.1%)に妊娠が成立したのに対してPVP非使用群は64症例で卵470個中295個(62.8%)が受精、10例(15.6%)が妊娠した。

これらの成績とPVPを使用しない場合、やや高度な技術を要することを考慮すると両群の有用性に関してはあまり差がないものと考えられた。

### 14. 体外受精・胚移植における子宮動脈血流および子宮内膜測定に関する検討

○吉田俊明, 神藤巳佳, 日高康弘  
西脇邦彦, 田熊直之, 玉手健一  
千石一雄, 石川睦男 (旭川医大産婦)

体外受精・胚移植 (IVF-ET) において、着床率の向上は重要な課題である。今回我々は、子宮動脈血流および子宮内膜の厚さを測定し、着床成立との関係について検討したので報告する。

対象は、1995年1月より12月までの1年間に当科において、形態良好な4細胞期卵を2個移植した38周期のIVF-ET施行例で、子宮動脈のpulsatility index (PI)・resistance index (RI) および子宮内膜の厚さを測定した。

妊娠群17周期、非妊娠群21周期のPIはそれぞれ2.558および2.799、RIはそれぞれ0.843および0.852と両因子とも妊娠群で低値を示したがいずれも有意差

を認めなかった。子宮内膜の厚さはそれぞれ12.3 mm および10.0 mm と、妊娠群で有意に ( $p < 0.05$ ) 厚い傾向を認めた。

今回の検討では子宮動脈血流測定から着床成立を予知することは困難であることが示唆された。

## 15. 体外受精・胚移植の一絨毛膜二羊膜双胎の1例

○日高康弘, 西脇邦彦, 田熊直之  
吉田俊明, 玉手健一, 千石一雄  
石川睦男 (旭川医大産婦)

体外受精・胚移植などの配偶子操作の普及により、多胎妊娠の頻度が増加しつつある。とくに一絨毛膜性双胎はリスクが高いことが知られている。今回我々は続発性不妊症のため、体外受精・胚移植を施行、一絨毛膜二羊膜双胎であった症例を経験した。

症例は41歳、妊1産1、32歳で結婚、35歳時に男児出産後妊娠せず当科を受診した。spontaneous AIH, hMG-hCG-AIH, c.c.-hMG-hCG-AIHを施行するも妊娠に至らず、IVF-ETを施行した。2週間後妊娠反応陽性、7週2日にGS 1個、fetus 2個、FHM 2個を認める。9週3日にGS内に紙様の隔壁を認める。17週1日に切迫早産にて入院、tocolysisを開始。19週2日に頸管縫縮術施行。27週2日に自己貯血開始。33週4日に全前置胎盤による性器出血を認めたため、帝王切開術を施行した。第1子1915g、第2子1755gの女児出産。児に異常を認めず。胎盤重量1100g、大きさ22.0 cm × 25.0 cm × 2.0 cm、楕円形、中央より二羊膜に分かれており、milk testにてA-Ashuntを確認。

本症例につき文献の考察を含めて報告する。

### 特別講演

#### 受精の分子機構

一ノックアウトマウスを用いたアプローチ

豊田 裕 (帯広畜産大獣医)

## 第114回 日本不妊学会関西支部集談会

日時：平成8年3月16日(土)13時30分～

場所：大阪市；日本シェーリング株式会社本社新館講堂

### 1. 陰茎異物除去後の広範囲皮膚欠損に対する scrotal flap

○三馬省二, 安川元信  
(奈良国保中央泌尿器)  
前田 学, 水本 茂 (同 整形外科)

症例は34歳、自動車整備士。7年前、陰茎増大を目的にVaselineを3回に分けて陰茎腹側皮下に自己注入した。感染を繰返すため、1995年7月12日、当科を受診した。Vaseline注入部は著明な炎症をともなった直径約5 cmの腫瘤を形成し、周囲組織との癒着が強く、中央部に瘻孔形成が認められた。化学療法後のMRIでは、海綿体は正常であった。8月22日、異物除去術を行い、広範囲の皮膚欠損に対してdeep external pudendal arteryを血管柄とするscrotal flapを移植した。Vaselineの一部は残存した。術後、勃起は正常で、10週間には性交可能となった。

陰茎皮下異物の注入量が多い場合は異物反応や感染をともない、切除時の皮膚欠損は広範囲となる。欠損部の遊離皮膚移植は、移植片の生着不全、拘縮、リンパ浮腫などの問題がある。scrotal flapは血行が安定し、皮膚の移動性が良好でdonor側の障害も少なく、陰茎の広範囲皮膚欠損に対する有効な方法のひとつと考えられた。

### 2. 陰茎プロステシスの治療経験

○河野 学, 榊田周佳, 安本亮二  
(大阪十三市民泌尿器)  
甲野拓郎, 木村伸悟, 成田啓介  
鶴崎清之, 西阪誠泰, 姜 宗憲  
和田誠次, 岸本武利 (大阪市大泌尿器)

静脈性インポテンスに対して、種々の保存的治療を試みるも効果が不十分なため、陰茎プロステシス挿入術を施行するに至った症例を経験したので報告する。

症例は36歳、男性。1995年4月4日、勃起障害を主訴に当科を受診した。既往症として約5年前より糖尿病を指摘されている。ドブラ法による陰茎動脈速度測定、プロスタグランジンE<sub>1</sub>局所注入による勃起機能検査および海綿体造影の結果、静脈性インポテンスの診断のもと、5月25日エタノールによる

骨盤静脈塞栓術を施行した。その後、勃起障害は一時改善を認めたが効果が不十分なため再度自己注射を勧めるも、手技の複雑さと陰茎局部疼痛のため、陰茎プロステシス挿入術を希望した。12月20日、全身麻酔下に同手術を施行した。陰茎プロステシスとしてはAMS-700™を使用した。手術時間は3時間45分、出血はほとんど認めなかった。

手術後経過は良好で、感染や異物反応は認めず12月30日略治退院となった。陰茎プロステシス挿入術の適応および手技について、経験を通して学び得た意見を述べる。

### 3. ナツクラッカー現象による左精索静脈瘤に対する内精索静脈-大伏在静脈吻合術

○河 源, 川端和史, 日浦義仁

川村 博, 松田公志 (関西医大泌尿器)

33歳男性。肉眼的血尿を主訴として来院。ナツクラッカー現象による血尿と診断し、経過観察していたが、後に左精索静脈瘤の発生がみられた。また、高度の血尿により鉄欠乏性貧血を呈していた。これらに対し、低位精索静脈結紮術および内精索静脈-大伏在静脈吻合術を施行したところ、精液所見の改善(術前精子濃度:  $60 \times 10^4/\text{ml}$ , 術後:  $1500 \times 10^4/\text{ml}$ )と血尿の消失をみた。

### 4. 精索静脈瘤に対する低位結紮術70例の治療経験

○奥野 博, 七里泰正, 大西裕之

小倉啓司, 橋村孝幸, 吉田 修

(京都大泌尿器)

1992年12月から現在まで精索静脈瘤に対し70例, 88病側に対し鼠径管を解放しない低位結紮術(subinguinal approach)を行ってきた。1995年以前は腰椎麻酔下で直視下に、現在では局所麻酔下で手術用顕微鏡下に動脈とさらにリンパ管を温存し施行している。

今回この手術法による利点、欠点・妊娠率・精液所見の改善率・再発率・術後精巣水腫(リンパ液の貯留)などの合併症・他の術式との比較などにつき検討する。

### 5. 尿路性器結核による無精子症の治療経験

○近藤宣幸, 中村吉宏, 竹山政美

(連大阪中央病院泌尿器)

古賀 実, 内田欽也, 松宮清美

奥山明彦 (大阪大泌尿器)

尿路性器結核はしだいに少なくなっているが、若

年者の場合不妊という問題点が残る。従来の結核による閉塞性無精子症に対する精路再建術の成績は決してよくない。今回我々は結核による無精子症に対する治療を経験したので報告する。

症例は38歳, 不妊期間6年にて無精子症を確認。34歳時に腎結核にて2年間抗結核療法を受けている。骨盤部CTにて遠位精管・精嚢部に著明な石灰化を認め、精路造影では両側とも精管が断続的に閉塞していた。精巣組織像のJohnsen's score countは8であった。1994年11月, MESA施行。両側の精巣上体に大小の硬結を認め、その部を穿刺したが精子を認めず。1年後, 再度MESAおよびTesticular sperm extraction (TESE) 施行し, 精巣精子を用いたICSIにより受精卵5個を確認した。

### 6. AIHにて妊娠に至った逆行性射精の2症例

○尾崎宏治, 藤野祐司, 伊藤文俊

林 英学, 荻田幸雄 (大阪市立大産婦)

逆行性射精による男性不妊に対する治療法として膀胱内から回収した精子によるAIHが一般的である。今回, 2例の逆行性射精症例に対して膀胱内射精精液を用いたAIHにより3回の妊娠を得たので報告する。

2症例ともClomidあるいはhMGにより排卵誘発を行い, hCG投与後1日目に膀胱内射精精液を用いてAIHを行った。精子は, 排尿後培養液(HTF)約20mlを膀胱内に注入し射精後, 尿中より回収した。回収精子を培養液で2回遠沈洗浄した後, 80%パーコールを用いて運動精子を得た。回収精子所見は良好であった。この精子を用いてAIHを行った。1組は3回目, 1組は2回目と10回目にそれぞれ妊娠した。1例は妊娠10週に子宮内胎児死亡となり, 1例は正常分娩の後, 現在, 第2子妊娠継続中である。

逆行性射精に対する治療として, AIHは回収精子所見が良好な場合, 積極的に試みるべき方法であると考えられた。

### 7. 男性不妊症に対する困卵腔内精子注入法

(SUZI) と Microdroplet を用いた媒精法の成績の比較検討

○中山貴弘, 藤原 浩, 畑山 博

下野奈美, 高島桂子, 姫野隆雄

森田賢司, 巽 啓司, 森 崇英

(京都大産婦)

男性不妊症治療におけるSUZIとMicrodropletを用いた媒精法(M-IVF)の有用性を12人の患者より採取

された115個の卵において比較検討した。

同一周期で採取された卵はSUZIを行う群 (n = 60) とM-IVFを行う群 (n = 55) にrandomに分けられた。正常受精 (2PN) 率はSUZIで26.7% (16/60), M-IVFでは34.5% (19/55) で両法の間には差は認められなかった。6例の患者 (50%, 6/12) でSUZIおよびM-IVFの両法において正常な受精卵が得られた。SUZIのみまたはM-IVFのみにおいて受精卵が得られたものがそれぞれ2例 (16.7%), 両法ともに受精卵が得られなかったものが2例 (16.7%) であった。12例中3例 (25.0%) に妊娠が成立した。

M-IVFはSUZIと同程度にmoderateな男性不妊症には有効であると考えられた。

## 8. 凍結保存精子を用いた体外受精の成績

○宮崎和典 (宮崎レディースクリニック)

細胞質精子注入法 (ICSI法) の開発により, ARTにおける精液性状の評価とその取り扱い法も大きく変わってきた。そこで当院における凍結保存精子を用いた体外受精の成績を検討したので報告する。

精子の凍結保存を行ったのは26例で, その適応は閉塞性無精子症19例, 重症乏精子症4例, 脊髄損傷, 逆行性射精, インポテンツが各1例であった。精液の採取は6例が射出精子で, 20例がMESAであった。のべ36周期で採卵を行い, すべて顕微授精であったが, 33周期で受精し, 胚移植の結果, 9例が妊娠し妊娠率27.3%であった。これらの成績は当院のICSIの成績と比較しても遜色なく, また非運動精子でも妊娠例が得られるなど有用性が示唆された。

## 9. 女性の年齢と妊孕性の変化について

○船曳美也子, 繁田 実, 田中宏幸

満尾 瑞, 柴原浩章, 山崎則行

香山浩二 (兵庫医大産婦)

窪田耕三 (明和病院産婦)

加齢とともに女性の妊孕性は減少すると考えられるが, 挙児を希望して来院する患者に対して, 治療の可能性を判断する資料のひとつとするため, 年齢と妊孕性について分析した。

対象は1992年より1995年までの4年間に, 兵庫医大病院または明和病院産婦人科不妊外来を受診した挙児希望患者である。一般不妊外来受診者 (IVF治療を除く) 999例, IVF治療患者のうち1個以上の移植可能胚を胚移植した697周期について, 初診時または治療時の年齢と妊娠率について比較検討した。

年齢30歳未満 (A), 30以上35歳未満 (B), 35以上

40歳未満 (C), 40歳以上 (D) の4群に分け, それぞれの妊娠率を求めると, 一般不妊外来受診者では (A) 144/390 (37%), (B) 147/433 (34%), (C) 60/144 (42%), (D) 10/32 (31%) で各群間で有意差はなく, IVF治療周期では (A) 13/68 (19%), (B) 58/282 (21%), (C) 36/266 (14%), (D) 6/81 (7%) であり, 35歳以上で有意 ( $p < 0.05$ ) に妊娠率の低下が観察された。

## 10. 卵胞液中アミノ酸の Maus胚発生に与える影響

○大橋一友 (大阪府立成人病センター婦)

上浦祥司, 富山達夫, 佐佐木隆

(大阪大産婦)

中澤照喜, 岸雄一郎 (扶桑薬品)

(目的) 生理的濃度のアミノ酸がMaus胚の体外培養に対してどのような影響を与えるかについて検討した。

(方法) 1) 体外受精20症例より卵胞液ならびに採卵時の血液を採取した。2) 卵胞液, 血清中のアミノ酸濃度をHPLCにて測定した。3) 卵胞液, 血清中に含まれるアミノ酸組成をHTF培養液に添加した。4) Ham's F-10, DMEM, MEMに含まれているアミノ酸組成をHTF培養液に添加した。5) それぞれの培養液中で, 通常体外培養では2-cell blockのかかるICR系Mausのone cell embryoを培養し, 胚発生の推移について検討した。

(結果) 1) 卵胞液では必須アミノ酸8種類のうち6種類が血清中より濃度が低く, 総アミノ酸量でも有意に低値を示した。2) HTF培養液に卵胞液, 血清中のアミノ酸を添加すると2 cell blockが解除された。3) Ham's F-10中のアミノ酸を加えると2 cell blockの解除がみられたが, DMEM, MEMのアミノ酸添加では2 cell blockの解除がみられなかった。

## 11. in vitroで表面灌流したイヌ視床下部のGnRH放出量および血中LH濃度の発情周期における変化

○谷 浩行, 野波正浩, 稲葉俊夫

玉田尋通, 澤田 勉

(大阪府大獣医臨床繁殖)

鳥居隆三 (滋賀医大附属動物実験施設)

イヌは年に1~2回の発情を繰り返すが, その回帰機構についてはいまだ明らかではない。今回我々は, in vitroでイヌ視床下部組織を表面灌流する手法を用いて, 発情周期中におけるGnRH放出量の変化

および末梢血中LH濃度の変化について検討した。

種々の発情周期の雌イヌから採血を行うとともに、視床下部を採取し、37℃のチャンパーに入れて、M199液で表面灌流した。灌流液中のGnRH濃度および血中LH濃度は、それぞれEIA法およびRIA法により測定した。

その結果、イヌ視床下部組織片からはGnRHがパルス状に分泌され、その平均放出量、パルス頻度、振幅および基底値は、非発情期の後期では他の時期に比べて高値を示した。血中LH濃度についても、GnRH放出量の増加に呼応して、非発情期の後期に高値を示した。

以上の結果より、雌イヌでは、発情開始に先立って視床下部からのGnRH放出量が増加し、それにもなって下垂体からのLH分泌量が増加することが明らかとなった。

## 12. シクロテトラサイクリン蛍光染色法で判定したヤギ精子の受精能獲得

○東 徹, 南 直治郎, 山田雅保  
内海恭三 (京都大農)

本研究ではウシで用いられている種々の受精能獲得誘起物質がヤギ精子の受精能獲得に及ぼす効果をシクロテトラサイクリン蛍光染色(CTC)法で評価した。

まずトカラヤギ新鮮射出精子をカルシウムイオンフォアA23187(1 mM)添加培地で培養し、CTC法によるA23187処理精子の蛍光染色パターンを経時的に観察した。頭帽部が陽性精子(受精能獲得精子)の割合は処理後1時間までに急増し、その後減少しさらにそれにもなって頭部陰性精子(先体反応精子)の割合が漸増した。この結果からCTC法によりヤギ精子の受精能獲得評価が可能であることが判明した。つぎに精子受精能獲得に対するヘパリン、カフェイン、ハイポタウリンの効果をCTC法で評価した。

その結果、それぞれの単独処理区における受精能獲得率のうち10 mMカフェインで最高値(約45%)を示した。またカフェイン(2あるいは5 mM)とヘパリン(1あるいは10 μg/ml)との併用処理においていずれの組み合わせにおいても受精能獲得率は65%と高値を示した。しかしながら単独および併用処理区ともに精子の運動性は著しく低下することが観察された。そこでカフェイン単独処理において5 mMで1時間処理した後にその濃度を0.5 mMへと低下させた場合、運動性は高く維持されしかも頭帽部陽性精子は6時間後においても53%と高値を示した。

これらの結果からCTC法がヤギ精子の受精能獲得の判定に有効であり、カフェインの適切な処理によって高い運動性を維持した受精能獲得精子を得ることができた。

## 13. 精漿中プロスタグランジンD合成酵素に関する検討

○國重一郎, 久保田康愛, 下屋浩一郎  
徳川吉弘, 信永敏克, 佐治文隆  
(大阪大産婦)  
織田浩司 (マルハ中央研究所)  
江口直美 (新技術事業団)  
裏出良博  
(大阪バイオサイエンス研究所)

精漿中にはさまざまなプロスタグランジンが含まれている。ウシでは妊孕性の高い雄の精漿中にプロスタグランジンD合成酵素(PGDS)が高濃度に含まれていることが報告されている。今回我々はヒトPGDSの男性妊孕性に対する関連を調べるために精漿中のPGDS活性、および濃度を測定した。

当科不妊外来患者の配偶者50名(うち乏精子症10名)より精液を手動的に採取した。精漿中のPGDS活性は、<sup>14</sup>CでラベルしたPGH<sub>2</sub>よりPGD<sub>2</sub>への転換率を薄層クロマトグラフィで検出することにより、また濃度はPGDS特異的モノクローナル抗体を用いたELISA法、ウエスタンブロッティング法にて測定した。

ウエスタンブロッティング法の結果、精漿中PGDSの存在が確認され、その濃度と酵素活性の間には相関が認められた。濃度は乏精子症群が2.47 n.q/μl、正常群が9.75 n.q/μlで前者が後者より有意に低かった。

精漿中PGDSの生理的作用のひとつとして、男性妊孕性への関与が示唆された。

## 14. ラットLeydig cellにおけるiNOSの発現について

○龍見 昇, 藤澤正人, 堅田明浩  
藤岡 一, 神崎正徳, 岡田 弘  
守殿貞夫 (神戸大泌尿器)  
奥田喜啓 (三菱神戸病院泌尿器)

nitric oxide (NO) は、nitric oxide synthase (NOS) によりL-arginineから生成されるfree radicalであり、さまざまな組織で細胞間伝達物質として作用している。

今回我々はimmature rat Leydig cell培養系を用いて、IL-1βによりNOSの一種であるinducible NOS (iNOS) のmRNA発現が高まり、培養液中のnitriteが増加する

ことを見出した。さらに免疫学的検討によりiNOSがLeydig cellの細胞質内に存在することを確認した。今後精巣におけるiNOSおよびNOの機能的役割を検討することにより、精子形成の調節機構解明の糸口になりうるものと考えられる。

## 15. 母体血中から胎児細胞を分離するための抗精子抗体の利用

○吉貴達寛, Gregory Lee

(ブリティッシュ・コロンビア大学

アンドロロジー研究室)

遺伝子病の出生前診断のためには、できるだけ非侵襲的検査が望ましい。そのために、通常の静脈採血で得られる母体血中の胎児細胞からPCR法で目的遺伝子を検出する方法が研究されている。この方法の第一段階として、胎児細胞を効率良く回収するために、各種抗原に対する特異抗体が用いられている。

今回の研究では、抗ヒト精子モノクローナル抗体のうち、胎盤にも反応するHSA-10が上述の目的に利用できるかどうかを調べるために、ヒト絨毛癌細胞株BeWoを用いて検討した。まず、HSA-10抗体を一次抗体として、新鮮なBeWo細胞を蛍光抗体法で染色した。陽性所見から、HSA-10は表面抗原を認識することが確認できた。つぎに、HSA-10結合マグネチックビーズとBeWoを反応させたところ、ビーズと結合した細胞をマグネットによって回収することができた。

以上から、HSA-10は母体血中からのトロホプラスト分離に利用できるのではないかと考えられた。

## 特別講演

### 生殖医学における最近のトピックス

吉村泰典(慶應大産婦)

最近の生殖医学領域におけるトピックスについて概説する。卵管性不妊に対しては選択的卵管通水法や卵管鏡下癒着剥離術が有効であり、従来の検査法で卵管閉塞と診断された症例においても、60~70%が非侵襲的に疎通性の改善が認められる。また着床不全病態に対しては臨床的にはダナゾール投与が有効であり、インテグリンをはじめとする接着分子の発現との関連性についての基礎的検討が必要となってくる。HIVウイルス感染精液からのウイルス粒子除去に関しては、精子浮遊液中のHIV遺伝子の定量がDNA-PCRおよびRT-PCRにより可能である。また、配偶子、胚の遺伝子診断もPCRやFISH法を応用することにより単一細胞の遺伝情報を得ることも可能と

なっている。しかしこれら生殖医療の補助技術については今後解決されなければならない問題が数多く残されている。

## 自己免疫性精巣炎の発症と制御 一実験的研究一

北条憲二(香川医大免疫病理)

男性不妊症の原因は多岐にわたるが、臨床的に基礎疾患の明らかな症例は12.6%にすぎず、その他の大部分の症例は“特発性男性不妊症”の名のもとに包括しておくほかないのが現状である。

特発性造精障害の成因として、精子や精子細胞に対する自己免疫機序の関与する可能性を指摘する報告は多い。たとえば畠山は蛍光抗体法により、20歳代から30歳代までの特発性乏精子症の生検20例中14例(70%)に精細管内(変性したSertoli細胞、少数の精祖細胞および内腔)にIgGと補体C3が陽性(IgAとIgMは陰性)であると述べている。男性不妊症患者の精細管基底膜の異常構造について詳細な免疫電顕的検索を行ったSalomonらも、精巣生検30症例中21例(70%)において、免疫沈着物型、および他の2型の異常基底膜構造中やSertoli細胞の細胞質内にIgGやC3の沈着を証明した。

一般に、精巣特異的自己抗原は、その個体の免疫系が発達する時期にはまだ存在せず、思春期になって発現する典型的な“ontogenically late-developing autoantigen”である。しかも、これは宿主体内でいわゆる“immunologically privileged site”に存在するため、隔絶された自己抗原の代表とされている。したがって精巣特異抗原はれっきとした自己抗原でありながら、免疫学的には宿主にとって異物的存在である。これらの抗原に対応するリンパ球クローンは胎生期・新生期に除去されることなく成熟期にも存続しており、したがって自己の精巣細胞や精子は免疫系に遭遇すると容易に抗アクロゾーム抗体や抗精子抗体を生起させる。事実、一側精巣の鉗子による破碎や凍結にともなう反対側精巣炎、精管切除術後精巣炎、生きた同系精巣細胞の2回皮下注射による精巣炎の発生は、いずれも精巣抗原の強い自己免疫原性の証拠といえる。図1は自己精子に対する免疫の成立機序の概観である。一般に、直精細管・精巣網に始まり、精巣輸出管から精巣上体管に至る精路は血液-精巣関門の最も薄弱な部分であり、その部の上皮層は精路内圧の上昇やアレルギー衝撃、局所乏血などにより容易に破られ、その結果、間質への精子抗原の漏出をきたす。実験的アレルギー性精巣炎では精巣網付近の、細血管を含んだ狭い間質(精巣縦隔)が

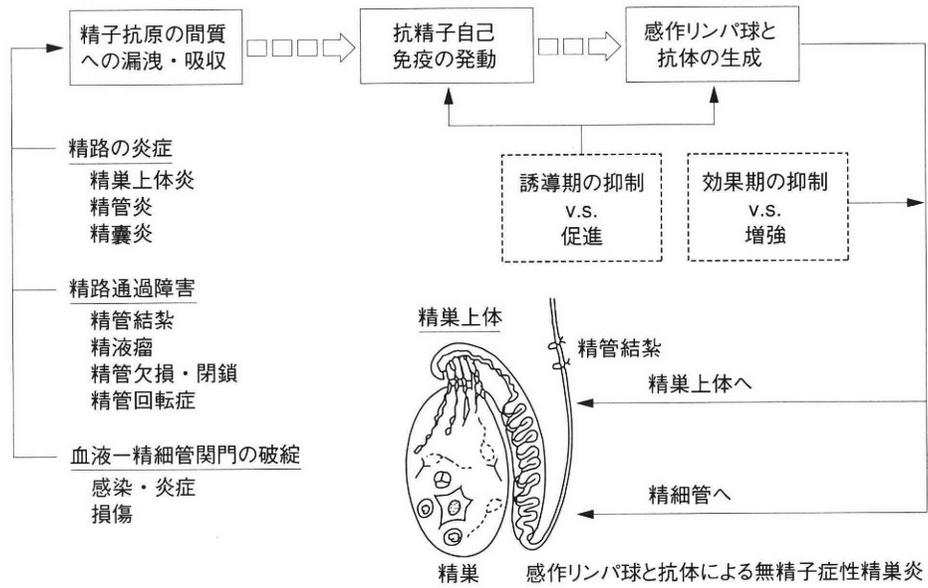
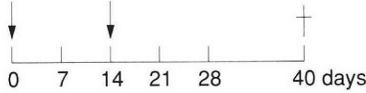


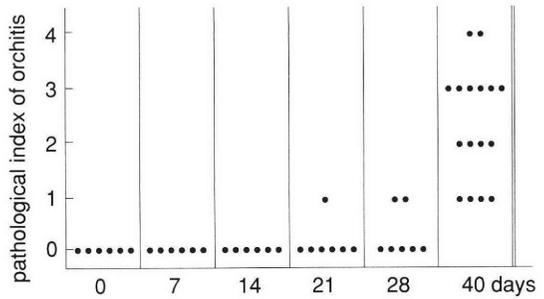
図1 自己精子免疫の成立と調整

血液-精細管関門の破綻，精路の通過障害や炎症を通じて，精子や精子抗原が間質に漏洩し，局所の血管・リンパ管に吸収され，その結果，自己の精子に対する免疫応答が発動され，感作リンパ球と抗体を生じる（免疫応答の誘導期）．循環血中のエフェクター細胞や抗体分子は，血液-精巣関門の薄弱な部位を介して精細胞抗原と接触し，局所免疫反応を引き起こす（効果期）．

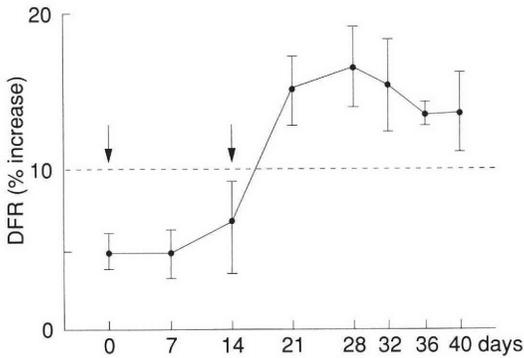
mice: male, C3H/He, 9 weeks old  
immunization: syngeneic testicular germ cells (TC)  
( $1 \times 10^7$  cells, s.c.)



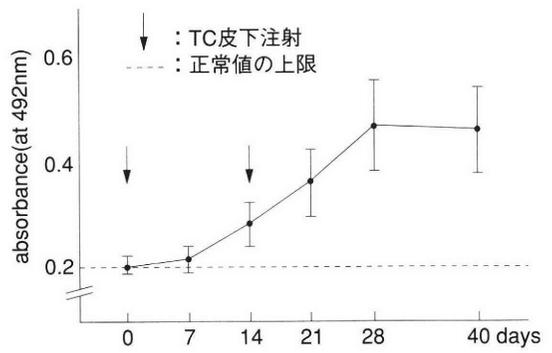
a. 実験デザイン



b. EAOの発症経過



c. TCに対する遅延型足蹠反応(DFR)



d. 血清抗TC抗体価(ELISA)

図2 新マウスEAOモデルの発症経過と免疫過程

炎症反応の初発部分であり、かつ最好発部位である。

精路系に比べると、精細管上皮の、隣接するSertoli細胞間に形成されるtight junctionははるかに強力な血液-精巣関門である。このtight junctionの存在によって傍腔区画内の厚糸期精母細胞以降の精細胞は、免疫系から隔離され保護されている。さらに、Sertoli細胞はその旺盛な貪食能により精子や精子細胞の断片の処理にあたっている。このような解剖学的関門だけでなく、精巣の内部環境は免疫学的侵襲に対して免疫抑制的ないしは免疫不応答的に対処しようするような機能的な関門性格を備えており、精巣の聖域化に貢献している可能性がある(局所性免疫抑制環境)。

#### a) 新マウスEAOの発生と免疫応答(図2)

マウスでは、モルモットと異なり、EAOの誘導がきわめて困難であり、精巣ホモジネートとCFAとの併用感作だけでは発症率は低率にとどまるため、さらにco-adjuvantとして百日咳菌の死菌またはその抽出物であるpertussigenの使用が不可欠とされてきた(古典的EAO)。

1991年我々は、C3H/Heマウスに生きた同系精巣細胞testicular cells (TC)の皮下注射を2回行うだけで、アジュバントなどの免疫増強剤を一切使用することなく高頻度にEAOが誘導可能であることを見出した。抗原として用いたTC中のSertoli細胞とLeydig細胞含有率は、いずれも1/1,000以下であるので、本モデルは真の意味で自己精細胞抗原に対する免疫反応に基づく疾患と考えられる。病変の誘導には2回以上のTC感作が必須であることは、二次免疫反応の生起が病理発生の要因であることを示している。

#### b) 新マウスEAOの発生とサイトカイン産生

感作脾細胞から抗原(TC)添加培養によって上清中に分泌されるIL-2、IFN- $\gamma$ (Th1サイトカイン)；GM-CSF、IL-3(Th1, Th2共通)；IL-5、IL-6、IL-10(Th2)量は、いずれも二次TC刺激により飛躍的に増加する。これらの所見は、新マウスモデルの発症要因として抗TC自己免疫に関する細胞性免疫二次応答の強い発動があることを示している。IFN- $\gamma$ とIL-2(Th1)、およびGM-CSFとIL-3は病変完成時のday 40においても著しい高値を示すが、IL-5、IL-6、IL-10(Th2)はday 28以降は低下する。IL-4(Th2)は全期間を通じて検出可能な応答を示さない。以上の結果より、EAOの病理発生にはTh2細胞よりもTh1細胞の応答がより深く関係するものと考えられる。

IL-10産生は第2回注射直前のday 14に急増し、その1週間後にピークに達したのち速やかに下降する。このようなIL-10産生の早期下降は、Th1サイトカイン

(IFN- $\gamma$ とIL-2)産生のday 40における高値の持続と対照的であり、IL-10のTh1機能抑制作用や炎症性サイトカイン(IL-1、TNFなど)産生抑制作用の観点から興味深い。

#### c) 新マウスEAO誘導におけるマウス系統差

本型EAOの誘導の難易にはマウスの系統による差異が顕著である。検索した近交系マウス12系統のうちC3H/He、C3H/HeN、A/Jマウスは高感受性系であり、DBA/2とC3H/BiKiは抵抗系、その他の系統(C57BL/6N、C57BL/10Sn、BALB/cAnN、AKR/N、CBA/JN、MRL/lpr、C3H/HeJ)は低感受性系である。注目すべきことにC3H系の4亜系(すべてH-2k)中、C3H/HeとC3H/HeNは高感受性であるが、C3H/HeJは低感受性、C3H/BiKiは抵抗性である。

#### d) 新マウスEAOの免疫調節

最後に、新EAOモデルは発症率がきわめて高いので、免疫学的男性不妊症の免疫調節機構の解明に有用なアッセイ系を提供する。著者らは本モデルを使用して3つの免疫学的制御の実験系を確率している。ひとつは、可溶性精巣抗原(deaggregated mTA)の反復静脈内投与によるEAO発症抑制系の確立であり、CD8+サプレッサーT細胞が抗原特異的発症阻止に関与する。つぎに、EAOの誘導期に作用して発症阻止効果を発揮する精巣抗原特異的CD8+T細胞株(Ts-A)の確立である。第3は、EAOの前臨床期に作用し発症阻止効果を発揮する特異的CD4+T細胞株(C. Ts)の樹立である。これらの発症抑制実験の側から、逆にEAOの発症機序における細胞性免疫の重要性がますます明らかになりつつある。ごく最近、我々は胸腺内への同系TC注射による抗原特異的な中枢性Tレランスの誘導を新EAOモデルを用いて証明した。

おわりに

特発性造精障害患者の精巣生検組織像には、EAOにみられるような炎症性細胞浸潤がほとんど認められないことから、本疾患の病理発生における細胞性免疫の関与やEAOとの疾患類似を疑問視する研究者がある。一方、SuominenとSöderströmは、無・乏精子症患者166例の精巣生検中8例(4.8%)に顕著な、巣状またはより全般的なリンパ球浸潤を間質に認めている。浸潤細胞の大部分はリンパ球で、多形核白血球がごく少数散在していた。共通した所見として、リンパ球浸潤に密に隣接した精細管では、隣接していない精細管に比し造精障害が強く、しばしば管腔内への精上皮の剥脱がみられている。1例では間質の浸潤リンパ球が精細管壁を通して精上皮内へ顕著に遊走する像がみられた。一般に、造精障害患者の生

検材料は病理過程の最終段階を示す場合が多く、この段階では、もはや上記のような反応性変化は検出できないと考えられている。

我々が開発した新しいマウスEAOモデルはTh1細胞優位の免疫応答が深く関係する臓器特異的自己免疫疾患と考えられる。生きたTC抗原による二次刺激後、増強されたTh1細胞により病気の引き金が引かれると、リンパ球・マクロファージ・多形核白血球などの炎症細胞が局所に動員され炎症を増幅する。EAOの発症の過程には、さまざまなサイトカインが複雑にかかわり合っている。なかでもIFN- $\gamma$ はその多面的作用を通じて免疫調節と炎症反応に深く関与している可能性がある。IFN- $\gamma$ などにより活性化されたマクロファージから放出されるTNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ 、有毒な活性酸素や活性酸化素などが、標的組織とその近傍の組織に傷害をもたらす。抗TC自己抗体(主にIgG2a)の作用とあまって、精巣炎・乏精子症をもたらすものと推測される。

## 第7回 日本不妊学会春季九州支部会

日時：平成8年4月21日(日)8:45～13:05

会場：福岡市；武田薬品9F大ホール

### 1. 不妊症および不育症に対するTRH試験に関する検討

○宮村泰豪，河野雅洋，山下隆則

藤下 晃，平木宏一，石丸忠之

(長崎大産婦)

当科では、不妊症および不育症に対するスクリーニング検査としてTRH試験を施行し、IRMA法で測定したprolactin (PRL)の基礎値が15 ng/ml以上のものを顕性高PRL血症、基礎値が15 ng/ml未満でTRH負荷後15分および30分に測定したPRLのpeak値が75 ng/ml以上のものを潜在性高PRL血症と診断している。

TRH試験を施行した266例を対象とした。PRLのpeakは202例(75.9%)が負荷後15分、64例(24.1%)が負荷後30分にみられ、基礎値とpeak値との間には有意な相関を認めなかった。PRL分泌異常の頻度は、顕性高PRL血症が15例(5.6%)および潜在性高PRL血症が30例(11.3%)であった。潜在性高PRL血症におけるPRLのpeakは、24例(80.0%)が負荷後15分にみられた。負荷後30分にPRLがpeakとなった潜在性高PRL血症のうち、PRLの15分値が75 ng/ml未満のものは1例のみであった。

今回、以上のようなTRH負荷後のPRLの変動について報告する。

### 2. 不育症における甲状腺疾患に関する検討

○杉田真一，河野雅洋，宮村泰豪

石丸忠之

(長崎大産婦)

当科では、不育症のスクリーニング検査の中に、甲状腺疾患に対する検査としてfree T<sub>3</sub>、free T<sub>4</sub>およびTSHの測定を行っている。今回、当科を受診した不育症247例を対象とし、不育症にみられた甲状腺疾患について検討した。

甲状腺疾患は7例(2.8%)にみられ、その内訳は、甲状腺機能亢進症およびその関連疾患としてGraves病3例および亜急性甲状腺炎1例、甲状腺機能低下症として慢性甲状腺炎3例であった。既往流産の回数は2～5回であり、すべて早期流産であった。

Graves病に対しては抗甲状腺ホルモン製剤を使用し、現在までに2例が妊娠した。そのうちの1例は挙児に成功し、他の1例は妊娠継続中である。慢性甲状腺炎に対しては甲状腺ホルモン製剤を使用し、現在までに1例が妊娠し、妊娠継続中である。また、急性甲状腺炎の1例は、甲状腺機能が正常化した後に妊娠し、挙児に成功した。

甲状腺機能異常は早期流産の原因になると考えられる。

### 3. 2回反復流産患者に対するhMG隔日投与および黄体刺激療法の治療効果の検討

○渡辺良嗣，天ヶ瀬寛信，福原正生

結城裕之，中村元一，荒川公秀

(浜の町病産婦)

2回反復流産患者に対して、黄体機能の改善を目的とした治療を行って、その転帰を検討した。

対象は12例で、原因検索のためLH-RH・TRHテスト、子宮卵管造影、排卵期子宮内膜厚、黄体中期E<sub>2</sub>・P<sub>4</sub>値、抗クラミジア抗体、aPTTを検査した。治療として月経5日目よりhMG 150単位を隔日3～4回および高温相3日目よりhCG 3,000単位を隔日3～4回筋注した。

潜在性高プロラクチン血症を2例、中隔子宮を3例に認めた。子宮内膜厚が8 mm以下の例が2例、黄体中期E<sub>2</sub>が100 pg/ml以下が3例、P<sub>4</sub>が10 ng/ml以下が2例であった。aPTTは全例延長を認めなかった。12例中9例に妊娠が成立し、治療にもかかわらず流産となった例はなかった。

2回反復流産に対しては、習慣流産と同様の大規

模な検査, 治療は必ずしも必要なく, 簡略化した検査と黄体機能の改善を目的とした治療で十分と考えられた。

#### 4. LAC陽性SLE婦人の不妊治療・妊娠管理を行った1例

○莊 文哲, 緒方りか, 橋本和法  
井上善仁, 野崎雅裕, 佐野正敏  
中野仁雄 (九州大産婦)

全身性エリテマトーデス (SLE) の患者は流早産率が高く, とくに抗リン脂質抗体 (LAC) 陽性患者では子宮内胎児死亡率が50%にもものぼるといふ報告もある。最近経験したLAC陽性SLE患者の妊娠成立前後の管理について報告する。

症例は32歳の未妊婦で26歳時にSLEを発症し緩解治療を受けその後プレドニゾロン15mg/日の維持療法を受けていた。緩解治療の際プレドニゾロンを40mg/日に増量したところ精神症状が出現した。30歳で結婚し挙児希望を主訴として当科を初診した。不妊一般検査では異常はなかったがaPTT延長が見られLACは陽性であった。LAC陰性化のためプレドニゾロン30mg/日に増量したが, 陰性化しないまま妊娠が成立した。その後もLACは陰性化せず, アセチルサリチル酸81mg/日を併用し妊娠管理を行ったが, 妊娠27週で胎動消失のため緊急入院となり胎児仮死と診断し帝王切開で965g女児を分娩した。

#### 5. 不妊治療による双胎妊娠の産科管理について

○平野隆博, 松田和洋, 伊藤正信  
前田康貴, 松田義雄, 上塘正人  
波多江正紀 (鹿児島市立病院産婦)

不妊治療後の双胎妊娠の管理について検討した。

過去5年間の多胎184例中, 当科不妊治療にて妊娠分娩に至った双胎妊娠13例(以下A群)と, 妊娠15週以前より管理し得た自然発生の双胎妊娠19例(以下B群)を比較検討した。

安静予防入院はA群, 13例, B群, 18例に行われた。頸管縫縮術は, A群5/13(38%), B群11/19(58%)に行われた。正期産はA群11/13(85%), B群6/19(32%), 出生体重2500g以上の児は, A群12/26(46%), B群8/38(21%)であった。NICU入院は, A群9/26(35%), B群31/38(82%)であった。2絨毛膜2羊膜; 1絨毛膜2羊膜の比率は, A群11:2(2絨毛膜2羊膜85%), B群12:7(同63%)であった。

不妊治療後の双胎妊娠も, 予防入院などの十分な

管理によって, 少しでもNICUへの負担を減らすことができると思われる。また, 不妊治療後の双胎には膜性などいくつかの特徴が認められた。

#### 6. 卵胞発育モニターにおける子宮内膜厚の意義

○西村宏祐, 氏岡威史, 小野田親  
永田康志, 西村佳与子, 田中信幸  
松浦講平, 岡田 均 (熊本大産婦)

不妊患者の卵巣周期を経陰超音波断層法で評価する際の子宮内膜の厚さ(以下, 内膜厚)の意義を検討した。

不妊患者で自然周期(N=40)あるいは排卵誘発周期(N=177)における卵胞径・内膜厚・血中E<sub>2</sub>の三者の相関を検討した。

自然周期では三者の相関は良好であったが, 過排卵周期では15mm以上の卵胞径の数と血中E<sub>2</sub>は比較的高い相関がみられたものの, 内膜厚と相関しない症例が多く認められた。血中E<sub>2</sub>値が250pg/ml以上にもかかわらず内膜厚が8mm以下の例を不適正内膜増殖(逸脱例)と定義した場合, 自然周期・hMG単独周期・GnRH-hMG周期では逸脱例の頻度は低かったが, クロミッド(cl)周期では23/61例, Cl+hMG周期では13/29例と高かった。

自然周期あるいはcl以外の排卵誘発周期では卵胞径の測定のみで卵胞期卵巣周期のモニターは十分であることが示された。

#### 7. 卵巣過剰刺激症候群による腫大卵巣の茎捻転をおこした品胎妊娠の1例

○木幡 豊 (福岡徳洲会病院産婦)

卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の治療では, 保存的治療が原則であるが, 卵巣出血, 付属器茎捻転を生じた場合には外科的治療が選択される。OHSSでは安静時でも下腹部痛がみられることが多く, 腹水と腹腔内出血の区別や, 茎捻転により外科的治療が必要かどうかの判断にも苦慮する場合がある。今回, 他医にてhMG-hCG療法を受け品胎妊娠が成立し中等度のOHSSを生じた28歳の1回経産婦において, 妊娠7週時腫大した右卵巣が茎捻転を起こした症例を経験した。

患者は突然発症した右下腹部痛, 右腰痛を主訴に当科を受診した。超音波断層検査にて, 両側卵巣は腫大し, ごく少量の腹水をみとめた。ペントジンを投与するも, 短時間しか効果なく, 茎捻転を疑い, 緊急手術を施行した。腫大した右卵巣はその茎が2回転の捻転を起こしており, 捻転の解除を行っても

色調に改善はみられなかったため、付属器切除術を行った。術後経過に問題なく、妊娠14週時に予防的頸管縫縮術を施行し、現在(妊娠18週)のところ妊娠経過は順調である。

#### 8. クロミフェン4錠FSH低用量投与で単胎妊娠成立をみた多嚢胞性卵巣症候群の1例

○岡本純英, 和田 文, 前村由紀子  
(岡本ウーマンズクリニック)

生殖介助技術の発展にともない、排卵誘発時の卵巣過剰刺激症候群および多胎妊娠発生の予防が課題となっている。なかでも多嚢胞性卵巣による無排卵不妊症例における単胎妊娠の誘導は、反応性に個体差があり、いまだ種々の方法が試みられている。

前回報告した低用量hMG step up投与を試み、なお、至適な排卵効果が得られなかった症例に、今回月経周期5日目よりクロミフェン1日4錠を5日間投与し、さらに周期10日目よりFSH 75 IUを5日間連日投与した。2個の卵胞(19×16 mm, 16×14 mm)と、血中estradiol 690 pg/mlを確認し、翌朝(月経周期16日目)hCG 10,000 IUを投与した。周期28日目の超音波断層診断では単一黄体嚢胞を認めるのみで卵巣過剰刺激症候群もなく子宮内膜厚は16 mm、血中progesteroneは33 ng/mlであった。その後、単胎妊娠の成立を確認した。

通常クロミフェンの1日量の上限は3錠とされるが、あえて4錠に増量し低用量FSH追加投与と組み合わせさせた結果多嚢胞性卵巣に有効な排卵誘発効果を得た。

#### 9. PCOSに合併した若年性子宮体癌

○桑波田理樹, 大塚博文, 中江光博  
伊集院博文, 中村佐知子, 沖 利通  
山元慎一, 吉永光裕, 堂地 勉  
永田行博 (鹿児島大産婦)

今回我々は、まったく無治療の多嚢胞卵巣症候群(以下PCOS)に合併した若年性子宮体癌の1例を経験したので報告する。

症例は、32歳、未婚、G0P0、身長151 cm、62 kg。初経(13歳)以来、月経周期は不整。過去に若年性出血で4~5回婦人科受診するも原因不明ということで放置された。1995年12月5日、不正出血にて当科外来受診。超音波診断にて子宮内膜の肥厚(24 mm)を認め、子宮内膜細胞診にてV型、子宮内膜組織診で高分化型腺癌と診断された。

1996年1月31日、子宮体癌Ⅱ期で手術施行。両側

卵巣はPCOであった。

そこで、無治療のPCOSと子宮体癌の発症の関連について文献的考察を加え報告する。

#### 10. 体外受精・胚移植へのFluorescence in situ hybridization法の臨床応用について

○馬渡善文, 田中 温, 永吉 基  
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  
岩本智子 (セントマザー産婦人科)

Fluorescence in situ hybridization (FISH)法は、染色体DNA上の特定の塩基配列を持った領域を蛍光顕微鏡下に直接観察することが可能で、放射性同位元素のかわりに蛍光色素を標識として用いており、安全で迅速簡便な方法である。

我々は、体外受精・胚移植における着床前診断の可能性を検討するために、成熟精子、未分割受精卵のXおよびY染色体の異数性について検討した。対照としてヒト末梢血リンパ球を用いた。XおよびY染色体の着糸点特異的DNAプローブを用いてFISH分析を行ったので報告する。

#### 11. ICSIにおける低受精率症例について

○安東桂三, 長木美幸, 佐藤真紀  
広津倫江, 広津留恵子, 宇津宮隆史  
(セント・ルカ産婦人科)

当院ではICSIについて種々の改良を行い、昨年5月以降は安定して受精率が60%を越えるようになった。しかし、受精率の低い周期も存在し、今回これらの周期をretrospectiveに検討した。

対象は1995年5月1日から12月31日にICSIを施行した165周期とした。この間の受精率は68.5±25.7%(Mean±S.D.)であり、ISDを外れた受精率42.8未満の周期を低受精率群(low-group)とした。low-group, normal-groupの年齢、周期数は32.9歳, 32.9歳, 29周期, 136周期であった。

採卵時のE<sub>2</sub>, Pは2172 pg/ml, 1788 pg/ml, 0.84 ng/ml, 1.15 ng/ml、卵胞数、採卵卵子数は12.4個, 13.2個, 7.6個, 8.9個、卵胞数あたりのE<sub>2</sub>は170.3 pg/ml, 126.7 pg/ml (p<0.05)、採卵時の卵のgradeはmature, 1.9個, 2.5個 (p<0.05)、postmature 2.5個, 3.4個 (p<0.05)となった。精子運動率は18.7%, 27.5%, (p<0.01)、ARは31.0%, 36.9% (p<0.05)となった。

ICSIにおいて受精率を左右するfactorとしてtechnique以外に卵子・精子の質もあることが推察された。

## 12. 卵管因子原因別のIVF-ET治療成績に関する検討

○田村理子, 詠田由美, 本庄 考  
窪田真知, 三村久美, 白川光一  
(福岡大産婦)

卵管因子原因別のIVF-ET治療成績に関して検討を行った。

当科にて卵管因子の適応でIVF-ETを施行した119例(年齢 $31.2 \pm 3.7$ 歳, 不妊期間 $51.5 \pm 40.0$ 月)について, 卵管通過障害の原因を1)特発性(主に骨盤内感染), 2)子宮内膜症(チョコレート嚢胞合併例を除く), 3)卵管手術後, 4)卵巣手術後, 5)子宮手術後に分類し, 妊娠率を検討した。

原因別の内訳は, 1)27例22.7%, 2)20例16.8%, 3)34例(子宮外妊娠30例, 卵管形成4例)28.6%, 4)25例(片側付属器切除5例, 両側嚢胞摘出6例, 片側嚢胞摘出14例)21.0%, 5)13例(筋腫核出11例, 帝切2例)10.9%であった。対症例妊娠率は, 1)48.1%, 2)10.0%, 3)52.9%, 4)44.0%, 5)15.4%で, 2)群で有意に低かった( $p < 0.01$ )。

卵管因子の原因によりIVF-ETの治療成績は影響を受けることが判明した。

## 13. 「減数手術」や「代理母」を不妊症夫婦はどう考えているか(第2報)

○麻生佳枝, 正成みどり, 磯崎美智子  
宇津宮隆史 (セント・ルカ産婦人科)

不妊症治療の進歩により以前には考えられなかった副作用や倫理上の問題点が現れてきた。2年前に我々は多胎妊娠に対する減数手術と代理母について不妊患者に対しアンケートによる調査を行ってみた。その結果, 不妊症患者は減数手術に対しては肯定的な意見が多く, また, 代理母については否定的な意見が多く見られた。

今回は同様の質問を前回とは異なった不妊夫婦に行い検討した。その結果, 減数手術については, 賛成61%(前回51%), 反対12%(前回18%)と, 前回と同じ傾向であった。反対理由は手術に対しての不安を訴えたのがもっとも多く, 倫理上の問題をあげたのは20%であった。代理母についてはホスト, サロゲートマザーそれぞれ賛成19%(前回26%), 2%(前回7%), 反対73%(前回59%), 94%(前回85%)であった。

これらの結果は不妊症診療を行う上でひとつの指針になると思われる。

## 14. 無精子症患者へのアプローチ

○栗田松一郎, 田中 温, 永吉 基  
馬渡善文, 田中威づみ, 竹本洋一  
高崎博幸, 井手紀子, 有本恭子  
岩本智子 (セントマザー産婦人科)

ICSIの高い妊娠率によって重症男性不妊症に対する治療方法が画期的に変化した。

精巣上体精子の回収法は, 閉塞性無精子症で精巣上体の体部や頭部まで精巣上尿管が怒張した症例はもちろんのこと, 脊髓損傷その他, 精巣上体が腫大していない症例においても, 精巣上体尾部を露出して微量の精子を回収・凍結保存し, 10周期分の治療に供することができる。夫は1回の手術のみで, その後の周期における治療での来院は不要となる。手術や侵襲的な検査の既往のあるものでは癒着が強かったり, 精巣上体内の炎症で精子の状態が悪化していることもある。基本的に手術は採卵日の午後に行い, 腰麻で翌朝退院, ガスや静脈麻酔・局麻では当日夕方に帰宅できる。夫の都合の良い日を予約して, 凍結保存のみの目的で手術することもできる。

この治療法で現在までに160例を越える妊娠が成立している。不動精子症の患者においては現在まで8例の妊娠が成立しているが, たとえ運動率が0%でも精巣上体精子の方が受精・分割率などの成績が優れており, このような症例でも現在では積極的に精巣上体精子の凍結保存を行っている。精巣上体からの精子回収がまったく不可能な症例においてのみ精巣内精子を用いてICSIを行っている(妊娠6/17)ので, 適応症例はかなり限定される。

## 15. 人工精液瘤より採取した凍結精子を用いたICSIによる妊娠

○蔵本武志, 杉岡美智代, 梅林ツナ  
(蔵本ウイメンズクリニック)  
小松 潔 (原三信病院泌尿器)

重症男性不妊症に対し, 最近卵細胞質内精子注入法(ICSI)の有効性が認められるようになった。今回, 我々は人工精液瘤造設後に採取し, 凍結した精子を用いてICSIを行い, 2名に継続妊娠を得たので報告する。

症例1は夫37歳, 妻36歳で幼少時の鼠径ヘルニア手術による閉塞性無精子症で, ICSI施行まで3回の人工精液瘤造設術と1回のAIHを受けた。7個の卵を採取し, 4個にICSIを行い, 4個受精し, 3個を胚移植した。このうち1個が着床した。

症例2は夫40歳、妻39歳で精巣腫瘍術後に射精障害を起こし、膀胱内精子回収が不可能なため人工精液瘤を造設した。21個採卵し、19個にICSIを行った。8個が受精したため、4個を胚凍結し、残った4個を培養後、3個を胚移植した。このうち1個が着床した。

凍結精子解凍後(ICSI前)の精子運動率は症例1、2とも1%であった。人工精液瘤からの精子を用いたICSIは、閉塞性無精子症などの重症男性不妊に有用であると思われる。

#### 16. 精子由来卵子活性化物質 (Oocyte activating substance in sperm: OASIS) の種特異性の有無に関する研究

○田中威づみ, 田中 温, 永吉 基  
粟田松一郎, 馬渡善文, 竹本洋一  
高崎博幸, 井手紀子, 有本恭子  
岩本智子 (セントマザー産婦人科)

ICSI後の卵子の活性化率および受精率は従来用いられている卵子活性化法より高く、さらに異常受精の発生率は低い、この現象は精子より出現してくる物質(OASIS)が直接、卵細胞質に作用していることを我々は1995年本学会で発表した。今回我々はこのOASISの種特異性の有無に関して実験を行ったので、その結果について報告する。

ブタ精子をPBSで洗浄後、濃度を $8 \sim 10 \times 10^6/\text{ml}$ に調整し、この精子の頭部と尾部とを切断した。室温で60分放置後1300g、10分遠心分離した。上清を4℃、60分100,000gで遠心分離し、その上清を採取した。この上清を10plあたり精子5匹分となるよう調整し、マウスのA)卵細胞質内、B)卵腔内に5~10pl注入した。

A, Bにおける活性化率は62%, 0%であった。AにおけるPHの数の割合は1PHで73%, 2PHで21%, 3PH以上は6%であった。

OASISには種特異性がないことが判明した。

#### 17. 精母細胞および精子細胞の体外培養に関する基礎的研究

○田中 温, 永吉 基, 粟田松一郎  
馬渡善文, 田中威づみ, 竹本洋一  
高崎博幸, 井手紀子, 有本恭子  
岩本智子 (セントマザー産婦人科)

原発性無精子症の約40%では精母細胞まで、さらに約10%は精子細胞まで発育している。もし、精母細胞が精子細胞へ、精子細胞が精子へと体外にて培養が可能となれば、原発性無精子症の約半数は妊娠

する可能性が期待できる。今回我々は、この点に対して基礎実験を行った。

マウスの精巣をコラゲナーゼ、デオキシリボヌレクターゼを含んだPBS内でピンセットで軽くほぐし(4℃)この組織を33℃、20分、100回/分振盪した。4℃にてさらにピペッティングし組織を解離し、静置した。この上清を3,000rpm、5分、遠心分離した。この細胞浮遊液を10%FCS、アドレナリン、ルアドレナリンを添加した培養液(HamF-12)内に再浮遊させ、33℃、CO<sub>2</sub>培養器内で培養した。

3日間培養の後、下層に増殖したセルトリ細胞の表面に少数の精子細胞を認めることができた。円形精子細胞から精子への発育は認められなかったが、後期精子細胞の一部が精子へと発育することが確認できた。

精母細胞、および精子細胞で発育が停止した原発性無精子症における妊娠の可能性が示唆された。

#### 18. ASF癒着スコアと妊孕性に関する検討

○窪田真知, 詠田由美, 本庄 考  
三村久美, 白川光一 (福岡大産婦)

腹腔鏡検査後妊娠症例の、AFS癒着スコアを解析し、その有用性を検討した。

挙児希望を主訴に来院し、腹腔鏡検査を受けた142例のうち、その後18か月以内に当科外来で妊娠を確認した65例を対象とした。骨盤内癒着の評価にはAFS癒着スコアを使用した。

対象の平均年齢は30.8歳、当科初診までの平均不妊期間は44.1か月であった。腹腔鏡検査施行後、平均7.5か月で妊娠が成立した。妊娠に至った治療法としてIVF-ETが25症例、排卵誘発など外来での待機治療が40症例であった。癒着スコアはIVF-ET症例で卵管癒着スコア $24.6 \pm 10.7$ 、卵管癒着スコアは $10.0 \pm 10.0$ であり、待機妊娠症例では $7.2 \pm 9.0$ 、 $3.6 \pm 6.8$ であった。

骨盤内癒着に対するAFS癒着スコアによる評価、とくに卵管癒着スコアは、治療指針決定の上で有用と考えられた。

#### 19. 選択的卵管造影法施行後の妊娠率の検討 一両側卵管疎通症例において一

○神山 茂, 宮城博子, 照屋陽子  
正本 仁, 宮良美代子, 稲福 薫  
東 政弘, 金澤浩二 (琉球大産婦)

近年、卵管閉塞不妊症に対して選択的卵管造影法(SSG)などによる経頸管的卵管再疎通術が施行され

てきている。当科では、卵管疎通性確認後に妊娠成立しない不妊症例に対しても、卵管疎通性の改善を期待して、SSGを施行してきた。今回、その治療成績を報告する。

卵管疎通のある不妊症例に対するSSGの治療効果について検討した。

1993年8月～1995年12月にSSGを施行した68例のうち、SSG施行前に子宮卵管造影検査(HSG)にて両側卵管疎通性が確認され、その後少なくとも3周期以上経過しても妊娠成立しない続発性不妊症例16例を対象とした。本法による妊娠の判定は、SSG施行後4周期以内に妊娠した症例を妊娠成立とした。

16例中6例が妊娠し、その妊娠率は37.5%であった。

HSGにて卵管疎通性確認後妊娠成立しない症例に対し、卵管疎通性の改善を目的としたSSGは有用であることが示唆された。

## 20. 妊孕性温存手術を施行した非定型的平滑筋腫瘍ならびにatypical polypoid adenomyomaの臨床的検討

○新田 慎, 片瀬秀隆, 本田律生  
福松之敦, 田中信幸, 松浦講平  
岡村 均 (熊本大産婦)

過去7年間に当科で平滑筋腫瘍あるいは子宮内膜ポリープの臨床診断にて子宮温存手術を行った症例を対象に、病理組織学的診断から、その後の臨床経過を追跡した。

筋腫核出術を行った142例中119例(83.8%)は平滑筋腫で、7例(4.9%)に非定型的平滑筋腫(bizarre 2例, cellular 5例), 1例(0.7%)に平滑筋肉腫がみられた。また子宮内膜ポリープの中でatypical polypoid adenomyoma (APA)は4例であった。この中で, bizarre leiomyomaの1例は、初回治療後15か月に再度筋腫核出術を行い、組織学的には平滑筋腫であったが、平滑筋肉腫を含む3例に妊娠が成立し、2例に生児を得ている。一方、APAの中の2例は、経過観察中に子宮内膜癌の診断が得られ、初回治療の4～6か月後に子宮摘出術を行った。

以上より、非定型的平滑筋腫瘍での妊娠・分娩例、APAでの子宮内膜癌の併発が確認され、多様な対応が必要であることが示された。

## 21. 卵巣嚢腫核出術による卵管不妊の2症例

○井手 宏, 今石裕人, 宮嶋 諭  
池田雅紀, 東島利紀, 友成廉平  
岩永成晃, 畑瀬哲郎, 西田 敬  
薬師寺道明 (久留米大産婦)

開腹術の術後癒着が不妊の原因となる可能性は広く認識されている。卵巣嚢腫核出術による術後癒着が原因と考えられた2症例を供覧しその問題点を提示する。

2症例ともに、当科にての卵巣皮様嚢腫核出術と対側卵巣楔状切除術の既往があり、4年間の不妊を主訴に当科を受診した。症例1(26歳)は2年後に腹腔鏡を施行した。腹腔鏡所見では、核出側の卵巣および卵管の著明な癒着、対側卵巣の大網およびS状結腸との癒着をみとめた。症例2(28歳)は7か月後に腹腔鏡を施行したが、核出側卵管采の高度癒着と同側卵巣の著明な縮小、対側卵管卵巣周囲の著明な癒着を認めた。核出側卵巣は過排卵刺激にても1個の卵胞成熟をみたのみで核出術による卵巣皮質の縮小が影響していると考えられた。

今回の症例を通じ、卵巣嚢腫核出術に際しての細心の注意、可能な限りの癒着防止処置の必要性と卵巣手術既往を持つ不妊症例に対する早めの腹腔鏡検査の重要性を再認識した。

## 22. ヒト卵胞液中IGFBP-1, IGFBP-3とその意義

○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)

Insulin-like growth factor (IGF)の卵胞成熟における役割を明らかにするため、卵胞液中のIGF binding protein-1 (IGFBP-1)およびIGFBP-3と性ステロイド、卵成熟度との関連について検討した。

卵管因子による不妊患者15例を対象とし、体外受精の採卵時に卵胞液を採取、卵はMarrsらの分類により評価した。卵胞液中のestradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>), progesterone (P<sub>4</sub>), androstendione (A)をRIAで、IGFBP-1濃度をELISAにて測定し、IGFBP-3をWestern blottingにより解析した。

卵胞液中IGFBP-1はE<sub>2</sub>, P<sub>4</sub>と有意(p<0.05)な正の相関を示したが、Aとは相関を示さなかった。卵胞液中IGFBP-1は成熟卵では有意(p<0.01)に高く、一方、IGFBP-3は成熟度が進むに従い減少した。

IGFBP-1はE<sub>2</sub>, P<sub>4</sub>による調節を受け、IGFBP-3とともに卵の成熟に関与していることが示唆された。

### 23. 妊娠中毒症における血中インヒピン値についての検討

○浜口直美, 浜崎哲史, 山下隆則  
増崎英明, 石丸忠之 (長崎大産婦)

妊娠中毒症と血中のインヒピン値の関連について検討した。

妊娠末期において子宮内発育遅延が疑われた妊婦30例について母体血中インヒピン値およびhCG値をRIAを用いて測定した。そして1)インヒピン値とhCG値との関連, 2)妊娠中毒症とインヒピン値およびhCG値との関連について検討した。

1)インヒピン値とhCG値との間に有意な相関が認められた( $R=0.69$ ,  $P<0.0001$ )。2)妊娠中毒症を認めた15例は, 認めなかった15例に比してインヒピン値( $126.5 \pm 83.2$  vs  $32.3 \pm 14.9$  IU/ml,  $P<0.0005$ )およびhCG値が有意に高値であった( $P<0.001$ )。

妊娠中毒症妊婦において血中のインヒピン値およびhCG値が高値を示した。今後, それらの高値と妊娠中毒症の病態との関連について検討が必要である。

### 24. 性機能が障害されなかったWerner症候群の1例

○中村佐知子, 森田洋一郎, 沖 利通  
伊集院博文, 桑波田理樹, 中江光博  
山元慎一, 吉永光裕, 堂地 勉  
永田行博 (鹿児島大産婦)

Werner症候群(WRN)は早発老化を特徴とする症候群で, 老人様顔貌, 低身長, 若年性白髪, 四肢の強皮症様皮膚変化, 早発閉経を主症状とする。今回, 性機能が障害されなかったWRNを経験したので報告する。

症例は49歳。初経は14歳, 以後45歳まで順調に経過。31歳より低身長, 白内障, 老人様顔貌などの症状が出現するようになった。その特徴的所見から

WRNと診断される。1994年12月(48歳)不正性器出血のために当科受診。粘膜下筋腫と診断される。血清 $E_2$ 値は37 pg/mlであった。1995年11月, TAH+BSO施行。卵巣に卵胞と子宮内膜に $E_2$ 効果を認めた。術後血清 $E_2$ 値は10 pg/mlに低下した。本症例は卵巣機能は障害されなかったWRNであった。

WRNはヒトの老化を研究するのに非常に良いモデルとなる。現在WRNのgene mappingが少しずつ明らかになろうとしている。そこで性機能が障害されなかったWRNに関し文献的, 遺伝学的考察を加える。

### 25. 神経性食思不振症(AN)の極期に妊娠させられた症例

○伊集院博文, 中村佐知子, 堂地 勉  
沖 利通, 山元慎一, 桑波田理樹  
中江光博, 永田行博 (鹿児島大産婦)

神経性食思不振症(AN)は主に思春期の少女に好発する疾患で, 発症機転には現代の社会や家庭の病理が深くかかわっている。今回我々はANの無月経治療により誤って妊娠させられた症例を経験したので若干の考察を加え報告する。

症例は25歳, 初経12歳, P(0)G(0)。他県にてANで精神科入院中, 婦人科でANに対し妊娠により軽快するとしてhMG/hCG療法施行。その後当院心療内科を紹介される。妊娠の可能性があり当科紹介。身長158 cm, 体重35 kg。子宮内に胎嚢2個確認。両側卵巣腫大と軽度腹水認め, 軽症OHSSと診断。ANの状態が不安定で分娩, 育児は不可能と判断しD&C(9個)施行。

本症例は単純性体重減少性に比べ背景が複雑であるように, 病識に乏しく, 精神的に未熟な状態での妊娠が内科的治療の妨げとなりD&Cを余儀なくされた症例であった。ここではANの治療条件, 排卵誘発条件について考察する。

# 関連学会のお知らせ

## 第7回日本性機能学会学術総会

I 日 時：平成8年9月6日(金), 7日(土)

II 会 場：ホテルニューキャッスル

〒036 青森県弘前市上鞆師町24-1

TEL 0172-36-1211

III 講演内容：

特別講演：「糖尿病性神経障害の成因とその形態学」

八木橋操六(弘前大学医学部第1病理)

招請講演：「性機能をめぐる最近の知見」

1) 佐藤嘉一(札幌医科大学泌尿器科)

「性行動調節の脳内メカニズム—アンドロジェンとの関連を中心に」

2) 木元康介(九州大学医学部泌尿器科)

「陰茎の末梢神経支配」

3) 佐藤健次(東京医科歯科大学医学部保健衛生学科)

「性機能に関与する神経・血管の局所解剖ならびに末梢自律神経回路」

ビデオシンポジウム：「骨盤内手術における性機能障害の予防と治療」

一般演題(口演)

IV 問合せ連絡先：〒036 青森県弘前市在府町5

弘前大学医学部第2外科

事務局 森田隆幸

TEL 0172-33-5111(内線5079)

FAX 0172-39-5080

第7回日本性機能学会学術総会

会長 今 充

(弘前大学医学部第2外科教授)

# ART (Assisted Reproductive Technology) Forum'96

日本における Assisted Reproductive Technology のさらなる発展、飛躍の一助となることを目的として、開催致します。

I 日 時：平成8年11月8日(金) 16：10～18：05  
18：05～18：45(懇親会)

II 会 場：ホテルクレメント徳島  
TEL：0886-56-3111

III 講演内容：

演者 (海外より招請を交渉中)  
座長 入谷 明 京都大学名誉教授  
近畿大学生物理工学部教授

「ヒト子宮内膜間質細胞におけるプロゲステロン誘導遺伝子」

演者 神崎秀陽 関西医科大学産婦人科教授

「精細胞の受精卵構築能」

演者 小倉淳郎 国立予防衛生研究所獣医科学部主任研究官

座長 森 崇英 京都大学医学部婦人科学産科学教授

後援：日本不妊学会／日本受精着床学会

協賛：株式会社東機貿／WILLIAM A. COOK AUSTRALIA PTY LTD.

IV 問合せ連絡先：〒141 東京都品川区西五反田8-1-10  
小沢西五反田ビル4F  
リプロダクションアカデミー  
飯塚理八  
TEL 03-3495-8761 FAX 03-3495-8762

平成8年7月

代表世話人 飯塚理八(慶応義塾大学名誉教授)  
森 崇英(京都大学婦人科学産科学教授)  
入谷 明(近畿大学生物理工学部教授)

# 第11回日本更年期医学会学術集会

I 日 時：平成8年11月16日(土)・17日(日)

II 会 場：笹川記念会館

〒108 港区三田3-12-12 TEL 03-3454-5062

III 内 容：メインテーマ「Feminine Forever」

シンポジウム：「アジア、オセアニアの更年期を考える」

座長 麻生武志(東京医科歯科大学医学部産科婦人科学教授)

藤本征一郎(北海道大学医学部産婦人科学教授)

演者 Roger J. Pepperell, M.D. (The University of Melbourne, Australia)

Charles Ng, M.D. (Singapore General Hospital, Singapore)

Song-Nan Chow, M.D. (Taiwan National University, Taiwan)

Jin-Yong Lee, M.D. (Seoul National University, Korea)

パネルディスカッション：

1) 「男性の更年期から熟年期までの問題点—Masculine Forever—」

座長 熊本悦明(札幌医科大学名誉教授)

吉田英機(昭和大学医学部泌尿器科学教授)

演者 名和田新(九州大学医学部第三内科学教授)

塚本泰司(札幌医科大学泌尿器科学教授)

河野友信(東洋英和女学院大学人間科学部教授)

富岡 等(昭和大学医学部精神医学助教授)

2) 「更年期診療のピットフォール」

座長 相良祐輔(高知医科大学産科婦人科学教授)

雨宮 章(聖マリアンナ医科大学産婦人科学教授)

演者 村崎芙蓉子(女性成人病クリニック院長)

辻裕美子(国立精神・神経センター国府台病院心理療法士)

土橋一慶(帝京大学医学部産科婦人科学助教授)

卜部 論(京都府立医科大学産婦人科学講師)

オープンフォーラム：テーマ「更年期—いつまでも美しく—」

特別講演「日本の女性」 作家 曾野綾子

ラウンドテーブル10題：

一般演題：(一般演題申込締切は平成8年7月27日です。詳細は下記連絡先へお問合せ下さい。)

IV 問合せ連絡先：昭和大学医学部産科婦人科学教室

〒142 品川区旗の台1-5-8

TEL 03-3784-8551 FAX 03-3784-8355

第11回日本更年期医学会

会 長 矢内原 巧

(昭和大学医学部産科婦人科学教授)

### 第25回日本医学会総会

第25回日本医学会総会(会頭:高久史磨,副会頭:伊東正男・吉岡守正・森岡恭彦,準備委員長:矢崎義雄)は,東京において1999(平成11)年4月2日(金)~4日(日)までの3日間にわたり,学術講演が開催される.また展示は,1999(平成11)年3月27日(土)~4月5日(月)までの10日間にわたって開催される.

会場は学術講演に東京国際フォーラム(有楽町)を,また総合医学展示には東京国際展示場(有明)を予定している.

総会のメインテーマは「社会とともにあゆむ医学—開かれた医療の世紀へ—」で,シンボルマークもこのテーマにふさわしい,人間のあゆむ姿が図案化され,社会の人々とともに新たな世紀に向けて進む医療・医学のイメージが象徴されている.また総会の大きな目標として,4年に1回,医学・医療の進歩の成果を広く社会に問う大イベントとして,関係者のみならず,国民全体が健康を考えるよい機会となることを目指している.

### 第63回日本医学会定例評議員会

第63回日本医学会定例評議員会が,1996年2月27日(火)に開催された.挨拶に立った森巨日本医学会会長は「今日の現実についても十分に弁えながら,むしろ将来にわたっての理想をもとに物事を進め,日本の医学・医療に何らかの貢献をしたいと考えている」と述べ,日本医学会の進むべき姿勢を示した.

なお,同日に日本医学会役員の選挙が行われ,日本医学会長に森巨,副会長に石田名香雄(基礎),小泉明(社会),高久史磨(臨床)の3名がそれぞれ再選された.

また,幹事(16名)は,約半数の9名の任期満了にともなう改選が行われた.

会長,副会長(3名)の任期はともに,1996年4月1日から1998年3月31日までであり,幹事(半数改選)は2000年3月31日までである.

### 第105回日本医学会シンポジウム

「骨粗鬆症—病態,診断,治療の進歩—」が,1996年7月3日(水,10:00~17:30)に日本医師会館大講堂で開催される予定である.

本シンポジウムの組織委員は,黒川清,折茂肇,井上哲郎の3氏である.参加希望者は,日本医学会あてに葉書で申し込まれたい.参加費は無料.また本シンポジウム記録集は,希望者に贈呈する予定.織細は事務局まで.

プログラムの概要は,下記のとおり.

#### I. 骨粗鬆症の病型と病態:骨の構造と機能から

1. 骨の構造と機能/中村利孝(産業医大・整形外科科学) 2. 骨細胞の機能と骨粗鬆症の病態/松本俊夫(東大・内科学) 3. 骨粗鬆症の病型/森井浩世(阪市大・内科学)

#### II. 骨粗鬆症の症状と診断

4. 骨粗鬆症の症状と診断基準/井上哲郎(浜松医大・整形外科科学) 5. 骨構造と骨量の評価法/福永仁夫(川崎医大・放射線医学) 6. 骨代謝マーカーその他の特殊診断法(種々のマーカー,遺伝子診断など)/清野佳紀(岡山大・小児科学)

#### III. 骨粗鬆症の予防と治療

7. 骨粗鬆症の予防と早期治療/折茂肇(大蔵省東京病院) 8. 骨粗鬆法の治療の目標と効果の判定/白木正孝(成人病診療研究所) 9. 薬剤療法:その適応と選択/板橋明(埼玉医大・中央検査部)

### 新規加盟学会審査制度検討委員会報告書

日本医学会では,平成6年より分科会として新規加盟を希望する学会に対する加盟申請審査のあり方を検討し,このたび,報告書が出された.

本年度から新方式による新規加盟の審査を行うことが機関決定している.加盟申請の公示は平成8年5月15日に行い,7月31日で申請を締切る.

報告書の審査基準として,a.分科会としての独自性と必要性,b.会員構成,c.活動性,評価,d.国際性,e.運営,f.総合的な判断などをあげている.

審査は新規加盟審査委員会で審議検討した結果につき,協議会,幹事会の議を経て評議員会で審議し,その上で決定を行うこととしている.加盟への申請書は,日本医学会あて請求されたい.

## 医学用語管理事業

本会の医学用語管理委員会は、最近、文部省の学術用語制定事業「医学用語標準化の調査研究」の作業を中心に行い、医学用語標準化のための円滑な方法などを検討した。

「医学用語標準化の調査研究」の重点は、文部省から委嘱された標準医学用語制定のための作業を行うことにあり、最終目標は文部省「学術用語集医学編」を出版することにある。その作業方針として「日本医学会医学用語辞典 英和 和英」に日本医学会各分科会の医学用語集を加え、これらを基に医学用語の編纂をした。上記「用語集」に含まれるべき医学用語の選定は、次の3つの基準の基本的な用語を優先とした。1) 新聞など一般社会において利用される可能性のある医学用語、2) 医学以外の学会で利用される可能性のある医学用語、3) 法令などに出現する医学用語である。なお、選定された用語の一覧は報告原案として、文部省に1996年3月末に提出した。

## 医学賞・医学研究助成費

1989年より、標記の医学賞・医学研究助成費の選考は、日本医師会から日本医学会に委託されている。医学賞・医学研究助成費についての候補者の推薦は、4月下旬に日本医学会各分科会長、全国大学医学部長・医科大学長、その他諸関係機関長に依頼した。

各要項の概略は、下記のとおり。

### 医学賞要項

1. 日本医師会医学賞は、日本医師会会員で、医学上重要な業績をあげたものに授与する。
2. 本賞は、毎年1回、基礎医学・社会医学・臨床医学を通じ3名に授与する(副賞は1名500万円)

### 医学研究助成費要項

1. 日本医師会医学研究助成費は、日本医師会会員で、医学上将来性に富む研究を行っているものに授与する。
2. 本助成費は、毎年1回、基礎医学・社会医学・臨床医学を通じ15件に授与する(1件200万円)。  
各機関長からの推薦は、医学賞は各部門1名、助成費は各部門を通じ3件以内としていただきたい。

# お 知 ら せ

hMG-hCG療法について厚生省からの指導にもとづき

使用の際の留意点および使用上の注意をお知らせします

## 使用上の注意の改訂点 (製薬各社作成文書より抜粋)

### I hMG製剤 (下垂体性性腺刺激ホルモン)

#### 「警告」および「使用上の注意」

「警告」欄を新設し、「使用上の注意」を下記のとおり改訂致しました。なお、今回の調査で卵巢過剰刺激症候群にともない、呼吸困難、肺水腫、卵巢莖捻転が併発した症例も報告されましたので、あわせて追加記載致しました。( \_\_\_\_\_ 部：改訂箇所)

#### 【警 告】

本剤の投与に引き続き、胎盤性性腺刺激ホルモン製剤を投与した場合または併用した場合、血栓症、脳梗塞などをともなう重篤な卵巢過剰刺激症候群があらわれることがある。

#### 【使用上の注意】

##### 1. 一般的注意

###### (1) 患者の選択

本療法の対象は不妊症患者のうちの、間脳または下垂体前葉の機能・器質的障害に由来する性腺刺激ホルモン低分泌無月経患者であるのでつぎの点に注意すること。

###### 1) 対象患者

エストロゲン・プロゲステロンテストで初めて反応する第Ⅱ度無月経または抗エストロゲン療法(クエン酸クロミフェン、シクロフェニルなど)が奏効しない第Ⅰ度無月経の患者に投与すること。

###### 2) 対象外患者

- a. 本療法の対象とはならない子宮性無月経の患者を除外するために、患者の状態(たとえば性腺刺激ホルモン・エストロゲン・プロゲステロン分泌、頸管粘液、基礎体温、超音波所見など)を詳細に検査すること。
- b. 原発性卵巢不全による尿中性腺刺激ホルモン分泌の高い患者、副腎・甲状腺機能の異常による無月経患者、頭蓋内に病変(下垂体腫瘍など)のある患者、および無排卵症以外の不妊症患者は本療法の対象から除外すること。

###### (2) 卵巢過剰刺激

本剤の投与に引き続き、胎盤性性腺刺激ホルモン製剤を用いた場合または併用した場合、卵巢腫大、腹水・胸水をともなう卵巢過剰刺激症候群があらわれることがあるので、つぎの点に留意し、異常が認められた場合には、ただちに投与を中止すること。また、患者に対しては、異常が認められた場合にはただちに医師などに相談するよう、あらかじめ説明すること。

- 1) 卵巢過剰刺激症候群、多胎妊娠を引き起こすことがあるので、その旨をあらかじめ患者に説明すること。
- 2) 患者の自覚症状(下腹部痛、下腹部緊迫感、悪心、腰痛など)の有無
- 3) 急激な体重増加の有無
- 4) 卵巢腫大の有無(内診、超音波検査などの実施)

### (3) 多胎妊娠

本療法による卵巣過剰刺激の結果として多胎妊娠が起こることがあるので、使用に際しては、その旨をあらかじめ患者に説明すること。

〔全国36病院における本療法による多胎妊娠についての調査で双胎以上の多胎妊娠は、妊娠総数454例中93例(20.5%)で、そのうち、双胎59例(13.0%)、3胎20例(4.4%)、4胎8例(1.8%)、5胎5例(1.1%)、6胎1例(0.2%)であったとの報告がある。〕

(4) 妊娠初期の不注意な投与を避けるため、投与前少なくとも1か月間は基礎体温を記録させること。

(5) 産婦人科・内分泌専門医師の管理のもとに投与すること。

## 2. 禁忌(つぎの患者には投与しないこと)

(1) 卵巣腫瘍のある患者および多嚢胞性卵巣症候群を原因としない卵巣腫大のある患者

[卵巣刺激ホルモン作用により、これらの症状が増悪することがある。]

(2) 妊婦または妊娠している可能性のある婦人(「妊婦への投与」の項参照)

## 3. 原則禁忌(つぎの患者には投与しないことを原則とするが、やむを得ず投与する場合には、慎重に投与すること。)

(1) 児を望まない第Ⅱ度無月経患者 [妊娠する可能性がある。]

(2) 多嚢胞性卵巣のある患者 [卵巣過剰刺激症候群を起こしやすい。]

## 4. 相互作用

併用に注意すること

胎盤性性腺刺激ホルモン

[本剤の投与に引き続き、胎盤性性腺刺激ホルモン製剤を用いた場合または併用した場合、卵巣腫大・腫大卵巣の破裂、下腹部痛、下腹部緊迫感、腹水・胸水をともなう卵巣過剰刺激症候群があらわれることがある。さらに、これにともなう血液濃縮、血液凝固能の亢進などにより、血栓症、脳梗塞を引き起こすことがあり、また、呼吸困難、肺水腫、卵巣莖捻転を引き起こすことがある。]

## 5. 副作用(まれに：0.1%未満、ときに：0.1～5%未満、副詞なし：5%以上または頻度不明)

### (1) 重大な副作用

1) 卵巣過剰刺激症候群 本剤の投与に引き続き、胎盤性性腺刺激ホルモン製剤を用いた場合または併用した場合、卵巣腫大、下腹部痛、下腹部緊迫感、腹水・胸水をともなう卵巣過剰刺激症候群があらわれることがある。これにともない、血液濃縮、血液凝固能の亢進、呼吸困難などを併発することがあるので、ただちに投与を中止し、循環血流量の改善につとめるなど適切な処置を行うこと。

2) 血栓症・脳梗塞 卵巣過剰刺激症候群にともない、血栓症、脳梗塞を引き起こすことがある。

3) 呼吸困難・肺水腫 卵巣過剰刺激症候群にともない、呼吸困難、肺水腫を引き起こすことがある。

4) 卵巣破裂・卵巣莖捻転 卵巣過剰刺激症候群にともない、卵巣破裂、卵巣莖捻転を引き起こすことがある。

### (2) その他の副作用

1) 過敏症 まれに発赤、発疹、ほてり、注射部疼痛などがあらわれることがあるので、このような場合には投与を中止すること。

2) その他 ときに悪心、頻尿、しびれ感、頭痛、浮腫があらわれることがある。また、尿量が増加することがある。

## 6. 妊婦への投与

妊娠中の投与は不要であり、また、妊婦への投与に関する安全性は確立していないので、妊婦または妊娠している可能性のある婦人には投与しないこと。

## 7. 適用上の注意

### (1) 投与経路

本剤は筋肉内注射にのみ使用すること。

### (2) 溶解時

溶解後は速やかに使用すること。

### (3) 筋肉内注射時

筋肉内注射にあたっては、下記の点に注意すること。

1) 同一部位への反復注射は行わないこと。

2) 神経走行部位を避けること。

3) 注射針を刺入したとき、激痛を訴えたり血液の逆流をみた場合はただちに針を抜き、部位をかえて注射すること。

4) 注射部位に疼痛、硬結をみることがある。

### (4) その他

本品はワンポイントカットアンプルであるが、アンプルのカット部分をエタノール綿などで清拭してからカットすることが望ましい。

## II hCG (胎盤性性腺刺激ホルモン)

### 「警告」および「使用上の注意」

「警告」欄を新設し、「使用上の注意」を下記のとおり改訂致しました。なお、今回の調査で卵巢過剰刺激症候群にともない、呼吸困難、肺水腫、卵巢莖捻転が併発した症例も報告されましたので、あわせて追加記載致しました。  
( \_\_\_\_\_ 部：改訂箇所)

### 【警 告】

下垂体性性腺刺激ホルモン製剤の投与に引き続き、本剤を投与した場合は併用した場合、血栓症、脳梗塞などをともなう重篤な卵巢過剰刺激症候群があらわれることがある。

### 【使用上の注意】

#### 1. 一般的注意

女子不妊症の治療に際し、下垂体性性腺刺激ホルモン製剤の投与に引き続き本剤を用いた場合または併用した場合、卵巢腫大、腹水・胸水をともなう卵巢過剰刺激症候群があらわれることがあるので、つぎの点に留意し、異常が認められた場合にはただちに投与を中止すること。また、患者に対しては、異常が認められた場合にはただちに医師などに相談するよう、あらかじめ説明すること。

(1) 卵巢過剰刺激症候群、多胎妊娠を引き起こすことがあるので、その旨をあらかじめ患者に説明すること。

(2) 患者の自覚症状(下腹部痛、下腹部緊迫感、悪心、腰痛など)の有無

(3) 急激な体重増加の有無

(4) 卵巢腫大の有無(内診、超音波検査などの実施)

#### 2. 禁 忌(つぎの患者には投与しないこと)

(1) 前立腺癌または他のアンドロゲン依存性腫瘍およびその疑いのある患者

[アンドロゲン産生を促進するため、腫瘍の悪化あるいは顕性を促すことがある.]

(2) 性腺刺激ホルモン製剤に対し過敏症の既往歴のある患者

(3) 性早熟症の患者

[アンドロゲン産生を促進するため、性的早熟を早め、骨端の早期閉鎖を来すことがある.]

### 3. 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること)

#### (1) 前立腺肥大のある患者

[アンドロゲン産生を促進するため、前立腺肥大が憎悪するおそれがある.]

#### (2) てんかん、片頭痛、喘息、心疾患または腎疾患のある患者

[アンドロゲン産生を促進するため、体液貯留、浮腫などがあらわれ、これらの症状が憎悪するおそれがある.]

### 4. 相互作用

併用に注意すること

下垂体性性腺刺激ホルモン

[排卵誘発の目的で、下垂体性性腺刺激ホルモン製剤の投与に引き続き、本剤を用いた場合または併用した場合、卵巣腫大・腫大卵巣の破裂、下腹部痛、下腹部緊迫感、腹水・胸水をともなう卵巣過剰刺激症候群があらわれることがある。さらに、これにともなう血液濃縮、血液凝固能の亢進などにより、血栓症、脳梗塞を引き起こすことがあり、また、呼吸困難、肺水腫、卵巣茎捻転を引き起こすことがある。]

### 5. 副作用(まれに：0.1%未満、ときに：0.1～5%未満、副詞なし：5%以上または頻度不明)

#### (1) 重大な副作用

- 1) ショック まれにショック症状があらわれることがあるので、観察を十分に行い、顔面潮紅、胸内苦悶、呼吸困難などがあらわれた場合には投与を中止し適切な処置を行うこと。
- 2) 卵巣過剰刺激症候群 下垂体性性腺刺激ホルモン製剤の投与に引き続き、本剤を用いた場合または併用した場合、卵巣腫大、下腹部痛、下腹部緊迫感、腹水・胸水をともなう卵巣過剰刺激症候群があらわれることがある。これにともない、血液濃縮、血液凝固能の亢進、呼吸困難などを併発することがあるので、ただちに投与を中止し、循環血液量の改善につとめるなど適切な処置を行うこと。
- 3) 血栓症・脳梗塞 卵巣過剰刺激症候群にともない、血栓症、脳梗塞を引き起こすことがある。
- 4) 呼吸困難、肺水腫 卵巣過剰刺激症候群にともない、呼吸困難、肺水腫を引き起こすことがある。
- 5) 卵巣破裂・卵巣茎捻転 卵巣過剰刺激症候群にともない、卵巣破裂、卵巣茎捻転を引き起こすことがある。

#### (2) その他の副作用

- 1) 過 敏 症 発疹などがあらわれることがあるので、このような場合には投与を中止すること。
- 2) 精神神経系 めまい、頭痛、興奮、不眠、抑うつ、疲労感などがあらわれることがある。
- 3) 内 分 泌 思春期前の患者への投与中に性早熟症の徴候があらわれた場合には投与を中止すること。また、長期連続投与によりつぎの症状があらわれることがあるので、観察を十分に行い、このような場合には減量または投与を中止するなど適切な処置を行うこと。
  - a. 女 性 嘔声、多毛、陰核肥大、痤瘡などの男性化症状
  - b. 男 性 性欲亢進、陰茎持続勃起、痤瘡、女性型乳房

### 6. 高齢者への投与

高齢者(男性)ではアンドロゲン依存性腫瘍が潜在している可能性のあること、および一般に生理機能が低下しているので慎重に投与すること。

### 7. 小児への投与

骨端の早期閉鎖、性的早熟をきたすことがあるので、観察を十分に行い慎重に投与すること。

## 8. 適用上の注意

### (1) 投与経路

本剤は筋肉内注射にのみ使用すること。

### (2) 溶解時

- 1) 本剤はアルコールなどで沈殿を起こすので、注射器は消毒後添付の溶解液の少量でよく洗ってから使用すること。
- 2) 溶解後は速やかに使用すること。

### (3) 筋肉内注射時

筋肉内注射にあたっては、下記の点に注意すること。

- 1) 同一部位への反復注射は行わないこと。  
とくに小児には注意すること。
- 2) 神経走行部位を避けること。
- 3) 注射針を刺入したとき、激痛を訴えたり血液の逆流をみた場合はただちに針を抜き、部位をかえて注射すること。
- 4) 注射部位に疼痛、硬結をみることがある。

### (4) その他

本品はワンポイントカットアンプルであるが、アンプルのカット部分をエタノール綿などで清拭してからカットすることが望ましい。

hMG 製剤の製品名および会社名

一般名 下垂体性性腺刺激ホルモン(hMG 製剤)	
製品名	会社名
バーゴナル注	帝国臓器製薬
HMG「日研」	日研化学
HMG フジ	富士製薬工業
オプランゼ注射用	大洋薬品工業
ゴナドリール	持田製薬
バーゴグリーン注	セローノ・ジャパン
ヒュメゴン	三共(オルガノン)
フェルティノームP注	セローノ・ジャパン

hCG 製剤の製品名および会社名

一般名 胎盤性性腺刺激ホルモン(hCG 製剤)	
製品名	会社名
ゴナトロピン	帝国臓器製薬
HCG フジセイヤク	富士製薬工業
HCG モチダ	持田製薬
ゲストロン	デンカ製薬一日研化学
ブペローゲン	三共エール薬品=三共
プレグニール	三共(オルガノン)
プロファシー注	セローノ・ジャパン

# 投 稿 規 定

(1995年10月5日改定)

1. 本誌掲載の論文は、原則として会員のものに限る。
2. 投稿論文は、本会の目的に関連のある原著、総説、論説、臨床報告、その他で、他誌に未掲載のものに限る。
3. 臨床例(もしくは臨床材料)または動物を対象とした実験的研究においては倫理面を考慮すること。なお、被験者からインフォームド・コンセントを得た場合は論文内にその旨を記載する。
4. 投稿論文は編集委員会が依頼する複数の審査委員の審査を受け、採否、掲載順位、その他の編集に関する事項は編集会議でこれを決定する。掲載は原則として受理順とする。
5. 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。なお超過ページならびに費用を要する図、表、写真、カラー印刷は実費を著者負担とする。
6. 投稿原稿はB5版横書き400字詰のものを使用し清書する。なお、ワープロ使用の場合もこれに準じ、文書フロッピー(MS-DOS、テキストファイル出力)を添付し、機種名とソフト名を明記する。原稿は原本1部に査読用コピー2部を添える。写真は原稿を含めて3部とする。
7. 原著、総説、論説、臨床報告などには、必ず600字以内の和文抄録ならびに、200 words以内の各抄録(題名、著者名、所属を含む)を添付する。各抄録の下に和文ならびに英語5語以内のKey wordsを付記する。英文はあらかじめ専門家の校閲を受けておくこと。ただし編集委員会で校閲が必要と認めた場合は、その費用を著者負担とする。
8. 投稿原稿は表紙(題名、著者名、所属、住所、ランニングタイトルを和文ならびに英文で明記)、英文抄録、和文抄録、本文(緒言、材料および方法、結果、考察、引用文献)の順に並べ、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。ランニングタイトルは和文で25字以内、英文で40 letters以内とする。
9. 記述は和文または英文とし、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。
10. 海外の人名、地名などは原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの関連学会用語集に従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
11. 文献は次の形式により、引用順に末尾に一括記載する。著者、編者名は3名までとし、以下は他(et al.)とする。

## a) 雑誌の場合

著者名(年次)題名。誌名 巻数: 頁-頁 とする。  
和文誌名は該当誌の規定または慣用の略名に従い、

英文誌名はIndex Medicusに従って略したものをを用いる。ページは通巻のページ数で最初と最終ページを記入する。

英文例) Daitoh T, Kamada M, Yamano S, et al. (1995) High implantation rate and consequently high pregnancy rate by in vitro fertilization-embryo transfer treatment in infertile women with anti-sperm antibody. *Fertil Steril* 63: 87-91

和文例) 宮崎豊彦, 久慈直昭, 末岡 浩 他(1995) 体外受精・胚移植不成功例に対する卵巣刺激前ダナゾール投与の効果. *日不妊会誌* 40: 104-109

## b) 単行本の場合

著者名(年次)題名。書名。編者名、発行所、発行地、pp 頁-頁 とする。(英文の場合は編者名、書名。の順)

英文例) Collins JA (1995) Unexplained infertility. In: Keye WR Jr, Chang RJ, Rebar RW, et al (eds), 1st ed, *Infertility: Evaluation and Treatment*. WB Saunders Co, Philadelphia, pp249-262

和文例) 三浦一陽(1994) 男性不妊症. *アンドロロジーマニュアル*. 白井將文編, 第1版, 新興医学出版, 東京, PP 152-166

12. 投稿論文の著作権は、掲載が決定した時点で日本不妊学会に譲渡される。投稿原稿、図表、写真は返却しない。
13. 同一著者による論文の掲載は同一号に1編のみとする。
14. 著者校正は原則として初校のみとする。なお、校正は字句の訂正にとどめる。校正の責任は全面的に著者に帰す。
15. 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を全額著者負担とし、かつ特別掲載料を納付する。
16. 掲載論文に対しては、別冊30部を贈呈する。これ以上を必要とする場合は、原稿表紙に別刷総部数を朱記する。なお、30部を越す分についての実費は著者負担とする。
17. 項目5, 15, 16にある掲載に要した経費、30部を越える別刷印刷費などは、学会から著者に直接請求書を送付する。諸費用は速やかに下記口座に送金する。郵便振替口座: 00170-3-93207  
銀行預金口座: 三和銀行麹町支店 普: 3706039  
社団法人日本不妊学会宛
18. 投稿原稿には、巻末に綴じ込みの投稿申込み票を添付し、簡易書留にて下記へ送付する。  
(送付先) 東京都千代田区麹町5丁目4番  
クロスサイド麹町ビル8階  
社団法人 日本不妊学会  
Tel, Fax: 03-3288-7266

# 日本不妊学会雑誌 投稿申込み票

(この用紙をコピーしてご利用下さい)

タイトル:

和文or英文タイトル:

掲載希望: [特別掲載: 普通掲載]

種別: [原著: 総説: 論説: 臨床報告: その他]

著者名: (6名以上の場合は, 別紙に同様の様式でご記入下さい)

フリガナ 氏名	会員番号 [所属機関名]	フリガナ 氏名	会員番号 [所属機関名]
	No.		No.
演者	[ ]	2.	[ ]
	No.		No.
3.	[ ]	4.	[ ]
	No.		No.
5.	[ ]	6.	[ ]

本文ページ数:

文献件数:

和文抄録ページ数:

英文抄録ページ数:

表の数:

図の数:

写真の数:

[カラー印刷: 白黒印刷]を希望する

ランニングタイトル:

(和文25字以内、英文40 letter以内)

キーワード: 和文

(各5語以内) 英文

別刷希望数:

フロッピーの添付 [有: 無] → 機種名:

ソフト名:

その他ご希望事項がありましたらお申し出下さい:

連絡先: 代表者名:

連絡先住所:

電話番号:

ファクシミリ番号:

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 樹
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 41 卷 3 号

1996年 6月28日 印 刷

1996年 7月 1日 発 行

編集兼発行者 白 井 将 文

印 刷 者 内 藤 錦 樹

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